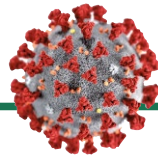


## IMMUNOLOGIE



## Kontaktsperre für SARS-CoV-2

Die Infektiosität des SARS-CoV-2-Virus mit einer Basisreproduktionszahl von 3,3 bis 3,8 und eine hohe Dunkelziffer symptomlos Infizierter erschweren die Prävention. Daher sind Wirkstoffe gefragt, die eine (Re-)Infektion der Schleimhaut im Initialstadium der Infektion blockieren, um schweren Verläufen von COVID-19 mit intensivmedizinischem Behandlungsbedarf vorzubeugen.

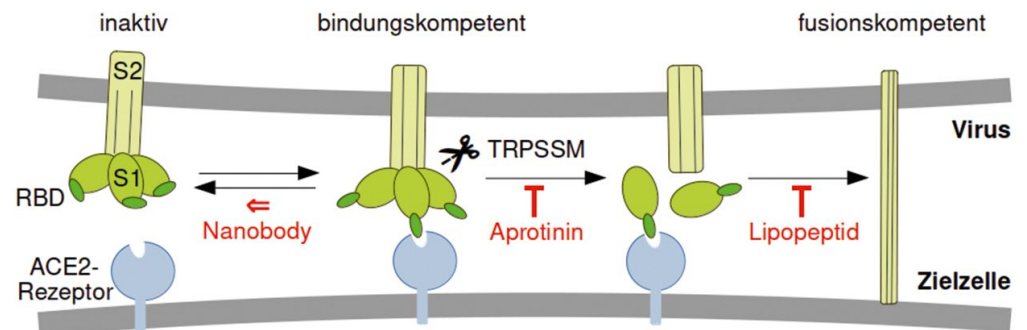
Als präventive Maßnahme wird in der Öffentlichkeit derzeit mit großen Erwartungen die Impfung propagiert, ohne dass die epidemiologische Wirksamkeit der aktuell verfügbaren Präparate eindeutig geklärt ist. Denn intramuskulär injiziert stimulieren diese besonders die systemische, von Immunglobulin G1 dominierte Immunantwort, die vor allem schwere Krankheitssymptome wie die Lungenentzündung eindämmt. Bei der primären Infektionsabwehr auf der Schleimhaut der oberen Atemwege, der Eintrittspforte für das Virus, spielt Immunglobulin G1 dagegen nur eine untergeordnete Rolle. Dort wirkt in erster Linie das über die Schleimhaut ausgeschiedene sekretorische Immunglobulin A1 [1]. Um diese mukosale Immunantwort zu provozieren, müssten die Impfstoffe wie bei einer natürlichen Infektion intranasal, z. B. durch Inhalation appliziert werden. Nur so ergab sich im Tiermodell eine wirksame, von Grund auf vor der Infektion schützende Immunität [2], die letztlich auch die Weitergabe des Virus durch ausgeatmete Aerosole verhindert und damit zur Herdenimmunität gegen SARS-CoV-2 beiträgt. Leider befinden sich bislang nur wenige intranasal applizierbare Präparate im Stadium der klinischen Erprobung [3].

Vor diesem Hintergrund bleiben Alternativen zur Impfung von Bedeutung. Wirkstoffe, die das Anheften des Virus an bzw. seine Aufnahme in die Zellen der Schleimhaut blockieren, könnten im Initialstadium einer Infektion oder nach Kontakt mit Infizierten vorsorglich appliziert auch Personen schützen, bei denen

Impfungen wirkungslos oder kontraindiziert sind. Auf der Suche nach derartigen Wirkstoffen steht wie bei der Impfstoffentwicklung das Spike-Protein des SARS-CoV-2-Virus im Fokus. Dieses von der Virenhülle abstehende, das stachelige Erscheinungsbild der Viruspartikel prägende homotrimeres Protein heftet sich wie ein Enterhaken an die Zielzellen, um die Infektion einzuleiten. Bindungspartner auf der Zelloberfläche ist dabei der ACE2-Rezeptor (ACE = *angiotensin converting enzyme*). In der flexiblen Proteinkonformation des Spike-Proteins haben die rezeptorbindenden Domänen (RBD) keine starre Position inne. Je nachdem, ob sie an der Moleküloberfläche exponiert oder in einer unzugänglichen Position verborgen sind, wechselt das Spike-Protein zwischen einer bindungskompetenten und einer inaktiven Konformation hin und her (Abbildung 1, links) [4].

### Stabilisierung der inaktiven Konformation

Ein Team US-amerikanischer Wissenschaftler um Peter Walter hat sich zum Ziel gesetzt, die Interaktion des SARS-CoV-2-Virus mit Zellen durch synthetische Antikörper zu blockieren. Aus einer Bank sogenannter Nanobodies, deren Struktur von der einzelkettigen Antikörper der Kamelartigen abgeleitet ist [5], selektierten sie Kandidaten, die mit hoher Affinität an die rezeptorbindende Domäne des Spike-Proteins binden und dieses in seiner inaktiven Konformation fixieren [6]. Wie zu erwarten, verhinderten solche Nanobodies im Experiment mit kultivierten menschlichen Zellen die Anheftung des Virus an die Zelloberfläche. Ein besonders wirksamer Kandidat, der trimere Nanobody mNb6-tri, blockiert alle drei rezeptorbindenden Domänen eines Spike-Protein-Trimers und ist so stabil, dass er ohne Aktivitätsverlust eine Stunde lang auf 50 °C erhitzt oder lyophilisiert bzw. als Aerosol vernebelt werden kann. Deshalb hoffen die Forscher, dass solche Nanobodies, als Nasenspray appliziert, das Virus auf den Schleimhäuten neutralisieren können. Durch ihre außergewöhnliche Stabilität, kostengünstige Verfahren der Massenproduktion und die Möglichkeit, durch *in vitro*-Affinitätsselektion an neue Viren-



**ABB. 1** Pharmakologische Blockade der Interaktion des SARS-CoV-2-Spike-Proteins (grün) mit Zielzellen. Um an den ACE2-Rezeptor (blau) zu binden, muss die rezeptorbindende Domäne (RBD) exponiert sein. Ein synthetischer Antikörper (Nanobody) stabilisiert die inaktive Konformation mit verborgener RBD und verhindert so die Bindung [6]. Aprotinin hemmt die Prozessierung des Spike-Proteins durch die Serinprotease TRPSSM und damit die Dissoziation der S1-Domäne [8]. Die anschließende Konformationsänderung der S2-Domäne, die letztlich zur Fusion der Virushülle mit der Zellmembran führt, wird durch ein synthetisches Lipopeptid gehemmt [12].

stämme angepasste Varianten zu generieren, besitzen die Nanobodies unbestrittene verfahrenstechnische Vorzüge gegenüber konventionellen neutralisierenden Antikörpern. Da sie zudem dank geringer Antigenität als gut verträglich gelten, darf man auf die Ergebnisse klinischer Studien gespannt sein.

### Hemmung der Prozessierung

Eine zweite therapeutische Option basiert darauf, dass das Spike-Protein nicht nur den Kontakt mit den Zielzellen herstellt, sondern auch maßgeblich an der Membranfusion beteiligt ist, die das virale Erbgut in die infizierte Zelle einschleust. Für diesen Schritt muss die Polypeptidkette des Spike-Proteins zwischen der S1- und S2-Domäne proteolytisch gespalten werden (Abbildung 1, Mitte). Anschließend dissoziiert die S1-Domäne, gefördert durch die Bindung an den ACE2-Rezeptor, von der membranständigen S2-Domäne. Das führt zur kompletten Reorganisation der S2-Domäne, deren langgestreckte Konformation mit der Membran der Zielzelle in Kontakt tritt und die Membranfusion einleitet (Abbildung 1, rechts). Dass die Membranfusion erst nach Proteolyse des viralen Bindungspartners stattfindet, ist auch bei anderen Viren wie dem Grippeerreger bekannt. Die Zielzellen liefern dafür gleich mehrere Proteasen, darunter die Proprotein-Convertase Furin, die bereits während der Reifung neuer Viruspartikel im Golgi-Apparat aktiv ist, sowie die Transmembran-Serinprotease 2 (TMPRSS2) an der Zelloberfläche. Dass dazu noch bakterielle Proteasen aus dem Mikrobiom der Schleimhaut kommen, könnte übrigens gelegentliche Erfolge einer Antibiotikatherapie bei viralen Infekten erklären. Dabei handelt es sich offenbar um einen indirekten Effekt, die Ausschaltung der Produktion bakterieller Proteasen [7].

Die Aktivität aller körpereigenen Proteasen muss sorgfältig reguliert werden, um Gewebeschäden durch überschießende Reaktionen zu ver-

meiden. Normalerweise leisten das körpereigene Proteaseinhibitoren wie alpha1-Antitrypsin, die nebenbei auch einen Beitrag zur Abwehr viraler Infektionen leisten. Die fein austarierte Balance zwischen Proteasen und Inhibitoren kann wiederum durch das SARS-CoV-2-Virus gestört werden, das über bislang unbekannte Mechanismen die Translation und damit den Spiegel der körpereigenen Proteaseinhibitoren senkt – ein typisches Beispiel für das Wettrüsten zwischen Pathogen und Wirt [8].

Die Supplementierung von Proteaseinhibitoren für die Infektionsprophylaxe ist demnach naheliegend, wenngleich es in Anbetracht der Vielfalt der beteiligten Proteasen nicht trivial ist, einen wirksamen Inhibitor zu finden. Zu den interessanten Kandidaten gehören Camostat-Mesylat und Nafamostat-Mesylat [9, 10], zwei synthetische Derivate der Benzoesäure, die zur medikamentösen Behandlung von entzündlichen Reaktionen bzw. Gerinnungsstörungen verwendet werden. Auch der natürliche Trypsininhibitor Aprotinin, ein Polypeptid der Bauchspeicheldrüse, kann im Experiment mit kultivierten Zellen die Vermehrung des SARS-CoV-2-Virus hemmen, vorausgesetzt, er wird rechtzeitig vor der Anheftung des Virus appliziert [8]. Nach erfolgter Membranfusion ist der Inhibitor dagegen unwirksam. Das werteten die Forscher als Beweis, dass Aprotinin einen initialen Schritt der Infektion hemmt und nicht etwa die anschließende intrazelluläre Replikation des Virus. Wegen des breiten Wirkungsspektrums aller Serinproteaseinhibitoren und daraus resultierender Nebenwirkungen, z. B. auf die Blutgerinnung, ist die lokale Applikation auf der Nasenschleimhaut vorteilhaft. Klinische Untersuchungen zum therapeutischen Einsatz von Aprotinin bei COVID-19-Erkrankungen könnten auf Erfahrungen in Russland aufbauen, wo die Substanz bereits als Nasenspray gegen Influenza eingesetzt wird [11].

### Verhinderung der Membranfusion

Zu guter Letzt arbeiten Wissenschaftler daran, die Umlagerung der S2-Domäne in die fusionskompetente Konformation zu stören (Abbildung 1, rechts) [12]. Das ermöglicht ein mit Cholesterin konjugiertes synthetisches Lipopeptid, dessen Aminosäuresequenz der so genannten HRC-Region in der Nähe der Transmembrandomäne des Spike-Proteins entspricht. Diese HRC-Region muss für die Ausbildung der langgestreckten Konformation mit einem aminoterminalen Segment, der HRN-Region, in Wechselwirkung treten. Indem das synthetische Peptid noch vor der Ausbildung dieser intramolekularen Wechselwirkung an ein intermediäres Stadium der S2-Domäne bindet, verhindert es die Reifung der fusionskompetenten Konformation. Passend dazu hemmt es im Experiment mit kultivierten Zellen die Vermehrung des SARS-CoV-2-Virus.

Fazit: Das Spike-Protein des SARS-CoV-2-Virus erweist sich als vielseitige Zielstruktur für pharmakologische Interventionen mit dem Ziel der Prävention oder initialen Therapie von COVID-19.

### Literatur

- [1] F. Krammer, *Nature*, 2020, 586, 516–527.
- [2] A. O. Hassan et al., *Cell*, 2020, 183, 169–184.e13.
- [3] <https://www.vfa.de/de/arzneimittelforschung/woran-wir-forschen/impfstoffezum-schutz-vor-coronavirus-2019-ncov>
- [4] A. C. Walls et al., 2020, *Cell* 180, 1–12.
- [5] S. Muyldermans, *FEBS J.*, 2020, <https://doi.org/10.1111/febs.15515>
- [6] M. Schoof et al., *Science*, 2020, 370, 1473–1479.
- [7] E. Böttcher-Friebertshäuser, H. D. Klenk, W. Garten, *Pathog. Dis.*, 2013, 69, 87–100.
- [8] D. Bojkova et al., *Cells*, 2020, 9, 2377
- [9] M. Hoffmann et al., *Cell* 2020, 181, 271–280.
- [10] M. Yamamoto et al., *Viruses*, 2020, 12, 629.
- [11] O. P. Zhirmov, H. D. Klenk, P. F. Wright, *Antiviral Res.*, 2011, 92, 27–36.
- [12] V. K. Outlaw et al., *mBio*, 2020, 11, e01935-20.

Annette Hille-Rehfeld, Stuttgart