

Aktivität von T-Zellen gesunder Blutspender nach Stimulation mit SARS-CoV-2 spezifischen Polypeptiden

Scheibler L, Pohl R, Stallmann Ch, Marquardt P, Kaasch A, Apfelbacher C, Heuft H-G.

KONTAKT
lotte.scheibler@st.ovgu.de
semaco-studie@med.ovgu.de

EINLEITUNG

SARS-Cov-2 ist ein behülltes RNA Virus, welches neben dem Genom unter anderem membranständige Strukturproteine (z.B. Spike-Protein) enthält. Diese Proteine fungieren als Antigene und werden als körperfremd von Zellen des Immunsystems erkannt und weiteren Zellen präsentiert. Wenn T-Lymphozyten ein Antigen präsentiert wird, sind sie in der Lage, Cytokine (z.B. Interferon- γ /IFN- γ) auszuschütten. Dieser Marker kann in vitro untersucht werden und gibt Rückschlüsse auf die T-Zell-Aktivität, welche einen Teil der adaptiven, zellulären Immunantwort darstellt. Über die Auswirkungen einer COVID19-Infektion, insbesondere Langzeitauswirkungen, auf das adaptive Immunsystem ist derzeit wenig bekannt.

Die SeMaCo Studie (Serologische Untersuchung bei Blutspendern des Großraums Magdeburg auf Antikörper gegen SARS-CoV-2) ist eine prospektive, longitudinale Kohortenstudie, die über einen Zeitraum von 4 Jahren (2021-2024) die Immunantwort gesunder Blutspender, gemessen an der Seroprävalenz für Antikörper gegen SARS-CoV-2 sowie der viruspezifischen T-Zell-Aktivität, untersucht. Die durch Immunisierungsereignisse hervorgerufene humorale und zelluläre Immunantwort werden in der Studie abgebildet.

METHODEN

Die genaue Methodik für die Proben- und Datenverarbeitung wurde jüngst publiziert.² Die Studienpopulation setzt sich zusammen aus Vollblut- Thrombozyten- und Plasmaspendern der Blutspendeeinrichtung der Universitätsklinik Magdeburg, die phasenweise über Zeiträume von 2-4 Monaten rekrutiert werden. Mindestens 2 Studienphasen pro Jahr sind vorgesehen. Ziel ist es, von jedem Teilnehmer pro Phase je eine Blutprobe zur Antikörper- und T-Zellaktivität zu erhalten.

Tabelle 1: Demografie und IgG Ergebnisse der StudienteilnehmerInnen mit Messung der T-Zell-Aktivität (n = 412, Erhebungszeitraum 15.09.22 – 30.11.2022)

Parameter		n (%)
Demografie	weiblich	231 (56)
	männlich	182 (44)
	<40 Jahre	130 (31.6)
	41-50 Jahre	86 (20.9)
	51-60 Jahre	117 (28.4)
	>60 Jahre	79 (19.2)
IgG Ergebnis	IgG >2080 BAU/ml	267 (64.8)
	IgG <2080 BAU/ml	145 (35.2)

Für die Auswertung der T-Zell-Aktivität werden die Blutproben (mind. 4 ml) in Lithium-Heparin-Röhrchen abgenommen, bei Raumtemperatur (17-25°C) gelagert und innerhalb von 16 Stunden in Quantiferon SARS-CoV-2-Röhrchen mit Peptid-Antigenen (Nil, Antigen1 (Ag1), Antigen2 (Ag2), Mitogen) stimuliert. Nach der Inkubationszeit von 16-24 Stunden wird die IFN- γ Ausschüttung mit Hilfe eines ELISA Kits (QuantIFERON® SARS-CoV-2 ELISA Kit, QIAGEN) nach den Angaben des Herstellers untersucht. Die Auswertung erfolgte mittels Graph Pad Prism© (2023 GraphPad Software). Die Daten wurden mit Hilfe der ROUT Methode (Q=0,5%) von Ausreißern bereinigt und mittels einfacher Varianzanalyse (ANOVA) bzw. ungepaartem t-Test statistisch analysiert. Signifikanz $p < 0,05$.

LITERATUR

- WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. <https://covid19.who.int>.
- Pohl R. et al. Study protocol for the SeMaCo study: A longitudinal regional cohort study to assess COVID-19 seroprevalence in blood donors. Preprint at <https://doi.org/10.12688/f1000research.53845.1> (2021).
- Cunha, L. L., Perazzo, S. F., Azzi, J., Cravedi, P. & Riella, L. V. Remodeling of the Immune Response With Aging: Immunosenescence and Its Potential Impact on COVID-19 Immune Response. *Front. Immunol.* 11, (2020).
- Goronzy, J. J., Fang, F., Cavanagh, M. M., Qi, Q. & Weyand, C. M. Naive T Cell Maintenance and Function in Human Aging. *J. Immunol.* 194, 4073-4080 (2015).
- Diao, B. et al. Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Front. Immunol.* 11, (2020).
- Kang, S.-J. & Jung, S. I. Age-Related Morbidity and Mortality among Patients with COVID-19. *Infect. Chemother.* 52, 154-164 (2020).
- Goldberg, E. M. et al. Age-related differences in symptoms in older emergency department patients with COVID-19: Prevalence and outcomes in a multicenter cohort. *J. Am. Geriatr. Soc.* 70, 1918-1930 (2022).
- Grifoni, A. et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell* 181, 1489-1501.e15 (2020).

ERGEBNISSE

Da es deutliche Hinweise darauf gibt, dass sich das Immunsystem im Alter verändert und es zu Immunoseneszenz kommt, wurden Altersgruppen erstellt (<40 Jahre, 41-50 Jahre, 51-60 Jahre >60 Jahre) und diese miteinander verglichen.³

Es stellte sich heraus, dass es im altersspezifischen Vergleich sowohl zwischen den IFN- γ Spiegel nach Ag1-Stimulation, als auch nach Ag2-Stimulation signifikante Unterschiede gab.

Nach Ag1-Stimulation war der IFN- γ Spiegel der Altersgruppe <40 Jahre signifikant höher als bei den restlichen Altersgruppen.(A) Nach Stimulation mit Ag2 war die IFN- γ Konzentration der Altersgruppe <40 Jahre signifikant höher als bei Altersgruppe >60 Jahre. Im Vergleich zu den anderen Altersgruppen existierte zwar keine Signifikanz, jedoch war die Tendenz des sinkenden IFN- γ Spiegels sichtbar.(B)

Aufbauend auf die untersuchten Antikörpertiter im Rahmen der SeMaCo-1-Studie wurden zwei Gruppen (IgG Titer >2080 BAU/ml und IgG-Titer <2080 BAU/ml) gebildet und bezüglich der IFN- γ -Konzentration verglichen. Nach Stimulation mit Ag1 war IFN- γ in der Gruppe IgG>2080 BAU/ml signifikant höher als bei IgG <2080 BAU/ml.(C) Auch nach Ag2-Stimulation war IFN- γ in der Gruppe IgG >2080 BAU/ml signifikant höher als in IgG <2080 BAU/ml.(D)

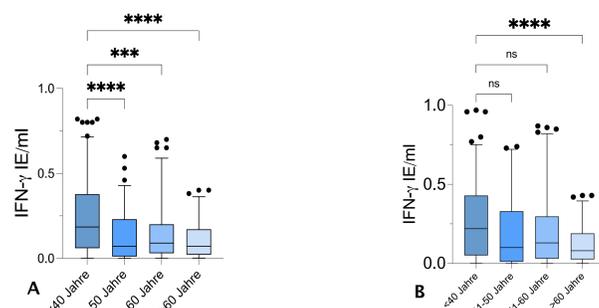


Abb. 1 altersspezifische IFN- γ Ausschüttung. A nach Ag1-Stimulation B nach Ag2-Stimulation
*** $p=0.0004$ **** $p<0.0001$ ns $p>0.05$

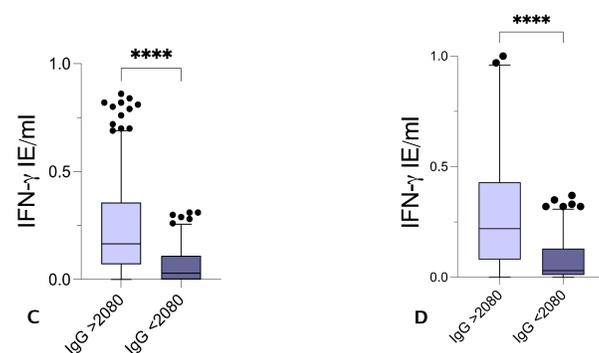


Abb. 2 IFN- γ Ausschüttung in Abhängigkeit von Anti Spike-Protein IgG. C nach Ag1-Stimulation. B nach Ag2-Stimulation
**** $p<0.0001$

DISKUSSION

Da es Anhalt dafür gibt, dass eine geringe T-Zellzahl und Cytokinausschüttung mit einer schlechten Prognose der Erkrankung einher geht, ist es wichtig die T-Zellaktivität weiter zu untersuchen. Die Sterblichkeit bezüglich COVID-19 nimmt im Alter zu, die T-Zellzahl und Aktivität hingegen ab.⁴⁻⁷ Die ersten Ergebnisse der SeMaCo-2 Studie zeigen eine Tendenz der Abnahme der IFN- γ -Ausschüttung im Alter.

Grifoni et al. (2020) zeigen einen signifikanten Zusammenhang Spike-spezifischer CD4+ T-Zellen und Anti-Spike IgG nach COVID-19 Infektion.⁶ Dieser Trend ist ebenfalls bei Proben der SeMaCo-Studie zu beobachten. Es gilt nun die Kohorte nach weiteren Kriterien (Immunsierungsereignis, Impfstoffkombination etc.) zu unterteilen und weitere Daten in den kommenden Studienphasen zu erheben, um darauf aufbauende Ergebnisse präsentieren zu können.