

Information från Läkemedelsverket

ÅRGÅNG 18 • NUMMER 4 • JUNI 2007

Ny behandlingsrekommendation – Behandling av osteoporos 19

Den uppdaterade rekommendationen för behandling av osteoporos har föranletts av bland annat nya läkemedel och läkemedelsberedningar samt ny kunskap om sjukdomen. Syftet med behandlingen av osteoporos har också förskjutits från att förebygga osteoporos i sig, till att förebygga frakturer, det vill säga utvecklingen av manifesterad osteoporos.

Monoklonala antikroppar – biologiska läkemedel på frammarsch 4

Många av dagens nya läkemedel är biologiska produkter. Utvecklingen av monoklonala antikroppar är ett exempel som illustrerar vägen till effektiva och säkra biologiska läkemedel.

Farliga ämnen i flera bantningsmedel på Internet 7

Hälften av de 34 bantningsmedel som Läkemedelsverket och Livsmedelsverket har undersökt innehöll farliga ämnen. Hälso- och sjukvården bör känna till att preparaten används och kan ge upphov till biverkningar.

Indikationen primär nattlig enures borttagen för nasala beredningsformer av desmopressin 15

Nässpray och näsdroppar som innehåller läkemedlet desmopressin ska inte användas mot sängvätning på grund av risken för hyponatremi och vattenintoxikation.



Foto: Sjöberg Bild

Biverkningsnytt 60

Rapporter om leverpåverkan av viktminskningspreparatet CUUR

Läkemedelsverket har tagit emot sex rapporter om kraftig leverpåverkan hos patienter som använt viktminskningspreparatet CUUR.

Hyperkalemi av glukosaminpreparat

En del glukosaminprodukter innehåller kalium. Risken för hyperkalemi hos vissa patienter bör beaktas.

Dextropropoxifen – uppföljande rapport över säkerheten 2000–2006

De åtgärder som vidtagits de senaste åren för att stävja problem med överdosering och missbruk av dextropropoxifen har varit framgångsrika, enligt rapporten.

Nya veterinärmedicinska läkemedel 66

Draxxin (tulatromycin)
Yarvitan (mitratapid)

LFN informerar 74

Prenumerera på nyheter från Läkemedelsverket
www.lakemedelsverket.se



Monoklonala antikroppar – biologiska läkemedel på frammarsch

Många av dagens nya läkemedel är så kallade biologiska eller bioteknologiska produkter. Till biologiska läkemedel räknas bland annat rekombinanta proteiner, monoklonala antikroppar, hepariner och vacciner. Den fleråriga utvecklingen av monoklonala antikroppar är ett exempel som illustrerar frågor som måste lösas för att nå målet – effektiva och säkra biologiska läkemedel.

Många av dagens nya läkemedel är så kallade biologiska eller bioteknologiska produkter. Banbrytande upptäckter inom immunologin som nu ligger 15–20 år bakåt i tiden, men också en genomgripande teknikutveckling har möjliggjort nya sätt att ”tillverka” denna typ av läkemedel. Läkemedlen kan angripa specifika mål-molekyler som identifierats med immunologiska metoder och som spelar en nyckelroll vid utvecklingen av olika sjukdomar. Andelen läkemedel som betecknas som biologiska kommer sannolikt att öka i framtiden och också omfatta nya administrationsformer (exempelvis via inhalation eller dermalt).

Till biologiska läkemedel räknas bland annat rekombinanta proteiner, monoklonala antikroppar, hepariner och vacciner. Typiskt är inte bara dessa substansers biologiska ursprung utan också att metoderna som används för framställningen är komplicerade och kräver särskild kvalitetskontroll utöver vad som gäller för vanliga läkemedel. Läkemedelsmyndigheternas farmaceutiska/bioteknologiska granskning av dessa produkter är därför särskilt viktig.

Den typ av bioteknologisk produkt som hittills gett flest användbara läkemedel är den monoklonala antikroppen. Den fleråriga utvecklingen av dessa antikroppar är ett betydande exempel på den dynamiska utvecklingen inom detta läkemedelsområde men även på problem som måste övervinnas för att nå målet – ett effektivt och säkert biologiskt läkemedel.

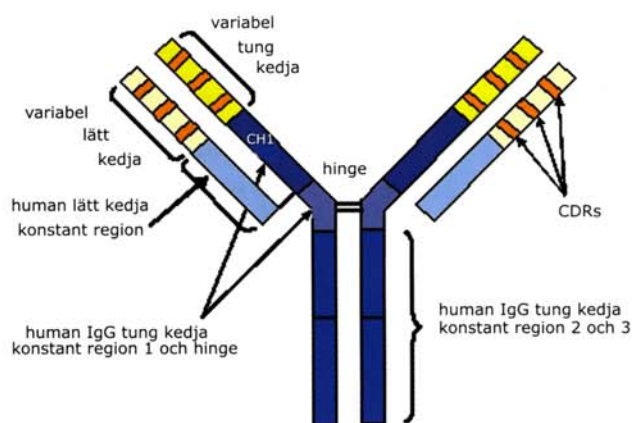
Om antikroppar

Antikroppar (immunoglobuliner) är proteiner som produceras av immunsystemets B-lymfocyter som svar mot främmande antigen. Antikroppar fungerar som markörer som binder till antigenet så att antigenet kan kännas igen och förstöras av fagocyter. Den del av antigenet som antikroppen binder till kallas epitop.

Strukturellt består antikroppar av fyra polypeptidkedjor; två identiska tunga kedjor (H; cirka 445 aminosyror) som sammanbinds via disulfidbryggor, och två identiska lätta kedjor (L; cirka 215 aminosyror) som binds till varsin tung kedja via en disulfidbrygga. Både de tunga och lätta kedjorna består av en variabel region (V) och en (lätt kedja) eller tre (tung kedja) konstanta (C) regioner. De variabla regionerna binder till antigenen och är ansvariga för den enorma diversitet och specificitet som kännetecknar immunoglobuliner. Denna diversitet baseras på rekombination av många gensegment följt av somatiska mutationer. Tre hypervariabla regioner (CDRs) finns i varje VL och VH. VL och VH sammanbinds via kovalenta och

icke-kovalenta interaktioner av lätt och tung kedja och CDRs bildar en yta som binder antigenet. Varje antikropp är bivalent och har därför möjlighet att binda två identiska antigen vilket ökar antikroppens affinitet för antigenet.

Figur 1. Struktur IgG.



De tunga konstanta regionerna, framför allt CH2 och CH3, är inblandade i de funktioner hos antikroppen som inte har att göra med antigenbindning. De binder till komplementfaktorer vilket resulterar i fagocytos eller komplementberoende cytotoxicitet (CDC). De binder också till Fc-receptorer, vilket kan resultera i fagocytos eller antikropsberoende cellulär cytotoxicitet (ADCC).

Polyklonala och monoklonala antikroppar

Varje B-cell syntetiserar bara en sorts antikropp, och i en organism finns en hel population av olika B-celler och deras respektive antikroppar som producerats som svar mot antigen som organismen exponerats för. För att vara användbar som terapeutiskt eller diagnostiskt verktyg behövs dock stora mängder av en specifik antikropp. Därför behöver man kunna massframställa B-celler identiska med en enda specifik B-cell. Antikroppar från ett sådant system kallas monoklonala antikroppar, till skillnad från antikroppar från blod eller immuniserade djur, som är polyklonala.

Tekniker för att framställa monoklonala antikroppar

År 1975 publicerade Köhler och Milstein det arbete som de senare (1984) skulle belönas med Nobelpriset för.

set för. I detta beskrev de en teknik att framställa kontinuerliga celler som uttryckte en specifik antikropp. Tekniken de använde var följande: Möss immuniseras med ett specifikt antigen och B-lymfocyter isoleras sedan från mössens mjälta. Dessa B-celler blandas med myelomceller (malignt omvandlade plasmaceller). Myelomcellerna kan fås att fusera med olika tekniker som till exempel tillsats av polyetylen glykol, virus eller elektroporering. De fuserade cellerna kallas hybridom. Nästa steg är att selektera för de önskade hybridomen. HGPRT (hypoxantin-guanin-fosforibosyltransferas) är ett enzym som är involverat i nukleotidsyntes från aminosyran hypoxantin. Myelomcellerna är HGPRT-negativa (HGPRT-), medan B-cellerna är HGPRT-positiva (HGPRT+). Kulturen odlas i HAT-medium (hypoxantin-aminopterin-tymidin) som bara tillåter växt av HGPRT+ celler. Myelomceller som fuseras med en annan myelomcell kan inte växa i detta medium. B-celler som fuseras med en annan B-cell kan förvisso växa men kan inte dela sig kontinuerligt, vilket ett hybridom kan, och bara dessa senare celler överlever flera passager. Efter detta vidtar screening för att hitta de celler som uttrycker den önskade antikroppen. Antikroppen odlas sedan vidare antigen via odling *in vivo* på möss i ascitesvätska eller *in vitro* i cellkultur. Även andra tekniker har använts för att framställa immortaliserade B-celler.

De allra första antikropparna som testades kliniskt och som kom ut på marknaden var framställda på detta sätt och producerades *in vivo* genom att hybridomen injicerades intraperitonealt i möss och ascitesvätskan tappades av och renades. Även om produkter framställda på detta sätt fortfarande finns kvar på marknaden (till exempel Orthoclone OKT 3), så används inte tekniken i nyare produkter. Detta beroende på djuretiska aspekter samt större risk för virusöverföring jämfört med nyare tekniker. Ett annat bekymmer som tidigt sågs med de murina monoklonala antikropparna var uppkomst av humana antimusantikroppar (HAMA). Denna uppkomst ändrade kraftigt den farmakokinetiska profilen genom att den monoklonala antikroppen eliminerades mycket snabbare och omöjliggjorde upprepad dosering. För att undvika HAMA har man i stort sett helt övergått till konstruktion av chimära antikroppar där de variabla regionerna i antikroppen, cirka 30 %, är av musursprung, medan resten överensstämmer med humana sekvenser, eller till humaniserade antikroppar där bara de hypervariabla regionerna (CDR), cirka 5–10 %, är av musursprung medan resten är av humant ursprung. Ytterligare ett steg har tagits med de humana antikropparna där sekvensen till 100 % överensstämmer med humana antikroppar. Det finns på marknaden idag en produkt med en helt human antikropp, Humira (adalimumab).

De flesta produkterna på marknaden idag framställs med rDNA-teknik, där man isolerat genen som uttrycker antikroppen, till exempel från ett hybridom, och överfört denna till en cellinje som uttrycker önskat protein genom odling i normal cellkultur. För att minska risken för virusmitta och annan smitta från mammalieceller har material från däggdjur, exempelvis bovint serum, i princip slutat användas vid sådan framställning.

Typer och derivat av monoklonala antikroppar

Flertalet av de marknadsförda produkterna är fulllängdsantikroppar av typ IgG. Dock kan man också se ett antal andra typer av antikropsderivade produkter:

- Antikropsfragment: Fabfragment, enkel-Fvkedje-antikroppar (ScFv) och andra F-fragment och deras multivalenta former är minimaliserade antikroppar, som behåller moderantikroppens antigenbindande förmåga och dess specificitet men inte dess komplementaktiverande funktioner. Sådana antikroppar framställs antingen genom rDNA-teknik eller genom kemisk modifiering av en fulllängdsantikropp.
 - Fusionsproteiner: Ett fusionsprotein uttrycks som ett sammanhållet protein där genen innehåller delar av eller hela den kodande regionen för IgG tillsammans med genen för ett annat protein.
 - Konjugerade monoklonala antikroppar: Terapeutisk och diagnostisk användning av monoklonaler kan ökas genom kemisk konjugering av en antikropp eller delar av den med till exempel följande:
 - konjugering av ett toxin eller annat protein för målsökning där mindre terapeutisk dos kan ges beroende på att bara avsedd vävnad behöver exponeras
 - konjugering av en radioaktiv isotop för radioaktiv märkning för användning vid diagnostiska undersökningar
 - konjugering med kemisk substans för förlängd halveringstid (exempelvis pegylering)
 - kemisk bindning av två antikropsmolekyler eller deras derivat för att skapa en bispecifik antikropp
- Förutom att användas terapeutiskt eller diagnostiskt används också monoklonala antikroppar ofta som ligander i affinitetskromatografi där ett visst protein selektivt kan bindas till en kolonn medan resten går rakt igenom. Detta har till exempel ofta använts för faktor VIII-preparat.

De preparat innehållande monoklonala antikroppar som finns godkända på den svenska marknaden framgår av Tabell I.

Tabell I. I Sverige registrerade läkemedel innehållande monoklonala antikroppar.

Reg. år	Preparatnamn	Aktiv substans	Värdcell/typ	Indikationsområde
1989	Orthoclone OKT 3	muromonab (anti-CD3)	musascites, murin	immunosuppression
1994	Reopro	abciximab (anti-GP IIb/IIIa) Fabfragment	SP2/0-celler, chimär mus/human	antitrombos
1996	CEA-Scan (avregistrerat)	arcitumomab (anti-CEA) fabfragment	mushybridom	diagnostikum
	Tecnemab-K-1 (avregistrerat)	antimelanom antikropp		diagnostikum
	Indimacis (avregistrerat)	igovomab		diagnostikum
1997	Leucoscan	sulesomab	mushybridom, ascites. Fabfragment	diagnostikum för osteomyelit
1998	Mabthera	rituximab (anti-CD20)	CHO-celler, chimär mus/human	onkologi
	Humaspect (avregistrerat)	votumumab	human B-lymfocytcellinje från rektal adenocarcinom	onkologi
	Simulect	basiliximab (anti-IL2-R)	SP2/0-celler, mus/human chimär	immunosuppression
1999	Zenapax	daclizumab (anti-IL2-R)	NS0-celler, humaniserad	immunosuppression
	Synagis	palivizumab (anti-RSV)	NS0-celler, humaniserad	antiviral (RSV)
	Remicade	infliximab (anti-TNF-alfa)	SP2/0-celler, chimär human/mus	kronisk inflammatorisk sjukdom
2000	Enbrel	etanercept (extracellulär ligand-bindande del av TNF-alfa kopplat till human Fc-del från IgG1)	CHO-celler	kronisk inflammatorisk sjukdom
	Herceptin	trastuzumab (anti-HER2)	CHO-celler, humaniserad	onkologi
2001	MabCampath	alemtuzumab (anti-CD-52)	CHO-celler, humaniserad	onkologi
2003	Humira/Trudexa	adalimumab (anti-TNF)	CHO-celler human	reumatoid artrit
2004	Erbitux	cetuximab (anti-EGFR)	SP2/0-Ag-14 chimär human/mus	onkologi
	Raptiva	efalizumab (anti-CD11a)	CHO-celler, humaniserad	psoriasis
	Zevalin	ibritumomab tiuxetan (IgG kappa anti-CD-20Ab kopplat till tiuxetan)	CHO-celler, murin	onkologi
2005	Avastin	bevacizumab (anti-VEGF)	CHO-celler, humaniserad	onkologi
	Xolair	omalizumab, (anti-IgE)	CHO-celler, humaniserad	astma
2006	Tysabri	natalizumab (anti-VLA-4)	NS0-celler, humaniserad	MS
	Lucentis	ranibizumab (anti-VEGF-A) Fabfragment	<i>E. coli</i> , humaniserad	neovaskulär åldersrelaterad makuladegeneration
2007	Orencia	abatacept (extracellulär domän av humant CTLA-4 kopplat till human IgG1 Fc-del)	CHO-celler, Fc-del human	reumatoid artrit