

Entwicklungen von SARS-CoV2-Impfstoffe auf verschiedenen Impflplattformen

Zentrum für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie und Krankenhaushygiene

Der Gesundheits-Campus

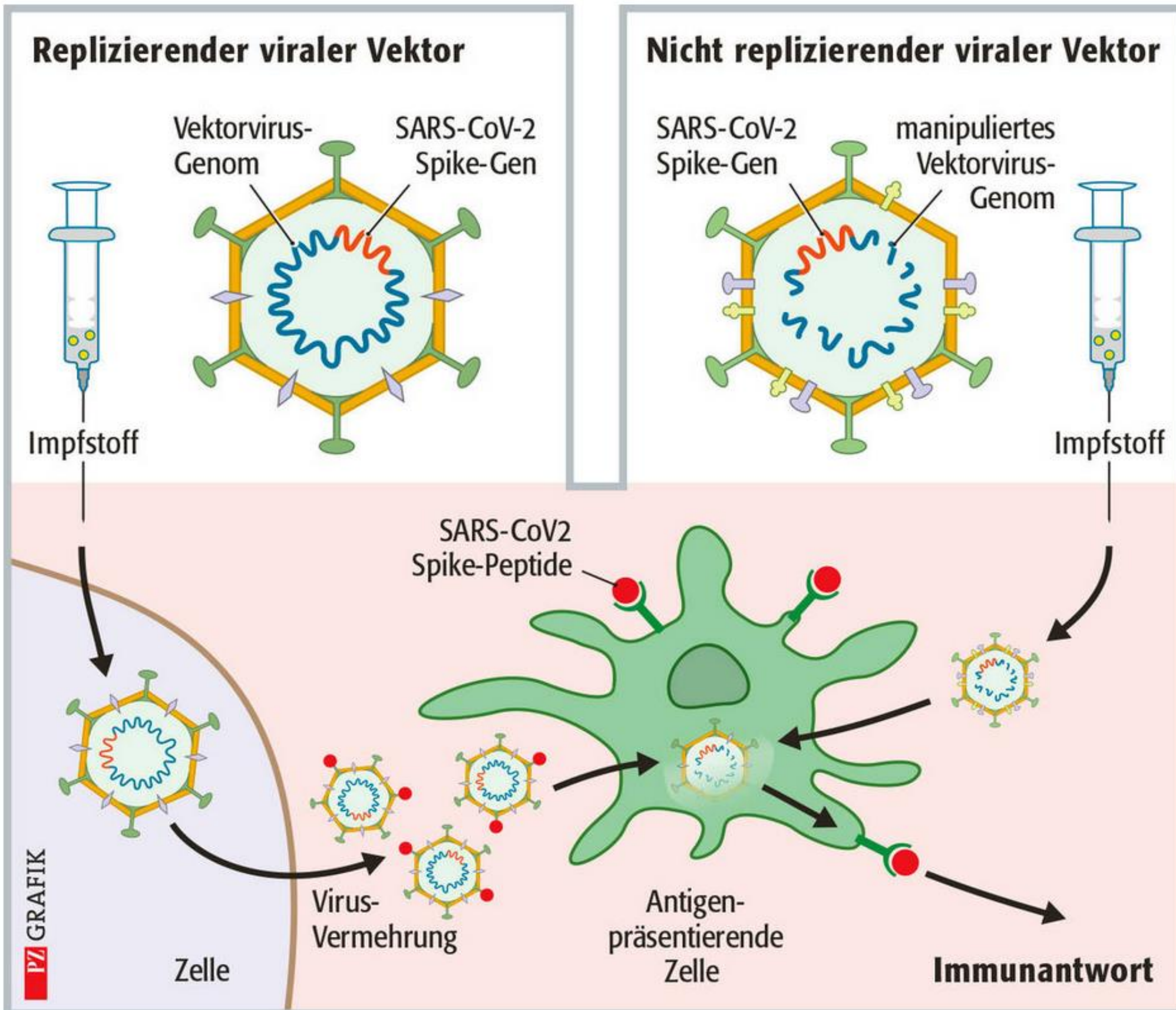
Vektorviren aus Impflplattformen

Bei der Suche nach Pandemie-Impfstoffen, gewinnen Plattformtechnologien an Bedeutung. Unter diesen sind Vektorimpfstoffe prominent vertreten. Die Basis hierfür bilden harmlose Viren, deren Genom zusätzlich die Bauleitung für ein Coronavirus-Protein enthält. Zwei Kandidaten die nach diesem Prinzip funktionieren, sind schon in der klinischen Entwicklung.

Bei Vektorimpfstoffen wird das Genmaterial für ein Impfantigen in ein infektiöses, gut bekanntes Trägervirus (Vektor) eingebaut und dann als Impfstoff injiziert. Dieser Vektor dient als eine Art Gen-Fähre, die genetisches Material in die Körperzellen einschleust. Dort wird das zusätzliche Gen abgelesen und in ein virales Protein (Antigen) übersetzt. Dieses produziert, im Körper des Geimpften, Antikörper und spezifische T-Zellen gegen dieses Antigen.

Es gibt bei den Vektorimpfstoffen replizierende Vektorviren und nicht replizierende Vektorviren. Dies können RNA-Viren sein, wie zum Beispiel das Vesikuläre Stomatitis-Virus (VSV) und das Masernvirus. Oder auch DNA-Viren, wie zum Beispiel das Pockenvirus oder verschiedene Adenoviren.

Viren können eine Hülle besitzen, beispielsweise VSV oder das Pockenvirus, oder unbeküht sein, wie Adenoviren.



Das Prinzip der Vektorimpfstoffe: Replizierende virale Vektoren sind harmlose Viren wie etwa das Impfmernvirus, in deren Genom ein Gen von SARS-CoV-2 integriert wurde. In der Regel ist dies das Gen für das Spike-Protein. Im Körper des Geimpften infizieren die Vektorviren Zellen und vermehren sich, wobei sie auch das Spike-Protein von SARS-CoV-2 bilden. In den Antigen-präsentierenden Zellen wird das Protein zerstückelt und Fragmente davon als Antigen den anderen Immunzellen präsentiert, was eine Immunantwort bewirkt. Nicht replizierende Vektoren enthalten ebenfalls ein Coronavirus-Gen, sie können sich aber nicht mehr vermehren. In Körperzellen führen sie zur Bildung des Coronavirus-Proteins, was ebenfalls zu einer Immunantwort führt. / Foto: Stephan Spitzer

Nicht replizierende virale Vektoren

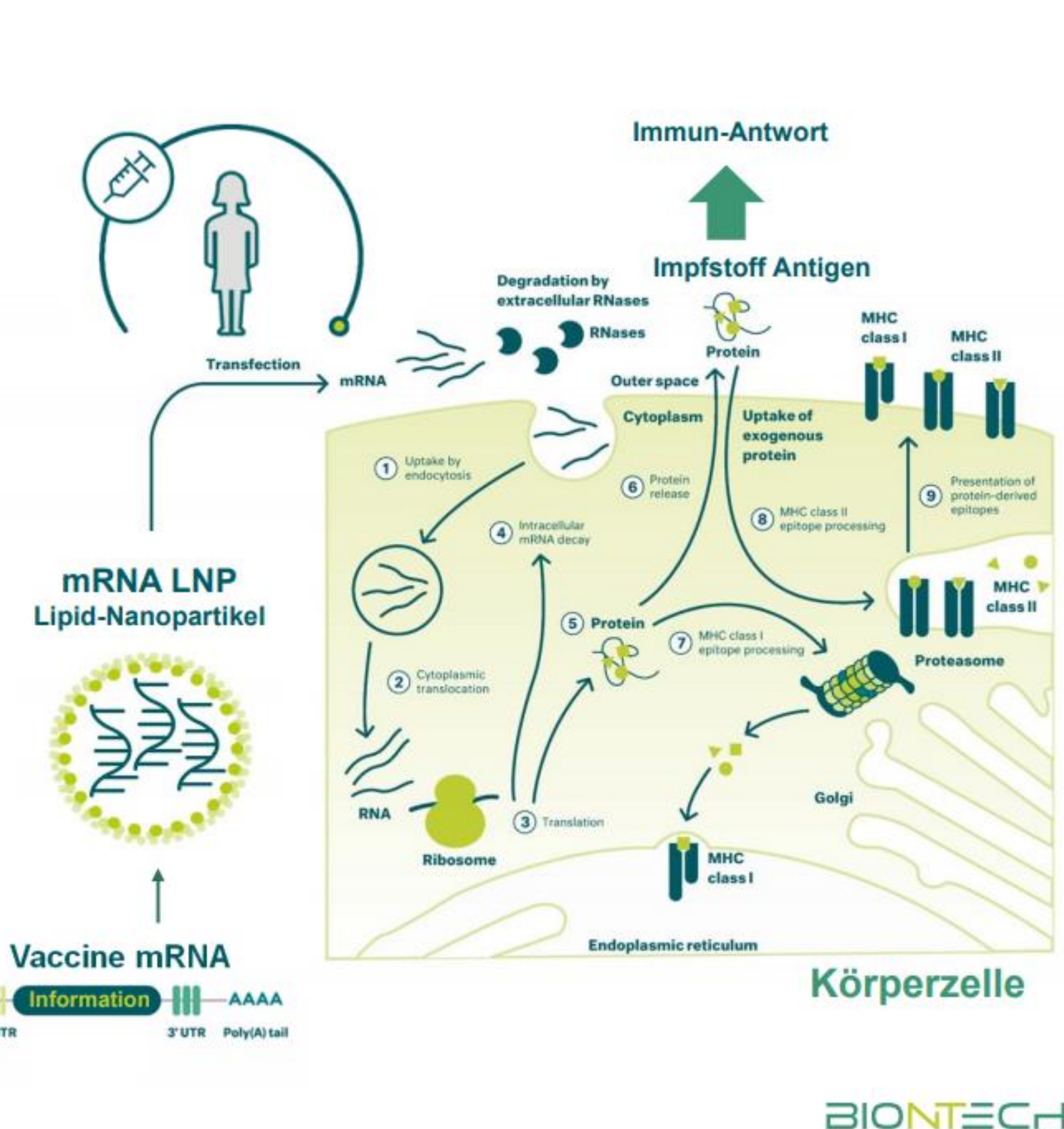
Laut WHO werden 18 Impfstoffkandidaten auf dieser Basis entwickelt. Für nicht replizierende, virale Vektorplattformen verwendet man verschiedene Viren, wie beispielsweise ein modifiziertes Schimpansen-Adenovirus (ChAdOx1) (University of Oxford mit Astra-Zeneca und Serum Institute of India), einen Adenovirus-Typ-5-Vektor (Ad5, CanSino Biological Inc. und dem Beijing Institute of Biotechnology) oder einen Adenovirus-Typ-26-Vektor (Ad26) (russischer Impfstoff Sputnik V, Primevektor AdV5, BOOST-Vektor AdV26). Weitere Vektoren stehen zur Verfügung z.B. der simiane Adenovirus-Vektor, ein pockenviraler Vektor (Modified-Vaccinia-Ankara-Virus, MVA) und das Parainfluenzavirus.

RNA-Impfstoffe – mRNA-Impfstoffe

In RNA-Impfstoffen ist in der Regel Boten-RNA (mRNA) enthalten, ein Zwischenprodukt, das beim Ablesen eines Gens entsteht und dann in Proteine übersetzt wird. Die mRNA muss lediglich in das Zytoplasma der Zellen aufgenommen werden, um dort am Ribosom die Bildung von Proteinen zu bewirken. Um die Aufnahme in die Zellen zu erleichtern, kann die mRNA zum Beispiel in Liposomen oder Lipid-Nanopartikeln (LNP) verpackt sein. Sie kann aber auch nackt in dem Impfstoff enthalten sein. Die Nukleinsäure lässt sich modifizieren, um sie zu stabilisieren und so die Expression zu verstärken.

Außerdem besteht auch die Möglichkeit, selbstreplizierende oder selbstamplifizierende RNA (saRNA) zu verwenden. Diese kodiert nicht nur für das gewünschte Antigen, sondern enthält auch Elemente für die Replikation, die es der RNA ermöglichen, sich zu vervielfältigen, sodass die Impfdosis reduziert werden kann.

RNA-basierte Impfstoffe gelten als sehr sicher, da sie, anders als attenuierte Lebendimpfstoffe, keine Infektionen auslösen können, sich nicht ins Genom integrieren können und zudem nur vorübergehend abgelesen werden (»Nature« 2018, DOI: 10.1038/nrd.2017.243), da die RNA im Körper rasch abgebaut wird. Zusätzlich, gibt es gegen diesen »Minimal-Vektor« keine antivektorspezifische Immunität, wie sie bei viralen Vektoren zu beobachten ist. Daher können RNA-basierte Vakzine wiederholt verabreicht werden. Nachteilig ist, dass die Impfstoffe bei -70°C gelagert werden müssen und daher logistische Probleme mit sich bringen.



BNT162 mRNA Impfstoff-Technologien

Uridine mRNA (uRNA) ^{#1}	Nucleosid-modifizierte mRNA (modRNA) ^{#2}	Self-amplifizierende mRNA (saRNA) ^{#3}
Rationale - Prime / Boost - Starke Adjuvanz Wirkung - Aktiv in geringen Dosen - Starke Antikörperantwort - CD8 T-Zellen > CD4 T Zellen	Rationale - Prime / Boost - Mäßige Adjuvanz Wirkung - Sehr starke Antikörperantwort - CD4 T-Zellen > CD8 T-Zellen	Rationale - Prime (1x Injektion) - Lange Aktivität - Sehr starke Antikörperantwort - Sehr starke T-Zellantwort (CD8, CD4) - Potenter Impfschutz in geringen Dosen (ca. 60x geringere Dosierungen für eine vergleichbare Immunantwort im Vgl. zu uRNA - präklinischen Modelle)

^{#1} Kreiler et al., Nature 2015, Kranz, Diken et al., Nature, 2016, Sahin et al., Nature 2017, Reinhard et al., Science 2020
^{#2} Pardi et al., Nature, 2017, Pardi et al., Mol Ther 2019, ^{#3} Vogel et al., Mol Ther 2018, Moyo et al., Mol Ther 2019

Das Impfgeme

Prime am Tag 0 mit 30 µg Impfstoffe

Boost nach 21 bis 28 Tage mit weiterer Dosis

Der Biotech/Pfizer-Impfstoff

Ein Fläschchen (0,45 ml) enthält fünf Dosen á 30 µg h

(BNT162b2-RNA Nucleosid-modifizierte mRNA. Diese mF

Welche Hilfsstoffe sind enthalten?

Ein Adjuvans bzw. Konservierungsstoff sind nicht enthält

Als Hilfsstoffe sind aufgeführt:

ALC-0315 = (4-Hydroxybutyl)azandiylbis (Hexan-6,1-diyl)

ALC-0159 = 2-[(Polyethylenglykol)-2000]-N,N-ditetradecyl

2-Distearoyl-sn-glycero-3 phosphocholin

Cholesterol

Kaliumchlorid

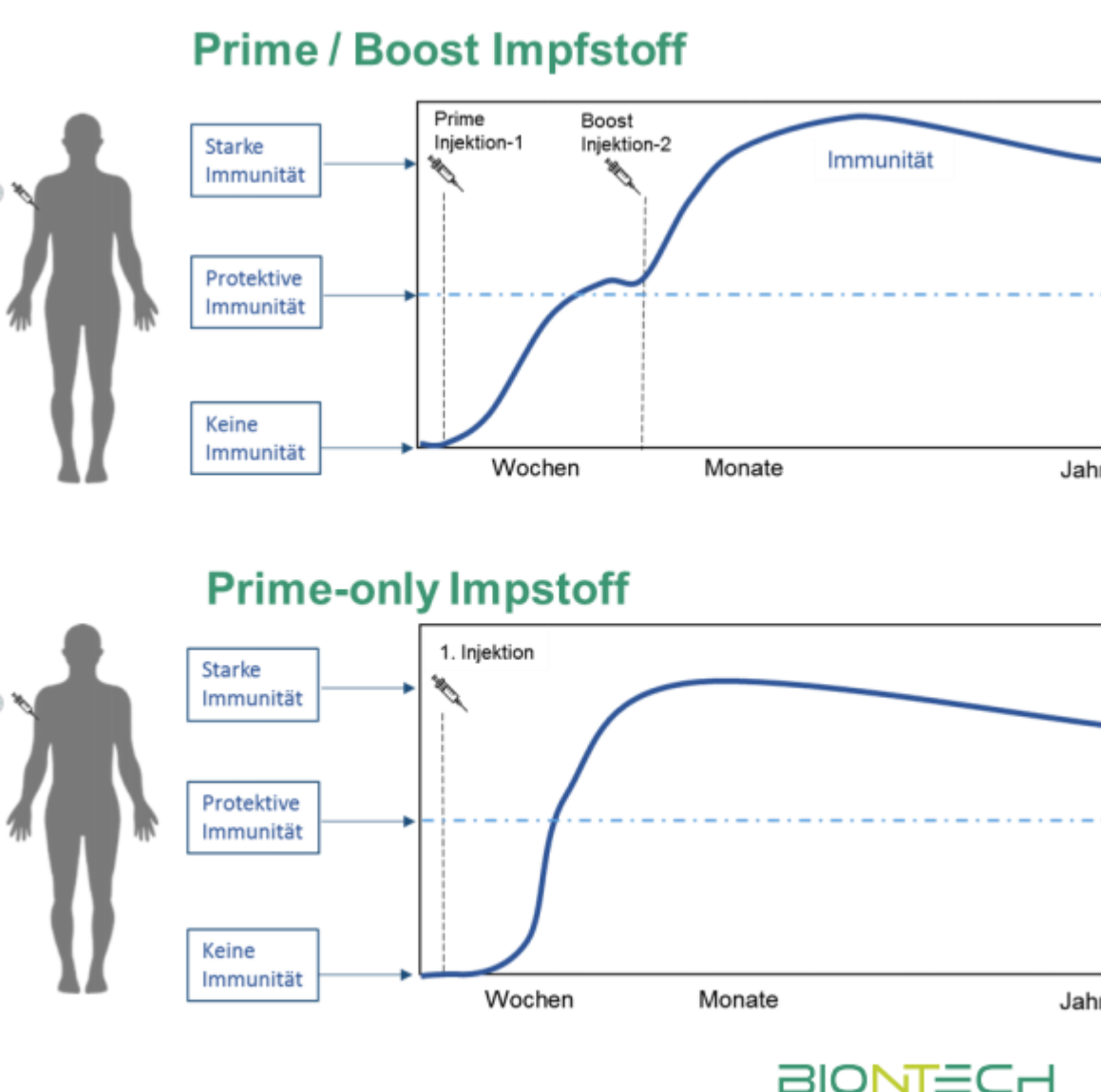
Kaliumdihydrogenphosphat

Natriumchlorid

Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat

Saccharose

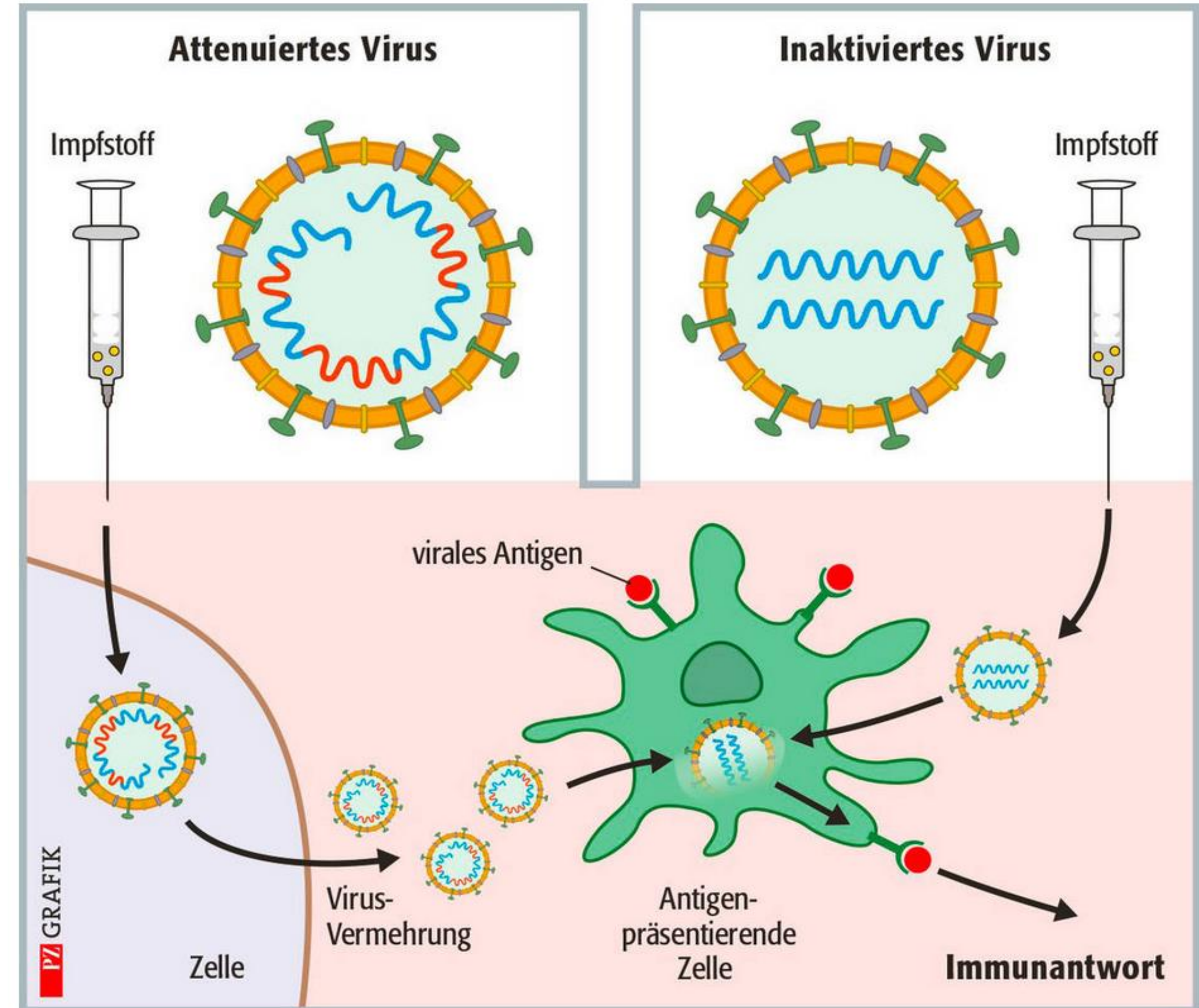
Wasser für Injektionen



Ganzvirus-Impfstoffe als einfachste Form

Es sind wahrscheinlich die besten Impfstoffe mit Blick auf die Immunantwort, in der Vergangenheit haben solche Impfstoffe jedoch zum Teil gravierende Nebenwirkungen aufgewiesen. Bei der SARS-CoV-2-Vakzinen mit ganzen Viren, ist das Prinzip einfach: Man nimmt den Erreger, züchtet ihn in einer Kultur an und verwendet ihn in abgeschwächter Form (attenuiertes Virus), welche keine Krankheitssymptome mehr auslöst. Zwei Konsortien arbeiten bereits Fortgeschritten an so einem Impfstoff. Zum einen Codagenix gemeinsam mit dem Serum Institute of India und die Firma Indian Immunologicals Ltd mit der Griffith University. Lebendimpfstoffe besitzen zwei herausragende Vorteile. Zum einen werden die Antigene, durch die Replikation des Virus, über einen recht langen Zeitraum dem Immunsystem präsentiert, was zu einer sehr guten Immunantwort führt. Kein anderer Impfstofftyp weist so eine intensive Exposition auf. Zum anderen wird durch die Impfung mit einem Lebendimpfstoff, neben einer B-Zell-Antwort und der Induktion von T-Helferzellen, auch die Entwicklung zytotoxischer T-Zellen induziert. Diese Zellen führen zu einer raschen Eliminierung, der vom Virus befallenen Zellen.

Nachteilig kann bei dieser Art Impfstoffe jedoch sein, dass zum Teil Antigene appliziert werden, welche im Körper zu Nebenwirkungen führen. Dieses wird von den Herstellern bisher jedoch nicht berichtet.



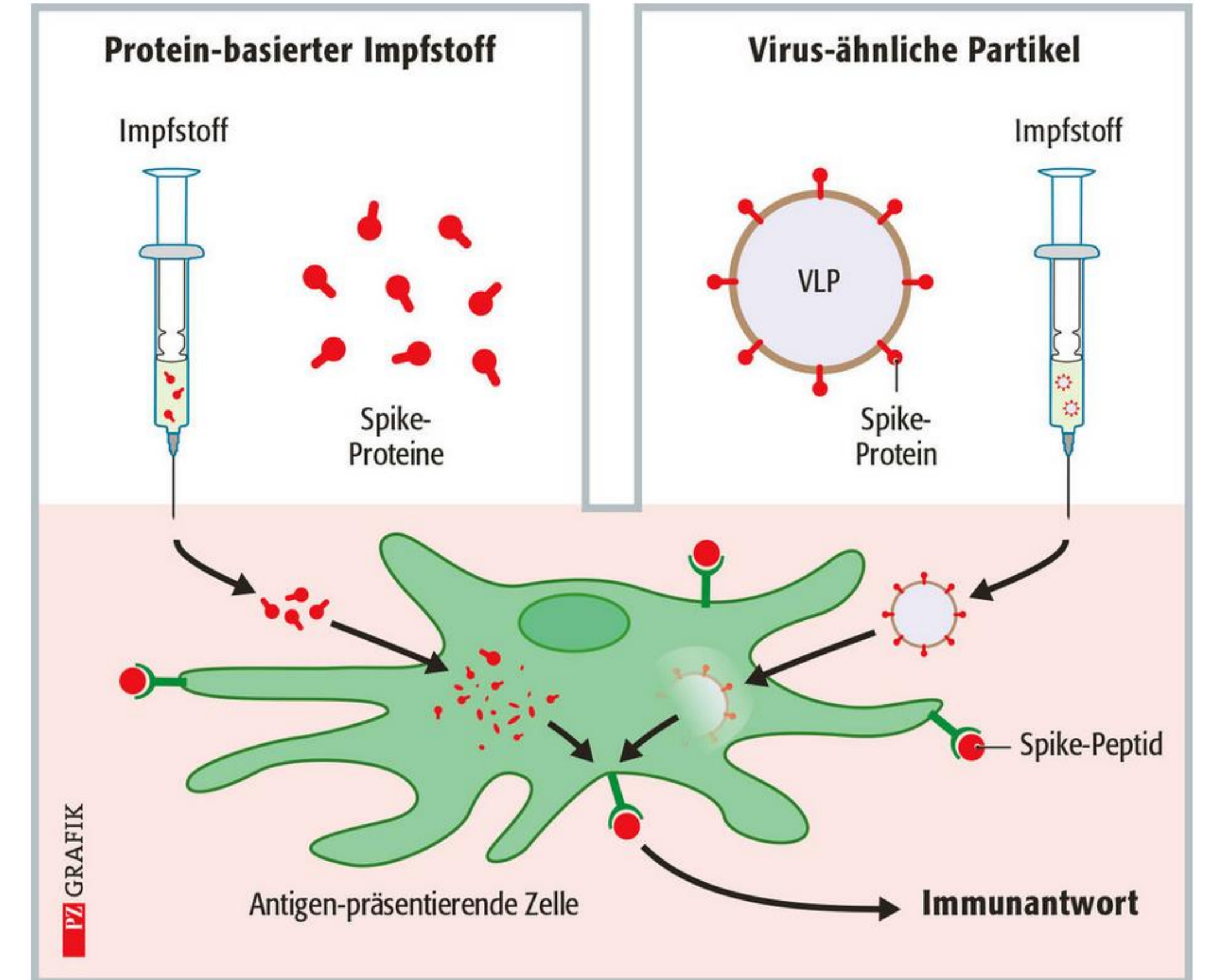
Die Prinzipien der Ganzvirus-Impfstoffe: Bei den attenuierten Lebendimpfstoffen stellen genmodifizierte lebende SARS-Coronaviren-2 das Impfantigen dar. Diese wurden genetisch so modifiziert, dass sie sich nur noch schlecht im Körper des Geimpften vermehren können und somit keine Krankheitssymptome mehr auslösen. Bei inaktivierten Virusimpfstoffen sind chemikalisch oder physikalisch inaktivierte, aber nicht zerstörte Viren im Impfstoff enthalten. In beiden Fällen werden die Viren im Körper des Geimpften von Antigen-präsentierenden Zellen aufgenommen, fragmentiert und Teile davon (Antigene) anderen Zellen des Immunsystems präsentiert. Das führt schließlich zu der gewünschten Immunantwort. / Foto: Stephan Spitzer

Inaktivierte Impfstoffe

Die oben genannten Impfstoffe, gibt es auch in inaktivierter Form. Neun solcher Kandidaten sind in der Entwicklung. Sinovac Biotech China ist hierbei weit vorangeschritten. Dieser Impfstofftyp enthält keine replikationsfähigen Viren. Vielmehr wurden die Erreger durch chemische oder physikalische Methoden komplett inaktiviert. Da inaktivierte Viren die Fähigkeit verloren haben, eine Zelle aktiv zu infizieren, können diese Virusartefakte nur durch Antigenpräsentierende Zellen aufgenommen werden. Diese präsentieren dann Fragmente der Virusproteine dem Immunsystem, sodass neben Antikörpern nur T-Helfer-Zellen gebildet werden. Eine CD8⁺-T-Zellantwort (Zytotoxische T-Zellen) bleibt bei einer Impfung mit inaktivierten Viren aus.

Protein-basierte Impfstoffe

Die als Impfantigen aufgereinigten viralen Proteine, sind sehr sicher. Aufgrund des hohen Reinheitsgrades der Proteine, ist auszuschließen, dass genetisches Material des Virus in den Impfstoffen enthalten ist. Mitunter werden auch nur Teilproteine als Impfantigene verwendet. Dieser Ansatz wird sehr intensiv im Rahmen der Impfstoffentwicklung gegen das SARS-CoV-2 verfolgt. Die Rezeptorbindedomäne (RBD) des Spike(S)-Proteins des Virus drängt sich in diesem Zusammenhang förmlich auf. Diese RBD bildet den eigentlichen Schlüssel, mit dessen Hilfe sich das Virus Zugang zu einer Zelle verschafft. Wird dieser kleine Teilbereich des Virus von einem Antikörper abgedeckt, hat das Virus seine Infektiosität eingebüßt. Wegen der großen Plausibilität dieses Impfstoffkonzepts überrascht es nicht, dass mehr als 50 SARS-CoV-2-Impfstoffkandidaten nach diesem Prinzip in der Entwicklung sind. Drei der Kandidaten werden laut WHO derzeit bereits klinisch getestet. Novavax USA, Ein Kandidat mit rekombinantem Spike-Protein und dem Adjuvans Matrix-M™. Biopharmaceuticals USA, mit einem rekombinanten trimerischen S-Protein in unadjuvantierter und adjuvantierter Form und Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical China, prüft mit der Chinese Academy of Sciences eine adjuvantierte Vakzine mit einem RBD-Dimer.



Prinzip von Protein- und VLP-Impfstoffen: In Protein-Impfstoffen sind Proteine des Erregers, gegen den die Impfung schützen soll, das Impfantigen. Die Proteine, im Fall von SARS-CoV-2 ist dies hauptsächlich das Spike-Protein, werden in spezielle Zellen des Immunsystems, den Antigen-präsentierenden Zellen, aufgenommen und dort aufgespalten. Spaltprodukte werden dem Immunsystem präsentiert, was eine Immunantwort auslöst. In VLP-Impfstoffen sind virusähnliche Partikel enthalten. Dies sind leere Lipidhüllen mit Strukturproteinen des Erregers, gegen den eine Immunreaktion ausgelöst werden soll. / Foto: Stephan Spitzer

Die hochaufgereinigten Proteine sind meist nicht ausreichend immunogen. Deshalb enthalten viele Vertreter dieses Impfstofftyps Adjuvantien (Wirkverstärker). Dieses ist prinzipiell unproblematisch. Allerdings werden adjuvantierte Impfstoffe von vielen Menschen als unangenehm empfunden. Das liegt in der Natur der Adjuvantien, deren Aufgabe es ist, eine leichte, lokale Entzündung zu provozieren. Dadurch werden Komponenten des unspezifischen Immunsystems in die Nähe der eigentlichen Impfantigene gelockt und so die Impfreaktion verstärkt. Von geimpften werden häufig lokale Reaktion und grippalen Gefühl beschrieben.

Die Influenza-Vakzine: Ein typischer Protein-basierter Impfstoff

Nebenwirkung der Impfstoff BNT162b2-RNA

Studiendaten zufolge berichteten 75 Prozent der Probanden nach der Impfung mit BNT162b2 von Erschöpfung, 67 Prozent von Kopfschmerzen, 25 Prozent von Muskelschmerzen, 17 Prozent von Fieber und 17 Prozent von Gelenkschmerzen. Auch wenn es wohl eher selten vorkommt, dass ein Impfling alle diese Symptome auf einmal entwickle, sei es enorm wichtig, dass Ärzte den Impfkandidaten vorab wirklich klarmachen, dass auch heftige Reaktionen möglich seien. Impfreaktionen sind meistens ein Zeichen dafür, dass das Immunsystem auf den Impfstoff reagiert, was dem Sinn der Impfung entspricht.

Wie die Medien berichteten ruft der NHS, die UK-Behörde, Menschen mit einer „signifikanten“ Allergieggeschichte dazu auf, sich den Biotech/Pfizer-Corona-Impfstoff vorerst nicht spritzen zu lassen. Grund für die Warnung sei, dass am vergangenen Dienstag (8.12.20) zwei Mitarbeiter des NHS, bei denen es in der Vergangenheit bereits zu erheblichen allergischen Reaktionen gekommen sei, nach ihrer Impfung eine allergische Reaktion gezeigt hätten. Sie hätten negative Reaktionen auf den Impfstoff gezeigt, erholten sich derzeit jedoch gut, wie der Deutschlandfunk berichtete. Die Ursachen für die Nebenwirkungen sind noch nicht genau zu erklären, haben aber möglicherweise Ihren Ursprung in den Hilfsstoffen.

Wie genau wird der Impfstoff aufgetaut und rekonstituiert?

Zur Rekonstitution soll die Temperatur der gefrorenen Fläschchen auf 2 bis 8 °C gebracht werden; dies kann für eine Verpackungseinheit von 195er-Fläschchen drei Stunden in Anspruch nehmen. Alternativ können gefrorene Fläschchen zur sofortigen Verwendung auch 30 Minuten lang bei Temperaturen von bis zu 25 °C aufgetaut werden. Nach dem Auftauen kann der unverdünnte Impfstoff bis zu fünf Tage bei 2 bis 8 °C und bis zu zwei Stunden bei Temperaturen von bis zu 25 °C gelagert werden.

Das aufgetaute Fläschchen wird dann auf Raumtemperatur gebracht und vor der Verdünnung zehnmal vorsichtig vertikal gekippt. Scherkräfte, die beim Schütteln entstehen würden, sind unbedingt zu vermeiden. Vor der Verdünnung sollte der Impfstoff als cremefarbene Lösung vorliegen, in der keine Partikel sichtbar sind. Bei Vorhandensein von Partikeln oder Verfärbungen muss der Impfstoff verworfen werden. Der aufgetaute Impfstoff muss in der Originalampulle mit 1,8 ml NaCl 9 mg/mL (0,9 %) Lösung zur Injektion aseptisch verdünnt werden. Andere Lösungsmittel sind nicht zulässig. Der Packung liegt keine Kochsalzlösung bei. Zur Verdünnung soll eine Kanüle mit einem Gauge-Wert von 21 oder weniger benutzt werden.

Danach wird die Lösung wieder zehnmal vorsichtig vertikal gekippt. Der rekonstituierte Impfstoff sollte dann mit dem Verdünnungsdatum und der Verdünnungszeit markiert und zwischen 2 und 25 °C gelagert werden. Er sollte sofort, oder innerhalb von 6 Stunden nach der Verdünnung verwendet werden. Nach dem Verdünnen enthält das Fläschchen fünf Dosen á 0,3 ml. Es darf nach dem Verdünnen nicht mehr transportiert werden.