

Marion Maier

Dr. med.

**Novel sub-unit and whole-organism vaccination approaches against severe malaria in *Plasmodium berghei***

Fach/Einrichtung: Parasitologie/Hygiene

Doktorvater: Hr. Prof. Dr. rer. nat. Michael Lanzer

Seit Dekaden sinkt die durch *Plasmodium falciparum* verursachte globale Malaria-Inzidenz und Mortalität durch Maßnahmen wie Vektorkontrolle, Insektizid-behandelte Mückennetze, frühzeitige Diagnostik und Verfügbarkeit einer Artemisinin-Kombinationsbehandlung. Seit 2016 jedoch scheint die Zahl der globalen Malariafälle zu stagnieren und schwere Malaria bleibt ein verheerendes Gesundheitsproblem in Endemiegebieten. Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation ergaben für 2016 etwa 445,000 Malaria-Tote, von denen mehr als 90 % aus Subsahara-Afrika stammen und hauptsächlich Kinder unter fünf Jahren betrafen. Zerebrale Malaria ist der Hauptpathomechanismus der zum Tod von Kindern in Endemiegebieten führt. Zur Ergänzung des Maßnahmenkatalogs für die Bekämpfung der Erkrankung und Kindersterblichkeit durch Malaria wird ein sicheres und wirkungsvolles Vakzin dringend benötigt. In der vorliegenden Studie wurden zwei innovative Impfstoffansätze – entsprechend eines Peptidimpfstoffs und eines Lebendimpfstoffs – evaluiert, und zwar hinsichtlich der Schutzwirkung gegen zerebrale Malaria. Hierbei wurden Zell- und Zytokin-Antworten im Blut und in der Milz als potenzielle Immunkorrelate der Schutzwirkung untersucht. Zur Untersuchung von Aspekten der experimentellen zerebralen Malaria wurde das etablierte murine Model *Plasmodium berghei* ANKA in C57BL/6 Inzucht-Mäusen verwendet.

Der Peptidimpfstoff wurde in drei Dosen verabreicht und umfasste die Adjuvanz-formulierten prä-erythrozytären Antigene *PbPool* oder *PbF,FLP*. In der Milz von *PbPool*-vakzinierten Mäusen wurden bei der Antigen-Formulierung mit Adjuvanz 1 polyfunktionale Antigen-spezifische CD8<sup>+</sup> T-Zellen detektiert. Vergleichbare Ergebnisse wurden bei Formulierung der *PbPool*- und *PbF,FLP*-Antigene mit Adjuvanz 2 erzielt. Antigen A und B leisteten den größten Beitrag zu dieser Immunogenität innerhalb des untersuchten Peptidpools. Die induzierte Immunogenität der *PbPool*- und *PbF,FLP*-Vakzinierungen war jedoch nicht ausreichend um den klinischen Verlauf zu verändern und Schutz gegen experimentelle zerebrale Malaria in C57BL/6-Mäusen zu vermitteln. Nach einer natürlichen Infektions-Challenge durch Mosquitos wurde kein signifikanter Unterschied in der Parasiten-Leberlast von *PbPool*-vakzinierten Mäusen und den Kontrollgruppen

festgestellt. Die Interpretation der Ergebnisse sind limitiert durch die Fallzahl von vier Mäusen pro Gruppe. Insgesamt liefert diese Pilotstudie jedoch Hinweise, dass ein Vakzinierungsansatz mit Peptidantigenen in Verbindung mit adäquaten Adjuvanzsystemen zur Immunogenität eines Malaria-Impfstoffes beitragen könnte. Aufgrund ihres Potenzials CD8<sup>+</sup> T-Zellen in der Milz zu induzieren, sollten beide Adjuvanzen für zukünftige Impfstoffstudien in Betracht gezogen werden. Für Antigen A wurde zuvor von einer Stadien übergreifenden Rolle in der Entwicklung von experimenteller zerebraler Malaria berichtet. Und Antigen G könnte eine maßgebliche Rolle in der Transmission von Malaria spielen. Für ein humanes Peptidvakzin könnte der immunogene Effekt des untersuchten Peptidpools verstärkt werden. Modifizierungen wie heterologe Auffrischungsimpfungen, die Kombination von mehreren Stadien übergreifenden Antigenen mit entsprechenden Adjuvanzen und/oder höhere Antigendosen könnten die zellulären und Zytokin-Immunantworten verstärken und den klinischen Verlauf der zerebralen Malaria abschwächen.

Der untersuchte Lebendvakzinansatz bestand aus einer einmaligen Immunisierung mit entweder infektiösen *Plasmodium berghei* Sporozoiten kombiniert mit einer chemoprophylaktischen Gabe von Chloroquin beziehungsweise Dihydroartemisinin-Piperaquin, oder  $\gamma$ -Strahlung attenuierten Sporozoiten. Durch eine einmalige Immunisierung mit sowohl infektiösen Sporozoiten plus Chemoprophylaxe als auch attenuierten Sporozoiten wurde ein vollständiger Schutz gegen experimentelle zerebrale Malaria in C57BL/6-Mäusen erzielt. Die subkutane Sporozoiten-Vakzinierung mit Dihydroartemisinin-Piperaquin wies dabei die gleiche Effektivität auf wie die intravenöse Vakzinierung mit Chloroquin. Bemerkenswerterweise war die Parasiten-Leberlast verringert in den Mäusen, die mit attenuierten Sporozoiten vakziniert wurden. Dies war nicht der Fall nach Immunisierung mit infektiösen Sporozoiten und Chloroquin. Die mit attenuierten Sporozoiten geimpften Mäuse waren auch nach Infektion mit *Plasmodium berghei*-Blutstadien vollständig gegen zerebrale Malaria geschützt. Dies weist auf eine gegen Blutstadien gerichtete Immunantwort hin. Das immunologische Assessment zeigte in beiden immunisierten Gruppen ähnliche Dynamiken in der Zytokin- und zellulären Immunantwort im Blut und in der Milz. Zusammenfassend ergeben sich überschneidende Immunmechanismen, die Schutz vor zerebraler Malaria vermitteln, und zwar durch die einmalige Immunisierung mit attenuierten Sporozoiten oder mit infektiösen Sporozoiten unter Chemoprophylaxe. Diese murine Studie liefert damit vielversprechende Ergebnisse für die Entwicklung eines einmalig und subkutan zu verabreichenden Lebendvakzins. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um die Translation dieses Vakzinierungsansatzes für die Anwendung im Menschen zu ermöglichen. Obwohl durch die Einmal-Vakzinierung kein steriler Schutz in dieser präklinischen Studie erreicht wurde, könnte eine praktikable, sichere und skalierbare subkutane Vakzinierung die zerebrale Malaria und damit die Kindersterblichkeit in Malaria-Endemiegebieten verringern.