

Chimia 48 (1994) 89–92
© Neue Schweizerische Chemische Gesellschaft
ISSN 0009–4293

Wachsende Bedeutung der Bio- und Gentechnologie in der pharmazeutischen und medizinischen Forschung

Eckart Gwinner*

Als James Watson und Francis Crick 1953 die Doppelhelix-Raumstruktur der Desoxyribonukleinsäure (DNS) als Grundbaustein der Gene aufklärten, haben damals wohl nur ganz wenige Forscher geahnt, welche Umwälzungen in den biologischen Wissenschaften bis hin zur Medizin von der neuen Erkenntnis ausgelöst werden könnten; innerhalb der Biochemie und Molekularbiologie entstand in der Folge eine eigene Fachdisziplin, die Molekulargenetik. Mit dem ersten erfolgreichen Experiment der Genrekombination von Stanley Cohen und Herbert Boyer 1973 in Kalifornien war dann der entscheidende Schritt zu einer völlig neuen Technologie, der Gentechnologie, eingeleitet. Aber auch damals hat noch kein kühner 'Science-fiction-Autor' vorausgesehen, dass bereits zwanzig Jahre später allein in den USA sich über 1300 Firmen mit der Anwendung und Umsetzung der modernen Bio- und Gentechnologie im weitesten Sinne beschäftigen würden.

Nach einer Untersuchung der Unternehmensberater von Ernst & Young arbeiten etwa zwei Drittel dieser Firmen an der Entwicklung neuer Diagnostika, Medikamente und Impfstoffe für die Humanmedizin; weitere 15% betätigen sich als Zulieferer von Laborgeräten, Instrumenten und Reagenzien, sowie etwa 10% im

Agrarbereich (inkl. Veterinärmedizin); die restlichen 8% suchen Anwendungen im Umweltschutz, in der Energiegewinnung (Bioenergie) und Feinchemikalien-Produktion oder entwickeln Biosensoren.

Vorrangstellung der USA

Auf die Etablierung des Biotechunternehmens *Genentech Inc.* (u.a. mit *Herbert Boyer*) in South San Francisco im Jahr 1976 folgte ab 1978 eine Welle von Biotech-Firmengründungen, die zu einer enormen Verbreiterung und Vertiefung des Wissens wie der technischen Anwendungen bis zum heutigen Tage führten. Bereits 1982, also 9 Jahre nach der ersten Genrekombination und 5 Jahre nach den Pionierarbeiten bei *Genentech* kam mit Humaninsulin das erste gentechnische Medikament auf den Markt. Ebenfalls nur 5 Jahre brauchte es von der Erfindung der Hybridomamethode (1975) der späteren Nobel-Preisträger *Georges Köhler* und *Cesar Milsteim* bis zum ersten Diagnosekit mit monoklonalen Antikörpern. Zu erklären ist diese Dynamik, die nur vergleichbar ist mit den Entwicklungen in der Computer- und Elektronik-Industrie, aus der US-spezifischen Kombination von massiven staatlichen Forschungsinvestitionen, privaten Elite-Universitäten, breitem Fluss von Wagniskapital und eingespielten Instrumenten für den Technologietransfer. So beträgt beispielsweise allein das jährliche Budget der National Institutes of Health etwa 11 Mia. \$, wie kürzlich Nobel-Preisträger *David Baltimore* in Zürich ausführte; dies sei absolute Weltspitze in den life sciences. Hinzu kommen noch die Grants von mehreren grossen Stiftungen (z.B. *Rockefeller-* oder *Hu-*

*ghes-*Stiftung), die sich der biomedizinischen Forschung widmen.

Besonders bezeichnend für die USA ist die rasche Umsetzung von neuem Substanz- und Methodenwissen in entsprechende Produkte oder Technologien, was sich auch in der Patentstatistik niederschlägt: Im Bereich der modernen Biotechnologie verfügen die USA nach einer Analyse der EU-Kommission in Brüssel vom März d.J. über 65% aller Patente, die Europäer dagegen nur über 15%, dicht gefolgt von den Japanern mit 13%. Nach einer Aufstellung des amerikanischen Pharmaverbandes PMA entfielen 1992 etwa die Hälfte aller Biotechnologiepatente auf den Gesundheitsbereich, in dem wiederum 69% amerikanischen Ursprungs waren. Die eigentliche Gentechnologie zählte 178 Patente im Pharmasektor, wovon 80% auf die USA und nur 8% auf Europa entfielen.

Hält die EU-Kommission fest, dass gegenwärtig von den etwa 50 neuen Arzneimitteln, die jährlich auf den Markt kommen, bereits 10 bis 15 mittels der modernen Biotechnologie hergestellt werden, so ermittelte die PMA Ende 1993 etwa 150 verschiedene Proteine, die als medizinische Produkte (Medikamente, *in vivo*-Kontrastmittel/-Diagnostika, Vakzine) gegenwärtig in klinischer Prüfung sind. Im einzelnen waren dies 50 monoklonale Antikörper, über 20 Vakzinproteine, 14 Interleukine, 11 Interferone, 10 Wachstumsfaktoren, 7 Kolonie-stimulierende Faktoren, 4 Wachstumshormone sowie etwa 30 andere Enzyme, Blutfaktoren, Rezeptorproteine, etc. Die meisten dieser Entwicklungsprodukte (über 60) zielen auf einen Einsatz in der *in vivo*-Tumordiagnostik oder Krebstherapie, weitere 23 Biotechprodukte (darunter 7 Impfstoffe) werden bei AIDS geprüft, 12 bei Sepsis und fast 10 bei rheumatischer Arthritis. Von der US-Arzneimittelbehörde FDA zugelassen und auf dem Markt eingeführt sind inzwischen über 20 verschiedene Arzneimittel und Impfstoffe.

Aus der Zahl der Entwicklungsprojekte, die sich laufend erhöht, leitet sich für die Zukunft eine rasche Steigerung des Anteils gentechnisch hergestellter Präparate am Pharma-Weltmarkt ab: 1985 erst 0,3 Mia. SFr. bei insgesamt 240 Mia. SFr. waren es Anfang der 90er Jahre bereits 6 Mia. SFr. bei insgesamt 270 Mia. SFr.; für das Jahr 2000 werden 50–60 Mia. SFr. bei ca. 350 Mia. SFr. Weltmarkt erwartet. (Schätzungen von *Roche*, s. [1], – *Roche* hat inklusive der Mehrheitsbeteiligung *Genentech* im vergangenen Jahr erstmals weltweit Verkaufserlöse von mehr als 1 Mia. mit gentechnischen Medikamenten erzielt.)

*Korrespondenz: Dipl. Chem. E. Gwinner
F. Hoffmann-La Roche AG
Informationsdienst
CH-4002 Basel

Tiefgreifender Wandel in der pharmazeutischen Forschung

Wenn hier vom Einsatz der Gentechnologie oder der modernen Biotechnologie die Rede ist, so ist damit ein ganzes Bündel verschiedener Methoden oder Prozesse gemeint:

- Die bereits erwähnte gezielte Genkombination zur Herstellung von körpereigenen Proteinen (1973).
- Die Technik der Zellfusion, die zur Hybridomazelle und zu monoklonalen Antikörpern führt (1975).
- Die PCR oder Polymerasekettenreaktion (1983) des Chemie-Nobel-Preisträgers (1993) *Karry Mullis*, welche die schnelle millionen- bis milliardenfache Kopierung einer Gensequenz ermöglicht, daher heute praktisch in jedem Gentechnik-Labor Anwendung findet und ausserdem zu hochspezifischen und hochsensitiven *in vitro*-Tests für mehrere Krankheitserreger (HIV, *Chlamydia trachomatis*, *Hepatitis C*,

Mycobacterium tuberculosis) geführt hat.

- Die Gentransfektion in die Pflanzenzelle oder in die befruchtete Eizelle eines Tieres zur Gewinnung von transgenen Pflanzen oder Tieren.
- Der Gentransfer in eine menschliche Körperzelle zum Zweck der somatischen Genterapie.
- Die Antisense-Methode, welche chemisch modifizierte Oligonukleotide so nutzt, dass deren Information 'im gegenläufigen Sinn' zur Boten-RNS läuft, also die Boten-RNS 'maskiert' und für die Proteinsynthese untauglich macht.

In der Startphase (*Tab. 1*) der technischen Umsetzung der Genrekombination ging es zunächst darum, die Gensequenz, die ein wohlbekanntes Human-Protein wie Insulin codiert, in einen geeigneten Mikroorganismus (Hefezellen) einzuschleusen und in dieser Wirtszelle zu exprimieren sowie diese Zellen in Massenkultur zu züchten und schliesslich das gewünschte Protein aus der Lösung abzutrennen. Die

Bedeutung dieser ersten Phase in der Medizin lag eher in einer Verbesserung der schon lange etablierten Diabetes-Therapie mit Insulin, wobei das nunmehr gut und kostengünstig zugängliche Human-Insulin gegenüber dem früher üblichen Schweine-Insulin den unbestrittenen Vorteil aufweist, nicht immunogen zu sein.

Von Proteinen als Wirkstoffe...

Wesentlich stärker und breiter gestaltet sich der medizinische Fortschritt, der sich aus dem Zugang zu verschiedenen Human-Proteinen wie den Interferonen, den Zytokinen und den Wachstumsfaktoren allgemein ergibt, da alle diese Substanzen früher praktisch nicht herstellbar waren und sich damit der biologischen wie medizinischen Charakterisierung entzogen. Hier war und ist weiterhin eine umfangreiche biologische und medizinische Forschung gefordert, wobei sich am Beispiel des Interferon *alfa-2a* bei *Roche*

Tab. 1. Einfluss der Gentechnik auf die Medizin

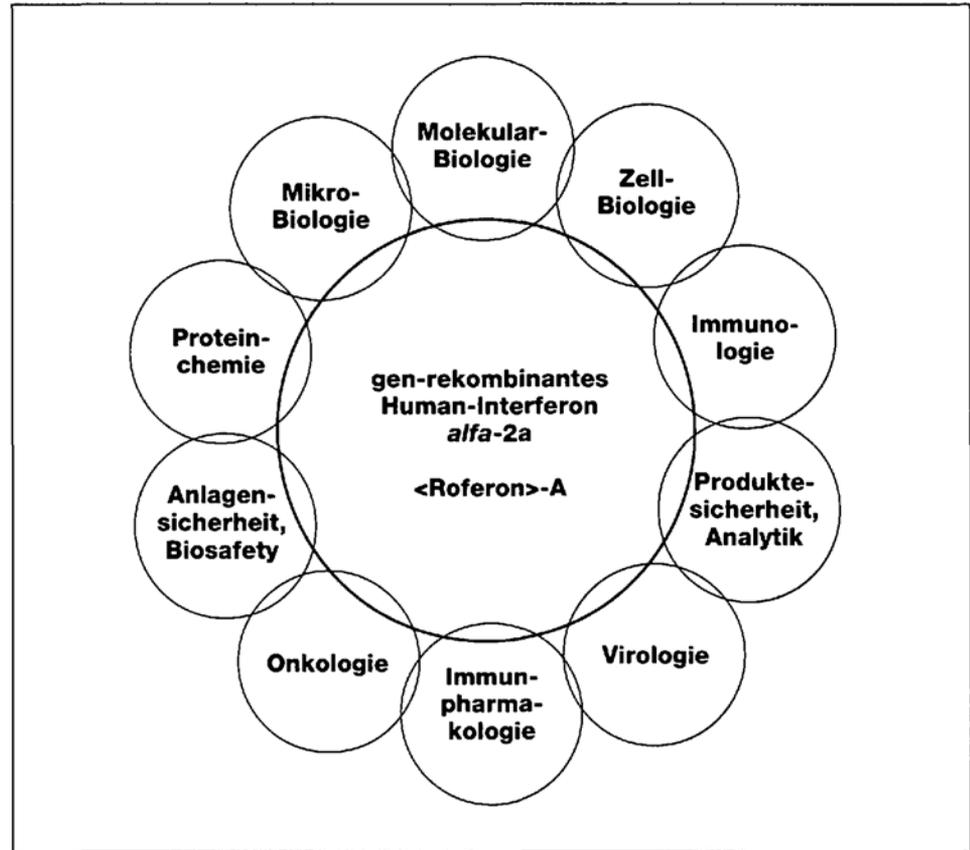
Phase	Substanzen	Anwendungen	Auswirkungen auf die Medizin
Startphase 1976-1985	monoklonale Antikörper Humaninsulin Wachstumshormon TPA (Tissue Plasminogen Activator)	Immundiagnostik Diabetes Wachstumsstörungen Thrombolysse	nachhaltig bescheiden verbesserte Therapie verbesserte Therapie
Biotechnische Umsetzungsphase ab 1980	<i>alfa</i> -Interferone <i>beta</i> -Interferone Interleukine CSF (Colony Stimulating Factors) virale Proteine weitere Zytokine und Growth Factors	Virale Infektionen, Hämatologie einige solide Tumore <i>Morbus Crohn?</i> Multiple Sklerose Onkologie, Immunologie Hämatologie, Krebsbegleittherapie Hepatitis B/C-Vakzine verschiedenste Gebiete von Autoimmun-Krankheiten bis Wundheilung und ZNS-Störungen	stark wachsender Einfluss durch völlig neue Therapiemöglichkeiten oder stark verbesserte Impfstoffe
Pharmakologische Phase ab 1995	Agonisten und Antagonisten von Proteinen (Enzyme, Rezeptore), gentechnisch modifizierte Proteine inkl. humanisierte Antikörper	Allergien, Autoimmun-Syndrome und Immundefekte, Organtransplantationen, Herz-Kreislauf-Erkrankungen, septischer-Schock-Syndrom, Infektionen, ZNS-Störungen	Wesentliche Fortschritte auf allen Gebieten
'Genomics'-Phase ab 1998	Somatische Genterapie Beeinflussung der Genexpression (antisense) Gen-Diagnosen (PCR)	Verschiedene kausale Therapien Diagnose von Erbkrankheiten	Neue Epoche in der Medizin?

das komplexe Zusammenspiel der verschiedenen Fachdisziplinen aufzeigen lässt (Fig.).

Die klinisch-medizinische Evaluierung der *alpha*-Interferone geht inzwischen über die ursprünglichen Anwendungen in der Krebstherapie (vorallem verschiedene Blutkrebs-Formen) und als antivirale Medikamente hinaus, so etwa bei *Crohn's* Disease oder sogar in der Augenheilkunde. Auch die *beta*-Interferone und das *gamma*-Interferon dürften noch zahlreiche neue Anwendungen finden. Betrachtlich ist insbesondere das Potential der in den letzten 10 Jahren klonierten Zytokine (Tab 2).

Als weiteres interessantes Konzept für hochselektive Medikamente hat sich die gentechnische Modifizierung von Antikörpern/Immunglobulinen oder die 'Konstruktion' von Fusionsproteinen ergeben: Zunächst wird ein menschliches Protein, das als Krankheitsmediator fungiert (so etwa das im Übermass toxisch wirkende Zytokin TNF) bei Mäusen als Antigen eingesetzt zur Gewinnung von monoklonalen Antikörpern (in unserem Fall also Anti-TNF-Antikörper). Diese vermögen kurzfristig die Wirkung des krankheitsverursachenden Proteins zu blockieren, sind aber selbst als Fremdeiweiss für den Menschen immunogen, werden also durch humane Antikörper nach einer gewissen Zeit neutralisiert. Diese Reaktion umgeht man heute, indem man den gegen das Protein wirksamen variablen Teil (also Anti-TNF-Teil) des Maus-Antikörpers mit dem sogenannten Fc-Teil eines Human-Immunglobulins gentechnisch verknüpft, der für die Erkennung als körpereigenes Immunglobulin verantwortlich ist. Solche humanisierten Antikörper sind hochspezifisch in ihrer Wirkung, gut verträglich und meist hinreichend lang wirksam. Eine Variation stellt die Koppelung eines Human-Rezeptor-Proteins mit dem Fc-Immunglobulin-Protein zu einem Fusionsprotein dar; ein solches TNF-Rezeptor-Fusionsprotein beispielsweise vermag überschüssiges TNF sehr selektiv abzufangen und zu binden, ganz in Analogie zu einigen im Körper ablaufenden Vorgängen.

Da der menschliche Körper für seine verschiedensten Funktionen schätzungsweise etwa 80 000 Proteine einsetzt, sind die Chancen der gentechnisch orientierten Pharmaforschung weitere interessante Wirkstoffe zu finden noch keineswegs erschöpft. Oft erfordern die daraus hervorgehenden Protein-Präparate nicht allzu umfangreiche toxikologische Prüfungen, da es sich um körpereigene Substanzen handelt. Die Entwicklungszeit gen-



Figur. Arbeitsbereiche und Wissenschaftsdisziplinen, die in die Interferon-Entwicklung involviert waren

Tab. 2. Klonierung von Zytokinen und Blutzell-Wachstumsfaktoren

Jahr	Protein
1983	IL-2
1984	IL-1, IL-3
1985	EPO, TNF, gamma-IFN, M-CSF, GM-CSF
1986	IL-4, IL-5, IL-6, G-CSF
1987	IL-8
1989	IL-7
1990	IL-9, IL-11, IL-12, KL, MIP-1
1991	IL-10
1992	IL-13

Quelle: *Swiss Biotech* 1993, 11 (6), 13.

Prof. Dr. Bernhard Ryffel, ETH-Zürich und Universität Zürich.

technisch hergestellter Pharmazeutika ist denn auch meist etwas kürzer als bei konventionellen Medikamenten (11-12 Jahre) und betrug beim jüngsten Vertreter, der Human-DNase (*Pulmozyme*®) zur Behandlung der cystischen Fibrose, nur fünf Jahre. Allerdings haben Proteine als Wirkstoffe auch schwerwiegende Nachteile: Sie können nicht oral gegeben werden und benötigen manchmal umständliche Applikationstechniken. Sie erfordern

im Produktionsprozess einen hohen Aufwand zur Reindarstellung und oft auch zur Aufbewahrung. Das grosse Wirkstoffmolekül gelangt manchmal nicht in hinreichenden Konzentrationen an den Wirkort (Rezeptoren auf der Zelloberfläche); auch die Wirkdauer ist oft relativ kurz, was bei akut verlaufenden Erkrankungen von Vorteil, bei längeren Krankheiten aber von Nachteil sein kann.

...wieder stärker hin zu kleinen Molekülen

Die neueste Phase in der Pharmaforschung und medizinischen Evaluierung ist durch einen Trend zur gezielten Beeinflussung von biologischen Zielmolekülen durch niedermolekulare chemische Wirkstoffe gekennzeichnet. Diese Entwicklungsrichtung wird als pharmakologische Phase bezeichnet.

Als Beispiel mögen Projekte dienen, die in der zweiten Hälfte der 80er Jahre von verschiedenen Firmen in Angriff genommen wurden, so etwa die Entwicklung von Antagonisten für wichtige Human-Lymphokine oder in der AIDS-Forschung die Suche nach spezifischen Inhibitoren verschiedener Enzyme und Regulatorproteine von HIV, nachdem das Virusgenom dank Gentechnologie entziffert worden war. So konnte bei *Roche* in enger Zusammenarbeit zweier Forschungsgruppen in Basel und in Welwyn/England das aktive Zentrum der HIV-Protease, einem für die Virusvermehrung essentiellen Enzym, detailliert und bis in die dreidimensionale Molekülfineinstruktur analysiert werden. Auf Basis dieser Strukturinformationen gelang die Entwicklung eines hochpotenten Inhibitors, der das aktive Zentrum sehr selektiv blockiert. Diese Substanz hat sich dank der 'Massschneiderei' des chemischen Wirkstoffes in ersten klinischen Untersuchungen als gut verträglich und wirksam erwiesen, so dass demnächst die breite Prüfung an mehreren hundert Patienten im Rahmen einer Phase III-Multizenter-Studie begonnen werden kann.

Um chemische Leitsubstanzen für die Synthese neuer Wirkstoffe zu finden, die als Liganden für ein bestimmtes biologisches Zielmolekül (Rezeptor, Ionen-Kanal- oder Membranprotein, Enzym, Signalprotein usw.) fungieren, werden gewöhnlich zwei Wege eingeschlagen: einerseits das Massen-Screening von synthetischen Molekülen aus der firmeneigenen

Substanzbibliothek oder von natürlichen Pflanzeninhaltsstoffen bzw. Metaboliten von Mikroorganismen, andererseits das rationale Design von Molekülen wenn die dreidimensionale Struktur des Targets bekannt ist. Diese Forschungsmethodik erfordert eine besonders enge Zusammenarbeit der Molekularbiologen und Proteinchemiker, die über die räumliche Struktur des Zielproteins Auskunft geben können, mit den Experten für medizinische Chemie aus der traditionellen Pharmaforschung. Zum Einsatz kommen dabei die modernsten computergrafischen Hilfsmittel des Computer assisted drug modeling.

Weitere Quantensprünge im Wirkstoffdesign können künftig aus der Anwendung der Combinatorial Chemistry erwartet werden, welche sich derzeit in einer Phase des Übergangs von kleinen innovativen Unternehmen in die Labors der grossen Pharmafirmen befindet. Combinatorial Chemistry mischt eine bestimmte Zahl von Struktur-Komponenten auf eine solche Weise, dass rasch und effizient eine breite Palette von Molekülvarianten zur Verfügung steht. Werden als Leitsubstanzen Peptid-Fragmente untersucht, so kann über die Kombination der zugrundeliegenden Nukleotidsequenzen die gewünschte Vielfalt der Moleküle erreicht werden.

Entscheidend für die Ausschöpfung dieses Innovationspotentials wird auch hier die rasche Integration dieser Methode in die bisherige Forschungsstrategie sein, nachdem die Molekularbiologie nun weitgehend Eingang gefunden hat: Gemäss einer Studie der Boston Consulting Group basierten letztes Jahr durchschnittlich etwa 33% aller Forschungsprojekte in der US-Pharmaindustrie auf bio- bzw. gentechnischen Methoden, bei einzelnen Firmen sogar bis zu 70% aller Projekte, nachdem es 1980 erst 2% gewesen waren. Die simultane Anwendung der verschiedenen bio- und gentechnischen Verfahren, deren Kombination mit einer hochentwickelten

Bio- und Synthese-Chemie sowie Bio-Informatik ist sicher das Kennzeichen für die industrielle Pharmaforschung der Zukunft. Auch die Beeinflussung der Genexpression durch Antisense-Moleküle, die beispielsweise gezielt die Boten-RNS blockieren, ist als Konzept in der Therapie von Tumorerkrankungen oder viralen Infektionen bereits in den Labors vorhanden. Dagegen bleiben bisher die ersten Versuche der somatischen Gentherapie in den USA und in Europa (s. auch [1]) weitgehend das Feld hochspezialisierter, molekularbiologisch orientierter Ärzte-Teams. Prognosen für die weitere Entwicklung dieser 'Genomics'-Phase erscheinen derzeit als noch etwas verfrüht; dass damit eine neue Epoche in der Medizin eingeläutet werden könnte, ist zumindest wahrscheinlich.

Diese Entwicklungen dokumentieren eindeutig den enormen Stellenwert, den heute die Bio- und Gentechnologie für die pharmazeutische und medizinische Forschung erlangt hat. Diese ist daher in besonderem Masse auf ein positives politisches Umfeld für neue Technologien angewiesen. In der Medizin haben die neuen Methoden zu einem grundlegenden Wandel der Anschauungen geführt, was längerfristig auch weitreichende Auswirkungen auf das gesamte Gesundheitssystem haben könnte [2].

Eingegangen am 17. März 1994

- [1] Sabine Unternährer-Rasta, Bruno Dalle Carbonare, Christian Manzoni, Stefan Ryser, 'Gentechnik - worum geht es?'
- [2] Jürgen Drews, 'Naturwissenschaftliche Paradigmen in der Medizin' und 'Resistance to technological change in Central Europe: Causes, repercussions and prospects'. Diese Literatur kann bei *F. Hoffmann-La Roche AG*, Abteilung CPP-C, Postfach, CH-4002 Basel, bezogen werden.