



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Controlled human infection models as a tool for malaria and schistosomiasis vaccine research

Langenberg, M.C.C.

Citation

Langenberg, M. C. C. (2021, June 10). *Controlled human infection models as a tool for malaria and schistosomiasis vaccine research*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3185761>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3185761>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <https://hdl.handle.net/1887/3185761> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Langenberg, M.C.C.

Title: Controlled human infection models as a tool for malaria and schistosomiasis vaccine research

Issue Date: 2021-06-10



APPENDIX:

Nederlandse samenvatting

Dankwoord

Curriculum Vitae

List of publications



Gecontroleerde humane infectiemodellen als hulpmiddel bij malaria en schistosomiasis vaccinatie onderzoek

In dit proefschrift is het gebruik van gecontroleerde humane infecties (CHI) voor diverse doeleinden beschreven. Als eerste komt het belang van het bestaande malaria CHI-model aan bod. Om malariavaccin onderzoek te kunnen verbeteren zijn nieuwe malaria stammen getest (**Hoofdstuk 2 en 3**). Daarnaast is middels het gebruik van het malaria CHI-model een nieuw vaccin getest (**Hoofdstuk 4**). Als tweede is beschreven hoe de ontwikkeling van het nieuwe schistosomiasis CHI model tot stand is gekomen (**Hoofdstuk 5**). Waarna de resultaten van het eerste onderzoek met behulp van dit *schistosoma* CHI-model worden beschreven (**Hoofdstuk 6 en 7**). Als laatste wordt besproken hoe deze CHI-studies veiliger gemaakt kunnen worden (**Hoofdstuk 8**).

Parasieten

Parasieten zijn een groep ziekteverwekkers die gedurende hun leven in of op minimaal één gastheer verblijven. Een gastheer is een levend wezen, bijvoorbeeld mens, slak of mug, die een parasiet nodig heeft om te kunnen ontwikkelen en overleven. Iedere parasiet heeft zijn eigen levenscyclus met specifieke gastheer. Vaak zijn er meerdere parasiet-stadia per gastheer. De kleinste parasieten zijn eencellig, zoals malaria, terwijl wormen de grootste parasieten zijn. Deze wormen variëren enorm in lengte, van kleiner dan een centimeter tot enkele meters lang. De meeste parasitaire infecties zijn goed te behandelen met medicijnen. Diverse infecties kunnen voorkomen worden met behulp van een vaccin, maar deze zijn er voor parasitaire infecties nauwelijks.

Gecontroleerde humane infecties (CHI)

Er wordt op grote schaal onderzoek verricht naar het ontwikkelen van vaccins tegen parasieten die dodelijk kunnen zijn of veel ziektelast kunnen veroorzaken. Als een vaccin geschikt lijkt te zijn wordt eerst de veiligheid van een vaccin onderzocht door deze te testen op vrijwilligers. Dit heet fase I onderzoek. Hierbij worden vrijwilligers eenmalig blootgesteld aan het vaccin en wordt gekeken welke klachten zij in de weken hierna ontwikkelen.

Om na te gaan of een vaccin ook werkt, dat wil zeggen ziekte voorkomt, wordt de laatste tientallen jaren veel onderzoek verricht middels gecontroleerde humane infectie (CHI) studies. Dit zijn studies waarbij een groep vrijwilligers enkele keren een vaccin toegediend krijgen (immunisaties) waarbij meestal gelijktijdig een andere groep een placebo toegediend krijgt. Een placebo is een middel dat er fysiek uit ziet als het vaccin, maar geen werkzame stof bevat.

Hierna worden beide groepen blootgesteld aan de parasiet. Deze manier van infecteren is de daadwerkelijke CHI. Vervolgens worden alle vrijwilligers goed onder controle gehouden en wordt gekeken wie de ziekte ontwikkelen. Aan de hand van het aantal zieken in de vaccinatie- en de placebogroep is te berekenen hoe goed het vaccin lijkt te werken.

Bij CHI-studies wordt over het algemeen getest op gezonde vrijwilligers die niet eerder een infectie met de specifieke ziekteverwekker hebben gehad. Hierdoor hebben CHI-studies diverse voordelen boven het onderzoeken van vaccins in gebieden waar de ziekte veel voor komt, de endemische gebieden. De grootste voordelen zijn dat meerdere vaccins tegelijk getest kunnen worden, dat er minder vrijwilligers nodig zijn door de gecontroleerde omstandigheden (dat wil zeggen dezelfde hoeveelheid van een ziekteverwekker op hetzelfde moment in gezonde vrijwilligers) en dat het onderzoek goedkoper is om te verrichten. Daarnaast worden uiteindelijk alleen de vaccins die erg potent lijken te zijn onderzocht in grote groepen, soms kwetsbare, mensen in endemische gebieden. Waardoor zij niet onnodig worden blootgesteld aan vaccins die mogelijk niet werken.

Malaria

Malaria is de ziekte die veroorzaakt wordt door de parasiet *Plasmodium*. Er zijn verschillende soorten *Plasmodium* die ziekte kunnen veroorzaken in mensen. *Plasmodium falciparum* is de soort die malaria tropica veroorzaakt. Dit is de dodelijkste soort malaria. In totaal ontwikkelen jaarlijks ruim 200 miljoen mensen malaria en overlijden ruim 400.000 mensen aan deze ziekte. Het merendeel hiervan zijn kinderen onder de vijf jaar. Daarnaast lopen zwangeren een groter risico op het ontwikkelen van de ziekte.

Levenscyclus en klachten

De parasiet heeft verschillende levensstadia in zowel de mens als de mug, welke ieder een andere naam hebben. Als je wordt gestoken door een geïnfecteerde mug kunnen malaria-sporozoitien vanuit de speekselklieren van de mug de huid binnendringen. Vervolgens migreren ze naar de lever, waar ze een levercel binnengaan en zich ontwikkelen tot malaria-schizonten. Als deze volledig ontwikkeld zijn, barsten deze open en komen er malaria-merozoitien vrij in de bloedbaan. Deze infecteren vervolgens rode bloedcellen waarin ze zich verder kunnen vermenigvuldigen. Na verloop van tijd ontstaan er vrouwtjes en mannetjes malaria-gametocyten. Als patiënten op dat moment gestoken worden door een mug, kunnen de gametocyten door de mug opgezogen worden en kunnen zij in de mug paren. Vervolgens zal de parasiet diverse stadia in de mug doorlopen. Na enkele weken kan de mug een nieuw persoon infecteren.

Mensen die geïnfecteerd zijn met malaria worden pas ziek als de parasieten vanuit de lever in de bloedbaan terecht komen. Hier gaat, in het geval van malaria tropica, minimaal een week overheen. Mensen hebben vaak last van koorts, hoofdpijn en algehele malaise. Als de ziekte onbehandeld wordt gelaten nemen klachten toe en kan dit leiden tot neurologische klachten, uitval van organen, coma en uiteindelijk de dood.

Behandelen of voorkomen

Malaria is goed te behandelen met medicijnen, mits deze op tijd worden toegediend. Het probleem is dat het overgrote deel van patiënten in ontwikkelingslanden woont waar zij vaak slechte toegang tot zorg hebben. Hierdoor komen patiënten vaak pas in het ziekenhuis aan als zij al erg ziek zijn. Een behandeling komt dan niet altijd meer op tijd.

Door muggenbeten te voorkomen kan de ziekte malaria ook voorkomen worden. In de praktijk is dit lastig en maatregelen om beten te voorkomen helpen dan ook onvoldoende. Een malariavaccin kan voorkomen dat mensen de ziekte ontwikkelen. Op het moment is er één vaccin beschikbaar tegen malaria, Mosquirix. Dit vaccin wordt momenteel op grote schaal getest in sub-Sahara Afrika en geeft goede resultaten. Zo komen er minder gevallen van ernstige malaria voor en overlijden minder kinderen aan de ziekte. Het grootste probleem is echter dat het vaccin maar bij ruim de helft van de kinderen werkt en dat het in de loop van de tijd steeds minder goed werkt in dezelfde patiënt. Om deze reden blijft onderzoek naar een beter vaccin in volle gang.

Vaccins van hele parasieten (Hoofdstuk 4)

De laatste jaren wordt veel onderzoek verricht naar vaccins op basis van de volledige parasiet en dan met name de sporozoiët. Deze vaccins zijn onder te verdelen in drie verschillende soorten.

1. Bestraalde parasieten (RAS). 2. Parasieten met gelijktijdig toedienen van een anti-malaria medicijn (CPS). 3. Parasieten waarvan de genetische code, het DNA, is aangepast (GAP).

1. RAS: als malaria-sporozoiëten bestraald worden kunnen ze nog wel een levercel binnen gaan, maar zich hier vervolgens niet volledig ontwikkelen. Hierdoor zal de parasiet overlijden voordat deze in de bloedbaan terecht kan komen en zal je er ook niet ziek van worden. Tijdens deze kortdurende leverfase zal het menselijk lichaam wel een afweerreactie maken tegen de parasiet.
2. CPS: chloroquine is een anti-malaria medicijn dat malariaparasieten doodt zodra deze in het bloed terecht komen. Als malaria sporozoiëten gelijktijdig met deze behandeling worden gegeven zullen ze zich volledig ontwikkelen in de lever, waarna ze zullen overlijden zodra ze in het bloed terecht komen. Het voordeel hiervan is dat de parasieten zich volledig ontwikkelen in de lever, waardoor zich gedurende een langere tijd een afweerreactie kan ontwikkelen.
3. GAP: het is mogelijk het DNA van malariaparasieten aan te passen; genetische modificatie. Hierdoor is het mogelijk de parasiet zo aan te passen dat deze zich niet volledig ontwikkelt in de lever. Door deze ontwikkeling in de lever kan wel een afweerreactie plaatsvinden.

Zowel bij RAS als bij CPS kan volledige bescherming tegen malaria optreden nadat deze meerdere keren zijn gegeven. In beide gevallen neemt deze bescherming af in de loop van de tijd. Voor een GAP is dit nog onvoldoende onderzocht. De reden om hier onderzoek naar te verrichten is omdat GAP twee voordelen heeft. Afhankelijk van het type GAP kan deze zich mogelijk langer ontwikkelen in de lever dan RAS. In dat geval wordt er een beter afweerreactie gemaakt, net als bij CPS. Daarbij kan zich geen malaria ontwikkelen. Dat is wel het risico van CPS als de medicatie niet goed gebruikt wordt.

In **Hoofdstuk 4** beschrijven we het testen van een GAP-vaccin, PfSPZ-GA1 Vaccine, met behulp van een malaria CHI-onderzoek. Bij deze GAP zijn twee genen verwijderd uit de parasiet, waardoor deze zich in een vroeg leverstadium niet verder kan ontwikkelen. We toonden eerst aan dat het vaccin veilig was om te gebruiken. Hierna immuniseerden we vrijwilligers drie keer waarna ze een gecontroleerde humane malaria infectie (CHMI) kregen. Van alle vrijwilligers die PfSPZ-GA1 Vaccine kregen, was 12% volledig beschermd tegen malaria. Uit de groep vrijwilligers die een placebo hadden ontvangen was niemand beschermd. De overige vrijwilligers die PfSPZ-GA1 Vaccine hadden gekregen ontwikkelden pas enkele dagen later malaria dan de vrijwilliger in de placebogroep. Dit wijst erop dat deze vrijwilligers wel deels beschermd waren.

Het gebruik van verschillende stammen (Hoofdstuk 2 & 3)

In ieder gebied waar de malariaparasiet *Plasmodium falciparum* voorkomt zijn er geringe verschillen in het DNA van de parasiet. Dit worden verschillende stammen genoemd. De vaccins op basis van hele parasieten zijn allemaal ontwikkeld met de stam NF54. Deze stam komt van een patiënt die malaria opliep in de omgeving van een Nederlands vliegveld. Sinds 30 jaar wordt deze gekweekt in een laboratorium en gebruikt voor onderzoeksdoeleinden. Bovenstaande vaccins, RAS, CPS en GAP, zijn op dit moment allemaal op basis van deze stam. De CHMI die plaats vindt om te beoordelen of een vaccin goed werkt is ook op basis van deze stam NF54. Deze CHMI vindt meestal plaats met behulp van muggenbeten. De beten van vijf geïnfecteerde muggen zorgen voor het ontwikkelen van malaria in >99% van alle vrijwilligers die geen vaccin kregen toegediend.

Om te weten of vaccins op basis van deze ene stam ook werken tegen parasieten van een andere stam is het van belang om met meerdere stammen onderzoek te verrichten. Hiervoor zijn naast NF54 ook de stammen 7G8 en NF135.C10 beschikbaar. In **Hoofdstuk 2** beschrijven we voor het eerst onderzoek met de nieuwe stam NF166.C8. We laten zien dat deze stam veilig is om te gebruiken. Daarnaast laat ons onderzoek zien dat een infectie met de stammen NF135.C10 of NF166.C8 leidt tot meer parasieten die uit de lever in het bloed terecht komen dan bij NF54. Om een CHMI met NF135.C10 of NF166.C8 mogelijk te maken hebben we gekeken hoeveel geïnfecteerde muggenbeten er nodig zijn om een infectie met een van deze stammen te ontwikkelen, wat we in **Hoofdstuk 3** hebben beschreven. Dit aantal blijkt hetzelfde te zijn als bij NF54, namelijk de beten van vijf geïnfecteerde muggen. Als vrijwilligers aan minder muggenbeten worden blootgesteld, ontwikkelt 75% van de vrijwilligers malaria.

Schistosomiasis

Schistosomiasis is de ziekte die veroorzaakt wordt door de parasiet *Schistosoma*. Er zijn verschillende soorten *Schistosoma* die de ziekte kunnen veroorzaken in mensen, waarvan *Schistosoma mansoni* en *Schistosoma haematobium* het vaakst voorkomen. Wereldwijd hebben 290 miljoen mensen schistosomiasis, waarvan ruim de helft van de mensen klachten heeft. Het is lastig vast te stellen hoeveel mensen jaarlijks aan de ziekte overlijden, maar naar schatting zijn dit er tussen de 24.000 en 150.000.

Levenscyclus en klachten

De parasiet *Schistosoma* heeft verschillende levensstadia in zowel de mens als de zoetwaterslak. Infectie vindt plaats door te zwemmen in water waar geïnfecteerde slakken voorkomen. De slak laat *Schistosoma* larven vrij, de cercariën, welke door de huid van de mens naar binnen kunnen dringen. Ze ontwikkelen zich in de mens tot volwassen wormen die zich uiteindelijk als paar zullen gaan nestelen in een van de grote vaten rondom de blaas (*S. haematobium*) of rondom de darmen (*S. mansoni*). Als de wormen hun eindbestemming bereiken zal het vrouwtje eitjes uitscheiden welke door het weefsel van de darm of de blaas in de ontlasting of urine terecht komen. Een deel van de eitjes blijft vast zitten in het weefsel waardoor ontstekingen kunnen ontstaan. Als de eitjes uit de ontlasting of urine terecht komen in zoet water kan zich in het ei het stadium miracidium ontwikkelen. Als deze miracidia uit de eitjes komen kunnen deze slakken infecteren. In de slak vinden opnieuw diverse ontwikkelingsstadia plaats. Uiteindelijk leidt dit tot de ontwikkeling van cercariën welke weer door de slak kunnen worden vrijgelaten.

Tijdens deze cyclus in de mens kunnen verschillende klachten optreden. De eerste weken na infectie kan zwemmersjeuk optreden op de plaatsen waar de cercariën de huid binnen zijn gedrongen. Hierna kunnen in de acute fase, de eerste maanden, hevige klachten optreden, met name bij mensen die voor de eerste keer geïnfecteerd zijn. Dit wordt Katayama syndroom genoemd, waarbij klachten zoals koorts, hoofdpijn en algehele malaise op de voorgrond staan. Vervolgens kan de ontsteking rond de eitjes die vast zitten in het weefsel zich in de loop van de jaren uitbreiden, naarmate er meer eitjes vast komen te zitten. Het duurt lange tijd voor mensen hier klachten van ontwikkelen en het kan na jaren van infectie zelfs leiden tot kanker.

Behandelen of voorkomen

Schistosomiasis is te behandelen met het medicijn praziquantel. Het probleem is dat praziquantel niet bij iedereen werkt. Er wordt geschat dat het middel in gebieden waar de ziekte veel voor komt, endemische gebieden, in 42-91% van de gevallen werkt. Praziquantel werkt alleen tegen volwassen wormen en voorkomt niet dat mensen opnieuw besmet raken. Omdat mensen vaak niet weten dat ze de infectie hebben totdat klachten optreden, kan er lange tijd overheen gaan voordat behandeling plaats vindt. In endemische gebieden wordt jaarlijks praziquantel uitgedeeld, mass drugs administration (MDA), om de ziekte zoveel mogelijk beperkt te houden. Dit is echter onvoldoende om de ziekte uit te kunnen roeien.

De infectie is te voorkomen door contact met zoet water te vermijden. Dit advies is geschikt voor reizigers, maar is lastig voor mensen die in endemische gebieden wonen. Zij zijn vaak afhankelijk van het water wat gebruikt wordt om hun kleding en zichzelf te wassen, te koken en om vis te vangen. Een andere manier om infectie te voorkomen is het gebruik van een vaccin. Echter een vaccin tegen schistosomiasis is nog niet beschikbaar. Er zijn momenteel drie vaccins tegen *Schistosoma mansoni* in verschillende stadia van ontwikkeling. Of deze voldoende effectief zijn zal verder onderzoek uit moeten wijzen.

Gecontroleerd humaan *Schistosoma* infectie onderzoek (Hoofdstuk 5, 6 & 7)

Vanwege de bovengenoemde voordelen van CHI-studies samen met het belang van het snel ontwikkelen van een vaccin voor schistosomiasis, hebben we een gecontroleerd humaan schistosomiasis infectie (CoHSI) model opgezet. Het opzetten van dit model werd beschreven in **Hoofdstuk 5**. Het belangrijkste was om dit nieuwe model zo veilig mogelijk te maken voor vrijwilligers. Aangezien de eitjes van *Schistosoma* kunnen zorgen voor klachten op lange termijn is besloten een model op te zetten waarbij vrijwilligers alleen aan mannelijke cercariën blootgesteld worden. De eerste studie die we met het model hebben verricht was om te beoordelen aan hoeveel cercariën vrijwilligers blootgesteld moeten worden om een aantoonbare infectie te ontwikkelen. De eerste groep is blootgesteld aan 10 cercariën, waarna niet alle vrijwilligers geïnfecteerd waren. Vervolgens is een groep blootgesteld aan 30 cercariën. Van deze groep waren alle drie de vrijwilligers geïnfecteerd, maar ontwikkelde twee vrijwilligers klachten die passen bij het Katayama syndroom, zoals staat beschreven in **Hoofdstuk 6**. Vanwege de hevige klachten is besloten om de volgende groep aan 20 cercariën bloot te stellen. In totaal zijn 11 vrijwilligers aan deze dosis blootgesteld. Een deel van de vrijwilligers heeft klachten ontwikkeld, maar niet van dezelfde hevigheid als bij de vrijwilligers blootgesteld aan 30 cercariën. In **Hoofdstuk 7** beschrijven we de uitkomsten van dit eerste CoHSI onderzoek. Van de 11 vrijwilligers blootgesteld aan 20 cercariën heeft uiteindelijk 82% een *Schistosoma*-infectie opgelopen. Ondanks dat dit niet resulteert in 100% van de vrijwilligers met een infectie, is toch besloten om bij een vervolgonderzoek deze dosis van 20 cercariën te gebruiken. De bijwerkingen zijn bij deze dosis acceptabel en vergelijkbaar met andere modellen, terwijl dat bij een hogere dosis niet het geval is.

Optimaliseren CHI-modellen (Hoofdstuk 8)

Zoals hierboven beschreven, zijn sommige CHI-modellen reeds uitgebreid getest. Hierdoor zijn deze in de loop van de jaren gestandaardiseerd, waardoor wereldwijd dezelfde opzet gebruikt wordt. Het voordeel hiervan is dat resultaten van verschillende onderzoekscentra vergeleken kunnen worden. Daarnaast kunnen deze resultaten gebruikt worden om CHI-modellen veiliger te maken, waarbij het geringe risico voor vrijwilligers nog verder afneemt. De meest gebruikte studie opzet is een vaccin groep vergelijken met een controlegroep. In **Hoofdstuk 8** beschrijven we dat er naast deze studie opzet ook andere mogelijkheden zijn. Een mogelijkheid is het gebruik van historische data. Hierbij worden resultaten uit andere studies gebruikt, de historische controlegroep, in plaats van een placebogroep. Een goed voorbeeld hiervoor is het malariamodel. Zoals eerder beschreven weten we dat >99% van de gezonde vrijwilligers in de placebogroep malaria ontwikkelen als ze worden blootgesteld aan vijf malaria geïnfecteerde muggen. Deze historische data kan voor een vervolgstudie gebruikt worden in plaats van een placebogroep. Om zeker te weten dat er niks mis gaat met de CHMI-procedure, kan ervoor gekozen worden om een kleine groep vrijwilligers een CHMI te laten ondergaan. Het gebruik van historische data is vooralsnog niet mogelijk voor het schistosomiasis model, omdat er nog maar één studie met dit model uitgevoerd. De toekomst zal uitwijzen of blootstelling aan 20 cercariën altijd leidt tot hetzelfde percentage geïnfecteerde vrijwilligers.