



重组Fc融合蛋白类药物研究进展

孙钰芳, 宗辉, 郭诗雨, 陈思敏, 安毛毛, 慎慧

引用本文:

孙钰芳,宗辉,郭诗雨,陈思敏,安毛毛,慎慧. 重组Fc融合蛋白类药物研究进展[J]. 中国临床医学, 2022, 29(1): 97-104.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20210113>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

肿瘤免疫检查点抑制剂联合治疗策略及临床应用

Combination therapy strategy of tumor immune checkpoint inhibitor and its clinical application

中国临床医学. 2020, 27(6): 909-916 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20201041>

不同体质指数早发2型糖尿病的临床特征分析

Clinical characteristics of early-onset type 2 diabetes mellitus patients with different body mass index level

中国临床医学. 2019, 26(1): 14-18 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20181090>

免疫检查点抑制剂相关心脏不良反应的诊治进展及管理策略

Management of cardiac adverse events related to immune checkpoint inhibitors

中国临床医学. 2020, 27(6): 917-921 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20200561>

NLRP3炎症小体在白塞综合征中的研究进展

Research progress of NLRP3 inflammasomes in Behet' s syndrome

中国临床医学. 2021, 28(6): 1056-1060 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20202163>

PCSK9抑制剂在冠状动脉粥样硬化性心脏病治疗中的研究进展

Research progress of PCSK9 inhibitors in coronary atherosclerotic heart disease

中国临床医学. 2021, 28(3): 523-529 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210202>

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20210113

· 综 述 ·

重组 Fc 融合蛋白类药物研究进展



孙钰芳¹, 宗 辉¹, 郭诗雨¹, 陈思敏¹, 安毛毛^{1*}, 慎 慧^{2*}

1. 同济大学附属第十人民医院药学部, 上海 200072
2. 同济大学附属东方医院南院检验科, 上海 200120

引用本文 孙钰芳, 宗 辉, 郭诗雨, 等. 重组 Fc 融合蛋白类药物研究进展 [J]. 中国临床医学, 2022,29(1):97-104. SUN Y F, ZONG H, GUO S Y, et al. Research progress of recombinant Fc fusion protein drugs[J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2022, 29(1):97-104.

[摘要] 自 1989 年抑制 HIV-1 感染的 CD4-Fc 融合蛋白被首次报道以来, Fc 融合蛋白的治疗性应用在医药学领域引起广泛关注。Fc 融合蛋白由功能分子和免疫球蛋白的 Fc 结构域组成, 不仅具有蛋白的生物学功能且兼具抗体的特性, 如在体内具有长半衰期、诱导抗体依赖细胞介导的细胞毒性效应 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) 等。通过对 Fc 结构域进行糖基化、脱酰胺化、氨基酸定点突变改造, 还可增强或减弱其介导的 ADCC 等效应, 用于临床疾病的诊断与治疗。另外, Fc 融合蛋白在多个非临床领域也有广泛应用。本文对重组 Fc 融合蛋白的结构特征和药理学特性、临床药物开发及其在非临床领域中的应用与发展进行综述。

[关键词] Fc 融合蛋白; 临床应用; 分子设计; 免疫球蛋白

[中图分类号] R 91 **[文献标志码]** A

Research progress of recombinant Fc fusion protein drugs

SUN Yu-fang¹, ZONG Hui¹, GUO Shi-yu¹, CHEN Si-min¹, AN Mao-mao^{1*}, SHEN Hui^{2*}

1. Department of Pharmacy, Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China
2. Department of Laboratory Medicine, Southern Branch, Dongfang Hospital, Tongji University, Shanghai 200120, China

[Abstract] Since the first report of CD4-Fc fusion protein in 1989, Fc fusion protein has received increased attention in the medical field with its therapeutic potential. Fc fusion protein consists of the immunoglobulin Fc domain and fused partners, which has both biological functions of fused partners and characteristic of antibody, showing significantly improved stability and specificity *in vivo*. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) and complement-dependent cytotoxicity (CDC) mediated by Fc fusion protein can be increased or decreased by glycosylation, deamidation, and site-directed amino acid modification of the Fc domain, which has been widely used in clinical diagnosis and treatment, and also in nonclinical applications. This review summarize the structural and pharmacological properties of Fc fusion protein and discuss its future development directions in clinical and nonclinical fields.

[Key Words] Fc fusion protein; clinical applications; molecular design; immunoglobulins

近年来, 治疗性单克隆抗体是最畅销的生物制剂。然而, 随着基因工程、蛋白质工程等技术的成熟, 新型抗体衍生物正在取代传统的单克隆抗体, 用于解决复杂的病理生理学问题并改善现有疗法^[1]。IgG 形式的抗体分子之所以在体内具有长半衰期, 主要归因于其 Fc 片段与新生儿 Fc 受体

(neonatal Fc receptor, FcRn) 结合介导的再循环机制。通过重组表达技术将 IgG-Fc 片段连接到另一个具有生物学活性的分子上, 所开发的药物称为重组 Fc 融合蛋白类药物。IgG-Fc 片段融合蛋白技术是目前延长蛋白和多肽类药物半衰期的最有效手段之一。Fc 融合蛋白分子由免疫球蛋白的 Fc 结

[收稿日期] 2021-01-19 **[接受日期]** 2021-03-02

[基金项目] 国家自然科学基金(81671989), 上海市科技创新计划项目(18411951300)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81671989) and the Program of Shanghai Science and Technology Innovation Plan (18411951300).

[作者简介] 孙钰芳, 硕士生. E-mail: 15137415798@163.com

*通信作者 (Corresponding authors). Tel: 021-66300588, E-mail: anmaomao@tongji.edu.cn; Tel: 021-38804518, E-mail: 110663@tongji.edu.cn

构域（铰链区-CH2-CH3）与功能分子连接构成。细胞表面受体、细胞因子、酶、病原体表面肽类抗原等具有生物学意义的分子都可以与Fc段进行融合表达^[2]，从而延长其体内半衰期，达到药理学作用^[3]。此外，Fc融合蛋白还具有抗体的其他生物学特性，如引发抗体依赖细胞介导的细胞毒性（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC）效应。

1989年，Capon等^[4]将CD4分子细胞外结构域与人IgG1-Fc融合，构建了第1个治疗性Fc融合蛋白，该蛋白与人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus, HIV）的包膜（Env）糖蛋白特异性结合，抑制HIV感染CD4⁺T细胞。近年来，Fc融合蛋白类药物快速发展。本文对重组Fc融合蛋白的结构特征与药理学特性进行综述，并介绍重组Fc融合蛋白的临床药物开发及其在非临床领域中的应用与发展。

1 重组Fc融合蛋白的药理学作用机制

Fc融合蛋白由功能蛋白和Fc段构成，其药理学特性机制主要分为2类：（1）功能蛋白识别肿瘤细胞表面抗原，Fc段与FcγRs作用激活免疫细胞，诱导ADCC、抗体依赖的细胞吞噬（antibody-dependent cellular phagocytosis, ADCP）和补体依赖的细胞毒性（complement-dependent cytotoxicity, CDC）效应，产生溶细胞作用；（2）仅功能蛋白发挥其特定的生物学作用，Fc段辅助延长功能蛋白半衰期，使其在体内长效作用。

1.1 Fc段的主要功能

1.1.1 介导细胞毒性效应 Fc段的潜在免疫调节功能依赖其与FcγRs家族的相互作用来激活或抑制免疫细胞，介导ADCC、CDC及ADCP效应，进而调控后续的免疫反应。许多靶向肿瘤细胞表面抗原的治疗性单克隆抗体依赖此机制发挥作用，如利妥昔单抗、曲妥珠单抗、阿仑单抗等。细胞表面蛋白的配体与Fc段构建而成的融合蛋白同样也可依赖Fc-FcγRs的相互作用发挥溶细胞作用。溶细胞性Fc融合蛋白的功能蛋白识别靶细胞表面抗原，Fc段与自然杀伤（natural killer, NK）细胞表面的FcγR III A结合，激活NK细胞，释放细胞毒性颗粒

（穿孔素、颗粒酶），导致靶细胞凋亡^[5]。增强Fc段与FcγR III A的亲合力可改善ADCC效应介导的肿瘤杀伤作用。补体复合物C1的亚组份C1q是由6个相同亚单位组成的对称六聚体，与免疫复合物的Fc段结合后，介导CDC效应，募集血清中存在的大量C1q，形成膜攻击复合物（membrane attack complex, MAC），诱导靶细胞裂解^[6-8]。用于治疗B细胞淋巴瘤的抗CD20利妥昔单抗依赖CDC效应控制并清除恶性B细胞。目前，关于增强抗体CDC活性的研究主要聚焦于Fc段与C1q的亲合力。经分子间Fc-Fc相互作用形成的IgG六聚体是六价C1q的最佳结合位点^[9-11]。Jong等^[11-12]研究发现，Fc段单点突变（E430G）使IgG更容易形成六聚体形式，增强CDC活性；而Wang等^[13]发现，Fc段的单价靶点具有更有利的几何定位，能够更恰当地与C1q结合，激活CDC效应。

1.1.2 延长功能蛋白半衰期 内源性IgG在FcRn的保护下，半衰期可达19 d。在酸性环境下，即细胞内涵体中（pH 6.0~6.5），IgG-Fc段与FcRn相互作用，2个FcRn分子结合1个IgG分子，形成稳定复合物，延缓溶酶体对IgG的降解，延长IgG的血浆半衰期；而在pH 7.4的生理环境下，二者不结合，因此FcRn以pH依赖性的方式维持血液循环中高水平的抗体浓度^[14]。多肽及一些普通蛋白分子量较小，易被内源性蛋白酶、肽酶水解，肾脏清除速率较快、半衰期较短，严重阻碍蛋白分子的药物开发^[15]。然而将小分子蛋白或多肽与Fc段构建成融合蛋白后，赋予了蛋白分子类似于抗体的性质，通过Fc段与FcRn的作用，其血浆半衰期被显著延长，能够在体内发挥长效作用。例如，内源性胰高血糖素样肽-1（glucagon-like peptide-1, GLP-1）易被二肽基肽酶-4（dipeptidyl peptidase, DPP-4）水解失活，而将GLP-1突变体与hIgG4-Fc融合后得到的杜拉鲁肽在体内长效激活GLP-1R，维持血糖稳定。

1.2 功能蛋白的性质 Fc融合蛋白的药理学特性除由Fc段介导的细胞毒性作用和延长半衰期外，功能蛋白特有的药理活性同样重要。不同于以肿瘤抗原为靶点的单克隆抗体，Fc融合蛋白的功能蛋白种类、来源、靶点、效应都更加广泛，

在治疗性单克隆抗体的基础上改善药效, 弥补缺陷。例如, 在用于治疗年龄相关的湿性黄斑变性 (wet age-related macular degeneration, wAMD) 的生物制剂中, 雷珠单抗为单靶点药物, 仅能作用于血管内皮生长因子的 A 亚型 (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A), 而阿柏西普和康柏西普这 2 种 Fc 融合蛋白类药物, 可与 VEGF-A、VEGF-B、胎盘生长因子 (placental growth factor, PLGF) 结合, 发挥更高效的抗肿瘤活性。百健艾迪研发的重组凝血因子 VIII-Fc 融合蛋白 (efmoroctocog alfa) 可暂时性替代凝血过程中缺失的凝血因子, 用于预防和治疗 A 型血友病。此外, 功能蛋白氨基酸残基的微小变化也可导致其亲和力和生物活性发生显著改变, 从而改善其治疗特性。例如, 2005 年被 FDA 批准用于治疗类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 的 Fc 融合蛋白药物阿巴西普, 其功能蛋白为细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4) 的胞外段。对 CTLA-4 进行定点突变、替换氨基酸残基 (A29Y/L104E) 得到的贝拉西普, 与 CD80 和 CD60 的结合显著增强^[16-17]。2011 年, 贝拉西普被批准上市, 用于抑制器官移植排斥反应^[18]。IL-2-Fc 三重突变体 (IL-23XFc, R38D/K43E/E61R) 与 CD25 的结合被抑制, 优先促进 CD25-CD122^{high} MP (memory-phenotyp) CD8 和 NK 细胞的增殖, 活性、选择性较 IL-2^{WT}Fc 和 IL-2/mAb 复合物明显提高^[19]。

2 重组 Fc 融合蛋白的分子设计

2.1 Fc 骨架亚型的选择

不同的 IgG 亚型与 Fc γ Rs 的亲和力不同, 导致其免疫学活性存在差异。hIgG 的 4 个亚型中, IgG1、IgG3 与 I 型 Fc γ Rs (Fc γ R I、Fc γ R II A、Fc γ R II B、Fc γ R II C、Fc γ R III A、Fc γ R III B) 的亲和力较高, 目前关于重组 Fc 融合蛋白药物的研究多选用 IgG1。由于 IgG3 的铰链区较长, 易被蛋白酶水解, 半衰期较短, 导致其药用功能的开发受到阻碍^[20-21]。但有研究^[20]发现, IgG3-FcR435H 突变体与 FcRn 的结合明显强于非突变体, 体内半衰期接近 IgG1, 对肺炎链球菌感染小鼠有强效保护作用。因此,

当功能蛋白的存在会阻断 IgG1-Fc 与 FcRs 结合, 而限制 IgG1-Fc 活性时, 有较长铰链区的 IgG3-FcR435H 突变体将成为最佳的替代性选择^[22]。而 hIgG2 和 hIgG4 的 Fc 段与 Fc γ Rs、C1q 的亲和力较弱, 因此可以用于自身免疫性疾病及异体移植排斥反应等需要免疫抑制治疗的疾病药物开发。

除 IgG-Fc 之外, 以其他免疫球蛋白 Fc 段为骨架的 Fc 融合蛋白可靶向适应性免疫细胞上的 FcRs。例如, 主要存在于黏膜组织的 IgA 与 Fc α R 相互作用可诱导强烈抑制信号和凋亡信号, 阻断其他受体的激活, 因此, 以 IgA-Fc 为骨架的融合蛋白可被开发, 用于黏膜部位抗炎^[23-24]。而能够与 B、T (CD4⁺、CD8⁺) 及 NK 细胞结合并刺激记忆反应的 IgM-Fc 段是疫苗中最佳的天然佐剂^[25]。IgE-Fc 的受体表达在 APCs (包括大部分 DCs) 表面。相关研究表明, 抗原-IgE-Fc 融合蛋白可能在基于细胞的肿瘤疫苗中有特殊用途^[26], IgE-Fc 段也可用于抑制过敏反应的药物研究^[27]。这些疫苗策略向临床的安全转化还需进行全面深入评估。

2.2 糖基化的选择

由 Fc 段糖基化的不同所导致的结构差异会影响 Fc 段与 Fc γ Rs、补体蛋白、FcRn 等配体的结合, 进而影响后续的 ADCC、CDC 效应及血浆半衰期。Fc 段 CH2 结构域 Asn297 位的 N-连接聚糖是一个核心七糖结构, 包括 4 个 N-乙酰基-葡萄糖胺和 3 个甘露糖残基及数目可变的半乳糖、岩藻糖、唾液酸残基, 这些糖基是 Fc 段发挥生物学功能所必需的^[28], 因此糖基化也被认为是治疗性抗体类药物的关键质量属性 (critical quality attributes, CQA)^[29]。Fc 段 N-聚糖核心结构可在酶作用下被修饰为不同的糖基化结构, 主要分为核心岩藻糖基化、末端唾液酸化、甘露糖基化等^[30]。

Shields 等^[31]研究发现, 相比于非岩藻糖基化的 IgG, 岩藻糖基化的 Fc 段所介导的 ADCC 效应被降低 100 倍, 而 CDC 活性无变化。另外, 在重组 Fc 融合蛋白中, 唾液酸的含量越高, 同样会导致 Fc 段与 Fc γ Rs 的亲和力降低, 从而抑制 ADCC 活性^[32]。然而, 经研究^[33]发现, 末端唾液酸化的 IgG 型抗体体内半衰期被显著延长。因此, 当融

合蛋白中 Fc 段仅起到延长功能蛋白半衰期的作用时,可选择岩藻糖基化、唾液酸化修饰,抑制 Fc 段的 ADCC 活性,减少不良反应。然而,与唾液酸化恰好相反,甘露糖基化所具有的缩短半衰期和增强 ADCC 效应的双重属性使其更适用于临床急性感染的控制。甘露糖基化的融合蛋白在体内清除病原体后,与肝脏巨噬细胞表面的甘露糖受体结合,被快速代谢,避免了药物长时间在体内残留可能出现的脱靶毒性^[34]。如何精确地选择并控制各种糖基化及其在 Fc 融合蛋白分子中所占比例,在药效学与药代动力学之间达到最佳平衡,对其成药性至关重要,是目前此类药物开发中需要考虑的重要问题。

2.3 Fc 段的 FcRn 高亲和力突变体 良好的药代动力学特性是抗体类药物相比于传统药物的一大优势。得益于 Fc 段与 FcRn 的结合保护作用, Fc 融合蛋白的半衰期较普通蛋白分子明显改善,但仍不及 IgG 型全长抗体(3周)^[2]。因此,进一步改善 Fc 融合蛋白的药代动力学也是其药物开发重点关注的问题。借助基因工程平台技术,对融合蛋白的 Fc 段进行氨基酸定点突变,改善 Fc 段与 FcRn 的亲合力,可得到更为长效稳定的突变体。例如,阿斯利康制药有限公司研制的呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)靶向抗体莫维珠单抗(motavizumab),其“YTE”突变体(M252Y/S254T/T256E) motavizumab-YTE, 在 pH6.0 时与 FcRn 的亲合力较非突变体增强 10 倍,在健康人体内半衰期可达 100 d,约为非突变体的 4 倍^[35]。Motavizumab-YTE 的 265 位谷氨酸(Glu, E)侧链酸根基团的氧原子与 FcRn-Q2 残基侧链的氨基之间形成稳定的氢键;而 254、252 位分别突变为苏氨酸(Thr, T)和酪氨酸(Tyr, Y)之后,引入了新的甲基和苯环,增强了 Fc 段与 FcRn 疏水残基(L82、Y88、L112)的疏水相互作用。Zheng 等^[36]将丁酰胆碱酯酶 BChE(内源性可卡因代谢酶)的突变体 Coch3 的 1~529 位与 hIgG1-Fc 段融合,在“YTE”突变的基础上再进行 A530V/D671E/L673M 突变,得到 Coch3-Fc(M6)变体,与 FcRn 的亲合力显著增强。Coch3-Fc 在小鼠体内的半衰期约为 4 d,而 M6 变体的半衰期长达 9 d。

3 重组 Fc 融合蛋白的应用

3.1 Fc 融合蛋白类药物 与传统生物制剂相比, Fc 融合蛋白类药物半衰期长、特异性良好、靶点种类多、临床应用广泛等优势已得到广泛认可^[37]。1998 年, FDA 批准了第 1 个 Fc 融合蛋白类药物——依那西普,用于 RA、强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)的治疗,疗效显著。目前,已有 13 种此类药物被 FDA 批准用于肿瘤、自身免疫性疾病、血液病、炎症疾病、移植排斥的治疗(表 1)^[6],还有大量药物正处于临床前或不同的临床研究阶段,涉及感染、药物成瘾等多个研究方向。

3.1.1 VEGF 受体拮抗剂 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种高特异性的促血管内皮细胞生长因子,诱导新生血管形成,可分为 A、B、C、D、E 和 PLGF 6 种亚型。将 VEGF-A、VEGF-B 受体的胞外段通过 TNT 序列串联后,与 hIgG1-Fc 的铰链区 N 端融合形成的多特异性融合抗体阿柏西普(aflibercept, AFL)是 VEGF 受体拮抗剂。AFL 与 VEGF-A、VEGF-B、PLGF 结合,阻断这些因子与其内源性受体的结合与活化,从而抑制新生血管形成,发挥直接的抗肿瘤活性。AFL 还可用于治疗新生血管引起的眼科疾病,给药方式因患者疾病的不同而有差异,Zaltrap 和 Eylea 这 2 种药物中所含的 AFL 相同,但配比不同^[38]。前者用于治疗对含奥沙利铂方案耐药的转移性结直肠癌,后者则在 2011 年被 FDA 批准用于治疗 wAMD 和视网膜静脉阻碍或糖尿病引起的黄斑水肿。

3.1.2 长效 GLP-1R 激动剂 美国礼来公司研发的长效胰高血糖素样肽-1 受体(glucagon like peptide-1 receptor, GLP-1R)激动剂杜拉鲁肽^[39]由天然 GLP-1 突变体(A8G/A22E/R36G)以 3 段重复的 GGGGS 氨基酸序列为 linker 与 hIgG4 的 Fc 段的 N 端连接,单体再通过铰链区链间二硫键形成二聚体(图 1)。GLP-1 突变体弥补了天然 GLP-1 易被 DPP-4 降解失活的缺点,且活性与内源性 GLP-1 相似,激活 GLP-1R,以血糖依赖的方式促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素,并抑制胰岛 α 细胞分泌胰高血糖素,维持血糖稳定,避免了传统降糖药

可能导致低血糖的风险,且体内半衰期可延长至 5 d^[40]。2014年9月,经FDA批准,杜拉鲁肽皮下注射液正式上市,用于治疗成人2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)。除单用形式外,杜拉

鲁肽还可与二甲双胍、磺脲类、噻唑烷二酮或者膳食胰岛素联用,在有良好饮食计划和定期体育锻炼的患者中,药效更优。

表 1 已上市的重组 Fc 融合蛋白类药物

商品名	药品名	结构	配体	适应证	批准年份 (批准机构)	公司
Strensip	asfotase alfa	ALPL-Fc	矿化组织	低磷酸脂酶症	2015年(FDA)	亚力兄
Trulicity	杜拉鲁肽 (dulaglutide)	GLP-1类似物-Fc	GLP-1R	2型糖尿病	2014年(FDA)	礼来
Elocatate	efmoroctocog alfa	F VIII-Fc	BCF	A型血友病	2014年(FDA)	百健艾迪
Alprolix	eftrenonacog alfa	F IX-Fc	BCF	A型血友病	2014年(FDA)	百健艾迪
朗沐	康柏西普 (conbercept)	VEGFR1-VEGFR2-Fc	VEGF	湿性年龄相关性黄 斑变性	2013年(CFDA)	康弘
Zaltrap	阿柏西普 (ziv-aftibercept)	VEGFR1-VEGFR2-Fc	VEGF-A、 VEGF-B、PIGF	转移性结直肠癌	2012年(FDA)	赛诺菲/再生元
Nulojix	贝拉西普 (belatacept)	CTLA-4-Fc	CD80、CD86	器官排斥反应	2011年(FDA)	百时美施贵宝
Eylea	阿柏西普 (aftibercept)	VEGFR1-VEGFR2-Fc	VEGF-A、 VEGF-B、PIGF	湿性老年黄斑变性	2011年(FDA)	再生元
Arcalyst	利纳西普 (rilonacept)	IL-1R及辅助蛋白-Fc	IL-1	Cryopyrin蛋白-周 期性综合征	2008年(FDA)	再生元
Nplate	罗米思亭 (romiplostim)	TPBP-Fc	TPOR	慢性免疫性血小板 减少性紫癜	2008年(FDA)	安进/辉瑞
Orencia	阿巴西普(abatacept)	CTLA-4-Fc	CD80、CD86	类风湿性关节炎	2005年(FDA)	百时美施贵宝
Amevive	阿法赛特(alefacept)	LFA-3-Fc	CD2	慢性斑块型银屑病	2003年(FDA)	阿斯泰来
Enbrel	依那西普 (etanercept)	TNFR2-Fc	水溶性和膜TNF	类风湿性关节炎、 银屑病关节炎	1998年(FDA)	安进/辉瑞

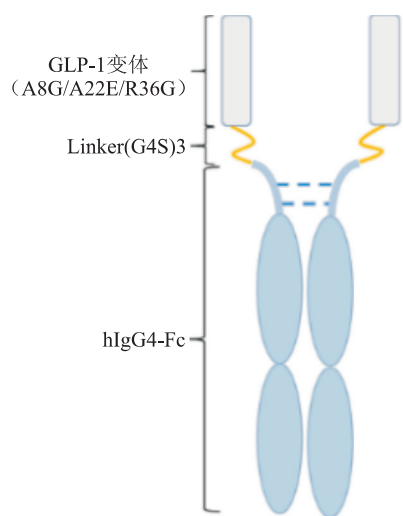


图 1 杜拉鲁肽示意图

大多在 Fc 段铰链区的 N 端与其融合。但血小板生成素受体激动剂罗米思亭(Nplate)的分子结构(图 2)较为特殊,2个血小板生成素结合肽(thrombopoietin-binding peptide, TPBP)经 8 个甘氨酸串联形成多肽,再通过由 5 个甘氨酸组成的 linker 与 Fc 段 CH3 区域的 C 端融合^[41]。TPBP 的序列(IEGPTLRQWLAARA)不同于天然血小板生成素(thrombopoietin, TPO)的主要序列,是通过多种生物方法筛选而来的一段共同序列,与 TPO 竞争性结合血小板生成素受体(TPOR)^[42], TPBP 对 TPOR 的亲和力高,可有效促进巨核细胞的增殖和成熟^[43]。2008年, FDA 批准罗米思亭用于慢性免疫性血小板减少性紫癜(immune thrombocytopenic purpura, ITP)治疗。

3.1.3 TPOR 激动剂 Fc 融合蛋白的功能分子

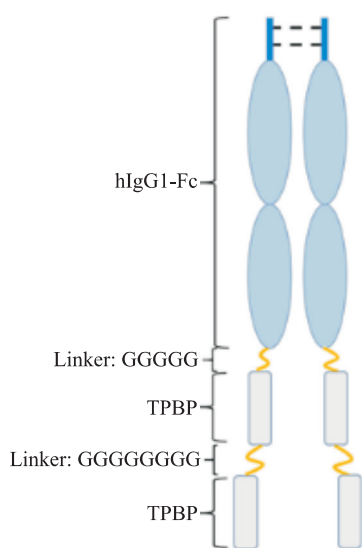


图2 罗米思亭示意图

3.2 Fc融合蛋白在疫苗中的应用 抗原-Fc融合蛋白可特异性靶向APCs表面的FcRs,这一特性是其在疫苗领域中应用的基础。通过CH2-CH3结构的链间二硫键可将单体Fc融合蛋白构建为可携带12个抗原分子的六聚体,与APCs的受体交叉连接,提升抗原呈递效率。Fc段与特定抗原融合已经成为一种新型的黏膜疫苗接种策略,用于预防传染性疾病^[44],例如流感(HA-HuFc)^[45]、单纯疱疹病毒(HSV, gD-Fc)^[44]、结核病(ESAT6:HspX:Fc)^[46]、猪瘟疫病毒(E2-Fc)^[47]。Zhang等^[48]将RSV的F糖蛋白与IgG的Fc段融合形成六聚体F-Fc融合蛋白,以TLR4激动剂单酰磷脂A(MPL)为佐剂联合免疫小鼠,可减轻RSV感染后的肺部损伤。

3.3 静脉免疫球蛋白疗法 Fc段的唾液酸残基与抑制性非经典FcγRs相互作用,如DC特异性细胞间黏附分子3-整合素(DC-SIGN)或鼠源同系物SIGN-R1、B细胞表面的CD22(Siglec-2),诱导APCs表达FcγRIIB,抑制APCs的抗原呈递功能^[49],介导IVIG的抑制作用。Fc结构域的CH2结构域存在混杂的致耐受性表位,有学者^[50]提议将其命名为“Tregitopes”,其中一些Tregitopes与FcγR、FcRn的结合位点存在交叠。降解后的IgG-Fc经MHC-II类分子处理并呈递后,限制性活化Treg细胞。这一结果与IgG-Fc参与诱导耐受性的多重机制的理论相符合。总之,包括FcγR依赖型、非依赖型在内的多重作用机制,通过Fc结构

域的耐受性诱导活性,介导IVIG的抗炎活性。

3.4 非临床应用 随着Fc融合蛋白临床应用的快速发展,其非临床应用也受到了广泛关注,如流式细胞术、免疫组化、蛋白质芯片设备等^[51]。哺乳动物细胞内存在一些难以表达的蛋白质,可将其与IgG3的Fc段融合形成构建体,增强蛋白质的稳定性,达到稳定生产的目的^[52]。在蛋白质微阵列应用中,Fc融合蛋白被整合到具有支架的多价络合物中,例如Protein-G/A微珠,作为鉴别新型低亲和力蛋白质相互作用的高通量方法,弥补了质谱和酵母双杂交技术无法检测低亲和力结合现象的缺陷。

综上所述,重组Fc融合蛋白具有更精准的靶向性,特异性强、稳定性良好。然而仅将天然的功能蛋白与Fc段融合已不能满足各种复杂疾病的临床治疗需求。重组Fc融合蛋白类药物的开发可合理应用合成生物学技术,改善天然位点,开发全人造抗原结合位点,对Fc段进行定点突变、糖基化、脱酰胺化改造,以期得到药效学、药代动力学性质优异且不良反应少的重组Fc融合蛋白类药物。另外,以融合蛋白为基础的CAR-T细胞免疫疗法、双特异性抗体以及多价、多特异性抗体的迅速发展更是为肿瘤、自身免疫性疾病、重症感染等临床疾病提供了新的治疗措施与方向。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] GOULET D R, ATKINS W M. Considerations for the design of antibody-based therapeutics[J]. *J Pharm Sci*, 2020, 109(1):74-103.
- [2] JAFARI R, ZOLBANIN N M, RAFATPANAH H, et al. Fc-fusion proteins in therapy: an updated view[J]. *Curr Med Chem*, 2017, 24(12):1228-1237.
- [3] KONTERMANN R E. Strategies for extended serum half-life of protein therapeutics[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2011, 22(6):868-876.
- [4] CAPON D J, CHAMOW S M, MORDENTI J, et al. Designing CD4 immuno-adhesins for AIDS therapy[J]. *Nature*, 1989, 337(6207):525-531.
- [5] WEINER L M, SURANA R, WANG S. Monoclonal antibodies: versatile platforms for cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(5):317-

- 327.
- [6] LAGASSE H A D, HENGE H, GOLDING B, et al. Fc-fusion drugs have Fc γ R/C1q binding and signaling properties that may affect their immunogenicity[J]. *AAPS J*, 2019, 21(4):62.
- [7] RICKLIN D, HAJISHENGALLIS G, YANG K, et al. Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(9):785-797.
- [8] GROS P, MILDER F J, JANSSEN B J. Complement driven by conformational changes[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(1):48-58.
- [9] UGURLAR D, HOWES S C, DE KREUK B J, et al. Structures of C1-IgG1 provide insights into how danger pattern recognition activates complement[J]. *Science*, 2018, 359(6377):794-797.
- [10] DIEBOLDER C A, BEURSKENS F J, DE JONG R N, et al. Complement is activated by IgG hexamers assembled at the cell surface[J]. *Science*, 2014, 343(6176):1260-1263.
- [11] STRASSERR J, DE JONG R N, BEURSKENS F J, et al. Unraveling the macromolecular pathways of IgG oligomerization and complement activation on antigenic surfaces[J]. *Nano Lett*, 2019, 19(7):4787-4796.
- [12] DE JONG R N, BEURSKENS F J, VERPLOEGEN S, et al. A novel platform for the potentiation of therapeutic antibodies based on antigen-dependent formation of IgG hexamers at the cell surface[J]. *PLoS Biol*, 2016, 14(1):e1002344.
- [13] WANG B, YANG C N, JIN X F, et al. Regulation of antibody-mediated complement-dependent cytotoxicity by modulating the intrinsic affinity and binding valency of IgG for target antigen[J]. *MAbs*, 2020, 12(1):e1690959.
- [14] KUO T T, BAKER K, YOSHIDA M, et al. Neonatal Fc receptor: from immunity to therapeutics[J]. *J Clin Immunol*, 2010, 30(6):777-789.
- [15] OTVOS L, VETTER S W, KOLADIA M, et al. The designer leptin antagonist peptide Allo-aca compensates for short serum half-life with very tight binding to the receptor[J]. *Amino Acids*, 2014, 46(4):873-882.
- [16] GENOVESE M C, BECKER J C, SCHIFF M, et al. Abatacept for rheumatoid arthritis refractory to tumor necrosis factor α inhibition[J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(11):1114-1123.
- [17] SALMON J H, LETAROUILLY J G, GOEB V, et al. Actual persistence of abatacept in rheumatoid arthritis: results of the French-Ric network[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(5):1528.
- [18] ARCHDEACON P, DIXON C, BELEN O, et al. Summary of the US FDA approval of belatacept[J]. *Am J Transplant*, 2012, 12(3):554-562.
- [19] VAZQUEZ-LOMBARDI R, LOETSCH C, ZINKL D, et al. Potent anti-tumour activity of interleukin-2-Fc fusion proteins requires Fc-mediated depletion of regulatory T-cells[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:15373.
- [20] STAPLETON N M, ANDERSEN J T, STEMERDING A M, et al. Competition for FcRn-mediated transport gives rise to short half-life of human IgG3 and offers therapeutic potential[J]. *Nat Commun*, 2011, 2:599.
- [21] SHAH I S, LOVELL S, MEHZABEEN N, et al. Structural characterization of the Man5 glycoform of human IgG3 Fc[J]. *Mol Immunol*, 2017, 92:28-37.
- [22] MEKHAIEL D N A, CZAJKOWSKY D M, ANDERSEN J T, et al. Polymeric human Fc-fusion proteins with modified effector functions[J]. *Sci Rep*, 2011, 1:124.
- [23] BALU S, RELIJIC R, LEWIS M J, et al. A novel human IgA monoclonal antibody protects against tuberculosis [J]. *J Immunol*, 2011, 186(5):3113-3119.
- [24] HANSEN I S, BAETEN D L P, DEN DUNNEN J. The inflammatory function of human IgA[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(6):1041-1055.
- [25] FOSS S, WATKINSON R, SANDLIE I, et al. TRIM21: a cytosolic Fc receptor with broad antibody isotype specificity[J]. *Immunol Rev*, 2015, 268(1):328-339.
- [26] NIGRO E A, BRINI A T, YENAGI V A, et al. Cutting edge: IgE plays an active role in tumor immunosurveillance in mice[J]. *J Immunol*, 2016, 197(7):2583-2588.
- [27] LEVIN D, GOLDING B, STROME S E, et al. Fc fusion as a platform technology: potential for modulating immunogenicity[J]. *Trends Biotechnol*, 2015, 33(1):27-34.
- [28] SUBEDI G P, BARB A W. The structural role of antibody N-glycosylation in receptor interactions[J]. *Structure*, 2015, 23(9):1573-1583.
- [29] JEFFERIS R. Recombinant antibody therapeutics: the impact of glycosylation on mechanisms of action[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2009, 30(7):356-362.
- [30] WANG T T, RAVETHCH J V. Functional diversification of IgGs through Fc glycosylation[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(9):3492-3498.
- [31] SHIELDS R L, LAI J, KECK R, et al. Lack of fucose on human IgG1 N linked oligosaccharide improves binding to human Fc γ R III and antibody-dependent cellular toxicity[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(30):26733-

- 26740.
- [32] SCALLON B J, TAM S H, MCCARTHY S G, et al. Higher levels of sialylated Fc glycans in immunoglobulin G molecules can adversely impact functionality[J]. *Mol Immunol*, 2007, 44(7):1524-1534.
- [33] EGRIE J C, DWYER E, BROWNE J K, et al. Darbepoetin alfa has a longer circulating half-life and greater in vivo potency than recombinant human erythropoietin[J]. *Exp Hematol*, 2003, 31(4):290-299.
- [34] LIU L M. Antibody glycosylation and its impact on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies and Fc-fusion proteins[J]. *J Pharm Sci*, 2015, 104(6):1866-1884.
- [35] ROBBIE G J, CRISTE R, DALL'ACQUA W F, et al. A novel investigational Fc-modified humanized monoclonal antibody, motavizumab-YTE, has an extended half-life in healthy adults[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(12):6147-6153.
- [36] ZHENG F, CHEN X, KIM K, et al. Structure-based design and discovery of a long-acting cocaine hydrolase mutant with improved binding affinity to neonatal Fc receptor for treatment of cocaine abuse[J]. *AAPS J*, 2020, 22(3):62.
- [37] BECK A, REICHERT J M. Therapeutic Fc-fusion proteins and peptides as successful alternatives to antibodies[J]. *MAbs*, 2011, 3(5):415-416.
- [38] HERMOSILLA J, PÉREZ-ROBLES R, SALMERÓN-GARCÍA A, et al. Comprehensive biophysical and functional study of ziv-aflibercept: characterization and forced degradation[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):2675.
- [39] CAVACO M, CASTANHO M A R B, NEVES V. Peptibodies: an elegant solution for a long-standing problem[J]. *Biopolymers*, 2017, 110:e23095.
- [40] GERSTEIN H C, CLOHOUN H M, DAGENAIS G R, et al. Dulaglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes (REWIND): a double-blind, randomised placebo-controlled trial[J]. *Lancet*, 2019, 394(10193):121-130.
- [41] SCHIFFERLI A, NIMMERJAHN F, KÜHNE T. Immunomodulation in primary immune thrombocytopenia: a possible role of the Fc fragment of romiplostim?[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:1196.
- [42] CWIRLA S E, BALASUBRAMANIAN P, DUFFIN D J, et al. Peptide agonist of the thrombopoietin receptor as potent as the natural cytokine[J]. *Science*, 1997, 276(5319):1696-1699.
- [43] NING L, HE B, ZHOU P, et al. Molecular design of peptide-Fc fusion drugs[J]. *Curr Drug Metab*, 2019, 20(3):203-208.
- [44] YE L, ZENG R Y, BAI Y, et al. Efficient mucosal vaccination mediated by the neonatal Fc receptor[J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(2):158-163.
- [45] LOUREIRO S, REN J, PHAPUGRANGKUL P, et al. Adjuvant-free immunization with hemagglutinin-Fc fusion proteins as an approach to influenza vaccines[J]. *J Virol*, 2011, 85(6):3010-3014.
- [46] SOLEIMANPOUR S, FARSIANI H, MOSAVAT A, et al. APC targeting enhances immunogenicity of a novel multistage Fc-fusion tuberculosis vaccine in mice[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99(24):10467-10480.
- [47] LI J L, LI X M, MA H, et al. Efficient mucosal vaccination of a novel classical swine fever virus E2-Fc fusion protein mediated by neonatal Fc receptor[J]. *Vaccine*, 2020, 38(29):4574-4583.
- [48] ZHANG Y J, ZHOU Z, ZHU S L, et al. A novel RSV F-Fc fusion protein vaccine reduces lung injury induced by respiratory syncytial virus infection[J]. *Antiviral Res*, 2019, 165:11-22.
- [49] ANTHONY R M, KOBAYASHI T, WERMELING F, et al. Intravenous gammaglobulin suppresses inflammation through a novel T(H)2 pathway[J]. *Nature*, 2011, 475(7354):110-123.
- [50] BLUMBERG R S, LILLICRAP D, IgG Fc Immune Tolerance Group. Tolerogenic properties of the Fc portion of IgG and its relevance to the treatment and management of hemophilia[J]. *Blood*, 2018, 131(20):2205-2214.
- [51] CZAJKOWSKY D M, HU J, SHAO Z, et al. Fc-fusion proteins: new developments and future perspectives[J]. *EMBO Mol Med*, 2012, 4(10):1015-1028.
- [52] ABDELATTI M, SCHOFIELD P, CHRIST D. Expression of human VH single domains as Fc fusions in mammalian cells[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1953:121-136.

[本文编辑] 翟铖铖