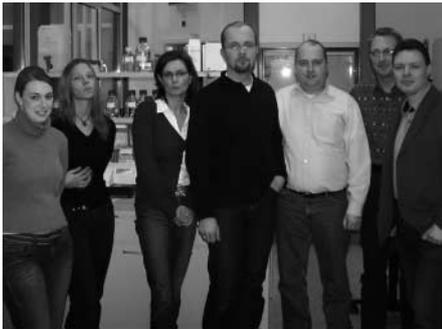


Immuntoxizität und Immunogenität:

Neueste Entwicklungen bei der Arzneimittelzulassung



V.l.n.r.: Nicole Kerscher (Auszubildende), Simone Brüggling (TA), Christine Völker (Archivverantwortliche), Dr. Christoph Specht (Laborleiter), Dr. Frithjof Wollbold (Leiter der Qualitätssicherung), Dr. Dieter Kobelt (Studienleiter), Dr. André Rade-maekers (CEO)

Mit dem Inkrafttreten der Richtlinie ICH-S8 (Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals) werden die Zulassungsbehörden für Arzneimittel schon zum Zeitpunkt der präklinischen Studien eine umfangreiche Berücksichtigung immunogener und immuntoxischer Eigenschaften der Wirkstoffe verlangen. Im folgenden wird beschrieben, wie Ergebnisse aus den Standard-Toxizitätsstudien und Resultate der Untersuchungen verwandter Wirkstoffe Einfluss auf das Design der nachfolgenden Charakterisierung möglicher immunmodulatorischer Eigenschaften des Medikaments nehmen. Es wird beschrieben, welche über die Standard-Tox hinausgehenden Studien für die erfolgreiche Beantragung der Zulassung mit einem spezialisierten Dienstleister und der Zulassungsbehörde in Erwägung gezogen werden müssen.

Die Anforderungen bei der Zulassung von Arzneimitteln sind in den letzten Jahren immer komplexer und anspruchsvoller geworden. So muss heute ein umfangreicher Antrag mittels des sog. „Common Technical Document“ (CTD) gestellt werden [1]. Künftig werden ergänzend umfangreiche Recherchen erforderlich, die eine Abschätzung möglicher immunmodulatorischer Eigenschaften des Wirkstoffes ermög-

lichen. Es ist daher damit zu rechnen, dass zusätzliche, präklinische Untersuchungen zur Immuntoxizität und Immunogenität im Rahmen der Zulassung durchgeführt werden müssen.

Das Zulassungsverfahren wurde bereits in den vergangenen Jahren dahingehend ausgeweitet, dass die Behörden für die Zulassung innovativer, biotechnologisch erzeugter Wirkstoffe eine weltweite Harmonisierung im Rahmen der ICH-Guideline Topic S6 erreichten (1995). Gegenwärtig befindet sich eine weitere Richtlinie in abschließenden Beratungen bei der EMEA bzw. ICH (Step 3), die regeln wird, welche nichtklinischen Untersuchungen auf immunmodulatorische Wirkungen von Substanzen mit einem niedrigen Molekulargewicht (non-biologicals) im Vorfeld der Zulassung durchzuführen sind. Zusammen mit der ebenfalls in Verhandlung befindlichen EU-Chemikalienrichtlinie (REACH) werden also künftig bei Wirkstoffen und Chemikalien und den daraus resultierenden Arzneimitteln Prüfungen hinsichtlich der Auswirkungen auf das Immunsystem zur Auflage.

Somit werden demnächst alle Wirkstoffgruppen bezüglich der Untersuchung immunologischer Effekte abgedeckt sein (Tab. 1).

Die Bedeutung der neuen ICH-Richtlinie S8 für den Zulassungsprozess.

Die Standardkomponenten des präklinischen Zulassungsprozesses sind jedem Regulatory Affairs Manager vertraut:

- Stand des Wissens/Literaturrecherche
- Physikalisch-chemische Untersuchungen einschließlich Stabilität
- Standardtoxizitätsstudien (STS) nach OECD-Richtlinien

Bisher war es keine reguläre Auflage der Genehmigungsbehörden, sich bereits im Rahmen dieser präklinischen Standardevaluation zwingend mit möglichen Auswirkungen auf das Immunsystem auseinanderzusetzen. (Ausnahme: Immuntherapeutika). Dieses ändert sich nun mit der Richtlinie ICH-S8 entscheidend.

Nach dem Inkrafttreten der Richtlinie werden die Zulassungsbehörden dazu übergehen, von vornherein eine Ab-

schätzung immunologischer Auswirkungen im Rahmen des CTDs zu verlangen. Daher empfiehlt sich folgendes Vorgehen:

Sollten sich nach Zusammenstellung bereits vorhandener Daten und nach Stand der Wissenschaft keinerlei immunrelevante Effekte aufzeigen lassen, so reicht dieses als Hinweis an die Genehmigungsbehörde.

Für den Fall, dass das Auftreten immunrelevanter Effekte nicht ausgeschlossen werden kann, sollte bereits bei der Durchführung der Standardtoxizitätsuntersuchungen darauf geachtet werden, ob sich derartige Hinweise ergeben. Die ICH-S8 empfiehlt die besondere Beachtung folgender Ergebnisse der STS:

- Dosisabhängigkeit der immunrelevanten Effekte
- Wirkungsmechanismus und betroffene Zellen
- Der Schweregrad immuntoxischer oder immunstimulatorischer Wirkungen

Sollten sich hierbei auffällige Befunde ergeben, oder die Datenlage zur zwingenden Erkenntnis führen, dass mit immuntoxischen Effekten zu rechnen ist, wird die Zulassungsbehörde vertiefende Untersuchungen fordern. Ab diesem Zeitpunkt sollte ein mit Zulassungsfragen vertrauter Immunologe oder ein entsprechendes spezialisiertes Dienstleistungsunternehmen (CRO) hinzugezogen werden, um das weitere Vorgehen abzuklären („follow up“-Prüfungen). Immer empfehlenswert ist eine frühzeitige und enge Abstimmung mit den Genehmigungsbehörden.

Im Interesse der Einhaltung der kurz bemessenen Frist von 210 Tagen [5] muss berücksichtigt werden, dass zusätzliche Untersuchungen in einem GLP-zertifizierten Labor vom Studienentwurf über die experimentelle Phase bis zum abschließenden Bericht oft acht Wochen und mehr Zeit in Anspruch nehmen.

Mögliche follow up-Prüfungen zur Immuntoxizität.

Die ICH-Richtlinie S8 definiert unter dem Begriff „Immuntoxizität“ sowohl immun-suppressive als auch immunstimulatori-



Abb. 1: Entscheidungsbaum für immuntoxikologische Prüfungen



Abb. 2: PD Dr. Hans-Gerd Pauels und Frau Simone Brüggling

sche, adverse Effekte eines Wirkstoffes oder Medikaments (Tab. 2).

Bei den Untersuchungen, die auf die STS folgen, kann man prinzipiell zwischen zwei Studienarten unterscheiden:

Funktionelle Assays: Die verschiedenen Subtypen an Immunzellen werden „ex vivo“ darauf untersucht, ob sie miteinander interagieren und keine Funktionen eingebüßt haben. Als Beispiel sei die T-Zell-abhängige Antikörper-Antwort (TDAR) genannt.

Tab. 1: Pharmakologische Wirkstoffgruppen und korrespondierende Richtlinien

Wirkstoffgruppe	Richtlinien
Hochmolekulare Wirkstoffe	ICH-S6: Preclinical Safety of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals [2]
Mittel- und niedermolekulare Wirkstoffe	ICH-S8: Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals. Step 2: Note for Guidance on Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals [3]
Chemikalien	EU REACH: Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals [4]

Im Rahmen der Arzneimittelzulassung werden die Genehmigungsbehörden sicherlich die ICH-Richtlinie S8 am häufigsten anwenden.

Tab. 2: Aufgliederung unterschiedlicher immunmodulatorischer Wirkungen in zwei Hauptgruppen

Adverse immunsuppressive Wirkungen:
<ul style="list-style-type: none">• Erhöhte Infektionsanfälligkeit gegen Bakterien, Pilze und Viren• Besiedlung „untypischer“ Organe mit opportunistischen Erregern• erhöhtes Krebsrisiko
Adverse immunstimulatorische Wirkungen:
<ul style="list-style-type: none">• allergische Reaktionen• Sensibilisierung der Haut• anaphylaktischer Schock bei wiederholter Gabe der Substanz• Autoimmunerkrankungen

Tab. 3: Verzeichnis von Prüfverfahren, mit deren Hilfe sich immunogene und immunotoxische Eigenschaften eines Medikaments bzw. einer Lead-Struktur quantifizieren lassen

- Bestimmung der Immunglobulin Isotypen-Verteilung (IgM, IgG, IgA, IgE)
- Immunophänotypisierung: FACS-Nachweis der Marker, die von Zellen des Immunsystems exprimiert werden
- Bestimmung der Zellen, die von immunmodulatorischen Effekten betroffen sind. Hieraus kann man eventuell auf den Wirkungsmechanismus der Substanz schließen.
- Phagozytose-Assay zum Nachweis der Aktivität von Makrophagen
- Mixed Lymphocyte Reaction (MLR): Untersuchung der Stimulierbarkeit von T-Zellen durch Antigen-präsentierende Zellen. Der Assay kann durch die Zugabe von Mitogenen zum Ansatz ausgeweitet werden. Hierdurch wird die Stimulierbarkeit der Zellen durch Mitogene untersucht.
- Funktioneller Assay, welcher zeigt, dass die T-Zellen noch stimulierbar sind: (TDAR) T-cell dependent antibody response.
- Bestimmung der Aktivität der Natural Killer (NK)-Zellen
- Bakterielle und virale Infektionsmodelle, die eine eventuell erhöhte Anfälligkeit gegen Bakterien und Viren aufzeigen.
- Bestimmung der CTL-Aktivität gegen allogene Tumorzellen

„Oberflächenmarker“: Zellen des Immunsystems besitzen in Abhängigkeit von ihrer Funktion und ihrem Reifungsgrad auf der Oberfläche Proteine, die mittels Antikörpern nachgewiesen werden können. Immuntoxizität kann auch zur Folge haben, dass eine definierte Subspezies an Immunzellen ihre spezifischen Oberflächenantigene nicht exprimiert, was mittels einer FACS-Messung methodisch einfach zu zeigen ist. Als Beispiel seien die dendritischen Zellen genannt, bei welchen eine Verhinderung der Zellreifung durch ein Medikament dazu führt, dass keine Zunahme der Expression der Reifungsmarker CD83, CD86, MHC I und MHC II zu beobachten ist.

Die Richtlinie gibt auch detaillierte Hinweise zum Studiendesign: Generell akzeptiert ist die Applikation der zu untersuchenden Substanz über 28 aufeinander folgende Tage an Mäusen oder Ratten. Spezies, Dosis, Dauer und Applikationsweise sollten mit der STS übereinstimmen, bei der der adverse Effekt auf das Immunsystem beobachtet wurde.

Über die Standard-Tox hinausgehende Untersuchungen

Zur Überprüfung der Immuntoxizität bietet sich ein umfangreiches „Panel“ spezialisierter, immunologischer Untersuchungen an. Selbstverständlich ist es nicht erforderlich, alle nachfolgend aufgeführten Tests im Rahmen der Untersuchung einer „Lead“-Substanz durchzuführen. In der Regel reichen – abhängig von der Vorevaluation – wenige zielgenaue Untersuchungen, um immunotoxische Effekte valide einzugrenzen und ggf. zu quantifizieren.

Zusammenfassung

Die meisten „Regulatory affairs managers“ sind mit der Richtlinie ICH-S8 und den sich aus ihr ergebenden Anforderungen an die präklinischen, immunologischen Charakterisierungen eines Medikaments noch nicht vertraut. Auch die Mehrzahl der am Markt befindlichen Auftragsforschungslabore bietet derzeit noch keine spezialisierte Prüfung der Immun-

toxizität an. Die Autoren dieses Artikels haben es sich daher mit ihrem Unternehmen PARA BioScience GmbH zum Anliegen gemacht, als Auftragsforschungslabor mit dem Schwerpunkt Immunologie alle erforderlichen immuntoxikologischen Prüfungen anzubieten. PARA BioScience ist zu diesem Zweck als erstes mitteleuropäisches CRO für Untersuchungen der Immuntoxizität und Immunogenität in vivo und in vitro nach GLP zertifiziert.

Die aufgezeigten, zusätzlichen Auflagen, die die Zulassungsbehörden künftig im Rahmen der Präklinik zur Prüfung der Immuntoxizität machen werden, erfordern es absehbar, sich schon im Vorfeld der Antragstellung durch kompetente Beratung auf dementsprechende Fragestellungen der Zulassungsbehörde vorzubereiten.

Dann ist es auch möglich, gegebenenfalls erforderliche Prüfungen rechtzeitig durchzuführen. Dieses sollte nicht nur für die Neuzulassung von Arzneimitteln Berücksichtigung finden sondern in gleicher Weise auch im Nachzulassungsverfahren.

Literatur

- [1] CTD: Common Technical Document; Ergebnisnotiz der Sitzung der BfArM-Arbeitsgruppe „Qualität“ am 15. 04. 2003, 10:00 bis 12:15 Uhr im Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, Bonn.
- [2] ICH-S6: ICH Topic S6, Preclinical Safety of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals, Step 4, Consensus guideline, 16 July 1997. Note for Guidance on Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals. (CPMP/ICH/302/95).
- [3] ICH-S8: Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals. Step 2: Note for Guidance on Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals. (EMA/CHMP/167235/2004)
- [4] EU REACH: Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals
- [5] Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln, Arzneimittelgesetz §27 Absatz 1: Die zuständige Bundesbehörde hat eine Entscheidung über den Antrag auf Zulassung innerhalb einer Frist von 7 Monaten zu treffen.

Dr. Dieter Kobelt

Promotion bei Frau Prof. Rübsamen-Waigmann. Bereits bei Grüenthal in der Pharmaindustrie in Forschung und Entwicklung.

Dr. André Rademaekers

1987–1998 Studium der Biologie an der Universität Münster. 2001 Gründung der PARA BioScience GmbH, dort ist er als geschäftsführender Gesellschafter tätig.

PARA BioScience GmbH
Fabrikstr. 3
48599 Gronau
kobelt@parabio.de
www.para-bioscience.com