

---

# Malariavaksiner – hvilke vaksiner til hvem?

---

TEMA

SØREN JEPSEN

European Malaria Vaccine Initiative  
Senter for internasjonal helse  
Universitetet i Bergen  
Armauer Hansens Hus  
5021 Bergen

---

Mere end en tredjedel af verdens befolkning lever i risiko for at få malaria. Hver time, døgnet rundt, året rundt dør omkring 200 personer af malaria, primært børn i Afrika. Malaria er en af de store hindringer for socioøkonomisk udvikling i Afrika.

Vacciner mod malaria anses for at være det kontrolredskab, der er størst behov for at udvikle. Der findes principielt tre forskellige typer malariavacciner: vacciner rettet mod den indtrængende sporozoit eller parasittens udvikling i levercellerne; vacciner rettet mod parasittens indtrængen i det røde blodlegeme og den videre udvikling i dette; vacciner rettet mod den kønnede formering i myggen. De tre typer malariavacciner har hvert deres anvendelsesområde. På trods af lovende resultater i dyremodeller har det været svært at eftergøre disse i kliniske forsøg på mennesker. For nylig er dog i Gambia, Afrika afprøvet en eksperimentel vaccine, som indeholder et sporozoitprotein koblet til et hepatitis B overflademolekyle med et nyt adjuvans. Resultaterne af disse forsøg er opløftende, men vaccinen er næppe egnet til anvendelse i endemiske områder. Den øgede opmærksomhed omkring et af verdens største sundhedsproblemer har haft nogen afsmittende effekt på den offentlige finansiering af udviklingen af malariavacciner, og på trods af yderst beskedne industriel interesse vil der inden for de kommende år være flere eksperimentelle vacciner til klinisk fase I afprøvning. Det er imidlertid nødvendigt med en mangedobling af de finansielle ressourcer, før man har sikret effektive og sikre malariavacciner til de, der behøver dem mest, befolkningen i udviklingslandene, specielt i Afrika syd for Sahara.

---

Malaria er af gode grunde udråbt til ”Public Health Enemy Number One” i adskillige udviklingslande. Mere end en tredjedel af verdens befolkning lever i risiko for at få malaria. Man regner med, at over 200 personer, primært børn i Afrika, dør af malaria hver time, døgnet rundt, året rundt, og at flere mennesker dør af malaria i dag end for 20 – 30 år siden (1). Ud over de menneskelige lidelser er konsekvenserne for samfundet enorme. Det direkte økonomiske tab i Afrika på grund af malaria var i 1995 ca. USD 1.800 millioner, og i 1997 oversteg det direkte og indirekte økonomiske tab i Afrika på grund af malaria USD 2.000 millioner. De væsentligste årsager til den alarmerende udvikling er stigende resistens hos parasitten, især overfor billige antimalariamidler som klorokin, folkevandringer som et resultat af krig, menneskeskabt forøgelse af endemiske områder, aftagende myggekонтроlforanstaltninger, og dysfunktion af sundhedsvæsenet i mange udviklingslande (2, 3).

*Bedre kontrol af malaria fordrer en bedre udnyttelse af de eksisterende kontrolmetoder, men frem for alt udvikling af nye – og især økonomisk overkommelige – kontrolredskaber.*

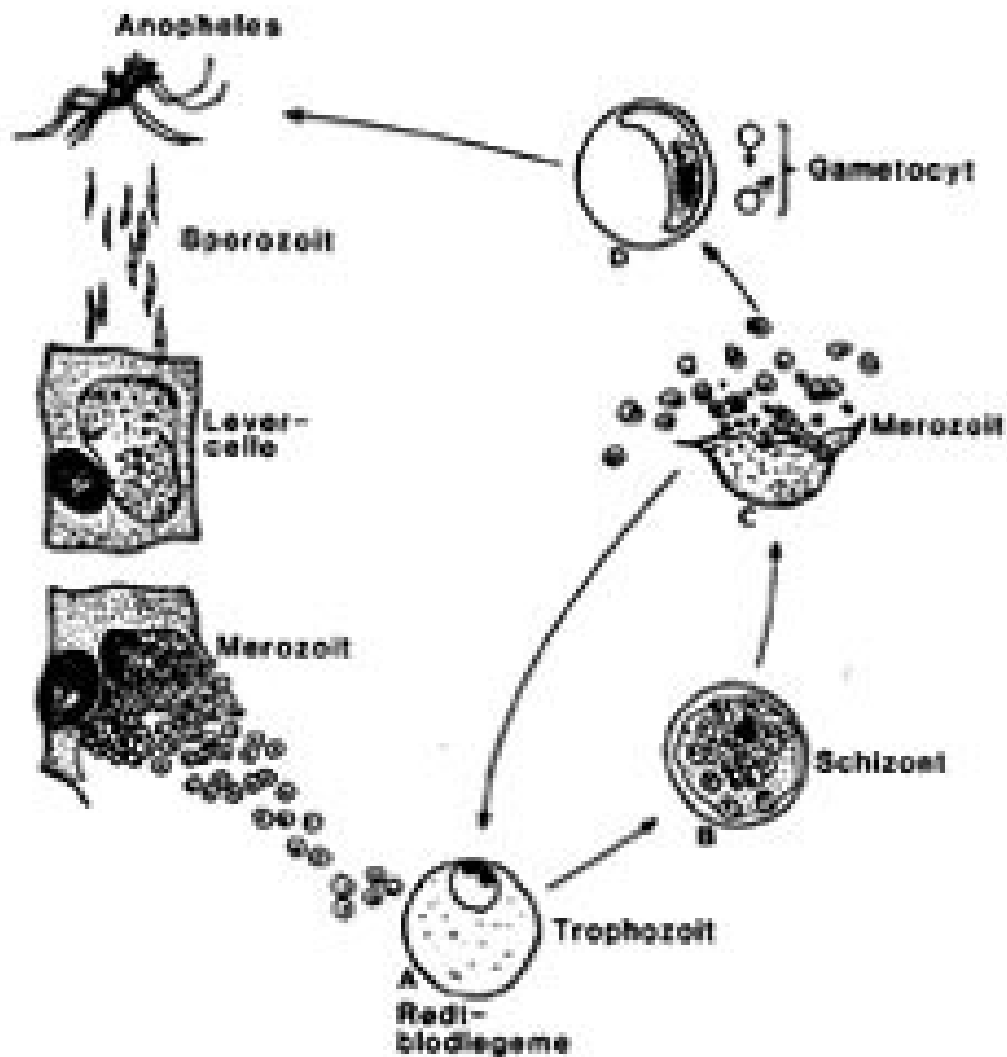
Immunisering mod den mest dødelige af de fire malaria arter, Plasmodium falciparum, anses for at være det kontrolredskab som har det største potentiale for at kontrollere ”Public Health Enemy Number One”.

Beregninger udført af WHO viser, at såfremt en malariavaccine kan leveres via Expanded Programme on Immunisation (EPI), til samme pris som hepatitis B vaccinen, og hvis vaccinen kan give de immuniserede børn tre års beskyttelse, så ville den kunne reducere børnedødeligheden i malaria endemiske områder med ca. 30 % (4).

---

## Parasittens livscyklus

Figur 1 fremstiller malariaparasittens livscyklus i en simplificeret form. Malaria overføres, når inficerede hunmyg ved stik injicerer 11 – 12  $\mu$  m lange sporozoitter. Disse findes i cirkulationen i få minutter, indtil de trænger ind i leverparenkymceller. Her foregår den primære (exoerytrocytære) skizogoni, hvorved sporozoitten efter gentagne delinger bliver til ca. 104 merozoitter, som frigøres til cirkulationen. Dette stadium varer gennemsnitlig 5 dage for P. falciparum. De frigjorte merozoitter invaderer omgående erythrocytter og påbegynder den erytrocytære skizogoni, idet der via et trofozoitstadium dannes en mangekernet skizont. Den modne skizont sprænger erythrocytten, og de 16 – 32 døtreceller bliver til merozoitter, som invaderer nye erythrocytter. I sygdommens forløb udvikles i erythrocytterne de kønnede gametocytter, som er infektiøse for myggen. Hungametocytten fertiliseres i myggen, og der dannes en zygote som modnes og bliver til en ookinete, der producerer et stort antal sporozoitter klar til at inficere det næste menneske, myggen udvælger som blodmåltid-offer.



**Figur 1** Malariaparasittens livsycklus

## Vacciner

Malariavacciner kan for overskuelighedens skyld inddeles i tre kategorier:

*Vacciner som forebygger infektion.* De er rettet imod den indtrængende sporozoit eller imod parasittens udvikling i leverceller.

*Vacciner som forebygger sygdom.* Disse vacciner er rettet mod den indtrængende merozoit, men kan også være rettet mod parasittens videre udvikling inde i det røde blodlegeme, eventuelt mod det inficerede røde blodlegemes vedhæftning til mikropillærer.

*Vacciner som forebygger transmission.* Disse vacciner er rettet imod den kønnede formering i myggen, og ookinetens videre udvikling.

---

## Infektionsforebyggende vacciner

Antisporozoit-vacciner som forebygger parasittens etablering i levercellerne har været genstand for intensiv forskning gennem de seneste 20 år. I dyremodeller har man opnået fuld beskyttelse i såvel mus og rotter som aber med vacciner baseret på repeat-strukturen fra parasittens circumsporozoit-protein (5). Det er også lykkedes at opnå beskyttelse af aber ved passiv overførsel af monoklonale-antistoffer rettet mod circumsporozoit proteinet (6). Imidlertid er det endnu ikke lykkedes at udvikle en humanvaccine mod sporozoitstadiet som tilnærmelsesvis giver samme grad af beskyttelse. For nylig har der været publiceret nogle opmuntrende resultater med en vaccine bestående af et hepatitis B overflademolekyle, som er koblet til den C terminale del samt repeat-området af circumsporozoit proteinet blandet med et nyt adjuvans. Seks ud af syv frivillige var beskyttet ved et klinisk fase II forsøg med det homologe sporozoit-isolat (7). Imidlertid var kun én af de seks beskyttet, da samme eksperiment blev gentaget efter seks måneder (8). Denne vaccine er i øjeblikket i klinisk afprøvning i Gambia, og de preliminære resultater viser, at af de 250 voksne, der fik tre doser vaccine, var 65 % beskyttet mod infektion i de første to måneder, mens den gennemsnitlige efficacy over femten uger var 16 %. Episoder med høj parasitæmi (mere end 500 pr. mikroliter) forekom sjældnere i den vaccinerede gruppe med en efficacy af 44 %.

En sporozoit-vaccine som effektivt forebygger infektion af levercellerne med parasitter, vil sandsynligvis ikke give livslang beskyttelse, men vil være velegnet til turister, soldater og andet udstationeret personel. For befolkningen i malariaendemiske områder spiller andre forhold ind. I det tilfælde, hvor regelmæssig vaccination ophører – som følge af økonomiske kriser, krig og lignende, vil befolkningen, som på grund af antisporozoit-vaccination ikke har haft en malariainfektion og derfor ikke har opnået naturlig immunitet mod det sygdomsfremkaldende blodstadie, være i en meget sårbar situation med stor risiko for epidemisk malaria, som erfaringsmæssigt kræver mange dødsfald. Kombineret med en vaccine rettet mod parasittens blodfase ville en antisporozoit-vaccine også kunne være til gavn for befolkningen i malariaendemiske områder.

Interessen for udvikling af vacciner rettet mod parasittens leverfase stammer fra eksperimenter med immunisering med bestrålede sporozoit. Såvel mus som mennesker kan temporært beskyttes 100 % mod malaria ved immunisering med levende bestrålede sporozoit (9, 10). Graden af bestråling er alt afgørende for beskyttelsen. Parasitten skal nå at udvikle sig i levercellerne, inden den går til grunde, hvilket skal ske, før der frigives merozoitter til blodet. Det er i dag alment accepteret, at den opnåede beskyttelse skyldes immunitet rettet mod parasittens videre udvikling i levercellerne. Disse eksperimenter har været banebrydende for vores forståelse af den del af den naturlige immunitet, der er rettet mod parasittens leverstadium. Vaccinationsprogrammer baseret på levende bestrålede sporozoit er derimod ikke en praktisk farbar vej.

Beskyttelse mod sporozoitstadiet er B-celle afhængigt, og der er i dyremodeller en afhængighed mellem titer og beskyttelse. Beskyttelse mod levercellestadiet er i dyremodeller og i nogen grad også hos mennesket vist at være afhængigt af CD8+ og CD4+ T-celler. Disse celler kan producere gammainterferon, som inducerer NO-afhængigt drab af parasitterne i hepatocytterne eller cellerne kan direkte lysere de inficerede leverceller.

Flere leverstadie-antigener er i øjeblikket på vej til eller er allerede i klinisk fase I forsøg. Immunisering mod leverstadiet synes meget attraktivt, parasitten opholder sig i hepatocytten i fem-seks dage, i hvilken periode patienten ikke er syg.

---

## Sygdomsforebyggende vacciner

En vaccine mod parasittens asexuelle blodform, det stadium som er sygdomsfremkaldende, vil sigte imod at kopiere og forstærke den naturlige kliniske malariaimmunitet. Målet er ikke en steriliserende vaccineinduceret immunitet.

Ikke sjældent finder man i områder med intens malariatransmission børn og yngre mennesker med en betragtelig parasitæmi men uden kliniske symptomer. Dette delikate balancerede stadium med samtidig tilstedeværelse i blodet af parasitter og antistoffer rettet mod parasitten, kaldet premunit, er en vigtig klinisk observation. Det ser ud til, at gentagen antigen-stimulering er nødvendig for opretholdelsen af klinisk immunitet mod malaria. En vaccine rettet mod det asexuelle blodstadie ville derfor sigte mod at prime ganske unge børn, hvorefter naturlig infektion ville fungere som boostning. Med andre ord en sådan vaccine ville ved immunisering tidligt i livet etablere et premunit-stadie hos de, der har mest behov for beskyttelse, nemlig børn i malariaendemiske områder. I 1960'erne udførte Cohen and McGregor forsøg, der viste, at immunglobulin fra voksne afrikanere klinisk immune mod malaria kunne anvendes til behandling af børn med malaria (11, 12). Disse eksperimenter blev gentaget og udbygget i 1991 af Sabchaeron som kunne vise, at IgG fra klinisk malaria-immune indbyggere fra Elfenbenskysten kunne helbrede thailandske børn med multi-drug-resistent malaria i over 95 % af tilfældene (13). Forsøgene viste, at IgG effekten var uafhængig af de parasitstammer børnene var inficeret med. Disse passive immuniseringsforsøg samt det fænomen, at man i dyremodeller kan opnå klinisk beskyttelse mod det asexuelle blodstadie, har givet fornyet håb om, at det vil være muligt at udvikle en effektiv vaccine mod parasittens sygdomsfremkaldende blodstadie. En sådan vaccine er frem for alt beregnet til brug i malariaendemiske områder.

---

## Vaccinekandidater

Merozoit surface protein nummer 1 er det mest studerede antigen i forbindelse med udviklingen af en vaccine mod det asexuelle stadium. Merozoit surface protein nummer 1 findes i alle de indtil nu studerede malariaarter. Det har

givet mulighed for studier i såvel mus- som rotte- og abemodeller. Det er dog endnu ikke lykkedes at fastslå hvilken funktion proteinet har. Det ser ud som om dets C-terminale ende med epidermal growth factor lignende domæner er af betydning for den beskyttelse, man kan opnå ved vaccination i dyremodeller. Disse domæner er stærkt foldede ved hjælp af cysteinbroer, og proteinets sekundære og tertiære struktur er af betydning for den vaccineinducerede immunitet. Det er overordentligt svært at fremstille merozoit surface protein nummer 1 i den rette konfiguration, hvad enten man bruger rekombinante eller syntetiske proteiner. I øjeblikket foregår flere fase I kliniske forsøg med forskellige merozoit surface protein konstruktioner. Hypotesen er, at antistoffer rettet mod merozoit surface protein nummer 1 blokerer merozoittens binding til erythrocyttens overflade og dens videre indtrængen i det røde blodlegeme.

Den pool af humant IgG, som Sabchareon i 1991 benyttede til at behandle Thailandske børn med, har også været brugt til at udvikle et in vitro assay for parasitdrab, det såkaldte Antibody Dependent Cellular Inhibition (ADCI) assay (14). Dette assay bygger på, at humane antistoffer af IgG1 og IgG3-klasserne rettet mod merozoit overfladeantigener via FC-receptorer inducerer monocytter og muligvis andre celler til at producere gammainterferon, som dræber parasitten intraerythrocytært i det tidlige ringstadium.

Specielt to merozoit overfladeantigener, merozoit surface protein nummer 3 og glutamate rich protein har vist sig at inducere ADCI-aktive antistoffer under udviklingen af naturlig immunitet hos afrikanere (15, 16). IgG1 og IgG3 antistoffer mod dele af disse to molekyler har desuden vist sig at være statistisk signifikant korreleret til beskyttende klinisk immunitet i befolkninger i Tanzania, Ghana og Senegal. Begge antigener er nu sat i begrænset GMP-produktion – Good Manufacturing Practise – med henblik på kliniske forsøg i frivillige.

Mens man ikke kender funktionen af de tre ovennævnte antigener, har man derimod en god forståelse af funktionen af andre antigener, som bliver udtrykt på overfladen af den inficerede erythrocyt. Et af de mest studerede antigener er P. falciparum erythrocyte membrane protein 1 (Pfemp1), som er involveret i bindingen af de inficerede røde blodlegemer til endothelceller. Genet, der koder for dette protein, tilhører en store familie af gener, hvilket forklarer de mange antigen-varianter af proteinet. Et andet vigtigt antigen på overfladen er det P. falciparum inficerede røde blodlegeme er Pf332 et meget stort protein, som ligeledes findes i mange antigenvarianter. Studier i Aotus aber med infusion af specifikt immunglobulin har givet lovende resultater, hvorimod infusion af immunglobulin til børn i Thailand og i Malawi, som led i behandlingen af hjernemalaria, ikke har været i stand til at bryde bindingen mellem de inficerede røde legemer og kapilærendothelet. Effektive og sikre vacciner udviklet mod ligand-receptor interaktion ligger et godt stykke ud i fremtiden, hvis det overhoved er muligt.

---

## Transmissionsforebyggende vacciner

Vacciner som er rettet mod parasittens seksuelle formeringsfase kaldes også transmissions-blokerende-vacciner. Sådanne vacciner giver ingen beskyttelse til det immuniserede individ. Vaccinernes formål er at rejse antistoffer, som når de optages af malariamyggen under dens blodmåltid vil forhindre han-hun fertiliseringsprocessen i myggens tarm, alternativt blokere den videre udvikling af ookineten. Effekten af en sådan vaccine ville være myg, som ikke længere er inficeret med malariaparasitter, og derfor ikke kan viderebringe sygdommen. Transmissions-blokerende-vacciner kunne være et attraktivt supplement i et forsøg på at udrydde malaria i isolerede områder som for eksempel på øer og i områder med lavt transmission. Ligeledes ville transmissions-blokerende-vacciner kunne bidrage til en formindsket spredning af multi-drug-resistente-parasitter og escape mutanter opstået i forbindelse med anvendelse af vacciner rettet mod de øvrige parasitstadier. Endeligt ville en transmissions-blokerende-vaccine være et vigtigt kontrolredskab, hvis den var obligatorisk for rejsende, der vender hjem fra malariaområder til områder, hvor malaria allerede er blevet udryddet, men hvor genetablering af malariatransmission er mulig. Det ville være attraktivt at kombinere en transmissions-blokerende-vaccine med en vaccine rettet mod blodstadiet. I øjeblikket er to forskellige transmissionsblokerende vaccinekonstruktioner i præklinisk og tidlig klinisk afprøvning.

Den colombianske forsker Manuel Elkin Patarroyo har udviklet en multi-komponent malariavaccine. Denne vaccine kaldt SPf66 har været igennem adskillige kliniske afprøvninger uden overbevisende resultater.

Malariavaccineforskere og udviklere er helt i forreste linie i moderne vaccinologi (17). I eksperimentelle modeller afprøves flere nye vaccinesystemer, som for eksempel prime boost strategien med viral vector priming og boosting med rekombinant protein eller DNA-priming efterfulgt af viral vector boosting. Sådanne vacciner er i øjeblikket i klinisk fase I forsøg. Multikomponent og multistadie DNA-vacciner er under konstruktion, og vil inden for den nærmeste fremtid nå frem til fase I kliniske forsøg. Malaria genom-projektet vil uden tvivl skaffe os megen ny og vigtig information for vaccine- og medicinudvikling.

Det største problem i dag er imidlertid ikke at finde og karakterisere nye antigener, men snarere at få bragt allerede veldokumenterede antigener fra laboratoriet via miniskala Good Manufacturing Practise (GMP) produktion til klinisk afprøvning. En af forhindringerne i udviklingen af specielt blodstadie-vacciner er den private industris meget begrænsede interesse. Malariavaccine markedet er ikke økonomisk solidt nok til at industrien tør investere de midler, der skal til for at udvikle lovende laboratoriefund til eksperimentelle vacciner, der kan afprøves i mennesker. Denne begrænsede interesse har fået malariavaccineforskere globalt til at bede om stærkt forøget offentlig finansiering. USAs Department of Defense har etableret sin egen Good Manufacturing Practise produktion for at kompensere for det begrænsede industrielle engagement. National Institutes of Health, USA arbejder i

øjeblikket med lignende planer. I Europa har Europakommissionen etableret European Malaria Vaccine Initiative (EMVI), som har et meget specifikt mandat – nemlig at etablere en mekanisme eller en mulighed for at bringe lovende laboratorieresultater via begrænset Good Manufacturing Practise produktion frem til klinisk afprøvning i mennesker. European Malaria Vaccine Initiative har efter anbefaling fra et internationalt videnskabeligt panel netop indgået aftale om produktion af fire eksperimentelle malariavacciner, hvoraf de to vil være klare til klinisk fase I afprøvning senere på året 2000.

På baggrund af de seneste års videnskabelige og teknologiske fremskridt, det fornyede globale engagement i bekæmpelsen af malaria og med gradvist øgende offentlig finansiering er det sandsynligt, at vi inden for de nærmeste år vil se flere forskellige malaria vacciner klar til klinisk efficacy afprøvning.

Skal malariavacciner komme befolkningen i udviklingslandene til gode, er det bydende nødvendigt, at de bliver kosteffektive redskaber. Det betyder, at produktionsomkostningerne skal være lave, at vaccinerne kan blive distribueret via eksisterende nationale immuniseringsprogrammer og Expanded Programme on Immunisation (EPI), at antallet af injektioner ikke overstiger tre, og at den inducerede beskyttelse varer i mindst tre år og eventuelt kan boostes ved naturlig infektion. De fleste af disse basale kriterier kan vi overholde. Men det er nødvendigt gennem hele vaccineudviklings-processen, at man holder sig dem for øje.

---

## Konklusion

Sammenfatningsvis er det i dag teoretisk muligt at udvikle effektive malariavacciner, som udviklingslandene har råd til. Anden- eller tredjegerations malariavacciner vil sandsynligvis være multikomponent – og muligvis også multistadie vacciner. Det er imidlertid, på grund af den svigtende kommercielle interesse en absolut forudsætning, at malarivaccineudvikling gives en høj prioritet og stærk forøget offentlig finansiering.

---

## LITTERATUR

1. WHO. World malaria situation in 1994. *Wkly Epidemiol Rec* 1997; 36: 269 – 74.
2. Malaria control among refugees and displaced populations. Genève: WHO, 1996.
3. White NJ, Nosten F, Looareesuwan S, Watkins WM, Marsh K, Snow RW et al. Averting a malaria disaster. *Lancet* 1999; 353: 1965 – 7.
4. Engers HD, Godal T. Malaria vaccine development: current status. *Parasitol Today* 1998; 14: 56 – 64.
5. Sinnis P, Nussenzweig V. Preventing sporozoite invasion of hepatocytes. I: Hoffman S, red. *Malaria vaccine development: a multi-immune response approach*. Washington DC: ASM Press, 1996: 15 – 33.

6. Potocnjak P, Yoshida N, Nussenzweig RS, Nussenzweig V. Monovalent fragments (Fab) of monoclonal antibodies to a sporozoite surface antigen (Pb44) protect mice against malarial infection. *J Exp Med* 1980; 151: 1504 – 13.
7. Stoute JA, Slaoui DG, Heppner P, Monin KE, Kester P, Desmons BT et al. A preliminary evaluation of a recombinant circumsporozoite protein vaccine against *Plasmodium falciparum* malaria. RTS,S Malaria Vaccine Evaluation Group. *N Engl J Med* 1997; 336: 86 – 91.
8. Stoute JA, Kester KE, Krzych U, Welde BT, Hall T, White K et al. Long-term efficacy and immune responses following immunization with the RTS,S malaria vaccine. *J Infect Dis* 1998; 178: 1139 – 44.
9. Nussenzweig RS, Vanderberg J, Most H, Orton C. Protective immunity produced by the injection of X-irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*. *Nature* 1967, 216: 160 – 2.
10. Clyde DF, Most H, McCarthy VC, Vanderberg JP. Immunization of man against sporozoite induced falciparum malaria. *Am J Med Sci* 1973; 266: 169 – 77.
11. Cohen S, McGregor IA, Carrington S. Gamma globulin and acquired immunity to human malaria. *Nature* 1961; 192: 733 – 7.
12. McGregor IA. The passive transfer of human malarial immunity. *Am J Trop Med Hyg* 1964; 13: 237 – 9.
13. Sabchareon A, Burnouf T, Ouattara D, Attanath P, Bouharoun-Tayoun H, Chantavanich P et al. Parasitologic and clinical human responses to immunoglobulin administration in falciparum malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 45: 297 – 308.
14. Bouharoun-Tayoun H, Oeuvray C, Lunel F, Druilhe P. Mechanisms underlying the monocyte-mediated antibody-dependent killing of *Plasmodium falciparum* asexual blood stages. *J Exp Med* 1995; 182: 409 – 18.
15. Oeuvray C, Bouharoun-Tayoun H, Gras-Masse H, Bottius E, Kaidoh T, Aikawa M et al. MSP-3: a malaria protein inducing antibodies which promote *Plasmodium falciparum* killing in cooperation with blood monocytes. *Blood* 1994; 84: 1594 – 602.
16. Theisen M, Soe S, Oeuvray C, Thomas AW, Vuust J, Danielsen S et al. The glutamate-rich protein (GLURP) of *Plasmodium falciparum* is a target for antibody-dependent monocyte-mediated inhibition of parasite growth in vitro. *Infect Immun* 1998; 66: 11 – 7.
17. Hoffman S, red. *Malaria vaccine development: a multi-immune response approach*. Washington DC: ASM Press, 1996.

---

Publisert: 30. mai 2000. Tidsskr Nor Legeforen.

