

Antibody Responses to Immunization With HCV Envelope Glycoproteins as a Baseline for B cell-Based Vaccine Development

Chen F, Nagy K, Chavez D, Willis S, McBride R, Giang E, Honda A, Bukh J, Ordoukhanian P, Zhu J, Frey S, Lanford R, Law M.

Περίληψη άρθρου

Εισαγωγή και σκοπός

Εξετάσαμε τις αντισωματικές αποκρίσεις στα αντιγόνα E1 και E2 του ιού της ηπατίτιδας C (HCV) και τη συσχέτιση των ζωικών μοντέλων για την ανάπτυξη εμβολίων. Συγκρίναμε τις αντισωματικές αποκρίσεις στον εμβολιασμό με ανασυνδυασμένο σύμπλεγμα E1E2 σε υγιείς εθελοντές, πρωτεύοντα θηλαστικά (non-human primates, NHPs) και ποντίκια.

Μέθοδοι

Αναλύσαμε 519 δείγματα ορού συμμετεχόντων σε μια μελέτη εμβολίου φάσης 1 (ClinicalTrials.gov identifier NCT00500747) και τα συγκρίναμε με δείγματα ορού ή πλάσματος ποντικών C57BL/ 6J (n = 28) και μακάκων rhesus (n = 4) ανοσοποιημένων με το ίδιο HCV E1E2 αντιγόνο. Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν σε διαφορετικά χρονικά σημεία και αναλύθηκαν όσον αφορά στη σύνδεση αντισώματος, τη δραστικότητα εξουδετέρωσης και την ειδικότητα επιτόπου. Απομονώθηκαν μονοκλωνικά αντισώματα από τα ανοσοποιημένα NHPs από απλούς πλασμαβλάστες και μνημονικά B κύτταρα και προσδιορίστηκαν οι ανοσογενετικές τους ιδιότητες.

Αποτελέσματα

Οι αντισωματικές αποκρίσεις εθελοντών, NHPs και ποντικών στους μη εξουδετερωτικούς επίτοπους του E1 N-τελικού άκρου και της E2 υπερμεταβλητής περιοχής 1 δεν διέφεραν σημαντικά. Διαπιστώθηκε ότι αντισώματα από εθελοντές και NHPs που εξουδετέρωσαν ετερόλογα στελέχη του HCV αλληλεπιδρούν κυρίως με επίτοπους στην αντιγονική περιοχή 3. Ωστόσο, τα εξουδετερωτικά αντισώματα δεν παράγονται σε επαρκή επίπεδα για ευρεία

εξουδετέρωση ποικίλων HCV πληθυσμών. Ευρέως εξουδετερωτικά αντισώματα παρόμοια με το ανθρώπινο αντίσωμα τάξης VH1-69 ειδικό για την αντιγονική περιοχή 3 παρήχθησαν στα ανοσοποιημένα NHPs.

Συμπέρασμα

Σε μια ανάλυση εμβολιασμένων εθελοντών, NHPs και ποντικών, διαπιστώσαμε ότι το ανασυνδυασμένο εμβόλιο αντιγόνου E1E2 επάγει υψηλούς τίτλους αντισώματος οι οποίοι είναι ανεπαρκείς για να εξουδετερώσουν ποικίλους πληθυσμούς HCV. Αντισώματα από εθελοντές και NHPs συνδέονται στους ίδιους εξουδετερωτικούς επίτοπους για να εξουδετερώσουν τον ιό. Επομένως, τα NHPs μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ένα προκλινικό μοντέλο για την ανάπτυξη εμβολίων έναντι του HCV. Επίσης, αυτά τα ευρήματα παρέχουν χρήσιμες βασικές τιμές για την ανάπτυξη εμβολίων σχεδιασμένων να διεγείρουν την παραγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων.

Σχόλιο άρθρου

Ο ιός της ηπατίτιδας C απομονώθηκε το 1989, μετά από 20 σχεδόν χρόνια προσπαθειών. Χρησιμοποιούνται 3^{ης} γενιάς EIAs που ανιχνεύουν αντισώματα σε ανασυνδυασμένα αντιγόνα του πυρήνα και των μη δομικών πρωτεϊνών NS3, NS4, NS5. Παρά το ότι υπάρχουν εξαιρετικά αποτελεσματικά ευθέως δρώντα αντικά φάρμακα πολλοί πιστεύουν πως ο στόχος της παγκόσμιας εκρίζωσης του ιού δεν μπορεί να επιτευχθεί μόνο με τη χορήγηση φαρμακευτικής αγωγής (υποδιάγνωση της λοίμωξης, περιορισμένη πρόσβαση στην θεραπεία, υψηλό κόστος αγωγής, αντοχή στα υπάρχοντα αντικά, επαναλοίμωξη). Από την άλλη πλευρά, η προσπάθεια για δημιουργία εμβολίου έναντι του HCV παρεμποδίζεται από την εξαιρετική ετερογένεια του ιού (γονότυποι, υπότυποι, «σχεδόν-είδη»), τους πολλαπλούς τρόπους αλληλεπίδρασης του ιού με το ανοσοποιητικό σύστημα του ανθρώπου και την έλλειψη κατάλληλου προκλινικού πειραματικού μοντέλου για τη μελέτη των υποψήφιων εμβολίων (οικονομικοί, ηθικοί πρακτικοί λόγοι).

Αυτό που γνωρίζουμε ως τώρα είναι ότι η κάθαρση της HCV λοίμωξης απαιτεί CD8⁺ και CD4⁺ T κύτταρα, αλλά και αντιγονο-ειδικά ευρέως εξουδετερωτικά αντισώματα. Ως τώρα τα πιο ισχυρά και ευρέως εξουδετερωτικά αντισώματα που έχουν απομονωθεί έχουν χαρτογραφηθεί στην E2 εξουδετερωτική πλευρά, μια κυρίως υδροφοβική επιφάνεια που σχηματίζεται από το πρόσθιο στρώμα της E2 και την άκρη της CD81 αγκύλης σύνδεσης, και στο E1E2 ετεροδιμερές.

Στο τεύχος Μαρτίου 2020 του *Gastroenterology*, οι Chen και συνεργάτες δημοσιεύουν τα αποτελέσματα της μελέτης τους που είχε ως στόχο την κατανόηση της αντισωματικής απάντησης σε γλυκοπρωτεΐνες του HCV και την αξιολόγηση προκλινικών ζωικών μοντέλων για την ανάπτυξη προφυλακτικού εμβολίου έναντι του HCV. Οι ερευνητές επέλεξαν τη μελέτη των ανασυνδυασμένων γλυκοπρωτεϊνών E1E2 γονοτύπου 1a με ανοσογόνα (AddaVax, Adjuvlex) σε NHPs και ποντικούς (5 και 4 δόσεις αντίστοιχα). Επίσης, χρησιμοποίησαν ορούς υγιών εθελοντών, από προηγούμενη κλινική μελέτη, οι οποίοι είχαν ανοσοποιηθεί με διαφορετικές δόσεις HCV-1 E1E2 με ανοσογόνο (MF59) για ολικά και εξουδετερωτικά αντι-E1E2 αντισώματα.

Οι τίτλοι των εξουδετερωτικών αντισωμάτων παρουσίασαν την μέγιστη αύξησή τους 1 εβδομάδα μετά την 3^η ανοσοποίηση στον ορό ανθρώπων και NHPs, ενώ μετά την 4^η ανοσοποίηση στον ορό ποντικών. Επιπλέον, οι αυξανόμενοι τίτλοι των E1E2 αντισωμάτων σε ανθρώπειο και NHPs ορό συσχετίστηκαν θετικά με αυξημένη εξουδετερωτική δραστηριότητα, αλλά αυτή η συσχέτιση δεν διαπιστώθηκε στα ποντίκια. Παρατηρήθηκαν υψηλότεροι τίτλοι εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι αυτόλογων HCV-1 HCV ψευδοσωματίων σε NHPs και ποντίκια με E1E2/Adjuvlex και όχι σε E1E2/AddaVax. Αν και οι συνολικοί τίτλοι E1E2 ήταν παρόμοιοι σε όλους τους ανθρώπειους ορούς, μόνο το 41% αυτών διατήρησε μια παρατεταμένη απάντηση (>3 μήνες), το 23% (<3 μήνες) και οι υπόλοιποι είχαν μη εξουδετερωτικό ορό. Η διαφορετική απόκριση στη διάρκεια των αντισωμάτων δεν συσχετίστηκε με τη δόση.

Επίσης, οι ερευνητές συνέκριναν επιτόπους. Οι επίτοποι του N-αμινοτελικού άκρου της E1 και η υπερμεταβλητή περιοχή 1 της E2 αποτελούσαν συχνά στόχο του ορού ανθρώπων, NHPs και ποντικών. Παρόλα αυτά, τα εξουδετερωτικά αντισώματα από τον ορό NHPs και ανθρώπων στόχευαν επιπλέον και ασυνεχείς επιτόπους στην «εξουδετερωτική

πλευρά της E2» που έχει διασταυρούμενες αντιδράσεις με το ανθρώπινο αντίσωμα bNAb AR3A, ενώ ο ορός των ποντικών όχι.

Μετά την 4^η ανοσοποίηση ο ορός ανθρώπων, NHPs και ποντικών εξουδετέρωνε αποτελεσματικά τον αυτόλογο γονότυπο 1a, αλλά μόνο ο ορός ανθρώπων και NHPs εξουδετέρωνε και τον γονότυπο 5a. Κανένας από τους ορούς δεν εξουδετέρωνε αποτελεσματικά άλλους ετερόλογους γονότυπους. Επίσης, ο εξουδετερωτικός ορός ανθρώπων και NHPs ανταγωνιζόταν για δομικούς επίτοπους που αντιδρούν σε ανθρώπια μονοκλωνικά αντισώματα (AR3A, AR5A), ενώ ο ορός ποντικών δεν ανταγωνιζόταν για επίτοπους που αντιδρούν στα 5 μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν. Οι ερευνητές για να αξιολογήσουν το εύρος των μεμονωμένων εξουδετερωτικών αντισωμάτων, απομόνωσαν μονοκλωνικά αντισώματα από πλασμαβλάστες και E2-ειδικά μνημονικά B κύτταρα από το περιφερικό αίμα των NHPs μετά την 4^η ανοσοποίηση. Αν και όλα τα E2-ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα εξουδετέρωσαν τον HCVrr γονότυπο 1a, τα περισσότερα εξ αυτών εξουδετέρωσαν ετερόλογους HCVrr με ποικίλη αποτελεσματικότητα.

Φαίνεται πως τα ποντικά δεν μπορούν να αναπαράγουν πιστά την ανοσιακή απόκριση του ανθρώπου στον HCV και ότι τα NHPs παραμένουν το προτιμώμενο πειραματικό μοντέλο για την ανάδειξη εξουδετερωτικών αντισωμάτων έναντι ανοσογόνων του HCV επειδή η κινητική, η αντιδραστικότητα και το εξουδετερωτικό εύρος των εξουδετερωτικών αντισωμάτων από ανοσοποιημένα NHPs ομοιάζει με εκείνα που υπάρχουν στους ανοσοποιημένους ανθρώπους. Όμως, το ανοσογόνο που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή τη σύσταση εμβολίου προκάλεσε παρατεταμένη απόκριση εξουδετερωτικών αντισωμάτων σε λιγότερο από το 50% των ανθρώπων μετά από 4 δόσεις (ακόμη και στην μεγαλύτερη δόση). Επίσης, ο ορός ανθρώπων και NHPs δεν εξουδετέρωσε αποτελεσματικά ετερόλογους HCVrr γονότυπους (με εξαίρεση τον γονότυπο 5).

Απαιτείται έρευνα με νέους συνδυασμούς E1E2 πρωτεϊνών που θα περιλαμβάνουν πιο ισχυρά ανοσοενισχυτικά και θα έχουν E1E2 ανοσογόνα που θα έχουν διασταυρούμενες αντιδράσεις για να μπορέσει να επάγει διατηρούμενα, διασταυρούμενα εξουδετερωτικά αντισώματα για μπορούν να ξεπεράσουν την γενετική ετερογένεια του HCV και την πολύπλοκη αλληλεπίδρασή του με το ανοσοποιητικό μας σύστημα. Ίσως, υπάρξει κάτι πιο

ελπιδοφόρο σε εμβόλια που θα στοχεύουν ταυτόχρονα σε επαγωγή εξουδετερωτικών αντισωμάτων από τα Β κύτταρα, αλλά και διέγερσης των CD4 βοηθητικών Τ κυττάρων.

Link άρθρου: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.11.282/>

Βιβλιογραφία

1. Law JL, Chen C, Wong J, Hockman D, Santer DM, Frey SE, Belshe RB, Wakita T, Bukh J, Jones CT, Rice CM, Abrignani S, Tyrrell DL, Houghton M. A hepatitis C virus (HCV) vaccine comprising envelope glycoproteins gpE1/gpE2 derived from a single isolate elicits broad cross-genotype neutralizing antibodies in humans. PLoS One 2013;8:e59776.
2. Raziorrouh B, Sacher K, Tawar RG, Emmerich F, Neumann-Haefelin C, Baumert TF, Thimme R, Boettler T. Virus-Specific CD4+ T Cells Have Functional and Phenotypic Characteristics of Follicular T-Helper Cells in Patients With Acute and Chronic HCV Infections. Gastroenterology. 2016 Mar;150(3):696-706.e3.

Μπέλλου Αριστέα

Παθολόγος-Ηπατολόγος

Επιστημονική Συνεργάτιδα

Παθολογικής Κλινική & Ομώνυμο Ερευνητικό Εργαστήριο

Κέντρο Εμπειρογνωμοσύνης για τα Αυτοάνοσα Νοσήματα του Ήπατος

Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λάρισας