

· 综 述 ·

# 单克隆抗体免疫治疗临床反应差异机制研究进展

刘玉琳, 王 强 综述, 梁 冰<sup>△</sup> 审校

(中国人民解放军第 401 医院检验科, 山东青岛 266601)

**关键词:** 抗体, 单克隆; 分子靶向治疗; 临床反应

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.18.044

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)18-2164-03

近年来,基于肿瘤抗原的单克隆抗体为基础的免疫疗法进展迅速。诸如美罗华(rituximab)、赫赛汀(trastuzumab)和西妥昔单抗(cetuximab)等药物,已应用于临床治疗恶性淋巴瘤、乳腺癌、头颈部癌和结肠癌等<sup>[1-3]</sup>。单克隆抗体免疫治疗可以单独使用,但临床通常与放疗和(或)化疗联用,且临床疗效显著提高<sup>[4]</sup>;初治患者治愈率提高,复发或转移患者的总生存期延长。放疗或化疗联用西妥昔单抗、赫赛汀、美罗华时,死亡或复发的相对危险度减少 20%~30%。单克隆抗体治疗让人们对于恶性肿瘤生物治疗的价值恢复了信心,也促进了基于肿瘤抗原——单克隆抗体临床试验的进展。

近年临床试验中,诞生了 2 项重大发现:(1)单克隆抗体免疫治疗不良反应少。尽管正常细胞也表达靶标抗原,仅有极少数患者发生不良反应,其中还包括由于外源蛋白输入导致的过敏反应。(2)联合放疗或化疗效果更好。单克隆抗体单独使用时,进展期和复发肿瘤患者的反应率仅为 8%~10%。联合放、化疗时,通常会增加至 30%左右。但是,表达靶标抗原的病例仅有部分治疗有效。那么,基于肿瘤抗原的单克隆抗体免疫治疗其有效性的机制是什么呢。这个问题具有重要的理论和实践意义。一方面,有助于了解为什么单克隆抗体免疫治疗对特定类型恶性肿瘤患者有不同的临床疗效,为什么仅对部分表达肿瘤抗原的病例起作用。另一方面,可以确定适用单克隆抗体免疫治疗的标准,预测患者的临床反应以及优化治疗计划等。本文综述基于肿瘤抗原单克隆抗体的免疫治疗患者出现临床反应差异。

## 1 单克隆抗体阻断信号通路

美罗华、西妥昔单抗和赫赛汀的靶标分子分别是 CD20、EGFR(ErbB1, HER1)和 HER2(ErbB2),在临床上分别用于治疗淋巴瘤、头颈部癌和结肠癌以及乳腺癌。CD20、EGFR 和 HER2 具有几个共同特点:(1)正常细胞和恶性细胞均有表达,只是后者表达水平更高,仅在个别病例中出现突变<sup>[4]</sup>。统计显示肿瘤抗原表达水平与预后密切相关,说明其表达水平的差异在疾病进展中发挥重要作用。(2)临床有效的单克隆抗体靶向的表面受体,其下游信号通路一致。EGFR 和 HER2 都是酪氨酸激酶受体,属于该 Erb-B/HER 受体家族。HER1 和 HER2 可以通过 PI3K/Akt 和 Ras/MAP 通路等,促进细胞的存活和增殖。CD20 可以通过 Bcl-2 来激活 B 细胞的抗凋亡通路。

临床试验发现,西妥昔单抗对结肠癌的临床疗效与活化 K-ras 基因的突变率高度相关,与 Fcγ 受体(FcγR)多态性也有一定相关性<sup>[5]</sup>。尽管西妥昔单抗对头颈部肿瘤的

治疗有效,但研究显示头颈部肿瘤很少伴有 K-ras 或 EGFR 突变,上述机制并不显著。因此,临床对过度表达 EGFR 的病例应用受体酪氨酸激酶抑制剂(TKI)。但 TKI 缺乏靶标特异性,因此,研究主要集中在直接作用于生长因子受体、以单克隆抗体为基础的治疗方式。此外,临床反应动力学观察发现,肿瘤在治疗数周后体积缩小,符合 T 淋巴细胞介导的细胞溶解作用。而不是发生在几个小时内,因此,不是体外试验考虑的纯粹的 NK 细胞介导的溶解效应。体外试验发现单克隆抗体阻断配体结合后 10~20 min, Erb-B 受体活性就几乎完全消失<sup>[6]</sup>,说明单克隆抗体治疗的临床反应存在其他的信号阻断机制。

## 2 免疫因素调控单克隆抗体抗肿瘤活性

很多数据支持其他免疫因素参与了针对 Erb-B 的单克隆抗体临床治疗效应。(1)体外试验发现,培养体系不加淋巴细胞时不会出现肿瘤细胞凋亡。(2)NK 细胞、单核细胞和粒细胞具有溶解活性。这些细胞表面表达特定基因多态性的单克隆抗体结合受体,受体表达与临床反应具有相关性。(3)临床反应生化标志物,如 EGFR 表达、激活或扩增水平,与针对该受体的单克隆抗体治疗的临床效应并非呈线性相关<sup>[7]</sup>,也说明其他机制参与了单克隆抗体的临床效应。

在影响单克隆抗体发挥抗肿瘤活性的各种因素中,体外实验发现部分因素具有介导肿瘤细胞溶解的效应。主要通过 NK 细胞、单核细胞以及中性粒细胞的 ADCC(抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用)。并且溶解程度也受到几个因素的影响。这些因素或其中部分因素,可能导致了单克隆抗体免疫治疗的临床反应差异。体外实验和动物模型对这些因素进行了研究,基本明确了 B 细胞和补体的作用<sup>[8]</sup>。

## 3 靶标肿瘤抗原的表达水平

多种肿瘤的体外实验发现,肿瘤细胞靶标抗原(CD20、HER2 或 EGFR)的表达水平明显影响单克隆抗体介导的溶细胞作用,尤其当效应细胞(即 NK 细胞和单核细胞)溶解效应较低时<sup>[9]</sup>。然而,多数研究根据肿瘤抗原选择治疗对象时,把表达水平不同的同种肿瘤均看作同质对象,不能排除混杂因素的干扰。但是,肿瘤抗原(CD20、HER2 或 EGFR)的表达水平与临床反应的关系并不统一。如针对 EGFR 的西妥昔单抗,其临床反应与肿瘤细胞表达的 EGFR 水平并不呈正相关。Burtness 等<sup>[10]</sup>报道治疗效应与 EGFR 表达呈负相关,Chung<sup>[11]</sup>发现对 EGFR 阴性的肿瘤也存在临床活性。究其原因,不排除体外实验和临床结果之间的差异,但更重要的是研究方法缺乏敏感性,因为通常是采用免疫组织化学的方法来衡

量肿瘤组织靶抗原的表达水平。

#### 4 单克隆抗体的亚型和剂量

除了 FcγR 多态性,单克隆抗体浓度、结合常数以及最重要的单克隆抗体亚型,都明显影响细胞依赖的肿瘤细胞溶解程度。在介导肿瘤细胞溶解活性方面,IgG<sub>1</sub> 和 IgG<sub>3</sub> 明显高于 IgG<sub>2</sub> 和 IgG<sub>4</sub>,体外实验探讨单克隆抗体抗肿瘤活性的剂量-效应关系发现,剂量关系峰值大于 10 μg/mL,血浆水平为 50~150 μg/mL<sup>[9]</sup>,说明患者体内循环单克隆抗体足够结合大量肿瘤细胞。肿瘤抗原结合了不同亚型的 IgG 抗体,FcγR 亲和力不同,导致免疫活性的差异。但是,最近美国 FDA 批准了两类针对 EGFR 单克隆抗体——西妥昔单抗抗体(IgG<sub>1</sub> 亚型)和帕尼单抗抗体(IgG<sub>2</sub> 亚型)。2 种单克隆抗体竞争 EGFR 相同的配体结合位点(eco 域),后者是 IgG<sub>2</sub> 亚型,可以预见其诱导细胞免疫反应能力较低。研究表明帕尼单抗抗体具有通过髓源性粒细胞(包括中性粒细胞)调解 ADCC 治疗的能力,头颈部肿瘤和大肠癌的临床试验还在进行中,以明确其抗肿瘤活性的实际机制。

体外实验也发现了 IgG<sub>1</sub> 亚型单克隆抗体介导的补体依赖的细胞溶解作用(CDC)<sup>[12]</sup>。有报道称体外和小鼠体内试验中,美罗华、赫赛汀和西妥昔单抗抗体可能介导了补体依赖的溶细胞作用,特别是与 B 细胞协同作用时<sup>[13]</sup>。但是,CDC 作用迅速,而免疫治疗通常要到 1 周以后才发挥作用,因此,CDC 在此可能不起主要作用,而可能与某些不良反应相关<sup>[14]</sup>。总之,CDC 作用机制并不能解释单克隆抗体治疗时的临床反应差异。

#### 5 FcγR 基因多态性与疾病状态

单克隆抗体与肿瘤细胞表面的抗原结合后,效应细胞(如单核细胞和 NK 细胞)通过 FcγR 与单克隆抗体结合,发挥溶细胞作用<sup>[1,5]</sup>。体外试验发现,FcγR 基因多态性与 ADCC 溶解程度密切相关,也与移植瘤的生长速度相关<sup>[15]</sup>。NK 细胞表达激活受体 FcγR III a,单核细胞衍生的树突状细胞(DC)、B 细胞和粒细胞表达 FcγR II a。关于抑制性受体 FcγR II b 在单克隆抗体治疗时的作用报道极少,可能是潜在的研究领域。单克隆抗体的临床活性与患者体内表达 FcγR II a/III a 受体 H 和 V 编码基因多态性相关。FcγR 基因多态性导致抗体 Fc 片段结合位点的差异,其分子基础是 FcγR II a131 位密码子的组氨酸(H)被精氨酸(R)替换,FcγR III a 158 位密码子的缬氨酸(H)被苯丙氨酸(R)替换<sup>[16]</sup>。小鼠乳腺癌移植瘤模型和头颈部癌研究中发现,赫赛汀和西妥昔单抗抗体的抗肿瘤作用在某种程度上取决于表达 FcγR 的免疫细胞的数量,如 NK 细胞。有关疾病状态对效应细胞功能影响的报道较少,但体外实验发现,相比健康供者外周血中单核细胞的细胞溶解活性,癌症患者对抗体标记的肿瘤细胞的溶解能力显著降低。可以通过添加细胞因子修复该功能缺陷,如白细胞介素 2(IL-2)、IL-15 和 IL-21。它们都可以加强 NK 细胞表达 FcγR<sup>[9]</sup>。

然而,患者病情的改善并不全部与 FcγR 基因多态性相关。例如,FcγR II a-131H 多态性作为提高临床疗效的指标,只适用于乳腺癌、肠癌和滤泡淋巴瘤分别用赫赛汀、西妥昔单抗抗体和美罗华治疗时相关。FcγR III a-158F 多态性与西妥昔单抗抗体治疗的大肠癌患者的疗效改善相关,但是也与赫赛汀治疗的乳腺癌、西妥昔单抗抗体治疗肠癌<sup>[5]</sup>、美罗华治疗恶性血液病的低临床反应相关。此外,美罗华或阿仑单抗

抗体治疗慢性淋巴瘤,美罗华治疗弥漫大 B 细胞淋巴瘤,以及环磷酰胺、阿霉素、长春新碱和泼尼松化疗、美罗华序贯治疗滤泡型淋巴瘤,其临床疗效与 FcγR II a/III a 受体基因多态性不相关。即使出现临床反应的病例,也并非每个患者的淋巴细胞均表达有利的 FcγR 基因型,肿瘤也不一定表达目标肿瘤抗原<sup>[5]</sup>。此外,西妥昔单抗抗体对结肠癌是否有临床反应预测能力目前尚有争议。因此,除了 FcγR 基因多态性,肯定存在其他因素影响单克隆抗体为基础的免疫疗法的临床反应。

#### 6 细胞免疫的潜在作用

体外实验和动物模型中,存在很多影响效应细胞介导 ADCC 的因素。但是,临床研究发现,大多数因素均与临床反应无关<sup>[17]</sup>。此外,FcγR 基因型与单克隆抗体治疗的临床效果关联明显,但又并非绝对。临床研究结果支持其他机制参与临床反应。正如上文所述,体内肿瘤抗原诱导细胞产生免疫性,与肿瘤患者治疗动力学的临床观察相符合。大量动物实验与临床观察支持单克隆抗体触发或加强细胞免疫反应<sup>[18]</sup>,包括细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)和辅助 T 细胞(Th)<sup>[19]</sup>。有报道指出乳腺癌辅助治疗时,联用赫赛汀与 HER2 受体结合肽疫苗以增加单克隆抗体的临床活性,结果显示肿瘤抗原特异性 T 细胞的活性并没有降低<sup>[20]</sup>。最初出现临床反应的患者也存在肿瘤复发,说明肿瘤细胞可以逃逸基于肿瘤抗原单克隆抗体的抗肿瘤效应。

#### 参考文献:

- [1] Musolino A. 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): 1789-1792.
- [2] Vermorken J. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer[J]. *New England J Med*, 2008, 359(11): 1116-1118.
- [3] Winter M, Hancock B. Ten years of rituximab in NHL [J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2009, 8(2): 223-235.
- [4] Yun C. Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity [J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(3): 217-227.
- [5] Bibeau F, Lopez-Crapez E, DiFiore F, et al. Impact of FcγR II a-FcγR III a polymorphisms and KRAS mutations on the clinical outcome of patients with metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus irinotecan[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(7): 1122-1124.
- [6] Valentini A, Pirrelli M, Caruso M. EGFR-targeted therapy in colorectal cancer: Does immunohistochemistry deserve a role in predicting the response to cetuximab? [J]. *Current Opinion Molecular Therapeutics*, 2008, 10(2): 124-126.
- [7] Chung C. Increased epidermal growth factor receptor gene copy number is associated with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinomas [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(25): 4170-4173.
- [8] Pawluczko A. Binding of submaximal C1q promotes complement-dependent cytotoxicity (CDC) of B cells op-

sonized with anti-CD20 mAbs ofatumumab(OFA) or rituximab(RTX):considerably higher levels of CDC are induced by OFA than by RTX[J]. J Immunol,2009,183(6):749-752.

- [9] Lopez-Albaitero A. Role of polymorphic Fc gamma receptor III a and EGFR expression level in cetuximab mediated,NK cell dependent in vitro cytotoxicity of head and neck squamous cell carcinoma cells[J]. Cancer Immunology Immunotherapy,2009,58(11):1853-1862.
- [10] Burtneess B. Phase III randomized trial of cisplatin plus placebo compared with cisplatin plus cetuximab in metastatic/recurrent head and neck cancer;an Eastern Cooperative Oncology Group study[J]. J Clin Oncol,2005,23(34):8646-8648.
- [11] Chung K. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry[J]. J Clin Oncology,2005,23(9):1803-1805.
- [12] Dechant M. Complement-dependent tumor cell lysis triggered by combinations of epidermal growth factor receptor antibodies[J]. Cancer Res,2008,68(13):4998-4999.
- [13] Beum P. Complement activation on B lymphocytes opsonized with rituximab or ofatumumab produces substantial changes in membrane structure preceding cell lysis[J]. J Immunol,2008,181(1):82-84.
- [14] Lee SA, Lopez-Albaitero M, Ferris R. Immunotherapy of

head and neck cancer using tumor antigen-specific monoclonal antibodies[J]. Current Oncology Reports,2009,11(2):156-162.

- [15] Varchetta S. Elements related to heterogeneity of antibody-dependent cell cytotoxicity in patients under trastuzumab therapy for primary operable breast cancer overexpressing Her2[J]. Cancer Res,2007,67(14):1991-1994.
- [16] Cartron G. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor Fc gamma R III a gene[J]. Blood,2002,99(3):754-756.
- [17] Dhodapkar K. Antitumor monoclonal antibodies enhance cross-presentation of cellular antigens and the generation of myeloma-specific killer T cells by dendritic cells[J]. J Experi Med,2002,195(1):125-127.
- [18] Abes R. Long-lasting antitumor protection by anti-CD20 antibody through cellular immune response[J]. Blood,2010,116(6):926-928.
- [19] Knutson KL, Disis ML. Tumor antigen-specific T helper cells in cancer immunity and immunotherapy[J]. Cancer Immunology Immunotherapy,2005,54(8):721-728.
- [20] Coveler A. Common adjuvant breast cancer therapies do not inhibit cancer vaccine induced T cell immunity[J]. Breast Cancer Res Treatm,2009,113(1):95-100.

(收稿日期:2012-11-08 修回日期:2013-02-13)

· 综 述 ·

## 血管性认知功能障碍早期诊断的研究进展

方 芳 综述,蒋安杰<sup>△</sup> 审核

(重庆市第九人民医院神经内科 400700)

**关键词:**痴呆,血管性;神经影像学;神经心理学;事件相关电位

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.18.045

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)18-2166-03

随着人口老龄化,痴呆的发病率越来越高。在中国,由于心脑血管疾病的高发,导致血管性痴呆(vascular dementia,VD)成为了痴呆患者中最多的人群。然而,VD的治疗效果却不尽如人意。如果能够在VD的早期及时发现,并对其采取相应措施进行干预,这类患者后期发展为痴呆的概率会大大降低。因此,学者们提出了血管性认知功能障碍(vascular cognitive impairment,VCI)的概念。VCI比VD的范畴更广,它不仅包括了VD,还包括混合性痴呆和无痴呆的血管性认知功能障碍(vascular cognitive impairment no dementia,VCIND)。针对于VCI的诊断目前尚无统一标准,有学者主张使用世界卫生组织(WHO)制订的ICD-10中轻-中度认知障碍的诊断标准;也有学者认为除此以外,必须加上明确的脑血管病。在临床上,有很多指标对于早期发现VCI有意义,本文对此做一综述。

### 1 神经影像学对VCI的早期诊断

VCI患者在神经影像学上有其特殊征象,表明神经影像学

与认知功能之间存在密切联系。可见,神经影像学是评估血管损害和VCI之间关系的重要工具之一,特别是对涉及脑小血管疾病(cerebral small vessel disease,SVD)的诊断具有至关重要的作用。SVD主要包括腔隙性脑梗死、白质疏松和脑微出血<sup>[1]</sup>,对卒中(缺血或出血)事件的发生具有一定程度的预示作用。

**1.1 腔隙性脑梗死与VCI的关系** SVD所致皮质下缺血性脑血管病(subcortical ischemic vessel disease,SIVD)是VCI常见类型之一。SIVD的临床症状主要包括运动和认知执行速度减慢、健忘、构音障碍、情绪改变、小便失禁和步态异常等。目前,关于SIVD的病因尚不明确,一般认为,高血压病、糖尿病、心脏病、高脂血症等能导致脑血管疾病的血管性危险因素也是SVD的危险因素。高血压病更多见于小血管病所致的SIVD,而高脂血症、吸烟、心肌梗死和周围血管病更多见于大血管病。不同亚型小血管病的危险因素也不相同,高血压病与