

PD-L1/TGF- β 双功能抑制剂融合蛋白 M7824 研究进展

胡梦雪¹ 许斌¹ 于金明^{1,2} 宋启斌¹

¹武汉大学人民医院肿瘤中心 430060; ²山东大学附属山东省肿瘤医院放疗科, 济南 250117

通信作者: 于金明, Email: sdyujinming@126.com; 宋启斌, Email: qibinsong@163.com

【摘要】 随着程序性死亡蛋白-1 (PD-1) 及程序性死亡蛋白配体-1 (PD-L1) 抑制剂的发展, 第二代联合免疫抑制剂应运而生。作为一种 PD-L1/转化生长因子- β (TGF- β) 双功能融合蛋白, M7824 可在拮抗 PD-L1 通路的同时捕获 TGF- β , 有效增强免疫应答, 减少免疫逃逸及耐药性的发生。该药物在多个临床前研究中取得显著疗效, 然而其适应证、安全性、有效性仍需大型临床研究数据证实。

【关键词】 重组融合蛋白质类; 转化生长因子 β ; PD-L1; M7824

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2019.05.006

Advances of bifunctional anti-PD-L1/TGF- β fusion protein M7824

Hu Mengxue¹, Xu Bin¹, Yu Jinming^{1,2}, Song Qibin¹

¹Department of Oncology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China; ²Department of Radiation Therapy, Shandong Cancer Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250117, China

Corresponding author: Yu Jinming, Email: sdyujinming@126.com; Song Qibin, Email: qibinsong@163.com

【Abstract】 With the development of programmed death-1 (PD-1) and programmed death ligand-1 (PD-L1) inhibitors, the second generation of combined immunosuppressive agents emerge as the times require. As a bifunctional anti-PD-L1/transforming growth factor- β (TGF- β) fusion protein, M7824 can antagonize PD-L1 pathway and trap TGF- β at the same time, which can effectively enhance the immune response and reduce the occurrence of immune escape and drug resistance. The drug has achieved remarkable results in many preclinical studies, however, the indications, safety and efficacy still need to be confirmed by large-scale clinical research data.

【Key words】 Recombinant fusion proteins; Transforming growth factor β ; PD-L1; M7824

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2019.05.006

近年来免疫治疗发展迅速, 程序性死亡蛋白配体-1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 抑制剂已被证实可在多种实体瘤中产生持续抗肿瘤应答。转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 可通过促进肿瘤免疫抑制、血管生成和转移、肿瘤上皮间质转化 (epithelial-to-mesenchymal transition, EMT) 等一系列作用促进肿瘤发生^[1-2], 且与肿瘤细胞逃脱免疫系统监视息息相关。为减少肿瘤免疫逃逸、增强抗肿瘤免疫应答, 研究者联合以上两种抗肿瘤机制设计出第二代 PD-L1 抑制剂 M7824 (MSB0011359C), 并进入相关临床研究。

1 M7824 的结构与功能

1.1 M7824 的结构

M7824 是一种双功能抗体-配体捕获融合蛋白, 是由美国国家癌症研究所和约翰·霍普金斯医学院

两个机构的研究人员共同研发的, 其在 Y 型靶向抗体端嵌入抗 PD-L1 抗体, 另一端融合 TGF- β 受体 II, 并通过连接序列 (GGGS)₃ 将 TGF- β 受体 II 的胞外结构域序列融合到抗 PD-L1 抗体的 C 末端^[3]。M7824 在拮抗 PD-L1 的同时, 还可结合同源二聚化 TGF- β , 内化并降低人体血清中 TGF- β 水平。

1.2 M7824 的功能

M7824 通过拮抗 PD-L1 及 TGF- β 两种信号通路达到独立抗肿瘤作用。PD-L1 通常表达于肿瘤细胞、肿瘤相关巨噬细胞及其他肿瘤微环境细胞中, 其可通过与程序性死亡蛋白-1 (programmed death-1, PD-1) 相互作用抑制 CD8⁺T 细胞功能。PD-L1 在多种肿瘤中均呈高表达, 且与预后不良显著相关^[4]。TGF- β 在肿瘤微环境中可通过促进调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg)、抑制 CD8⁺T 细胞及 Th1 细胞的增殖来抑

制免疫应答,参与免疫逃逸过程^[3]。此外,TGF- β 信号通路可诱导多种转录因子的表达,从而促进间质蛋白的表达及 EMT 的发生^[5],这些改变可使正常细胞极性及细胞间接触丧失,使细胞获得迁徙及浸润能力,并进一步导致肿瘤扩散^[6-7]。

此外,M7824 也可通过拮抗 TGF- β 与 PD-L1 之间的相互作用发挥联合抗肿瘤作用。PD-L1 在肿瘤细胞和肿瘤浸润性 T 细胞中过表达,与 TGF- β 联合可抑制 T 细胞激活,并诱导持续性免疫抑制性 Treg 细胞的分化^[8]。有研究表明 TGF- β 可上调抗原呈递细胞 (antigen presenting cell, APC) 中的 PD-L1,而 APC 表面表达的 PD-L1 又可释放抑制性分子到肿瘤微环境中,PD-L1 与其受体结合可抑制细胞毒性 T 淋巴细胞效应或诱导其释放抑制性分子,共同达到抑制免疫细胞浸润及促进肿瘤生长的作用^[9]。PD-L1 高表达能导致 Foxp3⁺ Treg 细胞数量增加,与肿瘤预后不良相关。研究显示在一定 TGF- β 刺激下,野生型 APC 可诱导幼稚 T 细胞转变为 Foxp3⁺ Treg 细胞,而在 PD-L1 阴性 APC 作用下,其转化为 Foxp3⁺ Treg 的数量明显减少,提示 TGF- β 和 PD-L1 在调节 Foxp3⁺ Treg 细胞形成中可能具有协同作用^[10-11]。TGF- β 家族成员也是维系 Treg 数量和功能的重要因子^[12]。因此,在肿瘤微环境中 TGF- β 可能具有上调 PD-L1 表达的能力,但具体调节机制有待于进一步实验研究。M7824 可通过抑制这两种信号通路及其协同作用发挥抗肿瘤作用。

2 M7824 的抗肿瘤机制

M7824 可同时激活内源及外源性免疫系统,达到双重抗肿瘤效应,拮抗抑制性免疫微环境的产生。在荷瘤小鼠肿瘤模型体内,M7824 可促进 CD8⁺ T 细胞及自然杀伤细胞的浸润、增殖及成熟,促进树突状细胞及单核细胞在肿瘤部位聚集成生长^[13-15]。与单独使用 PD-L1 抗体及 TGF- β 抑制剂相比,M7824 可有效抑制肿瘤生长及转移,延长小鼠生存时间并维持长期保护性抗肿瘤免疫应答。Strauss 等^[16]在临床前 I 期研究中也证实了 M7824 的疗效及安全性。既往研究表明,放疗可促进体内 TGF- β 及 PD-L1 的表达^[17],在 MC38 荷瘤小鼠模型中,M7824 与放疗联合可增强放疗疗效,并促进远隔效应的发生^[14]。另外,有研究发现 M7824 可通过自然杀伤细胞介导的细胞裂解增强人尿路上皮癌患者对顺铂化疗的敏感性^[18],提示 M7824 可能成为肿瘤患者放化疗的有效联合用药。

David 等^[19]在一项非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 模型研究中发现,M7824 可减弱 TGF- β 介导的肿瘤细胞 EMT 作用,包括减少间质标

志物表达、抑制肿瘤细胞增殖及抗药性的发生。EMT 发生在恶性肿瘤进展及转移过程中,同时与多种治疗剂耐药相关。Liu 等^[20]研究发现,肿瘤细胞通过表达 TGF- β 进一步以 Smad2 依赖的方式上调 PD-L1 基因转录及表达,以获得免疫逃逸的发生。其中 PD-L1 的上调可能是 TGF- β 诱导 NSCLC 免疫抑制的新机制,同时 M7824 可通过阻断肿瘤 EMT 及 PD-L1 依赖性免疫抑制作用达到联合抗肿瘤的目的^[19]。

同时,一项大型临床试验也对 TGF- β 与 PD-L1 的关系进行了进一步探索。两项大型临床试验 (IMvigor210、IMvigor211) 是阿特珠单抗获批用于局部晚期或转移性尿路上皮癌一线治疗的基础^[21-22],并奠定了阿特珠单抗在尿路上皮癌治疗中的地位。IMvigor210 研究对 298 例尿路上皮癌组织标本进行转录 RNA 测序,评估免疫细胞 PD-L1 表达与免疫应答的关系,结果显示,PD-L1 抑制剂的高反应性与 CD8⁺ T 效应细胞、新抗原高表达及肿瘤突变负荷相关,低反应性与成纤维细胞中 TGF- β 的信号转导通路相关,该现象在无 CD8⁺ T 细胞浸润的肿瘤微环境中更为明显。该研究还发现,TGF- β 蛋白在阿特珠单抗治疗无效的患者肿瘤组织中高表达,提示 TGF- β 蛋白可能是抑制 T 细胞浸润肿瘤、导致免疫治疗耐药并削弱抗肿瘤免疫应答的关键因子^[8]。此外,Ravi 等^[3]发现 PD-L1 与 TGF- β 可协同抑制 T 细胞激活,并诱导免疫抑制性 Treg 细胞活化及 Foxp3 的表达,共同参与免疫耐受过程。在动物实验中,有研究人员在接种 EMT-6 细胞的 BALB/c 小鼠移植瘤模型中发现,联合 TGF- β 抑制剂和 PD-L1 抑制剂可下调基质细胞中 TGF- β 的表达,重塑肿瘤基质微环境并促进 T 细胞浸润到肿瘤组织内部,从而提高 PD-L1 抑制剂的疗效,促进肿瘤消退^[8,23]。

3 M7824 的疗效及安全性

目前 M7824 已经进入临床试验阶段。晚期实体瘤 I 期剂量爬坡临床试验 (NCT02517398) 结果显示,19 例美国东部肿瘤协作组 (ECOG) 评分 0~1 分的实体瘤患者经 M7824 治疗后,4 例 (21%) 出现 ≥ 3 级治疗相关不良反应;最大耐受剂量未达到。在所有剂量水平均可观察到疗效,包括 1 例正在进行确认的完全缓解 (宫颈癌),2 例部分缓解 (胰腺癌及肛门癌);1 例接近部分缓解 (宫颈癌) 以及 2 例长期稳定患者 (胰腺癌及类癌)^[16]。Park 等^[24]的研究也显示,M7824 在预处理的晚期实体瘤患者中有可接受的安全性及令人鼓舞的疗效。

2018 年美国临床肿瘤学会年会更新数据显示,将 80 例未接受过 PD-L1/PD-L1 抑制剂治疗的晚期

NSCLC 患者分成低剂量及高剂量 M7824 治疗组 (500 mg : 1 200 mg, 2 周/次), 试验结果显示, 高剂量 M7824 组患者客观缓解率 (overall response rate, ORR) 达 27.5%, PD-L1 $\geq 1\%$ 的患者 ORR 达 40.7% (11/27), 无进展生存期 (progression-free survival, PFS) 为 6.8 个月; PD-L1 $\geq 80\%$ 组 ORR 高达 71.4% (5/7), PFS 尚未达到, 对比 PD-L1 抑制剂历史数据均得到显著提高。最常见的治疗相关不良反应为瘙痒 (20.0%)、斑疹 (18.8%) 和食欲下降 (12.5%)。21 例患者发生 3 级不良反应, 2 例发生 4 级不良反应, 其中 8 例因治疗相关不良反应停止治疗^[25]。

同时, 2018 年美国临床肿瘤学会年会还公布了另一项重磅研究结果, M7824 治疗人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 相关肿瘤的 II 期临床试验 (NCT03427411) 数据显示, 在宫颈癌、肛门癌、头颈部鳞状细胞癌等与 HPV 相关的肿瘤患者中, 在 47.1% (8/17) 的患者中观察到肿瘤负荷减小, ORR 达 35.3%; 12 例确认 HPV 阳性的患者其 ORR 高达 41.7%; 共有 4 例 (23.5%) 患者出现 ≥ 3 级治疗相关不良反应, 包括结肠炎、膀胱炎、胃轻瘫、胸腔积液和低钾血症^[26], 与其他相关临床试验观察到的数据安全性较一致。以上研究表明 M7824 在 HPV 相关肿瘤患者中可能成为有潜力的免疫治疗方案, 可能与 HPV 相关肿瘤的 TGF- β 信号通路失调密切相关。

默克公司在 2018 年欧洲肿瘤内科学会上展示了一项新试验 (NCT02699515) 数据, 同样也证实了 M7824 在既往接受过一线铂类治疗的、亚裔晚期胆道系统肿瘤患者中的临床活性。通过评估, 30 例患者总体 ORR 为 20%。在所有 PD-L1 表达的患者身上均观察到了疗效反应, 且响应持续时间为 8.3 个月至 13.9 个月以上。10 例患者 (33.3%) 经历 3 级或更高级别的不良事件。最常见的不良事件是皮疹 (10%) 和脂肪酶增加 (10%)。报告中还包含了 3 例因不良事件导致的死亡, 其中 1 例死于脓毒性休克 (菌血症, 病因未知), 2 例死于间质性肺炎^[27]。

4 M7823 的最新进展

基于以上研究, 美国食品和药物管理局已授予 M7824 治疗胆管癌的孤儿药资格认定, 这是 M7824 获得的首个监管资格认定。默克旗下 PD-L1/TGF- β 双抑制剂 M7824 的进口审批也已获得我国国家食品药品监督管理局药品评审中心受理 (受理号: JXSL1800051)。此外, M7824 相关试验已进入研究热潮, 多项临床研究 (NCT02699515、NCT03620201、NCT03707587 等) 正在进行中。一项开放、多中心、随机 II 期临床试验 (NCT03631706) 对比了 M7824 及

帕博利珠单抗 (Pembrolizumab) 一线治疗 PD-L1 阳性、晚期 NSCLC 的疗效, 试验组接受 M7824 (1 200 mg, 2 周/次), 对照组接受帕博利珠单抗 (200 mg, 3 周/次), 直至疾病进展, 主要研究终点为最佳总疗效及 PFS。虽然目前仅有部分 I 期及 II 期临床试验结果公布, 仍可看出 M7824 在免疫治疗中的应用前景, 期待大样本 III 期临床试验数据证实 M7824 的疗效及安全性。

5 结语

随着研究者们对免疫治疗持之以恒的探索, 二代免疫治疗药物曙光初现。在以上研究的基础上, 也有研究发现 TGF- β 通过介导细胞表型变化在不同的肿瘤类型、分期及不同表观遗传学变化中具有肿瘤抑制及致瘤活性的双重角色, 这种双重作用是否会成为 TGF- β 抑制剂治疗恶性肿瘤的阻碍仍需要进一步探索。此外, 目前仍缺乏大型 III 期临床试验及有效数据证明 M7824 的临床活性, 如何减少 M7824 相关不良事件的发生也有待进一步研究。联合治疗成为肿瘤免疫疗法的发展趋势, 将不同机制的抗肿瘤疗法联合应用可更有效地治疗肿瘤。如抗肿瘤疫苗与 PD-L1 抑制剂联用, 嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法与 PD-L1 抑制剂联用以及肿瘤免疫疗法与基因疗法联用等。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Guo L, Zhang Y, Zhang L, et al. MicroRNAs, TGF- β signaling, and the inflammatory microenvironment in cancer [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(1): 115-25. DOI: 10.1007/s13277-015-4374-2.
- [2] Akhurst RJ, Hata A. Targeting the TGF β signalling pathway in disease [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2012, 11(10): 790-811. DOI: 10.1038/nrd3810.
- [3] Ravi R, Noonan KA, Pham V, et al. Bifunctional immune checkpoint-targeted antibody-ligand traps that simultaneously disable TGF β enhance the efficacy of cancer immunotherapy [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 741. DOI: 10.1038/s41467-017-02696-6.
- [4] Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity [J]. *Nature*, 2017, 545 (7655): 495-499. DOI: 10.1038/nature22396.
- [5] Moustakas A, Heldin CH. Mechanisms of TGF β -induced epithelial-mesenchymal transition [J]. *J Clin Med*, 2016, 5 (7). pii: E63. DOI: 10.3390/jcm5070063.
- [6] Bai WD, Ye XM, Zhang MY, et al. MiR-200c suppresses TGF- β signaling and counteracts trastuzumab resistance and metastasis by targeting ZNF217 and ZEB1 in breast cancer [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(6): 1356-1368. DOI: 10.1002/ijc.28782.
- [7] Lin RL, Zhao LJ. Mechanistic basis and clinical relevance of the role of transforming growth factor- β in cancer [J]. *Cancer Biol Med*, 2015, 12 (4): 385-93. DOI: 10.7497/j.issn.2095-3941.2015.

- 0015.
- [8] Mariathasan S, Turley SJ, Nickles D, et al. TGF β attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells [J]. *Nature*, 2018, 554 (7693): 544-548. DOI: 10.1038/nature25501.
- [9] Duan J, Liu X, Chen H, et al. Impact of PD-L1, transforming growth factor- β expression and tumor-infiltrating CD8⁺ T cells on clinical outcome of patients with advanced thymic epithelial tumors [J]. *Thorac Cancer*, 2018, 9 (11): 1341-1353. DOI: 10.1111/1759-7714.12826.
- [10] Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity [J]. *Immunol Rev*, 2010, 236: 219-242. DOI: 10.1111/j.1600-065x.2010.00923.x.
- [11] Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells [J]. *J Exp Med*, 2009, 206 (13): 3015-3029. DOI: 10.1084/jem.20090847.
- [12] Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF- β and the TGF- β family: context-dependent roles in cell and tissue physiology [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2016, 8 (5). pii: a021873. DOI: 10.1101/cshperspect.a021873.
- [13] Lan Y, Zhang D, Xu C, et al. Enhanced preclinical antitumor activity of M7824, a bifunctional fusion protein simultaneously targeting PD-L1 and TGF- β [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(424). pii: eaan5488. DOI: 10.1126/scitranslmed.aan5488.
- [14] Knudson KM, Hicks KC, Luo X, et al. M7824, a novel bifunctional anti-PD-L1/TGF β Trap fusion protein, promotes anti-tumor efficacy as monotherapy and in combination with vaccine [J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7 (5): e1426519. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1426519.
- [15] Jochems C, Tritsch SR, Pellom ST, et al. Analyses of functions of an anti-PD-L1/TGF β R2 bispecific fusion protein (M7824) [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43): 75217-75231. DOI: 10.18632/oncotarget.20680.
- [16] Strauss J, Heery CR, Schlom J, et al. Phase I trial of M7824 (MSB0011359C), a bifunctional fusion protein targeting PD-L1 and TGF β , in advanced solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24 (6): 1287-1295. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2653.
- [17] Dovedi SJ, Adlard AL, Lipowska-Bhalla G, et al. Acquired resistance to fractionated radiotherapy can be overcome by concurrent PD-L1 blockade [J]. *Cancer Res*, 2014, 74 (19): 5458-5468. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-1258.
- [18] Grenga I, Donahue RN, Gargulak ML, et al. Anti-PD-L1/TGF β R2 (M7824) fusion protein induces immunogenic modulation of human urothelial carcinoma cell lines, rendering them more susceptible to immune-mediated recognition and lysis [J]. *Urol Oncol*, 2018, 36 (3): 93. e1-e93. e11. DOI: 10.1016/j.urolonc.2017.09.027.
- [19] David JM, Dominguez C, McCampbell KK, et al. A novel bifunctional anti-PD-L1/TGF- β Trap fusion protein (M7824) efficiently reverts mesenchymalization of human lung cancer cells [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6 (10): e1349589. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1349589.
- [20] Liu L, Liu X, Ren X, et al. Smad2 and Smad3 have differential sensitivity in relaying TGF β signaling and inversely regulate early lineage specification [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21602. DOI: 10.1038/srep21602.
- [21] Balar AV, Galsky MD, Rosenberg JE, et al. Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial [J]. *Lancet*, 2017, 389 (10064): 67-76. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32455-2.
- [22] Powles T, Durán I, van der Heijden MS, et al. Atezolizumab versus chemotherapy in patients with platinum-treated locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (IMvigor211): a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2018, 391 (10122): 748-757. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33297-X.
- [23] Terabe M, Robertson FC, Clark K, et al. Blockade of only TGF- β 1 and 2 is sufficient to enhance the efficacy of vaccine and PD-1 checkpoint blockade immunotherapy [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(5): e1308616. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1308616.
- [24] Park BV, Freeman ZT, Ghasemzadeh A, et al. TGF- β 1-mediated SMAD3 enhances PD-1 expression on antigen-specific T cells in cancer [J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(12): 1366-1381. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-1347.
- [25] Luis G, Tae K, David VB, et al. Results from a second-line (2L) NSCLC cohort treated with M7824 (MSB0011359C), a bifunctional fusion protein targeting TGF- β and PD-L1 [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36 (15_Suppl): 9017. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.9017.
- [26] Julius S, Margaret GM, Jason R, et al. Safety and activity of M7824, a bifunctional fusion protein targeting PD-L1 and TGF- β , in patients with HPV associated cancers [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36 (15_Suppl): 3007. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.3007.
- [27] Yoo C, oh DY, Choi HJ, et al. AB053. P-21. M7824 (MSB0011359C), a bifunctional fusion protein targeting transforming growth factor β (TGF- β) and PD-L1, in Asian patients with pretreated biliary tract cancer (BTC): efficacy by BTC subtype [J]. *ESMO*, 2019, In press. DOI: 10.21037/hbsn.2019.AB053.

(收稿日期:2019-02-27 修回日期:2019-03-26)
(本文编辑:张晶晶)