

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.04.019

· 综 述 ·

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤相关抗原及其抗体治疗的研究进展

Diffuse large B-cell lymphoma-associated antigens and their antibody therapy: Research advance

叶鸣宇 综述, 汪洋 审阅(南开大学医学院 分子病毒和病毒免疫学实验室, 天津 300071)

[摘要] 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)是成人中发病率最高的中高度恶性淋巴瘤,其在免疫学特性和临床表现上具有很大异质性。治疗性单克隆抗体的出现为包括 DLBCL 在内的恶性 B 细胞淋巴瘤的治疗带来了根本性的变化。针对 B 细胞 CD20 抗原,继 1997 年美国 FDA 首次批准单克隆抗体 Rituximab 应用于治疗 B 细胞淋巴瘤并取得了良好的临床效果之后,又陆续研发出第 2 代抗体 Ofatumumab 和 Veltuzumab 以及第 3 代抗体 GA-101。同时,一些针对 B 细胞其他靶位的单克隆抗体,包括 Epratuzumab 和 CMC-544(抗 CD22)、Medi-551(抗 CD19)、Dacetuzumab(抗 CD40)、Milatuzumab(抗 CD74),以及 Apolizumab(抗 HLA DR)等,均已进入临床试验阶段。

[关键词] 弥漫性大 B 细胞淋巴瘤;抗原;单克隆抗体;免疫治疗;预后

[中图分类号] R733.4; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)04-0447-04

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)是最常见的成人非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL),约占所有 B 细胞淋巴瘤的 50%,占 NHL 的 30%~40%。在美国,每年有超过 2 500 例的新增 DLBCL 患者,而我国的发病率还缺乏确切的统计资料。DLBCL 在临床上具有较高的异质性,根据不同的标准可分为不同的亚型^[1]。根据基因表达谱可将 DLBCL 分为 3 型:生发中心 B 细胞型(germinal center B-cell-like, GCB)、活化 B 细胞型(activated B-cell-like, ABC)和第三型^[2]。DLBCL 发病率随年龄而增加,尤见于中老年人群,男性发病率略高于女性。近年来大量的研究和临床实践致力于寻找与 DLBCL 密切相关的抗原及其特异性抗体,本文将对 DLBCL 相关抗原及这些抗原的治疗性单克隆抗体的研究现状作一综述。

1 CD20 及其相应的单克隆抗体

1.1 CD20

CD20(B1 或 Bp35)是定位于 B 细胞表面并涉及 B 细胞分化的一类穿膜蛋白,1980 年 Stashenko 等^[3]利用单克隆抗体技术首次鉴定出该抗原。CD20 由 MS4A 家族的一个成员所控制,相对分子质量为 33 000~35 000,含有 4 个穿膜结构域。N 端和 C 端都在胞质内侧,在细胞膜外有一个 40 个氨基酸组成的胞外结构域(extracellular domain, ECD),该结构域含有一个由一对二硫键所构成的环状结构^[4]。CD20 在正常 B 细胞及 95% 以上的恶性 B 细胞中都有表达,但在造血干细胞和浆细胞中并不表

达,是调节 B 细胞增殖和分化信号途径的一部分。CD20 的另一个重要功能是在细胞膜上同源聚合形成类似 7 次穿膜的通道蛋白结构,从而参与调控胞内 Ca 离子的平衡。由于上述的结构和组织特异分布特点,使 CD20 成为是治疗恶性 B 细胞淋巴瘤的良好单克隆抗体靶位点。

1.2 针对 CD20 的单克隆抗体

1.2.1 Rituximab(利妥昔) Rituximab 是临床上第一个被用于治疗 B 细胞淋巴瘤的药物,研究^[5]表明,它能激发抗体依赖细胞介导的细胞毒性作用(antibody dependent cell mediated cytotoxicity, ADCC)和补体依赖的细胞毒作用(complement dependent cytotoxicity, CDC),并且能在体外诱导淋巴瘤细胞的凋亡。单独采用 Rituximab 治疗低度恶性淋巴瘤可达到部分或完全缓解,并且可使患者的无进展生存期(progression free survival, PFS)和总体生存期(overall survival, OS)相对延长。Coiffier 等^[6]研究证明,采用 Rituximab 加 CHOP 的联合疗法(R-CHOP)治疗 DLBCL 的完全反应率(complete response rate, CRR)比单独使用 CHOP 治疗约高出 12 个百分点;研究还证明 R-CHOP 较单独采用 CHOP

[基金项目] 天津市科委天津瑞典合作重大项目(No. 09ZCZDSF04000)。Project supported by the Key Foundation of Tianjin-Sweden Cooperation Program (No. 09ZCZDSF04000)

[作者简介] 叶鸣宇(1987-),男,浙江省金华市人,硕士研究生,从事肿瘤免疫治疗方面的研究。E-mail: yemy007123@yahoo.com.cn

[通信作者] 汪洋(WANG Yang, corresponding author), E-mail: yang-wang@nankai.edu.cn

治疗 5 年无事件生存率(event free survival, EFS)、PFS 和 OS 分别高出 18.24 和 13 个百分点。

1.2.2 Ofatumumab Ofatumumab(商品名 Arzerra)属于第二代针对 CD20 靶位的单克隆抗体,它结合于 CD20 胞外区域的环状结构,较 Rituximab 有更强的 CDC 效应。在难治性 DLBCL 的细胞系中,Ofatumumab 也表现出较 Rituximab 更强的抗肿瘤效应。针对滤泡性淋巴瘤的 I、II 期临床研究显示,Ofatumumab 所引起的临床反应率达 20% ~ 63%^[7]。针对 DLBCL 的 III 期临床实验目前正在进行中。

1.2.3 Veltuzumab Veltuzumab(hA20)和 Ofatumumab 同属第二代抗 CD20 单克隆抗体,和 epratuzumab 具有相同的免疫球蛋白骨架区(framework region, FR),后者为人源化抗 CD22 单克隆抗体。Veltuzumab 与 Rituximab 具有多个相似的互补决定区(complementary determining region, CDR),但在一些细胞系中,较 Rituximab 有更强的 CDC 效应和抗原结合能力^[8]。值得注意的是,Veltuzumab 还能诱导产生 ADCC 效应,并且可产生与自身相交联的第二抗体,诱导肿瘤靶细胞凋亡^[8]。在一项由 82 例复发或难治性 NHL 病例(包括 55 例 FL 和 27 例其他种类的 B 细胞瘤)组成的临床试验中,Morschhauser 等^[9]每周 1 次、连续 4 周给予患者 80 ~ 750 mg/m² 的 Veltuzumab 进行单抗治疗,结果 55 例 FL 患者中有 24 例(44%)产生有效反应,其中有 15 例(27%)达到完全缓解。

1.2.4 GA-101 GA-101 属于第 3 代抗 CD20 单克隆抗体,是一种人源化的非补体结合的抗 CD20 抗体,具有强烈的 ADCC 效应,可直接导致靶细胞死亡;但与 Rituximab 相比其 CDC 效应相对较差。在猕猴身上,GA-101 较 Rituximab 具有更好的诱导 B 细胞凋亡的效果。最新公布的临床 I 期研究^[10]结果显示,GA-101 对 Rituximab 治疗无效的患者反应率可达 58%,并且没有严重的毒性反应。

1.2.5 AME-133v AME-133v 也是一种抗 CD20 抗体,与上述抗体相比它同时能与 CD16 相结合,从而有助于 NK 细胞的活化,增强对靶细胞的杀伤效果^[11]。研究^[11]还显示,AME-133v 诱导 B 细胞凋亡的作用是 Rituximab 的 10 倍左右,这表明 AME-133v 可能较 Rituximab 对 CD20 阳性恶性淋巴瘤具有更好的治疗效果。其针对复发/难治性 NHL 的临床研究尚在进行中。

2 抗原 CD22 及其单克隆抗体

2.1 CD22

CD22 是与 B 细胞受体(B cell receptor, BCR)相偶联的一类穿膜蛋白,是 Siglecs 家族的重要成员。CD22 有两种类型:CD22- α 和 CD22- β , 相对分子质量分别为 110 000 和 140 000。CD22 胞质端的 6 个酪氨酸残基可被磷酸化,其中的 3 个属于免疫受体酪氨酸抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM),可与含 SH2 结构域的蛋白质酪氨酸磷酸酶 1 (SH2-containing tyrosine phosphatase 1, SHP-1)结合。SHP-1 是一种存在于细胞内的酪氨酸磷酸酶,可调节抗原、细胞因子、生长因子和趋化因子介导的信号途径;SHP-1 能结合在磷酸化的 ITIM 上面,调节 Ca 离子胞内外移动,对 BCR 信号进行负调控。Nitschke 等^[12]研究表明,小鼠 CD22 表达缺失能降低 BCR 偶联信号的阈值,从而影响 B 细胞的增殖、分化与凋亡。CD22 表达于正常成熟的 B 细胞,同时正常 B 细胞向恶性 B 细胞转化的过程中 CD22 分子也依然有所表达。大约有 70% 的 B 细胞淋巴瘤表达 CD22 分子;在 DLBCL 中,CD22 阳性率更高,达 85%。因此 CD22 被认为是 NHL 免疫治疗的有效靶点。

2.2 针对 CD22 的单克隆抗体

2.2.1 Epratuzumab(hLL2, 依帕珠单抗) Epratuzumab 是针对 CD22 的人源化单克隆抗体,与靶位结合后可迅速被内化。一项由 56 例 NHL 病例组成的 I / II 期临床研究^[13]表明,Epratuzumab 具有相对较低的免疫原性。Leonard 等^[14]用 Epratuzumab 单独治疗 NHL 患者 4 周,结果表明无不良反应,而且具有一定的治疗效果。采用 Epratuzumab 与 R-CHOP 联合的方式治疗 DLBCL,患者的整体反应率(overall response rate, ORR)可达 87% 左右^[15]。

2.2.2 CMC-544 CMC-544(inotuzumab ozogamicin)是人源化抗 CD22 抗体与肿瘤抗生素 calicheamicin (烯二炔类高效抗肿瘤抗生素)共价相连的一种药剂。在一项用 CMC-544 治疗 15 例 DLBCL 患者的 I 期临床研究^[16]中,2 例患者达到完全缓解,3 例部分缓解。在另一项临床试验^[17]中,30 例获得疗效,FL 和 DLBCL 患者 6 个月 PFS 分别为 100% 和 66%。

3 CD19 及其单克隆抗体

3.1 CD19

CD19 是 B 细胞表面的一种分化抗原,其相对分子质量约为 95 000,表达于正常造血系统的 B 细胞和生发中心的滤泡树突状细胞,在 B 细胞的一些恶性肿瘤上也有表达^[18],在其他组织和细胞上则无表达。CD19 参与 B 细胞的信号转导、Ca 离子浓度的调节和

B 细胞的增殖与活化。此外,CD19 还参与调节 B-1 细胞的发育和再生。

3.2 针对 CD19 的单克隆抗体

Medi-551 是针对 CD19 的人源化抗体,实验表明,相同浓度的 Medi-551 较 Rituximab 有更强的诱导 ADCC 效应的能力。此外,在人源化 CD19 或者 CD20 转基因小鼠中,低剂量的 Medi-551 表现出比 Rituximab 更强的 B 细胞杀伤力^[19]。因此,Medi-551 被认为是一极具潜力的 B 细胞恶性淋巴瘤治疗性单抗。其 I 期临床研究正在进行中^[20]。

4 CD40 及其单克隆抗体

4.1 CD40

CD40 属于 TNF 受体家族成员,在多种淋巴细胞中都有表达,在其他多种体细胞包括成纤维细胞、神经元、上皮及内皮细胞中也有表达。CD40 含有 193 个氨基酸组成的胞外结构域、22 个氨基酸的穿膜区域、以及 2 个氨基酸的胞内 C 端。其胞质内侧并没有激酶活性的结构域,但胞内段可以通过募集肿瘤坏死因子受体相关蛋白而激活第二信使信号通路。CD40 与其配体 CD154 相互作用产生的信号能促进 B 细胞增殖并分化成浆细胞;阻止 CD40 与其配体的结合能抑制恶性 B 细胞的生长并促进其凋亡。CD40 一定程度的表达能引起肿瘤的抑制效应和凋亡效应,但随着肿瘤逐渐的形成和机体抗肿瘤免疫系统的破坏,CD40 又可促进肿瘤的生长^[21]。

4.2 针对 CD40 的单克隆抗体

Dacetuzumab(SGN-40)是一种人源化抗 CD40 单抗。研究^[22]表明,SGN-40 能抑制 B 细胞淋巴瘤细胞的增殖,诱导细胞凋亡和产生 ADCC 效应。在异种移植的 CD40 肿瘤模型中,SGN-40 表现出与 Rituximab 相似的抗肿瘤活性^[23]。一项针对不同亚型的 NHL 患者(包括 DLBCL)的 I 期临床试验表明,SGN-40 具有一定的抗肿瘤活性^[24]。针对复发 DLBCL 患者的 II 期临床试验中,大约有 10% 的患者产生了抗肿瘤免疫反应^[25]。

5 CD30 及其单克隆抗体

CD30 是属于 TNF 超家族的 I 型穿膜蛋白,相对分子质量为 120 000,在霍奇金淋巴瘤和间变性淋巴瘤中均高表达。SGN-30 是一种针对 CD30 的嵌合型抗体。体外和体内的实验^[26]表明,SGN-30 与化疗之间有协同作用。II 期临床研究^[27]结果显示,SGN-30 对间变性大 B 细胞淋巴瘤有一定的抗肿瘤活性。

6 CD74 及其单克隆抗体

6.1 CD74

CD74 是 MHC II 类分子的相关恒定链,是 MHC II 重要的分子伴侣,与 MHC II 类分子的形成、胞内转运以及与抗原肽的结合有关。它属于 II 类非多肽性穿膜糖蛋白,包含 30 个氨基酸残基的 N 端胞内区,26 个氨基酸的疏水穿膜区,160 个氨基酸的胞外区,并且其胞外区含有两条糖链。CD74 在 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、树突状细胞和多种肿瘤细胞表面都有所表达,同时 90% 的 B 细胞肿瘤都有 CD74 的表达^[28]。CD74 高表达的肿瘤预后相对较差。

6.2 针对 CD74 的单克隆抗体

Milatumumab(hLL1)是针对 CD74 的一种人源化单克隆抗体。体外实验^[29]表明,Milatumumab 能抑制 B 细胞的生长,并诱导其凋亡。在重症联合免疫缺陷的 NHL 小鼠模型中,Milatumumab 有明显的抗肿瘤活性^[29]。其关于淋巴瘤和慢性淋巴细胞白血病的 I / II 期临床研究正在进行中。

7 针对其他抗原的单克隆抗体

Apolizumab 是一种针对 HLA-DR 的单克隆抗体,能诱导 B 细胞的 CDC 效应、ADCC 效应和细胞的程序性死亡。HLA-DR 在各种组织中都有表达,但主要表达于淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞。Apolizumab 的临床试验^[30]表明,其抗肿瘤活性并不理想。Mapatumumab 和 Lexatumumab 都是针对 TRAIL 受体的单克隆抗体,这两种抗体针对 NHL 的 II 期临床研究还在进行中。

8 结论

单克隆抗体治疗与化疗相比,具有更低的毒性和不良反应,在临床上也取得了良好的治疗效果。但单克隆抗体治疗仍有其不可避免的缺点,包括所需剂量大、费用高、需反复注射以及免疫原性反应等问题,极大地限制了它在临床上的应用。目前临床上多采用单抗与化疗联合应用的方式,可有效地改善 DLBCL 的治疗效果,提高患者的生存率和缓解期。

[参考文献]

- [1] Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling [J]. Nature, 2000, 403(6769): 503-511.
- [2] Sinha R, DeJoubner N, Flowers C. Novel agents for diffuse large B-cell lymphoma [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2011, 20(5): 669-680.

- [3] Stashenko P, Nadler LM, Hardy R, et al. Characterization of a human B lymphocyte-specific antigen [J]. *J Immunol*, 1980, 125 (4): 1678-1685.
- [4] Tedder TF, Klejman G, Schlossman SF, et al. Structure of the gene encoding the human B lymphocyte differentiation antigen CD20 (B1) [J]. *J Immunol*, 1989, 142(7): 2560-2568.
- [5] Eisenbeis CF, Caligiuri MA, Byrd JC. Rituximab: Converging mechanisms of action in non-Hodgkin's lymphoma? [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(16 Pt 1): 5810-5812.
- [6] Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(4): 235-242.
- [7] Hagenbeek A, Gadeberg O, Johnson P, et al. First clinical use of ofatumumab, a novel fully human anti-CD20 monoclonal antibody in relapsed or refractory follicular lymphoma: Results of a phase I/II trial [J]. *Blood*, 2008, 111(12): 5486-5495.
- [8] Goldenberg DM, Rossi EA, Stein R, et al. Properties and structure-function relationships of veltuzumab (hA20), a humanized anti-CD20 monoclonal antibody [J]. *Blood*, 2009, 113(5): 1062-1070.
- [9] Morschhauser F, Leonard JP, Fayad L, et al. Humanized anti-CD20 antibody, veltuzumab, in refractory/recurrent non-Hodgkin's lymphoma: Phase I/II results [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(10): 3346-3353.
- [10] Salles G, Morschhauser F, Lamy T, et al. Phase I study results of the type II glycoengineered humanized anti-CD20 monoclonal antibody obinutuzumab (GA101) in B-cell lymphoma patients [J]. *Blood*, 2012, 119(22): 5126-5132.
- [11] Bowles JA, Wang SY, Link BK, et al. Anti-CD20 monoclonal antibody with enhanced affinity for CD16 activates NK cells at lower concentrations and more effectively than rituximab [J]. *Blood*, 2006, 108(8): 2648-2654.
- [12] Nitschke L, Carsetti R, Ocker B, et al. CD22 is a negative regulator of B-cell receptor signalling [J]. *Curr Biol*, 1997, 7(2): 133-143.
- [13] Leonard JP, Coleman M, Ketas JC, et al. Phase I/II trial of epratuzumab (humanized anti-CD22 antibody) in indolent non-Hodgkin's lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(16): 3051-3059.
- [14] Leonard JP, Coleman M, Ketas JC, et al. Epratuzumab, a humanized anti-CD22 antibody, in aggressive non-Hodgkin's lymphoma: Phase I/II clinical trial results [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(16): 5327-5334.
- [15] Micallef IN, Kahl BS, Maurer MJ, et al. A pilot study of epratuzumab and rituximab in combination with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone chemotherapy in patients with previously untreated, diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Cancer*, 2006, 107(12): 2826-2832.
- [16] DiJoseph JF, Goad ME, Dougher MM, et al. Potent and specific antitumor efficacy of CMC-544, a CD22-targeted immunoconjugate of calicheamicin, against systemically disseminated B-cell lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(24): 8620-8629.
- [17] Advani A, Coiffier B, Czuczman MS, et al. Safety, pharmacokinetics, and preliminary clinical activity of inotuzumab ozogamicin, a novel immunoconjugate for the treatment of B-cell non-Hodgkin's lymphoma: results of a phase I study [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(12): 2085-2093.
- [18] Anderson KC, Bates MP, Slaughenhaupt BL, et al. Expression of human B cell-associated antigens on leukemias and lymphomas: A model of human B cell differentiation [J]. *Blood*, 1984, 63(6): 1424-1433.
- [19] Herbst R, Wang Y, Gallagher S, et al. B-cell depletion *in vitro* and *in vivo* with an afucosylated anti-CD19 antibody [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 335(1): 213-222.
- [20] Ward E, Mittereder N, Kuta E, et al. A glycoengineered anti-CD19 antibody with potent antibody-dependent cellular cytotoxicity activity *in vitro* and lymphoma growth inhibition *in vivo* [J]. *Br J Haematol*, 2011, 155(4): 426-437.
- [21] Hurwitz AA, Kwon ED, van Elsas A. Costimulatory wars: The tumor menace [J]. *Curr Opin Immunol*, 2000, 12(5): 589-596.
- [22] Lapalombella R, Gowda A, Joshi T, et al. The humanized CD40 antibody SGN-40 demonstrates pre-clinical activity that is enhanced by lenalidomide in chronic lymphocytic leukaemia [J]. *Br J Haematol*, 2009, 144(6): 848-855.
- [23] Law CL, Gordon KA, Collier J, et al. Preclinical antilymphoma activity of a humanized anti-CD40 monoclonal antibody, SGN-40 [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(4): 2495-2496.
- [24] Advani R, Forero-Torres A, Furman RR, et al. Phase I study of the humanized anti-CD40 monoclonal antibody dacetuzumab in refractory or recurrent non-Hodgkin's lymphoma [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(26): 4371-4377.
- [25] Advani R, DeVos S, Ansell SM. A phase II clinical trial of SGN-40 monotherapy in relapsed diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Blood*, 2008, 112(11): 368-368.
- [26] Pinter-Brown LC. SGN-30: A basis for the effective treatment of CD30 positive hematopoietic malignancies [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2008, 17(12): 1883-1887.
- [27] Forero-Torres A, Leonard JP, Younes A, et al. A phase II study of SGN-30 (anti-CD30 mAb) in Hodgkin lymphoma or systemic anaplastic large cell lymphoma [J]. *Br J Haematol*, 2009, 146(2): 171-179.
- [28] Burton JD, Ely S, Reddy PK, et al. CD74 is expressed by multiple myeloma and is a promising target for therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(19): 6606-6611.
- [29] Stein R, Qu Z, Cardillo TM, et al. Antiproliferative activity of a humanized anti-CD74 monoclonal antibody, hLL1, on B-cell malignancies [J]. *Blood*, 2004, 104(12): 3705-3711.
- [30] Brown KS, Levitt DJ, Shannon M, et al. Phase II trial of Remitogen (humanized 1D10) monoclonal antibody targeting class II in patients with relapsed low-grade or follicular lymphoma [J]. *Clin Lymphoma*, 2001, 2(3): 188-190.

[收稿日期] 2012-01-18

[修回日期] 2012-04-26

[本文编辑] 王莹