



Universiteit
Leiden
The Netherlands

A matter of delivery: nanocarriers and the engineering of protective immunity in tuberculosis vaccination

Szachniewicz, M.M.

Citation

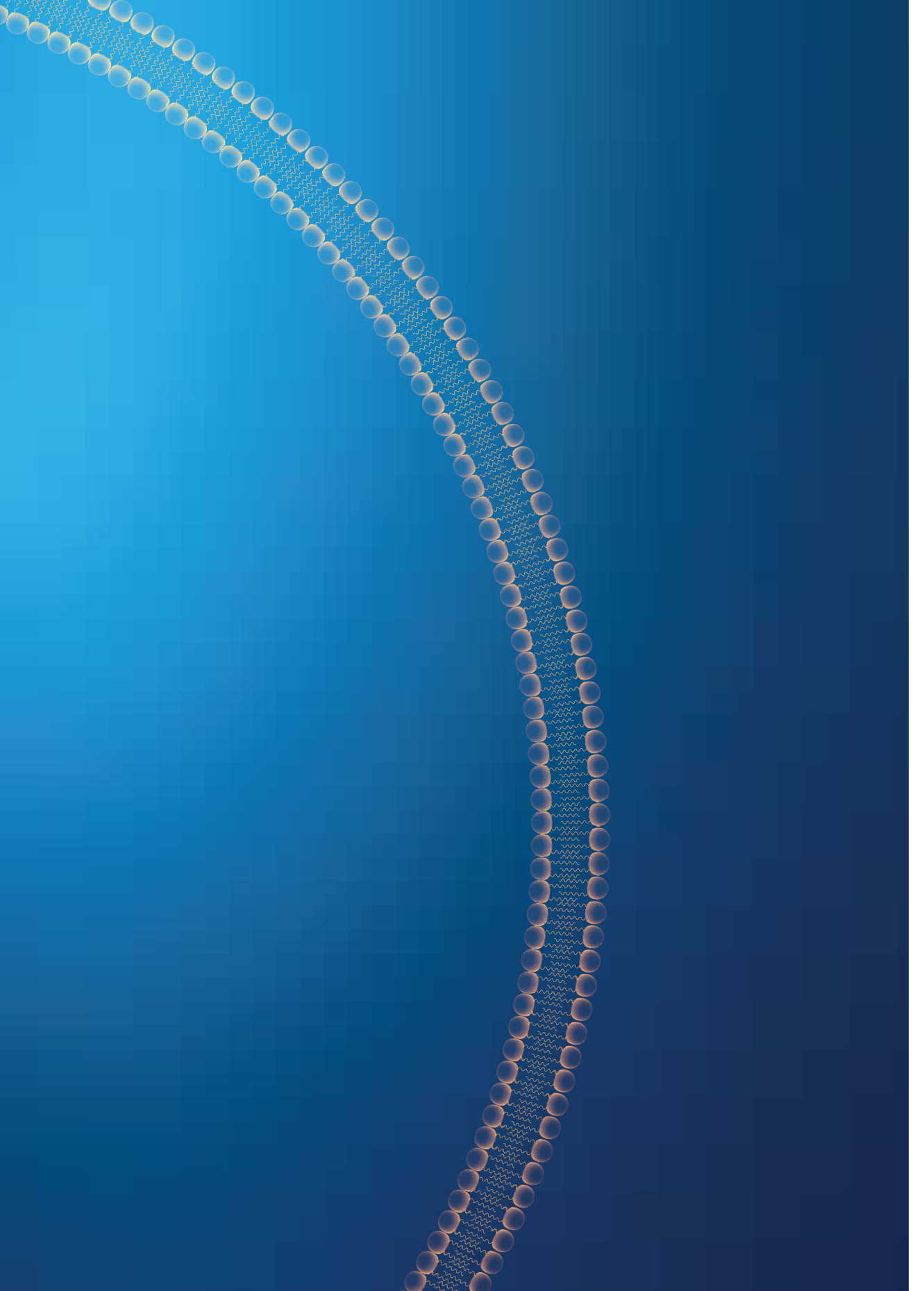
Szachniewicz, M. M. (2026, February 4). *A matter of delivery: nanocarriers and the engineering of protective immunity in tuberculosis vaccination*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4289450>

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/1887/4289450>

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



CHAPTER A

**Appendices:
Nederlandse samenvatting, Curriculum Vitae,
List of publications, and Acknowledgments**

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Tuberculose (TB) blijft een van de grootste gezondheidsuitdagingen wereldwijd, veroorzaakt jaarlijks meer dan een miljoen doden en treft naar schatting elk jaar 10 miljoen mensen.¹ De End-TB-strategie van de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) streeft naar een vermindering van het aantal TB-gevallen met 90 % en het aantal TB-gerelateerde sterfgevallen met 95 % tegen 2035.² Echter schieten de huidige controlemethoden tekort om deze ambitieuze doelen te behalen. Ondanks de grootschalige toepassing biedt het enige goedgekeurde TB-vaccin, Bacillus Calmette-Guérin (BCG), zeer variabele en vaak onvoldoende bescherming, vooral tegen pulmonale TB bij adolescenten en volwassenen.³ Deze beperkingen benadrukken de dringende behoefte aan nieuwe TB-vaccins met verbeterde werkzaamheid, in het bijzonder vaccins die langdurige cellulaire immuniteit opwekken.

In het afgelopen decennium is er toenemende belangstelling voor subunitvaccins gebaseerd op goed gedefinieerde antigenen die worden toegediend via geavanceerde platforms zoals nanodeeltjes (NPs). Deze strategieën beogen een verbeterde antigeen afgifte, verhoogde immunogeniciteit en veiligheid, zijn opschaalbaar en bieden tevens flexibiliteit qua formulering. Verschillende subunitvaccinkandidaten tegen TB bevinden zich momenteel in klinische trials, waaronder M72/AS01E en ID93+GLA-SE, wat het potentieel benadrukt van het combineren van immunodominante antigenen met krachtige adjuvantia. Deze thesis sluit aan bij deze inspanningen en richt zich op het ontwerp, de optimalisatie en evaluatie van NP-gebaseerde afgiftesystemen, specifiek liposomen, poly(D,L-melkzuur-co-glycolzuur) (PLGA)-nanodeeltjes, en hybride lipid-PLGA-systemen, voor de toediening van een multistage fusie-eiwitantigeen, Ag85B-ESAT6-Rv2034 (AER).

In **Hoofdstuk 2** wordt onderzoek beschreven waarin een breed panel van kationische liposomen wordt gescreend om te onderzoeken hoe kationische lipiden en cholesterolinhoud de activatie van menselijke antigeen presenterende cellen (APC's) en T-cel priming beïnvloeden. Deze studie toonde aan dat liposomen gebaseerd op 1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane (DOTAP) en 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-ethylphosphocholine (EPC), vooral die met cholesterol, verbeterde opname door dendritische cellen induceerden een superieure antigeen-specifieke CD4⁺ T-cel activatie *in vitro*. Belangrijk is dat de resultaten aantoonde dat de immuunstimulerende effecten van kationische lipiden niet alleen afhangen van hun netto lading, maar ook



afhangen van structurele determinanten die de membraanrigiditeit en interactie met immuuncellen beïnvloeden. Het onderzoek beschreven in dit hoofdstuk benadrukt het belang van zorgvuldige keuze voor lipiden bij het ontwerpen van effectieve vaccindragers en identificeerde op DOTAP- en EPC-gebaseerde formuleringen als veelbelovende kandidaten.

In het onderzoek gepresenteerd in **Hoofdstuk 3** werden pH-gevoelige liposomen onderzocht voor cytosolische antigeen afgifte, een mechanisme dat cruciaal wordt geacht voor het induceren van CD8⁺ T-cel activatie . Door de lipide samenstelling systematisch te wijzigen, werd een geoptimaliseerde formulering met EPC, 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (DOPE), N-(4-carboxybenzyl)-N,N-dimethyl-2,3-bis(oleoyloxy)propan-1-aminium (DOBAQ) en 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) bepaald. Deze formulering toonde efficiënte opname door humane monocyten-afgeleide dendritische cellen, induceerde cytokine productie en bevorderde antigeen-specifieke T-cel activatie. Dit onderzoek breidde het gebruik van pH-gevoelige afgiftesystemen uit buiten oncologie en introduceerde de relevantie ervan voor subunitvaccinatie tegen TB.

In **Hoofdstuk 4** wordt onderzoek beschreven waarin de geoptimaliseerde pH-gevoelige liposomale formulering met een preklinisch muismodel onderzocht. Dit toonde aan dat het deze liposomen de bacteriële last konden verminderen na infectie met *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Het in liposoom-geïncorporeerde AER-vaccin presteerde beter dan mengsels van antigeen-adjuvans voor zowel CD4⁺ als CD8⁺ T-cel activatie, inclusief polyfunctionele en centrale geheugenachtige T-cellen. Opmerkelijk genoeg werd bescherming bereikt met aanzienlijk lagere doses antigeen en adjuvantia, wat de werkzaamheid en dosisbesparende voordelen van dit afgifteplatform onderstreept.

In **Hoofdstuk 5** wordt onderzoek gepresenteerd waarin drie typen formuleringen van nanodeeltjes, PLGA-nanodeeltjes, lipid-PLGA hybride nanodeeltjes en kationische pH-gevoelige liposomen, met elkaar vergeleken werden in een intranasaal Mtb-infectiemodel. Alle NP-gebaseerde vaccins verminderden significant de hoeveelheid Mtb bacteriën in long en milt, terwijl het antigeen-adjuvansmengsel geen bescherming bood. PLGA-nanodeeltjes toonden de grootste reductie, een volledige log lager dan BCG. Hybride NPs en liposomen boden ook bescherming, zij het in mindere mate. Hoewel statistisch geen significante verschillen werden

waargenomen tussen de NP-groepen, suggereerde een trend een volgorde in effectiviteit: PLGA > hybride > liposoom. Opmerkelijk is dat liposomen de hoogste antigeenspecifieke T-cel activatie induceerden maar de minste bescherming boden, terwijl het antigeen-adjuvansmengsel T-cellen induceerde die vergelijkbaar waren met de meest beschermende PLGA-formulering. Deze bevindingen tonen een discrepantie tussen immunogeniciteit en bescherming en dagen daarmee conventionele vaccinbeoordelingscriteria uit. Vergelijkbare patronen werden gezien bij B-cel activatie en antilichaamtiteren.

In **Hoofdstuk 6** wordt het effect van toedieningsroute op immuunuitkomsten beschreven. Dit werd onderzocht met een lipid-PLGA hybride NP-vaccin toegediend via intradermale of subcutane injectie. Intradermale vaccinatie induceerde sterkere polyfunctionele T-celreacties en hogere AER-specifieke IgG2a antilichaamtiteren, wijzend op verbeterde Th1-type immuniteit. Belangrijk is dat deze route ook meer B-cel-subsets activeerde en betere immunogeniciteit opleverde, wat de waarde van intradermale toediening onderstreept voor dosisbesparing en verbeterde immuunkwaliteit.

Samengevat tonen de bevindingen van dit proefschrift de kracht van rationeel ontwerp van nanodeeltjes om vaccin-geïnduceerde immuunresponsen nauwkeurig af te stemmen. Kationische en pH-gevoelige lipiden bieden structurele controle over antigeenpresentatie routes, terwijl polymere en hybride platforms langdurige antigeen afgifte en depotvorming mogelijk maken. Intradermale toediening versterkt bovendien de immunogeniciteit en ondersteunt dosis reductie, wat het aantrekkelijk maakt voor gebruik in situaties waarbij beperkte middelen beschikbaar zijn. Deze innovaties dragen niet alleen bij aan de ontwikkeling van TB-vaccins, maar hebben ook potentieel voor bredere toepassingen in infectieziekten en immunotherapie van kanker. Toekomstig onderzoek op basis van deze platforms zou zich moeten richten op geavanceerdere modellen en klinische settings, de immuun-correlaten van bescherming verfijnen en blijven innoveren in afgiftesystemen die ons dichterbij effectieve en opschaalbare vaccins van de volgende generatie brengen.



LITERATUURLIJST

1. World Health Organization. *Global Tuberculosis Report 2024*. (2024).
2. World Health Organization. *The End TB Strategy*. (2015).
3. Brewer, T. F. Preventing Tuberculosis with Bacillus Calmette-Guérin Vaccine: A Meta-Analysis of the Literature. *Clinical Infectious Diseases* 31, S64–S67 (2000).