



МЕДИЦИНА

ВОЙНА ПРОТИВ САМОГО СЕБЯ

Многие новые лекарства вызывают иммунную реакцию, которая их разрушает, и наша задача — опередить этот деструктивный иммунный ответ

Майкл Вальдхольц

ОБ АВТОРЕ

Майкл Вальдхольц (Michael Waldholz) — журналист, возглавлял группу репортеров, получивших в 1997 г. Пулитцеровскую премию за освещение проблемы СПИДа. Живет в долине реки Гудзон, штат Нью-Йорк.



Самого раннего детства, которое прошло на небольшой ферме в Мичигане, Кен Мартин вынужден был сражаться со своим смертельно опасным недугом — гемофилией — силами собственного организма. Сейчас Мартину 50 лет, и от любой ранки у него возникает почти неконтролируемое кровотечение. Если происходит повреждение внутренней вены или артерии, под кожей образуется наполненный кровью болезненный пузырь, а когда такое случается в области колена, больной вынужден передвигаться на костылях или в инвалидной коляске до тех пор, пока кровотечение не прекратится.

К несчастью, Мартину не повезло вдвойне. Гемофилия возникает, когда в геноме человека отсутствует специфический ген, который кодирует белок, необходимый для свертывания крови. Таким больным вводят сам этот белок — фактор VIII. Но иммунная система Мартина воспринимает его как чужеродного агента и разрушает аналогично тому, как она это делает в случае патогенных микроорганизмов. «Мне не помогал ни один препарат, содержащий фактор VIII», — говорит Мартин. Несмотря на тяжелый недуг, он сделал успешную карьеру в области дизайна автомобилей. С кровотечением он справляется, по возможности подняв пораженную часть тела и наложив на нее ледяной компресс. Дальше остается только ждать. В США гемофилией страдают 20 тыс. человек, и примерно у 30% из них иммунная система реагирует на лечение аналогичным образом.

Проблема противолечественных антител (ADA, от англ. *anti drug antibodies*) касается не только заболеваний, обусловленных плохой свертываемостью

крови. Подобные случаи наблюдаются при лечении с помощью новейших препаратов онкологических больных, больных с сердечно-сосудистыми патологиями, а также страдающих ревматоидным артритом. Все эти лекарственные средства имеют биологическую природу и имитируют естественные, вырабатываемые самим организмом вещества, благодаря чему более эффективны. Но поскольку наша иммунная система нацелена на поиск чужеродных белков, у некоторых пациентов она воспринимает препараты на биологической основе как патогенные микроорганизмы и реагирует на них соответствующим образом. В результате биопрепарат может быть инактивирован или разрушен еще до того, как начнет действовать.

Когда-то считалось, что поскольку основа многих белковых препаратов — продукты генов самого организма, иммунная система не сочтет их чужаками, однако эти ожидания не оправдались. Когда иммунный ответ возникал, он часто был достаточно мощным, чтобы разрушить лекарственное

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

- Образование антител против лекарственных веществ становится все более серьезной проблемой для фармакологов. Эта иммунная реакция разрушает многие современные препараты, сводя их действие к нулю.
- Такая иммунологическая атака, возникающая у многих пациентов, не позволяет использовать для их лечения современные противораковые средства, справляться со многими сердечно-сосудистыми и другими патологиями.
- Новые подходы к блокированию синтеза противолечественных средств основаны на повышении толерантности к ним с помощью технологии, сходной с вакцинацией.

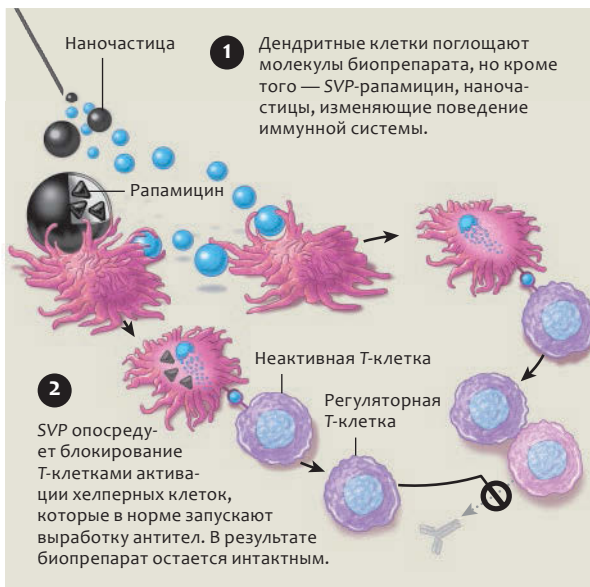
Устранение нежелательной иммунной реакции

Новейшие лекарственные препараты против таких смертельно опасных заболеваний, как рак или сердечно-сосудистые патологии, имеют белковую природу. Иммунная система больного может воспринять их как чужеродных агентов и направить против них мощное оружие — специальные антитела. Фармацевтическая компания *Selecta Biosciences* занимается разработкой «вакцины» (SVP), чтобы повысить толерантность иммунной системы к терапии.



Иммунная атака

Дендритные клетки реагируют на белковый препарат как на чужеродного агента — аналогично тому, как они реагируют на вирусную частицу. Т-клетки передают сигнал тревоги В-клеткам, и те начинают вырабатывать противолекарственные антитела.



Повышение толерантности

SVP-наночастицы содержат рапамицин, модулятор иммунной системы. Их вводят больному одновременно с био-препаратом. Оба они поглощаются дендритными Т-клетками, и теперь последние не воспринимают лекарственное вещество как чужеродный агент.

вещество. Это вызвало серьезное беспокойство в медицинской среде, поскольку биологические препараты составляют сегодня ощутимую часть рынка медикаментов. По данным фармацевтических компаний и Института по сбору информации в области здравоохранения компании *IMS Health*, их доля возросла с 11% в 2002 г. до 20% в 2017. «Столь стремительный рост заставляет нас задуматься об эффективности и безопасности этих препаратов», — говорит Эми Розенберг (*Amy Rosenberg*), руководитель отдела Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (*FDA*) США по контролю применения терапевтических белков.

Иммунная реакция, по-видимому, выступает одной из причин, по которой биологический иммунодепрессивный препарат хумира фирмы *AbbVie*, применяемый при воспалении кишечника, псориазе и ревматоидном артрите, не помогает примерно одной пятой пациентов. Компания *Pfizer* вынуждена была отозвать из аптек многообещающий био-препарат бокоцизумаб, снижающий уровень холестерина в крови, после проверки его

на безопасность на 25 тыс. пациентов. Этот препарат переставал действовать спустя короткое время, а в ходе шести испытаний почти у половины их участников возникала ADA-реакция. По словам Пола Ридкера (*Paul Ridker*), кардиолога из Женской больницы Бригама, возможная причина неэффективности терапии — образование антител.

В октябре 2016 г. исследователи из Нидерландского онкологического центра в Амстердаме сообщили, что больше половины биологических противораковых препаратов, прошедших тестирование в 81 клинике в разных частях света, вызывают образование антагонистических антител, но выводят ли они из строя сами препараты — неизвестно. Недавно швейцарская фармацевтическая компания *F. Hoffmann — La Roche* приостановила работы по синтезу белка, хорошо проявившего себя при лечении больных, страдающих раком молочной железы и злокачественными опухолями легких, после того как выяснилось, что этот белок вызывает образование противолекарственных антител.

В 2011 г. фирма Розенберг обратилась к коллегам с предложением усовершенствовать процесс

тестирования ADA-технологии с целью выявления соответствующих антител до клинических испытаний и во время их проведения и обнародовать все случаи возникновения иммунного ответа на тестируемые препараты и его влияния на эффективность и безопасность терапии. «Очень важно собрать информацию обо всех нежелательных эффектах, о которых мы раньше не подозревали», — заявила она.

В свою очередь фармакологи занялись поисками способов повышения толерантности иммунной системы к биологическим молекулам. В одном исследовании был апробирован новый способ ее «обучения» восприятию целевых белков как обычных молекул, а не как «агрессоров». Альтернативный подход состоит в синтезе таких терапевтических белков, которые в принципе неспособны инициировать иммунный ответ. Это могут быть сами антитела, вызывающие минимальную иммунную реакцию.

Как отличить друга от врага

Биотехнологическая фирма *Selecta Biosciences* из Бостона пытается повысить толерантность, используя новые данные о том, каким образом иммунная система отличает патогены, которые подлежат уничтожению, от клеток организма, которые она не должна атаковать. Как показали клинические испытания, наиболее успешные варианты терапии блокируют ADA-реакцию, которая обезоруживает один из лекарственных препаратов, применяемых при наиболее тяжелых формах артрита. Этот метод хорошо проявил себя при лечении онкологических больных, а также страдающих рядом наследственных заболеваний.

«Мы научились манипулировать иммунной системой тончайшим образом, — говорит Такаши Кеи Кишимото (Takashi Kei Kishimoto), ведущий научный сотрудник фирмы. — К этому иммунологи стремились долгие годы».

Начало технологии, разработанной фирмой *Selecta*, было положено в Гарвардской медицинской школе в лаборатории Ульриха фон Андриана (Ulrich Von Andrian), который в течение многих лет занимался выяснением того, как защитные системы организма оповещают его о проникновении возбудителей инфекций. Проследив за перемещением иммунных клеток через весь организм к очагу инфекции, он остановился на дендритных клетках, которые играют роль главнокомандующих

в иммунной системе. Именно они отдают приказ к наступлению на патоген. Когда дендритная клетка встречается с вирусной частицей или другим опасным микроорганизмом, она поглощает его, размещает на своей поверхности специфический фрагмент патогена — антиген — и внедряется вместе с ним в один из лимфатических узлов, распределенных по всему телу. «Я решил исследовать, что происходит в лимфатических узлах, чтобы понять, какими правилами руководствуется система иммунной защиты», — поясняет фон Андриан.

В начале 1994 г. он приобрел чрезвычайно чувствительный прибор, позволяющий визуализировать клетки как в компартментах лимфатической системы, так и вне ее (опыты проводились на мышах). Ему удалось рассмотреть, как дендритные клетки передают антигены другим компонентам иммунной системы — Т-клеткам, напоминая своим поведением участников забега, передающих друг другу эстафетную палочку. Активированные Т-клетки запускают целый арсенал защитных механизмов, в том числе вырабатывающих антитела против патогена.

Примерно десять лет назад фон Андриан с коллегами установил, что дендритные клетки могут не только отдавать приказ к бою, но и останавливать сражение. В этом им помогло наблюдение за поведением рапамицина, иммуносупрессанта, который тоже действует при посредничестве дендритных клеток. Исследователи присоединили рапамицин к антигену клетки здоровой ткани, и эта пара была поглощена дендритной клеткой. Но теперь последняя стала «толерогенной»; она по-прежнему активировала Т-клетки, но параллельно повышала их толерантность, блокируя образование антител. Такие клетки оказывали супрессивное действие и на другие компоненты иммунной системы — те, которые могли вызвать воспаление поврежденных тканей.

Двойственность действия дендритных клеток навела фон Андриана на мысль использовать их для подавления чрезмерной иммунной реакции, лежащей в основе таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит, рассеянный склероз и диабет I типа. Все они обусловлены

Если антагонистический иммунный ответ подавить не удастся, можно прибегнуть к другому методу, основанному на конструировании биомолекул, которые в принципе не инициируют иммунную реакцию

ошибкой иммунной системы, при которой она воспринимает нормальные клетки организма как чужеродных агентов (в принципе, то же самое происходит при ADA-реакции).

Фон Андриан не знал, что в Массачусетском технологическом институте уже тестируют один из способов воздействия на дендритные клетки, позволяющий запускать или подавлять иммунный ответ. Ранее в лаборатории Роберта Лангера (Robert Langer) этого института сконструировали биодegradуемые наночастицы для переноса противораковых лекарственных веществ к месту назначения. Эти частицы и стали основой технологии, разработанной фирмой *Selecta*.

Фон Андриан, которого однажды спросили, каково его мнение о коммерциализации производства наночастиц, подумав, пришел к мысли, что в подобные частицы, состоящие из растворимого полимера поли(лактат-ко-гликолевой)кислоты, можно включить вещества — модуляторы иммунной системы, превратив их в некое подобие вакцины. Вместе с наночастицами эти вещества попадут в лимфатические узлы и блокируют иммунный ответ. Но первым, кому пришла в голову мысль использовать данный подход для решения проблемы ADA, был Кишимото.

Аналог вакцинации

Метод основывался на включении рапамицина и антигена конкретного биологического объекта в частицы синтетической вакцины (*SVP*, от англ. *synthetic vaccine particles*). Введенные подкожно или внутримышечно, эти частицы в конце концов попадают в лимфатические узлы и побуждают дендритные клетки к выработке фактора толерантности в виде регуляторных *T*-клеток, которые предотвращают синтез антител против любых лекарственных препаратов, связанных с наночастицами.

Исследователи фирмы опробовали этот подход для решения проблемы выработки антител при лечении больных гемофилией биологическими препаратами. Они ввели наночастицы, содержащие рапамицин и один из антигенов, фактор VIII, мышам, страдающим дефицитом фактора свертывания крови, а затем инъецировали им фактор VIII. К концу десятидневного курса антитела к этому белку перестали синтезироваться, о чем сообщалось в одной из статей в журнале *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. (В настоящее время компания в сотрудничестве с группой исследователей разрабатывает генно-терапевтический метод синтеза факторов свертывания крови, которые будут доставляться в организм с помощью наночастиц.)

Воодушевленные тем, что *SVP*-терапия дает хорошие результаты, сотрудники *Selecta* намереваются испытать ее для борьбы с тяжелыми

формами подагры, разрушающей костную и соединительную ткани. В США число больных подагрой превышает 8 млн. Заболевание проявляется повышением уровня мочевой кислоты в крови и ее кристаллизацией, что может приводить к повреждению кровеносных сосудов и мочевыводящих путей, а в наиболее тяжелых случаях — к смерти.

Существует биологический метод борьбы с подагрой, основанный на применении синтетического аналога разрушающего кристаллы фермента — уриказы, который образуется у многих млекопитающих. К сожалению, у человека этот фермент не синтезируется, и уриказа воспринимается иммунной системой как чужеродный агент. Более чем у 40% больных, получавших уриказу, возникает ADA-реакция.

Действенность *SVP*-терапии подтверждена и на больных подагрой. В этом случае наночастицы содержали синтетическую уриказу и рапамицин. Проведенное летом 2017 г. тестирование показало, что курс лечения, состоящий во введении препарата раз в месяц, снижает уровень мочевой кислоты в крови почти до нуля при отсутствии противолечественных антител. «Это воодушевляющий результат, — говорит Дэвид Скотт (David W. Scott), иммунолог из Военно-медицинского университета в Бетесде. — Особенно ценно то, что метод работает путем активации иммуносупрессивного процесса самого организма».

В настоящее время Скотт с коллегами разрабатывает способ решения проблемы ADA с помощью генетически видоизмененных *T*-клеток для защиты белковых лекарственных препаратов. В одном из экспериментов, проведенных в прошлом году, такие клетки предотвращали атаку антител на фактор VIII в тканях здорового донора, а также у больных гемофилией мышей. К сожалению, по мнению Скотта, ждать коммерциализации метода придется еще несколько лет.

Отторжение отторжения

Помимо подавления антагонистического иммунного ответа существует другой способ повышения толерантности. Он состоит в конструировании биомолекул, которые в принципе не инициируют иммунную реакцию. Апробирование метода вновь началось с гемофилии. Фирма *Alnylam Pharmaceuticals* из Кеймбриджа, штат Массачусетс, работает над созданием лекарственного средства на основе интерферирующей РНК. За работы по исследованию применения этой молекулы в медицине Крейг Мелло (Craig Mello) из Медицинской школы Массачусетского университета и Эндрю Файер (Andrew Fire) из Медицинской школы Стэнфордского университета были удостоены в 2006 г. Нобелевской премии в области физиологии и медицины. Они показали, что введенные в клетку малые (длиной 15–25 пар нуклеотидов)

молекулы двухцепочечной РНК взаимодействуют с комплементарными участками мРНК и блокируют синтез кодируемых ими белков.

Один из первых препаратов фирмы *Anylam*, фитусиран, имитирует действие интерферирующей РНК. Он взаимодействует с белком, который блокирует ключевой белок системы свертывания крови — тромбин. Нокаутирование первого белка системы приводит к повышению доступности тромбина, что повышает свертываемость крови и останавливает кровотечение. В следующем номере журнала *New England Journal of Medicine* за 2017 г. опубликована статья, сообщающая о том, что введение фитусирана раз в месяц в ходе 20-месячных клинических испытаний на 25 пациентах с гемофилией существенно уменьшает число рецидивов болезни.

«С иммунологической точки зрения ценность интерферирующей РНК состоит в том, что в отличие от белковых препаратов она не вызывает образования противолечательных антител», — говорит Акин Акин (Akin Akin), руководитель проекта по разработке фитусирана. И если дальнейшие испытания пройдут успешно, уже к 2020 г. можно ожидать клинического применения терапии. *Anylam* работает также над созданием интерферирующих РНК, нацеленных на ту же мишень, что и продукт фирмы *Pfizer*, который уменьшает уровень холестерина, но не вызывает ADA-реакции.

Антитела способны не только атаковать чужеродные агенты, но и решать проблемы, связанные с медикаментозной терапией. Например, биологи из японской компании *Chugai* намереваются использовать их способность соединять два разных белка в терапии гемофилии. На этот раз целевым белком выступает фактор VIII. Этот белок часто применяется при разработке средств борьбы с гемофилией, поскольку представляет собой важное звено в цепи химических реакций под названием «каскадный механизм свертывания крови». Ключевой этап в этой цепи — взаимодействие между собой факторов IX и X, опосредуемое фактором VIII. Но и в этот механизм могут вмешиваться деструктивные антитела.

Сотрудники *Chugai* синтезировали антитело, сходное с человеческим, которое, как мостик, соединяет факторы IX и X, выводя из цепи фактор VIII. Как лекарственное средство это вещество получило название эмисизумаб. Два клинических испытания, проведенные в прошлом году, показали, что введение его раз в неделю больным, у которых вырабатываются антитела к фактору VIII, положительно сказывается на течении болезни. У взрослых частота эпизодов кровотечения уменьшилась на 87%. У небольшого числа пациентов вырабатывались антитела против эмисизумаба, но его эффективность при этом

не уменьшалась. Следует признать, что пока терапия далека от совершенства: у некоторых испытуемых образуются неспецифические кровяные сгустки, а один больной умер от потери крови, не связанной с терапией. Но даже при этом FDA выдало разрешение на применение метода начиная с ноября 2017 г.

Майкл Каллагэн (Michael Callaghan), гематолог из Университетской больницы Харпера при Детройтском медицинском центре и Мичиганской детской больницы, — лечащий врач некоторых пациентов, участвующих в клинических испытаниях эмисизумаба, в частности Кена Мартина. По его словам, «за плечами мистера Мартина очень долгая и трудная борьба с гемофилией, и для него этот препарат стал поистине животворным».

С этим согласен и сам Мартин. В течение нескольких лет он документировал ход болезни. До испытаний в июле 2016 г. у него в течение года кровотечения возникали 46 раз, а с тех пор как он начал принимать эмисизумаб, их число снизилось до трех. Он все еще не совсем здоров, но вместе с артритом в коленных суставах, лодыжках, локтях и плечах ушли опухания суставов и воспаления. Каллагэн полагает, что если такие больные, как Мартин, начнут принимать препараты против ADA при первых же признаках заболевания, они избежат тех страданий, которые выпали на долю Мартина. Но даже в теперешнем состоянии Мартин считает себя счастливым. ■

Перевод: Н.Н. Шафрановская

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ

- Гиббс У. Нанотела // ВМН, № 11, 2005.
- Polymeric Synthetic Nanoparticles for the Induction of Antigen-Specific Immunological Tolerance. Roberto A. Maldonado et al. in Proceedings of the National Academy of Sciences USA, Vol. 112, No. 2, pages E156–E165; January 13, 2015.
- Assay Development and Validation for Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products: Guidance for Industry. Draft guidance. U.S. Food and Drug Administration, April 2016. www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm192750.pdf
- Improving the Efficacy and Safety of Biologic Drugs with Tolerogenic Nanoparticles. Takashi K. Kishimoto et al. in Nature Nanotechnology, Vol. 11, No. 10, pages 890–899; October 2016.
- Targeting of Antithrombin in Hemophilia A or B with RNAi Therapy. K. John Pasi et al. in New England Journal of Medicine, Vol. 377, No. 9, pages 819–828; August 31, 2017.