

· 综述 ·

抗体的发展过程及临床应用

曲 艺,李志勇,缪朝玉(第二军医大学药学院药理学教研室,上海 200433)

[摘要] 单克隆抗体已经成为生物技术和制药领域的重要组成部分,目前多用基因工程制备嵌合抗体、人源化抗体、全人抗体。随着制备抗体技术的不断进步,其应用也越来越广泛,特别是抗体药物正迅速发展。近几年出现了许多具有里程碑意义的抗体药物,如程序性死亡受体 1(PD-1)抗体、白介素 17A(IL-17A)抗体、白介素 5(IL-5)抗体、前蛋白转化酶枯草杆菌转化酶/可馨型 9(PCSK9)抗体等,用于多种疾病的治疗,解决了不少临床难题。在现代医学中,单克隆抗体已经成为有效的治疗手段和诊断工具。本文结合中外文献主要介绍抗体的发展过程、抗体在临床方面的应用及近几年来 FDA 批准的具有重大意义的抗体药物。

[关键词] 单克隆抗体;基因工程;临床应用

[中图分类号] R392.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2017)04-0301-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2017.04.004

Development process and clinic applications of antibody

QU Yi, LI Zhiyong, MIAO Chaoyu (Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Monoclonal antibodies have become an important part of biotechnology and pharmaceutical industry. Currently chimeric antibody, humanized antibody and fully human antibody are generally prepared by genetic engineering. With constant improvement in the antibody preparation technology, the antibody applications are rapidly increasing, especially in the development of antibody medications. In recent years, there have been many significant antibody drugs (such as PD-1 antibody, IL-17 antibody, IL-5 antibody, PCSK9 antibody) for the treatment of various diseases and solved a number of clinical problems. In modern medicine, monoclonal antibodies have become effective diagnostic and therapeutic tools. This article is a brief review of the recent antibody development process, clinic applications and significant antibody drugs approved by FDA.

[Key words] monoclonal antibody; genetic engineering; clinic application

抗体是机体免疫系统在抗原的刺激下,由 B 淋巴细胞转化而来的浆细胞分泌的、可与相应抗原发生特异性结合的免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig),每个 B 淋巴细胞只能产生一种它专有的、针对一种特异性抗原决定簇的抗体。杂交瘤技术的出现显著推动了人们对抗体的研究。随着生物技术的发展,嵌合抗体、人源化抗体、全人源抗体陆续产生,制备抗体的技术也在不断优化,抗体在临床上的应用越来越广泛。本文主要介绍抗体的发展过程及临床应用。

1 抗体的发展过程

抗体的发展历程大致分为以下 3 个阶段。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81130061, 81202572, 81373414);上海市科学技术委员会科研计划项目(16JC1405100)

[作者简介] 曲 艺,硕士研究生. Email: quyi9009@sina.com

[通讯作者] 缪朝玉,教授,博士生导师.研究方向:心脑血管药理与代谢. Email: cymiao@smmu.edu.cn

1.1 多克隆抗体 早期直接用抗原免疫动物获得的多克隆抗体(简称“多抗”)含有不同种类的免疫球蛋白。以此方法制备的多抗多存在免疫原性问题,而抗体纯化技术的发展大幅提高了其安全性。多抗现主要被用于治疗一些传染病(如狂犬病)和中毒等。目前针对一些预防困难和治疗方法有限的传染病,如禽流感、埃博拉病毒和其他动物传染性的病毒,多抗的研发仍在进行。高致病率的流感病毒(如 H5N1、H7N9)是目前研制的多抗免疫球蛋白治疗的新靶标。神经氨酸酶抑制剂奥司他韦仍然是治疗流感的主要药物,据报道可以降低 49% 的病死亡率,但是在高致病性禽流感中,奥司他韦的耐药性也使研究者们努力寻求其他治疗方法,并且在流行病发生的初期,已储备好的药物对于预防和治疗突发性流行病来说很有必要,因此,抗体药物是不错的选择。目前针对 H5N1 流感病毒的临床前研究及 I 期临床安全研究都表明,多抗 F(ab')₂ 片段有很好

的安全性和治疗效果^[1]。

1.2 单克隆抗体 在单克隆抗体(简称“单抗”)的发展历程中,淋巴细胞杂交瘤技术是抗体发展史上的一座里程碑。杂交瘤细胞产生的单抗具有特异性强、效价高、结构单一等特点,已广泛应用于医学领域。现多用生物反应器悬浮培养细胞大量制备单抗,在此过程中,细胞系的选择十分关键,必须具有以下特点:①在生物反应器长时间的孵育下,能够高表达抗体,保持细胞活性和基因稳定性。②能够不断扩增。③能进行翻译后的修饰。④生产的抗体应用于人体具有安全性。目前多选择中国仓鼠卵巢细胞、NS0小鼠骨髓瘤细胞、人视网膜细胞(最新发展的细胞系)等,近年来使用幼仓鼠肾细胞和人胚肾细胞进行单抗研究也逐渐增多。中国仓鼠卵巢细胞是目前制备单抗药物使用最广泛的细胞。由于下游的生产还要考虑抗体药物安全性的问题,中国仓鼠卵巢细胞或人胚肾细胞将是工业生产抗体的主要细胞^[2]。

1.3 基因工程抗体 早期的治疗性抗体大多数是鼠源性抗体,易引起人抗小鼠抗体反应(HAMA),这一缺陷严重限制了鼠源性单抗在人体中的应用。随着制备抗体技术的发展,现多用基因工程技术制备嵌合抗体、人源化抗体、全人抗体。基因工程的发展使制备抗体技术进入了一个全新的时代,它取代了杂交瘤技术,极大地推进了抗体药物的发展与应用。目前利用基因工程生产全人抗体的方法主要包括噬菌体展示技术和转基因小鼠技术^[3,4]。①噬菌体展示技术:通过获取人抗体可变区的cDNA,经聚合酶链式反应(PCR),克隆至噬菌体蛋白基因中,在噬菌体表面表达。这些表达特异性抗体的菌株可以被抗原筛选出来。噬菌体展示技术是一项新的全人源抗体制备技术,该技术在制备基因工程抗体方面发展迅速。②转基因小鼠技术:通过基因敲除技术使小鼠抗体基因失活,导入人Ig基因代替小鼠Ig基因,该转基因小鼠含有人抗体基因,当受到抗原刺激时,小鼠的B细胞可产生免疫反应,产生针对抗原的人源性抗体。全人抗体彻底解决了鼠源性的问题。2010—2016年,WHO共收录了16个已上市的通用名抗体药物,其中5个为全人源单抗。

2 单克隆抗体的应用

抗体不仅可以单独用于治疗疾病,还可与其他药物偶联使用^[5]。目前,人源化抗体、全人单抗和抗体药物偶联物在临床上应用较多,在治疗肿瘤、免疫性疾病、感染性疾病等方面有广泛的用途^[6]。

2.1 肿瘤的治疗 肿瘤是单抗药物治疗的主要领域,大量抗原被证实在肿瘤细胞上的表达多于正常细胞。用于肿瘤治疗的传统化疗药物大多有毒副作用,它们在杀伤肿瘤细胞的同时也杀伤正常细胞,而抗体药物具有高度的特异性,因此,可以结合疾病特定的靶标,相比于传统化疗,抗体药物治疗肿瘤的副作用更少、安全性更高。过去十几年中,抗体治疗肿瘤的效果越来越好,大部分抗体药物是靶向肿瘤上的抗原。单抗用于治疗多种人类恶性肿瘤,其涉及的机制是多方面的,包括抑制肿瘤有关的信号通路、诱导凋亡、抑制血管再生、增强机体对癌症的免疫反应等^[6]。现有多种治疗肿瘤的抗体应用于临床。

PD-1是程序性死亡受体1,PD-L1是其配体,两者结合后可诱导T细胞凋亡,抑制T细胞的活化和增殖,在正常人体内,PD-1可以防止自身免疫反应。但是在肿瘤环境中,PD-L1在各种肿瘤组织中表达,PD-1和PD-L1结合后导致T细胞功能被抑制,无法杀伤肿瘤细胞,此时肿瘤细胞便大量增殖。使用PD-1阻断性抗体可以解救T细胞,使T细胞免疫应答增强,从而攻击肿瘤细胞。2014年,FDA首次批准了2个PD-1抑制抗体:纳武单抗(nivolumab)和帕母单抗(pembrolizumab),最初用于治疗黑色素瘤,近几年临床研究发现其在非小细胞肺癌、肾细胞癌、膀胱癌、霍奇金淋巴瘤治疗中也有很好的效果^[7]。PD-1和PD-L1抗体是这几年肿瘤治疗领域最耀眼的“抗癌神药”。2016年,FDA又批准了首个PD-L1抗体(atezolizumab)用于治疗膀胱癌和非小细胞肺癌,未来几年必将会有更多的PD-1/PD-L1抗体药物上市。

2.2 自身免疫性疾病的治疗 银屑病患者常伴有鳞屑红斑,这些斑块会引起瘙痒或疼痛,对患者的生活质量有很大影响。研究证实白介素17A(IL-17A)通路在斑块型银屑病的发生中起关键作用,而IL-17A抗体能够靶向促炎因子IL-17A,阻断其与受体结合,抑制炎症反应,从而减少银屑病的发生。2015年,FDA批准苏金单抗(secukinumab)用于治疗中、重度斑块型银屑病,这是首个获批的可选择性结合IL-17A的单抗银屑病药物,为银屑病患者提供了一个新的选择。2016年,此药又获批增加2个适应证:银屑病关节炎和强直性脊柱炎^[8]。同年,FDA批准了第2个IL-17A单抗(ixekizumab),用于治疗成人中度至重度斑块型银屑病。

IL-5是一种细胞因子,能够促进嗜酸性粒细胞的产生、活化和成熟。嗜酸性粒细胞及其介导的炎症反应会促进哮喘的发生。用特异性抗体阻断IL-

5,能够降低血液、组织中的嗜酸性粒细胞水平,同时又能够减少嗜酸性粒细胞所介导的炎症,缓解哮喘的发生。美泊利单抗(mepolizumab)是2015年获批的首个靶向IL-5的生物药物,同时也是治疗重度嗜酸性粒细胞性哮喘的首个IL-5单抗。2016年,FDA批准瑞丽珠单抗(reslizumab)作为一种附加维持疗法,用于重度嗜酸性粒细胞性哮喘成人患者的治疗,其特异性靶向IL-5,能够减少嗜酸性粒细胞计数^[9]。

2.3 感染性疾病的治疗 20世纪初期,血清常用于治疗细菌性感染的疾病,但常伴有免疫副反应。目前有许多抗体药物应用于临床,但大部分药物针对非感染性疾病,由于细菌耐药性及抗菌药物的相对低效,用抗体治疗感染性疾病重新引起了人们的兴趣。现有多种方法使用抗体治疗感染性疾病,例如,抗体偶联细胞内毒素、抗体偶联放射性核素、构建双特异性抗体等。目前抗体治疗感染性疾病仍处于研究的初期阶段。但已有报道推荐抗体应用于HIV、疟疾、肺结核的治疗^[10-13]。

在艰难梭状芽胞杆菌感染中,复发是临床治疗面临的主要难题。2016年,FDA批准bezlotoxumab用于预防艰难梭状芽胞杆菌感染的复发,这是一种抗毒素,具有阻断毒素与细胞结合的能力,与临床上治疗该菌感染的抗生素联合用药。在此之前,艰难梭状芽胞杆菌感染尚无获批的有效治疗方法。

2.4 心血管疾病的治疗 心血管疾病是导致死亡和残疾的主要原因,如何预防及治疗心血管疾病是临床医生急需解决的问题。众所周知,低密度脂蛋白胆固醇是动脉粥样硬化的主要诱因,也是许多心血管疾病临床表现的潜在原因,因此是疾病干预的主要靶标。目前公认的他汀类药物可降低低密度脂蛋白胆固醇,属于降血脂的基础治疗药物,但是对于一些具有高危险性的心血管疾病患者(如家族性高胆固醇血症)、他汀类药物耐受患者,其治疗效果并不明显,因此需要新的有效降低低密度脂蛋白胆固醇的方法。前蛋白转化酶枯草杆菌转化酶/可馨型9(PCSK9)通过结合低密度脂蛋白受体从而增加其降解,导致低密度脂蛋白受体减少,血中低密度脂蛋白胆固醇升高。因此,用PCSK9抗体减少PCSK9与低密度脂蛋白受体的作用,对于降低血中低密度脂蛋白胆固醇含量具有重要意义。目前,已有PCSK9单抗alirocumab、evolocumab于2015年获批上市,可将血中低密度脂蛋白胆固醇降低50%~60%,对于他汀类药物、依泽替米贝具有辅助治疗效果,并且可减少血中脂蛋白含量。靶向PCSK9的

抗体疗法是一种新的降脂方法,对于血脂异常有很好的临床效果。PCSK9抗体是目前心血管领域最新的抗体药物^[14]。

2.5 神经系统疾病的治疗 血-脑屏障和单抗在大脑中的低渗透性是影响抗体治疗神经系统疾病的最大障碍。治疗中枢神经系统疾病的大部分药物是小分子药物,但是也有少量大分子药物(例如单抗)进入大脑,据估计,循环中的单抗只有0.1%进入中枢神经系统。在血液中,单抗受体通过与单抗结合,防止其降解,从而保持较长的半衰期,而在神经系统中这一作用尚不清楚。目前还没有获批的治疗性抗体用于治疗脑部疾病,如阿尔兹海默病、帕金森病等^[15]。

目前,单抗主要用于治疗多发性硬化病,但是,FDA批准的治疗该病的抗体药物很少。2004年,FDA批准那他珠单抗(natalizumab)用于治疗其他药物无效的多发性硬化病,上市后发现多例多灶性白质脑病(PML)死亡的患者与服用此药有关,经撤市1年后又重新上市,但开具此药需经过特殊的处方程序。虽然至今已经有多达数十起PML死亡与那他珠单抗有关,但是由于其治疗效果明显,一直没有再次上市。2016年,FDA又批准达利珠单抗(daclizumab)用于治疗复发性多发性硬化症,这是一种可由患者自己每月使用的长效注射剂,大量临床研究表明,皮下注射达利珠单抗有很好的治疗效果及安全性^[16]。

3 展望

随着基因序列和生物医学研究产生重大进展,人们对抗体的研究更多关注于在临床应用中建立新的靶标,使抗体发挥最大的功效。在提高单抗的疗效方面,研究者们主要靶向抗体的免疫原性、抗原结合亲和力、效应器功能、药动学等。

近几年来,进入临床研究的抗体越来越多,获FDA批准上市的抗体类药物也在不断增加,2014年上市了6个,2015年9个,2016年批准了10个,而制备抗体技术的灵活性可使抗体获得最佳的药动学和药效学。研究者们对单抗的结构和功能已经了解得比较清楚,正致力于研究新的治疗性单抗。全人源抗体将成为治疗性抗体未来的发展方向,但在临床应用中是否会出现其他问题还有待大量临床试验的检验。

虽然抗体治疗取得了突破性进展,但是仍面临许多挑战。其一是研究者通常根据之前抗体治疗的

- 聚糖含量[J].药物分析杂志,2007,27(11):1797-1799.
- [8] Song B, Wang JF, Wang W, et al. Effect of aqueous extract from *Morinda officinalis* How. on microwave-induced hypothalamic-pituitary-testis axis impairment in male sprague-dawley rats[J]. Evid-Bas Complem Altern Med, 2015, 2015: 1-10.
- [9] Anitha T, Mohandass S. Aniti-oxidant activity of *Morinda citrifolia* on lymphoma bearing mice[J]. Anc Sci Life, 2006, 26(1-2): 85-88.
- [10] Liu G, Bode A, Ma WY, et al. Two novel glycosides from the fruits of *Morinda citrifolia* (noni) inhibit AP-1 transactivation and cell transformation in the mouse epidermal JB6 cell line [J]. Cancer Res, 2001, 61(15): 5749-5756.
- [11] Shin JS, Yun KJ, Chung KS, et al. Monotropein isolated from the roots of *Morinda officinalis* ameliorates proinflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages and dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis via NF- κ B inactivation [J]. FoodChem Toxicol, 2013, 53: 263-271.
- [12] Kamiya K, Hamabe W, Harada S, et al. Chemical constituents of *Morinda citrifolia* roots exhibit hypoglycemic effects in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(5): 935-938.
- [13] 王玉磊,崔翰明,黄世敬,等.HPLC测定不同产地和批次巴戟天中主要环烯醚萜苷含量[J].中药材,2011,34(8):1187-1190.
- [14] 范建伟,李艳芳,闫光军,等.HPLC同时测定茵栀黄颗粒中4个环烯醚萜苷类成分[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(20):46-49.
- [15] 马养民,汪洋.植物环烯醚萜类化合物生物活性研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(17):234-238.
- [16] 刘瑾,徐吉银,罗进辉,等.不同产地巴戟天中水晶兰苷的含量测定[J].中成药,2010,32(3):517-519.
- [17] 孟玲玉.中草药巴戟天有效成分提取方法的研究[J].中国科技博览,2015,12(1):327-327.
- [18] 周波,赵臻.中草药巴戟天有效成分提取方法的研究进展[J].辽宁化工,2013,42(2):171-173.
- [收稿日期] 2017-04-16 [修回日期] 2017-06-05
[本文编辑] 李睿旻

(上接第303页)

成败建立新的靶标,但是仅仅根据已确立的靶标有限的知识可能会比较困难。另一个挑战是如果抗体治疗的成功率不断上升,用已经建立的哺乳动物表达系统可能难以满足抗体的生产需要,这就促进了新的制备抗体技术的发展,同时也可降低抗体治疗的费用。但是新制备技术的成熟涉及到采纳和实施,需要耗费较长时间。

【参考文献】

- [1] Dixit R, Herz J, Dalton R, et al. Benefits of using heterologous polyclonal antibodies and potential applications to new and undertreated infectious pathogens[J]. Vaccine, 2016, 34(9):1152-1161.
- [2] Gaughan CL. The present state of the art in expression, production and characterization of monoclonal antibodies [J]. Mol Divers, 2016, 20(1):255-270.
- [3] Lonberg N. Fully human antibodies from transgenic mouse and phage display platforms[J]. Curr Opin Immunol, 2008, 20(4):450-459.
- [4] Bruggemann M, Osborn MJ, Ma B, et al. Human antibody production in transgenic animals [J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2015, 63(2):101-108.
- [5] de Goeij BE, Lambert JM. New developments for antibody-drug conjugate-based therapeutic approaches [J]. Curr Opin Immunol, 2016, 40:14-23.
- [6] Yamada T. Therapeutic monoclonal antibodies [J]. Keio J Med, 2011, 60(2):37-46.
- [7] Eigentler TK, Hassel JC, Berking C, et al. Diagnosis, monitoring and management of immune-related adverse drug reactions of anti-PD-1 antibody therapy [J]. Cancer Treat Rev, 2016, 45:7-18.
- [8] Fala L. Cosentyx (Secukinumab): First IL-17A antagonist receives FDA approval for moderate-to-severe plaque psoriasis [J]. Am Health Drug Benefits, 2016, 9(Spec Feature):60-63.
- [9] Maselli DJ, Velez MI, Rogers L. Reslizumab in the management of poorly controlled asthma: the data so far [J]. J Asthma Allergy, 2016, 9:155-162.
- [10] Lim BN, Tye GJ, Choong YS, et al. Principles and application of antibody libraries for infectious diseases [J]. Biotechnol Lett, 2014, 36(12):2381-2392.
- [11] Uchtenhagen H, Schiffner T, Bowles E, et al. Boosting of HIV-1 neutralizing antibody responses by a distally related retroviral envelope protein [J]. J Immunol, 2014, 192(12):5802-5812.
- [12] Pleass RJ, Holder AA. Opinion: antibody-based therapies for malaria [J]. Nat Rev Microbiol, 2005, 3(11):893-899.
- [13] Balu S, Reljic R, Lewis MJ, et al. A novel human IgA monoclonal antibody protects against tuberculosis [J]. J Immunol, 2011, 186(5):3113-3119.
- [14] Chapman MJ, Stock JK, Ginsberg HN. PCSK9 inhibitors and cardiovascular disease: heralding a new therapeutic era [J]. Curr Opin Lipidol, 2015, 26(6):511-520.
- [15] Freskgard PO, Urich E. Antibody therapies in CNS diseases [J]. Neuropharmacology, 2016, DOI: 10.1016/j.neuropharm.2016.03.014.
- [16] Cohan S. Therapeutic efficacy of monthly subcutaneous injection of daclizumab in relapsing multiple sclerosis [J]. Biologics, 2016, 10:119-138.
- [收稿日期] 2016-10-27 [修回日期] 2017-02-20
[本文编辑] 李睿旻