

# بھینه‌سازی پادتن درمانی در بدخیمی‌ها

مهران حقیقی: دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

مقایسه با سلول‌های عادی بدن می‌باشد. گذشته از این موارد، به دلیل شناخت ناکافی نسبت به مکانیسم‌های دخیل در متابولیسم و عمل سلول‌های سرطانی، هدف‌گیری آنتی‌بادی‌ها به این سلول‌ها پیچیده‌تر از موارد دیگر است.

## واهکارها

به منظور ساخت آنتی‌بادی‌های مؤثرتر، به خصوص علیه تومورهای سخت، تلاش‌های فراوانی صورت گرفته است. در اینجا تعدادی از آنها را بررسی خواهیم کرد:

### ۱- نشان‌دار کردن آنتی‌بادی با مواد

#### رادیواکتیو

مشکل اساسی در استفاده از مواد رادیواکتیو استفاده از روشی است که در عین رساندن دوز کافی به سلول‌های بدخیم، سلول‌های سالم را از آسیب حفظ کند. در مورد رادیوایزوتوپ‌هایی که موارد استفاده بالای دارند مثل  $^{131}\text{Iodine}$  و  $^{90}\text{Strium}$ ، ذرات بتای حاصل در حوزه‌ای به وسعت ۵-۱ میلی‌متر از محل اتصال آنتی‌بادی پخش می‌شوند و

## پیش‌گفتار

امروزه حوزه وسیعی از اقدامات درمانی تحت اثر فناوری نوین استفاده از آنتی‌بادی‌ها، متحول شده‌اند. گذشته از داروهایی که مراحل آزمایشی را می‌گذرانند، شمار قابل توجهی نیز به کاربری بالینی رسیده‌اند و موقعيت چشم‌گیر *Rituxan* در درمان لنفوم، *Synagis* در بیماری‌های عفونی، *Zenepax* و *Simulect* در پیوند کلیه و *Remicade* در کرون و آرتربیت روماتویید قابل ذکر است.

على رغم اینکه تلاش‌های اولیه در تهیه آنتی‌بادی‌ها توجه عده‌ای به درمان بدخیمی‌ها داشته‌اند، تنها حدود یک سوم داروهایی که مراحل آزمایش و تایید را گذرانده‌اند به درمان سرطان اختصاص دارند و بدون در نظر گرفتن لنفوم-که موقعيت آنتی‌بادی‌هادر درمان آن قابل توجه است- دیگر بدخیمی‌ها سهم اندکی از این شیوه درمانی برده‌اند. عل این موضوع بخشی مربوط به سیستم خون‌رسانی ناکارآمد تومورهای سخت است گه نفوذ آنتی‌بادی را به آن‌ها مشکل می‌سازد و قسمتی مربوط به مقاومت سلول‌های بدخیم به آنتی‌بادی در

Doxorubicin که با Cystein اتصال حاصل می‌کند از جمله این مواد هستند. این مواد به آنتی‌بادی کامل متصل می‌شوند و سیستم ایمنی را بسیار کم تحریک می‌کنند. با این وجود، اندازه بزرگ چنین محصولاتی توانایی آنها را در نفوذ به تومورهای سخت کاهش می‌دهد.

### ۳- اتصال آنزیم به آنتی‌بادی

آنچه در این شیوه مورد توجه است، محدود کردن اثر تحریبی به سلولهای هدف است. ضمن این که تولید آن با روشی ساده و قیمت مناسب انجام می‌کیرد. در این روش آنزیم به آنتی‌بادی متصل شده و این ترکیب پیش دارو را در محل سلولهای هدف فعال می‌کند. از این خانواده می‌توان به اتصال آنتی‌بادی کامل به آلکالین فسفاتان، F(ab)2 به کربوکسی پپتیداز G2 باکتریایی یا سیتوزین دی‌آمینان، scFv متصل به گلوكورونیداز بتای انسانی و Fv دی‌سولفید در اتصال با بتا‌لاکتاماز اشاره کرد. مشکل اساسی این مواد واکنش ایمنی نسبت به آنها و در مواردی که آنتی‌بادی کامل در اتصال به کار رفته است، نفوذ مشکل به تومور به علت اندازه بزرگ محصول است.

### ۴- فراخوانی سلولهای ایمنی

آن دسته از سلولهای ایمنی که مسؤولیت از بین بردن سلولهای بدخیم را بر عهده دارند، توسط قسمت Fc آنتی‌بادی جذب می‌شوند ولی به نظر می‌رسد این روند کفايت لازم را برای مقابله با توده سرطانی ندارد. بر این اساس، آنتی‌بادی‌هایی با میل اتصالی دوگانه (bispecific antibodies) ساخته شدند که از یک

بنابراین، محدودهای به قطر ۱۰۰ - ۲۰ سلول را تحت تاثیر قرار می‌دهند که ممکن است سلولهای سالمی باشند و صرفاً در مجاورت سلول بدخیم متصل به آنتی‌بادی قرار داشته‌اند. البته به کارگیری ایزوتوپ‌هایی که ذرات آلفا halogen astatine-211At (211At) تولید می‌کنند مانند سلولهای مجاور را بسیار کمتر تحت تاثیر قرار می‌دهند و بنابراین، برای تومورهای کوچک مناسب‌تر به نظر می‌رسند.

مشکل دیگر مواد رادیواکتیو تجمع آنها در سیستم‌های کاتابولیزه کننده بدن مانند کبد است. شاید بتوان چنین اثر تحریبی را با به کارگیری انواعی از محصولات که اجزای تشکیل دهنده آن مسیرهای فارماکوکوئیتیک مختلفی را طی می‌کنند، کاهش داد.

### ۲- اتصال مواد سمی به آنتی‌بادی

سموم بیولوژیک را می‌توان به طریقه شیمیایی به آنتی‌بادی کامل یا از طریق دستکاری‌های ژنتیک به قطعاتی از آنتی‌بادی مانند Fabs و scFv متصل کرد. پاره‌ای از سموم که در این شیوه به کار رفته‌اند شامل: زنجیره A ریسین، اگزوتوکسین A پسودوموناس، سم دیفتری، موموردین، اگزوتوکسین A استافافیلوکوک و جلوین است.

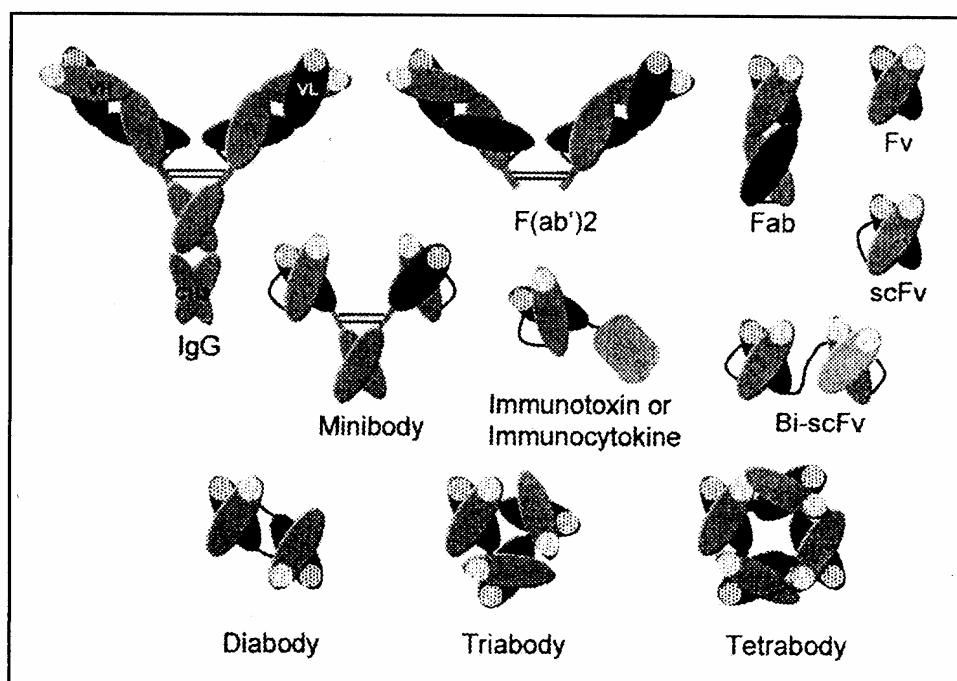
مشکل استفاده از این مواد سمیت ناشی از سددرم نشت عروقی (Vascular leak syndrom) و همچنین واکنش ایمنی شدید علیه آنها است. راه حل این مشکل استفاده از داروهای سیتوتوکسیک برای اتصال به آنتی‌بادی است. Calicheamicin یا Neocarzinostatin، Methotrexate که به طور شیمیایی به Lysine متصل می‌شوند و

این که اثرات منفی ناشی از تزریق سیستمیک IL2 را به همراه داشته باشد.

**۵- اجزای آنتی‌بادی به جای آنتی‌بادی کامل**  
 هر چند پایداری و نیمه عمر آنتی‌بادی کامل طولانی‌تر از اجزای آنتی‌بادی است، چون مشکل نفوذ به تومورهای سخت با خون‌رسانی ضعیفی را دارند، توجه به ساخت چنین قطعاتی از آنتی‌بادی معطوف شده است. این خانواده شامل Tetrabody, Triabody, Diabody, Minibody, F(ab')2, Fab, scFv, Fv، کوچکترین عضو این خانواده، تنها شامل ناحیه متغیر از زنجیره سنتگین (VH) و زنجیره سبک (VL) است. این ترکیب پایداری کمی

طرف با سلول تومور و از طرف دیگر با سلول‌های سیتولیتیک اتصال برقرار می‌کند. چنین آنتی‌بادی‌هایی از طریق اتصال شیمیایی دو Fab خالص، از طریق اتصال ژنتیکی بین دو Fab توسط پیوند لوسین و یا سلول‌های دستکاری شده‌ای که توانایی ساخت دو گونه از زنجیره سبک و سنتگین با میل ترکیبی متمایز را دارند، تولید می‌شوند. در مورد اخیر آنتی‌بادی مناسب از بین ترکیبات متنوع ساخته شده، خالص می‌گردد.

روش دیگر، اتصال سیتوکین مناسب به آنتی‌بادی است. آنچه امروز فراهم شده است، اتصال scFv-IL2 است که باعث تجمع و فعالیت لنفوسيت‌های T در محل تومور می‌گردد، بدون



شکل ۱- نمایش چندین حالت از IgG از دو زنجیره یکسان سنتگین و دو زنجیره یکسان سبک تشکیل شده است.

برای آنتی‌ژن می‌افزاید، در حالی که تغییرات بخش ثابت با افزایش اتصال به کمپلمان، سیتوتوکسیسیته وابسته به کمپلمان (CDC) و فاگوسیتوز را تسهیل می‌کند و با ایجاد اتصال بهترین Fc و گیرنده آن روی سلول‌های ایمنی، سیتوتوکسیسیته سلولی وابسته به آنتی‌بادی (ADCC) و فاگوسیتوز را می‌افزایند. گذشته از این که تغییرات ساختار آنتی‌بادی را می‌توان در جهت افزایش نیمه عمر آن در گردش خون سامان داد.

از آنجایی که امروزه چنین آنتی‌بادی‌هایی از طریق ترکیبات تصادفی و گزینش و با استفاده از باکتریوفاژ تولید می‌شوند، وقت و هزینه نسبتاً بالایی را طلب می‌کنند. با این وجود، جایگزینی سیستم متکی به باکتریوفاژ با مدل‌های ریبوزومی و پروتئین-mRNA در آینده‌ای نزدیک از این مشکل خواهد کاست.

## ۷-تغییر در ایزوتوپ‌ها

ایزوتوپ‌های تشکیل دهنده آنتی‌بادی، آنتی‌بادی‌هایی با پاسخ‌های متنوع ایجاد می‌کنند، مثل میل ترکیبی با اجزای کمپلمان و یا با گیرنده‌های Fc روی سلول‌های ایمنی. نمونه‌ای از این تنوع در ترکیب ایزوتوپ‌های کاما با C1q و در نتیجه فعال شدن آبشار کمپلمان دیده می‌شود به گونه‌ای که  $\gamma 3$  بهتر از  $\gamma 1$  به  $C1q$  متصل می‌شود،  $\gamma 2$  اتصال ضعیفی با  $C1q$  دارد و  $\gamma 4$  اصولاً به آن متصل نمی‌شود.

## بحث

تابه امروز تعداد زیادی از تومورها به خصوص تومورهای سخت در مقابل اقدامات

دارد. scFv که دارای یک ناحیه پیپتیدی برای اتصال VH و VL به یکدیگر است، در چاره جویی به این ناپایداری به وجود آمد. Fab شامل تمام زنجیره سبک و قطعه Fd است. Fab از جهاتی بر scFv برتری دارد:

۱- بین این دو زنجیره به طور طبیعی پیوند کوالان برقرار است. بنابراین، پایداری زیادی دارند.

۲- Fab توانایی تشکیل دایمر را ندارد (در حالی که در scFv یکی از مشکلات اساسی است).

۳- قطعه CH1 به عنوان کلید شناسایی و ردیابی محصول قابل استفاده است.

۴- Fab کلیرانس خونی آهسته‌تری دارد. scFv حاصل اتصال قطعه CH3 به دو Minibody یا دو scFv است. در نتیجه، مولکولی به دست می‌آید که مانند آنتی‌بادی کامل دو ظرفیتی است و اتصال پایدارتری با هدف برقرار می‌کند.

ایجاد پیوند هیدروفوبيک بین VH از یک scFv و VL از دیگری بسیار محتمل است. در نتیجه، بیشتر scFv‌ها به دو شکل منور و دایمر موجود هستند. چنانچه پیپتید اتصالی در scFv به اندازه یک سوم معمول کوتاه شود، VL و VH از اتصال هیدروفوليک به هم باز می‌مانند و ترکیب دو scFv از این گونه دیابادی را تشکیل می‌دهد. کوتاه کردن بیشتر زنجیره اتصال به ایجاد شکلهای دیگری مانند تریابادی و تترابادی می‌انجامد.

## ۶-تغییرات در اسیدهای آمینه

توالی اسیدهای آمینه راهم در بخش متغیر (Fab) و هم در بخش ثابت (Fc) می‌توان در جهت بهینه سازی عملکرد آنتی‌بادی تغییر داد. تغییر مناسب در ناحیه متغیر بر میزان تعایل آنتی‌بادی

که به نوعی در سیستم‌های حیاتی تغییر به وجود می‌آورند، همواره باید مدنظر باشد، میزان همخوانی این تحولات با ارگانیسم زنده است. آنتی‌بادی‌هایی که توسط انسان طراحی می‌شوند، ذراتی دارای پتانسیل بیولوژیک بسیار بالا هستند که بهتر است هرگونه استفاده درمانی از آنها با دقت و وسوس کامل و پس از طی تمام آزمایشات لازم صورت گیرد.

#### منابع

1. Kortt AA. Dimeric and trimeric antibodies: high avidity scFvs for cancer targeting. *Biomol Eng* 2001; 18: 95-108.
2. 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.
3. Hanes J. Picomolar affinity antibodies from a fully synthetic naive library selected and evolved by ribosome display. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 1287-92.

درمانی متنوع مقاومت نشان داده‌اند. درمان با آنتی‌بادی‌ها افق جدیدی در این حماسه طولانی خواهد بود. از آنجایی که کارآیی آنتی‌بادی‌های طبیعی بدن در سرکوب بدخیمی در بسیاری موارد ناکافی است، تلاش در جهت هرچه موثرتر کردن آنتی‌بادی‌ها منجر به پیدایش روش‌هایی شد که تعدادی از آن‌ها مطالعه گردید. بدیهی است روش‌های دیگری ممکن و حتی موجود می‌باشند. از آن بین می‌توان شیوه‌های افزایش عمر آنتی‌بادی و یا انتخاب آنتی‌بادی‌ها بر اساس قدرت القای اعمالی چون ADCC، CDC و حتی مرگ سلولی رانام برد، در حالی که آنتی‌بادی‌های درون سلولی یا Intrabodies مبحثی نو و پویا در درمان بیماری‌های ویروسی مانند ایدز و بدخیمی‌ها گشوده‌اند.

#### یادداشت

بدن انسان خود سیستمی با مجھولات بسیار است. آنچه که به نظر می‌آید در تمام روش‌هایی

