



Deutscher Studienpreis | 2. Preis Natur- und Technikwissenschaften

Kuh-Antikörper ersetzen Antibiotika

700.000 assoziierte Todesfälle jährlich. Setzt sich dieser Trend der Antibiotikaresistenz fort, könnte es bis 2050 jährlich 10 Millionen assoziierte Todesfälle geben. Das entspricht einem Todesfall alle 3 Sekunden. Ziel meiner Dissertation war es, neue Produkte auf Basis spezifischer Kuh-Antikörper zu entwickeln. Diese sollen als Medikamente als Ersatz für Antibiotika zur Behandlung bakterieller Infektionen eingesetzt werden. Das Prinzip ist, dass Kühe mit inaktivierten Pathogenen geimpft werden. Die Kuh ist quasi unser Bioreaktor, und wir verändern zielgerichtet ihr natürliches Immunsystem. Mit dieser Plattformtechnologie lassen sich Antikörper zur Behandlung von allen denkbaren Infektionen erzeugen, solange die Applikation nicht in die Blutbahn ist. Die Prozesse zur Anreicherung und Isolation wurden entwickelt, und die Effektivität konnte im Tiermodell bestätigt werden. Ein erstes konkretes Produkt ist entstanden. Für die weitere Umsetzung habe ich eine Firma gegründet.

Hans-Jürgen Heidebrecht promovierte an der Technischen Universität München im Fachgebiet Lebensmitteltechnologie.

Der vorliegende Beitrag wurde beim Deutschen Studienpreis 2020 mit dem 2. Preis in der Sektion Natur- und Technikwissenschaften ausgezeichnet. Er beruht auf der 2019 an der Technischen Universität München eingereichten Dissertation »From food to medicine: Process development and use of functionalized polyclonal antibodies from cow's milk for the treatment of infections caused by multi-resistant bacteria« von Dr. Hans-Jürgen Heidebrecht.

Kuh-Antikörper ersetzen Antibiotika

Die Zahl der durch antibiotikaresistente Stämme verursachten Todesfälle hat sich in den letzten Jahren alle drei Jahre verdoppelt und betrug 2015 in der EU etwa 33.000 Menschen. Weltweit sind es 700.000. Wenn sich dieser Trend fortsetzt, könnte es bis 2050 etwa 10 Millionen assoziierte Todesfälle weltweit geben, was bedeutet, dass alle 3 Sekunden ein Mensch aufgrund von resistenter Mikroorganismen sterben würde. Es könnten damit mehr Menschen aufgrund von resistenten Mikroorganismen sterben als heute an Krebs. Man spricht sogar schon von der »medizinischen Klimakrise«. Laut WHO stellen antimikrobielle Resistenzen langfristig die größte Bedrohung für die Gesundheit und das Leben der Menschen dar.

Antimikrobielle Resistenz ist nicht neu. Bereits vor der Sensations-Entdeckung von Penizillin im Jahr 1941 durch Alexander Fleming gab es Resistenzen. Tatsächlich sind Antibiotika und die Resistenz gegen antimikrobielle Mittel ein natürliches Phänomen. Es wurden zum Beispiel Gene, die eine Resistenz gegen bestimmte Antibiotika aufwiesen, in 30.000 Jahre altem Permafrost gefunden. Was ist also die Ursache für das dramatisch wachsende

Problem? Einfach erklärt, wir verwenden zu viele Antibiotika. Bakterien kommen in sehr großen Populationen vor, wovon ein kleiner Teil natürlicherweise Resistenzen aufweisen kann. Wenn wir die antibiotikaempfindlichen Bakterien abtöten, erhalten die resistenten Bakterien die Möglichkeit, sich zu vermehren. Und das geht schnell, denn sie haben nur eine Generationszeit von 15 bis 20 Minuten. Die Folge ist, dass mit der Zeit die antibiotikaempfindlichen Bakterien durch resistente Mutationen ersetzt werden. Gegen jedes heutzutage verfügbare Antibiotikum sind Resistenzen bekannt, manchmal sogar bevor das Medikament auf den Markt kam.

Die Resistenzbildung wird durch den klinischen Überverbrauch von Antibiotika, falsche Verschreibungen und schlechte Infektionsvorbeugung und -kontrolle begünstigt. Das größte Problem ist jedoch nicht der Einsatz von Antibiotika beim Menschen. Menschen machen nur etwa 25 Prozent der weltweit verwendeten Antibiotika aus. Der Rest wird für Tiere eingesetzt. Resistenzen können dann zum Beispiel über die Nahrung auf den Menschen übertragen werden. Ein weiteres Problem ist, dass die meisten Antibiotika aus Kostengründen in Asien hergestellt werden. Es wird geschätzt, dass dort inzwischen mindestens 80 bis 90 Prozent aller Anti-

biotika produziert werden. Dort herrschen meist geringe Umweltauflagen. Antibiotika können so vermehrt in den Wasserkreislauf gelangen, womit ein ständiger Kontakt mit Tier und Mensch besteht. Dies beschleunigt die Resistenzbildung.

Neben dem Resistenzproblem birgt die Produktion außerhalb der EU noch weitere Risiken. Gerade in der aktuellen Berichterstattung über das Coronavirus wird die internationale Abhängigkeit Deutschlands von Medikamentenimporten deutlich. Im Jahr 2018 importierte Deutschland Antibiotika im Wert von 710 Millionen Euro aus Nicht-EU-Mitgliedstaaten. Diese Einfuhren machen wertmäßig ein Viertel der gesamten Antibiotika-Einfuhren aus Drittländern aus, was Deutschland zum größten EU-Importeur von Antibiotika aus Nicht-EU-Ländern macht. Durch politische Veränderungen oder Epidemien in diesen Regionen kann es sehr schnell zu Lieferengpässen kommen, wie es aktuell in China der Fall ist.

Problematisch ist auch, dass viele große Pharmakonzerne die Entwicklung von neuen Antibiotika aus wirtschaftlichen Gründen eingestellt haben. Gab es zwischen 1983 und 1987

noch 16 neue Zulassungen in den USA, waren es zwischen 2008 und 2012 nur noch zwei. Dabei besteht auch aus finanzieller Sicht dringender Handlungsbedarf. Der geschätzte Rückgang des globalen BIP auf Grund von Infektionen durch multiresistente Keime in 2050 liegt zwischen 2,0 und 3,5%. Resistenzen steigen, und die Produktion sinkt. Es braucht einen integrierten und umfassenden Ansatz, um dem rasant anwachsenden Problem entgegenzutreten.

Milch als Medizin

Ziel meiner Arbeit war es, die verfahrenstechnischen Voraussetzungen zu schaffen, um neue Produkte auf Basis spezifischer Kuh-Antikörper zu entwickeln. Diese sollen als Arzneimittel zur Behandlung von bakteriellen Infektionen als Ersatz für unspezifische Antibiotika eingesetzt werden. Das Grundprinzip ist, dass Kühe mit inaktivierten menschlichen Krankheitserregern und/oder Toxinen geimpft werden (Abb.1). Analog zur Impfung von Menschen schadet dies der Kuh nicht. Daraufhin produziert die Kuh spezifische Antikörper und gibt diese zum Teil in

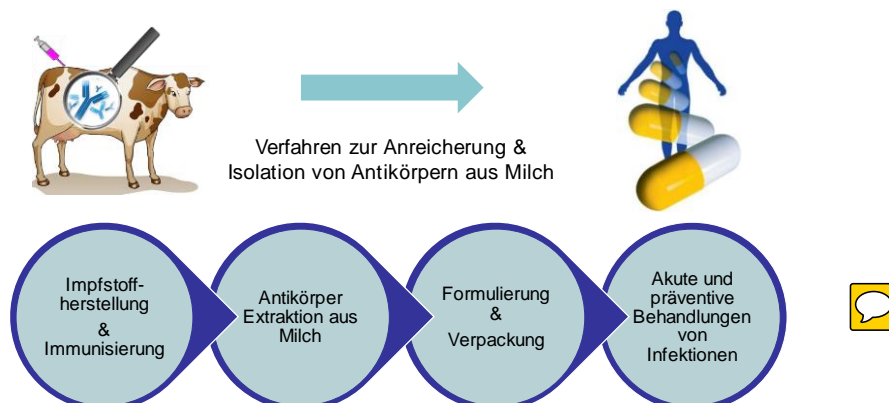


Abb. 1 Innovativer Ansatz zur Erzeugung von Antikörpern als Ersatz für Antibiotika

die Milch ab. Die Kuh ist quasi unser Bioreaktor, und wir nutzen und verändern zielgerichtet ihr natürliches Immunsystem. Wichtig ist dabei, dass natürlicherweise sogenannte polyklonale Antikörper gebildet werden. Das bedeutet, die Antikörper können an vielen verschiedenen Stellen der Bakterien und Toxinen binden. Diese Vielfachbindung sorgt dafür, dass die Bildung von Resistenzen äußerst unwahrscheinlich wird und sich so langzeiteffektive Medikamente erzeugen lassen. Im Gegensatz dazu haben Antibiotika im Regelfall nur einen oder sehr wenige Inaktivierungsmechanismen. Ausgehend von der sogenannten Immunmilch werden die Antikörper angereichert und isoliert und können dann wieder zu therapeutischen Zwecken verwendet werden. Normalerweise werden polyklonale Antikörper aus dem Blut gewonnen, beispielsweise von Hasen. Die Gewinnung der Antikörper aus Milch anstatt Blut hat den Vorteil, dass große Mengen an Ausgangsmaterial gewonnen werden können und die Tiere nicht getötet werden müssen, was insbesondere bei Kleintieren der Fall sein kann.

Konzeptvalidierung anhand eines Krankenhauskeims

Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag auf der Entwicklung einer Therapiealternative zur Behandlung der *Clostridium difficile* Infektion. Die durch *Clostridium difficile* hervorgerufene Infektion ist mit rund einer halben Million Fällen allein in den USA die häufigste Infektion, die durch einen Krankenhauskeim hervorgerufen wird. Sie verursacht jährliche Kosten von 4,8 bis 6 Milliarden

US-Dollar. Noch beunruhigender ist die wachsende Anzahl der Todesfälle, die auf *C. difficile* zurückzuführen sind. Diese haben sich in den letzten 10 bis 15 Jahren auf ca. 30.000/Jahr verzehnfacht. Die Zahlen in Europa sind weniger gut dokumentiert, werden aber als ähnlich hochgeschätzt. Ein Hauptgrund für diesen Anstieg ist der übermäßige Gebrauch von Antibiotika, begleitet von einer wachsenden Anzahl von antibiotikaresistenten hypervirulenten Bakterienstämmen. Das ungelöste Gesundheitsproblem ist die hohe Rückfallrate bei 30-40% der Patienten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die bisher verwendeten Antibiotika unspezifisch sind und auch die gesunde Darmflora schädigen. Man spricht auch von Darmmikrobiom. Dadurch entsteht eine Umgebung, in der nach Beendigung der Antibiotikatherapie die Bakterien wieder wachsen können. Unser Ansatz war, ein Produkt mit Antikörpern gegen Toxin A und B sowie *C. difficile* zu schaffen, das gleichzeitig zur akuten Behandlung als auch zur Prävention des Wiederauftritts eingesetzt werden soll.

Zielgerichtete Prozessentwicklung

Voraussetzung für den Einsatz von Arzneimitteln ist die standardisierte Herstellung im industriellen Maßstab. Im Rahmen meiner Dissertation habe ich eine Filtrationskaskade erfolgreich weiterentwickelt und optimiert und die Anwendbarkeit zur Gewinnung der sensitiven Antikörperfraktion nachgewiesen (Publikationen 1,2,3). Dieser Themenblock war zwingend erforderlich,

um Ausgangsmaterial für die klinischen Testungen herzustellen und auch für die spätere Umsetzung in marktfähige Produkte. Dabei sei betont, dass von vornherein darauf geachtet wurde, dass die Umsetzung der Prozesse in einem regulatorischen Pharma-Umfeld möglich ist, da dies durch die Europäische Arzneimittel-Agentur in der Arzneimittelentwicklung gesetzlich vorgeschrieben ist. Auch wurde die Entwicklung so durchgeführt, dass die Prozesse gut skalierbar sind und die kostengünstige Gewinnung der Antikörper ermöglichen. Zum Beispiel wurde keine Affinitätschromatographie zur Gewinnung der Antikörper eingesetzt, eine spezielle und sehr teure Chromatographie-Art, die normalerweise bei der Aufreinigung von Antikörpern in der Krebstherapie eingesetzt wird. Dies hat zur Folge, dass die Antikörper potentiell preislich konkurrenzfähig zu Antibiotika hergestellt werden können. Das ist wiederum absolut entscheidend für die Umsetzung der Ergebnisse in marktfähige Produkte. Allerdings liegt die gesellschaftliche Relevanz auf der Anwendung der Antikörper und Umsetzung der Ergebnisse, weswegen im Weiteren der Fokus hierauf gelegt wird.

Die Antikörper wirken!

Drei Antikörperkonzentrationen wurden in einem C-difficile-Tiermodell untersucht (Publikation 4). Die Vergleichsgruppen wurden mit dem Standardtherapieantibiotikum und einem Antikörperprodukt hergestellt aus der Milch derselben Kühe vor der Immunisierung. Mit der zweiten Kontrollgruppe wurde

nachgewiesen, dass die Impfung zur Erzeugung der spezifischen Funktion notwendig ist und wir nicht einfach normale Milch verwenden können. Das Standardanti-biotikum unterdrückte das Wachstum von C. difficile und schützte so die Tiere zum Zeitpunkt der Verabreichung. Allerdings starben dennoch 90% der Tiere aufgrund der Infektion kurz nach Beendigung der Behandlung. Im Gegensatz dazu inaktivierten die Antikörperprodukte nicht nur die Toxine für die akute Behandlung, sondern bewirkten auch die Hemmung des Wachstums von C. difficile und verhinderten so das Wiederauftreten der Infektion.

Die Zell- und Sporenzahlen von C. difficile wurden in umfangreichen statistischen Untersuchungen und mit den 16S-RNA-Sequenzierungsdaten, d.h. den Mikrobiomdaten, korreliert. Die Auswertung zeigt, dass bereits kurz nach Beginn der Therapie die Darmvielfalt bei Verwendung der Antikörperprodukte gleich hoch wie vor der Therapie war, während es bei Anwendung des Antibiotikums zu einer weiteren Abnahme kam. Eine ausgewogene Mikrobiomvielfalt ist entscheidend für die Verhinderung der Infektion. Durch die Kombination und statistische Analyse der Überlebens- und Sekundärdaten können mehrere neue Schlussfolgerungen gezogen werden. Die Regeneration der mikrobiellen Vielfalt erfolgte in gleicher Weise in allen Gruppen mit Ausnahme der mit Antibiotika behandelten Gruppe. Das heißt, es gab nur geringe Unterschiede in der Regeneration der Vielfalt zwischen den mit Antikörpern behandelten Gruppen und den Kontrollgruppen. Daher kann der

Schluss gezogen werden, dass die Regeneration des Mikrobioms wahrscheinlich keine aktive Regeneration ist, sondern darauf beruht, dass keine Mikrobiota zerstörenden Substanzen wie Antibiotika verabreicht werden. Das führt zu einer natürlichen Mikrobiomregeneration, beispielsweise durch Nahrungsaufnahme. Der Vergleich zeigt aber auch, dass die Regeneration des Mikrobioms allein nicht ausreicht, da fast alle Tiere in den Kontrollgruppen der Infektion unterlagen. Das bedeutet, dass ein aktiver und antikörperinduzierter Mechanismus stattfinden muss, der den Rückgang des Zellwachstums verursacht. Aus den Daten wurden ein zweistufiger Wirkmechanismus und ein neues konkretes Behandlungsverfahren für die orale Anwendung beim Menschen abgeleitet. Die vorgeschlagene Behandlung scheint besonders effektiv für die zweite und mehr Episoden von CDI zu sein und könnte jährlich circa 200.000 Menschen weltweit vor weiteren Rückfällen schützen. Darüber hinaus könnte das Produkt, welches keine Nebenwirkungen aufweist, zur Vorbeugung von C.-difficile-Infektion bei anfälligen Patienten, basierend auf bekannten Risikofaktoren, eingesetzt werden. In der Arbeit wurde nachgewiesen, dass die orale Verabreichung der Antikörperprodukte eine funktionelle Therapie im Tiermodell sowohl für die akute Behandlung als auch zur Vermeidung des Rückfalls darstellt. Daher könnten die Kuh-Antikörper den dringenden medizinischen Bedarf nach alternativen Behandlungsmethoden von wiederkehrender C.-difficile-Infektion beim Men-

schen decken und den steigenden Vorfällen neuer antibiotikaresistenter Stämme entgegenwirken.

Wirtschaftliches Potential

Die jährlichen CDI-Kosten liegen alleine in den USA zwischen 4,81 Mrd. USD und 6,32 Mrd. USD, wobei der Einzelfall im Schnitt 42.000 USD kostet. Die hohen Kosten sind mit den langen Krankenhausaufenthalten sowie damit zu begründen, dass die Patienten aufgrund der Ansteckung in Reinräumen isoliert werden müssen, um die Ausbreitung des Krankenhauskeimes zu minimieren. Das Prozedere ist ähnlich aufwendig wie aktuell bei der Isolation von Coronavirus-Patienten. Über 80% der Infektionen treten bei Menschen über 65 Jahren auf. In einer älter werdenden Bevölkerung ist die Überverwendung von Antibiotika der Hauptgrund, der dazu führt, dass allein die Arzneimittelausgaben von 752 Mio. USD im Jahr 2016 auf voraussichtlich 1,316 Mrd. USD bis Ende 2025 wachsen werden. Dieser Markt wird voraussichtlich mit einer durchschnittlichen jährlichen Wachstumsrate von 6,5% wachsen. Die Zahlen in Europa sind weniger gut dokumentiert, werden aber in einem ähnlichen Bereich geschätzt.

Bekämpfung von multiresistenten Keimen

Antikörper können mit dieser Plattformtechnologie maßgeschneidert auf die unterschiedlichsten Erreger angesetzt werden. Diese Plattformtechnologie kann überall dort eingesetzt wer-

den, wo es ein empfindliches Mikrobiom-Gleichgewicht gibt und dieses Gleichgewicht nicht durch unspezifische Antibiotika zerstört werden soll oder wo Antibiotika aufgrund von Resistenzbildung nicht mehr wirken. Einzige Einschränkung ist, dass die Antikörper nach derzeitigem Wissensstand nicht in die Blutbahn injiziert werden dürfen, da sonst das menschliche Immunsystem die Antikörper als Fremdstoffe inaktivieren würde. Weitere mögliche Anwendungen sind die Behandlung von anderen Magen-Darm-Erkrankungen, bakteriellen Hauterkrankungen oder Karies, jeweils ohne Schädigung des Haut- oder des Mundmikrobioms. Denkbar sind hierbei Magen-Darm-resistente Kapseln oder Kaugummis mit isolierten spezifischen Antikörpern. Dieses Pilotprojekt, bei dem aus Milch ein Medikament erzeugt wird, könnte ein komplett neues Geschäftsfeld für die Lebensmittelbranche, aber auch die Pharmabranche eröffnen.

In einem weiteren Ansatz wurden Antikörper gegen *Staphylococcus aureus* erzeugt. Das Hauptproblem bei Infektionen durch *S. aureus* besteht darin, dass es sehr häufig Antibiotika-resistenzen aufweist, weshalb es auch unter dem Namen MRSA (multiresistenter *S. aureus*) bekannt ist. *S. aureus* ist an einer Reihe von Hautinfektionen beteiligt, beispielsweise bei Patienten mit Neurodermitis. Bakterielle Superinfektionen, meist durch *S. aureus*, führen hier zu einer Verschlimmerung der Symptomatik und Therapieversagen. *S. aureus* gehört auch zu den häufigsten Bakterien, die aus chronischen Wunden (z.B. diabetische Fußulcera, infizierte Verbrennungswunden) isoliert

werden, und beeinflusst hier negativ die Wundheilung. Denkbar wäre hier z.B. ein Wundverband mit immobilisierten Antikörpern. *S. aureus* spielt auch eine Rolle bei Harnwegsinfektionen, Katheter-assoziierten Infektionen, Darminfektionen und chronischen Ohrentzündungen, so dass auch hier die Verwertungsmöglichkeiten bestehen.

Im Rahmen meiner Dissertation habe ich die Prozesskette entwickelt, um die Antikörper auf schonende Weise in reiner Form und ohne Aktivitätsverlust zu gewinnen (Publikationen 5 & 6). Dabei wurde u.a. ein neues skalierbares Chromatographie-Verfahren entwickelt, bei dem zwei unterschiedliche Chromatographie-Materialien kombiniert wurden. Durch die Kombination der beiden Säulen konnten Antikörper mit einer Reinheit von >99% und einer Ausbeute von bis zu 80% gewonnen werden. Der Prozess zeigt gute Skalierbarkeit und Reproduzierbarkeit. Zudem wurde in Kooperation eine gelbasierte Formulierung für den gereinigten Antikörper entwickelt, um den Antikörper auf mit *S. aureus* befallene Haut durch Aufsprühen lokal applizieren zu können. Der Antikörper zeigt im Gel keinen Aktivitätsverlust, eine hohe Stabilität, eine lange Haltbarkeit und ein gutes Freisetzungsverhalten. Insbesondere die hohe Langzeitstabilität (> 3 Jahre) der nativen isolierten Antikörper in der konservierungsmittelfreien Endformulierung ist bemerkenswert. Eine spezifische Verpackungslösung wurde für das konservierungsmittelfreie antikörperhaltige Gel ausgewählt, welches das Keimwachstum durch die Vermeidung von Kontakt zwischen Patient und Produkt verhindert.

Anwendung auch bei Tieren!

Das Hautspray wurde in einer explorativen Studie bei Hunden mit chronischen bakteriellen Hautinfektionen erfolgreich getestet (Abb. 2). Da Hunde eine ähnliche Neurodermitis wie Menschen aufweisen, lässt dies auch auf eine gute Wirkung beim Menschen schließen. Hautinfektionen sind allerdings auch häufige Erscheinungen in der Tierarztpraxis und sekundär zu Grunderkrankungen und waren in der Vergangenheit gut mit Antibiotika behandelbar. Das vermehrte Auftreten multiresistenter Bakterienstämme (30% Prävalenz) führt jedoch auch hier zu chronischen und wiederkehrenden Verläufen bei den Hunden. Neu entwickelte Antibiotika sind als Reservemedikamente der Humantherapie vorbehalten. Gleichzeitig schränken neue Behandlungsrichtlinien die Verwendung von Antibiotika ein. Das bedeutet, dass sich neben der Anwendung im Humanmedizinbereich auch Verwertungssper-

pektiven im Tiermedizinbereich ergeben. Aktuell wird eine weitere kontrollierte und verblindete Hundestudie durchgeführt, mit dem Ziel, ein Medikament für Hunde auf den Markt zu bringen. Wir haben einen Businessplan ausgearbeitet, und es gibt konkretes Interesse von verschiedenen Investoren und Tiergesundheitsunternehmen. Die Ausgründung ist Mitte 2020 geplant.

Zusammenfassung

Die Anwendung dieser Technologie ist ein Vorreiterprojekt, sowohl aus technischer Sicht als auch aus regulatorischer Sicht. Es gibt unseres Wissens bisher keine zugelassenen Medikamente auf Kuhmilchbasis, was eine Produkteinführung insbesondere aus regulatorischer Perspektive sehr schwierig macht. Der Ansatz wurde mit den entsprechenden nationalen und europäischen regulatorischen Behörden besprochen. Milch ist ein hochkomplexes biologisches Ausgangsmaterial, wel-

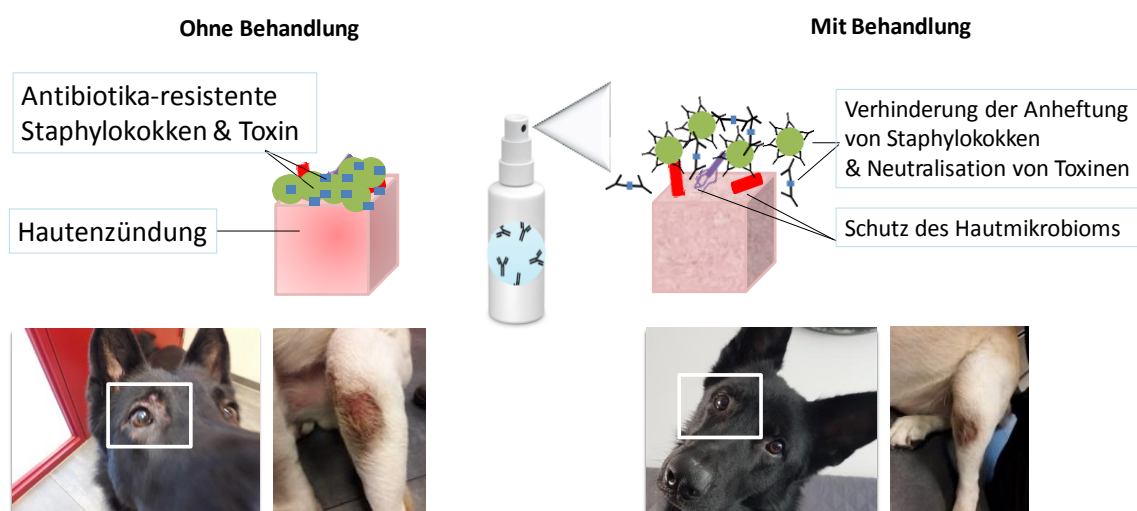


Abb2. Erfolgreiche Umsetzung: Hunde mit chronischer Wunde vor und nach der Behandlung mit Anti-Körper-Spray

ches gewissen Schwankungen unterliegt. Umso wichtiger ist es, dass bei der Verarbeitung eine Standardisierung erfolgt mit Prozessen, die in einem Pharma-umfeld realisierbar sind. Die gezielte Fraktionierung und die Isolation stellen dabei kritische Prozessschritte dar, welche mit den in dieser Arbeit ermittelten Erkenntnissen gut beherrschbar werden. So erzeugte Produkte haben verschiedenste Alleinstellungsmerkmale und einen einzigartigen Wirkmechanismus. Die Vorteile dieser Technologie nachfolgend nochmals zusammengefasst:

- Die Antikörper können an vielen Stellen der Bakterien binden, was eine Resistenzbildung sehr unwahrscheinlich macht und die Effektivität erhöht.
- Es können verschiedene Toxine und Bakterien gleichzeitig inaktiviert werden.
- Im Gegensatz zu üblicherweise verwendeten Antibiotika sind die Antikörper spezifisch nur für die gewünschte Funktion. Sie schädigen daher nicht die gesunde Mikroflora, und eine Regeneration tritt während der Behandlung ein.
- Durch Substitution wird der Entstehung neuer Antibiotikaresistenzen vorgebeugt.

Für prozesstechnische Teilaspekte meiner Dissertation war ich für den Otto von Guericke-Preis 2019 nominiert. Das entsprechende Video, welches im Zuge der Finalteilnahme erstellt wurde, sowie die zahlreich resultierenden Pressemitteilungen belegen

die gesellschaftliche Relevanz deutlich. Mein Ziel seit Beginn meiner Promotion war stets, einen realen Impact zu generieren und die Forschungsergebnisse in konkreten innovativen Anwendungen umzusetzen. Dafür habe ich während meiner Dissertation die Heidebrecht Byotec UG gegründet. Die Gründung einer weiteren Firma zur Umsetzung des Hundesprays in ein marktfähiges Produkt bereite ich mit zwei Mitstreitern seit einem Jahr intensiv vor.