



Republik
Österreich
Patentamt

(11) Nummer: **AT 398 900 B**

(12)

PATENTCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 298/91

(51) Int.Cl.⁶ : **A61K 45/05**
A61K 39/00

(22) Anmeldetag: 12. 2.1991

(42) Beginn der Patentdauer: 15. 7.1994

(45) Ausgabetag: 27. 2.1995

(56) Entgegenhaltungen:

EP-A2 0173951

(73) Patentinhaber:

PEKAR RUDOLF DR.
A-4820 BAD ISCHL, OBERÖSTERREICH (AT).

(54) VAKZINE FÜR EINE IMMUNTHERAPIE

(57) Eine Vakzine für eine Immuntherapie bei der Nachbehandlung von Tumorerkrankungen enthält in einem flüssigen Träger aus menschlichen Tumorzellen gewonnene Zellpräparate, die wenigstens zum Teil einer Behandlung mit Neuraminidase unterzogen werden. Die Vakzine besteht aus wenigstens zwei für eine getrennte Anwendung in aufeinanderfolgenden Impfperioden bestimmten Einzelvakzinen, die je unter Verwendung körpereigener Tumorzellfragmente hergestellt sind und von denen die erste nur Zellwandbestandteile enthält, insbesondere ein Immunogenkomplex ist und die zweite Vakzine inaktivierte zytoplasmatische Bestandteile der Tumorzellen enthält. Es kann eine dritte Vakzine eingesetzt werden, die inaktivierte Kommensale enthält, welche aus einer Kultur einer mit aktiven zytoplasmatischen Bestandteilen der Tumorzellen versetzten Kulturlösung aus Proteinextrakten gewonnen werden. Ein Verfahren zur Herstellung der Vakzine ist angegeben.

AT 398 900 B

Die Erfindung betrifft eine Vakzine für eine Immuntherapie bei der Nachbehandlung von Tumorerkrankungen, die in einem flüssigen Träger aus menschlichen Tumorzellen gewonnene, insbesondere wenigstens zum Teil einer Behandlung mit Neuraminidase unterzogene Zellpräparate enthält.

Eine Weiterbildung der Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer derartigen Vakzine.

5 Neuere molekular-immunologische Untersuchungen haben gezeigt, daß das Krebsgeschehen auch ein immunologisches Problem ist, so daß ein immunologisch therapeutisches Vorgehen sinnvoll erscheint.

Bei allen Berichten über Impfungen mit auf- oder zubereiteten Tumorzellen wurde die Signifikanz der Überlebenszeit durch eine erzielte Rezidivfreiheit bei vielen Krebserkrankungen hervorgehoben. Es werden allerdings sehr divergierende Prozentsätze angegeben. Es ist anzunehmen, daß hier die unterschiedlichen
10 Ansätze bei der Zellpräparation sowie Quantität und Zeitabstände der wiederholten Anwendungen eine Rolle spielen. Aus den klinischen Studien der letzten Jahre seien hier einige wesentliche Abweichungen in der Ausgangslage der aktiv-spezifischen Immuntherapie angeführt, wobei es wichtig ist, die engen, verflochtenen und fließenden Interaktionen der einzelnen für die Vakzination eingesetzten Strukturen zu unterscheiden.

15 Von den meist verwendeten Verfahren seien hier angeführt: eine spezifisch aktive Immunisierung mit tumorassoziierten Antigenen in Form von biologisch immunogenen Proteinen, die frei von Nukleinsäuren sind; eine Immunisierung mit von außen zugeführten monoklonalen Antikörpern als sogenannte Idiotypen zur Bildung von Antitumor-Antikörpern, z.B. des tumorassoziierten Antigens CA 125; eine Immunisierung mit Extrakten von klonierten Tumorzellen und deren Oberflächen-Antigenen; eine Immunisierung mit
20 autologen, virusmodifizierten Tumor-Zellvakzinen und eine Immunisierung mit inaktivierten Extrakten aus ganzen Zellen.

Die Verwendung autolytischer Zellen hat sich nicht bewährt.

Jede der angeführten Modifikationen spricht die zelluläre und molekulare Abwehrebene an. Damit dies möglich ist, müssen Tumorzellfragmente so verändert werden, daß sie dem Organismus als Immunogen
25 präsentiert werden und spezifische Abwehrreaktionen hervorrufen. Für die Veränderung der Zellfragmente kommen zur Anwendung: Hitze, Bakterien, Viren, Chemomittel, organisches Material, human-embryonales Mesenchymgewebe und Gleichstrom.

Eine gezielte Ausrichtung und Abstimmung der bekannten Präparationen kann nur in entsprechend eingerichteten klinischen Labors durchgeführt werden, weshalb diese bekannten Methoden für einen
30 breiteren Einsatz derzeit nicht in Frage kommen. Vor allem verwenden die bisherigen Methoden immunogene Proteine, d.h. gentechnisch gewonnene monoklonale Antikörper, virusmodifizierte Tumorzellvakzine oder Extrakte aus klonierten Tumorzellen bzw. Extrakte aus ganzen Zellen.

Ein Verfahren der eingangs genannten Art ist aus der EP-A2 0 173 951 bekannt. Bei diesem Verfahren soll ein Therapeutikum für die Behandlung oder Vorbeuge von Tumorerkrankungen geschaffen werden, das
35 für die jeweilige Erkrankung spezifische Antikörper enthält. Es werden vom Fremdspendern stammende Tumorgewebsarten verwendet, welche bestimmte Antigene tragen. Von diesen sollen entsprechende, monoklonale Antikörper gewonnen werden. Zu diesem Zweck werden unter dem Einsatz von von Fremdspendern stammenden Karzinomzellen Zellkulturen angelegt. Die Zellkulturen werden aufgearbeitet, mit einem Zytostatikum (Mikomycin 2) inaktiviert und zuletzt lyophilisiert. Von der Zellwand wird nur der
40 Rezeptor, also das Antigen verwendet.

Im Gegensatz zu den bekannten Methoden sieht die Erfindung eine neue Vakzine vor, die sich dadurch auszeichnet, daß sie aus wenigstens zwei, für eine getrennte Anwendung in aufeinanderfolgenden Impfpe-
rioden bestimmten Einzelvakzinen besteht, die je unter Verwendung körpereigener Tumorzellfragmente
45 hergestellt sind und von denen die erste nur Zellwandbestandteile enthält, vorzugsweise ein Immunogenkomplex ist, bei dem die negative Oberflächenladung der Zellmembranen durch Behandlung mit Neuraminidase entfernt wurde, und die zweite Vakzine inaktivierte zytoplasmatische Bestandteile der Tumorzellen enthält.

Die Grundsatzidee der Erfindung besteht somit darin, operativ gewonnene Tumorzellpräparate des Patienten selbst für die Herstellung geeigneter Vakzine zu verwenden, wobei man hier davon ausgehen
50 kann, daß die angestrebte Immunisierung bzw. Immunreaktion speziell auf die jeweilige Tumorerkrankung und auch auf den Organismus des jeweiligen Krebspatienten abgestimmt ist. Durch die aufeinanderfolgende Anwendung der beiden Vakzinen werden verschiedene Abwehrebene angesprochen und es wird insgesamt eine bessere Immunisierung als bei Verwendung einer Einzelvakzine bei Vergrößerung der Wahrscheinlichkeit der Rezidivfreiheit erzielt.

55 In Weiterbildung der Erfindung findet eine dritte, für die Anwendung nach den beiden ersten Vakzinen bestimmte Vakzine Verwendung, die inaktivierte Kommensale enthält, welche aus einer Kultur einer mit aktiven zytoplasmatischen Bestandteilen der Tumorzellen versetzten Kulturlösung aseptisch gewonnener embryonaler Proteinextrakte gewonnen wurden.

Unter "Kommensalen" werden Mykoplasmen und andere Mikroparasiten verstanden, die zwar nicht selbst krebserregend sind, aber als Tumorpromotoren wirken können.

Für die Herstellung der Vakzine wird ein Verfahren bevorzugt, welches dadurch gekennzeichnet ist, daß ein operativ gewonnenes, körpereigenes Tumorphäparat unter sterilen Kautelen in kleine Stücke zerteilt, in einem sterilen Träger, insbesondere einer Kochsalzlösung, suspendiert und zum Beispiel in einem Turbogenerator zu Zellfragmenten zerkleinert wird, wonach die Zellfragmente durch Zentrifugierung der Suspension von den zytoplasmatischen Bestandteilen getrennt werden, und daß die Zellwandfragmente in einem sterilen Träger suspendiert, mit Neuraminidase versetzt, nach einer Reaktionszeit durch mehrfache Aufschwemmung, Zentrifugierung und Dekantierung gereinigt und mit einem Träger zu einer ersten Einzelvakzine verdünnt werden, daß die zytoplasmatischen Bestandteile ebenfalls suspendiert, gereinigt, inaktiviert und unter Verdünnung zu einer zweiten Vakzine verarbeitet werden, und daß vorzugsweise ein Teil der zytoplasmatischen Bestandteile vor deren Inaktivierung als Impfung einer Kulturlösung aus aseptisch gewonnenem embryonalem Proteinextrakt verwendet wird, aus welcher Kulturlösung nach Verlauf einer vorgegebenen Inkubationszeit, die vorzugsweise wenigstens teilweise bei anaeroben Bedingungen stattfindet, Kommensalen gewonnen, inaktiviert und zur Herstellung einer dritten Vakzine verwendet werden. Der ersten Einzelvakzine können Phenol und Kieselsäure zugesetzt werden.

Nähere Einzelheiten über die Herstellung und Anwendung der Vakzine und die Überlegungen, die für diese Herstellungs- und Anwendungsart sprechen, ergeben sich aus den nachfolgenden detaillierteren Beschreibungsteilen.

Beispiel 1:

Herstellung des Tumorphomogenisates

Nachstehendes Verfahren zur Herstellung einer Dreifachvakzine für eine aktiv-spezifische Immuntherapie hat sich beim Anmelder besonders bewährt:

Ein operativ gewonnenes Tumorphäparat wird nativ ohne jeden Zusatz unter sterilen Kautelen ehemöglichst so präpariert, daß mit Schere und Pinzette unspezifische Gewebsanteile entfernt und das Tumorgewebe, das beispielsweise einen Gewichtsanteil von 8 bis 10 g besitzt, in kleine Stücke zerlegt wird. Diese werden mit 12 ml steriler Kochsalzlösung suspendiert und mit einem Turbogenerator (10 K, 20.000 U/min Ultraturrax, IKA-Werke, Staufeu/Breisgau) so lange zerkleinert, bis die mikroskopische Kontrolle nur noch Zellfragmente zeigt. Die Kontrolle erfolgt z.B. unter Ölimmersion mittels eines Phasenkontrastmikroskopes. Wenn die mikroskopische Prüfung zufriedenstellende Ergebnisse ergibt, wird zentrifugiert, wonach die Satzoberschicht über dem Bodensatz dekantiert wird.

Beispiel 2:

Vakzine I

Der Bodensatz wird noch ein oder zweimal in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, neuerlich zentrifugiert und der Überstand dekantiert und verworfen. Damit sind die Zellfragmente von zytoplasmatischen Beimengungen befreit und der Zentrifugensatz enthält nur mehr die Zellwandbestandteile mit den verschiedenen Antigenen, Rezeptoren der Oberfläche, aktivem Protein der Matrix, wobei alle diese Faktoren individuell dem Tumor des Patienten entsprechen. Von diesen tumorassoziierten Antigenen wird die spezifische Abwehrkaskade bei der Vakzination am stärksten angesprochen und angeregt, weil man in dem hochkomplexen Abwehrsystem nicht einen molekularen Baustein, sondern eine ganze Palette solcher Bausteine zur Interaktion anbietet. In der weiteren Präparation werden die so erhaltenen Zellwandfragmente nach Aufschwemmung in 5 ml physiologischer Kochsalzlösung mit Neuraminidase (Enzym, aus *Vibrio comma cholerae* hergestellt, Fa. Merck) versetzt und 15 - 20 min stehen und reagieren gelassen. Dadurch wird die negative Oberflächenladung der Zellmembran durch Abspaltung von Neuraminsäure entfernt und damit eine Umwandlung der Zellwandbestandteile in ein Immunogen eingeleitet, wobei eine Umpolung in der Zellwand bzw. deren Fragmenten stattfindet und die spezifischen Erkennungssignale der Rezeptoren verändert werden. In der weiteren Präparation erfolgt eine mehrfache Aufschwemmung mit physiologischer Kochsalzlösung, Zentrifugierung und Dekantierung um den Neuraminidase-Überschuß zu entfernen. Mit den jetzt verwendungsfähigen Zellbestandteilen werden drei Fläschchen zu je 10 ml gestuft mit 0,5 g, 0,2 g und 0,1 g beschickt und dann mit je 10 ml steriler, physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Im letzten Schritt werden jeder Suspensionslösung 5 mg Phenol und 2 mg Kieselsäure zugesetzt.

Beispiel 3:

Vakzine II

- 5 Der Obersatz des Zentrifugates enthält alle zytoplasmatischen Bestandteile der Zelle und somit auch die fehlprogrammierten Nukleinsäuren. Für die Herstellung der Vakzine II wird dieser Obersatz des Zentrifugates allenfalls nach entsprechender Aufschwemmung und Zwischenreinigung im Wasserbad auf 70 °C für wenigstens zwei Stunden erhitzt, wonach ein Zusatz eines unspezifischen Adjuvans, wie bei Vakzine I angegeben, erfolgt. Durch die Erhitzung tritt eine verlässliche Inaktivierung ein, die diesen entsprechend
10 zubereiteten Obersatz des Zentrifugates als Auslöser eines immunitären Vorganges brauchbar macht. Die weitere Vorbereitung bzw. Fertigstellung erfolgt wie bei Vakzine I angegeben.

Beispiel 4:

15 Vakzine III

- Diese Vakzine soll aus tumorbegleitenden Kommensalen gewonnen werden. Entsprechende Kommensale sind in der Medizin als existent anerkannt, werden aber nicht als causal für die Tumorentstehung gewertet. Da sie aber schon in der Tumortalentzphase nachweisbar sind, besteht die berechnigte Annahme,
20 daß sie als belebter und damit kulturfähiger Cofaktor und als Tumorpromotoren einzuschätzen sind. Neuere Forschungen haben gezeigt, daß auch viele andere chronisch verlaufende Prozesse vor allem infektiöser Natur oft von opportunistischen Erregern begleitet sein können. Als Beispiel seien Mykoplasmen als Kommensalen bei Aidserkrankungen angeführt. Eine Schilderung dieser seit Millionen Jahren atenuierten, Mensch und Tier begleitenden Mikroparasiten hinsichtlich ihrer Morphologie, ihres Aufbaues, Entwicklungszyklus, fakultativ-pathogenen Verhaltens findet man in der Zeitschrift "BIOMED Nr. 3/1979, 7/1979,
25 10/1979" (Autor ist der Anmelder).

- Als belebte Tumorbegleiter sind die Kommensalen ebenfalls vermehrungsfähig. Zur Herstellung der Vakzine III werden zwei bis drei Fläschchen a 10 ml mit einer Kulturlösung aus aseptisch gewonnenen Extrakten aus verschiedenen Organen (Herz, Muskel, Lunge, Leber Haut) eines Schafembryos, zellfrei,
30 Proteingehalt 30 mg pro 1 ml Extrakt in der Lösung einer sterilen physiologischen Kochsalzlösung zur Hälfte gefüllt und mit 2 ml der auch bei der Vakzine II eingesetzten Zytoplasmalösung vor der Inaktivierung versetzt. In einem Fläschchen wird die Lösung zur Gewinnung einer anaeroben Kultur mit 0,5 ml entkeimtem Paraffinöl überschichtet. Nach vier Tagen wird die Hälfte des Fläschcheninhaltes, vor allem der Bodensatz, auf neue Kulturfläschchen übertragen und dieser Vorgang wird dreimal wiederholt. Nach der
35 letzten Passage wird scharf zentrifugiert, der Obersatz des Zentrifugates verworfen und der verbleibende Untersatz in 5 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Danach erfolgt eine Inaktivierung im Wasserbad für wenigstens zwei Stunden bei 70 °C und schließlich der Zusatz von Adjuvans wie bei der Vakzine I bzw. II angegeben.

- Es liegt nun eine Vakzine aus drei Einzelvakzinen für eine getrennte, aufeinanderfolgende Anwendung
40 in der durch die Numerierung bestimmten Reihenfolge vor.

Anwendung

- Die Vakzine I wird bei Einzelimpfungen in der Form eingesetzt, daß pro Vakzination 3 ml der gut
45 aufgeschüttelten Vakzine auf drei bis vier Stellen verteilt, z.B. auf der Bauchdecke, verabreicht werden.

- Es wird mit dem 0,5 g verwendungsfähige Zellbestandteile enthaltenden Fläschchen begonnen und die Impfung aus dem gleichen Fläschchen nach drei Tagen wiederholt. Dann folgen neuerliche Impfungen aus dem Fläschchen 0,2 und nach 21 Tagen Impfungen mit dem Fläschchen 0,1. Der Sinn, mit der stärksten Lösung zu beginnen, liegt darin, daß das Immunsystem bei größerer bzw. länger dauernder Beanspruchung
50 ermüdet.

- Nach einer Pause von drei Wochen wird mit der Impfung mit der Vakzine II begonnen, wobei zwei Anwendungsmodifikationen möglich sind:

- a) aus dem Fläschchen mit der Stammlösung werden 2 ml entnommen und mit 10 ml physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Davon wird einmal pro Woche 1 ml subkutan insgesamt dreimal verimpft. Eine
55 vierte Impfung erfolgt nach drei Monaten.
b) Zur Erzielung einer Anti-Antikörperreaktion erfolgt eine Vakzination in Hochverdünnung, ähnlich der von Dr. Karl Theurer entwickelten "Gegensensibilisierung". (Theurer K.E.: "Die Gegensensibilisierung als neuartige Desensibilisierungsmethode, Medizinische 44, 1569 - 1572, 1956). Die Begründung für diese

Vorgangsweise ergibt sich aus einer Reihe wissenschaftlicher Arbeiten, nach denen zwar bei Krebspatienten tumoraktive zytotoxische T-Zellen und Antikörper nachgewiesen werden konnten, aber keine Anzeichen einer Tumorabwehr ermittelt wurden. Es bestehen gravierende Erkenntnisse, daß die Toleranzentwicklung gegen Tumorzellen durch Expression bestimmter Peptide durch Kopplung an HLA-Moleküle aus dem Zellinneren an die Zelloberfläche kommen. Auf diese Weise werden zytotoxische T-Lymphozyten getäuscht bzw. blockiert. Durch Auslösen einer entsprechenden Reaktion soll die erwähnte Maskierung durch einen Anti-Idiotyp-Antikörper in Form einer vakzinalen Gegsensensibilisierung behoben werden. Zur Hochverdünnung enthält die Ausgangslösung 2 ml Grundsubstanz auf 10 ml physiologischer Kochsalzlösung. Davon werden drei Verdünnungsstufen hergestellt. 0,2 ml der Ausgangslösung werden mit 10 ml isotonischer Lösung vermischt und von dieser letzteren Lösung wieder 0,2 ml mit 10 ml Lösung verdünnt. Eine parenterale Vakzination beginnt mit der höchsten Verdünnung, wobei während einiger Tage je drei bis vier Impfquadern gesetzt werden. Danach erfolgt ein Übergang auf subkutan Injektionen unter allmählicher Steigerung der Injektionsmenge auf jeweils 0,5 bis 1 ml. Nach einer Serie von 5 bis 6 Injektionen erfolgt ein Übergang auf die nächst höhere Konzentration. Die Verabreichung kann jeden dritten Tag stattfinden, wobei die ersten 12 bis 15 Injektionen keinen größeren Abstand als drei Tage aufweisen sollen, da es sonst zu einer Umstimmung der Immuntoleranz kommen könnte und die Reaktionslage dann einer Hyposensibilisierung gleicht. Bei möglichen, aber äußerst seltenen Hautreaktionen kann auch auf eine höhere Verdünnung zurückgegriffen werden. Die Vakzine ist nach sechs Monaten nicht mehr zu gebrauchen. Alle Impffläschchen sind kühl, z.B. bei 5 - 6 °C aufzubewahren.

Nach 7 Wochen wird die Impfung mit der Vakzine III begonnen. Es werden 1 ml subkutan in Abständen von 14 Tagen verabreicht, wobei der Fläschcheninhalt für 5 Impfungen reicht. Sichtbare Reaktionen sind, da es sich bei der Vakzine III um ein Eigenantigen handelt, nicht zu erwarten.

Ergebnisse

Eine Erfolgsbilanz auf dem Gebiet der Tumorstimmung kann wegen der zu geringen Fallzahl derzeit nicht in statistischer Form gegeben werden. Es wurden aber sehr gute Ergebnisse in Einzelfällen erzielt. Die häufigste Anwendung erfolgte bei Tumoren der Mamma, des Darmes und auch bei Melanoblastomen. Erklärend sei noch festgehalten, daß die eingesetzten, bei der Operation gewonnenen Präparate nicht von vorbestrahlten Tumoren stammen sollen. Bei der Vorbehandlung des Patienten mit Hormonen oder bei vorhergehender Chemotherapie soll zwischen dieser Behandlung und der Gewinnung des Operationspräparates eine Karenzzeit von mindestens zwei Monaten liegen.

Die Remission hängt stark von der noch vorhandenen Ansprechbarkeit einer Immunreaktion des Patienten ab. In der Abwehrlage im Karzinomgeschehen sind stets eine Reihe individueller, sich überlagernder Momente, wie Tumorart, Tumorstadium, Tumorsitz, Stoffwechselleiden, Medikamenten- oder Genußmittelkonsum, psychosoziale Lebenslage, Alter, Geschlecht usw. von Einfluß. Gravierende nachteilige Folgen haben durch Jahre bestehende chronische Herde vor allem chronische Tonsillitis, die hier in einem hohen Prozentsatz aufzufinden ist.

Nebenwirkungen der Vakzination wurden nur bei Anwendung der Vakzine I beobachtet. Sie sind regionaler Art und manchmal von Fieber und Lymphdrüenschwellung begleitet. Eine entsprechende Reaktion ist möglich, aber nicht voraussagbar. Es wurde aber beobachtet, daß sie immer bei sogenannten Vollrespondern, deren Metastasen verschwunden waren, auftrat.

Die immunologische Molekularforschung experimentiert mit gentechnisch hergestellten Oberflächenproteinen und liefert so gezielt tumorantigene Vakzine zur Aktivierung spezifischer zytotoxischer T-Lymphozyten (Effektorzellen). Wenn dieser Weg auch vielversprechend ist, so sind doch bis zur praktischen weiträumig klinischen Anwendung noch lange Zeiträume für den Abschluß der Forschungsarbeiten und die Erprobungen anstehend. Im Gegensatz dazu sind die erfindungsgemäßen Vakzine mit geringem Laboraufwand und geringem Materialeinsatz herstellbar und versprechen neben der zu erwartenden Unbedenklichkeit in vielen Fällen positive Ergebnisse.

Literaturnachweis

- | | |
|----------------|---|
| Alterange, W.: | Hygiene Institut der Stadt Dortmund, "Heilung maligner Tumoren mit Hilfe allergischer Reaktionen im Tierexperiment." BM 3 (1982), 114 - 115 |
| Bystryn, J.C.: | Departement of Dermatology, University Medical center N.Y. |
| Cancer: | Immunol.Immunther. 30 (1990)331 - 341 u. 30 |

- Körber, Juray: (1990) 363 - 366 Krebs-Impfung
Geschichte der Krebskrankheit. Verlag Dr. Herta
Ranner, Wien
- Medical Tribune: Nr. 48/1988 "Lungenkarzinome: Impfschutz gegen
Rezidive?"
- 5 Morton, D.L.: Surgical Oncology University School of Medicine,
Los Angeles, Impfungen bei malignen Melanomen
BM Biologische Medizin Heft 3/84
- Pekar Rudolf Dr.: Biomed Nr. 3/1979, 9/1979, 10/1979
- Pekar Rudolf Dr.: 43. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten. Impfung gegen
10 Schirmacher Volker, Prof.Dr.rer.nat., Heidelberg.: Karzinome.
Science 247 (1990) 49
- Ref.: Medigramm, Dtsch Med.Wschr. 28/29 (1990), 1127.
15 Kolorektale Karzinome.
- Skolnick, A.: Molekular biology research offers new weapons
against cancer. I.Am.Med.Ass. 263 (1990) 2289-
2291
- Takahaschi et al., Induction of C D8 cytotoxic Tcells by immunization
20 with Jurified HIV-1 envelope protein in ISOMs.
Nature 344 (1990) 873-875
- Villequez, E.: Der latente Parasitismus der Blutzellen beim Men-
schen besonders im Blut der Krebskranken. Sem-
melweis Verlag Hoya
- 25 Wagner, U.: Geburtsh. u. Frauenheilkunde. 50 (1990) 785 Imp-
fung bei Ovarial-Ca.
- Weber, A.: Über die Ursache der Krebskrankheit. Verlag Gebr.
Parcus KG München
- Vitorgan Arzneimittel Ges. m.b.H.,
30 D-7302 Ostfildern 1 (Ruit): Allergostop-Gegensensibilisierung und Hydrolysat
nach K.E. Theurer
- Theurer K.E.: Die Gegensensibilisierung als neuartige Desensibi-
lisierungsmethode, Medizinische 44, 1569 - 1572
(1956)

35

Patentansprüche

1. Vakzine für eine Immuntherapie bei der Nachbehandlung von Tumorerkrankungen, die in einem
flüssigen Träger aus menschlichen Tumorzellen gewonnene, insbesondere wenigstens zum Teil einer
40 Behandlung mit Neuraminidase unterzogene Zellpräparate enthält, **dadurch gekennzeichnet**, daß sie
aus wenigstens zwei, für eine getrennte Anwendung in aufeinanderfolgenden Impfperioden bestimmten
Einzelvakzinen besteht, die je unter Verwendung körpereigener Tumorzellfragmente hergestellt sind
und von denen die erste nur Zellwandbestandteile enthält, vorzugsweise ein Immunogenkomplex ist,
45 bei dem die negative Oberflächenladung der Zellmembranen durch Behandlung mit Neuraminidase
entfernt wurde und die zweite Vakzine inaktivierte zytoplasmatische Bestandteile der Tumorzellen
enthält.
2. Vakzine nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine dritte, für die Anwendung nach den beiden ersten
Vakzinen bestimmte Vakzine, die inaktivierte Kommensale enthält, welche aus einer Kultur einer mit
50 aktiven zytoplasmatischen Bestandteilen der Tumorzellen versetzten Kulturlösung aseptisch gewonne-
ner embryonaler Proteinextrakte gewonnen wurden.
3. Verfahren zur Herstellung einer Vakzine nach den Ansprüchen 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**,
daß ein operativ gewonnenes, körpereigenes Tumörpräparat unter sterilen Kautelen in kleine Stücke
55 zerteilt, in einem sterilen Träger, insbesondere einer Kochsalzlösung, suspendiert und zum Beispiel in
einem Turbogenerator zu Zellfragmenten zerkleinert wird, wonach die Zellfragmente durch Zentrifugie-
rung der Suspension von den zytoplasmatischen Bestandteilen getrennt werden, und daß die Zellwand-
fragmente in einem sterilen Träger suspendiert, mit Neuraminidase versetzt, nach einer Reaktionszeit

durch mehrfache Aufschwemmung, Zentrifugierung und Dekantierung gereinigt und mit einem Träger zu einer ersten Einzelvakzine verdünnt werden, daß die zytoplasmatischen Bestandteile ebenfalls suspendiert, gereinigt, inaktiviert und unter Verdünnung zu einer zweiten Vakzine verarbeitet werden, und daß vorzugsweise ein Teil der zytoplasmatischen Bestandteile vor deren Inaktivierung als Impfung einer Kulturlösung aus aseptisch gewonnenem embryonalem Proteinextrakt verwendet wird, aus welcher Kulturlösung nach Verlauf einer vorgegebenen Inkubationszeit, die vorzugsweise wenigstens teilweise bei anaeroben Bedingungen stattfindet, Kommensalen gewonnen, inaktiviert und zur Herstellung einer dritten Vakzine verwendet werden.

4. Verfahren nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß der ersten Einzelvakzine Phenol und Kieselsäure zugesetzt werden.