

## · 综述与讲座 ·

## 曲妥珠单抗原发耐药及继发性耐药的分子机制\*

100071 北京 解放军 307 医院乳腺肿瘤科 谢奕彪<sup>1</sup> 综述, 边莉, 江泽飞<sup>2</sup> 审校

【摘要】曲妥珠单抗是目前治疗 HER-2 阳性乳腺癌的主要靶向药物, 在乳腺癌的各阶段与化疗联合能够明显增加疗效, 降低复发转移风险, 延长患者生存期。但并非所有患者都获益, 原因是存在初始治疗无效的原发性耐药和治疗过程中产生的继发性耐药。对曲妥珠单抗耐药机制的研究发现, HER-2 分子空间结构及下游信号通路的改变均可能导致曲妥珠单抗的耐药。本文综述曲妥珠单抗可能的耐药机制, 为下一步筛选出能够预测曲妥珠单抗疗效的生物学指标提供基础。

【关键词】HER-2; 曲妥珠单抗; 耐药; 乳腺癌

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1009-0460(2012)03-0263-04

## Molecular mechanisms of drug resistance of trastuzumab

XIE Yi-biao, BIAN Li, JIANG Ze-fei. Department of Breast Oncology, 307 Hospital of PLA, Beijing 100071, China

Corresponding author: JIANG Ze-fei, E-mail: jiangzefei@medmail.com.cn

【Abstract】Trastuzumab currently is main target drug being used to treat positive HER-2 mastocarcinoma, which could significantly increase efficacy combining with chemotherapy during each stage of the development of mastocarcinoma and reduce recurrence risk and prolong with the survival period of the patient. But not all the patients could obtain benefit from it because of the existing primary drug resistance of initial treatment ineffectiveness and secondary drug resistance occurred during the treatment. It was founded in the study on the drug resistance mechanism of trastuzumab that the change of the space structure of HER-2 molecular and the change in the downstream signal channel all could cause the drug resistance of trastuzumab. In this paper, the possible drug resistance mechanisms of trastuzumab were reviewed, and established basis for further screening out the biology index which could predict the therapeutic effect of trastuzumab.

【Key Words】HER-2; Trastuzumab; Resistance; Breast cancer

乳腺癌是目前危害女性健康最常见肿瘤, 常规治疗手段包括手术、化疗、放疗及内分泌治疗。近年来随着分子肿瘤学的进步, 分子靶向药物在乳腺癌的治疗上取得了明显的疗效, 分子靶向药物以肿瘤细胞高表达而正常细胞不表达或者低表达的分子作为靶点, 从而起到杀伤肿瘤细胞的目的。分子靶向药物具有副作用小、耐受性好的特点, 因此与化疗、内分泌治疗一样是有效的肿瘤全身治疗手段。

## 1 曲妥珠单抗在乳腺癌治疗中的地位

在乳腺癌患者中, 约 20% ~ 30% 呈现人表皮生长因子受体 2 (HER-2) 的高表达, 而这种高表达的受体为分子靶向治疗提供了良好的靶点, 针对 HER-2 的单克隆抗体曲妥珠单

抗则是针对这一靶点的分子靶向药物。

HER-2 是内皮生长因子受体家族成员之一, 具有内在酪氨酸激酶活性。HER 家族包括 4 个成员, 即 HER-1、HER-2、HER-3 和 HER-4, 其中 HER-2 在整个家族受体的活化中起核心作用, 其高表达与放化疗及内分泌治疗抵抗高度相关<sup>[1]</sup>。近年来的研究表明, HER-2 阳性的乳腺癌具有浸润性强、无病生存期短及预后差的特点, 因此, 以 HER-2 为靶点的药物成为靶向治疗药物的首选。

曲妥珠单抗 (Trastuzumab, 商品名: Herceptin) 是目前用于治疗 HER-2 阳性转移性乳腺癌的主要靶向药物。曲妥珠单抗进入体内后与 HER-2 发生特异性结合, 通过以下机制发挥抗肿瘤作用: (1) 抑制 HER-2 二聚体化: 曲妥珠单抗与

\* 基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 重大专项分课题资助项目 (2006AA02A246)

1 100853 解放军军医进修学院

2 通讯作者, E-mail: jiangzefei@medmail.com.cn

HER-2 受体胞外段特异结合,阻止其形成同源二聚体,并抑制 HER-2 受体与其它 HER 家族受体形成异源二聚体,从而阻断下游信号通路的激活。(2)诱导宿主免疫应答:曲妥珠单抗的 Fc 段可结合自然杀伤细胞(NK 细胞)膜上的 Fc- $\gamma$  受体,从而激活抗体介导的细胞毒作用(ADCC),协助机体免疫系统杀伤 HER-2 阳性肿瘤细胞<sup>[2]</sup>。(3)抑制 PI3K-AKT 信号通路:阻止 PI3K-AKT 活化,并上调细胞膜上 PTEN 蛋白表达。Nagata 等<sup>[3]</sup>研究发现曲妥珠单抗具有加强抑癌基因 PTEN 定位到细胞膜上的作用并增强其磷酸酶活性,抑制 PI3K 信号通路的传导。(4)抑制血管生成:抑制肿瘤血管表皮生长因子(VEGF)生成,诱导凝血酶敏感蛋白-1(TSP-1)表达,下调微血管密度<sup>[4]</sup>。(5)下调 HER-2 表达:诱导细胞膜表面 HER-2 的内吞及其在溶酶体中的降解。(6)阻滞细胞于 G<sub>1</sub> 期:减少细胞周期蛋白 D1 的表达,促使 p27<sup>kip1</sup> 蛋白与 cyclin D1 分离,而与 cyclin E/cdk2 复合体结合,从而使细胞停留于 G<sub>1</sub> 期<sup>[5]</sup>。

曲妥珠单抗作为第一个抗 HER-2 靶向治疗药物,10 余年来的临床应用证实了其独特的功效,对于辅助治疗阶段的 HER-2 阳性乳腺癌患者,术后应用曲妥珠单抗能够明显降低复发风险,延长无病生存期;对于 HER-2 阳性转移性乳腺癌患者应用曲妥珠单抗能够提高缓解率,延长患者的疾病进展时间及总生存时间。国内外乳腺癌临床实践指南和专家共识明确推荐 HER-2 阳性乳腺癌患者不同阶段均可以使用曲妥珠单抗进行抗 HER-2 治疗<sup>[6-8]</sup>。

然而,单药曲妥珠单抗靶向治疗的有效率低(12%~34%),联合化疗将能够提高有效率。但部分患者在使用曲妥珠单抗治疗过程中出现肿瘤病灶持续进展,这些患者表现为对曲妥珠单抗的原发性耐药;另外有部分患者在应用曲妥珠单抗治疗后肿瘤病灶明显好转,患者一度在靶向治疗中获益,但在持续应用靶向治疗过程中病灶出现再次进展,这部分患者表现为对曲妥珠单抗的继发性耐药<sup>[7]</sup>。无论是原发性耐药或继发性耐药,其作用机制主要是 HER-2 受体分子结构及 HER-2 受体下游信号通路的改变,使曲妥珠单抗阻断 HER-2 受体的作用受到影响。

## 2 曲妥珠单抗耐药的分子机制

2.1 HER-2 受体分子结构的变化导致曲妥珠单抗耐药 曲妥珠单抗发挥抗 HER-2 疗效的根本机制是其能够正确地与肿瘤细胞膜上的 HER-2 受体结合。阻止抗体与受体有效结合的细胞产物或 HER-2 跨膜蛋白结构的改变均可导致曲妥珠单抗不能与 HER-2 受体结合,从而不能发挥有效作用,产生原发性耐药。

2.1.1 曲妥珠单抗与 HER-2 受体的有效结合受阻 Price-Schiavi 等<sup>[8]</sup>的研究发现,膜相关糖蛋白黏蛋白 4 (MUC4)表达升高与曲妥珠单抗耐药相关,一方面 MUC4 的高表达会与 HER-2 受体蛋白胞外段相结合形成复杂的复合物,此复合物将封闭 HER-2 蛋白与曲妥珠单抗结合的区域,从而阻止曲

妥珠单抗与 HER-2 的特异性结合,抗体与受体结合数量的减少使得曲妥珠单抗的疗效下降;另一方面,MUC4 与 HER-2 形成的复合物可以直接激活 HER-2 蛋白的胞内结构域,使酪氨酸激酶磷酸化,从而激活下游 PI3K/AKT 信号通路,促进 HER-2 过表达乳腺癌细胞的生长和转移。在体外细胞实验中,对曲妥珠单抗耐药的乳腺癌细胞株 JIMT-1 中 MUC4 的表达水平比敏感株高;而抑制 MUC4 的表达后,曲妥珠单抗与 HER-2 的结合能力升高,使本来耐药的乳腺癌细胞株恢复了对曲妥珠单抗的敏感性<sup>[9]</sup>。

2.1.2 HER-2 受体分子的正常结构被破坏 HER-2 蛋白是 c-erbB2 基因编码的受体样跨膜蛋白,其相对分子质量为 185  $\times 10^3$  kD,它可被基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)水解成相对分子质量为 110  $\times 10^3$  kD 的胞外段(ECD)和 95  $\times 10^3$  kD 的膜相连段(p95HER-2)。在 HER-2 阳性晚期乳腺癌患者中,无论是血清学 ECD 检测还是组织学 p95HER-2 表达的检测,均有可能预测曲妥珠单抗使用的疗效。HER-2 蛋白被剪切后产生的 ECD 片段因其与细胞膜不相连而被释放至血液中,在血液中可与曲妥珠单抗结合,从而阻止曲妥珠单抗结合至肿瘤细胞膜上,导致肿瘤细胞对曲妥珠单抗的耐药。一项汇集了 7 个一线抗 HER-2 治疗临床试验的荟萃分析结果提示,应用曲妥珠单抗治疗前后,血清 ECD 下降 20% 以上患者的有效率为 56.5%,疾病进展时间为 320 天,下降小于 20% 患者的有效率仅为 28.4%,疾病进展时间为 182 天,差异均有统计学意义;血清 ECD 水平下降大于 20% 的患者在曲妥珠单抗疗效上明显优于下降小于 20% 的患者<sup>[10]</sup>。血清 ECD 水平有可能成为预测曲妥珠单抗疗效的血液学指标,而且,血液中的 ECD 片段大量与曲妥珠单抗结合,消耗抗体的数量,不仅使曲妥珠单抗不能结合至肿瘤细胞,也使可结合至肿瘤细胞的抗体数量减少,因此,血清 ECD 水平是否与曲妥珠单抗剂量相关仍需进一步的临床研究。

HER-2 蛋白被切断后与细胞膜相连片段为 p95HER-2,其保留了酪氨酸激酶活性,且活性被增强<sup>[11]</sup>。p95HER-2 能够与 HER-3 形成异源二聚体,具有了酪氨酸激酶活性,从而持续激活下游细胞信号通路,促进肿瘤细胞的增殖和迁移。Scaltriti 等<sup>[12]</sup>的研究表明,p95HER-2 表达阳性的患者应用曲妥珠单抗治疗的有效率仅为 11.1%,阴性患者有效率为 51.4%。因此,HER-2 蛋白分子的断裂是引起曲妥珠单抗耐药的重要机制。美国 FDA 最近批准使用的 EGFR 及 HER-2 酪氨酸激酶抑制剂 Lapatinib,不仅可以抑制 HER-3 与 p95HER-2 形成异源二聚体,还可以抑制 p95HER-2 的酪氨酸激酶活性,从而阻断下游信号通路,抑制乳腺癌细胞的增殖和转移。研究表明,p95HER-2 表达阳性患者单独应用 Lapatinib 或采用 Lapatinib 联合卡培他滨治疗后可与阴性表达患者获得相同的无进展生存期<sup>[13]</sup>。因此 Lapatinib 单药或联合化疗可能是曲妥珠单抗耐药后新的靶向治疗策略。

2.2 HER-2 蛋白下游信号通路的改变导致曲妥珠单抗耐药的分子机制 除 HER-2 外,HER 家族其他成员也常在乳腺

癌细胞中共表达,并且与 HER-2 形成异源二聚体,从而增强下游 PI3K/AKT 信号转导通路活性。另外,抑癌基因 PTEN 表达缺失也导致 PI3K/AKT 信号通路活化,研究证实 PI3K/AKT 信号通路异常活化与曲妥珠单抗耐药相关<sup>[14]</sup>,对于曲妥珠单抗的疗效预测具有重要的意义。

**2.2.1 HER-2 蛋白与 HER 家族其他成员形成异源二聚体活化下游信号通路** HER 家族成员包括 HER1-4,它们之间可以形成同源或异源二聚体;曲妥珠单抗虽然可以抑制 HER-2 二聚体的形成从而阻断下游信号传导,但 HER-2 阳性乳腺癌细胞往往同时共表达其他 HER 家族受体,这些 HER 家族受体同样可以形成二聚体化从而激活下游信号通路。研究表明,HER-2 可与 HER-3 等受体之间形成异源二聚体。2009 年 Narayan 等<sup>[15]</sup>研究发现,HER-2 阳性乳腺癌细胞接触曲妥珠单抗后将发生快速表型变化;而对曲妥珠单抗原发耐药的细胞给予曲妥珠单抗处理后,EGFR 和 HER-3 表达显著升高,同时观察到 HER 受体表达重排,导致 HER 受体作用轴的功能改变。另外,该研究发现这些细胞对靶向 EGFR 药物吉非替尼或西妥昔单抗敏感。因此,原发耐药肿瘤经曲妥珠单抗治疗后可能通过 HER 受体轴成员重排暴露出其他有效的治疗靶点(如 EGFR)。另外,p95HER-2 高表达也可以与 HER3 等受体形成异源二聚体,这两种异源二聚体的形成均可激活酪氨酸激酶活性,从而上调 PI3K/AKT 以及 MAPK 等下游信号通路活性,因此,这些异源二聚体的形成均有可能导致曲妥珠单抗耐药现象发生<sup>[16]</sup>。

**2.2.2 PI3K/AKT 信号通路的改变** PI3K/AKT 信号通路因与肿瘤的发展具有相关性而备受瞩目,PI3K/AKT 信号通路基本作用机制为生长因子受体形成二聚体后,激活酪氨酸激酶活性,进而激活 PI3K 活性,PI3K 能够催化磷脂酰肌醇二磷酸(phosphatidylinositol bisphosphate,PIP2)磷酸化形成第二信使 PIP3,PIP3 活化下游 AKT 信号通路,从而调节细胞增殖、存活和迁移等。PI3K 突变会使其磷酸化活性增强<sup>[17]</sup>,持续将 PIP2 磷酸化成为具有信号转导功能的 PIP3,从而持续活化下游 AKT 信号通路。有研究表明,曲妥珠单抗耐药细胞株中存在 PI3K 突变,致使 PI3K/AKT 及 MAPK 信号通路持续活化,曲妥珠单抗无法有效抑制肿瘤细胞的生长<sup>[18]</sup>。

研究发现 PI3K/AKT 的持续活化还可能与 PTEN 蛋白表达下降或缺失有关。PTEN 基因定位于 10q23.3,编码一个 403 个残基的类脂磷酸酶,它能够催化 PIP3 脱去磷酸基团,形成无信号转导活性的 PIP2,从而对 PI3K 形成负调节,阻止下游 AKT 信号通路的活化。多种人类肿瘤细胞均存在 PTEN 基因的缺失<sup>[19]</sup>,即使 PTEN 表达的肿瘤在基因转录过程中发生基因沉默和蛋白不稳定性也会导致 PTEN 缺失。有研究报道 PTEN 蛋白的缺失可导致 PI3K/AKT 信号通路的持续激活,发生曲妥珠单抗治疗耐药<sup>[20]</sup>;另外一项研究应用基因敲除技术敲除 PTEN 基因后,引起乳腺癌细胞对曲妥珠单抗耐药性增强<sup>[21]</sup>。一项回顾了 227 例接受过曲妥珠单抗治疗的转移性乳腺癌患者的石蜡包埋组织标本的研究结果

显示,PI3KCA 突变及 PTEN 丢失的患者具有更短的疾病进展时间<sup>[22]</sup>。

2011 年 Scaltriti 等<sup>[22]</sup>通过全基因组分析的研究方法发现,曲妥珠单抗耐药细胞中 cyclin E 基因扩增,临床检测 cyclin E 基因扩增患者与无扩增患者相比,曲妥珠单抗治疗获益率低(33.3% vs. 87.5%,  $P < 0.05$ ),PFS 短(6 个月 vs. 14 个月,  $P < 0.01$ ),进一步体内外研究均表明 cyclin E 过表达导致曲妥珠单抗耐药。

### 3 曲妥珠单抗耐药后靶向治疗策略

近年来,随着曲妥珠单抗耐药机制研究的不断深入,许多新型的抗 HER-2 治疗药物正在相继研发中,这些新型靶向药物并非将靶点局限于传统的生长因子受体,而是着眼于细胞通路。作为生长因子受体的替代靶点,PI3K-AKT 信号通路及下游 mTOR 抑制剂作为单一靶向治疗药物或联合化疗药物的疗效正在探索之中<sup>[23]</sup>。新型的 PI3K 抑制剂 XL147 联合紫杉醇治疗正在进行 I/II 期临床评价<sup>[25]</sup>。另一项 I/II 期临床研究表明,mTOR 抑制剂 RAD001 可以提高 PTEN 丢失的乳腺癌患者对曲妥珠单抗的疗效<sup>[24]</sup>。尽管新型的靶向治疗药物正在研制中,一部分研究也取得了很好的临床试验结果,但 HER-2 作为传统的靶向治疗位点,仍然具有技术成熟、疗效明确等优势,因此,针对 HER-2 将细胞毒类药物与曲妥珠单抗联合形成的新药亦成为研究的热点。T-DM1 已被证明在 HER-2 阳性乳腺癌及曲妥珠单抗耐药细胞系中具有选择性活性<sup>[25-26]</sup>,并且在 I/II 期临床试验中被证明有较高的有效率和耐受性,能够延长患者的无进展生存期<sup>[27-28]</sup>。

### 4 总结

HER-2 高表达的乳腺癌具有生存期短、疾病进展迅速和预后不良的特点。自从 1998 年抗 HER-2 阳性抗体曲妥珠单抗上市后,曲妥珠单抗联合化疗、内分泌治疗取得了显著的疗效,在提高生存率方面亦有较好的效果。但是,目前曲妥珠单抗治疗费用昂贵,且并非所有 HER-2 阳性患者应用曲妥珠单抗治疗均有效,因此,寻找能够预测曲妥珠单抗疗效与耐药的生物学标记物,有助于筛选在靶向 HER-2 治疗中可能获益的患者显得至关重要。尽管目前用于临床预测曲妥珠单抗疗效与耐药的生物学指标仍未确定,但是诸多研究也报道了若干可能成为预测指标的标志物,如血清 ECD 增多、p95HER-2 上调、PTEN 蛋白缺失以及 HER 家族异源二聚体形成等,上述均有可能成为 HER-2 阳性患者个体化靶向治疗的参考指标。

### 参考文献

- [1] Burstein HJ. The distinctive nature of HER-2-positive breast cancers[J]. N Engl J Med, 2005, 353(16): 1652 - 1654.
- [2] Clynes RA, Towers TL, Presta LG, et al. Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets[J]. Nat Med,

- 2000,6(4):443-446.
- [3] Nagata Y, Lan KH, Zhou X, et al. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients[J]. *Cancer Cell*, 2004, 6(2): 117-127.
- [4] Izumi Y, Xu L, Di TE, et al. Tumour biology: herceptin acts as an anti-angiogenic cocktail [J]. *Nature*, 2002, 416(6878): 279-280.
- [5] Lane HA, Beuvink I, Motoyama AB, et al. ErbB2 potentiates breast tumor proliferation through modulation of p27(Kip1)-Cdk2 complex formation; receptor over expression does not determine growth dependency [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(9): 3210-3223.
- [6] NCCN 乳腺癌临床实践指南(中国版)专家组. 乳腺癌临床实践指南中国版[EB/OL]. 2011-04-10[2011-11-20]. <http://www.nccnchina.org/nccn-guidelines-china>.
- [7] Nahta R, Yu D, Hung M C, et al. Mechanisms of disease: understanding resistance to HER-2-targeted therapy in human breast cancer[J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2006, 3(5): 269-280.
- [8] Price-Schiavi SA, Jepsen S, Li P, et al. Rat Muc4 (sialomucin complex) reduces binding of anti-ErbB2 antibodies to tumor cell surfaces, a potential mechanism for herceptin resistance[J]. *Int J Cancer*, 2002, 99(6): 783-791.
- [9] Nagy P, Friedlander E, Tanner M, et al. Decreased accessibility and lack of activation of ErbB2 in JIMT-1, a herceptin-resistant, MUC4-expressing breast cancer cell line[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(2): 473-482.
- [10] Ali SM, Esteva FJ, Fornier M, et al. Serum HER-2/neu change predicts clinical outcome to trastuzumab-based therapy[J]. *Clin Oncol*, 2006, 24(Suppl 18): 500.
- [11] Christianson TA, Doherty JK, Lin YJ, et al. NH2-terminally truncated HER-2/neu protein: relationship with shedding of the extracellular domain and with prognostic factors in breast cancer [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(22): 5123-5129.
- [12] Scaltriti M, Rojo F, Ocana A, et al. Expression of p95HER-2, a truncated form of the HER-2 receptor, and response to anti-HER-2 therapies in breast cancer[J]. *Nat Cancer Inst*, 2007, 99(8): 628-638.
- [13] Scaltriti M, Chandarlapaty S, Prudkin L, et al. Clinical benefit of lapatinib-based therapy in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive breast tumors coexpressing the truncated p95HER-2 receptor[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16: 2688-2695.
- [14] Esteva FJ, Guo H, Zhang S, et al. PTEN, PIK3CA, p-AKT, and p-p70S6K status: association with trastuzumab response and survival in patients with HER-2-positive metastatic breast cancer [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(4): 1647-1656.
- [15] Naravan M, Wilken JA, Harris LN, et al. Trastuzumab-induced HER reprogramming in "resistant" breast carcinoma cells[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(6): 2191-2194.
- [16] Wehrman TS, Raab WJ, Casipit CL, et al. A system for quantifying dynamic protein interactions defines a role for Herceptin in modulating ErbB2 interactions[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(50): 19063-19068.
- [17] Isakoff SJ, Engelman JA, Irie HY, et al. Breast cancer associated PIK3CA mutations are oncogenic in mammary epithelial cells [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23): 10992-11000.
- [18] Hynes NE, Dey JH. PI3K inhibition overcomes trastuzumab resistance: blockade of ErbB2/ErbB3 is not always enough[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(5): 353-355.
- [19] Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol3-Kinase AKT pathway in human cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(7): 489-501.
- [20] Nagata Y, Lan KH, Zhou X. PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients[J]. *Cancer Cell*, 2004, 6(2): 117-127.
- [21] Kortlever RM, Higgins PJ, Bernards R, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 is a critical downstream target of p53 in the induction of replicative senescence[J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(8): 877-884.
- [22] Scaltriti M, Eichhorn PJ, Cortés J, et al. Cyclin E amplification/overexpression is a mechanism of trastuzumab resistance in HER-2 + breast cancer patients[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(9): 3761-3766.
- [23] Nahta R, O'Regan RM. Evolving strategies for overcoming resistance to HER-2-directed therapy: Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. *Clin Breast Cancer*, 2010, 10(Suppl 3): 72-78.
- [24] Morrow PK, Wulf GM, Ensor J, et al. Phase I/II study of trastuzumab in combination with everolimus (RAD001) in patients with HER-2-overexpressing metastatic breast cancer who progressed on trastuzumab-based therapy[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 3126-3132.
- [25] Barok M, Tanner M, Koninki 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: R46.
- [26] Lewis PGD, Li G, Dugger DL, et al. Targeting HER-2-positive breast cancer with trastuzumab-DM1, an antibody-cytotoxic drug conjugate[J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 9280-9290.
- [27] Krop IE, Beeram M, Modi S, et al. Phase I study of trastuzumab-DM1, a HER-2 antibody-drug conjugate, given every 3 weeks to patients with HER-2-positive metastatic breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(16): 2698-2704.
- [28] Burris HA, 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 (HER-2)-positive breast cancer after prior HER-2-directed therapy [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 398-405.