

纳米抗体靶向治疗胃癌的研究进展

刘芳腾, 欧阳喜, 张官平, 罗洪亮

背景资料

胃癌作为一种发病率率和致死率高的恶性消化系统肿瘤, 其分子靶向治疗日益受到人们关注。而纳米抗体作为一种新型优良的小分子靶向治疗抗体, 性质独特, 将为胃癌的治疗带来新的曙光。

刘芳腾, 欧阳喜, 张官平, 罗洪亮, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330000
刘芳腾, 主要从事胃肠道恶性肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本综述由刘芳腾完成; 欧阳喜与张官平收集整理文献资料; 罗洪亮审校。

通讯作者: 罗洪亮, 主治医师, 330000, 江西省南昌市东湖区民德路1号, 南昌大学第二附属医院胃肠外科。

517295653@qq.com

电话: 0791-86312171

收稿日期: 2015-05-20 修回日期: 2015-07-09

接受日期: 2015-07-13 在线出版日期: 2015-08-18

new treatment strategy for targeted therapy of gastric cancer. In this paper, we review the nanobodies that have the potential for targeted treatment of gastric cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Nanobodies; Targeted therapy

Nanobodies for targeted treatment of gastric cancer

Fang-Teng Liu, Xi Ou-Yang, Guan-Ping Zhang, Hong-Liang Luo

Fang-Teng Liu, Xi Ou-Yang, Guan-Ping Zhang, Hong-Liang Luo, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Hong-Liang Luo, Attending Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Donghu District, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China. 517295653@qq.com

Received: 2015-05-20 Revised: 2015-07-09

Accepted: 2015-07-13 Published online: 2015-08-18

Liu FT, Ou-Yang X, Zhang GP, Luo HL. Nanobodies for targeted treatment of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(23): 3714-3719 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3714.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3714>

摘要

随着近年来单克隆抗体靶向治疗药物的研发和临床应用, 胃癌在治疗上取得了一些成果, 但由于其制备相对复杂、价格较贵等原因, 应用范围受到一定限制。而纳米抗体的出现, 带来了常规分子靶向治疗药物所不具有的优势, 其分子量小, 结构功能性质独特, 给胃癌的靶向治疗提供了新的治疗手段和研究思路。本文就具有潜在靶向治疗胃癌价值的纳米抗体, 作一简介综述。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 纳米抗体; 靶向治疗

Abstract

With the development and application of monoclonal antibody-based targeted therapy drugs in recent years, some achievements have been made in the treatment of gastric cancer; however, because their preparation is relatively complex and expensive, their application is limited. Nanobodies have some advantages over conventional molecular targeted drugs, such as small molecular weight and unique structural features, and provide a

核心提示: 纳米抗体由于具有优于传统抗体的良好性质, 给恶性肿瘤的治疗带来了新的治疗手段。本文将具有潜在靶向治疗胃癌价值的纳米抗体作一介绍, 包括靶向表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR、HER1

同行评议者

葛海燕, 教授, 同济大学附属第十人民医院普通外科; 吴道澄, 教授, 西安交通大学医学院

或ErbB-1)的纳米抗体、抗HER2五聚体、靶向血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)的纳米抗体、与β内酰胺酶相结合的纳米抗体,展示了纳米抗体在胃癌治疗中诱人的潜在应用价值和研发前景。

刘芳腾, 欧阳喜, 张官平, 罗洪亮. 纳米抗体靶向治疗胃癌的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3714-3719
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3714.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i23.3714>

0 引言

胃癌作为消化系最常见、全球高发的恶性肿瘤,病死率在所有恶性肿瘤中居第2位^[1],在我国其死亡率仅次于肺癌和肝癌,高居第3位^[2].手术治疗作为目前胃癌最有效的根治方法,其治愈率仅有30%-40%,且术后大部分患者仍死于肿瘤复发或远处转移^[3].而放化疗客观缓解率只有20%-40%,且其较重的不良反应,严重影响患者的生存质量和总生存期^[4,5].

近年来,随着生物医学的深入发展,肿瘤的分子靶向治疗得到了广泛应用,他是继手术、放疗、化疗后一种全新的治疗手段^[6].而纳米抗体作为分子靶向治疗的一种新型重要抗体药物,通过利用其自身独特的结构理化性质,以某些标志性分子为靶点进行针对性阻断,可更加有效干预其分子调控及肿瘤相关信号转导通路,从而抑制肿瘤细胞的生长、浸润和转移,达到治疗肿瘤的目的.目前抗体靶向治疗药物大多为单克隆抗体,如西妥昔单抗、贝伐单抗等,其分别联合其他多种化疗方案治疗进展期胃癌尚处于II或III临床试验中^[7-9].由于单克隆抗体存在一些缺陷和不足,这就使得发展纳米抗体治疗胃癌成为新的研究方向而备受关注.

1 纳米抗体的发现及性质

目前治疗胃癌的靶向抗体药物均是利用B淋巴细胞杂交瘤技术所制备的单克隆抗体,其特异性高、性质均一,且易被纯化和标记.但由于其制备相对复杂、价格昂贵,且具有一定免疫源性等原因,在一定程度上限制了其应用范围^[10].而纳米抗体的出现则给肿瘤的靶向治疗注入了新的活力和希望.

1989年生物学家Ward在骆驼的血清

中发现了一种仅含重链的抗体^[11]. Hamers-Casterman等^[12]1993年在骆驼科动物体内发现了一种天然缺失轻链的重链抗体(heavy chain antibodies, HCAs),且缺少CH1^[13].其后在一些软骨鱼类中也发现类似的抗体存在^[14].对重链抗体的可变区进行克隆,可以得到一个仅由重链可变区构成的单域抗体,即VHH抗体(variable domain of heavy chain of heavy-chain antibody, VHH).这是人类目前为止发现的自然存在的最小的功能性抗原结合片段.由于VHH只有一般抗体的十分之一大小(直径2.5 nm,长4 nm),故又称为纳米抗体(nanobody, Nb)^[15,16].

纳米抗体作为一种小型的基因工程抗体,其特殊的结构,使其具有普通抗体所不具备的独特性质:水溶性高、稳定性好、靶向性强、人源化简单和易获得和表达^[17].且纳米抗体独特的三大效应(表面、尺寸和宏观量子隧道效应)^[18],使其在很多方面都明显优于传统抗体,在多种疾病的检测和治疗中都取得了令人瞩目的成果^[19-21],目前已成功研制出来的纳米抗体并不多,其中包括靶向表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR、HER1或ErbB-1)的纳米抗体、抗HER2五聚体、靶向血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的纳米抗体、与β内酰胺酶相结合的纳米抗体等.这些都是具有潜在靶向治疗胃癌价值的纳米抗体,在胃癌的治疗研究中也已初步取得一些引人关注的进展.

2 治疗胃癌的潜在靶向纳米抗体

2.1 靶向EGFR的纳米抗体 EGFR作为表皮生长因子家族(EGF-家族)中被广泛深入研究的重要一员,属于酪氨酸蛋白激酶型受体^[22].其与相应配体结合后,自动磷酸化形成二聚体,再通过活化磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)和蛋白激酶通路产生生物学效应^[23].研究^[24]表明,EGFR的突变或过度表达可导致癌症的发生.邸旭^[25]通过对胃癌组织中的EGFR进行检测,发现其阳性表达率明显高于正常胃黏膜组织,差异显著($P<0.05$).研究^[26-28]发现,EGFR在胃癌组织中呈高表达,阳性率可达19%-63%,且其与胃癌患者的预后密切相关,EGFR阳性率表达

■ 研发前沿

研发出具有良好靶向性和高效性的纳米抗体是该领域的研究热点.胃癌的发生发展往往涉及到多个靶点和分子通路,因此多靶点的复合性纳米抗体或多靶点联合用药是胃癌纳米靶向治疗的重点.而纳米抗体的安全性及提纯方法是亟待研究解决的问题.

■ 相关报道

姜忍忍等对纳米抗体的结构特性和功能特性进行了较为详细的介绍, 并对纳米抗体在疾病诊治及食品科学领域的研究进展进行了阐述。

高的患者, 预后大多很差. 由于纳米抗体比单克隆抗体具有更高的亲合力和良好的穿透性, Roovers等^[29]、Sebastian等^[30]在动物试验中证实, 利用靶向EGFR的特异性纳米抗体可以更加有效地到达肿瘤实体内部, 通过与表皮生长因子竞争结合EGFR位点, 可以更加有效地抑制实体肿瘤细胞的生长. Tijink等^[31]研究发现, 将靶向EGFR的2价纳米抗体或者与小鼠的血清白蛋白进行偶联, 能起到更好抑制肿瘤细胞生长的作用. Oliveira等^[32]将靶向EGFR的纳米抗体静脉注射到小鼠体内, 发现其与肿瘤细胞中的EGFR进行特异性结合, 检测到EGF的表达下调. 所以靶向EGFR的纳米抗体, 有望成为靶向治疗胃癌的新型抗体, 为胃癌患者带来新的希望.

2.2 抗HER2五聚体 *HER2*基因属于原癌基因, 是表皮生长因子基因家族的一员, 即*ErbB-2*基因, 是目前为止乳腺癌研究较透彻的基因之一. *HER2*基因的过度表达与多种肿瘤的发生发展相关, 其致癌机制包括抑制细胞凋亡, 促进肿瘤新生血管生成, 增加肿瘤细胞的侵袭力等. 研究^[33]发现, 在9%-38%的胃癌患者中检测到*HER2*的过度表达, 其与患者的预后密切相关. 曲妥珠单抗(Trastuzumab)作为针对*HER2*的人源化单克隆抗体, 已在一项名为ToGA^[34]的III期临床研究发现, 其与XP(5氟尿嘧啶/卡培他滨+顺铂)联合可以较显著提高进展期胃癌患者的中位生存率, 在胃癌的治疗中具有重要意义. 基于*HER2*的过度表达与胃癌的发生、发展相关, 特别是病理类型为肠型的胃癌^[35]以及曲妥珠单抗与XP联合治疗胃癌的成功试验治疗经验, 设想使用抗*HER2*的纳米抗体来治疗胃癌是合理的^[36]. 且研究^[36]发现, 寡聚纳米抗体作用于*HER2*的效果比单个纳米抗体作用的效果更加明显. 而具有良好的亲和特异性和亲和强度的纳米抗体五聚体-抗*HER2*五聚体目前也已被成功构建出, 这无疑为进展期胃癌的治疗提供了一种新的可能性治疗药物, 使纳米抗体靶向治疗胃癌更向前迈进了一步.

2.3 靶向VEGF的纳米抗体 根据著名的Folkman理论: 肿瘤组织的生长必须依靠新生血管生成来提供足够的氧气和营养物质来维持. 即血管的生成与肿瘤的生长、浸润、转移密切相关, 具有非常重要的作用. 而属于生长因子家族的

VEGF是一个分子质量约45000的同二聚体糖蛋白, 可诱导刺激血管新生, 是最重要的血管生成因子^[37]. VEGF可作用于血管内皮细胞上的酪氨酸激酶受体Flk-1和KDR/Flk-1, 促进血管内皮细胞增殖, 增加血管通透性, 以刺激诱导肿瘤血管的生成, 在肿瘤的发生发展中作用非常关键^[38]. 研究^[39]表明, VEGF在胃癌组织中的表达率较高, 而在正常胃组织中无表达. 且VEGF表达与肿瘤细胞的浸润、转移程度和临床分期呈正相关($P<0.05$), 预示着VEGF表达阳性的胃癌患者预后会较差. 而VEGF作为胃癌治疗的重要靶点, 可通过阻断血管生成相关性下游信号的转导途径, 减少肿瘤细胞的氧气和营养供应, 从而达到治疗恶性肿瘤的效果. 在单克隆治疗抗体中, 贝伐珠单抗(Bevacizumab)不仅在结直肠癌、乳腺癌和小细胞肺癌的治疗中取得了良好疗效^[40-42], 且对于提高进展期胃癌的中位生存时间也有明显效果^[43]. 目前针对胃癌的多种II期或III期临床试验已经展开, 结果令人期待^[44]. 而对VEGF受体2(VEGF receptor 2, VEGFR-2)具有高度专一性的纳米抗体3VGR19已经通过实验筛选得到, 显示其具有有效阻断VEGFR-2受体信号的作用. 预示着纳米抗体3VGR19作为更具独特性质的小型化抗体, 虽然在进展期胃癌的治疗中发挥的效应仍需大量的临床试验来证实, 但3VGR19这种新型的、靶向VEGFR的纳米抗体, 必定在未来改善胃癌治疗中会有着非常诱人的应用前景, 为癌症的治疗提供新的契机.

2.4 与β内酰胺酶相结合的纳米抗体 纳米抗体由于其独特的性质, 可用于构建多种分子结构, 其中包括构建具有双特异性和双功能抗体, 即通过结合一个靶抗原相邻的两个位点, 获得对抗原的高亲合力, 用于传递毒性载体(如细胞毒性药物)达到相应的靶抗原(如癌细胞). 动物实验研究表明^[45], 由猪Ig分子和手足口病毒构建的双特异性纳米抗体, 可以有效减轻动物的病毒血症. 且双特异性纳米抗体不仅表达水平高, 还具有良好的热力学稳定性, 不易被蛋白酶降解, 这些特点使其比scFv构建的抗体更具有良好的应用特性. 癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)作为一种广谱性肿瘤标志物, 在胃癌等肿瘤中高度表达, 而在正常细胞中表达很低或不表达. 将CEA纳米抗

体与阴沟肠杆菌 β 内酰胺酶相结合构建的分子结构体, 经试验^[46]证明, 此结合物能够通过选择性激活抗癌前体物质, 从而建立一种无不良作用的肿瘤治疗方法. 其过程为: 通过定位于瘤体内部的 β 内酰胺酶, 靶向地将抗肿瘤前体药物催化生成具有杀死胃癌细胞作用的药物, 可使瘤体减小衰退或治愈^[47]. 由于纳米抗体相对分子质量小, 易被肾脏较快清除, 对正常细胞和组织的损害较常规抗体药物要小^[11]. 基于纳米抗体可以与每个蛋白质和酶结合, 形成具有双重功能的结合体, 将无活性的前体药物转变成可杀死癌细胞的活性药物, 从而集中对肿瘤细胞进行靶向化疗, 达到高效, 无不良反应的效果. 这就有望为胃癌的治疗提供一种全新的治疗策略和手段, 设想将纳米抗体与治疗胃癌的分子药物进行构建, 利用纳米抗体的靶向性和良好组织渗透性, 将使抗肿瘤药物发挥更加直接有效的作用.

3 结论

纳米抗体由于具有远优于普通抗体的独特优势, 已在疾病的预防、检测、诊断和治疗中都相继显示了很大的应用价值和发展前景^[48-50]. 很多医药公司和研究机构在对纳米抗体的不断深入研究和广泛的开发中, 取得一定的研究成果^[51]. 但同时也发现了一些亟待解决的问题, 如如何通过进一步提高纳米抗体的亲和力、降低其免疫原性来达到更高的安全性和更好的有效性. 针对后者, 有研究报道可通过对VHH-单域抗体进行人源化改造来降低其免疫原性, 但实际效果仍有待研究证实^[52]. 由于胃癌的发生发展是一个多因素、多基因、多阶段的动态演变过程^[53]. 其胃癌细胞中的信号传导机制又是一个多因素交叉、复合的网络体系, 构建多靶点纳米复合抗体或多靶点联合用药将会为胃癌的治疗策略带来新的视角, 发挥更好的疗效. 随着对生物化学、人类基因组学等的深入研究和对纳米抗体的深入探索 and 开发, 将会发现更多、更有效的胃癌治疗靶点, 构建出更多、更高效的特异性纳米抗体, 从而使纳米抗体靶向治疗胃癌步入一个崭新的时代.

4 参考文献

1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-

- Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 87-108 [PMID: 25651787 DOI: 10.3322/caac.21262]
- 2 Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Li G, Wu L, He J. Report of incidence and mortality in China cancer registries, 2009. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 10-21 [PMID: 23372337 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2012.12.04]
- 3 Gong SJ, Jin CJ, Rha SY, Chung HC. Growth inhibitory effects of trastuzumab and chemotherapeutic drugs in gastric cancer cell lines. *Cancer Lett* 2004; 214: 215-224 [PMID: 15363548 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.04.029]
- 4 Cunningham D, Okines AF, Ashley S. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 858-859 [PMID: 20200397 DOI: 10.1056/NEJMc0911925]
- 5 Takahashi T, Saikawa Y, Kitagawa Y. Gastric cancer: current status of diagnosis and treatment. *Cancers (Basel)* 2013; 5: 48-63 [PMID: 24216698 DOI: 10.3390/cancers5010048]
- 6 Cidon EU, Ellis SG, Inam Y, Adeleke S, Zarif S, Geldart T. Molecular targeted agents for gastric cancer: a step forward towards personalized therapy. *Cancers (Basel)* 2013; 5: 64-91 [PMID: 24216699 DOI: 10.3390/cancers5010064]
- 7 Kim C, Lee JL, Ryu MH, Chang HM, Kim TW, Lim HY, Kang HJ, Park YS, Ryoo BY, Kang YK. A prospective phase II study of cetuximab in combination with XELOX (capecitabine and oxaliplatin) in patients with metastatic and/or recurrent advanced gastric cancer. *Invest New Drugs* 2011; 29: 366-373 [PMID: 19997960 DOI: 10.1007/s10637-009-9363-0]
- 8 Shah MA, Jhawer M, Ilson DH, Lefkowitz RA, Robinson E, Capanu M, Kelsen DP. Phase II study of modified docetaxel, cisplatin, and fluorouracil with bevacizumab in patients with metastatic gastroesophageal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 868-874 [PMID: 21189380 DOI: 10.1200/JCO.2010.32.0770]
- 9 Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, Park SR, Lim HY, Yamada Y, Wu J, Langer B, Starnawski M, Kang YK. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3968-3976 [PMID: 21844504 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.2236]
- 10 姜忍忍, 许超, 周小理, 姚刚. 纳米抗体的应用及其研究新进展. *生命的化学* 2013; 33: 307-315
- 11 郭婷, 张宇昊, 马良. 纳米抗体的特性及其应用研究进展. *食品科学* 2013; 34: 294-297
- 12 Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, Robinson G, Hamers C, Songa EB, Bendahman N, Hamers R. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature* 1993; 363: 446-448 [PMID: 8502296 DOI: 10.1038/363446a0]
- 13 Nguyen VK, Hamers R, Wyns L, Muyldermans S. Loss of splice consensus signal is responsible for the removal of the entire C(H)1 domain of the functional camel IGG2A heavy-chain antibodies. *Mol Immunol* 1999; 36: 515-524 [PMID: 10475606]

■ 创新盘点

本文对近年来应用纳米抗体靶向治疗胃癌的研究进展进行了阐述, 并介绍了几个比较典型的纳米抗体制剂在抑制胃癌细胞生长、转移中的作用, 有一定的新颖性. 同时对纳米抗体发展及性质作了简要介绍, 有助于帮助读者了解相关知识.

应用要点

通过对几种具有潜在治疗胃癌价值的纳米抗体做相关阐述, 展示出纳米抗体在胃癌靶向治疗中具有很大的潜在应用价值和药物研发前景.

- DOI: 10.1016/S0161-5890(99)00067-X]
- 14 Greenberg AS, Avila D, Hughes M, Hughes A, McKinney EC, Flajnik MF. A new antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks. *Nature* 1995; 374: 168-173 [PMID: 7877689 DOI: 10.1038/374168a0]
- 15 Muyldermans S, Baral TN, Retamozzo VC, De Baetselier P, De Genst E, Kinne J, Leonhardt H, Magez S, Nguyen VK, Revets H, Rothbauer U, Stijlemans B, Tillib S, Wernery U, Wyns L, Hassanzadeh-Ghassabeh G, Saerens D. Camelid immunoglobulins and nanobody technology. *Vet Immunol Immunopathol* 2009; 128: 178-183 [PMID: 19026455 DOI: 10.1016/j.vetimm.2008.10.299]
- 16 杨珂, 王冬. 纳米抗体及其应用. *细胞与分子免疫学杂志* 2008; 24: 425-427
- 17 刘微, 张敏, 郭春燕, 孟和, 斯日古楞, 哈斯, 何俊霞, 吉日本图. 骆驼纳米抗体在医疗领域研究进展. *动物医学进展* 2013; 34: 101-105
- 18 李国秀, 李建科. 纳米技术在食品领域中的应用. *粮食与油脂* 2007; 8: 13-14
- 19 Abbadly AQ, Al-Mariri A, Zarkawi M, Al-Assad A, Muyldermans S. Evaluation of a nanobody phage display library constructed from a Brucella-immunised camel. *Vet Immunol Immunopathol* 2011; 142: 49-56 [PMID: 21592585 DOI: 10.1016/j.vetimm.2011.04.004]
- 20 Skottrup PD, Leonard P, Kaczmarek JZ, Veillard F, Enghild JJ, O'Kennedy R, Sroka A, Clausen RP, Potempa J, Riise E. Diagnostic evaluation of a nanobody with picomolar affinity toward the protease RgpB from *Porphyromonas gingivalis*. *Anal Biochem* 2011; 415: 158-167 [PMID: 21569755 DOI: 10.1016/j.ab.2011.04.015]
- 21 Steyaert J, Kobilka BK. Nanobody stabilization of G protein-coupled receptor conformational states. *Curr Opin Struct Biol* 2011; 21: 567-572 [PMID: 21782416 DOI: 10.1016/j.sbi.2011.06.011]
- 22 Bishayee S. Role of conformational alteration in the epidermal growth factor receptor (EGFR) function. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 1217-1223 [PMID: 11007960 DOI: 10.1016/S0006-2952(00)00425-1]
- 23 Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 59: 21-26 [PMID: 15142631 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2003.11.041]
- 24 Altintas I, Kok RJ, Schifflers RM. Targeting epidermal growth factor receptor in tumors: from conventional monoclonal antibodies via heavy chain-only antibodies to nanobodies. *Eur J Pharm Sci* 2012; 45: 399-407 [PMID: 22064454 DOI: 10.1016/j.ejps.2011.10.015]
- 25 邸旭. 胃癌组织中的EGFR的表达变化及意义. *山东医药* 2011; 51: 66-67
- 26 Liakakos T, Xeropotamos N, Ziogas D, Roukos D. EGFR as a Prognostic Marker for Gastric Cancer. *World J Surg* 2008; 32: 1225-1226; author reply 1227-1229 [PMID: 18224475 DOI: 10.1007/s00268-007-9434-3]
- 27 Hong L, Han Y, Brain L. The role of epidermal growth factor receptor in prognosis and treatment of gastric cancer. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 8: 111-117 [PMID: 24410474 DOI: 10.1586/17474124.2014.844648]
- 28 Atmaca A, Werner D, Pauligk C, Steinmetz K, Wirtz R, Altmannsberger HM, Jäger E, Al-Batran SE. The prognostic impact of epidermal growth factor receptor in patients with metastatic gastric cancer. *BMC Cancer* 2012; 12: 524 [PMID: 23153332 DOI: 10.1186/1471-2407-12-524]
- 29 Roovers RC, Laeremans T, Huang L, De Taeye S, Verkleij AJ, Revets H, de Haard HJ, van Bergen en Henegouwen PM. Efficient inhibition of EGFR signaling and of tumour growth by antagonistic anti-EGFR Nanobodies. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56: 303-317 [PMID: 16738850 DOI: 10.1007/s00262-006-0180-4]
- 30 Sebastian S, Settleman J, Reshkin SJ, Azzariti A, Bellizzi A, Paradiso A. The complexity of targeting EGFR signalling in cancer: from expression to turnover. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1766: 120-139 [PMID: 16889899 DOI: 10.1016/j.bbcan.2006.06.001]
- 31 Tijink BM, Laeremans T, Budde M, Stigter-van Walsum M, Dreier T, de Haard HJ, Leemans CR, van Dongen GA. Improved tumor targeting of anti-epidermal growth factor receptor Nanobodies through albumin binding: taking advantage of modular Nanobody technology. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2288-2297 [PMID: 18723476 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-07-2384]
- 32 Oliveira S, Schifflers RM, van der Veecken J, van der Meel R, Vongprommek R, van Bergen En Henegouwen PM, Storm G, Roovers RC. Downregulation of EGFR by a novel multivalent nanobody-liposome platform. *J Control Release* 2010; 145: 165-175 [PMID: 20362020 DOI: 10.1016/j.jconrel.2010.03.020]
- 33 Gomez-Martín C, Lopez-Rios F, Aparicio J, Barriuso J, García-Carbonero R, Pazo R, Rivera F, Salgado M, Salud A, Vázquez-Sequeiros E, Lordick F. A critical review of HER2-positive gastric cancer evaluation and treatment: from trastuzumab, and beyond. *Cancer Lett* 2014; 351: 30-40 [PMID: 24943493 DOI: 10.1016/j.canlet.2014.05.019]
- 34 Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697 [PMID: 20728210 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X]
- 35 卞学艺, 叶青青, 王瑶, 沈艳莹, 沈丹平, 倪醒之. HER2基因扩增和蛋白表达与胃癌临床病理特征和预后的关系. *胃肠病学* 2011; 16: 267-271
- 36 Jamnani FR, Rahbarizadeh F, Shokrgozar MA, Ahmadvand D, Mahboudi F, Sharifzadeh Z. Targeting high affinity and epitope-distinct oligoclonal nanobodies to HER2 over-expressing tumor cells. *Exp Cell Res* 2012; 318: 1112-1124 [PMID: 22440788 DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.03.004]
- 37 Gerber HP, Ferrara N. The role of VEGF in normal

- and neoplastic hematopoiesis. *J Mol Med (Berl)* 2003; 81: 20-31 [PMID: 12545246 DOI: 10.1007/s00109-002-0397-4]
- 38 Bachelder RE, Crago A, Chung J, Wendt MA, Shaw LM, Robinson G, Mercurio AM. Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells. *Cancer Res* 2001; 61: 5736-5740 [PMID: 11479209]
 - 39 陈锦章, 郑航, 陈斌, 黄宇贤, 罗荣城. VEGF、HER-2 蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义. *南方医科大学学报* 2008; 28: 617-619
 - 40 Deng T, Zhang L, Liu XJ, Xu JM, Bai YX, Wang Y, Han Y, Li YH, Ba Y. Bevacizumab plus irinotecan, 5-fluorouracil, and leucovorin (FOLFIRI) as the second-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer, a multicenter study. *Med Oncol* 2013; 30: 752 [PMID: 24174316 DOI: 10.1007/s12032-013-0752-z]
 - 41 Cella D, Wang M, Wagner L, Miller K. Survival-adjusted health-related quality of life (HRQL) among patients with metastatic breast cancer receiving paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone: results from Eastern Cooperative Oncology Group Study 2100 (E2100). *Breast Cancer Res Treat* 2011; 130: 855-861 [PMID: 21874312 DOI: 10.1007/s10549-011-1725-6]
 - 42 Sandler A, Gray R, Perry MC, Brahmer J, Schiller JH, Dowlati A, Lilienbaum R, Johnson DH. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 2542-2550 [PMID: 17167137 DOI: 10.1056/NEJMoa061884]
 - 43 Van Cutsem E, de Haas S, Kang YK, Ohtsu A, Tebbutt NC, Ming Xu J, Peng Yong W, Langer B, Delmar P, Scherer SJ, Shah MA. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a biomarker evaluation from the AVAGAST randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2119-2127 [PMID: 22565005 DOI: 10.1200/JCO.2011.39.9824]
 - 44 Cappetta A, Lonardi S, Pastorelli D, Bergamo F, Lombardi G, Zagonel V. Advanced gastric cancer (GC) and cancer of the gastro-oesophageal junction (GEJ): focus on targeted therapies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012; 81: 38-48 [PMID: 21256046 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.12.006]
 - 45 Harmsen MM, Fijten HP, Engel B, Dekker A, Eblé PL. Passive immunization with llama single-domain antibody fragments reduces foot-and-mouth disease transmission between pigs. *Vaccine* 2009; 27: 1904-1911 [PMID: 19368770 DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.01.110]
 - 46 Behdani M, Zeinali S, Khanahmad H, Karimipour M, Asadzadeh N, Azadmanesh K, Khabiri A, Schoonooghe S, Habibi Anbouhi M, Hassanzadeh-Ghassabeh G, Muyltermans S. Generation and characterization of a functional Nanobody against the vascular endothelial growth factor receptor-2; angiogenesis cell receptor. *Mol Immunol* 2012; 50: 35-41 [PMID: 22208996 DOI: 10.1016/j.molimm.2011.11.013]
 - 47 Cortez-Retamozo V, Backmann N, Senter PD, Wernery U, De Baetselier P, Muyltermans S, Revets H. Efficient cancer therapy with a nanobody-based conjugate. *Cancer Res* 2004; 64: 2853-2857 [PMID: 15087403]
 - 48 De Vooght L, Caljon G, Stijlemans B, De Baetselier P, Coosemans M, Van den Abbeele J. Expression and extracellular release of a functional anti-trypanosome Nanobody® in *Sodalis glossinidius*, a bacterial symbiont of the tsetse fly. *Microb Cell Fact* 2012; 11: 23 [PMID: 22335892 DOI: 10.1186/1475-2859-11-23]
 - 49 Huang L, Muyltermans S, Saerens D. Nanobodies®: proficient tools in diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10: 777-785 [PMID: 20843201 DOI: 10.1586/erm.10.62]
 - 50 Holz JB. The TITAN trial--assessing the efficacy and safety of an anti-von Willebrand factor Nanobody in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfus Apher Sci* 2012; 46: 343-346 [PMID: 22475545 DOI: 10.1016/j.transci.2012.03.027]
 - 51 Fridy PC, Li Y, Keegan S, Thompson MK, Nudelman I, Scheid JF, Oeffinger M, Nussenzweig MC, Fenyö D, Chait BT, Rout MP. A robust pipeline for rapid production of versatile nanobody repertoires. *Nat Methods* 2014; 11: 1253-1260 [PMID: 25362362 DOI: 10.1038/nmeth.3170]
 - 52 Vincke C, Loris R, Saerens D, Martinez-Rodriguez S, Muyltermans S, Conrath K. General strategy to humanize a camelid single-domain antibody and identification of a universal humanized nanobody scaffold. *J Biol Chem* 2009; 284: 3273-3284 [PMID: 19010777 DOI: 10.1074/jbc.M806889200]
 - 53 官文华, 杨堃, 赵文君, 刘希双, 王秀娟. Wnt3、Wnt3a在胃癌组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 624-628

同行评价

本文介绍了纳米抗体发展的简要过程, 对读者了解相关知识有一定的帮助。

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

