

El receptor del factor de crecimiento epitelial EGFR como diana terapéutica en cáncer colorrectal

F. García, E. Bandrés, N. Zabalegui, R. Zárate, V. Catalán, B. Honorato, S. Martín Algarra, J. García-Foncillas

Laboratorio de Biotecnología. Departamento de Oncología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra

Correspondencia:

Jesús García-Foncillas
Laboratorio de Biotecnología. Departamento de Oncología
Clínica Universitaria. Universidad de Navarra
Avda. Pío XII, 36
31008 Pamplona
(jgfoncillas@unav.es)

Resumen

La terapia dirigida al receptor del factor de crecimiento epitelial o EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) es una novedosa área de investigación clínica que actualmente cuenta con varias moléculas que han demostrado actividad en pacientes con cáncer.

Diversos estudios experimentales han relacionado el factor de crecimiento epidérmico (EGF) con el desarrollo y progresión de enfermedad en modelos experimentales de cáncer colorrectal (CCR). Estos hallazgos son sugestivos que CCR puede responder a la terapia dirigida frente a EGFR.

La experiencia actual con inhibidores de la tirosina quinasa de EGFR, anticuerpos monoclonales anti EGFR y oligonucleótidos antisentido han demostrado efecto antitumoral y proporciona un fundamento para su evaluación clínica, solos o combinados con drogas citotóxicas. No obstante, son necesarios nuevos estudios y un mayor seguimiento, para confirmar si el actual nivel de entusiasmo se ajustará al impacto terapéutico.

Palabras clave: EGFR. Inhibidores de tirosina quinasa. Cáncer colorrectal.

En los últimos años se ha dado paso a una nueva era en la investigación clínica del cáncer, la era de las dianas terapéuticas. Un área que ha comenzado a mostrar sus primeros resultados prometedores es la de la terapia dirigida al receptor del factor de crecimiento epitelial o EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor). En estos momentos hay varios agentes de este tipo que están en cercanos a recibir aprobación para la regulación de su comercialización. La gran cuestión que se plantea es si el actual nivel de entusiasmo se ajustará al impacto terapéutico.

Muchos estudios han mostrado que la sobre expresión de EGFR se correlaciona con estados avanzados de la enfermedad, reducida supervivencia desarrollo de la metástasis tumor y el grado de indiferenciación del tumor.

La interrupción de la señalización del receptor con anticuerpos dirigidos contra EGFR o con moléculas de bajo peso

Summary

Novel targeted therapies which can block the epidermal growth factor receptor (EGFR) have demonstrated activity in the laboratory and in clinical settings. Different agents have been developed and are being tested in cancer patients

Studies have shown active single-agent efficacy and efficacy in combination with chemotherapy and/or radiation therapy

Some published data have shown that Epidermal Growth Factor (EGF) mediates colorectal cancer growth. These observations suggest anti-EGFR-targeted therapies including anti-EGFR monoclonal antibodies, immunotoxin conjugates, and EGFR tyrosine-kinase inhibitors can play a role in the treatment of colorectal cancer.

New studies aimed at blocking this signaling pathway are needed to elucidate the role of these promising new targeted therapies in the treatment of colorectal cancer.

Key words: EGFR. Tyrosine-kinase inhibitors. Colorectal cancer.

molecular inhibidoras de las EGFR tirosina quinasas dan como resultado la inhibición de la proliferación de las células tumorales o su viabilidad *in vitro* e *in vivo*, como el caso del Trastuzumab (Herceptin) para el cáncer de mama o el STI-571 para el tratamiento de la leucemia mieloide crónica.

EGFR en el cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal (CCR) es uno de los tipos de cáncer más comunes en los países occidentales y ocupa el segundo lugar en frecuencia tras el cáncer de pulmón. En Estados Unidos aproximadamente el 43% de los casos diagnosticados mueren, aproximadamente el 11% de las muertes por cáncer. El CCR es una de las formas de cáncer más fuertemente relacionadas con aspectos del estilo de vida como la dieta, la actividad física o el fumar.

El CCR es también una enfermedad genética y hay una serie de aspectos clínicos que predisponen a la enfermedad. Una pequeña proporción de pacientes, menor del 5%, tienen un componente hereditario, como la adenomatosis polipósica y el cáncer colorrectal no polipósico hereditario (HNPCC) que es responsable del 10-15 % de todos los CCR y ha sido utilizado con frecuencia como modelo para examinar la expresión y respuesta de varios factores de crecimiento y sus receptores, ya que hay estados adenomatosos premalignos discretos involucrados en la instauración de la enfermedad. Usando estos modelos se ha podido relacionar el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y otros ligándolos con el desarrollo y progresión de la enfermedad¹⁻³. Estos descubrimientos indican que CCR puede responder al tratamiento con inhibidores del EGFR. Consecuentemente, CCR se usa como diana de varios agentes nuevos.

Relación entre EGFR y CCR

Hay muchos estudios que apoyan la hipótesis de que la expresión de EGFR en CCR es sustancialmente más alta que en tejido normal. Sin embargo, el nivel de expresión aportado por cada estudio individual variará considerablemente. Por lo general, los estudios que han utilizado métodos de Biología Molecular reportan mayores niveles de expresión que aquellos estudios que han utilizado técnicas inmunohistoquímicas⁴. La mayoría de los estudios inmunohistoquímicos revelan reactividad en 50-80% de los casos (Tabla 1)⁴⁻¹⁰. Sin embargo, otros métodos muestran que casi todos los tumores examinados tienen mayor expresión que el tejido normal¹¹⁻¹⁵.

Recientemente los investigadores han enfocado los esfuerzos en intentar mejorar los métodos de detección y cuantificación de la expresión de EGFR en CCR. Esto es debido a que la expresión de EGFR está considerada como un potencial indi-

cador pronóstico, pero también como consecuencia del reciente interés en terapias dirigidas contra EGFR.

La expresión de la variante mutada de este receptor, EGFRvIII, (Tabla 1) se ha detectado en varios cánceres humanos y suele estar frecuentemente asociada con la potenciación del tumor. Hasta la fecha su expresión no se ha estudiado en CCR. Si se ha estudiado, sin embargo, la expresión de erbB2, erbB3 y erbB4 (Tabla 1), debido a las complejas interrelaciones entre los distintos miembros de la familia de receptores EGFR, que pueden afectar a la expresión y actividad de EGFR¹⁶.

Terapias dirigidas contra EGFR en cáncer colorrectal

Se han realizado gran variedad de aproximaciones con el objeto de inhibir EGFR en cáncer colorrectal incluidos Inhibidores de la tirosina quinasa de EGFR, anticuerpos monoclonales anti EGFR y oligonucleótidos antisentido. Los resultados de experimentos en desarrollo preclínico se encuentran en la Tabla 2 y demuestran un efecto antitumoral de diferentes inhibidores de tirosina quinasas selectivas para EGFR y proporciona un fundamento para su evaluación clínica, solos o combinados con drogas citotóxicas.

Tabla 1. Expresión de la familia de receptores erbB en CRC

	Incremento de la expresión comparada con tejido normal	% de casos
EGFR	Sí	50-80
erbB2	Sí	26-90
erbB3	Sí	55-89
erbB4	NE	NA
EGFRvIII	NE	NA

NA: no aplicable; NE: no examinado

Tabla 2. Relación de datos publicados de estudios preclínicos de agentes dirigidos contra EGFR en CRC

Agente	Descripción
ZD1839 sólo y con quimioterapia ¹⁸	In vitro, ZD1839 en combinación con varias drogas citotóxicas (cisplatino, carboplatino, oxiplatino, paclitaxel, docetaxel, doxorubicina, etoposide, topotecan y raltitrexed) producen un efecto suplementario tanto en la proliferación de GEO, una línea celular de tumor colorrectal como en la muerte celular por apoptosis In vivo, tiene una inhibición dosis dependiente del crecimiento de células GEO; en combinación con agentes citotóxicos detiene el crecimiento del tumor y mejora la supervivencia
A25/AG1478 ¹⁹	In vitro, ambos agentes inhiben la síntesis del DNA e inducen apoptosis en varias líneas celulares de cáncer colorrectal
cetuximab con radiación y/o oligonucleótido de proteína quinasa tipo A ²⁰	In vivo, el tratamiento combinado inhibe el crecimiento de células GEO en ratones. Sin embargo, el tratamiento con cetuximab y oligonucleótido de proteína quinasa tipo A después de la radiación produce la mayor regresión del crecimiento del tumor y produce una mejora significativa de la supervivencia
cetuximab y VEGF antisentido ²¹	In vivo, el tratamiento con ambos agentes combinados produce una inhibición prolongada en células GEO; la supervivencia también mejora
cetuximab y anti VEGF ²²	In vitro, cetuximab y anti VEGF disminuyen la vascularización del tumor, el crecimiento, la proliferación y la formación de anticuerpos de los ascites e incrementan la apoptosis tanto de las células tumorales como endoteliales. Una combinación de ambos agentes lleva a mayor disminución en la angiogénesis y formación de ascites
EGFR antisentido ²³	In vitro, el vector de expresión EGFR antisentido inhibe la proliferación en tres líneas celulares de cáncer de colon humano (moser, HCT116 y HT29)

VEGF: factor de crecimiento del epitelio vascular

Hay un creciente interés en los últimos años en combinar los agentes quimioterápicos convencionales con agentes biológicos que inhiben selectivamente dianas intracelulares claves involucradas en los procesos de transformación neoplásica. Esto es debido a que la expresión y/o actividad de los genes que regulan las señales mitogénicas pueden no sólo causar directamente la alteración del crecimiento celular sino afectar también a la sensibilidad de las células cancerígenas a la quimioterapia y radioterapia. En este ámbito, se ha encontrado niveles de expresión altos de EGFR en células humanas cancerosas que son resistentes a distintas drogas citotóxicas.

Como se puede apreciar en la Tabla 2, hay varios estudios involucrados en células de CCR en los que se muestra que terapias anti EGFR como ZD1839 y cetuximab incrementan la inhibición del crecimiento y la apoptosis celular, y potencian los efectos citotóxicos de la quimioterapia y radioterapia respectivamente en líneas celulares humanas de CCR que expresan EGFR funcional¹⁷⁻²³.

Los primeros datos sobre ensayos clínicos de terapias anti EGFR para el tratamiento de varios tumores sólidos, entre los que se encuentran pacientes con CCR, son muy esperanzadores. Aunque el principal objetivo de estos estudios fue asegurar la tolerancia, se observó actividad antitumoral en pacientes con CCR.

En la actualidad no está claro si CCR con alto grado de expresión de EGFR puede presentar una mejor respuesta a una terapia de inhibición de EGFR. Esta cuestión no ha sido abordada en el diseño de ensayos clínicos, así estudios usando grupos de pacientes seleccionados y sin seleccionar han dado resultados positivos. Sirotnak, *et al.*²⁴ mostró que ZD1839, en combinación con agentes citotóxicos, funcionaba en líneas celulares del tumor con bajos niveles de expresión de EGFR. ZD1839 induce una inhibición del 70-80% entre tumores con bajo, pero muy variable, nivel de expresión de EGFR y un 50-55% de inhibición contra la línea LX-1, que expresa muy bajos niveles de EGFR. Si estos datos se trasladan a clínica entonces no se necesitaría una sobreexpresión, sólo un nivel mínimo de expresión.

Hasta que se defina claramente una relación entre la expresión y la actividad del receptor o que la respuesta del tumor se clasifique por la expresión del receptor, esta cuestión es poco probable que se resuelva. Además, el *screening* previo de pacientes con expresión de EGFR está obstaculizado por los problemas de evaluación continuada del receptor.

Bibliografía

- Radinsky R, Risin, Fan, *et al.* Fidler Level and function of epidermal growth factor receptor predict the metastatic potential of human colon carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 1995 Jan;1(1):19-31.
- Hirsch T, Eggstein S, Frank S, *et al.* Autocrine growth stimulation of SW403 colon carcinoma cell line is caused by transforming-growth-factor-alpha-mediated epidermal growth factor receptor activation. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996;122(6):328-34.
- Herynk MH, Radinsky R. The coordinated functional expression of epidermal growth factor receptor and c-Met in colorectal carcinoma metastasis. *In Vivo* 2000 Sep-Oct;14(5):587-96.
- Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. *Cancer* 2001 Sep 1;92(5):1331-46.
- Koretz K, Schlag P, Moller P. Sporadic loss of leucocyte-function-associated antigen-3 (LFA-3) in colorectal carcinomas. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1991;419(5):389-94.
- Kaklamanis L, Gatter KC, Mortensen N, *et al.* Interleukin-4 receptor and epidermal growth factor receptor expression in colorectal cancer. *Br J Cancer* 1992 Oct;66(4):712-6.
- Karameris A, Kanavaros P, Aninos D, *et al.* Expression of epidermal growth factor (EGF) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in gastric and colorectal carcinomas. An immunohistological study of 63 cases. *Pathol Res Pract* 1993Mar;189(2):133-7.
- Nakae S, Shimada E, Urakawa T. Study of c-erbB-2 protein and epidermal growth factor receptor expression and DNA ploidy pattern in colorectal carcinoma. *J Surg Oncol* 1993 Dec; 54(4):246-51.
- Saeki T, Salomon DS, Johnson GR, *et al.* Association of epidermal growth factor-related peptides and type I receptor tyrosine kinase receptors with prognosis of human colorectal carcinomas. *Jpn J Clin Oncol* 1995 Dec; 25(6): 240-9.
- Porebska I, Harlozinska A, Bojarowski T. Expression of the tyrosine kinase activity growth factor receptors (EGFR, ERB B2, ERB B3) in colorectal adenocarcinomas and adenomas. *Tumour Biol* 2000 Mar-Apr; 21(2):105-15.
- Ito M, Yoshida K, Kyo E, *et al.* Expression of several growth factors and their receptor genes in human colon carcinomas. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 1990;59(3):173-8.
- Moorghen M, Ince P, Finney KJ, *et al.* Epidermal growth factor receptors in colorectal carcinoma. *Anticancer Res* 1990 May-Jun; 10(3):605-11.
- Koenders PG, Peters WH, Wobbes T, *et al.* Epidermal growth factor receptor levels are lower in carcinomatous than in normal colorectal tissue. *Br J Cancer* 1992 Feb;65(2):189-92.
- Borlinghaus P, Wieser S, Lamerz R. Epidermal growth factor, transforming growth factor-alpha, and epidermal growth factor receptor content in normal and carcinomatous gastric and colonic tissue. *Clin Investig* 1993 Nov;71(11):903-7.
- Messa C, Russo F, Notarnicola M, *et al.* Demonstration of epidermal growth factor receptor in colorectal adenocarcinoma by enzyme immunoassay. *Digestion* 1994;55(2):103-7.
- Gullick WJ. The Type 1 growth factor receptors and their ligands considered as a complex system. *Endocr Relat Cancer* 2001 Jun;8(2):75-82.
- Ciardello F, Caputo R, Bianco R, *et al.* Inhibition of growth factor production and angiogenesis in human cancer cells by ZD1839 (Iressa), a selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. *Clin Cancer Res* 2001 May; 7(5):1459-65.
- Ciardello F, Caputo R, Bianco R, *et al.* Antitumor effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa), an epidermal growth factor receptor-selective tyrosine kinase inhibitor. *Clin Cancer Res* 2000 May; 6(5):2053-63.
- Partik G, Hochegger K, Schorkhuber M, *et al.* Inhibition of epidermal-growth-factor-receptor-dependent signalling by tyrphostins A25 and AG1478 blocks growth and induces apoptosis in colorectal tumor cells in vitro. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999 Jul;125(7):379-88.
- Bianco C, Bianco R, Tortora G, *et al.* Antitumor activity of combined treatment of human cancer cells with ionizing radiation and anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody C225 plus type I protein kinase A antisense oligonucleotide. *Clin Cancer Res* 2000 Nov;6(11): 4343-50.
- Ciardello F, Bianco R, Damiano V, *et al.* Antiangiogenic and antitumor activity of anti-epidermal growth factor receptor C225 monoclonal antibody in combination with vascular endothelial growth factor antisense oligonucleotide in human GEO colon cancer cells. *Clin Cancer Res* 2000 Sep;6(9):3739-47.
- Shaheen RM, Ahmad SA, Liu W, *et al.* Inhibited growth of colon cancer carcinomatosis by antibodies to vascular endothelial and epidermal growth factor receptors. *Br J Cancer* 2001 Aug 17;85(4):584-9.
- Wang HM, Rajagopal S, Chakrabarty S. Inhibition of human colon cancer malignant cell behavior and growth by antisense epidermal growth factor receptor expression vector. *Anticancer Res* 1998 Jul-Aug; 18(4A):2297-300.
- Sirotnak FM, Zakowski MF, Miller VA, *et al.* Efficacy of cytotoxic agents against human tumor xenografts is markedly enhanced by coadministration of ZD1839 (Iressa), an inhibitor of EGFR tyrosine kinase. *Clin Cancer Res* 2000 Dec; 6(12):4885-92.