

乳腺癌靶向治疗的新策略

黄景彬, 钟延强(第二军医大学药学院药剂教研室, 上海 200433)

[摘要] 目前, 乳腺癌的常规治疗手段如化疗、放疗等存在严重的全身副作用, 为此, 开展乳腺癌的靶向治疗研究具有重大意义。本文综述了乳腺癌靶向治疗的 3 个研究领域: 抗体介导的靶向、微载体介导的靶向、乳腺癌干细胞靶向, 并阐述这些治疗策略的基本研究思路, 分析这些新的治疗策略面临的一些问题, 从而提出解决这些问题的相关见解。

[关键词] 乳腺癌; 乳腺癌干细胞; 微载体; 靶向治疗

[中图分类号] R979.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2011)05-0324-04

New treatment strategies for targeted therapy of breast cancer

HUANG Jing-bin, ZHONG Yan-qiang (Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Common therapies of breast cancer such as chemotherapy, radiotherapy had severe systemic side effects. To reduce those side effects, developing strategies of targeted therapy was necessary. Three research fields on targeted therapy of breast cancer were reviewed in this paper: antibody based breast cancer therapy, microcarrier mediated breast cancer therapy, breast cancer stem cell targeted therapy. The ideas of the three strategies had been illustrated and the challenges existing in the strategies also been analyzed. Some opinions had been put forward to solve this challenges.

[Key words] breast cancer; breast cancer stem cell; microcarrier; targeted therapy

目前, 乳腺癌患者的主要治疗手段是手术治疗、放疗、化疗以及这三种方法相互结合起来的的治疗方法。尽管这些方法的结合给乳腺癌患者带来了新的希望, 降低了化疗、放疗的严重副作用, 也延长了患者的生存时间, 但是乳腺癌的复发和现存疗法存在的缺陷(化疗药物的耐药性, 全身副作用等)依然是急需解决的重点问题。近年来随着人们对肿瘤发病机制认识的加深和分子生物学技术的发展, 乳腺癌的治疗有了新的进展, 其中乳腺癌的靶向治疗是研究的热点。本文从抗体、微载体介导的靶向治疗以及乳腺癌干细胞靶向 3 个方面来阐述乳腺癌靶向治疗的基本思想和最近取得的研究进展

1 抗体介导的靶向治疗

利用抗原抗体专一性结合的原理, 针对乳腺癌细胞上的特异性抗原制备与其结合的抗体成为乳腺癌靶向治疗有前景的治疗手段。下面介绍乳腺癌血管生成靶向、人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER2) 抗体介导靶向的思想和当前的一些研究成果。

1.1 靶向乳腺癌血管生成的治疗 乳腺癌患者死亡的主要原因在于侵袭和转移, 而肿瘤新生血管的形成是肿瘤浸润和转移的一个重要因素, 新生血管的形成一为肿瘤的快速生长提供必要的营养物质, 另外为肿瘤浸润和转移提供了脉管系统^[1,2]。阻碍乳腺癌中新生血管的形成, 抑制肿瘤的生长和转移是乳腺癌治疗的一个新策略。这种基于新生血管靶向治疗策略的关键是要寻找与肿瘤血管生成有关的因子, 然后对该因子进行分子靶向, 通过抑制或者增强其生理功能来抑制肿瘤的生长和转移。肿瘤细胞由于快速增长需要大量的能量, 这样的微环境导致肿瘤组织缺氧, 使肿瘤组织中的血管结构和功能发生异常, 而血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是受缺氧调控的因子, VEGF 的高表达往往与肿瘤的血管生成相关。阻断 VEGF 与其受体的结合, 可以抑制肿瘤组织的血管生成, 使肿瘤组织中无序、紊乱的血管趋于正常化。

血管内皮生长因子, 是一种具有肝素结合活性的同源二聚体糖蛋白, 通过酪氨酸激酶受体特异性地作用于内皮细胞, 促进其分裂、增生, 并且具有增强血管通透性以及促进肿瘤的生长、侵袭和转移^[3]。单克隆抗体贝伐单抗 (bevacizumab) 是一种重组人源性 VEGF 抗体, 与内源性的 VEGF 竞争性的结合 VEGF 受体, 导致内源性的 VEGF 失活, 抑制

[作者简介] 黄景彬 (1986-), 男, 硕士研究生. Tel: (021) 81871288, E-mail: hjb20091364@126.com.

[通讯作者] 钟延强 Tel: (021) 81871285, E-mail: yqzhong@smmu.edu.cn.

内皮细胞的分裂,阻碍内源性 VEGF 诱导的血管生成^[4,5]。临床三期实验表明贝伐单抗与化疗药物紫杉醇^[6],多西紫杉醇^[7]联合使用明显提高了转移性乳腺癌患者的无进展生存时间,提高化疗药物的疗效,降低副作用。除了贝伐单抗外,还有一些针对 VEGF 的小分子酪氨酸激酶抑制剂如索拉非尼、舒尼替尼、pazopanib、vandetanib 等,这类小分子除了以 VEGF 为靶点外还作用于血小板源性生长因子(PDGF),CD177 等血管生成相关因子^[1]。

1.2 HER2 靶向的治疗策略 HER2 是人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor-2, HEGFR) 的简称,是表达于细胞膜上的跨膜蛋白,由胞外区、跨膜区、胞内区组成。HER2 的胞内区具有酪氨酸蛋白激酶 (protein tyrosine kinase, PTK) 活性,主要调控细胞增生、转化和凋亡。

HER2 诱导肿瘤生成的机制为:当表皮生长因子与 HER2 结合后,诱导膜外区的蛋白质构象发生改变,并与 HER2 形成二聚体分子,激活 HER2 胞内区的 PTK 活性,导致 HER2 分子之间的酪氨酸彼此磷酸化。该信号再通过细胞内的级联放大系统,将信号传经细胞质到达细胞核,激活基因而促使细胞发生分裂,进而诱发肿瘤的形成^[7,8]。基于 HER2 介导肿瘤生成的这一机制,通过外源性的 HER2 抗体竞争性地与 HER2 结合,阻断 HER2 介导的肿瘤生成信号的产生。HER2 单抗在治疗转移性乳腺癌的体内外和临床研究已取得一定的疗效。

在多种 HER2 单抗中赫赛汀 (herceptin) 是研究比较成熟的抗体,其活性成分为曲妥珠单抗 (trastuzumab),于 1998 年由美国 FDA 批准上市用于治疗转移性乳腺癌。曲妥珠单抗与 HER2 结合后,抑制促分裂素原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 活性和磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/AKT) 信号转导通路,上调抗癌蛋白 P53 和细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白 P27,将肿瘤细胞停滞于 G1 期,从而抑制肿瘤的生长^[9]。

帕妥珠单抗 (pertuzumab) 是另一个靶向 HER2 的治疗乳腺癌抗体,与 HER2 的胞外区 (ECD II) 结合后,抑制 HER2 二聚体的形成,从而阻断其介导的信号转导通路^[10]。除了典型的抗 HER2 抗体外,坦螺旋霉素 (tanespimycin) 是一种水溶性热休克蛋白 (HSP90) 抑制剂,体外、体内实验已经证明其具有减少 HER2 表达和抑制乳腺癌细胞生长以及较低的毒副作用^[10],与曲妥珠单抗连用可以提高疗效并且对曲妥珠单抗产生耐药性的患者也有一定的治疗作用^[11]。

对于 HER2 分子机制的研究已经取得了很大进

展,HER2 靶向的治疗药物也越来越受研究者的关注,但是依旧存在着许多的问题如耐药性、心脏毒性、过敏反应等。对于治疗中出现的这类问题可以开展多种 HER2 靶向药物联合用药以及乳腺癌的多靶点联合治疗等加以避免。

2 微载体介导的乳腺癌靶向治疗

化疗药物和各种单克隆抗体对乳腺癌的治疗虽然取得了较好的治疗效果,但是往往会引起严重的副作用,如脱发、色素沉积、脏器损伤以及全身性的过敏反应。微载体药物传递系统 (microcarrier drug delivery system) 在肿瘤的靶向治疗中有许多优势:①在保证药物疗效的情况下,减少药物用量,减轻药物毒副作用;②控制药物的释放,延长作用时间;③提高组织或者细胞靶向性,使药物在肿瘤组织中定位蓄积。

微载体介导的靶向治疗方式有两种:一是被动靶向,这是一种依赖载体粒径或者应用某种物理化学因素的变化来控制靶向的位置;另一种是主动靶向,运用“导向分子”修饰药物载体,将药物传递到靶区浓集而发挥药效。主动靶向是目前乳腺癌靶向治疗的研究热点,常用一些具有靶向功能的配体、抗体、多肽等来修饰载体使其具有组织、细胞靶向性。

大多数的乳腺癌细胞表面往往过表达转铁蛋白受体,利用转铁蛋白修饰的纳米粒可以很好的靶向乳腺癌细胞,增加细胞对微载体的摄取,从而增加药物在细胞中的浓度提高疗效^[12,13]。

抗体对其相应的受体具有高效、专一性结合的特点,利用抗体作为靶头修饰载体可以有效地靶向相应的细胞。载雷帕霉素的聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly (lactide-co-glycolide), PLGA] 纳米粒经过表皮生长因子受体 (EGFR) 抗体修饰靶向 MCF-7 乳腺癌。结果显示经抗体修饰过的纳米粒抗癌活性要明显的高于雷帕霉素单独使用,并且降低全身副作用。这是由于抗体与 EGFR 的特性结合提高了细胞对纳米粒的摄取,从而导致细胞中的药物浓度比单独使用雷帕霉素时要高。另外,由于 PLGA 的包裹而使得该药物的全身性副作用降低^[14]。

以多肽为靶向导体也有报道,血管内皮生长因子受体-KDR (kinase domain insert containing receptor) 受体高表达于肿瘤新生血管内皮细胞中,而 K237 多肽与 KDR 受体结合具有高度的亲和力和特异性。K237 修饰的载紫杉醇纳米粒用于 MDA-MB-23 乳腺癌异体移植的裸鼠,结果表明 K237 修饰过的纳米粒具有明显的肿瘤新生血管靶向性,并且明显的诱导肿瘤新生血管的的凋亡和坏死^[15]。

微载体介导的乳腺癌靶向治疗在降低药物的副作用和提高靶向性上具有明显的优势,但是往往这种微载体的载药量低,并且体内降解也是需要解决的问题。因此,开发无毒、生物可降解、高载药量、高靶向性的乳腺癌治疗载体是将来的研究重点。

3 乳腺癌干细胞靶向治疗策略

近年来在干细胞学说的基础上提出了肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)学说。CSC是存在于肿瘤组织中极小部分的未分化的细胞,这类细胞具有很强的自我更新能力和分化潜能,并且能不断地产生新的肿瘤干细胞和肿瘤细胞。肿瘤干细胞学说认为,肿瘤的转移,复发以及对化疗药物的耐药性均与肿瘤干细胞有关。若能选择性的靶向肿瘤干细胞并将其杀灭,则可能实现真正意义上的肿瘤根除。目前实现肿瘤干细胞的靶向途径有两种趋势:一是寻找肿瘤干细胞选择性杀伤药物,在多种细胞(正常组织细胞、正常组织干细胞、分化的肿瘤细胞和肿瘤干细胞)存在的情况下药物选择性的作用于肿瘤干细胞而对正常的干细胞和组织细胞无损伤;二是寻找肿瘤干细胞特异性的细胞标志物,分离出真正的肿瘤干细胞,为肿瘤干细胞的研究提供更可靠的科学依据。

3.1 乳腺癌干细胞靶向药物 选择性肿瘤杀伤性药物要求在对肿瘤干细胞杀伤的前提下对正常的干细胞和正常的组织细胞没有损害,并且要能有效的抑制肿瘤的复发,目前国内外发现的体外对乳腺癌干细胞具有靶向作用的药物见表1。

表1 体外具有乳腺癌干细胞靶向性的药物

药物	体外抗乳腺癌干细胞活性
沙利霉素	降低乳腺癌细胞中肿瘤干细胞的比例 ^[16] 克服肿瘤干细胞的耐药性,选择性抑制肿瘤干细胞 ^[17] 选择性的诱导肿瘤细胞和抗凋亡肿瘤细胞的凋亡 ^[18]
拉帕替尼	采用拉帕替尼新辅助疗法后乳腺活检中的乳腺癌干细胞降低 ^[19] 与卡培他滨联用后提高早期和转移性乳腺癌患者的存活率 ^[20]
小白菊内酯	与长春瑞滨联用可同时杀死肿瘤干细胞和分化的乳腺癌细胞 ^[21] 通过NF-KB途径抑制乳腺癌干细胞 ^[22]
二甲双胍	和多柔比星联用,阻止异体移植荷瘤小鼠肿瘤的复发 ^[23] 抑制转基因小鼠中HER-2乳腺癌的生长 ^[24] 通过减少表皮生长因子的表达,抑制基底部分乳腺癌 ^[25]

这些药物是目前用于治疗其他疾病的常用药物,具有多种药理活性。在抗肿瘤干细胞研究的时候难免会对机体的其他生理功能造成影响,为避免其他药理活性的影响,可以通过微载体的介导,特异性的作用于靶器官或者组织。另外,研究这些药物

的药效构象学,合成结构类似的对肿瘤干细胞具有专一作用的药物具有重要意义。

3.2 乳腺癌干细胞标志物 乳腺癌干细胞是被分离出的最早的实体瘤干细胞。2003年Al-Hajj等^[26]首次从恶性乳腺癌病人的胸腔积液中分离出乳腺癌干细胞,其表型为CD44⁺CD24^{-/low}这是第一次从实体瘤细胞中分离出肿瘤干细胞,并为肿瘤干细胞学说提供了事实基础。CD44⁺CD24^{-/low}是目前比较公认的乳腺癌标志物,后来的研究相继提出其他的乳腺癌干细胞标志物如CD133⁺, CD133⁺CXCR4⁺, ALDH-1⁺, CD49F⁺DLL1^{high}DNER^{high}等^[27-30],但目前还没有发现特异性的乳腺癌干细胞标志物。

深入认识乳腺癌干细胞的细胞标志物,不仅有利于分离出真正意义上的肿瘤干细胞,为肿瘤干细胞的研究提供研究基础,而且可以通过特异性的结合其细胞膜上的标志物来实现肿瘤干细胞的靶向。例如透明质酸是CD44⁺的天然受体,将透明质酸作为靶向导体,与可降解的生物材料结合,包裹抗肿瘤干细胞药物可以靶向干细胞。

4 问题及展望

除了少部分乳腺癌靶向治疗的抗体已经进入临床实验阶段外,乳腺癌的靶向治疗目前还处于基础研究阶段,难免存在诸多的问题。①耐药性:乳腺癌细胞除了对化疗药物产生耐药外,研究发现长期使用单克隆抗体也会导致同化疗药一样的耐药性;②靶向效率低:尽管单克隆抗体和微载体介导的靶向治疗相对于一般的化疗药物靶向性大大的提高,但是依旧不能彻底地靶向病变组织;③乳腺癌的复发难以根除:尽管以上治疗策略在减小肿瘤的大小和抑制肿瘤的生长上已经取得了很大的进步,但是依旧存在肿瘤复发的可能性。

对于以上问题的一些看法:①通过联合用药来降低乳腺癌细胞的耐药性,如靶向抗体试剂与化疗药物的联合,通过微载体介导多种药物进行协同治疗等。②多种靶向治疗策略综合运用,当前的研究大多是针对乳腺癌生理病理过程的单一环节进行的,往往达不到非常理想的治疗效果,因为乳腺癌的发生是多种因素、多种过程综合作用的结果。③加强乳腺癌微环境的研究,充分了解肿瘤生长的微环境对正确选择药物和靶向导体有指导意义。④根据肿瘤干细胞学说,乳腺癌干细胞与耐药性和复发密切相关。鉴别和分离真正意义上的乳腺癌干细胞及其靶向研究可能是从本质上治疗乳腺癌的一条新途径。总之,乳腺癌的靶向治疗旨在提高靶向性,减少对正常组织和器官的毒副作用,根除乳腺癌的复发。

【参考文献】

- [1] Normanno N, Morabito A, De Luca A, *et al.* Target-based therapies in breast cancer: current status and future perspectives[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2009, 16 (3): 675.
- [2] Aesoy R, Sanchez BC, Norum JH, *et al.* An autocrine VEGF/VEGFR-2 and p38 signaling loop confers resistance to 4-hydroxytamoxifen in MCF-7 breast cancer cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6 (10): 1630.
- [3] Le XF, Mao W, Lu C, *et al.* Specific blockade of VEGF and HER2 pathways results in greater growth inhibition of breast cancer xenografts that overexpress HER2[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7 (23): 3747.
- [4] Rosen LS. VEGF-targeted therapy: therapeutic potential and recent advances[J]. *Oncologist*, 2005, 10 (6): 382.
- [5] Cesare G, Paolo M, Antonio R, *et al.* The role of bevacizumab in the treatment of non-small cell lung cancer: current indications and future developments[J]. *The Oncologist*, 2007, 12 (10): 1183.
- [6] Miller K, Wang M, Gralow J, *et al.* Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2007, 357 (26): 2666.
- [7] Park JW, Neve RM, Szollosi J, *et al.* Unraveling the biologic and clinical complexities of HER2[J]. *Clin Breast Cancer*, 2008, 8 (5): 392.
- [8] Freudenberg JA, Wang Q, Katsumata M, *et al.* The role of HER2 in early breast cancer metastasis and the origins of resistance to HER2-targeted therapies[J]. *Exp Mol Pathol*, 2009, 87 (1): 1.
- [9] Spector NL, Blackwell KL. Understanding the mechanisms behind trastuzumab therapy for human epidermal growth factor receptor-2 positive breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27 (34): 5838.
- [10] Jones KL, Buzdar AU. Evolving novel anti-HER2 strategies[J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10 (12): 1179.
- [11] Modi S, Sugarman S, Stopeck A, *et al.* Phase II trial of the HSP90 inhibitor tanespimycin (Tan) + trastuzumab (T) in patients (pts) with HER2-positive metastatic breast cancer (MBC) [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26 (5): 1027.
- [12] Mulik RS, Mönkkönen J, Juvonen RO, *et al.* Transferrin mediated solid lipid nanoparticles containing curcumin: Enhanced in vitro anticancer activity by induction of apoptosis [J]. *Int J Pharm*, 2010, 398 (1-2): 190.
- [13] Zheng Y, Yu B, Weecharangsan W, *et al.* Transferrin-conjugated lipid-coated PLGA nanoparticles for targeted delivery of aromatase inhibitor 7 α -APTADD to breast cancer cells [J]. *Int J Pharm*, 2010, 390 (2): 234.
- [14] Acharya S, Dilnawaz F, Sahoo SK, *et al.* Targeted epidermal growth factor receptor nanoparticle bioconjugates for breast cancer therapy [J]. *Biomaterials*, 2009, 30 (29): 5737.
- [15] Yu DH, Lu Q, Xie J, *et al.* Peptide-conjugated biodegradable nanoparticles as a carrier to target paclitaxel to tumor neovasculature [J]. *Biomaterials*, 2010, 31 (8): 2278.
- [16] Gupta PB, Onder TT, Jiang G, *et al.* Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening [J]. *Cell*, 2009, 138 (4): 645.
- [17] Riccioni R, Dupuis ML, Bernabei M, *et al.* The cancer stem cell selective inhibitor salinomycin is a p-glycoprotein inhibitor [J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2010, 45 (1): 86.
- [18] Fuchs D, Heinold A, Opelz G, *et al.* Salinomycin induces apoptosis and overcomes apoptosis resistance in human cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 390 (3): 743.
- [19] Li X, Lewis MT, Huang J, *et al.* Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100 (9): 672.
- [20] Cameron D, Casey M, Press M, *et al.* A phase III randomized comparison of lapatinib plus capecitabine versus capecitabine alone in women with advanced breast cancer that has progressed on trastuzumab; updated efficacy and biomarker analyses [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 112: 533.
- [21] Liu Y, Lu WL, Guo J, *et al.* A potential target associated with both cancer and cancer stem cells: a combination therapy for eradication of breast cancer using vinorelbine stealthy liposomes plus parthenolide stealthy liposomes [J]. *J Control Release*, 2008, 129 (1): 18.
- [22] Zhou J, Zhang H, Gu P, *et al.* NF- κ B pathway inhibitors preferentially inhibit breast cancer stem-like cells [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 111 (3): 419.
- [23] Hirsch HA, Iliopoulos D, Tsihchlis PN, *et al.* Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission [J]. *Cancer Res*, 2009, 69 (19): 7507.
- [24] Anisimov VN, Egormin PA, Piskunova TS, *et al.* Metformin extends life span of HER-2/neu transgenic mice and in combination with melatonin inhibits growth of transplantable tumors in vivo [J]. *Cell Cycle*, 2010, 9 (1): 188.
- [25] Liu B, Fan Z, Edgerton SM, *et al.* Metformin induces unique biological and molecular responses in triple negative breast cancer cells [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8 (13): 2031.
- [26] Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, *et al.* Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100 (7): 3983.
- [27] Wright MH, Calcagno AM, Salcido CD, *et al.* Brca1 breast tumors contain distinct CD44⁺/CD24⁻ and CD133⁺ cells with cancer stem cell characteristics [J]. *Breast Cancer Res*, 2008, 10 (1): R10.
- [28] Hwang-Versluis WW, Kuo WH, Chang PH, *et al.* Multiple lineages of human breast cancer stem/progenitor cells identified by profiling with stem cell markers [J]. *PLoS One*, 2009, 4 (12): e8377.
- [29] Ginestier C, Hur MH, Charafe-Jauffret E, *et al.* ALDH1 is a marker of normal and malignant human mammary stem cells and a predictor of poor clinical outcome [J]. *Cell Stem Cell*, 2007, 1 (5): 555.
- [30] Pece S, Tosoni D, Confalonieri S, *et al.* Biological and molecular heterogeneity of breast cancers correlates with their cancer stem cell content [J]. *Cell*, 2010, 40 (1): 62.