

· 生命科学与新药探索 ·

LIFE SCIENCES AND
NEW DRUG DISCOVERY

靶向表皮生长因子受体的抗体类药物研究进展

王鹏飞^{1,2}, 张伶俐², 宋戈², 张娟^{1*}

(1. 中国药科大学生命科学与技术学院, 江苏 南京 211198; 2. 上海复宏汉霖生物技术股份有限公司, 上海 200233)

[摘要] 表皮生长因子受体(EGFR)作为受体酪氨酸激酶(RTK)蛋白家族成员之一,在细胞的生长、增殖、分化过程中起着至关重要的作用。EGFR因其异常表达及突变与头颈癌、肺癌、结直肠癌等癌症的发生发展密切相关,成为肿瘤靶向疗法的热门靶点之一。目前针对EGFR的靶向药物主要包括小分子酪氨酸激酶抑制剂(TKI)和抗体药物两类,但其均面临着耐药的问题。为了解决这一问题,科研人员不仅致力于第4代EGFR-TKI的开发,还积极推进新一代抗体类药物的临床前和临床研究,这些抗体类药物包括靶向两个靶点的双特异性抗体和抗体偶联物等。对靶向EGFR的抗体类药物的研究进展进行综述,旨在为新一代抗体药物的开发提供参考。

[关键词] 表皮生长因子受体; 抗体; 靶向药物

[中图分类号] R979.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094(2024)11-0801-12

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2024.11.001

Research Progress of Antibody Drugs Targeting Epidermal Growth Factor Receptor

WANG Pengfei^{1,2}, ZHANG Lingli², SONG Ge², ZHANG Juan¹

(1. School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; 2. Shanghai Henlius Biotech, Inc., Shanghai 200233, China)

[Abstract] Epidermal growth factor receptor (EGFR), as a member of the receptor tyrosine kinase (RTK) protein family, plays a crucial role in cell growth, proliferation, and differentiation. Abnormal expression and mutation of EGFR are closely related to the occurrence and development of head and neck cancer, lung cancer, colorectal cancer, and other cancer types, making it one of the most popular targets for tumor-targeted therapies. Currently, EGFR-targeted drugs mainly include small molecule tyrosine kinase inhibitors (TKIs) and antibodies, but both face the problem of drug resistance. To solve this problem, researchers are not only committed to the development of fourth-generation EGFR-TKIs, but also actively advance the preclinical and clinical studies of a new generation of antibody drugs, including bispecific antibodies targeting two targets and antibody conjugates. This review is on the research progress of antibody drugs targeting EGFR, aiming to provide reference for the development of a new generation of antibody drugs.

[Key words] epidermal growth factor receptor; antibody; targeted drug

癌症是世界范围内死亡率最高的疾病之一,其治疗周期长、药物副作用明显、预后差,严重威胁人类生命健康。传统的化疗药物如5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)、顺铂、紫杉醇等,因缺乏足够的组织特异性,用药过程中常常对正常组织

造成损伤,引发一系列不良反应。近年来,随着人们对癌症发病机制与肿瘤相关生物学特征的深入了解,新一代抗癌药物被成功研发,其可靶向肿瘤抗原(tumor antigen, TA)、肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)特定组分^[1]等不同靶点,对肿瘤的选择性提高,毒副作用降低,治疗窗拓宽^[2]。在肿瘤患者体内的这些靶点中,表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)受体(EGFR)[又称为成红血细胞白血病病毒致癌基因同源物1

接受日期: 2024-01-08

* 通信作者: 张娟, 教授;

研究方向: 抗体药物与肿瘤免疫治疗;

E-mail: zhangjuan@cpu.edu.cn

(erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 1, ErbB1) 或人表皮生长因子受体 1 (human epidermal growth factor receptor 1, HER1)] 的异常表达和突变在结直肠癌、肺癌、乳腺癌、头颈癌等癌症^[3-5]中均有发生, 成为肿瘤靶向治疗的热门靶点之一。

EGFR 是一种跨膜糖蛋白, 相对分子质量约为 170 000, 其与 ErbB2 (也称为 HER2)、ErbB3 (也称为 HER3)、ErbB4 (也称为 HER4) 同属 ErbB 蛋白家族。作为一种受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase, RTK), EGFR 在配体 EGF、转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- α 等的激活下会发生同源或异源二聚化, 进而激活下游信号通路, 促进细胞的增殖^[6]。EGFR 过表达或突变会使下游信号通路过度活化, 导致细胞异常过度增殖, 引发癌变。基于此, 靶向抑制 EGFR 下游信号通路是抗肿瘤药物研发的一个思路, 目前研究人员已开

发了以奥西替尼为代表的一系列小分子酪氨酸激酶 (tyrosine kinase, TK) 抑制剂 (TKI)。已上市的第 1~3 代 EGFR-TKI 在临床应用中取得了不错的疗效, 但在用药一段时间后通常会出现 EGFR 依赖或非依赖性的耐药问题^[7-9], 这正是第 4 代 EGFR-TKI 研发致力于解决的关键挑战。

单克隆抗体因其对靶点的高选择性和高亲和力及其 Fc 端的特殊功能 (与补体系统和 Fc 受体的相互作用), 被认为是靶向治疗中的重要组成部分。目前抗体类药物根据结构的不同主要分为靶向单一靶点的单抗、靶向多个靶点的双特异性抗体或多特异性抗体、抗体药物偶联物 (antibody-drug conjugate, ADC) 及其他类型抗体偶联物。表 1 汇总了已获批上市和处于临床研究阶段的抗体药物信息。本文对靶向 EGFR 的抗体类药物研究进展进行综述, 旨在为该类药物的进一步开发提供参考。

表 1 已获批上市和处于临床研究阶段的靶向 EGFR 的抗体类药物

Table 1 EGFR-targeted antibody drugs approved for market and in clinical studies

抗体类型	药品通用名或研发代号	靶点	研发机构	适应证	状态
单克隆抗体	cetuximab	EGFR	ImClone	mCRC, LA-HNSCC	获批上市 (2004 年)
	panitumumab	EGFR	安进 (Amgen)	mCRC	获批上市 (2006 年)
	necitumumab	EGFR	礼来 (Lilly)	NSCLC	获批上市 (2015 年)
	nimotuzumab	EGFR	Biotech Pharmaceutical	NPC	获批上市 (2008 年)
	Sym004	EGFR	Symphogen	实体瘤	III 期临床
	demupitamab	EGFR	神州细胞 (SinoCellTech)	实体瘤	III 期临床
	pimurutamab	EGFR	复宏汉霖 (Henlius)	实体瘤	III 期临床
	QL1203	EGFR	齐鲁制药	mCRC	III 期临床
	JMT101	EGFR	JMT-Bio	实体瘤	II 期临床
	GC1118A	EGFR	GC Biopharma	实体瘤	II 期临床
双特异性抗体	Amivantamab	EGFR/c-MET	杨森 (Janssen)	NSCLC	获批上市 (2021 年)
	SI-B001	EGFR/HER3	Systemimmune	NSCLC, CRC, HNSCC, GC, ESCC	III 期临床
	bafisontamab	EGFR/c-MET	岸迈生物 (EpimAb)	NSCLC	II/III 期临床
	HLX35	EGFR/4-1BB	复宏汉霖	实体瘤	II 期临床
	MCLA-129	EGFR/c-MET	Merus	实体瘤	II 期临床
	REGN7075	EGFR/CD28	再生元 (Regeneron)	实体瘤	II 期临床
	AFM24	EGFR/CD16A	Affimed	实体瘤	I/II 期临床
	BCA101	EGFR/TGF- β	Bicara	HNSCC, SCAC	I/II 期临床
	IBI-334	EGFR/B7-H3	信达生物 (Innovent)	实体瘤	I/II 期临床
	petosemtamab	EGFR/LGR5	Merus	HNSCC	I/II 期临床
	SMET12	EGFR/CD3	时迈药业 (Centrymed)	实体瘤	I/II 期临床
	BC3448	EGFR/CD3	BioCity	实体瘤	I 期临床
	PM1080	EGFR/c-MET	普米斯生物 (Biotheus)	NSCLC	I 期临床
	CX-904	EGFR/CD3	安进	实体瘤	I 期临床

续表 1

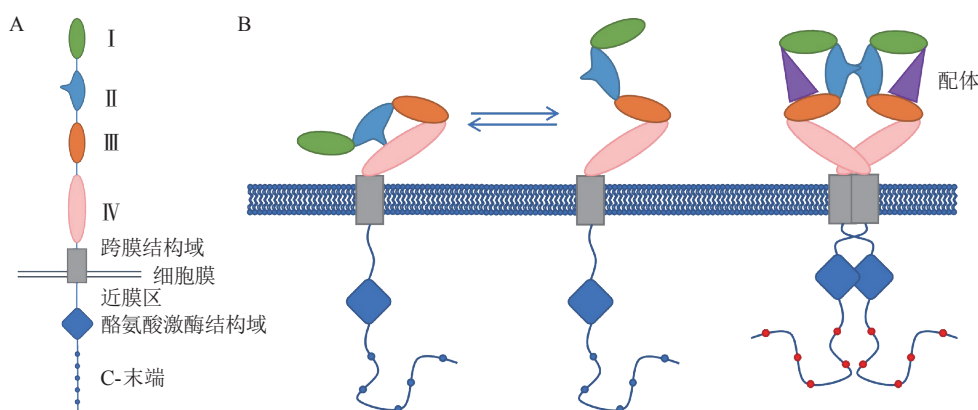
抗体类型	药品通用名或研发代号	靶点	研发机构	适应证	状态
ADC 及其他 抗体偶联物	cetuximab saratolacan	EGFR	乐天医药 (Rakuten Medical)	头颈部肿瘤	获批上市(2020年)
	BL-B01D1	EGFR/HER3	Systimmune	NPC, NSCLC	III期临床
	depatuxizumab mafodotin	EGFRvIII	艾伯维 (AbbVie)	胶质肉瘤, NSCLC	III期临床
	MRG003	EGFR	上海美雅珂 (Miracogen)	HNSCC, NSCLC, CRC	III期临床
	BB-1705	EGFR	百力司康 (BlissBio)	实体瘤	I/II期临床
	AZD9592	EGFR/c-MET	阿斯利康 (AstraZeneca)	实体瘤	I期临床
	losatuxizumab vedotin	EGFR	艾伯维	实体瘤	I期临床
	CPO301	EGFR	石药集团 (CSPC)	NSCLC	I期临床
	M1231	EGFR/MUC1	默克 (Merck)	NSCLC, ESCC	I期临床

mCRC: 转移性结直肠癌 (metastatic colorectal cancer); LA-HNSCC: 局部晚期头颈部鳞状细胞癌 (locally advanced head and neck squamous cell carcinoma); NSCLC: 非小细胞肺癌 (non-small cell lung carcinoma); NPC: 鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma); CRC: 结直肠癌 (colorectal cancer); HNSCC: 头颈部鳞状细胞癌 (head and neck squamous cell carcinoma); GC: 胃癌 (gastric carcinoma); ESCC: 食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell carcinoma); c-MET: 细胞间质上皮转换因子 (cellular-mesenchymal epithelial transition factor); SCAC: 肛管鳞状细胞癌 (squamous cell anal carcinoma); EGFRvIII: EGFR 突变体III

1 表皮生长因子受体结构

EGFR 是一种表达在细胞膜上的 RTK, 可以将胞外信号传递至胞内, 其结构如图 1 所示。人 EGFR 分子的胞外区 (extracellular domain, ECD) 由 4 个结构域构成, 分别为 I (L1)、II (CR1)、III (L2) 和 IV (CR2), 其中结构域 I 和 III 富含亮氨酸, 是 EGFR 配体的结合区域; 结构域 II 和 IV 富含半胱氨酸, 其中结构域 II 在 EGFR 的二聚化过程中起到关键作用^[10-12]。在无配体结合的状态下, EGFR 分子有激活态和非激活态两种构象, 二者以一定比例平衡: 非激活态下 EGFR 的结构域 II 和 IV 之间存在相互作用, 这种构象较稳定, 占比大约

95%; 激活态下 EGFR 的结构域 II 和 IV 相互分离, 胞外区构象相对自由, 结构域 II 中的一个 β 发卡结构 (又称为聚合臂) 暴露在外, 这种构象占比大约 5%^[10]。配体 (如 EGF、TGF- α 等) 会优先与处于激活态的 EGFR 分子结合, 并将其稳定在激活态中的一个更容易发生二聚化的构象, 此时 EGFR 可以在聚合臂的作用下与另一 EGFR 分子或 c-MET、胰岛素样生长因子-1 受体 (insulin-like growth factor-1 receptor, IGF-1R) 以及 ErbB 家族其他成员之间以“背靠背”的方式形成二聚体。抗 EGFR 单抗主要靶向结构域 III, 在阻断配体受体结合的同时使胞外区处于不易二聚化的构象, 阻断了下游信号的激活。



A: EGFR 分子由结构域 I、II、III、IV, 跨膜结构域 (transmembrane domain, TM), 近膜区 (juxtamembrane, JM), TK 结构域以及含有自磷酸化位点的 C-末端组成; B: EGFR 分子在没有配体结合的状态下有非激活态和激活态两种构象, 在配体的作用下 EGFR 构象被稳定在激活态, 并在结构域 II 的作用下形成二聚体, 引起自磷酸化过程和下游信号通路的激活

图 1 表皮生长因子受体结构和构象示意图

Figure 1 Schematic diagram of the structure and conformation of the epidermal growth factor receptor

EGFR 胞内区由近膜区 (JM)、TK 结构域和含有自磷酸化位点 (第 992、1 045、1 068、1 148、1 173 位酪氨酸等) 的 C-末端尾部组成^[13]。EGFR 同源/异源二聚体形成后其胞内区相互接近, 发生自磷酸化过程, 并激活下游信号通路, 包括磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB, 也称 AKT) 通路、大鼠肉瘤蛋白 (rat sarcoma, Ras)/Raf 蛋白激酶 (Raf protein kinase, 简称 Raf)/丝裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, MAPKK, 也称 MEK)/胞外信号调节激酶 (extracellular-signal regulated kinase, ERK) 通路等, 对细胞的生长、增殖、分化起到重要作用^[3]。TK 结构域中的 ATP 结合位点是 EGFR-TKI 设计的重要靶点, 第 1~3 代 TKI 通过对该位点可逆/不可逆结合的方式阻断磷酸化进程, 从而起到抑制性作用^[14]。然而 EGFR 在 TKI 药物结合口袋处的突变可能导致耐药性的产生, 这是 EGFR 靶向药物研发过程中需要面对且亟待解决的问题之一, 同时也提示了 EGFR 突变类型的分析在确定临床用药方案方面的价值^[15]。

2 靶向表皮生长因子受体的抗体

抗体是癌症治疗中非常重要的一部分, 使用抗 EGFR 单抗是 CRC、HNSCC 等恶性肿瘤的一线治疗方案之一。随着技术的成熟, 对抗体分子进行改造不仅可以降低其免疫原性、优化亲和力, 还可以实现同时与不同靶点结合, 起到协同抑制、募集免疫细胞等作用。

2.1 靶向单一靶点的抗体

靶向 EGFR 的单抗是经典的抗体药物, 研发过程中常利用杂交瘤、文库筛选以及单 B 细胞筛选技术得到候选分子, 进而在亲和力、免疫原性等方面进行改造。单抗的经典作用机制有 4 个方面: 1) 阻断配体和 EGFR 结合; 2) 抑制 EGFR 二聚化; 3) 促进 EGFR 内化、降低受体数量; 4) 由 Fc 介导一系列生物学功能, 如补体依赖的细胞毒作用 (complement-dependent cytotoxicity, CDC)、抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) 以及抗体依赖

的细胞介导的吞噬作用 (antibody-dependent cell-mediated phagocytosis, ADCP) 等^[16]。

由 ImClone 研发的 cetuximab (商品名: Erbitux) 是全球首个上市的靶向 EGFR 的单抗, 于 2004 年和 2006 年相继获 FDA 批准用于治疗 mCRC 及 LA-HNSCC^[17-18]。Cetuximab 属于 IgG₁ 亚型人鼠嵌合抗体, 以较天然配体 (EGF、TGF- α 等) 更高的亲和力结合在 EGFR 结构域 III 上, 阻断了配体与 EGFR 的结合, 并进一步抑制了 EGFR 的二聚化及下游信号的激活^[10]。此外, cetuximab 还可以通过固有和适应性免疫应答的激活来发挥作用: 其 Fc 端与 Fc γ 受体 (Fc γ receptor, Fc γ R) 的相互作用引发自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK) 的活化, 继而促进了树突状细胞 (dendritic cell, DC) 的成熟和抗原递呈过程以及 CD8⁺ T 细胞的活化^[19-20]; 同时激活了 ADCC^[19,21]。虽然 cetuximab 联合放疗在 CRC 和 HNSCC 的治疗中已经占据一席之地^[22-23], 但对于 NSCLC 病人来说, 其临床获益有限, 同时往往会因为严重的皮肤毒性 (如痤疮样皮疹) 导致治疗中断^[24]。

Panitumumab (商品名: Vectibix) 是由安进研发的一款全人源的抗 EGFR IgG₂ 型单抗, 于 2006 年 9 月获 FDA 批准用于治疗化疗失败的 mCRC。由于 IgG₂ Fc 端主要与抑制性受体 Fc γ R IIb 结合, panitumumab 不具有明显的免疫系统激活的效果, 因而其主要通过阻断信号通路发挥抗肿瘤活性^[25]。Panitumumab 与 EGFR 的结合位点接近于 cetuximab 的结合位点, 但其对 EGFR 的亲和力比 cetuximab 更高^[26], 并克服了 EGFR 胞外区 S492R 耐药突变^[27]。

Necitumumab (商品名: Portrazza) 是由礼来研发的一款全人源 IgG₁ 单抗, 于 2015 年获 FDA 批准联合顺铂和吉西他滨用于治疗转移性鳞状 NSCLC 患者。临床前研究表明, 由于 necitumumab 轻重链间存在足够大的空腔, 其可以与大部分对 cetuximab 和 panitumumab 耐药的 EGFR 胞外区突变体结合^[28]。

虽然抗 EGFR 单抗在临床上取得了一定成功, 但在应用过程中也遇到了一些问题。一方面, 由于 EGFR 在正常组织中有一定表达, 这些高亲和力的单抗不可避免地会对正常组织产生影响, 引发

一系列不良反应, 临床上最常见的为皮疹、皮肤干燥、瘙痒等^[29]。另一方面, 对一种靶点的持续抑制可能通过各种机制产生耐药性, 包括 EGFR 胞外区突变 (如 K467T、G465R、S464L、I491M、S492R 等)、下游信号持续激活 (如 KRAS G12C、BRAF V600E、PIK3CA H1047R 等) 以及旁路信号激活 (如 HER2、c-MET、IGF-1R 信号通路的活化) 等, 从而限制了单抗的治疗效果^[4,30-32]。

目前靶向 EGFR 的单抗在研发过程中需要重点关注的问题是原发/获得性耐药, 抗原表位的选择及抗体分子的优化是一种应对耐药性、增强药效的方案, 代表药物有 Sym004、SCT200 和 GC1118A 等。Sym004 是由 Symphogen 公司研发的 EGFR 抗体组合制剂, 由靶向 EGFR 结构域 III 的 2 个不同表位的人鼠嵌合抗体 (992 和 1024) 以物质的量之比 1:1 等量混合^[33]。研究发现, Sym004 可以介导 EGFR 的内吞和降解^[34], 同时对 *EGFR* 基因扩增的细胞系更敏感^[35]。Sym004 具有比 cetuximab 和 panitumumab 更好的抑制肿瘤生长的效果^[35], 并且可以克服由 EGFR 胞外区突变产生的获得性耐药^[36]。SCT200 (通用名: demupitamab) 是由神州细胞研发的一款全人源 IgG₁ 单抗, 可与不同于已上市 EGFR 单抗结合位点的另一表位结合, 同时具有更高的亲和力。SCT200 通过 Fc 改造的方式增强了 ADCC 和 CDC 效应, 并在临床前研究中被证明具有优于 cetuximab 的 ADCC 活性^[37]。GC1118A 是由 GC Pharma 公司研发的全人源 IgG₁ 单抗, 其抗原结合表位也与其他抗 EGFR 单抗不同。EGFR 高亲和力配体 (如 EGF、TGF- α 等) 在调节 TME 和耐药性产生方面具有重要作用, GC1118A 可对这些配体产生优于其他抗 EGFR 单抗的抑制活性, 并在患者来源的肿瘤异种移植瘤 (patient-derived tumor xenograft, PDX) 模型中具有更好的抑瘤效果, 表明其具有潜在的治疗优势^[38]。

2.2 双特异性抗体

以不同单抗作为母本, 通过结构改造的方式可以得到靶向不同抗原蛋白的双特异性抗体 (bispecific antibody, BsAb), 这类抗体可以发挥特殊的功能, 起到单抗药物难以达到的生物学功能。由于双特异

性抗体具有 2 条及以上不同的抗原结合臂, 从作用机制的角度, 其作用方式主要包括募集免疫细胞和多靶点共同抑制, 为 EGFR 靶向药物提供了新的研发思路。

2.2.1 EGFR 与另一靶点位于不同细胞 以 T 细胞、NK 细胞表面抗原 (如 CD3、CD16A、CD28、4-1BB 等) 作为第二靶点蛋白进行双特异性抗体的设计, 可以桥连肿瘤细胞与免疫细胞, 介导免疫细胞的杀伤。这类双特异性抗体被称为双特异性 T 细胞接合器 (bispecific T-cell engager, BiTE) 或双特异性杀伤细胞接合器 (bispecific killer cell engager, BiKE)^[39-40]。不同于 EGFR 单抗, 此类双特异性抗体主要通过激活免疫细胞实现对肿瘤细胞的特异性杀伤, 与 EGFR 下游信号通路是否被抑制无关, 因此有望克服 EGFR 胞内区突变或信号通路关键蛋白 (如 KRAS、BRAF 等) 突变产生的耐药性。

在免疫细胞接合器这一类别上, Affimed 公司开发了重定向优化细胞杀伤 (redirected optimized cell killing, ROCK[®]) 平台。由这一平台开发的双特异性抗体可以通过其结构中靶向 CD16A (也称为 Fc γ R IIIA) 的抗体部分, 将表达 CD16A 的固有免疫细胞 (如 NK 细胞、巨噬细胞) 募集到肿瘤细胞附近, 进而实现高效的 ADCC 及 ADCP 功能^[41]。AFM24 是一款基于该平台研发的 EGFR/CD16A 双特异性抗体, 其结构以抗 CD16A 的 IgG₁ 单抗为核心, 在每一个重链的 C 端融合抗 EGFR 的单链可变区片段 (single chain fragment variable, scFv), 并通过氨基酸突变的方式消除 Fc 介导的生物学功能。为了验证 AFM24 在 CD16A 上的结合位点与 IgG Fc 结合位点不一致, 研究人员在 NK 细胞结合实验中探究了浓度为 10 g·L⁻¹ 的人血清 IgG 是否会抑制 AFM24 或作为对照的抗 EGFR IgG₁ 与 CD16A 之间的结合。结果表明 AFM24 与 CD16A 的结合能力仅被人 IgG 轻度抑制, 而作为对照的抗 EGFR IgG₁ 抗体与 CD16A 的结合能力被显著抑制, 表明 CD16A 与 AFM24 及 IgG Fc 的结合表位不相重叠^[42]。AFM24 可以对不同 EGFR 表达水平及不同 *KRAS/BRAF* 基因型的肿瘤细胞发挥强效的 ADCC 及 ADCP 功能, 并在食蟹猴模型中被证明最高可以达到 75 mg·kg⁻¹

的药物耐受剂量^[42], 总体说明该分子具有较好的抗肿瘤活性和安全性。

由于 EGFR 在正常组织中存在一定的表达, 募集免疫细胞的双特异性抗体很容易引发非特异性靶向 (on-target off-tumor) 毒性。为了解决这一问题, 基于前抗体药物 (probody) 技术平台, CytomX 公司于 2013 年开发了一种可在 TME 特异性激活的 EGFR/CD3 双特异性抗体 CI107 (CX-904), 以期降低双特异性抗体的毒性^[43]。Probody 技术平台首先将 cetuximab 轻链 N 端与一段遮蔽肽 (masking peptide) 通过对 TME 特异性蛋白酶敏感的连接子连接在一起, 实现抗原结合表位在正常组织中被遮蔽而在 TME 中特异性暴露的效果^[44]。CI107 是将源于抗 CD3 抗体 SP34 的 scFv 连接融合在 cetuximab 重链 N 端, 同时将遮蔽肽分别连接在 cetuximab 轻链和 scFv 的 N 端所得。得益于 TME 特异性激活的连接子及遮蔽肽的存在, 未激活的 CI107 在细胞实验和动物模型中只有在较高浓度时才会引起 T 细胞的激活以及细胞因子的释放, 此外高浓度的 CI107 不会引起谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 的释放, 安全性较传统双特异性抗体得到提高^[43]。

除了利用条件性激活技术改善双特异性抗体的肿瘤选择性外, 选择肿瘤特异性表达的 EGFR 突变体也是一个方向。EGFRvIII 是一种肿瘤特异性的、胞外区截短的突变体, 其丧失了结合 EGF 的能力而转化为组成型活化激酶, 在胶质母细胞瘤 (glioblastoma multiforme, GBM) 等部分肿瘤中发挥促进肿瘤生长的作用^[6]。AMG-596 是由安进研发的一款靶向 EGFRvIII 和 CD3 的 BiTE, 由 2 个 scFv 连接而成。AMG-596 在体外细胞水平显示出 EGFRvIII 依赖的 T 细胞激活及促使 GBM 细胞裂解的效应; 在食蟹猴安全性实验中, 最高剂量的 (稳态血药浓度为 $355 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) AMG-596 未引起毒性反应及 T 细胞激活效应^[45]。该研究表明 AMG-596 可被良好耐受, EGFRvIII 和 CD3 这 2 种抗原同时存在是该 BiTE 发挥效应的必要条件。

2.2.2 EGFR 与另一靶点位于同一细胞 研究表明, 在 EGFR 表达异常的肿瘤细胞上通常伴随其他肿瘤

相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA), 如同属 RTK 的 HER2、c-MET、IGF-1R 等的异常表达和激活, 这也是对 EGFR 靶向疗法的耐药机制之一^[46]。同时靶向多个特定的 TAA 抗原蛋白, 不仅有希望克服由旁路信号激活而产生的耐药性, 在合适的亲和力组合下双特异性抗体还可以增加抗体对肿瘤细胞的特异性识别, 改善安全性。例如 Sellmann^[47] 研究发现, EGFR × c-MET 双特异性抗体两臂的不同亲和力组合对于肿瘤特异性识别及治疗窗扩大具有重要影响。由于 EGFR 在上皮细胞等正常细胞中本底表达较高, 在双特异性抗体设计时如果选择对 EGFR 的亲和力较低而对 c-MET 的亲和力较高, 这种类型的双特异性抗体会对正常细胞具有较低亲和力、对肿瘤细胞具有较高的特异性^[48]。

MET 基因扩增是一类常见的 EGFR 靶向疗法耐药机制, 同时抑制 EGFR 和 c-MET 具有潜在克服耐药性的效果。由杨森研发的 amivantamab (商品名: Rybrevant) 是一种同时靶向 EGFR 和 c-MET 的双特异性抗体, 于 2021 年被 FDA 批准用于治疗 EGFR 20 号外显子插入突变的 NSCLC 患者^[48]。Amivantamab 是通过可控的 Fab 臂交换 (controlled Fab-arm exchange, cFAE) 平台制备得到的 IgG₁ 全人源双特异性抗体, 其采用中国仓鼠卵巢细胞 (Chinese hamster ovary cell, CHO cell) 表达系统降低抗体 Fc 端岩藻糖基化水平从而增强 ADCC 活性^[49-50]。体外研究表明, amivantamab 能够下调不同类型 NSCLC 细胞系的 EGFR 及 c-MET 介导的信号通路。这种效应既可以不依赖于 Fc, 通过阻断靶点与配体结合进而抑制靶点蛋白的二聚化或通过介导靶点蛋白内化下调下游相关信号通路^[49,51]; 也可以依赖于 Fc 与单核细胞或巨噬细胞表面 Fc 受体的相互作用, 通过抗体依赖的细胞吞噬作用 (antibody-dependent cellular trogocytosis, ADCT) 使肿瘤细胞表面的 EGFR、c-MET 转移到单核细胞及巨噬细胞中, 进而抑制下游信号^[52]。一项名为 CHRYSALIS 的 I 期临床研究 (NCT02609776) 的初步结果表明, amivantamab 在铂类化疗后进展的携带 EGFR 20 号外显子插入突变的 NSCLC 患者中具有可耐受的安全性^[53]。CHRYSALIS-2 研究 (NCT04077463) 表明,

经阿法替尼治疗进展的患者接受 amivantamab 联合拉泽替尼治疗的客观缓解率 (objective response rate, ORR) 达到 50%。名为 PAPPILLON 的 III 期临床研究 (NCT04538664) 结果也显示, 新诊断为 EGFR 20 号外显子插入突变的晚期或转移性 NSCLC 的患者接受 amivantamab 联合化疗的无进展生存期 (progression-free survival, PFS) 为 11.4 个月 (一线化疗组为 6.7 个月), ORR 为 73% (一线化疗组为 47%), 其改善具有统计学显著性和临床意义。

Petosemtamab (MCLA-158) 是由 Merus 研发的可同时靶向 EGFR 和 LGR5 的双特异性抗体, 该产品是基于公司独有的 Biclonics 技术平台, 通过在 Fc 区域进行 DEKK 突变防止重链错配以及采用共同轻链的策略制备得到的双价 “1+1” 形式非对称双特异性抗体^[54]。LGR5 是一种 G 蛋白偶联受体, 其异常表达对肿瘤的生长和扩散起重要作用, 是多种肿瘤干细胞的生物标志物^[55]。研究人员使用来源于结肠癌患者及健康人群结肠黏膜的 2 种类器官文库, 从药效和安全性两方面对双特异性抗体进行高通量筛选, 发现 MCLA-158 能够抑制结肠癌类器官的生长, 降解 LGR5 阳性肿瘤干细胞表达的 EGFR 蛋白, 但对正常的结肠干细胞毒性较小^[56]。一项 I/II 期临床试验 (NCT03526835) 的初步结果显示, 部分接受过免疫治疗和铂类药物化疗的晚期 HNSCC 患者对 MCLA-158 产生一定的应答, 总体 ORR 为 37.2%, 且安全性可控。

双/多特异性抗体均是在单抗的基础上进行改造, 这种非天然结构在纯度和分子稳定性上可能会存在潜在的问题。对于含有 2 个 Fab 区的类 IgG 双特异性抗体, 重链与轻链以及重链间可能发生错配, 进而影响抗体纯度^[57]。为了解决这一问题, 研究人员通过引入共同轻链 (common light chain, cLC)、杵臼结构 (knob-into-hole, KiH) 以及 cFAE 等策略最大程度地减少错配的发生^[58]。对于结构中引入抗体片段 (如 scFv) 和连接子的双/多特异性抗体, 结构的特殊性为分子的稳定性和成药性带来了一定的挑战。scFv 的重链可变区 (variable region of heavy chain, V_H) 和轻链可变区 (variable region of light chain, V_L) 容易解离并与其他 scFv

重组, 进一步形成聚体, 有研究人员通过引入二硫键来稳定 scFv 的结构^[59-60]; 另外, 连接子的长短和类型也会影响双/多特异性抗体分子的聚集或断裂风险。因此在开发双/多特异性抗体过程中, 需要设计多种不同模式的抗体候选分子, 通过多个方面筛选获得兼具生物功能和成药性的最优分子。

3 靶向表皮生长因子受体的抗体偶联物

3.1 抗体药物偶联物

ADC 是近年来抗体药物研发的热门方向之一, 其作用方式是将抗体的靶向性和有效载荷 (payload) 的杀伤活性有机结合起来。ADC 将细胞毒药物携带至靶细胞附近, 通过抗体的内化将小分子药物释放到靶细胞内, 进而造成靶细胞的死亡。

MRG003 是由乐普生物研发的靶向 EGFR 的 ADC 产品, 其使用缬氨酸-瓜氨酸 (valine-citrulline, VC) 连接子将微管蛋白抑制剂单甲基澳瑞他汀 E (monomethyl auristatin E, MMAE) 偶联在全人源抗 EGFR 单抗上, 药物-抗体比 (drug-to-antibody ratio, DAR) 为 4。I 期临床研究 (NCT04868344) 结果显示, MRG003 具有可控的安全性, 同时对 EGFR 阳性的 HNSCC 及 NPC 患者表现出优秀的抗肿瘤活性^[61]。值得注意的是, 在该研究的 Ib 阶段有 15 例患者 (38%) 既往接受过抗 EGFR 单抗治疗, 在 MRG003 治疗后 ORR 均达到 50%, 说明 MRG003 对经过抗 EGFR 单抗治疗进展的患者仍具有一定抗肿瘤活性。目前正在针对晚期 HNSCC 和 NPC 患者的 II 期临床研究。

ABT-414 (通用名: depatuxizumab mafodotin) 是由艾伯维研发的靶向 EGFR ADC 药物, 其单抗部分 ABT-806 靶向 EGFR CR1 区的肿瘤特异性表位, 并使用可裂解的 VC 连接子偶联单甲基澳瑞他汀 F (MMAF), DAR 为 4。临床前研究表明, ABT-414 对 EGFR 过表达或 EGFR 突变的肿瘤细胞均可进行选择性的杀伤, 同时在多种移植瘤模型中展现出显著的肿瘤抑制活性^[62]。一项 I 期临床研究 (NCT01800695) 结果表明, ABT-414 单药或与替莫唑胺 (temozolomide, TMZ)、放射疗法 (radiotherapy, RT) 联合治疗 GBM 患者时具有可

管理的安全性以及可接受的药代动力学特征。然而, 一项在新诊断的伴有 *EGFR* 扩增的胶质母细胞瘤病人中进行的 II/III 期研究 (NCT02573324) 由于缺乏生存获益, 于 2019 年终止。

BL-B01D1 是由百利天恒自主研发的靶向 *EGFR/HER3* 的双特异性 ADC, 其抗体部分由高亲和力的抗 *EGFR* IgG₁ 和 2 个连接在 C 端的低亲和力抗 *HER3* scFv 组成, 通过可裂解的连接子将喜树碱衍生物 Ed-04 偶联在抗体分子的半胱氨酸位点上。在 2023 年美国临床肿瘤学会 (American Society of Clinical Oncology, ASCO) 大会上, 研究人员汇报了 BL-B01D1 治疗实体瘤的 I 期临床研究 (NCT05194982) 数据, 该研究结果显示 BL-B01D1 在局部晚期或转移性实体瘤患者中表现良好的可耐受性、安全性及疗效。BL-B01D1 在 *EGFR* 野生型/突变型 NSCLC 及鼻咽癌这 3 类病人群中展现出最好的疗效, ORR 分别为 44.9%、63.2% 和 53.6%。所有 *EGFR* 突变的 NSCLC 患者既往均接受过 *EGFR*-TKI 治疗, 且 68% 的患者接受过铂类药物化疗, 说明 BL-B01D1 可有效解决 *EGFR*-TKI 耐药的问题。

ADC 作为一种靶向化疗药物相较于小分子化药具有靶向性高的优势, 其经标准化的最大耐受剂量 (maximum tolerated dose, MTD) 理论上较对应的有效载荷更大, 然而目前临床试验结果并没有显示出 ADC 分子在这方面的优势。使用同类有效载荷靶向不同靶点的 ADC 显示出相似的 MTD, 说明有效载荷引发的非特异性毒性是决定 ADC 分子 MTD 的重要因素^[63]。此外, 由于 *EGFR* 在正常组织中的本底表达较高、肿瘤特异性较差, 靶向 *EGFR* 的 ADC 常出现比较严重的靶点依赖性毒性, 因此在分子设计时需要更加谨慎地从抗体、连接子、偶联方式和有效载荷多个方面进行改造优化, 在降低脱靶毒性的同时, 控制对正常组织产生的非特异性靶向毒性, 以进一步提高治疗窗^[64]。

3.2 其他抗体偶联物

ADC 的设计思路同样适用于除小分子化药外的其他物质, 将这些活性物质与抗体分子偶联在一起得到的偶联物可以通过不同机制对靶细胞产生影响。

近红外光免疫疗法 (near-infrared photoimmunotherapy, NIR-PIT) 是一种基于水溶性硅酞菁衍生物 IRdye700DX (IR700) 和肿瘤靶向性单克隆抗体的分子靶向光疗策略, 其核心分子为抗体光吸收剂偶联物 (antibody-photoabsorber conjugate, APC)^[65]。由 Rakuten Medical 研发的一款靶向 *EGFR* 的药物 RM-1929 (通用名: cetuximab saratolacan, 商品名: Akalux) 是 NIR-PIT 在肿瘤靶向治疗中的一个成功尝试。由于 IR700 在近红外光照射下会发生光化学反应, 释放其亲水侧链, 使得与肿瘤细胞表面抗原结合的 APC 分子的疏水性提高, 这种 APC-抗原复合物物理化学性质的改变破坏了细胞膜的完整性, 最终引起肿瘤细胞裂解^[66]。在这种作用机制下, 周围不表达靶点抗原的细胞不会被 APC 破坏, 同时靶细胞内容物的流出也会激活免疫系统, 进一步发挥持续的抗肿瘤效应。一项在局部复发性 HNSCC 患者中进行的 I/IIa 期多中心、开放标签的临床研究 (NCT02422979) 结果显示, RM-1929 可被良好耐受 (推荐剂量为 640 mg·m⁻²), 确认的 ORR 为 26.7%, 中位总生存期 (overall survival, OS) 为 9.3 个月^[67]。由于该临床试验病例数仅为 30 人, 目前正在进行样本量更多的 III 期临床试验 (NCT03769506)。需强调的是, RM-1929 在临床应用中具有局限性, 它无法对位于近红外光不能顺利照射的区域的肿瘤起到杀伤作用。

除了对肿瘤细胞直接起到杀伤效应外, 靶向降解细胞表面 *EGFR* 是抑制肿瘤细胞生长的另一可能机制。溶酶体靶向嵌合体 (lysosome targeting chimera, LYTAC) 是一种基于抗体的蛋白靶向降解剂, 这种抗体偶联物可以与细胞表面的溶酶体靶向受体 (lysosome targeting receptor, LTR) 结合, 进而将分泌型或膜结合型蛋白携带至溶酶体发挥靶向降解功能。已有研究表明, 将 cetuximab 与包含甘露糖-6-磷酸酯 (mannose-6-phosphonate, M6Pn) 或 *N*-乙酰半乳糖胺 (*N*-acetylgalactosamine, GalNAc) 的糖肽侧链偶联在一起得到的 M6Pn-LYTAC 或 GalNAc-LYTAC, 在与 *EGFR* 结合的同时分别可以和阳离子非依赖的甘露糖-6-磷酸受体 (cation-independent mannose-6-phosphate receptor,

CI-M6PR)或去唾液酸糖蛋白受体(asialoglycoprotein receptor, ASGPR)结合,进一步形成EGFR-LYTAC-LTR复合物。这种复合物在LTR的作用下被内吞进入溶酶体,实现EGFR的靶向降解^[68-69]。值得一提的是,ASGPR是一种特异性分布于肝组织的LTR^[70],因此GalNAc-LYTAC可以实现组织特异性降解,具有较好的安全性。LYTAC技术弥补了蛋白降解靶向嵌合体(proteolysis targeting chimera, PROTAC)技术在胞外蛋白靶向降解方面的缺陷,同时也是抗体偶联物领域的一个新研究方向,然而在筛选其他具有特异性表达特征的LTR分子、优化LYTAC合成路线、研究LYTAC的药代动力学及毒理学特征等方面仍需进一步的研究。

4 结语与展望

EGFR异常表达及突变是多种肿瘤发生发展的重要诱因,是肿瘤靶向治疗的热门靶点之一。已上市的小分子EGFR-TKI和单克隆抗体在癌症治疗领域占据了一席之地,然而用药过程中继发的获得性

耐药使得药物疗效减弱甚至丧失,这类病人群体需要新的治疗药物以解决未被满足的临床需求。为了更好应对这一现状,新一代靶向药物,包括可克服C797S突变的第4代TKI以及新型生物大分子药物,正处于研发阶段。随着人们对癌症相关分子生物学机制、蛋白质工程领域研究的深入,在更丰富的结构形式与作用机制方面对抗体药物进行创新研发是获得更加安全、有效的EGFR靶向药物的方向之一。目前有越来越多的双特异性抗体、ADC进入临床研究阶段,更有新一代抗体偶联物处于临床前开发阶段。值得注意的是,虽然双特异性抗体、ADC等不同于传统单抗的抗体药物形式在作用机制及临床前研究结果方面可能显示出更优的疗效与安全性,但人体不同于实验动物的药代动力学特征、肿瘤复杂的微环境和异质性都可能对双特异性抗体和ADC的临床研究结果产生影响。相信随着技术的发展,EGFR靶向药物面临的耐药性和毒性问题终会得到解决,同时也期待更多满足患者临床用药需求的EGFR靶向药获得上市许可。

[参考文献]

- [1] Bejarano L, Jordão M J C, Joyce J A. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(4): 933-959.
- [2] Joo W D, Visintin I, Mor G. Targeted cancer therapy—are the days of systemic chemotherapy numbered?[J]. *Maturitas*, 2013, 76(4): 308-314.
- [3] Liu X, Wang P, Zhang C, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR): a rising star in the era of precision medicine of lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(30): 50209-50220.
- [4] Nair S, Bonner J A, Bredel M. EGFR mutations in head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(7): 3818. DOI: 10.3390/ijms23073818.
- [5] Cheng W L, Feng P H, Lee K Y, et al. The role of EREG/EGFR pathway in tumor progression[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(23): 12828. DOI: 10.3390/ijms222312828.
- [6] An Z, Aksoy O, Zheng T, et al. Epidermal growth factor receptor and EGFRvIII in glioblastoma: signaling pathways and targeted therapies[J]. *Oncogene*, 2018, 37(12): 1561-1575.
- [7] Ercan D, Choi H G, Yun C H, et al. EGFR mutations and resistance to irreversible pyrimidine-based EGFR inhibitors[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(17): 3913-3923.
- [8] Planchard D, Loriot Y, André F, et al. EGFR-independent mechanisms of acquired resistance to AZD9291 in EGFR T790M-positive NSCLC patients[J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(10): 2073-2078.
- [9] Passaro A, Jänne P A, Mok T, et al. Overcoming therapy resistance in EGFR-mutant lung cancer[J]. *Nat Cancer*, 2021, 2(4): 377-391.
- [10] Li S, Schmitz K R, Jeffrey P D, et al. Structural basis for inhibition of the epidermal growth factor receptor by cetuximab[J]. *Cancer Cell*, 2005, 7(4): 301-311.
- [11] Bai X, Sun P, Wang X, et al. Structure and dynamics of the EGFR/HER2 heterodimer[J]. *Cell Discov*, 2023, 9(1): 18. DOI:10.1038/s41421-023-00523-5.
- [12] Freed D M, Bessman N J, Kiyatkin A, et al. EGFR ligands differentially stabilize receptor dimers to specify signaling kinetics[J]. *Cell*, 2017, 171(3): 683-695.
- [13] Sharifi J, Khirehgesh M R, Safari F, et al. EGFR and anti-EGFR nanobodies: review and update[J]. *J Drug Target*, 2021, 29(4): 387-

- 402.
- [14] Amelia T, Kartasasmita R E, Ohwada T, *et al.* Structural insight and development of EGFR tyrosine kinase inhibitors[J]. *Mol Basel Switz*, 2022, 27(3): 819. DOI: 10.3390/molecules27030819.
- [15] Castellanos E, Feld E, Horn L. Driven by mutations: the predictive value of mutation subtype in EGFR-mutated non-small cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12(4): 612–623.
- [16] Zinn S, Vazquez-Lombardi R, Zimmermann C, *et al.* Advances in antibody-based therapy in oncology[J]. *Nat Cancer*, 2023, 4(2): 165–180.
- [17] Kirkpatrick P, Graham J, Muhsin M. Cetuximab[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, 3(7): 549–550.
- [18] Merlano M, Occeili M. Review of cetuximab in the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2007, 3(5): 871–876.
- [19] Trivedi S, Srivastava R M, Concha-Benavente F, *et al.* Anti-EGFR targeted monoclonal antibody isotype influences antitumor cellular immunity in head and neck cancer patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(21): 5229–5237.
- [20] Srivastava R M, Lee S C, Andrade Filho P A, *et al.* Cetuximab-activated natural killer and dendritic cells collaborate to trigger tumor antigen-specific T-cell immunity in head and neck cancer patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(7): 1858–1872.
- [21] Seo Y, Ishii Y, Ochiai H, *et al.* Cetuximab-mediated ADCC activity is correlated with the cell surface expression level of EGFR but not with the KRAS/BRAF mutational status in colorectal cancer[J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(5): 2115–2122.
- [22] Xie Y H, Chen Y X, Fang J Y. Comprehensive review of targeted therapy for colorectal cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5: 22. DOI: 10.1038/s41392-020-0116-z.
- [23] Taberna M, Oliva M, Mesía R. Cetuximab-containing combinations in locally advanced and recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 383. DOI: 10.3389/fonc.2019.00383.
- [24] Mazzarella L, Guida A, Curigliano G. Cetuximab for treating non-small cell lung cancer[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2018, 18(4): 483–493.
- [25] Vukovic N, Van Elsas A, Verbeek J S, *et al.* Isotype selection for antibody-based cancer therapy[J]. *Clin Exp Immunol*, 2021, 203(3): 351–365.
- [26] London M, Gallo E. Epidermal growth factor receptor (EGFR) involvement in epithelial-derived cancers and its current antibody-based immunotherapies[J]. *Cell Biol Int*, 2020, 44(6): 1267–1282.
- [27] Sickmier E A, Kurzeja R J M, Michelsen K, *et al.* The panitumumab EGFR complex reveals a binding mechanism that overcomes cetuximab induced resistance[J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0163366. DOI: 10.1371/journal.pone.0163366.
- [28] Bagchi A, Haidar J N, Eastman S W, *et al.* Molecular basis for necitumumab inhibition of EGFR variants associated with acquired cetuximab resistance[J]. *Mol Cancer Ther*, 2018, 17(2): 521–531.
- [29] Ettinger D S, Wood D E, Aisner D L, *et al.* Non-small cell lung cancer, version 3.2022, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2022, 20(5): 497–530.
- [30] Arena S, Bellosillo B, Siravegna G, *et al.* Emergence of multiple EGFR extracellular mutations during cetuximab treatment in colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(9): 2157–2166.
- [31] 罗鑫, 孙继红, 李佳妮, 等. 新一代表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂在非小细胞肺癌中的研究进展 [J]. *药学进展*, 2022, 46(5): 369–378.
- [32] Zhou J, Ji Q, Li Q. Resistance to anti-EGFR therapies in metastatic colorectal cancer: underlying mechanisms and reversal strategies[J]. *J Exp Clin Cancer Res CR*, 2021, 40: 328. DOI: 10.1186/s13046-021-02130-2.
- [33] Pedersen M W, Jacobsen H J, Koefoed K, *et al.* Sym004: a novel synergistic anti-epidermal growth factor receptor antibody mixture with superior anticancer efficacy[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(2): 588–597.
- [34] Jones S, King P J, Antonescu C N, *et al.* Targeting of EGFR by a combination of antibodies mediates unconventional EGFR trafficking and degradation[J]. *Sci Rep*, 2020, 10: 663. DOI:10.1038/s41598-019-57153-9.
- [35] Fukuoka S, Kojima T, Koga Y, *et al.* Preclinical efficacy of Sym004, novel anti-EGFR antibody mixture, in esophageal squamous cell carcinoma cell lines[J]. *Oncotarget*, 2016, 8(7): 11020–11029.
- [36] Sánchez-Martín F J, Bellosillo B, Gelabert-Baldrich M, *et al.* The first-in-class anti-EGFR antibody mixture sym004 overcomes cetuximab resistance mediated by EGFR extracellular domain

- mutations in colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(13): 3260–3267.
- [37] Zhang W, Han X, Yang L, *et al.* Safety, pharmacokinetics and efficacy of SCT200, an anti-EGFR monoclonal antibody in patients with wild-type KRAS/NRAS/BRAF metastatic colorectal cancer: a phase I dose-escalation and dose-expansion study[J]. *BMC Cancer*, 2022, 22: 1104. DOI: 10.1186/s12885-022-10147-9.
- [38] Lim Y, Yoo J, Kim M S, *et al.* GC1118, an anti-EGFR antibody with a distinct binding epitope and superior inhibitory activity against high-affinity EGFR ligands[J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(2): 251–263.
- [39] 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. DOI:10.1186/s40364-021-00294-9.
- [40] Shin H G, Yang H R, Yoon A, *et al.* Bispecific antibody-based immune-cell engagers and their emerging therapeutic targets in cancer immunotherapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(10): 5686. DOI: 10.3390/ijms23105686.
- [41] Ellwanger K, Reusch U, Fucek I, *et al.* Redirected optimized cell killing (ROCK[®]): A highly versatile multispecific fit-for-purpose antibody platform for engaging innate immunity[J]. *mAbs*, 2019, 11(5): 899–918.
- [42] Wingert S, Reusch U, Knackmuss S, *et al.* Preclinical evaluation of AFM24, a novel CD16A-specific innate immune cell engager targeting EGFR-positive tumors[J]. *mAbs*, 2021, 13(1): 1950264. DOI: 10.1080/19420862.2021.1950264.
- [43] Boustany L M, LaPorte S L, Wong L, *et al.* A probody T cell-engaging bispecific antibody targeting EGFR and CD3 inhibits colon cancer growth with limited toxicity[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(22): 4288–4298.
- [44] Desnoyers L R, Vasiljeva O, Richardson J H, *et al.* Tumor-specific activation of an EGFR-targeting probody enhances therapeutic index[J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(207): 207ra144. DOI: 10.1126/scitranslmed.3006682.
- [45] Sternjak A, Lee F, Thomas O, *et al.* Preclinical assessment of AMG 596, a bispecific T-cell engager (BiTE) immunotherapy targeting the tumor-specific antigen EGFRvIII[J]. *Mol Cancer Ther*, 2021, 20(5): 925–933.
- [46] Liu Q, Yu S, Zhao W, *et al.* EGFR-TKIs resistance via EGFR-independent signaling pathways[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 53. DOI:10.1186/s12943-018-0793-1.
- [47] Sellmann C. Balancing selectivity and efficacy of bispecific antibodies[J]. *New Biotechnol*, 2016, 33: 25106–25119.
- [48] Cho B C, Simi A, Sabari J, *et al.* Amivantamab, an epidermal growth factor receptor (EGFR) and mesenchymal-epithelial transition factor (MET) bispecific antibody, designed to enable multiple mechanisms of action and broad clinical applications[J]. *Clin Lung Cancer*, 2023, 24(2): 89–97.
- [49] Moores S L, Chiu M L, Bushey B S, *et al.* A novel bispecific antibody targeting EGFR and cMet is effective against EGFR inhibitor-resistant lung tumors[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(13): 3942–3953.
- [50] Grugan K D, Dorn K, Jarantow S W, *et al.* Fc-mediated activity of EGFR x c-Met bispecific antibody JNJ-61186372 enhanced killing of lung cancer cells[J]. *mAbs*, 2017, 9(1): 114–126.
- [51] Yun J, Lee S H, Kim S Y, *et al.* Antitumor activity of amivantamab (JNJ-61186372), an EGFR-MET bispecific antibody, in diverse models of EGFR exon 20 insertion-driven NSCLC[J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(8): 1194–1209.
- [52] Vijayaraghavan S, Lipfert L, Chevalier K, *et al.* Amivantamab (JNJ-61186372), an Fc enhanced EGFR/cMet bispecific antibody, induces receptor downmodulation and antitumor activity by monocyte/macrophage trogocytosis[J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(10): 2044–2056.
- [53] Park K, Haura E B, Leigh N B, *et al.* Amivantamab in EGFR exon 20 insertion-mutated non-small-cell lung cancer progressing on platinum chemotherapy: initial results from the CHRYSALIS phase I study[J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(30): 3391–3402.
- [54] De Nardis C, Hendriks L J A, Poirier E, *et al.* A new approach for generating bispecific antibodies based on a common light chain format and the stable architecture of human immunoglobulin G1[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(35): 14706–14717.
- [55] De Sousa e Melo F, Kurtova A V, Hamoss J M, *et al.* A distinct role for LGR5⁺ stem cells in primary and metastatic colon cancer[J]. *Nature*, 2017, 543(7647): 676–680.
- [56] Herpers B, Eppink B, James M I, *et al.* Functional patient-derived organoid screenings identify MCLA-158 as a therapeutic EGFR × LGR5 bispecific antibody with efficacy in epithelial tumors[J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(4): 418–436.
- [57] Li Y. A brief introduction of IgG-like bispecific antibody purification:

- methods for removing product-related impurities[J]. *Protein Expr Purif*, 2019, 155: 112–119.
- [58] Shim H. Bispecific antibodies and antibody-drug conjugates for cancer therapy: technological considerations[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(3): 360. DOI: 10.3390/biom10030360.
- [59] Wörn A, Plückthun A. Stability engineering of antibody single-chain Fv fragments[J]. *J Mol Biol*, 2001, 305(5): 989–1010.
- [60] Boucher L E, Prinslow E G, Feldkamp M, et al. “Stapling” scFv for multispecific biotherapeutics of superior properties[J]. *mAbs*, 2023, 15(1): 2195517. DOI: 10.1080/19420862.2023.2195517.
- [61] Qiu M Z, Zhang Y, Guo Y, et al. Evaluation of safety of treatment with anti-epidermal growth factor receptor antibody drug conjugate MRG003 in patients with advanced solid tumors: a phase 1 nonrandomized clinical trial[J]. *JAMA Oncol*, 2022, 8(7): 1042–1046.
- [62] Phillips A C, Boghaert E R, Vaidya K S, et al. ABT-414, an antibody-drug conjugate targeting a tumor-selective EGFR epitope[J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(4): 661–669.
- [63] Colombo R, Rich J R. The therapeutic window of antibody drug conjugates: a dogma in need of revision[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(11): 1255–1263.
- [64] Gerber H P, Gangwar S, Betts A. Therapeutic index improvement of antibody-drug conjugates[J]. *mAbs*, 2023, 15(1): 2230618. DOI: 10.1080/19420862.2023.2230618.
- [65] Kobayashi H, Choyke P L. Near-infrared photoimmunotherapy of cancer[J]. *Acc Chem Res*, 2019, 52(8): 2332–2339.
- [66] Kobayashi H, Furusawa A, Rosenberg A, et al. Near-infrared photoimmunotherapy of cancer: a new approach that kills cancer cells and enhances anti-cancer host immunity[J]. *Int Immunol*, 2020, 33(1): 7–15.
- [67] Cognetti D M, Johnson J M, Curry J M, et al. Phase 1/2a, open-label, multicenter study of RM-1929 photoimmunotherapy in patients with locoregional, recurrent head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Head Neck*, 2021, 43(12): 3875–3887.
- [68] Banik S M, Pedram K, Wisnovsky S, et al. Lysosome-targeting chimaeras for degradation of extracellular proteins[J]. *Nature*, 2020, 584(7820): 291–297.
- [69] Ahn G, Banik S M, Miller C L, et al. LYTACs that engage the asialoglycoprotein receptor for targeted protein degradation[J]. *Nat Chem Biol*, 2021, 17(9): 937–946.
- [70] Zimmermann T S, Karsten V, Chan A, et al. Clinical proof of concept for a novel hepatocyte-targeting GalNAc-siRNA conjugate[J]. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther*, 2017, 25(1): 71–78.



【专家介绍】张娟：中国药科大学教授，博士生导师，中国药科大学生命科学与技术学院生物药物系主任。中国药科大学与英国帝国理工学院联合培养博士，美国加州大学洛杉矶分校（UCLA）访问学者，江苏省教育厅“青蓝工程”中青年学术带头人，江苏省委组织部“333工程”第三层次培养对象，江苏省生化与分子生物学学会理事，江苏省药学会生物技术与生物药物专委会委员，中国医药生物技术协会单克隆抗体专委会委员，中国生化制药工业协会重组药物分会委员，获得中国药学会青年生物药物科学家奖等。所带领的抗体工程实验室深耕抗肿瘤抗体药物领域，开展单抗、双抗、ADC等药物的研究与开发。主持国家自然科学基金等国家或省部级项目多项，广泛开展多方位校企合作。以第一或通信作者在 *Cancer Res*、*APSB*、*Cancer Lett* 等 SCI 期刊发表论文 50 余篇，拥有国家授权发明专利 10 余项。