

**vfa/vfa bio -Positionspapier
Produktion von Biopharmazeutika in gentechnisch
veränderten Pflanzen**

Zusammenfassung

Über Jahrtausende waren Pflanzen und Pflanzenbestandteile die wichtigste Ressource für die Behandlung von Krankheiten. Nun eröffnet die moderne Biotechnologie die Möglichkeit, gezielt gentechnisch veränderte Pflanzen (transgene Pflanzen) zur Herstellung von Arzneistoffen wie Proteinen oder monoklonalen Antikörpern, also Biopharmazeutika, zu verwenden. Man spricht auch von „Pharming“, abgeleitet von „pharmaceutical“ und „farming“ bzw. „molecular farming“. Arzneimittel aus Pflanzen werden auch PMP (Plant Made Pharmaceuticals) genannt.

Seite 1/9

Der erste in Pflanzen hergestellte biopharmazeutische Wirkstoff ist das Enzym Taliglucerase alfa aus Karottenzellen zur Behandlung von Patienten mit der erblichen Enzymmangelkrankheit Morbus Gaucher; es wurde im Mai 2012 von der US-amerikanischen Zulassungsagentur FDA zugelassen. Weitere PMP für die Anwendung am Menschen befinden sich derzeit in verschiedenen Phasen der klinischen Entwicklung, teils bereits im Zulassungsverfahren. In naher Zukunft ist aber nicht mit einer signifikanten Zahl von PMP-Zulassungen zu rechnen.

Für die Produktion von Biopharmazeutika in Pflanzen gibt es einige Herausforderungen, die vor einer breiten Anwendung angegangen werden müssen. Hierzu zählen insbesondere eine effizientere Vermehrung der Zellen bzw. Pflanzen, eine höhere Ausbeute bei der Produktion der biopharmazeutischen Wirkstoffe sowie geeignete Sicherheitsanforderungen, um eine unkontrollierte Verbreitung zu verhindern und eine Verunreinigung von Nahrungsmitteln auszuschließen.

Der vfa spricht sich für die Erforschung und Entwicklung der Produktion biopharmazeutischer Wirkstoffe in gentechnisch veränderten Pflanzen aus, da dies eine weitere Option zur Herstellung von Biopharmazeutika gegen lebensbedrohliche und/oder schwere Krankheiten sein könnte. Die Hersteller stellen sich dabei auch hier der Verantwortung für die Sicherheit des Produktionsprozesses zum Schutze der Patienten und der Umwelt.

Inhaltsverzeichnis

Seite 2/9

Zusammenfassung	1
Inhaltsverzeichnis.....	2
A) Die Grundlagen	3
Produktion von Biopharmazeutika	3
Mögliche Vorteile der Biopharmazeutika-Produktion in Pflanzen .	3
Fortschritte bei PMP durch neuartige Technologien.....	4
Offene Fragen zu PMP	5
Sicherheitsanforderungen an die Produktion von Biopharmazeutika in Pflanzen.....	5
B) Momentane Situation	5
Vorgaben der EMA	5
Gibt es bereits zugelassene PMP?.....	6
Welche PMP befinden sich momentan in der Entwicklung?.....	7
Ist bald mit weiteren PMP-Zulassungen zu rechnen?	7
C) vfa-Position	8
D) Quellen	9

A) Die Grundlagen

Seite 3/9

Produktion von Biopharmazeutika

Biopharmazeutika (Arzneimittel, deren Wirkstoffe mit Hilfe gentechnisch veränderter Organismen hergestellt werden) enthalten Proteine, die in lebenden Zellen produziert werden. Bisher werden dazu hauptsächlich gentechnisch veränderte Säugetierzellen, aber auch Bakterien oder Hefen verwendet, deren Anzucht und Vermehrung aufwendig ist.

Während Bakterien nur relativ einfache Proteine herstellen, können tierische Zellen auch komplexe Proteine erzeugen. Dies ist aber kostenintensiver und erfordert enorme Investitionen meist im dreistelligen Millionenbereich. Bis zur Auslieferung der ersten Produktionscharge ist oftmals eine Vorlaufzeit von mehreren Jahren erforderlich. Deshalb wird an alternativen Produktionsverfahren geforscht.

Mögliche Vorteile der Biopharmazeutika-Produktion in Pflanzen

Die Herstellung von Arzneistoffen in Pflanzen (engl. Plant Made Pharmaceuticals, kurz: PMP) verspricht einige Vorteile, insbesondere eine möglicherweise kostengünstigere und schnellere Produktion. Pflanzen können zudem im Gegensatz zu Mikroorganismen (Bakterien) auch komplexere Proteine erzeugen.

Pharming:

Heutzutage bieten die Methoden der modernen Biotechnologie und Molekularbiologie weitreichende Möglichkeiten, um zielgerichtet Pflanzen genetisch so zu verändern (transgene Pflanzen), dass sie zur Produktion biopharmazeutischer Wirkstoffe genutzt werden können. Man spricht auch von „Pharming“, abgeleitet von „pharmaceutical“ und „farming“ bzw. „molecular farming“.

In den letzten Jahren haben Pflanzen immer mehr Interesse als eine mögliche Alternative für die Produktion von biopharmazeutischen Wirkstoffen in großem Maßstab gefunden. Die dafür gemeinhin angenommenen Kostenvorteile werden jedoch mittlerweile differenziert betrachtet: Man geht nur noch bei optimalen Ausbeuten sowie bei einem Freilandanbau von Kostenvorteilen aus. Darüber hinaus könnte die Produktion in Pflanzen einen schnelleren und breiteren Zugang der Patienten zu innovativen Arzneimitteln bedeuten, da die Produktion schneller dem Bedarf angepasst werden kann, als dies bei tierischen Zellen möglich ist. Weiterhin bieten Pflanzen den Vorteil, dass sie im Gegensatz zu Bakterien auch komplexere Proteine inklusive Glykosylierungen (Anhängen von Zuckermolekülen an das Protein) herstellen. Allerdings muss die jeweilige Glykosylierung eingehend untersucht werden, da in

Pflanzen hergestellte Proteine wiederum einige Unterschiede in den Zuckermustern im Vergleich zu denen beim Menschen aufweisen: So haben z. B. über Stickstoffatome angehängte Zucker keine endständigen Sialinsäurereste, und viele komplexe Zucker enthalten entweder Fucose oder Xylose über Verbindungen, die in menschlichen Zellen nicht vorkommen. Hier müssen insbesondere Auswirkungen auf die Sicherheit und Wirksamkeit des PMP analysiert und dokumentiert werden.

Fortschritte bei PMP durch neuartige Technologien

Einen Sprung in der Forschung und Entwicklung von PMP könnten neue Techniken zur zielgerichteten Veränderung des Erbguts der Pflanzen, der sogenannten Mutagenese, bewirken. Dazu zählen insbesondere das CRISPR/Cas-Verfahren (s. Infobox), aber etwa auch die TALEN-Technologie. Der Einsatz dieser Methoden könnte beispielsweise die Entwicklungszeit reduzieren oder es den Forschenden erlauben, gezielt einzelne (unerwünschte) Gene in den Pflanzen stillzulegen.

CRISPR/Cas9:

CRISPR ist eine im Laufe der Evolution entstandene Genomsequenz, mit der sich Bakterien gegen Viren wehren. Im Prinzip handelt es sich hierbei um Fragmente viraler DNA, die auf natürlichem Wege in das Bakteriengenom integriert wurden. Werden diese in RNA übersetzt, binden die RNA-Fragmente an Cas (CRISPR associated)-Proteine. Bei Kontakt mit viraler DNA bzw. RNA, deren Sequenz komplementär zur RNA dieses Komplexes ist, bindet selbiger an die DNA bzw. RNA des Virus. Das Cas-Protein zerstört daraufhin das virale genetische Material; eine Vermehrung und Weiterverbreitung des Virus wird verhindert.

Von besonderer Bedeutung ist das Cas-Protein 9 (Cas9), das die DNA-Doppelhelix aufschneidet. In Kombination mit einem synthetischen RNA-Molekül, einer sogenannten Guide-RNA, die beliebige Wunschsequenzen im Genom erkennt, kann diese „DNA-Schere“ an so ziemlich jede Stelle im Genom geführt werden, um dort einen Schnitt herbeizuführen. Unter Zuhilfenahme des zelleigenen DNA-Reparatur-Apparats können an der Schnittstelle nunmehr zusätzliche DNA-Sequenzen ins Genom integriert werden. Diese Technologie zur Veränderung einzelner Genomsequenzen wurde von den Entdeckern CRISPR/Cas9-System genannt und ist auch als Genchirurgie oder Gene Editing bekannt. Mittlerweile wurden weitere Gene Editing-Systeme wie beispielsweise das PRIME-Editing entwickelt.

Weiterführende Informationen des vfa zu diesem Thema:

<https://tinyurl.com/genomchirurgie>

Offene Fragen zu PMP

Seite 5/9

Wie jede neue Technologie wirft auch die Produktion von Biopharmazeutika in transgenen Pflanzen eine Reihe an Fragen und Herausforderungen auf, die bei der Umsetzung in die Praxis beantwortet bzw. gelöst werden müssen. Probleme bereiten noch die geringe Ausbeute sowie die geringe Stabilität der Proteine. Die Frage, welche Pflanze für die Produktion eines bestimmten Wirkstoffs optimal geeignet ist, muss im Einzelfall geprüft werden. Neben höheren Pflanzen werden hierbei auch Moose oder Grünalgen intensiv untersucht. Nutzpflanzen haben dabei den Vorteil, dass die Wissenschaftler bereits ein sehr großes Detailwissen über die Genetik der Pflanzen und ihren Anbau haben. Darüber hinaus sind sie besonders ertragreich und können somit eine hohe Ausbeute erbringen. In dieser Hinsicht eignet sich zum Beispiel Tabak, da die Pflanze schnell wächst, eine große Biomasse produziert, je nach Anbauregion mehrfach in einer Anbauperiode geerntet werden kann, nicht zu Lebensmitteln verarbeitet wird und auch keine Futterpflanze ist. Denkbar wären also gentechnisch veränderte Tabakpflanzen, die eigens für die Gewinnung von biopharmazeutischen Wirkstoffen gezüchtet werden.

Sicherheitsanforderungen an die Produktion von Biopharmazeutika in Pflanzen

Biopharmazeutische Wirkstoffe produzierende Pflanzen erfordern besondere Sicherheitsmaßnahmen, um deren unkontrollierte Verbreitung zu verhindern und eine Kontamination der Nahrungsmittelkette auszuschließen. Neben verschiedenen Maßnahmen, um solche Pflanzen physikalisch oder auch biologisch „einzuschließen“, ist die Verwendung von Non-Food-Pflanzen wie Tabak eine Möglichkeit, Risiken einzugrenzen. Zudem wird intensiv an Technologien gearbeitet, die eine Weitergabe der für die Arzneistoffherstellung relevanten Gene beispielsweise durch Pollen verhindern sollen oder die das Wachstum außerhalb geschlossener Aufzuchtssysteme selbst limitieren. So gibt es beispielsweise Maßnahmen, Pflanzen mit sterilen Pollen zu schaffen, die Bildung des Wirkstoffs erst nach der Ernte oder Fruchtreifung einzuleiten oder nur auf bestimmte Pflanzenteile wie Wurzeln, Blätter oder Samen zu beschränken.

B) Momentane Situation

Vorgaben der EMA

Mit den Fragen der Sicherheit und Unbedenklichkeit von PMP haben sich die Zulassungsbehörden bereits intensiv befasst. In einem Diskussionspapier der EMA vom März 2002 werden die Punkte, die bei der Entwicklung von PMP zu berücksichtigen sind, ausführlich erläutert (EMEA/CPMP/BWP/764/02, Points to Consider on Quality aspects on medicinal products containing active substances produced by stable transgene expression in higher plants). Danach

sind solche Pflanzen voraussichtlich am besten geeignet, die resistent gegen Krankheiten sind, von Natur aus keine pharmakologisch wirksamen Inhaltsstoffe aufweisen und die gewünschten Wirkstoffe in optimaler Qualität und Sicherheit herstellen können. Breiten Raum nehmen die Herstellung der transgenen Pflanzen sowie die gleichbleibende Qualität der Wirkstoffe von Ernte zu Ernte ein. Bezüglich des Schutzes der Umwelt wird im Wesentlichen auf die einschlägige EG-Gesetzgebung, insbesondere die EG-Freisetzungsrichtlinie verwiesen. Schutzmaßnahmen wie der Anbau in Gewächshäusern sollten auch schon deshalb erwogen werden, um die Wirkstoff-produzierenden Pflanzen vor schädlichen Umwelteinflüssen wie Schädlingsbefall, Wildfraß und Kontamination z. B. durch Vogelkot zu schützen.

Die aus diesen Points to Consider entwickelte Leitlinie greift diese Punkte ebenfalls auf (EMA/CHMP/BWP/48316/2006, Guideline on the quality of biological active substances produced by stable transgene expression in higher plants; anzuwenden seit Februar 2009). Eindämmungsmaßnahmen (containment measures) werden als wichtig hinsichtlich Qualitätssicherung (Schutz der PMP produzierenden Pflanze vor der Umwelt) und Schutz der Umwelt vor den transgenen Pflanzen erachtet. Die für die PMP-Produktion ausgewählte Pflanze muss bezüglich der folgenden Punkte dokumentiert sein: phänotypische (äußerliche) und genotypische (genetische) Variabilität/Stabilität; Eignung für die routinierte Zucht unter handhabbaren Bedingungen; Anfälligkeit für z. B. Pflanzenviren und Pilze; Proteinprozessierungen.

Einige Leitlinien der EMA berücksichtigen die Besonderheiten der Produktion von (Bio-)Pharmazeutika in gentechnisch veränderten Organismen – zu denen auch transgene Pflanzen gehören – und definieren deshalb auch spezielle Anforderungen an diese Produkte sowie deren Testung, Produktion und Freisetzung.

Gibt es bereits zugelassene PMP?

Anfang 2006 wurde von der US-Veterinärbehörde ein erstes aus transgenen Pflanzen gewonnenes Medikament für Tiere zugelassen: ein Impfstoff gegen den Erreger der atypischen Geflügelpest, das „Newcastle Disease Virus“. Die Herstellung dieses Impfstoffs ist nur durch Gentechnik möglich, da sich diese Viren nicht in Hühnereiern vermehren lassen.

Das erste in Pflanzen hergestellte Humanarzneimittel ist das Enzym Taliglucerase alfa aus Karottenzellen zur Behandlung von Patienten mit der erblichen Enzymmangelkrankheit Morbus Gaucher, das im Mai 2012 von der US-amerikanischen Zulassungsagentur FDA zugelassen wurde. 2013 wurde für dieses Medikament auch in Brasilien und Israel die Zulassung erteilt. Eine Zulassung in Europa war und ist nicht möglich, da es sich um eine seltene Krankheit handelt, gegen die bereits zwei Medikamente zugelassen sind.

Die Wirkstoffe für diese beiden Produkte werden nicht im Freiland-Anbau, sondern aus pflanzlichen Zellkulturen in Bioreaktoren gewonnen. In Europa ist bisher noch kein PMP zugelassen worden.

Seite 7/9

Welche PMP befinden sich momentan in der Entwicklung?

Derzeit befinden sich einige wenige PMP in klinischer Entwicklung:

- Pegunigalsidase alfa, ein Enzym gegen Morbus Fabry: aus genetisch veränderten Karottenzellen; Phase III abgeschlossen, im Zulassungsverfahren in den USA^{1, 3}
- OPRX-106, ein oraler humaner Tumornekrosefaktor-Rezeptor II, fusioniert mit einer IgG1 Fc Domäne (TNFRII-Fc) gegen verschiedene Autoimmunerkrankungen (u.a. rheumatoide Arthritis, Colitis ulcerosa und Morbus Crohn): aus genetisch veränderten Karottenzellen; Phase II abgeschlossen¹
- Alidornase alfa, rekombinante Deoxyribonuklease 1 zur Verringerung der Sekretviskosität bei der Behandlung der Mukoviszidose (Mukoviszidose); Phase II abgeschlossen¹
- Saisonaler Grippe-Impfstoff aus Influenza-Viruspartikeln verschiedener Stämme, produziert in gentechnisch veränderten Tabak-Pflanzen; Phase III abgeschlossen, im Zulassungsverfahren in Kanada²
- Pandemischer Grippe-Impfstoff, produziert in gentechnisch veränderten Tabak-Pflanzen; Phase II²
- Rotavirus-Impfstoff, produziert in gentechnisch veränderten Pflanzen; Phase I²
- Covid-19-Impfstoff, produziert in gentechnisch veränderten Pflanzen; in Phase I, Phase II/III in Planung²
- Rekombinantes Lactoferrin (VEN-120) zur Behandlung chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen, hergestellt in gentechnisch verändertem Reis; Phase II^{3, 4}
- α -Galaktosidase, produziert in gentechnisch veränderten Mooszellen (*Physcomitrella patens*) zur Behandlung von Patienten mit Morbus Fabry; Phase I abgeschlossen⁵

Ist bald mit weiteren PMP-Zulassungen zu rechnen?

Auch wenn PMP bereits seit etlichen Jahren erforscht werden und mittlerweile einige Projekte die Phase II bzw. Phase III der Arzneimittelentwicklung erreicht bzw. abgeschlossen haben, handelt es sich bei der Erzeugung biopharmazeutischer Wirkstoffe in Pflanzen immer noch um eine sehr junge Technologie. Verschiedene Aspekte müssen nach wie vor erforscht werden, wie die Optimierung der Vermehrung der Pflanzenzellen oder Pflanzen oder der Ausbeute der gewünschten biopharmazeutischen Wirkstoffe. Daher ist aus Sicht des vfa in naher Zukunft nicht mit einer signifikanten Zahl von PMP-Zulassungen zu rechnen.

C) vfa-Position

Seite 8/9

vfa und vfa bio sprechen sich für die Erforschung und Entwicklung der Produktion biopharmazeutischer Wirkstoffe in gentechnisch veränderten Pflanzen aus, da dies eine weitere Option zur Herstellung von Biopharmazeutika gegen lebensbedrohliche und/oder schwere Krankheiten sein könnte. Die Hersteller stellen sich der Verantwortung für die Sicherheit des Produktionsprozesses zum Schutze der Patienten und der Umwelt und sind sich folgender Aspekte bewusst:

- Die Pflanzenart ist immer unter Berücksichtigung von Machbarkeits- und Sicherheitsaspekten zu wählen. Nahrungs- und Futterpflanzen sollten im Hinblick auf die mögliche Kontaminationsgefahr der Nahrungsmittelkette möglichst nicht verwendet werden. Andere Nutzpflanzen, bei denen ein großes Detailwissen über Genetik und Anbau vorliegt, bieten sich dagegen an.
- Die Art der Kultivierung muss eine Vermischung von Biopharmazeutika-produzierenden Pflanzen mit Nahrungs- und Futterpflanzen verhindern. Der Anbau sollte in Pflanzenzellkulturen, in geschlossenen Gewächshäusern oder anderen Systemen wie z. B. Containern erfolgen, sofern keine anderen verlässlichen Sicherungssysteme zur Verfügung stehen.
- Bestandteil jeder Entwicklung muss eine unabhängige, objektive und transparente Risikobewertung sein, die auf wissenschaftlichen Erkenntnissen beruht. Dabei müssen die Pflanzenart, das hergestellte Protein, räumliche und zeitliche Aspekte des Anbaus sowie agronomische Fragen Berücksichtigung finden.
- Parallel dazu muss das Risikomanagement wirksame und lückenlose Sicherheitsstrategien und Notfallpläne zur Minimierung jedes denkbaren Risikos auf allen Stufen der Herstellung, des Transports und der Verarbeitung umfassen.
- Nicht nur deswegen müssen für die gesamte Produktion der PMP hohe Qualitätsstandards gelten, denen auch die verwendete Ausrüstung, die Lagerung und der Transport genügen müssen. Neben den allgemeinen Standards der Good Agricultural Practice (GAP) und Good Manufacturing Practice (GMP) sind die spezifischen Aspekte dieser Produktionsmethode zu berücksichtigen. Dazu muss jeder Hersteller über ein effektives Qualitätssicherungssystem verfügen.
- Forschung, Entwicklung, Produktion und Anwendung von PMP müssen in einen wissenschaftsbasierten und innovationsfreundlichen rechtlichen Rahmen eingebettet sein. In enger Zusammenarbeit zwischen den regulatorischen Behörden, den Entwicklern und Herstellern sollten die erforderlichen Leitlinien entwickelt bzw. aktualisiert werden. Die Abstimmung zwischen

den Unternehmen und den regulatorischen Behörden sollte möglichst frühzeitig im Entwicklungsprozess unter Einbeziehung ausgewiesener Experten erfolgen.

Seite 9/9

- Der vfa vertritt die Ansicht, dass die Herstellung von Arzneistoffen in Pflanzen in Zukunft eine realistische Option bei der Wahl des Produktionsorganismus sein könnte und die damit einhergehenden Herausforderungen technisch gelöst werden können. Dies gilt insbesondere für die Herstellung in Zellkulturen oder im Gewächshaus. Ein Anbau im Freien würde höhere Sicherheitsmaßnahmen erfordern: einerseits zum Schutz der Umwelt vor den Pflanzen, andererseits zum Schutz der Pflanzen vor der Umwelt, beispielsweise vor Schädlingsbefall, Wildfraß, Kontamination durch Vogelkot und witterungsbedingter Beschädigung.

Die im Zusammenhang mit PMP oft genannten essbaren Impfstoffe (z. B. die „Impfbanane“) hält der vfa für unrealistisch. Denn die direkte Einnahme von Früchten oder anderen Pflanzenteilen mit hoch wirksamen Arzneistoffen wirft eine Reihe grundsätzlicher Fragen und Probleme auf. Wie könnte die Verschreibungspflicht z.B. bei Impfbananen organisiert werden? Wie ließe sich die korrekte Dosierung des Impfstoffs sicherstellen? Weitere Aspekte betreffen das Risiko der gegenteiligen Wirkung (Immuntoleranz statt der gewünschten Immunisierung), die Haltbarkeit, Beseitigung nicht mehr verwendbarer Früchte und insbesondere die unbedingt zu vermeidende Vermischung von Lebensmitteln mit Arzneimitteln.

Stand: November 2020

D) Quellen

- (1) <http://protalix.com/pipeline/>
- (2) <http://www.medicago.com/en/pipeline/>
- (3) Citeline by Informa
- (4) <https://ventria.com/medicines/inflammatory-disease/ven120/>
- (5) <https://www.elevabiologics.com/assets/>