

双特异性抗体药物在肿瘤治疗领域的研究进展

岳雅丽^{1,2}, 尹 骏^{1,2}, 高向东^{1,2}, 姚文兵^{1,2*}

(中国药科大学¹江苏省生物药物成药性研究重点实验室;²生命科学与技术学院, 南京 210009)

摘要 肿瘤免疫疗法是目前治疗肿瘤的新方向。双特异性抗体可结合两种不同的抗原,因而在肿瘤治疗领域的开发前景十分广阔。双特异性抗体中最引人注目的三功能抗体和双特异性 T 细胞衔接抗体已分别有药物上市,代表药物是卡妥索单抗和博纳吐单抗。迄今为止,有将近 100 种抗肿瘤的双特异性抗体药物正在进行临床研究,深入理解它们的作用机制将为肿瘤治疗提供更多可行的方案。本文对卡妥索单抗、博纳吐单抗和目前极具开发前景的双特异性抗体药物的研究进展进行综述,以期在肿瘤治疗领域的开发与应用奠定基础。

关键词 双特异性抗体;抗肿瘤;卡妥索单抗;博纳吐单抗;进展

中图分类号 R979.1;Q511 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2019)03-0289-10

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20190304

引用本文 岳雅丽,尹骏,高向东,等. 双特异性抗体药物在肿瘤治疗领域的研究进展[J]. 中国药科大学学报,2019,50(3):289–298.
Cite this article as: YUE Yali, YIN Jun, GAO Xiangdong, et al. Research advances of bispecific antibody drugs in tumor therapy[J]. J China Pharm Univ, 2019, 50(3): 289–298.

Research advances of bispecific antibody drugs in tumor therapy

YUE Yali^{1,2}, YIN Jun^{1,2}, GAO Xiangdong^{1,2}, YAO Wenbing^{1,2*}

¹Jiangsu Key Laboratory of Druggability of Biopharmaceuticals;

²School of Life Science & Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Tumor immunotherapy is currently the new direction for the treatment of cancer. Bispecific antibody can bind two different antigens, so the development prospect in the field of tumor treatment is very attractive. The most compelling trifunctional antibody and bispecific T-cell engager in bispecific antibodies have been marketed separately, with representative drugs as catumaxomab and blinatumomab, respectively. So far, nearly 100 antitumor bispecific antibody drugs are undergoing clinical trials and in-depth understanding of their mechanisms of action will provide more powerful solutions for cancer treatment. This review summarizes the progress of catumaxomab, blinatumomab and current highly promising bispecific antibody drugs, for the further development and application of tumor therapy.

Key words bispecific antibody; antitumor; catumaxomab; blinatumomab; progress

单克隆抗体在 20 世纪 90 年代首次进入市场,目前已有多种类型的抗体由美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市,包括:鼠源型(-omab)、嵌合型(-ximab)、人源化型(-zumab)、人源型(-umab)、融合蛋白(-cept)等^[1]。疾病的发生通常由多种致病因素导致,对多个靶点同时进行阻断可能会实现更好的治疗效果,因此双特异性抗体(bispecific antibody, BsAb)应运而生^[2]。双特异性抗体可靶

向两种不同的抗原,作用机制灵活,包括:(1)抑制两个细胞表面受体;(2)阻断两个配体;(3)交联两个受体;(4)招募 T 细胞等免疫细胞对靶细胞进行杀伤。双特异性抗体最初是利用化学偶联法或杂交瘤杂交法来制备^[3–5]。如今, DNA 重组技术的迅速发展使得双特异性抗体的结构发生了革命性变化,主要分为含有 Fc 区的 IgG 型和不含 Fc 区的非 IgG 型两大类^[6–7]。IgG 型双特异性抗体的结构

与单克隆抗体类似,蛋白相对分子质量较大,血浆半衰期长。非 IgG 型双特异性抗体的结构形式更加多样,蛋白相对分子质量较小,组织渗透性更强,但血浆半衰期较短^[8-9]。

双特异性抗体药物在肿瘤治疗领域中最引人注目的三功能抗体(trispecific antibody, TrAb)和双特异性 T 细胞衔接抗体(bispecific T cell engager, BiTE)已经有药物成功上市。三功能抗体的代表药物是卡妥索单抗(catumaxomab, 商品名: Removab, 德国 Fresenius Biotech 公司)。美国 FDA 在 2006 年和 2009 年分别批准其作为上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)阳性卵巢癌和胃癌的孤儿药。2010 年欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)批准卡妥索单抗用于治疗 EpCAM 阳性肿瘤患者的恶性腹水^[10-11]。双特异性 T 细胞衔接抗体的代表药物是博纳吐单抗(blinatumomab, 商品名: Blincyto, 美国 Amgen 公司)。2014 年美国 FDA 加速批准其用于治疗成人的费城染色体阴性复发或难治性前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病(B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL), 2016 年 9 月获得加速批准用于治疗相同适应证的儿童。2017 年 7 月 11 日,美国 FDA 又批准其用于治疗费城染色体阳性复发或难治性 B-ALL^[10]。本文对卡妥索单抗、博纳吐单抗和目前正在进行抗肿瘤临床研究的双特异性抗体的研究进展进行综述,以期双特异性抗体药物在肿瘤治疗领域的开发与应用奠定基础。

1 卡妥索单抗

卡妥索单抗具有靶向两种抗原的抗原结合臂与招募免疫细胞的 Fc 区,一端抗原结合臂特异性结合许多肿瘤细胞上高表达的跨膜糖蛋白 EpCAM,另一端抗原结合臂特异性结合 T 细胞上的 CD3, Fc 区可与巨噬细胞、自然杀伤细胞等免疫细胞上的 Fc 受体结合并激活其免疫功能,相对分子质量为 150 kD^[12](图 1)。

1.1 临床前研究

卡妥索单抗通过招募 T 细胞裂解靶细胞,利用抗体依赖性细胞介导的细胞毒性以及细胞因子介导的细胞毒性共同实现抗肿瘤作用^[13](图 2)。

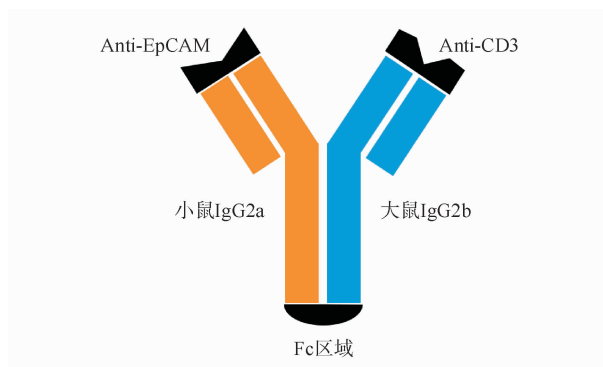


图 1 卡妥索单抗的结构

体外研究结果表明^[11],卡妥索单抗裂解肿瘤细胞的能力比两个亲本单克隆抗体更强,可诱导 ADCC 效应并上调细胞因子的表达。Riesenberg 等^[10]阐明了卡妥索单抗对 EpCAM 阳性前列腺癌细胞的溶解能力,他们观察到肿瘤细胞与外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)和药物共孵育下, PBMC 会在肿瘤细胞周围形成簇,淋巴细胞会形成穿孔并释放穿孔素。有研究结果表明,异体移植肿瘤小鼠的存活情况与抗体诱导的体液免疫应答之间存在关联,存活下来的老鼠具有持久的保护性免疫^[14]。抗 EpCAM 的 Fab 片段对异体移植肿瘤小鼠的生存率较卡妥索单抗而言无明显改善,表明 Fc 区对肿瘤细胞的杀伤也发挥着重要作用。

1.2 临床研究

1.2.1 腹腔注射 2005 年,对 8 例继发于不同实体瘤有腹水症状的腹膜癌患者进行腹腔注射卡妥索单抗的临床试验。治疗结果表明,8 例患者中有 7 例在后续治疗中无需进一步穿刺,无腹腔穿刺平均间隔 38 周,所有患者的腹水症状都得到了明显改善^[15]。2007 年,对卵巢癌患者进行了卡妥索单抗的 I/II 期临床试验,确定药物最大耐受剂量(maximum tolerated dose, MTD)和安全性评价。研究结果显示,给药剂量为 200 μg 会导致患者发生大肠梗阻,因此 10、20、50 和 150 μg 的给药剂量定为 II 期临床试验的推荐剂量,所有患者使用卡妥索单抗治疗后腹部积水症状均明显好转^[16]。2010 年,对 129 例卵巢癌患者和 129 例非卵巢癌但患有 EpCAM 阳性肿瘤患者进行了卡妥索单抗的 II/III 期临床试验,结果显示卡妥索单抗治疗后患者总体存活率显著提高^[17]。

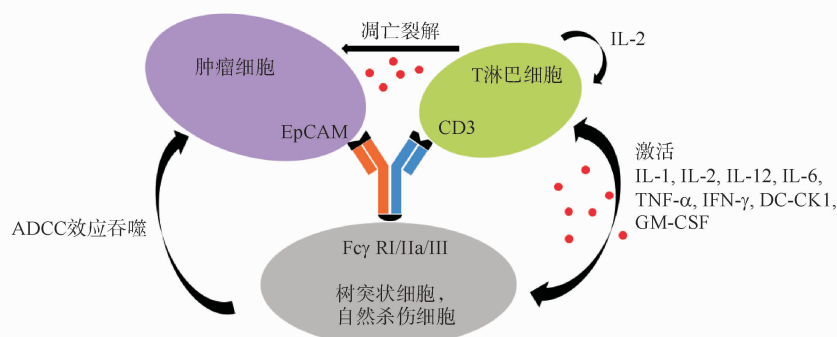


图 2 卡妥索单抗的作用机制

ADCC:抗体依赖性细胞介导的细胞毒性;CK:细胞因子;EpCAM:上皮细胞黏附分子;Fcγ R:Fcγ 受体;GM-CSF:粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子;IL:白细胞介素;IFN-γ:干扰素 γ;TNF-α:肿瘤坏死因子

1.2.2 静脉注射 对接受过一线治疗的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者进行静脉注射卡妥索单抗的Ⅰ期临床试验,评价单次给药剂量(2~20 μg)递增的安全性与耐受性。研究结果显示,卡妥索单抗(5 μg)加地塞米松(10 mg)与卡妥索单抗(7.5 μg)加地塞米松(40 mg)治疗后可观察到丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)和γ-谷氨酰转肽酶(gamma glutamyl transpeptidase, GGT)升高≥3级,升高的肝酶在14 d内降至基线水平^[18]。给予卡妥索单抗(5 μg)加地塞米松(40 mg)后未观察到以上不良事件,因此将其作为静脉注射给药的MTD^[19]。

1.3 药物代谢动力学与药效学

Ruf等^[14]对10例恶性腹水患者进行了腹腔注射卡妥索单抗的Ⅱ期临床试验。研究结果显示,卡妥索单抗的血浆半衰期为2.13 d,给药剂量150 μg的血浆浓度达到峰值,且最后一次输注给药后产生抗药物抗体。卵巢癌患者的Ⅰ/Ⅱ期临床试验结果显示^[16-17],患者腹水中EpCAM阳性肿瘤细胞数平均降低99.9%,23例患者中有6例患者的肿瘤细胞降至检测限以下。给药数天后测定患者血清中TNFα和IL-6水平,结果显示80%患者的IL-6升高,60%患者的TNFα升高。在卵巢癌患者的Ⅰ/Ⅱ期临床试验中测定人抗小鼠抗体(human anti-mouse antibodies, HAMA)水平,所有患者在试验初期均为HAMA阴性,15例受试患者在药物治疗结束后有14例HAMA超过正常值上限。

1.4 不良反应

在卡妥索单抗的Ⅰ/Ⅱ期临床试验中,最常

见的突发性不良反应包括:发烧(83%)、恶心(61%)、呕吐(57%)、腹痛(39%)、淋巴细胞减少(26%)、全身疼痛(30%)和肝功能检查(liver function tests, LFT)异常,特别是ALP、GGT、AST和胆红素升高。15例受试患者中有6例观察到严重不良事件,包括:肝酶增加、皮肤感染、导管相关感染、外渗、出血性糜烂性胃炎和大肠梗阻等^[16]。Ⅱ/Ⅲ期临床研究也报告了以上相关不良事件,15%患者发生了治疗相关的严重不良事件^[17]。

卡妥索单抗是相对分子质量为150 kD的三功能小鼠IgG2a和大鼠IgG2b杂交的单克隆抗体,一条抗原结合臂结合肿瘤细胞上的EpCAM,另一条抗原结合臂结合T细胞上的CD3, Fc区可与巨噬细胞、自然杀伤细胞等免疫细胞上的Fc受体结合并激活其免疫功能。临床前研究已证实卡妥索单抗对肿瘤细胞的溶解活性。Ⅱ/Ⅲ期临床研究则证实了腹腔注射卡妥索单抗可提高无穿刺治疗的总体存活率,腹水症状明显改善。最常见的不良反应是发热、恶心、呕吐和腹痛。

2 博纳吐单抗

博纳吐单抗是利用DNA重组技术将抗CD19和抗CD3单克隆抗体的单链可变区通过一段非免疫原性的接头序列融合构成,可连接CD19⁺恶性B淋巴细胞与CD3⁺T淋巴细胞,介导T细胞对肿瘤细胞的溶解,相对分子质量为55 kD^[20-21](图3)。博纳吐单抗可用于治疗急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病和非霍奇金淋巴瘤^[20]。

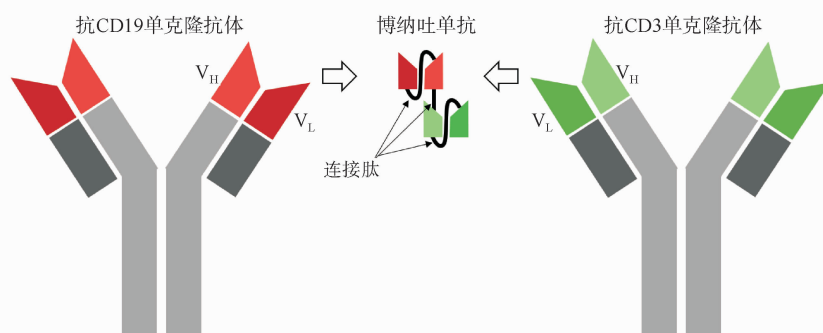


图3 博纳吐单抗的结构

2.1 临床前研究

体外活性研究结果表明,博纳吐单抗可特异性结合 $CD3^+$ T 淋巴细胞和 $CD19^+$ B 淋巴细胞,介导 T 细胞对淋巴瘤细胞发挥高水平的细胞毒作用^[22]。不同药物浓度的博纳吐单抗与 $CD8^+$ T 细胞和 $CD4^+$ T 细胞分别共孵育,结果显示 $CD8^+$ T 细胞对靶细胞具有溶解作用,甚至在极低的药物浓度下,未刺激的 T 细胞对肿瘤细胞也能产生极强的细胞毒性。激活后的 T 细胞会表达 CD69 和 CD25,分泌炎性细胞因子(如 $IFN-\gamma$ 、 $TNF\alpha$ 、IL-2、IL-6 和 IL-10)并进行增殖^[23](图 4)。

对黑猩猩进行博纳吐单抗的生物活性研究,结

果显示其血浆半衰期约为 2 h,输注 8 h 后被完全清除,对 B 细胞的亲和力高于 T 细胞近 100 倍。增加药物剂量会升高 $CD8^+$ T 细胞对 IL-6、IL-2 和 $IFN-\gamma$ 的分泌水平,对 CD25、CD69 和 MHC II 类的表达水平,对 $CD19^+$ 恶性 B 淋巴细胞的溶解能力^[24]。Dreier 等^[22]采用异种移植人 PBMC 和人 B 淋巴瘤细胞(NALM-6)的非肥胖糖尿病重症联合免疫缺陷(NOD/SCID)小鼠模型研究博纳吐单抗的抗肿瘤活性。研究结果表明,博纳吐单抗可抑制 NOD/SCID 小鼠皮下 NALM-6 淋巴瘤的生长,存活率较对照组显著延长。

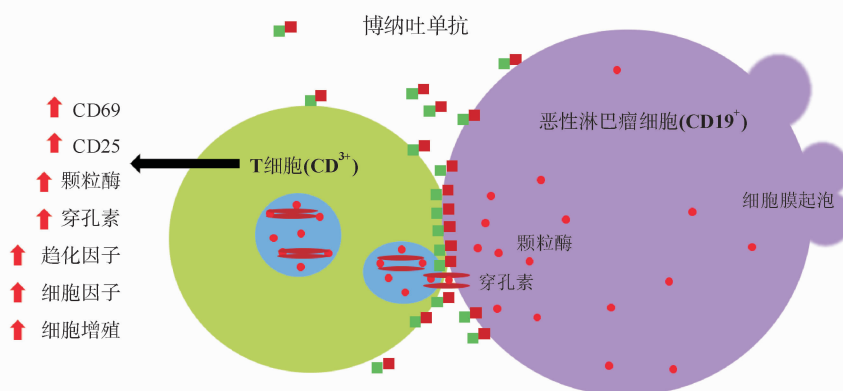


图4 博纳吐单抗的作用机制

左为 $CD3^+$ T 淋巴细胞,右为 $CD19^+$ 恶性 B 淋巴细胞,博纳吐单抗可连接这两种细胞并形成细胞溶解性突触,介导 T 细胞激活,T 细胞随后释放穿孔素、颗粒酶等细胞因子杀伤肿瘤细胞

2.2 临床研究

2.2.1 成人群体 早期 I 期临床试验选择了 38 例复发性非霍奇金淋巴瘤患者,博纳吐单抗的初始给药剂量为 0.005 mg/m^2 ,当给药剂量 $\geq 0.015 \text{ mg}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 时,有 4 例完全响应和 7 例部分响应^[25]。对化疗难治性微小残留症 B-ALL 患者进行博纳吐单抗的 II 期临床试验,8 例经造血干细胞移

植的患者治疗后未出现病情复发,405 d 的随访中无复发生存率为 78%^[26]。对 36 例复发或难治性前体 B-ALL 患者进行了另一项 II 期临床试验,69% 的患者达到完全缓解,中位总生存期为 9.8 个月^[27–28]。这些研究结果使得美国 FDA 加速批准博纳吐单抗用于治疗成人费城染色体阴性和染色体阳性的复发或难治性前体 B-ALL^[29–30]。

2.2.2 儿童群体 对 49 例 18 岁以下的复发或难治性前体 B-ALL 患者进行了博纳吐单抗 I/II 期临床试验,该群体的 MTD 为 $15 \mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 。为了降低细胞因子释放综合征的发生风险,设定药物的初始剂量为 $5 \mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$,7 d 内递增至 $15 \mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$,随后静脉输注 28 d。两个治疗周期后,39% 的患者可观察到完全缓解,中位无复发生存期为 4.4 个月,中位总生存期为 7.5 个月^[31]。

2.3 药代动力学与药效学

研究人员对 131 例患者进行了博纳吐单抗的 I/II 期临床试验,研究结果显示博纳吐单抗具有线性药代动力学,血浆半衰期约为 2 h^[32-33]。博纳吐单抗在 I 期非霍奇金淋巴瘤的临床研究和 II 期 ALL 的临床研究中,给予 $5 \mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 治疗后观察到 $\text{CD}19^+$ 恶性 B 细胞在外周血中消失。在治疗初期,T 细胞可能因为外渗和黏附导致数目降低,随后因 $\text{CD}8^+$ T 细胞和 $\text{CD}4^+$ T 细胞发生增殖而回升^[25]。

2.4 不良反应

2008 年,Bargou 等^[25]报道了博纳吐单抗最常见的不良反应,包括:发热、淋巴细胞减少、白细胞减少、寒颤和 C 反应蛋白升高,可逆的中枢神经系统症状有定向障碍、精神错乱、言语障碍、震颤和抽搐。2015 年公布了大型多中心 II 期临床试验结果,2% 的患者发生细胞因子释放综合征,52% 的患者出现神经系统不良反应。在儿科 I/II 期临床试验中,最常见的不良反应是发热(80%)、头痛(30%)、贫血(41%)和恶心(33%)^[31]。

博纳吐单抗是相对分子质量为 55 kD 的双特异性 T 细胞衔接抗体,抗 $\text{CD}19$ 和抗 $\text{CD}3$ 的单链抗体通过一段非免疫原性的接头序列融合构成。临床前研究结果证实了博纳吐单抗在体外和体内模型中对 $\text{C}19^+$ 恶性 B 淋巴细胞的杀伤活性。临床研究结果证实了博纳吐单抗治疗复发或难治性前体 B-ALL 患者后,中位总生存期得以显著改善。最常见的不良反应是发热、头痛、发热性中性粒细胞减少和外周性水肿。

3 双特异性抗体药物的开发

理想的双特异性抗体应该只识别并结合靶细胞上的肿瘤相关抗原,完全不会与正常细胞上的靶点发生结合。但实际情况往往不是这样,目前选择

作为抗肿瘤治疗靶点的肿瘤相关抗原也会低表达于正常细胞,从而导致治疗相关的不良反应的产生^[34]。因此,提高双特异性抗体药物对肿瘤组织与正常组织的选择性显得十分重要。有一种解决方案是,可设计靶向两种肿瘤相关抗原的双特异性抗体。这种双特异性抗体需要同时靶向两种肿瘤相关抗原才能发挥其强抗肿瘤活性,而正常细胞同时表达这两种抗原的概率很低,因此可避免特异性不强导致的治疗相关的不良反应。有研究结果表明, $\text{CD}4 \times \text{CD}70$ -IgG 型双特异性抗体对表达单一抗原的细胞与表达两种抗原的细胞表现出选择性结合^[35-36]。 $\text{HER}2 \times \text{EGFR}$ -IgG 型双特异性抗体对同时表达 $\text{HER}2$ 和 EGFR 的肿瘤细胞表现出明显消除,对仅表达单一抗原的肿瘤细胞无显著抑制作用^[37]。双特异性抗体的抗肿瘤活性除了通过招募 T 淋巴细胞来发挥,还可招募其他类型的免疫细胞。例如,双特异性抗体 AFM13 通过募集自然杀伤细胞实现对肿瘤细胞的溶解,抗肿瘤活性明显,现在已经进入临床研究阶段。迄今为止国内外已上市及在研的抗肿瘤的双特异性抗体药物有将近 100 种(表 1),其中绝大部分都处于临床 I/II 期和临床前的研究阶段(图 5)。Navicixizumab、Cibisatamab 和 AFM-13 是其中极具开发前景的双特异性抗体药物,因此以下对这 3 种抗体进行简述。

3.1 Navicixizumab(OMP-305B83)

Navicixizumab 是双重可变结构域(DVD-Ig)人源化双特异性抗体,通过阻断 Delta 样配体 4(delta-like ligand 4, DLL4)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的下游信号通路来抑制肿瘤血管的生成。双特异性抗体的两种抗原结合臂一端靶向 DLL4,防止 Notch 介导的肿瘤信号转导通路,从而抑制功能腔的发育。另一端抗原结合臂靶向 VEGF,阻断其与肿瘤细胞上的 VEGF 受体结合,从而抑制内皮细胞的增殖。有研究表明,阻断 DLL4 的信号转导通路后会导致 VEGF 的表达上调,内皮细胞过度增殖,而 navicixizumab 可同时抑制这两种下游信号通路的发生。体外研究结果表明,药物剂量依赖型的降低 navicixizumab 的用药可导致人内皮细胞的增殖。结肠癌细胞株异种移植的 NOD/SCID 小鼠模型用 navicixizumab 处理后,其肿瘤体积较空白组和贝伐单抗组处理的明显缩小。在卵巢癌细胞株异种移植小鼠模型中用

navicixizumab 完全阻断 DLL4 和 VEGF 后也可观察到相似的强抗肿瘤活性^[38–39]。2016 年, navicixizumab 在实体瘤患者中进行的 I 期给药剂量递增的临床试验结果公布在 AACR。10 mg/kg 静脉注射 navicixizumab 后观察到肺动脉高压、蛋白尿和

可逆性后部白质脑病综合征, 因此选择 7.5 mg/kg 给药 3 周继续进行试验。在药物剂量递增试验中, 46 例患者有 2 例卵巢癌患者表现部分反应, 16 例病情稳定, 总临床受益率为 39%。目前, navicixizumab 正处于临床试验的扩展阶段。

表 1 已上市及在研的抗肿瘤双特异性抗体药物

名称	研发机构	靶向抗原	开发阶段	适应证
Catumaxomab	Trion Research/Neovii Biotech	EpCAM/CD3	上市	恶性腹腔积液
Blinatumomab	Amgen	CD19/CD3	上市	急性淋巴细胞白血病
MEDI-565	Amgen/MedImmune	CEACAM5/CD3	Phase III	胃肠道肿瘤
AFM-13	Affimed	CD30/CD16a	Phase II	霍奇金淋巴瘤
MM-111	Merrimack	HER2/HER3	Phase II	胃癌、食道癌、乳腺癌
Anti-CD3-anti-HER2-activated T cells	TransTarget/Barbara Ann Karmanos Cancer Institute	HER2/CD3	Phase II	乳腺癌
Anti-CD3/anti-EGFR-activated T cells	Barbara Ann Karmanos Cancer Institute	EGFR/CD3	Phase II	多形性成胶质细胞瘤、胰腺癌
Ertumaxomab	Trion Pharma/NeoPharm	HER2/CD3	Phase II	乳腺癌
FBTA-05	Trion Research	CD20/CD3	Phase II	淋巴细胞性白血病
IMC-gp100	Immunocore/MedImmune	gp100/CD3	Phase II	黑色素瘤
Labetuzumab govitecan	IBC Pharmaceuticals/Immunomedics	CEACAM5/TOP1	Phase II	结肠直肠癌
Pentacea	Immunomedics	CEA	Phase II	小细胞肺癌
Cibisatamab	Roche	CEACAM5/CD3	Phase II	非小细胞肺癌
Vanucizumab	Roche	VEGFA/ANGPT2	Phase II	实体瘤、结肠直肠癌
Istiratumab	Merrimack/Shire/Adimab	IGF1R/HER3	Phase II	卵巢癌、胰腺癌
MP-0250	Molecular Partners	VEGFA/HGF	Phase II	非小细胞肺癌、实体瘤
MCLA-128	Merus N. V.	HER2/HER3	Phase II	非小细胞肺癌、胃癌、实体瘤
MCLA-117	Merus/Institute Gustave-Roussy, <i>et al</i>	CLEC12A/CD3	Phase II	急性骨髓性白血病
Anti-CD3 anti-CD20 bispecific antibody	Genmab	CD20/CD3	Phase II	血液系统恶性肿瘤
REGN-4018	Regeneron	MUC16/CD3	Phase II	输卵管癌、腹膜癌、卵巢癌
REGN-5458	Regeneron/Sanofi	APRIL/CD3	Phase II	多发性骨髓瘤
Hu3F8-BsAb	Memorial Sloan-Kettering Cancer Center/Y-mAbs	GD2/CD3	Phase II	成神经细胞瘤、实体瘤、骨肉瘤
EMB-01	岸迈生物科技有限公司	EGFR/c-Met	Phase II	实体瘤
AK-104(中国 1 类)	中山康方生物医药	CTLA4/PD-1	Phase II	实体瘤
Duligotuzumab	Genentech	HEFR/HER3	Phase I	实体瘤
AFM-11	Affimed	CD19/CD3	Phase I	非霍奇金淋巴瘤
Solitumomab	Micromet	EpCAM/CD3	Phase I	实体瘤
PF-5057459	Pfizer	VEGF/Ang2	Phase I	实体瘤
PF-6671008	MacroGenics/Pfizer	CDH3/CD3	Phase I	实体瘤
Pasotuxizumab	Bayer/Amgen	PSMA/CD3	Phase I	前列腺癌
AMG 330	Amgen	CD33/CD3	Phase I	急性骨髓性白血病
AMG 420	Micromet/Amgen	BCMA/CD3	Phase I	多发性骨髓瘤
AMG-424	Xencor/Amgen	CD38/CD3	Phase I	多发性骨髓瘤
AMG-757	Amgen	DLL3/CD3	Phase I	小细胞肺癌
AMG-427	Amgen	FLT3/CD3	Phase I	急性骨髓性白血病
Navicixizumab	Celgene/OncoMed Pharmaceuticals	DLL4/VEGF	Phase I	输卵管癌、实体瘤
ABT-165	AbbVie	DLL4/VEGF	Phase I	结肠直肠癌
JNJ-63709178	Johnson & Johnson/Genmab	CD123/CD3	Phase I	急性骨髓性白血病
JNJ-61186372	Johnson & Johnson/Genmab	EGFR/c-Met	Phase I	非小细胞肺癌
XmAb20717	Xencor	CTLA4/PD-1	Phase I	实体瘤
XmAb-13676	Xencor/Novartis	CD20/CD3	Phase I	慢性淋巴细胞白血病

(续表)

名称	研发机构	靶向抗原	开发阶段	适应证
XmAb14045	Xencor	IL3RA/CD3	Phase I	血液系统恶性肿瘤
XmAb-18087	Xencor	SSTR2/CD3	Phase I	神经内分泌瘤、胃肠道间质瘤
REGN-1979	Regeneron/Sanofi	CD20/CD3	Phase I	B 细胞淋巴瘤
Mosunetuzumab	Genentech	CD20/CD3	Phase I	慢性淋巴细胞白血病
FAP-DR5	Roche/Millennium Pharmaceuticals	FAP/DR5	Phase I	实体瘤
MGD-013	MacroGenics/再鼎医药	PD-1/LAG3	Phase I	血液系统恶性肿瘤、实体瘤
MGD-007	MacroGenics/Servier	GPA33/CD3	Phase I	结肠直肠癌
Orlotamab	MacroGenics	CD276/CD3	Phase I	实体瘤
Duvortuzumab	MacroGenics/Johnson & Johnson	CD19/CD3	Phase I	套细胞淋巴瘤
Flotetuzumab	MacroGenics/Servier	CD123/CD3	Phase I	骨髓增生异常综合征、白血病
MEDI-4276	MedImmune	HER2	Phase I	胃癌、乳腺癌
MCLA-158	Merus	LGR5/EGFR	Phase I	结肠直肠癌
AMV-564	Amphivena Therapeutics	CD33/CD3	Phase I	骨髓增生异常综合征
ATOR-1015	Alligator Bioscience	CTLA4/OX40	Phase I	实体瘤
CC-93269	Celgene	BCMA/CD3	Phase I	多发性骨髓瘤
ABL-001	ABL Bio/National OncoVenture	VEGF/DLL4	Phase I	实体瘤
RO-7121661	Roche	PD-1/HAVCR2	Phase I	非小细胞肺癌、实体瘤
RG-6026	Roche	CD20/CD3	Phase I	滤泡 B 细胞非霍奇金淋巴瘤
Anti-CD3/anti-CD20 bispecific antibody	Barbara Ann Karmanos Cancer Institute	CD20/CD3	Phase I	淋巴瘤
FS 118	F-star/Merck Serono	PD-L1/LAG3	Phase I	血液系统恶性肿瘤、实体瘤
TG-1801	NovImmune/TG Therapeutics	CD19/CD47	Phase I	B 细胞淋巴瘤
GBR-1342	Glenmark Pharma	CD38/CD3	Phase I	多发性骨髓瘤
ERY-974	中外制药	GPC3/CD3	Phase I	实体瘤
A-319(中国 I 类)	健能隆医药	CD19/CD3	Phase I	B 细胞淋巴瘤
M-802(中国 I 类)	武汉友芝友生物	HER2/CD3	Phase I	胃癌、HER2 阳性乳腺癌
M-701(中国 I 类)	武汉友芝友生物	EpCAM/CD3	Phase I	恶性腹腔积液
IBI318(中国 I 类)	信达生物制药/Lilly	PD-1/unknown	Phase I	肿瘤
KN-026(中国 I 类)	苏州康宁杰瑞生物科技	HER2/HER2	Phase I	胃癌、乳腺癌
ZW-25	Zymeworks/百济神州	HER2/HER2	Phase I	输卵管癌、胆囊癌、胃癌
TNB-383B	Teneobio/Abbvie	BCMA/CD3	IND	多发性骨髓瘤
OXS-3550	University of Minnesota/Oxis Biotech	CD33/CD3	Preclinical	B 细胞淋巴瘤
MCLA-129	Merus/贝达药业	EGFR/c-Met	Preclinical	实体瘤
ATOR-1144	Alligator Bioscience	CTLA4/GITR	Preclinical	血液系统恶性肿瘤、实体瘤
Y-111	武汉友芝友生物	PD-L1/CD3	Preclinical	非小细胞肺癌、黑色素瘤

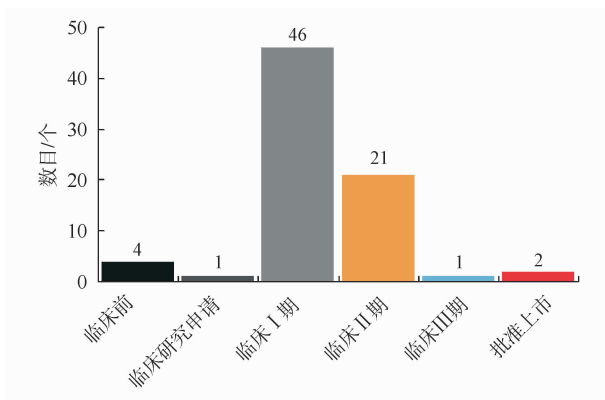


图 5 2019 年肿瘤治疗领域的双特异性抗体药物数目统计

3.2 Cibisatamab(RO-6958688/RG-7802)

Cibisatamab 是利用 CrossMab 技术将抗 CD3

的抗原结合片段(fragment of antigen binding, Fab)和抗 CEA 的 Fab 杂交的 IgG 型异二聚体双特异性抗体, Fc 端被沉默, 一端抗原结合臂结合表达 CD3 的 T 细胞, 另一端抗原结合臂结合表达癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)的肿瘤细胞。CEA 在许多肿瘤细胞上高表达, 包括: 结肠直肠癌、胰腺癌、胃癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和头颈癌^[40]。Cibisatamab 可诱导 T 淋巴细胞对表达 CEA 的肿瘤细胞株发生细胞毒性应答, 杀伤活性与 CEA 的表达水平相关, 对高表达 CEA 的肿瘤细胞具有极强的溶解作用。在高度免疫缺陷的 NOG 小鼠模型上进行人结肠癌细胞株异种移植构建, cibisatamab 处理的结果显示肿瘤体积明显缩小, 也能诱导低免疫

原性的肿瘤消除,并将其转变为炎性免疫原性 PD-L1⁻¹表达的肿瘤^[41]。Lehmann 等^[42]研究 cibisatamab 的体内活性,结果表明其可提高 T 细胞与肿瘤细胞的比例,并增加两者之间的交联,加速 T 细胞对肿瘤细胞的裂解。这些临床前研究促进了 cibisatamab 的 I 期临床研究的开展,初步研究结果公布在 2017 年的 ASCO。在给药剂量递增研究的第一阶段,80 例患者单次静脉注射 cibisatamab 0.05~600 mg 进行治疗。第二阶段,38 例患者静脉注射 cibisatamab 5~160 mg 和 atezolizumab(PD-L1 的单克隆抗体药物)1 200 mg 进行联合用药。临床研究结果显示,第一阶段和第二阶段各有 2 例对治疗有部分反应,分别有 4 例和 5 例患者的病情稳定。最常见的不良反应有发热,输液相关反应和腹泻。

3.3 AFM-13

AFM-13 是先通过一段接头序列将 CD16a 结构域和 CD30 结构域连接组合,再二聚化产生的四价同型双特异性嵌合抗体。AFM-13 可各二价结合肿瘤细胞上的 CD30 和自然杀伤细胞上的 CD16a,通过招募并激活自然杀伤细胞实现对肿瘤细胞的靶向裂解^[43]。Reusch 等^[44]的研究结果显示,AFM-13 对 CD30 阳性肿瘤细胞株具有很强的细胞毒杀伤活性,当不存在 CD30 阳性细胞的情况下,AFM-13 不会导致自然杀伤细胞的活化。基于这些临床前研究结果,对 28 例复发或难治性霍奇金淋巴瘤患者进行了 AFM-13 的 I 期临床试验,评估给药剂量 0.01~7 mg/kg 的安全性及耐受情况。研究结果显示,患者对 AFM-13 的耐受良好,26 例患者中 3 例对治疗表现出部分反应,13 例治疗效果,最佳客观缓解率为 11.5%,疾病控制率为 61.5%。最常见的不良反应有发烧、发冷、头痛、恶心、输液相关反应、呕吐和肺炎。目前,正在进行 AFM-13 的 I/II 期临床试验研究^[45]。

4 展望

在过去的 30 年里,随着 DNA 重组技术和蛋白质工程等学科不断发展,对肿瘤生物学和免疫学更深刻的理解,新型免疫治疗能够更好地满足抗肿瘤的治疗需求。抗体类药物在肿瘤治疗领域发挥着至关重要的作用,而双特异性抗体药物在分子医学中开辟了一个全新的治疗领域。虽然科学技术

的提高极大降低了双特异性抗体药物的经济成本,工业放大生产也打开了市场,但仍存在问题有待解决。抗体的轻、重链无法完全正确组装,导致蛋白不稳定、纯化工艺繁杂且产品得率较低。因此,可对双特异性抗体的结构、相对分子质量和结合能力进行上层设计,以平衡药物的安全性、有效性、高效性和稳定性。

在未来,会把双特异性抗体作用机制灵活的优势愈加彰显出来,不仅局限于与免疫细胞与肿瘤细胞上的抗原进行作用,而且将允许其靶向 2 个以上的治疗靶点。提高双特异性抗体药物对肿瘤组织和正常组织的选择性对于药物的安全性十分重要,可通过将抗体制备成前药来实现,将一段多肽与抗体的可变区进行融合,可降低与非肿瘤细胞上的肿瘤相关抗原的相互作用,待药物到达肿瘤组织后被蛋白酶水解释放,才能正常发挥抗肿瘤活性。将双特异性抗体药物与免疫检查点抑制剂进行联合用药可协同抗肿瘤,这也是未来研究的一大热点。相信在不久的将来,将会有更多的双特异性抗体药物被批准上市用于肿瘤的治疗。

参考文献

- [1] de Almeida R, Nakamura CN, de Lima Fontes M, et al. Enhanced immunization techniques to obtain highly specific monoclonal antibodies[J]. *MAbs*, 2018, **10**(1): 46–54.
- [2] Yu S, Li A, Liu Q, et al. Recent advances of bispecific antibodies in solid tumors[J]. *J Hematol Oncol*, 2017, **10**(1): 155.
- [3] Sado Y, Inoue S, Tomono Y, et al. Monoclonal suncus antibodies: generation of fusion partners to produce suncus-suncus hybridomas[J]. *Acta Histochem Cytochem*, 2017, **50**(2): 71–84.
- [4] Cymer F, Beck H, Rohde A, et al. Therapeutic monoclonal antibody N-glycosylation – Structure, function and therapeutic potential[J]. *Biologicals*, 2018, **52**: 1–11.
- [5] Li XR, Liu R, Liu FK, et al. Culture process for fully human anti-VEGF165 monoclonal antibody[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2015, **46**(6): 734–739.
- [6] Fan G, Wang Z, Hao M, et al. Bispecific antibodies and their applications[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, **8**: 130.
- [7] Brinkmann U, Kontermann RE. The making of bispecific antibodies[J]. *MAbs*, 2017, **9**(2): 182–212.
- [8] Kontermann RE, Brinkmann U. Bispecific antibodies[J]. *Drug Discov Today*, 2015, **20**(7): 838–847.
- [9] Trivedi A, Stienen S, Zhu M, et al. Clinical pharmacology and translational aspects of bispecific antibodies[J]. *Clin Transl Sci*, 2017, **10**(3): 147–162.
- [10] Riesenberger R, Buchner A, Pohla H, et al. Lysis of prostate carci-

- noma cells by trifunctional bispecific antibodies (alpha EpCAM \times alpha CD3) [J]. *J Histochem Cytochem*, 2001, **49** (7): 911 – 917.
- [11] Sedykh SE, Prinz VV, Buneva VN, *et al.* Bispecific antibodies; design, therapy, perspectives [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2018, **12**: 195 – 208.
- [12] Kubo M, Umebayashi M, Kurata K, *et al.* Catumaxomab with activated T-cells efficiently lyses chemoresistant EpCAM-positive triple-negative breast cancer cell lines [J]. *Anticancer Res*, 2018, **38** (7): 4273 – 4279.
- [13] Knödler M, Körfer J, Kunzmann V, *et al.* Randomised phase II trial to investigate catumaxomab (anti-EpCAM \times anti-CD3) for treatment of peritoneal carcinomatosis in patients with gastric cancer [J]. *Br J Cancer*, 2018, **119** (3): 296 – 302.
- [14] Ruf P, Lindhofer H. Induction of a long-lasting antitumor immunity by a trifunctional bispecific antibody [J]. *Blood*, 2001, **98** (8): 2526 – 2534.
- [15] Heiss MM, Ströhlein MA, Jäger M, *et al.* Immunotherapy of malignant ascites with trifunctional antibodies [J]. *Int J Cancer*, 2005, **117** (3): 435 – 443.
- [16] Burges A, Wimberger P, Kümper C, *et al.* Effective relief of malignant ascites in patients with advanced ovarian cancer by a trifunctional anti-EpCAM \times anti-CD3 antibody: a phase I/II study [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, **13** (13): 3899 – 3905.
- [17] Heiss MM, Murawa P, Koralewski P, *et al.* The trifunctional antibody catumaxomab for the treatment of malignant ascites due to epithelial cancer; results of a prospective randomized phase II/III trial [J]. *Int J Cancer*, 2010, **127** (9): 2209 – 2221.
- [18] Goëré D, Flament C, Rusakiewicz S, *et al.* Potent immunomodulatory effects of the trifunctional antibody catumaxomab [J]. *Cancer Res*, 2013, **73** (15): 4663 – 4673.
- [19] Mau-Sørensen M, Dittrich C, Dienstmann R, *et al.* A phase I trial of intravenous catumaxomab: a bispecific monoclonal antibody targeting EpCAM and the T cell coreceptor CD3 [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2015, **75** (5): 1065 – 1073.
- [20] Kantarjian H, Stein A, Gökbuget N, *et al.* Blinatumomab versus chemotherapy for advanced acute lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2017, **376** (9): 836 – 847.
- [21] Ribera JM. Efficacy and safety of bispecific T-cell engager blinatumomab and the potential to improve leukemia-free survival in B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Expert Rev Hematol*, 2017, **10** (12): 1057 – 1067.
- [22] Dreier T, Lorenczewski G, Brandl C, *et al.* Extremely potent, rapid and costimulation-independent cytotoxic T-cell response against lymphoma cells catalyzed by a single-chain bispecific antibody [J]. *Int J Cancer*, 2002, **100** (6): 690 – 697.
- [23] Topp MS, Stelljes M, Zugmaier G, *et al.* Blinatumomab retreatment after relapse in patients with relapsed/refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2018, **32** (2): 562 – 565.
- [24] Durer S, Durer G, Shafqat M, *et al.* Concomitant use of blinatumomab and donor lymphocyte infusion for mixed-phenotype acute leukemia: a case report with literature review [J]. *Immunotherapy*, 2019, **11** (5): 373 – 378.
- [25] Bargou R, Leo E, Zugmaier G, *et al.* Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell-engaging antibody [J]. *Science*, 2008, **321** (5891): 974 – 977.
- [26] Topp MS, Kufer P, Gökbuget N, *et al.* Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival [J]. *J Clin Oncol*, 2011, **29** (18): 2493 – 2498.
- [27] Topp MS, Gökbuget N, Zugmaier G, *et al.* Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T cell-engager blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 2014, **32** (36): 4134 – 4140.
- [28] Martinelli G, Boissel N, Chevallier P, *et al.* Complete hematologic and molecular response in adult patients with relapsed/refractory philadelphia chromosome-positive b-precursor acute lymphoblastic leukemia following treatment with blinatumomab; results from a phase II, single-arm, multicenter study [J]. *J Clin Oncol*, 2017, **35** (16): 1795 – 1802.
- [29] Topp MS, Gökbuget N, Stein AS, *et al.* Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study [J]. *Lancet Oncol*, 2015, **16** (1): 57 – 66.
- [30] Carter PJ, Lazar GA. Next generation antibody drugs: pursuit of the ‘high-hanging fruit’ [J]. *Nat Rev Discov*, 2018, **17** (3): 197 – 223.
- [31] von Stackelberg A, Locatelli F, Zugmaier G, *et al.* Phase I/Phase II Study of blinatumomab in pediatric patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Clin Oncol*, 2016, **34** (36): 4381 – 4389.
- [32] Jen EY, Xu Q, Schetter A, *et al.* FDA approval: blinatumomab for patients with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in morphologic remission with minimal residual disease [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, **25** (2): 473 – 477.
- [33] Zhu M, Wu B, Brandl C, *et al.* Blinatumomab, a bispecific T-cell engager (BiTE®) for CD-19 targeted cancer immunotherapy: clinical pharmacology and its implications [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2016, **55** (10): 1271 – 1288.
- [34] Tammen A, Derer S, Schwanbeck R, *et al.* Monoclonal antibodies against epidermal growth factor receptor acquire an ability to kill tumor cells through complement activation by mutations that selectively facilitate the hexamerization of igg on opsonized cells [J]. *J Immunol*, 2017, **198** (4): 1585 – 1594.
- [35] Mazor Y, Hansen A, Yang C, *et al.* Insights into the molecular basis of a bispecific antibody’s target selectivity [J]. *MAbs*, 2015, **7** (3): 461 – 469.

- [36] Mazor Y, Oganessian V, Yang C, *et al.* Improving target cell specificity using a novel monovalent bispecific IgG design[J]. *MAbs*, 2015, 7(2):377-389.
- [37] Kosaka T, Tanizaki J, Paranal RM, *et al.* Response heterogeneity of EGFR and HER2 Exon 20 insertions to covalent EGFR and HER2 inhibitors[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(10):2712-2721.
- [38] Li Y, Hickson JA, Ambrosi DJ, *et al.* ABT-165, a dual variable domain immunoglobulin (DVD-Ig) targeting DLL4 and VEGF, demonstrates superior efficacy and favorable safety profiles in pre-clinical models [J]. *Mol Cancer Ther*, 2018, 17(5):1039-1050.
- [39] Lee D, Kim D, Choi YB, *et al.* Simultaneous blockade of VEGF and DLL4 by HD105, a bispecific antibody, inhibits tumor progression and angiogenesis[J]. *MAbs*, 2016, 8(5):892-904.
- [40] Klein C, Schaefer W, Regula JT. The use of CrossMAb technology for the generation of bi- and multispecific antibodies[J]. *MAbs*, 2016, 8(6):1010-1020.
- [41] Bacac M, Fauti T, Sam J, *et al.* A Novel Carcinoembryonic antigen T-cell bispecific antibody (CEA TCB) for the treatment of solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(13):3286-3297.
- [42] Lehmann S, Perera R, Grimm HP, *et al.* *In vivo* fluorescence imaging of the activity of CEA TCB, a novel T-Cell bispecific antibody, reveals highly specific tumor targeting and fast induction of T-cell-mediated tumor killing [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(17):4417-4427.
- [43] Wu J, Fu J, Zhang M, *et al.* AFM13: a first-in-class tetravalent bispecific anti-CD30/CD16A antibody for NK cell-mediated immunotherapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2015, 8:96.
- [44] Reusch U, Burkhardt C, Fucek I, *et al.* A novel tetravalent bispecific TandAb (CD30/CD16A) efficiently recruits NK cells for the lysis of CD30⁺ tumor cells [J]. *MAbs*, 2014, 6(3):728-739.
- [45] Rothe A, Sasse S, Topp MS, *et al.* A phase 1 study of the bispecific anti-CD30/CD16A antibody construct AFM13 in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma[J]. *Blood*, 2015, 125(26):4024-4031.

· 校园信息 ·

中国药科大学喜获三项 2018 年度江苏省科学技术奖

5月10日,省委、省政府召开全省科学技术奖励大会,认真学习贯彻习近平新时代中国特色社会主义思想 and 党的十九大精神,深入实施创新驱动发展战略,大会正式公布了2018年度评选出的276项江苏省科学技术奖,同时授予7家企业2018年度江苏省企业技术创新奖和5名个人2018年度江苏省国际科学技术合作奖。我校喜获江苏省科学技术奖3项,我校尹莉芳教授作为一等奖的第一完成人受到省领导的颁奖。

据悉,本次大会旨在表彰为国家和江苏省科技事业与现代化建设作出突出贡献的科技工作者们,激励全省广大科技工作者更加积极投身科技创新实践,为推动高质量发展走在前列提供有力支撑。

近年来,我校围绕国家医药事业、医药产业发展方向,大力推进协同创新,全面激发科研活力,建立了一批关键核心技术,助推医药产业转型升级,为我校转型发展奠定了坚实基础。在今后的科技发展中,我校将积极响应省委、省政府的号召和要求,充分激发科技人才创新活力,联合企业共同创新,统筹推进创新资源优化整合,大力推动科技成果加快转化,努力为建设“强富美高”新江苏、实现中华民族伟大复兴中国梦的新征程中贡献才智、建功立业。

(科技处)