• 专题:双清论坛“组合靶标与原创药物” •
DOI: 10.3724/BNSFC-2025-0015

组合靶标在大分子药物中的研究现状与前景展望*

付雅媛 王 琼 唐任宏**

神经与肿瘤药物研发全国重点实验室 江苏先声药业有限公司,南京 210042

[摘 要] 基于组合靶标的双特异性抗体能够识别相同或不同靶标上的两个或更多个表位。该领域经历了从最初开始关注双特异性抗体到美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准BiTE(双特异性T细胞接合剂)疗法的渐进式演变,在过去二十多年中取得了巨大进步。得益于蛋白质工程技术的进步和大量的临床前研究投入,双特异性抗体不断被开发和优化,以提高其疗效并降低毒性。本文重点介绍了当前双特异性抗体在癌症治疗中的开发挑战、潜在解决方案以及未来方向。

[关键词] 双特异性抗体;抗体偶联药物;T细胞衔接器;肿瘤免疫治疗

癌症是最严重的疾病之一,对人类生命和健康构成重大威胁。美国2022年癌症统计报告显示,即使在治疗手段非常先进的时代,每天仍有近1 700人死于各种癌症。在癌症治疗中,肿瘤免疫疗法的免疫检查点抑制剂(Immune Checkpoint Inhibitor,ICI)、T细胞衔接器(T-Cell Engager,TCE)、抗体偶联药物(Antibody-Drug Conjugate,ADC)、肿瘤免疫细胞治疗等正日益受到重视。ICI虽然改善了某些患者的长期生存率和生活质量,然而许多患者在接受ICI治疗后反应有限、临床疗效不佳[1]。TCE因在血液系统恶性肿瘤治疗中的成功而备受关注,然而由于实体瘤具有肿瘤异质性、免疫抑制性肿瘤微环境、免疫细胞浸润不足等特性导致其研发进展缓慢。ADC通过将单克隆抗体的选择特异性与化学药物分子的细胞毒性相结合,选择性地靶向癌细胞,同时最大限度地降低全身毒性,旨在提高肿瘤治疗窗。然而,ADC的开发依然面临着诸多挑战,包括确定合适的靶抗原,优化接头和连接子、确定有效载荷,以及管理耐药机制和副作用。

近年来,基于组合靶标的双特异性抗体(Bispecific Antibody,BsAb)已成为肿瘤治疗的一种全新策略。双特异性抗体将两个或多个不同的抗原靶点结合在单个抗体分子中,有可能提高临床疗效和安全性,甚至达到1+1>2的效果。通过组合不同的靶标可以将其分为以下几大类:(1)效应细胞接合器。抗体的一端招募T细胞或NK细胞等免疫效应细胞,而另一端识别肿瘤相关抗原,实现效应细胞重定向至肿瘤组织以杀死肿瘤细胞。此外,效应T细胞等免疫细胞的活化诱导的细胞因子释放促进其他免疫细胞的募集,从而增强对肿瘤的免疫反应。(2)肿瘤靶向免疫调节剂。这些抗体同时靶向肿瘤抗原和免疫调节受体以激活肿瘤微环境(Tumor Micro Environment,TME)中的免疫反应,从而增强效应细胞的选择性杀伤并减少全身免疫激活的副作用。(3)双重免疫调节剂。将不同机制的免疫调节靶点组合在一起以实现重叠或协同的抗肿瘤作用。(4)双重肿瘤靶向抗体或ADC。这些抗体的作用机制包括通过靶向不同的致癌信号通路来抑制肿瘤增殖、转移和血管生成;靶向不同的肿瘤相关抗原或相同肿瘤抗原的不同表位,达到增强肿瘤特异性、避免肿瘤异质性造成的耐药以及介导更强的内吞等目的。(5)其他不同抗肿瘤机制组合的双功能分子等。本文将重点探讨组合靶标在恶性肿瘤中的发展以及通过组合靶标解决肿瘤抗原变化相关耐药机制的潜力。

1 基于组合靶标的双特异性抗体的发展

与其他形式的免疫疗法和靶向疗法不同,双特异性

收稿日期:2025-07-18; 修回日期:2025-11-06

* 本文根据国家自然科学基金委员会第399期“双清论坛”讨论的内容整理。

** 通信作者,Email:renhong.tang@zaiming.com

引用格式: 付雅媛,王琼,唐任宏. 组合靶标在大分子药物中的研究现状与前景展望. 中国科学基金,2026,40(2):251–261.
Fu YY, Wang Q, Tang RH. Progress and prospects of combined targets in macromolecular drugs. Bulletin of National Natural Science Foundation of China, 2026, 40(2): 251–261. (in Chinese)

抗体可以靶向多种靶标，独特的结构和多种设计可能性使其具有多种作用机制[2]。(1)免疫细胞接合器桥接肿瘤细胞和免疫细胞，发挥直接杀伤作用：(i)双特异性抗体结合T细胞受体(T Cell Receptor，TCR)的分化簇3(Cluster of Differentiation 3，CD3)亚基和选定的肿瘤相关抗原，以促进两种细胞类型之间形成免疫突触从而激活T细胞，T细胞可释放穿孔素和颗粒酶来裂解肿瘤细胞。(ii)双特异性γδT 细胞接合剂同时结合Vγ9Vδ2受体和特定肿瘤相关抗原(Tumor-Associated Antigens，TAA)以激活T细胞、释放穿孔素和颗粒酶并裂解肿瘤细胞。(iii)双特异性自然杀伤(Natural Killer，NK)细胞接合剂同时结合CD16受体和特定TAA以激活NK细胞、释放穿孔素和颗粒酶并裂解肿瘤细胞。(2)靶向免疫检查点(Immune Checkpoint，ICP)抗体协同增效。(i)双重ICP阻断的双特异性抗体同时结合T细胞表面的淋巴细胞活化基因3(Lymphocyte Activation Gene 3，LAG3)和肿瘤或抗原呈递细胞上的程序性死亡配体1(Programmed Death-Ligand 1，PD-L1)，扩增T细胞的活化，释放穿孔素和颗粒酶，裂解肿瘤细胞，降低LAG3表达。(ii)双特异性抗体与参与其他信号通路的分子同时靶向ICP。(3)肿瘤细胞双靶向性提高肿瘤选择性，减少对正常细胞的损害，从而减少系统性毒性。(i)双特异性抗体同时结合表皮生长因子受体(Epidermal Growth Factor Receptor，EGFR)和细胞间质上皮转换因子(cellular-Mesenchymal epithelial transition factor，c-Met)，阻断配体诱导的磷酸化，促进对下游信号级联的抑制，并刺激受体降解。(ii)双表位的双特异性抗体结合同一靶标上的两个不同表位可增强抗原抗体内吞。

相比单靶标特异性抗体，组合靶标具有多种优势：(1)将特定的免疫效应细胞重定向到邻近的肿瘤细胞以增强肿瘤杀伤力，这是联合单克隆抗体策略无法实现的；(2)通过与两种不同的细胞表面抗原而不是一种抗原相互作用来潜在地提高肿瘤结合特异性；(3)与联合疗法中基于单一抗体的药物开发相比，提供了在开发、生产临床试验和监管审查方面降低成本的机会；(4)同时阻断在发病机制中发挥独特或重叠功能的两个不同途径。

因此，通过合理的靶标组合开发双特异性抗体药物在解决现有大分子抗体药物所面临的问题和挑战方面具备极大的潜力。

1.1 血液系统恶性肿瘤中的靶标组合

双特异性抗体疗法彻底改变了血液系统恶性肿瘤的治疗。2021年统计数据显示[3]：血液瘤中双特异性抗体疗法集中于不同的靶点(图1)，主要包括分化簇19(Cluster of Differentiation 19，CD19)、分化簇20(Cluster of Differentiation 20，CD20)、B细胞成熟抗原(B-Cell Maturation Antigen，BCMA)、分化簇123(Cluster of Differentiation 123，CD123)和分化簇33(Cluster of Differentiation 33，CD33)等，其中以TAA与CD3靶点组成双特异性TCE为主，只有少数以TAA和CD16A靶点组成双特异性自然杀伤细胞衔接器(Natural Killer Cell Engager，NKCE)，PD-1和细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4，CTLA4)等其他靶点组成的双特异性抗体仅占极小部分。目前血液瘤中已有多种利用CD3和TAA组合靶标的双特异性抗体获批上市：靶标为CD19的针对微小残留病(Minimal Residual Disease，MRD)可检测的首次缓解期及复发和/或难治性B细胞急性淋巴细胞白血病(B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia，B-ALL)的blinatumomab；靶标为BCMA的针对复发/难治性多发性骨髓瘤的elranatamab和teclistamab；靶标为GPRC5D的针对多发性骨髓瘤(Multiple Myeloma，MM)的talquetamab；以及靶标为CD20的针对滤泡性淋巴瘤和大B细胞淋巴瘤的mosunetuzumab、epcoritamab和glofitamab。每种产品都利用T细胞重定向策略，通过结合效应细胞上的CD3，将免疫细胞靶向肿瘤相关抗原。

蛋白酶抑制剂、免疫调节药物和抗CD38单克隆抗体的引入显著改善了多发性骨髓瘤患者的预后[4]，但高危疾病和不良细胞遗传学特征的患者通常对这些治疗无反应。这类患者通常被称为“三重难治性”，生存预后较差[5]。在这方面，双特异性抗体已成为MM治疗领域，尤其是三重难治性MM治疗领域的一个极具潜力的疗法拓展。Teclistamab是一种靶向BCMA和CD3的抗体，已经获批用于治疗复发难治性MM[6]。MajesTEC-1临床试验表明：在平均14.1 个月的随访期间，在165名患者中，teclistamab的总体缓解率(Overall Response Rate，ORR)为63.0%，其中39.4%达到完全缓解[7]。Talquetamab靶向GPRC5D和CD3，已获批用于治疗多发性骨髓瘤。MonumenTAL-1的临床试验表明，每两周给药一次的患者ORR为74%，其中57%的患者达到非常好的部分缓解(Very Good Partial Response，VGPR)或更高[8]。

前体B-ALL的特征是骨髓和外周血中B系前体细胞的恶性增殖[9]。虽然随着有效化疗方案和挽救疗法的发展，成人和儿童B-ALL患者的生存率有所提高，但仍约有10%的患者会发展为难治性疾病，即使在获得初步缓解后也存在很大的复发风险，因此需要新的治疗方案来改善生存结果并促进MRD清除[10]。Blinatumomab是靶向CD19和CD3的抗体，在一项临床2期试验中，78%

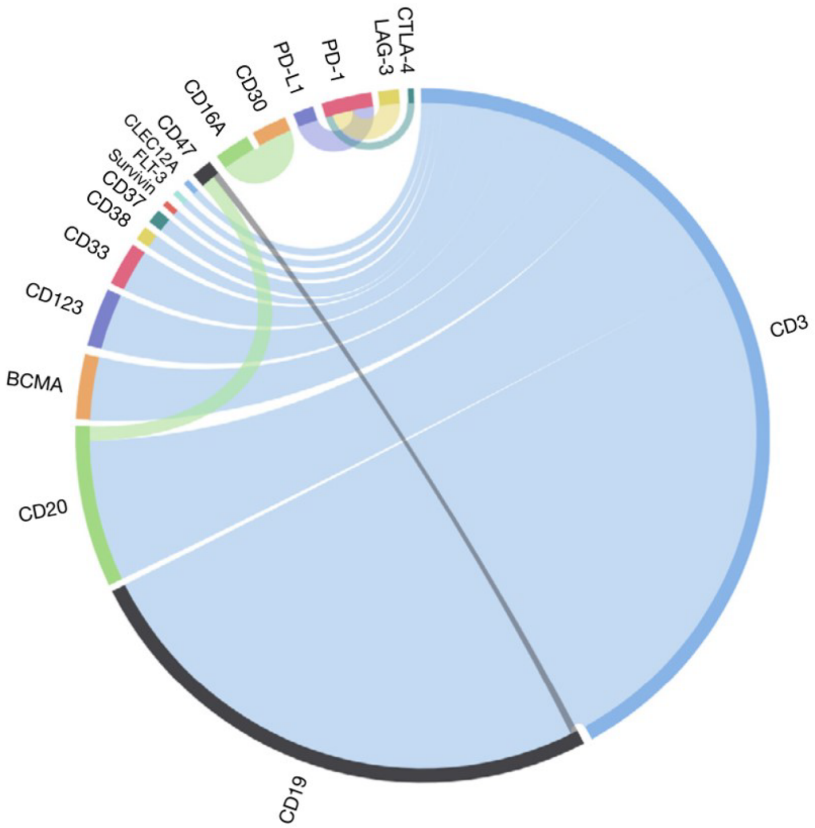


图1　双特异性抗体在血液系统恶性肿瘤中的靶标组合[3]

Fig.1　Target Combinations of Bispecific Antibodies in Hematological Malignancies[3]

(88/113)的B-ALL患者达到完全MRD反应。与MRD无反应者相比,完全MRD反应者的总生存期(Overall Survival, OS)(38.9个月vs12.5个月;p=0.002)更长[11]。

非霍奇金淋巴瘤(Non-Hodgkin Lymphoma,NHL)涵盖多种淋巴组织增生性肿瘤,其进展程度各不相同。在众多NHL亚型中,惰性滤泡性淋巴瘤和弥漫大B细胞淋巴瘤(Diffuse Large B-Cell Lymphoma,DLBCL)最常见[12]。虽然抗CD20单克隆抗体rituximab的引入显著改善了B细胞NHL的预后。但是相当多的患者会发展为复发和/或难治性疾病,对常规化疗无反应[13];因此,需要新的治疗策略。Epcoritamab靶向CD20和CD3,获批用于治疗滤泡性淋巴瘤和弥漫大B细胞淋巴瘤。一项Epcore NHL-1的临床研究表明,在接受了皮下注射epcoritamab的人群中,ORR为82.0%,完全缓解率为62.5%。Glofitamab是靶向CD20和CD3的抗体,已经获批用于弥漫大B细胞淋巴瘤,在一项针对复发或难治性弥漫大B细胞淋巴瘤的临床2期试验中,经过glofitamab治疗的155例患者,39%的患者达到完全缓解。共计52%的患者达到客观缓解[14]。

急性髓性白血病(Acute Myeloid Leukemia, AML)的特征是未成熟白血病细胞浸润骨髓并在外周血中积聚。过去几十年,AML的生存率和预后并未大幅改善[15]。化疗后进行同种异体干细胞移植是AML的标准治疗方法,但许多患者会出现复发或难治性疾病[16]。T细胞介导的免疫疗法,提供了一种针对化疗耐药性AML肿瘤细胞的新方法。然而,由于缺乏合适的肿瘤相关抗原,AML抗体疗法的发展面临挑战[17]。AML的理想靶标应在白血病细胞(包括最原始的白血病干细胞)中高表达,但在正常造血细胞和其他非造血组织中不表达。在AML中,白血病细胞和正常造血细胞的抗原表达模式往往存在显著重叠。这种重叠预示着造血系统可能出现靶向非肿瘤毒性,并可能导致血细胞长期减少,包括严重的中性粒细胞减少有可能导致危及生命的并发症。目前,AML免疫疗法最常用的靶点是CD33和CD123。针对这些抗原的T细胞重定向双特异性抗体均处于临床和临床前开发阶段。APVO436是靶向CD123和CD3的双特异性抗体,目前处于临床2期,在一项与维奈克拉和阿扎胞苷联用的临床试验中,其完全缓解以及血液学未完全恢复的完全缓解率为50%(7/14)[18]。

1.2　实体瘤中的靶标组合

与血液系统恶性肿瘤相比,用于治疗实体瘤的双特异性抗体涉及更多靶标的组合以及多种作用机制。虽

然T细胞重定向BsAb和抗原交联BsAb均在研究中，但在实体瘤中后者研究相对更多。肿瘤相关抗原靶标组合多种多样，从单一靶标（如人表皮生长因子受体2（Human Epidermal Growth Factor Receptor 2，HER2）/HER2、c-Met/c-Met和δ样蛋白3（Delta-Like Ligand 3，DLL3）/DLL3（双互补位BsAb））到两种不同靶标的组合（如VEGF/PD-1、PD-1/CTLA4或EGFR/c-Met等）。这些BsAb的作用机制主要在于靶向两种细胞信号通路，从而增强对恶性肿瘤细胞的抑制作用或对免疫细胞的刺激作用。Antonarelli等[19]于2021年统计的实体瘤双特异性抗体涉及靶点如图2所示：弧线两端连接的靶点代表存在两个靶点的双靶向性双特异性抗体，弧线越粗代表两个靶点组合双特异性抗体的数目越多。其中主要为CD3和TAA靶向的免疫细胞衔接器（还包括少量CD28、CD64等与TAA靶向的免疫细胞衔接器），其次为PD-1、PD-L1、CTLA-4和LAG3等互相之间以及与其他靶点之间组合的免疫检查点抑制剂。

Amivantamab是一种人源化抗EGFR/c-Met双特异性抗体。EGFR激活突变的非小细胞肺癌（Non-Small Cell Lung Cancer，NSCLC）患者通常会因EGFR位点突变（T790M）和/或c-Met通路激活而对酪氨酸激酶抑制剂产生耐药性。因此，同时阻断EGFR和c-Met信号通路，可抑制原发性/继发性EGFR突变和c-Met通路，并比单一受体结合抗体联用更有效抑制磷酸化ERK和磷酸化AKT[20]。Amivantamab已被批准用于治疗携带EGFR基因外显子20插入的NSCLC患者，这些患者在接受铂类化疗期间或之后病情出现进展。值得注意的是，由于现有的EGFR抑制剂尚未证明对NSCLC患者的EGFR外显子20突变具有令人满意的临床活性，而amivantamab能够解决这一尚未满足的临床需求[21]。基于CHRYSALIS研究（NCT02609776）的初步结果表明[22]：其中81名携带EGFR外显子20插入的NSCLC患者接受amivantamab治疗后，ORR为40%（95%置信区间（Confidence Interval，CI），29%~51%），中位缓解持续时间为11.1个月（95%CI，6.9至无法估计）。在45名amivantamab与拉泽替尼联合用药的EGFR突变（外显子19缺失或L858R突变）且未接受化疗的NSCLC患者中，ORR为36%（95%CI，22%~51%），中位无进展生存期（Progress Free Survival，PFS）为4.9个月（95%CI，3.7~9.7）[23]。

Zanidatamab是一种人源化双互补表位抗体，可同时结合HER2上的两个非重叠结构域[24]。Zanidatamab目前正在研究用于治疗表达HER2的实体瘤，包括胆道癌（Biliary Tract Cancer，BTC）。在HERIZON-BTC-01二期临床试验中，zanidatamab单药治疗在80例经治HER2阳性BTC患者中展现出良好的抗肿瘤活性。确认的客观缓解率为41.3%，且疗效迅速持久，安全性可控。这项三

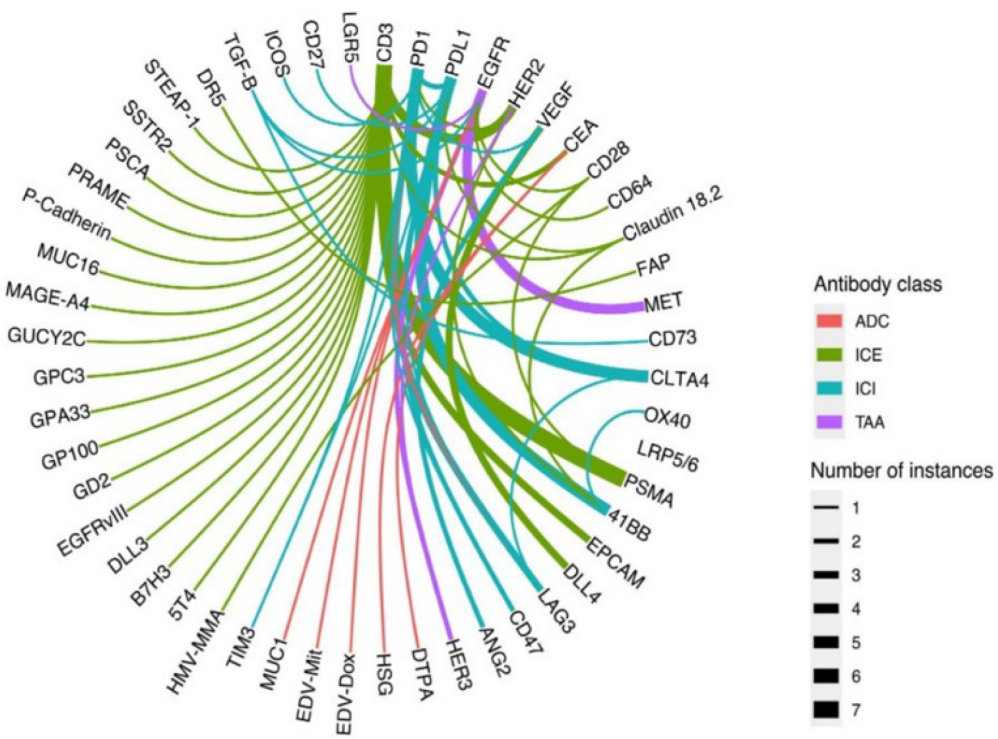


图2 实体瘤已开展临床试验的双特异性抗体药物的靶标组合与类型[19]。ICE即免疫细胞衔接器（Immune Cell Engager）

Fig.2 Chord Diagram Showing Interactions amongst BsAbs Utilized in Clinical Trials against Solid Tumors[19]. ICE Means Immune Cell Engager

期临床试验评估了zanidatamab联合标准治疗(Standard of Care,SOC)疗法与单独SOC疗法在HER2阳性晚期/转移性BTC一线治疗中的疗效[25]。

BL-B01D1是一种靶向EGFR与HER3的双特异性ADC药物,由于对EGFR抑制剂的获得性耐药部分源于激活HER3信号通路以有效绕过EGFR的抑制[26]。BL-B01D1在一项针对实体瘤患者的临床1期试验NCT05194982中,在174例接受疗效评估的患者中,中位随访时间为6.9个月(四分位距(Interquartile Range,IQR)4.5~8.9),60例(34%;95%CI 27%~42%)患者获得客观缓解[27]。

Tarlatamab是一种靶向DLL3和CD3的双特异性抗体。2024年5月美国食品药品监督管理局加速批准tarlatamab用于治疗在铂类化疗期间或之后出现进展的小细胞肺癌(Small Cell Lung Cancer, SCLC)患者,使其成为首个获批用于治疗主要实体瘤的TCE,也是治疗广泛期SCLC的首个治疗选择[28]。此项批准基于DeLLphi-301二期临床试验数据,接受10毫克tarlatamab治疗的患者客观缓解率为40%(97.5%CI,29%~52%),而接受100毫克tarlatamab治疗的患者客观缓解率为32%(97.5%CI,21%~44%)。10毫克组58%的患者对tarlatamab的缓解持续至少6个月,100毫克组这一比例为61%[29]。

Cadonilimab是全球首个获批上市的PD-1/CTLA-4双特异性抗体新药,于2022年6月在我国获批用于治疗既往接受含铂化疗治疗失败的复发或转移性宫颈癌。COMPASSION-16临床试验旨在评估cadonilimab联合一线标准化疗治疗持续性、复发性或转移性宫颈癌的疗效。结果显示,cadonilimab组和安慰剂组的中位无进展生存期分别为12.7个月(95%CI 11.6~16.1)和8.1个月(7.7~9.6)(风险比(Hazard Ratio,HR) 0.62(95%CI 0.49~0.80),$p < 0.0001$);cadonilimab组的中位总生存期未达到(27.0个月至无法估计),安慰剂组为22.8个月(17.6~29.0)(HR 0.64(0.48~0.86),$p=0.0011$)[30]。

Ivonescimab是靶向PD1与VEGF的双特异性抗体,于2024年5月在我国获批用于非小细胞肺癌。HARMONi-2是一项ivonescimab与pembrolizumab对比治疗PD-L1阳性非小细胞肺癌的临床3期试验。在879名接受筛查的患者中,398名(45%)被随机分配接受ivonescimab(n=198)或pembrolizumab(n=200)治疗。在预设的中期分析中,ivonescimab组的中位PFS显著长于pembrolizumab组(11.1个月 vs 5.8个月)[31]。

2 双重TAA靶向抗体

双重TAA靶向抗体是双特异性抗体的一个亚类,具有多种优势,包括提高肿瘤选择性、协同调节肿瘤细胞中的两种功能通路、避免耐药性以及免疫逃逸。如图3A所示,双重TAA靶向抗体提升对肿瘤的选择性:单TAA靶向抗体通常无法明确区分携带相同靶抗原的恶性细胞和健康细胞,这可能导致靶向非肿瘤毒性。双重TAA靶向抗体对两个不同靶标抗体亲和力的适当微调可以导致对肿瘤的特异性增强,同时减少与治疗相关的副作用。如图3B所示,双重TAA靶向抗体协同调控两种信号通路:同时针对肿瘤细胞上表达的两种受体的抗体能够同时调节两种不同的信号通路,发挥协同作用,而单TAA靶向抗体仅能调控一种靶点信号通路。如图3C所示,双重TAA靶向抗体降低药物耐药风险:单TAA靶向抗体治疗癌症等疾病总是有引起耐药性的风险,特别是通过抗原突变、下调或脱落等肿瘤逃逸机制,而双重TAA靶向抗体在其中一个靶点发生耐药的情况下另一个靶点依然可以发挥杀死肿瘤细胞的作用,因此更有助于降低耐药风险。如图3D所示,双重TAA靶向抗体降低药物免疫逃逸风险:肿瘤可以通过PD-1/L1或CD47/SIRP-α信号通路逃逸免疫监视,PD-1/L1靶向抗体虽然表现出了持久的临床获益和长期缓解,但仅少部分人群获益;CD47在人体细胞上普遍表达,靶向CD47的药物存在严重贫血和血小板减少症等副作用的风险。因此,相比单TAA靶向抗体,具备能够阻断免疫检查点信号通路的双重TAA靶向抗体可以更好地解决免疫逃逸问题[32]。

2.1 单靶向TCE药物开发中遇到的挑战以及双重TAA靶向抗体的优势

CD3双特异性抗体是癌症免疫治疗领域的一种新兴治疗方式,通过同时结合肿瘤细胞上表达的TAA和T细胞上的CD3发挥作用[33]。CD3双特异性抗体通过交联这两种细胞类型形成免疫突触,类似于天然TCR/肽—主要组织相容性复合体复合物。这种免疫突触的形成会导致T细胞活化,从而分泌能够杀死肿瘤细胞的炎性细胞因子和细胞溶解分子。CD3双特异性抗体的优势在于任何T细胞都可以作为效应细胞,无论TCR特异性如何。对于这些CD3双特异性抗体,TCR信号传导不再需要TCR的抗原结合域参与,而是直接通过CD3启动[34]。因此,CD3双特异性抗体可以利用所有可用的T细胞,而不仅限于肿瘤特异性T细胞。尽管其临床疗效已得到证实,但仍有一部分患者对TCE治疗存在耐药性(如原发性耐药),或在TCE治疗过程中出现耐药性(如获得性耐药或治疗诱导性耐药)。靶向抗原在正常组织中的表达会导致靶向—非肿瘤毒性,增加细胞因子释放并造成正常组织损伤,从而限制治疗窗口并限制临床获益。应用于实体瘤TCE的开发更加复杂和兼具挑战性,

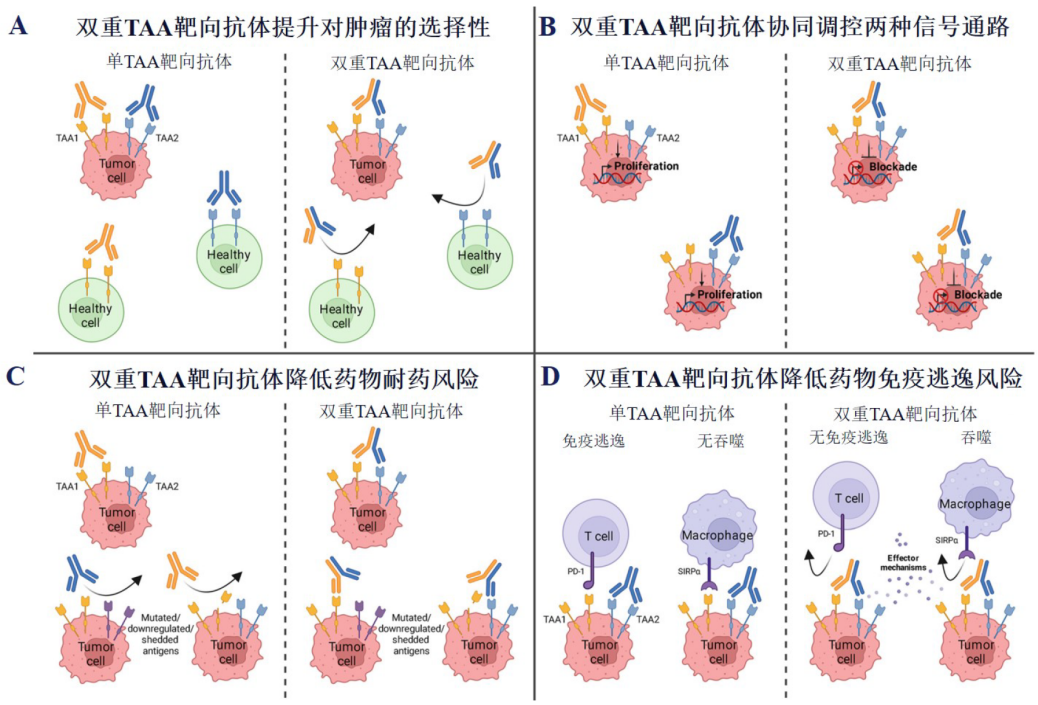


图3 双重TAA靶向抗体与单TAA靶向抗体的机制比较[32]

Fig.3 Mechanisms of Bispecific Dual TAA-targeting Antibodies Compared to Monospecific Antibodies[32]

这归因于缺乏肿瘤高度特异性抗原、更高的肿瘤异质性以及更具免疫抑制性的TME[35]。

2.1.1 单靶向TCE药物开发中遇到的挑战

在实体肿瘤中,抗原异质性是由于克隆进化、表观遗传修饰和来自肿瘤微环境的选择性压力而产生的。这导致不同肿瘤细胞亚群的抗原表达存在差异,一些细胞表达高水平的靶抗原,而另一些细胞则表达低水平或不表达,从而导致免疫逃逸和治疗耐药性。相比之下,虽然由于血液系统恶性肿瘤的克隆来源,其恶性细胞间的抗原表达通常更为均一;然而,动态抗原调节、抗原脱落以及免疫压力驱动的抗原表达缺失仍然可能发生,从而影响TCE和其他靶向免疫疗法的疗效。基因变异(包括基因突变)是导致肿瘤抗原丢失的已知机制。对于成人和儿童复发性或难治性B-ALL的治疗而言,对blinatumomab的耐药性是一个临床挑战,并且通常与CD19抗原表达的缺失或影响结合表位的突变有关。对11个blinatumomab治疗后复发样本的流式细胞术分析显示,7个为CD19阴性,在CD19阴性样本中,发现了8个CD19突变,包括移码插入/缺失(n=4)、无义突变(n=1)、剪接位点SNV(n=2)和编码框内缺失(n=1)。此外,CD19外显子2的部分缺失会丢失抗体识别的结合区域,导致blinatumomab不再识别CD19[36]。

CD20表达缺失是B细胞恶性肿瘤患者接受靶向CD20的TCE治疗后出现耐药的机制之一。全外显子组测序揭示,在接受mosunetuzumab[37,38]、odronextamab[39]和glofitamab[40]治疗后复发的患者中,存在多种基因组突变,由于移码突变和截短突变导致CD20表达缺失,错义突变(C167G和K175E)位于抗CD20靶向治疗的表位。这些突变阻碍了TCE结合及后续活性。对接受针对BCMA和GPRC5D的TCE治疗的骨髓瘤细胞进行全基因组测序,结果表明,肿瘤坏死因子受体超家族成员17(TNFRSF17)基因(编码BCMA蛋白)和GPRC5D的遗传失活是一种常见的内在耐药机制。在一组接受BCMA靶向TCE(teclistamab、elranatamab)治疗的复发难治性多发性骨髓瘤患者中,1名复发患者存在TNFRSF17基因的双等位基因缺失,5名患者存在BCMA胞外结构域的非截短、错义突变或框内缺失[41,42]。对接受talquetamab治疗的患者肿瘤活检进行测序分析显示,4例耐药病例中,其双等位基因GPRC5D失活是由于纯合缺失或单等位基因缺失伴突变(1个移码插入缺失、1个错义突变和2个无义突变)所致[43]。

许多肿瘤相关抗原在体内会被各种蛋白酶切割脱落,以游离形式在外周循环系统中滞留。MUC16在高级别浆液性卵巢癌中几乎普遍表达,但是患者体内存在高浓度的脱落的循环MUC16抗原,大多数基于抗体的抗MUC16抗体临床治疗都针对MUC16的脱落部分,这可能会限制其作为靶向免疫治疗的特异性[44]。

2.1.2 双重TAA靶向抗体可解决抗原表达丢失、下调和突变等导致的耐药性

与传统单靶向TAA的TCE相比,双靶向TAA的TCE

可防止因选择压力导致的抗原丢失而导致的肿瘤逃逸,并可能克服肿瘤细胞中预先存在的克隆异质性。双TAA靶向的T细胞重定向抗体对B-NHL细胞进行双抗原识别,有可能在异质细胞群存在的情况下最大限度地根除肿瘤。为了避免单靶向治疗时CD19或CD20的丢失,CMG1A46作为TCE同时靶向CD19和CD20,目前处于临床1/2期。体外实验中能够诱导同时表达CD19和CD20的细胞以及单阳性细胞的强效裂解;体内实验中表现出优于CD20 TCE的效力[45]。JNJ-80948543是一款同时靶向CD79b和CD20的TCE。JNJ-80948543对表达单个TAA的肿瘤细胞具有细胞毒性,但对双阳性细胞的效力增强1 000倍以上,在体内实验中,可阻止DLBCL异种移植瘤的生长[46]。目前,JNJ-80948543正在针对NHL和B-CLL患者进行临床1期试验。

JNJ-79635322是通过T细胞重定向双重靶向BCMA和GPRC5D的新一代TCE,旨在通过T细胞重定向靶向两种多发性骨髓瘤抗原来克服肿瘤异质性和获得性耐药,从而进一步改善临床疗效。在一项针对复发/难治性多发性骨髓瘤患者进行的首次人体研究中(NCT05652335),总体ORR为73%(66%≥VGPR)(n=124),其中100 mg每4周给药一次的人群中ORR为86%(75%≥VGPR)(n=36)[47]。这一疗效尽管治疗人群相对有限,但已展示出相比已经获批上市的单靶向TCE(如靶向BCMA的teclistamab在MajesTEC-1的临床试验中接受每周终剂量1.5 mg/kg R/R MM的ORR为61.8%(VGPR=29.1%)(n=110)[48],或靶向GPRC5D的talquetamab在一项MMY1001(MonumenTAL-1)的临床试验中接受每周0.4 mg/kg药物人群中的ORR为73%(VGPR=22%)(n=100))显著更优的临床响应率[49]。

2.2 单靶向ADC药物开发中遇到的挑战以及双重TAA靶向抗体的优势

ADC已成为一类很有前途的癌症治疗药物。ADC由肿瘤靶向性的单克隆抗体和通过化学接头连接的强效细胞毒性有效载荷组成。这种分子设计将抗体的肿瘤特异性和长半衰期与抗肿瘤药物的高细胞毒性效力相结合,使药物富集到肿瘤细胞发挥作用。与传统小分子化疗药物相比,ADC降低了小分子药物的系统毒性,增强抗肿瘤疗效,从而改善临床获益。迄今为止,已有多种ADC获批上市。在过去几年中,随着ADC在多种肿瘤中的临床突破,人们对ADC这种药物形式的兴趣水平呈指数级增长。尽管ADC领域取得了重大进展,但这些药物在难治性癌症患者中的临床潜力往往受到各种因素的限制。

2.2.1 单靶向ADC药物开发中遇到的挑战

单靶向治疗可降低肿瘤细胞靶抗原的表达并诱导肿瘤细胞耐受性。例如,在HER2阳性乳腺癌患者中,经过多线抗HER2治疗后,HER2的肿瘤表达水平会降低。T-DM1是临床批准的针对HER2的ADC。虽然HER2表达水平与疗效呈正相关[50],但在T-DM1耐药细胞系中发现HER2表达降低[51,52]。外周血中靶向抗原的存在可能会通过消耗ADC来限制其渗透到肿瘤部位。在AML患者血液中CD33抗原水平的升高会消耗Mylotarg(一种靶向CD33的ADC药物),限制其向骨髓的渗透,导致与骨髓AML母细胞的最大结合水平降低。因此,外周血中AML母细胞(CD33过表达细胞)较多的患者对Mylotarg治疗的疗效较差[53]。在B细胞淋巴瘤细胞分泌的外泌体中检测到了CD20。这些细胞外CD20分子可以结合并消耗抗CD20抗体,从而消除CD20靶向治疗的疗效[54]。ADC中的抗体与肿瘤表面的靶向受体结合对其抗肿瘤活性至关重要。截短的HER2受体p95HER2已被证明会导致曲妥珠单抗耐药性[55]。尽管缺乏曲妥珠单抗靶向的胞外结构域,截短的HER2受体仍然拥有通过分子间二硫键形成同型二聚体所必需的片段,从而促进乳腺癌进展[56]。

肿瘤内和肿瘤间异质性是导致治疗效果不佳的主要障碍。抗原表达异质性越高,复发率越高,生存率越低[57]。在乳腺癌患者中,治疗前HER2异质性的存在(HER2异质性定义为ERBB2扩增区域占肿瘤细胞总数的5%~50%,或FISH检测出HER2阴性区域)与治疗反应呈负相关。在10%(16/157)的可评估病例中检测到HER2异质性。非异质性亚组的病理完全缓解率为55%,异质性亚组的病理完全缓解率为0%[58,59]。

2.2.2 双重TAA靶向ADC抗体可提升药物治疗安全窗、克服肿瘤异质性

ADC药物作为近年来蓬勃发展的一种药物形式,依然面临内化不良、脱靶毒性和耐药性等问题带来的临床挑战。与靶向单一肿瘤抗原的ADC不同,双重TAA靶向ADC可以同时靶向两种抗原。这种双重靶向模式可以提高ADC递送的精准度,确保其到达癌组织而非其他正常组织,并且可以帮助ADC克服肿瘤异质性的挑战。双重TAA靶向ADC的一个显著优势是其能够提高癌症治疗的治疗指数,通过将细胞毒药物直接递送至肿瘤部位,双重TAA靶向ADC可以在靶向部位达到更高的药物浓度,同时最大限度地减少药物对健康组织的暴露。这种靶向药物递送降低了全身毒性的风险,并提高了治疗的整体安全性。肿瘤通常由具有不同抗原表达谱的多样化细胞群组成,因此难以用单一药物疗法靶向所有恶性细胞。通过靶向两种不同的抗原,双重TAA靶向ADC可以更有效地靶向并杀死异质性肿瘤中更广泛的癌细胞。此外,靶向两种不同的肿瘤抗原具有预防或克服潜

在耐药性的潜力。即使其中一个靶点被肿瘤(或其相关的内化分子机制)下调,细胞毒性有效载荷仍然可以通过第二个内化肿瘤抗原递送至肿瘤细胞。

3 未来与展望

尽管多靶点抗体尚处于起步阶段,但其靶向异质性细胞类型和肿瘤的空前优势已引发广泛关注,尤其是在先前单靶点疗法失败的情况下。丰富的科学原理支持开发双特异性抗体用于治疗癌症等疾病。与单靶标抗体相比,组合靶标抗体具有独特的优势,但双特异性抗体的开发也面临许多问题和挑战。需要对两个靶标的生物学机制进行充分研究,明确两个靶标组合的作用机制、剂量原理以及相比各个单靶标抗体产品和现有疗法的优势。多样化的形式和蛋白质工程策略使得BsAb的设计能够满足其作用机制,但也可能带来免疫原性、稳定性以及生产相关的挑战,这对化学、生产和控制(Chemistry, Manufacturing,and Control;CMC)和临床开发都提出了新的挑战。虽然选择TAA对于任何潜在疗法而言都是至关重要的考量因素,但多特异性抗体的独特性质使其复杂性成倍增加。

3.1 组合靶标选择的考虑因素

BsAb的靶点选择决定了其治疗效果、药代动力学特征及稳定性。如本文第1节所述,可以看到在靶点选择方面存在高度相似性,靶点选择的高度相似性不利于研究的丰富,并可能导致医疗资源的浪费。因此,在选择双特异性抗体开发靶点之前,进行全面的文献综述和市场调研至关重要。此外,可利用多组学技术以及大数据生信分析进行深度挖掘,协助靶标发现和组合:(1)筛选在肿瘤细胞表面高表达而在正常细胞不表达或低表达的蛋白分子,系统评估其表达丰度、在肿瘤组织表达阳性率、时间异质性、空间异质性以及在全身正常组织的表达分布,以确保双特异性抗体具有高度的特异性,减少对正常组织的损害。(2)分析靶点在信号传导通路中的作用,以确定它们是否能够通过双特异性抗体的阻断来抑制疾病进程。Choi等[60]基于单细胞RNA测序(scRNA-seq)和空间转录组学(Spatial Transcriptomics, ST)数据开发了一个整合的细胞图谱,以计算“器官水平特异性”(癌症与匹配的正常组织之间的表达倍数变化)和“关键器官毒性”(关键器官中的平均靶标表达)。并且使用ST数据计算“肿瘤内靶标表达”和“微环境水平靶标特异性”,后者由靶标在恶性细胞中相对于正常细胞的表达定义。该平台可用于识别最佳靶点对,从而最大限度地提高双重TAA靶向ADC的疗效并最大限度地降低其全身毒性。靶点选定后进行彻底的验证至关重要,以确保它们能够与双特异性抗体有效相互作用,而不会带来意外的副作用。

3.2 抗体可开发性的考虑因素

与传统的单克隆抗体开发相比,将多个异质结合部分组合到单个分子中存在一定的风险,需要在可开发性计划中通过详细的临床前评估、序列筛选和改造来尽量降低这些风险。在人体中,天然抗体由四条多肽链组成,这些多肽链组成两条相同的轻链和两条相同的重链,抗体通过两个相同的抗原结合片段来识别抗原。随着蛋白质和抗体工程的发展,开发各种不同format的双特异性抗体成为可能,但同时双特异性抗体所需的抗体工艺和format的多样性也给CMC开发带来了额外的挑战。

基于IgG的BsAb通常保留天然蛋白质的可结晶片段(Fragment crystallizable,Fc)区,可分为对称和不对称形式,这些BsAb可依赖特定的氨基酸突变来提升重链和轻链的正确配对效率,此外还可通过修饰和突变来改变Fc介导的功能或延长半衰期。BsAb与天然蛋白质的差异越大,越需要更谨慎全面的评估。虽然可通过引入特定氨基酸突变来解决轻链和重链错配问题,但是引入的突变有可能会增加抗体的免疫原性风险;可以通过引入的单链可变片段(single-chain variable Fragments,scFv)来规避轻链错配问题,但是scFv结构容易聚集,可能导致分子不具备最终治疗所需的溶解度和稳定性,此外抗体在体内聚集也可能带来免疫原性风险。对于序列本身带来的免疫原性风险,可以通过计算机模拟T细胞表位筛选和预测结合以及实验检测方法进行评估。目前已有一些商业平台和软件可用于筛选T细胞表位的抗体序列,以预测是否存在可能与人类白细胞抗原(Human Leucocyte Antigen,HLA)分子结合的序列。各种体外T细胞活化和增殖检测的实验方法也已被开发,越来越多地用于评估治疗性抗体候选物的免疫原性。针对scFv聚集问题,可以通过序列改造和筛选以及调整scFv内部的连接子linker来优化。

BsAb在生产中依然可能产生不同形式的未正确配对的特异性杂质,这对许多分析和纯化方法提出了独特的挑战。这些形式特异性杂质的生物物理特性(如相对分子质量和等电点)有可能与所需的双特异性产品几乎相同,需要开发不同的分析检测方法和纯化方法。BsAb的蛋白表达水平一般低于其各自单抗部分,因此可能不适合高通量生产和可开发性评估,可通过对序列优化以及细胞株开发来尽可能解决。

在BsAb的开发中,抗体多反应性(与带电或疏水蛋白质、膜或其他生理表面的非特异性结合)可能会改变抗体的功效、清除率和组织分布。这些不良影响也可能

带来脱靶毒性和免疫原性等方面的挑战。多反应性归因于不良的抗体表面特性，如抗体带正电、带负电和疏水的表面斑块等。当前已经开发出许多计算工具来预测多反应性。Boughter等[61]利用一个包含超过1 000个多反应性和非多反应性抗体序列的数据库，创建了一个生物信息学流程来鉴定多反应性的关键影响因素。根据这些影响因素生成了一个能够超过75%准确率的识别多反应性抗体的工具。

3.3 临床药理学的考虑因素

BsAb独特的结构和作用机制在临床药理学方面提出了不同的挑战，但是目前还没有指南为临床药理学提供详细的考虑因素，包括最佳剂量选择。

以TCE药物的临床开发为例，与传统化疗不同，临床上TCE的最高剂量和推荐临床2期剂量通常不以最大耐受剂量为指导，而是基于获益/风险状况的综合评估。这些不确定性给转化和临床药理学家带来了复杂的挑战。最常见的首次人体试验起始剂量选择方法是基于最小预期生物效应水平(Minimal Anticipated Biological Effect Level，MABEL)方法，将最敏感的体外活性(如T细胞活化、T细胞对靶细胞杀伤和细胞因子释放等)的10%有效浓度(Effective Concentration 10，EC 10)到EC 50与基于预计的人体药代动力学的最大浓度(C_{max})相匹配。但是由于体外模型的生物学相关性和研究条件的变化，这种MABEL方法会导致非常低的起始剂量和大量的剂量递增步骤。定量系统药理学(Quantitative Systems Pharmacology，QSP)建模的优势在于它能够捕捉肿瘤细胞、抗体和T细胞三者之间形成的动态。QSP模型通常使用与传统MABEL方法相同的体外数据。然而，QSP模型的方法不是依靠体外实验和人类之间的暴露比较来确定起始剂量，而是估计不同TCE浓度和实验条件(E：T或受体表达)下的肿瘤细胞、抗体和T细胞的形成，然后与肿瘤细胞杀伤或细胞因子释放联系起来。因此基于QSP建模的方法是克服临床前模型转化局限性的一个工具。

综上，基于组合靶标的双特异性抗体拥有巨大的开发挑战与治疗潜力，我们热切期待未来的临床前研究和临床试验取得进一步进展。这些疗法的持续发展有望对人类恶性肿瘤的治疗产生重大影响，为患者和医护人员带来希望。

参 考 文 献

[1] Zou WP，Wolchok JD，Chen LP. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy：Mechanisms，response biomarkers，and combinations. Science Translational Medicine，2016，8(328)：328rv4.

[2] Herrera M，Pretelli G，Desai J，et al. Bispecific antibodies：Advancing precision oncology. Trends in Cancer，2024，10(10)：893—919.

[3] Wang SH，Chen K，Lei Q，et al. The state of the art of bispecific antibodies for treating human malignancies. EMBO Molecular Medicine，2021，13(9)：EMMM202114291.

[4] Palumbo A，Avet-Loiseau H，Oliva S，et al. Revised international staging system for multiple myeloma：A report from international myeloma working group. Journal of Clinical Oncology，2015，33(26)：2863—2869.

[5] Mateos MV，Weisel K，De Stefano V，et al. LocoMMotion：A prospective，non-interventional，multinational study of real-life current standards of care in patients with relapsed and/or refractory multiple myeloma. Leukemia，2022，36(5)：1371—1376.

[6] Swan D，Murphy P，Glavey S，et al. Bispecific antibodies in multiple myeloma：Opportunities to enhance efficacy and improve safety. Cancers，2023，15(6)：1819.

[7] Moreau P，Garfall AL，van de Donk NWCJ，et al. Teclistamab in relapsed or refractory multiple myeloma. The New England Journal of Medicine，2022，387(6)：495—505.

[8] Chari A，Minnema MC，Berdeja JG，et al. Talquetamab，a T-cell-redirecting GPRC5D bispecific antibody for multiple myeloma. The New England Journal of Medicine，2022，387(24)：2232—2244.

[9] Duffield AS，Mullighan CG，Borowitz MJ. International Consensus Classification of acute lymphoblastic leukemia/lymphoma. Virchows Archiv，2023，482(1)：11—26.

[10] DuVall AS，Sheade J，Anderson D，et al. Updates in the management of relapsed and refractory acute lymphoblastic leukemia：An urgent plea for new treatments is being answered! JCO Oncology Practice，2022，18(7)：479—487.

[11] Gökbuget N，Dombret H，Bonifacio M，et al. Blinatumomab for minimal residual disease in adults with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. Blood，2018，131(14)：1522—1531.

[12] Armitage JO，Gascoyne RD，Lunning MA，et al. Non-Hodgkin lymphoma. The Lancet，2017，390(10091)：298—310.

[13] Dotan E，Aggarwal C，Smith MR. Impact of rituximab (rituxan) on the treatment of B-cell non-Hodgkin's lymphoma. Pharmacy and Therapeutics，2010，35(3)：148—157.

[14] Dickinson MJ，Carlo-Stella C，Morschhauser F，et al. Glofitamab for relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. The New England Journal of Medicine，2022，387(24)：2220—2231.

[15] Döhner H，Weisdorf DJ，Bloomfield CD. Acute myeloid leukemia. New England Journal of Medicine，2015，373(12)：1136—1152.

[16] Mohamed Jiffry MZ，Kloss R，Ahmed-khan M，et al. A review of treatment options employed in relapsed/refractory AML. Hematology，2023，28(1)：2196482.

[17] Guy DG，Uy GL. Bispecific antibodies for the treatment of acute myeloid leukemia. Current Hematologic Malignancy Reports，2018，13(6)：417—425.

[18] Watts J，Maris M，Lin TL，et al. Updated results from a phase 1 study of APVO436，a novel bispecific anti-CD123 x anti-CD3 adaptir™ molecule，in relapsed/refractory acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. Blood，2022，140(S1)：6204—6205.

[19] Antonarelli G，Giugliano F，Corti C，et al. Research and clinical landscape of bispecific antibodies for the treatment of solid malignancies. Pharmaceuticals，2021，14(9)：884.

[20] Moores SL,Chiu ML,Bushey BS,et al. A novel bispecific antibody targeting EGFR and cMet is effective against EGFR inhibitor-resistant lung tumors. Cancer Research,2016,76(13):3942—3953.

[21] Passaro A,Jänne PA,Mok T,et al. Overcoming therapy resistance in EGFR-mutant lung cancer. Nature Cancer,2021,2(4):377—391.

[22] Park K,John T,Kim SW,et al. Amivantamab (JNJ-61186372),an anti-EGFR-MET bispecific antibody,in patients with EGFR exon 20 insertion (exon20ins)-mutated non-small cell lung cancer (NSCLC). Journal of Clinical Oncology,2020,38(S15):9512.

[23] Bauml J,Cho BC,Park K,et al. Amivantamab in combination with lazertinib for the treatment of osimertinib-relapsed,chemotherapy-naïve EGFR mutant (EGFRm) non-small cell lung cancer (NSCLC) and potential biomarkers for response. Journal of Clinical Oncology,2021,39(S15):9006.

[24] Weisser NE,Wickman G,Abraham L,et al. Abstract 1005:The bispecific antibody zanidatamab's (ZW25's) unique mechanisms of action and durable anti-tumor activity in HER2-expressing cancers. Cancer Research,2021,81(S13):1005.

[25] Harding JJ,Macarulla T,Pant S,et al. HERIZON-BTC-302:A phase 3 study of zanidatamab with standard-of-care (SOC) therapy vs SOC alone for first-line treatment of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced/metastatic biliary tract cancer (BTC). Journal of Clinical Oncology,2025,43(S4). doi:10.1200/JCO.2025.43.4_suppl.TPS648.

[26] Huang S,Li CR,Armstrong EA,et al. Dual targeting of EGFR and HER3 with MEHD7945A overcomes acquired resistance to EGFR inhibitors and radiation. Cancer Research,2013,73(2):824—833.

[27] Ma YX,Huang Y,Zhao YY,et al. BL-B01D1,a first-in-class EGFR-HER3 bispecific antibody-drug conjugate,in patients with locally advanced or metastatic solid tumours:A first-in-human,open-label,multicentre,phase 1 study. The Lancet Oncology,2024,25(7):901—911.

[28] FDA grants accelerated approval to tarlatamab-dlle for extensive stage small cell lung cancer. News release. US FDA. (2024-05-16)/[2025-07-18]. https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-tarlatamab-dlle-extensive-stage-small-cell-lung-cancer.

[29] Paz-Ares L,Ahn MJ,Felip E,et al. LBA92 Tarlatamab for patients (pts) with previously treated small cell lung cancer (SCLC):Primary analysis of the phase II DeLLphi-301 study. Annals of Oncology,2023,34:S1333—S1334.

[30] Wu XH,Sun Y,Yang HY,et al. Cadonilimab plus platinum-based chemotherapy with or without bevacizumab as first-line treatment for persistent,recurrent,or metastatic cervical cancer (COMPASSION-16):A randomised,double-blind,placebo-controlled phase 3 trial in China. The Lancet,2024,404(10463):1668—1676.

[31] Xiong AW,Wang L,Chen JH,et al. Ivonescimab versus pembrolizumab for PD-L1-positive non-small cell lung cancer (HARMONi-2):A randomised,double-blind,phase 3 study in China. The Lancet,2025,405(10481):839—849.

[32] Schoenfeld K,Harwardt J,Kolmar H. Better safe than sorry:Dual targeting antibodies for cancer immunotherapy. Biological Chemistry,2024,405(7/8):443—459.

[33] Dahlén E,Veitonmäki N,Norlén P. Bispecific antibodies in cancer immunotherapy. Therapeutic Advances in Vaccines and Immunotherapy,2018,6(1):3—17.

[34] Wu Z,Cheung NV. T cell engaging bispecific antibody (T-BsAb):From technology to therapeutics. Pharmacology & Therapeutics,2018,182:161—175.

[35] Proietto M,Crippa M,Damiani C,et al. Tumor heterogeneity:Preclinical models,emerging technologies,and future applications. Frontiers in Oncology,2023,13:1164535.

[36] Zhao YQ,Aldoss I,Qu CX,et al. Tumor-intrinsic and-extrinsic determinants of response to blinatumomab in adults with B-ALL. Blood,2021,137(4):471—484.

[37] Schuster SJ,Huw LY,Bolen CR,et al. Loss of CD20 expression as a mechanism of resistance to mosunetuzumab in relapsed/refractory B-cell lymphomas. Blood,2024,143(9):822—832.

[38] Duell J,Leipold AM,Appenzeller S,et al. Sequential antigen loss and branching evolution in lymphoma after CD19- and CD20-targeted T-cell–redirecting therapy. Blood,2024,143(8):685—696.

[39] Brouwer-Visser J,Fiaschi N,Deering RP,et al. Molecular assessment of intratumoral immune cell subsets and potential mechanisms of resistance to odronextamab,a CD20 × CD3 bispecific antibody,in patients with relapsed/refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. Journal for Immunotherapy of Cancer,2024,12(3):e008338.

[40] Grigg S,Minson A,Prins E,et al. Relapse after glofitamab has a poor prognosis and rates of CD20 loss are high. British Journal of Haematology,2024,205(1):122—126.

[41] Lee H,Ahn S,Maity R,et al. Mechanisms of antigen escape from BCMA- or GPRC5D-targeted immunotherapies in multiple myeloma. Nature Medicine,2023,29(9):2295—2306.

[42] Lee H,Neri P,Bahlis NJ. BCMA- or GPRC5D-targeting bispecific antibodies in multiple myeloma:Efficacy,safety,and resistance mechanisms. Blood,2024,143(13):1211—1217.

[43] Derrien J,Gastineau S,Frigout A,et al. Acquired resistance to a GPRC5D-directed T-cell engager in multiple myeloma is mediated by genetic or epigenetic target inactivation. Nature Cancer,2023,4(11):1536—1543.

[44] Crawford A,Haber L,Kelly MP,et al. A Mucin 16 bispecific T cell-engaging antibody for the treatment of ovarian cancer. Science Translational Medicine,2019,11(497):eaau7534.

[45] Zhang J,Zhou ZH. Preclinical study of a novel tri-specific anti-CD3/CD19/CD20 T cell-engaging antibody as a potentially better treatment for NHL. Blood,2020,136:22.

[46] Kuchnio A,Yang DL,Vloemans N,et al. Characterization of JNJ-80948543,a novel CD79bxCD20xCD3 trispecific T-cell redirecting antibody for the treatment of B-cell non-Hodgkin lymphoma. Blood,2022,140(S1):3105—3106.

[47] van de Donk NWCJ,Vega G,Perrot A,et al. First-in-human study of JNJ-79635322 (JNJ-5322),a novel,next-generation trispecific antibody (TsAb),in patients (pts) with relapsed/refractory multiple myeloma (RRMM):Initial phase 1 results. Journal of Clinical Oncology,2025,43(S16):7505.

[48] Janssen Biotech. Highlights of prescribing information. [2025-07-18]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2024/761291s008lbl.pdf.

[49] Janssen Biotech. Highlights of prescribing information. [2025-07-18]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2023/

761342s000lbl.pdf.
[50] Burris HA 3rd,Rugo HS,Vukelja SJ,et al. Phase II study of the antibody drug conjugate trastuzumab-DM1 for the treatment of human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive breast cancer after prior HER2-directed therapy. Journal of Clinical Oncology,2011,29(4):398—405.
[51] Loganzo F,Tan XZ,Sung M,et al. Tumor cells chronically treated with a trastuzumab-maytansinoid antibody-drug conjugate develop varied resistance mechanisms but respond to alternate treatments. Molecular Cancer Therapeutics,2015,14(4):952—963.
[52] Sabbaghi M,Gil-Gómez G,Guardia C,et al. Defective cyclin B1 induction in trastuzumab-emtansine (T-DM1) acquired resistance in HER2-positive breast cancer. Clinical Cancer Research,2017,23(22):7006—7019.
[53] van der Velden VHJ,Boeckx N,Jedema I,et al. High CD33-antigen loads in peripheral blood limit the efficacy of gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®) treatment in acute myeloid leukemia patients. Leukemia,2004,18(5):983—988.
[54] Aung T,Chapuy B,Vogel D,et al. Exosomal evasion of humoral immunotherapy in aggressive B-cell lymphoma modulated by ATP-binding cassette transporter A3. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2011,108(37):15336—15341.
[55] Scaltriti M,Rojo F,Ocaña A,et al. Expression of p95HER2,a truncated form of the HER2 receptor,and response to anti-HER2 therapies in breast cancer. Journal of the National Cancer Institute,2007,99(8):628—638.
[56] Arribas J,Baselga J,Pedersen K,et al. p95HER2 and breast cancer. Cancer Research,2011,71(5):1515—1519.
[57] Yamazaki CM,Yamaguchi A,Anami Y,et al. Antibody-drug conjugates with dual payloads for combating breast tumor heterogeneity and drug resistance. Nature Communications,2021,12:3528.
[58] Filho OM,Viale G,Stein S,et al. Impact of HER2 heterogeneity on treatment response of early-stage HER2-positive breast cancer:Phase II neoadjuvant clinical trial of T-DM1 combined with pertuzumab. Cancer Discovery,2021,11(10):2474—2487.
[59] Swain SM,Shastry M,Hamilton E. Targeting HER2-positive breast cancer:Advances and future directions. Nature Reviews Drug Discovery,2023,22(2):101—126.
[60] Choi M,Bae S,Lee D,et al. Abstract 2503:Analytic platform for optimal target pair selection in bispecific antibody-drug conjugates using scRNA-seq and spatial transcriptomics data. Cancer Research,2025,85(S1):2503.
[61] Boughter CT,Borowska MT,Guthmiller JJ,et al. Biochemical patterns of antibody polyreactivity revealed through a bioinformatics-based analysis of CDR loops. eLife,2020,9:e61393.

Progress and Prospects of Combined Targets in Macromolecular Drugs

Yayuan Fu Qiong Wang Renhong Tang*

State Key Laboratory of Neurology and Oncology Drug Development, Jiangsu Simcere Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210042, China

Abstract Bispecific antibodies with combined targets can recognize two or more epitopes on the same or different targets. This field has undergone a gradual evolution from initial attention to bispecific antibodies to the approval of BiTE (bispecific T-cell engager) therapy by the U.S. Food and Drug Administration (FDA),achieving significant progress over the past two decades. Owing to advancements in protein engineering technologies and great efforts in preclinical research, bispecific antibodies have been continuously developed and optimized to improve their efficacy and to reduce toxicity. This article focuses on the current development challenges,potential solutions,and future directions of bispecific antibodies in anticancer therapy.

Keywords bispecific antibody;antibody-drug conjugate;T cell engager;cancer immunotherapy

唐任宏 博士,江苏先声药业有限公司执行董事、江苏先声再明医药有限公司董事长兼首席执行官。拥有多年工业界创新药物研发和企业管理经验,长期从事肿瘤、自免、感染领域创新药物研发,先后领导超过50项全新靶点的药物候选分子筛选和成药性评价,其中20项进入临床研究阶段,3款创新药上市销售。

付雅媛 博士,江苏先声再明医药有限公司助理副总裁,神经与肿瘤药物研发全国重点实验室首席研究员。上海市“东方英才计划拔尖项目”入选者,江苏省“双创人才”和南京市“紫金山英才”人才获得者,曾入选“上海市闵行区领军人才”培养计划。全面负责肿瘤生物创新药的临床前研发,领导研发的多个药物正在进行临床试验。

(责任编辑 贾祖冰 张 强)

* Corresponding Author,Email:renhong.tang@zaiming.com