

# 曲妥珠单抗在乳腺癌中的耐药机制研究进展

韩铭 综述 邓华瑜 审校

HER2 即人表皮生长因子受体-2(Human epidermal growth factor receptor-2, HER2), 属于酪氨酸激酶受体家族成员, 是细胞生长、分化和存活的重要调控因子。临床数据显示, 20%~25% 的乳腺癌患者存在 HER2 基因扩增或蛋白过表达。HER2 的过表达预示着临床预后差、易转移及复发。曲妥珠单抗是 HER2 的人源化单克隆抗体, 用于治疗 HER2 过表达的早期或转移性乳腺癌患者。然而曲妥珠单抗的单独治疗客观反应率仅 12%~34%, 并且多数转移性患者在使用 1 年之内出现耐药现象<sup>[1]</sup>。为了更有效地治疗 HER2 过表达乳腺癌, 需要详细了解曲妥珠单抗的作用及耐药机制。在此就有关曲妥

珠单抗的耐药机制最新进展进行阐述, 为乳腺癌靶向治疗药物的基础研究和临床合理应用提供参考。

## 1 HER2 概述

### 1.1 HER2 的结构及信号通路

表皮生长因子受体, 又称 ErbB 受体, 属于酪氨酸激酶受体超家族成员。其成员主要有 HER1 (ErbB1、EGFR)、HER2 (ErbB2、neu)、HER3 (ErbB3)、HER4 (ErbB4)。其中 HER2 是 HER2/neu 基因编码的分子量为 185 kD 的跨膜酪氨酸激酶糖蛋白, 其胞外区又可以分为 I-IV 区。目前发现与 HER1、HER3、HER4 结合的配体有转化生长因子  $\alpha$  (TGF $\alpha$ )、表皮生长因子 (EGF) 及 heregulins 等, 但尚未发现 HER2 分子的特异性配体, 其激活方式主要是通过胞外 II 区与 HER 家族其他成员形成异二聚体, 活化胞内酪氨酸激酶, 进一步激活下游信号通路, 包括 PI3K/AKT (Phosphatidylinositol 3-kinase)、

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-1485. 2011. 09. 047  
作者单位: 400016 重庆医科大学病理生理教研室干细胞与组织工程研究室  
通信作者: 邓华瑜, Email: cqdenghy@yahoo.com.cn

[9] Hindley JT, Law PA, Hickey M, et al. Clinical outcomes following percutaneous magnetic resonance image guided laser ablation of symptomatic uterine fibroids[J]. Hum Reprod, 2002( 17 ):2737-2741.

[10] Bergamini V, Ghezzi F, Cromi A, et al. Laparoscopic radiofrequency thermal ablation: A new approach to symptomatic uterine myomas [J]. Am J Obstet Gynecol, 2005, 192:768-773.

[11] Tempany CM, Stewart EA, McDannold N, et al. MR imaging-guided focused ultrasound surgery of uterine fibroids[J]. Fertil Steril, 2006 ( 85 ):22-29.

[12] US Food and Drug Administration. Exablate device labeling[EB/OL]. ( 2004-10-22 ) [2011-01-13]. <http://www.fda.gov/cdrh/pdf4/p040003.html>.

[13] Rabinovci J, Inbar Y, Revel A, et al. Clinical improvement and shrinkage of uterine fibroids after thermal ablation by magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery[J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2007 ( 30 ): 771-777.

[14] Ren XL, Zhou XD, Yan RL, et al. Sonographically guided extracorporeal ablation of uterine fibroids with high-intensity focused ultrasound: Midterm results[J]. J Ultrasound Med, 2009 ( 28 ): 95-103.

[15] Fennessy FM, Tempany CM, McDannold NJ, et al. Uterine leiomyomas: MR imaging-guided focused ultrasound surgery—results of different treatment protocols[J]. Radiology, 2007, 243: 885-93.

[16] Yutaka M, Sawako T, Hiromi H, et al. Decreasing margins to the uterine serosa as a method for increasing the volume of fibroids ablated with magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery [J]. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2009, 146: 92-95.

[17] Zhang L, Chena WZ, Liu YJ, et al. Feasibility of magnetic resonance imaging-guided high intensity focused ultrasound therapy for ablating uterine fibroids in patients with bowel lies anterior to uterus [J]. European Journal of Radiology, 2010, 73 ( 2 ):396-403.

[18] 陈锦云. 超声消融子宫肌瘤的临床剂量学研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2009.

[19] 汪伟, 刘文英, 周清敏, 等. 高强度聚焦超声治疗症状性子宫肌瘤的初步临床研究[J]. 中华超声影像杂志, 2002 ( 11 ):161-163.

[20] Stewart EA, Gostout B, Rabinovici J, et al. Sustained relief of leiomyoma symptoms by using focused ultrasound surgery[J]. Obstet Gynecol, 2007, 110:279-287.

[21] Morita Y, Ito N, Hikida H, et al. Non-invasive magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound treatment for uterine fibroids—early experience[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2007, 139:199-203.

[22] Taran FA, Hesley GK, Gorny KR, et al. What factors currently limit magnetic resonance-guided focused ultrasound of leiomyomas? A survey conducted at the first international symposium devoted to clinical magnetic resonance guided focused ultrasound[J]. Fertil Steril, 2010, 94 ( 1 ):331-334.

[23] 彭松, 周崑, 张炼, 等. 高强度聚焦超声治疗子宫肌瘤的初步研究[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33 ( 5 ):128-131.

[24] 李娅, 欧娟娟, 旦慧文. 高强度聚焦超声治疗子宫肌瘤后妊娠 7 例分析[J]. 中国误诊学杂志, 2005, 5 ( 3 ):538.

[25] Rabinovici J, Inbar Y, Eylon SC, et al. Pregnancy and live birth after focused ultrasound surgery for symptomatic focal adenomyosis: a case report[J]. Hum Reprod, 2006, 21 ( 5 ):1255-1259.

( 收稿日期:2010-01-16 )  
( 本文编辑:李培森 )

MAPK(Mitogen activated protein kinase)、JAK/STAT(Janus activated kinase/signal transducers and activators of transcription)等,最终引起细胞增殖、凋亡、分化等异常,引发肿瘤的发生与发展<sup>[1]</sup>。

## 1.2 HER2 与乳腺癌

HER2 过表达与乳腺癌的发生发展密切相关。研究发现 20%~25% 的乳腺癌患者存在 HER2 基因的过表达或扩增。过表达的 HER2 与其他受体(尤其是 HER3)形成亲和力更强的异源二聚体,表现出更强的信号传导能力。如,激活 MAPK 通路,进一步激活其转录因子 c-myc、c-jun 等,促进肿瘤的增殖、转化;激活 PI3K/AKT 通路,活化的 AKT 可促使 p53 降解,还可以激活核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B),降低 TNF- $\alpha$  的抗肿瘤能力。除此之外,高表达的 HER2 还可以抵抗他莫昔芬对雌激素受体阳性乳腺癌的治疗作用,这可能与 HER2 减低类固醇激素的表达有关<sup>[2]</sup>。综上所述,HER2 分子在乳腺癌发生发展及治疗耐药中起着重要的作用。

## 1.3 HER2 水平的检测

肿瘤中 HER2 的水平既可以提供肿瘤预后信息,也是决定是否使用曲妥珠单抗的关键因素。目前,临床上最常见的两种检测 HER2 的方法是免疫组织化学法(Immunohistochemistry, IHC)和荧光原位杂交法(Fluorescence in situ hybridization, FISH)。IHC 是最常用的方法,临床上将得分 3+ 的患者作为曲妥珠单抗的治疗对象。但是 IHC 的缺点是存在主观判定和结果的半定量。FISH 用于检测 HER2 基因的扩增,比 IHC 更为敏感和准确,并且可以提供定量的结果。IHC 和 FISH 结果符合率可达到 80% 左右,多数情况下 FISH 是在 IHC 检测 2+ 的基础上使用的。另外检测患者血清中 HER2 胞外段(HER2-ECD)的水平也可用于预测患者是否使用曲妥珠单抗。该方法的优点是样本相对容易收集,并可以随时检测血清中 HER2 的水平。

## 2 HER2 的单克隆抗体曲妥珠单抗

### 2.1 曲妥珠单抗的作用机制

曲妥珠单抗是重组人源化单克隆抗体,能与 HER2 的胞外区域特异性结合,是美国食品药品监督管理局(FDA)批准的第一个用于治疗 HER2 过表达转移性乳腺癌的生物治疗药物。但是对于曲妥珠单抗的作用机制至今未能完全明了。目前研究<sup>[3]</sup>认为曲妥珠单抗可能主要通过以下几种机制发挥作用:①抑制 HER2 下游 PI3K、MAPK 信号通路,促使肿瘤细胞发生凋亡;②促进 PTEN 磷酸化,抑制 AKT 信号通路;③募集细胞生长因子抑制剂 p27<sup>kip1</sup>,使其与 cyclinE/cdk2 结合,诱导细胞周期停止于 G1 期;④抑制血管的生成;⑤抑制 HER2 胞外段水解,阻止其释放入血;⑥与 NK 细胞 Fc- $\gamma$  受体结合,通过 ADCC 作用,促使 HER2 过表达肿瘤细胞发生溶解。

### 2.2 曲妥珠单抗的耐药机制

临床结果证实,曲妥珠单抗用于治疗 HER2 过表达的转移性乳腺癌患者,取得了较好的治疗效果,然而,其单独治疗客观反应率却不高,9 个月的中位生存期只有 12%~34%,并且多数患者在使用该药 1 年之内就产生了耐药。阐明肿瘤逃避曲妥珠单抗介导的细胞毒性作用的分子机制对治疗 HER2 过表达的乳腺癌患者至关重要。目前已提出多种有关曲妥珠单抗的耐药机制。

#### 2.2.1 HER2 与曲妥珠单抗结合障碍

p95HER2:p95HER2 是 HER2 受体的截短形式,拥有激

酶活性,但缺少与曲妥珠单抗结合的胞外段。研究发现,截短的 p95HER2 在发生淋巴结转移的乳腺癌患者中明显多于未发生转移的患者。Scaltriti 等<sup>[4]</sup>利用免疫荧光发现,在 9 位表达 p95 的乳腺癌患者中,只有 1 位患者对曲妥珠单抗的治疗有反应,而 HER2 阳性的患者 51.4% 有效。因此,HER2 的胞外段被认为是曲妥珠单抗治疗反应的预测指标之一。Lapatinib 是一种可抑制 HER2/EGFR 激酶的小分子。Scaltriti 等进一步用 Lapatinib 处理 p95 阳性的 MCF-7 细胞,发现 Lapatinib 可以抑制 p95 磷酸化,降低下游 AKT、MAPK 的磷酸化,抑制细胞的生长,并且在 MCF-7 p95HER2 异种移植的的肿瘤模型中也得到同样的结果。而同时该种细胞及肿瘤对曲妥珠单抗的治疗无反应。提示 p95 可能与曲妥珠单抗的治疗耐药密切相关。

MUC4: 表位掩盖也被认为是曲妥珠单抗耐药的机制之一。MUC4 属于膜相关蛋白,对上皮细胞(包括乳腺上皮)起着重要的保护作用。Price-Schiavi 等<sup>[5]</sup>发现,MUC4 的亚基 AS-GP-2 可通过 EGF 样结构与 HER2 结合,在空间上掩盖曲妥珠单抗与 HER2 的结合位点,并且增加 HER2 的磷酸化,将 MUC4 基因敲除后,可恢复曲妥珠单抗耐药株 JIMT-1 对曲妥珠单抗的敏感性。

CD44/透明质酸酶复合物:CD44 是透明质酸酶的跨膜受体,与后者结合后,可激活 CD44 介导的信号通路,如 RAS、PI3K 等<sup>[6]</sup>。CD44 与透明质酸酶形成的复合物可能掩盖 HER2 的同源表位,影响 HER2 与曲妥珠单抗的结合,而抑制透明质酸酶可明显减少 JIMT-1 细胞中透明质酸酶的水平,并增加 HER2 与曲妥珠单抗的结合,恢复曲妥珠单抗的抗肿瘤效应<sup>[8]</sup>。

#### 2.2.2 HER2 下游信号通路的活化

PTEN 缺失:PTEN 基因突变或基因调节可导致 PTEN 功能缺失。通常情况下,PTEN 可抑制 PI3K 的磷酸化,当 PTEN 缺失后,PI3K/AKT 持续活化。近 50% 乳腺癌患者存在 PTEN 的缺失。Nagata 等<sup>[9]</sup>发现 PTEN 水平下降,导致 PI3K/AKT 磷酸化增加,活化下游信号通路,抵消了曲妥珠单抗的抑瘤作用。使用 PI3K 的抑制剂可缓解 PTEN 缺失患者对曲妥珠单抗的耐药。

PI3K:PI3K 突变引起 PI3K/AKT 的持续活化也与曲妥珠单抗的耐药性产生有关。PIK3R1 基因编码 PI3K 的调节亚基 p85 $\alpha$ ,PIK3R1 突变将影响 p85 的功能,及 PI3K/AKT 信号通路的活性。此外,编码 PI3K 催化亚基 p110 $\alpha$  的 PIK3CA 基因突变在多数肿瘤中也比较常见。Berns 等<sup>[10]</sup>通过研究 55 位对曲妥珠单抗反应较低的患者发现,PTEN 的低表达和 PIK3CA 突变与患者对曲妥珠单抗的反应性密切相关。

#### 2.2.3 通过替代的受体传递信号

IGF-1R: 胰岛素样生长因子-1 受体也属于酪氨酸激酶受体家族,与 HER2 拥有相同的下游信号通路,如 PI3K、MAPK 等。当曲妥珠单抗抑制 HER2 通路时,细胞可通过 IGF-1R 的活化维持生长、增殖能力,逃脱曲妥珠单抗的治疗效应,其机制可能与 IGF-1 诱导 PI3K 通路活化、增加 p27<sup>kip1</sup> 的降解有关<sup>[11]</sup>。除此之外,Nahta 等<sup>[12]</sup>在曲妥珠单抗耐药株中发现,IGF-1R 可与 HER2 形成异源二聚体,并促使 HER2 磷酸化,而抗 IGF-1R 抗体  $\alpha$ -IR3 可阻止这种新型二聚体的形成,减少 HER2 磷酸化,恢复细胞对曲妥珠单抗的敏感性。然而,IGF-1R 与曲妥珠单抗的临床治疗反应在临床肿瘤中未得到证实。

EGFR 与 HER3: ErbB 信号通路发挥促肿瘤作用需经过

二聚体的形成、受体磷酸化、及下游信号通路的活化这重要的几步。大量证据表明曲妥珠单抗可抑制 HER2 的磷酸化,但是很少能阻止 ErbB 家族二聚体的形成(如 EGFR/EGFR、EGFR/HER3 等)。近期研究<sup>[13]</sup>显示,EGFR 与 HER3 的表达在曲妥珠单抗长期处理的 HER2 过表达乳腺癌细胞中明显增加,提示耐药的细胞株有可能通过 ErbB 家族其他二聚体的形成而维持生长、增殖能力。此外,在 HER2 过表达的 MCF-10A/HER2、BT474 乳腺癌细胞中,TGF- $\beta$  可增加 TACE 的磷酸化,促使 ErbB 配体(TGF- $\alpha$ 、amphiregulin、神经调节蛋白)脱落,进而促使 HER3 磷酸化,活化 PI3K 通路,导致细胞对曲妥珠单抗的敏感性下降<sup>[14]</sup>。

c-Met; c-Met 受体属于另一种 I 型酪氨酸激酶受体, c-Met 及其配体 HGF(肝细胞生长因子)的共表达可能参与曲妥珠单抗耐药的形成。在 HER2 阳性的乳腺癌中存在 c-Met 及其配体 HGF 的过表达,并且这种过表达与患者总生存率低、预后差密切相关<sup>[15]</sup>。其机制可能是激活的 c-Met 抑制曲妥珠单抗引起 p27<sup>Kip1</sup> 的减少,而使肿瘤细胞逃离曲妥珠单抗的抑制效应。进一步研究发现曲妥珠单抗处理 HER2 过表达的乳腺癌后, c-Met 在短时间(48 h)内表达增加,这提示,对于 c-Met 与 HER2 共表达的乳腺癌患者,联合抑制两个受体可能会起到较好的治疗效果。

#### 2.2.4 FcR III a 的多态性

研究表明 ADCC 效应在曲妥珠单抗介导的细胞毒性效应中起着重要作用,曲妥珠单抗先与肿瘤细胞结合,之后免疫效应细胞通过其 Fc 受体(FcR)识别曲妥珠单抗的 Fc 区,启动 ADCC。白细胞中存在 3 种 FcR,分别是 FcR I、FcR II、FcR III,在人类后 2 种又可分为 II a、II b、III a、III b,其中,启动 ADCC 的是 FcR II a、FcR III a。由于单核苷酸多态性的存在,使得 FcR III a 158 位置上缬氨酸/苯丙氨酸(V/F)的显性表达差异,最终影响 IgG1 与 FcR 的亲合力。拥有 V 等位基因的 FcR III a 与 IgG1 的结合力强于拥有 F 等位基因的 FcR III a,并且前者介导的 ADCC 效应也强于后者。一项早期关于滤泡淋巴瘤的研究中,Weng 等<sup>[16]</sup>使用与曲妥珠单抗拥有相同 FcR 的 IgG 抗体-利妥昔单抗(rituximab)治疗淋巴瘤,结果显示带有 158 V/V 纯合子 FcR III a 的患者对利妥昔单抗的反应率高于带有 F 等位基因的患者。体外研究<sup>[17]</sup>亦表明, FcR III a 158 V/F 多态性可干扰曲妥珠单抗引起的 ADCC 效应,明显影响曲妥珠单抗的临床反应率和患者的生存时间。

### 3 结语

曲妥珠单抗用于治疗 HER2 过表达的转移性或早期乳腺癌,可明显延长患者的生存时间。然而,曲妥珠单抗的耐药问题是临床和基础研究亟待解决的难题之一。目前,研究者们利用基因组学和蛋白质组学等方法分析了解有关曲妥珠单抗耐药的机制,提供了丰富的有关预测曲妥珠单抗耐药及个体化治疗的信息。本综述中列举的 MUC4、PTEN、IGF-1R 及 FcR III a 等分子机制可能在曲妥珠单抗获得性耐药中起着重要作用,但是目前没有一个确切的机制可以完全解释曲妥珠单抗的耐药现象,这提示曲妥珠单抗耐药的形成是一个复杂的系统,尚需进一步探寻与研究。

#### 参考文献

- [1] Bartsch R, De Vries C, Pluschnig U, et al. Predicting for activity of second-line trastuzumab-based therapy in HER2-positive advanced

breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2009, 9(1):367.

- [2] Nancy EH, Gwen MD. ErbB receptors and signaling pathways in cancer[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2009, 21(2):177-184.
- [3] Zilli M, Grassadonia A, Tinari N, et al. Molecular mechanisms of endocrine resistance and their implication in the therapy of breast cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1795(1):62-81.
- [4] Valabrega G, Montemurro F, Aglietta M. Trastuzumab: mechanism of action, resistance and future perspectives in HER2-overexpressing breast cancer[J]. *Annals of Oncology*, 2007, 18(6):977-984.
- [5] Scaltriti M, Rojo F, Ocana A, et al. Expression of p95HER2, a Truncated Form of the HER2 receptor, and response to anti-HER2 therapies in breast cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2007, 99(8):628-638.
- [6] 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.
- [7] Bourguignon LY, Zhu H, Zhou B, et al. Hyaluronan promotes CD44v3-2 interaction with Grb2-185(HER2) and induces Rac1 and Ras signaling during ovarian tumor cell migration and growth[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(52):48679-48692.
- [8] Palyi-Krekke Z, Barok M, Isola J, et al. Hyaluronan-induced masking of ErbB2 and CD44-enhanced trastuzumab internalisation in trastuzumab resistant breast cancer[J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43(16):2423-2433.
- [9] 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.
- [10] Berns K, Horlings HM, Hennessy BT, et al. A functional genetic approach identifies the PI3K pathway as a major determinant of trastuzumab resistance in breast cancer[J]. *Cancer Cell*, 2007, 12(4):395-402.
- [11] Lu Y, Zi X, Zhao Y, et al. Insulin-like growth factor-I receptor signaling and resistance to trastuzumab (Herceptin)[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93(24):1852-1857.
- [12] Nahta R, Yuan LX, Zhang B, et al. Insulin-like growth factor-I receptor/human epidermal growth factor receptor 2 heterodimerization contributes to trastuzumab resistance of breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(23):11118-11128.
- [13] Narayan M, Wilken JA, Harris LN, et al. Trastuzumab-induced HER reprogramming in "resistant" breast carcinoma cells[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(6):2191-2194.
- [14] Wang SE, Xiang B, Guix M, et al. Transforming growth factor beta engages TACE and ErbB3 to activate phosphatidylinositol-3 kinase/Akt in ErbB2-overexpressing breast cancer and desensitizes cells to trastuzumab[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(18):5605-5620.
- [15] Shattuck DL, Miller JK, Carraway KL 3rd, et al. Met Receptor Contributes to Trastuzumab Resistance of Her2-Overexpressing Breast Cancer Cells[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(5):1471-1477.
- [16] Weng WK, Levy R. Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(21):3940-3947.
- [17] Musolino A, Naldi N, Bortesi B, et al. Immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms and clinical efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with HER-2/neu-positive metastatic breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(11):1789-1796.

(收稿日期:2010-11-08)

(本文编辑:李培森)