

## Spotlight

### Sind zwei wirklich besser als einer?

*Forscher testen, ob zwei verschiedene Impfstoffkandidaten zusammen in der Lage sind eine bessere Immunreaktion gegen HIV zu induzieren*

Jeder von uns verwendet täglich Dinge und Geräte, ohne genau zu wissen, wie diese eigentlich funktionieren. Autos, Handys und Computer gehören dazu. Normalerweise gibt es aber irgendwo jemanden, der genau weiß, wie diese Dinge funktionieren. Bei vielen Impfstoffen, die Kindern und Erwachsenen auf der ganzen Welt routinemäßig verabreicht werden, ist dies nicht der Fall. Bei vielen dieser zugelassenen Impfstoffe wissen die Wissenschaftler nicht genau, wie sie eigentlich funktionieren.

Dies gilt auch für die AIDS-Impfstoffkandidaten, die sich in verschiedenen Stadien der klinischen Entwicklung befinden. Die Forscher haben noch immer keinen Kandidaten gefunden, der Menschen vor einer HIV-Infektion schützt, obwohl derzeit zahlreiche verschiedene Ansätze erforscht und getestet werden. Einige der in klinischen Studien eingesetzten Kandidaten verwenden HIV-Proteine, virale Vektoren (siehe *VAX* September 2004 *Primer* zu *Hintergrund: Virale Vektoren*) oder DNA, um HIV-Fragmente an das Immunsystem zu liefern, damit es eine Immunreaktion gegen das Virus auslösen kann. All diese Kandidaten erzeugen eine gewisse Immunreaktion. Um diese Reaktionen jedoch zu verbessern, testen Forscher derzeit verschiedene Methoden in Kombination – eine als Prime/Boost-Strategie bekannte Methode – um zu sehen, ob die Verabreichung verschiedener Kandidaten hintereinander die Immunreaktion gegen HIV zu erhöhen vermag.

Obwohl Forscher nicht genau wissen, wie die Prime/Boost-Methode funktioniert, sind die Hintergründe relativ einfach verständlich.

Die erste Dosis (der Primer) generiert eine Reihe von Immunzellen, die das HIV erkennen, und diese Zellen ermöglichen dann eine schnellere und stärkere Immunreaktion auf die zweite Impfung (den Booster). Diese Prime/Boost-Methode scheint zu funktionieren. „Im Wesentlichen handelt es sich bei den meisten Impfstoffstrategien um Primer und Booster“, sagt Larry Corey, der das HIV Vaccine Trials Network (HVTN) in Seattle leitet. Normalerweise wird jedoch meist der gleiche Impfstoff mehrmals verabreicht, wie zum Beispiel bei der Impfung gegen Windpocken und Masern.

Bei vielen, in klinischen Studien befindlichen AIDS-Impfstoffkandidaten wird heute jedoch auf die Verwendung von verschiedenen Impfstoffen als Primer und Booster gesetzt. Diese Kombination – so die Hoffnung – führt zu einer verbesserten Immunogenität (siehe *Primer*, Seite 4) und könnte auch eine breitflächigere Immunreaktion bewirken, da jede Impfstoffkomponente eine andere Art von Immunzelle stimulieren könnte. Hildgund Ertl vom Wistar Institute, einem Forschungsinstitut in Philadelphia, ist der Meinung, dass ein erfolgreicher AIDS-Impfstoff wahrscheinlich aus zwei verschiedenen Kandidaten bestehen wird, die in einem Prime/Boost-Regime verabreicht werden. „Darauf würde ich im Moment wetten“, sagt sie.

### Versuch und Irrtum

Viele dieser derzeit in der Evaluierung befindlichen Prime/Boost-Kombinationen verwenden einen DNA-basierten Impfstoff mit einem viralen Vektor wie einem modifizierten Vacciniavirus Ankara (MVA), um die HIV-Fragmente an das Immunsystem zu liefern. Mehrere verschiedene Kombinationen wurden bisher getestet, und weitere sind geplant. Bei ungefähr der Hälfte der z. Zt. rund 30 AIDS-Impfstoffstudien werden derartige Kombinationen verwendet. Trotz alledem wissen wir erstaunlich wenig darüber, wie Prime/Boost-Kombinationen funk-

nieren oder warum bestimmte Kombinationen besser wirken als andere. Um die richtige Kombination zu finden, bleibt oftmals nur die Versuch-und-Irrtum-Methode.

Eine der ersten Fragen, die die Forschern zu beantworten hatten, war, welcher Kandidat als Primer und welcher als Booster geeignet ist. Das wurde hauptsächlich durch Experimentieren ermittelt, sagt Tomas Hanke von der University of Oxford in Großbritannien, der an der anfänglichen Forschungsarbeit mit DNA- und MVA-basierten Impfstoffkandidaten beteiligt war. „Wir wollten die Kombinationen ausprobieren, zuerst ohne wirklich darüber nachzudenken, warum wir diesen Kandidaten zuerst nehmen und nicht den anderen“, sagt er.

Die Entscheidung darüber, welche Vektoren als Primer und welche als Booster verwendet werden, ist noch immer mit viel Ratearbeit verbunden. Peggy Johnston von der AIDS-Division am National Institute of Allergies and Infectious Diseases (NIAID) nennt diesen Ansatz „durchdachten Empirismus“. „Wir probieren es und werden sehen, was passiert, allerdings nicht ohne uns vorher Gedanken darüber gemacht zu haben“, sagt sie.

### Verloren in der Übersetzung

Es gibt Daten, die zeigen, dass Prime/Boost-Regime in Tiermodellen funktionieren. Dies garantiert allerdings nicht, dass sie auch in Menschen wirksam sind. Einige der ersten DNA/MVA-Regime beispielsweise funktionierten gut in Mäusen und Affen, aber nicht so gut in Menschen. Klinische Studien mit einigen der frühen von Hanke und Andrew McMichael (ebenfalls aus Oxford) ent-

## In dieser Ausgabe

### Spotlight

- Sind zwei wirklich besser als einer?

### Nachrichten aus aller Welt

- Forscher etablieren neue Aufnahmekriterien für afrikanische Studienteilnehmer
- AVAC erhält Gelder für Lobbyarbeit zur HIV-Präventionsforschung

### Primer

- Hintergrund: Immunogenität

wickelten DNA/MVA-Prime/Boost-Kombinationen führten in nur wenigen Probanden zu wirklichen Immunreaktionen auf HIV.

David Ho vom Aaron Diamond AIDS Research Center in New York testet derzeit eine andere DNA/MVA-Prime/Boost-Kombination in klinischen Studien. In vorklinischen Studien in Mäusen und Kaninchen wirkt die Kombination etwa 10 Mal besser als bei der Verabreichung von nur einem Kandidaten allein. Phase I-Studien haben bereits gezeigt, dass die einzelnen Komponenten sowohl sicher als auch immunogen sind. Ho wird diese DNA/MVA-Kombination bald in Phase II-Studien testen und ist optimistisch.

Andere Gruppen beschäftigen sich mit Prime/Boost-Regimen, die andere virale Vektoren als die auf DNA basierenden Kandidaten verwenden. Dan Barouch von der Harvard University testet verschiedene Kombinationen Adenovirus-basierter Kandidaten in nicht-menschlichen Primaten. Er fand heraus, dass bestimmte Kombinationen von Adenovirus-Stämmen oder -Serotypen eine wesentlich höhere Immunogenität haben als andere. Forscher vom Vaccine Research Center (VRC), das zum NIAID gehört, testen derzeit ein Prime/Boost-Regime mit zwei verschiedenen Adenovirus-Kandidaten – Adenovirus Serotyp 5 (Ad5) und Ad35 – in einer Phase I-Studie (siehe VAX Juni 2007 Nachrichten aus aller Welt).

## Erste Ergebnisse

Obwohl der Großteil der Ergebnisse, die eine Primer/Booster-Verabreichung mit zwei verschiedenen Impfstoffkandidaten stützen, aus vorklinischen Studien stammt, haben sich einige Verabreichungsregime bereits als sicher in Menschen erwiesen und scheinen in Phase I-Studien Immunogenität zu bewirken. Giuseppe Pantaleo vom Universitätsklinikum in Lausanne in der Schweiz ist einer der Koordinatoren einer Phase I-Studie in Europa, die eine Kombination mit einem DNA-basierten Kandidaten und einem als NYVAC bezeichneten Pockenvirus-Vektor-Kandidaten verwendet. Bei dieser Kombination wurde eine wesentlich bessere Immunreaktion induziert als bei der Verabreichung des Pockenvirus-Kandidaten allein. Eine Phase II-Studie mit diesem Kandidaten hat bereits mit der Aufnahme von Teilnehmern begonnen.

Ein anderes viel versprechendes Regime verwendet DNA als Primer und Ad5 als Booster. Laut Corey weisen die Ergebnisse der Phase II-Studien mit den bei VCR entwickelten DNA/Ad5-Impfstoffkandidaten darauf hin, dass mehr als 70 % der Teil-

nehmer Immunreaktionen auf HIV entwickeln. Das Regime wird demnächst in einer als PAVE 100 bezeichneten Phase IIb-Studie zum Test des Konzepts getestet (siehe VAX September 2005 *Primer zu Hintergrund: Studien zum Test des Konzepts*). Diese Studie wird an mehreren Standorten in Verbindung mit HVTN, dem United States Military HIV Research Program (USMHRP) und IAVI durchgeführt.

Diese vorläufigen klinischen Studienergebnisse geben Anlass zu Optimismus. Jedoch konnte nicht überall beobachtet werden, dass Prime/Boost-Kombinationen mit verschiedenen Kandidaten in Menschen besser wirken als die mehrmalige Verabreichung von ein und demselben Impfstoff. „Wir haben nichts gefunden, was darauf hinweist, dass Prime/Boost-Kombinationen in

---

***Im Idealfall hätten wir ein einziges Produkt. Der einzige Grund, dass wir an Prime/Boost-Kombinationen arbeiten ist, dass wir das nicht haben.***

**Sarah Schlesinger**

---

Menschen einen synergistischen Effekt bewirken, und wir haben wahrscheinlich mehr Substanzen getestet als andere“, sagt John Shiver von Merck. Das Unternehmen führt derzeit zwei Phase IIb-Studien in Nord- und Südamerika, in der Karibik, in Australien und in Südafrika durch, bei denen sein Ad5-Impfstoffkandidat mehrfach verabreicht wird.

## Mysteriöser Mechanismus

Trotz der Tatsache, dass die Prime/Boost-Methode eine stärkere Immunreaktion zu erzeugen scheint, bleibt weiterhin die Frage nach dem warum. „Warum genau es besser ist, weiß meiner Meinung nach niemand ganz genau“, sagt die mit Ho zusammen arbeitende Sarah Schlesinger von der Rockefeller University. Teilweise könnte das auch daran liegen, dass es schwierig ist die Wirkung des Primers direkt zu bestimmen, meint sie.

Pantaleo denkt, dass die verbesserten Immunreaktionen auftreten, weil jeder Kandidat etwas anderes bewirkt – vielleicht auf eine andere Art von Immunzelle zielt. Auch gibt es Hinweise darauf, dass die Verwendung von zwei verschiedenen Kandidaten in einem Prime/Boost-Regime eine größere Vielfalt an Zellreaktionen auf das HIV auslöst als die mehrmalige Verabreichung des gleichen Impfstoffs.

Bei vielen dieser Prime/Boost-Kombinationen ist es sehr schwierig den genauen Mechanismus zu bestimmen, der die Induzierung einer verbesserten Immunreaktion bewirkt, insbesondere da die Forscher nur sehr wenig darüber wissen, warum die einzelnen Komponenten immunogen sind. „Wir wissen nicht sehr viel über den Mechanismus der Immunogenität der DNA“, sagt Gary Nabel, Director des VCR.

## Äpfel und Birnen

Ein weiteres Problem für die Forscher ist genau zu verstehen, welche Kombinationen von Impfstoffkandidaten besser funktionieren als andere, denn der Vergleich von Ergebnissen verschiedener Studien ist relativ kompliziert. Forschergruppen verwenden oft leicht andersartige virale Vektoren oder HIV-Fragmente (Antigene) in den viralen Vektoren oder DNA-basierten Kandidaten. Dies erschwert den Vergleich zwischen Studien, die auf den ersten Blick ähnliche Kandidaten verwenden. „Meiner Meinung nach ist es falsch davon auszugehen, dass DNA gleich DNA und MVA gleich MVA ist“, sagt Johnston. „Das ist einfach nicht der Fall.“

Diese leichten Variationen könnten zumindest teilweise ein Grund für die vollkommen unterschiedlichen Ergebnisse von Studien sein, die Impfstoffkandidaten mit ähnlichen Prime/Boost-Kombinationen einsetzen. Aus diesem Grund befürworten Nabel und andere die Verwendung eines standardisierten genetischen Bausteins, der die gleichen HIV-Fragmente enthält und in verschiedene DNA oder virale Vektoren eingebunden werden kann. Dies könnte eine der zwischen ähnlichen Impfstoffkandidaten auftretenden Variablen eliminieren helfen und es den Wissenschaftlern erleichtern die wirksamste Prime/Boost-Kombination zu bestimmen. Laut Nabel hat das HVTN gerade eine Versuchsserie mit verschiedenen viralen Vektoren gestartet, die alle diesen standardisierten genetischen Baustein tragen.

Eine weitere Herausforderung ist diese: Sollte sich eine aus zwei verschiedenen Impfstoffkandidaten bestehende Prime/Boost-Kombination tatsächlich als wirksamer

erweisen, dann ist die Verabreichung wahrscheinlich komplizierter und teurer, als wenn nur eine Komponente im Spiel ist. Derzeit gibt es keinen zugelassenen Impfstoff

(gegen andere Krankheiten), der aus zwei verschiedenen Impfstoffkomponenten besteht. „Im Idealfall hätten wir ein einziges Produkt“, sagt Schlesinger. „Der einzige Grund, dass wir

an Prime/Boost-Kombinationen arbeiten ist, dass wir das nicht haben.“

## Nachrichten aus aller Welt

### Forscher etablieren neue Aufnahmekriterien für afrikanische Studienteilnehmer

Forscher von der IAVI, den US Centers for Disease Control and Prevention (CDC) und dem US Military HIV Research Program (USMHRP) präsentierten kürzlich auf der AIDS Vaccine 2007 Konferenz in Seattle die Ergebnisse einer Studie, die darauf hindeuten, dass bei der Auswahl potentieller Teilnehmer für AIDS-Impfstoffstudien an Standorten im östlichen und südlichen Afrika neue medizinische Kriterien angewendet werden sollten. Bevor eine gesunde Person an einer präventiven AIDS-Impfstoffstudie teilnehmen kann, werden mehrere Routine-Laboruntersuchungen vorgenommen, damit die Forscher den allgemeinen Gesundheitszustand des potentiellen Teilnehmers einschätzen können (siehe VAX März 2005 *Primer zu Hintergrund: Klinische Forschungsstudien*). Die Ergebnisse dieser Tests werden dann mit einer Reihe vorher festgelegter Daten verglichen, die als Referenzbereiche bezeichnet werden und definieren, was als zulässig anzusehen ist. Aufgrund dieser Daten werden einige der potentiellen Teilnehmer von der Studie ausgeschlossen.

Viele dieser Referenzbereiche basieren jedoch ausschließlich auf Forschungsergebnissen in nordamerikanischen und europäischen Bevölkerungsgruppen. Eine zweijährige Studie mit ungefähr 5500 gesunden Personen in Uganda, Kenia, Ruanda und Sambia zeigte, dass bei einigen Tests ein als normal angesehenes Ergebnis bei einer gesunden afrikanischen Person durchaus anders sein kann. In dieser Studie nahmen die Forscher Blutproben von gesunden, nicht mit HIV infizierten Menschen und verwendeten diese zur Evaluierung verschiedener Blutwerte sowie der Nieren- und Leberfunktionen.

Die Etablierung von für die lokale Bevölkerung relevanten Referenzbereichen könnte zu einer Verbesserung des Auswahlprozesses für klinische Studien führen, einschließlich der für AIDS-Impfstoffkandidaten, da dadurch weniger potentielle Teilnehmer unnötigerweise von der Studie ausgeschlossen würden. Dies könnte den Auswahlprozess von Teilnehmern drastisch erleichtern und beschleunigen.

Bei einer jüngst von USMHRP in Uganda durchgeführten AIDS-Impfstoffstudie konnten 58 % der potentiellen Teilnehmer nicht für die Studie registriert werden, weil ihre Laborwerte außerhalb der festgelegten Referenzbereiche lagen. Bei einer zweiten, von USMHRP am gleichen Standort durchgeführten Studie, bei der die neu festgelegten Referenzbereiche für diese Bevölkerungsgruppe zu Grunde gelegt wurden, wurden lediglich 23 % ausgeschlossen.

Durch die Festlegung lokaler Referenzbereiche sind die Forscher auch eher in der Lage, natürlich vorkommende Laborabweichungen von möglichen Nebenwirkungen, die durch den Impfstoffkandidaten oder andere Testinterventionen verursacht wurden, zu unterscheiden. Aufgrund ihrer Kontakte zu einer größeren Anzahl an Parasiten und Pathogenen, die die Funktion des Immunsystems beeinflussen, erzielen Afrikaner oftmals andere Werte in Standard-Labortests.

### AVAC erhält Gelder für Lobbyarbeit zur HIV-Präventionsforschung

Die AIDS Vaccine Advocacy Coalition (AVAC) erhielt kürzlich von der Bill & Melinda Gates-Stiftung Fördergelder in Höhe von 14 Mio. US-Dollar über den Zeitraum von fünf Jahren zur Unterstützung der von der Organisation betriebenen internationalen Lobbyarbeit. Mit Hilfe dieser neuen Geldmittel kann die AVAC ihre Initiativen über die AIDS-Impfstoffe hinaus auch auf das weitere Feld der HIV-Präventionsforschung ausdehnen. Die AVAC plant nun eine gesteigerte Lobbyarbeit zur Befürwortung verschiedener Methoden, die derzeit in klinischen Studien getestet werden, einschließlich der Mikrobizide und präexpositionellen Prophylaxe (PrEP), bei der die Verwendung von anti-retroviralen Medikamenten zur Prävention einer HIV-Infektion eingesetzt wird.

Derzeit laufen mehrere Phase III-Wirksamkeitsstudien, in denen sowohl Mikrobizide als auch PrEP separat getestet werden. Die AVAC plant eine Zusammenarbeit mit den Gemeinschaften, die an diesen Forschungsstudien teilnehmen bzw. von ihnen betroffen sind, um den Menschen dort beim besseren Umgang mit den Ergebnissen dieser Studien zu helfen. Die in New York ansässige Organisation wird sich auch dafür einsetzen, dass die aus dieser Forschungsarbeit gewonnenen Erkenntnisse den Menschen auf der ganzen Welt zugute kommen.



#### Redaktion

Simon Noble, PhD

#### Wissenschaftsredaktion (Verantwortliche Redakteurin)

Kristen Jill Kresge

#### Wissenschaftsredaktion (Verantwortlicher Redakteur)

Andreas von Bubnoff, PhD

#### Produktionsleiterin

Nicole Sender

Alle Artikel von Kristen Jill Kresge.

Der *Spotlight*-Artikel ist eine Überarbeitung eines Artikels von Andreas von Bubnoff (*IAVI-Report* 11, 3, 2007)

VAX ist ein von Kristen Jill Kresge geleitetes Projekt.



Deutsche  
AIDS-Stiftung

#### KOSTENFREIE ABONNEMENTS:

Wenn Sie VAX per E-Mail abonnieren möchten, senden Sie Ihre Anfrage unter Angabe der bevorzugten Sprache an: [iavireport@iavi.org](mailto:iavireport@iavi.org). Wenn Sie Druckausgaben von VAX (nur englische Version) zur Verteilung und/oder Verwendung im Rahmen Ihrer Programme erhalten möchten, senden Sie Ihre Anfrage unter Angabe der gewünschten Anzahl und vollständigen Postadresse an: [iavireport@iavi.org](mailto:iavireport@iavi.org).

Für weitere Informationen besuchen Sie bitte: [www.iavireport.org](http://www.iavireport.org).

VAX ist ein monatliches Informationsblatt, das Berichte aus dem *IAVI-Report* enthält, der Publikation zur AIDS-Impfstoffforschung, die von der International AIDS Vaccine Initiative (IAVI) herausgegeben wird. Es steht derzeit in englischer, französischer, deutscher, spanischer und portugiesischer Sprache als herunterladbare PDF-Datei ([www.iavireport.org](http://www.iavireport.org)) oder als E-Mail-Nachricht zur Verfügung.

IAVI ist eine globale gemeinnützige Organisation, die bemüht ist, die Suche nach einem Impfstoff, der HIV-Infektion und AIDS verhindert, zu beschleunigen. Sie wurde 1996 gegründet und ist in 24 Ländern aktiv. Die Initiative und ihr Netzwerk an Partnern erforschen und entwickeln mögliche Impfstoffe. IAVI setzt sich für die globale Priorität der Entwicklung eines Impfstoffs und die weltweite Verfügbarkeit dieses Impfstoffs für alle Menschen ein. Für weitere Informationen besuchen Sie bitte: [www.iavi.org](http://www.iavi.org).

Copyright © 2007

## Wie messen Forscher die durch einen AIDS-Impfstoffkandidaten induzierte Immunreaktion?

Forscher messen die Wirksamkeit präventiver AIDS-Impfstoffkandidaten in klinischen Phase III-Studien. Ein Kandidat ist wirksam, wenn er den Empfänger vor einer HIV-Infektion schützt, oder im Falle eines teilweise wirksamen Impfstoffs, wenn er bei Personen, die sich später durch Kontakt mit dem Virus infizieren, entweder den Krankheitsverlauf verlangsamt oder den Ausbruch der Krankheit hinauszögert (siehe VAX Mai 2007 *Primer zu Hintergrund: Teilweise effektive AIDS-Impfstoffe*).

Im Anfangsstadium der klinischen Evaluierung, also in den Phase I- und II-Studien, beschäftigen sich die Forscher hauptsächlich mit der Sicherheit der Impfstoffkandidaten und den gegen das HIV induzierten Immunreaktionen, einem als Immunogenität bezeichneten Konzept. Mit Hilfe dieser Daten setzen die Forscher die Prioritäten für die weitere Evaluierung der Kandidaten.

### Antikörper erkennen

Es gibt zwei Hauptarten von Immunreaktionen auf HIV, die routinemäßig bewertet werden. Die erste ist das Vorhandensein von HIV-spezifischen neutralisierenden Antikörpern, die in der Lage sind, sich an das Virus zu binden und es zu deaktivieren (siehe VAX Februar 2007 *Primer zu Hintergrund: Neutralisierende Antikörper*). Tests wie der Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA-Test) werden zur Erkennung und Quantifizierung HIV-spezifischer Antikörper eingesetzt, die als Antwort auf einen AIDS-Impfstoffkandidaten induziert werden. Bei einem ELISA-Test wird die Blutplasma Probe einer geimpften Person mit den HIV-Antigenen (den im Impfstoff enthaltenen Teilen des HIV) auf einem Kunststoffträger in Kontakt gebracht. Die vorhandenen Antikörper binden sich an das HIV-Antigen. Die gebundenen Antikörper lassen sich dann von jeglichen anderen, im Blut befindlichen Antikörpern trennen, und die Menge der HIV-spezifischen Antikörper kann gemessen werden. Der ELISA-Test wird normalerweise auch verwendet um festzustellen, ob ein Mensch HIV-infiziert ist (siehe November 2005 *Primer zu Hintergrund: HIV-Tests*). Mit Hilfe spezifischerer Tests lässt sich auch messen, inwieweit die HIV-spezifischen Antikörper fähig sind das Virus erfolgreich zu neutralisieren.

### Zellen zählen

Die andere Kategorie der Immunreaktion ist die zellständige Immunität, zu der zwei spezifische Arten von Immunzellen gehören, die als CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellen bezeichnet werden. Die meisten der derzeit in klinischen Studien getesteten Impfstoffkandidaten induzieren hauptsächlich zellständige Immunreaktionen, und es gibt mehrere verschiedene Tests zur Messung von Quantität und Qualität dieser Reaktionen.

### Punkte sehen

Der ELISPOT-Test ist die am häufigsten eingesetzte Methode zur Messung der Immunogenität von AIDS-Impfstoffkandidaten. Hierbei werden die CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellen identifiziert, die Zytokine produzieren. Die Zytokine sind eine Gruppe von Proteinen, die von den Immunzellen als Antwort auf ein Virus oder Bakterium freigesetzt werden. Zytokine werden manchmal auch als die Boten des Immunsystems bezeichnet und sind in der Lage ein Virus an der Replikation zu hindern. Die Interaktion eines HIV-Antigens (eines Impfstoffkandidaten) mit einer Immunzelle kann zur Freisetzung vieler verschiedener Zytokine führen, und Forscher können diese Proteine mit Hilfe eines ELISPOT-Tests nachweisen. Der ELISPOT-Test wird normalerweise verwendet, um das Vorhandensein eines spezifischen, als Interferon Gamma (oder IFN- $\gamma$ ) bezeichneten Zytokins nachzuweisen, der sowohl von den CD4<sup>+</sup> als auch den CD8<sup>+</sup> T-Zellen als Abwehrmechanismus gegen Viren freigesetzt wird.

Bei klinischen Studien werden ELISPOT-Tests im Immunologielabor mit Blutproben durchgeführt, die den Teilnehmern entnommen wurden, die den getesteten AIDS-Impfstoffkandidaten erhalten haben. Von diesen Proben isolieren die Forscher die weißen, als periphere mononukleäre Blutzellen oder PBMC bezeichneten Blutzellen, die für das Immunsystem von großer Bedeutung sind. Diese Zellen werden dann auf einen mit Antikörpern angereicherten Kunststoffträger gegeben. Wenn die PBMC mit HIV-Antigenen stimuliert werden, setzen sie verschiedene Zytokine wie IFN- $\gamma$  frei, die sich an die auf dem Träger befindlichen Antikörper binden. Andere Antikörper, die mit einer Chemikalie markiert wurden, die eine starke Verfärbung auslöst, werden hinzugegeben, sodass überall dort, wo sich eine Immunzelle befindet, die Zytokine produziert, ein dunkler Punkt zu sehen ist. Die Präsenz dieser Punkte zeigt an, dass CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellen vorhanden sind, die auf das im Impfstoffkandidaten enthaltene HIV-Antigen reagieren.

Durch Zählen dieser Punkte können die Forscher dann feststellen, wie viele Zellen beispielsweise IFN- $\gamma$  freisetzen. Dies wird als die Anzahl der Punkt-bildenden Zellen (spot-forming cells) bezeichnet. Obwohl ELISPOT-Tests meist die Freisetzung von IFN- $\gamma$  untersuchen, lassen sich damit auch viele andere Zytokine nachweisen, die von Immunzellen abgegeben werden. Wenn die Anzahl der Punkt-bildenden Zellen bei einem geimpften Studienteilnehmer über einer bestimmten, vor Studienbeginn durch die Forscher festgelegten Schwelle liegt, wird er als Teilnehmer eingestuft, der auf den Impfstoffkandidaten angesprochen hat. Bei vielen AIDS-Impfstoffstudien in Entwicklungsländern werden ELISPOT-Tests in mit dem Standort der klinischen Studie assoziierten Immunologielabors durchgeführt.

### Korrelation

ELISPOT-Tests sind nur eine Möglichkeit zur Messung der Aktivierung des Immunsystems durch einen Impfstoffkandidaten. Die Schwierigkeit bei der Interpretation der Ergebnisse dieser Tests besteht darin, dass die Forscher noch nicht wissen, ob die Produktion von IFN- $\gamma$  oder anderer Zytokine durch die Immunzellen mit einem zumindest teilweisen Schutz vor einer HIV-Infektion korreliert. Die genauen Immunreaktionen, die mit dem Schutz vor HIV korrelieren, konnten bisher noch nicht identifiziert werden (siehe VAX November und Dezember 2006 *Primers zu Hintergrund: Korrelate der Immunität*). Die Ergebnisse des ELISPOT-Tests dienen lediglich als Hinweis auf eine Immunfunktion. Derzeit beschäftigen sich die Forscher mit Impfstoffen, die bereits gegen andere Krankheiten zugelassen sind und die eine zelluläre Immunreaktion induzieren, um Hinweise darauf zu erhalten, ob der ELISPOT-Test akkurate Rückschlüsse auf die Immunogenität zulässt oder nicht.

Auch wenn nicht perfekt, so helfen die Ergebnisse von ELISPOT-Tests den Forschern, die Immunogenität verschiedener Impfstoffkandidaten miteinander zu vergleichen und zu entscheiden, welche Kandidaten weitere klinische Evaluierung verdienen. Ein anderer, als Flow-Zytometrie bezeichneter Labortest analysiert die Fähigkeit der Immunzellen mehrere Zytokine gleichzeitig zu produzieren. Außerdem beginnen die Forscher Tests durchzuführen, die analysieren sollen, ob Immunzellen in der Lage sind das Virus direkt zu unterdrücken. All diese Tests helfen den Forschern bei der weiteren Klassifizierung der Immunogenität verschiedener Kandidaten.