УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

В ряде клинических задач часто необходимо избирательное разрушение отдельной клетки или конкретного типа клеток. Например, первичной целью противораковой терапии является специфическое разрушение опухолевых клеток с сохранением при этом здоровых клеток и тканей интактными и неповрежденными.

Привлекательным способом решения этой задачи является индукция иммунного ответа против опухоли, чтобы заставить иммунные эффекторные клетки, такие как естественные клетки-киллеры (NK) или цитотоксические T-лимфоциты (ЦТЛ) атаковать и разрушать опухолевые клетки. ЦТЛ представляют собой наиболее мощные эффекторные клетки иммунной системы, однако они не могут быть активированы с помощью эффекторного механизма, опосредованного Fc-доменом стандартных терапевтических антител.

В связи с этим в последние годы интерес вызывают биспецифические антитела, сконструированные так, чтобы связываться с помощью одного «плеча» с поверхностным антигеном на клетках-мишенях и с помощью второго «плеча» — с активирующим инвариантным компонентом комплекса T-клеточного рецептора (TCR). Одновременное связывание такого антитела со своими обеими мишенями будет способствовать временному взаимодействию между клеткой-мишенью и T-клеткой, приводя к активации любой цитотоксической T-клетки и последующему лизису клетки-мишени. Следовательно, иммунный ответ перенаправляется на клетки-мишени и является независимым от пептидной антигенной презентации клеткой-мишенью или специфичности T-клетки, что было бы справедливо для нормальной ГКГС-ограниченной активации ЦТЛ. В этом контексте крайне важно, чтобы ЦТЛ активировались только тогда, когда клетка-мишень представляет им биспецифическое антитело, т. е. имитируется иммунологический синапс. В частности, необходимы биспецифические антитела, для которых отсутствует необходимость в прекондиционировании лимфоцитами или костимуляции с целью инициации эффективного лизиса клеток-мишеней.

CD3 был всесторонне изучен как лекарственная мишень. Моноклональные антитела, нацеленные на CD3, использовали в качестве иммуносупрессирующей терапии при аутоиммунных заболеваниях, таких как диабет I типа, или при лечении отторжения трансплантата. Антитело к CD3, муромонаб-CD3 (OKT3), было первым моноклональным антителом, одобренным для клинического применения на людях в 1985 г.

Более позднее применение антител к CD3 относится к форме биспецифических антител, с одной стороны связывающих CD3, а с другой стороны — антиген опухолевой клетки. Одновременное связывание такого антитела со своими обеими мишенями будет способствовать временному взаимодействию между клеткой-мишенью и T-клеткой, приводя к активации любой цитотоксической T-клетки и последующему лизису клетки-мишени.

FOLR1 экспрессируется на эпителиальных опухолевых клетках различного происхождения, например, при раке яичников, раке легкого, раке молочной железы, раке почки, колоректальном раке, раке эндометрия. Описано несколько подходов к нацеливанию на FOLR1 с помощью терапевтических антител, таких как фарлетузумаб, конъюгаты антител с лекарственными средствами или адоптивная Т-клеточная терапия для визуализации опухолей (Kandalaft et al., J Transl Med. 2012 Aug 3; 10:157. doi: 10.1186/1479-5876-10-157; van Dam et al., Nat Med. 2011 Sep 18;17(10):1315-9. doi: 10.1038/nm.2472; Cliftonet al., Hum Vaccin. 2011 Feb;7(2):183-90. Epub 2011 Feb 1; Kelemen et al., Int J Cancer. 2006 Jul 15;119(2):243-50; Vaitilingam et al., J Nucl Med. 2012 Jul;53(7); Teng et al., 2012 Aug;9(8):901-8. doi: 10.1517/17425247.2012.694863. Epub 2012 Jun 5. Были предприняты некоторые попытки воздействовать на опухоли, положительные относительно рецептора фолиевой кислоты, с помощью конструкций, нацеленных на рецептор фолиевой кислоты и CD3 (Kranz et al., Proc Natl Acad Sci U S A. Sep 26, 1995; 92(20): 9057–9061; Roy et al., Adv Drug Deliv Rev. 2004 Apr 29;56(8):1219-31; Huiting Cui et al Biol Chem. Aug 17, 2012; 287(34): 28206–28214; Lamers et al., Int. J. Cancer. 60(4):450 (1995); Thompson et al., MAbs. 2009 Jul-Aug;1(4):348-56. Epub 2009 Jul 19; Mezzanzanca et al., Int. J. Cancer, 41, 609–615 (1988). Однако принятые до сих пор подходы имеют много недостатков. Молекулы, использовавшиеся до сих пор, не могли быть легко и надежно получены, поскольку они требуют химического перекрестного сшивания. Аналогичным образом гибридные молекулы не могут быть получены в больших масштабах в виде человеческих белков и требуют использования крысиных, мышиных или других белков, которые обладают высокой иммуногенностью при введении людям и, таким образом, имеют ограниченную терапевтическую ценность. Кроме того, многие из существующих молекул сохранили связывание с FcgR.

Совсем недавно в WO 2016/079076 описаны биспецифические антигенсвязывающие молекулы, активирующие Т-клетки, нацеленные на CD3 и FolR1.

В терапевтических целях важным требованием, которому должны удовлетворять антитела, является достаточная стабильность как in vitro (для хранения лекарственного средства), так и in vivo (после введения пациенту).

Такие модификации, как дезамидирование аспарагина, являются типичными вариантами деградации для рекомбинантных антител и могут влиять как на in vitro стабильность, так и на in vivo биологические функции.

Учитывая огромный терапевтический потенциал антител, особенно биспецифических антител для активации Т-клеток, существует потребность в биспецифических антителах CD3/FolR1 с оптимизированными свойствами.