

Vorwort

Nach 1999 und 2011 halten Sie nun die 3. Auflage des Lehrbuchs „Gentechnik – Biotechnik: Grundlagen und Wirkstoffe“ in den Händen. Wir sind auch in dieser 3. Auflage unserem Ursprungskonzept aus dem Jahr 1999 treu geblieben. „Gentechnik – Biotechnik: Grundlagen und Wirkstoffe“ bleibt auch in der 3. Auflage ein Lehrbuch und Nachschlagewerk. Und dennoch halten Sie ein völlig neues Buch und nicht etwa eine leicht ergänzte Version der 2. Auflage in Ihren Händen. Was hat uns umgetrieben?

Zum einen wollten wir noch deutlicher machen, dass der Fokus des Buches auf dem pharmazeutischen Wirkstoff liegt. Das stand nie außer Frage im ursprünglichen, zweiten Teil des Buches, der sich quasi exklusiv den zugelassenen rekombinanten Arzneimitteln widmet. Längst nicht so klar war das bisher im ersten Teil des Buches.

Der „erste Teil“ grenzt sich jetzt nicht mehr so deutlich von den Wirkstoffkapiteln ab, wie noch in der letzten Auflage des Buches und umfasst die Kapitel 1 bis 10. Dieser Teil, der sich generell mit den Methoden und Konzepten der Gentechnologie und der Biotechnologie befasst, konnte in den beiden ersten Auflagen noch so konzipiert werden, dass ein recht kompletter Überblick über das einschlägige Methodenspektrum gegeben wurde. Offensichtlich ist aber hier die Entwicklung nicht stehen geblieben: ganz im Gegenteil. Die methodische Weiterentwicklung verlief rasant, und was vor acht Jahren noch methodisch *state of the art* war, ist heute teilweise obsolet. Da war es nicht einfach zu entscheiden, was bleiben sollte und was verzichtbar war. An allem konnten wir nicht festhalten, da wichtige neue Methoden natürlich aufgenommen werden mussten und der Umfang des Buches im Rahmen bleiben sollte.

Unsere Lösung bestand darin, den Fokus der Methoden, die in diesem Buch beschrieben werden, noch mehr dahingehend zu schärfen, was zur Herstellung von Biologicals erforderlich ist. Der Leitgedanke bei der Konzeption des ersten Teils von „Gentechnik – Biotechnik: Grundlagen und Wirkstoffe“ war: „Vom Gen zum Wirkstoff“. Allerdings haben wir uns auch die Freiheit genommen, durchaus Methoden zu erklären, die sicherlich heute so nicht mehr zur Anwendung kommen. Beispielsweise beschreiben wir nach wie vor die konventionelle DNA-Sequenzierung nach Sanger (Kapitel 2), die noch angewendet wird, obwohl heute viel häufiger nach neueren Methoden im Hochdurchsatz maschinell sequenziert wird. Auch haben wir uns entschlossen, die klassische Identifizierung von krankheitsrelevanten Genen z.B. durch positionelles Klonieren oder Screenen von Genbanken zu beschreiben (Kapitel 9), obwohl diese Methoden durchaus bereits als historisch angesehen werden können. Allerdings

wurden beispielsweise die Methoden zum molekularbiologischen Arbeiten mit dem Bakteriophagen Lambda gestrichen.

Klar ist jedoch, dass die Inhalte der ersten 10 Kapitel dieser dritten Auflage im Vergleich zu den ersten beiden Auflagen deutlich gestrafft wurden, nicht zuletzt auch, um die große Zahl neuer Wirkstoffe unterbringen zu können.

Deutlich gestrafft haben wir die Texte im Kapitel über die Fermentation und Produktreinigung (Kapitel 6). Hier haben wir versucht, den Fokus klar auf die Wirkstoffherstellung zu legen. Details zu dem sicherlich nicht unwichtigen Thema „Bioprozesstechnik“ müssen somit in entsprechend einschlägigen Lehrbüchern nachgelesen werden.

Stattdessen findet man wesentlich detailliertere Inhalte zu den Themen „Antikörper“ (Kapitel 5) und „Biosimilars“ (Kapitel 8) sowie zu den Themen „Glycosylierung“ bzw. „Glycoengineering“ (z.B. bei Humanisierung von Hefen und Fucosylierung von Antikörpern in Kapitel 3, bezüglich Mannosephosphat-Rezeptoren in Kapitel 15). Neu aufgenommen wurde auch das Thema „Genomeditierung“.

Die meisten Anpassungen findet man im ursprünglichen 2. Teil des Buches, der die Kapitel 11 bis 21 einschließt.

Zum einen haben wir die Struktur der einzelnen Produktmonographien vereinheitlicht. Zum anderen wurden 21 Wirkstoffe entfernt, die nicht mehr verfügbar sind. Im Gegenzug wurden 119 Arzneimittel hinzugefügt, die während der vergangenen sieben Jahre neu zugelassen wurden.

Aktuell enthält die „Gentechnik – Biotechnik: Grundlagen und Wirkstoffe“ 232 Arzneimittel. Wirkstoffe, die für mehrere Indikationen zugelassen sind, werden nur einmal beschrieben. Ansonsten wird auf die jeweilige Monographie verwiesen. Dies betrifft 25 Einträge.

Sechs Arzneimittel wurden eingeschlossen, die nicht gentechnisch hergestellt werden. Vier Wirkstoffe sind aus unterschiedlichen Gründen als Infokästen aufgeführt.

Zwei Punkte, die auch schon für die 2. Auflage galten, wollen wir hier noch einmal hervorheben, um Missverständnisse zu vermeiden:

Mehr als jede andere Wissenschaftsdisziplin hat die Gentechnik ihre Wurzeln im anglo-amerikanischen Sprachraum. Das bedeutet nicht, dass nicht auch Wissenschaftler aus nicht-englischsprachigen Ländern bahnbrechende Beiträge geleistet hätten. Allerdings war die Sprache, mit deren Hilfe man sich verständigte, ausnahmslos Englisch. Daher bleibt es nicht aus, dass auch ein in deutscher Sprache abgefasstes Lehrbuch der Gen-

technik und Biotechnik eine Vielzahl von Anglizismen enthält. Wir haben uns bemüht, Anglizismen dann zu vermeiden, wenn es möglich ist, sie aber andererseits auch dort zu gebrauchen, wo der Sinn verstellt würde oder wo der Fachmann verständnislos den Kopf schütteln würde, wenn man eine deutsche Übersetzung gewählt hätte. In wissenschaftlichen Diskussionen in deutscher Sprache sind Ausdrücke wie *upstream*, *screenen*, *Leader*, *Enhancer* oder *inclusion bodies* absolut gebräuchlich. Derartige Ausdrücke wurden daher auch in diesem Buch verwendet. Sie wurden allerdings durch Kursivdruck als Anglizismen gekennzeichnet.

Bestimmte IUPAC-Regeln sind in der praktischen Wissenschaft auch noch nicht angekommen. So sollte man das Symbol „Da“ für das Molekulargewicht nicht mehr nutzen, sondern stattdessen „U“ verwenden. Da aber auch in Dokumenten, die für Wirkstoffe zulassungsrelevant sind immer noch an der alten Bezeichnung festgehalten wird, haben wir uns entschlossen, dies ebenfalls zu tun.

Ausdrücklich möchten wir betonen, dass dieses Buch nicht den Anspruch erhebt, ein pharmakologisches Lehrbuch zu sein. Vielmehr stellen wir das Molekül, die Konzeption seiner Herstellung, das Verständnis der relevanten Technologien, die damit verbundenen

Chancen aber auch Gefahren und die Ansprüche an Qualität, Wirksamkeit und Verträglichkeit in den Mittelpunkt. All diese Punkte sollten gerade den Arzneimittelfachmann ansprechen, wie wir meinen. Leider werden wichtige Informationen in dieser Richtung von den Firmen immer stärker zurückgehalten.

Und schließlich soll nicht unerwähnt bleiben, dass wir uns ernste Gedanken darüber gemacht haben, Literaturzitate mit aufzunehmen. Wir haben uns – wie bei den beiden letzten Auflagen – gegen diese Option entschieden. Es ist heute sehr leicht möglich, über eine schnelle Recherche im Internet unendlich viel vertiefende Literatur zu einem Thema zu finden, auf das man in diesem Buch stößt und für das man sich noch tiefer informieren will. Wir fordern Sie auf, genau dies zu tun und bitten um Nachsicht, dass wir davon abgesehen haben, Ihnen eine sicherlich subjektive Auswahl an vertiefender Literatur zu präsentieren.

Wir hoffen dennoch, eine interessante Lektüre zusammengestellt zu haben, nicht nur für diejenigen, die im Rahmen ihrer Ausbildung vieles von dem, was hier beschrieben ist, lernen müssen, sondern auch für diejenigen, die selbst die Initiative ergreifen wollen, das genauer verstehen zu lernen, was es zum Zeitpunkt ihrer Ausbildung noch gar nicht gab.

Frankfurt/M. und Jena im Herbst 2018

Theodor Dingermann
Thomas Winckler
Ilse Zündorf

14 Autoimmunerkrankungen

- 14.1 Therapie von rheumatischen Erkrankungen und Kollagenosen 398
- 14.2 Therapie der Plaque-Psoriasis 425
- 14.3 Therapie entzündlicher Darmerkrankungen 433
- 14.4 Therapie der Multiplen Sklerose 436
- 14.5 Therapie der Immunthrombozytopenie 453

14.1 Therapie von rheumatischen Erkrankungen und Kollagenosen

Rheumatische Erkrankungen sind durch systemische, chronisch verlaufende Entzündungen der Bindegewebe und des Bewegungsapparates charakterisiert. Die Erkrankungen gehen mit starken Schmerzen in den betroffenen Gelenken und den sie umgebenden Geweben einher und führen zu zunehmenden Bewegungseinschränkungen sowie Allgemeinsymptomen wie Abgeschlagenheit, Fieber oder Schmerzen. Die Therapie entzündlich-rheumatischer Erkrankungen zielt in erster Linie auf eine Verbesserung der Lebensqualität der Patienten und der Verhinderung bzw. Verlangsamung des fortschreitenden Knorpel- und Knochenabbaus in den Gelenken.

Die Auslöser der chronischen Gelenkentzündungen sind in der Regel unbekannt. Das häufige Vorkommen bestimmter Histokompatibilitätsantigene (HLA) in Patienten mit rheumatischen Erkrankungen unterstützt die allgemeine Auffassung, dass das adaptive Immunsystem im Sinne einer Autoimmunerkrankung gegen Selbstantigene chronisch aktiv ist. Rheumatische Erkrankungen sind typischerweise durch ein schubförmiges Auftreten starker Entzündungsreaktionen geprägt, denen Phasen geringerer Krankheitslast folgen. Daher soll die Therapie einerseits die Entzündungsaktivität und die damit einhergehenden Schmerzen während der Schübe verringern. Andererseits wird mit einer Basistherapie versucht, die Schubfrequenz zu senken, indem die Aktivität verschiedener proinflammatorischer Zytokine moduliert wird. In diesem Sinne ist die therapeutische Nutzung von Biopharmazeutika als „Antizytokin-Wirkstoffe“ äußerst plausibel.

Unter dem Begriff „Kollagenosen“ wird eine uneinheitliche Gruppe von Autoimmunerkrankungen zusammengefasst, die durch eine Degeneration des Bindegewebes gekennzeichnet ist. Obwohl sich die entzündlichen Reaktionen bei systemischem Befall vorwiegend an Bindegewebe und Blutgefäßen abspielen,

kann im Prinzip jedes Organ befallen werden. Entsprechend werden die in [Tab. 14.1](#) gelisteten Erkrankungen als Kollagenosen angesehen.

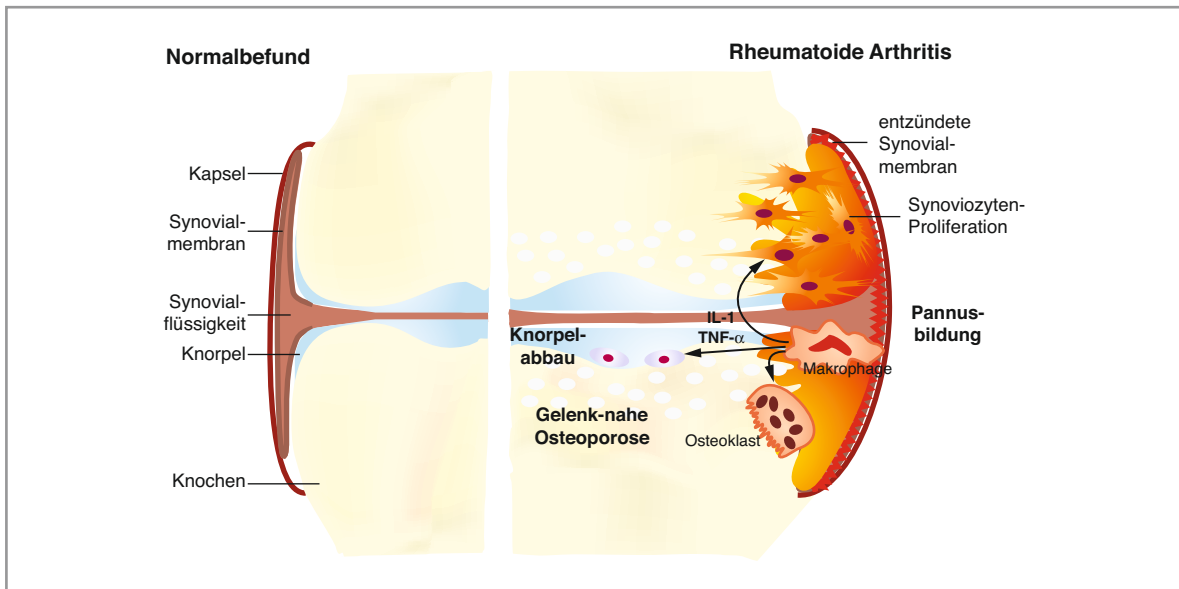
Typisch für die bei Kollagenosen stattfindenden Autoimmunreaktionen ist die Bildung von Autoantikörpern, die gegen nukleäre Antigene wie einzel- und doppelsträngige DNA und Histone gerichtet sind. Der Ablauf der chronischen Entzündung ähnelt einer Überempfindlichkeitsreaktion vom Typ III: Lösliche (Auto-) Antigene und die dagegen gerichteten Antikörper bilden Antigen-Antikörper-Komplexe, die sich im Gewebe ablagern und als Folgereaktion zu lokalen Entzündungen und Gewebeschäden führen. Bislang konnte nicht geklärt werden, ob die antinukleären Autoantikörper als Ursache oder Folge einer Kollagenose auftreten. Zudem ist die Ursache solcher Autoimmunreaktionen völlig unklar. Es wird jedoch diskutiert, ob bestimmte HLA-Varianten, psychischer Stress, Infektionen mit Viren oder Sonnenbestrahlung an der Manifestation dieser Krankheiten mitwirken könnten. Da überwiegend Frauen unter Kollagenosen leiden, werden auch hormonelle Einflüsse angenommen.

14.1.1 Rheumatoide Arthritis

Bei der rheumatoiden Arthritis, die früher auch als chronische Polyarthritis bezeichnet wurde, handelt es

Tab. 14.1 Einteilung der Kollagenosen.

Systemischer Lupus erythematoses
Antiphospholipid-Syndrom
Sjögren-Syndrom
Sklerodermie
Dermatomyositis und Polymyositis
Sharp-Syndrom (Mischkollagenose)
Buschke-Ollendorf-Syndrom



● **Abb. 14.1** Pathogenese der rheumatoiden Arthritis. Im Vergleich zum gesunden Gelenk kommt es bei der rheumatoiden Arthritis zur massiven Proliferation der Synoviozyten und zur Einwanderung von Immunzellen (hier nur die Makrophagen dargestellt). Die Makrophagen können wiederum über Zytokine wie IL-1 und TNF- α den Knochen- und Knorpelabbau im Gelenk stimulieren. Durch den chronisch entzündlichen Prozess kommt es zur Bindegewebswucherung; es bildet sich ein Pannus.

■ **Tab. 14.2** Kriterien zur Diagnose der rheumatoiden Arthritis.

1	Morgensteifigkeit der Gelenke von mehr als einer Stunde Dauer
2	Arthritis an mehr als drei Gelenken
3	Arthritis an Hand-, Fingergrund- und Fingermittelgelenken
4	Symmetrische Gelenkentzündungen
5	Subkutane Knoten (Rheumaknoten)
6	Nachweis des „Rheumafaktors“ im Blutserum
7	Typische Veränderungen an den Händen im Röntgenbild

Die Kriterien 1–4 müssen seit mindestens sechs Wochen bestehen.

sich um eine chronische, progrediente, entzündliche Erkrankung des Bindegewebes, die überwiegend am Bewegungsapparat angreift und schubweise bis zur völligen Gelenkdestruktion führen kann. Nach den in ■ Tab. 14.2 gelisteten Diagnosekriterien des *American College of Rheumatology* (ACR) wird die Prävalenz in Deutschland auf 0,5–0,8 % geschätzt. Der Krankheitsbeginn liegt meist im Alter zwischen 50 und 70 Jahren. Jährlich muss mit 20–30 Neuerkrankungen pro 100 000 Männern und 40–60 Neuerkrankungen pro 100 000 Frauen gerechnet werden.

Etwa 70 % der Patienten mit beginnender rheumatoider Arthritis zeigen innerhalb von drei Jahren radiologische Veränderungen der Gelenke und ungefähr 50 % der Betroffenen werden innerhalb von zehn Jahren nach Beginn der Krankheit arbeitsunfähig. Diese Situation scheint sich derzeit durch die Verfügbarkeit gerade der neueren rekombinanten Wirkstoffe signifikant zu verbessern. Werden die Patienten jedoch nicht optimal versorgt, was nicht zuletzt wegen der recht hohen Therapiekosten durchaus immer noch der Fall ist, gilt die rheumatoide Arthritis als eine das normale Leben stark beeinträchtigende Erkrankung, die neben den ernst zu nehmenden physischen auch nicht zu vernachlässigende psychische und ökonomische Konsequenzen hat.

Nachdem bei zahlreichen Betroffenen gehäuft das Histokompatibilitätsantigen HLA-DR4 in der Allelkombination DRB1*0401 oder DRB1*0404 nachgewiesen wurde, wird als eine der kausalen Ursachen für die rheumatoide Arthritis eine genetische Disposition diskutiert. Daneben sind wahrscheinlich auch akute Auslöser wie beispielsweise bakterielle oder virale Infektionen sowie Umweltfaktoren beteiligt. Inwieweit weitere Faktoren mit zur Krankheitsentstehung beitragen, ist noch nicht bekannt. Als gesichert gilt jedoch, dass es nach einer ersten Veränderung der Synovialmembran im betroffenen Gelenk zu einer Autoimmunreaktion kommt, in deren Verlauf T- und B-Lymphozyten des adaptiven Immunsystems sowie Makrophagen aktiviert werden (● Abb. 14.1).

Die proliferierenden B-Lymphozyten werden in Plasmazellen umgewandelt und bilden dann große Mengen von Antikörpern, insbesondere vom IgG-Subtyp. Dies wiederum führt zur Bildung von Autoantikörpern gegen den Fc-Teil der IgG-Moleküle. Diese Autoantikörper, die überwiegend, aber nicht ausschließlich, aus IgM-Antikörpern bestehen, werden als „Rheumafaktoren“ bezeichnet. Sie treten in 70–80 % der Fälle von rheumatoider Arthritis auf.

Immunkomplexe aus den IgG- und IgM-Antikörpern lagern sich teilweise an der Synovialis ab und aktivieren lokal das Komplementsystem. Die hierdurch freigesetzten Entzündungsmediatoren tragen zur Manifestation einer Synovialitis bei. Darüber hinaus werden von den Phagozyten, die die Immunkomplexe aufgenommen haben, knorpelaggressive Enzyme wie Kollagenase oder Elastase sowie Matrixmetalloproteinasen sezerniert, die den Gelenkknorpel und das angrenzende Knochengewebe zerstören.

Proinflammatorische Zytokine wie TNF- α , Interleukin-1 (IL-1 α und IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6) und zahlreiche andere proinflammatorische Zytokine, die von den aktivierten T-Zellen und Makrophagen sezerniert werden, locken Entzündungszellen an, die in die Gelenke einwandern und zur Proliferation der Synoviozyten, der Kapillarendothelien und der Fibroblasten führen. So kommt es schließlich zur Bildung eines aggressiv wachsenden, fibroblastenreichen Pannusgewebes, was dann die sogenannte „pannöse Entzündung“ einleitet. Im Lauf dieses Entzündungsgeschehens kann das Pannusgewebe sowohl destruktiv in den Gelenkknorpel und den angrenzenden Knochen als auch in die Bänder und Sehnen einwachsen und so zu Gelenkveränderungen führen. Schreitet die Krankheit weiter fort, verwachsen die betroffenen Knochen bindegewebig miteinander, und das Gelenk versteift sich.

Die Schlüsselrollen bei dem Entzündungsprozess nehmen TNF- α , IL-1 und IL-6 ein: Diese Zytokine können die Expression der jeweils anderen Zytokine induzieren und stimulieren die Expression von Enzymen wie der Cyclooxygenase-2 und der NO-Synthase, was nachfolgend die Synthese von Entzündungsmediatoren wie Prostaglandin E₂ (PGE₂) und Stickstoffmonoxid (NO) steigert. IL-1 kann zusätzlich über seine Bindung an den IL-1-Rezeptor die Synoviozyten, Chondrozyten und Osteoklasten stimulieren und fördert dadurch die Pannusbildung, den Knorpelabbau und die Knochenresorption (Abb. 14.1). Außerdem führen die erhöhten Konzentrationen an PGE₂, Leukotrienen und des Plättchenaktivierenden Faktors zu Schwellungen und Schmerzen in den entzündeten Gelenken.

14.1.2 Juvenile idiopathische Arthritis

Die juvenile idiopathische Arthritis ähnelt der rheumatoiden Arthritis. Sie tritt jedoch definitionsgemäß vor

Tab. 14.3 Kriterien für die Diagnose der ankylosierenden Spondylitis.

Klinische Kriterien:
Kreuzschmerzen seit mehr als drei Monaten, Besserung durch Bewegung
Bewegungseinschränkungen der Lendenwirbelsäule
Verminderte Atembreite
Radiologische Kriterien:
Typische Veränderungen im Röntgenbild

dem 16. Lebensjahr auf. Es handelt sich um eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Gelenke, die bereits im Kindesalter (= juvenil) eintritt und deren Ursache unbekannt ist (= idiopathisch). Die Krankheit wird als Ausschlussdiagnose festgestellt und umfasst Symptome wie Schmerzen und Rötung in den Gelenken, eventuell assoziiert mit Schwellungen, Ergüssen oder Bewegungseinschränkungen. Typischerweise sind mehrere kleine Gelenke der Hände und Füße asymmetrisch betroffen (Oligoarthritis), und die Krankheit kann Rheumafaktor-positiv oder -negativ vorkommen. Bei der systemischen Form der Erkrankung treten auch Gelenkschmerzen in der Halswirbelsäule auf und es kann zu einer Zerstörung der Hüftgelenke kommen. Bei hoher systemischer Krankheitslast kann es zu einer Verzögerung des Wachstums und der Entwicklung kommen. Die Prävalenz wird auf 20–30 Fälle pro 100 000 Kinder geschätzt.

14.1.3 Ankylosierende Spondylitis

Der Oberbegriff „axiale Spondyloarthritis“ bezeichnet eine Gruppe von entzündlich-rheumatoiden Erkrankungen, die vor allem das axiale Skelettsystem, also die Lenden- und Brustwirbelsäule und die Kreuz-Darmbeingelenke betreffen. Die bekannteste dieser Erkrankungen ist die ankylosierende Spondylitis, die auch als Morbus Bechterew oder Spondylitis ankylosans bezeichnet wird. Es handelt sich um eine chronische, entzündlich-rheumatische Erkrankung, die hauptsächlich die Wirbelsäule betrifft. Das Manifestationsalter liegt typischerweise bei 20–40 Jahren. In Deutschland wird die Prävalenz mit 0,5 % angegeben, wobei Männer häufiger betroffen sind als Frauen.

Die Patienten verspüren als Leitsymptom einen tief sitzenden, entzündlichen Rückenschmerz mit Morgensteifigkeit, der sich unter Bewegung bessert (Tab. 14.3). Die Krankheit verläuft progredient, sodass es mit der Zeit zu Versteifungen im Bereich der Wirbelsäule kommen kann. Zusätzlich können auch entzündliche Veränderungen an den großen Gelenken (z. B. Knie, Schulter), Sehnen, Augen und im Bereich des Darms auftreten.

■ **Tab. 14.4** Kriterien für die Diagnose des systemischen Lupus erythematoses (SLE).

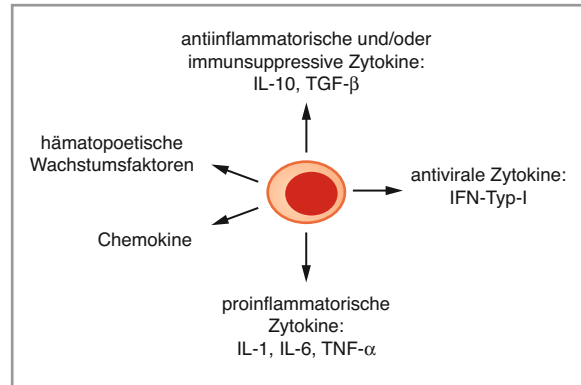
Schmetterlingserythem
Kutaner Lupus erythematoses (schuppenartige, verfärbte Hautläsionen)
Photosensitivität (lichtempfindliches Exanthem)
Orale oder nasopharyngeale Schleimhaut-Ulzera
Nephritis mit Proteinurie > 0,5 g/Tag oder Zylindrurie
Enzephalopathie (Krampfanfälle oder idiopathische Psychose)
Nachweis antinukleärer Antikörper
Nachweis von Antikörpern gegen Doppelstrang-DNA oder Smith-Antigen-Antikörpern
Pleuritis oder Perikarditis
Blutbild-Anomalien wie hämolytische Anämie, Leukozytopenie, Lymphozytopenie oder Thrombozytopenie
Nichterosive Arthritis

Wie es zur Auslösung der chronisch-entzündlichen Faktoren kommt, ist noch unklar. Anscheinend spielen jedoch genetische Faktoren eine wichtige Rolle, da bei 90 % der Betroffenen das Histokompatibilitätsantigen HLA-B27 nachgewiesen werden kann. Da eigentlich 8–12 % der Normalbevölkerung das HLA-B27 besitzen, ist davon auszugehen, dass noch andere Faktoren dazu kommen müssen, damit die Krankheit ausgelöst wird. Solche Faktoren könnten beispielsweise Antigene von Keimen aus der Umgebung oder der Darmflora sein, auf die das Immunsystem reagiert.

14.1.4 Psoriasis-Arthritis

Das Krankheitsbild und die Therapie der Plaque-Psoriasis werden wir ausführlich in ► Kap. 14.2 darstellen. Etwa 10 % aller Psoriasis-Patienten klagen über Gelenkschmerzen. Die Gesamtprävalenz der Psoriasis-Arthritis in der Bevölkerung wird mit etwa 0,2 % angegeben. Betroffen sind oft die End- und Mittelgelenke der Hände und Füße. Bei längerem Verlauf kann es zu Knorpel- und Knochenzerstörungen in den Gelenken kommen.

Wie bei der rheumatoiden Arthritis und der ankyloisierenden Spondylitis ist das Zytokin TNF- α auch bei Psoriasis-Patienten im Blut und in den Haut-Plaques erhöht. Unter einer erfolgreichen Therapie sieht man eine Abnahme der zuvor erhöhten TNF- α -Spiegel. Bei der Plaque-Psoriasis gibt es einen direkten Zusammenhang zwischen den TNF- α -Spiegeln und dem Ausmaß und der Schwere des Hautbefalls. Bei der Psoriasis-



● **Abb. 14.2** Zytokine mononukleärer Phagozyten.

Arthritis sind die TNF- α -Spiegel in der Gelenkinnenhaut (Synovialmembran) von betroffenen Gelenken erhöht und das Zytokin ist wesentlich am Prozess der entzündlichen Gelenkzerstörung beteiligt. Diese Erkenntnisse haben Eingang in die Therapie gefunden und ermöglichen beispielsweise durch die modernen TNF- α -Blocker eine zielgerichtete Behandlung der Erkrankung.

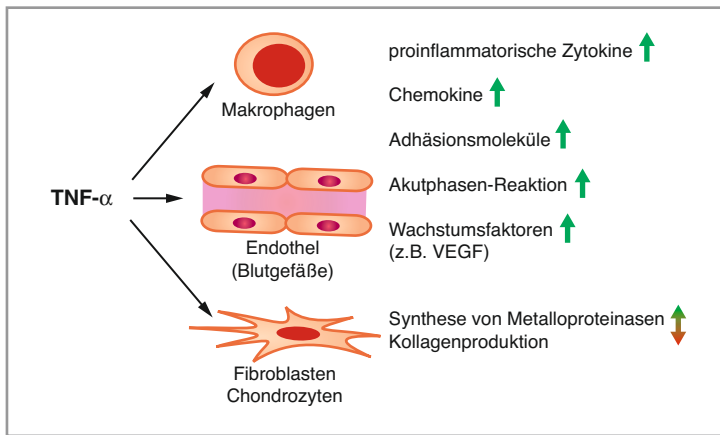
14.1.5 Systemischer Lupus erythematoses

Der systemische Lupus erythematoses (SLE) ist eine Autoimmunerkrankung, die zu den Kollagenosen gezählt wird. SLE beginnt oft mit Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Gewichtsverlust und Fieber. Später kommt es zu Erythemen, Ulzerationen der Schleimhäute, Multi-Organ-Entzündungen sowie zu neurologischen und hämatologischen Auffälligkeiten. Die Prävalenz wird in der europäischen Bevölkerung mit 25–40 von 100 000 Personen angegeben, wobei 80 % der Betroffenen Frauen sind. SLE ist eigentlich eine Typ-III-Überempfindlichkeitsreaktion, ausgelöst durch lösliche Antigene und die Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen, die sich an Geweben ablagern und in der Folge lokale Entzündungen und nachfolgend Gewebeschäden verursachen. Charakteristisch für die SLE ist das Auftreten von Autoantikörpern gegen nukleäre Antigene wie einzel- und doppelsträngige DNA sowie Histone.

Das Krankheitsbild der SLE ist außerordentlich komplex. Nach den Kriterien des *American College of Rheumatology* (ACR) müssen SLE-Patienten mindestens vier der in ■ Tab. 14.4 gelisteten Symptome aufweisen.

14.1.6 Tumornekrosefaktor alpha

Entzündungsreaktionen sind geprägt durch die Bildung großer Mengen proinflammatorischer Zytokine durch mononukleäre Phagozyten (● Abb. 14.2). Dabei ist TNF- α in der „Hierarchie“ der proinflammatorischen Zytokine einer der wichtigsten Mediatoren, weil er die Synthese und Sekretion einer ganzen Reihe weiterer proinflammatorischer Zytokine und anderer Mediatoren stimuliert.



● **Abb. 14.3** Wirkungen von Tumornekrosefaktor alpha. TNF- α stimuliert z. B. Makrophagen, Endothel, Fibroblasten und Chondrozyten, worauf es beispielsweise zur Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen, Chemokinen und Wachstumsfaktoren kommt.

Die Wirkung von TNF- α hängt stark ab von dessen Konzentration im Gewebe (● Abb. 14.3):

- Im physiologischen Konzentrationsbereich von 10^{-9} M wirkt TNF- α vor allem als lokaler autokriner und parakriner Faktor auf Leukozyten und Endothelzellen und induziert unter anderem die verstärkte Adhäsion von Leukozyten an das Endothel über die Induktion der ICAM-Expression auf Endothelzellen. Außerdem bewirkt TNF- α die Aktivierung anderer Immunzellen, darunter neutrophiler und eosinophiler Granulozyten sowie Monozyten. TNF- α verstärkt die Synthese anderer proinflammatorischer Zytokine wie IL-1, IL-6, IL-8 sowie von TNF- α selbst. TNF- α aktiviert T-Zellen und stimuliert die Antikörperproduktion in Plasmazellen, allerdings indirekt über IL-1 und IL-6.
- Bei Serumkonzentrationen im Bereich von 10^{-8} – 10^{-7} M fungiert TNF- α eher als endokrines Hormon, d. h. die Effekte sind nicht mehr lokal begrenzt, sondern werden systemisch. TNF- α wirkt nun als endogenes Pyrogen, d. h. es löst im thermoregulatorischen Netzwerk des Hypothalamus eine Sollwertverschiebung aus. Außerdem induziert TNF- α die Sekretion von IL-1 und IL-6 durch Phagozyten, aktiviert das Gerinnungssystem, supprimiert das Wachstum von Knochenmarkstammzellen und bewirkt Kachexie.
- Liegt TNF- α in abnorm hohen Konzentrationen über 10^{-7} M vor, können die Effekte lebensbedrohlich werden, z. B. in Form der Sepsis. TNF- α reduziert die Gewebepерfusion durch Depression der myokardialen Kontraktivität, führt zu einem starken Blutdruckabfall durch Relaxation des vaskulären Muskeltonus und verursacht intravasale Thromben sowie schwere metabolische Entgleisungen, z. B. einen massiven Blutglukose-Abfall.

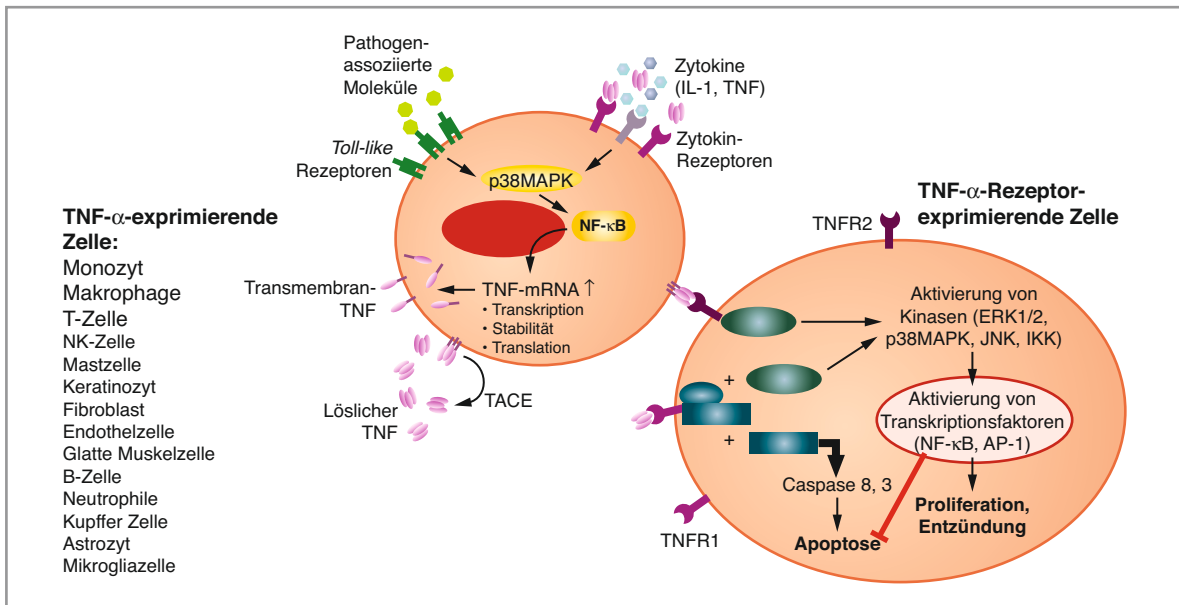
Wir kennen zwei Tumornekrosefaktoren: TNF- α , der früher als Cachectin bezeichnet wurde, und TNF- β , für den auch das Synonym Lymphotoxin- α verwendet

wurde. Die Homologie der Aminosäuresequenzen von TNF- α zu TNF- β beträgt ca. 30 %. Beide binden an die gleichen Rezeptoren und verursachen daher auch ähnliche biochemische Effekte (● Abb. 14.4).

Das Gen für den humanen TNF- α befindet sich auf Chromosom 6 im Bereich 6q23–6q12. Das TNF- α -Gen wird in ein Vorläuferprotein von 233 Aminosäuren translatiert. Diese Form des TNF- α ist membranständig und bildet stabile Homotrimer. Die Aminosäuren 1–35 sind zytoplasmatisch lokalisiert, daran schließt sich bis Aminosäure 56 ein Membrananker an. Membranständiger TNF- α wird durch eine Protease, die ADAM17 oder auch TACE (*TNF- α converting enzyme*) genannt wird, zwischen den Aminosäuren 76 und 77 geschnitten und so ein löslicher, trimere TNF- α generiert. In der löslichen Form besteht TNF- α aus 157 Aminosäuren und besitzt eine Molekülmasse von 17 kDa pro Monomer. Erst bei subnanomolaren Konzentrationen dissoziiert das trimere TNF- α in die Monomere und verliert dadurch an Aktivität.

Sowohl membranständiger als auch löslicher TNF- α kann als Trimer an die entsprechenden TNF- α -Rezeptoren TNFR1 und TNFR2 binden (● Abb. 14.4). Diese TNFR-Proteinfamilie zeichnet sich dadurch aus, dass sie in der extrazellulären Domäne 1–6 cysteinreiche Wiederholungseinheiten tragen, die ihrerseits jeweils bis zu drei Disulfidbrücken ausbilden. TNFR1 und TNFR2 haben vier cysteinreiche Wiederholungseinheiten und können neben TNF- α auch löslichen, trimere TNF- β binden.

Das Gen für TNFR1 liegt auf Chromosom 12 an Position 12p13.2 und ist konstitutiv exprimiert. Mit Ausnahme von Erythrozyten exprimieren alle somatischen Zellen ca. 500–10 000 TNF-Rezeptoren. Dagegen ist die Expression des auf Chromosom 1, Position 1p36.3–p36.2, gelegenen und aus zehn Exons bestehenden TNFR2-Gens strikt reguliert und findet vor allem in Zellen des Immunsystems statt. Prinzipiell werden die Rezeptoren nach Ligandenbindung als Homotrimer aktiviert. Allerdings scheinen die distalen cysteinrei-



• **Abb. 14.4** Mechanismus der TNF-Signaltransduktion. Bei einer Infektion lösen beispielsweise Pathogen-assoziierte Moleküle bei vielen Zellen die Produktion von TNF- α aus, was dann wiederum Signalwege in weiteren Zellen anstößt. NF- κ B: nukleärer Faktor kappa B; TACE: TNF- α -schneidendes Enzym; TNFR1/2: TNF- α -Rezeptor 1/2; TRADD: TNFR-assoziierte Todesdomäne; TRAF2: TNFR-assoziiierter Faktor 2; RIP: Rezeptor-interagierendes Protein; FADD: Fas-assoziierte Todesdomäne.

chen Domänen auch ohne Liganden bereits Interaktionen zwischen den Rezeptormolekülen zu vermitteln, sodass die Rezeptoren wahrscheinlich auch in Ruhe multimer vorliegen.

TNFR2 wird nur durch membranständigen TNF- α , TNFR1 dagegen überwiegend von löslichem TNF- α vollständig aktiviert. Beide Rezeptoren können nach proteolytischer Spaltung als lösliche Form ebenfalls den Liganden binden und darüber die TNF- α -Zellantwort regulieren (*Decoy-Rezeptoren*). Durch die zwei Formen, löslich und membrangebunden, besitzt TNFR1 (CD120a) eine Molekülmasse von 55 bzw. 60 kDa und TNFR2 (CD120b) eine Molekülmasse von 75 bzw. 80 kDa.

Intrazellulär induzieren die beiden Rezeptoren unterschiedliche Signalproteine: TNFR1 bindet über eine mit Proteinen interagierende Domäne, der sogenannten Todesdomäne, an anderen Todesdomänen tragenden Proteinen und aktiviert darüber Caspasen und die Apoptose (• Abb. 14.4). Indirekt werden außerdem Proteine der TNFR-assoziierten Faktoren (TRAF) rekrutiert. TNFR2 bindet direkt TRAF2, induziert darüber die Genexpression und führt zu Interaktionen mit TNFR1.

14.1.7 Neutralisierung von TNF- α



Etanercept (Enbrel®)

Wirkstoff: Enbrel® enthält Etanercept, ein gentechnisch hergestelltes, artifizielles Fusionsprotein. Der Wirkstoff ist ein Homodimer aus zwei identischen Unter-

einheiten. Der N-terminale Bereich eines 467 Aminosäuren langen Monomers besteht aus der extrazellulären Domäne des menschlichen TNF- α -Rezeptors p75. Der C-terminale Teil des Monomers besteht aus dem Fc-Bereich eines humanen IgG₁-Antikörpers, der die C_H2-Domäne, die C_H3-Domäne und die *Hinge*-Region, nicht aber die C_H1-Domäne enthält (► Kap. 5, • Abb. 5.1). Der Wirkstoff besteht insgesamt aus 934 Aminosäuren und besitzt eine Molekülmasse von ca. 150 kDa (• Abb. 14.5). Die beiden Fc-Domänen sind über zwei Disulfidbrücken kovalent miteinander verknüpft. Etanercept wird in CHO-Zellen hergestellt, die den Wirkstoff in das Medium sezernieren.

Durch die Fusion des TNF- α -Rezeptorbereichs an den Fc-Teil eines Antikörpers wird die funktionelle, TNF- α -bindende Domäne des Wirkstoffs deutlich stabilisiert, sodass Plasmakonzentrationen erreicht werden können, von denen physiologische Effekte zu erwarten sind.

Enbrel® wird in den Stärken 10 mg, 25 mg oder 50 mg Etanercept ausgeliefert, entweder als Pulver zur Herstellung einer Injektionslösung oder als Injektionslösungen in Fertipens und Fertigspritzen. Das Arzneimittel ist für die subkutane Applikation vorgesehen.

Wirkmechanismus: TNF- α spielt im Entzündungsge-schehen bei Autoimmunerkrankungen eine herausragende Rolle. Der Wirkstoff Etanercept kann als dimeres Molekül jeweils zwei Moleküle TNF- α oder das verwandte TNF- β (Lymphotoxin- α , LT- α) binden und des-


```

1  LPAQVAFPTY APEPGSTCRL REYYDQTAQM CCSKCSPGQH AKVFCTKTS 50
51 TVCDSCEDST YTQLWNWVPE CLSCGSRCS DQVETQACTR EQNRICTCRP 100
101 GWYCALSKQE GCRLCAPLRK CRPGFGVARP GTETSDVVCK PCAPGTFSNT 150
151 TSSTDICRPH QICNVVAIPG NASMDAVCTS TSPTRSMAPG AVHLPQPVST 200
201 RSQHTQPTPE PSTAPSTSFL LPMGSPPAE GSTGDEPKSC DKTHTCPPCP 250
251 APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PQVKFNWYVD 300
301 GVQVHNAKTK PREQQYNSTY RVVSVLTVLH QNWLDGKEYK CKVSNKALPA 350
351 PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE 400
401 WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE 450
451 ALHNHYTQKS LSLSPGK 467

```

AS	1 – 235	Tumornekrosefaktor-Rezeptor 2, lösliche Form	AS	18 – 31	Disulfidbrücke
AS	235 – 467	Fc-Teil	AS	32 – 45	Disulfidbrücke
AS	16 – 54	Cys1-Wiederholungseinheit	AS	35 – 53	Disulfidbrücke
AS	55 – 96	Cys2-Wiederholungseinheit	AS	56 – 71	Disulfidbrücke
AS	97 – 140	Cys3-Wiederholungseinheit	AS	74 – 88	Disulfidbrücke
AS	141 – 179	Cys4-Wiederholungseinheit	AS	78 – 96	Disulfidbrücke
AS	235 – 247	Hinge-Region	AS	98 – 104	Disulfidbrücke
AS	248 – 360	CH2-Region	AS	112 – 121	Disulfidbrücke
AS	361 – 467	CH3-Region	AS	115 – 139	Disulfidbrücke
AS	149	N-Glycosylierung	AS	142 – 157	Disulfidbrücke
AS	171	N-Glycosylierung	AS	240 – 240	Disulfidbrücke
AS	317	N-Glycosylierung	AS	246 – 246	Disulfidbrücke
			AS	249 – 249	Disulfidbrücke
			AS	281 – 341	Disulfidbrücke
			AS	387 – 445	Disulfidbrücke

● **Abb. 14.5** Primärsequenz von Etanercept. Der TNF- α -Teil des Fusionsproteins ist blau hervorgehoben. Diese Sequenz entspricht den N-terminalen 235 Aminosäuren des insgesamt 439 Aminosäuren langen TNF- α -Rezeptors. Funktionelle Domänen und Aminosäuren sind gesondert aufgelistet.

sen biologische Aktivität neutralisieren. Etanercept bindet sowohl an sekretierten, löslichen TNF- α bzw. TNF- β als auch an die auf Zelloberflächen vorhandenen, membrangebundenen Zytokine. Jedoch werden Zellen, die eine Transmembranform des Tumornekrosefaktors exprimieren, durch Bindung von Etanercept nicht lysiert, weder in Gegenwart noch in Abwesenheit von Komplement. Da Etanercept TNF- α bzw. TNF- β neutralisiert, werden biologische Reaktionen durch Etanercept moduliert, die durch TNF- α bzw. TNF- β induziert oder reguliert werden. Dies beinhaltet die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Endothelzellen, die für die Gewebepenetration von Leukozyten verantwortlich sind, wie z.B. E-Selectin oder ICAM-1, aber auch Serumkonzentrationen von Zytokinen wie IL-6 und von Matrixmetalloproteinase-3.

Indikation: Enbrel® ist für folgende Indikationen zugelassen:

- Rheumatoide Arthritis:
 - In Kombination mit Methotrexat (MTX) zur Behandlung der mittelschweren bis schweren aktiven rheumatoiden Arthritis bei Erwachsenen, wenn das Ansprechen auf Basistherapeutika, einschließlich MTX (sofern nicht kontraindiziert), unzureichend ist.
 - Enbrel® kann im Falle einer Unverträglichkeit gegenüber MTX, oder wenn eine Fortsetzung der Behandlung mit MTX nicht möglich ist, als Monotherapie angewendet werden.
 - Enbrel® ist ebenfalls indiziert zur Behandlung der schweren, aktiven und progressiven rheumatoi-

den Arthritis bei Erwachsenen, die zuvor nicht mit MTX behandelt worden sind.

- Juvenile idiopathische Arthritis:
 - Behandlung der Polyarthritis (Rheumafaktorpositiv oder -negativ) und der erweiterten Oligoarthritis bei Kindern und Jugendlichen ab dem Alter von 2 Jahren, die unzureichend auf eine MTX-Behandlung angesprochen haben oder eine MTX-Behandlung nicht vertragen.
 - Behandlung der Psoriasis-Arthritis (Arthritis psoriatica) bei Jugendlichen ab dem Alter von 12 Jahren, die unzureichend auf eine MTX-Behandlung angesprochen haben oder eine MTX-Behandlung nicht vertragen.
 - Behandlung der Enthesitis-assoziierten Arthritis bei Jugendlichen ab dem Alter von 12 Jahren, die unzureichend auf eine konventionelle Therapie angesprochen haben oder eine konventionelle Therapie nicht vertragen.
- Psoriasis-Arthritis (Arthritis psoriatica): Behandlung der aktiven und progressiven Psoriasis-Arthritis bei Erwachsenen, wenn das Ansprechen auf eine vorhergehende Basistherapie unzureichend ist.
- Axiale Spondyloarthritis:
 - Morbus Bechterew (ankylosierende Spondylitis): Behandlung des schweren aktiven Morbus Bechterew bei Erwachsenen, die unzureichend auf eine konventionelle Behandlung angesprochen haben.
 - Nicht-röntgenologische axiale Spondyloarthritis: Behandlung Erwachsener mit schwerer nicht-röntgenologischer axialer Spondyloarthritis, mit