

Limiting viral infections with immunomodulating agents

Citation for published version (APA):

Gaajetaan, GR.-GJL. (2012). *Limiting viral infections with immunomodulating agents*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20121129gg>

Document status and date:

Published: 01/01/2012

DOI:

[10.26481/dis.20121129gg](https://doi.org/10.26481/dis.20121129gg)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Samenvatting

Gedurende de laatste eeuwen hebben wereldwijde uitbraken van virussen zoals pokken, influenza en HIV vele levens gekost. Echter, vooral in de westerse wereld zijn de hoge sterftecijfers en ziektegevallen, die veroorzaakt worden door virussen, de laatste decennia sterk afgenomen als gevolg van de ontwikkeling van antivirale medicijnen en vaccins. Het succes van antivirale medicijnen en vaccins kan het beste worden geïllustreerd door de daling van het aantal aidspatiënten en het verdwijnen van het pokkenvirus.

Ondanks deze successen komen virussen nog steeds veel voor en veroorzaken ze regelmatig ernstige gezondheidsproblemen. Door de overbevolking en de toegenomen mobiliteit in de wereld kunnen virussen zich gemakkelijker verspreiden. Ook worden we regelmatig geconfronteerd met nieuwe en/of gemuteerde virussen waarvoor geen vaccins beschikbaar zijn en waar antivirale medicijnen minder effectief tegen zijn. Daarom zijn nieuwe therapieën dringend noodzakelijk.

Normaal gezien is de werking van het immuunsysteem voldoende om ons te beschermen tegen de meeste virale infecties. Echter, extra stimulatie van het immuunsysteem kan essentieel zijn om virale ziekte en verspreiding tegen te gaan wanneer er sprake is van onvoldoende afweer. Daarom worden op dit moment middelen onderzocht die in staat zijn om het immuunsysteem te beïnvloeden, zodanig dat ze als bescherming kunnen worden ingezet tegen virale infecties. In deze thesis hebben we de antivirale eigenschappen en, waar mogelijk, de onderliggende moleculaire mechanismen onderzocht van deze zogenaamde immuunmodulerende middelen. Wij verwachten dat de resultaten van onze studies mogelijk belangrijk kunnen zijn voor de toekomstige toepassing van deze middelen.

Immuunreactie tegen virussen

In deze thesis hebben we onderzocht of we verschillende delen van het immuunsysteem kunnen beïnvloeden om zo de reactie tegen een virus te versterken. De immuunreactie tegen virale infecties wordt normaal geïnitieerd door de stimulatie van zogenaamde herkenningsreceptoren, welke aanwezig zijn zowel op het oppervlak van een cel als binnenin een cel. Tot de familie van de herkenningsreceptoren behoren onder andere de Toll-like receptoren

(TLR's). Als deze receptoren virussen herkennen zetten ze de cel aan om diverse antivirale stoffen te produceren, de zogenaamde type I interferonen (IFN's). Deze IFN's binden vervolgens aan de interferon receptor (IFNAR), die aanwezig is op het oppervlak van de cel, wat resulteert in de activatie van vele verschillende genen ("ISG's"), die antivirale en immuun-gerelateerde functies hebben. Na deze activatie kunnen cellen een antivirale staat aannemen. In deze staat wordt het vermenigvuldigen van het virus in de cel onderdrukt. Daarnaast worden in de buurt gelegen cellen gewaarschuwd en gaan geïnfecteerde cellen vervolgens in apoptose (geprogrammeerde celdood) om verdere verspreiding van het virus te voorkomen.

Alhoewel de meeste cellen type I IFN (IFN α/β) kunnen produceren na een virale infectie, bezit het immuunsysteem speciale cellen, de dendritische cellen (DC's), die in staat zijn om extreem grote hoeveelheden type I IFN te produceren na stimulatie van hun receptoren. Daarom zijn deze DC's onontbeerlijk in de reactie tegen virale infecties, iets wat ook uit onze studies blijkt (**hoofdstuk 3 en 4**).

Antivirale eigenschappen van immuunmodulerende middelen

Immuunmodulerende middelen kunnen de antivirale reactie nabootsen o.a. door het stimuleren van receptoren. Om dit te bewerkstelligen zijn er verschillende stoffen ontwikkeld die de eerder genoemde Toll-like receptoren specifiek kunnen stimuleren (TLR liganden). In **hoofdstuk 3** hebben we uitvoerig onderzocht welke van deze TLR liganden bescherming kunnen bieden tegen een virale infectie en hoe dit wordt gereguleerd. Daarvoor hebben we een bepaald soort immuuncellen gebruikt (de DC's), die een hoge expressie van diverse TLR's hebben, en deze gestimuleerd met de verschillende TLR liganden. Vervolgens hebben we onderzocht of de stoffen geproduceerd door de immuuncellen na TLR stimulatie in staat waren cellen te beschermen tegen een virale infectie. Uit de resultaten bleek dat sommige TLR liganden sterke antivirale effecten hadden. Echter, de manier waarop deze antivirale effecten werden verkregen was verschillend tussen de TLR liganden.

Vanwege het feit dat stimulatie met bepaalde TLR liganden kan leiden tot ontstekingsreacties en andere bijwerkingen, hebben we ook andere immuunmodulerende middelen getest. Probiotica - bacteriën die vooral bekend zijn om hun gezondheids-bevorderende effect in de darmen - zijn namelijk ook in staat om immuuncellen te stimuleren. Op basis hiervan hebben wij in **hoofdstuk 4** bekeken of deze probiotica mogelijk ook antivirale eigenschappen hebben. Om de antivirale sterkte van deze probiotica te bepalen hebben we drie bekende bacterie stammen getest op hun antivirale effecten met behulp van hetzelfde celkweek systeem als in hoofdstuk 3. Opmerkelijk was dat deze sterke antivirale effecten alleen werden gezien bij stimulatie met 2 gelijkaardige stammen (de lactobacillen), maar niet bij de afwijkende 3^e stam (bifidobacterium). De manier waarop de antivirale effecten van lactobacillen werden verkregen leek sterk op de werking van één specifieke TLR ligand uit hoofdstuk 3.

Eerdere studies hebben aangetoond dat de groei van probiotica in de darmen gestimuleerd wordt door de toediening van bepaalde koolhydraten, genaamd oligosachariden. Onderzoek heeft ook uitgewezen dat de toediening van een specifieke mix van oligosachariden tot bepaalde immuunreacties kan leiden. Gebaseerd op de geobserveerde antivirale effecten van de twee probiotica stammen in hoofdstuk 4, hebben wij onderzocht of zo'n mix het aandeel probiotica met antivirale karakteristieken kan versterken om zo een meer efficiënte antivirale respons te verkrijgen. Daarom hebben we muizen op een oligosacharidenrijk dieet gezet waarvan eerder was aangetoond dat het immuunmodulerende effecten heeft (**hoofdstuk 5**). Vervolgens zijn deze muizen geïnfecteerd met een herpesvirus en hebben we de hoeveelheid virus geëvalueerd in verschillende organen. Echter, het oligosacharidenrijk dieet bleek geen waarneembaar effect te hebben op de antivirale respons tegen een herpesvirus infectie. Het is mogelijk dat de oligosachariden alleen effectief zijn gedurende infecties van de darmen of dat ze lokaal moeten worden toegediend. Ook hebben we de samenstelling van de bacteriën in de darmen van de dieet-gevoede muizen niet bepaald. Daarom kunnen we de mogelijkheid niet uitsluiten dat de afwezigheid van antivirale effecten een gevolg is van de beperkte groei van probiotica.

Een andere mogelijkheid om de antivirale respons te beïnvloeden is om de productie van antivirale stoffen, zoals de ISG's, te stimuleren. Om dit te

verwezenlijken kan type I IFN (IFN α of IFN β) direct worden toegediend. IFN α wordt bijvoorbeeld al gebruikt voor de behandeling van patiënten die chronisch geïnfecteerd zijn met het hepatitis C virus (HCV) en IFN β wordt toegepast als ontstekingsremmend middel in multiple sclerose (MS) patiënten. Echter, naast de sterke antivirale effecten in HCV- of HIV-geïnfecteerde patiënten, ervaren deze patiënten vaak ernstige bijwerkingen wanneer type I IFN herhaaldelijk wordt geïnjecteerd. Dit impliceert dat de klinische toepasbaarheid van dit type IFN tegen virale infecties beperkt is. Desalniettemin kan type I IFN therapie aantrekkelijk zijn wanneer blijkt dat IFN ook werkzaam is wanneer het niet frequent hoeft te worden gebruikt, op de plaats van een mogelijke infectie kan worden toegediend én werkzaam is in lage concentraties. Dit is mogelijk belangrijk voor COPD en astma patiënten, die een gebrekkige productie van type I IFN hebben en daarom gevoelig zijn voor virale luchtweginfecties, welke vaak verantwoordelijk zijn voor acute verslechtingen van hun gezondheidstoestand. Daarom hebben we in een celkweek systeem onderzocht of IFN β de epitheelcellen afkomstig uit de luchtwegen kan beschermen tegen een infectie met het verkoudheidsvirus, ook wel rhinovirus (RV) genoemd (**hoofdstuk 6**). In deze studie hebben we niet alleen verschillende concentraties van IFN β getest, maar hebben we ook gekeken hoe lang een enkele dosis beschermend werkte tegen een infectie. Uit onze experimenten bleek dat IFN β goed in staat was om de epitheelcellen te beschermen tegen een RV infectie. Belangrijker echter was de bevinding dat zelfs lage IFN β concentraties de epitheelcellen beschermden tegen een RV-infectie, die pas 72 uur na de behandeling plaatsvond. Deze experimenten lieten dus zien dat IFN β nog steeds effectief kan zijn tegen RV-infecties ondanks minder frequent gebruik van IFN β .

Conclusie en toekomstperspectief

Onze celkweek data laten zien dat stimulatie van cellen met immuunmodulerende middelen leidt tot sterke antivirale effecten. Het beïnvloeden van de antivirale reactie resulteerde in beperking van virale vermenigvuldiging en infectie door stimulatie op receptor niveau (TLR liganden en probiotica), cel niveau (de DC's) en effector niveau (IFN β). Echter, om hun potentieel verder te onderzoeken in het kader van toekomstige klinische

toepassingen zijn dierexperimenten onontbeerlijk. Het voorkomen of beperken van virale luchtweg infecties door middel van deze middelen is interessant omdat deze virale infecties veel voorkomen en erg besmettelijk zijn en nog belangrijker, een adequate therapie ontbreekt momenteel. Verder is het belangrijk om de moleculaire en cellulaire mechanismen, die betrokken zijn bij de afweerreactie tegen virale (luchtweg-) infecties, beter te begrijpen, zodat we op den duur in staat zullen zijn om effectieve immuunmodulerende middelen te ontwikkelen en daarmee infecties uiteindelijk succesvol te voorkomen of te behandelen.