



靶向受体酪氨酸激酶RON的抗体 药物偶联物及其抗癌作用*

孙 婷 姚航平**

(浙江大学医学院附属第一医院传染病重症诊治全国重点实验室, 国家感染病临床医学研究中心, 杭州 310003)

摘要 受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinases, RTKs) 是一类细胞表面跨膜酶联受体, 在生理状态下参与多种细胞生命过程。RTK 及其信号的异常与肿瘤等多种人类疾病密切相关。RON (recepteur d'origine nantais) 作为 RTK 的成员, 当其异常表达时, 能够通过复杂的下游信号转导参与肿瘤的发生发展, 因此被认为是肿瘤靶向治疗的潜在靶点。近年来, 多种靶向 RON 的抗体药物偶联物 (antibody-drug conjugates, ADCs) 被开发和研究。本文对具有代表性的抗 RTK-ADC 进行总结, 对抗 RON-ADC 的构建、体内外抗癌疗效以及药理学和毒性特征进行了系统综述。总体而言, 抗 RON-ADC 稳定性良好, 在动物模型中表现出显著的抗癌活性和可控的毒性, 具有乐观的临床转化前景。然而, 现阶段抗 RON-ADC 仍存在较多局限, 需要在有效载荷选择和内吞效率优化等方面继续推进下一代抗 RON-ADC 的研发, 并全面评估其临床转化的潜在挑战和实施方法, 从而加速抗 RON-ADC 临床试验的推进, 以期最终实现临床应用。

关键词 RON, 受体酪氨酸激酶, 抗体药物偶联物

中图分类号 R453.9, R730.54

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0059

CSTR: 32369.14.pibb.20260059

受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinases, RTKs) 是一类细胞表面跨膜酶联受体, 在细胞内酪氨酸磷酸化和信号转导中起重要作用。RTK 与配体结合后, 通过激活酪氨酸激酶结构域和下游磷酸化级联信号, 参与细胞的增殖、分化、存活、迁移、细胞周期进展和代谢等重要生命过程^[1]。RTK 表达及信号的异常与众多人类疾病密切相关。RTK 的异常激活是肿瘤的特征之一, 当 RTK 因突变、过表达、自分泌/旁分泌刺激等原因发生异常激活时, 将产生病理性的信号转导, 通过不同的机制增加肿瘤细胞的增殖和存活^[2]。因此, RTK 被认为是肿瘤靶向治疗的重要靶点。RON (recepteur d'origine nantais) 属于 RTKs 中间充质-上皮转化因子 (mesenchymal-epithelial transition factor, MET) 家族的成员, 其信号转导同样在多种肿瘤的进展中发挥重要作用。

目前, 各种针对 RTKs 靶点的药物已被开发出来, 包括小分子抑制剂、单克隆抗体等, 在各类肿瘤的治疗中都显示出了良好的疗效^[3]。然而, 小

分子药物的使用存在显著的耐药性和毒性反应^[2-3]。因此, 随着生物科技的发展, 抗体药物偶联物 (antibody-drug conjugates, ADCs) 逐渐成为靶向 RTKs 药物的热门研究方向。ADC 是新一代的抗肿瘤生物疗法, 其利用肿瘤抗原特异性单克隆抗体的精准选择性, 直接递送强效的细胞毒性药物, 即有效载荷, 到达肿瘤细胞, 因此可以提高化疗效率, 同时降低全身暴露和毒性^[4]。ADC 分子由 3 个关键部分构成: 单克隆抗体、有效载荷, 以及连接两者的化学连接子。当 ADC 到达肿瘤部位后, 抗体与肿瘤细胞上特异性表达的抗原结合、通过受体介导的内吞作用使 ADC 内化, 进而连接子裂解、有效载荷释放, 从而发挥有效载荷介导的生物学效应^[5]。

本综述总结了靶向 RTK 的 ADC 药物 (抗 RTK-

* 国家自然科学基金 (82473937) 和浙江省高层次人才特殊支持计划科技创新领军人才 (2022R52029) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 0571-87236580, E-mail: yaohangping@zju.edu.cn

收稿日期: 2026-01-30, 接受日期: 2026-04-16

ADC), 系统阐述了靶向 RON 的 ADC (抗 RON-ADC) 的构建、在体内外模型中的抗癌疗效以及药理学和毒性特征, 并探讨了当前抗 RON-ADC 存在的局限性以及下一代抗 RON-ADC 的发展方向, 旨在为后续药物的开发及临床研究和应用提供参考依据。

1 靶向RTK的ADC

截至2025年12月31日, 已有近百种靶向 RTK 的 ADC 被开发和研究。这些 ADC 靶向十余个不同的 RTK 家族, 在临床前和临床研究中显示出对相关受体阳性的实体瘤或血液肿瘤的良好疗效, 其中 5 种获美国食品药品监督管理局 (Food and Drug

Administration, FDA) 或中国国家药品监督管理局 (National Medical Products Administration, NMPA) 批准。表 1 中总结了针对各个靶点具有代表性的抗 RTK-ADC 的构成、开发及研究情况。

其中, 数种抗 RON-ADC 获得研发^[6-9]。抗 RON-ADC 的构建共选用了 3 种诱导内吞效率良好的 RON 单克隆抗体, 以及 3 种作为有效载荷的细胞毒性药物。这些抗 RON-ADC 均已进行基础研究, 评估了其在体外和体内的稳定性及抗癌活性, 并明确了其在动物体内的药理学和毒性特征^[10-14]。后续章节对抗 RON-ADC 的构建以及基础研究结果进行了详细论述。

Table 1 Antibody–drug conjugates targeting RTKs
表1 靶向RTK的ADC

名称	靶点	制作者	时间 ¹⁾	有效载荷	DAR ²⁾	适应症	研究阶段	文献
Trastuzumab emtansine (T-DM1)	HER2	Genentech	1998	DM1	3.5	乳腺癌	获批 (FDA)	[15]
Trastuzumab duocarmazine (T-Duo, SYD985)		Synthon Biopharmaceuticals	2014	seco-DUBA	2.7	乳腺癌、子宫内膜癌	III期临床研究	[16]
Trastuzumab deruxtecan (T-DXd, DS-8201a)		Daiichi Sankyo	2016	DXd	8	HER2阳性实体瘤	获批 (FDA)	[17]
MEDI4276		MedImmune	2016	AZ13599185	4	乳腺癌、胃癌	II期临床研究	[18]
Disitamab vedotin (RC48)		荣昌生物制药 (烟台) 有限公司	2017	MMAE	4	HER2阳性实体瘤	获批 (NMPA)	[19]
Zanidatamab Zovodotin (ZW49)		Zymeworks	2018	Auristatin衍生物	2	乳腺癌、胃癌	I期临床研究	[20]
Pertuzumab zovotolimod (SBT6050)		Silverback	2019	TLR8激动剂	未知	HER2阳性实体瘤	II期临床研究	[21]
Trastuzumab rezetecan (SHR-A1811)		上海恒瑞医药有限公司	2020	SHR169265	6	HER2阳性实体瘤	获批 (NMPA)	[22]
DHES0815A		Genentech	2023	PBD二聚体	未知	乳腺癌、子宫浆液癌	I期临床研究	[23]
HMBD-802		Hummingbird Bioscience	2024	Topo2i和ATRi	1+1	HER2阳性实体瘤	基础研究	[24]
XMT-2056		Mersana Therapeutics	2025	diABZI STING 激动剂	8	乳腺癌、胃癌	I期临床研究	[25]
bsHER2×CD63-ADC	HER2、CD63	Genmab	2016	duostatin-3	1	乳腺癌、结直肠癌、卵巢癌	基础研究	[26]
23V-MMAE	HER2、HER3	杰科生物医药有限公司	2024	MMAE	2.9	乳腺癌	基础研究	[27]
Patritumab deruxtecan (HER3-DXd, U3-1402)	HER3	Daiichi Sankyo	2019	DXd	8	乳腺癌、非小细胞肺癌	III期临床研究	[28]
KHN922		成都康弘药业集团股份有限公司	2025	Topo1i和RNA POL Iii	3.9+3.6	HER3 低表达实体瘤	基础研究	[29]
Depatuxizumab mafodotin (ABT-414)	EGFR	AbbVie	2016	MMAF	4	胶质母细胞瘤	III期临床研究	[30]

续表1							
名称	靶点	制作者	时间 ¹⁾	有效载荷	DAR ²⁾	适应症	研究阶段 文献
ABBV-221		AbbVie	2018	MMAE	3	非小细胞肺癌、结直肠癌、胶质母细胞瘤	I期临床研究 [31]
LR-DM1		中国医学科学院医药生物技术研究所	2022	DM1	3.6	胰腺癌	基础研究 [32]
Izalontamab brengitecan (BL-B01D1)	EGFR、HER3	百利天恒、SystImmune	2023	Ed-04	8	EGFR/HER3 阳性实体瘤	III期临床研究 [33]
JSKN021		江苏康宁杰瑞生物制药有限公司	2025	Topoli和MMAE	4+2	HER3/EGFR 阳性实体瘤	基础研究 [34]
AZD9592	EGFR、MET	AstraZeneca	2022	Topoli	6	非小细胞肺癌、头颈部鳞状细胞癌	I期临床研究 [35]
Telisotuzumab vedotin (ABBV-399)	MET	AbbVie	2014	MMAE	3	非小细胞肺癌	获批 (FDA) [36]
RC108		荣昌生物制药 (烟台) 有限公司	2020	MMAE	3.5	MET阳性实体瘤	II期临床研究 [37]
PCMC1D3-DCM		Texas Tech University Health Sciences Center (TTUHSC)	2022	DCM	3.6	乳腺癌、胰腺癌、结直肠癌	基础研究 [38]
Zt/g4-DM1	RON	TTUHSC	2014	DM1	4	胰腺癌、非小细胞肺癌、结直肠癌	基础研究 [6]
Zt/g4-MMAE		TTUHSC	2018	MMAE	4	乳腺癌、胰腺癌、结直肠癌	基础研究 [7]
H5B14-DM1/MMAE/DCM		TTUHSC	2019	DM1/MMAE/DCM	4	RON阳性实体瘤	基础研究 [8]
PCMdt-MMAE	RON、MET	TTUHSC	2025	MMAE	4	RON/MET 阳性实体瘤	基础研究 [9]
CDX0239-PBD	ALK	Celldex Therapeutics	2025	PBD二聚体	6	神经母细胞瘤、融合阳性横纹肌肉瘤、结直肠癌	基础研究 [39]
Enapotamab vedotin (AXL-107-MMAE)	AXL	Genmab	2018	MMAE	4	非小细胞肺癌、黑色素瘤	II期临床研究 [40]
ADCT-601		AstraZeneca	2022	SG3199	2	软组织肉瘤、骨肉瘤	I期临床研究 [41]
1C1-mcMMAF (MEDI-547)	EphA2	MedImmune	2008	MMAF	4	EphA2阳性实体瘤	I期临床研究 [42]
MBRC-101	EphA5	MBrace Therapeutics	2025	MMAE	4	乳腺癌、肺癌、头颈部鳞状细胞癌	基础研究 [43]
Aprutumab ixadotin (BAY 1187982)	FGFR2	Bayer Pharma	2016	Auristatin衍生物	未知	FGFR2 阳性实体瘤	I期临床研究 [44]
ASP1235	FLT3	Astellas Pharma	2022	AGL-0182-30	4	急性髓系白血病	I期临床研究 [45]
W0101	IGF-1R	Institut de Recherche Pierre Fabre	2020	Auristatin衍生物	未知	乳腺癌	基础研究 [46]
LOP628	KIT	ImmunoGen	2018	DM1	未知	胃肠间质瘤、小细胞肺癌、急性髓系白血病	基础研究 [47]
Cofetuzumab pelidotin (PF-06647020)	PTK7	Pfizer	2016	Aur0101	4	乳腺癌、非小细胞肺癌、卵巢癌	I期临床研究 [48]

续表1								
名称	靶点	制作者	时间 ¹⁾	有效载荷	DAR ²⁾	适应症	研究阶段	文献
Y078-DM1/DM4	RET	Takeda	2015	DM1/DM4	3.3	乳腺癌	基础研究	[49]
Zilovetamab vedotin (MK-2140, VLS-101)	ROR1	Merck Sharp & Dohme Co.	2020	MMAE	4	血液恶性肿瘤、 乳腺癌、肺癌	III期临床 研究	[50]
Ozuriftamab vedotin (BA3021)	ROR2	BioAtla	2025	MMAE	4	ROR2阳性实体瘤	II期临床 研究	[51]

¹⁾ 时间为ADC的研发或研究结果首次公布的时间; ²⁾ DAR: 药物抗体比 (drug-to-antibody ratio)。HER2: 人表皮生长因子受体2 (human epidermal growth factor receptor 2); HER3: 人表皮生长因子受体3 (human epidermal growth factor receptor 3); CD63: 分化簇63 (cluster of differentiation 63); EGFR: 表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor); MET: 间充质-上皮转化因子 (mesenchymal-epithelial transition factor); RON: RON受体 (recepteur d'origine nantais); ALK: 间变性淋巴瘤激酶 (anaplastic lymphoma kinase); AXL: AXL受体 (Anexelekto); EphA2: 肝配蛋白A型受体2 (ephrin type A receptor 2); EphA5: 肝配蛋白A型受体5 (ephrin type A receptor 5); FGF2: 成纤维细胞生长因子2 (fibroblast growth factor 2); FLT3: FMS样酪氨酸激酶3 (FMS-like tyrosine kinase 3); IGF-1R: 胰岛素样生长因子1受体 (insulin-like growth factor 1); KIT: 干细胞生长因子受体 (stem cell growth factor receptor); PTK7: 蛋白酪氨酸激酶7 (protein tyrosine kinase 7); RET: RET受体 (rearranged during transfection); ROR1: 维甲酸受体相关孤儿受体1 (retinoic Acid receptor-related orphan receptor 1); ROR2: 维甲酸受体相关孤儿受体2 (retinoic acid receptor-related orphan receptor 2); DM1: N²-去乙酰基-N²-(3-巯基-1-氧代丙基)美登素 (N²-Deacetyl-N²-(3-mercapto-1-oxopropyl) maytansine); DM4: N²-去乙酰基-N²-(4-巯基-4-甲基-1-氧代戊基)-6-甲基美登素 (N²-deacetyl-N²-(4-mercapto-4-methyl-1-oxopentyl)-6-methylmaytansine); MMAE: 单甲基溴瑞他汀E (monomethyl auristatin E); MMAF: 单甲基溴瑞他汀F (monomethyl auristatin F); TLR8: Toll样受体8 (Toll-like receptor 8); PBD: 吡咯并苯并二氮杂卓 (pyrrobenzodiazepine); TopoIi: 拓扑异构酶I抑制剂 (topoisomerase I inhibitor); Topo2i: 拓扑异构酶II抑制剂 (topoisomerase II inhibitor); ATRi: ATR激酶抑制剂 (ataxia telangiectasia and Rad3-related kinase inhibitor); STING: 干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes); POL Ii: RNA聚合酶II抑制剂 (RNA polymerase II inhibitor); DXd: 德鲁替康 (deruxtecan); DCM: 多卡霉素 (duocarmycin); FDA: 美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration); NMPA: 中国国家药品监督管理局 (National Medical Products Administration)。

2 抗RON-ADC的构建

2.1 RON的表达及生物学效应

RON受体酪氨酸激酶(也称为MST1R)属于c-MET原癌基因家族,其配体为巨噬细胞刺激蛋白(macrophage stimulating protein, MSP)。成熟的RON由35 ku的α链和145 ku的β链组成。α链包含Sema结构域的N端,β链则包含Sema结构域的C端、1个PSI基序、4个IPT结构域、1个跨膜区域、1个细胞内激酶结构域和一个羧基端^[52]。RON分布于上皮起源的细胞表面,在生理条件下,RON接受MSP的刺激而激活,参与上皮细胞的黏附和运动、胚胎发育、附睾中精子活力的调控等^[53]。RON也在巨噬细胞中表达,在巨噬细胞的吞噬、分化和迁移以及炎症反应的调节中发挥重要作用^[54]。RON的异常表达和激活存在于乳腺癌、肺癌、胃癌、结直肠癌、肝癌、胰腺癌、卵巢癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤中^[55]。研究显示,RON在约50%的肺癌和乳腺癌^[56-57]、60%的结直肠癌^[58]以及超过80%的胰腺癌^[59]中表达增加,且RON的过度表达与肿瘤的高级别分期和较差的预后相关^[59-60]。RON的异常下游信号能够介导肿瘤发生发展中的多种过程(图1),包括肿瘤细胞的增殖与存活、黏附与扩散、血管生成、上皮-间充

质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)等。在不同器官的恶性肿瘤中,MSP-RON信号的致癌作用具有一定的特殊性。在胰腺导管腺癌中,RON过表达会增加窦导管的化生,加速胰腺上皮内肿瘤等前体病变的进展,并促进其向侵袭性胰腺导管腺癌发展^[61];在乳腺癌中,异常的RON表达能够促进乳腺上皮细胞的转化和肿瘤的远端转移^[7];在肝细胞癌中,MSP能够激活患者外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)中的γδT细胞,参与肿瘤微环境的调节^[52]。因此,RON已成为抗肿瘤ADC药物最有潜力的候选靶点之一。

与其他RTK相比,RON作为ADC靶点具有其独特的优势。从表达谱上看,与研究较多的EGFR家族相比,RON在胰腺癌、结直肠癌等癌症中的差异化表达更为显著,因此抗RON-ADC将是此类癌症的更优选择。对于存在多种RTK过表达的癌症类型,RON也具有克服靶点耐药性的候选价值。抗RON-ADC的另一优势是基于RON信号在调节肿瘤微环境中的作用。巨噬细胞中的RON信号可以调节巨噬细胞极化,研究显示,RON缺失可使肿瘤微环境中M2巨噬细胞数量减少,而这类巨噬细胞能够分泌促肿瘤细胞因子并抑制其他免疫细胞的抗肿瘤功能^[62]。因此,除了对肿瘤细胞的直接

杀伤外, 抗 RON-ADC 还能够对巨噬细胞发挥作用, 从而进一步调节肿瘤微环境。

浙江大学医学院附属第一医院是第一个构建抗 RON-ADC 的机构, 并致力于抗 RON-ADC 的开发。

近年来, 该机构的研究者们筛选了诱导内吞效率良好的 RON 单克隆抗体, 选择有效的细胞毒性药物及稳定的偶联方式, 以制备安全高效的抗 RON-ADC。

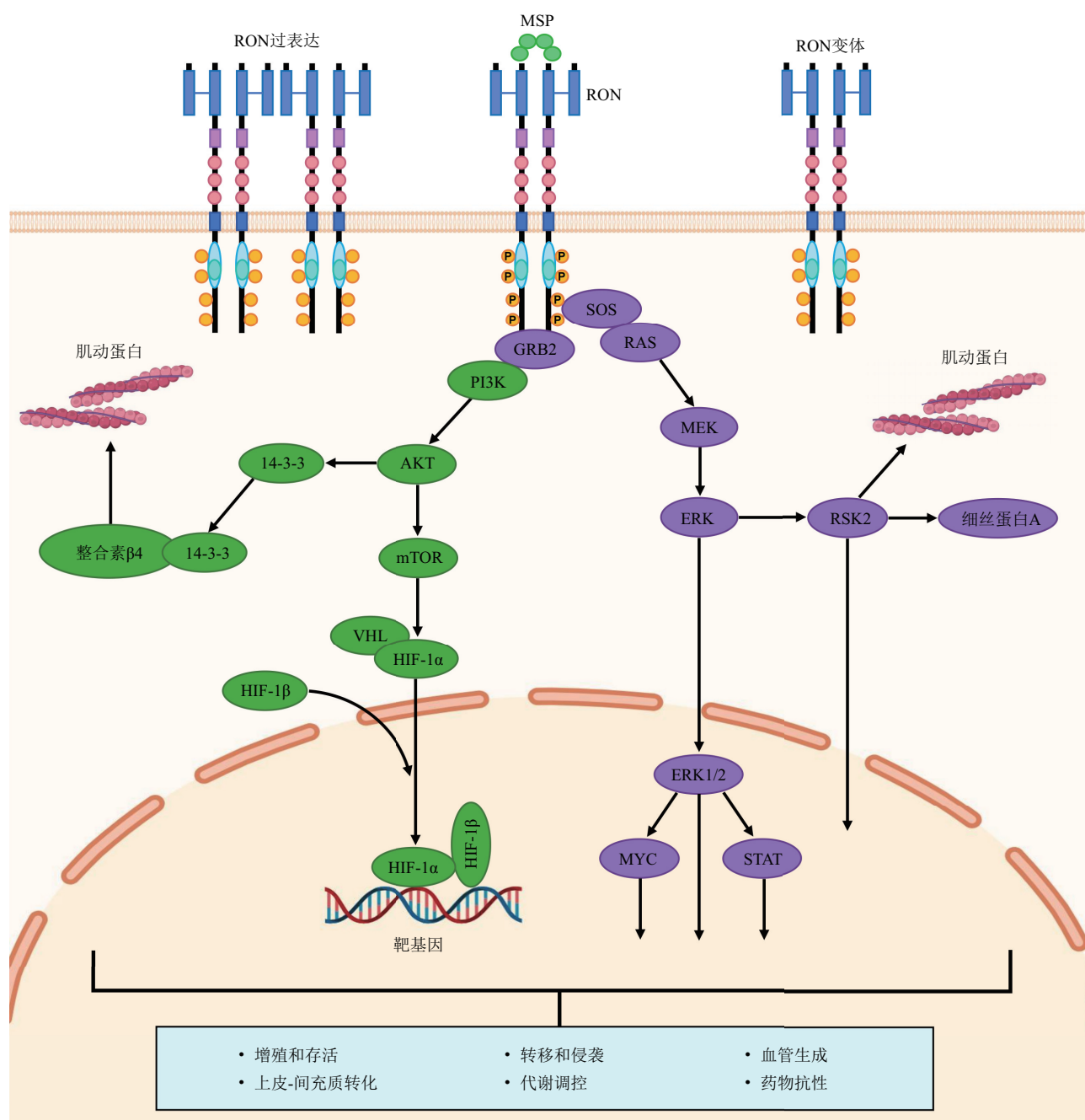


Fig. 1 MSP-RON classical signal transductions and cancerogenesis mechanisms

图1 MSP-RON经典信号转导及致癌机制

MSP诱导的RON二聚化是经典的激活模式。MSP诱导RON激活后, 首先建立一个对接位点, 募集细胞质分子SOS蛋白 (son of sevenless) 和生长因子受体结合蛋白2 (growth factor receptor bound protein 2, GRB2), 然后通过RAS-ERK和PI3K-AKT两条主要的信号通路介导细胞效应。P: 磷酸化 (phosphorylation); mTOR: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin); VHL: Von Hippel-Lindau蛋白; HIF-1: 低氧诱导因子1 (hypoxia-inducible factor-1); RSK2: p90核糖体S6激酶2 (ribosomal S6 kinase 2); STAT: 信号转导和转录激活因子 (signal transducer and activator of transcription)。RAS: 大鼠肉瘤蛋白 (rat sarcoma protein); MEK: 丝裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase); ERK: 细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase); PI3K: 磷脂酰肌醇3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase); AKT: 蛋白激酶B (protein kinase B)。

2.2 靶向RON的单克隆抗体

最早的抗 RON 单克隆抗体始于 1998 年, 由 Montero-Julian 等^[63] 通过免疫表达人类 RON (克隆 RE7) 的 Madin-Darby 犬肾 (MDCK) 细胞生成。其他的抗 RON 单克隆抗体, 如 IMC-41A10^[55]、IMC-RON8 (或称为 Narnatumab)^[64]、07F01、29B06、18H09^[65] 以及 6E6、6D4、7G8 等^[66] 由不同的制作者通过杂交瘤技术或噬菌体展示技术生成, 均已进行临床前研究。另外一组单克隆抗体, Zt/c1、Zt/g4、Zt/c9、Zt/f2、Zt/g9、Zt/#1^[67-69] 以及 PCM5B14^[8], 是由德克萨斯理工大学健康科学中心 (TTUHSC) 与浙江大学医学院附属第一医院合作, 通过使用 RON、RONΔ160 异构体或 RON 对应结构域转染 NIH3-3T3 细胞免疫 Balb/c 小鼠获得。这些抗体的基本信息和生化特征见表 2。

在已经开发出的抗 RON 单克隆抗体中, Zt/g4 和 PCM5B14 被用于抗 RON-ADC 的合成, 两者分别识别 RON β 链的 Sema 结构域和 PSI 结构域。为

了进行 ADC 的合成, 研究者将两种抗体的互补性决定区域序列嫁接到人类 IgG1/κ 受体框架中以实现人源化^[8, 10]。对于 RON 高表达的细胞系, 这两种抗体在药物递送中均表现出良好的诱导 RON 内吞的能力。在来自结直肠癌、胰腺癌、乳腺癌等不同肿瘤的细胞系中, 携带小分子药物的 Zt/g4 能够在 10~20 h 内诱导 50% 的 RON 内吞^[6-7, 11-13], 而 H5B14 能够在 10 h 内诱导超过 50% 的 RON 内吞^[8]。除此之外, 一种能够同时靶向 RON 和 MET 的双特异性抗体 PCMbs-MR 也被用于抗 RON-ADC 的构建^[9]。PCMbs-MR 是利用 MET 的单抗 PCM-MET01 和 RON 的单抗 PCM5B14, 通过 Knobs-into-Holes 和免疫球蛋白结构域交叉技术生成的人源化双特异性重组 IgG 分子。对于 MET 和 RON 高表达的 BxPC-3 和 HCT116 细胞系, 该双抗诱导 50% 的 MET 和 RON 内吞的时间均少于对应的单抗。这些结果展示出以上抗体在药物递送方面的优越性, 因此成为构建抗 RON-ADC 的良好选择。

Table 2 Monoclonal antibodies against RON that have been developed
表2 已被开发出的抗RON单克隆抗体

名称	制作者	时间	识别位点	IgG亚型	研究阶段	文献
ID-1、ID-2	Immunotech	1998	未知	IgG2a	基础研究	[63]
Zt/f2、Zt/g4、Zt/c1、Zt/c9、Zt/g9、Zt/#1	TTUHSC	2006	β链中的Sema结构域	IgG1/κ	基础研究	[67-69]
IMC-41A10	Eli Lilly	2006	β链中的Sema结构域	IgG1	基础研究	[55]
29B06、07F01、18H09、19A04、12B11、17F06	Aveo Pharmaceuticals	2010	β链中的Sema结构域	IgG1	基础研究	[65]
IMC-RON8 (Narnatumab)	Eli Lilly	2011	β链中的Sema结构域	IgG (亚型不适用)	I期临床研究	[64]
IgG4、IgG7、IgG10	Istituto di Ricerche di Biologia Molecolare (IRBM)	2011	β链中的Sema结构域	IgG (亚型不适用)	基础研究	[70]
PCM5B14	PCM Targetech	2019	β链中的PSI结构域	IgG1/κ	基础研究	[8]
3E1、6E6、3G4、2B3、7G8、5B9、5A5、6D4	Agency for Science, Technology and Research (A*STAR)	2019	β链中的IPT3结构域	IgG2a/IgG1	基础研究	[66]

2.3 有效载荷及偶联方式

根据作用机制的不同, 作为 ADC 有效载荷的常用细胞毒性药物可分为微管蛋白抑制剂、DNA 损伤剂、拓扑异构酶抑制剂、转录抑制剂等^[71]。其中, 微管蛋白抑制剂是使用最广泛的有效载荷类型, 也是用于合成抗 RON-ADC 的主要有效载荷。

微管蛋白抑制剂主要包括美登素 (maytansinoids) 类和奥瑞他汀 (auristatins) 类, 两者均可以通过与微管蛋白结合, 干扰微管组装与拆解的动态平衡, 使染色体在有丝分裂期间无法结合微管纤维, 从而将细胞周期阻滞在 G2/M 期, 最终导致细胞凋亡^[72]。美登素衍生物 DM1 和奥利抑素衍生物单甲

基奥利抑素 E (MMAE) 是目前被用于合成抗 RON-ADC 的两种主要的细胞毒性药物。在一项研究中, 多卡霉素 (duocarmycin, DCM) 也被用于抗 RON-ADC 的合成^[8], 这是一种 DNA 小沟结合烷化剂, 可特异性结合 DNA 小沟并诱导烷基化, 从而干扰 DNA 合成, 诱导细胞凋亡^[73]。

在进行抗 RON-ADC 的合成时, 通常直接选用与连接子相连的有效载荷。MMAE 和 DCM 与可裂解连接子马来酰亚胺基-缬氨酸-瓜氨酸-对氨基苯甲酸 (MC-VC-PAB) 相连^[8, 10, 13], 该连接子中的缬氨酸-瓜氨酸 (Val-Cit, VC) 二肽序列可在溶酶体中被组织蛋白酶 B 特异性识别并切割, 从而释放有效载荷。而 DM1 则与不可裂解的连接子 4-(N-马来酰亚胺基甲基) 环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯 (SMCC) 相连^[6], 当其进入细胞后, 需要溶酶体蛋白将抗体水解以实现有效载荷的释放。这两种连接子中的马来酰亚胺基均可与巯基 (—SH) 发生硫醇-马来酰亚胺偶联反应, 形成稳定的硫醚键^[74]。目前抗 RON-ADC 的合成均采用非定点偶联的方式, 最终形成平均药物抗体比 (drug-to-antibody ratio, DAR) 约为 4 的 ADC。合成后的抗 RON-ADC 在磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的稳定性良好, 在室温或 37°C 中保存 30 d, 其 DAR 下降不超过 7%^[6, 8, 10]。这表明合成抗 RON-ADC 所采用的偶联方法是可靠的, 符合 ADC 药物的开发要求。

3 抗RON-ADC在抗癌治疗中的潜力

3.1 抗RON-ADC在细胞模型中的体外活性

抗 RON-ADC 体外活性的评价指标主要包括抗体介导的 ADC 内化效率以及有效载荷对细胞存活、死亡和细胞周期的影响。基于肿瘤细胞的 RON 表达水平, 研究者们使用了来自人类乳腺癌、胰腺癌、结直肠癌、肺癌和胃癌的 20 余种细胞系, 用于抗 RON-ADC 的体外活性评估。

抗 RON-ADC 的内化效率被表示为细胞表面 RON 减少 50% 所需的时间, 主要与所基于的单克隆抗体相关。如前所述, 构建 ADC 所使用的抗体 Zt/g4、H5B14 和 PCMBs-MR 都能够快速诱导 RON 的内吞, 并呈现时间依赖性。基于 Zt/g4 的 ADC 在不同细胞系中诱导 RON 内吞的平均 IC_{50} 为 10~20 h^[7, 10], 而基于 H5B14 的 ADC 能够更快地诱导 RON 的内吞^[8]。经 ADC 处理后, 细胞的免疫荧光结果显示 RON 的细胞质定位^[6]。因此, 抗 RON-ADC 在诱导 RON 内吞及 ADC 复合体内化方面有显

著效果。

抗 RON-ADC 介导的细胞毒效应与 RON 表达水平有关, 并呈现剂量依赖性。抗 RON-ADC 对 RON 阴性的细胞均无明显的细胞毒性, 而细胞表面具有 8 000~10 000 个 RON 分子是抗 RON-ADC 发挥最大体外活性的必要条件^[8, 11]。以抗 RON-ADC 导致的细胞周期变化和细胞死亡为例。携带 DM1 或 MMAE 的抗 RON-ADC 都能够引起显著的细胞周期改变, 具体表现为 ADC 处理不同类型的肿瘤细胞后, 导致 G0/G1 期的显著缩短、S 期缩短以及 G2/M 期显著延长, 这些变化最早在处理 3~6 h 即可观察到^[6-7, 9, 11-13]。

在 ADC 介导的细胞死亡中, 尽管作用机制不同, 携带不同有效载荷的 ADC 在减少细胞存活方面的效果相当。基于 H5B14 的 ADC 诱导细胞效应所需的时间比 Zt/g4 更短, 而导致细胞死亡的 IC_{50} 值与基于 Zt/g4 的 ADC 接近。在 Zt/g4-DM1/MMAE 处理 96 h 或 H5B14-MMAE/DCM 处理 72 h 后, 导致细胞死亡的 IC_{50} 均在 2~3 mg/L^[7-8, 10, 12]。PCMDt-MMAE 导致细胞死亡的效果与 MET 和 RON 的表达水平均相关, 在 MET 或 RON 单一过表达的细胞中, PCMDt-MMAE 处理 96 h 后的 IC_{50} 值为 3~4 mg/L, 而在 MET 和 RON 均高表达细胞中仅为 (1.55±0.08) mg/L^[9]。此外, 在有 RON 过表达的细胞存在时, Zt/g4-MMAE 能够通过旁观者效应杀伤 RON 阴性的细胞^[7]。基于 H5B14 的 ADC 还能够显著减弱细胞形成球状体的能力^[8]。这些结果体现了抗 RON-ADC 在体外杀伤肿瘤细胞的多维作用。

3.2 抗RON-ADC在异种移植模型中的疗效

对动物模型的研究表明, 基于 Zt/g4、H5B14 和双抗 PCMBs-MR 的 ADC 在抑制来自不同肿瘤细胞系的异种移植肿瘤方面具有显著疗效。小鼠的异种移植瘤模型通过对 6~8 周龄裸鼠皮下腔注射 5×10^6 个肿瘤细胞的方式进行构建, 当平均肿瘤体积达到 150 mm³ 时, 以尾静脉注射的方式给药, 测量肿瘤体积以反映抗 RON-ADC 对肿瘤生长的抑制效果。

抗 RON-ADC 在 RON 低表达的细胞导致的肿瘤中疗效不明显, 而 RON 高表达的细胞导致的肿瘤对抗 RON-ADC 介导的抑制作用都极为敏感, 无论肿瘤细胞来源和恶性程度如何。对于不同的有效载荷而言, 携带 MMAE 和 DCM 的 ADC 抗癌活性均优于携带 DM1 的 ADC, 其完全抑制肿瘤生长所

需的剂量更小^[8, 10, 13], 这表明 MMAE 和 DCM 也许是抗 RON-ADC 有效载荷的更优选择。在以 20 mg/kg 的剂量单次给药后, 所有的抗 RON-ADC 都能在短时间内完全抑制肿瘤生长, 且在 20~30 d 内不会出现肿瘤再生^[6, 8]。而采用间隔 12 d 的两次给药方式 (Q12×2) 产生的抑制效果更为持久, 在有效剂量下, 抗 RON-ADC 对肿瘤的完全抑制作用可至少持续 30~40 d^[7, 9, 11-13]。值得注意的是, 抗 RON-ADC 平衡肿瘤生长和抑制所需的最低剂量与 FDA 批准临床应用的 ADC 剂量一致^[75], 这提示了抗 RON-ADC 继续推进临床研究的可行性。

Zt/g4-MMAE 作为目前被广泛研究的抗 RON-ADC, 其更全面的作用被发现。在 Zt/g4-MMAE 有效剂量治疗后, 由胰腺癌细胞介导的异种移植瘤裂解液中几乎检测不到 RON 的表达, 这表明了 Zt/g4-MMAE 的靶点特异性作用^[10]。此外, Zt/g4-MMAE 在抑制类干细胞介导的异种移植瘤中同样有效。在由表达 CD24、CD44 和上皮特异性抗原 (epithelial specific antigen, ESA) 的胰腺癌类干细胞^[76-77] 衍生的异种移植瘤中, 20 mg/kg 的 Zt/g4-MMAE 两次给药后, 可产生长达 40 d 的完全抑制效果。这些结果凸显了抗 RON-ADC 在预防肿瘤复发方面的潜力。

需要注意的是, 由于在 RON 阳性表达的细胞表面, RON 的分子数均较为接近 (通常为 10 000~20 000 个), 因此抗 RON-ADC 的体外数据与 RON 的表达数之间并无明显的线性关系^[8, 11], 而肿瘤类型的不同也未影响抗 RON-ADC 的体内外疗效。在以往的研究中, RON 的多种变异体在肿瘤细胞系及癌症样本中被发现, 例如在 HT-29 中鉴定出 RON Δ 160 变异体^[78-79], 但变异体的存在似乎并未影响抗 RON-ADC 的疗效。在未来临床试验的推进中, RON 变异体的鉴定及其对抗 RON-ADC 敏感性的影响是值得关注的问题之一。

3.3 抗RON-ADC在抗癌治疗中的优势

其他两种传统的 RON 靶向治疗策略, 即小分子抑制剂和单克隆抗体, 均有多种药物进行至临床试验阶段, 但其缺点也在基础和临床研究中逐渐暴露。相比之下, 抗 RON-ADC 显示出其独特的治疗优势。

RON 的小分子抑制剂和单克隆抗体的作用机制均为阻断 RON 信号, 因此, 其疗效的发挥必须基于细胞存活对 RON 信号的高度依赖, 然而事实上这种依赖有限^[61]。因此, 基础研究的结果表明,

无论是小分子抑制剂还是单克隆抗体, 对各种细胞的生长和存活仅造成中度影响, 在异种移植瘤中, 单次抗 RON 单克隆抗体给药难以实现肿瘤的完全抑制^[6, 61]。这也是小分子抑制剂和单克隆抗体产生耐药的重要原因。而抗 RON-ADC 通过有效载荷发挥作用, 因此可以很大程度上避免这一问题, 从而显著提升疗效: 在体外, 抗 RON-ADC 能够杀伤超过 80% 的细胞; 在异种移植瘤中, 单次给药便可以实现肿瘤生长的完全抑制。

小分子抑制剂的靶点效应是无法忽视的问题。由于不同 RTK 的 ATP 口袋结构存在相似性, 许多小分子 RTK 抑制剂会影响多种酪氨酸激酶并表现出非靶点效应, 尤其是在激酶结构域上更为相似 MET 和 RON, 因此可能导致较高的毒性反应和较低的耐受性^[52]。而单克隆抗体和 ADC 均能有效避免这一问题。

此外, 由于 RON 存在结构异质性, 全长 RON 分子与各变异体之间缺乏共享的识别表位, 这导致许多小分子抑制剂和单克隆抗体对变异体的活性较低^[52]。如前所述, 在表达 RON 变异体的细胞中, 抗 RON-ADC 的疗效差异并未被发现, 虽然有待进一步探讨, 但也在一定程度上显示出 ADC 的更广泛的适用性。因此, 抗 RON-ADC 是实现肿瘤最大抑制效应的更合适的策略。

4 抗RON-ADC的药理学及毒性特征

4.1 抗RON-ADC的药代动力学特征

组成 ADC 的 3 个组分, 即抗体、细胞毒性药物和化学连接子, 都会影响 ADC 的药理学特征。抗体的生成策略可能影响抗体可变区的结构, 从而影响抗体-抗原相互作用的性质; 抗体与全身正常细胞表达的内源性抗原的相互作用也可能影响抗体的代谢; 不同的药物抗体比和不同化学连接子的药物-抗体解离速率都会影响研究者对药效的判定^[80-81]。

目前, 各种抗 RON-ADC 的药理学特征均已得到评估。其主要特征包括药物结合特征、稳定性、药代动力学 (pharmacokinetics, PK) 参数等。抗 RON-ADC 采用非定点偶联的方式进行合成, 虽然最终都生成了平均 DAR 为 3 : 1~4 : 1 的 ADC, 但通过疏水色谱分析, 每次合成的 ADC 的 DAR 构成均为 2 : 1~6 : 1 的组合, 这导致了抗 RON-ADC 的异质性, 可能对 ADC 的疗效评估造成影响。抗 RON-ADC 在体外的稳定性良好, 在人血浆中 37°C

下保存 10 d, DM1 和 MMAE 与抗体的解离率仅为 3.03% 和 2.81%^[13]。一项研究也证实了抗 RON-ADC 在动物体内的稳定性^[10]。Zt/g4-MMAE 以单次剂量注射到食蟹猴体内, 游离的 MMAE 在约 3 h 达到峰值, 此时的浓度相当于与 Zt/g4 共轭的 MMAE 总量的 0.58‰。该分解比在研究期间可以持续保持稳定。

在携带和不携带肿瘤的小鼠中研究了 Zt/g4-MMAE 和 Zt/g4-DM1 的 PK 特征^[10]。研究结果表明, 不同剂量下的 Zt/g4-MMAE 和 Zt/g4-DM1 的 PK 参数符合二室模型, 携带肿瘤小鼠的 PK 参数与不携带肿瘤小鼠的 PK 参数重叠。这说明 Zt/g4-DM1 和 Zt/g4-MMAE 的 PK 谱在携带肿瘤和不携带肿瘤的小鼠之间无显著差异, 表明肿瘤生长不会影响抗 RON-ADC 的动态, 且肿瘤细胞的 RON 表达对体内抗 RON-ADC 的分布没有影响。对食蟹猴的体内研究也得到了与小鼠相似的 Zt/g4-MMAE 的 PK 谱, 包括相似的平均血浆清除率和终末半衰期 ($t_{1/2\beta}$)^[10, 12]。总的来说, 抗 RON-ADC 在体外和体内均能保持稳定, 其小鼠和灵长类体内的 PK 谱符合二室模型, 且药物的分布不受肿瘤及组织内源性的 RON 表达的影响。

4.2 抗RON-ADC的毒理学活性

目前, 针对临床候选药物已经进行了充分的毒理学研究, 对人和食蟹猴的毒理学研究表明, ADC 的剂量限制性毒性与小分子相关, 而与靶点结合无关^[82]。因此, 抗 RON-ADC 的毒理学活性主要来源于所携带的细胞毒性药物。

总体而言, 抗 RON-ADC 在小鼠和灵长类体内表现出可控的毒理学活性。

首先, 在治疗剂量下, 抗 RON-ADC 在小鼠中未显示出明显的毒性反应。在 Zt/g4-DM1 和 Zt/g4-MMAE 治疗前后, 所有小鼠的行为表现、食物摄入量均正常, 癌细胞注射和 ADC 治疗均未改变小鼠生长曲线, 实验组和对照组的平均体重无统计差异。因此, 以 10 mg/kg 或 20 mg/kg 的抗 RON-ADC 进行 Q12×2 治疗时, 肿瘤减少与 ADC 在小鼠体内的总体毒性无关^[7, 11]。此外, 在小鼠中对抗 RON-ADC 进行了独立的毒理学研究。使用 Zt/g4-DM1 对不携带肿瘤的小鼠进行多剂量 (1~15 mg/kg) 单次注射, 以及在不同的异种移植瘤中采用 20 mg/kg 单剂量注射, 实验组和对照组小鼠的平均体重均无统计差异^[6]。当抗 RON-ADC 单次注射的剂量达到 60 mg/kg 时, 小鼠表现出中度痛苦, 4 d 内体重下

降约 6%^[6]。当剂量超过 80 mg/kg 时, 小鼠体重会显著降低并开始出现死亡^[8, 10]。因此, 当剂量低于 60 mg/kg 时, 抗 RON-ADC 在小鼠体内相对安全。

FDA 的研究表明, 与 MMAE 结合的 ADC 主要对造血系统、肝脏和生殖器官产生影响^[82], 而对 Zt/g4-MMAE 的研究也观察到了相似的结果。一项研究在食蟹猴中对 Zt/g4-MMAE 进行了全面的毒理学活性分析^[10]。研究者对食蟹猴采用 10 mg/kg 或 30 mg/kg 的 Zt/g4-MMAE 注射, 所有食蟹猴在接受注射后均存活, 虽然在日常活动、体重、体温、心电图、呼吸和尿液样本方面均未观察到明显异常, 对各组织或器官的组织学分析也未发现任何病理变化, 但血液学分析发现了剂量依赖性的白细胞、红细胞数量的减少和网状细胞数量的增加, 肝酶和心肌酶的检测也发现了剂量依赖性的碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 和肌酸激酶 (creatin kinase, CK) 的升高^[10], 这表明 Zt/g4-MMAE 可能会损害造血系统、肝脏和肌肉等组织的功能。不过, 这些变化是暂时性的, 所有细胞的数量和酶的水平在研究期间均逐渐恢复至正常^[10]。这些结果表明, Zt/g4-MMAE 并未对各组织或器官造成严重损害, 其毒性反应是暂时且可逆的。

5 抗RON-ADC与其他药物联用

经过长时间的发展, ADC 对各种难治性肿瘤的强效抗癌活性已被广泛证实。然而, 由于耐药机制的出现, 对于许多类型的肿瘤来说, ADC 作为单一疗法的疗效和临床应用受到限制。在癌症治疗领域, 人们普遍认为, 采用具有多种化疗机制的药物组合是解决耐药性和增强疗效的重要策略, 通常能够提高完全缓解和治愈的可能性^[83]。因此, 将 ADC 与化疗药物、小分子靶向药、免疫调节剂等联合使用, 以清除靶点表达极少的残留肿瘤, 实现最大疗效, 已成为未来研究的重要方向。

抗 RON-ADC 与常规化疗药物的联合应用已得到研究。在胰腺癌细胞中研究了 Zt/g4-DM1 和 Zt/g4-MMAE 在 IC_{50} 剂量下与目前用于胰腺癌治疗的 3 种化疗药物, 5-氟尿嘧啶 (5-FU)、吉西他滨和奥沙利铂联合使用对细胞的杀伤作用。结果显示, 所有联用组的细胞存活率相对对照组均进一步降低^[12-13]。在乳腺癌和非小细胞肺癌细胞系中,

Zt/g4-DM1与吉西他滨联合使用, 也导致细胞存活率相比于单一治疗组有所降低^[11]。为了确定ADC与化疗药物协同作用, 研究者将Zt/g4-DM1或Zt/g4-MMAE与化疗药物在某一浓度区间内按不同的比例联合使用, 绘制了抑制率与组合指数(combination index, CI)的关系图, 并通过等效线图分析以确定 IC_{50} 、 IC_{75} 和 IC_{90} 值^[84-86]。分析结果证实, 当按照规定比例使用时, 抗RON-ADC与化疗药物之间存在协同效应^[12-13]。

在异种移植瘤模型中, Zt/g4-DM1与吉西他滨联合应用显著提升了对肿瘤的抑制效果。在异种移植瘤模型中采用10 mg/kg的Zt/g4-DM1(8 d为周期)和60 mg/kg吉西他滨(4 d为周期)的联合使用^[11-12], 对肿瘤的完全抑制作用可持续32 d, 而单用Zt/g4-DM1或吉西他滨均部分抑制肿瘤生长, 在20 d时开始出现肿瘤再生^[12]。研究结束时, 联合治疗组的平均肿瘤体积和重量均显著低于Zt/g4-DM1和吉西他滨治疗组。因此, Zt/g4-DM1与吉西他滨联合使用, 可以增强对异种移植瘤的抑制效果^[11-12]。此外, 对异种移植瘤样本进行蛋白质印迹法(Western blotting)分析发现, 使用Zt/g4-DM1与吉西他滨联合治疗后, 裂解液中RON的表达进一步降低、细胞周期蛋白D1(cyclin D1)的表达和细胞凋亡的标志物多聚ADP核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)^[87]的剪切进一步增加, 明确了Zt/g4-DM1与吉西他滨联合应用对RON表达的细胞减少、凋亡细胞增多和细胞周期变化的综合效应, 两者在增强细胞凋亡方面具有协同作用^[12]。

遗憾的是, 目前尚无抗RON-ADC与其他类型抗癌药物联合应用的临床研究结果报道。尽管如此, 已有多项研究证实靶向其他RTK的ADC与小分子靶向药、免疫调节剂等进行联合应用的疗效。例如, 基于HER2的抗体曲妥珠单抗(trastuzumab)的ADC——T-DM1, 是最早被FDA批准的抗RTK-ADC, 其与拉帕替尼(lapatinib)或来那替尼(neratinib)等HER2小分子抑制剂联合, 已被应用于临床试验中, 证实了ADC与小分子抑制剂的协同效应^[88-89]。同样, 多种靶向HER2的ADC, 包括RC48和T-DXd等, 与免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)联合应用的抗癌活性均已在临床试验中获得研究^[90-91]。因此, 与更多类型的抗癌药物进行联合, 也将会是未来抗RON-ADC研发和应用的必然趋势。

6 抗RON-ADC的未来发展

6.1 当前抗RON-ADC的局限性

上述基础研究结果证实了抗RON-ADC作为肿瘤靶向治疗药物的有效性和安全性, 但在现阶段, 抗RON-ADC在以下几个方面仍存在较大的局限性。

首先, 抗RON-ADC所选用的3个组分类型均较为单一, 尤其是有效载荷, 几乎全部为微管蛋白抑制剂类细胞毒性药物, 因此下一代抗RON-ADC的研发需要尝试不同类型的有效载荷。其次, 如前所述, 抗RON-ADC采用非定点偶联的方式进行合成, 最终的DAR构成并不均一, 这增加了抗RON-ADC疗效的不确定性。从药物设计角度来看, 未来有必要生成均相的抗RON-ADC, 采用工程化半胱氨酸定点偶联的方式也许是一个可行的思路^[92]。此外, 由于细胞表面RON表达数量较少, 某些有效载荷的效应可能受到限制, 因此进一步提高RON单克隆抗体诱导的内吞效率也是未来抗RON-ADC改良的重要方向。最后, 虽然抗RON-ADC与常规化疗药联用的疗效已被评估, 但尚未探索与小分子靶向药、免疫调节剂等其他药物的更多组合。如今, 组合疗法已经成为抗癌药物治疗的重要趋势, 抗RON-ADC也需要与更多抗癌药物联合应用, 以优化疗效、减少耐药性和不良反应。其中, 极具前景的一种候选药物是ICI, 与ADC联用能够展现出独有的优势(图2): ADC介导的局部炎症反应能够诱导肿瘤及周围细胞代偿性表达PD-L1, 从而增加病灶对ICI的敏感性; ADC持续释放的肿瘤相关抗原(tumor associated antigens, TAAs)使得T细胞持续募集, ICI则确保了这些T细胞持续分泌 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ); ICI还能够与ADC的旁观者效应协同, 克服空间异质性^[93]。要使抗RON-ADC在临床应用中发挥最大价值, 其与其他药物联合应用的效应和机制需要深入研究。

由于上述局限性的存在, 抗RON-ADC的研究尚未推进至临床试验阶段。想要使抗RON-ADC得到进一步应用, 需要在结构上优化抗RON-ADC的构建, 全面评估其药理学和毒理学活性, 深入挖掘抗癌机制, 并探索更多的组合疗法, 从而为临床研究的推进提供依据。

6.2 下一代抗RON-ADC

6.2.1 有效载荷的多样化

下一代抗RON-ADC的研发应首先聚焦于有效

载荷的多样化(图2)。除了选用包括拓扑异构酶抑制剂、DNA损伤剂、转录抑制剂等在内的更多类型的传统ADC毒性载荷,还可以挖掘更多新型的有效载荷,如免疫激动剂、降解剂等。

新型ADC,如免疫刺激抗体偶联物(immune-stimulating antibody conjugates, ISACs)、降解剂-抗体偶联物(degrader-antibody conjugates, DACs)等,近年来不断涌现。ISAC以免疫刺激剂,包括干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)和Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)激动剂等,替代传统的有效载荷,能够极大地降低免疫激动剂作为单药治疗时的毒性风险,同时能够通过免疫激活诱导系统性抗肿瘤免疫反应^[94]。靶向HER2的ISAC已被大量研究,在基础研究中,ISAC在免疫细胞存在的情况下显示出对HER2阴性癌细胞的杀伤作用^[25],在临床研究中,ISAC表现出良好的安全性和耐受性,在免疫激活的同时未发现细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)^[95]。DAC则可以利用蛋白水解靶向嵌合体(proteolysis-targeting chimeras, PROTACs)技术,直接实现靶向RTK的降解,如利用西妥昔单抗(cetuximab)和E3连接酶招募子(pomalidomide)合成的抗体-PROTAC偶联物,有助于EGFR受体的快速降解^[96]。抑或选用针对其他分子的降解剂,如基于HER2抗体帕妥珠单抗(pertuzumab)的ORM-5029,其有效载荷为调控蛋白质翻译终止的关键因子GSPT1的分子胶降解剂^[97]。相比于传统的ADC,ISAC和DAR作为抗RON-ADC研发策略的优势在于:由于RON在巨噬细胞中的表达,靶向RON的ISAC或许可以实现免疫激动剂在肿瘤微环境中的直接释放,从而更快地激活抗肿瘤免疫。DAC则为不可成药蛋白质提供了更多的靶点选择,对RON的直接降解也可使肿瘤细胞失去对RON信号介导的生存依赖。

在尝试不同类型有效载荷的基础上,可以进一步推进双载荷抗RON-ADC的研发。相比于单载荷ADC的组合使用或与其他化疗药物的联用,双载荷ADC可以实现不同作用机制的载荷同时靶向肿瘤细胞,从而克服耐药性、达到更为广泛的治疗效果^[98]。现阶段的双载荷ADC仍然选用常规的细胞毒性载荷,但随着更多新型有效载荷的发掘和相应ADC研发技术的成熟,更为多样的有效载荷组合将会成为下一代抗RON-ADC乃至整个双载荷

ADC研发领域的必然趋势。因此,对于抗RON-ADC有效载荷的选择,必须充分参考其他RTK的研究经验,全面评估其可行性及潜在挑战,从而设计更具治疗优势的下一代抗RON-ADC。

6.2.2 结构改良与内吞效率优化

如前所述,随着有效载荷的多样化,RON单克隆抗体的内吞效率不足可能成为抗RON-ADC研发的一大考验。如何提高ADC介导的受体内吞能力同样是当前ADC研究的热点,可能的方法包括对抗体进行工程化改造,如使用双表位抗体、双特异性抗体或纳米抗体^[99-101](图2),或将ADC分子与整合素靶向肽、溶酶体靶向配体等结合^[99, 102],以提高亲和力、降低屏障效应。

双表位和双抗ADC可以识别不同的抗原表位,因此可以提升靶点适用性从而提高ADC的内吞效率,还能在一定程度上克服因单一靶点表位异质性导致的耐药问题。但在疗效和安全性的平衡上,双表位和双抗ADC比传统ADC更为困难。例如,靶向HER2双表位的MEDI4276在HER2低表达细胞系以及T-DM1耐药的HER2阳性肿瘤模型中均表现出抗肿瘤活性,但在较低剂量下即表现出复杂且不可耐受的毒性反应^[18],并且由于ADC结构复杂,很难准确评估其毒性来源。这一问题亦是抗RON-ADC构建可能面临的挑战。

纳米抗体ADC以重链可变区域(variable heavy-chain homodomain, VHH)代替抗体的完整结合单元,由于分子质量较小而具有更好的肿瘤穿透性。在体外研究中,纳米抗体ADC表现出卓越的靶点亲和力,在肿瘤中的分布比传统ADC更高,且血液清除迅速,能够降低对正常组织的药物暴露^[103]。然而,纳米抗体ADC的药理学特征存在较大差异,因此进一步优化PK参数、进一步扩大治疗窗口和提升疗效是纳米抗体ADC设计过程中的重要任务。

溶酶体靶向嵌合体(lysosome-targeting chimeras, LYTACs)将抗体或小分子与溶酶体靶向配体相连,可与细胞表面特定受体结合,引导目标蛋白进入溶酶体被降解。在一项研究中,靶向HER2和EGFR的溶酶体靶向ADC在二维和三维肿瘤细胞模型中,细胞杀伤效率比相应的传统ADC高约10倍^[102]。因此,溶酶体靶向ADC也是提高抗RON-ADC内吞效率的可行策略。

6.3 抗RON-ADC的临床应用前景

抗RON-ADC的基础研究结果充分彰显了其针

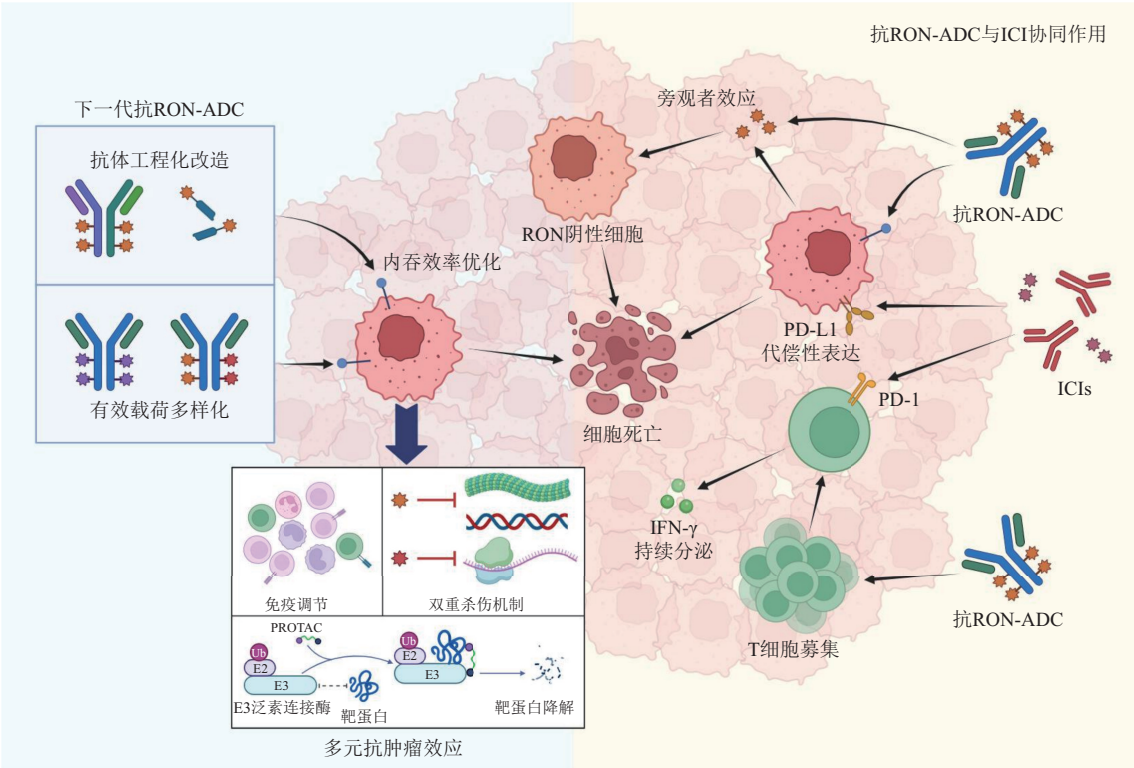


Fig. 2 Future development of anti-RON ADCs
图2 抗RON-ADC的未来发展

下一代抗RON-ADC将聚焦于更为多样的有效载荷类型,包括传统有效载荷、新型有效载荷以及双载荷。不同的有效载荷能够通过多元作用机制杀伤肿瘤细胞,从而克服肿瘤异质性。此外,下一代抗RON-ADC将在结构上进行改良,构建双抗ADC、纳米抗体ADC等,以提高递送效率。抗RON-ADC与其他药物的联合应用是未来研究的热点,ICI作为极具潜力的候选药物,能够与ADC发挥独特的协同作用:ADC介导的炎症反应可诱导肿瘤细胞代偿性表达PD-L1,使病灶对ICI更加敏感;ADC能够促进T细胞募集,有利于ICI诱导其持续分泌IFN- γ ;ICI可与ADC的旁观者效应协同,克服空间异质性。PD-1:程序性死亡受体1(programmed death-1);PD-L1:程序性死亡受体配体1(programmed death-ligand 1);ICIs:免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors)。

对各种RON阳性实体瘤的广阔应用前景:由于肿瘤具有高度异质性,因此抗癌药物的研发更加注重靶点选择和精准治疗,而抗RON-ADC能够充分发挥RON作为靶点的作用,提供更多的药物选择;抗RON-ADC在动物体内的抗癌疗效显著,且量效关系明确、毒性可控,具有充分的临床转化的可行性;抗RON-ADC与化疗药物具有协同作用,能够进一步提升疗效、克服耐药性,更加凸显了其临床应用的优势。

因此,加速推进临床试验是抗RON-ADC未来发展的重要目标。在此之前,除了不断进行抗RON-ADC的改良、逐渐克服目前存在的局限性之外,还需要全面评估临床试验可能面临的挑战,明确临床试验的实施路径。

从疗效上说,与HER2、EGFR等热门靶点相比,RON在肿瘤中的表达水平和范围有限,可能

在一定程度上影响抗RON-ADC的适用性和治疗窗口,因此如何充分发挥RON的靶点优势是值得探讨的重要问题。此外,如前所述,抗RON-ADC在变异体中的疗效差异虽未被发现,但由于样本较少,因此其对更多类型变异体的疗效需要进一步明确,从而帮助纳入标准的制定和疗效预测。在安全性上,抗RON-ADC在动物模型中的整体毒性可控,但由于RON在正常组织中的低水平表达,抗RON-ADC对正常细胞的脱肿瘤毒性可能提高安全风险,在人体中因剂量调整或反应性差异也可能产生更为显著的毒性反应或不可逆损伤。这些问题都使抗RON-ADC的安全性评估变得更为复杂。

RON的表达水平是目前抗RON-ADC疗效预测的主要参考指征,在筛选适用人群时,需要基于患者肿瘤样本的免疫组化(immunohistochemistry,IHC)结果。在现有的研究中,IHC评分主要参考

FDA批准的EGFR染色评估标准,根据染色的区域反应性设定RON 0~3⁺共四个等级^[7, 9],对于乳腺癌、胰腺癌等癌症类型的IHC结果, RON过表达(即RON 3⁺)的占比均为50%左右,因此可以作为RON表达的筛选阈值。除此之外,高级别分期、常规化疗或靶向药物耐受的癌症类型,也可作为抗RON-ADC的首次临床应用指征。鉴于RON的高表达水平与较差预后的相关性,除了客观缓解率(objective response rate, ORR)等常规指标外,长期随访、全面评估患者预后也是临床试验中必不可少的评价指标。

总之,抗RON-ADC的未来发展任重道远。在此过程中,必须从有效载荷选择和结构优化方面继续推进下一代抗RON-ADC的研发,深入作用机制的挖掘和组合疗法的探索,逐渐克服当前存在的局限性,以充分发挥RON作为肿瘤生物治疗靶点的导向作用,为临床试验的推行做出充足准备。

7 总结与展望

随着RTK在肿瘤进展中的作用被深入挖掘,靶向RTK已经成为各种抗肿瘤药物研发的重要方向。RON作为RTK的成员,在肿瘤发生发展中同样发挥着重要作用,靶向RON的小分子药物、单克隆抗体以及ADC等药物也被持续研发。目前,已开发出的抗RON-ADC在体外和体内的稳定性良好,在减少细胞存活和抑制异种移植瘤生长方面的效果显著,且在治疗剂量下相对安全,表现出可控的毒理学活性。总体来说,抗RON-ADC在针对各类RON阳性肿瘤的治疗方面具有广阔的临床应用前景,为肿瘤靶向治疗药物的研发提供了更多思路。

现阶段,抗RON-ADC在有效载荷选择、均一性构建以及药物联用方面仍有极大的发展空间。为了推动抗RON-ADC的进一步发展,需要持续进行更多类型的抗RON-ADC的开发和研究,在推进下一代抗RON-ADC研发的同时,深入挖掘其抗癌机制并结合技术创新,为临床试验打好基础,以期最终实现临床应用,为癌症患者提供更多安全高效的治疗选择。

参 考 文 献

- [1] Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*, 2000, **103**(2): 211-225
- [2] Tomuleasa C, Tigu A B, Munteanu R, *et al.* Therapeutic advances of targeting receptor tyrosine kinases in cancer. *Sig Transduct Target Ther*, 2024, **9**: 201
- [3] Yamaoka T, Kusumoto S, Ando K, *et al.* Receptor tyrosine kinase-targeted cancer therapy. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(11): 3491
- [4] Fu Z, Li S, Han S, *et al.* Antibody drug conjugate: the “biological missile” for targeted cancer therapy. *Sig Transduct Target Ther*, 2022, **7**(1): 93
- [5] Chen B, Zheng X, Wu J, *et al.* Antibody-drug conjugates in cancer therapy: current landscape, challenges, and future directions. *Mol Cancer*, 2025, **24**(1): 279
- [6] Feng L, Yao H P, Wang W, *et al.* Efficacy of anti-RON antibody Zt/g4-drug maytansinoid conjugation (Anti-RON ADC) as a novel therapeutics for targeted colorectal cancer therapy. *Clin Cancer Res*, 2014, **20**(23): 6045-6058
- [7] Suthe S R, Yao H P, Weng T H, *et al.* RON receptor tyrosine kinase as a therapeutic target for eradication of triple-negative breast cancer: efficacy of anti-RON ADC zt/g4-MMAE. *Mol Cancer Ther*, 2018, **17**(12): 2654-2664
- [8] Tong X M, Feng L, Suthe S R, *et al.* Therapeutic efficacy of a novel humanized antibody-drug conjugate recognizing plexin-semaphorin-integrin domain in the RON receptor for targeted cancer therapy. *J Immunother Cancer*, 2019, **7**(1): 250
- [9] Wang M, Ma Q, Suthe S R, *et al.* Humanized dual-targeting antibody-drug conjugates specific to MET and RON receptors as a pharmaceutical strategy for the treatment of cancers exhibiting phenotypic heterogeneity. *Acta Pharmacol Sin*, 2025, **46**(5): 1375-1389
- [10] Yao H P, Feng L, Suthe S R, *et al.* Therapeutic efficacy, pharmacokinetic profiles, and toxicological activities of humanized antibody-drug conjugate Zt/g4-MMAE targeting RON receptor tyrosine kinase for cancer therapy. *J Immunother Cancer*, 2019, **7**(1): 75
- [11] Feng L, Yao H P, Zhou Y Q, *et al.* Biological evaluation of antibody-maytansinoid conjugates as a strategy of RON targeted drug delivery for treatment of non-small cell lung cancer. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, **35**: 70
- [12] Yao H P, Feng L, Zhou J W, *et al.* Therapeutic evaluation of monoclonal antibody-maytansinoid conjugate as a model of RON-targeted drug delivery for pancreatic cancer treatment. *Am J Cancer Res*, 2016, **6**(5): 937-956
- [13] Yao H P, Feng L, Weng T H, *et al.* Preclinical efficacy of anti-RON antibody-drug conjugate zt/g4-MMAE for targeted therapy of pancreatic cancer overexpressing RON receptor tyrosine kinase. *Mol Pharm*, 2018, **15**(8): 3260-3271
- [14] Suthe S R, Yao H P, Weng T H, *et al.* RON receptor tyrosine kinase in tumorigenic stemness as a therapeutic target of antibody-drug conjugates for eradication of triple-negative breast cancer stem cells. *Curr Cancer Drug Targets*, 2023, **23**(2): 103-117
- [15] Ballantyne A, Dhillon S. Trastuzumab emtansine: first global approval. *Drugs*, 2013, **73**(7): 755-765
- [16] Turner N, Saura C, Aftimos P, *et al.* Trastuzumab duocarmazine in pretreated human epidermal growth factor receptor 2-positive advanced or metastatic breast cancer: an open-label, randomized, phase III trial (TULIP). *J Clin Oncol*, 2025, **43**(5): 513-523

- [17] Edoardo C, Giuseppe C. Trastuzumab-deruxtecan in solid tumors with HER2 alterations: from early phase development to the first agnostic approval of an antibody-drug conjugate. *Expert Opin Investig Drugs*, 2024, **33**(8): 851-865
- [18] Pegram M D, Hamilton E P, Tan A R, *et al.* First-in-human, phase 1 dose-escalation study of biparatopic anti-HER2 antibody-drug conjugate MEDI4276 in patients with HER2-positive advanced breast or gastric cancer. *Mol Cancer Ther*, 2021, **20**(8): 1442-1453
- [19] Ge H, Liu C, Shen C, *et al.* The effectiveness and safety of RC48 alone or in combination with PD-1 inhibitors for locally advanced or metastatic urothelial carcinoma: a multicenter, real-world study. *J Transl Med*, 2025, **23**(1): 243
- [20] Oh D Y, Bedard P L, Lee K W, *et al.* Phase 1 study of Zanidatamab Zovodotin (ZW49): Safety Profile and Recommended Dose (RD) in patients with Human Epidermal Growth Factor 2 (HER2) -positive solid cancers. *Mol Cancer Ther*, 2023, **22**(12_Supplement): B130
- [21] Klemperer S, Strickler J, Gourley L, *et al.* 393 A phase 1/2 study of SBT6050 combined with trastuzumab deruxtecan (T-DXd) or trastuzumab and tucatinib with or without capecitabine in patients with HER2-expressing or HER2-amplified cancers. *J Immunotherap Cancer*, 2021, **9**(Suppl 2): 426
- [22] Li J J, Wang Z H, Chen L, *et al.* Efficacy and safety of neoadjuvant SHR-A1811 with or without pyrotinib in women with locally advanced or early HER2-positive breast cancer: a randomized, open-label, phase II trial. *Ann Oncol*, 2025, **36**(6): 651-659
- [23] Lewis G D, Li G, Guo J, *et al.* The HER2-directed antibody-drug conjugate DHES0815A in advanced and/or metastatic breast cancer: preclinical characterization and phase 1 trial results. *Nat Commun*, 2024, **15**(1): 466
- [24] Thakkar D, Dharmadhikari B, Zharkova O, *et al.* 166 (PB154): a novel HER2 targeted dual-payload ADC, HMBD-802, overcomes resistance to topoisomerase 1 inhibitor ADCs. *Eur J Cancer*, 2024, **211**: 114687
- [25] Bukhalid R A, Duvall J R, Lancaster K, *et al.* XMT-2056, a HER2-directed STING agonist antibody-drug conjugate, induces innate antitumor immune responses by acting on cancer cells and tumor-resident immune cells. *Clin Cancer Res*, 2025, **31**(9): 1766-1782
- [26] de Goeij B E, Vink T, Ten Napel H, *et al.* Efficient payload delivery by a bispecific antibody-drug conjugate targeting HER2 and CD63. *Mol Cancer Ther*, 2016, **15**(11): 2688-2697
- [27] Zong H F, Li X, Han L, *et al.* A novel bispecific antibody drug conjugate targeting HER2 and HER3 with potent therapeutic efficacy against breast cancer. *Acta Pharmacol Sin*, 2024, **45**(8): 1727-1739
- [28] Bartsch R, Marhold M, Garde-Noguera J, *et al.* Patritumab deruxtecan (HER3-DXd) in patients with active brain metastases of breast cancer (TUXEDO-3): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 2025, **26**(11): 1467-1478
- [29] Zhao Y, Ren P, Guan M, *et al.* A novel dual-payload HER3-directed antibody-drug conjugate, shows potent antitumor efficacy in HER3-low *in vivo* tumor models. *Cancer Res*, 2025, **85**(8_Supplement_1): 1587
- [30] Lassman A B, Pugh S L, Wang T J C, *et al.* Depatuxizumab mafodotin in EGFR-amplified newly diagnosed glioblastoma: a phase III randomized clinical trial. *Neuro Oncol*, 2023, **25**(2): 339-350
- [31] Cleary J M, Calvo E, Moreno V, *et al.* A phase 1 study evaluating safety and pharmacokinetics of losatuxizumab vedotin (ABBV-221), an anti-EGFR antibody-drug conjugate carrying monomethyl auristatin E, in patients with solid tumors likely to overexpress EGFR. *Invest New Drugs*, 2020, **38**(5): 1483-1494
- [32] Zhu M, Zhou L, Hu S, *et al.* Rational design and systemic appraisal of an EGFR-targeting antibody-drug conjugate LR-DM1 for pancreatic cancer. *J Med Chem*, 2022, **65**(10): 7141-7153
- [33] Yang Y, Zhou H, Tang L, *et al.* Izalontamab brengitecan, an EGFR and HER3 bispecific antibody-drug conjugate, versus chemotherapy in heavily pretreated recurrent or metastatic nasopharyngeal carcinoma: a multicentre, randomised, open-label, phase 3 study in China. *Lancet*, 2025, **406**(10516): 2235-2243
- [34] Xu T, Li F, Lai Z, *et al.* JSKN021, an innovative site-specific dual-payload bispecific antibody drug conjugate targeting EGFR and HER3 exhibits potent preclinical activities. *Cancer Res*, 2025, **85**(8_Supplement_1): 5451
- [35] Comer F, Mazor Y, Hurt E, *et al.* AZD9592: an EGFR-cMET bispecific antibody-drug conjugate (ADC) targeting key oncogenic drivers in non-small-cell lung cancer (NSCLC) and beyond. *Cancer Res*, 2023, **83**(7_Supplement): 5736
- [36] Blair H A. Telisotuzumab vedotin: first approval. *Drugs*, 2025, **85**(9): 1171-1176
- [37] Liu Y, Zhang Y, Zeng L, *et al.* RC108 in combination with furmonertinib in patients with locally advanced or metastatic EGFR-mutated non-small-cell lung cancer (NSCLC) with MET overexpression: Results from a phase Ib/II trial. *J Clin Oncol*, 2025, **43**(16_suppl): 8592
- [38] Hudson R, Yao H P, Suthe S R, *et al.* Antibody-drug conjugate PCMC1D3-duocarmycin SA as a novel therapeutic entity for targeted treatment of cancers aberrantly expressing MET receptor tyrosine kinase. *Curr Cancer Drug Targets*, 2022, **22**(4): 312-327
- [39] Guerra A D, Matkar S, Acholla C, *et al.* A humanized anaplastic lymphoma kinase (ALK)-directed antibody-drug conjugate with pyrrolobenzodiazepine payload demonstrates efficacy in ALK-expressing cancers. *Nat Commun*, 2025, **16**(1): 7578
- [40] Rohrberg K S, Lopez J S, Milhem M M, *et al.* Phase I/II study of AXL-specific antibody-drug conjugate enapotamab vedotin in patients with advanced solid tumors. *Cancer Res Commun*, 2025, **5**(11): 2066-2078
- [41] Zammarchi F, Havenith K E, Chivers S, *et al.* Preclinical development of ADCT-601, a novel pyrrolobenzodiazepine dimer-based antibody-drug conjugate targeting AXL-expressing cancers. *Mol Cancer Ther*, 2022, **21**(4): 582-593
- [42] Annunziata C M, Kohn E C, LoRusso P, *et al.* Phase 1, open-label study of MEDI-547 in patients with relapsed or refractory solid tumors. *Invest New Drugs*, 2013, **31**(1): 77-84
- [43] Staquicini F I, Tang F H, de Oliveira V, *et al.* First-generation and preclinical evaluation of an EphA5-targeted antibody-drug conjugate in solid tumors. *J Clin Invest*, 2025, **135**(14): e188492

- [44] Kim S B, Meric-Bernstam F, Kalyan A, *et al.* First-in-human phase I study of aprutumab ixadotin, a fibroblast growth factor receptor 2 antibody-drug conjugate (BAY 1187982) in patients with advanced cancer. *Target Oncol*, 2019, **14**(5): 591-601
- [45] Al Malki M M, Minden M D, Rich E S, *et al.* Safety, tolerability, and pharmacokinetics of ASP1235 in relapsed or refractory acute myeloid leukemia: a phase I study. *Leuk Res*, 2025, **152**: 107690
- [46] Akla B, Broussas M, Loukili N, *et al.* Efficacy of the antibody-drug conjugate W0101 in preclinical models of IGF-1 receptor overexpressing solid tumors. *Mol Cancer Ther*, 2020, **19**(1): 168-177
- [47] Abrams T, Connor A, Fanton C, *et al.* Preclinical antitumor activity of a novel anti-c-KIT antibody-drug conjugate against mutant and wild-type c-KIT-positive solid tumors. *Clin Cancer Res*, 2018, **24**(17): 4297-4308
- [48] Cho B C, Johnson M, Bar J, *et al.* A phase 1b study of cofetuzumab pelidotin monotherapy in patients with PTK7-expressing recurrent non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2025, **202**: 108492
- [49] Nguyen M, Miyakawa S, Kato J, *et al.* Preclinical efficacy and safety assessment of an antibody-drug conjugate targeting the c-RET proto-oncogene for breast carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2015, **21**(24): 5552-5562
- [50] Cobb P W, Zhou H, Nahar A, *et al.* Open-label, active-control, phase 2/3 study of zilovertamab vedotin plus standard of care in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*, 2022, **40**(16_suppl): TPS7592
- [51] Adkins D, Wong W, Misleh J G, *et al.* Phase 2 trial of ozurifamab vedotin (BA3021), a conditionally binding ROR2-ADC, in patients with heavily pretreated squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol*, 2025, **43**(16_suppl): 6048
- [52] Wu K, Ji J, Pan J, *et al.* MSP-RON signaling in liver pathobiology and as an emerging therapeutic target: a review of the current evidence. *Cell Commun Signal*, 2025, **23**(1): 385
- [53] Zarei O, Benvenuti S, Ustun-Alkan F, *et al.* Strategies of targeting the extracellular domain of RON tyrosine kinase receptor for cancer therapy and drug delivery. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2016, **142**(12): 2429-2446
- [54] Huang L, Fang X, Shi D, *et al.* MSP-RON pathway: potential regulator of inflammation and innate immunity. *Front Immunol*, 2020, **11**: 569082
- [55] O'Toole J M, Rabenau K E, Burns K, *et al.* Therapeutic implications of a human neutralizing antibody to the macrophage-stimulating protein receptor tyrosine kinase (RON), a c-MET family member. *Cancer Res*, 2006, **66**(18): 9162-9170
- [56] Maggiora P, Marchio S, Stella M C, *et al.* Overexpression of the RON gene in human breast carcinoma. *Oncogene*, 1998, **16**(22): 2927-2933
- [57] Wang M H, Lee W, Luo Y L, *et al.* Altered expression of the RON receptor tyrosine kinase in various epithelial cancers and its contribution to tumorigenic phenotypes in thyroid cancer cells. *J Pathol*, 2007, **213**(4): 402-411
- [58] Zhou Y Q, He C, Chen Y Q, *et al.* Altered expression of the RON receptor tyrosine kinase in primary human colorectal adenocarcinomas: generation of different splicing RON variants and their oncogenic potential. *Oncogene*, 2003, **22**(2): 186-197
- [59] Thomas R M, Toney K, Fenoglio-Preiser C, *et al.* The RON receptor tyrosine kinase mediates oncogenic phenotypes in pancreatic cancer cells and is increasingly expressed during pancreatic cancer progression. *Cancer Res*, 2007, **67**(13): 6075-6082
- [60] Faham N, Welm A L. RON signaling is a key mediator of tumor progression in many human cancers. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2016, **81**: 177-188
- [61] Yao H P, Hudson R, Wang M H. RON receptor tyrosine kinase in pancreatic ductal adenocarcinoma: pathogenic mechanism in malignancy and pharmaceutical target for therapy. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, **1873**(2): 188360
- [62] Wachter E, Fox L H, Lu Z, *et al.* RON receptor signaling and the tumor microenvironment. *Genes*, 2025, **16**(4): 437
- [63] Montero-Julian F A, Dauny I, Flavetta S, *et al.* Characterization of two monoclonal antibodies against the RON tyrosine kinase receptor. *Hybridoma*, 1998, **17**(6): 541-551
- [64] Zou Y, Howell G M, Humphrey L E, *et al.* Ron knockdown and Ron monoclonal antibody IMC-RON8 sensitize pancreatic cancer to histone deacetylase inhibitors (HDACi). *PLoS One*, 2013, **8**(7): e69992
- [65] Han M, Whalen K, Gifford J, *et al.* 2LB Anti-tumor activity of anti-RON antibodies and biomarker of response. *Eur J Cancer Suppl*, 2010, **8**(7): 3
- [66] Koh X Y, Koh X H, Hwang L A, *et al.* Therapeutic anti-cancer activity of antibodies targeting sulfhydryl bond constrained epitopes on unglycosylated RON receptor tyrosine kinase. *Oncogene*, 2019, **38**(48): 7342-7356
- [67] Li Z, Yao H, Guin S, *et al.* Monoclonal antibody (MAb)-induced down-regulation of RON receptor tyrosine kinase diminishes tumorigenic activities of colon cancer cells. *Int J Oncol*, 2010, **37**(2): 473-482
- [68] Yao H P, Luo Y L, Feng L, *et al.* Agonistic monoclonal antibodies potentiate tumorigenic and invasive activities of splicing variant of the RON receptor tyrosine kinase. *Cancer Biol Ther*, 2006, **5**(9): 1179-1186
- [69] Yao H P, Zhou Y Q, Ma Q, *et al.* The monoclonal antibody Zt/f2 targeting RON receptor tyrosine kinase as potential therapeutics against tumor growth-mediated by colon cancer cells. *Mol Cancer*, 2011, **10**: 82
- [70] Gunes Z, Zucconi A, Cioce M, *et al.* Isolation of fully human antagonistic RON antibodies showing efficient block of downstream signaling and cell migration. *Transl Oncol*, 2011, **4**(1): 38-46
- [71] Xu X, Yu T, Wang Z. Antibody-drug conjugates in oncology: a spotlight on overcoming resistance. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2026, **217**: 105015
- [72] Janke C, Magiera M M. The tubulin code and its role in controlling microtubule properties and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, **21**(6): 307-326
- [73] Morcos A, Jung Y, Galvan Bustillos J, *et al.* A comprehensive review of the antitumor properties and mechanistic insights of

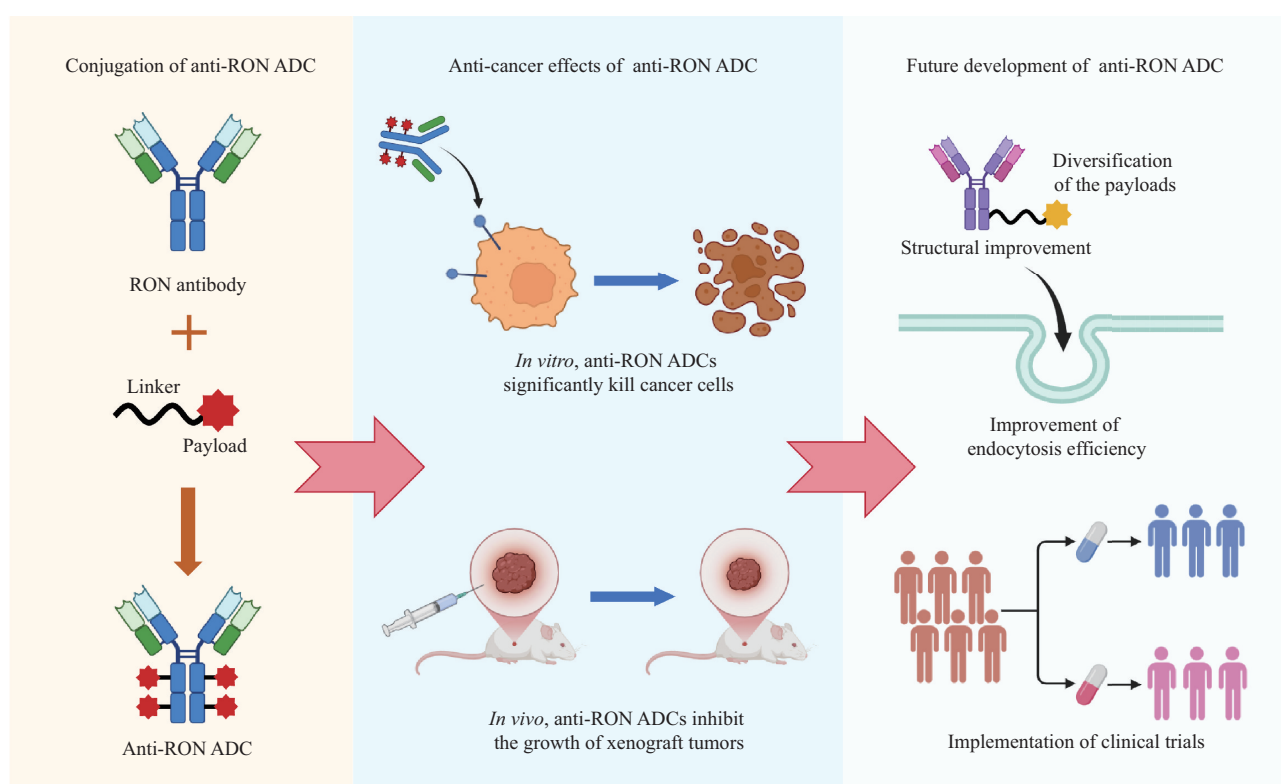
- duocarmycin analogs. *Cancers*, 2024, **16**(19): 3293
- [74] Dudchak R, Podolak M, Holota S, *et al.* Click chemistry in the synthesis of antibody-drug conjugates. *Bioorg Chem*, 2024, **143**: 106982
- [75] Chau C H, Steeg P S, Figg W D. Antibody-drug conjugates for cancer. *Lancet*, 2019, **394**(10200): 793-804
- [76] Padhye S S, Guin S, Yao H P, *et al.* Sustained expression of the RON receptor tyrosine kinase by pancreatic cancer stem cells as a potential targeting moiety for antibody-directed chemotherapeutics. *Mol Pharm*, 2011, **8**(6): 2310-2319
- [77] Li C, Heidt D G, Dalerba P, *et al.* Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res*, 2007, **67**(3): 1030-1037
- [78] Wang M H, Kurtz A L, Chen Y. Identification of a novel splicing product of the RON receptor tyrosine kinase in human colorectal carcinoma cells. *Carcinogenesis*, 2000, **21**(8): 1507-1512
- [79] Wang M H, Wang D, Chen Y Q. Oncogenic and invasive potentials of human macrophage-stimulating protein receptor, the RON receptor tyrosine kinase. *Carcinogenesis*, 2003, **24**(8): 1291-1300
- [80] Coats S, Williams M, Kebble B, *et al.* Antibody-drug conjugates: future directions in clinical and translational strategies to improve the therapeutic index. *Clin Cancer Res*, 2019, **25**(18): 5441-5448
- [81] Goulet D R, Atkins W M. Considerations for the design of antibody-based therapeutics. *J Pharm Sci*, 2020, **109**(1): 74-103
- [82] Saber H, Leighton J K. An FDA oncology analysis of antibody-drug conjugates. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2015, **71**(3): 444-452
- [83] Pomeroy A E, Schmidt E V, Sorger P K, *et al.* Drug independence and the curability of cancer by combination chemotherapy. *Trends Cancer*, 2022, **8**(11): 915-929
- [84] Chou T C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. *Pharmacol Rev*, 2006, **58**(3): 621-681
- [85] Chou T C. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. *Cancer Res*, 2010, **70**(2): 440-446
- [86] Jumbe N L, Xin Y, Leipold D D, *et al.* Modeling the efficacy of trastuzumab-DM1, an antibody drug conjugate, in mice. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*, 2010, **37**(3): 221-242
- [87] Duriez P J, Shah G M. Cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase: a sensitive parameter to study cell death. *Biochim Biol Cell*, 1997, **75**(4): 337-349
- [88] Patel T A, Ensor J E, Creamer S L, *et al.* A randomized, controlled phase II trial of neoadjuvant ado-trastuzumab emtansine, lapatinib, and nab-paclitaxel versus trastuzumab, pertuzumab, and paclitaxel in HER2-positive breast cancer (TEAL study). *Breast Cancer Res*, 2019, **21**(1): 100
- [89] Freedman R A, Heiling H M, Li T, *et al.* Neratinib and ado-trastuzumab emtansine for pretreated and untreated human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive breast cancer brain metastases: Translational Breast Cancer Research Consortium trial 022. *Ann Oncol*, 2024, **35**(11): 993-1002
- [90] Huang L, Wang R, Xie K, *et al.* A HER2 target antibody drug conjugate combined with anti-PD- (L)₁ treatment eliminates hHER2+ tumors in hPD-1 transgenic mouse model and contributes immune memory formation. *Breast Cancer Res Treat*, 2022, **191**(1): 51-61
- [91] Yu Y, Yang Y, Li H, *et al.* Targeting HER2 alterations in non-small cell lung cancer: therapeutic breakthrough and challenges. *Cancer Treat Rev*, 2023, **114**: 102520
- [92] Fan Q, Chen H, Wei G, *et al.* A review of conjugation technologies for antibody drug conjugates. *Antib Ther*, 2025, **8**(2): 157-170
- [93] Yin L, Zhou S, Zhang H, *et al.* Reprogramming the tumor microenvironment: synergistic mechanisms of antibody-drug conjugates and immune checkpoint inhibitors. *Antib Ther*, 2025, **8**(3): 262-274
- [94] Fu C. Where does ISAC (immune-stimulating antibody conjugates) go from here?. *J Immunother Cancer*, 2025, **13**(8): e012500
- [95] Sharma M, Carvajal R D, Hanna G J, *et al.* Preliminary results from a phase 1/2 study of BDC-1001, a novel HER2 targeting TLR7/8 immune-stimulating antibody conjugate (ISAC), in patients (pts) with advanced HER2-expressing solid tumors. *J Clin Oncol*, 2021, **39**(15_suppl): 2549
- [96] Vartak R, Deore B, Sanhueza C A, *et al.* Cetuximab-based PROteolysis targeting chimera for effectual downregulation of NSCLC with varied EGFR mutations. *Int J Biol Macromol*, 2023, **252**: 126413
- [97] Hurvitz S A, Hamilton E P, Spira A I, *et al.* A phase 1, first-in-human, open label, escalation and expansion study of ORM-5029, a highly potent GSPT1 degrader targeting HER2, in patients with HER2-expressing advanced solid tumors. *J Clin Oncol*, 2023, **41**(16_suppl): TPS1114
- [98] Wen M, Yu A, Park Y, *et al.* Homogeneous antibody-drug conjugates with dual payloads: potential, methods and considerations. *MAbs*, 2025, **17**(1): 2498162
- [99] Yu J, Fang T, Yun C, *et al.* Antibody-drug conjugates targeting the human epidermal growth factor receptor family in cancers. *Front Mol Biosci*, 2022, **9**: 847835
- [100] Zhou X, Han Y, Fang Y, *et al.* Antibody-drug conjugates: current challenges and innovative solutions for precision cancer therapy. *Med*, 2025, **6**(10): 100849
- [101] Raja A, Kasana A, Verma V. Next-generation therapeutic antibodies for cancer treatment: advancements, applications, and challenges. *Mol Biotechnol*, 2025, **67**(9): 3345-3365
- [102] Szijj P A, Chudasama V, Thurber G M, *et al.* An integrin-targeting peptide enables efficient lysosomal delivery of antibody-drug conjugates. *ChemRxiv*, 2025. DOI: 10.26434/chemrxiv-2025-bsc
- [103] Wang Y, Liu L, Yang Q Y, *et al.* Novel anti-HER2 nanobody-drug conjugates with enhanced penetration of solid tumor and BBB, reduced systemic exposure and superior antitumor efficacy. *Acta Pharmacol Sin*, 2026, **47**(2): 467-480

Antibody–drug Conjugates Targeting RON and Their Anti-cancer Effects*

SUN Ting, YAO Hang-Ping**

(State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, National Clinical Research Center for Infectious Diseases,
First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China)

Graphical abstract



Abstract Receptor tyrosine kinases (RTKs) are a class of transmembrane cell surface enzyme-linked receptors that play essential roles in various cellular life processes under normal physiological conditions. Dysregulation of RTKs and their signaling pathways is closely associated with multiple human diseases, including cancer. RON is a member of the RTK family. When RON is abnormally expressed, it can actively drive the proliferation, metastasis, and epithelial-mesenchymal transition of cancer cells through complex downstream signal transduction pathways, thereby contributing to the occurrence and subsequent development process of various

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82473937) and the Zhejiang Plan for the Special Support for Top-notch Talents in China (2022R52029).

** Corresponding author.

Tel: 86-571-87236580, E-mail: yaohangping@zju.edu.cn

Received: January 30, 2026 Accepted: April 16, 2026

types of cancers. Consequently, RON is regarded as a potent target for cancer targeted therapy. In recent years, as RTKs have gradually become popular candidate targets for antibody-drug conjugates (ADCs), a variety of ADCs targeting RON have been successfully developed and studied. To highlight the therapeutic potential of anti-RON ADCs in cancer treatment and to provide a foundation for further development and clinical research of them, this article summarized the selected components and construction strategies of existing anti-RON ADCs, and systematically reviewed their *in vitro* and *in vivo* anticancer efficacy, as well as their pharmacological and toxicological characteristics. Anti-RON ADCs demonstrated favorable stability both *in vitro* and *in vivo*. In cellular models, anti-RON ADCs carrying different payloads all exhibited potent cytotoxic effects. In animal models, anti-RON ADCs have convincingly demonstrated significant anti-cancer activity, with stable pharmacological properties and manageable toxicity at therapeutic doses. Anti-RON ADCs have a number of distinct therapeutic advantages. Compared with ADCs targeting other RTKs, anti-RON ADCs have unique effects in regulating the immune microenvironment and can potentially provide additional therapeutic options for overcoming drug resistance. Compared with RON antibodies and small molecule inhibitors, anti-RON ADCs do not rely on the RON signaling pathways, thereby significantly enhancing therapeutic efficacy. Moreover, anti-RON ADCs show therapeutic potential for targeting RON variants. In summary, the results of basic researches indicated that anti-RON ADCs have favorable anti-cancer effects and show promising clinical translation prospects. In addition, this article analyzed the current limitations of anti-RON ADCs and emphatically discussed their future development directions. The payloads of the existing anti-RON ADCs are relatively limited, and the drug-to-antibody ratio (DAR) of each ADC is not uniform. There also remains considerable room for improvement in terms of endocytosis efficiency and drug combination strategies. Therefore, the development of the next-generation anti-RON ADCs should focus on the diversification of the payloads, and explore new types of ADCs, dual-load ADCs, *etc.* Additionally, the structure of antibodies or ADCs could be optimized to enhance the endocytosis efficiency and progressively overcome current limitations. At present, anti-RON ADCs are limited to basic research, and the current research outcomes and observations indicated their potential for clinical application. Therefore, the clinical translation of anti-RON ADCs will be an important objective for future development. To this end, it is necessary to carefully devise a rational clinical translation pathway for anti-RON ADCs, and comprehensively evaluate the potential challenges that may arise during the implementation, so as to accelerate the initiation of clinical trials. Ultimately, clinical application of anti-RON ADCs will be realized, providing more treatment options for cancer patients.

Key words RON, receptor tyrosine kinases (RTKs), antibody-drug conjugates (ADCs)

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0059

CSTR: 32369.14.pibb.20260059