

DOI: 10.13376/j.cbls/2020006

文章编号: 1004-0374(2020)01-0047-07

HER2阳性乳腺癌靶向治疗药物 Herceptin耐药机制的新进展

李雨琴, 黄 剑*

(广东医科大学附属病理诊断与研究中心, 湛江 524001)

摘要: 人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 是乳腺癌中最重要的癌基因, 在乳腺癌细胞的增殖、侵袭、转移和演化等过程中发挥着重要作用。Herceptin, 一种人源化单克隆抗体, 已广泛用于 HER2 阳性乳腺癌患者的临床治疗中, 疗效显著, 并已成为靶向治疗的一线药。然而, 大部分 HER2 阳性的乳腺癌患者在接受 Herceptin 治疗一年后会发生耐药。现对 Herceptin 耐药的可能机制、恢复药物敏感性的可能方法及最新研究进展进行综述, 以期对 Herceptin 耐药研究提供新的思路。

关键词: 乳腺癌; HER2; Herceptin; 耐药机制

中图分类号: R36; R73 **文献标志码:** A

New progress in Herceptin resistance mechanism of HER2 positive breast cancer targeted therapy

LI Yu-Qin, HUANG Jian*

(Center for Pathological Diagnosis and Research, Affiliated Hospital of
Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) is the most important oncogene in breast cancer and plays an important role in the proliferation, invasion, metastasis and evolution of breast cancer cells. Herceptin, a humanized monoclonal antibody, has been widely used in the clinical treatment of HER2-positive breast cancer patients. It has a remarkable effect and has become a first-line drug for targeted therapy. However, most HER2-positive breast cancer patients develop resistance after one year of Herceptin treatment. This article will review the possible mechanisms of Herceptin resistance, the possible methods of restoring drug susceptibility and the latest research progress, and provide new ideas for Herceptin resistance research.

Key words: breast cancer; HER2; Herceptin; resistance mechanism

HER2 是乳腺癌中最重要的癌基因, 在 20%~25% 的浸润性乳腺癌中过度表达, 在乳腺癌细胞增殖、侵袭、转移等生物学行为中发挥着重要的作用^[1]。Herceptin (赫赛汀) 为人源化单克隆抗体, 其单抗名为 Trastuzumab (曲妥珠单抗)。Herceptin 已广泛用于 HER2 阳性乳腺癌患者的临床治疗中, 是肿瘤靶向治疗领域中非常成功的一种单抗药物, 3 位科学家因此获得了 2019 年拉斯克临床医学研究奖。但约 50% 以上的乳腺癌患者在用药 1 年内对

Herceptin 治疗产生耐药^[2], 其耐药机制尚未完全阐明。深入研究 Herceptin 耐药的机制, 不仅有助于恢复乳腺癌靶向治疗药物的敏感性, 也为新型靶向药物的研发及新的治疗途径提供理论依据。本文

收稿日期: 2019-09-12; 修回日期: 2019-11-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(81572610); 广东省“扬帆计划”引进紧缺拔尖人才(4YF16002G)

*通信作者: E-mail: 18665763598@163.com; Tel: 0759-2386985

将对 Herceptin 耐药机制、恢复药物敏感性的方法及最新研究进展进行综述,为 Herceptin 耐药研究提供新的思路。

1 HER2基因突变及下游PI3K/AKT信号通路激活

HER2 基因突变可能改变了磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)/AKT 级联信号传递,这可能减弱了 Herceptin 对 PI3K/AKT 通路的抑制作用^[3]。在 Herceptin 治疗后耐药并发生转移的乳腺癌患者中,其转移灶 HER2 突变的频率 (27.8%) 高于耐药前肿瘤原发灶的突变率 (2.24%),表明 HER2 基因突变与 Herceptin 耐药可能相关^[4];同时,抑制 PI3K/AKT 信号可恢复 HER2 突变型肿瘤细胞对 Herceptin 的敏感性^[3]。

1.1 HER2-L755S基因位点突变可增强HER2自身磷酸化

转移性乳腺癌患者经 Herceptin 治疗后,出现 HER2 基因突变的频率 (27.8%) 高于原发肿瘤 (2.24%),表明 HER2 基因突变与 Herceptin 耐药有关;其中,HER2-L755S 位点突变最常见于 Herceptin 治疗后的复发患者,大约占 HER2 突变的 60%^[4]。HER2-L755S 位点突变通过增强 HER2 自身磷酸化水平,从而影响下游丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK)/ 应激活化蛋白激酶 (stress-activated protein kinase, SAPK) 等信号通路^[5-6]。在 HER2-L755S 位点突变的细胞中,处于 HER2 下游的在细胞增殖和凋亡中起重要作用的 PI3K/AKT 信号通路表现出 MAPK 和 PI3K/AKT/mTOR 过度活化的现象;而且研究发现,在 Herceptin 耐药细胞株中,PI3K/AKT 信号通路在 Herceptin 存在的情况下仍持续活化,导致 Herceptin 对细胞的生长抑制作用减弱,从而抑制了 Herceptin 介导的细胞周期停滞和细胞凋亡。当拉帕替尼或来那替尼与 PI3K 抑制剂联合使用时,可协同抑制 HER2-L755S 位点突变细胞的生长,同时 MAPK 和 PI3K/AKT/mTOR 通路明显被抑制;而另一种 HER2 突变 del.16 (HER2 细胞外结构域中的外显子 16 缺失) 通过激活下游 Src 激酶信号也和 Herceptin 耐药有关^[7]。

1.2 PIK3CA基因突变以及PI3K/AKT信号通路异常调控

PIK3CA 基因突变可导致细胞 PI3K 和 Ras/MAPK 信号通路过度激活,在突变的细胞中可以检测到

PI3K 和 Ras/MAPK 信号通路过度激活与胰岛素样生长因子受体有关。正常的生长激素-胰岛素样生长因子 1 轴 (GH-IGF1-axis) 在乳腺细胞的增殖、分化和凋亡中起重要调节作用,而过度活化的胰岛素样生长因子 1 受体 (insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R) 信号通路则有可能导致细胞恶性增殖和迁移。IGF1R 常在 HER2 阳性乳腺癌中表达,并且与 HER2 等存在多种信号通路交互作用。有证据表明,IGF1R 与 HER2 和雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 均存在串扰^[8]。临床试验提示,在抗 HER2 治疗中,激素受体阳性 (HR⁺)/HER2 阳性乳腺癌患者缓解率较差,其机制可能是:在 Herceptin 的作用下,表皮生长因子受体 (epithelial growth factor receptor, EGFR) 和 HER2 的表达下降,雌激素受体表达增加并激活 IGF1R,使其作为替代的生长信号逃避 Herceptin 的作用^[9],这可能与激活了 HER2 下游的 PI3K 等信号通路有关。因此,生长激素-胰岛素样生长因子 1 轴的异常调控可能是耐药原因之一。此外,在 HER2 阳性乳腺癌细胞系中,Herceptin 与 IGF1R-酪氨酸激酶抑制剂 (tyrosine kinase inhibitors, TKIs) 联合使用可明显增强对肿瘤细胞的生长抑制。在耐 Herceptin 的 HER2 阳性乳腺癌细胞系中,他莫昔芬与 IGF1R-TKI 联合作用可观察到与亲本细胞相似的反应,因此,针对 ER 和 IGF1R 的药物联合 HER2 靶向治疗可能是 HER2/ER/IGF1R 阳性乳腺癌患者 HER2 靶向治疗和化疗的一种替代方法^[10]。

1.3 HER2截短体p95HER2的高表达

p95HER2 是 HER2 的一种剪切体,HER2 阳性乳腺癌细胞中 p95HER2 表达高达 30%^[11]。由于 p95HER2 缺乏曲妥珠单抗和帕妥珠单抗结合位点,但仍保留了其胞内的激酶活性区,因此难以与抗 HER2 的药物结合。在 Herceptin 耐药的部分患者中,p95HER2 的高表达表明转移性乳腺癌患者在基于 Herceptin 的治疗中效果不佳,将会导致患者对 Herceptin 以及帕妥珠单抗产生耐药性。在接受 Herceptin 治疗的部分患者中进行活检,发现 p95HER2 和 HER2 总表达量升高,表明先前的抗 HER2 抗体治疗可能导致了截短体 p95HER2 的表达水平升高^[12]。

2 肿瘤干细胞的自我更新及其相关信号通路的活化

HER2 阳性乳腺癌是由具有干细胞样自我更新和分化特性的细胞驱动的,这一类细胞称为肿瘤干细胞 (CSCs),CSCs 与放疗、化疗耐药和肿瘤复发

密切相关。而磷酸化信号转导及转录激活蛋白3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 等信号分子及 Notch 信号通路能促进干细胞标志物表达以及上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 同时与促进乳腺干细胞存活和自我更新有关的 Notch 信号通路的调控在 Herceptin 耐药过程中也起着重要作用^[13]。

2.1 肿瘤干细胞的自我更新及EMT相关分子的活化

在 50%~60% HER2 过表达的乳腺癌中发现, 磷酸化的 STAT3 能促进干细胞标记物 (Oct-4、Sox-2 和 CD44) 表达、肿瘤球形成以及 EMT, 联合应用 Herceptin 和 STAT3 抑制剂对癌细胞生长有协同抑制作用。敲除 *STAT3* 基因可使干细胞标记物 Oct-4、Sox-2 和 CD44 等的表达及肿瘤球形成能力下降, 而靶向磷酸化 STAT3 的药物可以克服 Herceptin 诱导的 HER2 过表达的乳腺肿瘤的耐药, 因此 HER2 诱导的 STAT3 信号可能是干细胞特性诱导耐药的一个潜在机制^[14]。在肿瘤原发耐药细胞中, EMT 过表达的调节因子 SLUG/SNAIL2 与 HER2 阳性基底细胞表型一致。而 Herceptin 耐药株 *JIMT1* 乳腺癌细胞富含 SLUG/SNAIL2 等 EMT 特征, 敲除 *SLUG/SNAIL2* 基因则抑制 CD44⁺CD24^{low} 的表达。在 EMT 过程中, SNAIL2 与钙黏附蛋白 E (E-cadherin/CDH1) 基因启动子区结合从而抑制 *Cdh1* 的转录, 而 *SLUG/SNAIL2* 基因敲除与上皮特异性基因标记物 CDH1 和闭锁蛋白或闭锁带-1 (occludin or zonula occludens-1, OCLN/ZO-1) 有关。稳定敲除 *TWIST1* 基因则大部分涵盖了敲除 *SLUG/SNAIL2* 基因的转录效应, 并且随着 *TWIST1* mRNA 水平降低, EMT 驱动子 SNAIL2 和 EMT 标记波形蛋白和纤维连接蛋白受到抑制。耐药细胞株 *JIMT1* 敲除 *TWIST1* 基因, 则细胞中 CD24 转录水平也显著升高, 但 CD44 转录水平仍未改变; 同时, Herceptin 对 *SLUG/SNAIL2* 基因敲除的 *JIMT1* 细胞生长抑制作用明显, 药物敏感性增加^[15]。

2.2 Notch信号通路的活化及配体Jagged1的过表达

Noch1 和 Notch 配体 Jagged1 的过表达提示患者预后不良, HER2 的高表达则抑制了细胞膜上 Jagged1 的表达, 从而减弱 Jagged1 富集的乳腺干细胞的能力。当 HER2 被雷帕替尼抑制时, 细胞膜上的 Jagged1 从低表达向高表达转换, 同时 Notch 被诱导表达, 停留在分裂 S 期的细胞百分比增加, 最终诱导出对雷帕替尼耐药的乳腺癌干细胞, 而 Jagged1 高表达的细胞具有较高的致瘤能力和富

集 CSCs 的能力^[16]。研究表明, CD44⁺CD24^{low}CSCs 亚群由于自噬导致 HER2 在细胞膜上表达水平较低, 自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞) 无法靶向 HER2 以促进抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用, 因此 Herceptin 无法有效靶向 CD44⁺CD24^{low} CSCs 致瘤亚群^[17]。使用 Notch 信号通路抑制剂与 Herceptin 联合使用, 在抑制 Notch 信号通路的同时, 也可明显诱导耐药细胞的凋亡。在敏感株中敲除 *Notch-1* 基因后细胞增殖能力降低 30%, 而在 Herceptin 耐药株中可降低 50%, 因此 Notch 信号通路的活化与肿瘤干细胞的存活和自我更新有关。研究表明, 先后靶向 HER2 和 Jagged1 用药既可以消除 HER2 驱动肿瘤细胞的作用, 也可以消除抗 HER2 诱导的 Jagged1 富集的 CSCs, 或者联合使用 pSTAT3 抑制剂在抑制 Notch 信号通路的同时也可明显诱导耐药细胞的凋亡^[16]。

3 宿主免疫与Herceptin靶向治疗及肿瘤异质性的相互作用

HER2 阳性乳腺癌通常被认为比激素受体阳性 (HR⁺)/HER2 阴性乳腺癌更具有免疫原性, 而特异性分子 HER2 阳性富集的亚群比其他 (如 Lumina A 或 B) 更具有免疫原性^[18], 由此可见宿主免疫系统在 HER2 阳性乳腺癌中起着重要作用。研究发现, HER2 阳性乳腺癌细胞的肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs) 水平一般高于激素受体阳性 (HR⁺)/HER2 阴性乳腺癌细胞, 也提示 HER2 阳性通常具有较强的免疫原性^[19], 对 Herceptin 的反应比肿瘤浸润淋巴细胞水平较低的肿瘤更明显^[20-21]。肿瘤浸润淋巴细胞的高百分比通常预示着临床上预后较好^[22], 这可能是因为 Herceptin 与 HER2 胞外区结合促进了 HER2 内化和细胞内降解, 增强了 HER2 在主要组织相容性复合体 (MHC) 受体上的表达。因此, 宿主免疫与 Herceptin 靶向治疗及肿瘤异质性的相互作用有关。

3.1 Herceptin与免疫系统的相互作用促进特异性T细胞免疫

Herceptin 主要通过 NK 细胞介导的抗体依赖性细胞毒作用 (ADCC) 来抑制肿瘤细胞生长或杀伤肿瘤细胞。当 Herceptin 与细胞表面的 HER2 结合时, 免疫球蛋白的 Fc 段与天然免疫效应细胞上的 Fc γ 受体 (Fc γ R) 相互作用, 从而激活 NK 细胞、中性粒细胞和 $\gamma\delta$ T- 细胞等发挥 ADCC 作用, 这种 ADCC 作用增加了肿瘤微环境中肿瘤抗原的表达, 同时有

利于 Fc γ R 介导的抗原提呈细胞对免疫复合物的吞噬作用^[23]。因此,提高免疫细胞对肿瘤细胞的杀伤能力是克服耐药的关键。然而,恶性肿瘤患者肿瘤细胞可产生可溶性免疫抑制分子从而使机体免疫系统处于抑制状态,同时缺少相关免疫共刺激因子、细胞毒 T 细胞相关抗原以及辅助 T 细胞等,因此恶性肿瘤患者存在的肿瘤逃逸现象使得目前免疫治疗的疗效受到一定限制。过表达 HER2 的 BT474 荷瘤小鼠中,96% 的肿瘤生长可被 Herceptin 抑制;然而,在缺乏 Fc 受体的小鼠中,仅有 29% 的肿瘤的生长被抑制^[24-25]。Herceptin 与天然免疫系统的相互作用促进了肿瘤特异性 T 细胞免疫的发生和发展,这一促进作用主要来自两方面:其一,NK 细胞主要为树突状细胞,可增强肿瘤抗原向细胞毒性 CD8⁺T 细胞的提呈,并增强 CD4⁺T 细胞向抗肿瘤 T 辅助型 1 (Th1) 表型的极化;其二,Herceptin 依赖的 NK 细胞活化可促进细胞因子分泌,从而促进免疫细胞募集和功能极化^[23]。另有研究提示,瘤周脂肪细胞及前脂肪细胞可以分泌一些细胞外基质成分,在肿瘤、抗体及免疫细胞间形成物理屏障,致使 ADCC 效应减弱,从而引起肿瘤细胞的免疫逃逸,直接对肿瘤细胞产生保护作用^[26]。近来,能够释放抗肿瘤免疫反应的药物,如检查点抑制剂等,开辟了新的肿瘤治疗策略^[27],因此免疫系统不仅对预后起着重要作用,而且对 Herceptin 的治疗有很大的帮助。

3.2 Herceptin 刺激免疫效应细胞分泌 IFN γ 从而上调 PD-L1

Herceptin 已被证明具有 HER2 抗体介导的抗肿瘤活性,可上调免疫检查点分子并导致免疫逃避,这可能与适应性免疫应答有关。研究表明,Herceptin 与靶向免疫检查点的药物联合使用,可以抑制部分 Herceptin 耐药^[25,28]:在肿瘤浸润淋巴细胞中可观察到程序性细胞死亡蛋白 1 (programmed cell death-1, PD-1)、程序性细胞死亡配体 1 (programmed cell death-1 ligand, PD-L1) 和其他免疫检查点分子高表达^[27];使用 Herceptin 治疗 HER2 转基因小鼠,可上调 T 细胞应答的重要负调节因子 PD-L1。单用 Herceptin 作用于 HER2 过表达的人乳腺癌细胞时 PD-L1 表达水平无明显改变,但在 HER2 过表达乳腺癌细胞与人外周血免疫细胞共同培养时 PD-L1 表达水平升高,而且 PD-L1 上调这一现象可被中和干扰素 γ 的药物所抑制。使用 Herceptin 治疗 HER2 高表达的乳腺癌细胞时,加入重组干扰素 γ 可显著上调 PD-L1 的水平,但在 HER2 阴性细胞中无此现

象。敲除 HER2 或使用 HER2 激酶抑制剂时,乳腺癌细胞 PD-L1 蛋白水平明显下降^[29]。在免疫细胞存在的情况下,Herceptin 对 PD-L1 的上调仅限于 PD-L1 基础表达水平高的 HER2 过表达乳腺癌细胞;而抑制 HER2 下游的细胞信号转导也可能下调 PD-L1,但这一现象取决于癌细胞的遗传背景。在动物实验中发现,使用抗 PD-L1 和抗 HER2 的联合抗体,和单独使用其中任何一种药物相比,可以明显提高抗肿瘤效果,并能提高机体免疫应答反应,增加肿瘤内杀伤性 CD8⁺T 淋巴细胞的比例。因此,这种双特异性抗体通过对 HER2 阳性转移性乳腺癌中 PD-1/PD-L1 检查点的阻断增强了抗肿瘤作用^[30]。

4 表观遗传相关基因的沉默导致 Herceptin 耐药

DNA 甲基化作为一种重要的表观遗传修饰,参与调控多种关键基因在癌症中的表达^[31],因此 DNA 甲基化状态已成为一种非常有潜力的癌症表观遗传生物标志物。这些表观遗传标记可用于早期发现肿瘤或识别癌症风险增加的患者,以及评估患者疾病进展或预测患者对抗癌药物的反应,例如乳腺癌启动子甲基化灭活 *BRCA1*^[32] 和 *RASSF1A*^[33] 等,然而与 Herceptin 抗性相关的甲基化基因尚不明确。有研究者应用 DNA 甲基化芯片、转录组学分析 (RNA-Seq)、NGS (next generation sequencing) 等技术对耐药株 *JIMI1* 细胞和敏感株 *SKBR3* 细胞的差异表达基因进行分析,发现一些差异表达基因是多克隆抑制复合物 2 (PRC2) 的组成部分,它们在耐药株 *JIMI1* 细胞中表达较高,提示 PRC2 复合物在 Herceptin 抗性中可能起作用,这可能与 Wnt 信号通路有关^[34]。

4.1 CpG 岛甲基化沉默 *TGFBI* 基因诱导 Herceptin 耐药

在 Herceptin 敏感和耐药 HER2 阳性人乳腺癌细胞模型中,有研究人员通过 DNA 甲基化芯片、RNA-Seq 等方法对耐药型和敏感型细胞进行了分析。通过分析基因转录起始位点相关的启动子 CpG 岛的甲基化发现,*TGFBI* 基因的表观遗传失活,表明 CpG 岛的甲基化可能与 Herceptin 的耐药途径相关;而 *TGFBI* 的高甲基化也提示,其作为 HER2 阳性乳腺癌患者 Herceptin 耐药的生物标记物具有潜在的临床应用价值。在敏感和耐药细胞模型中,通过 DNA 甲基化芯片、RNA-Seq 对 *TGFBI*、*CXCL2* 和 *SLC38A1* 等基因的甲基化水平和表达水平进行分析发现,这些基因的甲基化水平升高和基因表达

水平下降与 Herceptin 耐药相关。在原发性肿瘤中, HER2 阳性乳腺癌患者 *TGFBI* 基因高甲基化与 Herceptin 耐药显著相关, 耐药模型中 *TGFBI* 的异位表达提示对 Herceptin 治疗的敏感性增加^[35]。

4.2 miR-375表观遗传沉默与*ANKRD44*基因沉默诱导HER2阳性乳腺癌耐药

Ye 等^[36]对耐药乳腺癌细胞进行微阵列分析并筛选出差异常表达的 micro-RNAs (miRNAs), 发现 miR-375 是 Herceptin 处理的乳腺癌细胞中少数几个显著下调的 miRNA 之一, 该 miRNA 通过靶向 IGF1R 成为 Herceptin 作用的关键调节因子。miR-375 表观遗传沉默通过靶向 IGF1R 并使其上调, 从而诱导 HER2 阳性乳腺癌耐药, 因此 miR-375 可作为潜在的靶点与 Herceptin 联合治疗 HER2 阳性乳腺癌。La Ferla 等^[37]在部分乳腺癌患者中根据接受 Herceptin 新辅助治疗的特异性反应, 将其全部外显子进行测序, 发现 *ANKRD44* 基因在 HER2 乳腺癌细胞系 *BT474* 中被沉默, 且通过 TAK1 (TGF β -activated kinase 1)/AKT 信号通路激活核转录因子 (nuclear factor κ B, NF- κ B), 导致耐药细胞的糖酵解水平上升、乳酸脱氢酶 β 蛋白上调以及肿瘤相关钙信号转导蛋白 (tumor-associated calcium signal transducer 2, TROP2) 表达升高, 而 TROP2 蛋白表达增加则与侵袭性肿瘤有关, 由此推测 *ANKRD44* 基因是一个潜在的参与 Herceptin 耐药的基因。因此, *ANKRD44* 基因沉默是 Herceptin 耐药的一个新的关键因素, 也是 Herceptin 新辅助治疗应答的一个可能的预测指标, 抑制 NF- κ B 可作为提高细胞对 Herceptin 敏感性的一种新策略。

4.3 MEL-18扩增有助于维持Herceptin的敏感性

MEL-18 位于 HER2 基因扩增子上, 约在 30%~50% 的 HER2 阳性乳腺肿瘤中过表达。MEL-18 扩增使得肿瘤对 Herceptin 敏感性增加, 同时提示临床效果较好; 反之, 其减少则通过促进去整合素金属蛋白酶 (a disintegrin and metalloprotease, ADAM) 介导的 ErbB 配体的产生和受体异二聚化诱导 Herceptin 耐药。先前研究表明, 多梳 (polycomb group, PcG) 蛋白是重要的表观遗传调节因子, 由抑制复合体 (polycomb-repressive complex, PRC) 1 和 PRC2 两个多重复合体组成, 而 MEL-18 及其同源物 BMI-1 是 PRC1 的核心组成部分^[38]。MEL-18 敲低导致 HB-EGF、NRG1 分泌的数量减少以及特异的 EGFR 和 HER3 的配体数量增加, MEL-18 过表达则 EGFR 和 HER3 的配体等数量减少, 因此, MEL-18 通过抑

制配体介导的 ErbB 异二聚化来降低 ErbB 受体激酶活性。通过对 MEL-18 靶向的 ADAM10、ADAM17、TGF-A 等基因的差异性表达分析发现, ADAM 家族蛋白在介导 ErbB 的功能中发挥着重要作用。MEL-18 与 PRC2 和 PRC1 协同抑制 ADAM10 和 ADAM17 的表达, ADAM10/17 抑制剂和 Herceptin 联合使用可以克服由于 MEL-18 丢失导致的 Herceptin 耐药。伴随 MEL-18 扩增和 ADAM17 低表达的接受 Herceptin 治疗的患者显示无进展生存期延长, 而 MEL-18 通过介导 HER2 的功能来提高肿瘤对 Herceptin 的敏感性^[39]。

5 展望

采用 Herceptin 治疗 HER2 过表达的乳腺癌, 可明显延长患者生存时间, 但是随之而来产生的耐药以及耐药后的临床治疗仍然是亟需解决的难题之一, 因此全面认识产生耐药的潜在分子机制对肿瘤的防治具有重要意义。前文阐述了 HER2 阳性乳腺癌靶向治疗药物 Herceptin 耐药机制主要包括 HER2 基因突变、PI3K 调控通路的异常激活、肿瘤干细胞的自我更新、宿主免疫调控、表观遗传学的影响等多个方面。除此之外, 在 Herceptin 耐药机制中, PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)、热休克蛋白 90、p27^{Kip1}、黏蛋白 4 (mucin 4, MUC4) 等均可作为生物标志物, 因此可根据生物标志物的变化调整相应的靶向药物。目前, 克服 Herceptin 耐药的主要方法是联合用药, 例如联合使用 PI3K/AKT 及 Ras/MAPK 信号通路抑制剂、酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 拉帕替尼、T-DM1^[40-42]、细胞周期素依赖性激酶抑制剂 (CDKIs) 以及增加肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)^[43] 等。联合使用抗 HER2 抗体和抗 HER3 抗体的药物, 可抑制 HER2-HER3 相互作用, 从而提高肿瘤治疗效果^[44]。一种人肽酶 D 的重组酶活性突变体 PEPD^{G278D} 可与 HER2 胞外域结合, 下调表皮生长因子受体 (EGFR), 并强烈抑制癌细胞中 MUC4 对 HER2 的保护作用, 从而使 HER2 直接降解, 同时也提高了紫杉醇的治疗效果, 这有助于克服 HER2 阳性乳腺癌的耐药^[45]。通常联合用药的目的是增加患者对 Herceptin 的敏感性, 改善乳腺癌患者的预后, 然而同时联合使用多种药物势必会给患者带来负担。阐明 Herceptin 产生耐药的关键机制, 不仅有助于研发新型靶向药物, 恢复患者对药物的敏感性, 又可减轻患者的负

担, 也为寻找肿瘤治疗新途径提供了参考依据。因此, 进一步针对 HER2 阳性乳腺癌靶向治疗药物 Herceptin 耐药机制的基础或临床研究十分必要。

综上, 对 HER2 阳性乳腺癌靶向治疗药物 Herceptin 耐药机制的研究还不足, 因此更为全面地研究基因突变、表观遗传、肿瘤干细胞促瘤或抑瘤作用及机制, 对于靶向药物 Herceptin 抗肿瘤作用至关重要, 也可寻找肿瘤防治新靶点提供思路。

[参 考 文 献]

- [1] Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, 1987, 235: 177-82
- [2] Hubalek M, Brunner C, Mattha K, et al. Resistance to HER2-targeted therapy: mechanisms of trastuzumab resistance and possible strategies to overcome unresponsiveness to treatment. *Wien Med Wochenschr*, 2010, 160: 506-12
- [3] Kong X, Zhang K, Wang X, et al. Mechanism of trastuzumab resistance caused by HER-2 mutation in breast carcinomas. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 5971-82
- [4] Zuo WJ, Jiang YZ, Wang YJ, et al. Dual characteristics of novel HER2 kinase domain mutations in response to HER2-targeted therapies in human breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2016, 22: 4859-69
- [5] Kancha RK, von Bubnoff N, Bartosch N, et al. Differential sensitivity of ERBB2 kinase domain mutations towards lapatinib. *PLoS One*, 2011, 6: e26760
- [6] Zabransky DJ, Yankaskas CL, Cochran RL, et al. HER2 missense mutations have distinct effects on oncogenic signaling and migration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: E6205-14
- [7] Li J, Xiao Q, Bao Y, et al. HER2-L755S mutation induces hyperactive MAPK and PI3K-mTOR signaling, leading to resistance to HER2 tyrosine kinase inhibitor treatment. *Cell Cycle*, 2019, 18: 1513-22
- [8] Christodoulou C, Oikonomopoulos G, Koliou GA, et al. Evaluation of the insulin-like growth factor receptor pathway in patients with advanced breast cancer treated with Trastuzumab. *Cancer Genom Proteom*, 2018, 15: 461-71
- [9] Giuliano M, Trivedi MV, Schiff R. Bidirectional crosstalk between the estrogen receptor and human epidermal growth factor receptor 2 signaling pathways in breast cancer: molecular basis and clinical implications. *Breast Care (Basel)*, 2013, 8: 256-62
- [10] McDermott MSJ, Canonici A, Ivers L, et al. Dual inhibition of IGF1R and ER enhances response to trastuzumab in HER2 positive breast cancer cells. *Int J Oncol*, 2017, 50: 2221-8
- [11] 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 p95HER2 receptor. *Clin Cancer Res*, 2010, 16: 2688-95
- [12] Abraham J, Montero AJ, Jankowitz RC, et al. Safety and efficacy of T-DM1 plus neratinib in patients with metastatic HER2-positive breast cancer: NSABP Foundation Trial FB-10. *J Clin Oncol*, 2019, 37: 2601-9
- [13] Farnie G, Clarke RB. Mammary stem cells and breast cancer--role of Notch signalling. *Stem Cell Rev*, 2007, 3: 169-75
- [14] Chung SS, Giehl N, Wu Y, et al. STAT3 activation in HER2-overexpressing breast cancer promotes epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell traits. *Int J Oncol*, 2014, 44: 403-11
- [15] Oliveras-Ferreras C, Corominas-Faja B, Cufi S, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) confers primary resistance to trastuzumab (Herceptin). *Cell Cycle*, 2012, 11: 4020-32
- [16] Shah D, Wyatt D, Baker AT, et al. Inhibition of HER2 increases JAGGED1-dependent breast cancer stem cells: role for membrane JAGGED1. *Clin Cancer Res*, 2018, 24: 4566-78
- [17] Diessner J, Bruttel V, Stein RG, et al. Targeting of preexisting and induced breast cancer stem cells with trastuzumab and trastuzumab emtansine (T-DM1). *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1149
- [18] Nuciforo P, Pascual T, Cortes J, et al. A predictive model of pathologic response based on tumor cellularity and tumor-infiltrating lymphocytes (CeTIL) in HER2-positive breast cancer treated with chemo-free dual HER2 blockade. *Ann Oncol*, 2018, 29: 170-7
- [19] Stanton SE, Adams S, Disis ML. Variation in the incidence and magnitude of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer subtypes: a systematic review. *JAMA Oncol*, 2016, 2: 1354-60
- [20] Savas P, Loi S. Investigating the positive relationship between tumor-infiltrating lymphocytes and trastuzumab therapy. *Immunotherapy*, 2014, 6: 803-5
- [21] Loi S. Tumor-infiltrating lymphocytes, breast cancer subtypes and therapeutic efficacy. *Oncoimmunology*, 2013, 2: e24720
- [22] Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol*, 2018, 19: 40-50
- [23] Muntasell A, Cabo M, Servitja S, et al. Interplay between natural killer cells and anti-HER2 antibodies: perspectives for breast cancer immunotherapy. *Front Immunol*, 2017, 8: 1544
- [24] Gennari R, Menard S, Fagnoni F, et al. Pilot study of the mechanism of action of preoperative trastuzumab in patients with primary operable breast tumors overexpressing HER2. *Clin Cancer Res*, 2004, 10: 5650-5
- [25] Clynes RA, Towers TL, Presta LG, et al. Inhibitory Fc receptors modulate *in vivo* cytotoxicity against tumor targets. *Nat Med*, 2000, 6: 443-6
- [26] Duong MN, Cleret A, Matera EL, et al. Adipose cells promote resistance of breast cancer cells to trastuzumab-

- mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Breast Cancer Res*, 2015, 17: 57
- [27] Loi S, Giobbie-Hurder A, Gombos A, et al. Pembrolizumab plus trastuzumab in trastuzumab-resistant, advanced, HER2-positive breast cancer (PANACEA): a single-arm, multicentre, phase 1b-2 trial. *Lancet Oncol*, 2019, 20: 371-82
- [28] Park S, Jiang Z, Mortenson ED, et al. The therapeutic effect of anti-HER2/neu antibody depends on both innate and adaptive immunity. *Cancer Cell*, 2010, 18: 160-70
- [29] Chaganty BKR, Qiu S, Gest A, et al. Trastuzumab upregulates PD-L1 as a potential mechanism of trastuzumab resistance through engagement of immune effector cells and stimulation of IFN γ secretion. *Cancer Lett*, 2018, 430: 47-56
- [30] Mittal D, Vijayan D, Neijssen J, et al. Blockade of ErbB2 and PD-L1 using a bispecific antibody to improve targeted anti-ErbB2 therapy. *Oncoimmunology*, 2019, 8: e1648171
- [31] Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med*, 2008, 358: 1148-59
- [32] Duffy MJ, Napieralski R, Martens JW, et al. Methylated genes as new cancer biomarkers. *Eur J Cancer*, 2009, 45: 335-46
- [33] Dammann R, Schagdarsurengin U, Strunnikova M, et al. Epigenetic inactivation of the Ras-association domain family 1 (RASSF1A) gene and its function in human carcinogenesis. *Histol Histopathol*, 2003, 18: 665-77
- [34] Nava M, Dutta P, Farias-Eisner R, et al. Utilization of NGS technologies to investigate transcriptomic and epigenomic mechanisms in trastuzumab resistance. *Sci Rep*, 2019, 9: 5141
- [35] Palomerias S, Diaz-Lagares A, Vinas G, et al. Epigenetic silencing of TGFBI confers resistance to trastuzumab in human breast cancer. *Breast Cancer Res*, 2019, 21: 79
- [36] Ye XM, Zhu HY, Bai WD, et al. Epigenetic silencing of miR-375 induces trastuzumab resistance in HER2-positive breast cancer by targeting IGF1R. *BMC Cancer*, 2014, 14: 134
- [37] La Ferla M, Lessi F, Aretini P, et al. *ANKRD44* gene silencing: a putative role in Trastuzumab resistance in Her2-like breast cancer. *Front Oncol*, 2019, 9: 547
- [38] Sauvageau M, Sauvageau G. Polycomb group proteins: multi-faceted regulators of somatic stem cells and cancer. *Cell Stem Cell*, 2010, 7: 299-313
- [39] Lee JY, Joo HS J, Choi HJ, et al. Role of MEL-18 amplification in anti-HER2 therapy of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2019, 111: 609-19
- [40] Martin M, Holmes FA, Ejlertsen B, et al. Neratinib after trastuzumab-based adjuvant therapy in HER2-positive breast cancer (ExteNET): 5-year analysis of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2017, 18: 1688-700
- [41] Swain SM, Baselga J, Kim SB, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *N Engl J Med*, 2015, 372: 724-34
- [42] Balduzzi S, Mantarro S, Guarneri V, et al. Trastuzumab-containing regimens for metastatic breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014: CD006242
- [43] Diaz-Rodriguez E, Perez-Pena J, Rios-Luci C, et al. TRAIL receptor activation overcomes resistance to trastuzumab in HER2 positive breast cancer cells. *Cancer Lett*, 2019, 453: 34-44
- [44] Watanabe S, Yonesaka K, Tanizaki J, et al. Targeting of the HER2/HER3 signaling axis overcomes ligand-mediated resistance to trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *Cancer Med*, 2019, 8: 1258-68
- [45] Yang L, Li Y, Bhattacharya A, et al. A recombinant human protein targeting HER2 overcomes drug resistance in HER2-positive breast cancer. *Sci Transl Med*, 2019, 11: eaav1620