


Bartłomiej Żerek<sup>1</sup>, Wojciech Straś<sup>2</sup>, Piotr Różga<sup>1</sup>, Elżbieta Pękala<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Departament Innowacji Adamed Pharma w Warszawie

<sup>2</sup>Obszar Operacji Komercyjnych Adamed Pharma w Warszawie

<sup>3</sup>Zakład Biochemii, Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

# Ewolucja leków biologicznych w kontekście terapii onkologicznej

The evolution of biologics in the context of oncological therapy

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Żerek B, Straś W, Różga P, Pękala E. The evolution of biologics in the context of oncological therapy. *Oncol Clin Pract* 2020; 16: 14–21. DOI: 10.5603/OCP.2020.0001.

Należy cytować wersję pierwotną.

Adres do korespondencji:

Mgr Bartłomiej Żerek

Departament Innowacji Adamed Pharma

Warszawa

e-mail: bartlomiej.zerek@adamed.com

## STRESZCZENIE

Postęp w obszarze farmacji, związany ściśle z wzajemną stymulacją nauk przyrodniczych oraz nowoczesnych technologii towarzyszących badaczom, w ciągu ostatnich kilku dziesięcioleci przebiegał tak szybko, że zaczął rodzić problemy na poziomie definiowania oraz klasyfikacji. Zjawisko to w dużym stopniu dotyczy również pojęcia leków biologicznych bądź — szerzej (w polskiej terminologii) — biofarmaceutyków. Pierwsze skojarzenia z powyższymi terminami kierują się ku białkom rekombinowanym, jak insuliny stosowane w terapii cukrzycy lub przeciwciała monoklonalne o szerokim, pod względem obszarów terapeutycznych, zastosowaniu. W powszechnym przekonaniu powyższej kategorii leków nie kojarzy się z substancjami odkrytymi na długo przed odkryciem kwasów nukleinowych, a tym bardziej przed wynalezieniem zwykłej żarówki. Co ważne, konotacja terminu biofarmaceutyki na naszych oczach ulega bardzo gwałtownej przebudowie, a zbiór desygnatów poszerza się o coraz to nowsze, nieznane wcześniej typy terapii. Postęp technologiczny stanowi jeden z motorów napędowych tych zmian. Drugim są niezaspokojone potrzeby medyczne, m.in. w obszarze onkologii.

**Słowa kluczowe:** leki biologiczne, biofarmaceutyki, białka rekombinowane, przeciwciała monoklonalne, CAR-T, terapia genowa

## ABSTRACT

Progress in the field of pharmacy, closely related with the mutual stimulation of natural sciences and new technologies available to researchers, has been so rapid over the last few decades that it began to cause problems at the level of definitions and classifications. This phenomenon refers also to the term of biologics or, more widely, to biopharmaceuticals (in Polish terminology). The first associations with the above terms lead our thoughts to recombinant proteins, such as insulin used in the treatment of diabetes or monoclonal antibodies with wide, in terms of therapeutic areas, applications. In an unjustified belief, the above category of drugs is not associated with preparations invented long before the discovery of nucleic acids, let alone before the invention of an ordinary bulb. Importantly, the connotation of the term biopharmaceuticals is undergoing a very rapid reconstruction under our eyes and the set of referents is expanding with newer, previously unknown types of therapies. Technological progress is one of the driving forces behind these changes. The other refers to aspirations to address unmet medical needs, including in the area oncology.

**Key words:** biologics, biopharmaceuticals, recombinant proteins, monoclonal antibodies, CAR-T, gene therapy

## Krótką historia biofarmaceutyków

W ujęciu najszerszym historia biofarmaceutyków (*biologics, biopharmaceuticals*), choć przez długie lata nieuchwyconych i niezaklasyfikowanych w ramach medycyny, zaczyna się już w drugiej połowie XVIII wieku. Jej początek jest tożsamy ze śmiałymi dokonaniem Edwarda Jennera, angielskiego lekarza, który uwierzył niedocenionej mądrości ludowej, według której przebycie krowianki (wirusowa choroba zakaźna bydła domowego i świń) dawało odporność na ospę prawdziwą. Jenner wykorzystał materiał pochodzący od zakażonych zwierzęcą odmianą ospy do opracowania pierwszej skutecznej szczepionki przeciwko zbierającej śmiertelne żniwo ospie prawdziwej [1]. Istnieją wprawdzie doniesienia wskazujące na to, że pierwsze szczepienia 22 lata przed Jennerem wykonał farmer o nazwisku Jesty, jednak to Jenner, dzięki swemu zacięciu w odniesieniu do popularyzacji odkrycia i podejściu opartemu na metodzie naukowej, został uznany w powszechnej świadomości za wynalazcę i prekursora stosowania produktów pochodzenia biologicznego [2].

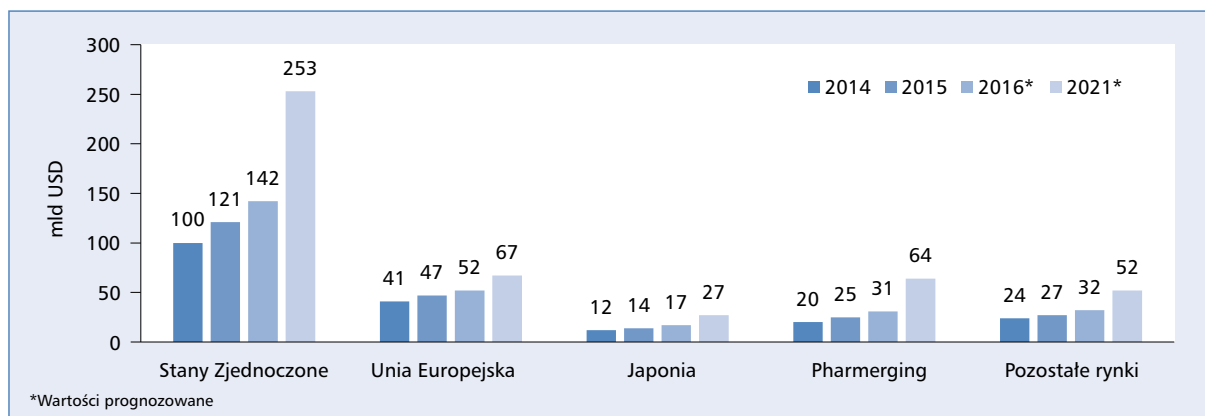
Kolejny wielki przełom nastąpił w latach 40. ubiegłego wieku, kiedy to rozwój technologii napędzała ogarniająca świat wojna. Potrzeby frontu i konieczność zdobycia na nim przewagi pociągały za sobą olbrzymie inwestycje, między innymi w badania bazujące na obserwacjach Aleksandra Fleminga. Mimo że bakteriobójczą pleśń odkrył on już w roku 1928, zainteresowanie jego pracami ze strony najpierw Ernsta Chaina i Howarda Floreya, a później również angielskiego biochemika Normana Heatleya przypadło na koniec lat 30. XX wieku [3]. Po zaprezentowaniu wyników badań zespołu stworzonego przez tych naukowców na Uniwersytecie Oksfordzkim penicyliną zaczęły się interesować amerykańskie firmy farmaceutyczne. Jednak po wewnętrznej ewaluacji żadna z nich nie podjęła się kontynuacji badań nad tym zagadnieniem. Dopiero zainteresowanie ze strony amerykańskiego Zarządu Produkcji Wojennej (*War Production Board*) zmieniło bieg historii. Podpisano kontrakty o wzajemnej wymianie informacji między firmami Merck, Squibb, Pfizer, Midwest, Abbott Laboratories, Upjohn i Parke-Davis. Metodę produkcji w bankach na mleko zastąpiono wielkoskalowym procesem wytwarzania opartym na wysokowydajnym, wyselkcyjowanym w procesie rozwoju szczepie grzyba. Do końca 1944 roku penicylina dowiodła swojej użyteczności w zastosowaniu militarnym, a w marcu 1945 roku trafiła na rynki krajowe i zagraniczne [4].

Początek gwałtownego rozwoju terapii biologicznych związany jest jednak z zupełnie innym niż choroby zakaźne obszarem terapeutycznym. Dotyczy bowiem zastosowania insuliny w terapii cukrzycy. Intuicja naukowa podpowiadała badaczom istnienie insuliny już od drugiej połowy XIX wieku, gdy Paul Langerhans scharakteryzował grupę komórek trzustki o strukturze wyróżniającej się względem pozostałych komórek. Grupę tę w hołdzie

ich odkrywcy francuski patolog Gustaw Laguesse nazwał później wyspami Langerhansa [5]. Następnie angielski fizjolog Edward Albert Sharpey-Schafer zaobserwował, że produkują one substancję zdolną obniżyć stężenie glukozy we krwi. Konsekwentnie, według klucza rodzącej się terminologii, skorzystał z nazwy użytej w 1909 roku przez Jeana de Meyera i wprowadził do medycyny pojęcie insuliny (*łac. insula* — wyspa). Znaczenie medyczne i komercyjne nowo odkryta cząsteczka zaczęła jednak zyskiwać dopiero dzięki pracom naukowców z Toronto: Fredericka Bantinga, Charlesa Besta i Jamesa Collipa, którzy opracowali opartą na zoptymalizowanych stężeniach alkoholu metodę ekstrakcji insuliny z trzustek zwierząt. Jeszcze przed ukończeniem prób klinicznych zakłady Eli Lilly zaczęły produkować białko, by w roku 1922 wprowadzić nowatorską terapię na rynek farmaceutyczny i zrewolucjonizować podejście do leczenia cukrzycy. W kolejnych dziesięcioleciach insulinę udało się zsekwencjonować oraz zsyntetyzować, co w połączeniu z odkryciami przypisywanymi Watsonowi i Crickowi, spowodowało kolejną rewolucję z końcem lat 70. minionego stulecia. W roku 1978 mająca swoje korzenie w Kalifornii firma Genentech, pionier w dziedzinie biotechnologii farmaceutycznej, we współpracy z *City of Hope National Medical Center* opracowała pierwszą insulinę, posługując się technologią rekombinacji DNA. Dzięki temu już w roku 1982 wspomniana Eli Lilly, jako nabywca licencji, wdrożyła pierwszy rekombinowany lek o nazwie Humulin, produkowany w bakteryjnym systemie ekspresyjnym, otwierając nową erę w rozwoju farmacji [6].

## Era rekombinacji DNA

Niemal zaraz po insulinie do obrotu wprowadzono rekombinowany ludzki hormon wzrostu (Protropin; 1985) oraz warianty interferonu alfa (Roferon A, Intron A; 1986). Rozpoczęto również produkcję rekombinowanych szczepionek (Recombivax; 1985). Lata 80. i 90. ubiegłego wieku były epoką tzw. biofarmaceutyków I generacji — białek rekombinowanych o strukturze identycznej z natywnymi białkami ludzkimi, głównie hormonów, cytokin, enzymów, czynników wzrostu i czynników krzepnięcia krwi. W drugiej połowie lat 90., nie licząc kilku wcześniejszych przypadków, na rynek zaczęły trafiać tzw. biofarmaceutyki II generacji, czyli cząsteczki o zmodyfikowanej sekwencji, zamienionych resztach cukrowych, molekuły zmodyfikowane powierzchniowo poprzez kowalencyjne połączenie z glikolem polietylenowym oraz tzw. białka fuzyjne, będące połączeniem dwóch lub większej liczby sekwencji. Cele powyższych działań obejmowały poprawę efektywności, zmniejszenie liczby działań niepożądanych oraz osiągnięcie lepszych parametrów farmakokinetycznych. Przykładowe molekuły to szybko działające (Humalog; 1996) i długodziałające (Lantus; 2000) odmiany insuliny i pegylowane



Rycina 1. Wartość rynku leków biologicznych w poszczególnych regionach. Na podstawie [9]

interferony alfa (Peg-Intron; 2000 i Pegasys; 2002). Przykładami jeszcze bardziej skomplikowanych technologicznie rozwiązań są etanercept, czyli fuzja fragmentu krystalizowalnego (*Fc, fragment crystallizable*) przeciwciała (immunoglobuliny) IgG1 z fragmentami receptora czynnika martwicy nowotworów (TNF, *tumor necrosis factor*) (Enbrel; 1998) oraz fuzja toksyny błoniczej z interleukiną 2 (IL-2) (Ontak; 1999) [7].

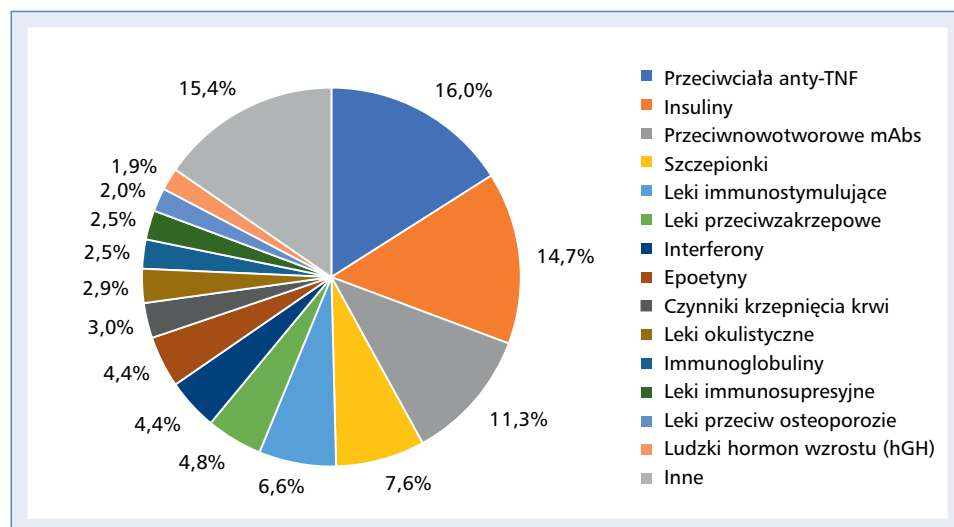
Początkowo do wytwarzania biofarmaceutyków opartych na technologiach rekombinacji DNA wykorzystywano prokariotyczne systemy ekspresyjne bazujące głównie na szczepach *E. coli*. Pozwalały one na otrzymanie — przy stosunkowo niewysokich kosztach — tzw. hodowli wysokogęstych, z których po dezintegracji komórek bakteryjnych, najczęściej posługując się technikami chromatograficznymi, oczyszczano docelowe białka terapeutyczne. Mimo że system *E. coli* do dziś jest z powodzeniem wykorzystywany do produkcji wielu cząsteczek, na przestrzeni lat, wraz ze wzrostem złożoności struktury leków (masa cząsteczkowa, modyfikacje potranslacyjne, złożone fuzje) i próbami eliminacji problemu immunogenności, zaczęto sięgać po bardziej wymagające metody w formie eukariotycznych systemów ekspresyjnych. Były nimi szczepy *S. cerevisiae* (np. lutropina — Luveris), linie komórkowe BHK, czyli *Baby Hamster Kidney* (np. czynnik VIII krzepnięcia krwi — Kogenate), a przede wszystkim mające największe znaczenie dla rozwoju metod wytwarzania przeciwciał [nieliczne przykłady cząsteczek przeciwciał monoklonalnych oparte są na systemie *hybrydoma*] linie komórkowe jajnika chomika chińskiego (CHO, *Chinese Hamster Ovary*).

W ten sposób postęp w obszarze biologii molekularnej i biotechnologii wygenerował do roku 2015 ponad 200 leków biologicznych. Ich sprzedaż osiągnęła w 2015 roku niewiarygodną wartość 196 mld USD, co stanowiło 29% rynku wszystkich leków. Kwota ta przerosła szacunki analityków rynku — w raporcie *Global Protein Therapeutics Market Forecast to 2015*, opublikowanym

w 2012 roku przez RNCOS, szacowano, że rynek biofarmaceutyków osiągnie w 2015 roku wartość 143 mld USD [8]. Szacunki *Kelly Scientific Research* z roku 2015 wskazują na dalsze wzrosty — w 2021 roku wartość rynku leków biologicznych ma osiągnąć 463 mld USD i stanowić 32% rynku leków (ryc. 1) [9]. Co znamienne, z końcem 2015 roku w fazie rozwoju znajdowało się ponad 900 nowych biofarmaceutyków w formie cząsteczek białkowych i przeciwciał, terapii komórkowych (*cellular therapy*), terapii genowych i antysensowych. Ponad 5000 kolejnych projektów było w tym czasie przedmiotem wczesnych ewaluacji laboratoryjnych. Nie da się podważyć faktu, że omawiana dziedzina ciągle bardzo dynamicznie się rozwija. Leki biologiczne jednak już dziś znalazły zastosowanie w wielu obszarach terapeutycznych i pojedynczych wskazaniach, m.in. w cukrzycy, neutropenii, trombocytopenii, niedokrwistości, zapaleniu wątroby, niedoborze wzrostu, zawale i niewydolności serca, udarach mózgu oraz wielu schorzeniach autoimmunologicznych. Rośnie także ich zastosowanie w leczeniu nowotworów (ryc. 2).

### Definicja biofarmaceutyków oraz korzyści i problemy związane z ich stosowaniem

Według *Food and Drug Administration* (FDA) biofarmaceutyki (*biologics, biopharmaceuticals, biological medical products*) to produkty wytwarzane przez żywe organizmy i z nich izolowane. Mogą one być pochodzenia naturalnego (organizm ludzki, zwierzęcy lub mikroorganizm) bądź wytwarzane z zastosowaniem metod biotechnologicznych. Zaliczamy do nich: szczepionki, komponenty krwi, tkanki, komórki, terapie genowe i białka terapeutyczne (w tym przeciwciała). Struktura biofarmaceutyków może się opierać na białkach i peptydach, cukrach, kwasach nukleinowych, ich kompleksach lub kombinacjach. Mogą one również stanowić



Rycina 2. Struktura rynku leków biologicznych w podziale na obszary terapeutyczne. Na podstawie [10]

żywe struktury, jak tkanki i komórki. Dzięki rozwojowi technologii wytwarzania cząsteczek rekombinowanych w okresie ostatnich 30 lat definicja leków biologicznych zakresowo została sprowadzona właściwie do terapeutycznych białek rekombinowanych i przeciwciał monoklonalnych. Z punktu widzenia zarówno systemu, jak i lekarza oraz pacjenta nie są to rozwiązania wolne od wad. Skomplikowany proces wytwarzania wpływa na koszty rozwoju leków, jak również samego leczenia. Zgodnie z danymi *Kelly Scientific Research* w 2015 roku średni koszt leczenia pacjenta lekami biologicznymi był 20–55 razy wyższy niż koszt leczenia opartego na tzw. terapii konwencjonalnej (małe cząsteczki chemiczne) [9]. Dodatkowo, biofarmaceutyki, ze względu na to, że ich stabilność jest niższa niż cechująca leki konwencjonalne, z reguły wymagają przestrzegania bardziej rygorystycznych procedur przechowywania oraz przygotowania do podania choremu. Częściej występuje konieczność hospitalizacji i obserwacji. Ich sukces rynkowy nie jest jednak bezpodstawny. W wielu przypadkach, z zasady wówczas, gdy cel molekularny leku stanowi strukturę niewymagającą penetracji przez błonę komórkową (najczęściej receptor powierzchniowy lub jego rozpuszczalny ligand), leki biologiczne są najlepszym narzędziem osiągnięcia tego celu, przy wyeliminowaniu niespecyficznego interakcji mogących powodować liczne efekty niepożądane. Są to z założenia leki celowane. Ponadto, ze względu na swoją naturalną strukturę, mimo dłuższego — z reguły korzystnego — okresu półtrwania związanego z masą cząsteczkową, są degradowane i eliminowane z organizmu bez ryzyka kumulacji i wieloletniego odkładania się w tkankach organizmu. Nie penetrują również prawidłowej bariery krew–mózg. Najnowsza wiedza naukowa i technologia umożliwiająca dokonywanie manipulacji resztami cukrowymi w procesie wytwarzania pozwalają

natomiast rozwijać cząsteczki obarczone w znacznie niższym stopniu problemem immunogenności.

### Cytokiny i immunotoksyny

Pierwszymi biofarmaceutykami stosowanymi w onkologii były, wspomniane wcześniej, rekombinowane warianty interferonów alfa. Roferon A i Intron A wykorzystywano w terapii niektórych białaczek, chłoniaków, mięsaków, czerniaków, jak również nowotworów nerki. Do końca lat 90. XX wieku to właśnie interferony wraz z erytropoetynami stanowiły największą część rynku leków rekombinowanych. Niemniej z biegiem lat, w miarę udoskonalania istniejących i wprowadzania nowych terapii, szczególnie w krajach wysoko uprzemysłowionych, utrzymanie tej dominacji nie było możliwe. Jako że interferony stanowią grupę białek z rodziny cytokin zaangażowanych w wiele procesów powiązanych z aktywacją elementów układu immunologicznego, ich stosowanie wiąże się z nieprzeciętną liczbą bardzo uciążliwych dla chorego efektów niepożądanych. Tym samym, mimo dużej dynamiki całego rynku i tego, że wartość rynku samych interferonów rosła (5,7 mld USD w 2002 r.; 8,6 mld USD w 2009 r.), ich udział w rynku leków biologicznych ogółem systematycznie spada: w 2002 roku było to ponad 17% [11], w 2009 roku już tylko 7% [8], a w 2015 roku niecałe 5% [10]. W kalkulacjach tych należy uwzględnić dodatkowo fakt, że dotyczą one wszystkich interferonów (w tym beta i gamma), oraz to, że ponad połowa sprzedaży interferonów alfa wiąże się z leczeniem zakażeń wirusowych [głównie zapalenia wątroby i zespołu nabytego niedoboru odporności (*AIDS, acquired immunodeficiency syndrome*)]. Pod kątem tych wskazań rozwijane były kolejne generacje

interferonów alfa, jak PegIntron i Pegasys (pegylowane formy interferonów alfa).

Innym z kolei, rozwiniętym w latach 90. minionego stulecia, zarejestrowanym po raz pierwszy w 1992 roku, przykładem cytokin wykorzystywanych w terapii onkologicznej jest interleukina 2. Molekuła o nazwie aldesleukina znalazła zastosowanie w leczeniu przerzutowego raka nerki i czerniaka [12]. Rekombinowana IL-2 weszła również w skład struktury produktu o nazwie Ontak (denileukin diftix), stanowiącego rekombinowaną fuzję cytokiny z domeną toksyny błoniczej, zarejestrowaną przez FDA w 1999 roku w leczeniu pierwotnych chłoniaków skórnych [13]. Ten sam produkt w 2014 roku został przez FDA wycofany.

W kontekście prób realizacji koncepcji jak najbliższej ideału terapii celowanej, na fali osiągnięć w obszarze tzw. małych cząsteczek i opracowania Gleevecu, kolejne przedsięwzięcia badawcze rzadziej kierowane były w stronę immunoterapii nieswoistej. Z perspektywy badacza dnia dzisiejszego było to podejście stosunkowo brutalne. Kolejne programy wymagały zarówno zupełnie innych celów molekularnych, jak i sposobów ich osiągnięcia.

## Antygeny różnicowania komórkowego

Pierwszym przedstawicielem nowego kierunku był rytuksymab. W ramach mechanizmu działania tej cząsteczki idea celowania realizowana jest przez wykorzystanie antygenów różnicowania komórkowego (*cluster of differentiation*) i ukierunkowana na antygen CD20 obecny na limfocytach B. Stąd — oprócz schorzeń autoimmunologicznych — dostrzega się olbrzymi potencjał rytuksymabu w leczeniu chłoniaków nieziarniczych i białaczki limfocytowej. Co bardzo ważne, strukturalnie molekuła ta stanowi przeciwciało monoklonalne zdolne, dzięki obecności fragmentu krystalizowalnego (domena *Fc*), do indukcji cytotoxyczności zależnej od przeciwciała (ADCC, *antibody-dependent cell cytotoxicity*) [14]. Według szacunków IgeaHub na 2018 rok łączna roczna wartość sprzedaży rytuksymabu (Rituxan i Mabthera) miała wynosić ok. 8,1 mld USD. W 2017 roku, pod szyldami Biogen i Genentech, na rynek trafił z kolei Rituxan Hycela wzbogacony o rekombinowaną hialuronidazę umożliwiającą szybkie podanie podskórne.

W tym samym czasie, gdy rozwojowi podlegał pierwszy rytuksymab, antygeny różnicowania spotkały się z zainteresowaniem innych grup aktywnych na polu *drug discovery*. CD52 został wykorzystany jako cel molekularny dla leku Campath (alemtuzumab) stosowanego w terapii przewlekłej białaczki limfocytowej B-komórkowej (B-CLL, *B-cell chronic lymphocytic leukemia*), który trafił na rynek już w 2001 roku [15]. Kolejne przykłady reprezentują jeszcze wyższy poziom inżynierii struktur. Katumaksomab (Removab) oprócz obecnego na limfocytach T antygeny CD3 wiąże białko EpCAM (*epithelial*

*cell adhesion molecule*) — cel molekularny obecny na powierzchni komórek wielu typów nowotworów. Katumaksomab to przeciwciało trójfunkcyjne, którego każdy z fragmentów wiążących antygen (*Fab*) wykazuje powinowactwo do innego celu molekularnego [16]. Jeszcze bardziej nietypową konstrukcją stanowi blinatumomab (Blinicyto). Cząsteczka ta jest reprezentantem bispecyficznych przeciwciał angażujących limfocyty T (*BiTE*) i stanowi strukturę złożoną z dwóch jednołańcuchowych fragmentów zmiennych przeciwciał (*scFv*) spiętych peptydowym łącznikiem. Cząsteczka ta nie posiada fragmentu krystalizowalnego przeciwciała (*Fc*). Jeden z fragmentów zmiennych odpowiada za wiązanie antygeny CD19, ulegającego ekspresji na powierzchni limfocytów B w ostrej białaczce limfoblastycznej, drugi zaś — za rekrutację limfocytów T przez bezpośrednią interakcję z antygenem CD3 [17]. Interesującym przykładem prób zwiększania potencjału przeciwciał celujących w antygeny różnicowania komórkowego jest produkt Adcetris (brentuksymab vedotin) wytwarzany przez Seattle Genetics. Lek ten zaliczany jest do koniugatów przeciwciało–lek (ADCs, *antibody drug conjugates*). Stanowi przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko CD30 (antygenowi obecnemu na komórkach chłoniaka Hodgkina, T-komórkowego chłoniaka skórniego oraz chłoniaka anaplastycznego), skoniugowane przez maleimid z cząsteczkami jednometylowanej aurystatyny E [18].

## Czynniki wzrostu

Niemal równoległe z koncepcją cząsteczek celujących w antygeny różnicowania komórkowego zwrócono uwagę na możliwość zastosowania technologii przeciwciał monoklonalnych w odniesieniu do zupełnie innej grupy celów molekularnych, dostępnych na zewnątrz komórki elementów szlaków sygnałowych czynników wzrostu — receptorów bądź ich ligandów. Jako przekazniki sygnału szlaki te są istotnym bodźcem w powstawaniu i progresji wielu chorób nowotworowych. Sztandarowym przykładem leku opracowanego w myśl tej koncepcji jest stosowana od 20 lat w raku piersi z ekspresją genu kodującego receptor 2 ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu (HER2, *human epidermal growth factor receptor 2*) herceptyna (trastuzumab). Jest ona mysim przeciwciałem humanizowanym skierowanym przeciwko HER2 — jednemu z receptorów rodziny EGFR (*epidermal growth factor receptor*). W 2013 roku do obrotu trafił bazujący strukturalnie na herceptynie biokoniugat, w którym fragment krystalizowalny (*Fc*) tego samego przeciwciała połączono grupami tiolowymi z małowiązującym inhibitorem podziałów mitotycznych — mertanzyną. Nowy ADC dostępny jest pod nazwą handlową Kadcyła. Na ten sam receptor HER2, jednak na inny jego epitop, skierowana jest aktywność kolejnej cząsteczki, którą można zastosować w raku

piersi w skojarzeniu z trastuzumabem. Pertuzumab (Perjeta), wprowadzony pierwszy raz do obrotu w 2013 roku, blokuje fragment receptora HER2 odpowiedzialnego za interakcję i dimeryzację z HER3, uniemożliwiając tym samym utworzenie najbardziej aktywnej formy kompleksu zdolnej do przekazania sygnału poprzezzyciowego [19]. Innymi przykładami eksploracji szlaków ligandów z rodziny EGF są cetuksymab (Erbix) oraz panitumumab (Vectibix). Obydwe molekuly to przeciwciała monoklonalne anty-EGFR. Pierwsze z nich jest cząsteczką chimeryczną, drugie — w pełni ludzką. Znajdują zastosowanie w przerzutowym raku jelita grubego z nadprodukcją EGFR i dzikim typem *KRAS*.

Przykładem realizacji nieco odmiennej strategii dla przeciwciał monoklonalnych jest opracowany przez zespół Napoleone'a Ferrary bewacyzumab (Avastin) — przez długie lata będący jednym z „blockbusterów” wśród leków w ogóle. Oprócz szerokich wskazań w onkologii ma on zastosowanie w okulistyce, w związanym z wiekiem zwyrodnieniu plamki żółtej (AMD, *age-related macular degeneration*). Inaczej niż wcześniej wskazywane przykłady, Avastin, według postulowanego mechanizmu działania, celuje nie w receptory czynników wzrostu, a w ich ligandy — konkretnie w czynnik wzrostu śródbłonnka naczyńowego (VEGF-A, *vascular endothelial growth factor A*). Bewacyzumab został wprowadzony do obrotu w 2004 roku jako pierwszy inhibitor angiogenezy. Uzyskał rejestrację w leczeniu raka odbytnicy i jelita grubego, niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC, *non-small cell lung cancer*), raka nerki, glejaka wielopostaciowego oraz raka piersi (z tego ostatniego wskazania został wycofany przez FDA w 2010 roku [20]). Innym przykładem molekuly celującej w szlak VEGF jest ramucirumab (Cyramza), w pełni ludzkie przeciwciała anty-KDR (*kinase insert domain receptor* — receptor z domeną kinazową). Ten całkiem nowy inhibitor angiogenezy w 2014 roku uzyskał rejestrację w leczeniu niektórych nowotworów przewodu pokarmowego i NSCLC.

Co znamienne, dwa inhibitory angiogenezy stosowane w onkologii — bewacyzumab oraz ziv-aflibercept (Zaltrap) — mają zarejestrowane wskazania w leczeniu odmiany wysiękowej AMD. Aflibercept na rynku leków okulistycznych znany jest jako Eylea. Jest to białko fuzyjne składające się z domeny *Fc* przeciwciała IgG1 połączonej z dwoma rozpuszczalnymi fragmentami receptora. Jest to konstrukcja typu VEGF-Trap, zdolna dodatkowo do oddziaływania z łożyskowym czynnikiem wzrostu (PGF, *placental growth factor*). W onkologii Zaltrap wykorzystywany jest w leczeniu przerzutowego raka jelita grubego [21].

## Punkty kontrolne układu odpornościowego

Całkiem nową, przełomową i obecnie intensywnie eksplorowaną w onkologii strategią jest wykorzystanie

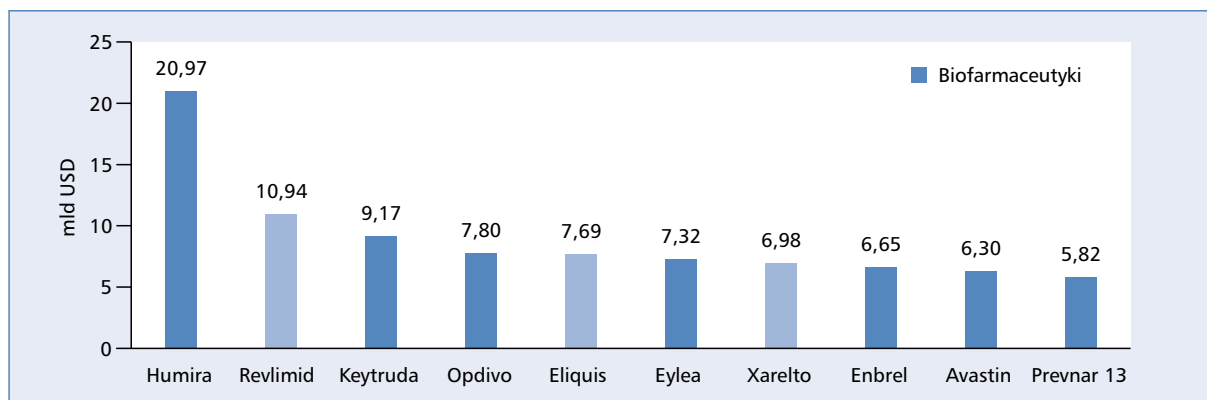
do terapii tzw. punktów kontrolnych układu odpornościowego (*immune checkpoint inhibitors*). To za ich sprawą nowotwór, rozwijając się, wytwarza wokół siebie środowisko immunosupresyjne, w którym układ odpornościowy staje się wobec niego bezczynny. Zatem blokada punktów kontrolnych poprzez wyłączenie receptorów lub ligandów, które negatywnie regulują działanie komórek układu odpornościowego, z założenia powinna uczynić nowotwór ponownie widocznym i podatnym na atak [22].

Pierwszą, zarejestrowaną w 2011 roku, uderzającą w całkiem nowy typ celu molekularnego rekombinowaną cząsteczką był ipilimumab (Yervoy), który stanowi przeciwciała skierowane wobec CTLA-4 (CD152; *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*) — białku obecnemu na powierzchni limfocytów T, które uległy aktywacji w efekcie kontaktu z antygenem. Ipilimumab, blokując CTLA-4, uniemożliwia przekazanie limfocytom sygnału dla ujemnego sprzężenia zwrotnego przez komórki prezentujące antygen (APC, *antigen presenting cells*), przez co komórki nowotworowe nie są rozpoznawane jako własne. Tym samym nie dochodzi do dezaktywacji limfocytów. Ipilimumab jest zarejestrowany w leczeniu nieoperacyjnego czerniaka i raka nerki [23].

Prostszym mechanizmem działania cechują się inhibitory sygnału białka programowanej śmierci komórki 1 (PD-1, *programmed cell death protein 1*). Niwolumab (Opdivo), pembrolizumab (Keytruda) oraz cemiplimab (Libtayo) są skierowane na receptor PD-1, obecny na powierzchni aktywowanych limfocytów. Receptor ten jest odpowiedzialny za negatywną regulację odpowiedzi immunologicznej. Jego wyłączenie przez przeciwciała uniemożliwia rozpoznanie komórek nowotworowych jako własnych wskutek zablokowania oddziaływania z obecnym na nich ligandem PD-L1 [24]. O ile cemiplimab został zarejestrowany dopiero w roku 2018, pozostałe dwie cząsteczki zdążyły już mocno poszerzyć swoje wskazania i intensywnie zdobywają rynek. Zgodnie z szacunkami Evaluate sprzedaż preparatów Keytruda i Opdivo miała osiągnąć w 2019 roku wartości kolejno 9,17 mld USD i 7,8 mld USD (ryc. 3).

Z kolei najbardziej intuicyjne w przypadku inhibitorów punktów kontrolnych podejście, oparte na celowaniu w sam nowotwór, a nie bezpośrednio w komórki systemu immunologicznego chorego, wykorzystano przy opracowaniu atezolizumabu (Tecentriq), durwalumabu (Imfinzi) i awelumabu (Bavencio). Są to cząsteczki wycelowane w PD-L1, uniemożliwiające jego interakcję z PD-1 i CD80.

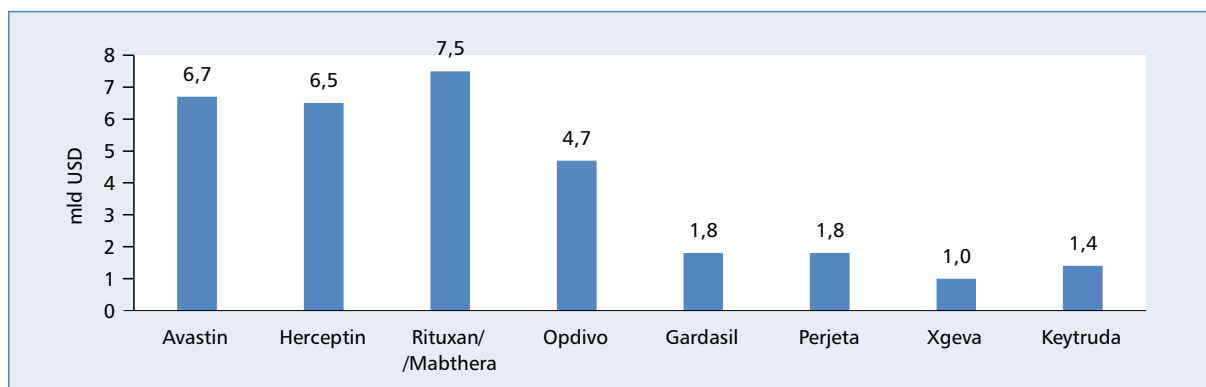
W ten sposób w ciągu kilku zaledwie lat rynek inhibitorów punktów kontrolnych układu odpornościowego wypełnił się aż siedmioma cząsteczkami. Kolejni gracze są zmuszeni podejmować trudne biznesowo decyzje związane z wyborem wskazań. Należy zwrócić uwagę na fakt, że PD-1 oraz CTLA-4 nie są jedynymi celami molekularnymi w ramach omawianego podejścia do leczenia nowotworów. Oby następne molekuly, oparte na sygnalizacji LAG-3, TIM-3, B7-H3/4 i BTLA, stanowiły kolejne przełomy.



Rycina 3. Biofarmaceutyki wśród 10 leków o najwyższej prognozowanej wartości sprzedaży w 2019 roku. Na podstawie [25]

Tabela 1. Wybrani przedstawiciele poszczególnych klas onkologicznych leków biologicznych w ujęciu chronologicznym. Opracowanie własne

Pierwsza rejestracja	Cząsteczka	Nazwa handlowa	Struktura	Cel molekularny	Firma
1986	IFN alfa 2a	Roferon A	Rh-interferon alfa 2a	Receptor IFN-alfa	Roche
1986	IFN alfa 2b	Intron A	Rh-interferon alfa 2b	Receptor IFN-alfa	MSD
1992	Aldesleukin	Proleukin	rIL-2	Receptor IL-2	Chiron/Novartis
1994	Filgrastim	Neupogen	rhG-CSF	Receptor G-CSF	Roche
1997	Rituksymab	Rituxan	mAb	CD20	Roche
1998	Trastuzumab	Herceptin	mAb	HER2	Roche
1998	Tyreotropina alfa	Thyrogen	rhTSH alfa	Receptor TSH	Genzyme
1999	Denileukin diftitox	Ontak	rIL-2-diphtheria toxin	Receptor IL-2, EF-2	Eisai
2001	Alemtuzumab	Campath	mAb	CD52	Bayer
2002	Peg-filgrastim	Neulasta	PEG-rhG-CSF	Receptor G-CSF	Amgen
2004	Bewacyzumab	Avastin	mAb	VEGF-A	Roche
2004	Cetuksymab	Erbix	mAb	EGFR	Merck
2006	Panitumumab	Vectibix	mAb	EGFR	Amgen
2009	Katumaksomab	Removab	mAb	CD3, EpCAM	Fresenius
2011	Ipilimumab	Yervoy	mAb	CTLA-4	Bristol-Myers Squibb
2011	Brentuksymab vedotin	Adcetris	ADC	CD30	Seattle Genetics
2012	Ziv-aflibercept	Zaltrap	Fc(IgG1)-VEGF-Trap	VEGF-A, VEGF-B, PGF	Sanofi
2013	Pertuzumab	Perjeta	mAb	HER2	Roche
2013	Trastuzumab emtanzyna	Kadcyla	ADC	HER2	Roche
2014	Niwolumab	Opdivo	mAb	PD-1	Bristol-Myers Squibb
2014	Pembrolizumab	Keytruda	mAb	PD-1	MSD
2014	Ramucirumab	Cyramza	mAb	VEGFR2	Lilly
2014	Blinatumomab	Blincyto	BiTE	CD19, CD3	Amgen
2016	Atezolizumab	Tecentriq	mAb	PD-L1	Roche
2017	Durwalumab	Imfinzi	mAb	PD-L1	AstraZeneca
2017	Rytuksymab hialuronidaza	Rituxan Hycela	mAb + rh-hialuronidaza	CD20	Biogen/Genentech
2017	Awelumab	Bavencio	mAb	PD-L1	Pfizer/Merck
2018	Cemiplimab	Libtayo	mAb	PD-1	Regeneron/Sanofi



Rycina 4. Biofarmaceutyki onkologiczne o najwyższej wartości sprzedaży w 2017 r. Na podstawie [26]

W tabeli 1 wymieniono wybranych przedstawicieli poszczególnych klas onkologicznych leków biologicznych z uwzględnieniem dat rejestracji. Na rycinie 4 przedstawiono biofarmaceutyki onkologiczne o najwyższej wartości sprzedaży w 2017 roku.

### CAR-T i przyszłość onkologicznych terapii biologicznych

W 2017 roku FDA zarejestrowała w ostrej białaczce limfoblastycznej wywodzącej się z limfocytów B pierwszą, należącą do Novartis (Kymriah), terapię opartą na technologii CAR-T. W ramach leczenia limfocyty T pacjenta są pobierane i modyfikowane genetycznie, tak by na ich powierzchni pojawiły się dodatkowe receptory (*chimeric antigen receptors*), w tym konkretnym przypadku skierowane na CD19. Następnie komórki wracają do pacjenta. Evaluate w raporcie za rok 2018 na liście najbardziej obiecujących programów badawczych wskazuje na dwa kolejne projekty CAR-T znajdujące się w „pipeline” firmy Celgene w III fazie rozwoju klinicznego: bb2121 (anty-BCMA) oraz JCAR017 (anty-CD19). W rozwoju przedklinicznym podobnych programów jest o wiele więcej, a zainteresowanie technologią CAR rośnie [25].

Z pewnością znajdujemy się w bardzo interesującym punkcie historii onkologicznych leków biologicznych. Dokonania naukowców z ostatnich lat zrodziły nowe technologie dostarczania leków oraz wskazały na całkiem nowe, wcześniej niedocenione lub nieznanne cele molekularne. Ulepszaniu w ramach rozwoju „biobetterów” będą podlegać także sprawdzone już leki. Z punktu widzenia kosztów terapii i dostępności dla pacjenta nie bez znaczenia będą rejestracje leków biopodobnych. Niestety na europejskim rynku leków onkologicznych pojawiły się dopiero trzy cząsteczki: trastuzumab (Ontruzant) od Samsung Bioepis, rytuksymab (Rixathon) od Sandoz oraz rytuksymab (Truxima) od Celltrion. Rynek

jest więc wciąż podporządkowany bardzo zawężonemu, dbającemu o swój interes gronu producentów.

### Piśmiennictwo

- Baxby D. Edward Jenner's Inquiry: a bicentenary analysis. *Vaccine*. 1999; 17(4): 301–307, doi: [10.1016/S0264-410X\(98\)00207-2](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(98)00207-2), indexed in Pubmed: 9987167.
- Jesty R. Who invented vaccination? *Malta Medical Journal*. 2011; 23(02): 29–32.
- Jakubiak M. Historia pędzłaka, czyli początek antybiotyków. *Gazeta Lekarska*. 2014; 11(12): 16–18.
- Quinn R. Rethinking antibiotic research and development: World War II and the penicillin collaborative. *Am J Public Health*. 2013; 103(3): 426–434, doi: [10.2105/AJPH.2012.300693](https://doi.org/10.2105/AJPH.2012.300693), indexed in Pubmed: 22698031.
- Bose B, Katikireddy KR, Shenoy PS. Regenerative medicine for diabetes: differentiation of human pluripotent stem cells into functional  $\beta$ -cells in vitro and their proposed journey to clinical translation. *Vitam Horm*. 2014; 95: 223–248, doi: [10.1016/B978-0-12-800174-5.00009-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800174-5.00009-0), indexed in Pubmed: 24559920.
- Rosenfeld L. Insulin: discovery and controversy. *Clin Chem*. 2002; 48(12): 2270–2288, indexed in Pubmed: 12446492.
- Jarecka M, Borowicz P. Terapeutyczne i rynkowe perspektywy rekombinowanych leków. *Biotechnologia*. 2005; 4(71): 7–27.
- Global Protein Therapeutics Market Forecast to 2015. RNCOS. 2012.
- Global & USA Biosimilar Market Analysis to 2021. KellySciPub. 2015.
- Perspectives on the evolving biosimilars landscape. IMS Health. 2015.
- The Therapeutic Proteins Outlook to 2007: An Analysis of Leading Products and Late-Stage Pipeline Developments. Research and Markets. 2003.
- Dutcher JP Current status of interleukin-2 therapy for metastatic renal cell carcinoma and metastatic melanoma. *Oncology (Williston Park)*. 2002; 16(11 Suppl 13): 4–10, indexed in Pubmed: 12469934.
- Kaminetzky D, Hymes KB. Denileukin difitox for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. *Biologics*. 2008; 2(4): 717–724, doi: [10.2147/btt.s3084](https://doi.org/10.2147/btt.s3084), indexed in Pubmed: 19707452.
- Dotan E, Aggarwal C, Smith MR. Impact of rituximab (Rituxan) on the treatment of beta-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Pharmacy and Therapeutics*. 2010; 35(3): 148–157, indexed in Pubmed: 20442809.
- Robak T. Alemtuzumab for B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2014; 8(7): 1033–1051, doi: [10.1586/14737140.8.7.1033](https://doi.org/10.1586/14737140.8.7.1033).
- Liu H, Saxena A, Sidhu SS, et al. Fc engineering for developing therapeutic bispecific antibodies and novel scaffolds. *Front Immunol*. 2017; 8(38): 1–15, doi: [10.3389/fimmu.2017.00038](https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00038), indexed in Pubmed: 28184223.
- Topp MS, Gökbuget N, Stein AS, et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2015; 16(1): 57–66, doi: [10.1016/S1470-2045\(14\)71170-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71170-2), indexed in Pubmed: 25524800.



18. Gravanis I, Tzoganis K, van Hennik P, et al. The European Medicines Agency Review of Brentuximab Vedotin (Adcetris) for the Treatment of Adult Patients With Relapsed or Refractory CD30+ Hodgkin Lymphoma or Systemic Anaplastic Large Cell Lymphoma: Summary of the Scientific Assessment of the Committee for Medicinal Products for Human Use. *Oncologist*. 2016; 21(1): 102–109, doi: [10.1634/theoncologist.2015-0276](https://doi.org/10.1634/theoncologist.2015-0276), indexed in Pubmed: [26621039](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26621039/).
19. Albanell J. Mechanisms of action of the HER dimerization inhibitor pertuzumab alone or with trastuzumab. *Cancer and Chemotherapy Reviews*. 2013; 8(1): 24–32.
20. Braghiroli MI, Sabbaga J, Hoff PM. Bevacizumab: overview of the literature. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2012; 12(5): 567–580, doi: [10.1586/era.12.13](https://doi.org/10.1586/era.12.13), indexed in Pubmed: [22594892](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22594892/).
21. Stanel SC, Sjöberg J, Salmonson T, et al. European Medicines Agency approval summary: Zaltrap for the treatment of patients with oxaliplatin-resistant metastatic colorectal cancer. *ESMO Open*. 2017; 2(2): e000190, doi: [10.1136/esmoopen-2017-000190](https://doi.org/10.1136/esmoopen-2017-000190), indexed in Pubmed: [28761750](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28761750/).
22. Swatler J, Kozłowska E. Immune checkpoint-targeted cancer immunotherapies. *Postępy Hig Med. Dosw*. 2016; 70: 25–42, doi: [10.5604/17322693.1192926](https://doi.org/10.5604/17322693.1192926).
23. Lipson EJ, Drake CG. Ipilimumab: an anti-CTLA-4 antibody for metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*. 2011; 17(22): 6958–6962, doi: [10.1158/1078-0432.CCR-11-1595](https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1595), indexed in Pubmed: [21900389](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21900389/).
24. Fessas P, Lee H, Ikemizu S, et al. A molecular and preclinical comparison of the PD-1-targeted T-cell checkpoint inhibitors nivolumab and pembrolizumab. *Semin Oncol*. 2017; 44(2): 136–140, doi: [10.1053/j.seminoncol.2017.06.002](https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2017.06.002), indexed in Pubmed: [28923212](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28923212/).
25. Brown A, Gardner J, Elmhirst E. Vantage 2019 Preview. Evaluate 2018.
26. Top 20 Blockbuster Cancer Drugs. The Balance. 2018, <https://www.thebalance.com/top-cancer-drugs-2663234>.