



STEM CELLS BUSINESS

Рынок препаратов для мобилизации гемопоэтических предшественников: время перемен?

А.В. Куртова

Лаборатория клинической иммунологии и молекулярной диагностики,
Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. акад. И.П. Павлова

Hematopoietic progenitors mobilization market: Is there time to change?

A.V. Kurtova

Laboratory of Clinical Immunology and Molecular Diagnostics, Pavlov state Medical University, St.-Petersburg

В работе представлен обзор основных препаратов для мобилизации гемопоэтических предшественников с кратким анализом развития рынка данных услуг. Особое внимание уделено новым препаратам для мобилизации с перспективами широкого клинического применения.

Ключевые слова: мобилизация, ГСК, онкогематология, регенерационная терапия.

The purpose of this review is to perform a comprehensive comparative analysis of different hematopoietic progenitor's mobilizers with short excursus to mobilizers' market development. Special attention is paid to the new drugs with great clinical perspectives.

Key words: mobilization, HSC, oncohematology, regeneration therapy.

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) периферической крови, полученных в результате мобилизации и последующих процедур афереза, к настоящему времени успешно внедрена в практику лечения различных онкологических, онкогематологических и, в ряде случаев, аутоиммунных заболеваний. Первые попытки использовать периферическую кровь в качестве источника ГСК требовали большого количества аферезов (часто 7 и более) и были осложнены медленным приживлением [1]. В начале 1970-х годов было доказано, что при введении таких веществ, как сульфат декстрана, адренкортикотропин и эндотоксин, а также при напряженной физической нагрузке количество циркулирующих клеток-предшественников в кровяном русле повышается. Увеличение содержания ГСК в 2–4 раза и последующее снижение до нормального уровня позволило предположить, что выход ГСК в периферическую кровь можно стимулировать [2]. Первые протоколы мобилизации были основаны на применении миелосупрессивной терапии, прежде всего, циклофосфана в высоких дозах. Значительным ограничением данного подхода были осложнения, ассоциированные с выраженной нейтропенией, а также невозможность предсказать время начала афереза. Более того, у предлеченных пациентов эффективность мобилизации с использованием миелосупрессивной терапии была чрезвычайно низка [3]. Внедрение в практику гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) — первоначально именно для преодоления нейтропении — позволило значительно повысить эффективность мобилизации, и сделать более прогнозируемым время начала афереза. С этого момента у врачей появился выбор стратегий мобилизации — только миелосупрессивная терапия, миелосупрессивная терапия плюс цитокины или применение ростовых факторов в качестве единственного агента.

Достаточно долгое время препараты Г-КСФ и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) были единственными на рынке мобилизующих агентов. Позднее, когда более детально был изучен сам биологический процесс мобилизации ГСК, стали появляться новые препараты с более выраженным целевым механизмом действия.

Краткая биологическая характеристика препаратов для мобилизации

Г-КСФ представлен на рынке двумя основными торговыми марками — **Neupogen® (filgrastim, филграстим, Amgen)** и **Granocyte® (lenograstim, ленограстим, Sanofi Aventis)**. Оба препарата являются рекомбинантными белками, которые, обладая, единой аминокислотной последовательностью, различаются по степени гликозилирования, что связано с разными системам наработки (E. coli для филграстима и линия опухолевых клеток млекопитающего для ленограстима). Принципиально степень гликозилирования, аутентичная человеку, повышает аффинность связывания препарата с рецептором к Г-КСФ. Это приводит к тому, что при использовании гликозилированной (ленограстим) и негликозилированной (филграстим) форм Г-КСФ в одинаковых дозировках количество мобилизованных CD34⁺ ГСК при использовании ленограстима на 27% выше, чем при использовании филграстима [4]. Кроме того, высокая степень гликозилирования делает ленограстим более устойчивым к действию протеаз, изменениям температуры и pH. При хранении филграстима необходимо строго соблюдать температурный режим (+4°C) [5].

Стремление получить препарат, более устойчивый к действию протеаз, привело к созданию пегилированной формы Г-КСФ (**pegfilgrastim**), выпускаемой под маркой **Neulasta® (Amgen)**. Данный препарат представляет собой Г-КСФ

Адрес для корреспонденции: antonina.kurtova@gmail.com

с дополнительной молекулой полиэтиленгликоля, что делает его устойчивым к протеолитическому расщеплению и замедляет скорость выведения из организма. По мобилизующей активности препарат сопоставим с филграстимом, однако было показано, что трансплантат, полученный с использованием пегилированной формы Г-КСФ, снижает риск развития реакции трансплантат-против-хозяина (РТПХ) за счет экспансии II-10 продуцирующих Т-регуляторных клеток [6].

Рекомбинантный ГМ-КСФ (**sagramostim**), представленный маркой Leukine® (**Berlex/Schering AG**), первоначально также активно использовался для мобилизации. Сейчас его применение для данных целей заметно сократилось, однако, в случае немобилизуемых пациентов совместное назначение ГМ-КСФ и Г-КСФ позволяет добиться хороших клинических результатов [7]. Вероятно, его применение все же будет расширено в связи с потенциальной возможностью мобилизовать предшественники дендритных клеток, что чрезвычайно востребовано в посттрансплантационной иммунотерапии [8].

Среди рекомендованных в настоящее время к широкому клиническому использованию препаратов для мобилизации также стоит отметить рекомбинантный негликозилированный аналог человеческого SCF (stem cell factor) – **ancestim**, нарабатываемый с использованием *E. coli*. Выпускаемый под торговой маркой **Stemgen**® (**Amgen**), данный препарат имеет в качестве единственного показания к применению мобилизацию ГСК при планировании аутологичной трансплантации у сильно предлеченных пациентов с высоким риском плохого ответа на мобилизацию. Самостоятельная мобилизующая активность у препарата невысока, поэтому он не рекомендован к применению в качестве моноагента: показано только совместное использование с филграстимом в связи с выраженным синергизмом в действии, что актуально для повышения эффективности мобилизации [9]. Главным ограничением использования является наличие рецепторов к SCF на поверхности тучных клеток, что резко увеличивает риск развития системных аллергических реакций.

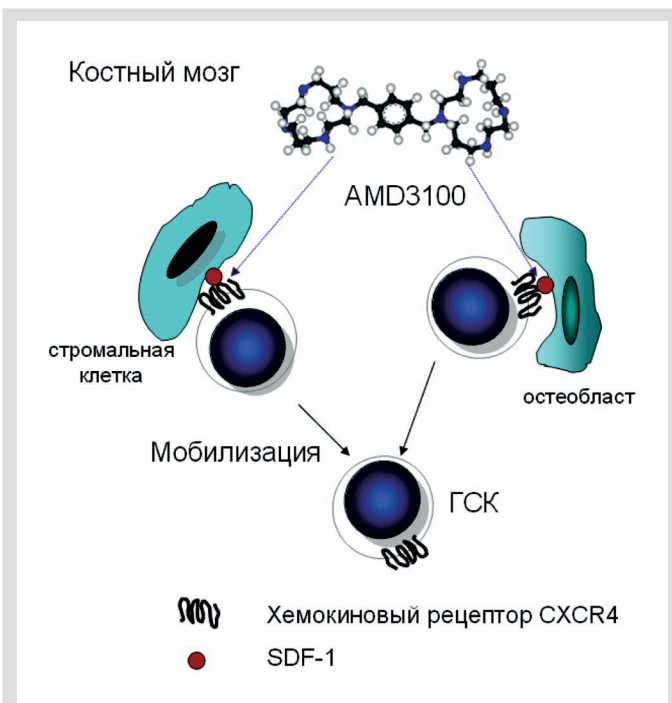
Безусловным фаворитом среди препаратов, заканчивающих клинические испытания, является селективный антагонист хемокинового рецептора CXCR4 – AMD3100 – **plerixafor**, коммерческое название – **Mozobil**™ (**Genzyme**, ранее – **AnorMed**). Эта разработка является отличным примером целевого воздействия мобилизующего агента на контакты ГСК с костномозговым микроокружением. Взаимодействие CXCR4 с его нативным лигандом SDF-1 (stromal-cell derived factor-1) играет принципиальную роль в процессах направленной миграции ГСК. Блокируя данное взаимодействие, препарат вызывает быструю (в течение 4–11 часов) и достаточно эффективную миграцию ГСК в периферический кровоток (рис.), причем этот эффект дозозависимый, а последовательное введение препарата в течение трех дней не повышает эффективности мобилизации [10]. Принципиальным с биологической точки зрения фактом является отсутствие протеолитического воздействия на CXCR4 при мобилизации с использованием AMD3100, что позволяет мобилизовать ГСК с нативной структурой данного рецептора и сохранить высокий потенциал к хомингу. AMD3100 может быть назначен в качестве единственного агента и практически не имеет побочных эффектов, что является значительным преимуществом при использовании у здоровых доноров [11].

Попытки создания целевых агентов не ограничиваются AMD3100, однако остальные проекты не обрели такого успеха. В частности, препарат **leridistim** (**myelopoietin**), химерный белок, состоящий из Г-КСФ и интерлейкина-3 (ИЛ-3), прошел третью фазу клинических испытаний в качестве агента для мобилизации, реализуемой с применением химиотерапии

у онкогематологических пациентов, еще в 2000 году [12], однако до сих пор его внедрение в клиническую практику не получило развития. Аналогичная ситуация сложилась с препаратом **daniplestim** (**GD Searle&Co**), представляющим собой высокоэффективный агонист рецепторного комплекса к ИЛ-3. На второй фазе клинических испытаний у предлеченных пациентов с лимфомой и раком груди была показана безопасность применения данного агента совместно с Г-КСФ, однако преимущество совместного использования было выражено только при проведении дополнительных процедур афереза [13]. Дальнейшего внедрения препарат не получил.

Методами генной инженерии были также созданы химерные белки ГМ-КСФ-ИЛ-3 (**PIXY-321**) и Г-КСФ-flt3-L (**progenipointin**, **PrGP**). Клинические испытания первого препарата как мобилизующего агента начались более десяти лет назад [14], однако развития не имели. Исследования второго препарата находятся на стадии доклинических испытаний и сосредоточены в большей степени на характеристиках клеточных компонентов трансплантатов: в частности, NKT-клеток и предшественников дендритных клеток [15] в контексте усиления эффекта трансплантат-против опухоли и снижения РТПХ. Еще одним агентом, рассматриваемым для применения у плохомобилизуемых пациентов, является рекомбинантный гормон роста – **somatropin** (**Serostim**®, **Serono**), который при совместном с Г-КСФ назначении позволяет значительно повысить эффективность мобилизации [16].

Развитие концепции о возможности модификации ниши, в особенности остеобластической, для усиления мобилизации ГСК привело к идее воздействия на нее с помощью препаратов, регулирующих кальциевый метаболизм. В частности, препаратов паратгормона – **teriparatide** (**Forteo**®, **Eli Lilly**) и препаратов, действующих на кальциевый рецептор – **cinacalcet** (**Sensipar**® в Северной Америке и Австралии, **Mimpara**® в Европе, **Amgen**).



Механизм действия AMD3100. Бицикловый антагонист AMD3100 без нарушения нативной структуры CXCR4 блокирует взаимодействие CXCR4-SDF-1, что вызывает быструю и эффективную мобилизацию ГСК

Недавно была успешно закончена I стадия клинических испытаний по сочетанному назначению Г-КСФ и препарата паратормона у онкогематологических пациентов, не ответивших на предшествующие циклы мобилизации [17]. Хорошие перспективы есть также у препарата **natalizumab (Tysabri®, Biogen Idec)**, который способен воздействовать на адгезионную молекулу VLA-4, экспрессируемую на поверхности ГСК и также принимающую участие в заживании гемопоэтических предшественников в строме костного мозга.

Перспективы развития рынка препаратов для мобилизации

По мнению аналитиков компании AnorMed, объем рынка мобилизации в 2002 году был ограничен 80 000–120 000 процедурами забора стволовых клеток, что, безусловно, позволяет отнести его к узкоспециализированному. Среди основных сегментов можно выделить три:

- донорство для проведения аллогенных трансплантаций, т.е. мобилизация у здоровых доноров;

Таблица. Характеристика основных препаратов для мобилизации гемопоэтических клеток–предшественников

Препарат	Производитель, годовой доход, биржевой тикер	Стратегия применения	Фаза клинического внедрения	Примечания
Neupogen®	Amgen, США 12,430 млрд \$ (в Европе – Roche) Nasdaq: AMGN	Возможно использование в качестве единственного агента	Широкое клиническое использование	Негликозилированная форма, возможны аллергические реакции, ограничения по условиям хранения
Granocyte®	Sanofi Aventis, Франция 34,013 млрд \$ Euronext: SAN	Возможно использование в качестве единственного агента	Широкое клиническое использование	Гликозилированная форма, нет ограничений по условиям хранения
Neulasta®	Amgen, США 12,430 млрд \$ Nasdaq: AMGN	Возможно использование в качестве единственного агента	II фаза клинических испытаний в качестве агента для мобилизации (широкое применение для лечения нейтропении)	Негликозилированная форма, возможны аллергические реакции, ограничения по условиям хранения
Leukine®	Berlex/Schering AG, США/ Германия 1,3 млрд \$ NYSE: SHR	Предпочтительно использование совместно с Г-КСФ	Широкое клиническое использование	Слабая мобилизующая активность в качестве единственного агента, больше побочных явлений, чем при использовании Г-КСФ
Stemgen®	Amgen, США 12,430 млрд \$ Nasdaq: AMGN	Только совместное с Г-КСФ назначение у пациентов с плохим прогнозом ответа на мобилизацию	Разрешено к широкому клиническому применению	Обязательная премедикация пациентов H ₁ -H ₂ блокаторами, а также бронходилататорами в связи с высоким риском развития аллергических осложнений
Mozobil™	Genzyme, США (ранее – AnorMed, Канада) 3,2 млрд \$ Nasdaq: GENZ	Возможно назначение в качестве монотерапии, а также совместное с Г-КСФ использование	Многоцентровые клинические испытания (III фаза) совместного применения с Г-КСФ у пациентов с неходжкинской лимфомой и множественной миеломой, а также еще 7 активных клинических испытаний I–III фаз	Минимальные побочные явления, хорошая переносимость у предлеченных пациентов, четкий временной пик действия
Forteo®	Eli Lilly, США 15,6 млрд \$ NYSE: LLY	В качестве агента для мобилизации только совместное с Г-КСФ назначение	I фаза клинических испытаний	Низкая токсичность, хорошая переносимость у предлеченных онкогематологических пациентов

- заготовка аутологичных ГСК у пациентов, получивших менее пяти курсов полихимиотерапии;

- заготовка аутологичных ГСК у сильно предлеченных пациентов с высоким риском плохого ответа на мобилизацию.

Каждый цикл мобилизации сопряжен с организацией госпитализации, планированием использования оборудования и расходных материалов для проведения афереза, а также рабочего времени сотрудников. Отсутствие или плохой ответ на мобилизацию обычно требует увеличения дозы мобилизующего агента и/или увеличение сроков его назначения. В некоторых случаях необходима смена стратегии мобилизации на более агрессивную, и, следовательно, более токсичную, что влечет за собой дополнительные риски и затраты. Невозможность сбора достаточного для проведения аутологичной трансплантации количества ГСК, в свою очередь, значительно затрудняет проведение необходимой высокодозной терапии. Таким образом, в качестве двух целевых групп, принципиально заинтересованных во внедрении новых эффективных препаратов для мобилизации, можно выделить сильно предлеченных пациентов и здоровых доноров, для которых важно минимизировать все риски, в т.ч. отсроченные, сопряженные с мобилизацией.

За последние пять лет значительное развитие получила также клеточная регенерационная терапия как в форме аутологичной трансплантации мобилизованных ГСК, так и в форме применения агентов для мобилизации в качестве терапевтических. Несмотря на весьма противоречивые данные об эффективности подхода с использованием мобилизации аутогенных стволовых клеток для лечения кардиологических пациентов [18], среди 42 клинических испытаний, зарегистрированных на август 2007 года на сайте www.clinicaltrials.gov по ключевому словосочетанию «stem cells mobilization», с темой регенерационной терапии в кардиологии сопряжено девять. Вполне возможно, что следующими будут пациенты с неврологической патологией и патологией печени. Эти направления особенно интересны, с учетом глобальных перспектив развития рынка регенерационной медицины: прогнозируемый рост прибыли с 35 млн долларов в 2007 году до 8,5 млрд долларов в 2016 [19].

Долгое время препараты Г-КСФ были единственными в своем роде: много исследований было посвящено поискам оптимальных дозировок, комбинаций с химиотерапевтическими препаратами, сроками и режимами введения. Показанная

эффективность и относительная безопасность в большинстве случаев, безусловно, позволит им сохранить основные позиции в области мобилизации для онкологии и онкогематологии, доходы от которой оценивают в 80–200 млн долларов в год [20]. Однако, через пятнадцать лет полного преобладания Г-КСФ на рынке настало время для новинок, среди которых главную интригу, вероятно, принесут именно AMD3100 и препараты для модификации остеобластической ниши.

Обнадеживающие результаты клинических испытаний AMD3100 в качестве мобилизующего агента совместно с Г-КСФ для пациентов с неходжкинской лимфомой [21] и множественной миеломой [20] предполагают его значительную востребованность в будущем. Прежде всего, потому что среди 55 000 аутогенных трансплантаций, проводимых ежегодно в мире, две трети связаны с терапией неходжкинских лимфом и множественной миеломы [22]. Однако особое внимание хотелось бы обратить на возможность его применения в качестве единственного мобилизующего агента. Обладая уникальным механизмом действия, AMD3100 позволяет в течение нескольких часов мобилизовать в периферическую кровь необходимое для трансплантации количество ГСК у здоровых доноров. Отсутствие разрушительного эффекта на строю костного мозга и сопряженных с этим побочных эффектов в совокупности с минимальным временем госпитализации, дает данному агенту отличную фору в сегменте препаратов для здоровых доноров ГСК. Неслучайно, отдельное масштабное клиническое испытание AMD3100 посвящено именно мобилизации у здоровых доноров [23]. Высокий потенциал мобилизованных с помощью Mozobil™ ГСК к хомингу, вероятно, сделает его более привлекательным агентом для использования в регенерационной терапии, т.к. данная способность является принципиальной для заселения стволовыми клетками поврежденных участков ткани. И хотя компания Genzyme, которая ожидает разрешения на использование Mozobil™ для лечения пациентов с лимфомой в первой половине 2008 года, достаточно скромно оценивает свои финансовые перспективы от внедрения данного препарата 9 млн долларов в 2008 году с ростом до 40 млн в 2010 году [20, 21], Mozobil™, вполне вероятно, сможет вырваться из категории «orphan drugs» – препаратов для очень ограниченного круга потребителей, на которых специализируется Genzyme, и создать здоровую конкуренцию Г-КСФ.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Appelbaum F.R. The use of bone marrow and peripheral blood stem cell transplantation in the treatment of cancer. *Cancer J. Clin.* 1996; 46: 142–64.
2. To L.B., Haylock D.N., Simmons P.J., Juttner C.A. The biology and clinical uses of blood stem cells. *Blood* 1997; 89(7): 2233–58.
3. Kessinger A., McMannis J. Practical consideration of apheresis in peripheral blood stem cell transplantation. 1st ed. Lakewood: COBE Inc; 1994.
4. Hoglund M. Glycosylated and non-glycosylated rhG-CSF – what is the difference? *Med. Oncol.* 1998; 15: 229–33.
5. Martin-Christin F. Granulocyte colony-stimulating factors: how different are they? How to make a decision? *Anti-Cancer Drugs* 2001; 12: 185–91.
6. Morris E.S., MacDonald K.P.A., Rowe V. et al. Donor treatment with pegylated G-CSF augments the generation of IL-10 producing regulatory T cells and promotes transplant tolerance. *Blood* 2004; 103: 3573–81.
7. Nowrousian M.R., Waschke S., Bojko P. et al. Impact of chemotherapy regimen and hematopoietic growth factor on mobilization and collection of peripheral blood stem cells in cancer patients. *Ann. Oncol. (Suppl)* 2003; 14: i29–36.
8. <http://www.clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00208949?order=31>
9. Facon T., Harousseau J.L., Maloisel F. et al. Stem cell factor in combination with filgrastim after chemotherapy improves peripheral blood progenitor cell yield and reduces apheresis requirements in multiple myeloma patients: a randomized clinical trial. *Blood* 1999; 94(4): 1218–25.
10. Liles W.C., Broxmeyer H., Rodger E. et al. Mobilization of hematopoietic progenitor cells in healthy volunteers by AMD3100, a CXCR4 antagonist. *Blood* 2003; 102(8): 2728–30.
11. Urbano-Ispizua A. Risk assessment in hematopoietic stem cells transplantation: stem cell source. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2007; 20(2): 265–80.

12. www.cancer.gov
13. DiPersio J.F., Shuster M.W., Abboud C.N. et al. Mobilization of PBSC by concurrent administration of daniplesim and G-CSF in patients with breast cancer and lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 2762–71.
14. Bishop M.R., Jackson J.D., O'Kane-Murphy B. et al. Phase I trial of recombinant fusion protein PIXY321 for mobilization of peripheral-blood cells. *J. Clin. Oncol.* 1996; 14: 2521–6.
15. Morris E.S., MacDonald K.P., Rowe V. et al. Stem cell mobilization with novel G-CSF analogues augment NKT cell restricted graft-versus-leukemia effects. *Biol. Blood Marrow Transpl.* 2005; 11(2; Sup.1): 45 (abstract 133).
16. Carlo-Stella C., Di Nicola M., Milani R. et al. Use of recombinant human growth hormone (rhGH) plus recombinant human granulocyte colony-stimulating factor (rhG-CSF) for the mobilization and collection of CD34⁺ cells in poor mobilizers. *Blood* 2004; 103: 3287–95.
17. Ballen K., Shpall E.J., Avigan D. et al. Phase I trial of parathyroid hormone to facilitate stem cell mobilization. *Biol. Blood Marrow Transpl.* 2007; 13(7): 838–43.
18. Zohnhofer D., Ott I., Mehilli J. et al. Stem cell mobilization by granulocyte colony-stimulating factor in patients with acute myocardial infarction: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006; 295(9): 1003–10.
19. <http://www.stemcellsummit.com/book-tour/index.html>
20. <http://www.genzyme.com/corp/media/GENZ%20PR-080207.asp>
21. <http://www.genzyme.com/corp/investors/GENZ%20PR-071907.asp>
22. Copelan E.A. Hematopoietic stem cell transplantation. *NEJM* 2006; 354: 1813–26.
23. www.clinicaltrials.gov

Поступила 24.08.2007