

Ανασυνδυασμένες Πρωτεΐνες και Ανοσοθεραπευτική

- | | |
|---|---|
| 12.1 Εισαγωγή στην ανοσοθεραπευτική | 12.6 Η ανοσοθεραπευτική στην κλινική πράξη |
| 12.2 Ιστορικό υπόβαθρο της ανοσοθεραπευτικής | 12.7 Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα της ανοσοθεραπείας |
| 12.3 Η βάση της ανοσοθεραπευτικής | 12.8 Το μέλλον |
| 12.4 Τύποι της ανοσοθεραπευτικής | 12.9 Σύνοψη |
| 12.5 Εξανθρωπισμός των αντισωμάτων με στόχο τη θεραπευτική εφαρμογή | 12.10 Βιβλιογραφία |

12. 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ

Η στόχευση των θεραπευτικών παραγόντων σε συγκεκριμένους ιστούς ή κύτταρα αποτελεί κύριο στόχο της φαρμακολογίας. Είναι προφανές ότι τα κλασσικά φάρμακα δεν είναι ικανά να επιτύχουν τα θεραπευτικά στο 100% των περιπτώσεων των μεταβολικών ή/και συστημικών ασθενειών. Οι περισσότερες ουσίες δρουν μέσω φαρμακολογικών υποδοχέων και ενζύμων και η δράση τους εξαρτάται από την επιτυχημένη μεταφορά στις θέσεις όπου βρίσκονται οι στόχοι τους. Από την άλλη πλευρά, η αντιμικροβιακή θεραπεία εξαρτάται κυρίως από την εκμετάλλευση των βιοχημικών διαφορών μεταξύ του ξενιστή και του εισβάλλοντος μικροοργανισμού. Οι αποτυχίες εδώ οφείλονται στην ανάπτυξη «αντίστασης». Επίσης είναι εμφανές ότι οι τρέχουσες θεραπείες για νόσους όπως ο καρκίνος, το άσθμα, η ισχαιμική καρδιακή νόσος (IHD), το AIDS και οι φλεγμονώδεις διαταραχές, δεν είναι πάντοτε αποτελεσματικές. Η κατανόηση της γονιδιακής έκφρασης πυροδότησε τη

δημιουργία νέων μορίων που μπορούν να αποτελέσουν στόχους σε φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες. Ταυτόχρονα δοκιμάζονται νέες και καινοτόμες μέθοδοι στη διαγνωστική, τη μεταφορά φαρμάκων και την ειδική στόχευση φαρμάκων. Αυτό οδήγησε σε νέες προσεγγίσεις στο σχεδιασμό και την ανάπτυξη νέων θεραπειών. Κύρια εστίαση των εν λόγω νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων αποτελεί η μεταφορά και η αποδέσμευση φαρμάκων σε συγκεκριμένες ανατομικές θέσεις (επιτυγχάνονται με τη χρήση φορέων) ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή αποτελεσματικότητα. Ορισμένες από τις χρησιμοποιούμενες τεχνικές περιλαμβάνουν:

- **Πρώιμες διαγνωστικές δοκιμές** – ταχείες και φτηνές διαγνωστικές δοκιμές προς ταυτοποίηση παθολογικών στόχων.
- **Νέες κατηγορίες αντι-μολυσματικών παραγόντων** – αυτές περιλαμβάνουν συνδυαστικές και θεραπείες και θεραπείας με ορό.
- **Εκμετάλλευση της γενωμίδης** – κυρίως στο-

χεύει ασθένειες που επηρεάζονται από γενετικούς πολυμορφισμούς (δείτε το Κεφάλαιο 7 για λεπτομέρειες) που είναι πιθανό να αποφέρουν νέες ενώσεις με ταχεία δράση που έχουν χαμηλό κόστος παραγωγής.

- **Ανάπτυξη εμβολίων** – πολύ ισχυρός αλλά έμμεσος και αποδοτικός τρόπος, που μειώνει την ανάγκη για αντιβιοτικά, και
- **Ανοσοθεραπευτική** – αποτελεί τη μεγαλύτερη ομάδα μορίων που αναπτύσσονται (και χρησιμοποιούνται) και αφορά μονοκλωνικά αντισώματα

Το παρόν κεφάλαιο θα καλύψει συνοπτικά την ελπίδα, τη χρήση και το μέλλον των εν λόγω τρόπων εφαρμογής, εστιάζοντας κυρίως στην ανοσοθεραπευτική.

12.2 ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ

Αν και ο όρος «ανοσοθεραπευτική» είναι σχετικά νέος, η ιδέα της ενεργοποίησης του ανοσολογικού συστήματος του σώματος για την καταπολέμηση ασθενειών ξεκίνησε στις αρχές του 1890, όταν ο William Coley προσπάθησε να χρησιμοποιήσει ζωντανά βακτήρια ως αντικαρκινικά εμβόλια (Kim και συνεργάτες, 2002). Κατά τη διάρκεια εκείνης της περιόδου χρησιμοποιήθηκαν θεραπείες βασιζόμενες στον ανοσοποιημένο ορό για τη θεραπεία μιας ποικιλίας βακτηριακών λοιμώξεων, κάτω των *Corynebacterium diphtheria*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* και *Clostridium Tetani* (Casadevall και Scharff, 1994, 1995). Χτίζοντας πάνω στη θεωρία αυτή, το 1900, ο Paul Ehrlich πρότεινε ότι ενδογενή μόρια εντός του σώματος («μαγικές σφαίρες») ίσως έχουν την ικανότητα να καταπολεμούν κακοήθεις όγκους (Waldmann, 2003). Η πρώτη σημαντική ανακάλυψη στην ανοσοθεραπευτική συνέβη το 1975 όταν οι George Kohler και Cesar Milstein ανέπτυξαν την τεχνολογία για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων (Mabs). Στη συνέχεια, το 1986, ο FDA ενέκρινε το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα Muromonab-CD3 [ορθόκλωνο (OKT3)®] με ένδειξη την απόρριψη μεταμοσχευμένων οργάνων (Clark, 2000). Το κύριο μειονέκτημα των πρώτων Mabs ήταν το γεγονός ότι παραγόntonταν σε μύς, και επομένως

αναγνωρίζονταν ως ξενοβιοτικά μόρια από το ανθρώπινο ανοσολογικό σύστημα (ανθρώπινα αντιμυϊκά- anti-mouse αντισώματα – HAMAs, δείτε την Ενότητα 12.4) που τα κατέστρεφε. Ωστόσο, η πρόσφατη πρόοδος στην τεχνολογία υβριδωμάτων παρέχει εξανθρωποποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα που είναι πολύ ειδικά και έχουν μειωμένη τοξικότητα. Το 1997, το πρώτο εξανθρωποποιημένο Mab, η ριτουξιμάμπη (Rituxan® ή MabThera®) εγκρίθηκε από τον FDA ως μονοθεραπεία στο μη-Hodgkin λέμφωμα (NHL). Έκτοτε, διάφοροι ερευνητές προσπάθησαν να παράξουν και να χρησιμοποιήσουν αντισώματα, κυρίως έναντι του καρκίνου, του άσθματος, της ισχαιμικής καρδιακής νόσου (IHD), των λοιμώξεων και άλλων συσχετιζόμενων με τη φλεγμονή διαταραχών. Πρωτού διερευνήσουμε τη θεραπευτική τους αξία, είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τη βάση της χρήσης τους στην κλινική πράξη.

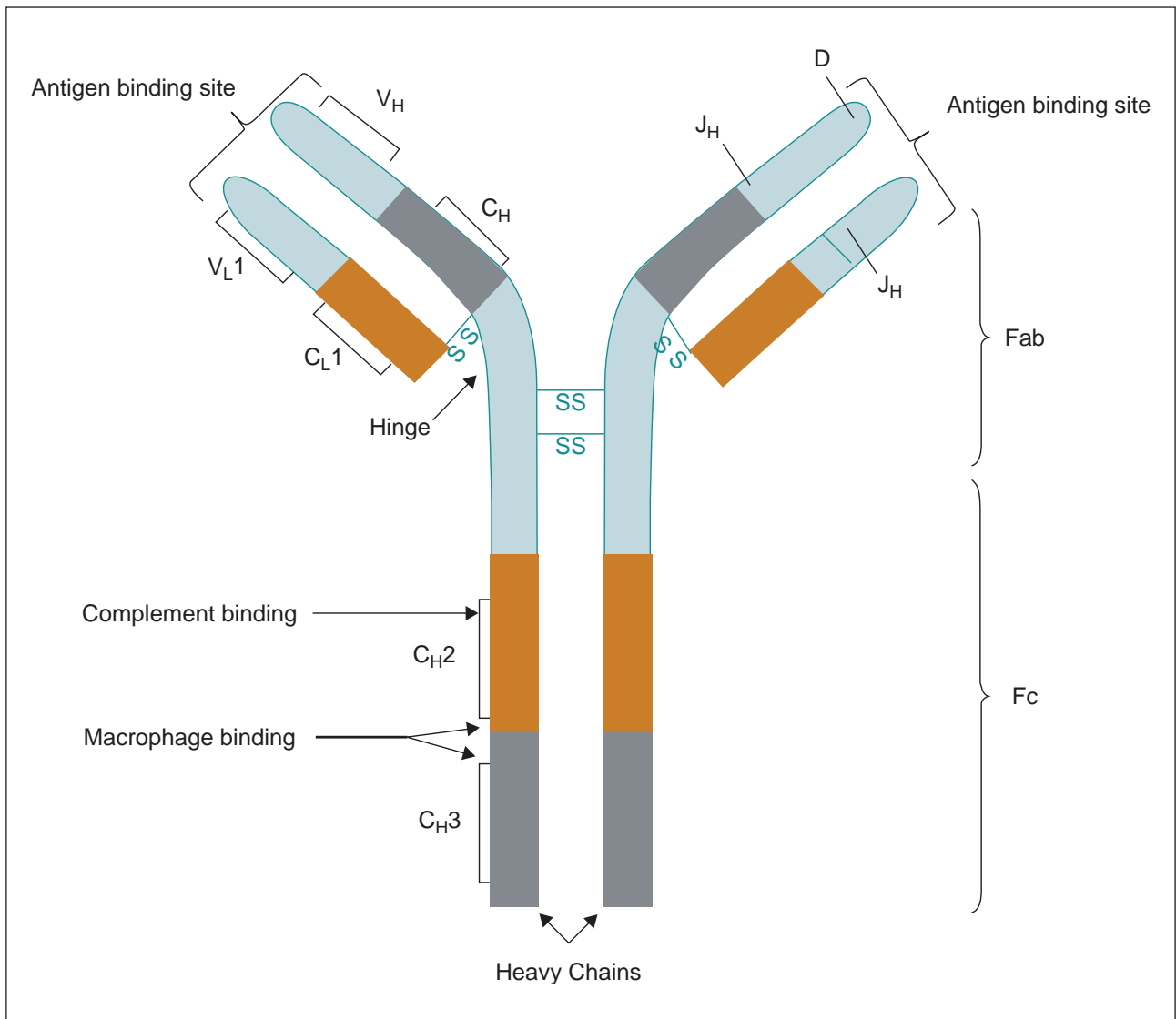
12.3 Η ΒΑΣΗ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ

Τα περισσότερα ζώα, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου, διαθέτουν ένα λειτουργικό ανοσολογικό σύστημα για να προστατεύονται από του μολυσματικούς οργανισμούς και μοσχεύματα. Αυτό επιτυγχάνεται κυρίως μέσω των ανοσοσφαιρινών (Igs) ή αλλιώς αντισωμάτων (AG). Η πραγματική φυσιολογική λειτουργία των αντισωμάτων είναι η παραγωγή χυμικής ανοσίας. Ωστόσο, με την τροποποίηση των ειδικών ικανοτήτων δέσμευσης των Ab, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν έναντι παθογενετικών στόχων. Η συμβατική φαρμακοθεραπεία στοχεύει τον εισβάλλοντα μικροοργανισμό, τα κύτταρα των όγκων ή φλεγμονώδεις διαμεσολαβητές (απενεργοποιώντας) τους παράγοντες που προκαλούν τη νόσο, έστω το ανοσολογικό σύστημα να μπορεί να τους καταστρέψει αποτελεσματικά και εύκολα. Από την άλλη πλευρά, η ανοσοθεραπευτική στοχεύει στην ενεργοποίηση των αμυντικών μηχανισμών του ίδιου του σώματος πυροδοτώντας ή/και «μιμούμενη» τις ανοσολογικές αποκρίσεις. Τα φυσικά αντισώματα στον άνθρωπο, όπως και σε άλλα ζώα, προστατεύουν τον οργανισμό μέσω διαφορετικών μηχανισμών.

Τα Ab θα δεσμευτούν και θα εξουδετερώσουν πρωτεϊνικές τοξίνες, θα παρεμποδίσουν την προσκόλληση ιών στα κύτταρα, θα ενεργοποιήσουν το συμπλήρωμα ή τα κύτταρα φονείς (NK) κύτταρα.

Η βασική δομή μιας τυπικής ανθρώπινης ανοσοσφαιρίνης (αντίσωμα) φαίνεται στην Εικόνα 12.1. Τα αντισώματα αποτελούνται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες: δύο μεγάλες βαριές αλυσίδες και δύο μικρότερες ελαφριές αλυσίδες που οργανώνονται ως δομές σφαιρίνης. Οι εν λόγω αλυσίδες δε συνδέονται μόνο μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς αλλά και με δισουλφιδικούς δεσμούς εντός των αλυσίδων για τη διατήρηση της σταθερότητας του μορίου. Κάθε βαριά αλυσίδα έχει (α) **μια μεταβλητή** (V) και μια περιοχή ποικιλότητας (D)

όπου οι αμινοξικές αλληλουχίες ποικίλλουν σε μεγάλο βαθμό, ένα τμήμα συνένωσης (J) με μέτρια αμινοξική ποικιλότητα και (β) **ένα σταθερό** (C) τμήμα όπου η αλληλουχία είναι σταθερή μεταξύ των αντισωμάτων. Παρομοίως, κάθε ελαφριά αλυσίδα διαθέτει ένα V, J και C τμήμα. Οι δομές V περιέχουν τις θέσεις δέσμευσης του αντισώματος (Fab περιοχή- δείτε την Εικόνα 12.1). Από την άλλη πλευρά, η περιοχή Fc του μορίου διαμεσολαβεί τις αντιδράσεις που εκκινούνται από το αντίσωμα (επίσης γνωστή και ως περιοχή τελεστής).



Εικόνα 12.1 Σχηματική αναπαράσταση μιας τυπικής ανοσοσφαιρίνης (ανθρώπινο αντίσωμα). Οι Fab και Fc αποτελούν τις περιοχές δέσμευσης του αντιγόνου και τελεστή αντίστοιχως. Οι σταθερές περιοχές δίδονται με καφέ χρώμα ενώ οι μεταβλητές περιοχές με ανοικτό πράσινο χρώμα. Οι σταθερές περιοχές των βαριών αλυσίδων υποδιαιρούνται σε C_{H1}, C_{H2} και C_{H3} (και C_{H4} στην περίπτωση των IgM και IgE). Κάθε ελαφριά αλυσίδα διαθέτει τμήματα V, J και C.

Τα αντισώματα παίζουν σπουδαίο ρόλο στην αναγνώριση των αντιγόνων (όπως τοξίνες, βακτήρια, ιοί και άλλα) και ενεργοποιούν την ανοσολογική απόκριση εναντίον τους. Είναι οι κύριοι ρυθμιστές της επίκτητης ανοσολογικής απόκρισης. Επομένως, είναι εφικτό να χρησιμοποιήσουμε τα αντισώματα σε πολλές ανοσοθεραπευτικές προσεγγίσεις. Με την ανάπτυξη των τεχνολογιών υβριδώματος/μονοκλωνικών αντισωμάτων, του ανασυνδυασμένου DNA και άλλων μεθόδων μοριακής κλωνοποίησης, είναι πλέον δυνατόν να δημιουργηθούν αντισώματα έναντι ειδικών αντιγόνων (όπως ασυνήθιστα αντιγόνα που εκφράζονται σε όγκους). Καθώς είναι εξαιρετικά εξειδικευμένα, οποιοδήποτε τεχνητό αντίσωμα μπορεί να στοχεύσει με ειδικό τρόπο βακτήρια, ιούς ή μια ομάδα κυττάρων με ελάχιστες ανεπιθύμητες παρενέργειες. Με τον ίδιο τρόπο έχουν επίσης τη δυναμική να καταστείλουν την ανοσία του ίδιου του σώματος. Θεωρητικά, οι θεραπείες που βασίζονται σε αντισώματα θα μπορούσαν να αναπτυχθούν εναντίον οποιασδήποτε πρωτεΐνης ή ουσίας. Οι διαφορετικοί τύποι ανοσοθεραπειών εξηγούνται παρακάτω στην Ενότητα 12.4. Ωστόσο, για να επιτύχει αυτή η στρατηγική, είναι σημαντικό να μην μπορούν να αναγνωριστούν αυτά τα «τεχνητά» αντισώματα ως ξένα από το ανοσοποιητικό σύστημα του ίδιου του ξενιστή. Ορισμένες από τις τεχνολογίες που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή των εξειδικευμένων χιμαιρικών (Μυός-Ανθρώπου), εξανθρωπισμένων και ανθρώπινων αντισωμάτων συζητώνται στην Ενότητα 12.4.

12.4 ΤΥΠΟΙ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ

Η παρούσα ενότητα περιγράφει τις διαφορετικές θεραπευτικές εφαρμογές των εν λόγω νέων αντισωμάτων. Κλινικά, η ανοσοθεραπεία έχει τη δυναμική να χρησιμοποιηθεί ως: α) μη-ειδική ανοσοθεραπεία, β) «απλά» μονοκλωνικά αντισώματα (στα οποία έχει προσδεθεί κάποιο φάρμακο ή ραδιενεργό υλικό), γ) συζευγμένα αντισώματα (επίσης γνωστά και ως ανοσοσυζεύγματα) ή δ) ενζυμική προφαρμάκου που κατευθύνεται από Ab (Antibody-Directed Enzyme Pro-drug Therapy – ADEPT).

Μη-ειδικές ανοσοθεραπείες

Οι μη ειδικές ανοσοθεραπείες χρησιμοποιούν ενώσεις που έχουν τροποποιητικές δράσεις στο

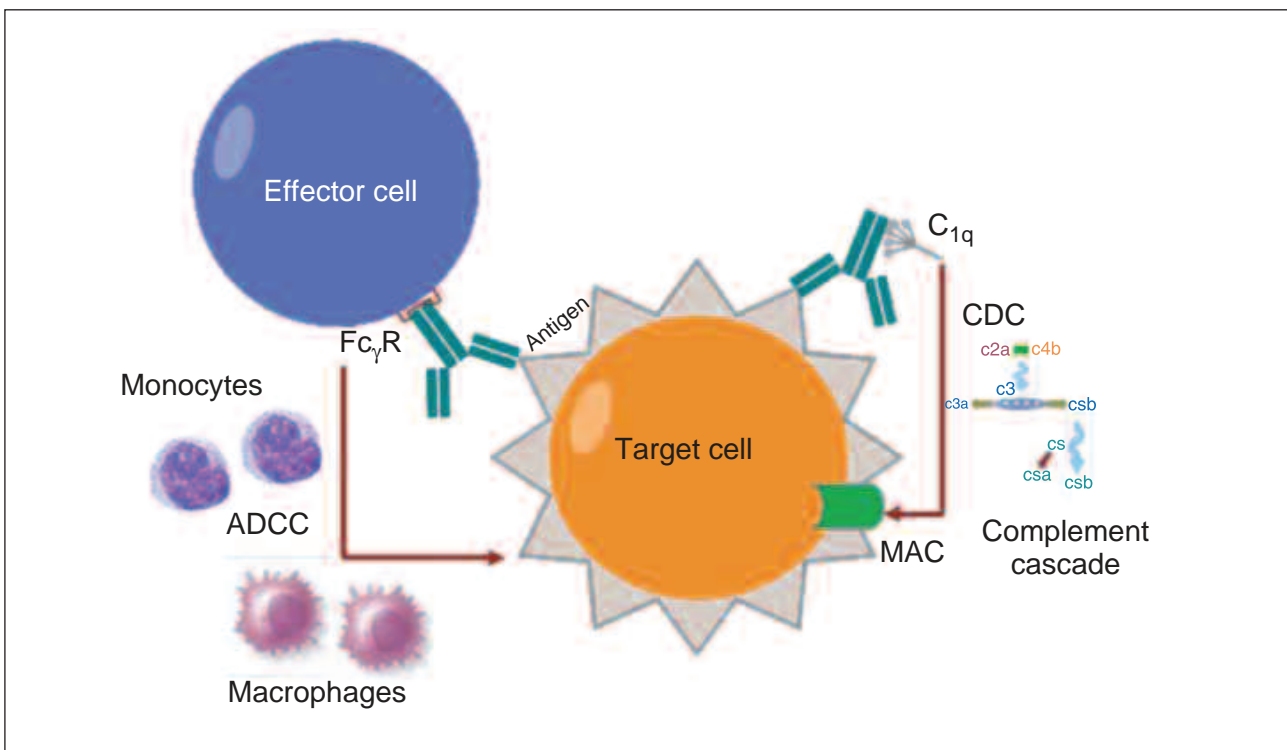
ανοσοποιητικό σύστημα [κυτοκίνες- όπως οι ιντερλευκίνες (IL), οι ιντερφερόνες (IF) κλπ]. Αυτά τα τροποποιητικά μόρια εμπλέκονται συνήθως στη διέγερση των μακροφάγων, των λεμφοκυττάρων και των κυττάρων φονέων. Μπορούν είτε να χρησιμοποιηθούν ως μονοθεραπεία ή ως συνδυαστικές θεραπείες για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της πρωτογενούς θεραπείας (ως ενισχυτική-επικουρική θεραπεία). Ορισμένες από τις θεραπευτικά σημαντικές κυτοκίνες περιλαμβάνουν τις ILs, IFs, του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNFs), την ερυθροποιητίνη (EPO) και τους παράγοντες αποικιοδιέγερσης (CSFs). Οι ιντερλευκίνες, όπως οι IL-7, IL-12 και IL-21 έχουν μελετηθεί στη θεραπεία του καρκίνου, τόσο ως μεμονωμένα μόρια όσο και ως συμπληρωματικά των θεραπειών. Οι κυταροκίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να μειώσουν τις ανεπιθύμητες ενέργειες των κλασσικών θεραπειών όπως η χημειοθεραπεία. Έχουν επίσης ορισμένες ανασυνδυασμένες κυταροκίνες γενετικής μηχανικής ώστε να βοηθήσουν στην ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος και ως συμπληρωματική θεραπεία με τα εμβόλια κατά του καρκίνου. Οι κυτοκίνες χορηγούνται, ενδοφλέβια, ενδομυϊκή ή υποδόρια (υπό του δέρματος).

Απλά μονοκλωνικά αντισώματα

Τα απλά μονοκλωνικά αντισώματα αποτελούν τον πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο ανοσοθεραπευτικό παράγοντα. Στην αρχή της δεκαετίας, χρησιμοποιήθηκαν θεραπείες δεύτερης γραμμής πρωτίστως όταν οι άλλες θεραπείες είχαν αποτύχει. Ωστόσο, λόγω της ελπίδας για περιορισμός των μεταστάσεων του όγκου ορισμένα εξ αυτών χρησιμοποιούνται πλέον νωρίτερα ως θεραπευτικές επιλογές. Αυτά περιλαμβάνουν τα Τραστουζουμάμπη (Herceptin® – έναντι του καρκίνου του μαστού), Μπεβασιζουμαμπή (Avastin® – έναντι του καρκίνου του παχέος εντέρου) και Αδαλιμουμάμπη (Humira® – έναντι διαφόρων αυτοάνοσων νόσων). Τα μονοκλωνικά αντισώματα επιτυγχάνουν τις θεραπευτικές τους δράσεις μέσω ποικίλων μηχανισμών. Μπορεί να επάγουν άμεσα την απόπτωση (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος). Από την άλλη πλευρά, μπορούν να αναστείλουν τους υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων και να σταματήσουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Οι έμμεσες δράσεις

τους διεκπεραιώνονται κυρίως μέσω επιστράτευσης των κυτταροτοξικών κυττάρων, όπως τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα. Αυτό καλείται βασιζόμενη σε αντισώματα κυτταρο-διαμεσολαβούμενη κυτταροτοξικότητα (Antibody-Dependent Cell Mediated Cytotoxicity – ADCC). Στην ADCC οι υποδοχείς γάμμα της Fc (Fc γ R) που υπάρχουν στην επιφάνεια των ανοσολογικών κυττάρων τελειώνουν δεσμεύουν την περιοχή Fc ενός αντισώματος, το οποίο δεσμεύεται ειδικά με το κύτταρο στόχο. Τα κύτταρα που διαμεσολαβούν την ADCC είναι μη-ειδικά κυτταροτοξικά κύτταρα, όπως τα κύτταρα φονείς, τα μακροφάγα, τα μονοκύτταρα και τα ηωσινόφιλα. Τα μονοκλωνικά αντισώματα μπορούν να δεσμεύσουν επίσης το συμπλήρωμα, οδηγώντας σε άμεση κυτταροτοξικότητα. Αυτή είναι γνωστή ως κυτταροτοξικότητα

που εξαρτάται από το συμπλήρωμα (Complement-Dependent Cytotoxicity – CDC). Στη CDC, το C1q δεσμεύει το αντισώμα και η δέσμευση αυτή πυροδοτεί τον καταρράκτη του συμπληρώματος που οδηγεί στο σχηματισμό του συμπλόκου μεμβρανικής επίθεσης (Membrane Attack Complex – MAC). Οι ανωτέρω μηχανισμοί συνοψίζονται στην Εικόνα 12.2. Όπως στις περισσότερες χημειοθεραπείες, τα μονοκλωνικά αντισώματα χορηγούνται ενδοφλεβίως. Αντίθετα όμως με τις κλασικές χημειοθεραπείες, οι παρενέργειες των mAbs είναι συνήθως σχετικά ήπιες. Ωστόσο, δεν είναι όλα τα μονοκλωνικά αντισώματα πλήρως ασφαλή για χρήση σε οποιονδήποτε τύπο καρκίνου. Ένα καλό παράδειγμα αποτελεί η μπεβασισωμάμπη (Avastin[®]), ένας αναστολέας του του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα



Εικόνα 12.2 Σχηματική απεικόνιση της ενίσχυσης της ADCC και CDC από τα mAb. Σχηματική αναπαράσταση των γεγονότων που επάγονται από τα απλά αντισώματα που ενισχύουν την κυτταροτοξικότητα. Στην ADCC, η περιοχή Fab του μονοκλωνικού αντισώματος μπορεί να στοχεύσει τα αντιγόνα CD20 που εκφράζονται στο στόχο (π.χ. κακοήθη κύτταρα). Ταυτόχρονα, η περιοχή Fc δεσμεύει τους υποδοχείς Fc που υπάρχουν στα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα ή/και στα κύτταρα φονείς. Τα συγκεκριμένα κύτταρα με τη σειρά τους περικλείουν τα καρκινικά κύτταρα και τα καταστρέφουν. Στην CDC, το μονοκλωνικό αντισώμα δεσμεύεται στον υποδοχέα του και εκκινεί τον καταρράκτη του συμπληρώματος. Το τελικό αποτέλεσμα του καταρράκτη γεγονότων αποτελεί ο σχηματισμός ενός «συμπλόκου μεμβρανικής επίθεσης (MAC)» που δημιουργεί ουσιαστικά μια τρύπα στην κυτταρική μεμβράνη, προκαλώντας τη λύση του κυττάρου και το θάνατο αυτού.

- **Ραδιο-ανοσοσυζευγμένα μόρια**



Με τη χρήση ραδιο-ανοσοσυζευγμένων μορίων μπορεί να γίνει η ραδιοθεραπεία ως υποκατάστατο της ακτινοβολήσης ολόκληρου του σώματος. Αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη θεραπευτική προσέγγιση για την οξεία λευχαιμία. Τα μονοκλωνικά αντισώματα συζευγμένα με ισότοπα που εκπέμπουν β-ακτινοβολία χρησιμοποιούνται ως θεραπευτική επιλογή σε ασθενείς με Β-κυτταρικό μη-Hodgkin λέμφωμα που εκφράζουν CD20 (Dahle και συνεργάτες, 2007). Αξιοποιούνται επίσης ως διαγνωστικό εργαλείο.

- **Ανοσοτοξίνες**



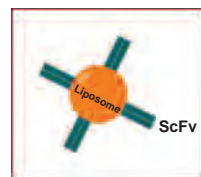
Οι ανοσοτοξίνες αποτελούν αντισώματα υψηλής εκλεκτικότητας που συνδέονται με τοξικά πρωτεϊνικά μόρια τα οποία έχουν τροποποιηθεί για να απομακρυνθούν περιοχές που δεσμεύονται σε φυσιολογικούς ιστούς. Οι τοξίνες που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή των ανοσοτοξινών είναι (α) βακτηριακές τοξίνες όπως ο εξοτοξίνη Α του *Pseudomonas* και η τοξίνη της διφθερίτιδας ή (β) φυτικά προερχόμενες τοξίνες που επονομάζονται ρικίνη, αβρίνη, γελονίνη και α-σαρκίνη. Οι τοξίνες αυτές αναστέλλουν το στάδιο της επιμήκυνσης της πρωτεϊνοσύνθεσης.

- **Ανοσοκυτοκίνες**



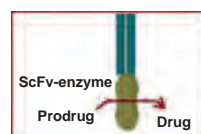
Είναι πρωτεΐνες που έχουν τροποποιηθεί γενετικά (μέσω γενετικής μηχανικής) με σύντηξη των κυτοκινών με αλληλουχίες αντισωμάτων. Έχουν την ικανότητα ειδικής στόχευσης (λόγω των Ab) και τη δυνατότητα διέγερσης της ανοσολογικής καταστροφής του στόχου (κυρίως καρκινικών κυττάρων). Συγκρινόμενες με τη συστηματική θεραπεία κυτοκινών, οι ανοσοκυτοκίνες διαθέτουν ελάχιστες παρενέργειες. Οι ανοσοκυτοκίνες που περιέχουν τις IL-2 και IL-10 έχουν δειχθεί ότι είναι αποτελεσματικές έναντι των όγκων και της αρθρίτιδας, αντιστοίχως (Pedretti και συνεργάτες, 2010, van de Loo και van der Berg, 2009).

- **Ανοσολιποσώματα**



Τα λιποσώματα αποτελούν τεχνητά λιπιδικά μόρια που είναι ικανά να μεταφέρουν θεραπευτικά νουκλεοτίδια. Η εκλεκτική τοξικότητα μπορεί να επιτευχθεί όταν τα λιποσώματα συζευχθούν με τις δομές ScFv των μονοκλωνικών αντισωμάτων (δείτε την Ενότητα 12.3). Η ιστοειδική μεταφορά ογκοκατασταλτικών γονιδίων έχει επιτευχθεί καρκίνους του εγκεφάλου και του μαστού μέσω ανοσολιποσωμάτων που περιέχουν ένα τμήμα αντισώματος (με τη χρήση ScFv) έναντι του ανθρώπινου υποδοχέα τρανσφερίνης (Qian και συνεργάτες, 2002).

- **Ενζυμική θεραπεία προφαρμάκου που κατευθύνεται από Ab (Antibody-Directed Enzyme Producing Therapy – ADEPT)**



Σε αυτή την τεχνολογία, οι ScFv δομές των μονοκλωνικών αντισωμάτων συνδέονται με ένα ένζυμο που ενεργοποιεί το προφάρμακο. Οι εν λόγω ScFv δομές είναι ικανές να δεσμεύονται εκλεκτικά στα κύτταρα στόχους. Συνεπώς, έπειτα από τη χορήγησή του, ένα προφάρμακο (μη-τοξικό) θα μετατραπεί σε μια τοξική ουσία μόνο στα κακοήθη κύτταρα. Η συγκεκριμένη τεχνολογία έχει δημιουργήσει μεγάλες προσδοκίες για μελλοντικές ογκολογικές θεραπείες (Bagshawe και συνεργάτες, 2004).

(VEGF), ο οποίος έχει δειχθεί να επάγει παρενέργειες παρόμοιες με εκείνες των κλασικών χημειοθεραπειών. Έχει δειχθεί ότι προκαλεί σοβαρή αιμορραγία και προβλήματα στην επούλωση πληγών. Ο FDA πρότεινε προσφάτως να σταματήσει η χορήγηση της εν λόγω ουσίας στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού (δείτε την Ενότητα 12.6 για περισσότερες λεπτομέρειες).

Τμήματα αντισώματος

Όπως επεξηγήθηκε στην Ενότητα 12.2, ένα ενεργό τμήμα αντισώματος (Fv) αποτελείται από μια μεταβλητή περιοχή σε καθεμιά από τις βαριές και ελαφριές αλυσίδες του. Οι συγκεκριμένες δομές σχηματίζουν τη θέση δέσμευσης του αντιγόνου (Fab) και καθορίζουν την εξειδίκευση του αντισώματος. Είναι πλέον εφικτό να δημιουργηθούν τεχνητά οι δομές Fc και Fab αποκόπτοντας το μόριο Ig (αντίσωμα) με το ένζυμο παπαΐνη. Επομένως, οι μεταβλητές περιοχές των βαριών και ελαφριών αλυσών μπορούν να συντηχθούν προς σχηματισμό ενός μεταβλητού τμήματος (ScFv) μιας αλυσίδας που είναι το ήμισυ του μεγέθους του τμήματος Fab (Backovic και συνεργάτες, 2010). Ωστόσο, διατηρεί την αρχική του εξειδίκευση από τη μητρική ανοσοσφαιρίνη. Τα τμήματα Fab και ScFv έχουν το πλεονέκτημα έναντι των μεγαλύτερων mAb ότι απομακρύνονται από την κυκλοφορία γρηγορότερα με υψηλή ικανότητα

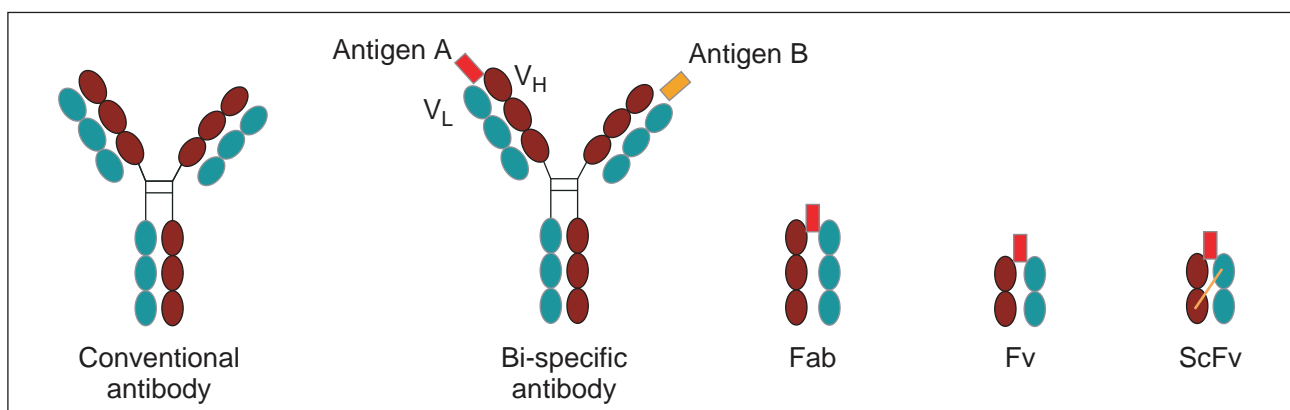
ιστικής διείσδυσης. Για παράδειγμα, τα τμήματα Fab χρησιμοποιούνται στην προφύλαξη από δαγκώματα φιδιών και υπερδοσολογία διγοξίνης (Hudson και Saurian, 2003). Είναι επίσης χρήσιμα στην ιστική απεικόνιση και διάγνωση. Η Εικόνα 12.3 συγκρίνει δομικές διαφορές μεταξύ των συμβατικών, δι-ειδικών αντισωμάτων και των τμημάτων αντισωμάτων τους (Backovic και συνεργάτες, 2010).

Αν και η εν λόγω τεχνική βρίσκεται ακόμη στα πρώτα της βήματα, έχει συντελεστεί μεγάλη πρόοδος στη χρήση του ScFv έναντι του ανθρώπινου υποδοχέα τρανσφερρίνης όταν ο τελευταίος συζεύχθηκε με τα ανοσολιποσώματα (Flanagan και Jones, 2004).

Συζευγμένα αντισώματα

Τα αντισώματα που είναι συζευγμένα με κλασικούς θεραπευτικούς παράγοντες είναι πολύ πιο ισχυρά από ότι τα απλά μονοκλωνικά αντισώματα. Αφού τα αντισώματα έχουν υψηλή εξειδίκευση για τους στόχους τους, πιστεύεται ότι μπορούν να μεταφέρουν κλασικά φάρμακα σε συγκεκριμένα κύτταρα και επομένως να προκαλέσουν εκλεκτική τοξικότητα. Η παρούσα ενότητα συνοψίζει ορισμένα παραδείγματα της τεχνολογίας συζευγμένων αντισωμάτων.

Τεχνικές όπως η στόχευση πολλαπλών βημάτων έχουν ήδη αξιοποιηθεί στην αντιμετώπιση



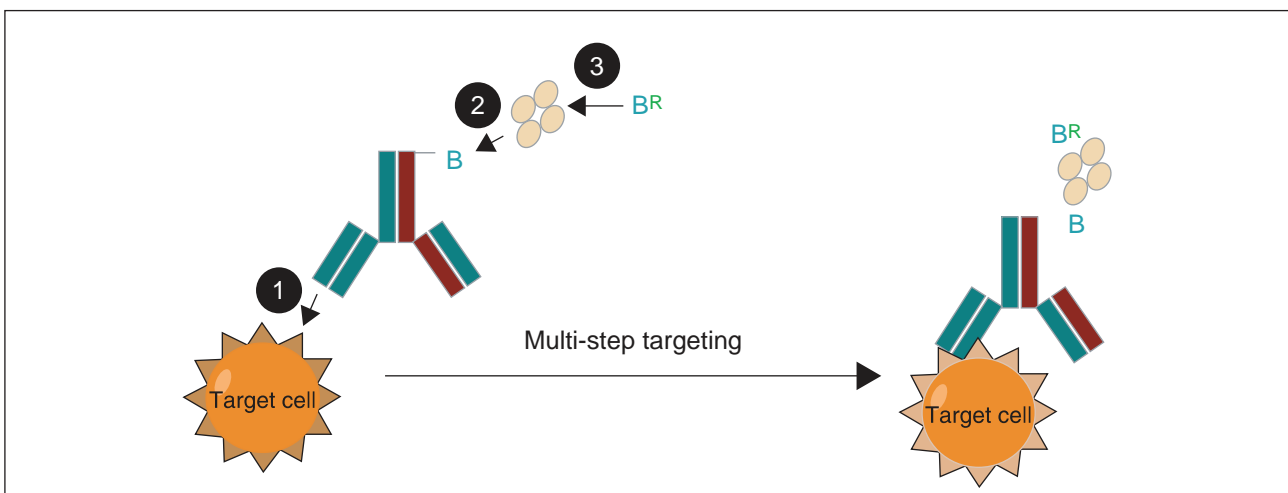
Εικόνα 12.3 Οι δομικές διαφορές μεταξύ των συμβατικών δι-ειδικών αντισωμάτων και των τμημάτων τους. Τα τμήματα του αντισώματος Fab και Fc δημιουργούνται από την ενζυματική αποκοπή των κλασικών αντισωμάτων (στα αριστερά) ενώ το τμήμα ScFv δημιουργείται μέσω τεχνικών μοριακής βιολογίας. Η κίτρινη γραμμή στο ScFv αντιπροσωπεύει το σύνδεσμο μεταξύ των δομών V_H και V_L . Τα τμήματα θα διαφέρουν από το πλήρους μεγέθους μόριο IgG (στα αριστερά) και από τα δι-ειδικά αντισώματα (στη μέση) σε χαρακτηριστικά όπως η συγγένεια, η ανοσογονικότητα και ο χρόνος ημιζωής στην κυκλοφορία.

του καρκίνου ώστε να ξεπεραστεί η απόκριση του ξενιστή (HAMA) έναντι της αντισωματικής θεραπείας. Τα δι-ειδικά αντισώματα που είναι εξειδικευμένα για πάνω από ένα αντιγόνα χρησιμοποιούνται συνήθως σε αυτή την περίπτωση. Τα αντισώματα σημαίνονται αρχικά με ένα μόριο (π.χ. βιοτίνη) και ενίονται στο σώμα του ξενιστή. Αυτό επιτρέπει σε ορισμένα μόρια αντισωμάτων να προσκολληθούν/διεισδύουν στον όγκο. Τα υπόλοιπα θα καταστραφούν από την αντίδραση του ξενιστή. Έπειτα από την πάροδο μερικών ημερών, ένα άλλο μη-ενεργό μόριο σήμανσης (π.χ. στρεπταβιδίνη) το οποίο έχει υψηλή συγγένεια για το πρώτο (βιοτίνη) εγχύεται και αφήνεται να δράσει για μερικές ημέρες. Αυτό επιτρέπει στο δεύτερο μόριο σήμανσης να δεσμευτεί στο πρώτο μόριο που δεσμεύεται με αντίσωμα (βιοτινυλιωμένο) ή να απομακρυνθεί από την κυκλοφορία. Τέλος, η ραδιοσημασμένη μορφή του πρώτου μορίου (ραδιοσημασμένη βιοτίνη) ενίεται στο σώμα έχοντας μια μεγαλύτερη πιθανότητα δέσμευσης στο διπλά σεσημασμένο (στρεπταβιδίνη-βιοτινυλιωμένο) σύμπλεγμα, επομένως ελαχιστοποιώντας με τον τρόπο αυτό την πιθανότητα εξάλειψής του από την αντίδραση του ξενιστή. Η αλ-

ληλουχία των γεγονότων αυτών στην πολυ-σταδιακή στόχευση συνοψίζεται στην Εικόνα 12.4.

12.5 ΕΞΑΝΘΡΩΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΜΕ ΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

Αρχικά η ανοσοθεραπευτική χρησιμοποίησε απλά αντισώματα ποντικών. Τα εν λόγω αρχικά αντισώματα είχαν διάφορα προβλήματα που περιλαμβάνουν α) μικρό χρόνο ημιζωής in vivo (λόγω της ανοσολογικής απόρριψης από τον ξενιστή), β) την περιορισμένη διεισδυτικότητα στα κύτταρα στόχους (π.χ. όπως σε κύτταρα του όγκου) και γ) την ανικανότητα επιστράτευσης των τελεστών του ξενιστή. Το μεγαλύτερο εμπόδιο με τα αντισώματα ποντικού είναι ότι λόγω της προέλευσής τους (100% πρωτεΐνες του μυός) αναγνωρίζονται ως «ξένες» από το ανθρώπινο σώμα και επομένως απορρίπτονται από μια ανοσολογική απόκριση που θα διαμεσολαβείται από Ab (ανθρώπινα αντι-μυϊκά αντισώματα – HAMA, που παράγονται από τον ξενιστή). Για να ξεπεραστούν αυτά τα προβλήματα, έχουν αναπτυχθεί νέα χιμαιρικά και εξανθρωποιημένα αντισώματα. Για να παραχθούν



Εικόνα 12.4 Αλληλοδιάδοχα συμβάντα στη στόχευση όγκου με πολλαπλά βήματα. Τα γεγονότα συνοψίζονται στα αριστερά και οι τελικές δράσεις δίδονται στα δεξιά. ❶ Το βιοτινυλιωμένο αντίσωμα (B) ενίεται στον ξενιστή. Αυτό επιτρέπει στο βιοτινυλιωμένο αντίσωμα να δεσμεύσει το αντιγόνο στόχο ή να απομακρυνθεί από την κυκλοφορία λόγω της αντίδρασης του ξενιστή. ❷ Στη συνέχεια εγχύεται η στρεπταβιδίνη (ανοιχτόχρωμοι καφέ κύκλοι) που έχει ισχυρή συγγένεια για τη βιοτίνη. ❸ Η κυκλοφορούσα στρεπταβιδίνη θα δέσμευσε το αντιγόνο-δεσμευμένο βιοτινυλιωμένο αντίσωμα ή απομακρύνεται από την κυκλοφορία. Τέλος, ενίεται η ραδιοσημασμένη βιοτίνη (B^R) που είτε θα απομακρυνθεί ταχέως ή θα δεσμευτεί στο ογκο-δεσμευμένο σύμπλοκο στρεπταβιδίνης-βιοτίνης. Έτσι επιτυγχάνεται η ειδική στόχευση.

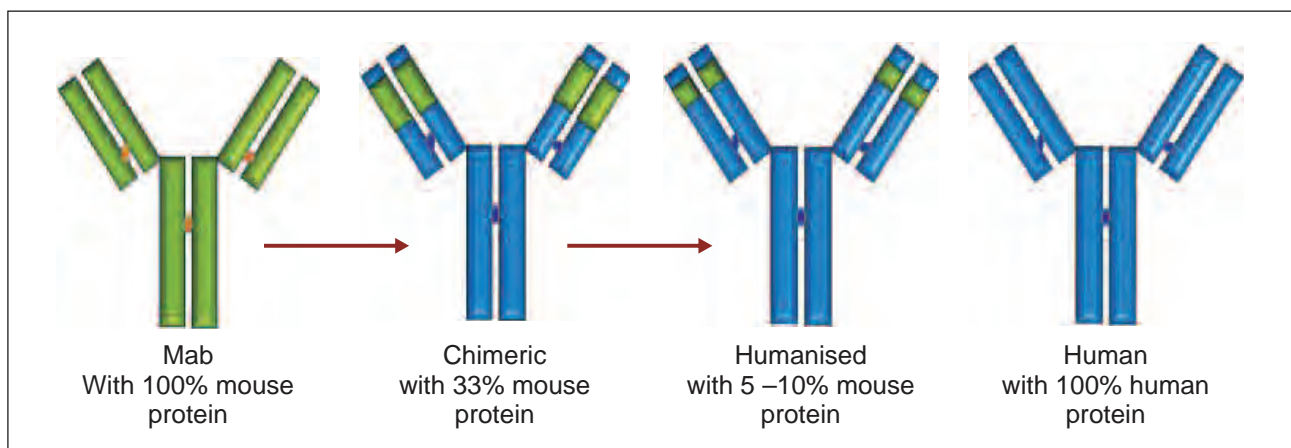
αποτελεσματικά τα εν λόγω αντισώματα, έχουν τροποποιηθεί παλαιότερες τεχνικές όπως η τεχνολογία των υβριδωμάτων με τη χρήση διαγονιδιακών μυών ή έχουν αντικατασταθεί από την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA και την τεχνική απεικόνισης των φάγων. Η Εικόνα 12.5 δείχνει τις δομικές διαφορές μεταξύ των αντισωμάτων του μύος, των χιμαιρικών και των εξανθρωποποιημένων αντισωμάτων σε σχέση με αυτά του ανθρώπου.

Τα χιμαιρικά και εξανθρωποποιημένα μονοκλωνικά αντισώματα του μύος παράγονται κυρίως με α) μεταμόσχευση περιοχών που καθορίζουν τη συμπληρωματικότητα (CDRs) και β) τη δημιουργία χιμαιρικών αντισωμάτων με συρραφή των μεταβλητών περιοχών του μύος με ανθρώπινες σταθερές περιοχές. Τα πλήρως ανθρώπινα αντισώματα μπορούν να παραχθούν επίσης με α) την επιλογή τμημάτων ανθρώπινων αντισωμάτων από βιβλιοθήκες φάγων, β) τους διαγονιδιακούς μυς και γ) μέσω επιλογής από ανθρώπινα υβριδώματα (Rao και Schmader, 2007). Οι εν λόγω τεχνολογίες είναι πιστοποιημένες ως εμπορικά αποδοκτές μέθοδοι ανακάλυψης αντισωμάτων. Εφόσον τα χιμαιρικά, εξανθρωποποιημένα και τα ανθρώπινα αντισώματα μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μελλοντικές ανοσοθεραπευτικές προσεγγίσεις, ορισμένες τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους συζητώνται συνοπτικά σε επόμενες ενότητες.

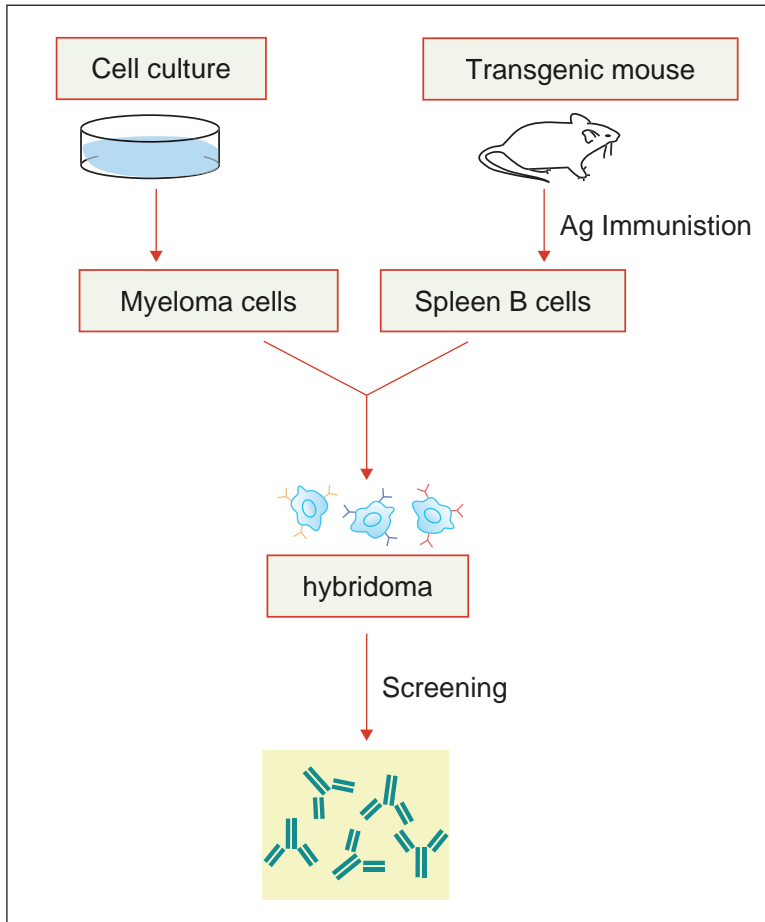
Τεχνολογία υβριδώματος χρησιμοποιώντας διαγονιδιακούς μύες

Η τεχνολογία αυτή αποτελεί μια ελαφρώς τροποποιημένη μορφή της κλασικής τεχνολογίας υβριδώματος. Εδώ, το υβρίδωμα δημιουργείται από κύτταρα του σπλήνα διαγονιδιακών μυών στους οποίους έχουν απαλοιφθεί τα γονίδια των ανοσοσφαιρινών και έχουν αντικατασταθεί από τα αντίστοιχα του ανθρώπου. Αυτό ακολουθείται από την ανοσοποίηση στο αντιγόνο. Τα μετέπειτα στάδια είναι παρόμοια με τη δημιουργία των κλασικών μονοκλωνικών αντισωμάτων. Τα Β κύτταρα από τους ανοσοποιημένους διαγονιδιακούς μύες συντήκονται με κύτταρα μυελώματος που προέρχονται από την *in vitro* κυτταροκαλλιέργεια για την παραγωγή ενός αθάνατου υβριδώματος. Όταν παραχθούν τα συγκεκριμένα ειδικά υβριδώματα, είναι δυνατόν να παραχθούν υβριδικά-υβριδώματα. Η Εικόνα 12.6 συνοψίζει τα κύρια βήματα που περιλαμβάνει η εν λόγω μέθοδος.

Τα προαναφερθέντα υβριδικά-υβριδώματα δημιουργούνται από τη συνένωση δύο κυττάρων που περιέχουν τη γενετική πληροφορία που είναι απαραίτητη για την παραγωγή δύο διαφορετικών αντισωμάτων. Μάλιστα, ο σχηματισμός υβριδικών-υβριδωμάτων επέτρεψαν τα πρώτα βήματα για την εξανθρωποίηση των αντισωμάτων των μυών. Μπορούν επίσης να εκκρίνουν χιμαιρικά αντισώματα που αποτελούνται από δύο μη-πανομοιότυπα ήμισυ. Η εν λό-



Εικόνα 12.5 Η εξέλιξη της ανοσοθεραπευτικής. Τα χιμαιρικά mAb παράγονται συνήθως από διαγονιδιακούς μυς ή/και με τεχνολογίες υβριδώματος. Τα εξανθρωποποιημένα αντισώματα (zumAb) παράγονται μέσω της γενετικής μηχανικής, της μεταμόσχευσης του CDR, της V γονιδιακής κλωνοποίησης και της ευκαρυωτικής έκφρασης.



Εικόνα 12.6 Σχηματική σύνοψη των σταδίων που εμπλέκονται στην τεχνολογία υβριδώματος για την παραγωγή χημικών αντισωμάτων. Η τεχνολογία του υβριδώματος είναι παρόμοια με την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων μόνο που ξεκινά με διαγονιδιακούς μυς. Η τεχνολογία της κλωνοποίησης εξαρτάται κυρίως από την *in vitro* κυτταροκαλλιέργειες μαζί με άλλες τεχνικές μοριακής βιολογίας.

γω νέα τάξη ανοσοθεραπευτικών παραγόντων καλείται και δι-ειδικά αντισώματα. Τα Ab αυτά είναι χρήσιμα στη θεραπευτική, καθώς το ένα άκρο του δι-ειδικού αντισώματος δεσμεύεται σε ένα αντιγόνο και το δεύτερο άκρο σε ένα άλλο. Για παράδειγμα, το ένα άκρο του αντισώματος μπορεί να δεσμεύσει ένα μόριο δείκτη και το δεύτερο ένα κύτταρο στόχο, δημιουργώντας έτσι έναν ολοκαίνουργιο δρόμο για την ανίχνευση ή/και την καταστροφή των ογκολογικών κυττάρων. Αυτή η προσέγγιση έχει ενδιαφέρον και για την καρκινική ανοσοθεραπεία του καρκίνου καθώς το ένα άκρο του εν λόγω χημικού αντισώματος μπορεί να προσθέσει σε ένα καρκινικό κύτταρο ενώ το άλλο μπορεί να δεσμευτεί σε ένα φονικό T-κύτταρο για να ενεργοποιήσει την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων (δείτε την Εικόνα 12.7, δείτε επίσης την Εικόνα 12.3).

Παρουσίαση ανθρώπινου αντισώματος

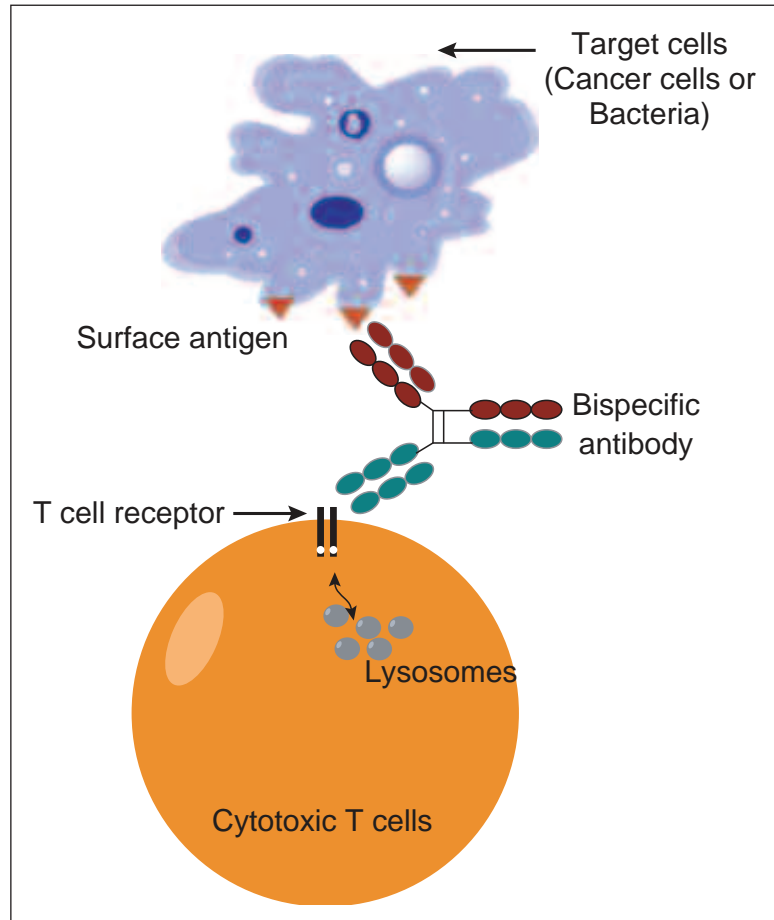
Η τεχνική παρουσίας βιβλιοθήκης ανθρώπινων

αντισωμάτων χρησιμοποιεί φάγους, βακτήρια, ζύμες, κύτταρα των θηλαστικών ή/και ριβωσώματα για να συνδέσει τα διαφορετικά μόρια αντισωμάτων. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθοδολογίες βιβλιοθήκης βασίζονται στη χρήση του νηματοειδούς φάγου- ενός ιού που μολύνει το *Escherichia coli*. Με τον τρόπο αυτό, μπορούν να συντεθούν αντισώματα και να επιλεγθούν ώστε να αποκτήσουν την επιθυμητή συγγένεια και ειδικότητα για τη χρήση στην ανοσοθεραπεία. Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει τρία βασικά βήματα:

- **Κατασκευή βιβλιοθήκης αντισωμάτων και παρουσίαση στην επιφάνεια του φάγου**

Οι βιβλιοθήκες παρουσίασης διαθέτουν μεγάλη γενετική ποικιλότητα (συνήθως μεγέθους κοινώς 10^9 - 10^{13}). Η γενετική ποικιλότητα σε αυτές τις βιβλιοθήκες δημιουργείται συχνά με κλωνοποίηση των τμημάτων Fv ή Fab από ένα μεγάλο αριθμό ανθρώπινων δοτών. Η Εικόνα 12.8 συνοψίζει τα σημαντικά βήματα στην τεχνολογία παρουσίασης των φάγων. Αρχικά, τα

Εικόνα 12.7 Μηχανισμός δράσης δι-ειδικών αντισωμάτων που εξασφαλίζει τη στόχευση. Η μία εκ των δύο μεταβλητών περιοχών του δι-ειδικού αντισώματος είναι ειδική έναντι ενός αντιγόνου του κυττάρου στόχου (όγκος ή βακτήριο) και η άλλη έναντι ενός T-λεμφοκυτταρικού αντιγόνου, όπως Tα- CD3. Επομένως, το T-κυτταροτοξικό κύτταρο ενεργοποιείται και στη συνέχεια καταστρέφει το κύτταρο στόχο.

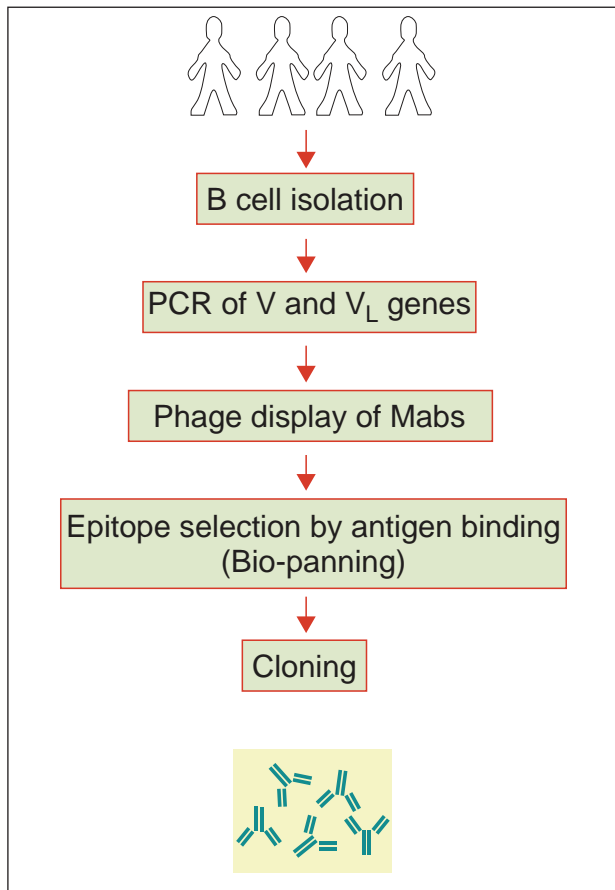


γονιδιακά τμήματα που είναι υπεύθυνα για την ποικίλη περιοχή του ανθρώπινου αντισώματος (Fv ή/και Fab) ενισχύονται από ανθρώπινα B κύτταρα για να δημιουργηθεί η βιβλιοθήκη αντισωμάτων. Η βιβλιοθήκη στη συνέχεια κλωνοποιείται και εκφράζεται (παρουσιάζεται) στην επιφάνεια του φάγου (Marasco και Sui, 2007). Με τον τρόπο αυτό, το χημεικό προϊόν θα ενσωματωθεί στο ώριμο κάλυμμα του φάγου και το γενετικό του υλικό θα υπάρχει στο φάγο. Η σύνδεση μεταξύ του γονότυπου και του φαινότυπου του προσδέτη επιτρέπει τον εμπλουτισμό ειδικού DNA (δηλαδή επιλέγονται ένα ακινητοποιημένο αντιγόνο) (Dally και συνεργάτες, 2002).

- **Επιλέγοντας τη βιβλιοθήκη έναντι συγκεκριμένων αντιγονικών στόχων («panning»)**
Η επιλογή του αντιγόνου πραγματοποιείται στη συνέχεια χρησιμοποιώντας τη βιβλιοθήκη παρουσίασης του φάγου. Τα επιθυμητά αντισώματα επιλέγονται από επιτυχείς γύρους βιολο-

γικού διαχωρισμού (bio-panning) που περιλαμβάνει διάφορες εκπλύσεις, κατά τη διάρκεια των οποίων απομακρύνονται τα μη-εξειδικευμένα αντισώματα. Τέλος, ο φάγος που παρουσιάζει το ειδικό αντίσωμα από την παρουσίαση μπορεί να εκλουστεί και το DNA του να πολλαπλασιαστεί μέσω κλωνοποίησης σε ένα φορέα (συνήθως *Escherichia coli*).

- **Ανάλυση για την επιθυμητή εξειδίκευση**
Έπειτα από πολλαπλούς γύρους επιλογής, το αντίσωμα που έχει την επιθυμητή εξειδίκευση μπορεί να αναλυθεί με τη χρήση ELISA ή κυτταρικής διαλογής ενεργοποιείται από φθορισμό (FACS). Στις περιπτώσεις όπου ο στόχος αποτελεί μια πρωτεΐνη που είναι δεσμευμένη στην κυτταρική μεμβράνη, τα γονίδια των ποικίλων περιοχών των αντισωμάτων μπορούν να κλωνοποιηθούν σε φορείς έκφρασης ολόκληρου του ανθρώπινου IgG και να διαμολύνουν κυτταρικές σειρές για τη δημιουργία πλήρως ανθρώπινων mAbs.



Εικόνα 12.8 Επισκόπηση του συστήματος παρουσίασης αντισωμάτων στην επιφάνεια του φάγου. Τα cDNA που κωδικοποιούν τα V_H, V_L πολλαπλασιάζονται από ανθρώπινα B κύτταρα μέσω PCR και συναρμολογούνται. Τα συναρμολογημένα γονίδια τοποθετούνται σε ένα φορέα φάγου. Ο φάγος που φέρει τα ειδικά αντισώματα απομονώνεται στη συνέχεια χρησιμοποιώντας το αντιγόνο και μια σειρά κύκλων δέσμησης, έκπλυσης, έκλουσης και ενίσχυσης (δηλ. βιολογικός διαχωρισμός). Τα επιθυμητά αντισώματα μπορούν να παραχθούν με την κλωνοποίηση του γονιδίου από τον επιλεγμένο φάγο στο *E.coli*.

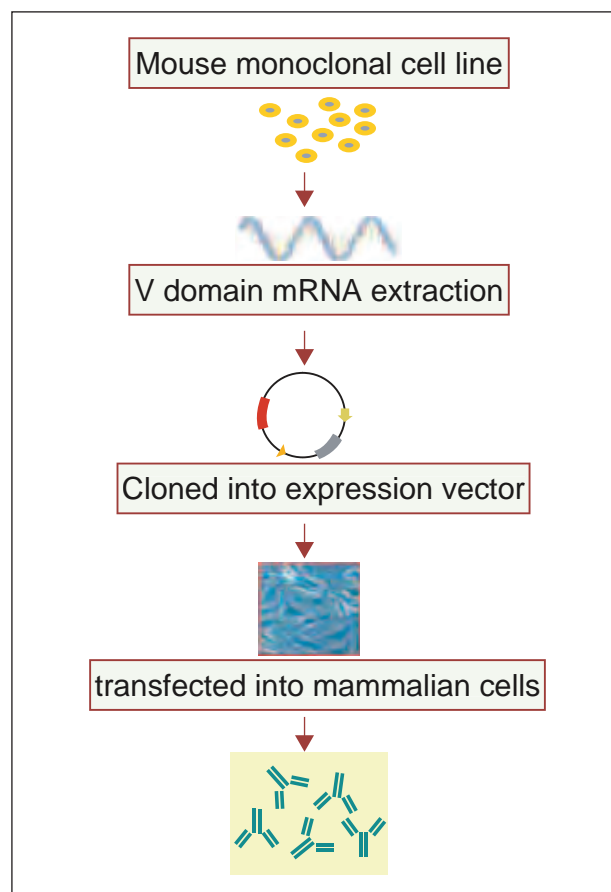
Ανασυνδυασμένα αντισώματα μέσω κλωνοποίησης των γονιδίων ν-περιοχής

Όπως εξηγήθηκε προηγουμένως στην Ενότητα 12.1, η λειτουργική δομή της θέσης που δεσμεύει το αντιγόνο καθορίζεται από γονίδια των βαριών (H) και ελαφριών (L) μεταβλητών (V) δομών. Επομένως, σε αυτή την τεχνολογία το cDNA που είναι υπεύθυνο για την περιοχή V απομονώνεται από μονοκλωνικές κυτταρικές σειρές ποντικού και κλωνοποιείται σε ένα φορέα έκφρασης των θηλαστικών. Στη συνέχεια διαμολύνονται με τον φο-

ρέα κύτταρα θηλαστικών [συνήθως κύτταρα ωοθηκών του κινέζικου χάμστερ (CHO)] που μπορούν να παράγουν τα εξανθρωποιημένα/χιμαιρικά αντισώματα. Η Εικόνα 12.9 συνοψίζει τα βήματα της τεχνολογίας αυτής. Η κλωνοποίηση των γονιδίων της μεταβλητής περιοχής του μύος σε ανθρώπινα σταθερής-περιοχής γονίδια δημιουργεί χιμαιρικά αλλά και εξανθρωποιημένα αντισώματα ανάλογα με το μέγεθος του κλώνου.

Αθανατοποίηση των Β-κυττάρων μνήμης

Η συγκεκριμένη τεχνική περιλαμβάνει την απομόνωση ανθρώπινων Β-κυττάρων μνήμης από τα μονοπύρρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος (Peripheral Blood Mononuclear Cells – PBMCs) ασθενών που έχουν μολυνθεί. Τα εν λόγω Β-κύτταρα



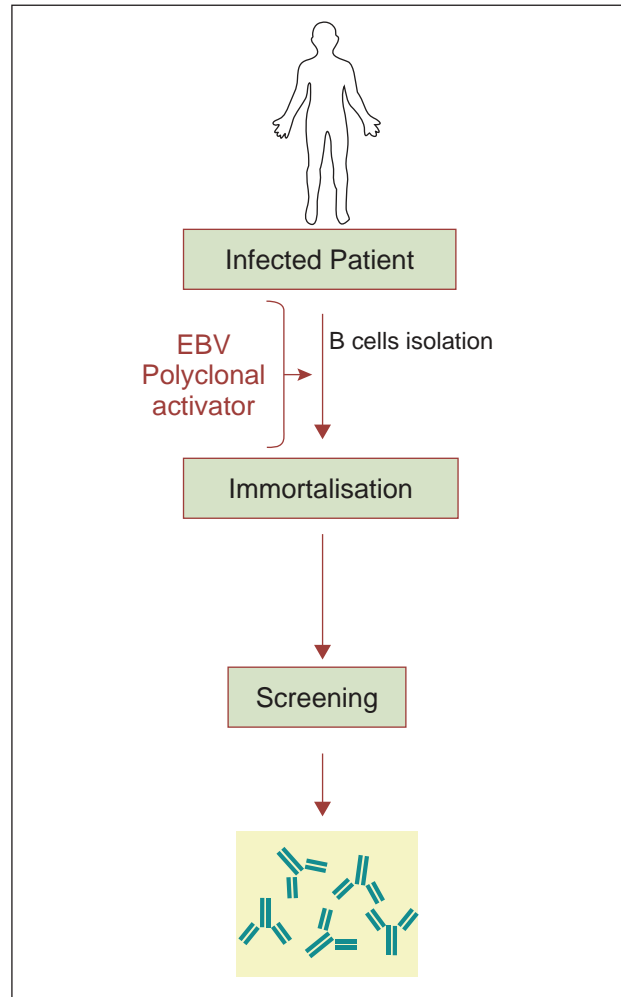
Εικόνα 12.9 Τα βήματα που ακολουθούνται για την παραγωγή των ανασυνδυασμένων αντισωμάτων. Το mRNA που είναι υπεύθυνο για τις δομές V απομονώνεται και κλωνοποιείται σε ένα φορέα έκφρασης. Έπειτα ο φορέας επιμολύνεται σε κύτταρα θηλαστικών προκειμένου να παραχθούν εξανθρωποιημένα αντισώματα.

αθανατοποιούνται στη συνέχεια με τη χρήση του ιού Epstein Barr Virus (EBV) παρουσία ενός ενεργοποιητή των Β-κυττάρων (κυρίως ολιγονουκλεοτιδίου CpG). Αυτά τα μετασχηματισμένα κύτταρα είναι ικανά να παράξουν ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα με την επιθυμητή εξειδίκευση για το αντιγόνο. Στη συνέχεια, τα υπερκείμενα της καλλιέργειας αναλύονται άμεσα για ειδικά αντισώματα. Οι θετικές καλλιέργειες κλωνοποιούνται περαιτέρω και εξανθρωποούνται πλήρως. Ο κύριος περιορισμός της αθανατοποίησης των Β-κυττάρων αποτελεί το γεγονός ότι τα αντισώματα που παράγονται είναι ειδικά μόνο για το αντιγόνο από τον μολυσμένο οργανισμό (καθώς οι άνθρωποι δεν μπορούν να ανοσοποιηθούν για να παραχθούν τα επιθυμητά αντισώματα. Η αλληλουχία των γεγονότων της αθανατοποίησης των Β-κυττάρων συνοψίζεται στην Εικόνα 12.10.

Μεταμόσχευση CDR (επαναδιαμόρφωση των αντισωμάτων)

Η μεταμόσχευση CDR αποτελεί την πιο ανεπτυγμένη προσέγγιση κατά την οποία τα κατάλοιπα από την CDR της μεταβλητής περιοχής ενός mAb του μυός μεταφέρονται σε ανθρώπινες σταθερές και ποικίλες δομές που έχουν υψηλή αλληλουχική ομολογία με τις αντίστοιχες του μυός. Πρώτα από όλα, είναι σημαντικό να προσδιοριστεί η μεταβλητή περιοχή του DNA στο αντίσωμα του μυός που θα ενισχυθεί μέσω της RT-PCR. Έπειτα, μια περιοχή ανθρώπινης δομής (Framework region – FR) θα πρέπει να επιλεγεί για να συνδυαστεί με CDRs μυός. Όταν επιλεγούν οι ανθρώπινες FR και οι CDRs του μυός, είναι επιτακτική ανάγκη να αξιολογηθούν οι οποιεσδήποτε δυσκρασίες μεταξύ των δυο τους, έτσι ώστε να εξλειφθούν οι αναντιστοιχίες.

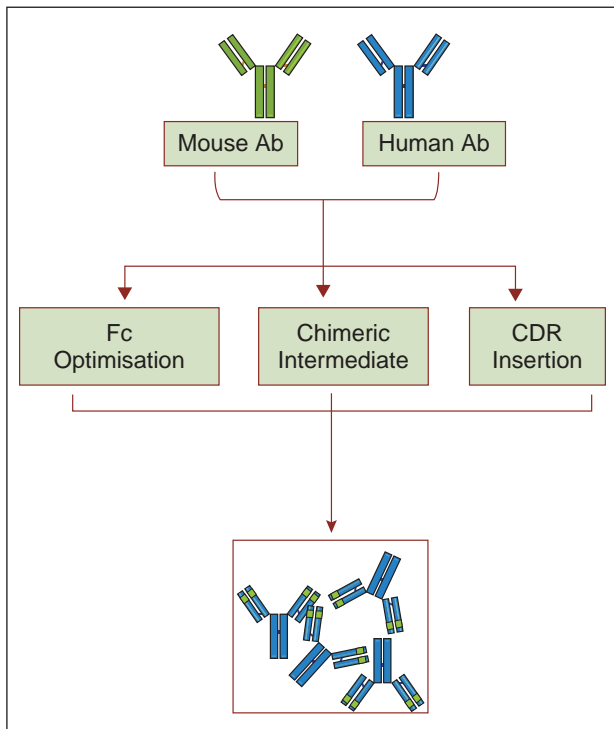
Τέλος, σχεδιάζονται οι DNA και οι πρωτεϊνικές αλληλουχίες των μεταμοσχευμένων CDR εξανθρωποποιημένων αντισωμάτων ενσωματώνοντας οποιεσδήποτε επιπρόσθετες αλλαγές στην FR για να διατηρηθεί η ειδικότητα για το αντιγόνο και να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα από τα HAMA. Με τον τρόπο αυτό, το τελικό προϊόν θα έχει υψηλή εξειδίκευση με ελάχιστη πιθανότητα απόρριψης από τα HAMA. Η Εικόνα 12.11 συνοψίζει τα βήματα που εμπλέκονται στη μεταμόσχευση CDR.



Εικόνα 12.10 Σχηματική αναπαράσταση της αθανατοποίησης των Β-κυττάρων μνήμης. Ο απομονωμένος υποπληθυσμός των Β-λεμφοκυττάρων επιμολύνεται με EBV παρουσία ενός ενεργοποιητή των Β-κυττάρων. Αυτό ακολουθείται από την επιλογή ενός ανθρώπινου κλώνου Β-λεμφοκυττάρων μνήμης ο οποίος έχει την ικανότητα να παράξει ειδικά ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα.

12.6 Η ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΣΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΑΞΗ

Η έρευνα στην ανοσοθεραπευτική ξεκίνησε 100 χρόνια πριν. Σήμερα, αυτό το όραμα έχει γίνει πραγματικότητα στον προκλινικό έλεγχο φαρμάκων εκτίμηση καθώς και στην κλινική πράξη. Αυτό οφείλεται στην ταχεία ανάπτυξη των τεχνικών γενετικής και μοριακής βιολογίας. Η επιτροπή για τη Διεθνή Μη-ιδιόκτητη Ονοματολογία (Non-proprietary Names INN) που ορίστηκε από την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) έχει δώσει δια-



Εικόνα 12.11 Σχηματική αναπαράσταση του γραφήματος ροής που εμπλέκεται στη μεταμόσχευση CDR. Η τεχνική παράγει εξανθρωποιημένα αντισώματα με μεταμοσχευμένα αμινοξέα από υπερμεταβλητές περιοχές μύος (ή επίμυος). Επομένως, διατηρείται περίπου το 90-95% της ανθρώπινης ταυτότητας.

φορετικές καταλήξεις στα αντισώματα ώστε να είναι δυνατή η ταυτοποίηση της προέλευσής τους. Σύμφωνα με την INN, η επίσημη μη-ιδιόκτητη ονοματολογία που δίδεται στα μονοκλωνικά, χιμαιρικά εξανθρωποιημένα και πλήρως ανθρώπινα αντισώματα έχει την κατάληξη *-oMabs*, *-xiMabs*, *-zuMab* και *mu-Mbs* αντιστοίχως. Όπως εξηγήθηκε στην Ενότητα 12.1, το Muromonab (Orthoclone®), ήταν το πρώτο θεραπευτικό μονοκλωνικό αντίσωμα του μύος που έγινε αποδεκτό από τον FDA. Έκτοτε η θεραπευτική αγορά για τα μονοκλωνικά αντισώματα έχει αυξηθεί εκθετικά και υπάρχουν πλέον διάφορα εγκεκριμένα από τον FDA αντισώματα που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη.

Χιμαιρικά αντισώματα (με κατάληξη *-xiMabs*)

Τα χιμαιρικά αντισώματα (*-xiMabs*) είναι μόρια που έχουν τροποποιηθεί με γενετική μηχανική για να εξαλειφθεί η ανοσογονικότητά τους και να

βελτιωθεί η ανοσολογική τους αποτελεσματικότητα. Όπως εξηγήθηκε στην Ενότητα 12.3, τα χιμαιρικά αντισώματα αποτελούνται από περίπου 33% πρωτεΐνη μύος (κυρίως V περιοχές). Αυτά παράγονται με σύντηξη μυϊκών περιοχών μεταβλητότητας που συνδέονται με το αντιγόνο με ανθρώπινες σταθερές περιοχές. Έτσι συνδέονται η VL του μύος με την ανθρώπινη CL και η VH του μύος με την ανθρώπινη CH1-CH2-CH3 για τις ελαφριές και τις βαριές αλυσίδες αντιστοίχως (δείτε την Εικόνα 12.1). Ορισμένα παραδείγματα χιμαιρικών αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη παραχωρούνται στον Πίνακα 12.1.

Εξανθρωποιημένα αντισώματα (με κατάληξη *-zuMabs*)

Η δημιουργία εξανθρωποιημένων αντισωμάτων υψηλής συγγένειας απαιτεί τη μεταφορά ενός (ή παραπάνω) επιπρόσθετων καταλοίπων από τις δομικές περιοχές (FRs) του γονικού Mab. Στην παρούσα φάση, υπάρχουν μερικά μόνο παραδείγματα εξανθρωποιημένων αντισωμάτων στην κλινική πράξη. Το πρώτο θεραπευτικό αντίσωμα με μόσχευμα CDR αναπτύχθηκε έναντι του CAMPATH-1, ενός αντιγόνου που εκφράζεται στην επιφάνεια των ανθρώπινων λεμφοκυττάρων και των μονοκυττάρων (Riechmann και συνεργάτες, 1988). Κατά την ανάπτυξη, οι βαριές και ελαφριές αλυσίδες των CDRs του αντισώματος αντι-CAMPATH-1 του επίμυος, YTH34/5HL, διαχωρίστηκαν σε περιοχές V της βαριάς αλυσίδας της ανθρώπινης πρωτεΐνης του μυελώματος και της ελαφριάς αλυσίδας της πρωτεΐνης Bence Jones. Το προκύπτον αντίσωμα με μόσχευμα CDR βρέθηκε να είναι πιο αποτελεσματικό στη μεσολαβούμενη από κύτταρα λύση από ότι το αντίσωμα του επίμυος.

Το αντίσωμα κατά της αλλεργίας Omalizumab (Xolair®) αποτελεί ένα επιτυχημένο παράδειγμα εξανθρωποιημένου αντισώματος στην κλινική πράξη. Το εν λόγω αντίσωμα δεσμεύεται εκλεκτικά στην IgE σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο omalizumab-IgE. Αυτό αποτρέπει την IgE από το να δεσμευτεί στον υποδοχέα της στα μαστικά κύτταρα και στα βασεόφιλα. Επιπλέον, η απομάκρυνση των κυκλοφορούντων IgE από την omalizumab θα συντελεί στη μειορύθμιση των υποδοχέων της IgE. Αυτό δημιουργεί μια συμπτωματική ανακούφιση από τα συμπτώματα του αλλεργικού άσθματος. Άλλα παραδείγματα αντισωμάτων που χρησι-

Πίνακας 12.1 Παραδείγματα των χιμαιρικών αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη

Όνομασία	Κλινική χρήση	Κλινική εφαρμογή
Infliximab (Remicade®)	Αντι-φλεγμονώδης (έναντι του TNFα)	Ρευματοειδής αρθρίτιδα, νόσος του Crohn, Ελκώδης κολίτιδα
Basiliximab (Simulect®)	Αντι-φλεγμονώδης (έναντι του υποδοχέα της IL-2, CD25 υπομονάδα)	Έναντι της απόρριψης μοσχευμάτων, Σε νεφρικά μοσχεύματα
Rituximab (Rituxan® και MabThera®)	Αντι-καρκινική (έναντι της πρωτεΐνης CD20)	Μη-Hodgkin λέμφωμα
Cetuximab (Erbix®)	Αντι-καρκινική Αναστολέας του EGFR	Καρκίνος του παχέος εντέρου Καρκίνος της κεφαλής και του λαιμού
Abciximab (c7E3 Fab) (ReoPro®)	Ανταγωνιστής του υποδοχέα της αντι-πηκτική γλυκοπρωτεΐνης IIb/IIIa	Αποτροπή της πήξης κατά τη στεφανιαία αγγειοπλασσία IHD και ασταθής στηθάγχη
EGFR = Υποδοχέας επιδερμικού αυξητικού παράγοντα IHD = Ισχαιμική καρδιακή νόσος		

μπορούνται στην κλινική πράξη αναγράφονται στον Πίνακα 2.2.

Πλήρως εξανθρωποιημένα (ανθρώπινων) αντισώματα (κατάληξη –muMabs)

Όπως εξηγήθηκε ήδη στην Ενότητα 12.5, τα ανθρώπινα αντισώματα δημιουργούνται συνήθως από τα μονής αλυσίδας μεταβλητά τμήματα (ScFv) ή τις βιβλιοθήκες παρουσίασης (Fab σε φάγους). Αυτά τα αντισώματα διαθέτουν την υψηλότερη εξειδίκευση μεταξύ των τεχνητά παραγόμενων αντισωμάτων. Μπορούν επίσης να δημιουργηθούν από διαγονιδιακούς μυς που φέρουν ανθρώπινα γονίδια ανοσοσφαιρινών. Μάλιστα, τα συγκεκριμένα αντισώματα, τα οποία παράγονται από διαγονιδιακούς μυς, διαθέτουν το πλεονέκτημα του ότι δεν απαιτούν εξανθρωπίηση πριν από τη θεραπευτική χρήση. Το 2006, το πρώτο πλήρως ανθρώπινο αντίσωμα ranitumumab (Vectibix®), ένα αντίσωμα που στοχεύει τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) εγκρίθηκε από τον FDA. Πολλά καρκινικά κύτταρα ουσιαστικά απαιτούν σήματα που διαμεσολαβούνται από τον EGFR για την επιβίωσή τους. Το Panitumumab δεσμεύεται στον EGFR, αποτρέποντας τον EGF και τον μετασηματοδοτικό παράγοντα (TGFα) από το να δεσμευτούν στον

υποδοχέα. Τόσο ο EGF όσο και ο TGFα είναι γνωστό ότι προάγουν την καρκινογένεση λόγω των μιτογόνων δράσεών τους. Επομένως, το ranitumumab παρεμποδίζει τα σήματα που διεγείρουν την ανάπτυξη του καρκινικού κυττάρου και επιτρέπουν την επιβίωσή του. Αφού είναι ένα ανθρώπινο αντίσωμα, αναμένεται ότι θα διαθέτει ικανοποιητικό προφίλ ασφάλειας, όπως χαμηλή πιθανότητα αντιδράσεων κατά την έγχυση, η αντιγονικότητα και η αλλεργική απάντηση. Αυτά τα χαρακτηριστικά των πλήρως ανθρώπινων αντισωμάτων διερευνώνται στην παρούσα φάση σε κλινικές δοκιμές. Ορισμένα παραδείγματα των πλήρων ανθρώπινων αντισωμάτων που βρίσκονται υπό ανάπτυξη ή/και υπό κλινική δοκιμή παρουσιάζονται στον Πίνακα 12.3.

12.7 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Οι ανοσοθεραπευτικοί παράγοντες συνιστούν μια ομάδα ουσιών με αυξανόμενη σημασία που έχουν τη δυνατότητα να θεραπεύσουν ποικιλία ασθενειών, όπως ο καρκίνος, οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες, οι λοιμώξεις, οι αυτοάνοσες και οι καρδιακές νόσοι. Στην παρούσα φάση πάνω από 25 αντισώματα έχουν εγκρίνει για κλινική χρήση και άλ-

Πίνακας 12.2 Παραδείγματα εξανθρωποιημένων αντισωμάτων που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη

Όνομασία	Κλινική χρήση	Κλινική εφαρμογή
Bevacizumab (Avastin®)	Αναστολέας της αγγειογένεσης (έναντι του VEGF)	Καρκίνος του παχέος εντέρου, εκφύλιση της ωχράς κηλίδας που σχετίζεται με την ηλικία
Certolizumab pegol (Cimzia®)	Αναστολέας της σηματοδότησης του TNFα	Νόσος του Crohn, ρευματοειδής αρθρίτιδα
Daclizumab (Zenapax®)	Έναντι του υποδοχέα της IL-2Ra	Σε κλινικές δοκιμές στην τρέχουσα φάση προς την καταστολή της απόρριψης του μοσχεύματος
Eculizumab (Soliris®)	Πρωτεΐνη του συμπληρώματος C5	Παροξυντική νυκτερινή αιμοσφαινουρία
Palivizumab (Synagis®)	Έναντι της πρωτεΐνης F του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού	Μόλυνσης από τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό
Trastuzumab (Herceptin®)	Έναντι των ErbB2-HER2 (παρεμβολή με τον υποδοχέα HER2/neu)	Καρκίνος του μαστού

VEGF= Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
Erb2= v-erb2-b2 ιικό ογκογονιδιακό ομόλογο 2 της ερυθροβλαστικής λευχαιμίας
HER-2/neu= Νευρο/γλιοβλαστωμικός προερχόμενο ογκογονιδιακό ομόλογο (πτηνών)

λα 350 βρίσκονται υπό κλινική δοκιμή (Casadevall και συνεργάτες, 2004). Συγκρινόμενες με τις κλασσικές θεραπευτικές μεθόδους (όπως η χημειοθεραπεία στον καρκίνο, η στόχευση υποτύπων στο άσθμα, τα αντιβιοτικά έναντι μικροβιακών νόσων κλπ), τα μόρια που χρησιμοποιούνται στην ανοσοθεραπεία διαθέτουν λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες. Οι θεραπείες που βασίζονται σε αντισώματα και χρησιμοποιούν ανθρώπινα ή εξανθρωποιημένα αντισώματα εμφανίζουν ακόμη μικρότερη τοξικότητα και αυξημένη ειδικότητα. Επομένως, προσφέρουν βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών σε σχέση με ορισμένες άλλες θεραπείες στον καρκίνο. Λόγω της στοχευμένης μεταφοράς τους στη θέση δράσης, παρέχουν μακροχρόνιο όφελος από μια βραχυχρόνια θεραπεία. Τούτο είναι ιδιαίτερα αληθές για την αντιμικροβιακή ανοσοθεραπεία. Λόγω της υψηλής εξειδίκευσής τους, τουλάχιστον θεωρητικά, δε θα επιτρέψουν για την ανάπτυξη ανθεκτικών οργανισμών. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως διαγνωστικά εργαλεία για την αποτελεσματικότητα της ανταπόκρισης των κυττάρων πριν χορηγηθεί το φάρμακο για να ταυτοποιηθεί το στάδιο κατάστασης της νόσου (π.χ. ταυτοποίηση καρκινικών μεταστάσεων με τη χρήση ραδιοσημασμένων αντισωμάτων).

Ωστόσο, η ανοσοθεραπευτική εμφανίζει και μειονεκτήματα. Το κυριότερο εμπόδιο για τη θεραπευτική εφαρμογή των αντισωμάτων αποτελεί η εγγενής τους ανοσογονικότητα (απόκριση του ξενιστή μέσω HAMA). Αφού τα περισσότερα εκ των Mabs προέρχονται από τρωκτικά, θεωρούνται ως «ξένα» από τον ανθρώπινο οργανισμό και επομένως απορρίπτονται από αυτόν. Αν και είναι πλέον εφικτή η παραγωγή Mabs με μειωμένη πιθανότητα απόρριψης από τον ξενιστή, οι εν λόγω προηγμένες τεχνολογίες είναι ακριβές και χρονοβόρες. Από την άλλη πλευρά, οι θεραπείες που χρησιμοποιούν αντισώματα στοχεύουν μόνο έναν κυτταρικό τύπο (ή μικροοργανισμό). Συνεπώς, μπορεί να απαιτείται η παραγωγή παραπάνω του ενός αντισώματος για νόσους με υψηλή αντιγονική ποικιλότητα (που εμπλέκουν διάφορους κυτταρικούς τύπους). Επιπροσθέτως, ορισμένα αντισώματα έχει βρεθεί ότι δημιουργούν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες, παρόμοιες με εκείνες της κλασσικής χημειοθεραπείας. Άλλες σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνουν:

- Σοβαρές αντιδράσεις αλλεργικού τύπου οι οποίες σε ένα πολύ μικρό ποσοστό περιπτώσεων μπορεί να αποβούν θανατηφόρες.
- Μείωση των ερυθροκυττάρων, των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων του αίματος.

Πίνακας 12.3 Παραδείγματα των πλήρως ανθρώπινων αντισωμάτων υπό ανάπτυξη ή υπό κλινική δοκιμή

Όνομασία	Κλινική χρήση	Εφαρμογές
Adalimumab (HUMIRA®)	Αναστολή της σηματοδότησης του TNF-α	Ρευματοειδής αρθρίτιδα (Αυτοάνοσες διαταραχές) [CT]
Golimumab (Simponi)	Αναστολή της σηματοδότησης του TNF-α	Σπονδυλαρθροπάθειες και ψωριακή αρθρίτιδα (ανοσοκαταστολή) [CT]
AIN457 (υπό έρευνα)	Αναστολή της IL-17	Ψωρίαση, Ρευματοειδής αρθρίτιδα [UR]
CT= κλινικές δοκιμές UR= υπό διερεύνηση		

- Καρδιακά προβλήματα, συμπεριλαμβανομένου της καρδιακής ανεπάρκειας και ενός μικρού κινδύνου καρδιακού επεισοδίου.
- Δερματικά προβλήματα: πληγές και εξανθήματα που μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές μολύνσεις σε ορισμένες περιπτώσεις.
- Αιμορραγία. Ορισμένα μονοκλωνικά αντισώματα σχεδιάζονται για να σταματήσουν τον καρκίνο από τη δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων, όπως για παράδειγμα το μπεβασιζουμάμπη (Avastin®).

12.8 ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ

Λόγω της ταχείας ανάπτυξης των τεχνικών της γενετικής μηχανικής και της μοριακής κλωνοποίησης, το μέλλον για την ανοσοθεραπεία του καρκίνου παραμένει πολλά υποσχόμενο. Τα ανοσοθεραπευτικά μόρια έχουν τη δυναμική να ξεπεράσουν πολλά προβλήματα που εμπόδιζαν την κλασική θεραπεία με φάρμακα. Σε αυτά περιλαμβάνονται: α) η επικράτηση των καρκινικών κυττάρων και μικρο-οργανισμών, β) γενετικοί πολυμορφισμοί των υποδοχέων που στοχεύονται, γ) η ανάδυση νέων παθογόνων μικρο-οργανισμών, δ) η επαν-ανάδυση πλαιών παθογόνων μικρο-οργανισμών και ε) οι δυσκολίες που εμφανίζονται στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων σε ανοσο-κατεσταλμένους ασθενείς. Επίσης, προβλήματα όπως η ετερογενής φύση των διαφόρων όγκων μπορούν να επιλυθούν με θεραπεία με αντισώματα, καθώς οι περισσότεροι στόχοι των αντισωμάτων αποτελούν πρωτεΐνες, που μπορούν να χαρτογραφηθούν για να ανιχνευθεί

η θέση δέσμευσης (δηλαδή επίτοποι). Ο χαρακτηρισμός των εν λόγω επιτόπων θα βοηθήσει στην ανακάλυψη και στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών ενώσεων, εμβολίων και διαγνωστικών μορίων. Επομένως, υπάρχουν ελπίδες για χρήση των ανοσοθεραπευτικών μορίων είτε από μόνα τους ή ως μέρος συνδυασμένης θεραπείας. Μελλοντικά, αναμένεται ότι οι ανοσοθεραπείες θα αποτελέσουν την επιλεγμένη θεραπεία έναντι του καρκίνου. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με τη χειρουργική, τη ραδιοθεραπεία και τη χημειοθεραπεία.

Προκειμένου να ξεπεραστούν οι τρέχοντες περιορισμοί, όπως η απόρριψη από τον ξενιστή, μπορούν να αξιοποιηθούν πολυ-σταδιακές τεχνικές στόχευσης των αντισωμάτων. Είναι επίσης πιθανό να συνδυαστούν πολλά γονιδιακά στοιχεία ποικιλότητας για τη σύνθεση αντισωμάτων έναντι ενός μεγάλου αριθμού αντιγόνων, που θα οδηγούσαν σε αντισώματα υψηλότερης συγγένειας με μεγαλύτερη ποικιλία στην εξειδίκευσή τους. Συνεπώς στο μέλλον, η ανοσοθεραπεία είναι πιθανό να καταστεί ο κύριος τρόπος αντιμετώπισης των ασθενειών που είναι σήμερα ανίατες.

12.9 ΣΥΝΟΨΗ

Η ανοσοθεραπευτική στοχεύει στην ενεργοποίηση των μηχανισμών άμυνας του ίδιου του σώματος πυροδοτώντας ή/και «μιμούμενη» την ανοσολογική απάντηση. Τα αντισώματα αποτελούν τον πιο ευρέως διαδεδομένο τρόπο εφαρμογής της ανοσοθεραπείας. Η ανάπτυξη των τεχνικών της μοριακής βιολογίας και της γενετικής μηχανικής

έχει οδηγήσει σε ευέλικτα υψηλής εξειδίκευσης αντισώματα που μπορούν να γίνουν ανεκτά από τον ασθενή. Διάφορα μονοκλωνικά, χημικά και εξανθρωποιημένα αντισώματα χρησιμοποιούνται ήδη στην κλινική πράξη. Νέοι τρόποι εφαρμογής για την ανοσοθεραπευτική (όπως τα πλήρως ανθρώπινα αντισώματα) βρίσκονται ήδη υπό ανάπτυξη ή υπό κλινική δοκιμή. Επομένως, η ανοσοθεραπευτική μπορεί να καταστεί η θεραπεία επιλογής για την αντιμετώπιση ανιάτων νόσων.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Backovic M, Johansson DM, Klupp BG, Mettenleiter TC, Persson MAA and Rey FA (2010) Efficient method for production of high yields of Fab fragments in *Drosophila* S2 cells. *Protein Engineering, Design & Selection* 1–6.
- Bagshawe KD, Sharma SK and Begent RHJ (2004) Antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) for cancer, *Expert opinion in Biological therapy* 4(11): 1777–1789.
- Casadevall A, Dadachova E and Pirofski L (2004) Passive antibody therapy for infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology* 2:695–703.
- Cheson BD, Leonard JP (2008) Monoclonal Antibody Therapy for B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma. *New England Journal of Medicine* 359:613–626.
- Clark M (2000) Antibody humanisation: a case of the 'Emperor's new clothes'? *Immunology Today* 21(8):377–388.
- Dahle J, Borrebæk J, Jonasdóttir TJ, Hjølmerud AK, Melhus KB, and Bruland S (2007) Targeted cancer therapy with a novel low-dose rate α -emitting Radio-immunoconjugate. *Blood*. 110(6):2049–2056.
- Dally S, Dillon P, Manning B, Dunne L, Killard A, O'Kennedy (2002) Production and Characterization of murine Single Chain Fv Antibodies to Aflatoxin B1 Derived From a Preimmunized Antibody Phage Display Library System. *Food and Agricultural Immunology* 14(4):255–274.
- De Braud C, Catania C, Masini M, Maur S, Cascinu R, Berardi L, Giovannoni G, Spitaleri S, Boselli D, Emilia R (2010) Combinations of the immunocytokine F16-IL2 with doxorubicin or with paclitaxel investigated in phase Ib studies in patients with advanced solid tumours. *Journal of Clinical Oncology* 28 (suppl; abstr e13017).
- Flanagan RJ, Jones AL (2004) Fab antibody fragments: some applications in clinical toxicology. *Drug Safety*. 27(14):1115–1133.
- Hudson PJ, Saurian C. (2003) Engineered antibodies. *Nature Medicine* 9: 129–134.
- Kaminski MS, Tuck M, Estes J, Kolstad A, Ross CW, Zasadny K, Regan D, Kison P, Fisher S, Kroll, S, Wahl RL, (2005) 131I-Tositumomab Therapy as Initial Treatment for Follicular Lymphoma *New England Journal of Medicine*. 352:441–449.
- Kotzerke J, Bunjes D and Scheinberg DA (2005) Radioimmunoconjugates in acute leukemia treatment: the future is radiant. *Bone Marrow Transplantation* 36:1021–1026.
- Marasco WA, and Sui J (2007) The growth and potential of human antiviral monoclonal antibody therapeutics. *Nature Biotechnology* 25:1421–1434.
- Pedretti M, Verpelli C, M'arilind J, Bertani G, Sala C, Neri D and L Bello (2010) Combination of temozolomide with immunocytokine F16–IL2 for the treatment of glioblastoma. *British Journal of Cancer* 103:827–836.
- Qian ZM, L, H, Sun, H, and Ho, K (2002) Targeted Drug Delivery via the Transferrin Receptor-Mediated Endocytosis Pathway. *Pharmacological Reviews* 5(4):561–587.
- Rader C. (2009) Overview on concepts and applications of Fab antibody fragments. *Current Protocols in Protein Science*. Chapter 6:Unit 6.9.
- Rao AV, Schmadler K (2007) Monoclonal antibodies as targeted therapy in haematological malignancies in older adults. *American Journal of Geriatric Pharmacotherapy*. 2007 Sep;5(3):247–262.
- Riechmann L, Clark MR, Waldmann H, Winter G (1988) Reshaping human antibodies for therapy. *Nature* 332:323–327.
- van De Loo FA and van den Berg WF (2009) Immunocytokines: the long awaited therapeutic magic bullet in rheumatoid arthritis? *Arthritis Research & Therapy* 11:132.