DOI: 10.22122/jims.v37i530.11951 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هفتم/شماره‌ی ۵۳۰/هفته‌ی دوم مرداد ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۹ تاریخ چاپ: ۱۳۹۸/۵/۸

مروری بر انواع ایمونوتوکسین در درمان سرطان پروستات

میلاد چیذری[۱]، منیره محسن‌زادگان[۲]، محمدمراد فرج‌اللهی[۳]

مقاله مروری

چکیده

سرطان پروستات، دومین سرطان شایع و پنجمین علت مرگ و میر سرطان در مردان است. بسیاری از بیماران مبتلا به سرطان پروستات پیشرفته، به علت فقدان درمان مؤثر فوت می‌کنند. بنابراین، راهبردهای جدید درمانی مورد نیاز است. با توجه به بیان موضعی آنتی‌ژن‌های سرطان پروستات، این احتمال وجود دارد که اندازه‌گیری میزان آن‌ها در بافت‌های سرطانی، باعث معرفی نشانگرهای جدید برای تشخیص، پیش‌آگهی و همچنین، درمان سرطان پروستات می‌شود. بنابراین، ایمنی‌درمانی خاص علیه آن‌ها ممکن است یک روش درمان جدید برای بهبود مدیریت سرطان پروستات باشد. ایمونوتوکسین‌درمانی، روش جدیدی در درمان هدفمند سرطان است که در آن، آنتی‌بادی به توکسین کانژوگه شده است. ایمونوتوکسین‌ها، به علت ویژگی آنتی‌بادی به طور انتخابی علیه سلول هدف عمل می‌کنند و سبب کشتن سلول‌ها از طریق توکسین باکتری یا گیاهی می‌شوند. بنابراین، ایمونوتوکسین یک داروی امیدوار کننده در زمینه‌ی درمان در بیماران مبتلا به سرطان پروستات است. با توجه به اهمیت ایمونوتوکسین‌ها در درمان بیماران مبتلا به سرطان پروستات، هدف از انجام این مطالعه، جمع‌بندی یافته‌های مطالعات پیش بالینی در ارتباط با انواع ایمونوتوکسین‌های به کار رفته در این بیماری و در نهایت، پیشنهادهای ارایه شده برای درمان هر چه بهتر سرطان پروستات در آینده می‌باشد.

واژگان کلیدی: سرطان پروستات، ایمنی‌درمانی، ایمونوتوکسین، آنتی‌بادی مونوکلونال

ارجاع: چیذری میلاد، محسن‌زادگان منیره، فرج‌اللهی محمدمراد. **مروری بر انواع ایمونوتوکسین در درمان سرطان پروستات.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۳۰): ۶۶۶-۶۵۵

مقدمه

به طور تخمینی، حدود ۱/۳ میلیون مورد جدید سرطان پروستات و ۳۵۹۰۰۰ مرگ و میر ناشی از آن در سراسر جهان در سال ۲۰۱۸ وجود داشته که این سرطان را در رتبه‌ی دوم به عنوان شایع‌ترین سرطان و پنجمین علت مرگ و میر سرطان در مردان در سال ۲۰۱۸ قرار داده است (۱).

درمان سرطان پروستات در مراحل مختلف پیش‌روی بیماری، با توجه به درجه ی تومور و تخمین میزان امید به زندگی متفاوت است. با این حال، درمان ایده‌آل برای این بیماری هنوز یافت نشده است و اثربخشی روش‌های درمانی با توجه به پیشرفت سرطان متفاوت است (۲). درمان‌های رایج برای بیماران مبتلا به سرطان پروستات موضعی (Localized prostate cancer)، رادیکال پروستاکتومی، پرتودرمانی، هورمون‌درمانی و استفاده از انجماد (Cryosurgery) است (۴-۲).

سرطان پروستات پیش‌رونده، به روش‌های شیمی‌درمانی و هورمون‌درمانی یا محرومیت از آندروژن درمان می‌شود که منجر به آپوپتوز سلول‌های توموری وابسته به آندروژن می‌شود (۵)، اما با این وجود، پس از بروز پاسخ اولیه به این درمان، در تعداد زیادی از بیماران، موجب مقاومت به آندروژن می‌شود که در این حالت، سرطان پروستات وارد مرحله‌ی پیشرفته‌ی خود می‌شود که به آن سرطان پروستات مستقل از آندروژن (Androgen independent prostate cancer یا AIPC) گفته می‌شود؛ چرا که در این مرحله، پیشرفت سرطان، مستقل از آندروژن است و از این رو، هورمون‌درمانی در بیماران بی‌اثر خواهد بود. در حال حاضر، هیچ درمان مؤثری برای AIPC نیست. شیمی‌درمانی، به طور عمده اثرات تسکین دهنده برای بیماران مبتلا به سرطان پروستات مقاوم به هورمون است، اما در برخی موارد، اثرات بقا را نشان می‌دهد (۶). بنابراین، درمان‌های جدید و اهداف درمانی در سرطان پروستات، به ویژه برای بیماران با درجه‌ی بدخیمی بالا و در نوع پیشرفته و فراگستری شده‌ی سرطان پروستات

۱- گروه زیست‌فن‌آوری پزشکی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۳- استاد، گروه زیست فن‌آوری پزشکی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: محمدمراد فرج‌اللهی
Email: mfarajol@uottawa.ca

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

(Castration resistant prostate cancer یا CRPC) که گزینه‌های درمانی محدودی دارند، به شدت مورد نیاز است (۷).

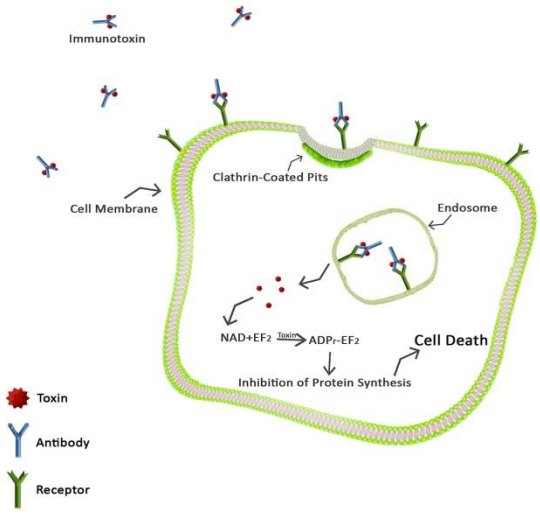
راهبردهای جدید برای درمان سرطان، مبتنی بر طراحی داروهایی هستند که سلول‌های سرطانی را به طور خاص با حداقل عوارض جانبی در بافت‌های طبیعی مورد هدف قرار می‌دهند. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال (Monoclonal antibodies یا mAbs) گروه‌های جدیدی از درمان‌های سرطان هستند که می‌توانند سلول‌های هدف را تشخیص دهند و به طور خاص به سلول هدف متصل شوند (۸). امروزه، ۲۸ نوع MAb توسط اداره‌ی غذا و داروی آمریکا (Food and Drug Administration یا FDA) برای درمان سرطان تأیید شده است و بیش از ۱۰۰ نوع MAb در مراحل مختلف آزمایش‌های بالینی برای درمان سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرند (۹). با وجود بهره‌وری بالا از mAbs، این آنتی‌بادی‌ها به ندرت قادرند که به طور کامل سلول‌های سرطانی را از بین ببرند. روش‌های مختلفی برای افزایش بهره‌وری از آنتی‌بادی استفاده شده است که در میان آن‌ها، اتصال به مواد شیمیایی و یا توکسین، نتایج امیدوار کننده‌ای داشته است (۱۰).

در مقایسه با mAbs، توکسین‌ها مسمومیت بیشتری را نشان می‌دهند؛ به طوری که یک مولکول سم برای کشتن یک سلول سرطانی کافی است. از این رو، ایمونوتوکسین‌ها می‌توانند کاندیدای امیدوار کننده‌ای برای درمان سرطان پروستات در این نوع روش درمانی باشند. با توجه به اهمیت ایمونوتوکسین‌ها در درمان بیماران مبتلا به سرطان پروستات، هدف از انجام این مطالعه، جمع‌بندی یافته‌های مطالعات پیش بالینی در ارتباط با انواع ایمونوتوکسین‌های به کار رفته در درمان سرطان پروستات و در نهایت، پیشنهادهای ارایه شده برای درمان هر چه بهتر این بیماری در آینده بود.

ایمونوتوکسین‌ها

ایمونوتوکسین‌ها، از اتصال یک توکسین و یک پروتئین که می‌تواند آنتی‌بادی، بخشی از یک آنتی‌بادی و یا عامل رشد باشد، به وجود می‌آیند. ایمونوتوکسین‌ها، قدرت سمی خود را از توکسین و ویژگی خود را از آنتی‌بادی دریافت می‌کنند. ایمونوتوکسین‌ها، به کمک بخش آنتی‌بادی خود، سلول‌های هدف را شناسایی می‌کنند و به پروتئین‌های سطح سلولی متصل می‌شوند و به کمک غشای پوشیده از کلاترین، وارد سلول می‌شوند. ورود توکسین، باعث القای آپوپتوز در سلول هدف می‌گردد (شکل ۱) (۱۱-۱۰).

ایمونوتوکسین‌ها دارای چهار نسل می‌باشند: در نسل اول ایمونوتوکسین‌ها، توکسین کامل باکتری از طریق پیوند شیمیایی به آنتی‌بادی کامل متصل شد که به علت وجود سایت‌های اتصالی متعدد در توکسین و آنتی‌بادی، ایمونوکسین به دست آمده، به شدت ایمونوژن و غیر همگن بود و موجب مرگ سلول‌های طبیعی شد. به همین دلیل، در نسل دوم ایمونوتوکسین‌ها ناحیه‌ی اتصالی توکسین حذف شد که بر روی سلول‌های سالم اثر نداشته باشد. این توکسین‌های نوترکیب، از طریق پیوند شیمیایی به آنتی‌بادی کامل متصل شدند. با وجود این که این ایمونوتوکسین‌ها به طور اختصاصی به سلول هدف متصل می‌شوند، اما برای بیماران به شدت ایمونوژن هستند. بیشتر آنتی‌بادی‌های مونوکلونال که در ساخت نسل‌های اول و دوم ایمونوتوکسین مورد استفاده قرار گرفتند، از منبع موشی هستند. تفاوت‌های آنتی‌ژنیک در بین آنتی‌بادی‌های انسانی و موشی شناخته شده، به خصوص در منطقه‌ی ثابت Fragment crystallizable (FC)، منجر به پاسخ ایمنی نامطلوب می‌شود (۱۴-۱۲).



شکل ۱. نحوه‌ی مکانیسم اثر ایمونوتوکسین

همان‌طور که مشاهده می‌شود، ایمونوتوکسین‌ها به کمک بخش آنتی‌بادی خود به گیرنده‌ی سلولی متصل می‌شوند و به کمک غشای پوشیده از کلاترین وارد سلول می‌شوند. شرایط اسیدی اندوزوم، موجب جدا شدن توکسین می‌شود که بیشتر توکسین‌ها از طریق ADP-ribosylation باعث غیر فعال‌سازی عامل طویل‌سازی ۲ سلول‌های یوکاریوتی می‌شوند که منجر به توقف سنتز پروتئین در سلول و مرگ سلول می‌شود.

در نسل سوم با استفاده از DNA نوترکیب و اصول مهندسی ژنتیک، ایمونوتوکسین‌هایی ایجاد شدند که فقط حاوی عناصر لازم جهت شناسایی و کشتن سلول توموری بودند. در واقع، با خارج کردن دومین (Domain) شناسایی سلول هدف از توکسین و جایگزینی آن با قطعه‌ی Variable fragment (FV) یک آنتی بادی و سپس بیان آن در باکتری خاصی مانند Escherichia coli، توانستند نسل سوم از ایمونوتوکسین‌ها را طراحی کنند که دارای اثربخشی بیشتری نسبت به

نسل‌های قبلی بود. استفاده از قطعات آنتی‌بادی با اندازه‌ی کوچک‌تر، به عنوان بخش هدف‌گیری با کاهش ایمنی‌زایی و افزایش نفوذ ایمونوتوکسین به تومورهای جامد مرتبط است. به همین دلیل، تا کنون حدود صدها ایمونوتوکسین از نسل سوم توسعه یافته‌اند (۱۶-۱۵).

با توجه به موفقیت‌های محدودی که با توکسین‌های اصلاح شده در مدل‌های حیوانی و مطالعات بالینی حاصل شده است، تلاش‌ها برای جایگزینی توکسین ایمونوتوکسین با پروتئین اندوژن (Endogenous protein) منشأ انسانی صورت گرفت.

در نسل چهارم، آنتی‌بادی‌های انسانی استفاده شدند که در آن‌ها، به منظور کاهش ایمنی‌زایی توکسین، آنتی‌بادی‌های انسانی به پروتئین‌های سیتوتوکسیک داخلی با منشأ انسانی متصل شده است (۱۷).

انواع توکسین‌ها

توکسین‌های مورد استفاده در ساختارهای ایمونوتوکسین از باکتری‌ها، قارچ‌ها و گیاهان مشتق شدند و بیشتر از طریق مهار سنتز پروتئین عمل می‌کنند (۱۸). سموم باکتریایی که به طور معمول در ایمونوتوکسین‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد، شامل توکسین دیفتری، اگزوتوکسین A از باکتری Pseudomonas aeruginosa و توکسین آنتراکس می‌باشد (۱۹). از سموم گیاهی مورد استفاده در ایمونوتوکسین‌ها، می‌توان به پروتئین ریسین اشاره کرد. همچنین، از پروتئین‌های غیر فعال کننده‌ی ریبوزوم، گلونین و پروتئین‌های ضد ویروسی پاکوید (۲۰) و پروتئین‌های داخلی با منشأ انسانی نظیر گرانزیم، RNase و غیره نیز در ساخت ایمونوتوکسین‌ها استفاده می‌شود (۱۷). در بین توکسین‌های پیش‌گفته، استفاده از توکسین‌های باکتریایی در ساخت ایمونوتوکسین‌ها رایج‌تر است.

توکسین‌ها شامل چندین Domain هستند. دومین A که موجب اتصال توکسین به سطح سلول می‌شود، دومین Translocation که توکسین از طریق آن می‌تواند از غشا وارد سیتوزول شود و دومین Catalytic (دومین مرگ) که موجب مرگ سلول از طریق غیر فعال‌سازی فرایندهای حیاتی سلولی می‌شود (۲۱).

اگزوتوکسین A باکتری Pseudomonas aeruginosa (PE) دارای ۶۱۳ اسید آمینه است و به صورت یک پلی‌پپتید منفرد ساخته می‌شود. این اگزوتوکسین، دارای ۴ دومین می‌باشد شامل دومین Ia که در نزدیکی انتهای N و بخش اتصال دهنده به سلول است، دومین II که دارای فعالیت جابه‌جایی است، دومین III که دارای نقش کاتالیتیک است و با نقش ADP-ribosylation خود، باعث غیر فعال‌سازی عامل طویل‌سازی ۲ سلول‌های یوکاریوتی می‌شود. همچنین، یک دومین کوچک به نام IIb نیز بین ناحیه‌ی II و III وجود دارد که فاقد نقش خاصی است (۲۲).

اشکال مختلف PE شامل PE40، PE38 و PE25 مشتق شده است که در تولید ایمونوتوکسین استفاده می‌شوند. PE40 با حذف دومین Ia ساخته شد و PE38 از طریق حذف بخش بزرگی از دومین Ib بدون تأثیر بر روی سمیت سلولی و فعالیت مهار کننده‌ی ADP-ribosylation تهیه گردید. PE25، کوچک‌ترین نسخه‌ی PE دارای ایمنی‌زایی کم است و با حذف کل منطقه‌ی II به استثنای سایت فورین ساخته شده است (۲۴-۲۳). بیشتر پیشرفت‌های اخیر در زمینه‌ی تولید ایمونوتوکسین‌ها در زمینه‌ی تولید انواع کوچک‌تر و ایمنی‌زایی کمتر از مولکول PE40 و PE38 بوده است.

توکسین دیفتری (DT) یک توکسین ترشحی است که توسط باکتری Corynebacterium Diphtheria ترشح می‌شود. این توکسین، دارای ۵۳۵ اسید آمینه است که دارای دو قطعه‌ی A و B می‌باشد. قطعه‌ی A، شامل ۱۹۳آمینواسید اول با فعالیت کاتالیزوری، مسؤول سمیت توکسین است. قطعه‌ی B، به دو دومین تقسیم می‌شود، دومین T که از اسیدهای آمینه‌ی ۳۷۵-۲۰۲ تشکیل شده است و دومین R شامل اسیدهای آمینه‌ی ۵۳۵-۳۸۵ می‌باشد. دومین T، مسؤول انتقال به سلول‌های هدف است و دومین R به عنوان اتصال گیرنده عمل می‌کند (۲۵).

در مقایسه با سموم گیاهی، سموم باکتریایی، ADP ribose را از نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید به دیفتامید (هیستیدین اصلاح شده) انتقال می‌دهد و عامل ۲ طویل‌سازی را غیر فعال و سنتز پروتئین را مهار می‌کند (۱۹).

توکسین‌های گیاهی مانند ساپورین و گلونین دارای فعالیت N-glycosidase هستند که به ناحیه‌ی ویژه‌ای از 28srRNA متصل می‌شوند و مانع از اتصال ریبوزوم به عامل طویل‌سازی یوکاریوتی می‌شوند. ساپورین، پروتئین ضد ویروسی پاکوید و گلونین، جزء این دسته از توکسین‌ها محسوب می‌شوند (۲۰).

ریسین و سایر لکتین‌های گیاهی مانند آبرین و مدسین شامل یک زنجیره‌ی A می‌باشند که باعث آسیب رساندن به ریبوزوم‌ها و مهار سنتز پروتئین می‌شود و همچنین، یک زنجیره‌ی B (دومین اتصال) که نقش مهمی در جذب سلولی ایفا می‌کند (۲۶).

ایمونوتوکسین‌های درمانی

ایمونوتوکسین‌ها در درمان سرطان: اولین ایمونوتوکسینی که از FDA مجوز استفاده‌ی بالینی دریافت نمود، Denileukin diftitox (Ontak™) بود. این ایمونوتوکسین، یک پروتئین کایمر است که شامل اینترلوکین ۲ و سم باکتری دیفتری فاقد دومین اتصالی (DAB389) می‌باشد که جهت درمان سرطان خون از نوع Cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) استفاده می‌شود. اونتاک

به گیرنده‌ی اینترلوکین ۲ موجود در سطح سلول‌های سرطان خون شامل Adult T-cell leukemia (ALT)، Hodgkin'disease (HD) و CTCL متصل می‌شود و اثر خود را اعمال می‌کند (۲۷).

ایمونوتوکسین DAB389EGF از طریق اتصال هر دو دومین آنزیمی و انتقال Diphtheria toxin (DT) به توالی خاصی از عامل رشد اپی‌درمال انسان Epidermal growth factor (EGF) به عنوان بخش هدف شکل گرفت. DAB389EGF، اثر مهاری بر سلول‌های سرطانی بیش از حد بیان کننده‌ی گیرنده‌ی عامل رشد اپیدرمی Epidermal growth factor receptor (EGFR) داشت. این ایمونوتوکسین که در مرحله‌ی پیش بالینی برای درمان سرطان مثانه قرار دارد، همچنین برای درمان انواع مختلف گلیوبلاستوما در مدل‌های حیوانی مورد بررسی قرار گرفته و ارتباط مستقیم بین حساسیت به DAB389EGF و تعداد گیرنده‌ی عامل رشد اپی‌درمال بر روی سطح سلول‌های سرطانی گلیوبلاستوم مشاهده شده است (۲۸).

با توجه به تکنولوژی DNA نوترکیب، شکل‌های مختلفی ازآنتی‌بادی شامل Antigen-binding fragment (Fab)، Disulfide-stabilized Fv antibody fragment (dsFv) و Single-chain variable fragment (scFv) در تولید ایمونوتوکسین‌ها مورد استفاده قرار گرفت که در مراحل بالینی مختلفی کاربرد دارند (۳۰-۲۹).

استفاده از قطعات آنتی‌بادی تک زنجیره‌ای scFv به عنوان دومین‌های اتصال، به طور قابل توجهی بهبود عملکرد ایمونوتوکسین‌ها را در پی دارد. ScFv، کوچک‌ترین قسمت اتصال آنتی‌ژن از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال mAbs، شامل دومین متغیر زنجیره‌ی سنگین Variable heavy-chain (VH) و دومین متغیر زنجیره‌ی سبک Variable light-chain (VL)، با پیوند پپتید انعطاف پذیر متصل می‌شود و خصوصیات آنتی‌ژن کامل را از آنتی‌بادی مادر حفظ می‌کند. این اندازه‌ی کوچک‌تر، به scFv اجازه می‌دهد تا نفوذ بهتری در بافت‌های تومور، بهبود فارماکوکینتیک و کاهش ایمنی بدن در مقایسه با قطعات mAbs یا Fab داشته باشد. علاوه بر این، تولید ایمونوتوکسین‌های مبتنی بر scFv نوترکیب، این اجازه را می‌دهد تا اتصال مستقیم به توکسین صورت گیرد. بنابراین، بهبود پایداری مولکول در مقایسه با روش‌های اتصال شیمیایی و همچنین، ساده‌سازی فرایند تولید انجام می‌پذیرد (۳۲-۳۱).

Moxetumomab pasudotox، شامل توکسین PE38 و Fv anti-CD22 است. کارآزمایی بالینی بخش I از آن در ۲۸ بیمار مبتلا به Hairy chain leukemia (HCL) در سال ۲۰۱۲ انجام شد. این ایمونوتوکسین، نشان دهنده‌ی فعالیت شدید بود؛ در حالی که سمیت وابسته به دز در بیشترین دز مصرفی مشاهده نشد. میزان پاسخ کلی ۸۶ درصد در تمام سطوح دز مشاهده شد و ۴۶ درصد از بیماران بهبودی کامل دریافت کردند (۳۴-۳۳). این ایمونوتوکسین، در سال ۲۰۱۸ برای درمان HCL مورد تأیید FDA قرار گرفت. در جدول ۱، لیستی از ایمونوتوکسین‌های مورد تأیید FDA آمده است و برخی از ایمونوتوکسین‌هایی که در سرطان‌های خونی و سرطان‌های توپر در مراحل مختلف بالینی قرار دارند، در جدول ۲ گردآوری شده‌اند (۲۱، ۱۱).

ایمونوتوکسین در درمان سرطان پروستات: سرطان پروستات، دارای ویژگی‌هایی است که به یک مدل مناسب جهت ایمنی‌درمانی تبدیل شده است که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان گفت که آنتی‌ژن‌های اختصاصی آن به خوبی شناخته شده‌اند که می‌تواند اهداف مناسبی را جهت استفاده از ایمونوتوکسین‌ها فراهم کند (۳۵). از آنتی‌ژن‌هایی که هدف ایمونوتوکسین‌ها قرار گرفته‌اند، می‌توان به آنتی‌ژن اختصاصی غشایی پروستات Prostate specific-membrane antigen (PSMA) و آنتی‌ژن سلول بنیادی پروستات Prostate stem cell antigen (PSCA) اشاره کرد.

آنتی‌ژن اختصاصی غشایی پروستات، یک گلیکوپروتئین غشایی نوع II با جرم اتمی ۱۰۰ کیلودالتون است که حاوی دومین گذرنده‌ی غشایی، یک بخش کوچک داخل سلولی و دامنه‌ی خارج سلولی فراوانی است. بیان PSMA مستقل از آندروژن است که همراه با پیشرفت بیماری، افزایش می‌یابد و به بالاترین سطح در CRPC می‌رسد. علاوه بر این، بیان PSMA در عروق جدید مرتبط با تومور، اما نه در عروق طبیعی، فراوان است.

علاوه بر این، رادیوایمونوکانژوگه‌ی آنتی-PSMA به عنوان ماده‌ی تصویربرداری و همچنین، برای درمان سرطان مورد بررسی قرار گرفته است. از این رو، PSMA یک هدف ایده‌آل از عوامل دارویی مبتنی بر mAb- ماکرومولکولی است (۳۶). همچنین، PSMA پس از واکنش با آنتی‌بادی، به داخل سلول وارد می‌شود که این ویژگی را می‌توان برای تحویل عوامل سیتوتوکسیک به داخل سلول به منظور هدف قرار دادن سلول‌های تومور پروستات مورد استفاده قرار داد (۳۷).

جدول ۱. ایمونوتوکسین‌های مورد تأیید Food and Drug Administration (FDA)

بیماری	هدف/ توکسین	نام تجاری	ایمونوتوکسین
Cutaneous T-cell lymphoma	IL-2R/ DT	Ontak	Denileukin diftitox
Hairy chain leukemia	CD22/ PE	Lumoxiti	moxetumomab pasudotox

جدول ۲. برخی از ایمونوتوکسین‌های مورد استفاده در سرطان‌های خونی و سرطان‌های توپر در مراحل مختلف بالینی

شناسه‌ی آزمایش	مرحله‌ی بالینی	بیماری	هدف/توکسین	ایمونوتوکسین
NCT00321555	II	HCL, ATL	CD25/ PE	LMB-2
NCT01362790	II	Mesothelioma	Mesothelin/PE	SS1P
NCT00462488NCT00272181NCT02449239	II, III	Advanced head and neck cancer, bladder cancer	EpCAM/ PE	Oportuzumabmonatox
NCT00041587	III	Glioblastoma	IL-13/ PE	Cintredekin besudotox
NCT00611208	II	Cutaneous T-cell lymphoma	CD3/ DT	A-dmDT390-bisfv
NCT00924040NCT00077493NCT00074048 NCT00024115	I, II	HCL, B-CLL, NHL, ALL	CD22/PE	BL22
NCT01061645	I	Epithelial carcinomas	EpCAM/ PE	MOC31PE
NCT00104091NCT00074334	II	Glioblastoma and Brain tumors	EGFR/ PE	TP-38

PE: Pseudomonas exotoxin A; DT: Diphtheria toxin; HCL: Hairy chain leukemia; ATL: Acute T-cell lymphoma; NHL: Non-Hodgkin lymphoma; ALL: Acute lymphocytic leukemia; EGFR: Epidermal growth factor receptor; EpCAM: Epithelial cellular adhesion molecule

بـر همـین اسـاس، در مطالعـه‌ی Fracasso و همکـاران، سـه آنتـی‌بـادی مونوکلونـال علیـه PSMA (J591، PEQ226.5 و PM2P079.1) به زنجیره‌ی A ریسین متصل شـدند و اثـر کشـندگی آن‌ها در سلول LNCaP مورد ارزیابی قرار گرفت. ایمونوتوکسین‌های مختلف، بـر روی سـلول‌هـای PSMA مثبـت اثراتـی در محـدوده‌ی ۰/۹۹–۱/۶ نانومولار نشان دادند؛ در حالی که این اثر، در سـلول‌هـای PSMA منفی، حدود ۶۰ برابر کمتر شده بود که این نتـایج، حـاکی از اثربخشی این ایمونوتوکسین می‌باشد (۳۸).

در مطالعه‌ی دیگری، Wolf و همکاران، ایمونوتوکسین نوترکیبی (A5-PE40) متشکل از قطعه‌ی تک رشته‌ی آنتی‌بـادی علیـه PSMA (scFv) و توکسـین نوترکیـب اگزوتوکسـین A بـاکتری Pseudomonas aeruginosa (PE40) را کـه فاقـد دومـین Ia می‌باشد، بر روی سلول بیان کننده‌ی PSMA مورد مطالعه قرار دادنـد. این ایمونوتوکسین، به صـورت اختصاصـی بـه سـلول بیـان کننـده‌ی PSMA متصل شد و میـزان نصـف بیشـترین غلظـت مهـار کننـدگی (Half maximal inhibitory concentration یـا IC50) آن بـه ۲۰ پیکومولار رسید؛ در حالی که سلول‌هـای فاقـد PSMA همچنـان بـدون تـأثیر بـاقی ماندنـد. بـا توجـه بـه سـمیت بـالا و ویژگـی (Specificity)، این ایمونوتوکسین نوترکیـب، یـک گزینـه‌ی امیـدوار کننده در زمینه‌ی درمان بیماران مبتلا به سرطان پروستات است (۳۹).

در مطالعـه‌ی پـیش بـالینی Wolf و همکـاران، ایمونوتوکسـین D7-PE40 متشکل از آنتی‌بادی ضد PSMA (scFv) (کـه از طریـق Phage display از آنتـی‌بـادی مونوکلونـال 3/F11 تولیـد شـد) و اگزوتوکسـین A (بـه وسـیله‌ی لیگاسـیون انتهـای C دومـین توکسـیک اگزوتوکسین A باکتری PE) بر روی رده‌ی سلولی C4-2 کـه از طریـق ترانسفکت سلولی PSMA در آن افزایش بیان داشت، در معرض سـلول قـرار گرفـت کـه D7-PE40، پایـداری بـالایی را در سـرم نشـان داد و موجب کاهش ۵۰ درصدی IC50 در سلول‌های C4-2 در غلظـت ۱۴۰ پیکومولار شـد. در In vivo، D7-PE40 در دزهـای ۲۰ میلـی‌گـرم بـه خـوبی در مـوش‌هـای Severe combined immunodeficient (SCID) تحمل شد؛ در حالی که دزهای بالاتر، موجـب سـمیت کبـدی شدید و مرگ و میر حیوانات شد. درمان ایمونوتوکسـین بـر روی مـدل زنوگرافت تومور C4-2 در موش، باعث مهار چشم‌گیر رشد تومور شد؛ در حالی که در موش‌هایی که برای ایجاد تومور با سـلول‌هـای DU145 (فاقد PSMA) تلقیح شده بودند، فاقد اثر بود. طبق این نتایج، بـا توجـه به سمیت سلولی و ویژگی آن برای جلوگیری از رشد تومـور پروسـتات در In vivo، ایمونوتوکسین D7-PE40 نشـان دهنـده‌ی یـک گزینـه‌ی امیدبخش برای ایمنی‌درمانی سرطان پروستات است (۴۰).

در مطالعه‌ی Zhang و همکاران، یک ایمونوتوکسین دو ظرفیتـی تولید شده توسط فیوژن یک Diabody تک زنجیره‌ای مشتق شـده از قطعه‌ی Fv از یک آنتی‌بادی مونوکلونال ضد PSMA بـا یـک تکـه‌ی توکسین دیفتری کوتـاه (DT) حـاوی دومـین‌هـای فعالیـت و انتقـال A-dmDT390-scfbDb (PSMA) کـه ممکـن اسـت مناسـب بـرای درمان هدفمند تومورهـایی باشـد کـه PSMA را بـیش از حـد بیـان

می‌کنند، مورد مطالعه قرار گرفت. به طور کلی، ایمونوتوکسین‌های دوظرفیتی حاوی دو واحد scFv، نسبت به آنتی‌بادی‌های scFv، دارای ویژگی و عملکرد بالاتری نسبت به سلول‌های هدفمند هستند. در این مطالعه، رده‌های سلولی دارای PSMA و فاقد PSMA در معرض ایمونوتوکسین A-dmDT390-scfbDb (PSMA) قرار گرفتند. جذب سلولی و سمیت انتخابی ایمونوتوکسین در کشت سلولی سلول‌های سرطانی پروستات LNCaP دارای PSMA، مثبت و در سلول‌های سرطانی پروستات PC-3 فاقد PSMA، منفی بود. تجمع سلولی A-dmDT390-scfbDb (PSMA) با افزایش زمان انکوباسیون و غلظت در سلول‌های LNCaP افزایش یافت و سلول در معرض آپوپتوز قرار گرفت که نشان از اثر درمانی و انتخابی ایمونوتوکسین مورد نظر داشت. همچنین، آن‌ها از طریق تصویربرداری نوری و Magnetic resonance imaging (MRI) از A-dmDT390-scfbDb (PSMA) متصل شده به Alexa Fluor680 در تومور زنوگرافت با سلول LNCaP که دارای PSMA است، در موش Nude ویژگی و اثر درمانی این ایمونوتوکسین را به اثبات رساندند (۴۱).

در مطالعه‌ی دیگری، Michalska و همکاران اثرات ایمونوتوکسین نوترکیب علیه PSMA (scFv + PE40) در ترکیب با داسیتاکسل را در In vitro و In vivo بررسی کردند. داسیتاکسل برای درمان اولیه‌ی CPRC مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال، اثرات درمانی آن محدود است؛ چرا که تنها حدود نیمی از بیماران به درمان پاسخ می‌دهند و عوارض جانبی شدید، به احتمال زیاد منجر به قطع درمان می‌شود. هدف از انجام مطالعه‌ی پیش‌گفته، توسعه‌ی درمان ترکیبی مبتنی بر داسیتاکسل بود. ایمونوتوکسین D7-PE40 که متشکل از PSMA(scFv) (که از طریق Phage display از آنتی‌بادی مونوکلونال 3/F11 تولید شد) و اگزوتوکسین A بود (به وسیله‌ی لیگاسیون انتهای C دومین توکسیک اگزوتوکسین A باکتری Pseudomonas aeruginosa) باعث آپوپتوز و اثر منفی در بقای سلول وابسته به آندروژن (LNCaP) و سلول‌های سرطان پروستات مستقل از آندروژن (C4-2) شد. فعالیت هم‌افزایی سیتوتوکسیسیتی در ترکیب با داسیتاکسل با مقادیر IC50 در محدوده‌ی پیکومولار یا حتی فمتومولار مشاهده شد. در مقایسه با داسیتاکسل، ایمونوتوکسین حدود ۲۰۰۰-۸۰ برابر سیتوتوکسیک‌تر بود. این کارایی قابل ملاحظه، می‌تواند بر اساس شیوه‌های مختلف هر دو ماده باشد. داسیتاکسل، باعث مهار دینامیک میکروتوبول‌ها می‌شود و در پی آن، باعث توقف چرخه‌ی سلولی و در نهایت آپوپتوز می‌گردد. علاوه بر این، فعالیت آنزیمی PE40 که ADP-ribosylation دیفتامید را تنها با یک مولکول PE40 امکان پذیر می‌کند. همچنین، می‌تواند به سمیت سلولی ایمونوتوکسین کمک کند. داسیتاکسل و PE40-D7(VLVH) سیتوتوکسیستی بیشتری در برابر LNCaP نسبت به سلول‌های C4-2 داشتند. این رده‌های سلولی، مدل‌های پذیرفته شده‌ای هستند که نشان دهنده‌ی فنوتیپ وابسته به آندروژن و غیر وابسته به آندروژن سلول‌های سرطانی پروستات می‌باشند. سلول‌های C4-2، مرحله‌ی CRPC را در بالین منعکس می‌کنند که با توجه به دستورالعمل‌های بالینی واقعی، داسیتاکسل به عنوان درمان خط دوم واقع می‌شود. سلول‌های C4-2 نسبت به سلول‌های LNCaP به دلیل افزایش بیان اعضای ضد آپوپتوتیک خانواده‌ی B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) به آپوپتوز مقاوم‌تر هستند. بنابراین، قابل تصور است که ایمونوتوکسین می‌تواند در مراحل مختلف سرطان حساس به هورمون مؤثر باشد، همان‌طور که در مطالعات بالینی پیشین برای داسیتاکسل نشان داده شده است. ایمونوتوکسین‌های بر پایه‌ی اگزوتوکسین A باکتری Pseudomonas aeruginosa، به واسطه‌ی القای آپوپتوز از طریق دفسفریلاسیون پروموتر مرگ از طریق Bcl-2، شناخته شده هستند. همچنین، داسیتاکسل قادر به تشخیص سلول‌های سرطانی پروستات برای آپوپتوز با فعال‌سازی p53 یا با تغییر بیان و فسفوریلاسیون اعضای خانواده‌ی Bcl-2 است. بنابراین، هر دو مولکول به طور چشم‌گیری به القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پروستات کمک می‌کنند. قابل تصور است که داسیتاکسل، می‌تواند آستانه‌ی آپوپتوز را برای ایمونوتوکسین از طریق ناتنظیمی پروتئین‌های آنتی‌آپوپتیک کاهش دهد. علاوه بر این، درمان ترکیبی منجر به افزایش فعالیت ضد تومور در مدل زنوگرافت موش SCID که با سلول C4-2 تلقیح شده بود، شد. در گذشته، چندین ایمونوتوکسین مبتنی بر Pseudomonas exotoxin A برای هدف قرار دادن آنتی‌ژن‌های مختلف تومور ایجاد شد و با موفقیت در آزمایش‌های پیش بالینی و بالینی استفاده شده‌اند. با توجه به برنامه‌های بالینی آینده، با جایگزین کردن scFv D7 انسانی در PE40-D7(VLVH) انتظار می‌رود ایمونوژنیسیتی آن کاهش یابد. بنابراین، این ایمونوتوکسین یک داروی امیدوار کننده در درمان ترکیبی مبتنی بر داسیتاکسل برای بیماران CRPC به منظور بهبود کارایی درمانی و کاهش عوارض جانبی ناخواسته است (۴۲).

از آن جایی که ایمونوتوکسین‌های مبتنی بر اگزوتوکسین Pseudomonas، به ترتیب مهار بیان پروتئین ضد آپوپتوزی Mcl-1 را تشکیل می‌دهند، Noll و همکاران، ایمونوتوکسین D7(VL-VH)-PE40 را که در ترکیب با ABT-737 تقلید کننده‌ی BH3 که به طور خاص باعث مهار Bcl-2، Bcl-Xl و Bcl-w به منظور افزایش القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پروستات می‌شود، مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که ترکیبی از این

ایمونوتوکسین با ABT-737، سبب ایجاد اثرات افزاینده یا حتی اثر سینرژیسم یا هم‌افزایی می‌شود (۴۳).

در مطالعه‌ی پیش بالینی دیگری که توسط Ma و همکاران صورت گرفت، مونوکلونال آنتی‌بادی PSMA به مونومتیل آنوراستین E (مهار کننده‌ی پلیمرازیسیون توبولین) متصل شد و برای ارزیابی اثر ضد توموری در شرایط In vitro و در یک مدل زنوگرافت موش‌های مبتلا به سرطان پروستات مستقل از آندروژن مورد بررسی قرار گرفت. این کانژوگه، سلول‌های بیان کننده‌ی PSMA را با قدرت بالا و به صورت انتخابی از بین برد. همچنین، میزان بقای موش‌ها ۹ برابر افزایش یافت. همچنین، اثرات درمان نیز به طور قابل توجهی در میزان سرمی آنتی‌ژن اختصاصی پروستات کاهش ($P = ۰/۰۰۶۸$) داشت و مهم‌تر از آن، ۴۰ درصد از حیوانات تحت درمان هیچ تومور قابل تشخیصی و یا PSA قابل اندازه‌گیری را در روز ۵۰۰ نداشتند که نشان از اثر درمانی این کانژوگه بود (۴۴).

تلاش‌های بسیاری برای کاهش ایمنی‌زایی ایمونوتوکسین‌ها با استفاده از روش انسانی‌سازی/غیر ایمن‌سازی دومین‌های اتصال آنتی‌بادی، اصلاح با ماکرومولکول‌ها یا تغییرات ساختاری دومین‌های توکسین انجام شده است. منشأ حیوانی برخی از آنتی‌بادی‌ها، می‌تواند منجر به ایمنی‌زایی توسط تحریک پاسخ انسانی علیه ایمونوتوکسین‌ها شود (۴۶-۴۵). برای غلبه بر این محدودیت، نسخه‌های بسیاری از آنتی‌بادی‌های کمتر یا غیر ایمنی‌زا با استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیب شامل آنتی‌بادی‌های کایمری، انسانی و به طور کامل انسانی در قالب‌های مختلف مانند scFv، Fab و dsFv توسعه یافته است.

در مطالعه‌ی دیگری، Kuroda و همکاران ایمونوتوکسینی را طراحی کردند که از آنتی‌بادی مونوکلونال انسانی علیه PSMA (hJ591) و توکسین ساپورین تشکیل شده بود و اثرات ضد توموری آن را بر روی سلول‌های سرطان پروستات بررسی کردند. توکسین ساپورین، به عنوان RNA N-glycosidase عمل می‌کند و سنتز پروتئین را با جدا کردن یک پایه‌ی آدنین خاص از RNA ریبوزومی و ایجاد تغییر ریبوزومی غیر قابل برگشت مهار می‌کند. در این مطالعه، آنتی‌بادی hJ591 بیوتینیله شد و سپس، با ساپورین استرپتاویدین (Streptavidin–saporin یا SAZAP) مخلوط گردید و بر روی رده‌های سلولی LNCaP و CWR22Rv1 که دارای PSMA و رده‌ی سلولی PC-3 که فاقد PSMA بود، مورد بررسی قرار گرفت. توانایی اتصال hJ591-SAZAP به PSMA برابر با J591 غیر کانژوگه بود. داخلی‌سازی hJ591-SAZAP به وضوح در LNCaP و CWR22Rv1 مثبت بود، اما در سلول PC-3 منفی بود. IC50 برای hJ591-SAZAP به ترتیب ۰/۱۴ نانومولار، ۱/۹۹ نانومولار و بیش از ۱۰۰ نانومولار در LNCaP، CWR22Rv1 و PC-3 بود. پس از ۷۲ ساعت تیمار با hJ591-SAZAP، درصد سلول‌های آپوپتوتیک در سلول‌های LNCaP و CWR22Rv1 به ترتیب ۶۰/۲۶ درصد و ۴۰/۷۳ درصد در مقایسه با ۴/۷۰ درصد در سلول‌های PC-3 بود. hJ591-SAZAP نیز فعالیت ضد سرطانی را در مدل زنوگرافت LNCaP داشت (۴۷).

Michalska و همکاران، با هدف کاهش ایمنی‌زایی ایمونوتوکسین، ایمونوتوکسینی علیه PSMA طراحی کردند که برای توسعه و کاربرد بالینی بالقوه در برابر سرطان پیشرفته‌ی پروستات مؤثر باشد. نسخه‌ی انسانی از D7 (scFv) موشی به نام hD7-1(VL-VH) را به دومین توکسین ۴۰ کیلودالتونی اگزوتوکسین A باکتری Pseudomonas aeruginosa و دومین توکسین ۲۴ کیلودالتونی Demonize شده یا PE24mut (دومین III دومین PE24 با قرار دادن جهش‌های R427A، R458A، D463A، R467A، R490A، R505A و R538A) متصل کردند. ایمونوتوکسین‌ها به عنوان hD7-1(VL-VH)-PE40، hD7-1(VLVH)-PE24 و hD7-1(VL-VH)-PE24mut به صورت باکتریایی بیان و توسط کروماتوگرافی تمایلی خالص شدند. اتصال و سمیت آن‌ها با استفاده از روش فلوسایتومتری و آزمایش بقای سلول مورد بررسی قرار گرفت. تمام ایمونوتوکسین‌ها در محدوده‌ی پیکومولار اتصال قوی به سلول‌های بیان کننده‌ی PSMA و همچنین سیتوتوکسیسیتی اختصاصی داشتند که می‌تواند برای درمان هدفمند سرطان پیشرفته‌ی پروستات مناسب باشد (۴۸).

یکی دیگر از نشانگرهای سطحی پروستات که می‌تواند هدف مناسبی برای ایمونوتوکسین‌ها باشد، آنتی‌ژن سلول بنیادی پروستات (PSCA) است. این آنتی‌ژن، پروتئینی با ۱۲۳ اسیدآمینه است که در سطح سلول‌های پروستات قرار دارد. این پروتئین، به کمک گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول (Gglycosylphosphatidylinositol یا GPI) به غشای سلول متصل می‌باشد. این پروتئین که یک نشانگر زیستی به حساب می‌آید، متعلق به خانواده‌ی Thy-1/Ly-6 است و علت نام‌گذاری آن را داشتن ۳۰ درصد شباهت ساختمانی با آنتی‌ژن سلول‌های بنیادی نوع ۲ (Stem cell antigen 2 یا SCA2) یا نشانگر سطح لنفوسیت‌های نابالغ می‌دانند. در انسان، PSCA در سلول‌های اپی‌تلیال پروستات، مثانه، کلیه، پوست، مری، معده و جفت بیان می‌شود.

مطالعات نشان داده است که این آنتی‌ژن در چندین سرطان شایع نظیر کارسینومای سلولی کلیه و سرطان‌های مثانه، پانکراس و به طور ویژه در ۹۰ درصد از سرطان‌های پروستات، بیش از حد بیان می‌شود، اما در بافت‌های سالم بدن، بیان بسیار محدودی دارد. همین الگوی بیان ویژه (اختلاف بیان در بافت سرطانی و طبیعی)، باعث شده است تا PSCA به عنوان یک نشانگر زیستی بالقوه مفید و کارآمد در

پیش‌آگهی، تشخیص و درمان سرطان پروستات، تلقی گردد. نتایج تحقیقات بر روی PSCA، حاکی از این واقعیت است که بیان این نشانگر سطح سلولی، با پیش‌روی مرحله‌ی تومور و افزایش درجه‌ی گلیسون، تهاجم به کیسه‌ی منی و کپسول پروستات و پیشرفت به سرطان مستقل از آندروژن، نسبت مستقیم دارد و از این رو، در نوع پیشرفته و فراگستری شده‌ی سرطان پروستات که گزینه‌های درمانی محدودی دارد (CRPC)، بیان آن به بیشترین میزان خود می‌رسد که می‌تواند کاندیدای مناسبی برای درمان هدفمند قرار گیرد (۴۹).

در مطالعه‌ی Kessler و همکاران، ایمونوتوکسین نوترکیب متشکل از PSCA(scFv) که مشتق از آنتی‌بادی مونوکلونال انسانی hu1G8 و اگزوتوکسین A کوتاه شده‌ی Pseudomonas aeruginosa (PE و ETA) پس از تشخیص آنتی‌ژن PSCA در رده‌ی سلولی Human embryonic kidney (HEK) که بیان PSCA در آن صورت گرفت، به صورت انتخابی وارد سلول شد و اثر کشندگی بر روی سلول هدف داشت (۵۰).

همچنین، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال ضد PSCA کانژوگه شده با Maytansinoid (داروی سیتوتوکسیک مهار کننده‌ی میکروتوبول‌ها)، پس از تشخیص آنتی‌ژن، به درون بافت نفوذ نمود و در از بین بردن سلول‌های توموری در شرایط In vitro کارآمد بوده است (۵۱). جدول ۳، حاوی خلاصه‌ای از ایمونوتوکسین‌های مورد مطالعه در سرطان پروستات است.

جدول ۳. ایمونوتوکسین‌های مورد تحقیق در سرطان پروستات

نویسنده (گان)	نوع مطالعه	آنتی‌بادی استفاده شده	توکسین	آنتی‌ژن هدف	یافته‌ها
Fracasso و همکاران (۳۸)	پیش بالینی	Anti-PSMA	ricin A-chain	PSMA	بر روی سلول‌های بیان کننده‌ی PSMA اثر مثبت داشت؛ در حالی که این اثر در سلول فاقد PSMA در حدود ۶۰ برابر کمتر شد.
Wolf و همکاران (۳۹)	پیش بالینی	scFv-PSMA	A5-PE40	PSMA	ایمونوتوکسین به صورت اختصاصی به سلول بیان کننده‌ی PSMA متصل شد و میزان IC50 آن به ۲۰ پیکومولار رسید؛ در حالی که سلول‌های فاقد PSMA همچنان بدون تأثیر باقی ماندند.
Wolf و همکاران (۴۰)	پیش بالینی	scFv-PSMA	D7-PE40	PSMA	پایداری بالا را در سرم نشان داد و موجب کاهش ۵۰ درصدی IC50 در سلول‌های C4-2 در غلظت ۱۴۰ پیکومولار شد. ایمونوتوکسین بر روی مدل زنوگرافت تومور C4-2 در موش باعث مهار چشم‌گیر رشد تومور شد؛ در حالی که در موش‌هایی که برای ایجاد تومور با سلول‌های DU145 (فاقد PSMA) تلقیح شده بودند، اثری نداشت.
Zhang و همکاران (۴۱)	پیش بالینی	scfbDb(PSMA)	dmDT390	PSMA	جذب سلولی و سمیت انتخابی در سلول LNCaP مثبت، اما در سلول PC-3 منفی بود. در تومور زنوگرافت با سلول LNCaP در موش Nude ویژگی و اثر درمانی این ایمونوتوکسین به اثبات رسید.
Michalska و همکاران (۴۸)	پیش بالینی	scFv-PSMA	D7-PE40	PSMA	باعث آپوپتوز و اثر منفی در بقای سلول LNCaP و سلول C4-2 شد. فعالیت هم‌افزایی سیتوتوکسیسیتی در ترکیب با داسیتاکسل با مقادیر IC50 در محدوده‌ی پیکومولار یا حتی فمتومولار مشاهده شد و منجر به افزایش فعالیت ضد تومور در مدل زنوگرافت موش SCID که با سلول C4-2 تلقیح شده بود، گردید.
Noll و همکاران (۴۳)	پیش بالینی	scFv-PSMA	D7-PE40	PSMA	ترکیبی از این ایمونوتوکسین با ABT-737 سبب ایجاد اثرات افزاینده یا حتی اثر سینرژیسم یا هم‌افزایی شد.
Kuroda و همکاران (۴۷)	پیش بالینی	Humanized anti-PSMA	Saporin	PSMA	IC50 برای hJ591-SAZAP به ترتیب ۰/۱۴ نانومولار، ۱/۹۹ نانومولار و بیش از ۱۰۰ نانومولار در LNCaP، CWR22Rv1 و PC-3 بود. پس از ۷۲ درصد سلول‌های آپوپتوتیک در سلول‌های LNCaP و CWR22Rv1 به ترتیب ۶۰/۲۹ درصد و ۴۰/۷۳ درصد در مقایسه با ۴/۷۰ درصد در سلول‌های PC-3 بود. فعالیت ضد سرطانی را در مدل زنوگرافت LNCaP دیده شد.
Michalska و همکاران (۴۸)	پیش بالینی	Humanized scFv-PSMA	D7-PE40 D7-PE24 D7-PE24 mut	PSMA	در محدوده‌ی پیکومولار، اتصال قوی به سلول‌های بیان کننده‌ی PSMA و همچنین، سیتوتوکسیسیتی اختصاصی داشتند.
Kessler و همکاران (۵۰)	پیش بالینی	scFv-PSCA	PE(ETA')	PSCA	در رده‌ی سلولی HEK که بیان PSCA در آن صورت گرفت، به صورت انتخابی وارد سلول شد و اثر کشندگی بر روی سلول هدف داشت.

PSMA: Prostate-specific membrane antigen; PSCA: Prostate stem cell antigen; scFv: single-chain variable fragment; IC50: Half maximal inhibitory concentration; HEK: Human embryonic kidney; SCID: Severe combined immunodeficient

بحث

ایمونوتوکسین‌ها، به صورت انتخابی بر علیه سلول‌های سرطانی عمل می‌کنند و پتانسیل خوبی در جهت شناسایی و هدف قرار دادن آنتی‌ژن‌های آن‌ها را دارند. درمان بر پایه‌ی ایمونوتوکسین‌ها، یک زمینه‌ی تحقیقاتی گسترده است وکاربردهای وسیعی در حوزه‌ی درمان سرطان می‌تواند داشته باشد. به نظر می‌رسد کلیدهای مهم موفقیت در درمان با ایمونوتوکسین‌ها عبارت از ویژگی آنتی‌ژن هدف و Internalize شدن مجموعه‌ی آنتی‌ژن- آنتی‌بادی به سلول‌هایی که آنتی‌ژن‌های هدف را بیان می‌کنند. ایمنی‌درمانی در سرطان پروستات پیشرفته و مقاوم به درمان، به خاطر جایگاه آناتومیک و حساسیت آن به عوامل ایمنی‌درمانی، از دیرباز حایز اهمیت می‌باشد. از بین عوامل ایمنی‌درمانی، نتایج رضایت‌بخشی با مونوکلونال آنتی‌بادی و scFv کانژوگه به توکسین‌ها در مطالعات پیش بالینی به دست آمده است، اما تاکنون، کارآزمایی‌های بالینی با ایمونوتوکسین‌ها برای سرطان پروستات گزارش نشده است.

چندین آنتی‌بادی که آنتی‌ژن‌های مربوط به سرطان پروستات را هدف قرار می‌دهند، در پیشرفت‌های پیش بالینی و بالینی مؤثر بوده‌اند، از جمله‌ی این آنتی‌بادی‌ها، آنتی‌بادی‌های ضد PSMA، PSCA و گیرنده‌ی عامل رشد اپی‌درمال را می‌توان نام برد. از میان آنتی‌ژن‌های مورد نظر سرطان پروستات، PSMA از نظر بیان بیش از حد و سرعت اینترنالایز شدن شناخته شده است. در مطالعات گذشته در زمینه‌ی ایمونوتوکسین‌درمانی، به طور عمده آنتی‌ژن PSMA را که در سطح سلول‌های سرطان پروستات به وفور یافت می‌شود، هدف قرار داده‌اند. این مسأله روشن شده است که چه در ایمنی‌درمانی فعال (واکسیناسیون) و چه در ایمنی‌درمانی غیر فعال (مونوکلونال آنتی‌بادی) هدف قرار دادن چند آنتی‌ژن به طور هم‌زمان کارایی درمان را در CRPC افزایش می‌دهد. بنابراین، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آینده، چندین آنتی‌ژن اختصاصی غشایی سرطان پروستات هدف ایمونوتوکسین‌ها قرار گیرد (۵۴-۵۲). هر چند این روش به کشف و آشکارسازی آنتی‌ژن‌های سطحی جدید اختصاصی سرطان پروستات نیاز دارد که همچنین، قدرت اینترنالیز کردن ایمونوتوکسین را داشته باشد.

گزارش شده است که درمان ایمونوتوکسین، باعث ایجاد پاسخ ایمنی میزبان علیه توکسین هترولوگ و منجر به کاهش نیمه‌عمر و خنثی‌سازی پتانسیل سیتوتوکسیک ایمونوتوکسین‌ها می‌شود.

توکسین‌های استفاده شده در ایمونوتوکسین‌درمانی در سرطان پروستات به طور عمده منشأ باکتریایی دارند. اگر چه توکسین‌های باکتریایی عوامل توکسیسیتی قوی برای سلول‌های توموری محسوب می‌شوند، اما توکسین‌های باکتریایی در انسان‌ها ایمونوژنیسیته‌ی بالایی دارند و به شدت پاسخ‌های ایمنی را تحریک می‌کنند. هر چند اگر از قسمت‌هایی از توکسین با ایمونوژنیسیته‌ی ضعیف استفاده کنیم، ممکن است کارایی لازم برای از بین بردن سلول‌های توموری را نداشته باشند. چندین مطالعه‌ی پیشین نشان داده‌اند که حذف یا جهش در دومین توکسین منجر به برداشتن اپی‌توپ‌های T-cell و B-cell می‌شود و با موفقیت به کاهش ایمنی‌زایی و کاهش تولید پاسخ ایمنی منجر می‌شود. با این حال، این سؤال مطرح است که «آیا می‌تواند قدرت سیتوتوکسیتی اولیه‌ی خود را حفظ کند؟». از طرفی، ایمونوژنیسیته‌ی بالای توکسین‌های باکتریایی می‌تواند التهاب را تشدید کند و همان‌طور که برخی مطالعات نشان داده‌اند ارتباط مستقیمی بین التهاب و پیشرفت سرطان پروستات وجود دارد و باعث تغییراتی در ریزمحیط تومور می‌شود (۵۶-۵۵).

پیشنهاد این مطالعه این است که برای کنترل درمانی هر چه بهتر بیماران مبتلا به سرطان پروستات در پایه‌ریزی مطالعات In vitro و بالینی آینده، توکسین‌های آندروژنوس نظیر گرانزیم‌ها همراه با هدف قرار دادن چند آنتی‌ژن توموری به طور هم‌زمان مورد بررسی و مطالعه قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

مقاله‌ی حاضر، برگرفته از بخشی از مطالعات و بررسی‌های انجام شده در راستای طرح تحقیقاتی با کد ۴۲۴۹۲-۳۱-۰۴-۹۵ است که توسط دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی ایران تأمین مالی شده است و به این وسیله، از این مجموعه قدردانی می‌گردد.

References

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA Cancer J Clin 2018; 68(6): 394-424.
2. Keyes M, Crook J, Morton G, Vigneault E, Usmani N, Morris WJ. Treatment options for localized prostate cancer. Can Fam Physician 2013; 59(12): 1269-74.
3. Incrocci L. Radiotherapy for prostate cancer and sexual health. Transl Androl Urol 2015; 4(2): 124-30.
4. Sweeney CJ, Chen YH, Carducci M, Liu G, Jarrard DF, Eisenberger M, et al. Chemohormonal therapy in metastatic hormone-sensitive prostate cancer. N Engl J Med 2015; 373(8):737-46.
5. Chen L, Qiu X, Wang R, Xie X. The efficacy and safety of docetaxel plus thalidomide vs. docetaxel alone in patients with androgen-independent prostate

cancer: A systematic review. Sci Rep 2014; 4: 4818.
6. Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part II: Treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer. Eur Urol 2014; 65(2): 467-79.
7. Coulson A, Levy A, Gossell-Williams M. Monoclonal antibodies in cancer therapy: mechanisms, successes and limitations. West Indian Med J 2014; 63(6): 650-4.
8. Singh S, Kumar NK, Dwiwedi P, Charan J, Kaur R, Sidhu P, et al. Monoclonal antibodies: A review. Curr Clin Pharmacol 2018; 13(2): 85-99.
9. Dosio F, Brusa P, Cattel L. Immunotoxins and anticancer drug conjugate assemblies: The role of the linkage between components. Toxins (Basel) 2011; 3(7): 848-83.
10. Pastan I, Hassan R, Fitzgerald DJ, Kreitman RJ. Immunotoxin therapy of cancer. Nat Rev Cancer 2006; 6(7): 559-65.
11. Holliger P, Hudson PJ. Engineered antibody fragments and the rise of single domains. Nat Biotechnol 2005; 23(9): 1126-36.
12. Kreitman RJ. Immunotoxins for targeted cancer therapy. In: Lorberboum-Galski H, Lazarovici P. Chimeric Toxins. 1st ed. Boca Raton, FL: CRC Press; 2002. p. 219-37.
13. Pastan I, Hassan R, Fitzgerald DJ, Kreitman RJ. Immunotoxin treatment of cancer. Annu Rev Med 2007; 58: 221-37.
14. Di PC, Willuda J, Kubetzko S, Lauffer I, Tschudi D, Waibel R, et al. A recombinant immunotoxin derived from a humanized epithelial cell adhesion molecule-specific single-chain antibody fragment has potent and selective antitumor activity. Clin Cancer Res 2003; 9(7): 2837-48.
15. Fitzgerald DJ, Kreitman R, Wilson W, Squires D, Pastan I. Recombinant immunotoxins for treating cancer. Int J Med Microbiol 2004; 293(7-8): 577-82.
16. Phillips JM, Catarinicchia S, Krughoff K, Barqawi AB. Cryotherapy in prostate cancer. J Clin Urol 2014; 7(5): 308-17.
17. Mathew M, Verma RS. Humanized immunotoxins: A new generation of immunotoxins for targeted cancer therapy. Cancer Sci 2009; 100(8): 1359-65.
18. Antignani A, Fitzgerald D. Immunotoxins: The role of the toxin. Toxins (Basel) 2013; 5(8): 1486-502.
19. Zahaf NI, Schmidt G. Bacterial toxins for cancer therapy. Toxins (Basel) 2017; 9(8): 236.
20. Polito L, Djemil A, Bortolotti M. Plant toxin-based immunotoxins for cancer therapy: A short overview. Biomedicines 2016; 4(2): E12.
21. Alewine C, Hassan R, Pastan I. Advances in anticancer immunotoxin therapy. Oncologist 2015; 20(2): 176-85.
22. Allured VS, Collier RJ, Carroll SF, McKay DB. Structure of exotoxin A of Pseudomonas aeruginosa at 3.0-Angstrom resolution. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83(5): 1320-4.
23. Ogata M, Chaudhary VK, Pastan I, Fitzgerald DJ. Processing of Pseudomonas exotoxin by a cellular protease results in the generation of a 37,000-Da toxin fragment that is translocated to the cytosol. J Biol Chem 1990; 265(33): 20678-85.
24. Weldon JE, Xiang L, Chertov O, Margulies I, Kreitman RJ, Fitzgerald DJ, et al. A protease-resistant immunotoxin against CD22 with greatly increased activity against CLL and diminished animal toxicity. Blood 2009; 113(16): 3792-800.
25. Murphy JR. Mechanism of diphtheria toxin catalytic domain delivery to the eukaryotic cell cytosol and the cellular factors that directly participate in the process. Toxins (Basel) 2011; 3(3): 294-308.
26. Gadadhar S, Karande AA. Abrin immunotoxin: targeted cytotoxicity and intracellular trafficking pathway. PLoS One 2013; 8(3): e58304.
27. Choudhary S, Mathew M, Verma RS. Therapeutic potential of anticancer immunotoxins. Drug Discov Today 2011; 16(11-12): 495-503.
28. Yang X, Kessler E, Su LJ, Thorburn A, Frankel AE, Li Y, et al. Diphtheria toxin-epidermal growth factor fusion protein DAB389EGF for the treatment of bladder cancer. Clin Cancer Res 2013; 19(1): 148-57.
29. Ahmadzadeh V, Farajnia S, Hosseinpour Feizi MA, Khavarinejad RA. Design, expression and characterization of a single chain anti-CD20 antibody; a germline humanized antibody derived from Rituximab. Protein Expr Purif 2014; 102: 45-51.
30. Veisi K, Farajnia S, Zarghami N, Khorshid HR, Samadi N, Safdari Y, et al. Development and evaluation of a Cetuximab-based humanized single chain antibody against EGFR-overexpressing tumors. Drug Res (Stuttg) 2015; 65(12): 624-8.
31. Adams GP, McCartney JE, Tai MS, Oppermann H, Huston JS, Stafford WF 3rd, et al. Highly specific in vivo tumor targeting by monovalent and divalent forms of 741F8 anti-c-erbB-2 single-chain Fv. Cancer Res 1993; 53(17): 4026-34.
32. Allen TM. Ligand-targeted therapeutics in anticancer therapy. Nat Rev Cancer 2002; 2(10): 750-63.
33. Kreitman RJ, Tallman MS, Robak T, Coutre S, Wilson WH, Stetler-Stevenson M, et al. Phase I trial of anti-CD22 recombinant immunotoxin moxetumomab pasudotox (CAT-8015 or HA22) in patients with hairy cell leukemia. J Clin Oncol 2012; 30(15): 1822-8.
34. Wayne AS, Bhojwani D, Silverman LB, Richards K, Stetler-Stevenson M, Shah NN, et al. A novel anti-CD22 immunotoxin, moxetumomab pasudotox: phase i study in pediatric acute lymphoblastic leukemia (ALL). Blood 2011; 118(21): 248.
35. Schweizer MT, Drake CG. Immunotherapy for prostate cancer: Recent developments and future challenges. Cancer Metastasis Rev 2014; 33(2-3): 641-55.
36. Akhtar NH, Pail O, Saran A, Tyrell L, Tagawa ST. Prostate-specific membrane antigen-based therapeutics. Adv Urol 2012; 2012: 973820.
37. Haberkorn U, Eder M, Kopka K, Babich JW, Eisenhut M. New strategies in prostate cancer: Prostate-specific membrane antigen (PSMA) ligands for diagnosis and therapy. Clin Cancer Res 2016; 22(1): 9-15.
38. Fracasso G, Bellisola G, Cingarlini S, Castelletti D, Prayer-Galetti T, Pagano F, et al. Anti-tumor effects of toxins targeted to the prostate specific membrane

antigen. Prostate 2002; 53(1): 9-23.
39. Wolf P, Gierschner D, Buhler P, Wetterauer U, Elsasser-Beile U. A recombinant PSMA-specific single-chain immunotoxin has potent and selective toxicity against prostate cancer cells. Cancer Immunol Immunother 2006; 55(11): 1367-73.
40. Wolf P, Alt K, Wetterauer D, Buhler P, Gierschner D, Katzenwadel A, et al. Preclinical evaluation of a recombinant anti-prostate specific membrane antigen single-chain immunotoxin against prostate cancer. J Immunother 2010; 33(3): 262-71.
41. Zhang F, Shan L, Liu Y, Neville D, Woo JH, Chen Y, et al. An anti-PSMA bivalent immunotoxin exhibits specificity and efficacy for prostate cancer imaging and therapy. Adv Healthc Mater 2013; 2(5): 736-44.
42. Michalska M, Schultze-Seemann S, Bogatyreva L, Hauschke D, Wetterauer U, Wolf P. In vitro and in vivo effects of a recombinant anti-PSMA immunotoxin in combination with docetaxel against prostate cancer. Oncotarget 2016; 7(16): 22531-42.
43. Noll T, Schultze-Seemann S, Kuckuck I, Michalska M, Wolf P. Synergistic cytotoxicity of a prostate cancer-specific immunotoxin in combination with the BH3 mimetic ABT-737. Cancer Immunol Immunother 2018; 67(3): 413-22.
44. Ma D, Hopf CE, Malewicz AD, Donovan GP, Senter PD, Goeckeler WF, et al. Potent antitumor activity of an auristatin-conjugated, fully human monoclonal antibody to prostate-specific membrane antigen. Clin Cancer Res 2006; 12(8): 2591-6.
45. Liu W, Onda M, Lee B, Kreitman RJ, Hassan R, Xiang L, et al. Recombinant immunotoxin engineered for low immunogenicity and antigenicity by identifying and silencing human B-cell epitopes. Proc Natl Acad Sci USA 2012; 109(29): 11782-7.
46. Shan L, Liu Y, Wang P. Recombinant Immunotoxin Therapy of solid tumors: Challenges and strategies. J Basic Clin Med 2013; 2(2): 1-6.
47. Kuroda K, Liu H, Kim S, Guo M, Navarro V, Bander NH. Saporin toxin-conjugated monoclonal antibody targeting prostate-specific membrane antigen has potent anticancer activity. Prostate 2010; 70(12): 1286-94.
48. Michalska M, Schultze-Seemann S, Kuckuck I, Wolf P. In vitro evaluation of humanized/de-immunized anti-PSMA immunotoxins for the treatment of prostate cancer. Anticancer Res 2018; 38(1): 61-9.
49. Taeb J, Asgari M, Abolhasani M, Farajollahi MM, Madjd Z. Expression of prostate stem cell antigen (PSCA) in prostate cancer: a tissue microarray study of Iranian patients. Pathol Res Pract 2014; 210(1): 18-23.
50. Kessler C, Pardo A, Tur MK, Gattenlohner S, Fischer R, Kolberg K, et al. Novel PSCA targeting scFv-fusion proteins for diagnosis and immunotherapy of prostate cancer. J Cancer Res Clin Oncol 2017; 143(10): 2025-38.
51. Ross S, Spencer SD, Holcomb I, Tan C, Hongo J, Devaux B, et al. Prostate stem cell antigen as therapy target: tissue expression and in vivo efficacy of an immunoconjugate. Cancer Res 2002; 62(9): 2546-53.
52. Mohsenzadegan M, Saebi F, Yazdani M, Abolhasani M, Saemi N, Jahanbani F, et al. Autoantibody against new gene expressed in prostate protein is traceable in prostate cancer patients. Biomark Med 2018; 12(10): 1125-38.
53. Mohsenzadegan M, Shekarabi M, Madjd Z, Asgari M, Abolhasani M, Tajik N, et al. Study of NGEP expression pattern in cancerous tissues provides novel insights into prognostic marker in prostate cancer. Biomark Med 2015; 9(4): 391-401.
54. Mohsenzadegan M, Tajik N, Madjd Z, Shekarabi M, Farajollahi MM. Study of NGEP expression in androgen sensitive prostate cancer cells: A potential target for immunotherapy. Med J Islam Repub Iran 2015; 29: 159.
55. Diakos CI, Charles KA, McMillan DC, Clarke SJ. Cancer-related inflammation and treatment effectiveness. Lancet Oncol 2014; 15(11): e493-e503.
56. Kalantari E, Abolhasani M, Roudi R, Farajollahi MM, Farhad S, Madjd Z, et al. Co-expression of TLR-9 and MMP-13 is associated with the degree of tumour differentiation in prostate cancer. Int J Exp Pathol 2019; 100(2): 123-32.

DOI: *10.22122/jims.v37i530.11951* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 37, No. 530, 2nd Week, August 2019**

Received: 19.05.2019 Accepted: 30.06.2019 Published: 30.07.2019

A Review on the Role of the Different Types of Immunotoxins in the Treatment of Prostate Cancer

Milad Chizari[1], Monireh Mohsenzadegan[2], Mohammad Morad Farajollahi[3]

Review Article

Abstract

Prostate cancer is the second most frequent cancer and the fifth leading cause of cancer death in men. Many patients with metastatic prostate cancer die due to lack of effective treatment. Therefore, new therapeutic strategies are needed. Due to the local expression of prostate cancer antigens, evaluation of their existence in cancerous tissues would probably result in introducing new biomarkers for diagnosis and prognosis, as well as treatment of prostate cancer. Hence, specific immunotherapy against the new biomarkers may be a new way to treat and improve the management of prostate cancer. Immunotoxin therapies are novel targeted cancer therapies in which a toxin is a fusion of a monoclonal antibody. Immunotoxins selectively operate against the target cell due to the specific antibody, and kill cells through bacterial or plant toxin. So, immunotoxin is a promising candidate for therapeutic applications in patients with prostate cancer. Considering the importance of immunotoxins in the treatment of patients with prostate cancer, the purpose of this study was to review various immunotoxins used in prostate cancer in previous preclinical studies and finally, we made suggestions for the advancement of future studies.

Keywords: Prostate cancer, Immunotherapy, Immunotoxin, Monoclonal antibodies

Citation: Chizari M, Mohsenzadegan M, Farajollahi MM. **A Review on the Role of the Different Types of Immunotoxins in the Treatment of Prostate Cancer.** J Isfahan Med Sch 2019; 37(530): 655-66.

1- Department of Medical Biotechnology, School of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3- Professor, Department of Medical Biotechnology, School of Allied Medical Sciences, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Mohammad Farajollahi, Email: mfarajol@uottawa.ca