

## Redaktion

L. Weber, Köln  
 F. Zepp, Mainz



F. Kowalzik<sup>1</sup> · J. Faber<sup>1</sup> · M. Knuf<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsmedizin Mainz, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, Deutschland

<sup>2</sup> Klinik für Kinder und Jugendliche, HELIOS Dr. Horst Schmidt Kliniken, Wiesbaden, Deutschland

## Korrelate für Infektionsschutz nach Impfung

Seit ihrer Entwicklung vor gut 250 Jahren gehört das Prinzip der Impfprävention zu den wichtigsten Errungenschaften der modernen Medizingeschichte. Trotz enormer Fortschritte in den letzten Dekaden im Hinblick auf die Bereitstellung effektiver und verträglicher Impfstoffe besteht heute die Herausforderung darin, langfristig wirksame Vakzine gegen intrazelluläre Erreger wie Mykobakterien, human immunodeficiency virus oder Plasmodien verfügbar zu machen. Die Entwicklung moderner Impfstoffe ist ein ressourcen- und zeitaufwendiger Prozess und durchläuft schon vor dem klinischen Einsatz am Menschen eine Reihe von Studienphasen, beginnend mit experimenteller Forschung am Tiermodell. Das zentrale Ziel einer Impfung ist der Schutz vor einer Infektionskrankheit. Dieser wichtige Parameter, der letztendlich die Wirksamkeit einer Impfung beschreibt, lässt sich in klinischen Studien allerdings nicht immer gut erfassen. Insbesondere, wenn die Infektionsereignisse selten sind, wie z. B. bei der Meningokokken-Typ-B-Infektion (weniger als 250 Fälle/Jahr in Deutschland), können die Effekte eines Impfstoffs zunächst nur indirekt durch immunologische Surrogatmarker beschrieben werden. Hierzu sind groß angelegte, prospektive Feld- oder Fall-Kontroll-Studien mit hoher Probandenzahl nötig. Häufig sind es serologische Korrelate (Antikörperspiegel), mit deren Hilfe der Schutz nach Impfung und die Wirksamkeit von Impfstoffen beschrieben werden, wobei nur in wenigen Fällen ein direkter Zusammenhang zwischen dem serologischen Merkmal, meist eine impfantigenspezifische Antikörperkonzentration, und der Qualität

des erreichten Infektionsschutzes nachgewiesen ist. Den „Goldstandard“ für „Schutz nach Impfung“ stellen klinische Wirksamkeitsstudien dar, die allerdings mit serologischen Ergebnissen übereinstimmen können. Neuere Studien nutzen auch spezifische Antwortmuster von Subpopulationen der Lymphozyten, den Nachweis von Zytokinexpressionsmustern u. a., ohne dass diese technisch aufwendigeren Untersuchungen tatsächlich die impfstoffvermittelte Protektion zuverlässig beschreiben.

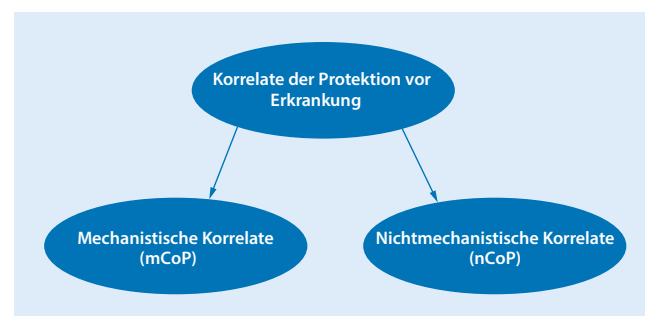
### Immunmarker

Die Identifikation von Immunmarkern als Korrelat des „Schutzes vor Infektion oder Erkrankung“ nach einer Impfung oder auch einer natürlichen Infektion ist bedeutend. Neben einem grundlegenden wissenschaftlichen Interesse ermöglichen sie die Entscheidung, welche Antigene Bestandteil eines Impfstoffs sein müssen, erlauben Aussagen über die Immunität eines Individuums oder einer ganzen Population und lassen den Vergleich der Ergebnisse unterschiedlicher Studien zu [18]. Als Korrelate des „ausreichenden“ Schutzes wird bevorzugt die

humorale Immunantwort erachtet, die in Form von als protektiv angesehenen Antikörpertitern/-konzentrationen im Blut des Impflings messbar ist [24]. Hierbei werden entweder „Cut-off“-Titer (z. B. 1:4 [Meningokokken, MenACWY]) oder Konzentrationen (z. B. 0,15 µg/ml [Haemophilus influenzae, Hib], 100 IU/ml [Hepatitis B] u. a.) angegeben. Die heute genutzten Grenzwerte sind z. T. klinisch erhoben worden oder werden anhand historischer Kohorten ermittelt. Auch Übertragungen von „schützenden Titern“ auf andere, verwandte Antigene sind üblich (z. B. MenC vs. MenACWY oder Influenzaimpfstoffe).

» Im Blut messbare Antikörpertiter stellen das bevorzugte Korrelat des „ausreichenden“ Schutzes dar

Der Nachweis der klinischen Wirksamkeit von Impfstoffen in Studien kann unter bestimmten Umständen nur schwer durchführbar sein, z. B. wenn es sich um Krankheiten handelt, die sehr selten sind oder die starke saisonale Schwankungen



**Abb. 1** ◀ Einteilung der Korrelate des Schutzes vor Erkrankung. (Plotkin und Gilbert [18])

**Tab. 1** Immunparameter oder Korrelate des Schutzes vor Erkrankung. (Thakur et al. [24])

Parameter	Mechanismus der Immunantwort	Korrelat des Schutzes
<b>Humoral</b>		
Neutralisierende Antikörper	Humoral	Korrelat
Serum-IgG	Humoral	Korrelat
IgG und IgA auf Mukosa	Humoral	Korrelat
<b>Zellvermittelt</b>		
IFN- $\gamma$	TH-1	Inkonsistente Daten
TNF- $\alpha$	TH-1	Nicht festgelegt
IL-2	TH-1	Nicht festgelegt
IL-17	TH-17	Nicht festgelegt
IL-1, -4, -10	TH-2	Nicht festgelegt
IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2	Polyfunktionale T-Zellen	Inkonsistente Daten
Tetramerspezifische Zellen der MHC-Klasse I und II	MHC-Restriktion	Nicht festgelegt

*IFN* Interferon, *Ig* Immunglobulin, *IL* Interleukin, *MHC* „major histocompatibility complex“, *TH* T-Helferzelle, *TNF* Tumor-Nekrose-Faktor

aufweisen. Auch die Entwicklung von Impfstoffen für erwartete Pandemien, für Krankheiten mit chronischen Infektionsverläufen oder ausgesprochen langen Latenzphasen gestaltet sich schwierig. In Fällen, bei denen der Impferfolg nicht am klinischen Zustand des Impflings festzumachen ist, begründet sich die Rationale zur Entwicklung von Impfstoffen oder gar die Zulassung derselben u. U. vollständig auf messbare Surrogatparameter oder immunologische Korrelate der Immunantwort nach der Impfung. Auch nach der Zulassung eines Impfstoffs sind es häufig (mehr oder weniger validierte) immunologische Korrelate, mit denen die Wirksamkeit des Impfstoffs in Studien beschrieben wird.

Entsprechend den Angaben der amerikanischen Zulassungsbehörde für Arzneimittel (Food and Drug Administration, FDA) ist die Definition eines solchen Korrelats ein mit dem Schutz nach Impfung assoziierter Laborparameter, der im Rahmen einer klinischen Erkrankung auftritt und in kontrollierten Studien nachgewiesen worden ist. Hieraus lässt sich ableiten, dass sich ein solches Korrelat des Schutzes nach Impfung („correlate of protection“, CoP) nur nach statistischer Analyse einer ausreichend großen Gruppe geimpfter, infizierter oder erkrankter Individuen, von denen ein Teil betroffen und ein anderer nicht betroffen ist, identifizieren lässt. In aktuell veröffentlichten Publi-

kationen erfolgt die Aufteilung der CoP in folgende 2 Gruppen (Abb. 1):

- mechanistische Korrelate der Protektion („mechanistic correlates of protection“, mCoP) und
- nichtmechanistische Korrelate der Protektion („non-mechanistic correlates of protection“, nCoP).

Erstgenannte sind definiert als immunologisch messbare Parameter, die ursächlich für den Schutz nach Impfung sind. Nichtmechanistische Korrelate der Protektion dagegen bezeichnen solche Parameter, die signifikant mit dem entsprechenden „Impfschutz“ korrelieren, aber nicht ursächlich für diesen verantwortlich sind [18]. In zahlreichen Fällen werden nach Impfungen allerdings Immunantworten analysiert, die statistisch nicht mit einem entsprechenden Schutz korrelieren. Solche als relevante Immunmarker zu bezeichnende Parameter, dürfen nicht mit den beschriebenen Korrelaten gleichgesetzt werden [22]. Davon wiederum abzugrenzen sind Surrogatmarker. Sie stellen messbare Laborparameter oder klinische Zeichen dar, die in klinischen Studien die Beeinflussung der Wirkung einer Intervention (z. B. Impfung) auf ein übergeordnetes medizinisches Phänomen (z. B. Auftreten eines Symptoms) anzeigen sollen. Surrogatmarker werden daher verwendet, um einen Schutz vor einer Erkrankung oder eine Verbesserung

des klinischen Zustands vorauszusagen, wenn ein entsprechendes „echtes Korrelat“ unbekannt ist oder nur mit erheblichem Aufwand ermittelt werden kann („Ersatzparameter“).

Bislang ist eine Vielzahl von immunologischen Markern untersucht worden, von denen man vermutet, dass sie mit dem Schutz nach einer Impfung korrelieren würden. Diese lassen sich in humorale „Korrelate“ und zellvermittelte, immunologische „Korrelate“ einteilen. In Abhängigkeit davon, welche spezifische Funktion der Immunantwort für den Schutz vor dem jeweiligen Erreger pathophysiologisch bedeutsamer erscheint (obligat intrazelluläres Pathogen, komplementaktiviert via Antikörper etc.), werden die entsprechenden Marker evaluiert. Eine Übersicht über die verschiedenen Immunparameter, für die ein derartiger Zusammenhang untersucht worden ist, zeigt Tab. 1.

Für die meisten Impfstoffe kann angenommen werden, dass das Individuum durch die Induktion von spezifischen Antikörpern geschützt wird, da viele Erreger das jeweilige Zielorgan extrazellulär über den Blutstrom erreichen [6]. Andere Mikroorganismen produzieren Toxine, die durch Antitoxine (im Fall von Impfungen Antikörper) neutralisiert und inaktiviert werden müssen, oder replizieren auf der Oberfläche der Mukosa, wo sie durch lokal produzierte Antikörper (Immunglobulin A, IgA) inaktiviert werden können. Gelegentlich, wie im Fall der Tollwut, besteht nur ein sehr kurzes Zeitfenster, kurz bevor das Virus das neuronale Axon infiltriert, indem es extrazellulär durch spezifische Antikörper angreifbar ist. Bei persistierenden intrazellulären Infektionserregern, wie etwa bei Mykobakterien oder Chlamydien, ist die humorale Immunantwort für den Infektionsschutz nicht ausreichend. In diesen Fällen ist die Induktion einer ausreichenden zellvermittelten Immunantwort („cell-mediated immunity“, CMI) erforderlich, um den intrazellulären lokalisierten Erreger zu eliminieren. Die Induktion einer spezifischen T-zellulären Impfantwort, speziell im Hinblick auf die CD8-positiven zytotoxischen T-Zellen, stellt allerdings komplexe Herausforderungen an die Formulierung des Impf-

stoffs und kann bisher eigentlich zuverlässig nur mit viralen Lebendimpfstoffen erreicht werden [12]. Die Entwicklung solcher Impfstoffe basiert wesentlich auf dem Verständnis der mikrobiologischen Pathogenität, den Interaktionen von Wirt und Pathogen sowie der Ausprägung der protektiven T-Zellantwort auf die entsprechende Infektion.

## Antikörper

Ein Beweis für die Annahme, dass Antikörper immunologische Korrelate des Schutzes nach Impfung darstellen, ergibt sich aus der klinischen Verbesserung des Patienten nach passiver Impfung oder durch den Nestschutz des Neugeborenen, also die schützende Wirkung diaplazentar übertragener, maternaler Antikörper in den ersten Monaten nach der Geburt [8]. Für einige impfpräventable Erkrankungen kann der durch Impfung erreichte Infektionsschutz durch Messung spezifischer Antikörperspiegel ermittelt oder zumindest abgeschätzt werden. Eine Übersicht über die Antikörperkonzentrationen, die für die einzelnen Erkrankungen als protektiv angesehen werden, gibt **Tab. 2**.

## » Die statistisch ermittelten Grenztiter garantieren keineswegs einen „Individualschutz“

Wichtig ist, dass solche Grenztiter statistisch ermittelt werden und daher keineswegs einen „Individualschutz“ garantieren. Außerdem ist zu beachten, dass erhebliche Unterschiede zwischen den zur Antikörpermessung eingesetzten Test-Kits bestehen (**Abb. 2**).

Ein weiteres Problem stellt der Zeitpunkt der Messung von Antikörpern nach einer Infektion bzw. Impfung dar. Beispielhaft gibt **Abb. 3** den zeitlichen Verlauf von IgM- und IgG-Konzentrationen nach einer primären Infektion mit dem Zytomegalievirus (CMV) wieder.

Die Kinetik der serologischen Parameter nach einer Impfung dürfte ähnlich ausfallen. Der Zeitpunkt zur Überprüfung eines schützenden Antikörperspiegels ist daher wichtig.

Monatsschr Kinderheilkd 2017 · 165:588–595 DOI 10.1007/s00112-017-0313-1  
© Springer Medizin Verlag GmbH 2017

F. Kowalzik · J. Faber · M. Knuf

## Korrelate für Infektionsschutz nach Impfung

### Zusammenfassung

Die Identifikation von Immunmarkern als Korrelate des Schutzes vor Infektion oder Erkrankung nach einer Impfung oder auch einer natürlichen Infektion ist bedeutend. Sie dienen der Vergleichbarkeit von Studien und können sogar entscheidend für die Zulassung von neuen Impfstoffen sein. Hierbei gilt es, Korrelate des Schutzes vor Erkrankung als messbare Marker des Immungeschehens von anderen Immunmarkern, wie etwa den sogenannten Surrogatmarkern, zu unterscheiden. Der vorliegende Beitrag liefert eine Übersicht über die Entwicklungen der letzten Jahre im Bereich der Forschung zu Markern oder Korrelaten des humoralen und

des zellulären Immunsystems. Nicht nur historisch sind es v. a. die nach einer Impfung gebildeten antigenspezifischen Antikörper, die den Impferfolg messbar machen und die mit dem Schutz, der beim Individuum erzielt wird, oftmals korrelieren. Heute lässt sich jedoch eine Vielzahl weiterer Parameter der Immunkaskade messen, deren Funktion im Folgenden bei der Beurteilung des Schutzes nach Impfung beschrieben wird.

### Schlüsselwörter

Immunität · Marker · Antikörper · T-Zellen · Zytokine

## Correlates for infection protection after vaccination

### Abstract

The identification of immune markers as correlates of protection against infection or disease after vaccination or even a natural infection is important. They serve for comparability of studies and can even be decisive for the approval of new vaccines. In this case correlates of immune protection against diseases as measurable markers of the immune response have to be distinguished from other immune markers, such as the so-called surrogate markers. This article provides an overview of recent developments in the field of research of markers and correlates of the humoral and cellular

immune systems. It is not only historically that antigen-specific antibodies resulting from vaccination make the success of the immune response measurable and often correlate with the individual level of protection; however, currently a large number of further parameters of the immune cascade can be measured. The corresponding function of these parameters in the assessment of vaccination protection is described.

### Keywords

Immunity · Markers · Antibodies · T-cells · Cytokines

Zusätzlich ist zu beachten, dass ein Korrelat, das für den Schutz nach einer Impfung steht, nicht zwangsläufig identisch mit dem tatsächlich wirksamen Schutzprinzip sein muss. Dies soll am Beispiel der Masernimpfung illustriert werden. Immunglobulin-G-Titer  $\geq 200$  mlU/ml gelten als protektiv gegenüber einer Infektion, wohingegen Titer zwischen 120 und 200 mlU/ml zwar vor den klinischen Symptomen der Erkrankung, nicht aber vor einer Infektion schützen sollen. Titer  $\leq 120$  mlU/ml gelten generell als nichtprotektiv [3]. Diese Bewertung vernachlässigt die Bedeutung der T-zellulären Immunantwort für die Überwindung einer viralen Infektion vollständig. Dass sich das humorale

und das zelluläre Immunsystem ergänzen, lässt sich jedoch ebenfalls am Beispiel von Masern aufzeigen. Während sich Menschen mit B-Zell-Defekten von einer Maserninfektion erholen können, führt ein T-Zell-Defekt zu einer schweren oder gar tödlichen Infektion. Früheren Annahmen zufolge beruht Immunität gegenüber intrazellulären Erregern auf einer CMI-Antwort (T-Helferzellen, TH1), während die Protektion gegenüber extrazellulären Erregern auf antikörpervermittelte Mechanismen (TH2) zurückzuführen ist. Dagegen geht man heute davon aus, dass intrazelluläre Erreger eine kombinierte TH1- und TH2-Immunantwort hervorrufen [5]. Neben der Möglichkeit der Neutralisa-

**Tab. 2** Korrelate des Impfschutzes nach Impfung, (Plotkin [17])

Impfstoff gegen	Test	Erforderlicher Level
Borreliose	ELISA	1100 EIA U/ml
Diphtherie	Toxinneutralisation	0,01–0,1 IU/ml
Frühsommer-Meningoenzephalitis	ELISA	125 IU/ml
Gelbfieber	Neutralisation	1:5-Verdünnung
Hepatitis A	ELISA	10 mIU/ml
Hepatitis B	ELISA	10 mIU/ml
Haemophilus influenzae (Konjugate)	ELISA	0,15 µg/ml
Haemophilus influenzae (Polysaccharide)	ELISA	1 µg/ml
Humane Papillomaviren	ELISA	Nicht festgelegt
Influenza	Hämagglutinationsinhibitionstest	1:40-Verdünnung
Japanische Enzephalitis	Neutralisation	1:10-Verdünnung
Masern	Mikroneutralisation	120 mIU/ml
Meningokokken	Bakterizid	1:4 (humanes Komplement)
Milzbrand	Toxinneutralisation	1000 IU/ml
Mumps	Neutralisation (?)	Nicht festgelegt
Pertussis	ELISA (Toxin)	5 Einheiten
Pneumokokken	ELISA; Opsonophagozytose	0,2–0,35 µg/ml (Kinder); 1/8 Verdünnung
Pocken	Neutralisation	1:20-Verdünnung
Polio	Neutralisation	1:4- bis 1:8-Verdünnung
Rotavirus	Serum-IgA	Nicht festgelegt
Röteln	Immunpräzipitation	10–15 mIU/ml
Tetanus	Toxinneutralisation	0,1 IU/ml
Tollwut	Neutralisation	0,5 IU/ml
Tuberkulose	Interferon	Nicht festgelegt
Varizellen	ELISA (FAMA gp)	≥1/64 Verdünnung; ≥5 IU/ml
Zoster	CD4+-Zellen; Lymphoproliferation	Nicht festgelegt

EIA U „Enzyme-linked Immunosorbent Assay Unit“, ELISA „Enzyme-linked Immunosorbent Assay“, FAMA gp „Fluorescent-antibody-to-membrane-antibody test, glycoprotein based“, Hib Haemophilus influenzae, Ig Immunglobulin, IU „international unit“

tion der Erreger in einer häufig zum Replikationszyklus gehörenden transienten extrazellulären Phase deutet vieles auf einen immunregulatorischen Effekt von Antikörpern auf die T-Zell-Immunität hin. Spezifische Isotypen von Antikörpern triggern die TH1-Aktivierung mithilfe der „Fragment-crystallisable“-Rezeptoren (FcR), indem sie Aufnahme, Verarbeitung und anschließende Präsentation von Antigenen des Erregers erleichtern. Insofern scheint eine effektive, also schützende T-Zell („Memory“)-Immunantwort eine effektive humorale Immunantwort vorauszusetzen.

### Neutralisierende Antikörpertiter

Schon früh galten persistierende Antikörper als Korrelat eines anhaltenden Schutzes nach einer Immunisierung [17]. Moderne Impfstoffe induzieren eine verlässliche, mithilfe unterschiedlicher Methoden messbare Immunantwort. Insbesondere der Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) sowie Hämagglutinations- und Neutralisationsteste kommen hierbei zur Anwendung. So konnten im Verlauf der Zeit, wie im Fall eines Windpockenimpfstoffs in den 1970er-Jahren, Studien zeigen, dass ein neutralisierender Antikörpertiter von 1:20 bis

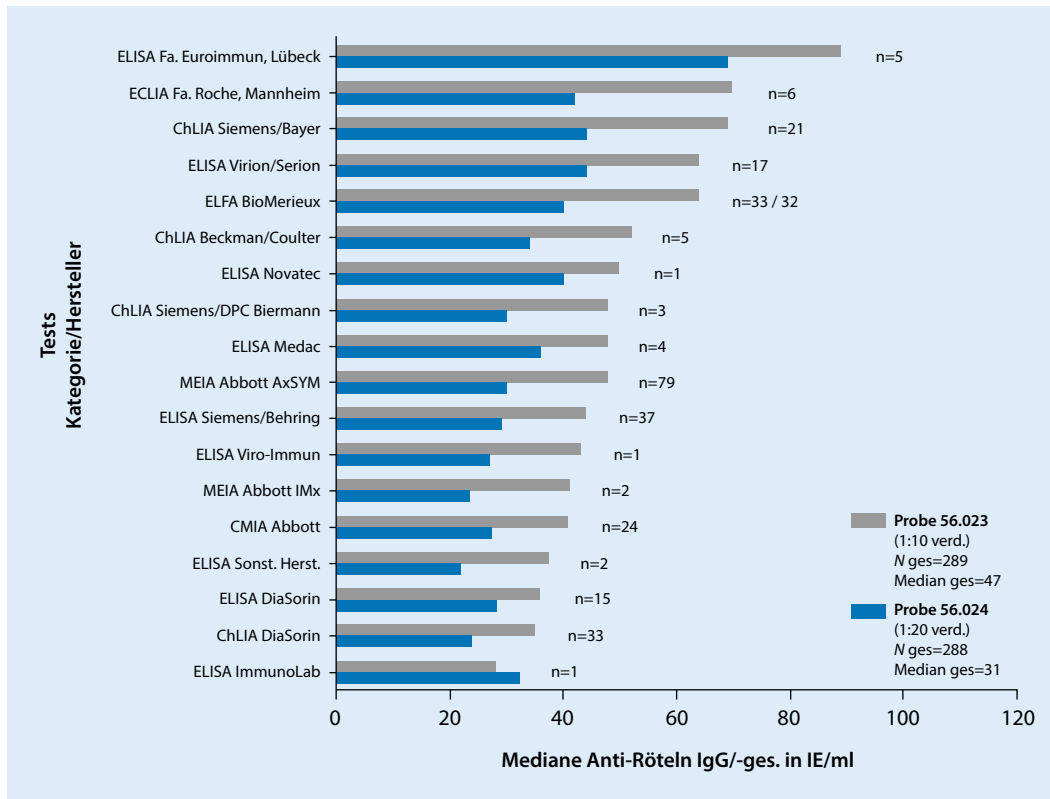
1:32 für einen ausreichenden Schutz notwendig ist [21]. Gleichmaßen sind für Toxine wie Tetanus- oder Diphtherietoxin sowie verschiedene intrazelluläre Pathogene neutralisierende Antikörpertiter, die mit einem Schutz nach einer Impfung mehr oder weniger korrelieren, beschrieben worden (■ Tab. 1). Antikörper sind in der Lage, ihre neutralisierende Wirkung auf unterschiedliche Weise zu entfalten. So interferieren sie mit den Bindungsrezeptoren des Virus, verhindern die Aufnahme von Viruspartikeln in die Zelle oder das „uncoating“, also die Freisetzung von viralen Nukleinsäuren aus der Kapsidhülle, oder führen gar zur Aggregation von ganzen Viruspartikeln. Darüber hinaus wird eine Reihe von hüllenträgenden Viren lysiert, wenn u. a. neutralisierende Antikörper auf sie treffen. Auch bei Mykobakterien, als den Prototyp einer CMI-Immunantwort, haben Studien zeigen können, dass es neutralisierende Antikörper der Subklassen IgG und IgA sind, die die Verbreitung des Bakteriums einzudämmen scheinen [25].

### Antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität

Mithilfe der antikörperabhängigen zellvermittelten Zytotoxizität („antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity“, ADCC) ist es Antikörpern möglich, eine Ausbreitung des Erregers zu verhindern und damit die Erkrankung zu limitieren. Typischerweise wird die ADCC durch natürliche Killerzellen vermittelt, in dem membrangebundene Fc-Rezeptoren (FcγRIII oder CD16), die an antikörpergekoppelte (IgG1 oder IgG3) Mikroben binden, in der Folge über Perforin, Granzyme, reaktiven Sauerstoff oder Zytokine den Tod des Erregers herbeiführen.

### » Ein Korrelat des Schutzes bei HIV-Antikörper-Therapie stellen ADCC-vermittelnde Antikörper dar

In ganz ähnlicher Weise ist dies bei neutrophilen oder eosinophilen Granulozyten sowie Makrophagen möglich. Neuere



**Abb. 2** „Ringversuch Virusimmunologie Röteln (341)“ mit 2 Proben zur Bestimmung des Röteltiters, differenziert nach unterschiedlichen ELISA-Test-Kits, Juni 2008 (Zeichhardt [26]). Proben 56.023 und 56.024; 30. Anti-Röteln-Immunglobulin G/gesamt. (ROE-IgG/-ges); Vergleich der Mediane für die Proben 56.023 (positiv, 1:10 verd.) und 56.024 (positiv, 1:20 verd.). *ChLIA* Chemilumineszenz-Immunoassay, *CMIA* Chemilumineszenz-Micropartikel-Immunoassay, *ECLIA* Elektro-Chemilumineszenz-Immunoassay, *ELFA* Enzym-Linked-Fluoreszenz-Assay, *ELISA* Enzyme-linked Immunosorbent Assay, *MEIA* Mikropartikel-Enzym-Immunoassay

Studien zeigen, dass ADCC-vermittelnde Antikörper ein vielversprechendes Korrelat des Schutzes bei der Therapie mit HIV-Antikörpern darstellen [2]. Bisher galten virusspezifische neutralisierende Antikörper und zytotoxische T-Zellen als die entscheidenden Korrelate.

### Immunglobulinklassen und deren Subklassen

Wie bereits ausgeführt, vermitteln die meisten Impfstoffe durch die Bildung von Serum-IgG sowie Mukosa-IgG und -IgA einen humoralen Schutz nach einer Impfung. Dabei zeigt sich, dass der erreichte Titer häufig mit der Ausprägung des erreichten Schutzes korreliert. Immunglobuline A sind die wesentlichen Antikörper, die v. a. auf der mukosalen Oberfläche des Intestinums und des Respirationstrakts sezerniert werden. Sie vermitteln Schutz durch Neutralisation und haben eine geringere Fähigkeit zur Opsonierung und Komplementaktivierung als das IgG [4]. Beide, IgG und IgA, sind in der Lage, sowohl Bakterientoxine zu neutralisieren als auch die Adhäsion von Bakterien an Wirtszellen zu verhindern.

In Untersuchungen mit dem nasalen Influenzaimpfstoff korrelierten IgG- und IgA-Titer mit dem Grad des Schutzes durch die Vakzine [7]. Dabei konnte gezeigt werden, dass Kinder, die nachweislich keinen der beiden Antikörper auf der Mukosa aufwiesen, in 63 % der Fälle Viren streuten, gegenüber 3 % der geimpften Kinder, die wahrscheinlich durch die Impfung Antikörper gebildet haben.

### B-Gedächtnis-Zellen („memory cells“)

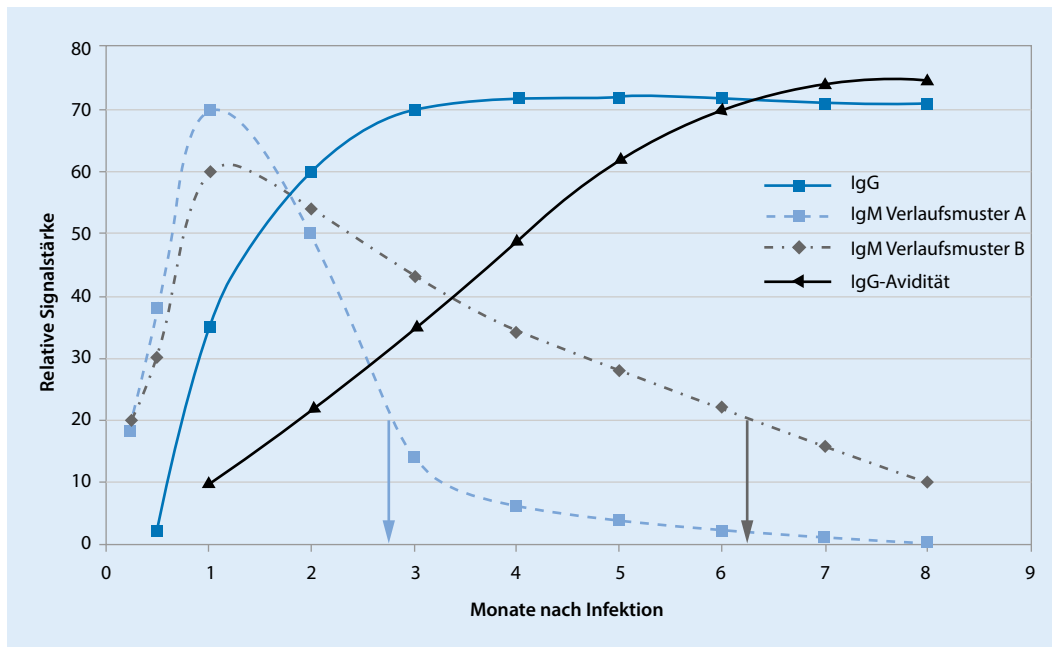
Gedächtniszellen sind vor über 50 Jahren im Rahmen der Entwicklung des Varizellenimpfstoffs identifiziert worden. Sie stellen eine Art zweite Verteidigungslinie dar, indem sie dann ihre Wirkung entfalten, wenn die Konzentration der vorhandenen Antikörper zu niedrig ist, um das entsprechende Pathogen zu bekämpfen. Gedächtniszellen sind für die Dauer des durch Impfungen erzeugten Infektionsschutzes verantwortlich. Abhängig von den Impfantigen kann der Schutz nach Impfung nur wenige Jahre, aber auch Jahrzehnte und in Ausnahmefällen lebenslang anhalten. Wiederholungsimp-

fungen sind geeignet das immunologische Gedächtnis zu reaktivieren und die Dauer des Schutzes nach einer Impfung zu prolongieren.

Impfantigen-spezifische B-Zellen sind durch verschiedene Messmethoden nachweisbar (u. a. ELISpot, Zytometrie). Die Bedeutung von zirkulierenden B-Zellen für den Schutz nach einer Impfung ist auch heute noch nicht vollständig verstanden. Während B-Zellen in der Lage sind, das Fortschreiten einer chronischen Hepatitis durch Impfung günstig zu beeinflussen [14], haben Studien nur eine sehr schwache Korrelation von zirkulierenden intestinalen B-Zellen und dem entsprechenden Schutz nach einer Rotavirusimpfung belegt [20]. Andererseits konnte ein therapeutischer Effekt nach Applikation von spezifischen aktivierten B-Zellen bei bestimmten Infektionen nachgewiesen werden [13].

### Zellvermittelte Immunität

Gerade für intrazelluläre Infektionen stellt die alleinige Betrachtung der humoralen Immunantwort nur ein eingeschränktes Korrelat der Immunität dar.



**Abb. 3** ◀ Relative Änderungen der IgM-, IgG- und IgG-Avidität-Level nach primärer Zytomegalieinfektion im zeitlichen Verlauf. Ig Immunglobulin. (Prince und Lapé-Nixon [19])

Seit vielen Jahren ist die zellvermittelte Immunität (CMI) daher Gegenstand intensiver Forschung. Dabei wurden unterschiedliche Eigenschaften von T-Zellen, wie etwa Funktion, Phänotyp, Antigen-spezifität sowie „Major-histocompatibility-complex“ (MHC)-Zuordnung, als Korrelate für die Protektion nach einer Infektion oder Immunisierung in Betracht gezogen. Letztlich stellt heute die Messung der immunologischen, antigenspezifischen CD4+ und CD8+ T-Zell-Antworten, in Form von Zytokinen, die nach der Aktivierung der Zelle sezerniert werden, die Methode der Wahl dar. Insgesamt sind diese Analysen jedoch technisch aufwendig und werden im Regelfall nur bei spezifischen wissenschaftlichen Fragestellungen eingesetzt. In der Routine sollten derartige Laborverfahren zur Überprüfung des Impferfolgs, wenn dies überhaupt notwendig ist, nicht eingesetzt werden, sondern sind nur bei ganz speziellen Fragestellungen angezeigt.

### CD4+-T-Helferzellen und Zytokine

Die CD4+-T-Zellen üben eine wichtige koordinierende Funktion in der gesamten Immunkaskade aus. Nachdem diese einen Antigen, das von MHC-Klasse-II-Zellen (dendritische Zelle, Makrophagen) präsentiert worden ist, erkannt

haben, differenzieren sich die so aktivierten CD4+-Zellen in Subgruppen, sog. T-Helfer-1- (TH1), TH2-, TH17- oder regulatorische T-Zellen (Treg-Zellen). Ihre Wirkung entfalten die TH1-Zellen durch die Sekretion von Zytokinen, wie Interferon(IFN)- $\gamma$ , Tumornekrosefaktor(TNF)- $\alpha$  und Interleukin(IL)-2. Sie sind auch in die Differenzierung von CD8+-T-Zellen eingebunden. In vielen Studien wird heute die Sekretion spezieller Zytokine durch die T-Zellen als Marker einer durch den Impfstoff ausgelösten CMI gemessen. Heute ist es möglich, die Konzentration an Zytokinen schon in einer sehr frühen Phase der Immunantwort auf RNA-Ebene zu messen. Dies geschieht mithilfe einer reversen Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion („reverse transcription polymerase chain reaction“, RT-PCR). Auch für die Messung des fertigen Proteins stehen unterschiedliche Methoden (ELISA, ELISpot) zur Verfügung.

» Marker einer impfstoffausgelösten CMI ist die Sekretion spezieller Zytokine durch T-Zellen

Interferon- $\gamma$  ist ein Zytokin der TH1-Kaskade und nimmt eine wichtige Rolle

bei der durch Impfstoffe induzierten Immunantwort zur Bekämpfung von Infektionen ein. Ein Beispiel hierfür ist die Bacille-Calmette-Guérin(BCG)-Impfung gegen Tuberkulose, bei der CD4+-T-Zellen gebildet werden, die bei Stimulation mit dem entsprechenden Antigen IFN- $\gamma$  produzieren. Die Messung der durch Antigen stimulierten und von mononuklearen Zellen sezernierten IFN- $\gamma$ -Konzentration gehört heute ebenfalls zu den in der Routine verwendeten Methoden, um die T-Zell-Immunantwort nach Infektion oder Impfung zu erfassen. Solche Interferon- $\gamma$ -Tests (Interferon Gamma Release Assay, IGRA) wurden erstmalig 2001 in den USA zugelassen. Hierbei handelte es sich um den QuantiFERON-TB-Test (QFT, Qiagen, Venlo, Niederlande) zum Nachweis von Tuberkulose.

Trotz der unbestrittenen, wichtigen Rolle im Rahmen der Immunabwehr korreliert die Produktion von IFN- $\gamma$  nicht unbedingt mit der Ausprägung des Schutzes vor der Erkrankung [15]. In Studien konnte gezeigt werden, dass der Schutz gegenüber *Mycobacterium tuberculosis*-Infektionen nicht mit dem Level des von CD4+-Zellen sezernierten IFN- $\gamma$  korrelieren [11]. Vielmehr gibt es neuere Hinweise, dass CD4+-Zellen direkten Einfluss auf das Wachstum von

Tuberkulosebakterien haben, auch ohne IFN- $\gamma$  oder TNF- $\alpha$  zu sezernieren [10].

Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  wird von T-Effektorzellen sezerniert und vermittelt u. a. die Zerstörung von Zellen, die mit intrazellulären Erregern befallen sind. Ebenso scheint das IL-2 eine Rolle bei der Vermehrung von T-Zellen sowie eine zentrale Bedeutung in der Abwehrkaskade zu besitzen. Somit lässt sich feststellen, dass T-Zellen mit ihrer Fähigkeit, verschiedenste Zytokine im Bedarfsfall zielgerichtet zu sezernieren, gut mit dem durch sie getriggerten Immungeschehen korrelieren [1, 9].

### Zytotoxische CD8+-T-Zellen

In den vergangenen Jahren haben sich viele Arbeitsgruppen damit beschäftigt, antigenspezifische zytotoxische CD8+-T-Zellen („cytotoxic T lymphocyte“, CTL) zu isolieren. Um die spezifische Funktion zu beschreiben und messbar zu machen, kamen verschiedene Methoden zur Anwendung (u. a.  $^{51}\text{Cr}$ -Release Assay, MHC-Tetramer Technologie, ELISA, ELISpot). Neuere Methoden zielen darauf ab, die durch Exozytose freigesetzten zytotoxischen Proteine, wie etwa Perforin, Granzyme, aber auch Zytokine, wie IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4 und IL-10, zu messen [27], da diese mit dem jeweiligen Aktivierungsgrad der unterschiedlichen spezifischen CTL korrelieren, der für die Aktivierung und nachfolgende Immunabwehr von T-Zellen notwendig ist [23]. Bei der MHC-Tetramer-Technologie werden 4 MHC-Moleküle, synthetisch hergestellte pathogenspezifische Peptide und fluoreszierende Marker kombiniert sowie auf diesem Weg ex vivo direkt die Funktion der antigenspezifischen CTL gemessen [16].

### Fazit für die Praxis

- Zu vermeintlichen Korrelaten des Schutzes nach Immunisierung hat es in der Vergangenheit eine Vielzahl von Untersuchungen gegeben. Verlässliche Korrelate des Schutzes nach Immunisierung oder Erkrankung, die eine Beurteilung in der Praxis zulassen, gibt es nur wenige.

- Den „Goldstandard“ für den „Schutz nach Impfung“ stellen klinische Wirksamkeitsstudien dar, die allerdings mit serologischen Ergebnissen übereinstimmen können.
- Nach wie vor bieten die nach Immunisierungen oder Erkrankung produzierten Antikörper die einfachste Möglichkeit, die erfolgreiche Immunantwort und möglicherweise auch den Schutz nach Infektion oder Immunisierung einzuschätzen.
- Limitationen der routinemäßigen Antikörpermessung liegen in den jeweiligen Messverfahren (ELISA), die unterschiedliche Spezifitäten und Sensitivitäten aufweisen. Auch der Zeitpunkt der Messung im individuellen Verlauf der Immunreaktion auf ein Antigen kann sehr bedeutend sein und zu erheblichen Unterschieden der Messergebnisse führen.
- In der Routine sollten Laborverfahren zur Überprüfung des Impferfolgs nicht eingesetzt werden; diese sind nur bei ganz speziellen Fragestellungen angezeigt.

### Korrespondenzadresse

#### Dr. F. Kowalzik

Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin,  
Universitätsmedizin Mainz, Johannes  
Gutenberg-Universität  
Langenbeckstr. 1, 55131 Mainz, Deutschland  
frank.kowalzik@unimedizin-mainz.de

### Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** F. Kowalzik, J. Faber und M. Knuf geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Dieser Beitrag beinhaltet keine von den Autoren durchgeführten Studien an Menschen oder Tieren.

### Literatur

1. Abel B, Tameris M, Mansoor N, Gelderbloem S, Hughes J, Abrahams D et al (2010) The novel tuberculosis vaccine, AERAS-402, induces robust and polyfunctional CD4+ and CD8+ T cells in adults. *Am J Respir Crit Care Med* 181:1407–1417
2. Ahmad A, Menezes J (1996) Antibody-dependent cellular cytotoxicity in HIV infections. *FASEB J* 10:258–266
3. Asabe SSF et al (2009) The size of the viral inoculum contributes to the outcome of hepatitis B virus infection. *J Virol* 83:9652–9662

4. Azevedo MS, Yuan L, Iosef C, Chang KO, Kim Y, Nguyen TV et al (2004) Magnitude of serum and intestinal antibody responses induced by sequential replicating and nonreplicating rotavirus vaccines in gnotobiotic pigs and correlation with protection. *Clin Diagn Lab Immunol* 11:12–20
5. Balsitis SJ et al (2010) Lethal antibody enhancement of dengue disease in mice is prevented by Fc modification. *PLoS Pathog* 6:e1000790
6. Belshe RB et al (2000) Correlates of immune protection induced by live, attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine. *J Infect Dis* 181:1133–1137
7. Belshe RB, Gruber WC, Mendelman PM, Mehta HB, Mahmood K, Reisinger K et al (2000) Correlates of immune protection induced by live, attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine. *J Infect Dis* 181:1133–1137
8. Bizzini B (1984) Tetanus. In: Germanier R (Hrsg) *Bacterial vaccines*. Harcourt Brace Jovanovich, New York, S37–68
9. Darrah PA, Patel DT, De Luca PM, Lindsay RW, Davey DF, Flynn BJ et al (2007) Multifunctional TH1 cells define a correlate of vaccine-mediated protection against *Leishmania major*. *Nat Med* 13:843–850
10. Gallegos AM, van Heijst JW, Samstein M, Su X, Pamer EG, Glickman MS (2011) A gamma interferon independent mechanism of CD4 T cell mediated control of *M. tuberculosis* infection in vivo. *PLoS Pathog* 7:e1002052
11. Kagina BM, Abel B, Scriba TJ, Hughes EJ, Keyser A, Soares A et al (2010) Specific T cell frequency and cytokine expression profile do not correlate with protection against tuberculosis after bacillus Calmette–Guerin vaccination of newborns. *Am J Respir Crit Care Med* 182:1073–1079
12. Kaufmann SH (2007) The contribution of immunology to the rational design of novel antibacterial vaccines. *Nat Rev Microbiol* 5:491–504
13. Klenovsek K, Weisel F, Schneider A, Appelt U, Jonjic S, Messerle M et al (2007) Protection from CMV infection in immunodeficient hosts by adoptive transfer of memory B cells. *Blood* 110:3472–3479
14. Lin YC, Chang MH, Ni YH, Hsu HY, Chen DS (2003) Long-term immunogenicity and efficacy of universal hepatitis B virus vaccination in Taiwan. *J Infect Dis* 187:134–138
15. Mittrucker HW, Steinhoff U, Kohler A, Krause M, Lazar D, Mex P et al (2007) Poor correlation between BCG vaccination-induced T cell responses and protection against tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:12434–12439
16. Patch JR, Pedersen LE, Toka FN, Moraes M, Grubman MJ, Nielsen M et al (2011) Induction of foot-and-mouth disease virus-specific cytotoxic T cell killing by vaccination. *Clin Vaccine Immunol* 18:280–288
17. Plotkin SA (2010) Correlates of protection induced by vaccination. *Clin Vaccine Immunol* 17:1055–1065
18. Plotkin SA, Gilbert PB (2012) Nomenclature for immune correlates of protection after vaccination. *Clin Inf Dis* 54:1615–1617
19. Prince HE, Lapé-Nixon M (2014) Role of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity testing in diagnosing primary CMV infection during pregnancy. *Clin Vacc Immunol* 21:1377–1384
20. Rojas OL, Caicedo L, Guzman C, Rodriguez LS, Castaneda J, Uribe L et al (2007) Evaluation of circulating intestinally committed memory B cells in children vaccinated with attenuated human rotavirus vaccine. *Viral Immunol* 20:300–311
21. Sarkar JK, Mitra AC, Mukherjee MK (1975) The minimum protective level of antibodies in smallpox. *Bull World Health Organ* 52:307–311

22. Schodel F (2011) Immunological correlates of vaccine-derived protection foundation merieux conference center 'les pensieres' Veyrier-du-lac, France, Sept. 20–22. 2010. *Vaccine* 29:9575–9577
23. Seder RA, Darrah PA, Roederer M (2008) T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design. *Nat Rev Immunol* 8:247–258
24. Thakur A, Pedersen LE, Jungersen G (2012) Immune markers and correlates of protection for vaccine induced immune responses. *Vaccine* 30:4907–4920
25. Williams A, Reljic R, Naylor I, Clark SO, Falero-Diaz G, Singh M et al (2004) Passive protection with immunoglobulin A antibodies against tuberculous early infection of the lungs. *Immunology* 111:328–333
26. Zeichhardt H (2008) INSTAND-Ringversuch Virusimmunologie Röteln (341) (Teste auf Anti-Röteln-IgG/gesamt und Anti-Röteln-IgM) 2008. [https://www.instand-ev.de/uploads/tx\\_nfextinstandpdf/341\\_Roeteln\\_Juni\\_2008\\_20080819\\_01.pdf](https://www.instand-ev.de/uploads/tx_nfextinstandpdf/341_Roeteln_Juni_2008_20080819_01.pdf). Zugegriffen: 01.05.2017
27. Zuber B, Levitsky V, Jonsson G, Paulie S, Samarina A, Grundstrom S et al (2005) Detection of human perforin by ELISpot and ELISA: ex vivo identification of virus-specific cells. *J Immunol Methods* 302:13–25

## In eigener Sache



### Galenus-von-Pergamon-Preis 2017

11 Arzneimittel-Innovationen gehen ins Rennen

**Mit dem von der Springer Medizin Verlag GmbH gestifteten Galenus-von-Pergamon-Preis werden herausragende Arzneimittelinnovationen gewürdigt. Der Preis wird in den Kategorien „Primary Care“, „Specialist Care“ und „Orphan Drugs“ vergeben. Über die Zuerkennung entscheidet eine unabhängige Expertenjury. Hier stellen wir Ihnen einen Kandidaten vor:**

#### **Afstyla® (Lonoctocog alfa)**

Bei Patienten mit schwerer Hämophilie A können bereits leichte Traumata zu Muskel- oder Gelenkblutungen führen, oder es treten spontan Blutungen auf. Ein Ziel der Prophylaxe mit Faktor-VIII-Gaben ist es daher, den Faktor-VIII-Blutspiegel unmittelbar vor der nächsten Dosis auf über ein Prozent zu heben. Dazu sind mehrmals wöchentlich intravenöse Injektionen erforderlich, die die Patienten oft als belastend empfinden.

Seit Februar 2017 steht mit Lonoctocog alfa (Afstyla®) von CSL Behring ein neues Faktor-VIII-Konzentrat zur Verfügung, das sich durch eine verlängerte Eliminationshalbwertszeit und damit länger anhaltende Wirkung auszeichnet. Erreicht wurde dies, indem die normalerweise zweikettige Struktur des Faktor VIII hin zu einem stabileren, einkettigen Protein (SingleChain-Polypeptid) verändert worden ist. Als Arzneimittel resultiert daraus ein homogenes Faktor-VIII-Konzentrat, das im Unterschied zu konventionellen Faktor-VIII-Präparaten kaum Einzelkettenbruchstücke enthält. Außerdem hat das Molekül eine hohe Affinität zum von-Willebrand-Faktor, der es vor dem vorzeitigen Abbau schützt.

**Quelle: [www.aerztezeitung.de](http://www.aerztezeitung.de)**