

Virusforschung

Pandemieforschung: von Autoantikörpern und Impfstoff-Innovationen

KATHRIN DE LA ROSA
 BERLIN INSTITUTE OF HEALTH AT CHARITÉ (BIH@CHARITÉ) UND MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN IN DER HELMHOLTZ-GEMEINSCHAFT (MDC), BERLIN

The study of human antibody repertoires and the underlying mechanisms of diversification are key to understand immune dysregulation, as well as to improve vaccine designs. This article outlines, how the interaction of antibodies and vaccines with body-own structures affects disease pathogenesis and vaccine performance. It is discussed why autoantibodies in COVID-19 should be discriminated in specific-pathogenic versus promiscuous-harmless, and how a strategy called BIBAX improves vaccines by design.

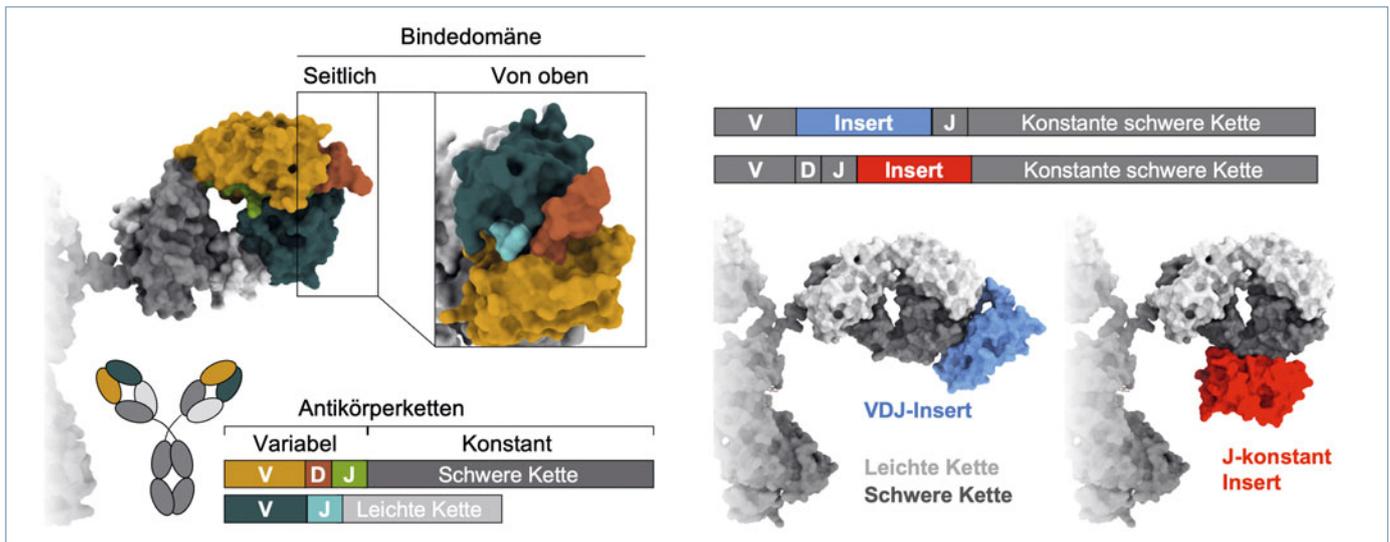
DOI: 10.1007/s12268-023-2000-1
 © Die Autorin 2023

■ Die Diversifizierung von B-Zellen ist essenziell, um den Organismus mit einer großen Vielfalt von Antikörpern auszustatten und ihn vor Infektionskrankheiten zu schützen. Während der Entwicklung durchlaufen B-Zellen primäre und sekundäre Reifungsprozesse, bei denen die Antikörper-codierenden Gene zuerst zufällig rekombiniert und anschließend mutiert werden.

Antikörper setzen sich aus einer schweren und einer leichten Kette zusammen (Abb. 1). In den primären Reifungsprozessen wird aus einer Vielzahl von *variable(V)*-, *diversity(D)*- und *joining(J)*-Segmenten im Genom der B-Zelle eine VDJ-Kombination für die schwere, und eine VJ-Kombination für die leichte Kette generiert. Die Verbindungsstellen der einzelnen Segmente wer-

den hierbei zufällig mit DNA-Basen ausgestattet, wodurch zusätzliche Vielfalt entsteht. Unsere jüngeren Studien konnten zudem zeigen, dass in seltenen Fällen auch Teilabschnitte von anderen Genen und Chromosomen zur Antikörpervielfalt beitragen [1]. Als finales Produkt der Rekombination zirkulieren reife aber immun-naive B-Zellen im Körper, die jeweils einen Typ Antikörper produzieren. Treffen B-Zellen auf eine passende Pathogenstruktur oder einen Impfstoff, das Antigen, durchlaufen sie sekundäre Reifungsprozesse. Durch das Einfügen von Punktmutationen werden Antikörpervarianten gebildet und selektiert. B-Zellen, die sehr bindungsstarke Antikörper produzieren, differenzieren zu Gedächtniszellen und tragen damit zum langfristigen Immunschutz bei.

Während die Vielfalt von Antikörpern zur Erkennung verschiedener Mikroben erwünscht ist, können Zufallsprozesse auch zu unerwünschten Reaktivitäten gegen den Organismus führen. Im Regelfall unterbinden jedoch Toleranzmechanismen die Bildung von Antikörpern gegen körpereigene Strukturen, die Autoantikörper.



▲ **Abb. 1:** Klassische und überraschende Mechanismen der Antikörperdiversifizierung. Die Vielfalt von Antikörpern ist Schlüssel zur Bekämpfung von Infektionen und entsteht durch genetische Rekombination von *variable(V)*-, *diversity(D)*- und *joining(J)*-Segmenten der schweren und leichten Antikörperketten (PDB 1HZH). In seltenen Fällen können große DNA-Insertionen zum Antikörperrepertoire beitragen [1].

Autoantikörper bei COVID-19: krankheitsrelevant oder Beiprodukt?

Bereits zu Beginn der Pandemie in 2020 zeigte ein französisches Forscherteam, dass Autoantikörper die bereits vor der Infektion mit SARS-CoV-2 vorliegen, zu einem schweren COVID-19-Krankheitsverlauf beitragen können. Autoantikörper die sich gegen Typ-1-Interferone richten, können diese wichtigen Botenstoffe neutralisieren und damit die Virusabwehr schwächen [2].

Nach dieser Pionierarbeit widmeten sich viele Forscher der Suche nach Autoantikörpern im Blut von schwer erkrankten COVID-19-Patienten und wurden fündig. Autoantikörper gegen mindestens 17 verschiedene körpereigene Strukturen und eine Assoziation zu 15 Autoimmunerkrankungen wurden für SARS-CoV-2 bisher beschrieben [3]. Es wurde vermutet, dass ein kausaler Zusammenhang zwischen Pathogenese und Autoantikörpern besteht [4]. Eine interessante Zielstruktur von Autoantikörpern bei COVID-19 ist der Rezeptor des SARS-CoV-2-Virus, ACE2, wie mehrere Studien zeigten [5, 6]. Dieser Rezeptor ist sowohl für die Regulation von Blutdruck [7] als auch für Entzündungsprozesse entscheidend [8], daher lag ein Zusammenhang von ACE2-reaktiven Antikörpern und COVID-19 nahe. Unsere Studie stellt jedoch die generelle Schädlichkeit dieser und anderer Autoantikörper bei COVID-19 in Frage, da zwar Autoantikörper gegen ACE2 nachgewiesen werden konnten, diese jedoch keinerlei negativen Einfluss auf die Funktionalität von ACE2 hatten [9]. Interessanterweise zeigten Blutproben mit Reaktivität gegen ACE2 auch Antikörperbindungen gegen viele andere körpereigene Strukturen. Von einer spezifischen Autoimmunität war für die meisten Patientenproben daher nicht auszugehen. Die Arbeit zeigt, dass Autoantikörper in COVID-19 in eine gerichtete und ungerichtete Immunantwort eingeteilt werden können. Während erstere die Funktionalität von Botenstoffen wie Interferon blockieren, ist dies für ungerichtete Autoimmunität nur selten oder gar nicht der Fall. Die Studie legt somit nahe, in Bezug auf die Diagnostik und zukünftige Studien zwischen krankheitsfördernd-spezifischen und harmlos-ungerichteten Autoantikörpern zu unterscheiden.

Bereits seit Jahrzehnten ist bekannt, dass ungerichtete Autoantikörper im Zuge von Infektionskrankheiten wie dem Pfeifferschen Drüsenfieber oder HIV auftreten [10], und dass in jedem gesunden Menschen Gedäch-

nis-B-Zellen patrouillieren, die ungerichtete Autoantikörper produzieren [11].

Inspiration für neue Impfstoffansätze

Die Interaktion mit körpereigenen Strukturen kann nicht nur für die Antikörperantwort nachteilig sein, auch für die Wirksamkeit von Impfstoffen sollten Wechselwirkungen mit dem Körper unterbunden werden, wie unser Forschungsansatz zeigt.

Ein wichtiger Trend in der Impfstoffforschung ist die strukturbasierte Verbesserung des Antigens, um eine effektive und zielgerichtete Immunantwort auszulösen. Ein prominentes Beispiel ist der Austausch von zwei Aminosäuren durch zwei Proline im SARS-CoV-2-Spike, jenem Eiweiß, das die Oberfläche des Virus dekoriert und das Eindringen in die Zelle ermöglicht. Der 2-P-Spike ist stabiler und liegt in einer Konformation vor, welche die Bildung besonders potenter und neutralisierender Antikörper anregt. Zudem verliert der 2-P-Spike die Fähigkeit, Fusionsprozesse von Zellen im Körper auszulösen. Während Impfstoffe von Moderna und BioNTech das 2-P-Design für ihre Impfstoffe wählten, wurde das Vakzin von AstraZeneca auf den natürlich vorkommenden SARS-CoV-2-Spike aufgebaut.

Auch unsere Forschung widmet sich dem strukturbasierten Design von Impfstoffen. Eine Fragestellung ist, inwieweit die Interaktion von Impfstoffen mit Wirtsrezeptoren in unserem Körper die Immunantwort und Körperfunktionen negativ beeinflussen. Um neutralisierende Antikörper auszulösen, enthalten Impfstoffe zumeist Strukturen, die an Zellen im Körper binden. Nur so werden Antikörper gebildet, die die Infektion

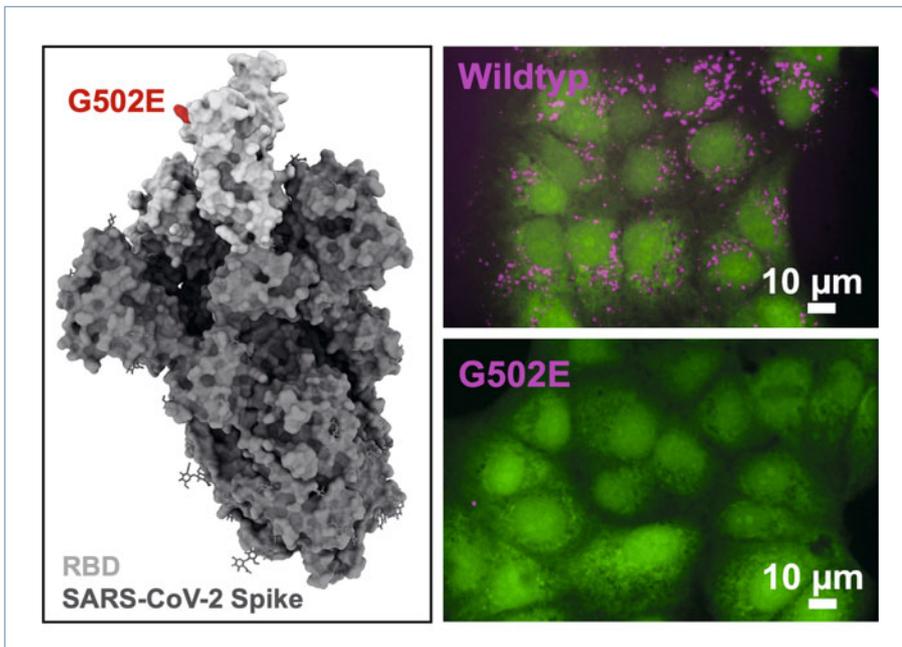
blockieren. Bisher wurde jedoch nicht systematisch erforscht, welchen Einfluss die Bindung der Vakzine an körpereigene Rezeptoren hat. Je nach Pathogen, sind Rezeptoren in verschiedenen Geweben oder auf Immunzellen vorhanden, oder zirkulieren in großen Mengen löslich im Blut. Wir gehen davon aus, dass hierdurch der Impfstoff deplatziert und maskiert wird, und dass Immunzellen in ihrer Funktionalität beeinträchtigt werden. Die Folge wären schwächere Immunreaktionen. Bisher legen nur sehr wenige Studien nahe, dass körperinaktive Vakzine die Impfwirkung gegen Influenza, HIV und Meningokokken verbessern. Ein Problem ist, dass Modifikationen die Antikörperantwort schwächen, wenn Zielstrukturen besonders potenter Antikörper abgeändert werden.

BIBAX: Körperschonende und aktivierende Impfstoffe

Wir haben einen Ansatz entwickelt, bei dem Impfstoffe nicht nur körperinaktiv (Body-inert) sind, sondern auch Protein-Strukturen erhalten bleiben, die für die Bildung neutralisierender Antikörper relevant sind (*B cell activating*) [12]. Der erste BIBAX (*Body-inert B cell activating vaccine*)-Prototyp wurde während der SARS-CoV-2-Pandemie entwickelt, da die unermüdliche Arbeit vieler Forscher am gleichen Virus eine besonders reiche Datenlage und damit gute Ausgangssituation bewirkte. Durch die Integration von Mutationsscans und Proteinstrukturdaten wurden Varianten der Rezeptorbindungsdomäne (RBD) von SARS-CoV-2 identifiziert. Alle Variante wurden auf drei Kriterien überprüft: a) Den Erhalt von Strukturen zur Bindung neutralisierender Antikörper, b) die

Hier steht
eine Anzeige.

 Springer



▲ **Abb. 2:** Kleine Modifikation mit positiver Wirkung. Der Austausch von Glycin zu Glutaminsäure an der Aminosäureposition 502 des Spikes (G502E; Struktur: PDB 7KJ5) verhindert die Bindung an den ACE2-Rezeptor. Die Position der Modifikation ist für den Erhalt von Bindungsstellen neutralisierender Antikörper optimiert. G502E reduziert die Aufnahme Fluoreszenz-markierten Virus-Proteins in Zellen.

Unterbindung der ACE2-Bindung und c) die strukturelle Integrität des Proteins. Eine Variante überzeugte in allen Punkten: RBD-G502E (**Abb. 2**). In den folgenden Experimenten verhinderte sie die Spike-induzierte Zell-Zell-Fusion und die Internalisierung des Rezeptors. Und obwohl klassische SARS-CoV-2-Impfstoffe sehr gute Immunantworten auslösen, konnte die BIBAX-Variante die neutralisierenden Antikörperreaktionen bei Impfungen von Kaninchen um das mehr als 3fache verbessern. Nun gilt es zu verstehen, ob BIBAX die Sicherheit und Effektivität auch anderer marktreifer Vakzine verbessern kann, und ob diese Strategie eine Lösung für Pathogene darstellt, für die Impfstoffe trotz intensiver Forschung fehlen.

Dankesagung

Ein großes Danke geht an meine gesamte Arbeitsgruppe, die mit besonderem Team-

geist unsere SARS-CoV-2-Projekte umgesetzt hat, und an unsere Berliner Kollaborationspartner vom MDC, dem BIH, dem FMP und der Charité, sowie der Chalmers University of Technology in Göteborg.

Literatur

- [1] Lebedin M, Foglierini M, Khorkova S, García et al. (2022) Different classes of genomic inserts contribute to human antibody diversity. *Proc Natl Acad Sci USA* 119: e2205470119.
 [2] Bastard P, Rosen LB, Zhang Q et al. (2020) Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science* 370: eabd4585

- [3] Dotan A, Muller S, Kanduc D et al. (2021) The SARS-CoV-2 as an instrumental trigger of autoimmunity. *Autoimmun Rev* 20: 102792–102792
 [4] Khamsi R (2021) Rogue antibodies could be driving severe COVID-19. *Nature* 590: 29–31
 [5] Rodriguez-Perez AI, Labandeira CM, Pedrosa MA et al. (2021) Autoantibodies against ACE2 and angiotensin type-1 receptors increase severity of COVID-19. *J Autoimmun* 122: 102683–102683
 [6] Arthur JM, Forrest JC, Boehme KW et al. (2021) Development of ACE2 autoantibodies after SARS-CoV-2 infection. *PLoS ONE* 16: e0257016
 [7] Donoghue M, Hsieh F, Baronas E et al. (2000) A Novel Angiotensin-Converting Enzyme-Related Carboxypeptidase (ACE2) Converts Angiotensin I to Angiotensin 1-9. *Circ Res* 87: E1-9.
 [8] Benigni A, Cassis P, Remuzzi G (2010). Angiotensin II revisited: new roles in inflammation, immunology and aging. *Embo Mol Med* 2: 247–257
 [9] Lebedin M, García CV, Spatt L et al. (2023) Discriminating promiscuous from target-specific autoantibodies in COVID-19. *Eur J Immunol* 53: e2250210
 [10] Mouquet H, Nussenzweig MC (2012) Polyreactive antibodies in adaptive immune responses to viruses. *Cell Mol Life Sci* 69: 1435–1445
 [11] Tiller T, Tsuiji M, Yurasov S et al. (2007) Autoreactivity in Human IgG+ Memory B Cells. *Immunity* 26: 205–213
 [12] Ratswohl C, García CV, Ahmad A ul W et al. (2023) A design strategy to generate a SARS-CoV-2 RBD vaccine that abrogates ACE2 binding and improves neutralizing antibody responses. *Eur J Immunol* e2350408

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Kathrin de la Rosa
 Berlin Institute of Health at Charité (BIH@Charité)
 Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin in der Helmholtz-Gemeinschaft (MDC)
 Robert-Rössle Straße 10
 D-13125 Berlin
 Kathrin.delarosa@bih-charite.de
 Kathrin.delarosa@mdc-berlin.de

AUTORIN



Kathrin de la Rosa

2004–2010 Studium mit Schwerpunkt Immunologie an der Universität Freiburg.
 2010–2013 Promotion auf B-Zell-basierten Immundefekten am Universitätsklinikum Freiburg.
 2014–2018 PostDoc zu humanen Antikörperantworten am IRB in Bellinzona, Schweiz.
 Seit 2018 Gruppenleiterin für Immunmechanismen am MDC, Helmholtzzentrum in Berlin.
 Seit 2021 Professorin am BIH@Charité, Berlin.