

Ökat upptag av antikroppar i hjärnan med nytt antikroppsformat

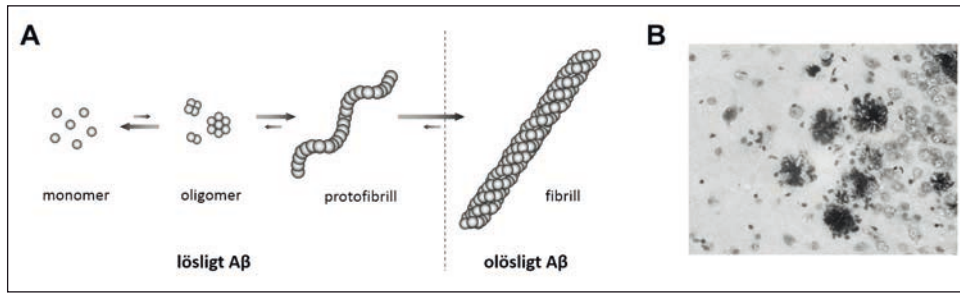
Immunterapi är en behandling som visat sig vara effektiv mot flera svåra sjukdomar. Men för att behandla sjukdomar i hjärnan måste antikropparna först ta sig förbi den hindrande blod-hjärnbarriären. En forskargrupp vid Uppsala universitet har utvecklat en ny design av antikroppar som ökar upptaget av antikroppar i hjärnan nästan 100 gånger. Detta beskrivs i denna artikel av **Greta Hultqvist**, **Dag Sehlin** och **Stina Syvänen**, samtliga vid Institutionen för folkhälso- och vårdvetenskap, Uppsala universitet.



Alzheimers sjukdom är den vanligaste demenssjukdomen – drygt 100 000 personer lever med sjukdomen i Sverige i dag. Eftersom hög ålder är den främsta riskfaktorn kommer antalet drabbade att öka stadigt i samband med en ökad livslängd i befolkningen. Det finns i dagsläget ett fåtal mediciner som kan lindra sjukdomens symtom, men än så länge finns ingen behandling som angriper orsaken till sjukdomen.

Både akademien och läkemedelsindustrin lägger därför stora resurser på forskning kring nya behandlingar av demenssjukdomar. En av de mer lovande strategierna för behandling av Alzheimers sjukdom är immunterapi, där antikroppar ges för att oskadliggöra proteinet beta-amyloid ($A\beta$), som består av 40–42 aminosyror. $A\beta$ finns i både friska och sjuka hjärnor och kan även detekteras i blod och ryggvätska. Vid Alzheimers sjukdom klumpar $A\beta$ ihop sig och bildar så kallade amyloida plack i hjärnan hos Alzheimerpatienter [Figur 1].

Senare års forskning har visat att det troligen inte är plack-
en i sig som är skadliga för hjärnans nervceller. I stället anses ett förstadium till placken, så kallade oligomerer och protofibriller, vara huvudorsaken till de nervcellsförändringar som gör att hjärnans kognitiva funktioner försämras vid Alzheimers sjukdom. Många immunterapistudier där man använt antikroppar som binder företrädesvis till den normala formen av $A\beta$ (monomerer) har därför misslyckats med att visa någon klinisk effekt på patienter. Senare studier har fokuserat på att oskadliggöra oligomerer/protofibriller eller plack. En större fas 1-studie som rapporterar positiva resultat både



Figur 1. Vid Alzheimers sjukdom aggregerar proteinet Aβ (A). Monomerer klumpar ihop sig till små oligomerer, vilka aggregerar vidare till större, lösliga protofibriller. Dessa bildar till slut olösliga fibriller som deponeras i hjärnvävnaden i form av amyloida plack (B).

när det gäller förbättrad kognition och minskad mängd plack i hjärnan hos tidiga alzheimerspatienter publicerade nyligen i tidskriften Nature.¹

BLOD-HJÄRNBARRIÄREN SKYDDAR HJÄRNAN

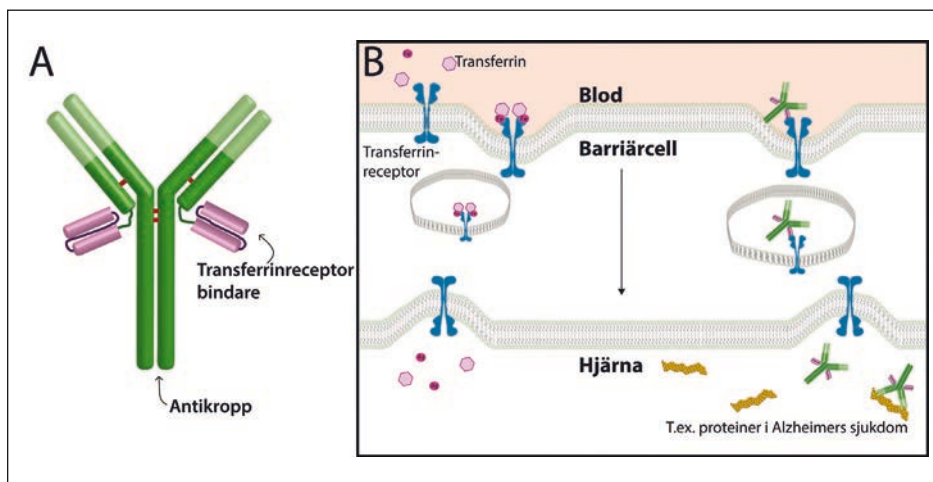
En försvårande omständighet vid immunterapi är att antikroppar har svårt att ta sig in i hjärnan. Det beror i första hand på att blod-hjärnbarriären, vars syfte är att skydda hjärnan, i mycket liten utsträckning släpper igenom stora molekyler såsom antikroppar. Vid behandling av sjukdomar som drabbar hjärnan måste därför höga doser ges till patienterna eftersom generellt mindre än 0,1 procent av de administrerade antikropparna når hjärnan. Då antikroppar generellt är dyra att framställa blir en sådan behandling kostsam, och dessutom riskerar patienterna att drabbas av biverkningar som orsakas av de höga perifera koncentrationerna av antikropparna. Att öka andelen av administrerade antikroppar som når hjärnan skulle därför leda till mindre kostnader, mer effektiv behandling och potentiellt färre biverkningar.

Vi har tidigare utvecklat en antikropp (mAb158) som binder selektivt till just de giftiga protofibrillerna.² I musmodeller av Alzheimers sjukdom minskar patologin avsevärt vid behandling med mAb158.^{3,4} Antikroppen har humaniserats och testas nu i en stor fas 2b-studie mot Alzheimers sjukdom.⁵ Resultat från den kliniska studien förväntas presenteras i slutet av 2017.

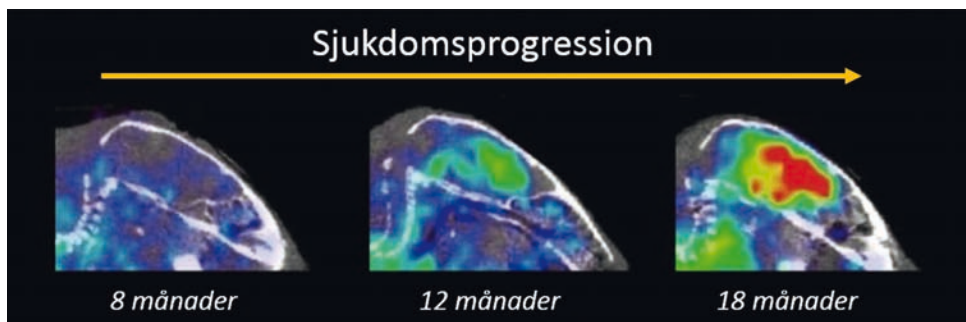
FUNGERAR SOM EN TROJANSK HÄST

Antikroppen mAb158 är, liksom alla andra antikroppar mot Aβ som studerats i kliniska försök, ett stort immunoglobulin

(IgG). För att ytterligare förbättra antikroppens egenskaper och öka dess upptag i hjärnan har mAb158 länkats till ett fragment som binder till transferrinreceptorn [Figur 2A].⁶ Transferrinreceptorn är normalt involverad i transport av järn in till hjärnan, men kan användas som transportör även för andra substanser.⁷ Transferrinreceptorbindaren fungerar då som en trojansk häst, vilken för med sig mAb158 in i hjärnan. Väl inne i hjärnan kan mAb158 binda till de giftiga protofibrillerna [Figur 2B]. Det har visat sig att antalet fragment, vilken affinitet de har till transferrinreceptorn och placeringen av dem har stor betydelse för hur väl det fungerar att "lura" transferrinreceptorn att bära med sig en stor antikropp in till hjärnan. För det första är det viktigt att endast ett fragment åt gången kan binda till transferrinreceptorn. Om två fragment binder samtidigt verkar det som att cellerna i blod-hjärnbarriären börjar bryta ner transferrinreceptorn redan på vägen mellan blodet och hjärnan, vilket leder till att färre antikroppar tar sig in i hjärnan. Dessutom går transferrinreceptorn förlorad, vilket gör att den inte kan plocka upp en ny antikropp på blodsidan av blod-hjärnbarriären. Det modifierade formatet vi har utvecklat är en symmetrisk antikropp där vi har klonat in en transferrinreceptorbindare på antikroppens båda lätta kedjor [Figur 2]. Antikroppen har alltså totalt två transferrinreceptorbindare, men på grund av att fragmenten är kopplade med mycket korta "linkers" kan endast ett av dem binda till transferrinreceptorn. Dock är chansen att en bindingsinteraktion sker, dubbelt så stor jämfört med om det bara skulle ha funnits fragment på en av de lätta kedjorna. En symmetrisk antikropp är dessutom lättare att producera. Endast



Figur 2. En antikropp med två transferrinreceptorbindare transporteras över blod-hjärnbarriären. Transferrinreceptorbindarna har med hjälp av kloning konjugerats till C-terminallerna av de lätta kedjorna på en antikropp (A). Antikroppen (A) kan transporteras över blod-hjärnbarriären på samma sätt som transferrin. I blodet binder antikroppen till transferrinreceptorn. Komplexet endocytteras och pH sänks succesivt i endosomen. När pH blir tillräckligt lågt släpper antikroppen från receptorn och kan släppas ut i hjärnan vid exocytos (B).



Figur 3. PET-bilder på transgena möss med alzheimerliknande patologi som har injicerats med mAb158 med transferrinreceptorbindare, sedda från sidan. Med stigande ålder syns tydligt en ökande PET-signal i hjärnan (röd-gula färger), vilket avspeglar en större mängd A β -patologi.

en bindingsinteraktion leder även till en svagare bindning vilket gör att antikroppen lättare lösgörs från transferrinreceptorn och inte riskerar att följa med tillbaka till blodsidan av blod-hjärnbarriären.

Transferrinreceptorn är en effektiv och snabb transportör. Redan två timmar efter en injektion av antikroppen finns det 10–20 gånger mer av den modifierade mAb158 med transferrinreceptorbindare än av omodifierad mAb158 i hjärnan hos möss. Om denna ökning även leder till en snabbare och större minskning av patologiskt A β , eller om aggregering av A β kan förhindras om behandlingen påbörjas tidigt är fortfarande oklart, men studier kommer att initieras i vårt laboratorium vid Uppsala universitet inom en snar framtid.

PET AVSLÖJAR FÖREKOMSTEN I HJÄRNAN

Vad vi redan vet är att bindningen till A β -protofibriller gör att de höga koncentrationerna av modifierad mAb158 i hjärnan bibehålls under flera dagar i möss med alzheimerliknande patologi medan antikroppen försvinner ur hjärnan i friska kontrollmöss som inte har några A β -protofibriller. Antikroppen går även att märka med en liten radioaktiv isotop. Med hjälp av en positronemissionstomografi (PET)-kamera kan man då studera antikroppens förekomst i hjärnan vilket i sin tur ger en bild av A β -patologins mängd och utbredning [Figur 3]. PET-diagnostik med antikroppen är alltså ett användningsområde parallellt med immunterapi. I dag diagnostiseras alzheimerpatienter med en kombination av kliniska tester och mätningar i ryggvätska av ämnen som är inblandade i sjukdomsprocessen. Minskade nivåer av A β och ökade nivåer av tau (ett annat protein involverat i sjukdomsprocessen) i ryggvätska i kombination med kognitiva problem är till god hjälp vid diagnosen. Dessa mått ger dessvärre en statisk bild av sjukdomsförloppet och lämpar sig inte för att utvärdera en behandlingsmetod eller se om sjukdomen har förvärrats. Bristen på metoder att mäta effekter av behandlingar för hjärnans sjukdomar är ett stort problem vid utvecklingen av nya läkemedel. PET är en mycket attraktiv metod just vid diagnos och studier av hjärnans sjukdomar eftersom inga invasiva prover behöver tas och radioaktiviteten som används är så liten (kan jämföras med en magnetröntgen) att den inte påverkar patienten negativt.

SAMMANFATTNING

Vi tror att denna nya behandlingsstrategi kommer att få stor klinisk betydelse, dels genom att den är mer effektiv och således kan ge ett bättre behandlingsresultat, dels genom att vi med en minskad antikroppsdos sannolikt kan reducera bi-

verkningar hos patienterna, då en lägre koncentration antikropp i blodet minskar risken för interaktioner med perifera vävnader. I förlängningen kommer den här strategin kunna användas även vid andra sjukdomar som drabbar hjärnan, till exempel Parkinsons sjukdom och frontallobsdemens.



GRETA HULTQVIST

PhD, forskare, Institutionen för folkhälso- och vårdvetenskap vid Uppsala universitet
greta.hultqvist@pubcare.uu.se



DAG SEHLIN

PhD, forskare, Institutionen för folkhälso- och vårdvetenskap vid Uppsala universitet
dag.sehlin@pubcare.uu.se



STINA SYVÄNEN

Docent, forskare, Institutionen för folkhälso- och vårdvetenskap vid Uppsala universitet
stina.syvänen@pubcare.uu.se

REFERENSER

- Sevigny J, et al. The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature* 2016; 537:50–56.
- Englund H, et al. Sensitive ELISA detection of amyloid- β protofibrils in biological samples. *J Neurochem* 2007; 103:334–345.
- Lord A, et al. An amyloid- β protofibril-selective antibody prevents amyloid formation in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 2009; 36:425–434.
- Tucker S, et al. The Murine Version of BAN2401 (mAb158) Selectively Reduces Amyloid- β Protofibrils in Brain and Cerebrospinal Fluid of tg-ArcSwe Mice. *J Alzheimers Dis* 2015; 43:575–588.
- Logovinsky V, et al. Safety and tolerability of BAN2401 - a clinical study in Alzheimer's disease with a protofibril selective A β antibody. *Alzheimers Res Ther* 2016; 8:14.
- Hultqvist G, Syvänen S, Fang XT, Lannfelt L & Sehlin D. Bivalent brain shuttle increases antibody uptake by monovalent binding to the transferrin receptor. *Theranostics* 2017; 7:308–318.
- Pardridge WM. Blood-brain barrier drug delivery of IgG fusion proteins with a transferrin receptor monoclonal antibody. *Expert Opin Drug Deliv* 2015; 12:207–222.