

Spezifische Immuntherapie

Klinische Erfahrungen mit rekombinanten molekularen Majorallergenen und hypoallergenischen Varianten

Der vorliegende Artikel legt einen Schwerpunkt auf die Darstellung von Entwicklungen im Bereich von rekombinanten Wildtypallergenen und hypoallergen modifizierten Allergenen sowie im Bereich der Peptidtherapie. Hierbei werden die molekularen Grundlagen, die Herstellung und die bislang vorliegenden klinischen Erfahrungen erörtert.

Die allergische Rhinitis (AR) durch inhalative Allergene zählt zu den häufigsten chronischen Erkrankungen in Europa [2, 3]. Neben der Allergenkarrenz stellt die allergenspezifische Immuntherapie (SIT) die einzige kausale Therapie der allergischen Rhinitis dar [4, 5]. Es konnte gezeigt werden, dass eine SIT bei AR wirksam und sicher ist sowie Langzeiteffekte aufweist, die über die Therapiedauer hinaus andauern. Zudem kann die Entwicklung neuer Sensibilisierungen und das Fortschreiten der Erkrankung zum allergischen Asthma verhindert werden [11, 12, 24, 26]. Zurzeit werden insbesondere native Allergenextrakte und chemisch modifizierte (polymerisierte) Allergoide verwendet. Bei Allergoiden führt die Zerstörung von B-Zell-Epitopen zu einer geringeren Bindung von IgE-Antikörpern, wodurch eine geringere Nebenwirkungsrate postuliert wird. Darüber hinaus kann durch eine physikalische Koppelung – beispielsweise an Aluminiumhydroxid, Tyrosin oder Kalziumphosphat – ein Depoteffekt mit verzögerter Freisetzung erreicht werden [16].

Ein Verbesserungspotenzial der SIT wird insbesondere in der Entwicklung einer Therapie mit rekombinant hergestellten, molekularen Majorallergenen und hypoallergen modifizierten rekombinanten Varianten gesehen (u. a. Peptide) – des Weiteren in veränderten Applikationsformen wie der intralymphatischen und Epikutant-Immuntherapie oder der Entwicklung neuartiger Vakzinierungsformen wie beispielsweise „virus-like particles“ [19, 20, 31, 34].

Von den ersten rekombinant hergestellten Allergenen wird in der Literatur 1988 berichtet. Zu diesen zählen das Wespennallergen Dol m5, das Birkenpollenallergen Bet v1 und das Hausstaubmilbenallergen Der p1 [9]. Mittlerweile sind mehrere Hundert Allergene entschlüsselt und können rekombinant hergestellt werden. Man unterscheidet rekombinante Wildtypallergene, die genau die Eigenschaften des natürlichen Allergens imitieren, von modifizierten Allergenen, die eine veränderte Form des natürlichen Allergens darstellen. Beide Proteinarten können exakt molekular reproduziert und mit konstanten strukturellen und immunologischen Eigenschaften hergestellt werden.

Nachteile der herkömmlichen Therapie

Trotz vieler Weiterentwicklungen und großer Therapieerfolge der herkömmlichen SIT bestehen auch einige Problembereiche: Die aktuell verfügbaren The-

rapieextrakte entstehen durch hersteller-spezifische Prozessierung aus einem Ausgangs-Allergenextrakt. In Abhängigkeit vom Hersteller erfolgt eine unterschiedliche Standardisierung des Allergengehalts. In der Regel werden die Allergene aus natürlichen Allergenquellen gewonnen, sodass deren Zusammensetzung und Allergenaktivität im Ausgangsextrakt erheblich variieren können. Zudem besteht die Gefahr der Kontamination mit bakteriellen Endotoxinen und anderen Kontaminanten wie Proteasen, welche die Haltbarkeit herabsetzen können. Außerdem wäre eine spezifische Zusammenstellung von Allergenen mit genau definierter Mengenangabe wie beispielsweise bei einer individuellen Immuntherapie mit den nativen Extrakten schwer möglich.

Rekombinante Allergene

Vorteile

Die rekombinante DNA-Technologie könnte eine Vielzahl dieser Nachteile beseitigen und bietet einige weitere Vorteile (■ Tab. 1). Rekombinant hergestellte Moleküle können präzise hinsichtlich ihrer physikalischen, chemischen und immunologischen Eigenschaften definiert werden. Die Produktion erfolgt standardisiert und reproduzierbar von der gleichen Master-Zellbank ausgehend. Außerdem kann die genaue Dosierung und Zusammensetzung der molekularen Allergenbestandteile angegeben und somit op-

Hier steht eine Anzeige.



Tab. 1 Vorteile von rekombinanten Allergenen gegenüber der herkömmlichen Therapie

Vorteile (modifizierter) rekombinanter Allergene
Höhere Reinheit der Allergenpräparate
Exakte, reproduzierbare Produktion
Exakte Mischung unterschiedlicher Majorallergene in einem Präparat
Standardisierung und Vergleich der einzelnen Präparate untereinander
Niedrigere allergene Aktivität (erhöhte Verträglichkeit)
Höhere Immunogenität (bessere und schnellere Wirkung)
Patientenfreundliche Applikation
Auf Patienten maßgeschneiderte Immuntherapie
Möglicherweise prophylaktische Strategien in der Immuntherapie

Tab. 2 Übersicht über hypoallergen modifizierte Varianten

Modifizierungsansatz/neues SIT-Konzept
Genetische Modifizierung (mit Kenntnissen der Struktur/Funktion):
– Hypoallergene:
– „Site-directed mutants“
– Konformationsvarianten
– Allergenfragmente
– Allergenoligomere
– Deletionsmutanten
– Hybridmoleküle/Mosaikantigene
„Shuffled allergens“/„molecular breeding“ (ohne Kenntnisse der Struktur/Funktion)
Peptidtherapie

timiert werden. Eine höhere Reinheit der Extrakte nur mit den relevanten Proteinen und ohne Kontaminationen kann garantiert werden. Somit könnten auch die Wirkmechanismen bei der Anwendung besser beobachtet und erforscht werden. Auch wäre eine maßgeschneiderte Therapie entsprechend dem individuellen Sensibilisierungsprofil denkbar.

» Rekombinant hergestellte Moleküle können präzise hinsichtlich ihrer Eigenschaften definiert werden

Weitere Verbesserungen könnten durch die Modifikation von Wildtypallergenen zu hypoallergen Varianten entstehen. So erhofft man sich, eine niedrigere IgE-Reaktivität durch die Reduktion von IgE-Bindungsstellen zu erreichen, was zu einer reduzierten Nebenwirkungsrate führen soll. Darüber hinaus ist eine Steigerung der immunologischen Wirksamkeit durch andere Modifikationen denkbar.

Zu den Herausforderungen und Nachteilen der rekombinanten DNA-Technologie zählen die verhältnismäßig hohen

Entwicklungskosten und die passende Allergenauswahl. Zudem muss für jedes molekulare Allergen ein spezifischer Herstellungsprozess entwickelt werden [8, 9, 33, 34].

Herstellung

Auswahl der relevanten Allergenstrukturen

Wichtig für die Herstellung eines rekombinanten Allergenpräparats (Abb. 1) ist die Auswahl der für eine erfolgreiche Therapie notwendigen Majorallergenstrukturen. Bei manchen Allergenquellen reicht hierzu offenbar ein einzelnes Majorallergen aus, welches für einen ausreichend großen Anteil der spezifischen IgE-Reaktivität verantwortlich ist. Dazu zählen beispielsweise bei der Katzenhaarallergie das Majorallergen Fel d1, bei der Birkenpollenallergie das Bet v1 und bei der Bienenfiftallergie das Api m1.

Bei der Gräserpollenallergie wurden hingegen mindestens 11 klinisch relevante Majorallergene identifiziert. Daher wurden die bisherigen klinischen Studien hier mit Mischungen der wichtigsten Majorallergene durchgeführt. Entscheiden-

de Auswahlkriterien sind die Häufigkeiten von Sensibilisierungen in der Bevölkerung, die klinische Relevanz, der relative Anteil am gesamten spezifischen IgE dieser Allergengruppe. Auch hier sei beispielhaft wiederum die Verteilung bei Gräserpollenallergikern dargestellt. Etwa 90% der Graspollen-allergischen Patienten reagieren auf Phl p1 und etwa 65–85% auf Phl p5, weshalb Jutel et al. diese sog. Gruppe-1- und Gruppe-5-Allergene zusammen mit 2 weiteren Allergengruppen in einem Allergencocktail verwendeten, um ein möglichst breites klinisches Ansprechen zu erreichen.

Im Gegensatz hierzu wurde auch mit einer geringen Anzahl weniger relevanter Allergene eine effektive Therapie erreicht. Dieses könnte – neben der optimalen Auswahl der Therapieallergene – auch durch ein Phänomen erklärt werden, das als Bystander-Effekt bezeichnet wird. Damit sind positive Effekte im Sinne einer Immunmodulation auf nichttherapierte Majorallergene durch die Therapie mit einem Allergen gemeint, was möglicherweise auch die Prävention von Neusensibilisierungen durch eine SIT erklären könnte [1, 10, 14, 15, 32].

Transkription der DNA aus mRNA

Sind die passenden Allergene ausgewählt, folgt im nächsten Schritt die Isolation der messenger-RNA (mRNA) aus der Allergenquelle. Die komplementäre DNA (cDNA) wird mithilfe des Enzyms reverse Transkriptase erstellt und vervielfältigt. Durch den Einsatz von Phagen werden nun cDNA-Banken angefertigt, welche hinsichtlich der biologisch aktivsten Isoformen anhand von Datenbanken aus Patientenseren ausgewählt werden [8, 9, 10].

Expression der cDNA

Die entsprechende cDNA wird anschließend in einem Plasmidvektor geklont und in einem passenden Expressionssystem exprimiert. Dazu wird die cDNA durch Einfügung in einen passenden Plasmidvektor in einen geeigneten Fremddorganismus eingeschleust. Als Empfängerorganismen werden prokaryotische (z. B. Bakterien wie *Escherichia coli*) und eukaryotische (z. B. Hefen wie *Pichia pastoris*) als Expressionssysteme verwendet. Vor der Auswahl des Systems muss entschei-

den werden, welcher Glykolysierungszustand und welche Stabilität der Proteine gewünscht werden und ob spezielle Anforderungen an die Struktur wie beispielsweise interne Disulfidbrücken notwendig sind. Beide Expressionssysteme können Nachteile aufweisen. Bei bakteriellen Expressionssystemen fehlt eine posttranslationale Modifizierung, und es müssen veränderte Codons eingesetzt werden. Hefen wie *Pichia pastoris* können zu einer überschießenden Hyperglykolysierung führen [8, 9, 10].

Reinigung und Qualitätskontrolle

Abschließend wird das rekombinant hergestellte Allergen durch chromatographische Methoden gereinigt, um fremde Proteine und Endotoxine zu beseitigen, so dass ein molekular definiertes Allergen vorliegt. Zur Qualitätskontrolle gehören 2 Schritte. Erstens werden in der physikochemischen Charakterisierung die Identität, Reinheit, Homogenität und Struktur der Proteine überprüft. Anschließend werden die immunologischen Eigenschaften wie die IgE-Reaktivität, biologische Aktivität/Allergenität oder die T-Zell-Reaktivität getestet. Eine Master-Zellbank für ein spezifisches Allergen stellt den Ausgangspunkt für Arbeitszellbanken zur Produktion von klinisch einsetzbaren Allergenen dar [8, 9, 10].

Hypoallergene Modifizierung

Die isolierte cDNA kann, bevor sie in die Zellbank eingebracht wird, auch weiter modifiziert werden (■ Tab. 2). Es entstehen hypoallergen modifizierte Varianten der Wildtypallergene. Das Ziel der Modifikationen ist insbesondere eine Reduzierung der IgE-Aktivität durch Zerstörung oder Minderung von B-Zell-Epitopen unter Erhaltung der T-Zell-Epitope, welche zur Induktion der T-Zell-Toleranz benötigt werden. Zudem ist eine Erhöhung der Immunogenität durch eine verbesserte T-Zell-Aktivierung möglich. Insbesondere die verminderte IgE-Reaktivität bei hypoallergen modifizierten Varianten könnte klinisch dazu führen, dass höhere Allergendosen appliziert werden könnten. Es bestehen 2 Vorgehensweisen: das „genetic engineering“, das umfassende Kenntnisse der Eigenschaften und Struk-

HNO 2013 · 61:834–842 DOI 10.1007/s00106-013-2730-3
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013

P. Schendzielorz · L. Klimek

Spezifische Immuntherapie. Klinische Erfahrungen mit rekombinanten molekularen Majorallergenen und hypoallergenen Varianten

Zusammenfassung

Derzeit werden für die spezifische Immuntherapie (SIT) von Inhalationsallergien vorwiegend Präparate aus nativen Allergenen oder Allergoiden eingesetzt. Diese Präparate sind nachgewiesenermaßen wirksam und sicher. Ihre reproduzierbare Herstellung und Standardisierung ist jedoch mit hohem Aufwand verbunden. Zudem sind verbesserte Wirksamkeiten oftmals mit einer höheren Dosierung und vermehrten Nebenwirkungen verbunden. Die Herstellung rekombinanter Allergenpräparate könnte die SIT-Präparate exakter definierbar, reiner, besser reproduzierbar, effektiver und sicherer machen. Außerdem wäre eine spezifischere, individuell maßgeschneiderte Therapie denkbar. Durch Modifikationen zu hypoallergenen Varianten oder Peptiden und durch Zugabe von Adju-

vanzien könnten diese Effekte noch verstärkt werden. Aktuell liegen klinische Studien mit rekombinanten Graspollen-, Birkenpollen-, Ragweedpollen- und Katzenhaarallergenen vor. Insbesondere die klinische Erfahrung mit rekombinanten Birkenpollen- und Graspollenpräparaten ist bereits umfassend vorhanden und erfolversprechend für eine kommerzielle Nutzung. Insgesamt kann diese neuartige Technologie einerseits die Therapie von Allergien verbessern und andererseits tiefere Einblicke in die molekularen Mechanismen der SIT gewähren.

Schlüsselwörter

Allergische Rhinitis · Spezifische Immuntherapie · Rekombinante Proteine · Allergene · Immunologische Adjuvanzen

Specific immunotherapy. Clinical experience with recombinant molecular major allergens and hypoallergenic variants

Abstract

Currently, preparations containing native allergens or allergoids are used predominantly in allergen-specific immunotherapy (SIT) of inhaled allergies. The safety and efficacy of these preparations has been demonstrated. However, their reproducible production and standardisation requires substantial effort. Besides this, improved efficacy is often associated with higher doses and an increase in adverse events. The production of recombinant allergens could make SIT preparations more precisely definable, purer, more reproducible, safer and more efficacious. Furthermore, a more specific and individually tailored therapy would be conceivable. These effects could be further amplified by modification to hypoallergenic variants and pep-

tides, or by the addition of adjuvants. Results of clinical trials with recombinant grass, birch and ragweed pollen, as well as with cat hair allergens have already been published. Particularly broad clinical experience exists for recombinant birch and grass pollen preparations, and results are promising for commercial application. Taken as a whole, this new technology can both improve the therapy of allergic diseases and deepen the understanding of the molecular mechanisms of SIT.

Keywords

Allergic rhinitis · Specific immunotherapy · Recombinant proteins · Allergens · Immunologic adjuvants

tur (wie T-Zell-Epitope, B-Zell-Epitope oder 3-D-Struktur) voraussetzt und das „DNA shuffling“ (Mischung von DNA-Sequenzen)/„molecular breeding“ (erneute Zusammensetzung der DNA-Stücke zu Genen), welches ohne solches Detailwissen auskommt [13, 22].

» Das Ziel der hypoallergenen Modifikationen ist eine Reduzierung der IgE-Aktivität

Durch „genetic engineering“ entstehen folgende Formen:

„Site-directed mutants“. Stark IgE-bindende B-Zell-Epitope werden durch

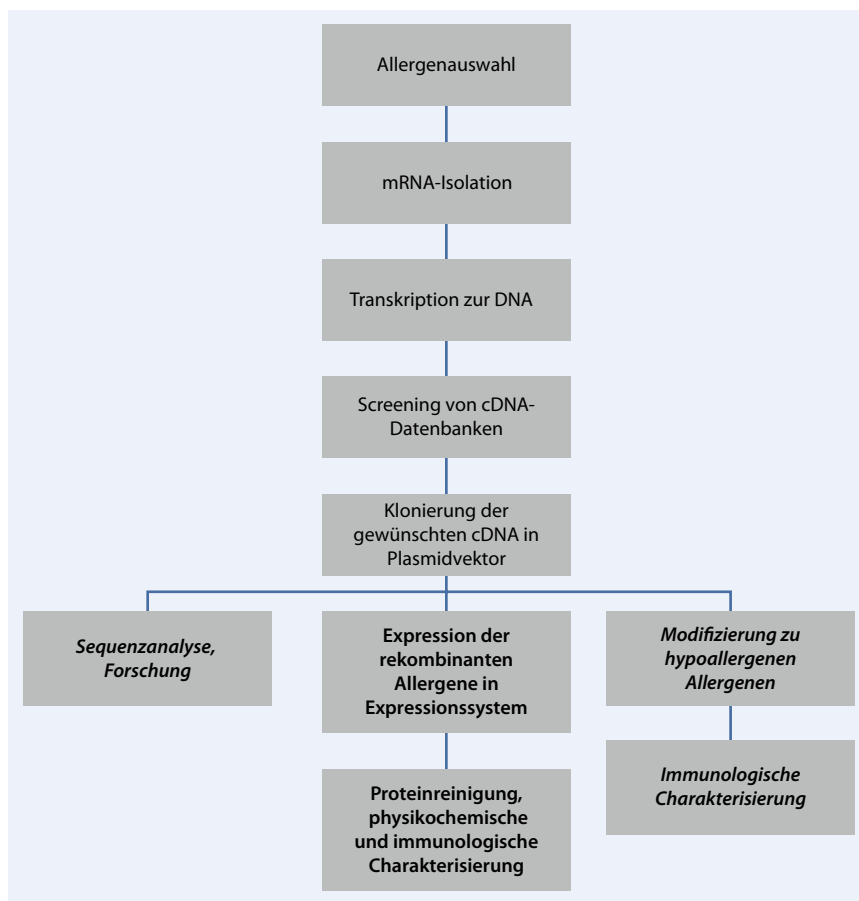


Abb. 1 ▲ Herstellung rekombinanter Allergene

schwach IgE-bindende Epitope, die von Isoformen gewonnen werden, ersetzt.

Konformationsvarianten. Hierbei werden konformationsabhängige B-Zell-Epitope zerstört.

Allergenfragmentierungen: Diese führen zu einem nachfolgenden Verlust der korrekten Faltung und somit von IgE-Bindungsstellen.

Allergenoligomere: Diese entstehen durch Verbindung mehrerer identischer Kopien eines Gens zu „Homomeren“ oder Verbindung mehrerer unterschiedlicher Gene zu „Heteromeren“.

Deletionsmutanten: In diesem Ansatz erfolgt durch ortsgerechte Mutagenese/Deletionen kleiner Sequenzen eine direkte Ausschaltung von B-Zell-Epitopen oder indirekt durch Beeinflussung der Konformation.

Hybridallergene/Mosaikantigene. Durch die Fusion unterschiedlicher Proteine zu einem Hybridmolekül wird durch

eine kovalente Bindung die Immunogenität schwacher Allergene verstärkt, und es können stabilere und exakter definierbare Allergenmischungen produziert werden [13, 22].

Bei der Methode des „gene shuffling“/„molecular breeding“ wird die DNA zufällig zerkleinert und durch „self-priming PCR“ wieder zusammengesetzt. Nun werden die erstellten Bibliotheken hinsichtlich geeigneter Moleküle mit möglichst niedriger IgE-Bindungsaktivität gescreent [6, 28].

Eine weitere Alternative stellt die sog. Peptidtherapie dar. Es werden hier lineare Peptidsequenzen verwendet, welche Fragmente des nativen Allergens repräsentieren. Unter Kenntnis der Proteinstruktur wird ein Peptidfragment einer bestimmten Länge mit passenden Eigenschaften ausgewählt. Aufgrund der kürzeren Aminosäuresequenz und des Strukturverlusts weisen sie eine niedrigere Allergenität auf. Es besteht somit eine geringere Wahrscheinlichkeit, dass Mastzel-

len durch „cross-linking“ von zellgebundenem IgE aktiviert werden. Außerdem können jedoch als zentraler Wirkmechanismus adaptive, allergenspezifische T-regulatorische Zellen induziert werden, die Interleukin-10 sezernieren [21, 23].

Klinische Erfahrung

Klinische Erfahrungen mit der Anwendung von rekombinanten Allergenen in der allergenspezifischen Immuntherapie stammen aus über 15 registrierten klinischen Studien. Die meiste Erfahrung besteht mit Graspollen- und Birkenpollenallergenen, aber auch Katzenhaarallergene oder Ragweedpollen wurden eingesetzt [9]. Eine Übersicht über rekombinante Allergene und ihre hypoallergen modifizierten Varianten gibt [Tab. 3](#).

Klinische Studien mit rekombinanten Allergenen

Birkenpollen. In einer multizentrischen, randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten (DBPC-)Studie wurden 147 Allergiker gegen Birkenpollen (*Betula pendula*, Bet v1) untersucht. Sie erhielten eine subkutane SIT (SCIT) mit an Aluminiumhydroxid gekoppelten Allergenen präseasonal bis auf eine maximale Dosis von 15 µg Bet v1 aufdosiert und mit der Erhaltungsdosis für weitere 2 Jahre appliziert. Die Studie bestand aus 4 Gruppen: Gruppe 1 erhielt rekombinantes Bet v1, Gruppe 2 gereinigtes natürliches Bet v1, Gruppe 3 Birkenpollenextrakt und Gruppe 4 Placebo. Die Studie zeigte bei allen aktiv behandelten Gruppen eine signifikante Reduktion des Symptom-Medikations-Score in der ersten Pollensaison, welche in der folgenden Pollensaison persistierte. Zudem konnten bei den aktiv behandelten Gruppen im Vergleich zu der Placebogruppe eine verminderte Prick-Test-Reaktion und eine erhöhte Bet-v1-spezifische IgG1-, IgG2- und IgG4-Antwort beobachtet werden [27].

Auch für die sublinguale Immuntherapie (SLIT) gibt es bereits erste Daten. In ersten Phase-I-Dosisfindungsstudien wurde die Sicherheit und Verträglichkeit einer SLIT mit einer rBet-v1-Tablette mit einer Dosierung von 12,5–300 µg untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass Dosie-

Tab. 3 Klinische Studien mit rekombinanten Allergenen und hypoallergen modifizierten Allergenen

Allergenquelle	Behandlungsgruppe	Patienten	Studiendesign	Literatur
Rekombinante Wildtypallergene				
Birkenpollen	rBet v1, nBet v1, Birkenpollenextrakt, Placebo	n=147	SCIT, doppelblind, randomisiert, multizentrisch	[27]
Birkenpollen	rBet v1, Placebo		SLIT, Dosisfindung (12–100 µg)	[35]
Birkenpollen	rBet v1, Placebo	n=483	SLIT, Dosisfindung (50–300 µg)	[9]
Gräserpollen	Allergenmix (rPhl p1, rPhl p2, rPhl p5a, rPhl p5b, rPhl p6), Placebo	n=62	SCIT, doppelblind, randomisiert, monozentrisch	[15]
Gräserpollen	Allergenmix (rPhl p1, rPhl p2, rPhl p5a, rPhl p5b, rPhl p6), Placebo	n=50	SCIT, Dosisfindung (20–120 µg)	[18]
Rekombinante hypoallergene Allergene				
Birkenpollen	rBet-v1-Fragmente, rBet-v1-Trimer, Placebo	n=124	SCIT, doppelblind, randomisiert, multizentrisch	[25, 29]
Birkenpollen	rBet-v1-FV, Referenzgruppe mit Birkenpollenextrakt	n=51	SCIT, offen, monozentrisch	[17]
Birkenpollen	rBet-v1-FV, Placebo	n=211	SCIT, doppelblind, randomisiert	[9]
Konjugierte Allergene				
Beifußpollen	rAmb a1 (gekoppelt an POI-DNA-Sequenz), Placebo	n=25	SCIT, doppelblind, randomisiert, monozentrisch	[7]
Katzenhaare	rFel d1 (gekoppelt an TAT und MAT)		ILIT, doppelblind, randomisiert	[30]

FV Faltungsvariante, ILIT intralymphatische Immuntherapie, MAT „modular antigen transporter“, POI „phosphorothioate oligodeoxyribonucleotide immunostimulatory sequence“, SCIT subkutane Immuntherapie, SLIT sublinguale Immuntherapie, TAT „translocation sequence“.

ungen bis zu 50 µg pro Tag gut vertragen werden. Insbesondere bei einer höheren Dosierung als 100 µg wurden vermehrt Nebenwirkungen wie oropharyngealer Juckreiz, Juckreiz der Ohren oder pharyngeale Ödeme beobachtet.

Auf diese Dosisfindungsstudie folgte mit dem identischen Präparat eine multizentrische, randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte Phase-II-Studie mit 483 Patienten. Die Studie bestand aus 4 Gruppen, welche tägliche Dosen von 12,5 µg, 25 µg, 50 µg oder Placebo für 4 Monate präseasonal und während der Pollensaison erhielten. In allen Dosisgruppen konnte sowohl der Average Adjusted Symptom Score (primärer Endpunkt) als auch der Average Rescue Medication Score (sekundärer Endpunkt) signifikant im Vergleich zur Placebogruppe reduziert werden. Ein Wirksamkeitsunterschied zwischen den aktiven Gruppen bestand nicht. Es wurden nur leichte und moderate Nebenwirkungen beobachtet [9, 35].

Graspollen. In einer randomisierten DBPC-Studie erhielten 62 Patienten eine äquimolare Mischung aus 5 an Aluminiumhydroxid adsorbierten rekombinanten Lieschgraspollen (*Phleum pratense*; Phl p1, Phl p2, Phl p5a, Phl p5b,

und Phl p6). In einer Aufdosierungsphase wurde das Präparat wöchentlich bis zu einer maximalen Dosis von 40 µg s. c. appliziert. Die maximale Dosis wurde für 2 weitere Jahre fortgeführt. Patienten, die eine aktive Therapie erhielten, hatten einen signifikant verbesserten Symptom-Medikations-Score und Lebensqualitätsscore (QoL). Zudem konnten stark erhöhte IgG1- und IgG4-Antikörper-Antworten gemessen werden, was für eine gute immunstimulierende Wirkung des Präparats spricht. Auch das Sicherheitsprofil der rekombinanten Allergene war vergleichbar mit demjenigen anderer SIT-Studien. Es wurde von 7 leichten bzw. moderaten systemischen Nebenwirkungen berichtet [15].

Mit dem identischen rekombinanten Graspollen-Cocktail erfolgte eine randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte Dosisfindungsstudie. In diese wurden 50 Patienten mit allergischer Rhinokonjunktivitis mit oder ohne allergisches Asthma eingeschlossen. Jeweils 10 Patienten wurden randomisiert 5 Gruppen zugewiesen, um maximale Dosen von 20 µg, 40 µg, 80 µg oder 120 µg des genannten Präparats zu erhalten. Die Therapie erfolgte präseasonal, und es wurden insgesamt 13 Injektionen pro Patient appliziert. Während des Therapieverlaufs tra-

ten selbst bei einer sehr hohen Dosierung keine systemischen Nebenwirkungen vom Ausprägungsgrad 3 oder 4 auf. Zudem zeigte sich eine gute klinische Wirksamkeit [18].

Klinische Studien mit hypoallergen modifizierten Allergenen

Birkenpollen. Die Anwendung von hypoallergen modifizierten rekombinanten Allergenen wurde in einer multizentrischen DBPC-Studie an 124 Patienten mit Birkenallergie untersucht. Diese erhielten in einer präseasonalen Behandlungsphase entweder eine Mischung aus 2 Bet-v1-Fragmenten, einen Extrakt mit einem rekombinanten Bet-v1-Trimer oder Placebo, (jeweils an Aluminiumhydroxid gekoppelt). In vorklinischen Analysen hatte sich herausgestellt, dass die allergene Aktivität dieser rekombinanten Präparate 100-fach niedriger war als beim natürlichen Bet v1. So konnte bei den meisten Patienten eine sehr hohe Erhaltungsdosis von 80 µg pro Injektion erreicht werden. Insgesamt wurde trotz der kurzen präseasonalen Behandlungsphase über nur 4 Monate eine Verbesserung der klinischen Symptomatik sowie ein Anstieg des IgG1 und IgG4 beobachtet. Die rBet-v1-Fragmente lösten eine geringere IgE-

Aktivierung aus als die rBet-v1-Trimere [25, 29].

Eine andere Studie erzielte ähnliche Erfolge mit einer Faltungsvariante von Bet v1 (r Bet-v1-FV) an Aluminiumhydroxid gekoppelt. Auch bei r Bet-v1-FV wurde präklinisch ein geringeres allergenes Potenzial nachgewiesen als bei dem Nativallergen. In dieser offenen, monozentrischen Studie waren 51 Patienten eingeschlossen und erhielten eine präseasonale Therapie. Es wurden massiv erhöhte Bet-v1-spezifische IgG1- und IgG4-Antworten festgestellt. Der Symptom-Medikations-Score verminderte sich um 53% im Vergleich zur Kontrollgruppe, obwohl auch diese mit einem kommerziell verfügbaren, nativen Birkenpollen-Semidepotextrakt behandelt wurde. Die Häufigkeit des Auftretens von Nebenwirkungen war in beiden Gruppen vergleichbar [17]. Phase-II- und Phase-III-Studien mit dem genannten Präparat sind schon abgeschlossen worden. Sie bestätigen eine gute Wirksamkeit und Verträglichkeit der Bet-v1-Faltungsvariante. Im Vergleich zum herkömmlichen Präparat schien die Therapie mit den rekombinant modifizierten Allergenen deutlich schneller anzusprechen [9].

Rekombinante Allergene mit Adjuvantien

Ragweedpollen. In einer randomisierten DBPC-Phase II-Studie wurden 25 Patienten mit Allergie gegen Beifußpollen (Ragweedpollen, Amb a1) eingeschlossen. 14 Patienten erhielten Amb a1, welches mit einer immunstimulierenden Phosphorothioat-Oligodeoxyribonukleotid-DNA-Sequenz (AIC) konjugiert wurde. Diese DNA-Sequenz bindet an Toll-like-Rezeptor 9, welcher insbesondere in dendritischen Zellen exprimiert wird. Durch diese Interaktion kommt es zu einer Inhibition der Immunantwort durch TH2-Zellen. Die Patienten erhielten 6 Injektionen in wöchentlichen Abständen und wurden über einen Zeitraum von 2 Jahren beobachtet. Durch die aktive Therapie verbesserte sich der allergische Rhinitis-Symptomscore. Als weiterer klinischer Marker zeigte sich eine erhöhte intradermale Hauttestsensibilität. Zudem konnten ein Abfall der allergenspezifischen IgE-Antikörper und ein Anstieg der IgG-Antikör-

per beobachtet werden. Die Immunmodulation hielt auch über einen Zeitraum von 2 Jahren nach Therapieende an [7].

Katzenhaarallergene. Die Arbeitsgruppe um Senti und Kündig hatten bereits klinisch gezeigt, dass eine intralymphatische Immuntherapie (ILIT) eine kürzere, sicherere und effektivere Therapie als die herkömmliche SCIT darstellen kann. In einer kürzlich erschienenen Publikation wurde in einer randomisierten DBPC-Studie eine ILIT mit einem rekombinant modifizierten Katzen-Majorallergen Fel d1 (MAT-Fel d1) mit Placebo verglichen. Das Vakzin MAT-Fel d1 wurde durch Fusion des rekombinanten Fel d1 mit einer Translokationssequenz zur Verbesserung der zytoplasmatischen Aufnahme und mit einem Teil einer „human invariant chain“ zur Optimierung der Antigenpräsentation über den MHC-Klasse-II-Pfad hergestellt. Es wurden innerhalb von 2 Monaten 3 Injektionen verabreicht. Schon nach dieser kurzen Zeit war die nasale Toleranz signifikant im Vergleich zur Placebogruppe erhöht. Zudem konnten höhere T-regulatorische Zellantworten und erhöhte allergenspezifische IgG4-Antikörperspiegel bestimmt werden [30].

Peptidtherapie

Klinische Erfahrung mit der Peptidtherapie von Allergien besteht insbesondere mit Peptiden des Katzenhaarallergens Fel d1 und dem Bienengiftallergen Api m1. Betrachtet man die ersten Studien mit Fel d1-Peptiden, so wurden meist wenige lange Peptidfragmente in hohen Dosen verwendet. In späteren Studien wurden mehrere kurze Fragmente in weniger hohen Dosierungen eingesetzt. Längere Peptidfragmente in hohen Dosen führten einerseits zu positiven immunologischen Veränderungen und verbesserten Symptom-Medikations-Scores. Andererseits wurde häufig von Nebenwirkungen berichtet, insbesondere Spätphasereaktionen. Diese korrelierten mit der Dosishöhe (30–6000 µg) und dem Schweregrad der Erkrankung. Darüber hinaus schienen die Nebenwirkungen mit der IgE-Reaktivität der langen Peptide zusammenzuhängen. Durch Einsatz von kleineren Peptidfragmenten (niedrigere IgE-Reaktivität) und durch eine niedrigere Dosis konn-

te in späteren Studien das Auftreten von Früh- und Spätphasereaktionen erheblich gesenkt werden. Zudem wurden in einigen Studien ein TH2-/TH1-Shift beschrieben sowie eine Verbesserung der klinischen Symptome. Durch diese Erfahrungen schlussfolgerte man, dass eine höhere klinische Sicherheit durch die Gabe von kleineren Peptidfragmenten und durch eine Neubewertung der Dosis möglich sein könnte [20, 23].

» Durch Einsatz kleinerer Peptidfragmente konnte das Auftreten von Früh- und Spätphasereaktionen gesenkt werden

Eine aktuelle Studie testete ein Vakzin mit 7 Peptiden und Peptidsequenzlängen von 13–17 Aminosäuren bei 88 Katzenhaarallergikern intradermal oder s. c. Das Präparat wurde als sicher und gut verträglich bewertet [36].

Für die Behandlung von Insektengiftallergikern liegen 3 veröffentlichte Studien zur Peptidtherapie mit dem Majorallergen Api m1 vor. Hier zeigte sich ein Anstieg von IgG4 und teilweise auch von Interferon-γ und Interleukin-10. Zusätzlich wurde eine Abnahme der TH1-/TH2-Zytokine festgestellt. Insbesondere beim Einsatz von kürzeren Peptiden beobachtete man eine klinische Wirkung und eine verbesserte Toleranz auf eine intradermale Allergenprovokation [20, 23].

Diskussion

In den letzten Jahren konnten von über 100 Allergenen die Gene entschlüsselt und die entsprechenden molekularen Majorallergene charakterisiert werden. Es wurden bereits klinische Erfahrung mit rekombinanten Wildtypallergenen und rekombinant modifizierten Varianten von Graspollen-, Birkenpollen-, Ragweedpollen- oder Katzenhaarallergenen gewonnen. Am weitesten fortgeschritten ist die Untersuchung des klinischen Einsatzes von rekombinanten Graspollen und Birkenpollenallergenen. Hier wurden teilweise schon Phase-III-Studien abgeschlossen. Die Ergebnisse deuten auf eine zumindest vergleichbare, teilweise sogar verbesserte und schnellere Wirkung als

bei der herkömmlichen SIT hin. Zudem konnten positive Veränderungen immunologischer Parameter sowie im Vergleich zur herkömmlichen SIT günstige Sicherheitsprofile festgestellt werden [9, 34]. In der klinischen Anwendung der bisherigen allergenspezifischen Immuntherapie mit Nativpräparaten und Allergoiden wurde eine hohe kumulative Gesamallergendosis als wichtiger Erfolgsparameter einer wirksamen Therapie herausgestellt. Hohe Allergendosen können jedoch auch zu einem vermehrten Auftreten von Nebenwirkungen führen. Möglicherweise kann dieses Problem durch eine verminderte allergene Aktivität von hypoallergen modifizierten Variantengelöst werden. In immunologischen Grundlagenexperimenten konnte diese für einen Teil der dargestellten Produkte nachgewiesen werden [21]. Es gibt erste Hinweise, dass hypoallergene, rekombinante Allergene auch in der klinischen Anwendung zu weniger Nebenwirkungen führen können. Dies muss allerdings mit weiteren klinischen Untersuchungen und höheren Fallzahlen belegt werden [25].

Interessant erscheint auch der Einsatz von Adjuvanzen. In einer Studie, die ein rekombinantes Allergen, gekoppelt an eine DNA-Sequenz, untersucht hat, zeigte sich eine klinische und immunologische Wirkung [7]. Eine andere Arbeitsgruppe kombinierte direkt 3 potenzielle Verbesserungsansätze in einem Präparat: intralymphatischer Applikationsweg, ein rekombinantes Allergen und Zugabe von fusionierten Adjuvanzen. Die Ergebnisse waren erfolgversprechend und könnten zudem die Therapiedauer relevant verringern [30]. Die Peptidtherapie kann möglicherweise einen alternativen Ansatz darstellen. Die ersten Studien zeigten, dass es wichtig ist, den optimalen Dosisbereich und die optimale Peptidlänge zu finden. Bei kürzeren Peptidfragmenten ergaben sich Hinweise auf eine höhere Sicherheit; durch längere Fragmente konnte eine effektivere IgG4-Antwort beobachtet werden. Eine aktuelle Studie mit einem 7-Peptid-Vakzin erbrachte erfolgversprechende Ergebnisse, die für die Durchführung von weiteren klinischen Untersuchungen mit Peptidfragmenten sprechen [23, 36].

Fazit für die Praxis

- **Rekombinante Allergene, hypoallergene Varianten, die Pep tidtherapie oder der Zusatz von Adjuvanzen könnten die SIT sicherer, effektiver und kürzer werden lassen.**
- **Für rekombinant hergestellte Präparate mit Birkenpollen- und Graspollenallergenen existieren bereits umfangreiche klinische Daten. Zulassungen sind hier in absehbarer Zeit zu erwarten.**
- **Vorteile dieser neuen Therapieansätze sind eine exakt standardisierte Produktion, eine höhere Reinheit und Vergleichbarkeit der Präparate und ggf. eine geringere allergene Aktivität und eine erhöhte Immunogenität.**
- **Hieraus könnte eine patientenfreundlichere und möglicherweise individuellere Therapie entstehen.**

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. L. Klimek

Zentrum für Rhinologie und Allergologie
An den Quellen 10,
65183 Wiesbaden
ludger.klimek@allergiezentrum.org

Interessenkonflikt. L. Klimek weist für sich auf folgende Beziehung(en) hin:

Gemäß AWMF-Kriterien: Honorare für Vortrags- und Schulungstätigkeiten oder bezahlte Autoren- oder Koautorenschaften im Auftrag eines Unternehmens der Gesundheitswirtschaft, eines kommerziell orientierten Auftragsinstituts oder einer Versicherung durch folgende Firmen: ALK-Abello, Dänemark; Allergopharma, Deutschland; Bencard, Großbritannien; Bionorica, Deutschland; Biomay, Österreich; Cytos, Schweiz; HAL, Niederlande; Hartington, Spanien; GSK, Großbritannien; Leti, Spanien; Lofarma, Italien; MEDA, Deutschland; Novartis, Schweiz; Roxall, Deutschland.

Finanzielle Zuwendungen (Drittmittel) für Forschungsvorhaben oder direkte Finanzierung von Mitarbeitern der Einrichtung vonseiten eines Unternehmens der Gesundheitswirtschaft, eines kommerziell orientierten Auftragsinstituts oder einer Versicherung durch folgende Firmen:

ALK-Abello, Dänemark; Allergopharma, Deutschland; Artu-Biologicals, Niederlande; Bencard, Großbritannien; Bionorica, Deutschland; Biomay, Österreich; Cytos, Schweiz; HAL, Niederlande; Hartington, Spanien; GSK, Großbritannien; Leti, Spanien; Lofarma, Italien; MEDA, Deutschland; Novartis, Schweiz; Roxall, Deutschland.

Bei P. Schendzielorz besteht momentan kein Interessenkonflikt. Er hat keine finanziellen Zuwendungen von Unternehmen erhalten.

Literatur

1. Andersson K, Lidholm J (2003) Characteristics and immunobiology of grass pollen allergens. *Int Arch Allergy Immunol* 130:87–107
2. Blaiss MS (2010) Allergic rhinitis: direct and indirect costs. *Allergy Asthma Proc* 31:375–380
3. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA et al (2008) Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy* 63(Suppl 86):8–160
4. Bousquet J, Lockett R, Malling HJ (1998) Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. A WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol* 102:558–562
5. Calderon MA, Alves B, Jacobson M et al (2007) Allergen injection immunotherapy for seasonal allergic rhinitis. *Cochrane Database Syst Rev* CD001936
6. Cramer R, Rhyner C (2006) Novel vaccines and adjuvants for allergen-specific immunotherapy. *Curr Opin Immunol* 18:761–768
7. Creticos PS, Schroeder JT, Hamilton RG et al (2006) Immunotherapy with a ragweed-toll-like receptor 9 agonist vaccine for allergic rhinitis. *N Engl J Med* 355:1445–1455
8. Cromwell O, Fiebig H, Suck R et al (2006) Strategies for recombinant allergen vaccines and fruitful results from first clinical studies. *Immunol Allergy Clin North Am* 26:261–281, vii
9. Cromwell O, Hafner D, Nandy A (2011) Recombinant allergens for specific immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 127:865–872
10. Cromwell O, Suck R, Kahlert H et al (2004) Transition of recombinant allergens from bench to clinical application. *Methods* 32:300–312
11. Durham SR, Walker SM, Varga EM et al (1999) Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *N Engl J Med* 341:468–475
12. Eng PA, Reinhold M, Gnehm HP (2002) Long-term efficacy of preseasonal grass pollen immunotherapy in children. *Allergy* 57:306–312
13. Ferreira F, Wallner M, Breiteneder H et al (2002) Genetic engineering of allergens: future therapeutic products. *Int Arch Allergy Immunol* 128:171–178
14. Joetham A, Takeda K, Okamoto M et al (2009) Antigen specificity is not required for modulation of lung allergic responses by naturally occurring regulatory T cells. *J Immunol* 183:1821–1827
15. Jutel M, Jaeger L, Suck R et al (2005) Allergen-specific immunotherapy with recombinant grass pollen allergens. *J Allergy Clin Immunol* 116:608–613
16. Kleine-Tebbe J, Bufe A, Ebner C et al (2009) Leitlinie „Die spezifische Immuntherapie (Hyposensibilisierung) mit Allergenen“. *Allergo J* 18:508–537
17. Klimek L, Bachert C, Doerner C et al (2005) Specific immunotherapy with recombinant birch pollen allergen rBet v1-FV is clinically efficacious. *Allergy Clin Immunol Int* (Suppl 1):15
18. Klimek L, Schendzielorz P, Pinol R et al (2012) Specific subcutaneous immunotherapy with recombinant grass pollen allergens: first randomized dose-ranging safety study. *Clin Exp Allergy* 42:936–945
19. Klimek L, Willers J, Hammann-Haenni A et al (2011) Assessment of clinical efficacy of CYT003-QbG10 in patients with allergic rhinoconjunctivitis: a phase IIb study. *Clin Exp Allergy* 41:1305–1312
20. Larche M (2007) Update on the current status of peptide immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 119:906–909
21. Larche M, Akdis CA, Valenta R (2006) Immunological mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 6:761–771

22. Linhart B, Valenta R (2004) Vaccine engineering improved by hybrid technology. *Int Arch Allergy Immunol* 134:324–331
23. Moldaver D, Larche M (2011) Immunotherapy with peptides. *Allergy* 66:784–791
24. Moller C, Dreborg S, Ferdousi HA et al (2002) Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *J Allergy Clin Immunol* 109:251–256
25. Niederberger V, Reisinger J, Valent P et al (2007) Vaccination with genetically modified birch pollen allergens: immune and clinical effects on oral allergy syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 119:1013–1016
26. Pajno GB, Barberio G, De Luca F et al (2001) Prevention of new sensitizations in asthmatic children monosensitized to house dust mite by specific immunotherapy. A six-year follow-up study. *Clin Exp Allergy* 31:1392–1397
27. Pauli G, Larsen TH, Rak S et al (2008) Efficacy of recombinant birch pollen vaccine for the treatment of birch-allergic rhinoconjunctivitis. *J Allergy Clin Immunol* 122:951–960
28. Punnonen J (2000) Molecular breeding of allergy vaccines and antiallergic cytokines. *Int Arch Allergy Immunol* 121:173–182
29. Purohit A, Niederberger V, Kronqvist M et al (2008) Clinical effects of immunotherapy with genetically modified recombinant birch pollen Bet v 1 derivatives. *Clin Exp Allergy* 38:1514–1525
30. Senti G, Cramer R, Kuster D et al (2012) Intralymphatic immunotherapy for cat allergy induces tolerance after only 3 injections. *J Allergy Clin Immunol* 129:1290–1296
31. Senti G, Prinz Vavricka BM, Erdmann I et al (2008) Intralymphatic allergen administration renders specific immunotherapy faster and safer: a randomized controlled trial. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:17908–17912
32. Suphioglu C (2000) What are the important allergens in grass pollen that are linked to human allergic disease? *Clin Exp Allergy* 30:1335–1341
33. Valenta R, Linhart B, Swoboda I et al (2011) Recombinant allergens for allergen-specific immunotherapy: 10 years anniversary of immunotherapy with recombinant allergens. *Allergy* 66:775–783
34. Valenta R, Niederberger V (2007) Recombinant allergens for immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 119:826–830
35. Winther L, Poulsen L, Robin B et al (2009) Safety and tolerability of recombinant Bet v 1 (rBet v 1) tablets in sublingual immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 123(Suppl):215
36. Worm M, Lee HH, Kleine-Tebbe J et al (2011) Development and preliminary clinical evaluation of a peptide immunotherapy vaccine for cat allergy. *J Allergy Clin Immunol* 127:89–97, 97 e81–e14



Kommentieren Sie
diesen Beitrag auf
springermedizin.de

► Geben Sie hierzu den Beitragstitel in die Suche ein und nutzen Sie anschließend die Kommentarfunktion am Beitragsende.

Cochlea-Implantat bei Kindern

Kinder mit Cochlea-Implantat (CI) aus gehörlosen Familien bleiben auch nach der Implantation auf die Gebärdensprache angewiesen. Diese Erkenntnis liefert eine Studie der Ludwig-Maximilians-Universität München über die Auswirkungen von CI-Prothesen bei Kindern mit hörgeschädigten oder gehörlosen Eltern. Meist erhalten die Kinder zwischen dem ersten und dritten Lebensjahr ihre Prothese. Mit dieser lernen sie zu sprechen und zu hören. Viele Eltern bestätigen, dass ihre Kinder seit der Implantation offener auf andere Menschen zugehen und sich die Beziehungen innerhalb der Familie verbessert haben.

Mit psychologischen Testverfahren, Interviews und Fragebögen erfassten die Wissenschaftler die Folgen der Implantation für die Kinder aber auch das Familienleben. Der Familienalltag ändert sich bei den meisten Familien kaum. Die Gebärdensprache bleibt das wichtigste Kommunikationsmittel der gehörlosen oder hörgeschädigten Eltern mit ihren nun hörenden und sprechenden Kindern. Häufiger verwenden die Eltern zusätzlich die Lautsprache, während die Kinder situationsabhängig die Gebärdensprache oder Lautsprache nutzen.

Nachholbedarf sehen die Eltern von Kindern mit CI vor allem in der Aufklärung von Ärzten und Institutionen wie Kindergärten und Schulen. Oftmals werde unterschätzt, wie wichtig die Gebärdensprache für das Familienleben trotz Implantat bleibt. Zudem wünschen sich die Eltern mehr speziell auf hörgeschädigte Kinder und deren Förderung zugeschnittene Schulen und Kindergärten.

Quelle:

*Ludwig-Maximilians-Universität München,
www.uni-muenchen.de*