

• 研究论文 •

新型靶向HER2抗体MIL40偶联药物的抗肿瘤活性研究

耿晶¹, 杨跃梅², 李新颖^{3*}

(1. 中国医学科学院医药生物技术研究所, 北京 100050; 2. 北京瑗格干细胞科技有限公司, 北京 102604;
3. 军事医学研究院军事认知与脑科学研究所, 北京 100850)

摘要: 抗体偶联药物 (antibody-drug conjugates, ADCs) 目前已被广泛应用于肿瘤治疗。人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2) 在包括乳腺癌、胃癌和卵巢癌在内的多种实体瘤中均呈特异性高表达, 被视为理想的肿瘤治疗靶点。本研究在一种靶向 HER2 的新型抗体—MIL40 的基础上, 成功构建靶向 HER2 的 ADCs (MIL40-DM1 和 MIL40-MMAE), 并研究其抗肿瘤活性。实验结果表明, MIL40-DM1 和 MIL40-MMAE 能够有效识别并结合 HER2 阳性肿瘤细胞。偶联 DM1 和 MMAE 后, MIL40-DM1 和 MIL40-MMAE 与 HER2-ECD 抗原的结合能力并未受到影响。两者在体外均能有效杀伤 HER2 阳性 SKOV3 卵巢癌细胞、SKBR3 乳腺癌细胞和 N87 胃癌细胞。MIL40-DM1 能够有效抑制小鼠 SKOV3 移植瘤的体积以及重量的增长 (本研究中的小鼠按照国际实验室动物护理和使用准则进行使用和治疗, 并得到了军事医学科学院军事认知与脑科学研究所动物伦理委员会的批准)。

关键词: 人表皮生长因子受体 2; 肿瘤靶向治疗; 抗体-药物偶联物; DM1; MMAE

中图分类号: R966 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)03-0695-05

Anti-tumor activity of novel targeting HER2 antibody-drug conjugates

GENG Jing¹, YANG Yue-mei², LI Xin-ying^{3*}

(1. Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. Beijing Aegle Stem Technology Co., Ltd., Beijing 102604, China; 3. Institute of Military Cognition and Brain Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract: Antibody-drug conjugates (ADCs) are widely used in cancer treatment. Human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) is overexpressed in various types of solid tumors and is a validated therapeutic target for cancers. To develop a more effective therapy, we generated a novel anti-HER2 humanized monoclonal antibody MIL40 and MIL40 drug conjugates as novel cancer therapies. The MIL40 was conjugated with small molecule cytotoxic agents DM1 [emtansine, *N*²¹-deacetyl-*N*²¹-(3-mercapto-1-oxopropyl)-maytansine] or monomethylauristatin E (MMAE) to generate ADCs, which were evaluated for their *in vitro* and *in vivo* anti-cancer activities. Experimental results show that MIL40-DM1 and MIL40-MMAE can effectively identify and bind to HER2-positive tumor cells. The binding capabilities of MIL40-DM1 and MIL40-MMAE with HER2 extracellular domain (ECD) antigens were not different after conjugation with DM1 or MMAE. The ADCs showed potent cytotoxicity in HER2-positive ovarian cancer cells SKOV3, breast cancer cells SKBR3 and stomach cancer cells N87 *in vitro*. MIL40-DM1 can effectively inhibit the volume and weight growth of SKOV3 transplant tumors in mice. The mice in this study were used and treated by following the international guidelines for the care and use of laboratory animals, and approved by Animal Ethics Committee of Institute of Military Cognitive and Brain Sciences.

Key words: human epidermal growth factor receptor 2; tumor targeting therapy; antibody-drug conjugate; DM1; MMAE

收稿日期: 2021-05-25; 修回日期: 2021-10-19.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2021-I2M-1-026).

*通讯作者 Tel: 86-10-66931325, E-mail: lychee526@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-0789

人类表皮生长因子受体2 (HER2/erbB-2或原癌基因Neu)是由17q12号染色体上的*ERBB2* (*HER2*)基因编码的受体酪氨酸激酶^[1]。除了表皮生长因子受体(EGFR, erbB-1)、人表皮生长因子受体3 (HER3, erbB-3)和人表皮生长因子受体4 (HER4, erbB-4)之外,HER2也是表皮生长因子(EGF)受体家族的成员。HER2蛋白没有已知配体与细胞外结构域直接结合,但是它能够与EGF受体家族成员形成异源二聚体,稳定配体结合并增强激酶介导包括激活磷脂酰肌醇3激酶和促分裂原活化的蛋白激酶在内的下游信号传导^[1,2]。除乳腺癌外,研究发现HER2在包括胃癌和肺癌在内的多种癌症中呈过表达^[3],这使得HER2成为理想的肿瘤治疗靶标之一。目前靶向HER2的抗体赫赛汀(Herceptin, trastuzumab, 曲妥珠)及帕捷特(Perjeta, pertuzumab, 帕妥珠)已经作为一线治疗药物用于HER2阳性乳腺癌和胃癌等治疗。

抗体-药物偶联物(antibody-drug conjugate, ADCs)是由重组单克隆抗体通过合成接头(linker)与细胞毒性药物共价结合形成的分子^[4]。ADC综合了抗体特异性结合靶标和化学治疗药物细胞毒性两方面的优势。抗体与细胞毒性药物之间的稳定连接对于循环中ADC的完整性至关重要。抗体与肿瘤细胞表面的特定抗原结合后,ADC被内化,细胞毒性药物在细胞内释放并发挥作用。使用可裂解的接头设计ADC可以促进药物从靶细胞释放到细胞外空间,通过摄取细胞毒性药物杀死可能表达或不表达ADC靶抗原的周围细胞和旁观者细胞^[4,5]。由于能够特异性地靶向肿瘤细胞,ADC具有比其他细胞毒性药物不良反应更小的优势,并能具有更广泛的应用。目前已有7种ADCs,包括gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg[®])、brentuximab vedotin (Adcetris[®])、ado-trastuzumab emtansine (Kadcyla[®])、inotuzumab ozogamicin (Besponsa[®])、polatuzumab vedotin-piiq (Polivy[®])、enfortumab vedotin (Padcev[®])和trastuzumab deruxtecan (Enhertu[®])获得了FDA的批准应用于临床治疗中^[6-11]。常用的细胞毒性药物偶联物有DM1 [*N*²-deacetyl-*N*²-(3-mercapto-1-oxopropyl)-maytansine]和MMAE (monomethyl auristatin E)等。其中DM1是一种微管蛋白抑制剂,为美登素(maytansine)的衍生物,它能够与微管的末端结合并抑制微管的动态性^[12]。MMAE是一种细胞毒剂,为奥利斯他汀(auristatins)的衍生物,可抑制分裂细胞中的微管蛋白聚合,从而导致G2/M期停滞和凋亡^[13]。2013年FDA和EMA首先批准T-DM1作为HER2阳性乳腺癌的二线治疗药物^[14,15]。T-DM1由Herceptin与DM1通过稳定的硫醚键linker链接在一起组成,T-DM1与HER2

受体结合后,通过内吞作用递送至溶酶体,随后DM1被释放并转运至胞浆。DM1在胞浆中与微管蛋白结合并抑制微管形成,从而诱导细胞凋亡^[16]。在其III期临床试验中,结果显示T-DM1能够有效延长HER2阳性乳腺癌患者生存时间和提高生活质量,具有更高水平的疗效和安全性^[14]。除T-DM1外,SGN-35 (brentuximab vedotin)也已被批准用于临床治疗^[17]。目前,还有100多个ADCs正处于临床或临床前研究中,已成为当今肿瘤治疗方法的研究热点。

MIL40是一株从头设计制备的、与Herceptin作用表位相同的抗HER2抗体,本研究将其分别与小分子细胞毒性药物DM1和MMAE偶联,获得两种HER2抗体偶联物,并评价了这两种抗体偶联物的生物学活性,为HER2阳性肿瘤的治疗提供新的备选药物。

材料方法

细胞及抗体 人乳腺癌细胞系SKBR3、人卵巢癌细胞系SKOV3、人胃癌细胞系N87购自ATCC公司。MIL40抗体由本室表达纯化,为曲妥珠单抗(trastuzumab, Herceptin)的生物类似药,MIL40-DM1及MIL40-MMAE委托北京天广实生物科技有限公司进行偶联。

试剂 DMEM培养基购自Hyclone公司;胎牛血清购自Gibco公司;Cell Counting Kits (CCK8)、Annexin-V/FITC细胞凋亡检测试剂盒购自碧云天公司;FITC标记的羊抗人IgG购自Thermo Fisher公司;6~8周龄雌性BALB/c裸鼠(18~20 g)购自华阜康公司,动物许可证号SCXK(京)2012-0006。

流式细胞术 胰酶消化并收集处于对数生长期的细胞,FACS洗液(含2% FBS的PBS, pH7.5)洗2次后计数,调整细胞密度至每毫升含 2×10^5 个。每管加入1 mL细胞,7 000 r·min⁻¹离心1 min,弃去上清。加入FACS洗液稀释的抗体100 μL,混匀后室温避光20 min。加入FACS洗液1 mL,7 000 r·min⁻¹离心1 min,重复3次后加入FACS稀释的FITC标记的羊抗人荧光二抗100 μL,室温避光20 min。FACS洗液再次洗细胞3次,7 000 r·min⁻¹离心1 min。每管加入500 μL多聚甲醛固定细胞,上机检测。

ELISA 用重组人HER2-ECD(每孔25 ng)包被96孔板,4 °C过夜。然后用PBST(含1% BSA和0.1%吐温-20的PBS)室温封闭2 h。在PBST洗涤3次后,加入10倍稀释的ADCs,37 °C孵育2 h。PBST洗涤3次后,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗人Fab抗体,37 °C孵育40 min。PBST的洗涤3次后,加入TMB检测过氧化物酶活性,然后加入1 mol·L⁻¹ H₂SO₄终止反应,测

量450 nm处的 A 值。

CCK8检测细胞抑制增殖 取处于对数期的细胞, 胰酶消化后计数, 调整细胞密度至每毫升 1×10^5 个, 接种至96孔板中, 每孔100 μL 。放置于 37°C 、5% CO_2 细胞培养箱培养24 h。用培养基将抗体倍比稀释, 弃去96孔板上清, 加入稀释后的抗体, 每个浓度3个复孔。放置于 37°C 、5% CO_2 细胞培养箱培养72 h后, 每孔加入CCK8溶液10 μL , 37°C 孵箱中放置3 h后用酶标仪读取450 nm处的 A 值。

SKOV3小鼠荷瘤模型的建立及ADCs抑瘤活性检测 胰酶消化收集处于对数生长期的SKOV3细胞, 计数后调整细胞密度至每毫升 2×10^7 个。取6~8周雌性BALB/c裸鼠, 将SKOV3细胞接种至小鼠右侧脂肪垫处, 每只每处100 μL 。当肿瘤生长至直径约3~5 mm, 将成瘤后的小鼠随机分为4组: 生理盐水(NS)组、阳性对照Herceptin组和MIL40组以及MIL40-DM1组。尾静脉注射方式给药, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每只100 μL , 每周给药1次, 共给药4次。期间监测小鼠体重和瘤体积变化, 每周2次。最后1次给药后1周, 称重并测量肿瘤体积后颈椎脱臼法处死各组小鼠, 并剥离肿瘤称重。肿瘤体积 = $1/2 \text{ 肿瘤长 (mm)} \times [\text{肿瘤宽 (mm)}]^2$ 。动物实验符合中国实验动物护理和使用准则, 并经军事医学科学院军事认知与脑科学研究所实验动物伦理委员会批准。

统计学方法 所有分析均使用Prism软件(版本7.0; GraphPad Software Inc. 公司), 表示为 $\bar{x} \pm s$ 。两组间差异性比较采用Student's t 检验分析, $P < 0.05$ 认为其有显著性差异。

结果

1 MIL40-DM1和MIL40-MMAE与HER2-ECD抗原的结合活性

通过ELISA方法检测MIL40-DM1和MIL40-MMAE与HER2-ECD抗原的结合能力, 以MIL40作为阳性对照, 结果如图1显示。偶联DM1和MMAE后, MIL40-DM1和MIL40-MMAE与HER2-ECD抗原的结合能力并未受到显著影响, MIL40、MIL40-DM1和MIL40-MMAE的半数有效浓度(EC_{50})值分别为0.09、

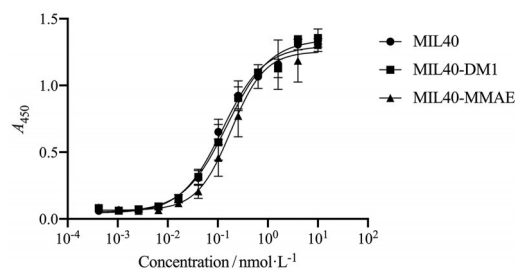


Figure 1 The binding activity of MIL40-DM1 and MIL40-MMAE with HER2 ECD by ELISA. HER2: Human epidermal growth factor receptor-2; DM1: Emtansine, N^{21} -deacetyl- N^{21} -(3-mercaptopropyl)-maytansine; MMAE: Monomethylauristatin E; ECD: Extracellular domain. $n = 3, \bar{x} \pm s$

0.075和0.11 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2 MIL40-DM1和MIL40-MMAE与HER2阳性肿瘤细胞具有良好结合活性

FACS方法检测MIL40偶联DM1和MMAE后对抗体与HER2阳性肿瘤细胞的结合活性影响, 以MIL40作为阳性对照。结果如图2所示, 偶联DM1和MMAE后, MIL40-DM1和MIL40-MMAE与SKOV3细胞的结合活性并未受影响(图2A), EC_{50} 分别为0.004和0.001 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, MIL40-DM1与SKBR3细胞和N87细胞的结合活性也未受影响, EC_{50} 分别为0.017和0.019 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 但MIL40-MMAE与SKBR3细胞及N87细胞的结合活性与MIL40和MIL40-DM1相比略有下降, EC_{50} 分别为0.04和0.035 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图2B、C)。

3 MIL40-DM1和MIL40-MMAE抑制HER2阳性肿瘤细胞增殖

为评价MIL40-DM1和MIL40-MMAE对不同种类的HER2阳性肿瘤细胞的杀伤活性, 利用CCK8方法检测给药后HER2阳性SKOV3、SKBR3和N87细胞的增殖情况, 以MIL40作为阳性对照, 结果如图3所示。偶联DM1和MMAE后, MIL40-DM1和MIL40-MMAE对SKOV3细胞的杀伤活性与MIL40相比并无显著变化(图3A), 而对SKBR3的杀伤均得到了增强(图3B)。针对N87细胞, MIL40-DM1的杀伤活性与MIL40相比并无显著变化, 而MIL40-MMAE的杀伤活性则有显著提高(图3C)。

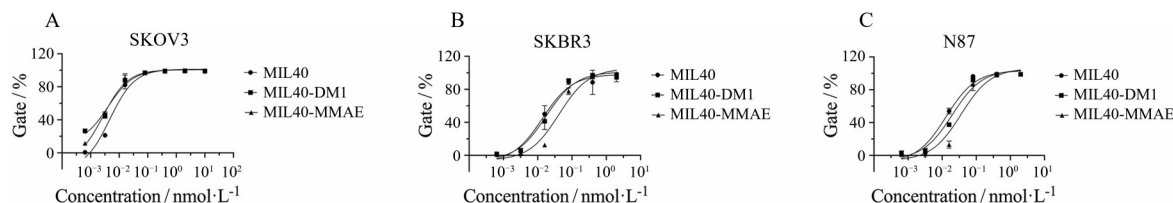


Figure 2 Binding activity of HER2 positive SKOV3 (A), SKBR3 (B) and N87 (C) treated with different concentration of MIL40-DM1 and MIL40-MMAE by FACS. $n = 3, \bar{x} \pm s$

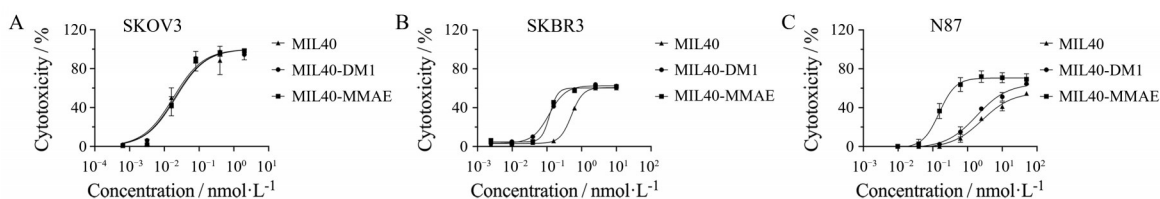


Figure 3 Cytotoxicity of different concentration of MIL40-DM1 and MIL40-MMAE in SKOV3 (A), SKBR3 (B) and N87 (C) cells by CCK8. $n = 3, \bar{x} \pm s$

4 MIL40-DM1 对免疫缺陷小鼠 SKOV3 卵巢癌移植瘤的治疗作用

为评价 MIL40-DM1 体内抑瘤活性, 使用 BALB/c 雌性裸鼠和 SKOV3 卵巢癌细胞建立了 SKOV3 移植瘤模型小鼠。肿瘤直径达到 3~5 mm 后将成瘤小鼠随机分为 4 组, 分别使用生理盐水、Herceptin、MIL40 和 MIL40-DM1 给药治疗, 生理盐水治疗组作为阴性对照组, Herceptin 和 MIL40 单抗治疗组作为阳性对照组。结果显示 (图 4), 阳性对照药 MIL40 和 Herceptin 均具有良好的抑瘤活性, 最后一次治疗后, 生理盐水对照组的肿瘤增长率为 1 600%, Herceptin 治疗组和 MIL40 治疗组肿瘤体积增长率为 1 030% 和 1 080%, 平均肿瘤体积分别为生理盐水对照组的 60% 和 68%。而 MIL40-DM1 治疗组治疗效果更为显著, 肿瘤体积仅为生理盐水组的 4.5%, 肿瘤体积增长率为 16% (图 4A)。给药治疗后, 生理盐水组和 Herceptin 治疗组以及 MIL40 治疗组小鼠体重均有不同程度的下降, 而 MIL40-DM1 治疗组小鼠体重保持稳定, 随时间增长体重也有所增加 (图 4B), 说明 MIL40-DM1 具有良好的抑瘤活性外, 毒性也较低。

最后 1 次治疗后 1 周, 采用颈椎脱臼法处死小鼠, 剥离肿瘤。Herceptin 和 MIL40 治疗组的肿瘤重量较生理盐水组低, 分别为生理盐水组的 52% 和 53% (图 5A), 肿

瘤体积也明显小于生理盐水组 (图 5B)。MIL40-DM1 与两组阳性对照治疗组相比, 肿瘤体积和肿瘤重量均显著降低, 肿瘤体积仅为生理盐水组的 4% (图 5)。结果表明, MIL40-DM1 能够在体内抑制 SKOV3 移植瘤的生长, 偶联 DM1 后, MIL40-DM1 的治疗效果比阳性对照药 Herceptin 和 MIL40 更为显著, 能够更加有效地抑制肿瘤体积以及肿瘤重量的增长。

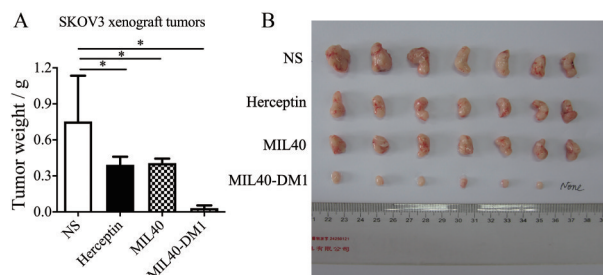


Figure 5 *In vivo* anti-tumor efficacy of MIL40-DM1 against SKOV33 cell xenograft tumors. A: The tumor weight after treatment with different drugs; B: The tumor after treatment with different drugs. $n = 7, \bar{x} \pm s. *P < 0.05$

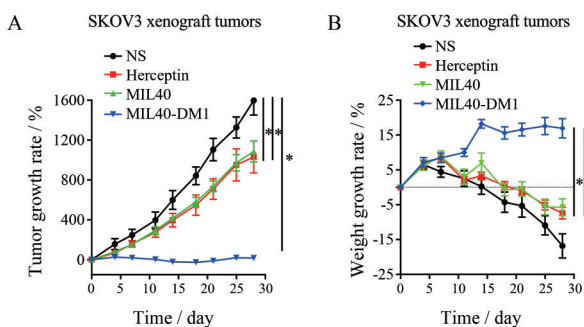


Figure 4 *In vivo* anti-tumor efficacy of MIL40-DM1 against SKOV3 cell xenograft tumors. A: The tumor growth curves of tumor-bearing mice after treatment with different drugs (NS was negative control, Herceptin and MIL40 was positive control); B: The body weight shifting in tumor bearing mice. $n = 7, \bar{x} \pm s. *P < 0.05$

讨论

HER2 作为理想的抗肿瘤治疗靶标, 目前已有多种针对 HER2 的靶向药物包括抗体、抗体药物偶联物和小分子抑制剂等获批上市用于一线临床治疗。治疗性抗体靶向性强, 但对实体瘤的治疗效果欠佳, 而 ADCs 能够综合抗体和小分子细胞毒性药物两者的优点, 从而定点发挥细胞毒性药物对癌细胞的强的杀伤能力。Adcetris™ 是靶向 CD30 单克隆抗体 brentuximab、MMAE 及瓜氨酸-缬氨酸组成的二肽偶联形成的抗体偶联药物。2011 年被批准用于间变性大细胞淋巴瘤的临床治疗, 此外还被批准作为经典型霍奇金淋巴瘤和外周 T 细胞淋巴瘤一线治疗药物^[18]。Kadcyla™ (简称 T-DM1), 是曲妥珠单抗与 DM1 的偶联物, 于 2013 年被批准用于治疗 HER2 阳性转移性乳腺癌^[19], 在临床应用中获得了良好的治疗效果。目前已有多种 ADCs 药物处于临床前及临床研究中。除 DM1 和 MMAE 外, 一些基于新型弹头的 ADCs 药物研究也在广泛开展, 如一种基于抗 HER2 抗体和力达霉素 (LDM) 的新型 ADC

药物 607-LDM, 在体内外均显示了对 HER2 阳性肿瘤的靶向性及良好的抗肿瘤活性^[20]。本研究中, MIL40 是一株本实验室从头设计合成的与 Herceptin 识别表位相同的全人抗体。本研究选择两种应用最广泛的细胞毒性药物 DM1 和 MMAE 作为毒性分子与 MIL40 偶联, 构建新型靶向 HER2 的 ADC 药物 MIL40-DM1 和 MIL40-MMAE。MIL40-DM1 和 MIL40-MMAE 均能够有效识别 HER2 受体, 并具有良好的体内外抗多种肿瘤的活性。细胞杀伤实验结果显示, MIL40-DM1 和 MIL40-MMAE 相对于阳性对照 MIL40, 对 HER2 阳性 SKOV3 细胞和 SKBR3 细胞具有更强的抑制增殖及杀伤活性。而对于 HER2 阳性 N87 细胞, HER2-MMAE 表现出更强的杀伤活性, 说明不同的细胞毒性药物偶联物对 ADC 的活性有一定影响。在 SKOV3 小鼠移植瘤模型治疗实验中, MIL40-DM1 与阳性对照药 Herceptin 及 MIL40 相比, 具有更好的抑瘤效果, 且与其他治疗组相比, 小鼠体重并无明显下降。因此 MIL40-DM1 具有良好的体内外抗肿瘤活性以及安全性。以上的结果均表明, MIL40-DM1 和 MIL40-MMAE 能够作为抗 HER2 阳性肿瘤的候选抗体偶联药物。

作者贡献: 李新颖完成了 MIL40 抗体表达纯化; 耿晶、杨跃梅完成了 MIL40-DM1 和 MIL40-MMAE 体外亲和活性及抗肿瘤活性研究; 耿晶、李新颖完成了 MIL40-DM1 小鼠肿瘤模型抗肿瘤活性研究; 耿晶、杨跃梅完成了论文初稿; 耿晶设计并指导了所有实验并完成了论文修改。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Moasser MM. The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis [J]. *Oncogene*, 2007, 26: 6469-6487.
- [2] Iqbal N, Iqbal N. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in cancers: overexpression and therapeutic implications [J]. *Mol Biol Int*, 2014, 2014: 852748.
- [3] Yan M, Schwaederle M, Arguello D, et al. HER2 expression status in diverse cancers: review of results from 37, 992 patients [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2015, 34: 157-164.
- [4] Beck A, Goetsch L, Dumontet C, et al. Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugates [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16: 315-337.
- [5] Staudacher AH, Brown MP. Antibody drug conjugates and bystander killing: is antigen-dependent internalisation required? [J]. *Br J Cancer*, 2017, 117: 1736-1742.
- [6] 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: 6949-6964.
- [7] Senter PD, Sievers EL. The discovery and development of brentuximab vedotin for use in relapsed Hodgkin lymphoma and systemic anaplastic large cell lymphoma [J]. *Nat Biotechnol*, 2012, 30: 631-637.
- [8] McGregor BA, Sonpavde G. Enfortumab vedotin, a fully human monoclonal antibody against nectin 4 conjugated to monomethyl auristatin E for metastatic urothelial carcinoma [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2019, 28: 821-826.
- [9] Norsworthy KJ, Ko CW, Lee JE, et al. FDA approval summary: mylotarg for treatment of patients with relapsed or refractory CD33-positive acute myeloid leukemia [J]. *Oncologist*, 2018, 23: 1103-1108.
- [10] Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Stelljes M, et al. Inotuzumab ozogamicin versus standard therapy for acute lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375: 740-753.
- [11] Nakada T, Sugihara K, Jikoh T, et al. The latest research and development into the antibody-drug conjugate, [fam-] trastuzumab deruxtecan (DS-8201a), for HER2 cancer therapy [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2019, 67: 173-185.
- [12] Chari RV. Targeted cancer therapy: conferring specificity to cytotoxic drugs [J]. *Acc Chem Res*, 2008, 41: 98-107.
- [13] Doronina SO, Toki BE, Torgov MY, et al. Development of potent monoclonal antibody auristatin conjugates for cancer therapy [J]. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 778-784.
- [14] Verma S, Miles D, Gianni L, et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367: 1783-1791.
- [15] Elsada A, Doss S, Robertson J, et al. NICE guidance on trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer [J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17: 143-144.
- [16] Hunter FW, Barker HR, Lipert B, et al. Mechanisms of resistance to trastuzumab emtansine (T-DM1) in HER2-positive breast cancer [J]. *Br J Cancer*, 2020, 122: 603-612.
- [17] de Claro RA, McGinn K, Kwitkowski V, et al. U. S. Food and Drug Administration approval summary: brentuximab vedotin for the treatment of relapsed Hodgkin lymphoma or relapsed systemic anaplastic large-cell lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 5845-5849.
- [18] Richardson NC, Kasamon YL, Chen H, et al. FDA approval summary: brentuximab vedotin in first-line treatment of peripheral T-cell lymphoma [J]. *Oncologist*, 2019, 24: e180-e187.
- [19] LoRusso PM, Weiss D, Guardino E, et al. Trastuzumab emtansine: a unique antibody-drug conjugate in development for human epidermal growth factor receptor 2-positive cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17: 6437-6447.
- [20] Yu Q, Yuan JL, Zhai XT, et al. Preparation and anti-tumor activity of a novel antibody-drug conjugate 607-LDM [J]. *Acta Pharm Sin (药理学报)*, 2021, 56: 496-502.