

## Altes Molekül im Aufwind – mRNA als Tumorstoffe

Derzeit dreht sich alles um SARS-CoV2, und mRNA-Impfstoffe werden immer wieder als Neuheit gepriesen. Doch an mRNA-Ansätzen für Prophylaxe und Therapie wird schon seit Jahrzehnten geforscht. Das alte Wirkprinzip kombiniert mit modernem Next Generation Sequencing (NGS) bietet neue Möglichkeiten bei der Entwicklung individualisierter Tumorstoffe.

### RNA – uraltes Molekül – neue Chancen

Messenger RNA (mRNA) ist das Bindeglied zwischen der Erbinformation in Form von DNA und den zellulären Proteinen. Sobald eine Zelle Signale zum Ablesen ihrer DNA erhält, wird mRNA gebildet, ins Zytoplasma der Zelle transportiert und als Matrize für die Proteinsynthese genutzt. mRNA ist ein ideales Transportmolekül für zelluläre Erbinformation, besitzt die Fähigkeit zum Self-Assembly und ist in Form von Ribozymen katalytisch aktiv (1).

Eine der Theorien zur Entstehung unseres Lebens, die RNA-Welt-Hypothese, geht sogar davon aus, dass unser Leben vor mehr als 3,5 Milliarden Jahren aus RNA entstand. Diese sich selbst reproduzierenden RNA-Moleküle haben sich laut Theorie zu Mikrotröpfchen zusammengefunden und so den Ursprung der heutigen Zellen gebildet. Als es später zur Entwicklung von DNA und Proteinen kam, blieb die RNA als Bindeglied zwischen beiden erhalten (2).

### Erste Ansätze mit mRNA in der Medizin

Seit Paul Ehrlichs These, dass unser Immunsystem auch gegen Krebserkrankungen vorgeht, untersucht die Wissenschaft Möglichkeiten für die Therapie. So wurde in den 1990er Jahren immer deutlicher, dass T-Zellen tatsächlich in der Lage sind, Tumorzellen zu erkennen, was die Idee der Immuntherapie förderte (3). Seitdem wird auch untersucht, wie mithilfe von mRNA tumorspezifische T-Zell-Antworten induziert und verstärkt werden können. Im Jahr 2000 wurde dann von dem späteren Mitbegründer des Unternehmens CureVac erstmals publiziert, dass sowohl nackte als auch Liposomen-verpackte RNA-Protein-Komplexe spezifische T-Zellen und Antikörper induzieren (4). Nach diesen Experimenten im Mausmodell wurden 2008 die ersten Daten einer klinischen Phase-I/II-Studie mit Melanom-Patienten veröffentlicht, die Sicherheit und Machbarkeit des Verfahrens unter Einsatz von Gesamt-RNA aus Metastasen zeigten (5).

Seitdem wird weltweit an therapeutischen Tumorstoffen gearbeitet, immer mit dem Ziel, eine spezifische T-Zell-Aktivität gegen Tumorstoffe zu bewirken. Die verschiedenen Ansätze reichen von Antigen-beladenen dendritischen Zellen, Vektor-basiertem Antigen Delivery bis zu RNA-Nanopartikel-basierten Strategien (6, 7).

### **Von Tumor-assoziierten-Antigenen zu Neoantigenen**

Tumor-assoziierte-Antigene wie überexprimierte Antigene, Differenzierungsantigene und Testisantigene, können zwar in Patienten nachgewiesen werden, zeigen aber unterschiedlich gute Tumorspezifität und sind damit weniger gut als Antigen zur Vakzinierung geeignet. Dagegen scheinen tumorspezifische Antigene wie onkovirale Antigene, allgemeine Neoantigene (shared neoantigens, durch onkogene Drivermutationen entstanden) und individuelle Neoantigene ideal. Die Identifizierung von Tumorstoffen erfolgt inzwischen mittels NGS auf unternehmenseigenen Technologieplattformen wie EDGE (gritstoneoncology.com), RECON (Neon Therapeutics), FixVac (BioNTech) u.a. auf der Basis von Maschinellen Lernen. Die Fähigkeit zur Stimulation spezifischer T-Zell-Antworten wird in-vitro und in-vivo verifiziert (6, 7).

### **Individualisierte Tumorstoffe**

Etliche Unternehmen, die mit dem SARS-CoV2-Impfstoff deutlich an Bekanntheit gewonnen haben, wie BioNTech, Moderna und CureVac, haben in den letzten Jahren mRNA-basierte Pipelines mit Krebsimmuntherapeutika und prophylaktischen Impfstoffen aufgebaut.

Für die Individualized Neoantigen Specific Immunotherapy (iNeST) von BioNTech werden Mutationen in Blut- oder Gewebeproben der Tumorstoffpatienten analysiert (Mutationsmapping). In diesem sog. Mutanom werden mittels Bioinformatik Neoantigen-Sequenzen vorhergesagt, anhand derer im Labor mRNA-Moleküle durch in-vitro-Transkription hergestellt werden. Hierbei wird im Prinzip das Umschreiben von DNA in mRNA, wie es in der Zelle vorkommt, im Reagenzglas nachgestellt und mRNA zur Applikation im Patienten produziert. Wird die mRNA von den menschlichen Zellen aufgenommen, werden anhand der Sequenzen die codierten Proteine (Neoantigene) gebildet und dem Immunsystem präsentiert, um eine Immunantwort zu induzieren. Zur Optimierung der mRNA-Translation im Patienten enthalten die mRNA-Moleküle auch übliche Strukturelemente wie nicht-translatierte 5' und 3' Enden (5'-Cap und 3' UTR) und Poly (A)-Schwanz. Dies ermöglicht, dass nur geringste Mengen mRNA zur Induktion einer spezifischen T-Zell-Antwort ausreichen; BioNTech spricht hier von „Millionstel Gramm mRNA“ (8, 9).

RNA liegt auch in der natürlichen Zelle als anfälliger Einzelstrang vor und wird schnell durch Enzyme (RNasen) abgebaut. Im zellulären Kontext ist dies auch sinnvoll, weil die Menge und Dauer der RNA-Synthese bestimmt, wie lange und wie viel Protein letztlich gebildet wird. Auf diese Weise sind schnelle Anpassungen der Proteinsynthese an veränderte Bedingungen möglich (1). Um den zu raschen Abbau der Impfstoff- oder VakzinemRNA im Körper zu verhindern, ist die mRNA hier in Lipid-Nanopartikel (LNP) u.a. mit Cholesterin

und Polyethylenglykol (PEG) verpackt. Diese bilden eine Art schützende Hülle um die RNA und verbessern auch die Aufnahme in die Zellen. Das Verpacken in Nanopartikel ist eine gängige Methode zum Einbringen von Nukleinsäuren in Zellen, für die in Studien bereits die Unschädlichkeit gezeigt ist (1).

mRNA hat weitere Vorteile gegenüber anderen Vakzinierungsansätzen. So verstärkt freie RNA die Immunantwort, sodass keine weiteren Adjuvanzen als Wirkverstärker nötig sind (10), deren Einsatz häufig zu Diskussionen über Nebenwirkungen führt. Freie RNA bindet auf der Oberfläche von Zellen des angeborenen Immunsystems, wie Makrophagen, an Pattern Recognition Rezeptoren (PRRs) und stimuliert diese über Toll-like-Rezeptor (TLR)-abhängige und unabhängige Signalwege. Die PRRs sind Teil der Innate Immunity, deren Komponenten die Ausbildung einer spezifischen T-Zellantwort unterstützen (1, 11).

Allerdings darf die Reaktion nicht überschießen, was durch modifizierte RNA-Bausteine (Nukleotiden) und optimierte Sequenz der eingesetzten Antigene erreicht werden soll. Die Herstellung von ausreichend aber nicht übermäßig stimulatorischer mRNA ist eine der Herausforderungen bei der Vakzineentwicklung. Die geringe Halbwertszeit der mRNA unterstützt aber die Dosisfindung bei der Suche nach sicheren und wirksamen mRNA-Vakzinen (8).

### **Erste klinische Studie**

In einer ersten klinischen Studie zur iNeST mit 13 Melanom-Patienten war die Rezidiv-Rate signifikant gesenkt und bei den Patienten konnten Vakzin-spezifische T-Zellen nachgewiesen werden; für einzelne Patienten konnte auch gezeigt werden, dass die induzierten T-Zellen die Tumorzellen spezifisch erkannten (12). Die Studie demonstrierte somit, dass dieses Konzept der individualisierten Tumorstoffimpfung prinzipiell umsetzbar ist. Die relativ schnelle Entwicklung und Produktion der Vakzine ohne Einsatz von Bioreaktoren, die Möglichkeit der Variation des Impfantigens und die intrinsische Immunogenität der mRNA sind vorteilhaft. Ziel ist es nun, die Tumorstoffimpfung mit vorhandenen Immuntherapien im Patienten zu kombinieren.

Weltweit wird an etlichen Tumorstoffimpfung-Ansätzen gearbeitet, von denen einige inzwischen Phase 1 erreicht haben, wie bei BioNTech (fortgeschrittenes Melanom, Prostatakarzinom, HPV-16 positives Kopf-Hals-Karzinom, triple-negatives Mammakarzinom, Ovarialkarzinom), CureVac (kutanes Melanom, adenoidzystisches Karzinom, Haut/Kopf/Hals-Plattenepithelkarzinom, nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom) und anderen (6, 7, 13-15).

### **Technologieplattformen für Cytokin-codierende bis Antikörper-codierende mRNA**

Darüber hinaus nutzen die Unternehmen ihre Plattformen für die Entwicklung weiterer mRNA-Therapeutika, die sich mit Tumorstoffimpfungen gegebenenfalls kombinieren lassen. Beispiele sind Cytokin-codierende mRNAs, die direkt in den Tumor injiziert werden sollen. Mithilfe der im Tumor produzierten Modulatoren soll das Tumormikromilieu beeinflusst und die T-Zell-Aktivität gestärkt werden (9). Anders in Ansätzen der

Molekulartherapie: Hier geht es nicht darum, eine Immunreaktion im Patienten anzufachen, sondern die Produktion therapeutischer Moleküle wie Antikörper direkt im Körper zu induzieren (14).

## Hoffnung auch für Infektionskrankheiten

Aber auch außerhalb der Onkologie wird die mRNA-Technologie schon länger genutzt, beispielsweise, um prophylaktische Impfstoffe gegen eine Vielzahl von Infektionskrankheiten zu entwickeln. Wie beim COVID-19-Impfstoff von BioNTech und Moderna (USA) soll mithilfe der für Virusantigene codierenden mRNA-Matrize eine spezifische Immunantwort gegen die Viren induziert werden. So wird u.a. an Ansätzen gegen Lassavirus, Gelbfieberevirus, RSV (Respiratorisches Syncytial-Virus), Rotavirus, CMV (Cytomegalievirus), Influenza- und Rabiesviren (Tollwut) gearbeitet (13-15). Eine erste klinische Studie gegen Tollwut zeigte gute Verträglichkeit und antivirale Aktivität (16).

Auch in anderen Bereichen wurden Hoffnungen geweckt. So konnten Wissenschaftler gerade zeigen, wie eine experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis bei Mäusen mithilfe eines mRNA-Impfstoffs gehemmt werden konnte. Allerdings ist zu bedenken, dass es sich bei Multipler Sklerose um eine Autoimmunerkrankung handelt, bei der nicht einzelne, gezielt angreifbare Antigene bekannt sind, sondern ein komplexes Entzündungsgeschehen beherrscht werden müsste (17).

So gibt es bei all der Euphorie um mRNA-Therapeutika noch eine ganze Reihe von Herausforderungen zu bewältigen, und die Ansätze in den verschiedenen medizinischen Bereichen müssen sich erst in Studien beweisen. Die SARS-CoV-2-Pandemie hat die Forschung aber ein gutes Stück vorangebracht.

*Dr. rer. nat. Eva Gottfried*

Dr. rer. nat. Eva Gottfried

### *Literatur:*

(1) Parlea, L. et al. *Cellular Delivery of RNA Nanoparticles*. *ACS Comb Sci*. 2016;18(9):527-547. doi:10.1021/acscombsci.6b00073

(2) Informationsdienst Wissenschaft e.V. (idw). *Dem Ursprung des Lebens auf der Spur*. 8.10.2018. <https://nachrichten.idw-online.de/2018/10/08/dem-ursprung-des-lebens-auf-der-spur/>

(3) Rammensee, H.-G. *Individualisierte Immuntherapie von Tumorerkrankungen mittels*

*Peptidimpfstoffen – Funktioniert das vielleicht doch?* *Bundesgesundheitsbl* 2020, 63:1380–1387 <https://doi.org/10.1007/s00103-020-03227-3>

(4) Hoerr, I. et al *In vivo application of RNA leads to induction of specific cytotoxic T lymphocytes and antibodies*. *Eur J Immunol*. 2000;30(1):1-7. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200001\)30:1<1::AID-IMMU1>3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200001)30:1<1::AID-IMMU1>3.0.CO;2-%23)

(5) Weide, B. et al. *Results of the first phase I/II clinical vaccination trial with direct injection of mRNA*. *J Immunother*. Feb-Mar 2008;31(2):180-8. doi: 10.1097/CJI.0b013e31815ce501.

(6) Jou, J. et al. *The Changing Landscape of Therapeutic Cancer Vaccines—Novel Platforms and Neoantigen Identification*. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. October 29, 2020. doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-0245

(7) Guo, Y. et al. *Neoantigen Vaccine Delivery for Personalized Anticancer Immunotherapy*. *Front Immunol*. 2018;9:1499. doi:10.3389/fimmu.2018.01499

(8) Zylka-Menhorn, V. Genbasierte Impfstoffe: Hoffnungsträger auch zum Schutz vor SARS-CoV-2. Dtsch Arztebl 2020; 117(21): A-1100 / B-927.

<https://www.aerzteblatt.de/archiv/214122/Genbasierte-Impfstoffe-Hoffnungstraeger-auch-zum-Schutz-vor-SARS-CoV-2>

(9) BioNTech Platforms. <https://www.biontech.de/science/platforms>

(10) Dingermann, T. Mehr Details zum Biontech-Impfstoff. Pharmazeutische Zeitung online. 8.12.2020. <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/mehr-details-zum-biontech-impfstoff-122358/>

(11) Dalpke, A.H. et al. RNA mediated toll-like receptor stimulation in health and disease. RNA Biol. 2012;9(6):828-842. doi:10.4161/rna.20206

(12) Sahin, U. et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. Nature. 2017;547(7662):222-226.

doi:10.1038/nature23003

(13) BioNTech Pipeline. <https://www.biontech.de/science/pipeline>

(14) CureVac Pipeline. <https://www.curevac.com/pipeline/>

(15) Moderna. mRNA Therapeutics & Vaccines: Immuno-Oncology. <https://www.modernatx.com/pipeline/therapeutic-areas/mrna-personalized-cancer-vaccines-and-immuno-oncology>

(16) CureVac Announces Positive Results in Low Dose – 1 µg – Rabies Vaccine Clinical Phase 1 Study – CureVac. <https://www.curevac.com/en/2020/01/07/curevac-announces-positive-results-in-low-dose-1-%C2%B5g-rabies-vaccine-clinical-phase-1-study/>

(17) Deutsches Ärzteblatt online. mRNA-Vakzinierung nicht ohne weiteres auf Multiple Sklerose übertragbar. 15.1.202.

<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/120163/mRNA-Vakzinierung-nicht-ohne-weiteres-auf-Multiple-Sklerose-uebertragbar>