

Impfungen beschäftigen uns alle in der täglichen Praxis zunehmend. Nicht nur sind die Richtlinien zur Impfpraxis ständigen Änderungen unterworfen, auch unsere Patienten wollen immer mehr und bessere Informationen. DoXMedical hat sich daher entschlossen, über Impfungen –

sowohl alltägliche wie auch seltenere – regelmässig in der eigenen Rubrik DoXVaccine zu orientieren. Es freut uns ausserordentlich, dass wir dafür einen kompetenten Partner gefunden haben, nämlich die Division Vaccines & Diagnostics der Firma Novartis Pharma Schweiz AG.

## Reverse Vaccinology – neue Ansätze in der Entwicklung von Impfstoffen

*Reverse Vaccinology ist ein moderner Forschungsansatz zur schnellen Identifikation einer Vielzahl von potenziellen Proteinantigenen, welcher sich die Entschlüsselung der genetischen Information zu Hilfe nimmt. Derzeit entwickeln Novartis-Forscher einen neuen Impfstoff gegen Meningokokken der Serogruppe B und haben dabei diese Methodik entwickelt. Damit wurde ein neues Kapitel in der Entwicklung von Impfstoffen aufgeschlagen. Reverse Vaccinology kann sinngemäss mit «vom Genom zum Impfstoff» übersetzt werden.*

Michael Endrich

Das Grundprinzip hinter jeder aktiven Immunisierung ist es, dem Immunsystem kleine Mengen von Bestandteilen eines Pathogens zu präsentieren und es dadurch zu aktivieren, um im Fall einer späteren Exposition mit demselben Pathogen für eine spezifische Abwehr bereits gewappnet zu sein. Hierzu wurden anfänglich minimale Mengen an vermehrungsfähigen, meist lebend-abgeschwächten, oder aber auch inaktivierten Pathogenen gespritzt. So bestehen heute kommerziell verfügbare Impfstoffe wie beispielsweise gegen Hepatitis A noch immer aus inaktivierten, ganzen Hepatitis-A-Viren.

### Vom Pathogen zum geeigneten Antigen

Im Laufe der Zeit wurden die Methoden zur Aufreinigung weiterentwickelt, sodass nach physiko-chemischer Inaktivierung des Pathogens dieses zerlegt und einzelne Elemente aufgereinigt wurden. Interessant für eine Immunisierung sind dabei jene Elemente, beziehungsweise Bestandteile, die zunächst einmal immunogen sind, das heisst eine Immunantwort auslösende Eigenschaft besitzen, letztlich aber auch eine funktionale, schützende Immunität induzieren. Der klassische Weg vom Pathogen zum geeigneten Antigen ist komplex und sehr zeitaufwendig. Zum einen beinhaltet dieser Weg das Identifizieren immunpotenter Pathogenfraktionen, zum anderen die Aufreinigung der spezifischen Antigene. Zumeist handelt es sich um Oberflächenmoleküle, die vom Immunsystem bei einer natürlich erworbenen Infektion mit dem Wilderreger rasch erkannt werden

können. Beim Influenzavirus sind dies die Oberflächeneiweisse Hämagglutinin und Neuraminidase, beim Hepatitisvirus das HBs-Antigen und beim Impfstoff gegen die Zecken-/Frühsommer-Meningo-enzephalitis das Glykoprotein E.

### Meningokokken und Serogruppen

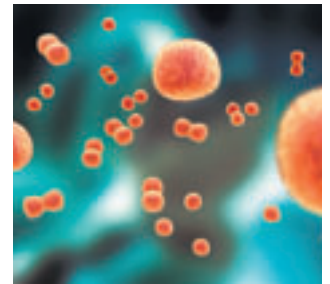
Infektionen durch Meningokokken, die gramnegativen Diplokokken des Genus *Neisseria meningitidis*, sind weltweit eine der bedeutendsten Ursachen für schwere Meningitiden und invasive bakterielle Infektionen. Besonders häufig betroffen sind Säuglinge, Kleinkinder und jugendliche Schulkinder, aber auch Erwachsene. Eine weitere wichtige Risikogruppe sind Reisende, denn weltweit zirkulieren viele unterschiedliche Meningokokken-serogruppen. Meningokokken gehören zu den wenigen Erregern, die ein Kleinkind innerhalb weniger Tage töten können. Derzeit gibt es keinen umfassenden Impfstoff, der für Kleinkinder zugelassen ist. Der wichtigste Pathogenitätsfaktor ist das Kapselpolysaccharid, es stellt die immunologisch reaktive Serogruppe dar. Für den Menschen, und nur für diesen, sind Meningokokken pathogen. Dabei sind heute nur fünf der 13 bekannten Serogruppen (A, B, C, Y und W135) medizinisch relevant. Die Epidemiologie und Pathogenität dieser Serogruppen sind regional verschieden. Weitere serologisch unterscheidbare und pathogenetisch relevante Subgruppen, wie Serosubtypen und Serotypen, klonale Komplexe und Klone sind aus Meningokokkenepide-

mien lokal, aber auch überregional bekannt. Ausgehend von den individuellen Charakteristika ihrer Zellmembran und den genetischen Eigenschaften der Erreger zeigen sie die Vielfalt der immunologischen und epidemiologisch relevanten Erregerereignisse im Genotyp wie im Phänotyp.

### Polysaccharidimpfstoffe

Für Impfstoffhersteller sind insbesondere diejenigen Moleküle als potenzielle Antigene interessant, die an der Oberfläche des Bakteriums liegen, denn diese werden vom Immunsystem des Körpers erkannt. Die Impfstoffe gegen Meningokokken der Serogruppen A, C, Y und W135 basieren denn auch auf entsprechenden Kapselpolysacchariden, die entweder in unmodifizierter Form (reine Polysaccharid-Impfstoffe) oder chemischgekoppelt an Trägermoleküle (konjugierte Polysaccharidimpfstoffe) in der Injektionssuspension vorliegen.

Bei der Herstellung eines Impfstoffs gegen die auch in der Schweiz häufig vorkommende Serogruppe B stösst das klassische Prinzip Kapselpolysaccharid als Antigen jedoch an seine Grenzen, sodass bis heute kein universell wirksamer Impfstoff gegen Meningokokken Typ B entwickelt werden konnte. Die Ansätze der Kapsel-Polysaccharide-Formulierungen gegen Meningokokken Typ B zeigten nur eine schwache Immunogenität, bedingt durch die Ähnlichkeit zu humanen Nervengewebezellmolekülen, das heisst eine gleiche Struktur der Polysialinsäure



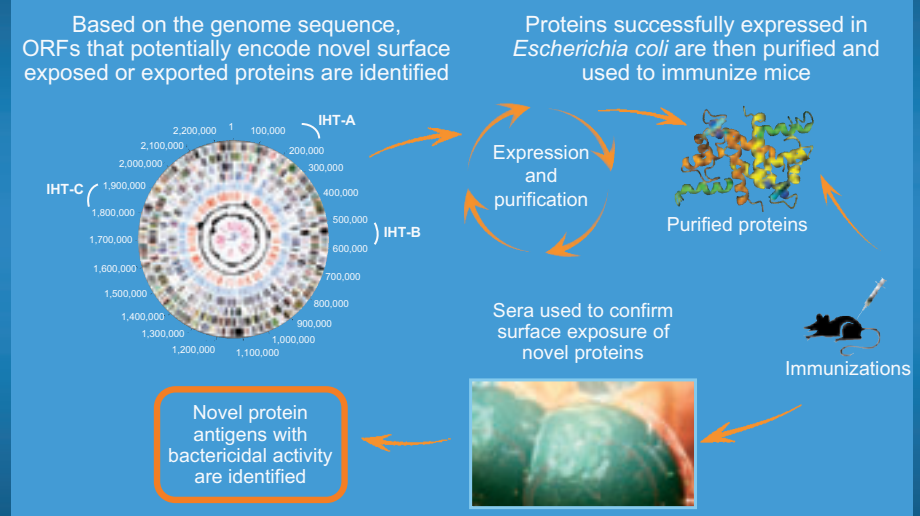
*Neisseria meningitidis*

(PSA-)Ketten aus den Oberflächenstrukturen (Polysacchariden) der Bakterienzellwand und der humanen embryonalen PSA-Strukturen, die während der fetalen Entwicklung im Hirn, Herz und der Niere geprägt werden.

### OMV-Impfstoffe

Die in der Vergangenheit erstellten sogenannten OMV-Impfstoffe («outer membrane vesicle»), die eine Oberflächenstruktur der Meningokokken nutzten, waren nur gegen jeweils einen regional endemischen Meningokokken-B-Stamm gerichtet. Sie zeigten schon Ende der Achtziger- und zu Beginn der Neunzigerjahre in Hochendemieländern wie Kuba, Brasilien, Chile und Norwegen in der Wirksamkeit nur bedingten (50–80%) und bei kleinen Kindern keinen Erfolg. Eine Ausnahme allein machte Hoffnung: Der eigens für Neuseeland entwickelte OMV-Impfstoff gegen den dort vorkom-

## Reverse Vaccinology Approach



ORF = open reading frame.

Based on Rappuoli R. *Vaccine*. 2001; 19: 2688–2691; Tettelin H, et al. *Science*. 2000; 287: 1809–1815.

## Reverse Vaccinology – neue Ansätze in der Entwicklung von Impfstoffen

menden B-Stamm B:4:P1.7b.4 (Serotyp 4: Subtyp P1.7) zeigte auch bei Kindern eine Wirksamkeit, wenn auch nur gegen den lokal endemischen Stamm. Als universeller, das heisst global wirksamer Men-B-Impfstoff haben sich diese Ansätze jedoch bislang nicht beweisen können, bedingt durch die Vielzahl verschiedener B-Stämme (genetische Klone) und die für einen Schutz benötigte Anzahl verschiedener Antigene.

Die mittels klassischer Methoden bekannt gewordenen Oberflächenmoleküle reflektierten nur einen Bruchteil aller auf Meningokokken B effektiv vorhandenen Oberflächenproteine. Der weitere Weg auf der Suche nach wirksamen Impfstoffantigenen bei Meningokokken Typ B führte über die Genomidentifikation dann zur Methodenentwicklung von Reverse Vaccinology.

### Identifikation potenzieller Impfstoffantigene

Das Vorliegen der genetischen Information, dank modernsten molekularbiologischen Methoden, erlaubte das In-silico-Screening mittels bioinformatischer Werkzeuge des Genoms nach an der Oberfläche exprimierten Proteinen zur Identifikation potenzieller Impfstoffantigenkandidaten.

Via Computeranalyse wurden alle in der Sequenz bestimmten Gene von *N. meningitidis* (mehr als 2100 proteinkodierende Strukturen) insoweit aufgearbeitet, als dass man diese nach bestimmten Voraussagemustern (Deduktion) als potenzielle Kandidaten (strukturelle Oberflächenproteine = potenzielle Antigenkandidaten) selektiert und in Bakterien das jeweils entsprechende Protein rekombinant herstellen konnte. Die bakterizide Wirkung einzelner Antigenkandidaten wurde in der Folge in der Maus bestimmt, bevor die Untersuchung am Menschen begonnen werden konnte.

Aus 350 infrage kommenden Proteinkandidaten (genome derived neisserial antigens – GNA) konnten in der Forschungsgruppe von Rino Rappuoli in Siena (Novartis Vaccines and Diagnostics) in relativ kurzer Zeit 91 neue Oberflächenproteine identifiziert werden. Diese Zahl muss man mit den 12 bis 15 Oberflächenproteinen vergleichen, welche die gesamte Meningitisforschung in den vergangenen Jahrzehnten zusammengetragen hat. Aus den identifizierten Proteinen wurden dann in einem ersten Selektionsschritt 28 Kandidaten ausgewählt, von denen die Forscher hofften, dass sie sich für die Entwicklung eines künftigen Impfstoffs eignen würden. Das heisst, es wurde untersucht, ob diese Proteine in Mäusen eine Schutzreaktion auslösen können und wie heftig diese ausfällt.

### Das Genomzeitalter trägt Früchte

Nach der aufregenden Phase der Entdeckung kam nun die mühsame und langwierige Phase der Weiterentwicklung. Aus den 28 Proteinkandidaten wurden wiederum die besten ausgewählt, nach dem Prinzip «so wenig wie möglich, aber so viele wie notwendig», wobei auch verschiedene Kombinationen untersucht werden mussten. Am Ende resultierte eine Formulierung mit fünf rekombinant hergestellten Proteinen. Gegenwärtig durchläuft dieser Impfstoff das klini-

sche Studienprogramm und wird speziell bei Kindern gewissenhaft geprüft.

Das Beispiel des Meningokokken-Typ-B-Impfstoffs zeigt, wie komplex die Impfstoffherstellung sein kann. Der Impfstoff von Novartis ist derzeit noch in Entwicklung, bis zur Praxisreife können noch Jahre vergehen, und ein Fehlschlag ist jederzeit möglich. Bislang hat er aber in verschiedenen Studien sehr interessante Ergebnisse geliefert. Die Geschichte der Entwicklung des Meningitisimpfstoffs zeigt, dass das Genomzeitalter Früchte trägt. Der Meningitiserreger *Neisseria*

meningitidis ist mittlerweile nur noch eines von vielen Bakterien, deren Genom bekannt ist. Der Ansatz, wie er für *Neisseria meningitidis* gewählt wurde, ist heute Standard. Jeder, der einen Impfstoff entwickelt, schaut heute als Erstes auf die Genomdaten. ♦

### Literatur:

Gniel D, Schultze V: Moderne Konjugat-Impfstoffe und Meningokokken C-Impfkampagnen. *Impf-Dialog* 1/2008: 13–22.

Kelly DF, Rappuoli R: Reverse vaccinology and vaccines for serogroup B *Neisseria meningitidis*. In *Hot Topics in Infection and Immunity in Children*, edited by AJ Pollard and A. Finn. Springer, New York 2005.

### Kontaktadresse:

Dr. Michael Endrich  
Novartis Vaccines & Diagnostics  
Novartis Pharma Schweiz AG  
Monbijoustrasse 118, 3007 Bern  
E-Mail: michael.endrich@novartis.com