Workshop der Paul-Martini-Stiftung am 15./16. September 2006

Molekulare Verteidigungslinie als Angriffspunkt für Medikamente

Toll-ähnliche Rezeptoren (*Toll-like receptors*, TLR) haben große Bedeutung im Immunsystem und sind ein interessanter Angriffspunkt für therapeutische Interventionen. Keine zehn Jahre nach der Entdeckung, dass auch Säuger über Toll-ähnliche Rezeptoren verfügen, stehen bereits mehrere TLR-stimulierende Arzneimittel kurz vor dem Zulassungsantrag. Ziel des Workshops „Toll-like receptor-based drug development" am 15. und 16. September 2006 in Bonn war es, diesem dynamischen Forschungsgebiet in Deutschland weiteren Schub zu verleihen. Eingeladen hatte die Paul-Martini-Stiftung, Berlin, zusammen mit dem Universitätsclub Bonn. Führende Experten aus Grundlagenforschung, Kliniken und Unternehmen, darunter auch der Robert-Koch-Preisträger 2004, Professor Shizuo Akira aus Japan, präsentierten und diskutierten neueste Ergebnisse. Wissenschaftlich geleitet wurde der Workshop von den Professoren Gunther Hartmann, Universitätsklinikum Bonn, sowie Stefan Endres und Peter C. Scriba, beide Ludwig-Maximilian-Universität München. Mit diesem Workshop feierte die Paul-Martini-Stiftung gleichzeitig ihr 40-jähriges Gründungsjubiläum.

TLR sind Teil der ersten Verteidigungslinie des angeborenen Immunsystems. Immunzellen wie die plasmazytoiden dendritischen Zellen, die diese zellmembranständig oder endosomal tragen, können damit molekulare Muster erkennen, die für Bakterien, Viren und andere pathogene Organismen typisch sind, und daraufhin über Mediatoren andere Immunzellen alarmieren. Das Gen *Toll* wurde 1985 von der späteren Nobelpreisträgerin Nüsslein-Volhardt in Fliegen entdeckt. Seit 1997 das erste Säuger-TLR gefunden wurde, hat die Forschung herausgearbeitet, dass Fehlfunktionen dieser Re-

zeptoren zu unangemessenen Immunreaktionen bei Krebs und Infektionskrankheiten (z. B. Sepsis) führen.

Schnell wurden die TLRs von der Arzneiforschung aufgegriffen. Ein TLR-stimulierendes Medikament mit dem Wirkstoff Imiquimod ist hierzulande sogar schon seit 1998 zugelassen. Es dient zur Behandlung von Genitalwarzen und Basalzellkarzinomen, die durch Papillomviren hervorgerufen werden. Seine Entwickler waren sich der TLR-Natur ihres Targets allerdings nicht bewusst.

Heute hingegen, so wurde im Workshop deutlich, verläuft die Entwicklung therapeutischer Liganden zielgerichtet mit Blick auf den jeweils anzusprechenden TLR. Einige Projekte setzen dabei auf synthetische niedermolekulare Liganden. Unter diesen gibt es Wirkstoffe ohne natürliches Vorbild, die wie Imiquimod Virusinfektionen und bestimmte Hauttumoren bekämpfen. Andere niedermolekulare Wirkstoffe ahmen mit ihrer Lipopeptidstruktur die Lipoproteine aus den Membranen gramnegativer Bakterien nach, die von zellmembranständigen TLR2 erkannt werden. Sie eignen sich als Adjuvantien für Impfstoffe.

Die meisten in Entwicklung befindlichen TLR-Liganden sind jedoch Oligonukleotide, die viralen Nukleinsäuren nachempfunden sind, die die natürlichen Liganden der TLR7-9 darstellen. Zu den aussichtsreichen Einsatzgebieten der Oligonukleotide zählt ebenfalls die Anwendung in Impfstoffen: Die Entwicklung so genannter CpG-Oligonukleotide als Vakzine-Adjuvans hat die klinische Phase II erreicht. Andere Oligonukleotide werden ebenfalls in Phase II als Monotherapie gegen Hepatitis C getestet. Schließlich werden Oligonukleotide auch zur Therapie solider Tumoren erprobt; zur Behandlung des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms läuft derzeit eine internationale multizentrische Phase-III-Studie. Eine wichtige Rolle spielt die gezielte Aktivierung bestimmter TLR durch Oligonukleotide auch bei der experimentellen Tumortherapie durch Vakzinierung mit extrakorporal gezüchteten dendritischen Zellen, die mit Antigenen der Tumorzellen des Patienten beladen wurden. Hier werden sie sowohl zu Aktivierung der Zellen *ex vivo* als auch als Adjuvans beim Reinjizieren der Zellen eingesetzt.

Die verwendeten synthetischen Oligonukleotide bestehen typischerweise aus 20 bis 30 Desoxynukleotid-Bausteinen. Verbunden sind sie entweder

wie in der Natur über Phosphodiester oder, abweichend davon, über Thioat-Strukturen. Letztere verleihen Oligonucleotiden eine höhere biologische Halbwertszeit. Die Sequenzen der derzeit klinisch erprobten Oligonukleotide wurden empirisch gefunden. An der systematischen Aufklärung der konstitutiven Merkmale, die Sequenzen für bestimmte TLR erkennbar machen, wird noch gearbeitet.

Auf dem Workshop wurde in diesem Kontext auch das Impfen mit synthetischer messenger-RNA (mRNA) - präventiv oder therapeutisch – diskutiert. Das primäre Target der mRNA ist die zelluläre Biosynthesemaschinerie, die zu lokaler Produktion der in der jeweiligen mRNA kodierten Antigene gebracht werden soll. Ein willkommener Nebeneffekt ist jedoch, dass die mRNA über TLR die Immunantwort auf die exprimierten Antigene intensiviert.

Nicht immer allerdings ist bei Oligonukleotiden eine TLR-Aktivierung das Ziel. Bei *small interfering RNAs* (siRNAs) etwa, die zum *gene silencing* dienen sollen, ist diese „Nebenwirkung" unerwünscht. Exakte Kenntnisse über die Strukturmotive, auf die TLR ansprechen, könnten deshalb auch dazu dienen, synthetische siRNAs „TLR-neutral" zu konstruieren. An ihrer Aufklärung wird noch gearbeitet.
Schließlich wurden bei diesem Workshop auch therapeutische Fragestellungen diskutiert, bei denen nicht die Aktivierung, sondern die Inhibition von TLR indiziert ist. Hierzu zählen Autoimmunkrankheiten wie Lupus erythematodes.

Die Grundlagenforschung – die im Workshop ebenfalls breiten Raum erhielt - befasst sich immer vertiefter mit dem zellbiologischen und biochemischen Umfeld der TLR. Mehrere Referenten präsentierten neue Ergebnisse zu den von den TLR abgehenden Signalwegen, die insbesondere zur Ausschüttung von Interferon alpha oder verschiedenen Entzündungsmediatoren führen; letzteres via NF-κB.

Andere Referenten erläuterten ein zweites zelluläres System zur Detektion viraler Nukleinsäuren, das in vieler Hinsicht dem TLR-System gleicht und auch in die gleichen Signalwege einmündet. Die Detektion wird hier – statt von endosomalen TLR – von zytosolischen Helikasen übernommen. Die Helikasen sind nicht in plasmozytoiden, sondern in anderen dendritischen Zel-

len exprimiert. Auch die Helikasen kommen grundsätzlich als Angriffspunkte für Medikamente in Betracht, was jedoch bisher nicht erprobt worden ist.

Bonn war als Ausrichtungsort für diesen Workshop nicht nur aufgrund der dort aktuell betriebenen TLR-Forschung, sondern auch historisch prädestiniert. Denn hier wurde 1866 die Grundlage der onkologischen Immuntherapie gelegt, die – wie man heute weiß – auf TLR-Aktivierung basiert. Seinerzeit beobachtete Wilhelm Busch, der Lehrstuhlinhaber für Chirurgie der Bonner Universitätsklinik, dass sich Tumoren im Rahmen von Infektionen vorübergehend zurückbilden. Im genannten Jahr – und damit noch vor der Entdeckung von Bakterien – induzierte er über lokale Verletzung und Kontamination eine Infektion im Tumorbereich einer Patientin und bewirkte so eine vorübergehende Regression des Tumors.

Dr. Rolf Hömke,
Pressereferent der Paul-Martini-Stiftung