



## Therapie mit monoklonalen Antikörpern

### Lernziele

- Sie können wiedergeben, was monoklonale Antikörper sind.
- Sie können die Unterschiede zwischen verschiedenen Antikörperfragmenten und abgeleiteten Molekülen erläutern.
- Sie können beschreiben, wie therapeutische monoklonale Antikörper hergestellt werden.
- Sie können ausführen, welche verschiedenen Aufgaben von therapeutischen monoklonalen Antikörpern übernommen werden können.
- Sie können therapeutische monoklonale Antikörper anhand ihrer Bezeichnung zuordnen und wissen, für welche Erkrankungen sie eingesetzt werden.
- Sie können einschätzen, bei welchen Indikationen der Einsatz von therapeutischen monoklonalen Antikörpern sinnvoll ist.

### Zusammenfassung

Derzeit sind in der Schweiz ungefähr 60 monoklonale Antikörper und Antikörperfragmente für unterschiedliche Indikationen zugelassen, und es befinden sich rund 400 weitere in verschiedenen Stadien der klinischen Entwicklung für ganz unterschiedliche Indikationen. Das zeigt das enorme Potenzial dieser Wirkstoffe, die in ihren physikochemischen Eigenschaften untereinander sehr ähnlich, aber in ihrer Spezifität ganz anders sind. Die Herstellung der monoklonalen Antikörper wurde inzwischen optimiert, sodass mittlerweile nicht mehr nur murine Proteine, sondern auch vermehrt humane Moleküle eingesetzt werden können. Dies ist vor allem für länger dauernde Therapien wichtig, um Unverträglichkeitsreaktionen zu vermeiden.

### Einleitung

Was wären wir ohne unsere Antikörper? Wahrscheinlich gar nicht am Leben! Heute wissen wir, dass die Immunglobuline, wie die Antikörper auch genannt werden, den humoralen Teil unseres adaptiven Immunsystems bilden und von B-Zellen produziert werden. Sehr viel weniger wussten jedoch Paul Ehrlich und Emil Behring am Ende des 19. Jahrhunderts. Ihnen gelang es, durch Immunisierung von Tieren sogenannte Antitoxine herzustellen, die nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip Toxine im Körper neutralisieren können – die erste Antikörpertherapie war möglich [1, 2].

Schätzungen zufolge erkennt unser adaptives Immunsystem über das Antikörper-Repertoire mindestens  $10^9$  verschiedene Oberflächen, die sogenannten Epitope. Allerdings erkennt jeder einzelne Antikörper immer nur eine Oberfläche spezifisch, weshalb wir eigentlich ungefähr  $10^9$  verschiedene Gene haben müssten – eines für jeden Antikörper, jeweils mit leichter und schwerer Kette. Wir haben jedoch nur insgesamt ca. 20 000 Gene. Das passt nur dadurch zusammen, dass die Gene für die leichte und schwere Antikörperkette aus einer grossen Anzahl von Gen-Modulen bestehen, aus denen für die Expression der Antikörper einzelne Module zufällig und willkürlich ausgewählt und kombiniert werden. Für jede B-Zelle entsteht somit eine neue Modulkombination und deshalb auch eine neue Antigenpezifität [3].

### Struktur und Funktion von Antikörpern

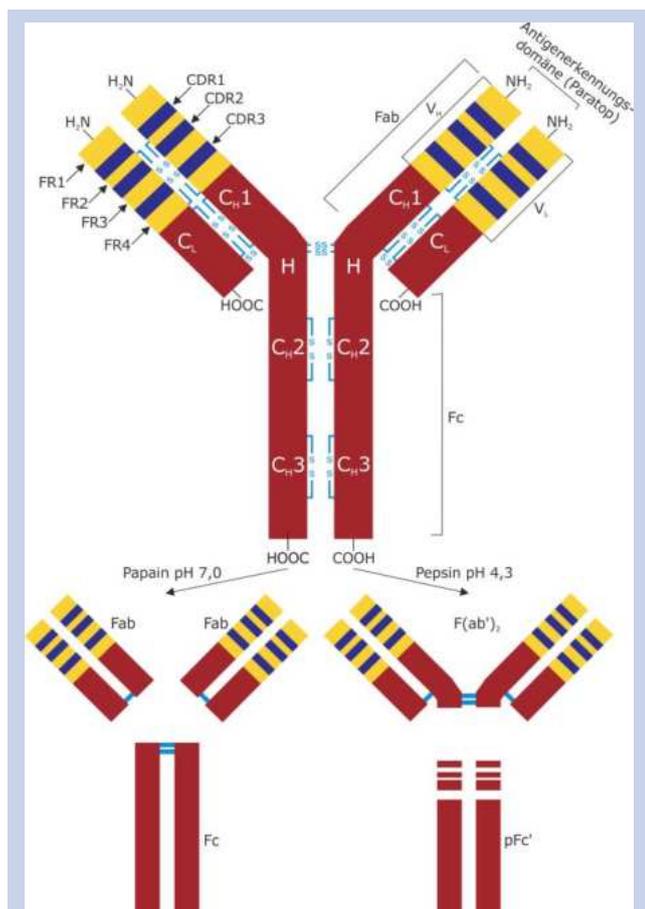
#### Struktur der Antikörper

Obwohl die vielen Antikörpermoleküle in unserem Körper sehr unterschiedliche Antigene erkennen, sind sie sehr einheitlich aufgebaut und haben sehr ähnliche physikochemische Eigenschaften. Jeder Antikörper besteht aus je zwei identischen leichten (L; *light*) und schweren (H; *heavy*)

Proteinketten, die kovalent über Disulfidbrücken miteinander verbunden sind (Abbildung 1). Innerhalb dieser Proteinketten lassen sich konstante (C) und variable (V) Regionen unterscheiden, wobei sich in den globulären Domänen  $C_H1$ ,  $C_H2$  und  $C_H3$  der schweren Ketten bzw.  $C_L$  der leichten Ketten intramolekulare Disulfidbrücken zur Stabilisierung der Molekülstruktur befinden. Die variablen Bereiche im N-Terminus der Antikörperketten bestehen aus vier kurzen Sequenzabschnitten, die als **Framework-Regionen** (FR1 bis FR4) bezeichnet werden. Dazwischen liegen die drei sogenannten *complementarity determining regions* (CDR1 bis CDR3), in denen die Aminosäuresequenzen am stärksten zwischen verschiedenen Antikörpermolekülen variieren. Sie bilden die eigentliche Antigenerkennungsstelle, das sogenannte Paratop. Anhand der konstanten Bereiche der Antikörperketten lassen sich fünf Klassen von schweren Ketten ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  und  $\alpha$ ) sowie zwei Klassen von leichten Ketten ( $\kappa$  und  $\lambda$ ) unterscheiden. Die Aminosäuresequenz der schweren Kette im Fc-Teil (*fragment crystallizable region*) eines Antikörpers bestimmt die Antikörperklasse, den sogenannten «Isotyp», von denen es demnach ebenfalls fünf gibt: IgM, IgD, IgG, IgE und IgA. Immunglobuline vom IgG-Isotyp stellen den Hauptteil der Antikörpermoleküle im Blut und werden nochmal in die vier Untertypen IgG<sub>1</sub> bis IgG<sub>4</sub> unterteilt. In den meisten Fällen, in denen über Antikörper gesprochen wird, sind IgG-Moleküle gemeint.

IgG-Antikörper lassen sich enzymatisch in der Gelenkregion (H; *hinge region*) spalten. Wird ein Antikörper mit der Protease Papain geschnitten, werden die schweren Ketten in den Gelenkregionen geteilt und es resultieren zwei getrennte, sogenannte Fab-Fragmente (*fragment antigen binding*) und ein Fc-Fragment (Abbildung 1). Das Enzym Pepsin schneidet demgegenüber Antikörper zwischen der Gelenk- und der

C<sub>H</sub>2-Region, die beiden Fab-Fragmente bleiben dabei über zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden. Solche als F(ab')<sub>2</sub> bezeichneten Fragmente haben, ebenso wie der komplette Antikörper, zwei Antigenbindungsdomänen, sind also bivalent. Vom Fc-Fragment bleibt nach Pepsin-Verdau eine kürzere Variante pFc' übrig [3].



**Abbildung 1: Schematische Darstellung eines IgG-Moleküls.**

Ein komplettes IgG-Molekül besteht aus vier Proteinketten. Sowohl in der langen, schweren als auch in der kurzen, leichten Antikörperkette sind variable Bereiche (gelb) von konstanten Regionen (dunkelrot) unterscheidbar. Die einzelnen Proteinketten sind über Disulfidbrücken (hellblau) verbunden. Die eigentliche Antigenenerkennungsdomäne wird von den *complementarity determining regions* (CDR1-CDR3) gebildet, die von Framework-Regionen (FR1-FR4) flankiert sind. Werden Antikörper mit Papain oder Pepsin behandelt, entstehen verschiedene Antikörperfragmente, die ebenfalls an das Antigen binden können.

Legende: CDR – *complementary determining region*; C<sub>H</sub> – konstante Region der schweren Kette; C<sub>L</sub> – konstante Region der leichten Kette; Fab – *fragment antigen binding*; Fc – *fragment crystallizable region*; FR – Framework-Region; H – Gelenkregion (*hinge region*); V<sub>H</sub> – variable Region der schweren Kette; V<sub>L</sub> – variable Region der leichten Kette

## Funktion der Antikörper

Antikörper in unserem Körper sollen ganz spezifisch Fremdkörper erkennen und binden, damit diese anschliessend eliminiert werden. Die Antigenenerkennung und -bindung erfolgt über die variablen Bereiche der Antikörpermoleküle. Alle weiteren Reaktionen des Immunsystems zur Eliminierung des

Antigens werden über den jeweiligen Fc-Teil des Antikörpers vermittelt, der wiederum an einen geeigneten Rezeptor auf Immunzellen bindet.

Die ersten Antikörper-Isotypen, die bei einer Immunantwort zum Einsatz kommen, sind IgM-Moleküle, die sich als B-Zellrezeptoren auf der Oberfläche der B-Zellen befinden. Erst nach Bindung des Antigens und nach Aktivierung der B-Zelle kommt es zum sogenannten Klassenwechsel, und in der Folge werden hochaffine IgG-Moleküle mit der gleichen Antigen-spezifität gebildet. Auch Immunglobuline des IgD-Isotyps befinden sich auf frühen B-Zellen und bilden ebenso wie IgM-Antikörper B-Zellrezeptoren. Immunglobuline vom IgA-Isotyp liegen in zwei Formen vor, wobei IgA<sub>1</sub> überwiegend im Serum vorhanden ist und IgA<sub>2</sub> vor allem Bestandteil von Schleimhautsekreten ist. Für die Wirkung von Allergenen sind dagegen IgE-Antikörper verantwortlich, die Mastzellen zur Freisetzung von Mediatoren mobilisieren (Tabelle 1 im Anhang). Die Effektorfunktionen der anderen Isotypen überschneiden sich teilweise und umfassen die Neutralisation, Opsonisierung sowie die Aktivierung von natürlichen Killerzellen und von Komplementfaktoren. Bei der Neutralisation binden Antikörper spezifisch an ihr jeweiliges Antigen und verhindern die Interaktion des Antigens mit einem möglichen Rezeptor. Dies ist beispielsweise bei toxischen Substanzen gewünscht und soll über eine Impfung mit Toxoid-Vakzinen wie etwa bei der Immunisierung gegen Diphtherie und Tetanus erreicht werden. Bei der Opsonisierung binden Antikörper mit der Antigenenerkennungsdomäne an die Oberfläche von Mikroben, während sie mit dem Fc-Teil entsprechende Fc-Rezeptoren auf Makrophagen aktivieren und die Phagozytose der Mikrobe induzieren (*antibody-dependent cellular phagocytosis*, ADCP). Auch die Aktivierung von natürlichen Killerzellen verläuft über Interaktion des Antikörper-Fc-Teils mit einem Rezeptor und führt zur Lyse von mit Antikörpern markierten Zellen – ein Vorgang, der als antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität (*antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*, ADCC) bezeichnet wird. Ein wesentlicher Bestandteil der normalen Immunabwehr besteht in der Aktivierung des Komplementsystems über einen Antigen/Antikörper-Komplex, was dann ebenfalls in der Lyse der gebundenen Zelle, der sogenannten *complement-dependent cytotoxicity* (CDC) resultiert.

Je nach Antikörper-Isotyp wird die eine oder andere Effektorfunktion präferiert (Tabelle 1 im Anhang). Beispielsweise haben Makrophagen und neutrophile Granulozyten eine hohe Affinität zu Antikörpern der IgG-Subklassen IgG<sub>1</sub> und IgG<sub>3</sub>, die hauptsächlich über die membranständigen Rezeptoren vom Typ FcγRI und FcγRII erkannt werden. Auf der anderen Seite können natürliche Killerzellen über ihre FcγRIII-Moleküle durch IgG<sub>1</sub>- und IgG<sub>3</sub>-Antikörper markierte Zellen lysieren. IgG<sub>1</sub>- und IgG<sub>3</sub>-Antikörper, nicht aber IgG<sub>4</sub>-Antikörper, sind ausserdem in der Lage, das Komplementsystem zu aktivieren. Je nachdem, welcher Therapieeffekt erzielt werden soll, kann es also wichtig sein, einen bestimmten Antikörper-Typ zu generieren [3].

## Hybridoma-Technologie

Das besondere Potenzial von Antikörpermolekülen sowohl als Diagnostikum als auch als Therapeutikum wurde schnell erkannt. Allerdings stellte sich das Problem, die Proteine in ausreichenden Mengen und Reinheit herzustellen. Im Prinzip produziert jede B-Zelle eine spezifische Art von Antikörpern. Jedoch sind B-Zellen zu kurzlebig und können nicht kultiviert werden. Mit einem besonderen Trick gelang es Mitte der 1970er Jahre César Milstein und George Köhler, dieses Problem zu lösen [4]: Sie fusionierten B-Zellen mit unsterblichen Tumorzellen und kombinierten in der resultierenden Hybridomzelle die Eigenschaften «Antikörperproduktion» und «Unsterblichkeit», also Kultivierbarkeit.

Das Verfahren, das Köhler und Milstein etablierten, umfasst folgende Schritte:

- Immunisierung einer Maus mit dem gewünschten Antigen
- Isolierung der Milzzellen aus der immunisierten Maus
- Kultivierung einer Maus-Myelomzelllinie
- Fusion der Milzzellen mit den Myelomzellen
- Selektion fusionierter Hybridomzellen
- Identifizierung antikörperproduzierender Hybridomzellen
- Klonale Vereinzelung der vorselektierten Hybridomzellen
- Identifizierung antikörperproduzierender Hybridomklone
- Charakterisierung der von den Hybridomzellen produzierten Antikörper

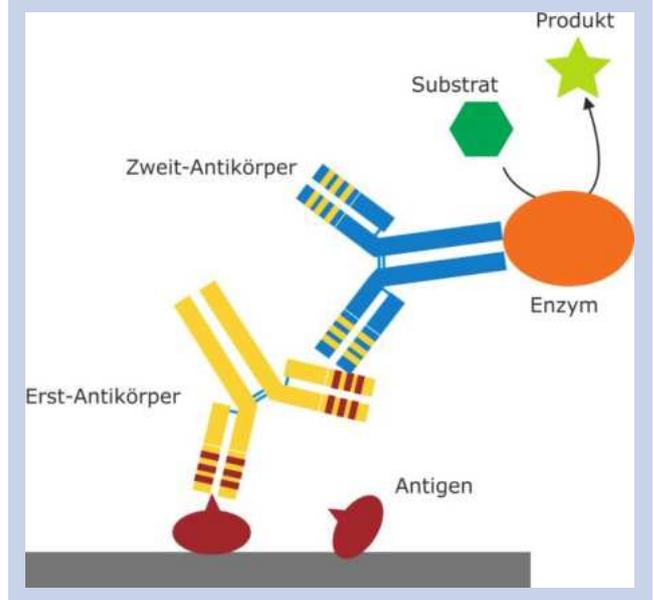
## Immunisierung von Mäusen

Die Immunisierung der Mäuse ist einer der wichtigsten Schritte bei der Herstellung monoklonaler Antikörper. Wichtig ist, dass zum Zeitpunkt der Isolierung der B-Zellen für die Fusion mit den Myelomzellen ein möglichst hoher Titer von IgG-Molekülen gegen das Antigen in der immunisierten Maus vorliegt. Üblicherweise werden mehrmals im Abstand von 2 Wochen ca. 5 bis 100 µg Antigen pro Immunisierung und pro Maus appliziert [5].

Antigene mit einem Molekulargewicht von weniger als 10 kDa wirken in der Regel nur schwach immunogen. Noch kleinere Moleküle sind gar nicht mehr immunogen und müssen als sogenannte «Haptene» an einen hochmolekularen Träger gekoppelt werden, um die Bildung spezifischer Antikörper induzieren zu können. Als Trägermoleküle haben sich Serumalbumin, Transferrin oder andere leicht zugängliche Proteine bewährt. Ausserdem können auch künstliche Proteine wie beispielsweise Polylysin zur Kopplung verwendet werden. Der Antikörpertiter einer Maus für das eingesetzte Antigen lässt sich mithilfe eines *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (Kasten 1) aus einer geringen Blutmenge bestimmen. Je höher der Antikörpertiter ist, umso grösser sind die Chancen, einen oder mehrere gute monoklonale Antikörper zu isolieren. Bei einer Immunisierung mit einem Hapten muss darauf geachtet werden, dass der ELISA mit einem anderen Konjugat durchgeführt wird, um nicht auf Antikörper gegen das Trägerprotein zu testen [5].

### Kasten 1: Prinzip des ELISA-Verfahrens

Der Titer einer Antikörperlösung, beispielsweise aus dem Serum einer immunisierten Maus oder aus dem Überstand einer Hybridomzelllinie lässt sich relativ einfach und schnell mittels einem ELISA ermitteln. Dafür wird das Antigen z. B. in Vertiefungen einer Mikrotiterplatte pipettiert, wo das antigene Protein fest an die Plastikoberfläche bindet. Nach Absättigung aller nicht vom Antigen besetzten Proteinbindestellen mit z. B. Rinderserumalbumin wird in jede Vertiefung eine Verdünnung der zu untersuchenden Antikörperlösung dazugegeben, sodass sich ein stabiler Antigen/Antikörper-Komplex bilden kann. Dieser Komplex wiederum kann durch Zugabe eines zweiten Antikörpers detektiert werden, der zum einen an den konstanten Teil des ersten Antikörpers bindet und zum anderen kovalent mit einem Enzym gekoppelt ist. Wurden zwischen den einzelnen Inkubationsschritten nicht gebundene Antikörpermoleküle durch Waschen entfernt, lassen sich abschliessend über ein geeignetes Substrat und eine entsprechende Farbreaktion das Enzym und letztlich der Antigen/Antikörper-Komplex nachweisen.



## Herstellung und Selektion der antikörperproduzierenden Hybridomzellen

Hat die immunisierte Maus einen ausreichend hohen Antikörpertiter gegen das Antigen aufgebaut, ist es Zeit für die Fusion. Aus der Milz lassen sich grosse Mengen von Lymphozyten isolieren, die die Antikörper produzieren. Als Fusionspartner werden Myelomzellen verwendet, die aus entarteten, «frühen» B-Zellen generiert wurden und selbst keine Antikörper herstellen. Ausserdem sollten die Myelomzellen so gewählt werden, dass ihnen entweder eine aktive **Thymin-Kinase (TK)** oder eine aktive **Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase (HGPRT)** fehlt, oder dass sogar beide Enzyme defekt sind. Für die eigentliche Zellfusion wer-

den Myelom- und Milzzellen in einem Verhältnis von 1:1 bis 1:10 miteinander gemischt und mit dem oberflächenaktiven Polyethylenglycol für einige Minuten inkubiert. Die Membranfusion zwischen Zellen geschieht in dieser Zeit absolut zufällig. Verschmilzt dabei eine Myelomzelle mit einer Milzzelle, erhält man die gewünschte Hybridzelle (Hybridom). Allerdings können ebenso Milzzellen oder Myelomzellen miteinander fusionieren. Genetisch betrachtet ist eine Fusion aus zwei diploiden Zellen zunächst immer ein sehr instabiler Zustand, da zwei Zellkerne vorliegen und jedes Chromosom in vierfacher Ausführung vorhanden ist. Um wieder in einen stabilen Zustand zurückzukehren, verschmelzen zunächst die Kerne. Danach verlieren die Zellen nach und nach einzelne Chromosomen, bis schliesslich wieder ein stabiler diploider oder annähernd diploider Zustand erreicht ist.

Nun müssen zwischen den vielen Zellfusionen, die unter gleichartigen Zellen passiert sind, die gewünschten Hybridomzellen gefunden werden. Dafür werden die frisch fusionierten Zellen der sogenannten «HAT-Selektion» ausgesetzt. Die Abkürzung HAT steht für die Substanzen **H**ypoxanthin, **A**minopterin und **T**hymidin. Aminopterin hemmt in den Zellen die Bildung sowohl der Purin- als auch der Pyrimidinnukleotide und verhindert dadurch die DNA-Synthese. Verfügen die Zellen jedoch über die Enzyme Thymidinkinase und Hypoxanthin-Guanin-Phosphoribosyltransferase, können sie aus Hypoxanthin und Thymidin die fehlenden Nukleotide synthetisieren. B-Zellen bleiben somit zwar im HAT-Medium am Leben, können aber nicht über längere Zeit kultiviert werden. Den für die Fusion verwendeten Myelomzellen fehlt mindestens eines der nötigen Enzyme für die Nukleotidsynthese, weshalb sie im HAT-Medium absterben. Die einzigen Zellen, die diese Selektion überleben und sich teilen können, sind deshalb die Hybridomzellen, die aus der Fusion zwischen B-Zellen und Myelomzellen entstanden sind. Nach wenigen Tagen im HAT-Medium sind die Hybridomzellen als kleine Kolonien inmitten vieler abgestorbener Zellen zu erkennen. Diese Kolonien sind Klone, also identische Zellen, die jeweils aus einer einzelnen Hybridomzelle entstanden sind. Ob die erhaltenen Zellen tatsächlich auch den gewünschten Antikörper produzieren, lässt sich über einen ELISA (Kasten 1) mit Kulturüberstand der Zellklone testen. Die positiv getesteten Zellklone werden anschliessend üblicherweise nochmals vereinzelt, um letztlich eine genomisch stabile Zelllinie zu erhalten, die permanent Antikörper einer bestimmten Spezifität, die sogenannten monoklonalen Antikörper, ins Kulturmedium sezerniert [5].

### Gentechnische Veränderung der monoklonalen Antikörper

Der erste für die Therapie einer Krankheit entwickelte monoklonale Antikörper war im Jahr 1986 Muromonab-CD3 (Orthoclone OKT<sup>®</sup> 3), der gegen das Protein CD3, einem Teil des T-Zell-Rezeptor-Komplexes, gerichtet ist [6]. Bei therapeutischer Anwendung werden durch die Bindung von Muromonab-CD3 an seine Zielmoleküle alle T-Zellen eines Patienten eliminiert, weshalb Orthoclone OKT<sup>®</sup> 3 zur Behand-

lung steroidresistenter akuter Abstossungsreaktionen von Allotransplantaten bei Patienten mit Nieren-, Herz- und Lebertransplantationen zugelassen wurde. Selbst bei der vorgeschriebenen Dosierung können schwere Unverträglichkeitsreaktionen auftreten, weil das Immunsystem des Patienten auf das murine Protein mit der Bildung sogenannter **humaner Anti-Maus-Antikörper** (HAMAs) reagiert [7].

Murine (d. h. von Mäusen produzierte) Antikörpermoleküle sind demzufolge für den therapeutischen Einsatz nur bedingt geeignet. Besser und verträglicher wäre es, menschliche Antikörper zu verwenden. Allerdings lässt sich die Hybridoma-Technologie nicht auf den Menschen übertragen. Stattdessen bot hier die Gentechnik die Lösung des Problems. Aus den Hybridomzellen lässt sich genügend mRNA isolieren, um daraus cDNA zu synthetisieren und anschliessend mittels Polymerasekettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR) die Gene für die variablen Antikörperbereiche zu amplifizieren. Diese Genbereiche können anschliessend mit entsprechenden humanen Gensequenzen so kombiniert werden, dass chimäre oder humanisierte Antikörper gebildet werden. Bei chimären Antikörpern sind die gesamten variablen Bereiche aus dem monoklonalen murinen Antikörper mit den humanen konstanten Domänen kombiniert, letztlich sind noch 33 % des Moleküls murine Sequenzen. Demgegenüber besitzen humanisierte Antikörper nur noch 5 bis 10 % murine Anteile, das entspricht den CDR des Ursprungsantikörpers, während die Framework-Regionen und die konstanten Bereiche vom Menschen stammen [8]. Chimäre Antikörper sind an der Namensendung «-ximab» (z. B. Infliximab) zu erkennen, während humanisierte Antikörper die Silben «-zumab» (z. B. Trastuzumab) enthalten. Die therapeutischen Antikörper scheinen umso verträglicher zu sein, je geringer der murine Restanteil ist. Allerdings sind die Moleküle natürlicherweise gerade in den variablen Bereichen in ihrer Aminosäuresequenz so heterogen, dass das Immunsystem eigentlich generell relativ tolerant gegenüber Antikörpern sein sollte.

### Humane Antikörper

Trotz aller Fortschritte bei der Humanisierung von Maus-Antikörpern für den therapeutischen Einsatz beim Menschen weisen diese Wirkstoffe doch in kleinen Bereichen Fremdstrukturen auf, die bei einer Langzeittherapie eventuell Probleme verursachen könnten. Die beste Lösung wäre natürlich der Einsatz authentischer humaner Antikörper, ganz ohne Beteiligung von Mausequenzen. Allerdings verbietet sich, Menschen mit beliebigen Antigenen zu immunisieren, um aus ihnen monoklonale Antikörper zu gewinnen. Ausserdem sind gerade auch menschliche Proteine als Zielstrukturen von therapeutischen Antikörpern interessant. Solche Proteine, wie beispielsweise der menschliche **Tumornekrosefaktor  $\alpha$**  (TNF- $\alpha$ ), wären im humanen Ansatz nicht immunogen und würden keine Antikörperbildung induzieren. Es mussten also andere Tricks angewendet werden, um humane Antikörper wie Adalimumab (Humira<sup>®</sup>) oder Panitumumab (Vectibix<sup>®</sup>) herzustellen.

## Phage display zur Selektion bestimmter Antikörperfragmente

1985 erschien in der renommierten Zeitschrift Science ein kurzer Artikel von George P. Smith, in dem er eine neue Methode beschrieb: Filamentöse Phagen wie z. B. M13 können auf ihrer Oberfläche Fremdproteine exponieren, die sich über bestimmte Bindeeigenschaften selektionieren lassen [9]. Nach dem Selektionsschritt können die Phagen wieder in prokaryontischen Zellen vermehrt werden, da sie nach wie vor infektiös für Bakterien sind. Nur wenige Jahre später wurde das System auf die Expression variabler Antikörperregionen übertragen. Dadurch entstanden in Bakterien vermehrbare Antikörperfragmente [10]. Die wichtige Idee dabei war, eine möglichst umfassende Phagenbank zu etablieren, die viele unterschiedliche Antigenbindungsdomänen exprimiert. Dazu wurden B-Zellen aus freiwilligen Spendern gewonnen und die mRNA der Zellen isoliert. Über geeignete Oligonukleotide, die sogenannten Primer, konnte die antikörperspezifische mRNA in cDNA kopiert und über PCR amplifiziert werden (Abbildung 2). Für die Erstellung der Phagenbank hatte es sich bewährt, die eigentlich separaten variablen Fragmente der leichten ( $V_L$ ) und schweren ( $V_H$ ) Antikörperkette über eine künstliche, flexible Peptidsequenz aus Glycin und Serin ( $Gly_4Ser_3$ ) miteinander zu verbinden, wodurch ein sogenanntes *single-chain variable fragment* (scFv) entsteht. Dieses Fragment kann ebenso wie ein kompletter Antikörper das Antigen binden, ist allerdings ausreichend klein, um die Infektiosität des Phagen nicht zu sehr zu beeinträchtigen.

Die Antikörperphagen können nun mit dem gewünschten Antigen inkubiert werden. Ähnlich wie bei einem ELISA bindet das passende Antikörperfragment an das Antigen, alle anderen Fragmente aus der Phagen-Antikörperbank werden wieder entfernt. Durch einen geeigneten Elutionsschritt lässt sich schliesslich auch der gebundene Phage wieder ablösen und kann zur erneuten Infektion von Bakterien verwendet und beliebig vermehrt werden. Zusätzlich kann bei diesem Schritt eine *in vitro*-Mutagenese des Phagengenoms, und hier speziell des scFv-Gens, durchgeführt werden. Die Folge ist wiederum eine Schar leicht unterschiedlicher Phagen-Antikörper, die gegen das Antigen getestet werden, ein Vorgang, der auch als «*panning*» bezeichnet wird. Dadurch kann die Affinität des Antikörperfragments zum Antigen sukzessive verbessert werden [10].

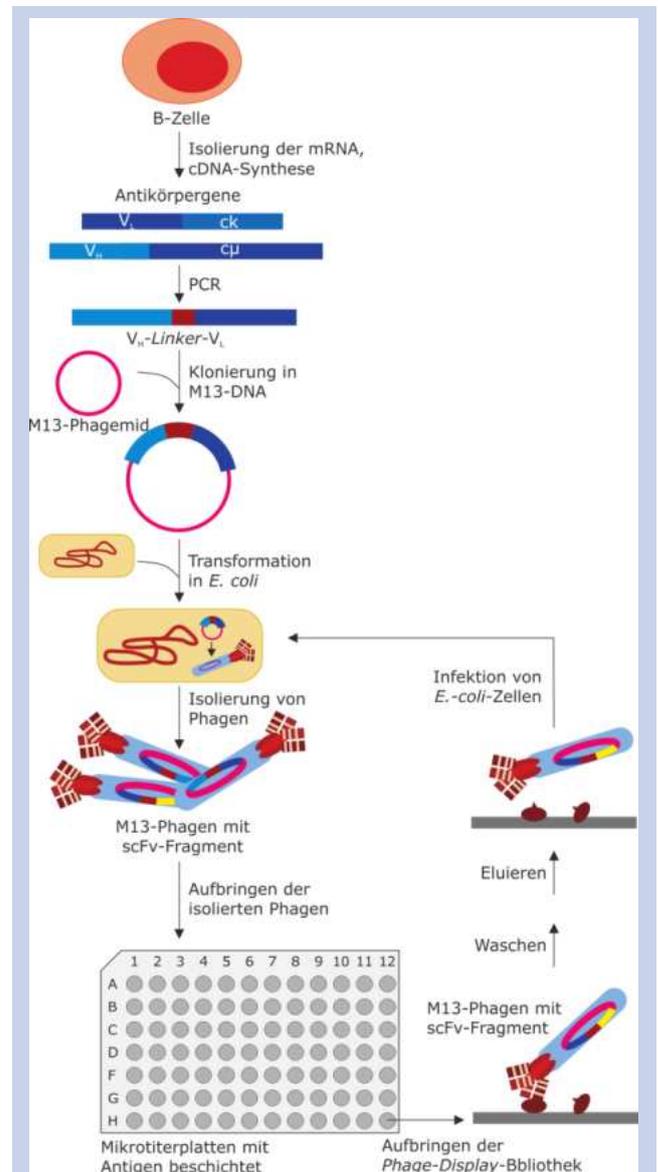


Abbildung 2: Phage display von scFv-Fragmenten.

Aus B-Zellen von Spendern lassen sich über cDNA-Synthese an der isolierten mRNA die Gene für die gebildeten Antikörper gewinnen. Mittels PCR können gezielt die DNA-Sequenzen amplifiziert und verknüpft werden, die für die variablen Teile von Antikörpern codieren. Das erhaltene Kunstgen für die  $V_H$ -( $Gly_4Ser_3$ )- $V_L$ -Fragmente (scFv) wird anschliessend in einen Phagemid-Vektor kloniert. In Bakterienzellen, wie z. B. *Escherichia coli* (*E. coli*) können rekombinante Phagen hergestellt werden, die auf ihrer Oberfläche scFv exponieren. Handelt es sich um eine Phagenbank, die viele verschiedene Antikörperfragmente exprimiert, kann der passende Antikörperphage über Bindung an das gewünschte Antigen selektioniert und nach Infektion in Bakterien vermehrt werden.

Legende: scFv – single-chain variable fragment; PCR – polymerase chain reaction;  $V_H$  – variable Region der schweren Kette;  $V_L$  – variable Region der leichten Kette

Auf diesem Weg wurde beispielsweise der Antikörper Adalimumab (Humira<sup>®</sup>) gegen den TNF- $\alpha$  aus einer Phagenbank mit  $1,4 \times 10^{10}$  verschiedenen Klonen isoliert.

Golimumab (Simponi<sup>®</sup>), ein anderer Antikörper gegen TNF- $\alpha$ , wurde ebenfalls über eine Phagenbank gefunden, allerdings mit einer weiterentwickelten Klonierungsstrategie für die Antikörperfragmente. Die Firma MorphoSys publizierte im Jahr 2000 ihre *Human Combinatorial Antibody Library* (HuCAL<sup>®</sup>), die auf der Beobachtung beruht, dass letztlich nur sieben V<sub>H</sub>- sowie sieben V<sub>L</sub>-Genfamilien mehr als 95 % der menschlichen Antikörper-Diversität repräsentieren [11]. Daraus liessen sich die Konsensussequenzen für 14 Master-Gene ableiten, die in allen möglichen Kombinationen zusammengefügt eine Bibliothek von 49 scFv-Master-Genen bildeten. Dabei wurde darauf geachtet, dass sich die Bereiche der drei CDRs jeweils relativ einfach mit gentechnischen Massnahmen austauschen lassen. Sukzessive konnten so die über *phage display* und Inkubation mit dem Antigen selektierten Antikörperfragmente optimiert werden.

Die *phage display*-Technologie hat gegenüber der Hybridoma-Technologie einige Vorteile:

- Es werden keine Tiere benötigt.
- Das Prinzip funktioniert auch mit humanen Antigenen, die zwischen Maus und Mensch so stark konserviert sind, dass sie in der Maus nicht als fremd erkannt werden würden.
- Die Methode funktioniert auch mit toxischen Antigenen, die man nicht für die Immunisierung von Mäusen einsetzen kann.

### Transgene Mäuse zur Herstellung humaner Antikörper

Ein ganz anderer Ansatz, humane Antikörper herzustellen, wurde 1994 von den Firmen Cell-Genesys und GenPharm verfolgt: Sie stellten mit ihren Mauslinien XenoMouse<sup>®</sup> beziehungsweise HuMAb-Mouse<sup>®</sup> Tiere zur Verfügung, bei denen in einem recht aufwändigen Prozedere zunächst in embryonalen Maus-Stammzellen die murinen Genorte für die Antikörperherstellung zerstört wurden. Anschliessend wurden die humanen Immunglobulin-Genbereiche eingesetzt. Die beiden Systeme unterscheiden sich praktisch nur in der Art und Weise, wie die neuen DNA-Sequenzen in die Mauszellen eingebracht wurden. Durch dieses Vorgehen entstanden transgene Mäuse, die bei Kontakt mit einem Antigen keine murinen, sondern vielmehr komplett humane Antikörper produzieren und über die ganz normale Hybridoma-Technik für die Gewinnung monoklonaler Antikörper genutzt werden können [12, 13].

Mittlerweile sind von der XenoMouse<sup>®</sup> sechs unterschiedliche transgene Mausstämmen etabliert, die menschliche Antikörper der Klassen IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> und IgG<sub>4</sub> jeweils in Kombination mit leichten  $\kappa$ - oder  $\lambda$ -Ketten produzieren können. Auch die HuMAb-Mouse<sup>®</sup> kann nach Immunisierung mit einem Antigen humane Antikörper bilden, und die B-Zellen können sowohl einen Isotyp-Wechsel von IgM nach IgG vollziehen als auch nach somatischer Rekombination hochaffine Antikörper

produzieren. In der Weiterentwicklung der HuMAb-Mouse<sup>®</sup> wurde die UltiMAb-Mouse<sup>®</sup> etabliert, mit der hochaffine humane Antikörper gegen verschiedene Epitope des Antigens hergestellt werden können. Mittlerweile hat die Firma Medarex die Maustechnologie noch verfeinert und bietet mit der KM-Mouse<sup>®</sup> einen Mausstamm, der «trans-chromosomal» ist, also die murinen Antikörpergene verloren und die kompletten Genorte für menschliche Antikörper auf Chromosomenfragmenten erhalten hat. Diese Maus ist in der Lage, alle humanen Immunglobulin-Isotypen herzustellen.

Für die Herstellung humaner Antikörper sind diese und noch einige andere, mittlerweile etablierten transgenen Mäuse sehr gut geeignet. Allerdings haben die Mäuse selbst ein Problem: Sie haben nur noch humane Antikörper mit humanem Fc-Teil für ihre humorale Immunantwort zur Verfügung, und diese Antikörper funktionieren nicht optimal mit den murinen Fc-Rezeptoren. Deshalb wurde als Alternative zu den transgenen Mäusen mit den komplett ausgeschalteten murinen Immunglobulin-Genorten die VelocImmune<sup>®</sup> Mouse etabliert [14]. Diese Mauslinie besitzt noch die eigenen Gene für die konstanten Regionen der schweren Kette, allerdings sind die Gene für die variablen Bereiche ausgetauscht, sodass chimäre Antikörper aus humanen variablen und murinen konstanten Regionen entstehen. Dadurch scheint die Immunantwort der VelocImmune<sup>®</sup> Mouse insgesamt besser zu sein, als die der kompletten Knockout-Mäuse. Der Austausch der konstanten Antikörperregionen erfolgt dann später relativ einfach über gentechnische Methoden.

Der erste mit der XenoMouse<sup>®</sup>-Technologie entwickelte vollständig humane Antikörper ist Panitumumab (Vectibix<sup>®</sup>), der gegen den Rezeptor für den epidermalen Wachstumsfaktor (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) gerichtet ist und 2007 die Zulassung für die Therapie des Kolonkarzinoms erhalten hat. Ein Antikörper, der mit der HuMAb-Mouse<sup>®</sup>-Technologie entwickelt wurde, ist Ipilimumab (Yervoy<sup>®</sup>). Dieser Antikörper ist gegen den Oberflächenmarker CTLA-4 gerichtet und wird zur Therapie des malignen Melanoms eingesetzt. Ofatumumab (Arzerra<sup>®</sup>) stammt ursprünglich aus der UltiMAb-Mouse<sup>®</sup> und ist gegen das CD20-Antigen auf B-Zellen gerichtet, weshalb er für die Behandlung der chronisch lymphatischen Leukämie zugelassen ist. Und in der VelocImmune<sup>®</sup> Mouse entstand z. B. Alirocumab (Praluent<sup>®</sup>), das an PCSK9 (*proprotein convertase subtilisin/kexin* Typ 9) bindet und bei familiärer Hyperlipidämie eingesetzt wird.

Die Frage ist, ob die Entwicklung der «vollständig humanen» therapeutischen Antikörper das diskutierte Problem der Unverträglichkeitsreaktionen (teilweise) muriner Antikörper gelöst hat. Die klinischen Daten sind bislang noch begrenzt, aber die bisherigen Ergebnisse sind ermutigend. So wurde gezeigt, dass der humane EGFR-Antikörper Panitumumab (Vectibix<sup>®</sup>) dem chimären EGFR-Antikörper Cetuximab (Erbix<sup>®</sup>) in der Verträglichkeit überlegen ist. Im Gegensatz zu Cetuximab wurde gegen den Wirkstoff Panitumumab keine Bildung von Antikörpern bei Patienten beobachtet. Ob die neuen humanen Antikörper den humanisierten Antikörpern in der Langzeittherapie bezüglich Wirksamkeit und

Verträglichkeit aber wirklich überlegen sind, werden wohl erst weitere Erfahrungen mit dieser Antikörperklasse zeigen. Die Generierung vollständig humaner Antikörper ist jedenfalls der neue Standard bei der Entwicklung neuer Wirkstoffe geworden.

## Spezielle Antikörper-Derivate

Monoklonale Antikörper können – wie auch ihre natürlichen Vorbilder – die bereits aufgeführten Effektorfunktionen im Immunsystem auslösen, d. h. sie können das Antigen neutralisieren oder opsonisieren und markierte Zellen entweder über antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität (ADCC), komplementabhängige Zytotoxizität (CDC) oder antikörperabhängige Phagozytose (ADCP) zerstören lassen.

Die therapeutischen Antikörper gehören immer zu den IgG-Immunglobulinen, allerdings variiert durchaus ihr Subtyp, je nachdem wie stark eine ADCC oder CDC bei der Anwendung gewünscht ist (Tabelle 1 im Anhang) [3]. Beispielsweise ist der Antikörper Rituximab (Mabthera<sup>®</sup>) gegen CD20 ein IgG<sub>1</sub>-Molekül, das bei einem Non-Hodgkin-Lymphom dafür sorgen soll, dass die entarteten B-Zellen eliminiert werden. Ganz anders ist es bei Natalizumab (Tysabri<sup>®</sup>). Dieser Antikörper bindet an die  $\alpha 4$ -Untereinheit von Integrinen, die auf allen Leukozyten ausser Neutrophilen vorkommen, und verhindert das Auswandern der Immunzellen aus den Blutgefäßen in das entzündete Gewebe. Natalizumab ist ein IgG<sub>4</sub>-Molekül und kann deshalb vor allem neutralisieren, aber keine Zerstörung der markierten Zellen induzieren. Es ist also durchaus eine Überlegung wert, welche Art Antikörper für eine bestimmte Indikation nötig und hilfreich ist. Es ist aber auch eine Überlegung wert, ob der Antikörper in seiner ursprünglichen, kompletten Form oder aber besser in einer abgewandelten Version verwendet werden soll oder kann. Die verschiedensten Molekülvarianten sind mittlerweile entwickelt, zum Teil zugelassen und zum Teil auch schon wieder vom Markt genommen worden.

## Fab-Fragmente

In vielen Therapiestrategien mit monoklonalen Antikörpern ist die hohe Avidität und Multivalenz der Antikörper gegen das Antigen sicherlich wünschenswert. Es gibt aber auch Anwendungen, z. B. die Inaktivierung von Zytokinen oder die Blockade eines Rezeptors, bei denen eine Neutralisation des Antigens ausreicht. In diesem Fall könnte es von Vorteil sein, die kleineren Fab-Fragmente einzusetzen, z. B. weil sie nach subkutaner Applikation besser bioverfügbar sind als Vollantikörper. Ein Beispiel für einen Fab-Wirkstoff ist das bereits seit 1995 zugelassene chimäre Antikörperfragment Abciximab (ReoPro<sup>®</sup>) gegen Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptoren auf der Oberfläche von Blutplättchen. Es wird eingesetzt zur Vermeidung ischämischer kardialer Komplikationen bei Patienten, die sich einer perkutanen Koronarintervention unterziehen, bzw. bei instabiler Angina pectoris.

Durch den fehlenden Fc-Teil haben Fab-Fragmente vergleichsweise kurze Plasmahalbwertszeiten, was z. B. über eine Verknüpfung mit Polyethylenglykolketten kompensiert

werden kann. Ein Beispiel für einen solchen Wirkstoff ist Certolizumab pegol (Cimzia<sup>®</sup>) zum Einsatz gegen rheumatoide Arthritis [15].

## Bispezifische Antikörper und diabodies

Normalerweise können monoklonale Antikörper mit ihren beiden Antigenerkennungsdomänen jeweils das entsprechende Epitop binden, was zu einer Verknüpfung mehrerer Antikörper-Moleküle über das Antigen führen kann – ein Effekt, der z. B. bei IgE-Molekülen auf Mastzellen als «*bridging*» bezeichnet wird und zur Degranulation der Mastzelle führt. In den 1980er Jahren fiel jedoch auf, dass IgG<sub>4</sub> im Körper infolge einer Instabilität in der Gelenkregion zum Teil Antigenbindungsstellen austauschen (*fab arm exchange*) und als bispezifische Moleküle vorliegen. Drei Jahrzehnte später waren von allen vier IgG-Subklassen Antikörper mit verschiedenen Antigenerkennungsdomänen in Blut, Plazenta und Milch nachgewiesen worden. Bispezifische Antikörper sind also durchaus normal – auch im Körper von Gesunden.

Dass diese Moleküle therapeutisch hochinteressant sind, wurde ebenfalls bereits in den 1980er Jahren festgestellt: Über einen ersten bispezifischen Antikörper konnte eine T-Zelle in räumliche Nähe zu einer Leukämiezelle gebracht werden, was dann zu einer T-Zell-vermittelten Zerstörung der Krebszelle geführt hat. Die meisten bispezifischen Antikörper werden über eine der drei folgenden Methoden hergestellt [16]:

- Chemische Verknüpfung über vernetzende Moleküle (*cross-linker*)
- Zellfusion zweier Hybridoma-Zelllinien (Quadroma-Technologie)
- Gentechnische Methoden

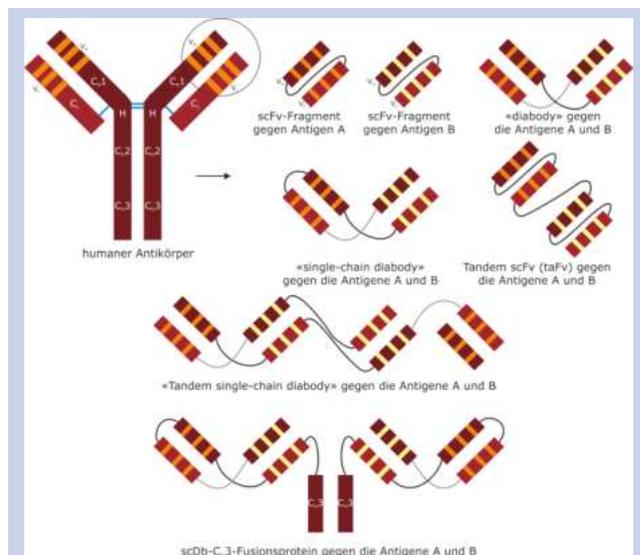
Je nachdem, wie die Moleküle hergestellt wurden, variieren sie in der Anzahl der Antigenbindungsstellen, in ihrer Geometrie, in der Halbwertszeit im Serum und in ihren Effektorfunktionen.

Der erste bispezifische Antikörper, der auf den Markt kam, war 2009 Catumaxomab (Removab<sup>®</sup>) zur Behandlung des malignen Aszites (einer krebsbedingten Flüssigkeitsansammlung im Peritonealraum) bei Patienten mit EpCAM-positiven Karzinomen. Mitte 2017 wurde jedoch die Zulassungsgenehmigung vom Hersteller zurückgezogen. Catumaxomab ist über die Quadroma-Technologie entstanden, bei der zwei Hybridomzelllinien miteinander fusioniert wurden. Die eine Hybridomzelle war aus der Ratte und produzierte Antikörper gegen das Tumorantigen EpCAM, während die andere Hybridomzelle aus der Maus stammte und Antikörper gegen den CD3-Rezeptorkomplex auf T-Zellen herstellte. Theoretisch stehen dadurch in der chimären Quadromzelle je zwei unterschiedliche leichte und schwere Proteinketten für die Antikörperbildung zur Verfügung, allerdings assoziieren die leichten und schweren Ketten von Antikörpern derselben Spezies bevorzugt miteinander, sodass neben reinen Maus- oder Ratten-Antikörpern auch chimäre Maus/Ratten-Antikörper mit korrekten leichten Ketten erhalten wurden. Catumaxomab hatte einen gemischten Ratte/Maus-Fc-Teil,

der sich durch Chromatographie an Protein-A-Säulen und selektiver Elution gut von den reinen Maus- oder Ratten-Antikörpern trennen liess. Gleichzeitig hatte der Antikörper eine relativ hohe Affinität zu Fc $\gamma$ -Rezeptoren auf Makrophagen oder natürlichen Killerzellen, sodass nicht nur T-Zellen in der Nähe der EpCAM-positiven Tumorzelle aktiviert wurden, sondern auch akzessorische Immunzellen.

Im November 2015 erhielt mit Blinatumumab (Blinicyto<sup>®</sup>) zur Therapie von Erwachsenen mit rezidivierender oder refraktärer Philadelphia-Chromosom-negativer B-Vorläufer-ALL (akuter lymphatischer Leukämie) ein zweiter bispezifischer Antikörper die Marktzulassung in Europa. Allerdings handelt es sich dabei nicht um einen kompletten Antikörper, sondern um einen sogenannten *bispecific T-cell engager* (BiTE), der über die *Diabody*-Technologie hergestellt wird. Für dieses Molekül wurden die Gene für die variablen Regionen der leichten und schweren Antikörperketten so kombiniert, dass z. B. die V<sub>L</sub>-Kette eines Fragmentes Fv1 mit der V<sub>H</sub>-Kette des Fv2 bzw. die V<sub>H</sub>-Kette des Fv1 mit der V<sub>L</sub>-Kette des Fv2 durch einen geeigneten Glycin-*Linker* miteinander verbunden werden (Abbildung 3). Dadurch entstehen zwei V<sub>H</sub>/V<sub>L</sub>- bzw. V<sub>L</sub>/V<sub>H</sub>-Fusionsproteine, die in einer *Head-to-Tail*-Orientierung aneinander binden und relativ kompakte, wenn auch nichtkovalent miteinander verbundene Komplexe bilden. Diese bispezifischen Moleküle können zusätzlich stabilisiert werden, indem die beiden Fv-Fragmente über einen weiteren Glycin-*Linker* zu einem *single-chain diabody* verbunden werden. Blinatumumab bindet sowohl an das CD19-Antigen auf B-Zellen als auch – wie Catumaxomab – an CD3 auf T-Zellen. Dadurch werden die T-Zellen in der Nähe der entarteten B-Zellen aktiviert und führen zu deren Zerstörung.

Eine interessante Anwendung eines bispezifischen Antikörpermoleküls ist mit Emicizumab (Hemlibra<sup>®</sup>) gewählt worden [17]. Emicizumab bindet sowohl an den Blutgerinnungsfaktor IXa als auch an den Faktor X und bringt sie in räumliche Nähe zueinander, damit der Faktor IXa den Faktor X spalten und dadurch aktivieren kann. Bei gesunden Menschen übernimmt diese Aufgabe der Gerinnungsfaktor VIII. Bei Patienten mit Hämophilie A fehlt jedoch ein funktionsfähiger Faktor VIII und es kommt zu einer verstärkten Blutungsneigung, die nur über eine Substitution mit Faktor VIII therapiert werden kann. Allerdings bilden einige Hämophilie-A-Patienten neutralisierende Antikörper gegen den substituierten Faktor VIII, sogenannte Hemmkörper. Diesen Patienten kann in Deutschland seit März 2018 mit Emicizumab eine Therapiealternative angeboten werden.



**Abbildung 3: Rekombinante Antikörperfragmente.**

Ausgehend von einem kompletten Antikörper lassen sich die Gene für die variablen Regionen auf verschiedene Arten kombinieren. Neben einzelnen scFv-Molekülen gegen ein bestimmtes Antigen kann man sich auch kovalent verbundene bivalente scFv-Moleküle vorstellen, die als «*diabody*» gleichzeitig zwei verschiedene Antigene ansteuern. Diese scFv-Kombinationen zeichnen sich dadurch aus, dass sie keinen Fc-Teil eines Antikörpers besitzen und daher keine Effektorfunktionen von Antikörpern ausüben. Verschiedene andere Verknüpfungsmöglichkeiten über *Linker*-Peptide wurden ebenfalls getestet, von denen einige im Vergleich gezeigt sind.

Legende: scFv – *single-chain variable fragment*; V<sub>H</sub> – variable Region der schweren Kette; V<sub>L</sub> – variable Region der leichten Kette

### Antikörper-Fusionsproteine

Der «neonatale Fc-Rezeptor» (FcRn) sorgt im Körper dafür, dass aktiv Antikörper der Mutter über die Plazenta auf das noch ungeborene Kind übertragen werden. Jedoch findet sich dieser spezielle Rezeptor ausser in der Plazenta auch in einer Vielzahl anderer Gewebe und beeinflusst ausser der Transzytose von einer Zellseite zur anderen (z. B. Epithelien) vor allem auch das Recycling von endozytotisch aufgenommenen Antikörpern. Das bedeutet, dass Antikörper-Fc-Teile, die an diesen Rezeptor binden, eine relativ lange Plasmahalbwertszeit aufweisen und demzufolge weniger häufig appliziert werden müssen. Diese Beobachtung wurde für zielgerichtete Proteine übernommen, die allein zu instabil wären und durch die Fusion mit dem Fc-Teil eine deutlich verlängerte Eliminationshalbwertszeit haben. So besteht z. B. der Wirkstoff Etanercept (Enbrel<sup>®</sup>) aus einem Teil des TNF- $\alpha$ -Rezeptors und neutralisiert ähnlich wie Adalimumab die Wirkung des Zytokins. Mittlerweile sind einige Wirkstoffe zugelassen, die nach diesem Prinzip entwickelt wurden (Tabelle 3 im Anhang) [18].

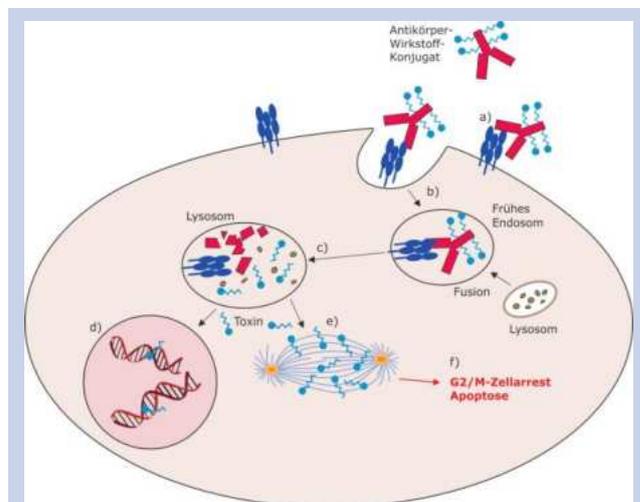
## Antikörper-Wirkstoff-Konjugate

Eine andere Weiterentwicklung der klassischen monoklonalen Antikörper sind Antikörper-Wirkstoff-Konjugate (*antibody drug conjugate*, ADC). Der Grundgedanke ist, ein hochtoxisches Therapieprinzip mithilfe des Antikörpers an eine Tumorzelle heranzuführen, ohne dass gesundes Gewebe signifikant in Mitleidenschaft gezogen wird. Hierzu werden sehr potente Toxine kovalent an geeignete Antikörper gekoppelt, die ihrerseits tumorassoziierte Antigene auf der Zielzelle erkennen und diese spezifisch binden [19]. In der Folge wird der Komplex aus Antigen und gebundenem Antikörper-Wirkstoff-Konjugat von der Tumorzelle internalisiert und gelangt in intrazelluläre Organellen, die Endosomen und Lysosomen. Durch das typische chemische Milieu in diesen Kompartimenten wird das Toxin vom Antikörper gelöst und der Antikörper proteolytisch degradiert (Abbildung 4). Das Toxin kann je nach Spezifität ganz unterschiedliche zelluläre Mechanismen stören. Die meisten zytotoxischen Komponenten der in der Entwicklung befindlichen ADC binden entweder an die kleine Furche der DNA und induzieren dort Strangbrüche, oder sie binden an Tubulin, was zu Störungen der Mikrotubuli-Architektur und -Funktion führt. Letztlich induzieren diese Mechanismen den Zelltod (Apoptose) der angesteuerten Zelle. Die Herstellung von ADC umfasst mehrere kritische Schritte, unter anderem:

- Wahl geeigneter Zielantigene, damit möglichst ausschliesslich Tumorzellen adressiert werden, wie z. B. Her2 bei Brustkrebs, das von Trastuzumab emtansin (Kadcyla<sup>®</sup>) erkannt wird oder CD30, an das Brentuximab vedotin (Adcetris<sup>®</sup>) bindet.
- Bereitstellung neuartiger und hochwirksamer Toxine, die als isolierte Zytostatika nicht in Frage kommen, z. B. Auristatine, Maytansinoide oder Calicheamicine.
- Entwicklung ausreichend stabiler *linker*, wie z. B. Dipeptid- und Thioether-*Linker*, die das Toxin bis zur Internalisierung sicher an dem Antikörper fixieren, es dann aber in der Zelle freigeben.
- Entwicklung effizienter Konjugationstechnologien, damit die Komponenten mit hoher Ausbeute hergestellt werden können.

## Nomenklatur der Antikörper

Der Name des 1986 als erster zugelassenen Antikörpers Muromonab-CD3 leitet sich ab von «*murine monoclonal antibody* gegen CD3». Mittlerweile hat eine Arbeitsgruppe der Weltgesundheitsorganisation eine einheitliche Nomenklatur der internationalen Freinamen therapeutischer Antikörper erarbeitet [20]. Demzufolge soll sich der Wirkstoff-name aus einer wirkstoffspezifischen Vorsilbe, einem Wortstamm A, einem Wortstamm B und einer Nachsilbe zusammensetzen (Tabelle 2).



**Abbildung 4: Wirkmechanismus von Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten (ADC).**

Legende: a) Bindung des ADC; b) Internalisierung; c) enzymatische Spaltung des ADC; d) DNA-Strangbrüche; e) Störungen der Mikrotubuli; f) Apoptose

Die Nachsilbe bezeichnet die Wirkstoffgruppe der monoklonalen Antikörper und lautet immer «-mab»; insofern wich Muromonab-CD3 noch von dieser Nomenklatur ab. Alle Wirkstoffe, die eine bestimmte Antigenerkennungsdomäne, also eine variable Region aufweisen, erhalten diese Nachsilbe. Deshalb heisst das Fusionsprotein aus einem Teil des TNF- $\alpha$ -Rezeptors und dem Fc-Teil eines Antikörpers Etanercept (Enbrel<sup>®</sup>), während das pegylierte Fab-Fragment gegen TNF- $\alpha$  Certolizumabpegol (Cimzia<sup>®</sup>) genannt wurde.

Der Wortstamm B nimmt Bezug auf die Spezies, aus der der Antikörper stammt, beziehungsweise ob eine Humanisierung des Moleküls stattgefunden hat. Die Indikation oder auch das Ziel, gegen das der Antikörper gerichtet ist, lässt sich aus dem Wortstamm A herleiten. Die Vorsilbe sollte einzigartig sein, den Wirkstoff individuell benennen und insgesamt einen möglichst wohlklingenden Namen ergeben. Sollten bei der Kombination der Silben für Wortstamm A und B Konsonanten aufeinandertreffen, kann für die leichtere Aussprache ein entsprechender Vokal eingefügt werden. Beispielsweise setzt sich der Wirkstoffname Ustekinumab aus Uste-ki-n-u-mab zusammen, wobei die Bezeichnungen «-k(i)-» für ein Interleukin als Ziel-Antigen und «-u-» für einen humanen Antikörper in diesen Fall mit einem «n» zu «-kinumab» verbunden wurden.

Trägt ein Antikörper einen radioaktiven Tracer, wird dem Antikörpernamen der Isotopname, das Elementsymbol und die Isotopennummer vorangestellt (z. B. Y-90-Ibritumomab-Tiuxetan, Zevalin<sup>®</sup>). Bei einer Kopplung eines Antikörpers mit einer anderen Substanz, z. B. einem Toxin oder einem Zytostatikum, wird ein zweiter Begriff dem Antikörpernamen nachgestellt (z. B. Trastuzumab Emtansin, Kadcyla<sup>®</sup>).

**Tabelle 2: Nomenklatur für Wirkstoffnamen bei Antikörpern**

Silbe	Bedeutung	Beispiel
<b>Allgemeine Wirkstoffendung (Nachsilbe)</b>		
-mab	Monoklonaler Antikörper	Inflixi-mab
<b>Quellorganismus (Wortstamm B)</b>		
-u-	Mensch	Adalim-u-mab
-o-	Maus	Sules-o-mab
-a-	Ratte	
-e-	Hamster	
-i-	Primat	
-zu-	Humanisiert	Trastu-zu-mab
-xi-	Chimär	Infli-xi-mab
-axo-	Ratte/Maus	Catum-axo-mab
-xizu-	Kombination aus humanisierten und chimären Ketten	
<b>Krankheit oder Ziel (Wortstamm A)</b>		
-b(a)-	Bakterien	Pagi-ba-ximab
-c(i)-	Kardiovaskulär	Ab-ci-ximab
-f(u)-	Pilze	
-k(i)-	Interleukin	Ixe-ki-zumab
-l(i)-	Immunmodulierend	Ada-li-mumab
-n(e)-	Nervensystem	
-s(o)-	Knochen	Deno-s-umab
-tox(a)-	Toxin	Atidor-tox-umab
-t(u)-	Tumor	Pani-tu-mumab
-v(i)-	Virus	Pali-vi-zumab

## Therapiegebiete

Allein im Jahr 2017 erhielten in Deutschland 20 neue Antikörper eine Zulassung, davon waren 11 Biosimilars zu den bekannten Antikörpern Adalimumab (Humira®), Rituximab (MabThera®) und Trastuzumab (Herceptin®). Nachdem das Patent der älteren Antikörper abgelaufen war, standen bereits einige Firmen mit Nachahmerprodukten in den Startlöchern. Im Gegensatz zu kleinen synthetischen Molekülen sind rekombinante Proteine wesentlich komplexer und können nicht einfach wie Generika auf den Markt gebracht werden. Die europäische Zulassungsbehörde EMA hat speziell für Proteinwirkstoffe ein eigenes Zulassungsverfahren etabliert, das vor allem auf dem Nachweis der physikochemischen Vergleichbarkeit des neuen Moleküls im Vergleich zum Referenzwirkstoff beruht. Dadurch entfallen grosse klinische Studien zur Wirksamkeit [21]. Mittlerweile sind in Deutschland 249 gentechnisch hergestellte Arzneimittel mit 197 Wirkstoffen zugelassen (Stand 06/2018) [22], von denen 78 monoklonale Antikörper, Biosimilar-Antikörper und Antikörperfragmente sind. Die meisten Indikationen für diese Antikörper können unter den grossen Überbegriffen Autoimmunerkrankungen wie rheumatoide Arthritis, Psoriasis, entzündliche Darmerkrankungen und dann natürlich Tumorerkrankungen subsummiert werden [8, 23]. Zum Teil überschneiden sich hier auch die Indikationen einzelner Antikörper (Tabelle 3 im Anhang), wie z. B. bei Rituximab (MabThera®), der nicht nur zur Elimination von B-Zellen beim Non-Hodgkin-Lymphom, sondern auch bei der rheumatoiden Arthritis eingesetzt wird.

Die Ratio hinter diesen Indikationen liegt in der Natur der Antikörper, die durch ihre sehr spezifische Bindung sowohl neutralisieren als auch über den Fc-Teil ADCC und/oder CDC induzieren können. Bei Autoimmunerkrankungen steht vor

allem die Neutralisation überschüssiger Zytokine wie z. B. der proinflammatorischen Botenstoffe TNF- $\alpha$ , Interleukin(IL)-1 oder -6 beispielsweise mit Certolizumab pegol, Adalimumab, Golimumab oder aber Canakinumab bzw. Siltuximab im Vordergrund. Mit der genaueren Kenntnis darüber, welche Zytokine an einzelnen Autoimmunerkrankungen beteiligt sind, werden weitere Signalmoleküle (z. B. mit Ixekizumab gegen IL-17A) oder aber deren Rezeptoren (z. B. mit Brodalumab gegen IL-17RA) adressiert. Dadurch wird verhindert, dass das Immunsystem weiterhin überaktiv reagiert und körpereigene Strukturen zerstört. Die eigentliche Gewebeerstörung bei Autoimmunerkrankungen vermitteln Autoantikörper, die von autoreaktiven B-Zellen gebildet werden, und autoreaktive T-Zellen. Einige Antikörper greifen genau bei diesen Immunzellen an und verhindern entweder, dass sie in die entzündeten Gewebe auswandern (z. B. Natalizumab) oder markieren sie für CDC und ADCC (z. B. Alemtuzumab oder Ocrelizumab).

Gerade der Aspekt der Zerstörung von unerwünschten Zellen über CDC und ADCC ist ein Ansatz, der in der Tumorthherapie vielfach angewendet wird. Zwei der ältesten Antikörper, Rituximab und Trastuzumab, wurden genau zu diesem Zweck für die Therapie des folliculären Lymphoms bzw. des Mammakarzinoms entwickelt. Mittlerweile gibt es nicht nur «normale» Antikörper, die gezielt Tumorantigene ansteuern, sondern auch extra «bewaffnete» Moleküle, die entweder ein starkes Zytotoxin (Trastuzumab emtansin) oder ein radioaktives Isotop an die Tumorzelle (Ibritumomab Tiuxetan) bringen, um sie abzutöten.

Ähnlich wie bei Autoimmunerkrankungen Zytokine mithilfe von Antikörpern neutralisiert werden, sind bei Tumorerkrankungen Wachstumshormonrezeptoren (z. B. Olaratumab) oder Angiogenesefaktoren (z. B. Bevacizumab) Angriffspunkte, die die Proliferation der Tumorzellen und das Karzinomwachstum verhindern.

Einen ganz neuen Therapieansatz bei Tumorerkrankungen beschreiten mittlerweile die sogenannten Checkpoint-Inhibitoren Atezolimumab, Avelumab, Ipilimumab, Nivolumab oder Pembrolizumab. Sie verhindern, dass Tumorzellen ein inhibierendes Signal auf spezifische T-Zellen ausüben und stimulieren so das körpereigene Immunsystem, selbst gegen den Tumor aktiv zu werden.

Erstaunlicherweise sind mit Palivizumab (Synagis®) und Bezlotoxumab (Zinplava®) nur zwei monoklonale Antikörper verfügbar, die zur passiven Immunisierung eingesetzt werden – eine Indikation, die man ja üblicherweise mit Immunglobulin-Präparaten verbindet.

Interessant sind auch die zahlreichen anderen Indikationen, für die einzelne Antikörper entwickelt wurden (Tabelle 3 im Anhang), ebenfalls aus der Rationale heraus, dass Moleküle spezifisch gebunden und blockiert oder aber in räumliche Nähe zueinander gebracht werden.

Nachteil aller Antikörper und -fragmente ist, dass sie als Protein-Therapeutika nicht oral bioverfügbar sind und immer parenteral appliziert werden müssen. Die einfachere Variante, die z. T. sogar von entsprechend angeleiteten Patienten oder

Betreuungspersonen durchführbar ist, ist die subkutane Applikation, z. B. bei Etanercept oder Alirocumab. Sehr viel aufwändiger ist demgegenüber die intravenöse Tropfinfusion, die z. B. bei Infliximab über mindestens 1 bis 2 Stunden verabreicht und anschliessend noch 1 bis 2 Stunden nachbeobachtet werden muss. Bei Abatacept ist es hingegen von der Indikation abhängig, ob der Wirkstoff subkutan oder intravenös verabreicht wird. Eine ganz besondere Applikationsform muss bei Ranibizumab angewendet werden, das 1-mal monatlich intravitreal verabreicht werden muss. Genauere Informationen über die jeweiligen Applikationswege liefern die EPAR-Monographien der europäischen Zulassungsbehörde (<http://www.ema.europa.eu>).

## Fazit

Ein Blick auf die Liste der zugelassenen monoklonalen Antikörper zeigt das Potenzial dieser Moleküle als Therapeutika. Das wird noch bestätigt durch die Tatsache, dass sich derzeit rund 400 monoklonale Antikörper in verschiedenen Stadien klinischer Studien befinden. Der Vorteil liegt auf der Hand: Die Entwicklung ist verhältnismässig einfach, die Spezifität ist enorm und die Verträglichkeit ist hoch. Dennoch bleibt das Problem, dass es sich um Proteine handelt, die immer parenteral appliziert werden müssen.

## Literatur

Das komplette Literaturverzeichnis finden Sie auf [www.online-academy.ch](http://www.online-academy.ch)

## online Lernkontrolle

Die dazugehörige Lernkontrolle sowie weitere Fortbildungsbeiträge finden Sie auf [www.online-academy.ch](http://www.online-academy.ch)

## Autorin



**Dr. phil. nat. Ilse Zündorf**

Akademische Oberrätin, Frankfurt am Main (D)

## Ihr Weg zum Fortbildungserfolg

1. Im Internet [www.online-academy.ch](http://www.online-academy.ch) besuchen
2. Kostenlos für Test-Zugang registrieren
3. Mit online-Fragebogen Ihren Lernerfolg überprüfen

Wünschen Sie mehr FPH-akkreditierte Fortbildung? Dann suchen Sie sich online das für Sie passende kostenpflichtige Abonnement aus!

## Wissenschaftlicher Beirat

Prof. Dr. Theo Dingermann, Frankfurt (D)

Prof. Dr. Gerrit Borchard, Genf (CH)

Dr. Karin Nemeč, Wien (A)

Prof. Dr. Manfred Schubert-Zsilavecz, Frankfurt (D)

## Herausgeber

pnn pharma nation network ag

Kirchgasse 42, 8001 Zürich

T: 044 225 15 00, F: 044 225 15 06

E: [online-academy@pnn.ch](mailto:online-academy@pnn.ch), [www.online-academy.ch](http://www.online-academy.ch)

## Anhang

**Tabelle 1: Eigenschaften der Immunglobulin-Isotypen (mod. nach [3])**

Isotyp	IgM	IgD	IgG				IgA		IgE
Charakteristika	10 % der Immunglobuline; Pentamer; keine Gelenkregion, 4 C <sub>H1</sub> -Domänen	< 1 % der Gesamtglobuline	Hauptimmunglobulin (70–75 %); Monomer; lange Halbwertszeit (7–20 d)				15–20 % der Immunglobuline; Monomer und Dimer möglich		Keine Gelenkregion, 4 C <sub>H1</sub> -Domänen
Unterteilung			IgG <sub>1</sub>	IgG <sub>2</sub>	IgG <sub>3</sub>	IgG <sub>4</sub>	IgA <sub>1</sub>	IgA <sub>2</sub>	
<b>Funktionen</b>									
Neutralisierung	+	–	++	++	++	++	++		–
Opsonisierung	+	–	+++	*	++	+	+		–
Anfälligkeit für Zerstörung durch NK-Zellen	–	–	++	–	++	–	–		–
Sensibilisierung von Mastzellen	–	–	+	–	+	–	–		+++
Aktivierung des Komplementsystems	+++	–	++	+	+++	–	+		–
<b>Verteilung</b>									
Vorkommen auf B-Zelloberfläche	Ja	Ja	–	–	–	–	–		–
Transport durch das Epithel	+	–	–	–	–	–	+++ (Dimer)		–
Transport über die Plazenta	–	–	+++	+	++	+/-	–		–
Diffusion zu extravaskulären Stellen	+/-	–	+++	+++	+++	+++	++ (Monomer)		+
Mittlere Serumkonzentration [mg/ml]	1,5	0,04	9	3	1	0,5	2,1		3 x 10 <sup>-3</sup>

\* IgG<sub>2</sub> wirkt in Gegenwart eines Fc-Rezeptors des entsprechenden Allotyps als Opsonin

Legende: C<sub>H</sub> – konstante Region der schweren Kette; d – Tag(e); NK-Zellen – natürliche Killerzellen

**Tabelle 3: In der Schweiz zugelassene Antikörper, Antikörperfragmente und Fusionsproteine (Stand 05/18)**

Wirkstoffklasse	Präparat	Indikation	Molekülbeschreibung
Abatacept	Orencia®	Rheumatoide Arthritis; aktive polyartikuläre juvenile idiopathische Arthritis; Psoriasisarthritis	Fusionsprotein aus dem Fc-Teil eines humanen IgG <sub>1</sub> -Antikörpers und der extrazellulären Domäne von humanem CTLA-4
Abciximab	ReoPro®	Antithrombotikum	Chimäres Fab-Fragment gegen Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptoren
Adalimumab	Humira®	Plaque-Psoriasis; Psoriasis-Arthritis; rheumatoide Arthritis; axiale Spondyloarthritis; Morbus Crohn; Colitis ulcerosa; polyartikuläre juvenile idiopathische Arthritis und aktive Enthesitis-assoziierte Arthritis; Hidradenitis suppurativa; nicht infektiöse Uveitis	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen TNF- $\alpha$
Aflibercept	Eylea®	Altersbedingte feuchte Makuladegeneration; Makula-ödem; choroidale Neovaskularisation infolge von Myopie	Fusionsprotein aus Fragmenten der extrazellulären Domänen der humanen VEGF-Rezeptoren 1 und 2 mit dem Fc-Fragment des humanen IgG <sub>1</sub>
	Zaltrap®	Metastasierendes Kolorektalkarzinom	
Alemtuzumab	Lemtrada®	Multiple Sklerose	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CD52 auf T- und B-Zellen
Alirocumab	Praluent®	Primäre Hypercholesterinämie; gemischte Dyslipidämie	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen Proproteinconvertase Subtilisin Kexin Typ 9 (PCSK9)
Atezolimumab	Tecentriq®	Urothelkarzinom; nichtkleinzelliger Lungenkrebs	Im Fc-Teil modifizierter humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen PD-L1
Avelumab	Bavencio®	Merkelzellkarzinom	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen PD-L1
Basiliximab	Simulect®	Abstossung von Nierentransplantaten	Chimärer Antikörper gegen die $\alpha$ -Kette (CD25-Antigen) des IL-2-Rezeptors
Belatacept	Nulojix®	Abstossung von Nierentransplantaten	Fusionsprotein aus der modifizierten extrazellulären Domäne des humanen CTLA-4 und dem Fc-Teil des humanen IgG <sub>1</sub>
Belimumab	Benlysta®	Systemischer Lupus erythematoses	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen das lösliche humane B-Lymphozyten-Stimulator-Protein (BlyS, auch BAFF oder TNFSF13B genannt)
Besilesomab	Scintimun®	Nuklearmedizinisches Diagnostikum zur Entzündungs- und Infektionserkennung	Muriner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen NCA-95 ( <i>non specific cross-reacting antigen 95</i> ) auf Granulozyten, wird mit mit einer Natriumpertechnetat ( <sup>99m</sup> Tc)-Lösung radiomarkiert
Bevacizumab	Avastin®	Krebs des Kolons oder Rektums; metastasiertes Mamma-karzinom; fortgeschrittener nichtkleinzelliger Lungenkrebs; fortgeschrittener oder metastasierter Nierenkrebs; Ovarial-epithelkarzinom; Krebs des Eileiters oder des Bauchfells; persistenter, rezidivierender oder metastasierter Gebärmutterhalskrebs	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen VEGF
Bezlotoxumab	Zinplava®	Prävention von häufigen <i>Clostridium difficile</i> -Infektionen	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen <i>Clostridium difficile</i> Toxin B
Blinatumomab	Blinicyto®	Akute lymphatische Leukämie	Bispezifisches T-Zell-verstärkendes Antikörperfragment (BiTE) gegen CD19 auf B-Zellen und gegen CD3 auf T-Zellen
Brentuximab vedotin	Adcetris®	Hodgkin-Lymphom; systemisches anaplastisches grosszelliges Lymphom; CD30-positives kutanes T-Zell-Lymphom	Chimärer IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CD30 mit 3–5 kovalent verknüpften Antimikrotubuli-Wirkstoffmolekülen Monomethyl-Auristatin E (MMAE)
Canakinumab	Illaris®	Cryopyrin-assoziierte periodische Syndrome	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen IL-1 $\beta$
Certolizumab pegol	Cimzia®	Rheumatoide Arthritis; axiale Spondyloarthritis; Psoriasis-Arthritis	Humanisiertes Antikörper-Fab'-Fragment gegen TNF- $\alpha$ , konjugiert mit Polyethylenglycol
Cetuximab	Erbix®	EGFR-exprimierendes Kolorektalkarzinom mit Ras-Wildtyp; Plattenepithelkarzinom im Kopf- und Halsbereich	Chimärer IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen EGFR
Daratumumab	Darzalex®	Multipl. Myelom	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CD38
Denosumab	Prolia®	Osteoporose; Knochenschwund bei Prostatakrebs	Humaner IgG <sub>2</sub> -Antikörper gegen RANKL ( <i>receptor activator of NF-<math>\kappa</math>B ligand</i> )
Eculizumab	Soliris®	Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie; atypisches hämolytisch-urämisches Syndrom	Humanisierter IgG <sub>2c</sub> -Antikörper gegen das Komplementprotein C5
Efmoroctocog alfa	Elocta®	Hämophilie A	Fusionsprotein aus Blutgerinnungsfaktor VIII und Fc-Teil eines IgG <sub>1</sub> -Antikörpers
Eftrenonacog alfa	Alprolix®	Hämophilie B	Fusionsprotein aus Blutgerinnungsfaktor IX und Fc-Teil eines IgG <sub>1</sub> -Antikörpers
Elotuzumab	Empliciti®	Multipl. Myelom	Immunaktivierender, humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen SLAMF7 ( <i>signaling lymphocyte activation molecule family member 7</i> )
Etanercept und Biosimilars	Enbrel® Erelzi®	Rheumatoide Arthritis; juvenile idiopathische Arthritis; Psoriasis-Arthritis; schwerer Morbus Bechterew; Plaque-Psoriasis; schwere nichtströmungslogische axiale Spondyloarthritis	Fusionsprotein aus dem Fc-Teil eines humanen IgG <sub>1</sub> -Antikörpers und dem TNF-Rezeptor-2-p75
Evolocumab	Repatha®	Primäre Hypercholesterinämie; gemischte Dyslipidämie; homozygote familiäre Hypercholesterinämie	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen Proproteinconvertase Subtilisin Kexin Typ 9 (PCSK9)
Golimumab	Simponi®	Rheumatoide Arthritis; Psoriasis-Arthritis; axiale Spondyloarthritis; Colitis ulcerosa; polyartikuläre juvenile idiopathische Arthritis	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen TNF- $\alpha$
Ibritumomab Tiuxetan	Zevalin®	Non-Hodgkin-Lymphom	Muriner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CD20 auf B-Zellen zur Markierung mit Yttrium-90
Idarucizumab	Praxbind®	Antidot zu Dabigatran	Humanisiertes Fab-Antikörperfragment gegen Dabigatran

Infliximab und Biosimilars	Remicade <sup>®</sup> , Inflectra <sup>®</sup> , Remsima <sup>®</sup>	Morbus Crohn; rheumatoide Arthritis; Colitis ulcerosa; ankylosierende Spondylitis; Psoriasis	Chimärer IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen TNF- $\alpha$
Inotuzumab ozogamicin	Besponsa <sup>®</sup>	Akute lymphatische Leukämie	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CD22, kovalent an N-Acetyl-Gamma-Calicheamicin-Dimethylhydrazid gebunden
Ipilimumab	Yervoy <sup>®</sup>	Fortgeschrittenes Melanom	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CTLA-4
Ixekizumab	Taltz <sup>®</sup>	Plaque-Psoriasis	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen IL-17A
Mepolizumab	Nucala <sup>®</sup>	Eosinophiles Asthma	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen IL-5
Natalizumab	Tysabri <sup>®</sup>	Schubförmig remittierende multiple Sklerose	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen $\alpha$ 4-Integrin
Nivolumab	Opdivo <sup>®</sup>	Nichtkleinzelliges Lungenkarzinom (NSCLC); fort- geschrittenes Nierenzellkarzinom; klassisches Hodgkin- Lymphom; fortgeschrittenes Melanom; Plattenepithel- karzinom im Kopf- und Halsbereich (SCCHN), Urothelkrebs	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen den PD-1-Rezeptor
Obinutuzumab	Gazyvaro <sup>®</sup>	Chronische lymphatische Leukämie; follikuläres Lymphom	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CD20
Ocrelizumab	Ocrevus <sup>®</sup>	Schubförmig verlaufende multiple Sklerose; primär progrediente multiple Sklerose	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CD20
Ofatumumab	Arzerra <sup>®</sup>	Chronische lymphatische Leukämie	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CD20
Olaratumab	Lartruvo <sup>®</sup>	Weichteilsarkom	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen PDGFR $\alpha$ ( <i>platelet derived growth factor receptor <math>\alpha</math></i> )
Omalizumab	Xolair <sup>®</sup>	Schweres allergisches Asthma; chronische Urtikaria	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen IgE-Antikörper
Palivizumab	Synagis <sup>®</sup>	Atemwegsinfektionen durch RS-Virus (Prävention)	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen das A-Epitop des Fusionsproteins des RS-Virus
Panitumumab	Vectibix <sup>®</sup>	Kolorektalkarzinom mit Ras-Wildtyp	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen EGFR
Pembrolizumab	Keytruda <sup>®</sup>	Fortgeschrittenes Melanom; nichtkleinzelliger Lungenkrebs; klassisches Hodgkin-Lymphom; fortgeschrittener Urothelkrebs	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen den PD-1-Rezeptor
Pertuzumab	Perjeta <sup>®</sup>	Metastasierter Brustkrebs	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor 2 (HER2)
Ramucirumab	Cyramza <sup>®</sup>	Fortgeschrittenes Magenkarzinom; Adenokarzinom des gastroösophagealen Übergangs; metastasiertes Kolorektal- karzinom; fortgeschrittenes nichtkleinzelliges Lungen- karzinom	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen den VEGF-Rezeptor 2
Ranibizumab	Lucentis <sup>®</sup>	Altersbedingte feuchte Makuladegeneration; durch Diabetes verursachtes Makulaödem; durch Verschluss der Netzhaut- venen verursachtes Makulaödem; gestörtes Sehvermögen infolge choroidaler Neovaskularisation	Fab-Fragment eines humanisierten Antikörpers gegen VEGF-A
Reslizumab	Cinqaero <sup>®</sup>	Eosinophiles Asthma	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen IL-5
Rituximab	Mabthera <sup>®</sup>	Follikuläres Lymphom; diffuses grosszelliges Non-Hodgkin-B- Zelllymphom; chronische lymphozytäre Leukämie; schwere rheumatoide Arthritis; Granulomatose mit Polyangiitis; mikroskopische Polyangiitis	Chimärer IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen CD20
Romiplostim	Nplate <sup>®</sup>	Chronische immuntrombozytopenische Purpura	Fusionsprotein (« <i>peptibody</i> ») aus IgG <sub>1</sub> -Fc-Teil, an C-Terminus mit Peptidkette mit 2 TPO-Rezeptor-bindenden Domänen
Sarilumab	Kevzara <sup>®</sup>	Rheumatoide Arthritis	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen den IL-6-Rezeptor
Secukinumab	Cosentyx <sup>®</sup>	Plaque-Psoriasis; psoriatische Arthritis; Spondylitis ankylosans	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen IL-17A
Siltuximab	Sylvant <sup>®</sup>	Castleman-Krankheit	Chimärer IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen IL-6
Tocilizumab	Actemra <sup>®</sup>	Rheumatoide Arthritis; aktive systemische juvenile idiopathische Arthritis; juvenile idiopathische Polyarthritits	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen den IL-6-Rezeptor
Trastuzumab	Herceptin <sup>®</sup>	Brustkrebs im Frühstadium und metastasierter Brustkrebs; metastasierter Magenkrebs	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor 2 (HER2)
Trastuzumab emtansin	Kadcyla <sup>®</sup>	Fortgeschrittener oder metastasierter Brustkrebs	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor 2 (HER2), über stabilen Thioether- <i>Linker</i> MCC (4-[N-Maleimidomethyl]cyclohexan-1-carboxylat) kovalent an den Mikrotubuli-Hemmer DM1 gebunden
Ustekinumab	Stelara <sup>®</sup>	Plaque-Psoriasis; aktive psoriatische Arthritis; Morbus Crohn	Humaner IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen IL-12/23
Vedolizumab	Entyvio <sup>®</sup>	Morbus Crohn; Colitis ulcerosa	Humanisierter IgG <sub>1</sub> -Antikörper gegen $\alpha$ 4 $\beta$ 7-Integrin

Legende: CTLA-4 – zytotoxisches T-Lymphozyten-assoziiertes Antigen 4; EGFR – epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor; IL – Interleukin; PD – programmed death; PD-L1 – programmed death ligand 1; RS-Virus – respiratory syncytial virus; TNF- $\alpha$  – Tumornekrosefaktor  $\alpha$ ; VEGF – vascular endothelial growth factor