

BÀI TỔNG QUAN

CẢI TIẾN HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ UNG THƯ SỬ DỤNG KHÁNG THỂ

Biên dịch: Phùng Thị Thu Hằng, Bùi Thị Hải Hà, Nguyễn Trung Nam, Lê Trần Bình

Viện Công nghệ sinh học

TÓM TẮT

Trải qua một phần tư thế kỷ kể từ khi ra đời, kháng thể đơn dòng đã được phát triển nhanh chóng và trở thành một loại được liệu ứng dụng trong điều trị nhiều loại bệnh khác nhau ở người, trong đó có bệnh ung thư. Mặc dù kháng thể đơn dòng chưa đạt được mục đích cuối cùng là chữa khỏi bệnh ung thư, nhưng ngày càng có nhiều phương pháp cải tiến để tăng hiệu quả điều trị của kháng thể. Các kháng thể đã bắt đầu cho thấy hiệu quả và triển vọng như những liệu pháp điều trị chống ung thư, ví dụ năm loại kháng thể đã được làm thành thuốc bán trên thị trường Mỹ (Rituxan, Herceptin, Mylotarg và Alemtuzumab - Campath) và Đức (Panorex). Ưu điểm chính của liệu pháp điều trị bằng kháng thể cho các khối u mềm so với các khối u cứng là khả năng thâm nhập cao hơn rất nhiều, dẫn đến sự tích tụ tại khối u hiệu quả hơn cũng như hiệu lực điều trị cao hơn. Điều quan trọng của phương pháp điều trị bằng kháng thể là làm tăng hiệu lực kháng lại khối ung thư của nhiều kháng thể được phát hiện thấy qua các nghiên cứu cứu cấy ghép. Thực tế cho thấy rằng, sự tích tụ của kháng thể trong các khối ung thư trên chuột thường rất có hiệu quả và các kháng thể hướng tới những kháng nguyên của người đôi khi lại không đáp ứng với kháng nguyên chuột. Ngược lại, thực tế lâm sàng cũng với những kháng thể đó cho thấy chúng thường thiếu hiệu lực và độc tính đủ mạnh, dẫn đến hạn chế gắn kết với kháng nguyên dương tính tại vị trí khối u. Rõ ràng là, khái niệm về tăng cường hoạt động kháng ung thư của kháng thể trên bệnh nhân ung thư và việc kiểm soát được độc tính của chúng vẫn còn là những thách thức lớn.

Từ khóa: Kháng thể đơn dòng, kháng thể kháng ung thư, trị liệu, ung thư

ĐẶT VẤN ĐỀ

Năm 1995, năm loại kháng thể đơn dòng đã được công nhận đưa vào dùng cho điều trị bệnh ung thư (Bảng 1). Khoảng 20 loại kháng thể khác đang trong giai đoạn thử nghiệm điều trị ung thư sẽ được công nhận sau khi có được kết quả đáng tin cậy (Quan, Carter, 2001; Glennie, Johnson, 2000), trong đó bao gồm cả 10 loại đang được thử nghiệm ở giai đoạn III hay ở những giai đoạn tiếp theo (Bảng 1).

Việc dùng kháng thể trong điều trị hoàn toàn thực hiện được bằng sự ra đời của các công nghệ tiên tiến nhằm khắc phục những hạn chế của việc sử dụng các kháng thể đơn dòng của chuột (mAb) như khả năng sinh miễn dịch với protein lạ trên cơ thể bệnh nhân, các chức năng hiệu ứng không hiệu quả, và thời gian tồn tại của chúng chỉ dưới 20 h (1-4). Công nghệ lai từ kháng thể của chuột là con đường trực tiếp để tạo kháng thể người có ái lực cao, sử dụng thư viện "Phage display" hoặc chuột chuyển gen (Bảng thuật ngữ 1). Công nghệ quan trọng này đã tiếp tục được phát triển nhằm thay đổi các đặc tính của kháng thể như thay đổi kích cỡ phân tử, ái

lực gắn kết kháng nguyên, độ đặc hiệu hay số liên kết hóa trị (1,3-5). Các nghiên cứu về tăng hoạt động tiêu diệt khối u của kháng thể mới chỉ ở giai đoạn bắt đầu nhưng đã có những kết quả khả quan, hứa hẹn ở những giai đoạn tiếp theo (Bảng thuật ngữ 2).

Mặc dù có nhiều tiến bộ quan trọng trong công nghệ tạo kháng thể, (Bảng thuật ngữ 1 & 2), các số liệu về đáp ứng miễn dịch u bướu trên bệnh nhân cho thấy nhu cầu cấp thiết phải làm tăng hiệu quả của kháng thể chống ung thư. Ví dụ trong nghiên cứu giai đoạn II của kháng thể khảm chống CD20 rituximab (Rituxan) trên bệnh nhân u hạch bạch huyết không-Hodgkin tái phát, chỉ một nửa trong số họ đáp ứng với kháng thể (McLaughlin *et al.*, 1998). Kết quả thử nghiệm trên 166 bệnh nhân cho thấy có 6% đáp ứng hoàn toàn và 42% đáp ứng một phần, tương tự khi sử dụng phương pháp hóa trị liệu dùng tác nhân độc tố trên nhóm bệnh nhân này. Những kết quả thu được kết hợp với số liệu thống kê về độc tính của Rituxan được Cơ quan quản lý thuốc và thực phẩm Hoa Kỳ (FDA) công nhận và kết luận Rituxan chống lại u hạch bạch huyết tái phát lành tính. Tuy nhiên, thời gian đáp ứng miễn dịch trung bình chỉ khoảng 12

tháng (McLaughlin *et al.*, 1998). Giai đoạn III khi nghiên cứu trastuzumab (Herceptin) - một kháng thể người chống lại thụ thể Tyrosine Kinase ERBB2 (còn được gọi là HER2/NEU) (McLaughlin *et al.*, 1998) - trong bệnh ung thư vú di căn cho thấy: Trong 222 bệnh nhân (Cobleigh *et al.*, 1999) chỉ khoảng 15% có đáp ứng miễn dịch tổng thể (8 bệnh nhân đáp ứng hoàn toàn và 26 bệnh nhân đáp ứng một phần) và khoảng thời gian đáp ứng miễn dịch trung bình là 9.1 tháng và thời gian sống sót là 13 tháng.

Các chứng minh lâm sàng cho thấy hầu hết các thuốc kháng thể được thử nghiệm trực tiếp trên tế bào ung thư. Một số phương pháp đã được đề ra nhằm làm tăng hiệu lực của các kháng thể bao gồm tăng chức năng hiệu ứng, khả năng tác dụng trực tiếp và gián tiếp cũng như khả năng tiếp cận đích của các dạng tiền thuốc (Hình 1). Thêm nữa, hoạt tính chống lại khối u có thể xảy ra khi kháng thể ngăn chặn các yếu tố tăng sinh hòa tan gắn kết với các thụ thể của chúng như thụ thể của yếu tố tăng sinh biểu bì (EGFR) (Yang *et al.*, 1999) và ERBB2 (Agus *et al.*, 2000; Fitzpatrick *et al.*, 1998). Các định hướng nghiên cứu bổ sung nhằm góp phần nâng cao hiệu quả trong điều trị u bướu bao gồm tấn công vào thành phần trong mạch máu khối u bướu hay các nhân tố kích thích tăng sinh u bướu và các thụ thể của chúng (Bảng thuật ngữ 3) (Carter *et al.*, 1992).

Các chiến lược lâm sàng

Sự kết hợp với các loại thuốc có độc tính: Sự kết hợp với các loại thuốc có độc tính khác nhau đã được dùng rộng rãi và thành công trong điều trị các bệnh ung thư, làm tăng tỷ lệ đáp ứng cũng như khoảng thời gian đáp ứng của từng loại thuốc. Việc sử dụng kháng thể kết hợp với hóa trị liệu làm tăng hiệu quả của phương thức điều trị này và các nghiên cứu cấy ghép khối u cho thấy rõ hiệu lực tiến triển của điều trị kháng thể kết hợp với hóa trị liệu so với việc dùng thuốc đơn lẻ. Ví dụ Herceptin có hiệu lực với hoạt động kháng u bướu khi dùng kết hợp với cisplatin và carboplatin (Pietras *et al.*, 1994; 1998) và hiệu quả tăng hơn nữa khi sử dụng kết hợp với doxorubicin, cyclophosphamide, methotrexate, taxol hay chất ức chế cyclooxygenase-2 chọn lọc, celecoxib (Pietras *et al.*, 1998; Baselga *et al.*, 1998; Pegram *et al.*, 1999). Kết hợp sử dụng Herceptin trong hóa trị liệu độc tố cũng góp phần mang lại hiệu quả đáng kể, ví dụ các kết quả thử nghiệm ở giai đoạn III trên bệnh ung thư vú di căn biểu hiện nhiều ERBB2 (Slamon *et al.*, 2001) cho thấy có sự kéo dài thời gian đáp ứng (9.1 tháng so với 6.1 tháng), tỷ lệ đáp ứng tổng thể cao hơn (50% so với 32%) và tỷ lệ chết giảm trong vòng

một năm (22% so với 33%).

Tuy nhiên, hiệu quả lâm sàng khi kết hợp Herceptin với điều trị bằng hóa trị liệu cũng có những tiêu cực như: Herceptin khi không kết hợp với hóa trị liệu thì được dung nạp rất tốt, có rất ít phản ứng phụ (Cobleigh *et al.*, 1999; Baselga *et al.*, 1996), trong khi đó nếu Herceptin kết hợp với hóa trị liệu thì xuất hiện tác dụng phụ có thể còn độc hại hơn khi chỉ dùng hóa trị liệu đơn lẻ (Slamon *et al.*, 2001; Pegram *et al.*, 1998; Slamon, Pegram, 2001). Ví dụ, Herceptin kết hợp với thuốc anthracycline, cyclophosphamide gây ra tác dụng phụ không tốt cho tim mạch, mặc dù các triệu chứng trên biểu hiện không rõ nét nhờ sự chăm sóc của y tế (Slamon *et al.*, 2001).

Hiện nay, Herceptin đang được dùng độc lập thử nghiệm trên các bệnh nhân ung thư vú di căn, là những người có các khối u biểu hiện ERBB2 cao và họ ít nhất được một lần điều trị bệnh di căn theo chế độ hóa trị liệu. Herceptin cũng được dùng kết hợp với taxol trên các bệnh nhân ung thư vú di căn và chưa được điều trị bệnh di căn theo chế độ hóa trị liệu.

Kháng thể chống CD20 Rituxan làm một vài dòng tế bào B kháng thuốc miễn cảm với hiệu ứng độc tế bào của thuốc etoposide, cisplatin và doxorubicin (Demidem *et al.*, 1997). Trong nghiên cứu lâm sàng giai đoạn II với Rituxan cộng thêm hóa trị liệu (như cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine và prednisone) trên bệnh u hạch bạch huyết lympho B không Hodgkin ở liều thấp (Czuczman *et al.*, 1999) hay ở liều cao (Vose *et al.*, 2001) cho thấy có tác dụng hỗ trợ (Czuczman *et al.*, 1999) hay ít ra là quan sát được (Vose *et al.*, 2001) về những hiệu quả lâm sàng của Rituxan khi kết hợp với hóa trị liệu so với hóa trị liệu đơn thuần mà không gây thêm một độc hại nào. Những thử nghiệm giai đoạn III được dự đoán là sẽ có tỷ lệ và thời gian đáp ứng tốt hơn có ý nghĩa thống kê khi kết hợp Rituxan với hóa học trị liệu.

Cùng với Herceptin và Rituxan, ít nhất 5 loại kháng thể kháng ung thư khác đang được thử nghiệm kết hợp với hóa trị liệu (Quan, Carter, 2001) (Bảng 1). Ngày càng có thêm nhiều các thử nghiệm như vậy, chứng tỏ sự cần thiết phải kiểm tra thuốc làm từ kháng thể áp dụng trong bối cảnh trị liệu bệnh chuẩn, thường là hóa trị liệu, với mong muốn cải thiện được hoạt động kháng u bướu bằng các kháng thể đơn lẻ. Hai yếu tố chủ yếu là dữ liệu tiền lâm sàng cho thấy lợi ích của sự kết hợp giữa kháng thể đặc hiệu với hóa học trị liệu và những thành công trên lâm sàng của Herceptin và Rituxan kết hợp với hóa học trị liệu.

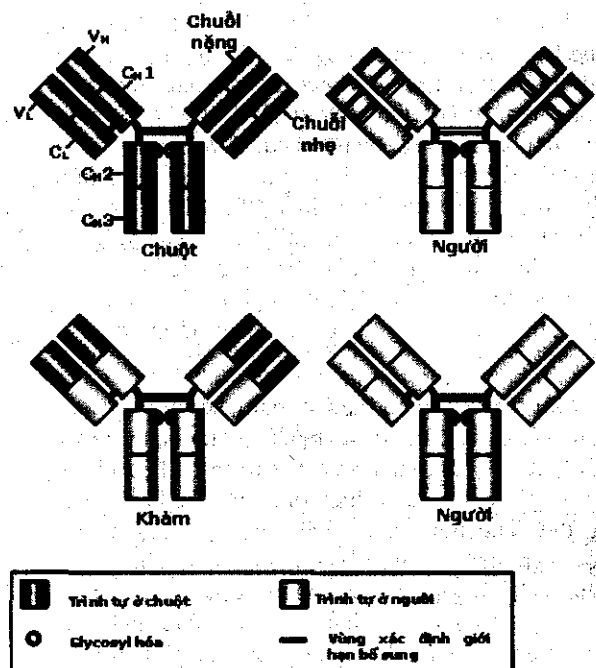
Bảng thuật ngữ 1. Các công nghệ kháng thể chủ yếu dùng trong trị liệu.

Kháng thể chuột: được tạo ra từ công nghệ lai (Köhler, Milstein, 1975) bằng cách gây miễn dịch chuột.

Kháng thể khảm: thu được nhờ gắn kết vùng biến đổi, gắn kết kháng nguyên của kháng thể đơn dòng chuột với các vùng không biến đổi của người: VL của chuột với CL của người tạo ra chuỗi nhẹ và VH của chuột với CH 1_CH 2_CH 3 của người tạo ra các chuỗi nặng (Boulianne *et al.*, 1984; Morrison *et al.*, 1984).

Kháng thể lai: được tạo ra bởi việc ghép vùng quyết định kháng nguyên bổ sung (CDR) từ kháng thể đơn dòng của chuột sang IgG của người (Jones *et al.*, 1986; Riechmann *et al.*, 1988; Verhoeyen *et al.*, 1988). Việc tạo ra kháng thể lai có ái lực cao đòi hỏi chuyển một hoặc một số gốc từ các vùng khung của kháng thể chuột. Một số công nghệ tạo kháng thể lai khác nhau đang được phát triển.

Kháng thể người: các kháng thể này có ái lực cao với các kháng nguyên, có được từ các mảnh lớn của vùng biến đổi chuỗi đơn (scFvs) hay thư viện Phage display Fab (de Haard *et al.*, 1999; Knappik *et al.*, 2000; Sheets *et al.*, 1998; Vaughan *et al.*, 1996; Griffiths *et al.*, 1994). Khó khăn của việc tạo kháng thể tương ứng với các kháng nguyên tự thân là những vùng cực kỳ bảo thủ của người và chuột bằng công nghệ lai hóa có thể khắc phục được với công nghệ phage display (Griffiths *et al.*, 1993). Các kháng thể người có ái lực cao cũng thu được từ chuột chuyển gen, chúng chứa đựng một vài hay nhiều gen kháng thể người cũng như các locus kháng thể nội sinh bị thay đổi về di truyền. Sự gây miễn dịch làm sản sinh ra các kháng thể người có thể khôi phục được bằng công nghệ lai hóa (Yang *et al.*, 1999; Tsutsumi *et al.*, 2000; Fishwild *et al.*, 1996; Mendez *et al.*, 1997; Nicholson *et al.*, 1999). Kháng thể của thụ thể kháng yếu tố tăng trưởng biểu bì trên người thu được từ chuột chuyển gen tiêu diệt được các khối u bướu lớn trên một vài mô hình cấy ghép tiền lâm sàng (Yang *et al.*, 1999).



Thực tiễn lâm sàng: các bằng chứng chỉ ra rằng kháng thể người, kháng thể lai và kháng thể khảm có tính miễn dịch thấp hơn kháng thể chuột (Clark, 2000). Kháng thể lai chứa ít chuỗi gen lạ hơn so với kháng thể khảm và có tính sinh miễn dịch thấp hơn. Có những bằng chứng tương tự khi so sánh kháng thể người lai và kháng thể người cho dù chưa đủ số liệu về lâm sàng. Các yếu tố khác tác động lên tính sinh miễn dịch của kháng thể bao gồm: cách thức và tần suất đưa vào cơ thể, liều lượng, thể trạng bệnh lý và hệ miễn dịch của bệnh nhân, tính đặc hiệu kháng nguyên của kháng thể và sự tạo thành phức hợp miễn dịch với kháng nguyên (Clark, 2000).

Sự chọn lựa công nghệ kháng thể: các kháng thể người và kháng thể lai là những công nghệ hiện nay được lựa chọn nhiều nhất để phát triển các phương pháp sử dụng kháng thể cho điều trị. Kháng thể lai đã được chứng nhận là công nghệ có hiệu lực tốt trên lâm sàng. Ngược lại, phát triển trực tiếp kháng thể người mang lại sự phát triển tiền lâm sàng nhanh hơn mà không cần tới kháng thể đơn dòng của chuột. Sự lựa chọn các công nghệ kháng thể người khác nhau tùy thuộc vào mức độ sẵn có của chúng, ý kiến của giới chuyên môn và những cân nhắc về khả năng thương mại hóa.

Điều trị các phần sót lại của khối u sau trị liệu: Dùng kháng thể trong điều trị các phần sót lại của khối u sau trị liệu các cũng như các tế bào nhỏ di căn của khối u sau phẫu thuật, hóa trị liệu và phóng xạ trị liệu là một chiến lược (Riethmüller *et al.*, 1994; Riethmüller *et al.*, 1998) khắc phục được những nhược điểm của kháng thể như khả năng tiếp cận và sự thâm nhập hạn chế của kháng thể vào khối u rắn (Quan, Carter, 2001; Farah *et al.*, 1998). Thực tế, kháng thể đơn dòng kháng lại phân tử kết dính tế bào biểu bì (EpCam), 17-1A (Herlyn *et al.*, 1979) còn gọi là ederecolomab (Panorex) được ghi nhận là có hiệu lực tốt trong việc điều trị các bệnh di căn tế bào nhỏ và các phần ung thư còn sót lại (Riethmüller *et al.*, 1994; 1998) hơn là các bệnh di căn phát triển ở ạt (Mellstedt *et al.*, 1991). Panorex đã được công nhận dùng trong điều trị bệnh ung thư ruột ở Đức dựa trên những đáp ứng của 189 bệnh nhân trong giai đoạn thử nghiệm III (Riethmüller *et al.*, 1994). Tuy nhiên, vẫn cần phải khảo sát hiệu lực của Panorex đơn lẻ và khi kết hợp với hóa trị liệu và việc này sẽ được thực hiện trong giai đoạn thử nghiệm thứ III tại Hoa Kỳ (Bảng 1). Hơn thế nữa, hiệu quả điều trị các phần sót lại của khối u cũng sẽ đảm bảo cho việc đánh giá một số kháng thể khác. Các thử nghiệm lâm sàng với Herceptin cũng đang được tiến hành (Demidem *et al.*, 1997).

Một vài yếu tố có thể làm hạn chế việc sử dụng kháng thể trong điều trị các bệnh ung thư ngay cả khi chúng được công nhận như liệu pháp trị liệu kháng ung thư, hay ít ra là có hiệu quả trên các bệnh nhân ung thư. Thứ nhất là các kết quả thử nghiệm phải được tiến hành trên hàng chục nghìn bệnh nhân nhằm có những phân tích thống kê đầy đủ về hiệu quả điều trị. Thứ hai, phải theo dõi bệnh nhân sau điều trị để ghi nhận theo thời gian mức độ tiến triển của bệnh hay là tỷ lệ tử vong. Thứ ba là quy mô lớn và khoảng thời gian kéo dài của những thử nghiệm này buộc chúng ta phải có nguồn tài chính lớn để thực hiện.

Tăng cường các chức năng hiệu ứng

Kháng thể người IgG1 và IgG3 có khả năng hỗ trợ các chức năng hiệu ứng của phản ứng độc tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và phản ứng độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC) (Hình 2). Các tế bào u bướu bị tiêu diệt bởi ADCC thường được khởi đầu bằng phản ứng tương tác giữa vùng Fc của kháng thể gắn kết với tế bào ung thư, và thụ thể Fcγ trên các tế bào miễn dịch như bạch cầu trung tính, đại thực bào và tế bào NK. CDC được khởi động bởi các bổ thể C1q

gắn với vùng Fc của IgG, chúng sẽ được gắn kết lên bề mặt của tế bào ung thư, tiêu diệt tế bào ung thư theo cách phụ thuộc hay không phụ thuộc vào tế bào (Hình 2).

Tương tác giữa Fc và thụ thể Fc-γ rất quan trọng cho hoạt động kháng u bướu của một kháng thể *in vivo*, được chứng minh trên chuột thiếu thụ thể FcγRI và FcγRIII (Clynes *et al.*, 1998). Kháng thể kháng u melanoma bản thân đã có hoạt tính tiêu diệt khối u trên mô hình chuột gây ung thư di căn, nhưng hoạt tính này không có nếu chuột thiếu thụ thể FcγRI và FcγRIII. ADCC là cơ chế cơ bản cho các tác động kháng u bướu trong sự tương tác giữa Fc và thụ thể Fc-γ. Theo một cơ chế khác, các kết quả nghiên cứu trên có thể được giải thích bằng cảm ứng chết tế bào theo chương trình (apoptosis) tạo ra bởi sự kết hợp các tế bào hiệu ứng và tế bào đích.

Tầm quan trọng của phản ứng tương tác giữa Fc và thụ thể Fc-γ đối với hoạt động kháng u bướu được chứng minh bằng các kháng thể trong lâm sàng Herceptin và Rituxan (Clynes *et al.*, 2000) cũng như trong liệu pháp điều trị não với kháng thể kháng thụ thể EGF trên mô hình u não (Sampson *et al.*, 2000). Hoạt động kháng u bướu của Herceptin và Rituxan giảm đi đáng kể trong chuột thiếu thụ thể FcγRI và FcγRIII, nhưng nếu loại bỏ gen mã hóa thụ thể ức chế FcγRIIB lại làm tăng đáng kể hoạt tính kháng u bướu. Hoạt tính kháng u bướu của Herceptin cũng giảm đi bởi một đột biến D265A làm hỏng chức năng gắn kết của FcγRIII và FcγRIIB. Các nghiên cứu này cho thấy tiềm năng nâng cao hoạt tính chống khối u của kháng thể bằng các thao tác ở vùng Fc nhằm tăng ái lực của nó với các thụ thể hoạt hóa hoặc ngăn cản khả năng gắn kết của nó với các thụ thể ức chế. Các đột biến điểm trong vùng Fc làm tăng ra sự gắn kết tăng với thụ thể FcγRIII và hiệu quả tăng lên 2 lần trong phản ứng ADCC *in vitro*. Ý nghĩa của kết quả này trong *in vivo* và trong lâm sàng vẫn chưa được kiểm chứng.

Hiện tượng glycosyl hóa phân tử IgG tại vị trí Asn 297 (Kabat *et al.*, 1991) có tác dụng duy trì cấu trúc bậc bốn của vùng CH2 (Deisenhofer, 1981) (Bảng thuật ngữ 1), cần thiết cho các chức năng hiệu ứng của chúng (Wright, Morrison, 1997). Các tế bào sản sinh ra kháng thể (tế bào sản xuất) kể cả trong điều kiện nuôi cấy, có thể ảnh hưởng đáng kể tới cấu trúc kháng thể tạo ra, dẫn tới ảnh hưởng đến khả năng của kháng thể tham gia vào ADCC (Lifely *et al.*, 1995). Sự gia tăng mức độ của phức hợp oligosaccharides gắn với vùng Fc của một kháng thể có thể làm tăng khả năng hỗ trợ ADCC của chúng

Điều trị các phần sót lại của khối u sau trị liệu: Dùng kháng thể trong điều trị các phần sót lại của khối u sau trị liệu các cũng như các tế bào nhỏ di căn của khối u sau phẫu thuật, hóa trị liệu và phóng xạ trị liệu là một chiến lược (Riethmüller *et al.*, 1994; Riethmüller *et al.*, 1998) khắc phục được những nhược điểm của kháng thể như khả năng tiếp cận và sự thâm nhập hạn chế của kháng thể vào khối u rắn (Quan, Carter, 2001; Farah *et al.*, 1998). Thực tế, kháng thể đơn dòng kháng lại phân tử kết dính tế bào biểu bì (EpCam), 17-1A (Herlyn *et al.*, 1979) còn gọi là ederecolomab (Panorex) được ghi nhận là có hiệu lực tốt trong việc điều trị các bệnh di căn tế bào nhỏ và các phần ung thư còn sót lại (Riethmüller *et al.*, 1994; 1998) hơn là các bệnh di căn phát triển ở at (Mellstedt *et al.*, 1991). Panorex đã được công nhận dùng trong điều trị bệnh ung thư ruột ở Đức dựa trên những đáp ứng của 189 bệnh nhân trong giai đoạn thử nghiệm III (Riethmüller *et al.*, 1994). Tuy nhiên, vẫn cần phải khảo sát hiệu lực của Panorex đơn lẻ và khi kết hợp với hóa trị liệu và việc này sẽ được thực hiện trong giai đoạn thử nghiệm thứ III tại Hoa Kỳ (Bảng 1). Hơn thế nữa, hiệu quả điều trị các phần sót lại của khối u cũng sẽ đảm bảo cho việc đánh giá một số kháng thể khác. Các thử nghiệm lâm sàng với Herceptin cũng đang được tiến hành (Demidem *et al.*, 1997).

Một vài yếu tố có thể làm hạn chế việc sử dụng kháng thể trong điều trị các bệnh ung thư ngay cả khi chúng được công nhận như liệu pháp trị liệu kháng ung thư, hay ít ra là có hiệu quả trên các bệnh nhân ung thư. Thứ nhất là các kết quả thử nghiệm phải được tiến hành trên hàng chục nghìn bệnh nhân nhằm có những phân tích thống kê đầy đủ về hiệu quả điều trị. Thứ hai, phải theo dõi bệnh nhân sau điều trị để ghi nhận theo thời gian mức độ tiến triển của bệnh hay là tỷ lệ tử vong. Thứ ba là quy mô lớn và khoảng thời gian kéo dài của những thử nghiệm này buộc chúng ta phải có nguồn tài chính lớn để thực hiện.

Tăng cường các chức năng hiệu ứng

Kháng thể người IgG1 và IgG3 có khả năng hỗ trợ các chức năng hiệu ứng của phản ứng độc tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) và phản ứng độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC) (Hình 2). Các tế bào u bướu bị tiêu diệt bởi ADCC thường được khởi đầu bằng phản ứng tương tác giữa vùng Fc của kháng thể gắn kết với tế bào ung thư, và thụ thể Fcγ trên các tế bào miễn dịch như bạch cầu trung tính, đại thực bào và tế bào NK. CDC được khởi động bởi các bổ thể C1q

gắn với vùng Fc của IgG, chúng sẽ được gắn kết lên bề mặt của tế bào ung thư, tiêu diệt tế bào ung thư theo cách phụ thuộc hay không phụ thuộc vào tế bào (Hình 2).

Tương tác giữa Fc và thụ thể Fc-γ rất quan trọng cho hoạt động kháng u bướu của một kháng thể *in vivo*, được chứng minh trên chuột thiếu thụ thể FcγRI và FcγRIII (Clynes *et al.*, 1998). Kháng thể kháng u melanoma bản thân đã có hoạt tính tiêu diệt khối u trên mô hình chuột gây ung thư di căn, nhưng hoạt tính này không có nếu chuột thiếu thụ thể FcγRI và FcγRIII. ADCC là cơ chế cơ bản cho các tác động kháng u bướu trong sự tương tác giữa Fc và thụ thể Fc-γ. Theo một cơ chế khác, các kết quả nghiên cứu trên có thể được giải thích bằng cảm ứng chết tế bào theo chương trình (apoptosis) tạo ra bởi sự kết hợp các tế bào hiệu ứng và tế bào đích.

Tầm quan trọng của phản ứng tương tác giữa Fc và thụ thể Fc-γ đối với hoạt động kháng u bướu được chứng minh bằng các kháng thể trong lâm sàng Herceptin và Rituxan (Clynes *et al.*, 2000) cũng như trong liệu pháp điều trị não với kháng thể kháng thụ thể EGF trên mô hình u não (Sampson *et al.*, 2000). Hoạt động kháng u bướu của Herceptin và Rituxan giảm đi đáng kể trong chuột thiếu thụ thể FcγRI và FcγRIII, nhưng nếu loại bỏ gen mã hóa thụ thể ức chế FcγRIIB lại làm tăng đáng kể hoạt tính kháng u bướu. Hoạt tính kháng u bướu của Herceptin cũng giảm đi bởi một đột biến D265A làm hỏng chức năng gắn kết của FcγRIII và FcγRIIB. Các nghiên cứu này cho thấy tiềm năng nâng cao hoạt tính chống khối u của kháng thể bằng các thao tác ở vùng Fc nhằm tăng ái lực của nó với các thụ thể hoạt hóa hoặc ngăn cản khả năng gắn kết của nó với các thụ thể ức chế. Các đột biến điểm trong vùng Fc làm tăng ra sự gắn kết tăng với thụ thể FcγRIII và hiệu quả tăng lên 2 lần trong phản ứng ADCC *in vitro*. Ý nghĩa của kết quả này trong *in vivo* và trong lâm sàng vẫn chưa được kiểm chứng.

Hiện tượng glycosyl hóa phân tử IgG tại vị trí Asn 297 (Kabat *et al.*, 1991) có tác dụng duy trì cấu trúc bậc bốn của vùng CH2 (Deisenhofer, 1981) (Bảng thuật ngữ 1), cần thiết cho các chức năng hiệu ứng của chúng (Wright, Morrison, 1997). Các tế bào sản sinh ra kháng thể (tế bào sản xuất) kể cả trong điều kiện nuôi cấy, có thể ảnh hưởng đáng kể tới cấu trúc kháng thể tạo ra, dẫn tới ảnh hưởng đến khả năng của kháng thể tham gia vào ADCC (Lifely *et al.*, 1995). Sự gia tăng mức độ của phức hợp oligosaccharides gắn với vùng Fc của một kháng thể có thể làm tăng khả năng hỗ trợ ADCC của chúng

(Umaña *et al.*, 1999). Sự biến đổi glycosyl hóa này đạt được nhờ vào tế bào sản xuất tế bào buồng trứng của thỏ Trung Quốc (CHO) bằng công nghệ chuyển gen β -(1,4)-N-acetylglucosaminyltransferase III (Umaña *et al.*, 1999). Các nghiên cứu đang được

tiến hành nhằm chỉ ra liệu những kháng thể này có nâng cao được hoạt động kháng u bướu *in vivo* hay không. Việc sử dụng hóa trị liệu trước trên bệnh nhân có thể giảm các chức năng hiệu ứng của kháng thể kháng lại u bướu.

Bảng thuật ngữ 2. Các kháng thể được thay đổi nhằm làm tăng hoạt động kháng u bướu.

Các kháng thể được thiết kế với các đặc tính biến đổi như ái lực gắn kết kháng nguyên, cấu trúc cầu tạo phân tử và trạng thái nhị trùng hóa (Quan, Carter, 2001; Hoogenboom, Chames, 2000; Little *et al.*, 2000; Halin, Neri, 2001) có thể tăng việc hướng tới đích u bướu cũng như hiệu lực tác dụng.

Ái lực gắn kết kháng nguyên (giá trị K_d) của những kháng thể được nâng lên bằng chọn lọc thư viện Phage display (Schier *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 1995). Độ chín ái lực này được tạo ra thông qua sử dụng RIBOSOME DISPLAY (Schier *et al.*, 1996) trong sự kết hợp với sự sắp xếp lại trật tự DNA (Jermutus *et al.*, 2001) (DNA SHUFFLING) hoặc là YEAST DISPLAY cùng với DNA shuffling (Boder *et al.*, 2000). Ái lực của các kháng thể có thể ảnh hưởng sâu sắc tới khả năng di chuyển hay tích tụ lại trên khối u bướu như đã trình bày trên khung biểu thị các đoạn biến đổi chuỗi đơn (scFvs) gắn kết với cùng một epitope trên ERBB2 có ái lực nằm trong khoảng 10^{-7} - 10^{-11} M (Adams *et al.*, 1998; 2001). scFv có ngưỡng ái lực đòi hỏi từ 10^{-7} - 10^{-11} M cho sự di chuyển tới đích u bướu và độ hấp phụ đạt tới đỉnh điểm ở 10^{-9} - 10^{-11} M. Những số liệu này hỗ trợ cho khái niệm về một hàng rào "vị trí gắn kết", ảnh hưởng đến tính thấm thấu của khối u đối với các kháng thể ái lực cao (Fujimori *et al.*, 1990).

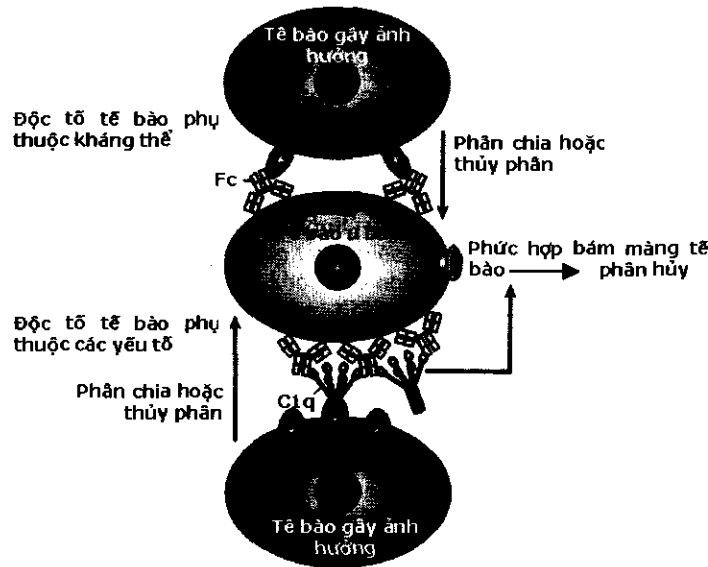
Ảnh hưởng của ái lực gắn kết kháng nguyên của một phân tử IgG lên khả năng định vị hóa của chúng trên khối u bướu vẫn còn cần phải chứng minh. Tính chọn lọc có thể giữ một vai trò quan trọng do rất nhiều kháng nguyên liên kết với khối u biểu hiện trên tế bào bình thường ở mức độ thấp. Có thể đạt được sự gắn kết hiệu quả cao nhất bằng việc sử dụng các phân tử IgG ái lực thấp dựa vào mật độ kháng nguyên biểu hiện cao trên bề mặt của tế bào u bướu. Cấu trúc phân tử của các kháng thể có thể luôn biến đổi để tạo ra các dạng kháng thể không tự nhiên, chúng thay đổi về kích cỡ và hóa trị, ảnh hưởng đáng kể lên khả năng định vị trên khối u bướu đích. Ví dụ đoạn kháng thể dimer kháng ERBB2 (scFv)₂ cho thấy mức độ hấp phụ của khối u tăng lên so với mảnh Fab monomer có kích cỡ tương tự (~ 50 kDa) với tính thấm thấu khối u bướu cũng như các đặc tính động lực được lý không thay đổi (Adams *et al.*, 1993). Việc tăng hóa trị của kháng thể là cách đơn giản để làm tăng lực hút với các kháng nguyên trên bề mặt tế bào và làm giảm đi sự cần thiết tạo độ chín ái lực.

U bướu bị tấn công bởi các kháng thể sẽ bị tổn thương và giảm tính thấm thấu do các thụ thể Fc trên các tế bào biểu mô lưới. Ngược lại, hoạt động của các IgG trong các u bướu là do thời gian tồn tại của kháng thể lâu, biểu hiện bằng kích cỡ và chu kỳ tuần hoàn của chúng qua các thụ thể Fc mới sinh ra, FcRn. Các mảnh kháng thể nhỏ, như là scFv, thoát ra khỏi mạch hiệu quả hơn IgG và thường xuyên khuếch tán trong khối u bướu, tuy nhiên chúng cũng nhanh chóng bị thải ra ngoài qua thận. Các đặc điểm như vậy làm hạn chế hiệu quả của scFv trong khối u bướu ở các mức độ khác nhau, vì vậy chúng thường được sử dụng trong quan sát nhiều trong trị liệu.

Sự trùng hợp hai phân tử IgG giống nhau bằng cách ghép cặp hóa học đã làm tăng hoạt động kháng u bướu của kháng thể kháng lại một vài kháng nguyên u bướu khác nhau thông qua cơ chế gây độc tế bào và phụ thuộc kháng thể hoặc gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (Caron *et al.*, 1992), tiêu diệt trực tiếp (Ghetie *et al.*, 1997; 2001; Wolff *et al.*, 1993) hay kim hãm phát triển (Ghetie *et al.*, 1997) và kết hợp với hóa học trị liệu hay các độc tố miễn dịch (139). Sự trùng hợp hai phân tử IgG giống nhau cũng có thể làm tăng ái lực gắn kết với các kháng nguyên có bản chất tương tự trên tế bào, qua đó làm tăng khả năng thâm nhập (Ghetie *et al.*, 1997; Caron *et al.*, 1992; Wolff *et al.*, 1993). Sự kết hợp hai phân tử IgG giống nhau làm tăng hoạt động kháng u bướu *in vivo* (Ghetie *et al.*, 1997; Wolff *et al.*, 1993). Sự tăng hoạt động kháng lại u bướu *in vitro* của Rituxan bằng cách trùng hợp hóa (138) nên được khích lệ sử dụng trong tiền lâm sàng và có thể cả những thử nghiệm lâm sàng.

hợp trực tiếp. Tốt nhất là kháng nguyên đích phổ biến trên các tế bào u bướu nhưng không hoặc rất ít biểu hiện trên các tế bào bình thường. Hiện nay, các kháng nguyên đích phổ biến nhất, phù hợp với tiêu chuẩn trên là CD20 và CD33. CD20 là protein màng trên tế bào B chín, biểu hiện trên 90% u hạch bạch huyết tế bào B nhưng lại không có trên tế bào gốc, tế bào sản xuất kháng thể và các tế bào không có nguồn gốc lympho. CD33 là một lectin gắn kết với sialic acid (siglec), hầu như chỉ biểu hiện trên

bề mặt của tế bào ung thư bạch cầu dạng tủy cấp tính cũng như các nguyên bào tủy và chúng không xuất hiện trên tế bào gốc hay tế bào không có nguồn gốc lympho. Điều kiện tiên quyết cho liên kết của kháng thể với các độc chất mà không phải là phóng xạ là kháng thể cần phải được đồng hóa hiệu quả. Hiện nay, sự chọn lọc trực tiếp các kháng thể đồng hóa hiệu quả có thể thực hiện trên các tế bào dùng kháng thể từ thư viện phage display (Heitner *et al.*, 2001; Poul *et al.*, 2000).



Hình 2. Các chức năng hiệu ứng của kháng thể.

Các kháng thể người, đặc biệt là IgG1 và IgG3 có thể tiêu diệt các tế bào u bướu bằng gây độc tế bào phụ thuộc kháng thể (ADCC) hay gây độc tế bào phụ thuộc bổ thể (CDC) (Gorter, Meri, 1999). ADCC được khởi động bởi tương tác giữa vùng Fc của kháng thể mà chúng đã gắn kết, thông qua vùng gắn kết kháng nguyên, với tế bào khối u và thụ thể Fcγ (FcγR), đặc biệt là FcγRI và FcγRIII, trên các tế bào hiệu ứng như bạch cầu đa nhân trung tính, đại thực bào và tế bào NK. Tế bào khối u bị loại trừ bằng thực bào hoặc phân hủy tùy thuộc vào loại tế bào hiệu ứng trung gian. Bước đầu tiên của CDC là sự thu nạp thành phần bổ thể C1q do IgG được gắn với bề mặt tế bào u bướu. Đây là điểm khởi đầu của chuỗi phân giải protein và hoạt hóa bổ thể, dẫn tới việc tạo thành phức hợp tấn công màng để tiêu diệt mục tiêu bằng cách phá vỡ màng tế bào của nó. Thêm vào đó, bổ thể C1q gắn trên màng tế bào ung

thư có thể gắn vào các thụ thể của bổ thể như C1qR, CR1 (CD35) và CR3 (CD11b/CD18), trên các tế bào hiệu ứng như bạch cầu đa nhân trung tính, đại thực bào và tế bào NK. Đây là quá trình phân hủy tế bào u bướu thông qua trung gian tế bào hay là sự thực bào, phụ thuộc vào loại tế bào hiệu ứng.

Các chất ghép với độc tố có trọng lượng nhỏ: Sự hoạt động của các kháng thể kết hợp với hóa trị liệu độc tố đã được khám phá (Mann *et al.*, 2001). Kháng thể đơn dòng BR96 (kháng lại kháng nguyên sialyl Lewis Y) kết hợp với doxorubicin đã chứng tỏ có hiệu lực cao ở các nghiên cứu cấy ghép u bướu (Trail *et al.*, 1993), tuy nhiên chúng lại ít hiệu lực ở giai đoạn thử nghiệm II đối với bệnh ung thư vú (Tolcher *et al.*, 1999) và bệnh ung thư dạ dày (Ajani *et al.*, 2000). Hơn thế nữa, trong các bệnh nhân ung thư vú, đã quan sát thấy độc tố ở tuyến tiêu hóa từ tá được ghép với chất miễn dịch gắn kết vào kháng nguyên

trên tế bào bình thường ở niêm mạc dạ dày, ruột non và tuyến tụy (Tolcher *et al.*, 1999). Sự kết hợp một lượng nhỏ độc chất hóa trị liệu với kháng thể đơn dòng được tiêm vào, định vị tại khối u cứng đó có tỷ lệ 0.001- 0.01% của liều tiêm/một khối u cứng ở người và tỷ lệ này cao hơn 20% trên chuột. Phát hiện này chỉ ra rằng các kháng thể gắn với độc tố có trọng lượng nhỏ có tác dụng gấp 100 - 1000 lần so với hóa trị liệu thông thường. Calicheamicin (Hinman *et al.*, 1993; Lode *et al.*, 1998; Sievers *et al.*, 1999; Sievers *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 1996) và maytansinoids (Liu *et al.*, 1996) là các độc chất có trọng lượng nhỏ được sử dụng rộng rãi nhất kết hợp với hoạt động của kháng thể.

Sự kết hợp các độc chất trọng lượng nhỏ với các kháng thể đã biến chúng thành tiền chất của thuốc để có thể hướng tới đích là các khối u bướu. Sự hoạt hóa các tiền chất thuốc này bao gồm sự giải phóng thuốc từ kháng thể và gắn kết của kháng thể với tế bào mang kháng nguyên dương tính và sự thâm nhập của kháng thể. Calicheamicin chứa một phân tử đường làm tăng hiệu lực gắn kết với DNA trên thụ thể.

Kháng thể kháng CD33 kết hợp với calicheamicin (Mylotarg) đã được công nhận dùng cho điều trị bệnh ung thư bạch cầu tủy xương cấp tính ở người. CD33 dương tính trên những bệnh nhân có độ tuổi trên 60 tái phát lần đầu và không nằm trong những người áp dụng hóa trị liệu độc chất. Sự công nhận này dựa trên tỷ lệ khoảng 30% các đáp ứng tổng thể với độc tính ở mức chấp nhận được (Sievers *et al.*, 2001). Một yếu tố quan trọng góp phần làm tăng hiệu lực của Mylotarg là 80% của chất độc lưu trú tại các tế bào ung thư bạch cầu dạng tủy. Không giống như các tế bào trong khối u cứng ác tính, các tế bào ung thư này dễ dàng tiếp cận được, bởi vị trí rõ ràng của chúng khi di chuyển theo vòng tuần hoàn máu hay trong tủy xương (tài liệu riêng chưa công bố của Yarranton). Trái lại, sự phát triển của phức hợp ghép calicheamicin-kháng thể kháng chất nhầy để điều trị các u cứng trên phương diện lâm sàng (Baker *et al.*, 1994; Pietersz *et al.*, 1997) lại rất ít hiệu quả. Một trong những vấn đề chính là sự tạo thành các phức hợp miễn dịch giữa các chất kết hợp miễn dịch với vị trí của chất nhầy. Sự hấp phụ của gan và lách với các phức hợp miễn dịch này làm hạn chế liều lượng gây độc (tài liệu riêng chưa công bố của G. Yarranton). Một hạn chế nữa của phức hợp ghép kháng chất nhầy là chúng hầu như không thể tập trung nhiều tại các u bướu cứng (Sedalacek *et al.*, 1992). Do đó, các kháng thể hoạt động cùng với độc chất khối lượng nhỏ vẫn có giá trị nhưng không

phải là lý do chính làm tăng hiệu lực kháng u bướu.

Các kháng thể kết hợp với maytansinoid điều trị thành công chuột được cấy ghép u người với liều lượng tối đa mà chuột có thể dung nạp được (Liu *et al.*, 1996). Kết quả cho đáp ứng hoàn toàn, mặc dù không thể dùng để điều trị (các khối u tái xuất hiện sau trị liệu), thậm chí cả ở trên chuột có khối u lớn (trung bình là 500 mm³) hay biểu hiện kháng nguyên ngoại lai. Những số liệu tiền lâm sàng khả quan này đã giúp đẩy nhanh tiến độ thử nghiệm phức hợp kháng thể - maytansinoid giai đoạn I.

Phức hợp ghép với protein độc tố: Đa số các phức hợp miễn dịch độc tố đều chứa độc tố thực vật (như chuỗi ricin A), độc tố vi khuẩn (ngoại độc tố của *Pseudomonas*) được ghép vào hay được dung hợp với kháng thể hay một đoạn kháng thể (Farah *et al.*, 1998; Pastan, 1997). Các độc tố miễn dịch thường kết hợp với các đáp ứng kháng lại khối u ở các bệnh nhân (Kreitman *et al.*, 2000, Pai *et al.*, 1996). Đặc biệt, một đáp ứng hoàn toàn và bảy đáp ứng một phần được quan sát thấy trên 35 bệnh nhân thử nghiệm giai đoạn I bệnh ung thư máu ác tính sử dụng độc chất miễn dịch cấu thành từ đoạn biến đổi chuỗi đơn (scFv) của kháng thể kháng CD25 kết hợp với *Pseudomonas* (Kreitman *et al.*, 2000).

Tuy nhiên, sự phát triển của độc tố miễn dịch về mặt lâm sàng cũng đã tạo ra những tác động có hại như hội chứng rò rỉ tĩnh mạch và tính chất gây miễn dịch của chúng đã làm cản trở sự gia tăng liều lượng. Việc thay đổi thành phần protein với polyethylene glycol (PEG) của những độc tố miễn dịch tái tổ hợp đã cải thiện khả năng gây miễn dịch và độc tính của chúng (Tsutsumi *et al.*, 2000).

Sự chọn lựa các protein của người như là các độc tố sẽ phá vỡ tính gây miễn dịch các protein độc tính không phải từ nguồn gốc của người. Ví dụ, angiogenin một ribonuclease ở người được kết hợp với các đoạn của kháng thể kháng lại thụ thể transferrin và được xem là có độc tính với tế bào có thụ thể transferrin (Rybak *et al.*, 1992). Sự bắt cặp hóa học đặc hiệu với các phối tử (ligand) hay kháng thể sẽ làm tăng tác dụng độc hại *in vivo* lên tới 5000 lần do có sự kết hợp của hai ribonuclease ở người kháng lại tế bào đích. Sự gia tăng này là do sự định hướng đặc hiệu tới tế bào đích cộng với sự phong tỏa của các tương tác bởi những chất ức chế thông thường (Suzuki *et al.*, 1999).

Sự kết hợp miễn dịch học phóng xạ: Các kháng thể kết hợp với các chất phóng xạ làm cho chúng có

khả năng giết các tế bào khối u. Các hạt β được giải phóng bởi các nguyên tố phóng xạ thông thường (^{131}I iodine, ^{90}Y yttrium, ^{186}Re rhodium và ^{188}Re rhodium) gây độc xuyên sâu vào nhiều lớp tế bào. Ví dụ như khoảng cách trung bình gây độc của hạt β tính từ ^{90}Y yttrium là hơn 200 tế bào (Zalutsky, Vaidyanathan, 2000). Nhiều ứng dụng rộng rãi dùng hạt β phóng xạ (^{131}I iodine, ^{186}Re rhodium và ^{188}Re rhodium nhưng không dùng ^{90}Y yttrium) đồng thời giải phóng tia γ có thể giết tế bào với phạm vi rộng hơn, cũng như cho phép định lượng được sự hấp phụ phóng xạ (Goldenberg, 1991; Jurcic, Scheinberg, 1994). Tuy nhiên, việc giết chết các tế bào khối u bởi phức hợp ghép miễn dịch phóng xạ cũng có những tác dụng phụ. Sự giết chết các tế bào khối u kề cận là có lợi, trong khi một vài tế bào u không có kháng nguyên đích đã thoát khỏi sự nhận diện của kháng thể (Davis *et al.*, 1999). Sự giết các tế bào u cũng giúp khắc phục hạn chế của kháng thể trong việc tích lũy tại tĩnh mạch hay trong các u bướu lớn (Sedalacek *et al.*, 1992). Nhược điểm của việc giết chết các tế bào u bướu sẽ gây tổn hại tới những tế bào bình thường đặc biệt là các mô bào tạo máu sẽ gây ra những nhiễm độc nghiêm trọng.

Các kháng thể kháng CD20 gắn với nguyên tố phóng xạ lợi dụng được tính miễn dịch của các u hạch bạch huyết đối với sự bức xạ và tạo ra các đáp ứng kháng u bướu khá hiệu quả trên những bệnh nhân hạch bạch huyết không Hodgkin (Press *et al.*, 1995; Kaminski *et al.*, 1996). Trong một thử nghiệm lâm sàng, các bệnh nhân được lựa chọn ngẫu nhiên cho điều trị với Rituxan hay Zevalin - một loại phức hợp kháng thể chuột bỏ mẹ đã sinh ra Rituxan có gắn ^{90}Y yttrium. Số liệu phân tích tạm thời cho thấy trong 90 bệnh nhân đầu tiên cho đáp ứng tổng thể với Zevalin là 80% so với 44% đáp ứng với Rituxan ($P < 0.05$) (Witzig, 2000). Hơn nữa, điều trị bằng Zevalin với những trường hợp không khỏi bằng Rituxan cho đáp ứng tổng thể là 46% (Witzig, 2000).

Phức hợp ghép miễn dịch phóng xạ có thể gây ra sự nhiễm độc nghiêm trọng. Ví dụ, sự gia tăng liều lượng của Zevalin trong giai đoạn I/II gây độc nghiêm trọng cho tế bào tạo máu (mức 3 và 4). Một liều Zevalin có chứa 50 mCi ^{90}Y yttrium sẽ hủy hoại nguyên bào tủy, do đó các bệnh nhân cần được ghép tế bào gốc tự thân (Knox *et al.*, 1996). Liều thấp hơn của Zevalin cũng gây tác dụng nhưng ít độc hơn. Zevalin và Bexxar (kháng thể đơn dòng của chuột kháng CD20 gắn ^{131}I iodine) đã kết thúc thành công thử nghiệm lâm sàng giai đoạn III đối với bệnh u hạch bạch huyết không Hodgkin, với mong đợi đây

là phức hợp ghép miễn dịch học phóng xạ đầu tiên được công nhận. Ngoài Zevalin và Bexxar, có ít nhất ba kháng thể gắn phóng xạ đang được thử nghiệm ở giai đoạn I/II, có tên là Theragyn (pemtumomab) (Bảng 1), CEA-cide (rabetuzumab) và Cotara (Quan, Carter, 2001).

Các nguyên tố phóng xạ như ^{212}Bi bismuth, ^{213}Bi bismuth và ^{211}At astatine giải phóng hạt α rất độc với tế bào ở khoảng cách gần ($< 100 \mu\text{m}$) do hạt này có phổ ngắn và tính dẫn truyền năng lượng cao (Zalutsky, Bigner, 1996; McDevitt *et al.*, 1998). Các kháng thể được gắn với các hạt α dùng để tiêu diệt các tế bào cục bộ trong một khối u và làm giảm phổ rộng tác dụng ra các tế bào khác, do đó hạn chế các tác dụng phụ so với các hạt β , γ . Do đó các hạt α rất tốt trong trị liệu miễn dịch học phóng xạ đối với những bệnh chớm di căn và các khối u lan rộng trong bề mặt các khoang cơ thể như ung thư buồng trứng, u màng não (Zalutsky, Vaidyanathan, 2000). Các khảo sát lâm sàng về kháng thể gắn với các hạt α chỉ mới bắt đầu từ cuối những năm 1990 (Zalutsky, Vaidyanathan, 2000) bởi vì rất khó để lựa chọn các hạt α có thời gian tồn tại phù hợp với miễn dịch phóng xạ trị liệu. Còn quá ít cơ sở sản xuất được nguyên tố phóng xạ kiểu như vậy và cần phải có những phương pháp đánh dấu đặc hiệu mới.

Các cytokine miễn dịch: Các kháng thể dung hợp với cytokine được xem như là chiến lược điều trị xen kẽ với các độc chất nguyên tố phóng xạ. Chúng được đặt tên là cytokine miễn dịch và được thiết kế để tạo ra cytokine với nồng độ cao trong khối ung thư nhằm kích thích hoạt động đáp ứng miễn dịch kháng ung thư (tế bào T, B hay tế bào giết tự nhiên), cũng như tránh những tác dụng phụ của độc tính được phân tán theo cytokine đi toàn bộ cơ thể. (Lode, Reisfeld, 2000; Lode *et al.*, 1998). Một vài cytokine đã được đánh giá (gồm cả interleukin (IL)-2, IL-12 và yếu tố kích thích đại thực bào (GM-CSF) (Penichet, Morrison, 2001). Về mặt lý thuyết, cytokine có thể kết hợp với đầu amino hoặc đầu carboxyl của các chuỗi nhẹ và chuỗi nặng làm cho các chức năng của kháng thể và cytokine được bảo toàn. Ứng dụng có triển vọng nhất hiện nay của cytokine miễn dịch là IL-2 kết hợp với đầu carboxyl của chuỗi nặng của phân tử kháng thể. Các cytokine miễn dịch này loại trừ được sự di căn trên mô hình ung thư chuột (Lode *et al.*, 1998). Các dữ liệu như vậy cho thấy những tín hiệu tốt trong những nghiên cứu lâm sàng với các cytokine miễn dịch như huKS-IL-2 và hu14.18-IL-2.

Bảng 1. Các kháng thể đang trong thử nghiệm* chống ung thư.

Tên thương mại của kháng thể (tên gốc)	Kháng nguyên đích	Loại kháng thể	Chiến lược làm tăng hoạt động kháng thể thuần túy	Đích u bướu	Hiện trạng	Hợp tác, tài trợ
Avastin (bevacizumab)	VEGF	huIgG ₁	kết hợp với hóa trị liệu	NSCLC di căn CRC di căn	Pha III Pha III	Genentech
BEC2 (mitumomab)	kháng thể đơn dòng idiotypic GD3, hạch bào	mu IgG	vaccine	SCLC, u tủy ác tính	Phase III Phase II	ImClone Merck KGaA
Bexxar (tositumomab)	CD20	mu IgG _{2a}	¹³¹ iodine	NHL	được FDA phê chuẩn	Corixa GlaxoSmith-Kline
Campath (alemtuzumab)	CD52	hu IgG ₁	Không	tế bào B CLL	Mỹ công nhận 05/2001	Millennium và ILEX
CeaVac	kháng thể đơn dòng kháng idiotypic, CEA	mu IgG	Vaccine kết hợp với hóa trị liệu cho CRC hay TriAb cho NSCLC	CRC NSCLC	Pha III Pha II	Tập đoàn được Titan
Herceptin (trastuzumab)	ERBB2	hu IgG ₁	kết hợp với hóa trị liệu	ung thư vú di căn biểu hiện ERBB2	Mỹ công nhận 09/1998	Genentech
IMC-C225 (centuximab)	EGFR	ch IgG	kết hợp với hóa trị liệu hay chùm bức xạ bên ngoài	cải thiện CRC cục bộ hay u bướu đầu, cổ di căn	đang trong tiến trình BLA Pha III	Tập đoàn mClone
LymphoCide (epratuzumab)	CD22	hu IgG	Không	NHL	Pha III	Immunomedics
MDX-210	ERBB2 X CD64(FcγRI)	muF(ab') ₂	đặc hiệu lưỡng hợp	ung thư buồng trứng biểu hiện ERBB2	Pha III	Tập đoàn phân tử miễn dịch Medarex
Mylotarg (gemtuzumab ozogamicin)	CD33	hu IgG ₄	ghép với Calicheamicin	AML	công nhận tại Mỹ 5/2000	Wyeth
Panorex (edrecolomab)	EpCam	mu IgG _{2a}	kết hợp với hóa trị liệu	Dukes'C CRC	công nhận tại Đức 1/1995	GlaxoSmith-Kline Centocor

Rituxan (rituximab)	CD20	ch IgG ₁	kết hợp với hóa trị liệu	NHL	công nhận tại Mỹ 11/1997	Tập đoàn được IDEC, Genentech
Theragyn (pemtumomab)	PEM	mu IgG ₁	⁹⁰ yttrium	ung thư buồng trứng, ung thư dạ dày	Pha III Pha II	Antisoma
Zamyl	CD33	hu IgG ₁	kết hợp với hóa trị liệu	AML	Pha III	Protein design labs
Zevalin (ibritumomab tituxetan)	CD20	mu IgG ₁	⁹⁰ yttrium	NHL	được FDA phê chuẩn	Tập đoàn được IDEC

* Thử nghiệm ở pha III hay giai đoạn tiếp theo. Không bao gồm những sản phẩm đã thành thương hiệu. Rất nhiều nỗ lực để thu được dữ liệu tin cậy từ nhiều nguồn (các website của các công ty, nhà máy và tài liệu tham khảo Quan, Carter, 2001; Glennie, Johnson, 2000), nhưng độ chính xác không được đảm bảo. AML: ung thư lympho bào dạng tủy; BLA: Bằng đảm bảo chất lượng ứng dụng sinh học; CEA: kháng nguyên ung thư thời kỳ đầu; ch, lai hóa; CLL: ung thư tế bào bạch cầu mãn tính; CRC: ung thư trực tràng, kết tràng; EpCam: phân tử kết dính tế bào biểu bì; FDA: Hiệp hội dược học liên bang; EGFR: thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì; hu: người hóa; mAb: kháng thể đơn dòng; Ig: Immunoglobulin; mu: chuột; NHL: u hạch bạch huyết khác với Hodgkin; NSCLC: ung thư phổi đa nang; PEM: chất nhạy biểu mô đa hình; SCLC: ung thư tế bào phổi; VEGF: yếu tố tăng trưởng tĩnh mạch biểu bì.

Kháng thể kết hợp gián tiếp

Các liposome miễn dịch: Liposome là do màng lipid kép tổ hợp lại chứa đựng một vài thành phần của môi trường xung quanh. Sự tạo thành liposome hóa trị liệu doxorubicin (Doxil) và daunorubicin (Daunoxome) đã được công nhận những năm gần đây cho điều trị bệnh sarcoma Kaposi. Những tiến bộ đáng kể của công nghệ tạo liposome bao gồm sự phát triển của liposome ổn định, tồn tại được lâu dài *in vivo* cũng như những cải tiến trong phương pháp tải nạp và duy trì các loại thuốc (Lasic, Papahadjopoulos, 1995).

Các đoạn kháng thể được chế tạo có thể gắn kết ổn định được với bề mặt của liposome để tiếp cận u bướu đích trong trị liệu (Park *et al.*, 1995; 1997). Các gắn kết như vậy rất quan trọng đối với hoạt động kháng thể nhằm giảm sự gắn kết không đặc hiệu với kháng nguyên, độ hòa tan của tá chất hay thúc đẩy sự tích lũy của kháng thể. Hóa học trị liệu sử dụng liposome miễn dịch mang lại ích lợi to lớn trong việc áp dụng nhiều loại thuốc. Ví dụ, liposome miễn dịch kháng ERBB2 được tải nạp cùng với doxorubicin chứng tỏ hoạt động kháng ung thư cực mạnh so với thuốc tự do đơn lẻ hay thuốc được tải nạp ngoài liposome, tương thích trên một vài mô hình cấy ghép u bướu (Park *et al.*, 1997). Hơn nữa, độc tính trên toàn bộ cơ thể của liposome miễn dịch gắn với độc

chất doxorubicin ít hơn so với doxorubicin thuần túy.

Mặc dù đã có những tiến bộ đáng khích lệ với liposome miễn dịch, nhưng vẫn còn tồn tại một số hạn chế cần khắc phục như kích cỡ quá lớn của liposome (thường có đường kính khoảng 100 nm) gây khó khăn trong thẩm thấu ngoài tĩnh mạch (Bendas, 2001). Sử dụng liposome miễn dịch để hướng tới đích u bướu (Bảng thuật ngữ 3) thì tốt hơn là dùng khối u lan ra tới chỗ có liposome, giúp ngăn ngừa nhu cầu tràn ra ngoài mạch máu của khối u.

Các kháng thể đặc hiệu lưỡng hợp: Các kháng thể đặc hiệu lưỡng hợp (BsAbs) là những kháng thể không tự nhiên, gắn kết với hai epitope khác nhau. Trong ung thư học lâm sàng, BsAbs được sử dụng rộng rãi để phát tán các tế bào hiệu ứng (Bảng thuật ngữ 3) và ở mức độ hẹp hơn là để phát tán các nguyên tố phóng xạ, thuốc và độc chất tới khối ung thư (Segal *et al.*, 1999; Koelemij *et al.*, 1999; Van Spriell *et al.*, 2000) (Hình 1).

BsAbs gắn kết với kháng nguyên liên kết với u bướu được gọi là kháng nguyên khởi phát trên các tế bào kích thích miễn dịch để có thể tiếp nhận thêm tế bào hiệu ứng diệt tế bào ung thư. Các phân tử khởi phát được sử dụng rộng rãi nhất là CD3 trên tế bào T, FcγRI (CD64) trên tế bào bạch cầu hạt và đơn nhân lớn, FcγRIII (CD16) tế bào NK và gần đây nữa, FcαRI (CD89) trên đại thực bào (Van

Spriel *et al.*, 2000). Một BsAb có thể gắn kết với thụ thể Fc nằm ngoài vị trí gắn kết của Fc và nó có thể làm tương tự như vậy đối với vô số các phân tử kháng thể IgG trong huyết thanh. Ngược lại, sự gắn kết đặc hiệu của kháng thể IgG kháng ung thư với các thụ thể Fc có thể bị ức chế bởi kháng thể IgG trong huyết thanh gắn kết vào các thụ thể này, dẫn tới cản trở khả năng của kháng thể kháng u bướu trong phản ứng ADCC.

Các đáp ứng kháng u bướu cục bộ của BcAb hướng đích vào tế bào T trong ung thư buồng trứng được theo dõi trong những thử nghiệm lâm sàng quy mô nhỏ (Lamers *et al.*, 1997). Tuy nhiên, điều trị này thất bại do sự di căn ra bên ngoài khoang bụng gây khó khăn cho liệu pháp điều trị bằng BsAb toàn thân. Một vấn đề lâm sàng thường thấy nữa liên quan tới BsAb là sự hoạt hóa toàn thân của các tế bào hiệu ứng làm tăng tiết các cytokine dẫn tới các tác dụng phụ nghiêm trọng. Bởi vậy, chiến lược hiệu quả hơn là các tế bào hiệu ứng và sự hoạt hóa có chọn lọc phải phù hợp với hiện trạng của các tế bào ung thư. Tính sinh miễn dịch của BsAb dự tính trên bệnh nhân rất có thể sẽ giảm nhanh chóng do việc sử dụng các kháng thể người hoặc kháng thể lai như trong trường hợp đối với một vài kháng thể đơn đặc hiệu (Bảng thuật ngữ 1). Khó khăn nữa của sự phát triển được lý học của BsAb là giá cả và rất phức tạp để tạo ra phức hợp gồm nhiều chuỗi phân tử một cách có hiệu quả về số lượng và độ tinh khiết cho các thử nghiệm lâm sàng. Một công nghệ mới tạo ra nhiều đoạn BsAb thay thế (Plückthun, Pack, 1997) cũng như kháng thể IgG người đặc hiệu lưỡng hợp (Merchant *et al.*, 1998) có thể giải quyết khó khăn này. Việc tiến đến công nhận dùng BsAb cho liệu pháp điều trị còn rất xa vời mặc dù đã có rất nhiều những tiến bộ về cả về lý thuyết lẫn thực nghiệm. Những ứng dụng mới của BsAb rất có thể sẽ cần thiết cho những bệnh nhân ung thư.

Những chiến lược tiếp cận đích

Các tác nhân gây độc hại cho tế bào như các nguyên tố phóng xạ, các tiền chất thuốc có thể đến được tế bào đích đặc hiệu cho ung thư thông qua chiến lược tiếp cận đích. Chiến lược đặc biệt này đòi hỏi hai hay ba nhân tố cũng như các bước điều trị khác nhau. Trong một cách tiếp cận, kháng thể được hướng đến đích khối ung thư dẫn tới sự làm sạch của các kháng thể tồn dư trong tuần hoàn máu được hoặc không được hỗ trợ bằng các tác nhân làm sạch. Sau đó một tác nhân gây độc hại tế bào được đưa vào cơ thể để bắt giữ có chọn lọc khối u hay hoạt hóa vị trí của khối u.

Chiến lược tiếp cận đích của các nguyên tố phóng xạ và tiền chất thuốc hướng tới khối u bướu rất có triển vọng bởi nó làm giảm rất rõ rệt độc tính toàn thân so với liệu pháp điều trị miễn dịch phóng xạ thông thường hay hóa trị liệu gây độc tế bào. Các chiến lược tiếp cận đích đã được cải tiến đáng kể, nhưng vẫn còn những vấn đề cần khắc phục trước khi trở thành phương pháp điều trị mới hữu ích cho bệnh nhân ung thư.

Chiến lược tiếp cận đích đối với các tiền chất thuốc: Liệu pháp sử dụng tiền chất thuốc thông qua enzyme phụ thuộc vào kháng thể (ADEPT) liên quan đến con đường tiếp cận đích của tiền chất thuốc tới khối ung thư (Niculescu-Duvaz *et al.*, 1999; Syrigos, Epenetos, 1999). Một protein kết hợp enzyme với kháng thể hay chất ghép, được đưa vào cơ thể và định vị tại một khối ung thư. Một tiền chất thuốc được đưa vào cơ thể sau khi protein kết hợp còn lại bị loại bỏ. Tiền chất thuốc có khả năng khuếch tán rộng rãi nhưng tốt nhất vẫn là được hoạt hóa tại khối u sau khi gắn với protein liên kết tại khối u.

Một ưu điểm chính của ADEPT so với các kháng thể kháng khối u đơn lẻ là sự khuếch đại tác dụng diệt tế bào do khả năng kích hoạt có sẵn trong tiền chất này. Ưu điểm thứ hai là khả năng tiêu diệt tế bào ung thư thường trực nhờ đó mà giảm đi rủi ro khối u thoát khỏi trị liệu. Các tác dụng diệt tế bào của thuốc chỉ hạn định trong phạm vi của khối u đích, bởi vậy giảm độc tính toàn thân so với hóa trị liệu độc chất.

ADEPT cũng chứng tỏ có hiệu lực cao trong một số nghiên cứu cấy ghép u bướu khác nhau, nhưng lại khó để áp dụng trong thực nghiệm lâm sàng (Niculescu-Duvaz *et al.*, 1999; Syrigos, Epenetos, 1999). Một khó khăn lớn nhưng có thể vượt qua được chính là tính gây miễn dịch của cả enzyme dùng để hoạt hóa tiền chất thuốc và của kháng thể đơn dòng hướng vào đích, do chúng có nguồn gốc không phải từ người (Sharma *et al.*, 1992). Các enzyme của người liên kết với kháng thể đơn dòng của người hay kháng thể lai có thể giảm đi đáng kể tính miễn dịch. Những nghiên cứu trên dẫn tới sự phát triển protein kết hợp β -glucuronidase của người với kháng thể lai kháng lại kháng nguyên ở thời kỳ đầu phát sinh ung thư (CEA) cộng thêm tiền chất của thuốc doxorubicin glucuronide (Bosslet *et al.*, 1994). Hệ thống ADEPT này đã mang lại hiệu lực tốt hơn và giảm hẳn độc tính ở những nghiên cứu trên chuột so với việc dùng doxorubicin đơn thuần với liều lượng dung nạp tối đa (Bosslet *et al.*, 1994). Lợi ích trị

liệu của hệ thống ADEPT này so với doxorubicin đơn lẻ cho thấy ADEPT đã khuếch đại các nồng độ thuốc 4 - 12 lần cao hơn trong khối ung thư so ở các nồng độ tối đa là gấp 5 lần của thuốc đơn lẻ ở bên ngoài khối u bướu. Hàm lượng tăng lên của β -glucuronidase nội sinh trong một vài khối ung thư cũng chỉ ra rằng tiền chất của thuốc glucuronide có khả năng sử dụng đơn lẻ trong trị liệu (Bosslet *et al.*, 1998).

Việc dùng enzyme người cho ADEPT có thể tạo ra những rủi ro tiềm ẩn ngoài ý muốn của tiền chất thuốc bởi các enzyme nội sinh. Thêm vào đó, các chất nội sinh hay các chất ức chế cũng tác dụng lên tiền chất thuốc đưa vào bên trong khối ung thư. Để giải quyết vấn đề này, carboxypeptidase của người đã được thay đổi để hoạt hóa tiền chất của thuốc vì chúng không phải là cơ chất của enzyme ban đầu (Bosslet *et al.*, 1998), tuy nhiên các kết quả *in vivo* không thu được hiệu quả như mong muốn (Wolfe *et al.*, 1999).

Những rủi ro trong việc sử dụng enzyme của người cho ADEPT về nguyên tắc có thể không thực hiện được do việc sử dụng kháng thể người hay kháng thể lai để hoạt hóa tiền chất của thuốc bởi các cơ chế phi sinh lý học. Một bước tiến ý nghĩa cho mục đích này là sự phát triển kháng thể đơn dòng trên chuột, hoạt hóa tiền chất thuốc etoposide. Khi tiêm kháng thể này vào khối u cùng với việc đưa vào cơ thể tiền chất của thuốc ở phạm vi toàn thân đã chứng tỏ hiệu lực cao hơn và độc chất giảm hơn là khi đưa etoposide vào cơ thể đơn thuần với liều dung nạp tối đa (Shabat *et al.*, 2001). Các kháng thể có hiệu quả xúc tác trung bình (k_{cat}/K_M) có thể hữu ích cho ADEPT nếu được sử dụng kết hợp với tiền chất thuốc maytansinoids, calicheamicin hay các phân tử cực độc khác.

Liệu pháp điều trị miễn dịch phóng xạ: Sự phối hợp của liệu pháp điều trị miễn dịch phóng xạ tiếp cận đích sử dụng BsAb với độ đặc hiệu cho cả khối u và nguyên tố phóng xạ, phổ biến nhất là việc tận dụng sự tương tác ái lực cao giữa streptavidin và biotin (Stoldt *et al.*, 1997; Wu, 2001). Kháng thể được ghép streptavidin sẽ đi tới tế bào khối u đích. Các tác nhân làm sạch sau đó sẽ làm sạch những protein ghép còn lại trong hệ tuần hoàn. Nguyên tố phóng xạ như $^{90}\text{yttrium}$ sẽ được phát tán sau khi được biotin hoạt hóa. Phức hợp nguyên tố phóng xạ này hoặc là bị bắt giữ bởi kháng thể gắn streptavidin trong tế bào đích ở khối ung thư hoặc là bị loại ra nhanh chóng qua thận do chúng có khối lượng rất nhỏ.

Các ưu điểm lớn nhất của chiến lược tiếp cận đích trong liệu pháp trị liệu miễn dịch phóng xạ bao gồm tỷ lệ hoạt động phóng xạ đạt cao hơn nhiều trong khối u so với ở mô bào bình thường, do vậy đã làm giảm ảnh hưởng của hoạt tính phóng xạ tới toàn thân. Các kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng cho phép tiến dần đến những thử nghiệm lâm sàng ở quy mô nhỏ bằng liệu pháp điều trị miễn dịch phóng xạ tiếp cận đích (Cremonesi *et al.*, 1999; Paganelli *et al.*, 1998). Tuy nhiên, tính gây miễn dịch của streptavidin vẫn là trở ngại cho việc điều trị có hiệu quả. Việc thay đổi thành phần hóa học của streptavidin có thể sẽ làm giảm tính chất miễn dịch (Chinol *et al.*, 1998), cũng như những kết quả quan sát trên nhiều protein, trong đó có ít nhất một độc tố miễn dịch (Tsutsumi *et al.*, 2000). Một cách khác được đưa ra để làm giảm tối thiểu tính chất miễn dịch là thay thế ái lực của hệ thống streptavidin-biotin. Một vấn đề đặt ra cho liệu pháp điều trị miễn dịch học phóng xạ tiếp cận đích là số lượng lớn các nguyên tố phóng xạ bắt buộc phải được đưa vào cơ thể với tỷ lệ nhỏ có thể bắt cặp với nhau tại vị trí khối u bướu.

KẾT LUẬN

Triển vọng trong tương lai

Các kháng thể đã bắt đầu cho thấy hiệu quả và triển vọng như những liệu pháp điều trị chống ung thư, ví dụ năm loại kháng thể đã được làm thành thuốc bán trên thị trường Mỹ (Rituxan, Herceptin, Mylotarg và alemtuzumab (Campath)) và Đức (Panorex) (Bảng 1). Đặc điểm chính của liệu pháp điều trị kháng thể cho các khối u mềm (ví dụ ung thư hạch lympho và ung thư lympho bào) so với các khối u cứng là khả năng thâm nhập cao hơn rất nhiều, dẫn đến sự tích tụ tại khối u hiệu quả hơn cũng như hiệu lực điều trị cao hơn. Đối với những khối u cứng, tồn dư tối thiểu của tế bào u bướu đích cũng như sự di căn làm cản trở việc thâm nhập của kháng thể vào các khối u lớn. Tuy nhiên, phương thức này khó được đưa vào thử nghiệm quy mô rộng do giá thành đắt và phải theo dõi bệnh nhân trong nhiều năm liên tiếp để có những thông kê về hiệu quả điều trị.

Điều quan trọng của phương pháp điều trị bằng kháng thể là làm tăng hiệu lực kháng lại khối ung thư của nhiều kháng thể trong các nghiên cứu cấy ghép. Thực tế cho thấy rằng, sự tích tụ của kháng thể trong các khối ung thư trên chuột thường rất có hiệu quả và các kháng thể hướng tới những kháng nguyên của người đôi khi lại không đáp ứng với kháng

nguyên chuột. Ngược lại, thực tế lâm sàng cũng với những kháng thể đó cho thấy sự thiếu hiệu lực và độc tính đủ mạnh của chúng rất có thể dẫn đến hạn chế của việc gắn kết với kháng nguyên dương tính hay mô bào bình thường tại vị trí khối u (Tolcher *et al.*, 1999; Ajani *et al.*, 2000). Các số liệu lâm sàng không khả quan như vậy đã dẫn đến chiều hướng tạo ra những kháng thể kháng ung thư an toàn và hiệu quả hơn. Rõ ràng là, khái niệm về tăng cường hoạt động kháng ung thư của kháng thể trên bệnh nhân ung thư và việc kiểm soát được độc tính của nó vẫn còn là những thách thức lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adams GP, McCartney JE, Tai MS, Oppermann H, Huston JS, Stafford WF III (1993) Highly specific in vivo tumor targeting by monovalent and divalent forms of 741F8 anti-c-erbB2 single-chain Fv. *Cancer Res* 53: 4026-4034.
- Adams GP, Schier R, Marshall K, Wolf EJ, McCall AM, Marks JD, Weiner LM (1998) Increased affinity leads to improved selective tumor delivery of single-chain Fv antibodies. *Cancer Res* 58: 485-490.
- Adams GP, Schier R, McCall AM, Simmons HH, Horak EM, Alpaugh RK, Marks JD, Weiner LM (2001) High affinity restricts the localization and tumor penetration of single-chain Fv antibody molecules. *Cancer Res* 61: 4750-4755.
- Agus DB, Akita RW, Fox WD, Lofgren JA, Higgins B, Maiese K, Scher HI, Sliwkowski MX (2000) A potential role for activated HER-2 in prostate cancer. *Semin. Oncol* 27: 76-83.
- Ajani JA, Kelsen DP, Haller D, Hargraves K, Healey D (2000) A multi-institutional phase II study of BMS-182248-01 (BR96-doxorubicin conjugate) administered every 21 days in patients with advanced gastric adenocarcinoma. *Cancer J* 6: 78-81.
- Baker TS, Bose CC, Cskey-Finney HM (1994) In Antigen and Antibody Molecular Engineering in Breast Cancer Diagnosis and Treatment (ed. Ceriani RL) (Plenum, New York).
- Baselga J, Norton L, Albanell J, Kim YM, Mendelsohn J (1998) Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. *Cancer Res* 58: 2825-2831.
- Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, Sklarin NT, Seidman AD, Hudis CA, Moore J, Rosen PP, Twaddell T, Henderson IC, Norton L (1996) Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 14: 737-744.
- Begent RH, Verhaar MJ, Chester KA, Green AJ, Napier MP, Hope-Stone LD (1996) Clinical evidence of efficient tumor targeting based on single-chain Fv antibody selected from a combinatorial library. *Nature Med* 2: 979-984.
- Bendas G (2001) Immunoliposomes: a promising approach to targeting cancer therapy. *BioDrugs* 15: 215-224.
- Boder ET, Midelfort KS, Wittrup KD (2000) Directed revolution of antibody fragments with monovalent femtomolar antigen-binding affinity. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 10701-10705.
- Borgstrom P, Hillan KJ, Sriramarao P, Ferrara N (1996) Complete inhibition of angiogenesis and growth of microtumors by anti-vascular endothelial growth factor neutralizing antibody: novel concepts of angiostatic therapy from intravital videomicroscopy. *Cancer Res* 56: 4032-4039.
- Bosslet K, Czech J, Hoffmann D (1994) Tumor-selective prodrug activation by fusion protein-mediated catalysis. *Cancer Res* 54: 2151-2159.
- Bosslet K, Straub R, Blumrich M, Czech J, Gerken M, Sperker B, Kroemer HK, Gesson JP, Koch M, Monneret C (1998) Elucidation of the mechanism enabling tumor selective prodrug monotherapy. *Cancer Res* 58: 1195-1201.
- Boulianne GL, Hozumi N, Shulman MJ (1984) Production of functional chimaeric mouse/human antibody. *Nature* 312: 643-646.
- Burrows FJ, Thorpe PE (1993) Eradication of large solid tumors in mice with an immunotoxin directed against tumor vasculature. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 8996-9000.
- Caron PC, Laird W, Co MS, Avdalovic NM, Queen C, Scheinberg DA (1992) Engineered humanized dimeric forms of IgG are more effective antibodies. *J Exp Med* 176: 1191-1195.
- Carter P, Presta L, Gorman CM, Ridgway JB, Henner D, Wong WL, Rowland AM, Kotts C, Carver ME, Shepard HM (1992) Humanization of an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 4285-4289.

nguyên chuỗi. Ngược lại, thực tế lâm sàng cũng với những kháng thể đó cho thấy sự thiếu hiệu lực và độc tính đủ mạnh của chúng rất có thể dẫn đến hạn chế của việc gắn kết với kháng nguyên dương tính hay mô bào bình thường tại vị trí khối u (Tolcher *et al.*, 1999; Ajani *et al.*, 2000). Các số liệu lâm sàng không khả quan như vậy đã dẫn đến chiều hướng tạo ra những kháng thể kháng ung thư an toàn và hiệu quả hơn. Rõ ràng là, khái niệm về tăng cường hoạt động kháng ung thư của kháng thể trên bệnh nhân ung thư và việc kiểm soát được độc tính của nó vẫn còn là những thách thức lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adams GP, McCartney JE, Tai MS, Oppermann H, Huston JS, Stafford WF III (1993) Highly specific in vivo tumor targeting by monovalent and divalent forms of 741F8 anti-c-erbB2 single-chain Fv. *Cancer Res* 53: 4026-4034.
- Adams GP, Schier R, Marshall K, Wolf EJ, McCall AM, Marks JD, Weiner LM (1998) Increased affinity leads to improved selective tumor delivery of single-chain Fv antibodies. *Cancer Res* 58: 485-490.
- Adams GP, Schier R, McCall AM, Simmons HH, Horak EM, Alpaugh RK, Marks JD, Weiner LM (2001) High affinity restricts the localization and tumor penetration of single-chain Fv antibody molecules. *Cancer Res* 61: 4750-4755.
- Agus DB, Akita RW, Fox WD, Lofgren JA, Higgins B, Maiese K, Scher HI, Sliwkowski MX (2000) A potential role for activated HER-2 in prostate cancer. *Semin. Oncol* 27: 76-83.
- Ajani JA, Kelsen DP, Haller D, Hargraves K, Healey D (2000) A multi-institutional phase II study of BMS-182248-01 (BR96-doxorubicin conjugate) administered every 21 days in patients with advanced gastric adenocarcinoma. *Cancer J* 6: 78-81.
- Baker TS, Bose CC, Cskey-Finney HM (1994) In Antigen and Antibody Molecular Engineering in Breast Cancer Diagnosis and Treatment (ed. Ceriani RL) (Plenum, New York).
- Baselga J, Norton L, Albanell J, Kim YM, Mendelsohn J (1998) Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. *Cancer Res* 58: 2825-2831.
- Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, Sklarin NT, Seidman AD, Hudis CA, Moore J, Rosen PP, Twaddell T, Henderson IC, Norton L (1996) Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 14: 737-744.
- Begent RH, Verhaar MJ, Chester KA, Green AJ, Napier MP, Hope-Stone LD (1996) Clinical evidence of efficient tumor targeting based on single-chain Fv antibody selected from a combinatorial library. *Nature Med* 2: 979-984.
- Bendas G (2001) Immunoliposomes: a promising approach to targeting cancer therapy. *BioDrugs* 15: 215-224.
- Boder ET, Midelfort KS, Wittrup KD (2000) Directed revolution of antibody fragments with monovalent femtomolar antigen-binding affinity. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 10701-10705.
- Borgstrom P, Hillan KJ, Sriramarao P, Ferrara N (1996) Complete inhibition of angiogenesis and growth of microtumors by anti-vascular endothelial growth factor neutralizing antibody: novel concepts of angiostatic therapy from intravital videomicroscopy. *Cancer Res* 56: 4032-4039.
- Bosslet K, Czech J, Hoffmann D (1994) Tumor-selective prodrug activation by fusion protein-mediated catalysis. *Cancer Res* 54: 2151-2159.
- Bosslet K, Straub R, Blumrich M, Czech J, Gerken M, Sperker B, Kroemer HK, Gesson JP, Koch M, Monneret C (1998) Elucidation of the mechanism enabling tumor selective prodrug monotherapy. *Cancer Res* 58: 1195-1201.
- Boulianne GL, Hozumi N, Shulman MJ (1984) Production of functional chimaeric mouse/human antibody. *Nature* 312: 643-646.
- Burrows FJ, Thorpe PE (1993) Eradication of large solid tumors in mice with an immunotoxin directed against tumor vasculature. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 8996-9000.
- Caron PC, Laird W, Co MS, Avdalovic NM, Queen C, Scheinberg DA (1992) Engineered humanized dimeric forms of IgG are more effective antibodies. *J Exp Med* 176: 1191-1195.
- Carter P, Presta L, Gorman CM, Ridgway JB, Henner D, Wong WL, Rowland AM, Kotts C, Carver ME, Shepard HM (1992) Humanization of an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 4285-4289.

- Chinol M, Casalini P, Maggiolo M, Canevari S, Omodeo ES, Caliceti P, Veronese FM, Cremonesi M, Chiolerio F, Nardone E (1998) Biochemical modifications of avidin improve pharmacokinetics and biodistribution and reduce immunogenicity. *Br J Cancer* 78: 189-197.
- Clark M (2000) Antibody humanization: a case of the 'Emperor's new clothes'? *Immunol Today* 21: 397-402.
- Clynes R, Takechi Y, Moroi Y, Houghton A, Ravetch JV (1998) Fc receptors are required in passive and active immunity to melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 652-656.
- Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV (2000) Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. *Nature Med* 6: 443-446.
- Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D (1999) Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 17: 2639-2648.
- Cremonesi M, Ferrari M, Chinol M, Stabin MG (1999) Three-step radioimmunotherapy with yttrium-90 biotin: dosimetry and pharmacokinetics in cancer patients. *Eur J Nucl Med* 26: 110-120.
- Czuczman MS, Grillo-López AJ, White CA, Saleh M, Gordon L, LoBuglio AF, Jonas C, Klippenstein D, Dallaire B, Varns C (1999) Treatment of patients with lowgrade B-cell lymphoma with the combination of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody and CHOP chemotherapy. *J Clin Oncol* 17: 268-276.
- Davis TA, Czerwinski DK, Levy R (1999) Therapy of B-cell lymphoma with anti-CD20 antibodies can result in the loss of CD20 antigen expression. *Clin Cancer Res* 5: 611-615.
- De Haard HJ, Van Neer N, Reurs A, Hufton SE, Roovers RC, Henderikx P, de Bruijne AP, Arends JW, Hoogenboom HR (1999) A large non-immunized human Fab fragment phage library that permits rapid isolation and kinetic analysis of high affinity antibodies. *J Biol Chem* 274: 18218-18230.
- Deisenhofer J (1981) Crystallographic refinement and atomic models of a human Fc fragment and its complex with fragment B of protein A from *Staphylococcus aureus* at 2.9- and 2.8-Å resolution. *Biochemistry* 20: 2361-2370.
- Demidem A, Lam T, Alas S (1997) Chimeric anti-CD20 (IDEC-C2B8) monoclonal antibody sensitizes a B cell lymphoma cell line to cell killing by cytotoxic drugs. *Cancer Biother Radiopharm* 12: 177-186.
- Dvorak HF, Nagy JA, Dvorak AM (1991) Structure of solid tumors and their vasculature: implications for therapy with monoclonal antibodies. *Cancer Cells* 3: 77-85.
- Farah RA, Clinchy B, Herrera L, Vitetta ES (1998) The development of monoclonal antibodies for the therapy of cancer. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 8: 321-356.
- Ferrara N, Davis-Smyth T (1997) The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 18: 4-25.
- Fishwild DM, O'donnell SL, Bengoechea T (1996) High avidity human IgGk monoclonal antibodies from a novel strain of minilocus transgenic mice. *Nature Biotechnol* 14: 845-851.
- Fitzpatrick VD, Pisacane PI, Vandlen RL, Sliwkowski MX (1998) Formation of a high affinity heregulin binding site using the soluble extracellular domains of ErbB2 with ErbB3 or ErbB4. *FEBS Lett* 431: 102-106.
- Fujimori K, Covell DG, Fletcher JE, Weinstein JN (1990) A modeling analysis of monoclonal antibody percolation through tumors: a binding-site barrier. *J Nucl Med* 31: 1191-1198.
- Ghetie MA, Podar EM, Ilgen A, Gordon BE, Uhr JW, Vitetta ES (1997) Homodimerization of tumor-reactive monoclonal antibodies markedly increases their ability to induce growth arrest or apoptosis of tumor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 7509-7514.
- Ghetie MA, Bright H, Vitetta ES (2001) Homodimers but not monomers of Rituxan (chimeric anti-CD20) induce apoptosis in human B-lymphoma cells and synergize with a chemotherapeutic agent and an immunotoxin. *Blood* 97: 1392-1398.
- Glennie MJ, Johnson PW (2000) Clinical trials of antibody therapy. *Immunology* 21: 403-410.
- Goldenberg DM (1991) In *Clinical Uses of Antibodies* (eds Baum RP et al.) 1-13 (Kluwer Academic, The Netherlands).
- Gorter A, Meri S (1999) Immune evasion of tumor cells using membrane-bound complement regulatory proteins. *Immunol Today* 20: 576-582.
- Griffiths AD, Malmqvist M, Marks JD, Bye JM, Embleton MJ, McCafferty J, Baier M, Holliger KP, Gorick BD, Hughes-Jones NC (1993) Human anti-self antibodies with high specificity from phage display libraries. *EMBO J* 12: 725-734.
- Griffiths AD, Williams SC, Hartley O, Tomlinson IM, Waterhouse P, Crosby WL (1994) Isolation of high affinity human antibodies directly from large synthetic

repertoires. *EMBO J* 13: 3245-3260.

Halin C, Neri D (2001) Antibody-based targeting of angiogenesis. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 18: 299-339.

Hanes J, Schaffitzel C, Knappik A, Plückthun A (2000) Picomolar affinity antibodies from a fully synthetic naïve library selected and evolved by ribosome display. *Nature Biotechnol* 18: 1287-1292.

Heitner T, Moor A, Garrison JL, Marks C, Hasan T, Marks JD (2001) Selection of cell binding and internalizing epidermal growth factor receptor antibodies from a phage display library. *J Immunol Methods* 248: 17-30.

Herlyn M, Steplewski Z, Herlyn D, Koprowski H (1979) Colorectal carcinoma-specific antigen: detection by means of monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 1438-1442.

Hinman LM, Hamann PR, Wallace R, Menendez AT, Durr FE, Upeslakis J (1993) Preparation and characterization of monoclonal antibody conjugates of the calicheamicins: a novel and potent family of antitumor antibiotics. *Cancer Res* 53: 3336-3342.

Hoogenboom HR, Chames P (2000) Natural and designer binding sites made by phage display technology. *Immunology* 21: 371-378.

Huang X, Molema G, King S, Watkins L, Edgington TS, Thorpe PE (1997) Tumor infarction in mice by antibodydirected targeting of tissue factor to tumor vasculature. *Science* 275: 547-550.

Idusogie EE, Presta LG, Gazzano-Santoro H, Totpal K, Wong PY, Ultsch M, Meng YG and Mulkerrin MG (2000) Mapping of the C1q binding site on rituxan, a chimeric antibody with a human IgG1 Fc. *J Immunol* 164: 4178-4184.

Idusogie EE, Wong PY, Presta LG, Santoro HG, Totpal K, Ultsch M, Mulkerrin MG (2001) Engineered antibodies with increased activity to recruit complement. *J Immunol* 166: 2571-2575.

Jermutus L, Honegger A, Schwesinger F, Hanes J, Plückthun A (2001) Tailoring in vitro evolution for protein affinity or stability. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 75-80.

Jones PT, Dear PH, Foote J, Neuberger MS, Winter G (1986) Replacing the complementarity-determining regions in a human antibody with those from a mouse. *Nature* 321: 522-525.

Jurcic JG, Scheinberg DA (1994) Recent developments in the radioimmunotherapy of cancer. *Curr Opin Immunol* 6: 715-721.

Kabat EA, Wu TT, Perry HM, Gottesman KS, Foeller C (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edn (NIH, Bethesda, Maryland, 1991).

Kamigaki T, Yamamoto M, Ohyanagi H, Ohya M, Shimazoe T, Kono A, Ohtani W, Narita Y, Ohkubo M, Saitoh Y (1985) Therapy and imaging of pancreatic carcinoma xenografts with radioiodine-labeled chimeric monoclonal antibody A10 and its Fab fragment. *Jpn J Cancer Res* 86: 1216-1223.

Kaminski MS, Zasadny KR, Francis IR, Fenner MC, Ross CW, Milik AW, Estes J, Tuck M, Regan D, Fisher S, Glenn SD, Wahl RL (1996) Iodine-131-anti-B1 radioimmunotherapy for B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 14: 1974-1981.

Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N (1993) Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 362: 841-844.

Knappik A, Ge L, Honegger A, Pack P, Fischer M, Wellenhofer G, Hoess A, Wölle J, A Plückthun, Virnekäs B (2000) Fully synthetic human combinatorial antibody libraries (HuCAL) based on modular consensus frameworks and CDRs randomized with trinucleotides. *J Mol Biol* 296: 57-86.

Knox SJ, Goris ML, Trisler K (1996) Yttrium-90-labeled anti-CD20 monoclonal antibody therapy of recurrent B-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2: 457-470.

Koelemij R, Kuppen PJK, van de Velde CJH, Fleuren GJ, Hagenaars M, Eggerton AMM (1999) Bispecific antibodies in cancer therapy, from the laboratory to the clinic. *J Immunother* 22: 514-524.

Köhler G, Milstein C (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 256: 495-497.

Kreitman RJ, Wilson WH, White JD, Stetler-Stevenson M, Jaffe ES (2000) Phase I trial of recombinant immunotoxin anti-Tac(Fv)-PE38 (LMB-2) in patients with hematologic malignancies. *J Clin Oncol* 18: 1622-1636.

Lamers CH, Bolhuis RL, Warnaar SO, Stoter G, Gratama JW (1997) Local but no systemic immunomodulation by intraperitoneal treatment of advanced ovarian cancer with autologous T lymphocytes retargeted by a bispecific monoclonal antibody. *Int J Cancer* 73: 211-219.

Lasic DD, Papahadjopoulos D (1995) Liposomes revisited. *Science* 267: 1275-1276.

Lifely MR, Hale C, Boyce S, Keen MJ, Phillips J

- (1995) Glycosylation and biological activity of CAMPATH-1H expressed in different cell lines and grown under different culture conditions. *Glycobiology* 5: 813-822.
- Little M, Kipriyanov SM, Le Gall F, Moldenhauer G (2000) Of mice and men: hybridoma and recombinant antibodies. *Immunol Today* 21: 364-370.
- Liu C, Tadayoni BM, Bourret LA, Mattocks KM, Derr SM, Widdison WC, Kedersha NL, Ariniello PD, Goldmacher VS, Lambert JM, Blättler WA, Chari RV (1996) Eradication of large colon tumor xenografts by targeted delivery of maytansinoids. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 8618-8623.
- Lode HN, Reisfeld RA (2000) Targeted cytokines for cancer immunotherapy. *Immunol Res* 21: 279-288.
- Lode HN, Xiang R, Becker JC, Gillies SD, Reisfeld RA (1998) Immunocytokines: a promising approach to cancer immunotherapy. *Pharmacol Ther* 80: 277-292.
- Lode HN, Xiang R, Varki NM, Dolman CS, Gillies SD, Reisfeld RA (1998) Targeted therapy with a novel enediene antibiotic calicheamicin θ I 1 effectively suppresses growth and dissemination of liver metastases in a syngeneic model of murine neuroblastoma. *Cancer Res* 58: 2925-2928.
- Mann M, Sheng H, Shao J, Williams CS, Pisacane PI, Sliwkowski MX, DuBois RN (2001) Targeting cyclooxygenase 2 and HER-2/neu pathways inhibits colorectal carcinoma growth. *Gastroenterology* 120: 1713-1719.
- McDevitt MR, Sgouros G, Finn RD, Humm JL, Jurcic JG, Larson SM, Scheinberg, DA (1998) Radioimmunotherapy with α -emitting nuclides. *Eur J Nucl Med* 25: 1341-1351.
- McLaughlin P, Grillo-Lopez AJ, Link BK, Levy R, Czuczman MS, Williams ME, Heyman MR, Bence-Bruckler I, White CA, Cabanillas F, Jain V, Ho AD, Lister J, Wey K, Shen D, Dallaire BK (1998) Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 16: 2825-2833.
- Mellstedt H, Frödin JE, Masucci G, Ragnhammar P, Fagerberg J, Hjelm AL, Wersäll P, Österborg A (1991) The therapeutic use of monoclonal antibodies in colorectal carcinoma. *Semin Oncol* 18: 462-477.
- Mendez MJ, Green LL, Corvalan JRF, Jia X, Maynard-Currie CE, Yang X, ML Gallo, Louie DM, Lee DV, Erickson KL, Luna J, Roy CMN, Abderrahim H, Kirschenbaum F, Noguchi M, Smith DH, Fukushima A, Hales JF, Finer MH, Davis CG, Zsebo KM, Jakobovits A (1997) Functional transplant of megabase human immunoglobulin loci recapitulates human antibody response in mice. *Nature Genet* 15: 146-156.
- Merchant AM, Zhu Z, Yuan JQ, Goddard A, Adams CW, Presta LG, Carter P (1998) An efficient route to human bispecific IgG. *Nature Biotechnol* 16: 677-681.
- Morrison SL, Johnson MJ, Herzenberg LA, Oi VT (1984) Chimeric human antibody molecules: mouse antigen-binding domains with human constant region domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 81: 6851-6855.
- Nicholson IC, Zou X, Popov AV, Cook GP, Corps EM, Humphries S, Ayling C, Goyenechea B, Xian J, Taussig MJ, Neuberger MS, Brüggemann M (1999) Antibody repertoires of four- and fivefeature translocus mice carrying human immunoglobulin heavy chain and κ and λ light chain yeast artificial chromosomes. *J Immunol* 163: 6898-6906.
- Niculescu-Duvaz I, Friedlos F, Niculescu-Duvaz D, Davies L, Springer CJ (1999) Prodrugs for antibody- and gene-directed enzyme prodrug therapies (ADEPT and GDEPT). *Anticancer Drug Des* 14: 517-538.
- Nilsson F, Kosmehl H, Zardi L, Neri D (2001) Targeted delivery of tissue factor to the ED-B domain of fibronectin, a marker of angiogenesis, mediates the infarction of solid tumors in mice. *Cancer Res* 61: 711-716.
- Paganelli G, Orecchia R, De Braud F, Tradati N, Chinol M (1998) Combined treatment of advanced oropharyngeal cancer with external radiotherapy and three-step radioimmunotherapy. *Eur J Nucl Med* 25: 1336-1339.
- Pai LH, Wittes R, Setser A, Willingham MC, Pastan I (1996) Treatment of advanced solid tumors with immunotoxin LMB-1: an antibody linked to Pseudomonas exotoxin. *Nature Med* 2: 350-353.
- Park JW, Hong K, Carter P, Asgari H, Guo LY, Keller GA, Wirth C, Shalaby R, Kotts C, Wood WI (1995) Development of anti-p185HER2 immunoliposomes for cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 1327-1331.
- Park JW, Hong K, Kirpotin DB, Meyer O, Papahadjopoulos D and Benz CC (1997) Anti-HER2 immunoliposomes for targeted therapy of human tumors. *Cancer Lett* 118: 153-160.
- Park JW, Hong K, Kirpotin DB, Papahadjopoulos D, Benz CC (1997) Immunoliposomes for cancer treatment. *Adv Pharmacol* 40: 399-435.
- Pastan I (1997) Targeted therapy of cancer with recombinant immunotoxins. *Biochim Biophys Acta*

1333: C1-C6.

Pegram M, Hsu S, Lewis G, Pietras R, Beryt M, Sliwkowski M, Coombs D, Baly D, Kabbinavar F, Slamon D (1999) Inhibitory effects of combinations of HER-2/neu antibody and chemotherapeutic agents used for treatment of human breast cancers. *Oncogene* 18: 2241-2251.

Pegram MD, Lipton A, Hayes DF (1998) Phase II study of receptor-enhanced chemosensitivity using recombinant humanized anti185HER2/ neu monoclonal antibody plus cisplatin in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer refractory to chemotherapy treatment. *J Clin Oncol* 16: 2659-2671.

Penichet ML, Morrison SL (2001) Antibody-cytokine fusion proteins for the therapy of cancer. *J Immunol Methods* 248: 91-101.

Pietrasz GA, Wenjun L, Krauer K, Baker T, Wreschner D, McKenzie IFC (1997) Comparison of the biological properties of two anti-mucin-1 antibodies prepared for imaging and therapy. *Cancer Immunol Immunother* 44: 323-328.

Pietras RJ, Fendly BM, Chazin VR, Pegram MD, Howell SB, Slamon DJ (1994) Antibody to HER-2/neu receptor blocks DNA repair after cisplatin in human breast and ovarian cancer cells. *Oncogene* 9: 1829-1838.

Pietras RJ, Pegram MD, Finn RS, Maneval DA, Slamon DJ (1998) Remission of human breast cancer xenografts on therapy with humanized monoclonal antibody to HER-2 receptor and DNA-reactive drugs. *Oncogene* 17: 2235-2249.

Pietras RJ, Poen JC, Gallardo D, Wongvipat PN, Lee HJ, Slamon DJ (1999) Monoclonal antibody to HER-2/neu receptor modulates repair of radiation-induced DNA damage and enhances radiosensitivity of human breast cancer cells overexpressing this oncogene. *Cancer Res* 59: 1347-1355.

Plückthun A, Pack P (1997) New protein engineering approaches to multivalent and bispecific antibody fragments. *Immunotechnology* 3: 83-105.

Poul MA, Becerril B, Nielsen UB, Morisson P, Marks JD (2000) Selection of tumor-specific internalizing human antibodies from phage libraries. *J Mol Biol* 301: 1149-1161.

Press OW, Eary JF, Appelbaum FR (1995) Phase II trial of 131I-B1 (anti-CD20) antibody therapy with autologous stem cell transplantation for relapsed B cell lymphomas. *Lancet* 346: 336-340.

Presta LG, Chen H, O'Connor SJ, Vanessa Chisholm, Meng YG, Krummen L, Winkler M, Ferrara N (1997) Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res* 57: 4593-4599.

Quan MP, Carter P (2001) *In Lung Biology in Health and Disease* (eds Jardieu PM, Fick RJr) (Marcel Dekker, New York).

Reff ME, Carner K, Chambers KS, Chinn PC (1994) Depletion of B cells *in vivo* by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 83: 435-445.

Riechmann L, Clark M, Waldmann H, Winter G (1988) Reshaping human antibodies for therapy. *Nature* 332: 323-327.

Riethmüller G, Holz E, Schlimok G (1998) Monoclonal antibody therapy for resected Dukes' C colorectal cancer: seven-year outcome of a multicenter randomized trial. *J Clin Oncol* 16: 1788-1794.

Riethmüller G, Schneider-Gadicke E, Schlimok G, (1994) Randomised trial of monoclonal antibody for adjuvant therapy of resected Dukes' C colorectal carcinoma. German Cancer Aid 17-1A Study Group. *Lancet* 343: 1177-1183.

Rybak SM, Hoogenboom HR, Meade HM, Raus JC, Schwartz D, Youle RJ (1992) Humanization of immunotoxins. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 3165-3169.

Sampson JH, Crotty LE, Lee S, Archer GE, Ashley DM, Wikstrand CJ, Hale LP, Small C, Drano G, Friedman AH, Friedman HS, Bigner DD (2000) Unarmed, tumor-specific monoclonal antibody effectively treats brain tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 7503-7508.

Schier R, McCall A, Adams GP, Marshall KW, Merritt H, Yim M (1996) Isolation of picomolar affinity anti-erbB2 single-chain Fv by molecular evolution of the complementarity determining regions in the center of the antibody binding site. *J Mol Biol* 263: 551-567.

Sedalacek HH, Seemann G, Hoffmann D (1992) Antibodies as Carriers of Cytotoxicity Vol. 43 (Karger, Munich, Germany).

Segal DM, Weiner GJ, Weiner LM (1999) Bispecific antibodies in cancer therapy. *Curr Opin Immunol* 11: 558-562.

Shabat D, Lode HN, Pertl U, Reisfeld RA, Rader C, Lerner RA, Barbas CF (2001) *In vivo* activity in a catalytic antibodyprodrug system: antibody catalyzed etoposide prodrug activation for selective chemotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 7528-7533.

Sharma SK, Bagshawe KD, Melton RG, Sherwood RF.

- (1992) Human immune response to monoclonal antibody-enzyme conjugates in ADEPT pilot clinical trial. *Cell Biophys* 21: 109-120.
- Sheets MD, Amersdorfer P, Finnern R, Sargent P, Lindqvist E, Schier R, Hemingsen G, Wong C, Gerhart JC, Marks JD (1998) Efficient construction of a large nonimmune phage antibody library: the production of high-affinity human single-chain antibodies to protein antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 6157-6162.
- Shields RL, Namenuk AK, Hong K, Meng YG, Rae J, Briggs J, Xie D, Lai J, Stadlen A, Li B, Fox JA, Presta LG (2001) High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for FcγRI, FcγRII, FcγRIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the FcγR. *J Biol Chem* 276: 6591-6604.
- Sievers EL, Appelbaum FR, Spielberger RT, Forman SJ, Flowers D, Smith FO, Dorcy KS, Berger MS, Bernstein ID (1999) Selective ablation of acute myeloid leukemia using antibody-targeted chemotherapy: a phase I study of an anti-CD33 calicheamicin immunoconjugate. *Blood* 93: 3678-3684.
- Sievers EL, Larson RA, Stadtmauer EA (2001) Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse. *J Clin Oncol* 19: 3244-3254.
- Slamon D, Pegram M (2001) Rationale for trastuzumab (Herceptin) in adjuvant breast cancer trials. *Semin Oncol* 28: 13-19.
- Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L (2001) Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 344: 783-792.
- Smith GK, Banks S, Blumenkopf TA, Cory M, Humphreys J, Laethem RM, Miller J, Moxham CP, Mullin R, Ray PH, Walton LM, Wolfe III LA (1997) Toward antibody-directed enzyme prodrug therapy with the T268G mutant of human carboxypeptidase A1 and novel in vivo stable prodrugs of methotrexate. *J Biol Chem* 272: 15804-15816.
- Stoldt HS, Aftab F, Chinol M, Paganelli G, Luca F, Testori A, Geraghty JG (1997) Pretargeting strategies for radioimmunoguided tumour localisation and therapy. *Eur J Cancer* 33: 186-192.
- Suzuki M, Saxena SK, Boix E, Prilll RJ, Vasandani VM, Ladner JE, Sung C, Youlel RJ (1999) Engineering receptor-mediated cytotoxicity into human ribonucleases by steric blockade of inhibitor interaction. *Nature Biotechnol* 17: 265-270.
- Syrgios KN, Epenetos AA (1999) Antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT): a review of the experimental and clinical considerations. *Anticancer Res* 19: 605-613.
- Tolcher AW, Sugarman S, Gelmon KA, Cohen R, Saleh M, Isaacs C, Young L, Healey D, Onetto N, Slichenmyer W (1999) Randomized phase II study of BR96- doxorubicin conjugate in patients with metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 17: 478-484.
- Trail PA, Willner D, Lasch SJ, Henderson AJ, Hofstead S, Casazza AM, Firestone RA, Hellstrom I, Hellstrom KE (1993) Cure of xenografted human carcinomas by BR96-doxorubicin immunoconjugates. *Science* 261: 212-215.
- Tsutsumi Y, Onda M, Nagata S, Lee B, Kreitman RJ, Pastan I (2000) Site-specific chemical modification with polyethylene glycol of recombinant immunotoxin anti- Tac(Fv)-PE38 (LMB-2) improves antitumor activity and reduces animal toxicity and immunogenicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 8548-8553.
- Umaña P, Jean-Mairet J, Moudry R, Amstutz H, Bailey JE (1999) Engineered glycoforms of an antineuroblastoma IgG1 with optimized antibody-dependent cellular cytotoxic activity. *Nature Biotechnol* 17: 176-180.
- Van Spriël AB, van Ojik HH, van de Winkel JG (2000) Immunotherapeutic perspective for bispecific antibodies. *Immunol Today* 21: 391-397.
- Vaughan T J, Osbourn JK, Tempest PR (1998) Human antibodies by design. *Nature Biotechnol* 16: 535-539.
- Vaughan TJ, Williams AJ, Pritchard K, Osbourn JK, Pope AR, Hodits RA, Wilton J, Johnson K (1996) Human antibodies with subnanomolar affinities isolated from a large non-immunized phage display library. *Nature Biotechnol* 14: 309-314.
- Verhoeven M, Milstein C, Winter G (1988) Reshaping human antibodies: grafting an antilysozyme activity. *Science* 239: 1534-1536.
- Vose JM, Link BK, Grossbard ML (2001) Phase II study of rituximab in combination with CHOP chemotherapy in patients with previously untreated, aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 19: 389-397.
- Witzig TE (2000) The use of ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy for patients with relapsed B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Semin. Oncol* 27: 74-78.
- Wolfe LA, Mullin RJ, Laethem R (1999) Antibody-directed enzyme prodrug therapy with the T268G

mutant of human carboxypeptidase A1: *in vitro* and *in vivo* studies with prodrugs of methotrexate and the thymidylate synthase inhibitors GW1031 and GW1843. *Bioconjug. Chem* 10: 38-48.

Wolff EA, Schreiber GJ, Cosand WL, Raff HV (1993) Monoclonal antibody homodimers: enhanced antitumour activity in nude mice. *Cancer Res* 53: 2560-2565.

Wright A, Morrison SL (1997) Effect of glycosylation on antibody function: implications for genetic engineering. *Trends Biotechnol* 15: 26-32.

Wu AM (2001) Tools for pretargeted radio-immunotherapy. *Cancer Biother Radiopharm* 16: 103-108.

Yang WP, Green K, Pinz-Sweeney S, Briones AT, Burton DR, Barbas III CF (1995) CDR walking mutagenesis for the affinity maturation of a potent human anti-HIV-1 antibody into the picomolar range. *J*

Mol Biol 254: 392-403.

Yang XD, Jia XC, Corvalan JRF, Wang P, Davis GC, Jakobovits A (1999) Eradication of established tumors by a fully human monoclonal antibody to the epidermal growth factor receptor without concomitant chemotherapy. *Cancer Res* 59: 1236-1243.

Yokota T, Milenic DE, Whitlow M, Schlom J (1992) Rapid tumor penetration of a single-chain Fv and comparison with other immunoglobulin forms. *Cancer Res* 52: 3402-3408.

Zalutsky MR, Bigner DD (1996) Radioimmunotherapy with α -particle emitting radioimmunoconjugates. *Acta Oncol* 35: 373-379.

Zalutsky MR, Vaidyanathan G (2000) Astatine-211-labeled radiotherapeutics: an emerging approach to targeted α -particle radiotherapy. *Curr Pharm Des* 6: 1433-1455.

IMPROVING THE EFFICACY OF ANTIBODY-BASED CANCER THERAPIES

Compiled by **Phung Thi Thu Hang, Bui Thi Hai Ha, Nguyen Trung Nam, Le Tran Binh***

Institute of Biotechnology

SUMMARY

A quarter of a century after their advent, monoclonal antibodies have become the most rapidly expanding class of pharmaceuticals for treating a wide variety of human diseases, including cancer. Although antibodies have yet to achieve the ultimate goal of curing cancer, many innovative approaches stand poised to improve the efficacy of antibody-based therapies. Antibodies have started to fulfil their promise as anticancer therapeutics with the five antibodies now marketed as drugs in the United States (Rituxan, Herceptin, Mylotarg and Alemtuzumab (Campath)) and Germany (Panorex). The current emphasis on antibody therapies for non-solid (for example, lymphomas and leukaemias) over solid tumours probably reflects the much greater accessibility of antibodies to non-solid tumours, resulting in improved antibody localization and enhanced efficacy. For solid tumours, targeting minimal residual and micrometastatic disease is attractive as it obviates the need to penetrate bulky tumours. Unfortunately, this approach might be stymied by the need for very large and costly trials with multiyear follow-up for statistical assessment of treatment outcome. It has proved seductively simple to enhance the antitumour efficacy of many antibodies in xenograft studies. This reflects the fact that antibody localization to tumours in mice is often efficient, and targeting antibodies bind human antigens but commonly not the corresponding mouse antigens. By contrast, clinical experience with the same antibodies has often been marked by a lack of efficacy and/or significant toxicity that probably reflects the limited accrual at the tumour site(s) and binding to antigen-positive non-tumour tissue, respectively. Such disappointing clinical data might provide insights into ways to create potentially more efficacious and safer antitumour antibodies. Certainly, the concept of enhancing the antitumour activity of antibodies in cancer patients has been established, but doing so within the realm of manageable toxicities remains an ongoing challenge.

Keywords: Cancer, monoclonal antibody, therapy, tumor antibodies

* Author for correspondence: Tel: 84-4-37564691; Fax: 84-4-38363144; E-mail: binh@ibt.ac.vn