

抗体偶联药物非临床安全性评价毒性病理学检查关注点

田爱军[#], 李佳霖[#], 汪春娅, 张浩琳, 李 玲, 雷亚萍, 项 玉, 李一昊, 李言川^{*}, 吕建军^{*}

湖北天勤鑫圣生物科技有限公司, 湖北 武汉 430207

摘 要: 抗体偶联药物(ADC)是由抗体、有效载荷(细胞毒性小分子化合物)和连接子组成的新型特异性抗肿瘤药物。ADC具有高特异性和不良反应少等特点,但其安全性受到抗体特异性、连接子稳定性和有效载荷性质等因素的影响。ADC的剂量限制性毒性主要与有效载荷有关,且在临床和非临床研究中具有很好的相关性。ADC的毒性机制包括靶向毒性和脱靶毒性,靶向毒性主要由靶点的表达决定,脱靶毒性则由偶联不稳定和非特异性摄取等因素引起。简要概述ADC的毒性机制,重点介绍ADC非临床安全性评价中的毒性病理学检查关注点,以期为我国ADC非临床安全性评价提供一定参考。

关键词: 抗体偶联药物; 非临床安全性评价; 靶向毒性; 脱靶毒性; 毒性病理学

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2024)08-1678-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.08.002

Considerations of toxicologic pathology examination of antibody-drug conjugates during nonclinical safety evaluation

TIAN Aijun, LI Jialin, WANG Chunya, ZHANG Haolin, LI Ling, LEI Yaping, XIANG Yu, LI Yihao, LI Yanchuan, LYU Jianjun

Hubei Topgene Xinsheng Biotechnology Co., Ltd., Wuhan 430207, China

Abstract: Antibody-drug conjugate drug (ADC) are novel specific anti-tumor drugs composed of antibodies, payloads (cytotoxic small molecule compounds) and linkers. ADC is characterized by high specificity and few side effects, but their safety is affected by factors such as antibody specificity, stability of linker, and nature of payload. The dose-limiting toxicity of ADC is mainly related to the payload and has been well correlated in clinical and nonclinical studies. The toxicity mechanism of ADC includes on-target toxicity and off-target toxicity. On-target toxicity is mainly determined by the expression of the target, whereas off-target toxicity is caused by factors such as coupling instability and non-specific uptake. The toxicity mechanism of ADC is briefly reviewed, and the toxicologic pathology examination during nonclinical safety evaluation of ADC is emphasized, so as to provide some references for the nonclinical safety evaluation of ADC in China.

Key words: antibody-drug conjugate; nonclinical safety evaluation; on-target toxicity; off-target toxicity; toxicologic pathology

抗体偶联药物(ADC)是一种新型药物,目前全球已上市的ADC药物共16个(表1),包括8个治疗血液系统恶性肿瘤的ADC,8个治疗实体瘤的ADC,其中有8个ADC药物在中国获批上市。ADC主要由靶向性抗体、连接子和有效载荷组成。靶向性抗体与细胞毒性小分子药物通过化学偶联技术结合而成,能够利用靶向抗体选择性地将药物运送

到肿瘤细胞表面,进一步内化进入肿瘤细胞内释放药物,从而实现对肿瘤细胞的选择性杀伤,具有高效、精确、不良反应少等优点。ADC抗体选择主要考虑与靶抗原特异性以及亲和力水平,理想的抗体应具有低免疫原性、较长的血浆半衰期以及能促进有效内化的特点。目前ADC主要采用低免疫原性的全人源化抗体,在16种已上市的ADC中,仅维布妥

收稿日期: 2024-02-23

基金项目: 基于AI的创新药物研发服务平台项目

#共同第一作者: 田爱军,硕士,研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: tianaijun@topgenebio.com

李佳霖,学士,研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: lijialin@topgenebio.com

***共同通信作者:** 李言川,硕士,研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: liyanchuan@topgenebio.com

吕建军,博士,主任药师,研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: lvjianjun@topgenebio.com

表 1 全球已上市 ADC 药物
Table 1 Marketed ADC drugs in the world

ADC 商品名(通用名)	靶点	抗体	连接子	细胞毒性小分子	上市时间
Mylotarg(gemtuzumab ozogamicin, 吉妥珠单抗奥唑米星)	CD33	IgG4	acid cleavable	ozogamicin/ calicheamicin	2000 年 5 月首次上市,2010 年撤市,2017 年再度上市
Adcetris(brentuxima vedotion, 维布妥昔单抗)	CD30	IgG1	enzyme (cleavable)	MMAE/auristatin	2011 年 8 月
Kadcyla(adotrastuzumab Emtansine, 恩美曲妥珠单抗)	HER2	IgG1	noncleavable	DM1/ maytansinoid	2013 年 2 月
Besponsa(inotuzumab ozogamicin, 奥加伊妥珠单抗)	CD22	IgG4	acid cleavable	ozogamicin/ calicheamicin	2017 年 6 月
Polivy(polatuzumab vedotin-piig, 维泊妥珠单抗)	CD79b	IgG1	enzyme (cleavable)	MMAE/auristatin	2019 年 6 月
Padcev(enfortumab vedotin-ejfv, 维恩妥尤单抗)	Nectin4	IgG1	enzyme (cleavable)	MMAE/auristatin	2019 年 12 月
Enhertu(famtrastuzumab deruxtecan -nxki, 德曲妥珠单抗)	HER2	IgG1	enzyme (cleavable)	DXd/ camptothecin	2019 年 12 月
Trodelvy(sacituzumab govitecan-hziy, 戈沙妥珠单抗)	TROP2	IgG1	acid cleavable	SN-38/camp- tothecin	2020 年 4 月
Blenrep(belantamab mafodotin-blmf, 贝兰他单抗莫福汀)	BCMA	IgG1	noncleavable	MMAE/auristatin	2020 年 8 月上市,2022 年 11 月撤市
Akalux(cetuximabsaratolacan, 西妥昔单抗)	EGFR	IgG1	/	IR700	2020 年 9 月
Aidixi(disitamab vedotin, 维迪西妥单抗)	HER2	IgG1	Mc-VC-PABC	MMAE	2021 年 6 月
Zynlonta(loncastuximab tesirine-lpyl, 泰朗妥昔单抗)	CD19	IgG1	enzyme (cleavable)	SG3199/PBD dimer	2021 年 4 月
Tivdak(tisotumab vedotin, 维替索妥尤单抗)	TF	IgG1	valine-citrulline (cleavable)	MMAE	2021 年 9 月
Elahere(mirvetuximab, 索米妥昔单抗)	FR	IgG1	Sulfo-SPDB (cleavable)	DM4	2022 年 11 月
Zevalin(ibrutumomab tiuxetan, 替伊莫单抗)	CD20	IgG1	Val - Ala	PBD	2002 年 3 月
SYD985(trastuzumab duocarmazine, 曲妥珠单抗-多卡马嗪)	HER2	IgG4	vc-seco-DUBA	duocarmycin	2022 年 7 月

MMAE-单甲基澳瑞他汀 E; DM1-emtansin/mertansine; DM4-ravtansine; PBD-吡咯并苯二氮杂草; DXd、SN-38-伊立替康(DX-8951)的衍生物; IR700-水溶性硅酞菁衍生物; SG3199-DNA 小沟链间交联 PBD 二聚体。
MMAE-monomethyl auristatin E; DM1-emtansin/mertansine; DM4-ravtansine; PBD-pyrrolobenzodiazepines; DXd、SN-38-derivatives of irinotecan (DX-8951); IR700-water soluble silicon phthalocyanine derivatives; SG3199-DNA small groove interchain cross-linked PBD dimer.

昔单抗使用了嵌合抗体^[1-3]。连接子负责将毒素小分子药物与靶向抗体连接起来,理想的连接子应该确保药物的稳定性和选择性释放。连接子一般分为可裂解型连接子和不可裂解型连接子,其中可裂解型连接子可进一步分为化学裂解连接子(脲键和二硫键)和酶裂解连接子(葡萄糖醛酸键和肽键)。不可裂解型连接子与抗体的氨基酸残基形成非还原键,因此更为稳定且具有更高的安全性^[4-6]。有效载荷为毒素小分子化合物,由于能到达靶肿瘤组织的 ADC 的药物总量有限,因此 ADC 有效载荷必须具有高效力。目前常用的毒素小分子化合物主要包括微管蛋白抑制剂和 DNA 损伤剂。微管蛋白抑制剂的作用机制是干扰微管依赖性有丝分裂,其典型代表是美登素、奥瑞他汀和微管溶素等。DNA 损伤剂主要包括 DNA 双链破坏剂、DNA 烷化剂、DNA 插入剂和 DNA 交联剂^[7-9]。

ADC的理想药理学作用是在内化时破坏靶细胞。首先,抗体与肿瘤细胞表面的抗原特异性结合后,ADC通过内吞途径进入细胞内部。随后,ADC被溶酶体降解,释放出细胞毒性药物,导致癌细胞死亡。这一过程中,邻近的细胞可能会受到ADC旁观者效应的影响,即ADC的细胞外解偶联或有效载荷扩散到周围细胞,导致非特异性杀伤。目前ADC均通过静脉注射(推注或长时间滴注)给药,因此连接子的稳定性对药物耐受性至关重要,理想的连接子在血浆中具有很高的稳定性,但一旦被溶酶体吸收,就会迅速释放有效载荷^[10-11]。ADC与非偶联组分的半衰期、清除率和生物分布等药动学指标差异显著,主要原因包括(1)未偶联抗体和细胞毒性小分子清除途径的差异;(2)偶联化合物的稳定性差异;(3)偶联结构本身可以延长细胞毒性小分子的半衰期;(4)ADC可对不同组分的生物分布产生显著影响。因此,ADC在药动学特征方面有别于细胞毒性小分子和单抗,而且已上市的ADC的药动学特征显示出高度的个体差异性,其原因尚未明确^[12-14]。

ADC的毒性可以影响包括血液系统、神经系统、呼吸系统、皮肤、肝脏、眼球、心血管等全身多组织/器官。近年来ADC逐步迭代、快速发展,带来了许多新的挑战,对药物非临床研究毒理学家和毒性病理学家的专业知识要求也越来越高。本研究旨在概述ADC的毒性机制,重点介绍ADC非临床安全性评价毒性病理学检查关注点,以期为我国ADC非临床安全性评价提供一定参考。

1 ADC的毒性机制

ADC非临床安全性评价之所以成为研究的热点和瓶颈,与此类药物的特性密切相关。由于ADC是由肿瘤特异性的抗体与细胞毒性小分子药物通过化学偶联技术结合而成,因此在偶联过程中会产生不同于单一组分毒性特征的高度复杂的化合物。这类化合物的生化性质与非偶联组分截然不同,而这种差异性可能显著影响ADC的药动学和安全性。ADC毒性机制主要分为靶向毒性和脱靶毒性。

1.1 ADC靶向毒性

ADC的理想靶点应该是仅在肿瘤组织上表达,或者肿瘤组织与正常组织之间的表达差异巨大。靶向毒性是指ADC对非肿瘤组织但具有相同靶抗原的正常组织或细胞产生杀伤效应。若肿瘤细胞和非肿瘤组织靶抗原的表达差异并不明显,ADC对肿瘤细胞的杀伤效应则不可避免地损害具有相同靶抗原的正常组织或细胞^[15]。这种毒性反应在一

种DM1偶联抗人CD44v6抗体的ADC药物(bivatuzumab mertansine)中曾被报道,由于CD44v6在肿瘤细胞和皮肤角质形成细胞中均有表达,导致临床试验中出现1例患者在2次输注给药后发生中毒性表皮坏死松解并死亡,其皮肤角质形成细胞在毒性作用下发生大量凋亡^[16]。

靶向毒性不仅仅是由靶抗原表达决定(表2),还可能与有效载荷的作用机制、ADC对靶细胞的可及性以及靶细胞/靶器官的再生潜力有关。例如,恩美曲妥珠单抗(trastuzumab emtansine、T-DM1)是首个被批准用于人表皮生长因子受体2(HER2)阳性转移性乳腺癌患者的ADC,HER2在心肌细胞以及消化道、肺、皮肤和乳腺的上皮细胞上有显著表达,但临床试验中观察到的主要剂量限制性毒性是血小板减少和肝酶升高^[17-18]。在靶向毒性的非临床安全性评价中,设计动物体内实验时需要考虑到靶抗原在正常组织中的表达情况,并且需要在具有交叉反应物种中进行评估。

1.2 ADC脱靶毒性

脱靶毒性指ADC在不表达靶抗原的组织或细胞中产生杀伤效应,多与有效载荷(表2)即细胞毒性小分子化合物的安全性有关^[19-21],且与临床上ADC常见剂量限制性毒性(表3)高度相似。目前脱靶毒性的主要机制被认为与偶联稳定性和正常细胞非特异性摄取有关。

1.2.1 偶联稳定性 连接子的类型和化学偶联技术是影响稳定性的主要因素^[22]。理想的连接子应该保证偶联化合物在体内的稳定性和在目标靶点的易释放性,这样才能既保证安全性又保证高效性^[4]。不可裂解型连接子相比可裂解型连接子具有更高的稳定性^[6]。但是,过于稳定的连接子在需要旁观者效应时则很难发挥ADC的作用^[7]。有研究表明:治疗非霍奇金淋巴瘤最佳ADC的潜在靶点有7种,分别是CD19、CD20、CD21、CD22、CD72、CD79b和CD180,而在已经研发的ADC药物中,具有可裂解型连接子的ADC通过所有这些靶点均可以介导抗肿瘤效应,而具有不可裂解型连接子的ADC仅在靶向CD22和CD79b时有效^[22-23]。在针对大鼠的非靶向安全性研究中,不可裂解型连接子ADC显示出毒性降低的特点,可能是由于游离药物或其他有毒代谢物释放到循环中减少的缘故。因此,具有可裂解型连接子的ADC可作用于广泛的靶点,而对于特定靶点具有不可裂解型连接子的ADC似乎更有优势。

表 2 部分 ADC 靶向毒性和脱靶毒性汇总

Table 2 Summary of on-target toxicity and off-target toxicity of some ADC

ADC	靶点	有效载荷	正常组织	靶向毒性	脱靶毒性
AGS-16M8F	ENPP3	MMAF	胃肠道(腺体细胞)、肺脏(呼吸道上皮细胞)、肾小管	无	血小板减少(症)
ASG-5ME	SLC44A4	MMAE	肾脏和胃肠道	消化道毒性	中性粒细胞减少(症)、神经病
AVE9633	CD33	DM4	骨髓造血细胞、淋巴细胞,胃肠道(上皮和腺体)	无	肝毒性
BT-062	CD138	DM4	B 细胞、胃肠道上皮细胞、肝脏、皮肤、肾脏、胰腺、前列腺	手/足综合征、黏膜炎	无
CDX-011	GPNMB	MMAE	黑色素细胞、成骨细胞、视网膜上皮细胞	皮疹(手/足、中毒性表皮坏死松解(症)	中性粒细胞减少(症)、外周性神经病
CMC544	CD22	卡奇霉素	B 细胞	淋巴细胞减少(症)	血小板减少(症)、中性粒细胞减少(症)
DCDT2980S	CD22	MMAE	B 细胞、胃肠道(腺体细胞)	无	中性粒细胞减少(症)、感觉神经病
IMGN242	MUC1(CanAg)	DM4	肿瘤上 MUC1 的突变形式	无	眼毒性(角膜炎)
IMGN388	alpha-V 整合素	DM4	胃肠道(上皮细胞)、胆管、黑色素细胞、肾小管/肾小球	胃肠道毒性	头痛、意识错乱
IMGN901	CD56	DM1	外周神经、神经元(小脑)、肺脏(上皮细胞)、胃肠道腺体细胞、甲状腺、肾上腺	外周神经病	无
PSMA ADC	PSMA	MMAE	肾脏(近端肾小管)、前列腺	无	中性粒细胞减少(症)、外周性神经病
SAR3419	CD19	DM4	B 细胞	无	眼部毒性(角膜炎)
SGN-35	CD30	MMAE	活化的淋巴细胞	无	中性粒细胞减少(症)、血小板减少(症)
SGN-75	CD70	MMAF	B 细胞和一些 T 细胞	无	中性粒细胞减少(症)
T-DM1	HER2	DM1	心肌细胞、胃肠道上皮细胞、肺脏、皮肤、乳腺	无	血小板减少(症)、肝酶升高

MMAF-单甲基溴瑞他汀 F。
MMAF-monomethyl auristatin F.

1.2.2 正常细胞非特异性摄取 正常细胞对 ADC 的非特异性摄取也是 ADC 脱靶毒性的一个重要原因,但目前对该机制的研究有待进一步深入。抗体可通过各种机制以与抗原无关的方式被正常细胞摄取,包括 Fc 受体介导的摄取(甘露糖受体、FcRn 和 Fcγ 受体)、非特异性内吞和 ADC 分解物的摄取^[24]。非特异性摄取可能导致 ADC 通过内吞或溶酶体途径进入细胞内,然后在正常细胞内释放细胞毒性小分子化合物,进而杀伤正常细胞。FcγIIb 受

体似乎在非特异性摄取中起作用,可能还有其他非 Fcγ 受体机制参与^[25-27]。

2 ADC 非临床安全性评价中的毒性病理学检查关注点

ADC 的毒性作用是由其组成部分(抗体、有效载荷和连接子)的特性共同决定的,这些组成部分的任何改变都可能导致毒性反应特征的变化。由于 ADC 的有效载荷为强效的细胞毒性小分子化合物,对正常的人体组织具有较强的毒性作用,非临

表3 临床上不同有效载荷的剂量限制性毒性反应

Table 3 Clinical dose-limiting toxic reactions of different payloads

有效载荷	类型	已上市/临床后期 ADC	连接子类型	关键毒性
MMAE	微管蛋白抑制剂	Brentuximab Vedotin、 Polatuzumab Vedotin、Enfortumab Vedotin、Tisotumab Vedotin、 Disitamab Vedotin	可裂解	中性粒细胞减少(症)、外周神经 病、贫血、皮肤毒性
MMAF	微管蛋白抑制剂	Belantamab Mafodotin	不可裂解	血小板减少(症)、眼毒性、肝毒性
DM1	微管蛋白抑制剂	Trastuzumab Emtansine	不可裂解	血小板减少(症)、肝毒性
DM4	微管蛋白抑制剂	Mirvetuximab Soravtansine	可裂解	中性粒细胞减少(症)、贫血、外周 神经病、眼毒性
卡奇霉素	DNA 双链破坏剂	Gemtuzumab Ozogamicin、 Inotuzumab Ozogamicin	可裂解	中性粒细胞减少(症)、血小板减 少(症)、肝毒性
PBD	DNA 交联剂	Loncastuximab Tesirine	可裂解	中性粒细胞减少(症)、血小板减 少(症)、贫血、浆膜渗出、肾毒性、 皮肤毒性
多卡霉素	DNA 烷化剂	Trastuzumab Duocarmazine	可裂解	中性粒细胞减少(症)、血小板减 少(症)、浆膜渗出
SN-38	拓扑异构酶I抑制剂伊立替康 的活性代谢产物	Sacituzumab Govitecan	可裂解	中性粒细胞减少(症)、胃肠道毒性
DXd	拓扑异构酶I抑制剂	Trastuzumab Deruxtecan	可裂解	中性粒细胞减少(症)、胃肠道毒性

床研究中尤其应关注小分子化合物的毒性风险是否充分暴露。相关指导原则可以参考国家药品监督管理局(NMPA)药品审评中心(CDE)于2023年9月发布的《抗体偶联药物非临床研究技术指导原则》,美国食品药品监督管理局(FDA)于2022年2月发布的《抗体偶联药物临床药理关注点行业指南草案》,此外ADC药物的临床前安全性评价还可参考ICH指南S6(R1)、S9、M3(R2)等^[28-32]。

ADC的毒性作用以骨髓毒性最常见,其次是外周神经病等。另外,ADC毒性作用的显微镜检查结果随剂量变化而变化,且通常是可逆的^[33-34]。表4列出了ADC毒理学试验中啮齿动物和食蟹猴不同组织常见的组织病理学病变及其对应的有效载荷。后文对目前ADC常用的几种小分子化合物的来源、作用机制和引起的常见组织病理学病变进行概述。

2.1 海兔毒素/奥瑞他汀

海兔毒素(dolastatins)是一种寡肽,发现于截尾海兔(*Dolabella auricularia* Martyn),能阻断微管蛋白的聚合。其中海兔毒素10剂量限制性毒性是骨髓毒性。MMAE是海兔毒素的合成衍生物,研究显示其对大鼠和食蟹猴的骨髓(细胞减少)、淋巴结(淋巴细胞减少)、胸腺(淋巴细胞坏死)、脾脏(淋

巴细胞减少)、肝脏(单细胞坏死、胆管增生)、肠道(单细胞坏死)、胰腺(单细胞坏死)和睾丸(生精小管变性)均有毒性作用。临床上MMAE主要毒性作用表现为贫血、中性粒细胞减少(症)和外周神经病。MMAF是海兔毒素的另一种合成衍生物,在临床上常与眼毒性相关^[35-37]。

2.2 美登素/美登素类化合物

美登素(maytansines)是一种从齿叶美登木(*Maytenus serrate* Hook. f)中分离的毒素,在根霉菌素/长春碱结合位点与微管蛋白结合,从而抑制微管形成。美登素能够影响正常分裂的细胞,对胃肠道、胸腺、脾脏、骨髓和睾丸均有毒性作用,引起的常见组织病理学变化是在多种组织/器官中观察到大量非典型有丝分裂象^[38-39]。膀胱和皮肤也是美登素的毒性作用靶器官^[40]。Emtansin/mertansine(DM-1)和ravtansine(DM-4)均是美登素的合成衍生物,毒性作用相似。其中,DM-1在大鼠的毒性作用靶器官包括肝脏(变性、坏死)、造血细胞(主要影响血小板)和淋巴器官。其他毒性作用器官包括肾脏(肾小管变性、坏死)、泪腺(上皮细胞肥大和黏液细胞减少)和外周神经(轴突变性)。这些变化可与临床报道的不良反对应,如血小板减少(症)和肝脏毒性^[40]。

表4 ADC毒理学研究中常见的组织病理学病变汇总

Table 4 Summary of common histopathological lesions in ADC toxicology studies

组织/脏器	病变	有效载荷
骨髓	造血细胞萎缩	海兔毒素、美登素/美登素类化合物、卡奇霉素、多卡霉素及衍生物、PBD
附睾	管腔精子减少、管腔细胞碎片	海兔毒素、美登素/美登素类化合物、卡奇霉素
眼睛	角膜色素过度沉着、泪腺上皮肥大、泪腺上皮单细胞坏死	美登素/美登素类化合物
肠道	黏膜单细胞坏死	海兔毒素/奥瑞他汀、美登素/美登素类化合物、PBD
肾脏	变性(肾小管、集合管)、肾小管扩张、肥大(肾小管、集合管)	美登素/美登素类化合物、卡奇霉素、鹅膏蕈碱及其衍生物
肝脏	单细胞坏死、髓外造血增多	海兔毒素、美登素/美登素类化合物、卡奇霉素、鹅膏蕈碱及其衍生物
淋巴结	淋巴细胞减少	海兔毒素、美登素/美登素类化合物、PBD
乳腺	小叶萎缩、上皮变性、上皮单细胞坏死	卡奇霉素
卵巢	黄体数量减少/缺失、囊肿	卡奇霉素
胰腺	单细胞坏死、萎缩	卡奇霉素
外周神经	轴突变性	美登素/美登素类化合物
皮肤	附属器(皮脂腺)萎缩、表皮角化过度、表皮色素沉着过度、表皮增生、单细胞坏死[表皮、附属器(毛囊)]	美登素/美登素类化合物、多卡霉素及衍生物、PBD
脾脏	动脉周围淋巴鞘(PALS)淋巴数量减少	海兔毒素、美登素/美登素类化合物
	髓外造血增多	美登素/美登素类化合物、卡奇霉素、PBD
睾丸	生精小管变性	海兔毒素
	生精小管变性/萎缩	美登素/美登素类化合物
	生精小管萎缩	卡奇霉素
胸腺	淋巴细胞减少	海兔毒素、美登素/美登素类化合物、卡奇霉素、PBD
膀胱	尿路上皮增生、尿路上皮单细胞坏死	美登素/美登素类化合物

2.3 DNA双链破坏剂

卡奇霉素(calicheamicins)是一种DNA双链破坏剂,来源于棘孢小单孢菌 *Micromonospora echinospora* Luedemann et Brodsky,可导致双链DNA断裂。Ozogamicin是一种合成的卡奇霉素衍生物,用于ADC产品吉妥珠单抗 Mylotarg(gemtuzumab ozogamicin)和奥英妥珠单抗 Besponsa(inotuzumab ozogamicin)。前者的毒性作用在大鼠和食蟹猴中相似,主要影响骨髓、乳腺、肾脏(肾小管)、肝脏、脾脏、睾丸和附睾^[41]。后者在大鼠和食蟹猴主要影响肝脏(核巨大、单细胞坏死)、淋巴造血组织(骨髓萎缩;胸腺、脾脏和肠道的淋巴组织萎缩)、肾脏(蛋白管型)、睾丸(生精小管变性)、乳腺(萎缩)、卵巢(原始卵泡变性)、肺(肺泡巨噬细胞聚集)和外周神经(轴突变性)^[42]。

2.4 DNA烷化剂

多卡霉素是一种DNA烷化剂,是从链霉菌属

*Streptomyces Sergei*的细菌中分离出来的毒素,能不可逆地烷基化腺嘌呤,导致DNA损伤。多卡霉素的几种类似物[如阿多泽莱辛(adozelesin)、比泽莱辛(bizelesin)和卡泽莱辛(carzelesin)]已经被合成并作为潜在的抗肿瘤药物,但关于其毒性作用公开报道的信息很少。在1项靶向HER2并通过可切割连接子偶联的ADC研究中曾报道在食蟹猴出现一过性骨髓毒性和皮肤色素过度沉着^[43]。

2.5 DNA交联剂

吡咯并苯二氮杂草(PBD)是一系列选择性DNA小沟结合交联剂,能阻止细胞分裂。PBD原型是安曲霉素,最先从链霉菌 *Streptomyces refuineus* Elizabeth中分离出来,能够识别和结合特定的DNA序列并形成不稳定的共价化合物。关于PBD毒性作用的报道很少,大鼠单次静脉给药毒性研究显示其具有骨髓毒性、淋巴系统毒性、肠道毒性和皮肤毒性^[33]。吲哚啉-苯二氮卓(indolino-

benzodiazepines)是经过修饰的PBD,其在小鼠中主要表现为骨髓毒性^[44]。

2.6 鹅膏蕈碱及其衍生物

α -鹅膏蕈碱(α -amanitin)是一种双环寡肽,系来自鹅膏菌科(Amanita)的一种毒素。 α -鹅膏蕈碱常用于分子生物学研究,是RNA聚合酶II的有效抑制剂,在DNA转录成mRNA的过程中起着重要作用。 α -鹅膏蕈碱在多种物种中均可引起毒性作用,如肝细胞坏死,肾小管细胞质肿胀、空泡变性甚至进展至坏死^[46]。

3 结语和展望

ADC作为一种新型的抗体类药物,在肿瘤治疗领域展现出巨大的潜力。但由于ADC结构的特殊性,其毒性机制与传统单抗类药物有极大的差别,主要与抗体特异性、连接子稳定性和有效载荷性质等因素有关。抗体的结构和特异性会影响ADC的分布和清除速率,进而导致靶向毒性。连接子的类型和化学偶联技术会影响ADC的稳定性,进而导致脱靶毒性。另外,正常细胞对ADC药物的非特异性摄取也是产生ADC脱靶毒性的一个重要原因。

近些年ADC产品不断迭代,为其非临床安全性评价带来了新挑战,同时也对毒性病理学家和毒理学家提出了更高的要求。ADC非临床安全性评价中的毒性病理学检查需要结合ADC的药理作用、有效载荷种类、实验动物种属、组织分布特征^[47]和研究终点等多种因素综合分析,采取具体情况具体分析(case-by-case)的原则进行。而众多考虑因素中,有效载荷的毒性作用仍然是最关键的因素。大量的临床与非临床研究表明肝脏、肾脏、骨髓等器官是ADC毒性的主要靶器官,且均与有效载荷种类及其毒性作用有关。因此,在进行ADC药物的非临床安全性评价时,毒性病理学家应熟悉不同有效载荷的毒性作用特点,以期在进行毒性病理学检查前即能预测待研究ADC药物可能的毒性靶器官和相应的组织病理学变化,有利于更精确地诊断相关病变和对组织病理学结果的理解和解释。

目前国内外医药企业对ADC的研发方兴未艾,其非临床安全性评价毒性病理学检查数据也在不断积累,对ADC靶向毒性和脱靶毒性发生机制的探讨也在不断深化,尤其是其脱靶毒性。希望通过本文的简要介绍,能够为我国ADC非临床安全性评价提供一定参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Singh A P, Guo L M, 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.
- [2] 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.
- [3] Zhang J, Woods C, He F, et al. Structural changes and aggregation mechanisms of two different dimers of an IgG2 monoclonal antibody [J]. Biochemistry, 2018, 57(37): 5466-5479.
- [4] Bargh J D, Isidro-Llobet A, Parker J S, et al. Cleavable linkers in antibody-drug conjugates [J]. Chem Soc Rev, 2019, 48(16): 4361-4374.
- [5] Chau C H, Steeg P S, Figg W D. Antibody-drug conjugates for cancer [J]. Lancet,
- [6] Zhang D L, Fourie-O'Donohue A, Dragovich P S, et al. Catalytic cleavage of disulfide bonds in small molecules and linkers of antibody-drug conjugates [J]. Drug Metab Dispos, 2019, 47(10): 1156-1163.
- [7] Diamantis N, Banerji U. Antibody-drug conjugates: An emerging class of cancer treatment [J]. Br J Cancer, 2016, 114(4): 362-367.
- [8] Gerlach M, Stoschek T, Leonhardt H, et al. Tubulin tyrosine ligase-mediated modification of proteins [J]. Methods Mol Biol, 2019, 2012: 327-355.
- [9] Mecklenburg L. A brief introduction to antibody-drug conjugates for toxicologic pathologists [J]. Toxicol Pathol, 2018, 46(7): 746-752.
- [10] Staudacher A H, Brown M P. Antibody drug conjugates and bystander killing: Is antigen-dependent internalisation required? [J]. Br J Cancer, 2017, 117(12): 1736-1742.
- [11] Nguyen T D, Bordeau B M, Balthasar J P. Mechanisms of ADC toxicity and strategies to increase ADC tolerability [J]. Cancers, 2023, 15(3): 713.
- [12] Kravynov E, Kamath A V, Walles M, et al. Current approaches for absorption, distribution, metabolism, and excretion characterization of antibody-drug conjugates: An industry white paper [R/OL]. Drug Metab Dispos, 2016, 44(5): 617-623.
- [13] Lucas A T, Price L S L, Schorzman A N, et al. Factors affecting the pharmacology of antibody-drug conjugates [J]. Antibodies, 2018, 7(1): 10.
- [14] Rath C, Collins J, Struemper H, et al. Population pharmacokinetics of belantamab mafodotin, a BCMA-targeting agent in patients with relapsed/refractory

- multiple myeloma [J]. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol, 2021, 10(8): 851-863.
- [15] 王子源, 何晓波. 靶向EGFR的抗体药物偶联物治疗肿瘤的研究进展 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2023, 30(9): 842-847.
- Wang Z Y, He X B. Advances in antibody-drug couplings targeting EGFR for the treatment of tumors [J]. Chin J Cancer Biother, 2023, 30(9): 842-847.
- [16] Tang L, Huang H M, Tang Y T, et al. CD44v6 chimeric antigen receptor T cell specificity towards AML with FLT3 or DNMT3A mutations [J]. Clin Transl Med, 2022, 12(9): e1043.
- [17] Zoeller J J, Vagodny A, Taneja K, et al. Neutralization of BCL-2/X_L enhances the cytotoxicity of T-DM1 *in vivo* [J]. Mol Cancer Ther, 2019, 18(6): 1115-1126.
- [18] Krop I E, Modi, LoRusso P M, et al. Phase 1b/2a study of trastuzumab emtansine (T-DM1), paclitaxel, and pertuzumab in HER2-positive metastatic breast cancer [J]. Breast Cancer Res, 2016, 18(1): 34.
- [19] Blaich G, Baumann A, Kronenberg S, et al. Non-clinical Safety evaluation of biotherapeutics-challenges, opportunities and new insights [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2016, 80S: S1-S14.
- [20] 高丽丽, 王玉珠, 王燕, 等. 抗肿瘤抗体偶联药物临床药理学研究的若干问题与考虑 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2023, 28(1): 75-85.
- Gao L L, Wang Y Z, Wang Y, et al. General considerations for clinical pharmacology of antitumor antibody-conjugated drugs: Implications from FDA review cases [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2023, 28(1): 75-85.
- [21] 中国药学会医院药专业委员会, 中国抗癌协会肿瘤临床化疗专业委员会. 抗体偶联药物安全性跨学科管理中国专家共识 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(1): 1-10, 60.
- Hospital Pharmacy Committee of Chinese Pharmaceutical Association, Tumor Clinical Chemotherapy Committee of China Anti-cancer Association. Interdisciplinary management of the safety associated with antibody-drug conjugates: Chinese expert consensus [J]. Chin J Hosp Pharm, 2023, 43(1): 1-10, 60.
- [22] Hååg P, Olsson M, Forsberg J, et al. Caspase-2 is a mediator of apoptotic signaling in response to gemtuzumab ozogamicin in acute myeloid leukemia [J]. Cell Death Discov, 2022, 8(1): 284.
- [23] Yasuda H, Yasuda M, Komatsu N. Chemotherapy for non-Hodgkin lymphoma in the hemodialysis patient: A comprehensive review [J]. Cancer Sci, 2021, 112(7): 2607-2624.
- [24] Yang T, Xu L, Li B, et al. Antitumor activity of a folate receptor-targeted immunoglobulin G-doxorubicin conjugate [J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12: 2505-2515.
- [25] Liu F Q, Ke J J, Song Y Q. T-DM1-induced thrombocytopenia in breast cancer patients: New perspectives [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 129: 110407.
- [26] Yu D H, Tang L L, Dong H, et al. Oncogenic HER2 fusions in gastric cancer [J]. J Transl Med, 2015, 13: 116.
- [27] 张佳贝妮, 孙亮, 宋昌龙. T-DM1 治疗 HER-2 阳性乳腺癌的研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(24): 6171-6176.
- Zhang J B N, Sun L, Song C L. Research progress of T-DM1 in the treatment of HER-2 positive breast cancer [J]. Chin J Gerontol, 2022, 42(24): 6171-6176.
- [28] 抗体偶联药物非临床研究技术指导原则 [S]. 2023.
- Technical guidelines for non-clinical studies of antibody-coupling drugs [S]. 2023.
- [29] Clinical pharmacology considerations for antibody-drug conjugates guidance for industry [S]. 2022.
- [30] ICH S6 (R1) Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals - Scientific guideline [S]. 1997.
- [31] ICH S9 Non-clinical evaluation for anticancer pharmaceuticals - Scientific guideline [S]. 2018.
- [32] ICH M3 (R2) Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals - Scientific guideline [S]. 2013.
- [33] White J B, Fleming R, Masterson L, et al. Design and characterization of homogenous antibody-drug conjugates with a drug-to-antibody ratio of one prepared using an engineered antibody and a dual-maleimide pyrrolobenzodiazepine dimer [J]. MAbs, 2019, 11(3): 500-515.
- [34] Smith J L, Ries R E, Hylkema T, et al. Comprehensive transcriptome profiling of cryptic CBFA2T3-GLIS2 fusion-positive AML defines novel therapeutic options: A COG and TARGET pediatric AML study [J]. Clin Cancer Res, 2020, 26(3): 726-737.
- [35] Jr F J E. Considerations for the nonclinical safety evaluation of antibody-drug conjugates [J]. Antibodies (Basel), 2021, 10(2): 15.
- [36] 夏凡, 张晶晶, 杭永付, 等. 抗体药物偶联物相关眼毒性的研究进展 [J]. 药物流行病学杂志, 2023, 32(9): 985-990.
- Xia F, Zhang J J, Hang Y F, et al. Research progress of drug-induced ocular toxicity of antibody-drug conjugate [J]. Chin J Pharmacoevidemiol, 2023, 32(9): 985-990.
- [37] Shen Y, Wei X Y, Jin S J, et al. TCR-mimic antibody-drug

- conjugates targeting intracellular tumor-specific mutant antigen KRAS G12V mutation [J]. Asian J Pharm Sci, 2020, 15(6): 777-785.
- [38] Masters J C, Nickens D J, Xuan D W, et al. Clinical toxicity of antibody drug conjugates: A Meta-analysis of payloads [J]. Invest New Drugs, 2018, 36(1): 121-135.
- [39] Muger G M, Ward J M. Acute toxicity of maytansine in F344 rats [J]. Cancer Treat Rep, 1977, 61(7): 1333-1338.
- [40] Salvestrini V, Kim K, Caini S, et al. Safety profile of trastuzumab-emtansine (T-DM1) with concurrent radiation therapy: A systematic review and meta-analysis [J]. Radiother Oncol, 2023, 186: 109805.
- [41] European Medicines Agency (2008). Refusal assessment report for Mylotarg [R/OL]. Doc Ref. (EMA/CHMP/5130/2008) (2008-01-24) [2024-02-20] https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/mylotarg-epar-refusal-public-assessment-report_en.pdf.
- [42] European Medicines Agency (2017). Assessment report for Besponsa [R/OL]. Doc Ref. (EMA/289046/2017) (2017-07-13) [2024-02-20] <http://www.ema.europa.eu/en/medicines/download-medicine-data>.
- [43] Dokter W, Ubink R, van der Lee M, et al. Preclinical profile of the HER2-targeting ADC SYD983/SYD985: Introduction of a new duocarmycin-based linker-drug platform [J]. Mol Cancer Ther, 2014, 13(11): 2618-2629.
- [44] Pillow T H, Schutten M, Yu S F, et al. Modulating therapeutic activity and toxicity of pyrrolobenzodiazepine antibody-drug conjugates with self-immolative disulfide linkers [J]. Mol Cancer Ther, 2017, 16(5): 871-878.
- [45] Miller M L, Fishkin N E, Li W, et al. A new class of antibody-drug conjugates with potent DNA alkylating activity [J]. Mol Cancer Ther, 2016, 15(8): 1870-1878.
- [46] Vogel G, Braatz R, Mengs U. On the nephrotoxicity of alpha-amanitin and the antagonistic effects of silymarin in rats [J]. Agents Actions, 1979, 9(2): 221-226.
- [47] 陶泽萍, 许波华, 周璐, 等. 抗体偶联药物及其体内外代谢的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 42(12): 2574-2582.
- Tao Z P, Xu B H, Zhou L, et al. Research progress of antibody-drug conjugates and their metabolism *in vitro* and *in vivo* [J]. Drug Eval Res, 2022, 42(12): 2574-2582.

[责任编辑 刘东博]