

## Übersichtsbeitrag

# Impfstoffentwicklung und Immuntherapieansätze Beitrag der Immunbiologie für die Arzneimittel der Zukunft

**Bernd Geis**

Impfstoffe eignen sich nicht alleine zur Vorbeugung gegen Infektionskrankheiten. Sie lassen sich vielmehr auch therapeutisch bei verschiedenen Krankheiten einsetzen. In Kombination mit modernen gentechnischen Methoden und der Biotechnologie wird die Immunbiologie einen wesentlichen Beitrag zur Verwirklichung einer vorbeugenden und personalisierten Medizin leisten. Ein komprimiertes Entwickeln von Impfstoffen und Immuntherapeutika sowie der von den Zulassungsbehörden geforderte QbD-Ansatz setzen Interdisziplinarität sowie eine Einordnung immunbiologischer Konzepte und Anwendungsmöglichkeiten voraus.

Schlagwörter: P4-Medizin, Immunologie; Biotechnologie; Immunsystem; Antigen; Antikörper; Impfung.

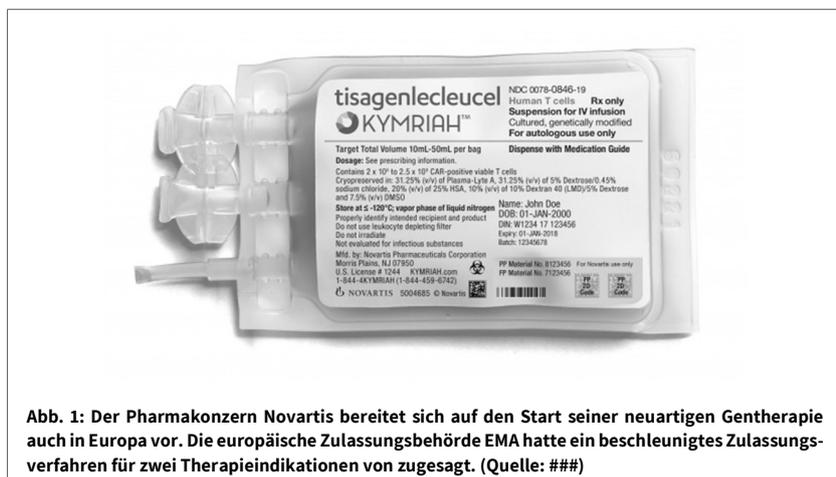
Eingegangen: 26.07.2018; akzeptiert: N/A., Preprint als Ergänzung zu den Seminarunterlagen MCM 1.1 u. 2.6.

## 1 EINLEITUNG

Im Herbst 2017 hat die US-amerikanische Arzneimittelbehörde FDA sowohl einen innovativen Impfstoff gegen Hepatitis-B der Dynavax Technologies Corporation, als auch erstmals Formen der CAR-T-Zelltherapie zugelassen – einer auf modifizierten körpereigenen Abwehrzellen basierenden Krebstherapie der Novartis, bei der so genannte T-Zellen die genetische Information zur Herstellung eines chimären Antigenrezeptors (CAR) mittels eines viralen Vektors vermittelt wird. Von der Zellentnahme bei dem Krebspatienten bis zur Wiederverabreichung der nun modifizierten körpereigenen Zellen dauert es rund drei Wochen. Ende Juni 2018 hat die europäische Arzneimittelbehörde EMA diese Therapien ebenfalls zur Zulassung empfohlen. [#]

Es ist ein langer Weg von der Entdeckung einer pharmakologisch interessanten Substanz oder eines Therapieansatzes bis zur Zulassung eines Arzneimittels. Diese Aussage trifft im besonderen Maße für die Impfstoffe der Zukunft zu, denen in Fachkreisen ein wichtiger Beitrag im Rahmen der P4-Medizin<sup>1</sup> der Zukunft zugesprochen wird. Aufgrund der Verabreichung am lebenden Organismus sind die gesetzlichen Anforderungen an die Unbedenklichkeit, Wirksamkeit und pharmazeutische Qualität von Arzneimitteln – insbesondere bei biogenen Wirk- und Impfstoffen – sehr hoch. Die Zeitspanne zwischen dem

Verstehen eines klinischen Krankheitsbildes und dem Erkennen möglicher Therapieansätze bis hin zur Produktidee, Arzneimittelzulassung und Realisierung einer GMP-konformen Produktion ist in der pharmazeutischen Prozessindustrie von entscheidender Bedeutung für den wirtschaftlichen Unternehmenserfolg. Im Falle, der eingangs vorgestellten Immuntherapie beträgt der aktuell auf dem Markt aufgerufene Preis derzeit mehrere einhunderttausend Euro, wobei die Behandlung eines the-



**Abb. 1: Der Pharmakonzern Novartis bereitet sich auf den Start seiner neuartigen Gentherapie auch in Europa vor. Die europäische Zulassungsbehörde EMA hatte ein beschleunigtes Zulassungsverfahren für zwei Therapieindikationen von zugesagt. (Quelle: ###)**

rapiebegleitenden Zytokin-Freisetzungssyndroms (CRS) noch nicht eingerechnet ist. [#] [#]

Gerade vor dem Hintergrund einer P4-Medizin der Zukunft stehen ein komprimiertes Entwickeln von innovativen Arzneistoffen und Therapien, das Umsetzen neuer, flexibler und wandlungsfähiger Produktionskonzepte

verwendet hierzu vier Adjektive: prädiktiv, personalisiert, präventiv und partizipatorisch. [#] [#] [#]

<sup>1</sup> P4-Medizin ist die von dem U.S. amerikanischen Mediziner Leroy Hood geprägte Zukunftsvision, die den Wandel einer derzeit reaktiven hin zu einer künftig proaktiven und interdisziplinären Medizin beschreibt. Hood

sowie das von den Zulassungsbehörden geforderte „Quality-by-Design“ kurz (QbD) im Fokus der aktuellen Diskussionen in Forschung, Wissenschaft und industrieller Praxis. Chemieingenieure, Biotechnologen und Bioverfahrensingenieure sind in der Verwirklichung einer bezahlbaren P4-Medizin der Zukunft ein wichtiges Bindeglied zwischen dem Verständnis molekularer Vorgänge in biologischen Systemen, der Entwicklung von Verfahren und Methoden sowie der Planung, dem Bau und Betrieb moderner Produktionsanlagen. [#] [#] [#]

### Die Verwirklichung einer P4-Medizin der Zukunft setzt Interdisziplinarität voraus

Dass die Chemie pharmakologisch interessanter Substanzen und Therapien biologischer wird und die Biologie zunehmend technischer, zeigt auch das Beispiel des bereits einleitend genannten innovativen Impfstoffes der Dynavax. HEPLISAV ist seit mehr als 25 Jahren der erste neue Hepatitis-B-Impfstoff und der einzige, der bei Erwachsenen mit nur zwei Impfdosen auskommt. [#] Der FDA-Zulassung dieses Impfstoffs im Spätherbst 2017 ging nicht zuletzt ein sehr umfassender Transformationsprozess des Forschungs- und Entwicklungsstandortes in Düsseldorf zu einem GMP-konformen Produktionsstandort voraus, an dem ein zehnköpfiges Ingenieurteam der [-ING] maßgeblich beteiligt war. Der vorliegende Beitrag möchte Chemie- und Verfahreningenieuren eine erste Übersicht und Einordnung grundlegender immunbiologischer Zusammenhänge und ihrer pharmakologischen Anwendungsmöglichkeiten bieten.

## 2 IMMUNBIOLOGISCHE GRUNDLAGEN

Impfstoffe und immuntherapeutische Ansätze machen sich die körpereigene Immunabwehr zunutze. Die Immunabwehr höherer Lebewesen ist ein komplexes biologisches System aus verschiedenen Organen, Zelltypen und Molekülen. Es entfernt eingedrungene Mikroorganismen, körperfremde Substanzen und zerstört fehlerhaft gewordene körpereigene Zellen. Die Immunbiologie untersucht die Grundlagen der Immunabwehr aus drei verschiedenen Blickwinkeln: Immunchemie, Immungenetik sowie Immunpathologie und klinische Immunologie.<sup>2</sup>

### 2.1 Dimensionen lebender Organismen zwischen $10^{-9}$ m und $10^{14}$ Zelleinheiten

Aus der Ingenieurperspektive ist ein lebender Organismus zunächst ein nicht leicht eingrenzbares System. Ein erwachsener Mensch ( $10^0$  m) besteht aus rund einhundert Billionen Zellen ( $10^{14}$ ) - in dieser Zahl sind die einzelnen Mikroorganismen oder Parasiten, die uns besiedeln, nicht einmal eingerechnet. Dabei nehmen all diese Zellen nur wenige hundert unterschiedliche Aufgaben wahr.

Alle Prozesse in unserem Körper sind jedoch zunächst physikalisch-chemischer Natur, und Moleküle spielen natürlich eine Schlüsselrolle bei diesen Prozessen. Die Basisprinzipien des Lebens (u.a. Struktur und Funktion, Kompartimentierung, Steuerung und Regelung, Stoff- und Energieumwandlung usw.), sind ohne Chemie nicht beschreibbar.

### „Biologischer Durchlauferhitzer“ und „Nasschemie bei 40 Grad Celsius“

Aus physikalischer Sicht ist unsere Definition von Leben zunächst nichts anderes als ein dissipatives Nichtgleichgewichtssystem. Es tauscht fernab einer thermodynamischen Gleichgewichtslage Energie, Materie oder beides mit seiner Umgebung aus, wobei die Entropieminderung des Systems durch den entsprechenden Austausch mit der Umgebung ausgeglichen wird. Aus diesem Blickwinkel sind Lebewesen lediglich eine Art „biologischer Durchlauferhitzer“. Die enorme Vielfalt biologischer Systeme in den Größenskalen zwischen  $10^0$  m (Säugetiere) und  $10^{-6}$  m (Einzeller im  $\mu\text{m}$ -Bereich) bzw.  $10^{-9}$  m (Viren im nm-Bereich) ist nur durch die Ausdifferenzierung materieller Systemgrenzen durch bestimmte Makromoleküle möglich, die als **Biomembrane** fungieren.

Die Chemie lebender Organismen gestaltet sich auf den ersten Blick erstaunlich einfach. Die bekannten Lebensformen verwenden –von wenigen Ausnahmen abgesehen– den gleichen, universell gültigen genetischen Code und erzeugen aus den gleichen chemischen Bausteinen, nämlich vier verschiedenen Nucleotiden und etwa 30 verschiedenen Aminosäuren, die typischen Nucleinsäuren und Proteine. **Nucleotide** sind die Bausteine der Nucleinsäure, aus denen die Stränge der Ribonucleinsäure (RNA) wie auch der Desoxyribonucleinsäure (DNA) bestehen. Ein Nucleotid setzt sich aus einem Basen-, einem Zucker- und einem Phosphatanteil zusammen. Weiter bestehen auch alle **Proteine** aus einem überschaubaren Aminosäure-Baukasten, in dessen beliebig weitem Spielraum sich alle Erscheinungen des Lebens abspielen.

Die Herstellung in einem Chemielabor und in lebenden Organismen ist jedoch grundlegend verschieden. Während der Chemiker für jeden einzelnen Syntheseschritt besondere Reaktionsbedingungen schaffen muss, arbeitet die Natur unter gleichbleibenden Bedingungen. Ihr Trick besteht darin, dass sie die jeweiligen Reaktionspartner nicht einfach aufeinander loslässt. Sie nutzt die besonderen physikalisch-chemischen Eigenschaften des Wassers als universelles Reaktionsmedium, hydrophile und hydrophobe Moleküleigenschaften zur Ausbildung von Biomembranen sowie hochspezifische Katalysatoren (s.g. Enzyme), welche die Begegnung der Reaktanden erst vermitteln. [#] [#] [#]

<sup>2</sup> Literaturempfehlungen zum Sachgebiet: *Grundwissen Immunologie* von Christine Schütt, Institut für Immunologie der Universität Greifswald

(Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg); *Immunology - The Journal of cells, molecules, systems and technologies* (Wiley).

Vor diesem Hintergrund ist leicht einzusehen, dass selbst die geschickteste Syntheseplanung vor den großen Biomolekülen wie etwa einem Antikörper mit mehreren zehntausend Atomen ( $10^4$ ) kapitulieren müsste. Biologische Zellen bewältigen diese Aufgabe indes mit höchster Präzision und Verlässlichkeit.

#### Von Makromolekülen zum Mikrokosmos der Immunabwehr

Die **biologische Zelle** ist die kleinste Organisationseinheit aller Organismen. Ihr Innenraum wird von einer etwa sechs bis zehn Nanometer dicken Zellmembran semipermeabel gegen den Extrazellulärraum abgegrenzt. Die Zellmembran besteht meist aus einer (oft) zweilagigen Schicht von Lipiden und verschiedenen, darin eingelassenen, Membranproteinen. Die hydrophilen, wasserlöslichen Pole der Lipiddoppelschicht bilden die innere und äußere Zellmembranoberfläche, wohingegen die hydrophoben, wasserabweisenden Pole der Lipiddoppelschicht zum Membranzentrum gerichtet sind. [#]

Mit Hilfe dieser Biomembrane ist es nun möglich unterschiedliche Zelltypen und Anordnungen von Zellen auszubilden. Lebende Organismen können als **Ein-, Mehr- und Vielzeller** eingeteilt werden. Bei den Vielzellern sind einzelne Zellen zu funktionellen Einheiten miteinander verbunden. Im Vergleich zu Einzellern haben die Zellen von Vielzellern größtenteils ihre Fähigkeit für sich allein leben zu können verloren und sich auf eine Arbeitsteilung in Gewebearrangierungen spezialisiert. Im Laufe der Evolution haben sich zwei verschiedene Gruppen von Lebewesen gebildet, die sich durch die Struktur ihrer Zellen stark unterscheiden: zum einen die **Prokaryoten** (Bakterien und Archaeen), die aus einfach gebauten Zellen bestehen, und zum anderen die **Eukaryoten** (Tiere, Pflanze und Pilze), die aus Zellen bestehen, die komplexer strukturiert sind. Prokaryotische Zellen besitzen keinen echten Zellkern, sondern häufig lediglich Plasmide (extrachromosomale, in sich geschlossene oder lineare DNA-Elemente).

Der Zellkern eukaryotischer Zellen ist von einer etwa 15 nm dicken Kernhülle umgeben und enthält in die Chromosomen (46 beim Menschen) organisierte DNA. Ein **Chromosom** ist eine x- oder y-förmige Einheit, welche einen durchgehenden **DNA-Doppelstrang** aus je zwei DNA-Molekülsträngen (Chromatide) enthält. Als s.g. Centromer bezeichnet man den Bereich der Einschnürungsstelle. Das Centromer teilt jedes Chromatid in zwei Arme, deren Längen sich oft deutlich unterscheiden. Die Enden der Chromosomen (Telomere) enthalten eine kurze, sich identisch wiederholende DNA-Sequenz. Dort werden die Chromosomen bei jeder Verdopplung ein wenig kürzer (was beim Alterungsprozess eine wichtige Rolle spielt). Auch der programmierte oder nekrotische Tod von Zellen ist -wie deren Wachstum und Vermehrung- für die Selbstregulation eines mehrzelligen Organismus unabdingbar. Bei einem erwachsenen Menschen sterben in jeder Sekunde rund 50 Millionen Zellen ( $10^6$ )

ab. Auf diese Weise können wir uns quasi alle sieben Jahre als zellulär runderneuert betrachten. [#] [#] [#]

Prokaryoten und Eukaryoten können sowohl als Einzeller als auch als Mehrzeller auftreten. Bei den Mehrzellern bilden Zellen Zweckverbände. Echte Mehr- und Vielzeller unterscheiden sich dabei von Kolonien einzelliger Lebewesen durch einen gemeinsamen Stoffwechsel des Zellverbands, eine mehr oder weniger ausgeprägte Aufgabenteilung der Zellen sowie häufig die Ausbildung von Geweben.

#### Angriff aus dem Mikrokosmos

Der menschliche Körper stellt als  $10^0$  m Organismus einen idealen Lebensraum für viele **Mikroorganismen** dar. Auf und in ihm siedeln Billionen symbiotisch oder probiotisch mit ihm in Beziehung stehende artfremde Organismen (ebenfalls aus rund  $10^{14}$  Zellen!). Der menschliche Organismus ist jedoch auch jederzeit einer großen Anzahl pathogener Mikroorganismen und Substanzen ausgesetzt: Parasiten, Bakterien und Pilze, Viren und Gifte.

#### Prominente pathogene Mikroorganismen:

- 1.) Extrazellulär wachsende Eitererreger  
z.B. Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Streptococcus pyogenes;
- 2.) Exotoxinbildner  
z.B. Clostridium tetani, Vibrio cholerae, Pseudomonas aeruginosa;
- 3.) Intrazellulär wachsende Erreger  
z.B. Mycobacterium tuberculosis, Legionella pneumophila, Listeria monocytogenes.

Viren bestehen nicht aus Zellen. Sie sind infektiöse DNA respektive RNA Partikel und keine Lebewesen, können jedoch als „dem Leben nahestehende“ Organisationseinheiten betrachtet werden, denn sie besitzen allgemein die Fähigkeit zur Replikation und Evolution. Diese Partikel verbreiten sich als Virionen (umgeben von Lipidmembran und Kapsid) extrazellulär durch Übertragung und vermehren sich als Viren intrazellulär in Eukaryoten und Prokaryoten (bei letzteren Bakteriophagen genannt). Bislang sind rund die 3.000 Virenarten identifiziert. Bei den Prionen, die keine DNA oder RNA beinhalten, handelt es sich ebenfalls nicht um Lebewesen, sondern um zelluläre Proteine mit virusähnlichen Eigenschaften, welche die Fähigkeit haben ihre -pathogen wirkende- Proteinkonformation auf andere Proteine zu übertragen.

Die **pathogene Wirkung** von Mikroorganismen beruht auf drei Mechanismen: (1.) Sie schädigen das Gewebe durch Phagozytose, d. h., sie ernähren sich von Körperzellen; (2.) Sie verursachen eine sehr heftige

Immunreaktion, vor allem hohes Fieber, das tödlich enden kann; (3.) Sie sondern aktiv Stoffe ab, die den Körper schädigen, oder sie enthalten solche; diese werden freigesetzt, wenn der Mikroorganismus abstirbt. Bakterien schädigen den befallenen Organismus durch die Absonderung von Endotoxinen. Anhand ihrer Pathogenität für den Menschen werden Krankheitserreger durch die **Biostoffverordnung** in vier Risikogruppen und hierzu korrespondierenden Schutzstufen eingeteilt. [#] [#] [#]

Zum Schutz vor eindringenden Mikroorganismen besitzt der Mensch eine Körperabwehr, die als Immunabwehr bezeichnet wird. Diese schützt außerdem vor körperfremden Substanzen und hat ferner die Aufgabe, fehlerhafte Körperzellen zu zerstören. **Mechanische und physiologische Barrieren** sollen zunächst verhindern, dass Pathogene gar nicht erst in den Körper gelangen (Säureschutzmantel der Haut, Schleimhäuten und Hornfäden aus Keratin als Mobilitätsbremsen, Enzyme in Speichel und Tränenflüssigkeit sowie Magensäure). [#]

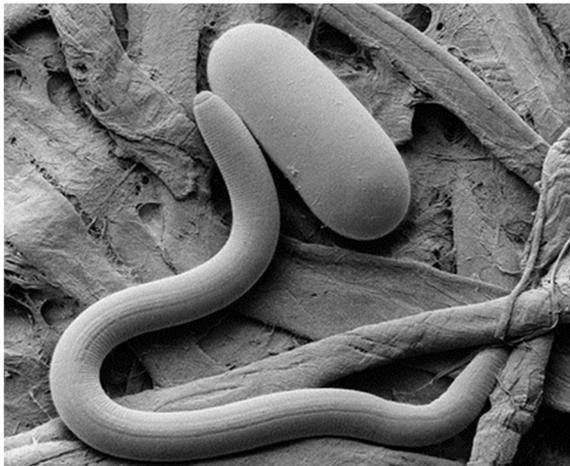


Abb. 2: Die Fadenwürmer (Nematoden, hier *Heterodera glycines*, ein Parasit der Sojabohne) sind arten- und individuenreich. Einer Schätzung zufolge stellen sie rund 80% aller tierischen Organismen, darunter viele Humanpathogene Arten. Der größte Fadenwurm (*Platentema gigantissima*) erreicht eine Länge von bis zu rund acht Metern. [#] (Quelle ###)

### Erste Hürden, angeborene und erworbene Anteile der Immunabwehr

Schlagen die ersten Barrieren fehl, übernehmen weitere Abwehrkomponenten die Bekämpfung. Dieser Bestandteil der Immunabwehr wird in zwei Teile untergliedert: Die angeborene (unspezifische) Abwehr und die erworbene (spezialisierte adaptive Abwehr). Die angeborene Immunabwehr ist Antigen-unspezifisch sofort einsatzbereit, bildet jedoch kein Immungedächtnis aus. Die erworbene Immunabwehr entwickelt sich im Laufe des Lebens durch den Kontakt mit Erregern. Sie ist erst nach einigen Tagen wirksam und Antigen-spezifisch genau auf den Angreifer abgestimmt. Im Zuge der adaptiven Prozesse bildet sich sprichwörtlich ein individuelles Immungedächtnis aus (Abb. #). Das Zusammenspiel der Hauptkomponenten der Immunabwehr ist kaum besser darzustellen als von Hoimar von Ditfurth und Volker Arzt in ihrer

legendären Wissenschaftsreihe „Querschnitt“ (Ausstrahlung zwischen 1971–1989). [#]

Selbst auf der Spitze einer Stecknadel befinden sich Bakterien (Abb. #). Bei einer Verletzung gelangen diese in den Blutkreislauf, wo sie von weißen Blutzellen erwartet werden. So genannte **Granulozyten** (Fresszellen) tasten die Eindringlinge ab, können sie als fremdartig erkennen, umschließen und schließlich mit Hilfe eines Salzsäure-Enzym-Cocktails verdauen (Abb. #).

### Was passiert in unserem Körper bei einer Verletzung?

Die Fresszellen sind Teil des Blutkreislaufes und leben in Blutgefäßen. Das führt zu einem Problem: Bakterien befinden sich nicht nur im Blut, sondern auch im Gewebe. Die weißen Blutzellen müssen daher in die Lage versetzt werden den Blutkreislauf zu verlassen. Das gelingt dank bestimmter Zellen im Gewebe, den sogenannten **Mastzellen**. Bei einer Verletzung schütten sie einen Botenstoff -im wesentlichen Histamin- aus. Dieses Signal macht die Wände der Blutgefäße durchlässiger, was wir als Entzündungsreaktion wahrnehmen können. Die weißen Blutzellen sind beweglich und können jetzt in die Gewebzwischenräume eindringen und dem Eindringling entgegenmarschieren. Wenn das Verdauungsenzym der Granulozyten aufgebraucht ist, sterben diese ab.

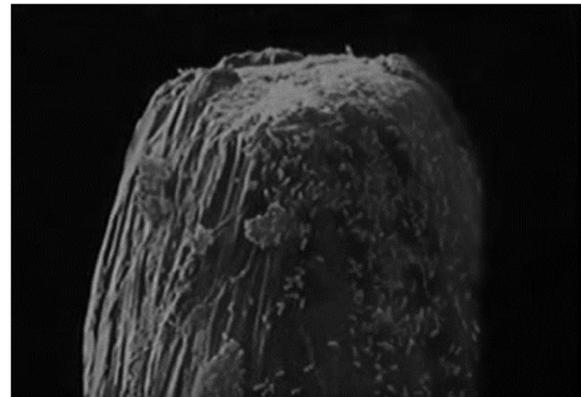


Abb. 3: Eingefärbte Bakterien auf der Spitze einer Stecknadel.

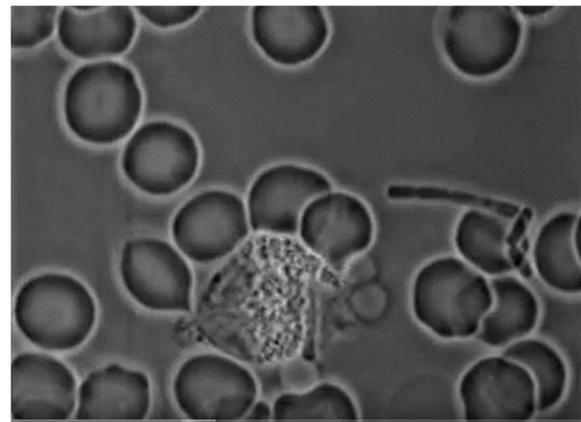
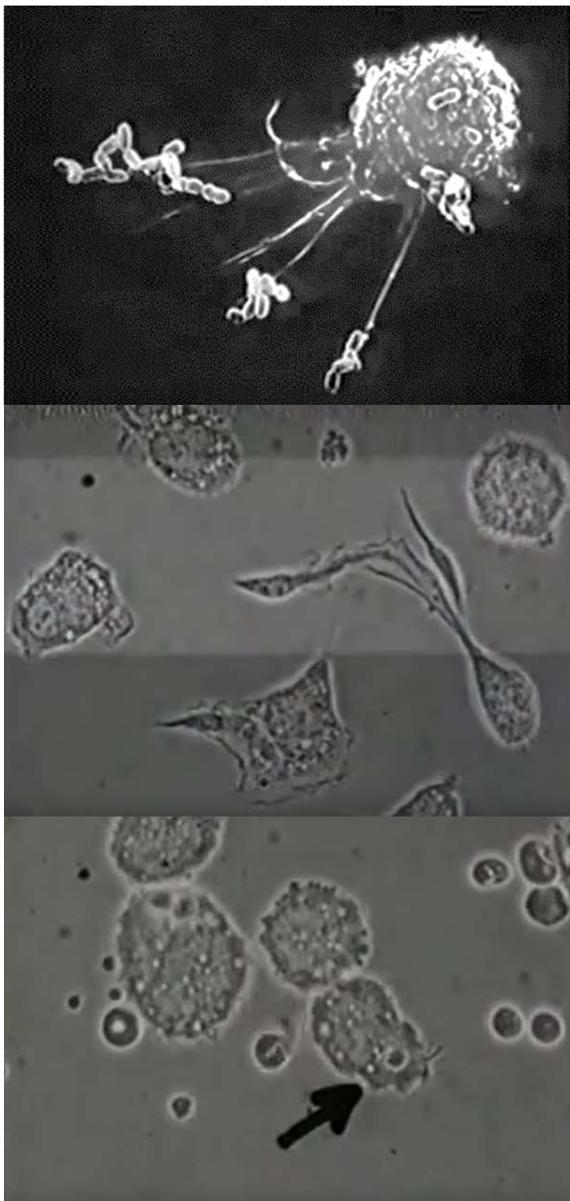


Abb. 4: Granulozyten verdauen stäbchenförmige Bakterien.

Neben den Fresszellen kommen nun auch **Makrophagen** (Riesenfresszellen) ins Spiel. Makrophagen gehören

ebenfalls zu den weißen Blutzellen. Sie besitzen einen elastischen Körper und große Fangarme, mit den sie sich Eindringlinge quasi angeln können (Abb. #, oben u. Mitte). Die Immunabwehr alleine durch Fresszellen reicht indes zur Abwehr von Feinden aus dem Mikrokosmos nicht aus. So bohrt sich beispielsweise die Erreger der Legionärskrankheit in Makrophagen, vermehren sich dort und bringen die Riesenfresszelle zum Platzen (Abb. #, unten). Deswegen ist eine zweite Abwehrfront notwendig, in dem Erreger mit so genannten Antikörpern (früher gebräuchlicher als **Immunglobuline** bezeichnet) konfrontiert werden. Jedes dieser Y-förmigen Makromoleküle bindet an ihren Enden Antigen-spezifisch nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip. Die Antikörper konglomerieren auf diese Weise Eindringlinge zu Klumpen, die so groß werden können, dass sie mit bloßem Auge sichtbar sein können (Abb. #).



**Abb. 5:** Jagszenen aus dem Körper (Makrophage ./ Parasit, oben, Makrophage gegen stäbchenförmiges Bakterium, Mitte, Legionellen sind in eine Fresszelle eingedrungen, unten) (Quelle #).

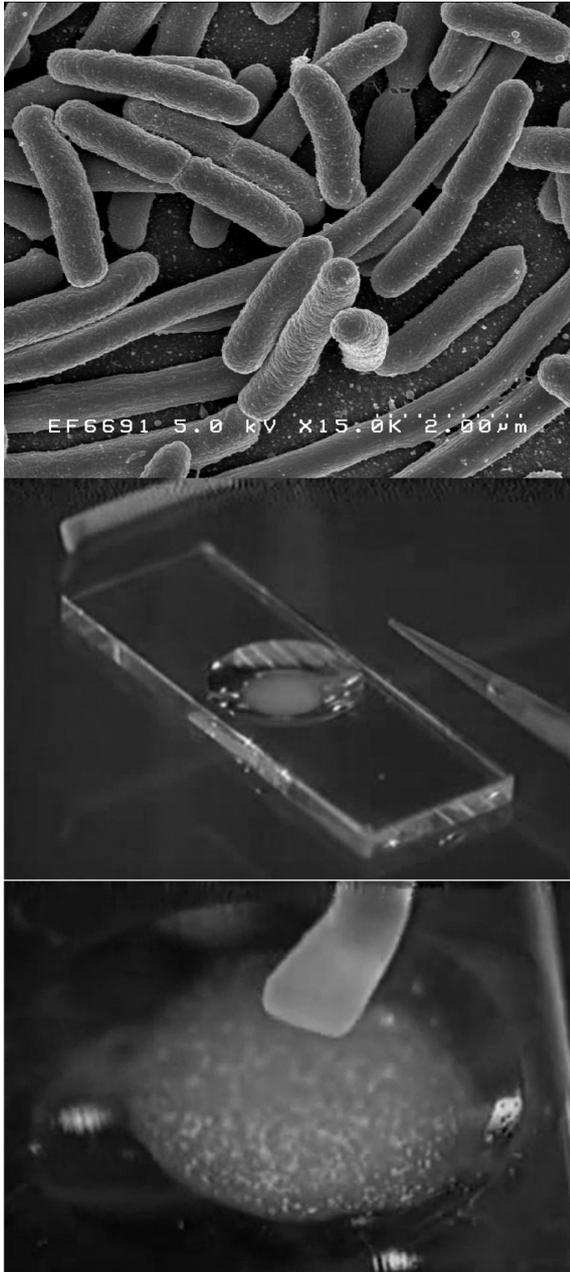
Wo kommen Antikörper eigentlich her und warum funktionieren sie so passgenau? Diese Frage hat die Wissenschaft über ein halbes Jahrhundert lang beschäftigt. Wir haben nämlich die Antikörper bereits bevor die Erreger in uns eindringen. Des Rätsels Lösung liegt in unserem Lymphsystem, in dem alle Lymphknoten in Verbindung mit dem Blutkreislauf stehen (Abb. #). In dem Lymphsystem sind ganz bestimmte weiße Blutzellen zuhause, Lymphozyten, genauer **B-Lymphozyten** (B steht für bone marrow, Knochenmark, dem Ursprungsort dieses Zelltyps). B-Lymphozyten sind in der Lage Antikörper herzustellen. Sie sind bereits optisch gekennzeichnet durch die aus der Zellmembran herausragende repräsentierten Antikörper.

B-Lymphozyten sind ungeheuer wanderfreudig. Ihr Stammquartier ist ein Lymphknoten. Von dort wandern sie aus in den Blutkreislauf. B-Lymphozyten können sich -wie Makrophagen- ins das Gewebe zwängen und gelangen wieder zurück in ihren Heimat-Lymphknoten. Auf ihrer Wanderung können sie bei Begegnung mit Erregern diese Antikörperspezifisch einfangen. Diese Übereinstimmung ist jedoch nicht die Regel, sondern eher die Ausnahme. Es gibt aber Millionen verschiedener B-Lymphozyten mit Millionen spezifischer Antikörper, so dass schon aufgrund der bloßen zahlenmäßigen Überlegenheit ein spezifischer Kontakt zustande kommt. Die eingefangenen Erreger werden in die Zelle der B-Lymphozyten eingesaugt. Dieser Vorgang ist das Startsignal für die Zelle sich stark zu vermehren, indem sie viele Tochterzellen bildet. Jede dieser Nachkommen ist nun ihrerseits in der Lage Antikörper zu bilden und auszusenden - genau passend für das zuvor eingefangene Antigen. Es kommt eine schiere Antikörperflut zustande. Jeder einzelne B-Lymphozyt schüttet pro Sekunde tausend Antikörper aus.

Antikörper sind effektive, aber auch gefährliche, Waffen der Immunabwehr. Würden diese sich gegen körpereigene Zellen richten wäre der Effekt nicht zuträglich (Rheuma, Schuppenflechte und co.). Deswegen haben B-Lymphozyten quasi eine Sicherung eingebaut. Es braucht nämlich noch ein weiteres Startsignal bevor die Antikörperproduktion beginnt. Dieses zweite Signal kommt nun sinnvollerweise direkt von den Makrophagen, den Riesenfresszellen. Die Makrophagen strecken ein Stück der gefressenen Beute nach außen – sie präsentieren förmlich das Antigen einem weiteren nützlichen Bestandteil der weißen Blutzellen, den Helferzellen. Die Helferzellen sind so programmiert, dass sie die Makrophagen in ihrer Nachbarschaft ständig abtasten. Wenn eine der **Helferzellen** das Antigen nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip erkennt, übernimmt sie im milliardfachen Überschuss und trägt den Fingerabdruck nun zu den B-Lymphozyten. Das Andocken ist schließlich das Startsignal für die Antikörperproduktion in der B-Lymphozytenzelle. Damit ist aber auch klar, dass die Antikörperproduktion eine gewisse Zeit in Anspruch nimmt. Es vergehen einige Tage, bis die Antikörperproduktion auf Vollast laufen kann.

### Eine Art Gedächtnis.

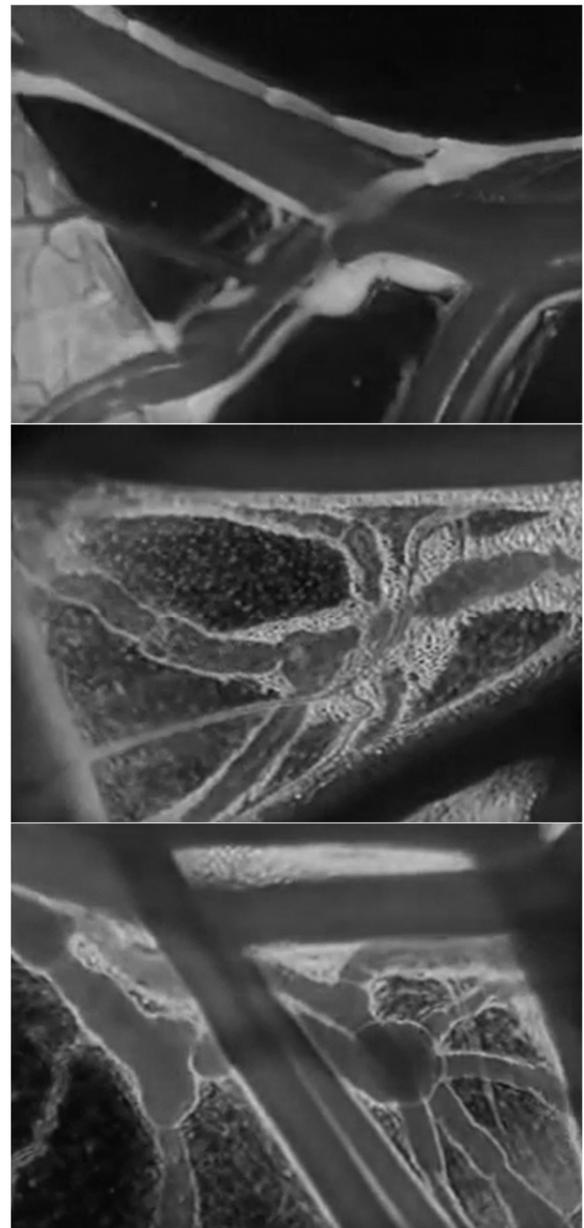
Genau diesen Vorsprung von ein paar Tagen machen sich nun die Bakterien zu nutze. Jedes Bakterium kann sich in rund zwanzig Minuten (per Zellteilung) verdoppeln. Nach fünf Stunden entstehen auf diese Weise rund 30.000 Bakterien (Abb. #). So kommt es, dass Bakterien schon wegen ihrer schier Überzahl die Immunabwehr sprichwörtlich überrollen.



**Abb. 6:** Eine *Escherichia coli* (*E. coli*) Bakteriensuspension wird mit Antikörpern zusammengebracht. Schon nach kurzer Zeit bilden sich Konglomerate (unten). [#]

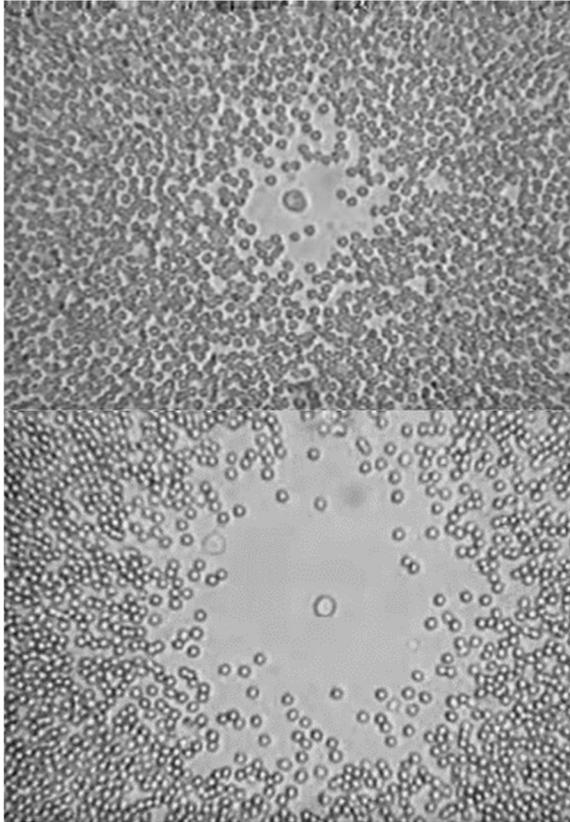
Ein Grund, dass wir dieses Ungleichgewicht überleben ist, dass unsere Immunabwehr ein Gegenmittel gegen diesen Zeitvorsprung entwickelt hat. **Gedächtniszellen** (T- und B-Gedächtniszellen), die sich jahrzehntelang an den Feind erinnern. Bei B-Gedächtniszellen handelt es sich um spezialisierte B-Zellen, die aus aktivierten naiven

B-Zellen hervorgehen. Bei erneutem Kontakt mit demselben Antigen werden sie sofort aktiviert und können innerhalb weniger Stunden eine Immunreaktion auslösen, die ein Ausbrechen einer Infektion verhindert. Wenn der Erreger eintrifft, sind sie quasi aus dem Stand dazu bereit Antikörper auszuschießen. Wer beispielsweise im Mittelalter die Pest einmal überstanden hatte, war gegen eine zweite Infektion gefeit. Auf diese Weise erklärt sich das Phänomen, dass wir als Erwachsene immun gegen Kinderkrankheiten sind. Es wird aber auch verständlich, dass eingeborene Völker in den Tropen bei dem ersten Kontakt mit der Zivilisation keine Gegenmittel gegenüber eingeschleppten Zivilisationskeimen aufweisen können. [#] [#] [#]



**Abb. 7:** Ader, darum gesponnen ein Lymphknoten (oben). Im Innern zu sehen, die Lymphflüssigkeit. Die Milz ist so etwas wie ein Riesensymphknoten. Vorwärts getrieben wird die Lymphe von Klappenventilen. [#]

Aber auch gegen Antikörper und Gedächtniszellen haben Feinde aus der Mikrowelt evolutionär eine Gegenstrategie entwickeln können. Die kleinsten Erreger, die Viren nämlich, verstecken sich z.B. einfach vor Antikörpern (Abb. #). Perfider Weise sucht HIV sich beispielsweise als Wirtszelle ausgerechnet Makrophagen und Helferzellen aus. Das ist in diesem Falle so, als wenn es in der Feuerwehrrache selbst brennt.

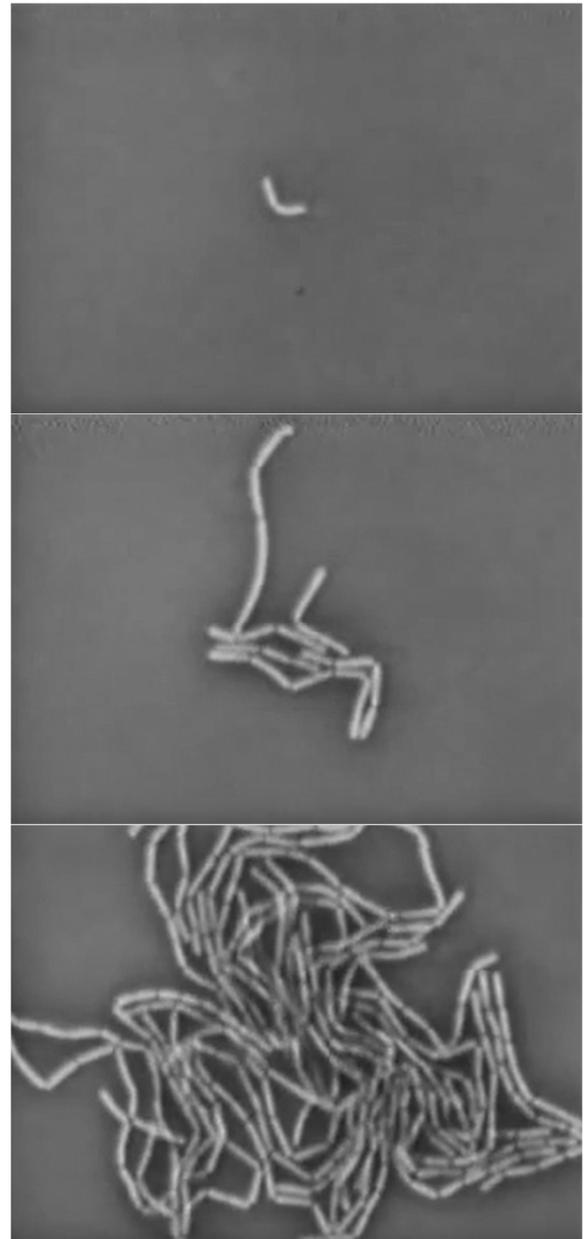


**Abb. 9:** In der Mitte ein B-Lymphozyt umringt von fremden Blutzellen. Die Zelle schießt Antikörper nach außen und jede so getroffene Blutzelle platzt. Der Hof um die B-Lymphozytenzelle wird auf diese Weise binnen Minuten größer und größer. [#]

#### Immunabwehr gegen Viren und andere intrazelluläre Feinde

Die Immunabwehr schickt im Fall eines intrazellulären Erregers einen neuen Typus weißer Blutzellen in die Schlacht, so genannte **cytotoxische Killerzellen**. Diese wandern ebenfalls durch die Lymphgefäße, gehören also auch zur Klasse der Lymphozyten (genauer T-Lymphozyten, weil sie vorher den Thymus durchlaufen). Auf ihrer großen Runde durch den Körper töten sie nun nicht direkt Viren, sondern von Viren befallene Körperzellen. Die Angriffszellen erkennen sie an spezifischen Markern und an kleinen Virenfragmenten, die an der Zelloberfläche befallener Zellen hängen geblieben sind. Es gibt unterschiedliche Killerzellen für bestimmte zelluläre Angriffsziele. Bei Übereinstimmung bohrt sich die Killerzelle in die befallene Körperzelle und sticht sie sprichwörtlich einfach ab (Abb. #). Dass diese Killerzelle sich anschließend vermehrt, um eine möglichst große Streitmacht zu bilden, ist aus Sicht einer effektiven Immunabwehr eigentlich klar.

Alle diese hilfreichen Zellen: Granulozyten, Makrophagen, Helferzellen, Gedächtniszellen, Killerzellen stammen wiederum aus einer einzigen Zelle ab, der **Stammzelle im Knochenmark**. Hormongesteuert produzieren sie alle roten und weißen Blutzellen. Stammzellen zirkulieren jedoch auch im Blutkreislauf und wandern zurück an ihren Geburtsort im Knochenmark. Dieses Verhalten lässt sich auch für die zu (#) vorgestellten Immuntherapien ausnutzen. Grund genug sich mit den Protagonisten und Prozessen der Immunabwehr genauer zu beschäftigen.



**Abb. 10:** Einstündige Zellteilung stäbchenförmiger Bakterien unter dem Mikroskop betrachtet (Quelle #).

## 2.2 Hauptkomponenten der Immunabwehr

Aus einem systematischen Betrachtungswinkel besteht die Immunabwehr aus zellulären Bestandteilen und einem biochemischen Komponenten der Immunabwehr. Die hier weiter aufgeführten Hauptkomponenten

immunologisch interessante Blutbestandteile, grundlegende Botenstoffe, Antigenerkennung sowie Antikörper sind nützliche Wegweiser in vertiefende Primärquellen nützlich.

Der Ausgangspunkt für die Ausdifferenzierung der zellulären Aufgabenteilung sind so genannte Stammzellen (eine befruchtete Eizelle ist totipotent, embryonale Stammzellen sind pluripotent - sie entwickeln sich zu unterschiedlichen Organen, adulte Stammzellen sind multipotent und auf ein Organ festgelegt). Pluripotente Stammzellen sind sowohl in vivo als auch in vitro in der Lage, sich in Zellen aller drei **Keimblätter** sowie der Keimbahn auszudifferenzieren. Für die Immunbiologie ist die weitaus größte Fraktion aller Körperzellen interessant: Blutzellen ( $10^{-6}$  m), die aus dem Mesoderm stammen.<sup>3</sup>

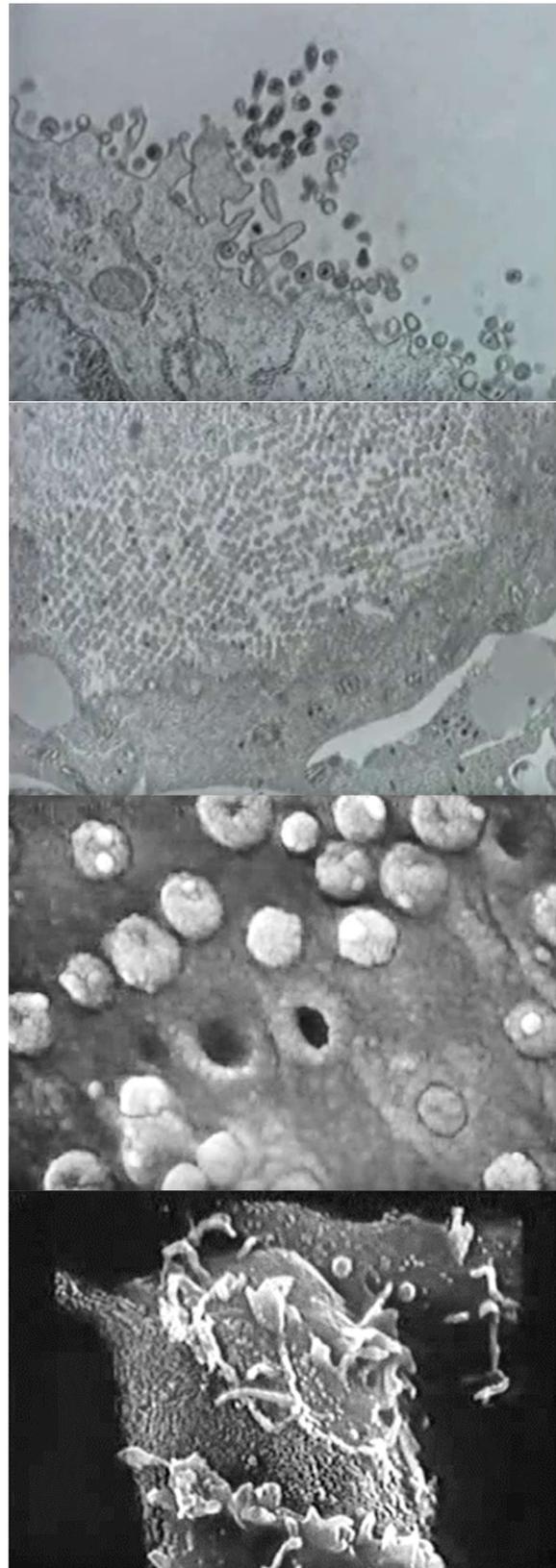
Weißer Blutzellen (Leukozyten) sind im Blut, im Knochenmark, in den lymphatischen Organen und anderen Körpergeweben der Wirbeltiere zu finden. Im Gegensatz zu den **Erythrozyten** (7,5 µm große rote Blutzellen ohne Zellkern) enthalten **Leukozyten** nicht den roten Farbstoff Hämoglobin. Ein dritter Blutbestandteil sind **Thrombozyten** oder Blutplättchen als die kleinsten Zellen des Blutes. Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Blutgerinnung, indem sie sich bei der Verletzung eines Blutgefäßes an das umliegende Gewebe anheften.



**Abb. 11:** Egal wie sie aussehen, rund oder länglich, sie alle verwenden den selben Trick sich in Körperzellen (da wo kein Antikörper hinkommt) zu verstecken. Erstaunlich, denn Viren können weder atmen noch fressen, sich bewegen oder aus eigener Kraft fortpflanzen. Viren funktionieren nach dem Prinzip des Kettenbriefes. Dazu braucht es aus Sicht des Virus lediglich eine -je nach Virus bevorzugte- Wirtszelle. [#]

### Immunbiologisch wichtige weiße Blutzellen

Leukozyten sind immunaktive Zellen und je nach ihrer Art, unterschiedlich in Gestalt und Aufbau. Die Größe der Leukozyten schwankt zwischen 7 µm bei Lymphozyten und 20 µm bei Monozyten.



**Bild 12:** Herpesviren (dunklen Punkte, oben) attackieren eine Körperzelle. Die lebende Zelle stellt sofort ihren bestimmungsgemäßen Betrieb ein und produziert nur noch Viren, so viele, dass sie nach außen dringen (unten). [#]

<sup>3</sup> Keimblätter sind im Zuge der Individualentwicklung eines Einzelwesens (Ontogenese) die erste Differenzierung in verschiedene Zellschichten (von innen nach außen: Entoderm, Mesoderm, Ektoderm), aus denen sich anschließend unterschiedliche Strukturen, Gewebe und Organe

entwickeln. Unter der Keimbahn versteht man die Abfolge von Zelle zur Bildung der Keimdrüsen und der darin gebildeten Eizellen und Spermien.

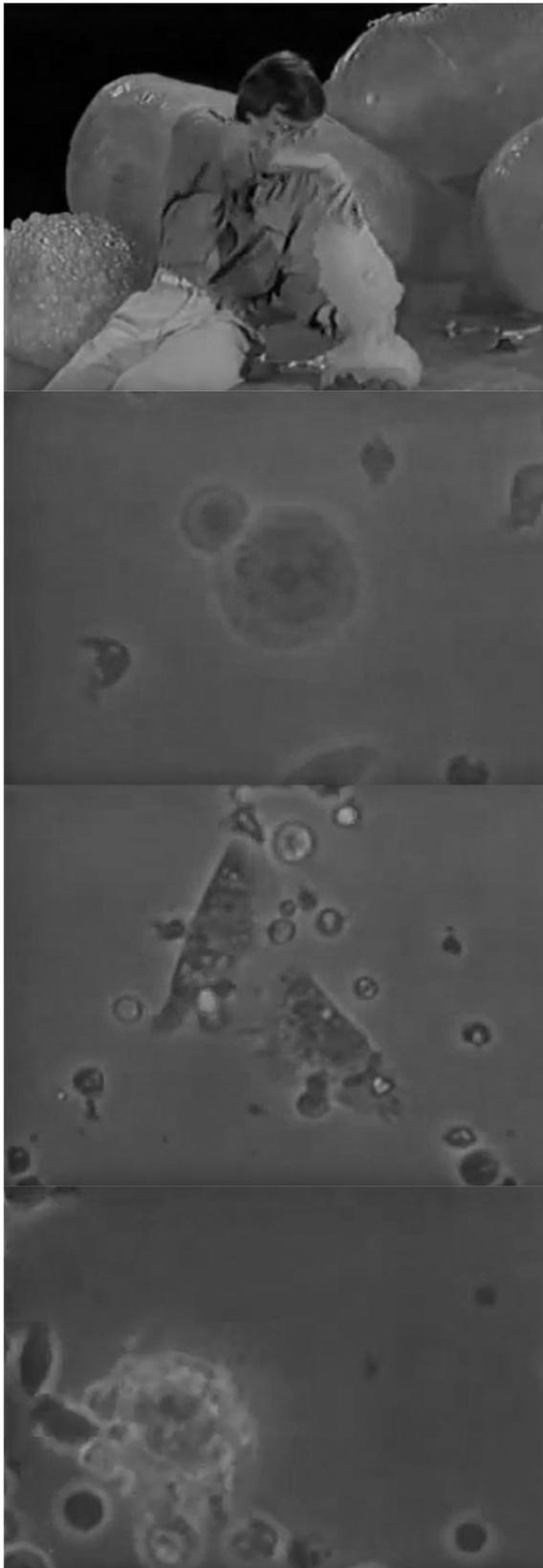


Abb. 13: Killerzelle in dem legendären Modell der Wissenschaftsreihe Querschnitt (oben). Killerzellen im Einsatz: Die großen dunklen Dreiecke sind die befallenen Körperzellen. (Quelle #)

Die Lebensdauer der weißen Blutzellen reicht von wenigen Tagen bis zu mehreren Monaten. Bestimmte Leukozyten sind amöboid beweglich und können aktiv aus dem Blut in die verschiedenen Zellgewebe einwandern.

Die Bildung der Leukozyten ist ein Vorgang, der beim Erwachsenen im roten Knochenmark von Brustbein und Becken beginnt. Die weißen Blutkörperchen werden dort aus so genannten **Vorläuferzellen** der Stammzellen gebildet und differenzieren anschließend innerhalb der unterschiedlichen Kategorien der Leukozyten weiter, je nach den ihnen zugedachten Aufgaben und Funktionen. Um diese erfüllen zu können, müssen Teile der Leukozyten nach ihrer Bildung in bestimmten Organen geprägt werden. Im Lymphsystem, das heißt in Lymphknoten, Thymus, Milz, Mandeln, Knochenmark, müssen sie lernen, welche Stoffe zum Körper des Organismus gehören und welche als fremd anzusehen sind.

Die Stammzellen sind pluripotent. Bei ihrer Teilung entstehen nicht zwei gleiche Tochterzellen, sondern jeweils eine neue pluripotente Stammzelle und eine Vorläuferzelle der einzelnen Blutzellen (determinierte Stammzelle), welche anschließend weiter heranreift. Je nachdem, welcher Wachstumsfaktor (Zytokine) einwirkt, entstehen so die unterschiedlichen Arten entweder der Leukozyten, der Erythrozyten oder der Megakaryozyten.

Neutrophile Granulozyten, Monozyten, Makrophagen und Dendritische Zellen sind als Bestandteil der unspezifischen Abwehr zur Phagozytose fähig. Dabei nehmen sie Fremdmaterial auf und machen es unschädlich (daher Fresszellen genannt). B-Lymphozyten hingegen produzieren nach geeigneter Stimulation speziell gegen bestimmte Erreger oder schädigende Stoffe gerichtete Antikörper (als Teil der spezifischen Immunabwehr). T-Lymphozyten koordinieren -unter anderem- die spezifische und unspezifische Abwehr miteinander. Auch an Entzündungen sind Leukozyten beteiligt und in der Lage, durch freigesetzte Botenstoffe (Mediatoren) wie Zytokine und Leukotriene diese aufrecht zu halten, zu modulieren oder zu beenden. Leukozyten spielen außerdem eine wesentliche Rolle bei allen Autoimmunkrankheiten.

#### Kommunikation zwischen einzelnen Zellen, Histokompatibilität und Antigenerkennung

Histamin ist ein einfach aufgebauter Naturstoff, der im menschlichen oder tierischen Organismus als Gewebshormon und Neurotransmitter wirkt. **Histamin** spielt eine zentrale Rolle bei allergischen Reaktionen und der Abwehr körperfremder Stoffe, beteiligt. Es dient als einer der Botenstoffe in der Entzündungsreaktion, um eine Anschwellung des Gewebes zu bewirken.

Als **Zytokine** werden Proteine bezeichnet, die das Wachstum und die Differenzierung von Zellen regulieren. Sie sind eine Gruppe von Peptiden, die vor allem die Proliferation und Differenzierung von Zielzellen einleiten oder regulieren. Einige Zytokine werden dementsprechend als Wachstumsfaktoren bezeichnet, andere spielen eine wichtige Rolle für immunologische Reaktionen und bei Entzündungsprozessen und können dann als Mediatoren bezeichnet werden. Man unterscheidet im

Wesentlichen fünf Hauptgruppen von Zytokinen: (i) Interferone, (ii) Interleukine, (iii) koloniestimulierende Faktoren, (iv) Tumornekrosefaktoren und (v) Chemokine.

**Interleukin-1 und Gammainterferon** - Abwehrzellen funktionieren im Körper wie im Reagenzglas, sie sind durch ein komplexes Netz chemischer Signale miteinander verbunden. Helferzellen dienen beispielsweise zur Übermittlung eines chemischen Signals (Makrophagen senden Interleukin-1 an die Helferzellen, die dafür passende Rezeptoren besitzt). Helferzellen antworten mit Gammainterferon. Die Ausschüttung von Interleukin-1 und Gammainterferon schaukelt sich gegenseitig hoch.

In diesem Zusammenhang sind die erst in den siebziger Jahren des 20. Jahrhunderts entdeckten **dendritische Zellen** bemerkenswert. Sie sind Zellen des Immunsystems, die sich je nach Typ entweder aus Monozyten oder aus Vorläufern der B- und T-Zellen entwickeln. Es handelt sich also um teilweise nur entfernt verwandte Zelltypen, die aufgrund ihrer Funktionen unter dem Namen ‚dendritische Zellen‘ zusammengefasst werden. Die Funktion der dendritischen Zellen ist die **Antigenerkennung und Antigenpräsentation** vorher als fremdartig erkannter und intrazellulär aufgenommener Strukturen wie z. B. Mikroorganismen und deren Bestandteile. Dendritische Zellen sind als einzige Zellen in der Lage, so eine primäre Immunantwort zu induzieren, indem sie naive T-Lymphozyten aktivieren. Alle anderen antigenpräsentierenden Zellen sind lediglich imstande, Antigene aufzunehmen, zu vervielfältigen und zu präsentieren. Durch Ausschüttung entsprechender Cytokine und Expression bestimmter Zelloberflächen-Rezeptoren beeinflussen dendritische Zellen T-Zellen und verstärken so die spezifische zelluläre Immunabwehr. Mithilfe ihrer Ausläufer können sie größere Flächen effektiv nach Fremd-Antigenen absuchen. [#] [#] [#]

Für die Immunerkennung und Gewebeverträglichkeit bei Transplantationen und die immunologische Individualität sind weiter **MHC-Komplexe** auf dem Chromosom 6 wichtig. Die Genprodukte, die MHC-Proteinkomplexe, sind körpereigene Antigene auf der Oberfläche von Körperzellen und dienen der Identifikation körpereigener Zellen. Daher kommt auch die Bezeichnung HLA-System (Human Leucocyte Antigen, menschliches Leukozytenantigen) für das Regulationssystem der humanen Immunabwehr, dessen wichtigster Bestandteil der MHC ist. Unter anderem werden vom Haupthistokompatibilitätskomplex die MHC-Klasse-I- und MHC-Klasse-II-Proteinkomplexe codiert, die für die Funktion des Immunsystems eine zentrale Rolle spielen. Damit Antigene von T-Lymphozyten erkannt werden können, müssen sie zuvor aufbereitet und auf die vom MHC codierten Klasse-I- und Klasse-II-Rezeptoren, auf der Zelloberfläche präsentiert werden. Dieses Phänomen nennt man MHC-Restriktion.

Der MHC-Klasse-I-Komplex findet sich auf der Oberfläche nahezu aller (kernhaltiger) Zellen des Organismus und

dienen der Antigenpräsentation für zytotoxische T-Zellen sowie dem Schutz gesunder Zellen vor einer Zerstörung durch Killerzellen. Der **MHC-Klasse-I-Proteinkomplex** besteht aus einer größeren an der Zellmembran verankerten Untereinheit, der schweren Kette (heavy chain, HC), und einer kleineren löslichen Untereinheit, dem  $\beta$ 2-Mikroglobulin ( $\beta$ 2M), sowie einem antigenischen Peptid. Im Proteinkomplex lassen sich vier Domänen unterscheiden: Die  $\alpha$ -Untereinheit stellt drei Domänen dar ( $\alpha$ 1 bis  $\alpha$ 3), das  $\beta$ 2-Mikroglobulin die vierte Domäne. Die Domänen ( $\alpha$ 1 und  $\alpha$ 2) bilden eine Grube, in der das Peptid gebunden ist. [#]

#### Selbsttoleranz der Immunabwehr

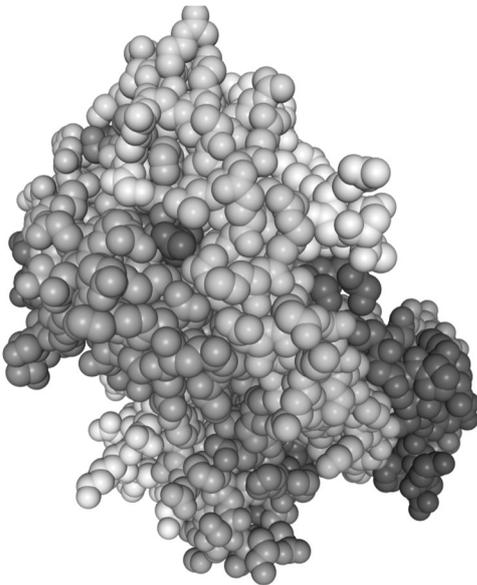
Das Immunsystem überwacht den Körper fortwährend auf das Vorliegen viraler Infektionen und entarteter Zellen, indem es überprüft, ob Zellen körpereigene oder fremde Proteine präsentieren und auf das Vorhandensein von MHC-I-Proteinkomplexen. Die präsentierten Peptide stellen ein Abbild der in den Zellen synthetisierten Proteine dar. Die cytotoxischen T-Lymphozyten (CD8+ T-Zellen) sind so selektioniert, dass sie in der Regel mit ihrem T-Zell-Rezeptor nicht an Zellen binden, die ein Peptid präsentieren, das einem körpereigenen Protein entstammt. Dieses Phänomen nennt man Selbsttoleranz und schützt den Körper vor Angriffen des eigenen Immunsystems. Ist jedoch eine Zelle mit Viren infiziert oder von Mutationen betroffen und exprimiert somit neuartige Proteine, werden dem Immunsystem körperfremde Peptide als Teil des MHC-Klasse-I-Komplexes präsentiert und cytotoxische T-Lymphozyten aktiviert, welche die betroffenen Zellen vernichten. [#]

MHC-Klasse-II-Komplexe werden von spezialisierten Zellen des Immunsystems, so genannten professionellen Antigen-präsentierenden Zellen, präsentiert und von T-Helferzellen erkannt. Zu den Antigen-präsentierenden Zellen gehören unter anderem die Monozyten und Makrophagen, dendritische Zellen im Thymusmark, dendritische Zellen in Blut, Lymphe, Epidermis und anderen Geweben, phagozytoseaktive Zellen des Gefäßendothels, nicht phagozytierende folliculäre dendritische Zellen in Sekundärfollikeln von Lymphknoten und Milz (exprimieren aber kein MHC-II) und B-Lymphozyten. [#]

Der **MHC-Klasse-II-Proteinkomplex** besteht aus zwei etwa gleich großen membranverankerten Untereinheiten, der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Untereinheit, sowie ebenfalls einem Peptid. Im Gegensatz zum Klasse-I-Komplex sind hier beide Untereinheiten in der Zellmembran verankert. Der Proteinkomplex besteht aus vier extrazellulären Domänen ( $\alpha$ 1 und  $\alpha$ 2 sowie  $\beta$ 1 und  $\beta$ 2). Auch dieser Komplex bildet eine Grube, die von der  $\alpha$ 1 und  $\beta$ 1 Domäne geformt wird, und in der das Peptid gebunden ist. Die Peptide, die auf MHC-Klasse-II-Komplexen präsentiert werden, stammen von extrazellulären Proteinen ab.

Wie die T-Killerzellen sind auch T-Helferzellen so selektioniert, dass sie nur dann mit ihrem T-Zellrezeptor an

einen MHC-Klasse-II-Komplex binden und damit aktiviert werden, wenn ein körperfremdes Antigen präsentiert wird. [#]



**Abb. 14: Kristallstruktur MHC-II-Komplex HLA B\*4402 in Komplex mit HLA DPA\*0201 Peptid. Hergestellt mit dem Expressionssystem *Escherichia coli* BL21. [#]**

Die MHC-Klasse-I/II-Komplexe bewegen sich zunächst in das endoplasmatische Retikulum. Damit sie hier nicht an eines der vielen Proteine binden, die sich im endoplasmatischen Retikulum befinden, sind die MHC-Klasse-II-Komplexe mit einer „invarianten“ Proteinkette, assoziiert. Ein Teil der Kette liegt in der Bindungstasche und verhindert so temporär die Bindung anderer Proteine. Die invariante Kette formt mit zwei anderen ein Trimer. Bis dieser stabile Zustand erreicht ist, sind die MHC-Klasse-II-Komplexe an Calnexin gebunden. Nachdem das Trimer gebunden ist, verlassen die MHC-Klasse-II-Komplexe das ER. Das intrazelluläre Kompartiment mit den MHC-Klasse-II-Komplexen fusioniert mit einem Endosom und wird durch Proteasen mehrfach gespalten. Nach zwei Spaltungen bleibt nur noch ein kurzes Peptid, das in der Bindungstasche liegt, zurück. Dieses wird CLIP (class-II-associated invariant chain peptide) genannt und verhindert weiterhin die Bindung eines Peptids. Um ein Peptid aus dem Endosom binden zu können muss der CLIP dissoziieren oder abgespalten werden. Dieser Vorgang wird durch ein weiteres MHC-Klasse-II-Komplex katalysiert, beim Menschen HLA-DM genannt. Es katalysiert die Abspaltung des CLIPs, bindet an leere MHC-Klasse-II-Komplexe und stabilisiert diese. HLA-DM selbst bindet keine Peptide, die Bindungstasche ist bei diesem Komplex geschlossen. Außerdem katalysiert HLA-DM den Austausch eines schwach gebundenen Peptids durch eines mit höherer Affinität zur Bindungsgrube. Wie auch MHC-I-Komplexe sind MHC-II-Komplexe ohne gebundenes Peptid instabil und werden durch Proteasen schnell abgebaut. Auch sie präsentieren bei nicht infizierten Zellen zelleigene Peptide auf der Oberfläche. [#] [#] [#]

### Antigenrezeptoren, Antikörper und Schlüssel-Schloss-Prinzipien

**Antigene** sind Stoffe, an die sich Antikörper und bestimmte Lymphozyten-Rezeptoren spezifisch binden können. Die entsprechenden Rezeptoren der Lymphozyten heißen je nach Art der Lymphozyten B-Zell-Rezeptoren oder T-Zell-Rezeptoren. Die spezifische Bindung von Antikörpern und Antigen-Rezeptoren an Antigene ist ein wesentlicher Teil der adaptiven Immunität gegen Pathogene. Antigene können also eine Immunantwort auslösen und damit immunogen wirken, jedoch ist nicht jedes Antigen auch immunogen. Die Stelle des Antigens, die von dem entsprechenden Antikörper erkannt wird, heißt Epitop. Ein **Epitop** ist eine Struktur, die im Zuge einer adaptiven Immunantwort gebildet wird. Genauer sind Epitope umschriebene molekulare Strukturen bzw. Molekülabschnitte eines Antigens, die eine spezifische Immunantwort auslösen können.

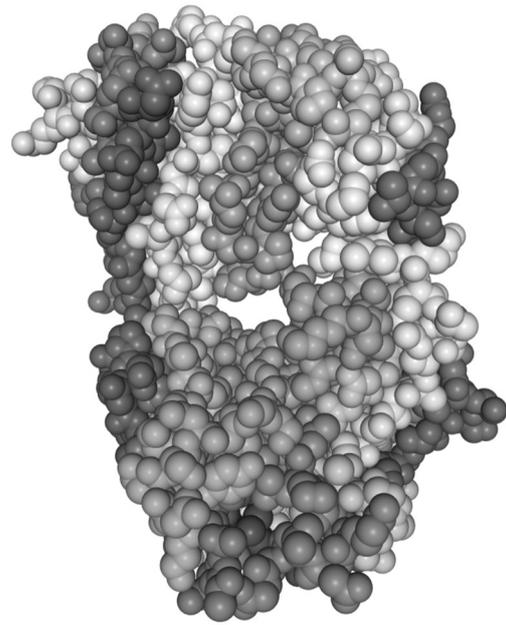
Oftmals ist es ein Bereich der Oberfläche eines Antigens, an den ein Antikörper oder T-Zell-Rezeptor spezifisch bindet. Antikörper sind normalerweise gegen Proteine bzw. Proteide gerichtet. In seltenen Fällen können auch Antikörper gegen andere chemische Strukturen (z. B. DNA, Saccharide, Schwermetalle, Steroidhormone, Penicillin) gebildet werden. Antigene sind meistens Proteine, können aber auch Kohlenhydrate, Lipide oder andere Stoffe sein. Sie können entweder von B-Zell-Rezeptoren, T-Zell-Rezeptoren oder (von B-Zellen produzierten) Antikörpern erkannt bzw. gebunden werden. [#] [#] [#]

Antigene, welche von **B-Zell-Rezeptoren** oder Antikörpern erkannt werden, befinden sich auf den Oberflächen von eingedrungenen Fremdkörpern oder Zellen und weisen dort eine dreidimensionale Struktur auf, welche spezifisch von bestimmten B-Zell-Rezeptoren oder Antikörpern erkannt werden kann. Antigene auf Zelloberflächen werden als Oberflächenantigene bezeichnet. Diese werden unter anderem zur Entwicklung von Impfstoffen gegen Pathogene oder Tumoren eingesetzt oder werden vor einer Bluttransfusion oder Organtransplantation untersucht, um eine Immunreaktion gegen fremde Blutgruppen zu vermeiden. Antigene, welche von **T-Zell-Rezeptoren** erkannt werden, sind denaturierte Peptidsequenzen, die von antigenpräsentierenden Zellen (APC) aufgenommen und zusammen mit MHC-Molekülen an der Oberfläche präsentiert werden. Auch körpereigene Strukturen, so auch Antikörper selbst, können als Antigene wirken, wenn sie fälschlicherweise als fremd angesehen werden. Dadurch wird eine Autoimmunreaktion ausgelöst, diese kann in schweren Fällen zu einer Autoimmunkrankheit führen. Bestimmte niedermolekulare Stoffe, die alleine keine Antikörperreaktion hervorrufen können, sondern erst durch die Bindung an ein Trägerprotein eine Immunreaktion auslösen können, heißen **Haptene** oder Halbantigene. Kleine Moleküle wie einzelne Kohlenhydrate, Amino- oder Fettsäuren können keine Immunreaktion bewirken. [#] [#] [#]

Die Gegenspieler der Antigenrezeptoren sind die Antikörper. Jeder **Antikörper** besteht aus zwei identischen schweren Ketten (engl. heavy chains, H) und zwei identischen leichten Ketten (engl. light chains, L), die durch kovalente Disulfidbrücken zu einer Y-förmigen Struktur miteinander verknüpft sind. Die leichten Ketten bestehen aus jeweils einer variablen und einer konstanten Domäne. Bezeichnet werden diese als VL und CL. Die schweren Ketten hingegen haben jeweils eine variable und drei bzw. vier konstante Domänen. Die variablen Domänen einer leichten und einer schweren Kette bilden die Antigenbindungsstelle. Die Domäne CH2 besteht u. a. auch aus einer Kohlenhydratkette, die eine Bindungsstelle für das **Komplementsystem** bildet<sup>4</sup>. Die Domäne CH3 ist die Fc-Rezeptor-Bindungsstelle zur Opsonierung. Die variablen Domänen bilden ihrerseits verschiedene charakteristische **Paratope** aus, die zusammen einen **Idiotyp** bilden. Die beiden Leichtketten sind je nach Organismus und Immunglobulin-Subklasse entweder vom Typ  $\kappa$  oder  $\lambda$  und bilden zusammen mit dem oberhalb der Gelenkregion (engl. hinge region) liegenden Anteil der schweren Ketten das antigenbindende Fragment Fab (engl. antigen-binding fragment), welches enzymatisch mit Hilfe von Papain von dem darunterliegenden kristallisierbaren Fragment Fc (engl. crystallisable fragment) abgespalten werden kann. Die ausgesprochene Variabilität der Antigenbindungsstellen (abgekürzt CDR, engl. Complementarity Determining Region) erreicht der Organismus über die V(D)J-Rekombination. [#] [#] [#]

Die **Antigen-Antikörper-Reaktion** ist eine Immunreaktion, bei der sich ein Komplex aus Antigen und Antikörper bildet. Dieser wird als Antigen-Antikörper-Komplex oder auch Immunkomplex bezeichnet. Den Teil der Oberfläche des Antigens, den der Antikörper spezifisch erkennt und bindet, nennt man Epitop oder Antigene Determinante. Verschiedene Antikörper können gegen verschiedene Epitope desselben Antigens gerichtet sein (Polyklonalität). Kleine Immunkomplexe entstehen im Körper täglich, so beim Kontakt mit Bakterien, die bei banalen Verletzungen in die Blutbahn gelangen und dort an Antikörper binden. Auch bei viralen Infekten ist dieser Zusammenhang bekannt. Die Immunkomplexe werden durch Bindung von Komplementkomponenten in löslicher Form gehalten. Sie binden an den Komplementrezeptor CR1 auf Erythrozyten und werden zur Leber transportiert und dort abgebaut. Große, zur Ablagerung neigende Immunkomplexe entstehen dann, wenn hohe, nahezu äquimolare Konzentrationen an Antigenen und Antikörpern aufeinandertreffen. Dann binden Antigene und Antikörper aneinander und bilden große, stark vernetzte Immunkomplexe, die im Plasma nicht mehr löslich sind und ausfallen.

<sup>4</sup> Das Komplementsystem ist ein System von Plasmaproteinen, das im Zuge der Immunantwort auf zahlreichen Oberflächen von Mikroorganismen aktiviert werden kann. Ursprünglich wurde es als ergänzender (komplementierender) Teil der Antikörperantwort entdeckt, doch ist heute bekannt, dass es auch am angeborenen Immunsystem beteiligt ist. Die mehr als 30 Proteine des menschlichen Komplementsystems sind im Blutplasma gelöst oder zellgebunden und dienen der Abwehr von



**Abb. 15: Struktur der Staphylococcus aureus Protein A Domäne an einem IgM-Antikörper. Untersuchung der Erkennung von B-Zellrezeptoren Antigenaktivität. [#]**

In bestimmten Fällen (z. B. bei Autoimmunerkrankungen) besteht der Immunkomplex auch aus Autoantigenen und Autoantikörpern (z. B. bei Lupus erythematoses). Die Ablagerung von Immunkomplexen in den Gefäßen führt zur Komplementaktivierung und konsekutiver neutrophiler Chemotaxis sowie zu apoptotischem Zerfall der neutrophilen Leukozyten (Leukozytoklasie) (z. B. bei leukozytoklastischer Vaskulitis). Der klassische Vertreter einer Immunkomplexerkrankung ist die Serumkrankheit. [#] [#]

B-Zellen aktivieren, wenn sie durch Antigene quervernetzt werden, membranständige Antikörper (B-Zell-Rezeptoren). Die B-Zelle nimmt daraufhin den Immunkomplex durch Endozytose auf, verdaut das Antigen proteolytisch und präsentiert über MHC-Klasse-II-Moleküle Fragmente davon auf ihrer Zelloberfläche. Wenn die präsentierten Fragmente auch (parallel auf anderen professionellen Antigen-präsentierenden Zellen oder auf ebendieser B-Zelle) von einer T-Helferzelle erkannt werden, stimuliert diese T-Zelle die B-Zelle, was weitere Reifungsprozesse (somatische Hypermutation, Klassenwechsel) und Proliferation zu Antikörper-sezierenden Plasmazellen oder/und zu B-Gedächtniszellen auslöst. Diese **Reifungsprozesse** finden innerhalb von Keimzentren in den sekundären lymphatischen Organen (Milz, Lymphknoten) statt und werden unter dem Begriff der Keimzentrumsreaktion zusammengefasst. Der B-Zell-Rezeptor ist, mit Ausnahme eines kleinen Teils am

Mikroorganismen (z. B. Bakterien, Pilze, Parasiten), haben jedoch auch stark zellzerstörende Eigenschaften und können, wenn sie unreguliert wirken, im Verlauf vieler Krankheiten (z. B. Glomerulonephritis, hämolytisch-urämisches Syndrom, Herzinfarkt, systemischer Lupus erythematoses, Rheumatoide Arthritis) für Gewebsschäden verantwortlich sein. [#] [#]

Carboxylende der schweren Kette, mit dem Antikörper der jeweiligen B-Zelle identisch. Der B-Zell-Rezeptor besitzt dort eine hydrophobe, in der Zellmembran verankerte Sequenz, der Antikörper dagegen eine hydrophile Sequenz, die seine Sekretion bewirkt. Die beiden Formen entstehen durch alternative RNA-Prozessierung. [#]

Antikörper wirken durch verschiedene Mechanismen:

- (i) Der einfachste ist die Neutralisation von Antigenen, messbar in einem Neutralisationstest. Dadurch, dass der Antikörper das Antigen bindet, wird dieses blockiert und kann beispielsweise seine toxische Wirkung nicht mehr entfalten, oder andere Wechselwirkungen des Antigens mit Körperzellen werden verhindert, z. B. das Eindringen von Bakterien oder Viren in Zellen oder Gewebe.
- (ii) Ein weiterer ist die Opsonisierung („schmackhaft machen“), das Einhüllen von Krankheitserregern und Fremdpartikeln mit Antikörpern zur Markierung für das Immunsystem. Wenn ein Antikörper beispielsweise an ein Antigen bindet, das sich auf der Oberfläche eines Bakteriums befindet, markiert er damit gleichzeitig das Bakterium, denn die konstante Region des Antikörpers, der an sein Antigen gebunden hat, wird von Phagozyten erkannt, die als Fresszellen das Bakterium aufnehmen und verdauen können.
- (iii) Eine dritte Wirkungsweise ist, dass Antikörper das Komplementsystem aktivieren. Dies sind IgM (als Monomer) und auch nach Bindung eines IgG ausgebildete Oligomere von IgG, mit verstärkter Aktivierung durch IgG-Hexamere. Das führt zu einer Perforation der markierten Zelle.

Bei den meisten Wirbeltieren gibt es fünf **verschiedene Klassen von Immunglobulinen**, die anhand ihrer unterschiedlichen Gen-Abschnitte für die konstanten Teile der schweren Kette eingeteilt werden: [#]

(IgA) Immunglobulin A wird auf allen Schleimhäuten der Atemwege, der Augen, des Magen-Darm-Trakts, des Urogenitaltrakts sowie über spezielle Drüsen rund um die Brustwarze von Müttern sezerniert und schützt dort (auch das Neugeborene) vor Pathogenen. Sezerniertes IgA kommt in Form von Homodimeren vor.

(IgD) Immunglobulin D wird durch alternatives Spleißen der IgM/IgD-Prä-mRNA zusammen mit IgM als B-Zell Rezeptor (BCR) auf reifen, naiven (antigenunerfahrenen) B-Zellen membranständig präsentiert. IgD ist nur in geringen Mengen in sezernierter Form in Blut und Lymphe vorhanden. Es wirkt als Antigenrezeptor bei der von Antigen stimulierten Vermehrung und bei der Differenzierung der B-Zellen.

(IgE) Immunglobulin E vermittelt den Schutz vor Parasiten, wie z. B. Würmern, und ist an Allergien beteiligt. Es wird durch Rezeptoren auf Mastzellen gebunden. Aus diesem Grund ist nahezu alles IgE membrangebunden, im Blut ist es praktisch nicht vorhanden. Bei Antigenkontakt wird es quervernetzt, was zur Ausschüttung von Histamin durch die Mastzellen und Granulozyten führt (allergische Sofortreaktion). Die ausgeschütteten Mediatoren wirken stark gefäßerweiternd, was das Herankommen anderer Immunzellen erleichtert.

(IgG) Immunglobulin G wird erst in einer verzögerten Abwehrphase gebildet und bleibt lange erhalten. Der Nachweis zeigt eine durchgemachte Infektion oder eine Impfung an. Krankheiten mit einem angeborenen oder erworbenen Mangel an Antikörpern betreffen oft IgG. Bildet der Körper gegen eigene Körperbestandteile Antikörper, so genannte Autoantikörper, spricht man von einer Autoimmunkrankheit. IgG wird außerdem aktiv über das Blut und die Plazentabarriere in den Fötus transportiert und sorgt dort auch nachgeburtlich für einen ersten Schutz vor Infektionen. Über zwei antigengebundene IgG wird das Komplementsystem aktiviert. Der Fc-Rezeptor vermittelt Phagozytose.

(IgM) Immunglobulin M ist die Klasse von Antikörpern, die bei Erstkontakt mit Antigenen gebildet wird und zeigt die akute Infektionsphase einer Krankheit an. IgM ist ein Multimer aus fünf Protein-Untereinheiten. Da IgM zehn Bindungsstellen für Antigene hat, führen diese Antikörper zu einer starken Agglutination. Der Antigen-Antikörperkomplex von IgM-Pentameren aktiviert den klassischen Weg des Komplementsystems, weiterhin werden die AB0-Blutgruppen von IgM-Antikörpern erkannt.

Die verschiedenen Isotypen kommen in verschiedenen Kompartimenten des Körpers vor und haben unterschiedliche Aufgaben. Darüber hinaus gibt es einige Klassen, die nur in einzelnen Tiergruppen zu finden sind. Immunglobulin Y beispielsweise ist in Hühnern das funktionelle Äquivalent zu IgG und ähnelt diesem in seiner Struktur. Es ist in hohen Konzentrationen in Hühnereiern zu finden und führt beim Ingenieur zu allergischen Reaktionen.

#### Monoklonale Antikörper

Monoklonale Antikörper sind immunologisch aktive Proteine, die von einer Zelllinie (Zellklon) produziert werden, die auf einen einzigen B-Lymphozyten zurückgehen, und die sich gegen ein einzelnes Epitop richten. Die Technik beruht auf der Verschmelzung von Antikörperproduzierenden B-Zellen mit Zellen einer Myelom-Zelllinie, wodurch hybride Zellen entstehen, die unbegrenzt Antikörper einer bestimmten Spezifität produzieren. [#]

### 2.3 Medizinhistorische Einordnung und erste Impfversuche

Der Kampf zwischen Mensch und Krankheit kann in drei Epochen eingeteilt werden. In einer frühen Epoche des Geisterglaubens, war eine Krankheit Zeichen göttlichen Zorns. Um sie zu besiegen waren Schamanen, Hexer oder Seherinnen notwendig, denen ihrer Heilkenntnisse wegen hohe Macht und Ansehen zustanden. Die zweite, bis in unsere Zeit reichende Ära, setzte in der Antike an. In ihr begann das wissenschaftliche Verständnis von klinischen Krankheitsbildern und die Heilpraktiken orientierten sich an der Diagnose und den verursachenden Mechanismen. Als Begründer der rational-empirischen Medizin gilt der griechische Arzt und Theoretiker Hippokrates (um 300 v.Chr.). Dieses Paradigma, in dem die Therapie eine zentrale Rolle spielt, erlebte mit der synthetischen Chemie im 19. und 20. Jahrhundert einen Aufschwung ohnegleichen. In einer dritten Ära -der Zukunft- werden Krankheiten indes bereits durch Vorsorgemaßnahmen verhindert werden können. Eine Hauptrolle werden in dieser Zukunftsvision Impfungen spielen, die nicht nur zu den wirkungsvollsten, sondern auch zu den kostengünstigsten Möglichkeiten der präventiven Medizin gehören. [#]

Der erste Bericht über eine erworbene Resistenz gegen eine Infektionskrankheit stammt aus dem Zeitraum um 400 v.Chr. während des Peloponnesischen Krieges. Genesene wurden in Athen zur Pflege eingesetzt, denn sie blieben dem Bericht zufolge gesund. Aber auch Verfahren, um Personen künstlich gegen Pocken zu immunisieren, gab es bereits im Altertum.

#### Bakteriologie, Virologie, Serologie

Diese kamen über China und Indien nach Persien und von dort über die Türkei nach Europa. Für die Verbreitung nach Westen sorgte im 18. Jahrhundert Mary Wortley Montagu, die das Verfahren als Frau des britischen Botschafters in der Türkei kennenlernte. So wurden 1722 auch die englischen Königsöhne gegen Pocken geimpft. Das praktizierte Verfahren war indes nicht ungefährlich. Bis zu vier Prozent der Behandelten erkrankten danach ernsthaft, oft mit Todesfolge. Erst 1796 fand der britische Arzt Edward Jenner (1749-1823) den noch heute praktizierten Ansatz: Er nahm als Vakzine Pustelsekret einer Melkerin, die sich mit der harmlosen verlaufenden Infektion mit Kuhpocken infiziert hatte. Impflinge erwiesen sich später als immun gegen echten Pocken.

Die gezielte wissenschaftliche Entwicklung von Impfstoffen setzte jedoch erst rund 100 Jahre später ein, als der Chemiker und Mikrobiologe Louis Pasteur (1822-1895) zeigen konnte, dass infektiöse Mikroorganismen solche Erkrankungen auslösen können. In dem selben Zeitraum Robert Koch (1843-1910) gelang es die Erreger des Milzbrands und der Tuberkulose (*Bacillus anthracis* u. *Mycobacterium tuberculosis*) zu kultivieren und deren

Lebenszyklus zu beschreiben. Friedrich Loeffler (1852-1915), Militärarzt und Schüler Robert Kochs, entdeckte den Rotz-Erreger, den Erreger der Diphtherie, den Erreger des Schweinerotlaufs und das Virus der Maul- und Klauenseuche. Damit machte Löffler sich zum Mitbegründer der Virologie. Er erarbeitete eine Impfung gegen diese Viruseuche und gründete die Virusforschungsanstalt auf der Insel Riems bei Greifswald. [#]



Abb. 16: Beinamputation in einem Hamburger Pesthof um 1712/13. In der letzten Pestepidemie in Deutschland fiel ein Drittel der Bevölkerung der Beulenpest zum Opfer. (Quelle)

Emil von Behrings (1854-1917), ein Schüler von C. R. Fresenius, Aufsatz „Über das Zustandekommen der Diphtherieimmunität und der Tetanusimmunität bei Thieren“ gilt als Grundlage der Serumtherapie. Ende des Jahres 1891 wurde das aus dem Serum von Schafen gewonnene Diphtherieheils Serum (Diphtherie-Antitoxin) erstmals an zwei erkrankten Kindern eingesetzt – allerdings erfolglos, da die verwendete Dosierung des Antitoxins zu gering war. [#] [#] [#]

#### Die Chemie verhilft der Immunbiologie zum Durchbruch

In den zwanziger Jahren des 20. Jahrhunderts wurden Impfungen weiter Bevölkerungskreise möglich, als man sichere und reproduzierbare Wege gefunden hatte Toxine und Pathogene zu inaktivieren bzw. abgeschwächte Erreger zu züchten. Einen gar nicht zu überschätzenden Anteil an den Erfolgen der Medizin ist insgesamt der Person Paul Ehrlichs (1854-1915) zuzuschreiben. Durch seine Färbemethoden unterschied er verschiedene Arten von Blutzellen, wodurch die Diagnose zahlreicher Blutkrankheiten ermöglicht wurde. Ungewöhnlich für seine medizinische Arbeit war ihr chemischer Schwerpunkt: Ehrlich stellte in ihr das gesamte Spektrum der damaligen Färbetechniken und die Chemie der verwendeten Farbstoffe dar. Ehrlich baute die Differenzierung der weißen Blutkörperchen anhand ihrer verschiedenen Granula weiter aus und grenzte innerhalb der Leukozyten die Lymphozyten ab. Durch ihre Granulierung konnte er nichtgranulierte Lymphozyten, mono- und polynukleäre Leukozyten, eosinophile Granulozyten und Mastzellen unterscheiden. Für die Differentialdiagnostik der

Blutkrankheiten führte er die Auszählung der verschiedenen Blutzellen ein. [#] [#] [#]

Ehrlich war entscheidend an der Entwicklung des Heilserums gegen Diphtherie beteiligt, die üblicherweise Emil von Behring alleine zugeschrieben wird. Behring hatte am Institut für Infektionskrankheiten bis 1893 versucht, Immenserum zur Behandlung von Diphtherie und Tetanus zu entwickeln, dabei aber nur stark schwankende Resultate erhalten. Ehrlich gelang es schnell den Grad der Immunisierung der Versuchstiere hochzutreiben. Ehrlich war es auch der als Erster ein Serum entwickelt hatte, das auch am Menschen angewendet werden konnte. Klinische Versuche mit dem Diphtherie-Heilserum waren Anfang 1894 erfolgreich, und die Farbwerke Hoechst brachten im August „Behring's Diphtherie-Heilmittel dargestellt nach Behring-Ehrlich“ auf den Markt. Behring und Ehrlich hatten ursprünglich vereinbart, (nach Abzug des Anteils der Farbwerke Hoechst) den Gewinn zu teilen. Die Verträge wurden noch mehrfach geändert, und schließlich wurde Ehrlich dazu gedrängt, einen Gewinnanteil von nur noch acht Prozent zu akzeptieren. [#] [#] [#] [#] [#]

Ehrlichs Leistung, aber auch Problem bei seiner weiteren Karriere war, dass er ein neues Gebiet zwischen Chemie, Biologie und Medizin erschlossen hatte. Viele seiner Arbeiten wurden von Medizinern mit Unverständnis aufgenommen, weil die chemischen Anforderungen weit über ihren Horizont hinausgingen. Neben seinen Arbeiten zur Immunität und dem Diphtherieheilserum machte Ehrlich um die Wertbestimmung von Sera, der theoretischen Erklärung der Immunabwehr (Seitenkettentheorie) sowie der Krebsforschung und Chemotherapie verdient. Als Erster entwickelte er eine medikamentöse Behandlung der Syphilis und begründete damit die Chemotherapie. 1908 erhielt er zusammen mit Ilja Metschnikow für seine Beiträge zur Immunologie den Nobelpreis. [#]

### Zwei systematische Denkrichtungen

Die Humoralimmunologen, die prominentesten von ihnen Paul Ehrlich und Emil Adolf von Behring, vertraten die Ansicht, dass die Grundlagen der Infektionsabwehr in Substanzen im Blutserum, also den Antitoxinen zu suchen seien. Daneben entwickelte sich die Ansicht der Zellularimmunologen, insbesondere basierend auf den Arbeiten von George Nuttall sowie Ilja Iljitsch Metschnikow. Wie sich später zeigen sollte, sind beide Aspekte gleichermaßen am Wirken des Immunsystems und an der Immunantwort beteiligt. Im Jahr 1901 entdeckte Karl Landsteiner das AB0-Blutgruppensystem und leistete damit einen weiteren wichtigen Beitrag zum Verständnis des Immunsystems.<sup>5</sup> Peter Alfred Gorer entdeckte in den 1930er Jahren bei Studien mit Mäusen zur Abstoßung von transplantierten Tumoren die H-2-Antigene der Maus und damit den ersten MHC-Komplex. Es dauerte allerdings bis etwa 1940, bis die Auffassungen der

Zellularimmunologen allgemeine Anerkennung fanden und die Annahme, dass Antikörper der Hauptmechanismus der Immunabwehr wären, aufgegeben wurde. [#] [#] [#]

### Moderne Immunbiologie

Die Zeit um 1960 wird allgemein als Beginn der modernen Immunologie angesehen. Rodney Porter gelang es zwischen 1959 und 1961, die Struktur von Antikörpern aufzuklären. Zur gleichen Zeit entdeckte Jean Dausset den MHC-Komplex des Menschen, den so genannten „Human Leukocyte Antigen“-Komplex (HLA-Komplex). Ab etwa 1960 wurden von einer Reihe von Wissenschaftlern auch die Grundlagen der zellulären Immunologie aufgeklärt, was unter anderem zur Differenzierung und Beschreibung der B- und T-Lymphozyten und der Entdeckung ihrer jeweiligen Funktionen durch Jacques Miller führte. Damit setzte sich die Einteilung der Immunabwehr in einen humoralen und einen zellulären Bereich durch. 1975 beschrieben Georges Köhler und César Milstein die Gewinnung monoklonaler Antikörper. Aufgrund der weitreichenden Folgen dieser Entdeckung für die Grundlagenforschung sowie die Diagnostik und Therapie von Erkrankungen erhielten sie 1984 den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin. Weitere wichtige Erkenntnisse betrafen die genetischen Grundlagen der Immunologie ab etwa 1985.

### 2.3 Die Impfstoffe der Gegenwart

Noch immer sind Infektionskrankheiten eine der weltweit führenden Todesursache. Nach einem vorläufig rückläufigen Trend stieg die Rate zum Ende der 1980er Jahre wieder an. Zum einen waren neue Infektionskrankheiten hinzugekommen (AIDS, Hepatitis C, Ehec). Zum anderen kehrt manche Seuche wieder, die man längst besiegt und unter Kontrolle glaubte, etwa die Tuberkulose. Verschärft wird die Situation dadurch, dass die Erreger von Krankheiten zunehmend gegen die üblichen Wirkstoffe Resistenzen aufbauen.

#### Was bedeutet Impfen?

##### Drei grundsätzliche Immunstrategien

Um eine wirksame Impfstoffe entwickeln zu können, muss die Immunabwehr unbedingt zwei Typen (i) extrazelluläre Bakterien und ihre toxischen Produkte, (ii) intrazelluläre Bakterien sowie (iii) intrazelluläre Virenvermehrung unterscheiden. Diese drei Arten der Immunabwehr – durch Antikörper, eine Entzündungs- oder eine zytotoxische Reaktion – sind grob gesagt die hier interessanten Immunmechanismen, die in (a) Erkennungsphase, (b) Aktivierungsphase und (c) Effektorphase unterteilt sind (Abb. 17-18). Zuerst nehmen antigenpräsentierende Zellen das Antigen auf und bieten noch naiven T-Zellen dann Fragmente davon auf einem sogenannten

<sup>5</sup> Bei der Blutgruppe A sind Antigene vom Typ A auf den roten Blutkörperchen vorhanden, bei der Blutgruppe B Antigene vom Typ B. Menschen mit

der Blutgruppe AB haben beide Arten von Antigenen, bei Blutgruppe 0 sind dagegen keine Antigene vorhanden.

MHC-II-Molekül zur Erkennung an. Die T-Zellen vermehren und differenzieren sich daraufhin und bewirken insbesondere durch speziell Botenstoffe (Cytokine) die Aktivierung und Differenzierung anderer Immunzellen.

Die **humorale Immunologie** beschäftigt sich mit den auf Proteinen basierenden Prozessen des Immunsystems. Zu diesen gehört, im Rahmen der angeborenen Immunantwort, das Komplementsystem. Im adaptiven Teil des Immunsystems sind Antikörper für die humorale Immunantwort zuständig. Ein weiteres wichtiges Forschungsthema der humoralen Immunologie sind die Zytokine. Dabei handelt es sich um Proteine, die die Regulation des Immunsystems und die Kommunikation seiner verschiedenen Komponenten steuern.

Die **zelluläre Immunologie** befasst sich mit den Zellen des Immunsystems und den von ihnen ausgehenden Reaktionen. Zu den Zellen des angeborenen Immunsystems gehören beispielsweise die Neutrophilen Granulozyten, die auch als Fresszellen bezeichneten Makrophagen, sowie die natürlichen Killerzellen. Das adaptive Immunsystem umfasst auf zellulärer Ebene die B-Lymphozyten und die T-Lymphozyten. Im Gegensatz zum angeborenen Immunsystem kann das adaptive Immunsystem eine spezifische Reaktion gegen bestimmte körperfremde Strukturen ausbilden, allerdings erst nach einem erstmaligen Kontakt. Für das angeborene Immunsystem ist ein solcher Erstkontakt nicht notwendig.

Wenn hingegen die fremden Antigene in den Körperzellen selbst hergestellt werden, wie bei der Vermehrung von Viren, kommen die T-Killerzellen zum Zuge.

Extrazelluläre Bakterien werden mittels Antikörpern als zu eliminierendes Objekt kenntlich gemacht bzw. neutralisiert. Intrazelluläre Bakterien, die sich in Phagosomen (Verdauungsvakuolen) vermehren, sind durch die Aktivierung von Fresszellen besser zu bekämpfen; dies veranlassen spezielle, inflammatorische T-Zellen (eine Sorte von Abwehrzellen, die im Thymus reifen). Die Folge ist ein entzündlicher Prozess. Bei einer Virusinfektion schließlich können zwar spezifische Antikörper unter Umständen die Verbreitung auf andere Zellen eindämmen helfen; doch um den Erreger auszumerzen, müssen sämtliche befallenen Zellen zerstört werden. Dieses geschieht durch cytotoxische T-Zellen, auch T-Killerzellen genannt.

Fragmente solcher Moleküle (virale Proteine etwa) werden von einem anderen Typ von MHC-Proteinen, der Klasse I, an der Oberfläche der infizierten Zelle vorgewiesen. Wenn cytotoxische Vorläufer-Zellen eine solche Kombination erkennen, differenzieren sie sich zu aktiven Killern, die gezielt befallene Zellen töten. Glücklicherweise nun hat das Immunsystem ein Gedächtnis für solche Ereignisse. Die Schlüsselrolle spielt dabei die identische Nachkommenschaft jeweils einzelner T-Zellen, die

nach einer überstandenen Infektion oft jahre-, wenn nicht lebenslang überdauern kann. Mit Cytokinen, die solche Klone jederzeit auszuschütten bereit sind, vermögen sie unverzüglich B-Zellen oder Vorläufer von cytotoxischen B-Zellen zu aktivieren und damit eine gerichtete Abwehr auszulösen.

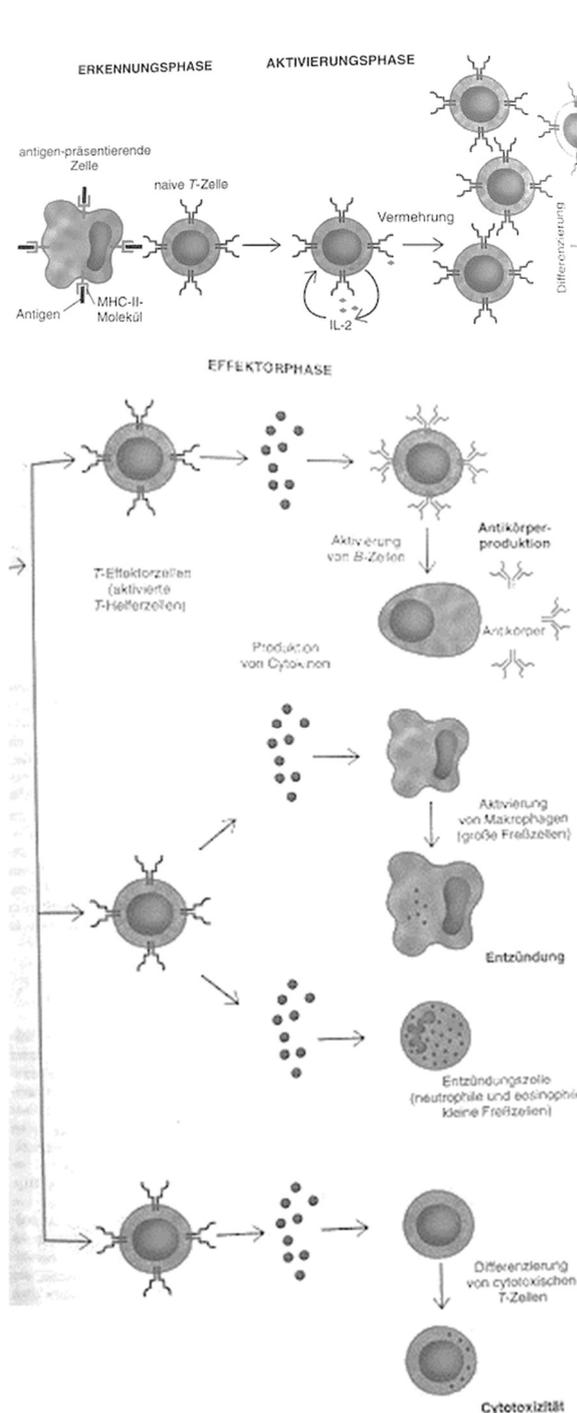
Eben dieses immunologische Gedächtnis macht man sich beim Impfen zunutze. Nur wird dem Impfling im Unterschied zu einer gewöhnlichen Infektion nicht oder nur unterschwellig krank, denn man bringt seine Immunabwehr mit biologischem Material in Berührung, das die Anwesenheit des gefährlichen Erregers gewissermaßen nur vortäuscht. Auf diese Weise entsteht eine Resistenz gegenüber dem wirklichen Feind. Üblicherweise werden zu dem Zweck entweder abgetötete Erreger verwendet oder auch lebende, abgeschwächte (die nicht mehr virulent / pathogen sind => attenuierte Vakzine); oder aber man nimmt gereinigte Bestandteile des Pathogens (Spaltvakzine).

#### Aktive ./ passive Impfung

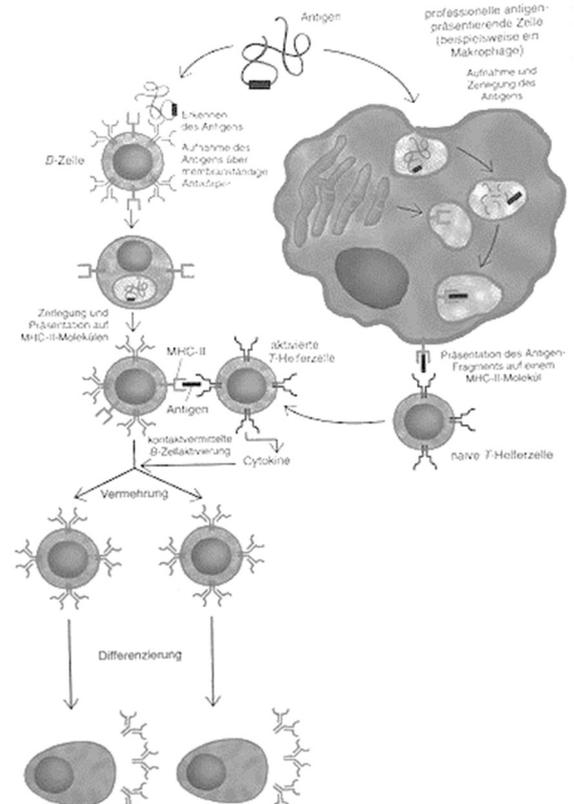
Eine vorbeugende Impfung gegen eine Infektionskrankheit beruht auf einer spezifischen, aktiven Immunisierung gegen den Krankheitserreger und wird daher manchmal auch als Aktiv-Impfung bezeichnet. Ziel der aktiven Impfung ist es, das körpereigene Immunsystem zu befähigen, auf eine Infektion mit dem Erreger so rasch und wirksam zu reagieren, dass daraus keine oder nur eine abgeschwächte Infektionskrankheit resultiert. Es wird zwischen **Lebend- und Totimpfstoffen** unterschieden, zu letzteren gehören auch Toxoid-Impfstoffe. Dagegen handelt es sich bei der Passiv-Impfung (auch Heilimpfung) um eine lediglich passive Immunisierung durch Gabe von Antikörpern. Ein Immenserum ist eine Aufreinigung spezifischer Antikörper, die aus dem Blutserum immunisierter anderer Säugetiere (heterologes Immenserum) oder Menschen (homologes Immenserum) gewonnen werden.

Man spricht speziell von **Impfserum**, wenn das Immenserum zum Zweck der passiven Impfung gewonnen wird. Im Zusammenhang mit der Behandlung von Vergiftungen (beispielsweise von Schlangenbissen u. a.) wird dagegen der Begriff **Antiserum** verwendet. Heilserum ist ein weiterer, veralteter Begriff für diese besondere Art von Serum. Weitere Einsatzgebiete sind die Behandlung von Infektionskrankheiten sowie in der Forschung und Diagnostik der Medizin und Molekularbiologie.

[#] [#] [#] [#] [#]



**Abb. 17:** Die drei wesentlichen Effektormechanismen: Antikörper werden von B-Zellen produziert, die sich deswegen bei Bedarf kräftig vermehren müssen. Deren gezielte Aktivierung erfordert mehrere Schritte. Vorhandene B-Zellen nehmen ein Antigen, das ihr membranständiger Antikörper gebunden hat, in sich auf und präsentieren dann Fragmente davon an ihrer Oberfläche. Als molekularer Präsentierer dient ihnen ein Protein des MHC II. Diese Kombination wird dann spezifisch von Helferzellen erkannt, einer wieder anderen Sorte von T-Zellen (T für den Reifungsort Thymus). Sie produzieren nun Zytokine, und diese Botenstoffe regen die kontaktierten B-Zellen schließlich an, sich stark zu vermehren und in Massenproduktionsstätten zu verwandeln, die freie Antikörper abgeben. (Quelle: Spektrum der Wissenschaft)



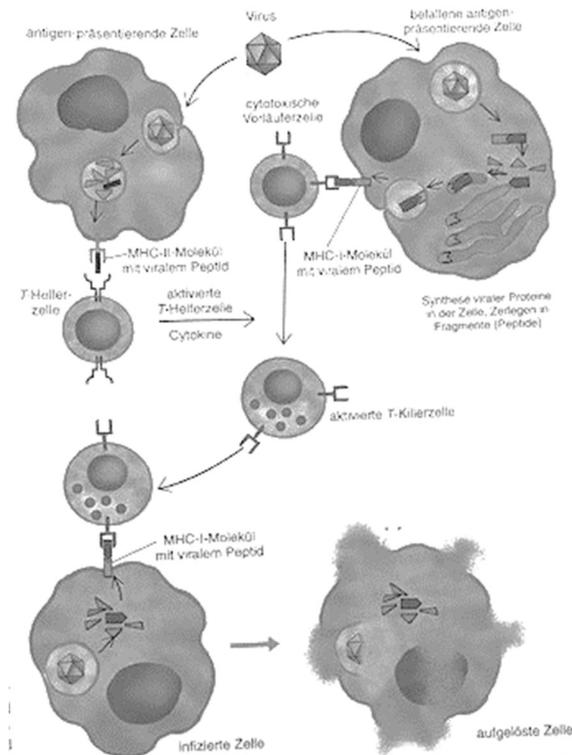
**Abb. 18:** Bevor B-Zellen ihren jeweils spezifischen Antikörper ausschütten können, müssen sie sich vermehren und differenzieren. Dazu brauchen sie zwei Signale. Eines kommt zustande, wenn ein Antigen sich an die Antikörpermoleküle auf ihrer Oberfläche bindet. Das andere liefern spezielle T-Zellen, die eine Helferfunktion haben, in Form von Zytokinen. Auch die T-Zellen müssen für ihre Aufgabe erst aktiviert werden. Das übernehmen professionelle Antigen-präsentierende Zellen, die den Fremdkörper aufnehmen, zerlegen und Fragmente davon auf einem MHC-II-Molekül präsentieren. Aber auch die B-Zellen haben das Antigen aufgenommen und zerlegt und weisen Fragmente davon auf einem MHC-II-Molekül vor. Daran nun binden sich aktivierten Helferzellen, was sie veranlasst, ihre Zytokine auszuschütten. Aufgrund beide Signale vermehren sich die B-Zellen stark und wandeln sich in große Plasmazellen um, die nun reichlich Antikörper-Moleküle herstellen und auch abgeben. (Quelle: Spektrum der Wissenschaft)

### Antikörpergewinnung aus Blutspenden

Immunglobulin G besitzt ein breites Antikörperspektrum gegen verschiedene infektiöse Erreger. Die Opsonisierung und Neutralisierung von Mikroben und Toxinen durch spezifische Antikörper ist nachgewiesen. IgG-Antikörper werden aus Plasma von mindestens 1.000 Spendern hergestellt; die Subklassenverteilung entspricht der des humanen Plasmas. Immunglobuline sind nach intravenöser Verabreichung in der Blutbahn des Empfängers unmittelbar und vollständig bioverfügbar. Sie verteilen sich relativ rasch zwischen Plasma und extravaskulärer Flüssigkeit; nach etwa drei bis fünf Tagen wird ein Gleichgewicht zwischen intra- und extravaskulärem Kompartiment erreicht. Die In-vivo-Halbwertszeit von IgG beträgt rund 35 Tage. Die Halbwertszeit von IgG kann jedoch von Patient zu Patient variieren, vor allem bei Patienten mit primären Immundefizienzen. Immunglobuline und IgG-Komplexe werden in den Zellen des mononukleären phagozytischen Systems abgebaut. [#]

### Impfstoffe gegen den Hepatitis-B-Virus

Bei einer Hepatitis B handelt es sich um eine virusbedingte Leberentzündung. Hepatitis B wird durch das gleichnamige Hepatitis B-Virus, kurz HBV, verursacht und ist die häufigste chronische Virusinfektion des Menschen: Etwa zwei Milliarden Menschen waren einmal mit HBV infiziert, etwa 240 Millionen Menschen, also 3 Prozent der Weltbevölkerung, tragen das Virus chronisch in sich. Zwei Millionen sterben daran jedes Jahr; häufig an einer chronischen Leberinfektion mit den Spätfolgen Leberkrebs. Eine Impfung ist mit Hilfe von **DNA-freien Viruspartikeln** möglich. Die Klonierung der Virus-DNA und der Einbau erwünschter Abschnitte in Hefezellen (Bakterienzellen eignen sich nicht, Glykosilierung!) ermöglichte die Produktion großer Mengen des viralen Oberflächenantigens (HBsAg). Das HBsAg ist der wirksame Bestandteil in den zugelassenen Hepatitis-B-Impfstoffen.



**Abb. 19:** T-Killerzellen, auch cytotoxische T-Zellen genannt, zerstören infizierte Zellen. Sie werden dazu durch das ineinandergreifen mehrerer Prozesse veranlasst. Zellen, in denen sich ein Virus vermehrt, weisen Fragmente der neu hergestellten viralen Proteine auf MHC-Molekülen, diesmal der Klasse I, vor. Vorläufer von Killerzellen, die diese Kombination erstmals erkennen und zudem ihrerseits durch aktivierte T-Helferzellen mittels Interleukin-2 und Gammainterferon aktiviert werden, reifen aus und erzeugen ihre tödlichen Substanzen, die sie bei Kontakt mit einer von dem Virus befallenen Zelle abgeben. (Quelle: Spektrum der Wissenschaft)

HBsAg ist ein Transmembranprotein mit fünf Membrandurchgängen und drei Disulfidbrücken auf der Membranaußenseite. Es dient dem HBV als Rezeptor zum Andocken an Glykosaminoglykane und dann zur Bindung an NTCP (Na<sup>+</sup>-taurocholate cotransporting polypeptide) auf einer Wirtszelle. [#] [#] [#]

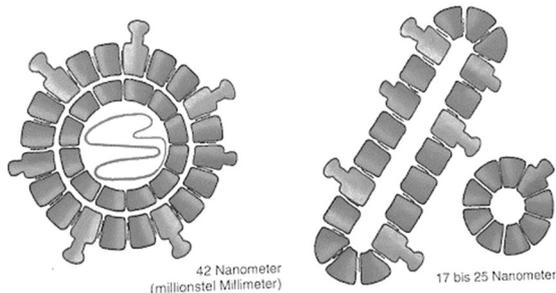
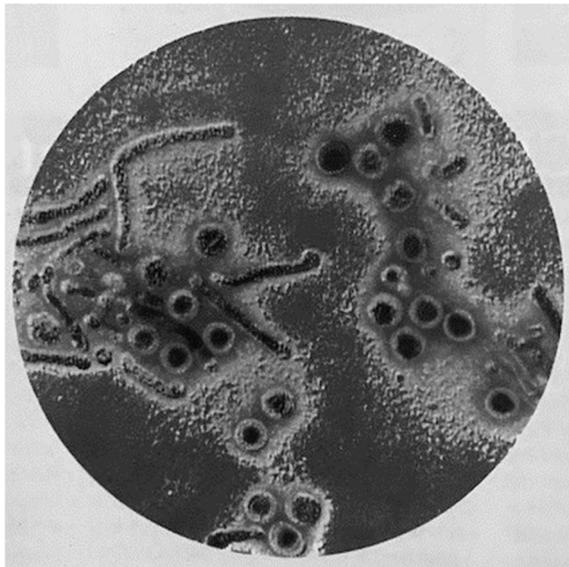


**Abb. 20:** Tierische Produzenten für Antikörper sind beispielsweise Pferde. Injiziert man einen Erreger oder auch ein Toxin (z.B. Schlangengift) in verdünnter -nicht letaler Dosis-, bilden diese spezifische Antikörper aus. Die Antikörper schwimmen im oberen Teil des Blutsersums. (Quelle #)

Das Auftreten von Anti-HBs-Antikörpern gegen HBsAg kennzeichnet den Übergang zur nicht-infektiösen Erkrankung. Weiterhin wird im Zuge der virologischen Diagnostik eine erfolgte Infektion mit HBV durch Bestimmung des Serum-HBsAg oder per Antigen-ELISA nachgewiesen. Etwa vierzehn Tage nach einer Impfung mit HBsAg können Antikörper dagegen nachgewiesen werden. Einer der ersten Impfstoffe gegen HBV (Heptavax) wurde aus dem Blutplasma von HBV-Infizierten gereinigt, aufgrund des Kontaminationsrisikos durch andere Pathogene wurde später auf rekombinantes HBsAg aus der Bäckerhefe umgestellt.

### [.-ING] Kunde erhält Zulassung für einen innovativen Hepatitis-B-Impfstoff

HEPLISAV-B ist ein Hepatitis-B-Impfstoff für Erwachsene, der Hepatitis B-Oberflächenantigen mit dem proprietären Toll-like-Rezeptor (TLR) 9-Agonisten von Dynavax kombiniert, um die Immunantwort zu verstärken. Der Begriff Toll-ähnlicher Rezeptor bezeichnet eine Struktur des sogenannten angeborenen Abwehrsystems. Sie dienen als Signaltransduktionsvermittler der Erkennung von pathogenen Mustern, welche ausschließlich auf oder in Krankheitserregern vorkommen, und steuern entsprechende Aktivierungen von Genen. Hierdurch wird die Aktivierung des erworbenen Immunsystems moduliert. Durch die TLR kann das angeborene Abwehrsystem zwischen „selbst“ und „nicht selbst“ zu unterscheiden. TLRs werden in dendritischen Zellen und Makrophagen exprimiert.<sup>6</sup>



**Abb. 21: Elektronenmikroskopische Falschfarbenaufnahme des Hepatitis-B-Virus (oben). Unten: Schema des Aufbaus des Hepatitis-B-Virus. Links: Capsid und Hüllenproteine. Rechts: Leere Hüllen, ohne DNA. (Quelle: Spektrum der Wissenschaft)**

Zwischen der Einreichung der ersten BLA und der Zulassung waren für Dynavax und den Produktionsstandort in Düsseldorf zahlreiche Herausforderungen zu meistern (Abb. #-#).

<sup>6</sup> Der Name Toll-like-Rezeptor ist von einem Protein bei *Drosophila melanogaster* abgeleitet, über dessen Entdeckung die Forschungsgruppe um



#### Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee Meeting July 28, 2017

#### Hepatitis B Vaccine (Recombinant), Adjuvanted (HBV Surface Antigen (HBsAg) Protein with CpG 1018 adjuvant) (HEPLISAV-B)

Applicant: Dynavax Technologies Corporation

Marian Major, Ph.D.  
Office of Vaccines Research and Review/CBER/FDA



#### Heplisav-B: Composition, Proposed Indication & Usage and Dosing Regimen

- Recombinant HBsAg produced from yeast cells
- Combined with CpG 1018 adjuvant (a cytosine phosphoguanosine oligodeoxynucleotide, CpG-ODN)
- This adjuvant is not contained in any currently licensed US vaccines
- Immunization against infection caused by all known subtypes of hepatitis B virus in adults 18 years of age and older
- 2 doses (0.5 mL each (20 mcg rHBsAg, 3000 mcg CpG 1018 adjuvant)) given on a 0 and 1 month schedule

6



#### What are CpG-ODNs?

- Synthetic DNA molecules, oligodeoxynucleotides (ODNs) with phosphorothioate backbone, containing unmethylated cytosine phosphoguanosine (CpG) motifs
- CpG motifs occur at higher frequency in bacterial and viral DNA than vertebrate DNA
- CpG ODNs have different immune enhancement effects in different species
- CpG-ODN adjuvants have been found to trigger B cell activation and preferentially induce a Th1-like over a Th2-like CD4+ T helper immune response

7



#### CpG Mode of Action

- CpG ODNs are toll-like receptor (TLR) agonists
- TLRs are proteins on innate ("first-responder") immune cells (monocytes and dendritic cells) that recognize molecules from invading microbes.
- TLRs recognize molecules shared by many different microbes, but these are distinguishable from host molecules.
- CpG ODNs function via TLR-9
- TLR-9 is expressed mainly on plasmacytoid dendritic cells and memory B cells

9

**Abb. 22: Auszug aus den Zulassungsüberlegungen der FDA (Teil 1).**

die Nobelpreisträgerin Christiane Nüsslein-Volhard derart begeistert war, dass sie es humorvoll nach dem deutschen Ausdruck toll nannte.

## Chemotherapie ./ Krebsimmuntherapie

Wie wichtig es ist, sich mit dieser bedrohlichen Krankheit zu befassen, zeigt ein Blick in die Zukunft. Laut UICC-Angaben erhalten derzeit jährlich mehr als zwölf Millionen Menschen auf der Welt die Diagnose „Krebs“. 7,6 Millionen sterben jedes Jahr daran. Für das Jahr 2030 wird bereits mit ca. 26 Millionen neuen Krebsdiagnosen weltweit gerechnet – schätzungsweise 17 Millionen Menschen werden ihrer Krebserkrankung erliegen. Und die Prognosen für die Folgejahre sind alarmierend, denn die Zahl der Krebsfälle wird weiter ansteigen. [#] [#] [#]

Die klassischen Behandlungsmethoden bei Krebs sind die operative Tumorentfernung (Resektion), die Chemotherapie und die Strahlentherapie. Häufig werden zwei oder gar alle drei Therapieformen gleichzeitig bei einem Patienten angewendet. Die beiden letztgenannten Methoden haben erhebliche zytotoxische Nebenwirkungen. Die therapeutische Breite ist bei der Chemotherapie sehr gering, so dass eine hohe Dosierung – die für eine Verstärkung der Wirkung förderlich wäre – meist ausgeschlossen ist. Werden bei der Therapie aber nicht alle Zellen des Tumors und seiner Metastasen vernichtet (eradiziert), so ist die weitere Behandlung durch Resistenzbildung deutlich erschwert. [#]

Die **Chemotherapie** ist eine medikamentöse Therapie von Krebserkrankungen (antineoplastische Chemotherapie) oder Infektionen (antiinfektiöse bzw. antimikrobielle Chemotherapie). Sie ist meistens die zytostatische Behandlung von Krebs. Die Chemotherapie verwendet Stoffe, die ihre schädigende Wirkung möglichst gezielt auf bestimmte krankheitsverursachende Zellen beziehungsweise Mikroorganismen ausüben und diese abtöten oder in ihrem Wachstum hemmen. In der Krebstherapie heißen diese Substanzen Zytostatika; in der Behandlung von Infektionskrankheiten Antibiotika, Chemotherapeutika, Virustatika, Antimykotika und Anthelminthika.

Bei der Behandlung bösartiger Tumorerkrankungen nutzen die meisten dieser Substanzen die schnelle Teilungsfähigkeit der Tumorzellen, da diese empfindlicher als gesunde Zellen auf Störungen der Zellteilung reagieren; auf gesunde Zellen mit ähnlich guter Teilungsfähigkeit üben sie allerdings eine ähnliche Wirkung aus, wodurch sich Nebenwirkungen wie Haarausfall oder Durchfall einstellen können. Bei der Behandlung von bakteriellen Infektionskrankheiten macht man sich den unterschiedlichen Aufbau von eukaryotischen (Mensch) und prokaryotischen Lebewesen (Bakterien) zunutze.

Strahlentherapie (auch Radiotherapie) ist die medizinische Anwendung von ionisierender Strahlung auf den Menschen und auf Tiere, um Krankheiten zu heilen oder deren Fortschreiten zu verzögern. Der eigentlichen Therapie geht ein komplexer Planungsprozess – die Bestrahlungsplanung – voraus. Umfangreiche organisatorische und technische Qualitätssicherungsmaßnahmen sorgen dafür, dass Bestrahlungsfehler weitgehend ausgeschlossen werden können.



## Th1 versus Th2 responses

- Th1 responses: characterized by the production of proinflammatory cytokines, such as IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ , which leads to cell mediated immunity and an IgG2a isotype antibody response
- Th2 responses: characterized by interleukin-4 production which leads to a humoral immune response dominated by IgG1 and IgE antibodies

8



## CpG 1018 Adjuvant Proposed Mechanism of Action

CpG 1018 adjuvant:

- Stimulates TLR-9 in pDCs that have taken up rHBsAg
- Converts pDCs into activated DCs that present HBsAg epitopes to the immune system (CD4+ cells)
- Promotes differentiation of CD4+ cells that leads to antibody secretion by HBsAg-specific B cells

10



## Heplisav-B Clinical Studies

- Seroprotection rate (SPR) was used as the endpoint to support effectiveness
- SPR: the proportion of individuals achieving an anti-HBs concentration of  $\geq 10$  mIU/mL after vaccination
- All Phase 3 trials compared antibody responses following injection with either 2 doses of Heplisav-B or 3 doses of Engerix-B

14



## Heplisav-B Regulatory History

- The initial BLA was submitted in April 2012
- This included data from two Phase 3 trials (DV2-HBV-10 and DV2-HBV-16)
- A VRBPAC Meeting was held in November 2012 to discuss the immunogenicity and safety of the vaccine in adults 18 through 70 years of age
- The committee members voted 13:1 that the immunogenicity data were adequate to support effectiveness
- The committee members voted 5:8, with one abstention, that the available data were adequate to support safety
  - In view of the novel adjuvant, members recommended a larger pre-clinical safety database

15

Abb. 23: Auszug aus den Zulassungsüberlegungen der FDA (Teil 2).

Bei der Krebstherapie mit monoklonalen Antikörpern und Zytokinen, wie beispielsweise Interleukinen und Interferonen, handelt es sich nicht um eine Chemotherapie, sondern um eine **Krebsimmuntherapie**. Dafür kommen ganz unterschiedliche Ansätze infrage. Was ihnen gemeinsam ist: Schon bestehende Abwehrmechanismen des Körpers werden verstärkt und gezielt auf die Krebszellen gerichtet. Grundsätzlich kann das Immunsystem Tumorzellen durchaus erkennen und vernichten. Voraussetzung ist aber: Sie müssen deutliche Veränderungen im Vergleich zu gesundem Gewebe tragen. Nicht alle Krebszellen zeigen solche eindeutigen Merkmale. Und: Tumorzellen verändern sich ständig weiter. Sie können außerdem Ausweichstrategien gegen eine Immunantwort entwickeln: zum Beispiel, indem sie sich "unsichtbar" für das Immunsystem machen. Oder indem sie die Immunreaktion hemmen. Eine allgemeine, ungezielte Stärkung des Immunsystems reicht daher zur Krebsbekämpfung in der Regel nicht aus.

### Einsatz von Stammzellen in der Krebstherapie

Als Standardtherapie ist die Stammzelltransplantation bereits bei vielen Krebsarten des blutbildenden wie auch des Lymph-Systems fest etabliert. Neben dem multiplen Myelom zählen die akuten und chronischen Leukämien (AML/CML sowie ALL/CLL) genauso dazu wie Lymphome, insbesondere das Hodgkin-Lymphom und das Non-Hodgkin-Lymphom. Für viele Patienten mit dieser Diagnose ist die Stammzelltransplantation die letzte Rettung, wenn Chemotherapie und Bestrahlung versagen und der Krebs nach kurzer Zeit zurückkehrt. Als Quellen für die benötigten Stammzellen stehen das Blut, das Knochenmark sowie die Nabelschnur und das in ihr enthaltene Nabelschnurblut zur Verfügung. Die Alleskönner-Zellen werden dem Empfänger selbst entnommen – in diesen Fällen sprechen Fachleute von einer autologen Transplantation. Oder sie stammen von einem Spender mit passenden Gewebemerkmale – dann handelt es sich um eine allogene Transplantation. Eine Sonderform der kombinierten Zell- und Strahlentherapie macht sich die Beweglichkeit von adulten Stammzellen zunutze (Abb. #).

### 3 FORSCHUNG UND ENTWICKLUNG: DIE IMPFSTOFFE DER ZUKUNFT

Derzeit sind vor allem drei Bereiche absehbar, in denen die Impftechnologie wahrscheinlich umwälzende Fortschritte machen wird: (1.) die Verabreichung über die Schleimhaut, (2.) DNA-Impfstoffe und (3.) Therapeutische Impfstoffe.

#### 3.1 Impfstoffe nach Plan

Bekapselte Bakterien wie Pneumokokken, Meningokokken und Haemophilus influenzae verursachen gefährliche Erkrankungen, vor allem bei Kindern. So führen Pneumokokken-Infektionen weltweit zu etwa zwei Millionen Todesfällen jährlich.



### Heplisav-B Regulatory History

- Following the 2012 VRBPAC meeting, the Applicant conducted an additional Phase 3 safety and immunogenicity study (DV2-HBV-23)
- CBER considers that effectiveness was established in the two previous Phase 3 studies therefore this VRBPAC discussion will focus on the safety of Heplisav-B

16



### Questions to the Committee

1. Do the available data support the safety of Heplisav-B when administered to adults 18 years and older?

Please vote Yes or No

If yes,

2. Please comment on the proposed pharmacovigilance plan.

17



### Questions to the Committee

If no,

3. Do the presented data support usage in a more specific subpopulation?

Please vote Yes or No

4. What additional studies (pre- and post-licensure) are needed to further evaluate the safety of Heplisav-B in the general adult population and/or in specific subpopulations?

18

#### Abb. 24: Auszug aus den Zulassungsüberlegungen der FDA (Teil 3).

Neben nicht invasiven Erkrankungen sind vor allem die invasiven Infektionen gefürchtet: Pneumonie, Sepsis, Meningitis und Bakteriämie. Vor der Einführung der **Konjugatimpfstoffe** wurden in Deutschland jährlich bis zu 1.300 invasive Erkrankungen bei Unter-16-Jährigen registriert, mit etwa 20 Todesfällen und der doppelten Anzahl Betroffener mit bleibenden Schäden. Meningokokken verursachen oft Epidemien, vor allem im Meningitis-Gürtel Afrikas. In Europa, Nord- und Südamerika sowie Australien treten Erkrankungen vorwiegend endemisch auf. Sepsis und Meningitis sind die gefürchteten Manifestationen, die durchschnittliche Letalität liegt bei 10 Prozent. Spätschäden septischer Erkrankungen reichen bis zu extensiven Gewebenekrosen von Gliedmaßen mit Amputation des befallenen Körperteils; eine Langzeitfolge von Meningitis sind ZNS-Schäden. Von zwölf bekannten Serogruppen des Erregers sind A, B, C, W135 und Y epidemiologisch bedeutsam. Zwei Drittel der jährlich etwa 500 in Deutschland auftretenden Erkrankungen betreffen

Kinder und Jugendliche. *Haemophilus influenzae* spielt als Pneumonie-Erreger bei Kindern in Entwicklungsländern eine große Rolle. Weltweit sterben jährlich etwa 50 000 Kinder an H.-influenzae-Meningitis. [#] [#] [#]

Schwere Ausprägungen wie Bakteriämie, Sepsis, und Meningitis werden vorwiegend vom Kapseltyp b (Hib) verursacht. Vor Einführung der Konjugatimpfstoffe gehörte H. influenzae bei Kindern im Vorschulalter auch in Deutschland zu den Hauptursachen invasiver bakterieller Erkrankungen. [#]

### Polysaccharid-Impfstoffe

Die ersten Impfstoffe, die gegen diese drei Erreger entwickelt wurden, waren die Polysaccharid-Impfstoffe (PS-Impfstoffe). Sie basieren auf gereinigten Polysacchariden (Kohlenhydraten) der Bakterienkapsel. Da die Immunität Serogruppen- beziehungsweise Serotyp-spezifisch ist, finden die Kapseln der jeweils klinisch und epidemiologisch bedeutsamen Untergruppen Verwendung. Während die ersten Pneumokokken-PS-Impfstoffe vier und sechs Serotypen enthielten, steht seit 1983 eine Vakzine mit 23 Serotypen zur Verfügung. Sie wird gegenwärtig bei Unter-5-Jährigen angewendet. Zur Kontrolle von Meningokokken-Epidemien sind noch bivalente AC- und tetravalente ACW135Y-Impfstoffe zugelassen, insbesondere in Ländern, in denen kein Konjugatimpfstoff verfügbar ist. Zudem werden sie im Rahmen von Reiseimpfungen für Kinder unter elf Jahren eingesetzt, für die bisher in der Europäischen Union kein multivalenter Konjugatimpfstoff zugelassen ist. 1985 kam erstmals ein Hib-PS-Impfstoff auf den Markt. Wegen ungenügender Immunogenität und Wirksamkeit bei der wichtigen Zielgruppe der Kinder unter 18 Monaten stellte die Firma die Produktion dieses PS-Impfstoffs jedoch ein. Dies beschleunigte die Entwicklung neuer Vakzine gegen Erkrankungen durch bekapselte Bakterien: die Konjugatimpfstoffe. [#] [#] [#]

### Gekoppelte Antigene

Das Grundprinzip dieser Vakzinen ist, dass ein spezifisches Hüll-Polysaccharid mit einem Trägerprotein gekoppelt (konjugiert) wird. Dahinter steht die Beobachtung, dass die Immunantwort je nach Art des Antigens unterschiedlich ausfällt. Polysaccharid-Antigene aktivieren ausschließlich B-Zellen, während Proteine zusätzlich auch T-Zellen aktivieren können. Durch die Kopplung von Polysaccharid und Trägerprotein wird die Fähigkeit des Proteins, eine Thymus-abhängige-Immunität zu induzieren (T-Zellaktivierung), auf das Polysaccharid übertragen. Dadurch entstehen einige Vorteile. Einer ist die gute Immunogenität auch bei Säuglingen und Kleinkindern, die bei PS-Impfstoffen problematisch ist.

Der Grund hierfür ist die Unreife des Immunsystems in diesem Alter, vor allem der B-Zell-assoziierten Immunantwort. PS-Impfstoffe, die nur B-Zellen aktivieren, sind daher kaum effektiv. Konjugatimpfstoffe umgehen

dieses Problem, da sie zusätzlich T-Zellen aktivieren. Zudem haben sie den Vorteil, dass sie zum Aufbau eines immunologischen Gedächtnisses führen und einer verlängerten Schutzdauer. Sie reduzieren ferner die Rate gesunder Bakterienträger als potenzielle Infektionsquellen und bauen eine Herdenimmunität in der Bevölkerung auf.

### Konjugierter Impfstoff

Impfstoff, in welchem das Antigen – bestehend beispielsweise aus Teilen der Bakterienhülle (Kapselpolysacchariden) eines Krankheitserregers – an ein Eiweiß (Protein) gebunden vorliegt. Konjugierte Impfstoffe vermögen eine stärkere und länger anhaltende Immunantwort zu erzeugen im Vergleich zum unkonjugierten Antigen. Insbesondere das Immunsystem von Säuglingen und Kleinkindern hat noch nicht die nötige Reife, um effiziente Antikörper gegen Nicht-Protein-Antigene, wie sie Polysaccharide, Lipide oder Nucleinsäuren darstellen, auszubilden.

Konjugatimpfstoffe haben die Kontrolle lebensbedrohlicher invasiver bakterieller Erkrankungen revolutioniert. Die vollständige Ablösung der Polysaccharid-Impfstoffe zeichnet sich ab. Konjugatimpfstoffe auf der Grundlage des Trägerproteins CRM197 spielen in der gegenwärtigen Impfpraxis die größte Rolle. Neuen Trägerproteinen und der Erforschung von Interferenz und Dosierung kommt eine hohe Bedeutung zu. Deutschland hat erheblichen Nachholbedarf bei der Meningokokken Impfung, insbesondere beim Schutz älterer Kinder und Jugendlicher.

Dabei ist ein Ungeimpfter größtenteils vor einer Infektion geschützt, da durch eine ausreichend große Zahl Geimpfter die Erregerzirkulation gestoppt wird. Der erste Konjugatimpfstoff gegen bekapselte Bakterien wurde zu Beginn der 1980er-Jahre durch die Konjugation des PRP (Polyribosylribitolphosphats) von H. influenzae an Diphtherietoxoid entwickelt und 1987 in den USA für Kinder unter 15 Monaten zugelassen. Die Immunogenität bei jungen Kindern erwies sich jedoch ebenfalls als nicht ausreichend. Erst die Bindung an andere Trägerproteine wie CRM197 (eine atoxische Mutante des Diphtherietoxins) oder TT (Tetanustoxoid) erzielte auch bei sehr jungen Kindern eine schützende Immunantwort. In Deutschland ließ die Arzneimittelbehörde Hib-Konjugat-Impfstoffe zuerst im Jahr 1991 zu. 1999 und 2000 erteilte die European Medicines Agency (EMA) den ersten Konjugatimpfstoffen gegen Meningokokken und Pneumokokken eine Zulassung. Handelte es sich bei den ersten Meningokokken-Konjugaten um monovalente Impfstoffe der Serogruppe C, so waren die Pneumokokken-Impfstoffe bereits multivalente Konjugate, anfänglich mit 7 und gegenwärtig mit 13 Serotypen. 2010 ließ die EMA den ersten multivalenten Meningokokken-Konjugatimpfstoffe gegen die Serogruppen A, C, W135, Y zu. Vorerst darf dieser ab einem Alter von elf Jahren zum Einsatz kommen. Die US-amerikanische Food and Drug Administration (FDA) hat die Vakzine dagegen bereits ab

einem Alter von zwei Jahren lizenziert. Hersteller Novartis reicht demnächst die Zulassungsunterlagen ab einem Alter von zwei Monaten bei der EMA ein. Zudem hat das Pharmaunternehmen die Zulassung der Vakzine Bexsero® gegen Meningokokken vom Typ B in der Europäischen Union beantragt. [#] [#] [#] [#] [#]

### 3.2 Schleimhäute

...

### 3.3 DNA-Impfstoffe

Die Entwicklung herkömmlicher Impfstoffe dauert Jahre. Zu lange, um auf akute Epidemien wie Ebola oder Zika zeitnah reagieren zu können. Auch bei herausfordernden Erregern wie dem Humanen Immundefizienz-Virus, dem Herpes-simplex-Virus oder dem Humanen Respiratorischen Synzytial-Virus stießen Forscher bisher an ihre Grenzen. Noch immer aber fehlen wirksame Impfstoffe gegen viele tödliche oder schwächende Infektionskrankheiten – etwa Malaria, AIDS, Hepatitis C oder auch nur Herpes. Der Grund: Gegen bestimmte Erreger greifen herkömmliche Immunisierungsmethoden nicht richtig oder bergen unannehmbare Risiken. Alternative Strategien sind deshalb gefragt, und eine der vielversprechendsten nutzt genetisches Material – meist DNA (Desoxyribonukleinsäure) – als Grundlage.

Genetische Impfstoffe unterscheiden sich von den herkömmlichen völlig in ihrer Struktur. Die bislang bestuntersuchten dieses Typs bestehen aus Plasmiden: kleinen Ringen doppelsträngiger DNA, die ursprünglich von Bakterien stammen, für gentechnische Zwecke umgebaut wurden und absolut unfähig sind, eine Infektion auszulösen. Die zur Immunisierung verwendeten Plasmide bekommen ausgewählte Gene für mindestens ein Antigen-Protein des jeweiligen Erregers eingesetzt; ausgespart bleiben aber alle Gene, die ihn befähigen würden, sich selbst zu rekonstruieren und eine Krankheit auszulösen. Gewöhnlich werden diese Impfstoffe injiziert oder mit Hilfe einer sogenannten Genpistole ins Gewebe "geschossen". Die Injektion, normalerweise intramuskulär, bringt das Genmaterial teils direkt in einige Zellen ein, teils in die Umgebung, von wo benachbarte Zellen es aufnehmen können. Die Gen-Pistole treibt dagegen die Plasmide in oberflächennahe Zellen hinein, typischerweise der Haut oder der Schleimhäute.

Unabhängig vom Weg in den Zellkern instruieren sie von dort aus ihre Zelle, die Antigen-Proteine zu synthetisieren. Diese Eiweißstoffe können eine Antikörper-vermittelte Immunität bewirken, wenn sie aus der Zelle freigesetzt werden. Und sie können eine von Killerzellen vermittelte Immunität erzielen, wenn ganz kurze Abschnitte der Moleküle korrekt zur immunologischen Überprüfung auf der Zelloberfläche präsentiert und als fremd erkannt werden. Somit besteht Hoffnung, dass die DNA-Impfstoffe, wenn erst einmal für den Einsatz am Menschen

vervollkommenet, alle positiven Eigenschaften herkömmlicher Vakzine bewahren, gleichzeitig aber deren Risiken umgehen. Vor allem wären sie unfähig, Infektionen auszulösen, da ihnen die Gene für die Vermehrung des jeweiligen Erregers fehlen. Obendrein sind die verwendeten Plasmide mit den längst gängigen gentechnischen Methoden leicht zusammenzubauen und im Großmaßstab zu vermehren. Bei der Lagerung bleiben DNA-Impfstoffe außerdem so stabil wie herkömmliche Präparate (vielleicht sogar besser).

Aus diesen letzten Gründen sollten sie relativ kostengünstig industriell zu produzieren und zu verteilen sein. Damit nicht genug: DNA-Impfstoffe lassen sich so konstruieren, dass sie Gene unterschiedlicher Stämme eines Erregers enthalten. Sie könnten dann gleichzeitig gegen verschiedene Stämme immun machen – besonders hilfreich, wenn der Erreger hochvariabel ist, wie im Falle der Viren, die Grippe beziehungsweise AIDS verursachen.

[#] [#] [#]

#### Immunbiologisches Paradoxon

DNA-Impfstoffe aktivieren zwar offensichtlich T-Killerzellen. Doch einfach DNA in Haut- oder Muskelzellen einzubringen, so dass diese schließlich Probestücke der entsprechenden Proteine als Antigen auf ihrer Außenseite präsentieren, kann eigentlich nicht funktionieren. Bevor T-Killerzellen in Aktion treten, müssen sie erst einmal angeschaltet werden. Dieses sogenannte "Priming" geschieht teilweise durch spezifische Interaktionen mit anderen, diesmal professionellen Antigen-präsentierenden Zellen. Killerzellen müssen dort vorübergehend eine Art Doppelbindung eingehen: mit genau demselben Antigen-Fragment, das sie dann auch auf den "beimpften" Zellen – etwa des Muskels – vorfinden werden, und gleichzeitig noch mit einem zweiten Molekül, das normalerweise nur auf professionellen antigen-präsentierenden Zellen vorkommt. Folglich müssen für eine starke zelluläre Immunantwort die DNA-Impfstoffe so appliziert werden, dass auch die professionellen Antigen-präsentierenden Zellen sie gut aufnehmen.

Die Plasmid-DNA, in die man die Antigen-Gene einbaut, ist aber auch mehr als ein bloßes Trägermaterial. Denn sie verstärkt die durch das Antigen hervorgerufene Immunantwort. Dieser Effekt beruht offenbar auf dem hohen Anteil an CG-Sequenzen in Plasmiden. Jeder Strang der DNA-Doppelhelix stellt eine Kette aus Bausteinen dar, die sich nur durch die Basen, die sie enthalten, unterscheiden – entweder Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) oder Thymin (T).

Plasmid-DNA, die von Bakterien stammt, hat einen höheren Gehalt an CG-Sequenzen als die Erbsubstanz von Wirbeltieren; das heißt, einem C folgt hier häufiger ein G in der Kette. Außerdem tragen die "CG-Silben" bakterieller Plasmide gewöhnlich keine Methylgruppen (-CH<sub>3</sub>), während sie in der Wirbeltier-DNA im allgemeinen methyliert sind.



**Abb. 25:** Ablauf einer kombinierten Stammzellen-Strahlentherapie wie sie am Polyklinikum in Heidelberg durchgeführt wird. Teil 1: Blut wird aus einem Arm herausgeleitet und in den anderen zurück geführt. Zwischengeschaltet arbeitet eine Zentrifuge, welche die Stammzellen abschöpft. Die entsprechende Fraktion wird tiefgefroren. Danach sollen sämtliche entarteten Krebszellen abgetötet werden. Dabei werden natürlich auch gesunde Blutzellen zerstört. [#]



**Abb. 26:** Ablauf einer kombinierten Stammzellen-Strahlentherapie wie sie am Polyklinikum in Heidelberg durchgeführt wird. Teil 2: Im Nachgang zur Strahlentherapie werden die Stammzellen aufgetaut und zur Behandlung dem Patienten zugeführt. [#]

Ein hoher Anteil unmethylierter CG-Silben wird vermutlich pauschal als ein Gefahrensignal interpretiert. Daraufhin versucht ein relativ primitives Untersystem der Immunabwehr, das nicht von einer Antigen-Erkennung abhängt, den fremden Eindringling zu zerstören oder abzuschotten. Dies könnte den Verstärkereffekt erklären. [#] [#] [#]

Ein anderer Ansatz besteht darin, Gene für sogenannte Cytokine in dasselbe oder ein extra beigemischtetes Plasmid einzubauen. Zellen des Immunsystems geben diese Moleküle ab, um die eigene Aktivität wie auch die der Partner zu steuern. Eines davon trägt den Bandwurmnamen "Granulocyten-Makrophagen-Kolonienstimulierenden Faktor". Er regt unter anderem die Vermehrung von antigen-präsentierenden Zellen an. Die Mitübertragung seines Gens verstärkt die Reaktionen insgesamt auf DNA-Impfstoffe.

Für bestimmte Zwecke ist aber speziell eine starke zelluläre Immunantwort nötig. Dazu experimentieren die Wissenschaftler mit Genen für andere Cytokine, die bekanntermaßen Killerzell-Aktivitäten fördern. Bei Mäusen erzeugt zum Beispiel eine Untergruppe der T-Helferzellen, die TH-1-Zellen, Cytokine, welche die zell-vermittelten Reaktionen begünstigen – zu Lasten des humoralen, auf Antikörpern basierenden Arms der Abwehr. Eine andere Untergruppe, die TH-2-Zellen, setzt dagegen Cytokine frei, die gerade diesen zweiten Arm fördern. Beim

Menschen scheinen zwar mehr Untergruppen von Helferzellen zu existieren, aber ein Übergewicht von Cytokinen des Typs 1 fördert auch hier noch eine zelluläre Antwort; und dominieren Cytokine des Typs 2, so regt das die humorale Antwort an. Zusätzlich könnten Gene für "Chemokine" eingebaut werden. Das ist eine Substanzklasse kleinerer Moleküle, die sowohl antigen-präsentierende Zellen als auch T-Zellen in verletzte oder infizierte Gewebe locken. Wie die Cytokine wirken auch die einzelnen Chemokine nur auf ein bestimmtes Sortiment von Zellen ein, wobei ihr jeweiliger Effekt wiederum differiert. Wenn erst ihre individuellen Wirkweisen besser verstanden sind, ließe sich durch Kombination geeigneter Chemokin- und Cytokin-Gene im Impfstoff Art und Stärke der ausgelösten Immunantworten noch weiter in die gewünschte Richtung beeinflussen.

Theoretisch könnten DNA-Impfstoffe sogar die professionellen antigen-präsentierenden Zellen entbehren machen, die sonst die Killerzellen "starten". Vereinte man ein Gen für ein Antigen mit einem anderen für ein co-stimulierendes Molekül der Präsentierer, dann würden die geimpften Zellen, ob nun der Haut, Muskulatur oder anderer Gewebe, gleich beides selbst auf ihrer Oberfläche vorweisen: das Antigen wie auch das kritische zweite Startsignal. Killerzellen zu stimulieren und zu aktivieren wäre dadurch leichter. [#] [#] [#] [#] [#]

### 3.4 Therapeutische Impfstoffe

...

### 3.5 Kombinierte Gen- und Zelltherapie

Bei der Leukämie gibt es neben der Impfung noch weitere neue Therapieansätze: Die Behandlung mit den eingangs erwähnten CAR-T-Zellen, also genetisch veränderten T-Zellen, kann zum Beispiel bei Patienten mit kindlicher akuter lymphatischer Leukämie noch Therapieerfolge erzielen, wenn andere Behandlungsformen erfolglos waren. Für die CAR-T-Zelltherapie werden im Labor T-Zellen aus dem Blut des Patienten isoliert und vermehrt. Dann wird ein Stück künstlich hergestellter DNA in die T-Zellen geschleust. Diese DNA enthält einen Bauplan, mit dem die T-Zelle ein Erkennungsmerkmal herstellen kann, den so genannten CAR-Rezeptor.

Die aus dem Blut des Patienten gefilterten T-Zellen werden also im Labor mit Hilfe eines viralen Vektors genetisch verändert, dann vervielfacht und dem Patienten als Infusion wieder verabreicht. Durch die Genmanipulation bilden die T-Zellen an der Oberfläche also den CAR-Rezeptor (Chimeric Antigen Receptor) zur Erkennung eines speziellen Antigens, das auf Krebszellen vorkommt. Erst mit ihm können die T-Zellen die Krebszellen im Blut wieder erkennen und vernichten. Werden die CAR-T-Zellen fündig, greifen sie die Krebszellen an und vervielfältigen sich. Allein eine solche T-Zelle kann so 1000 Tumorzellen zerstören.

Drei Module bilden das Grundgerüst eines CAR:

Das erste dient zum Aufspüren des Tumors - es erkennt die Oberfläche von Krebszellen und heftet sich fest an ihr an. Dieses Erkennungsmodul war ursprünglich Teil eines Antikörpers, den das Immunsystem als natürliche Abwehr gegen den Krebs hervorgebracht hat.

Das zweite Modul verankert den CAR in der Membran von Immunzellen. Diese sogenannte Transmembrandomäne sorgt auch für die richtige Orientierung der Module: Das Erkennungsmodul zeigt nach außen, und ein kurzer Abstandshalter stellt die richtige Distanz ein, um optimal an Krebszellen andocken zu können.

Das dritte Modul befindet sich im Inneren der Zelle. Es ist abgeleitet von einem Signalmolekül, das die T-Zellen des Immunsystems aktivieren kann:

CAR-T-Zellen würden damit nach den sogenannten Checkpoint-Inhibitoren (vgl. 3.4) zum jüngsten vielversprechenden Zuwachs bei den Immuntherapien gegen Krebs. Im Vergleich zur Impfung birgt der CAR-T-Ansatz enorme Potenziale. Es gibt mehr als 200 klinische Studien, die meisten laufen in den USA und sind noch nicht abgeschlossen. Klar ist aber schon jetzt: Auch die CAR-T-Zelltherapie wird nicht bei jedem jeder Patient eine Wirksamkeit zeigen. Denn eine der wichtigsten Voraussetzung, damit die Zelltherapie wirkt, ist die Vermehrung der CAR-T-Zelle. Bei einigen Patienten vermehren sich die CAR-T Zellen jedoch nicht ausreichend.

Inzwischen werden verschiedene Immuntherapien, aber auch Immuntherapie und Chemo- sowie Strahlentherapie miteinander kombiniert. Bei Brustkrebs weiß man zum Beispiel, dass bei manchen Patientinnen die Chemotherapie besser wirkt, wenn zusätzlich eine Immuntherapie gegeben wird. Die Forscher hoffen, dass dadurch mehr Krebspatienten geholfen werden kann. Bislang sind die Erfolgsraten der Immuntherapie sehr unterschiedlich. Es gibt Tumorerkrankungen wie das Melanom, der schwarze Hautkrebs, bei 60 bis 70 Prozent der Patienten ansprechen. Beim Lungen- Blasen- und Magenkarzinom sind es etwa 20 Prozent, denen die Immuntherapie hilft. Insgesamt sprechen rund ein Drittel der Patienten auf die neuen Immuntherapien an. Werden sie kombiniert könnte sich das in Zukunft auf 60 bis 70 Prozent steigern lassen. Allerdings könnten dann auch die Nebenwirkungen stärker sein, so dass solche Therapieansätze auf jeden Fall nur in dafür spezialisierten Zentren stattfinden sollten. [#] [#] [#]

...