

双特异性抗体

双特异性抗体 (bispecific monoclonal antibody, BsAb) 是一种人工制作出来的可以同时结合两种不同抗原的特殊抗体。双特异性抗体在自然状态下不存在，只能通过人工制备。研究双特异性抗体，对于癌症的免疫治疗有着重大的意义。本文主要对双特异性抗体的结构、作用原理及制备方式做一综述。

作用原理

双特异性抗体的作用机制主要有三种：

- 介导免疫细胞杀伤
- 双靶点信号阻断
- 促进蛋白形成功能性复合体

介导免疫细胞杀伤

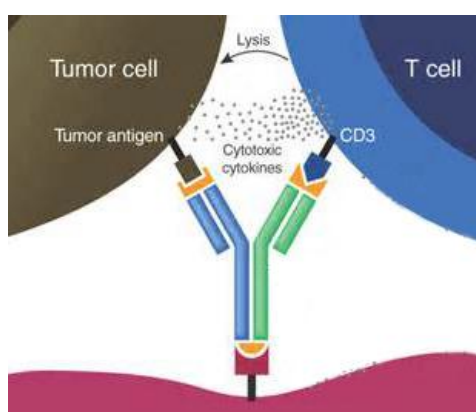


图 1：介导免疫细胞杀伤

双特异性抗体的一个重要作用机制是介导免疫细胞杀伤，双特异性抗体有两条抗原结合臂，其中一条与靶抗原结合，另一条与效应细胞上的标志抗原结合，后者可以激活效应细胞，使其靶向杀灭肿瘤细胞。以 Catumaxomab（卡妥索单抗，2009 年批准上市的双特异性抗体药物）为例，两个抗原结合臂分别结合细胞毒性 T 细胞的 CD3 位点和肿瘤细胞的 EpCAM 位点，从而引导 T 细胞杀伤靶细胞。

双靶点信号阻断

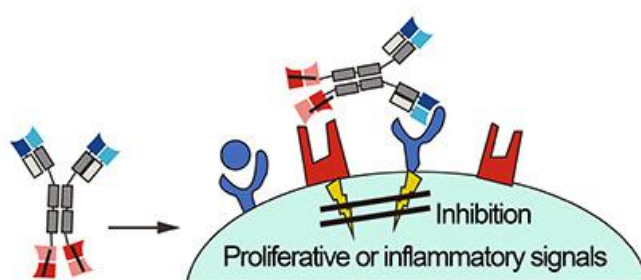


图 2：双靶点信号阻断作用原理

同时结合双靶点，阻断双信号通路是双特异性抗体的另一个重要作用机制。受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTKs) 是最大的一类酶联受体，在细胞增殖过程中发挥重要调节作用，如 Her 家族等。RTKs 在肿瘤细胞表面异常高表达，导致肿瘤细胞恶性增生，因此也是肿瘤治疗的重要靶点。针对 RTKs 的单靶点单克隆抗体已在肿瘤治疗中得到广泛应用。但是，肿瘤细胞可以通过转换信号通路或通过 HER 家族成员自身或不同成员之间的同源或异源二聚体激活细胞内信号进行免疫逃逸。因此采用双特异性抗体药物同时灭活两个或多个 RTKs 或其配体，可以减少肿瘤细胞逃逸，提高治疗效果。

促进蛋白形成功能性复合体

利用双特异性抗体两个抗原结合臂可以结合不同抗原的特点，两个抗原结合臂分别结合两种特定蛋白分子，形成功能性复合体。利用该种复合体给药，可以减少机体内排斥反应，提高临床治疗效果。

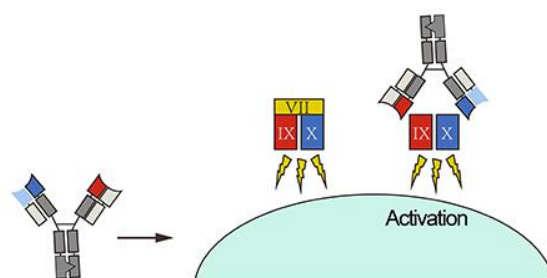
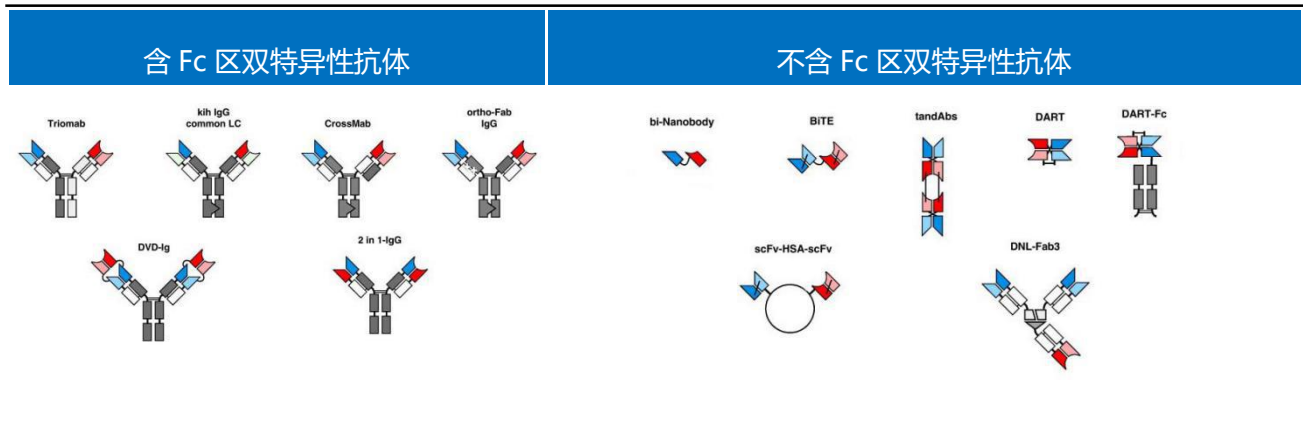


图 3：促进蛋白形成功能性复合体作用原理

双特异性抗体种类

双特异性抗体按结构区分主要有两大类：含 FC 区的双特异性抗体 (IgG-like 双特异性抗体) 与不含 Fc 区的双特异性抗体 (non-IgG-like 双特异性抗体)。含 Fc 区双特异性抗体保持了传统的单克隆抗体的结构，具有两个 Fab 区

和一个 FC 区。但与传统单克隆抗体不同，这两个 Fab 是可以结合不同抗原。此类抗体主要有 Triomabs、DVD-Ig、2 in 1-IgG、kih IgG、CrossMAb 等；不含 Fc 区双特异性抗体缺失了 Fc 区，由两个抗体的 VH 区及 VL 区组成或者由 Fab 片段组成。此类双特异性抗体主要有 BiTE, DART, TandAbs, bi-Nanobody 等。



制备方法

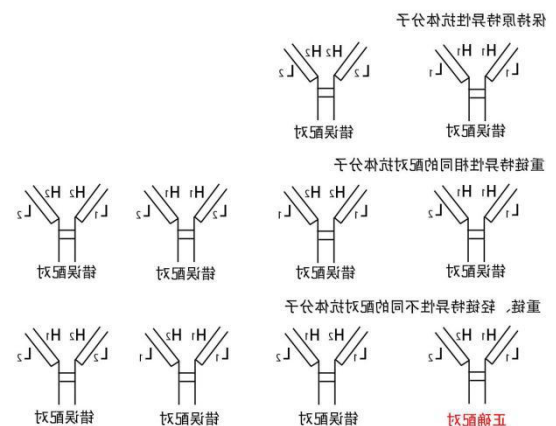
双特异性抗体的制备主要有双杂交瘤细胞法，化学偶联，重组基因制备等方法，每一种制备方法都会产生其独特的结构。

① 化学偶联法

该法最早出现于上世纪 80 年代，其原理是通过化学偶联剂（如邻苯二马来酰亚胺、N-琥珀酰-3-（2-吡啶二硫基）丙酸盐、二硫代酰基苯甲酸等）将两个完整 IgG 或两个 F(ab')₂ 抗体片段偶联成一种 BsAb。

② 双杂交瘤融合法

通过细胞融合的方法将两株不同的杂交瘤细胞融合成双杂交瘤细胞株，然后通过常规的杂交瘤筛选法克隆靶细胞。由于双杂交瘤的遗传背景来源于亲代的两种杂交瘤细胞，它必然要产生两种重链和两种轻链分子，而这些轻重链的随机组合的方式至少有 10 种，理论上只有轻重链同源配对、重链与重链异源配对这一种组合配对方式才能产生所需要的 BsAb。利用杂交-杂交瘤方法制备双特异性抗体随机性较大，效率低，但是 BsAb 生物活性较好，抗体结构比较稳定。



利用化学偶联法与双杂交瘤融合法生产出的双特异性抗体为鼠源性，具有较强的免疫源性，且产量低纯度较差，在临床的应用上有很大的制约。

Konck-in-hole 技术

利用 konck-in-hole 技术可以有效解决异源抗体重链正确配对的难题。

制备方法是将一个抗体的重链 CH3 区 366 位体积较小的苏氨酸突变为体积较大的酪氨酸，形成突出的“杵”型结构；将另一个抗体重链 CH3 区 407 位较大的酪氨酸 残基突变成较小的苏氨酸，形成凹陷的“臼”型结构；利用“杵臼”结构的空位阻效应实现两种不同抗体重链间的正确装配。

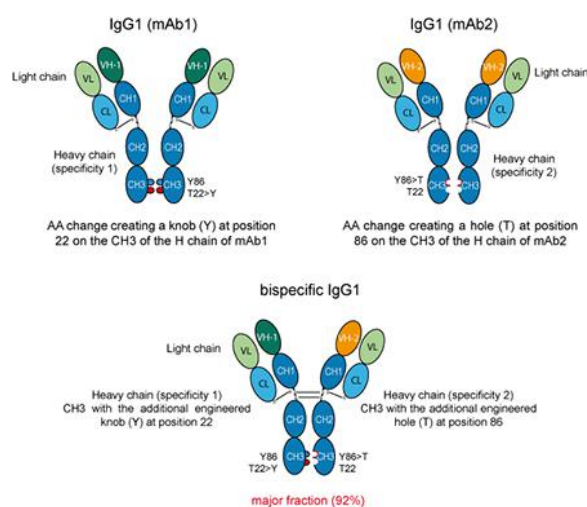


图 5: konck-in-hole 技术

突变后，产品正确装配率由野生型的 57% 提高至 92%，能够满足规模化生产的要求。但重链 CH3 的这一改构方式降低了抗体结构的稳定性，为了克服这一缺点，可以通过噬菌体展示技术进行随机突变筛选。

③ 基因工程 BsAb

利用基因工程技术制备双特异性抗体是目前最常用的制备方法，其制备原理为利用基因工程技术对传统抗体进行基因工程方面的改造，从而形成多种形式的双特异抗体。

双特异性抗体的应用

- 免疫诊断

临床检测甲胎蛋白、检测癌胚抗原

- 肿瘤放射显影
一端针对肿瘤细胞表面抗原，一端针对半抗原整合剂。后者可以与带放射性核素的半抗原结合。
- 肿瘤药物杀伤
将单克隆抗体与化疗药物、毒素或放射性核素偶联。
- 肿瘤的免疫杀伤
乳腺癌、淋巴细胞白血病、神经胶质瘤

双特异性抗体的发展现状

目前仍有大量双特异性抗体药物处于研究阶段，许多临床试验正在进行。

药物名称	研发公司	靶点	研发状态	适应症
Blinatumomab	安进	CD19 and CD3	III期临床	急性淋巴细胞白血病
MEHD7945A	基因泰克	HER3 and EGFR	II期临床	结直肠癌，头颈癌
ABT-122	AbbVie	TNF and IL-17	II期临床	风湿性关节炎
ABT-981	AbbVie	IL-1 α and IL-1 β	II期临床	骨关节炎
SAR156597	赛诺非	IL-4 and IL-13	II期临床	特发性肺纤维化
MM-111	Merimack	HER2 and HER3	II期临床	胃癌
IMCgp100	Immunocore	GP100 and CD3	II期临床	黑色素瘤
RO5520985	罗氏	ANG2 and VEGFA	II期临床	结直肠癌
XmAb5871	Xencor	CD19 and CD32B	I/II期临床	风湿性关节炎
COVA322	Covagen/强生	TNF and IL-17A	I/IIa期临床	银屑病
ALX-0761	Ablynx	IL-17A and IL-17E	I期临床	银屑病
AFM13	Affimed	CD30 and CD16A	I期临床	霍奇金淋巴瘤
AFM11	Affimed	CD19 and CD3	I期临床	非霍奇金淋巴瘤
MEDI-565	MedImmune	CEA and CD3	I期临床	GI 胰腺癌
Ertumaxomab	Triion	HER2, CD3 and FcR	I期临床	实体瘤
MGD006	MacroGenics	CD123 and CD3	I期临床	急性髓性白血病
MGD007	MacroGenics	GPA33 and CD3	I期临床	结直肠癌
LY3164530	礼来	MET and EGFR	I期临床	结直肠癌

数据来源：Nat Rev Drug Discov, 2014, 13(11):799-801

表 1：部分处于临床研究中的双特异性抗体

相关阅读

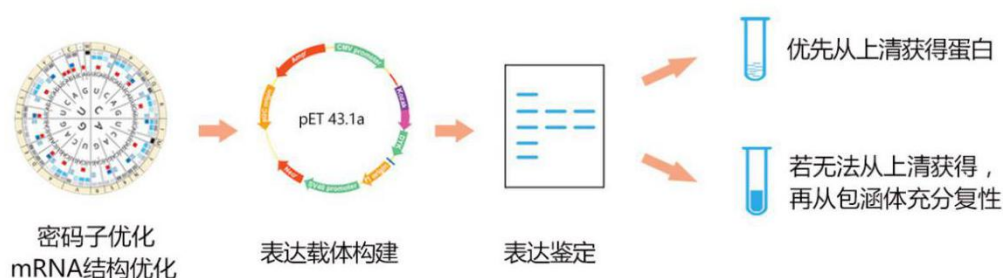
- [双特异性抗体 BITE、DART、DVD-Ig、Triomabs](#)
- [双特异性抗体亲和力测定](#)

南京德泰生物 -- 专注蛋白与抗体

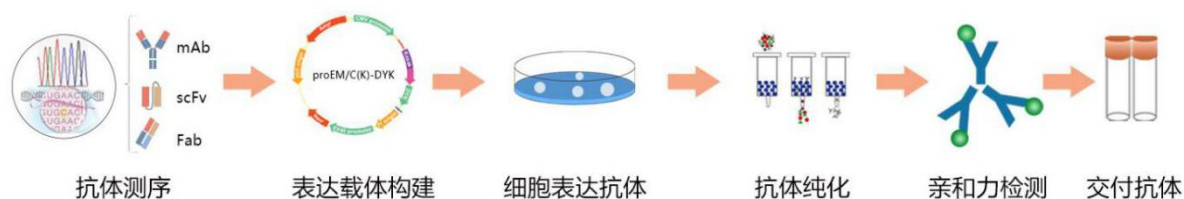
一、蛋白表达（哺乳动物细胞表达）蛋白被细胞充分修饰，活性有保障



二、蛋白表达（大肠杆菌表达）成功率>95%，不成功不收费，成功有保障



三、重组抗体表达 若想改造一个抗体，可以试试重组表达



四、稳定细胞系构建 研究级细胞系构建 & 高表达细胞株开发

