



# Biotechnology Application of Therapeutic Antibody Drug Discovery and Preparation

Huilin Cao

Agriculture & Life Sciences, Zhoukou Normal University, Zhoukou, China

Email: lin\_7722@tom.com

**How to cite this paper:** Cao, H.L. (2021) Biotechnology Application of Therapeutic Antibody Drug Discovery and Preparation. *Open Access Library Journal*, 8: e7719. <https://doi.org/10.4236/oalib.1107719>

**Received:** July 1, 2021

**Accepted:** July 26, 2021

**Published:** July 29, 2021

Copyright © 2021 by author(s) and Open Access Library Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## Abstract

According to the technical application, therapeutic mechanism and application prospect of therapeutic antibodies are discussed from the research and development of therapeutic antibodies to their application technology. Also, following is a list of some disadvantages of the drug. May this article shall lead perspective in the next section.

## Subject Areas

Biotechnology

## Keywords

Therapeutic Monoclonal Antibodies, Antibody Engineering, Targeted, ADC

## 1. 引言

据世界卫生组织国际癌症研究机构(IARC)数据统计, 2020 年全球新发癌症病例高达 1929 万例, 中国新发癌症人数占比 23.7%。我国人民总体上因罹癌造成的疾病负担过重, 我们亟需一种有效的新型药物研究[1], 而治疗性抗体在靶向性、亲和性等方面对杀伤癌细胞有显著疗效。据欧洲肿瘤内科学会(ESMO)统计: 帕博利珠单抗组患者 2 年及以上用药患者中, 使用帕博利珠单抗单药的 5 年生存率和治愈率均较高, 而治疗性抗体药物在临床应用中亦存在诸多问题, 本文从治疗性抗体研发制备到应用技术层面出发, 阐述治疗性抗体的技术应用、治疗机理以及应用前景。

## 2. 抗体及治疗性抗体

抗体(antibody)是一种由 B 淋巴细胞系的终末分化细胞——浆细胞分泌的能特异性识别抗原的大型 Y 形蛋白质, 由外来分子、微生物或体内其他物

质刺激机体而产生的免疫应答。抗体在血液和淋巴液中循环，与抗原结合发挥作用，可用于鉴别、中和外来病菌，目前仅被发现存在于脊椎动物的血液等体液及其 B 细胞的细胞膜表面。治疗性抗体，1975 年 Kohler 和 Milstein 创立了杂交瘤技术，并制备得到首个治疗性单抗——OKT3。单克隆抗体，是一种具靶向性生物大分子，被广泛用于治疗肿瘤、病毒感染和移植免疫排斥反应。单抗的发展经历四个阶段：鼠源性抗体、嵌合抗体(chimeric antibody，由鼠源性抗体的 V 区基因与人抗体的 C 区基因拼接而成)、人源化抗体、全人源抗体。抗体药物朝向高亲和性、特异性发展，其中人源化抗体相较于鼠源抗体，消除异源性，一定程度上阻止了药物因免疫原性被人体迅速清除，增强单抗药物和受体作用时间和治疗效果[2]。

值得一提的是，抗体-药物偶联物(ADC)候选药物在数量上已经超过同为“改型抗体”的双特性抗体、抗体片段等类别，成为单抗药尤其是肿瘤治疗的研究热点。2020 年西雅图遗传学公司研发出一种治疗宫颈癌新药——TF 靶向抗体药物偶联物(ADC) tisotumab vedotin，相较于传统疗法贝伐单抗和紫杉醇，安全可控且有显著疗效[3]。tisotumab vedotin 是一种靶向组织因子(tissue factor, TF)的抗体药物偶联物(ADC)，TF 在宫颈癌细胞上表达，可促进肿瘤生长、血管生成和转移。ADC 把单克隆抗体和高效细胞毒素结合，充分利用前者靶向性后者活性高的特点，靶向作用于癌细胞，阻止其分裂、增殖，同时减少药物对细胞伤害，毒副作用较小。

### 3. 治疗性抗体技术应用

#### 3.1. 基因操作技术的应用

治疗性抗体表面有复杂的 n-聚糖，显著影响抗体亲和生物活性[4]。2021 年 Ngan T. B. Nguyen 等运用基因表达进行抗体修饰，现阶段用基因操作技术特异性改造抗体，是制备新抗体药的重要途径。美国辉瑞公司 2018 年申请的专利中有大量关于抗体和抗体缀合物药物的修饰研发[5]，该方法能显著改善癌症或自身免疫性疾病，提高患者生活质量和一定程度上延长重度患者的生存期。对抗体修饰获得相应抗原蛋白，能诱导抗肿瘤免疫反应，经改造的抗体可用于构建独特型疫苗。有研究表明，基因工程病原体随时间推移会对药物产生抵抗作用，相关肿瘤耐药机制研究以 MDR 基因表达产物为切入点。此外，基因工程已广泛运用于生产人源化、嵌合型抗体[6]。

#### 3.2. 重组 DNA 技术的应用

重组 DNA 技术用于生产嵌合抗体和人源化抗体，通过重组 DNA 技术改造抗体序列，使抗体亲和力和 Fc 效应(抗体-FcRn 亲和力和)显著增强[7]，以能获得预期的特异性单抗药物。该技术手段可增强抗体依赖细胞介导的细胞毒作用和补体依赖性的细胞毒性。

抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)，是一种具有杀伤性的细胞如 NK 细胞通过其表达的 Fc 受体特异识别靶抗原上的抗体 Fc 段(见图 1，抗体结构示意图)，直接起作用杀死

靶细胞。补体依赖的细胞毒性(complement dependent cytotoxicity; CDC), 是在补体参与下, 通过特异性抗体与细胞膜表面抗原结合, 形成复合物而激活补体细胞, 进而形成的攻膜复合物对靶细胞发挥裂解效应。

现代分子生物学通过冷冻蚀刻电镜和精密的 X 射线晶体衍射分析[8], 探究解析抗体的结构: 每一个 Y 形结构含 4 条多肽链, 即 2 条完全相同的重链和多肽轻链。一条轻链与一条重链的氨基端分别相连, 共同形成抗原结合区, 两条重链的羧基端折叠成 Fc 端, 一条重链和一条轻链的可变区结合形成一个抗原结合部位, 4 条多肽链以共价二硫键和非共价键相连形成一个完整抗体分子[9]。

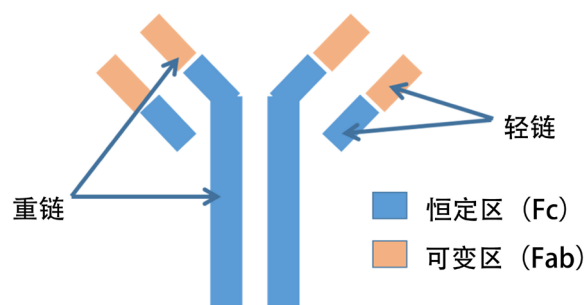


图 1. 抗体结构示意图

### 3.3. 抗体工程与生物技术的融合发展

抗体工程是指利用重组 DNA 和蛋白质工程技术, 对抗体基因进行加工改造和重新装配, 经转染适当的受体细胞后, 表达抗体分子, 或用细胞融合、化学修饰等方法改造抗体分子的工程。

动物细胞大规模培养技术, 为抗体药物产业化奠定基础。单克隆分子成像技术准确地对其分子结构和生物学特性进行检测和分析, 这是保证其安全性和有效性的关键, 以及治疗性单克隆抗体的开发, 制造和临床应用。抗体库技术, 加速单抗制备和单抗药物研发, 并在一些重大疾病如肿瘤、免疫系统疾病治疗上取得重大进展。杂交瘤快速筛选技术、抗体库技术等有利于抗体大规模制备。通过化学偶联或基因重组手段, 将单克隆抗体与药物连接, 研发制备靶向药物。用化学交联、细胞融合和基因工程等方法获得结构上双价的双特异性受体。于天维等采用离子交换层析和凝胶过滤技术分离纯化, 用于抗肿瘤单抗的研究[10]。

## 4. 抗体治疗机理

抗体与抗原结合后可以对机体直接起保护作用, 如用抗体中和毒素的毒性; 通过效应功能灭活或清除外来抗原(抗体依赖性细胞毒作用)。效应子功能是指可归因于抗体 Fc 区的生物活性。包括抗体依赖性细胞介导的细胞毒性、受体结合、补体依赖性细胞毒性(CDC)、吞噬作用等。

### 4.1. 单抗抗癌机理

将癌细胞作为靶体, 副作用更小。偶联物的抗体与蛋白质结合, 被细胞

吸收，再分离出更具杀伤力的细胞毒素和抗体，从而阻止癌细胞分裂[11]。

## 4.2. 抗体杀伤肿瘤细胞机制

抗体杀伤肿瘤细胞机制分为三类：直接作用，免疫介导和通过肿瘤血管和基质细胞起作用。

## 5. 治疗性抗体应用

治疗性抗体广泛应用于治疗肿瘤、癌症、移植排斥、过敏性疾病等领域。单抗作为诊断试剂，对乙肝、肿瘤等诊断和检测。其可能存在的安全风险有可能介导完全相反的生物学效应；存在脱靶(off-target)问题。

### 5.1. 抗肿瘤

杀伤癌细胞，增强抗体依赖性细胞介导的细胞效应(ADCC)及补体依赖性细胞溶解作用(CDC)。

### 5.2. 免疫治疗解毒

抗体与强心苷类毒素结合，促使其与人体内细胞(表面受体)解离。

### 5.3. 抗体 - 药物偶联物(ADC)研究

治疗癌症时使用化疗，细胞毒性试剂对肿瘤细胞不具有特异性；而抗体-药物偶联物(antibody-drug conjugate, ADC)作为靶向抗癌药物，可具有更强药效。

## 6. 研发趋势与前景展望

现阶段较多治疗性抗体药物难以完成三期临床试验，其临床转化到应用难度较高[12]。目前对耐药机制、靶向位点和毒理作用很多作用机制尚不清晰，尚需优化抗体免疫效应机制，针对不同病因靶点进行有效干预和疾病预防。目前三类大分子靶向药物的研发：治疗性单抗药物，抗体-药物偶联物和多肽药物偶联物。分子诊断和靶向药物研发，分子靶向分布、作用靶点和毒性靶点研究。

我国需加强能具有我国自主知识产权的新靶点研发，陈志南等发现了新的肿瘤标志物，其靶点是 HAb18G/CD147。近日深圳市瑞迪生物进行了全球 III 期临床试验中国首例患者给药，对全人源 IgG1 单抗 AR-301 联合抗生素，治疗金黄色葡萄球菌性呼吸机相关性肺炎(VAP)的有效性和安全性进行评估。国内相关学者研究聚焦开拓新靶点方面。随着 PD-1/PD-L1 的发展，越来越多的单克隆抗体药物新靶点将被发现和研究，单克隆抗体药物的种类将会继续增多：Affinity Proteomics 等的研究表明如果抗体验证标准严格，抗体几乎不存在脱靶相互作用；与此同时规范化免疫治疗亦是治疗性抗体药物研发的保障[13]。一项景德镇市第二人民医院肿瘤科谭显海进行的对 100 例乳腺癌患者展开的曲妥珠单抗对化疗序贯放疗对心电图异常率的研究表明[14]，单抗药在药效显著的同时，存在一定的毒副作用。未来的单抗药制备和研发可

重点关注构建细胞亚群, 对其毒理学、药代动力学进行研究[15], 为进一步开发和完善单抗药, 使其更好的应用于临床造福人类发挥更大作用。

## 致谢

感谢我的好友焱杰和轩在我的论文写作过程中, 几乎从未出现过, 坚持不中断我的文献检索和思路进展; 感谢你们一直以来默默地陪伴和鼓励, 让我坚持不断地纠错与完善。感谢教我生物技术课程的阮先乐老师, 在他老人家的谆谆教导和高压教学模式下(每两周写一篇阶段性课程论文, reference 建议超过 30 篇), 我才能不断拓宽知识面, 为写下这篇论文奠定一定的基础。

## Conflicts of Interest

The author declares no conflicts of interest.

## References

- [1] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 周彤, 张婧莹, 游伟程, 潘凯枫, 李文庆. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1-14.
- [2] 梁琍. 治疗性抗体的研究进展[J]. 生物技术通讯, 2006(5): 799-802.
- [3] Vergote, I., Dean, E., Lassen, U., de Bono, J., Drew, Y., Machiels, J.-P., Nielsen, D., Arkenau, H.-T., Forster, M., Jones, R., Slomovitz, B., Spicer, J., Johnson, M., Cornez, N., Gennigens, C., Fulton, B., Lisby, S., Basse, L., Coleman, R. and Hong, D.S. (2017) A Phase IIa Study of Tisotumab Vedotin (HuMax<sup>®</sup>-TF-ADC) in Patients with Relapsed, Recurrent and/or Metastatic Cervical Cancer. *Annals of Oncology*, **28**, V330-V331. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx372.001>
- [4] Nguyen Ngan, T.B., Lin, J., Tay, S.J., Mariati, Y.J., NguyenKhuong, T. and Yang, Y.S. (2021) Multiplexed Engineering Glycosyltransferase Genes in CHO Cells via Targeted Integration for Producing Antibodies with Diverse Complex-Type N-glycans. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 12969. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92320-x>
- [5] T.C-C.国, J.F.查帕罗里格斯, W.陈, A.S-R.陈, E.D.帕斯夸, T.J.范布拉尔科, L.M.布斯塔尼, W.胡, Y.A.杨, P.施特罗普, A.拉吉帕尔. 治疗性抗体和它们的用途[P]. 美国, CN108136002A. 2018-06-08.
- [6] 刘昌孝. 抗体药物的药理学与治疗学研究[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [7] 张峰. 抗体药物部分 Fc 效应功能评价研究[C]//中国药学会. 2016 年生物技术药物理化特性分析与质量研究技术研讨会资料汇编. 北京: 中国药学会, 2016: 1.
- [8] He, K.F., Zeng, S. and Qian, L.H. (2020) Recent Progress in the Molecular Imaging of Therapeutic Monoclonal Antibodies. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **10**, 397-413. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.07.006>
- [9] E.哈洛, D.莱恩. 抗体技术实验指南[M]. 沈关心, 龚非力, 译. 北京: 科学出版社, 2002.
- [10] 于天维, 肖翌, 田海军, 潘琦, 陈应华. Purification of Murine Monoclonal IgM Antibody [J]. *Tsinghua Science and Technology*, 1999(3): 1532-1534.
- [11] Zhu, Z.P. and Yan, L. (2011) Next Generation of Antibody Therapy for Cancer. *Chinese Journal of Cancer*, **30**, 293-302. <https://doi.org/10.5732/cjc.011.10123>
- [12] 高倩, 江洪, 叶茂, 郭文娟. 全球单克隆抗体药物研发现状及发展趋势[J]. 中国生物工程杂志, 2019, 39(3): 111-119.

- [13] 国家卫生健康委员会. 新型抗肿瘤药物临床应用指导原则(2019 年版) [J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2020, 6(1): 16-47.
- [14] 谭显海, 程子宇, 董陶明. 曲妥珠单抗联合化疗序贯放疗对乳腺癌术后患者心电图异常率的影响[J]. 当代医学, 2021, 27(19): 161-163.
- [15] Sjöberg, R., Mattsson, C., Andersson, E., Hellström, C., Uhlen, M., Schwenk, J.M., Ayoglu, B. and Nilsson, P. (2016) Exploration of High-Density Protein Microarrays for Antibody Validation and Autoimmunity Profiling. *New Biotechnology*, **33**, 582-592. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2015.09.002>

## Appendix (Abstract and Keywords in Chinese)

### 治疗性抗体的研发制备技术及其应用

**摘要:** 本文从治疗性抗体研发制备到应用技术层面出发, 阐述治疗性抗体的技术应用、治疗机理和应用前景, 以及其在临床治疗中存在的诸多问题, 有望为下阶段抗体药物的开发制备提供新思路。

**关键词:** 治疗性单抗, 抗体工程, 靶向性, 抗体-药物偶联物(ADC)