

Směry vývoje vakcíny proti HIV (An HIV Vaccine – Evolving Concepts)

Johnston Margaret I., Fauci A.S.
N Engl J Med, Vol. 356, 2007, č. 20, s. 2073-81
Volně přeložil a zkrátil MUDr. Plesník

Klasické vakcíny napodobují přirozenou expozici organismu mikrobům. Poskytují většině očkovaných vysokou a dlouhotrvající ochranu před infekcí a mají významné místo v prevenci. Ač tento typ vakcíny je i konečným cílem snah o přípravu vakcíny proti viru lidského imunodeficitu (HIV), mimořádná genetická variabilita a jiné unikátní vlastnosti obalového proteinu HIV až dosud brání přípravě účinné vakcíny. Ze studií patogeneze HIV u lidí a zvířecích modelů však víme, že užitečná může být také vakcína, která navodí velkou imunitní reakci T-buněk i bez přítomnosti neutralizačních protilátek. Vakcínou vyvolané reakce T-buněk mohou snížit počáteční virémii a chránit před časnou a masivní destrukcí paměťových CD4+ T-buněk, které potlačují infekci a prodlužují interval mezi nákazou a projevy nemoci. Pokud vakcína omezí replikaci viru může také snižovat další přenos viru, neboť ten přímo souvisí s množstvím viru v plasmě. T-buněčné vakcíny jsou dosud neprobádanou oblastí a mohou být výzvou pro výzkumníky i řídicí orgány ke studiu jejich používání.

Překážky vývoje vakcíny

Výzkum vedoucí k přípravě více než dvou tuctů léků proti infekci HIV vedl v průmyslově vyspělých státech k výraznému snížení nemocnosti s úmrtností na AIDS. Postupně jsou tato antivirotika stále dostupnější i v ekonomicky slabších státech. Přes stále zdůrazňovanou prevenci šíří se na mnoha místech světa HIV prakticky neustále. Odhaduje se, že denně vzniká asi 14000 nových infekcí.

Většina virů, proti jejichž infekci máme účinné vakcíny, se po proniknutí do brány vstupu před dosažením cílového orgánu nejprve pomnoží a pak se projeví jejich patogenita. V tomto období může být virus zničen imunitním systémem. Pokud předchodí očkování nebo styk s virem vyvolal imunitní paměť specifickou na tento virus, může rychlejší a intenzivnější imunitní reakce zabránit vzniku infekce, nebo zmírnit její průběh.

Interakce HIV a imunitního systému je komplikovaná, význam různých imunitních pochodů pro kontrolu této infekce je objasněn jen částečně. Prvá etapa infekce HIV začíná nástupem viremie, kterou lze zjistit kolem 7. dne nákazy a která vrcholí asi za 3 týdny po expozici. I když mezi infikovanými osobami jsou značné rozdíly ve virové náloži a imunitními reakcemi, první známkou HIV-specifické imunitní reakce je vzestup HIV-specifických CD8+ a CD4+ T-buněk. Hladina viru po 2-6 měsících od nákazy klesne průměrně deset- až stokrát a ustálí se na rovnovážném stavu. Říká se, že snížení viremie způsobily CD8+ T-buňky. Ač protilátky se objevují po 6-12 týdnech od nákazy, neutralizační protilátky nelze prokázat před výrazným poklesem viremie v plasmě. Efekt protilátkové reakce je dále snižován rychlými genetickými změnami proteinu virového obalu, které umožňují viru uniknout detekci současně cirkulujícími protilátkami. Po dosažení rovnovážného stavu CD8+ T-buňky stále snižují hladinu HIV, ale jejich účinnost postupně klesá, nejspíše následkem změn složení obalu viru.

Rovnovážný stav je v kohortě neléčených osob předzvěstí dalšího průběhu nemoci. Zvláštností infekce HIV je, že už na počátku primární infekce vzniká skupina latentně infikovaných, klidových CD4+ T-buněk. V podstatě u všech pacientů dojde k trvalé infekci,

kteřá zpravidla neúprosně pokračuje, ač v celém průběhu nákazy je infikovaná jen malá část vnímavých buněk. Ve skutečnosti nikdy nedojde u infikované osoby k vymizení HIV z těla. Ani po dlouhodobé antiretrovirové terapii, která sníží virémii pod prokazatelnou hladinu (méně než 50 kopií RNA/ml), není infekce HIV eradikovaná. Tuto persistenci viru dokazuje trvalé obnovování počtu HIV-infikovaných buněk.

Krátká doba, ve které je možné eradikovat HIV a zabránit vzniku persistentní infekce, končí vznikem skupiny (půlu) latentně infikovaných buněk. Tento jev infekce HIV je zcela odlišný od téměř všech jiných virových infekcí, u nichž počáteční replikace nevede ke vzniku trvalého ložiska infekce. Proto je klasický vývoj vakcinace u HIV velkým problémem. Obvykle má očkování chránit před onemocněním a nakonec dosáhnout eradikace mikroba, i když mohou proběhnout počáteční kroky replikace viru.

Zaměření na monomery obalových proteinů

Snaha o přípravu účinné vakcíny vznikla hned po identifikaci HIV. Většina výrobců vakcín zvolila stejný postup, jaký se osvědčil při přípravě geneticky upravené vakcíny proti VH-B. Zaměřila se na využití rekombinant virového obalu, které jsou u HIV-infikovaných osob cílem neutralizačních protilátek. Předpokládali, že protilátky proti virovému obalu se navážou na viriony HIV, neutralizují a odstraní je dříve než dojde k nákaze.

Ve více než dvou tuctech klinických studií v 1. fázi se testovala bezpečnost a imunogenita solubilních forem zevního glykoproteinu 120 (gp120), dále kompletního, nebo všech složek rozštěpeného prekurzového proteinu gp160 a obalových peptidů. Gp120, produkovaný buněčnými liniemi savců, vyvolával nejvyšší hladiny neutralizačních protilátek v laboratorních pokusech, které využívaly k růstu HIV nesmrtelné buněčné linie T-buněk a ověřovaly účinek gp120. Bohužel, pozdější experimenty ukázaly, že protilátky nestačí na neutralizaci růstu primárních izolátů HIV v čerstvých mononukleárech periferní krve. Protože nebyl znám význam těchto laboratorních nálezů pro kliniku a proto, že gp120 chránily šimpanzy před infekcí HIV, uskutečnila se 2. fáze pokusu ve třech studiích. Použité vakcíny však neposkytovaly zdravým osobám ochranu před infekcí HIV.

Od té doby základní výzkum obalu HIV přinesl některé poznatky o příčinách obtížnosti neutralizace primárních izolátů HIV neutralizačními protilátkami. Obal virionu netvoří monomer, ale trimer. Imunogenní složky monomeru jsou v trimerní obalu virionu překryty. Obalový protein je skryt po množstvím N-vázaných glykanů, vykazuje značné konformační změny vazebného místa na receptor na povrchu CD4 buněk, se kterým přichází do styku značně variabilní sekvence proteinu. Žádoucí účinek protilátek se nemůže uplatnit při změnách vazebných míst, objevují se tzv. únikové varianty HIV. Navíc se zdá, že k prevenci nákazy HIV je třeba vysokých hladin neutralizačních protilátek. Příslibem řešení tohoto problému je existence vysoce stabilních epitopů. To umožňuje získat od HIV-infikovaných osob široce reagující monoklonální neutralizační protilátky, byť se vyskytují zřídka.

T-buněčná imunita v kontrole infekce HIV

Další poznatky patogeneze infekce HIV a imunitních reakcí přispívajících ke kontrole replikace viru obrátily pozornost na imunitu zprostředkovanou T-buňkami. Nejdůležitější představitelé buněčné imunity – cytotoxické CD8+ T lymfocyty – rozpoznávají virové peptidy molekul hlavního histokompatibilního komplexu na povrchu buněk infikovaných HIV. Cytotoxické T lymfocyty mohou v laboratorních podmínkách likvidovat nebo potlačovat infikované buňky a uplatňují se na počátku infekce při tlumení virémie. Kvalita jejich reakce může být pro kontrolu infekce HIV rozhodující. Bohužel latentně infikované buňky cytotoxickému působení T lymfocytů odolávají. Jen když jsou aktivovány a produkují viriony, které napadají nové buňky, mohou tyto lymfocyty pomoci ke kontrole infekce, ale nedojde k úplné likvidaci všech rezervoárů HIV.

T-buněčné vakcíny

Pro studium mechanismů, kterými vakcíny navozující primární odpovědi T-buněk na virovou infekci a onemocnění, se u nákazy HIV osvědčily pokusy na zvířatech. Bez ohledu na způsob expozice je infekce SIV u makaků charakterizována vznikem virémie a dalším průběhem, který je podobný infekci HIV u lidí. Bylo zjištěno, že v prvních týdnech infekce SIV dochází k masivní destrukci CD4+ paměťových T-lymfocytů v lymfatické tkáni střeva, což bylo nedávno pozorováno i při infekci HIV.

Imunizace primátů (mimo lidi) vakcínami, které vyvolávají hlavně reakce T-buněk, vedla k omezení a zpomalení počátku virémie, ke snížení stabilních hladin viru a k poklesu celkové virové nálože během první etapy infekce. U řady pokusných zvířat byla zpomalena progresse nemoci, což souviselo s intenzitou postvakcinační reakce.

Může být očkování vakcínou, která nezabrání nákaze, ale sníží hladinu HIV a uchrání ještě neinfikované paměťové CD4+ T-buňky, užitečné? Z dřívějších zkušeností a podle pokusů na zvířatech lze usoudit, že osoby, které budou očkovány T-buněčnými vakcínami před nákazou mohou být delší dobu prosté projevů nemoci, a že by bylo u nich možné později začít s antiretrovirovou terapií, která je nákladná a má po nějaké době závažné nežádoucí následky.

Navíc, je-li začátek infekce mírnější a jsou-li paměťové CD4+ T-buňky v lymfatické tkáni střeva zachovány, může silná, vakcínou navozená imunitní reakce T-buněk likvidovat buňky infikované HIV dříve, než se z nich uvolní nové viriony. Ve většině studií byli očkováni primáti exponováni dávkou SIV, postačující k infekci všech kontrolních zvířat. Ovšem odhad pravděpodobnosti akvirace infekce HIV je jen 0,00007 až 0,0028 na koitus, což je dáno stádiem infekce a chyběním antiretrovirové terapie u partnera-zdroje nákazy. Pravděpodobnost přenosu infekce zvyšuje současná nákaza HSV-2. Je možné očekávat, že potentní T-buněčná vakcína může oddálit, nebo poskytnout jakousi ochranu před infekcí.

V různých studiích se ukázalo, že na epidemickém šíření HIV se podílí hlavně osoby s vysokou virovou náloží. Počáteční a konečná fáze infekce bývá u neléčených osob provázena nejvyššími hladinami HIV, takže častěji dochází k přenosu viru. Postvakcinační imunita, která by dokázala potlačit primární virémii a lépe kontrolovat hladiny viru, by také snižovala nakažlivost infikovaných osob a šíření HIV. Velikost takového efektu by však byla ovlivněna řadou faktorů, např. potenci vakcíny, mohutností ochrany, stupněm proočkovanosti, nebo rizikovým chováním.

Možné potíže

K získání licence bude nejspíš třeba prokázat, že T-buněčnou vakcínou vyvolané snížení počáteční virémie HIV skutečně zpomaluje rozvoj AIDS, nebo oddaluje potřebu začít s podáváním antiretrovirotik.

Kontrola infekce po podání T-buněčných vakcín nejspíš nebude dokonalá. Jak pro jejich vývoj, tak pro rozhodování o jejich použití bude složité posoudit, zda úroveň a trvání imunity navozené v klinických studiích postačuje a je dostatečnou zárukou jejich licencování.

S ohledem na potřebu posouzení významu T-buněčných vakcín pro ochranu veřejného zdraví bude asi třeba realizovat další fáze výzkumu, které by měly zjistit, zda očkování brzdí přenos HIV v populaci.

Vakcína, která pouze oddaluje ale nebrání manifestaci nákazy, nemůže sama o sobě stačit k prevenci AIDS. Bude vhodná jen jako součást širšího preventivního programu, zaměřeného na eliminaci, či aspoň redukci chování rizikového pro přenos nákazy HIV. Jinak hrozí, že přehnané naděje v preventivní účinek očkování ještě zvýší expozici HIV.

Závěr

V současnosti testované vakcíny nevedou ke vzniku imunitních reakcí, které by dokázaly eliminovat HIV z těla dříve, než se latentně uchytí v některém orgánu- rezervoáru. Je však naděje, že i méně dokonalé vakcíny mohou být na prospěch jak jednotlivcům, tak společnosti. Utlumením počáteční virémie a snížením hladin viru mohou tyto vakcíny prodloužit dobu bez projevů nemoci a zmenšit nakažlivost infikovaných osob. Licencované vakcíny by měly být podávány jen jako součást komplexního preventivního programu.

50 citací, kopie u překladatele

Poznámky překladatele:

O další možnosti imunizace proti HIV píše Jane Bradbury (infection.thelancet.com, Vol 7, July 2007, s. 451). Výzkumníci našli postup, kterým lze navodit vznik zkříženě reagujících neutralizačních protilátek proti HIV. Očkovali králíky rozpustným, oligomerním preparátem obalového proteinu gp140 HIV, který izolovali od infikovaných pacientů, tvořících neutralizační protilátky proti několika subtypům HIV, k němuž přidali adjuvans AS02A, což je emulze oleje a vody. Tato směs vyvolala tvorbu poměrně účinných protilátek, které neutralizovaly všechny (48) testované subtypy HIV-1. Nadějně výsledky svědčí pro možnost navodit široké spektrum neutralizačních protilátek proti HIV.

Tamtéž píše Bradbury o nejasných příčinách rychlosti progresu infekce HIV do AIDS. Skupina výzkumníků usoudila, že tuto progresi silně ovlivňují dvě složky vrozené imunitní reakce, a to imunoglobulinové receptory přirozených zabíječů (NK-buněk) a jejich ligandy, molekuly HLA-B. K tomuto názoru došli po vyšetření NK-buněk a lokusů HLA-B od 1500 HIV-1 pozitivních osob. Výsledky zdůrazňují význam NK-buněk pro potlačení infekce HIV.

Důležitou součástí prevence infekce HIV je ochrana před přenosem viru krví a krevními deriváty. V roce 1983 zakázal americký Úřad pro potraviny a léky (FDA) dárce krve mužům, kteří se po roce 1977 (začátek epidemie AIDS) pohlavně stýkali s jiným mužem (MSM). Stále narůstající nedostatek dárců krve však vede různé zdravotnické organizace a společnosti dárců krve k tlaku na FDA, aby celoživotní zákaz darování krve pro MSM byl změněn na zákaz darování po dobu jednoho roku od posledního styku. Podle jejich názoru byl rok měl stačit k překrytí „okna“, v němž skriningové testy nezjistí přítomnost malých hladin HIV na počátku infekce. FDA však uvádí statistiky, podle nichž je prevalence HIV u MSM 60krát vyšší než v celé populaci, 800krát vyšší než u osob prvně darujících krev a 8000krát vyšší než u osob darujících krev opakovaně. Navíc současné testy nezjistí všechny HIV-infikované dárce. I kdyby selhaly jen v jednom případě z milionu je to významné riziko. Na druhé straně však odpůrci zákazu poukazují na to, že osoby, které se stýkaly s prostitutkami, nebo s i.v. narkomany, mohou krev darovat již po uplynutí jednoho roku od takového styku. (Larkin Marilyn : US maintains policy on blood donations. [Infection.thelancet.com](http://infection.thelancet.com), Vol 7, July 2007, s. 447).

Zajímavou práci publikovala skupina amerických epidemiologů a ekologů, která v 17 kamerunských vesnicích sledovala demografické a behaviorální okolnosti, vedoucí k expozici domorodců krvi a tělesným tekutinám divoké zvěře. Tyto vesnice jsou v lesnatých oblastech střední Afriky, jejich obyvatelé se běžně zabývají lovem zvířat (včetně různých opic i šimpanzů a goril) a zpracováváním masa z nich. Dochází zde k nákaze lidí virem Ebola, opičích neštovic, viry opičímho imunodeficitu (SIV), opičími foamy viry, nebo opičími T-lymfotropními viry. Autoři zpracovali odpovědi na dotazník a vzorky séra od 3955 domorodců ve věku 16-97 let (53,7 % mužů, 46,3 % žen). Protilátky anti-HIV-1 našli u 191 osob (60,2 % žen, 39,8 % mužů). Anti-HIV-2 neměl nikdo. Téměř všichni HIV-1 infikovaní konzumovali maso divokých zvířat, asi 80 % z nich se podílelo na zpracování tohoto masa, asi 30 % bylo lovci a cca 10 % chovalo doma nějakou opici. Celkem 31 infikovaných přiznalo krvavé poranění způsobené nejčastěji hady, opicemi, hlodavci, antilopami,

mravenečnický, opicemi, ale i šimpanzy, gorilami, nebo krokodýlem. Práce prokázala, že oblasti častého styku lidí s primáty se překrývají s oblastmi epidemického výskytu HIV-1. Lidé a primáti mají shodnou vnímavost k nálezům různými patogeny, takže jejich přenos mezi lidmi a primáty je zřejmě častý. I když se i v Africe zlepšuje dostupnost léků neplatí to pro centrální Afriku. U většiny infikovaných se zde rychle prohlubuje imunitní nedostatečnost a urychluje vznik AIDS. Expozice imunosuprimovaných osob primátům zvyšuje riziko přenosu zvířecích virů na lidi, navíc nahromadění takových osob napomáhá adaptaci zvířecích virů na lidi a přenosu mezi nimi. Příkladem toho může být objevení se HIV-1. Nepochybné je obdobné riziko i jiných zoonóz, vyskytujících se u často lovených zvířat, jako opičích neštovic, hantavirových infekcí hlodavců, nebo lyssavirů od netopýrů.

(LeBreton M, Yang O, Tamoufe U a jiní: Exposure to Wild Primates among HIV-infected Persons. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 13, No. 10, October 2007, s. 1579-82).