

知識天地

標靶抗體藥物的醣化修飾—調控免疫系統的一把鑰匙

吳宗益研究員、林津瑋博士後研究 (基因體研究中心)

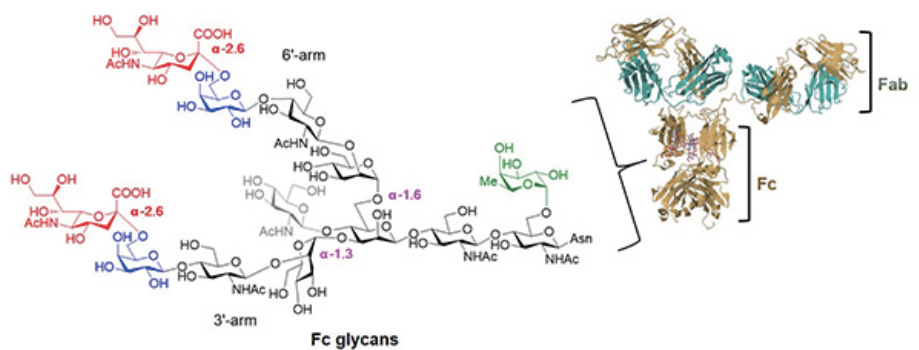
當前新創藥物的開發，蛋白質藥物因安全性等優點，日漸成為主流。而其中，抗體藥物更因具有高專一性、療效顯著與易於建立的發展平台等優勢而成為當中的佼佼者。然而，抗體的功能，卻深受其Fc部位上的醣化所影響，藉由抗體上不同醣化後修飾，不僅調控了抗體與體內免疫系統的互動，並進而影響此藥物在生物體內的效力以及安全性。

正如水能載舟，亦能覆舟，藥能治病，也可能傷身。在藥物開發過程中，藥品的安全性是極為重要的考量，許多極具潛力的前驅藥物，因為未能通過前期的毒性測試、或在臨床試驗時產生安全疑慮，必須終止開發計畫。因此，為了提升藥物開發的成功率、並節省藥物開發過程中的鉅大花費，一個好的研發策略是必須的。

蛋白質藥物一般具有較高的專一性、較好的溶解度、親和力、與較低的致毒機率.....等特性，因此，現今的製藥產業已逐漸將研發重心，由小分子藥物轉往蛋白質藥物等所謂的生物製劑。統計結果指出，於1996年至2014年間，超過9200個新創藥物進入臨床與監管階段，其中，生物製劑在各臨床階段的總成功率，皆高於小分子藥物。甚至，於2012至2014年間，二者之間，高達兩倍差距（分別為9%與18%）¹。然而，生物製劑雖隨著基因工程的進展，愈發成熟，卻也因蛋白質在結構上的多變性、細胞株或製程等方法的改變，而造成不同的後修飾（post-translational modification）、或結構上的些微改變，進而影響蛋白質藥物的活性、代謝，並產生副作用，甚至引發抗藥性與過敏等免疫問題。

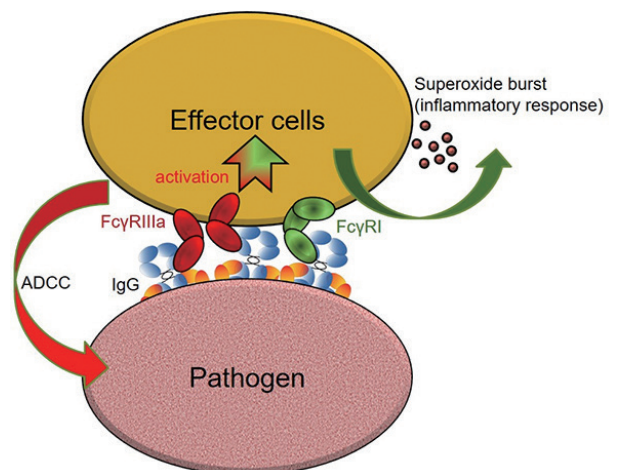
目前市場上發展最快速的蛋白質藥物為單株抗體藥物與其相關衍生物²，舉凡器官移植排斥、類風濕性關節炎、多發性硬化症、多發性骨髓瘤、大腸直腸癌、頭頸癌、乳癌、淋巴瘤.....等，都是這些市售核可的單株抗體藥物的治療標的。其作用原理是以「致病細胞異常高度表現的表面分子」或「致病細胞間的訊息傳遞分子」為標靶，經由抗體分子辨識後，進而阻斷致病訊息的傳遞、或引起體內免疫系統對病原細胞進行各式毒殺，以達成治療目標。

在分子量約150KDa的抗體分子上，分為二大部份—Fab與



圖一 抗體與醣的結構

Fc（圖一），Fab主要功能在於辨識病原分子，而Fc主要是與免疫細胞上的受體分子（Fc gamma receptor，FcγR）或血液中的補體蛋白質（complement）進行結合。於是，經由抗體藥物的引介，便能夠精準地在病人體內的致病細胞處，召集免疫細胞到達此處，執行抗體依賴細胞介導的細胞毒殺作用（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity，ADCC）（圖二）、或吸引補體蛋白質的到來，進行補體依賴的細胞毒殺作用（complement-dependent cytotoxicity，CDC），以將致病細胞清除。其中，在Fc部位上，有一對分子量分別小於2KDa的醣化分子，此醣化後修飾相當重要，它能調控抗體與免疫細胞上



圖二 抗體依賴細胞介導的細胞毒殺作用(ADCC)

受體分子的結合能力，並進而影響抗體所介導的病原細胞毒殺。利用此一原理，近年來，日本的Kyowa Hakko Kirin公司與羅氏藥廠，即藉由醣分子的生物合成路徑的調控，分別成功地發展出 mogamulizumab與癌及瓦 (obinutuzumab) 此二「去岩藻醣化」的單株抗體，藉以提升藥效³。目前，此二標靶抗體藥物，可分別用於治療復發性的CCR4-T細胞淋巴瘤白血病患者與慢性B細胞淋巴瘤白血病患者。

然而，隨著使用不同的細胞株進行抗體生產、甚至是使用相同細胞株但生產製程的些微變動，都可能造成各抗體在生產批次間的醣化後修飾改變，因而導致此藥物在藥效與安全性上不可忽略的隱憂⁴。舉例來說，使用小鼠骨髓瘤細胞株 (mouse myeloma cells) NS0或SP2/0所生產的抗體，通常含有N-羥基乙醯神經胺酸 (N-glycolylneuraminic acid)，此為人體內唾液酸的衍生物，並被報導為潛在致敏原，可能引發不當免疫反應。因此，每一個抗體新藥在進入臨床試驗前，其醣化後修飾在化學製造與管控 (Chemistry, Manufacturing and Controls, CMC) 階段的審查，顯得格外重要。

為了克服上述標靶單株抗體藥物在Fc部位的複雜醣化後修飾，本研究室與翁啟惠院士合作目前著力於均相醣化抗體藥物的製備與研發⁵。我們利用化學搭配酵素的合成方法 (chemo-enzymatic method)，將市售的賀癌平 (Trastuzumab)、莫須瘤 (Rituximab)等抗體進行醣分子的「剪、接改造」，並成功地取得多種單一醣化結構的抗體藥物。藉由表面電漿共振感測儀 (surface plasma resonance, SPR) 的分析結果顯示，當抗體與主導ADCC的受體分子—FcγRIIIa進行結合時，Fc部位的醣化會因含核心岩藻糖與否、唾液酸醣化的鏈結位置、以及不同醣分支的鏈長，而呈現不同強度的親和力調控。此一趨勢，亦在賀癌平抗體對SKBR3乳癌細胞的ADCC生物毒殺檢測中，得到證實。此外，將上述多種單一醣化結構的賀癌平抗體與另一細胞毒殺、發炎相關的受體分子—FcγRI進行結合時，醣的鏈長依舊扮演重要角色。

而依據上述醣分子與抗體在結構與活性關聯 (structure-activity relationship, SAR) 之分析結果，我們選定一「去核心岩藻糖」且具備「2,6位向鏈結的唾液酸糖」之醣分子結構進行深入研究。結果顯示，此醣分子結構不僅在賀癌平抗體上，具有提升毒殺乳癌細胞的能力，同時，在莫須瘤抗體上，亦能強化對抗B淋巴瘤細胞的活性，甚至，針對具抗藥性的B淋巴瘤細胞，亦保有相當高程度的毒殺效果。除了這些對抗癌症的抗體之外，我們亦進一步針對受H1N1流感病毒感染的細胞進行探究，結果顯示此醣分子結構在具有中和流感病毒能力的單株抗體FI6上，也同樣具有提升ADCC的毒殺能力，並對受感染的老鼠呈現保護效果，因而提升染病老鼠的存活率。此結果說明，此種醣分子結構具有廣效的應用性，它能夠同時在不同標靶的抗體分子上，針對不同特性的致病細胞，提升毒殺效果。

但除了對病原細胞的毒殺能力外，抗體的Fc醣分子在過往的文獻報導中，也常被認為與抗體的血液半衰期、發炎反應、自體免疫等方面多所相關，然而，過去苦於無法得到單一結構的醣化抗體，因此，無法釐清各式醣分子結構對抗體在其他免疫調控與半衰期方面的關聯性。期待藉由本實驗室現今醣化修飾技術的邁進、與相關研究的努力，未來能夠裨益相關領域的研發與進展，並開創藥效更佳、副作用更少的標靶單株抗體藥物。

延伸閱讀資料:

1. Smietana, K., Siatkowski, M. & Moller, M. Trends in clinical success rates. *Nat Rev Drug Discov* **15**, 379-380 (2016).
2. Ecker, D.M., Jones, S.D. & Levine, H.L. The therapeutic monoclonal antibody market. *MAbs* **7**, 9-14 (2015).
3. Beck, A. & Reichert, J.M. Marketing approval of mogamulizumab: A triumph for glyco-engineering. *mAbs* **4**, 419-425 (2012).
4. Hansel, T.T., Kropshofer, H., Singer, T., Mitchell, J.A. & George, A.J.T. The safety and side effects of monoclonal antibodies. *Nat Rev Drug Discov* **9**, 325-338 (2010).
5. Lin, C.-W. et al. A common glycan structure on immunoglobulin G for enhancement of effector functions. *Proc Natl Acad Sci USA* **112**, 10611-10616 (2015).