

RAS突变在恶性肿瘤的研究进展

周乐芬 陈小明

庆元县人民医院 浙江 丽水 323800

摘要: 恶性肿瘤是指机体在各种致癌因素作用下,组织细胞在基因水平上失去对其生长的正常调控,导致细胞克隆性异常增生而形成的新生物。肿瘤本质是一种基因病,目前已知人类恶性肿瘤中高达30%的恶性肿瘤存在RAS基因激活突变,KRAS突变是最为常见的突变,然而KRAS突变长久以来被认为是“不可成药”靶点。KRAS G12C基因突变的抑制剂AMG 510 (Sotorasib)打破了KRAS靶点无药可用的局面,而Adagrasib也展现出相似的全身疗效和抗肿瘤活性。本文主要根据RAS基因突变特性在各个癌种的进展情况及现有的靶向治疗进行综述。

关键词: 恶性肿瘤; RAS突变; KRASG12C

鼠肉瘤病毒(rat sarcoma virus, RAS)基因是人类癌症中第二大突变驱动基因,参与人类肿瘤的发生发展,其基因家族三个主要的成员是Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源物(KRAS)、神经母细胞瘤RAS病毒癌基因同源物(NRAS)和Harvey大鼠肉瘤的病毒癌基因同系物(HRAS)。尽管早在40多年前,人们就发现了RAS基因,但因RAS抑制剂缺乏药理学上结合的“口袋”,从而有了“不可成药”之说,RAS基因因此成了癌症重要的研究靶点,虽然经历无数次的失败,但是最终在KRAS甘氨酸残基(G12)的密码子12上发现半胱氨酸的固有活性,利用这个可结合的“小口袋”来制造共价小分子抑制剂,在此,本文综述了RAS基因突变及KRAS靶向药物在恶性肿瘤中的研究进展,希望能为该领域提供有益的见解。

1 RAS 基因的介绍

RAS基因是一种膜结合蛋白,具有固有鸟苷三磷酸酶(GTPase)活性,编码蛋白P21,由188~189个氨基酸构成,分子量约为21千道尔顿(kD),RAS蛋白在信号传递过程中在开关状态之间循环。当RAS基因与鸟苷二磷酸(guanosine diphosphate, GDP)结合时,RAS基因处于“关闭”状态,便失去活性。当RAS基因与膜结合型鸟苷三磷酸(guanosine triphosphate, GTP)结合时,即处于“打开”状态,RAS蛋白一旦被激活,就会激活下游激酶,增强下游信号并刺激细胞无序增殖与分化,驱动肿瘤的发生发展。RAS基因还调控多种信号通路,其中最主要的两个通路是丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)和磷脂肌素-3激酶(PI3K)通路,即RAF-MEK-ERK和PI3K-AKT-mTOR通路,最终影响细胞增殖、分化、凋亡和肿瘤血管生成,是促进癌症发展和进展的重要因素。

KRAS突变是实体肿瘤中最重要和最常发生改变的致

癌蛋白,KRAS大多数致癌突变(约95%)最常发生在单点突变的残基G12、G13和Q61最常见^[1],已知G12突变占所有KRAS突变的80%以上。事实上RAS基因大部分时间都处于静止状态,而且单点突变不易致癌,但在各种致癌因素下及基因突变时容易致癌。目前研究中发现KRAS G12C突变是比较重要的一个基因位点。

2 RAS 与肿瘤的关系

RAS基因分为野生型和突变型,野生型RAS基因具有肿瘤抑制作用,虽然RAS基因在癌症中普遍存在,但在各癌种中突变的频率和分布并不均匀,其中KRAS基因突变最常见,约占85%,NRAS基因突变约占12%、HRAS基因突变约占3%^[2]。KRAS突变最常在胰腺癌、结肠癌和非小细胞肺癌中检测到,约90%的胰腺腺癌、约30%-50%的结肠腺癌和约25-35%的肺腺癌中都存在KRAS-4B^[3],这些突变主要发生在第12位密码子处。NRAS突变,多见于黑色素瘤和血液系统恶性肿瘤中。而HRAS突变少见,主要发生在膀胱癌、甲状腺癌和宫颈癌等疾病。

胰腺癌被称为“癌症之王”,虽然胰腺癌的5年生存率低,预后极差。研究证明,胰腺导管腺癌(PDAC)是所有癌症中最依赖RAS的一种,RAS信号通路是致癌驱动因素,几乎在所有PDAC中都发现了KRAS突变。PDAC有四种典型突变——KRAS(约85%)、TP53(60-70%)、CDKN2A(>50%)和SMAD4(约50%)^[4],而在正常胰腺组织及胰腺良性疾病中突变率极低,美国国家癌症研究所也将KRAS作为胰腺癌研究的四个主要重点之一。

在非鳞非小细胞肺癌(NSCLC)中,KRAS基因突变率高,KRAS突变常发生在外显子2和3(G12、G13和Q61)上,而KRAS密码子12以G12C、G12V或G12D常见,在KRAS G12突变中,G12C常见于吸烟的患者,

而且女性多于男性。与KRAS共突变常见基因有TP53、STK11和KEAP1等^[5]，而与EGFR、BRAF和ALK重排等致敏突变是相互排斥的，KRAS基因突变还是EGFR-TKI原发性耐药的原因之一。而事实证明RAS状态是EGFR酪氨酸激酶抑制的独立预测因子。KRAS突变的肺癌患者总体生存期较差，故KRAS蛋白成为治疗RAS突变所致恶性肿瘤的重要靶点。

RAS基因是结直肠癌常见的基因，KRAS基因外显子2突变常发生在12、13密码子上，突变率约35%~40%，是预后不良的标志。KRAS基因突变后，通过影响细胞的生物学行为刺激促进肿瘤细胞的增殖转移等，且不受上游EGFR的信号调控影响，对抗EGFR靶向治疗效果差。研究发现在早期肿瘤中就发现KRAS基因突变的存在，并且证实原发灶与转移灶的KRAS基因状态是高度一致的，通常还认为，KRAS基因状态不会因治疗而发生变化^[6]，故KRAS基因状态是抗EGFR抗体靶向治疗的疗效预测指标，能为转移性结直肠癌患者提供精准治疗策略。因RAS突变的结直肠癌不能从EGFR靶向治疗中获益，那KRAS突变的患者该使用何种靶向药物治疗，在过去几十年里，KRAS基因靶点药物的研究均以失败告终，但通过大量的药物化学研究，终于在KRAS G12C中发现了一个靶向结合袋，针对KRAS G12C的靶向药物Sotorasib (AMG510)和Adagrasib (MRTX849)研发成功，掀起研究新高潮。

3 RAS 抑制剂的产生

过去40年，KRAS一直有着“不可成药”靶点的说法，其KRAS难以成药的原因主要有三点：一、其蛋白质分子较小，表面相对平滑，难以找到小分子药物结合的“口袋”；二、细胞内高浓度GTP，KRAS活性最强；三、KRAS对核苷酸GTP亲和力极强，高达皮摩级，药物很难与GTP竞争，难以结合KRAS蛋白并抑制其活性。后两个特征使得研发GTP直接竞争性靶向RAS抑制剂非常有挑战性，几乎是不可行。一方面，要想克服RAS对GTP的高度亲和力，需要具有特别高结合性能的小分子，另一方面，KRAS蛋白的GTP结合位点在不同的KRAS突变体中有所不同，最终在KRAS G12C中发现了一个靶向结合袋，KRAS-G12C的半胱氨酸可以被用来开发共价小分子抑制剂，重要的是，野生型KRAS在活性位点缺乏半胱氨酸，所以不能靶向野生型KRAS。

2021年开发出首款KRASG12C抑制剂Sotorasib，打破了无药可用的局面。Sotorasib单药治疗局部晚期或转移性KRAS p.G12C突变NSCLC患者展现出了良好的疗效与安全性。Adagrasib (MRTX849)是第二种进入临床试

验的KRASG12C抑制剂。但研究发现KRAS G12C突变部分患者对Sotorasib无反应，在NSCLC中显示出良好疗效，但在CRC患者中KRAS G12C抑制剂单药治疗疗效非常有限，仅约10%患者有治疗反应，事情证明它们与其他激酶抑制剂一样面临着同样的局限性，即耐药性机制的出现，然后随着新药的开发，耐药机制其实往往也被阐明。如KRAS突变本身可致原发性耐药，而新出现的KRAS激活突变、KRAS扩增或旁路激活可通过RAS信号通路异常激活介导获得性耐药产生，同时发现共突变基因如肿瘤抑制基因STK11、TP53或CDKN2A/CDKN2B的共突变，也是耐药机制之一。

4 总结与展望

RAS突变是人类恶性肿瘤常见的突变，KRAS的突变情况与肿瘤的预后相关，而且与耐药密切相关。KRAS G12C抑制剂尽管取得了一些重大进展，仍需要更多的方法克服耐药性。其中“一药多靶”的概念提出，虽然泛KRAS抑制剂RMC-6236、SOS1-KRAS抑制剂BI-3406等新型靶向药正在研究中，亦是克服耐药的办法之一。再者研究发现KRAS突变与PD-L1表达增加有关，上调了PD-L1的表达，Sotorasib和Adagrasib在联合抗PD-L1/PD-L1治疗时显示出增强的抗肿瘤疗效，KRAS/Tp53共突变的患者也表现出更高的PD-L1和更高的PD-L1+/CD8A+比值，从PD-1抑制剂中获益显著。免疫疗法有望为这类癌症带来新的希望，同时寻找合适预测标志物并筛选出适合的人群是未来靶向药物治疗的另一重要方向。

参考文献

- [1]Murugan AK, Grieco M, Tsuchida N. RAS mutations in human cancers: Roles in precision medicine. *Semin Cancer Biol.* 2019 Dec;59:23-35. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.06.007. Epub 2019 Jun 27. PMID: 31255772.
- [2]Kwong LN, Costello JC, Liu H, Jiang S, Helms TL, Langsdorf AE, Jakubosky D, Genovese G, Muller FL, Jeong JH, Bender RP, Chu GC, Flaherty KT, Wargo JA, Collins JJ, Chin L. Oncogenic NRAS signaling differentially regulates survival and proliferation in melanoma. *Nat Med.* 2012 Oct;18(10):1503-10. doi: 10.1038/nm.2941. Epub 2012 Sep 16. Erratum in: *Nat Med.*
- [3]Adderley H, Blackhall FH, Lindsay CR. KRAS-mutant non-small cell lung cancer: Converging small molecules and immune checkpoint inhibition. *EBioMedicine.* 2019 Mar;41:711-716. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.02.049. Epub 2019 Mar 7. PMID: 30852159; PMCID: PMC6444074.
- [4]Moore AR, Rosenberg SC, McCormick F, Malek S.

RAS-targeted therapies. *Nat Rev Drug Discov.* 2021 May 14. doi: 10.1038/s41573-021-00220-6. Epub ahead of print. PMID: 33990767.

[5]Waters AM, Der CJ. KRAS: The Critical Driver and Therapeutic Target for Pancreatic Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018 Sep 4;8(9):a031435. doi: 10.1101/cshperspect.a031435. PMID: 29229669; PMCID: PMC5995645.

[6]Hainsworth JD, Cebotaru CL, Kanarev V, Ciuleanu TE, Damyantov D, Stella P, Ganchev H, Pover G, Morris C, Tzekova V. A phase II, open-label, randomized study to assess the efficacy and safety of AZD6244 (ARRY-142886) versus pemetrexed in patients with non-small cell lung cancer who have failed one or two prior chemotherapeutic regimens. *J Thorac Oncol.* 2010 Oct;5(10):1630-6. doi: 10.1097/JTO.0b013e3181e8b3a3. PMID: 20802351.