

## 抗肿瘤双特异性抗体非临床安全性评价关注要点

赵长新<sup>1</sup>, 耿兴超<sup>2</sup>, 黄芝瑛<sup>1\*</sup>

1. 中山大学 药学院, 广东 广州 510006

2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100171

**摘要:** 随着生物医药技术的不断发展, 双特异性抗体 (BsAb) 成为新药研发的热点。相比于传统的小分子和单抗类药物, BsAb 的结构经过特殊设计, 能强有力地激活免疫系统, 但在消退肿瘤的同时也给安全性带来了特殊风险。首先从靶点选择和动物模型、免疫原性、非临床药动学等方面概述抗肿瘤 BsAb 非临床安全性研究的考虑要点。其次重点关注抗肿瘤 BsAb 非临床研究中常用的实验系统如啮齿类动物、非人灵长类动物和体外替代模型的优缺点, 并进行深入的讨论。最后, 结合已获得美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准上市的 11 种抗肿瘤 BsAb (如 Catumaxomab、Blinatumomab、Amivantamab 等) 非临床安全性评价实例, 重点关注其实验系统和安全性评价指标, 探索 BsAb 的非临床安全性评价策略, 以期为我国抗肿瘤 BsAb 的研发提供参考。

**关键词:** 双特异性抗体; 肿瘤治疗; 非临床研究; 实验系统; 安全性评价

**中图分类号:** R979.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1674-6376(2025)05-1362-07

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.05.028

## Key considerations for nonclinical safety study on bispecific antibodies

ZHAO Changxin<sup>1</sup>, GENG Xingchao<sup>2</sup>, HUANG Zhiying<sup>1</sup>

1. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China

2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100171, China

**Abstract:** In recent years, bispecific antibodies (BsAb) have been the spotlights of new therapeutics development, with the dramatic expansion of the biotechnology. Comparing to the traditional small molecules and monoclonal antibodies, BsAb are structurally engineered to potently activate the immune system, offering robust tumor regression while exiting unique safety risks. This paper initially outlines key considerations for nonclinical safety studies of anti-tumor BsAb, encompassing target selection, animal models, immunogenicity, and nonclinical pharmacokinetics. Then given the pivotal role of experimental systems in nonclinical research, we discussed the advantages and disadvantages of commonly utilized experimental systems in anti-tumor BsAb nonclinical studies, such as rodents, non-human primates, and *in vitro* alternative models. Finally, combining the examples of non-clinical safety evaluation of 11 anti-tumor BsAb such as Catumaxomab, Blinatumomab and Amivantamab which have been approved by the US FDA, and focusing on their experimental systems and safety evaluation parameters, explored the strategy of non-clinical safety evaluation of BsAb with the aim of providing the research and development of anti-tumor BsAb in China.

**Key words:** bispecific antibody; oncology therapy; nonclinical study; nonclinical model systems; safety evaluation

随着生物医药技术和肿瘤免疫疗法的不断发展, 抗体药物在肿瘤治疗领域发挥越来越重要的作用。双特异性抗体 (BsAb) 是指含有 2 种特异性抗原结合位点的抗体, 能结合 2 种不同的细胞表面抗原或同一抗原的 2 种表位<sup>[1-2]</sup>。大部分已上市的

BsAb 适应证为肿瘤<sup>[3]</sup>, BsAb 结构复杂, 作用特点多样, 不良反应机制尚未完全明确。根据新药注册相关法规及技术要求, 新药申请临床研究之前需进行非临床安全性研究, 为临床研究的起始剂量选择与安全监测提供支持。

收稿日期: 2024-10-05

作者简介: 赵长新, 女, 硕士研究生, 研究方向为药物安全性评价。E-mail: zhaochx33@mail2.sysu.edu.cn

\*通信作者: 黄芝瑛, 男, 教授, 研究方向为药物安全性评价。E-mail: hzhiying@mail.sysu.edu.cn

## 1 抗肿瘤 BsAb 的非临床研究考虑要点

### 1.1 靶点选择与动物模型

BsAb 的非临床安全性评价动物种属选择通常基于药效实验,需要选择与 2 个靶点都具有高亲和力的相关动物种属<sup>[4]</sup>,相较于单特异性抗体考虑因素更为复杂。缺乏相关动物种属时,需要制备替代抗体或使用人源转基因动物进行安全性评价,应充分验证可行性,再决定是否采用替代抗体和转基因动物的结果。

### 1.2 免疫原性

为了提高 BsAb 的药效和半衰期,通常会在其结构中引入非天然肽段<sup>[5]</sup>。小分子 BsAb 容易发生聚集,增加产生免疫原性的风险<sup>[6]</sup>,降低药物的安全性,并可能导致严重的药物相关毒性反应或过敏反应<sup>[7]</sup>。因此,免疫原性评价是 BsAb 非临床安全性研究的重要组成部分。

### 1.3 非临床药动学

BsAb 的剂量线性特征与化学小分子药物不同,可能与靶点介导的药物处置有关,剂量线性的研究有助于确定药物的安全性和有效性<sup>[8]</sup>。BsAb 通常通过注射途径给药,考虑到患者依从性等原因,非静脉注射给药途径的生物利用度评估也是安全性评价的一部分<sup>[9]</sup>。BsAb 的分布和消除特性,以及是否进行了相关的代谢和排泄研究,对评估其安全性至关重要<sup>[10]</sup>。对于 CD3 靶点的 BsAb,在非临床药动学研究中建议逐步增加剂量,以降低由于快速活化 T 细胞可能引起的不良反应<sup>[11]</sup>。

### 1.4 细胞因子释放综合征 (CRS)

CRS 是 BsAb 最常见的不良反应,特别是针对 CD3 靶点的 BsAb<sup>[8,12]</sup>,轻症包括发烧、头痛等,重症包括低血压、毛细血管渗漏、循环衰竭等<sup>[13]</sup>,限制了 BsAb 的临床应用<sup>[14]</sup>。在非临床安全性评价中通常通过检测白细胞介素-6 (IL-6)、IL-10、IL-2、 $\gamma$  干扰素 (INF- $\gamma$ ) 等细胞因子含量评价细胞因子释放综合征<sup>[15]</sup>。

### 1.5 首次临床剂量

基于体外实验数据的剂量预测方法对于确定安全的首次人体剂量至关重要。欧洲药品管理局 (EMA) 发布的指导原则建议对于高风险药物考虑基于最低预期生物效应剂量进行起始剂量的估算。通常通过细胞毒性实验、T 细胞活化和增殖实验以及细胞因子释放实验等进行评价,其中对应于最大效应 20% (EC<sub>20</sub>) 的浓度通常被认为代表最低预期

生物效应<sup>[16]</sup>。

### 1.6 其他

在 BsAb 的非临床研究中,需要评估性别是否对药物的安全性和药动学特征产生影响<sup>[17]</sup>。BsAb 可能会影响其他药物的代谢,特别是那些通过细胞色素 P450 酶 (CYP450) 代谢的药物,因此在非临床阶段需要评估潜在的药物相互作用<sup>[18]</sup>。

在上述关注要点中,选择合适的实验系统对于能否准确预测临床试验出现的不良反应最为重要。

## 2 抗肿瘤 BsAb 的非临床安全性评价实验系统

BsAb 药物非临床安全性评价的实验系统主要包括工程化细胞系、患者来源的细胞、人源化异种移植模型 (PDX) 模型、啮齿类动物、食蟹猴等<sup>[19]</sup>。

### 2.1 啮齿类动物

小鼠价格低、繁殖周期短、基因易修饰的特点使其成为抗肿瘤 BsAb 非临床安全性评价常用的动物<sup>[20]</sup>。应用最多的是共移植有功能性人类免疫系统和患者来源的肿瘤组织的 NOD/SCID 小鼠<sup>[21]</sup>,常用的功能性人类免疫系统移植模型是人外周血单核细胞 (PBMCs)。该实验系统是研究肿瘤和免疫系统相互作用的重要工具,但是需花费至少 3 个月的时间建模,且肿瘤移植成功率较低<sup>[22]</sup>。

由于小鼠和人细胞因子的交叉反应性的限制,人源免疫系统 NOD/SCID 小鼠不能建立先天免疫,不能完全重现人类免疫系统<sup>[23]</sup>。Martinez 等<sup>[24]</sup>和 Janke<sup>[25]</sup>等对现有重度免疫缺陷小鼠进行改造产生了 MISTRG 小鼠和 NSG-SGM3 小鼠,以促进人先天免疫系统的重建。但这些小鼠模型有肥大细胞增生等问题,尚且没有进入商业化生产中<sup>[26]</sup>。

### 2.2 非人灵长类动物

非人灵长类动物如食蟹猴,与人类免疫细胞群、肿瘤免疫靶点类似,与抗体药物的组织交叉反应率高,可以很好地预测临床出现的毒性反应<sup>[27-28]</sup>,常用于抗体药物的药动学实验和重复给药毒性实验<sup>[29]</sup>。通常采用健康食蟹猴进行安全性评价时,由于其免疫系统处于相对静息状态,靶点表达水平低,无法完全预测肿瘤患者出现的不良反应<sup>[30]</sup>。为此,Zheng 等<sup>[31]</sup>通过单碱基编辑的方式获得了免疫系统严重受损的食蟹猴,并成功移植了乳腺癌细胞。此模型弥合了动物和人类之间的差距,可以显著提高非临床研究的有效性。

### 2.3 体外替代实验系统

传统人源化细胞系的二维模型无法模拟免疫

治疗的生物学机制的复杂性，动物模型无法概括靶抗原在人体的生理相关水平和模式。Kerns<sup>[32]</sup>和 Kroll 等<sup>[33]</sup>报道了器官芯片模型，将微工程与培养的原代人类细胞相结合重建了复杂的多因素微环境和器官的功能，评价了多种 BsAb 的安全性，克服了上述限制。Teigeira 等<sup>[34]</sup>使用了三维培养的肿瘤细胞实验系统，可以测试减轻细胞因子释放

综合征的药物产生的影响，提供了有临床意义的数据。

### 3 已上市抗肿瘤 BsAb 非临床安全性评价案例解读

从 2007 年至今，已有 11 个抗肿瘤 BsAb 获得美国食品药品监督管理局（FDA）批准上市，相应的非临床安全性研究应用的实验系统及主要的评价指标见表 1。

表 1 已上市的抗肿瘤 BsAb 的非临床安全性评价的实验系统和评价指标

| Table 1 Experimental system and evaluation indicators for non clinical safety evaluation of marketed anti-tumor BsAb |                   |             |                                     |                                                |                                                                                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------|-------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 名称                                                                                                                   | 公司                | 靶点          | 适应证                                 | 实验系统                                           | 评价指标                                                                                          |
| catumaxomab <sup>[35-36]</sup>                                                                                       | Trion Pharma      | CD3/EpCAM   | 恶性腹水                                | C57BL/6 小鼠                                     | 抗 A20 Id 反应、淋巴细胞计数                                                                            |
| blinatumomab <sup>[37-39]</sup>                                                                                      | Amgen             | CD3/CD19    | 复发/难治性前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病              | 健康黑猩猩、NOD/SCID 小鼠                              | 血压、T 细胞激活水平、B 细胞数量                                                                            |
| amivantamab <sup>[40-42]</sup>                                                                                       | Johnson & Johnson | EGFR/MET    | 携带 EGFR Exon 20 插入突变的局部晚期或转移性非小细胞肺癌 | 雌性 BALB/c 裸鼠、NOD/SCID 小鼠、CB17/SCID 小鼠肿瘤类器官、食蟹猴 | 与原代人真皮成纤维细胞结合的半数有效浓度（EC <sub>50</sub> ）                                                       |
| tebentafusp <sup>[43]</sup>                                                                                          | Immunocore        | CD3/gp100   | HLA-A*02:01 阳性的不可切除或转移性葡萄膜黑色素瘤      | 葡萄膜黑色素瘤细胞和 健康供体的 PBMC                          | TNF-α、IFN-γ、IL-6、IL-2 含量,对不同 HLA-A*02:01 表达量的细胞杀伤能力                                           |
| mosunetuzumab <sup>[44-45]</sup>                                                                                     | Roche             | CD3/CD20    | 复发/难治性滤泡性淋巴瘤                        | 双人源 CD20-CD3 小鼠、NOD/SCID 小鼠、食蟹猴                | IL-2、IL-6、INF-γ、TNF-α 含量,对不同 CD20 表达水平的细胞的杀伤能力和 EC <sub>50</sub> , 浓度随时间变化的曲线,脾脏和淋巴结淋巴细胞分型和计数 |
| candonilimab <sup>[46-47]</sup>                                                                                      | Akeso Biopharma   | PD-1/CTLA-4 | 复发/转移性宫颈癌                           | 人源化 PD-1 <sup>+</sup> -CTLA4 的 C57BL/6 小鼠      | IL-6、IL-8 含量,生物分布                                                                             |
| teclistamab <sup>[48]</sup>                                                                                          | Johnson & Johnson | CD3/BCMA    | 复发/难治性多发性骨髓瘤                        | 雌性 NOD/SCID 小鼠、Vk*MYC 小鼠                       | IFN-γ、IL-1b、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-13、肿瘤坏死因子-α（TNF-α）含量,体质量变化,半衰期,临床症状         |
| glofitamab <sup>[49]</sup>                                                                                           | Roche             | CD3/CD20    | B 细胞非霍奇金淋巴瘤                         | 雌性 NSG 小鼠、雌性人源 FcRn Tg32 小鼠、食蟹猴                | TNF-α、IL-5、IL-6、IL-2、IL-8、IFN-γ、单核细胞趋化蛋白-1（MCP-1）、MCP-1β、IL-10 含量,生物分布,黏附受体表达,清除率             |

表 1 (续)

| 名称                          | 公司                | 靶点         | 适应证                | 实验系统                   | 评价指标                                                                                                                                           |
|-----------------------------|-------------------|------------|--------------------|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| elranatamab <sup>[50]</sup> | Pfizer            | CD3/BCMA   | 复发/难治性多发性骨髓瘤       | 雌性 NSG 小鼠、食蟹猴          | IL-6、IL-10、IL-2、INF- $\gamma$ 含量，半衰期，免疫细胞计数分型                                                                                                  |
| talquetamab <sup>[51]</sup> | Johnson & Johnson | CD3/GPRC5D | 复发/难治性多发性骨髓瘤       | NOD/SCID 小鼠            | IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-13、TNF- $\alpha$ 含量，裂解正常浆细胞的能力，临床症状，摄食量，体质量，体温，临床病理学，安全药理学，大体病理学，器官质量和组织病理学 |
| epcoritamab <sup>[52]</sup> | Abbvie            | CD3/CD20   | 复发/难治性弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 | NOD/SCID 小鼠、BRG 小鼠、食蟹猴 | IL-2、IL-6、INF- $\gamma$ 含量，B 细胞数量，血浆抗体浓度                                                                                                       |

从表 1 可见：在非临床实验系统方面，已上市的 BsAb 除 catumaxomab、tebentafusp 和 candonilimab 外均利用了重度免疫缺陷小鼠建立肿瘤模型。安全性研究中用到的重度免疫缺陷小鼠包括 BALB/c 裸鼠、NOD/SCID 小鼠、NSG 小鼠、BRG 小鼠等。考虑到雌性小鼠建立皮下肿瘤成功率高、免疫系统反应强<sup>[53]</sup>，部分产品仅使用了雌性小鼠评估安全性，未研究性别与安全性是否相关。

此外，与食蟹猴有组织交叉反应的 BsAb 非临床安全性研究也开展了食蟹猴单次给药试验、重复给药毒性试验和药动学试验。通过观察临床症状，测定摄食量、体质量、体温，进行临床病理学、组织病理学检查，收集血液学样本，检测细胞因子水平、半衰期、免疫细胞分型，并分析生物分布来评价其安全性。

已上市的 11 个抗肿瘤 BsAb 中 9 个都靶向 CD3，这 9 个产品的非临床安全性研究均检测了 IFN- $\gamma$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$  等细胞因子含量以预测临床中可能出现的细胞因子释放综合征。由于靶抗原不仅在肿瘤细胞上表达，也在正常细胞上低表达，安全性研究中也需评估靶向正常组织的毒性。常用的评价方法是在体外检测 BsAb 与不同靶蛋白表达量细胞的结合能力或 EC<sub>50</sub>。

catumaxomab 不与包括非人灵长类在内的标准动物物种的 EpCAM 和 CD3 结合，所以非临床研究采用鼠源替代分子 BiLu 进行体内实验<sup>[35]</sup>，毒理学参考价值低<sup>[54-55]</sup>。blinatumomab 仅在黑猩猩中有组织交叉反应<sup>[56]</sup>，但考虑到动物伦理问题，研究迅速

过渡到使用替代/同源模式的小鼠实验系统。tebentafusp 是全球第一款抗肿瘤免疫激动单克隆 T 细胞受体 (ImmTAC)<sup>[57]</sup>。动物实验系统被认为不适合 ImmTAC 测试，在动物身上观察到的免疫反应可能无法预测人类的反应。替代分子的 T 细胞受体在特异性和与人类 T 细胞受体的结合特征方面不同<sup>[43]</sup>。ICH S6 和 S9 规定，当没有相关种属时，考虑采用体外实验系统。candonilimab 则使用了双人源化 PD-1+CTLA4 的 C57BL/6 小鼠实验系统进行安全性评估。teclistamab 的非临床安全性研究中还使用了 Vk\*MYC 小鼠模拟复发/难治性多发性骨髓瘤<sup>[58]</sup>，该小鼠模型的生物学和临床特征与人类疾病高度相关，更好地预测临床安全性。为了研究 glofitamab 的 Fc 段介导的毒性作用，Frances 等<sup>[59]</sup>用雌性人源 FcRn Tg32 小鼠评估其安全性。

4 结语与展望

综上所述，BsAb 的结构类型多，作用机制广泛。随着各种新技术的引入，BsAb 的风险认知也在不断发展，对其非临床安全性研究提出了新的要求。抗肿瘤 BsAb 最常见的不良反应是 CRS，指超过 150 种炎症介质参与的级联放大的系统性免疫应答，以发热和多器官功能性障碍为特征的急性全身性炎症综合征。目前已有的解决方案包括糖皮质激素或抗 IL-6 抗体提前给药、降低 CD3 亲和力、皮下给药、使用剂量递增方案等<sup>[60]</sup>。这提示在开展非临床安全性研究时，应关注实验系统尽可能地模仿人类免疫系统，结合免疫反应的剂量相关性、抗药抗体、细胞因子释放量、免疫毒性指标的变化以及组织病理学结果，早期识别和评估 BsAb 的潜在免疫

毒性风险,综合判断药物的非临床安全性,为临床试验的设计和药物的最终批准上市提供重要的安全数据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Brinkmann U, Kontermann R E. Bispecific antibodies [J]. Science, 2021, 372(6545): 916-917.
- [2] Klein C, Brinkmann U, Reichert J M, et al. The present and future of bispecific antibodies for cancer therapy [J]. Nat Rev Drug Discov, 2024, 23(4): 301-319.
- [3] Tapia-Galisteo A, Álvarez-Vallina L, Sanz L. Bi- and trispecific immune cell engagers for immunotherapy of hematological malignancies [J]. J Hematol Oncol, 2023, 16(1): 83.
- [4] Nie S W, Wang Z Z, Moscoso-Castro M, et al. Biology drives the discovery of bispecific antibodies as innovative therapeutics [J]. Antib Ther, 2020, 3(1): 18-62.
- [5] 闫莉萍, 张旻, 王庆利, 等. 双特异性抗体药物非临床研究的考虑要点 [J]. 中国新药杂志, 2017, 26(17): 2008-2013.
- Yan L P, Zhang M, Wang Q L, et al. Considerations on the nonclinical studies of bispecific antibody constructs [J]. Chin J New Drugs, 2017, 26(17): 2008-2013.
- [6] Davda J, Declerck P, Hu-Lieskovan S, et al. Immunogenicity of immunomodulatory, antibody-based, oncology therapeutics [J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 105.
- [7] Shim H. Bispecific antibodies and antibody-drug conjugates for cancer therapy: Technological considerations [J]. Biomolecules, 2020, 10(3): 360.
- [8] Haber L, Olson K, Kelly M P, et al. Generation of T-cell-redirecting bispecific antibodies with differentiated profiles of cytokine release and biodistribution by CD3 affinity tuning [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 14397.
- [9] Kwant K, Rocha S, Stephenson K, et al. 867 TriTAC-XR is an extended-release T cell engager platform designed to minimize cytokine release syndrome by reducing Cmax in systemic circulation [A] // Regular and Young Investigator Award Abstracts [C]. London: BMJ Publishing Group Ltd, 2021: A908-A908.
- [10] Stadler C R, Ellinghaus U, Fischer L, et al. Preclinical efficacy and pharmacokinetics of an RNA-encoded T cell-engaging bispecific antibody targeting human claudin 6 [J]. Sci Transl Med, 2024, 16(748): eadl2720.
- [11] Minson A, Dickinson M. Glofitamab CD20-TCB bispecific antibody [J]. Leuk Lymphoma, 2021, 62(13): 3098-3108.
- [12] Trinklein N D, Pham D, Schellenberger U, et al. Efficient tumor killing and minimal cytokine release with novel T-cell agonist bispecific antibodies [J]. MAbs, 2019, 11(4): 639-652.
- [13] Middelburg J, Kemper K, Engelberts P, et al. Overcoming challenges for CD3-bispecific antibody therapy in solid tumors [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(2): 287.
- [14] Crombie J L, Graff T, Falchi L, et al. Consensus recommendations on the management of toxicity associated with CD3 × CD20 bispecific antibody therapy [J]. Blood, 2024, 143(16): 1565-1575.
- [15] Pan D, Richter J. Teclistamab for multiple myeloma: Clinical insights and practical considerations for a first-in-class bispecific antibody [J]. Cancer Manag Res, 2023, 15: 741-751.
- [16] Ball K, Dovedi S J, Vajjah P, et al. Strategies for clinical dose optimization of T cell-engaging therapies in oncology [J]. MAbs, 2023, 15(1): 2181016.
- [17] Gedeon P C, Streicker M A, Schaller T H, et al. GLP toxicology study of a fully-human T cell redirecting CD3: EGFRvIII binding immunotherapeutic bispecific antibody [J]. PLoS One, 2020, 15(7): e0236374.
- [18] Djebli N, Parrott N, Jaminion F, et al. Evaluation of the potential impact on pharmacokinetics of various cytochrome P450 substrates of increasing IL-6 levels following administration of the T-cell bispecific engager glofitamab [J]. CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol, 2024, 13(3): 396-409.
- [19] Wang Y, Wang R Y, Hu H, et al. Preclinical safety assessment of an oncolytic herpes simplex virus type 2 expressed PD-L1/CD3 bispecific antibody [J]. Int Immunopharmacol, 2023, 124(Pt B): 110975.
- [20] Chulpanova D S, Kitaeva K V, Rutland C S, et al. Mouse tumor models for advanced cancer immunotherapy [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(11): E4118.
- [21] Liu Y H, Wu W T, Cai C J, et al. Patient-derived xenograft models in cancer therapy: Technologies and applications [J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 160.
- [22] Horowitz N B, Mohammad I, Moreno-Nieves U Y, et al. Humanized mouse models for the advancement of innate lymphoid cell-based cancer immunotherapies [J]. Front Immunol, 2021, 12: 648580.
- [23] Nguyen R, Patel A G, Griffiths L M, et al. Next-generation humanized patient-derived xenograft mouse model for pre-clinical antibody studies in neuroblastoma [J]. Cancer Immunol Immunother, 2021, 70(3): 721-732.
- [24] Martinez-Sanz P, Laurent A R G, Slot E, et al. Humanized

- MISTRG as a preclinical *in vivo* model to study human neutrophil-mediated immune processes [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1105103.
- [25] Janke L J, Imai D M, Tillman H, et al. Development of mast cell and eosinophil hyperplasia and HLH/MAS-like disease in NSG-SGM3 mice receiving human CD34+ hematopoietic stem cells or patient-derived leukemia xenografts [J]. *Vet Pathol*, 2021, 58(1): 181-204.
- [26] Hung S, Kasperkowitz A, Kurz F, et al. Next-generation humanized NSG-SGM3 mice are highly susceptible to *Staphylococcus aureus* infection [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1127709.
- [27] Chan S, Belmar N, Ho S, et al. An anti-PD-1-GITR-L bispecific agonist induces GITR clustering-mediated T cell activation for cancer immunotherapy [J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(3): 337-354.
- [28] Hutchins B, Starling G C, McCoy M A, et al. Biophysical and immunological characterization and *in vivo* pharmacokinetics and toxicology in nonhuman Primates of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab [J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(6): 1298-1307.
- [29] Giffin M J, Cooke K, Lobenhofer E K, et al. AMG 757, a half-life extended, DLL3-targeted bispecific T-cell engager, shows high potency and sensitivity in preclinical models of small-cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(5): 1526-1537.
- [30] Yagyu S, Mochizuki H, Yamashima K, et al. A lymphodepleted non-human primate model for the assessment of acute on-target and off-tumor toxicity of human chimeric antigen receptor-T cells [J]. *Clin Transl Immunology*, 2021, 10(6): e1291.
- [31] Zheng X, Huang C H, Lin Y Q, et al. Generation of inactivated IL2RG and RAG1 monkeys with severe combined immunodeficiency using base editing [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 327.
- [32] Kerns J S, Belgur C, Kanellias M, et al. Safety profiling of tumor-targeted T cell-bispecific antibodies with alveolus lung- and colon-on-chip [J]. *Bio Protoc*, 2023, 13(1): e4579.
- [33] Kroll K T, Mata M M, Homan K A, et al. Immune-infiltrated kidney organoid-on-chip model for assessing T cell bispecific antibodies [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, 120(35): e2305322120.
- [34] Teijeira A, Migueliz I, Garasa S, et al. Three-dimensional colon cancer organoids model the response to CEA-CD3 T-cell engagers [J]. *Theranostics*, 2022, 12(3): 1373-1387.
- [35] Bokemeyer C. Catumaxomab: Trifunctional anti-EpCAM antibody used to treat malignant ascites [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2010, 10(8): 1259-1269.
- [36] Ruf P, Lindhofer H. Induction of a long-lasting antitumor immunity by a trifunctional bispecific antibody [J]. *Blood*, 2001, 98(8): 2526-2534.
- [37] Goebeler M E, Bargou R. Blinatumomab: A CD19/CD3 bispecific T cell engager (BiTE) with unique anti-tumor efficacy [J]. *Leuk Lymphoma*, 2016, 57(5): 1021-1032.
- [38] Nagorsen D, Baeuerle P A. Immunomodulatory therapy of cancer with T cell-engaging BiTE antibody blinatumomab [J]. *Exp Cell Res*, 2011, 317(9): 1255-1260.
- [39] Dreier T, Baeuerle P A, Fichtner I, et al. T cell costimulus-independent and very efficacious inhibition of tumor growth in mice bearing subcutaneous or leukemic human B cell lymphoma xenografts by a CD19-/CD3- bispecific single-chain antibody construct [J]. *J Immunol*, 2003, 170(8): 4397-4402.
- [40] Moores S L, Chiu M L, Bushey B S, et al. A novel bispecific antibody targeting EGFR and cMet is effective against EGFR inhibitor-resistant lung tumors [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(13): 3942-3953.
- [41] Yun J, Lee S H, Kim S Y, et al. Antitumor activity of amivantamab (JNJ-61186372), an EGFR-MET bispecific antibody, in diverse models of EGFR exon 20 insertion-driven NSCLC [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(8): 1194-1209.
- [42] Vijayaraghavan S, Lipfert L, Chevalier K, et al. Amivantamab (JNJ-61186372), an fc enhanced EGFR/cMet bispecific antibody, induces receptor downmodulation and antitumor activity by monocyte/macrophage trogocytosis [J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(10): 2044-2056.
- [43] Harper J, Adams K J, Bossi G, et al. An approved *in vitro* approach to preclinical safety and efficacy evaluation of engineered T cell receptor anti-CD3 bispecific (ImmTAC) molecules [J]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0205491.
- [44] Sun L L, Ellerman D, Mathieu M, et al. Anti-CD20/CD3 T cell-dependent bispecific antibody for the treatment of B cell malignancies [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(287): 287ra70.
- [45] Matarasso S, Assouline S. Mosunetuzumab and the emerging role of T-cell-engaging therapy in follicular lymphoma [J]. *Future Oncol*, 2023, 19(31): 2083-2101.
- [46] Pang X H, Huang Z L, Zhong T T, et al. Cadonilimab, a tetravalent PD-1/CTLA-4 bispecific antibody with trans-binding and enhanced target binding avidity [J]. *MAbs*, 2023, 15(1): 2180794.
- [47] Hou X G, Liu S, Zeng Z Q, et al. Preclinical imaging evaluation of a bispecific antibody targeting hPD1/CTLA4 using humanized mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024,

- 175: 116669.
- [48] Pillarisetti K, Powers G, Luistro L, et al. Teclistamab is an active T cell-redirecting bispecific antibody against B-cell maturation antigen for multiple myeloma [J]. *Blood Adv*, 2020, 4(18): 4538-4549.
- [49] Bacac M, Colombetti S, Herter S, et al. CD20-TCB with obinutuzumab pretreatment as next-generation treatment of hematologic malignancies [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(19): 4785-4797.
- [50] Panowski S H, Kuo T C, Zhang Y, et al. Preclinical efficacy and safety comparison of CD3 bispecific and ADC modalities targeting BCMA for the treatment of multiple myeloma [J]. *Mol Cancer Ther*, 2019, 18(11): 2008-2020.
- [51] Pillarisetti K, Edavettal S, Mendonça M, et al. A T-cell-redirecting bispecific G-protein-coupled receptor class 5 member D x CD3 antibody to treat multiple myeloma [J]. *Blood*, 2020, 135(15): 1232-1243.
- [52] Engelberts P J, Hiemstra I H, Jong B D, et al. DuoBody-CD3xCD20 induces potent T-cell-mediated killing of malignant B cells in preclinical models and provides opportunities for subcutaneous dosing [J]. *EBioMedicine*, 2020, 52: 102625.
- [53] Dunn S E, Perry W A, Klein S L. Mechanisms and consequences of sex differences in immune responses [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2024, 20(1): 37-55.
- [54] Frampton J E. Catumaxomab: In malignant ascites [J]. *Drugs*, 2012, 72(10): 1399-1410.
- [55] Dettmar K, Seitz-Merwald I, Lindemann C, et al. Transient lymphocyte decrease due to adhesion and migration following catumaxomab (anti-EpCAM x anti-CD3) treatment *in vivo* [J]. *Clin Transl Oncol*, 2012, 14(5): 376-381.
- [56] Schlereth B, Quadt C, Dreier T, et al. T-cell activation and B-cell depletion in chimpanzees treated with a bispecific anti-CD19/anti-CD3 single-chain antibody construct [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2006, 55(5): 503-514.
- [57] Dhillon S. Tebentafusp: First approval [J]. *Drugs*, 2022, 82(6): 703-710.
- [58] Meermeier E W, Welsh S J, Sharik M E, et al. Tumor burden limits bispecific antibody efficacy through T cell exhaustion averted by concurrent cytotoxic therapy [J]. *Blood Cancer Discov*, 2021, 2(4): 354-369.
- [59] Frances N, Bacac M, Bray-French K, et al. Novel *in vivo* and *in vitro* pharmacokinetic/pharmacodynamic-based human starting dose selection for glofitamab [J]. *J Pharm Sci*, 2022, 111(4): 1208-1218.
- [60] Haber L, Olson K, Kelly M P, et al. Generation of T-cell-redirecting bispecific antibodies with differentiated profiles of cytokine release and biodistribution by CD3 affinity tuning [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 14397.

[责任编辑 刘东博]