

3. Ergebnisse

Die Studie wurde zeitlich in zwei Phasen eingeteilt: In der Phase der Immunisierung wurden die Tiere der Impfstoffgruppe mit den Vakzinen behandelt und deren immunogener Effekt gemessen. In der zweiten Phase, die mit der Belastung der Tiere begann, wurde der Infektions- und Krankheitsverlauf beobachtet und, wenn möglich, mit den weiterhin gewonnen immunologischen Daten korreliert.

3.1 SIV-spezifische Immunantworten durch die Vakzinierung

Um zunächst die Immunogenität der Impfstoffkandidaten in Affen zu testen, wurden sechs Versuchstiere zunächst mit der DNA Vakzine immunisiert (Woche 0). Es folgte eine Immunisierung mit der rMVA Vakzine (Woche 8) und zwei Immunisierungen mit der rSFV Vakzine (Woche 16 und 24). Die Grundimmunisierung mit DNA sollte also durch drei Folgeimmunisierungen verstärkt werden. Um solch eine Entwicklung beobachten zu können, wurden im Verlauf der Vakzinierungen die humoralen und zellulären Immunantworten gegen SIVmac in den immunisierten Makaken untersucht.

Zur Kontrolle wurden vier Tiere mit DNA Plasmiden und viralen Kontrollvektoren ohne SIV Gene immunisiert, vier weitere Tiere blieben unbehandelt. Die genaue Zusammensetzung der drei Gruppen ist in Abschnitt 2.1.1 aufgeführt.

3.1.1. Zelluläre Immunantwort gegen SIV durch die Vakzinierungen

Zur Ermittlung einer SIV-spezifischen T-Helferzellantwort wurden in sogenannten Lymphoproliferationsassays (LPA) PBMCs der Affen mit inaktivierten SIV Partikeln (SIV-AT2) und rekombinatem SIVmac Tat (rTat) *in vitro* stimuliert und die resultierende Proliferation von CD3⁺ CD4⁺ T-Zellen gemessen (Abbildung 3.1.1.A & B).

Die erste antigenspezifische Proliferation von CD3⁺ CD4⁺ T-Zellen konnte vier Wochen nach der ersten rSFV Immunisierung (Woche 20) in drei von fünf Tieren mit SIV-AT2 gezeigt werden. Diese proliferative Antwort wurde durch die zweite rSFV Immunisierung leicht gesteigert, vier Wochen nach dieser Impfung (Woche 28) wiesen fünf von sechs Tieren der Impfstoffgruppe eine SIV-AT2 spezifische Proliferation ihrer PBMCs auf. Diese Antwort blieb in vier von fünf Tieren bis zum Tag der Belastung in der 32. Woche bestehen, war jedoch etwas abgeschwächt. Rh A7 (Impfstoffgruppe) wies bereits nach der rMVA Immunisierung (Woche 12) eine deutliche Antwort auf, die allerdings im folgenden Zeitraum

wieder abfiel. Ein anderes Tier der Impfstoffgruppe (Rh A5) zeigte während der Immunisierungsphase keine Proliferationsantwort auf SIV-AT2.

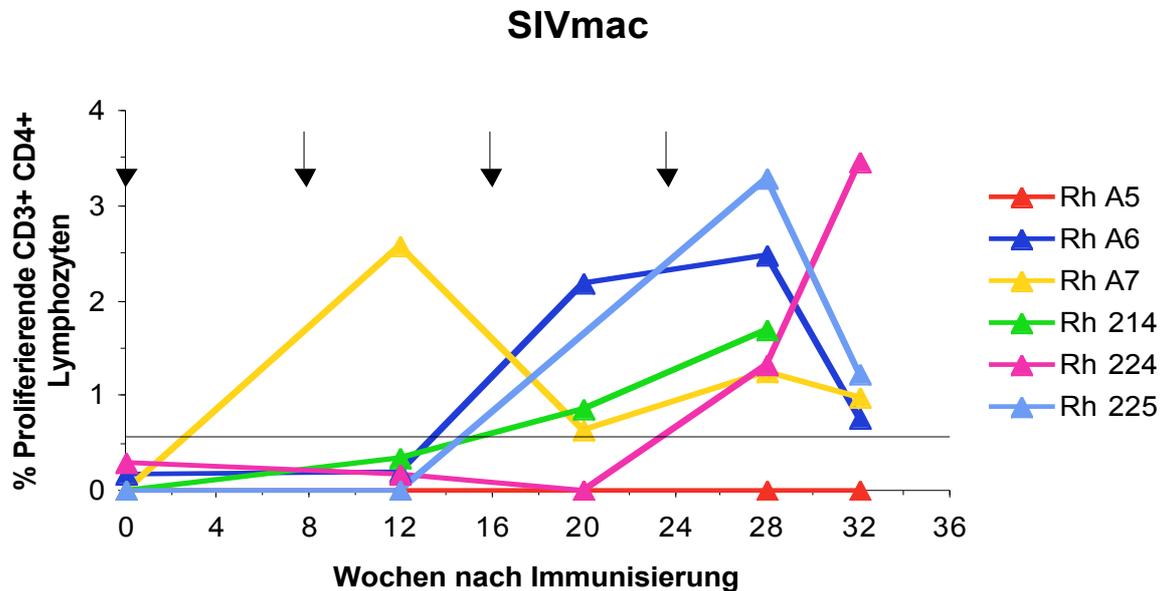


Abb. 3.1.1.A: SIVmac-spezifische CD4⁺ T-Zell Proliferation von PBMCs der Impfstofftiere. Die Pfeile zeigen die vier Immunisierungen in den Wochen 0, 8, 16 und 24 an. Der Schwellenwert (0,56 %) ist als schwarze Linie eingezeichnet.

Ein ähnlich zeitlicher Verlauf konnte auch bei der Stimulation von PBMCs mit rTat beobachtet werden, die T-Helferzellantworten gegen dieses Antigen fielen jedoch generell schwächer aus. Nach der ersten rSFV Immunisierung konnte die rTat-spezifische Proliferation von CD3⁺ CD4⁺ T-Zellen in zwei von sechs Affen der Impfstoffgruppe nachgewiesen werden. Nach der letzten Immunisierung mit rSFV reagierten PBMCs von drei der sechs Impflinge ebenso auf das Tat Antigen. Am Tag der Belastung konnte noch in drei von fünf Tieren diese Reaktivität beobachtet werden. Die Tiere Rh A5 und Rh 225 zeigten zu keinem Zeitpunkt vor der Belastung eine signifikante Tat-spezifische Proliferation ihrer PBMCs.

In den beiden Kontrollgruppen wurde mit keinem der verwendeten Antigene eine spezifische Proliferation gemessen, lediglich Rh 184 wies in Woche 28 einmalig eine signifikante, Tat-spezifische Antwort auf, diese verschwand jedoch in den folgenden Wochen vor der Belastung wieder (Daten nicht abgebildet).

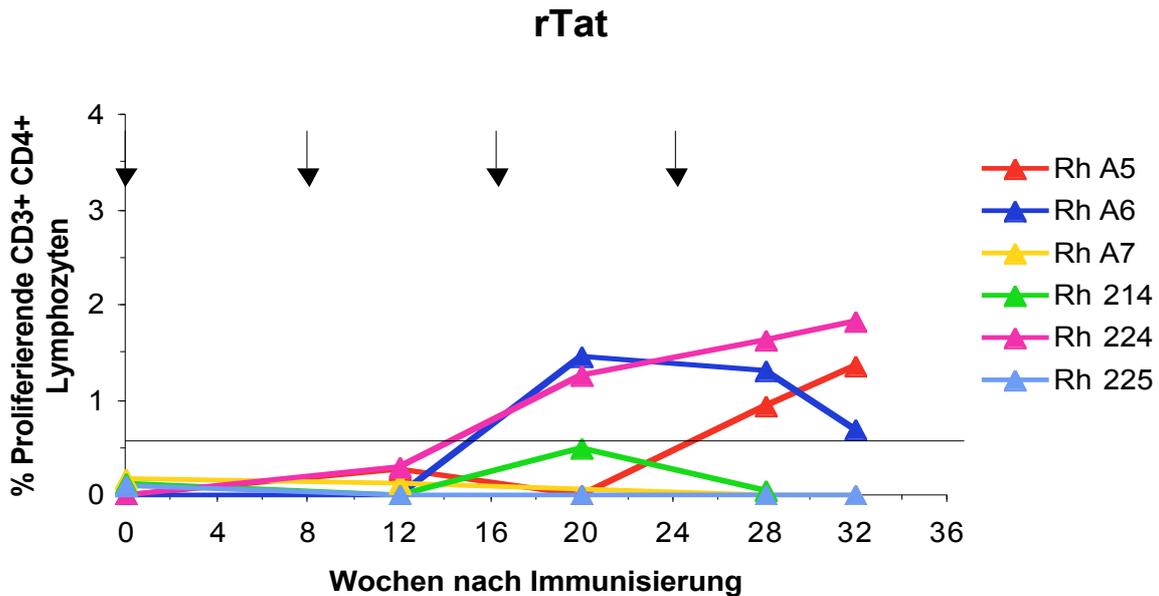


Abb. 3.1.1.B: rTat-spezifische CD4⁺ T-Zell Proliferation von PBMCs der Impfstofftiere. Die Pfeile zeigen die vier Immunisierungen in den Wochen 0, 8, 16 und 24 an. Der Schwellenwert (0,56 %) ist als schwarze Linie eingezeichnet.

Zur Bestimmung der IFN γ -produzierenden zytotoxischen T-Zellen (Engl.: Cytotoxic T-Lymphocyte, CTL) und T-Helferzellen wurden ELISpots mit von Gag, Nef, Tat und Rev abgeleiteten Peptiden durchgeführt (Abbildung. 3.1.2.A bis H). Diese Peptide wurden in Gruppen zusammengefasst, deren einzelne 15mere Peptide eine Überlappung von sieben Aminosäuren aufweisen; die Aufteilung der Peptide ist Abschnitt 2.3.6 zu entnehmen. Durch die Verwendung von 15meren können sowohl T-Helferzellen als auch zytotoxische T-Zellen zur IFN γ -Produktion stimuliert werden.

Bereits in den Wochen nach der DNA Immunisierung waren vereinzelt signifikante Reaktionen zu beobachten. So konnten zwei Wochen nach der DNA Immunisierung in Rh A6 Antworten gegen mehrere Gag Gruppen sowie gegen die Gruppe Nef 3 und in Rh A7 eine sehr schwache Antwort gegen die Gruppe Nef 6 nachgewiesen werden. Sechs Wochen später (Woche 8), am Tag der rMVA-Immunisierung, zeigten die PBMCs von Rh 225 eine breite und zum Teil deutliche Reaktion gegen mehrere Peptidgruppen (Rev 1, Gag 2-4, Nef 5-6). Allerdings stellte sich die ausgewählte Schwellenwertberechnung (Mittelwert x 2 und Mittelwert + 30 Spots) als nicht immer zuverlässig heraus, da mit den erhaltenen Schwellenwerten auch ein Tier der Vektor Kontrollgruppe (Rh 173) zum Teil deutliche Reaktionen gegen Peptide der Nef Gruppen zeigte (Wochen 8 und 18). Die Interpretation der vorliegenden ELISpot Daten muss folglich, in Bezug auf signifikante Reaktionen gegen die Nef Gruppen, kritisch betrachtet werden.

0 Wochen nach Immunisierung

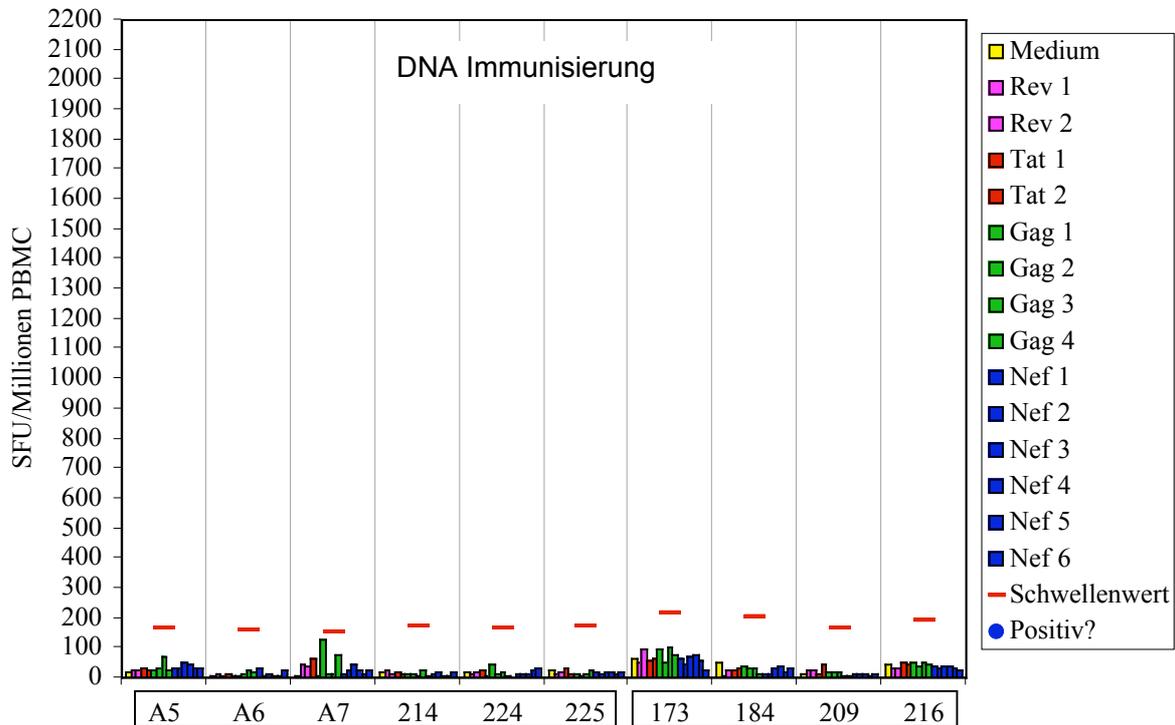


Abb. 3.1.2.A: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion im ELISpot in Woche 0. Abgebildet sind die Reaktionen der PBMCs der Tiere der Impfstoffgruppe (Rh A6 bis Rh 225) und der Vektor Kontrollgruppe (Rh 173 bis Rh 216). Die Säulen geben die Anzahl an Spot Forming Units pro Millionen PBMCs (SFU/ Millionen PBMC) an. Der rote Balken darüber gibt den jeweiligen Schwellenwert an, fehlt dieser Balken, wurden die PBMCs dieses Affen nicht getestet. Der blaue Punkt über den Säulen zeigt an, dass mindestens eine der Peptidgruppen mit ihrem Wert über dem Schwellenwert liegt, also als positive Reaktion gewertet wird.

Im Anschluss an die rMVA Immunisierung konnten die deutlichsten Reaktionen im IFN γ - ELISpot vor der Belastung beobachtet werden. Zwei Wochen nach dieser Immunisierung (Woche 10) wiesen drei von sechs Tieren der Impfstoffgruppe (Rh A6, Rh A7 und Rh 225) zum Teil ausgeprägte Reaktion gegen verschiedene SIV Peptidgruppen auf. Alle drei Affen zeigten eine signifikante Antwort gegen Peptide aus den SIV Nef Gruppen, zwei (Rh A6 und Rh A7) zeigten ausgeprägte Reaktionen gegen Peptide aus SIV Gag Gruppen. Affe Rh 225 wies außerdem eine signifikante Reaktionen gegen ein Peptid der SIV Rev 1 Gruppe auf.

In Folge der rSFV Immunisierungen (Woche 16 bis Woche 26) nahm die Anzahl und die Stärke der signifikanten Reaktionen in allen Tieren der Impfstoffgruppe gegen die SIV Peptidgruppen immer weiter ab, bis schließlich am Tag der Belastung, in Woche 32 nach Immunisierung, keines der Tiere eine signifikante Reaktion zeigte. Einzig das Tier Rh 224 wies auch nach der ersten rSFV Immunisierung eine ausgeprägte Reaktion auf die SIV Peptidgruppen auf, aber auch diese verschwand bis zum Tag der Belastung.

2 Wochen nach Immunisierung

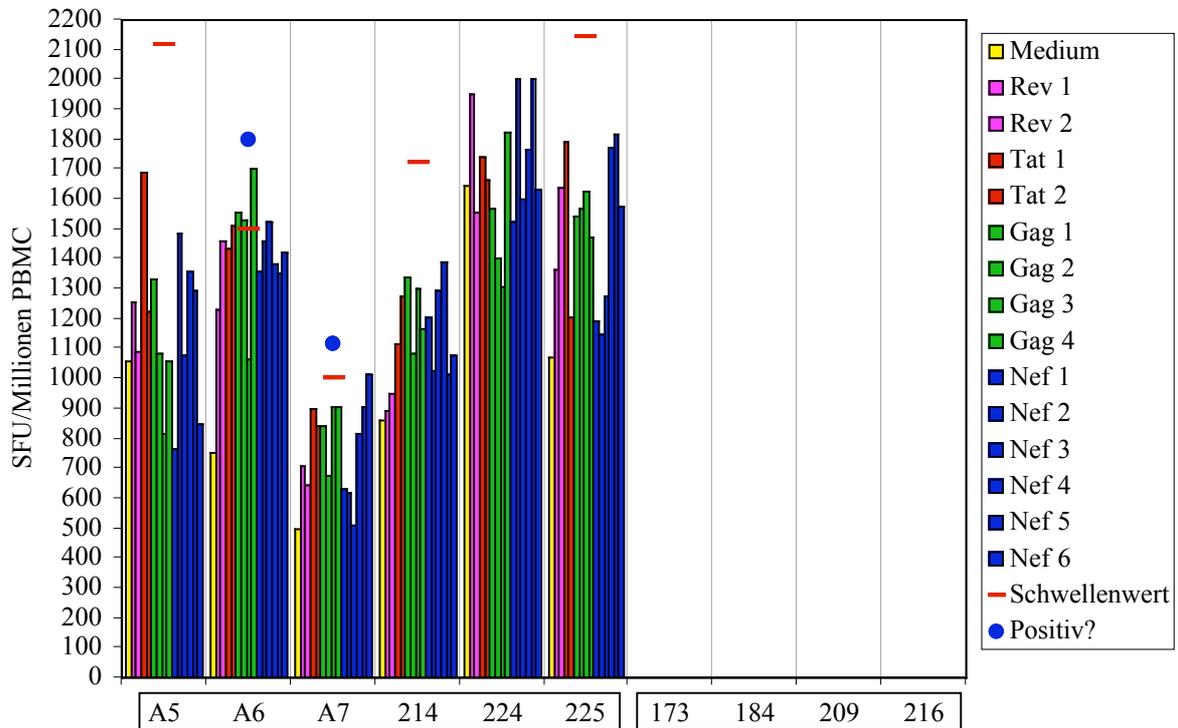


Abb. 3.1.2.B: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion im ELISpot in Woche 2. Erläuterung siehe 3.1.2.A

8 Wochen nach Immunisierung

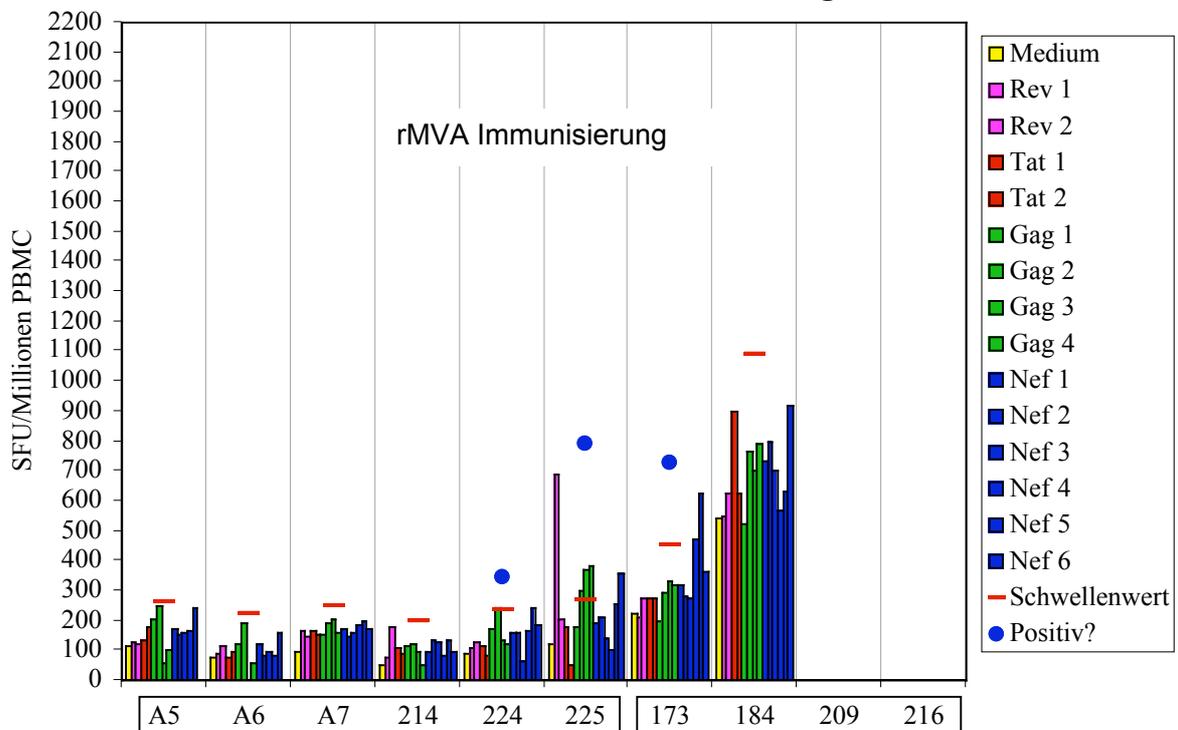


Abb. 3.1.2.C: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion im ELISpot in Woche 8. Erläuterung siehe Abb.3.1.2.A

10 Wochen nach Immunisierung

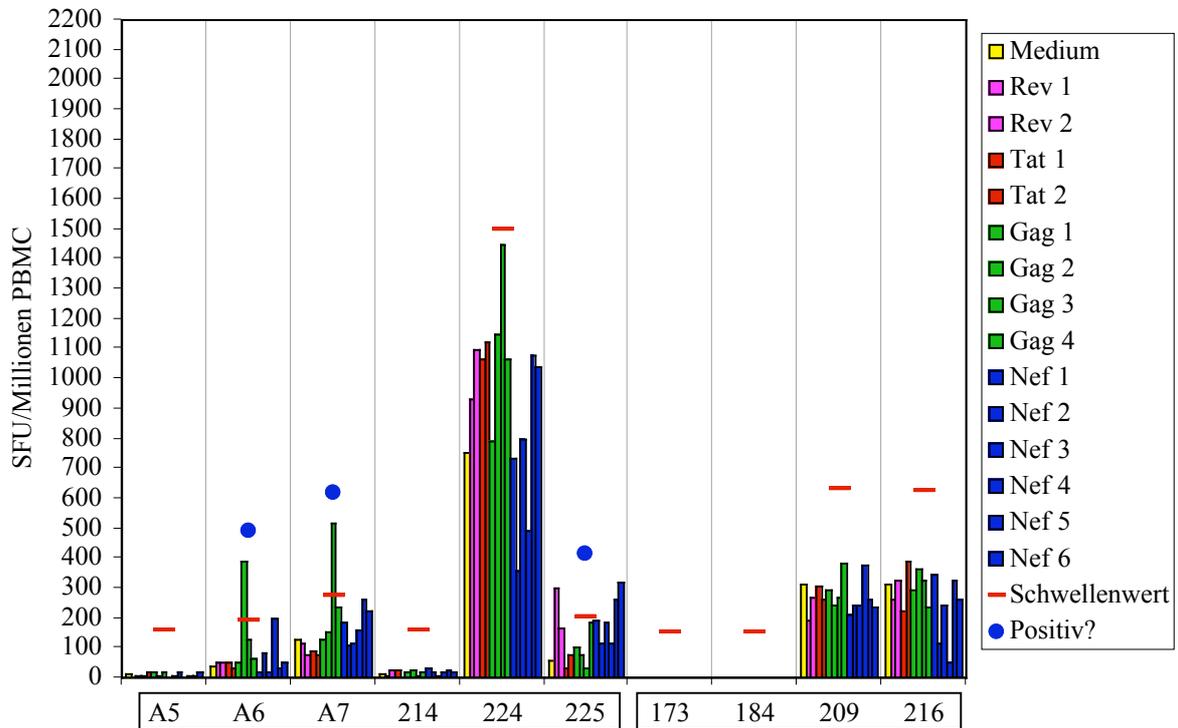


Abb. 3.1.2.D: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion im ELISpot in Woche 10. Erläuterung siehe Abb.3.1.2.A

16 Wochen nach Immunisierung

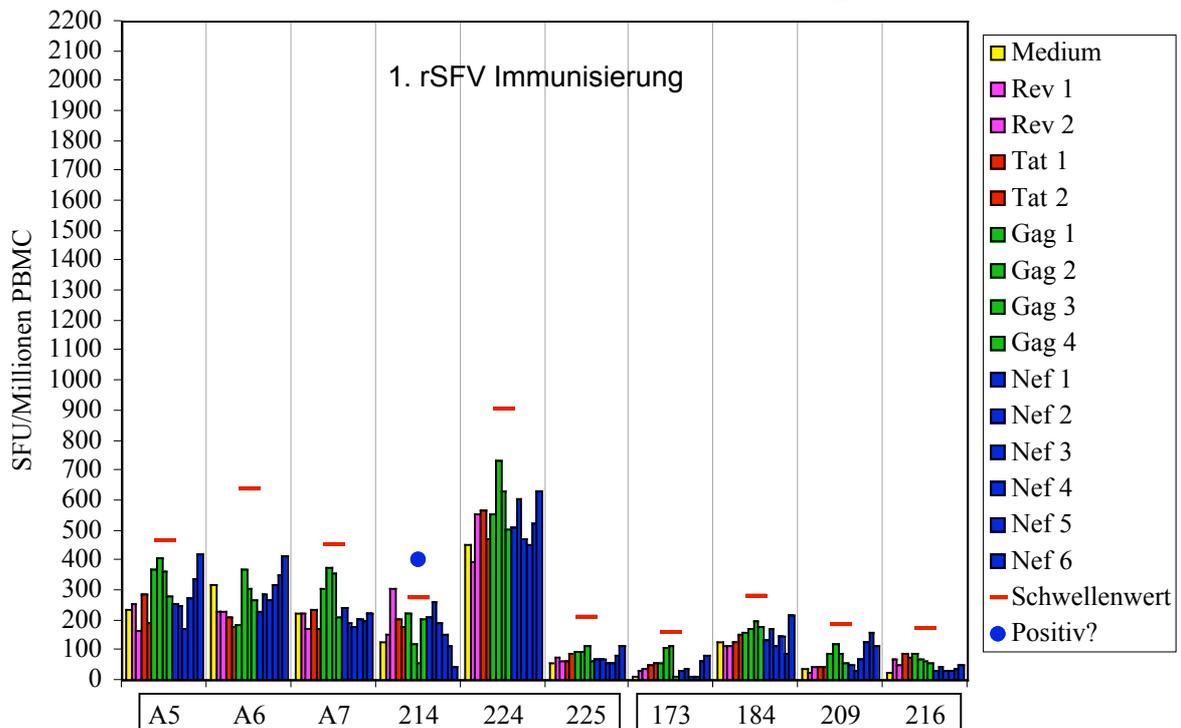


Abb. 3.1.2.E: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion im ELISpot in Woche 16. Erläuterung siehe Abb.3.1.2.A

18 Wochen nach Immunisierung

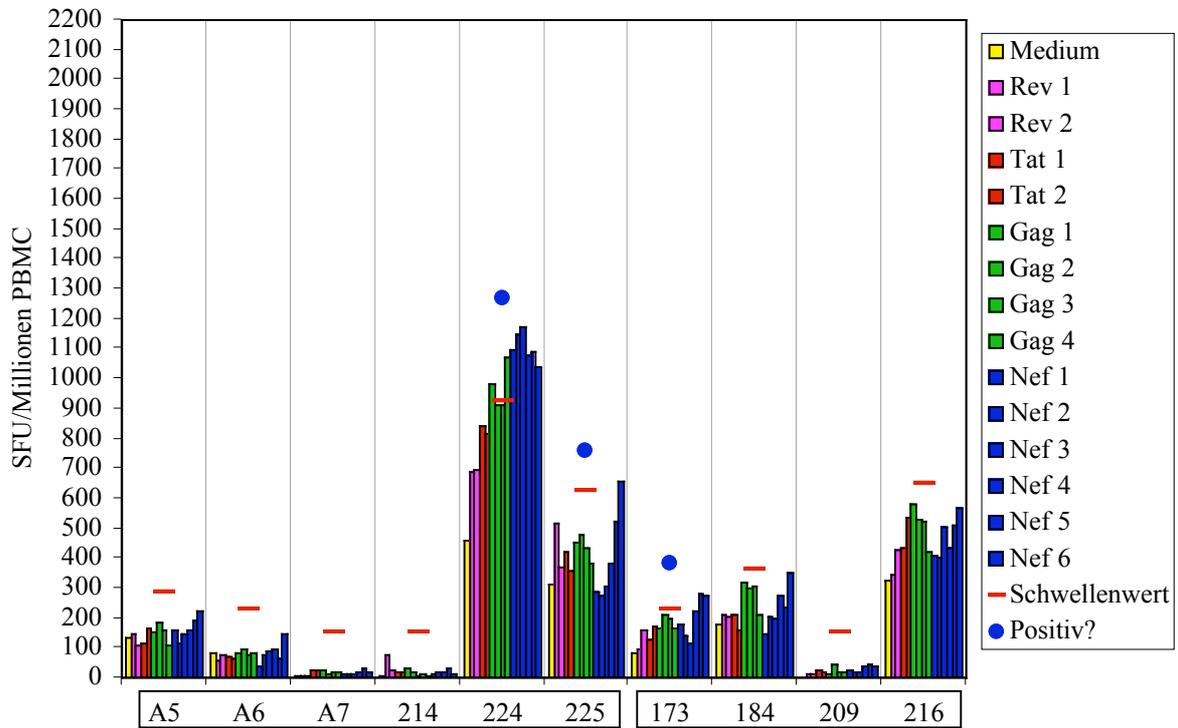


Abb. 3.1.2.F: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion im ELISpot in Woche 18. Erläuterung siehe Abb.3.1.2.A

24 Wochen nach Immunisierung

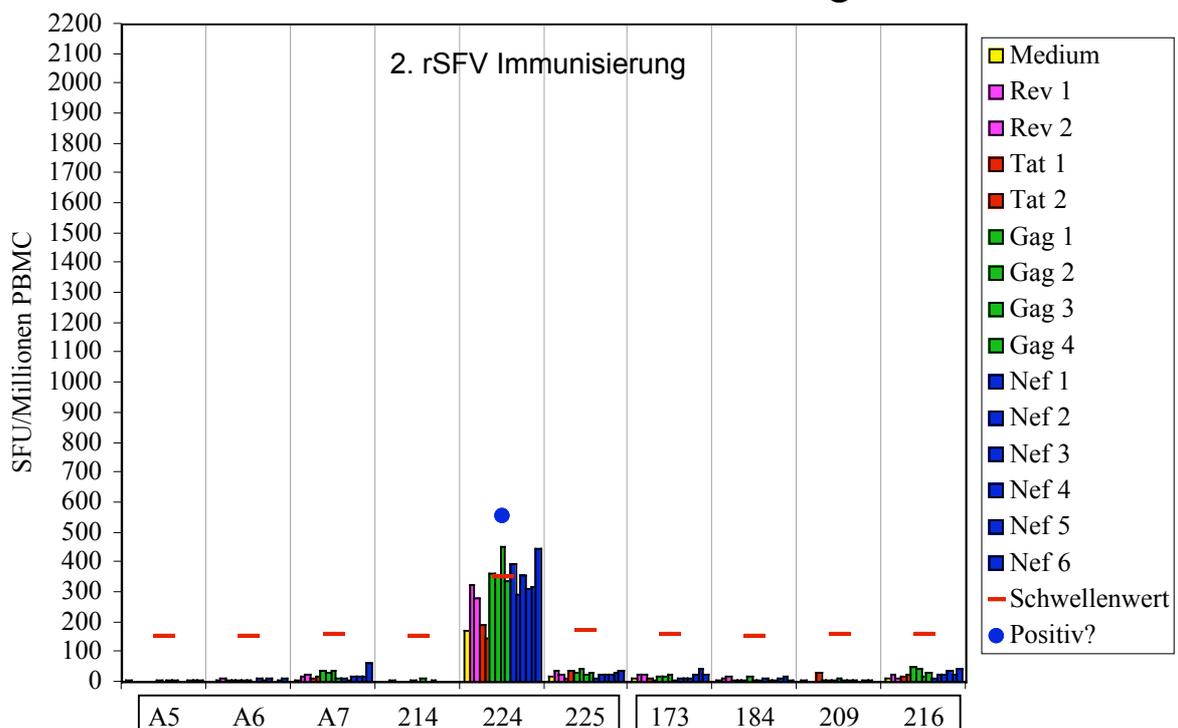


Abb. 3.1.2.G: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion im ELISpot in Woche 24. Erläuterung siehe Abb.3.1.2.A

26 Wochen nach Immunisierung

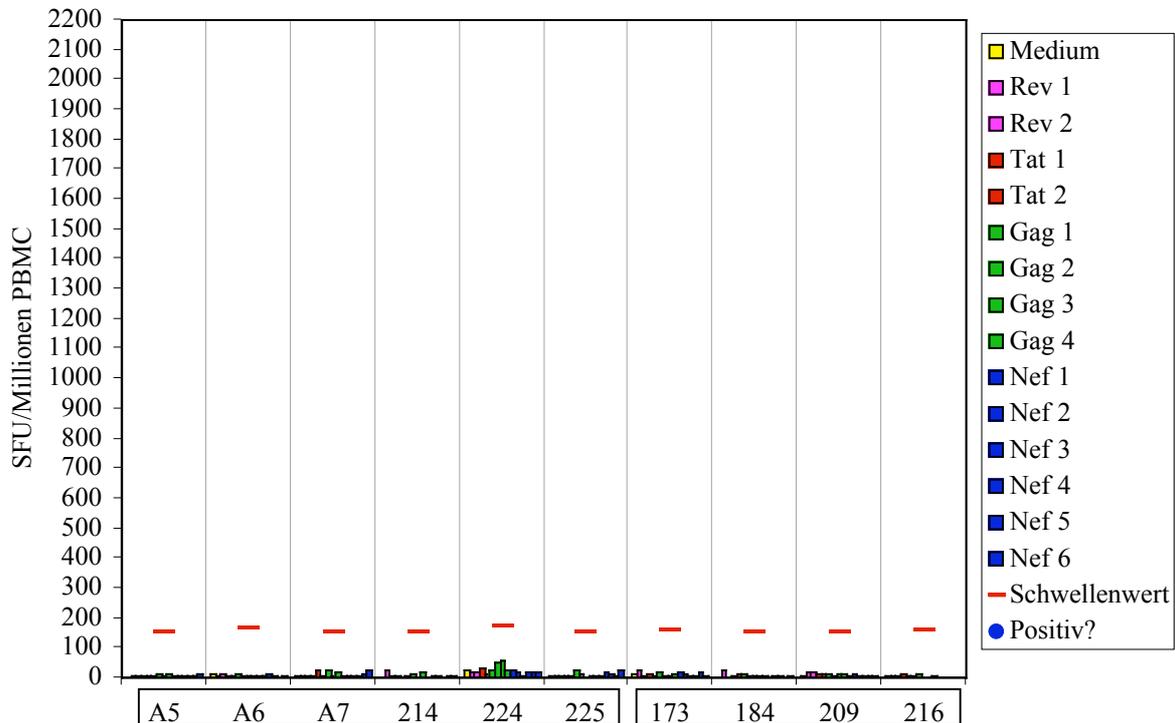


Abb. 3.1.2.H: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion im ELISpot in Woche 26. Erläuterung siehe Abb.3.1.2.A

Erwähnenswert sind außerdem die generell hohen Werte in der Impfstoffgruppe zwei Wochen nach der DNA Immunisierung (Woche 2). Der hohe Hintergrund kann nicht auf antigenspezifische, IFN γ -produzierende T-Zellen zurückgeführt werden, er wurde möglicherweise durch bereits in den Tieren aktivierte Zellen verursacht. Dies deutet auf eine allgemeine Aktivierung des Immunsystems durch den DNA Vektor hin. Im Verlauf der Immunisierung sank die Anzahl der IFN γ -produzierenden Zellen in den Mediumkontrollen wieder langsam ab und kehrte schließlich nach der letzten rSFV Immunisierung auf das Niveau vor Beginn der Immunisierungen zurück.

Die Tiere der naiven Kontrollgruppe wurden im Laufe der Immunisierungen dreimal getestet (Woche 0, 16 und 32), zeigten jedoch zu keinem dieser Zeitpunkte signifikante Reaktionen gegen die SIV Peptidgruppen (Daten nicht abgebildet). Die Daten von Woche 32 nach Immunisierung sind Abbildung 3.3.3.A (Woche 0 nach Belastung) in Abschnitt 3.3.1 zu entnehmen.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass T-Helferzellantworten im LPA erst nach den beiden rSFV Immunisierungen zu sehen waren, während signifikante T-Zellantworten im

IFN γ -ELISpot vorzugsweise nach den ersten beiden Immunisierungen, also DNA und rMVA, gemessen werden konnten.

3.1.2 Humorale Immunantwort gegen SIV durch die Vakzinierungen

Die Induktion SIV-spezifischer Antikörper konnte in allen sechs Tieren der Impfstoffgruppe 14 Tage nach der zweiten rSFV Immunisierung (Woche 26) gezeigt werden (Abbildung 3.1.3), die Titer lagen hierbei zwischen 1:140 und 1:615. In den folgenden Wochen fiel der Titer in allen Tieren wieder ab und lag am Tag der Belastung (Woche 32 nach Immunisierung) in den meisten Tieren unterhalb des Schwellenwertes; nur das Tier Rh 224 wies an diesem Tag einen Titer von 1:150 auf. Ein anderes Tier, Rh 225, zeigte eine anti-SIV Antwort über den gesamten Verlauf der Immunisierung, dessen Antikörpertiter stieg nach jeder Impfung leicht an. In den Affen der beiden Kontrollgruppen konnten vor der Infektion keine spezifischen SIV Antikörper nachgewiesen werden (Daten nicht abgebildet). Mukosale Antikörper in rektalen Eluaten oder neutralisierende Antikörper in Plasmaproben ließen sich während der Immunisierungsphase in keinem Tier detektieren (Daten nicht abgebildet).

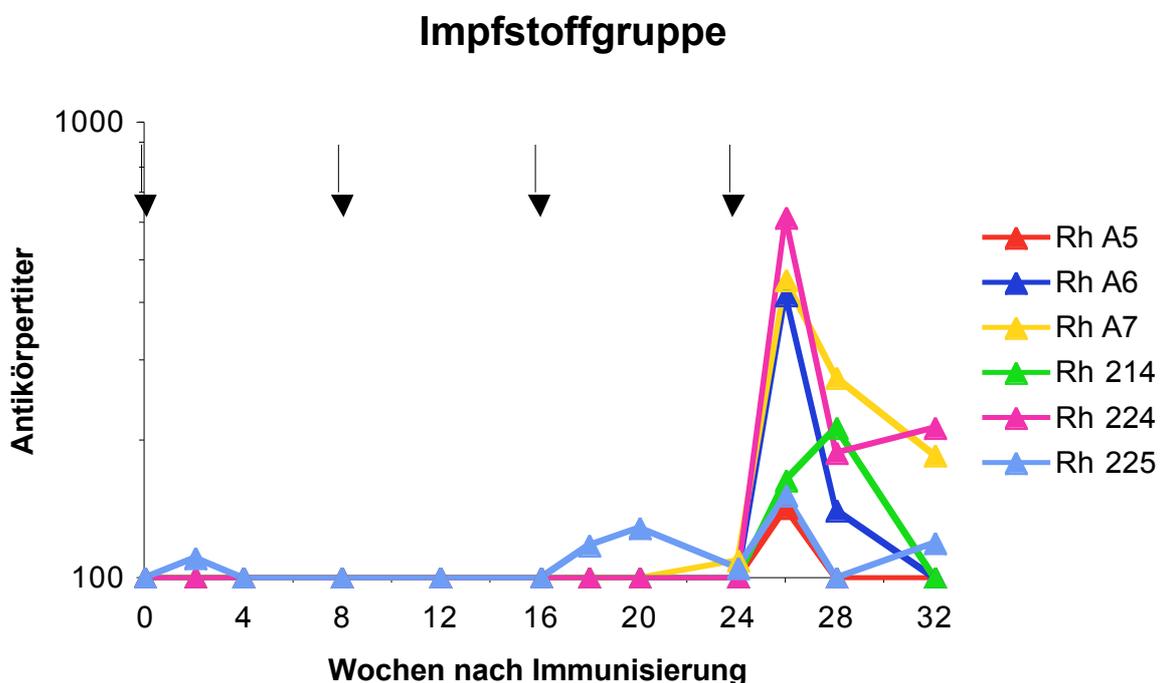


Abb. 3.1.3: SIV-spezifische Antikörper in den Tieren der Impfstoffgruppe. Der Titer ist logarithmisch als reziproker Wert der durch Interpolation ermittelten signifikanten Verdünnungsstufe angegeben. Die Pfeile zeigen die Zeitpunkte der Immunisierungen in Woche 0 (DNA), 8 (rMVA), 16 (rSFV) und 24 (rSFV).

3.2 Einfluss der Vakzinierung auf die Infektion mit SIVmac251

3.2.1 RNA Viruslast in Plasmaproben

Acht Wochen nach der finalen Immunisierung wurden alle Affen der Impfstoffgruppe und der beiden Kontrollgruppen intrarektal mit 50 MID₅₀ SIVmac251 belastet. Um die Plasma-Viruslast zu bestimmen, wurde mit einer real time RT-PCR die Menge an SIV-RNA Kopien im Plasma der Tiere gemessen (Abbildung 3.2.1.A bis C).

Die RNA Plasma-Viruslast zeigte in allen Tieren der beiden Kontrollgruppen einen ähnlichen Spitzenwert zwei Wochen nach der Belastung. Die Plasma-Viruslasten lagen dabei in der Vektor Kontrollgruppe in einem Bereich von $1,2 \times 10^6$ bis $2,53 \times 10^6$ Kopien pro Milliliter (Mittelwert $1,95 \times 10^6$ Kopien/ml) und in der naiven Kontrollgruppe von $8,42 \times 10^5$ bis $1,75 \times 10^6$ Kopien pro Milliliter (Mittelwert $1,36 \times 10^6$ Kopien/ml). Nach Erreichen der Spitzenlast waren die Verläufe der Viruslasten variabel, blieben aber während des gesamten beobachteten Zeitraums überwiegend nachweisbar (Ausnahmen: Rh 173 in Woche 24 und Rh A10 in den Wochen 16 bis 24). Eines der Tiere der Vektor Kontrollgruppe (Rh 216) war zu keinem Zeitpunkt virämisch. Da Rh 216 zudem keinerlei Immunantwort gegen SIV nach der Belastung entwickelte (siehe Abschnitt 3.3 und 3.4), kann davon ausgegangen werden, dass dieses Tier nicht infiziert wurde. Affe Rh 216 wurde deshalb nicht in statistische Berechnungen einbezogen. Die intrarektale Belastung ist gegenüber der intravenösen vermutlich aus technischen Gründen anfälliger für Fehlschläge, entsprechend verbleiben Tiere häufiger uninfiziert (Koopman *et al.*, 2004; Negri *et al.*, 2004).

Konträr zu den Werten der Plasma-Viruslast in den beiden Kontrollgruppen zeigten die Tiere der Impfstoffgruppe einen niedrigeren Mittelwert und eine viel größere Varianz bezüglich der nach zwei Wochen gemessenen Spitzenwerte. Diese lagen in einem Bereich zwischen $7,83 \times 10^3$ und $1,69 \times 10^6$ Kopien pro Milliliter (Mittelwert $6,58 \times 10^5$ Kopien/ml). Den niedrigsten Spitzenwert mit $7,83 \times 10^3$ Kopien pro Milliliter zeigte Affe Rh 224, der seine Virämie in den folgenden Wochen rasch kontrollierte und ab der vierten Woche durchgehend virusnegativ blieb.

Im Plasma des Affen Rh A6 konnte in den ersten vier Wochen kein Virus nachgewiesen werden, im Gegensatz zu den anderen Tieren erreichte er seine Spitzenlast erst sechs Wochen nach der Belastung. Daher wurde dieser Affe ebenfalls aus den statistischen Berechnungen ausgeschlossen. Diese verzögerte Infektionskinetik stellt einen ungewöhnlichen Befund dar, entweder breitete sich das Virus im Affen nach der Belastung aus unbekanntem Grund stark verzögert aus oder Rh A6 wurde nicht durch die Belastung infiziert, sondern später durch

einen seiner bereits infizierten Artgenossen. Letzteres kommt vor allem deshalb in Betracht, weil die Tiere nach geltenden Tierschutzbestimmungen auch während des Versuchs in Gruppen gehalten werden mussten und so eine Übertragung der Infektion durchaus möglich ist.

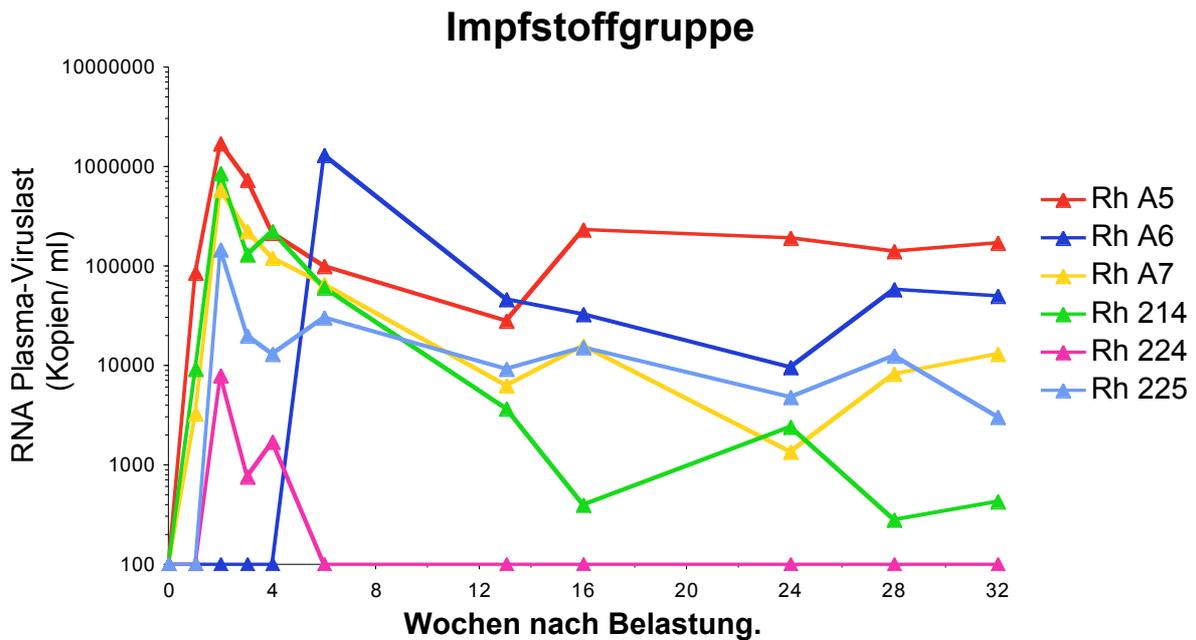


Abb. 3.2.1.A: RNA Viruslast in der Impfstoffgruppe vom Tag der Belastung an (Woche 0). Die logarithmisch dargestellte Viruslast entspricht der Anzahl an gemessenen RNA Kopien pro ml Plasma. Die Nachweisgrenze liegt bei 400 Kopien/ml, Werte unter dieser Grenze wurden als 100 Kopien/ml dargestellt.

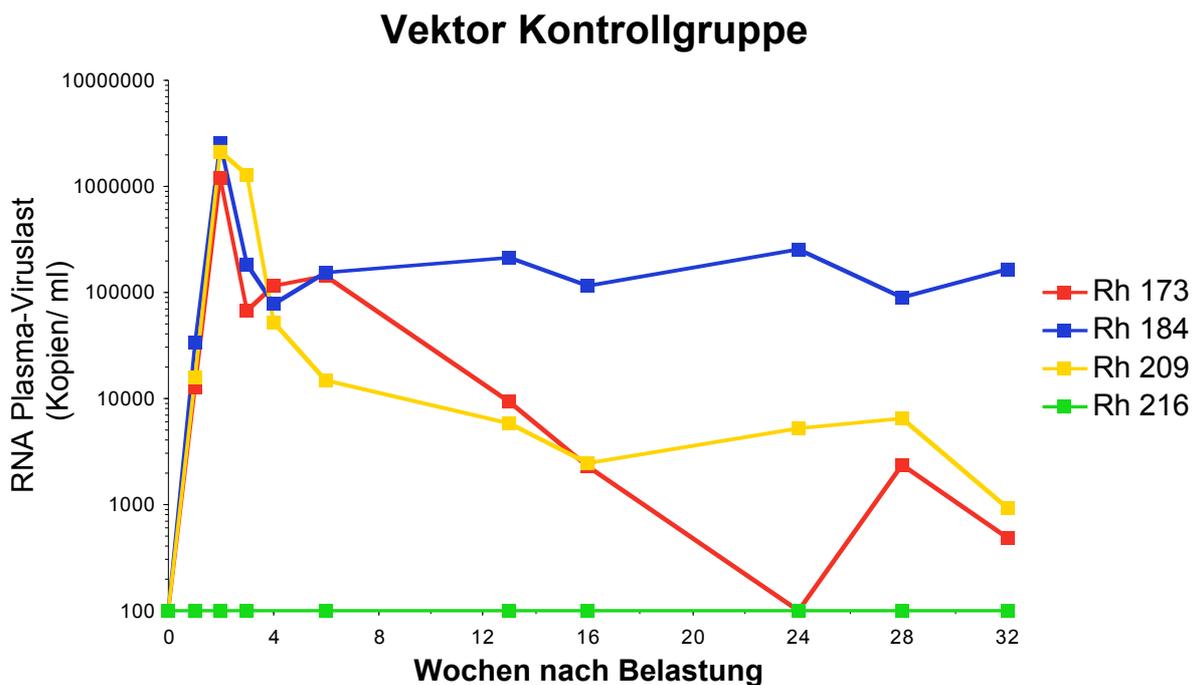


Abb. 3.2.1.B: RNA Viruslast in der Vektor Kontrollgruppe vom Tag der Belastung an (Woche 0). Erläuterung siehe Abb. 3.2.1.A

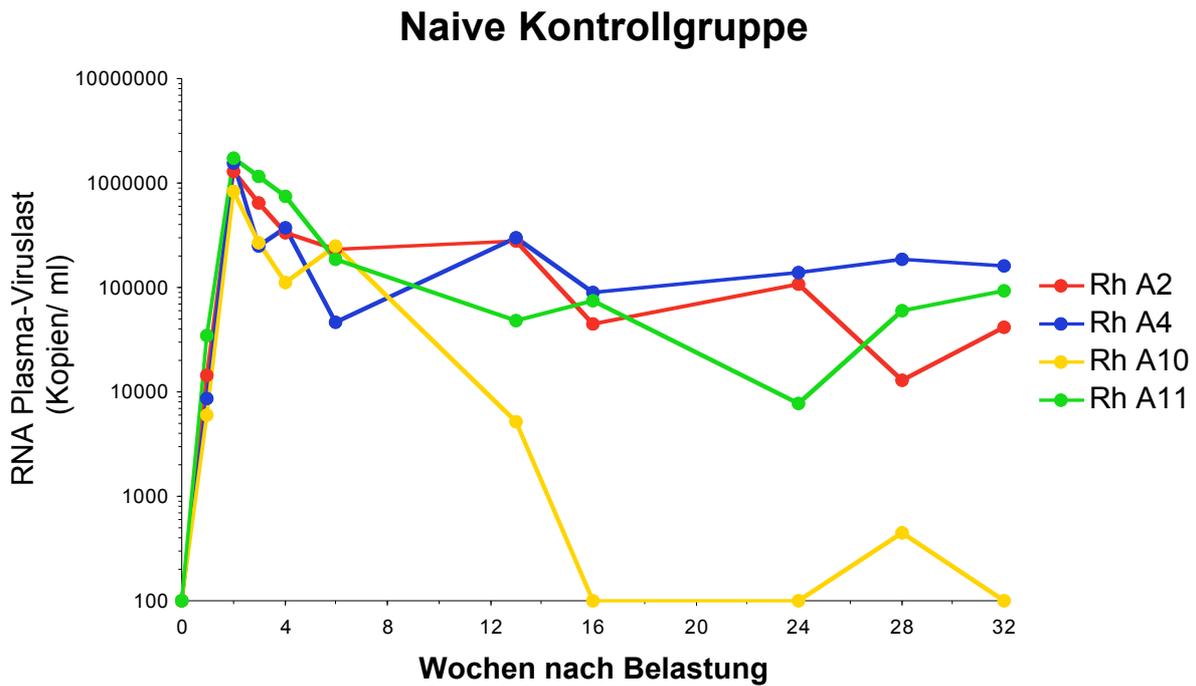


Abb. 3.2.1.C: RNA Viruslast in der naive Kontrollgruppe vom Tag der Belastung an (Woche 0). Erläuterung siehe Abb. 3.2.1.A

3.2.2 Proviruslast

Zur Bestimmung der Proviruslast wurde die Anzahl der SIV-infizierten Zellen mit einer real time PCR gemessen (Abbildung 3.2.2.A bis C). Auch hier lagen die Spitzenwerte der Proviruslast zwei Wochen nach der Belastung in der Vektor Kontrollgruppe mit einem Mittelwert von $1,54 \times 10^4$ Kopien/ 10^6 PBMCs (Bereich von $1,08 \times 10^4$ Kopien/ 10^6 PBMCs bis $2,07 \times 10^4$ Kopien/ 10^6 PBMCs) und in der naiven Kontrollgruppe mit einem Mittelwert $1,08 \times 10^4$ Kopien/ 10^6 PBMCs (Bereich von $4,1 \times 10^3$ Kopien/ 10^6 PBMCs bis $1,81 \times 10^4$ Kopien/ 10^6 PBMCs) deutlich höher als in der Impfstoffgruppe (Mittelwert $3,43 \times 10^3$ Kopien/ 10^6 PBMCs, Bereich von 307 Kopien/ 10^6 PBMCs bis $9,89 \times 10^3$ Kopien/ 10^6 PBMCs), deren Spitzenwerte auch stärker variierten. In den folgenden Wochen fielen die Werte der Proviruslast in allen Tieren wieder ab und begannen insgesamt stärker zu variieren, es ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen mehr feststellen. Affe Rh 224 wies nur eine geringe Spitzenviruslast auf, welche im Anschluss durchgehend unter der Nachweisgrenze blieb. Es gelang kein Virusnachweis in Affe Rh 216, Affe Rh A6 zeigte wie zuvor eine verzögerte Infektionskinetik.

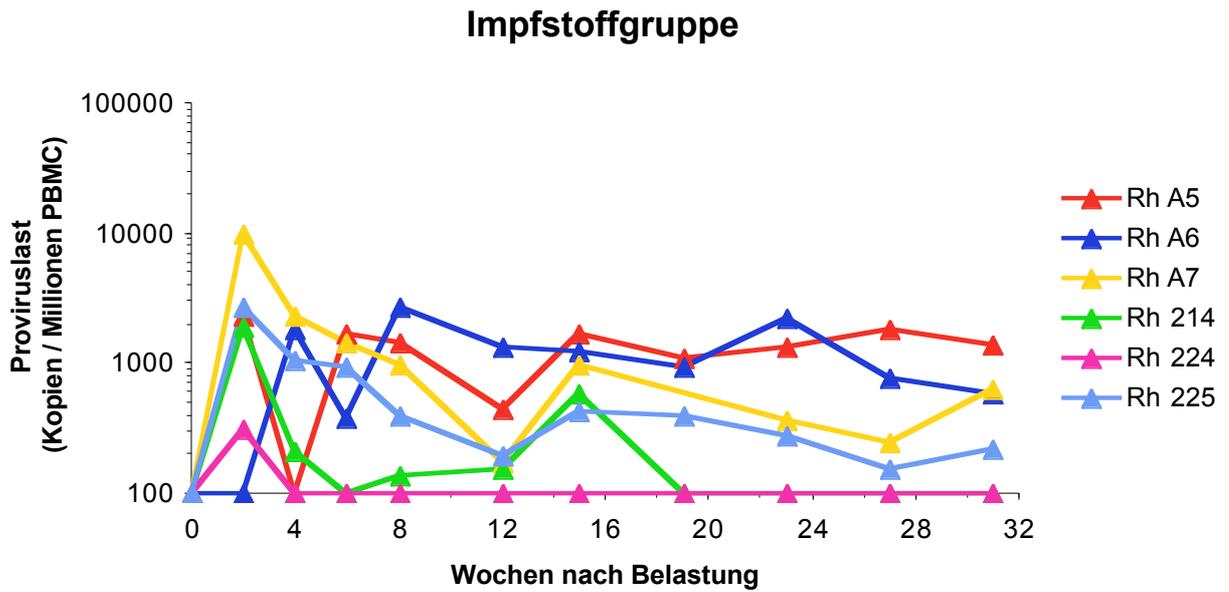


Abb. 3.2.2.A: Proviruslast in der Impfstoffgruppe ab dem Tag der Belastung (Woche 0). Die logarithmisch angegebene Viruslast gibt die Anzahl proviraler Kopien pro Millionen PBMCs wieder. Der Schwellenwert liegt bei 100 Kopien/10⁶ PBMCs

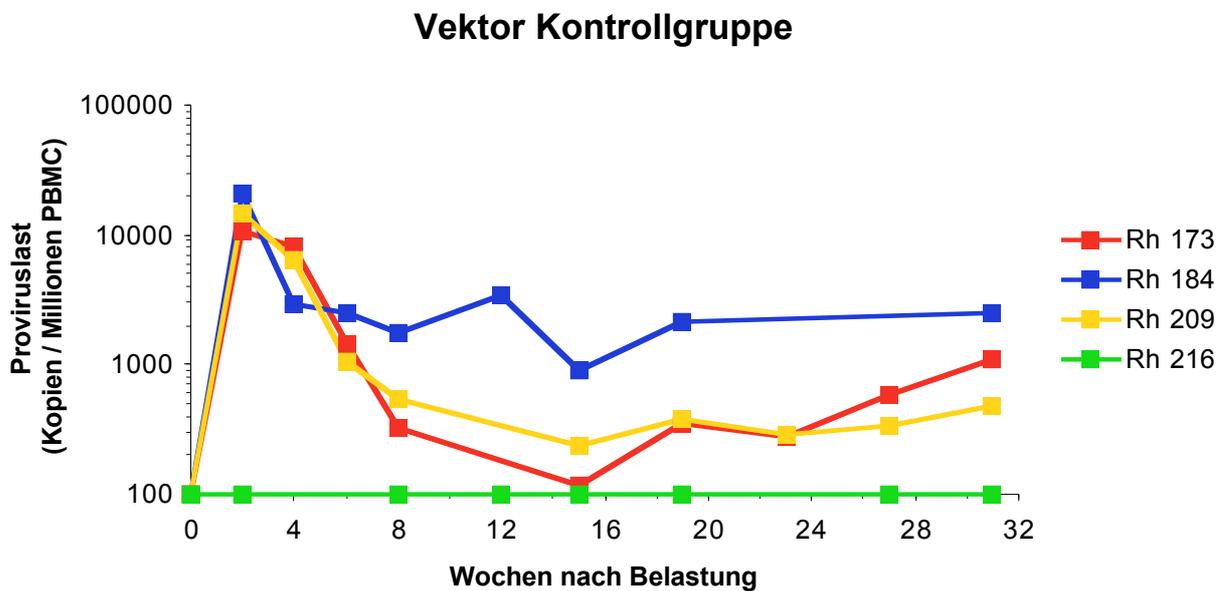


Abb. 3.2.2.B: Proviruslast in der Vektor Kontrollgruppe ab dem Tag der Belastung (Woche 0). Die logarithmisch angegebene Viruslast gibt die Anzahl proviraler Kopien pro Millionen PBMCs wieder. Der Schwellenwert liegt bei 100 Kopien/10⁶ PBMCs

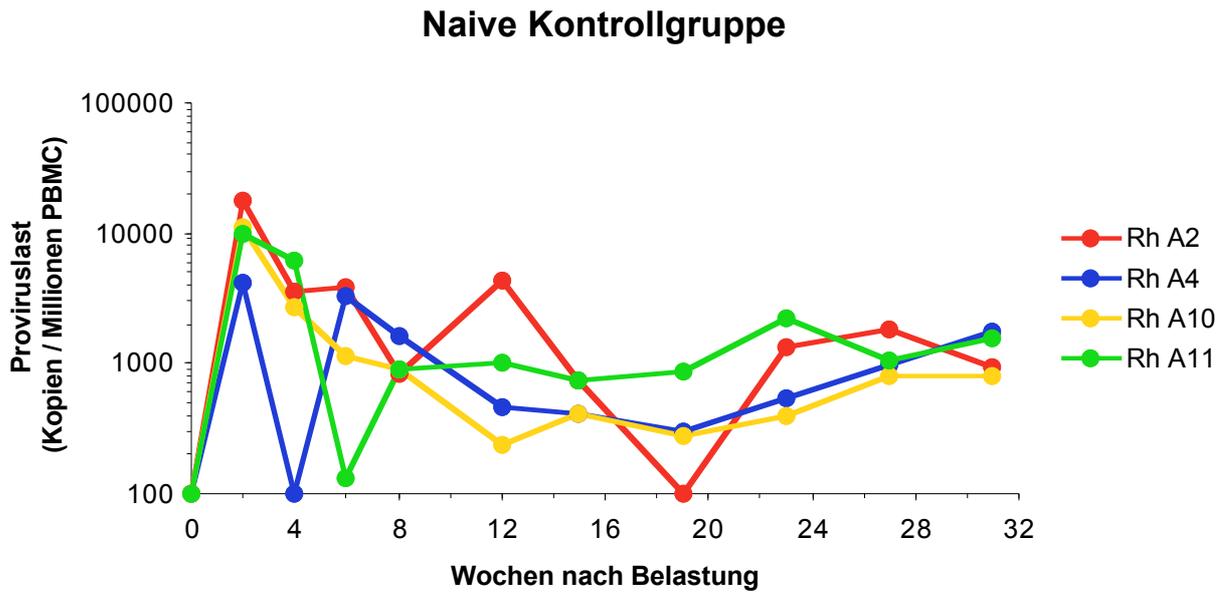


Abb. 3.2.2.C: Proviruslast in der naiven Kontrollgruppe ab dem Tag der Belastung (Woche 0). Die logarithmisch angegebene Viruslast gibt die Anzahl proviraler Kopien pro Millionen PBMCs wieder. Der Schwellenwert liegt bei 100 Kopien/10⁶ PBMCs

3.2.3 Zellassoziierte Viruslast

Um die Anzahl virusproduzierender Zellen (zellassoziierte Viruslast) zu bestimmen, wurden PBMCs der belasteten Tiere in verschiedenen Verdünnungen mit SIV-suszeptiblen Zellen kultiviert. Hier bestätigte sich ebenfalls der deutliche Unterschied der Spitzenwerte zwei Wochen nach der Belastung zwischen der Impfstoffgruppe und den beiden Kontrollgruppen (Abbildung 3.2.3.A bis 3.2.3.C) Der Mittelwert der Impfstoffgruppe lag mit 778 infizierten Einheiten (IE) pro Millionen PBMCs (Bereich von 48 IE/10⁶ PBMCs bis 5974 IE/10⁶ PBMCs) deutlich unter denen der Vektor Kontrollgruppe (Mittelwert 2921 IE/10⁶ PBMCs, Bereich von 2043 IE/10⁶ PBMCs bis 5974 IE/10⁶ PBMCs) und der naiven Kontrollgruppe (Mittelwert 2672 IE/10⁶ PBMCs, Bereich von 409 IE/10⁶ PBMCs bis 10216 IE/10⁶ PBMCs). Nach Erreichen der Spitzenwerte fiel die zellassoziierte Viruslast in den meisten Tieren ab, in der Hälfte der Affen sogar unter die Nachweisgrenze. Die Mittelwerte der drei Gruppen ließen sich ab der zehnten Woche nach Belastung kaum noch unterscheiden, die Variabilität der Werte in diesem Zeitraum hatte gegenüber denjenigen der Spitzenwerte beider Kontrollgruppen zugenommen. Es zeigte sich wiederum eine verzögerte Infektionskinetik in Affe Rh A6 und es gelang wie zuvor kein Virusnachweis in Rh 216.

Impfstoffgruppe

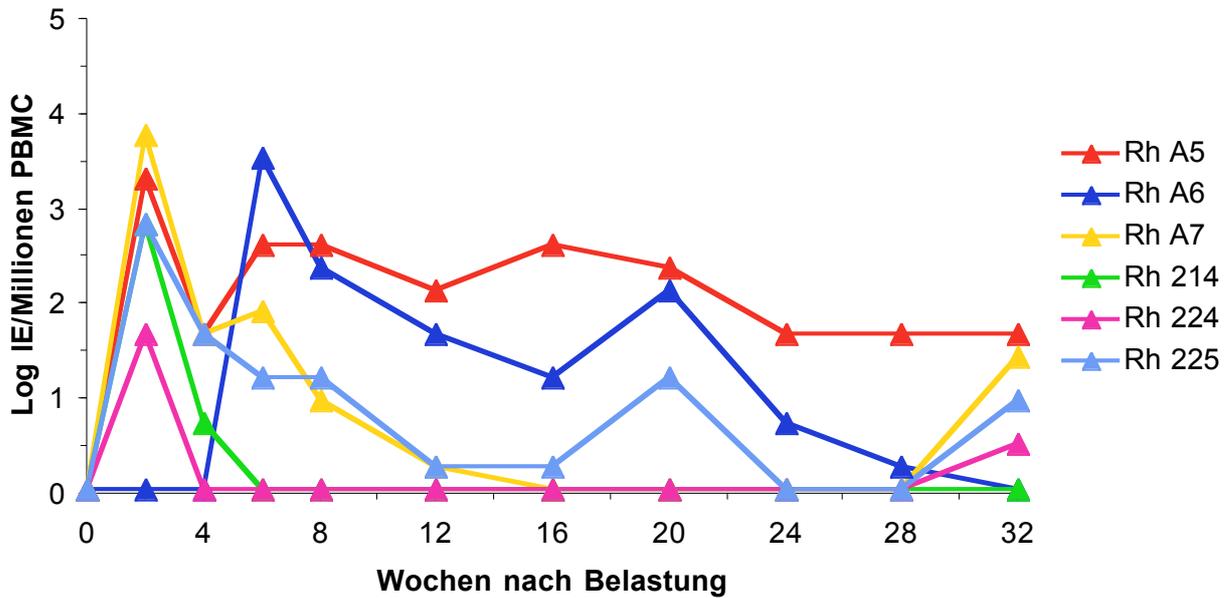


Abb. 3.2.3.A: Zellossoziierte Viruslast in der Impfstoffgruppe vom Tag der Belastung an (Woche 0). Die Viruslast ist als dekadischer Logarithmus der infektiösen Einheiten (IE) pro Millionen PBMCs angegeben.

Vektor Kontrollgruppe

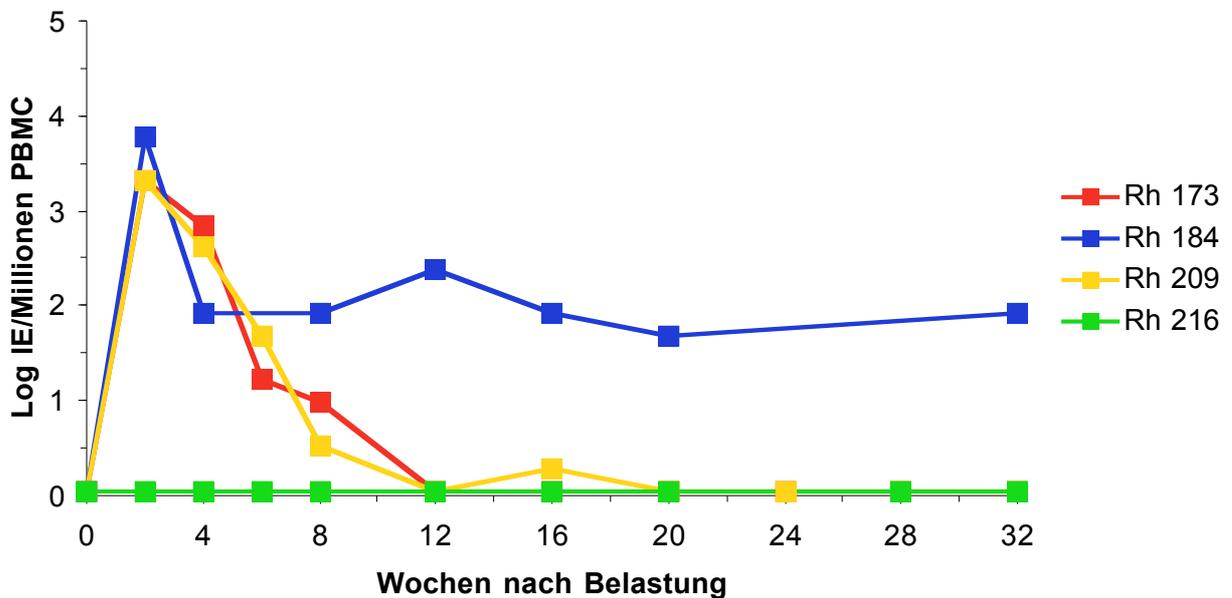


Abb. 3.2.3.B: Zellossoziierte Viruslast in der Vektor Kontrollgruppe vom Tag der Belastung an (Woche 0). Die Viruslast ist als dekadischer Logarithmus der infektiösen Einheiten (IE) pro Millionen PBMCs angegeben.

Naive Kontrollgruppe

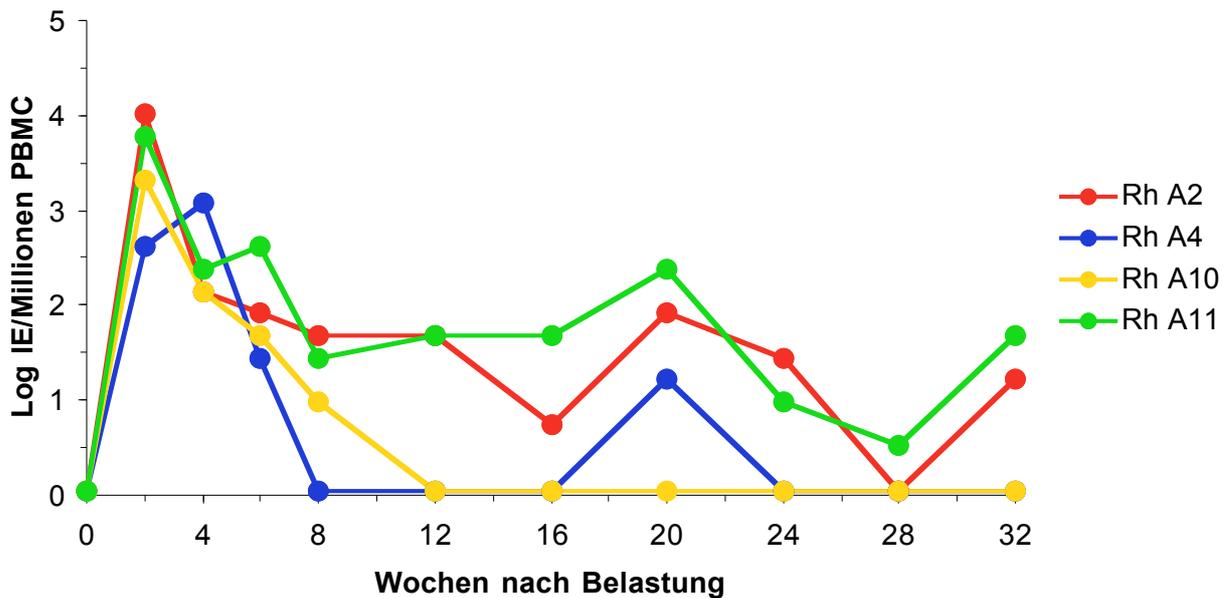


Abb. 3.2.3.C: Zellossoziierte Viruslast in der naiven Kontrollgruppe vom Tag der Belastung an (Woche 0). Die Viruslast ist als dekadischer Logarithmus der infektiösen Einheiten (IE) pro Millionen PBMCs angegeben.

Die statistische Analyse der Viruslasten mit einem verteilungsfreien Verfahren (U-Test nach Mann und Whitney) ergab eine im Vergleich zu den beiden Kontrollgruppen signifikant niedrigere RNA Spitzenviruslast (zwei Wochen nach Infektion) in der Impfstoffgruppe ($p = 0.048$). Gleiches konnte auch bezüglich der Proviruslast zu diesem Zeitpunkt ermittelt werden ($p = 0,0051$). Im folgenden Zeitraum ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen.

3.2.4 Einfluss auf die absoluten CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellzahlen

Die Bestimmung der absoluten Menge an T-Zellen im Blut der Tiere erfolgte mit Hilfe der Durchfluss-Zytometrie, mit der die absoluten Zellzahlen der CD45⁺ CD3⁺ CD4⁺ Zellen bzw. CD45⁺ CD3⁺ CD8⁺ Zellen im Blut bestimmt werden konnten, welche im allgemeinen die T-Helferzellen bzw. zytotoxischen T-Zellen repräsentieren.

Die zeitlichen Verläufe der CD4⁺ T-Zellzahlen wiesen nach der Belastung in den meisten Tieren einen tendenziellen Abfall auf, stiegen jedoch gegen Ende der Studie in der Mehrheit der Affen wieder an (Abbildung 3.2.4.A bis 3.2.4.C). Fast alle Tiere wiesen bis zum Ende der Studie (44 Wochen nach Belastung) Werte von über 200 T-Helferzellen pro Mikroliter Blut auf. Lediglich die Werte des Affen Rh 214 blieben nach Woche 17 überwiegend unter diesem Wert, ab Woche 30 sogar unter 100 T-Helferzellen pro Mikroliter Blut.

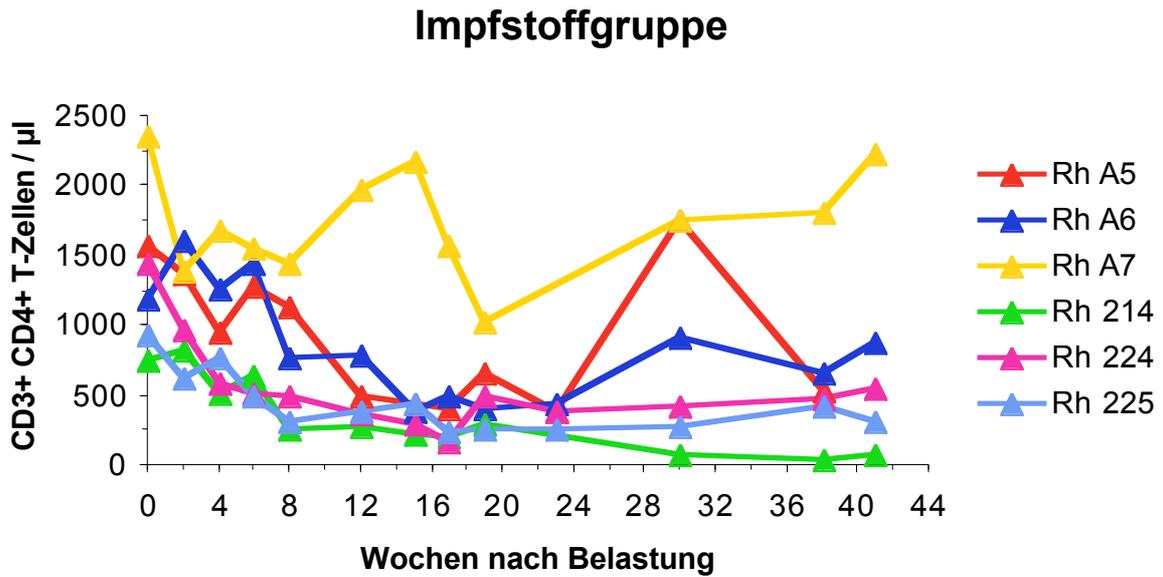


Abb. 3.2.4.A: Anzahl der CD3⁺ CD4⁺ T-Zellen pro µl Blut in der Impfstoffgruppe

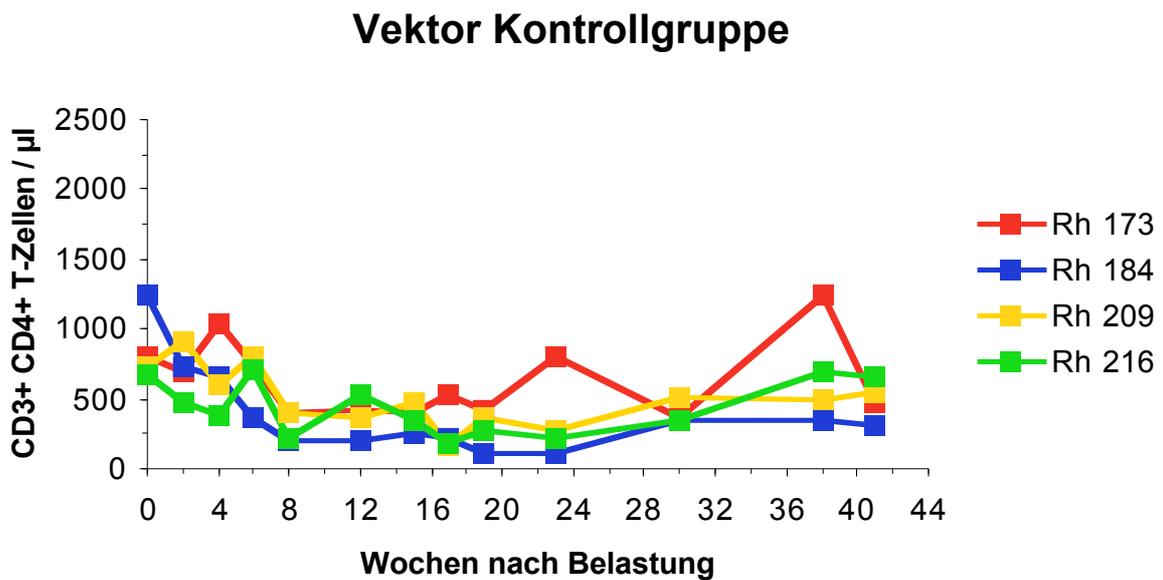


Abb. 3.2.4.B: Anzahl der CD3⁺ CD4⁺ T-Zellen pro µl Blut in der Vektor Kontrollgruppe

Naive Kontrollgruppe

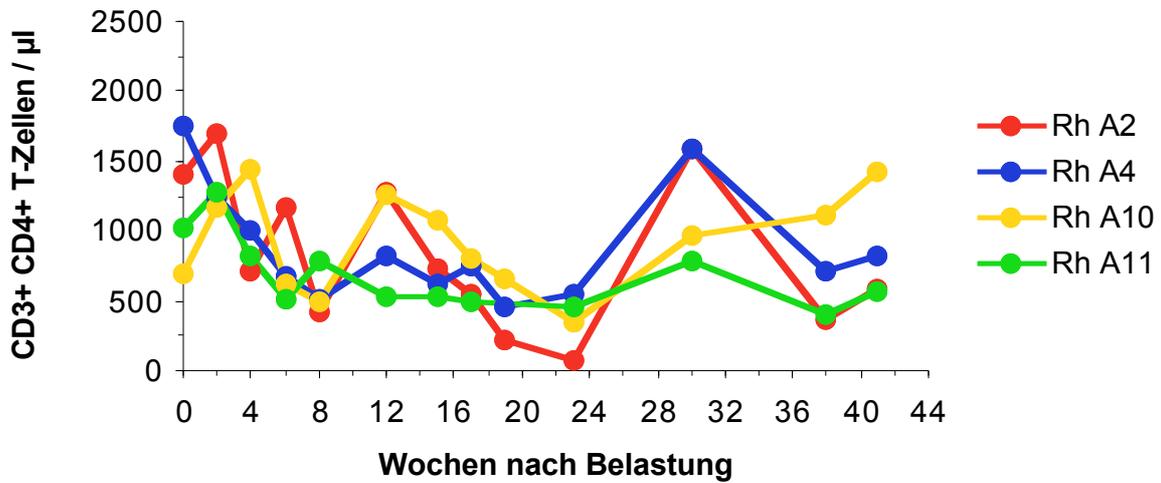


Abb. 3.2.4.C: Anzahl der CD3⁺ CD4⁺ T-Zellen pro µl Blut in der naiven Kontrollgruppe

Der Verlauf der CD8⁺ T-Zellzahlen war in den meisten Affen durch einen Anstieg zwei Wochen nach der Belastung gekennzeichnet., der nach etwa zwölf Wochen wieder auf das Ausgangsniveau zurückgekehrte (Abbildung 3.2.5.A bis 3.2.5.C). Im folgenden Zeitraum variierten die Verläufe, es konnten keine abfallenden oder ansteigenden Tendenzen beobachtet werden.

Impfstoffgruppe

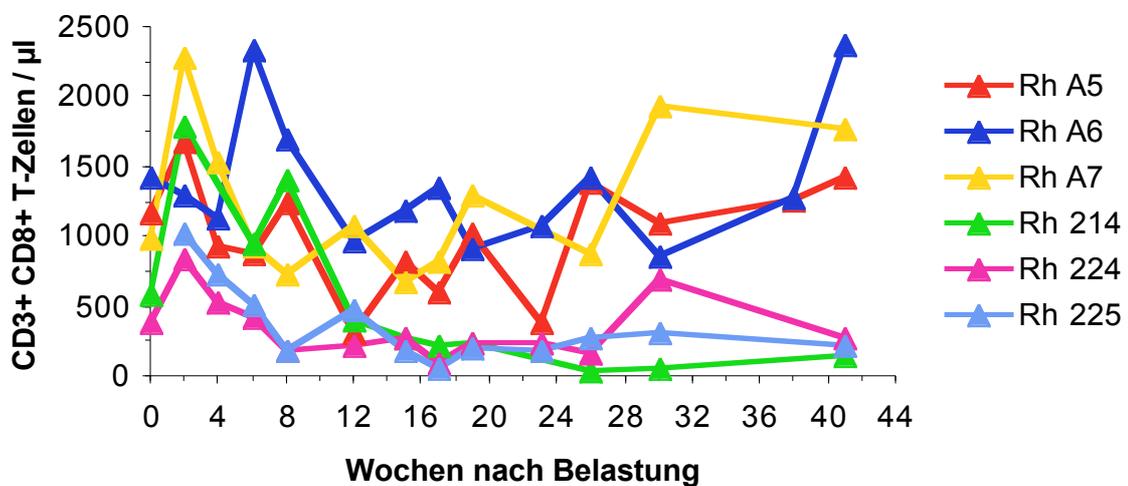


Abb. 3.2.5.A: Anzahl der CD3⁺ CD8⁺ T-Zellen pro µl Blut in der Impfstoffgruppe

Vektor Kontrollgruppe

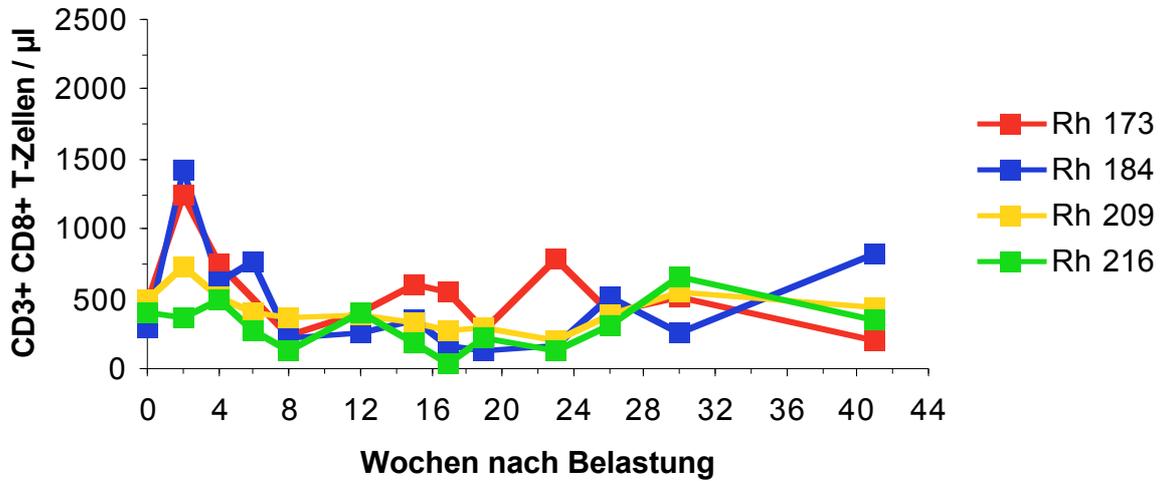


Abb. 3.2.5.B: Anzahl der CD3⁺ CD8⁺ T-Zellen pro µl Blut in der Vektor Kontrollgruppe

Naive Kontrollgruppe

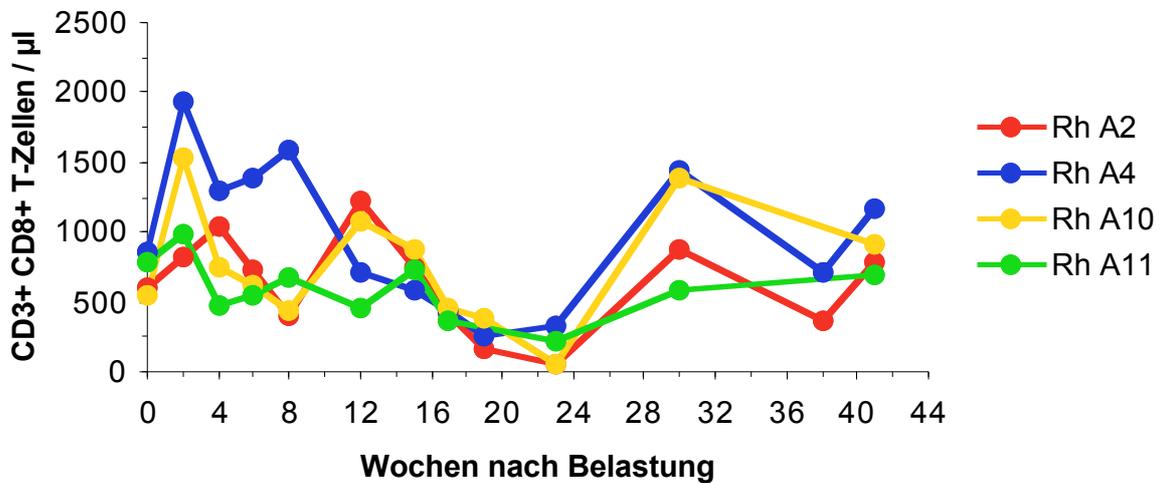


Abb. 3.2.5.C: Anzahl der CD3⁺ CD8⁺ T-Zellen pro µl Blut in der naiven Kontrollgruppe

3.3 SIV-spezifische Immunantworten nach der Belastung

Die zuvor durchgeführten Messungen der humoralen und zellulären Immunantworten wurden auch nach der Belastung fortgesetzt, um so eine möglicherweise bestehende Korrelation zwischen der Viruslast und den Immunreaktionen der Tiere belegen zu können.

3.3.1 Zelluläre Immunreaktionen nach der Belastung

Im Abstand von acht Wochen wurden Lymphoproliferationsassays durchgeführt, um die Entwicklung der T-Helferzellantwort nach der Belastung verfolgen zu können. Acht Wochen nach der Belastung zeigten alle Tiere der Impfstoffgruppe eine antigenspezifische Proliferation mit dem SIV-AT2 Antigen (Mittelwert: 4,5 % proliferierende CD3⁺ CD4⁺ Zellen). Im Vergleich dazu fielen die proliferativen Antworten in den beiden Kontrollgruppen schwächer aus (Abbildung 3.3.1.A bis 3.3.1.C). In der Vektor Kontrollgruppe konnte in zwei von vier Tieren SIV-AT2 spezifische Proliferation nachgewiesen werden (Mittelwert: 1,6 % proliferierende CD3⁺ CD4⁺ Zellen), in der naiven Kontrollgruppe ebenfalls in zwei von vier Affen (Mittelwert: 0,92 % proliferierende CD3⁺ CD4⁺ Zellen). Das durchgehend virus-negative Tier Rh 216 zeigte erwartungsgemäß keine antigenspezifische Proliferation nach der Belastung. Auch hier wurden die Werte von Rh 216 und Rh A6 nicht in die Berechnung der Mittelwerte einbezogen. In den folgenden Wochen konnten in allen SIV-infizierten Tieren spezifische T-Helferzellantworten nachgewiesen werden, die Werte proliferierender CD3⁺ CD4⁺ Zellen lagen dabei in allen drei Gruppen in einem engen Bereich, mit Ausnahme von Rh 209, dessen Werte in Woche 16 und 28 deutlich darüber lagen. Die Ursache hierfür ist nicht bekannt.

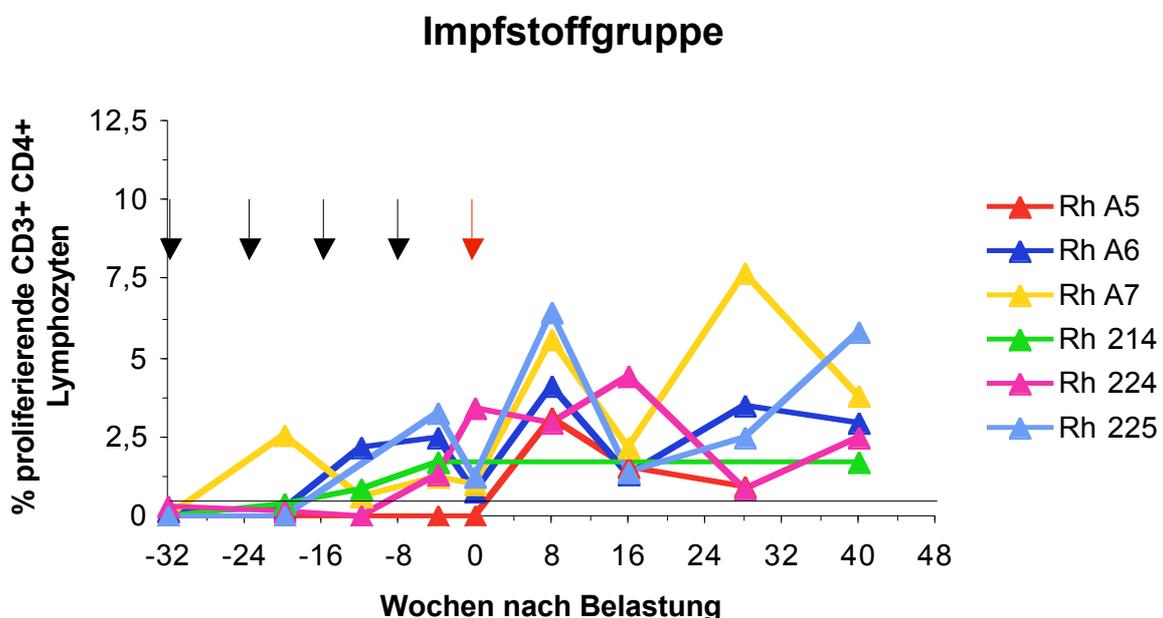


Abb. 3.3.1.A: SIVmac-spezifische Proliferation von CD3⁺ CD4⁺ T-Lymphozyten der Impfstoffgruppe. Es ist der gesamte Verlauf der Studie abgebildet, die Immunisierungen sind mit schwarzen Pfeilen angezeigt, die Belastung mit einem roten Pfeil; der Schwellenwert (0,56 %) ist als schwarze Linie eingezeichnet.

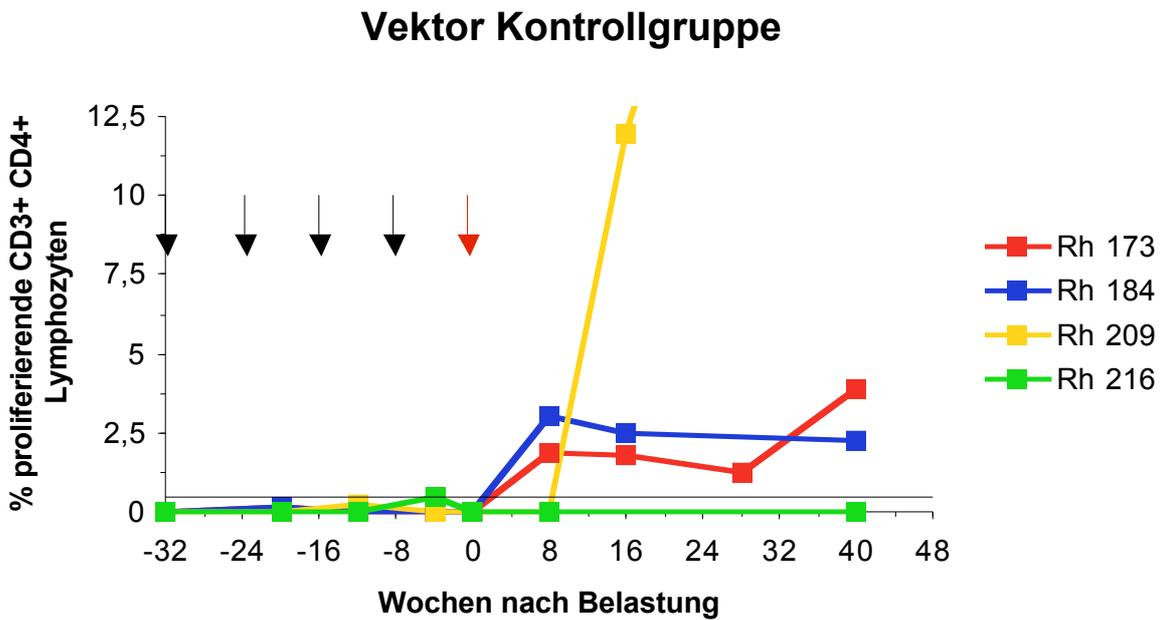


Abb. 3.3.1.B: SIVmac-spezifische Proliferation von CD3⁺ CD4⁺ T-Lymphozyten der Vektor Kontrollgruppe. Es ist der gesamte Verlauf der Studie abgebildet, die Immunisierungen sind mit schwarzen Pfeilen angezeigt, die Belastung mit einem roten Pfeil; der Schwellenwert (0,56 %) ist als schwarze Linie eingezeichnet.

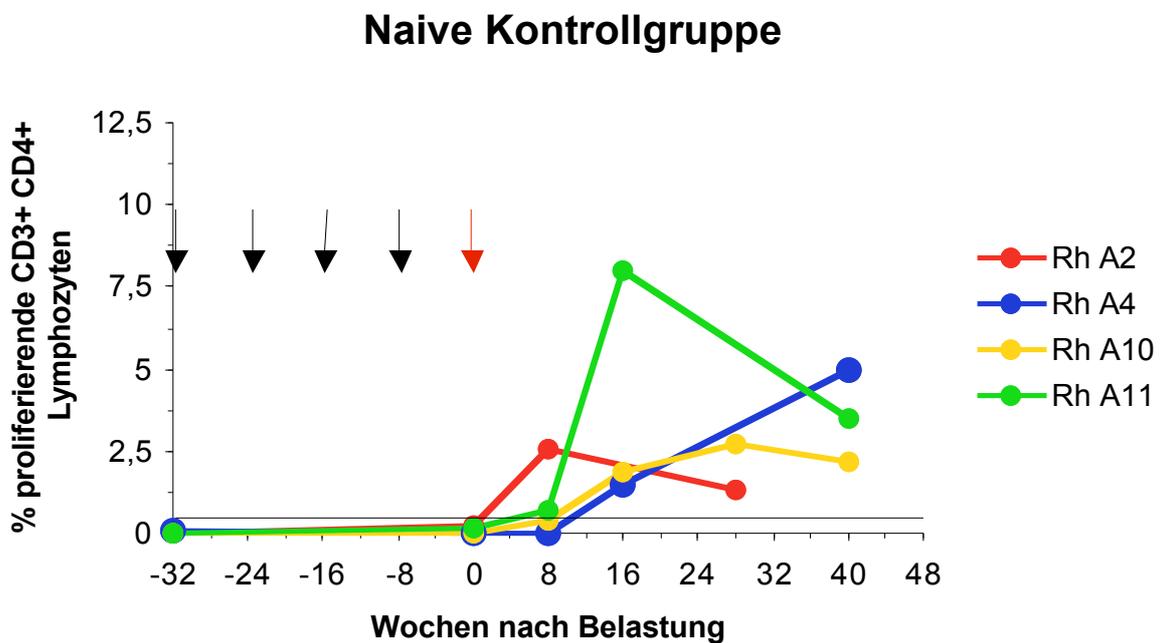


Abb. 3.3.1.C: SIVmac-spezifische Proliferation von CD3⁺ CD4⁺ T-Lymphozyten der naiven Kontrollgruppe. Es ist der gesamte Verlauf der Studie abgebildet, die Immunisierungen sind mit schwarzen Pfeilen angezeigt, die Belastung mit einem roten Pfeil; der Schwellenwert (0,56 %) ist als schwarze Linie eingezeichnet.

Ähnliche Beobachtungen konnten auch bei der Stimulation von PBMCs mit rTat gemacht werden (Abbildung 3.3.2.A bis 3.3.2.C). Hier zeigten ebenfalls alle vier Tiere der Impfstoffgruppe eine proliferative Antwort acht Wochen nach der Belastung, der Mittelwert lag bei 1,12 % proliferierende CD3⁺ CD4⁺ Zellen.

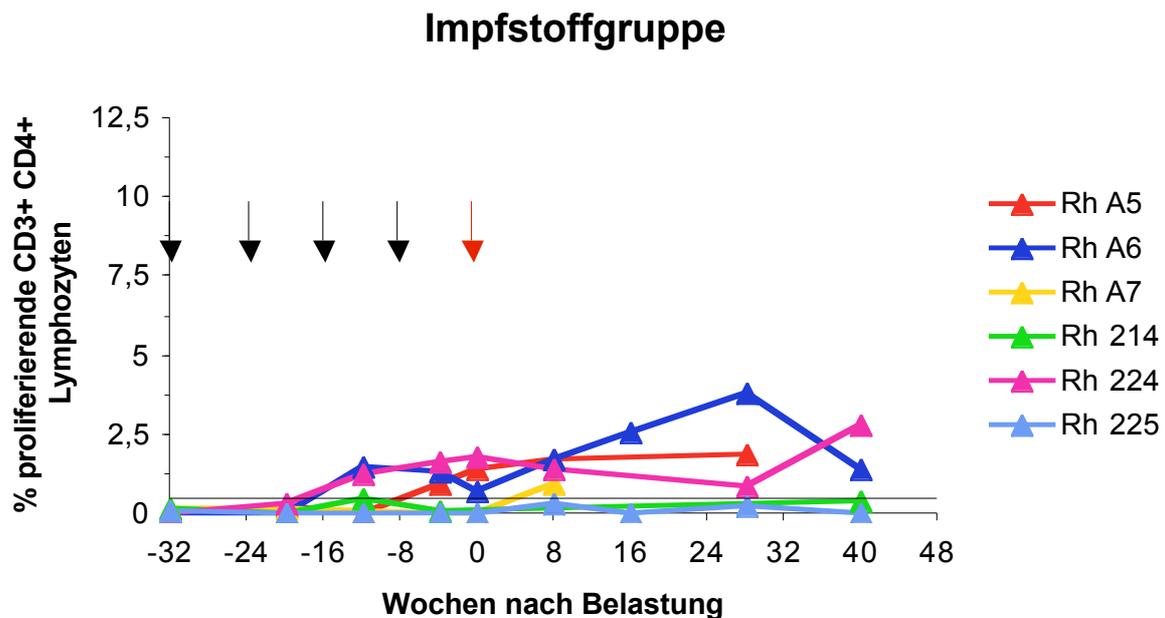


Abb. 3.3.2.A: rTat spezifische Proliferation von CD3⁺ CD4⁺ T-Lymphozyten der Impfstoffgruppe. Es ist der gesamte Verlauf der Studie abgebildet, die Immunisierungen sind mit schwarzen Pfeilen angezeigt, die Belastung mit einem roten Pfeil; der Schwellenwert (0,56 %) ist als schwarze Linie eingezeichnet.

In den Kontrollgruppen wiesen hingegen nur zwei von vier Tieren (Vektor Kontrollgruppe, Mittelwert 0,79 % proliferierende CD3⁺ CD4⁺ Zellen) bzw. eins von vier Tieren (naive Kontrollgruppe) rTat-spezifische Proliferation auf. Im darauf folgenden Zeitraum konnten jedoch in allen Affen mit Ausnahme von Rh 216 proliferierende T-Helferzellen nachgewiesen werden. Auch hier waren Rh 216 und Rh A6 von den Mittelwertberechnungen ausgeschlossen.

Vektor Kontrollgruppe

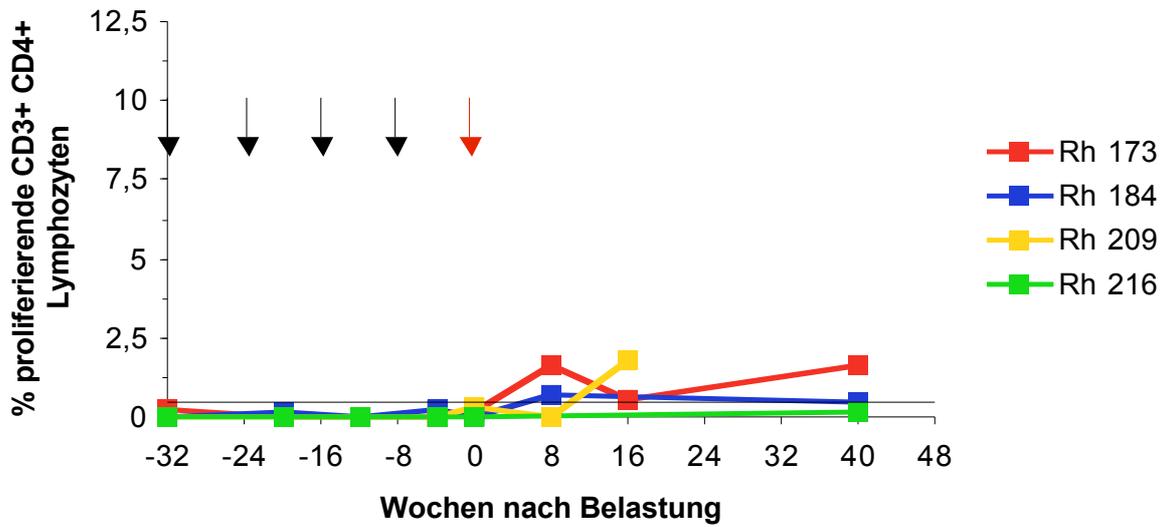


Abb. 3.3.2.B: rTat-spezifische Proliferation von CD3⁺ CD4⁺ T-Lymphozyten der Vektor Kontrollgruppe. Es ist der gesamte Verlauf der Studie abgebildet, die Immunisierungen sind mit schwarzen Pfeilen angezeigt, die Belastung mit einem roten Pfeil; der Schwellenwert (0,56 %) ist als schwarze Linie eingezeichnet.

Naive Kontrollgruppe

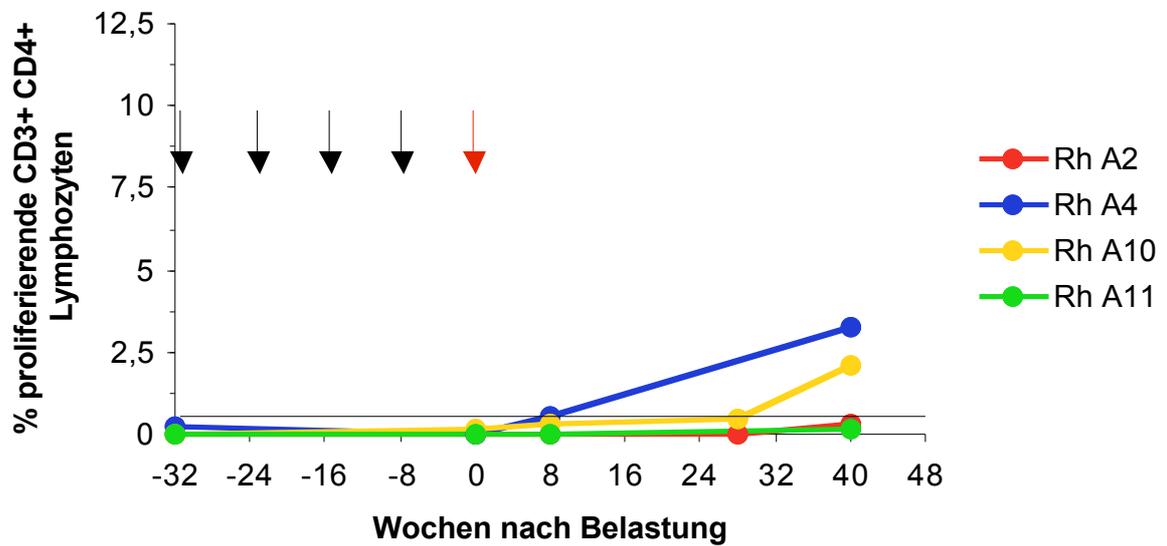


Abb. 3.3.2.C: rTat-spezifische Proliferation von CD3⁺ CD4⁺ T-Lymphozyten der naiven Kontrollgruppe. Es ist der gesamte Verlauf der Studie abgebildet, die Immunisierungen sind mit schwarzen Pfeilen angezeigt, die Belastung mit einem roten Pfeil; der Schwellenwert (0,56 %) ist als schwarze Linie eingezeichnet.

Die IFN γ -ELISpots wurden ab dem Tag der Belastung mit verändert zusammengesetzten Peptidgruppen durchgeführt, um so Zellen einzusparen, die für andere Analysen (Proviruslast, zellassoziierte Viruslast) verwendet wurden. Aus den zwei Rev- und Tat-Peptidgruppen wurde je eine Gruppe gemacht, die vier Gag- und sechs Nef-Peptidgruppen wurden zu jeweils zwei zusammengelegt (siehe Abschnitt 2.3.6). Außerdem kamen zusätzlich die bereits im LPA verwendeten, AT2-inaktivierten SIV Partikel (SIV-AT2) zum Einsatz, um T-Helferzellen auch im ELISpot detektieren zu können.

Am Tag der Belastung und zwei Wochen danach zeigte keiner der getesteten Affen beider Kontrollgruppen eine signifikante Antwort gegen eine der SIV Peptidgruppen, wohingegen drei der sechs Tiere in der Impfstoffgruppe zwei Wochen nach der Belastung eine solche aufwiesen. Affe Rh A5 zeigte signifikante Reaktionen gegen drei Peptidgruppen (Ref, Tat und Nef I), die Affen Rh 224 und Rh 225 zeigten jeweils eine starke Reaktion gegen eine der beiden Gag Gruppen.

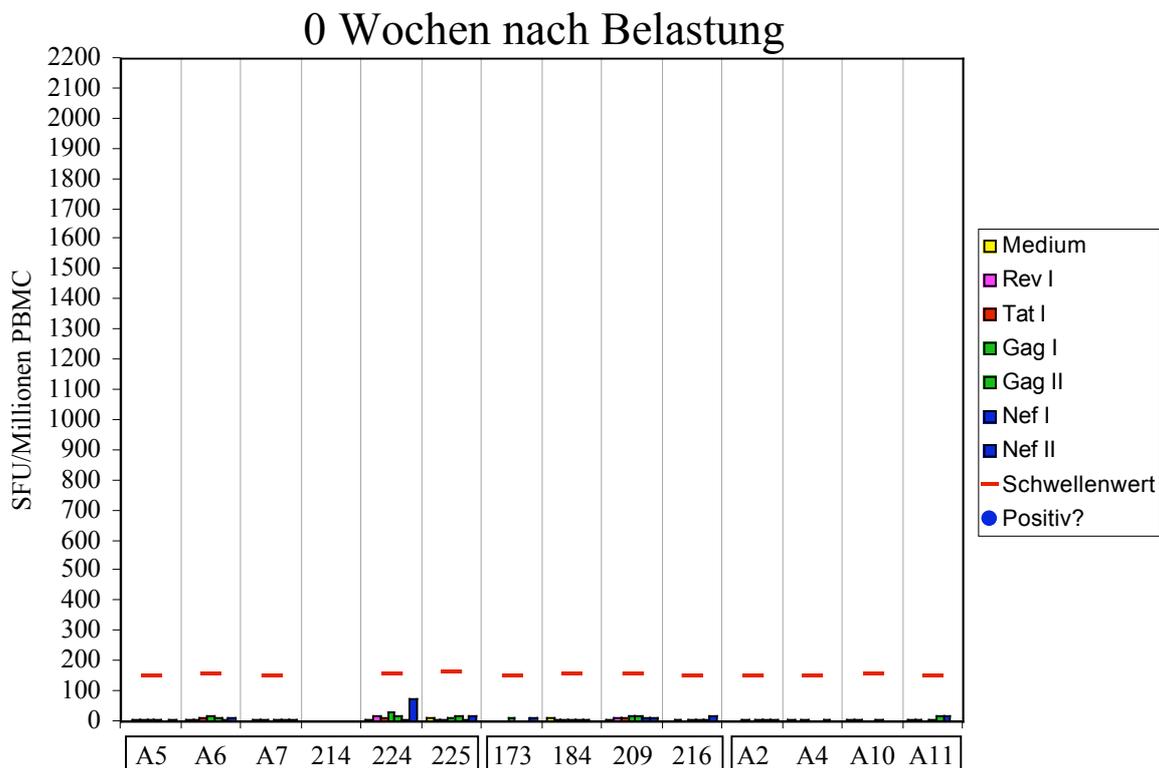


Abb. 3.3.3.A: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 0 nach Belastung (Dieser Zeitpunkt ist identisch mit Woche 32 nach Immunisierung). Abgebildet sind die Reaktionen der PBMCs der Tiere der Impfstoffgruppe (Rh A6 bis Rh 225), der Vektor Kontrollgruppe (Rh 173 bis Rh 216) und der naiven Kontrollgruppe (Rh A2 bis Rh A11). Die Säulen geben die Anzahl an Spot Forming Units pro Millionen PBMCs (SFU/ Millionen PBMC) an. Der rote Balken darüber gibt den jeweiligen Schwellenwert an, fehlt dieser Balken, wurden die PBMCs dieses Affen nicht getestet. Der blaue Punkt über den Säulen zeigt an, dass mindestens eine der Peptidgruppen mit ihrem Wert über dem Schwellenwert liegt, also als positive Reaktion gewertet wird.

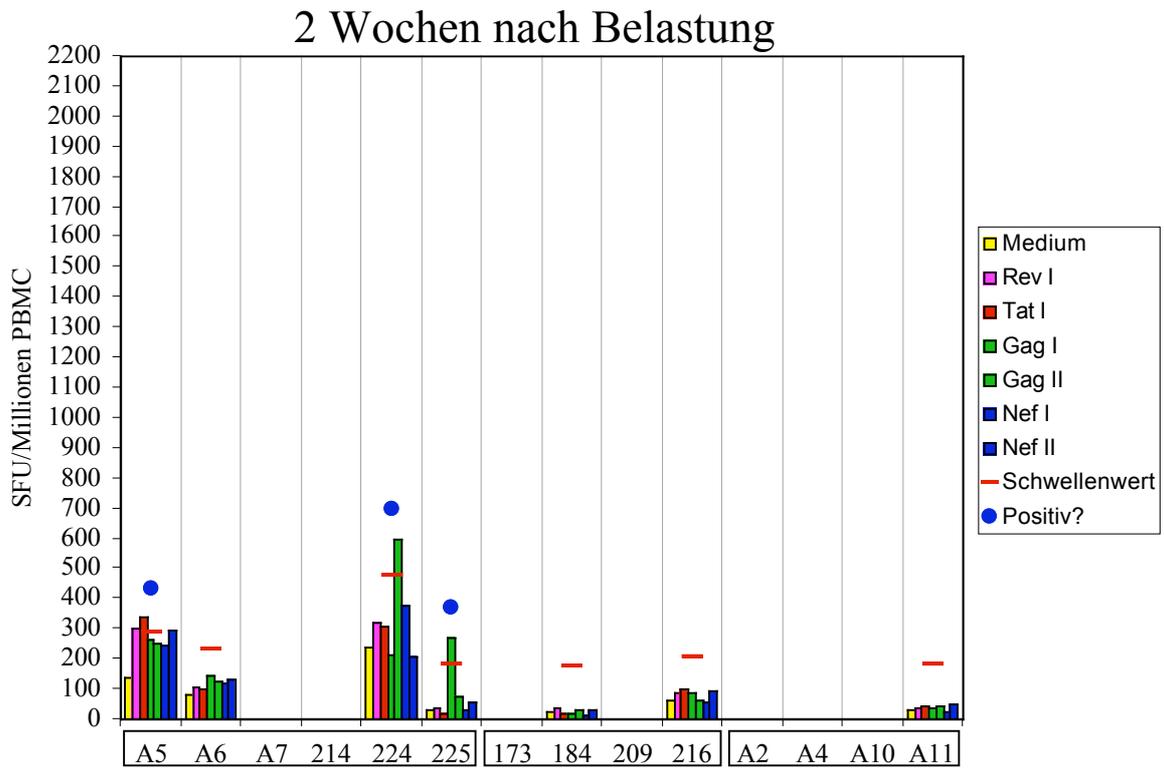


Abb. 3.3.3.B: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 2 nach Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.3.A.

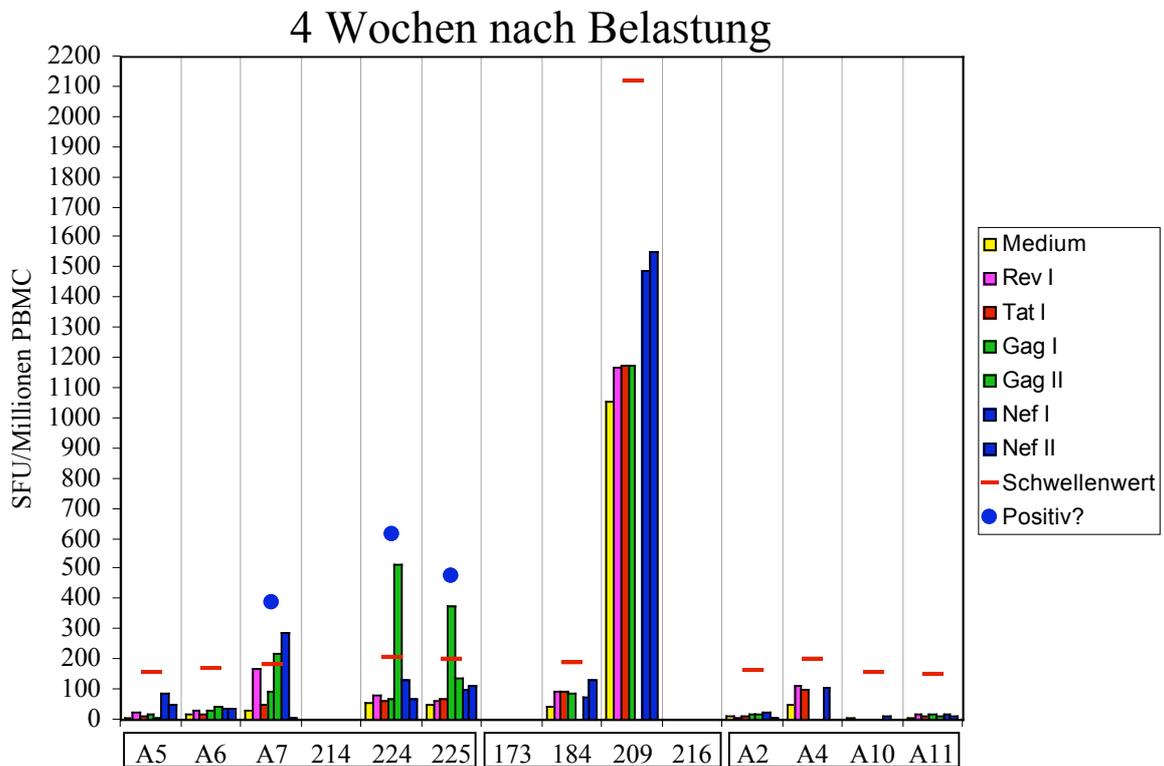


Abb. 3.3.3.C: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 4 nach Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.3.A.

Nach vier Wochen konnten wiederum nur signifikante Reaktionen gegen SIV Peptide in der Impfstoffgruppe nachgewiesen werden. Drei der fünf getesteten Tiere in dieser Gruppe zeigten solche Reaktionen, wobei die in Rh 224 (Reaktion gegen Gag II) und in Rh 225 (Reaktion gegen Gag I) in schwächerer Form bereits zwei Wochen zuvor beobachtet wurden. Die T-Zellantwort gegen die SIV Peptide in den Affen der Impfstoffgruppe wurde anscheinend schneller etabliert und war zunächst ausgeprägter, es kann ihnen also durchaus anamnestischer Charakter zugesprochen werden.

In den folgenden Wochen (ab Woche 6 nach Belastung) verstärkten sich die Reaktionen gegen die SIV Peptide in der Impfstoffgruppe nochmals und schwankten dann um die etablierten Werte. Ab der sechsten Woche nach Belastung konnten auch signifikante Reaktionen in den Tieren der Vektor Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Hier gab es zunächst nur bei zwei von vier Tieren signifikante Reaktionen, wobei eines davon (Rh 184) lediglich eine äußerst schwache Reaktion gegen die Gruppe Nef I zeigte. Das andere Tier, Affe Rh 209, wies in dieser Woche allerdings schon eine deutliche Reaktion gegen mindestens ein Peptid aus der Gag II Gruppe auf. 16 Wochen nach der Belastung waren die Reaktionen der Vektor Kontrolltiere im IFN γ -ELISpot gegen die getesteten SIV Peptide in ihrer Ausprägung prinzipiell nicht mehr von denen der Affen der Impfstoffgruppe zu unterscheiden. Der uninfizierte Affe Rh 216 zeigte während des beobachteten Zeitraums nur einmal, in Woche 32 nach Belastung, schwache Reaktionen gegen die SIV Peptide.

Am langsamsten schien sich eine T-Zellantwort gegen die SIV Peptide in der naiven Kontrollgruppe aufzubauen. Hier zeigten sich erst in Woche 16 nach Belastung in zwei der vier Tiere (Rh A10 und Rh A11) Reaktionen gegen die Nef I Peptidgruppe, zuvor konnten keine signifikanten Reaktionen beobachtet werden. 19 Wochen nach der Belastung zeigten drei der vier naiven Kontrollaffen signifikante Reaktionen, die von diesem Zeitpunkt an Breite und Stärke soweit zunahmen, bis sie in Woche 28 ein dem beiden anderen Gruppen vergleichbares Niveau aufwiesen.

Ein Tier dieser Gruppe (Rh A2) zeigte zu keinem Zeitpunkt eine robuste T-Zellantwort, es konnten lediglich schwache Reaktionen gegen die SIV Peptide nachgewiesen werden. Auffällig war zudem ein im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen fast durchgehend niedriger mittlerer Hintergrund (Mediumwert) in den Tieren der naiven Kontrollgruppe.

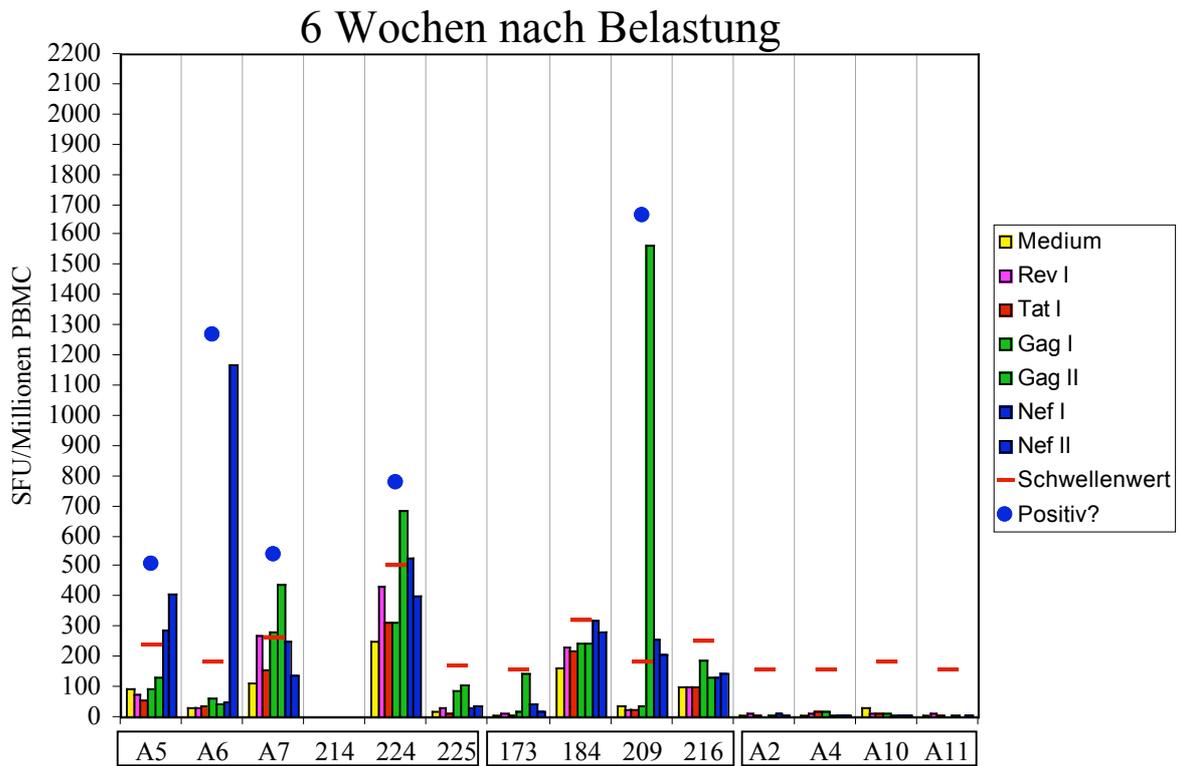


Abb. 3.3.3.D: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 6 nach Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.3.A.

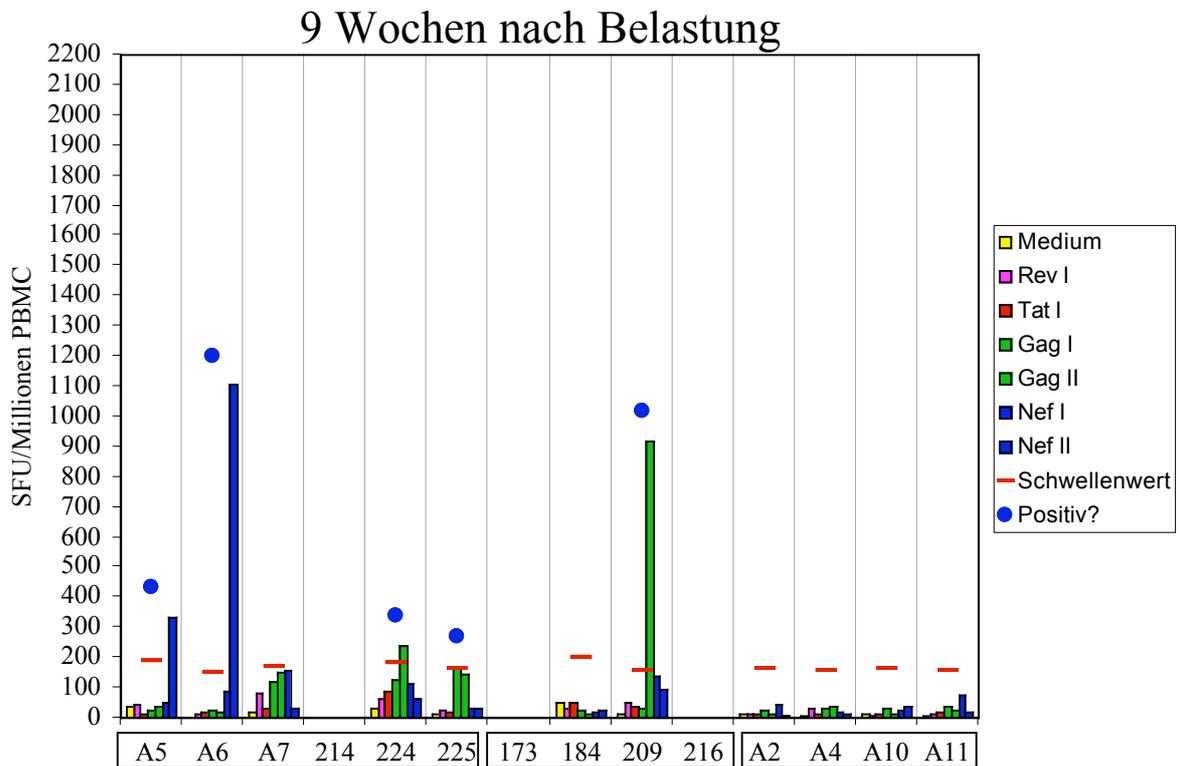


Abb. 3.3.3.E: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 9 nach Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.3.A.

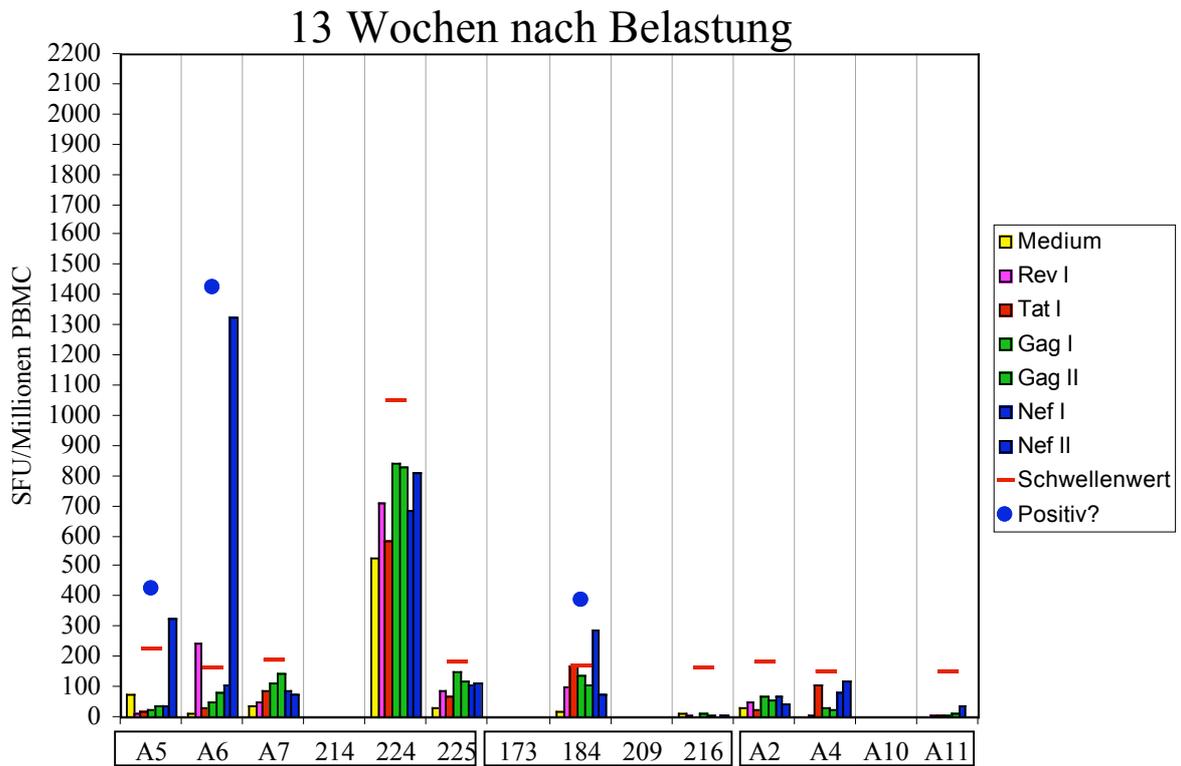


Abb. 3.3.3.F: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 13 nach Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.3.A.

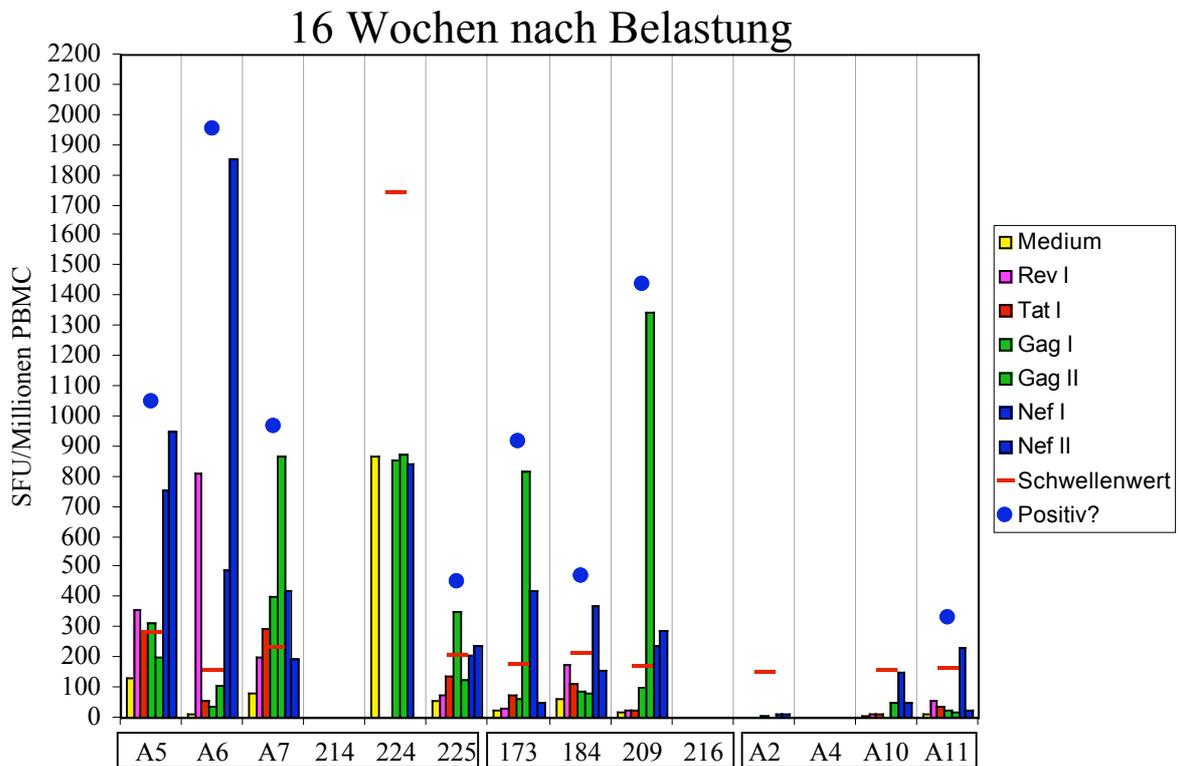


Abb. 3.3.3.G: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 16 nach Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.3.A.

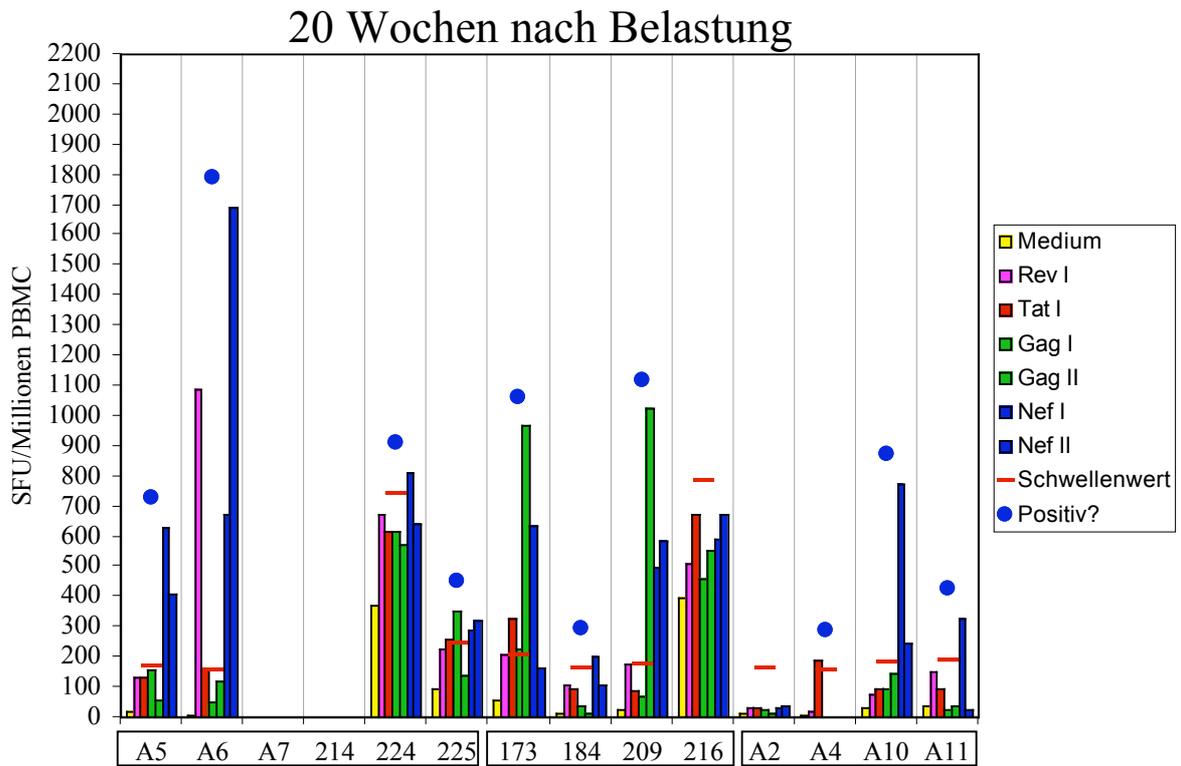


Abb. 3.3.3.H: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 20 nach Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.3.A.

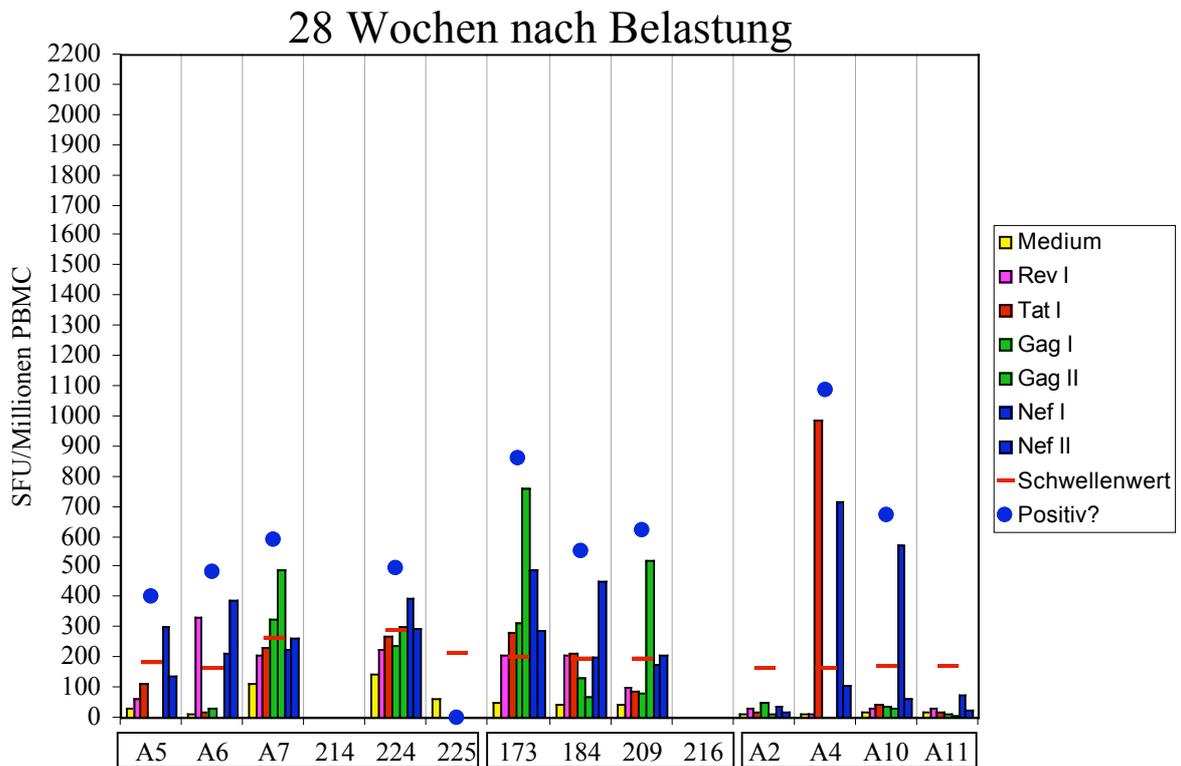


Abb. 3.3.3.I: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 28 nach Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.3.A.

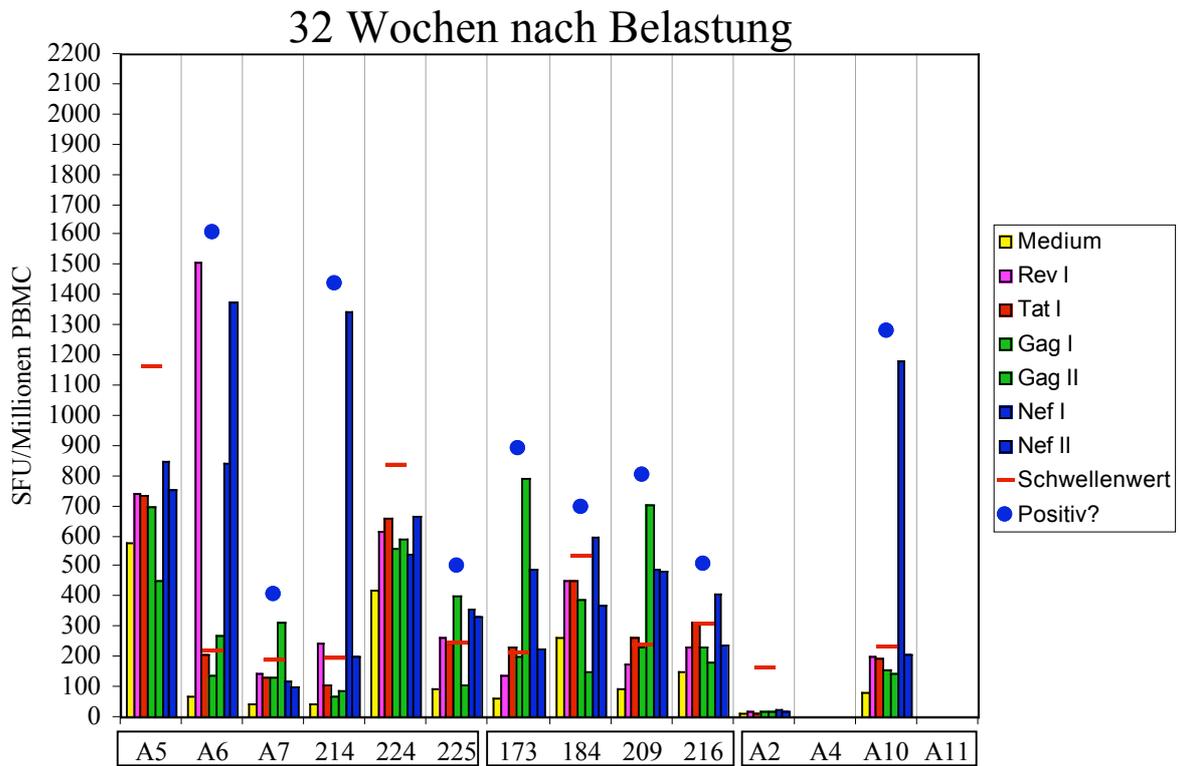


Abb. 3.3.3.J: Peptid-spezifische IFN γ -Produktion in Woche 32 nach Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.3.A.

Der Nachweis von T-Helferzellen im IFN γ -ELISpot erfolgte durch die Stimulation mit SIV-AT2 Antigen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.1 zusammengefasst. Im Vergleich zu den SIV Peptiden entwickelten sich die Antworten gegen dieses Antigen in allen drei Gruppen langsamer. Zwei Wochen nach der Belastung wies lediglich Affe Rh 225 (Impfstoffgruppe) eine signifikante Reaktion gegen SIV-AT2 auf, nach vier Wochen konnte erneut eine signifikante Reaktion mit den PBMCs dieses Affen und darüber hinaus auch eine schwache in den PBMCs von Rh 184 (Vektor Kontrollgruppe) gemessen werden, die restlichen Tiere zeigten keine signifikanten Antworten.

Rhesus	0 WnB		2 WnB		4 WnB		6 WnB		9 WnB		13 WnB		16 WnB		20 WnB		24 WnB		28 WnB		32 WnB	
	Med.	SIV	Med.	SIV	Med.	SIV	Med.	SIV	Med.	SIV	Med.	SIV	Med.	SIV	Med.	SIV	Med.	SIV	Med.	SIV	Med.	SIV
A5	0	18	141	213	5	10	92	157	38	17	75	40	130	502	20	202	203	297	32	112	580	692
A6	8	3	83	143	20	55	33	148	0	38	13	187	10	240	7	533	87	542	13	188	68	727
A7	0	38	18	35	32	125	113	375	17	235	37	272	82	1242	ND	ND	517	1398	113	828	42	683
214	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12	173	0	ND	ND	ND	337	520	ND	ND	43	365
224	8	55	240	7	58	87	250	628	33	132	525	808	870	1425	372	927	1030	1217	142	503	418	960
225	13	8	33	637	50	343	18	147	12	72	30	180	57	278	93	502	440	783	62	527	93	465
173	0	7	12	105	ND	ND	8	208	ND	ND	ND	ND	23	1115	58	1112	187	447	53	663	65	813
184	10	10	23	27	42	195	162	542	48	38	20	198	20	ND	12	68	ND	ND	ND	ND	153	162
209	5	28	18	42	1058	1200	35	715	10	333	ND	ND	17	852	23	1123	252	747	43	353	92	770
216	2	17	60	65	ND	ND	100	233	ND	ND	15	68	63	383	393	427	ND	ND	45	172	267	540
A2	0	0	92	100	12	100	8	32	12	115	32	105	3	13	12	35	0	15	13	30	13	35
A4	3	3	5	83	52	33	7	27	7	20	2	37	140	5	7	115	ND	ND	13	27	20	28
A10	5	0	25	2	7	12	30	165	15	30	8	520	5	257	32	930	285	195	17	262	82	855
A11	3	8	30	52	3	8	7	10	8	70	2	50	12	223	38	195	0	0	17	20	28	67

Tab. 3.1: SIV-AT2 spezifische IFN γ -Produktion im ELISpot. Gezeigt wird die Anzahl von SFU pro Millionen PBMCs im Mediumansatz (*Med.*: Ansatz ohne Antigen) und im SIV-AT2 Ansatz (*SIV*: Ansatz mit Antigen) in den Wochen nach der Belastung (WnB). Werte in SIV Ansätzen, die über dem Schwellenwert liegen, sind in blau abgebildet. Impfstoffgruppe: Rh A5 bis Rh 225, Vektor Kontrollgruppe: Rh 173 bis Rh216, naive Kontrollgruppe: Rh A2 bis Rh A11. *ND*: nicht getestet.

In den folgenden Wochen (ab Woche 6) prägten sich in den Affen der Impfstoffgruppe und der Vektor Kontrollgruppe die Antworten gegen SIV-AT2 weiter aus, bis diese 16 Wochen nach Belastung in den meisten Tieren beider Gruppen ein Plateau erreichten. Das uninfizierte Tier Rh 216 (Vektor Kontrollgruppe) entwickelte erwartungsgemäß keine Reaktion gegen SIV-AT2.

Die Tiere der naiven Kontrollgruppe etablierten auch gegen das SIV-AT2 Antigen erst zu einem späteren Zeitpunkt als die beiden anderen Gruppen eine T-Helferzellantwort im IFN γ -ELISpot, welche insgesamt auch schwächer ausfiel. Erst 13 Wochen nach der Belastung konnte eine signifikante Reaktion gegen SIV-AT2 in Rh A10 detektiert werden. In den folgenden Wochen (Woche 16 und Woche 20) konnten sich Antworten in den Tieren Rh A10 und Rh A11 entwickeln. Allerdings fiel diese in Tier Rh A11 später wieder unter die Nachweisgrenze. Die beiden anderen Tiere (Rh A2 und Rh A4) zeigten im Beobachtungszeitraum keine signifikante Reaktion gegen SIV-AT2.

3.3.2 Humorale Immunreaktionen nach der Belastung

SIV-spezifische Antikörper konnten im ELISA bereits eine Woche nach Belastung in vier von sechs Tieren der Impfstoffgruppe nachgewiesen werden (Mittelwert 1:156). Drei Wochen nach der Belastung zeigten bereits fünf der sechs Tiere einen deutlichen Antikörpertiter (Mittelwert 1:212), während in den beiden Kontrollgruppen nur ein Tier (Rh 184, Vektor Kontrollgruppe) SIV-spezifische Antikörper mit einem Titer von 1:284 aufwies. Einige der Tiere der Impfstoffgruppe zeigten somit anamnestic Reaktionen, d.h. sie zeichneten sich durch einen schnelleren und stärkeren Anstieg des Antikörpertiters aus (Abbildung 3.3.4).

In den folgenden Wochen stiegen die Antikörpertiter in den meisten Tieren sehr stark an, bis sie etwa ab Woche 13 nach Belastung ein Plateau erreichten (Abbildung 3.3.5.A bis 3.3.5.C). Dabei lagen die mittleren Antikörpertiter der Impfstoffgruppe meist um das zwei- bis dreifache über den mittleren Antikörpertitern beider Kontrollgruppen. Affe Rh 224 entwickelte trotz anamnestic Reaktion den deutlich geringsten SIV-spezifischen Antikörpertiter aller Tiere. Dies ist bemerkenswert, da dieser Affe auch die geringsten Spitzenviruslasten aufwies und die Virämie schnell zu kontrollieren vermochte.

Das Tier mit der verzögerten Infektionskinetik, Rh A6, entwickelte langsamer als die übrigen Affen eine Antikörperantwort gegen SIV, der virusnegative Affe Rh 216 entwickelte überhaupt keine solchen Antikörper.

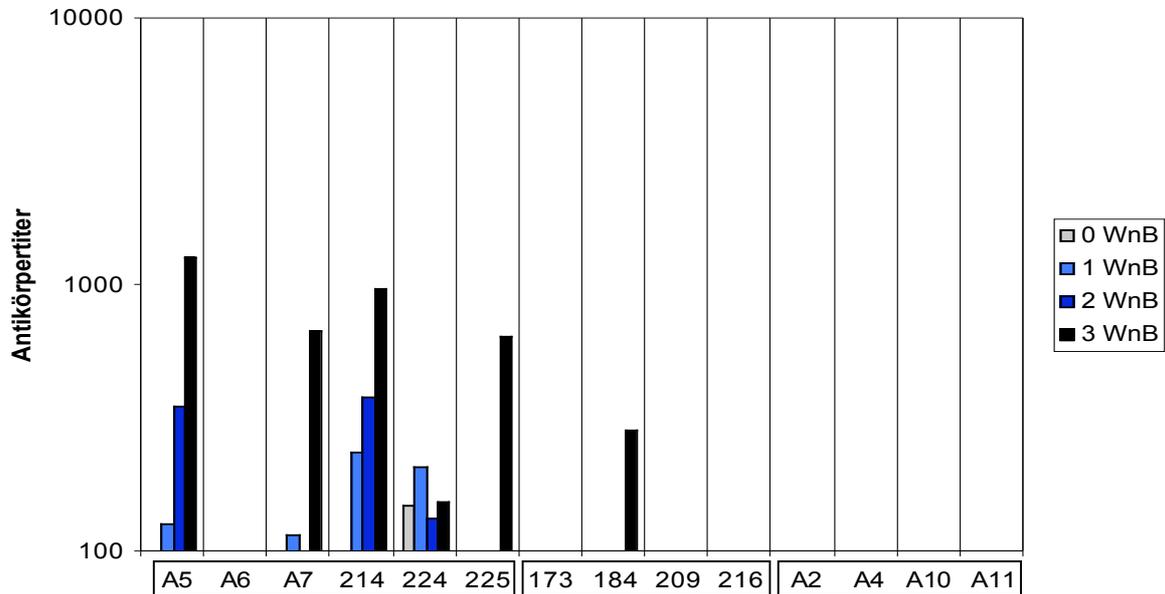


Abb. 3.3.4: SIV-spezifische Antikörpertiter in den ersten drei Wochen nach Belastung. Die farbigen Säulen zeigen den logarithmisch aufgetragenen Antikörpertiter als reziproken Wert der signifikanten Verdünnung in der jeweiligen Woche nach Belastung (WnB, siehe Legende). Es sind alle Tiere der Impfstoffgruppe (Rh A5 bis Rh 225), der Vektor Kontrollgruppe (Rh 173 bis Rh 216) und der naiven Kontrollgruppe (Rh A2 bis Rh A11) dargestellt.

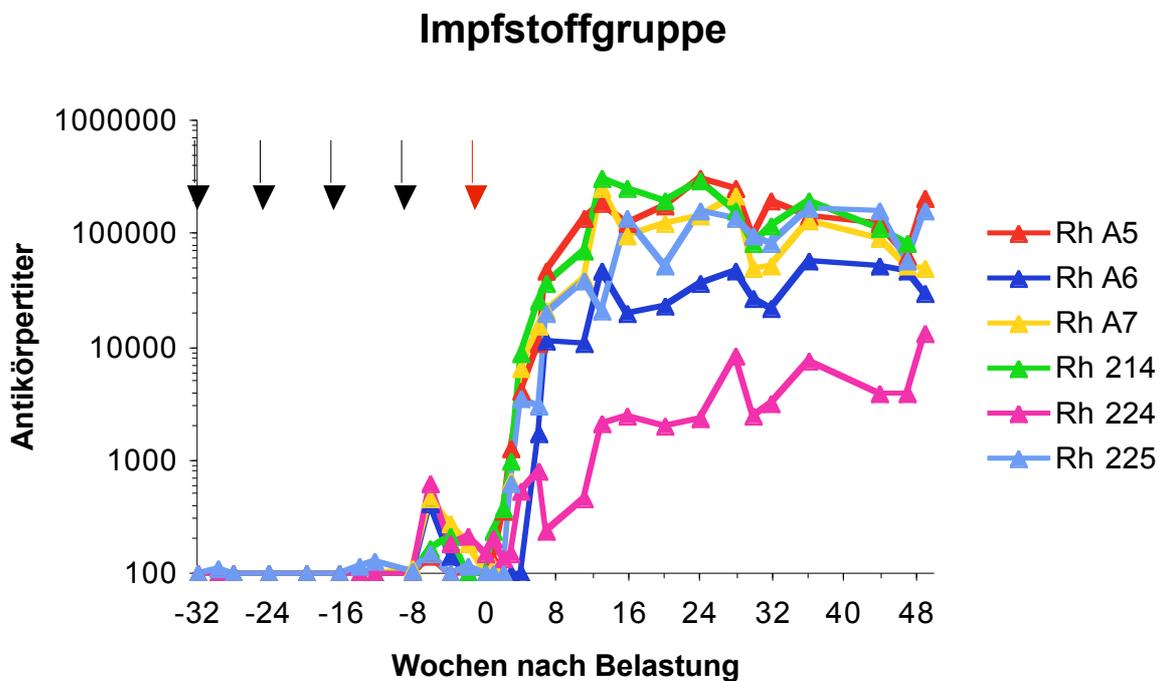


Abb. 3.3.5.A: Titer der SIV-spezifischen Antikörper in der Impfstoffgruppe im Verlauf der gesamten Studie. Erläuterung siehe Abb. 3.3.5.C

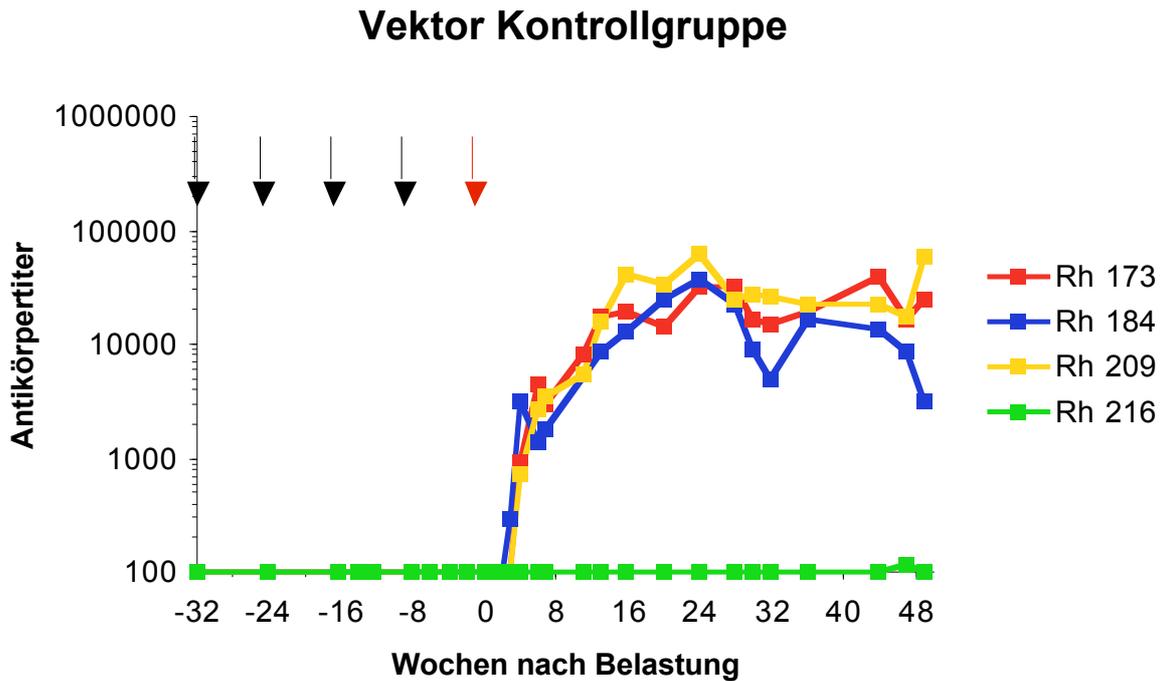


Abb. 3.3.5.B: Titer der SIV-spezifischen Antikörper in der Vektor Kontrollgruppe im Verlauf der gesamten Studie. Erläuterung siehe Abb. 3.3.5.C

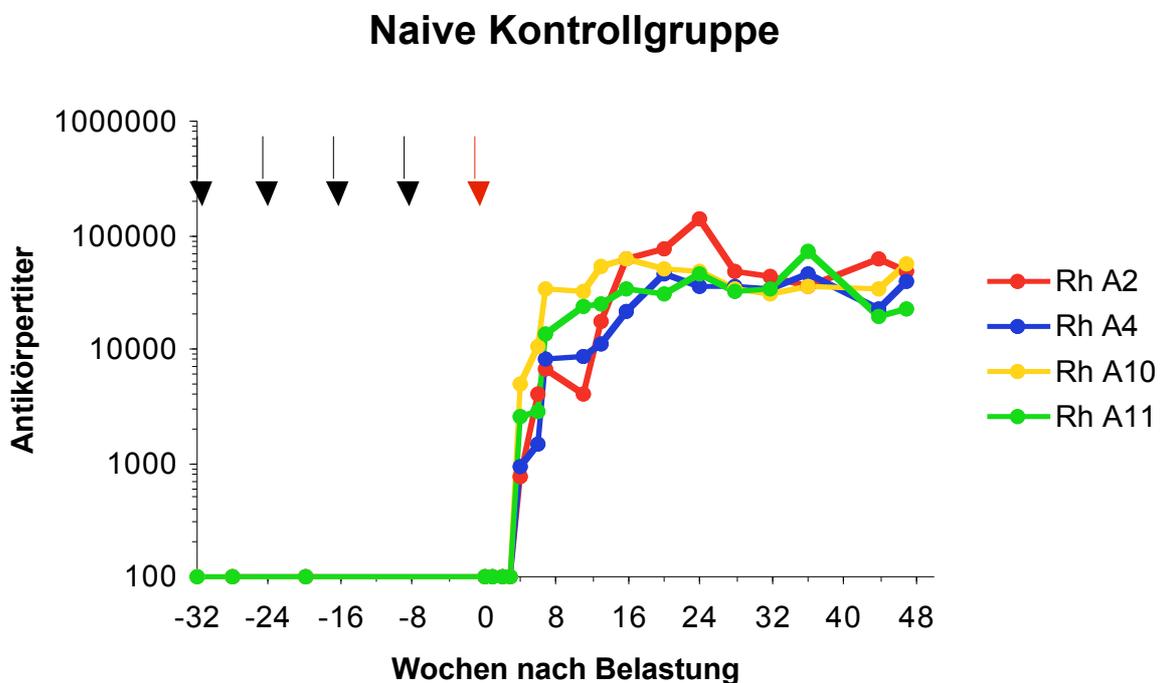


Abb. 3.3.5.C: Titer der SIV-spezifischen Antikörper in der naiven Kontrollgruppe im Verlauf der gesamten Studie. Der Titer ist logarithmisch als reziproker Wert derjenigen interpolierten Verdünnungsstufe angegeben, deren Extinktion im ELISA dem Schwellenwert entspricht. Die schwarzen Pfeile zeigen die Immunisierungen in Woche 0 (DNA), 8 (rMVA), 16 (rSFV) und 24 (rSFV) an, der rote die Belastung mit SIVmac.

Bei der Untersuchung SIV-neutralisierender Antikörper konnte keine anamnestiche Reaktion beobachtet werden (Abbildung 3.3.6.A bis 3.3.6.C). Die ersten neutralisierenden Antikörper wurden drei Wochen nach der Belastung in drei von sechs Tieren der Impfstoffgruppe (Mittelwert 1:34) und in drei von vier Tieren der naiven Kontrollgruppe (Mittelwert 1:28) detektiert; in der Vektor Kontrollgruppe konnten zu diesem Zeitpunkt keine neutralisierenden Antikörper nachgewiesen werden.

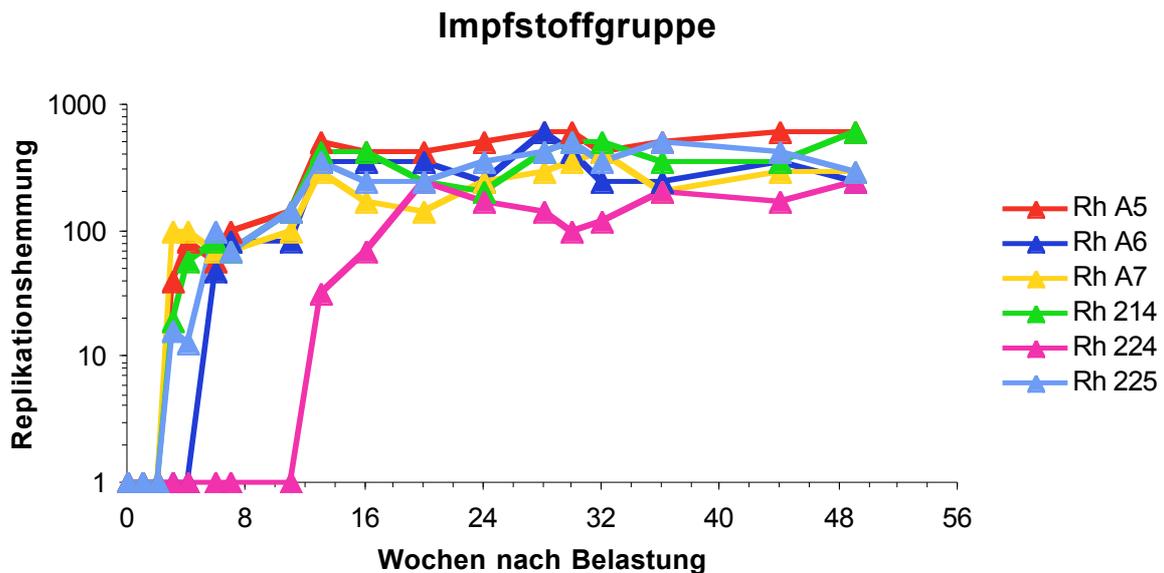


Abb. 3.3.6.A: SIV-neutralisierende Antikörper in der Impfstoffgruppe nach der Belastung. Als Maß für die neutralisierenden Antikörper in den Seren ist in logarithmischer Form der Faktor der Replikationshemmung angegeben, welche die 1:100 verdünnten Seren bezüglich der Replikation von SIV in Kultur erreichen.

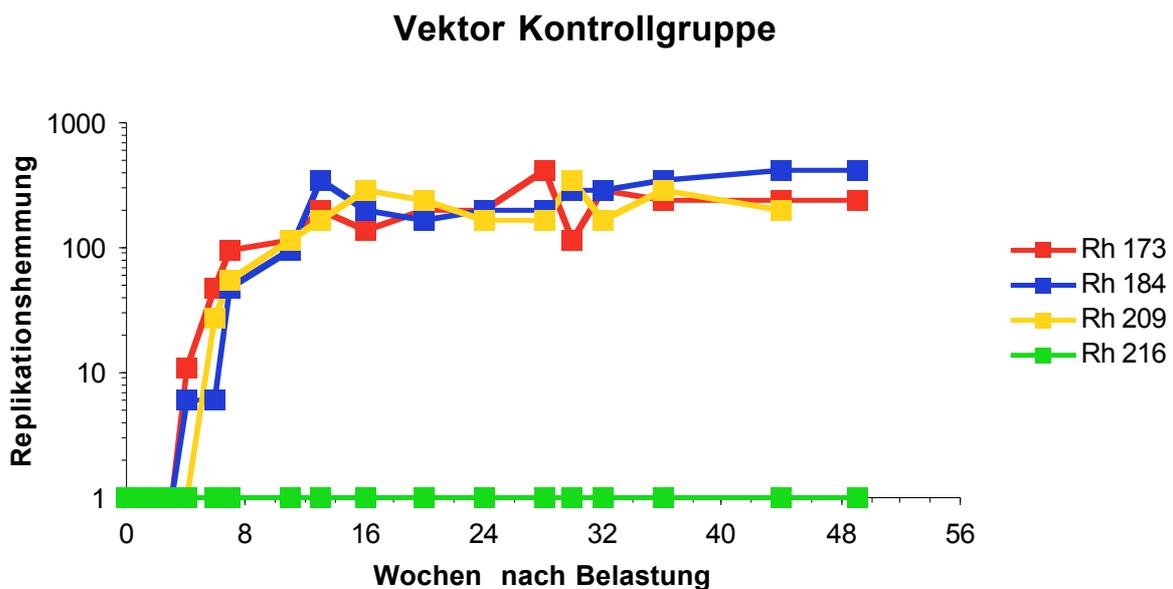


Abb. 3.3.6.B: SIV-neutralisierende Antikörper in der Vektor Kontrollgruppe nach der Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.6.A

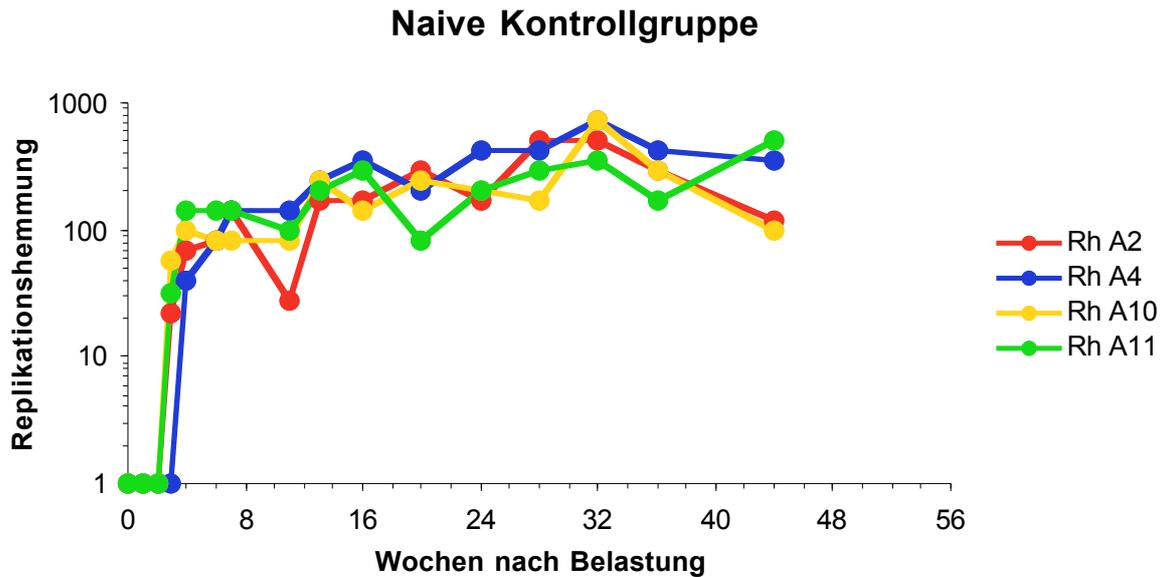


Abb. 3.3.6.C: SIV-neutralisierende Antikörper in der naiven Kontrollgruppe nach der Belastung. Erläuterung siehe Abb. 3.3.6.A

Anschließend wurde in den meisten Tieren der drei Gruppen ein Anstieg des Titers neutralisierender Antikörper gemessen, der etwa 13 Wochen nach der Belastung ein Plateau erreichte, das sich zwischen den einzelnen Gruppen nicht deutlich unterschied. Affe Rh A6 zeigte erneut eine verzögerte Immunreaktion, in Rh 216 konnten erwartungsgemäß keine neutralisierenden Antikörper nachgewiesen werden. Eine auffällige Entwicklung der neutralisierenden Antikörper zeigte Rh 224, der bis Woche 11 nach der Belastung keine derartigen Antikörper aufwies und erst ab Woche 13 eine entsprechende Antwort zeigte.

Es konnten weder im ELISA noch im DotBlot mukosale, SIV-spezifische Antikörper (IgA und IgG) bis 32 Wochen nach der Belastung nachgewiesen werden (Daten nicht abgebildet).

3.4. Zusammenfassung

In der Immunisierungsphase konnten in der Impfstoffgruppe sowohl humorale als auch zelluläre Immunantworten gegen SIV Antigene erzeugt werden. In dieser Gruppe zeigte nach der Belastung der Anstieg der SIV-spezifischen Antikörper und IFN γ -produzierenden Zellen anamnestischen Charakter. Die Impfungen vermochten es zwar nicht, die Tiere der Impfstoffgruppe vor einer SIV Infektion zu schützen, dennoch war deren Viruslast zwei Wochen nach der Belastung (Spitzenviruslast) im Mittel gegenüber den Kontrollgruppen signifikant reduziert, ein Tier dieser Gruppe konnte die Virämie sogar kontrollieren.