

Anna Kowalczyk, Ewa Szutowicz-Zielińska, Rafał Dziadziuszko, Jacek Jassem

Katedra i Klinika Onkologii i Radioterapii Akademii Medycznej w Gdańsku

Znaczenie inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca

The role of EGFR tyrosine kinase inhibitors in the treatment of non-small cell lung cancer

Adres do korespondencji:

dr med. Anna Kowalczyk
Katedra i Klinika Onkologii i Radioterapii
Akademii Medycznej w Gdańsku
ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk
e-mail: akow@amg.gda.pl
tel./faks: (058) 349 22 70

STRESZCZENIE

Wśród chorób nowotworowych przyczyną największej liczby zgonów jest rak płuca. Wyniki leczenia zaawansowanego raka płuca są złe. Inhibitory kinazy tyrozynowej receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR), gefitynib i erlotynib, stwarzają nową możliwość leczenia chorych na zaawansowanego niedrobnokomórkowego raka płuca. W badaniach klinicznych II fazy zaobserwowano obiecujące odsetki odpowiedzi oraz zmniejszenie dolegliwości związanych z nowotworem po zastosowaniu obydwu preparatów w drugiej lub trzeciej linii leczenia. Z kolei spośród sześciu badań z losowym doбором chorych, tylko w jednym wykazano wydłużenie czasu przeżycia pod wpływem tych leków. Z pewnością tak niewielki efekt inhibitorów kinazy tyrozynowej był spowodowany brakiem właściwych kryteriów doboru chorych. Wyniki przeprowadzonych badań molekularnych i klinicznych wskazują bowiem, że korzyść z leczenia tymi preparatami odnosią przede wszystkim chorzy z mutacją w obrębie domeny kodującej kinazę tyrozynową *EGFR* w komórkach nowotworu. Mutacje te występują u około 10% chorych z niedrobnokomórkowym rakiem płuc, częściej u kobiet, przedstawicieli rasy żółtej, u osób, które nigdy nie paliły tytoniu oraz w rakach gruczołowych, w tym oskrzelikowo-pęcherzykowych. Obecnie prowadzone badania zmierzają w kierunku określenia optymalnych warunków stosowania inhibitorów kinazy tyrozynowej u chorych z niedrobnokomórkowym rakiem płuca.

Słowa kluczowe: gefitynib, erlotynib, niedrobnokomórkowy rak płuca, leczenie celowane

ABSTRACT

Lung cancer is the leading cause of cancer related death. The results of treatment of advanced lung cancer are poor. The EGFR tyrosine kinase inhibitors (erlotinib and gefitinib) provide a new treatment option for patients with locally advanced lung cancer. In phase II clinical trials with both gefitinib and erlotinib in second or third line chemotherapy, promising response rates and cancer related symptoms relief were found. However, out of 6 randomized trials with tyrosine kinase inhibitors, only one revealed the improvement of overall survival. So minimal effect of tyrosine kinase inhibitors most likely reflected the lack of appropriate inclusion criteria. Conducted molecular and clinical studies showed clinical benefit mostly in patients with EGFR tyrosine kinase domain mutation. These mutations are present in 10% of non small cell lung cancer, more frequently in women, Asian race, non-smokers and adenocarcinoma and bronchioalveolar cancer. These are ongoing studies focused on finding optimal criteria for the use of tyrosine kinase inhibitors in patients with non small cell lung cancer.

Key words: gefitinib, erlotinib, non-small cell lung cancer, targeted therapy

Wstęp

Rak płuca jest przyczyną największej liczby zgonów związanych z nowotworami w Polsce i na świecie [1, 2]. Wyniki leczenia tego nowotworu nadal są niezadowolające. Podstawową metodą leczenia niedrobnokomórkowego raka płuca jest doszczętny zabieg operacyjny, jednak ponad 75% chorych nie kwalifikuje się do niego ze względu na znaczne zaawansowanie miejscowe lub rozsiew choroby. W tej grupie zastosowanie chemioterapii pozwala na uzyskanie remisji u około 20–30% chorych oraz na przedłużenie czasu przeżycia o kilka miesięcy. Mediana czasu przeżycia chorych z progresją po pierwszorazowej chemioterapii wynosi 14–16 tygodni, a udział rocznych przeżyć — 12–16% [3–5]. Tak złe wyniki leczenia zaawansowanego raka płuca nakazują poszukiwanie nowych metod terapeutycznych.

Postęp biologii molekularnej stwarza możliwości zastosowania terapii skierowanej przeciw określonym cząsteczkom uczestniczącym w procesie powstawania i progresji nowotworów. Jednym z molekularnych celów leczenia jest zahamowanie czynności receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR, *epidermal growth factor receptor*). Zwiększoną ekspresję EGFR stwierdzono w komórkach różnych nowotworów, w tym w 50–80% niedrobnokomórkowych raków płuca [6]. Przekazywanie sygnału komórkowego poprzez EGFR pobudza rozplem komórek guza, hamuje apoptozę oraz nasila angiogenezę i zdolność do tworzenia przerzutów.

Inhibitory kinazy tyrozynowej EGFR — gefitynib i erlotynib — są związkami o małej masie cząsteczkowej. Preparaty te odwracalnie i selektywnie wiążą się z wewnątrzkomórkową domeną EGFR o aktywności kinazy tyrozynowej, zapobiegając fosforylacji tyrozyny i aktywacji szlaku przekazu sygnału. Prowadzi to do zahamowania przekazywania sygnału komórkowego szlakami kinazy serynowo-treoninowej (AKT, *phosphorylated serine/threonine protein kinase*), aktywowanej mitogenem kinazy białkowej (MAPK, *mitogen-activated protein kinase*), czynników transkrypcyjnych (STAT, *signal transducers and activators of transcription*), zahamowania cyklu komórkowego w fazie G1 oraz nasilenia apoptozy.

Badania przedkliniczne

Przeprowadzono wiele badań *in vitro* i *in vivo* oceniających wpływ gefitynibu i erlotynibu na komórki nowotworowe. Inhibitory kinazy tyrozynowej EGFR powodowały zahamowanie wzrostu hodowli linii komórkowych wywodzących się z różnych nowotworów litych [7, 8]. Podobne wyniki uzyskano w badaniach na modelach zwierzęcych. Podanie gefitynibu lub erlotynibu prowadziło do zmniejszenia lub zahamowania wzrostu przeszczepów ludzkich guzów u myszy [9–11]. Inhibitory kinazy tyrozynowej

EGFR powodowały zatrzymanie cyklu komórkowego, zwiększały apoptozę oraz zmniejszały zdolność komórek do migracji [8, 9]. Zarówno w warunkach *in vitro*, jak i w badaniach przeprowadzonych na myszach inhibitory kinazy tyrozynowej wywoływały efekt addytywny lub synergistyczny w połączeniu z napromienianiem i niektórymi lekami o działaniu cytotoksycznym [7, 9, 12, 13].

Badania kliniczne

Na podstawie zachęcających wyników badań przedklinicznych, w 1999 roku rozpoczęto badania kliniczne I fazy z udziałem gefitynibu. Objęły one ponad 250 chorych na różne nowotwory, w tym około 100 chorych z zaawansowanym niedrobnokomórkowym rakiem płuca [14]. Leczenie było dobrze tolerowane, a do najczęstszych działań niepożądanych należały wysypka skórna, biegunka oraz nudności i wymioty [15–17]. Ranson i wsp. [15] uzyskali częściową odpowiedź na leczenie u 4 spośród 16 chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca leczonych gefitynibem w dawkach 300–700 mg/d. W badaniu I fazy przeprowadzonym przez Baselgę i wsp. [16] uzyskano stabilizację choroby u 19 spośród 88 pacjentów leczonych wzrastającymi dawkami leku (150–1000 mg/d.), przy czym 7 chorych otrzymywało gefitynib dłużej niż 6 miesięcy. Herbst i wsp. [17] stwierdzili stabilizację choroby trwającą ponad 3 miesiące u 45% chorych, ponad pół roku u 22% i ponad rok u 7% chorych. Nie stwierdzono zależności między dawką leku a odpowiedzią na leczenie i czasem jej trwania.

W celu oceny wpływu gefitynibu na przekazywanie sygnału wewnątrzkomórkowego szlakiem EGFR przeprowadzono badania histopatologiczne i molekularne wyinków skóry pobranych od 104 chorych biorących udział w badaniach klinicznych I fazy [18]. Potwierdzono zahamowanie przekazywania sygnału komórkowego, fosforylacji EGFR i MAPK, zmniejszenie wskaźnika proliferacyjnego keratynocytów, zwiększoną apoptozę oraz ekspresję genu *P27*. Efekty te występowały już przy podaniu małych dawek leku. Na podstawie badań I fazy, do dalszych badań klinicznych wybrano dawki 250 i 500 mg gefitynibu, które stanowiły odpowiednio najniższą skuteczną dawkę oraz dawkę zbliżoną do najwyższej tolerowanej (MTD, *maximum tolerated dose*).

W badaniu klinicznym I fazy, w którym erlotynib stosowano w zaawansowanych stadiach różnych nowotworów, uzyskano częściową remisję u 2 chorych (5%) oraz stabilizację choroby u 6 pacjentów (15%) [19]. Do objawów niepożądanych należały wysypka skórna i biegunka. Do badań klinicznych II fazy wybrano najwyższą tolerowaną dawkę, czyli 150 mg.

Do badań klinicznych II fazy z zastosowaniem gefitynibu (IDEAL, *Iressa Dose Evaluation in Lung Cancer*) włączono ponad 400 chorych na niedrobnokomórkowego

raka płuca w Europie, Japonii, Republice Południowej Afryki, Australii (IDEAL-1) i Stanach Zjednoczonych (IDEAL-2). W badaniu IDEAL-1, chorych z progresją nowotworu po chemioterapii zawierającej pochodne platyny, przydzielono losowo do leczenia gefitynibem w dawce 250 i 500 mg [20]. Odpowiedzi na leczenie były podobne w obydwu grupach (odpowiednio: 18% i 19%). Zmniejszenie dolegliwości uzyskano odpowiednio u 54% i 51% chorych. Mediana czasu do progresji choroby wyniosła 12 tygodni. Badanie amerykańskie (IDEAL-2) zaprojektowano podobnie, jednak dotyczyło ono chorych z progresją nowotworu po przynajmniej dwóch liniach chemioterapii zawierającej pochodne platyny oraz docetaksel [21]. Odsetki uzyskanych odpowiedzi dla dawek 250 i 500 mg były niższe, odpowiednio 12% i 9%. Zmniejszenie duszności, kaszlu i bólu w klatce piersiowej stwierdzono w obydwu badaniach u 39% chorych. Zmniejszenie dolegliwości u chorych odpowiadających na leczenie obserwowano na ogół już po kilku dniach od rozpoczęcia leczenia. Ponieważ leczenie za pomocą dawki 500 mg powodowało więcej działań niepożądanych przy podobnym odsetku odpowiedzi, w dalszych badaniach stosowano dawkę 250 mg.

Do badania II fazy z udziałem erlotynibu włączono 57 pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuca z progresją choroby po chemioterapii zawierającej cisplatinę. Udział obiektywnych odpowiedzi na leczenie wyniósł 12%, stabilizację choroby stwierdzono u 39% badanych, a mediana czasu przeżycia wyniosła 8,4 miesiąca [22]. W kolejnym etapie podjęto badania I/II fazy, w których oceniano toksyczność równoczesnego leczenia gefitynibem i karboplatiną z paklitakselem u wcześniej nieleczonej choroby na zaawansowanego niedrobnokomórkowego raka płuca [23]. Nie stwierdzono zwiększenia toksyczności leczenia ani wpływu gefitynibu na farmakokinetykę cytostatyków. Odsetek uzyskanych odpowiedzi wyniósł 21% (5/24).

Przedstawione wyniki stanowiły podstawę do przeprowadzenia badań klinicznych III fazy (INTACT 1 i 2, *Iressa NSCLC Trial Assessing Combination Treatment*) oceniających skuteczność jednoczesnego zastosowania chemioterapii i gefitynibu. Chorych na zaawansowanego niedrobnokomórkowego raka płuca przydzielano losowo do leczenia gemcytabiną z cisplatiną (INTACT-1) lub karboplatiną z paklitakselem (INTACT-2) w połączeniu z gefitynibem lub placebo. W żadnym z badań nie wykazano wydłużenia czasu przeżycia w porównaniu z wyłączną chemioterapią [24, 25]. Podobne wyniki uzyskano w dwóch badaniach klinicznych III fazy z udziałem erlotynibu. Nie wykazano wydłużenia czasu przeżycia po dołączeniu erlotynibu do karboplatyny z paklitakselem (TRIBUTE) oraz do cisplatin z gemcytabiną (TALENT) [26, 27].

Brak poprawy wyników leczenia obserwowany w wymienionych badaniach z losowym doбором chorych, mimo

zachęcających wyników badań II fazy, prawdopodobnie wiązał się z brakiem właściwych kryteriów doboru chorych. Z pewnością efekt obu preparatów w niewyselekcjonowanej populacji chorych był zbyt mały, aby wykażać wydłużenie czasu przeżycia. Wysłunięto także hipotezę, że zahamowanie proliferacji komórek pod wpływem inhibitorów kinazy tyrozynowej może zwiększać ich oporność na działanie leków cytotoksycznych [28]. Skutki współdziałania leków cytotoksycznych i inhibitorów kinazy tyrozynowej są wypadkową złożonych procesów molekularnych zachodzących w komórce. Niezależnie od mechanizmów tych interakcji, obecnie wydaje się, że kojarzenie leków cytotoksycznych i inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR nie ma uzasadnienia klinicznego.

Negatywne okazały się również wyniki kolejnego, dużego badania klinicznego III fazy (*ISEL, Iressa Survival Evaluation in Lung Cancer*), w którym chorzy z progresją po jednej lub dwóch liniach chemioterapii otrzymywali gefitynib lub placebo (dane nieopublikowane). Z kolei w podobnym badaniu z udziałem erlotynibu, do którego włączono 731 chorych z progresją po jednej lub dwóch liniach chemioterapii, czas przeżycia w grupie otrzymującej erlotynib był dłuższy o 2 miesiące w porównaniu z grupą otrzymującą placebo [29]. Dotychczas było to jedyne badanie kliniczne III fazy, w którym wykazano korzyść ze stosowania inhibitorów kinazy tyrozynowej (tab. 1).

Niepomyślne wyniki badań III fazy w porównaniu z zachęcającymi wynikami badań przedklinicznych oraz badań II fazy, które wykazały aktywność inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca, wskazują na konieczność znalezienia klinicznych i molekularnych czynników predykcyjnych odpowiedzi na leczenie i czasu przeżycia.

Kliniczne czynniki związane z odpowiedzią na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej

Na podstawie analizy dotychczas przeprowadzonych badań stwierdzono, że do remisji po leczeniu inhibitorami kinazy tyrozynowej częściej dochodzi u kobiet, u osób rasy żółtej, w gruczołowym typie raka płuca, w tym również w podtypie oskrzelikowo-pęcherzykowym, oraz u osób, które nigdy nie paliły tytoniu [20, 21, 30]. W wieloczynnikowej analizie przeprowadzonej przez Millera i wsp. [31] w grupie 139 chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca, niezależnymi czynnikami związanymi z odpowiedzią na leczenie gefitynibem okazały się podtyp oskrzelikowo-pęcherzykowy oraz negatywny wywiad w kierunku palenia tytoniu. W niedawno ukończonym badaniu *Southwest Oncology Group* (SWOG) udział odpowiedzi na leczenie gefitynibem wśród chorych na raka oskrzelikowo-pęcherzykowego, którzy wcześniej otrzymali chemioterapię wyniósł 10%,

Tabela 1. Badania kliniczne III fazy przeprowadzone z udziałem inhibitorów kinazy tyrozynowej w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca. GC — gemcytabina z cisplatiną, CP — paklitaksel z karboplatiną

Table 1. Phase III clinical trials with tyrosine kinase inhibitors in non small cell lung cancer

Autor	Badanie	Liczba chorych	Linia leczenia	Schemat badania	Wyniki leczenia eksperymentalnego
Giaccone i wsp. [24]	INTACT 1	1,093	I	GC + gefitynib vs. GC + placebo	Negatywne (brak korzyści w porównaniu z placebo)
Herbst i wsp. [25]	INTACT 2	1,037	I	CP + gefitynib vs. CP + placebo	Negatywne (brak korzyści w porównaniu z placebo)
Dane nieopublikowane	ISEL	1,692	II/III	Gefitinib vs. placebo	Negatywne (brak korzyści w porównaniu z placebo)
Herbst i wsp. [26]	TRIBUTE	1,059	I	CP + erlotynib vs. CP + placebo	Negatywne (brak korzyści w porównaniu z placebo)
Gatzemeier i wsp. [27]	TALENT	1,172	I	GC + erlotynib vs. GC + placebo	Negatywne (brak korzyści w porównaniu z placebo)
Shepherd i wsp. [29]	NCIC CTG BR.21	731	II/III	Erlotynib vs. placebo	Pozytywne (wydłużenie czasu przeżycia w porównaniu z placebo)

w porównaniu z 21% u chorych, którzy otrzymali gefitynib jako pierwszą linię leczenia [32].

Stan ogólny chorych, lokalizacja przerzutów, w tym zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym, jak również zastosowane wcześniej leczenie nie mają wpływu na odsetek odpowiedzi na inhibitory kinazy tyrozynowej. Zły stan ogólny i występowanie przerzutów do mózgu nie stanowią zatem przeciwwskazania do leczenia tymi preparatami. Opisano przypadki istotnej poprawy klinicznej po zastosowaniu leków z tej grupy u chorych w 4. stopniu sprawności [33] oraz częściową lub całkowitą odpowiedź u chorych z przerzutami do mózgu [34]. Dotyczyło to również pacjentów, u których wcześniej zastosowano paliatywne napromienianie mózgowia.

Molekularne czynniki predykcyjne

Uzyskanie spektakularnych odpowiedzi na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej EGFR u niektórych chorych oraz brak remisji u innych jest następstwem różnic biologicznych raków płuca i ograniczonej wartości predykcyjnej klasyfikacji morfologicznej tego nowotworu. Przeprowadzono wiele badań immunohistochemicznych i molekularnych w celu wyjaśnienia mechanizmów działania tych leków oraz wyłonienia grupy chorych, która może odnieść korzyść z ich stosowania [35].

Nie znaleziono zależności między stopniem ekspresji EGFR a odpowiedzią na leczenie gefitynibem w badaniach *in vitro* i *in vivo*, jak również w grupie 157 chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca włączonych do badań II fazy [36]. Nie znaleziono także zależności między odpo-

wiedzią na lek a ekspresją receptora HER-2 oraz mutacją genu *K-RAS* w raku płuca [37, 38]. Dlatego gefitynib, w odróżnieniu od innych terapii celowanych, dotychczas stosowano w niewyselekcjonowanych grupach chorych.

Na początku 2004 roku, dwie niezależne grupy badaczy stwierdziły silną zależność między odpowiedzią na gefitynib a występowaniem mutacji w domenie kodującej kinazę tyrozynową *EGFR* [39, 40]. Lynch i wsp. [39], którzy poddali sekwencjonowaniu całą kodującą sekwencję *EGFR*, znaleźli mutacje w egzonie 18., 19. i 21. genu *EGFR* u 8 spośród 9 chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie gefitynibem. Nie stwierdzono podobnych zaburzeń w zdrowych tkankach chorych (mutacje miały więc charakter somatyczny) ani u żadnego spośród 7 chorych, którzy nie odpowiedzieli na leczenie gefitynibem. Mutacje te występowały w miejscu kodującym domenę kinazy tyrozynowej i prowadziły do kilkakrotnego zwiększenia aktywności *EGFR*. U nosicieli mutacji aktywujących kinazę tyrozynową *EGFR*, przekazywanie sygnału odbywa się głównie poprzez szlak białek STAT i prowadzi do zahamowania apoptozy [41]. Zastosowanie gefitynibu lub erlotynibu prowadzi u nich do masywnej apoptozy komórek guza, co klinicznie przejawia się szybką regresją. Mutacje te nie wpływają na stabilność białka, co wyjaśnia brak zależności między odpowiedzią na lek a ekspresją *EGFR*. Obecność mutacji może wpływać na stabilizację połączenia domeny kinazy tyrozynowej zarówno z ATP, jak i z kompetycyjnym inhibitorem — gefitynibem. W dotychczas opublikowanych wynikach badań zaburzenia molekularne w egzonach 18., 19. i 21. znaleziono w 22 spośród 26 guzów z odpowiedzią na gefitynib oraz w 8 spośród 10 z odpo-

wiedzą na erlotynib, natomiast nie znaleziono ich w żadnym z 49 guzów, które nie odpowiedziały na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej [39, 40, 42]. Paez i wsp. [40] stwierdzili częstsze występowanie mutacji *EGFR* u chorych z gruczolakorakiem (21%) niż u osób z innymi typami raka niedrobnokomórkowego (2%), u kobiet niż u mężczyzn (odpowiednio: 20% i 9%) oraz u chorych rasy żółtej (26%).

Marchetti i wsp. [43] wśród 860 raków płuca znaleźli mutacje w genie *EGFR* w 10% gruczolakoraków (większość w podtypie pęcherzykowo-oskrzelikowym), natomiast nie stwierdzili tych zaburzeń w żadnym raku płaskonabłonkowym ani wielkokomórkowym. W analizie wieloczynnikowej czynnikami niezależnie związanymi z występowaniem mutacji były: podtyp oskrzelikowo-pęcherzykowy, płeć żeńska i niepalenie tytoniu. Mutacje występowały u 57% chorych na raka oskrzelikowo-pęcherzykowego, którzy nigdy nie palili tytoniu. Amann i wsp. [44] stwierdzili współistnienie amplifikacji genu *EGFR* z mutacjami związanymi z odpowiedzią na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej we wszystkich zbędnych guzach (3/3) oraz liniach komórkowych (4/4).

Przeprowadzono również łączną analizę zaburzeń molekularnych w obrębie egzonów 18., 19. i 21. genu *EGFR* i w kodonie 12. genu *K-RAS* w grupie 60 chorych na gruczolakoraka płuca ze znaną odpowiedzią na leczenie gefitynibem lub erlotynibem [34]. U wszystkich chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie, znaleziono mutację w genie *EGFR*, natomiast korzyści z leczenia inhibitorem kinazy tyrozynowej nie uzyskano u żadnego z chorych z mutacją w genie *K-RAS*. Wyniki te są zgodne z wynikami wcześniejszych badań, w których nie stwierdzono współistnienia mutacji *EGFR* i *K-RAS* [35] w żadnym spośród 860 raków płuca. Mutacje w *EGFR* występują głównie u chorych, którzy nie palili tytoniu, podczas gdy mutacje w *K-RAS* są charakterystyczne dla osób palących tytoń, co prawdopodobnie wiąże się z inną drogą powstawania i progresji nowotworów u tych pacjentów.

Innymi czynnikami predykcyjnymi odpowiedzi na leczenie gefitynibem okazały się amplifikacja *EGFR* oraz *HER-2*. Cappuzzo i wsp. [45] stwierdzili występowanie amplifikacji *EGFR* u 32%, natomiast amplifikacja *HER-2* dotyczyła 10% chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. Zaburzenie te występowały znacznie częściej u kobiet i osób niepalących. Ich występowanie wiązało się z wyższym odsetkiem odpowiedzi na gefitynib, dłuższym czasem do progresji oraz całkowitym czasem przeżycia [45]. Występowanie odpowiedzi na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej prawdopodobnie zależy również od stanu dalszych elementów drogi przekazywania sygnału komórkowego. Aktywacja *MAPK* (p-Erk) w badaniach przedklinicznych oraz w badaniu koreańskim wiązała się z opornością na gefitynib, natomiast występowanie ekspresji p-Akt przy braku ekspresji p-Erk — z odpowiedzią na lek [46]. Ekspresja p-Akt wiązała się również

z wydłużeniem czasu przeżycia oraz czasu do progresji nowotworu w grupie chorych leczonych gefitynibem [47]. Aktywność Akt wiąże się z opornością na chemio- i radioterapię. Prawdopodobnie komórki, w których przekazywanie sygnału komórkowego przebiega szlakiem *PI3K/Akt* są wrażliwe na gefitynib, w przeciwieństwie do komórek, w których dominuje przekazywanie sygnału szlakiem *Ras/Raf/Erk*. Innym istotnym elementem szlaku przekazywania sygnału komórkowego jest cyklina D1. Badania *in vitro* i *in vivo* wykazały zmniejszenie jej ekspresji w guzach bez mutacji *EGFR*, w których doszło do zahamowania proliferacji komórek pod wpływem erlotynibu [48].

Oczekuje się, że zastosowanie techniki mikromacierzy DNA pozwoli w przyszłości na określenie panelu biomarkerów charakteryzujących guzy wrażliwe na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej *EGFR*. Stosując tę technikę poddano ocenie 23 040 genów i w 114 z nich stwierdzono różnice w ekspresji między guzami wrażliwymi i niewrażliwymi na gefitynib [49].

Tolerancja leczenia

Leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej jest dobrze tolerowane, w szczególności nie powoduje typowych objawów mielotoksycznych towarzyszących chemioterapii, takich jak neutropenia, niedokrwistość czy małopłytkowość. Z tego powodu podczas leczenia gefitynibem czy erlotynibem badania laboratoryjne mogą być wykonywane znacznie rzadziej niż podczas chemioterapii. Do najczęstszych objawów niepożądanych należy wysypka skórna. Jej wystąpienie wiązano z wyższym odsetkiem remisji, jednak wyniki większości badań tego nie potwierdzają [20–22]. Do innych, często występujących objawów niepożądanych należą: biegunka, suchość skóry i błon śluzowych oraz zmiany troficzne włosów i paznokci.

Jednym z rzadkich powikłań leczenia jest śródmiąższowe zapalenie płuc, które odnotowano u około 1% chorych leczonych gefitynibem. W Japonii dotychczas stwierdzono ponad 300 przypadków tego powikłania, z czego 1/3 była przyczyną zgonu [50]. Śródmiąższowe zapalenie płuc częściej występowało u chorych, którzy wcześniej byli napromieniani na obszar klatki piersiowej oraz u chorych w złym stanie ogólnym, a także u pacjentów z objawami współistniejącego samoistnego zwłóknienia miąższu płuc. Objawy śródmiąższowego zapalenia płuc występowały po około 1–2 miesiącach przyjmowania leku. Nie są znane mechanizmy odpowiadające za taką reakcję. Ocena pneumotoksyczności leku stosowanego u chorych na raka płuca jest trudna ze względu na towarzyszące chorobie częste zakażenia, uszkodzenie miąższu płucnego spowodowane wieloletnim paleniem tytoniu, zwłóknienie płuc wywołane na-

promienianiem lub cytostatykami oraz występowanie objawów związanych z progresją choroby. W badaniach INTACT-1 i INTACT-2 oraz ISEL śródmiąższowe zapalenie płuc występowało z taką samą częstością u chorych leczonych gefitynibem oraz w grupach kontrolnych. W ostrych uszkodzeniach miąższu płucnego stwierdzono silną ekspresję receptora EGFR, co wskazuje na potencjalne znaczenie tego białka w ich naprawie. Nie można wykluczyć, że zablokowanie fosforylacji EGFR zmniejsza regenerację nabłonka i powoduje zaostrzenie objawów choroby. W badaniach przeprowadzonych na myszach stwierdzono nasilenie zwłóknienia płuc po łącznym zastosowaniu bleomycyny i gefitynibu w porównaniu z zastosowaniem wyłącznie bleomycyny [51]. Inhibitory kinazy tyrozynowej EGFR, szczególnie gefitynib, powinny być zatem stosowane ostrożnie u chorych ze zwłóknieniem miąższu płucnego. Chorzy leczeni gefitynibem wymagają uważnej obserwacji, szczególnie podczas pierwszych 3 miesięcy leczenia, natomiast w przypadku wystąpienia silnej duszności, kaszlu i gorączki należy przerwać podawanie leku.

Kierunki dalszych badań

Badania molekularne pozwoliły na wyodrębnienie grupy chorych, która może odnieść korzyść z leczenia inhibitorami kinazy tyrozynowej. Obecnie wydaje się racjonalne stosowanie tej grupy leków wyłącznie u chorych z zaburzeniami molekularnymi w obrębie genu *EGFR*. Konieczne jest opracowanie testów molekularnych w celu określenia wrażliwości guza na te preparaty. Największe nadzieje budzi ocena mutacji w egzonach 18., 19. i 21. genu *EGFR* metodą sekwencjonowania DNA lub ocena amplifikacji EGFR z zastosowaniem fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH, *fluorescence in situ hybridisation*). Marchetti i wsp. [43] proponują zastosowanie polimorfizmu konformacyjnego pojedynczej nici (SSCP, *single strand conformation polymorphism*), jako prostej i czulej metody przesiewowej wykrywania mutacji EGFR.

Wyjaśnienia wymagają odpowiedzi na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej u chorych bez mutacji w *EGFR* oraz mechanizmy wtórnej oporności po leczeniu tymi preparatami. Ostatnie doniesienia wskazują na istnienie kolejnej mutacji, która wiąże się z opornością na leczenie inhibitorami kinazy tyrozynowej. Kobayashi i wsp. [52] opisali przypadek chorego, u którego doszło do progresji choroby po 2 latach całkowitej remisji pod wpływem gefitynibu. W guzie opornym na leczenie znaleziono dodatkową mutację w egzonie 20. *EGFR*. W innym badaniu wykazano dodatkową mutację w tym samym egzonie w guzach u 2 chorych, u których doszło do progresji podczas leczenia gefitynibem lub erlotynibem [53].

Niezbędne jest przeprowadzenie badań molekularnych oceniających inne elementy szlaku przekazywania sygnału komórkowego. Wykazano, że mimo leczenia gefitynibem, drogi MAPK i AKT nadal są aktywne w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuca, co może być przyczyną braku hamowania proliferacji [54]. W badaniach z zastosowaniem komórek linii A431 zwiększoną ekspresję markerów apoptozy stwierdzono tylko wtedy, gdy obydwie drogi były zablokowane. Może to stanowić przesłankę do prowadzenia badań oceniających połączenie erlotynibu lub gefitynibu z inhibitorami innych elementów dróg przekazywania sygnału komórkowego. Brehmer i wsp. [55], przy użyciu nowoczesnych metod proteomicznych, odnaleźli inne punkty uchwytu gefitynibu. Lek ten blokuje również między innymi kinazę serynowo-treoninową RAF, co działa antagonistycznie na blokowanie przekazywania sygnału komórkowego i hamuje odpowiedź na lek. Może to stanowić przesłankę do prób skonstruowania bardziej swoistego leku, który nie wpływałby na GAK.

Dotychczas nie ustalono optymalnych warunków kojarzenia inhibitorów kinazy tyrozynowej EGFR z konwencjonalnymi metodami leczenia przeciwnowotworowego. Niewiele jest danych dotyczących skuteczności tych preparatów w pierwszej linii leczenia chorych na zaawansowanego raka płuca, chociaż w świetle najnowszych doniesień leczenie takie można by rozważać w grupie chorych z mutacją w obrębie domeny kodującej kinazę tyrozynową *EGFR*. Takie zastosowanie inhibitorów kinazy tyrozynowej wydaje się również uzasadnione znacznie mniejszą toksycznością tych leków w porównaniu z chemioterapią. W tym celu konieczne są jednak perspektywne badania kliniczne. Obecnie prowadzone są badania oceniające zastosowanie gefitynibu w leczeniu uzupełniającym u chorych po radykalnym zabiegu operacyjnym oraz u chorych ze stabilizacją lub remisją choroby po chemioterapii lub napromienianiu. Dotychczas nie znaleziono skutecznego leczenia dla chorych z wtórną opornością na inhibitory kinaz tyrozynowych, głównie dlatego, że są to chorzy, u których wcześniej wykorzystano dostępne metody terapeutyczne. Nie określono również optymalnego czasu leczenia tymi preparatami i nie ustalono następstw ich długotrwałego stosowania.

Wydaje się również, że standardowe kryteria oceny odpowiedzi na leczenie (np. RECIST, *response evaluation criteria in solid tumors*) są niewystarczające w przypadku inhibitorów kinazy tyrozynowej. U niektórych chorych ze znaczącą poprawą kliniczną po stosowaniu tych leków nie występują klasyczne cechy regresji guza w badaniach obrazowych, natomiast zmniejsza się jego „gęstość” [56]. Utrudnia to również stwierdzenie progresji choroby u chorych, którzy wcześniej odpowiedzieli na leczenie.

Podsumowanie

Inhibitory kinazy tyrozynowej EGFR, gefitynib i erlotynib, stanowią nową możliwość terapeutyczną u chorych na zaawansowanego niedrobnokomórkowego raka płuca. Pod wpływem leczenia tymi preparatami uzyskuje się około 10% odpowiedzi, przede wszystkim u chorych z mutacją w obrębie domeny kodującej kinazę tyrozynową *EGFR*. Zaburzenia te częściej występują u kobiet, w typie gruczołowym raka płuca, u przedstawicieli rasy żółtej oraz u osób niepalących. Dotychczas preparaty te stosowano głównie w drugiej lub trzeciej linii leczenia chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. Gefitynib i erlotynib są lekami dobrze tolerowanymi i zwykle nie wywołują nasilonych objawów niepożądanych. W przypadku uzyskania odpowiedzi na leczenie, zmniejszenie dolegliwości związanych z nowotworem obserwuje się już we wczesnej fazie leczenia. Obecnie prowadzone badania mają na celu wskazanie optymalnych warunków stosowania tych leków u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca.

Piśmiennictwo

- Parkin D.M., Bray F.I., Devesa S.S. Cancer burden in the year 2000. Global picture. *Eur. J. Cancer* 2001; 37: S4–66.
- Didkowska J., Wojciechowska U., Tarkowski W., Zatoński W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 1999 roku. Centrum Onkologii — Instytut im. M. Skłodowskiej Curie. Zakład Epidemiologii i Prewencji Nowotworów. Krajowy Rejestr Nowotworów. Warszawa 2002.
- Klastersky J., Peasman M. Response to chemotherapy, quality of life benefits and survival in advanced non-small cell lung cancer: review of literature results. *Lung Cancer* 2001; 34: 95–101.
- Shepherd F.A., Dancey J., Ramlau R. i wsp. Prospective randomized trial of docetaxel versus best supportive care in patients with non-small cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 2095–2103.
- Fossella F.V., DeVore R., Kerr R.N. i wsp. Randomized phase III trial of docetaxel versus vinorelbine or ifosfamide in patients with advanced non-small-cell lung cancer previously treated with platinum containing chemotherapy regimens. The TAX 320 Non-Small Cell Lung Cancer Study Group. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 2108–2109.
- Rusch V., Klimstra D., Venkatraman E. i wsp. Overexpression of the epidermal growth factor receptor and its ligand transforming growth factor alpha is frequent in resectable non-small cell lung cancer but does not predict tumor progression. *Clin. Cancer Res.* 1997; 3: 515–522.
- Ciardello F., Caputo R., Bianco R. i wsp. Antitumor effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cell by ZD 1839 ("Iressa"), an epidermal growth factor receptor selective tyrosine kinase inhibitor. *Clin. Cancer Res.* 2000; 6: 2053–2063.
- Moyer J.D., Barbacci E.G., Iwata K.K. i wsp. Induction of apoptosis and cell cycle arrest by CP-358,774, an inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer. Res.* 1997; 57: 4838–4848.
- Sirotnak F.M., Zakowski M.F., Miller V.A. i wsp. Efficacy of cytotoxic agents against human xenografts is markedly enhanced by coadministration of ZD 1839 (Iressa), an inhibitor of EGFR tyrosine kinase. *Clin. Cancer Res.* 2000; 6: 4885–4892.
- Ng S.S., Tsao M.S., Nicklee T. i wsp. Effects of the epidermal growth factor receptor inhibitor OSI-774, Tarceva, on downstream signaling pathways and apoptosis in human pancreatic adenocarcinoma. *Mol. Cancer Ther.* 2002; 1: 777–783.
- Pollack V.A., Savage D.M., Baker D.A. i wsp. Inhibition of epidermal growth factor receptor-associated tyrosine phosphorylation in human carcinomas with CP-358,774: dynamics of receptor inhibition in situ and antitumor effects in athymic mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1999; 291: 739–748.
- Hidalgo M. Erlotinib: preclinical investigations. *Oncology (Williston Park)* 2003; 17: 11–16.
- Higgins B., Kolinsky K., Smith M. i wsp. Antitumor activity of erlotinib (OSI-774, Tarceva) alone or in combination in human non-small cell lung cancer tumor xenograft models. *Anti-Cancer Drugs* 2004; 15: 503–512.
- Herbst R.S., Kies M.S. ZD 1839 (Iressa) in non-small cell lung cancer. *Oncologist* 2002; 7: 9–15.
- Ranson M., Hammond L.A., Ferry D. i wsp. ZD 1839, a selective oral epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, is well tolerated and active in patients with solid, malignant tumors: results of a phase I trial. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 2240–2250.
- Baselga J., Rischin D., Ranson M. i wsp. Phase I safety, pharmacokinetic and pharmacodynamic ZD 1839, a selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 4292–4302.
- Herbst R.S., Maddox A.M., Rothenberg M.L. Selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 is generally well-tolerated and has activity in non-small-cell lung cancer and other solid tumors: results of a phase I trial. *J. Clin. Oncol.* 2002; 20: 3815–3825.
- Albanell J., Rojo F., Baselga J. Pharmacodynamic studies with the epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor ZD1839. *Semin. Oncol.* 2001; 28: 55–56.
- Hidalgo M., Siu L.L., Nemunaitis J. i wsp. Phase I and pharmacologic study of OSI-774, an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced solid malignancies. *J. Clin. Oncol.* 2001; 19: 3267–3279.
- Fukuoka M., Yano S., Giaccone G. i wsp. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 2237–2246.
- Kris M.G., Natale R.B., Herbst R.S. i wsp. Efficacy of gefitinib, an inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, in symptomatic patients with non-small cell lung cancer. *JAMA* 2003; 290: 2149–2158.
- Perez-Soler R., Chachoua A., Hammond L.A. Determinants of tumor response and survival with erlotinib in patients with non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 3238–3246.
- Miller V.A., Johnson D.H., Krug L.M. i wsp. Pilot trial of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor gefitinib plus carboplatin and paclitaxel in patients with stage IIIB or IV non-small cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 2094–2100.
- Giaccone G., Herbst R.S., Manegold C. i wsp. Gefitinib in combination with gemcitabine and cisplatin in advanced non-small cell lung cancer: a phase III trial INTACT1. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 777–784.
- Herbst R.S., Giaccone G., Schiller J.H. i wsp. Gefitinib in combination with paclitaxel and carboplatin in advanced non-small cell lung cancer: a phase III trial — INTACT2. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 785–794.
- Herbst R.S., Prager D., Hermann R. i wsp. TRIBUTE — a phase III trial of erlotinib HCl (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel (CP) chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) (abstrakt). *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 7011.
- Gatzemeier U., Plużañska A., Szczęśna A. i wsp. Results of a phase III trial of erlotinib (OSI-774) combined with cisplatin and gemcitabine (GC) chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) (abstrakt). *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 7010.
- Knight L.A., Di Nicolantonio F., Whitehouse P. i wsp. The in vitro effect of gefitinib ("Iressa") alone and in combination with cytotoxic chemotherapy on human solid tumours. *BMC Cancer* 2004; 4: 83–90.
- Shepherd F.A., Pereira J., Ciuleanu T.E. i wsp. A randomized placebo-controlled trial of erlotinib in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) following failure of 1st line or 2nd line chemotherapy. A National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (NCIC CTG) trial (abstrakt). *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 7022.
- Yano S., Kanematsu T., Miki T. i wsp. A report of two bronchioloalveolar carcinoma cases which were rapidly improved with treatment with the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD 1839 ("Iressa"). *Cancer Sci.* 2003; 94: 453–458.
- Miller V.A., Kris M.G., Shah N. i wsp. Bronchioloalveolar pathologic subtype and smoking history predict sensitivity to gefitinib in

- advanced non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 1103–1109.
32. West H., Franklin W.A., Gumerlock P.H. i wsp. Gefitinib (ZD1839) therapy for advanced bronchioloalveolar lung cancer (BAC): Southwest Oncology Group (SWOG) Study S0126 (abstrakt). *Proc ASCO* 2004; abstrakt 7014.
 33. Fujiwara K., Kiura K., Ueoka H. i wsp. Dramatic effect of ZD 1839 („Iressa”) in a patient with advanced non-small cell lung cancer and poor performance status. *Lung Cancer* 2003; 40: 73–76.
 34. Cappuzzo F., Ardizzone A., Soto-Parra H. i wsp. Epidermal growth factor receptor targeted therapy by ZD 1839 (Iressa) in patients with brain metastases from non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2003; 41: 227–231.
 35. Raben D., Helfrich B., Ciardiello F., Bunn P.A. Understanding the mechanisms of action of EGFR inhibitors in NSCLC: what we know and what we do not know. *Lung Cancer* 2003; 41: S15–22.
 36. Bailey L., Kris M., Wolf M. i wsp. Tumor EGFR membrane staining is not clinically relevant for predicting response in patients receiving gefitinib monotherapy for pretreated advanced non-small cell lung cancer: IDEAL1 and 2. *Proc AACR* 2003; 44: 1362.
 37. Suzuki T., Nakagawa T., Mendo H. i wsp. The sensitivity of lung cancer cell lines to the EGFR-selective tyrosine kinase inhibitor ZD 1839 („Iressa”) is not related to the expression of EGFR or HER-2 or to K-ras gene status. *Lung Cancer* 2003; 42: 35–41.
 38. Cappuzzo F., Gregorc V., Rossi E. i wsp. Gefitinib in pretreated non-small cell lung cancer (NSCLC): analysis of efficacy and correlation with HER2 and epidermal growth factor receptor expression in locally advanced or metastatic NSCLC. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21: 2658–63.
 39. Lynch T.J., Bell D.W., Sordella R. i wsp. Activating mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor underlying responsiveness of non-small cell lung cancer to gefitinib. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 2129–2139.
 40. Paez J.G., Janne P.A., Lee J.C. i wsp. *EGRF* mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 2004; 304: 1497–1500.
 41. Sordella R., Bell D.W., Haber D.A., Settleman J. Gefitinib-sensitizing EGFR mutations in lung cancer activate the anti-apoptotic pathways. *Science* 2004; 350: 1163–1167.
 42. Pao W., Wang T.Y., Riely G.J. i wsp. *KRAS* mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib and erlotinib. *PLOS Medicine* 2005; 2: 57–61.
 43. Marchetti A., Martella C., Felicioni L. i wsp. EGFR mutations in non-small-cell lung cancer: analysis of a large series of cases and development of a rapid and sensitive method for diagnostic screening with potential implications on pharmacologic treatment. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 857–865.
 44. Amann J., Kalyankrishna S., Massion P.P. i wsp. Aberrant epidermal growth factor receptor signaling and enhanced sensitivity to EGFR inhibitors in lung cancer. *Cancer Res.* 2005; 65: 226–235.
 45. Cappuzzo F., Hirsch F.R., Rossi E. i wsp. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) and HER2 gene amplification predict response to gefitinib therapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) (abstrakt). *ESMO* 2004; 628O.
 46. Sae-Won H., Hwang P.G., Chung D.H. i wsp. Epidermal growth factor receptor (EGFR) downstream molecules as response predictive markers for gefitinib (Iressa, ZD1839) in chemotherapy-resistant non-small cell lung cancer. *Int. J. Cancer* 2005; 113: 109–115.
 47. Cappuzzo F., Magrini E., Ceresoli G.L. i wsp. Akt phosphorylation and gefitinib efficacy in patients with advanced small-cell lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2004; 96: 1133–1141.
 48. Petty W.J., Dragnev K.H., Bemoli V.A. i wsp. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibition represses cyclin D1 in aerodigestive tract cancers. *Clin. Cancer Res.* 2004; 10: 7547–7554.
 49. Zembutsu H., Ohnishi Y., Daigo Y. i wsp. Gene-expression profiles of human tumor xenografts in nude mice treated orally with the EGFR tyrosine kinase inhibitor ZD 1839. *Int. J. Oncol.* 2003; 23: 29–39.
 50. Inoue A., Saijo Y., Maemondo M. i wsp. Severe acute interstitial pneumonia and gefitinib. *Lancet* 2003; 361: 137–139.
 51. Suzuki H., Aoshiba K., Yokohori N. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibition augments a murine model of pulmonary fibrosis. *Cancer Res.* 2003; 63: 5054–5059.
 52. Kobayashi S., Boggon T.J., Dayaram T. i wsp. *EGFR* mutation and resistance of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 786–792.
 53. Pao W., Miller V.A., Politi K.A. i wsp. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLOS Medicine* 2005; 2: 1–11.
 54. Janmaat M.L., Kruyt F.A., Rodriguez J.A. i wsp. Response to epidermal growth factor receptor inhibitors in non-small cell lung cancer cells: limited antiproliferative effects and absence of apoptosis associated with persistent activity of extracellular signal-regulated kinase or Akt kinase pathways. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9: 2316–2326.
 55. Brehmer D., Greff Z., Godt K. i wsp. Cellular targets of gefitinib. *Cancer Res.* 2005; 65: 379–382.
 56. Shah N.T., Kris M.G., Pao W. i wsp. Practical management of patients with non-small-cell lung cancer treated with gefitinib. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 165–174.