

靶向炎性细胞因子的生物制剂及其临床应用

陈锦^{1,2}, 谢冕^{1,2}, 李路军^{1,2}, 刘东旭^{1,2}, 刘梦元^{1,2}

1 湖北大学 生命科学学院 感染与免疫研究中心, 湖北 武汉 430062

2 湖北绿色生物资源转换协同创新中心, 湖北 武汉 430062

陈锦, 谢冕, 李路军, 等. 靶向炎性细胞因子的生物制剂及其临床应用. 生物工程学报, 2019, 35(6): 1009–1020.

Chen J, Xie M, Li LJ, et al. Biologics for targeting inflammatory cytokines and their clinical application. Chin J Biotech, 2019, 35(6): 1009–1020.

摘要: 细胞因子可介导许多生物学过程并受到机体的严格调节, 其调节的失控可引发一系列疾病如自身免疫炎症和肿瘤。在过去的十几年中, 一些能够有效调节细胞因子生物学作用的生物制剂如重组抗炎细胞因子、细胞因子受体以及中和性抗体等被广泛应用到由细胞因子失调引起的相关疾病的治疗。尤其是近年来, 一些具有创新性的靶向细胞因子的新型生物制剂在不断涌现。文中对近年来国际上靶向炎症细胞因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-17) 的生物制剂的研发和临床应用的相关进展进行了综述, 指出其副作用和应用风险, 并结合其他学者和自己的研究工作提出减少副作用和风险的途径和方法。利用现代生物技术提高抗细胞因子生物制剂针对炎症或肿瘤组织的特异性, 是靶向炎性细胞因子生物制剂未来的重要发展方向。

关键词: 靶向治疗, 炎性细胞因子, 自身免疫, 生物制剂

Biologics for targeting inflammatory cytokines and their clinical application

Jin Chen^{1,2}, Mian Xie^{1,2}, Lujun Li^{1,2}, Dongxu Liu^{1,2}, and Mengyuan Liu^{1,2}

1 Center for Infection and Immunity Research, College of Life Sciences, Hubei University, Wuhan 430062, Hubei, China

2 Hubei Collaborative Innovation Center for Green Transformation of Bioresources, Wuhan 430062, Hubei, China

Abstract: Inflammatory cytokines can mediate many biological processes and are tightly regulated by the body. Loss of control can trigger a range of diseases such as autoimmune inflammation and cancer. Therefore, a number of biological agents that can effectively regulate the biological effects of inflammatory cytokines such as recombinant anti-inflammatory cytokines, cytokine receptors and neutralizing antibodies have been extensively used in the treatment of related diseases caused by the imbalance of inflammatory cytokines. In recent years, in particular, a number of new innovative biological agents for blocking and regulating cytokine activities are emerging. In this article, we review the recent development and

Received: January 10, 2019; **Accepted:** March 14, 2019

Supported by: National Natural Science Foundation of China (No. 30973669/H3004), Key Science-Technology Foundation of Hubei Provincial Department of Education (No. D20141002).

Corresponding author: Mengyuan Liu. Tel: +86-27-88661237; Fax: +86-27-88666106; E-mail: liumengy@tom.com

国家自然科学基金 (No. 30973669/H3004), 湖北省教育厅重点研究计划 (No. D20141002) 资助。

网络出版时间: 2019-05-10

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20190509.1455.002.html>

clinical use of the biologics targeting TNF- α , IL-1, IL-6 and IL-17, and point out their inherent limitations and clinical risks. Finally, based on the research findings of our own and other scholars, we suggest some approaches and methods for reducing their side-effects and clinical risk. We consider that using modern biotechnology to improve the tissue specificity to inflammatory site and tumor will be an important development direction of such biologics.

Keywords: targeting therapy, inflammatory cytokines, autoimmunity, biological agent

重组蛋白作为重要的生物技术药物在临床上应用已经有 30 多年的历史, 尤其自 20 世纪 90 年代以来, 以重组蛋白为基础的新型生物技术药物不断涌现^[1], 如细胞因子、纤溶酶原激活剂、重组凝血因子、融合蛋白、可溶性受体及单克隆抗体等, 而靶向细胞因子的生物制剂成为其中一个重要组成部分。目前, 靶向细胞因子的生物制剂主要包括细胞因子及其受体的特异性中和抗体、细胞因子的可溶性受体以及细胞因子的受体拮抗剂。它们以不同的方式抑制细胞因子与靶细胞表面的相应受体相互作用, 阻断细胞因子与其受体介导的信号传导, 从而达到调节细胞因子生物学作用的目的。以细胞因子为靶点的生物制剂与化学药物相比具有多方面的优势^[2]: 其一是作用特异性强, 即利用特异性的生物制剂对某一细胞因子介导的信号途径进行调节; 其二是活性和作用机制明确, 大多数细胞因子的生物学功能已在疾病及其模型上进行了广泛而深入的研究, 这为进一步阐明生物制剂的作用机制奠定了基础; 另外, 随着生物技术的不断进步, 重组蛋白的构建、表达和分离变得相对容易, 极大地促进了生物制剂等药物的研发。当然, 靶向细胞因子治疗也存在不足之处^[2]。细胞因子的生理功能具有多向性和互补性, 这意味着阻断某一细胞因子可平行地影响机体的多种生理过程, 或被阻断的细胞因子的生理功能可由其他细胞因子进行补偿, 这样可能会导致一些意想不到的副作用或疗效的不足。再者, 细胞因子网络是一个受到严格调控并维持一定平衡的相对稳定系统, 该网络任何一个点的改变将会打破系统的平衡从而影响机体的正常免疫

功能。例如, 阻断促炎性细胞因子可影响机体抗微生物感染和增大恶性肿瘤发生的几率, 阻断调节性的细胞因子可诱发机体出现自身免疫性疾病和组织损伤等^[3]。另外, 相对于化学药物而言, 重组蛋白和抗体工程药物的制备仍然是一个复杂和耗资巨大的过程, 其血浆半衰期和药动学行为往往不够理想, 需要一定的修饰和控制, 这样才能增进其疗效和减少副作用^[2]。

文中将对目前批准上市的靶向炎性细胞因子生物制剂(表 1)的研发和临床应用的相关进展进行综述, 注重其临床应用中存在的风 险和副作用, 并提出一些降低这些生物制剂副作用和风险以及提高其疗效的一些途径和方法。笔者认为, 对炎症和肿瘤组织具有高度靶向性的抗细胞因子生物制剂将成为未来这一领域的重要研发对象。

1 抗炎性细胞因子的生物制剂

1.1 抗 TNF- α 的生物制剂

肿瘤坏死因子 α (Tumor necrosis factor α , TNF- α) 是一个促炎细胞因子, 在机体创伤和感染中发现。TNF- α 由激活的巨噬细胞和树突状细胞合成和分泌, 合成的前体锚定在细胞膜上称为膜型 TNF- α (Membrane type TNF- α , mTNF- α), 随后被相应的酶类切割和释放成为可溶性 TNF- α (Soluble TNF- α , sTNF- α), 并与其靶细胞表面的受体 TNFR1 和 TNFR2 相互作用介导信号传导, 调节细胞的死亡、增殖和分化。TNF- α 是炎症信号通路的一个非常具有吸引力的治疗靶点。TNF- α 及其受体介导的信号通路在多种自身免疫性炎症疾病如类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis,

表 1 批准上市的靶向细胞因子的生物制剂

Table 1 The approved biologics targeting inflammatory cytokines

Biologics	Type of agent	Indications	Side-effect
Etanercept	Human TNFR2-Fc fusion protein	RA, AS, JIA, PPs, PsA	High risk for infections and cancers ^[11-18] , reactivation of tuberculosis ^[9-10] , heart failure ^[19]
Infliximab	Chimeric mAb targeting TNF- α	RA, PsA, Psoriasis, AS, UC	tuberculosis ^[9-10] , heart failure ^[19] , demyelinating disorders, multiple sclerosis, optic neuritis, acute transverse myelitis ^[19]
Adalimumab	Fully human mAb targeting TNF- α	RA, PsA, Psoriasis, AS, Crohn's disease, UC, PPs, JIA	
Certolizumab	Humanized pegylated Fab targeting TNF- α	RA, PsA, Psoriasis, AS, Crohn's disease	
Golimumab	Fully human mAb targeting TNF- α	RA, AS, PsA, UC	
Anakinra	Recombinant human IL-1Ra	RA, CAPS, FMF, HIDS, JIA	High risk for infection ^[46] , neutropenia and low platelet count ^[47-48] , reactivation of tuberculosis ^[41]
Rilonacept	Human IL-1Ra-Fc fusion protein	CAPS	
Canakinumab	Fully human mAb targeting IL-1 β	CAPS, TRAPS, HIDS, FMF	
Tocilizumab	Humanized mAb targeting IL-6R	RA, JIA, Crohn's disease	High risk for infection ^[52] , MAS ^[55]
Siltuximab	Chimeric mAb targeting IL-6	Multicentric Castleman's disease	Neutropenia, low platelet count ^[58] , Hyperuricemia ^[58]
Ustekinumab	Human mAb targeting IL-12/IL-23	PPs, Psoriasis, PsA	High risk for infection ^[61]
Secukinumab	Human mAb targeting IL-17A	Psoriasis, PsA, PPs, AS, Crohn's disease	Reactivation of tuberculosis ^[60] , Reduction of CD4+ T lymphocytes ^[60]

RA)、Crohn's 病、银屑病关节炎 (Psoriasis arthritis, PsA)、强直性脊柱炎 (Ankylosing spondylitis, AS)、银屑病 (Psoriasis)、糖尿病 (Diabetes) 及肥胖症 (Obesity) 中都发挥着重要的作用^[4]。最早出现的抗 TNF- α 生物制剂为 Etanercept^[5], 随后 FDA 相继批准了 4 个抗 TNF- α 单克隆抗体^[6]。这 4 种抗体见证了过去 20 年来抗体工程技术的发展历程, 即从人-鼠嵌合抗体开始, 经历了抗体的人源化、噬菌体展示技术筛选人源抗体、转基因小鼠生产人源抗体的发展过程。

1.1.1 Etanercept

Etanercept 是人免疫球蛋白 IgG1 的完整 Fc 段与 TNF- α 可溶性 TNFR2 的融合蛋白, 可有效结合 sTNF- α , 抑制 sTNF- α 与靶细胞相互作用, 进而抑制由 sTNF- α 介导的炎症信号通路。Etanercept 于 1998 年被美国 FDA 批准上市用于中重度 RA 的治疗, 由于其疗效确切, 随后被进一步批准用于幼年型类风湿关节炎 (Juvenile idiopathic arthritis, JIA)、儿童 PsA、AS 及斑块状银屑病 (Plaque psoriasis, PPs) 的治疗^[5]。

1.1.2 Infliximab

Infliximab 是第一个批准上市抗 TNF- α 单克隆抗体^[6], 是一个人-鼠嵌合抗体, 包含鼠源性的可变区和人源性的恒定区, 能结合 sTNF- α 和 mTNF- α , 抑制其与 TNFR 结合, 从而阻断由 TNF- α 诱导的炎症信号。Infliximab 于 1998 年批准用于 Crohn's 病和重症 RA 的治疗, 后来被进一步批准用于溃疡性结肠炎 (Ulcerative colitis, UC)、PsA 及 AS 的治疗。Infliximab 临床研究表明, Infliximab 单独或与 MTX 联合用药可有效抑制 RA 患者关节的进行性损伤及各项与系统性炎症相关临床症状。但其具有较高免疫原性, 高达 61% 的接受 Infliximab 治疗的患者产生了抗嵌合抗体 (Human anti-chimeric antibodies, HACAs), 在一定程度上影响了抗体的疗效^[6]。

1.1.3 Adalimumab

Adalimumab 是一个来源于噬菌体抗体库的全人源抗 TNF- α 单抗, 于 2002 年在美国批准上市, 用于 RA、PsA、AS、Crohn's 病、UC、PPs、JIA、轻到中度的化脓性汗腺炎及非感染性的葡萄膜炎等的治疗。Adalimumab 作用机制与 Infliximab

相似, 具有疗效好、免疫原性低和耐受性好等特性, 但仍有少数患者在单独使用时产生人抗人抗体 (Human anti-human antibodies, HAHAs), 与 MTX 联合用药, HAHAs 的发生率可降低到 1%^[6]。

1.1.4 Certolizumab pegol

Certolizumab pegol 是一个人源化的 Fab 工程抗体片段, 在其分子上连接了 2 分子的聚乙二醇以延长其血浆半衰期, 能结合 sTNF- α 和 mTNF- α , 阻断 TNF- α 介导的炎症信号通路, 但其缺乏抗体 Fc 区, 因而不能有效发挥抗体介导的 ADCC、CDC 和 ADPC 等功能。Certolizumab pegol 于 2008 年最先被美国 FDA 批准用于 Crohn's 病的治疗, 后来分别被欧洲药品管理局和美国 FDA 进一步批准用于 RA、PsA、AS 和银屑病的治疗^[6]。

1.1.5 Golimumab

Golimumab 则是通过转人类 IgG 基因座的小鼠生产的全人源单抗, 相对于上述几种抗体制备技术更为先进。Golimumab 于 2009 年被批准用于 RA、AS 和 PsA 的治疗, 后来进一步批准用于 UC 的治疗^[6]。值得注意的是, Infliximab、Adalimumab、Golimumab 与 Etanercept 相比在作用机制上存在一定的区别, Etanercept 只结合 sTNF- α , 而 Infliximab、Adalimumab、Golimumab 可结合 sTNF- α 和 mTNF- α , 除了抑制 sTNF- α 介导的炎症信号外, 还能通过抗体 Fc 介导的 ADCC、CDC、ADPC 等清除异常激活的 T 细胞和巨噬细胞等, 因而 Infliximab、Adalimumab、Golimumab 在疾病治疗的广度和疗效上要优于 Etanercept^[7-8]。

1.1.6 副作用和风险

抗 TNF- α 生物制剂具有较好的疗效, 但存在一定的副作用和风险, 主要表现为增加患者出现感染和恶性肿瘤发生的几率。TNF- α 是一个抵抗胞内感染的主要细胞因子, 其活性被抑制可能会引起胞内感染微生物的再激活^[9]。在法国一项历经 3 年的研究表明 Infliximab 及 Adalimumab 可显著提高患者感染结核的风险, Etanercept 也具有同

样的作用, 但风险相对较低^[10]。抗 TNF- α 治疗可促进乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒再激活^[11]。抗 TNF- α 生物制剂 Infliximab 及 Adalimumab 相对于病情修饰的抗风湿药物 (Disease modifying antirheumatic drug, DMARD) 可显著提高带状疱疹病毒的感染几率^[12]。TNF- α 是一个促炎细胞因子, 而慢性炎症过程可导致肿瘤相关疾病的发生^[13], 因而从理论上讲抗 TNF- α 治疗可抑制肿瘤的发生和发展; 但 TNF- α 在决定细胞的增殖、分化和凋亡中同样发挥重要作用, TNF- α 能够诱导肿瘤的出血性坏死^[14], 这使得抗 TNF- α 治疗和肿瘤发生的相关性从理论上很难确定。但事实证明抗 TNF- α 治疗可显著提高 Crohn's 病、溃疡性结肠炎和 RA 患者发生血液恶性肿瘤和其他肿瘤的风险, 如 Infliximab 可增加炎症性肠炎 (Inflammatory bowel diseases, IBD) 年轻患者发生肝脾 T 细胞淋巴瘤的风险^[15]; 抗 TNF- α 生物制剂与免疫抑制类药物咪唑硫嘌呤、巯基嘌呤以及氨甲喋呤等联合用药可显著提高各年龄段 Crohn's 病、溃疡性结肠炎患者的血液恶性肿瘤发生率^[16]; 抗 TNF- α 生物制剂还可诱导 RA 和 IBD 患者发生结肠癌、直肠癌以及其他恶性肿瘤的风险^[17-18]。另外, 有研究表明抗 TNF- α 治疗可引起脱髓鞘疾病, 如多发性硬化症、视神经炎、急性横贯性脊髓炎等^[19]; IBD 患者使用抗 TNF- α 生物制剂治疗出现理论上不可解释的银屑病, 并伴有严重的皮肤坏死^[20], Etanercept 不仅对 IBD 治疗无效, 还可诱发患者出现新的 Crohn's 病和 UC^[21-22]。当然, 这些新发现的副作用还有待进一步的研究和证实。

1.2 抗 IL-1 的生物制剂

IL-1 家族一共包括 5 个重要成员, 包括 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1Ra、IL-1RI 和 IL-1RII。IL-1 α 和 IL-1 β 与其受体 IL-1R 相互作用可激活 NF- κ B、JNK/AP-1 及 p38 激酶, 启动一系列与炎症相关的信号途径。IL-1Ra 是 IL-1 受体拮抗剂, 结合并占

据 IL-1R, 使其不能与 IL-1 α 或 IL-1 β 相互作用而抑制 IL-1 α 或 IL-1 β 启动的信号传导, 因而 IL-1Ra 是 IL-1 α 和 IL-1 β 生物学活性的天然调节剂。在机体中维持着相对平衡, 一旦失衡就会诱发机体炎症和组织损伤。IL-1/I-1Ra 失衡在多种自身免疫慢性炎症如 RA、IBD、新生儿多系统炎症疾病 (Neonatal onset multisystem inflammatory disease, NOMID) 等、肺纤维化、淋巴瘤和肿瘤、慢性肾、肝、脾损伤、移植物抗宿主排斥反应、中枢神经疾病、感染性疾病和心血管疾病中发挥重要作用^[23]。

1.2.1 Anakinra

Anakinra 是一个重组的非糖基化的 IL-1Ra^[24], 可有效缓解 RA 症状和关节的损伤, 在临床上作为 RA 的二线治疗药物, 在抗 TNF- α 和抗 IL-6 治疗无效的情况下建议使用。炎症体-caspase-1 信号可引起 IL-1 β 的激活和分泌, 炎症体相关基因的突变可产生过量的 IL-1 β , 导致自身免疫炎症综合征^[25], 因此 Anakinra 在多种自身免疫炎症综合征的治疗上具有一定的优势。Anakinra 于 2001 年首次批准用于对 DMARD 治疗无效的 RA 的治疗, 2012 批准用于治疗成年人和儿童 Cryopyrin 蛋白相关周期综合征 (Cryopyrin-associated period syndromes, CAPS), 包括家族性冷淡自身免疫炎症综合征 (Familial cold autoinflammatory syndrome, FCAS)、Muckle-Wells 综合征和 NOMID 等的治疗^[26-28]。Anakinra 可有效控制 NOMID 的关节痛、头痛、冲动和发热等日常症状, 还能稳定 NOMID 患者的中枢神经系统, 有效控制 NOMID 患者因慢性脑膜炎引起的抽搐和呕吐^[28]。临床研究还发现 Anakinra 对其他多种由 IL-1 β 上调引起的慢性炎症疾病如家族性地中海热 (Familial mediterranean fever, FMF)^[29]、成人斯蒂尔病和 JIA^[30-31]、高免疫球蛋白 IgD 综合征 (Hyper-IgD syndrome, HIDS)^[32]、TNFR1 相关周期综合征 (TNFR1-associated period syndrome, TRAPS)^[33] 同样具有较好的疗效。但 Anakinra 目前还未批准用于上述疾病的治疗。在

一些更为普通的炎症疾病如痛风性关节炎、血液透析炎症、心肌梗死后重构以及 II 型糖尿病上, Anakinra 同样表现出较好的疗效^[34-37]。

1.2.2 Rilonacept

Rilonacept 是第二个批准上市的抗 IL-1 生物制剂, 它是由 IL-1R 及其胞外的附加部分与 IgG 的 Fc 片段融合, 利用 Fc 的同源聚合作用形成的二聚化蛋白, 于 2008 年被美国 FDA 推荐作为孤儿药用于 CAPS 的治疗^[38]。Rilonacept 对 CAPS 疗效确切, 可快速缓解 CAPS 临床症状, 相比 Anakinra 具有较长血浆半衰期, 注射频率远远低于 Anakinra, 停药后疗效可持续一段时间。Rilonacept 对痛风的治疗同样有效, 但因其治疗风险问题未获批准^[39]。

1.2.3 Canakinumab

第 3 个批准上市的抗 IL-1 生物制剂是 Canakinumab, 它是一个抗 IL-1 β 的人源单克隆抗体。2009 年 Canakinumab 被美国 FDA 批准用于 CAPS 的治疗^[40], 因其疗效确切, 2016 年被进一步批准用于临床上极为罕见而严重的 3 种自身免疫性炎症, 包括 TRAPS、HIDS 和 FMF 的治疗^[41-42]。瑞士诺华制药公司于 2017 年 8 月完成了 Canakinumab 的抗炎症性血栓的结果研究 (Canakinumab anti-inflammatory thrombosis outcome study, CANTOS), CANTOS III 期临床研究发现 Canakinumab 可将主要不良心血管事件降低 15%, 包括非致命性心脏病发作、非致命性卒中和心血管疾病死亡, 同时 Canakinumab 还可使动脉粥样硬化患者的肺癌的发病率降低 67%, 死亡率降低 77%^[43]。这预示 Canakinumab 在心血管疾病和肺癌的治疗上具有较好的应用潜力。

1.2.4 副作用与风险

抗 IL-1 生物制剂同样存在多种副作用和风险。Anakinra 是一个小分子的重组蛋白, 血浆半衰期只有 6 h, 需要频繁的皮下注射, 常引起注射部位的不良反应。IL-1 是机体抗感染的重要细胞

因子, Anakinra 可明显增加患者出现感染的风险, 最常见的是急性肺炎, 其次是骨髓炎、蜂窝组织炎、带状疱疹、气性坏疽等^[44]。痛风性关节炎患者使用 Anakinra 可增加金黄色葡萄球菌感染的几率^[34]。IL-1 是一个促进中性粒细胞分化和成熟的细胞因子, Anakinra 可导致中性粒细胞减少症^[45]。Anakinra 与皮质类固醇或其他免疫抑制药物联用可导致 RA 患者出现金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌和大肠杆菌的严重感染^[46]。另外, 曾经感染过结核的患者在使用 Anakinra 时结核的重新激活机会大大升高^[41]。Riloncept 和 Canakinumab 临床使用的风险与 Anakinra 相似, 主要表现为感染、中性粒细胞减少症和低血小板症^[47-48]。

1.3 抗 IL-6 的生物制剂

IL-6 是除 TNF- α 和 IL-1 外的另一个重要促炎细胞因子, 对免疫系统具有多效性。IL-6 与其可溶性受体 IL-6R 连接形成复合物, 该复合物与细胞膜表面的糖蛋白 gp130 结合, 引起 gp130 形成同源二聚体, 介导细胞间的信号传导。IL-6 主要由淋巴细胞、巨噬细胞、内皮细胞、上皮细胞及成纤维细胞合成和分泌, 具有多种生物学作用, 影响多种细胞的行为, 可改变 Th 细胞的分型、刺激 B 细胞分泌抗体、增加 NK 细胞的杀伤活力、促进肝细胞合成急性期反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、趋化中性粒细胞和单核细胞、刺激内皮细胞合成粘附分子增强局部炎症反应、刺激破骨细胞和成纤维细胞合成和分泌降解性酶类、刺激肿瘤细胞的增殖等^[49], 因而, IL-6 在多种自身免疫性疾病和恶性肿瘤发生和发展中发挥重要作用。

1.3.1 Tocilizumab

Tocilizumab 是一个人源化的抗 IL-6R 的单克隆抗体, 于 2003 年进入临床研究用于 RA 的治疗。通过对 633 个 RA 患者的临床研究发现, Tocilizumab 可显著降低对 DMARD 和免疫抑制剂治疗不理想的 RA 患者血清 CRP, 有效缓解 RA 患者的各项临床指标并抑制关节的损伤^[50]。2010 年美国 FDA

正式批准 Tocilizumab 用于对 DMARD 和 TNF 抑制剂治疗无效的 RA 的治疗^[51]。由于 Tocilizumab 对 JIA 同样表现出较好的疗效, 2011 年被进一步批准用于 JIA 的治疗^[52]。遗憾的是 Tocilizumab 具有较为严重的副作用, 可诱发严重的感染, 主要为急性肺炎、肠胃炎、尿道感染以及机会性感染如结核和念珠菌感染等^[52]。Tocilizumab 还可引起中性粒细胞减少症和高血脂, 被认为有导致心血管疾病的危险^[53]。IL-6 最独特的生物学作用是在急性感染中诱导 CRP 蛋白合成, Tocilizumab 抑制了 IL-6 的生物学功能, 可能会延误急性感染的诊断和治疗^[54]。此外, JIA 的一个重要的并发症为单核细胞激活征 (Macrophage-activating syndrome, MAS), 表现为骨髓和肝功能的损伤, 可威胁生命。Tocilizumab 治疗 JIA 不仅加重 MAS, 且其抑制 CRP 合成而影响 MAS 的诊断, 但应用 IL-1 抑制剂 Anakinra 则可有效减少 MAS 的发生, 因而 Tocilizumab 在 JIA 的治疗上具有一定风险^[55]。

1.3.2 Siltuximab

Siltuximab 是一个抗 IL-6 的人-鼠嵌合抗体, 2014 年被美国 FDA 批准用于 HIV 和 HPV 阴性的多中心 Castleman's 病的治疗^[56]。该病是一种恶性淋巴组织增生性疾病, 表现为患者淋巴管的增生和肥大, 同时在淋巴管中 IL-6 水平明显上调。此外, Siltuximab 还被进一步用于多种恶性病如多发性骨髓瘤、脊髓发育不良综合征、非霍杰金氏淋巴瘤、前列腺癌、卵巢癌的治疗, 并获得令人振奋的结果^[57]。Siltuximab 的副作用主要表现为上呼吸道的感染, 其次为反胃、疲倦、肥胖、高尿酸血症、血小板减少症及中性粒细胞减少症等^[58]。

1.4 靶向 Th17 细胞因子的生物制剂

Th17 细胞是近年来发现和鉴定出的一个 CD4⁺T 细胞亚群, 它可独立于 Th1 和 Th2 细胞参与并促进机体清除一系列病原的感染。其产生的主要细胞因子包括 IL-6、IL-17、IL-21、IL-22 及 TNF- α 等, 具有明显的促炎作用。Th17 是一个在多种自

身免疫性炎症疾病如 RA、银屑病、多发性硬化症 (Multiple sclerosis, MS) 中非常重要的病理性细胞,其特征性细胞因子 IL-17 可与 TNF- α 发挥协同 (叠加) 效应,激活一系列炎症相关的 Cascade,诱导多种细胞因子、趋化因子、粘附分子及降解性酶类的表达,造成自身免疫性的组织损伤。

1.4.1 Ustekinumab

Ustekinumab 是一个人源单克隆抗体,针对 IL-12p40 亚单位,IL-12p40 为 IL-12 和 IL-23 所共有,因而该抗体具有同时抑制 IL-12 和 IL-23 的生物学作用。IL-12 和 IL-23 的重要功能是促进幼稚 CD4⁺T 细胞分化为 Th1 和 Th17,故 Ustekinumab 可有效减少自身免疫性 T 细胞的产生。由于 IL-12 和 IL-23 及其激活的 T 细胞与银屑病的发生相关,而银屑病的患者更易发展为 PsA,故 Ustekinumab 在抑制与 IL-12 和 IL-23 相关的疾病如银屑病、PsA 等,比 Etanercept 更为有效,因而在 2009 年被批准用于 PPs 的治疗^[59],并于 2013 年被进一步批准用于 PsA 的治疗。2016 年, Ustekinumab 又被批准用于 Crohn's 病的治疗。其不良反应是需要警惕结核的再激活和感染以及 Th1 和 Th17 细胞减少带来的免疫低下等并发症^[60]。

1.4.2 Secukinumab

Secukinumab 是人源抗 IL-17A 的单克隆抗体,初期进入临床试验用于 Crohn's 病的治疗而显示无效,同时还会导致上呼吸道感染和真菌感染的风险^[61],与 Ustekinumab 极为相似, Secukinumab 可明显改善 PPs 的临床症状和肢体功能^[62],并于 2015 年被美国 FDA 批准用于 PPs 的治疗,随后被进一步批准用于 PsA 和 AS 的治疗^[63]。2016 年又一个抗 IL-17 单克隆抗体 Ixekizumab 被批准上市用于 PPs 的治疗,其疗效、副作用及安全性还有待进一步的研究和评价^[64]。

2 降低抗炎生物制剂副作用与风险

抗细胞因子治疗是针对自身免疫、炎症以及

其他与细胞因子失调相关疾病的有力工具。稳定的细胞因子网络是机体免疫系统的重要组成部分,在抵抗微生物感染和恶性病变中发挥着重要作用。抗细胞因子治疗大多采用系统给药方式,往往会导致机体的正常的免疫功能的失衡,例如用生物制剂抑制 RA 关节的炎症的同时也抑制了中性粒细胞进入肺部抵抗微生物感染。笔者认为,采用基因工程和蛋白质工程技术对抗炎生物治疗剂进行修饰和改造,最大限度优化其药动学特征和提高其对炎症组织和器官的特异性,是未来抗炎生物治疗剂的研发方向。目前,国际上不少学者以及笔者团队在这方面开展了一些研究工作。

2.1 酶-前药的药物治疗 (Enzyme-prodrug therapy, EPT)

将抗炎生物制剂构建成无活性的前药,在炎症组织特异性酶的作用下转变为有生物学活性的形式。Rider 等^[65]将 IL-1Ra 的氨基端融合 IL-1 β 氨基端的一段短肽,构建一个嵌合 IL-1Ra,模拟 IL-1 β 的前体分子。IL-1 β 是以无活性前体的形式合成和分泌的,在炎症组织高水平的中性粒细胞相关的丝氨酸蛋白酶 (如弹性蛋白酶、组织蛋白酶 G、凝乳蛋白酶等)、巨噬细胞来源的 PR3 和 caspase-1 以及 NK 细胞分泌的颗粒酶等的作用下,切掉氨基端的一段小肽释放羧基端的活性部分即为成熟的 IL-1 β 。在 RA 患者的炎症关节中 IL-1 β 上调在较大程度上归功于中性粒细胞和巨噬细胞积累和分泌上述炎症相关性的酶类^[66]。嵌合 IL-1Ra 激活和释放方式与 IL-1 β 完全一样,因而在正常组织 IL-1Ra 则以无活性的前体形式存在,只在炎症组织中转变成为活性分子发挥抗炎作用^[65]。同时,嵌合 IL-1Ra 在多种恶性肿瘤的辅助治疗上具备应用潜力^[67]。肿瘤的慢性炎症微环境中富含髓样细胞、炎症性的酶类和多种细胞因子,IL-1 可促进肿瘤的生长、血管形成和转移。肿瘤炎症微环境又可刺激髓样细胞分泌 IL-1 β ,刺

激肿瘤细胞分泌 IL-1 α , 并伴随组织缺氧、坏死和 DNA 损伤。而且, 肿瘤患者经常使用免疫抑制和骨髓抑制药物, 具有微生物感染的高风险性。目前已经证实抗 IL-1 α 中和性抗体可有效抑制肿瘤并延长患者的生存期限。因而, 嵌合 IL-1Ra 可在肿瘤组织中减少炎症过程同时又不降低患者抵抗微生物感染的能力, 是肿瘤治疗较为理想的生物制剂。

2.2 细胞类型限制性的抗细胞因子治疗

Efimov 等^[68]构建了一个双特异抗体, 同时识别巨噬细胞表面标志 F4/80 和 mTNF- α 。研究发现这种抗体在体内更热衷于结合巨噬细胞表面的 mTNF- α , 而不结合 sTNF- α 和淋巴细胞来源的 TNF- α 。其目的是选择性地抑制巨噬细胞触发的炎症而不影响 T 细胞的免疫活性来达到减少微生物感染风险的目的。该抗体能有效抑制机体的慢性炎症, 同时还可抑制抗 TNF- α 治疗导致的结核重激活和肝毒性。

2.3 靶向炎症组织的药物载体

人血清白蛋白(Human serum albumin, HSA)是肝脏合成的 67 kDa 单体蛋白质, 是人血浆中最为丰富的蛋白之一, 结构简单, 稳定性好, 无免疫原性。HSA 可与新生儿 Fc 受体 (Neonatal Fc receptor, FcRn) 相互作用, 通过 FcRn 介导的 pH-依赖的内吞和释放作用而避免其在溶酶体中的降解, 因而具有与 IgG 一样的血浆半衰期。HSA 的另外一个重要特征是选择性积累于炎症和肿瘤组织。因而 HSA 作为载体被广泛应用于自身免疫性炎症和肿瘤的工程药物设计。尤其是分子量较小的蛋白质如细胞因子及小分子抗体片段, 一旦与 HSA 结合, 不仅可以有效提高其血浆半衰期, 而且还可靶向积累于炎症和肿瘤组织。将抗风湿药物 MTX 与 HSA 偶联构建成 MTX-HSA 偶联物, MTX-HSA 的血浆半衰期相对 MTX 显著延长, 并且高效积累于胶原诱导的关节炎 (Collagen-induced

Arthritis, CIA) 小鼠炎症关节, 48 h 在炎症关节的摄取量是 MTX 的 7 倍, 且在肝和肾中分布只相对于 MTX 的 25%, MTX-HSA 的疗效也显著高于 MTX^[69]。笔者将人 IL-1Ra 连接于 HSA 的羧基端构建成融合蛋白 HSA-IL-1Ra, 同样显示出 HSA-IL-1Ra 在炎症关节的选择性积累, 低分布于肝、肾、脾、肺等组织, 并且克服了 IL-1Ra 在临床使用的短半衰期的缺点, 有望成为抗 IL-1 的新型生物制剂^[70]。Ozoralizumab 是基于 HSA 作为载体构建一个新型的抗 TNF- α 骆驼源三价抗体^[71], 其中含有 2 个抗 TNF- α 的重链可变区 (Variable heavy chain, VHH) 和 1 个抗 HSA 的 VHH, 该抗体除了高效中和 TNF- α 外, 在体内可结合 HSA 进行转运, 具有较长的血浆半衰期和炎症组织的靶向性, 治疗活性与二价抗 TNF- α 的 VHH 提高了近 500 倍, 疗效和药动学优于 Infliximab 和 Adalimumab 单抗。Ozoralizumab 在 RA 的治疗上已完成 I/II 期临床实验, 显示出良好的疗效。

2.4 基于炎症组织特异性抗原的靶向治疗

将抗细胞因子生物制剂共价连接一个炎症组织中特异性表达抗原的配体, 借助配体-抗原的相互作用可使抗细胞因子生物制剂选择性地积累于炎症组织, 从而减少其对正常组织免疫功能的抑制作用, 达到降低副作用的目的。纤维连接蛋白 (Fibronectin, FN) 是胞外基质的重要组成部分。在病理条件下, 为了满足疾病发展需要, FN 前体 mRNA 进行选择性和重构, 保留额外域 B (Extra domain B, ED-B) 抗原的 FN 为 B-FN, 这种病理修饰的 FN 在正常组织是不存在的, 但与恶性肿瘤及慢性炎症的血管形成相关, 是一个血管形成的标志物。因而 B-FN 是一个有效靶向恶性肿瘤和慢性炎症性疾病的优良抗原。抗 ED-B 的单抗 BC1 和单链抗体片段 (Single chain Fv fragment, scFv) L19 广泛用于药物载体进行抗恶性肿瘤血管形成的靶向治疗, 并取得了令人振奋

的结果^[72]。同样的,抗 ED-B 的 scFv L19 融合 IL-10 或 TNFR2 可显著提高 IL-10 或 TNFR2 炎症组织特异性和疗效,降低 IL-10 或 TNFR2 在正常组织的分布^[73-74]。笔者利用合成噬菌体抗体库筛选到一株能高亲和力结合 ED-B 的人源 scFv,将该 scFv 与前期获得的抗人 TNF- α 的 scFv 组合构建了具有自主知识产权的 TNF- α /抗 ED-B 单链双特异抗体 (Single chain bispecific antibody, ScBsAb), ScBsAb 可靶向积累于 CIA 小鼠炎症关节,快速清除于正常组织,比 TNF- α 单抗能更有效地抑制和缓解小鼠关节炎的各项指标,同时还可明显提高 CIA 小鼠的抗感染能力^[75],该抗体有望克服目前上市的 TNF- α 单抗面临的共性问题,成为一种治疗包括 RA 在内的多种自身免疫炎症性疾病的新颖抗体工程药物。此外,科学工作者们还在致力于寻找除 ED-B 外的靶向炎症组织的特异性抗原。目前,通过噬菌体库筛选的一株能特异性结合 RA 患者炎症滑膜微血管上一个表位的 scFv A7,有望成为靶向炎症关节的有效药物载体,scFv A7 与 Adalimumab 偶联而成的双特异抗体,同时具备炎症组织的特异性和 TNF- α 的中和活性,在临床使用上有可能大大降低注射剂量和频率,减少机体系统暴露的风险,获得更好的治疗指标^[76]。

3 总结与展望

细胞因子失调是导致多种自身免疫、炎症和其他恶性疾病的机制所在,利用重组抗炎细胞因子、重组细胞因子可溶性受体及受体拮抗剂、抗细胞因子的重组单克隆抗体对上述疾病的治疗总体上看是非常成功的。但必须看到大多数细胞因子在不同的组织和器官当中具有多效性,是维持组织器官正常免疫功能所必需的,长期使用抗细胞因子的生物制剂必然会对机体免疫功能造成一定危害,带来一定副作用和风险。因此,利用现代生物技术制备新型的高组织特异性的抗细胞因

子生物制剂,在治疗上最大限度地维持正常组织中细胞因子的生物学功能,将是未来抗细胞因子生物制剂发展的重要方向。

REFERENCES

- [1] Lagassé HA, Alexaki A, Simhadri VL, et al. Recent advances in (therapeutic protein) drug development. *F1000Res*, 2017, 6: 113.
- [2] Bertucci C, Pistolozzi M, de Simone A. Structural characterization of recombinant therapeutic proteins by circular dichroism. *Curr Pharm Biotechnol*, 2011, 12(10): 1508-1516.
- [3] Dinarello CA. Anti-cytokine therapeutics and infections. *Vaccine*, 2003, 21 Suppl 2: S24-S34.
- [4] Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2010, 20(2): 87-103.
- [5] Seckinger P, Zhang JH, Hauptmann B, et al. Characterization of a tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) inhibitor: evidence of immunological cross-reactivity with the TNF receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87(13): 5188-5192.
- [6] Chan AC, Carter PJ. Therapeutic antibodies for autoimmunity and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(5): 301-316.
- [7] Scallon BJ, Moore MA, Trinh H, et al. Chimeric anti-TNF- α monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF- α and activates immune effector functions. *Cytokine*, 1995, 7(3): 251-259.
- [8] Atreya R, Zimmer M, Bartsch B, et al. Antibodies against tumor necrosis factor (TNF) induce T-cell apoptosis in patients with inflammatory bowel diseases via TNF receptor 2 and intestinal CD14⁺ macrophages. *Gastroenterology*, 2011, 141(6): 2026-2038.
- [9] Lin PL, Plessner HL, Voitenok NN, et al. Tumor necrosis factor and tuberculosis. *J Investig Dermatol Symp Proc*, 2007, 12(1): 22-25.
- [10] Tubach F, Salmon D, Ravaud P, et al. Risk of tuberculosis is higher with anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody therapy than with soluble tumor necrosis factor receptor therapy: the three-year prospective French research axed on tolerance of

- biotherapies registry. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(7): 1884–1894.
- [11] Vassilopoulos D, Calabrese LH. Management of rheumatic disease with comorbid HBV or HCV infection. *Nat Rev Rheumatol*, 2012, 8(6): 348–357.
- [12] Strangfeld A, Listing J, Herzer P, et al. Risk of herpes zoster in patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF-alpha agents. *JAMA*, 2009, 301(7): 737–744.
- [13] Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr Mol Med*, 2010, 10(4): 369–373.
- [14] Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol*, 2001, 11(9): 372–377.
- [15] Mackey AC, Green L, Leptak C, et al. Hepatosplenic T cell lymphoma associated with infliximab use in young patients treated for inflammatory bowel disease: update. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2009, 48(3): 386–388.
- [16] Wolfe F, Michaud K. Lymphoma in rheumatoid arthritis: the effect of methotrexate and anti-tumor necrosis factor therapy in 18, 572 patients. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(6): 1740–1751.
- [17] Bernstein CN, Blanchard JF, Kliever E, et al. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer*, 2001, 91(4): 854–862.
- [18] Thomas E, Brewster DH, Black RJ, et al. Risk of malignancy among patients with rheumatic conditions. *Int J Cancer*, 2000, 88(3): 497–502.
- [19] Bernatsky S, Renoux C, Suissa S. Demyelinating events in rheumatoid arthritis after drug exposures. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(9): 1691–1693.
- [20] Pugliese D, Guidi L, Ferraro PM, et al. Paradoxical psoriasis in a large cohort of patients with inflammatory bowel disease receiving treatment with anti-TNF alpha: 5-year follow-up study. *Aliment Pharmacol Ther*, 2015, 42(7): 880–888.
- [21] O'Toole A, Lucci M, Korzenik J. Inflammatory bowel disease provoked by etanercept: report of 443 possible cases combined from an IBD referral center and the FDA. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(6): 1772–1774.
- [22] Dallochio A, Canioni D, Ruummele F, et al. Occurrence of inflammatory bowel disease during treatment of juvenile idiopathic arthritis with etanercept: a French retrospective study. *Rheumatology*, 2010, 49(9): 1694–1698.
- [23] Arend WP. The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2002, 13(4/5): 323–340.
- [24] Mertens M, Singh JA. Anakinra for rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Rheumatol*, 2009, 36(6): 1118–1125.
- [25] Broderick L, de Nardo D, Franklin BS, et al. The inflammasomes and autoinflammatory syndromes. *Annu Rev Pathol: Mech Dis*, 2015, 10: 395–424.
- [26] Metyas SK, Hoffman HM. Anakinra prevents symptoms of familial cold autoinflammatory syndrome and Raynaud's disease. *J Rheumatol*, 2006, 33(10): 2085–2087.
- [27] Hawkins PN, Lachmann HJ, Aganna E, et al. Spectrum of clinical features in Muckle-Wells syndrome and response to anakinra. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(2): 607–612.
- [28] Goldbach-Mansky R, Dailey NJ, Canna SW, et al. Neonatal-onset multisystem inflammatory disease responsive to interleukin-1 β inhibition. *N Engl J Med*, 2006, 355(6): 581–592.
- [29] Stojanovic KS, Delmas Y, Torres PU, et al. Dramatic beneficial effect of interleukin-1 inhibitor treatment in patients with familial Mediterranean fever complicated with amyloidosis and renal failure. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(5): 1898–1901.
- [30] Laskari K, Tzioufas AG, Moutsopoulos HM. Efficacy and long-term follow-up of IL-1R inhibitor anakinra in adults with Still's disease: a case-series study. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(3): R91.
- [31] Quartier P, Allantaz F, Cimaz R, et al. A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial with the interleukin-1 receptor antagonist anakinra in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis (ANAJIS trial). *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(5): 747–754.
- [32] Peciulienė S, Burnyte B, Gudaitienė R, et al. Perinatal manifestation of mevalonate kinase deficiency and efficacy of anakinra. *Pediatr Rheumatol*, 2016, 14: 19.
- [33] Grimwood C, Despert V, Jeru I, et al. On-demand treatment with anakinra: a treatment option for selected TRAPS patients. *Rheumatology*, 2015, 54(9): 1749–1751.
- [34] Ottaviani S, Moltó A, Ea HK, et al. Efficacy of anakinra in gouty arthritis: a retrospective study of 40 cases. *Arthritis Res Ther*, 2013, 15(5): R123.
- [35] Hung AM, Ellis CD, Shintani A, et al. IL-1 β receptor

- antagonist reduces inflammation in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(3): 437–442.
- [36] Abbate A, Kontos MC, Grizzard JD, et al. Interleukin-1 blockade with anakinra to prevent adverse cardiac remodeling after acute myocardial infarction (Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial [VCU-ART] Pilot study). *Am J Cardiol*, 2010, 105(10): 1371–1377.e1.
- [37] Larsen CM, Faulenbach M, Vaag A, et al. Interleukin-1-receptor antagonist in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 2007, 356(15): 1517–1526.
- [38] Hoffman HM, Throne ML, Amar NJ, et al. Efficacy and safety of rilonacept (interleukin-1 Trap) in patients with cryopyrin-associated periodic syndromes: results from two sequential placebo-controlled studies. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(8): 2443–2452.
- [39] So A, de Smedt T, Revaz S, et al. A pilot study of IL-1 inhibition by anakinra in acute gout. *Arthritis Res Ther*, 2007, 9(2): R28.
- [40] Kuemmerle-Deschner JB, Ramos E, Blank N, et al. Canakinumab (ACZ885, a fully human IgG1 anti-IL-1 β mAb) induces sustained remission in pediatric patients with cryopyrin-associated periodic syndrome (CAPS). *Arthritis Res Ther*, 2011, 13: R34.
- [41] Ozdogan H, Ugurlu S. Canakinumab for the treatment of familial Mediterranean fever. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(5): 393–404.
- [42] La Torre F, Caparello MC, Cimaz R. Canakinumab for the treatment of TNF-receptor associated periodic syndrome. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(6): 513–523.
- [43] Ridker PM, Thuren T, Zalewski A, et al. Interleukin-1 β inhibition and the prevention of recurrent cardiovascular events: rationale and design of the Canakinumab Anti-inflammatory Thrombosis Outcomes Study (CANTOS). *Am Heart J*, 2011, 162(4): 597–605.
- [44] Settas LD, Tsimirikas G, Vosvotekas G, et al. Reactivation of pulmonary tuberculosis in a patient with rheumatoid arthritis during treatment with IL-1 receptor antagonists (anakinra). *J Clin Rheumatol*, 2007, 13(4): 219–220.
- [45] Perrin F, Néel A, Graveleau J, et al. Two cases of anakinra-induced neutropenia during auto-inflammatory diseases: drug reintroduction can be successful. *La Presse Méd*, 2014, 43(3): 319–321.
- [46] Turesson C, Riesbeck K. Septicemia with *Staphylococcus aureus*, beta-hemolytic streptococci group B and G, and *Escherichia coli* in a patient with rheumatoid arthritis treated with a recombinant human interleukin 1 receptor antagonist (Anakinra). *J Rheumatol*, 2004, 31(9): 1876.
- [47] Ruperto N, Brunner HI, Quartier P, et al. Two randomized trials of canakinumab in systemic juvenile idiopathic arthritis. *N Engl J Med*, 2012, 367(25): 2396–2406.
- [48] Schlesinger N, Alten RE, Bardin T, et al. Canakinumab for acute gouty arthritis in patients with limited treatment options: results from two randomised, multicentre, active-controlled, double-blind trials and their initial extensions. *Ann Rheum Dis*, 2012, 71(11): 1839–1848.
- [49] Keller ET, Wanagat J, Ershler WB. Molecular and cellular biology of interleukin-6 and its receptor. *Front Biosci*, 1996, 1: d340–d357.
- [50] Nishimoto N, Yoshizaki K, Maeda K, et al. Toxicity, pharmacokinetics, and dose-finding study of repetitive treatment with the humanized anti-interleukin 6 receptor antibody MRA in rheumatoid arthritis. Phase I/II clinical study. *J Rheumatol*, 2003, 30(7): 1426–1435.
- [51] Smolen JS, Beaulieu A, Rubbert-Roth A, et al. Effect of interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis (OPTION study): a double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Lancet*, 2008, 371(9617): 987–997.
- [52] Yokota S, Imagawa T, Mori M, et al. Efficacy and safety of tocilizumab in patients with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis: a randomised, double-blind, placebo-controlled, withdrawal phase III trial. *Lancet*, 2008, 371(9617): 998–1006.
- [53] Schiff MH, Kremer JM, Jahreis A, et al. Integrated safety in tocilizumab clinical trials. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(5): R141.
- [54] Lang VR, Englbrecht M, Rech J, et al. Risk of infections in rheumatoid arthritis patients treated with tocilizumab. *Rheumatology*, 2012, 51(5): 852–857.
- [55] Yokota S, Itoh Y, Morio T, et al. Macrophage activation syndrome in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis under treatment with tocilizumab. *J Rheumatol*, 2015, 42(4): 712–722.
- [56] Markham A, Patel T. Siltuximab: first global approval.

- Drugs, 2014, 74(10): 1147–1152.
- [57] Stone RL, Nick AM, McNeish IA, et al. Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer. *N Engl J Med*, 2012, 366(7): 610–618.
- [58] Thomas SK, Suvorov A, Noens L, et al. Evaluation of the QTc prolongation potential of a monoclonal antibody, siltuximab, in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance, smoldering multiple myeloma, or low-volume multiple myeloma. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2014, 73(1): 35–42.
- [59] Koutruba N, Emer J, Lebwohl M. Review of ustekinumab, an interleukin-12 and interleukin-23 inhibitor used for the treatment of plaque psoriasis. *Ther Clin Risk Manag*, 2010, 6: 123–141.
- [60] Gottlieb AB, Cooper KD, McCormick TS, et al. A phase 1, double-blind, placebo-controlled study evaluating single subcutaneous administrations of a human interleukin-12/23 monoclonal antibody in subjects with plaque psoriasis. *Curr Med Res Opin*, 2007, 23(5): 1081–1092.
- [61] Hueber W, Sands BE, Lewitzky S, et al. Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial. *Gut*, 2012, 61(12): 1693–1700.
- [62] Gottlieb AB, Langley RG, Philipp S, et al. Secukinumab improves physical function in subjects with plaque psoriasis and psoriatic arthritis: results from two randomized, Phase 3 trials. *J Drugs Dermatol*, 2015, 14(8): 821–833.
- [63] Baeten D, Sieper J, Braun J, et al. Secukinumab, an interleukin-17A inhibitor, in ankylosing spondylitis. *N Engl J Med*, 2015, 373(26): 2534–2548.
- [64] Ren V, Dao H Jr. Potential role of ixekizumab in the treatment of moderate-to-severe plaque psoriasis. *Clin Cosmet Investig Dermatol*, 2013, 6: 75–80.
- [65] Rider P, Carmi Y, Yossef R, et al. IL-1 receptor antagonist chimeric protein: context-specific and inflammation-restricted activation. *J Immunol*, 2015, 195(4): 1705–1712.
- [66] Joosten LA, Netea MG, Fantuzzi G, et al. Inflammatory arthritis in caspase 1 gene-deficient mice: contribution of proteinase 3 to caspase 1-independent production of bioactive interleukin-1 β . *Arthritis Rheum*, 2009, 60(12): 3651–3662.
- [67] Dinarello CA. An expanding role for interleukin-1 blockade from gout to cancer. *Mol Med*, 2014, 20(Suppl 1): S43–S58.
- [68] Efimov GA, Kruglov AA, Khlopchatnikova ZV, et al. Cell-type-restricted anti-cytokine therapy: TNF inhibition from one pathogenic source. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(11): 3006–3011.
- [69] Wunder A, Müller-Ladner U, Stelzer EHK, et al. Albumin-based drug delivery as novel therapeutic approach for rheumatoid arthritis. *J Immunol*, 2003, 170(9): 4793–4801.
- [70] Liu MY, Huang Y, Hu L, et al. Selective delivery of interleukin-1 receptor antagonist to inflamed joint by albumin fusion. *BMC Biotechnol*, 2012, 12: 68.
- [71] Coppieters K, Dreier T, Silence K, et al. Formatted anti-tumor necrosis factor α VHH proteins derived from camelids show superior potency and targeting to inflamed joints in a murine model of collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(6): 1856–1866.
- [72] Sauer S, Erba PA, Petrini M, et al. Expression of the oncofetal ED-B-containing fibronectin isoform in hematologic tumors enables ED-B-targeted ^{131}I -L19SIP radioimmunotherapy in Hodgkin lymphoma patients. *Blood*, 2009, 113(10): 2265–2274.
- [73] Trachsel E, Bootz F, Silacci M, et al. Antibody-mediated delivery of IL-10 inhibits the progression of established collagen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther*, 2007, 9(1): R9.
- [74] Ventura E, Balza E, Borsi L, et al. Selective targeted delivery of the TNF- α receptor p75 and uteroglobin to the vasculature of inflamed tissues: a preliminary report. *BMC Biotechnol*, 2011, 11: 104.
- [75] Liu MY, Xie M, Jiang SJ, et al. A novel bispecific antibody targeting tumor necrosis factor α and ED-B fibronectin effectively inhibits the progression of established collagen-induced arthritis. *J Biotechnol*, 2014, 186: 1–12.
- [76] Kamperidis P, Kamalati T, Ferrari M, et al. Development of a novel recombinant biotherapeutic with applications in targeted therapy of human arthritis. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(12): 3758–3767.

(本文责编 郝丽芳)