

Kronik Hepatit B Tedavisinde İmmünoterapiler Neler Vaad ediyor?



ŞÜKRAN KÖSE

OCAK 2013

Sunu Akışı



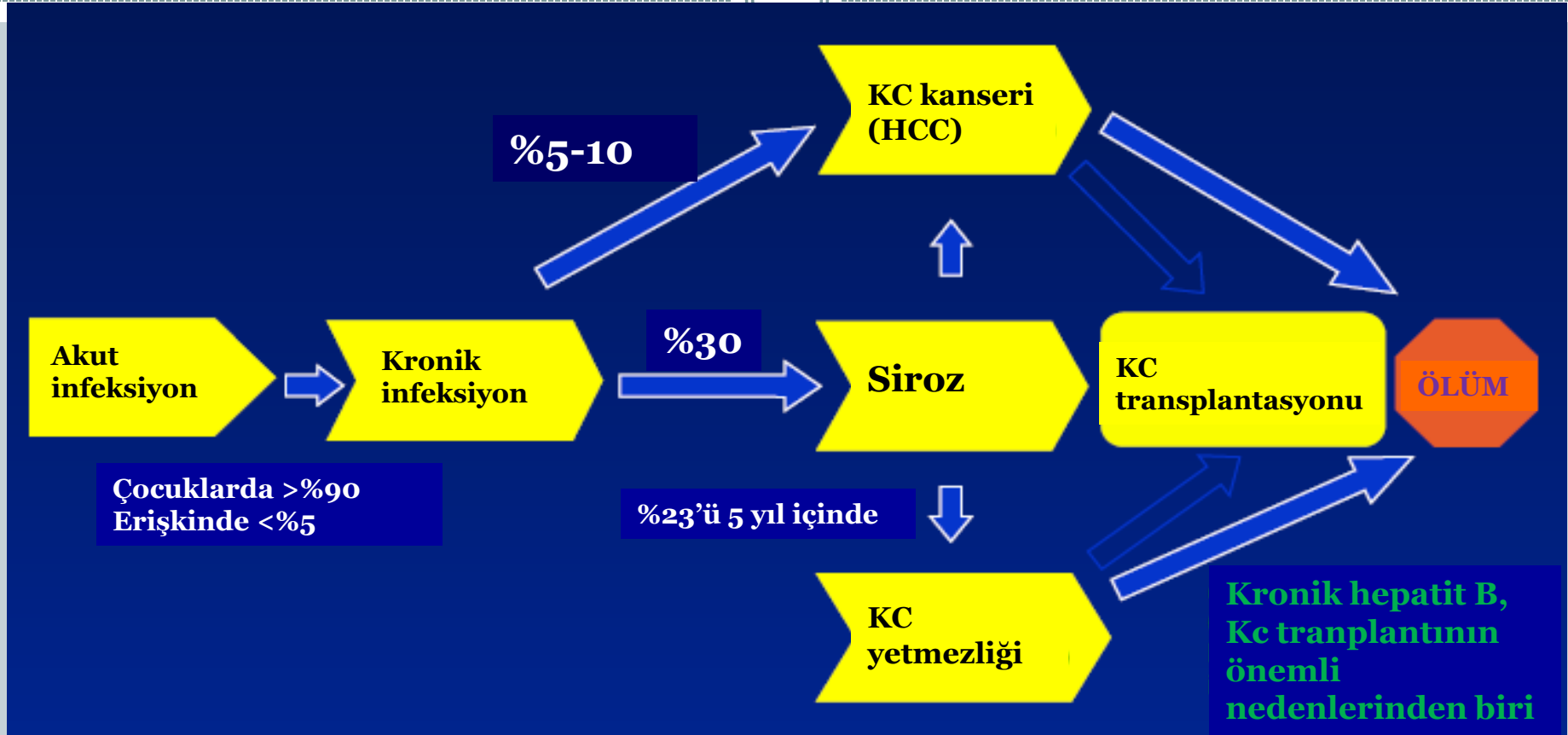
- Kronik Hepatit B ve Hastalık progresyonu
- Tedavideki Hedef ve mevcut ilaçlarla tedavi sonuçları
- Hepatit B İmmünolojisi
- Kronik Hepatit B’de İmmünoterapi
 - Viral replikasyonun supresyonu
 - Peptid aşıları
 - Protein aşıları
 - DNA aşıları
 - DC (Dendritic Cell) aşıları
 - Natural Killer T (NKT) hücreler- α -galaktosilseramid
 - T Hücre Aşıları
 - Adaptif İmmünite transferi
 - Alfa-glukosidaz inhibitör türevleri
 - Monoklonal antikorlar
 - Sitokinler
 - Timozin- α 1 (Talpha1)
 - T hücre yanıtının restorasyonu

Kronik HBV



- Tüm dünyada:
 - Yılda 50 milyon yeni olgu
 - 350 milyon kronik taşıyıcı
 - %75'i Asya'da
 - Yılda 520000 ölüm

HBV İnfeksiyon Progresyonu



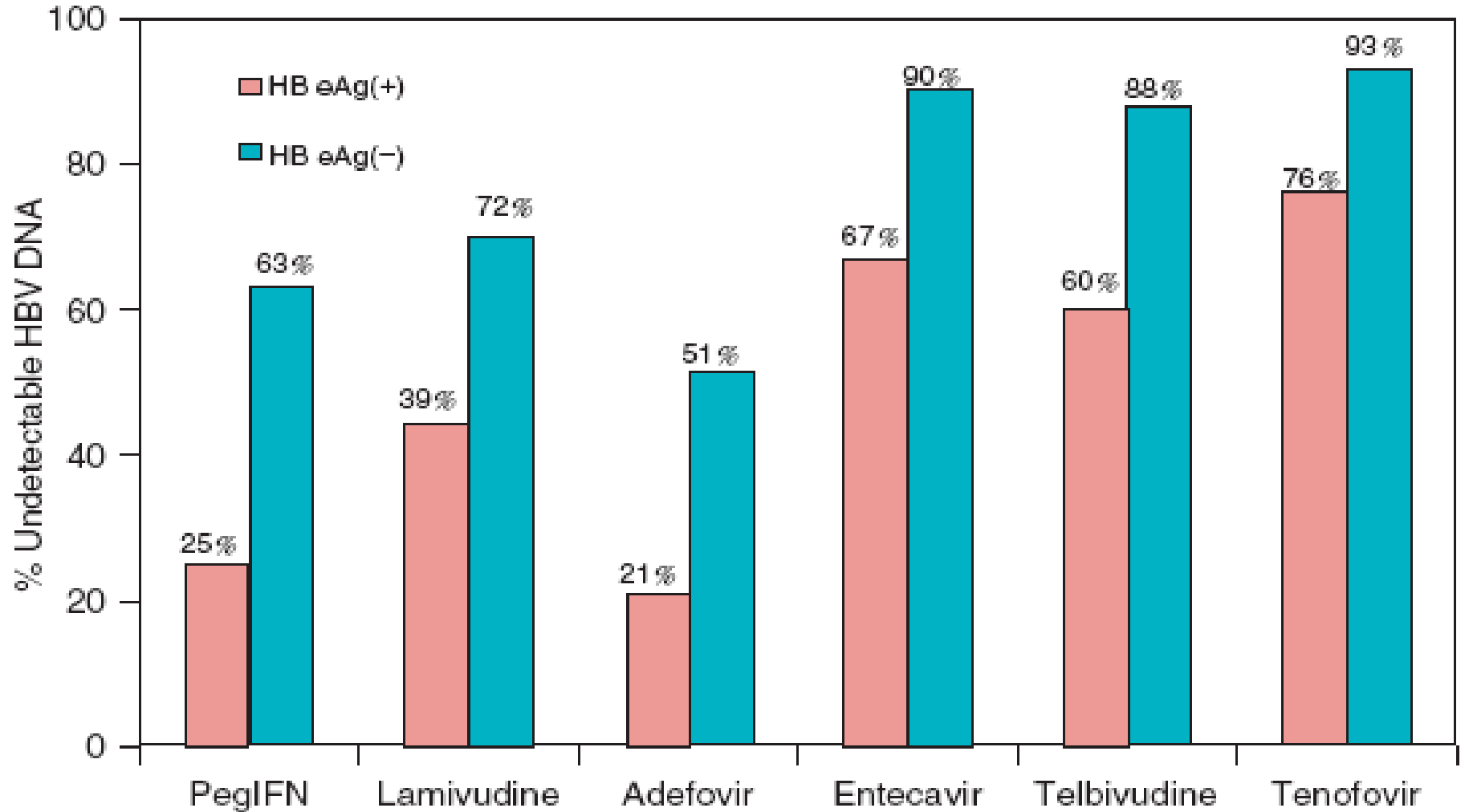
1. Torresi J, et al. *Gastroenterology*. 2000;118 (2 suppl 1):S83-103.
2. Fattovich G, et al. *Hepatology*. 1995;21:77-82.
3. Moyer LA, et al. *Am J Prev Med*. 1994;10:45-55.
4. Perrillo R, et al. *Hepatology*. 2001;33:424-432.

Kronik Hepatit B Tedavisinde Hedef



- Son hedef, HBV DNA'nın kalıcı süpresyonunun sağlanmasıyla Siroz, HCC gibi komplikasyonların önlenmesidir
- Tedavi ile ulaşılması hedeflenenler:
 - Karaciğer histolojisinin düzelmesi
 - Serum HBV DNA yükünün azalması
 - Serum ALT düzeyinin normale inmesi
 - HBeAg kaybı ya da serokonversiyonu
 - HBsAg kaybı ya da serokonversiyonu

Antiviral Tedaviyle Sonuçlar



Source: Ther Adv Gastroenterol  2008 SAGE Publications Ltd

Virolojik yanıtlar (48-52. haftalarda PCR ile DNA'nın saptanmaması)

Hepatit B İmmünolojisi



GENEL BAKIŞ

Hepatit B immünolojisi

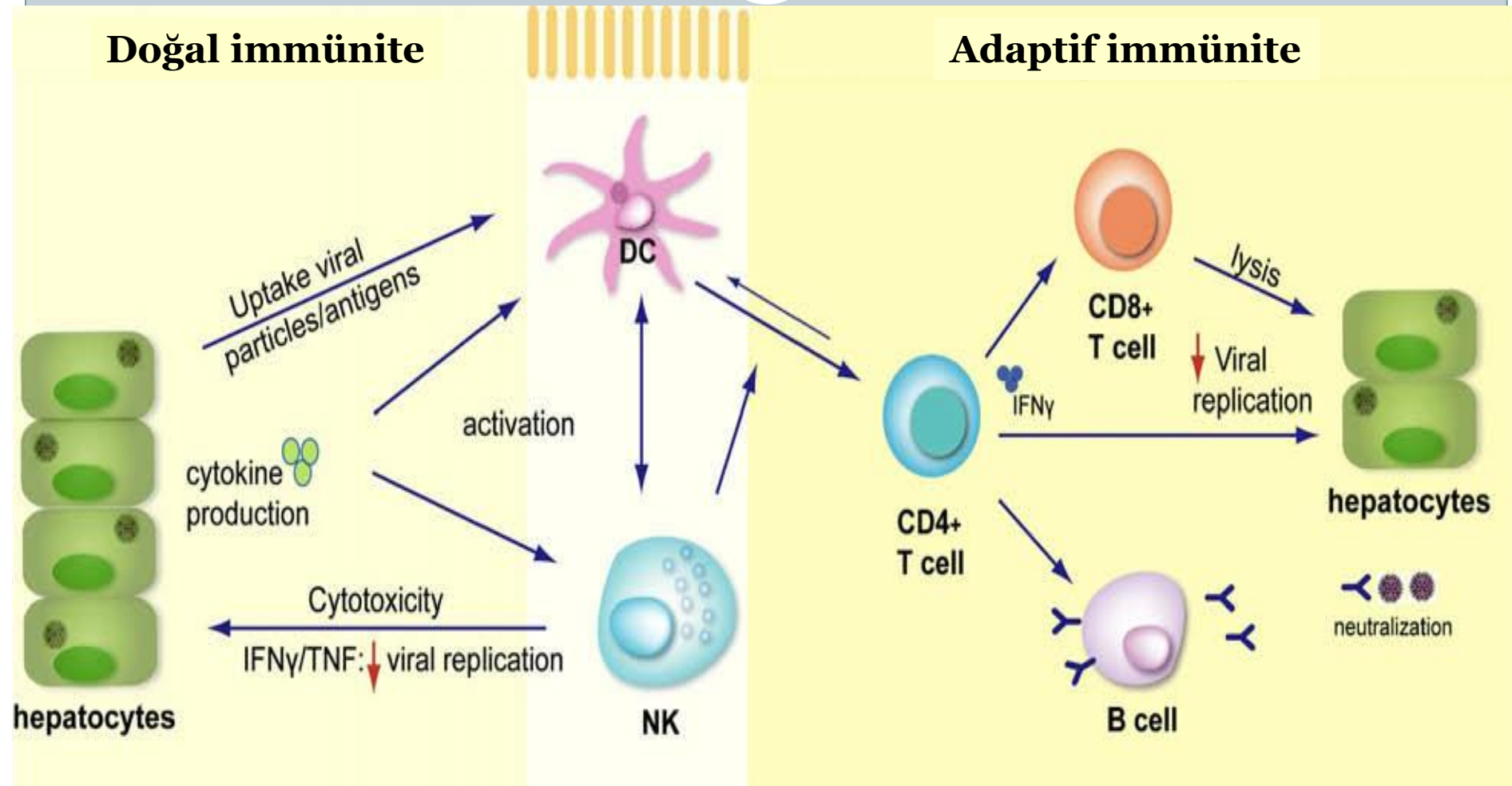


- HBV sitopatik etkilidir
- Hepatit, virus iliřkili peptitlerin insan lökosit antijenleri (HLA) ile iliřkili olarak hepatositlerde eksprese olmasıyla meydana gelir
- Akut, kendini sınırlayan hepatitte virusu eradike etmek ve viral replikasyonu baskılamak üzere yoğun bir immun yanıt vardır
- Antiviral immün yanıtı persistan infeksiyona sürükleyen birçok mekanizma bulunmaktadır

Viral infeksiyonun eliminasyonu

Doğal immünite

Adaptif immünite



Karaciğerdeki bağışıklık hücreleri



- Yerel makrofajlar = Kupffer hücreleri
 - Bazen etkin APC (antijen sunan hücreler) olarak
 - Toleransta da yer alarak bulunabilir
- İntrahepatik lenfositler
 - $CD8+ > CD4+$
 - NK (Natural Killer) ve NKT (Natural Killer T) hücreleri ile zenginleşmiştir

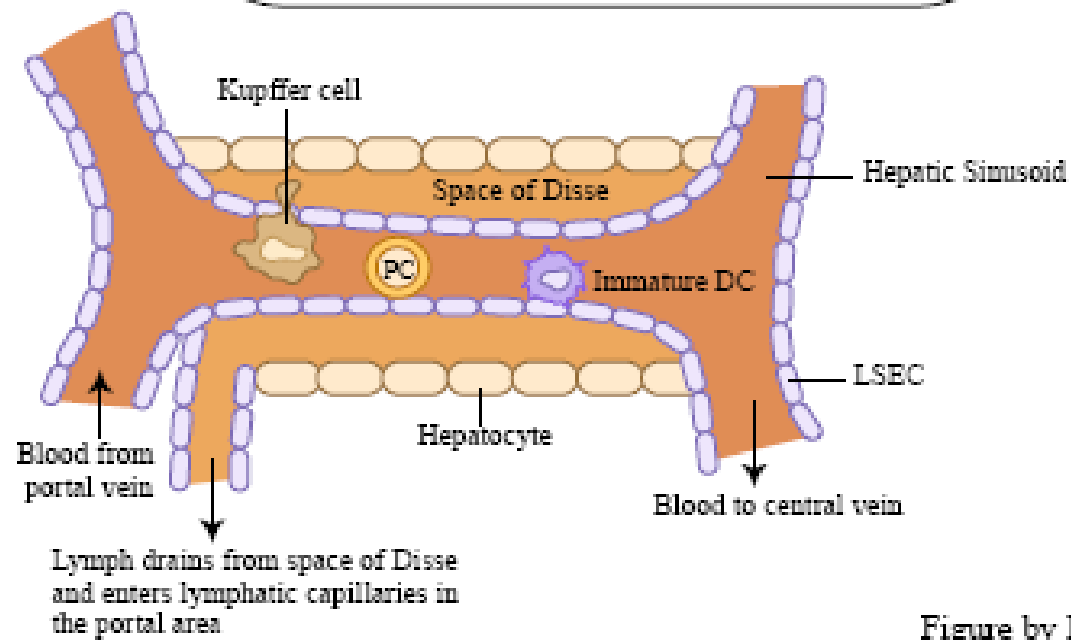
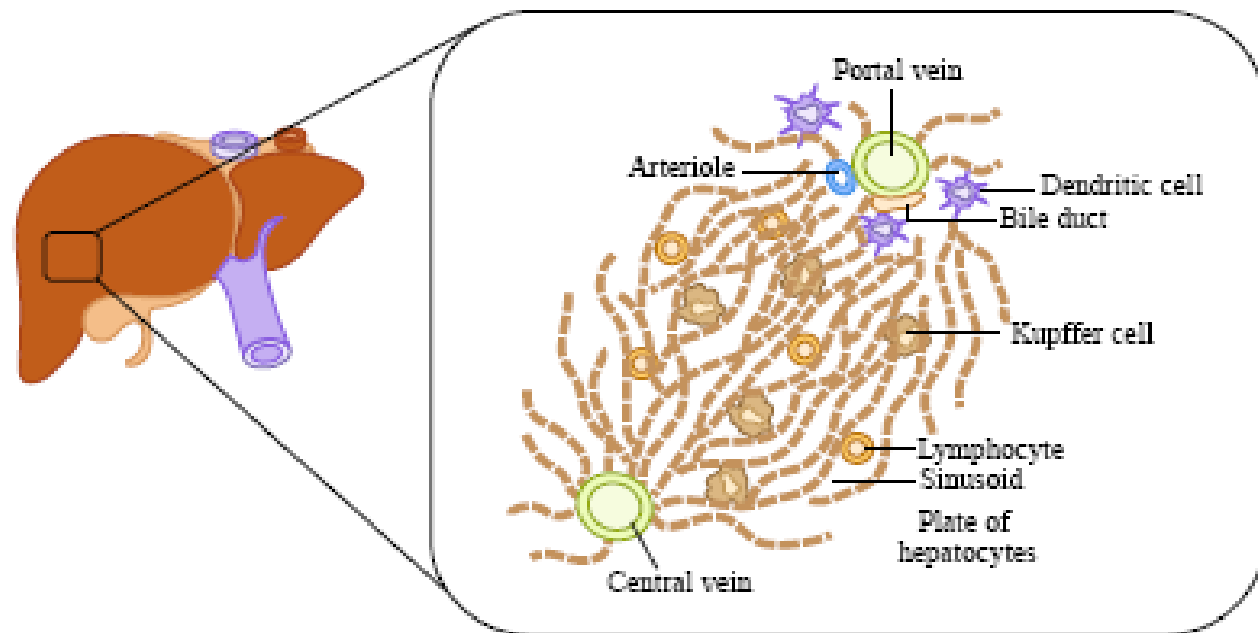
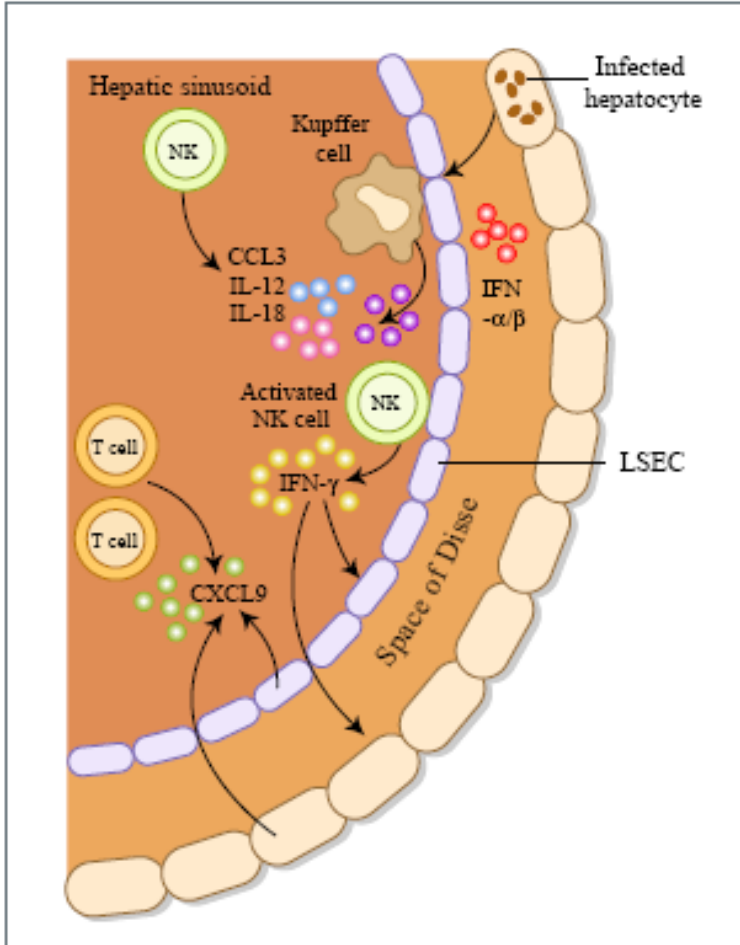


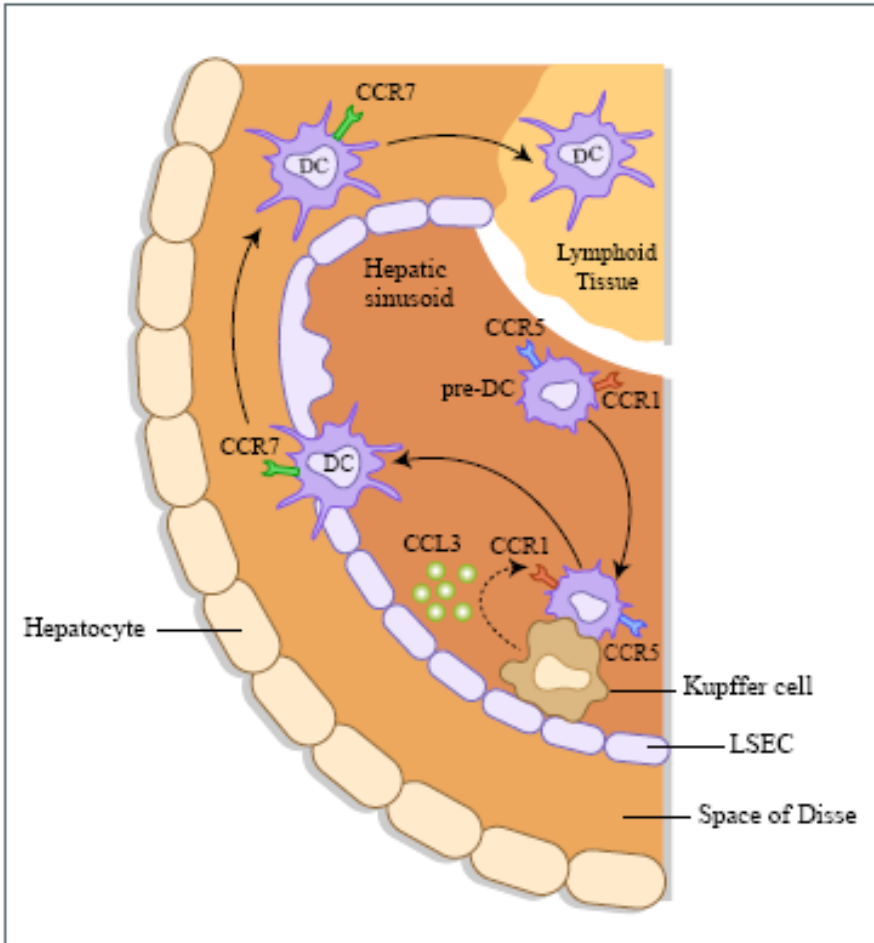
Figure by MIT OCW.

Karaciğerdeki NK hücreleri



- T hücrelerinin alınmasında önemli rol oynar
- Tip 1 IFN'a yanıt olarak, Kupffer hücreleri CCL3 (MIP-1) üretir
- Kupffer hücreleri ve IL-12 ile bir kez aktive olan NK, IFN-γ üretir
- CXCL9 salınımı (MIG) için diğer hücreleri indükler

Karaciğerde Dendritik hücre hareketi



- Kupffer hücreleri CCL3'e yanıt olarak, CCR1 aracılığıyla immatür dendritik hücre yanıtı olur
- CCR1 ve CCR5 downregülasyonu olur, CCR7 upregülasyon olur, CCL21'e yanıt vermeye başlar
- Portal sistemdeki lenfoid dokular ve oradan lenf noduna göçer

Karaciğerde T hücre toleransı

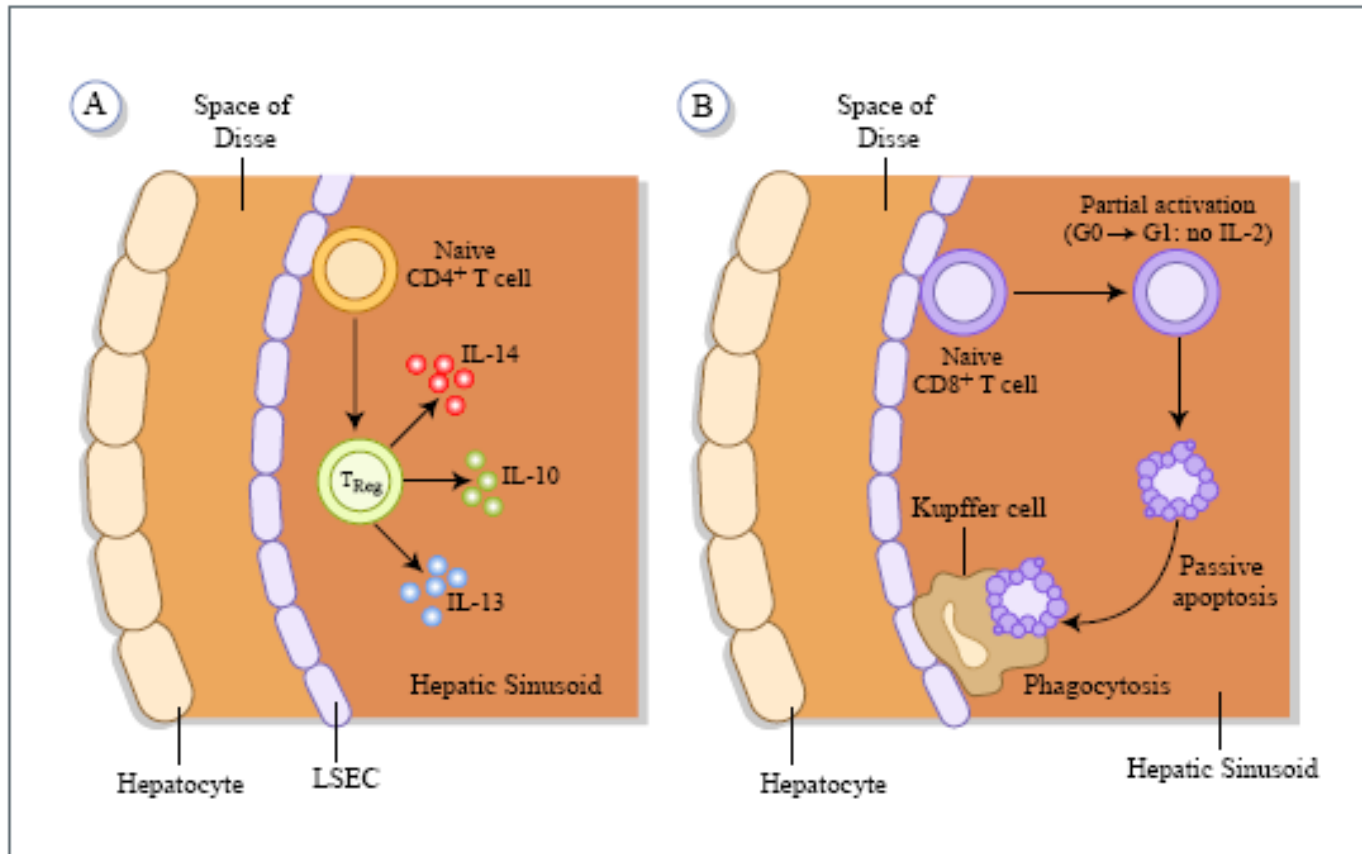
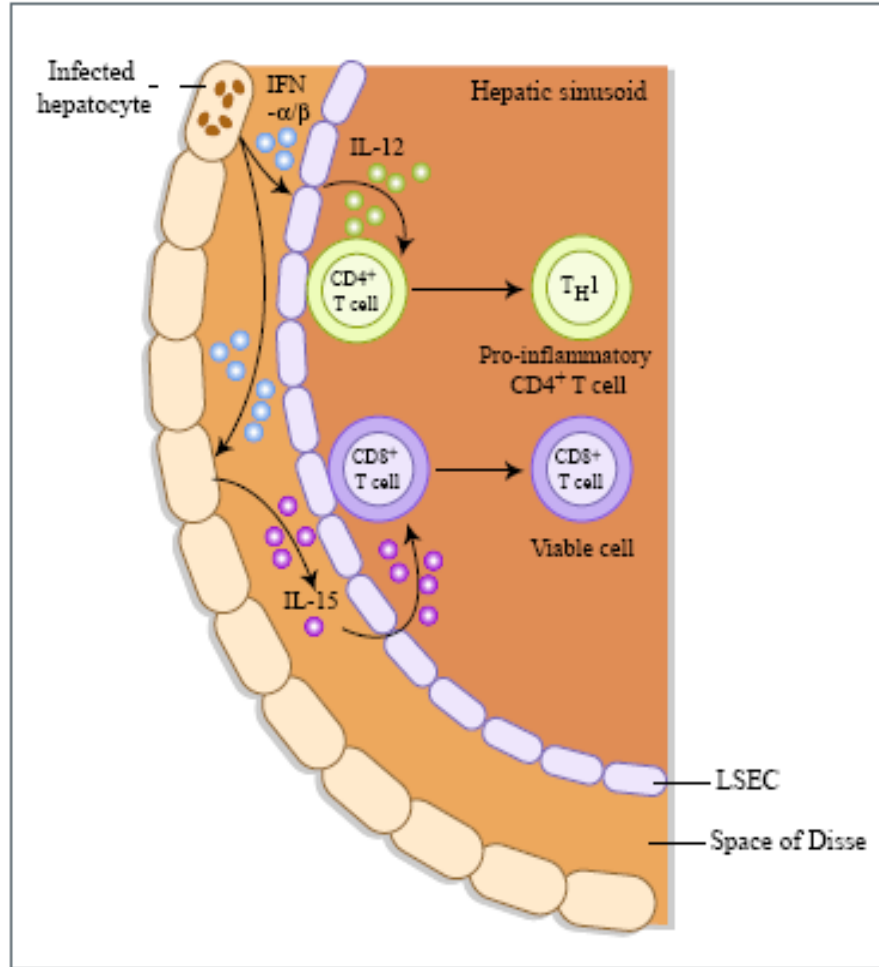


Figure by MIT OCW.

Temel toleransın yenilmesi



- Hipoteze göre tip 1 IFN karaciğer sinusoidal endotelya hücrelerinin IL-12 üretmesini sağlar
- T- hücre diferensiyasyonunu artırır
- IL-15, CD8⁺ Thücreleri için kurtarıcı faktör olarak sunulur

Tolerans- Sonuç 1



- Kronik hepatit B infeksiyonunda HBV proteinlerine tolerans gelişimi ya da TCL cevapsızlığı tam olarak anlaşılamasa da olası mekanizmalar şunlardır:
 - Negatif seleksiyon,
 - İmmunolojik habersizlik,
 - Periferel anerji,
 - Tükenme,
 - Hücre yüzey reseptörlerinin downregulasyonu,
 - Lenfokin üretiminde dengesizlikler,
 - Defektif antijen sunucu hücre fonksiyonu.

Tolerans- Sonuç 2



- İmmünolojik toleransın kırılabilmesi ve persistan viral enfeksiyonun sonlandırılabilmesi için, her bir viral proteine karşı hiporeaktivite bilgisine sahip olunmalıdır; bu şekilde terapötik aşılar tasarlanabilir

Kronik Hepatit B'de İmmünoterapi



Viral hepatitte immünoterapötik yaklaşımlar



- Viral infeksiyonu sonlandıracak tedavi stratejileri, persistan viral infeksiyondan sorumlu yetersiz antiviral immünolojik mekanizmalara göre değerlendirilmelidir
- Birçok tedavi stratejisi direkt olarak HBV'yi hedeflemektedir
- Bunun en önemli nedenleri, iyi hayvan modellerinin sağlanabilmesi ve temel immünolojik analizlerin yapılabilmesidir

Viral hepatitte immünoterapötik yaklaşımlar



1. Viral replikasyonun supresyonu
2. HBV'a karşı immün yanıtın indüksiyonu
3. Özgül olmayan hücrelerin aktivasyonu
4. Sitokinlerin yönetimi

Viral replikasyonun supresyonu



- Yüksek viral yükün regülatör T hücre indüksiyonuna ek olarak CD4+ ve CD8+ T hücrelerince baskılandığı gösterilmiştir
- Bu durum antiviral tedaviyle tersine dönebilir, CTL reaktivitesi tekrar oluşabilir
- Bu nedenle, antiviral tedaviyle virüse özgül T hücre yanıtının düzenlenmesinden hemen sonra immünoterapi verilirse daha etkili olabilir

Peptid aşıları



- Yüksek immünojenik HBc18-27 içeren bir peptid aşısı geliştirilmiş ve kronik hepatit B hastalarına uygulanmıştır
- Yeterli antiviral T hücre yanıtı alınamamış, sonuçlar yüz güldürücü olmamıştır

Protein aşıları



- Bir transgenik fare modelinde, yüzey antijen içeren Freund adjuvanıyla ayda bir defa olmak üzere bir yıl boyunca verilmiş
- Bir çok farede HBV DNA miktarında azalma, HBeAg ve HBsAg kaybı gözlenmiştir
- Bazı hastalarda anti-HBs pozitifliği gelişmiştir
- Hayvan deneylerindeki bu başarıya rağmen, insan çalışmalarında monoterapi olarak uygulandığında sınırlı etkisi olmuştur

Protein aşıları



- Sonraları yalnızca S proteini değil, preS proteini de içeren aşılarla immünogenisite arttırılmıştır
- Lamivudine ya da IFN- α ile kombine edilmiş, klinik etkinlik artırılmaya çalışılmıştır
- T hücre epitop hiyerarşisi çalışmaları göstermiştir ki, viral kontrolde en önemli kontrol HBc18-27'dir (HLA-A2'deki HBsAg epitopu değil)
- Daha iyi bir viral kontrol için daha iyi antijen seçimi?

Pol, S et al. (2001). *J Hepatol*, Vol.34, No.6.

Klein, A et al. (2003). *Am J Gastroenterol*, Vol.98, No.11.

Helvaci, M et al. (2004). *J Gastroenterol Hepatol*, Vol.19, No.7.

Webster, GJ et al. (2001). *Mol Immunol*, Vol.38, No.6.

DNA aşıları



- HBV antijeni kodlayan plasmid DNA'dan meydana gelir
- Plasmid DNA, HBsAg ya da HBV zarf proteinlerini eksprese edebilir
- Tek bir injeksiyondan 4-8 hafta sonra anti-HBs meydana gelir ve 17 hafta boyunca kalır
- 2. bir injeksiyonla 10 kat boost etkisi yaratılır

DNA aşıları



- HBV antijeni kodlayan plasmid DNA'dan meydana gelir
- Fare ve hayvan çalışmalarında plasmid DNA enjeksiyonunun hücresel ve humoral immün yanıtı güçlü bir şekilde artırdığı gösterilmiştir
- Güvenlidir ve iyi tolere edilir
- Bir hayvan modelinde HBV zarf ve/veya kor proteinini kodlayan DNA aşılarının, monoterapi ya da lamivudin ile birlikte uygulandığında, üçte bir olguda hem viremiyi, hem de karaciğerde cccDNA'yı azalttığı gösterilmiştir
- HBV enfeksiyonu tedavisinde asıl amaç karaciğerden cccDNA'nın temizlenmesi olduğundan, bu sonuçlar umut vaat etmektedir
- Randomize kontrollü çalışmalarla konfirme edilmelidir

DC (Dendritic Cell) aşıları



- DC, antijen sunan hücrelerdir; T ve B hücre yanıtını oldukça güçlü olarak uyarabilmektedir
- Aktive kemik iliği derivesi DC'lerin HBV transgenik farelerde CTL toleransını kırdığı gösterilmiştir
- Bu nedenle aktive DC ile immünoterapiler hayvan ve insan modellerinde çalışılmaktadır
- Bir hayvan modelinde serum HBsAg ve HBV DNA'da belirgin bir düşüş gözlenmiştir
- Kronik hepatit B'de terapötik potansiyeli vardır

Shimizu, Y. et al. (1998). *J Immunol*, Vol.161, No.9.

Jiang, WZ. et al . (2008). *Antiviral Res*, Vol.77, No.1.

DC aşıları



- İntrahepatik antijen sunan hücrelerin (DC dahil) anti-CD40 agonistik antikör injeksiyonu ile aktive edildiğinde HBV replikasyonunu sitopatik olmayan mekanizmalarla (TNF- α ve IL-12 gibi antiviral sitokinlerin üretimi yoluyla) inhibe ettiği gösterilmiştir
- Bu çalışmada HBV antijenlerine karşı CTL yanıtı gösterilememiştir
- Antiviral immün yanıtta DC'lerin in vivo aktivasyonu alternatif bir yol olabilir

DC aşıları



- Peptid ve protein ile aktive DC injeksiyonu, bazı hastalarda HBV DNA yükünü azaltabilmektedir
- Bir çalışmada hastaların yarısından çoğunda HBeAg negatifliğine ulaşılmıştır.
- Aktive ve matür DC ile hazırlanmış immünoterapiler oldukça pahalıdır ve bu konuda deneyimli araştırmacılara gereksinim duyulmaktadır
- Ancak bu konudaki en umut verici immünoterapilerden biridir

Natural Killer T (NKT) hücreler- α -galaktosilseramid



- HBV transgenik farelerle yapılan bir deneyde tek bir α -galaktosilseramid injeksiyonu, karaciğerde NKT hücrelerini aktive ederek HBV replikasyonunu baskılamıştır
- Ancak α -galaktosilseramid insanlarda zor tolere edilmekte ve belirgin bir antiviral aktivite gösterememektedir
- Bunun olası bir nedeni, fareninkiyle karşılaştırıldığında insan karaciğerinde daha az NKT hücrelerinin olmasıdır

Kakimi, K. et al. *J Exp Med*, Vol.192, No.7, (October 2000), pp. 921-930.

Woltman, AM. et al. (2009). *Antivir Ther*, Vol.14, No.6, (2009), pp. 809-81

T Hücre Aşıları



- Kronik hepatit B hastalarında HBV antijenine karşı CTL yanıtında sorun vardır; bu nedenle virus etkili bir şekilde temizlenemez
- Bir faz II çalışmasında kronik hepatit B hastalarına “HLA-restricted HBcAg CTL epitope” içeren bir aşı uygulanmış, bu şekilde sitotoksik T hücre yanıtı stimüle edilmiş, ancak antiviral etkinin zayıf olduğu görülmüştür

Adaptif İmmünite transferi



- Hepatit B aşısı ile immünize olmuş kemik iliği transplant donörlerinin alıcılarında anti-HBs oluşumu, adaptif immün transfer yoluyla indüklenebilmektedir
- Eğer donör anti-HBs ve anti-HBc pozitif ise kronik hepatit B'li alıcıda HBV'nin viral temizlenmesi görülebilmektedir
- Bu durum, HBcAg reaktif T hücrelerinin transferi ile açıklanmaktadır
- Kemik iliği transplantasyonu morbidite ve mortalitesi yüksek bir hastalık olduğundan, kronik hepatit B'de tedavi seçeneği olarak düşünülmemelidir

Lau GK, et al. Clearance of Hepatology 1997; 25:1497.

Lau GK, et al. Gastroenterology 2002; 122:614.

Alfa-glukosidaz inhibitör türevleri



- Glukosidazlar, glikoprotein biyosentezinde önemli hücresel enzimlerdir
- Viral yapısal proteinlerin sentezinde de önemli yere sahiptirler
- Glukosidazların inhibisyonu, anti-viral tedavide önemli hale gelmiştir
- N-butyl-DNJ'nin N-nonyl-DNJ ve N-nonyl-DGJ olan iki türevi glukosidaz inhibitörüdür ve in vitro modellerde HBV DNA'da 9-15 kat azalmaya neden olmuştur
- Bu yapılar glukosidaz aktivitesiyle etkileşmemekte, sitotoksik etkiye neden olmamaktadır
- Bu ajanın in vivo etkisinin olup olmayacağı, güvenilir olup olmadığı henüz netlik kazanmamıştır

Monoklonal antikorlar



- Bir faz I çalışmasında hepatit B yüzey antijenlerinin farklı epitoplarına yönelik monoklonal antikorlarının HBsAg ve HBV DNA düzeyini azaltabileceği gösterilmiştir
- Bu tedavinin uzun dönem etkileri ve diğer antiviraller ile kombinasyonu henüz netlik kazanmamıştır

Sitokinler



- IL-12 ve IL-18 gibi sitokinlerin HBV transgenik farelerde HBV replikasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir
- İnsan çalışmalarında GM-CSF ve IL-12, bazı anti viral etkileri için kullanılmıştır
- Bu sitokinler monoterapi olarak ya da hepatit B aşıları ve lamivudin ile kombine kullanılmışlardır

Cavanaugh, VJ. et al. (1977). *J Virol*, Vol.71, No.4.

Kimura, K. et al. (2002b) *J Virol*, Vol.76, No.21.

Wang, J. et al. (2002). *Chin Med J*, Vol.115, No.12.

Rigopoulou, EI. et al. (2005). *Hepatology*, Vol.42, No.5.

Timozin- α 1 (Talpha1)



- Talpha1, sentetik bir 28-amino asit peptittir
- Th1'in immün yanıtını artırır
- Direkt antiviral etkisi de vardır
- Kronik hepatit B ve hepatit C tedavisinde kullanılmış, antiviral etkisi gösterilmiştir

Arase, Y. et al. (2003). *Intern Med*, Vol.42, No.10, (October 2003), pp. 941-946.

Iino, S. et al. (2005). *J Viral Hepat*, Vol.12, No.3, (May 2005), pp. 300-306.

You, J. et al. (2006). *World J Gastroenterol*, Vol.12, No.41, (November 2006), pp. 671-676.

Lee, HW. et al. (2008). *J Gastroenterol Hepatol*, Vol.23, No.5, (May 2008), pp. 729-734.

Timozin- α 1 (Talfa1)



- Talfa1'in lamivudin ve IFN- α tedavisiyle kombinasyonlarına yönelik çelişkili sonuçlar bulunmaktadır
- Bir meta analizde Talfa1 ile lamivudinin kombinasyon tedavisinde ALT normalizasyon, virolojik yanıt ve HBeAg serokonversiyonunun tek başına lamivudin tedavisine göre oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir
- Bu meta analizde HBeAg serokonversiyon hızı kombinasyon grubunda %45 iken, lamivudin monoterapisinde %15'tir

T hücre yanıtının restorasyonu



- T hücre yanıtının restorasyonu ya da artırılmasını inceleyen bir çok in vitro çalışma bulunmaktadır
- T hücrelerinin yalnızca PD-1 (programlı ölüm-1) eksprese etmediği, CTLA-4 (sitotoksik T lenfosit antijen-4), CD244 ya da Tim-3 de eksprese ettiği, bu moleküllerin kombine olarak bloke edilmesinin tek başlarına bloke edilmesine göre T hücre aktivasyonunda daha iyi olabileceği öngörülmektedir

Nakamoto, N. et al. *PLoS Pathog*, Vol.5, No.2, (February 2009), e1000313.

Raziorrouh, B. et al. (2010). *Hepatology*, Vol.52, No.6, (November 2010), pp. 1934-

Golden-Mason, L. et al. (2009). *J Virol*, Vol.83, No.18, (July 2009), pp. 9122-9130.

Sonuç



- Kronik hepatit B enfeksiyonunu kontrol etmede immünoterapinin kullanımı ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır ve bunların bir kısmı ümit vericidir
- Viral süpresyon, sitokinler, DNA ya da DC immünizasyonu ile antiviral immün yanıtın stimülasyonu ve immunoinhibitör sinyallerin süpresyonui yeterli antiviral etkiye ulaşabilmek için kombine edilmelidir
- En etkili kombinasyonların ve en iyi protokollerin oluşturulabilmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır



teşekkürler