

Immunogeniteit van therapeutische antilichamen bij niet-humane primaten tijdens niet-klinische veiligheidsstudies

Peter J.K. van Meer ^{ab*} en Huub Schellekens ^{ac}

^a Utrecht Institute for Pharmaceutical Sciences, Departement Biofarmacie, Universiteit Utrecht.

^b College ter Beoordeling van Geneesmiddelen, Utrecht.

^c Copernicus Institute of Sustainable Development, Departement Innovatiewetenschappen, Universiteit Utrecht.

* Correspondentie: p.j.k.vanmeer@uu.nl.

Kernpunten

- Immunogeniteit is een onopgelost nadeel bij het gebruik van monoklonale antilichamen.
- In dierstudies ten behoeve van registratie worden apen routinematig gebruikt om de veiligheid van monoklonale antilichamen te evalueren, omdat deze diersoort vaak de enige is met een farmacologische respons.
- (Relatieve) immunogeniteit bij apen is niet voorspellend voor mensen maar kan de evaluatie van veiligheid belemmeren.
- Behandelaars moeten monitoren op immunogeniteit om optimale behandeling van patiënten te waarborgen.

Inleiding

De opkomst van recombinatietechnologie in de jaren 1980 betekende het begin van een nieuw tijdperk voor geneesmiddelenontwikkeling, omdat het mogelijk werd elk gewenst therapeutisch eiwit te produceren in cellijnen. Therapeutische eiwitten hebben een aantal voordelen in vergelijking met de klassieke laagmoleculaire geneesmiddelen. Ze hebben vaak een zeer lange halfwaardetijd en ook hebben ze een zeer hoge affiniteit voor hun doeleiwit. De meeste bijwerkingen worden dan ook toegeschreven aan hun farmacologie [1]. In tegenstelling tot laagmoleculaire geneesmiddelen worden zogenaamde biofarmaceutica niet gemetaboliseerd – wat mogelijk tot reactieve metabolieten en toxiciteit kan leiden – maar omgezet in suikers en aminozuren.

Maar naast deze voordelen kleef er ook een nog onopgelost nadeel aan het gebruik van biofarmaceutica: deze eiwitten kunnen uiteindelijk immuunreacties oproepen bij patiënten. De mate waarin dit gebeurt, hangt af van vele factoren, zoals eiwitaggregatie, eiwitvouwing, posttranslatie modificaties of de aanwezigheid van B- en T-cel-epitopen op het therapeutisch eiwit. De toedieningsvorm, onzuiverheden in de formulering, de patiëntenpopulatie, het werkingsmechanisme en het gebruik van het therapeutisch eiwit kunnen ook van invloed zijn op de immunogeniteit [2].

ABSTRACT

Immunogenicity of mAbs in non-human primates during nonclinical safety assessment

OBJECTIVE

To establish the relative immunogenicity of monoclonal antibodies (mAbs) in non-human primates (NHPs) and humans. The immunogenicity of biopharmaceuticals used in clinical practice remains an unsolved challenge in drug development. NHPs are often the only relevant animal model for the development of mAbs, but the immune response of NHPs to therapeutic mAbs is not considered to be predictive of the response in humans because of species differences.

DESIGN AND METHODS

The drug registration files of all mAbs registered in the European Union up to 2010 were accessed.

RESULTS

The incidence of formation of antidrug-antibodies in NHPs and patients was comparable in only 59% of the 27 cases. In addition, the type of antidrug-antibody response was different in NHPs and humans in 59% of the cases. Humanization did not necessarily reduce immunogenicity in humans. Immunogenicity interfered with the safety assessment during non-clinical drug development when clearing or neutralizing antibodies were formed. While important to interpret the study results, immunogenicity reduced the quality of NHP data in safety assessment.

CONCLUSION

These findings confirm that the ability to compare relative immunogenicity of mAbs in NHPs and humans is low. Furthermore, immunogenicity limits the value of informative NHP studies.

van Meer PJK, Schellekens H. Immunogeniteit van therapeutische antilichamen bij niet-humane primaten tijdens niet-klinische veiligheidsstudies. PW Wetenschappelijk Platform. 2015;9:a1513.

Dit artikel is een bewerkte vertaling van: van Meer PJK, Kooijman M, Brinks V, Gispén-de Wied CC, Silva-Lima B, Moors EH, Schellekens H. Immunogenicity of mAbs in non-human primates during nonclinical safety assessment. *MAbs*. 2013 sep-okt;5(5):810-6.

In de kliniek kan dit leiden tot – soms ernstige – bijwerkingen zoals overgevoeligheid, infusiereacties of, in bijzondere gevallen, kruisreacties met endogene eiwitten [3]. In de meeste gevallen resulteert immunogeniteit echter in een verminderde werking of een verlaging van de plasma-

concentratie van het geneesmiddel, door het ontstaan van respectievelijk neutraliserende of klarende antilichamen (*anti-drug antibodies*, ADA's) [4]. Het aanbrengen van wijzigingen in het eiwit, zoals het verwijderen van bepaalde suikergroepen of T-celepitopen, kan eventueel leiden tot een sterke reductie van immunogeniteit [5, 6]. Het blijft echter moeilijk om op voorhand de immunogeniteit vast te stellen van biofarmaceutica, zoals monoklonale antilichamen, omdat er een gebrek is aan robuuste en voorspellende methoden om de immuunrespons te meten en te karakteriseren.

Over het algemeen wordt immunogeniteit geëvalueerd in diermodellen die routinematig gebruikt worden om de veiligheid van een nieuw therapeutisch eiwit te bepalen. Het vermogen van deze dierstudies om immunogeniteit bij de mens te voorspellen is echter laag. Het is ook bekend dat knaagdieren en honden een overschatting geven van de kans op immunogeniteit bij de mens. Evenmin zijn deze dieren geschikte modellen om overgevoeligheid en auto-immuniteit te evalueren [7, 8]. Deze beperkingen van dierstudies zijn opgenomen in internationale en Europese richtlijnen rond immunogeniteit [9, 10]. Daarin wordt de evaluatie van immunogeniteit in dierstudies om humane immunogeniteit te voorspellen over het algemeen afgeraden. De evaluatie van de immuunrespons bij dieren kan wel gebruikt worden om bepaalde aspecten van immunogeniteit te bestuderen. Dierstudies kunnen bijvoorbeeld worden ingezet om de relatieve immunogeniteit te evalueren van een biosimilar in verhouding tot een referentieproduct en om resultaten uit dierstudies beter te interpreteren [11-14].

Een andere beperking bij het evalueren van immunogeniteit is dat in-vitro-assays vaak niet gestandaardiseerd zijn. Uit een recente enquête onder de farmaceutische industrie is gebleken dat voor de evaluatie van immunogeniteit veelal verschillende assays gebruikt worden, die wel voldoen aan bestaande richtlijnen, maar dat de resultaten binnen dezelfde assays variabel zijn. Bovendien zijn de resultaten van de verschillende assays niet vergelijkbaar. Door het gebrek aan gedefinieerde referentiestandaarden zijn deze assays hooguit semikwantitatief [15]. Een directe vergelijking van immunogeniteit tussen producten enerzijds en species anderzijds is daardoor buitengewoon moeilijk.

In het verleden zijn pogingen gedaan de relatieve immunogeniteit bij mensen in relatie tot dieren te evalueren [7, 13]. In deze studie zijn van alle antilichamen die tot 2010 geregistreerd zijn in de Europese Unie (EU) de registratiedossiers bestudeerd om de relatieve immunogeniteit bij mensen in relatie tot apen te vergelijken en is gekeken naar de invloed van immunogeniteit op de interpretatie van de dierstudies.

Methoden

Registratiedossiers van monoklonale antilichamen en immunoglobulinefragmenten (mAbs) die in de EU tot en met 2010 zijn goedgekeurd, werden ingezien bij het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen. Het niet-klinische

overzicht en de getabuleerde resultaten zijn gebruikt om de immunogeniteit van mAbs bij niet-humane primaten (NHP's) te evalueren. De aanwezigheid van ADA's in individueel NHP-serum werd aangemerkt als een positieve immuunrespons.

Omdat rapportage van immunogeniteit niet gestandaardiseerd is en zowel kwantitatief als kwalitatief kan zijn, is de incidentie van ADA's in drie categorieën verdeeld. Lage immunogeniteit is toegeschreven aan producten met een incidentie onder 6% van het totaal aantal NHP's dat positief was voor ADA's, gemiddeld werd gebruikt voor producten met een incidentie tussen 6% en 45%, en een incidentie boven 45% is beschouwd als hoog-immunogeen. De schaal is een gemodificeerde versie van de immunogeniteitschaal van Hwang en Foote en is drie keer zo hoog als de oorspronkelijke schaal [16]. Incidentie is vastgesteld onafhankelijk van serumtiter, tijd of duur van de respons. Immunogeniteit is individueel beoordeeld door drie onderzoekers. Incidentie en verandering van farmacodynamiek en farmacokinetiek werden genoteerd. Bij verschillen in beoordeling werd na discussie consensus bereikt.

Voor het evalueren van immunogeniteit bij de mens zijn de Summary of Product Characteristics (SPC) en het European Public Assessment Report (EPAR) gebruikt. Immunogeniteit voor de mens werd in deze studie gedefinieerd als het percentage patiënten in fase-III-studies die positief waren voor ADA's. Hwang en Foote's schaal voor immunogeniteit is gebruikt bij het classificeren van de immuunrespons. Incidentie en respons van ADA's zijn in een 3×3-kruistabel uitgezet tegen immunogeniteit bij de mens. NHP's zijn beschouwd als voorspellend voor de humane immuunrespons indien ze in dezelfde categorie werden ondergebracht. Alle mAbs zijn voor dit artikel geanonimiseerd.

Resultaten

Immunogeniteit bij NHP's

In de EU zijn 33 mAbs geregistreerd tussen 1988 en 2010 (tabel 1).

Voor de evaluatie van de veiligheid van 27 mAbs zijn NHP's gebruikt als relevant diermodel. Behalve mAb29 en mAb31 waren alle overige mAbs die bij NHP's geëvalueerd zijn immunogeen (93%) (tabel 2 en voorbeelden in het kader). De vorming van ADA's heeft alleen voor mAb8, mAb13, mAb14 en mAb17 niet geleid tot een verandering van de farmacokinetiek of farmacodynamiek. Bij alle andere producten (21 mAbs) werd de farmacologie of farmacokinetiek in meerdere of mindere mate beïnvloed door de vorming van ADA's. In vijf gevallen heeft immunogeniteit ook de duur van langetermijnstudies verkort.

Vergelijking van immunogeniteit bij apen en mensen

Gegevens over humane immunogeniteit van 29 mAbs

Tabel 1 Monoklonale antilichamen die tussen 1988 en 2010 geregistreerd zijn in de Europese Unie

Stofnaam	Handelsnaam	Jaar van toelating
Abciximab	Reopro, CentoRx	1995†
Adalimumab	Humira, Trudexa	2003
Alemtuzumab	MabCampath	2001‡
Anti-melanoma antibody fragments*	Tecnemab-K1	1996‡
Arcitumomab*	CEA-scan	1996‡
Basiliximab	Simulect	1998
Besilesomab*	Scintimun	2010
Bevacizumab	Avastin	2005
Canakinumab	Ilaris	2009
Catumaxomab	Removab	2009
Certolizumab pegol	Cimzia	2007
Cetuximab	Erbitux	2004
Daclizumab	Zenapax	1999‡
Denosumab	Prolia	2010
Eculizumab	Soliris	2007
Efalizumab	Raptiva	2004‡
Golimumab	Simponi	2009
Ibritumomab tiuxetan	Zevalin	2004
Igovomab*	Indimacis 125	1996‡
Infliximab	Remicade	1999
Muromonab	Orthoclone-OKT3	1988†
Natalizumab	Tysabri	2006
Ofatumumab	Arzerra	2010
Omalizumab	Xolair	2005
Palivizumab	Synagis	1999
Panitumumab	Vectibix	2007
Ranibizumab	Lucentis	2007
Rituximab	Mabthera	1998
Sulesomab*	Leukoscan	1997
Tocilizumab	RoActemra	2009
Trastuzumab	Herceptin	2000
Ustekinumab	Stelara	2009
Votumumab*	Humaspect, Oncospect CR	1998

Infixes direct voor -mab geven de herkomst weer van de eiwitsequentie: u, humaan; zu, gehumaniseerd; xi, chimeer; o, muis; axo, rat/muis. Chimere antilichamen zijn hybride antilichamen die deels van knaagdierorigine en deels van menselijke origine zijn. Het constante gebied is vaak menselijk, het variabele gebied is vaak van knaagdier afkomstig.

* Diagnostisch of beeldvormend antilichaam.

† Per lidstaat goedgekeurd.

‡ Handelsvergunning teruggetrokken in de Europese Unie.

Gevolgen van immunogeniteit in dierstudies

Verkorte studieduur door klarende ADA's

- MAb7 was matig immunogeen bij NHP's, maar langetermijnstudies werden beperkt tot twee weken vanwege verwachte ADA-ontwikkeling die de studie nadelig zou kunnen beïnvloeden.
- Langetermijnstudies met mAb9 werden beperkt tot acht weken door de ontwikkeling van klarende ADA's. Ook was er een meetbare vermindering van het farmacologisch effect door de vorming van neutraliserende ADA's. Deze aanzienlijke ADA-respons belemmerde ook het genereren van veiligheidsgegevens bij NHP's bij een langetermijnbehandeling.

Bijwerkingen

- De dood van 1 NHP als gevolg van trombocytopenie was gepaard met de ontwikkeling van een hoge titer ADA's tegen mAb11. Twee NHP's ontwikkelden ook trombocytopenie na een tweede toediening van mAb11. Bij deze dieren is ook een hoge ADA-titer gemeten.
- De ontwikkeling van perivasculaire kapsels werd geassocieerd met hoge ADA-titers tegen mAb24.
- ADA-vorming tegen mAb26 verhoogde in een aantal gevallen de klaring van het therapeutisch antilichaam uit het plasma van NHP's. Twee NHP's ontwikkelden een hemolytische anemie die secundair zou kunnen zijn aan deze hoge ADA-titers. Waarschijnlijk ontwikkelden meer dieren ADA's, omdat in de loop van de studie meerdere dieren langzaam een autoimmuun-geïnduceerde hemolytische anemie begonnen te ontwikkelen.

Verandering in kinetiek en veranderde blootstelling door klarende ADA's

- ADA's tegen mAb15 ontwikkelden zich binnen twee weken na een of meer doses en verhoogden de klaring van mAb15. Om dit tegen te gaan, werden dieren bijgedoseerd.
- In langetermijnstudies met mAb18 werd ADA-vorming geassocieerd met verhoogde klaring. Een betrouwbare schatting van de farmacokinetiek kon alleen na de eerste dosering worden gemaakt door interferentie van ADA's.
- 97% van de apen in de lagedosisgroep behandeld met mAb32 ontwikkelde al na één dosis ADA's, waardoor er geen blootstelling meer was aan het therapeutische antilichaam.
- MAb28 was zeer immunogeen bij apen en leidde bij meer dan 50% van de geteste apen tot de vorming van bindende en neutraliserende ADA's. Om blootstelling te garanderen gedurende de gehele studieduur was het noodzakelijk hoger te doseren.

zijn gevonden in de SPC en van 4 mAbs in het EPAR. Voor 20 producten leidde ADA-vorming tot verminderde werkzaamheid, veranderde farmacokinetiek of bijwerkingen. In 9 gevallen werden wel ADA's gemeten, maar deze hadden geen nadelig effect op de behandeling. 4 overige producten waren niet immunogeen bij de mens (tabel 3).

In 16 gevallen was de incidentie van ADA-vorming vergelijkbaar tussen mens en NHP's. In 7 gevallen leidden gegevens over immunogeniteit bij NHP's tot een overschatting van immunogeniteit bij de mens. In 4 gevallen waren mAbs bij NHP's minder immunogeen dan bij de mens en leidden ze dus tot een onderschatting van de immuunrespons.

Het type respons (neutraliserend of klarend) was slechts in 9 gevallen vergelijkbaar. Bij NHP's was ADA-vorming voornamelijk gericht tegen het Fc-gedeelte van het therapeutisch antilichaam, waardoor het therapeutisch eiwit sneller geklaard wordt. Bij mensen was het ADA gericht tegen het antigeenbindende gebied, wat in 10 gevallen leidde tot de vorming van neutraliserende ADA's, waardoor de werking afneemt.

Beschouwing

Vermindering van immunogeniteit

Het minimaliseren van de immunogeniteit van bio-farmaceutica blijft een van de grootste uitdagingen in de geneesmiddelenontwikkeling. De humanisatie van overwegend murine antilichamen heeft geleid tot verminderde immunogeniteit van sommige producten. Desondanks kan klinisch relevante immunogeniteit nog steeds optreden bij het gebruik van deze producten [17-19]. In onze studie hebben we echter niet gevonden dat humanisatie de immuunrespons tegen het gehumaniseerde eiwit vermindert bij de mens (tabel 4).

De tekortkomingen van eiwithumanisatie zijn al eerder bekritiseerd [20]. Zo stelt Clark dat de redenering achter humanisatie – namelijk dat op deze manier meer lichaams-eigen eiwitten worden gemaakt – lijdt aan de denkfout dat het simpelweg vergroten van de homologie van een eiwit ook de verdraagbaarheid van dat eiwit verhoogt, terwijl dit niet het geval is [20, 21]. Er lijkt ook weinig verschil te zijn tussen de relatieve immunogeniteit van hybride (muis/mens), gehumaniseerde en volledig humane therapeutische

Tabel 2 Incidentie en type respons (klarend of neutraliserend) van anti-drug-antilichamen bij NHP's

ADA-incidentie bij NHP's	Incidentie van klarende of neutraliserende antilichamen bij NHP's		
	laag	gemiddeld	hoog
Laag (0-6%)	mAb12	mAb21	mAb30
	mAb14		
	mAb16		
	mAb17		
	mAb25		
	mAb29		
	mAb31		
Gemiddeld (6-45%)	mAb9	mAb7	mAb20
	mAb26	mAb10	mAb22
	mAb23	mAb24	mAb32
	mAb27		mAb33
Hoog (<45%)			mAb5
			mAb8
			mAb11
			mAb13
			mAb15
			mAb18
			mAb28

ADA: anti-drug antibody; NHP: niet-humane primate.

antilichamen bij NHP's. Een mogelijke verklaring hier is dat de eiwitten niet lichaamseigen zijn, en er mogelijk speciesverschillen bestaan zoals variatie in T-celdistributie.

De meeste ADA-respons bij NHP's was gericht tegen het Fc-gebied (anti-isotype) van het antilichaam. Binding aan het Fc-gebied leidde tot verhoogde klaring, anders dan in de kliniek, waar de ADA-respons tegen het antigeenbindende deel leidde tot een verminderde werking. Dit komt mogelijk doordat dit deel, dat vaak nog niet-humane sequenties bevat of in sterke mate gemodificeerd is, voor de mens het meest lichaamsvreemde deel van het antilichaam is.

Vergelijking tussen species

Een directe vergelijking van immunogeniteit tussen verschillende species blijft onmogelijk omdat de assays om ADA-titers te bepalen en te karakteriseren, verschillen tussen NHP's en mensen. Voor vergelijkingen tussen producten en tussen species wordt daarom de relatieve immunogeniteit gebruikt. Maar zelfs met deze normalisatie wordt immunogeniteit bij dieren niet als voorspellend gezien voor mensen [14, 22, 23]. Dit is ook gebleken in onze analyse, waar slechts 59% van de antilichamen een vergelijkbare incidentie van immunogeniteit geven.

Omdat de aanwezigheid van ADA's de concentratiebepaling van het therapeutische antilichaam in een assay kan

verstoren, moeten farmacokinetische parameters voorzichtig worden geïnterpreteerd als immunogeniteit optreedt. Het optimaliseren en verbeteren van assays kan deze complicaties deels oplossen [24, 25]. Maar de validatie van assays blijft moeizaam door gebrek aan relevante referentiestandaarden, goede interne controles en doordat antisera vaak van een andere diersoort afkomstig zijn.

Beoordeling van werkzaamheid

Immunogeniteit die optreedt tijdens dierstudies kan dus niet alleen voor problemen zorgen bij het interpreteren van de farmacokinetiek, maar ook bij farmacodynamiek en toxiciteit. ADA-vorming kan immers de blootstelling verstoren of tenietdoen, wat in sommige gevallen de werkzaamheid van het geneesmiddel vermindert.

Als er voldoende dieren in een studie zijn geïncubeerd, hoeft immunogeniteit niet noodzakelijkerwijs gevolgen te hebben, zolang voldoende dieren geen ADA's vormen of blootgesteld blijven aan het therapeutisch antilichaam. Maar het aantal NHP's dat wordt gebruikt in een dierstudie om de veiligheid van een nieuw te ontwikkelen therapeutisch eiwit te evalueren, is vaak beperkt door ethische overwegingen. Wanneer in deze studies bij slechts enkele apen een immuunrespons wordt opgewekt tegen het therapeutische antilichaam, kan dit al snel de meerderheid van de NHP's in

Tabel 3 Incidentie en effect van ADA's in klinische studies en in vergelijking met niet-klinische gegevens bij NHP's

Product	Klinische immunogeniteit	Klinische ADA-respons	Niet-klinische immunogeniteit	Niet-klinische ADA-respons
Murine antilichamen				
MAb1	hoog	verminderde werking door interferentie	geen gegevens	geen gegevens
MAb2	verwaarloosbaar	verminderde werking en allergische of overgevoelighedsreacties	geen gegevens	geen gegevens
MAb3	verwaarloosbaar	geen	geen gegevens	geen gegevens
MAb4	verwaarloosbaar	verminderde werking	geen gegevens	geen gegevens
MAb5	toelaatbaar	verminderde werking mogelijk	hoog	klarend
MAb6	hoog	neutraliserend en overgevoelighedsreacties	geen gegevens	geen gegevens
MAb7	toelaatbaar	geen gegevens	gemiddeld	klarend
MAb8	hoog	neutraliserend	hoog	geen
Chimere antilichamen				
MAb9	toelaatbaar	allergische of infusiereacties	hoog	klarend
MAb10	toelaatbaar	klarend (bij enkele patiënten)	gemiddeld	klarend
MAb11	toelaatbaar	trombocytopenie	gemiddeld	trombocytopenie
MAb12	toelaatbaar	geen gegevens	hoog	klarend
MAb13	hoog	neutraliserend en overgevoelighedsreacties	laag	geen
Gehumaniseerde antilichamen				
MAb14	verwaarloosbaar	geen	laag	geen
MAb15	verwaarloosbaar	neutraliserende antilichamen, positief in autoimmunreactie-assay	hoog	klarend en neutraliserend
MAb16	verwaarloosbaar	allergische reactie bij 1 patiënt	laag	klarend
MAb17	verwaarloosbaar	geen	laag	geen
MAb18	toelaatbaar	neutraliserend	hoog	klarend
MAb19	toelaatbaar	geen	geen gegevens	geen gegevens
MAb20	toelaatbaar	klarend	gemiddeld	klarend
MAb21	toelaatbaar	geen	laag	neutraliserend en anafylaxe
MAb22	verwaarloosbaar	neutraliserend en overgevoelighedsreacties	gemiddeld	klarend en neutraliserend
MAb23	toelaatbaar	klarend	gemiddeld	klarend
MAb24	toelaatbaar	mogelijke rol in ontstekingsreacties	gemiddeld	perivasculaire kapselvorming
MAb25	verwaarloosbaar	geen	laag	klarend
Humane antilichamen				
MAb26	verwaarloosbaar	geen gegevens	gemiddeld	anemie
MAb27	toelaatbaar	neutraliserend	gemiddeld	klarend
MAb28	verwaarloosbaar	geen	hoog	neutraliserend
MAb29	verwaarloosbaar	geen	laag	geen
MAb30	toelaatbaar	neutraliserend	laag	klarend
MAb31	verwaarloosbaar	geen	laag	geen
MAb32	toelaatbaar	neutraliserend en infusiereacties	gemiddeld	klarend
MAb33	toelaatbaar	neutraliserend	gemiddeld	klarend

ADA: *anti-drug antibody*; NHP: niet-humane primate.

Tabel 4 Relatieve immunogeniteit bij niet-humane primaten versus patiënten in klinische studies

Immunogeniteit in klinische studies	Immunogeniteit bij NHP's			
	niet geëvalueerd bij NHP's	laag	gemiddeld	hoog
Laag	3 murine	4 gehumaniseerd 2 humaan	1 gehumaniseerd 1 humaan	1 gehumaniseerd 1 humaan
Gemiddeld	1 gehumaniseerd	1 gehumaniseerd 1 humaan	1 murine 2 chimeer 3 gehumaniseerd 3 humaan	1 murine 2 chimeer 1 gehumaniseerd
Hoog	2 murine	1 chimeer		1 murine

een dosisgroep of zelfs de studie omvatten. Dit maakt het moeilijk studieresultaten te interpreteren. Wanneer bijvoorbeeld de meerderheid van de NHP's een immuunrespons vertoont tegen het therapeutische antilichaam, heeft men slechts gegevens van enkele NHP's om de veiligheid van een nieuw therapeutisch eiwit te evalueren. Wanneer dosisgroepen buitenproportioneel zijn blootgesteld – in het geval van NHP-studies vaak de groepen met een lage dosis – is een dosis–responseffect moeilijk vast te stellen.

Ook zijn langetermijnstudies bij hevige immunogeniteit niet relevant, omdat blootstelling niet langer gewaarborgd kan blijven. Het voortzetten van een studie levert dan geen relevante gegevens op en vervolgstudies zullen moeten worden herzien [26]. Dit betekent wel dat de langetermijnveiligheid voor de mens niet goed beoordeeld kan worden als het gaat om producten waar de behandelduur chronisch is.

Klinische problemen

Voor de meeste, maar niet alle, therapeutische antilichamen kan klinische immunogeniteit geclassificeerd worden als verwaarloosbaar of tolereerbaar. In de kliniek worden over het algemeen pas na meerdere toedieningen ADA's waargenomen, wat soms maanden van behandeling omvat. Voor behandelend artsen is het daarom belangrijk frequent te monitoren op neutraliserende of klarende ADA's. Als deze zich voordoen moet de behandeling gestaakt worden of moet de patiënt worden overgezet naar een nieuwe behandeling [27].

Voor geneesmiddelen die slechts eenmalig worden toegediend, zoals diagnostica, is het optreden van immunogeniteit minder belangrijk. Er blijft echter een mogelijkheid bestaan dat ADA's tegen diagnostica de uitslagen beïnvloeden.

In een beperkt aantal gevallen kan immunogeniteit ernstige bijwerkingen veroorzaken, die ook al na een paar toedieningen kan optreden. Bijvoorbeeld is na toediening van abciximab (ReoPro) bij 1% van de behandelde patiënten trombocytopenie opgetreden als gevolg van een immuunreactie tegen het murine deel van dit hybride antilichaam. De incidentie van trombocytopenie was verviervoudigd na een tweede infusie [28].

Beperkingen

Onze studie had enkele beperkingen. Het indelen van de NHP-gegevens in drie categorieën is een simplificatie, maar was noodzakelijk om de gegevens overzichtelijk te houden. De onderzochte studies verschilden ook in hun rapportage over de frequentie en respons van ADA's.

Ons onderzoek maakte gebruik van de schaal die is opgesteld door Hwang en Foote om immunogeniteit bij mensen te categoriseren. Omdat de immunogeniteit bij NHP's veelal hoger is, hebben we de waarden uit hun schaal verviervoudigd voor NHP's, wat mogelijk inaccuraat is [16]. We hebben alle therapeutische antilichamen die tot en met 2010 zijn goedgekeurd in de EU geïncludeerd in onze gegevensset. Desondanks is dit aantal te laag om er statistische toetsen op uit te voeren en kunnen we slechts trends constateren.

Tot slot hebben we therapeutische antilichamen zonder markttoelating, of therapeutische antilichamen die zijn gesneuveld tijdens hun ontwikkeling, niet kunnen bestuderen, waardoor deze studie mogelijk geen representatief beeld geeft voor alle monoklonale antilichamen.

Conclusie

Zelfs wanneer brede categorieën van immunogeniteit gebruikt worden, hebben NHP's een slecht voorspellend vermogen voor de immuunrespons van mensen tegen therapeutische antilichamen. De vorming van klarende of neutraliserende antilichamen bij NHP's kan de blootstelling en de maximale duur van langetermijnstudies verminderen. Hierdoor kunnen interpretatie en betrouwbaarheid van farmacokinetische, farmacodynamische en toxicologische gegevens negatief beïnvloed worden. Tot slot blijft het moeilijk om immunogeniteit tussen producten en species te vergelijken, omdat immuunsystemen tussen species te sterk verschillen. Beperkingen in assaytechnologie belemmeren een directe vergelijking van immunogeniteit tussen species en tussen producten. Bij therapeutische antilichamen waartegen bij NHP's significante immunogeniteit optreedt, zijn NHP's niet per definitie een goed diermodel om veiligheid te evalueren. De mens blijft daardoor tot op heden het beste model om immunogeniteit te bestuderen.

Dit onderzoek is uitgevoerd binnen het Top Institute Pharma [project T6-301]. De leden van het onderzoeksconsortium zijn de Universiteit Utrecht, het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen en Nefarma. De meningen in dit artikel zijn uitsluitend die van de auteurs en op geen enkele wijze te interpreteren of te citeren als die van het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen, andere agentschappen, een van hun comités of werkgroepen.

P.J.K. van Meer heeft geen conflicterende belangen. H. Schellekens heeft deelgenomen aan congressen en publicaties gesponsord door Amgen, Johnson & Johnson, Roche, Sandoz en Hospira. Een deel van zijn onderzoek wordt direct of indirect gesponsord door Roche en Amgen.

Literatuur

- 1 Baldrick P. Safety evaluation of biological drugs: what are toxicology studies in primates telling us? *Regul Toxicol Pharmacol*. 2011 mrt;59(2):227-36.
- 2 Schellekens H. Factors influencing the immunogenicity of therapeutic proteins. *Nephrol Dial Transplant*. 2005 jun;20 Suppl 6:v3-9.
- 3 Schellekens H. Immunogenicity of therapeutic proteins: clinical implications and future prospects. *Clin Ther*. 2002 nov;24(11):1720-40; discussion 1719.
- 4 Kessler M, Goldsmith D, Schellekens H. Immunogenicity of biopharmaceuticals. *Nephrol Dial Transplant*. 2006 okt;21 Suppl 5:v9-12.
- 5 Wolbink GJ, Aarden LA, Dijkmans BA. Dealing with immunogenicity of biologicals: assessment and clinical relevance. *Curr Opin Rheumatol*. 2009 mei;21(3):211-5.
- 6 De Groot AS, Knopp PM, Martin W. De-immunization of therapeutic proteins by T-cell epitope modification. *Dev Biol (Basel)*. 2005;122:171-94.
- 7 Bugelski PJ, Treacy G. Predictive power of preclinical studies in animals for the immunogenicity of recombinant therapeutic proteins in humans. *Curr Opin Mol Ther*. 2004 feb;6(1):10-6.
- 8 Descotes J. Immunotoxicity of monoclonal antibodies. *MAbs*. 2009 mrt-apr;1(2):104-11.
- 9 Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6(r1). Genève: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; 2011 jun 12. www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Safety/S6_R1/Step4/S6_R1_Guideline.pdf. Geraadpleegd 2014 nov 3.
- 10 Committee for Medicinal products for Human Use. Guideline on immunogenicity assessment of biotechnology-derived therapeutic proteins. London: European Medicines Agency; 2007 dec 13. www.ema.europa.eu/ema/pages/includes/document/open_document.jsp?webContentId=WC500003946. Geraadpleegd 2014 nov 3.
- 11 Brinks V, Jiskoot W, Schellekens H. Immunogenicity of therapeutic proteins: the use of animal models. *Pharm Res*. 2011 okt;28(10):2379-85.
- 12 Wierda D, Smith HW, Zwickl CM. Immunogenicity of biopharmaceuticals in laboratory animals. *Toxicology*. 2001 feb 2;158(1-2):71-4.
- 13 Ponce R, Abad L, Amaravadi L, et al. Immunogenicity of biologically-derived therapeutics: assessment and interpretation of nonclinical safety studies. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2009 jul;54(2):164-82.
- 14 Swanson SJ, Bussiere J. Immunogenicity assessment in non-clinical studies. *Curr Opin Microbiol*. 2012 jun;15(3):337-47.
- 15 Gorovits B. Antidrug antibody assay validation: industry survey results. *AAPS J*. 2009 mrt;11(1):133-8.
- 16 Hwang WY, Foote J. Immunogenicity of engineered antibodies. *Methods*. 2005 mei;36(1):3-10.
- 17 Bartelds GM, Krieckaert CL, Nurmohamed MT, et al. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA*. 2011 apr 13;305(14):1460-8.
- 18 de Vries MK, Wolbink GJ, Stapel SO, et al. Decreased clinical response to infliximab in ankylosing spondylitis is correlated with anti-infliximab formation. *Ann Rheum Dis*. 2007 sep;66(9):1252-4.
- 19 Isaacs JD, Manna VK, Rapson N, et al. CAMPATH-1H in rheumatoid arthritis – an intravenous dose-ranging study. *Br J Rheumatol*. 1996 mrt;35(3):231-40.
- 20 Getts DR, Getts MT, McCarthy DP, Chastain EM, Miller SD. Have we overestimated the benefit of human(ized) antibodies? *MAbs*. 2010 nov-dec;2(6):682-94.
- 21 Clark M. Antibody humanization: a case of the 'Emperor's new clothes'? *Immunol Today*. 2000 aug;21(8):397-402.
- 22 Büttel IC, Chamberlain P, Chowder Y, et al. Taking immunogenicity assessment of therapeutic proteins to the next level. *Biologicals*. 2011 mrt;39(2):100-9.
- 23 Koren E, Zuckerman LA, Mire-Sluis AR. Immune responses to therapeutic proteins in humans – clinical significance, assessment and prediction. *Curr Pharm Biotechnol*. 2002 dec;3(4):349-60.
- 24 Shankar G, Pendley C, Stein KE. A risk-based bioanalytical strategy for the assessment of antibody immune responses against biological drugs. *Nat Biotechnol*. 2007 mei;25(5):555-61.
- 25 Wadhwa M, Thorpe R. Strategies and assays for the assessment of unwanted immunogenicity. *J Immunotoxicol*. 2006 sep 1;3(3):115-21.
- 26 Chapman K, Pullen N, Coney L, et al. Preclinical development of monoclonal antibodies: considerations for the use of non-human primates. *MAbs*. 2009 sep-okt;1(5):505-16.
- 27 Schellekens H. The immunogenicity of therapeutic proteins. *Discov Med*. 2010 jun;9(49):560-4.
- 28 Curtis BR, Swyers J, Divgi A, McFarland JG, Aster RH. Thrombocytopenia after second exposure to abciximab is caused by antibodies that recognize abciximab-coated platelets. *Blood*. 2002 mrt 15;99(6):2054-9.