

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.05.001

· 专家论坛 ·

基因工程抗体片段——谱写抗体家族的新乐章

崔恒,高磊(北京大学人民医院 妇科肿瘤中心,北京 100044)



[作者简介] 崔恒,教授、主任医师、博士研究生导师,现任北京大学人民医院妇科肿瘤中心主任、妇科副主任;中华医学会妇科肿瘤学分会常委、妇产科学分会常委、妇科内镜学组成员,中国生物医学技术协会理事,《中国妇产科临床杂志》副主编,《中华妇产科杂志》、《现代妇产科进展》、《中国实用妇科与产科杂志》等多种期刊的编委或常务编委。从事妇科肿瘤临床和基础研究工作近 30 年,主要研究方向为卵巢癌的免疫诊断和免疫治疗。2007 年获教育部高等学校科学技术发明奖一等奖,2008 年获中华医学科技奖三等奖,已获国家专利授权 3 项。主持和参与了国家级和省部级科研基金资助项目 20 余项,发表学术论文 200 余篇。E-mail: cuiheng20@163.com

[摘要] 随着分子生物学技术的进步和抗体基因结构的阐明,以小分子抗体为基础并经基因工程改建从而用于研究和临床诊治的大量基因工程抗体片段应运而生。其中,可将生物学活性效应桥连于治疗靶标的双特异性抗体、同时增强抗体效能及细胞毒靶向性的免疫结合物、以独特的单域结构在生物技术和临床医学等方面倍受青睐的纳米抗体,以及在细胞内特定部位表达的细胞内抗体是近年来研究最活跃的几个领域。凭借免疫原性弱、组织渗透性强、低毒性及制备简便等优势,基因工程抗体片段较之单克隆抗体受到了更广泛的关注与认可。尽管大多数处于临床开发的抗体片段的安全性和有效性还有待确定,但基因工程抗体片段的研发必将大大提高人类疾病尤其是肿瘤的诊治水平。

[关键词] 抗体片段;基因工程;双特异性抗体;免疫结合物;纳米抗体;细胞内抗体;抗肿瘤作用

[中图分类号] R730.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)05-0467-06

Genetic engineering antibody fragments – A novel tune for the antibody family

CUI Heng, GAO Lei(Gynecologic Oncology Center, Peking University People Hospital, Beijing 100044, China)

[Abstract] With the advances in molecular biology and the clarification of antibody genetic structure, a variety of small-molecule antibody based-and genetic manipulated-genetic engineering antibody fragments have emerged and been widely used in scientific research, clinical diagnosis and therapy. Among which, bispecific antibody with combined biological activity and therapeutic targeting activity, immunoconjugate with enhanced function and targeting cytotoxicity, nanobody with special single domain structure which is widely applied in biological technology and clinical research, and intrabody with special intracellular expression are the most active fields in antibody fragment research. Genetic engineering antibody fragments have received extensive attention and approval over full-length monoclonal antibodies owing to their desirable characteristics, such as weak immunogenicity, strong tissue permeability, minimal toxicity and simple preparation. although the safety and efficiency of most antibody fragments in clinical research still need to be further identified, development of scientific research on genetic engineering antibody fragments, will inevitably improve diagnosis and therapy of human diseases.

[Key words] antibody fragment; genetic engineering; bispecific antibody; immunoconjugate; nanobody; intrabody; anti-tumor effect

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(5): 467-472]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30872750)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30872750)

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110929.1629.010.html>

近年来单克隆抗体(简称单抗)在靶向治疗领域取得了巨大的进展。在美国,已有22种单抗获准用于肿瘤、自身免疫疾病、移植排斥反应和感染性疾病等多种疾病的诊断和治疗,超过200种单抗候选药物处于临床试验阶段。尽管单抗作为治疗制剂有着巨大的发展空间,但仍存在明显的局限性:(1)复杂的结构使其难以到达组织深处的靶点;(2)体积大,渗透性差,注射是其唯一的给药途径;(3)单抗活化T细胞和激活免疫系统的能力较低;(4)人源化过程复杂,价格昂贵且难以大规模生产。因此有必要设计和生产新一代更有效的抗体分子以满足临床的需要。目前,分子生物学技术的进步和抗体基因结构的阐明大大促进了对抗体的基因操作——重组、鉴定、连接等。研究人员在保持抗体基本作用模式的同时,将开发策略更多地集中在减小抗体的体积和操作复杂性等方面。天然抗体分子可以通过蛋白酶消化的方式分解成多个片段,通过基因工程技术将轻、重链的各段以多种方式组合,从而制备保持抗体特异性和亲和力的基因工程抗体片段。这些抗体片段或消除了天然抗体的一些不利于临床应用的缺陷,或增加了新的生物学功能,改善了抗体的应用性能,拓展了抗体的应用范围。

1 基因工程抗体片段之前奏曲——小分子抗体

抗体分子的抗原结合部位局限在可变区组成的Fv段,利用这一特点可以构建分子量较小的具有抗原结合功能的抗体分子片段,称为小分子抗体。小分子抗体是构建其他基因工程抗体片段的前提。

1.1 第一代小分子抗体——抗原结合片段(fragment with antigen binding, Fab)和重组 Fab

Fab片段由完整轻链和重链的 $V_H + C_{H1}$ 构成。重组Fab是将轻、重链可变区分别与人抗体的 κ 链和重链 C_{H1} 重组。Fab结构稳定,制备简便,具有与完整抗体相同的抗原结合活性,但表观亲和力较低。1994年12月FDA批准了第一个重组Fab片段阿昔单抗(abciximab, ReoPro)上市,该产品以血小板糖蛋白IIb/IIIa为靶点,用以防止血小板聚集及血栓形成,作为冠状动脉导管插入术时预防心肌缺血的辅助用药,取得了巨大的成功^[1]。之后,治疗黄斑变性的兰尼单抗(lucentis)^[2]和用于克罗恩病的赛妥珠单抗(cimzia)^[3]分别于2006年及2008年获得FDA的批准。在临床研究中,Fab占据了临床研发抗体片段的大多数(30/54种)。

1.2 第二代小分子抗体——单链抗体(single chain Fv, ScFv)

ScFv是 V_H 和 V_L 用一个连接肽连接而构成的重组小分子抗体,是含有完整抗原结合部位的最小抗体片段。1995年第一个ScFv进入临床研究,2000-2008年其研发总数量占据了总研究项目数的44%,目前已有19种ScFv进入临床研究,其中3种进入到III期临床试验。迄今还没有ScFv产品上市。在开发中取得较好效果的当属美国Alexion制药公司的以补体 C_5 为靶点的人源化ScFv——Pexelizumab(过去称5G1.1-SC),该产品正处于冠状动脉旁路移植术使用的II/III期临床试验阶段^[4]。

1.3 第三代小分子抗体——单区抗体(single domain antibody, SdAb)和分子识别单位(molecular recognition unit, MRU)

SdAb主要指保留了较好的抗原结合能力和专一性的 V_H 小分子抗体片段,其体积约为完整抗体的1/12。循证研究^[5]指出,SdAb异源性低、组织穿透性强,且经肾脏快速廓清,这些特性使得SdAb在肿瘤显影和细胞毒性制剂传递中的导向性和安全性更高。同时SdAb也能有效地中和包括毒素、细胞因子和凝血因子在内的可溶性胞外蛋白。然而,由于SdAb暴露了表面疏水基团,非特异性吸附增加,易凝结和黏附,须经结构改造后才能使用。目前SdAb可在大肠杆菌周质腔、酵母、植物和哺乳动物细胞中高效表达,纯化和制备过程较为经济简便^[6]。

MRU是由单个互补决定区组成的小分子抗体片段,约为完整抗体分子的1/80~1/70。据报道^[7],MRU也具有与抗原结合的能力,且由于其穿透力强、半衰期短、显像时本底低,在临床诊断中具有潜在的应用前景。

2 基因工程抗体片段之进行曲——抗体片段的改造和改型

通过对小分子抗体基因的改造和修饰,改善其亲和力、免疫原性及效应,构建出多种基因工程抗体片段。目前已有54种基因工程抗体片段进入临床研究,其中30种源自Fab(56%)、19种源自ScFv(35%)、5种源自第三代小分子抗体(9%)^[8]。它们是抗体市场中继人源化抗体和人源单抗两大强势销售抗体之后的第三大销售主力抗体,特别是治疗湿性年龄相关性黄斑变性的兰尼单抗以及治疗克罗恩病和风湿性关节炎的赛妥珠单抗的上市,极大地促进了这一领域市场销售额的增长。

2.1 双特异性抗体

双特异性抗体(bispecific antibody, BsAb)是通

过基因工程操作使一个抗体分子具有两种不同的抗原特异性,其中一个抗原特异性指向体内效应细胞系统,另一个特异性结合靶抗原,将激活的生物效应系统桥连于治疗靶标,达到治疗的目的。这种结构设计能有效地改善抗体药物在体内的药代动力学和临床治疗效果。传统 BsAb 是通过化学交联或细胞融合的方法获得。随着抗体基因工程技术和宿主载体表达系统的进展,新型的重组 BsAb 技术应运而生,其经典模式是将 ScFv、双链抗体(diabody)或微抗体(minibody)串联而成。然而,设计出稳定性好、功能强、纯化简单且利于生产的 BsAb 始终是其有待努力的发展方向。

近期 Michaelson 等^[9]将抗 LT β R 的 ScFv 片段融合于抗 TRAIL-R2 单抗的重链端,设计了以 TNF 家族膜受体 TRAIL-R2 和 LT β R 为靶点的 IgG 样 BsAb。该抗体血浆半衰期长,体外实验中能有效抑制多种肿瘤细胞的生长,在小鼠肿瘤移植模型中较之亲本抗体能更显著地减小肿瘤体积。该研究提示同时靶向和交联受体是一种有效的抗肿瘤策略,该方法可作为构建功能性 BsAb 的标准模式。Ryutaro 等^[10]通过人鼻病毒 3C (human rhinovirus 3C, HRV3C)蛋白酶识别位点,将双特异性双链抗体 hEx3-ScDb(以 EGFR 和 CD3 为靶点)融合到人 Fc 区域,合成 IgG 样 BsAb 的生产及纯化过程简单,抑制肿瘤的效果明显优于已批准上市的西妥昔单抗,在过继性细胞免疫治疗中显示了良好的应用前景,也为工业化生产高纯度、高效能的治疗性 BsAb 提供了方法学支持。

研究^[11]发现,用高价 BsAb 靶向目标抗原可使药物选择性地结合到高抗原密度的肿瘤组织区,正常组织抗原密度低于 BsAb 的结合域值,因而 BsAb 极少渗透入正常组织,从而提高了 BsAb 的靶向性,减少了不良反应。Lu 等^[12]设计了 3 价抗 ErbB2/CD16 的 BsAb,它包括 2 个结合 ErbB2 的 ScFv 形式结合位点和一个定位于 NK 细胞的单价 Fab 片段位点。实验结果显示,该 BsAb 能结合乳腺癌 SKBR3 细胞上 ErbB2 胞外结构域,在低浓度水平即可有效介导效应细胞对 SKBR3 细胞的细胞毒作用。此外,在 SKOV3 异种移植瘤小鼠模型中发现,该 BsAb 较抗 ErbB2 ScFv-Fc 融合蛋白效果更强。上述结果为进一步清除微小残余灶中的肿瘤细胞提供了新的思路。Rossi 等^[13]报道了一对来自抗 CD20 IgG1 κ (humanized anti-CD20 immunoglobulin G1 κ , Veltuzumab) 和依帕珠单抗 (epratuzumab) 的人源化 6 价抗 CD20/22 的 BsAb——20-22 和 22-20。它们无需第

二抗体交联即可诱导肿瘤细胞凋亡和增殖抑制,较亲本抗体具有更强的杀伤淋巴瘤细胞的功效,且对自体正常 B 细胞的作用较弱。

2.2 免疫结合物

免疫结合物 (immunoconjugate) 以抗体片段为载体,与细胞毒性物质连接而成。处于临床研究的 54 种抗体片段中有 24 种候选物属免疫结合物 (44%),它们全部是抗肿瘤制剂^[8]。其中,免疫毒素 (immunotoxin) 的研制是最活跃的领域之一。

免疫毒素是抗体片段与毒素通过化学交联或基因融合的方法制备成的融合蛋白。常用的毒素有假单胞菌外毒素、炭疽毒素、白喉毒素等细菌毒素,以及蓖麻毒素、皂草素^[14]等植物毒素。肿瘤细胞过表达的肿瘤相关抗原、膜受体及糖类抗原常作为免疫毒素攻击的靶标。目前,24 种进入临床试验的免疫结合物中有 12 种为免疫毒素,其中一种白介素融合 2 毒素 (denileukin difitox, Ontak) 已获 FDA 批准上市^[8]。

上皮细胞黏附分子 (epithelial cell adhesion molecule, Ep-CAM) 在人类多种肿瘤组织中过表达,因此常成为免疫毒素治疗的靶标。研究^[15]显示,将抗 Ep-CAM 的 Fab 片段与葡萄球菌肠毒素 A 融合制备相应的免疫毒素 (C215Fab-SEA),联合多烯紫杉醇可明显抑制肺移植瘤在荷瘤 C57Bl/6 小鼠体内的生长,延长荷瘤小鼠的生存期,显示了良好的应用前景。

Bergelt 等^[16]发现,李斯特菌溶血素 O (listeriolysin O, LLO) 作为免疫毒素的细胞毒成分有其独特的优势,如它的最佳酸性 pH 值及通过半胱氨酸氧化调节的强溶细胞活性等特性。将 LLO 与抗 Lewis Y 的二硫键化抗体片段 B3 通过异源二聚化作用交联,得到新型免疫毒素 B3-LLO,其对 LLO 抗原阳性的 MCF7 细胞有特异性杀伤作用,而 LLO 抗原阴性的细胞系对其不敏感。

免疫毒素中毒素部分的免疫原性和导致的血管渗漏综合征等非特异性毒性严重限制了免疫毒素的临床应用。为了克服这些问题,以人体内源性蛋白作为细胞毒性基团的新型免疫毒素应运而生。如以凋亡前体蛋白 TNF 相关的可溶性诱导凋亡配体 (soluble tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand, sTRAIL) 为细胞毒性基团构建的免疫毒素 ScFv54-sTRAIL、ScFv425-sTRAIL 和 ScFvCD7-sTRAIL,分别以上皮糖蛋白-2、上皮生长因子及 CD7 阳性的肿瘤细胞为靶标,这 3 种免疫毒素可通过交联靶抗原表达缺失细胞上的 TRAIL 受体,通过旁观

者效应杀伤周围肿瘤细胞。此外,以人核糖核酸酶为基础的免疫毒素对动物细胞毒性低,体内实验的安全剂量即可有效地选择性杀伤靶细胞^[17]。

其他形式的免疫结合物还包括:放射性标记的抗体片段^[18-20],通过抗体特异性的识别作用使放射性物质有效地导向肿瘤组织局部,用于放射免疫治疗;抗体-化疗药物结合物^[21],通过化学方法使抗体和化疗药物的某些基团偶联,在特异的作用位点产生细胞毒作用进行免疫化疗;抗体-酶连接物^[22-23],利用抗体导向作用,将催化前体药物的酶携带至肿瘤局部,待血液循环及正常组织中非特异分布的抗体酶药物廓清后再注射前体药物,在肿瘤局部造成高浓度化疗药物的微环境,从而高效率杀伤肿瘤细胞。总之,各种免疫结合物的目的都是增强抗体的效应功能并增加替代物的靶向性,从而提高对肿瘤的治疗效果。

2.3 纳米抗体

1993 年 Hamers 等^[24]报道,骆驼血液中的抗体有一半天然缺失轻链和重链恒定区 1(C_{H1}),克隆这种抗体重链的可变区,构建仅由一个重链可变区组成的单域抗体(V_{H1}),现已被重新命名为“纳米抗体”(nanobody),它是具有完整功能的最小的抗原结合片段^[25]。

纳米抗体的单域性质使其较普通抗体具有一些独特性能。纳米抗体具有高度水溶性和构象稳定性,在苛刻的条件中,如胃液和内脏中仍能保持抗原结合活性,为口服治疗胃肠道功能紊乱性疾病提供新的思路。纳米抗体能识别独特的抗原表位,可进入酶的活性部位及细菌或病毒表面受体的裂缝中,可以利用其模拟药物来设计小分子酶的抑制剂、受体的激动剂或拮抗剂等。纳米抗体能有效地穿过血脑屏障,因而纳米抗体有望成为治疗神经性疾病和脑肿瘤的新药。

近年来纳米抗体在生物技术和临床医学等方面的应用倍受关注。Delanote 等^[26]用来自骆驼的抗 L-plastin 纳米抗体作为效应器,通过阻断 F-肌动蛋白捆绑,可有效抑制 PC-3 细胞丝状伪足的形成、细胞游走及侵袭,提示这类抗体无需操作基因的表达即可敲除结构蛋白的功能,这也弥补了 RNAi 依赖表型变化来判断沉默效果的缺陷。

在疾病的诊断方面,由于纳米抗体与靶点的高亲和力、快速廓清率和优良的穿透能力,常作为靶向分子构建成造影剂。Gainkam 等^[27]利用两种放射性核素(^{99m}Tc)标记的抗 EGFR 纳米抗体(^{99m}Tc-7C12 和 ^{99m}Tc-7D12)进行了有关肿瘤显像的研究,针

孔 SPECT/微型 CT 成像结果表明,两种纳米抗体造影剂均呈现较高的肿瘤摄取率和较短的血浆半衰期,在注射的早期可用于特异性靶点的放射免疫显影。Ryan 等^[28]研究出一种以金黄色葡萄球菌为靶标的新型超顺磁纳米抗体,有较长的半衰期,且与传统的完整抗体相比无交叉反应。在混合细胞群中以近 100% 的有效性和特异性捕获金黄色葡萄球菌感染细胞,可作为通用的生物诊断制剂。

Endoglin(CD105)在多种实体瘤的脉管系统中呈过表达,是抗血管生成治疗的理想靶点。Ahmadvand 等^[29]使用抗 CD105 纳米抗体 AR-86a 作为血管生成抑制剂,显著抑制了人内皮细胞的增殖和毛细血管样结构的形成。AR-86a 亲和力和不良反应少,且不易形成耐药性。Bakhtiari 等^[30]将抗 MUC1 纳米抗体作为抗原结构域,CD28 和 CD3 zeta 作为信号结构域,与 IgG3 一起构建成嵌合受体结构,并转染白血病 Jurkat T 细胞,后者可引起共培养的 MUC1 阳性的 MCF7 细胞死亡,提示抗 MUC1 嵌合抗体可增强 T 细胞的靶向细胞毒效应,具有良好的临床应用前景。

2.4 细胞内抗体

将小分子抗体基因加上定位信号序列,使其在细胞内特定部位表达,可中和或调节位于特定亚细胞部位的活性分子或者触发免疫反应,即为细胞内抗体(intrabody)。目前细胞内抗体主要应用于疾病的基因治疗。

细胞核内多聚腺苷酸结合蛋白(PABPN1)N 端多聚丙氨酸链的延伸可引起肌营养不良(oculopharyngeal muscular dystrophy, OPMD)。Chartier 等^[31]在 OPMD 的果蝇模型中检测了 6 种抗 PABPN1 细胞内抗体的体内疗效,结果显示,3F5 抗体可显著抑制 OPMD 的肌肉退化,几乎达到完全缓解。细胞内抗体的表达可影响 PABPN1 的核聚集,恢复肌肉蛋白的表达,对蛋白质聚集性疾病具有良好治疗效果。

Hayashi 等^[32]成功合成了针对 γ 分泌酶复合体重要成分 nicastrin(NCT)的 ScFv 胞内抗体,生化分析结果显示,该抗体能扰乱内源性 NCT 的正常折叠和糖基化成熟,进而影响 γ 分泌酶复合体的稳定性及内源蛋白水解活性。工程化的细胞内抗体为探索膜蛋白新的功能提供了重要的分子靶向工具。

3 基因工程抗体片段之变奏曲——抗体片段的利与弊

抗体片段分子量小、免疫原性弱,用于人体不易产生异源蛋白免疫反应;体积小,具有很强的组织渗

透性,可以结合不易与完整单抗结合的隐藏的抗原表位,包括免疫逃逸病原糖蛋白和酶活性表位袋;抗体片段是相对小的非糖基化蛋白,经微生物表达系统制备相对容易,程序简单、生产成本低。抗体片段的功能模式包括结合配体或受体,以阻碍生物分子的作用或通过交联受体启动信号通路。与单抗不同,抗体片段不能诱导由 Fc 结构域(fragment of crystallization)介导的效应功能,如抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(antibody dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)或补体依赖的细胞毒作用(complement dependent cytotoxicity, CDC),用于免疫诊断成像时,由于其不结合具有 Fc 受体的非靶细胞,因此显像清晰,本底低。另一方面,由于抗体片段经肾脏清除,在人体的循环半衰期较短,在一些情况下是必要的,如对有细胞毒性的放射性核素的清除,使其不会对正常组织产生不利影响;然而,短的半衰期可能妨碍抗体药物在靶点的累积量。此外,部分类型抗体片段由于轻重链可变区以非共价键结合,连接肽呈现疏水性,常常显示聚合倾向。目前虽已研究了改善这一问题的方法,但抗体片段仍有可能形成不符合临床用药要求的聚合物,因而不如单抗稳定。

4 基因工程抗体片段畅想曲——抗体片段的展望

自从 2006 年开始使用兰尼单抗治疗湿性年龄相关性黄斑变性以来,抗体片段已对整个单抗药物市场产生了显著的影响。有数据预测,2013 年时抗体片段药物的销售额将增加 28.52 亿美元(占据总额的 5.8%),2007-2013 年的复合年度增长率将达 18.3%,销售增长速度仅次于全人源单抗。抗体片段具有独特的优势,也体现了利用各种来源的蛋白结构域开展重组生物疗法的多样性。目前,基于抗体片段的治疗学以肿瘤、免疫性疾病和感染性疾病为三大主要研究领域,尽管大多数尚处于临床开发的抗体片段药物的安全性和有效性还有待确定,但随着工艺技术的进步以及目前靶向治疗的发展,我们有理由相信,基因工程抗体片段的研发将大大提高人类疾病的诊治水平,为抗体家族的临床应用谱写新的乐章。

[参考文献]

[1] Vergara-Jimenez J, Tricoci P. Safety and efficacy of abciximab as an adjunct to percutaneous coronary intervention [J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2010, 6(3): 39-45.

[2] Kang S, Roh YJ. Ranibizumab treatment administered as needed for occult and minimally classic neovascular membranes in age-re-

lated macular degeneration [J]. *Jpn J Ophthalmol*, 2011, 55(2): 123-127.

[3] Goel N, Stephens S. Certolizumab pegol [J]. *MABs*, 2010, 2(2): 137-147.

[4] Gibson CM, Pride YB. Myocardial infarct size reduction with pexelizumab: The role of chance is patently clear [J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2010, 3(1): 61-63.

[5] Iqbal U, Albaghdadi H, Luo Y, et al. Molecular imaging of glioblastoma multiforme using anti-insulin-like growth factor-binding protein-7 single-domain antibodies [J]. *Br J Cancer*, 2010, 103(10): 1606-1616.

[6] Wesolowski J, Alzogaray V, Reyelt J, et al. Single domain antibodies: Promising experimental and therapeutic tools in infection and immunity [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2009, 198(3): 157-174.

[7] Muylderms S. Single domain camel antibodies: Current status [J]. *J Biotechnol*, 2001, 74(4): 277-302.

[8] Nelson AL, Reichert JM. Development trends for therapeutic antibody fragments [J]. *Nat Biotechnol*, 2009, 27(4): 331-337.

[9] Michaelson JS, Demarest SJ, Miller B, et al. Anti-tumor activity of stability-engineered IgG-like bispecific antibodies targeting TRAIL-R2 and LT β R [J]. *MABs*, 2009, 1(2): 128-141.

[10] Asano R, Ikoma K, Kawaguchi H, et al. Application of the Fc fusion format to generate tag-free bi-specific diabodies [J]. *FEBS J*, 2010, 277(2): 477-487.

[11] Deyev SM, Lebedenko EN. Multivalency: The hallmark of antibodies used for optimization of tumor targeting by design [J]. *Bioessays*, 2008, 30(9): 904-918.

[12] Lu H, Shi M, Wang M, et al. *In vitro* and *in vivo* antitumor effect of a trivalent bispecific antibody targeting ErbB2 and CD16 [J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(11): 1744-1750.

[13] Rossi EA, Goldenberg DM, Cardillo TM, et al. Hexavalent bispecific antibodies represent a new class of anticancer therapeutics: 1. Properties of anti-CD20/CD22 antibodies in lymphoma [J]. *Blood*, 2009, 113(24): 6161-6171.

[14] Lombardi A, Bursomanno S, Lopardo T, et al. *Pichia pastoris* as a host for secretion of toxic saporin chimeras [J]. *FASEB J*, 2010, 24(1): 253-265.

[15] Sundstedt A, Celander M, Ohman MW, et al. Immunotherapy with tumor-targeted superantigens (TTS) in combination with docetaxel results in synergistic anti-tumor effects [J]. *Int Immunopharmacol*, 2009, 9(9): 1063-1070.

[16] Bergelt S, Frost S, Lilie H. Listeriolysin O as cytotoxic component of an immunotoxin [J]. *Protein Sci*, 2009, 18(6): 1210-1220.

[17] Mathew M, Verma RS. Humanized immunotoxins: A new generation of immunotoxins for targeted cancer therapy [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(8): 1359-1365.

[18] Eder M, Knackmuss S, Le Gall F, et al. ^{68}Ga -labelled recombinant antibody variants for immuno-PET imaging of solid tumours [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2010, 37(7): 1397-1407.

[19] He J, Wang Y, Feng J, et al. Targeting prostate cancer cells *in*

in vivo using a rapidly internalizing novel human single-chain antibody fragment [J]. J Nucl Med, 2010, 51(3):427-432.

[20] Zhu H, Yang B, Yang X, et al. A novel antibody fragment targeting HAb18G/CD147 with cytotoxicity and decreased immunogenicity [J]. Cancer Biol Ther, 2009, 8(11): 1035-1044.

[21] Maeda H, Tominaga K, Iwanaga K, et al. Targeted drug delivery system for oral cancer therapy using sonoporation [J]. J Oral Pathol Med, 2009, 38(7): 572-579.

[22] Afshar S, Asai T, Morrison SL. Humanized ADEPT comprised of an engineered human purine nucleoside phosphorylase and a tumor targeting peptide for treatment of cancer [J]. Mol Cancer Ther, 2009, 8(1): 185-193.

[23] Afshar S, Olafsen T, Wu AM, et al. Characterization of an engineered human purine nucleoside phosphorylase fused to an anti-her2/neu single chain Fv for use in ADEPT [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2009, 28(1): 147.

[24] Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, et al. Naturally occurring antibodies devoid of light chains [J]. Nature, 1993, 363(6428): 446-448.

[25] Rahbarizadeh F, Ahmadvand D, Sharifzadeh Z. Nanobody: An old concept and new vehicle for immunotargeting [J]. Immunol Invest, 2011, 40(3): 299-338.

[26] Delanote V, Vanloo B, Catillon M, et al. An alpaca single-domain antibody blocks filopodia formation by obstructing L-plastin-mediated F-actin bundling [J]. FASEB J, 2010, 24(1): 105-118.

[27] Gainkam LO, Huang L, Caveliers V, et al. Comparison of the bio-distribution and tumor targeting of two ^{99m}Tc-labeled anti-EGFR nanobodies in mice, using pinhole SPECT/micro-CT [J]. J Nucl Med, 2008, 49(5): 788-795.

[28] Ryan S, Kell AJ, van Faassen H, et al. Single-domain antibody-nanoparticles: Promising architectures for increased staphylococcus aureus detection specificity and sensitivity [J]. Bioconjugate Chem, 2009, 20(10): 1966-1974.

[29] Ahmadvand D, Rasae MJ, Rahbarizadeh F, et al. Cell selection and characterization of a novel human endothelial cell specific nanobody [J]. Mol Immunol, 2009, 46(8/9): 1814-1823.

[30] Bakhtiari SH, Rahbarizadeh F, Hasannia S, et al. Anti-MUC1 nanobody can redirect T-body cytotoxic effector function [J]. Hybridoma (Larchmt), 2009, 28(2): 85-92.

[31] Chartier A, Raz V, Sterrenburg E, et al. Prevention of oculopharyngeal muscular dystrophy by muscular expression of Llama single-chain intrabodies *in vivo* [J]. Hum Mol Genet, 2009, 18(10): 1849-1859.

[32] Hayashi I, Takatori S, Urano Y, et al. Single chain variable fragment against Nicastrin inhibits the gamma-secretase activity [J]. J Biol Chem, 2009, 284(41): 27838-27847.

[收稿日期] 2011 - 09 - 01 [修回日期] 2011 - 09 - 20
[本文编辑] 韩 丹

• 科技动态 •

Th1 和 Th17 决定 β 干扰素对多发性硬化症患者及实验性脑脊髓炎的疗效

干扰素 (IFN-β) 是临床治疗多发性硬化症的主要用药, 然而 IFN-β 并不对每个多发性硬化症患者均有效。就此, 作者针对 IFN-β 治疗的反应性差异进行了相关研究, 并在多发性硬化症 (multiple sclerosis, MS) 及实验性自身免疫性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 中均得出了一致结论。

该研究发现, IFN-β 能减轻 Th1 细胞诱导的 EAE 发作, 但却加剧 Th17 细胞诱导的 EAE 疾病进展。其中, IFN-β 对 EAE 的良好疗效与脾细胞分泌高水平 IL-10 相关。在 Th17 诱导的 EAE 疾病模型中, IFN-β 治疗对 IL-10 的产生没有任何影响; 此外, 尽管 IFN-β 能显著减少 IL-17 的产生, 但意外的是, 这似乎对疾病进展毫无作用。进一步研究发现, IFN-β 对 IL-17 的抑制以及对 IL-10 的诱导作用均依赖于 IFN-β, 即阻断 IFN-β 后, 对 EAE 的疗效便随即消失。同时, 对 MS 患者的研究发现, IFN-β 非反应性 MS 患者较反应性患者血清中存在更高水平的 IL-17F, 且前者病情较重, 需依赖大量的类固醇药物。以上提示, IFN-β 在 Th17 诱导的 EAE 中呈现促炎效应, 而 MS 患者血清中高水平的 IL-17 与 IFN-β 非反应性呈正相关。

[林莉 摘译, 李楠 审阅. Axtell RC, de Jong BA, Boniface K, et al. Nat Med, 2010, 16(4): 406-412.]