

[文章编号] 1007-7669(2024)10-0743-08

[DOI号] 10.14109/j.cnki.xyylc.2024.10.04

## 受体偏向性白细胞介素-2类似药在肿瘤免疫治疗中的研究进展

汪 熙<sup>1</sup>, 张一飞<sup>2</sup>, 滕业方<sup>1</sup>, 吴 娟<sup>3</sup>

(1. 常州工业职业技术学院材料工程学院, 江苏 常州 213164; 2. 扬子江药业集团江苏紫龙药业有限公司, 江苏 常州 213100; 3. 江苏理工学院化工与环境学院, 江苏 常州 213001)

[关键词] 白细胞介素-2; 肿瘤免疫; 聚乙二醇; 突变

[摘要] 白细胞介素(IL)-2在肿瘤免疫治疗中疗效显著,但不良反应极大地限制了它的临床应用。近年来,研究人员试图通过改善或调控IL-2的受体选择性,即选择性地偏向激动IL-2受体(IL-2R) $\beta\gamma$ 而减少甚至完全不与IL-2R $\alpha$ 结合,从而偏向性地激活具有肿瘤杀伤功能的CD<sub>8</sub><sup>+</sup>T细胞,最大限度地发挥IL-2的免疫激活作用。受体偏向性IL-2的主要开发策略包括聚乙二醇化学修饰和定点突变技术等。目前在研的药物包括NKTR-214、THOR-707、SHR-1916、TransConIL-2 $\beta\gamma$ 、8MW2311、RG7461、FSD13、IBI363等,但都还没有真正研发成功,尚需开展更深入的作用机制研究,或联合运用多种药物开发策略。

[中图分类号] R979.1

[文献标志码] A

## Research progress of receptor-biased interleukin-2 analogues in tumor immunotherapy

WANG Xi<sup>1</sup>, ZHANG Yi-fei<sup>2</sup>, TENG Ye-fang<sup>1</sup>, WU Juan<sup>3</sup>

(1. School of Materials Engineering, Changzhou Vocational Institute of Industry Technology, Changzhou JIANGSU 213164, China; 2. Yangzijiang Pharmaceutical Group Jiangsu Zilong Pharmaceutical Co., Ltd, Changzhou JIANGSU 213100, China; 3. School of Chemical Engineering and Environment, Jiangsu University of Technology, Changzhou JIANGSU 213001, China)

[KEY WORDS] interleukin-2; tumor immunotherapy; polyethylene glycol; mutation

[ABSTRACT] The efficacy of interleukin (IL) -2 in tumor immunotherapy is remarkable, but its adverse reactions greatly limit its further clinical application. In recent years, researchers have tried to improve or regulate the receptor selectivity of IL-2, that is, selectively bias the activation of IL-2R $\beta\gamma$  and reduce or even completely do not bind to IL-2R $\alpha$ , so as to preferentially activate CD<sub>8</sub><sup>+</sup>T cells with tumor killing function and maximize the immune activation of IL-2. The main development strategies of receptor biased IL-2 include polyethylene glycol chemical modification and site-specific mutation technology. Currently, the drugs under research include NKTR-214, THOR-707, SHR-1916, TransConIL-2 $\beta\gamma$ , 8MW2311, RG7461, FSD13, IBI363, etc. But none of them have been successfully developed yet. Further in-depth research on their mechanisms of action is required, or various drug development strategies need to be used in combination.

世界卫生组织国际癌症研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 发布的全球最新

癌症统计数据显示:2021年全球新发癌症1929万例,死亡996万例,其中我国新发癌症457万例,占全球

[收稿日期] 2023-01-10 [接受日期] 2024-07-24

[基金项目] 中国博士后科学基金面上资助项目(2020M681533);常州市应用基础研究计划项目(CJ20235004);常州工业职业技术学院博士基金项目(J022001)

[作者简介] 汪 熙,男,讲师,博士,主要从事细胞因子类新药临床前研究, E-mail:15715185806@163.com

的 23.7%。癌症已成为严重威胁人类健康的公共卫生问题之一。放疗、化疗以及靶向治疗在提高患者生存质量和延长生存期方面已取得了重大进展,然而,治疗过程中存在的严重副作用和耐药性也限制了上述疗法的深度应用<sup>[1,2]</sup>。随着学界对肿瘤治疗的深入研究,学者们转而聚焦于人体内的天然“抗癌战士”——免疫系统,并由此诞生了肿瘤免疫疗法<sup>[3]</sup>。免疫疗法的巨大优势在于其能通过激活人体自身免疫系统,治疗大部分类型的肿瘤甚至是已经转移的晚期恶性肿瘤;同时,还能够利用正常的免疫系统防止肿瘤细胞产生耐药性,从而降低癌症的复发率<sup>[4]</sup>。免疫治疗药物已成为当前药物研究的热点之一。

白细胞介素(白介素, interleukin, IL)-2 是首个被用于肿瘤免疫疗法的药物,美国食品和药物管理局(FDA)基于高剂量 IL-2 在临床肿瘤免疫治疗中的显著疗效,先后于 1992 年和 1998 年批准 IL-2 类似药阿地白介素(aldesleukin)用于晚期肾癌和恶性黑色素瘤的治疗<sup>[5]</sup>。然而,随着该药受众面的不断扩大,其在临床应用中存在的问题愈加凸显:一是该药不良反应较多。IL-2 类似药不仅可引起发热、呕吐、低血压等一般症状,还可导致水、电解质代谢紊乱等功能异常,严重时可能诱发毛细血管渗漏综合征(capillary leakage syndrome, CLS),导致血管内液体积聚在肝、肺等器官中,引发肝细胞损伤和肺水肿,使患者不得不中止治疗。二是该药给药次数多、剂量大。由于 IL-2 在人体内半衰期较短(<15 min),反复给药不仅增加了副作用的发生几率,还降低了患者对治疗的依从性<sup>[6,7]</sup>,这极大地限制了 IL-2 类似药的临床应用。近年来,免疫疗法的兴起重塑了 IL-2 在肿瘤治疗方面

的巨大潜力,研究者们对 IL-2 及其受体结合晶体结构的解析,为开发更加安全有效的 IL-2 类药物提供了重要的结构学信息和新的机遇<sup>[8,9]</sup>。本文从 IL-2 的生物学功能出发,综述了目前在研的受体偏向性 IL-2 类似药在肿瘤免疫治疗领域的研究进展,以期能为开发治疗肿瘤的新型 IL-2 类似药及疗法提供新的思路。

**IL-2 的结构与生物学活性** IL-2 是一种由糖蛋白组成的 I 型四 α-螺旋束细胞因子,它是细胞因子大家族中的重要一员,在激活与调节免疫细胞,介导 T、B 细胞活化、增殖与分化以及炎症反应过程中均发挥了重要作用<sup>[10-12]</sup>。IL-2 含有 133 个氨基酸残基,其结构中的第 58、105 和 125 位上含半胱氨酸(Cys)残基,其中第 58 与 105 位上的 Cys 之间形成的二硫键对维持蛋白的空间构造和生物学活性具有十分重要的作用(图 1)<sup>[13]</sup>。若第 125 位上的 Cys 残基二硫键发生错配,将会造成该蛋白天然空间构型破坏以及生物学活性显著降低甚至完全丧失。因此,为了避免这种错配的出现以维持 IL-2 的生物学活性,研究者采用基因工程技术开发 IL-2 药物时通常选择将第 125 位的 Cys 突变为其他氨基酸残基<sup>[14]</sup>。例如,阿地白介素结构中的第 125 位 Cys 就被突变成了丝氨酸(Ser)。另一种已上市药物注射用重组人白介素-2(商品名:欣吉尔)则是将 125 位的 Cys 突变为丙氨酸(Ala)。

**IL-2 的信号转导及调控** IL-2 可通过多种途径调节免疫激活和免疫抑制之间的平衡:一方面,IL-2 可诱导 CD4<sup>+</sup> T 细胞增殖、分化为辅助性 T 细胞(包括 Th1 和 Th2 细胞),增加 CD8<sup>+</sup> T 细胞和自然杀伤(natural killer, NK)细胞的数量,并提高其活性,从而促进免疫应答;另一方面,IL-2 也可通过信号转导和转录活

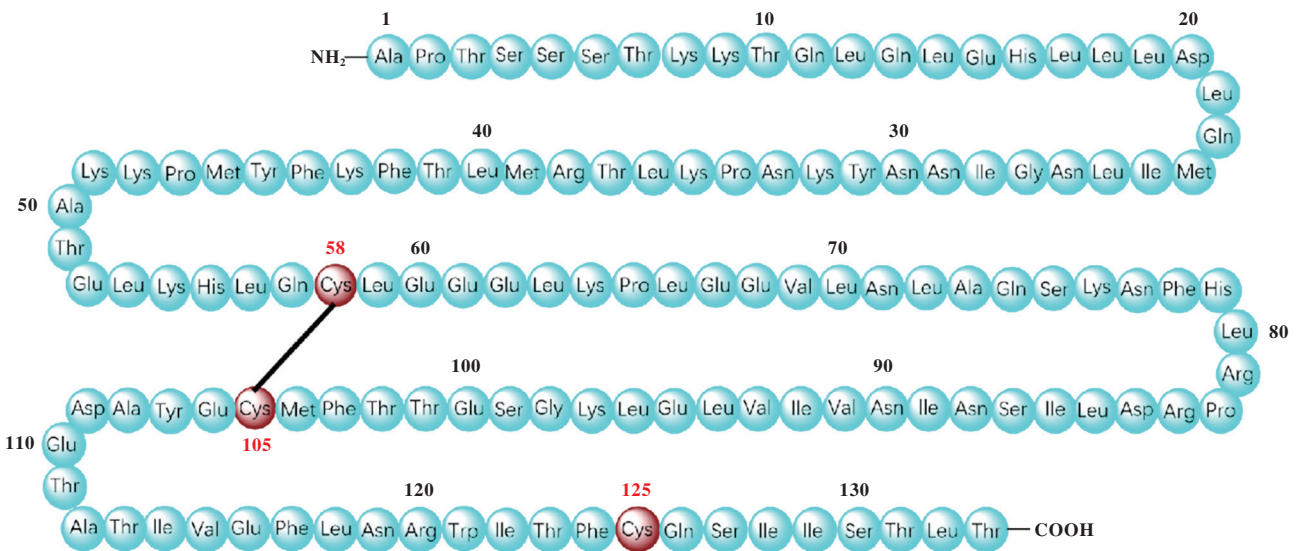


图 1 白细胞介素(IL)-2 的蛋白质一级结构示意图 第 58 位和第 105 位 Cys 之间的黑色线段表示二硫键

化因子 5 (STAT5) 的磷酸化及其他途径, 促进  $CD_4^+$ 、叉头框蛋白 3 (FOXP3)、调节性 T 细胞 (Treg) 等的生成和稳定, 从而抑制免疫反应<sup>[15]</sup>。IL-2 的上述信号转导与调控作用是通过与效应细胞膜上的 IL-2 受体结合来实现的。IL-2 受体含有 3 个亚单位——P55、P70、P64, 分别由较短的  $\alpha$  链、具有传递信号的  $\beta$  链和普通  $\gamma$  链组成, 即 IL-2R $\alpha$  (CD25)、IL-2R $\beta$  (CD122) 和 IL-2R $\gamma$  (CD132)<sup>[16]</sup>。其中, IL-2 与低亲和力的 IL-2R $\alpha$  (解离常数  $K_d$  值约为  $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 结合后, 通常不具备信号传递功能; IL-2R $\beta$  和 IL-2R $\gamma$  分别负责与 Janus 激酶 (JAK) 1 和 JAK3 结合, JAK 经磷酸化后被激活, 活化后的 JAK 可启动磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)、STAT5 和促分裂原活化的蛋白激酶 (MAPK) 等信号通路进行信号转导<sup>[17]</sup>, 见图 2。

同时, IL-2 受体还存在异二聚体 (IL-2R $\beta\gamma$ ) 或异三聚体 (IL-2R $\alpha\beta\gamma$ ) 这两种变体。其中, 效应 T 细胞 (Teff) 和 NK 细胞可表达中等亲和力的 IL-2R $\beta\gamma$  ( $K_d$  值约  $10^{-9} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 并且对高浓度的 IL-2 敏感<sup>[18]</sup>。因此, 高剂量的 IL-2 与异二聚体 IL-2R $\beta\gamma$  结合, 能够促进具有肿瘤杀伤功能的 Teff 扩增; 而 Treg 可表达高亲和力的 IL-2R $\alpha\beta\gamma$  ( $K_d$  值约为  $10^{-11} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 由于 IL-2R $\alpha$  可在 Treg 表面持续表达, 因此 Treg 在机体无外来抗原刺激的情况下, 对 IL-2 的敏感性大于 NK、Teff 等细胞。低剂量的 IL-2 会优先与异三聚体 IL-2R $\alpha\beta\gamma$  结合, 激活具有免疫抑制性的  $CD_4^+$  和  $CD_{25}^+$  T 细胞表达,

从而发挥免疫调节的作用<sup>[19]</sup>。在传统肿瘤免疫治疗过程中, 为了发挥更有效的肿瘤免疫杀伤作用, 需要激活更多 NK、Teff 等细胞, 就往往需要使用高剂量 IL-2, 但同时也产生了大量抑制性的 Treg, 部分抵消了高剂量 IL-2 的肿瘤免疫治疗效果, 也带来了 CLS 等毒副作用。

**受体偏向性 IL-2 的免疫疗法药物** 在传统的肿瘤免疫治疗中, IL-2 的辅助性治疗效果因伴随着严重的副作用 (如 CLS), 遭遇了难以突破的瓶颈。基于对 IL-2 的生物学功能及信号调控的深入研究, 研究人员试图通过改善或调控 IL-2 的受体选择性, 即选择性地偏向激动 IL-2R $\beta\gamma$  而减少甚至完全不与 IL-2R $\alpha$  结合, 从而偏向性地激活具有肿瘤杀伤功能的  $CD_8^+$  T 细胞, 最大限度地发挥 IL-2 的免疫激活作用。IL-2 作为下一代肿瘤免疫疗法的基石, 可与多种药物 [如程序性死亡受体 1 (PD-1) 和细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (CTLA-4) 等] 联用起到协同增效的作用, 广泛适用于各种类型的肿瘤。因此, 免疫疗法的兴起, 重塑了 IL-2 在肿瘤治疗方面的巨大潜力<sup>[20, 21]</sup>。下文主要以聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 化学修饰和定点突变体策略为代表的 IL-2R $\beta\gamma$  受体偏向性 IL-2 类似药的开发 (表 1) 及其在肿瘤免疫治疗中的应用进展。

1 PEG 修饰 PEG 修饰是将 PEG 通过化学方法偶联到蛋白质或多肽分子上, 从而提升多肽活性的一种方法。自 1977 年 DAVIES 用 PEG 修饰牛血清白蛋白以

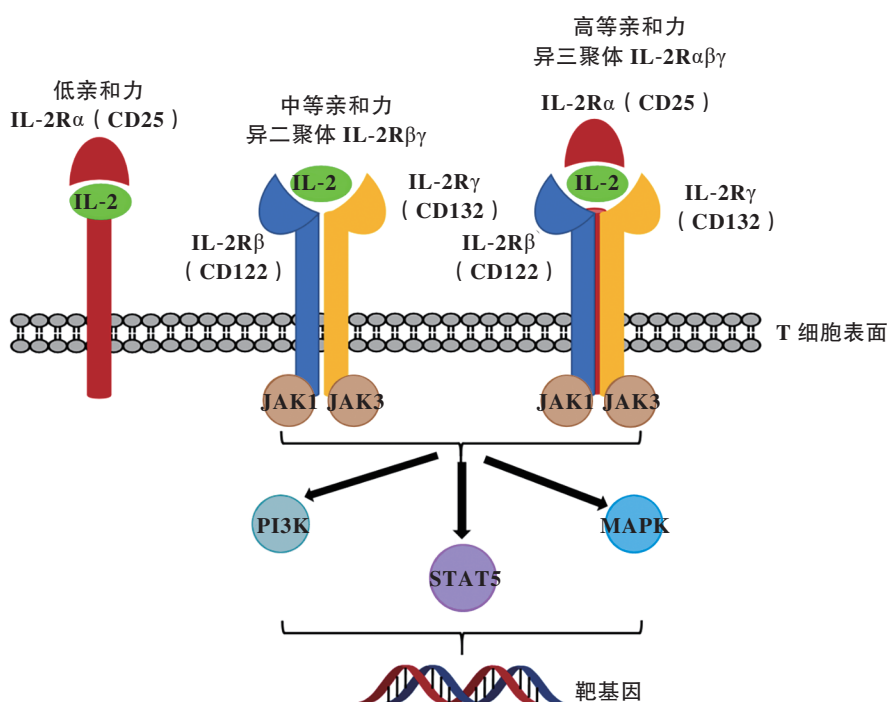


图 2 白细胞介素 (IL)-2 与不同受体结合调控下游信号转导示意图

JAK : Janus 激酶, STAT5 : 信号转导和转录活化因子 5, PI3K :

磷脂酰肌醇 3 激酶, MAPK : 促分裂原活化的蛋白激酶

表 1 目前在研的受体偏向性 IL-2 类似药

药物名称	研究机构简称	IL-2 修饰策略	主要适应证	临床试验阶段
NKTR-214	Nektar Therapeutics	缀合 6 个可降解的 PEG 链	黑色素瘤、肾癌	Ⅲ期临床已终止
THOR-707	Synthorx	非天然氨基酸 PEG 修饰	黑色素瘤、胃癌	Ⅱ期临床
SHR-1916	恒瑞医药	定点突变 / PEG 修饰	晚期恶性肿瘤	I 期临床
TransConIL-2 $\beta$ - $\gamma$	Ascendis Pharma	定点 PEG 修饰	卵巢癌	I / II 期临床
8MW2311	迈威生物	定点 PEG 修饰	晚期恶性肿瘤	I 期临床
RC7461	罗氏制药	定点突变 / 蛋白融合	实体瘤	I / II 期临床
FSD13	上海科医联创、马里兰大学、加利福尼亚大学	单位点定点突变	实体瘤	临床前研究
IBI363	信达生物	定点突变 / 抗体融合	晚期实体瘤或淋巴瘤	I / II 期临床

数据统计截至 2023 年 1 月

来, PEG 修饰技术广泛应用于多种蛋白质和多肽的化学修饰。PEG 修饰具有延长半衰期、降低免疫原性、减少毒副作用以及增强化学和生物稳定性等优势<sup>[22]</sup>。早在 20 世纪 80 年代就有学者对 IL-2 进行了 PEG 修饰的研究, 然而临床研究表明, 修饰后的 IL-2 在黑色素瘤患者中的有效应答率低于未修饰的 IL-2, 因此这一研究宣告失败<sup>[23]</sup>。其根本原因在于该研究选用的 PEG 修饰剂类型为不可降解的甲氧基聚乙二醇琥珀酰亚胺乙酸酯, 且采用的是随机饱和修饰策略, 导致 PEG 对 IL-2 的修饰程度较高, 几乎完全掩蔽了蛋白结构中 IL-2 受体结合的活性区域, 因而无法激活 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞发挥肿瘤杀伤活性。

近年来, PEG 修饰 IL-2 的代表药物 NKTR-214 和 THOR-707 与 PD-1/ 程序性死亡受体配体 1 (PD-L1) 联合疗法先后在多个临床试验中取得了积极的研究结果, 使得 PEG 修饰策略在改善 IL-2 药物受体选择性方面的潜力被重新审视。其联合用药方案设计的基础在于 NKTR-214、THOR-707 等偏向性 IL-2 受体激动剂负责在肿瘤微环境中让 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞和 NK 细胞获得扩增和增殖, PD-1/PD-L1 等免疫检查点抑制剂则负责通过抑制 T 细胞表面的负性免疫调节分子的功能, 增强 T 细胞的抗肿瘤免疫应答, 进而产生抗肿瘤的免疫效应。因此, 理论上偏向性 IL-2 受体激动剂与免疫检查点抑制剂联合治疗具有协同作用, 可产生“1+1>2”的效果。

1.1 NKTR-214 Nektar Therapeutics 成立于 1990 年, 是一家以 PEG 修饰和先进的聚合物共轭技术平台开发候选药物的生物制药公司。NKTR-214 是由 Nektar Therapeutics 开发的新一代 PEG 化的 IL-2 药物。NKTR-214 是由 IL-2 缀合 6 个可降解的 PEG 链得到的一种前体药<sup>[24]</sup>, 其 PEG 修饰剂为相对分子量 20 000 的含有刚性苄环结构的二臂聚乙二醇琥珀酰亚胺碳酸酯。苄及其衍生物是一类重要的具有刚性平面联苯结构的化合物<sup>[25]</sup>, 该 PEG 可在弱碱和强碱性条件下发生  $\beta$  消

除反应, 进而降解、脱落。NKTR-214 在体外因 PEG 过度修饰而不具有生物活性, 在注射进体内后, 随着 PEG 的脱落可转变为活性相对较强的 1-PEG-IL-2 和 2-PEG-IL-2 (平均修饰 1 个和 2 个 PEG 链的活性形式)。同时, NKTR-214 上 6 个修饰位点的选择也生动地体现了药物分子的设计理念——通过对 PEG 结构和偶联反应类型进行优化, 促进定点修饰选择性发生在 IL-2/IL-2R $\alpha$  界面处聚集的赖氨酸 (Lys) 残基 (K31、K34、K42、K47、K48、K75) 上, 使 PEG 恰好位于 IL-2/IL-2R $\alpha$  相互作用的关键疏水性结合位点附近, 可用于掩蔽与 IL-2R $\alpha$  亚基相互作用的 IL-2 区域 (该区域负责激活 Treg), 从而偏向性地激活 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞的活性。PEG 的修饰一方面可以降低 IL-2 的肾清除率和蛋白水解速度以延长半衰期, 同时也可以增加 IL-2 的水溶性并降低免疫原性; 另一方面, PEG 在体内的“程序式”降解脱落使得 IL-2 得以与 IL-2R $\beta\gamma$  结合而提供持续的信号传导, 驱动 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞和 NK 细胞的增殖和激活, 而不会在肿瘤微环境中不必要地扩增 Treg<sup>[24, 26]</sup>。

NKTR-214 单药治疗实体瘤的 I 期临床试验结果显示: 患者接受 NKTR-214 治疗后, 肿瘤内的 CD<sub>8</sub><sup>+</sup> T 细胞和 NK 细胞相比治疗前增加 10 倍, PD-1 的表达在肿瘤浸润淋巴细胞中也增加了 2 倍, 与此同时, Treg 数量则无明显变化<sup>[27]</sup>。2017 年 11 月, 肿瘤免疫治疗学会 (Society for Immunotherapy of Cancer, SITC) 披露了 NKTR-214 联合纳武利尤单抗治疗黑色素瘤的早期数据, 结果显示其有效应答率高达 64%。2018 年 2 月, 百时美施贵宝 (BMS) 花费 36 亿美元购买了 NKTR-214 的部分权益, 拟同时开展以 NKTR-214 和 PD-1 抑制剂为基础的针对 20 种癌症的大规模临床试验。SITC 在 2018 年发布的数据显示, NKTR-214 联合纳武利尤单抗的有效率稳定维持在 50% 左右, 尽管这一数据相比之前有所下滑, 但是基于其在前期临床试验中的优异表现, 美国 FDA 仍在 2019 年 8 月授

予了 NKTR-214 联合纳武利尤单抗突破性疗法的认定, 批准其用于治疗初治无法手术切除或转移性黑色素瘤患者。然而, 在随后开展的 III 期临床试验中, 相对于纳武利尤单抗单药治疗, NKTR-214 联合纳武利尤单抗并未表现出额外的临床获益, 且毒性反应的发生率有所增加, 未达到预期的无进展生存期和总生存期, 该临床试验研究宣告失败。2022 年 4 月, 对 NKTR-214 联合纳武利尤单抗治疗肾癌 (III 期临床)、膀胱癌 (II 期临床) 的研究数据进行提前分析后, BMS 与 Nektar Therapeutics 宣布终止 NKTR-214 和纳武利尤单抗联合治疗的所有临床研究。NKTR-214 的失利可能在于 IL-2 理论上具有 11 个可进行化学修饰的 Lys 残基, 尽管能通过药物的化学计量和反应条件控制来获得修饰均匀的 IL-2 (平均修饰 6 个 PEG 链), 但是药物的结合位点通常很难控制。这就导致进入体内后 NKTR-214 的活性药物形式不能完全靶向肿瘤微环境, 从而引起不良反应的发生。另一方面, 免疫治疗的相互作用机制仍未被完全揭示, 机体中存在大量表达 IL-2R $\beta\gamma$  二聚体受体的 T 细胞, 而这些细胞没有抗肿瘤作用, 因此 NKTR-214 虽然可以特异性促进这些细胞的增殖, 但是并不能发挥抗肿瘤疗效, 因而无法实现与纳武利尤单抗联用的协同效应。

尽管 NKTR-214 在开发联合免疫疗法上未能成功, 但该药物的研发思路值得借鉴。NKTR-214 的设计充分利用了第三代 PEG 修饰技术, 使其在体内逐步降解, 进而解决了传统 IL-2 半衰期短、给药频繁、剂量高和不良反应等缺陷, 是 PEG 修饰技术运用的一大进步。

**1.2 THOR-707** THOR-707 是由 Synthorx 公司开发的新一代 PEG 定点修饰的 IL-2 类似药, 2019 年 12 月被赛诺菲公司以 25 亿美元收购。THOR-707 利用工程细菌在 IL-2 与 IL-2R $\alpha$  结合的界面上引入了非天然氨基酸, 从而可将一种不可“切割”的 PEG 链精准连接在 IL-2 表面。这种 PEG 定点修饰, 不仅延长了 IL-2 的半衰期, 还阻止了 IL-2 和 IL-2R $\alpha$  亚基结合, 从而偏向激动 IL-2R $\beta$ , 有效增加了 CD8<sup>+</sup> T 细胞和 NK 细胞的数量, 同时避免了 IL-2 类似药的毒副作用<sup>[28]</sup>, 是继 NKTR-214 之后又一个极具应用潜力的偏向性 IL-2 激动剂。

临床前研究显示, 在 CT26 小鼠结肠癌模型中, THOR-707 可将 T<sub>eff</sub> 在所有 CD8<sup>+</sup> T 细胞中的比例提高到 60% 以上, 抗肿瘤有效应答率为 36%; 其与 PD-1 免疫检查点抑制剂联用可协同增强 CD8<sup>+</sup> T 细胞的免疫反应, 同时安全性良好<sup>[29]</sup>。2021 年 4 月, 赛诺菲公布了 THOR-707 (SAR444245) 的中期临床数据: 患

者在首次服用 THOR-707 后体内 CD8<sup>+</sup> T 细胞和 NK 细胞数量有所增加, 并且在整个给药周期内持续增加, 具有剂量递增效应; 与帕博利珠单抗联合使用时, 这种效应更加明显。与此同时, 在该项研究中未观察到 CD4<sup>+</sup> Treg 或嗜酸性粒细胞的显著增加, 表明 THOR-707 对 IL-2R $\alpha$  受体不具有选择性, 与最初的分子结构设计理念相符。在安全性方面, THOR-707 未观察到剂量限制性毒性, 单药剂量高达 24  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 联合用药剂量高达 16  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。第一次给药后最常见的不良事件包括流感样症状、发热、呕吐/恶心和寒战等, 良好的安全性表现也拓展了其在后续临床试验中的剂量爬坡空间, 赛诺菲计划将 THOR-707 单药的 II 期临床试验推荐剂量上调至每 3 周给药 24~32  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。2022 年 8 月, 我国信达生物与赛诺菲达成多项战略合作及许可协议, 双方将就 THOR-707 在中国的临床开发及商业化展开合作, 并探索与信达生物的信迪利单抗联合给药的一系列临床研究。目前, THOR-707 正在皮肤癌、胃肠癌、非小细胞肺癌/间皮瘤、头颈癌和淋巴瘤等多个适应证上开展全球性 II 期临床试验。

THOR-707 的修饰策略与 NKTR-214 相似, 但也有所改进, 通过在 IL-2/IL-2R $\alpha$  的结合界面上引入非天然氨基酸, 再将 PEG 链“精准连接”在 IL-2 表面, 能够更好地阻断 IL-2 与 IL-2R $\alpha$  的结合。

**1.3 SHR-1916** SHR-1916 为恒瑞医药自主研发的全新 PEG 修饰和位点突变的 IL-2 分子, 也是国内首个递交新药临床试验申请的国产 IL-2 类似药。除了采用与 NKTR-214、THOR-707 类似的 PEG 修饰策略外, 恒瑞医药还对其中若干个氨基酸位点进行突变设计, 通过亲和力和细胞增殖活性筛选获得能够消除或减少与 IL-2R $\alpha\beta\gamma$  结合, 同时不影响与 IL-2R $\beta\gamma$  结合的偏向性 IL-2 突变体类似药。SHR-1916 选用的 PEG 修饰剂为相对分子量 20 000 的非降解释放型 PEG, 一方面可延长药物半衰期, 另一方面加入的 PEG 基团能够减弱或阻止 IL-2 与 IL-2R $\alpha\beta\gamma$  的相互作用, 进而通过激活 JAK1/JAK3/STAT5 信号通路, 促进 CD8<sup>+</sup> T 细胞和 NK 细胞增殖, 发挥抗肿瘤作用。相较于 IL-2 本身, SHR-1916 可降低对 Treg 的激活, 而不影响甚至还可增加对免疫效应细胞的激活。临床前研究结果显示, 在人源肿瘤小鼠动物模型中, SHR-1916 在给药 27 d 内表现出显著的抗肿瘤活性, 对黑色素瘤细胞的生长抑制率高达 96%, 同时未显示出明显的免疫原性<sup>[30]</sup>。SHR-1916 治疗晚期或转移性恶性肿瘤的 I 期临床试验已于 2021 年 3 月开展, 恒瑞医药预计未

来会将其与自主研发的卡瑞利珠单抗作为肿瘤免疫联合疗法进行开发。相对于完全依靠 PEG 修饰技术的 NKTR-214, SHR-1916 首先采用定点突变技术筛选获得 IL-2R $\beta$  $\gamma$  偏向性突变体, 然后通过 PEG 定点修饰赋予其蛋白长效性和低免疫原性, 该药物的设计是多种药物开发策略联合运用的又一体现。

**1.4 TransConIL-2 $\beta$ / $\gamma$**  TransConIL-2 $\beta$ / $\gamma$  是 Ascendis Pharma 借助瞬时连接 (transient conjugation) 技术自主研发的一款可实现药物全身持续释放以及局部 (肿瘤内) 释放的 IL-2 类似药。TransConIL-2 $\beta$ / $\gamma$  的结构特点为在 IL-2 的 IL-2R $\alpha$  结合区域偶联一个稳定的分子量为 5 000 的直链 PEG, 用以降低药物与 IL-2R $\alpha$  的亲和力; 而在其 IL-2R $\beta$  结合区域, 则偶联一个可释放的分子量为 40 000 的直链 PEG 作为载体, 用以抑制原型药物的活性并保护其免于被机体清除。当药物注射到体内时, 在生理 pH 和温度条件下, 未修饰的、具有活性的原型药物会以预定的速率和方式进行释放, 进而发挥抗肿瘤作用。在灵长类动物模型中, TransConIL-2 $\beta$ / $\gamma$  表现出较低的血药峰浓度和较长的有效半衰期 (> 30 h)。相对于 CD $_4^+$  T 细胞、Treg 和嗜酸性粒细胞, TransConIL-2 $\beta$ / $\gamma$  更倾向于诱导 CD $_8^+$  T 细胞和 NK 细胞的激活和扩增, 同时没有引起细胞因子风暴或 CLS 的迹象<sup>[31]</sup>。目前, TransConIL-2 $\beta$ / $\gamma$  单药或与帕博利珠单抗联合使用治疗局部晚期或转移性实体瘤的 I / II 期临床试验正在进行中。

**1.5 8MW2311** 8MW2311 为迈威生物自主研发的一款 PEG 修饰的 IL-2 类似药。2022 年 2 月, 8MW2311 治疗晚期恶性肿瘤的临床试验申请获得国家药品监督管理局受理。该药注入体内后, 可刺激下游转录因子 STAT5 的磷酸化, 有效激发 CD $_8^+$  T 细胞的增殖, 从而发挥药效。临床前研究结果显示, 8MW2311 能在肿瘤组织中富集并可偏向性地激活 CD $_8^+$  T 细胞, 在多种肿瘤模型中显示出持续有效的生长抑制作用, 并且与免疫检查点抑制剂联用能表现出显著增强的协同抑瘤效果。

**2 定点突变** IL-2 与 IL-2R 结合晶体结构的解析, 为激发细胞类型特异性 IL-2 候选疗法的开发提供了重要的结构学信息, IL-2 对 Teff 和 Treg 的激活机制得以被进一步揭示。构建 IL-2 突变体并筛选受体偏向性 IL-2 类似药成为研究的热点之一。前文介绍的 SHR-1916 也是此类药物。

**2.1 RG7461** RG7461 是罗氏制药研发的一种靶向性的免疫细胞因子, 其含有一种工程化改造的 IL-2 突变体和成纤维细胞活化蛋白 (fibroblast activation protein,

FAP)。FAP 可在多种肿瘤细胞中表达<sup>[32]</sup>。罗氏制药通过对多个 IL-2R $\alpha$  结合区域的氨基酸进行突变筛选获得了能够显著降低与 IL-2R $\alpha$  结合的关键氨基酸位点, 如将 42 位苯丙氨酸 (Phe) 和 45 位酪氨酸 (Tyr) 突变成 Ala, 72 位亮氨酸 (Leu) 突变成甘氨酸 (Gly), 研发制成了 RG7461。该突变体对 IL-2R $\alpha$  的亲和力较低, 但能够维持与 IL-2R $\beta$  的正常结合<sup>[33]</sup>。目前, 正在开展 RG7461 与罗氏制药的阿替利珠单抗联合使用治疗晚期或转移性头颈癌、食道癌和宫颈癌的 II 期临床试验。

**2.2 FSD13** 基于 IL-2R 的三维空间结构, 上海科医联创联合美国马里兰大学和加利福尼亚大学洛杉矶分校通过氨基酸定点突变研发了一款高效、低毒的 IL-2 突变体 FSD13——其将 IL-2 上的 65 位脯氨酸 (Pro) 突变成 Lys, 以最小的构象变化基本消除了 IL-2 与 IL-2R $\alpha$  的结合<sup>[34]</sup>。临床前研究结果显示, 相对于野生型 IL-2, FSD13 对 CD $_4^+$ 、CD $_8^+$  T 细胞和 NK 细胞具有高效的激活和促增殖功能, 可显著增强 CD69 等的表达, 在体外具有强大的肿瘤杀伤效力。在黑色素瘤模型小鼠中, FSD13 表现出抑制肿瘤生长和转移的能力, 且能降低 Treg 的比例, 同时对肝脏和肺组织没有造成严重的毒副作用<sup>[35]</sup>。上海科医联创目前正联合免疫检查点抑制剂开展进一步的临床前研究。

**2.3 IBI363** IBI363 是信达生物研发的一款 PD-1/IL-2 抗体融合蛋白, 该药将突变的 IL-2 蛋白与抗 PD-1 抗体融合, 进而同时起到刺激 IL-2 通路并阻断 PD-1 免疫检查点的作用, 可用于晚期恶性实体瘤和淋巴瘤的治疗。信达生物采用其特有的酵母展示平台构建了突变文库, 通过对多个 IL-2R $\alpha$  和 IL-2R $\beta$  结合区域的氨基酸进行突变, 筛选获得了能够显著降低与 IL-2R $\alpha$  的结合能力、提高与 IL-2R $\beta$  的结合能力的关键突变位点, 同时引入糖基化位点进一步降低了该药与 IL-2R $\alpha$  的结合能力<sup>[36]</sup>。IBI363 不仅在多种荷瘤药理学模型中展现出了良好的抗肿瘤活性, 在 PD-1 耐药和转移模型中也表现出了突出的抑瘤效力; 同时, IBI363 作用于肿瘤模型食蟹猴的研究显示, 该药具有良好的耐受性, 并且在低至 0.03 mg · kg<sup>-1</sup> 的剂量下仍能诱导肿瘤消退, 显示出了强大的抗肿瘤作用<sup>[37]</sup>。目前正在中国和澳大利亚开展 IBI363 的 I / II 期临床试验。

**结语与展望** 细胞因子 IL-2 在 30 多年前获得美国 FDA 批准成为首个肿瘤免疫疗法制剂。近年来, PD-1 和 CTLA-4 负性免疫调节机制的发现和重塑了 IL-2 在肿瘤治疗方面的巨大潜力, 为开发更加安全有

效的肿瘤免疫疗法提供了新机遇。随着多种化学生物学新技术的引入,肿瘤免疫疗法已成为当下最引人注目的研究领域之一。如今,多款 IL-2 生物制品已经进入临床开发阶段,以 PEG 化学修饰和定点突变技术为代表开发的偏向性 IL-2 受体激动剂展现出良好的临床应用潜力。然而单一的开发策略存在一定的局限性。例如,PEG 修饰策略可能因不同的修饰位点而不完全一致,导致部分 IL-2 不能选择性地激活 CD8<sup>+</sup> T 细胞和 NK 细胞,从而影响候选疗法的效果;同时,PEG 修饰蛋白进入体内后难以有效控制 PEG 链降解的释放位点和释放速率,可能会导致 T<sub>eff</sub> 激活不足或激活过度等;此外,PEG 因其不可生物降解的特性,会在体内慢慢蓄积而表现出潜在的免疫原性<sup>[38]</sup>。IL-2 突变技术通过改变 IL-2 表面的氨基酸,可有效赋予 IL-2 蛋白与特定 IL-2R 结合的选择性,然而它的一个潜在隐患是引入的基因变异可能引发针对 IL-2 突变体的免疫反应,从而降低潜在疗法的疗效。

当前,IL-2 肿瘤免疫治疗药物的开发还没有真正成功的先例,BMS、Nektar Therapeutics 等头部企业的临床研究接连失利也给 IL-2 药物的研发增加了不确定性。然而,IL-2 这个“老”靶点对免疫细胞激活呈现的“双面性”仍将使其在未来竞争中占据一个重要位置。目前,国内在研的 IL-2 类似药有 10 余款,建议我国研发者一方面进一步深入研究和揭示肿瘤免疫的相互作用机制,在充分理解 IL-2 的免疫激活与抑制“双面性”的基础上,更加科学合理地选择开发策略;另一方面,考虑到单一开发策略存在的局限性,布局 IL-2 疗法的企业可选择联合运用多种开发策略,如 PEG 修饰/定点突变、定点突变/抗体融合等,通过不同策略之间的互补,实现更精准的 IL-2R $\beta$  受体偏向性和循环长效性,为临床应对恶性肿瘤提供有力武器。

#### [ 参考文献 ]

- [ 1 ] 董学良,王会霞,李冬,等.调强放疗联合化疗治疗食管癌患者的临床疗效与安全性[J].癌症进展,2022,20(5):453-456. DONG XL, WANG HX, LI D, *et al.* Clinical efficacy and safety of intensity-modulated radiotherapy combined with chemotherapy in the treatment of patients with esophageal cancer [J]. *Oncol Prog*, 2022, 20 ( 5 ) : 453-456.
- [ 2 ] JIANG HH, YU KF, CUI Y, *et al.* Combination of immunotherapy and radiotherapy for recurrent malignant gliomas: results from a prospective study [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 632547.
- [ 3 ] KHAN M, MAKER AV, JAIN S. The evolution of cancer immunotherapy [J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9 ( 6 ) : 614.
- [ 4 ] 王乐.肿瘤免疫疗法及临床应用的研究进展[J].河北医药,2022,44(16):2520-2525. WANG L. Research progress of tumor immunotherapy and its clinical application [J]. *Hebei Med J*, 2022, 44 ( 16 ) : 2520-2525.
- [ 5 ] ROSENBERG SA. IL-2: the first effective immunotherapy for human cancer [J]. *J Immunol*, 2014, 192 ( 12 ) : 5451-5458.
- [ 6 ] 梁家欣,罗中钦,聂东宋,等.白介素 2 研究进展[J].湖南理工学院学报:自然科学版,2022,35(2):18-21. LIANG JX, LUO ZQ, NIE DS, *et al.* Progress in research of interleukin-2 [J]. *J Hunan Inst Sci Technol Nat Sci*, 2022, 35 ( 2 ) : 18-21.
- [ 7 ] TANG A, HARDING F. The challenges and molecular approaches surrounding interleukin-2-based therapeutics in cancer [J]. *Cytokine X*, 2019, 1 ( 1 ) : 100001.
- [ 8 ] WANG XQ, RICKERT M, GARCIA KC. Structure of the quaternary complex of interleukin-2 with its alpha, beta, and gamma receptors [J]. *Science*, 2005, 310 ( 5751 ) : 1159-1163.
- [ 9 ] OVERWIJK WW, TAGLIAFERRI MA, ZALEVSKY J. Engineering IL-2 to give new life to T cell immunotherapy [J]. *Annu Rev Med*, 2021, 72: 281-311.
- [ 10 ] SPOLSKI R, LI P, LEONARD WJ. Biology and regulation of IL-2: from molecular mechanisms to human therapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18 ( 10 ) : 648-659.
- [ 11 ] BOYMAN O, SPRENT J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12 ( 3 ) : 180-190.
- [ 12 ] SIM GC, MARTIN-OROZCO N, JIN L, *et al.* IL-2 therapy promotes suppressive ICOS<sup>+</sup> Treg expansion in melanoma patients [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124 ( 1 ) : 99-110.
- [ 13 ] LANDGRAF BE, WILLIAMS DP, MURPHY JR, *et al.* Conformational perturbation of interleukin-2: a strategy for the design of cytokine analogs [J]. *Proteins*, 1991, 9 ( 3 ) : 207-216.
- [ 14 ] 钱梦歆,路建光,冯军.白介素-2及其类似药的研发进展[J].中国医药工业杂志,2020,51(8):947-955. QIAN MX, LU JG, FENG J. Research progress on interleukin-2 and its analogues [J]. *Chin J Pharm*, 2020, 51 ( 8 ) : 947-955.
- [ 15 ] STAUBER DJ, DEBLER EW, HORTON PA, *et al.* Crystal structure of the IL-2 signaling complex: paradigm for a heterotrimeric cytokine receptor [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103 ( 8 ) : 2788-2793.
- [ 16 ] KIM HP, LEONARD WJ. The basis for TCR-mediated regulation of the IL-2 receptor alpha chain gene: role of widely separated regulatory elements [J]. *EMBO J*, 2002, 21 ( 12 ) : 3051-3059.
- [ 17 ] MITRA S, LEONARD WJ. Biology of IL-2 and its therapeutic modulation: mechanisms and strategies [J]. *J Leukoc Biol*, 2018, 103 ( 4 ) : 643-655.
- [ 18 ] RICKERT M, WANG XQ, BOULANGER MJ, *et al.* The structure of interleukin-2 complexed with its alpha receptor [J]. *Science*, 2005, 308 ( 5727 ) : 1477-1480.
- [ 19 ] KLATZMANN D, ABBAS AK. The promise of low-dose interleukin-2 therapy for autoimmune and inflammatory diseases [J]. *Nat Rev*

- Immunol, 2015, 15 ( 5 ) : 283–294.
- [ 20 ] GENG YC, ZHANG QN, FENG SW, *et al.* Safety and efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors combined with radiotherapy in patients with non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis [ J ] . *Cancer Med*, 2021, 10 ( 4 ) : 1222–1239.
- [ 21 ] 刘红燕, 杨平. PD-1/PD-L1 抑制剂治疗晚期肝细胞癌的研究进展 [ J ] . *中国新药与临床杂志*, 2021, 40 ( 2 ) : 81–86. LIU HY, YANG P. Research progress of PD-1/PD-L1 inhibitors in treating advanced hepatocellular carcinoma [ J ] . *Chin J New Drugs Clin Rem*, 2021, 40 ( 2 ) : 81–86.
- [ 22 ] 王珊珊, 牛晓霞, 王颖, 等. 重组蛋白长效化策略 [ J ] . *药物生物技术*, 2022, 29 ( 3 ) : 291–299. WANG SS, NIU XX, WANG Y, *et al.* Long-term strategy of recombinant protein [ J ] . *Pharm Biotechnol*, 2022, 29 ( 3 ) : 291–299.
- [ 23 ] YANG JC, TOPALIAN SL, SCHWARTZENTRUBER DJ, *et al.* The use of polyethylene glycol-modified interleukin-2 ( PEG-IL-2 ) in the treatment of patients with metastatic renal cell carcinoma and melanoma. A phase I study and a randomized prospective study comparing IL-2 alone versus IL-2 combined with PEG-IL-2 [ J ] . *Cancer*, 1995, 76 ( 4 ) : 687–694.
- [ 24 ] CHARYCH DH, HOCH U, LANGOWSKI JL, *et al.* NKTR-214, an engineered cytokine with biased IL-2 receptor binding, increased tumor exposure, and marked efficacy in mouse tumor models [ J ] . *Clin Cancer Res*, 2016, 22 ( 3 ) : 680–690.
- [ 25 ] 褚建波, 沈群, 陈启云. 茆类衍生物的研究进展 [ J ] . *河南科技大学学报: 医学版*, 2015, 33 ( 2 ) : 154–156. CHU JB, SHEN Q, CHEN QY. Research advance on fluorene derivatives [ J ] . *J Henan Univ Sci Technol Med Sci*, 2015, 33 ( 2 ) : 154–156.
- [ 26 ] CHARYCH D, KHALILI S, DIXIT V, *et al.* Modeling the receptor pharmacology, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of NKTR-214, a kinetically-controlled interleukin-2 ( IL-2 ) receptor agonist for cancer immunotherapy [ J ] . *PLoS One*, 2017, 12 ( 7 ) : e0179431.
- [ 27 ] DIAB A, TYKODI SS, DANIELS GA, *et al.* Bempedalesleukin plus nivolumab in first-line metastatic melanoma [ J ] . *J Clin Oncol*, 2021, 39 ( 26 ) : 2914–2925.
- [ 28 ] MILLA ME, PTACIN JL, MA L, *et al.* 1225P THOR-707, a novel not-alpha IL-2, promotes all key immune system anti-tumoral actions of IL-2 without eliciting vascular leak syndrome ( VLS ) [ J ] . *Ann Oncol*, 2019, 30 : v501.
- [ 29 ] JANKU F, ABDUL-KARIM R, AZAD A, *et al.* 20 poster discussion preliminary results from an open-label, multicenter phase 1/2 dose escalation and expansion study of THOR-707, a novel not-alpha IL-2, as a single agent in adult subjects with advanced or metastatic solid tumors [ J ] . *Eur J Cancer*, 2020, 138: S11.
- [ 30 ] 陈磊, 胡齐悦, 葛虎, 等. 一种人白细胞介素 2 变体或其衍生物: CN113383013B [ P ] . 2022–11–04. CHEN L, HU QY, GE H, *et al.* A variant of human interleukin-2 or its derivatives: CN113383013B [ P ] . 2022–11–04.
- [ 31 ] ROSEN DB, KVARNHAMMAR AM, LAUFER B, *et al.* TransCon IL-2  $\beta/\gamma$ : a novel long-acting prodrug with sustained release of an IL-2R  $\beta/\gamma$ -selective IL-2 variant with improved pharmacokinetics and potent activation of cytotoxic immune cells for the treatment of cancer [ J ] . *J Immunother Cancer*, 2022, 10 ( 7 ) : e004991.
- [ 32 ] NICOLINI V, WALDHUER I, FREIMOSER G A, *et al.* Abstract 2217: combining CEA-IL2v and FAP-IL2v immunocytokines with PD-L1 checkpoint blockade [ J ] . *Cancer Res*, 2016, 76 ( 14S ) : 2217.
- [ 33 ] 阿斯特, 布鲁恩克, 弗雷莫瑟格伦德肖伯, 等. 突变体白细胞介素-2 多肽: CN112210000A [ P ] . 2021–01–12.
- [ 34 ] 宋波. 低诱导抑制性 T 细胞的人白细胞介素 II 突变体及其用途: CN102101885A [ P ] . 2011–06–22. SONG B. Human interleukin II mutants with low inducible inhibitory T cells and their uses: CN102101885A [ P ] . 2011–06–22.
- [ 35 ] CHEN X, AI XJ, WU CL, *et al.* A novel human IL-2 mutein with minimal systemic toxicity exerts greater antitumor efficacy than wild-type IL-2 [ J ] . *Cell Death Dis*, 2018, 9 ( 10 ) : 989.
- [ 36 ] 康立山, 顾春银, 付凤根, 等. 新型白细胞介素 2 及其用途: CN112105633A [ P ] . 2020–12–18. KANG LS, GU CY, FU FG, *et al.* Novel interleukin 2 and its use: CN112105633A [ P ] . 2020–12–18.
- [ 37 ] MORTARA L, BALZA E, BRUNO A, *et al.* Anti-cancer therapies employing IL-2 cytokine tumor targeting: contribution of innate, adaptive and immunosuppressive cells in the anti-tumor efficacy [ J ] . *Front Immunol*, 2018, 9 : 2905.
- [ 38 ] ZAMAN R, ISLAM RA, IBNAT N, *et al.* Current strategies in extending half-lives of therapeutic proteins [ J ] . *J Control Release*, 2019, 301: 176–189.