

Modifikované receptorové molekuly jako léčiva

© doc. PharmDr. Oldřich Farsa, Ph.D., 2020

Názvosloví receptorových molekul nebo membránových ligandů, nativních nebo modifikovaných, dle WHO

- Společná koncovka **-cept**
 - před ní se vkládá:
 - **-ba-** pro receptory faktoru aktivujícího B-buňky
 - **-ber-** pro receptory VEGF (vaskulárního endoteliálního růstového faktoru)
 - **-co-** pro receptory komplementu
 - **-far-** pro skupinu receptorů interferonů
 - **-fri-** pro rodinu tzv. *frizzled* receptorů
 - **-ki-** pro interleukinové receptory
 - **-lefa-** pro receptory CD58 (=s funkcí lymfocytu asociovaný antigen 3, LFA3)
 - **-na-** pro receptory interleukinu 1
 - **-ner-** pro receptory TNF (tumor necrosis faktoru)
 - **-ta-** pro receptory CTLA4 (cytotoxického T-lymfocytového antigenu 4)
 - **-taci-** pro receptory transmembránového aktivátoru a kalciového modulátoru a interaktoru cyklofilinového ligandu
 - **-ter-** pro receptory TGF (transformačního růstového faktoru)
 - **-vir-** pro antivirové receptory

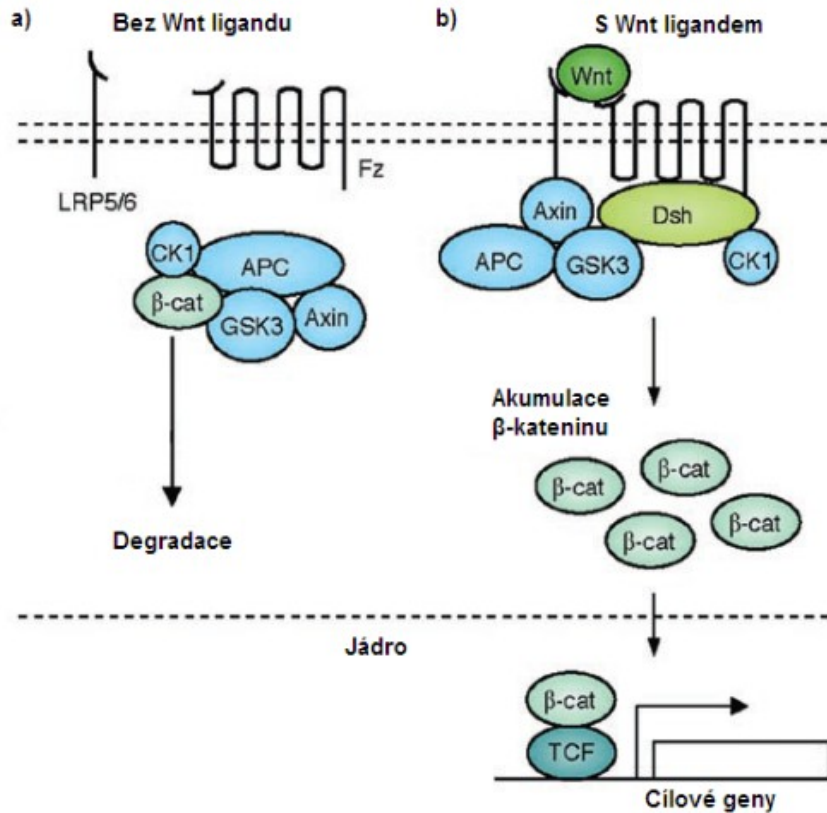
Modifikované molekuly *frizzled* receptorů

ipafricept

syn. OMP 54F28

- fúzní protein složený z extracelulární domény humánního FZD8 (frizzled family receptor 8, frizzled-8), bohaté na Cys, a F_c fragmentu humánního IgG₁
- M.Ú.: soutěží s nativním FZD8 receptorem o jeho ligandy ⇒ antagonizuje Wnt signální dráhu
 - Wnt [wint] signální dráha
 - významná role v určení osudu buňky, buněčné proliferaci a migraci
 - abnormální signalizace Wnt dráhou souvisí s vývojem a progresí mnoha nádorů umožněním jejich zvýšené progresi, angiogeneze, přežívání a metastazování
 - aktivace Wnt dráhy přispívá též k tumorigenitě nádorových kmenových buněk (CSCs)
- předklinické studie ukázaly snížení růstu nádorů i výskytu CSCs
- aplikace *i.v.*
- klinické studie na
 - hepatocelulární karcinom (fáze 1, eskalace dávky)
 - rekurentní na platinu citlivý nádor vaječníku (+ karboplatina, fáze 1)
 - nádor slinivky ve 4. stadiu (+paklitaxel + gemcitabin, fáze 1, eskalace dávky)
 - eskalace dávky u pacientů s nádory vycházejícími z pevné tkáně

Wnt signální dráha



Obrázek 1: a) Kanonická Wnt signalizace bez přítomnosti Wnt ligandu b) Kanonická Wnt signalizace po navázání Wnt ligandu (Komiya a Habas, 2008; upraveno)

- Wnt - zkratka z Wingless/Int-1
- na vnější straně membrány se na receptor FZD (spřažený s G-proteinem) naváže signální glykoprotein z Wnt rodiny (např. Wnt1, Wnt2).
- na vnitřní straně membrány je tímto receptorem aktivován nějaký prostředník (např. Dishevelled = Dsh), který následně inhibuje komplex tří proteinů GSK3/axin/APC.
- když jsou tyto proteiny inhibovány, β -katenin jimi přestane být fosforylován a začne se akumulovat v cytoplasmě v nefosforylované formě
- \Rightarrow β -katenin do jádra; po kombinaci s transkripčními faktory z TCF/LEF rodiny ovlivňuje transkripci genů
- „normální“ role Wnt kaskády v embryonálním vývoji: buněčná proliferace, gastrulace, embryonální vývoj mozku, končetin...

Modifikované molekuly interleukinových receptorů (kromě IL-1)

inbakicept

syn. ALT-803, N 803

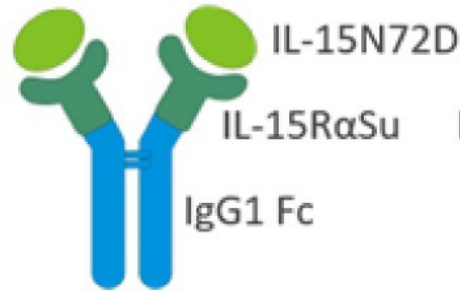
- „superagonista“ IL-15: aktivita *in vitro* 25x vyšší
- fúzní protein α -řetězce IL-15 receptoru (=fragmentu obsahujícího “suši“ domény) s F_c fragmentem humánního IgG₁, dimer
 - = sekvence 1-65 α -řetězce IL-15 receptoru + [232 C-terminálních reziduí (66 - 297) + spojka (71-80) + úsek 81-190 konstantní domény 2 těžkého řetězce (CH2) + 191 domény 3 těžkého řetězce (CH3)] IgG₁, dimer
- C₂₉₈₀H₄₆₂₄N₈₀₀O₈₉₄S₂₈ (jen aglykon)
- antineoplastikum
- M.Ú.: aktivace NK a T buněk
 - stimuluje CD8+ buňky ke zvýšené produkci IFN- γ a podporuje rychlou expanzi CD8+ a CD44^{high} paměťových T-buněk *in vivo*
- *i.v.*, *s.c.*, *i.p.* podání
- klinické studie
 - snížení perzistence HIV viru v lymfatických uzlinách = „vyprazdňování HIV rezervoáru v uzlinách“ (2. fáze)
 - IL-15 reaktivuje produkci HIV v latentně infikovaných buňkách, čímž se virus stává citlivý na antiretrovirotika; samotný IL-15 nelze použít kvůli rychlé plazmatické clearance a nutnosti vysoké dávky; inbakicept jako vhodnější náhrada

- pokusy na primátech (makak) ale naznačují, že není schopen rozrušit rezervoár v paměťových CD4+ T-buňkách
 - farmakokinetika po s.c. podání (1. fáze)
 - příprava NK buněk od dárce pro použití při léčbě akutní myeloidní leukemie (2. fáze)
 - relapsující nebo refrakterní mnohočetný myelom (1. fáze)
- ...

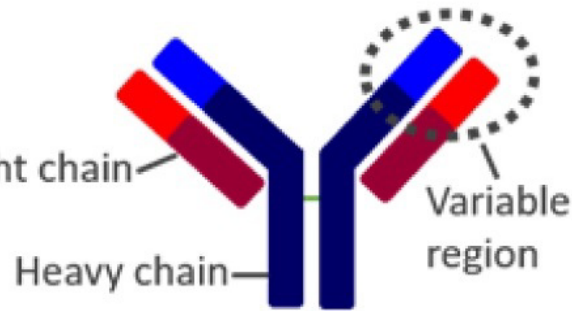
=inbakicept

Vývoj bioléciv souvisejících s IL-15

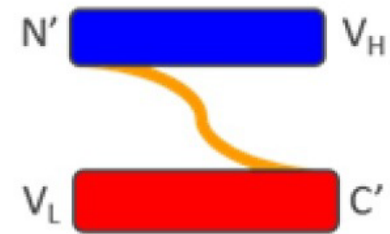
A. N-803



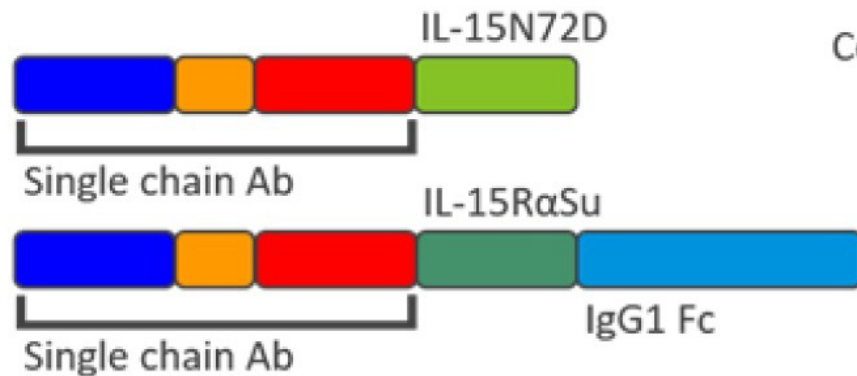
B. Rituximab



C. Single chain antibody binding domain construct



D. Fusion protein constructs



Co-expression
in CHO



E. N-820

Modifikované receptory TNF

etanercept

- fúzní protein sekvence 1-235 humánního p75 TNF receptoru s úsekem 236-467 lidského IgG_γ (= F_c fragment)
- 934 AK
- M_r aglykonu 51166,82, celková cca 150 000
- příprava rekombinantní na kulturách ovarií křečička čínského
- rozpustný
- MÚ: váže se na TNF, inhibuje jeho navázání na endogenní TNF receptory ⇒ potlačen prozánětlivý efekt

Enbrel ®, Benepali ®, Erelzi ®, Nepexto ® - 25 nebo 50 mg, s.c. podání, předplněné inj. stříkačky nebo pera

- Indikace (kombinace s methotrexatem, popř. samostatně):
 - reumatoidní artritida
 - polyartikulární juvenilní artritida (děti nad 2 roky)
 - psoriatická artritida
 - ankylozující spondylitida
 - ložisková psoriáza u pacientů nad 4 roky

Modifikované receptory CTLA4

abatacept

Orencia[®] prášek pro koncentrát pro infuzní roztok

- fúzní protein vytvořený rekombinantní DNA technologií skládající se z extracelulární domény humánního cytotoxického T-lymfocytového antigenu 4 (CTLA-4) navázaného na modifikovanou F_c část humánního IgG1
- MÚ: selektivně blokuje klíčový kostimulační signál potřebný pro plnou aktivaci T lymfocytů exprimujících CD28; plná aktivace T-lymfocytů vyžaduje dva signály předané buňkami, které jsou nositeli antigenu (APC = antigen presenting cell): rozpoznání specifického antigenu receptorem T buněk (signál 1) a druhý, kostimulační signál
 - hlavní kostimulační dráha zahrnuje navázání molekul CD80 a CD86, přítomných na povrchu APC, na receptor CD28 na T-lymfocytech (signál 2)
 - abatacept selektivně inhibuje tuto kostimulační dráhu specifickým navázáním na CD80 a CD86.

- indikace: v kombinaci s methotrexatem
 - reumatoidní artritida u pacientů, kde selhala léčba TNF inhibítorem
 - psoriatická artritida
 - polyartikulární juvenilní idiopatické artritida

belatacept

Nulojix ® 250 mg prášek pro koncentrát na infuzní roztok

- solubilní fúzní protein tvořený modifikovanou extracelulární doménou lidského cytotoxického T-lymfocytárního antigenu 4 (CTLA-4) napojeného na část Fc domény lidského imunoglobulinu IgG₁ (hinge-CH2-CH3 domény)
- Příprava rekombinantní na kulturách ovarií křečička čínského
- M.Ú.: váže se na CD80 a CD86 na antigen-prezentujících buňkách ⇒ blokuje CD28 zprostředkovanou kostimulaci T-lymfocytů inhibicí jejich aktivace
 - aktivované T-lymfocyty jsou hlavním mediátorem imunologické odpovědi na transplantovanou ledvinu
 - belatacept se váže na CD80 a CD86 intenzivněji než mateřská molekula CTLA4-Ig, z níž byl odvozen
 - tato zvýšená avidita poskytuje úroveň imunosuprese, která je nutná k prevenci imunitně zprostředkovaného selhání štěpu a jeho dysfunkce
- Indikace:
 - profylaxe rejekce štěpu u dospělých příjemců transplantované ledviny (+ kys. mykofenolová + kortikoid)

Modifikované receptory interleukinu 1

rilonacept

Arcalyst[®] prášek pro s.c. injekce

- dimerní fúzní protein sestávající z ligand vážící domény extracelulárních částí komponenty humánního receptoru pro interleukin-1 (IL-1RI) a přídatného proteinu interleukinu 1 (IL1-RacP) připojené na F_c fragment humánního IgG₁
- sumární vzorec aglykonu C₉₀₃₀H₁₃₉₃₂N₂₄₀₀O₂₆₇₀S₇₄
- Mr cca 251 000
- rekombinantní technika na kulturách ovarií křeččíka čínského
- M.Ú.: rilonacept blokuje signální cestu IL-1β tím, že působí jako rozpustný *decoy* receptor a zabraňuje jeho interakci s receptory na povrchu buňky
- se sníženou afinitou váže též antagonistu receptorů IL-1α a IL-1.
- Indikace: léčba **periodického syndromu asociovaného s kryopyrinem (CAPS)** včetně familiárního autozánětlivého syndromu nachlazení (Familial Cold Autoinflammatory Syndrome – FACS) a Muckle-Wellsova syndromu (MWS) u dospělých a dětí nad 12 let
 - CAPS je genetické onemocnění obecně způsobené mutacemi genu NLRP-3 (= *Nucleotide-binding domain, leucine rich family (NLR), pyrin domain containing 3* genu)
 - vzácné onemocnění ⇒ orphan drug

Modifikované receptory VEGF

aflibercept

Eylea ® *intravitreální injekce; předplněná inj. stříkačka*

- antiangiogenní aktivita
- homodimerní fúzní protein složený z druhé Ig domény VEGFR1 a třetí Ig domény VEGFR2, navázaných na F_c oblast IgG₁
- původně předpokládané antineoplastikum
 - váže všechny izoformy VEGF-A a též placentární růstový faktor (PlGF) s vyšší afinitou než jejich přirozené receptory
- indikace:
 - neovaskulární (vlhká) na věkem podmíněná makulární degenerace
 - poruchy zraku
 - způsobené makulárním edémem v důsledku okluze retinální žíly
 - v důsledku diabetického makulárního edému (DME)
 - v důsledku myopické chorioidální neovaskularizace (myopická CNV)

Modifikované receptory TGF

sotatercept

syn. ACE-011

CAS 1001080-50-7

- dimerní fúzní protein složený z extracelulární domény humánního aktivinového receptoru typu II A (ActRIIA) připojeného na F_c fragment humánního IgG₁
- látka podporující maturaci erythrocytů vyvinutá jako léčivo anémie a jako kostní anabolikum užívané při úbytku kostní hmoty způsobeném nádorem
- M.Ú.:
 - „ligandová past“ inhibující „negativní regulátory“ pozdní fáze erythropoezy
 - neutralizuje ligandy superrodiny TGF-β, např. aktiviny A a B, a růstové diferenciační faktory (GDFs) včetně GDF11
- klinické studie
 - 2. fáze na anémii při selhání ledvin
 - 2. a 3. fáze na pulmonární arteriální hypertenzi
 - 2. fáze na myelodysplastický syndrom a chronickou myelomonocytickou leukémií
 - 2. fáze na Diamondovu-Blackfanovu anémii
 - 2. fáze na β-talasémii
 - 2. fáze na anémii vyvolanou chemoterapií při léčbě nemalobuněčného plicního karcinomu
 - ...

Iuspatercept
syn. ACE-536
CAS 1373715-00-4
Reblozyl® *prášek pro injekční roztok*

- rozpustný rekombinantní fúzní protein složený z modifikované formy extracelulární domény humánního aktivinového receptoru typu II B (ActRIIB) připojeného na F_c fragment humánního

IgG_{1γ}

- sumární vzorec aglykonu C₃₃₅₀H₅₀₇₀N₉₀₆O₁₀₄₄S₃₈
- celkem 332 AK
- produkce na kulturách buněk ovarií křečička čínského
- M.Ú.:
 - neutralizuje ligandy superrodiny TGF-β, např. aktiviny A a B
 - inhibuje signalizaci Smad2/3, což vede k maturaci erytroidních buněk prostřednictvím diferenciací erytroidních prekurzorů v pozdním stadiu (normoblastů) v kostní dřeni.
 - signalizace Smad2/3 je abnormálně vysoká v modelech onemocnění charakterizovaných neúčinnou erytropoézou, tj. MDS a β-talasemie, a v kostní dřeni pacientů s MDS
- podání s.c.

- indikace:
 - anémie v důsledku β -talasémie
 - anémie závislá na transfúzích, vzniklá v důsledku myelodysplastického syndromu, s prstenčitými sideroblasty, není-li dostatečná odpověď na léčbu epoetinem

Modifikované receptory transmembránového aktivátoru a kalciového modulátoru a interaktoru cyklofilinového ligandu

atacicept

syn. TACI-Fc5

- rozpustný fúzní protein extracelulární domény humánního transmembránového aktivátoru a CAML (= calcium modulating cyclophilin ligand) interaktoru (= TACI) a F_c fragmentu IgG₁
- funguje jako antagonistu stimulatoru B lymfocytů a ligand indukující proliferaci
- stimulator B-lymfocytů (BLys = B-buňky aktivující faktor, BAFF) a proliferaci indukující ligand (APRIL) jsou členy rodiny TNF a důležité regulátory maturace, přežívání a funkce B-lymfocytů
- existují jako homotrimery nebo heterotrimery (Blys + APRIL)
- trimery se váží mj. na TACI ⇒ aktivace specifických s TNF-receptorem asociovaných faktorů (TRAFs) regulujících přenos signálu v B-buňkách ⇒ indukce NF-κB-signalizační cesty (regulace imunity, zánětlivých procesů) a ↑ nebo ↓ proteinů rodiny Bcl-2 (apoptosa, proliferace, přežívání, interakce buňka-buňka)

- klinické studie na
 - optickou neuritidu – fáze 2
 - lupus nephritis – fáze 1, 2, 3
 - lupus erythematoses – fáze 2 a 3
 - IgA neuropatie
 - reumatoidní artritidu – fáze 2
 - relapsující roztroušenou sklerózu – fáze 2