

DNA – fremtidens vaksine?

Sammendrag

Genbaserte vaksiner, såkalte DNA-vaksiner, representerer en ny og lovende vaksineteknologi, der man istedenfor å inokulere med attenuerte eller inaktiverte mikrober eller deler av disse, anvender DNA som koder for ett eller flere antigener. Produksjon av antigen skjer i kroppens egne celler på en måte som likner en normal virusinfeksjon. Denne måten å vaksinere på kan indusere sterke cellulære immunresponser og muliggjør dermed beskyttelse mot, eventuelt behandling av sykdommer der tradisjonelle vaksiner har vist seg lite effektive.

Imidlertid har DNA-vaksiner, til tross for lovende resultater i mus, vist seg langt mindre potente i mennesker. De første kliniske studiene på slutten av 1990-årene ga svært skuffende resultater. Denne artikkelen gir en enkel innføring i virkningsmekanismer for DNA-vaksiner og omtaler muligheter, begrensninger og strategier for å løse problemene med å overføre teknologien fra mus til menneske.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter:
Se til slutt i artikkelen

Rune Kjekken

kjekken@inovio.com
Inovio Biomedical Corporation
11494 Sorrento Valley Road
San Diego, CA, USA

Bjarne Bogen

Immunologisk institutt
Rikshospitalet-Radiumhospitalet
og
Universitetet i Oslo

Iacob Mathiesen

Inovio AS
Forskningsveien 2a
0373 Oslo

Det er sagt at intet annet helsefremmende tiltak har reddet flere menneskeliv enn innføringen av vaksiner for å forebygge sykdom. Helt siden Edward Jenner inokulerte James Phipps med kukopper i 1796, har vaksiner vært basert på bruken av svekkede eller inaktiverte mikrober eller ulike bestanddeler av disse. Tradisjonelle vaksiner har vært svært effektive mot en rekke sykdomsfremkallende bakterier og virus som polio, myelitt, kopper, kikhoste og stivkrampe, men har vært mindre vellykket i bekjempelse av infeksjonssykdommer der effektive cellulære immunresponser står sentralt, slik som hiv, tuberkulose og malaria, samt ved ulike kreftformer.

Virkningsmekanismer for DNA-vaksiner

Prinsippet for DNA-vaksiner ble oppdaget nærmest ved en tilfeldighet i slutten av 1980-årene da forskere – med helt andre hensikter enn å ville utvikle vaksiner – sprøytet inn bakterieplasmider i mus og fant at det ble utviklet sterke immunreaksjoner mot proteiner som ble produsert fra plasmidet (1, 2) (ordforklaringer er gitt i ramme 1). De første forsøkene med DNA-vaksiner i mus for 15 år siden viste at disse var særlig effektive til å stimulere nettopp den cellulære delen av immunsystemet. Dette førte til store forventninger om raskt å kunne utvikle effektiv terapeutisk eller profylaktisk behandling mot sykdommer der tradisjonelle vaksiner var kommet til kort.

Ved genbasert vaksinering behandler man med små DNA-molekyler, bakterieplasmider, der det er satt inn sekvenser som koder for ett eller flere antigener (fig 1). Når plasmidet kommer inn i kroppens celler, anvendes cellens eget produksjonssystem, og det startes produksjon av det eller de kodede an-

tigen(er). Ved at vaksinen produseres i kroppen, etterliknes en vanlig infeksjon der f.eks. virus trenger inn i celler og omprogrammerer disse til å lage virusproteiner. Fordi antigenet produseres inne i cellen, vil det effektivt kunne presenteres på MHC-klasse I-molekyler og dermed stimulere cellemedierte immunsvær (T-cellerespons). Dette er det ofte vanskelig å oppnå med tradisjonelle vaksiner (med unntak av svekkede eller attenuerte virus), der antigenene tas inn i cellen utenfra og presenteres på MHC-klasse II-molekyler, noe som først og fremst gir en humoral immunrespons (B-cellerespons) (fig 1). Siden antigenet ved DNA-vaksinering produseres inne i cellen, vil det dessuten være i sin native konfigurasjon. Dermed oppnår man også en immunrespons mot antigenet slik det virkelig forekommer in vivo. Dette kan være et problem ved en del tradisjonelle vaksiner der antigener kan denatureres under produksjonsprosessen, f.eks. som en følge av kjemisk inaktivering.

Den bioteknologiske revolusjonen med muligheter til raskt og enkelt å modifisere DNA, har gjort genbaserte vaksiner til et uvurderlig forskningsverktøy i arbeidet med å «dissekere» ulike deler av immunsystemet og å øke vår kunnskap om molekylær immunologi generelt.

Fra mus til menn – fra suksess til fiasko

De første vellykkede forsøkene med DNA-vaksiner i mus ga støtet til en hektisk forskningsaktivitet. Utover i 1990-årene ble det demonstrert sterke immunresponser og beskyttelse mot en rekke patogener inkludert virus (f.eks. influensa, rabies og hepatitt B), bakterier (f.eks. *Mycoplasma pulmonis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella Typhi*) og ulike parasitter (f.eks. *Leishmania*

Hovedbudskap

- Ved genbaserte vaksiner benyttes DNA som koder for antigener, som så produseres i kroppens egne celler og gir humorale og cellulære immunresponser
- DNA-vaksineteknologi kan gi rimelige og sikre vaksiner med kort utviklings- og produksjonstid
- DNA-vaksiner har så langt gitt skuffende resultater i kliniske tester

og Schistosoma) (3). Også i en rekke kreftmodeller i mus viste DNA-vaksiner seg effektive, f.eks. ved kreft i bryst, pancreas, tykktarm og lunge (3).

Da de første kliniske studiene med DNA-vaksiner mot bl.a. hiv, influensa og multiple myelomer ble startet i slutten av 1990-årene, viste det seg imidlertid raskt at lovende resultater i mus ikke uten videre lot seg overføre til klinisk suksess i menneske. En rekke fase I-studier viste at vaksinene riktignok var meget sikre og ga få bivirkninger. Men dessverre ga de heller ingen effektiv beskyttelse. Selv når man etter hvert økte vaksinedosene til milligramnivå, så man kun moderate immunvar hos pasienter (4).

Det synes nå klart at årsaken til den manglende immunogenisitet i menneske særlig skyldes to faktorer. For det første gjør forskjeller i immunsystemet, og da særlig i repertoaret av ulike reseptorer på celleoverflaten, at DNA-vaksiner generelt er mindre potente i menneske enn f.eks. i mus (5). En like viktig årsak ligger i det nokså banale faktum at mennesket har en 3 000–4 000 ganger større kroppsmasse enn en mus. I mus vil en 50 µl DNA-injeksjon i f.eks. m. quadriceps effektivt «fylle» hele muskelen og dessuten generere et betydelig vevstrykk, noe som letter opptaket av DNA inn i cellene. Det vil være vanskelig å oppskalere vaksinedoser tilvarende for å oppnå den samme effekten i mennesker, da dette ville innebære injeksjon av 10–20 ml DNA-løsning. Siden DNA er store vannløselige molekyler som vanskelig krysser cellemembranen, vil en vanlig intramuskulær injeksjon av DNA føre til at bare ca. en av 10 000 000 DNA-molekyler kommer inn i cellene (6). Resultatet er en utilstrekkelig produksjon av antigener.

Strategier for å øke immunogenisiteten

Nyere forskning har derfor særlig konsentrert seg om å gjøre DNA-vaksiner mer immunologisk potente, blant annet ved å utvikle metoder for mer effektiv levering inn i cellene.

Mer effektiv levering

En mulighet for effektiv levering av genbaserte vaksiner er å pakke disse i viruspartikler. Kombinasjonsvaksiner der man bruker DNA-vaksiner til å forberede (prime) immunsystemet for senere å styrke (boost) med virus, har vist seg å gi sterke immunvar i en rekke dyremodeller (7). Virus er svært effektive i å komme inn cellen, og en rekke forsøk viser at bruk av virus gir svært potente immunresponser i primater. Viruspartikler kan også gi muligheten til å dirigere vaksinen til spesielle celler siden ulike virus har sitt eget utvalg av celletyper de infiserer.

En svært interessant mulighet er f.eks. å benytte modifisert hiv til å uttrykke vaksineantigen direkte i ulike typer av immunceller. Hittil er imidlertid særlig adenovirus, som infiserer et svært bredt cellerepertoar, blitt

benyttet, men også andre virus som f.eks. canarypoxvirus, vacciniavirus Ankara og vesikulær stomatitt-virus er blitt forsøkt. Imidlertid er produksjon av virusbaserte vektorer komplisert og kostbar. Størrelsen på viruspartiklene gjør dessuten at kun relativt små DNA-sekvenser kan pakkes, noe som legger begrensninger på vaksinedesign. Det største problemet er likevel at preimmunitet, dvs. utviklingen av immunitet mot kappeproteiner på selve viruspartikkelen, ofte gjør at viruset fjernes av immunsystemet før det får transfektert cellene og dermed levert vaksinen. Det pågår derfor en betydelig forskningsinnsats med det mål å lage virus som ikke ses av immunsystemet. De første eksemplene på slike skjulte (stealth) virus er nylig rapportert (8). Om denne strategien lykkes, har man ironisk nok også lagt grunnlaget for en teknologi som kan brukes til å produsere meget effektive biologiske våpen (9).

En alternativ metode for å øke leverings-effektiviteten, er å blande DNA med ulike typer av polymerer eller mikropartikler som beskytter DNA fra degradering og/eller hjelper det inn i cellen. Særlig er forskjellige liposomformuleringer blitt forsøkt (10). Avhengig av hvilke formuleringer som brukes, oppnås også en viss adjuvant effekt ved at ulike toll-reseptorer aktiviseres (11). Mikropartikler fraktes dessuten til lokale lymfeknuter der de tas opp ved fagocytose i antigenpresenterende celler (12). Så langt har imidlertid liposomformuleringer og mikropartikler vist seg mindre potente enn bruk av viruspartikler i kliniske studier.

Ved bruk av en genpistol (gene gun) skytes en «hagladning» med mikrometerstore gullpartikler dekket med DNA direkte mot huden. En fordel med bruk av genpistol er at man transefekteferer antigenpresenterende langerhansceller i huden direkte. Det er også mulig å benytte metoden til å levere DNA-vaksiner til ulike slimhinner. Siden det er en ren fysisk metode, unngår man også en del problemer knyttet til biologiske leverings-systemer. Det er dessuten lettere å overføre resultater fra relevante dyremodeller til mennesker. Det britiske bioteknologiselskapet PowderMed har utviklet små håndholdte enheter som er velegnet til profylaktiske vaksiner, ikke minst fordi man også unngår sprøytetikkproblematikk. Bruk av genpistol har vist lovende resultater i enkelte kliniske studier, bl.a. i utprøving av genbaserte influensavaksiner (13, 14). Det er imidlertid bare mulig å levere mikrogrammengder med DNA ved hjelp av denne metoden, noe som kan vise seg å være utilstrekkelig for enkelte antigener.

En annen lovende metode er elektroporering, der en bruker korte elektriske pulser for å «åpne» cellemembranen slik at DNA lettere kan komme inn i cellen. Derved oppnås 10–100 ganger økning av antigenproduksjon (15). Metoden har også vist seg å ha en slags innebygd adjuvant effekt ved at det

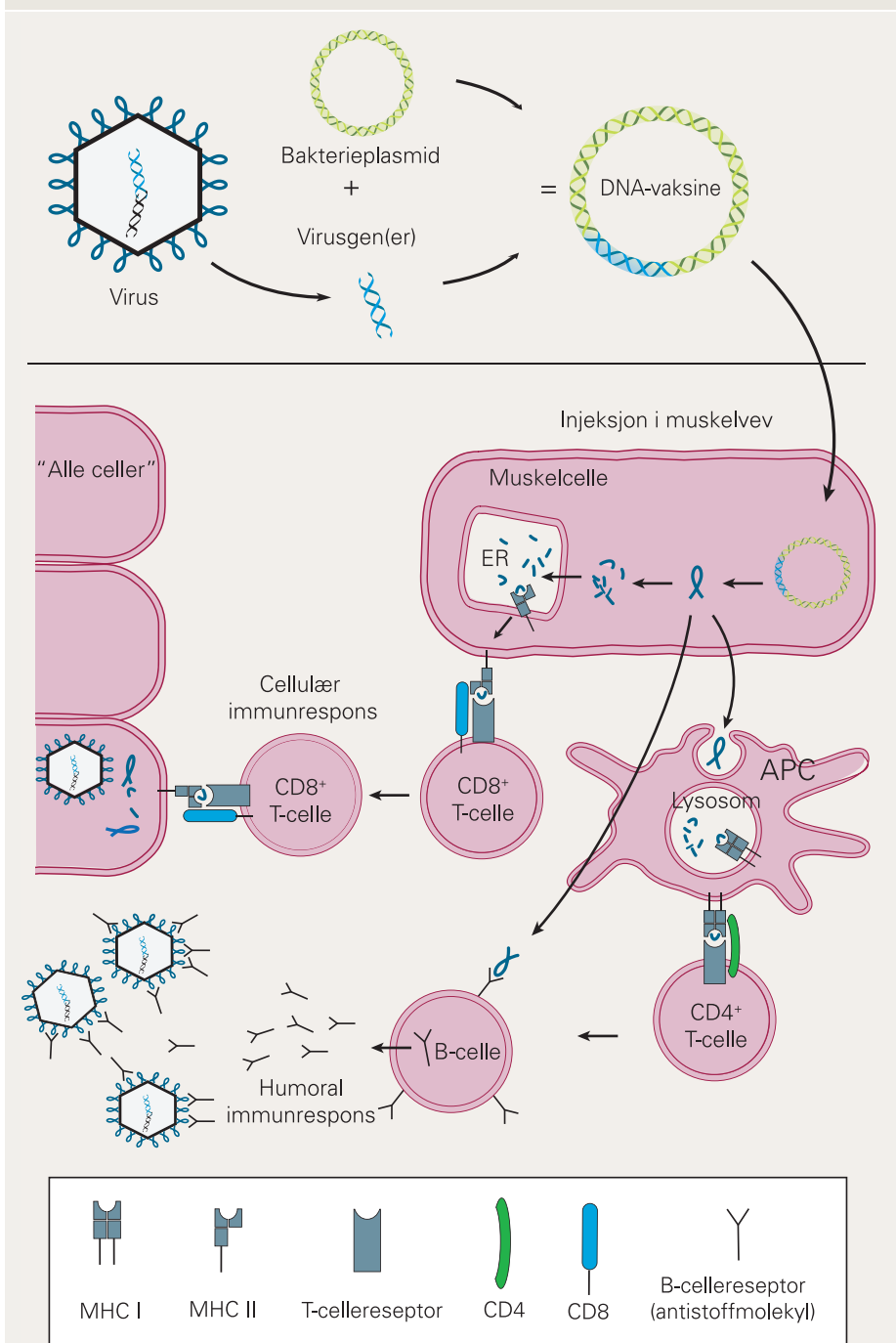
Ramme 1

Aktuelle ordforklaringer

- **Adjuvantia** er stoffer som forsterker immunresponsen mot et antigen. Mange adjuvantia virker ved å aktivere toll-reseptorer.
- **Bakterieplasmid** er små sirkulære DNA-molekyler som finnes naturlig i bakterier. Disse kan replikere seg selv uavhengig av bakteriens kromosomale DNA og finnes gjerne i mange kopier i hver bakteriecelle.
- **Bioinformatikk** refererer løselig til bruken av informatikk, statistikk, matematisk modulering m.m. for å løse komplekse biologiske problemer der store datamengder må behandles. F.eks. kan man utvikle algoritmer der man ut ifra en organismes DNA-sekvens med større eller mindre hell kan «gjette» ulike proteiners funksjon og plassering og hvilke andre proteiner de interagerer med. Av særlig interesse innen vaksineutvikling vil det være raskt å velge ut potensielle kandidatproteiner, modellere den tredimensjonale strukturen til disse og velge ut de deler av proteinet som trolig vil være mest immunogent.
- **Cytokiner** er små proteinbaserte signalstoffer som immunsystemet bruker til celle-celle-kommunikasjon. Disse kan f.eks. skilles ut lokalt for å tiltrekke immunceller til infisert vev eller som vekstsignaler som stimulerer immunceller til å vokse og dele seg.
- **Lysosomer** er organeller som fungerer som «cellens fordøyelsessystem» ved at de bryter ned proteiner, lipider og sukkerkjeder som cellene tar opp utenifra ved endocytose.
- **Proteasomer** er store proteinkomplekser lokalisert i cytosol. Proteasomets hovedfunksjon er å bryte ned cellens proteiner til mindre peptidfragmenter.
- **Toll-reseptorer**, ofte kalt toll-liknende reseptorer (toll like reseptor, TLR), er en klasse reseptorer som gjenkjenner konserverte deler av ulike patogener, som f.eks. LPS (toll-4-reseptor) og enkelt- eller dobbeltrådet RNA (toll-3-, toll-7- og toll-8-reseptorer). Ofte fører aktivering av toll-reseptorer til utskilling av ulike cytokiner, som alarmerer immunsystemet og utløser en inflammatorisk respons.

oppstår en lokal inflammasjon i det behandlede området (16). Den første kliniske studien på mennesker med elektroporering for å levere en DNA-vaksine i pasienter med prostatakreft startet i 2005 – et samarbeid mellom universitetet i Southampton, som

Figur 1



Virkningsmekanismer for DNA-vaksine. En typisk DNA-vaksine består av et bakterieplasmid, der man har satt inn en ekstra bit DNA som koder for ett eller flere antigener, f.eks. for overflateproteiner fra et virus eller en bakterie. Foran genet er det også satt inn en promotor, vanligvis fra virus, som driver uttrykk av genene. Når DNA-vaksinen injiseres i f.eks. muskel, vil noen kopier av plasmidet tas opp i muskelsceller. Her vil cellenes eget maskineri lese av den genetiske koden og produsere det tilsvarende proteinet (antigenet) intracellulært. Noe av antigenet kan brytes ned til peptidfragmenter av cellens proteasomer. Disse fragmentene presenteres på MHC-klasse I-molekyler på vertscellens celleoverflate og stimulerer CD8-positive T-celler til å igangsette en cytotoxisk (cellemediert) immunrespons.

Antigenet kan også skilles ut av cellen og tas opp av antigenpresenterende celler, f.eks. makrofager og dendritiske celler, ved endocytose eller fagocytose. Dette antigenet brytes så ned til peptidfragmenter i cellens lysosomer og resirkuleres til celleoverflaten på MHC-klasse II-molekyler, der de stimulerer CD4-positive T-celler, som i sin tur igangsetter en humoral immunrespons ved å aktivere B-celler (med antistoffer som gjenkjenner antigenet) til å dele seg og produsere antistoffer. ER = endoplasmatisk retikulum, APC = antigenpresenterende celle

har utviklet selve vaksinen, og det norske biotekselskapet Inovio AS, som har utviklet metode og utstyr for levering (17). Til tross for en del bekymringer om ubehag og smerte viser foreløpige erfaringene fra denne og andre studier (18) at metoden kan benyttes uten bruk av anestesi. Det utvikles nå utstyr for å bruke elektroporering til profylaktiske vaksiner (19).

Både levering til hud og til muskelsvev er mulig, og det kan leveres relativt store mengder DNA til forskjellige typer celler. Dette åpner opp for spennende muligheter siden flere ulike plasmider som koder for multiple antigener, kan leveres samtidig. I et nylig utført forsøk der vi testet en DNA-vaksine som kodet for seks forskjellige hivantigener (ca. 80–90% av hivgenomet), sammen med et plasmid som kodet for interleukin-12 i primater, fant vi en 10–50 gangers økning i vaksineeffektivitet, sammenliknet med konvensjonell intramuskulær injeksjon, og cellulære immunresponser tilsvarende det man tidligere har oppnådd med bruk av «virusboosting» (M. Egean og medarbeidere, personlig meddelelse). Elektroporering gjør det også mulig, som et alternativ til å benytte virus, å bruke DNA-plasmider som koder for et nesten komplett virus, slik at f.eks. muskelsceller kan produsere tomme virusliknende partikler, såkalte VLP. Dette er en svært attraktiv strategi fordi DNA-vaksinens fordeler (enkel, billig, rask og sikker) kombineres med virusbaserte vaksiners svært gode immunogene egenskaper (20).

Adjuvans og cytokiner

DNA fra bakterier har en naturlig adjuvant effekt, fordi de inneholder umetylerte CpG-sekvenser. Når immunsystemet gjenkjenner disse motivene ved hjelp av toll-9-reseptorer på dendritiske celler, startes produksjon av blant annet interleukin-12, samt ulike interferoner som aktiviserer både det adaptive og det ikke-adaptive immunsystemet (21). Imidlertid har mennesker langt færre toll-9-reseptorer på celleoverflaten enn f.eks. mus. Dette er trolig en viktig årsak til DNA-vaksiners dårlige immunogenisitet i kliniske tester. Både tradisjonelle adjuvanter, som aluminiumfosfat (22) og genetiske varianter som å koble antigenet sammen med deler av svært immunogene toksinfragmenter, har vært prøvd med hell i ulike dyremodeller og er nå i klinisk testing.

Antigenpresentasjonen kan også gjøres mer effektiv ved å koble på signalsekvenser for å dirigere antigenet til lysosomer (økt humoral respons) eller til degradering i proteasomer (økt cellulær respons). Antigenet kan også kobles til proteinsekvenser som målstyrer antigenet til antigenpresenterende celler (23, 24). Det har videre vist seg at antistoffer (25) og antistoffbaserte molekyler (vaksinemolekyler; vaccibodies) (26) kan utskilles av muskel først injisert med plasmider og deretter elektroporert. Vaksinemolekyler utskilt av muskel inneholder antigen

som målstyres mot antigenpresenterende celler. På den måten indueres kraftige immunresponser f.eks. mot tumorspesifikke antigener og proteksjon mot kreftceller (26).

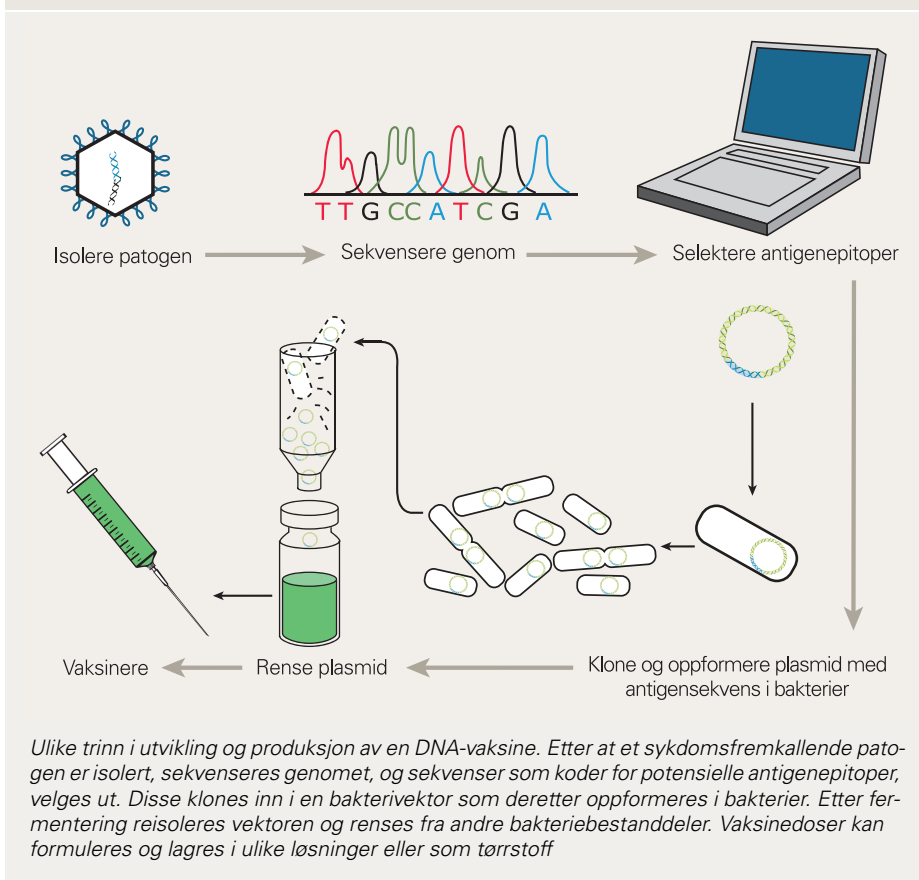
Identifikasjon av ulike immunmodulerende faktorer og økende forståelse av hvordan disse virker, har åpnet for muligheter til å manipulere immunresponsen. En lovende strategi for å øke effekten av DNA-vaksiner er å bruke genetisk kodede vekstfaktorer og cytokiner. Siden disse kodes på plasmider som leveres sammen med vaksinen, vil de samme cellene som uttrykker antigenet, også uttrykke vekstfaktorer og cytokiner, noe som kan øke immunresponser lokalt eller systemisk. Et eksempel på et lokalt virkende cytokin er granulocyt-makrofag-kolonistimulerende faktor (GM-CSF), som virker som en kjemoattraktant og fører til økt infiltrasjon av antigenpresenterende celler, slik som makrofager og dendritiske celler, til det vaksinerte vevet (27). Dette har vist seg å øke humorale immunresponser (28). Flere terapeutiske DNA-baserte hivvaksiner i klinisk utprøving omfatter nå granulocyt-makrofag-kolonistimulerende faktor. Plasmider som koder for interleukiner som f.eks. IL-2, IL-12 og IL-15, er også i klinisk testing som bestanddel i DNA-vaksiner. Kostimulering med interleukin-12 forsterker både humoral og cellulære immunresponser i apeforsøk og øker varighet av cellulære immunsvær (29).

Sikkerhet ved bruk av DNA-vaksiner

Som for annen ny teknologi har det vært reist spørsmål om sikkerheten av DNA-vaksiner. En særlig bekymring har vært muligheten for at plasmidet kan integreres i cellenes kromosomer eller overføres til arvestoff i kjønnsceller. Dyreforsøk har vist at dette neppe er et reelt problem. En viss integrasjon kan forekomme lokalt i vevet der vaksinen er blitt injisert, men i studier hvor dette har vært målbart, har integrasjonsfrekvensen vært mindre enn én tusendel av den naturlige mutasjonsraten cellene i en menneskekropp gjennomgår (6). Ved en vellykket vaksinering vil dessuten de celler som produserer antigenet, fjernes av immunsystemet på samme måten som ved en virusinfeksjon. Det har også vært bekymringer om autoimmune reaksjoner ved at det dannes antistoffer mot selve DNA-plasmidet. Dette er så langt bare blitt observert i enkelte dyreforsøk hvor man på ulike måter nettopp har forsøkt å fremtvinge en slik reaksjon. Generelt har DNA-vaksiner vist seg å ha få utilsiktede bivirkninger.

I dag er *Escherichia coli* det vanligste produksjonssystemet for DNA-vaksiner. *E. coli* inneholder betydelige mengder endotoksiner som f.eks. lipopolysakkarider. Et kritisk punkt i vaksineproduksjoner er derfor å rense plasmidet fra andre bakteriekomponenter. På lengre sikt vil overgang til sikrere produksjonssystemer bestående av grampositive bakterier, som f.eks. *Lactobacillus lactis*, gjøre at man helt unngår problemet med

Figur 2



endotoksiner (30). Ironisk nok er lipopolysakkarider og liknende stoffer effektive adjuvantia for DNA-vaksiner dersom de gis i kontrollerte mengder. En ikke uvanlig, om enn udokumentert oppfatning, er da også at primitive produksjonsforhold, med mangelfull rensing av plasmid, faktisk var en medvirkende faktor til gode resultater med de første DNA-vaksinene.

En bekymring ved bruk av plasmid-DNA har vært at disse inneholder antibiotikaresistensgener som kan overføres til patogene bakterier og gjøre disse motstandsdyktige mot antibiotikabehandling. Ny vektortechnologi muliggjør produksjon av plasmider uten bruk av antibiotikaresistensgener. Denne typen plasmider vil trolig bli normen for fremtidige DNA-vaksiner (30).

DNA-vaksiner – rasjonelt, rimelig og raskt

Foruten klare biologiske fortrinn har DNA-basert vaksineteknologi åpenbare tekniske og økonomiske fordeler. Konvensjonell vaksineutvikling er svært komplisert og kostbart, fordi produksjon, rensing og testing må tilpasses hvert enkelt produkt. Selv om også tradisjonell vaksineutvikling har dratt nytte av ny biologisk kunnskap, er slik virksomhet fortsatt i stor grad basert på empiri, prøving, feiling og ofte en god porsjon flaks. Dette reflekteres i høy grad i den lange tiden det tar å utvikle nye kommersielle vaksiner, i

snitt mer enn ti år, og med en produksjonstid på 6–12 måneder. Selv for influensavaksiner løper utvikling og produksjon gjerne opp mot seks måneder.

Genbaserte metoder åpner for en langt mer rasjonell tilnærming til utvikling og produksjon av vaksiner. I prinsippet kan alle DNA-vaksiner produseres på lik måte ved at samme type plasmid benyttes for forskjellige vaksiner; man bytter bare ut den biten som koder for antigenet. Dette forenkler produksjonen enormt og vil kunne gi langt rimeligere vaksiner. På lengre sikt vil det trolig også lette den regulatoriske prosessen med testing og godkjenning. Legemiddelfirmaet Merck kan nå produsere DNA-vaksiner for humant bruk til om lag 1 amerikansk dollar per dose. Det er ikke urimelig å tenke seg at kostnadene vil synke til en brøkdel av dette innen få år. DNA er dessuten svært stabilt, og en overlegen holdbarhet selv ved relativt høye temperaturer forenkler lagring og distribusjon, noe som vil kunne få særlig betydning ved bruk som profylaktiske vaksiner i den tredje verden.

Den kanskje største fordelene er mulighetene for å utvikle og produsere nye vaksiner svært mye raskere. Som en slags biologisk parallell til Moors lov for doblingen av antall transistorer på databrikker, er tiden det tar for å sekvensere et bakteriegenom blitt halvert hver 23. måned de siste 15 årene. Illustrerende nok tok det flere år å knekke

genkoden til hiv med dets beskjedne ni gener, mens sarsviruset ble identifisert og sekvensert i løpet av noen korte uker et tiår senere. Et typisk mikrobegenom på 2–4 kilobaser kan nå sekvenseres i løpet av en dag, og flere hundre patogengenomer er allerede tilgjengelige i ulike databaser (31).

Sammen med en revolusjon innen molekylærbiologi og bioinformatikk muliggjør dette en DNA-basert vaksineplattform der man etter å ha identifisert et nytt patogen i prinsippet kan ha en vaksine klar i løpet av 3–4 uker (fig 2). Prosessen inkluderer sekvensering av patogenets genom (timer, dager), seleksjon av antigenepitoper ved hjelp av bioinformatikk (timer, dager), kloning og oppformering i bakterier (dager) og isolering, rensing, pakking og testing av DNA (dager, uker). At dette er mer enn science fiction ble demonstrert i praksis da man i et forsøk på å redde den utrydningstruede californiske kondoren ga det lille biotekstelskapet Aldevron i Nord-Dakota oppdraget med å lage en DNA-basert vaksine mot Vest-Nilen-viruset. Vaksinen var klar i løpet av fire uker og ga glimrende immunresponser (32). Hiv, Legionella, Ebola og sars er alle påminnelser om at vi trolig vil oppleve flere nye infeksjose sykdommer de nærmeste tiår (33, 34). I en stadig mer globalisert verden har også muligheten for pandemisk fugleinfluenza aktualisert behovet for en vaksineplattform som gjør det mulig å respondere svært raskt på nye utfordringer.

Fremtidsutsikter – fra fiasko til nøktern optimisme

Vi må fremdeles vente i flere år før den første DNA-vaksinen kommer på markedet. Til tross for dette rår det nå en betydelig optimisme innen DNA-vaksinefeltet. Dette reflekteres i det faktum at det i dag pågår mer en 200 kliniske utprøvinger der DNA-plasmider benyttes, omtrent en dobling fra år 2000 (35).

Den økende optimismen skyldes flere faktorer. For det første synes det som om en rekke teknologiske begrensninger, som f.eks. problemer med effektiv levering av vaksiner, er i ferd med å bli løst. Videre har ny innsikt i molekylær immunologi ført til stadig forbedringer i vaksinedesign og ny forståelse av hvordan man kan modulere et mer effektivt immunsvare ved hjelp av genetiske adjuvantia. Bruk av bedre og mer uensartede dyremodeler har også «bygd bro» fra mus til menneske og muliggjort en større grad av forutsigbarhet i DNA-vaksineutvikling. Men den mest oppløftende nyhet er den første DNA-vaksinen for bruk i pattedyr: Wyeths vaksine mot Vest-Nilen-virus hos hest er nå godkjent i USA. Denne vaksinen er et overbevisende eksempel på at teknologien fungerer i større dyr og er en milepæl i DNA-vaksiners noe kronglete vei fra mus til menneske.

Vi takker Trond Berg for kritisk gjennomlesning av manuskriptet.

Oppgitte interessekonflikter: Rune Kjekken og Jacob Mathiesen er ansatt i og har eierinteresser i Inovio Biomedical Corporation, et privateid biotekstelskap med DNA-vaksiner som et hovedsatsingsområde. De er medopppinnere på flere patentsøknader vedrørende elektroporering og DNA-vaksiner. Bjarne Bogen solgte i 2003 opphavsrettighetene for et patent til Inovio og ble betalt med aksjer, som ble innløst i 2005. Han er en av tre oppfinnere bak en patentsøknad vedrørende målstyrte vaksinemolekyler (vaccibodies).

Litteratur

1. Wolff JA, Malone RW, Williams P et al. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science* 1990; 247: 1465–8.
2. Tang DC, deVit M, Johnston SA. Genetic immunization is a simple method for eliciting an immune response. *Nature* 1992; 356: 152–4.
3. Donnelly JJ, Ulmer JB, Shiver JW et al. DNA vaccines. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 617–48.
4. Liu MA, Ulmer JB. Human clinical trials of plasmid DNA vaccines. *Adv Genet* 2005; 55: 25–40.
5. Barouch DH. Rational design of gene-based vaccines. *J Pathol* 2006; 208: 283–9.
6. Ledwith BJ, Manam S, Troilo PJ et al. Plasmid DNA vaccines: investigation of integration into host cellular DNA following intramuscular injection in mice. *Intervirology* 2000; 43: 258–72.
7. Egan MA, Megati S, Roopchand V et al. Rational design of a plasmid DNA vaccine capable of eliciting cell-mediated immune responses to multiple HIV antigens in mice. *Vaccine* 2006; 24: 4510–23. E-publisert 19.8.2005.
8. Roberts DM, Nanda A, Havenga MJ et al. Hexonchimaeric adenovirus serotype 5 vectors circumvent pre-existing anti-vector immunity. *Nature* 2006; 441: 239–43.
9. Aldhous P. The accidental terrorists. *New Scientists* 10.6.2006, 24.
10. D'Souza S, Rosseels V, Denis O et al. Improved tuberculosis DNA vaccines by formulation in cationic lipids. *Infect Immun* 2002; 70: 3681–8.
11. O'Hagan DT, Singh M, Ulmer JB. Microparticles for the delivery of DNA vaccines. *Immunol Rev* 2004; 199: 191–200.
12. Denis-Mize KS, Dupuis M, Singh M et al. Mechanisms of increased immunogenicity for DNA-based vaccines adsorbed onto cationic microparticles. *Cell Immunol* 2003; 225: 12–20.
13. PowderMed. www.powdermed.com/development/Overview.htm. (3.10.2006).
14. Drape RJ, Macklin MD, Barr LJ et al. Epidermal DNA vaccine for influenza is immunogenic in humans. *Vaccine* 2006; 24: 4475–81.
15. Mathiesen I. Electroporation of skeletal muscle enhances gene transfer in vivo. *Gene Ther* 1999; 6: 508–14.
16. Babiuk S, Baca-Estrada ME, Foldvari M et al. Electroporation improves the efficacy of DNA vaccines in large animals. *Vaccine* 2002; 20: 3399–408.
17. Tjelle TE, Mathiesen I, Kjekken R. A novel electroporation device for gene delivery in large animals and humans. *Vaccine* 2006; 24: 4667–70. E-publisert 1.9.2005.
18. Kjekken R, Mathiesen I, Kvale D et al. Clinical evaluation of pain and muscle damage induced by electroporation of skeletal muscle in humans. *Mol Ther* 2004; 9 (157 suppl): 60.
19. Li Z, Zhang H, Fan X et al. DNA electroporation prime and protein boost strategy enhances humoral immunity of tuberculosis DNA vaccines in mice and non-human primates. *Vaccine* 2006; 24: 4565–8. E-publisert 24.8.2005.
20. Bellier B, Dalba C, Clerc B et al. DNA vaccines encoding retrovirus-based virus-like particles induce efficient immune responses without adjuvant. *Vaccine* 2006; 24: 2643–55.
21. Tudor D, Dubuquoy C, Gaboriau V. TLR9 pathway is involved in adjuvant effects of plasmid DNA-based vaccines. *Vaccine* 2005; 23: 1258–64.
22. Ulmer JB, DeWitt CM, Chastain M et al. Enhancement of DNA vaccine potency using conventional aluminum adjuvants. *Vaccine* 1999; 18: 18–28.

23. Lunde E, Western KH, Rasmussen IB et al. Efficient delivery of T cell epitopes to APC by use of MHC class II-specific Tryptobodies. *J Immunol* 2002; 168: 2154–62.
24. Rasmussen IB, Lunde E, Michaelsen TE et al. The principle of delivery of T cell epitopes to antigen-presenting cells applied to peptides from influenza virus, ovalbumin, and hen egg lysozyme: implications for peptide vaccination. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 10296–301.
25. Tjelle TE, Corthay A, Lunde E et al. Monoclonal antibodies produced by muscle after plasmid injection and electroporation. *Mol Ther* 2004; 9: 328–36.
26. Fredriksen AB, Sandlie I, Bogen B. DNA vaccines increase immunogenicity of idiotypic tumor antigen by targeting novel fusion proteins to antigen-presenting cells. *Mol Ther* 2006; 13: 776–85.
27. Haddad D, Ramprakash J, Sedegah M et al. Plasmid vaccine expressing granulocyte-macrophage colony-stimulating factor attracts infiltrates including immature dendritic cells into injected muscles. *J Immunol* 2000; 165: 3772–81.
28. Barouch DH, Santra S, Tenner-Racz K et al. Potent CD4+ T cell responses elicited by a bicistronic HIV-1 DNA vaccine expressing gp120 and GM-CSF. *J Immunol* 2002; 168: 562–8.
29. Egan MA, Chong SY, Megati S et al. Priming with plasmid DNAs expressing interleukin-12 and simian immunodeficiency virus gag enhances the immunogenicity and efficacy of an experimental AIDS vaccine based on recombinant vesicular stomatitis virus. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2005; 21: 629–43.
30. Glenting J, Wessels S. Ensuring safety of DNA vaccines. *Microb Cell Fact* 2005; 4: 26–31.
31. De Groot AS, Rappuoli R. Genome-derived vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2004; 3: 59–76.
32. West Nile virus vaccine. www.aldevron.com (3.10.2006).
33. Rappuoli R. From Pasteur to genomics: progress and challenges in infectious diseases. *Nat Med* 2004; 10: 1177–85.
34. Forde GM. Rapid-response vaccines – does DNA offer a solution? *Nat Biotechnol* 2005; 23: 1059–62.
35. Gene therapy clinical trials worldwide. www.wiley.co.uk/genetherapy/clinical/ (3.10.2006).

Manuskriptet ble mottatt 18.8. 2006 og godkjent 5.10. 2006. Medisinsk redaktør Petter Gjersvik.