BNT162b2 induces SARS-CoV-2 neutralising antibodies and T cells in humans

Ugur Sahin, Alexander Muik, Isabel Vogler,
Evelyna Derhovanessian et al.

Aralık 11, 2020
https://doi.org/10.1101/2020.12.09.20245175

Sunan: Dr. Sultan Gülbahçe Orhan

28.01.2021

BNT162b2 induces SARS-CoV-2-neutralising antibodies and T cells in humans

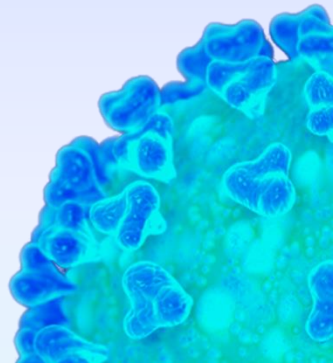
Ugur Sahin, Alexander Muik, Isabel Vogler, Evelyna Derhovanessian, Lena M. Kranz, Mathias Vormehr, Jasmin Quandt, Nicole Bidmon, Alexander Ulges, Alina Baum, Kristen Pascal, Daniel Maurus, Sebastian Brachtendorf, Verena Lörks, Julian Sikorski, Peter Koch, Rolf Hilker, Dirk Becker, Ann-Kathrin Eller, Jan Grützner, Manuel Tonigold, Carsten Boesler, Corinna Rosenbaum, Ludwig Heesen, Marie-Cristine Kühnle, Asaf Poran, Jesse Z. Dong, Ulrich Luxemburger, Alexandra Kemmer-Brück, David Langer, Martin Bexon, Stefanie Bolte, Tania Palanche, Armin Schultz, Sybille Baumann, Azita J. Mahiny, Gábor Boros, Jonas Reinholz, Gábor T. Szabó, Katalin Karikó, Pei-Yong Shi, Camila Fontes-Garfias, John L. Perez, Mark Cutler, David Cooper, Christos A. Kyratsous, Philip R. Dormitzer, Kathrin U. Jansen, Özlem Türeci

doi: https://doi.org/10.1101/2020.12.09.20245175

Giriş

SARS-CoV-2’nin neden olduğu pandeminin insan toplumu üzerindeki etkisi düşünüldüğünde, güvenli ve etkili profilaktik aşıların hızlı gelişimi son derece önemli hale gelmiştir.

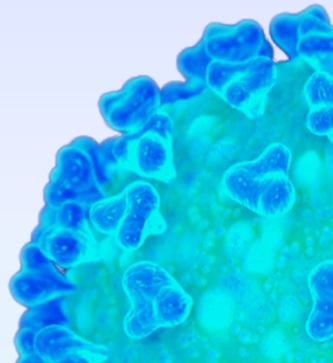
Lipid nanopartikül (LNP) ile formüle edilmiş mRNA aşı teknolojisi, immünojenin kesin genetik bilgilerini, antijen sunan hücrelere iletmekte ve güçlü immün yanıtlar ortaya çıkarmaktadır.



Giriş

mRNA, geçici olarak ifade edilir, genoma entegre olmaz ve fizyolojik yolaklarla yıkılır.

mRNA üretimi ve LNP formülasyon süreçleri, birçok aşı dozunun hızlı üretimine olanak tanır. Bu da bu yöntemi hızlı aşı geliştirmeye ve pandemik aşı tedariğine uygun hale getirir.



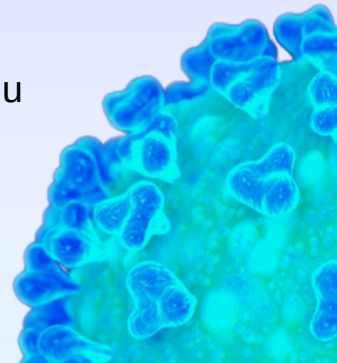
Giriş

BioNTech-Pfizer COVID-19 ortak RNA aşı geliştirme programı olan ‘Project Lightspeed’de 4 LNP mRNA aşı adayı geliştirilmiş

- Almanya ve ABD'de iki faz I / II denemesinde araştırılmış
- En güçlü iki aday BNT162b1 ve BNT162b2

- LNP ile formüle edilmiş, N-metilpseudouridine* nükleosid modifiye mRNA (modRNA)
- 21 gün arayla iki doz, intramüsküler uygulama

*Doğal bağışıklık tarafından algılanmasını azaltmak ve in vivo mRNA translasyonunu artırmak için üridin yerine 1-metilpseudouridin içerir.

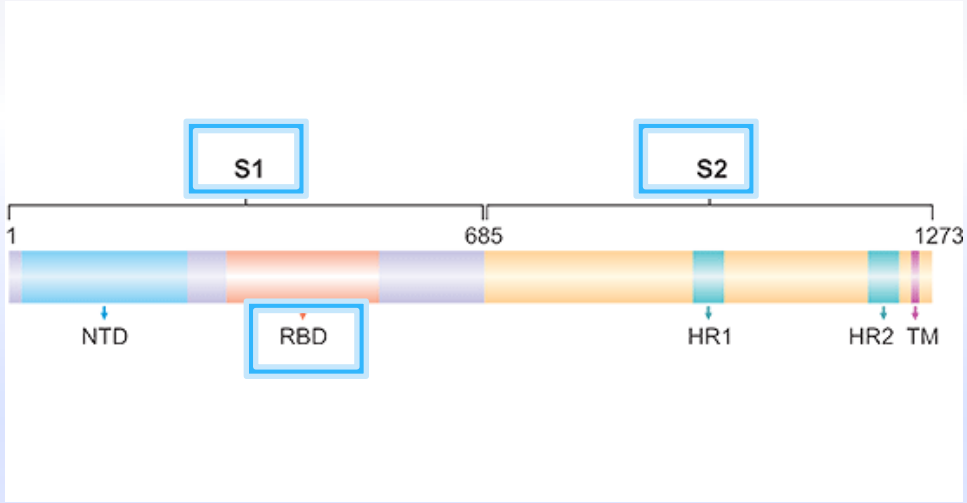


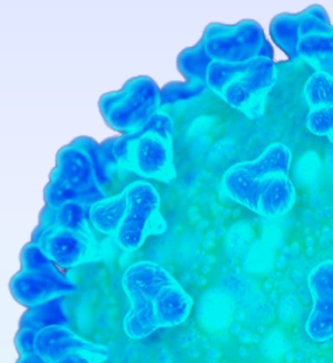
Spike protein has 2 functional regions: S1 and S2

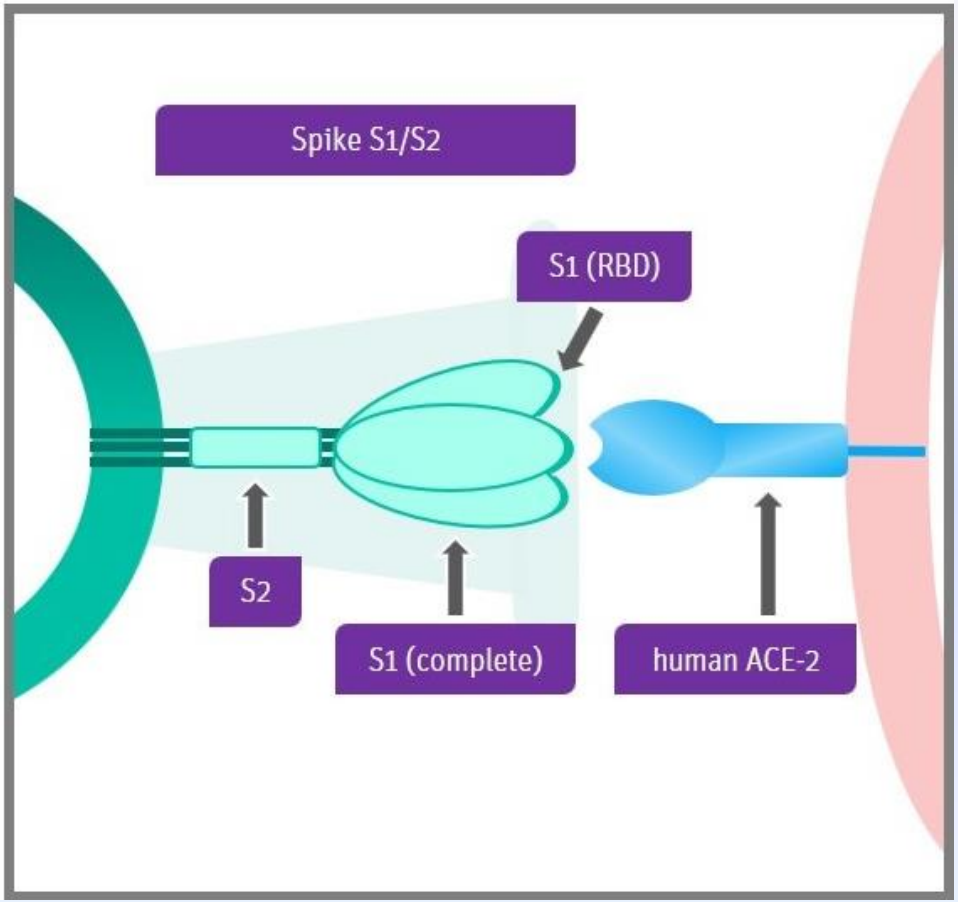
Subunit 1 (S1)

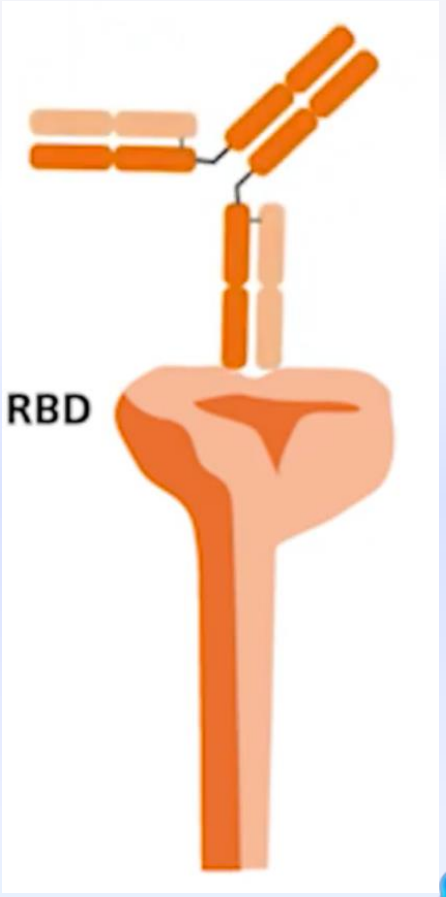
Receptor Binding Domain

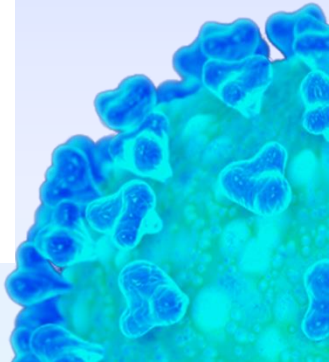
Subunit 2 (S2)






Spike S1/S2
S1 (RBD)
S2
S1 (complete)
human ACE-2


RBD

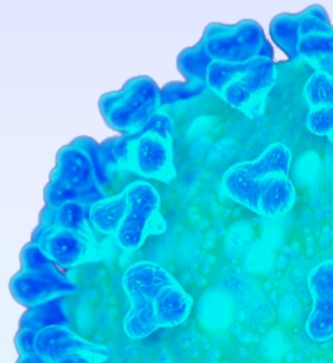


Giriş

BNT162b1, nötralizan antikorların temel hedefi olan **Spike proteininin reseptör bağlanma bölgesini (RBD)** kodlar.

BNT162b2, prefüzyon konformasyonunda stabilize edilmiş **tam uzunluktaki Spike proteinini** kodlar

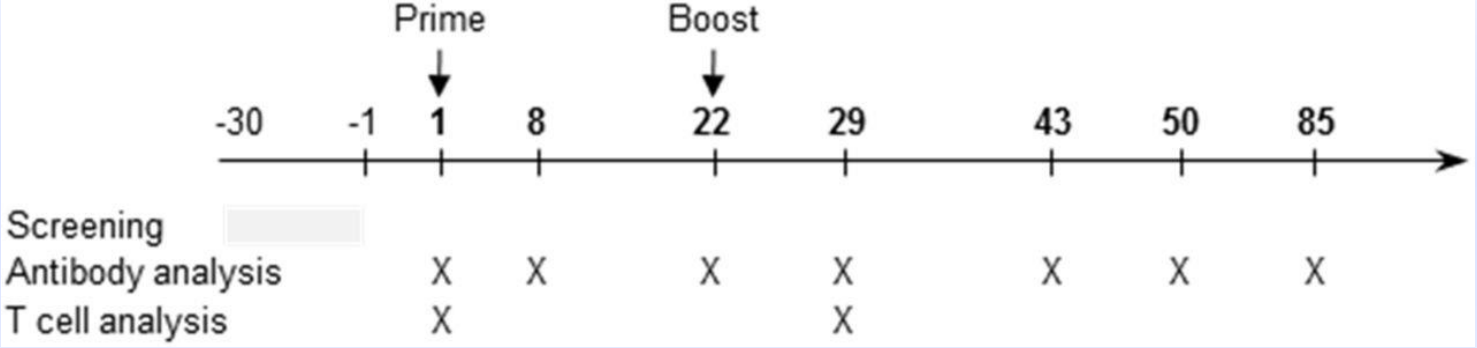
30 µg, iki doz rejimindeki BNT162b2, iki faz 1/2 denemesinde (Almanya, ABD) elde edilen verilere göre, faz 2/3 denemesine ilerletilmek üzere seçilmiştir.



Çalışma tasarımı

- Almanya'da 19-55 yaş arası
- 1, 10, 20 ve 30 µg doz grupları
- Doz kohortu başına 12 katılımcı

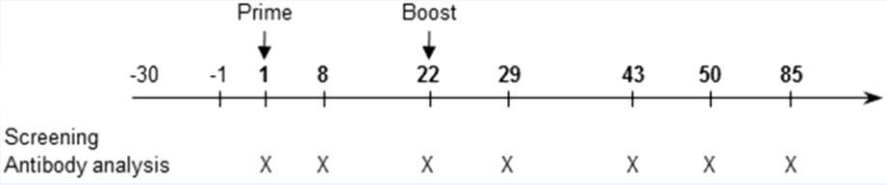
- 1. günde başlangıç dozu (prime)
- 22. günde takviye dozu (boost)

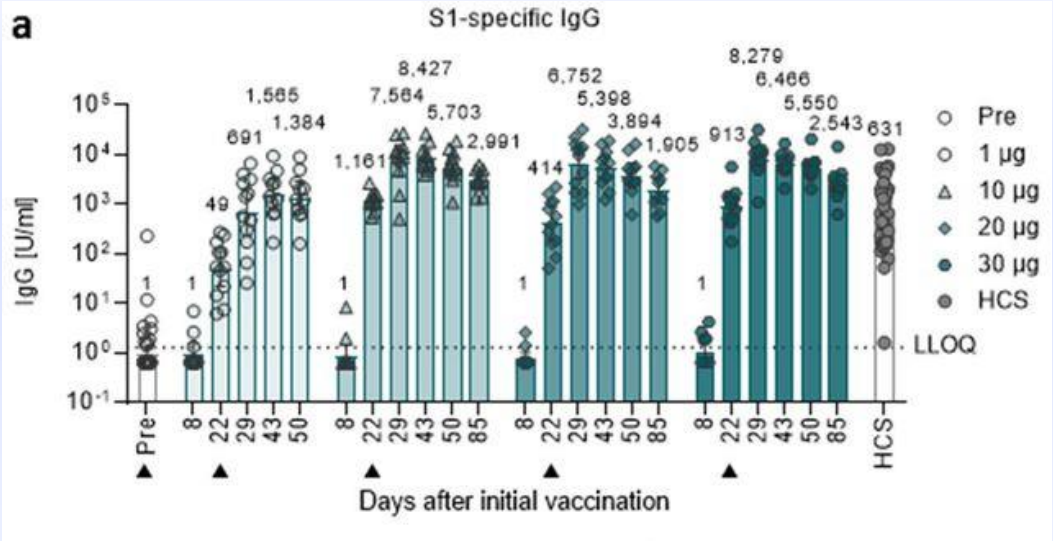


✓Antikor seviyeleri ve virüs nötralizasyon titreleri: doz grubu başına 10-12 katılımcı,

✓Hücresel immün yanıt: doz grubu başına 8-10 katılımcı, başlangıçta ve 29. günde (boost sonrası 7. gün)

Aşı kaynaklı antikor yanıtının karakterizasyonu





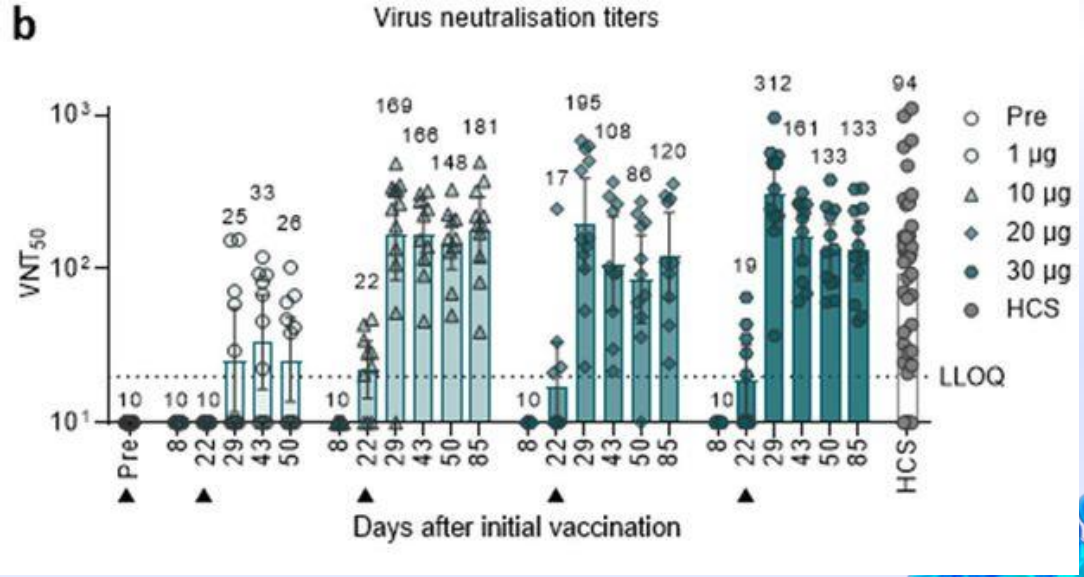
•Güçlü antikor tepkileri
•İlk dozdan 21 gün sonra, S1 bağlayıcı IgG'nin geometrik ortalama konsantrasyonları (GMC 49-1161 U / mL) tüm doz kohortlarında artmıştır.

•Takviye dozundan yedi gün sonra S1-bağlayıcı IgG GMC'ler, 691-8.279 U / mL arasında
•Antikor seviyeleri zamanla azalmış. Ancak GMC'leri 85. günde hala SARS-CoV-2 konvelesan serum panelinde gözlemlenenin çok üzerinde

•Hedef antijen olarak sadece RBD bölgesi kullanılarak da benzer sonuçlar

Aşı kaynaklı antikor yanıtının karakterizasyonu

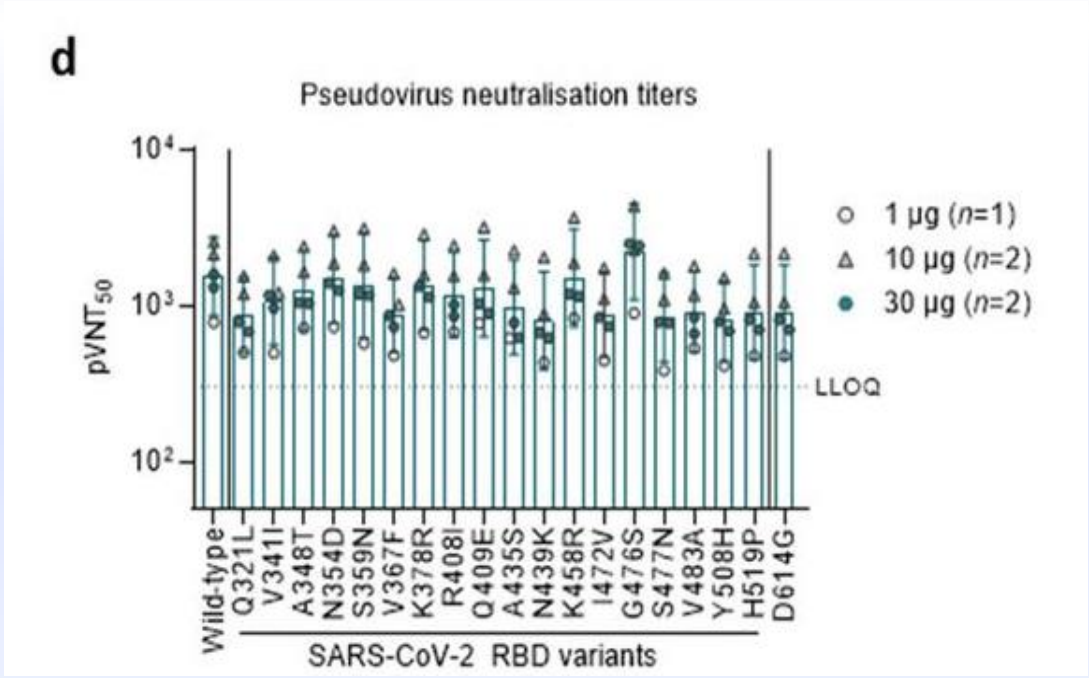
- SARS-CoV-2 geometrik ortalama %50 nötralizasyon titreleri (GMT), **başlangıç dozundan sonra** katılımcıların **sadece bir kısmında** orta derecede artmış
- **Takviye** dozundan **yedi gün sonra** ise,10 µg, 20 µg, 30 µg ile aşılananlarda, **dozla orantılı** seviyelerde (GMT 169, 195,312) **yükselmiştir**
- SARS-CoV-2 nötralizan GMT'ler, 85. güne kadar (boosttan 63 gün sonra) stabil, **HCP 1.3 ila 1.9 katı**



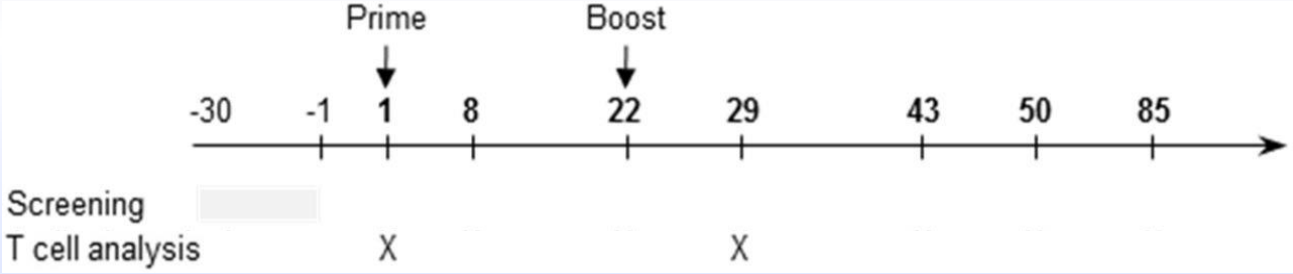
Aşı kaynaklı antikor yanıtının karakterizasyonu

✓18 SARS-CoV-2 **RBD varyantı** psödovirüs nötralizasyon deneyleri
✓2. dozdan yedi gün sonra, SARS-CoV-2 S **varyantlarının her birine yüksek nötralizasyon**
✓**Dolaşımdaki suşlara karşı nötralizasyon kapasitesi geniş**

✓Gelecekte RBD'ye bağlı bir bağışıklıktan kaçış ortaya çıkarsa, RNA platformunun çok yönlülüğü **yeni ortaya çıkan viral suşa hızlı adaptasyonu kolaylaştırabilir**



Aşı kaynaklı T hücre yanıtları

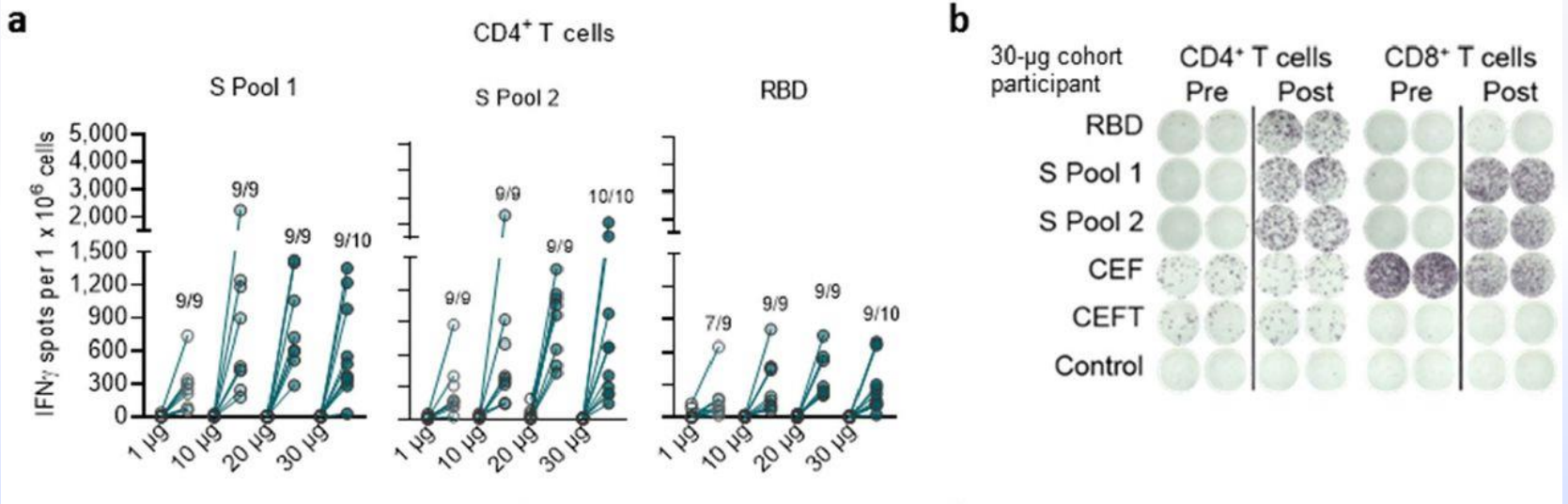


- S1 pool
- S2 pool
- RBD

37 katılımcı

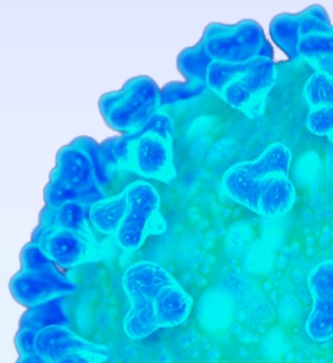
ELISPOT ile **IFNγ** ölçümü

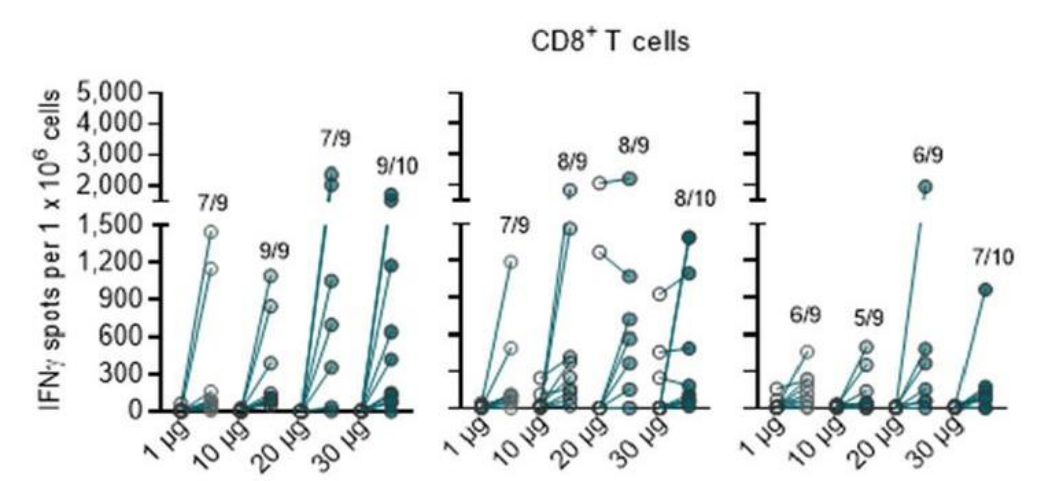
Yaygın patojen T hücre epitop havuzları CEF (CMV, EBV, influenza virüsünün immün dominant HLA sınıf I epitopları) ve CEFT (CMV, EBV, influenza virüsü, tetanoz toksoid immün dominant HLA sınıf II epitoplar) kontrol grubu

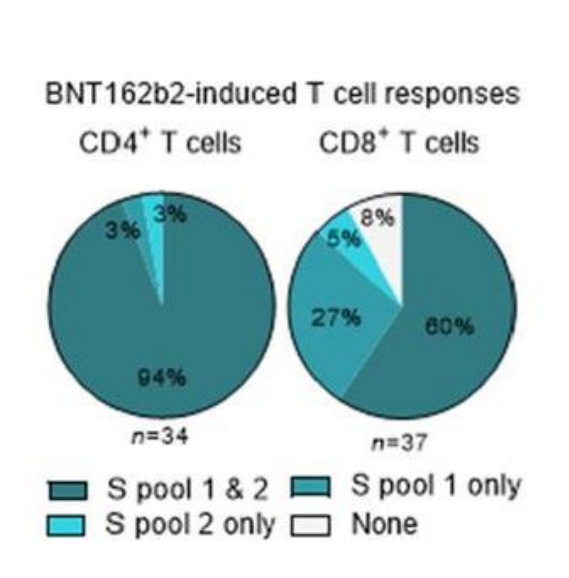


➢Katılımcıların % 94.1'inde, iki doz BNT162b2 ile, **S'e karşı (RBD dışındaki epitoplarına yönelik) poli-epitopik** CD4 + T hücre yanıtları indüklenmiştir.

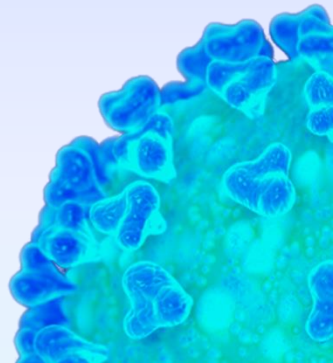
➢En güçlü yanıt verenlerde, **S'ye özgü CD4 + T hücre yanıtları**, yaygın virüslere verilen bireysel bellek yanıtlarının 10 katından daha fazla

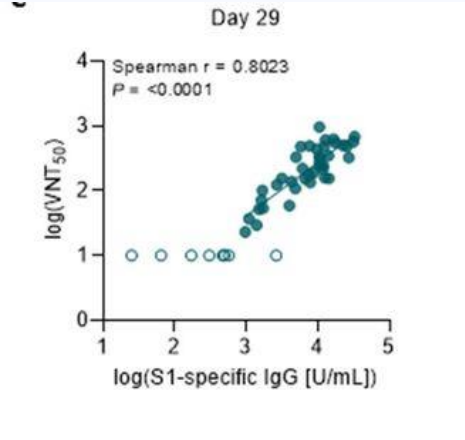




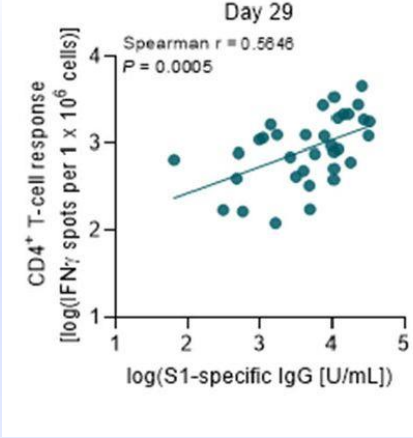


- Aşıya bağlı S'ye özgü CD8 + T hücre yanıtı (S1 ve/veya S2) (de novo 33), aşılanan 37 katılımcının 34'ünde (% 91,9)
- Öncesinde S1 veya S2 ye yanıtı olan 7 katılımcıda aşı sonrası yanıt artışı yok

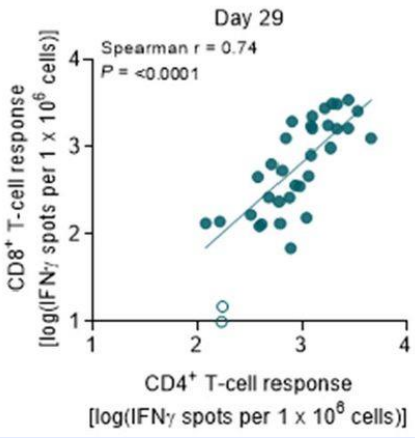


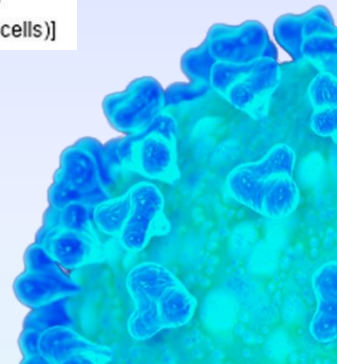

Day 29
Spearman r = 0.8023
P = <0.0001
log(VNT50)
log(S1-specific IgG [U/mL])

a


Day 29
Spearman r = 0.5646
P = 0.0005
CD4+ T-cell response
[log(IFNγ spots per 1 x 10^6 cells)]
log(S1-specific IgG [U/mL])

b


Day 29
Spearman r = 0.74
P = <0.0001
CD8+ T-cell response
[log(IFNγ spots per 1 x 10^6 cells)]
CD4+ T-cell response
[log(IFNγ spots per 1 x 10^6 cells)]



Aşı kaynaklı T hücre yanıtlarının polarizasyonu

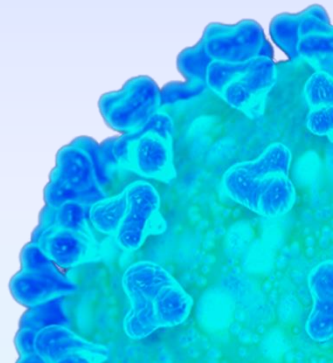
S pool 1, S pool 2 ve RBD pool ile stimülasyon sonrası sitokin yanıtları ve T hücrelerinin işlevselliği ve polarizasyonunu değerlendirmek için hücre içi sitokin boyama (**ICS**) ile belirlenip, akım sitometri ile tespit edilmiş

Aşıyla indüklenen, S'ye özgü **CD4 + T hücrelerinin önemli bir kısmı IFNγ, IL-2** veya her ikisini de salgılarken, **IL-4 zar zor** tespit edilebilmiş.

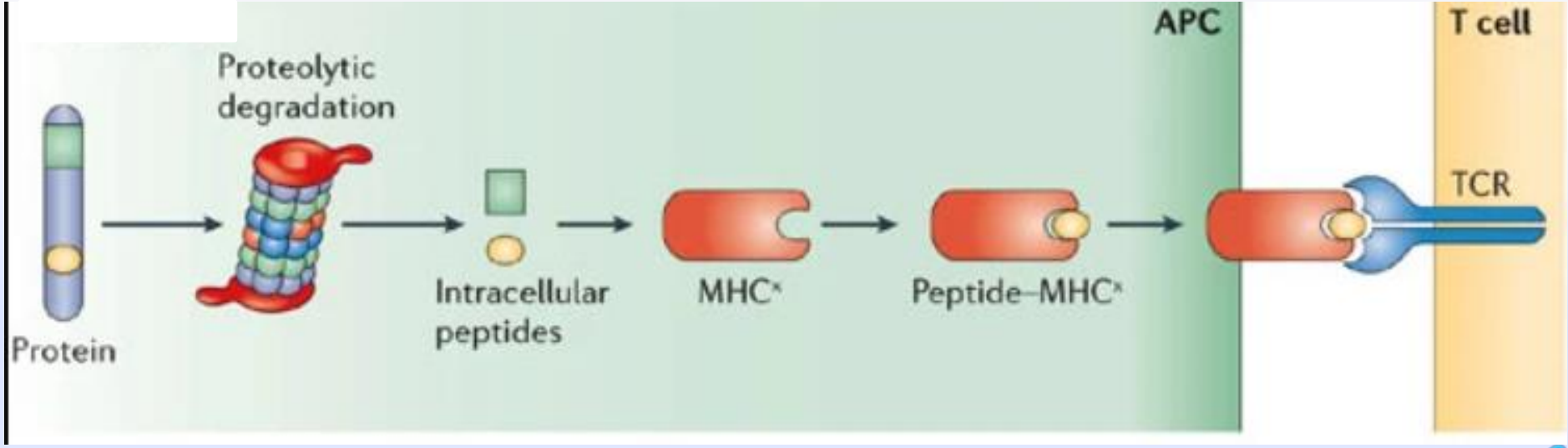
Aşıyla indüklenen, S'ye özgü **CD8 + T hücreleri, ağırlıklı olarak IFNγ ve daha düşük IL-2** salgılamış.

S'ye özgü IFNγ + veya IL-2 + CD4 + ve CD8 + T hücrelerinin toplam dolaşımdaki T hücreleri içindeki ortalama fraksiyonu, HCS daha yüksek

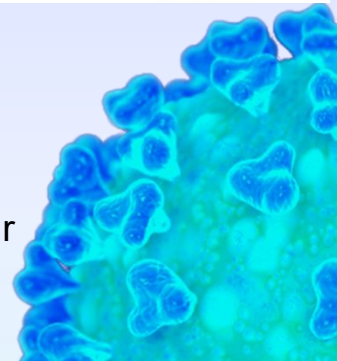
Her iki yöntem göstermiş ki, T hücre yanıtları **poli-epitopik**



CD8 + T hücrelerinin epitop özgüllüğü ve fenotipi

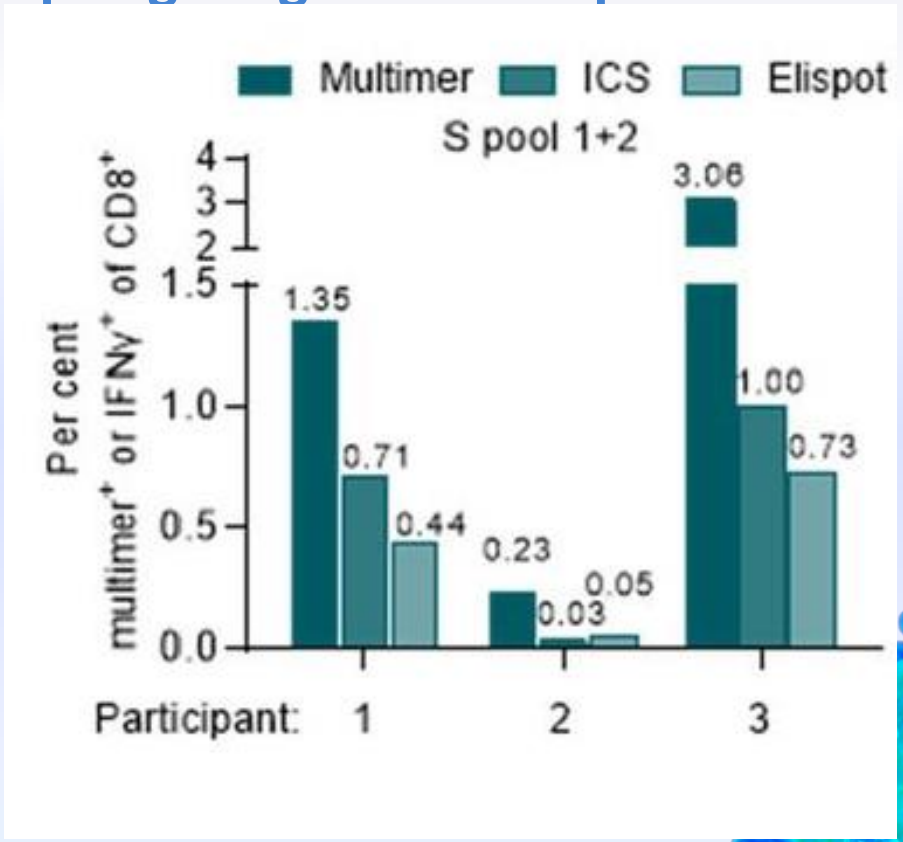


- ELISpot ve ICS tarafından belirlenen S'ye karşı toplu IFNγ CD8 + T hücresi yanıtlarının, tam / poli-epitopik T hücre yanıtını kapsamlı bir şekilde yakaladığı kabul edilir
- pMHC multimer yaklaşımı, potansiyel reaktivitelerin ayrı bir alt kümesini araştırır



CD8 + T hücrelerinin epitop özgüllüğü ve fenotipi

- İndüklenmiş CD8 + T hücrelerinin yüksek bir oranı **erken farklılaşmış efektör bellek hücreleri**.
- Bu fenotip hızlı yanıt verme potansiyeline sahip
- IFNy üretme kapasitesi sınırlı: **dolayısıyla fonksiyonel T hücre analizlerinde (ELISpot, ICS) düşük saptanabilir**



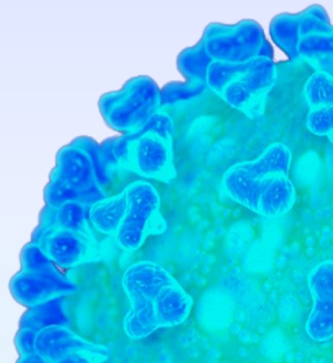
Tartışma

➢**Nötralizan antikorlar ilk savunma hattı** olsa da, **CD8 + sitotoksik** T lenfositler (CTL'ler), nötralizan antikorların erişemediği **hücre içi kompartmandan** virüsün temizlenmesine katkıda bulunur.

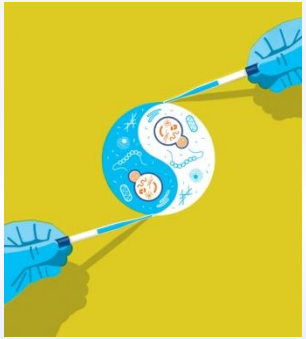
➢SARS-CoV-2'ye karşı tam ve uzun süreli koruyucu bağışıklık için antikor yanıtlarının yeterli olup olmayacağı ve SARS-CoV-2'ye özgü T hücrelerinin katkısının ne olabileceği henüz bilinmemektedir.

➢Kritik COVID-19 hastalarının S1-reaktif CD4 + T hücrelerinden yoksun olduğu bildirilmiştir. Bazı asemptomatik vakalarda da, serokonversiyon olmaksızın, hücresel immün yanıt varlığı tespit edilmiştir.

➢Bu da SARS-CoV-2'ye özgü T hücrelerinin, nötralizan antikorların yokluğunda bile hastalık kontrolüyle ilgili olabileceğini gösterir.



Tartışma



➢BNT162b2 ile aşılama, nötralizan antikorlar ile CD4 + T hücreleri, CD8 + T hücreleri ve IFNy gibi immün modülatör sitokinler

⟹ **koordine bir bağışıklık tepkisi**

➢BNT162b2 ile aşılanan tüm katılımcılar, de novo S'ye özgü CD4 + T hücre yanıtları

➢Katılımcıların % 92'si, CD8 + T hücre yanıtları

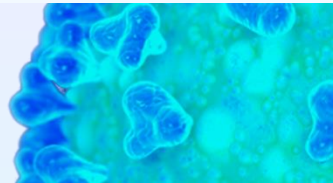
➢T hücresi yanıtlarının büyüklüğü doz bağımlı değil

➢1 ug dozuyla bile CD4 + ve CD8 + T yanıtı güçlü

➢T hücresi yanıtları, S'nin RBD, S1 ve S2 bölgelerine yönelik

➢ çoklu bağımsız MHC I ve II epitoplarına bağlı bir immün tanıma

BNT162b2 BNT162b1



Tartışma

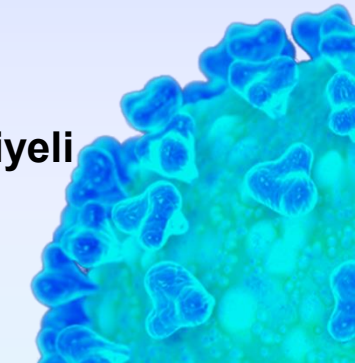
- **Aşı ile indüklenmiş $CD4^+$ T hücrelerinden artmış IFNγ ve IL-2 salınımına karşın, çok düşük düzey IL-4 salınımı; bir T_H1 profilini işaret etmekte ve zararlı olabilecek bir T_H2 yanıtının düşük olduğunu gösteriyor** *(ADE!!)*

- S1 alt birimine karşı tüm CD8 + T hücresi tepkileri de novo iken ve başlangıçta saptanmazken, S2 alt birimine karşı önceden var olan bağışıklık tepkileri birkaç kişide mevcut (mevsimsel CoV **çapraz bağışıklık**)

- **COVID-19 aşısıyla indüklenen T hücreleri tarafından tanınan epitopların ilk raporu**
- Antikor tepkilerinin güçlü indüksiyonu, 85. gün gibi uzun bir takip

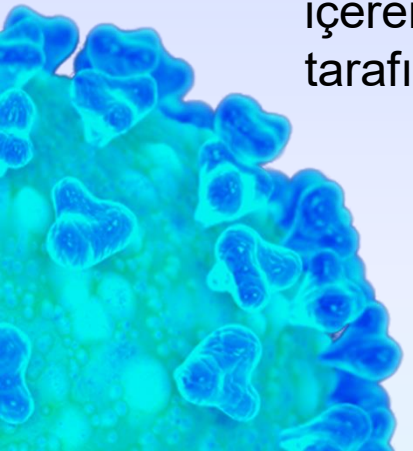
- 19 psödotiplenmiş virüsü (18 farklı RBD varyantı).

Bildirilen mutasyonlara karşı geniş BNT162b2 kaynaklı koruma potansiyeli



Tartışma

- Bu bağışıklık tepkisi modelinin SARS-CoV-2 enfeksiyonundan koruyup korumayacağı ve COVID-19'u önleyip engellemeyeceği açık değil
- Bu sorular, daha uzun süreli takip içeren devam eden klinik program tarafından ele alınacaktır.

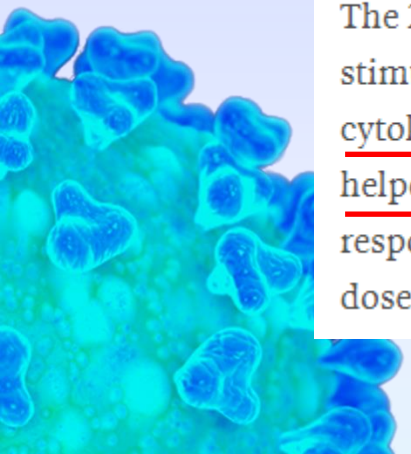


Editor's Note: This article was published on July 14, 2020, at NEJM.org.

ORIGINAL ARTICLE

An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 — Preliminary Report

Lisa A. Jackson, M.D., M.P.H., Evan J. Anderson, M.D., Nadine G. Rouphael, M.D., Paul C. Roberts, Ph.D., Mamodikoe Makhene, M.D., M.P.H., Rhea N. Coler, Ph.D., Michele P. McCullough, M.P.H., James D. Chappell, M.D., Ph.D., Mark R. Denison, M.D., Laura J. Stevens, M.S., Andrea J. Pruijssers, Ph.D., Adrian McDermott, Ph.D., et al., for the mRNA-1273 Study Group*



SARS-COV-2 T-CELL RESPONSES

The 25-μg and 100-μg doses elicited CD4 T-cell responses (Figs. S9 and S10) that on stimulation by S-specific peptide pools were strongly biased toward expression of Th1 cytokines (tumor necrosis factor α > interleukin 2 > interferon γ), with minimal type 2 helper T-cell (Th2) cytokine expression (interleukin 4 and interleukin 13). CD8 T-cell responses to S-2P were detected at low levels after the second vaccination in the 100-μg dose group (Fig. S11).

Letter | Published: 17 December 2020

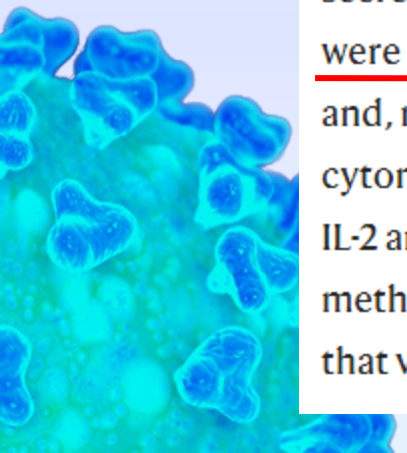
T cell and antibody responses induced by a single dose of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine in a phase 1/2 clinical trial

Katie J. Ewer ✉, Jordan R. Barrett, [...] the Oxford COVID Vaccine Trial Group

Nature Medicine (2020) | Cite this article

UNIVERSITY OF OXFORD

AstraZeneca



to vary by disease[53,54] and is unclear for SARS-CoV-2 infection. Analysis of cytokine secretion after peptide stimulation of PBMCs demonstrated that IFN-γ and IL-2 secretion were increased in individuals who received the ChAdOx1 vaccine compared to controls, and, notably, IL-4 and IL-13 levels were not increased. Similarly, phenotyping by flow cytometry demonstrated that $CD4^+$ T cells secreted predominantly Th1 cytokines (IFN-γ, IL-2 and TNF-α) rather than Th2 (IL-5 and IL-13). Importantly, we demonstrate, with several methodologies (multiplex cytokine profiling, ICS analysis and antibody isotype profiling), that vaccination with ChAdOx1 nCoV-19 induces a predominantly Th1 response.

ARTICLES | VOLUME 396, ISSUE 10255, P887-897, SEPTEMBER 26, 2020

PDF [673 KB]

Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia

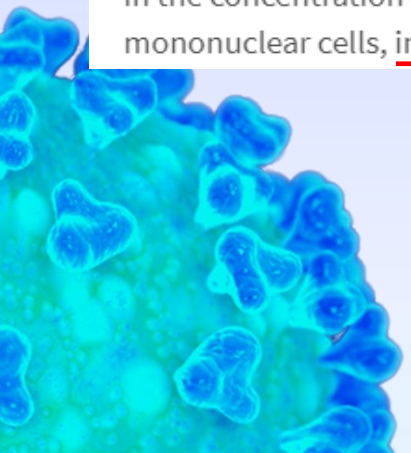
Denis Y Logunov, DSc † • Inna V Dolzhikova, PhD † • Olga V Zubkova, PhD • Amir I Tukhvatulin, PhD
Dmitry V Shcheblyakov, PhD • Alina S Dzharullaeva, MSc • et al. Show all authors • Show footnotes

Published: September 04, 2020 • DOI: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31866-3 • Check for updates

THE GAMALEYA NATIONAL CENTER OF EPIDEMIOLOGY AND MICROBIOLOGY

Sputnik V

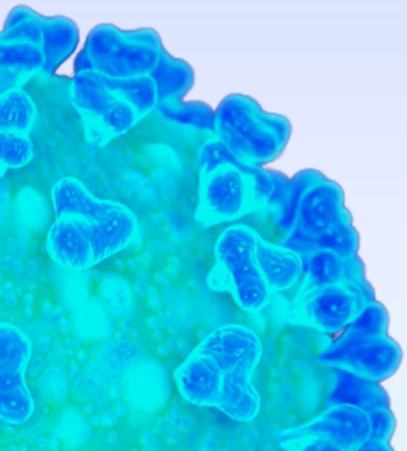
Cellular immune responses showed formation of antigen-specific cells of both T-helper ($CD4^+$) and T-killer ($CD8^+$) cells, and an increase in the concentration of interferon-γ secretion in peripheral blood mononuclear cells, in 100% of volunteers (figure 3). Cells from



Interferon-γ is a marker cytokine of T-helper-1 biased cellular response towards vaccination,[32] and high rates of antigen-specific $CD8^+$ T cells generally correspond to potentiation of T-helper-1 polarisation.[33] We understand that results obtained from both assays could indirectly characterise the T-helper-1 response. In the phase 3 clinical trial, we will supplement our research methods with more focus on T-helper-1 and T-helper-2 polarisation.

İnaktive aşılar:

Vaccine platform	SARS-CoV-2 antigens	Neutralizing antibody response	T cell response			Pre-existing antivector immunity	Route of vaccination	Overall immunogenicity	Other attributes
			$CD4^+$ T_H cells	$CD8^+$ T cells	Lung T_{RM} cells				
Other vaccines (cont.)									
Inactivated virus	Multiple viral antigens	Strong induction	T_H1 cell or T_H2 cell depending on adjuvant	Weak response	Not induced	None	Parenteral (IM)	Weak; requires repeated vaccination	Adjuvant required; alum often used, which enhances T_H2 cell responses possibly involved in ADE



Etkili bir COVID-19 aşısı için gerekli olan sitotoksik CD8 T hücrelerinin, zayıf indükleyicileridir.

İLGİNİZE TEŞEKKÜRLER