

• 专家述评 •



陶嵘, 上海市普陀区中心医院(上海中医药大学附属普陀医院)核医学科核医学科常务副主任, 核医学科副主任医师。兼任中华医学会核医学分会第十届委员会体外分析学组委员, 上海市医学会核医学专科分会第七届委员会委员。擅长分子影像诊断及核素治疗, 对心肌显像、骨显像和核素骨治疗有丰富的经验。曾入选上海市“小百人”培养计划。“甲状腺球蛋白抗原IRMA建立及临床初步应用”等多项科研通过上海市卫生局科技成果鉴定。同时协助完成上海市普陀区中心医院多个国家自然科学基金课题项目。在全国性专业杂志上先后发表论文10余篇, SCI论文数篇。

前列腺特异性膜抗原为靶标的放射免疫治疗进展

刘冲综述 陶嵘审校

上海中医药大学附属普陀医院核医学科, 上海 200062

【摘要】 前列腺特异性膜抗原(PSMA)是一种跨膜糖蛋白, 几乎表达于所有前列腺癌, 在转移性激素抵抗性前列腺癌中表达量显著增加。放射免疫治疗(RIT)利用放射性核素标记单克隆抗体以实现肿瘤的靶向治疗。本文对PSMA为靶标的RIT进展作一综述。

【关键词】 前列腺癌; 激素抵抗性前列腺癌; 放射免疫治疗; 前列腺特异性膜抗原

中图分类号: R445.5 文献标志码: A 文章编号: 1008-617X(2015)03-0168-05

Advances in radioimmunotherapy targeting prostate specific membrane antigen in prostate cancer LIU Chong, TAO Rong (Department of Nuclear Medicine, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China)

Correspondence to: TAO Rong E-mail: brain_tao@hotmail.com

【Abstract】 Prostate specific membrane antigen (PSMA) is a transmembrane glycoprotein, which is almost expressed in all prostate cancers. The expression of PSMA in metastatic hormone-refractory prostate cancer is significantly increased. Radioimmunotherapy combined radionuclide with monoclonal antibody is a kind of targeted cancer therapy. This review will summarize the progress of radioimmunotherapy targeting PSMA.

【Key words】 Prostate cancer; Castration resistant prostate cancer; Radioimmunotherapy; Prostate specific membrane antigen

前列腺癌(prostate cancer, PCa)是欧美地区男性最常见的恶性肿瘤之一, 仅2012年美国就有约24万以上新发病例, 约占男性肿瘤新发病例的29%^[1]。我国PCa发病率不及欧美地区, 但逐年增加, 且随人口老龄化, 高危人群大幅增加, 是严重威胁我国老年男性健康的疾病之一^[2]。PCa患者在经过14~30个月的内分泌治疗后, 一般会转为激素抵抗性前列腺癌(castration resistant prostate cancer, CRPC), 导致生存期明显缩短, 预后不佳^[3]。

放射免疫治疗(radioimmunotherapy, RIT)是一种利用放射性核素标记单克隆抗体(monoclonal antibody, McAb)以实现靶向治疗目的的技术。抗体携带放射性核素与肿瘤细胞表面抗原特异性结合, 实现射线的精准照射, 同时使正常细胞不被照射或少受照射。本文对前列腺特异性膜抗原(prostate specific membrane antigen, PSMA)为靶标的RIT进展作一综述。

1 PSMA的表达、结构及功能

PSMA是一种II型跨膜糖蛋白, 由750个氨基酸组成, 有3个结构域, 分别为19个氨基酸构

成的胞内区、24个氨基酸构成的跨膜区和707个氨基酸组成的胞外区，其氨基端位于细胞内。

病理学研究表明，PSMA几乎表达于所有的PCa^[4]，在转移性CRPC中表达增加^[5]。虽然PSMA也表达于小肠、近端肾小管细胞、唾液腺细胞，但其表达量只有前列腺癌组织中的1/100~1/1 000^[6]。PSMA在乳腺癌、肺鳞癌、肾癌等一些恶性实体瘤的新生血管系统中也有表达，在正常血管中不表达^[7]。

PSMA具有叶酸水解酶和神经羧肽酶活性，可促进PCa增殖、浸润，抑制凋亡^[8]。与正常前列腺及前列腺增生组织相比，PCa组织中的PSMA酶活性显著增强，可辅助定性前列腺疾病^[9]。

2 RIT在肿瘤治疗中的应用

RIT最早由Pressman等^[10]于1953年提出，治疗B细胞性非霍奇金淋巴瘤的Rituximab在1997年成为第1个被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的McAb^[11]。然而，RIT在其他实体瘤中的应用进展不及非霍奇金淋巴瘤迅速，原因包括McAb特异性缺乏、对射线灵敏度不够、体积较大摄取抗体不足、核素标记后抗体不稳定及放射性核素来源比较困难等。

RIT用于PCa治疗则有较大优势，体现在：前列腺细胞表面存在种类丰富的抗原，如MUC-1、Claudin-4、PSMA等^[12-15]；前列腺血液供应丰富，能充分暴露于循环抗体，其癌灶对放射线敏感；转移主要局限于骨髓和淋巴结，血清前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)浓度变化可直观评价疗效。在PCa各种细胞膜抗原中，以PSMA研究最为深入。相对于其他已知的前列腺特异性分子，如PSA和前列腺酸性磷酸酶(prostatic acid phosphatase, PAP)等分泌型蛋白，PSMA是一个非分泌型细胞表面膜蛋白，这使其成为一个理想的治疗靶标。

3 抗PSMA胞内区McAb及应用

1987年Horoszewicz等^[16]以PCa细胞株LNCap为抗原，成功制备出第1株抗PSMA McAb 7E11，标以放射性核素¹¹¹In后称为Capromab pendetide(商品名ProstaScint)，1996年被FDA批准用于放射免疫显像(radioimmunodetection,

RID)。

ProstaScint能用于PCa早期复发及前列腺外早期转移灶的辅助诊断^[17-20]。Wynant等^[17]对40例PCa患者静脉注射ProstaScint(约185 MBq)后，成功定位了前列腺外骨转移灶及软组织受侵部位。Babaian等^[20]对19例PCa患者进行了盆腔淋巴结RID，对照病理，其诊断准确率、灵敏度和特异度分别为76%、44%及86%，阴性和阳性预测值分别为83%、50%。Chengazi等^[21]用^{99m}Tc-7E11对35例Pca患者进行10 min、6~8 h及22~24 h的SPECT显像，总体准确率为92%。随着研究不断深入，Troyer等^[22-23]发现7E11所识别的抗原表位为PSMA胞内区氨基端的6个氨基酸残基形成的多肽，因此7E11不能与活细胞株反应，实际应用效果也褒贬不一。由Hybritech公司研制的McAb PM2J004.5也与PSMA胞内区结合，但相关报道较少，其在体内结合细胞的能力尚不清楚^[7,24]。

4 鼠源性抗PSMA胞外区McAb及应用

1997年Liu等^[25]首次制备出4种针对PSMA胞外区的鼠源性McAb，即J591、J415、J533、E99。体外研究显示，这4种抗体对LNCap细胞株具有很高的特异性及亲和力^[26]。此外，尚有许多其他胞外区鼠源性McAb如3/F11和单链抗体A5等^[24, 27]，但以J591、3/F11和A5等McAb被证实与活的LNCap细胞结合能力最强。

McDevitt等^[28]将²¹³Bi标记到J591，在体外成功抑制了LNCap细胞生长，并在移植瘤模型中观测到PSA显著降低。Li等^[29]将1.85 MBq的²¹³Bi-J591直接注入移植瘤肿瘤组织内，成功抑制了肿瘤生长。Smith-Jones等^[30]用放射性核素¹³¹I及¹¹¹In分别标记J591、J415和J533，用于LNCap细胞株移植瘤，前两者显示有更好的定位能力，吸收剂量明显高于对照组。

Behe等^[27]将¹⁷⁷Lu-3/F11用于C4-2(PSMA阳性)移植瘤小鼠，结果显示0.5 MBq剂量组平均生存期为给药后16.3 d(与空白对照组15.0 d相似)，1 MBq剂量组平均生存期最长(33.6 d)，2 MBq剂量组则因严重的放射性反应而平均生存期只有14.4 d，提示¹⁷⁷Lu-3/F11或许是治疗PCa的有效药物。

5 人源性抗PSMA胞外区McAb及应用

鼠源性McAb对人体而言为异种抗原,多次输注后产生的人抗鼠抗体(human anti-mouse antibody, HAMA)使其不能有效激活体内补体系统,易被机体迅速清除从而缩短了生物半衰期。利用基因工程技术对鼠源性J591进行人源化,可消除鼠源性McAb对人体的免疫作用。

Bander等^[31]首次将人源化J591(humanized J591, huJ591)用放射性核素标记后用于53例CRPC患者I期临床研究,其中29例患者首先静脉给予¹¹¹In-huJ591进行RID,然后静脉给予⁹⁰Y-huJ591进行RIT;另外24例患者直接静脉给予¹⁷⁷Lu-huJ591,利用¹⁷⁷Lu能发射 γ 和 β 射线的特性,同时进行诊断与治疗。结果显示,RID共发现46例(87%)患者存在前列腺外转移灶,其中32/34例(94%)为骨转移,13/18例(72%)有软组织转移。huJ591主要在肝脏代谢,给药后没有明显的排异反应。

Pandit-Taskar等^[32]以固定剂量的¹¹¹In-DOTA-huJ591(185 MBq/2 mg)进行RID,对14例转移性CRPC患者进行huJ591剂量递增给药(10、25、50、100 mg,间隔13周),发现全身、血液和肝脏放射性清除速度取决于投入的抗体量,归一化的平均瘤/肝滞留比值分别为1.0、1.9、3.2和4.0,推算⁹⁰Y-huJ591最大耐受剂量(maximum tolerated dose, MTD)下的肝脏吸收剂量分别为20、10、7和5 Gy,提示用于RIT的最佳抗体剂量应大于等于50 mg。

Milowsky等^[33]将⁹⁰Y-huJ591用于29例CRPC及复发PCa患者,提示MTD为647.5 MBq/m²用药后病情均有不同程度的改善,其中2例治疗数月后血清PSA下降保持在治疗前的85%和70%。

Bander等^[34]发现¹⁷⁷Lu-huJ591单次MTD为2 590 MBq/m²时,出现骨髓抑制的剂量为2 775 MBq/m²,多次给药时的安全剂量为每次1 110 MBq/m²,血浆清除半衰期为(39 \pm 13) h,全身分布显示放射性主要存在于肝脏,其次为脾脏和肾脏。

Vallabhajosula等^[35]分次小剂量应用¹⁷⁷Lu-huJ591或⁹⁰Y-huJ591治疗转移性前列腺癌,其中35例接受¹⁷⁷Lu-huJ591总量为

370~2 775 MBq/m²的治疗,28例接受⁹⁰Y-huJ591总量为185~740 MBq/m²的治疗,每次治疗间隔2~4个月。结果表明,尽管单次大剂量给药能迅速杀灭大量肿瘤细胞,但多次(2~3次)给¹⁷⁷Lu-huJ591(1 110~2 220 MBq/m²)或⁹⁰Y-huJ591(647.5 MBq/m²)能最大限度减少骨髓抑制,又能持续杀灭肿瘤细胞。

Tagawa等^[36]对47例转移性CRPC患者进行了¹⁷⁷Lu-huJ591单次剂量(2 405 MBq/m²或2 590 MBq/m²)的II期临床试验,结果显示,59.6%的患者出现不同程度的血清PSA下降,其中36.2%下降超过30%,10.6%下降超过50%。所有患者均经历了可逆性血液学毒性改变(中性粒细胞减少症),但没有出现严重的血液学毒性变化。

6 展望

huJ591为人源化鼠抗PSMA胞外区完整分子McAb,在美国已用于CRPC RIT III期临床研究。但国内除了叶传中、曹开源等^[37-38]少数学者成功制备鼠源性抗PSMA胞外区抗体外,PSMA为靶标的RIT尚未见报道。本科涂少华医师继通过构建原核表达载体pET-32a-r-extra-PSMA获得纯化融合蛋白、成功制备3株鼠源型抗PSMA胞外区McAb后,已完成人源化McAb制备,为在国内开展RIT研究打下了基础。

McAb从组成上分完全鼠源型、人-鼠嵌合型、人源化、全人源型四大类,其免疫原性从强到弱,后者不会产生HAMA;从大小上分完整分子、Minibody、Diabody、单链、可变区等,其相对分子质量由大到小,组织穿透力增强,但生物半衰期缩短、放射性治疗效应减少。因此,制备免疫原性弱、特异性强、亲和力高、生物半衰期适中、标记后稳定性好的McAb是RIT成功的关键。

综上所述,RIT因其独特的优势而具有较大的临床价值,抗PSMA胞外区McAb在CRPC及转移性PCa的RIT领域具有诱人的应用前景。

参考文献

- [1] SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1): 10-29.
- [2] 唐志柳,白洁,顾丽娜,等. 2000~2010年我国前列腺癌和乳腺癌流行状况的系统性综述 [J]. 中国肿瘤, 2013,

- 4(22): 260–265.
- [3] 熊太林, 贺大林, 樊桂玲. 前列腺癌患者内分泌治疗后1年内进展为去势抵抗性前列腺癌的相关因素分析 [J]. 中华泌尿外科杂志, 2014, 5(35): 341–345.
- [4] KUSUMI T, KOIE T, TANAKA M, et al. Immunohistochemical detection of carcinoma in radical prostatectomy specimens following hormone therapy [J]. *Pathol Int*, 2008, 58(11): 687–694.
- [5] WRIGHT G L JR, GROB B M, HALEY C, et al. Upregulation of prostate-specific membrane antigen after androgen-deprivation therapy [J]. *Urology*, 1996, 48(2): 326–334.
- [6] SOKOLOFF R L, NORTON K C, GASIOR C L, et al. A dual-monoclonal sandwich assay for prostate-specific membrane antigen: levels in tissues, seminal fluid and urine [J]. *Prostate*, 2000, 43(2): 150–157.
- [7] CHANG S S, REUTER V E, HESTON W D, et al. Five different anti-prostate-specific membrane antigen (PSMA) antibodies confirm PSMA expression in tumor-associated neovasculature [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(13): 3192–3198.
- [8] GUO Z, HUANG H, ZENG L, et al. Lentivirus-mediated RNAi knockdown of prostate-specific membrane antigen suppresses growth, reduces migration ability and the invasiveness of prostate cancer cells [J]. *Med Oncol*, 2011, 28(3): 878–887.
- [9] LAPIDUS R G, TIFFANY C W, ISAACS J T, et al. Prostate-specific membrane antigen (PSMA) enzyme activity is elevated in prostate cancer cells [J]. *Prostate*, 2000, 45(4): 350–354.
- [10] PRESSMAN D, KORNGOLD L. The in vivo localization of anti-Wagner-osteogenic-sarcoma antibodies [J]. *Cancer*, 1953, 6(3): 619–623.
- [11] BOROSS P, LEUSEN J H. Mechanisms of action of CD20 antibodies [J]. *Am J Cancer Res*, 2012, 2(6): 676–690.
- [12] 张晓波, 唐正严, 齐琳, 等. 雄激素依赖性和雄激素非依赖性前列腺癌差异膜抗原的筛选 [J]. 中南大学学报(医学版), 2012, 8(37): 817–823.
- [13] CHANG S S, BANDER N H, HESTON W D. Monoclonal antibodies: will they become an integral part of the evaluation and treatment of prostate cancer—focus on prostate-specific membrane antigen? [J]. *Curr Opin Urol*, 1999, 9(5): 391–395.
- [14] ALBRECHT H, DENARDO G L, DENARDO S J. Development of anti-MUC1 di-scFvs for molecular targeting of epithelial cancers, such as breast and prostate cancers [J]. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 2007, 51(4): 304–313.
- [15] VALLABHAJOSULA S, SMITH-JONES P M, NAVARRO V, et al. Radioimmunotherapy of prostate cancer in human xenografts using monoclonal antibodies specific to prostate specific membrane antigen (PSMA): studies in nude mice [J]. *Prostate*, 2004, 58(2): 145–155.
- [16] HOROSZEWICZ J S, KAWINSKI E, MURPHY G P. Monoclonal antibodies to a new antigenic marker in epithelial prostatic cells and serum of prostatic cancer patients [J]. *Anticancer Res*, 1987, 7(5B): 927–935.
- [17] WYNANT G E, MURPHY G P, HOROSZEWICZ J S, et al. Immunoscintigraphy of prostatic cancer: preliminary results with ¹¹¹In-labeled monoclonal antibody 7E11-C5.3 (CYT-356) [J]. *Prostate*, 1991, 18(3): 229–241.
- [18] BANDER N H. Current status of monoclonal antibodies for imaging and therapy of prostate cancer [J]. *Semin Oncol*, 1994, 21(5): 607–612.
- [19] ABDEL-NABI H, WRIGHT G L, GULFO J V, et al. Monoclonal antibodies and radioimmunoconjugates in the diagnosis and treatment of prostate cancer [J]. *Semin Urol*, 1992, 10(1): 45–54.
- [20] BABAIAN R J, SAYER J, PODOLOFF D A, et al. Radioimmunoscintigraphy of pelvic lymph nodes with ¹¹¹indium-labeled monoclonal antibody CYT-356 [J]. *J Urol*, 1994, 152(6 Pt 1): 1952–1955.
- [21] CHENGSAZI V U, FENELEY M R, ELLISON D, et al. Imaging prostate cancer with technetium-99m-7E11-C5.3 (CYT-351) [J]. *J Nucl Med*, 1997, 38(5): 675–682.
- [22] TROYER J K, BECKETT M L, WRIGHT G L JR. Location of prostate-specific membrane antigen in the LNCaP prostate carcinoma cell line [J]. *Prostate*, 1997, 30(4): 232–242.
- [23] TROYER J K, FENG Q, BECKETT M L, et al. Biochemical characterization and mapping of the 7E11-C5.3 epitope of the prostate-specific membrane antigen [J]. *Urol Oncol*, 1995, 1(1): 29–37.
- [24] GRAUER L S, LAWLER K D, MARIGNAC J L, et al. Identification, purification, and subcellular localization of prostate-specific membrane antigen PSM' protein in the LNCaP prostatic carcinoma cell line [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(21): 4787–4789.
- [25] LIU H, MOY P, KIM S, et al. Monoclonal antibodies to the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen also react with tumor vascular endothelium [J]. *Cancer Res*, 1997, 57(17): 3629–3634.
- [26] SMITH-JONES P M, VALLABHAJOSULA S,

- GOLDSMITH S J, et al. In vitro characterization of radiolabeled monoclonal antibodies specific for the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(18): 5237-5243.
- [27] BEHE M, ALT K, DEININGER F, et al. In vivo testing of ¹⁷⁷Lu-labelled anti-PSMA antibody as a new radioimmunotherapeutic agent against prostate cancer [J]. *In Vivo*, 2011, 25(1): 55-59.
- [28] MCDEVITT M R, BARENDSSWAARD E, MA D, et al. An alpha-particle emitting antibody (²¹³Bi]J591) for radioimmunotherapy of prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(21): 6095-6100.
- [29] LI Y, TIAN Z, RIZVI S M, et al. In vitro and preclinical targeted alpha therapy of human prostate cancer with Bi-213 labeled J591 antibody against the prostate specific membrane antigen [J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2002, 5(1): 36-46.
- [30] SMITH-JONES P M, VALLABHAJOSULA S, NAVARRO V, et al. Radiolabeled monoclonal antibodies specific to the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen: preclinical studies in nude mice bearing LNCaP human prostate tumor [J]. *J Nucl Med*, 2003, 44(4): 610-617.
- [31] BANDER N H, TRABULSI E J, KOSTAKOGLU L, et al. Targeting metastatic prostate cancer with radiolabeled monoclonal antibody J591 to the extracellular domain of prostate specific membrane antigen [J]. *J Urol*, 2003, 170(5): 1717-1721.
- [32] PANDIT-TASKAR N, O' DONOGHUE J A, MORRIS M J, et al. Antibody mass escalation study in patients with castration-resistant prostate cancer using ¹¹¹In-J591: lesion detectability and dosimetric projections for ⁹⁰Y radioimmunotherapy [J]. *J Nucl Med*, 2008, 49(7): 1066-1074.
- [33] MILOWSKY M I, NANUS D M, KOSTAKOGLU L, et al. Phase I trial of yttrium-90-labeled anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 for androgen-independent prostate cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(13): 2522-2531.
- [34] BANDER N H, MILOWSKY M I, NANUS D M, et al. Phase I trial of ¹⁷⁷lutetium-labeled J591, a monoclonal antibody to prostate-specific membrane antigen, in patients with androgen-independent prostate cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(21): 4591-4601.
- [35] VALLABHAJOSULA S, GOLDSMITH S J, KOSTAKOGLU L, et al. Radioimmunotherapy of prostate cancer using ⁹⁰Y-and ¹⁷⁷Lu-labeled J591 monoclonal antibodies: effect of multiple treatments on myelotoxicity [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(19 Pt 2): 7195s-7200s.
- [36] TAGAWA S T, MILOWSKY M I, MORRIS M, et al. Phase II study of lutetium-177-labeled anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 for metastatic castration-resistant prostate cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(18): 5182-5191.
- [37] 叶传忠, 赵旭东, 张芳, 等. 人前列腺特异膜抗原膜外区基因的克隆表达及抗体的制备 [J]. *生物工程学报*, 2002, 1(18): 35-39.
- [38] 曹开源, 杨羚, 徐霖, 等. 抗前列腺特异性膜抗原膜外区多肽单克隆抗体的研制及初步应用 [J]. *热带医学杂志*, 2008, 3(8): 232-234.

(收稿日期: 2015-08-30)