曲妥珠单抗获得性耐药机制及应对策略

常晋霞[1],李兴妍[2],刘文虎[3]
(1. 川北医学院基础医学院, 四川 南充 637100;2. 汉中市城固县食品药品检验检测中心,陕西 汉中 723200;3. 川北医学院药学院,四川 南充 637100)

摘　要:曲妥珠单抗是靶向人表皮生长因子 2(HER2)的单克隆抗体药物,对 HER2 表达阳性乳腺癌及胃癌治疗效果确切。然而多数患者在用药 1 年内出现了获得性耐药,导致其疗效降低甚至无效。研究表明,信号通路异常激活;表皮生长因子受体(EGFR)及其配体异常表达及肿瘤诱发上皮—间质转化(EMT)均可成为曲妥珠单抗耐药的重要机制,联合使用 PI3K/AKT/mTOR 通路抑制剂及其相关生存信号通路抑制剂可逆转曲妥珠单抗耐药。本文就曲妥珠单抗耐药机制及逆转耐药策略进行综述。

关键词:曲妥珠单抗;HER2;获得性耐药
中图分类号:R73　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1004-0242(2018)04-0299-07
doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2018.04.A010

Acquired Trastuzumab Resistance:Mechanisms and Coping Strategies

CHANG Jin-xia[1],LI Xing-yan[2],LIU Wen-hu[3]
(1. School of Basic Medical Sciences,North Sichuan Medical College,Nanchong 637100,China;2. Food and Drug Testing Center of Chenggu,Hanzhong 723200,China;3. Department of Pharmacy,North Sichuan Medical College,Nanchong 637100,China)

Abstract:Trastuzumab,a monoclonal antibody targeting the human epidermal factor 2(HER2),has proven to have a reliable therapeutic effect on HER2-positive breast and gastric cancer. However,the acquired resistance would occur within one year of treatment in majority of patients. As a consequence,the effect dropped even down to zero. The studies have shown that aberrant activation of signaling pathways,abnormal expression of epidermal growth factor receptor(EGFR)and its ligand,and cancer-induced epithelial-mesenchymal transition(EMT) are possibly the mechanisms of trastuzumab resistance. Therefore,combination of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors and inhibitors to other relevant survival signaling pathways may reverse trastuzumab resistance. In this article,we discuss and summarize the mechanisms of trastuzumab resistance and the coping strategies.

Key words:trastuzumab;HER2;acquired resistance

人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor-2,HER2)是由原癌基因 *c-ErbB2* 编码而成的跨膜蛋白,属于表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)家族成员,由胞外区、跨膜区和胞内区构成。胞外区包含四个结构域(Ⅰ~Ⅳ),其中Ⅰ和Ⅲ含有配体结合位点,Ⅱ和Ⅳ含有帕妥珠单抗和曲妥珠单抗结合位点;跨膜区由 α-螺旋结构组成;胞内区为激酶区和 ATP 结合位点,通过激酶磷酸化作用参与信号转导[1,2] (Figure 1)。虽然人们并未发现能与 HER2 特异性结合的内源性配体,但是 HER2 在家族其他配体(EGF、TGF-α 和 Neuregulins 等)诱导下,形成的异源二聚体比家族中其他任何受体—配体复合物形成的信号更强。因而,HER2 信号是该家族中最重要的转导途径。

据统计,约 30%的乳腺癌和 20%的胃癌存在 *c-ErbB2* 基因扩增或 *HER2* 的过度表达[3,4]。过表达的 HER2 形成异源二聚体,引起胞内激酶区活化,诱发受体磷酸化,引起下游 PI3K/AKT 和 Ras/Raf/MAPK

收稿日期:2018-01-24;修回日期:2018-02-07
通讯作者:刘文虎,E-mail:wh_liu2003@163.com

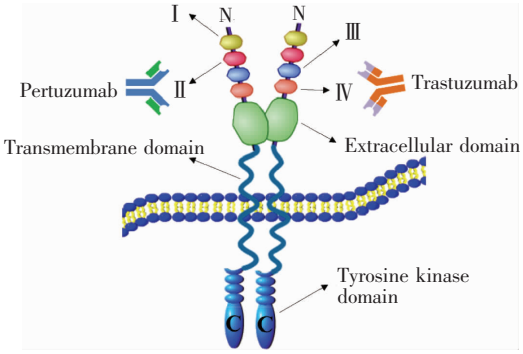

Figure 1　Schematic diagram of HER2[1,2]

等通路激活，参与细胞周期的调控。HER2 过度表达与肿瘤增殖、侵袭、转移及预后密切相关。因此，HER2 已成为肿瘤靶向治疗中的重要靶标[5]。

1　曲妥珠单抗抗肿瘤作用机制

曲妥珠单抗是靶向 HER2 的人源性单克隆抗体，能够特异结合于 HER2 胞外段结构域Ⅳ，通过抗体依赖细胞介导细胞毒性作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity，ADCC) 和抑制信号转导发挥对肿瘤细胞的杀伤作用。该药于 1998 年首次获批用于 HER2 表达阳性转移性乳腺癌的二线治疗，2010 年又获批用于 HER2 阳性转移性胃癌的治疗。作为第一个用于临床的靶向抗肿瘤药物和信号转导抑制剂，曲妥珠单抗在早期肿瘤治疗中显示出巨大的应用潜能。目前已知的作用机制包括以下几个方面[6,7]：①抗体与自然杀伤细胞(NK)细胞膜 Fc-γⅢ受体特异性结合，激活 NK 细胞释放穿孔素、颗粒酶等细胞毒性物质，诱导宿主免疫应答，诱发 ADCC 效应，杀伤肿瘤细胞；②与 HER2 胞外域Ⅳ特异性结合，抑制 HER2 二聚体形成，抑制下游信号激活；③抑制 HER2 胞外域切割，阻断胞内截短体p95HER2 残基活化，抑制下游信号转导；④抑制肿瘤血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor，VEGF)及 TGF-α 生成，通过诱导凝血酶敏感蛋白-1 表达，降低肿瘤微血管密度，抑制肿瘤血管生成；⑤抑制肿瘤细胞 DNA 损伤后再修复，阻止肿瘤细胞 DNA 非程序性合成。

尽管曲妥珠单抗能够延长乳腺癌及胃癌患者的总生存期和无进展生存期，然而由于其客观治疗有效率低，且起初接受曲妥珠单抗治疗有效的多数患者，在用药 1 年内，肿瘤细胞对药物即产生明显抗药性，导致药效降低甚至无效。

2　曲妥珠单抗获得性耐药机制

2.1　*c-ErbB* 基因扩增及 HER2 区域异质性与曲妥珠单抗耐药

区域异质性是引起肿瘤生物特性改变的重要原因，区域异质性与肿瘤的增殖速度、侵袭能力及耐药密切相关[8]。*c-ErbB* 扩增是曲妥珠单抗治疗有效的理论基础，然而临床发现，部分乳腺癌及胃癌组织中，*c-ErbB* 扩增及 HER2 表达存在区域异质性，与 HER2 表达均一性患者相比，区域异质性患者预后效果明显较差，而且 *c-ErbB* 区域异质性与曲妥珠单抗治疗的客观有效率关系密切，区域异质性高的患者曲妥珠单抗治疗的有效率显著降低[9]。这些研究结果为曲妥珠单抗的合理使用提供了重要指导，即在使用曲妥珠单抗前，检测 *c-ErbB* 扩增及 HER2 的区域表达具有重要意义。

2.2　*c-ErbB* 基因转位与曲妥珠单抗耐药

研究发现，乳腺癌组织中 HER2 核染色呈阳性，提示 HER2 发生了核的转位。转位的 HER2 发挥转录因子的功能，参与调控基因的转录过程；也可以与 HER3 及 STAT3 形成复合物，进而与细胞周期蛋白 D1 启动子结合，促使转录发生[10](Figure 2)。由于曲妥珠单抗只能与膜表面的 HER2 分子特异性结合并产生生物效应，无法将移至核内的 HER2/HER3/STAT3 信号抑制。因此，HER2 定位改变是诱发曲妥

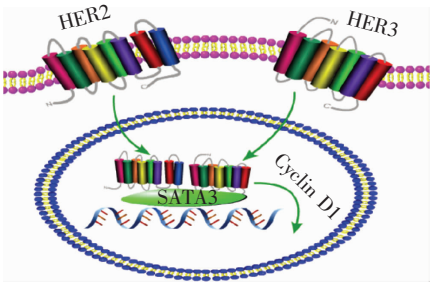

Figure 2　HER2 nuclear translocation and trastuzumab resistance[10]

珠单抗耐药的重要因素，故可以将 HER2 核转位作为预判药物疗效的重要指标。

2.3 HER2 胞外域切割及 p95HER2 累积与曲妥珠单抗耐药

HER2 蛋白被基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases，MMPs)水解后，形成分子量较大的胞外片段(110×103kDa)和分子量较小的膜链接片段(95×103kDa，即 p95HER2)。胞外片段脱离与膜连接而直接进入血液，但保留了曲妥珠单抗结合位点，仍然具备结合曲妥珠单抗的能力。p95HER2 保持与膜相连，仍然具有激酶活性，与 HER 家族成员形成二聚体，激活下游信号，促进肿瘤迁移与增殖。研究发现，p95HER2 阳性乳腺癌患者使用曲妥珠单抗的有效率仅为 11.1%，而阴性患者有效率高达 51.4%，原因可能与曲妥珠单抗无法识别 p95HER2 有关，提示 p95HER2 表达可作为曲妥珠单抗治疗是否有效的重要参考指标[11]。

2.4 信号通路激活与曲妥珠单抗耐药

2.4.1 PI3K/AKT 信号通路与曲妥珠单抗耐药

PI3K/AKT 信号通路与肿瘤的发生、发展及恶性程度关系密切，肿瘤的耐药与该通路的异常活化呈正相关[12]。磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)作为 EGFR 下游的重要分子，与细胞的增殖、分化等生物学过程关系密切；活化的 PI3K 使磷脂酰肌醇二磷酸(PIP2)发生磷酸化转变为磷脂酰肌醇三磷酸(PIP3)，而 PIP3 作为重要的信使分子进一步激活下游信号，导致肿瘤不断增殖与肿瘤血管新生[13]。

PIK3CA 为 PI3K 的 p110 催化亚基。多项研究发现，约 15%的乳腺癌患者存在 *PIK3CA* 基因的突变，该基因突变与肿瘤耐药密切相关[14]。研究还发现，PI3K/AKT 信号激活与人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)缺失或下调有关[14]。PTEN 与 PIP3 具有相反的调节功能，通过催化 PIP3 失去一个磷酸分子转变为无活性的 PIP2，引起 PI3K 负向调节，抑制下游 AKT 信号活化，进而调控下游信号事件(Figure 3)。PTEN 缺失的乳腺癌患者对曲妥珠单抗的敏感性显著降低。因而，PTEN 缺失或突变被认为是预测肿瘤对曲妥珠单抗产生抗药物性的标志性事件[15]。

2.4.2 胰岛素样生长因子-1 受体(IGF-1R)信号通路与曲妥珠单抗耐药

IGF-1R 信号激活与肿瘤增殖、转移及耐药关系密切[16]。IGF-1R 与 IGF 结合引起激酶磷酸化，导致 PI3K/AKT 和 Ras/MAPK 信号激活，激发下游信号。在曲妥珠单抗耐药乳腺癌细胞中，可见 IGF-1R 与 HER2 交联形成异二聚体，若使用 IGF-1R 特异性抗体 α-IR3 或 IGF-1R 抑制剂 I-OMe-AG538 阻断 IGF-1R 信号，均可增加曲妥珠单抗的敏感性[17]。另一项关于乳腺癌曲妥珠单抗耐药的研究中，IGF-1R 与 HER2 及 HER3 形成三聚体，激活下游信号转导，若降低 HER3 或 IGF-1R 的表达，亦可使耐药细胞对曲妥珠单抗的敏感性增强，提示 IGF-1R 信号激活与曲妥珠单抗耐药关系密切[18]。

2.4.3 IL-6/STAT3 通路与曲妥珠单抗耐药

Yang 等[19]报道了曲妥珠单抗耐药的胃癌细胞呈现 STAT3 信号的异常活化。若使用 STAT3 抑制剂阻断其信号，可使耐药细胞对药物的敏感性增强，暗示 STAT3 信号异常激活与胃癌曲妥珠单抗耐药有关。进一步研究发现，IL-6 在曲妥珠单抗耐药胃癌细胞中高表达，推测 IL-6 分泌导致 STAT3 活化可能是诱发胃癌曲妥珠单抗耐药的重要机制。另有研究显示，STAT3 信号活化引起黏蛋白 4(MUC4)高表达，而 MUC4 的 β 亚基具有 EGF 样结构域，能够与 HER2 结合形成复合物，诱导 HER2 受体酪氨酸激酶磷酸化，活化下游信号。MUC4 也可以与 HER2 形成复合

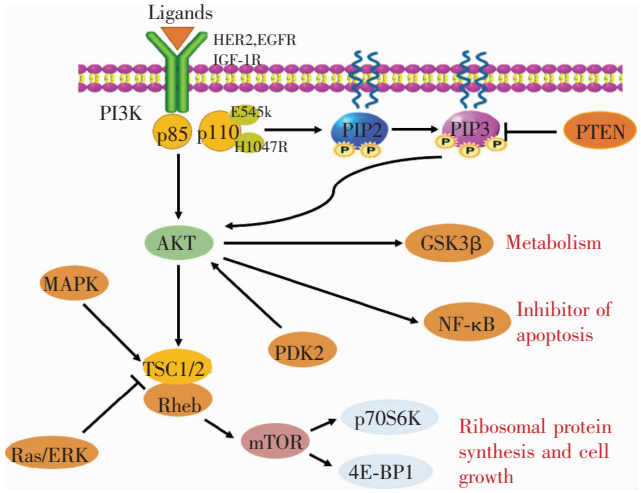

Figure 3 PI3K/AKT signaling pathway[14]

物，引起 HER2 外围空间位阻增加，遮蔽曲妥珠单抗与 HER2 的结合位点，影响曲妥珠单抗与 HER2 的有效结合，造成曲妥珠单抗脱靶失活[20]。此外，曲妥珠单抗耐药胃癌细胞中纤连蛋白、EGF 和 IL-6 的表达上调，STAT3 信号持续活化，而激活的 STAT3 又促使纤连蛋白、EGF 和 IL-6 表达，从而形成一个正反馈环路，放大并维持活化的 STAT3 信号，而激活的 STAT3 信号进一步诱导 MUC4 高表达，遮蔽曲妥珠单抗识别表位，导致肿瘤耐药[20]。

2.4.4 Jagged-1/Notch/IL-6 环路与曲妥珠单抗耐药

研究发现，Notch 信号在曲妥珠单抗耐药乳腺癌细胞中被异常激活，使用 γ-分泌酶抑制剂阻断 Notch 信号，可有效降低肿瘤抗药性[19]。一项关于胃癌样本基因芯片的研究发现 Notch 信号激活程度与癌症复发率有关[21]。研究证实，曲妥珠单抗耐药的胃癌细胞中，Notch 表达显著增高，激活 Notch 信号导致 IL-6 表达增强，而 IL-6 驱使 Notch 特异性配体 Jagged-1 过表达，过表达的 Jagged-1 引起 IL-6 及 Notch 靶基因 *HEY1* 和 *HEY2* 表达增强。由此证实，Jagged-1/Notch/IL-6 在曲妥珠单抗耐药胃癌细胞中形成正反馈环路，抑制该环路可逆转胃癌曲妥珠单抗的耐药[19]。

2.4.5 EMT 与曲妥珠单抗耐药

EMT 是上皮细胞通过特定程序转化为具有间质表型的重要生物学过程。研究表明，肿瘤细胞诱发 EMT 与获得性耐药关系密切[22]。肿瘤细胞通过诱发 EMT，引起生物特性改变，包括获得较高的迁移、侵袭、抗凋亡和降解细胞外基质等能力。有证据表明，EMT 信号的活化或失调在诱发肿瘤细胞耐药过程中发挥重要作用[23]。在乳腺癌曲妥珠单抗耐药机制研究中，肿瘤细胞通过 MAPK 途径激活 TGF-β 诱发 EMT[24]；也可以通过EMT 途径激活 Wnt/β-catenin 信号，导致乳腺癌耐药[25](Figure 4)；还可以通过 EMT 激活 NF-κB/Snail/YY1/RKIP/PTEN 环路产生抗药性[26]。

2.4.6 β2-肾上腺素能受体(β2-AR)信号通路与曲妥珠单抗耐药

在一项研究中，科学家采用免疫组化分析了 HER2 阳性乳腺癌组织 β2-AR 的表达情况，发现 β2-AR 水平与曲妥珠单抗的反应性有关。儿茶酚胺可通过多种途径激活 β2-AR，进一步调控与 PI3K/AKT 通路相关的信号转导，引起曲妥珠单抗耐药[27]。另一项研究发现，HER2 过表达的胃癌细胞中，高浓度的儿茶酚胺可导致 β2-AR 表达增强，进一步诱导 STAT3 及 ERK 信号异常活化，引起 MUC4 表达上调，造成曲妥珠单抗与 HER2 结合表位被掩蔽，导致药物脱靶[28](Figure 5)。

3 逆转曲妥珠单抗耐药的对策

尽管曲妥珠单抗在转移性乳腺癌及晚期胃癌治

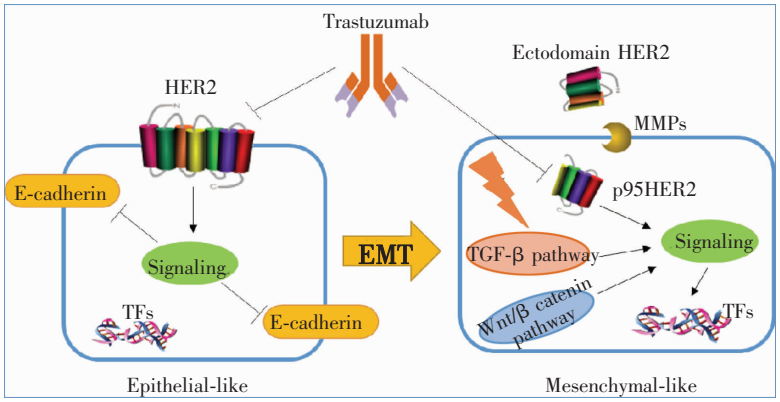

Figure 4 EMT and trastuzumab resistance[25]

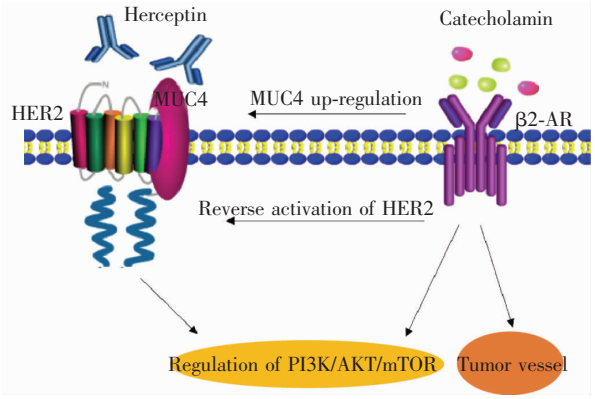

Figure 5 β2-AR signaling pathway and trastuzumab resistance[28]

疗中发挥了重要作用，然而，随着肿瘤抗药问题的日渐突出，目前曲妥珠单抗单药用于临床已面临诸多挑战。为了提高疗效，降低肿瘤抗药性，合理的药物联用将成为延迟或逆转曲妥珠单抗耐药的有效策略。目前，已有部分新型小分子抑制剂及抗体类药物相继研发或成功上市(Table 1)，这些药物涉及的抗肿瘤靶点广泛、机制明确、疗效可靠，为延迟或逆转曲妥珠单抗耐药带来希望。

Table 1 Molecular targeted antineoplastic agents approved by FDA or used in clinical trials

Drug types	Drug name	Action target	Research stage
Monoclonal antibody	Pertuzumab	HER2	Put on the market
	T-DM1	HER2	Clinical stage Ⅲ
	Trastuzumab	HER2	Put on the market
	MM-111	HER2-HER3	Clinical stage Ⅱ
	Four-in-one antibody	HER1,HER2,HER3,VEGF	Preclinical
	HER2-TDB	HER2	Clinical stage Ⅱ
Small molecule inhibitor	Lapatinib	EGFR, HER2	Put on the market
	Neratinib	EGFR, HER2, HER4	Put on the market
	Afatinib	EGFR, HER2, HER4	Clinical stage Ⅲ
	Canertinib	EGFR, HER2, HER4	Clinical stage Ⅱ
	GDC-0941	PI3K	Clinical stage Ⅱ
	BEZ235	PI3K, mTOR	Clinical stage Ⅰb/Ⅱ
	Triciribine	AKT	Put on the market
	Everolimus	mTOR	Put on the market
	Temsirolimus	mTOR	Put on the market

3.1 抗体类药物

帕妥珠单抗是首个用于临床的“HER2/HER3 二聚体抑制剂”，2012 年批准用于 HER2 阳性转移性乳腺癌及晚期胃癌的治疗，能够特异性结合 HER2 胞外段结构域Ⅱ，抑制 HER2/HER3 复合物的形成，阻断依赖配体介导的 HER 信号转导，发挥抗肿瘤作用。由于帕妥珠单抗、曲妥珠单抗与 HER2 结合时的识别位点不同，因此对曲妥珠单抗耐药的肿瘤患者，使用帕妥珠单抗治疗仍然有效。研究表明，联合使用帕妥珠单抗治疗乳腺癌患者的总生存期较曲妥珠单抗单药使用延长 6.1 个月[29]。

T-DM1(Ado-trastuzumab emtansine)是将曲妥珠单抗与美坦新(DM1)通过特定方式连接而成的新型抗体类药物，用于曲妥珠单抗和紫杉烷类药物治疗无效的转移性乳腺癌[30]。T-DM1 与 HER2 结合后，通过抗体介导的细胞内吞作用，特异性的将抗微管药物 DM1 选择性地释放至肿瘤细胞内，造成肿瘤细胞微管破坏，导致细胞死亡。一项关于 T-DM1 安全性和有效性研究中，入选的 991 例晚期转移性乳腺癌患者被随机分为两组，第一组为 T-DM1 治疗组，第二组为拉帕替尼联合卡培他滨治疗组(阳性对照)。结果表明，T-DM1 治疗组患者的无进展生存期为 9.6 个月，对照组为 6.4 个月，前者较后者延长 3.2 个月；T-DM1 治疗组患者总生存期为 30.9 个月，对照组为 25.1 个月，前者比后者延长 5.8 个月[31]。

MM-111 为靶向 HER2-HER3 的双特异性抗体药物，是由抗 HER2 和 HER3 单链抗体连接而成的融合蛋白。MM-111 与 HER2-HER3 特异性结合，形成的三聚体能够有效抑制配基介导的信号转导。临床前研究显示，MM-111 联合曲妥珠单抗对转移性乳腺癌表现出良好的协同效应[32]。HER2-TDB 是针对 $HER2^+$ T 细胞构建的双特异性抗体药物，能够靶向 HER2 并激活 T 细胞，可在 pmol 浓度下杀死肿瘤细胞，HER2-TDB 有望在曲妥珠单抗耐药乳腺癌治疗中取得重大突破[33]。

3.2 小分子抑制剂类药物

3.2.1 PI3K/AKT 通路抑制剂

Buparlisib 是口服有效可逆性泛 PI3K 抑制剂，可靶向Ⅰ型 PI3K 的 α、β、γ 和 δ 亚型。Ⅰ期临床研究中，Buparlisib 联合曲妥珠单抗对转移性乳腺癌表现出良好的治疗效果[34]。BAY 80-6946 是 PI3K 高选择性抑制剂，对 PI3K α 和 β 亚基具有较强抑制作用(IC_{50} 分别为 0.469nmol/L 和 3.72nmol/L)。Ⅱ期临床表明，BAY 80-6946 对 HER2 阳性乳腺癌细胞的增殖具有明显抑制作用，与曲妥珠单抗合用显著提高抗肿瘤活性[35]。MK-2206 是针对 AKT 的小分子变构抑制剂，对 AKT1、AKT2 和 AKT3 均具有较强的抑制作用 (IC_{50} 分别为 8、12、65nmol/L)，临床前证实，MK-2206 联合紫杉醇对曲妥珠单抗不敏感的乳腺癌患者仍然有效[36]。

3.2.2 mTOR 通路抑制剂

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)是 PI3K/AKT 下游的重要信号分子，也是细胞生长和增殖的重要调节因子。研究证明，mTOR 信号激活与肿瘤增殖、转移及耐药密切相关，mTOR 分子已成为抗肿瘤药物作用的重要靶标。针对 mTOR 通路的抑制剂包括：以雷帕霉素(rapamycin)及衍生物为代表的第一代抑制剂和以 AZD8055 为代表的第二代抑制剂。临床证实，雷帕霉素联合曲妥珠单抗对 HER2 阳性乳腺癌疗效较曲妥珠单抗单药使用的有效率提高 20%，提示抑制 mTOR 通路对于曲妥珠单抗耐药的乳腺癌治疗仍然有意义[37]。依维莫司(RAD001)为雷帕霉素衍生物，因具有优越的药代动力学特征，已在全球 60 多个国家上市，用于雌激素受体阳性晚期乳腺癌的治疗及肾移植患者的器官排异反应[38]。Ⅲ期临床显示，RAD001 联合曲妥珠单抗及紫杉醇对曲妥珠单抗不敏感的晚期乳腺癌患者的无进展生存期分别延长 4 个月和 5.6 个月，联合治疗的临床获益率分别提高 26.5%和 42.1%[39]。

3.2.3 HER1/HER2 双靶点抑制剂

拉帕替尼(lapatinib)是可口服 HER1/HER2 双靶点抑制剂，是继曲妥珠单抗之后第二个用于乳腺癌治疗的靶向小分子药物。在拉帕替尼联合卡培他宾治疗晚期乳腺癌的有效性研究中，参与调查的 399 例患者，有 90%为 HER2 阳性，其中 67 例患者接受拉帕替尼，治疗时间为 8 周。结果显示，拉帕替尼对曲妥珠单抗不敏感的患者仍然有效，且能延长患者的总生存期[40]。

4 结 语

作为第一代靶向 HER2 的抗肿瘤单抗，曲妥珠单抗在 HER2 过表达转移性乳腺癌及晚期胃癌的治疗中取得了良好效果。曲妥珠单抗的成功应用，标志着癌症的分子靶向治疗进入了一个全新时代。然而相继出现的肿瘤获得性耐药问题，已成为影响曲妥珠单抗能否有效治疗的关键。目前，关于逆转乳腺癌曲妥珠单抗耐药的研究成果已应用于临床，并取得一定疗效。然而，胃癌曲妥珠单抗耐药是否与乳腺癌具有类似的机制，目前尚无定论。由于曲妥珠单抗用于胃癌治疗时间尚短，胃癌曲妥珠单抗耐药机制研究尚未深入开展，加之肿瘤耐药机制的复杂性和多样性，导致人们对胃癌曲妥珠单抗耐药机制的认识还远远不够。本课题组证实，mTOR 信号激活是胃癌曲妥珠单抗耐药的重要机制[41]，使用 mTOR 抑制剂可有效降低肿瘤细胞的迁移和侵袭能力，暗示针对 mTOR 通路的治疗或许是逆转胃癌曲妥珠单抗耐药的有效策略。总之，研究曲妥珠单抗的耐药机制，不仅为靶向药物研发提供了理论指导，也为逆转肿瘤耐药策略的建立提供科学依据。

参考文献：

[1] Moasser MM，Krop IE. The evolving landscape of HER2 targeting in breast cancer[J]. JAMA Oncol，2015，1(8)：1154-1161.

[2] Nixon NA，Hannouf MB，Verma S. A review of the value of human epidermal growth factor receptor 2(HER2)-targeted therapies in breast cancer[J]. Eur J Cancer，2018，89：72-81.

[3] Kümler I，Tuxen MK，Nielsen DL. A systematic review of dual targeting in HER2-positive breast cancer[J]. Cancer Treat Rev，2014，40(2)：259-270.

[4] Gomez-Martín C，Lopez-Rios F，Aparicio J，et al. A critical review of HER2-positive gastric cancer evaluation and treatment：from trastuzumab，and beyond[J]. Cancer Lett，2014，351(1)：30-40.

[5] Appert-Collin A，Hubert P，Crémel G，et al. Role of ErbB receptors in cancer cell migration and invasion[J]. Front Pharmacol，2015，6：283.

[6] Recondo G Jr，de la Vega M，Galanternik F，et al. Novel approaches to target HER2-positive breast cancer：trastuzumab emtansine [J]. Cancer Manag Res，2016，8(1)：57-65.

[7] Barok M，Joensuu H，Isola J. Trastuzumab emtansine：mechanisms of action and drug resistance [J]. Breast Cancer Res，2014，16(2)：209.

[8] Badve S，Gökmen-Polar Y. Tumor heterogeneity in breast cancer [J]. Adv Anat Pathol，2015，22(5)：294-302.

[9] Lee HJ，Seo AN，Kim EJ，et al. HER2 heterogeneity affects trastuzumab responses and survival in patients with HER2-positive metastatic breast cancer[J]. Am J Clin Pathol，2014，142(6)：755-766.

[10] Russo RC，Béguelin W，Flaqué MD，et al. Targeting ErbB-2 nuclear localization and function inhibits breast cancer growth and overcomes trastuzumab resistance[J]. Oncogene，2015，34(26)：3413-3428.

[11] Duchnowska R，Sperinde J，Czartoryska-Arłukowicz B，et al. Predictive value of quantitative HER2，HER3 and p95HER2 levels in HER2-positive advanced breast cancer patients treated with lapatinib following progression on trastuzumab [J]. Oncotarget，2017，8(61)：104149-104159.

[12] Guerrero-Zotano A，Mayer IA，Arteaga CL. PI3K/AKT/mTOR：role in breast cancer progression，drug resistance，and treatment[J]. Cancer Metastasis Rev，2016，35(4)：515-524.

[13] Faes S，Dormond O. PI3K and AKT：unfaithful partners in cancer [J]. Int J Mol Sci，2015，16(9)：21138-21152.

[14] Rimawi MF,De Angelis C,Contreras A,et al. Low PTEN levels and PIK3CA mutations predict resistance to neoadjuvant lapatinib and trastuzumab without chemotherapy in patients with HER2 over-expressing breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat,2018,167(3):731–740.
[15] Gschwantler-Kaulich D,Tan YY,Fuchs EM,et al. PTEN expression as a predictor for the response to trastuzumab-based therapy in HER-2 overexpressing metastatic breast cancer [J]. PLoS One,2017,12(3):e0172911.
[16] Jia YH,Zhang Y,Qiao CX,et al. IGF-1R and ErbB3/HER3 contribute to enhanced proliferation and carcinogenesis in trastuzumab-resistant ovarian cancer model [J]. Biochem Biophys Res Commun,2013,436(4):740–745.
[17] 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.
[18] Menyhárt O,Santarpia L,Györffy B. A Comprehensive outline of trastuzumab resistance biomarkers in HER2 overexpressing breast cancer[J]. Curr Cancer Drug Targets,2015,15(8):665–683.
[19] Yang ZY,Guo L,Liu D,et al. Acquisition of resistance to trastuzumab in gastric cancer cells is associated with activation of IL-6/STAT3/Jagged-1/Notch positive feedback loop [J]. Oncotarget,2015,6(7):5072–5087.
[20] Li GC,Zhao LK,Li W,et al. Feedback activation of STAT3 mediates trastuzumab resistance via upregulation of MUC1 and MUC4 expression [J]. Oncotarget,2014,5(18):8317–8329.
[21] Abravanel DL,Belka GK,Pan TC,et al. Notch promotes recurrence of dormant tumor cells following HER2/neu-targeted therapy [J]. J Clin Invest,2015,125(6):2484–2496.
[22] Zhou P,Li B,Liu F,et al. The epithelial to mesenchymal transition (EMT) and cancer stem cells:implication for treatment resistance in pancreatic cancer [J]. Mol Cancer,2017,16(1):52.
[23] Banyard J,Bielenberg DR. The role of EMT and MET in cancer dissemination [J]. Connect Tissue Res,2015,56(5):403–413.
[24] Nami B,Wang Z. HER2 in breast cancer stemness:a negative feedback loop towards trastuzumab resistance[J]. Cancers,2017,9(5):40.
[25] Wu Y,Ginther C,Kim J,et al. Expression of Wnt3 activates Wnt/β-catenin pathway and promotes EMT-like phenotype in trastuzumab-resistant HER2-overexpressing breast cancer cells[J]. Mol Cancer Res,2012,10(12):1597–1606.
[26] Bonavida B,Baritaki S. The novel role of Yin Yang 1 in the regulation of epithelial to mesenchymal transition in cancer via the dysregulated NF-κB/Snail/YY1/RKIP/PTEN circuitry[J]. Criti Rev Oncogenesis,2011,16(3–4):211–226.
[27] Liu D,Yang ZY,Wang T,et al. β2-AR signaling controls trastuzumab resistance-dependent pathway[J]. Oncogene,2016,35(1):47–58.
[28] Shi M,Yang ZY,Hu M,et al. Catecholamine-induced β2-adrenergic receptor activation mediates desensitization of gastric cancer cells to trastuzumab by upregulating MUC4 expression [J]. J Immunol,2013,190(11):5600–5608.
[29] Swain SM,Kim SB,Cortés J,et al. Pertuzumab,trastuzumab,and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA study):overall survival results from a randomised,double-blind,placebo-controlled,phase 3 study[J]. Lancet Oncol,2013,14(6):461–471.
[30] Lambert JM,Chari RV. Ado-trastuzumab emtansine (T-DM1):an antibody-drug conjugate(ADC) for HER2-positive breast cancer [J]. J Med Chem,2014,57(16):6949–6964.
[31] Krop IE,Lin NU,Blackwell K,et al.Trastuzumab emtansine(T-DM1) versus lapatinib plus capecitabine in patients with HER2-positive metastatic breast cancer and central nervous system metastases:a retrospective,exploratory analysis in EMILIA [J]. Ann Oncol,2015,26(1):113–119.
[32] Richards DA,Braiteh FS,Anthony SP,et al. A phase Ⅰ and pharmacologic study of MM-111,a bispecific HER2/HER3 antibody fusion protein,in combination with multiple treatment regimens in patients with advanced HER2-positive solid tumors [J]. J Clin Oncol,2014,32(15):651.
[33] Junttila TT,Li J,Johnston J,et al. Antitumor efficacy of a bispecific antibody that targets HER2 and activates T cells [J]. Cancer Res,2014,74(19):5561–5571.
[34] Saura C,Bendell J,Jerusalem G,et al. Phase Ⅰb study of buparlisib plus trastuzumab in patients with HER2-positive advanced or metastatic breast cancer that has progressed on trastuzumab-based therapy[J]. Clin Cancer Res,2014,20(7):1935–1945.
[35] Elster N,Cremona M,Morgan C,et al. A preclinical evaluation of the PI3K alpha/delta dominant inhibitor BAY 80–6946 in HER2-positive breast cancer models with acquired resistance to the HER2-targeted therapies trastuzumab and lapatinib [J]. Breast Cancer Res Tr,2015,149(2):373–383.
[36] Chien AJ,Cockerill A,Fancourt C,et al. A phase 1b study of the Akt-inhibitor MK-2206 in combination with weekly paclitaxel and trastuzumab in patients with advanced HER2-amplified solid tumor malignancies [J]. Breast Cancer Res Treat,2016,155(3):521–530.
[37] Eloy JO,Petrilli R,Brueggemeier RW,et al. Rapamycin-loaded immunoliposomes functionalized with trastuzumab:a strategy to enhance cytotoxicity to HER2-positive breast cancer cells [J]. Anticancer Agents Med Chem,2017,7(1):48–56.
[38] Wang J,Sun C,Huang X,et al. Long-term remission of hormone receptor-positive/HER2-positive metastatic breast cancer due to combined treatment with everolimus/trastuzumab/exemestane:a case report[J]. Oncol Lett,2017,14(2):1725–1730.
[39] Hurvitz SA,Andre F,Jiang Z,et al. Combination of everolimus with trastuzumab plus paclitaxel as first-line treatment for patients with HER2-positive advanced breast cancer (BOLERO-1):a phase 3,randomised,double-blind,multicentre trial [J]. Lancet Oncol,2015,16(7):816–829.
[40] Scaltriti M,Nuciforo P,Bradbury I,et al. High HER2 expression correlates with response to the combination of lapatinib and trastuzumab [J]. Clin Cancer Res,2015,21(3):569–576.
[41] Liu WH,Chang JX,Liu MW,et al. Quantitative proteomics profiling reveals activation of mTOR pathway in trastuzumab resistance [J]. Oncotarget,2017,8(28):45793–45806.