

Interview mit dem Immunologen Thomas Hünig (Würzburg), Gründer der Biotech-Firma Tegenero

Lernen aus der Katastrophe

■ Vor einem Jahr löste Tegeneros therapeutischer Antikörper TGN1412 in Phase I bei allen sechs Probanden einen lebensbedrohlichen Cytokin-Sturm aus (siehe *Laborjournal* 04/2006, Seite 82f). Ein Gespräch über Ursachen und Folgen der Katastrophe mit Thomas Hünig, einem der Gründer der Biotech-Firma und Professor für Immunologie in Würzburg.

Laborjournal: Herr Hünig, haben Sie noch eine Funktion bei Tegenero?

Thomas Hünig: Nein. TeGenero gibt es nicht mehr.

Ach? Es hieß doch kurz nach der Insolvenz-Meldung, es gäbe einen neuen Investor?

Hünig: Der Insolvenzverwalter hatte die Aufgabe, einen oder mehrere Käufer zu finden, um die Gläubiger auszuzahlen. Vor der Insolvenz war ich im Aufsichtsrat, danach war ich völlig draußen. Ich weiß nur, dass Tegenero komplett an einen Investor verkauft worden ist.

Kennen Sie diesen Investor?

Hünig: Nein, den kenne ich nicht.

Also ist der nicht als Kapitalgeber eingestiegen, sondern hat die Firma gekauft. Es hieß, dass die Jobs weiterlaufen...

Hünig: Nein, nur die Vermögenswerte sind *en bloc* verkauft worden. Was dieser Investor mit dem Paket machen wird, weiß ich nicht. Ich war nur sehr froh darüber, dass die Mitarbeiter alle gute Jobs gefunden haben. Auch die beiden wichtigsten Leute in der Leitung, die ich sehr schätze und die das bis zum Schluss sehr professionell gemacht haben – besonders das Krisenmanagement.

Wenn die Vermögenswerte noch einen Käufer gefunden haben, zeigt das ja, dass noch jemand an die Idee glaubt, auch wenn dieser jemand anonym bleiben will.

Hünig: Das würde ich meinen. Ich hoffe es.

Auch Sie forschen noch daran.

Hünig: Ich arbeite mit superagonistischen CD28-Antikörpern, aber ausschließlich im Tiermodell. Mit TGN1412 habe ich selbst nie gearbeitet. Unsere ersten grundlegenden Arbeiten waren an der Ratte, wo wir u.a. die Aktivierung regulatorischer T-Zellen entdeckten. Daraus entstanden Patente, die zur Firmengründung von TeGenero führten. Wir machen hier an der Uni nur Grundlagenforschung um die Mechanismen zu verstehen. Kürzlich haben wir ein Mausmodell entwickelt. Im Nager funktioniert das also wunderbar.

Welche Projekte verfolgen sie gerade?

Hünig: Mit dem Superagonisten

arbeiten wir im Mausmodell jetzt an der Graft-versus-Host-Krankheit. Eine Aktivierung regulatorischer T-Zellen kann nämlich verhindern, dass die T-Zellen eines Knochenmarkstransplantats

„Bis zum Super-Gau am 13. März 2006 sah alles ganz fantastisch aus.“

THOMAS HÜNIG

gegen den Wirt reagieren, ohne dass man aber den erwünschten Graft-versus-Leukemia-Effekt verliert. Außerdem arbeiten wir an immunopathologischer Nebenreaktionen von Infektionskrankheiten. So kann es etwa bei der Grippe zur Überaktivierung des Immunsys-

Hintergrund (I):

Das Desaster von London

■ Am 15. März 2006 wurde der experimentelle Antikörper TGN1412 (siehe Kasten auf Seite 46) erstmals Menschen verabreicht. Sechs Freiwillige nahmen im Londoner Northwick Park Hospital an einer klinischen Phase-I-Studie teil, in Auftrag gegeben von der Würzburger Biotechfirma Tegenero und durchgeführt vom US-amerikanischen Konzern Parexel. Die Folgen waren verheerend: Schmerzen, Bewußtlosigkeit und schließlich das multiple Versagen lebenswichtiger Organe wie Herz, Lunge oder Nieren. Tote waren nicht

zu beklagen, doch bis heute leiden einige der Versuchsteilnehmer an den Spätfolgen des Experiments. Bis heute ist nicht geklärt, warum der im Tiermodell unauffällige Antikörper so aggressiv reagiert hat.

TGN1412 ist von der im Jahr 2000 von Thomas Hanke und dem Würzburger Immunologie-Ordinarius Thomas Hünig gegründeten Kleinfirma Tegenero entwickelt worden. Er hätte im Erfolgsfall gegen entzündliche Krankheiten wie Rheuma oder Multiple Sklerose eingesetzt werden sollen. -WK-



Der Würzburger Immunologe **Thomas Hünig**

Fotos: Brynija Adam-Radmanic

tems kommen, was sich als TNF-alpha vermittelte systemische Entzündung zeigt und zur Gefährlichkeit der Grippe immens beiträgt. Auch das lässt sich im Mausmodell mit einer CD28-Aktivierung behandeln. Aber die CD28-Forschung ist nur eins unserer Standbeine.

„In der Presse werden nur die Kritiker zitiert, und manche Aussagen wurden böswillig verdreht.“

THOMAS HÜNIG

Wenn Sie mit CD28-Superagonisten humanmedizinisch relevante Fragestellungen im Tiermodell untersuchen, dann glauben Sie aber doch noch an die Idee, dass diese Art der T-Zell-Aktivierung klinisch wertvoll sein könnte.

Hünig: Sagen wir es so: Ich möchte lernen, in welchen Situationen sich die polyklonale Aktivierung der regulatorischen T-Zellen als nützlich erweist. Insofern glaube ich an diese Idee. Ob man dann im Menschen Anti-CD28 nimmt oder Anti-CD3 oder Vitamin B3 mit Kortikoidsteroiden, um das Gleiche zu erreichen, das wird sich zeigen. Aber ob TGN1412 wieder jemals in die Klinik kommt, wenn auch nur in modifizierter Form, dazu hab ich keine Meinung. Ich kann nur sagen, dass bis zum Super-Gau am 13. März alles fantastisch aussah.

Wo waren sie als sie es erfahren haben?

Hünig: Wir hatten hier gerade eine SFB-Begutachtung. Kollegen von der Firma waren mit in London. Die haben mich sofort per Handy informiert.

Ein Riesenschock...

Hünig: Ja, entsetzlich. Ich bedaure sehr, dass diese Männer krank geworden sind. Das hat mich wirklich furchtbar umgetrieben. Vor allem die große Sorge, dass da tatsächlich jemand stirbt.

Einem Probanden ging's besonders schlecht. Er hat noch immer Probleme, oder?

Hünig: Ja, die wird er auch weiterhin haben. Er hat Gangrene an den Zehen und an den Fingerspitzen. Das sind abgestorbene Gewebereiche wie bei Erfrierungen. Sehr schlimm! Aber zum Glück lebt er.

Es hieß TGN1412 ist einzigartig, was die Schwere der Nebenwirkungen angeht.

Hünig: Nein, das stimmt so nicht. Es gibt eine Reihe von anderen Biologicals, die auch furchtbare Cytokin-Stürme ausgelöst haben, wie etwa der berühmte OKT3, ein CD3-spezifischer Antikörper, der in den 1980ern erstmals in die Klinik kam. Inzwischen ist er wieder in der Klinik zur Behandlung von Autoimmunität und Transplantation, allerdings in einer modifizierten Form, die ihn weniger reaktiv macht. Außerdem gibt man routinemäßig Kortikosteroide, um einen Cytokin-Sturm abzufangen. Übrigens glaubt man inzwischen, dass auch die Wirkung von OKT3 etwas mit den regulatorischen T-Zellen zutun hat.

Was haben Sie gedacht, als nach der Katastrophe in London alle sagten, man hätte wissen müssen, dass die T-Zellaktivierung über einen Superagonisten ein „Spiel mit dem Feuer“ sei.

Hünig: Nicht alle! Das haben nur sehr wenige gesagt!

Zumindest in der Presse erschien es so...

Hünig: Klar, dass da die Kritiker zitiert werden. Aber um die zu finden, mussten die Journalisten ganz schön rumsuchen. Und die Aussagen von so manchem Kollegen wurden auch böswillig verdreht. Besonders habe ich mich über den *Nature*-Artikel von Michael Hopkin geärgert. Der hat nicht nur mich falsch zitiert, sondern auch zwei Kollegen – mit sehr negativen Aussagen. Jim Riley, ein wichtiger CD28-Forscher aus Philadelphia und Camilo Colaco von Immunobiology, einer Antikörper-Firma in England haben mir sofort E-Mails geschickt als der Artikel rauskam und haben sich bei mir entschuldigt, dass sie das nie gesagt hätten. Gerade Jim Riley kennt die Risiken der Translation von der Grundlagenforschung in die Klinik. Er arbeitet an der University of Pennsylvania, an der dieser Gentherapie-Versuch schief gegangen ist, bei dem Jessie Gelsing gestorben ist. Er schrieb mir: *Given your wonderful preclinical data, I certainly would have pushed forward to test it in humans.* Natürlich findet man immer jemand, der's vorher wusste, aber ich muss sagen, dass fast alle Kollegen sehr solidarisch waren.

Wenn sowas Schreckliches passiert, geht die Öffentlichkeit davon aus, dass irgend jemand was falsch gemacht hat.

Hünig: Ja, von daher hat mich der Final Report der Expert Scientific Group sehr befriedigt. Die Gruppe war *(weiter auf Seite 46!)*



Treffen Sie Ihre Wahl.

Außer Muscheln haben wir fast alles:

- > Seit über 20 Jahren sichern Zellkulturprodukte der PAA Ihren wissenschaftlichen Erfolg.
- > Unsere praxisnahe Entwicklungsabteilung bietet für jede wichtige Fragestellung eine Antwort.
- > Ein Team erfahrener Produktspezialisten unterstützt Sie bei der Umsetzung Ihrer Ideen.

Nehmen Sie uns beim Wort.



PAA Laboratories GmbH
Tel.: 0 64 21-1 75 39-0
www.paa.com

Hintergrund (II): Regulatorische T-Zellen („Tregs“)

■ Vor ein paar Jahren wurde im Labor von Shimon Sakaguchi (Kyoto, Japan) eine Sub-Population von CD4⁺-T-Zellen identifiziert, bei deren Fehlen das Immunsystem förmlich über den eigenen Körper herfällt. Die Entdeckung dieser regulatorischen T-Zellen (Tregs) begründete ein fruchtbares, neues Forschungsfeld der Immunologie.

Vorher hatte man angenommen, dass allein Selektion und gute Erziehung für die Vorherrschaft selbst-toleranter T-Zellen Sorge. Nun war klar, dass jederzeit und überall selbst-reaktive T-Zellen unterwegs sind. Sie richten nur deshalb keinen Schaden an, weil sie unter strenger Kontrolle der Tregs stehen.

Eine Treg braucht zu ihrer Aktivierung das gleiche Signal wie alle anderen CD4⁺-T-Zellen auch: eine professionelle Antigen-präsentierende Zelle. Auch die Vorliebe für eine Co-Stimulation über CD28 teilt sie mit CD4⁺-T-Zellen. Zusätzlich braucht sie jedoch einen Weckruf in Form von Interleukin-2 (IL-2). Dieses Cytokin

wird nur von konventionellen CD4⁺-T-Zellen produziert, die selbst aktiviert wurden.

Die suppressive Wirkung von Tregs muss man sich so vorstellen: Eine konventionelle T-Zelle wird unerwünschterweise durch ein Selbst-Antigen auf der Oberfläche einer Dendritischen Zelle aktiviert. Sie proliferiert und es entsteht eine Gruppe von Effektorzellen, die IL-2 produzieren. IL-2 aber aktiviert Tregs, die das gleiche Antigen erkennen. Sie gehen ebenfalls in die klonale Expansion und unterdrücken bald die Proliferation ihrer konventionellen T-Zell-Kollegen.

Normal – oder polyklonal?

Nun gibt es aber so manche Autoimmun-Pathologie im Menschen, bei der dieser segenreiche Mechanismus versagt. Um den regulatorischen T-Zellen für therapeutische Zwecke nachzuhelfen, gibt es zwei verschiedene Ansätze: entweder die „normal“ Antigen-spezifische Aktivierung – dazu muss man aber das Antigen kennen – oder die polyklonale Aktivierung, wie sie etwa die super-agonistischen

CD28-Antikörper aus Thomas Hünigs Labor (siehe Interview) auslösen.

Die Bindung des Superagonisten an den CD28-Rezeptor aktiviert im Tiermodell nämlich jede T-Zelle – egal ob Effektor- oder Treg-Zelle und stimuliert ihre Proliferation unabhängig von ihrer Antigen-Spezifität. Daher erhöht sich erstmal die Zahl aller T-Zellen. Aufgrund ihrer regulatorischen Wirkung setzen sich die Treg-Zellen dabei aber schnell gegen die mit ihnen aktivierten Effektor-Zellen durch und entfalten eine systemweite Immunsuppression, die überschießende Reaktionen wirksam dämpfen kann.

Doch was im Tiermodell funktioniert, versagte beim Menschen. TGN1412 löste lebensbedrohliche Nebenwirkungen aus (siehe Kasten „Das Desaster von London“ auf Seite 44) – ein Schock für das Forschungsfeld. Er bedeutet: Der ersehnte Proof-of-Principle für die polyklonale T-Zell-Aktivierung beim Menschen ist noch nicht erbracht.

-BAR-



Beklagt die Weigerung von *Nature*, eine Stellungnahme abzdrukken: **Thomas Hünig**

vom Britischen Gesundheitsministerium eingesetzt worden, um die Katastrophe in London zu untersuchen und ihr Bericht kommt zu dem Ergebnis, dass alles lege artis gemacht worden ist. Die haben alle Schlüsselversuche noch mal wiederholt, auch die Affen-Versuche. Da ist alles genauso rausgekommen wie es in den TeGenero-Unterlagen beschrieben war. Das hat mich sehr befriedigt. Ich war ja kein aktiver Teil der Firma, aber ich kenne die Leute dort sehr gut und weiß, dass das ethisch absolut zuverlässige, gute Leute sind. Auch erscheint bald ein Artikel der NIH-Bioethiker Emanuel und Miller in *American Journal of Bioethics*. Sie haben den TGN1412-Fall untersucht und schreiben dazu am Ende: *Bad things can happen to good people.*

Aber das ist ja fast noch beunruhigender, wenn alles richtig gemacht wurde und trotzdem eine Katastrophe passiert. Was muss man daraus lernen für zukünftige Phase I-Studien?

Hünig: Eine der wesentlichsten Schlussfolgerung ist die Berechnung der Dosis, mit der man als erstes in den Menschen hineingeht. Die Experten-gruppe nennt das 'Minimal Anticipated Biological Effect Level' (MABEL). Die Studie war zwar noch mal um ein Vielfaches tiefer gegangen als es die

damals gültige Berechnung vorschrieb, aber dieser Sicherheitsspielraum reichte offenbar nicht. Der Unfall hat gezeigt, dass man für ‚first in man‘ eine sehr viel niedrigere Einstiegsdosis braucht, um unerwartete Effekte möglichst auszuschließen. Auch dass mehrere Probanden gleichzeitig behandelt werden war meines Wissens im Einklang mit den gültigen Regeln. Auch das darf man jetzt natürlich nicht mehr machen.

„Man weiß nicht, warum sich TGN1412 im Menschen völlig anders verhält als im Affenmodell.“

THOMAS HÜNIG

Weiß man inzwischen, warum der Mensch so anders reagiert als die Tiermodelle?

Hünig: Es wurden viele Theorien geäußert, warum die Versuche in *Cynomolgus*-Affen nicht prädiktiv waren. Ich kann Ihnen zumindest sagen, dass die beliebteste Theorie falsch ist und es von Anfang an war. In einem Leserbrief an *Nature* hatten zwei dänische Wissenschaftler auf Grund der Rhesusaffen-Sequenz darüber spekuliert, dass die Bindung von TGN1412 an das



„Auch andere Biologicals haben schon Cytokinstürme ausgelöst“. **Thomas Hünig**, Gründer der mittlerweile insolventen Würzburger Firma Tegenero.

Cynomolgus-Affen-CD28 eine andere wäre als beim Menschen. Diese Leute hatten damals nicht die Informationen, dass das falsch ist; sie wussten nur, dass in der Genbank nichts über Cynomolgus steht. Das ging durch die Presse mit der Schlussfolgerung, man habe gepfuscht, weil man das falsche Modell verwendet hat.

Aber Tegenero hatte die Informationen?

Hünig: Ja, CD28 von Cynomolgus war sequenziert worden. Man wusste, dass die Sequenz der relevanten extrazellulären Domäne identisch ist mit der des Menschen. Die Firma hatte die Daten noch nicht publiziert, aber sie waren im Genehmigungsverfahren für die klinische Prüfung den Aufsichtsbehörden mitgeteilt worden. Diese hatten noch um die Messung der Affinitäten von TGN1412 gebeten. Auch diese Daten waren praktisch identisch zwischen Mensch und Cynomolgus-Affe. Das hat Tegeneros Chief Scientific Officer Thomas Hanke auch *Nature* als Antwort auf den Leserbrief der dänischen Kollegen geschrieben, aber *Nature* hat sich geweigert, das abzudrucken. Das hat mich sehr enttäuscht, muss ich sagen.

Konnte er das woanders richtig stellen?

Hünig: Erst nachdem dieses Argument noch mal aufgegriffen wurde, diesmal von zwei Holländern, Kenter und Cohen, in einem *Lancet*-Artikel. Bei *Lancet* waren sie so anständig, Hanke die Gelegenheit zu geben, darauf zu antworten. Dabei konnte er dann auch die entsprechenden Links zur Genbank geben. Diese Richtigstellung wurde in der Presse aber nirgendwo aufgegriffen.

WIRTSCHAFT

Man kann also davon ausgehen, dass die Ursache für die Unterschiede zwischen Affe und Menschen nicht im CD28 selbst liegen. Aber wo liegen sie dann?

Hünig: Man weiß es nicht. Aber aus den *In-vitro*-Studien des britischen National Institute for Biological Standards and Control im Auftrag der Expertengruppe gibt es inzwischen Hinweise auf die Beteiligung von Endothelzellen. Wir haben ja zwei Diskrepanzen – nicht nur zwischen Affe und Mensch, sondern auch zwischen Mensch *in vivo* und Mensch *in vitro*. Die Studie

konnte Tegeneros Ergebnisse bestätigen, dass humane Blutzellen keine Cytokine ausschütten wenn sie *ex vivo* mit TGN1412 stimuliert werden. Sie ist dann noch einen Schritt weiter gegangen um die *in vivo*-Situation genauer nachzustellen. Und wenn neben den Blut- noch Endothelzellen dabei waren, kam es zu einer Cytokin-Freisetzung. Man könnte also vermuten, dass auf menschlichen Endothelzellen etwas drauf ist, was mit dem CD28-Signal synergisiert, und das bei Cynomolgus-Affen fehlt. Das ist noch Spekulation... aber eine interessante Spekulation.

Ist das die einzige mögliche Erklärung?

Hünig: Nein, es gibt noch eine kürzlich veröffentlichte Studie, bei der gezeigt wurde, dass Affen weniger auf die normale Co-Stimulation von T-Zell-Rezeptor und CD28 reagieren als Menschen. Um das zu erklären hat man Primaten-T-Zellen mit menschlichen T-Zellen verglichen hinsichtlich der Genexpression bei immunologisch interessanten Genen. Cynomolgus hat man nicht geprüft, aber im Vergleich zu anderen Affen fehlt beim Menschen ein bestimmtes inhibitorisches Molekül. Bringt man dieses Siglec-5 in menschliche T-Zellen zeigen auch sie eine schwächere Antwort. Es ist also die Hypothese formuliert wurde, dass das Fehlen von Siglec-5 beim Menschen zu einer Hyperreaktivität führt. Das wäre eine weitere mögliche Erklärung für die Unterschiede und auch eine, auf die kein Mensch vorher hätte kommen können. Ich möchte jedoch auch hier wieder betonen, dass der Zusammenhang mit dem Ergebnis der TGN1412-Studie spekulativ ist. *BRYNJA ADAM-RADMANIC*



Zwei Stars aus unserer Kollektion

Geballtes Zellkultur-Knowhow inklusive

Quantum 153

Medium für Keratinozyten

- > Ready to use
- > Für primäre und epitheliale Keratinozyten
- > Keine Feederzellen nötig

MesenchymStem Medium

Medium für mesenchymale Stamm- und Progenitorzellen

- > Optimierte Formulierung
- > Einfache Charakterisierung und Quantifizierung von Progenitorzellen



PAA Laboratories GmbH
Tel.: 0 64 21-1 75 39-0
www.paa.com