Coronaviren

Rekombinante, vollständig humane Antikörper zur Behandlung akuter COVID-19

STEFAN DÜBEL¹, MICHAEL HUST¹, ANDRÉ FRENZEL², THOMAS SCHIRRMANN²

¹ TU BRAUNSCHWEIG

² YUMAB GMBH, BRAUNSCHWEIG & CORAT (CORONA ANTIBODY TEAM)

DOI: 10.1007/s12268-020-1404-4
© Springer-Verlag GmbH 2020

COVID-19 (*coronavirus disease 2019*) ist eine akute schwere virale Erkrankung der oberen Atemwege und Lungen, die vom neuartigen SARS-CoV-2-Virus hervorgerufen wird und zum ersten Mal in Wuhan (China) Ende 2019 beschrieben wurde. Gegen diese Erkrankung werden aktuell zahlreiche Impfstoffe entwickelt, jedoch akut an COVID-19 Erkrankten hilft ein Impfstoff nicht mehr. Bereits Ende Januar 2020 wurden deshalb neutralisierende Antikörper im Magazin *Science* als vielversprechende direkte Behandlungsmethode gegen das neue Coronavirus SARS-CoV-2 – damals offiziell noch keine Pandemie – vorgeschlagen [1]. Solche Antikörper sind eine komplementäre Ergänzung zu den derzeit laufenden Virus-Impfstoff-Entwicklungen, da sie mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit auch den bereits an COVID-19 erkrankten Patienten helfen können. Bis zum Erreichen eines weltweit ausreichenden Impfschutzes, der noch Jahre in der Zukunft liegen dürfte oder vielleicht sogar nie erreicht wird, könnte man mit neutralisierenden Antikörperwirkstoffen die vielen noch zu erwartenden lebensbedrohlich Erkrankten heilen und zudem Risikopopulationen sowie medizinisches Personal schützen. Dies könnte sehr schnell gehen: Aufgrund der großen Erfolge rekombinanter Antikörperwirkstoffe (fast 100 zugelassene Medikamente) stehen dafür zudem bereits heute umfangreiche Produktionskapazitäten und definierte Produktionsprozesse zur Verfügung, während diese bei einem neuartigen Impfstoff aus Viruskomponenten erst noch zeitaufwendig entwickelt, skaliert und zugelassen werden müssen.

Die Idee der Verwendung von neutralisierenden Antikörpern gegen Infektionserkrankungen ist nicht neu. Im späten 19. Jahrhundert von Emil von Behring eingeführt und belohnt durch den ersten Nobelpreis für

Medizin (1901), wurden mit der Serumtherapie unzählige Kinder vor Diphtherie und Tetanus geschützt. Dabei wurden Antiseren von immunisierten Tieren eingesetzt, um die Pathogene zu neutralisieren. Trotz der Erfolge erzeugt die Tiereserumtherapie jedoch manchmal Nebenwirkungen durch Immunreaktionen auf tierische Proteine (Serumkrankheit). Das gleiche Prinzip, jedoch mit Antikörpern aus dem Blut rekonvaleszenten COVID-19-Patienten [2], wird nun auch bei COVID-19 bereits in zahlreichen klinischen Studien untersucht (z. B. NCT04321421, NCT04292340). Aus menschlichem Blut gewonnene Produkte können zwar weitgehend die Serumkrankheit vermeiden, weisen aber einige generelle Nachteile für die Behandlung großer Zahlen von Patienten auf. Sie sind nur limitiert verfügbar und variieren oft stark von Spender zu Spender. Dazu besteht das Risiko der Übertragung unbekannter Krankheitserreger. Aufgrund der Pathogenitätsmechanismen von SARS-CoV-2 kann auch das Risiko einer Verstärkung der Symptome durch einige der im Spenderserum enthaltenen Antikörper (ADE, *antibody dependent enhancement*) [3] nicht ignoriert werden.

Die aktiven Wirkkomponenten in solchen Seren sind Antikörper, allerdings unbekannt in ihrer Struktur. Warum dann nicht gleich den entsprechenden Antikörper identifizieren und biotechnologisch herstellen, um ihn als besser definiertes und unlimitiert nachproduzierbares Medikament einzusetzen? Genau dies wird bereits bei einigen Medikamenten gegen andere Pathogene gemacht. Der monoklonale rekombinante Antikörper Palivizumab wird breit zur Prävention einer RSV (*respiratory syncytial virus*)-Infektion der Lunge von Frühgeborenen, Kindern mit Vorerkrankungen und Risikopatienten (prophylaktische Gabe) eingesetzt. Analog ist Obiltoxaximab für die Behandlung von Anthrax-Infektionen (Milzbrand) zugelassen.

Falls zur COVID-19-Behandlung eine Kombination von mehreren Antikörpern, wie sie in Seren gegeben ist, für die Wirksamkeit vorteilhaft sein sollte, kann man eine Kombination definierter monoklonaler Antikörper einsetzen. Bei der Entwicklung neutralisierender Antikörper gegen das Sudan-Ebola-virus oder das Diphtherietoxin haben wir beobachtet, dass eine Mischung von zwei verschiedenen Antikörpern substantielle Vorteile bei der Neutralisation erbrachte [4, 5]. Der Vorteil der „polyklonalen“ Seren kann also auch durch „multiklonale“ Antikörpercocktails, das heißt komplett definierte Mischungen rekombinanter monoklonaler Antikörper, erreicht werden. Solche multiklonalen Gemische monoklonaler rekombinanter Antikörper werden auch bereits bei anderen Infektionen klinisch getestet, z. B. gegen *Staphylococcus aureus* (www.symphogen.com/pipeline).

Was unterscheidet neutralisierende Antikörper von einem Impfstoff?

Ein typischer Impfstoff („aktiver Impfstoff“), der aus inaktiviertem oder partiellem Virusmaterial besteht, kann COVID-19-Patienten nicht heilen. Der Grund liegt darin, dass aktive Impfstoffe zuerst eine Immunantwort auslösen müssen – erst diese schützt dann nach in der Regel einigen Wochen vor einer Infektion. Daher hilft einem bereits infizierten Patienten ein solcher aktiver Impfstoff meist nichts mehr. Neutralisierende Antikörper können diese Behandlungslücke füllen und somit Impfstoffe auf Virusbasis ergänzen, denn die Antikörper-Immuntherapie (auch als „passive Impfung“ bezeichnet) komplementiert die noch nicht ausreichend vorhandenen eigenen Antikörper im Körper des Patienten unmittelbar nach ihrer Injektion und kann so schnell dazu beitragen, die Viruslast zu senken. Aufgrund ihrer langen Halbwertszeit im Blut könnten Antikörpermedikamente sogar Risikogruppen oder Pfl-

▲ **Abb. 1:** Der Weg zur schnellen Herstellung vollständig menschlicher neutralisierender Antikörper. Aus sehr großen Gensammlungen universeller Bibliotheken (mehr als fünf Milliarden verschiedene Varianten), aber auch dem Antikörper-Genrepertoire von gesunden COVID-19-Patienten wurden mithilfe von Phagen-Display auf das SARS-CoV-2-Spike-Protein vollständig menschliche Antikörper gewonnen. Aus dieser Auswahl wird durch eine umfangreiche Testung ein Kandidat selektiert, der als klinisches Prüfmuster nach GMP-Bedingungen in sehr kurzer Zeit hergestellt und in klinischen Studien getestet wird.

gepersonal sehr viel schneller als ein Aktiv-Impfstoff über mehrere Wochen schützen. Da es noch viele Jahre dauern wird, bis die gesamte Weltbevölkerung vollständig geimpft ist, werden in unseren Kliniken noch für lange Zeit akute schwere Fälle von COVID-19 aus neuen Infektionswellen behandelt werden müssen. Ein Medikament zur spezifischen Bekämpfung von SARS-CoV-2 in diesen Patienten wird während dieser gesamten Zeit benötigt, um Leben zu retten.

Wie wurden neutralisierende menschliche Antikörper gegen SARS-CoV-2 gewonnen?

Zahlreiche der mittlerweile 96 zugelassenen therapeutischen Antikörper wurden durch unterschiedliche, weitgehende Anpassung der Sequenz von Tierantikörpern („Chimerisierung“ oder „Humanisierung“) gewonnen [6]. Am schnellsten – und am nächsten an der natürlichen menschlichen Sequenz – lassen sich neutralisierende Antikörper jedoch durch Antikörper-Phagen-Display [7] herstellen (**Abb. 1**). Hier ist man auch nicht auf B-Zell-Spenden rekonvaleszenten Patienten angewiesen, da man universelle Antikörperbibliotheken, wie z. B. HAL9/10 oder die YUMAB-Bibliotheken, sofort und ohne Zugriff auf Patienten nutzen kann [8]. So können im Gegensatz zu humanisierten oder synthetischen Antikörpern humane monoklonale Antikörper isoliert werden, die sich

in der Sequenz in keiner Weise von Antikörpern unseres eigenen (gesunden) Körpers unterscheiden. Dadurch gelang es uns bereits, ohne Vorimmunisierung 18 zu 100 Prozent protektive Antikörper gegen SARS-CoV-2 zu isolieren – schließlich nutzt unser eigener Körper nach einer Infektion mit SARS-CoV-2 exakt das gleiche Genrepertoire bei seiner Immunantwort, welche den meisten Infizierten dann auch zu einem Verlauf ohne Symptome verhilft. Interessanterweise wurde bei einigen wenigen Antikörpern im Virusprotektionsassay auf Zellen auch eine verstärkte Lyse als Hinweis auf eine effektivere Infektion durch SARS-CoV-2 beobachtet. Solche Antikörper könnten Repräsentanten des vorhergesagten *antibody dependent enhancement* [3] sein.

Aufgrund dieser körpereigenen Herkunft wird für menschliche Antikörper, welche nicht gegen menschliche Antigene gerichtet sind, generell ein sehr geringes Nebenwirkungsprofil erwartet. Dennoch besteht theoretisch die Möglichkeit, dass aufgrund zufälliger Kreuzreaktion mit Teilen menschlicher Proteine doch eine Reaktivität mit menschlichem Gewebe entstehen könnte. Durch Vortests auf menschlichem Gewebe können solche Antikörper, sollten sie auftreten, während der Entwicklung des Medikaments aber aussortiert werden.

Die TU Braunschweig hat bereits mithilfe des Phagen-Displays erfolgreich neutralisierende Antikörper gegen andere tödliche

Viren erzeugt, beispielsweise den Antikörper X10H2 zum Schutz gegen das Sudan-Ebola-virus oder neutralisierende Antikörper gegen *Venezuelan equine encephalitis virus* (VEEV), *Western equine encephalitis virus* (WEEV) sowie viele der tödlichsten Toxine. Es gelang auch erstmals die Generierung eines Antikörpers, der *in vivo* gegen das extrem gefährliche Marburg-Virus schützte [9]. Einige dieser Antikörper, z. B. gegen Diphtherietoxine, zeigten zudem eine bessere Neutralisation als die derzeit verwendete klinische Standardbehandlung mit Antiserum [5]. Auf Basis dieser Erfahrungen begannen wir im Februar dieses Jahres in Braunschweig an der TU und parallel an deren Ausgründung YUMAB GmbH mit Arbeiten zu dem Ziel, vollständig menschliche Antikörper zu entwickeln, welche die SARS-CoV-2-Infektion verhindern können. So konnte bisher ein sehr großer Satz von mehr als 750 komplett menschlichen monoklonalen Antikörpern gegen das SARS-CoV-2-Spike(S)-Protein gefunden und sequenziert werden. Diese wurden dann rekombinant hergestellt, und über 300 davon konnten bereits auf Virusneutralisierung getestet werden. Dabei inhibierten bisher 118 Antikörper erfolgreich die Bindung der SARS-CoV-2-Spike-Proteine an den menschlichen Rezeptor ACE2, der unter anderem auf Lungenzellen vorkommt. Wichtigstes Resultat ist jedoch, dass aus dieser Gruppe auch schon 18 Antikörper identifiziert wurden, welche zu 100 Prozent protek-

tiv gegenüber einer Infektion durch Virusisolate von COVID-19-Patienten in Zellkultur über einen Zeitraum von bis zu fünf Tagen waren. Solche protektiven Antikörper sind die vielversprechendsten Kandidaten zur Entwicklung eines spezifischen Medikaments gegen akute COVID-19 und durchlaufen derzeit einen schnellen Entwicklungsprozess, um den Antikörper mit den optimalen Arzneimittelmerkmalen zu identifizieren und zu produzieren. Im Erfolgsfall könnte dieses Medikament schließlich auch prophylaktisch angewendet werden, um medizinisches Pflegepersonal, vorerkrankte Patienten oder Risikopopulationen sofort, und damit schneller als ein klassischer Impfstoff, zu schützen. ■

Literatur

- [1] Cohen J (2020) New coronavirus threat galvanizes scientists. *Science* 367:492–493
- [2] Gasparyan AY, Misra DP, Yessirkepov M et al. (2020) Perspectives of immune therapy in coronavirus disease 2019. *J Korean Med Sci* 35:e176
- [3] Ahsan W, Javed S, Bratty MA et al. (2020) Treatment of SARS-CoV-2: how far have we reached? *Drug Discov Ther* 14:67–72
- [4] Froude JW, Pelat T, Miethe S et al. (2017) Generation and characterization of protective antibodies to Marburg virus. *mAbs* 9:696–703

- [5] Wenzel EV, Bosnak M, Tierney R et al. (2020) Human antibodies neutralizing diphtheria toxin *in vitro* and *in vivo*. *Sci Rep* 10:571
- [6] Dübel S, Breitling F, Frenzel A et al. (2019) Rekombinante Antikörper. Springer Spektrum, Heidelberg
- [7] Frenzel A, Kügler J, Helmsing S et al. (2017) Designing human antibodies by phage display. *Transfus Med Hemother* 44:312–318
- [8] Kügler J, Wilke S, Meier D et al. (2015) Generation and analysis of the improved human HAL9/10 antibody phage display libraries. *BMC Biotechnol* 15:10
- [9] Froude JW, Herbert AS, Pelat T et al. (2018) Post-exposure protection in mice against Sudan virus by a two antibody cocktail. *Viruses* 10:286

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Stefan Dübel
Institut für Biochemie, Biotechnologie und Bioinformatik
Technische Universität Braunschweig
Spielmannstraße 7
D-38106 Braunschweig
s.duebel@tu-bs.de
www.tu-braunschweig.de/bbt/biotech/corat-corona-antibody-team

AUTOREN

Stellvertretend für das ganze Corona Antibody Team (CORAT): die TAs, Doktoranden und Postdocs der TU Braunschweig. Das Corat wurde von Stefan Dübel und Michael Hust (TU Braunschweig) zusammen mit Gundram Jung (Universität Tübingen) initiiert und ist mittlerweile auf ein Konsortium von 40 Wissenschaftlern und Ärzten aus akademischen Institutionen und der Industrie gewachsen.