

乳腺癌抗 HER2 单克隆抗体研究进展

周涵星, 徐 菲

作者单位: 510000 广州, 中山大学肿瘤防治中心内科

作者简介: 周涵星, 医学硕士, 住院医师, 研究方向: 乳腺癌内科治疗。E-mail: zhouhx@sysucc.org.cn

通信作者: 徐 菲, 医学博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 乳腺肿瘤的内科诊疗和全程管理。E-mail: xufei@sysucc.org.cn



徐 菲, 医学博士, 中山大学肿瘤防治中心内科主诊教授, 副主任医师, 硕士研究生导师。中国临床肿瘤学会青委会常务委员, 中国临床肿瘤学会乳腺癌专委会委员, 中国抗癌协会乳腺癌专委会 (CBCS) 青年专家组成员, 中国南方肿瘤临床研究协会 (CSWOG) 青委会常务委员, 广东省抗癌协会化疗专业委员会常务委员兼秘书长, 广东省精准医学应用学会肿瘤综合治理分会副主任委员, 广东省胸部肿瘤防治委员会乳腺癌专业委员会常务委员兼秘书长, 广东省医学教育协会肿瘤学专业委员会常委委员, 广东省中西医结合学会乳腺病专业委员会委员, 广东省药学会乳腺科用药专家委员会委员, 广州抗癌协会乳腺癌专业委员会常务委员。

2000 年毕业于中山医科大学临床医学系, 毕业后一直在中山大学附属肿瘤医院内科从事一线临床工作, 有丰富的临床抗肿瘤经验及临床新药研究经验, 擅长乳腺肿瘤的内科诊疗和全程管理。主持并参与国家自然科学基金及其他科研项目多项, 近年的研究成果发表在《肿瘤学家》(Oncologist)、《癌症通讯》(Cancer Communications)、《癌症基因治疗》(Cancer Gene Therapy) 等国际知名期刊。

[摘要] 在过去几十年, 人们对人表皮生长因子受体 2 (HER2) 致癌机制认识的提高促进了 HER2 靶向疗法的开发, 例如抗 HER2 单克隆抗体、酪氨酸激酶抑制剂、双特异性抗体以及抗体偶联药物, 这些药物目前通常用于 HER2 阳性乳腺癌。单克隆抗体曲妥珠单抗是目前 HER2 靶向治疗的基石, 其作用机制是通过抗体的抗原结合片段识别肿瘤细胞表面的 HER2 位点, 然后通过可结晶段 (Fc) 与免疫细胞表面的 Fc 受体 (FcR) 结合, 介导抗体依赖性的细胞毒作用 (ADCC) 和抗体依赖的细胞吞噬作用 (ADCP), 其中 Fc γ 受体 (Fc γ R) 是主要发挥作用的 FcR 家族成员。但人体内 Fc γ R 存在基因的多态性, 不同基因表型的个体与曲妥珠单抗之间有不同的亲和力, 亲和力低的患者使用曲妥珠单抗抗肿瘤效果差, 所以基于曲妥珠单抗的结构, 通过对其 Fc 段进行改造, 如糖基化修饰和氨基酸变异, 可增强 Fc 与 FcR 之间的亲和力和结合密度, 进而增强 ADCC 和 ADCP 作用, 其中 Fc 段氨基酸变异的抗 HER2 单抗马吉妥昔单抗已应用于临床。同时单克隆抗体的抗原结合片段也可通过进一步改造识别不同的 HER2 表位或者同时识别非 HER2 表位, 增加了免疫细胞表面 Fc γ R 结合位点的密度并促进 ADCC, 此类药物包括帕妥珠单抗、双特异性抗体等。该文对乳腺癌抗 HER2 单克隆抗体研究进展作一综述。

[关键词] 乳腺癌; 人表皮生长因子受体 2; 单克隆抗体; 靶向治疗

[中图分类号] R 737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)06-0488-08

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.06.04

Research progress of novel HER2-targeted monoclonal antibodies for breast cancer ZHOU Han-xing, XU Fei.
Department of Internal Medicine, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510000, China

[Abstract] Over the past few decades, an improved understanding of the carcinogenic mechanism of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) has led to the development of HER2-targeted therapies such as HER2-targeted monoclonal antibodies, tyrosine kinase inhibitors, bispecific antibodies, and antibody-drug conjugate, which are currently commonly used for HER2-positive breast cancer. Among them, the monoclonal antibody trastuzumab is the cornerstone of the current HER2-targeted therapy and its mechanism is to mediate antibody-dependent cytotoxicity (ADCC)

and antibody-dependent cellular phagocytosis(ADCP) through the binding of fragment crystallizable(Fc) to Fc receptors(FcR) on the surface of immune cells after the fragment of antigen binding of the antibody recognizes the HER2 site on the surface of tumor cells. Among the FcR, Fc γ receptors(Fc γ R) are the main group of the FcR family. However, because of gene polymorphism of Fc γ R in the human body, individuals with different phenotypes have different affinities with trastuzumab. Patients with low affinity who receive the monoclonal antibody trastuzumab have poor anti-tumor effects. And by engineering its Fc fragment through glycosylation modification and amino acid mutation based on the structure of trastuzumab, the affinity and binding density between Fc and FcR can be enhanced, thereby improving the effects of ADCC and ADCP. One of the anti-HER2 monoclonal antibody magetuximab with amino acid mutation in the Fc fragment has been used in clinical practice. Furthermore, the antigen-binding fragments of monoclonal antibodies can also be further modified to recognize different HER2 epitopes or simultaneously recognize non-HER2 epitopes, which increases the density of Fc γ R binding sites on the surface of immune cells and then promotes ADCC. These drugs include pertuzumab and various upcoming bispecific antibodies. In this paper, the research progress of novel HER2-targeted monoclonal antibodies for breast cancer is reviewed.

[Key words] Breast cancer; Human epidermal growth factor receptor 2(HER2); Monoclonal antibody; Targeted therapy

乳腺癌患者中有 15% ~ 20% 存在人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)扩增,HER2 阳性与乳腺癌的侵袭性相关,会带来更高的复发转移概率和较差的存活率^[1]。曲妥珠单抗是一种人源化 HER2 定向单克隆抗体,可提高早期 HER2 阳性乳腺癌的无病生存期(disease-free survival,DFS)和总生存期(overall survival,OS)。也可改善 HER2 阳性转移性乳腺癌(metastatic breast cancer, MBC)的无进展生存期(progression-free survival,PFS)和 OS^[2-3]。曲妥珠单抗是第一个获批用于癌症治疗的人源化单抗,也是第一个获批用于治疗乳腺癌的生物制剂。自 1998 年首次获得监管批准以来,曲妥珠单抗已被应用于全球超过 250 万妇女,并被列入世界卫生组织的基本药物清单。曲妥珠单抗已经彻底改变了 HER2 阳性乳腺癌的治疗方法^[2-3]。基于曲妥珠单抗的抗 HER2 治疗进入蓬勃发展的时代,不同作用机制、不同靶点的抗 HER2 药物层出不穷,包括靶向不同位点的大分子单克隆抗体、小分子酪氨酸激酶抑制剂、抗体偶联药物、双特异性抗体等。这些药物的出现大大改善了 HER2 阳性乳腺癌患者的预后,但是对于晚期患者来说,仍不可避免出现反复复发转移或进展。对复发难治型的 HER2 阳性 MBC 在临床上仍是需要攻克的难题。本文将回顾抗 HER2 阳性单克隆抗体药物的发展历程,包括抗体可结晶段(fragment crystallizable,Fc)及抗原结合片段(fragment of antigen binding,Fab)改构类单抗。

1 Fc 段工程优化的抗 HER2 单克隆抗体

1.1 可结晶段受体(fragment crystallizable receptors, FcR)及 Fc γ 受体(Fc γ receptors,Fc γ R) FcR 是 HER2

单克隆抗体发挥作用的基础之一,其一般在免疫细胞表面表达,与单抗的 Fc 段结合^[4-5]。Fc γ R 是 FcR 中最庞大的一组,包括多种亚型,如 Fc γ R I、Fc γ R II a、Fc γ R II b、Fc γ R III a、Fc γ R III b。其中,Fc γ R III a(CD16A)和 Fc γ R II a(CD32A)是激活性受体,Fc γ R II b(CD32B)是抑制性受体^[4,6]。激活性信号是通过胞内的免疫受体酪氨酸活化基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif,ITAM)传递的,抑制性 Fc γ R 则包含一个免疫受体酪氨酸的抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif,ITIM),当抑制性受体和激活性受体共同参与时,该抑制基序会对抗细胞活化^[4,7]。激活性 Fc γ R 与单抗的 Fc 段结合,可激活多种免疫活动,主要包括介导抗体依赖性的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity,ADCC)和抗体依赖的细胞吞噬作用(antibody-dependent cellular phagocytosis,ADCP)。除此之外,还参与细胞因子与趋化因子的诱导^[8]。ADCC 主要由自然杀伤(natural killer, NK)细胞介导,单抗的 Fab 段与肿瘤细胞表面 HER2 结合后,Fc 段与 NK 细胞表面的 Fc γ R III a 结合,启动 NK 细胞对肿瘤的杀伤作用,NK 细胞释放穿孔素、颗粒酶杀伤肿瘤细胞。体外研究中证实使用曲妥珠单抗后的乳腺癌细胞可以激活 ADCC 作用^[9],Fc γ R 基因敲除的小鼠模型也证实 Fc γ R 在体内介导的抗肿瘤作用^[10]。ADCP 由巨噬细胞、单核细胞或中性粒细胞等吞噬细胞介导,主要是由巨噬细胞介导,巨噬细胞可表达所有类别的 Fc γ R。与 ADCC 过程相似,Fab 段与肿瘤细胞结合后,Fc 段通过与巨噬细胞表面的 Fc γ R II a 结合,激活巨噬细胞吞噬肿瘤细胞,这是靶向 HER2 阳性肿瘤的抗体的另一个重要的 Fc 介导作

用机制。来自原发性人类乳腺肿瘤的肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)已被证明可促进肿瘤进展,而 TAM 浸润增加通常与肿瘤进展相关^[11]。然而, TAM 表达的激活性受体 FcγR II a 和 FcγR III a 水平升高,并保留吞噬肿瘤的能力^[12]。在小鼠中进行的乳腺癌异种移植研究,通过氯膦酸盐脂质体耗竭巨噬细胞,证明了曲妥珠单抗的抗肿瘤活性也取决于肿瘤组织中巨噬细胞的募集^[13]。适应性免疫也参与单抗的抗肿瘤作用,活化 NK 细胞介导的 ADCC 或巨噬细胞等其他免疫细胞介导的 ADCP,导致肿瘤细胞裂解,释放肿瘤抗原。这些抗原可以被抗原递呈细胞摄取、加工并引发适应性 T 细胞介导的抗肿瘤反应^[4,14]。活化的 NK 细胞释放的细胞因子促进巨噬细胞和树突状细胞活化,进而刺激细胞毒性 T 细胞迁移到肿瘤内部^[14-15]。抗肿瘤单克隆抗体诱导 ADCC 和 ADCP 的抗体与肿瘤抗原免疫复合物的生成^[16]。抗原呈递细胞摄取和加工这些免疫复合物,从而促进肿瘤抗原呈递给 T 细胞,导致 T 细胞记忆效应和抗肿瘤疫苗长期作用^[16]。曲妥珠单抗被发现增加树突状细胞对 HER2 抗原的摄取^[17]。具体而言,增加 HER2 抗原摄取导致 E75 肽(源自 HER2 蛋白的免疫显性表位)被树突状细胞交叉呈递,引发了抗肿瘤免疫反应的启动,抗原特异性细胞毒性 T 细胞生成增加^[17]。

1.2 FcγR 多态性 目前已经在人体中发现 FcγR 的多态性和多种等位基因变异^[5,18], FcγR II a 和 FcγR III a 等位基因多态性产生不同变体,其与 Fc 段亲和力各有不同,所以也产生不同效能的 ADCC 和 ADCP 作用。与 FcγR II a131R(精氨酸)和 FcγR III a158F(苯丙氨酸)相比, FcγR II a131H(组氨酸)和 FcγR III a158V(缬氨酸)分别对 Fc 具有更高的亲和力^[19]。FcγR 多态性也与抗 HER2 治疗的效果密切相关。CHER-LOB 试验在 121 例可手术的 HER2 阳性乳腺癌患者中评估了术前化疗分别联合单药曲妥珠单抗和单药拉帕替尼以及同时联合曲妥珠单抗和拉帕替尼的疗效,联合化疗加曲妥珠单抗和拉帕替尼在整个研究人群中病理完全缓解(pathologic complete response, pCR)率获得了统计学意义上的显著改善^[20]。同时 CHER-LOB 研究对 73 例患者的 FcγR III a-158 基因型分析表明,化疗加曲妥珠单抗和拉帕替尼的 pCR 率提高仅限于 FcγR III a-158V 携带者。相比之下, FcγR III a158F 纯合子对化疗加曲妥珠单抗和拉帕替尼的 pCR 率没有显著改善^[20]。另外,一项针对 15 例早期 HER2 阳性乳腺癌患者的小型前瞻性研究表明,与 FcγR II a-131R

携带者相比, FcγR II a-131H 纯合子在基于曲妥珠单抗的新辅助化疗中具有更高的 pCR 率($P=0.015$)^[21]。但是另一项针对 26 例 HER2 阳性乳腺癌患者接受基于曲妥珠单抗的新辅助化疗的小型前瞻性研究发现, FcγR II a131R 纯合子基因型与 pCR 之间存在显著关联($P=0.012$),未检测到与 FcγR III a158 多态性的关联($P=0.590$)^[22]。NSABP B-31 研究显示曲妥珠单抗+化疗辅助治疗 HER2 阳性乳腺癌可显著改善预后^[23]。该研究纳入 1 156 例患者,通过回顾性分析发现, FcγR III a-158F 纯合子患者对曲妥珠单抗获益不大 [$HR(95\% CI):0.71(0.51 \sim 1.01)$],但 FcγR III a-158V 携带者 DFS 获益明显 [$HR(95\% CI):0.31(0.22 \sim 0.43)$]^[23]。另一项研究中曲妥珠单抗+紫杉醇治疗 HER2 阳性 MBC($N=54$)的回顾性分析结果显示,相较 FcγR III a-158F 携带者, FcγR III a-158V 纯合子患者客观缓解率、PFS 以及体外 ADCC 活性更高^[24]。

1.3 糖基化修饰 Fc 段的抗 HER2 单抗 ADCC 以及 ADCP 作用的强弱与 Fc 段的结构关系密切。具有增强的 FcγR III a、FcγR II a 结合亲和力的糖工程 Fc 段曲妥珠单抗在体外比野生型曲妥珠单抗更好地介导 ADCP、ADCC 作用^[25-26]。由于曲妥珠单抗与小分子相比结构复杂性高,即使是微小的变化(例如 pH、温度和生产场所)也可能会降低产品一致性并导致目标属性漂移,欧洲和美国生产的不同批次曲妥珠单抗的 Fc 段糖基化结构会有差异,对二者进行检测发现 Fc 段高水平的岩藻糖基化聚糖与曲妥珠单抗的 Fc 与 FcγR III a 的结合减少有关,从而导致 ADCC 活性降低,以及 Fc 高水平甘露糖聚糖可致曲妥珠单抗 Fc 与 FcγR III a 的结合增加,从而导致 ADCC 活性增加^[27]。目前所有获批的单抗为免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)的亚型,在其 CH2 结构域的氨基酸 N297 处含有一个保守的糖基化位点。聚糖的核心结构由 N-乙酰氨基葡萄糖(N-acetylglucosamine, GlcNAc)和甘露糖组成,其中额外的修饰可以包括将 GlcNAc、岩藻糖、半乳糖和唾液酸这些成分二等分。Umaña 等^[28]发布了将糖工程与增强的 Fc 效应功能联系起来的首批报告之一,其表明在能表达 b(1,4)-N-乙酰氨基葡萄糖基转移酶 III 的中国仓鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary, CHO)细胞系表达的二等分 GlcNAc 增强了产生的 IgG 抗体相关的 ADCC 活性。Shields 等^[29]的一项研究证明岩藻糖缺乏的 IgG 的 FcγR III a 结合增加了高达 50 倍。Shinkawa 等^[30]后来证明,与含有二等分 GlcNAc 的抗体相比,岩藻糖缺陷抗体能更大改

善 ADCC 功能。晶体学研究可以证明无岩藻糖基化抗体和 Fc γ R III a 之间增强的相互作用的推定机制,可能是由于 Fc γ R III a 中的氨基酸 N162 含有聚糖,而岩藻糖的缺失允许 Fc 与更大的碳水化合物-碳水化合物相互作用,从而提高整体结合强度^[31]。目前,有两种糖工程抗体已获批准,即抗 CD20 单克隆抗体奥滨尤妥珠单抗和抗 CCR4 单克隆抗体莫格利珠单抗。在乳腺癌领域,糖工程化的抗 HER2 单克隆抗体较早进入临床试验阶段的有 TrasGEX,它是一种人源化抗 HER2 IgG,通过 GlycoExpress 技术进行去岩藻糖的糖基化改造,增强抗体依赖性细胞毒性,同时完全保留曲妥珠单抗与 HER2 的抗原结合特性^[32]。2018 年 Fiedler 等^[33]进行了一项 I 期剂量递增研究,确定了 TrasGEX 的最佳剂量和 II 期研究方案,证明 TrasGEX 安全且耐受性良好,并且在 50% 的可评估患者中显示出抗肿瘤活性。在一项病例报告中显示,在 1 例患有转移性 HER2 阳性结直肠癌的女性患者中,在其他可选方案都失败了的情况下,使用 TrasGEX 导致 ADCC 增强 10 ~ 140 倍^[34]。那么 TrasGEX 后续在乳腺癌方面表现如何,仍需 II 期、III 期临床试验进一步验证。在中国,BAT1006 也是一种 Fc 段糖基化修饰的新型抗 HER2 单克隆抗体,不仅能与 HER2 蛋白胞外结构域 II 结合,阻断 HER2 与其同家族其他蛋白[表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)/HER3/HER4)]生成功能性二聚体,抑制肿瘤细胞生长,并且具有 ADCC 增强作用,目前正在进行 I 期临床试验(NCT05414136)。

1.4 Fc 段氨基酸变异的抗 HER2 单抗 Fc 段氨基酸变异是另一种增强 ADCC、ADCP 作用的机制^[25-26]。研究人员通过多种方式突变 IgG Fc 段的氨基酸序列增大 ADCC、ADCP 效应。Lazar 等^[35]使用计算设计算法和高通量筛选设计了一系列具有优化 Fc γ R 亲和力的 Fc 变体,确定 S239D/I332E 和 S239D/I332E/A330 为两个具有增强 ADCC 活性的变体。Oganesyan 等^[36]解析了具有 S239D/A330L/I332E 突变的 Fc 片段的晶体结构,建模研究表明,额外的氢键、疏水接触、静电相互作用可导致 Fc 与 Fc γ R III a 的结合增强。而 Richards 等^[26]研究证明,将 G236A 添加到 S239D/I332E 突变可导致 Fc 与 Fc γ R II a 的结合强度提高多达 70 倍,Fc γ R II a/Fc γ R II b 结合比提高 13 倍,并增强 ADCP。Stavenghagen 等^[37]利用酵母表面展示技术识别变体 F243L/R292P/Y300L/V305L/P396L,其显示的 ADCC 活性增加超过 100 倍。最终 Mimoto 等^[38]通过在每

个 Fc 结构域中引入不同的氨基酸变化,设计了具有不对称工程化 Fc 结构域的抗体变体。他们筛选了约 1 000 个变体并证明在不同 Fc 结构域中 L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A 的变化和 D270E/K326D/A330M/K334E 的变化使 Fc 段对 Fc γ R III a158F 的亲合力增加超过 2 000 倍,同时也对 Fc γ R III a158V 的亲合力增加了 1 000 多倍。这些 Fc 经过氨基酸变异改造的单抗部分也获批应用于临床,但是在乳腺癌中,只有马吉妥昔单抗被批准用于 HER2 阳性 MBC,其靶向与曲妥珠单抗相同的表位,但是在 IgG Fc 结构域中的 5 个氨基酸被替代,即 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L,导致与激活性受体 Fc γ R III a 的结合增加,同时也降低与抑制性受体 Fc γ R II b 的结合^[37,39]。临床前研究表明,马吉妥昔单抗相比曲妥珠单抗具有更好的抗肿瘤活性,特别是在 JIMT-1 细胞上,该细胞系已知对其他抗 HER2 抗体的生长抑制不敏感^[40]。与曲妥珠单抗相比,马吉妥昔单抗在体外介导增强的 ADCC,在人 Fc γ R III a158F 转基因免疫缺陷小鼠的 HER2 扩增乳腺癌异种移植模型中,马吉妥昔单抗表现出比具有野生型 IgG Fc 结构域的其他相同变体更强的抗肿瘤活性^[37,39]。马吉妥昔单抗也可增强 HER2 阳性乳腺癌患者的 HER2 特异性适应性免疫反应^[41-43]。在使用马吉妥昔单抗的这些患者中,与治疗前样本相比,治疗后血液样本显示 T 细胞克隆、HER2 特异性 T 细胞数量和 HER2 特异性抗体水平均大大增加^[41-42]。该药物 I 期临床试验证明了马吉妥昔单抗具有良好的耐受性,并且具有良好的单药活性^[44]。SOPHIA 试验^[45](NCT02492711)是关键的一项 III 期临床试验,试验结果证明 HER2 阳性 MBC 患者中马吉妥昔单抗联合单药化疗与曲妥珠单抗加化疗相比可以改善 PFS。参加试验的所有患者接受过曲妥珠单抗和帕妥珠单抗治疗,超过 90% 的患者也接受过赫塞莱(T-DM1)治疗,马吉妥昔单抗组的中位 PFS 为 5.8 个月,而曲妥珠单抗组为 4.9 个月,使用马吉妥昔单抗相对风险降低 24% [$HR(95\% CI): 0.76(0.59 \sim 0.98), P = 0.03$]。马吉妥昔单抗组中期结果显示中位 OS 为 21.6 个月,曲妥珠单抗组为 19.8 个月,两组的客观缓解率分别为 22% 和 16% ($P = 0.06$),临床获益率分别为 37% 和 25% ($P = 0.003$)。根据 SOPHIA 试验的结果,2020 年 12 月美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准了马吉妥昔单抗与化疗联合用于 HER2 阳性 MBC 的三线及三线以后的治疗。目前采用马吉妥昔单抗

的多项临床试验正在进行中,其中 MARGOT 试验(NCT04425018)将马吉妥昔单抗应用于术前新辅助化疗,比较Ⅱ~Ⅲ期 HER2 阳性乳腺癌患者术前使用紫杉醇、马吉妥昔单抗联合帕妥珠单抗与紫杉醇、曲妥珠单抗联合帕妥珠单抗这两个方案的疗效,目前试验仍在进行。

2 Fab 段改造的抗 HER2 单克隆抗体

2.1 帕妥珠单抗 帕妥珠单抗靶向结合 HER2 上的不同表位,不与曲妥珠单抗竞争,该表位与二聚化结构域重叠,它携带与曲妥珠单抗相同的野生型 IgG Fc 结构域^[46-47]。帕妥珠单抗在抑制与其他 HER 家族成员(如 HER3 或 HER1)形成 HER2 二聚体方面比曲妥珠单抗更有效^[47]。帕妥珠单抗也可触发 ADCC^[47]。曲妥珠单抗和帕妥珠单抗同时与 HER2 结合提高了 HER2 阳性肿瘤细胞上 FcγR 结合位点的密度,增加了 NK 细胞介导的 ADCC 和巨噬细胞介导的 ADCC 抗肿瘤反应的可能性^[15]。但是曲妥珠单抗和帕妥珠单抗的组合在携带过表达 HER2 的人 KPL-4 乳腺癌异种移植物的裸鼠中表现出显著增强的抗肿瘤活性,这似乎仅归因于 Fc 依赖性效应,因为 KPL-4 细胞对曲妥珠单抗或帕妥珠单抗的直接抗增殖作用有耐药性^[47]。目前帕妥珠单抗在临床上多与曲妥珠单抗联用,广泛应用于新辅助、辅助化疗及晚期姑息治疗中。CLEOPATRA 临床试验中,转移性 HER2 阳性乳腺癌晚期一线使用曲妥珠单抗、帕妥珠单抗联合多西他赛的患者中位 PFS 为 18.7 个月,而对照组为 12.4 个月,延长 6.3 个月。CLEOPATRA 研究结束时,多西他赛联合曲妥珠单抗和帕妥珠单抗组的中位 OS 为 57.1 个月,而多西他赛联合曲妥珠单抗组中位 OS 为 40.8 个月[HR(95% CI):0.69(0.58~0.82)]^[48]。基于这个研究结果,FDA 于 2012 年批准帕妥珠单抗与曲妥珠单抗和多西他赛联合用于既往未接受过抗 HER2 治疗的 HER2 阳性 MBC 患者。后续 NeoSphere 试验中,多西他赛联合曲妥珠单抗和帕妥珠单抗组 pCR 率显著提高^[49],因而 2013 年 FDA 加速批准帕妥珠单抗联合曲妥珠单抗和化疗用于新辅助治疗。但是在 KRISTIN 的Ⅲ期临床试验中,同样是探索新辅助治疗方案,T-DM1 联合帕妥珠单抗对比曲妥珠单抗、帕妥珠单抗联合化疗的疗效,T-DM1 联合帕妥珠单抗组 pCR 率为 44.4%,未能超越对照组的 pCR 率(55.7%)^[50]。APHINITY 研究提示淋巴结阳性或者淋巴结阴性但具有高复发风险的患者可在辅助化疗过程中,在曲妥珠单抗基础上加用帕妥珠单抗,

但获益有限,其中淋巴结阳性的患者获益较大^[51]。由此帕妥珠单抗也被批准与曲妥珠单抗和化疗联合用于治疗高复发风险的 HER2 阳性早期乳腺癌患者。

2.2 双特异性抗体 双特异性抗体是结合了两种单克隆抗体功能的单克隆抗体,可以结合两个不同靶标或表位。双特异性抗体相比单抗而言,具备更强的抗肿瘤和免疫激活双重协同效应,有望为 HER2 阳性 MBC 提供更优的解决方案,目前 HER2 双特异性单抗的研究大多还在临床前或者Ⅰ/Ⅱ期临床试验中。zanidatamab(ZW25)可同时靶向两个不重叠的 HER2 表位(细胞外结构域 2 和 4)。与曲妥珠单抗相比,ZW25 的特点是对肿瘤细胞的亲和力增加,免疫调节活性的潜力更高,以及通过阻断配体依赖性和非依赖性肿瘤生长,产生更有效的细胞毒作用,并通过抑制 HER2 活化诱导 HER2 受体内化^[52]。目前在 HER2 阳性晚期乳腺癌、HER2 阳性晚期胃食管结合部癌(adenocarcinoma of esophagogastric junction, AEG)和晚期 HER2 阳性胆道癌中进行Ⅱ/Ⅲ期临床试验(NCT04224272、NCT04466891、NCT03929666、NCT05035836、NCT05152147)。KN026 也是一种 HER2 双特异性抗体,目前已在 HER2 阳性 MBC 中完成Ⅰ期临床试验,表明其具有良好的耐受性,即使在接受过大量预处理的患者中也能达到与曲妥珠单抗和帕妥珠单抗双药相当的疗效^[53]。此外,zenocutuzumab(MCLA-128)是一种针对 HER2 和 HER3 的 IgG,具有增强的 ADCC 效应。MCLA-128 的工作原理是先附着于 HER2,然后附着于 HER3,从而阻断调蛋白结合和信号转导,这种 HER2 和 HER3 的双重靶向还可以规避继发于 HER2 和 HER3 异二聚化的抗 HER 耐药机制。MCLA-128 的抗肿瘤作用与 ADCC 介导的 NK 细胞活化一致^[54-55],其正在对患有 HER2 阳性肿瘤(NCT02912949、NCT04100694)或雌激素受体阳性和 HER2 低表达的 MBC 患者进行Ⅱ期临床试验(NCT03321981)。PRS-343 是一种双特异性融合蛋白,靶向 CD137(4-1BB)和 HER2。CD137 是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)受体超家族的成员。它在免疫受体共刺激中起主要作用。临床前数据显示,CD137 是肿瘤反应性 T 细胞的标志物,其激活导致肿瘤消除。然而,T 细胞激活带来了剂量相关的显著毒性^[56]。CD137 和 HER 的双重靶向有可能将 CD137 阳性 T 细胞与 HER 阳性肿瘤细胞紧密相连,并向肿瘤抗原特异性 T 细胞发出强烈信号,引发抗肿瘤活性。迄今为止,还没有关于 PRS-343 的临床抗肿瘤活性的可用结果。一项正在进行的Ⅰ期

试验(NCT03330561)正在评估 PRS-343 在 HER2 阳性实体瘤中的最大耐受剂量(maximum tolerated dose, MTD)。另一项正在进行的 I b 期试验(NCT03650348)正在评估 PRS-343 联合阿特珠单抗治疗经治的 HER2 阳性转移性实体瘤的 MTD、安全性和有效性。靶向 HER2 和 CD3 的双抗如 EX101、M802 可有效激活 T 细胞,增加 CD3 阳性细胞对 HER2 阳性细胞的识别、结合和免疫杀伤能力,抑制 HER2 介导的下游信号分子丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)及丝/苏氨酸激酶(AKT)的磷酸化,对 HER2 阳性表达肿瘤细胞的增殖有显著的抑制作用,并具有 ADCC 和补体依赖的细胞毒作用(complement dependent cytotoxicity, CDC),目前这两种药物均在开展 I 期临床试验。以 HER2 和程序性死亡受体 1(programmed cell death protein 1, PD1)为靶点的双特异抗体 SSGJ-705、IBI315 也在进行 I 期临床试验(NCT05145179, NCT-04162327)。其他双特异性抗 HER2 单抗正处于临床前开发阶段。HER2(Per)-S-Fab 将帕妥珠单抗 Fab 与抗 Fc γ R III a 单抗连接,在体外显示出对 HER2 阳性肿瘤细胞的有效细胞毒性,同时在体内可抑制肿瘤生长^[57]。

3 结语

由于药物研发的进步和新型抗 HER2 疗法的出现,HER2 阳性 MBC 的治疗呈现出充满活力和创新的景象,同时也出现了新的治疗挑战,甚至对 HER2 阳性的诊断标准也提出异议。不断有新药物显示出其有希望的有效性,并很快成为临床的标准治疗。同时,还有许多创新药物正在进行临床前或早期临床阶段评估,所以促进合作试验以加速这些药物的开发非常重要。除了评估新药,还应进一步探索抗 HER2 靶向治疗药物与其他不同作用机制的药物进行组合的可能性,包括与不同的化疗、免疫治疗、靶向治疗、内分泌治疗等。在临床中实施这些复杂的治疗策略之前,需要识别出可以从不同治疗策略中获益的人群和生物标志物,这也是以后的研发发展方向。

参考文献

- [1] Owens MA, Horten BC, Da Silva MM. HER2 amplification ratios by fluorescence in situ hybridization and correlation with immunohistochemistry in a cohort of 6556 breast cancer tissues[J]. Clin Breast Cancer, 2004,5(1):63-69.
- [2] Slamon D, Eiermann W, Robert N, et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer[J]. N Engl J Med, 2011,365(14):1273-1283.
- [3] Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus

- a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2[J]. N Engl J Med, 2001,344(11):783-792.
- [4] Barnhart BC, Quigley M. Role of Fc-Fc γ R interactions in the antitumor activity of therapeutic antibodies[J]. Immunol Cell Biol, 2017,95(4):340-346.
- [5] Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fc γ receptors as regulators of immune responses[J]. Nat Rev Immunol, 2008,8(1):34-47.
- [6] Treffers LW, van Houdt M, Bruggeman CW, et al. Fc γ R III b restricts antibody-dependent destruction of cancer cells by human neutrophils[J]. Front Immunol, 2019,9:3124.
- [7] Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fc γ receptors: old friends and new family members[J]. Immunity, 2006,24(1):19-28.
- [8] Vogelpoel LT, Baeten DL, de Jong EC, et al. Control of cytokine production by human Fc gamma receptors: implications for pathogen defense and autoimmunity[J]. Front Immunol, 2015,6:79.
- [9] Pegram MD, Baly D, Wirth CJPAACRAM. Antibody dependant cell-mediated cytotoxicity in breast cancer patients in phase II clinical trials of a humanized anti-HER2 antibody[C]. Proc Am Ssoc Cancer Res Annu Meet, 1997.
- [10] 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.
- [11] Qian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis[J]. Cell, 2010,141(1):39-51.
- [12] Grugan KD, McCabe FL, Kinder M, et al. Tumor-associated macrophages promote invasion while retaining Fc-dependent anti-tumor function[J]. J Immunol, 2012,189(11):5457-5466.
- [13] Shi Y, Fan X, Deng H, et al. Trastuzumab triggers phagocytic killing of high HER2 cancer cells in vitro and in vivo by interaction with Fc γ receptors on macrophages[J]. J Immunol, 2015,194(9):4379-4386.
- [14] Ferris RL, Lenz HJ, Trotta AM, et al. Rationale for combination of therapeutic antibodies targeting tumor cells and immune checkpoint receptors: harnessing innate and adaptive immunity through IgG1 isotype immune effector stimulation[J]. Cancer Treat Rev, 2018,63:48-60.
- [15] Muntasell A, Cabo M, Servitja S, et al. Interplay between natural killer cells and anti-HER2 antibodies: perspectives for breast cancer immunotherapy[J]. Front Immunol, 2017,8:1544.
- [16] DiLillo DJ, Ravetch JV. Differential Fc-receptor engagement drives an anti-tumor vaccinal effect[J]. Cell, 2015,161(5):1035-1045.
- [17] Gall VA, Philips AV, Qiao N, et al. Trastuzumab increases HER2 uptake and cross-presentation by dendritic cells[J]. Cancer Res, 2017,77(19):5374-5383.
- [18] Lehrnbecher T, Foster CB, Zhu S, et al. Variant genotypes of the low-affinity Fc γ receptors in two control populations and a review of low-affinity Fc γ receptor polymorphisms in control and disease populations[J]. Blood, 1999,94(12):4220-4232.
- [19] Musolino A, Gradishar WJ, Rugo HS, et al. Role of Fc γ receptors in HER2-targeted breast cancer therapy[J]. J Immunother Cancer, 2022,10(1):e003171.
- [20] Musolino A, Naldi N, Dieci MV, et al. Immunoglobulin G fragment

- C receptor polymorphisms and efficacy of preoperative chemotherapy plus trastuzumab and lapatinib in HER2-positive breast cancer[J]. *Pharmacogenomics J*, 2016,16(5):472–477.
- [21] Tamura K, Shimizu C, Hojo T, et al. FcγR2A and 3A polymorphisms predict clinical outcome of trastuzumab in both neoadjuvant and metastatic settings in patients with HER2-positive breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2011,22(6):1302–1307.
- [22] Botticelli A, Mazza F, Borro M, et al. FCGRs polymorphisms and response to trastuzumab in patients with HER2-positive breast cancer: far from predictive value? [J]. *World J Oncol*, 2015,6(5):437–440.
- [23] Gavin PG, Song N, Kim SR, et al. Association of polymorphisms in FCGR2A and FCGR3A with degree of trastuzumab benefit in the adjuvant treatment of ERBB2/HER2-positive breast cancer: analysis of the NSABP B-31 trial[J]. *JAMA Oncol*, 2017,3(3):335–341.
- [24] 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.
- [25] Herter S, Birk MC, Klein C, et al. Glycoengineering of therapeutic antibodies enhances monocyte/macrophage-mediated phagocytosis and cytotoxicity[J]. *J Immunol*, 2014,192(5):2252–2260.
- [26] Richards JO, Karki S, Lazar GA, et al. Optimization of antibody binding to FcγR IIa enhances macrophage phagocytosis of tumor cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2008,7(8):2517–2527.
- [27] Di Modica M, Sfondrini L, Regondi V, et al. Taxanes enhance trastuzumab-mediated ADCC on tumor cells through NKG2D-mediated NK cell recognition[J]. *Oncotarget*, 2016,7(1):255–265.
- [28] Umaña P, Jean-Mairet J, Moudry R, et al. Engineered glycoforms of an antineuroblastoma IgG1 with optimized antibody-dependent cellular cytotoxic activity[J]. *Nat Biotechnol*, 1999,17(2):176–180.
- [29] Shields RL, Lai J, Keck R, et al. Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves binding to human FcγR III and antibody-dependent cellular toxicity[J]. *J Biol Chem*, 2002,277(30):26733–26740.
- [30] Shinkawa T, Nakamura K, Yamane N, et al. The absence of fucose but not the presence of galactose or bisecting N-acetylglucosamine of human IgG1 complex-type oligosaccharides shows the critical role of enhancing antibody-dependent cellular cytotoxicity[J]. *J Biol Chem*, 2003,278(5):3466–3473.
- [31] Ferrara C, Grau S, Jäger C, et al. Unique carbohydrate-carbohydrate interactions are required for high affinity binding between FcγR III and antibodies lacking core fucose[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011,108(31):12669–12674.
- [32] Pereira NA, Chan KF, Lin PC, et al. The “less-is-more” in therapeutic antibodies: afucosylated anti-cancer antibodies with enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity[J]. *MAbs*, 2018,10(5):693–711.
- [33] Fiedler W, Stoeger H, Perotti A, et al. Phase I study of TrasGEX, a glyco-optimised anti-HER2 monoclonal antibody, in patients with HER2-positive solid tumours[J]. *ESMO Open*, 2018,3(4):e000381.
- [34] Eisner F, Pichler M, Goletz S, et al. A glyco-engineered anti-HER2 monoclonal antibody(TrasGEX) induces a long-lasting remission in a patient with HER2 overexpressing metastatic colorectal cancer after failure of all available treatment options[J]. *J Clin Pathol*, 2015,68(12):1044–1046.
- [35] Lazar GA, Dang W, Karki S, et al. Engineered antibody Fc variants with enhanced effector function[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006,103(11):4005–4010.
- [36] Oganessian V, Damschroder MM, Leach W, et al. Structural characterization of a mutated, ADCC-enhanced human Fc fragment[J]. *Mol Immunol*, 2008,45(7):1872–1882.
- [37] Stavenhagen JB, Gorlatov S, Tuailon N, et al. Fc optimization of therapeutic antibodies enhances their ability to kill tumor cells in vitro and controls tumor expansion in vivo via low-affinity activating Fcγ receptors[J]. *Cancer Res*, 2007,67(18):8882–8890.
- [38] Mimoto F, Igawa T, Kuramochi T, et al. Novel asymmetrically engineered antibody Fc variant with superior FcγR binding affinity and specificity compared with afucosylated Fc variant[J]. *MAbs*, 2013,5(2):229–236.
- [39] Nordstrom JL, Gorlatov S, Zhang W, et al. Anti-tumor activity and toxicokinetics analysis of MGAH22, an anti-HER2 monoclonal antibody with enhanced Fcγ receptor binding properties[J]. *Breast Cancer Res*, 2011,13(6):R123.
- [40] Mezni E, Vicier C, Guerin M, et al. New therapeutics in HER2-positive advanced breast cancer: towards a change in clinical practices? [J]. *Cancers (Basel)*, 2020,12(6):1573.
- [41] Im SA, Bang YJ, Oh DY, et al. Abstract P6-18-11: long-term responders to single-agent margetuximab, an Fc-modified anti-HER2 monoclonal antibody, in metastatic HER2+ breast cancer patients with prior anti-HER2 therapy[J]. *Cancer Res*, 2019,79(4_Supplement):P6–18–11.
- [42] Nordstrom JL, Muth J, Erskine CL, et al. High frequency of HER2-specific immunity observed in patients(pts) with HER2+ cancers treated with margetuximab(M), an Fc-enhanced anti-HER2 monoclonal antibody(mAb)[J]. *J Clin Oncol*, 2019,37(15_suppl):1030.
- [43] Catenacci DVT, Kang YK, Park H, et al. Margetuximab plus pembrolizumab in patients with previously treated, HER2-positive gastroesophageal adenocarcinoma (CP-MGAH22-05): a single-arm, phase 1b-2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020,21(8):1066–1076.
- [44] Bang YJ, Giaccone G, Im SA, et al. First-in-human phase 1 study of margetuximab (MGAH22), an Fc-modified chimeric monoclonal antibody, in patients with HER2-positive advanced solid tumors[J]. *Ann Oncol*, 2017,28(4):855–861.
- [45] Rugo HS, Im SA, Cardoso F, et al. Efficacy of margetuximab vs trastuzumab in patients with pretreated ERBB2-positive advanced breast cancer: a phase 3 randomized clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2021,7(4):573–584.
- [46] Liu L, Yang Y, Burns R, et al. Abstract 1538: margetuximab mediates greater Fc-dependent anti-tumor activities than trastuzumab or pertuzumab in vitro[C]. *Cancer Res*, 2019,79(13_Supplement):1538.
- [47] Scheuer W, Friess T, Bartscher H, et al. Strongly enhanced antitumor activity of trastuzumab and pertuzumab combination treatment on HER2-positive human xenograft tumor models[J]. *Cancer Res*, 2009,69(24):9330–9336.

- [48] Swain SM, Miles D, Kim SB, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer(CLEOPATRA): end-of-study results from a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 study[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(4):519–530.
- [49] Gianni L, Pienkowski T, Im YH, et al. 5-year analysis of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in patients with locally advanced, inflammatory, or early-stage HER2-positive breast cancer(NeoSphere): a multicentre, open-label, phase 2 randomised trial[J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(6):791–800.
- [50] Hurvitz SA, Martin M, Symmans WF, et al. Neoadjuvant trastuzumab, pertuzumab, and chemotherapy versus trastuzumab emtansine plus pertuzumab in patients with HER2-positive breast cancer(KRISTINE): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(1):115–126.
- [51] Piccart M, Procter M, Fumagalli D, et al. Adjuvant pertuzumab and trastuzumab in early HER2-positive breast cancer in the APHINITY trial: 6 years' follow-up[J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(13):1448–1457.
- [52] Weisser N, Wickman G, Davies R, et al. Abstract 31: preclinical development of a novel biparatopic HER2 antibody with activity in low to high HER2 expressing cancers[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13_Supplement):31.
- [53] Zhang J, Ji D, Cai L, et al. First-in-human HER2-targeted bispecific antibody KN026 for the treatment of patients with HER2-positive metastatic breast cancer: results from a phase I study[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(4):618–628.
- [54] Geuijen C, Rovers E, Gallenne T, et al. Abstract LB-261: mechanism of action of MCLA-128, a humanized bispecific IgG1 antibody targeting the HER2:HER3 heterodimer[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(15_Supplement):LB–261.
- [55] Alsina M, Boni V, Schellens JHM, et al. First-in-human phase 1/2 study of MCLA-128, a full length IgG1 bispecific antibody targeting HER2 and HER3: final phase 1 data and preliminary activity in HER2 + metastatic breast cancer(MBC)[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(15_suppl):2522.
- [56] Hinner MJ, Aiba RSB, Jaquin TJ, et al. Tumor-localized costimulatory T-Cell engagement by the 4-1BB/HER2 bispecific antibody-anticalin fusion PRS-343[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(19):5878–5889.
- [57] Deng W, Liu J, Pan H, et al. A bispecific antibody based on pertuzumab Fab has potent antitumor activity[J]. *J Immunother*, 2018, 41(1):1–8.
- [收稿日期 2022–06–08][本文编辑 吕文娟 余 军]

本文引用格式

周涵星,徐 菲.乳腺癌抗 HER2 单克隆抗体研究进展[J].中国临床新医学,2022,15(6):488–495.