

治疗性抗体药物差异化研发策略

李栋

上海药明生物医药有限公司, 上海 200131

李栋. 治疗性抗体药物差异化研发策略. 生物工程学报, 2020, 36(11): 2327-2333.

Li D. Differential discovery strategies of therapeutic antibody drugs. Chin J Biotech, 2020, 36(11): 2327-2333.

摘要: 治疗性抗体药物在临床上取得了巨大的成功, 然而在有效性和安全性方面还有待提高, 同时药物靶点过于集中造成了重复开发、资源浪费等问题。因此, 医药企业在研发抗体药物时需要探寻差异化的研发策略, 从而在激烈的市场竞争中生存和发展。文中从药物的来源、结构形式、靶点选择、药物作用机制和差异化药物特性等方面探讨了治疗性抗体药物的差异化研发策略。

关键词: 治疗性抗体, 药物靶点, 作用机制, 差异化, 研发策略

Differential discovery strategies of therapeutic antibody drugs

Dong Li

Shanghai WuXi Biopharmaceuticals Co. Ltd., Shanghai 200131, China

Abstract: Therapeutic antibody drugs have achieved great success in clinical practice. However, their efficacy and safety still need to be improved. At the same time, excessive concentration of drug targets will cause problems such as repeated development and waste of resources. Therefore, pharmaceutical companies need to explore differentiated discovery strategies when researching antibody drugs in order to survive and develop in the fierce market competition. In this paper, the differential development strategy of therapeutic antibody drugs is discussed from the aspects of drug sources and formats, drug target selection, drug mechanism and differential drug characteristics.

Keywords: therapeutic antibody, drug target, mechanism of action, differentiation, discovery strategy

截至 2020 年 3 月, 美国食品药品监督管理局 (Food and drug administration, FDA) 已批准 90 种抗体药物上市, 2019 年全球抗体药物市场规模超过 1 400 亿美元, 增幅超过 15%。随着我国“4+7”药品带量采购和一致性评价等政策的出台, 生物创新药物的布局对于国内医药企业, 特别是仿制

药企业的转型和市场竞争力的提升尤为重要。目前, 国内申报临床的各类生物药物中, 治疗性抗体药物的占比超过一半^[1], 然而由于国内抗体药物的靶点相对集中, 主要为 PD-1/PD-L1、TNF- α 、VEGF/VEGFR、EGFR、HER2 和 CD20, 竞争异常激烈, 医药企业必须要做差异化的药物研发以

Received: March 20, 2020; **Accepted:** May 19, 2020

Supported by: Shanghai Rising-Star Program (No. 19QB1406000).

Corresponding author: Dong Li. Tel/Fax: +86-21-20664274; E-mail: li_dong_015713@wuxiapptec.com

上海市青年科技启明星计划 (No. 19QB1406000) 资助。

提高药物的有效性、安全性和给药方式的便捷性，才能在日益激烈的市场竞争中占据有利地位。本文从抗体药物的来源和结构形式、靶点的选择、药物的作用机制和差异化药物特性等方面探讨了治疗性抗体药物差异化研发策略。

1 单抗药物的来源和结构形式

截至 2020 年 3 月，FDA 累计批准 90 种抗体药物，这些抗体药物有不同的来源和结构形式，本文对这些抗体药物的适应症（肿瘤、自身免疫性疾病和炎症、心血管疾病等）、药物靶点、类型（单克隆抗体、双特异性抗体、抗体药物偶联物）、来源（杂交瘤、噬菌体展示、转基因小鼠）和结构

形式（鼠源抗体、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体）进行了归纳和梳理（图 1）。

2 单抗药物的靶点选择

选择合适的抗体药物靶点是治疗性抗体药物研发的关键，如图 1 所示，已批准的抗体药物靶点主要集中在肿瘤、自身免疫性疾病和炎症、心血管疾病领域。以肿瘤靶点治疗为例，根据肿瘤的特性，分为抗血管生成、抗肿瘤生成、增强肿瘤免疫、调节肿瘤微环境和效应细胞介导杀伤^[2]。VEGF、VEGF-C、FGF2、ANG2 是抗血管生成的重要靶点，靶向血管生成靶点显示出优异的抗肿瘤活性或潜能^[3-4]，同时靶向 VEGF 和 FGF2 也显

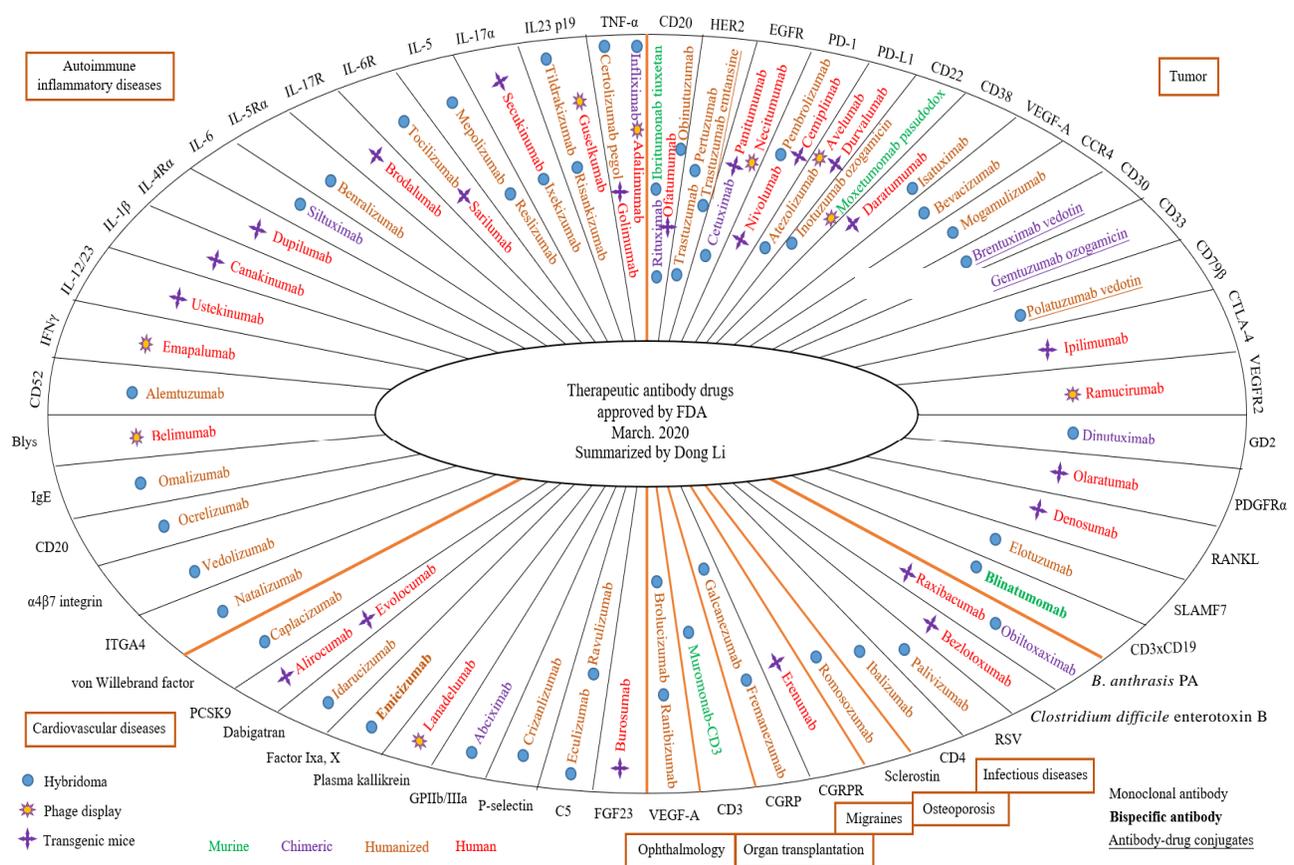


图 1 FDA 已批准上市治疗性抗体药物的归类 (适应症、靶点、类型、来源和结构形式)

Fig. 1 Classification of therapeutic antibody drugs approved by FDA (indications, targets, types, sources and structural formats).

示出优于单一靶向 VEGF 治疗的效果^[5]。EGFR、HER2 等靶点是实体瘤的重要靶点,针对这些靶点已经有西妥昔单抗、帕尼单抗、曲妥珠单抗、帕妥珠单抗等单抗药物上市并在临床上显示出治疗效果,然而肿瘤的逃逸和复发会使药物失去疗效,因此通过同时靶向两个或多个靶点可以实现疗效的恢复,如在靶向 EGFR 的基础上增加靶向 cMet,在靶向 HER2 的基础上增加靶向 HER3^[6]。增强肿瘤免疫是近年抗肿瘤免疫治疗的热点,其中 PD-1、PD-L1、CTLA-4 等靶点药物通过解除免疫抑制在临床上取得了优异的疗效,已被批准用于黑色素瘤和非小细胞肺癌等癌症的治疗^[7],此外多个靶向免疫激活 4-1BB、OX40 等靶点药物也在临床试验阶段^[8]。肿瘤微环境中 TGF β 和 CD73 分子具有免疫抑制功能,默克公司在 PD-L1 的抗体的重链末端接上 TGF β R II,表现出更强的抗肿瘤活性和抑制肿瘤转移的能力^[9]。此外,根据预期效应细胞的功能可以选择对应的靶点,如 T 细胞选择 CD3 为靶点,巨噬细胞选择 SIRP α 为靶点,NK 细胞选择 CD16 为靶点,与肿瘤细胞表面的抗原联合构建双特异性抗体均可以发挥效应细胞的功能^[2]。

选择差异化且有潜力的药物靶点对于药企十分关键,尝试全新靶点的开发是可选的策略之一。英国桑格研究所的研究人员利用基因编辑 CRISPR-Cas9 技术对 300 多种人类癌细胞系、近两万个基因进行筛选,最终筛选出 40 个成熟药物靶点,227 个潜在药物靶点和 311 个全新药靶点^[10]。虽然,这些靶点可以为药物研发的靶点选择提供有效指导,在药物研发过程中取得先发优势,但由于全新靶点存在机理研究不够深入、缺乏临床验证等问题,具有研发失败的风险。因此,药企在研发立项时要充分调研和论证,结合企业自身优势,选择合适的药物靶点,避免研发扎堆,同时减少失败的风险。

3 单抗药物的作用机制

由于信号通路的复杂性和交互性,抗体药物可涉及多种作用机制^[11]: 1)通过中和抗原起阻断作用; 2)通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)、抗体依赖性细胞介导的吞噬 (Antibody-dependent cell-mediated phagocytosis, ADCP) 及抗体依赖性细胞毒性 (Complement-dependent cytotoxicity, CDC); 3)抑制细胞增殖; 4)通过免疫抑制剂或免疫激动剂调节细胞相互作用; 5)调节自身免疫系统; 6)作为靶向治疗的载体,将化疗药物、放射性同位素、毒素等细胞毒性物质特异性运送到目标部位,而选择性杀伤靶细胞。

深入研究抗体药物的作用机制是治疗性抗体药物差异化研发的关键,抗体药物的迭代总是伴随着对靶点和抗体作用机理的深入研究,以 CTLA-4 为例,最初认为靶向 CTLA-4 抗体的主要机制是阻断 T 细胞表面的 CTLA-4 与抗原递呈细胞表面的 CD80 和 CD86 的结合,从而促进 T 细胞活化杀伤肿瘤细胞。昂科免疫的刘阳等基于靶向 CTLA-4 的伊匹单抗在黑色素瘤治疗过程中出现的安全性问题深入研究,发现伊匹单抗的作用机制并不是主要依赖于 T 细胞,而是主要依赖于清除肿瘤微环境中的 Treg 细胞,伊匹单抗治疗的不良反应是由于细胞表面的 CTLA-4 被抗体带到溶酶体降解,形成 CTLA-4 功能缺失造成的。基于此作用机制,科研人员开发了 ADCC 功能更强且具备 pH 敏感性的抗体 ONC-392,有望获得比伊匹单抗更安全、更有效的抗体药物^[12-13]。

4 单抗药物的差异化特性

针对同样的药物靶点,基于现有治疗药物的不足,研发具有差异化特性的抗体药物,达到更好疗效、更小副作用的目的,是目前差异化研究的重要方向,包含抗原表位、Fc 效应功能、亲和

力和免疫原性等多个方面。

4.1 单抗的抗原表位

抗原表位 (Epitope) 指存在于抗原表面决定抗原特异性的化学基团, 是抗原与抗体相互作用的区域。靶向 B 淋巴细胞表面 CD20 的利妥昔单抗和奥法木单抗, 靶向肿瘤细胞表面 HER2 的曲妥珠单抗和帕妥珠单抗, 靶向 T 细胞表面 PD-1 的纳武单抗和派姆单抗均有针对各自靶点不同的抗原表位^[14-16]。抗原表位与抗体的生物学功能密切相关, 选择差异化的抗原表位从而获得差异化的生物学功能是目前抗体药物研发的重要策略之一。对于某些靶点, 靶向抗原不同表位有望获得更好的疗效, 如 CTLA-4 的 N110 位糖基化位点对于 CTLA-4 二聚体构象的维持以及与 CD80 交互作用非常重要, 基于该位点的重要性, 通过人鼠抗原交叉免疫和筛选获得具有该抗原表位的 CTLA-4 抗体在动物模型中显示出更为有效的抗肿瘤效果^[17]。在研发过程中, 使用不同抗原片段免疫、人鼠抗原交叉免疫、受体/配体竞争性筛选、表位作图等免疫和筛选策略均可获得差异化的抗原表位, 此外, 还需考虑肘部铰链区的角度、抗体结合方向等因素对抗体生物学活性的影响。

4.2 单抗的 Fc 效应

抗体结合特异性抗原后可以通过激活补体或与免疫效应细胞表面 Fc γ 受体相结合发挥 ADCC、ADCP 和 CDC 等生物学效应。不同亚型 IgG 的生物学效应存在差异, 目前上市的抗体药物以 IgG1 亚型为主, IgG4 亚型的抗体也逐渐增多, 随着对抗体作用机制和 Fc 效应的深入理解, 不同 IgG 亚型的突变体已被应用到治疗性抗体的研发中以达到提高药效或降低副作用的目的^[18]。百济神州通过在 IgG4 亚型上进行 Fc 序列突变去除全部 Fc γ 受体亲和力, 开发出无 ADCC 活性的靶向 PD-1 的替雷利珠单抗, 有别于弱 ADCC 活性的纳武单抗和派姆单抗, 该抗体已获批用于治疗霍奇金淋巴瘤。此外, 靶向 CD20 的奥比妥珠单抗通过敲

除 Fc 上岩藻糖修饰位点显著增强 ADCC 效应, 在临床上显示出治疗的优越性, 被批准用于滤泡状淋巴瘤。目前, 对 Fc 效应的改造大多停留在对 Fc 序列突变或糖基化改造上, 然而 Fc 效应不完全由 Fc 本身决定, 抗体与靶抗原的相互作用形式也可直接影响其功能效应^[19-20]。

4.3 单抗的亲合力

提高抗体亲合力有助于改善抗体的特异性, 减少用药剂量和降低毒副作用。因此, 通常将高亲合力作为抗体药物筛选的重要指标之一, 然而在一些情况下, 高亲合力抗体反而会引起药效下降或安全性问题。研究表明, 降低靶向 EGFR、HER2 等抗体的亲合力反而使抗体 ADCC 和 CDC 活性显著增强, 这是因为降低抗体的亲合力可使抗体更倾向于以单价形式结合抗原, 局部更容易形成抗体聚集, 从而显著增强 ADCC 和 CDC 活性^[19-20]。因此, 在优化抗体亲合力时, 需要兼顾药效和副作用, 根据靶点的生物学特性、靶点在不同组织器官的表达情况以及抗体的作用机制确定适合的亲合力。

4.4 单抗的免疫原性

抗体药物的免疫原性与临床疗效密切相关, 抗药物抗体 (Anti-drug antibody, ADA) 反应可能导致疗效的改变和潜在的严重副作用, 如过敏反应、输液反应、内源性免疫球蛋白交叉反应、药物不良事件、药物动力学改变^[21]。Bococizumab 是辉瑞研发的靶向 PCSK9 的抗体, 通过解除 PCSK9 介导的降解 LDLR 的活性而用于降脂, 该抗体因为高免疫原性等因素而终止于 III 期临床试验^[22]。相反, 诺华研发的靶向 IL-17A 的抗体, 通过阻断 IL-17A 与 IL-17R 结合而抑制促炎作用的全人源苏金单抗的免疫原性极低, 年新发率小于 1%, 且具有持续较高的斑块清除率和安全性, 被用于治疗中重度斑块型银屑病^[23]。理论上, 不同技术来源的抗体的免疫原性存在差异, 但并不必然对应免疫原性的强弱。瑞士提契诺大学和赛

诺菲研发人员研究发现,靶向 $\alpha 4$ 整合素用于治疗多发性硬化症的人源化抗体 Natalizumab 引起免疫原性的机制是由于 Natalizumab 单一 T 细胞表位会促使体细胞突变产生更强亲和力的抗药物抗体,论证了抗体引起免疫原性的机制^[24]。

4.5 单抗的副作用

消除或减少抗体药物的副作用是药物研发的重要目标,也是研发差异化抗体弥补现有抗体药物不足的有效策略。如靶向肿瘤细胞表面 CD47 的抗体可通过阻断 CD47 与巨噬细胞上的 SIRP α 的结合,解除“别吃我”信号,从而增强巨噬细胞吞噬肿瘤细胞的功能。然而,由于红细胞表面也广泛表达 CD47,抗 CD47 的抗体可引起贫血和血小板减少等血液系统副作用,如 Forty Seven 研发的 Magrolimab 抗体^[25]。天境生物研发的靶向 CD47 的抗体 TJC4 具有独特的 CD47 抗原表位,该表位因糖基化修饰而不暴露在红细胞上,因此降低了抗体对红细胞的影响,可避免或减少贫血等副作用的发生,且该抗体表现出和同类抗体药物相当的抗肿瘤活性,有望成为同类最优的治疗性抗体。

4.6 单抗的其他特性

抗体药物的其他特性,如稳定性和溶解度,也是抗体药物研发的方向。如诺华研发的靶向 VEGF 的人源化单链抗体片段 Brolucizumab,通过阻止 VEGF 与 VEGFR 的结合,抑制眼底血管生成,用于治疗年龄相关性黄斑变性 (Age-related macular degeneration, AMD)。Brolucizumab 的分子量为 26 kDa,溶解度高达 120 mg/mL,治疗摩尔剂量约为同类产品阿柏西普的 22 倍,实现了 3 个月一次的给药间隔,从而减少药物眼内注射频率,满足患者的需求^[26]。

5 讨论与展望

治疗性抗体药物产业发展迅猛,全球抗体药物市场已突破千亿美元,国内各大药企也将抗体

药物作为研发重点,同时在国家政策的支持下,国内抗体药物产业实现了从基础研究到产业化的跨越,抗体药物的品种和市场规模持续增长,然而研究扎堆、创新不足、重复开发、资源浪费等问题制约了抗体药物产业的发展^[27]。因此,药企要开拓抗体药物市场,提高市场竞争力必须要思考差异化研发策略,结合政策法规并根据市场和临床需要,选择合适的药物靶点,深入理解疾病的发病机理和抗体的作用机制,研发具有自主知识产权的创新抗体药物,实现更好药效、更低毒副作用来满足临床需要。

在靶点选择上,以 PD-1、PD-L1 抗体为代表的免疫检查点拮抗剂取得了巨大的成功,而免疫检查点激动剂,如 ICOS、GITR、OX40、CD27 和 4-1BB 等抗体的早期临床试验均未能达到高预期。以 4-1BB 抗体为例,百时美施贵宝 (BMS) 公司的 Urelumab 存在肝毒性问题,辉瑞公司的 Utomilumab 安全但无效,有证据表明问题出在药物上,而非靶标本身,Compass 公司从抗体亚型、亲和力、受体动力学方面出发研制的 CTX-471 抗体具有独特的抗原表位和抗体特征,正在临床试验中,其临床结果值得期待^[8]。此外,以 CD3 和肿瘤表面抗原或 PD-L1 和肿瘤表面抗原组成的双特异性抗体同样值得重点关注^[2]。

规避竞争过于激烈的适应症也是药企的策略选择,如荣昌生物靶向 HER2 的抗体药物偶联物 RC48-ADC,选择相对冷门的 HER2 阳性尿路上皮细胞癌作为适应症并在 II 期临床试验中显示出优越的疗效,抢占了该适应症的先机。此外,借助 CRO、CDMO 服务企业的技术和能力平台推进抗体药物的研发也是很多药企的选择,如国内外多家药企通过使用药明生物拥有自主知识产权的 WuXiBody 双特异性抗体平台、WuXiUP 超高效连续细胞培养生产平台和 WuXia 细胞系平台来加速生物药研发进程、提高效率和降低研发及生产成本,从而提升市场竞争力。同时,国内药企要提高市场竞争力,还需要摸索合适的商业化模式,

如天境生物、信达生物等药企通过自主研发和全球合作等多元化商业模式，建立起具有全球竞争力的创新药物研发管线，获得了资本和市场的认同。由此可见，差异化抗体药物研发是生物学机制、技术和能力平台、临床研究策略和商业化模式多维度交互的过程，药企需要选择合适的策略和突破口，才能立足于竞争激烈的市场，进而共同努力推动整个抗体药物产业的健康发展。

REFERENCES

- [1] Kan HJ, Liu BN, Bai Y, et al. Analysis of monoclonal antibody drug registration in China. *Chin J New Drugs*, 2019, 28(16): 1941–1946 (in Chinese).
阚红金, 刘伯宁, 白玉, 等. 我国单克隆抗体药物注册申报现状分析. *中国新药杂志*, 2019, 28(16): 1941–1946.
- [2] Nie SW, Wang ZZ, Moscoso-Castro M, et al. Biology drives the discovery of bispecific antibodies as innovative therapeutics. *Antib Ther*, 2020, 3(1): 18–62.
- [3] Li D, Xie K, Ding GT, et al. Tumor resistance to anti-VEGF therapy through up-regulation of VEGF-C expression. *Cancer Lett*, 2014, 346(1): 45–52.
- [4] Li D, Wei XY, Xie K, et al. A novel decoy receptor fusion protein for FGF-2 potently inhibits tumour growth. *Br J Cancer*, 2014, 111(1): 68–77.
- [5] Li D, Xie K, Zhang LZ, et al. Dual blockade of vascular endothelial growth factor (VEGF) and basic fibroblast growth factor (FGF-2) exhibits potent anti-angiogenic effects. *Cancer Lett*, 2016, 377(2): 164–173.
- [6] Labrijn AF, Janmaat ML, Reichert JM, et al. Bispecific antibodies: a mechanistic review of the pipeline. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(8): 585–608.
- [7] Lee HT, Lee SH, Heo YS. Molecular interactions of antibody drugs targeting PD-1, PD-L1, and CTLA-4 in immuno-oncology. *Molecules*, 2019, 24(6): e1190.
- [8] Garber K. Immune agonist antibodies face critical test. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(1): 3–5.
- [9] Lan Y, Zhang D, Xu CX, et al. Enhanced preclinical antitumor activity of M7824, a bifunctional fusion protein simultaneously targeting PD-L1 and TGF- β . *Sci Transl Med*, 2018, 10(424): eaa5488.
- [10] Behan FM, Iorio F, Picco G, et al. Prioritization of cancer therapeutic targets using CRISPR-Cas9 screens. *Nature*, 2019, 568(7753): 511–516.
- [11] Rodgers KR, Chou RC. Therapeutic monoclonal antibodies and derivatives: Historical perspectives and future directions. *Biotechnol Adv*, 2016, 34(6): 1149–1158.
- [12] Liu Y, Zheng P. Preserving the CTLA-4 checkpoint for safer and more effective cancer immunotherapy. *Trends in Pharmacol Sci*, 2020, 41(1): 4–12.
- [13] Zhang Y, Du XX, Liu MY, et al. Hijacking antibody-induced CTLA-4 lysosomal degradation for safer and more effective cancer immunotherapy. *Cell Res*, 2019, 29(8): 609–627.
- [14] Klein C, Lammens A, Schafer W, et al. Epitope interactions of monoclonal antibodies targeting CD20 and their relationship to functional properties. *mAbs*, 2013, 5(1): 22–33.
- [15] Eigenbrot C, Ultsch M, Dubnovitsky A, et al. Structural basis for high-affinity HER2 receptor binding by an engineered protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(34): 15039–15044.
- [16] Lee HT, Lee SH, Heo YS. Molecular interactions of antibody drugs targeting PD-1, PD-L1, and CTLA-4 in immuno-oncology. *Molecules*, 2019, 24(6): e1190.
- [17] Li D, Li J, Chu HY, et al. A functional antibody cross-reactive to both human and murine cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 via binding to an N-glycosylation epitope. *mAbs*, 2020, 12(1): 1725365.
- [18] Bournazos S. IgG Fc receptors: evolutionary considerations. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2019, 423: 1–11.
- [19] Mazor Y, Yang CN, Borrok MJ, et al. Enhancement of immune effector functions by modulating IgG's

- intrinsic affinity for target antigen. *PLoS ONE*, 2016, 11(6): e0157788.
- [20] Wang B, Yang CN, Jin XF, et al. Regulation of antibody-mediated complement-dependent cytotoxicity by modulating the intrinsic affinity and binding valency of IgG for target antigen. *mAbs*, 2020, 12(1): 1690959.
- [21] Jahn EM, Schneider CK. How to systematically evaluate immunogenicity of therapeutic proteins-regulatory considerations. *New Biotechnol*, 2009, 25(5): 280–286.
- [22] Wang EQ, Bukowski JF, Yunis C, et al. Assessing the potential risk of cross-reactivity between anti-Bococizumab antibodies and other anti-PCSK9 monoclonal antibodies. *BioDrugs*, 2019, 33(5): 571–579.
- [23] Reich K, Blauvelt A, Armstrong A, et al. Secukinumab, a fully human anti-interleukin-17A monoclonal antibody, exhibits low immunogenicity in psoriasis patients treated up to 5 years. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2019, 33(9): 1733–1741.
- [24] Cassotta A, Mikol V, Bertrand T, et al. A single T cell epitope drives the neutralizing anti-drug antibody response to natalizumab in multiple sclerosis patients. *Nat Med*, 2019, 25(9): 1402–1407.
- [25] Hayat SMG, Bianconi V, Pirro M, et al. CD47: role in the immune system and application to cancer therapy. *Cell Oncol*, 2020, 43(1): 19–30.
- [26] Dugel PU, Koh A, Ogura Y, et al. HAWK and HARRIER: phase 3, multicenter, randomized, double-masked trials of brolocizumab for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 2020, 127(1): 72–84.
- [27] Tao WH, Li ZH, Li RX. Advances in monoclonal antibody drugs industrialization in China. *Biotechnol Busin*, 2019, (2): 75–80 (in Chinese).
陶维红, 李宗海, 李荣秀. 我国单克隆抗体药物产业化进展浅谈. *生物产业技术*, 2019, (2): 75–80.

(本文责编 陈宏宇)