

“Immune Perspective”**Moleculaire achtergrond en consequenties van de interactie tussen het Spike eiwit van het SARS-CoV2 virus en het ACE2 eiwit op de slijmvliezen van de mens****Consequenties voor maatschappelijke en strategische keuzes rondom de COVID-19 pandemie****Dit “Immune Perspective” is mede gebaseerd op:****Blocking of the high-affinity interaction-synapse between SARS-CoV-2 spike and human ACE2 proteins likely requires multiple high-affinity antibodies: an Immune Perspective****Indu Khatri, Frank J.T. Staal en Jacques  Dongen****Afdeling Immunologie, Leiden Universitair Medisch Centrum (LUMC), Leiden, NL**Frontiers in Immunology, 17 September 2020, pp 1-9, artikel 570018
(doi: 10.3389/fimmu.2020.570018)**1. Afweer tegen het SARS-CoV2 virus**

Wereldwijd wordt hard gewerkt om beter te begrijpen waarom bepaalde personen toch ernstig ziek worden van een SARS-CoV2 infectie, zonder dat er sprake is van “co-morbiditeit”, zoals een afweerstoornis, obesitas, bestaande longproblematiek, bestaande stollingsproblematiek, diabetes type-II, etc.

Afweerreacties tegen een nieuw micro-organisme (“neoantigeen”)

Over het algemeen wordt aangenomen dat met het toenemen van de leeftijd een verminderd functioneren van het afweersysteem ontstaat, doordat vergelijkbaar met alle orgaansystemen, ook het afweersysteem veroudert (“immunosenescence”). Het klopt dat jonge en oudere kinderen en ook jongvolwassenen nauwelijks problemen hebben. Dit sluit aan bij het feit dat er op jonge leeftijd volop afweercellen in het lichaam circuleren. Vooral de zogenoemde naïeve B- en T-lymfocyten zijn in grote aantallen aanwezig; zij liggen klaar om bij **contact met nieuwe bacteriën en virussen** zo snel mogelijk aan het werk te gaan. Het kost wat tijd om “op gang” te komen en de juist antistoffen produceren, die precies passen op het betreffende micro-organisme. Dit wordt veroorzaakt door de tijd die nodig is om in de antistoffen de juist mutaties te maken én deze te selecteren, zodat een optimale antistof ontstaat met een krachtige binding tegen de juiste virale of bacteriële eiwitten. Bij de afweer tegen het **compleet nieuwe SARS-CoV2 virus** is het niet anders. Omdat dit virus compleet nieuw is (=neoantigeen) en nog nooit eerder door het menselijke afweersysteem werd “gezien”, moet het afweersysteem volledig van “scratch” opstarten. Dat kost even tijd, maar is voor een gezond afweersysteem op zich geen probleem. **Dit is een vergelijkbaar proces voor zowel een SARS-CoV2 infectie als een SARS-CoV2 vaccin.**

Leeftijd: Kinderen, volwassenen en ouderen

Zoals we de laatste 5 à 6 weken zien gebeuren, worden steeds meer (vooral jonge) mensen besmet, maar gelukkig komen nog slechts een beperkt aantal mensen in het ziekenhuis terecht. Het percentage jonge mensen met een afweerprobleem is dus klein. Echter, naarmate meer (oudere) volwassenen worden besmet zal de situatie snel veranderen. Gelukkig worden de ouderen en de mensen in verpleeghuizen beter afgeschermd dan eerder dit jaar, wat belangrijk is omdat een groter deel van hen meerdere vormen van “co-morbiditeit” heeft én een minder goed functionerend afweersysteem. Dit wordt waarschijnlijk merendeels veroorzaakt door een (sterk) verminderde aanmaak van het “aangeleerde” afweersysteem, de naïeve B-lymfocyten en T-lymfocyten; juist deze naïeve afweercellen moeten die in voldoende aantallen aanwezig zijn om efficiënt tegen het nieuwe virus te reageren.

Niet alle ouderen hebben een minder functionerend afweersysteem, want we zien bij diverse centenarians (honderdjarigen) toch een uitstekende afweerreactie tegen SARS-CoV2. De verminderde B-cel en T-cel afweer neemt toe met de leeftijd, maar dit is dus niet noodzakelijkerwijs een algemeen proces, dat voor iedereen hetzelfde is. Ofwel, “immunosenescence” komt zeker voor, maar verschilt sterk tussen personen en kan al (zeer) vroeg aanwezig zijn, zelfs al bij een klein deel van de jongere volwassenen onder de 35 jaar.

Kortom, een goed functionerend “aangeleerd” afweersysteem speelt een centrale rol in de snelle én efficiënte opbouw van een goede afweerreactie met antistoffen tegen het SARS-CoV2 virus. Dit proberen we nu in meer detail aan te tonen in de lopende BEAT-COVID1 en SARS-Reponse studies van het LUMC in Leiden.

2. Het Spike eiwit van het Corona virus**Ongebruikelijk krachtige binding van het Spike eiwit van het SARS-CoV2 virus aan de menselijke slijmvliezen**

We hebben proberen te begrijpen waarom het SARS-CoV2 virus zo fors kan toeslaan en zich veel sneller en makkelijker kan verspreiden dan het SARS-CoV1 virus. De reden lijkt buitengewoon simpel: Het SARS-CoV2 virus heeft een uitzonderlijk grote bindingskracht aan de menselijke slijmvliezen van de luchtwegen (neus, keel, longen) en de darmen, namelijk met een “affiniteit” (bindingskracht) die minimaal 15 x hoger is dan van het SARS-CoV1 virus. Dat wordt veroorzaakt door het feit dat de specifieke aanhechting van het “Spike-eiwit” van het SARS-CoV2 virus aan het menselijke ACE2 eiwit op de slijmvliezen maar liefst 18 contactpunten heeft, terwijl het SARS-CoV1 virus slechts 8 contactpunten heeft. Dit levert logischerwijze een zeer krachtige aanhechting op met een ongebruikelijk hoge “affiniteit” (Kd waarde van $8.30E-10$ M). De “synaps” tussen het Spike-eiwit van het SARS-CoV2 virus en het menselijke ACE2 molecuul is bovendien zeer groot, ongeveer 1.800 \AA^2 (vierkante \AA) met de 18 contactpunten. Dit wordt nader toegelicht in **Figuur 1** van Frontiers in Immunology, 17 september 2020, pp 1-9, artikel 570018 (doi: 10.3389/fimmu.2020.570018).

Geen mutaties in de ACE2-aanhechtingsplekken van het virale Spike eiwit.

De bindingskracht van het Spike-eiwit van het SARS-CoV2 virus aan het menselijke ACE2 molecuul kan nauwelijks sterker worden, want het zal moeilijk zijn om het aantal contactpunten nog verder uit te breiden. Dit is op zich al wonderlijk, want veelal vinden er stapsgewijze evolutionaire (mutatie) processen plaats, die een micro-organisme stapsgewijs virulenter kan maken. Inderdaad zijn wereldwijd al vele mutaties

gevonden tussen de duizenden (> 4.600) verschillende SARS-CoV2 virusstammen, zowel achtereenvolgens als parallel tussen de verschillende uitbraken in de wereld (zie <https://nextstrain.org/ncov/global>). Dit is logisch, want bij iedere delings- en verspreidings-stap vinden mutaties plaats (ongeveer 1 mutatie per 10.000 nucleotiden per proliferatiestap; het virus bevat ongeveer 30.000 nucleotiden). Uiteraard zijn lang niet alle mutaties “functioneel”, zodat veel mutaties leiden tot een fout en niet bijdragen aan een nieuwe variant van het virus. Hierbij is zeer interessant dat **de gevonden mutaties juist niet in de synaps van het Spike eiwit** zijn gevonden. Dat wil niet zeggen dat ze daar niet zijn ontstaan, maar dat wil waarschijnlijk zeggen dat dergelijke mutaties juist een nadeel in de binding van het virus hebben gegeven, zodat er een negatieve selectie is ontstaan.

Kortom, het lijkt er op dat de huidige synaps-regio van het Spike-eiwit al vanaf de eerste uitbraak in China (november 2019) heeft bestaan en “ideaal” is voor het SARS-CoV2 virus om aan het menselijke ACE2 eiwit te binden. Blijkbaar kan deze Spike synaps-sequentie nauwelijks verder worden verbeterd om nog krachtiger te binden aan het menselijk ACE2 molecuul.

Uit deze bijzondere observatie volgt de logische vraag: Hoe is een dergelijk ontwerp ontstaan? Is dit een briljant viraal ontwerp? Of iets anders?

3. Welke antistoffen geven waarschijnlijk de beste bescherming tegen het SARS-CoV2 virus?

De informatie over het virale Spike eiwit en de rol van dit eiwit geeft aan dat bij voorkeur antistoffen moeten worden gemaakt tegen de epitopen van de Spike synaps, namelijk precies op de plaatsen, die het contact tussen het Spike-eiwit en het menselijke ACE2 molecuul blokkeren. Dergelijke antistoffen worden over het algemeen “neutraliserende antistoffen” genoemd. Omdat de synaps ongebruikelijk groot is, hebben wij geconcludeerd dat een geïnfecteerd of een gevaccineerd persoon bij voorkeur meerdere (verschillende) antistoffen moet maken, die gericht zijn tegen de verschillende onderdelen van de synaps-regio van het Spike eiwit. Binnen deze synaps-regio bestaan twee “**dominant interacting regions**” (DIR), namelijk DIR1 en DIR2. Het is opvallend dat de neutraliserende antistoffen, die tot nu toe in detail zijn gepubliceerd (dus met de gehele aminozuurvolgorde) ten dele een epitoot buiten de synaps herkennen of slechts één DIR herkennen, namelijk uitsluitende DIR2, niet DIR1, terwijl DIR1 verreweg de meeste contactpunten bevat met het menselijke ACE2 eiwit. Dit wordt nader toegelicht in **Figuur 2** van Frontiers in Immunology, 17 september 2020, pp 1-9, artikel 570018 (doi: 10.3389/fimmu.2020.570018). Daarom zijn we benieuwd wat de Spike-eiwit bevattende vaccins gaan opleveren aan verschillende antistoffen. Als onze voorspellingen juist zijn, zullen vaccins die zowel anti-DIR1 als anti-DIR2 antistoffen induceren, het meest effectief blijken te zijn! Bovendien zouden deze antistoffen idealiter van de IgA klasse moeten zijn om zeer effectief te zijn in het slijm van onze slijmvliezen (Frontiers in Immunology, 17 september 2020, pp 1-9, artikel 570018; doi: 10.3389/fimmu.2020.570018).

4. Consequenties voor het ontwerpen van het “ideale” vaccin tegen SARS-CoV2 infecties

Als het daadwerkelijk zo is dat de ACE2-aanhechting van het virale Spike eiwit zó stabiel is en zó belangrijk is voor het ontstaan van SARS-CoV2 infecties, dan is deze synaps-regio uiteraard het belangrijkste target voor vaccinatie. Daarom zou je kunnen stellen dat de vaccins met het Spike-eiwit en vooral de vaccins met het

“receptor-bindend domein”(RBD) van het Spike eiwit mogelijk de beste vaccins gaan worden, die het minst beïnvloed gaan worden door virale mutatieprocessen, zoals die bij de influenza continu een belangrijke rol spelen.

Welk vaccin moeten we kiezen en waarom?

Waarschijnlijk zijn meerdere hoog-affiene antistoffen nodig om het virale Spike eiwit op zijn ACE2-aanhechtingsplekken te blokkeren. Daarom zijn er twee zwaarwegende redenen om vaccins te gebruiken die het Spike eiwit bevatten en vooral de eiwitdomeinen die de ACE2-aanhechtingsplekken DIR1 en DIR2 bevatten. Deze eiwitten (of eiwitfragmenten) hebben de meeste kans om een goede bescherming te geven tegen het SARS-Cov2 virus, omdat:

1. Optimale blokkade van het virus met voorkomen van aanhechting en dus het voorkomen van binnendringen van het virus in de menselijke slijmvliezen van de luchtwegen en de darmen.
2. Sterk verminderde (mogelijk zelfs afwezige) kans op mutaties in dit deel van het virale genoom, zodat het virus niet kan “ontsnappen”, wat een klassiek probleem is bij het influenzavirus en vele andere virussen.

Vaccin trials en “poor responders”

Het lijkt er op dat een klein deel van de schijnbaar “gezonde” mensen geen optimaal functionerend afweersysteem heeft en dat soms zelfs jonge mensen tegen een problematische SARS-CoV2 infectie aan kunnen lopen. In dit laatste schuilt een gevaar voor de huidige vaccin trials, omdat “onverwachts” een deel van de vrijwilligers in de grote vaccin trials niet goed reageren op het toegediende vaccin en nauwelijks of geen antistoffen maken. **Als door puur toeval een “te groot” percentage vrijwilligers een “poor responder” blijkt te zijn en dus geen of niet voldoende antistoffen maakt, loopt hiermee het vaccin de kans om onterecht als “minder geschikt” te worden geclassificeerd.** Het probleem hoeft niets met het vaccin te maken te hebben, maar juist wel met het afweersysteem van de betrokken vrijwilligers. Dit kan worden uitgezocht door de “poor responders” alsnog nauwkeurig te onderzoeken op de samenstelling van de cellen van hun afweersysteem in vergelijking met de afweercellen van vrijwilligers, die juist wel goed hebben gereageerd op het vaccin met de aanmaak van de juiste antistoffen, die krachtig binden aan het juiste virale eiwit en daarmee het virus blokkeren. Vooral de absolute aantallen naïeve B-lymfocyten en T-lymfocyten en hun meest onrijpe subsets lijken een belangrijke rol te spelen; zie EuroFlow report: Frontiers in Immunology 2019;10, artikel 1271.

5. Nog geen mensen geïdentificeerd, die verminderd vatbaar zijn voor SARS-CoV2 infectie

Het is duidelijk dat de binding van het SARS-CoV2 virus aan het ACE2 molecuul de eerste en belangrijkste stap is in de aanhechting en dus de infectie-kracht van het virus. De aanhechtingskracht van het SARS-CoV2 virus lijkt “volledig afgestemd” te zijn op het menselijke ACE2 molecuul.

Tot dusver zijn (nog) geen ACE2 varianten bij de mens gevonden, die leiden tot een **verminderde aanhechting**, maar je weet maar nooit. In de (nabije) toekomst kan blijken dat er toch zeldzame ACE2 varianten bestaan, die bij sommige mensen leiden tot verminderde vatbaarheid voor infectie met het SARS-CoV2 virus.

6. Hoe kan het SARS-CoV2 virus van dier naar mens “overspringen” of andersom.

Er wordt nog steeds volop gespeculeerd over de herkomst van het virus. Komt het toch van vleermuizen of van het gordeldier? Er zijn nog steeds geen duidelijke “harde” aanwijzingen over de oorsprong van het SARS-CoV2 virus. Er zijn uitsluitend speculaties. Daarom kunnen we beter de vraag omdraaien: Welk dier heeft een “menselijk” ACE2 molecuul (of zeer vergelijkbaar ACE2 molecuul), dat op vergelijkbare wijze 18 interactie sites heeft in de synaps tussen het Spike-eiwit en het ACE2 eiwit en dus gemakkelijk het virus kan dragen en verspreiden naar de mens?

Katten. Uiteraard lijken apen op mensen, maar dat zijn geen reguliere huisdieren. Daarom hebben we bekeken welke huisdieren of gedomesticeerde dieren een “menselijk” ACE2 eiwit hebben. Dit wordt nader toegelicht in **Figuur 1** van Frontiers in Immunology, 17 september 2020, pp 1-9, artikel 570018 (doi: 10.3389/fimmu.2020.570018). Hieruit blijkt dat alle klassieke huisdieren of gedomesticeerde dieren een ander ACE2 molecuul hebben, behalve de kat (Felis) en natuurlijk de tijger, de leeuw en de lynx, maar die komen we niet zo vaak tegen in onze Nederlandse omgeving. Het ACE2 eiwit van de kat is verreweg het meest vergelijkbaar met dat van de mens. Toch wordt nog steeds nauwelijks gesproken over de rondlopende buurkatten, die van huis naar huis bezoeken afdrukken en een potentiële rol spelen in de verspreiding van het SARS-CoV2 virus en mogelijk ook een “reservoir” kunnen zijn. Dit is uiteraard een “inconvenient message”. Mogelijk toch de kat aanlijnen? Dan vangen we twee vliegen in één klap: zie <https://nos.nl/l/2348023>.

Fretten en nertsen. In dezelfde context is het des te opvallender dat de nerts of fret (ferret in **Figuur 1** van Frontiers in Immunology, 17 september 2020, pp 1-9, artikel 570018; doi: 10.3389/fimmu.2020.570018) wel “eenvoudig” geïnfecteerd lijkt worden in nertsboerderijen. Dit is lastig verklaarbaar, omdat het ACE2 molecuul van de nerts/fret fors verschilt van de mens en zeker niet optimaal is om het virale Spike-eiwit daaraan te laten binden, tenzij nertsen met (zeer) hoge doses van het virus in contact komen. Hoe gaat dat in zijn werk?

CONCLUSIES

In een korte periode van slechts 9 maanden is een tsunami aan klinische en wetenschappelijke informatie beschikbaar gekomen over het SARS-CoV2 virus en de gevolgen van ernstig verloopende infecties met dit virus. Het wordt toenemend duidelijk dat slechts een (zeer) klein deel van de geïnfecteerde personen in het ziekenhuis terecht komt met ernstige luchtwegproblemen en alle consequenties daarvan. Dit “kleine deel” van de geïnfecteerde personen (<3%) is in absolute aantallen omvangrijk, zodat ook bij een tweede Coronagolf in het najaar een serieus gezondheidszorg probleem kan ontstaan.

De snelheid en omvang van de SARS-CoV2 pandemie lijkt samen te hangen met de ongebruikelijk hoge bindingskracht van het Spike eiwit van het SARS-CoV2 virus aan het menselijke ACE2 eiwit. Het is zeer opmerkelijk dat tot nu toe nog steeds geen mutaties zijn gevonden in de bindingsregio van het Spike eiwit. Dit maakt deze “stabiele” bindingsregio (vooral de DIR1 en DIR2 epitopen) het belangrijkste virale doelwit van de nieuw aan te maken anti-SARS-CoV2 antistoffen, die bij voorkeur van de IgA klasse moeten zijn om optimaal effectief te zijn in het slijm van de slijmvliezen in de luchtwegen en de darmen. Daarom zou de Spike bindingsregio een belangrijk (centraal) onderdeel moeten zijn van ieder SARS-CoV2 vaccin.