

【综述】

生物技术药物免疫原性评价的技术发展概述

黄 瑛¹, 姜 华, 李路路, 李 伟, 王 欣, 霍 艳*

中国食品药品检定研究院 国家药物安全评价监测中心, 药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176

摘要: 药物的免疫原性是指药物刺激机体形成特异抗体或致敏淋巴细胞的性质。评价非期望的免疫原性是生物技术药物临床前和临床评价的重要内容。免疫原性评价内容包括方法的开发、验证、药物诱导的抗体反应水平检测(滴度)、抗体的特性研究、抗体的中和活性测定、分析抗体产生对疗效、毒性和药动力学的影响,并预测对人体潜在的免疫原性强弱。如何提高动物模型的预测性、优化检测技术、实现评价方法的规范化和标准化,是未来免疫原性评价亟需解决的问题。

关键词: 生物技术; 药物评价; 免疫原性; 安全性评价; 免疫原性评价

中图分类号: R961 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2017)07-0999-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.07.025

Technology development of immunogenicity assessment for biopharmaceuticals

HUANG Ying, JIANG Hua, LI Lu-lu¹, LI Wei, WANG Xin, HUO Yan

Beijing Key Laboratory, National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China

Abstract: The unwanted immunogenicity of biopharmaceutical is an adverse reaction caused by long-term medication. The primary concerns of immunogenicity would be critical for the efficacy and safety of biopharmaceutical. The immunogenicity assessments include validation of methodology, detection of anti-drug antibodies, characterization antibodies and their subtypes against biopharmaceuticals, determination of antibody neutralization as well as the analyses of relationship of antibody formation to pharmacokinetics and pharmacodynamics parameter and toxicities of drugs. The optimization of detection methods, the predictability of immunogenicity with available animal models and the standardization of evaluation method are currently the major challenges in the assessment of immunogenicity for biopharmaceuticals.

Key words: biotechnology; drug evaluation; immunogenicity; safety evaluation; assessment of immunogenicity

生物技术药物已成为医药产业增长最快的领域,我国的生物技术药物研发也处于快速发展阶段。治疗性蛋白、单克隆抗体等生物大分子药物及其生物类似物的研发是生物技术药物领域中公认的研究热点,是目前治疗血液恶性肿瘤和实体瘤最成功和最重要的策略之一^[1]。新靶点抗体、新型抗体类药物不断涌现,如纳米抗体、双靶点单抗、抗体药物偶联物(antibody drug conjugates, ADC)等。但选用上述药物进行治疗时会出现一个不容忽视

的问题,即抗体的免疫原性^[1]。在临床上,免疫原性可能会降低药物疗效或导致机体严重的不良反应;在临床前,免疫原性对药物具有竞争抑制作用,可能会中和药物的活性,影响药物的清除、血浆半衰期和组织分布,改变药效或药动学,使在非临床研究中观察到的效应可能并非药物真正的药理和(或)毒性反应^[2-3]。因此在临床前和临床试验中评价免疫原性是生物技术药物申请临床试验注册申报研究资料的重要内容,对预测和阐明这些药物临

收稿日期: 2017-02-10

基金项目: 十二五国家科技重大专项(2015ZX09501007-004); 中国食品药品检定研究院中青年发展研究基金(2014C5)

作者简介: 黄 瑛(1983—),女,助理研究员,研究方向为药物临床前安全性评价。Tel: (010)67876252, E-mail: huangying1002@nifdc.org.cn。

*通信作者 霍 艳,女,研究员,研究方向为药物临床前安全性评价。Tel: (010)67872233-8001, E-mail: yanhuo@nifdc.org.cn。

床安全性和有效性具有关键作用。

1 免疫原性产生的影响因素

药物的免疫原性是指药物刺激机体形成特异抗体或致敏淋巴细胞的性质^[2]。许多因素可以影响生物技术药物的免疫原性。

1.1 内源性因素

内源性因素与药物自身的特点有关,例如药物分子大小、异源氨基酸序列以及产品纯度等。

1.1.1 分子大小 对不表达此类分子的哺乳动物来说,相对分子质量(RMW)大于10 000的蛋白多肽常有免疫原性,RMW在5 000~10 000的蛋白多肽也可能有免疫原性,但引起的免疫反应相对较弱。RMW在1 000~5 000的化合物免疫原性则难以预测^[2]。此外,分子结构复杂者免疫原性强,反之则较弱。

1.1.2 异源氨基酸序列 来自非人源氨基酸序列(比如鼠源抗体等)、不同人的氨基酸序列和为了加强功能或延长半衰期人为引入的序列(点突变、糖基改动、加脂肪酸、去海藻糖、PEG化、Fc融合、双特异抗体和抗体药物偶联物)。

1.1.3 产品纯度 药物蛋白含杂质如细胞基质、培养基成分,会直接导致免疫原性,或者具有佐剂的作用。

1.2 外源性因素

外源性的因素则包括给药途径、配方、给药频率时间、包装材料,甚至和宿主密切相关。

1.2.1 给药途径 给药途径在一定程度上影响蛋白质的免疫原性,证据显示对具有免疫原性的蛋白质不适于皮下注射给药,例如,由于绝大多数纯红细胞性贫血(PRCA)病例发生在皮下注射红细胞生成素 α (EPO α , Eprex),因此欧洲的药品注册管理部门把Eprex限制在静脉注射给药途径。但从本质上,皮下注射本身并不能使蛋白质从非免疫原性变为具有免疫原性,改变给药途径也不能使本身具有的免疫原性消失,仅能使具有免疫原性的蛋白发生免疫反应的几率降低^[2]。

1.2.2 配方不合理、保存或运输不当可能会使蛋白质聚集或变性,从而增强其免疫原性。许多药物为了降低成本需要提高抗体表达量,结果糖基化修饰没有跟上,导致了多聚体产生,而抗体生产工艺里面没有任何一步能够把多聚体去除,因此多聚体是免疫原性产生的一个主要原因。以重组人促红细胞生成素 α (依泊汀 α , Eprex/Erypo)为例,它最早

于1988年在欧洲获得批准上市,用于刺激贫血或正在接受化疗患者生成红细胞,Eprex最初含有人血清白蛋白,后欧盟监管机构鼓励Eprex/erypo开发不含人血清白蛋白配方,以求通过降低传播病毒性疾病的风险来提高安全性。到了2002年Nicole Casadevall教授等人报道了13例纯红细胞再障(PRCA)病例检测出外源性和内源性促红细胞生成素的中和抗体^[4]。之后有报道称自1998至2004年间共有191例PRCA患者体内有上述中和抗体产生,其中2001年发生率最高,且仅出现在欧洲,在美国未出现,而美国一直使用含人血清白蛋白配方^[5]。由此,人们推测PRCA病例中促红细胞生成素中和抗体产生的原因可能是去除白蛋白后的重组人红细胞生成素发生聚集氧化,导致抗原性质发生改变。

1.2.3 给药频率、时间 单次注射产生IgM为主,多次注射14天后以IgG为主。给药间隔越长,抗药抗体(ADA)的亲和力越高。病人的从药性提高了,药效有可能下降很快。因此FDA强调,药物研发是一个长期的系统工程,对免疫原性的关注必须贯穿药物研发和上市后。

1.2.4 包装(包括密封系统)材料 以Eprex为例,其免疫原性的产生还可能与所用的包装材料有关。研究发现注射器中含有硅油在特定条件下可能导致促红细胞素的聚集,从而导致抗促红素抗体的形成。

1.2.5 宿主因素 生物技术药物具有免疫原性,并不意味着一定会诱导病人产生免疫反应。比如Erbix和Avastin,非临床研究表明它在健康猴子里的ADA较高,但由于治疗的病人本来免疫功能低下,且接受过化疗和放疗后,免疫系统几乎被彻底摧毁,故Erbix和Avastin的ADA发生率都非常低。相反患有自身免疫疾病的病人,其免疫系统高度敏感,即使原本较弱的免疫原性也会放大很多倍。

2 免疫原性评价的意义

免疫原性是生物技术药物安全性评价的重要内容,主要有以下3个方面的意义:

对患者、医生来说,免疫原性影响药物的安全性和有效性。对于某些治疗性蛋白质,抗药抗体反应能引起各种临床的不良反应,包括过敏、自身免疫和不同的药代动力学特征,例如药物中和、生物分布异常和药物清除率增强等均可能会使药物的

疗效发生改变。

对企业来说,研发风险大大增加。免疫原性难以预测,因为免疫原性的强弱与多种因素相关,包括药物活性成分、杂质、辅料种类、稳定性、给药途径、剂量、受试群体等,加上临床前免疫原性测定对临床免疫原性预测评价的局限性,有时到了临床才发现 ADA 问题,损失惨重。

对药监部门来说,免疫原性也是影响药物临床研究或者上市许可决定的风险因素之一,许多国家的监管机构均要求在临床前药理学或毒理学研究中,采用经过验证并符合免疫原性研究要求的方法对抗药抗体进行评估,例如,美国食品药品监督管理局(FDA)要求所有生物药上市前必须提供免疫原性评价数据,确保药物的安全性和有效性。

3 免疫原性评价内容

在临床前和临床试验中进行免疫原性评价是生物技术药物注册申报研究的重要内容。在评价内容方面,非临床和临床免疫原性评价各有侧重。

3.1 临床前免疫原性评价

临床前免疫原性评价中测定药物的结合抗体,有助于对非临床研究结果作出更加合理的解释,通常使用多层的方法(multi-tiered testing approach),包括抗药抗体筛选(screening assay)、确证(confirmatory assay)、抗体滴度检测(titering assay)、中和抗体检测(neutralization assay)和(或)抗体亚型分析^[6-7]。首先对结合抗体进行检测,如果检测结果表明存在抗体反应,则需要对抗体反应进行进一步的研究,如抗体滴度、抗体反应的阳性率、是否为中和抗体以及抗体的亚型等,抗体形成还应与药理和(或)毒理学变化相联系,进行综合分析,例如抗体产生对药代动力学、药效动力学、补体激活或毒性反应出现等是否存在影响。此外,还应关注抗体产生与免疫复合物形成和沉积相关的病理变化。

3.2 临床免疫原性评价

生物技术药临床免疫原性研究主要关注其对安全性和疗效(增效、减效、失效)的影响。研究中受试者的数量应足够多,对采样时间、样品处理/贮藏以及数据分析所用统计方法等需要进行科学的论证。抗体检测方法应具有较高的特异性和灵敏度。免疫原性风险越大,分析检测方法的开发越早,对免疫原性的关注需要贯穿整个研发和上市后。抗体监测的观察期取决于药物的疗程、抗体产

生的预期时间和带来的后果。以抗体的检测频率为例,如果体内存在与药物相似的内源性蛋白且其功能十分重要,或药物可能会引起特异性反应,就必须详细地进行免疫原性研究,抗体的检测频度也最密集;可能会因免疫原性而导致毒性反应的生物技术药物,抗体的检测频度次之;免疫原性低或无免疫毒性风险低的生物技术药物,抗体的检测频度可适当延长^[8]。

4 免疫原性检测技术和方法学验证要点

免疫原性是生物技术药物的安全性和疗效评价中重点评估的一项,通过检测抗药抗体可评价药物的免疫原性。开发和完善免疫原性检测的技术方法(如结合抗体和中和抗体检测技术)则更具挑战性。

4.1 常见的抗体检测方法

目前抗体药物 ADA 检测方法有很多,如桥连 ELISA 法、间接 ELISA 法、放射免疫沉淀法(RIP)、表面等离子共振法(SPR)等^[2]。

4.1.1 桥式 ELISA 法 该法用于包被药物,用标记的药物检测,优点是高通量检测,能检测各类抗体亚型,无种属特异性,缺点是不易检测到低亲和力的抗体,包被或标记时可能会掩盖或改变药物的抗原表位,易受药物本身的干扰。

4.1.2 直接 ELISA 法 此法用于包被药物,用标记抗体检测,优点是能够检测低亲和力抗体,缺点是包被时可能会掩盖或改变药物的表位,有种属特异性,多次洗涤时低亲和力抗体容易丢失。

4.1.3 间接 ELISA 法 此法包被单抗或生物素,再加药物,优点是药物与包被的单抗结合后仍能保持抗原表位的暴露。缺点与上述直接法相似。

4.1.4 生物薄膜干涉法(Bio-Layer interferometry) 生物传感器与药物偶联,再加样本,此法的优点是液相法、高通量、自动化,不需使用酶标记抗体,能检测到不同亲和力的抗体和各亚型抗体,无种属特异性。缺点是需要使用特殊仪器,灵敏度较低。

4.1.5 电化学发光法 此法的优点是液相法,可检测各种抗体亚型,无种属特异性,高通量,灵敏度高。缺点是需制备 2 种标记物(生物素和 TAG),标记过程中标记物分子的表位可能会变化,需要使用特殊仪器,所用试剂通用性差。

4.1.6 放射免疫沉淀法(RIP) 此法的优点是液相法,灵敏度高,中等或高通量水平,但缺点是使用同位素,同位素半衰期短,同位素标记影响表位

暴露, 有种属特异性, 由于标记药物非特异性地夹带在沉淀物中, 因此相对于固相表面, 结合力较弱。

4.1.7 中和抗体检测 生物技术药物在动物体内产生的抗体并不一定具有中和活性, 需要对生物技术药物或结构/功能上相关的内源性蛋白质的中和活性检测。抗体中和活性的检测方法一般采用该制剂的生物学活性检测方法, 如采用基于细胞的抗体中和活性检测。

4.2 抗药抗体分析方法验证一般原则

临床和非临床研究通常是通过对抗药抗体反应的检测和表征鉴定来评估药物的免疫原性。不管采用何种方法, 在方法开发和优化后应进行正式的方法学验证, 以保证该方法的各项性能适合相应的检测要求。

开始验证之前制定相应的验证实验方案, 说明该分析方法的预期目的、具体的分析方案、待验证的性能特征以及精密度、鲁棒性、稳定性等的预期验收标准。当在验证阶段的分析数据不符合验收标准时, 应拒绝该数据。若有可明原因(如技术误差)、有意或无意偏离实验方案所得的分析数据应被剔除, 否则所有分析数据都应计算在内。目前, 美国食品药品监督管理局(FDA)的指导性文件阐述了免疫原性检测的方法学开发和验证应包括的主要研究内容^[7]。对于抗药抗体免疫分析方法学验证, 应对以下几项参数进行测定: 筛选临界点、确证临界点、灵敏度、耐药性、精密度、鲁棒性、稳定性等。

4.2.1 筛选临界点(Screening cut point) 筛选临界点定义为筛选试验的响应水平, 响应值高于该临界点的样品为活性样品(或称为潜在阳性), 响应值低于该临界点的样品为阴性样品。为了确定临界点, 在验证阶段应分析足够数量的样本, 且使用的样品来自药物使用目标群体或受试者。这样才能对生物和分析变异进行有效的统计学评估。应至少在不同的3 d时间、由不同的分析员对同一样本检测2~3次来完成6个分析批的考察, 一般可利用参数法计算得到临界点(平均数加1.645标准差)。

4.2.2 确证临界点(Confirmatory cut point) 特异性是分析方法在其它基质成分存在的条件下明确检测目标分析物的能力。由于筛选临界点允许5%的假阳性率, 所以筛选试验筛选出的活性样品可能是非特异性的。因此要从活性样品中鉴定出阳性样品的特异性。特异性确证试验通常是一个竞争性抑

制试验, 通过检测含或不含预孵育研究药物的样品的信号变化来进行评估。建议在筛选临界点的验证过程评估特异性确证临界点。计算未加标药物样本(抑制)的均值和标准偏差(SD), 特异性确证临界点为抑制平均值加上2.33倍的SD值(如果预期假阳性率为1%)。

4.2.3 灵敏度(Sensitivity) 抗药抗体分析的灵敏度指阳性对照抗体能稳定产生阳性信号的最低浓度。FDA 2016年版指导原则要求抗药抗体检测的灵敏度应达到100 ng/mL, 由此可见检测灵敏度非常关键。部分生物技术药物产生低滴度的中和抗体即可导致临床上不良反应, 因此需要开发更为灵敏的方法, 以有效检测出抗药抗体。

4.2.4 药物干扰研究(耐药性) 抗药抗体检测的主要干扰物质通常来自药物本身。由于目标药物和试验过程用到的特异性抗体的产生存在竞争性作用, 给药后血液中的药物可能会对抗药抗体的检测产生干扰, 导致出现假阴性。通常的做法是确定抑制阳性对照抗体检测的药物浓度, 并将此耐药限度应用于研究样本抗药抗体受药物干扰的情况。与灵敏度类似, 耐药性(Drug Tolerance)仅限于了解试验中药物是否会产生干扰, 在方法的开发和优化阶段可以用于比较不同方法。尽管如此, 在抗药抗体研究中需要确定耐药性。此外, 在提高药物耐受性方面, 酸处理、液相ELISA等方法有助于对药物干扰的抑制, 增强检测方法对ADA的响应^[9]。

4.2.5 精密度(Precision) 分析方法精密度定义为测量值的相对标准差(变异系数CV%), 用来描述分析物重复测定的接近程度, 精密度的可接受标准应该在免疫分析的常用预期范围内; 同时也应该适合所用的平台。考察方法的精确度时, 应至少在不同的3天时间、对同一样本检测2~3次来评估批内和批间检测的误差。

4.2.6 鲁棒性(Robustness) 鲁棒性是指当分析方法的参数发生微小变化时, 分析方法不受影响的能力, 能够指示分析方法的可靠性。这些参数包括孵育时间、温度、微孔板批次、试剂批次和浓度或者设备等。

4.2.7 稳定性(Sample Stability) 稳定性研究用以评估分析方法在预期样品的储存条件下的分析性能。理想状态下, 稳定性测试条件应模仿预期样品和试剂的制备条件、储存温度和不同的储存时间。添加阳性对照抗体的基质可以用作模拟阳性样

本进行测定,最好使用低、中、高浓度质控样品考察分析物的稳定性。

4.2.8 最小稀释度 (Minimal Required Dilution) 分析方法建立与验证过程中,需要使用缓冲液对生物样品进行必要的稀释,以降低其产生的高背景信号、提高信噪比、减少基质干扰。因此应考察最小稀释度。最小稀释倍数应从 10 个未治疗个体的样本检测中确定,检测到的信号接近检测稀释液的非特异性结合的信号水平,一般不大于 100 倍稀释。

4.2.9 阳性/阴性对照品和试剂 阳性对照抗体(或血清)可以通过购买市售产品获得,如无市售产品,则应通过免疫动物制备阳性对照抗体。为评价非特异本底,需设立阴性对照,阴性对照血清一般需从 15 只动物或 50 人中抽取。

方法的关键试剂,如结合蛋白、抗体或偶联抗体、酶等,对分析结果会产生直接影响,因此须确保质量。如果在方法验证或样品分析过程中,关键试剂批次发生改变,须确认方法性能不会因此改变,从而确保不同批次结果的一致性。无论是关键试剂,还是缓冲液、稀释液等非关键试剂,都应对维持其稳定性的保障条件进行记录,以确保方法性能长期不变。

4.2.10 小结 总之,在检测药物诱导产生的抗体时,应充分考虑药物性质(如治疗性蛋白或单抗)、药物的干扰等问题,选择合适的检测方法,并通过优化、验证,要有一定特异性和灵敏度,能检测到低滴度抗体和针对线性表位或构象型表位的抗体。

5 免疫原性评价未来面临的问题

随着生物技术药物的快速发展,也给药物的免疫原性评价带来挑战,如何优化检测技术、实现评价方法的规范化和标准化、提高动物模型的预测性是未来免疫原性评价亟需解决的问题。

5.1 方法的规范化和标准化

目前国内外尚无免疫原性临床前检测的综合性指导原则,有关这方面的要求分散在多个指导原则中,检测方法、要求和解释也不统一^[7, 10-11]。同时,由于每种生物技术药物的特性不同,因此难以抽象地推荐使用一种检测方法。

5.2 抗药抗体检测方法的优化

目前抗药抗体检测存在很多问题,比如,在灵长类动物实验中,由于猴与人的高度同源性,测定中会产生交叉干扰,造成高的背景性反应;基质中可能含有研究药物、内源性抗体和类风湿因子

等^[12],可能会抑制抗药抗体与药物的结合;产生的抗药抗体和体内药物结合从而影响抗体检测;ADC 药物在动物体内诱发的抗药抗体水平较低,需要灵敏的检测方法;许多动物血清中特异性抗抗体亲和力普遍较低,这也对检测方法提出新的要求和标准。

5.3 动物模型的预测性

在临床前毒理学试验中,检测抗药抗体可以在一定程度上反映生物技术药物的免疫原性强弱,但由于不同种属动物与人体免疫系统之间存在着巨大的差异^[13],动物试验中观察到的免疫反应并不一定代表受试药物在人体产生同样的免疫反应,甚至有的生物技术药物在动物试验中发现具有免疫原性,但在临床上基本上无免疫原性,两者之间无明显相关性,因此从动物试验结果外推到临床试验需谨慎。

尽管如此,对于大部分生物技术药物来说,非人灵长类动物是目前免疫原性检测最好的动物。阿达木在临床上报道的 ADA 为 43%~51%^[14],我们在临床前的健康猴子里观察到的阿达木 ADA 为 41.7%,和健康人的数据非常接近,表明猴子和人没有太大差异。当然,健康动物或健康人群的 ADA 数据必须加上一个病人免疫体系影响因子来预测病人中的免疫反应强度。此外,动物数据外推到人时,还需要考虑药物暴露时间上人大于动物,且抗体产生时间难以确定,有的甚至给药后 12 月才出现抗体。

6 结语

生物技术药是目前药物研发的热点,但几乎所有的生物技术药物都会有一定程度的免疫原性,可能会降低药物疗效或导致严重的不良反应,因此,生物技术药物的免疫原性问题必须要予以特别重视^[15]。免疫原性与药物安全性和有效性的之间的关联依赖于临床前和临床研究中对于抗药抗体的客观检测和表征。因此,在生物技术药物免疫原性评价中,应充分考虑到方法的适应性,设计有效可行的检测方法,以产生高质量的抗药抗体数据,并结合 PK、安全性和有效性等数据进行综合判定,从而更好的了解和预测免疫原性对毒性或疗效可能产生的影响。

参考文献

[1] Hansel T T, Kropshofer H, Singer T, et al. The safety and

- side effects of monoclonal antibodies [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9(4): 325-338.
- [2] 吕秋军. 生物技术药物免疫原性的评价及面临的挑战 [J]. *中国新药杂志*, 2007(03): 181-188.
- [3] Aarden L, Ruuls S R, Wolbink G. Immunogenicity of anti-tumor necrosis factor antibodies-toward improved methods of anti-antibody measurement [J]. *Curr Opin Immunol*, 2008, 20(4): 431-435.
- [4] Casadevall N, Nataf J, Viron B, et al. Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin [J]. *N Engl J Med*, 2002, 346(7): 469-475.
- [5] Bennett C L, Luminari S, Nissenson A R, et al. Pure red-cell aplasia and epoetin therapy [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(14): 1403-1408.
- [6] 生物类似药研发与评价技术指导原则 (试行) [S]. 2015.
- [7] U.S. Department of Health and Human Services, et al. Assay Development and Validation for Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products(DRAFT GUIDANCE) [EB/OL]. [2016-04-20]. <http://www.regulations.gov>.
- [8] 王海学, 陆国才, 张子腾, 等. 生物类似药的免疫原性研究与评价技术思考 [J]. *中国药学杂志*, 2015(06): 483-489.
- [9] Mikulskis A, Yeung D, Subramanyam M, et al. Solution ELISA as a platform of choice for development of robust, drug tolerant immunogenicity assays in support of drug development [J]. *J Immunol Methods*, 2011, 365(1/2): 38-49.
- [10] The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products(EMA). Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins [S]. 2007.
- [11] International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Tripartite guideline S6 preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals [S]. 1997.
- [12] 齐林, 宫新江, 刘克玲, 等. 重复给予恒河猴 rhKGF 后其免疫原性及抗体中和性质的检测 [J]. *华西药学杂志*, 2012(04): 383-385.
- [13] 林志, 黄瑛, 崔岚, 等. 人与食蟹猴 T 细胞和 B 细胞功能的比较 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2013(03): 498-499.
- [14] Harding F A, Stickler M M, Razo J, et al. The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions [J]. *Mabs Austin*, 2010, 2(3): 256-265.
- [15] Hwang W Y, Foote J. Immunogenicity of engineered antibodies [J]. *Methods*, 2005, 36(1): 3-10.