

乳腺癌HER-2胞外配体结合区靶点治疗的研究进展*

钟锦绣^① 李亚梅^② 综述 关晏星^② 审校

摘要 针对乳腺癌HER-2受体胞外结合区的靶点治疗成为当今研究的热点。小分子多肽、HER-2胞外结合区的单抗药物及其与蛋白毒素、放射性核素,化疗药物的偶联物即免疫偶联物既能增强药物的有效性,又可减少对正常组织的毒害。HER-2胞外区肽疫苗可有效预防HER-2高表达乳腺癌的生长。本文将对乳腺癌HER-2胞外区靶向阻断治疗的研究进行综述,为相应的临床应用提供参考。

关键词 HER-2 乳腺癌 胞外配体结合区 单克隆抗体 抗体偶联物

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20130329

Research progress on target therapeutic agents of HER-2 extracellular ligand-binding domain in breast cancer

Jinxiu ZHONG¹, Yamei LI², Yanxing GUAN¹

Correspondence to: Yanxing GUAN; E-mail: yanxingguan2000@aliyun.com

¹Department of Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, 330006, China.

²Department of B-ultrasound, Maternal and Child Health Hospital of Xi'an City, Xi'an 710002, China.

This work was supported by the Natural Science Funds of Jiangxi Province of China (No. 2007GZY1419).

Abstract The target therapeutic agents of HER-2 extracellular ligand-binding domain have become the core of breast cancer research. A small peptide molecule and an anti-HER2 extracellular domain monoclonal antibody conjugated with protein toxins, radioisotopes, and chemotherapeutic drugs (immunoconjugate) can improve efficacy and reduce systemic toxicity. Vaccines based on HER-2 extracellular region should protect patients from HER-2-overexpressing breast cancer growth. In this review, studies on targeted-block therapies of the HER-2 extracellular ligand-binding domain in breast cancer were discussed to provide references for clinical applications.

Keywords: HER-2, breast cancer, extracellular-targeted agents, monoclonal antibody, antibody conjugate

原癌基因HER-2是乳腺癌最重要的致病基因,针对HER-2受体转导系统上各个不同环节的靶向药物研究是当今热点,近年来许多针对HER-2受体胞外结合区的单克隆抗体(简称单抗)及其偶联物、小分子多肽和肽疫苗已被开发并用于临床或临床研究,本文将对此进行综述。

1 HER-2受体结构及与乳腺癌关系

原癌基因HER-2是人类表皮生长因子受体家族重要成员之一,由胞外区、亲脂性跨膜区和胞内酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase, PTK)活性区三部分组成。胞外区含4个亚结构域(I~IV),其中I、III亚结构域为配体结合位点,II、IV亚结构域富含半胱氨酸,是形成同源或异源二聚体,或与单抗结合的部

位。正常人体中HER-2蛋白只在胎儿期表达,成年后可在极少数正常组织的上皮细胞低水平表达。研究表明约30%乳腺癌HER-2过表达,过表达常与乳腺癌发生、发展密切相关,预示患者预后不良,对化疗、内分泌治疗抵抗等^[1]。

HER-2蛋白与家族其他受体不同,至今未证实体内存在特异性配体,缺乏固有的自动抑制结构,一直处于不稳定状态,当过度表达时,可发生自发二聚体化,形成同源二聚体,也可与家族其他受体结合形成异源二聚体并同样参与信号传导,导致细胞无限增殖。有研究表明异源二聚体与配体的亲和力及对细胞生长的刺激活性均高于同源二聚体,并且激活后的HER-2癌基因仅表现为数量上10、100倍的扩

作者单位:①南昌大学第一附属医院核医学科(南昌市330006);②西安市妇幼保健院B超室

*本文课题受江西省自然科学基金项目(编号:2007GZY1419)资助

通信作者:关晏星 yanxingguan2000@aliyun.com

增,未见抗原(基因)调变现象^[1],提示阻断HER-2受体的作用将有效抑制过表达HER-2受体乳腺癌细胞的失控分裂和浸润性生长。

2 HER-2胞外结合区与乳腺癌靶向治疗研究

HER-2位于细胞表面,易被单抗或小分子多肽接近,可直接封闭其胞外结合域,将阻断信号传导^[2],抑制肿瘤生长。目前,针对乳腺癌HER-2受体细胞外区的单抗类药物主要有非结合型单抗和结合型单抗之分。

2.1 非结合型单抗

2.1.1 曲妥珠单抗(Trastuzumab、Herceptin) 曲妥珠单抗是一人工合成的人源化人鼠嵌合型单抗,通过基因工程的方法将非特异性的人IgG(占95%)的恒定区与鼠的抗HER-2 IgG(占5%)的Fv区嵌合在一起而产生,既保留了单抗对HER-2受体的高度亲和力,又可减少体内人抗鼠抗体的产生,其作用点在胞外IV亚区,是全球第一种被美国食品药品监督管理局(FDA)获准应用于临床治疗转移性乳腺癌和术后早期乳腺癌的靶向药物。随着用药时间的延长,目前克服其耐药问题正引起科学家的重视。

2.1.2 帕妥珠单抗(Pertuzumab) 帕妥珠单抗是一重组的人源化单抗,与曲妥珠单抗不同,与胞外II亚区结合,可抑制HER-2分子形成二聚体,对HER-2低表达的乳腺癌患者也有效。临床研究表明单一曲妥珠单抗治疗无效,病情恶化的乳腺癌,加用后可使50%的患者获益;标准性的化疗研究中发现,其可延长乳腺癌转移患者的生存期达半年^[3-4]。2012年6月,FDA批准用于HER-2阳性的晚期(转移性)乳腺癌治疗。Baselga等^[5]对808例HER-2阳性转移乳腺癌患者进行了一项III期临床试验,结果显示三者联合作为一线治疗,比仅使用曲妥珠单抗和多烯紫杉醇,患者的无进展生存期显著增长,反应率显著增加并且无心脏不良反应。

2.2 结合型单抗或称免疫偶联物

由于大多数实体肿瘤都是多靶点、多环节的调控过程,因此,靶向药物与其他治疗手段之间的联合是分子靶向治疗的发展方向之一。结合型单抗或称免疫偶联物,即将特异性单抗结合或偶联上另一种具有杀伤肿瘤细胞活性的物质如化疗药物、放射性核素、生物毒素、免疫毒素等制备成相应的靶向药物,使靶向治疗效果更强,正常组织基本不损伤。

2.2.1 抗体与蛋白毒素偶联物(antibody-protein toxin conjugates, immunotoxins) 可用于制备免疫偶联物的蛋白毒素有植物毒素如蓖麻毒素,细菌毒素如单孢菌外毒素、白喉外毒素及天花粉毒蛋白等。第

一代免疫毒素,通过化学偶联制备,但临床研究却收效甚微,经改进的第二代免疫毒素即重组免疫毒素,通过基因重组技术融合载体和毒素基因,经表达及纯化制备而得。根据不同的毒素蛋白进行基因重组和修饰有可能减弱其不良反应,通过点突变可提高毒素对肿瘤的杀伤作用。目前抗体与蛋白毒素偶联物研究处于体外活性实验以及临床前研究阶段,其进入临床最大难题在于易于引起免疫原反应。

2.2.2 单抗与放射性核素偶联物(antibody-radionuclide conjugates) 该类偶联物优点:1)不仅提高了对肿瘤原发病灶的杀伤作用,而且可根除HER-2过表达的隐蔽转移病灶。2)依靠核射线的穿透性,还可杀伤因肿瘤表达HER-2异质使抗体不易直接接触的结合位点,使杀伤作用更强,数目更多。目前用于偶联的放射性核素分为 β 和 α 两类。

β 核素常用的有¹³¹I、¹⁸⁸Re和⁹⁰Y,易于偶联,半衰期较长,射程适中,可不必内化到肿瘤细胞核内,在胞外结合区即能发挥辐射杀伤作用。但⁹⁰Y较易在骨中浓聚,可能引起骨髓抑制。¹⁸⁸Re无骨中沉积的不良反应,但价格较贵;¹³¹I价格便宜,来源方便,凡含有酪氨酸残基的蛋白质或多肽均可被标记上,且同时发射 γ 射线,还可进行肿瘤显像,便于预测和监测疗效,但治疗期间患者需住院隔离。¹³¹I标记可有脱卤素作用,应注意偶联物在体内的稳定性。

α 核素主要有²²⁵Ac、²²⁷Th,共同特点是电离密度高,辐射生物效应强。偶联 α 核素的辐射吸收剂量是 β 核素的1000倍。但 α 射线射程短,即组织穿透力弱,主要杀伤约50 μ m半径范围内的组织,因此只对体积小的病灶效果好。²²⁵Ac和²²⁷Th因为半衰期较长(分别为10d和18.2d)会有更好的应用前景。目前由于 α 核素来源不便,具有复杂的子核素等问题^[6],常用的偶联放射性核素仍是 β 核素。

国内多项研究报道^[1,6-7],采用Iodogen法对曲妥珠单抗进行¹³¹I标记,其比活度及放化纯度均能达到放射免疫治疗的要求,可与HER-2高表达乳腺癌细胞特异结合,显著抑制其生长,而对HER-2阴性乳腺癌细胞株无显著杀伤作用。¹³¹I-曲妥珠单抗显像研究也见其在HER-2过表达的乳腺癌组织具有很高的靶向性^[8]。李贵平等^[9]对曲妥珠单抗进行¹⁸⁸Re标记,体外研究显示可显著抑制HER-2过表达乳腺癌SK-BR-3细胞生长。采用Fe₃O₄铁粉制备具有HER-2靶向性的磁性纳米球,发现对HER-2过表达的乳腺癌细胞株同样具有靶向结合性及更显著抑制肿瘤增殖的作用,分析原因,除与抗体的免疫结合及放射性核素的辐射作用有关外,磁性纳米微粒的磁靶向也起

了一定的作用^[10-11]。

2.2.3 抗体化疗药物偶联物 (antibody-drug conjugates) 化疗药物分子量小,稳定性好,易于合成,适合偶联,药效显著,无免疫源性,因此抗体化疗药物偶联物具有更好的临床应用前景。T-DM1 (trastuzumab-emtansine) 由曲妥珠单抗与美登木素的衍生物 emtansine 偶联而成,目前已进入 HER-2 阳性乳腺癌治疗第三期临床试验阶段,是唯一已进入临床后期实体肿瘤治疗研究的偶联物^[12]。其特点:1) 曲妥珠单抗可直接输送强有力的细胞毒性剂 DM1 到 HER-2 过表达的肿瘤细胞胞质中,破坏其微小管结构,改变其细胞动力学,并诱导细胞凋亡至细胞周期 G₂/M 阻滞期^[13-16]。与目前临床使用的化疗药物相比,体外作用有效 25 至 4 000 倍,比紫杉醇有效 25 到 500 倍,比阿霉素有效 100 至 4 000 倍^[17-18]。2) 与曲妥珠单抗不同,T-DM1 的临床有效剂量每 3 周为 3.6 mg/kg,半衰期 4d,曲妥珠单抗的临床有效剂量为 6 mg/kg,半衰期 3~4 周,两者具有不同的快速清除能力^[19-21]。T-DM1,特别是 DM1 (emtansine) 组能有效地抑制由 PI3K 信号传导的动物模型的肿瘤生长。3) 临床前研究表明 T-DM1 比曲妥珠单抗与拉帕替尼合用的作用更强^[14-18],此结果与临床应用一致^[22-23]。T-DM1 代表了结合型靶向化疗药物的探索方向,可成为一种新的对难治性 HER-2 阳性乳腺癌有效而毒性最小的抗癌药物^[11]。

2.2.4 靶向纳米颗粒 纳米粒子可作为载体,通过肿瘤血管和肿瘤间质使抗肿瘤药物(包括单抗)高浓度的靶向浓聚到肿瘤细胞。曲妥单抗或其衍生物(如抗体片段及其单链抗体等)与纳米粒子连接,可形成一种新型抗 HER-2 的纳米药物。有研究用紫杉醇白蛋白纳米悬浮液 (ABI-007) 偶联曲妥单抗来提高对乳腺癌组织的靶向作用,在临床 II 期试验中已取得较好疗效^[24]。

2.3 小分子多肽

单抗类药物由于分子量大,难以通过毛细血管内皮层和细胞外间隙达到实体瘤深部,使靶向治疗效果受到一定限制。近年来有学者利用基因工程技术筛选可与 HER-2 受体特异结合的多肽序列,通过其模仿 HER-2 单抗与 HER-2 结合(称 HER-2 配体模拟肽),阻断配体介导的受体活化所导致的乳腺癌细胞恶性转化和增殖作用。与单抗相比小分子多肽的优点是:1) 较易化学合成;2) 能承受修饰或放射性标记过程中较苛刻的化学条件;3) 体内引起免疫反应的可能性较小;4) 血浆清除快,但却能高浓集在靶器官中;5) 较易穿透入肿瘤细胞;6) 可通过化学方法调

控优化多肽与特定结合位点的亲合力,以获得更高的特异性分布,大多数情况下,具有较好的药物动力学性质。Berezov 等^[25]根据受体胞外区的 4 个亚区设计出 6 种与 HER 二聚体作用界面有关的多肽片断,并在体外实验中证实这些模拟肽均能与 HER 受体二聚体结合,抑制 HER-2 过表达的乳腺癌细胞的增殖。其中模拟肽 B2-S22-AFA 与其他 3 种受体 (HER-1、HER-2、HER-3) 亲和力最高,尤其与 HER-2 的结合率居首。进一步研究证明,该模拟肽与 HER-2 特异结合后,可阻止二聚体的形成,明显抑制过度表达 HER 受体尤其是过度表达 HER-2 的乳腺癌细胞的生长。

2.4 肽疫苗

将 HER-2 胞外区蛋白作为肿瘤蛋白疫苗,通过诱导人体对 HER-2 蛋白的主动免疫反应,引起机体对 HER-2 高表达的乳腺癌细胞的免疫杀伤作用是 HER-2 靶向治疗的另一有效途径。E75 又称为 P369,是最广泛研究的 HER-2 源性肽,由 9 个氨基酸组成,来自 HER-2 蛋白质的胞外结构域。迄今已进行到随机多中心 III 期临床试验^[26]。Peoples 等^[27]的临床对比研究纳入了 186 例患者,发现在 E75 特异性免疫反应中,E75 混合 GM-CSF 安全并更有效。但这种疫苗尚待建立一个长期的免疫警戒能力,使用多表位疫苗或与另一个抗 HER-2 免疫治疗如曲妥珠单抗结合,可能解决这一问题^[28]。H98 为北京大学肿瘤与癌症研究所分离出的可特异识别曲妥单抗的 HER-2 抗原表位模拟肽 H98,并已在大肠杆菌 BL21 中成功表达出融合蛋白 GST-H98。GST-H98 不仅可阻断单抗与 HER-2 蛋白的结合,而且免疫小鼠后可产生针对 H98 和 HER-2 的特异性抗体,诱导 T 细胞增生,因此有望成为治疗 HER-2 过度表达肿瘤的肽疫苗^[29]。为开发有效接种的抗肿瘤疫苗,首先要解决的是来源问题,克隆或重组 HER-2/neu 胞外区是解决问题的重要途径。其次能否产生最有效免疫应答的最好的疫苗佐剂也是目前面临的挑战。

参考文献

- 1 林菁,罗荣城,李爱民,等.¹²⁵I-Herceptin 对乳腺癌细胞株的体外杀伤效应[J].第一军医大学学报,2005,25(6):663-666.
- 2 Leahy DJ. A molecular view of Anti-ErbB monoclonal antibody therapy[J]. Cancer Cell, 2008, 13(4):291-293.
- 3 Baselga J, Gelmon KA, Verma S, et al. Phase II trial of pertuzumab and trastuzumab in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer that had progressed during prior trastuzumab therapy[J]. Clin Oncol, 2010, 28(7): 1138-1144.
- 4 Cortés J, Fumoleau P, Bianchi G, et al. Pertuzumab monotherapy af-

- ter trastuzumab-based treatment and subsequent reintroduction of trastuzumab: activity and tolerability in patients with advanced human epidermal growth factor 2-positive breast cancer[J]. *Clin Oncol*, 2012, 30(14):1594-1600.
- 5 Baselga J, Cortés J, Kim SB, et al. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer[J]. *N Engl J of Med*, 2012, 366(2):109-119.
 - 6 范义湘, 罗荣城, 方永鑫, 等.¹³¹I-赫赛汀的制备、质控及在新西兰兔的生物分布[J]. *南方医科大学学报*, 2006, 26(3):361-366.
 - 7 杨志学, 蒋国勤, 邢春根, 等.¹³¹I-herceptin 对乳腺癌细胞株的放射免疫治疗[J]. *江苏医药*, 2011, 37(11):1273-1275.
 - 8 张迎, 袁胜利. 曲妥珠单抗在乳癌放射免疫治疗的研究进展[J]. *齐鲁医学杂志*, 2011, 26(4):372-376.
 - 9 李贵平, 汪勇先, 张一帆, 等.¹⁸⁸Re-Herceptin 免疫导向治疗乳腺癌的实验研究[J]. *南方医科大学学报*, 2006, 26(10):1455-1457.
 - 10 Wuang SC, Neoh KG, Kang ET, et al. HER-2-mediated endocytosis of magnetic nanospheres and the implications in cell targeting and particle magnetization[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(14):2270-2279.
 - 11 李贵平, 汪勇先, 张一帆, 等.¹⁸⁸Re-Herceptin-磁性纳米微粒的体外抗肿瘤作用[J]. *中华核医学杂志*, 2007, 27(1):16-18.
 - 12 LoRusso PM, Weiss D, Guardino E, et al. Trastuzumab Emtansine: A Unique antibody-Drug Conjugate in Development for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(20):6437-6447.
 - 13 Lewis Phillips GD, Li G, Dugger DL, et al. Targeting HER2-positive breast cancer with trastuzumab-DM1, an antibody-cytotoxic drug conjugate[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(22):9280-9290.
 - 14 Lopus M, Oroudjev E, Wilson L, et al. Maytansine and cellular metabolites of antibody-maytansinoid conjugates strongly suppress microtubule dynamics by binding to microtubules[J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(10):2689-2899.
 - 15 Oroudjev E, Lopus M, Wilson L, et al. Maytansinoid-antibody conjugates induce mitotic arrest by suppressing microtubule dynamic instability[J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(10):2700-2713.
 - 16 Barok M, Tanner M, Könink K, et al. Trastuzumab-DM1 causes tumour growth inhibition by mitotic catastrophe in trastuzumab-resistant breast cancer cells in vivo[J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(2):R46.
 - 17 Junttila TT, Li G, Parsons K, et al. Trastuzumab-DM1 (T-DM1) retains all the mechanisms of action of trastuzumab and efficiently inhibits growth of lapatinib insensitive breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 128(2):347-356.
 - 18 Kovtun YV, Audette CA, Mayo MF, et al. Antibody-maytansinoid conjugates designed to bypass multi-drug resistance[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(6):2528-2537.
 - 19 Girish S, Gupta M, Wang B, et al. Clinical pharmacology of trastuzumab emtansine (T-DM 1): a unique antibody-drug conjugate in development for the treatment of HER2-positive cancer[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012, 69(5):1229-1240.
 - 20 Gupta M, LoRusso PM, Wang B, et al. Clinical implications of pathophysiological and demographic covariates on the population pharmacokinetics of trastuzumab-DM 1, a HER2-targeted antibody-drug conjugate, in patients with HER2-positive metastatic breast cancer[J]. *J Clin Pharmacol*, 2012, 52(5):691-703.
 - 21 Krop IE, Beeram M, Modi S, et al. Phase I study of trastuzumab-DM1, an HER2 antibody-drug conjugate, given every 3 weeks to patients with HER2-positive metastatic breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(16):2698-2704.
 - 22 Burris HA 3rd, Rugo HS, Vukelja SJ, et al. Phase II study of the antibody drug conjugate trastuzumab-DM1 for the treatment of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive breast cancer after prior HER2-directed therapy[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(4):398-405.
 - 23 Pero SC, Shukla GS, Armstrong AL, et al. Identification of a small peptide that inhibits the phosphorylation of ErbB2 and proliferation of ErbB2 overexpressing breast cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2004, 111(6):951-960.
 - 24 Seidman A, Conlin A, Bach A, et al. Phase II study of weekly nanoparticle albumin bound (nab) paclitaxel with carboplatin and trastuzumab as 1st-line therapy for HER2-positive metastatic breast cancer (MBC)[J]. *Clin Breast Cancer*, 2010, 10(4):281-287.
 - 25 Berezov A, Chen J, Liu Q, et al. Disabling receptor ensembles with rationally designed interface peptidomimetics[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(31):28330-28339.
 - 26 Mittendorf EA, Holmes JP, Ponniah S, et al. The E75 HER2/neu peptide vaccine[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(10):1511-1521.
 - 27 Peoples GE, Holmes JP, Hueman MT, et al. Combined clinical trial results of a HER2/neu (E75) vaccine for the prevention of recurrence in high-risk breast cancer patients: U.S. Military Cancer Institute Clinical Trials Group Study I-01 and I-02[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(3):797-803.
 - 28 Ladjemi MZ, Jacot W, Chardés T, et al. Anti-HER2 vaccines: new prospects for breast cancer therapy[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2010, 59(9):1295-1312.
 - 29 Jiang B, Liu W, Qu H, et al. A novel peptide isolated from a phage display peptide library with trastuzumab can mimic antigen epitope of HER-2[J]. *Bio Chemistry*, 2005, 280(6):4656-4662.

(2013-02-28 收稿)
 (2013-06-14 修回)
 (本文编辑:周晓颖)