

Strategien zur Entwicklung eines Impfstoffes
gegen die Lyme-Borreliose

Dr. Tatjana Wehner

Paul-Ehrlich-Institut
Bundesamt für Sera und Impfstoffe



Strategien zur Entwicklung eines Impfstoffes gegen die Lyme-Borreliose

**Fortbildungsveranstaltung für den
Öffentlichen Gesundheitsdienst**

26. - 28. März 2003

Berlin



- **Bedeutung der Lyme-Borreliose**
- **der Erreger der Lyme-Borreliose**
- **Molekularbiologische Aspekte**
- **Expression von Oberflächenantigenen**
- **Richtungen der Impfstoffentwicklung**
 - OspA - Impfstoff**
 - OspC - Impfstoff**
 - chimerer OspA - Impfstoff**
- **Zusammenfassung**



Bedeutung der Lyme-Borreliose

**häufigste Vektor-vermittelte Infektionskrankheit in
Nordamerika und im Eurasischen Raum**

**ruft verschiedenste klinische Symptome hervor
Erythema migrans, Neuroborreliose, Lyme-Arthritis**

**Multisystemerkrankung mit verschiedenen
Manifestations-Stadien**



Bedeutung der Lyme-Borreliose

	FSME	Lyme-Borreliose
Überträger	Schildzecken der Gattung <i>Ixodes</i>	
Reservoir	Kleinsäuger (insbes. Mäuse)	
Erreger	Virus <i>FSME-(TBE)-Virus</i>	Bakterium <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i>
Übertragung	sofort nach Stich	12 - 24 h nach Stich
Verbreitung	Endemiegebiete: Teile Osteuropas, Österreichs, Bayerns, Baden-Württembergs	weltweit, keine Endemiegebiete
Durchseuchung der Zecken	0,1 - 4%	Ca. 30 % (Deutschland)
Erkrankungen in der BRD	mit ZNS-Beteiligung ca. 150 pro Jahr in Bayern und Baden-Württ.	einige 10 000 pro Jahr
Therapie	keine	antibiotisch
Impfung	ja	Bisher nicht
Immunität	Impfung: 3-5 Jahre Erkrankung: lebenslang	vermutlich keine, da Reinfektion möglich
Letalität	insgesamt bis ca. 0,3 % bei ZNS-Erkrank. 1-2 %	sehr selten (Spätfolgen sek. letal)



Anzahl der Neuerkrankungen in Europa

	Incidence per 100 000 population	Annual number of cases
UK	0.3	230
Ireland	0.6	169
France	16.0	7, 200
Germany	25.0	20, 000
Switzerland	30.4	2, 000
Czech Republic	39.0	3, 500
Bulgaria	55.0	3, 500
Sweden (south)	69.0	7, 120
Slovenia	120.0	2, 000
Austria	130.0	14,000

**Estimated Lyme borreliosis annual incidence in selected European countries
(based on Report of WHO workshop on Lyme Borreliosis Diagnosis and
Surveillance, Warsaw, Poland, 20-22 June, 1995, WHO/CDS/VPH/95. (1996) 141-1.)**



Der Erreger der Lyme-Borreliose

19. Jhd. Einzelne Aufzeichnung verschiedenster klinischer Symptome; Zusammenhang und Erreger unbekannt

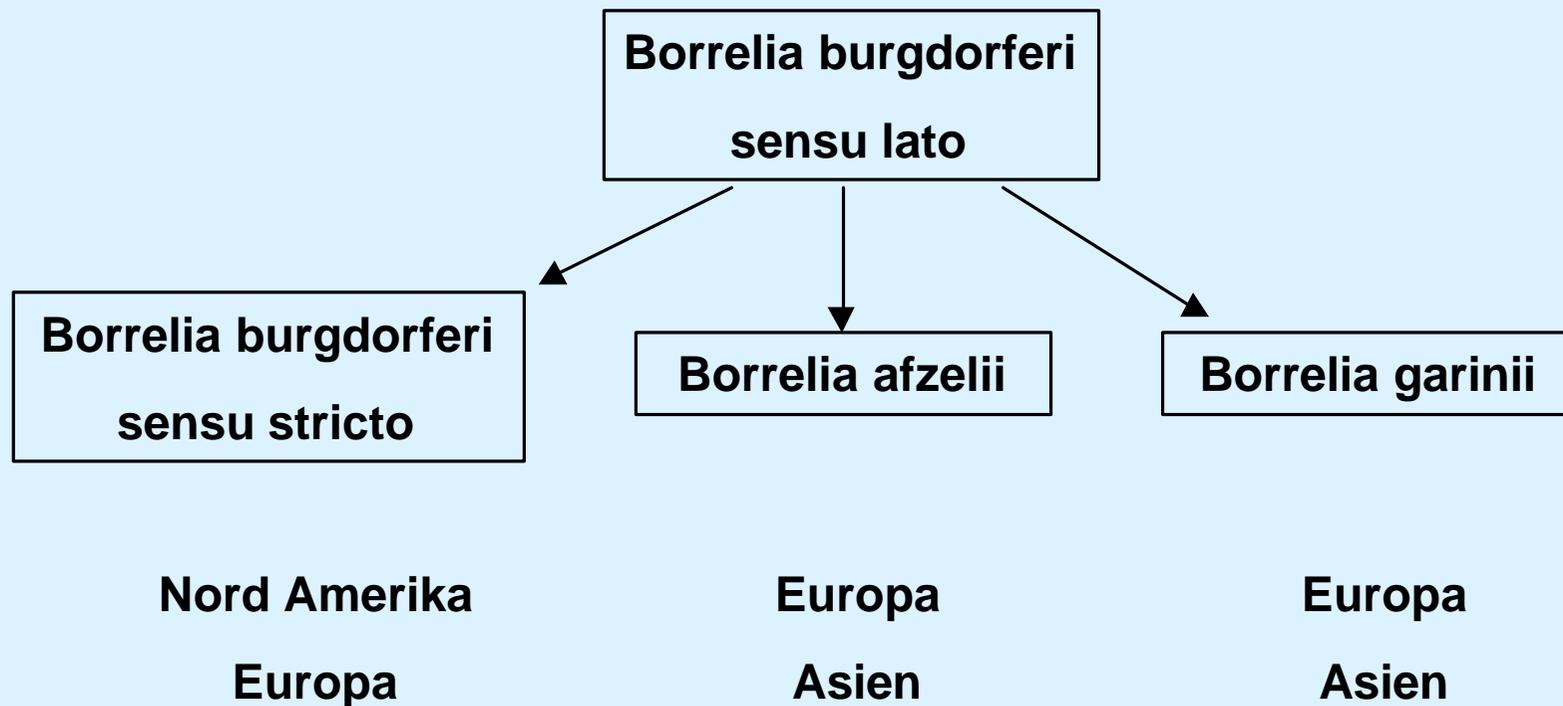
1975 gehäuftes Auftreten einer infektiöse Arthritis bei Kindern in Lyme, Conneticut / USA

Annahme: Hirschzecke als Überträger der Infektion

1980 Isolierung der Erreger aus dem Mitteldarm der Zecken
gram-negative Spirochaeten
verschiedene humanpathogene Spezies der Gruppe
Borrelia burgdorferi sensu lato



Der Erreger der Lyme-Borreliose





Der Erreger der Lyme-Borreliose

**verschiedene Borrelien-Spezies mit unterschiedlichen
Manifestationen der Lyme-Borreliose assoziiert**

starke genetische Divergenz der Spezies

innerhalb der Spezies verschiedene Serotypen



Molekularbiologische Aspekte

3 Oberflächen-Lipoproteine: OspA (30 kDa)

OspB (34 kDa)

OspC (23 kDa)

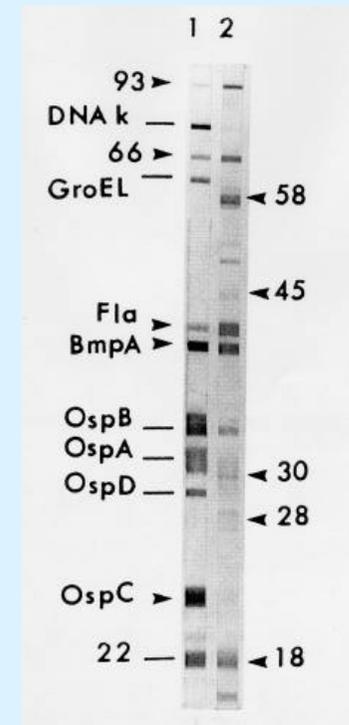
immunogene Eigenschaften

differenzielle Expression

Antigene sind variabel und Spezies-spezifisch

**Nord Amerika: hpts. OspA, kein OspC,
variable Bande OspB**

Europa: hpts. OspA und OspC, fast kein OspB



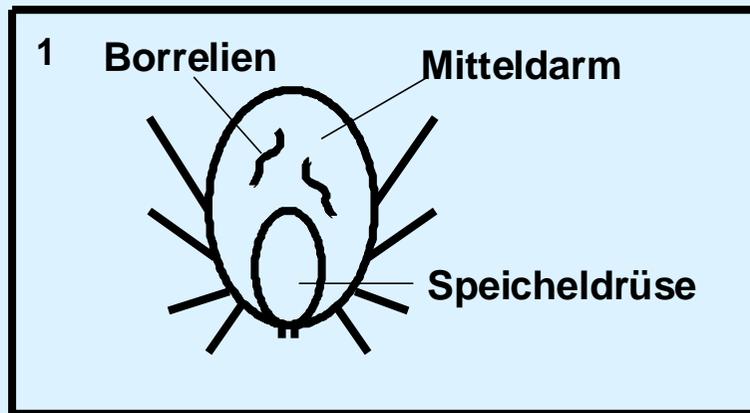


Verteilung der OspA - Serotypen

	Spezies	Verteilung der Serotypen in humanen Isolaten
Europa		
Serotyp 1	<i>B. burgdorferi s. s.</i>	11 %
Serotyp 2	<i>B. afzelii</i>	63 %
Serotyp 3	<i>B. garinii</i>	1,5 %
Serotyp 4	<i>B. garinii</i>	4%
Serotyp 5	<i>B. garinii</i>	6%
Serotyp 6	<i>B. garinii</i>	13 %
Serotyp 7	<i>B. garinii</i>	0,5 %
Rest	<i>B. garinii</i>	1 %
		25 %
Nord Amerika		
Serotyp1	<i>B. burgdorferi s. s.</i>	100 %

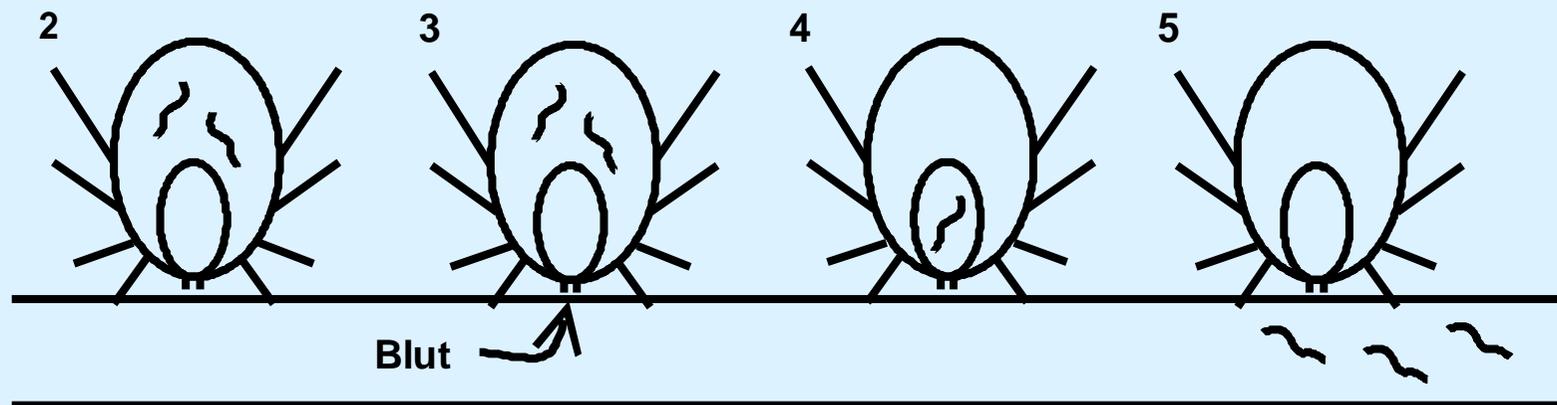


Differenzielle Expression von OspA und OspC in der Zecke



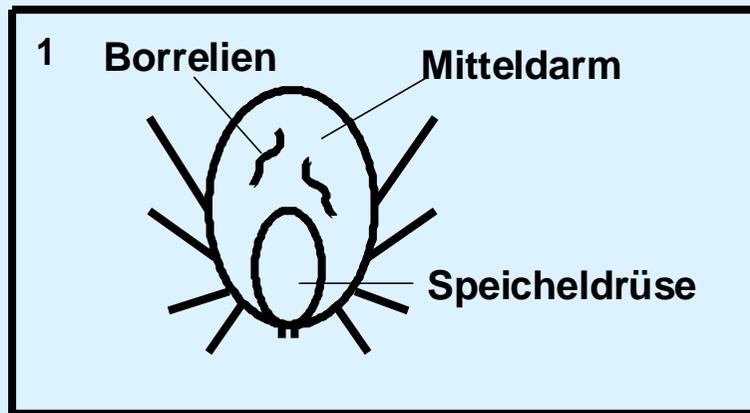
Im Mitteldarm exprimieren die
Borrelien OspA

durch Kontakt mit Blut
(Erwärmung $> 24^{\circ}\text{C}$) in der
Speicheldrüse wird auf OspC
umgestellt (Dauer: 12 - 24 Std.)





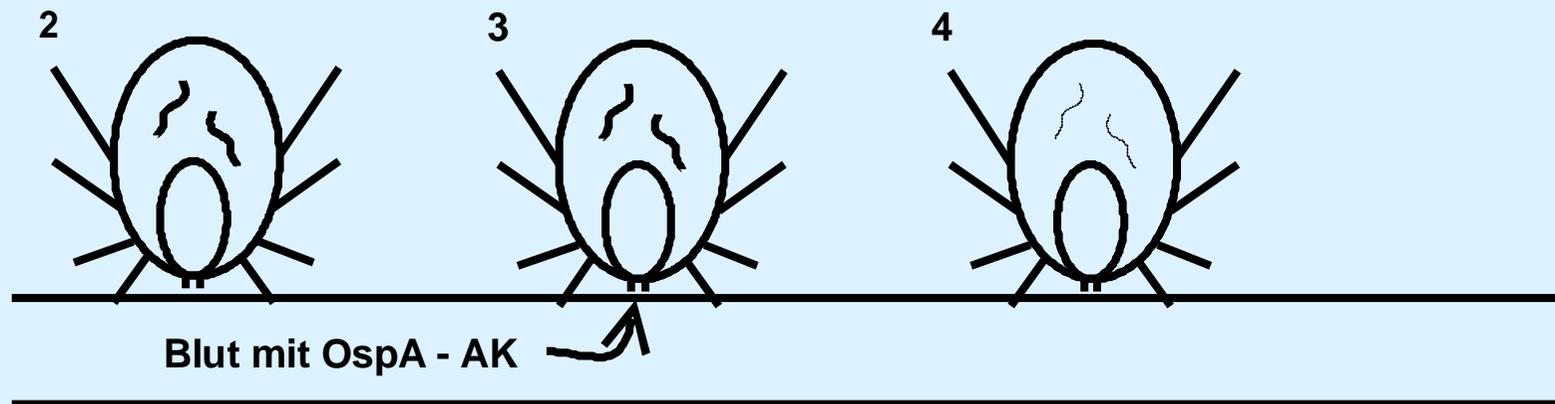
Strategie eines OspA - Impfstoffes



**Zecke nimmt Blut mit OspA -
Antikörpern auf**

**Borrelien sterben bereits vor der
Transmission in den Wirt ab**

Eine Infektion findet nicht statt





Entwicklung eines OspA - Impfstoffes in den USA

- 1986** **passiver Schutz von Mäusen durch Ganzzell-Präparationen**
Einsatz polyklonaler und monoklonaler OspA - Antikörper
im Tiermodell
aktive Immunisierung mit OspA schützt Mäuse gegen
Infektion und Erkrankung
- 1990** **30 µg rOspA / 0,5 ml Dosis an AIOH adsorbiert**
Injektionen nach 0, 1 und 12 Monaten
Booster jeweils nach 12 Monaten
- 1999** **Zulassung des ersten OspA-Impfstoffes gegen**
Lyme-Borreliose in den USA



Wirksamkeit des OspA - Impfstoffes

Wirksamkeit ist alters- und geschlechtsabhängig

nach der 2. Dosis: 89 % (m, < 60 Jahre)

67 % (f, < 60 Jahre)

47 % (f, > 60 Jahre)

nach der 3. Dosis: 100 % (m, < 60 Jahre)

67 % (m, > 60 Jahre)

100 % (f, >, < 60 Jahre)

double-blind, placebo-controlled multicenter phase III study;
March 1996 by Pasteur Merieux Connaught



Vorteile eines OspA - Impfstoffs

- OspA verhindert in einem frühen Stadium die Transmission der Borrelien
eine Infektion des Wirts findet nicht statt
- OspA - Antigen ist nicht so variabel wie z.B. OspC,
- in den USA wird nur ein Serotyp OspA benötigt
- mit 7 Serotypen wird die gesamte antigene Divergenz in Europa abgedeckt



Nachteile eines OspA - Impfstoffs

- **Schutz ist abhängig von Konformations-Epitopen, ist also Spezies- und Serotyp-spezifisch**
- **Natürlicher Kontakt mit Borrelien führt nicht zu einer Boosterreaktion**
- **Serumtiter der OspA - Antikörper muss sehr hoch gehalten werden, Booster nach 12 Monaten notwendig**
- **Borrelien, die bereits in der Speicheldrüse der Zecke sind und nur noch OspC exprimieren werden nicht erfasst**
- **für Europa muss ein mindestens trivalenter Impfstoff entwickelt werden (aus jeder Borrelien-Spezies der prominenteste Serotyp) diese große Menge OspA - Antigen könnte im Hinblick auf Nebenwirkungen von Nachteil sein**



Rücknahme des OspA - Impfstoffes in den USA

- **Hersteller nennt als vorrangigen Grund: schlechter Absatz des Präparates aber**
- **genetische Prädisposition der Patienten kann zur Induktion von Autoimmun-Mechanismen führen (Gross et al., 1998)**
- **Träger eines best. Gewebeverträglichkeitsfaktors (HLA-DRB1*0401) entwickeln im Verlauf einer Lyme-Borreliose eine Antibiotika-resistente Autoimmunarthritis**
- **OspA ist einem körpereigenen Antigen sehr ähnlich (human Leucocyte function-associated antigen 1 hLFA-1). Nach Impfung kann es zu einer Kreuzreaktion und damit zu einer Autoimmunerkrankung kommen**



Strategie eines OspC - Impfstoffs

- **konventionelle Strategie einer Impfstoffwirkung**
- **im Gegensatz zur Wirkungsweise von OspA - Impfstoffen werden die Borrelien erst nach der Infektion im menschlichen Wirt angegriffen**



Vorteile eines OspC - Impfstoffes

- **der Schutz kann durch B-Gedächtniszellen induziert werden**
- **hohe Serumtiter an zirkulierenden Antikörpern sind nicht notwendig**
- **rOspC - Antigen kann sehr effektiv mit geringen Kosten hergestellt werden**
- **auch das rekombinante Protein ohne den Lipidanteil ist wirksam**



Nachteile eines OspC - Impfstoffes

- **OspC - Antigen ist sehr variabel und zeigt ca. 14 verschiedene Serotypen**
- **OspC - Impfstoff ist damit sehr Spezies-spezifisch**
- **für jede Region, in der die Lyme-Boreliose gehäuft auftritt, wird eine eigene Impfstoff-Zusammensetzung benötigt**



Entwicklung eines OspC - Impfstoffes

- **extensive epidemiologische Studien zeigen, dass ein 14-valenter OspC - Impfstoff 79 % aller Borreliose-Infektionen in Europa abdecken sollte.**
- **Im Tiermodell wurde die Wirksamkeit nachgewiesen**
- **auch in Phase I und II der klinischen Studien konnten bei einem Immunisierungsschema von 0, 1, 6 Monate adäquate Antikörpertiter (15 - 30 mg/ml IgG) nachgewiesen werden**



Entwicklung eines OspC - Impfstoffes

aber

- **nach der dritten Immunisierung entwickelten 3 - 10 % der Probanden ein großes Erythema (> 100 cm²)**
- **wenn der Mechanismus, der dieses Erythema auslöst nicht erkannt und reduziert werden kann, wird dies das Ende der Entwicklung eines OspC - Impfstoffes sein**



Weitere Strategien zur Entwicklung eines Impfstoffes

OspA - Chimere

- **Struktur-basiertes Proteindesign (alle strukturellen Elemente, die für Schutz notwendig sind)**
- **Chimeren generieren Antikörper, die eine breitere Spezifität aufweisen**
- **es werden weniger verschiedene Proteine für die Zusammensetzung des Impfstoffes benötigt**
- **die Gesamtmenge an Antigen im Impfstoff kann verringert werden**
- **das für die Entwicklung der Autoimmun-Arthritis verantwortlich gemachte LFA*-1 Epitop kann durch eine ähnliche aber unwirksame Proteinstruktur ersetzt werden.**



Zusammenfassung

OspA - Impfstoff

- **verhindert die Infektion mit Borrelien**
- **sehr spezies-spezifisch (7 Serotypen)**
- **nicht ohne Nebenwirkungen (Autoimmunarthritis ?)**

OspC - Impfstoff

- **wirkt erst nach Infektion im Wirtsorganismus**
- **sehr spezies-spezifisch (14 Serotypen)**
- **nicht ohne Nebenwirkungen (Erythema)**



Zusammenfassung

OspA - Chimere

- **durch Proteindesign ist es möglich verschiedene antigene Epitope günstig miteinander zu kombinieren**
- **im Gegensatz ist zu den OspA und OspC - Impfstoffen ist diese Entwicklung noch in der vorklinischen Phase**
- **Die Ansatzpunkte sind aber vielversprechend**

Es wird leider noch einige Zeit dauern, bis ein adäquater Impfstoff gegen die Lyme-Borreliose in Europa zur Verfügung steht.