

LGR5靶点抗体药物的开发及其在肿瘤治疗中的应用前景

张天豪¹, 李 涛¹, 陶维红^{1,2*}

(1 河南大学抗体药物开发技术国家地方联合工程实验室, 开封 475004; 2 上海溪长生物技术有限公司, 上海 201712)

摘要: 癌症是全球范围内防治难度极高的疾病之一, LGR5作为Wnt信号通路的关键靶点, 在结直肠癌、肝癌等多种恶性肿瘤中过表达, 具备成为治疗靶点的巨大潜力。当前LGR5靶向药物开发面临肿瘤异质性、潜在不良反应等挑战, 但临床前研究显示抗体药物偶联物已展现出显著抗肿瘤活性, 为突破难点提供了方向。本文系统综述了LGR5靶点抗体药物的研发进展, 涵盖抗体药物偶联物(ADC)、纳米抗体、双特异性抗体及CAR-T疗法等。ADC药物通过将抗LGR5单克隆抗体与毒素偶联, 在结直肠癌和神经母细胞瘤模型中有效抑制肿瘤生长; 纳米抗体凭借小分子量增强肿瘤穿透性, 并抑制Wnt信号通路。文章还探讨了LGR5靶点抗体药物开发的核心难题——在靶/脱靶毒性的机制及解决策略。

关键词: LGR5; 抗体偶联药物; 双特异性抗体; 在靶/脱靶毒性; 靶向治疗; 肿瘤异质性

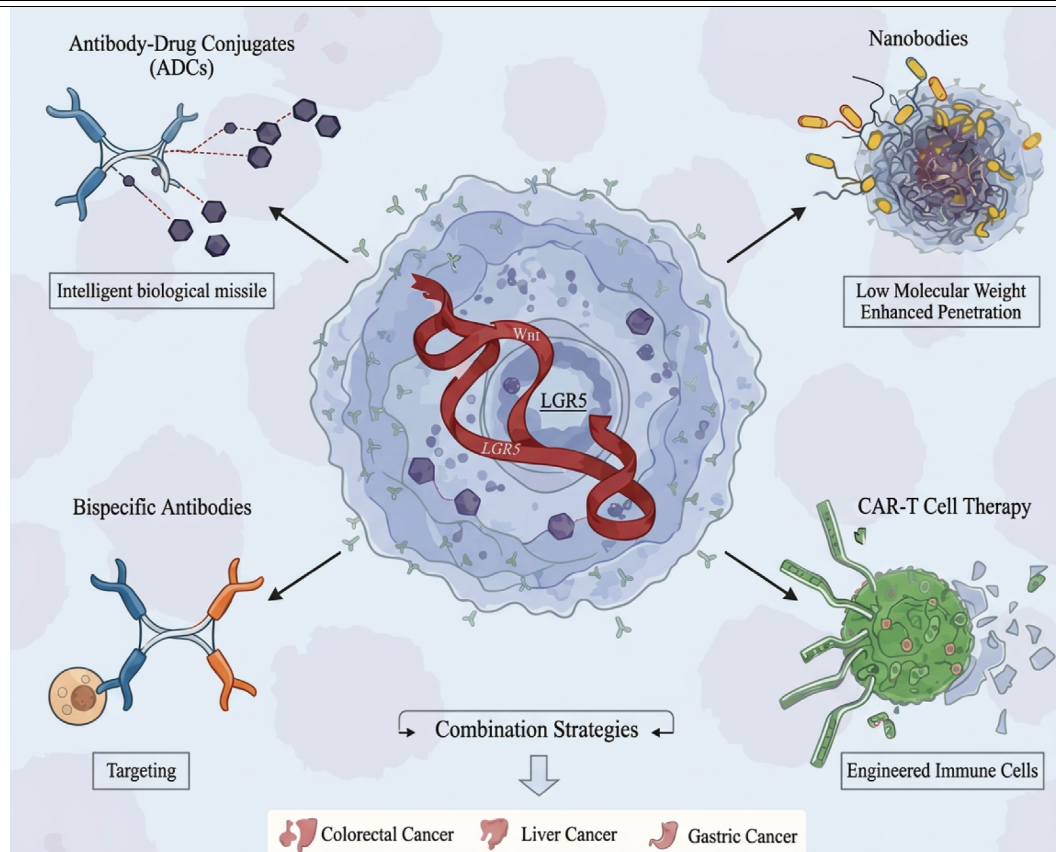
中图分类号: Q816; R730.5 **文献标识码:** A

Development of LGR5-targeted antibody drugs and their prospects in tumor therapy

ZHANG Tian-Hao¹, LI Tao¹, TAO Wei-Hong^{1, 2*}

(1 Joint National Laboratory for Antibody Drug Engineering, Henan University, Kaifeng 475004, China;
2 Shanghai Constreambio Biotechnology Co., Ltd, Shanghai, 201712, China)

Abstract: Cancer remains one of the most formidable global health challenges, with tumor recurrence and metastasis serving as the primary causes of mortality, largely attributed to the persistence of therapy-resistant cancer stem cells (CSCs). Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 5 (LGR5), a critical downstream mediator of Wnt/ β -catenin signaling pathway, has emerged as a highly promising therapeutic target. This receptor is specifically overexpressed in CSCs and multiple aggressive malignancies including colorectal cancer, hepatocellular carcinoma, and neuroblastoma, while its expression in normal tissues is largely restricted to homeostatic stem cell compartments, offering a favorable therapeutic window. Targeting LGR5 thus offers a strategy to eradicate tumor-initiating cells, which are responsible for disease relapse and treatment failure following conventional chemotherapies. Despite this potential, the development of LGR5-targeted therapeutics has encountered notable obstacles, including tumor heterogeneity and concerns over on-target off-tumor toxicities due to its physiological expression in normal intestinal stem cells. This review systematically summarizes the recent advances in LGR5-targeted antibody-based therapeutics, covering multiple innovative modalities to address these challenges. Antibody-drug conjugates (ADCs), such as the PBD-based SG3199 and camptothecin-conjugated R462-CPT2, have demonstrated potent and selective antitumor efficacy in preclinical models, effectively suppressing tumor growth in both colorectal cancer and neuroblastoma without inducing severe systemic toxicities. Nanobodies targeting LGR5, with their small molecular weight (~15 kDa), enable deep tumor penetration and effectively inhibit aberrant Wnt signaling, showing significant anti-proliferative effects in both *in vitro* cell assays and *in vivo* animal models. Furthermore, bispecific antibodies (e.g., petosemtamab) and LGR5-targeted CAR-T cell therapies have advanced into clinical trials, providing new avenues to overcome treatment resistance and prevent tumor recurrence. Collectively, these emerging strategies hold great promise for eradicating CSCs and improving clinical outcomes for hard-to-treat cancers, paving the way for next-generation targeted cancer therapies.



Key words: LGR5; antibody-drug conjugate; bispecific antibodies; on-target/off-tumor toxicity; targeted therapy; tumor heterogeneity

癌症是全球范围内防治难度最高的疾病之一。一直以来科学家们致力于癌症预防与治疗研究,但尚未发现针对癌症的特效药物。临床数据显示,癌症患者死亡主因多为肿瘤复发与转移,这源于肿瘤细胞复杂的生物学机制^[1]。研究表明人类LGR5⁺肿瘤干细胞与治疗耐药、肿瘤复发及肿瘤异质性等密切相关^[2]。因此,解析肿瘤细胞分子机制并开发基于该机制的肿瘤细胞杀伤或抑制策略成为当前研究热点。

LGR5蛋白(又称G蛋白偶联受体49或67,即GPCR49/GPCR67)属于G蛋白偶联受体(GPCR)家族。LGR5研究领域的发展历程可追溯至1998年,由斯坦福大学Aaron J.W. Hsueh团队首次发现并克隆了LGR5基因,最初将其命名为GPR49,确立了该基因作为含有17个亮氨酸重复序列的G蛋白偶联受体的分子特征^[3]。人源LGR5蛋白由907个氨基酸残基组成,胞外功能区含17个富含亮氨酸重复序列,其N-端和C-端尾部侧翼均富含半胱氨酸序列,共有4个糖基化位点,以及7个高度保守的 α 螺旋跨膜区^[4]。

2002年, van de Wetering团队发现LGR5是Wnt信号通路的靶基因,首次揭示其与肿瘤发生的关联^[5]。2007年, Barker与Clevers团队通过谱系追踪证实LGR5⁺细胞为小鼠小肠和结肠的干细胞,解决了肠道干细胞身份鉴定的关键问题^[6]。2009年,该研发团队进一步证明小鼠LGR5⁺细胞是肠道肿瘤的起源细胞,为癌症干细胞理论提供实验支持^[7]。2012年, Hans Clevers团队在*Science*发文显示,小鼠LGR5⁺细胞约占肿瘤细胞的5%~10%,是肿瘤持续生长的“燃料”,奠定了靶向LGR5⁺细胞的治疗基础^[8]。2013年,多个团队阐明人类LGR5通过与R-spondin结合增强Wnt/ β -catenin信号转导,揭示其在干细胞维持和肿瘤发生中的核心机制^[9]。

2016年,首个LGR5靶向单抗BNC101进入I期临床试验^[10],用于治疗转移性结直肠癌,开启靶向治疗时代。2018年, Merus公司开发的EGFR/LGR5双特异性抗体MCLA-158(派森妥单抗)进入I/II期临床^[11], 2025年推进至III期^[12],成为Merus被Genmab以80亿美元收购的核心资产。2023年, Carina Biotech开发

的LGR5靶向CAR-T疗法CNA3103进入临床^[13],标志着LGR5靶向细胞免疫治疗取得新突破。

本文系统梳理了近年来针对LGR5靶点的抗体药物研发进展,涵盖单克隆抗体(mAb)、双特异性抗体(BsAb)、抗体药物偶联物(ADC)及嵌合抗原受体T细胞(CAR-T)疗法等不同技术路线的作用机制与临床效果。

1 单克隆抗体

1.1 研发原理

单克隆抗体(mAbs)是由单一B细胞克隆产生的、高度均一的抗体,它们只能识别并结合同一种抗原的特定部位。早期开发的抗LGR5单抗(如鼠源单抗)主要通过阻断LGR5与其天然配体R海绵蛋白4(RSPO4)的结合,以及诱导受体内化和降解,减少细胞表面LGR5的表达水平,从而抑制Wnt/ β -catenin信号通路的激活,以及抑制肿瘤干细胞的自我更新和增殖^[14,15]。然而,由于肿瘤微环境中存在复杂的Wnt信号冗余,单纯阻断LGR5-RSPO轴的效果在某些肿瘤模型中有限^[2]。新一代人源化或全人源抗LGR5单抗更侧重于利用其Fc段介导的免疫效应功能激活免疫系统,介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)/吞噬作用(ADCP)来发挥抗肿瘤效应^[16,17]。研究表明,突变的RSPO4的furin结构域与人类IgG1的Fc段融合后的蛋白不仅对LGR5有较高亲和力,而且不会增强Wnt/ β -连环蛋白信号通路^[18]。此外,在某些研究中抗LGR5单抗能够有效招募自然杀伤(NK)细胞、巨噬细胞等免疫细胞,发挥抗体依赖的细胞介导的吞噬作用(ADCP),对LGR5⁺肿瘤细胞进行清除,这类药物在临床前模型中显示出抑制肿瘤生长和清除CSCs群体的潜力^[19]。

1.2 研发进展

BNC101是由Bionomics公司开发的首个靶向人类LGR5的人源化单克隆抗体(表1),于2016年进入I期临床试验(NCT02726334,注:来源于ClinicalTrials.gov,后续注册号皆来源于此网站),用于治疗转移性结直肠癌患者^[10,15]。该抗体通过抑制LGR5⁺肿瘤干细胞生长,阻断Wnt信号通路,并诱导抗体依赖的细胞毒性。2018年,AACR会议报告了首次人体靶标结合证据,在肿瘤活检中观察到BNC101与LGR5的共定位,证实了药物的靶向作用。然而,由于研发经费不足等原因,该项目已于2020年终止。单抗药物

的在靶/脱靶毒性、耐药性以及难以穿透实体肿瘤的致密结构等问题,限制了单克隆抗体药物的发展。然而,其他类型的抗体药物大部分是以单克隆抗体为基础设计的,因此单克隆抗体在抗体药物研发中不可或缺。

2 LGR5抗体药物偶联物

2.1 设计原理

目前,ADC在癌症靶向治疗中占据主导地位,然而专门针对结直肠癌(CRC)的上市ADC药物却很稀少。研究表明,人类LGR5可以通过网格蛋白介导的胞吞作用迅速且持续地内吞,独立于配体^[20],其在肿瘤中的高表达及快速内化使LGR5成为ADC开发的前景候选者。靶向人类LGR5的ADC现已被证实具有抗肿瘤活性。LGR5-ADC的设计遵循传统ADC设计原则,即抗体通过连接子与毒性载荷连接^[21-23]。在连接子的选择上,可裂解连接子优于不可裂解连接子,其机制是可裂解ADC利用旁观者效应增强疗效。毒性载荷可采用抗有丝分裂、微管蛋白抑制剂单甲基奥瑞他汀E(MMAE),以及靶向DNA损伤的拓扑异构酶抑制剂蒽环素PNU159682等^[2,21,23]。不同毒性载荷对不同癌细胞模型产生的疗效及毒性不同,因此针对不同的癌症应选择不同的毒性载荷。LGR5-ADC的作用遵循经典的ADC“靶向递送-内化-杀伤”机制,其原理是利用抗体的特异性将超强毒素递送至LGR5高表达的肿瘤细胞内部,实现高效、选择性的杀伤。LGR5-ADC的设计特色在于其精准靶向肿瘤干细胞、克服耐药、利用旁观者效应清除异质性肿瘤^[2,4,21,23]。

2.2 研究进展

LGR5-ADC药物目前处于临床前研究阶段(表1)。LGR5-ADC的研究适应证主要是结直肠癌与神经母细胞瘤,LGR5靶向抗体药物在结直肠癌治疗中具有潜在价值^[24,25]。该类药物可针对人LGR5⁺肿瘤细胞发挥作用,能抑制肿瘤生长扩散,增强常规化疗效果,为患者提供新治疗选择。LGR5在结直肠癌中过表达且与肿瘤干细胞特性相关^[26],药物通过靶向其阳性细胞可阻断肿瘤恶化的关键环节,提高癌症治愈率。而神经母细胞瘤是儿童常见恶性肿瘤,好发于婴幼儿阶段,约占儿童肿瘤相关死亡病例的12%^[27,28]。有研究发现LGR5在人神经母细胞瘤中呈现高表达^[29,30],且其表达水平与患者不

良预后密切相关。涂江华团队^[22]利用化学酶催化技术,将LGR5抗体与吡咯并苯二氮草类毒素PBD偶联,开发出ADC药物SG3199(表1)。实验证实该药物能有效抑制LGR5⁺神经母细胞瘤生长。在特定剂量下,该药物可在异种移植瘤模型中实现肿瘤生长的完全抑制。上述研究证明LGR5靶点具备开发成癌症治疗用ADC的潜力。

3 LGR5双特异性抗体

3.1 设计原理

LGR5作为肿瘤研究中的热门靶点,还可与其他不同的靶点结合制成双特异性抗体药物。当前已开发出了一种LGR5 BsAb,其可同时靶向LGR5与表皮生长因子(EGFR)。EGFR是一种位于细胞表面的受体,该受体参与调控细胞分裂和存活,而抑制EGFR可能会导致LGR5表达的上调,从而产生治疗耐药性^[31]。研究表明,同时抑制EGFR受体与LGR5

受体,可以在多种临床前小鼠和人类模型系统中更有效地抑制肿瘤细胞生长。High等^[32]证明了西妥昔单抗与LGR5-ADC在结直肠癌模型中联用能增强对肿瘤的杀伤及提高患者生存期。Lundberg等^[16]通过Biclonics平台设计出了一款名为BsAb MCLA-158的双特异性抗体,其可同时靶向EGFR和LGR5。其作用机制主要体现在以下三个方面:其一,该药物通过与EGFR第三结构域的特定位点结合,阻断EGFR配体与EGFR结合,从而抑制EGFR介导的细胞信号转导;其二,该药物与同时表达LGR5和EGFR的人癌细胞结合后,可借助LGR5蛋白本身的内化特性,促进EGFR的内化和降解;其三,该药物还能通过LGR5抗体Fc段介导的ADCP及ADCC效应激活先天免疫系统,并增强巨噬细胞、自然杀伤细胞杀伤肿瘤细胞的能力。

3.2 研究进展

Merus公司(现已被Genmab收购^[33])的MCLA-

表1 LGR5靶向药物研发近况

Table 1 Current status of LGR5-targeted drug development

药物名称	作用机制	研发公司/机构	药物类型	靶点信息	最高研发阶段 (至2025年11月)	适应症
MCLA-158	EGFR拮抗剂、LGR5拮抗剂	Merus公司(现属Genmb)	双特异性抗体	EGFR × LGR5	临床Ⅲ期	头颈鳞状细胞癌、结直肠癌
8F2-SG3199	DNA抑制剂、LGR5拮抗剂	德克萨斯大学休斯顿健康科学中心分校	抗体偶联药物	LGR5	临床前	神经母细胞瘤
R20-SG3199	DNA抑制剂、LGR5拮抗剂	德克萨斯大学休斯顿健康科学中心	抗体偶联药物	LGR5	临床前	神经母细胞瘤
8E11-CPT2	LGR5拮抗剂	德克萨斯大学休斯顿健康科学中心	抗体偶联药物	LGR5	临床前	结直肠癌
LGR5-NMS818	抗有丝分裂与DNA损伤	/	抗体偶联药物	LGR5	药物发现	结直肠癌
WO2023166318	/	丹麦国立医院、南丹麦大学、剑桥企业	/	LGR5	药物发现	肿瘤
CN118804931	/	丹麦国立医院、南丹麦大学、剑桥企业	单克隆抗体	LGR5	药物发现	肿瘤、炎症
BNC-101	LGR5拮抗剂、干细胞抑制剂	渤健	单克隆抗体	LGR5	临床Ⅰ期(现已终止)	转移性结直肠癌
KM-4056	LGR5拮抗剂	协和麒麟株式会社	单克隆抗体	LGR5	药物发现	肿瘤
BNC-102	LGR4、5拮抗剂	渤健	单克隆抗体	LGR4、5	临床前	实体瘤
CNA-3103	LGR5拮抗剂、免疫细胞毒性、T淋巴细胞刺激剂	卡里纳生物技术公司	嵌合抗原受体T细胞免疫疗法	LGR5	临床Ⅰ/Ⅱa期	转移性结直肠癌、结直肠癌、血液肿瘤
LGR5 targeting CAR-T	LGR5拮抗剂	阿德莱德大学、卡里纳生物技术公司	嵌合抗原受体T细胞免疫疗法	LGR5	临床前	结直肠癌
R462-CPT2	LGR4、5、6拮抗剂	德克萨斯大学休斯顿健康科学中心	多肽偶联药物	LGR4、5、6	临床前	结直肠癌
CDR-609	LGR5拮抗剂	CDR-Life公司	T细胞结合器	LGR5、CD3	药物发现	实体瘤

158是当前LGR5靶向药物领域中进展最快、最有代表性的(表1)。目前该药物在人类头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)研究中进入临床Ⅲ期研究;在Ⅱ期临床试验中,47名既往接受过治疗的复发或转移性HNSCC患者的客观缓解率(ORR)为40.4%,中位缓解持续时间(mDOR)、中位无进展生存期(mPFS)和中位总生存期(mOS)分别为7.2个月、5.1个月和12.5个月,最常见的副作用为痤疮型皮炎、血镁减少和皮疹,无致命不良反应^[11]。由于该药Ⅱ期临床试验显示出良好的疗效和耐受性,并且安全性表现也较为可控,近期已启动2项Ⅲ期临床研究^[12]。其中,LiGeR-HN1(NCT06525220)旨在评估MCLA-158联合PD-L1免疫检查点抑制剂派姆单抗在PD-L1阳性复发或转移性HNSCC一线治疗中的疗效与安全性;另一项研究LiGeR-HN2(NCT06496178)则针对既往接受过抗PD-1及铂类药物治疗后仍出现病情进展的复发或转移性HNSCC患者,比较MCLA-158与研究者选择的单药治疗的疗效及安全性^[12]。

4 其他新兴模式

4.1 LGR5纳米抗体

在LGR5靶向抗体药物开发中,纳米抗体制备与特性研究至关重要。纳米抗体源自骆驼科动物单链抗体,分子量小且稳定性高,在肿瘤靶向治疗中具有独特优势,如尺寸小能深入肿瘤组织内部,提升病灶区域药物浓度,并在体内活性保持时间长,可减缓代谢清除速度。这种特性使纳米抗体成为肿瘤治疗中前景良好的药物形式^[34]。

纳米抗体制作需经历设计抗原、免疫动物、筛选抗体和优化过程。选定人类LGR5蛋白功能区为抗原,用原核系统表达纯化后免疫骆驼。通过噬菌体或酵母展示技术分离高亲和力纳米抗体,再通过实验验证其结合活性与抗肿瘤功能。近期有研究人员通过原核系统表达纯化出了人源化的LGR5 LOOP区域蛋白作为抗原,免疫骆驼后筛选出纳米抗体。该抗体仅含重链可变区,分子量约15 kDa,能特异性结合人LGR5 LOOP区域,抑制Wnt/ β -catenin信号通路,展现出良好的抗肿瘤效力^[34,35]。实验显示,LGR5纳米抗体在体外可显著抑制LGR5⁺肿瘤细胞增殖,在动物模型中也可抑制

肿瘤生长。与此同时,靶向LGR5的纳米抗体既可作为诊断工具,也可用于抗体类药物开发,这就需要人们不断地深入探索。

与传统全长LGR5单克隆抗体相比,LGR5纳米抗体具有以下优势:分子量小,肿瘤穿透性更强;结构简单,易于基因工程改造;稳定性高,适合大规模生产;免疫原性低,减少不良反应风险。这些特性使纳米抗体在LGR5靶向治疗中具有独特的应用前景^[34,36]。

4.2 CAR-T 细胞疗法

LGR5 CAR-T能够特异性识别并裂解LGR5⁺的人肿瘤细胞系和患者来源的类器官,并有效抑制肿瘤的生长和转移。陈宏昌等^[37]设计了包含CD28共刺激模块的第二代CAR^[38,39]结构(LGR5 scFv-CAR),实验结果显示LGR5 scFv-CAR-T细胞能够特异性地杀死表达人类LGR5-eGFP和食蟹猴LGR5-eGFP的HEK293T细胞,其杀伤活性是CD8⁺ T细胞共培养时观察到的基线水平的约8倍。接着,他们证明了LGR5 scFv-CAR-T细胞对NALM6、HepG2和LOVO细胞系具有细胞毒性作用,能够迅速破坏肿瘤细胞。目前,LGR5 CAR-T进展最快的是卡里纳生物技术公司研发的CNA3103^[13](表1),在临床前研究中,该药物单次给药后实现了肿瘤完全消退且无复发,还显示出增强的肿瘤穿透性和延长生存期。近期,CNA3103用于治疗转移性结直肠癌成年患者Ⅰ/Ⅱa临床试验已经完成了首例给药,用于进一步评估其安全性及有效性。

4.3 多肽偶联药物(PDC)

LGR4、LGR5及LGR6(富含亮氨酸重复序列的G蛋白偶联受体4、5、6)作为三种关联受体^[40-42],在绝大多数结直肠癌病例中存在共同表达或交替表达现象^[43,44]。有研究团队通过将保留与人类LGR4/5/6高亲和力结合特性的RSPO4 furin结构域突变体^[18](表1),与人IgG1 Fc片段进行融合,成功构建出名为R462的RSPO4结构域-Fc融合蛋白分子。将R462与喜树碱类似物CPT2偶联后,形成R462-CPT2^[18]。该偶联物在体外实验中,对表达LGR4/5/6的结直肠癌细胞系展现出高细胞毒性。在结直肠癌细胞系异种移植及PDX模型实验中,R462-CPT2均展现出显著抗肿瘤效果。值得注意

的是,在有效治疗剂量水平下,使用R462-CPT2治疗的小鼠未出现明显的不良反应。

5 结论

LGR5作为Wnt/ β -catenin信号通路的关键正向调控因子和肿瘤干细胞的标志性靶点,在多种实体瘤中异常高表达,且与肿瘤发生、复发、转移及治疗耐药密切相关,因而成为极具前景的抗癌治疗靶标。本文系统综述了靶向LGR5的抗体类药物研发进展,涵盖抗体药物偶联物(ADC)、纳米抗体、双特异性抗体及CAR-T细胞疗法等前沿技术路径。现有临床前研究表明,抗LGR5 ADC可通过高效内化递送细胞毒载荷,显著抑制结直肠癌、神经母细胞瘤及肝癌模型中的肿瘤生长;纳米抗体凭借其优异的组织穿透性与靶向稳定性,展现出对Wnt信号通路的有效干预能力;双特异性抗体和CAR-T策略则为增强免疫识别、克服肿瘤异质性提供了新思路。尽管仍面临靶点安全性、肿瘤微环境适应性及耐药

演化等挑战,联合治疗与精准筛选策略有望进一步提升疗效。总的来说,靶向LGR5的抗体药物正处于从基础研究向临床转化的关键阶段,其成药性已得到初步验证,未来有望在泛瘤种靶向治疗体系中占据更加重要的地位。

6 未来展望

现如今,LGR5靶向药物研发面临的问题有以下几个方面。其一,LGR5表达存在肿瘤异质性^[45],部分患者因靶点缺失无法从治疗中获益。其二,肿瘤细胞可能通过表型转换下调LGR5表达导致耐药性^[29,46,47]。最核心的挑战是LGR5在肠道干细胞等正常组织中有基础表达,在靶向治疗时导致在靶/脱靶毒性^[48,49],尤其是ADC药物靶向治疗时最为严重^[40-42],在靶/脱靶毒性是ADC在临床开发中剂量限制性毒性的主要原因。其毒性诱发机制包括旁观者效应、连接子-载药不稳定及非特异性内吞等,导致正常细胞被杀伤,进而导致眼毒性、周围神经病

表2 LGR5靶点联合治疗策略及开发前景

Table 2 LGR5-targeted combination therapeutic strategies and development prospects

靶点	适应证	类型	协同机制	可行性依据	研发挑战	创新性
EGFR	食管鳞状细胞癌、尿路上皮癌	双特异性抗体	交叉抑制EGFR和LGR5/Wnt通路,克服耐药	MCLA-158在头颈鳞癌III期临床试验中疗效显著	正常组织中在靶/脱靶毒性叠加	基于现有研究拓展新适应证
R-spondin (RSPO)	结直肠癌、胃癌	双特异性抗体	源头阻断LGR5与RSPO的结合,抑制Wnt/ β -catenin信号	R462-CPT2可以靶向Wnt/ β -catenin信号轴,在结直肠模型中发挥显著抑瘤效果	信号通路抑制程度难控	突破单一靶点限制,提高药物特异性
PD-1/PD-L1	结直肠癌、胃癌	双特异性抗体	与LGR5协同激活免疫	已开展MCLA-158与帕博利珠单抗联合用药探索	免疫相关不良反应叠加毒性	联合免疫检查点,增强肿瘤杀伤
HER3	结直肠癌、胃癌	双特异性抗体	与Wnt通路交叉对话	HER3与LGR5在多种上皮肿瘤中共表达	正常组织叠加毒性不可控	突破单靶点疗效瓶颈
C-MET	结直肠癌、非小细胞肺癌	双特异性抗体ADC	利用c-MET的内化效率降低毒性	c-MET抑制剂(如克唑替尼、卡博替尼)进入临床	正常组织叠加在靶/脱靶毒性	克服单靶点耐药与脱靶毒性
TROP2	三阴性乳腺癌、结直肠癌、胃癌	双特异性抗体ADC	利用TROP2内吞效应促进ADC药物进入肿瘤细胞内	已有靶向TROP2的ADC药物获批上市	正常组织低表达,毒性叠加	增强药物特异性及药效
HER2	HER2阳性乳腺癌、胃癌、结直肠癌	双特异性抗体ADC	利用HER2介导内吞及旁观者效应杀伤邻近的HER2低表达细胞	靶向HER2与HER3的双特异性抗体ADC疗效高且安全可控	亲和力优化难,HER2高表达细胞易非特异性摄取	克服单靶点耐药与脱靶毒性
EpCAM	结直肠癌、胃癌	双靶点CAR-T	EpCAM、LGR5双靶点CAR-T细胞可实现靶向功能互补,清除肿瘤干细胞	两者存在显著的共表达,EpCAM与ICAM-1的双特异性CAR-T疗效显著	CAR-T细胞浸润差、易被耗竭	克服单靶点特异性不足,解决在靶/脱靶毒性问题
GPC3	肝细胞癌	双靶点CAR-T	同时清除肿瘤干细胞和普通肿瘤细胞,攻克肝癌复发难题	靶向FAP和GPC3的双特异性CAR-T细胞有潜力治疗肝细胞癌	生产工艺复杂,需要确保双分子稳定表达	克服单靶点特异性不足,解决在靶/脱靶毒性问题

变、血小板减少及嗜中性粒细胞减少等症状,缩短患者生存期^[50-52]。

因此在未来的药物研发中,首先需明确LGR5在不同肿瘤中的表达规律与功能机制,如LGR5在结直肠癌中的表达与肿瘤分级、分期及预后的关联等。由于单靶点治疗容易产生耐药性,如EGFR抑制剂治疗后可能导致LGR5表达上调,而双靶点治疗则可以同时“攻击”肿瘤干细胞和分化的肿瘤细胞,实现更全面的肿瘤清除。双特异性抗体还可以通过不同的作用机制发挥协同效应,提高治疗效果^[16,37,53]。因此,应加强LGR5双靶点药物的研发,包括双特异性抗体、双特异性抗体ADC及双靶点CAR-T等。本文基于已经发表的研究^[54-65],提出了几种可行性较高的方案(表2)。例如,LGR5与表皮生长因子受体(EGFR)的组合最具临床可行性,两者在多种癌症细胞中共表达^[31,32,66],其可通过双特异性抗体协同阻断肿瘤生长信号。

再者,研发高效且安全的抗体药物,还需优化药物设计与递送系统。通过人工智能和抗体工程技术筛选与优化^[67]特异性较强的抗体实现精准靶向^[48];针对ADC药物的严重在靶/脱靶毒性,未来可以优化偶联结构,例如增强连接子稳定性、开发特异性强的毒性载荷及优化药物抗体比(DAR)等。除了传统ADC结构,还可探索双载荷ADC、免疫刺激ADC、蛋白降解ADC及PDC等新型结构^[52],拓展LGR5靶向疗法的应用维度。

联合治疗策略也是另一重要方向,LGR5靶向药物与其他抗体、化疗、放疗或免疫疗法联用可能产生协同效应。研究表明,从木腐真菌中提取的苯醌类化合物4-AAQB^[68]、多酚类化合物姜黄素^[69]及从传统中药植物药瓜块茎根提取和纯化的TCS^[70]等能抑制LGR5表达及WNT/ β -链蛋白信号通路;小分子Verrucarins能抑制肿瘤生长和转移^[71],从而降低LGR5表达。因此,联合LGR5抑制剂或者Wnt/ β -catenin信号通路抑制剂可能是新的治疗途径。

参考文献

- [1] Lv G, Zong Q, Wang L, et al. LGR5/mTORC2 axis regulates cellular metabolic plasticity to maintain tumorigenesis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2026, 636: 217978.
- [2] Gong X, Azhdarinia A, Ghosh SC, et al. LGR5-targeted antibody-drug conjugate eradicates gastrointestinal tumors and prevents recurrence. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15: 1580–90.
- [3] Hsu SY, Liang SG, Hsueh AJ. Characterization of two LGR5 genes homologous to gonadotropin and thyrotropin receptors with extracellular leucine-rich repeats and a G protein-coupled, seven-transmembrane region. *Mol Endocrinol*, 1998, 12: 1830–45.
- [4] Wang W, Lokman NA, Barry SC, et al. LGR5: an emerging therapeutic target for cancer metastasis and chemotherapy resistance. *Cancer Metastasis Rev*, 2025, 44: 23.
- [5] van de Wetering M, Sancho E, Verweij C, et al. The beta-catenin/TCF-4 complex imposes a crypt progenitor phenotype on colorectal cancer cells. *Cell*, 2002, 111: 241–50.
- [6] Barker N, van Es JH, Kuipers J, et al. Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene *Lgr5*. *Nature*, 2007, 449: 1003–7.
- [7] Barker N, Ridgway RA, van Es JH, et al. Crypt stem cells as the cells-of-origin of intestinal cancer. *Nature*, 2009, 457: 608–11.
- [8] Schepers AG, Snippert HJ, Stange DE, et al. Lineage tracing reveals *Lgr5*⁺ stem cell activity in mouse intestinal adenomas. *Science*, 2012, 337: 730–5.
- [9] De Lau W, Barker N, Low TY, et al. *Lgr5* homologues associate with Wnt receptors and mediate R-spondin signalling. *Nature*, 2011, 476: 293–7.
- [10] Inglis DJ, Licari J, Georgiou KR, et al. Abstract 3910: Characterization of BNC101 a human specific monoclonal antibody targeting the GPCR LGR5: first-in-human evidence of target engagement. *Cancer Res*, 2018, 78: 3910.
- [11] Le Tourneau C, Fayette J, Even C, et al. 411MO Petosemtamab (MCLA-158) monotherapy in previously treated (2L+) recurrent/metastatic (r/m) head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC): phase II trial. *Ann Oncol*, 2024, 35: S1557–8.
- [12] Machiels JP, Fayette J, Haddad R, et al. LiGeR-HN phase III trials of petosemtamab + pembrolizumab and petosemtamab monotherapy in recurrent or metastatic HNSCC. *Future Oncol*, 2025, 21: 2007–16.
- [13] Desai J, Iglesias JL, Jablonskis LT, et al. A phase 1/2a, multicenter, open-label study of CNA3103 (LGR5-targeted, autologous CAR-T cells) in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol*, 2023, 41: TPS3632.

- [14] De Lau W, Peng WC, Gros P, et al. The R-spondin/Lgr5/Rnf43 module: regulator of Wnt signal strength. *Genes Dev*, 2014, 28: 305–16.
- [15] Chu P, Smith K, Shojaei F, et al. Abstract A48: Therapeutic targeting of colorectal cancer stem cells with BNC101, a functional anti-LGR5 monoclonal antibody. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12: A48.
- [16] Lundberg AS, Geuijen CAW, Hill S, et al. Petosemtamab, a bispecific antibody targeting epidermal growth factor receptor (EGFR) and leucine-rich G repeat-containing protein-coupled receptor (LGR5) designed for broad clinical applications. *Cancers*, 2025, 17: 1665.
- [17] Wang Y, Lu K, Xu Y, et al. Antibody-drug conjugates as immuno-oncology agents in colorectal cancer: Targets, payloads, and therapeutic synergies. *Front Immunol*, 2025, 16: 1678907.
- [18] Toh Y, Wu L, Tu J, et al. Anti-tumor activity of camptothecin analog conjugate of an RSPO4-based peptibody targeting LGR4/5/6 in preclinical models of colorectal cancer. *Br J Cancer*, 2025, 133: 1218–28.
- [19] Mueller N, de la Roche MA, de la Roche M. Insights from the bottom-up development of LGR5-targeting immunotherapeutics. *Immunother Adv*, 2025, 5: ltaf017.
- [20] Carmon KS, Gong X, Lin Q, et al. LGR5 interacts and cointernalizes with Wnt receptors to modulate Wnt/ β -catenin signaling. *Mol Cell Biol*, 2012, 32: 1915–25.
- [21] Junttila MR, Mao W, Wang X, et al. Targeting LGR5⁺ cells with an antibody-drug conjugate for the treatment of colon cancer. *Sci Transl Med*, 2015, 7: 314ra186.
- [22] Tu J, Toh Y, Aldana AM, et al. Antitumor activity of a pyrrolobenzodiazepine antibody-drug conjugate targeting LGR5 in preclinical models of neuroblastoma. *Pharmaceutics*, 2024, 16: 943.
- [23] Hirsch D, Ried T. Targeting colorectal cancer (stem-like) cells using LGR5 directed antibody drug conjugates. *Ann Transl Med*, 2016, 4: 508.
- [24] Zhang S, Chatterjee T, Godoy C, et al. GPR56 drives colorectal tumor growth and promotes drug resistance through upregulation of MDR1 expression via a RhoA-mediated mechanism. *Mol Cancer Res*, 2019, 17: 2196–207.
- [25] Das A, Yilmaz O, Yilmaz O, et al. SOX17: a new therapeutic target for immune evasion of colorectal cancer. *J Clin Pathol*, 2025, 78: 653–8.
- [26] Shimokawa M, Ohta Y, Nishikori S, et al. Visualization and targeting of LGR5⁺ human colon cancer stem cells. *Nature*, 2017, 545: 187–92.
- [27] Alexander F. Neuroblastoma. *Urol Clin North Am*, 2000, 27: 383–92.
- [28] Croteau N, Nuchtern J, LaQuaglia MP. Management of neuroblastoma in pediatric patients. *Surg Oncol Clin N Am*, 2021, 30: 291–304.
- [29] Clark-Corrigall J, Myssina S, Michaelis M, et al. Elevated expression of LGR5 and Wnt signaling factors in neuroblastoma cells with acquired drug resistance. *Cancer Invest*, 2023, 41: 173–82.
- [30] Vieira GC, Chockalingam S, Melegh Z, et al. LGR5 regulates pro-survival MEK/ERK and proliferative Wnt/ β -catenin signalling in neuroblastoma. *Oncotarget*, 2015, 6: 40053–67.
- [31] Morgan RG, Mortensson E, Legge DN, et al. LGR5 expression is regulated by EGF in early colorectal adenomas and governs EGFR inhibitor sensitivity. *Br J of Cancer*, 2018, 118: 558–65.
- [32] High PC, Liang Z, Guernsey-Biddle C, et al. Cetuximab increases LGR5 expression and augments LGR5-targeting antibody-drug conjugate efficacy in patient-derived colorectal cancer models. *Cell Rep Med*, 2025, 6: 102363.
- [33] Mullard A. Genmab nabs EGFR $\times$ LGR5 bispecific in US\$8 billion Merus acquisition. *Nat Rev Drug Discov*, 2025, 24: 815.
- [34] Jia L, Qiao H, Ding Y, et al. Preparation and characterization of LGR5 LOOP region-specific nanobodies. *Protein Expr Purif*, 2025, 229: 106680.
- [35] Patel Y, Prajapati A. Unveiling LGR5: prostate cancer's hidden stem cell and treatment target. *Urol Oncol*, 2024, 42: 438–46.
- [36] Muyldermans S. Nanobodies: natural single-domain antibodies. *Annu Rev Biochem*, 2013, 82: 775–97.
- [37] Chen HC, Mueller N, Stott K, et al. Publisher correction: novel immunotherapeutics against LGR5 to target multiple cancer types. *EMBO Mol Med*, 2024, 16: 3026.
- [38] Khan SH, Choi Y, Veena M, et al. Advances in CAR T cell therapy: antigen selection, modifications, and current trials for solid tumors. *Front Immunol*, 2024, 15: 1489827.
- [39] Sadowski K, Ploch W, Downar A, et al. Nephrotoxicity in CAR-T cell therapy. *Transplant Cell Ther*, 2025, 31: 407–18.
- [40] De Lau WBM, Snel B, Clevers HC. The R-spondin protein family. *Genome Biol*, 2012, 13: 242.
- [41] Chang YH, Wu KC, Wang KH, et al. Role of leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptors 4-6 (LGR4-6) in the ovary and other female reproductive organs: a literature review. *Cell Transplant*, 2025, 34: 9636897241303441.
- [42] Scharr M, Scherer S, Fuchs J, et al. R-Spondin1

- regulates fate of enteric neural progenitors via differential LGR4/5/6 expression in mice and humans. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2025, 20: 101642.
- [43] Clevenger AJ, Collier CA, Gorley JPM, et al. Oncogenic KRAS mutations confer a unique mechanotransduction response to peristalsis in colorectal cancer cells. *Mol Cancer Res*, 2025, 23: 128–42.
- [44] Ding C, Yang X, Liu H, et al. METTL3 modulates colonic epithelium integrity via maintaining the self-renewal and differentiation of Lgr5⁺ stem cell. *J Mol Cell Biol*, 2025, 17: mjae060.
- [45] Conti S, Venturini V, Cañellas-Socias A, et al. Membrane to cortex attachment determines different mechanical phenotypes in LGR5⁺ and LGR5⁻ colorectal cancer cells. *Nat Commun*, 2024, 15: 3363.
- [46] Bartolomé RA, Pintado-Berninches L, Robles J, et al. Loss of cadherin 17 downregulates LGR5 expression, stem cell properties and drug resistance in metastatic colorectal cancer cells. *Cell Death Dis*, 2025, 16: 475.
- [47] Nguyen AL, Lausten MA, Boman BM. The colonic crypt: cellular dynamics and signaling pathways in homeostasis and cancer. *Cells*, 2025, 14: 1428.
- [48] Tang Y, Lou J, Alpaugh RK, et al. Regulation of antibody-dependent cellular cytotoxicity by IgG intrinsic and apparent affinity for target antigen. *J Immunol*, 2007, 179: 2815–23.
- [49] Mahalingaiah PK, Ciurlionis R, Durbin KR, et al. Potential mechanisms of target-independent uptake and toxicity of antibody-drug conjugates. *Pharmacol Ther*, 2019, 200: 110–25.
- [50] Mecklenburg L. A brief introduction to antibody-drug conjugates for toxicologic pathologists. *Toxicol Pathol*, 2018, 46: 746–52.
- [51] Donaghy H. Effects of antibody, drug and linker on the preclinical and clinical toxicities of antibody-drug conjugates. *mAbs*, 2016, 8: 659–71.
- [52] Nguyen TD, Bordeau BM, Balthasar JP. Mechanisms of ADC toxicity and strategies to increase ADC tolerability. *Cancers*, 2023, 15: 713.
- [53] Sasaki Y, Kosaka H, Usami K, et al. Establishment of a novel monoclonal antibody against LGR5. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394: 498–502.
- [54] Chakrabarti J, Holokai L, Syu L, et al. Hedgehog signaling induces PD-L1 expression and tumor cell proliferation in gastric cancer. *Oncotarget*, 2018, 9: 37439–57.
- [55] Jardé T, Kass L, Staples M, et al. ERBB3 positively correlates with intestinal stem cell markers but marks a distinct non proliferative cell population in colorectal cancer. *PLoS One*, 2015, 10: e0138336.
- [56] Boon EMJ, van der Neut R, van de Wetering M, et al. Wnt signaling regulates expression of the receptor tyrosine kinase met in colorectal cancer. *Cancer Res*, 2002, 62: 5126–8.
- [57] Stoyanova T, Goldstein AS, Cai H, et al. Regulated proteolysis of Trop2 drives epithelial hyperplasia and stem cell self-renewal via β -catenin signaling. *Genes Dev*, 2012, 26: 2271–85.
- [58] Finigan JH, Vasu VT, Thaikoottathil JV, et al. HER2 activation results in β -catenin-dependent changes in pulmonary epithelial permeability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2015, 308: L199–207.
- [59] Gao FJ, Chen JY, Wu HY, et al. Lgr5 over-expression is positively related to the tumor progression and HER2 expression in stage pTNM IV colorectal cancer. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7: 1572–9.
- [60] Zong HF, 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: 1727–39.
- [61] Leng Z, Xia Q, Chen J, et al. Lgr5⁺CD44⁺EpCAM⁺ strictly defines cancer stem cells in human colorectal cancer. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46: 860–72.
- [62] Yang Y, McCloskey JE, Yang H, et al. Bispecific CAR T cells against EpCAM and inducible ICAM-1 overcome antigen heterogeneity and generate superior antitumor responses. *Cancer Immunol Res*, 2021, 9: 1158–74.
- [63] Pallerla SR, Hoan NX, Rachakonda S, et al. Custom gene expression panel for evaluation of potential molecular markers in hepatocellular carcinoma. *BMC Med Genomics*, 2022, 15: 235.
- [64] Kawaida M, Yamazaki K, Tsujikawa H, et al. Diffuse and canalicular patterns of glypican-3 expression reflect malignancy of hepatocellular carcinoma. *Pathol Int*, 2019, 69: 125–34.
- [65] Zhou L, Li Y, Zheng D, et al. Bispecific CAR-T cells targeting FAP and GPC3 have the potential to treat hepatocellular carcinoma. *Mol Ther Oncol*, 2024, 32: 200817.
- [66] Wang Y, Jiang CQ, Fan LF. Correlation of musashi-1, Lgr5, and pEGFR expressions in human small intestinal adenocarcinomas. *Tumour Biol*, 2015, 36: 6075–82.
- [67] Abramson J, Adler J, Dunger J, et al. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3. *Nature*, 2024, 630: 493–500.
- [68] Chang TC, Yeh CT, Adebayo BO, et al. 4-acetylanthroquinonol B inhibits colorectal cancer tumorigenesis and suppresses cancer stem-like phenotype.

-
- Toxicol Appl Pharmacol, 2015, 288: 258–68.
- [69] Zhang Y, Li X, Wang H, et al. Curcumin suppresses LGR5⁺ colorectal cancer stem cells by inducing autophagy and via repressing TFAP2A-mediated ECM pathway. J Nat Med, 2021, 75: 689–99.
- [70] Zhang L, Wang H, Li Y, et al. Trichosanthin inhibits proliferation and induces apoptosis of colorectal cancer cells by downregulating LGR5 expression. Oncol Rep, 2015, 34: 2457–64.
- [71] Udoh K, Parte S, Carter K, et al. Targeting of lung cancer stem cell self-renewal pathway by a small molecule verrucarin. Stem Cell Rev, 2019, 15: 601–11.