



电子、语音版

·综述·

## 双特异性抗体免疫疗法在胶质母细胞瘤治疗中的研究进展

王贺璐<sup>1</sup>, 胡德豫<sup>1</sup>, 李智健<sup>1</sup>, 张洪涛<sup>2</sup>

1. 山东第二医科大学临床医学院, 山东 潍坊 261000

2. 烟台毓璜顶医院神经外科, 山东 烟台 264000

**摘要:** 胶质母细胞瘤(GBM)的治疗因免疫抑制微环境、血脑屏障(BBB)阻隔及高度异质性而面临严峻挑战,对免疫检查点抑制剂(ICIs)等传统疗法反应不佳。双特异性抗体(BsAb)通过同时桥接T细胞与肿瘤抗原(如EGFRv III、HER2、B7-H3等),在临床前研究中展现出克服GBM治疗困境的潜力。该综述系统分析了BsAb(包括双特异性T细胞衔接器BiTE)在GBM治疗中的研究进展与作用机制。如靶向上述抗原的BsAb能有效激活T细胞、促进其肿瘤浸润并特异性杀伤GBM细胞,提高多种临床前模型(如原位异种移植模型、人源化模型)的生存率;以及BiTE疗法在诱导持久抗肿瘤效应方面亦显示出前景。

**关键词:** 胶质母细胞瘤;免疫治疗;耐药性;免疫微环境;血脑屏障;免疫抑制剂;双特异性抗体

中图分类号:R739.41

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2025.04.010

### Research advances in bispecific antibody immunotherapy in treatment of glioblastoma

WANG Helu<sup>1</sup>, HU Deyu<sup>1</sup>, LI Zhijian<sup>1</sup>, ZHANG Hongtao<sup>2</sup>

1. School of Clinical Medicine, Shandong Second Medical University, Weifang, Shandong 261000, China

2. Department of Neurosurgery, Yantai Yuhuangding Hospital, Yantai, Shandong 264000, China

Corresponding author: ZHANG Hongtao, Email: doctorzht@163.com

**Abstract:** There are still significant challenges in the treatment of glioblastoma (GBM) due to the immunosuppressive microenvironment, the blood-brain barrier (BBB), and high heterogeneity, and there is a poor responses to conventional therapies such as immune checkpoint inhibitors (ICIs). Bispecific antibody (BsAb), which can simultaneously bridge T cells and tumor antigens (such as EGFRv III, HER2, and B7-H3), have shown certain potential in overcoming the therapeutic challenges of GBM in preclinical studies. This article systematically reviews the research advances and mechanisms of action of BsAb, including bispecific T-cell engager (BiTE), in the treatment of GBM. Studies have shown that BsAb targeting the aforementioned antigens can effectively activate T cells, promote their tumor infiltration, and specifically kill GBM cells, thereby significantly improving survival rates in various preclinical models (such as orthotopic xenograft models and humanized models), and BiTE therapy has also shown promise in inducing durable antitumor effects.

**Keywords:** glioblastoma; immunotherapy; drug resistance; tumor immune microenvironment; blood-brain barrier; immunosuppressant; bispecific antibody

胶质母细胞瘤(Glioblastoma, GBM)是常见的恶性脑肿瘤,具有强侵袭性和治疗抵抗性,经典的Stupp方案(手术、放疗、化疗)虽有效,但复发率高<sup>[1-2]</sup>。免疫治疗的出现,特别是程序性死亡受体1/程序性死亡受体-配体1(programmed cell death protein-1/programmed cell death 1-

ligand 1, PD-1/PD-L1)抑制剂,通过阻断肿瘤免疫逃逸,增强免疫细胞识别癌细胞,是恶性肿瘤治疗的重大进步<sup>[3]</sup>。其单独使用时往往存在耐药性和疗效限制<sup>[4]</sup>,而双特异性抗体(bispecific antibody, BsAb)能同时靶向多种免疫调节分子,与传统联合免疫治疗相比,BsAb在降低

收稿日期:2024-12-15;修回日期:2025-06-10

作者简介:王贺璐(1998—),男,专业型硕士在读,学士学位,主要从事于脑胶质瘤的机制及治疗研究。Email: whl18714504793@163.com。

通信作者:张洪涛(1975—),男,主任医师,博士学位,主要从事于神经外科脑肿瘤疾病的诊治与研究。Email: doctorzht@163.com。

副作用的同时,可以增强治疗效果,为GBM治疗提供新思路。本文对BsAb在脑肿瘤免疫治疗中的应用做一综述,以此为GBM的治疗提供新思路。

### 1 GBM治疗的障碍

GBM被称为“免疫冷瘤”<sup>[5]</sup>,其治疗面临多个复杂障碍。首先,GBM的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)具有免疫抑制特性,表现为免疫抑制蛋白过度表达以及T细胞功能衰竭,这有效抑制了免疫系统的抗肿瘤反应<sup>[6]</sup>。其次,血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的存在大大限制了抗肿瘤药物的渗透,进而削弱了治疗效果。再者,GBM具有较强的肿瘤异质性,包括亚克隆群体对治疗的不同反应以及TME对肿瘤干细胞状态的调节,这增加了治疗的复杂性<sup>[7]</sup>。此外,GBM的异常血管系统和缺氧的微环境为肿瘤细胞提供了逃避治疗的有利条件,进一步导致了GBM对传统治疗方法的耐药性<sup>[8]</sup>。这些因素相互作用,使得GBM的治疗变得更加艰巨,亟需新的治疗策略<sup>[9]</sup>。

## 2 GBM免疫治疗及其局限性

### 2.1 免疫治疗的分类

目前,癌症免疫治疗主要依赖于系统性抗体输送,主要包括免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)和BsAb。ICIs作为单克隆抗体,主要通过抑制免疫检查点信号通路,解除免疫系统的刹车,增强T细胞对肿瘤的免疫反应<sup>[10]</sup>。相较之下,BsAb通过同时结合肿瘤细胞和T细胞,促进细胞溶解并激活先天免疫反应,从而增强抗肿瘤免疫效果<sup>[11]</sup>。ICIs的疗效依赖于T细胞识别肿瘤特异性新抗原,这些新抗原由癌细胞表面的主要组织相容性复合体(MHC)分子呈递。尽管ICIs在多种癌症中显示了疗效,但其响应率仅为10%~30%<sup>[12]</sup>。因此,ICIs的疗效有限,加之联合治疗策略在临床中的成功应用,激发了创新的双重治疗策略的研究。这些策略通过同时阻断2个免疫抑制检查点或结合两种细胞类型,以BsAb的形式,为GBM的治疗带来了新的视角(见图1,表1)。

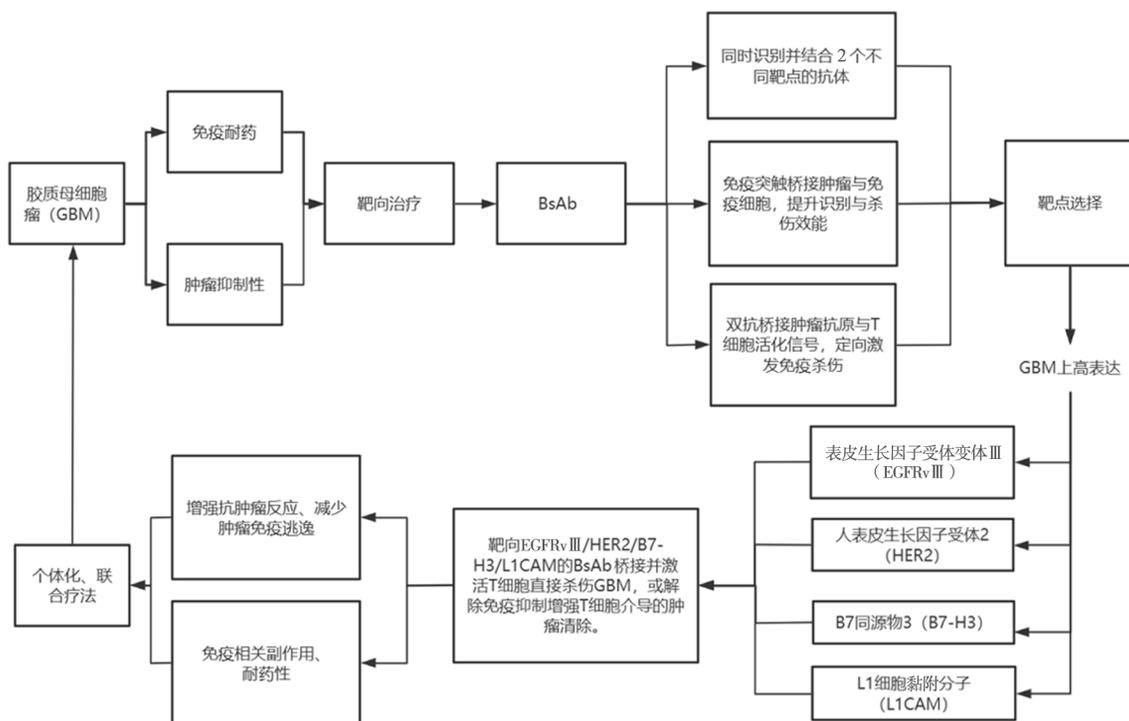


图1 关于GBM的BsAb免疫治疗机制

表1 涉及主要文献中的ICIs及BsAb在GBM中的研究进展

文章DOI及作者	发表时间	病例数量	方法	结果	结论
DOI: 10.1093/neuonc/nox208. Antonio Omuro, et al <sup>[13]</sup>	2017年(会议展示)/2018年(全文发表)	40例	尼伏利姆单抗(Nivolumab, PD-1抑制剂)单独或联合伊匹木单抗(Ipilimumab, CTLA-4抑制剂)	尼伏利姆单抗单独治疗的中位OS为9.8个月,联合治疗的OS为10.0个月。响应率为0%~11%,其中3例患者(7.5%)出现部分缓解	尼伏利姆单抗在rGBM中显示出一定的生存益处,但整体响应率较低,提示单一ICIs可能不足以克服GBM的免疫逃逸机制
DOI: 10.1016/S1470-2045(14)71170-2. Max S Topp, et al <sup>[14]</sup>	2015年1月	189例	Blinatumomab治疗,连续静脉注射,第1周期9 μg/d,随后28 μg/d,每个周期4周,共5个周期	CR/CRh率:43%(81/189),其中63例(33%)达到CR,18例(9.5%)达到CRh。中位PFS为5.9个月,OS为6.1个月	单药Blinatumomab在成人复发或难治性B细胞前体急性淋巴细胞性白血病(ALL)患者中显示出抗白血病活性,特别是对于具有不良预后因素的患者
DOI: 10.1200/JCO.23.02329. Lihua E Budde, et al <sup>[15]</sup>	2024年3月	229例	Mosunetuzumab治疗,CD20×CD3 BsAb,固定剂量,门诊给药	惰性非霍奇金淋巴瘤(indolent non-Hodgkin lymphoma, iNHL)患者中65.7%达到完全或部分反应;侵袭性非霍奇金淋巴瘤(aggressive non-Hodgkin lymphoma, aNHL)患者中36.4%达到反应。iNHL:12.2个月的中位PFS;aNHL:1.4个月的中位PFS	Mosunetuzumab在复发/难治性iNHL和aNHL患者中显示出持久的反应,且耐受性良好。该药物可作为可用的治疗选择,并在多条治疗线中显示出有效性
DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0126. Patrick C. Gedeon, et al <sup>[16]</sup>	2018年8月	体外实验和体内模型	生产全人源BsAb(hEGFRv III-CD3 bi-scFv)。体外实验评估T细胞激活、细胞因子分泌和增殖。体内实验评估肿瘤生长和生存率	hEGFRv III-CD3 bi-scFv能够激活T细胞、诱导分泌促炎细胞因子和增殖,并且在体内模型中减少肿瘤负担和延长生存期	开发了一种临床上可转化的BsAb,能够安全有效地治疗恶性胶质瘤。基于这些结果,已开展针对EGFRv III阳性GBM患者的hEGFRv III-CD3 bi-scFv临床研究
DOI: 10.1186/s13045-017-0522-z. Shengnan Yu, et al <sup>[17]</sup>	2017年	体外实验和体内模型(如U87-MG, U118-MG, U251-MG)	1. 开发靶向CD3和HER2的BsAb;2. 体外评估T细胞激活、细胞因子分泌、增殖;3. 体内评估肿瘤生长与生存期	1. 体外实验中,BsAb能激活T细胞,促进细胞因子分泌;2. 体内模型中,治疗组肿瘤生长被抑制,生存期延长	BsAb在GBM治疗中显示出良好的抗肿瘤活性,然而临床效果未完全达到预期,未来应关注肿瘤特异性抗原的筛选与应用
DOI: 10.1136/jitc-2023-008744. Maxim Yankelevich, et al <sup>[18]</sup>	2024年	9例可评估患者(神经母细胞瘤5例,骨肉瘤3例,纤维肉瘤1例)	3+3剂量递增的I/II期临床试验(NCT02173093),抗-CD3×抗-GD2的BsAb(GD2武装的T细胞(GD2 BATs))。结合IL-2和GM-CSF治疗	1. 所有患者均出现轻度细胞因子释放综合征(CRS);2. I期研究中,9例患者中无客观反应,2年无事件生存率为66%;II期研究中,1例患者部分缓解,5例稳定,4例进展;3. I期中位OS为18.0个月,II期为31.2个月	GD2BATs的安全性和可行性得到验证,显示出对GBM的临床活性,支持进一步的II期临床试验
DOI: 10.1021/acsnano.2c12217. Rangrang Fan, et al <sup>[19]</sup>	2023年	使用U87细胞系进行体外实验和小鼠模型进行体内实验	生产抗-B7-H3×CD3的BsAb,结合MMP-2敏感纳米颗粒(S-biAb/dEGCG@NPs)治疗。评估T细胞活化、细胞因子分泌、肿瘤细胞的铁死亡	1. S-biAb/dEGCG@NPs显示出增强的靶向递送和肿瘤积累;2. 治疗组小鼠生存期延长,表现出良好的抗肿瘤效果;3. 观察到T细胞浸润和细胞因子(如IFN-γ、TNF-α、IL-2)水平增加	该治疗策略在GBM中具有良好的安全性和有效性,支持进一步的临床研究
DOI: 10.1016/j.biopha.2024.116565. Yuan Yuan, et al <sup>[20]</sup>	2024年	体外实验和体内模型	设计并表征了一种新的BsAb(CE7-TCE),基于IgG-(L)-ScFv格式,同时靶向L1CAM和CD3。体外实验包括细胞特异性杀伤实验,细胞-细胞共培养实验,细胞-细胞共培养分析,T细胞激活生物测定等。体内实验包括人类外周血单个核细胞/肿瘤模型	体外实验中,CE7-TCE能特异性识别并杀伤L1CAM阳性肿瘤细胞,并激活T细胞。在外周血单个核细胞共培养实验中,CE7-TCE增强T细胞毒性活性,并提升抗肿瘤反应。体内实验中,CE7-TCE治疗的小鼠模型抑制肿瘤生长	CE7-TCE能有效激活T细胞,特异性杀伤L1CAM阳性肿瘤细胞,具有较强的抗肿瘤效果,且在肿瘤免疫治疗中展示了潜力,尤其是在L1CAM阳性肿瘤的靶向治疗上

2.2 免疫抑制剂

免疫治疗已成为针对特定肿瘤类型的重要治疗策略,其中ICIs的研究与应用取得了显著进展。这些抑制剂为靶向单克隆抗体,作用于调节T细胞激活的分子,如PD-1/PD-L1、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4, CTLA-4)、T细胞免疫

球蛋白黏蛋白3(T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3, TIM-3)等经典免疫检查点(见图2)。在临床前和临床试验中,这些抑制剂通过阻断PD-1与其配体PD-L1之间的相互作用(见图3),有效增强了T细胞对肿瘤的免疫应答<sup>[15,21]</sup>。

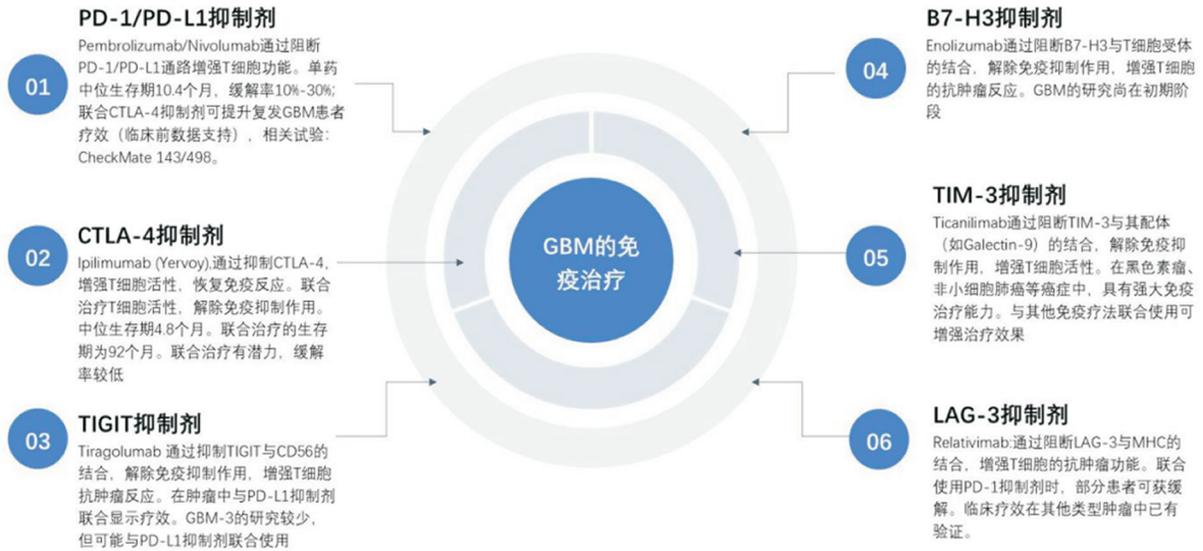


图2 关于各种ICIs在GBM中的应用

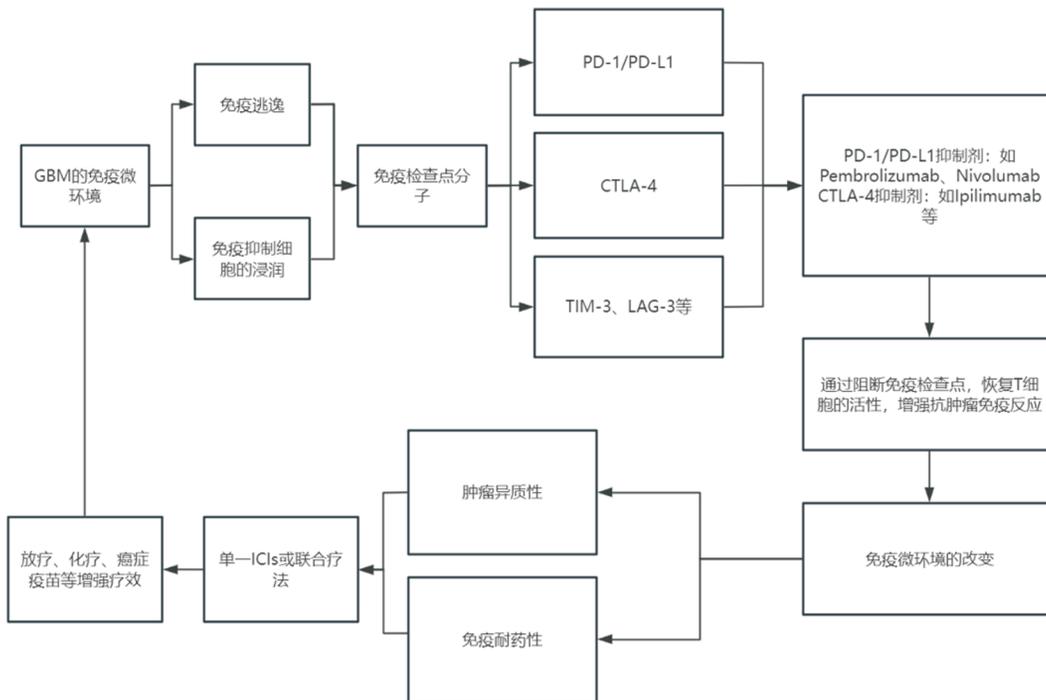


图3 关于GBM中ICIs免疫治疗机制

然而,在某些肿瘤类型,如GBM,单独使用ICIs的疗效并不理想。例如,在GBM的Checkmate 143 I期研究中,40例接受Nivolumab±Ipilimumab治疗的患者显示出有限的疗效,中位生存期为7~10个月,缓解率仅0%~11%。此外,与贝伐单抗(靶向血管内皮生长因子的抗血管生成药物)相比,Nivolumab未表现出显著的改善效果。作为单一疗法,ICIs未能在GBM患者中达到预期的治疗效果,这可能是由于肿瘤通过多种冗余且重叠的免疫抑制机制逃逸免疫攻击<sup>[13]</sup>。

值得注意的是,在该研究中,Nivolumab单药治疗的患者中位总生存期(overall survival, OS)为10.4个月,而接受联合治疗(Nivo I+Ipi 3或Nivo 3+Ipi 1方案)的患者中位生存期分别为9.2和7.3个月,显示单药治疗组的生存期相对较长。此外,只有联合治疗组出现了3级或以上的不良事件,这提示研究者在今后的临床研究中,应对联合ICIs策略进行更深入的探索<sup>[22]</sup>。

鉴于TME的复杂性以及免疫反应的精细调控,联合治疗策略被提出并认为具有潜在的协同效应。特别是,

抗PD-1和抗CTLA-4的联合治疗在GBM治疗中显示出较好的疗效前景。2016年的一项病例系列研究<sup>[13]</sup>显示,20例复发性GBM(recurrent Glioblastoma, rGBM)患者接受Ipilimumab与贝伐单抗联合治疗后,约31%的患者实现了部分缓解。此外,一项II期试验(NCT02794883)评估了抗CTLA-4单克隆抗体与抗PD-L1抗体在rGBM患者中的单一疗法与联合疗法效果。结果显示,单独使用抗CTLA-4单克隆抗体治疗的患者中,41.7%出现了5级疾病进展,而在联合治疗组中,该比例降至18.2%。表1汇总了ICIs及BsAb相关研究进展,综合分析可见,ICIs单药治疗GBM响应率低、生存获益有限,疗效不佳。相比之下,BsAb在血液瘤(如ALL、NHL)中疗效显著,提示其强大潜力;在实体瘤(含GBM)的临床前及早期临床研究中也显示积极信号(如激活T细胞、抑制肿瘤)。然而,BsAb用于GBM仍面临毒性、实体瘤疗效验证及BBB穿透等挑战。这些结果凸显了GBM免疫治疗的复杂性,强调了探索新策略(如BsAb)及优化联合治疗的必要性。在此背景下,Ipilimumab与Nivolumab的脑内注射联合治疗在NCT03233152试验中也被证实是安全且可行的,并对GBM展现出一定的疗效。动物模型研究进一步证实了CTLA-4/PD-1联合治疗的有效性,为联合免疫治疗策略的持续发展和优化提供了坚实的科学依据<sup>[23]</sup>。

2.3 免疫抑制剂的耐药性

GBM的TME表现出免疫抑制特性,形成了一个自我维持的抑制网络,从而为其耐药性提供了基础。GBM的耐药性可分为内源性和外源性两大类:内源性耐药与肿瘤细胞内部的多种变异相关,这些变异涉及免疫识别、细胞信号传导、基因表达调控以及DNA损伤修复等关键机制;而外源性耐药则与影响T细胞激活过程的外部因素密切相关<sup>[24]</sup>。

尽管GBM通常表现为低突变负荷,限制了免疫治疗

的效果,但替莫唑胺(Temozolomide, TMZ)治疗可能会诱发具有高突变负荷的抗药性克隆<sup>[14,25]</sup>。这些突变丰富的克隆虽能改变肿瘤的免疫特征,但由于其突变类型的特殊性,可能不足以有效激发免疫反应,特别是在错配修复缺陷型GBM中。这类肿瘤通常表现为T细胞浸润较少、肿瘤异质性较高且生存率较低,对ICIs的反应也较差。这些发现突显了深入理解TME复杂性的必要性,并强调了开发新策略以克服耐药性并提高免疫治疗敏感性的重要性<sup>[15]</sup>。

3 BsAb:血液肿瘤治疗的突破

BsAb在血液病治疗领域取得了突破性进展,特别是在急性淋巴细胞性白血病(ALL)和非霍奇金淋巴瘤(NHL)的治疗中表现突出<sup>[14]</sup>。例如,CD19/CD3双抗Blinatumomab在复发/难治性ALL治疗中实现43%~69%的完全血液学反应率,80%患者达到最小残留病阴性;而CD20/CD3双抗Mosunetuzumab在惰性NHL患者中缓解率达65.7%,中位无进展生存期(progression free survival, PFS)达12.2个月。这些临床数据证实BsAb显著提升治疗响应率和生存期,为个性化及联合治疗策略奠定基础<sup>[15-16,26]</sup>。尽管如此,将BsAb应用于其他类型的癌症,特别是实体瘤,仍面临一些挑战。一个主要难题是肿瘤特异性抗原的稀缺性,尤其是在GBM中。尽管如此,针对过度表达的蛋白质,如野生型表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、B7同源物3蛋白(B7 homolog 3 protein, B7-H3)和人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)等,仍然为T细胞BsAb的开发提供了潜在靶点(见表2)。因此,尽管面临挑战,BsAb的广泛研究不仅提高了免疫治疗的敏感性和有效性,还深化了研究者对TME复杂相互作用的理解,并推动了新策略的开发,以克服肿瘤的耐药性问题<sup>[27]</sup>。

表2 GBM治疗中靶向双分子的BsAb关键研究

靶点	BsAb名称	靶向免疫分子	研究进展	治疗效果	潜在应用
EGFRv III/CD3	EGFRv III-TCB (bi-scFv)	EGFRv III, CD3	抑制肿瘤负荷和延长生存期;在小鼠模型中显示出积极的治疗反应,增强T细胞浸润	体外表现出剂量依赖性的裂解效应;小鼠模型中的肿瘤生长抑制	首次人体临床试验(NCT05187624)中的应用潜力
CD3/HER2	HER2Bi, EGFRBi	CD3, HER2,	激活T细胞并产生显著的杀伤效应;3种Th1型细胞因子分泌增加	显著增强免疫细胞的攻击能力;T细胞在体外和体内展现抗肿瘤活性	临床研究中评估EGFRmimicellsPac的安全性
B7-H3/CD3	Anti-B7-H3×CD3	B7-H3, CD3	针对B7-H3的BsAb显示出抗肿瘤效果;提高T细胞浸润并促进关键细胞因子分泌	增加肿瘤组织中CD8 <sup>+</sup> T细胞数量;抑制肿瘤生长和延长生存期	结合纳米技术提升治疗效果
CD3/L1CAM	CE7-TCE	CD3,L1CAM	抗肿瘤活性,在体外和小鼠模型中有效抑制肿瘤生长;与Pembrolizumab联合使用时增强抗肿瘤效果	结合免疫治疗策略,进一步增强抗肿瘤效果	为L1CAM阳性GBM提供新的治疗策略

## 4 靶向不同免疫分子的BsAb在GBM治疗中的应用

### 4.1 靶向EGFRvⅢ和CD3

表皮生长因子受体变体Ⅲ(epidermal growth factor receptor variant Ⅲ, EGFRvⅢ)是一种在GBM等肿瘤中特异性表达的酪氨酸激酶受体,因此成为免疫治疗的理想靶点。研究表明,抗体重定向T细胞疗法比EGFRvⅢ靶向疫苗更能产生持久的免疫反应<sup>[28]</sup>。靶向EGFRvⅢ和CD3的EGFRvⅢ-TCB(BsAb)在小鼠皮下和原位肿瘤模型中,即使EGFRvⅢ的表达存在异质性,患者来源的恶性胶质瘤细胞仍能表现出积极的治疗反应。通过静脉注射hEGFRvⅢ-CD3双单链可变片段(bi-scFv)后,研究显示这一方法降低肿瘤负荷,并延长生存期。这一效果在高度浸润性的同基因GBM模型中也得到了验证<sup>[16]</sup>。

体外实验进一步证实,hEGFRvⅢ-CD3 bi-scFv对EGFRvⅢ阳性U87-MG-EGFRvⅢ胶质瘤细胞具有剂量依赖性的裂解效应,而对EGFRvⅢ阴性细胞无效。在患者来源的GBM样本中,hEGFRvⅢ-CD3 bi-scFv诱导了肿瘤细胞裂解,延长了生存期,减少了肿瘤负担,并促进了T细胞向肿瘤组织的浸润。此外,hEGFRvⅢ-CD3 bi-scFv联合一种表儿茶素二聚体的衍生物(dEGCG)能够通过降低谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)和增加脂质过氧化物(LPO),增强干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )诱导的肿瘤细胞铁死亡,从而提高治疗效果<sup>[29]</sup>。在Hu-CD34阳性NOD scid gamma小鼠的颅内GBM异种移植模型中,接受EGFRvⅢ-TCB治疗的小鼠显示出显著的肿瘤生长抑制,并展现出明显的抗肿瘤效果。静脉注射BsAb在胶质瘤小鼠模型中成功诱导了一致的抗肿瘤反应,且无明显毒性,完全缓解率高达75%<sup>[30]</sup>。综上所述,EGFRvⅢ-TCB在原位人源化模型、U87MG-EGFRvⅢ细胞系以及小鼠PDX模型中均展现出较强的抗肿瘤活性,支持其在EGFRvⅢ阳性GBM中的临床评估,特别是在首次人体临床试验(NCT05187624)中的应用潜力<sup>[17]</sup>。

### 4.2 靶向CD3和HER2

野生型EGFR和HER2在GBM中的过度表达同样使其成为免疫治疗的理想靶点<sup>[31]</sup>。研究人员通过化学异偶联技术制备的抗CD3 $\times$ 抗HER2(HER2Bi)和抗CD3 $\times$ 抗EGFR(EGFRBi)的BsAb,能够激活T细胞并对恶性胶质瘤细胞系(如U87MG、U118MG和U251MG)及原发性GBM细胞系产生杀伤效应。研究还记录了3种Th1型细胞因子即IFN- $\gamma$ 、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子和肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )及1种Th2型细胞因子为白细胞介素-13的分泌增加,进一步增强了免疫细胞的激活能力和对肿瘤的攻击<sup>[32]</sup>。尤其EGFRBi装载的T细胞无论是在体外实验还是体内模型

中,都展现出很强的抗肿瘤活性。在一项临床研究中,评估了靶向EGFR并装载紫杉醇微型细胞制剂(EGFRminicellsPac)的安全性。研究结果显示,在22例完成第1周期治疗的患者中,10例病情稳定,12例病情进展。总体而言,该研究表明EGFRminicellsPac能安全地应用于晚期实体瘤患者。上述研究结果强调了BsAb在GBM治疗中的潜力,它们不仅能激活免疫细胞,还能增强对肿瘤的攻击,并可能改善患者的预后<sup>[17]</sup>。

### 4.3 靶向B7-H3和CD3

B7-H3和GD2是神经母细胞瘤(Neuroblastoma, NB)BsAb治疗的有效靶点。尽管靶向GD2的单抗(如ch14.18、3F8)提高了高危NB生存率,但复发率高且对大肿瘤效果有限<sup>[33]</sup>。为克服此局限,GD2靶向 $\times$ CD3的双抗(GD2BATs)用于难治/复发NB的I/II期试验:虽客观缓解率低,但延长了中位OS,且超50%患者治疗后免疫反应增强。GD2BATs被证明安全、可激活免疫,提示其在GBM等瘤种也有潜在价值<sup>[18, 34]</sup>。而B7-H3作为B7超家族成员之一,在70%以上的GBM病例中过度表达,并与不良预后密切相关。由于B7-H3在正常脑组织中的表达较低,因此它不仅是潜在的生物标志物,也成为GBM免疫治疗中的一个重要靶点<sup>[35-36]</sup>。有研究者开发了靶向T细胞的CD3受体和肿瘤细胞B7-H3抗原的BsAb(Anti-B7-H3 $\times$ CD3),并结合MMP-2响应型纳米颗粒(S-biAb/dEGCG@NPs)精准递送dEGCG,可提高治疗效果<sup>[20]</sup>。在使用U87-Luc GBM细胞株建立的NCG小鼠模型中,接受S-biAb/dEGCG@NPs治疗的小鼠表现出强的肿瘤生长抑制和生存期延长,验证了该治疗策略的有效性。此外,该治疗增加了肿瘤组织中浸润性T细胞,尤其是CD8<sup>+</sup>T细胞的数量,并促进了IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 和IL-2等关键细胞因子的分泌,从而改善了肿瘤免疫微环境<sup>[37]</sup>。通过结合纳米技术与免疫治疗策略,靶向B7-H3的BsAb治疗在GBM治疗中展现出良好的效果,有效提升了治疗的整体疗效<sup>[38]</sup>。

### 4.4 靶向CD3和L1CAM

L1CAM因其在GBM的发生、发展及侵袭性中的关键作用,成为GBM潜在的治疗靶点。作为免疫球蛋白超家族的跨膜糖蛋白,L1CAM广泛参与神经系统的发育和再生。研究表明,L1CAM通过与自身及其他细胞黏附分子(如2-氨基-6-甲氧基嘌呤)的相互作用,促进GBM细胞的迁移、侵袭和转移。特别是在高恶性度的GBM中,L1CAM的表达升高,进一步激活内外部信号通路,增强肿瘤细胞的增殖与抗凋亡能力<sup>[39]</sup>。此外,L1CAM与其他细胞表面标志物(如CD24)的相互作用也推动了肿瘤的侵袭和转移。免疫共沉淀和下拉实验表明,L1CAM与CD24

形成复合体,协同促进肿瘤进展<sup>[40]</sup>。针对 L1CAM 和 CD24 的单克隆抗体能够有效抑制这一复合体,显示了 L1CAM 作为靶向治疗标志物的潜力。尽管已有 L1CAM 单克隆抗体和 CAR-T 细胞疗法在临床中取得一定成果,但其疗效仍有限。因此, BsAb 的研发为 L1CAM 阳性肿瘤的治疗提供了新的机会。BsAb 能够同时识别 2 个不同的抗原, T 细胞引导型 BsAb (TCE) 通过重定向 CD3<sup>+</sup> T 细胞的细胞毒性活动来杀伤肿瘤细胞。研究人员设计并鉴定了新型 BsAbCE7-TCE, 采用 IgG-(L)-ScFv 格式, 能够同时靶向 L1CAM 和 CD3。在体外实验中, CE7-TCE 表现出良好的抗肿瘤活性, 且在肿瘤小鼠模型中有效抑制肿瘤生长<sup>[20]</sup>。与 Pembrolizumab 联合使用时, CE7-TCE 进一步增强了抗肿瘤效果。结合免疫治疗策略, CE7-TCE 为 L1CAM 阳性 GBM 的治疗提供了新的视角和可能性<sup>[41]</sup>。

综上所述, L1CAM 不仅通过促进 GBM 细胞的迁移、侵袭和转移加剧肿瘤的恶性特征, 还与 CD24 等分子协同推动肿瘤进展。L1CAM 在 GBM 中的高表达和特异性, 使其成为理想的靶向治疗标志物。结合 BsAb 技术与 ICIs 的联合治疗, 为 L1CAM 阳性 GBM 提供了新的治疗策略, 具有重要的临床应用潜力。

## 5 双特异性抗体结合剂

双特异性抗体结合剂 (bispecific T-cell engager, BiTE) 通过诱导 T 细胞调节性细胞表达颗粒酶和穿孔素, 从而提供了一种新的肿瘤细胞溶解机制。实验研究显示, 在接受 BiTE 治疗的颅内 GBM 小鼠模型中, 75% 的小鼠实现了持久治愈<sup>[42]</sup>。

目前, 针对 EGFRv III 的 BiTE 疗法正在进入临床阶段。例如, Amgen 公司开发的 AMG596 目前正在进行 I 期临床试验, 以评估其安全性和药代动力学特性 (NCT03296696)。另一个针对 EGFRv III 的 BiTE 疗法——hEGFRv III-CD3 BiTE, 计划在不久的将来启动 I 期临床试验 (NCT04903795)。该疗法结合了两种已证明安全有效的单克隆抗体: 分别针对 EGFRv III 和 CD3 的抗体, 并将探索其作为单一疗法的应用, 尤其是与 T 细胞输注的联合使用。晚期肿瘤通过 T 细胞耗竭和凋亡来逃避免疫反应<sup>[43]</sup>。然而, GBM 患者肿瘤内 CD8<sup>+</sup> 细胞毒性 T 淋巴细胞数量的增加是良好预后的一个重要指标。这一发现表明, BiTE 疗法通过增强 T 细胞的活性和数量, 可能为 GBM 患者提供有效的治疗方案。

## 6 总结与展望

BsAb 和 BiTE 在 GBM 的治疗中展示了较强的潜力。然而, 这些治疗策略仍面临一些关键挑战, 特别是在确保药物能够有效穿透 BBB、降低潜在的免疫原性, 以及管理治疗相关的毒副作用 (如细胞因子释放综合征) 方面。首

先, 确保 BsAb 具有高度的靶向特异性至关重要。为了避免对靶抗原低表达的正常组织造成损伤, 抗体亲和力和空间构型的优化这一方法被提出, 成为有效的解决方案。这些调节有助于增强抗体在肿瘤部位的聚集, 同时减少对正常组织的影响。此外, 将 BsAb 与其他治疗手段 (如 ICIs 或放疗) 联合使用可能显著提高治疗效果。这些联合治疗策略可以更全面地调动免疫系统, 克服肿瘤的免疫逃逸机制。最新的自我组装和解组装平台技术, 为优化治疗效果并降低毒副作用提供了新的可能性。这一技术可以精确控制抗体的释放, 从而减少治疗过程中的不良反应。

尽管面临挑战, 随着研究的不断深入和技术的持续创新, BsAb 和 BiTE 有望成为治疗 GBM 的重要工具。通过不断优化这些治疗策略并进行临床试验, 它们可能为患者提供更有效的治疗选择, 从而改善预后和提高生活质量。

## 参 考 文 献

- [1] LI TY, NIU MK, ZHOU JW, et al. The enhanced antitumor activity of bispecific antibody targeting PD-1/PD-L1 signaling[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 179.
- [2] RANA M, LIOU KC, THAKUR A, et al. Advancing glioblastoma therapy: learning from the past and innovations for the future[J]. *Cancer Lett*, 2025, 617: 217601.
- [3] YI M, NIU MK, XU LP, et al. Regulation of PD-L1 expression in the tumor microenvironment[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 10.
- [4] YI M, ZHANG J, LI AP, et al. The construction, expression, and enhanced anti-tumor activity of YM101: a bispecific antibody simultaneously targeting TGF- $\beta$  and PD-L1[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 27.
- [5] WANG X, LU J, GUO GC, et al. Immunotherapy for recurrent glioblastoma: practical insights and challenging prospects[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(4): 299.
- [6] BIKFALVI A, COSTA CADA, AVRIL T, et al. Challenges in glioblastoma research: focus on the tumor microenvironment[J]. *Trends Cancer*, 2023, 9(1): 9-27.
- [7] MARTIN M, VERMEIREN S, BOSTAILLE N, et al. Engineered Wnt ligands enable blood-brain barrier repair in neurological disorders[J]. *Science*, 2022, 375(6582): eabm4459.
- [8] 李德培, 陈忠平. 脑胶质瘤临床诊疗新进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2020, 47(1): 87-90.
- [9] CRUNKHORN S. Targeting drug-resistant glioblastoma[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(10): 711.
- [10] 包士峰, 王春红, 吉宏明. 免疫治疗在胶质瘤的研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2023, 50(3): 73-77.
- [11] PARKER S, MCDOWALL C, SANCHEZ-PEREZ L, et al. Immunotoxin- $\alpha$ CD40 therapy activates innate and adaptive immunity and generates a durable antitumor response in

- glioblastoma models[J]. *Sci Transl Med*, 2023, 15(682): eabn5649.
- [12] PORTNOW J, WANG DR, BLANCHARD MS, et al. Systemic anti-PD-1 immunotherapy results in PD-1 blockade on T cells in the cerebrospinal fluid[J]. *JAMA Oncol*, 2020, 6(12): 1947-1951.
- [13] OMURO A, VLAHOVIC G, LIM M, et al. Nivolumab with or without ipilimumab in patients with recurrent glioblastoma: results from exploratory phase I cohorts of CheckMate 143[J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(5): 674-686.
- [14] TOPP MS, GÖKBUGET N, STEIN AS, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(1): 57-66.
- [15] BUDDE LE, ASSOULINE S, SEHN LH, et al. Durable responses with mosunetuzumab in relapsed/refractory indolent and aggressive B-cell non-Hodgkin lymphomas: extended follow-up of a phase I/II study[J]. *J Clin Oncol*, 2024, 42(19): 2250-2256.
- [16] GEDEON PC, SCHALLER TH, CHITNENI SK, et al. A rationally designed fully human EGFRv III : CD3-targeted bispecific antibody redirects human T cells to treat patient-derived intracerebral malignant glioma[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(15): 3611-3631.
- [17] YU SN, LI AP, LIU Q, et al. Recent advances of bispecific antibodies in solid tumors[J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1): 155.
- [18] YANKELEVICH M, THAKUR A, MODAK S, et al. Targeting refractory/recurrent neuroblastoma and osteosarcoma with anti-CD3×anti-GD2 bispecific antibody armed T cells[J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(3): e008744.
- [19] FAN RR, CHEN CL, MU M, et al. Engineering MMP-2 activated nanoparticles carrying B7-H3 bispecific antibodies for ferroptosis-enhanced glioblastoma immunotherapy[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(10): 9126-9139.
- [20] YUAN Y, LI JY, CHEN J, et al. Characterization of a novel T cell-engaging bispecific antibody for elimination of LICAM-positive tumors[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 174: 116565.
- [21] ZHAO RR, PAN ZW, QIU JW, et al. Blocking ITGA5 potentiates the efficacy of anti-PD-1 therapy on glioblastoma by remodeling tumor-associated macrophages[J/OL]. *Cancer Commun (Lond)*. (2025-03-14) [2025-05-12]. <https://doi.org/10.1002/cac2.70016>.
- [22] YOUSSEF G, DIETRICH J. Ipilimumab: an investigational immunotherapy for glioblastoma[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2020, 29(11): 1187-1193.
- [23] DUERINCK J, SCHWARZE JK, AWADA G, et al. Intracerebral administration of CTLA-4 and PD-1 immune checkpoint blocking monoclonal antibodies in patients with recurrent glioblastoma: a phase I clinical trial[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(6): e002296.
- [24] SHERMAN J H, BOBAK A, ARSIWALA T, et al. Targeting drug resistance in glioblastoma (review)[J]. *Int J Oncol*, 2024, 65(2): 80.
- [25] HAN HX, DU AC, LI JW, et al. Transitioning from molecular methods to therapeutic methods: an in-depth analysis of glioblastoma (review)[J]. *Oncol Rep*, 2025, 53(4): 48.
- [26] GÖKBUGET N, DOMBRET H, BONIFACIO M, et al. Blinatumomab for minimal residual disease in adults with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2018, 131(14): 1522-1531.
- [27] KLEIN C, BRINKMANN U, REICHERT JM, et al. The present and future of bispecific antibodies for cancer therapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2024, 23(4): 301-319.
- [28] ÁLVAREZ-VÁZQUEZ A, SAN-SEGUNDO L, CERVERÓ-GARCÍA P, et al. EGFR amplification and EGFRvIII predict and participate in TAT-Cx43266-283 antitumor response in preclinical glioblastoma models[J]. *Neuro Oncol*, 2024, 26(7): 1230-1246.
- [29] WAN SC, ZHANG GH, LIU RC, et al. Pyroptosis, ferroptosis, and autophagy cross-talk in glioblastoma opens up new avenues for glioblastoma treatment[J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 115.
- [30] IURLARO R, WALDHAUER I, PLANAS-RIGOL E, et al. A novel EGFRvIII T-cell bispecific antibody for the treatment of glioblastoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2022, 21(10): 1499-1509.
- [31] COY S, LEE JS, CHAN SJ, et al. Systematic characterization of antibody-drug conjugate targets in central nervous system tumors[J]. *Neuro Oncol*, 2024, 26(3): 458-472.
- [32] MA P, HE Q, LI W, et al. Anti-CD3 x EGFR bispecific antibody redirects cytokine-induced killer cells to glioblastoma *in vitro* and *in vivo*[J]. *Oncol Rep*, 2015, 34(5): 2567-2575.
- [33] ESPINOSA-COTTON M, CHEUNG NKV. Bispecific antibodies for the treatment of neuroblastoma[J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 237: 108241.
- [34] KREITZ K, ERNST A, SCHMIDT R, et al. A new risk score for patients after first recurrence of stage 4 neuroblastoma aged ≥18 months at first diagnosis[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(17): 7236-7243.
- [35] NEHAMA D, DI IANNI N, MUSIO S, et al. B7-H3-redirected chimeric antigen receptor T cells target glioblastoma and neurospheres[J]. *EBioMedicine*, 2019, 47: 33-43.
- [36] LIU PF, DING HZ, JIA SB, et al. Molecular imaging of B7-H3-targeting bispecific T cell-engaging antibody MGD009 in glioblastoma models[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2025, 17(15): 22384-22393.
- [37] RILEY RS, JUNE CH, LANGER R, et al. Delivery technologies for cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(3): 175-196.
- [38] KAUSHIK G, VENKATESHA S, VERMA B, et al. Preclinical

- in vitro* and *in vivo* models for adoptive cell therapy of cancer[J]. *Cancer J*, 2022, 28(4): 257-262.
- [39] 王旭东, 梁强, 周景寰, 等. 焦亡机制及其在胶质瘤中的作用研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2024, 51(4): 69-76.
- [40] PACE KR, DUTT R, GALILEO DS. Exosomal L1CAM stimulates glioblastoma cell motility, proliferation, and invasiveness[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): 3982.
- [41] JIANG Q, XIE Q, HU CL, et al. Glioma malignancy is linked to interdependent and inverse AMOG and L1 adhesion molecule expression[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 911.
- [42] BAUGH R, KHALIQUE H, PAGE E, et al. Targeting NKG2D ligands in glioblastoma with a bispecific T-cell engager is augmented with conventional therapy and enhances oncolytic virotherapy of glioma stem-like cells[J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(5): e008460.
- [43] ROSENTHAL M, BALANA C, VAN LINDE ME, et al. Novel anti-EGFRv III bispecific T cell engager (BiTE) antibody construct in glioblastoma (GBM): trial in progress of AMG 596 in patients with recurrent or newly diagnosed disease[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(15\_suppl): TPS2071.

责任编辑:王荣兵