

## 1

## Die bio(techno)logische Revolution

1.1	Von der klassischen Genetik zur Gentechnik . . . . .	1
1.2	Gentechnik und Biotechnik . . . . .	6

Wir befinden uns inmitten einer „biologischen Revolution“, oder besser gesagt, einer „molekulargenetischen Revolution“. Seit gerade einmal etwas mehr als 70 Jahren wissen wir um die prinzipielle Struktur der Erbinformation, der DNA. Bereits kurze Zeit später haben wir verstanden, dass der genetische Code in allen auf der Erde lebenden Organismen gleich ist und in allen Organismen auf ähnliche Weise in Proteine übersetzt wird. In den frühen 1970er-Jahren wurden die ersten DNA-Moleküle verschiedener Organismen über Artgrenzen hinweg zu neuen funktionalen Einheiten zusammengefügt. Diese neu entwickelte DNA-Rekombinationstechnologie, die auch unter der vielleicht geläufigeren Bezeichnung Gentechnik bekannt ist, ist heute die Grundlage für die Erforschung komplexer physiologischer und pathophysiologischer Zusammenhänge auf molekularer Ebene, der Entwicklung neuer biomedizinischer Theorien und Therapieansätze, der Suche nach neuen Zielen für Wirkstoffe und der großtechnischen Produktion von Proteinwirkstoffen. Biopharmazeutika, die in gentechnisch veränderten Organismen mit biotechnologischen Verfahren hergestellte Proteine enthalten, nehmen ein stetig wachsendes Segment im Arzneimittelschatz ein, sodass sich Arzneimittelfachleute neben ihrem Fachwissen über die Gewinnung und Anwendung chemisch-synthetischer oder natürlicher niedermolekularer Wirkstoffe zunehmend auch mit den Konzepten zur Produktion von und dem Umgang mit derartigen Makromolekülen befassen müssen. Immerhin haben wir es heute mit 451 zugelassenen Biopharmazeutika und 397 Proteinwirkstoffen zu tun (Stand August 2025), die ca. 35% des gesamten deutschen Pharmamarktes ausmachen – Tendenz steigend.

Die Methoden und Konzepte zur gentechnischen Herstellung von Proteinwirkstoffen nehmen in diesem Buch einen breiten Raum ein. Allerdings hat die Gentechnik eine weitaus größere Bedeutung in der biomedizinischen und pharmazeutischen Anwendung als „nur“ ihre Nutzung zur Herstellung von Proteinwirkstoffen. In diesem einführenden Kapitel wollen wir daher die

„biologische Revolution“ zusammenfassen, die vor gut 150 Jahren mit Darwins Evolutionstheorie begann, deren Fundament die Etablierung zunächst der „klassischen“ und danach der „molekularen“ Genetik ist, die zunächst in der Erfindung der Gentechnik gipfelte und die möglicherweise erst mit dem gezielten Editieren des menschlichen Genoms zu Enhancement-Zwecken endet. Nicht alles heute oder morgen Machbare der neuen molekularmedizinischen Entwicklungen (z.B. reproduktionsmedizinische Maßnahmen) hat etwas mit Gentechnik zu tun – allerdings wäre die Erforschung neuer molekularmedizinischer Therapiekonzepte ohne die Gentechnik mit Sicherheit nicht möglich gewesen. Heute wird es kein Medikament geben – übrigens auch keines mit einem chemisch-synthetischen Wirkstoff – in dessen Entwicklung von der biologischen Grundlagenforschung bis zur klinischen Entwicklung nicht zu irgendeinem Zeitpunkt gentechnische Methoden zum Einsatz kommen. Nachfolgend wollen wir kurz die Entwicklung der Genetik und der Gentechnik rekapitulieren, bevor wir den wichtigen Unterschied zwischen „Gentechnik“ und „Biotechnik“ thematisieren, der für das Verständnis der Entwicklung und Herstellung von Proteinwirkstoffen von Bedeutung ist.

### 1.1 Von der klassischen Genetik zur Gentechnik

Molekularbiologie ist von seinen Ursprüngen her ein Zweig der Biologie, der darauf abzielt, durch das Studium (makro)molekularer Strukturen Erkenntnisse über zelluläre Vorgänge zu erlangen. Die Geschichte der Molekularbiologie, der modernen biomedizinischen Forschung und der Entwicklung von Biopharmazeutika ist eng verbunden mit der Entdeckungsgeschichte der DNA als dem Träger der Erbinformation. Alles begann im Jahr 1865, als Gregor Mendel (1822 – 1884) seine Entdeckung veröffentlichte, dass Merkmale von Organismen als vererbare Einheiten in

klaren mathematischen Zusammenhängen über Generationen weitergegeben werden, auch wenn sich die Anwesenheit dieser Merkmale nicht immer am Erscheinungsbild der Organismen ablesen lässt. Mendels „Versuche über Pflanzenhybriden“, die im Jahr 1866 veröffentlicht wurden, zeigten, dass Merkmale in den Nachkommen entweder hervortreten und **dominant** sind oder zurücktreten und **rezessiv** sind. Mendel war seiner Zeit weit voraus – und seine Entdeckungen fanden zunächst kaum Beachtung. Sie sind jedoch heute ebenso fundamental wie damals, gelten sie doch beispielsweise auch für die Vererbung von Krankheiten des Menschen und bilden die Grundlage für die Identifizierung von „Krankheitsgenen“ durch Stammbaum-Analysen in betroffenen Familien.

Ende des 19. Jahrhunderts wurde allmählich klar, dass die Zellkerne die Träger der Erbinformation sind. Im Zellkern fand Walter Flemming (1843 – 1901) eine anfärbbare Substanz, die er **Chromatin** nannte. Weitere Forschungen ergaben, dass sich das Chromatin während der Zellteilung verdichtet. Heinrich Wilhelm Waldeyer (1836 – 1921) sprach erstmals von **Chromosomen** und beschrieb 1888, dass sich Chromosomen während der Zellteilung aufspalten und die einzelnen Chromosomen-Fäden auf die entstehenden Tochterzellen verteilt werden. In diesem Zeitraum wurde auch klar, dass jedes Chromosom in einer Körperzelle zweimal vorhanden ist – außer in den Keimzellen, die jeweils nur eine Kopie enthalten.

Obwohl bereits andere Wissenschaftler um die Wende zum 20. Jahrhundert herum die Arbeiten von Mendel wiederentdeckt hatten, war es vor allem William Bateson (1861 – 1926), der im Jahr 1900 Mendels Publikation gelesen und die Mendel'schen Regeln in Wissenschaftskreisen bekannt gemacht hatte. Bateson hat auch den Begriff **Genetik** eingeführt (1906). Es wurde klar, dass die Chromosomen die Träger der Mendel'schen Merkmale sein müssen, und es war unter anderen Theodor Boveri (1862 – 1915), der aus dem Wissen der damaligen Zeit ableitete, dass die vererbten Merkmale im Mendel'schen Sinne auf den Chromosomen lokalisiert sein müssten. Walter S. Sutton (1877 – 1916) erkannte 1902, dass während der Bildung der Keimzellen und der Reduktion des doppelten Chromosomensatzes (heute nennen wir diesen Vorgang Meiose) die Chromosomenpaare in zufälliger Verteilung in die Keimzellen gelangen und dass dies die Grundlage für die von Mendel beschriebenen statistischen Verteilungsmuster der beobachteten Merkmale sein könnte. Diese Hypothese ist als **Chromosomentheorie der Vererbung** bzw. **Boveri-Sutton-Theorie** in die Geschichtsbücher eingegangen.

Der Botaniker Wilhelm Johannsen (1857 – 1927) benutzte in seinem Buch „Elemente der exakten Erbliehkeitslehre“ im Jahre 1909 erstmals den Begriff **Gen**. Das war damals etwas Abstraktes, ein Symbol, das dafür

stand, dass die Merkmale von Organismen in den Keimzellen festgelegt sind und als unabhängige Einheiten an nachfolgende Generationen vererbt werden. Von Johannsen stammt auch der abgeleitete Begriff **Genotyp**, also die Gesamtheit der Gene eines Organismus. Am **Phänotyp**, dem Erscheinungsbild eines Organismus, ist der Genotyp nicht unbedingt zu erkennen, was Mendel bereits als dominante und rezessive Merkmale beschrieben hatte.

Zur endgültigen Akzeptanz der Mendel'schen Regeln trug insbesondere Thomas Hunt Morgan (1866 – 1945) bei. Morgan arbeitete mit der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster*, einem überaus wertvollen Modellsystem der biologischen Forschung. Morgan identifizierte viele *Drosophila*-Mutanten mit bestimmten Merkmalen und zeigte, dass diese teilweise gekoppelt vererbt werden. Da Morgan genauso viele Kopplungsgruppen fand wie die Fruchtfliege Chromosomen hat, lag der Schluss nahe, dass Gene auf den Chromosomen liegen und daher in der Regel gemeinsam vererbt werden, sofern sie sich auf demselben Chromosom befinden. Morgan bemerkte aber auch Ausnahmen von dieser Regel, also Kopplungsbrüche, die offenbar dadurch zustande kamen, dass homologe Chromosomen während der Meiose Stücke austauschen. Schließlich war es Alfred H. Sturtevant (1891 – 1970), ein Mitarbeiter von Morgan, der 1913 erkannte, dass die Wahrscheinlichkeit, dass gekoppelt vererbte Merkmale während der Keimzellbildung voneinander getrennt werden, mit der Entfernung der Gene zueinander auf den jeweiligen Chromosomen zusammenhängt. Morgan fasste die Ergebnisse seiner Forschungen im Jahr 1928 in dem berühmten Buch *The Theory of the Gene* zusammen. Noch heute werden Entfernungen zwischen Genen auf Chromosomen als **Centimorgan** angegeben.

Auf dem Weg zur Beantwortung der Frage, was ein Gen eigentlich ist, hatte zunächst die Zytogenetikerin Barbara McClintock (1902 – 1992) im Jahr 1931 erstmals am Beispiel der Maispflanze gezeigt, dass die Entkopplung genetischer Marker mit einem Austausch von genetischem Material zwischen homologen Chromosomen einhergeht. Etwa um die gleiche Zeit (1927) berichtete Herman J. Muller (1890 – 1967), ein Schüler von Morgan, über seine Experimente zur mutationsauslösenden Wirkung von Röntgenstrahlung. Die Erbinformation konnte also von außen beeinflusst (verändert) werden. Max Delbrück (1906 – 1981) und Salvador E. Luria (1912 – 1991) zeigten 1943 in bahnbrechenden Experimenten mit Bakteriophagen, dass Mutationen zufällig auftreten.

Oswald T. Avery (1877 – 1955) hat 1944 gefunden, dass Desoxyribonukleinsäure (DNA) Träger genetischer Information ist. Avery prägte den Begriff **Transformation** und meinte damit die Übertragung neuer Eigenschaften auf einen Organismus durch DNA. Alfred Kühn (1885 – 1968) sowie später George W. Beadle

(1903 – 1989) und Edward Tatum (1909 – 1975) konnten um 1950 durch biochemische Experimente zeigen, dass Gene die Information zur Bildung von Enzymen (Proteinen) tragen: Die Hypothese „Ein Gen = ein Enzym“ war geboren. Im Jahr 1952 zeigte Alfred Hershey (1908 – 1997), dass bei der Infektion von Bakterien mit einem Bakteriophagen nur die virale DNA, nicht aber seine Proteine, in die infizierte Zelle übertragen werden. Somit war klar, dass in der DNA die genetische Information zur Bildung neuer Phagenpartikel enthalten sein musste.

James D. Watson (1928 – 2025) und Francis Crick (1916 – 2004) trafen sich erstmals im Jahr 1951 und waren fortan von der Idee getrieben, die Struktur der DNA als dem offensichtlichen Träger der genetischen Information zu entschlüsseln. Die experimentellen Daten dazu kamen eigentlich von der DNA-Strukturforscherin Rosalind E. Franklin (1920 – 1958) und wurden Watson und Crick von Maurice H. F. Wilkins (1916 – 2004) ohne Wissen Franklins zur Verfügung gestellt. Die berühmte, von Franklin 1952 erstellte Röntgenbeugungsaufnahme der DNA mit der Laborbezeichnung „Photograph 51“ war letztlich die Grundlage für die Lösung der DNA-Struktur durch Watson und Crick, die in einer unscheinbaren einseitigen Publikation in *Nature* im Jahr 1953 erschien: Die DNA besteht aus zwei DNA-Strängen, die sich helixartig umeinander winden und antiparallel verlaufen; die Phosphatreste befinden sich außen und die DNA-Basen zeigen nach innen.

Für die endgültige Lösung der DNA-Struktur war noch eine weitere Information unerlässlich, und zwar die Lage der DNA-Basen beider Einzelstränge zueinander. Erwin Chargaff (1905 – 2002) hatte mit eleganten biochemischen Methoden etwa um das Jahr 1950 gezeigt, dass die Verhältnisse der DNA-Basen Thymin (T) und Adenin (A) sowie Cytosin (C) und Guanin (G) in einer DNA immer gleich sind. Daraus schlossen Watson und Crick treffend, dass sich T und A bzw. C und G in der Doppelhelix gegenüberliegen und über spezifische Wasserstoffbrückenbindungen verbunden sind. Sie schlussfolgerten auch, dass die spezifische Basenpaarung einen Replikationsmechanismus der DNA beinhaltet, denn durch die spezifische Basenpaarung sind die DNA-Stränge komplementär. Wenn die Basensequenz des einen DNA-Strangs bekannt ist, kann man aufgrund der **Komplementaritätsregeln** auf die Basenfolge des gegenüber liegenden Strangs schließen. Heute sind die Chargaff'schen Regeln bzw. die Komplementaritätsregeln Grundlage der DNA-Rekombinationstechnologie und damit der biologischen Revolution, die nach der Entdeckung der DNA-Doppelhelix erst so richtig in Gang kam.

Kurz nach der Entdeckung der DNA-Struktur führten Matthew Meselson (geb. 1930) und Franklin W. Stahl (1929 – 2025) im Jahr 1958 ein heute als klassisch anerkanntes Experiment durch, mit dem sie zeigten,

dass die DNA durch semikonservative Replikation vermehrt wird. Damit ist gemeint, dass die beiden DNA-Stränge geöffnet werden und ein Strang jeweils als Matrize zur Neubildung des Gegenstrangs verwendet wird. Etwa um die gleiche Zeit (1956) isolierte Arthur Kornberg (1918 – 2007) erstmals eine DNA-abhängige DNA-Polymerase, die diese Art der enzymatischen DNA-Synthese durchführen kann. DNA-Polymerasen gehören heute zu den unverzichtbaren Werkzeugen in der Gentechnologie.

Da nun klar war, dass die genetische Information in der DNA gespeichert ist und bei der Zellteilung von Zelle zu Zelle weitergegeben werden kann, stand die Frage im Raum, wie die in der Basenfolge der DNA „codierte“ Information in die Aminosäureabfolge der Proteine übersetzt wird. Wieder war es Francis Crick, der den entscheidenden Hinweis gab. Basierend auf Experimenten mit Bakteriophagen schlug Crick in einer 1961 erschienenen *Nature*-Publikation vor, dass die genetische Information für Aminosäuren durch jeweils drei DNA-Basen codiert wird und dass diese Information „degeneriert“ sei, also dass mehrere Basen-Triplets für eine bestimmte Aminosäure stehen könnten. Welches Triplet für welche Aminosäure codiert, fanden zuerst Marshall Nirenberg (1927 – 2010) und Heinrich Matthaei (1929 – 2025) heraus, die im Jahr 1961 ein kurzes Stück RNA herstellten, das ausschließlich Uracil-Basen enthielt. Als sie mit dieser RNA ein In-vitro-Translations-Experiment durchführten, erhielten sie ein kurzes Protein, das ausschließlich aus Phenylalanin bestand: Das Triplet UUU codiert für die Aminosäure Phenylalanin. Der gesamte genetische Code wurde in den folgenden Jahren entziffert, und es wurde festgeschrieben, was heute eine weitere Grundlage der Anwendung der DNA-Rekombinationstechnologie bildet: Der genetische Code ist auf der Erde universell gültig.

Das zunehmende Interesse an der Erforschung von Genfunktionen und ihrer Beteiligung am Auftreten von Krankheiten wurde zunächst gedämpft durch einen Mangel an Werkzeugen, mit denen DNA außerhalb von Zellen bearbeitet und Gene gezielt isoliert werden konnten. Man brauchte Methoden, um die langen chromosomalen DNA-Abschnitte gezielt in kürzere Fragmente zu zerlegen, solche Fragmente zu trennen und die gesuchten Gene zu charakterisieren. Das war die Geburtsstunde der Gentechnik. Zunächst wurden von Werner Arber (geb. 1929), Daniel Nathans (1928 – 1999) und Hamilton O. Smith (1931 – 2025) die sogenannten Restriktionsendonukleasen als fundamentale Werkzeuge der Gentechnologie entdeckt und zum gezielten Fragmentieren von DNA verwendet. Paul Berg (1926 – 2023) erzeugte 1972 erstmals rekombinante DNA, indem er Stücke des SV40-Virus mithilfe DNA-modifizierender Enzyme in bakterielle Plasmide einbaute. Kurz darauf (1973) zeigten Herbert W. Boyer (geb. 1936) und Stanley N. Cohen (geb.

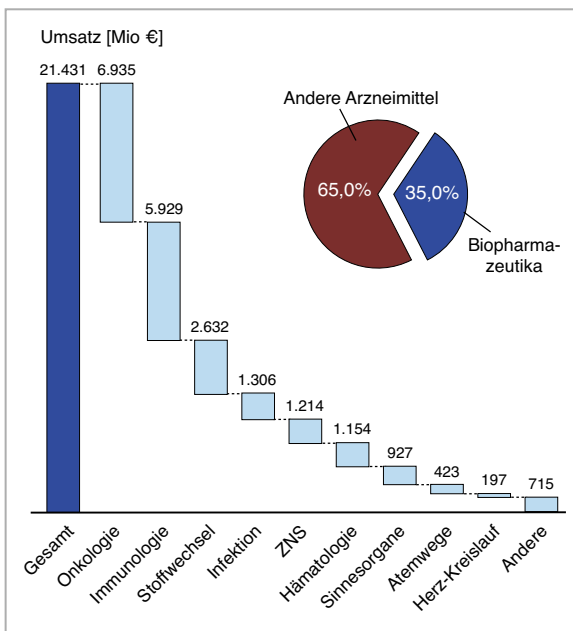
1935), dass man in vitro rekombinierte Plasmide in Bakterienzellen einbringen und dort vermehren kann. Etwas später (1974) zeigten sie, dass man auch DNA einer fremden Spezies in solche Plasmide einbauen und von Bakterien replizieren und auch transkribieren lassen kann.

Bereits kurz nach ihrer Entwicklung wurde das kommerzielle Potenzial der DNA-Rekombinationstechnologie erkannt. Im Jahr 1976 gründete Herbert Boyer die Firma Genentech (*Genetic engineering technology*), die bereits ab 1978 mit Humaninsulin den weltweit ersten rekombinanten Proteinwirkstoff herstellte (Zulassung 1982). Ebenfalls im Jahr 1978 wurde von Walter Gilbert (geb. 1932), einem Pionier der DNA-Sequenzierung, die Firma Biogen gegründet, die mit Erfolg Proteine wie Hepatitis-B-Antigen, Alpha-Interferon und Beta-Interferon produzierte. Die 1980 gegründete Firma Amgen stellte unter anderem Erythropoetin her. Am 14. Oktober 1980 ging die damals 4 Jahre alte kalifornische Firma Genentech an die New Yorker Börse – also noch 2 Jahre vor der Zulassung des ersten von der Firma hergestellten Produkts. Damit hatte man sozusagen die kommerzielle Nagelprobe der Gentechnik bestanden. Unter Investoren initiierten diese Erfolge unglaubliche Fantasien: Binnen 20 Minuten stieg der Preis der Genentech-Aktie von 35 auf 89 Dollar. Bei Börsenschluss lag der Wert der Aktie bei 71,25 Dollar. Die Möglichkeiten der Biotechnik, einer

sehr alten, aber keineswegs populären Wissenschaft, waren durch die Gentechnik deutlich erweitert worden, und das erregte damals unglaubliche Aufmerksamkeit.

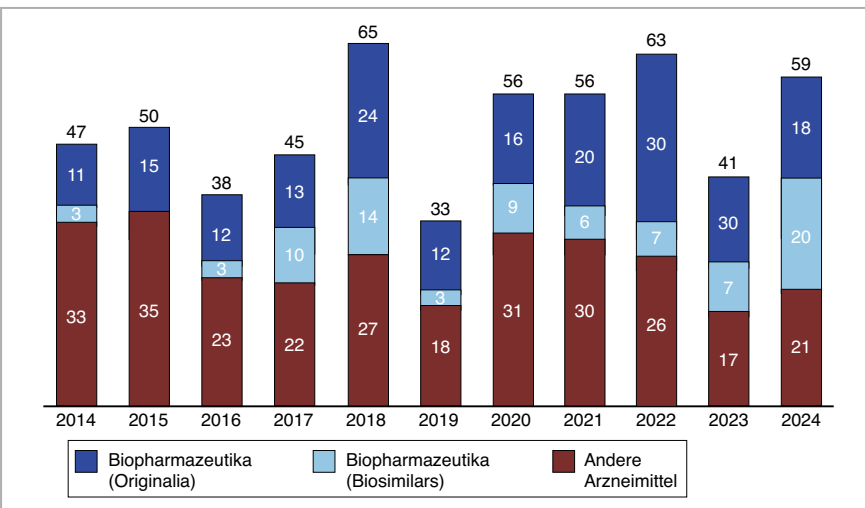
Ein bedeutendes Ziel aller biotechnologischen Forschung ist die Entwicklung kommerzieller Produkte. Aus diesem Grund wird im Gegensatz zu vielen anderen wissenschaftlichen Disziplinen auch die gentechnische bzw. biotechnische Forschung zu einem großen Teil durch eine ökonomische Motivation getragen. Die Erwartungen eines signifikanten finanziellen Gewinns war auch der Grund für das große Interesse und die Begeisterung während der Anfangszeit der industriellen Gentechnik. Bereits im Jahre 1985, also kaum 10 Jahre nach der Entwicklung der DNA-Rekombinationstechnologie, existierten über 400 Biotech-Firmen in den USA. Im Jahr 2022 waren es nach dem *Biotechnology Report 2023* von Ernst & Young insgesamt 949 Firmen. Die weltweite Biotechnologie-Industrie konnte im Jahr 2022 ca. 215 Milliarden Dollar Umsatzerlöse erzielen und beschäftigte über 280 000 Mitarbeiter.

Dieser QR-Code führt zur Information des Verbands Forschender Arzneimittelhersteller zur Medizinischen Biotechnologie in Deutschland.

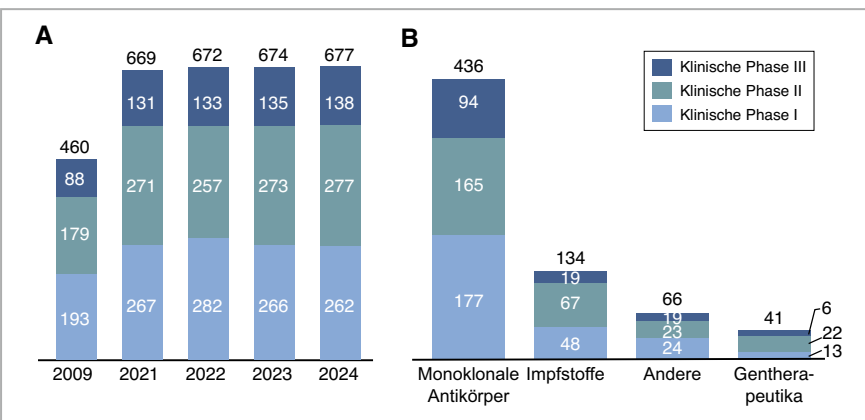


• **Abb. 1.1** Umsatz mit Biopharmazeutika in Deutschland nach Indikationsgebieten. Kreisdiagramm: Biopharmazeutika hatten 2024 einen Netto-Gesamtumsatz im Apotheken- und Krankenhaus-Markt (unter Berücksichtigung des Herstellerabschlages) von 21,4 Mrd. Euro und einen Anteil am gesamten Arzneimittelmarkt von 35,0 %. Balkendiagramm: Umsätze aufgeschlüsselt nach Indikationsgruppen. Quelle: Medizinische Biotechnologie in Deutschland 2025.

Auch in Deutschland hat der Umsatz mit biotechnologisch erzeugten Proteinwirkstoffen stark an Bedeutung gewonnen. In dem von der *Boston Consulting Group* gemeinsam mit dem vfa (Verband forschender Arzneimittelhersteller) herausgegebenen Biotech-Report „Medizinische Biotechnologie in Deutschland 2025“ wird erwähnt, dass der Anteil an Biopharmazeutika am Gesamtpharmamarkt (Apotheken und Kliniken) im Jahr 2024 bei 35,0 % lag, das entspricht einem Netto-Umsatz von ca. 21,4 Milliarden Euro (• Abb. 1.1) und einer Steigerung von 14,1 % im Vergleich zum Vorjahr. Den größten Anteil am Umsatz haben Therapeutika im Bereich der Onkologika und Immuntherapeutika sowie Arzneimittel bei Stoffwechselerkrankungen (• Abb. 1.1). Im Jahr 2024 gab es in Deutschland 144 im biopharmazeutischen Segment aktive Unternehmen mit zusammen etwa 52 000 Beschäftigten. Im August 2025 waren 451 Biopharmazeutika mit 397 Wirkstoffen auf dem europäischen Markt zugelassen (Quelle: vfa). Biopharmazeutika stellen einen erheblichen Anteil der jährlichen Arzneimittel-Neuzulassungen in Europa dar (64 % im Jahr 2024; • Abb. 1.2). Und die Pipeline der pharmazeutischen Industrie ist gut gefüllt: 2024 befanden sich 677 Biopharmazeutika in klinischen Prüfungen (Phasen I-III), davon 138 in Phase III (• Abb. 1.3). Mehr als die Hälfte der Neuentwicklungen fallen in den Bereich der monoklonalen Antikörper (• Abb. 1.3), dem Wachstumsmarkt in den vergangenen Jahren und auch in absehbarer Zukunft.



• **Abb. 1.2** Anteil von Biopharmazeutika an jährlichen Neuzulassungen in Deutschland. Aufgegliedert in „Andere Arzneimittel“ (keine Proteinwirkstoffe) und Biopharmazeutika (Originalia und Biosimilars). Quelle: Medizinische Biotechnologie in Deutschland 2025.



• **Abb. 1.3** Biopharmazeutika-Pipeline: (A) Gesamtzahl der Wirkstoffe in der klinischen Entwicklung zwischen 2021 und 2022 im Vergleich zu 2009 (B) Aufgliederung der Arzneimittelstoffe in Entwicklung im Jahr 2024 nach Wirkstoffarten. Quelle: Medizinische Biotechnologie in Deutschland 2025.

## Zusammenfassung

- Die bio(techno)logische Revolution begann vor etwa 150 Jahren mit Charles Darwins Theorie über die Entstehung der Arten. Die Vererbungslehre (Genetik) gründet auf klassischen Arbeiten von Gregor Mendel aus dem Jahr 1865.
- In den folgenden etwa 100 Jahren wurden die Grundlagen für neue naturwissenschaftliche Disziplinen geschaffen, die wir heute als Molekularbiologie und Molekulare Genetik kennen.
- Die Erfindung der DNA-Rekombinationstechnologie (Gentechnik) durch Herbert Boyer und Stanley Cohen Anfang der 1970er-Jahre hat unter anderem den Weg für die systematische Erforschung von Genfunktionen und ganzen Genomen gebnet.
- Gentechnische Methoden sind heute unerlässlich für die biomedizinische Forschung über pathophysiologische Mechanismen und die Identifizierung klinisch relevanter Zielstrukturen für Wirkstoffe. Sie bilden ebenso die Grundlage für die Herstellung von Proteinwirkstoffen (Biopharmazeutika).
- Eine ganze Industrie hat sich seit Ende der 1970er-Jahre etabliert, die heute weltweit ca. 280 000 Mitarbeitende beschäftigt und die mit biotechnologischen Verfahren potente Arzneimittel gegen Krankheiten liefert, die bis vor Kurzem noch als wenig oder gar nicht therapierbar galten.

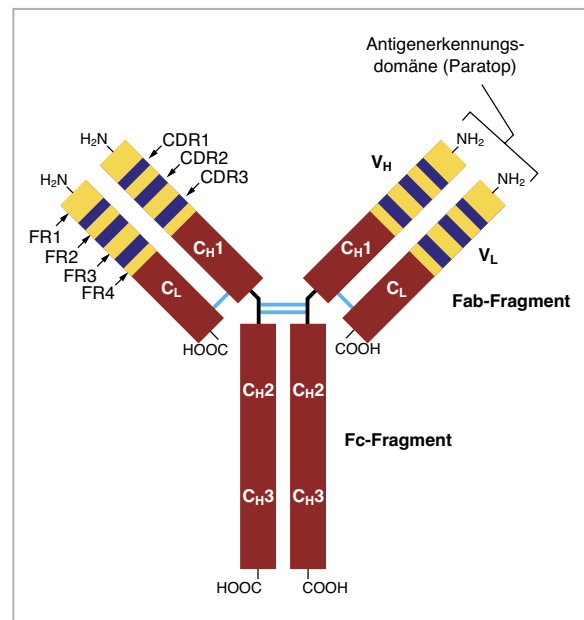
## 5 Monoklonale Antikörper

5.1	Struktur von Antikörpern	130
5.2	Hybridom-Technologie	133
5.3	Humanisierte Antikörper	138
5.4	Vollständig humane Antikörper	140
5.5	Antikörperfragmente	148
5.6	Nanoantikörper	149
5.7	Bispezifische Antikörper	151
5.8	Namensgebung bei Antikörper-Wirkstoffen	153
5.9	Fusionsproteine mit Fc-Teilen von Antikörpern	156
5.10	Chimäre Antigenrezeptoren	158

### 5.1 Struktur von Antikörpern

Antikörper bilden den humoralen Teil des adaptiven Immunsystems in unserem Körper. Produziert werden Antikörper von Plasmazellen, die aus aktivierten B-Zellen differenzieren. Antikörper sind recht einheitlich aufgebaut. Sie bestehen aus vier Proteinketten: zwei identischen leichten Ketten (L; *light*) und zwei identischen schweren Ketten (H; *heavy*). Die Begriffe „leicht“ und „schwer“ beziehen sich dabei auf die Primärsequenz bzw. die Größe der Antikörper-Untereinheiten, die mit ca. 25 kDa bzw. 55 kDa angegeben werden. Durch Disulfidbrücken werden die leichten und schweren Ketten kovalent verbunden, was Antikörpern eine bemerkenswerte Stabilität verleiht. Zusätzlich findet man auch intramolekulare Disulfidbrücken innerhalb der globulären Immunglobulin-Domänen  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  und  $C_{H3}$  der schweren Ketten bzw.  $C_L$  der leichten Ketten (Abb. 5.1).

Bei Antikörpern gibt es fünf Klassen von schweren Ketten ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$  und  $\alpha$ ) sowie zwei Klassen von leichten Ketten ( $\kappa$  und  $\lambda$ ). Die Aminosäuresequenz der schweren Kette eines Antikörpers bestimmt die Antikörperklasse (den „Isotyp“), von denen es demnach ebenfalls fünf gibt: die Immunglobuline vom Isotyp IgM, IgD, IgG, IgE und IgA. Die Isotypen der Antikörper unterscheiden sich in ihren Fc-Teilen (*fragment crystallizable region*), die verschiedene sogenannte Effektorfunktionen im Rahmen von Immunreaktionen ausüben. Beispielsweise haben Makrophagen und neutrophile Granulozyten eine hohe Affinität zu Antikörpern der IgG-Subtypen IgG<sub>1</sub> und IgG<sub>3</sub>, die hauptsächlich über die membranständigen Rezeptoren Fc $\gamma$ RI und Fc $\gamma$ RII erkannt werden. Die Effektorfunktion ist die Phagozytose und Vernichtung der durch Antikörper markierten Strukturen (*antibody-dependent cell-mediated phagocytosis*, ADCP). Auf der anderen Seite können Natürliche Killerzellen (NK) über ihre Fc $\gamma$ RIII-Rezeptoren durch IgG<sub>1</sub>- und IgG<sub>3</sub>-Antikörper markierte Zellen erkennen



• **Abb. 5.1** Schematische Struktur eines IgG-Antikörpers. Antikörper bestehen aus zwei identischen schweren (H) und zwei identischen leichten (L) Ketten, die über verschiedene Disulfidbrücken kovalent miteinander zu einem Molekül verknüpft sind. Sowohl leichte als auch schwere Ketten der Antikörper werden in konstante und variable Regionen unterteilt. Die konstanten Regionen der schweren Ketten besitzen drei Strukturdomänen ( $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$  und  $C_{H3}$ ). Die N-terminalen Bereiche der leichten und schweren Ketten enthalten die variablen Regionen ( $V_L$  und  $V_H$ ). Innerhalb von  $V_L$  und  $V_H$  kann man hochvariable Sequenzen definieren, die gemeinsam die Epitop-bindende Oberfläche (das Paratop) bilden. Diese Sequenzen werden als komplementaritätsbestimmende Regionen (*complementarity determining regions*, CDRs) bezeichnet. Die CDRs sind eingerahmt von Framework-Regionen (FR1–FR4), die weniger variabel sind. Enzymatisch lassen sich Antikörper in der Hinge-Region (H) der schweren Ketten durch die Protease Papain spalten und es entstehen ein Fc-Fragment sowie zwei Fab-Fragmente (Abb. 5.2).

und lysieren. Dieser Vorgang wird als antikörperabhängige, zellvermittelte Zytotoxizität (*antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*, ADCC) bezeichnet.

Will man einen therapeutischen Antikörper entwickeln, bei dessen pharmakologischen Aktivitäten ADCC ausdrücklich nicht erwünscht ist, sollte man z. B. einen IgG<sub>2</sub>-Antikörper bevorzugen, dessen Fc-Teil keine nennenswerte Affinität zu FcγRIII-Molekülen hat. Sind dagegen Oberflächenstrukturen von Tumorzellen Ziel einer Antikörper-Aktivität, kann es sinnvoll sein, einen IgG<sub>1</sub>- oder IgG<sub>3</sub>-Antikörper einzusetzen und die NK-Aktivität gegen diese Tumorzellen auszunutzen. IgG<sub>1</sub>- und IgG<sub>3</sub>-Antikörper, aber nicht IgG<sub>4</sub>-Antikörper, sind außerdem in der Lage, das Komplementsystem zu aktivieren (*complement-dependent cytotoxicity*, CDC). Dies kann bei der Therapie von Tumorerkrankungen nützlich sein, da das Komplementsystem durch Antikörper markierte Zellen lysieren kann. Soll allerdings eine Wechselwirkung eines Antikörper-Wirkstoffes mit dem Komplementsystem möglichst vermieden werden, wäre demnach ein IgG<sub>4</sub>-Antikörper zu bevorzugen.

Ein Antikörper der IgG-Klasse ist bivalent, d. h. ein Antikörper-Molekül kann über die zwei variablen Regionen gleichzeitig an zwei Epitope eines Antigens binden. Wird ein Antikörper mit der Protease Papain verdaut, werden die schweren Ketten in den Gelenkregionen (H;

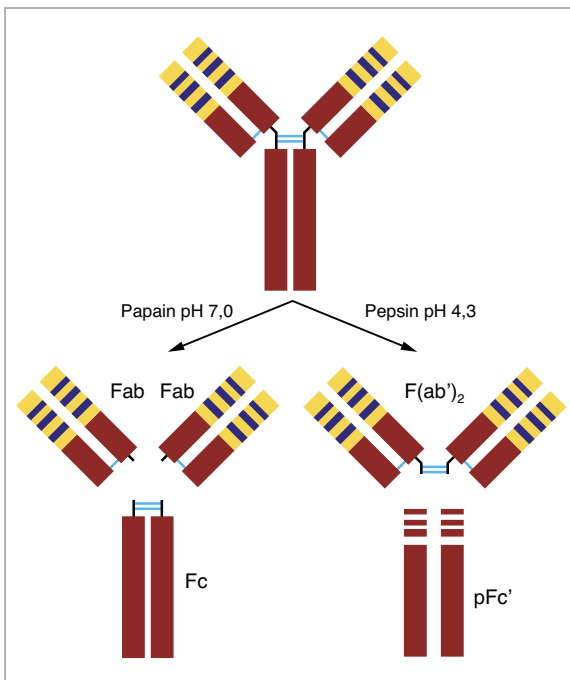
*hinge*) geschnitten und es resultieren zwei getrennte, sogenannte Fab-Fragmente (*fragment antigen binding*) und ein Fc-Fragment (Abb. 5.2). Ein Fab-Fragment kann jeweils nur einmal an ein Antigen binden. Da Fab-Fragmente keine Fc-Teile besitzen, können sie keine Effektorfunktionen wie ADCC oder CDC auslösen.

Das Enzym Pepsin schneidet Antikörper zwischen der Hinge-Region und der C<sub>H</sub>2-Region, die beiden Fab-Fragmente bleiben dabei über zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden (Abb. 5.2). Solche als F(ab')<sub>2</sub> bezeichneten Fragmente sind weiterhin bivalent und können zwei Epitope gleichzeitig binden, haben aber wie Fab-Fragmente keine Effektorfunktionen.

Fab-Fragmente haben in der therapeutischen Anwendung eine Bedeutung, weil sie kleiner sind als Vollantikörper und sich daher nach subkutaner Applikation möglicherweise besser im Körper verteilen. Außerdem können sie keine Effektorfunktionen ausüben. In der industriellen Produktion werden Fab-Fragmente nicht durch den Papain-Verdau eines zuvor produzierten Vollantikörpers gewonnen, sondern man benutzt für die biotechnologische Produktion nur die für die Fab-Fragmente codierenden Gensequenzen.

Historisch betrachtet hat es sich für das Verständnis der Funktionsweise von Antikörpern als nützlich erwiesen, sogenannte Myelome zu studieren. Myelome sind Tumore des Immunsystems, die in der Regel aus entarteten, antikörperproduzierenden B-Zellen entstanden sind. Die Myelomzellen sezernieren Immunglobulin-Moleküle einer einzigen Antigen-Spezifität. Jeder Tumor produziert einen Antikörper mit einer definierten Antigen-Spezifität. Durch die Analyse von Proteinsequenzen der Antikörper verschiedener Myelome hat man festgestellt, dass die Antikörper in bestimmten Bereichen sehr ähnlich sind, in anderen Bereichen jedoch deutliche Sequenzunterschiede aufweisen. Schließlich konnten in den Antikörperketten variable und konstante Regionen definiert werden. Die variablen Regionen sind an den jeweiligen N-Termini der leichten (V<sub>L</sub>) und schweren (V<sub>H</sub>) Ketten eines Antikörpers zu finden (Abb. 5.1). Sie bilden gemeinsam die sogenannten Paratope, die eine zum jeweils erkannten Epitop komplementäre Oberfläche bilden. Die variablen Regionen von Antikörpern lassen sich weiter aufteilen in die sogenannten Framework-Regionen (FR) und die hypervariablen, komplementaritätsbestimmenden Regionen (*complementarity-determining regions*, CDR). Dabei bilden immer zwei Framework-Regionen eine Art Rahmen für eine CDR (Abb. 5.1). Innerhalb der CDRs unterschiedlicher Antikörper treten die größten Sequenz-Heterogenitäten auf, da durch diese Regionen der größte Teil der Spezifität für ein Antigen determiniert wird.

Schätzungen zufolge kann unser adaptives Immunsystem über das Antikörper-Repertoire mindestens 10<sup>9</sup> verschiedene Oberflächen erkennen. Da jeder einzelne Antikörper immer nur eine Oberfläche (ein Epitop)



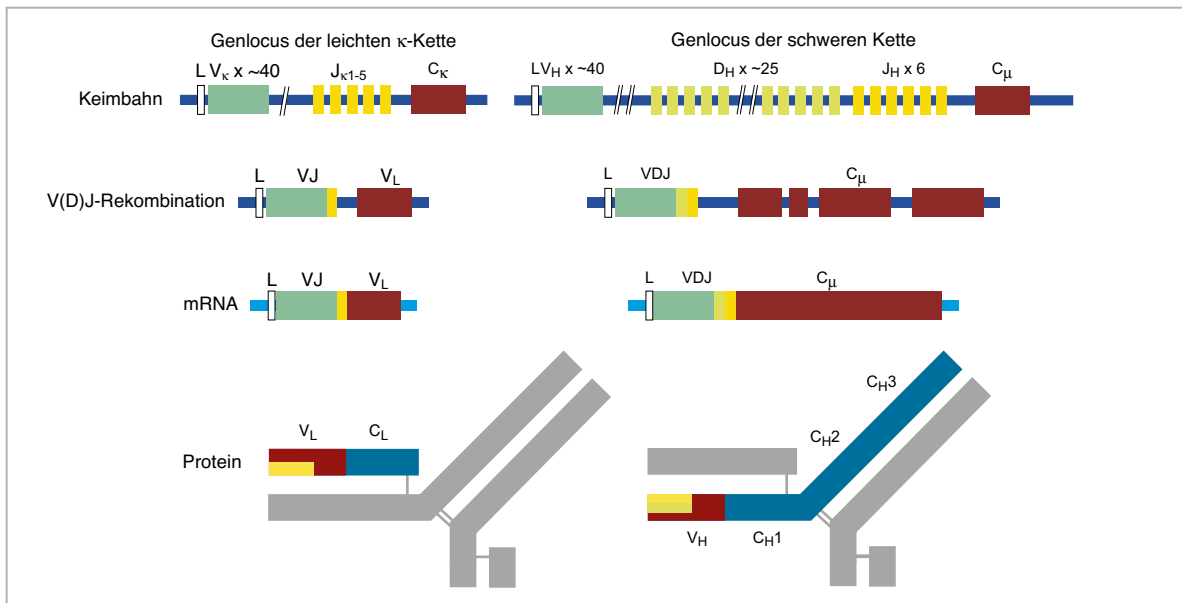
• Abb. 5.2 Fab-Fragmente von Antikörpern. Enzymatisch lassen sich Antikörper in der Hinge-Region (H) spalten. Wird das Enzym Papain verwendet, entstehen zwei getrennte Fab-Fragmente und ein Fc-Fragment. Das Enzym Pepsin schneidet dagegen mehrmals zwischen der Hinge-Region und C<sub>H</sub>2; es entsteht ein F(ab')<sub>2</sub>-Fragment und ein verkürztes Fc-Fragment (pFc').

spezifisch erkennt, wäre die logische Schlussfolgerung, dass wir mindestens  $10^9$  verschiedene Gene haben müssten – eines für jeden Antikörper (mit jeweils leichter und schwerer Kette). Das ist aber offensichtlich nicht der Fall, denn wir wissen aus dem humanen Genomprojekt, dass wir insgesamt nur ca. 20 000 Gene besitzen. Wie passt das zusammen? Die Antwort ist, dass unsere Antikörper-Gene modular angelegt sind. Die leichten Ketten bestehen aus 30–40 sogenannten V-Modulen und bis zu fünf J-Modulen (Abb. 5.3). Während der Reifung von B-Zellen wird zufällig eines der V-Module und J-Module ausgesucht und auf der Ebene der genomischen DNA irreversibel zu einem Exon kombiniert („VJ-Rekombination“). Diese VJ-Region entspricht der variablen Region der leichten Kette ( $v_L$ ) und bildet zusammen mit der konstanten Region ( $c_L$ ) eine Einheit, die als mRNA für die leichte Kette transkribiert wird (Abb. 5.3). Die schwere Kette besteht aus den drei Modulen V, D und J. Unser Genom codiert ca. 40 V-Module, ca. 25 D-Module und sechs J-Module (Abb. 5.3). Während der B-Zell-Reifung wird jeweils eines der Module nach dem Zufallsprinzip ausgesucht und zu einem VDJ-Exon assembliert („VDJ-Rekombination“). Die VDJ-Region bildet die variable Region der schweren Kette ( $v_H$ ) und wird in reifen, nicht aktivierten B-Zellen zunächst zusammen mit der konstanten

Region des IgM- oder IgD-Isotyps als mRNA transkribiert. Die Vielfalt der Antikörper-Spezifitäten entsteht demnach im Wesentlichen durch die Kombinatorik der verschiedenen Module. Wichtig ist, dass bei der Reifung **jeder individuellen** B-Zelle eine andere Modul-Kombination ausgesucht wird. Das erklärt, warum jeder Antikörper nur **eine** bestimmte Oberfläche (**ein** Epitop) erkennt und warum jede **einzelne** B-Zelle nur **einen** Antikörper mit **einer** festgelegten Spezifität produziert.

Auf einem Antigen finden sich in der Regel mehrere unterschiedliche Epitope, sodass bei einer adaptiven Immunantwort in der Regel **mehrere** B-Zellen gegen dasselbe Antigen (aber verschiedene darauf vorhandene Epitope) reagieren. Da jede B-Zelle nach ihrer Aktivierung zunächst **klonal** proliferiert und erst danach in eine antikörperproduzierende Plasmazelle differenziert, spricht man von einer **polyklonalen** B-Zell-Antwort. Einen Antikörper, der von **einem** isolierten B-Zell-Klon hergestellt wird, bezeichnet man deshalb als **monoklonalen** Antikörper.

Wie groß das Repertoire an monoklonalen Antikörpern in unserem Körper wirklich ist, kann experimentell nicht bestimmt werden. Da jede B-Zelle unseres Körpers ihren Antikörper permanent exprimiert, können wir aber im Prinzip die mRNAs für die leichten und schweren Ketten aller Antikörper unseres Körpers aus



• **Abb. 5.3** Modularer Aufbau der Antikörper-Gene. In der Keimbahn sind die Genloci für die leichten und schweren Ketten der Antikörper modular angelegt. Der Locus der leichten  $\kappa$ -Ketten besteht aus ca. 40 V-Modulen und 5 J-Modulen. Der  $\lambda$ -Locus für die leichten Ketten ist hier nicht gezeigt. Der Locus der schweren Ketten besteht aus ca. 40 V-Modulen, ca. 25 D-Modulen und 6 J-Modulen. Während der Reifung macht jede individuelle B-Zelle eine VJ- bzw. VDJ-Rekombination der Antikörper-Loci durch, wobei es dem Zufall unterliegt, welches der jeweiligen Module verwendet wird. Nach der Rekombination bilden die VJ- bzw. VDJ-Regionen die variablen Regionen der leichten ( $v_L$ ) und schweren ( $v_H$ ) Ketten. Diese werden auf RNA-Ebene durch Spleißen der primären Transkripte mit den jeweiligen konstanten Regionen ( $c_L$  bzw.  $c_H$ ) verbunden. Im Antikörper-Protein bilden die VJ- bzw. VDJ-Anteile gemeinsam das Paratop des jeweiligen Antikörpers.

unserem B-Zell-Pool isolieren und als cDNA-Pool gentechnisch bearbeiten. Wir bekommen dann eine „Bibliothek“ der cDNAs, die die leichten und schweren Antikörper-Ketten unseres Immunsystems repräsentieren. Mit einem solchen Experiment können wir jedoch nicht die cDNAs der leichten und schweren Ketten **eines bestimmten** Antikörpers mit **einer gewünschten** Spezifität isolieren. Die cDNA-Bibliothek spiegelt also nicht die ursprünglichen Antikörper **einzelner** B-Zellen wider, sondern besteht aus einer Mischung isolierter DNA-Sequenzen aller leichten und schweren Ketten aus dem B-Zell-Pool. Diese Überlegung ist später von Belang, wenn wir Strategien besprechen, mit denen

man „vollständig humane“ therapeutische Antikörper entwickeln kann (► Kap. 5.4).

Wollen wir also die Aminosäuresequenz eines bestimmten (monoklonalen) Antikörpers unseres Repertoires bestimmen, müssen wir die mRNA aus genau der B-Zelle isolieren, die den Antikörper herstellt. B-Zellen sind allerdings kurzlebige Zellen und können nicht in Zellkultur vermehrt und gegebenenfalls klonal vereinzelt werden. Das ist jedoch kein unlösbares Dilemma, denn mit der „Hybridom-Technologie“, die wir nachfolgend besprechen, haben wir heute eine Technologie zur Herstellung monoklonaler Antikörper verfügbar.

### Zusammenfassung

- Antikörper haben seit Langem eine herausragende Bedeutung in der Grundlagenforschung und in der Diagnostik. Als Therapeutika erobern Antikörper ein stetig wachsendes Segment des Arzneimittelschatzes.
- Antikörper sind deshalb so herausragende Therapeutika, weil sie gegen beliebige Antigene entwickelt werden können, an die sie hochspezifisch binden.
- Dabei sind Antikörper grundsätzlich immer gleich aufgebaut und unterscheiden sich nur in den Regio-

nen, die tatsächlich die Antigene erkennen. Im Rahmen einer Immunantwort gegen ein Antigen reagieren in der Regel mehrere B-Zellen gegen verschiedene Epitope und generieren eine „polyklonale“ Immunantwort.

- Dabei hat ein Antikörper, der von einer bestimmten B-Zelle stammt, immer nur eine bestimmte Epitop-Spezifität. Deshalb bezeichnen wir einen Antikörper, der von einem isolierten B-Zell-Klon hergestellt wird, als „monoklonalen Antikörper“.

## 5.2 Hybridom-Technologie

B-Zellen sind generell kurzlebig und können nicht in Kultur genommen werden. Eine Produktion monoklonaler Antikörper in Zellkultur bzw. biotechnologischer Produktion ist daher nur mit einem Trick möglich: Man muss die antikörperproduzierenden B-Zellen „unsterblich“ und damit kultivierbar machen. Eine Methode, um dies zu erreichen, wurde Mitte der 1970er-Jahre von George Köhler und César Milstein entwickelt und besteht im Prinzip darin, B-Zellen mit unsterblichen Tumorzellen zu fusionieren und damit die beiden Eigenschaften „Antikörperproduktion“ und „Unsterblichkeit“ (im Sinne von Kultivierbarkeit) in einer Zelle miteinander zu kombinieren. Das Ergebnis ist eine unsterbliche „Hybridomzelle“, die einen bestimmten Antikörper produziert.

Da monoklonale Antikörper heute in der zellbiologischen Grundlagenforschung als „immunologische Werkzeuge“ ebenso wie in der medizinischen Praxis als „therapeutische Antikörper“ eine so überragende Rolle spielen, wollen wir das Verfahren zur Herstellung monoklonaler Antikörper, die Hybridom-Technologie, hier ausführlich besprechen. Dieses Verfahren umfasst folgende Schritte:

- Immunisierung einer Maus mit dem gewünschten Antigen,
- Isolierung der Milzzellen aus der immunisierten Maus,
- Kultivierung einer Maus-Myelom-Zelllinie,
- Fusion der Milzzellen mit Myelomzellen,
- Selektion fusionierter Hybridomzellen,
- Identifizierung antikörperproduzierender Hybridomzellen,
- klonale Vereinzelung der vorselektionierten Hybridomzellen,
- Identifizierung antikörperproduzierender Hybridomklone,
- Charakterisierung der von den Hybridomzellen produzierten Antikörper.

### 5.2.1 Immunisierung von Mäusen

Die Immunisierung ist einer der wichtigsten Schritte bei der Herstellung monoklonaler Antikörper. Sie erfordert viel Erfahrung, Patentrezepte können hier nicht gegeben werden. Wir wollen daher nur das Prinzip beleuchten. Wichtig ist, dass zum Zeitpunkt der Isolierung der B-Zellen für die Fusion mit den Myelomzellen – also zu Beginn der Herstellung monoklonaler Antikörper – ein möglichst hoher Antikörpertiter

## 18

## Migräne

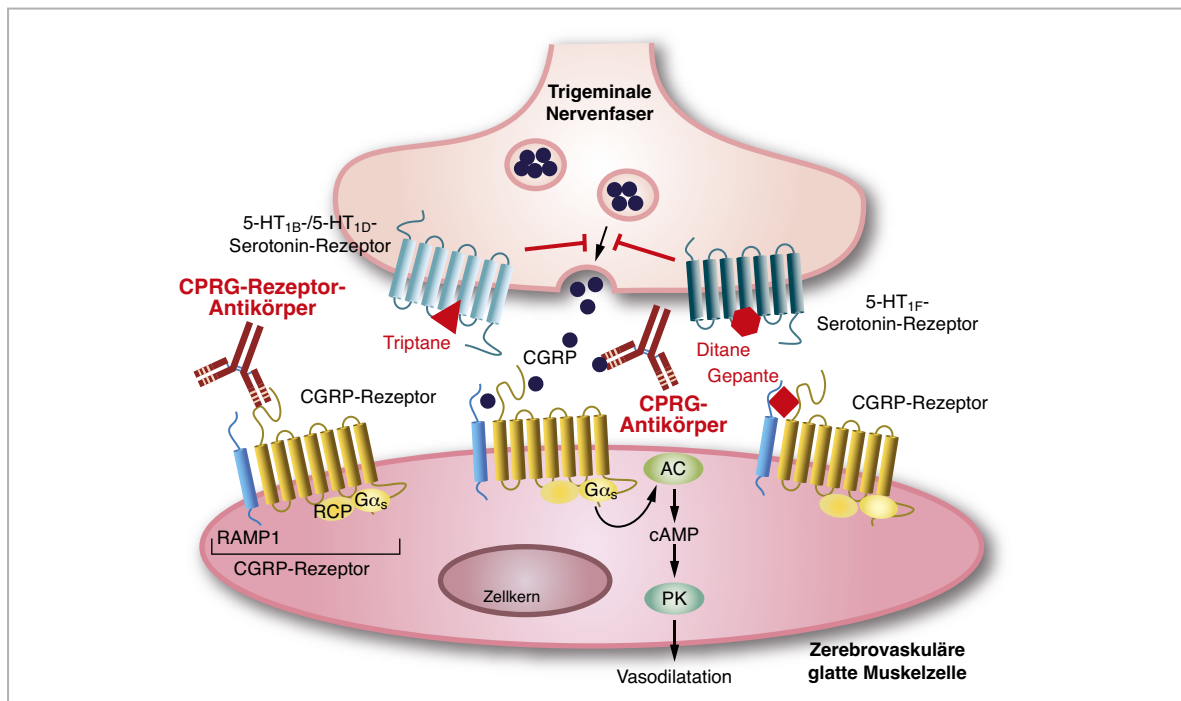
18.1	Krankheitsbild . . . . .	609
18.2	Calcitonin gene-related peptide (CGRP) . . . . .	610

## 18.1 Krankheitsbild

Migräne ist eine neurologische Erkrankung, an der schätzungsweise bis zu 10% der Bevölkerung leiden. Migräneattacken sind gekennzeichnet durch halbseitig auftretende, pulsierende Kopfschmerzen, die durch Bewegung typischerweise verstärkt werden. Gleichzeitig mit den Kopfschmerzen können die Patienten an anderen Symptomen wie Übelkeit, Appetitlosigkeit oder Licht- und Geräuschempfindlichkeit leiden. Häufig gehen den Kopfschmerzen besondere Empfindun-

gen wie beispielsweise Sehstörungen als sogenannte Aura voraus.

Das Verständnis der Pathophysiologie der Migräne ist in vielen Teilen unvollständig. Die vaskuläre Hypothese geht davon aus, dass die Kopfschmerzattacken durch eine Vasodilatation der intrakraniellen Blutgefäße ausgelöst werden. Die Vasodilatation aktiviert Schmerz- und Dehnungsrezeptoren des Trigeminnervs und löst den Schmerz aus. Es gibt zunehmend Hinweise, dass die Migräne als eine neurovaskuläre Erkrankung zu verstehen ist und die Ursache in einer

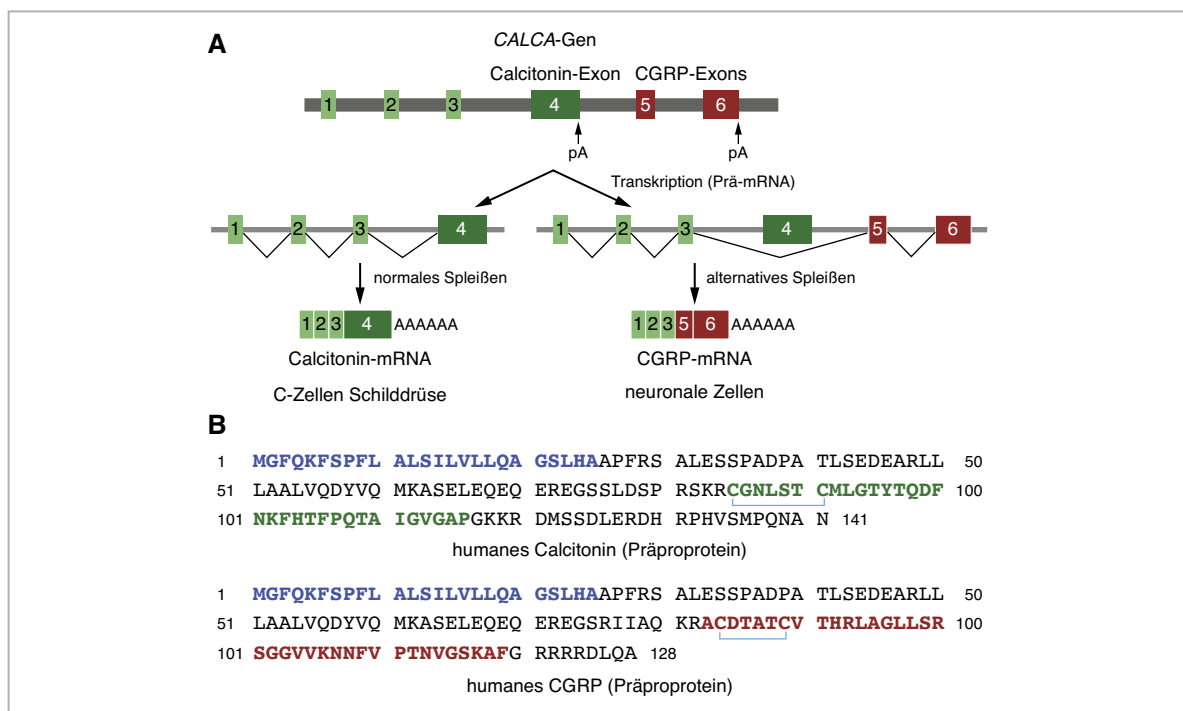


• **Abb. 18.1** Wirkorte der CGRP-bezogenen Prophylaxe und Therapie der Migräne. Die Targets für die CGRP-bezogene Migränetherapie, dargestellt an einem CGRP-haltigen Trigeminnerv, der eine zerebrovaskuläre glatte Muskelzelle innerviert. Triptane und Ditane bewirken über die Aktivierung von 5-HT<sub>1B/1D</sub>- bzw. 5-HT<sub>1F</sub>-Rezeptoren eine Hemmung der CGRP-Freisetzung. Antagonisten des CGRP-Rezeptors (Gepante und Antikörper) inhibieren CGRP-Wirkungen. Antikörper gegen CGRP neutralisieren dessen biologische Wirkungen. Abkürzungen: 5-HT, 5-Hydroxytryptamin (= Serotonin); AC: Adenylatzyklase; RAMP1: *receptor activity modifying protein 1*; RCP: Rezeptor-Kopplungsprotein.

sterilen Entzündung der Hirnhäute zu suchen ist. Diese bewirkt eine Aktivierung und Sensibilisierung der trigeminalen afferenten Nozizeptoren und die Freisetzung von Neuropeptiden wie Substanz P, Neurokinin A und CGRP (*calcitonin gene-related peptide*). Evidenz für eine Beteiligung von CGRP an der Auslösung von Migräneanfällen kommt unter anderem aus der Beobachtung, dass bei Migränepatienten eine Migräneattacke durch eine intravenöse Gabe von CGRP ausgelöst werden kann. Dieser Effekt ist durch die Gabe von Triptanen blockierbar. Triptane sind Serotoninrezeptor-Agonisten mit Selektivität für 5-HT<sub>1B/1D</sub>-Rezeptoren und Mittel der Wahl für die Therapie der Migräne. Allerdings sprechen viele Patienten ungenügend auf Triptane an, sodass alternative Therapieoptionen insbesondere auch für die Prophylaxe von Migräneattacken wünschenswert wären. Neben der Entwicklung oral verfügbarer 5-HT<sub>1F</sub>-Agonisten (Ditane) und von CGRP-Rezeptorantagonisten (Gepante) sind in diesem Zusammenhang vor allem auch die jüngst eingeführten Antikörper gegen CGRP oder dessen Rezeptor von Bedeutung (Abb. 18.1).

## 18.2 Calcitonin gene-related peptide (CGRP)

CGRP ist ein 37 Aminosäuren langes Neuropeptid und Teil der Calcitonin-Peptidfamilie, zu denen auch Calcitonin, Amylin und Adrenomedullin gehören. CGRP kommt in zwei Isoformen vor, die als  $\alpha$ -CGRP und  $\beta$ -CGRP bezeichnet werden.  $\beta$ -CGRP unterscheidet sich von  $\alpha$ -CGRP in drei Aminosäuren und wird von einem anderen Gen codiert als  $\alpha$ -CGRP.  $\alpha$ -CGRP wird überwiegend in den Spinalganglien sowie dem trigeminalen und vagalen System gebildet, während  $\beta$ -CGRP vorwiegend im enterischen Nervensystem vorkommt. Daher hat nur  $\alpha$ -CGRP eine Bedeutung bei der Migräne und wird meist kurz als CGRP bezeichnet. CGRP wird von demselben Gen codiert wie Calcitonin. Durch alternatives Spleißen der mRNA entstehen gewebespezifisch unterschiedliche Präproproteine, aus denen CGRP bzw. Calcitonin freigesetzt werden (Abb. 18.2). CGRP ist ein potenter Vasodilatator an glatten Muskelzellen, führt aber auch zu einer verstärkten Freisetzung von Substanz P in nozizeptiven Neuronen und moduliert die synaptische Transmission an erregenden glutamatergen Neuronen.



• **Abb. 18.2** Vergleich von Calcitonin und CGRP. A Bildung unterschiedlicher Präproproteine durch gewebespezifisches alternatives Spleißen. Calcitonin und CGRP werden von demselben Gen (*CALCA*) auf Chromosom 11 (Position 11p15.2-p15.1) codiert. Das Gen besitzt sechs Exons (grüne und rote Kästen). Aus der Prä-mRNA wird in den C-Zellen der Schilddrüse aus den Exons 1–4 (grüne Kästen) die codierende Region des Präproproteins von Calcitonin gebildet, indem die Transkription hinter Exon 4 endet (pA = Polyadenylierungsstelle) und die Introns 1–3 entfernt werden. In neuronalem Gewebe wird die mRNA des Präproteins von CGRP gebildet, indem durch alternatives Spleißen Exon 4 übersprungen und die CGRP-Exons 5–6 (rote Kästen) eingeschlossen werden. B Vergleich der Sequenzen der Präproproteine von Calcitonin und CGRP. Die Aminosäuren 1–75 der Präproproteine sind identisch. Die Signalsequenz ist dunkelblau dargestellt. Die grüne bzw. rote Sequenz entspricht dem reifen Calcitonin bzw. CGRP. Beide Peptide haben aminoterminal eine intramolekulare Disulfidbrücke (hellblaue Linien) und sind am Carboxyterminus amidiert.

### 18.2.1 CGRP-Rezeptor

Der Rezeptor für CGRP ist ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor, der in glatten Muskelzellen eine Aktivierung der Adenylatzyklase bewirkt und damit über eine Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration zu einer Vasodilatation führt. Früher wurden zwei CGRP-Rezeptor-Subtypen postuliert, CGRP1 und CGRP2. Allerdings bindet CGRP2 überwiegend an Amylin und Adrenomedullin und fungiert wahrscheinlich nicht als CGRP-Rezeptor. Der CGRP-Rezeptor ist eigentlich ein Rezeptorkomplex und besteht aus dem G-Protein-gekoppelten Rezeptor CALCRL (*calcitonin gene-related peptide type 1 receptor*) und dem assoziierten Transmembranprotein RAMP1 (*receptor activity-modifying protein 1*; ● Abb. 18.1). Das RAMP1-Protein ist für die Funktion des CGRP-Rezeptors essenziell, denn es vermittelt die korrekte Präsentation des CGRP-Rezeptors an der Zelloberfläche und moduliert die relative Affinität und Sensitivität des Rezeptors zum Liganden CGRP.

### 18.2.2 Arzneimittel für die Migräneprophylaxe Erenumab (Aimovig®)

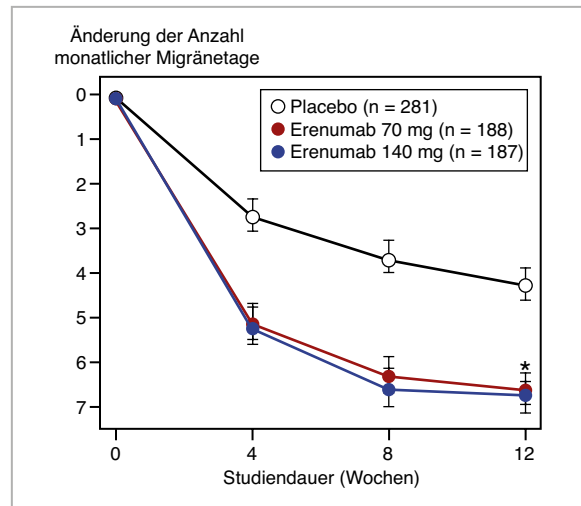
**Wirkstoff:** Erenumab (AMG 334) ist ein vollständig humaner IgG<sub>2</sub>-Antikörper, der an die extrazelluläre Domäne des CGRP-Rezeptors bindet. Erenumab wird in rekombinanten CHO-Zellen produziert. Die schweren Ketten des Antikörpers bestehen jeweils aus 456 Aminosäuren, die leichten λ-Ketten aus 216 Aminosäuren. Der Antikörper ist an Position Asn-306 der schweren Ketten N-glycosyliert. Das C-terminale Lysin der schweren Ketten wird im Produktionsprozess durch die Anwesenheit zellulärer Carboxypeptidasen weitgehend entfernt.

Ein Fertigpen bzw. eine Fertigspritze Aimovig® enthält 70 mg Erenumab für die subkutane Injektion, wobei eine Dosis entweder bei Bedarf 70 mg oder zweimal 70 mg beträgt und alle 4 Wochen appliziert wird.

**Wirkmechanismus:** Erenumab ist gegen den CGRP-Rezeptorkomplex gerichtet und unterbindet die Wechselwirkung des Rezeptors mit seinem natürlichen Liganden CGRP. Dadurch wird verhindert, dass CGRP eine Vasodilatation intrakranieller Gefäße und an den nozizeptiven Nervenendigungen des Trigeminus eine Freisetzung von schmerzinduzierenden Mediatoren wie Substanz P bewirken kann.

**Indikation:** Aimovig® ist zugelassen zur Migräneprophylaxe bei Erwachsenen mit mindestens vier Migränetagen pro Monat (Quelle: EMA; EPAR Aimovig®).

**Bemerkungen:** Wirksamkeit und Verträglichkeit von Erenumab wurden in mehreren Phase-II- und Phase-III-Studien untersucht. In einer placebokontrollierten Multicenter-Studie mit 667 Migränepatienten im Alter



● Abb. 18.3 Klinische Wirksamkeit von Erenumab. Aufgetragen ist die Änderung der Anzahl monatlicher Migränetage vom Basiswert. \*:  $p < 0,0001$  für Verum vs. Placebo. Daten aus Tepper, S. et al.: *Lancet Neurol.* 16 (2017), 425–435.

zwischen 18 und 65 Jahren (DOI: 10.1016/S1474-4422(17)30083-2) wurden innerhalb einer 12-wöchigen Studienphase drei subkutane Injektionen von 70 mg oder 140 mg Erenumab an Tag 0 sowie nach 4 und 8 Wochen appliziert. Die Therapie mit dem Antikörper senkte die Anzahl von Migränetagen signifikant besser als Placebo (● Abb. 18.3).

### Galcanezumab (Emgality®)

**Wirkstoff:** Galcanezumab (LY2951742) ist ein humanisierter IgG<sub>4</sub>-Antikörper, der an  $\alpha$ -CGRP und  $\beta$ -CGRP bindet. Galcanezumab wird gentechnisch in CHO-Zellen produziert. Die schweren Ketten des Antikörpers bestehen aus 445 Aminosäuren, die leichten Ketten aus 214 Aminosäuren. Die schweren Antikörperketten sind an Position Asn-296 mit fucosylierten, biantennären N-Glycanen der Struktur G0F (● Abb. 3.29) modifiziert.

Emgality® wird als Fertigpens oder Fertigspritzen mit 120 mg/ml Galcanezumab geliefert. Das Arzneimittel wird einmal monatlich subkutan angewendet.

**Wirkmechanismus:** Anders als Erenumab, das den CGRP-Rezeptorkomplex erkennt und so die Bindung des Agonisten verhindert, bindet Galcanezumab an freies CGRP und neutralisiert den freien Agonisten vor Bindung an seinen Rezeptor. In der Folge wird die Vasodilatation intrakranieller Gefäße sowie eine Freisetzung von schmerzinduzierenden Mediatoren an den nozizeptiven Nervenendigungen des Trigeminus verringert. Der Antikörper hat eine Eliminationshalbwertszeit von ca. 28 Tagen und kann daher einmal monatlich angewendet werden.

**Indikation:** Emgality® ist zugelassen zur Migräneprophylaxe bei Erwachsenen mit mindestens vier Migränetagen pro Monat (Quelle: EMA; EPAR Emgality®).

**Bemerkungen:** Die Wirksamkeit von Galcanezumab wurde an 1773 Patienten mit episodischer Migräne (EVOLVE-1 und EVOLVE-2) und 1113 Patienten mit chronischer Migräne (REGAIN) untersucht (Abb. 18.4). In den EVOLVE-Studien zeigten 41,5 % bzw. 41,1 % der mit 120 mg bzw. 240 mg Galcanezumab behandelten Patienten ein Ansprechen von  $\geq 50\%$  über mindestens 3 Monate (Placebo: 21,4 %, Unterschied  $p < 0,001$ ). In der REGAIN-Studie zeigten 16,9 % bzw. 14,6 % der mit 120 mg bzw. 240 mg Galcanezumab behandelten Patienten ein Ansprechen von  $\geq 50\%$  über mindestens 3 Wochen (Placebo: 6,3 %, Unterschied  $p < 0,001$ ). Die häufigsten Nebenwirkungen betrafen Schmerzen an der Einstichstelle, Erytheme, Pruritus und Schwellungen (Studienergebnisse zusammengefasst in Förderreuther et al. 2018; DOI: 10.1186/s10194-018-0951-2).

### Fremanezumab (Ajovy®)

**Wirkstoff:** Fremanezumab bindet an  $\alpha$ -CGRP und  $\beta$ -CGRP. Der humanisierte IgG<sub>2</sub>-Antikörper wird in gentechnisch veränderten CHO-Zellen produziert. Die schweren Ketten des Antikörpers bestehen aus 448 Aminosäuren, allerdings ist in der Mehrzahl der Moleküle das C-terminale Lysin nicht mehr vorhanden. Die schweren Ketten sind an Position Asn-298 N-glycosyliert. Die leichten Ketten bestehen aus 214 Aminosäuren. Das Molekulargewicht des Antikörpers beträgt 148 kDa.

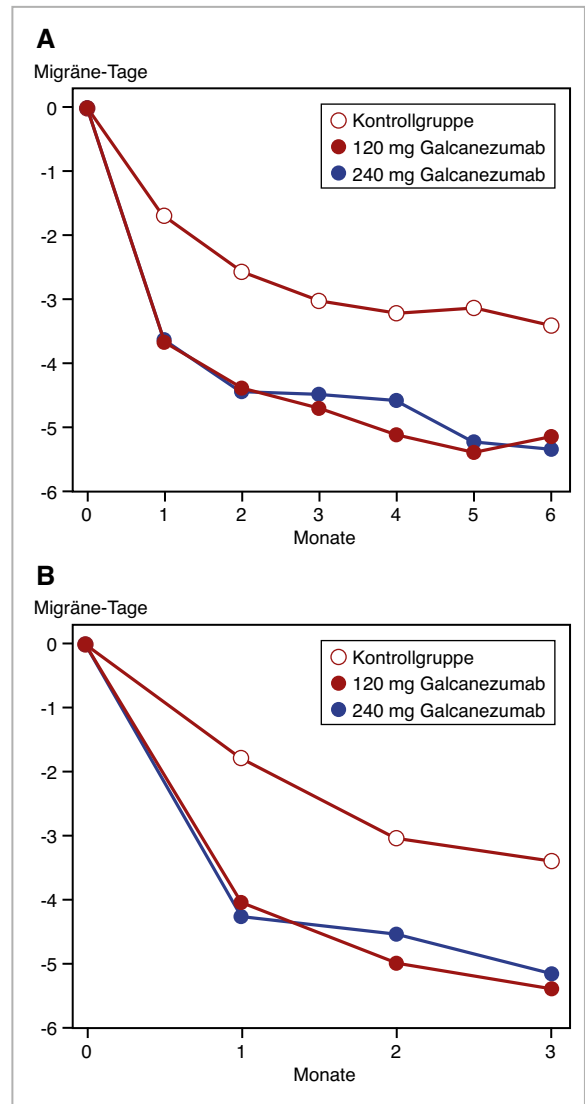
Ajovy® wird in Fertigspritzen als Injektionslösung mit 225 mg Fremanezumab ausgeliefert. Das Arzneimittel wird einmal alle 3 Monate subkutan appliziert.

**Wirkmechanismus:** Fremanezumab neutralisiert den freien Agonisten CGRP vor Bindung an den CGRP-Rezeptorkomplex. Durch die ausbleibende CGRP-vermittelte Signalgebung wird die Vasodilatation intrakranieller Gefäße sowie eine Freisetzung von schmerzinduzierenden Mediatoren an den nozizeptiven Nervenendigungen des Trigeminus verringert. Der Antikörper hat eine Halbwertszeit von 31–39 Tagen und kann daher in vierteljährlichen Intervallen angewendet werden.

**Indikation:** Ajovy® ist zugelassen zur Migräneprophylaxe bei Erwachsenen mit mindestens vier Migränetagen pro Monat (Quelle: EMA; EPAR Ajovy®).

### Eptinezumab (Vyepiti®)

**Wirkstoff:** Eptinezumab ist ein humanisierter IgG<sub>1</sub>-Antikörper. Die variablen Regionen stammen ursprünglich aus einem Kaninchen-Antikörper und wurden für die Nutzung in Eptinezumab humanisiert. Der Antikörper Eptinezumab besteht wie üblich aus zwei leichten



• **Abb. 18.4** Wirksamkeit von Galcanezumab. A Daten aus der EVOLVE-1-Studie (Patienten mit episodischer Migräne). B Daten aus der REGAIN-Studie (Patienten mit chronischer Migräne). Gezeigt ist die mittlere Änderung an Migräne-Kopfschmerztagen im Vergleich zum Beginn der Studie.  $p \leq 0,002$  in beiden Verumgruppen in jedem Monat im Vergleich zu Placebo. Quellen: Stauffer et al.: JAMA Neurol. 75 (2018), 1080–1088; Detke et al.: Neurology 91 (2018), e2211–e2221.

und zwei schweren Ketten und hat ein Molekulargewicht von ca. 143 kDa. Der Vollantikörper wird in rekombinanten *Pichia-pastoris*-Zellen produziert. Die Hefezellen sezernieren den Antikörper in das Medium, aus dem das Protein unter anderem durch Affinitätschromatographie an Protein A gereinigt wird.

Vyepiti® ist ein Konzentrat mit 100 mg Eptinezumab in 1 ml zur Herstellung einer Infusionslösung. Das Arzneimittel wird alle 12 Wochen als intravenöse Infusion angewendet.

**Wirkmechanismus:** Eptinezumab bindet den beide Isoformen des *Calcitonin gene-related peptide* ( $\alpha$ -CGRP und  $\beta$ -CGRP) mit Affinitäten ( $K_d$ ) von 4 pM bzw. 3 pM. Durch die Neutralisierung von freiem CGRP wird die durch CGRP vermittelte Vasodilatation intrakranieller Gefäße sowie eine Freisetzung von schmerzinduzierenden Mediatoren an den nozizeptiven Nervenendigungen des Trigeminus verringert. Die schnelle und vollständige Bioverfügbarkeit nach intravenöser Infusion soll eine schnelle Blockade des zirkulierenden CGRP

herbeiführen, sodass ein rascher Eintritt der Wirkung zu erwarten ist. Eptinezumab bindet mit mindestens 100 000-fach geringerer Affinität an andere Neuropeptide wie Amylin, Calcitonin, Adrenomedullin oder Intermedin. Der Antikörper hat eine Halbwertszeit von 27 Tagen und kann daher in 12-wöchigen Intervallen angewendet werden.

**Indikation:** Vyepti<sup>®</sup> wird angewendet zur Migräneprophylaxe bei Erwachsenen mit mindestens 4 Migränetagen pro Monat (Quelle: EMA; EPAR Vyepti<sup>®</sup>).