

双特异性抗体研究进展

沈洪彪, 黄雨霏, 唐 奇

南京医科大学国家卫生健康委员会抗体技术重点实验室 江苏南京

【摘要】 双特异性抗体 (bispecific antibody, BsAb) 是一种含有两个独立抗原结合位点的抗体, 具有能够同时结合两个不同抗原或同一抗原的两个不同表位的功能。根据其分子中是否含有 Fc 段, 可分为 IgG 样 BsAb, 非 IgG 样 BsAb。由于 IgG 样的 BsAb 分子与天然的 IgG 具有更为相似的分子结构, 因此其表现出较长的循环半衰期, 且较不容易对该 BsAb 引起免疫反应。非 IgG 样 BsAb 由于不含天然抗体的 Fc 段, 分子量较小, 肿瘤渗透性较好, 能够更大幅度缩短特异性免疫细胞和肿瘤细胞的间距, 在肿瘤杀伤方面发挥更为显著的作用, 但缺点是其半衰期较短。本文将对 BsAb 的分子结构, 作用机制及临床应用等方面进行综述。

【关键词】 双特异性抗体; 分子结构; 抗体制备; 临床应用

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目 (编号: 82073389); 浙江省基础公益研究计划 (编号: GF20H080011); 浙江省血液安全研究重点实验室开放课题 (编号: 2019KF002)

【收稿日期】 2024 年 11 月 12 日 **【出刊日期】** 2024 年 12 月 20 日 **【DOI】** 10.12208/j.imrf.20240011

Research progress in bispecific antibodies

Hongbiao Shen, Yuxuan Huang, Qi Tang

Key Laboratory of Antibody Technology, National Health Commission, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu

【Abstract】 Bispecific antibody (BsAb) is a kind of antibody with two different antigen binding arms. It has the ability to bind two different antigens or two different epitopes of one antigen at the same time. According to whether it contains Fc fragment, it can be divided into IgG-like BsAb and non-IgG-like BsAb. IgG-like BsAb has a longer half-life and is less likely to elicit immune responses against IgG-like BsAb due to its molecular form closer to that of natural antibodies. Non-IgG-like BsAb has a small molecular weight and better tumor permeability because it does not contain the Fc fragment of natural antibody. It can significantly shorten the spacing between specific immune cells and tumor cells and play a more significant tumor killing effect. But the disadvantage is its short half-life. This review provides insight into the molecular structure, mechanism and clinical application of bispecific antibody.

【Keywords】 Bispecific antibody; Molecular structure; Antibody preparation; Clinical application

1960 年, Nisonoff 及其同事首次提出双特异性抗体 (bispecific antibody, BsAb) 的概念^[1]。BsAb 是一类具有两个不同的抗原结合位点, 可同时结合两种不同的抗原或是同一抗原的两个不同表位的抗体分子。这类拥有双重结合能力的抗体分子在肿瘤治疗中表现出比单抗药物联合用药更显著的疗效, 实现了协同效应 (1+1>2)^[2]。然而, 由于受限于当时的生物科技, BsAb 仅限于理论探讨阶段。直到 2009 年, Catumaxomab (商品名:Removab) 这一双特异性

抗体才被欧洲批准用于实体肿瘤导致的恶性腹水治疗。截止到 2021 年底, 市场上只有四种 BsAb 产品, 即 Catumaxomab、Blinatumomab、Emicizumab 和 Amivantamab。随着生物医药技术近年来的发展, BsAb 重新进入人们视野, 仅在 2022 年就有 6 款双功能抗体获批上市, 其中 4 款是严格意义上的 BsAb, 超越了过去十余年的总和, BsAb 药物研发正受到越来越多的广泛关注^[3]。

1 双特异性抗体的分子结构及生物学特性

1.1 DVD-IgG

双可变区-IgG (dual variable domain IgG, DVD-IgG)型 BsAb 是一种 IgG 样对称型的双特异性抗体。通过在 IgG 抗体分子的重链可变区 (heavy chain variable region, VH) 和轻链可变区 (light chain variable region, VL) 的 N 端引入另一种抗体的 VH 和 VL 结构域所产生一种四价分子, 对两个不同的抗原各有两个结合点, 达到两种不同抗原表位同时结合的目的 (图 1A)^[2]。通过优化连接两个可变区之间的 Linker,

或将内肽酶敏感序列插入至任一 Linker 之间以增加远端 Fv 的柔韧性, 从而解决 N 末端远端可变区片段 (fragment variable, Fv) 干扰近端 Fv 与抗原结合的问题。同时改造 DVD-IgG 型抗体分子的 VH 和 VL 的 N 端, 使其具有与天然 IgG 更为相似的分子结构。这样的改造使 DVD-IgG 在具有两种抗体结合位点的同时, 表达和纯化可以通过传统通用的抗体技术^[4]。这种技术能够防止不同的重链和轻链间的错配问题, 同时可保证生产过程中的稳定性及高产量。

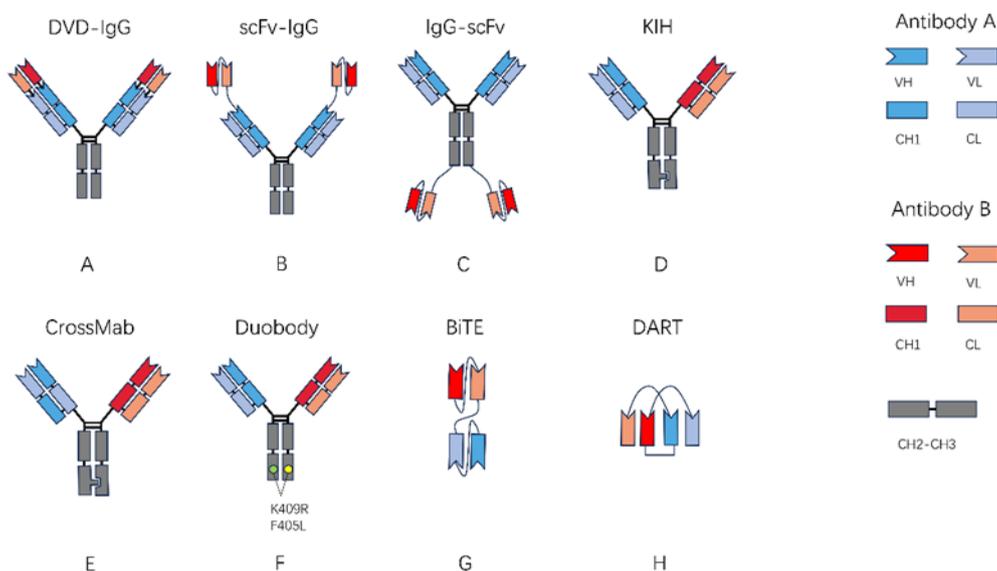


图 1 部分双特异性抗体结构示意图

1.2 scFv-IgG/IgG-scFv

单链抗体-IgG (single chain fragment variable IgG, scFv-IgG)型 BsAb 是一种 IgG 样对称型的双特异性抗体, 通过在原有 IgG 抗体分子的 VH 或 VL 的 N 端连接另一种抗体的 ScFv 片段, 使其具有两个不同的抗原结合位点, 实现双特异性靶向作用 (图 1B)。由于改造后的分子结构与天然的 IgG 更为相似, 所以循环半衰期更长, 且不易引起免疫反应。

另一种类似的形式是 IgG-单链抗体 (IgG-single chain fragment variable, IgG-scFv) 通过改造 Fc 段, 将另一种 scFv 在 CH 的 C 端融合 (图 1C)。1997 年, Coloma 等尝试在 CH 的 C 端连接另一种抗体的 scFv 片段, 以减少两种抗原结合位点在空间上的位阻效应, 使两种抗原结合位点均能更有效地结合相应的抗原表位^[5]。

1.3 Knobs-into-holes

Knobs-in-holes (KIH) 形式的 BsAb 是一种 IgG 样非对称型的抗体分子。通过同时改造抗体 A 和抗体 B 的 CH3 区, 在抗体 A 中, 使用体积较大的酪氨酸 (Y) 替换原有较小的苏氨酸 (T), 形成凸出的杵 (Knobs) 状结构 (T366Y); 在抗体 B 上, 使用体积较小的苏氨酸 (T) 替换原有较大的酪氨酸 (Y), 形成凹陷的臼 (holes) 状结构 (Y407T) (图 1D)^[6]。两种不同的抗体重链通过该技术改造后, 在空间上形成 KIH 结构, 利用位阻效应有助于重链异二聚体正确配对。KIH 技术使正确的 BsAb 重链装配率达到 90%-95%, 使得这种双抗分子得以规模化生产, 但改造后的抗体分子结构稳定性降低。在之后的研究中对 KIH 的突变氨基酸进行优化, 对重链氨基酸残基利用噬菌体展示技术随机突变, 找到了

一种较为稳定的突变模式, 即在一条重链的恒定区上, 用体积较大的色氨酸(W)替换体积较小的苏氨酸(T) (T366W), 形成“Knobs”结构; 在另一条重链的恒定区上, 对3个氨基酸的突变, 分别用体积较小的丝氨酸(S)、丙氨酸(A)和缬氨酸(V)替换原有体积较大的苏氨酸(T) (T366S)、亮氨酸(L) (L368A)和酪氨酸(Y) (Y407V), 形成“holes”型结构, 通过空间位阻互补与结构域间疏水相互作用, 提高了抗体的稳定性^[7]。

1.4 CrossMab

CrossMab形式的BsAb是基因泰克公司在KIH结构基础上开发的另一种IgG样非对称型双特异性抗体。其原理是CL与CH1之间能够构成异源二聚体, 在结构上互补, 而CL之间和CH1之间则表现出排斥性。通过将BsAb中抗体A的CL与CH1进行互换, 抗体B不进行改动, 由此形成的VL-CH1轻链更易与VH-CL-CH2-CH3重链配对, 而与正常的VH-CH1-CH2-CH3重链间相互排斥, 一定程度上避免了轻重链之间的错配(图1E)。VL与VH互换也可达到类似的目的, 但是在CrossMab的组装过程中, 也可能会有些副产物的出现, 如CL-CH1相互交换会产生抗体A的VL-CH1与抗体B的VL-CL错配轻链二聚体产物, 以及VL与VH相互交换会形成Bence-Jones Mab副产物。尽管存在这些副产物, 利用CrossMab技术, 可以完成轻重链的高比例正确配对。此外, 有研究发现, 结构域的交流对双特异性抗体分子的活性、稳定性和表达效率没有显著影响。

1.5 DuoBody

DuoBody是Genmab公司专有的BsAb平台, DuoBody形式的BsAb是一种IgG样非对称型的抗体分子, 通过Fab臂交换产生的, 其原理是将K409R和F405L突变位点分别引入两个IgG1抗体分子Fc段的CH3区域, 混合两个目标抗体在氧化还原的环境下即可完成Fab臂交换, 两个独立IgG1抗体分子的重链和轻链同源物重新组装形成新的异源双特异性抗体分子(图1F)^[8]。研究表明IgG1-K409R和IgG1-F405L这种组合能够降低Fab-arm交换过程中同源二聚体的形成, 提高异源二聚体化效率以及阻止Fab-arm交换完成后的解离和再交换, 异源二聚体纯度可达95%以上^[9]。Duobody平台的优势在于工程化简单, 两个抗体只需分别突变一个位点, 保

留天然IgG1 Fc段的功能, 免疫原性低, 适合大规模生产, 纯度高、稳定性好。

1.6 BiTE

双特异性T细胞衔接器(bispecific T cell engager, BiTE)形式的BsAb是一种非IgG样非对称型抗体分子, 通过肽段将抗体A的scFv片段与抗体B的scFv片段相连(图1G)。BiTE技术在一定程度上提高了scFv稳定性, 促进了scFv片段的表达, 由于其具有较为复杂的三级结构和二硫键, 生产时一般用哺乳动物细胞来表达。与天然的IgG抗体分子相比, BiTE形式的BsAb不含Fc段, 因此其具有较小的相对分子质量(约为60kDa)和较短的半衰期^[10]。较小的分子质量使其具有更好的肿瘤渗透性, 可以缩短两种靶细胞的间距, 故该形式的BsAb多应用于肿瘤免疫治疗领域, 可以发挥较强的肿瘤杀伤效果; 而较短的半衰期使其在用于治疗时需要多次连续给药^[11]。

1.7 DART

双亲和重靶向(dual-affinity re-targeting, DART)形式的BsAb是一种非IgG样非对称型抗体分子, 是由美国MacroGenics公司和Servier公司共同研发的新一代BsAb构建技术。DART形式的BsAb是由两条多肽链结合而成的异源二聚体抗体, 其结构是将抗体A的VH和VL序列与抗体B的VL和VH序列分别连接而成, 在此基础上, 将半胱氨酸引入两条多肽链的C端, 通过半胱氨酸形成链间二硫键(图1H), 使这种抗体分子稳定性提高。与BiTE技术不同, DART形式的BsAb设计能够模仿IgG分子内的自然交互作用, 延长体内的半衰期, 但抗原结合活性也有一定程度的降低^[12]。

2 双特异性抗体的制备

BsAb的制备方法主要有化学偶联法、双杂交瘤融合法、基因工程法等。基因工程法是目前制备BsAb应用最广的技术。

2.1 化学偶联法

最早应用于制备BsAb的技术是化学偶联法, 出现于1980年代。1985年, Brennan首次利用两个单克隆抗体IgG1片段的重新组合来制备BsAb^[13]。化学偶联法的原理是将两个完整的IgG或两个抗体片段使用化学偶联剂偶联成一种BsAb, 它的优点是方便快捷, 缺点是容易破坏抗原结合位点, 影响抗体活性和交联剂本身可能产生的不安全性和致癌性,

因此化学偶联法在制备 BsAb 方面并没有得到广泛应用。

2.2 双杂交瘤融合法

两种不同的杂交瘤细胞通过细胞融合形成双杂交瘤细胞株, 再使用常规杂交瘤筛选法鉴定分离出杂交瘤细胞。双杂交瘤的遗传背景来自两种不同的杂交瘤细胞, 能够产生 2 种不同的重链和轻链分子, 所需的目的 BsAb 要由重链和轻链以随机组合配对的方式产生, 两种轻重链能够产生 16 种组合配对, 其中只有 2 种是所需的功能性 BsAb, 产生的抗体存在大量轻重链错配, 难以生成稳定的 BsAb。传统的双杂交瘤方法制备双特异性抗体生产的 BsAb 具有更好的生物活性, 分子结构稳定, 而缺点是产生的 BsAb 随机性大, 正确配对率低。Catumaxomab 使用 Triomab 平台, 两个半抗体起源于亲本小鼠 IgG2a 和大鼠 IgG2b, 嵌合型四倍体细胞是使用大鼠和小鼠的不同种系细胞融合得到的, 解决了双杂交瘤融合法产生的错配问题。

2.3 基因工程法

基因工程法是目前最常用的的方法, 其基本原理是在基因通过基因工程技术对抗体分子进行修饰和改造, 从而创造出 BsAb 的多种形式。常使用两种方式实现, 一是将编码两种单克隆抗体的两对重链和轻链基因同时转入骨髓瘤细胞中, 或是将一种单克隆抗体的重链和轻链基因转入可分泌另一种单克隆抗体的杂交瘤细胞内。随着基因工程技术的发展, 利用 KIH 技术, 形成“杵臼”结构, 在两种不同抗体重链之间通过空间位阻效应实现正确装配, 可大幅提高重链间的正确装配率。Emicizumab、Faricimab、Mosunetuzumab 的 Fc 段设计采用了 KIH 技术, 通过基因工程技术在一条重链的 CH3 区域引入一个较大的氨基酸残基形成“knob”, 在配对的另一条重链 CH3 的相应区域引入一个较小的氨基酸残基形成一个“hole”, 从而提高 BsAb 重链的正确装配率。CrossMab 技术也可以有效提高异源抗体轻重链的正确装配率。Faricimab 进一步采用了基于 KIH 结构的 CrossMab 技术, 交换一个 Fab 中的重链 CH1 与轻链 CL, 另一个 Fab 臂不做改动, 提高了重轻链的正确装配率。Amivantamab 采用 DuoBody 技术, 将 K409R 和 F405L 突变位点分别引入两个 IgG1 抗体重链的 CH3 区域, 混合两个目标抗体在氧化还原的环境下即可完成 Fab 臂交换形成 BsAb。Cadonilimab

采用 IgG-scFv 技术, 将另一种抗体以 scFv 的形式连接在 IgG 的 C 端, 从而减少与原来抗体 Fab 段空间位阻效应。二是 BsAb 可以采用构建单链抗体的方式制备, 如第一个使用 BiTE 技术生产的 Blinatumomab 是通过重组 DNA 技术将四个可变区序列与三个 linker 序列融合形成的 BsAb^[14]。

3 双特异性抗体的作用机制

双特异性抗体在体内的具体作用机制尚不完全明确, 较为普遍的观点认为 BsAb 的作用机制为靶向两种不同抗原或两种不同的抗原表位, 可以使表达两种抗原的细胞相互靠近, 如介导免疫细胞与肿瘤细胞结合, 使两者的相互作用增强; 或者同时对多个信号通路进行阻断或激活, 从而达到更好的肿瘤抑制作用, 避免产生耐药性^[15]。

3.1 介导表达两种抗原的细胞结合

BsAb 的一个抗原结合区用于专门识别肿瘤细胞上的抗原, 而另一个抗原结合区则用于针对免疫效应细胞上的抗原, 从而激活这些免疫效应细胞, 利用激活的免疫细胞实现杀伤肿瘤细胞的目的。在人体的各类免疫细胞中, T 细胞在细胞免疫、免疫调节和体内其他生理功能方面发挥着重要作用。值得注意的是, CD3+CD8+细胞毒性 T 细胞是双特异性抗体治疗肿瘤过程中最常靶向的免疫细胞。

Catumaxomab 和 Blinatumomab 都能与 T 细胞表面的 CD3 受体结合, 同时特异性识别肿瘤细胞表面的抗原, 通过这种机制可精确靶向特定肿瘤细胞, 最终有效杀伤肿瘤细胞^[16]。Catumaxomab 是世界上第一个双特异性抗体药物, 是一种 CD3/EpCAM 双特异性抗体, EpCAM 主要在大多数引起恶性腹水的上皮癌细胞表达, 用于治疗肿瘤(尤其是胃癌)导致的恶性腹水^[17]。对 EpCAM+复发性非肌肉浸润性膀胱癌患者首次通过膀胱内给予 Catumaxomab 表现出高耐受性和局部免疫活性^[18]。还有实验表明, Catumaxomab 可以在体外杀灭耐药三阴性乳腺癌细胞。Blinatumomab 是 BiTE 形式的 CD3/CD19 双特异性抗体, 恶性血液系统肿瘤 B 细胞大量表达 CD19, Blinatumomab 能够同时与 B 细胞上的 CD19 和 T 细胞上的 CD3 结合, 介导 T 细胞靶向攻击病变的 B 细胞, 用于治疗恶性 B 细胞白血病和淋巴瘤。IgG 样 BsAb 的 Fc 段可以与 Fc 受体(FcR)相互作用, 这种相互作用使 NK 细胞或巨噬细胞靶向肿瘤细胞, 启动 ADCC 效应。MesobsFab 是一种 mesothelin/CD16

双特异性抗体, 三阴性乳腺癌细胞高表达间皮素(mesothelin), MesobsFab可介导NK细胞靶向杀伤三阴性乳腺癌细胞。

3.2 阻断或激活信号通路

许多信号通路常的异常激活是导致肿瘤的发生、发展和恶化的主要原因,因此,断这些肿瘤信号通路是治疗肿瘤最有效的方法之一。BsAb能够靶向同一细胞表面的两种不同受体,具有同时阻断多种信号通路或抑制新生血管生成的优势,或激活信号通路,从而增强抗肿瘤效果,也能避免肿瘤细胞产生对治疗性抗体的抗药性^[19]。

EGFR(HER1)和HER3都是人表皮生长因子受体(HER)家族成员之一。EGFR广泛分布于哺乳动物上皮细胞、成纤维细胞、胶质细胞、角质细胞等细胞表面,EGFR信号通路对细胞的生长、增殖和分化等生理过程发挥重要的作用。与HER家族其他成员不同,HER3缺乏酪氨酸激酶内在活性。研究发现,HER3能与癌细胞中的EGFR或HER2表达并形成异二聚体使致癌信号的通路得以活化,致使EGFR/HER2-TKI对此失去疗效,无法减缓癌细胞生长。同时,HER3信号的激活也被证实能够促进肿瘤的生长、侵袭和转移^[20]。Izalontamab是目前全球唯一一款进入临床的EGFR/HER3双特异性抗体,对EGFR/HER3异二聚体具有高选择性,阻断HER3激活PI3K/AKT和SRC信号通路,用于治疗复发性和转移性头颈部鳞状细胞癌以及转移性EGFR/ALK野生型非小细胞肺癌^[21]。

新生血管生成是促进肿瘤发生发展和转移的重要原因,阻断肿瘤的血管生成能够有效抑制肿瘤生长和转移。血管内皮生长因子A(VEGF-A)和血管生成素2(angiotensin-2, Ang-2)能够有效促进肿瘤血管的生成。Vanucizumab是一种VEGF-A/Ang-2双特异性抗体,其主要作用是显著抑制肿瘤新生血管形成,从而抑制肿瘤的生长和进展,在一些难治性的实体瘤中显示出潜在的疗效。

3.3 形成蛋白复合物

通过同时结合不同的抗原位点,BsAb有助于连接两种不同的蛋白分子,发挥蛋白复合物的生理功能。A型血友病是由凝血因子VIII(FVIII)缺乏或功能障碍引起的先天性疾病。罗氏(Roche)开发的Emicizumab是一种凝血因子IX α (FIX α)/凝血因子X(FX)的非对称型IgG样BsAb,能同时结合FIX α 和

FX,模拟FVIII,恢复FVIII的生理功能,促进凝血酶原复合物产生,发挥凝血作用^[22]。Emicizumab常用于对A型血友病患者的预防和治疗^[23]以及其他出血性疾病的治疗,如B型血友病、血小板减少性紫癜等。对Emicizumab优化后形成的NXT007表现出更有效的止血活性^[24]。

4 双特异性抗体的临床应用

4.1 眼科疾病

2022年1月,FAD批准Tebentafusp(商品名:Kimmtrak)和Faricimab(商品名:Vabysmo)两款双抗药物上市。Tebentafusp是由Immunocore开发的一种新型靶向gp100/CD3的新型T细胞受体(TCR)双抗疗法,用于治疗HLA-A*02:01阳性成人转移性葡萄膜黑色素瘤^[25]。一项对84例晚期黑色素瘤患者接受tebentafusp治疗的临床试验结果表明,转移性皮肤黑色素瘤和转移性葡萄膜黑色素瘤的一年总生存率达到65%^[26]。另一项Tebentafusp治疗转移性葡萄膜黑色素瘤的III期临床试验结果表明,Tebentafusp组的中位总生存期为21.7个月(95%CI,18.6-28.6),对照组为16.0个月(95%CI,9.7-18.4)($P<0.001$)。作为一线疗法,Tebentafusp可降低转移性葡萄膜黑色素瘤患者49%的死亡风险^[27]。

Faricimab是由罗氏(Roche)开发的靶向Ang-2/VEGF-A的双抗药物,用于治疗新生血管性或湿性年龄相关性黄斑变性和糖尿病黄斑水肿^[28]。Faricimab也是第一个被批准用于眼部疾病治疗的双特异性抗体,标志着BsAb的适应症不再局限在血液肿瘤和实体瘤这两个方面。全球III期临床试验结果表明,Faricimab在治疗因视网膜分支静脉阻塞(BRVO)和中央静脉阻塞(CRVO)引起的黄斑水肿方面,对视力改善与Aflibercept(商品名:Eylea)治疗组相比显示出非劣效性,且Faricimab治疗还能使视网膜液快速减少,总体耐受性与安全性良好^[29]。

此外,国内也有制药企业进行VEGF/Ang-2双特异性抗体的研发,截至2023年4月,有2款药物进入I期临床,分别是信达生物的IBI324和奥赛康的ASKG712。IBI324已于2022年6月开始临床试验,当前正开展一项安全性和耐受性的临床研究,针对糖尿病性黄斑水肿的受试者进行玻璃腔注射IBI324。ASKG712注射液是奥赛康研发的一种VEGF/Ang-2双特异性抗体,旨在抑制异常血管生成,有关新生血管性年龄相关性黄斑变性的临床试验已

于 2022 年 1 月开展。

4.2 血液系统疾病

2022 年 6 月, Mosunetuzumab(商品名: Lunsumio) 获美国 FAD 批准上市。Mosunetuzumab 是由罗氏 (Roche) 开发的全球范围内的首款 CD20/CD3 双特异性抗体^[30], 用于二线及以上全身治疗后复发或难治性 (R/R) 滤泡性淋巴瘤 (FL) 病人的治疗^[31]。Mosunetuzumab 也在临床试验中展现出实力, 成为 CAR-T 细胞疗法的有力竞争者。研究结果表明, 在既往接受过两种或两种以上治疗的 FL 患者中开展临床试验, 包括疾病进展风险较高或既往治疗难治的患者, 在接受 Mosunetuzumab 治疗后, 患者的客观缓解率达到 80%, 完全缓解率为 60%^[32-33]。

2022 年 8 月, 强生公司的双抗药物 Teclistamab (商品名: Tecvayli) 在欧盟获批上市, 这是世界上第一个靶向 BCMA/CD3 的双抗药物, 用于治疗成人复发或难治性 (R/R) 多发性骨髓瘤 (MM)^[34]。Teclistamab 是应用 Genmab DuoBody 技术生产的一种 IgG4 双特异性抗体, 可识别 MM 细胞上的 BCMA 和 T 细胞上的 CD3。Teclistamab 一边结合 T 细胞上的 CD3, 一边结合 MM 细胞表面的 BCMA, 将细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 募集到肿瘤细胞附近以达到杀灭肿瘤细胞的作用。一项名为 MajesTEC-1 的 I/II 期临床试验结果表明, 有 39.4% 患者获得完全缓解, 23.6% 的患者获得部分缓解, 总缓解率达到 63%。患者的中位无进展生存期 (FPS) 为 11.3 个月 (95% CI, 8.8-17.1), 中位总生存期 (OS) 为 18.4 个月 (95% CI, 14.9 -not estimable)^[35-36]。

4.3 实体肿瘤

2022 年 6 月, Cadonilimab (商品名: 开坦尼, 研发代号: AK104) 在中国获批上市。Cadonilimab 是由康方生物研发的 PD-1/CTLA-4 双抗药物, 用于治疗多种实体瘤, 包括宫颈癌、胃/胃食管交界癌、食管鳞状细胞癌、肝癌和鼻咽癌等^[37]。这是世界上首个问世的 PD-1/CTLA-4 双抗药物, 也是中国首个自主研发的双抗药物。Cadonilimab 是一种人源四价双特异性 IgG1 抗体, 采用 IgG-scFv 形式, 消除了 Fc 段的效应功能 (ADCC、ADCP、CDC 效应和细胞因子释放等)。研究表明, Fc 受体介导的效应功能可能损害表达 PD-1 和 CTLA-4 的淋巴细胞, 从而降低抗肿瘤活性, 由免疫检查点阻断抗体引起的免疫相关不良反应 (irAEs) 与携带 Fc 受体的免疫细

胞的募集有关^[38]。因此, Cadonilimab 设计去除 Fc 受体结合和效应功能, 提高了抗体药物的疗效和安全性^[39]。相比联合治疗, PD-1/CTLA-4 双抗效果更佳, 安全性更高。一名 HER-2 阳性晚期胃食管交界癌患者接受 Cadonilimab 治疗联合化疗, 达到了完全缓解, 为 HER-2 阳性肿瘤患者提供了新颖、高度特异性、疗效良好的治疗选择^[40]。

2023 年, 康方生物的 Ivonescimab (研发代号: AK112) 提交上市申请, 已经于 8 月 1 日获国家药监局受理。AK112 是全球首创靶向 PD-1 和 VEGF 的人源化 IgG1 双特异性抗体, 对 PD-1 介导的免疫负调控有抑制作用, 阻断肿瘤微环境中的肿瘤血管生成。一项 II 期临床试验结果表明, AK112 联合化疗在晚期 NSCLC 患者中表现出良好的抗肿瘤活性和安全性, 为该患者群体提供了有价值的潜在新的治疗选择^[41]。除 NSCLC 外, AK112 对其他实体肿瘤也有广泛应用^[42]。

4.4 自身免疫疾病

2023 年 9 月, IMBiologics 宣布其创新双特异性抗体药物项目 (IMB-101) 获得美国 FDA 临床试验批准。IMB-101 是一种 OX40L/TNF 双抗药物, 其功能是调节参与炎症的细胞因子和免疫细胞, 用于自身免疫性疾病的治疗^[43]。I 期临床试验将于 2023 年下半年在美国开展, 对健康人群和风湿性关节炎患者进行药物安全性、耐受性研究。

5 小结和展望

自从双特异性抗体诞生以来, 在近几十年间, 已经设计出了 30 余种双抗分子结构, 到目前为止, 全球已有 30 多个不同的设计、研发双特异性抗体的技术平台。基因工程法是目前制备双特异性抗体应用最广的技术。一般认为双特异性抗体是通过靶向两个不同的抗原结合位点, 从而增强细胞间相互作用或阻断多条信号通路来发挥作用。目前双特异性抗体已应用于眼科疾病、血液系统疾病以及实体肿瘤的临床治疗。与此同时, 抗体结合的表位或抗原也不再局限于两个, 已有三特异性抗体、四特异性抗体等同时靶向多种抗原表位的多特异性抗体 (multispecific antibodies) 类药物进入研发阶段^[44]。随着双特异性抗体上下游工艺的进步、优化, 其结构和功能不断完善, 临床治疗引起的毒性和不良反应正在改善并得到解决, 双特异性抗体或多特异性抗体将成为肿瘤、自身免疫病、炎症性疾病、病毒感染性疾病等领域新的治疗方法。

参考文献

- [1] Nisonoff A, Wissler FC, Lipman LN. Properties of the major component of a peptic digest of rabbit antibody[J]. *Science*, 1960, 132(3441):1770-1771
- [2] Labrijn AF, Janmaat ML, Reichert JM, et al. Bispecific antibodies: a mechanistic review of the pipeline[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(8):585-608
- [3] Klein C, Brinkmann U, Reichert JM, et al. The present and future of bispecific antibodies for cancer therapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2024, 23(4):301-319
- [4] Chen SW, Zhang W. Current trends and challenges in the downstream purification of bispecific antibodies[J]. *Antib Ther*, 2021, 4(2):73-88
- [5] Benschop RJ, Chow CK, Tian Y, et al. Development of tibatuzumab, a tetravalent bispecific antibody targeting BAFF and IL-17A for the treatment of autoimmune disease[J]. *MAbs*, 2019, 11(6):1175-1190
- [6] Lewis SM, Wu X, Pustilnik A, et al. Generation of bispecific IgG antibodies by structure-based design of an orthogonal Fab interface[J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(2):191-198
- [7] Elliott JM, Ultsch M, Lee J, et al. Antiparallel conformation of knob and hole aglycosylated half-antibody homodimers is mediated by a CH2-CH3 hydrophobic interaction[J]. *J Mol Biol*, 2014, 426(9):1947-1957
- [8] Labrijn AF, Meesters JI, de Goeij BE, et al. Efficient generation of stable bispecific IgG1 by controlled Fab-arm exchange[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(13):5145-5150
- [9] Steinhardt J, Wu YL, Fleming R, et al. Fab-Arm Exchange Combined with Selective Protein A Purification Results in a Platform for Rapid Preparation of Monovalent Bispecific Antibodies Directly from Culture Media[J]. *Pharmaceutics*, 2019, 12(1):3
- [10] Zhou S, Liu M, Ren F, et al. The landscape of bispecific T cell engager in cancer treatment[J]. *Biomark Res*, 2021, 9(1):38
- [11] 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]. *Clinical Pharmacokinetics*, 2016, 55(10): 1271-1288
- [12] Allen C, Zeidan AM, Bewersdorf JP. BiTEs, DARTS, BiKEs and TriKEs-Are Antibody Based Therapies Changing the Future Treatment of AML?[J]. *Life (Basel)*, 2021, 11(6):465
- [13] Brennan M, Davison PF, Paulus H. Preparation of bispecific antibodies by chemical recombination of monoclonal immunoglobulin G1 fragments[J]. *Science*, 1985, 229(4708): 81-83
- [14] Nagorsen D, Kufer P, Baeuerle PA, et al. Blinatumomab: a historical perspective[J]. *Pharmacol Ther*, 2012, 136(3):334-342
- [15] Elshiaty M, Schindler H, Christopoulos P. Principles and Current Clinical Landscape of Multispecific Antibodies against Cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11):5632
- [16] Wang SH, Chen K, Lei Q, et al. The state of the art of bispecific antibodies for treating human malignancies[J]. *Embo Molecular Medicine*, 2021, 13(9):e14291
- [17] Sedykh SE, Prinz VV, Buneva VN, et al. Bispecific antibodies: design, therapy, perspectives[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12:195-208
- [18] Ruf P, Bauer HW, Schoberth A, et al. First time intravesically administered trifunctional antibody catumaxomab in patients with recurrent non-muscle invasive bladder cancer indicates high tolerability and local immunological activity[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(9):2727-2735
- [19] Kang J, Sun T, Zhang Y. Immunotherapeutic progress and application of bispecific antibody in cancer[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1020003
- [20] Haikala HM, Jänne PA. Thirty Years of HER3: From Basic Biology to Therapeutic Interventions[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(13):3528-3539
- [21] Xue JS, Kong DM, Yao Y, et al. Prediction of Human Pharmacokinetics and Clinical Effective Dose of SI-B001, an EGFR/HER3 Bi-specific Monoclonal Antibody[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2020, 109(10):3172-3180
- [22] Okaygoun D, Oliveira DD, Soman S, et al. Advances in the management of haemophilia: emerging treatments and their mechanisms[J]. *J Biomed Sci*, 2021, 28(1):64
- [23] Knoebl P, Thaler J, Jilma P, et al. Emicizumab for the treatment of acquired hemophilia A[J]. *Blood*, 2021, 137(3):410-419
- [24] Teranishi-Ikawa Y, Soeda T, Koga H, et al. A bispecific antibody NXT007 exerts a hemostatic activity in hemophilia A monkeys enough to keep a nonhemophilic state[J]. *J Thromb Haemost*, 2024, 22(2):430-440
- [25] Dhillon S. Tebentafusp: First Approval[J]. *Drugs*, 2022, 82(6):703-710

- [26] Middleton MR, McAlpine C, Woodcock VK, et al. Tebentafusp, A TCR/Anti-CD3 Bispecific Fusion Protein Targeting gp100, Potently Activated Antitumor Immune Responses in Patients with Metastatic Melanoma[J]. Clin Cancer Res, 2020, 26(22):5869-5878
- [27] Nathan P, Hassel JC, Rutkowski P, et al. Overall Survival Benefit with Tebentafusp in Metastatic Uveal Melanoma[J]. N Engl J Med, 2021, 385(13):1196-1206
- [28] Nicolò M, Ferro Desideri L, Vagge A, et al. Faricimab: an investigational agent targeting the Tie-2/angiopoietin pathway and VEGF-A for the treatment of retinal diseases[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2021, 30(3):193-200
- [29] Wykoff CC, Abreu F, Adamis AP, et al. Efficacy, durability, and safety of intravitreal faricimab with extended dosing up to every 16 weeks in patients with diabetic macular oedema (YOSEMITE and RHINE): two randomised, double-masked, phase 3 trials[J]. Lancet, 2022, 399(10326):741-755
- [30] Falchi L, Vardhana SA, Salles GA. Bispecific antibodies for the treatment of B-cell lymphoma: promises, unknowns, and opportunities[J]. Blood, 2023, 141(5):467-480
- [31] Bock AM, Nowakowski GS, Wang Y. Bispecific Antibodies for Non-Hodgkin Lymphoma Treatment[J]. Curr Treat Options Oncol, 2022, 23(2):155-170
- [32] Budde LE, Sehn LH, Matasar M, et al. Safety and efficacy of mosunetuzumab, a bispecific antibody, in patients with relapsed or refractory follicular lymphoma: a single-arm, multicentre, phase 2 study[J]. Lancet Oncol, 2022, 23(8):1055-1065
- [33] Cao Y, Marcucci EC, Budde LE. Mosunetuzumab and lymphoma: latest updates from 2022 ASH annual meeting[J]. J Hematol Oncol, 2023, 16(1):69
- [34] Holstein SA, Grant SJ, Wildes TM. Chimeric Antigen Receptor T-Cell and Bispecific Antibody Therapy in Multiple Myeloma: Moving Into the Future[J]. J Clin Oncol, 2023, 41(27):4416-4429
- [35] Moreau P, Garfall AL, van de Donk N, et al. Teclistamab in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma[J]. N Engl J Med, 2022, 387(6):495-505
- [36] Usmani SZ, Garfall AL, van de Donk N, et al. Teclistamab, a B-cell maturation antigen × CD3 bispecific antibody, in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (MajesTEC-1): a multicentre, open-label, single-arm, phase 1 study[J]. Lancet, 2021, 398(10301):665-674
- [37] Keam SJ. Cadonilimab: First Approval[J]. Drugs, 2022, 82(12):1333-1339
- [38] Collins M, Michot JM, Danlos FX, et al. Inflammatory gastrointestinal diseases associated with PD-1 blockade antibodies[J]. Ann Oncol, 2017, 28(11):2860-2865
- [39] Pang XH, Huang ZL, Zhong TT, et al. Cadonilimab, a tetravalent PD-1/CTLA-4 bispecific antibody with trans-binding and enhanced target binding avidity[J]. MAbs, 2023, 15(1):2180794
- [40] Peng JQ, Zhu Q, Peng ZR, et al. Patients with positive HER-2 amplification advanced gastroesophageal junction cancer achieved complete response with combined chemotherapy of AK104/cadonilimab (PD-1/CTLA-4 bispecific): A case report[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13:1049518
- [41] Zhao YY, Chen G, Chen JH, et al. AK112, a novel PD-1/VEGF bispecific antibody, in combination with chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): an open-label, multicenter, phase II trial[J]. Eclinicalmedicine, 2023, 62:102106
- [42] Frentzas S, Austria Mislant AR, Lemech C, et al. Phase 1a dose escalation study of ivonescimab (AK112/SMT112), an anti-PD-1/VEGF-A bispecific antibody, in patients with advanced solid tumors[J]. J Immunother Cancer, 2024, 12(4)
- [43] Fu Y, Wang L, Liu W, et al. OX40L blockade cellular nanovesicles for autoimmune diseases therapy[J]. J Control Release, 2021, 337:557-570
- [44] Tapia-Galisteo A, Compte M, Álvarez-Vallina L, et al. When three is not a crowd: trispecific antibodies for enhanced cancer immunotherapy[J]. Theranostics, 2023, 13(3):1028-1041

版权声明: ©2024 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS