

GE11 肽的抗肿瘤作用研究进展

陈星宇 刘爽 侯雪 李嘉玮 阎雪莹*

黑龙江中医药大学药学院 黑龙江 哈尔滨 150040

【摘要】：GE11 是以高亲和力和选择性特异性结合 EGFR 受体的小分子多肽，其具有相对分子质量小、免疫原性低、易扩散及靶向性高等优势。此外，GE11 缀合的纳米粒子增强药物在肿瘤中的蓄积等优点，使得其在生物医学领域，尤其是肿瘤的治疗等方面得到了较为广泛的应用。本文对 GE11 在癌症治疗中的应用进行总结，这些研究进展揭示了 GE11 肽在癌症治疗领域的巨大潜力。

【关键词】：GE11；抗肿瘤作用；表皮生长因子受体；药物靶向

DOI:10.12417/2705-098X.23.12.016

Research progress on the anti-tumor effect of GE11 peptide

Xingyu Chen, Shuang Liu, Xue Hou, Jiawei Li, Xueying Yan*

School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine Heilongjiang Harbin 150040

Abstract: GE11 is a small molecule peptide that binds to EGFR receptors with high affinity and selective specificity. It has the advantages of low relative molecular weight, low immunogenicity, easy diffusion, and high targeting. In addition, the advantages of GE11 conjugated nanoparticles in enhancing drug accumulation in tumors have made it widely used in the biomedical field, especially in the treatment of tumors. This article summarizes the application of GE11 in cancer treatment, and these research advances reveal the enormous potential of GE11 peptides in the field of cancer treatment.

Keywords: GE11; Antitumor effect; Epidermal growth factor receptor; Drug targeting

随着对医药领域研究的不断深入，越来越多的抗肿瘤药物被应用于肿瘤的治疗与诊断，而抗肿瘤药物靶向肿瘤细胞受体是提高化疗药物疗效的关键。GE11 肽是从噬菌体展示肽库中筛选出的有效的 EGFR 配体之一，它是一种能以高亲和力和选择性特异性结合 EGFR 的十二肽，已经广泛应用于 EGFR 阳性肿瘤的放疗、基因治疗和化疗的诊断和靶向给药。本文就抗肿瘤多肽 GE11 及其应用进行综述。

1 肿瘤 EGFR 的高表达

表皮生长因子受体 (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR) 是多种实体瘤中肿瘤增殖重要的生物标志物之一，属于酪氨酸激酶受体家族，分子量为 170kD，包含 1186 个氨基酸残基胞浆激酶活性且表达在包括肿瘤细胞在内的某些细胞表面的一类细胞蛋白，它能够介导细胞内信号转导，调节细胞增殖和分化^[1]。

EGFR 在大多数上皮性肿瘤中均存在过表达和突变，如肺癌、乳腺癌等。EGFR 结构域结构中大量氨基酸序列缺失、突变和插入与肿瘤转移、侵袭和预后密切相关^[2]。EGFR 受体的激活能够驱动下游信号级联，包括 RAS/RAF/MEK/ERK、PI3 激酶/AKT、PLC-gamma/PKC、STATs 信号通路，也会导致 NF-kappaB、GTPase 通路信号的激活。EGFR 抑制剂的应用会破坏这些通路的信号转导，从而阻止肿瘤的生长^[3]。EGFR 是重要的肿瘤诊治靶点，越来越多的针对 EGFR 的靶向药物被研发出来并被应用于临床，主要包括表皮生长因子受体-酪氨酸激

酶抑制剂 (EGFR-TKI) 类药物，如奥西替尼、吉非替尼等^[4]，单克隆抗体和多肽等多种靶向药物，而多肽类靶向药物因其特有的优势而被研究者们所重视。

2 GE11 的结构和生物活性

GE11 肽的分子量为 1540，是一种氨基酸序列为酪氨酸-组氨酸-色氨酸-酪氨酸-甘氨酸-酪氨酸-苏氨酸-脯氨酸-谷氨酰胺-天冬酰胺-缬氨酸-异亮氨酸 (YHWYGYTPQNVI) 的小分子多肽，小分子多肽是单克隆抗体的合适替代品，可作为活性靶向药物。为实现智能 DDS，可以进行功能化研究。它们具有较低的免疫原性，在实体肿瘤组织中具有有良好的渗透能力。此外，小分子多肽可以很容易地合成并偶联到聚合物上。尽管小分子多肽相对于单克隆抗体的亲和力较低，但在纳米颗粒表面可以实现的高密度肽修饰保证了高靶向结果。小分子多肽活性靶向药物比 EGF 内源性配体更受青睐，因为后者会刺激 EGFR 激活，触发细胞生长和增殖。GE11 肽是由李宗海团队^[5]于 2005 年通过噬菌体肽库技术获得，并发现 GE11 肽对高表达 EGFR 肿瘤细胞具有高度的亲和力。

3 影响 GE11 对 EGFR 体内和体外靶向效率的因素

GE11 肽在肿瘤诊断和治疗中的研究已经较为系统和深入。GE11 与药物、高分子材料或放射性核素的结合均可促进化合物靶向递送至表达 EGFR 的细胞，这一结果已在多个细胞系的体外实验中得到了证实。基于 GE11 的 DDS 通过受体介导的内吞作用有效地将有效载荷传递到靶细胞中，而不会像

hEGF 那样产生有丝分裂效应。此外, GE11 还在荷瘤小鼠模型中进行了性能测试。虽然很少有研究表明 GE11 并不比 EGFR 靶向抗体如西妥昔单抗具有更明显的肿瘤靶向诊断和治疗优势。已有研究表明, GE11 修饰的纳米药物增强了药物在肿瘤中的蓄积, 这与载体表面多肽的修饰密度和连接物的性质有着密不可分的连系。GE11 作为 EGFR 靶向配体仍有很大的优化空间。GE11 靶向行为的连接子的选择和 GE11 修饰纳米颗粒的微观结构特性均会对 EGFR 体内和体外靶向效率的因素。

4 GE11 缀合和 GE11 缀合给药系统

在 Xu 等^[6]团队的实验研究中, 开发了双重治疗载有 GE11 肽的脂质体, 并将其用于增强护理喉癌标准治疗方案的治疗效果。该团队使用联合化疗多西他赛 (DTX) 和针对 ABCG2 基因的 siRNA 的联合治疗策略, 该基因可以调节多种肿瘤类型的多药耐药性。通过与靶向 EGFR 的配体 GE11 结合, 靶向脂质体包裹的 DTX/ABCG2-siRNA 分子识别鳞状形态的肿瘤细胞, 将靶向的药物注入脂质体为纳米级后, 表现出 DTX 的受控释放。该团队将 GE11 肽缀合到脂质体表面上增加了 Hep-2 喉癌细胞吸收的脂质体构建体的数量, 与用游离 DTX 处理相比, GE11 肽缀合的脂质体增强了对 Hep-2 喉癌细胞的细胞毒性作用, 从而降低了 IC50 值。从而说明 GE11 肽缀合的脂质体具有显著增加的抗肿瘤和凋亡作用。与使用非靶向 NP 构建体的治疗相比, 使用 GDSL 纳米颗粒制剂进行的治疗在带有 Hep-2 异种移植的裸鼠模型中抑制了肿瘤的生长, 用缀有 GE11 肽的脂质体治疗小鼠模型可以减轻游离 DTX 治疗后的毒性。总而言之, GE11 缀合的脂质体封装明显改善 Hep-2 细胞系中游离 DTX 的抗肿瘤作用。

Franziska Striese 等^[7]团队依靠肽具有作为运输工具的巨大潜力, 对如何将放射性核素递送至肿瘤进行了研究, 将具有 β -丙氨酸的 GE11 (β -Ala-GE11) 与螯合剂 p-SCN-Bn-NOTA 偶联, 并用 ^{64}Cu 进行放射性标记。 ^{64}Cu 被首次用于了放射线药理学评估, 作为基于正电子发射断层扫描 (PET) 的癌症成像的潜在探针。为了获得更好的水溶性, 该团队在肽的 N 端和放射性核素螯合剂之间引入了基于乙二醇的接头。在体外和体内研究了 ^{64}Cu 标记的肽缀合物的稳定性及其与表达 EGFR 的肿瘤细胞的结合, 然后与 ^{64}Cu 标记的 EGFR 靶向抗体缀合物 NOTA-cetuximab 进行了比较。GE11 肽共轭物 [^{64}Cu] Cu-NOTA-linker- β -Ala-GE11 ([^{64}Cu] Cu-1) 在缓冲液中稳定至少 24 小时, 但在人血清中孵育 24 小时后仅检测到 50% 的原始化合物。稳定性可以通过所述肽的 C 末端酰胺化 (β -ALA-GE11-NH₂ (2))。使用表达 EGFR 的肿瘤细胞系 A431 和 FaDu 对两种缀合物 [^{64}Cu] Cu-1 和 [^{64}Cu] Cu-2 的结合测定未显示特异性结合。对 FaDu 荷瘤小鼠进行的小动物 PET 试点研究表明, 两种结合物的肿瘤摄取率均较低 (标准摄取值 (SUV) <0.2)。对于 [^{64}Cu] Cu-1, 确定的最佳肿瘤与肌肉比

是 3.75, 最佳时间为注射后 1 小时。虽然最后的结果表明 GE11 缀合物不适合进一步的生物研究, 但仍为其他研究者对 GE11 肽的研究提供一定参考。

Francesca Biscaglia 等^[8]团队发现等离子体等离子纳米结构在生物技术应用中显示出重要的性能, 但是必须在目标上加以指导, 以发挥其潜力, 抗体是用于靶向的天然分子。它们可能的不利的免疫原性活性和成本提示寻找其他有效的替代品。小分子多肽可以作为靶向剂的替代来源, 即使它们作为单分子的结合亲和力通常不是很好。GE11 是小的十二肽, 具有与表皮生长因子受体 (EGFR) 的特异性结合且免疫原性低。该团队研究表明, 在水中通过激光烧蚀获得的几千个用赖氨酸修饰并用 GE11 官能化的聚乙二醇 (PEG) 链, 在裸金纳米颗粒的簇上, 与使用特异性抗 EGFR 抗体西妥昔单抗 (C225) 修饰的纳米颗粒所记录的靶向活性相比, 它具有更好的靶向活性。阳离子间隔基在配体的聚合物部分和靶向肽之间的插入允许 GE11 在纳米系统表面上正确呈现。等离子体金纳米颗粒的表面增强共振拉曼散射信号用于定量靶向活性。分子动力学计算表明, 肽在 PEG 海洋上的微妙差异对于靶向活性很重要。阳离子间隔基在配体的聚合物部分和靶向肽之间的插入允许 GE11 在纳米系统表面上正确呈现。等离子体金纳米颗粒的表面增强共振拉曼散射信号用于定量靶向活性。分子动力学计算表明, 肽在 PEG 海洋上的微妙差异对于靶向活性很重要。

Zhou 等^[9]团队设计了安装有 GE11 肽的嵌合聚合物 (GE11-CPs), 用于对携带 SMMC-7721 HCC 的裸鼠进行高效的 EGFR 靶向蛋白治疗。GE11-CP 由聚 (乙二醇)-b-聚 (碳酸三甲甲基酯-co-二硫戊环三甲甲基碳酸酯)-b 组装而成-聚 (天冬氨酸) (PEG-P(TMC-DTC)-PAsp) 和 GE11 功能化的 PEG-P(TMC-DTC), 发现其可有效装载和保护含水内部的蛋白质并微调 GE11 肽在表面的密度。具有短 PAsp 片段 (聚合度 (DP) = 5、10 和 15) 的 CP 表现出 60%-72% 的蛋白质负载效率和谷胱甘肽响应性蛋白质释放。负载皂草素的 GE11-CP 的大小为 36-62 nm, 其具体取决于 GE11 的密度和 PAsp 的 DP。值得注意的是, 含有 10% GE11 的 GE11-CP 显著增强了 SMMC-7721 细胞的摄取, 与非靶向对照相比, 皂草素的抗癌效力提高了 3 倍以上 (半最大抑制浓度 IC50=11.0 对 36.3 nM)。使用 Cy5 标记的细胞色素 C 作为模型蛋白的生物分布研究表明, 在皮下和原位 SMMC-7721 肿瘤模型中, GE11-CPs 制剂的积累比 CPs 对应物高约 3 倍。值得注意的是, 与 PBS 和非靶向组相比, 载有皂草素的 GE11-CP 具有低毒性、有效的肿瘤抑制和显著提高的生存率 (中位生存时间: 99 天对 37 天和

42天), 最终发现携带 GE11 肽的 EGFR 靶向嵌合聚合体是一种有效的 HCC 治疗方式。

Huang 等^[10]团队开发设计了靶向癌细胞, 近红外 (NIR) 触发和负载抗癌药物的脂质体系统 (LPs), 用于协同癌症治疗。将光敏剂卟吩菁绿 (ICG) 和化学治疗药物姜黄素 (CUR) 共封装到脂质体中, 然后将 GE11 肽表面缀合至靶向癌细胞表面的表皮生长因子受体 (EGFR)。在近红外灯的严格控制下, GE11 肽修饰的 CUR /ICG-LPs (GE11-CUR/ICG-LPs) 可以在 EGFR 过表达的 A549 癌细胞中引入热疗, 以进行光热疗法, 从而触发 CUR 释放增加, 增强了对癌细胞抑制作用。GE11-CUR /ICG-LPs 协同光化学疗法通过调节 Bax/Bcl-2 和 PI3K/AKT 途径诱导活性氧 (ROS) 生成和细胞骨架破坏, 从而比单独的光热疗法或化学疗法激活更强的凋亡信号事件, 设计出具有 NIR 敏感性的 EGFR 靶向药物递送纳米系统并具有减少脱靶效应的更有效的抗癌疗法。

Zheng^[11]团队设计了一种能够增强白藜芦醇 (RSV) 在头颈部癌细胞中的治疗作用的与聚乙二醇结合的十二肽 YHWYGYTPQNVI (GE11) 缀合脂质体, 其结果表明, 载有白藜芦醇的 GE11 缀合脂质体 (RSV-GL) 的包封率 > 95%, 活性药物载量为 19.5%。释放动力学表明, RSV 以缓慢持续的方式从 RSV- GL 和负载 RSV 的脂质体 (RSV- L) 纳米颗粒系统中释放。表皮生长因子受体 (EGFR) 过度表达的鳞状细胞癌 HN 细胞能够以与非靶向载体相比明显增加的方式特异性内化了 GE11 表面缀合的脂质体。同样, 结果表明, 与非靶向纳米颗粒相比, RSV- GL 的细胞毒性作用显著增强。值得注意的是, RSV- GL 诱导头颈部癌细胞群中早期和晚期凋亡细胞

的比例显著增加。据我们所知, EGFR-靶向肽缀合脂质体系统在 RSV 递送中的应用和开发以前尚未在头颈癌的治疗中进行过研究。总体而言, 该研究中描述的纳米药物策略可能会促进基于化学疗法的头颈癌的治疗。

Pi 等^[12]团队合成了靶向 EGFR 过表达的癌细胞的 GE11 肽缀合的 Se NPs (GE11-Se NPs)。硒纳米颗粒 (Se NPs) 由于其抗癌, 免疫调节和药物载体功能, 近几十年来引起了越来越多的关注。该团队发现载有冬凌草甲素和 GE11 肽缀合的 Se NPs (GE11-Ori-Se NPs) 在癌细胞中显示出增强的细胞摄取, 对癌细胞的抑制作用和对正常细胞的毒性降低, 在酸性条件下积累到癌细胞的溶酶体中并增加了冬凌草甲素的释放后, 溶酶体膜完整性受损后, GE11-Ori-Se NPs 进一步转运到细胞质中。GE11-Ori-Se NPs 通过诱导活性氧 (ROS) 产生, 激活线粒体依赖性途径, 抑制 EGFR 介导的 PI3K/AKT 和抑制 Ras/Raf/MEK/ERK 途径来诱导癌细胞凋亡, 还发现 GE11-Se NPs 对食道癌小鼠具有针对肿瘤组织的主动靶向作用。其在裸鼠异种移植模型中, GE11-Ori-Se NPs 通过减少血管新生标记 CD31 抑制肿瘤血管生成而显著抑制肿瘤生长, 并通过增强 IL-2 和 TNF- α 产生来激活免疫系统。

5 小结

小分子多肽 GE11 作为靶向药物的递送系统, 因其较低的免疫原性和实体肿瘤组织中良好的渗透能力而被许多团队研究, 并广泛应用, 造福更多的 EGFR 高表达肿瘤患者, 但由于其存在的缺点限制了临床应用, 相信随着研究的不断深入, 为临床的癌症治疗提供更多的可能性。

参考文献:

- [1] 李红侠, 钱玉梅, 徐礼生. Design, Synthesis and Anticancer Activity Evaluation of Novel Quinazoline Derivatives as EGFR Inhibitors[J]. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2021, 40(07): 933-941. doi: 10.14102/j.cnki.0254-5861.2011-3082.
- [2] 丁晓鹏, 帖君, 余嘉豪等. TACE 联合抗血管生成药及 PD-1 抑制剂治疗中晚期肝癌的有效性和安全性[J]. 肝脏, 2022, 27(03): 277-280+291.
- [3] de Miranda MC, Rodrigues MA, de Angelis Campos AC, Faria JAQA, Kunrath-Lima M, Mignery GA, Schechtman D, Goes AM, Nathanson MH, Gomes DA. Epidermal growth factor (EGF) triggers nuclear calcium signaling through the intranuclear phospholipase C δ -4 (PLC δ 4). J Biol Chem. 2019 Nov 8; 294(45): 16650-16662. doi: 10.1074/jbc.RA118.006961. Epub 2019 Sep 19. PMID: 31537645; PMCID: PMC6851314.
- [4] Goss G, Tsai CM, Shepherd FA, Bazhenova L, Lee JS, Chang GC, Crino L, Satouchi M, Chu Q, Hida T, Han JY, Juan O, Dunphy F, Nishio M, Kang JH, Majem M, Mann H, Cantarini M, Giorghiu S, Mitsudomi T. Osimertinib for pretreated EGFR Thr790Met-positive advanced non-small-cell lung cancer (AURA2): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 study. Lancet Oncol. 2016 Dec; 17(12): 1643-1652. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30508-3. Epub 2016 Oct 14. PMID: 27751847.
- [5] Wu X, Li Z, Yao M, Wang H, Qu S, Chen X, Li J, Sun Y, Xu Y, Gu J. Identification and characterization of a novel peptide ligand of Tie2 for targeting gene therapy. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai). 2008 Mar; 40(3): 217-25. doi: 10.1111/j.1745-7270.2008.00389.x. PMID: 18330476.