نمونه ۳ – ۹۴/۵/۱۸

# انواع آنتی‌بادی‌های منوکلونال دارویی

**دکتر نگار متقی‌دستجردی[۱]، دکتر محمد سلطانی‌رضایی‌راد[۱]، دکتر محمد شریف‌زاده[۲]**
۱. گروه بیوتکنولوژی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲. گروه سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران

در ادامه مبحث آشنایی با آنتی‌بادی‌های منوکلونال دارویی که قسمت نخست آن در شماره قبل ارایه شد، در این مقاله انواع مختلف آنتی‌بادی‌های منوکلونال دارویی و نمونه‌هایی از داروهای موجود از هر نوع معرفی می‌شود.

## ■ انواع آنتی‌بادی‌های منوکلونال

### □ آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی

تکنیک هیبریدوما نخستین بار با استفاده از سلول‌های میلومای موش و سلول‌های پلاسمای موش انجام شد و بنابراین، آنتی‌بادی‌های تولید شده از سلول هیبریدومای حاصل، موشی بودند. آنتی‌بادی‌های موش و انسان اغلب در الگوی گلیکوزیلاسیون با یکدیگر تفاوت دارند که این تفاوت، یکی از نگرانی‌های مهم در کاربردهای in vivo آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی است. نبود یا جایگاه اشتباه کربوهیدرات‌ها در بخش ثابت زنجیره سنگین (Fc) سبب تغییر در حلالیت آنتی‌بادی، کلیرانس سرمی، و برهمکنش صحیح بین آنتی‌بادی‌ها و گیرنده‌های Fc می‌شود. گلیکوزیلاسیون صحیح قسمت Fc آنتی‌بادی در صورتی که فعالیت آنتی‌بادی وابسته به فعال‌سازی کمپلمان یا ADCC باشد، از اهمیت بالایی برخوردار است. حتی در صورتی که عملکرد Fc یک محصول آنتی‌بادی منوکلونال موشی را در نگاه اول در نظر نگیریم، سایر مسایل ـ حلالیت، کلیرانس سرمی،

و فارماکوکینتیک کلی ـ می‌تواند از مشکلات پیچیده‌ای باشد که باید بر آن‌ها فایق آمد (۱).

موانع اصلی استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی عبارتند از:

۱ ـ نیمه عمر پلاسمایی کمتر در مقایسه با IgG انسانی

۲ ـ پاسخ آنتی‌بادی انسانی در مقابل آنتی‌بادی موشی (HAMA) که سبب کاهش مضاعف نیمه عمر می‌گردد.

نیمه عمر IgG انسانی در حدود ۳ هفته، و آنتی‌بادی موشی در حدود تنها چند ساعت است. IgG موشی تمایل به ایجاد پاسخ HAMA دارد که نه تنها سبب حذف سریع‌تر IgG موشی می‌شود، بلکه به جهت ماهیت بیگانه بودن خود، می‌تواند سبب ایجاد یک پاسخ ازدیاد حساسیتی آنافیلاکتیک گردد. کاهش نیمه عمر، نیاز به افزایش مقدار مصرف را ضروری می‌سازد (که به نوبه خود، می‌تواند سبب افزایش HAMA شود) و یا این که باید کاهش اثربخشی محصول را پذیرفت. بنابراین، یکی از اهداف بزرگ همواره کاهش محتوای اپی‌توپ‌های موشی در آنتی‌بادی‌های منوکلونال و در عین حال حفظ اثربخشی بوده است. با این وجود، هنوز تعداد بی‌شماری از آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی برای کاربردهای درمانی و عکسبرداری، مورد استفاده قرار می‌گیرند، مانند Muromonab CD3 (ارتوکلون ®OKT3 ایمونوساپرسانت مورد سستفاده در پیوند اعضا) و Y-90 ibritumomab tiux-etan (زوالین® یک ترکیب رادیوایمونوتراپیوتیک مورد استفاده به‌عنوان یک ماده آنتی‌نئوپلاستیک در لنفوم غیرهوجکین) (۲، ۱).

محققان همواره در تلاش بوده‌اند تا یک آنتی‌بادی کاملا انسانی بسازند. در هر مرحله از مراحل پیشرفت در این زمینه، آنتی‌بادی‌ها هرچه بیشتر و بیشتر به آنتی‌بادی‌های انسانی شبیه‌تر شدند. این پیشرفت‌ها شامل ساخت آنتی‌بادی‌های کایمریک، آنتی‌بادی‌های انسانی شده، و آنتی‌بادی‌های ذاتا انسانی تهیه شده از طریق phage display یا حیوانات تراریخته می‌باشند (۱).

**□ آنتی‌بادی‌های منوکلونال کایمریک**

با کمک تکنولوژی DNA نوترکیب، توالی تعداد بیشتری از آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی مشخص شده است. نخستین گام در ساخت یک آنتی‌بادی منوکلونال انسانی ایده‌آل آنتی‌بادی کایمریک بود. آنتی‌بادی‌های کایمریک متشکل از توالی‌های پروتئینی با دو منشا هستند: موش و انسان. در حالی که آنتی‌بادی‌های موشی ۱۰۰ درصد پروتئین موشی هستند، آنتی‌بادی‌های کایمریک عمدتا تنها در حدود ۳۳ درصد پروتئین موشی و مابقی پروتئین انسانی هستند. در آنتی‌بادی‌های کایمریک ناحیه متغیر با ویژگی آنتی‌ژنیک، موشی باقی می‌ماند. نواحی ثابت که تعیین‌کننده ایزوتایپ آنتی‌بادی هستند، با پروتئین انسانی جایگزین شده‌اند. آنتی‌بادی‌های کایمریک با ادغام ژن‌های ناحیه متغیر موش و ژن‌های ناحیه ثابت انسان ساخته می‌شوند. یکی از روش‌های DNA نوترکیب که چنین کاری را می‌توان با آن انجام داد، این است که ژن‌های ناحیه متغیر از یک هیبریدومای موشی ترشح‌کننده آنتی‌بادی را که به هدف مورد نظر متصل می‌شود، جدا نموده

و سپس با کمک PCR آن را تکثیر نمود. این محصول اولیه یک DNA کپی (cDNA) از ناحیه متغیر موشی (V-cDNA) است. این V-cDNA را می‌توان به داخل یک پلاسمید وارد نمود. به‌طور موازی cDNA نواحی ثابت زنجیره سنگین انسانی را نیز تکثیر و به داخل پلاسمید مجزایی وارد نموده و DNA کپی زنجیره سنگین (HC-cDNA) را تولید می‌کنیم. در این مرحله V-cDNA و HC-cDNA را با هم در یک سلول میزبان وارد می‌کنیم. بدین‌ترتیب پروتئین فیوژن دلخواه ما که یک آنتی‌بادی کایمریک است، به‌دست می‌آید. از آن‌جا که باکتری پروتئین‌های انسانی را به درستی گلیکوزیله نمی‌کند، آنتی‌بادی‌ها معمولا از باکتری ترشح نمی‌شوند. در عوض، آنتی‌بادی کایمریک به‌صورت اینکلوژن بادی‌هایی در سلول‌های باکتری بیان شده و لازم است که استخراج و خالص‌سازی روی آن انجام شود (۱).

حتی با چنین تغییر موفق و مناسبی که بر روی آنتی‌بادی منوکلونال موشی انجام می‌شود، هنوز هم امکان وقوع یک پاسخ ایمنی انسانی در برابر توالی‌های پپتیدی موش در ساختار آنتی‌بادی کایمریک وجود دارد. تولید آنتی‌بادی انسانی در برابر آنتی‌بادی کایمریک (HACA) یک پاسخ ایمنی در برابر پروتئین موشی (ناحیه متغیر) از آنتی‌بادی است (۱).

پیشرفت از آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی به آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی یک پیشرفت مهم در تکنولوژی آنتی‌بادی است. آنتی‌بادی‌های منوکلونال کایمریک موش ـ انسان سودمند در جدول (۱) خلاصه شده است.

**□ آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی‌شده**

گام بعدی در کاهش محتوای توالی موشی ساخت آنتی‌بادی‌های انسانی‌شده است. آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی‌شده عمدتا تنها نواحی بسیار متغیر یا نواحی CDR را از یک آنتی‌بادی موشی نگه داشته‌اند، در حالی که مابقی آنتی‌بادی انسانی است. بنابراین، آنتی‌بادی‌های انسانی‌شده تنها ۵ تا ۱۰ درصد، محتوای موشی دارند. تهیه آنتی‌بادی‌های انسانی‌شده از روندی مشابه سنتز آنتی‌بادی‌های کایمریک پیروی می‌کنند.

**جدول ۱ ـ** آنتی‌بادی‌های منوکلونال کایمریک (۳)

| | |
|---|---|
| ابسیکسیمب (رئوپرو®) | مهارکننده تجمع پلاکت، مورد استفاده در جراحی‌های عروق کورونر |
| اینفیلیکسیمب (رمیکید®) | اتصال به فاکتور نکروز کننده تومور، مورد استفاده در بیماری‌های خودایمنی |
| ستوکسیمب (اربیتوکس®) | مهارکننده فاکتور رشد اپی‌درمال، مورد استفاده برای کاهش سرعت رشد بیماری متاستاتیک |
| ریتوکسیمب (ریتوکسان®) | تخریب کننده سلول‌های B، مورد استفاده در درمان لنفوم غیرهوجکین |

نمونه ۳ – ۹۴/۵/۱۸

**جدول ۲ ـ** آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی شده (۳)

| | |
|---|---|
| پالیویزومب (سیناجیس®) | پیشگیری از عفونت‌های RSV در نوزادان |
| ترستوزومب (هرسپتین®) | درمان سرطان سینه متاستاتیک HER2 ـ مثبت |
| آلمتوزومب (کَمپَس®) | درمان CLL، CTCL و لنفوم سلول T |

آنتی‌بادی‌هـای انسانی‌شـده عمومـا پاسـخ‌های ناسازگاری ایمونولوژیک انسانی کمتری نسبت به آنتی‌بادی‌های موشی و کایمریک دارند (۱).

آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی‌شـده عمدتا با پیوندهای CDR موشـی به یک آنتی‌بادی انسانی سـنتز می‌شـوند. با اسـتفاده از تکنولوژی DNA نوترکیـب، ژن‌هـای زنجیره سـبک و سـنگین ایمونوگلوبولین انسـانی را می‌تـوان با PCR تکثیر نمـود. کتابخانه cDNA لنفوییـد انسـانی حاصل را می‌توان به عنوان الگویی برای سنتز in vitro کل آنتی‌بادی به غیر از نواحی CDR مورد استفاده قرار داد. CDRهای موشـی کلون شده و به موازات آن رشد می‌کنند. ژن‌های مربوطه را می‌توان به DNA حامل وارد و برای رشد به باکتری وارد نمود. برای سـهولت کار معمولا هـر دو حامل حاوی cDNA انسانی و موشی را می‌توان به یک سلول باکتریایی منتقل نمـود (co-transfection) و یک آنتی‌بادی منوکلونـال انسانی‌شـده کامل را به دسـت آورد. همانند آنتی‌بادی‌هـای کایمریک، آنتی‌بادی‌های انسانی‌شـده باید از کشت‌های باکتریایی استخراج و خالص‌سازی شوند (۱).

آنتی‌بادی‌های انسانی‌شـده بـا احتمال کمتری نسـبت به آنتی‌بادی‌هـای منوکلونال موشـی یا کایمریک ممکن است که یک پاسخ ایمنی ناسازگار را سـبب شـوند. پیشـرفت حاصـل در آنتی‌بادی انسانی‌شده نسبت به انواع موشی و کایمریک بسیار رضایت‌بخش بوده اسـت. هدف ایده‌آل استفاده از آنتی‌بادی‌های انسـانی خالص بـرای کاربردهای آنتی‌بـادی بخصـوص در فرایندهـای in vitro اسـت (۱). نمونه‌هایی از آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی‌شده در جدول (۲) ارایه شده است.

**□ آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی**

آنتی‌بادی‌هـای منوکلونال انسـانی سـاختاری (تقریبا) ۱۰۰ درصد انسانی دارند. واژه منوکلونال از لحاظ تکنیکی، برای تمامی آنتی‌بادی‌های سنتتیک انسـانی قابل اسـتفاده نیسـتند چرا کـه برخی از تکنولوژی‌های سنتز از تکنولوژی هیبریدوما استفاده نمی‌کنند. اساسا دو روش برای تولید آنتی‌بادی‌های انسانی مورد استفاده قرار می‌گیرند:

**۱ ـ** مهندسی ژنتیک، موش تراریخته یا ناک اوت

**۲ ـ** استفاده از کتابخانه‌های phage display (۱).

موش‌هـای تراریخته با برداشـت سـلول‌های بنیـادی از مرحله ابتدایی جنیـن لقاح یافته موش ایجاد می‌شـود. یک ژن موجود، با جایگزینی آن با یک قطعه مصنوعـی از DNA، غیرفعال یا «ناک اوت» می‌شود. سلول‌های بنیادی تغییر یافته پس

نمونه ۳ – ۹۴/۵/۱۸

از این مرحله در داخل موشی با پروفایل ژنومیکی تغییر یافته رشد می‌یابد. غیرفعال نمودن توانایی بازارایی ترتیب زنجیره‌های سبک و سنگین در رده سلول زایا، سبب مهار توانایی موش در تولید ایمونوگلوبولین موشی و سلول‌های B موشی مربوط می‌گردد. جایگزینی DNA انسانی زنجیره سبک و سنگین سلول زایا می‌تواند سبب ناک‌اوت شدن موش در تولید سلول‌های B انسانی که آنتی‌بادی منوکلونال انسانی را تولید می‌کنند، شود. علی‌رغم مشکلات عملی موجود، استفاده از موش‌های تراریخته برای تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال یکی از روش‌های نوظهور و امیدبخش است (۱).

آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی مهندسی شده از نژادهای موش‌های تراریخته:

**۱ ـ** دارای میل اتصال به آنتی‌ژن‌ها مشابه با آنتی‌بادی‌های انسانی هستند.

**۲ ـ** فارماکوکینتیکی معادل آنتی‌بادی‌های انسانی نشان می‌دهند.

**۳ ـ** در مقایسه با آنتی‌بادی‌های منوکلونال موشی، کایمریک، و انسانی‌شده فاقد پاسخ‌های ازدیاد حساسیت هستند (۱).

هم چنان که روش ساخت آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی پیشرفت می‌کند، محصولات تشخیصی و درمانی متعددی عرضه خواهد شد.

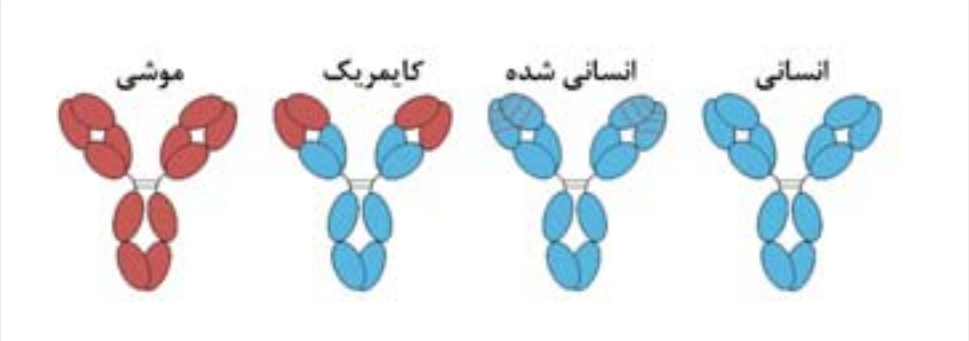
باکتریوفاژها (یا فاژها) ویروس‌هایی هستند که باکتری‌ها را آلوده می‌کنند. فاژهای تیپیک دارای سرهای توخالی هستند که DNA یا RNA فاژ در آن قرار داشته و دُم‌هایی دارند که به مولکول‌های به‌خصوصی در سطح باکتری‌های هدف آن‌ها متصل می‌شوند. DNA ویروسی پس از اتصال فاژ از طریق دم به سلول میزبان تزریق شده و منجر به تولید سریع فاژهای یکسان می‌گردد. در نهایت، فاژهای جدید با ترکیدن سلول، خارج و باکتری‌های بیشتری را آلوده می‌کنند (۱).

به‌طور ساده، قطعات بخصوصی از آنتی‌بادی با ادغام شدن در ساختار DNA فاژ، در سطح فاژ حضور می‌یابند یا به اصطلاح، در سطح فاژ «display» می‌شوند. نمایش فاژی یا phage display با استفاده از E. coli تولید کننده یک جمعیت (کتابخانه) بزرگ از قطعات آنتی‌بادی اختصاصی برای آنتی‌ژن هدف، با سرعت زیادی تکثیر می‌شود. هر فاژ به دست آمده، دارای یک پروتئین آنتی‌بادی عملکردی در

**جدول ۳ ـ** آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی (۳)

| | |
|---|---|
| پَنیتومومب (وِسیتیبیکس®) | درمان سرطان کولورکتال متاستاتیک بیان‌کننده EGFR |
| گُلیمومب (سیمپونی®) | بلاک‌کننده TNF-α. درمان آرتریت روماتوئید |
| کاناکینومب (ایلاریس®) | بلاک‌کننده اینترلوکین ـ ۱ بتا. درمان CAPS[۴] |
| اُستِکینومب (اِستلارا®) | بلا کننده اینترلوکین ۱۲ و ۲۳. درمان پلاک سوریازیس |

نمونه ۳ – ۹۴/۵/۱۸




**شکل ۱ ــ** انواع آنتی‌بادی‌های منوکلونال

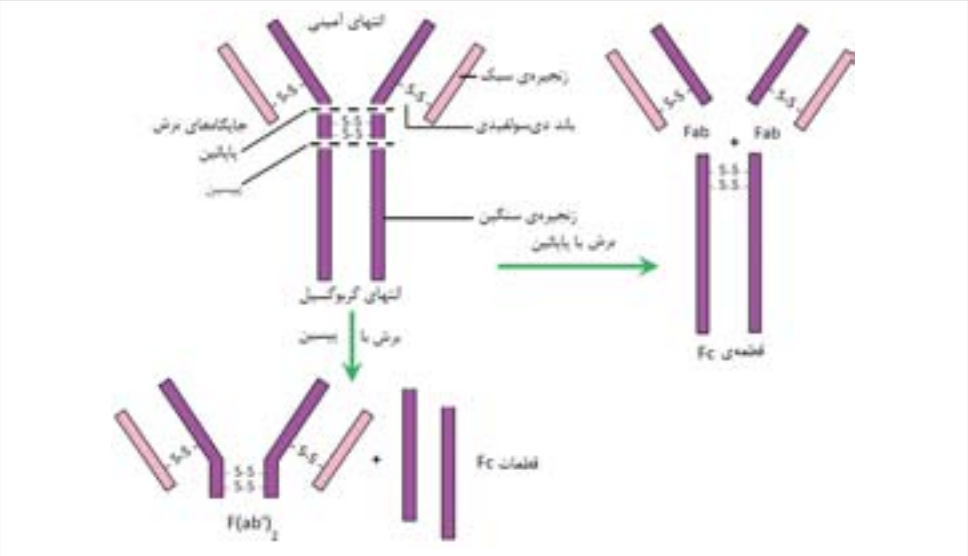
سطح خود بوده و حاوی ژن کدکننده آنتی‌بادی وارد شده در ژنوم فاژ است. پیشرفت‌های اخیر صورت گرفته با استفاده از نمایش فاژی آنتی‌بادی، اکنون این امکان را فراهم ساخته تا آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی که هر نوع آنتی‌ژن دلخواهی را می‌شناسند، تولید نماییم (۱).

آدالیمومب (هومیرا ®) از طریق نمایش فاژی حاصل شد و نخستین داروی آنتی‌بادی منوکلونال کاملا انسانی بود که در سال ۲۰۰۲ تاییدیه FDA را دریافت نمود. این دارو برای درمان مشکلات متعددی از جمله آرتریت روماتویید و پسوریاتیک، بیماری کرون، و کولیت اولسراتیو مورد استفاده قرار می‌گیرد. در جدول (۳) فهرست ترکیبات درمانی آنتی‌بادی‌های منوکلونال انسانی آورده شده است (۱).

## ■ قطعات آنتی‌بادی

قطعات آنتی‌بادی نخستین بار از هضم آنزیمی آنتی‌بادی‌های کامل به دست آمد که تولید Fc، F(ab′)2 و Fab می‌نماید (شکل ۲). تولید قطعات آنتی‌بادی‌ها بسیار پیشرفت کرده است. در برخی موقعیت‌های تشخیص و درمان، قطعات آنتی‌بادی‌ها، تحت عنوان قطعات F(ab′)2 و Fab دارای جایگاه بهتری هستند. این قطعات را می‌توان با هضم آنزیمی آنتی‌بادی‌های کامل به دست آورد و یا با استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیب، سنتز نموده و دچار مشکلات هیبریدوما و تولید آنتی‌بادی‌های کامل نشد. قطعات آنتی‌بادی‌ها را خیلی آسانتر می‌توان از لحاظ ژنتیکی دستکاری نموده و در سیستم‌های باکتریایی بیان نمود (۲).

نسبت به آنتی‌بادی‌های کامل، قطعات کوچک‌تر، بهتر و سریع‌تر به بافت نفوذ کرده، از گردش عمومی سریع‌تر کلیر شده، و با اتصال کمتر کبدی، کامل‌تر حذف می‌شوند. این مولکول‌های کوچک‌تر نسبت به آنتی‌بادی‌های کامل، تمایل دارند که به تومورهای جامد نفوذ بهتری داشته باشند. عموما دارای کلیرانس سیستمی سریع‌تری




**شکل ۲ ـ** محصولات حاصل از برش آنزیمی یک آنتی‌بادی

نسبت به آنتی‌بادی‌های منوکلونال کامل هستند. قطعات آنتی‌بادی زمانی مطلوب هستند که نفوذ سریع‌تر بافتی و کلیرانس سریع‌تر ترجیح داشته باشد، مانند عکسبرداری از تومور. قطعاتی که کاملا از توالی‌های پپتیدی انسانی هستند، اثرات ایمونوژنیک نامطلوب کمتری را در بیماران از خود نشان می‌دهند (۴).

یکی از قطعات آنتی‌بادی بسیار مفید در پزشکی، دیجیبایند® است که Fab ایمنی دیگوکسین بوده و برای درمان مسمومیت با دیگوکسین مورد استفاده قرار می‌گیرد. سایر قطعات آنتی‌بادی غیرنشاندار (غیر رادیو اکتیو) عبارتند از CroFab® (یک آنتی‌ونوم برای چهار مار آمریکای شمالی) و آفلیمومب (سگارد®) (تحت مطالعه برای استفاده در بیماران مبتلا به سپسیس شدید). امروزه قطعات آنتی‌بادی نشاندار شده (رادیو اکتیو) به کاربردهای آزمایشگاهی و یا محصولاتی که از بازار جمع شده‌اند، محدود می‌شوند. با این وجود، گمان می‌رود که قطعات آنتی‌بادی در آینده‌ای نزدیک کاربردهای قابل قبولی در پزشکی هسته‌ای پیدا خواهند کرد (۴).

آنتی‌بادی‌های منوکلونال نشاندار رادیو اکتیو اختصاصی تومور در مکان‌یابی و ارزیابی بیماری متاستاتیک موثر بوده و به عنوان شاخص‌های روند درمان قابل استفاده می‌باشند. مفهوم متمرکزسازی یک رادیونوکلئوتید سایتوتوکسیک در یک سلول سرطانی به‌خصوص جایگزینی را برای اشکال قدیمی درمان فراهم می‌سازد (۴).

نمونه ۳ – ۹۴/۵/۱۸

## ■ جمع‌بندی

مهم‌ترین مشکل در اســتفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال تولید شده اولیه که از نوع موشی بودند، پاسخ ایمنی اســت که بدن انسان علیه آنتی‌بادی منوکلونال دارویی تولید می‌کند. بنابراین، با هدف هرچه بیشــتر شــبیه شــدن آنتی‌بادی منوکلونال دارویی به آنتی‌بادی‌های انسانی، انواع کایمریک، انسانی‌شــده و انســانی تولید گردید. پیشرفت‌های حاصل در تکنولــوژی آنتی‌بادی، امیدهای تازه‌ای را در تولید این دسته از داروها ایجاد نموده است.

**زیرنویس**

**1.** Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity

**2.** variable

**3.** Complementary determining regions

**4.** Cryopyrin-associated periodic syndrome

**منابع**

**1.** Nelson AL. Dhimolea E. Reichert JM. Development trends for human monoclonal antibody therapeutics. Nature Rev Drug Discovery 2010; 9(10): 767-774.

**2.** Dalle S. Monoclonal antibodies in clinical oncology. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents) 2008; 8(5): 523-532.

**3.** Food and Drug Administration (FDA).

**4.** Bethge WA. Sandmaier BM. Targeted cancer therapy using radiolabeled monoclonal antibodies. Technol Cancer Res Treat 2005; 4(4): 393-405.