

SY2: BIOLOGICAL RESPONSE MODIFIER (BMR)

ภญ.ผศ.ดร.วัชร ลิ้มปนสีทิกุล

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทนำ

Immunopharmacology เป็นแขนงวิชาทางเภสัชวิทยาที่ศึกษาเกี่ยวกับ immuno-modulating agents ที่ออกฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย ยากลุ่มนี้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องและมีความก้าวหน้าอย่างรวดเร็วในรอบทศวรรษที่ผ่านมา ทั้งนี้เนื่องจากความก้าวหน้าของเทคนิคต่างที่เกี่ยวข้องกับ genetics และ molecular biology ทำให้เกิดความรู้พื้นฐานทางภูมิคุ้มกันวิทยาที่นำมาใช้เป็นแนวทางในการหา target ใหม่ ๆ ของยาในกลุ่มนี้ที่ทำให้การใช้อยามีประสิทธิภาพดีขึ้น มีความปลอดภัยมากขึ้น นอกจากนี้เทคนิคทาง DNA recombination ยังทำให้สามารถผลิต recombinant proteins ที่เป็นองค์ประกอบของระบบภูมิคุ้มกันร่างกายของคนอย่าง human cytokine และ antibody มาใช้เป็นยาได้อีกด้วย

Immunomodulating agents เป็นยาที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1. Immunosuppressive agents เป็นยาที่ยับยั้งการเกิดภูมิคุ้มกันอันไม่พึงประสงค์ ที่เกิดขึ้นจากการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อหรืออวัยวะ และเป็นยาที่ใช้ในการรักษา autoimmune diseases บางชนิด
2. Biological Response Modifiers (BMRs) เป็นยาที่ทำให้เกิดภูมิคุ้มกันร่างกายอันพึงประสงค์ มีที่ใช้เพื่อแก้ไขภาวะภูมิคุ้มกันร่างกายบกพร่องจากสาเหตุต่าง ๆ และใช้ในการรักษามะเร็ง ยาที่สำคัญในกลุ่มนี้ คือ cytokine และ antibody ที่จะกล่าวโดยละเอียดต่อไป

Cytokines and Anti-cytokines

รายละเอียดอยู่ในตอนต่อไป

Therapeutic Antibodies

Antibody (Ab) เป็น mediator สำคัญของภูมิคุ้มกันร่างกายแบบ humoral immune response ที่สร้างมาจาก plasma cell (B lymphocyte) Ab สามารถรับรู้สิ่งแปลกปลอม (foreign antigen) ได้อย่างเฉพาะเจาะจงโดยใช้ส่วนที่เป็น variable region ของ heavy และ light chain ของโมเลกุล จับกับบริเวณ epitope บน antigen โมเลกุลของ Ab ส่วนที่เรียกว่า Fc region (constant region ของ heavy chain) จะทำให้เกิด effector function แบบต่าง ๆ ที่ทำให้เกิดการทำลาย antigen ได้แก่ complement activation, opsonization & phagocytosis, antibody-dependent cell mediated cytotoxicity (ADCC) หรืออาจทำให้ antigen ไม่

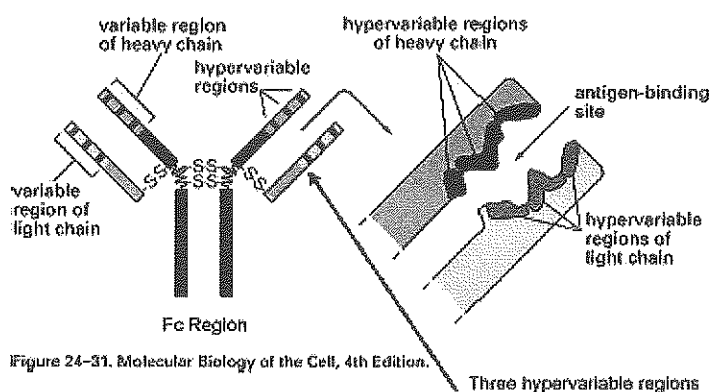


Figure 24-31. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

สามารถออกฤทธิ์ได้โดย neutralization จากคุณสมบัติข้างต้น Ab จึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็น therapeutic agent ในการรักษาโรคและภาวะผิดปกติบางอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคมะเร็งหลายชนิดที่มีแยกแยะได้ว่ามี tumor antigen บนผิวเซลล์มะเร็ง

การนำ antibody มาใช้ทางการแพทย์ในระยะแรกอยู่ในรูป polyclonal antibody ที่ได้จาก pooled plasma ของคนหรือสัตว์ที่มีปริมาณของ immunoglobulin ต่อ antigen ที่ต้องการใน plasma สูง ซึ่งมีข้อจำกัดในการผลิตและการนำมาใช้ ทำให้มีที่ใช้ส่วนใหญ่เป็น passive immunotherapy ในโรคติดเชื้อ หลังจากที่ George Kohler และ Cesar Milstein ได้คิดค้นการผลิต monoclonal antibody (mAb) นอกอวัยวะโดยวิธี hybridoma technology ในปี ค.ศ. 1975 ซึ่งช่วยให้สามารถผลิต homogenous antibodies ที่ออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อ antigen เพียงชนิดเดียวได้อย่างไม่มีขีดจำกัด และทำให้สามารถผลิต mAb ต่อ antigen ได้แทบทุกชนิด จนทำให้เกิดแนวคิดที่ว่า antibody จะเป็น magic bullet ในการรักษาโรคที่ต้องการให้ยาออกฤทธิ์เฉพาะเจาะจงต่อเป้าหมายที่ต้องการได้ทุกโรครวมทั้งโรคมะเร็งที่มีปัญหาในการรักษามากมาย

mouse anti-CD3 monoclonal antibody (Muromonab-CD3) เป็น therapeutic mAb ตัวแรกที่ถูกนำมาใช้ทางคลินิกในปี ค.ศ. 1986 โดยมีคุณสมบัติเป็น immunosuppressive agent แต่เนื่องจากเป็นโมเลกุลจากหนู เมื่อนำมาใช้ในคนทำให้กลายเป็น foreign antigen และถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันร่างกายของคน จนกระทั่งมีการนำเทคนิค genetic engineering หรือ DNA recombination มาใช้ร่วมกับ hybridoma technology ทำให้สามารถพัฒนาให้เป็น mAb ที่มีส่วนประกอบโมเลกุลเป็นของ human Ab จากความสำเร็จนี้ทำให้มี therapeutic monoclonal antibodies ที่นำมาใช้ในทางการแพทย์เพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 1 ว่ามี therapeutic antibodies ที่ได้รับอนุมัติจาก US FDA ให้ใช้ในสหรัฐอเมริกา

จำนวน 17 ชนิด และอยู่ใน clinical trial เป็นจำนวนกว่า 100 ชนิด นอกจากนั้นเทคนิค genetic engineering ยังทำให้เกิดการพัฒนา mAb เป็นโมเลกุลยาใหม่ๆที่ไม่มีในร่างกาย เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคมากขึ้น

การนำ monoclonal antibodies มาใช้ในทางการแพทย์ในปัจจุบัน มีที่ใช้ดังนี้

- ยับยั้ง alloimmune reactivity เพื่อป้องกันและรักษาการเกิด graft rejection ในการปลูกถ่ายอวัยวะ
- ยับยั้ง autoimmune reactivity ยับยั้งการทำงานของ pro-inflammatory cytokine (TNF α)
- รักษามะเร็ง โดยจับกับ tumor antigen บนผิวเซลล์มะเร็งและทำให้เซลล์ถูกทำลาย โดยกลไกต่างๆของ antibody effector function หรือใช้ mAb เป็นตัวพา radioisotope หรือ cytotoxic agent ไปยังเซลล์มะเร็งอย่างเฉพาะเจาะจง
- ยับยั้ง platelet aggregation
- รักษาโรคติดเชื้อ

วิวัฒนาการการนำ mAb มาใช้เป็น therapeutic antibodies

First generation monoclonal antibody

Murine monoclonal antibody เป็น therapeutic antibody ที่ผลิตนอกร่างกายโดยวิธี hybridoma technology แม้จะก่อให้เกิดแนวคิดว่าจะทำให้พัฒนายาได้ออกฤทธิ์ต่อเป้าหมายที่ต้องการได้ง่ายขึ้น แต่ยังมีข้อจำกัดในการผลิต คือ ต้องผลิตเป็น mouse mAb ไม่สามารถผลิตให้เป็น human mAb จึงทำให้กระตุ้นการสร้าง human anti-mouse antibodies (HAMAs) มาทำลายยาในร่างกาย ทำให้การใช้ยาในครั้งถัดมาจะไม่ได้ผลในการรักษา mAb ที่มีการผลิตและนำมาใช้ในทางการแพทย์ คือ muromonab-CD3 ที่จับกับโมเลกุล human CD3 บน T lymphocyte ทำให้เกิดการยับยั้ง T cell activation เพื่อป้องกันและรักษา graft rejection ในการปลูกถ่ายอวัยวะ

Second generation monoclonal antibodies

Chimeric and Humanized antibodies

พัฒนามาจาก mouse mAb โดยอาศัยเทคนิค DNA recombination ในการตัดต่อเอา โมเลกุลของ human Ab มารวมกับของ mouse Ab ในระดับยีน เพื่อลดปัญหาการเกิด HAMA และทำให้ได้ therapeutic antibodies ที่มีประสิทธิภาพดีขึ้น และมี half life ยาวนานขึ้น

Chimeric monoclonal antibodies (-ximab): เป็นการตัดต่อ human Fc region เข้ากับ mouse Fab region ทำให้ได้ chimeric molecule ที่มีองค์ประกอบของ human Ab มากกว่าร้อยละ 60

Humanized monoclonal antibody (-zumab): เป็นการตัดต่อส่วนที่เรียกว่า complementarity determining regions (CDRs) หรือ hypervariable regions บน heavy

และ light chain ของโมเลกุล mouse mAb ที่จับกับ epitope บน antigen เข้าไปใส่ในโมเลกุลของ human Ab ทำให้ได้ humanized mAb ที่มีองค์ประกอบของ human Ab มากกว่าร้อยละ 90

ทั้ง chimeric และ humanized monoclonal antibodies มีการพัฒนาขึ้นมาใช้เป็น therapeutic mAb มากที่สุดในปัจจุบัน โดยส่วนใหญ่พัฒนาขึ้นมาเพื่อรักษาโรคมะเร็ง

Conjugated monoclonal antibodies

เป็นการ conjugate โมเลกุลของ mAb เข้ากับ สารพิษชนิดต่างๆ อย่าง toxin, cytotoxic agent หรือ radioisotope ยากลุ่มนี้พัฒนาเพื่อใช้ในการรักษามะเร็งเป็นหลัก โดย mAb ทำหน้าที่เป็นตัวพาสารพิษไปยังเซลล์มะเร็งที่มี tumor antigen ที่เป็นเป้าหมาย ทำให้เกิดอันตรายต่อเซลล์ปกติน้อยกว่าการให้สารพิษอย่างเดียว conjugated mAb ที่มีใช้ในคลินิก คือ ^{90}Y -ibritumomab (Zevalin®), ^{131}I -tositumomab (Bexxar®) และ Gemtuzumab (Mylotarg®) ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1

FDA approved	Product	Target	Type	Indication
1986	Muromonab (Orthoclone OKT3®)	CD3	Murine IgG2a	Transplant rejection
1994	Abciximab (ReoPro®)	GP IIB/IIIa	Chimeric Fab	Prevent restenosis
1997	Daclizumab (Zenapax®)	CD25	Humanized IgG1	Transplant rejection
1997	Rituximab (Rituxan®)	CD20	Chimeric IgG1	B cell lymphoma
1998	Basiliximab (Simulect®)	CD25	Chimeric IgG1	Transplant rejection
1998	Palivizumab (Synagis®)	RSV	Humanized IgG1	RSV bronchiolitis
1998	Infliximab (Remicade®)	TNF	Chimeric IgG1	Crohn' disease, RA
1998	Trastuzumab (Herceptin®)	Her2/neu	Humanized IgG1	Breast cancer
2000	Gemtuzumab (Mylotarg®)	CD33	humanized IgG4-toxin	Acute myeloid leukemia
2001	Alemtuzumab (MabCampath®)	CD52	Humanized IgG1	Chronic lymphatic leukemia
2002	^{90}Y -ibritumomab (Zevalin®)	CD20	Murine IgG1-isotope	B cell lymphoma
2002	Adalimumab (Humira®)	TNF	Human IgG1	RA
2003	Omalizumab (Xolair®)	IgE	Humanized IgG1	Asthma
2003	^{131}I -tositumomab (Bexxar®)	CD20	Murine IgG1-isotope	B cell lymphoma
2003	Efalizumab (Raptiva®)	CD11a	Humanized IgG1	Psoriasis
2004	Bevacizumab (Avastin®)	VEGFR	Humanized IgG1	Colorectal cancer
2004	Cetuximab (Erbix®)	EGFR	Humanized IgG1	Colorectal cancer

M. Stern, R. Herrmann / Critical Reviews in Oncology/Hematology (2005)

Third generation monoclonal antibodies

Fully human antibodies เป็น mAb ที่องค์ประกอบทั้งหมดเป็น human Ab มีคุณสมบัติและองค์ประกอบเหมือนกับ endogenous human Ab สามารถผลิตได้โดยอาศัย transgenic mouse, transgenic plant หรือ phage display technology fully human mAb ตัวแรกที่มีใช้ คือ adalimumab ซึ่งเป็น anti-TNF antibody ที่ผลิตโดยอาศัย phage display technique

Next generation of therapeutic antibodies

เป็น therapeutic antibodies ที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลให้แตกต่างไปจาก Ab ที่อยู่ในร่างกาย เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการนำมาใช้ในการรักษาโรคดียิ่งขึ้น ได้แก่

bispecific antibodies: เป็นการใช้ genetic engineering technique ในการผลิต therapeutic Ab ให้โมเลกุลของ Ab ประกอบด้วย heterodimer ของ heavy กับ light chain ที่แตกต่างกัน ทำให้จับกับ antigen ที่แตกต่างกันได้ 2 ชนิด เป็น therapeutic Ab ที่พัฒนาเพื่อให้ได้ Ab ที่จับกับ tumor antigen บนผิวเซลล์มะเร็งและจับกับ effector cell เพื่อให้มีการทำลายเซลล์มะเร็งได้ดีขึ้น

antibody fragments : ได้แก่ single chain variable fragment (scFv), Fabs หรือ Fab'2s ที่ไม่มีส่วนของ Fc เป็นองค์ประกอบ ทำให้ได้ therapeutic Ab ที่มีขนาดเล็กลงและยังมี specificity ในการจับกับ epitope บน antigen ได้ แม้จะมีข้อเสีย คือ half life สั้น แต่จะทำให้ได้ยาที่กระจายตัวไปในก้อนมะเร็งบริเวณที่มีเส้นเลือดไปหล่อเลี้ยงน้อยได้ดีกว่า Ab ปกติ และอาจได้ Ab fragment ที่ไปออกฤทธิ์ภายในเซลล์โดยตรง หรือพาสารออกฤทธิ์เข้าไปยัง target ที่ต้องการภายในเซลล์ โดย Ab ชนิดนี้จะปราศจาก effector function ซึ่งอาจไม่จำเป็นหรืออาจทำให้ประสิทธิภาพของยาลดลงได้ในบางกรณี antibody fragments อาจอยู่ในรูป monomer, dimer หรือ multimer

fusion proteins: immunocytokines เป็น fusion molecules อีกกลุ่มหนึ่งที่กำลังมีการศึกษาอยู่ จากการที่ cytokine หลายตัวมีบทบาทสำคัญในการรักษามะเร็ง การใช้ Ab เป็นตัวพา cytokine ไปออกฤทธิ์ที่เซลล์มะเร็งหรือเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย จะช่วยให้การออกฤทธิ์ของ cytokine มีความเฉพาะเจาะจงมากขึ้น อาจช่วยลดปัญหาจากการใช้ cytokine

สรุป

ในปัจจุบันมีการนำ cytokines และ therapeutic antibodies มาใช้ในคลินิกเพิ่มมากขึ้น ยาทั้งสองกลุ่มนี้เป็นผลิตภัณฑ์ยาที่มีการลงทุนในการผลิตและพัฒนาเกินร้อยละ 50 ของยาในกลุ่ม

recombinant proteins เทคนิคทางชีวโมเลกุลมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนายา อนาคตของการพัฒนายาเหล่านี้ คือ ทำให้ได้ยาที่มีประสิทธิภาพในการรักษามากขึ้นซึ่งอาจต้องมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุล หรือนำไป conjugate กับสารอื่น ในกรณีของ therapeutic antibodies เทคนิคในการผลิต hybridoma ร่วมกับ genetic engineering ก่อให้เกิดการพัฒนายาที่อาจออกฤทธิ์ต่อเป้าหมายที่ต้องการได้หลากหลาย ยังสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของยาได้โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุล อย่างที่มีการพัฒนาในการรักษามะเร็ง สามารถทำได้หลายแนวทาง มีทั้งที่ทำให้เป็นพิษต่อเซลล์มากขึ้นในรูป immunotoxins เพิ่มความสามารถในการทำให้เกิด effector function ในรูป bispecific antibodies หรือทำให้โมเลกุลมีขนาดเล็กลงเพื่อให้ผ่านเข้าไปออกฤทธิ์ในก้อนมะเร็งหรือในเซลล์มะเร็งในรูป antibody fragments

เอกสารอ้างอิง

- Andersen DC, Reilly DE. Production technologies for monoclonal antibodies and their fragments. *Curr Opin Biotech* 2004;15:456-462.
- Alkan SS. Monoclonal antibodies: the story of a discovery that revolutionized science and medicine. *Nature Rev Immunol* 2004;4:153-156.
- Brekke OH, Loset GA. New technologies in therapeutic antibody development. *Curr Opin Pharmacol* 2003;3:544-550.
- Coiffier B. Monoclonal antibodies in the treatment of indolent lymphomas. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;18:69-80.
- Connors JM. Radioimmunotherapy — Hot New Treatment for Lymphoma. *N Eng J Med* 2005;352: 496-498.
- Dermime S, Gilham DE, Shaw DM, et al. Vaccine and antibody-directed T cell tumour immunotherapy. *Biochim Biophys Acta* 2004;1704:11-35.
- FitzGerald DJ, Kreitman R, Wilson W, Squires D, Pastan I. Recombinant immunotoxins for treating cancer. *Int J Med Microbiol* 2004;293:577-582.
- Jostock T, Vanhove M, Brepoels E, et al. Rapid generation of functional human IgG antibodies derived from Fab-on-phage display libraries. *J Immunol Meth* 2004; 289:65-80.
- Karnofsky LR. Lecture: Immunotherapy of Lymphoma. *J Clin Oncol* 1999;17 (suppl):7-13
- Kufer P, Lutterbuse R, Baeuerle PA. A revival of bispecific antibodies. *Trends Biotechnol* 2004;22:238-244.
- Lazar GA, Marshall SA, Plecs JJ, Mayo SL, Desjarlais JR. Designing proteins for therapeutic applications. *Curr Opin Struct Biol* 2003;13:513-518.
- Nissim A, Gofur Y, Vessillier S, Adams G, Chernajovsky Y. Methods for targeting biologicals to specific disease sites. *Trends Mol Med* 2004;10:269-274.
- Osborn J, Jermutus L, Duncan A. Current methods for the generation of human antibodies for the treatment of autoimmune diseases. *Drug Discov Today* 2003; 8:845-851.
- Pavlou AK, Belsey MJ. The therapeutic antibodies market to 2008. *Eur J Pharm Biopharm* 2005; in press.

- Presta L. Antibody engineering for therapeutics. *Curr Opin Struc Biol* 2003;13:519–525.
- Reff ME, Heard C. A review of modifications to recombinant antibodies: attempt to increase efficacy in oncology applications. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001;40:25–35.
- Stern M, Herrman R. Overview of monoclonal antibodies in cancer therapy: present and promise. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005: in press
- Todorovska A, Roovers RC, Dolezal O, Kortt AA, Hoogenboom HR, Hudson PJ. Design and application of diabodies, triabodies and tetrabodies for cancer targeting. *J Immunol Meth* 2001;248:47–66.
- van Dijk MA, van de Winkel JGJ. Human antibodies as next generation therapeutics. *Curr Opin Chem Biol* 2001;5:368–374.
- Waldmann TA. Immunotherapy: past, present and future. *Nature Med* 2003;9:269–277.
- Schmidt KV, Wood BA. Trends in Cancer Therapy: Role of monoclonal antibodies. *Semin Oncol Nurs* 2003;19:169–179.
- Walsh G. Pharmaceutical biotechnology products approved within the European Union. *Eur J Pharm Biopharm* 2003;55:3–10.
- Walsh G. Second-generation biopharmaceuticals. *Eur J Pharm Biopharm* 2004;58:185–196.
- Yau KYF, Lee H, Hall JC. Emerging trends in the synthesis and improvement of hapten-specific recombinant antibodies. *Biotechnol Adv* 2003;21:599–637.