

Moderne Adjuvanzen in der Impfstoffentwicklung

Von A. M. Kaufmann, R. Schmidt-Ott, A. Prechtl

Die Entwicklung von Impfstoffen, die nur noch immunologisch relevante Bestandteile von Krankheitserregern enthalten (sogenannte Subunit-Impfstoffe), hat die Verträglichkeit und Sicherheit im Vergleich zu sogenannten Ganzkeim-Impfstoffen erheblich verbessert. Im Gegenzug nahm dabei teilweise die Immunogenität dieser Impfstoffe ab, sodass der Einsatz von Adjuvanzen notwendig wird, um eine ausreichende und anhaltende Immunantwort zu gewährleisten.

Die wissenschaftlichen Fortschritte im Bereich der Immunologie ermöglichen heute ein besseres Verständnis der Wirkungsweise von Adjuvanzen und haben zur gezielten Entwicklung von effektiveren oder neuartigen Impfstoffen geführt. Die Entwicklung der Adjuvanzen begann in den 20er Jahren des 20. Jahrhunderts, als Gustave Ramon am französischen Institut Pasteur in Paris zeigte, dass die Zugabe von Aluminiumsalzen die humorale Immunantwort, d. h. die Bildung von Antikörpern verstärkt [9]. Der protektive Nutzen von Aluminiumsalzen in Impfstoffen ist jedoch begrenzt, wenn der Infektionsschutz auch zellvermittelte Immunität voraussetzt. Dies ist beispielsweise für den Schutz vor intrazellulären Pathogenen notwen-

Entwicklungsziele für neue Adjuvanzen

- Impfstoffe gegen komplexe Erreger (Malaria, TBC, HIV u. a.)
- Antigen-Einsparung (z. B. im Fall einer Pandemie)
- Kreuzprotektion/breite Schutzwirkung (z. B. bei variablen Erregern)
- Langzeitschutz, d. h. Verstärkung des immunologischen Gedächtnisses
- Impfschutz für Personen mit geschwächtem Immunsystemen (z. B. bei Immunoseneszenz oder Immunsuppression)
- Therapeutische Krebsimpfstoffe

dig, die durch Antikörper allein nicht wirksam bekämpft werden können. Neuartige Adjuvanzen können die zelluläre Immunantwort auf Impfantigene verbessern und geben so Anlass

zu der Hoffnung, dass es künftig auch Impfstoffe gegen Erkrankungen geben wird, die bis heute nicht impfpräventabel sind. In den letzten 20 Jahren wurde an neuen Adjuvanzen und Adjuvanskombinationen geforscht, um hochgesteckte Ziele zu erreichen (siehe Textbox).

Wirkung klassischer Adjuvanzen

Aluminiumsalze sind heute die am weitesten verbreiteten Adjuvanzen. Ihr Wirkmechanismus ist nicht vollständig geklärt. Man nimmt an, dass er auf einem Depoteffekt (Persistenz des Antigens), der Stimulation von Makrophagen, einer verbesserten Aufnahme des Antigens durch antigenpräsentierende Zellen (APCs; antigen presenting cells) und deren vermehrter Sekretion bestimmter Zytokine (z. B. IL-4, IL-5, IL-6) beruht [4]. Dendritische Zellen, die wirksamsten APCs

ZUSAMMENFASSUNG

Neue Erkenntnisse der Immunologie haben die Wirkungsweise von Adjuvanzen aufgeklärt und zu deren gezieltem Einsatz beigetragen. Dies führt zur Entwicklung neuer Impfstoffe gegen bisher nicht präventable Erkrankungen sowie die Verbesserung der Wirksamkeit bereits existierender

Impfstoffe in Bevölkerungsgruppen mit besonders problematischer Immunlage.

Schlüsselwörter: Adjuvanzen – Immunologie – Adjuvanssysteme – TLR-Liganden – Malariaimpfstoff

Eingereicht am 14.10.2010 – akzeptiert am 29.11.2010

Priv.-Doz. Dr. Andreas M. Kaufmann, Charité Campus Benjamin Franklin, Gynäkologische Tumorimmunologie, Berlin; Priv.-Doz. Dr. Ruprecht Schmidt-Ott, Dr. Andreas Prechtl, GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG, München

Tabelle 1: Toll-like Rezeptoren (TLR) und ihre natürlichen Liganden

TLR	Antigen	Hauptwirkung
1, 2, 6	Bakterielle Lipoproteine	Verstärkung der Antikörperantwort
3	Doppelsträngige, virale RNA	Aktivierung spezifischer T-Zellen
4	Lipopolysaccharide, Hitzeschockproteine	Humorales und zelluläres Immunsystem
5	Bakterielles Flagellin	Stimulation des angeborenen Immunsystems, insbesondere die Reifung dendritischer Zellen
7, 8	Kurze einzelsträngige RNA	Expression von Zytokinen (u.a. IFN- α , TNF- α , IL-12)
9	Unmethylierte, bakterielle CpG DNA	Vorwiegend humorale Immunantwort
10	Bisher unbekannt	
11	Profilin	Aktivierung der dendritischen Zellen
12	Bisher unbekannt	

bei der Aktivierung naiver T-Zellen, werden durch Aluminiumsalze jedoch nur schlecht aktiviert. Deshalb ist die Stimulierung durch Aluminiumsalze in Fällen, bei denen eine starke T-Zell-vermittelte Immunantwort erforderlich ist, nicht ausreichend. Emulsionen, Liposomen/Virosomen sind weitere klassische Adjuvanzen, die besonders die humorale Immunantwort verstärken.

Entwicklung neuer Adjuvanzen

Ein Meilenstein bei der Entwicklung neuer und zielgerichteter Adjuvanzen war die Entdeckung der sogenannten Toll-like-Rezeptoren (TLRs) in den 90er Jahren des vergangenen Jahrhunderts. Mithilfe dieser Rezeptoren erkennen Zellen des Immunsystems molekulare Muster verschiedener Gruppen von Krankheitserregern. Je nachdem, welcher TLR aktiviert wird, führt dies zu unterschiedlichen Immunreaktionen mit Stimulierung verschiedener Zellen (siehe Tabelle 1). So aktiviert das Adjuvans Monophosphoryl-Lipid A (MPL) den Rezeptor TLR-4, der im Rahmen von Infektionen durch Lipopolysaccharid (LPS), ein Zellwandbestandteil gramnegativer Bakterien, stimuliert wird. Bei der Aktivierung durch MPL kommt es

jedoch nicht zu den starken oder sogar toxischen Nebenwirkungen von LPS. MPL wird in Impfstoffen gegen Humane Papillomaviren (HPV) und das Hepatitis-B-Virus (HBV) eingesetzt und stimuliert vor allem dendritische Zellen, die für die Präsentation von Antigen an T-Zellen und deren Aktivierung und „Prägung“ zuständig sind.

Einen Überblick über neuartige Adjuvanzen und Adjuvansysteme bei Humanimpfstoffen gibt Tabelle 2.

Impfstoffe für Personen mit geschwächtem Immunsystem

Manche Impfstoffe, die in der Allgemeinbevölkerung erfolgreich zum Einsatz kommen, sind bei Personen mit geschwächtem oder unreifem Immunsystem nicht ausreichend wirksam. Beispiele hierfür sind saisonale Grippeimpfstoffe. So ist nur knapp die Hälfte der Personen über 65 Jahren durch die Impfung gegen Grippe geschützt [10], während man bei jüngeren Erwachsenen von einer Schutzrate bis zu 90% ausgeht. Immungeschwächte und ältere Menschen haben darüber hinaus ein erhöhtes Risiko für bestimmte Infektionskrankheiten oder das Ausbrechen latenter Infektionen, beispielsweise Pneumokokken-

Infektionen, oder die Reaktivierung des Varizella-Zoster-Virus (Gürtelrose).

Antigen-Einsparung

Adjuvanzen ermöglichen es, wirksame Impfstoffe mit geringerem Antigengehalt herzustellen. Dies ist beispielsweise im Falle einer Pandemie von großer Bedeutung, wenn eine große Zahl von Menschen innerhalb kurzer Zeit geimpft werden muss, der Bedarf die Produktionskapazitäten also weit übersteigt. Ein mit dem Adjuvansystem AS03 adjuvantierter Grippeimpfstoff induziert auch bei reduziertem Antigengehalt Impfschutz [6]. Bei dem Pandemie-Impfstoff gegen die neue Grippe (H1N1) konnte gezeigt werden, dass mit der geringen Antigendosis von nur 3,75 μ g statt 15 μ g 97,5% der geimpften Personen zwischen 18 und 60 Jahren nach nur einer Impfung ausreichende Antikörpertiter aufwiesen [11]. Die geringere notwendige Antigenmenge pro Impfdosis ermöglicht, dass große Mengen an Impfdosen für den weltweiten Bedarf in nur wenigen Monaten produziert werden können.

Kreuzprotektion

Ein weiterer Effekt, der mithilfe von Adjuvanzen angestrebt wird, ist die Kreuzprotektion gegenüber Erregervarianten. Dies ist beispielsweise bei einer Influenzapandemie essenziell, bei der durch Mutationen des Pandemievirus sogenannte Driftvarianten auftreten. Pandemie-Impfstoffe müssen deshalb eine Kreuzprotektion vor Driftvarianten induzieren. Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass Frettchen, die mit einem AS03-adjuvantierten Impfstoff gegen einen bestimmten H5N1-Influenza-A-Subtyp („Vogelgrippevirus“) geimpft waren, auch gegen andere H5N1-Subtypen geschützt waren. Die Tiere in der Kontrollgruppe hingegen, die nur mit Antigen ohne Adjuvans geimpft waren, überlebten eine Infektion mit Driftvarianten nicht [2].

Auch bei dem adjuvantierten Impfstoff gegen HPV, die Gebärmutterhalskrebs verursachen können, zeigte sich kreuzprotektives Potenzial. Der AS04-adjuvantierte Impfstoff enthält Antigene gegen die beiden häufigsten onkogenen HPV-Typen 16 und 18. Er bietet darüber hinaus in einem gewissen Umfang Schutz vor bestimmten anderen onkogenen HPV-Typen [7]. Die Gesamtwirksamkeit des Impfstoffs gegen Zervixläsionen (ungeachtet des verursachenden HPV-DNA-Typs in der Läsion) ist wesentlich höher ist als erwartet: gegenüber CIN3⁺-Läsionen insgesamt 93% [5, 7, 12].

Impfstoffe gegen komplexe Erreger

In den Tropen ist die Malaria eines der größten Gesundheitsprobleme. Weltweit sterben jährlich schätzungsweise

eine Millionen Menschen an dieser Krankheit, die Hälfte davon sind Kinder im Alter unter fünf Jahren. Zunehmend medikamentenresistente Plasmodiumstämme sowie die Schwierigkeit einer systematischen medizinischen Versorgung der Bevölkerung unterstreichen die Dringlichkeit eines wirksamen Impfstoffs.

Da Plasmodien im Laufe der Infektion mehrere Entwicklungsstadien durchlaufen, muss ein wirksamer Impfstoff gegen Malaria sowohl die Bildung von Antikörpern auslösen, um die Parasiten daran zu hindern, die Leber zu erreichen, als auch eine starke T-Zell-Antwort, um bereits infizierte Leberzellen abzutöten, bevor sie weitere Plasmodien freisetzen. Der in der klinischen Prüfung befindliche Impfstoff gegen Malaria, RTS,S kann diese

doppelte Immunantwort auslösen [3]. Der mit AS01 adjuvantierte, in der Entwicklung stehende RTS,S-Impfstoff ist der erste Malariainpfsstoff, mit dem die Infektionsrate in einem relevanten Ausmaß verringert und die Inzidenz schwerer Krankheitsverläufe wesentlich reduziert werden konnte. In den bisherigen klinischen Studien bei Erwachsenen und Kindern reduzierte die Impfung das Auftreten von Malaria um mehr als die Hälfte [1].

Therapeutische Krebsimpfstoffe

Ein ganz neues Feld ist die Entwicklung therapeutischer Krebsimpfstoffe. Tumorzellen sind eher ungewöhnliche Ziele für Impfstoffe, da es sich um körpereigene Zellen handelt. Zwar baut der Organismus eine gewisse Immunantwort gegen Tumorzellen auf, die je-

Tabelle 2: Neuartige Adjuvanzen und Adjuvanssysteme (AS) bei Humanimpfstoffen (zugelassenen oder in der späten Phase der klinischen Entwicklung)

Adjuvanzen	Impfstoff	Krankheit/ Erreger	Entwicklungsstand	Hersteller
Aluminiumhaltig AS04: Aluminiumsalze, MPL* AS04	Fendrix Cervarix®	Hepatitis B HPV	zugelassen zugelassen	GlaxoSmithKline GlaxoSmithKline
Öl-in-Wasser MF59: Öl-in-Wasser-Emulsion AS03: Öl-in-Wasser- Emulsion, Vitamin E Montanid ISA-51	Fluad® Focetria Prepandrix® Pandemrix CimaVax EGF	Saisonale Influenza Pandemische Influenza Pandemische Influenza Pandemische Influenza NSCLC	zugelassen zugelassen zugelassen zugelassen zugelassen) (Kuba, Chile	Novartis Novartis GlaxoSmithKline GlaxoSmithKline Bioven
Liposomen AS01: Liposomen, MPL*, QS21** AS15: Liposomen, MPL*, QS21**, CpG***	Mosquirix Mage-A3	Malaria NSCLC	Phase 3 Phase 3	GlaxoSmithKline GlaxoSmithKline
Weitere Virosomen Virosomen CpG*** Synthetisches MPL*, RC-529	Epaxal® Inflexal® V Heplisav Supervax	Hepatitis A Saisonale Influenza Hepatitis B Hepatitis B	zugelassen zugelassen Phase 3 zugelassen (Argentinien)	Crucell Baxter Dynavax Technologies Dynavax Technologies

*Monophosphoryl-Lipid A (MPL) ist ein Bestandteil der Zellwand von Bakterien; **QS21 (Saponin) ist ein Pflanzenextrakt, das seit den 1930er Jahren in der Veterinärmedizin als Adjuvans eingesetzt wird; ***CpG-Dinukleotide sind Strukturen bakteriellen Erbguts

doch in der Regel nicht ausreichend ist, um eine bestehende Krebserkrankung zu bekämpfen. Ein neuartiger Tumorrimpfstoff befindet sich schon in fortgeschrittenen Phasen der klinischen Prüfung. Es handelt sich um eine Kombination eines molekularen Antigens (Mage-A3), das praktisch ausschließlich bei Tumorzellen bestimmter Tumorentitäten vorkommt, mit einem modernen Adjuvanssystem (AS15). Dieses besteht aus einer Kombination von Liposomen, MPL, QS-21 und CpG. In ersten Studien an Patienten mit nicht kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC, non small cell lung cancer,) zeigten 96% der Geimpften eine starke Immunantwort, wenn sie mit AS15-adjuvantiertem Impfstoff geimpft wurden. Bei fast einem Drittel dieser Patienten kam die Erkrankung zum Stillstand oder die Tumoren bildeten sich zurück.

Sicherheit und Verträglichkeit neuer Adjuvanssysteme

Die Sicherheit und gute Verträglichkeit klassischer Adjuvanzen (Aluminiumsalze, MF59) ist durch jahrzehntelange Erfahrung gut belegt. Neuere Adjuvanzen und Adjuvanssysteme verursachen im Vergleich zu nicht adjuvantierten Impfstoffen oft erhöhte Reaktogenität, vor allem am Injektionsort. Der Grund hierfür ist vermutlich die durch Adjuvanzen verstärkte und gewünschte transiente lokale Endzündungsreaktion und Aktivierung des Immunsystems. Diese Reaktionen sind in der Regel von milder Intensität und kurzer Dauer.

Die Auswertung umfassender Datenbanken von Nebenwirkungsmeldungen nach Markteinführung von Impfstoffen mit neuen Adjuvanssystemen ermöglicht auch detaillierte Auswertungen zu sehr seltenen Ereignissen, wie zum Beispiel Autoimmunerkrankungen. Entsprechende Untersuchungen zur Sicherheit von AS04-adjuvantierten Impfstoffen (HPV-Impfstoff, HBV-Impfstoff) ergaben keine

Hinweise auf ein vermehrtes Auftreten von Autoimmunerkrankungen nach der Impfung [13]. Auch nach der millionenfachen Verimpfung von mit AS03 oder MF59 adjuvantierten Influenza-Pandemie-Impfstoffen bestätigten die Auswertungen gemeldeter Nebenwirkungen das positive Nutzen/Risiko-Profil dieser Impfstoffe [8].

Fazit

Noch vor wenigen Jahrzehnten war die Impfstoffentwicklung eine primär von Empirie geprägte Wissenschaft. Heute orientiert sie sich an dem detaillierten Verständnis der zugrunde liegenden immunologischen Prozesse und dem Wirkmechanismus der einzelnen Bestandteile eines Impfstoffes. Die verschiedenen, hier vorgestellten Adjuvanzen erweitern insgesamt die Möglichkeiten der Impfstoffentwicklung und wecken große Hoffnungen für neuartige Impfstoffe dort, wo dringender medizinischer Bedarf besteht. Bei der gezielten Mobilisierung und Ausrichtung des Immunsystems steht man aber erst am Anfang: So ist beispielsweise die spezifische Aktivierung von CD8⁺-Zellen mithilfe von Adjuvanzen noch nicht möglich. Auch wenn die Entwicklung der Impfstoffe im vergangenen Jahrhundert zu den bedeutendsten medizinischen Fortschritten überhaupt beigetragen hat – so wurden z. B. die Pocken ausgerottet und viele Krankheiten wie Polio oder Diphtherie in den geimpften Populationen zu seltenen Ausnahmefällen – gibt es immer noch für viele schwere Infektionskrankheiten (HIV, HCV, Malaria, Tuberkulose u. a.) keine wirksamen zugelassenen Impfstoffe. Die Modulation und Optimierung der Immunantwort durch Adjuvanzen ist eine anspruchsvolle Aufgabe, die unter fortlaufender kritischer Prüfung der Sicherheit vielversprechende Ergebnisse erwarten lässt.

Novel Adjuvants in Vaccine Development

Keywords: Vaccine adjuvants – Immunology – Adjuvant systems – TLR ligands – Malaria vaccine

LITERATUR

1. Ballou, W. R.: The development of the RTS,S malaria vaccine candidate: challenges and lessons. *Parasite Immunol.* 31 (2009), 492–500.
2. Baras, B., Stittelaar, K. J., Simon, J. H., et al.: Cross-protection against lethal H5N1 challenge in ferrets with an adjuvanted pandemic influenza vaccine. *PLoS One* 3 (2008), e1401.
3. Bojang, K. A.: RTS,S/AS02A for malaria. *Expert Rev. Vaccines* 5 (2006), 611–615.
4. Brunner, R., Jensen-Jarolim, E., Pali-Schöll, I.: The ABC of clinical and experimental adjuvants—a brief overview. *Immunol. Lett.* 128 (2010), 29–35.
5. Fachinformation Cervarix®, Stand August 2010.
6. Leroux-Roels, I., Borkowski, A., Vanwolleghem, T., et al.: Antigen sparing and cross-reactive immunity with an adjuvanted rH5N1 prototype pandemic influenza vaccine: a randomised controlled trial. *Lancet* 370 (2007), 580–589.
7. Paavonen, J., et al.: A phase III efficacy study of HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine in young women. Abstract. 26th Annual International Papillomavirus Conference and Clinical Workshop (IPV). Montreal, Québec, Canada, 3.–8. Juli 2010.
8. Paul-Ehrlich-Institut: Information zu Verdachtsfallberichten von Nebenwirkungen und Impfkomplicationen nach Anwendung der in Deutschland zugelassenen Schweinegrippe-(H1N1)-Impfstoffe. Januar 2010. <http://www.pei.de>.
9. Ramon, G.: Procédés pour accroître la production des antitoxins. *Ann. Inst. Pasteur* 40 (1926), 1–10.
10. Rivetti, D., Jefferson, T., Thomas, R., et al.: Vaccines for preventing influenza in the elderly. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 3: CD004876.
11. Roman, F., Vaman, T., Kafaja, F., Hanon, E., Van Damme, P.: AS03(A)-Adjuvanted influenza A (H1N1) 2009 vaccine for adults up to 85 years of age. *Clin. Infect. Dis.* 51 (2010), 668–677.
12. Romanowski, B., et al.: Efficacy of the HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against nonvaccine oncogenic HPV types: end-of-study results. Abstract, 26th Annual International Papillomavirus Conference and Clinical Workshop (IPV). Montreal, Québec, Canada, 3.–8. Juli 2010.
13. Verstraeten, T., Descamps, D., David, M. P., et al.: Analysis of adverse events of potential autoimmune aetiology in a large integrated safety database of AS04 adjuvanted vaccines. *Vaccine* 26 (2008), 6630–6638.

Der korrespondierende Autor erklärt, Reisekosten und Referentenhonorare von SP-MSD, GSK und Gen-Probe erhalten zu haben. Die beiden Koautoren sind Mitarbeiter von GlaxoSmithKline GmbH & Co. KG.

Für die Verfasser:

Priv.-Doz. Dr. Andreas M. Kaufmann
Charité Campus Benjamin Franklin
Gynäkologische Tumorimmunologie
Hindenburgdamm 20
12200 Berlin
E-Mail: andreas.kaufmann@charite.de