

Strategisamling FHF Trondheim 1. juni 2001

Grunnleggende kunnskap for vaksineutvikling

Siri Mjaaland

Veterinærinstituttet / FHI

Bakgrunn

- Virussykdommer stort problem for oppdrettsnæringen
 - Dagens vaksiner – lite effektive / fraværende
 - Hvorfor får vi det ikke til?
 - NFR: erkjennelse av behov for økt grunnleggende kunnskap om hva som skjer i løpet av en virusinfeksjon i laks
- **Kunnskapsbaserte, målrettede vaksinestrategier**

Kunnskapsplattform for viral akvamedisin

Virus – vert interaksjoner

Havbruk 185217/S40; 2008-2012

Partnere:

Siri Mjaaland, VI/FHI (koordinator)

Jorunn Jørgensen, NFH, UiT

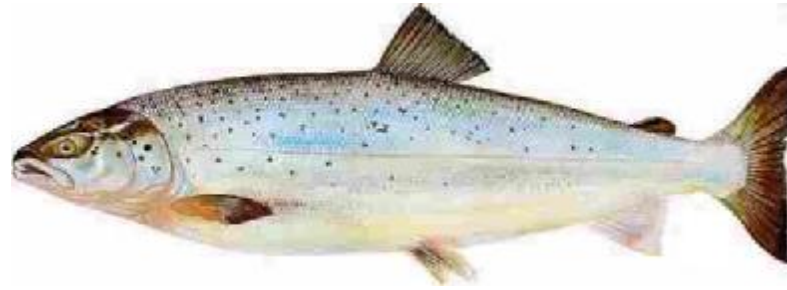
Børre Robertsen, NFH, UiT

Unni Grimholt, UiO

- 4 likeverdige prosjekter, som henger nøye sammen
- 4 år
- 16 mill (6 mill fra FHF)

Modellsystem (virus-vert interaksjoner)

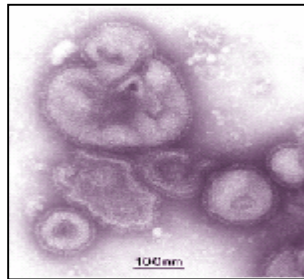
Vert: Laks



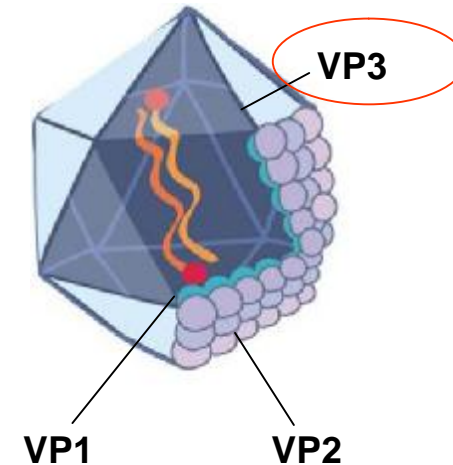
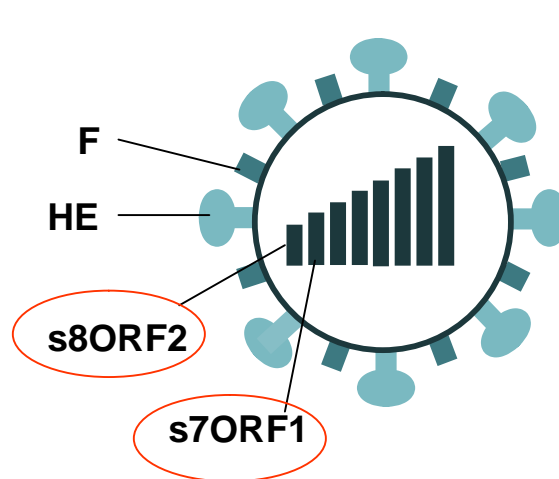
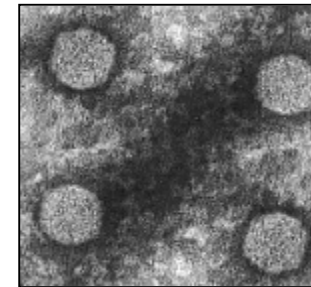
Virus:

- Viktige for oppdrettsnæringen
- Virus vi har mye kunnskap om
- Trigger ulike immunresponser
- Utviklet ulike strategier for å unnsnippe vertens immunsystem

ILAV



IPNV



Verts-virus interaksjoner- en evig kamp!

Vertens immunforsvar: viktig hindring for infeksjøs virus

Virus har utviklet ulike mekanismer for å unngå dette forsvaret

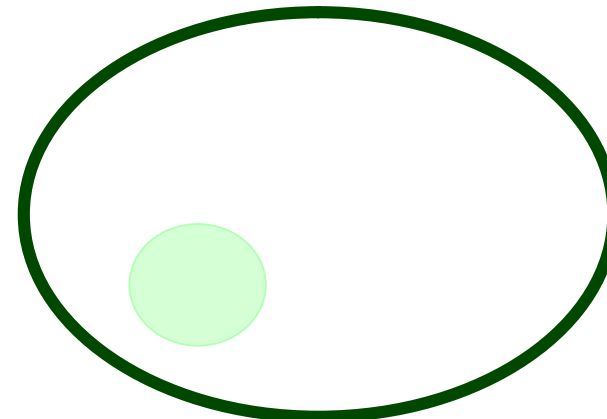
MÅL:

Å forstå dette samspillet mellom virus og vert er viktig for å kunne utvikle gode, målrettede vaksinestrategier

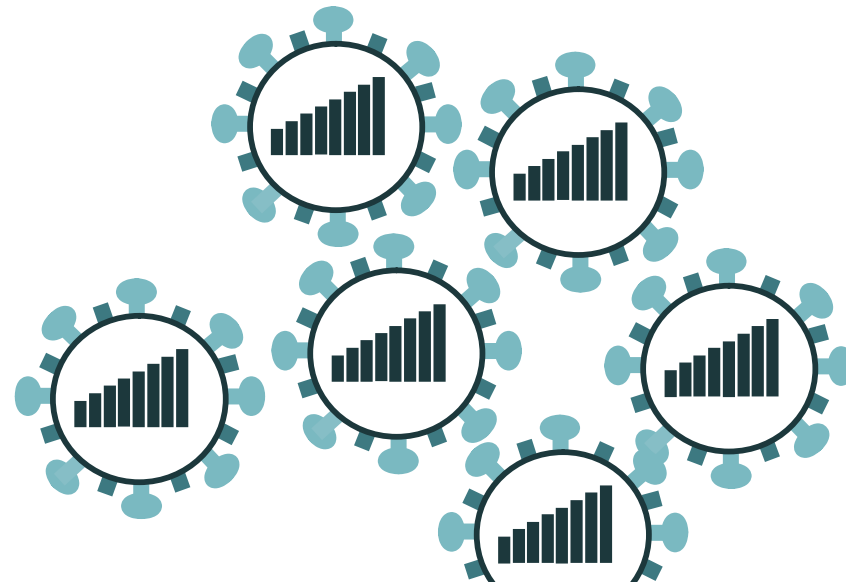
Hovedfokus

- ILAV / IPNV virulens
- Interaksjon med førstelinjeforsvaret (IFN systemet)
- Antigen presentasjon
- Karakterisering av beskyttende immunresponser
- Vaksinetilnærminger

Virusinfeksjon



Celle



- Intracellulær parasitt
- infeksjon setter cellen i alarmberedskap

Immunsystemet

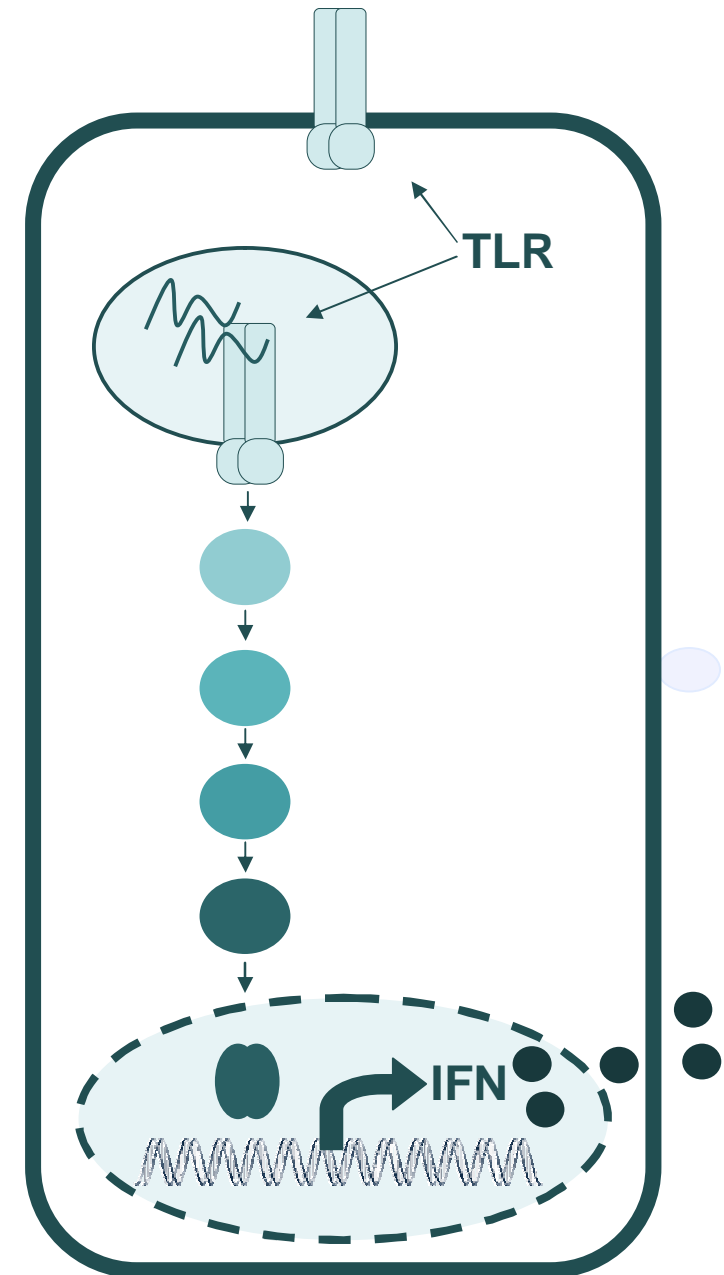
STRAKS: Førstelinjeforsvaret / medfødt immunrespons
(IFN-systemet)



OVER TID: Ervervet / adaptiv immunrespons
(B-celler / T-celler)

Medfødt immunforsvar (førstelinjeforsvar)

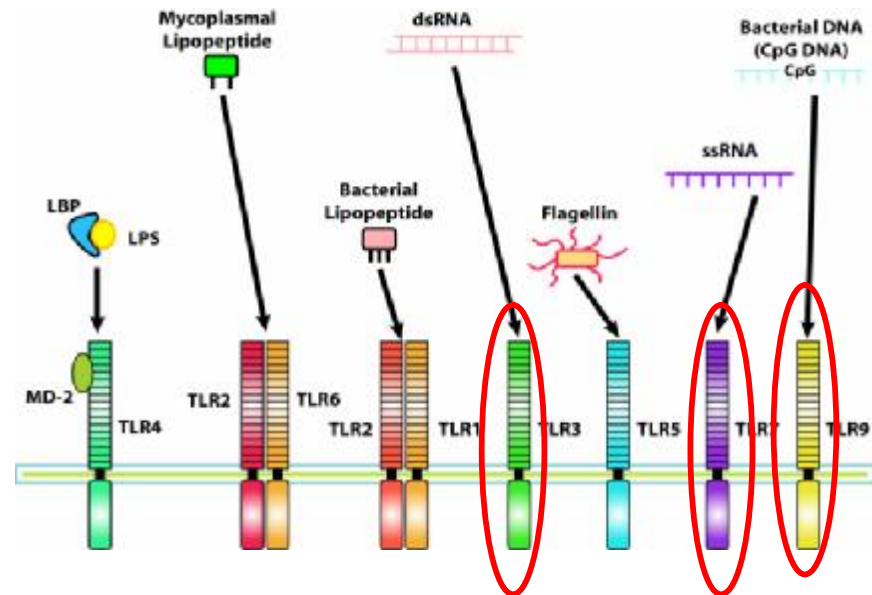
- Verten trenger ikke ha "sett" patogenet før.
- Toll-liknende reseptorer (TLR) kjenner igjen molekyler fra patogenet



Toll-lignende reseptorer (TLR)

- viktige sensorer for virusinfeksjoner

- TLR 3, 7, 8 og 9 gener er identifisert i mange fiskearter, deriblant laks
- Stimulerer produksjon av signalmolekyler som er viktige for beskyttelse:
 - **interferoner**
 - **pro-inflammatoriske cytokiner**
- TLR-ligander (eks.: CpG og poly I:C) tilsatt vaksiner er vist å ha adjuvant effekt



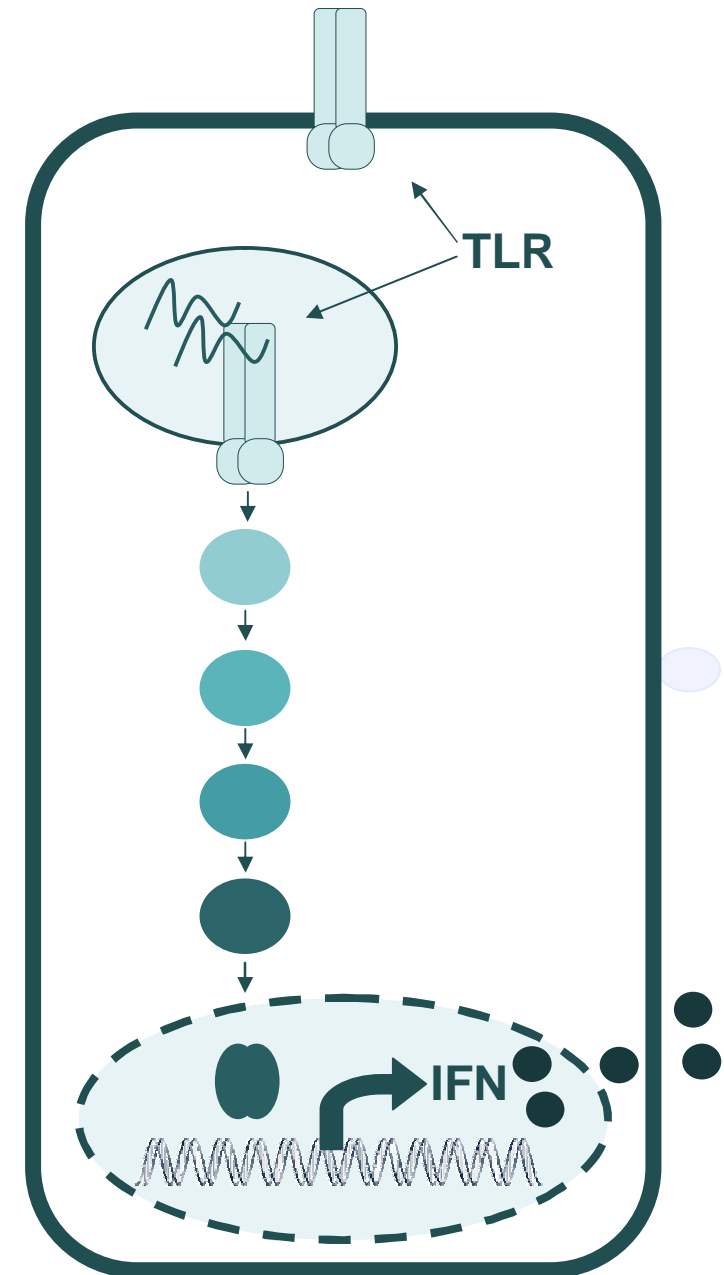
Det medfødte forsvarets gjenkjenning av patogener – også viktig for vaksineutvikling?

Medfødt immunforsvar (førstelinjeforsvar)

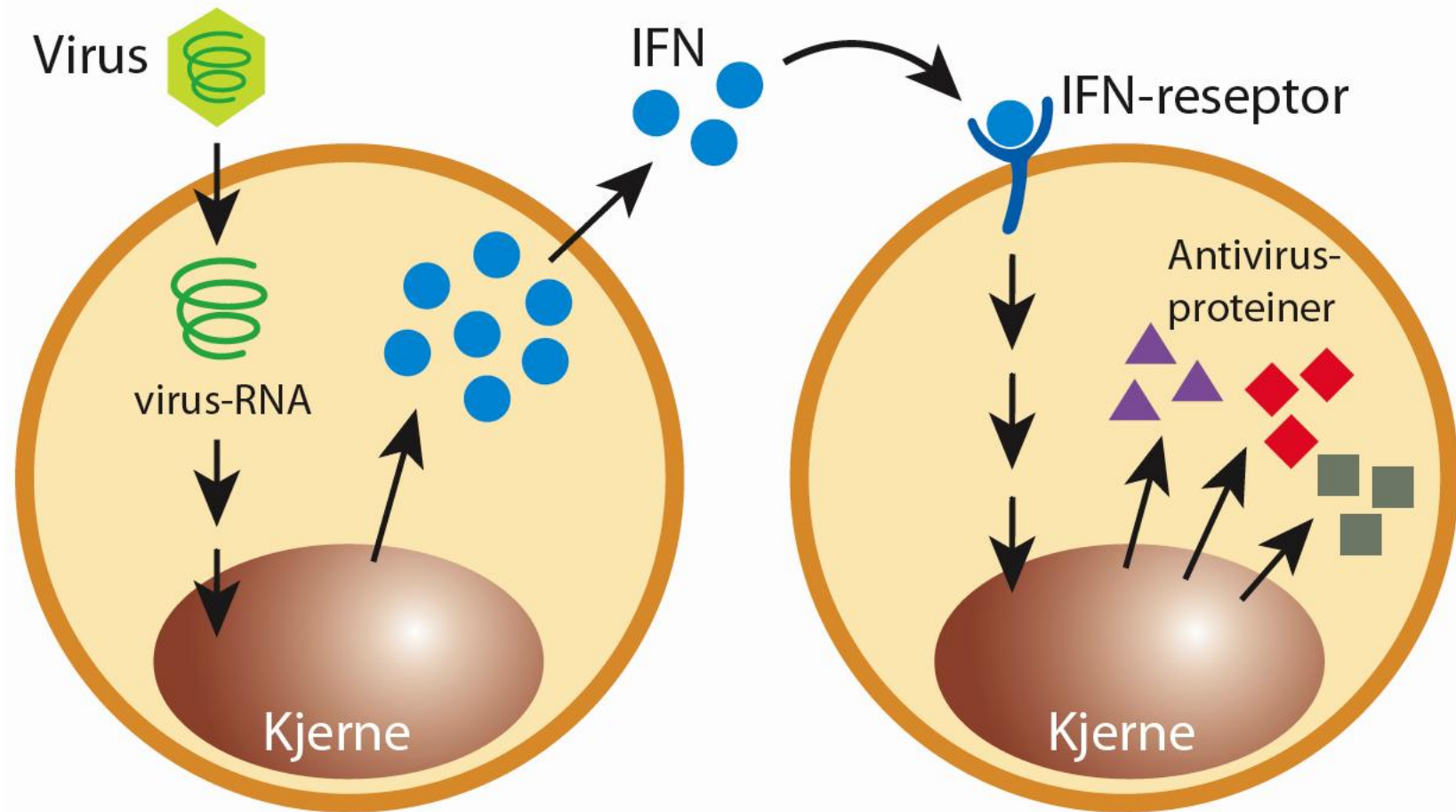
- Verten trenger ikke ha "sett" patogenet før.
- Toll-liknende reseptorer (TLR) kjenner igjen molekyler fra patogenet

INTEFERON type I

- Skilles ut fra celler
- "SOS" signal, oppregulering av antivirale proteiner
- Hemmer virusreplikasjon



Interferoner (IFN) er proteiner som beskytter celler mot virus-infeksjon

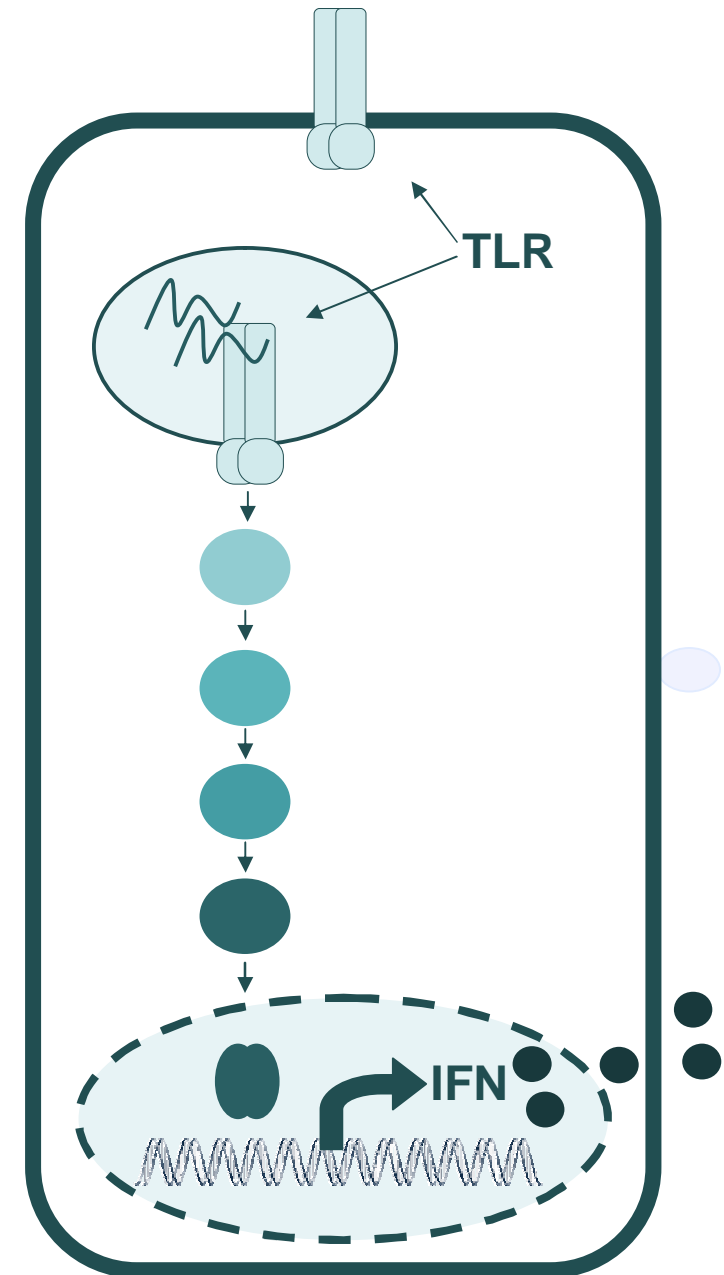


Medfødt immunforsvar (førstelinjeforsvar)

- Verten trenger ikke ha "sett" patogenet før.
- Toll-liknende reseptorer (TLR) kjenner igjen molekyler fra patogenet

INTEFERON type I

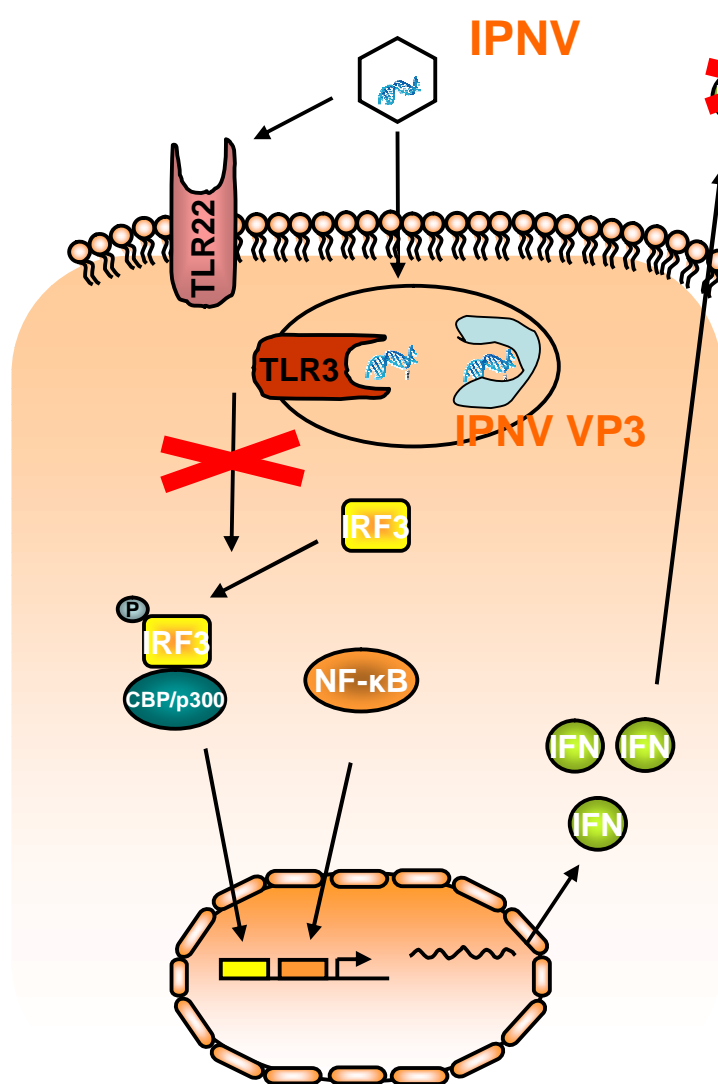
- Skilles ut fra celler
- "SOS" signal, oppregulering av antivirale proteiner
- Hemmer virusreplikasjon
- Virus svarer med antagonister som hemmer interferon



Interferon antagonisme

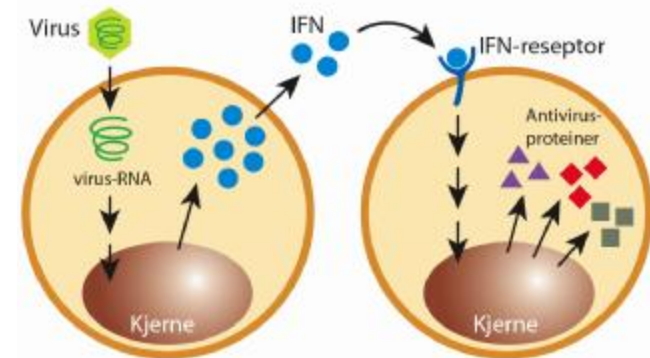
- Hvordan unnslipper virus cellens interferonrespons?
- Proteomikk: Y2H (protein-protein interaksjoner)
- Mer fullstendig forståelse av molekylær patogenese ved ILA og IPN

Hvilke jokere har IPN virus gjemt i ermet?

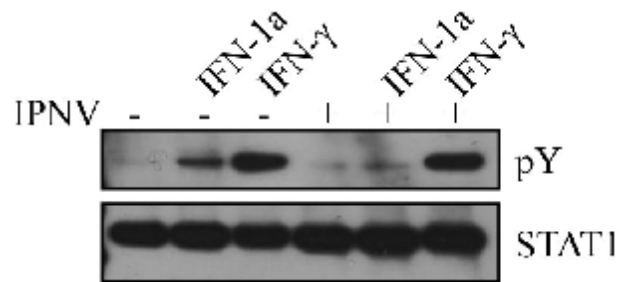


IPNV **VP3** binder dsRNA –
hindrer aktivering av
reseptorer som binder virus-RNA

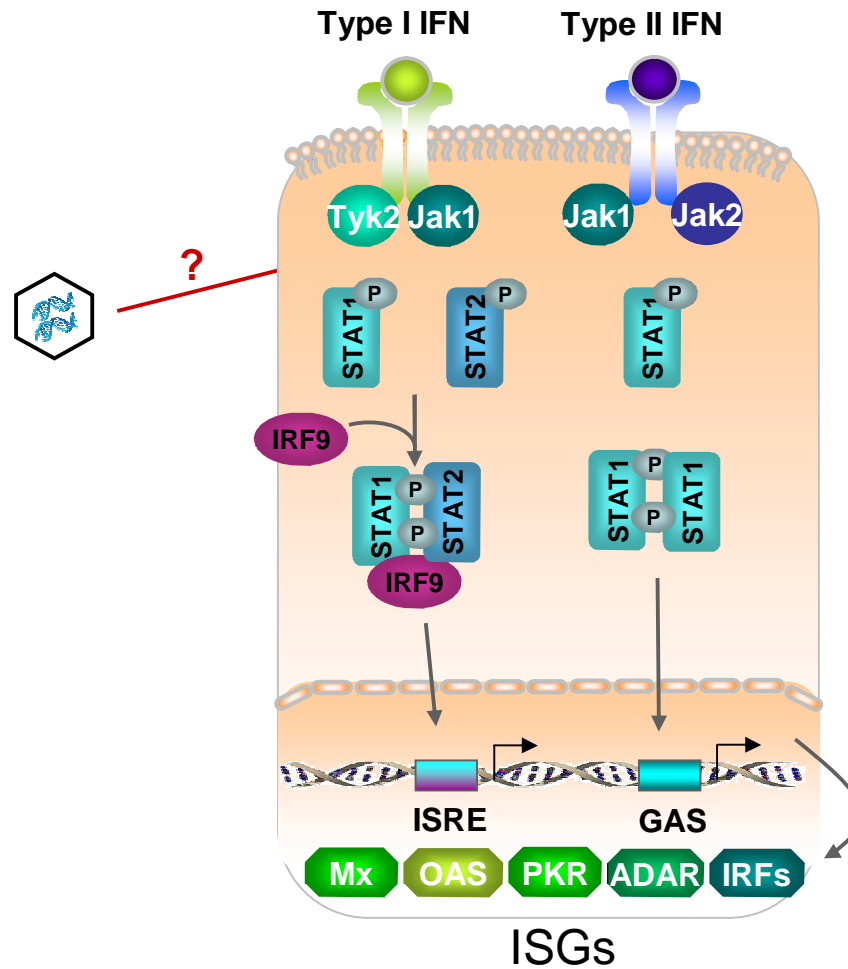
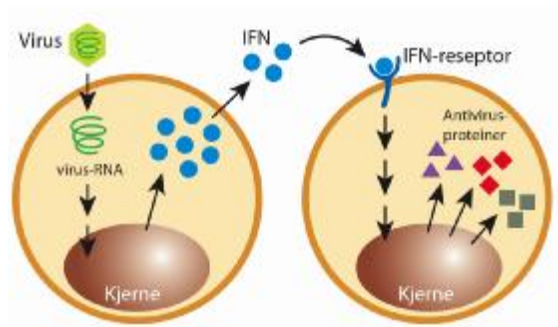
Resultat: hemmer IFN produksjon

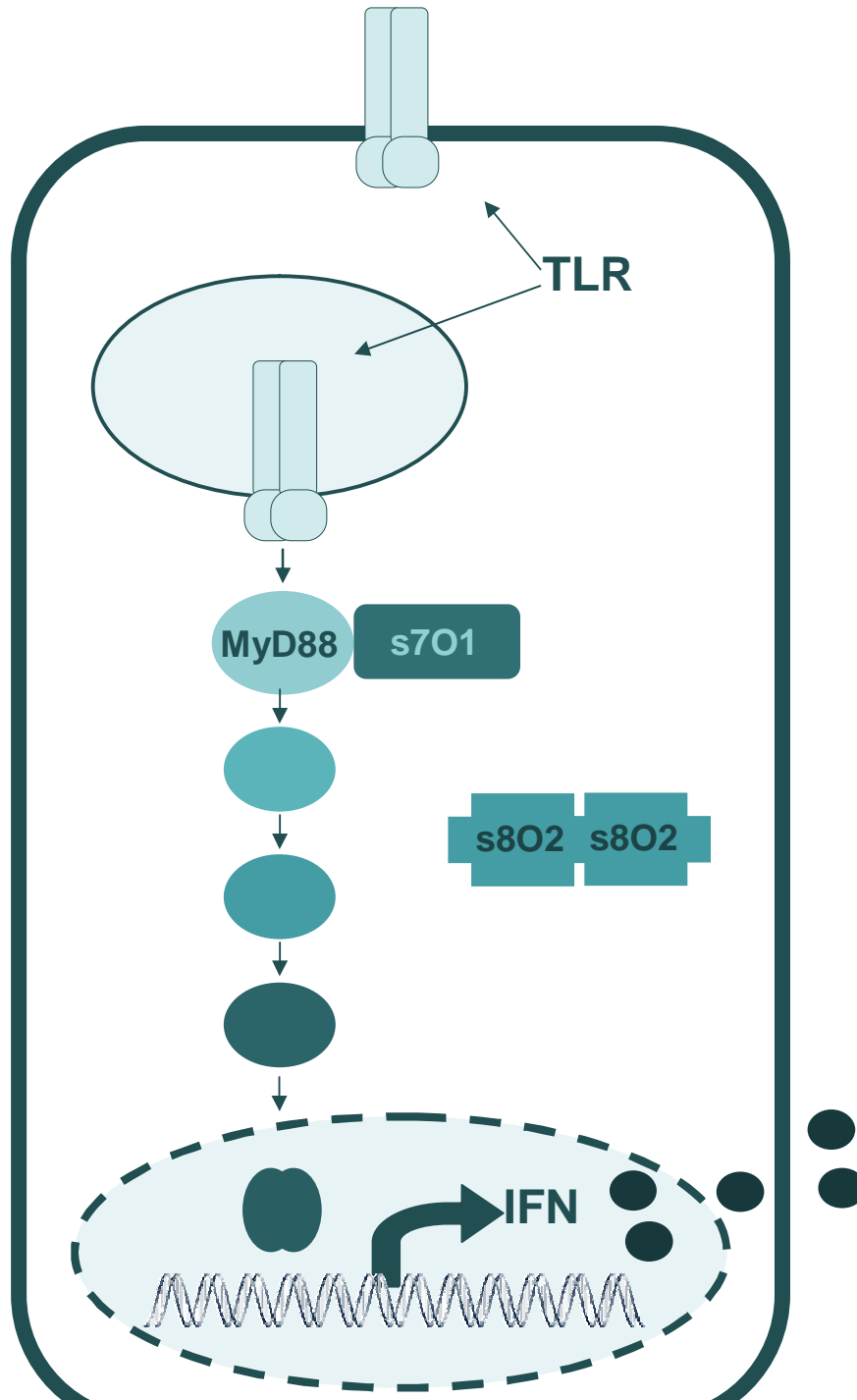


IPNV hemmer IFN-a1 industert fosforylering av STAT1 – og dermed induksjon av antivirale gener



Lysates from IPNV infected, IFN-stimulated TO-cells

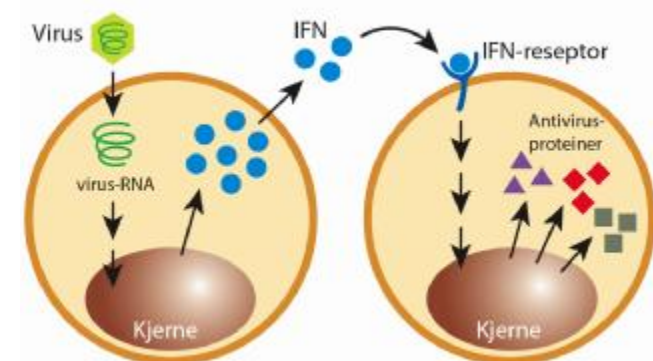




Hvordan slipper ILA virus unna?

- **s802** binder dsRNA - kan hindre at reseptorer som binder virus-RNA blir aktiverte
- **s802** binder seg til seg selv
- **s701** binder MyD88

Resultat: hemmer IFN produksjon



Interferoner

Funksjonen til interferoner i iboende og adaptiv immunitet mot virusinfeksjoner hos atlantisk laks

Typer, ekspresjon og beskyttelse mot virusinfeksjon

Virus-mediert hemming av interferon-syntese

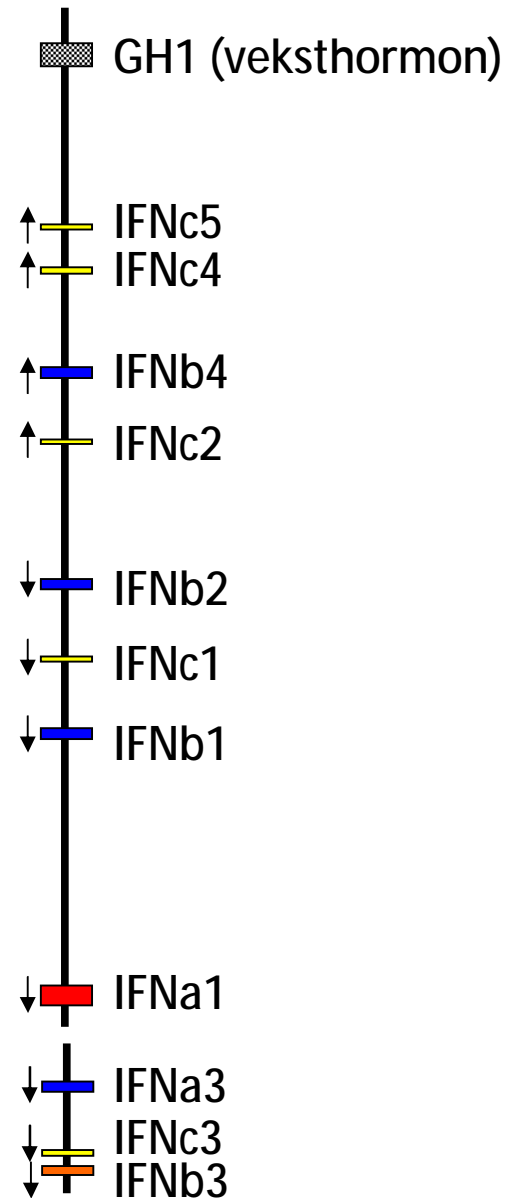
Rolle i DNA-vaksine mekanismer

Rolle i T-celle mediert adaptiv immunitet

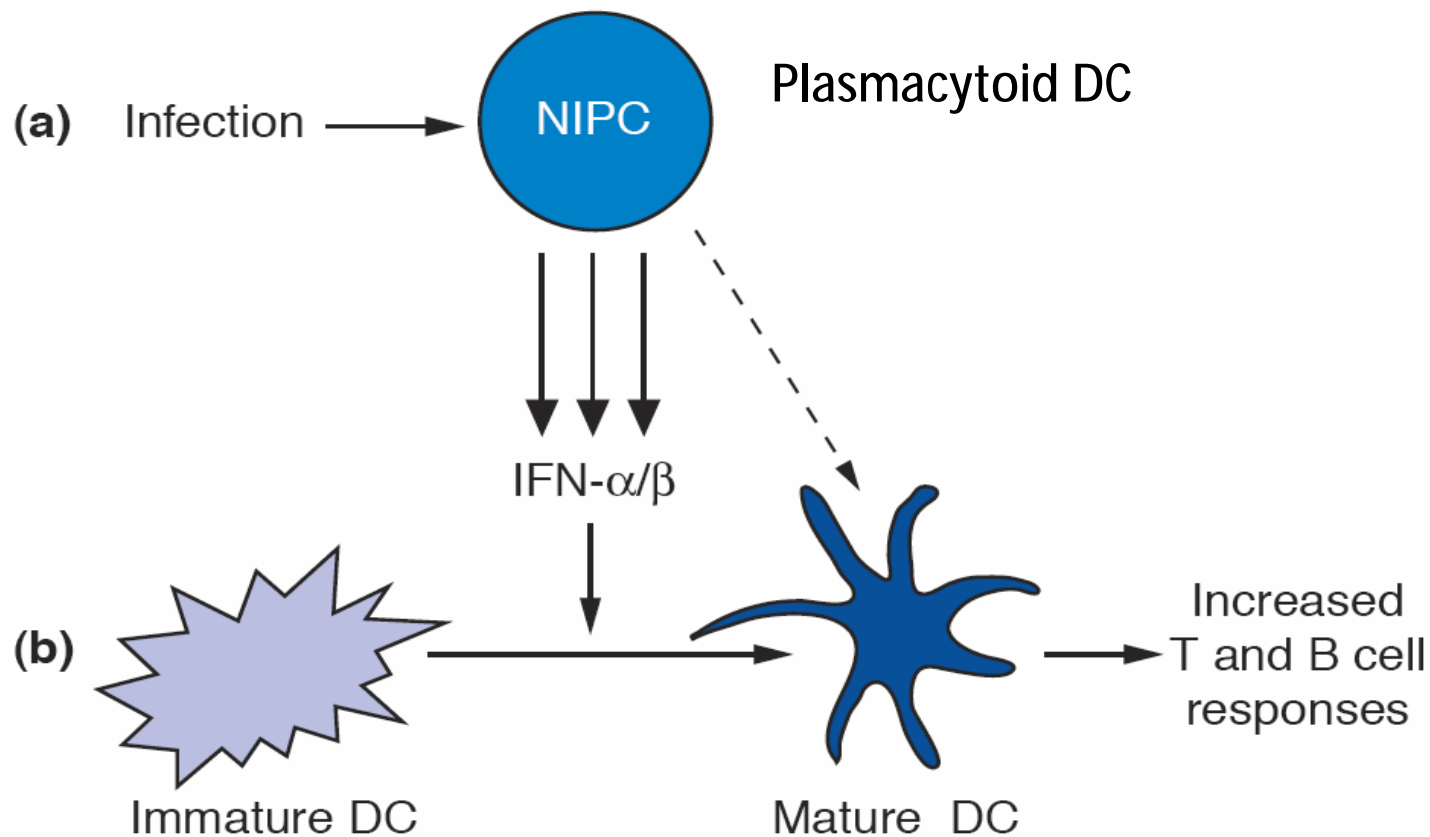
- Type I IFN: viktigst i medfødt immunitet
 - Laks: IFNa, IFNb, IFNc, IFNd (>12 gener)
- Type II IFN: viktigst i ervervet immunitet
 - Laks: IFNg1, IFNg2, IFNg3

Type I IFN lokus hos atlantisk laks

1 IFNa1 gen
1 IFNa3 gen
4 IFNb gener
5 IFNc gener



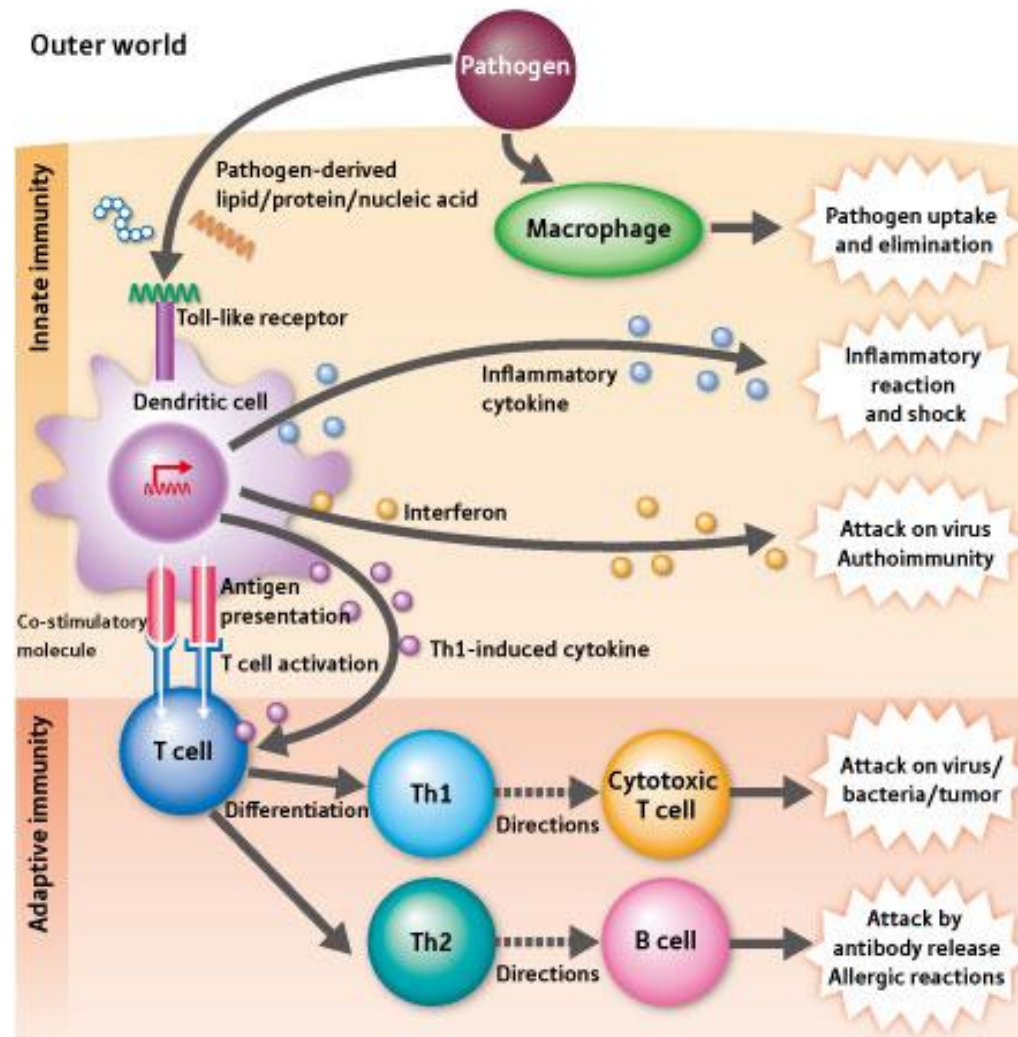
Type I IFN kopler sammen medfødt og ervervet immunrespons ved å stimulere modning av antigenpresenterende (dendrittiske) celler



Medfødt versus ervervet immunitet

Medfødt
immunitet

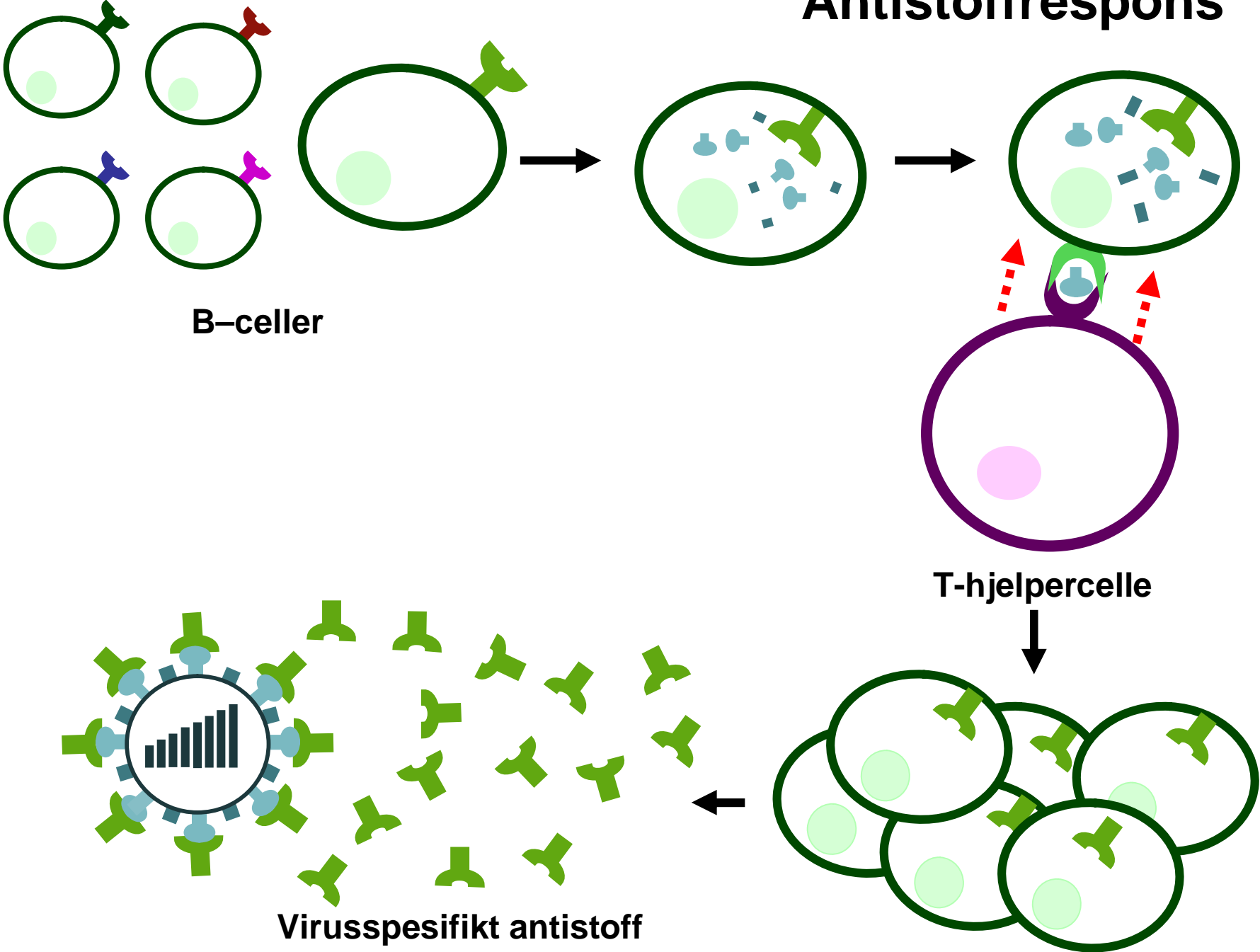
Ervervet
immunitet



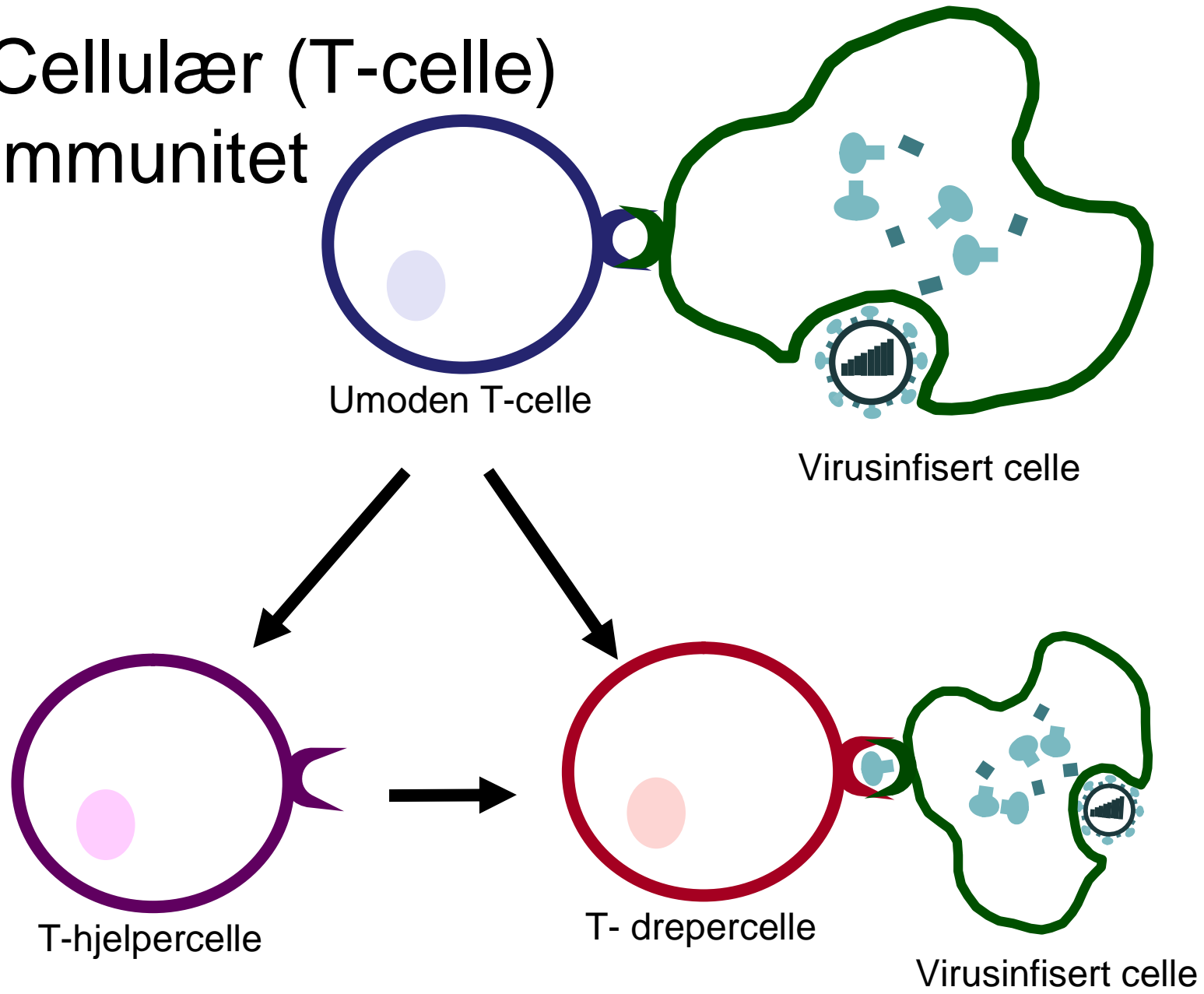
Adaptive immunresponser

- Humoral respons (B-celle respons)
- Cellulær respons (T-celle respons)

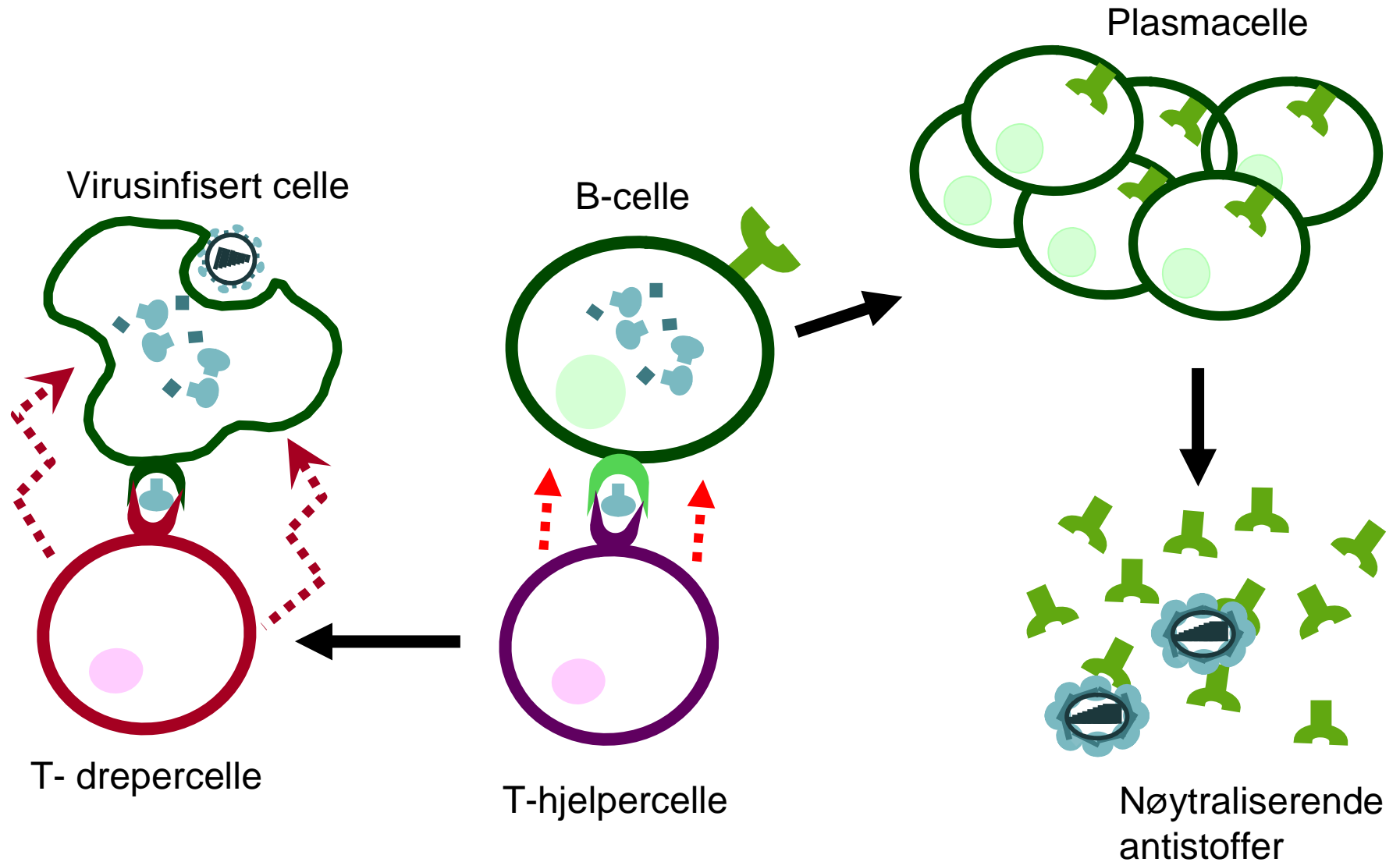
Antistoffrespons



Cellulær (T-celle) immunitet



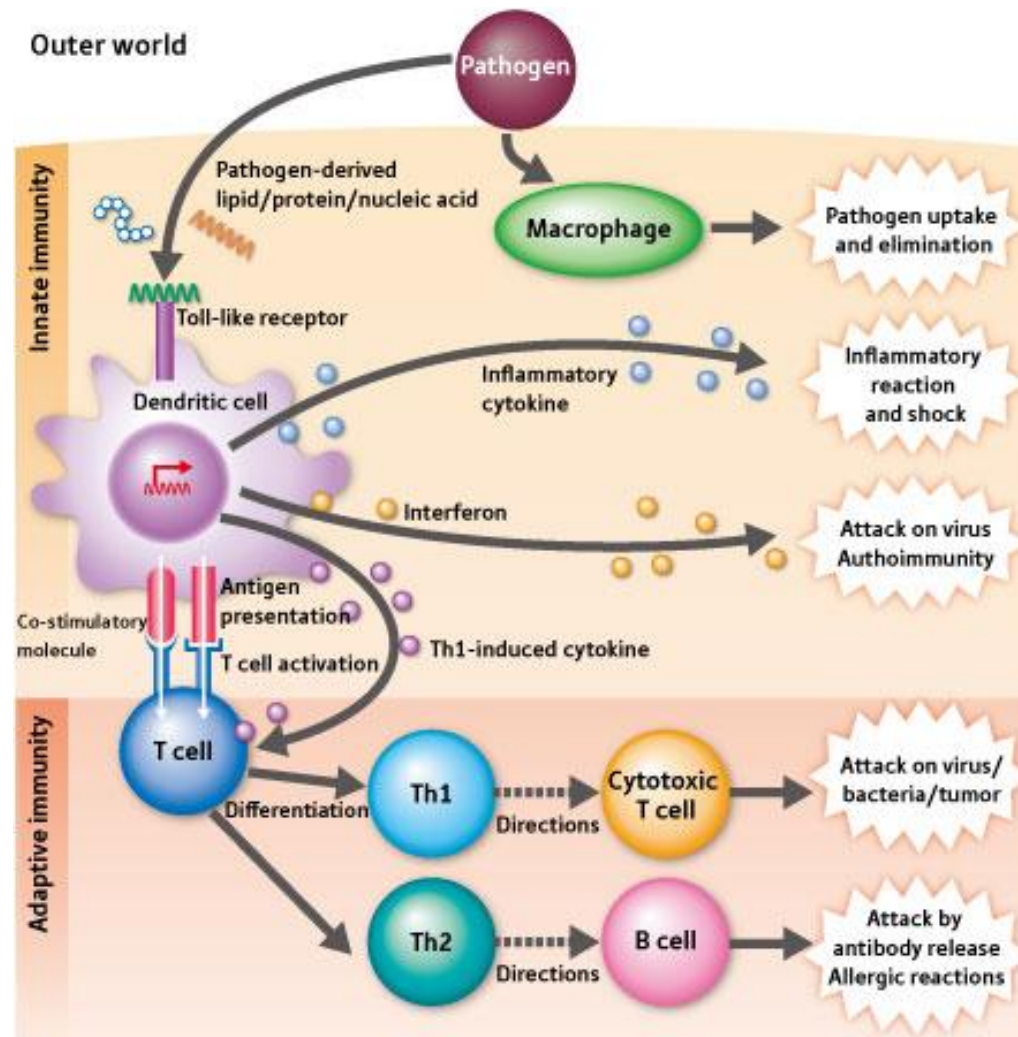
Immunsystemets to hovedgrener



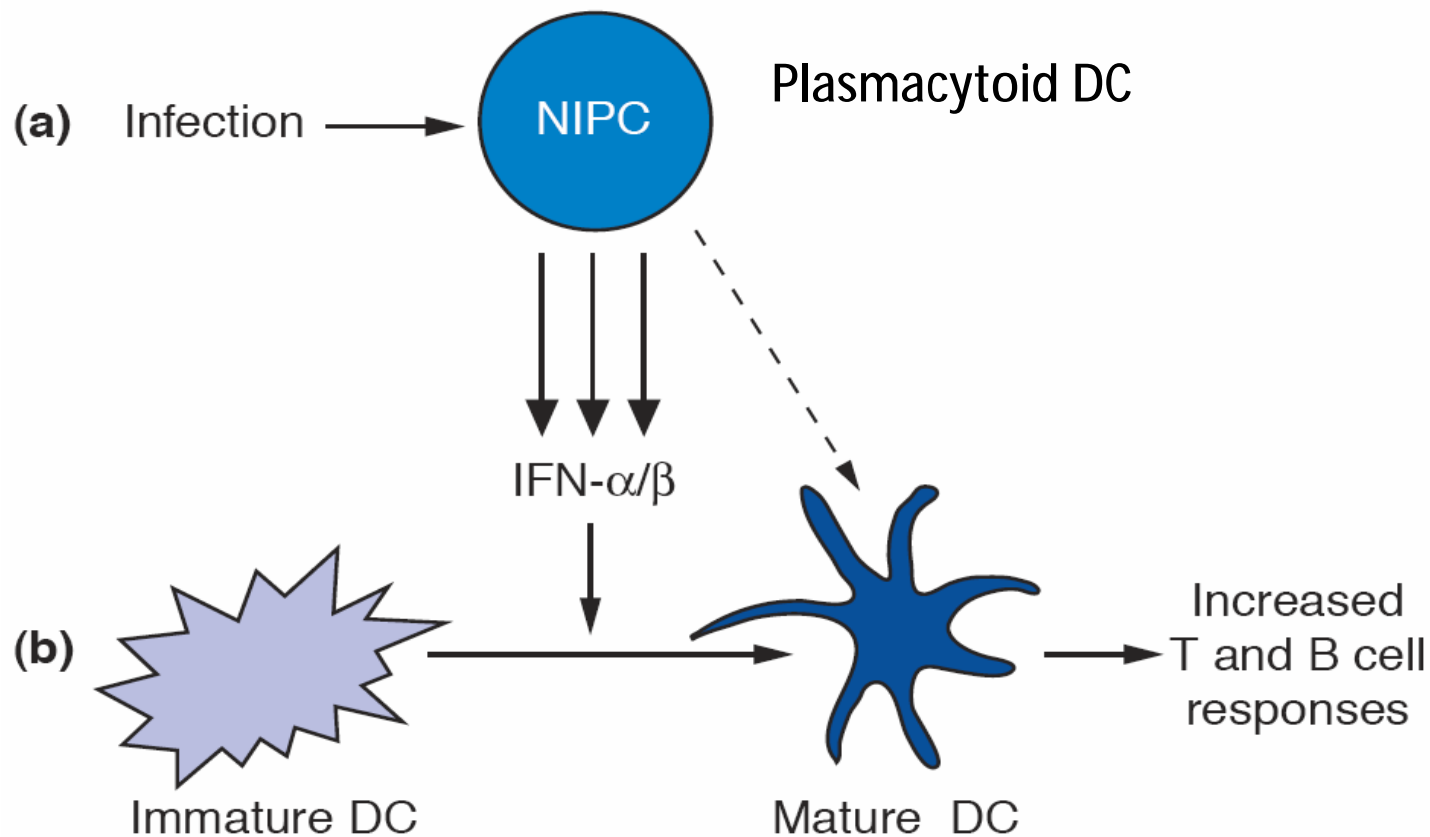
Medfødt versus ervervet immunitet

Medfødt
immunitet

Ervervet
immunitet



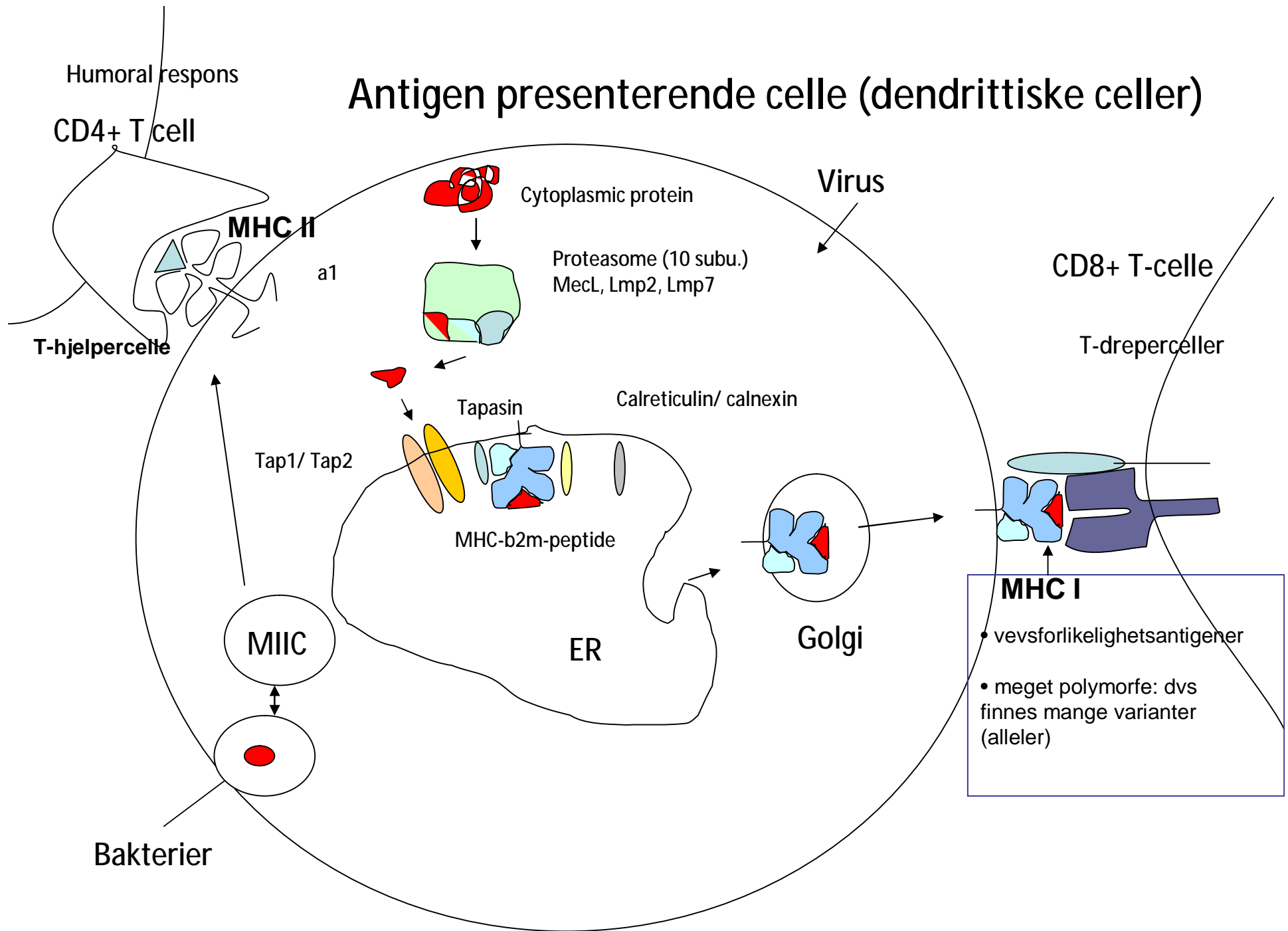
Type I IFN kopler sammen medfødt og ervervet immunrespons ved å stimulere modning av antigenpresenterende (dendrittiske) celler

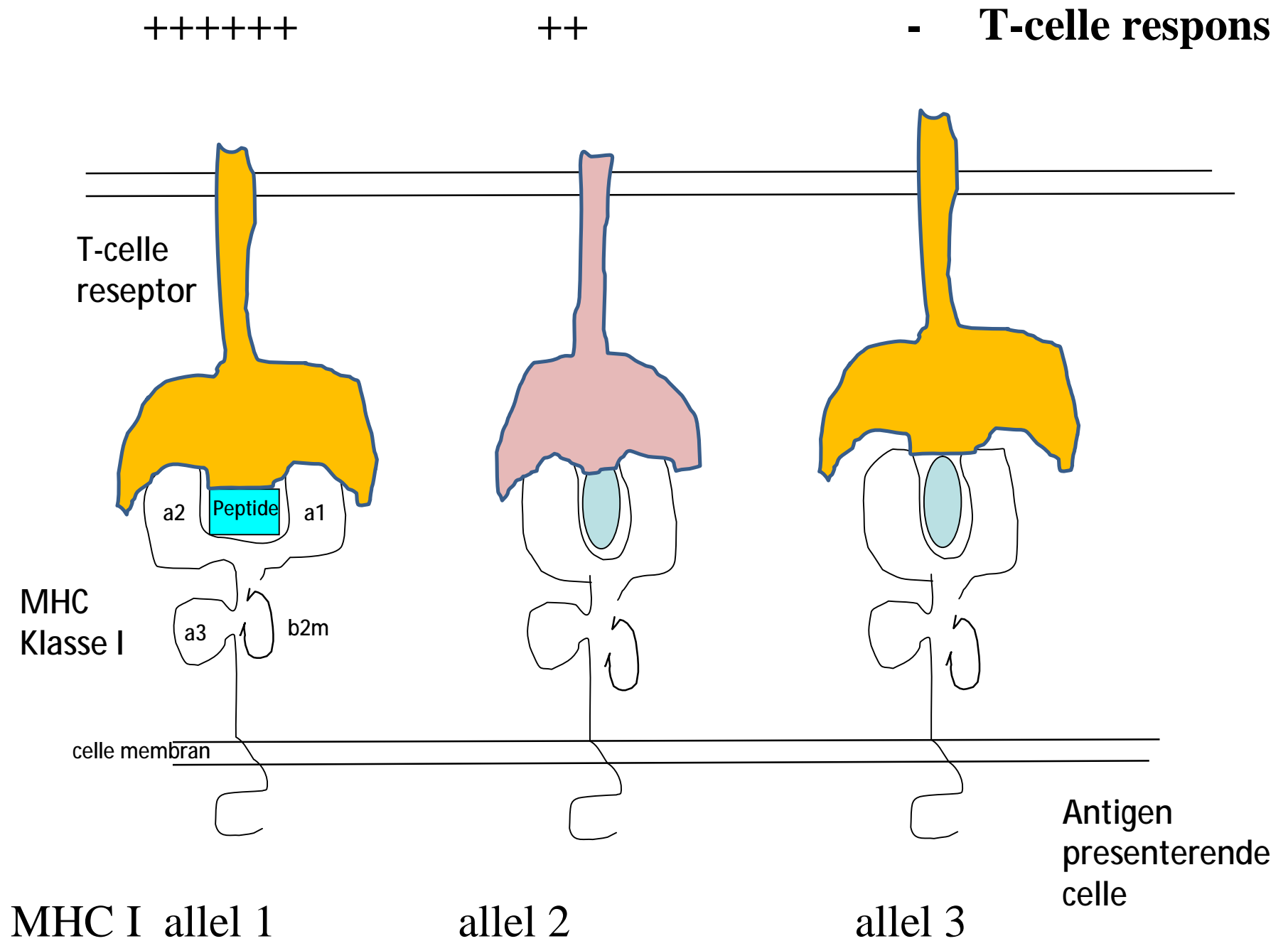


Antigen presentasjon og respons

Hvilke virale peptider gir god
respons?

Antigen presenterende celle (dendritiske celler)





MHC, presentasjon av virale peptider og T-celle respons

Hvis vi vet hvilke deler av et virus som bindes av hvilke MHC varianter (alleler), og hvilke responser de gir kan denne kunnskapen brukes til å forbedre vaksiner.

Komparativ forskning

- Utgangspunkt: forskning på influensavaksine (human/mus)
- Ny vaksinestrategi (målstyring)
- Verktøy til å forstå adaptive immunresponser

Prosjekter (virus-vert)

Influenza A:

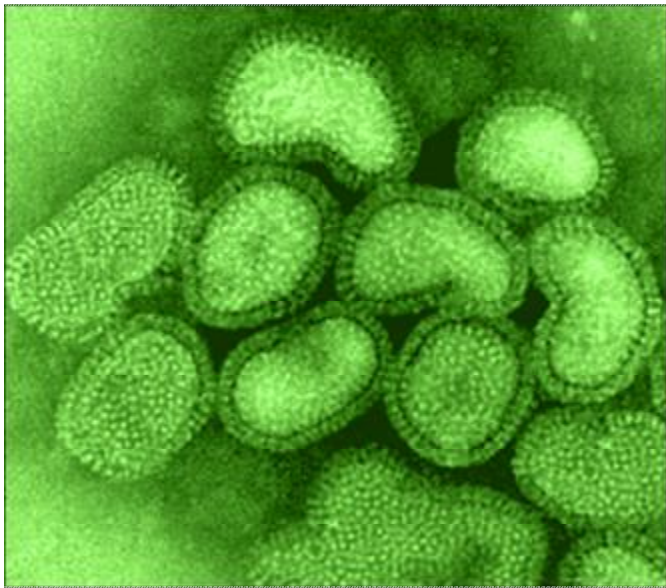
- 1) Utvikling av en universell profylaktiske peptidvaksine mot influensa (musemodell)
 - NFR-FUGE (Bionor) – (2007-2010)
- 2) Slimhinnevaksine mot influensapandemi (humant vaksinemateriale)
 - EU: FluSecure (2007-2010)
 - NFR-FUGE (2007-2010)
- 3) Influenza A og Vaccibodies (musemodell) – **MEGET LOVENDE RESULTATER**
 - Samarbeide med Bjarne Bogen og Gunnveig Grødeland

ILAV:

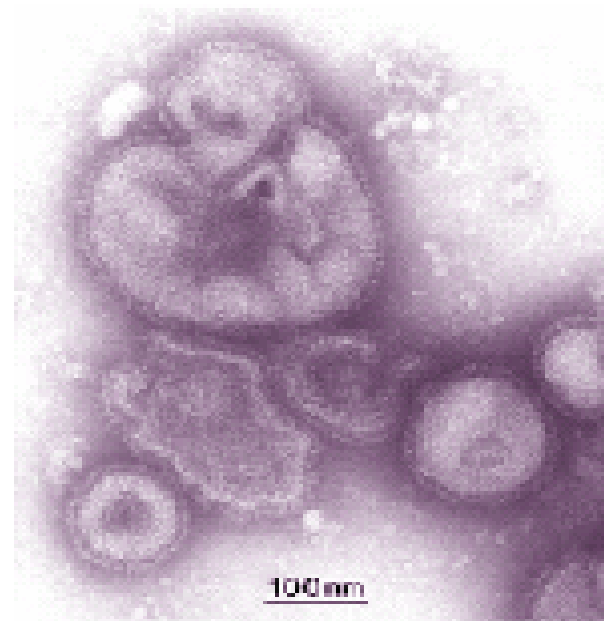
- 4) Molekylær karakterisering av virulens: Virus-vert interaksjoner (laks)
 - **NFR-FUGE II (2008-2010)**
 - **NFR: Kunnskapsplattform (2008-2011)**
- 5) ILAV og Vaccibodies
 - Samarbeide med Bjarne Bogen (UiO)

Virus: Orthomyxovirus

- **Influenza A** (en rekke pattedyr og fugl), B, C (humant primært)
- Thogotovirus (flått) - THOV
- **Infeksiøs lakseanemivirus (laks) - ILAV**



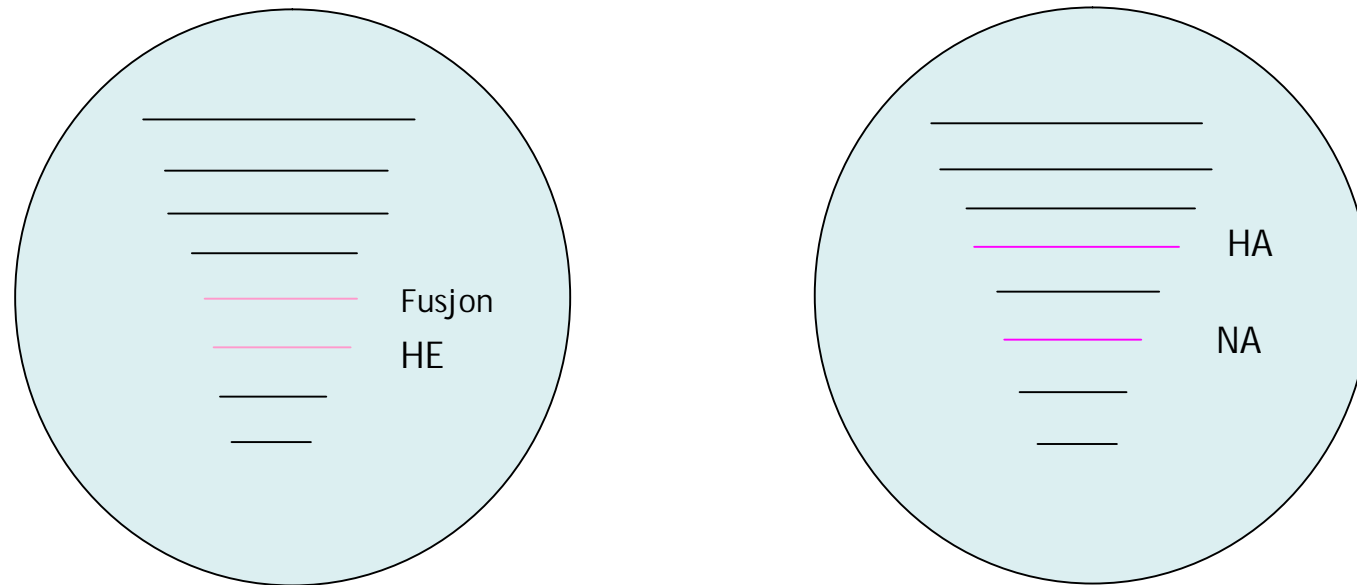
Influenza A



ILAV

Foto: Ellen Namork

ILA vs influensavirus



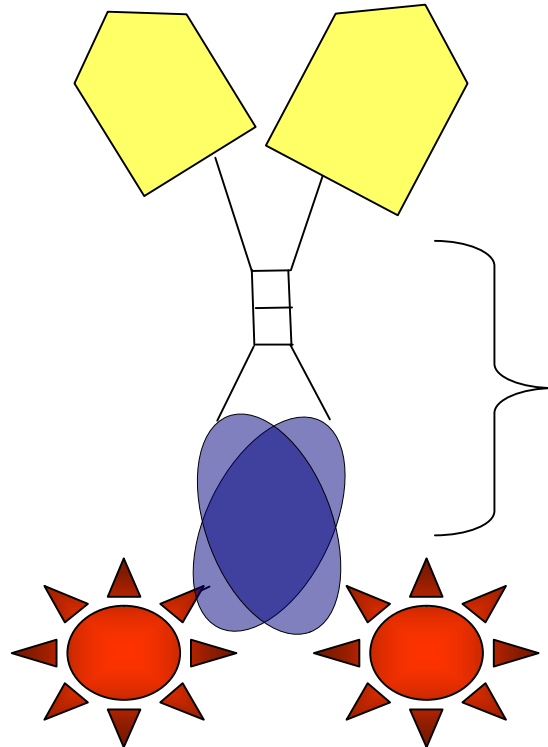
HE: reseptorbindende og reseptorødeleggende funksjon
(tilsvarende NA's funksjon i influensavirus)

F: fusjons proteinet (HA's andre funksjon i influensavirus)

Vaccibody: prinsipp

Her:
MHC klasse II
eller MIP-1 α

Influenza HA
ILAV HE eller F



Målstyrende enhet (mot APC)

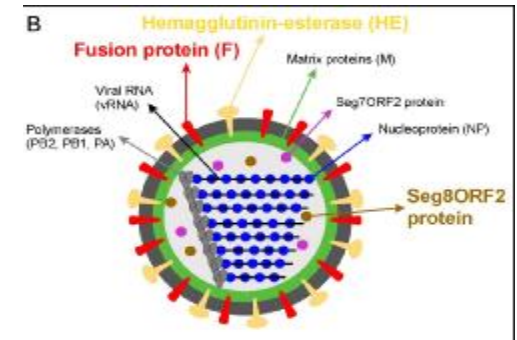
- scFv (V_H+V_L)
- naturlige ligander (e.g. chemokines)

Dimeriseringsenhet

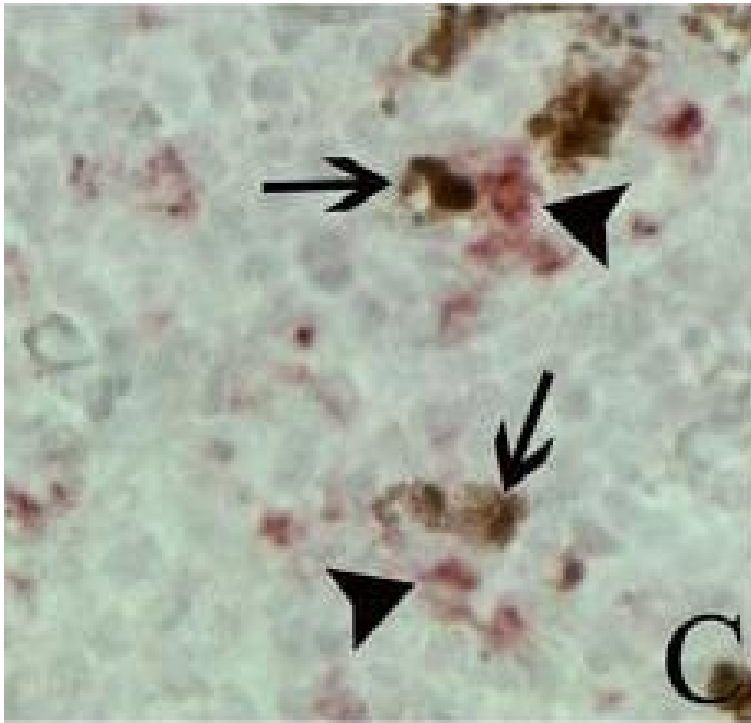
- hengsel
- Cy3

Antigen enhet

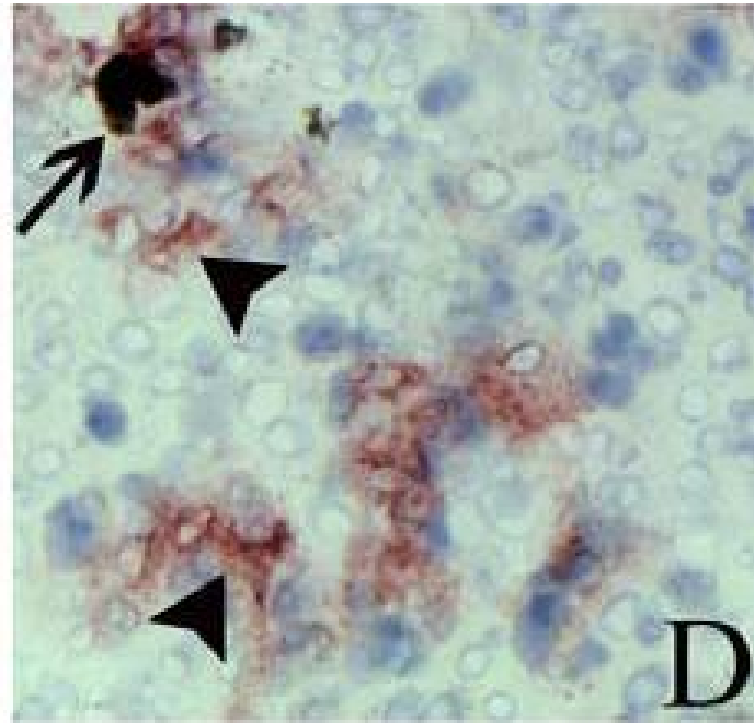
- viralt antigen



Milt farget med mAb mot laks MHC klasse II (β -kjede; IgG1)



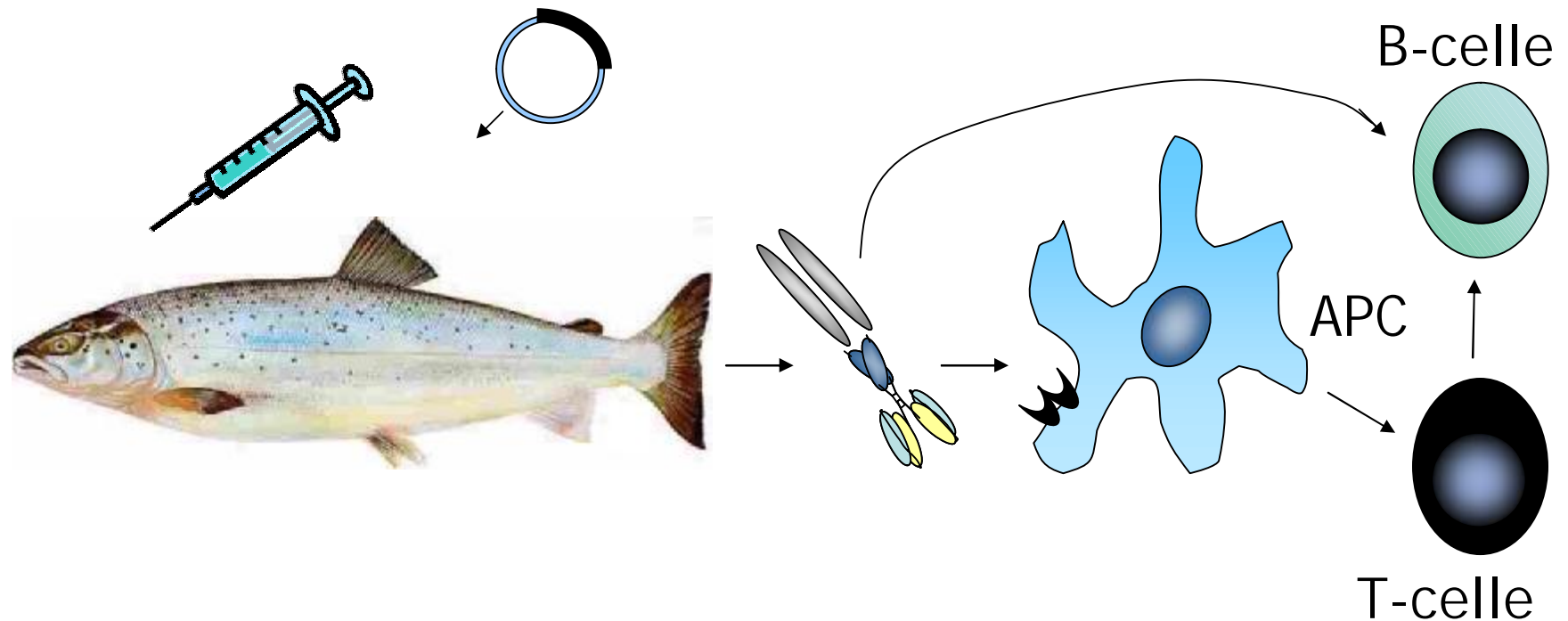
cryosnitt



paraffinsnitt

Melanomakrofag akkumuleringer samt celler i sinusoid vegg

Vaccibody; virkningsmekanisme

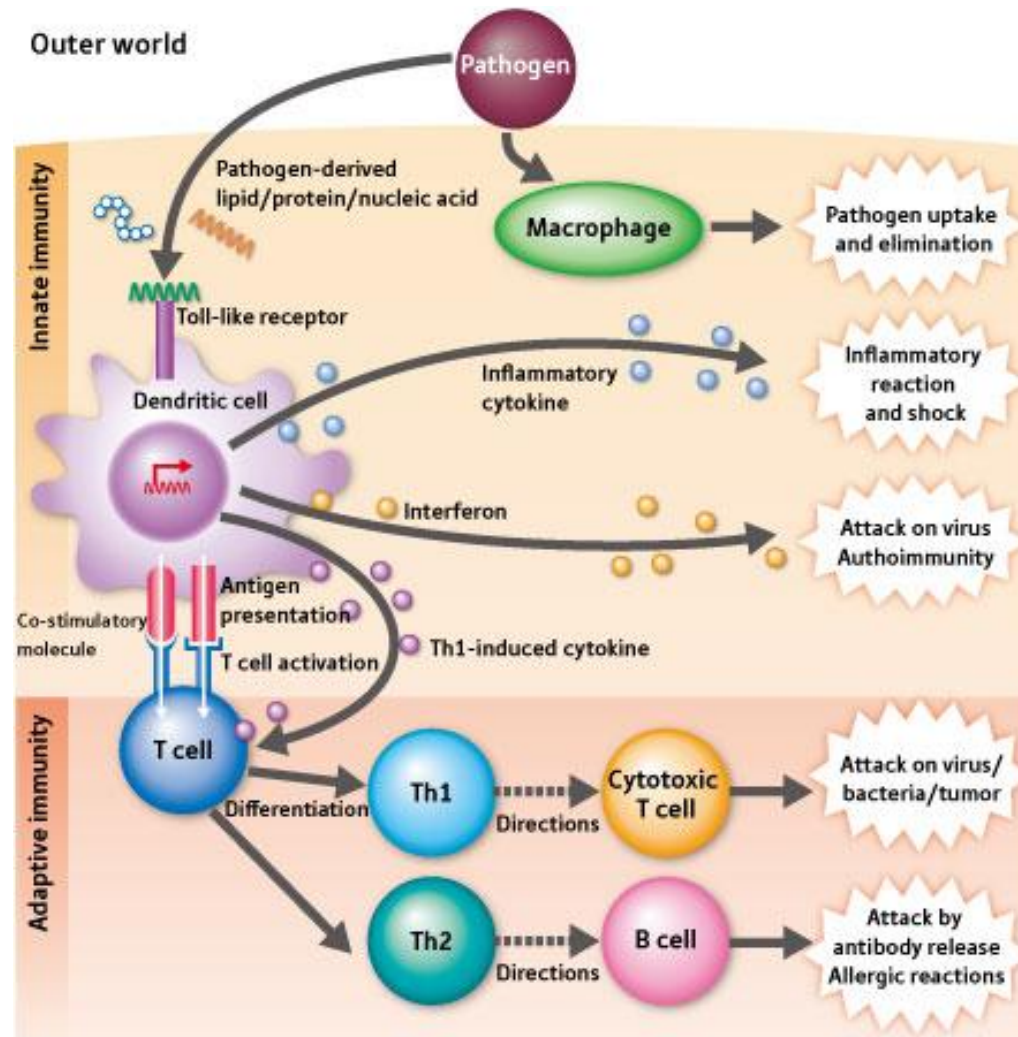


- Vaccibody som binder seg til APC endocyteres, bearbejdes og presenteres for T- og B-celler og produserer beskyttende immunitet mot viruset
- Avhengig av molekylet en målstyrer mot kan en styre immunresponsen i den ene eller andre retning

Medfødt versus ervervet immunitet

Medfødt
immunitet

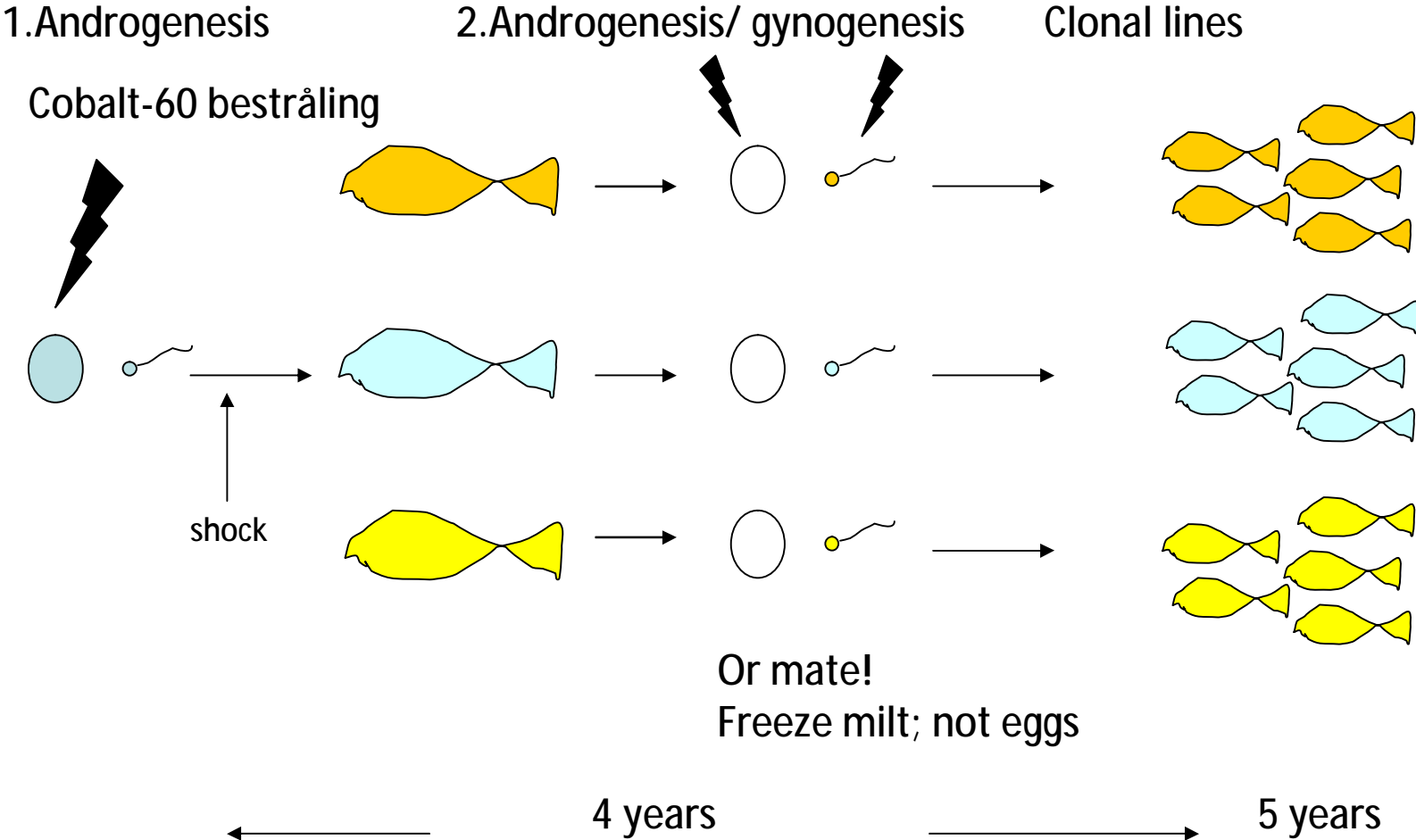
Ervervet
immunitet



Fiskeforsøk

- I dag gjøres fiskeforsøk på en brokete gjeng med genetisk ulike fisk
- Resultatet er dårlig reproduserbarhet
- Norge bør ha en plattform for genetisk standardisert laks og torsk

Androgenesis i laks



USA (G.Thorgaard), France (D.Charrout), Japan (Nakanishi?) Rainbow trout lines

Medfødt versus ervervet immunrespons

