·生命科学与新药探索·

抗体偶联药物中抗体组分对其治疗窗口的影响及工程改造策略

李英杰，崔子悦，谢家骏，张娟*

（中国药科大学生命科学与技术学院抗体工程实验室，江苏 南京 211198）

[摘要] 抗体偶联药物（antibody-drug conjugate，ADC）以其高效精准靶向的优势成为抗肿瘤药物研发的热点。然而，ADC 的瘤外靶向结合、非特异性摄取等因素使其安全治疗窗口受限，多款 ADC 的研发进程止步于临床试验阶段。立足肿瘤治疗领域，阐述抗体组分对 ADC 治疗窗口的影响，并重点总结当前拓宽 ADC 治疗窗口的抗体工程改造策略，为新一代低毒高效 ADC 的研发提供参考。

[关键词] 肿瘤治疗；抗体偶联药物；抗体工程

[中图分类号] R979.19；R392.11 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094（2026）01-0027-08

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.20250039

The Effect of Antibody Components on the Therapeutic Window of Antibody-Drug Conjugates and Related Strategies for Antibody Engineering Modification

LI Yingjie, CUI Ziyue, XIE Jiajun, ZHANG Juan

(Antibody Engineering Laboratory, School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

[Abstract] Antibody-drug conjugates (ADCs) have emerged as a research hotspot in the development of antitumor agents due to their strong efficacy and specificity. However, the safe therapeutic window of ADCs has been restricted by such factors as off-tumor target binding and non-specific uptake of ADCs, which has led to the termination of numerous ADC research projects at the clinical trial stage. Focusing on antitumor therapy, this article elaborates on the influence of antibody components on the therapeutic window of ADCs, and highlights the current antibody engineering modification strategies for broadening the therapeutic window of ADCs, aiming to provide some reference for the development of the next generation of ADCs with low toxicity and high specificity.

[Key words] antitumor therapy; antibody-drug conjugate; antibody engineering

抗体偶联药物（antibody-drug conjugate，ADC）是目前生物药物研发中最活跃的研究领域之一。其分子结构由抗体、连接子和毒素载荷构成，整合了抗体的靶向特异性与毒素载荷的高效杀伤性，相较于传统化疗药物具有增效减毒的显著优势。

2000 年，全球首款 ADC 吉妥单抗经美国食品药品监督管理局（Food and Drug Administration，FDA）批准上市，用于急性髓性白血病的治疗。此后，多款靶向不同靶点的 ADC 相继研发成功并获批上市。截至 2025 年 12 月，全球已有 21 款 ADC 获批上市；据智慧芽新药情报库统计，另有 3 款 ADC 已提交上市申请，394 款 ADC 处于临床试验阶段。全球 ADC 市场规模亦呈持续增长态势，Vantage Market Research 分析报告显示，2024 年全球 ADC 市场估值达 94 亿美元，预计 2035 年将增至 212.7 亿美元[1]。

首款 ADC 吉妥单抗曾因安全性问题于 2010 年退市，后于 2017 年重新获批上市。随着 ADC 研发技术的不断进步，新一代 ADC 的成药潜力显著提升。抗体组分的人源化程度逐步提升，从尚无获批 ADC 产品的鼠源单克隆抗体（monoclonal antibody，mAb），发展至免疫原性更低的嵌合抗体（如本妥昔单抗）和人源化抗体（如恩美曲妥珠单抗）；连接子的体内稳定性持续增强，偶联方式从吉妥单抗所采用的、体循环中易解离的 pH 敏感连接子与抗体上赖氨酸残基随机偶联，发展为德曲妥珠单抗所采用的、稳定性更高的蛋白酶敏感连接子与抗体链间二硫键旁半胱氨酸残基定点偶联；毒素载荷的疏水性逐步降低，由吉妥单抗采用的高疏水性卡奇霉素类载荷，升级为德曲妥珠单抗所采用的低疏水性喜树碱类载荷[2]。尽管 ADC 在研发技术层面已取得上述突破，目前仍有部分 ADC 分子因治疗窗口过窄止步于临床试验阶段[3]。

抗体组分在 ADC 总分子量中占比通常高达 90% 以上，其不仅对 ADC 的体内分布与肿瘤摄取过程产生重要调控作用，还可影响毒素载荷的释放速率与释放位点，进而直接决定 ADC 的治疗窗口范围。mAb 药物通常通过阻断肿瘤驱动信号通路、激活先天免疫等途径发挥抗肿瘤活性，ADC 的作用机制则与之不同，毒素载荷的有效释放是其实现抗肿瘤作用的关键途径。基于该作用机制差异，直接将传统 mAb 作为 ADC 的抗体组分，未必能获得理想的治疗指数。目前已上市及处于临床试验阶段的多数 ADC，其抗体组分均直接采用传统野生型免疫球蛋白 G1（immunoglobulin G1，

接受日期： 2025-02-06
***通信作者：** 张娟，教授
研究方向： 抗体药物研究与开发
E-mail： zhangjuan@cpu.edu.cn

IgG1）抗体，或仅对与偶联相关的氨基酸残基进行简单改造。但野生型 IgG1 抗体可通过多种途径被正常细胞非特异性摄取并清除，进而导致 ADC 毒素载荷的非靶向释放，引发脱靶毒性和副作用[4]。近年来，随着 ADC 偶联技术的不断发展，多种高稳定性的偶联策略被相继开发，如 Thiomab 技术（代表性偶联位点包括 HC-S239C[5]、LC-V205C[6]）以及马来酰亚胺接头开环策略[7]等，均可使毒素载荷在体循环中与抗体稳定结合。通过此类策略制备的 ADC 在血液循环中几乎无毒素载荷脱落，与传统马来酰亚胺-巯基反应随机偶联制备的 ADC 相比，其毒素载荷的释放途径与体内摄取清除过程的关联性显著增强，因此对抗体组分介导的体内分布与肿瘤摄取的特异性提出了更高的潜在要求。

本文聚焦抗体组分对 ADC 治疗窗口的关键影响，着重阐述抗体组分通过调控 ADC 体内分布与肿瘤摄取过程影响其安全性和有效性的作用机制，并系统总结拓宽 ADC 治疗窗口的抗体工程改造策略。

1 抗体组分的体内分布对 ADC 治疗窗口的限制

1.1 抗体组分的体内分布限制 ADC 的有效性

抗体组分分子量约为 150 000，进而限制了 ADC 的组织渗透能力。在实体瘤多种物理屏障的共同阻碍下，每克肿瘤组织中 ADC 的摄取量通常低于给药剂量的 0.1%[8]。因此，ADC 对实体瘤的治疗效果远不及血液系统肿瘤，临床试验中失败的 ADC 分子，其适应证多为实体瘤，仅有少数为血液系统肿瘤[9]。实体瘤中抗体药物的渗透过程主要受 3 类屏障限制[10]：血管屏障、基质屏障和抗原/细胞屏障。

1.1.1 血管屏障　实体瘤的供血系统存在结构异常，新生血管表现出渗漏、迂曲、扩张、囊状形成及连接无序等特征。同时，肿瘤细胞快速增殖形成致密的高压肿瘤间质，对瘤内血管和淋巴管产生压迫，不仅阻碍瘤内血液循环，限制药物的血液运输效率，还会阻碍药物通过对流方式跨血管壁进入肿瘤组织[11]。

1.1.2 基质屏障　实体瘤的细胞外基质易发生纤维化改变，形成刚性物理屏障。纤维化的肿瘤间质与高压胞外微环境协同作用，共同阻碍药物在瘤内的扩散过程[12]。

1.1.3 抗原/细胞屏障　Fujimori 等[13]发现，抗体与靶抗原的结合会阻碍其向肿瘤组织内部渗透，并将该现象命名为结合位点屏障（binding site barrier，BSB）。该团队构建了整合多影响因素的偏微分方程模型，结合多来源的体内外实验数据，发现抗体亲和力与靶抗原密度越高，BSB 对抗体渗透的阻碍作用越显著；并推测存在适宜的抗体亲和力范围，可使抗体药物在瘤内实现最均匀的分布。数年后，该理论在豚鼠皮下瘤模型中得到实验验证[14]。此后，BSB 现象得到更多研究的证实，如 Lu 等[15]发现，抑制抗体与靶抗原的结合可改善抗体偶联物在实体瘤中的渗透效果，实验显示：单独注射帕尼单抗-荧光染料偶联物时，该偶联物仅在肿瘤血管周围分布；若预先采用帕尼单抗竞争性阻断该偶联物与表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor，EGFR）的结合，其可在肿瘤组织中实现均匀分布。Singh 等[16]也证实，抑制 ADC 与靶抗原的结合可增强其在实体瘤中的渗透能力；在细胞来源异体移植瘤（cell line-derived xenograft，CDX）模型中，该团队将曲妥珠单抗作为竞争性抑制剂，与恩美曲妥珠单抗联合给药，观察到恩美曲妥珠单抗的抗肿瘤疗效显著提升，且疗效提升的程度与肿瘤模型中靶抗原人表皮生长因子受体 2（human epidermal growth factor receptor 2，HER2）的表达丰度呈正相关。

1.2 抗体组分的体内分布限制 ADC 的安全性

抗体组分的分子量较大，难以向组织内渗透，致使 ADC 在体内主要分布于血液等细胞外液中。因此，ADC 的组织分布与组织供血量呈正相关，在心、肝、脾、肺、肾等供血丰富的组织中分布量较高[17]；且与未偶联的裸抗相比，ADC 在肝脏中的分布量更高[18]。较高的组织分布量可促使 ADC 更易被上述组织摄取，进而引发毒性反应及相关不良反应，如临床中 ADC 相关的肝毒性（表现为转氨酶水平升高）较为常见（见表 1）。难以进入组织且在血液中大量蓄积的 ADC，可通过多种途径被血细胞摄取，进而释放毒素载荷，引发血液学毒性等化疗相关毒性[4]。

表 1 部分已获批抗肿瘤 ADC 的常见不良反应

通用名（商品名）	最常见不良反应	最常见严重（≥3 级）不良反应
gemtuzumab ozogamicin（Mylotarg）	出血、感染、发热、恶心、呕吐、便秘、头痛、转氨酶升高、皮疹、黏膜炎、发热性中性粒细胞减少症、食欲下降	中性粒细胞减少症、血小板减少症、转氨酶水平升高、败血症
brentuximab vedotin（Adcetris）	周围感觉神经病变、恶心、疲劳、中性粒细胞减少症、腹泻、发热、呕吐、关节痛、瘙痒、肌痛、周围运动神经病变、脱发	中性粒细胞减少症、周围感觉神经病变、血小板减少症、贫血
ado-trastuzumab emtansine（Kadcyla）	血小板减少症、转氨酶升高、疲劳、贫血、恶心	血小板减少症、天冬氨酸转氨酶升高、贫血
inotuzumab ozogamicin（Besponsa）	中性粒细胞减少症、血小板减少症、感染、贫血、白细胞减少症、发热性中性粒细胞减少症、恶心	中性粒细胞减少症、血小板减少症、白细胞减少症、发热性中性粒细胞减少症、贫血、淋巴细胞减少症

续表1

通用名（商品名）	最常见不良反应	最常见严重（≥3级）不良反应
polatuzumab vedotin（Polivy）	中性粒细胞减少症、贫血、周围神经病变	中性粒细胞减少症、贫血、周围感觉神经病变
enfortumab vedotin（Padcev）	疲劳、脱发、食欲减退、食欲不振、恶心、周围感觉神经病变、瘙痒、腹泻、黄斑丘疹	皮疹、中性粒细胞减少症、贫血、疲劳
fam-trastuzumab deruxtecan-nxki（Enhertu）	恶心、疲劳、脱发、呕吐、中性粒细胞减少症、便秘、贫血、食欲减退、腹泻、白细胞减少症、血小板减少症	中性粒细胞减少症、贫血、恶心、白细胞减少症、淋巴细胞减少症、疲劳
sacituzumab govitecan（Trodelvy）	恶心、腹泻、中性粒细胞减少症、疲劳、呕吐、贫血、脱发、便秘	中性粒细胞减少症、贫血、腹泻、白细胞减少症
belantamab mafodotin（Blenrep）	角膜病变、血小板减少症、贫血、恶心、发热、视力模糊、天冬氨酸转氨酶升高	角膜病变、血小板减少症、贫血
loncastuximab tesirine（Zynlonta）	中性粒细胞减少症、血小板减少症、贫血、疲劳、γ-谷氨酰转移酶增加	血小板减少症、中性粒细胞减少症、贫血、γ-谷氨酰转移酶升高、白细胞减少症、淋巴细胞减少症、低磷血症
disitamab vedotin（爱地希）	转氨酶升高、白细胞减少症、脱发、中性粒细胞减少症、乏力、感觉减退、贫血、恶心、食欲减退、体重降低	肝功能异常、中性粒细胞减少症、肠梗阻、乏力、感觉减退、白细胞减少症
tisotumab vedotin（Tivdak）	鼻出血、疲劳、恶心、脱发、结膜炎、食欲减退、便秘、腹泻、呕吐、周围神经病变、干眼、腹痛	疲劳、贫血、腹痛、低钾血症、结膜炎、低钠血症、周围神经病变、呕吐
mirvetuximab soravtansine（Elahere）	恶心、视力模糊、角膜病变、腹泻、疲劳、周围神经病变、干眼症、视力下降	视力模糊、周围神经病变、腹泻

注：表中数据均来自各药物说明书

此外，目前已上市及处于临床试验阶段的ADC，最常用的偶联方式为基于巯基-马来酰亚胺迈克尔加成反应的随机偶联法。该方法制备的ADC在血液循环中，易与血清白蛋白发生逆迈克尔加成反应，导致毒素载荷脱落，给药7天后药物-抗体比下降约50%[19-20]。脱落的毒素载荷在血液循环中持续暴露，尤其单甲基澳瑞他汀E等毒素仅能通过排泄途径代谢[21]，这是此类ADC发生血液学毒性等多种化疗相关不良反应的重要原因。如德曲妥珠单抗的常见不良反应（见表1）即包含多种血液学不良反应，如中性粒细胞减少症、贫血、血小板减少症、白细胞减少症等。

2 抗体组分的体内摄取对ADC治疗窗口的限制

2.1 抗体靶向摄取引发的在靶毒性

诸多ADC的靶点在正常组织中均有不同程度的表达，细胞表面靶抗原与抗体组分相互作用介导细胞对ADC的摄取，因此靶向该类靶点的ADC在临床研究阶段常表现出不同程度的在靶毒性。例如，恩美曲妥珠单抗因存在严重肝毒性风险被FDA列入黑框警告，研究证实其肝毒性与其靶点HER2在正常肝细胞中的表达相关[22]；维恩妥尤单抗因潜在严重皮肤毒性被FDA黑框警告，其皮肤毒性与皮肤组织中靶点黏附分子4的表达有关[23]。体内模型存在固有局限性，导致ADC的在靶毒性难以在临床前阶段被精准评估，进而造成部分ADC的临床试验失败。例如，靶向滋养层细胞表面抗原2的ADC PF-06664178，因Ⅰ期临床试验中观察到严重的在靶皮肤毒性而终止研发[24]。

2.2 抗体非特异性摄取引发的脱靶毒性

ADC的脱靶毒性是指其通过不依赖靶抗原的摄取途径对正常细胞造成的毒性损伤。目前，ADC在临床阶段观察到的剂量限制毒性主要为脱靶毒性[25]。体循环中，毒素载荷因连接方式不稳定从抗体组分上脱落，是ADC产生脱靶毒性的机制之一。近年来，研究者已开发出多种高稳定性偶联技术[5-7]，为解决该毒性诱因提供了有效策略。现有研究证实，ADC产生脱靶毒性的另一重要机制为，通过抗体组分介导的非特异性摄取途径被正常细胞内吞，如巨胞饮途径、甘露糖受体（mannose receptor，MR）和可结晶片段（fragment crystallizable，Fc）γ受体（Fc gamma receptor，FcγR）介导的摄取等[4]。

2.2.1 巨胞饮途径介导的摄取　巨胞饮作用广泛存在于多种类型的细胞中，是细胞非选择性内吞胞外液体及溶质的生理过程。ADC的抗体组分、连接子、毒素载荷共同决定了其疏水性、电荷等理化性质，ADC的疏水性越强、所带净正电荷越高，越易通过巨胞饮途径被细胞摄取[25]。其中，高疏水性ADC易发生聚集，且易被肝细胞、巨噬细胞等正常细胞非特异性内吞；携带高正电荷的ADC则易通过静电作用与带负电的细胞膜结合。如Zhao等[25]发现，ADC被角膜上皮细胞通过巨胞饮途径非特异性摄取，是其引发眼毒性的潜在机制；被巨核细胞通过该途径非特异性摄取，是其诱发血小板减少症的潜在机制[26]。

2.2.2 MR介导的摄取　MR广泛表达于髓系免疫

细胞、血管内皮细胞和肝脾窦内皮细胞等多类细胞的表面，在抗体等糖蛋白的体内清除过程中发挥重要作用。天冬酰胺 297 位（N297）是抗体重链保守的 N-糖基化修饰位点，该位点 N-糖基化修饰缺失末端半乳糖（G0F）抗体，在体循环中更易通过 MR 介导的途径被摄取与清除[27]。由于中国仓鼠卵巢细胞表达系统的糖基化修饰特征，目前工业生产的治疗性抗体药物中 G0F 为主要糖型[28]，因此这类抗体药物极易通过 MR 介导的途径被摄取。此外，ADC 在肝脏中的分布丰度高于裸抗[18]，而肝脏中的巨噬细胞和肝脾窦细胞均高表达 MR，MR 和 ADC 在肝脏中的共定位可能进一步增强 MR 介导的非特异性摄取作用[29]。

2.2.3 FcγR 介导的摄取 FcγR 广泛表达于各类先天免疫细胞表面，IgG 抗体的 C_H2 结构域通过与 FcγR 结合，介导抗体依赖性细胞吞噬作用（antibody-dependent cellular phagocytosis，ADCP）、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity，ADCC）等 Fc 段效应功能，进而引发先天免疫应答[30]。Uppal 等[31]发现，FcγR 介导的巨核细胞非特异性内吞是恩美曲妥珠单抗引发血小板减少症的潜在机制。该团队证实，恩美曲妥珠单抗不直接影响血小板的活化和聚集，而是通过 FcγR 依赖性途径被巨核细胞内化，进而释放美登素 DM1，抑制巨核细胞分化，最终导致血小板生成受阻。ADC 因疏水性较高，在体内易发生聚集，Aoyama 等[32]发现，FcγR 在 ADC 聚集体诱发的脱靶毒性中发挥关键作用；聚集后的恩美曲妥珠单抗、德曲妥珠单抗均可通过 FcγR 依赖性途径被抗原阴性的正常细胞摄取，经内化后释放毒素载荷并杀伤正常细胞。

3 扩大 ADC 治疗窗口的抗体工程策略

3.1 亲和力改造

目前治疗型 mAb 多具有高亲和力，对靶抗原表现出更优的结合及阻断活性。通过抗体可变区氨基酸突变等技术手段降低抗体对靶抗原的亲和力，可减弱 BSB 对 ADC 渗透实体瘤组织的阻力，进而改善 ADC 的瘤内分布并提高其肿瘤组织富集水平。

综合考虑抗体内化降解速率与肿瘤组织渗透能力，中等亲和力抗体可能是 ADC 抗体组分的最优选择。Rudnick 等[33]发现，靶向 HER2 的中等亲和力 mAb 可兼具较高的内化、降解速率与实体瘤渗透能力。其在 CDX 模型中观察到，高亲和力 mAb（K_d= 0.56 nmol·L^{-1}）仅有低水平肿瘤富集，且仅分布于瘤内血管周围（平均渗透深度仅约 20.4 μm）；将亲和力降低至中等水平（K_d= 23 nmol·L^{-1}），可显著提高肿瘤渗透深度（平均渗透深度提升至约 59.7 μm）；低亲和力 mAb（K_d= 270 nmol·L^{-1}）虽具有最广泛的肿瘤组织分布（平均渗透深度约 84.8 μm），但内化、降解速率极低，将其亲和力提高至中等水平（K_d= 23 nmol·L^{-1}），可获得与高亲和力 mAb（K_d= 0.56 nmol·L^{-1}）相近的高内化、降解速率。

Tsumura 等[34]在靶向组织因子的 ADC 中也观察到相似现象，中等亲和力 ADC 的实体瘤内组织分布更均匀，抗肿瘤疗效更佳。其在 CDX 模型中观察到，亲和力对小体积（200 mm^3）肿瘤中 ADC 的药效无明显影响，但在大体积（600 mm^3）肿瘤中，将高亲和力 ADC（K_d= 0.54 nmol·L^{-1}）的亲和力降低至中等水平（K_d= 34.96 nmol·L^{-1}），可显著增强其肿瘤渗透能力和抑瘤效果。

3.2 减少抗体组分的非特异性摄取

如前文所述，抗体组分可通过巨胞饮途径、FcγR 及 MR 介导的途径，介导正常细胞对 ADC 的非特异性摄取，进而限制 ADC 的安全性。根据目前的研究进展，可通过以下 3 种策略改善抗体组分介导的 ADC 非特异性摄取问题。

3.2.1 使用 Fc 沉默的 IgG1 亚型抗体或 IgG4 亚型抗体 使用 Fc 沉默的 IgG1 亚型抗体或 IgG4 亚型抗体，可显著降低抗体组分与 FcγR 的结合能力[35]，从而减少 FcγR 介导的 ADC 非特异性摄取。在 IgG 抗体的 4 种亚型中，IgG1 可高亲和力结合 FcγR，进而介导较强的 ADCP、ADCC 等 Fc 效应；IgG2 易发生聚集，对 ADC 的药代动力学及体内活性产生负面影响；IgG3 与新生儿 Fc 受体的结合活性较弱，导致其体内半衰期较短，药代动力学特性不佳；IgG4 与大多数 FcγR 亚型的结合活性均较弱，但 IgG4 的抗原结合片段（fragment of antigen binding，Fab）灵活性较低，对抗体与抗原的结合存在一定负面影响，且存在 Fab 臂交换（Fab arm exchange，FAE）现象，在体内易形成双抗分子，限制了 IgG4 抗体的成药性[36]。铰链区突变（HC-S228P）可增强 IgG4 铰链区的稳定性，进而消除 IgG4 单抗药物的 FAE 现象[37]。但携带 HC-S228P 突变的 IgG4 抗体，在链间二硫键偶联载荷后，是否会导致铰链区稳定性下降，进而恢复 IgG4 亚型特有的 FAE 现象，目前尚未见相关报道。目前大多数 ADC 的抗体组分为 IgG1 亚型，获批上市的 ADC 中仅 2 款采用 IgG4 亚型（奥加伊妥珠单抗和吉妥单抗），且二者均采用赖氨酸随机偶联技术。

McDonagh 等[38]研究发现，沉默 Fc 效应可使 IgG1 ADC 的治疗指数提高约 1 倍；研究者将可变区序列相同的 IgG1、IgG2、IgG4 各亚型的 CD70 单抗与单甲基澳瑞他汀 F 进行偶联，并针对 IgG1 和 IgG4 亚型

设计了 Fc 沉默突变的对照 ADC，结果显示，IgG1（无论是否沉默 Fc）和 IgG2 亚型 ADC 的体外抑瘤活性相近，而 IgG4（无论是否沉默 Fc）亚型 ADC 的体外活性是前两者的 20%~50%；在裸鼠 CDX 模型中观察到，Fc 沉默的 IgG1 ADC 的总清除速率仅约为野生型 IgG1 ADC 的一半，且在多种 CDX 模型中，Fc 沉默的 IgG1 ADC 均表现出最佳的抑瘤疗效。

但需注意，失去 Fc 效应对 ADC 的抗肿瘤活性可能产生潜在负面影响。尽管 ADC 的抗肿瘤活性主要由其毒素载荷提供，但失去 Fc 效应后，ADC 无法通过 ADCP、ADCC、补体依赖的细胞毒性等先天免疫效应杀伤靶细胞，同时可能在一定程度上削弱 ADC 在瘤内释放毒素的能力。Li 等[39]研究发现，在 FcγR 介导下，ADC 可被肿瘤相关巨噬细胞摄取，进而通过旁观者效应杀伤肿瘤细胞。

目前已有多款 Fc 沉默的 IgG1 ADC 进入临床研究阶段，例如 AZD9592、MEDI4276、LY4101174、Rina-S、IBI343 等。

3.2.2 使用去糖基化抗体　抗体重链 C_H2 结构域 N297 位的 N-糖基化修饰，对抗体与 FcγR 的结合活性至关重要[40]，去糖基化处理可同时消除抗体与 FcγR 和 MR 的结合活性，进而可能减少抗体组分的非特异性摄取。Hristodorov 等[41]研究发现，去糖基化对 IgG1 抗体的成药性仅产生低程度负面影响。研究者通过氨基酸突变（HC-N297A）去除 6 个 IgG1 单抗 N297 位的糖基化修饰后，观察到这些单抗的电荷异质性、溶解度、抗原亲和力及大鼠体内半衰期均与野生型单抗均保持一致，且在 4 ℃保存 28 天或 37 ℃保存 21 天的条件下均能保持稳定。但去糖基化会导致各单抗的热稳定性下降，且在低 pH 条件（pH3.0）下更易发生聚集。Yamazoe 等[42]发现，在去糖基化抗体 C_H2 区的 C'E 环位置偶联载荷，可恢复抗体的热稳定性，并推测其机制可能是载荷替代了 N297 位的糖基，起到了稳定 C_H2 区空间结构的作用。

目前，去糖基化抗体在 ADC 领域的应用较少，但去糖基化抗体药物的成药性已通过临床验证。例如，采用重链 N297A 突变实现去糖基化的程序性死亡受体配体 1 抗体阿替利珠单抗[43]以及采用 N297G 突变实现去糖基化的 CD3×CD20 双抗莫妥珠单抗均已获批上市。

3.2.3 确保抗体具有低疏水性、低正电荷　抗体组分的疏水性、携带正电荷的强度与 ADC 通过巨胞饮途径被细胞非特异性摄取的速率呈正相关[26]，低疏水性、低净正电荷的抗体更不易通过巨胞饮途径介导 ADC 的非特异性摄取。靶向外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族成员 3 的 ADC AGS-16C3F 在临床研究阶段观察到较强的角膜毒性，Zhao 等[25]研究发现，其角膜毒性的潜在机制与巨胞饮作用相关；研究者通过突变该 ADC 抗体表面的正电荷残基（K16D），在保持其抗肿瘤活性的同时，使人角膜细胞对该 ADC 的耐受性提高了约一个数量级；通过在抗体表面赖氨酸残基偶联聚乙二醇以降低其疏水性，在维持其抗肿瘤活性不变的情况下，使人角膜细胞对该 ADC 的耐受性提高了约 20 倍。

3.3 优化抗体的靶向能力

靶抗原在正常组织中的表达所引发的在靶毒性，限制了 ADC 的临床应用安全性；优化抗体的靶向能力以提升其肿瘤特异性，是改善 ADC 在靶毒性的关键途径。目前，优化 ADC 靶向能力的主要策略包括双特异性 ADC（双抗 ADC）、抗体前药偶联药物（probody-drug conjugate，PDC）。

3.3.1 双抗 ADC　靶向 2 个不同肿瘤抗原的双抗 ADC，通过双重靶向作用可降低单靶点阳性正常细胞对其的摄取水平，进而改善传统单特异性 ADC 的在靶毒性。例如，EGFR 靶向疗法因 EGFR 在皮肤组织中的生理性表达，常伴随严重的在靶皮肤毒性[44]。Sellmann 等[45]设计的 EGFR×细胞间质上皮转化因子（cellular-mesenchymal-epithelial transition factor，c-MET）双抗 ADC，与偶联相同毒素的 EGFR 单抗 ADC 相比，体外细胞毒性实验中展现出相近的抑瘤活性，而对表达 EGFR 的正常皮肤角质形成细胞毒性更低，提示双抗 ADC 对单一靶点阳性正常细胞可能具有更高的安全性。EGFR×HER3 双抗 ADC BL-B01D1 的临床研究显示，其 EGFR 相关不良反应的发生频率及严重程度均较低，皮肤相关疾病的发生率仅为 21%，且绝大部分为 3 级以下[46]。处于临床阶段的 EGFR×c-MET 双抗 ADC AZD9592，其研发团队[47]发现该药物的抗体部分较单价亲本单抗具有更快的内化速率；他们构建与 AZD9592 构型一致的 2 个单价亲本对照单抗（EGFR/IgG1、c-MET/IgG1），观察到双靶点阳性 H1975 细胞中，AZD9592 抗体部分的内化速率分别是 2 个单价对照单抗的 10.98 倍和 4.70 倍。

双抗 ADC 的设计除靶向 2 个不同靶抗原外，还可靶向同一靶抗原的 2 个不同表位，该设计亦被称为双表位 ADC。此类设计可加速靶抗原介导的抗体内化与清除过程，进而提高 ADC 对靶抗原阳性细胞的杀伤效能[3]。

目前，多款双抗 ADC 已进入临床试验阶段，其中进展最快的 BL-B01D1 正处于Ⅲ期临床试验（NCT06304974）。

3.3.2 PDC　抗体前药的概念最早由 CytomX Therapeutics 于 2013 年提出，其目标是改善部分靶

抗原相关的在靶毒性。抗体前药的设计旨在使抗体仅在肿瘤微环境中具有抗原结合活性，以降低对靶抗原阳性正常组织的毒性。此外，PDC 因抗原结合活性被掩蔽，可能削弱 BSB 对其渗透实体瘤的阻力，从而改善偶联物的瘤内分布[3]。

抗体前药的一种设计策略是通过一段可在肿瘤微环境中被特异性降解的连接子，将能够阻断抗体可变区结合活性的掩蔽肽连接于抗体 N 端。瘤外环境中，PDC 因结合位点被屏蔽而降低靶抗原结合能力；进入肿瘤组织后，抗体前药的连接子被特异性切割，掩蔽肽脱落，PDC 随即恢复靶抗原结合活性。采用该设计策略的临床阶段 PDC 包括 CX-2009、CX-2029 等。

抗体前药的另一种设计策略是赋予抗体靶向结合活性 pH 依赖性，使其在肿瘤组织弱酸性环境与生理 pH 环境下呈现不同空间构象——生理 pH 条件下丧失抗原结合活性，肿瘤微环境中则恢复该活性。例如，处于临床阶段的 EGFR 靶向 PDC HTI-1511 通过互补决定区氨基酸突变修饰，在肿瘤微环境弱酸性条件下的抗原结合能力较生理环境增强约 10 倍[3]。

CX-2009 的临床前研究[48]表明，其掩蔽结构不会削弱体内抗肿瘤活性，CDX 模型中其抗肿瘤活性与未掩蔽 ADC 相近。靶向 CD71 的 PDC CX-2029，临床前研究[49]发现其在血液循环中超过 80% 保持掩蔽状态，且耐受剂量较未掩蔽 ADC 提高约 10 倍。然而，二者在临床试验中均未展现出理想的治疗窗口[50−51]，其设计仍需进一步优化。HTI-1511 的临床前研究[52−53]显示，裸鼠模型中未观察到该药物与人包皮组织中表达的 EGFR 结合，且其肿瘤结合能力与 EGFR 靶向未掩蔽 ADC 相近；同时，研究者观察到 HTI-1511 在表皮癌、胰腺癌、头颈鳞癌、结直肠癌、非小细胞肺癌等多种肿瘤中均表现出良好的体内抗肿瘤活性，且在食蟹猴模型中展现出良好的耐受性。

4 总结与展望

ADC 中的抗体组分虽然在一方面通过为毒素载荷提供靶向性、延长半衰期等途径为 ADC 提供了治疗窗口，然而其在另一方面又通过影响 ADC 的分布、摄取限制了 ADC 的治疗窗口。因此，采用抗体工程手段对 ADC 的抗体组分进行改造，以增强其实体瘤渗透能力、减少其瘤外摄取，是一种增强 ADC 成药潜力的有前景的策略。亲和力改造、IgG1 Fc 沉默或使用 IgG4、去糖基化、双抗 ADC、PDC 等，均为已知扩大 ADC 治疗窗口的潜在抗体工程策略。

随着大量临床研究的开展，研究者们正在逐渐加深对限制 ADC 治疗窗口因素的认知，并针对这些因素对 ADC 进行优化改造。在不久的将来，ADC 有望成为一种安全、高效且疗效可预测的疗法，为众多癌症患者带来福音。

[参考文献]

[1] Vantage Market Research. Antibody drug conjugates (ADCs) market analysis and forecast (2025-2035) [R/OL]. (2025-04-08) [2026-02-09]. https://www. marketbusinessinsights. com/antibody-drug-conjugates-adcs-market.

[2] Fu Z, Li S, Han S, *et al*. Antibody drug conjugate: the “biological missile” for targeted cancer therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7: 93.

[3] Tsuchikama K, Anami Y, Ha S Y Y, *et al*. Exploring the next generation of antibody-drug conjugates[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21(3): 203−223.

[4] Mahalingaiah P K, Ciurlionis R, Durbin K R, *et al*. Potential mechanisms of target-independent uptake and toxicity of antibody-drug conjugates[J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 200: 110−125.

[5] Shen B Q, Xu K, Liu L, *et al*. Conjugation site modulates the *in vivo* stability and therapeutic activity of antibody-drug conjugates[J]. *Nat Biotechnol*, 2012, 30(2): 184−189.

[6] Thompson P, Fleming R, Bezabeh B, *et al*. Rational design, biophysical and biological characterization of site-specific antibody-tubulysin conjugates with improved stability, efficacy and pharmacokinetics[J]. *J Control Release*, 2016, 236: 100−116.

[7] Tumey L N, Charati M, He T, *et al*. Mild method for succinimide hydrolysis on ADCs: impact on ADC potency, stability, exposure, and efficacy[J]. *Bioconjug Chem*, 2014, 25 (10): 1871−1880.

[8] Casi G, Neri D. Antibody-drug conjugates and small molecule-drug conjugates: opportunities and challenges for the development of selective anticancer cytotoxic agents[J]. *J Med Chem*, 2015, 58(22): 8751−8761.

[9] Dumontet C, Reichert J M, Senter P D, *et al*. Antibody-drug conjugates come of age in oncology[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2023, 22(8): 641−661.

[10] Bordeau B M, Balthasar J P. Strategies to enhance monoclonal antibody uptake and distribution in solid tumors[J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 18(3): 649−664.

[11] Jain R K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy[J]. *Science*, 2005, 307 (5706): 58−62.

[12] Valkenburg K C, de Groot A E, Pienta K J. Targeting the tumour stroma to improve cancer therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(6): 366−381.

[13] Fujimori K, Covell D G, Fletcher J E, *et al*. Modeling analysis of the global and microscopic distribution of immunoglobulin G, $F(ab')_2$, and Fab in tumors[J]. *Cancer Res*, 1989, 49(20): 5656−5663.

[14] Juweid M, Neumann R, Paik C, *et al*. Micropharmacology of monoclonal antibodies in solid tumors: direct experimental evidence for a binding site barrier[J]. *Cancer Res*, 1992, 52 (19): 5144−5153.

[15] Lu G, Nishio N, van den Berg N S, *et al*. Co-administered antibody improves penetration of antibody-dye conjugate into human cancers with implications for antibody-drug conjugates [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 5667.

[16] Singh A P, Guo L, Verma A, *et al*. Antibody coadministration as a strategy to overcome binding-site barrier for ADCs: a quantitative investigation[J]. *AAPS J*, 2020, 22(2): 28.

[17] Hamblett K J, Senter P D, Chace D F, *et al*. Effects of drug

loading on the antitumor activity of a monoclonal antibody drug conjugate[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(20): 7063−7070.

[18] Sun X, Ponte J F, Yoder N C, *et al*. Effects of drug-antibody ratio on pharmacokinetics, biodistribution, efficacy, and tolerability of antibody-maytansinoid conjugates[J]. *Bioconjug Chem*, 2017, 28(5): 1371−1381.

[19] Alley S C, Benjamin D R, Jeffrey S C, *et al*. Contribution of linker stability to the activities of anticancer immunoconjugates [J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19(3): 759−765.

[20] Habara H, Okamoto H, Nagai Y, *et al*. Transition of average drug-to-antibody ratio of trastuzumab deruxtecan in systemic circulation in monkeys using a hybrid affinity capture liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Biopharm Drug Dispos*, 2023, 44(5): 380−384.

[21] 徐冉驰, 苗红, 郑剑恒 . 抗体偶联药物吸收、分布、代谢、排泄和毒性特征及分析方法研究进展[J]. 中国新药杂志, 2019, 28 (9): 1087−1093.

[22] Yan H, Endo Y, Shen Y, *et al*. Ado-trastuzumab emtansine targets hepatocytes via human epidermal growth factor receptor 2 to induce hepatotoxicity[J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(3): 480−490.

[23] Musiek A C M, Rieger K E, Bagot M, *et al*. Dermatologic events associated with the anti-CCR4 antibody mogamulizumab: characterization and management[J]. *Dermatol Ther*, 2022, 12 (1): 29−40.

[24] King G T, Eaton K D, Beagle B R, *et al*. A phase 1, dose-escalation study of PF-06664178, an anti-Trop-2/Aur0101 antibody-drug conjugate in patients with advanced or metastatic solid tumors[J]. *Invest New Drugs*, 2018, 36(5): 836−847.

[25] Zhao H, Atkinson J, Gulesserian S, *et al*. Modulation of macropinocytosis-mediated internalization decreases ocular toxicity of antibody-drug conjugates[J]. *Cancer Res*, 2018, 78 (8): 2115−2126.

[26] Zhao H, Gulesserian S, Ganesan S K, *et al*. Inhibition of megakaryocyte differentiation by antibody-drug conjugates (ADCs) is mediated by macropinocytosis: implications for ADC-induced thrombocytopenia[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16 (9): 1877−1886.

[27] Jones A J, Papac D I, Chin E H, *et al*. Selective clearance of glycoforms of a complex glycoprotein pharmaceutical caused by terminal N-acetylglucosamine is similar in humans and *Cynomolgus* monkeys[J]. *Glycobiology*, 2007, 17(5): 529−540.

[28] Adamo M, Qiu D, Dick L W, *et al*. Evaluation of oligosaccharide methods for carbohydrate analysis in a fully human monoclonal antibody and comparison of the results to the monosaccharide composition determination by a novel calculation[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(2): 181−192.

[29] Gorovits B, Krinos-Fiorotti C. Proposed mechanism of off-target toxicity for antibody-drug conjugates driven by mannose receptor uptake[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(2): 217−223.

[30] Edgar J E, Bournazos S. Fc-FcγR interactions during infections: from neutralizing antibodies to antibody-dependent enhancement[J]. *Immunol Rev*, 2024, 328(1): 221−242.

[31] Uppal H, Doudement E, Mahapatra K, *et al*. Potential mechanisms for thrombocytopenia development with trastuzumab emtansine (T-DM1)[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(1): 123−133.

[32] Aoyama M, Tada M, Yokoo H, *et al*. Fcγ receptor-dependent internalization and off-target cytotoxicity of antibody-drug conjugate aggregates[J]. *Pharm Res*, 2022, 39(1): 89−103.

[33] Rudnick S I, Lou J, Shaller C C, *et al*. Influence of affinity and antigen internalization on the uptake and penetration of Anti-HER2 antibodies in solid tumors[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(6): 2250−2259.

[34] Tsumura R, Manabe S, Takashima H, *et al*. Influence of the dissociation rate constant on the intra-tumor distribution of antibody-drug conjugate against tissue factor[J]. *J Control Release*, 2018, 284: 49−56.

[35] Wang X, Mathieu M, Brezski R J. IgG Fc engineering to modulate antibody effector functions[J]. *Protein Cell*, 2018, 9 (1): 63−73.

[36] Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions[J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 520.

[37] Yang X, Wang F, Zhang Y, *et al*. Comprehensive analysis of the therapeutic IgG4 antibody pembrolizumab: hinge modification blocks half molecule exchange *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Pharm Sci*, 2015, 104(12): 4002−4014.

[38] McDonagh C F, Kim K M, Turcott E, *et al*. Engineered anti-CD70 antibody-drug conjugate with increased therapeutic index[J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(9): 2913−2923.

[39] Li F, Ulrich M, Jonas M, *et al*. Tumor-associated macrophages can contribute to antitumor activity through FcγR-mediated processing of antibody-drug conjugates[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(7): 1347−1354.

[40] Mimura Y, Katoh T, Saldova R, *et al*. Glycosylation engineering of therapeutic IgG antibodies: challenges for the safety, functionality and efficacy[J]. *Protein Cell*, 2018, 9(1): 47−62.

[41] Hristodorov D, Fischer R, Joerissen H, *et al*. Generation and comparative characterization of glycosylated and aglycosylated human IgG1 antibodies[J]. *Mol Biotechnol*, 2013, 53(3): 326−335.

[42] Yamazoe S, Kotapati S, Hogan J M, *et al*. Impact of drug conjugation on thermal and metabolic stabilities of aglycosylated and *N*-glycosylated antibodies[J]. *Bioconjug Chem*, 2022, 33(4): 576−585.

[43] Cha E, Wallin J, Kowanetz M. PD-L1 inhibition with MPDL3280A for solid tumors[J]. *Semin Oncol*, 2015, 42(3): 484−487.

[44] Peréz-Soler R, Saltz L. Cutaneous adverse effects with HER1/EGFR-targeted agents: is there a silver lining? [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(22): 5235−5246.

[45] Sellmann C, Doerner A, Knuehl C, *et al*. Balancing selectivity and efficacy of bispecific epidermal growth factor receptor (EGFR) × c-MET antibodies and antibody-drug conjugates[J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(48): 25106−25119.

[46] Ma Y, Huang Y, Zhao Y, *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[J]. *Lancet Oncol*, 2024, 25(7): 901−911.

[47] 阿斯利康(瑞典)有限公司 . 抗体分子和缀合物: 202280086269.9[P]. 2024-08-27.

[48] Chomet M, Schreurs M, Nguyen M, *et al*. The tumor targeting performance of anti-CD166 Probody drug conjugate CX-2009 and its parental derivatives as monitored by ^{89}Zr-immuno-PET in xenograft bearing mice[J]. *Theranostics*, 2020, 10(13): 5815−5828.

[49] Singh S, Serwer L, DuPage A, *et al*. Nonclinical efficacy and safety of CX-2029, an anti-CD71 probody-drug conjugate[J]. *Mol Cancer Ther*, 2022, 21(8): 1326−1336.

[50] Johnson M, El-Khoueiry A, Hafez N, *et al*. Phase I, first-in-human study of the probody therapeutic CX-2029 in adults with advanced solid tumor malignancies[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(16): 4521−4530.

[51] Boni V, Fidler M J, Arkenau H T, *et al*. Praluzatamab

ravtansine, a CD166-targeting antibody-drug conjugate, in patients with advanced solid tumors: an open-label phase I/II trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(10): 2020−2029.

[52] Bahn J D, Gao F, Huang L, *et al*. Abstract 50: HTI-1511, a novel anti-EGFR-ADC, overcomes mutation resistance and demonstrates significant activity against multiple tumor types in preclinical studies[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13_Supplement): 50.

[53] Huang L, Veneziale B, Frigerio M, *et al*. Abstract 1217: preclinical evaluation of a next-generation, EGFR targeting ADC that promotes regression in KRAS or BRAF mutant tumors[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(14_Supplement): 1217.



[专家介绍] 张娟：中国药科大学教授、博士生导师，现任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，先后入选江苏省教育厅“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。同时，担任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，曾获中国药学会青年生物药物科学家奖等荣誉。张娟教授带领的抗体工程实验室深耕抗肿瘤抗体药物领域，主要开展单克隆抗体、双特异性抗体、抗体偶联药物等药物的研究与开发工作；主持国家自然科学基金等多项国家及省部级项目，广泛开展多方位校企合作。以第一作者或通信作者身份在 *Cancer Res*、*APSB*、*Cancer Lett* 等 SCI 期刊发表论文 60 余篇，授权国家发明专利 10 余项。

（责任编辑：邢爱敏）