

Zusammenfassung

Die Induktion effektiver neutralisierender Antikörperantworten durch eine anti-retrovirale Vakzine ist nach wie vor ein herausforderndes Problem. Im FV-Modell wurde daher der adjuvante Effekt verschiedener Cytokin-kodierender adenoviraler Vektoren in der anti-retroviralen Immunisierung untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Impfeffizienz des *expression/display*-Vektors Ad.pIXgp70 durch die Koimmunisierung mit adenoviralen Vektoren, die die Cytokine IL5, IL6, IL23 oder CCL1 exprimierten, deutlich verbessert werden konnte. Dieser Impfschutz spiegelte sich in reduzierten Viruslasten und einer besseren Kontrolle über die FV-induzierte Splenomegalie wider und korrelierte mit starken neutralisierenden Antikörperantworten nach der Belastungsinfektion. Die stärksten Effekte wurden durch Koimmunisierung mit Ad.IL5 und Ad.IL23 erzielt; dabei konnten trotz einer hohen Infektionsdosis nur in einzelnen Tieren Viruslasten nachgewiesen werden. Da dieser sehr gute Schutz bedingt durch die verwendeten Vakzinkombinationen ausschließlich CD4⁺ T-Zellen und neutralisierende Antikörper auslöste, wurde die Impfung zusätzlich durch den CTL-induzierenden Vektor Ad5.TxnGagL erweitert. Der dadurch induzierte Schutz korrelierte mit hohen neutralisierenden Antikörpertitern sowie CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellantworten, und war vergleichbar mit dem eines lebend-attenuierten Impfstoffs, der bisher einzigen effektiven Vakzine.

Zudem zeigte sich ein starker adjuvanter Effekt durch einen adenoviralen Vektor, der ein Fusionsprotein aus Thioredoxin und dem viralen Oberflächenprotein gp70 kodierte. Die Immunisierung mit diesem Vektor zusammen mit Ad.pIXgp70 induzierte einen sehr guten Schutz, der ebenfalls durch hohe neutralisierende Antikörpertiter vermittelt wurde. Allerdings konnten diese Impferfolge durch einen neuen Vektor Ad.secTxngp70^{pIXgp70}, der die Eigenschaften beider Vektoren in einem rekombinanten Adenovirus kombinieren sollte, nicht erzielt werden.

In der chronischen FV-Infektion wurden in Pilotexperimenten adenovirale Vektoren zur therapeutischen Immunisierung eingesetzt. Die Immunisierung mit IL5-adjuvantiertem Ad.pIXgp70 hatte genauso wie die Kombination aus Ad5.env und CCL3- bzw. IFN α 4-kodierenden Vektoren keinen Einfluss auf die chronische Viruslast. Auch die Impfung mit dem CTL-induzierenden Vektor Ad5.TxnGagL mit vorheriger Präimmunisierung mit Ad5.IL4 konnte die Viruslast in den chronisch infizierten Tieren nicht senken. In einzelnen Tieren wurden nach Präimmunisierung mit Ad5.IFN γ oder der Stimulation des Immunsystems durch Ad5.IL23 und anschließender Impfung mit Ad5.TxnGagL niedrigere Viruslasten im Vergleich zu unbehandelten, chronisch infizierten Kontrolltieren detektiert.

In dieser Arbeit konnten durch den Einsatz genetischer Adjuvanzien neue Impfstrategien etabliert und erstmals ein mit einem lebend-attenuierten Retrovirus vergleichbarer Immunschutz durch adenovirale Vektoren induziert werden.

Summary

The induction of effective neutralizing antibody responses by an anti-retroviral vaccine still constitutes an unmet challenge. Thus, the adjuvant effect of different cytokine encoding adenoviral vectors was analyzed in the Friend retrovirus infection model. It was shown that the vaccination efficacy of the *expression/display* vector Ad.pIXgp70 could be strongly improved by coimmunization with adenoviral vectors that encode the cytokines IL5, IL6, IL23 or CCL1. The protection was reflected by reduced viral loads and an improved control over FV-induced disease which correlated with strong neutralizing antibody responses after challenge infection. The strongest effects were achieved by coimmunization with Ad.IL5 or Ad.IL23; despite the high challenge dose viral loads were only detectable in few animals. As this strong protection was only mediated by CD4⁺ T-cell- and neutralizing antibody responses, the vaccine was additionally supplemented by the CTL-inducing vector Ad.TxnGagL. The protection induced by this vector combination correlated with high neutralizing antibodies as well as CD4⁺ and CD8⁺ T-cell responses and was comparable to that conferred by a live-attenuated vaccine, which so far had been the only highly effective vaccine.

In addition, a strong adjuvant effect was found for an adenoviral vector which encodes a thioredoxin-gp70 fusion protein. The combined immunization with this vector and Ad.pIXgp70 induced a strong protection which also correlated with neutralizing antibodies. However, this protection was not achieved by the new vector Ad.secTxngp70^{pIXgp70}, which should combine the properties of both vectors in only one recombinant adenovirus.

In pilot experiments, adenoviral vectors were used for therapeutic vaccination approaches in chronic FV infection. The immunization with a combination of Ad5.pIXgp70 and Ad5.IL5 as well as Ad5.env and Ad5.CCL3 or Ad5.IFN α 4 had no effect on chronic viral loads. Also vaccination with Ad5.TxnGagL after preimmunization with Ad5.IL4 did not reduce viral loads. When mice were preimmunized with Ad5.IFN γ or Ad5.IL23 and subsequently immunized with Ad5.TxnGagL lower viral loads were detected in some of these mice in comparison to unimmunized, chronically infected mice.

In this study, new vaccination approaches with adenoviral vectors using genetic adjuvants were established and for the first time, a vaccination efficacy comparable to a live-attenuated retrovirus was achieved with adenovirus-based vaccine vectors.