



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**

Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap, sektionen för immunologi

Felint immunosuppressivt virus (FIV) som modell för humant immunbristvirus (HIV) vaccin?

Josefin Svensson

*Uppsala
2016*

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serien: 2016:79

Felint immunosuppressivt virus (FIV) som modell för humant immunbristvirus (HIV) vaccin?

Feline immunodeficiency virus (FIV) as a model for
a human immunodeficiency virus (HIV) vaccine?

Josefin Svensson

Handledare: Magnus Åbrink och Caroline Fossum, institutionen för biomedicin
och veterinär folkhälsovetenskap, sektionen för immunologi

Examinator: Eva Tydén, SLU, institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grund nivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2016

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen

Delnummer i serie: 2016:79

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: felint immunosuppressivt virus, modell, humant immunbristvirus, vaccin

Key words: feline immunodeficiency virus, model, human immunodeficiency virus, vaccine

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, sektionen för immunologi

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metoder.....	3
Litteraturöversikt.....	3
Humant immunbristvirus typ 1 (HIV-1)	3
Klassificering och struktur	3
Tropism och infektionscykel.....	4
Patogenes.....	4
Felint immunosuppressivt virus (FIV)	6
Klassificering och struktur	6
Tropism och infektionscykel.....	6
Patogenes.....	7
Vaccin.....	8
Beprövade metoder.....	8
Senare forskning.....	9
Diskussion	10
Litteraturhänvisning	13

SAMMANFATTNING

Humant immunbristvirus typ 1 (eng: *human immunodeficiency virus type 1, HIV-1*) är ett lentivirus som ger upphov till förvärvat immunbristsyndrom (eng: *acquired immunodeficiency syndrome, AIDS*) och dödsfall hos människa. Viruset är spritt världen över och trots att det genomförts flera vaccinförsök sedan upptäckten 1983 finns det fortfarande inget effektivt vaccin på marknaden. Virusets höga mutationstakt anses vara den springande punkten varigenom viruset kommer undan och olika immunsvår går förlorade. En identifiering av bevarade regioner där mutationer inte kan inträffa utan att riskera att förlora viktiga virala funktioner är därför av hög prioritet. Felint immunosuppressivt virus (eng: *feline immunodeficiency virus, FIV*) tillhör samma genus som HIV-1 och ger upphov till motsvarande AIDS-liknande syndrom hos katt. FIV delar trots vissa skillnader många likheter med HIV-1, vilket har gjort katten till en potentiell modell för senare tids forskning kring HIV-1. Med fokus på likheter och skillnader virusen emellan syftar detta arbete till att undersöka de styrkor och svagheter som finns med att använda FIV som modell för HIV-1. Kan kattmodellen bidra med den information som saknas i utvecklingen av ett vaccin mot HIV-1?

Studier tyder på att flera genetiska funktioner finns bevarade hos HIV-1 och FIV varvid en jämförande epitopmappning virusen emellan skulle kunna ge förslag på skyddande virala epitoper. På humansidan har studier på så kallade long-term survivors gett upphov till en databas över epitoper av vikt för immunförsvaret mot HIV-1. Med grund i databasen har några av FIVs motsvarande epitoper kunnat identifieras och jämförts immunologiskt med HIVs. Vid jämförelsen visade det sig att motsvarande epitoper hos FIV gav upphov till ett starkare immunsvår hos HIV positiva individer vilket tyder på att FIV inte genomgått ett lika högt selektionstryck som HIV-1 och därför är mer bevarat. Att viruset inte verkar ha en lika hög rekombinationshastighet som HIV-1 styrker antagandet. Evolutionärt bevarade immunologiska epitoper kan således vara av vikt för ett effektivt vaccin mot HIV-1. Skulle inte en bioinformatisk jämförelse av FIV och HIV epitoper direkt kunna identifiera strukturer av vikt för vaccination mot HIV, verkar det därför mycket möjligt att vissa bevarade FIV peptider kan komma att vara del av ett framtida vaccin mot HIV-1.

SUMMARY

The human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is a lentivirus that causes acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and death in humans. The virus is spread worldwide and although there have been several vaccine trials since the discovery in 1983, there is still no vaccine on the market. A high rate of genetic mutation is generally suggested to be the major obstacle in the development of an effective vaccine whereby the virus escapes and various immune responses are lost. An identification of conserved regions where mutations simply cannot occur without the risk of losing important viral functions is therefore of high priority. Feline immunodeficiency virus (FIV) belongs to the same genus as HIV-1 and is associated with an AIDS-like syndrome in the domestic cat. FIV shares many similarities with HIV-1, which makes the FIV-cat model a suitable tool for further research on HIV-1. With a focus on the similarities and differences between the viruses this work aims to examine the strengths and limitations of the FIV-cat model for future research on HIV-1. The question remains: may the cat model provide the missing information in the development of an effective vaccine against HIV-1?

Studies indicate that multiple genetic functions are preserved in HIV-1 and FIV. A comparative epitope mapping between the viruses could therefore suggest protective viral epitopes. On the human side, studies on so-called long-term survivors gave rise to a database of epitopes important for the immune defense against HIV-1. With the help of this database some of the corresponding epitopes of FIV have been identified and compared immunologically to HIV-1. The epitopes of FIV were found to give rise to a stronger immune response in HIV positive individuals than the HIV-1 epitopes, which indicates that FIV has not undergone an equally high selection pressure as HIV-1. Fact also indicates that the recombination rate may be slower for FIV than for HIV-1. This is something that strengthens the assumption that the feline virus is more preserved than the human variant. Evolutionary conserved immune epitopes may thus be important for an effective HIV vaccine. Even though a bioinformatic comparison of FIV and HIV epitopes cannot directly identify the structures of importance when it comes to vaccination against HIV, it seems very possible that certain preserved FIV peptides may be part of a future vaccine against HIV-1.

INLEDNING

Humant immunbristvirus typ 1 (eng: *human immunodeficiency virus type 1, HIV-1*) är i dagsläget spritt över hela världen (McCullough *et al.*, 1997) och trots att antalet nya fall har minskat inträffar det fortfarande ett stort antal nya fall varje år. Enligt siffror från UNAIDS levde 36,9 miljoner människor med HIV år 2014 och bara i USA insjuknade hela två miljoner människor samma år (AIDS by the numbers 2015, 2016).

HIV-1 är ett lentivirus som isolerades först år 1983 och identifierades då som orsak till förvärvat immunbristsyndrom (eng: *acquired immunodeficiency syndrome, AIDS*), vilket är en progressiv sjukdom definierad av allvarliga opportunistiska infektioner och dödsfall hos människa (Clements & Zink, 1996). Trots mer än 30 års studier och flera vaccinförsök finns det fortfarande inte något effektivt vaccin mot viruset (Mascola, 2015) vilket delvis anses bero på dess snabba mutationstakt (Manocheewa *et al.*, 2015). Framtagandet av ett effektivt vaccin mot HIV-1 är dock avgörande för att hejda sjukdomsspridningen då dagens anti-retrovirala terapi ensamt inte kan bota drabbade (Aranyos *et al.*, 2016). Inom samma genus som HIV-1 återfinns felint immunosuppressivt virus (eng: *feline immunodeficiency virus, FIV*) som upptäcktes hösten 1986. Viruset ger upphov till motsvarande AIDS-liknande syndrom hos katt (Yamamoto *et al.*, 2007) och delar trots vissa genetiska skillnader många likheter med HIV-1 (Elder *et al.*, 2010). Under 2002 släpptes ett vaccin mot FIV och principen för vaccinet har föreslagits som ett hjälpmedel i utvecklingen av vaccin mot HIV-1 (Yamamoto *et al.*, 2010).

Med fokus på likheter och skillnader virusen emellan syftar detta arbete till att undersöka de styrkor och svagheter som finns med att använda FIV som modell för HIV-1. Kan kattmodellen bidra med den information som saknas i utvecklingen av ett vaccin mot HIV-1?

MATERIAL OCH METODER

Detta arbete är en litteraturstudie med utgångspunkt i vetenskapliga originalartiklar samt i översiktsartiklar eller så kallade "reviews" som sökts fram huvudsakligen via databaserna Web of science och PubMed. Sökord som använts separat och kombinerat är human immunodeficiency virus, feline immunodeficiency virus, AIDS, model, vaccine, pathogenesis m.fl. Då forskningen kring ämnet pågått under flera decennier har flera av artiklarna som kommit att grunda arbetet omfattat "reviews" framtagna utifrån sökningar enligt ovan. Några av artiklarna har även tillhandahållits av assisterande handledare.

LITTERATURÖVERSIKT

Humant immunbristvirus typ 1 (HIV-1)

Klassificering och struktur

HIV-1 tillhör genus *Lentivirinae* inom familjen *Retroviridae* (Goto *et al.*, 1998). Lentivirus är höljeförsedda RNA-virus med cylindrisk viruskapsel uppbyggd av tre strukturella proteiner: p24, p9 och p7 vilka framställs genom klyvning från prekursorproteinet *gag*. I kapseln återfinns enzymen *omvänt transkriptas* (eng: *reverse transcriptase, RT*) och *integras*

tillsammans med två kopior av viralt enkelsträngat RNA (ssRNA) (Clements & Zink, 1996). Genomet består liksom andra retrovirus av tre olika gener: gruppassocierade antigen (*gag*), polymeras (*pol*) och höljeprotein (*env*) (Uhl *et al.*, 2008) som tillsammans kodar för virusens strukturella och enzymatiska protein. Lentivirus har därtill öppna läsramar (eng: open reading frames, ORFs), eller så kallade regulatoriska gener, mellan *pol*- och *env* generna. Som alla RNA-virus har lentivirus även en bred genetisk variation. Det kan förklaras av en bristfällig korrekturläsning hos enzymet *omvänt transkriptas* vid den omvända transkriptionen, men också av virusets förmåga att bilda så kallade rekombinanter då olika stammar infekterar en och samma cell (Levy, 2011).

HIV-1 finns idag kategoriserad i tre olika grupper (M, N och O) beroende på genetisk sammansättning. I M, som är den vanligaste gruppen, finns minst 9 stycken subtyper (Uhl *et al.*, 2008) och över 20 globala rekombinanter (Yamamoto *et al.*, 2010b). Hos HIV-1 har man kunnat identifiera det största antalet av ORFs i form av *vif*, *vpu*, *vpr*, *tat*, *rev* och *nef*. Genernas roll är bland annat kontroll av viral transkription, produktion av virala partiklar och manifestering av sjukdomen (Clements & Zink, 1996).

Tropism och infektionscykel

HIV-1 infekterar främst aktiverade CD4+ minnes T-celler som uttrycker kemokinreceptorn CCR5, men även vilande CD4+ T-celler, naiva CD4+ T-celler, makrofager (Barouch & Deeks, 2014) och olika sorters dendritiska celler (DC) är mottagliga för viruset (Wu & KewalRamani, 2006). Som inkörsport för HIV-1 fungerar CD4-receptorn uttryckt på de olika cellerna som primär receptor varvid viralt glykoprotein-120 (gp-120) binder in (Goto *et al.*, 1998). Beroende på virusstam används sedan antingen kemokinreceptorn CCR5 eller CXCR4 för att sammansmälta med värdcellen (Altfeld & Gale, 2015). Väl inne i cellens cytosol transkriberas virusets ssRNA till dubbelsträngat DNA med hjälp av *omvänt transkriptas* och ett *proviral DNA* eller *provirus* bildas. Det virala genomet inkorporeras sedan i värdcellens med hjälp av *integras* (Clements & Zink, 1996).

Majoriteten av de aktiverade CD4+ T-celler som infekteras dör inom dagar efter infektion men en del av dem återgår till sin vilofas och kvarstår latent infekterade på obestämd tid (Barouch & Deeks, 2014). Individuella minnesceller kan överleva månader till år och därefter övergå till aktiv fas igen. Om uttryck av viruset då inte är så pass högt att cellerna tas omhand av immunsvarmekanismer kan viruset aldrig utrotas från värden (Persaud *et al.*, 2003).

Patogenes

Under de första veckorna efter infektion sker en betydande virusreplikering i lymfknutor, mjälte och benmärg varpå viruset snabbt sprids i värden. Infekterade monocyter och lymfocyter sprids till olika organ så som hjärna, lungor, leder och andra vävnader där monocyter mognar till makrofager och lymfocyter aktiveras. Genom de senare processerna initieras uttryck av virala gener och virus kan börja produceras i vävnaderna. Förmågan att kvarstå latent i vilande celler är en mekanism varvid viruset kan undgå kroppens försvar, vilket också är en orsak till att sjukdom oftast tar många år att utveckla (Clements & Zink, 1996).

Sjukdomsförlopp

Kliniska tecken på akut HIV-infektion kan oftast ses inom dagar till veckor efter infektionstillfället. Bland de vanligaste symtomen inkluderas feber, utmattning, utslag, huvudvärk, körtelsvullnad, faryngit, muskelsmärta, viktförlust, magproblem och orala eller genitila sår. Symtomen kan kvarstå mer än tio veckor men vanligtvis varar de inte längre än 14 dagar. När de initiala symtomen avtagit fortgår infektionen oftast asymtomatiskt, men efter i genomsnitt tio år ökar förekomsten av opportunistiska infektioner i takt med att viruset långsamt propagerar i värden och gradvis slår ut immunförsvaret. I de flesta fall kommer även det perifera nervsystemet att drabbas varpå olika former av neuropatier kan utvecklas (McCullough *et al.*, 1997).

Smittspridning

HIV-1 sprids främst via slemhinnor vid sexuell kontakt (80%)(Wu & KewalRamani, 2006), genom blodkontakt med smittat blod eller vertikalt från moder till foster (McCullough *et al.*, 1997). Vid sexuell överföring tros dendritiska celler (DC) i den cerviko-vaginala slemhinnan vara bland de första cellerna som påträffar viruset (Kahn & Walker, 1998). DCs är viktiga för initiering av specifika immunsvår mot viruset (Reggeti *et al.*, 2008) men genom lågt uttryck av CD4 och kemokinreceptorer så som CCR5 och CXCR4 kan DCs även infekteras av HIV. Då cellerna inte är det huvudsakliga målet för viruset fortgår virusreplikeringen inte lika effektivt som i CD4+ T-celler (Wu & KewalRamani, 2006) men de verkar kunna fungera som effektiva smittspridare genom interaktion med CD4+ lymfocyter (Kahn & Walker, 1998).

Immunsvår

Efter infektion induceras det medfödda immunförsvaret oftast genom igenkännandet av virala produkter som ssRNA eller DNA-intermediärer i infekterade CD4+ celler. Cell-virusinteraktioner i exponerade slemhinnor och lymfatisk vävnad ger upphov till en frisättning av cellmedierade faktorer inkluderande typ I och typ III interferon (IFN), proinflammatoriska cytokiner och kemokiner (Altfeld & Gale, 2015). Faktorerna kan reducera virusreplikering hos infekterade celler avsevärt (Levy, 2011) samtidigt som de aktiverar och attraherar DCs, makrofager och NK-celler från det medfödda immunförsvaret (Altfeld & Gale, 2015). Det har blivit bekräftat att IFN α är det dominerande typ-1 IFN hos människor infekterade med HIV-1 och plasmanivåer av faktorn står vidare i relation till immunsvåraktiveringen (Miedema *et al.*, 2013).

Under den akuta fasen orsakar viruset en omfattande aktivering av CD4+ lymfocyter vilket resulterar i höga nivåer av mottagliga celler, en hög virusreplikering och celldöd genom direkta virala effekter (Bienze, 2014). Till detta stimulerar specifika antigen och cytokiner proliferation av cellerna vilket ger upphov till en utbredning av den infekterade cellpopulationen (Barouch & Deeks, 2014). Som svar på detta ses en samtida ökning av CD8+ T-celler omkring två till fyra veckor efter infektion vilket ger upphov till ett typiskt minskat CD4+/CD8+ förhållande. Immunbildningen följs av en reducering av virala plasmanivåer som har kopplats till det ökade antalet virusspecifika cytotoxiska T-celler (CTL) riktade mot epitoper på *env*. Cellerna tros därför ha en viktig roll i den tidiga kontrollen av viruset (Kahn

& Walker, 1998). Vissa CD8+ T-celler har även upptäckts erhålla en icke-cytolytisk förmåga att undertrycka virusreplikering i infekterade CD4+ celler. Detta genom uttryck av en CD8-medierad antiviral faktor (CAF) som blockerar viral transkription i cellerna. CAF anses ha en betydande roll för att hindra progressionen av sjukdomen då en minskning av faktorn senare i infektionsförloppet verkar ha ett samband med ökad virusreplikering och minskning av antalet CD4+ celler. Enligt flera studier kan CAF återställas genom olika cytokiner (ex IL-2, IL-15, IFN) eller genom att cellerna interagerar med DCs eller antikroppar (Levy, 2011). För att vidare förhindra spridning av infektion uppkommer neutraliserande antikroppar några veckor till månader efter den initiala minskningen i virala plasmanivåer (Kahn & Walker, 1998). Flera av de antikroppar som produceras är av IgG-typ (Aranyos *et al.*, 2016) och är riktade mot epitoper på *env* (Bienzle, 2014). HIV-1 är dock praktiskt taget okänsligt för dessa neutraliserande antikroppar på grund av den höga mutationshastigheten hos viruset vilket tillåter snabb flykt från världens immunförsvaret (Miedema *et al.*, 2013).

HIV-1 har skadliga effekter på immunförsvaret genom att inducera ihållande aktivering och mognad av allehanda medfödda och adaptiva immunceller. Genom kontinuerlig aktivering och differentiering av T-celler töms gradvis pooler av naiva CD4+ -och CD8+ T-celler. På liknande sätt har en ökad omsättning och differentiering av B-celler associerats med fenotypiska och funktionella missbildningar karaktäristiska för sjukdomen. Därtill har en ihållande immunaktivering visat sig ha skadliga effekter på HIV-specifik CD4+ och CD8+ T-cells immunitet, bland annat genom att förhindra etablering av IL-2 producerande CD4+ och CD8+ T-minnesceller (Miedema *et al.*, 2013). Minskningen av CD4+ T-celler är således den stora anledningen till immunbristsyndromet som utvecklas under infektionen och ses som ett resultat av viral och immunmedierad celldöd, apoptos och anergi. På grund av detta ses ett bristande cytokinstöd från CD4+ celler vilket tillsammans med en progressiv förlust av CTL och/eller uppträdande av virala mutanter gör immunförsvaret oförmöget att rensa kroppen på viruset (Bienzle, 2014).

Felint immunosuppressivt virus (FIV)

Klassificering och struktur

FIV, liksom HIV-1, har en bred genetisk diversitet (Moench, 2014) och finns idag klassificerad i subtyperna A-F, där subtyperna A och B förefaller vara de mest förekommande (Bienzle, 2014). Viruset finns världen över (Yamamoto *et al.*, 2007) men rekombination mellan olika subtyper (Moench, 2014) verkar inte inträffa lika frekvent som hos HIV-1 eftersom antalet cirkulerande rekombinanter förefaller vara betydligt mindre (Yamamoto *et al.*, 2007). FIV saknar därtill gener motsvarande *vpr*, *vpu* och *nef* men erhåller en annan accessorisk gen i form av *OrfA* vars proteinprodukt har visat sig nödvändig för replikering i målceller (Bienzle, 2014).

Tropism och infektionscykel

FIVs repertoar av målceller påminner mycket om HIVs med en tropism för CD4+ T-celler, makrofager och DCs, men FIV kan även infektera vissa CD8+ T-celler och ibland även B-celler (Yamamoto *et al.*, 2010). Studier på katt har påvisat att CD4+ T-lymfocyter innehåller den högsta andelen provirus under den akuta fasen medan B-lymfocyter kan komma att bli

den huvudsakliga reservoaren under senare faser (Reggeti *et al.*, 2008). För inbindning till värdcellen använder FIV motsvarande viralt gp-100 (Abbott *et al.*, 2011) och till skillnad från HIV som använder human CD4 som primär receptor använder FIV felin CD134, vilken temporärt finns uttryckt på aktiverade T-celler. FIV kan även använda kemokinreceptorn CXCR4 (felin och human) som primär receptor men receptorn används främst som koreceptor på samma sätt som HIV gör hos människa (Yamamoto *et al.*, 2007).

Patogenes

Sjukdomsförlopp

Sjukdomsförloppet påminner till stor del om det som ses vid HIV hos människa (Elder *et al.*, 2010). Den akuta fasen varar några veckor (Moench, 2014) och utmärks av inga eller milda kliniska symtom så som feber, körtelsvullnad och anorexi (Yamamoto *et al.*, 2010). Virusets propagerar sedan långsamt i katten varpå en förvärvad immunbrist uppkommer (Elder *et al.*, 2008) omkring 7-9 år efter infektionsdebut. Med grund i immunbristen drabbas katten av allt fler sekundära sjukdomar så som kronisk diarré, anemi, ögonsjukdomar, meningit och T-cells lymfom. Liksom vid infektion med HIV-1 kan nervsystemet komma att påverkas vilket kan ge upphov till olika former av neurologiska symtom (Yamamoto *et al.*, 2010).

Smittspridning

FIV sprids liksom HIV främst via slemhinnor, blod eller vertikalt från moder till foster. Den huvudsakliga smittvägen anses vara exponering för kontaminerat blod som kan uppkomma naturligt via bett vid slagsmål katter emellan. Trots skillnaden i huvudsaklig smittväg tros viruset spridas i kroppen på samma sätt som HIV-1, med en första anhalt i DCs följt av spridning till CD4+ T-celler (Yamamoto *et al.*, 2010). Liksom för HIV-1 sker virusreplikeringen av FIV således dåligt i DCs (Bienzle, 2014).

Immunsvaret

Studier har påvisat att experimentell infektion med FIV har ett väldigt likartat immunsvaret i jämförelse till HIV-1 med skillnaden att det initiala svaret troligen kan aktiveras snabbare då smittöverföringen främst sker via bett och direkt blodsmitta. Studier på lymfocyter och monocyter från katt har kunnat påvisa ett ökat uttryck av flera IFN α -gener redan tre timmar efter infektion varpå maxnivåer av IFN är nådda efter 12 timmar (Bienzle, 2014).

Som vid infektion av HIV-1 är det immunologiska kännetecknet vid FIV-infektion utslagning av perifera CD4+ T-celler och ett minskat CD4+/CD8+ förhållande vilket leder till funktionsrubbnings hos B- och T-celler. Trots förlusten av CD4+ T-celler ses en tidig aktivitet hos virusspecifika CD8+ CTL (Yamamoto *et al.*, 2007) mot *env* och *gag*. Svaret kvarstår upp till 47 veckor efter infektion och tros i likhet till HIV-1 infektion tjäna för att begränsa virusreplikeringen under ett tidigt skede (Bienzle, 2014). Utöver detta kan CD8+ T-celler från infekterade katter producera antivirala faktorer liknande CAF som produceras hos HIV-positiva människor. Trots de olika immunsvaren förlorar dock kroniskt infekterade katter snart sin förmåga att bilda naiva T-celler vilka senare ersätts med aktiverade CD4+ -och CD8+ T-minnesceller (Yamamoto *et al.*, 2007).

Neutraliserande antikroppar mot FIV utvecklas kort efter att virusspecifika CTL aktiverats för att förse kroppen med ett bättre försvar. Infekterade katter utvecklar ofta ökade serumnivåer av IgG-antikroppar vilket indikerar ett virusspecifikt B-cellssvar liknande det hos HIV (Yamamoto *et al.*, 2007). Identifiering av virala epitoper som känns igen av antikropparna har dock varit en utmaning då antikroppssvaret hos experimentellt infekterade katter har visat sig vara både långsamt och svagt. Likartat har studier påvisat att serum från naturligt infekterade katter ofta innehåller mindre än 10 % neutraliserande antikroppar mot subtyp A, och mindre än 1 % antikroppar mot subtyperna B och C. Majoriteten av den mätbara neutraliserande aktiviteten har varit riktad mot den hypervariabla V5 regionen av *env* vilken är en snabbt föränderlig komponent av genen. Hos FIV liksom hos HIV-1 ackumuleras snabbt förändringar i *env* som tjänar till att dölja eller ändra epitoper åtkomliga för antikroppar (Bienzle, 2014).

Vaccin

Beprövade metoder

HIV-1

Något effektivt vaccin mot HIV-1 finns fortfarande inte trots fyra större fas IIB-III vaccinationsförsök. Initiala studier fokuserade på antikroppsmedierade vaccin bestående av *env*-immunogener i hopp om att kunna generera ett immunsvaret med antikroppar mot flera stammar av HIV-1 (Sanou *et al.*, 2013). Två genomförda fas III vaccinationsförsök bestående av gp-120 från olika stammar har dock misslyckats. Senare försök har fokuserat mer på vaccin som kan inducera ett robust cellmedierat skydd, så som aktivering av CTLs mot HIV-infekterade celler. Genomförda försök bestående av *gag/pol/nef* har dock inte kunnat ge upphov till något vidare skydd (Abbott *et al.*, 2011) vilket kan grundas i mångfalden av specifika CTL-epitoper. Till skillnad från antikroppsmedierade vaccin där valet uteslutande handlar om *env*-proteiner återfinns ett stort antal CTL-associerade epitoper över större delen av alla HIV-proteiner (Sanou *et al.*, 2013). I ett nyligen genomfört fas III försök testades istället ett prime-boost system bestående av en kombination av *gag/pol/env* och ett tidigare testat vaccin med rekombinant gp-120. Målet med designen var att generera både ett cellmedierat –och ett adaptivt immunsvaret men med väldigt varierande resultat har dessa studier inte heller lett fram till ett kommersiellt vaccin (Abbott *et al.*, 2011).

FIV

För FIV liksom HIV har det undersökts många olika varianter av vaccinstrategier, formulerade med en rad olika adjuvans och administrerade enligt olika protokoll (Yamamoto *et al.*, 2010). Till skillnad från HIV-1 har forskningen kring FIV lyckats något bättre. I USA år 2002 släpptes Fel-O-Vax[®] FIV, ett vaccin mot FIV innehållande inaktiverade hela viruspartiklar av A –och D subtyp. Godkännandet av vaccinet grundades på två effektivitetsstudier på 105 laboriekatter tillsammans med ett säkerhetsförsök på 689 sällskapskatter. Såväl prototypen som det kommersiella vaccinet har angetts ge upphov till både virusneutraliserande antikroppar och en bred profylaktisk T-cellsimmunitet mot flertalet FIV-subtyper och cirkulerande rekombinanter (Yamamoto *et al.*, 2010), men senare studier tyder på annat. Medan prototypen har visat sig ha en imponerande effektivitet ses enbart en måttlig till hög effektivitet hos den kommersiella versionen vilket också har ifrågasatts. I

nuläget finns det inte heller något diagnostiskt test för att skilja vaccinering från naturlig infektion vilket är en annan anledning till att vaccinet inte fått något större genomslag inom klinisk verksamhet. Utvecklandet av Fel-O-Vax[®] FIV har dock inte varit helt meningslöst. Resultat från studier på katter infekterade eller vaccinerade med de olika ingående stammarna har gett antydning till att ett vaccin mot AIDS-orsakande lentivirus behöver kunna inducera såväl neutraliserande antikroppar som T-cellssvar för att kunna vara effektivt mot flertalet cirkulerande subtyper (Abbott *et al.*, 2011).

Senare forskning

HIV-1

Under de senaste åren har mycket forskning lagts på att studera vilken immunitet som krävs för att kontrollera HIV-infektion genom att jämföra de individer där viruset snabbt propagerar med så kallade long-term survivors (LTS) och elitkontroller. LTS är de personer som utan anti-retroviralterapi klarar av att kontrollera viruset och förbli symtomlösa medan elitkontrollerna hör till den del av LTS där viruset inte kan detekteras överhuvudtaget. Studierna har resulterat i en databas (Los Alamos National Laboratory, LANL) över epitoper som ger upphov till betydande immunsvaret från CD8⁺ CTLs, CD4⁺ Th-celler och B-celler (antikroppar) (Abbott *et al.*, 2011). LANL antyder på att det finns betydligt fler CD8⁺ CTL epitoper än CD4⁺ Th- och B-cells epitoper, och att dessa CTL epitoper finns koncentrerade på viralt p24, gp-120, *nef*, RT och p17 (Abbott *et al.*, 2011).

FIV

Någon motsvarighet till LANL finns ännu inte för FIV men utifrån databasen har studier med monocytter och T-celler från katter vaccinerade med Fel-O-Vax[®] FIV genomförts för att kunna hitta CTL-epitoper som ger upphov till motsvarande immunsvaret hos FIV. Med grund i att FIV inte har någon *nef*-gen och att virusets gp-100 inte överensstämmer så väl med HIVs gp-120 kom studien att fokusera på FIVs RT och p24-protein. I studien uppmättes IFN γ -nivåer med hjälp av ELISA-teknik och T-cellsproliferation mättes med flödescytometri. Studien identifierade flera peptidpooler¹ hos både FIVs p24 och RT som gav upphov till IFN γ -produktion. Därtill inducerade många peptidpooler från både p24 och RT proliferation av CD4⁺ T-celler. En del av dessa peptidpooler inducerade även proliferation av CD8⁺ T-celler (Abbott *et al.*, 2011).

Evolutionärt bevarade epitoper på HIV-1-och FIV RT

I en nyligen genomförd studie har RT hos HIV-1 och FIV undersökts närmare för att identifiera evolutionärt bevarade CTL-associerade epitoper som kan vara mer resistenta mot mutationer och därför också vara användbara för utvecklingen av ett effektivt T-cellsbaserat HIV-1 vaccin. Studien baserades på monocytter och T-celler från HIV positiva individer varvid IFN γ -nivåer, grad av proliferation och cytotoxaktivitet mot olika HIV och FIV peptider jämfördes. För kvantifiering och detektion av IFN-nivåer användes ELISA och för bestämning av proliferationsgrad och cytotoxaktivitet hos T-celler användes flödescytometri.

¹ En peptidpool består av ett antal utvalda peptider som representerar de viktigaste immunodominanta epitoperna från ett specifikt protein eller patogen, vilket ger en heltäckande bild av T-cellssvaret.

Överlag erhöjs högre IFN-nivåer mot HIV-peptidpoolerna än mot FIV-peptidpoolerna med undantag för F3-poolen som gav upphov till de starkaste immunsvaren bland FIV-poolerna. Detta immunsvår kvarstod hos majoriteten av de testade individerna efter både ett och två år. Till skillnad från detta noterades en betydligt starkare och mer frekvent proliferation av CD8+ T-celler som svar mot FIV-pooler än mot HIV-pooler. Anmärkningsvärt var att hela 12 av 15 individer som påvisade en stark proliferation av CD8+ T-celler mot F3, även erhöjs en stark IFN-produktion mot peptidpoolen. Vidare uttrycktes minst ett cytotoxin hos CD4+ eller CD8+ T-celler i F3-poolen hos 11 av 11 individer vilket tyder på att CTL-epitoper kunde detekteras hos alla testade individer. Med grund i detta undersöktes F3-poolen vidare varvid peptid F3-3 erhöjs de starkaste svaren både vad gäller IFN-produktion och CD8+ T-celler. Vid jämförelse till motsvarande H3 och H3-3 på HIVs RT kunde dock inte liknande svar uppmätas (Sanou *et al.*, 2013).

DISKUSSION

Det behövs inga genetiska markörer eller studier *in vitro* för att förstå att HIV-1 och FIV har uppkommit från en gemensam punkt i evolutionen. Som Clements & Zink (1996) lägger fram delar virusen många kliniska kännetecken så som lång inkubationstid, starka och persisterande immunsvår, påverkan på flera organsystem och dödlig utgång. Global distribution och en bred genetisk mångfald är också egenskaper som ses hos båda virusen (Bienzle, 2014). Vidare studier på virusen kan absolut ge en ökad förståelse kring lentivirus generellt men kan ett virus stå som modell för ett annat? Kan FIV bistå som en god modell för HIV-1? Undersöks virusen närmare uppkommer större och mindre skillnader. Frågan är hur stor betydelse skillnaderna har. Väger fördelarna med kattmodellen upp för eventuella nackdelar?

En av skillnaderna som kan ses ligger i virusens genetiska struktur. Som retrovirus delar HIV-1 och FIV samma grunduppsättning av strukturella och enzymatiska protein, men när det kommer till de regulatoriska generna ses inte lika stor överensstämmelse. I jämförelse till HIV-1 saknar FIV motsvarande *vpr*, *vpu* och *nef* (Bienzle, 2014a) vilka till stor del är involverade i produktionen av virala partiklar och manifesteringen av sjukdomen (Clements & Zink, 1996). Hos FIV ses däremot en gen som inte ses hos HIV-1 i form av *OrfA*. Genens proteinprodukt har visat sig vara nödvändig för virusreplikering i målcellerna men genen kan enligt Bienzle (2014) även erhålla andra uppgifter som ännu inte är utredda. Som (Clements & Zink, 1996) lägger fram kan de regulatoriska generna ha omvandlats från värdgenomet för att bidra med värdefulla funktioner för virusens persistens och patogenes. Det skulle kunna förklara det faktum att funktionerna ändå verkar vara bevarade trots genetiska skillnader. Patogenesen hos virusen förklaras trots allt av virusens komplexa genetik och unika förmåga att styra gennuttryck (Clements & Zink, 1996).

En annan skillnad som skulle kunna ge upphov till stora nackdelar med modellen är repertoaren av mottagliga celler där FIV har en förmåga att kunna infektera fler celler än HIV-1. Kanske är det den primära målreceptorn som ger FIV möjligheten till att kunna infektera vissa B-celler och CD8+ T-celler utöver de målceller som ses hos HIV-1? Det tål absolut att undersökas. Den utökade repertoaren verkar dock inte ge upphov till några

uppenbara skillnader i immunsvaret vilket skulle kunna förklaras av att CD4+ T-celler är det huvudsakliga målet för båda virusen (Bienzle, 2014). Som Yamamoto *et al.* (2007) påpekar är det immunologiska kännetecknet vid båda infektioner trots allt utslagningen av perifera CD4+ T-celler och ett minskat CD4+/CD8+ förhållande vilket leder till flertalet funktionsrubbingar i immunförsvaret.

Riktas fokus istället åt likheter som kan få en betydande roll i framtida forskning hittar vi två, varav den ena redan fått en del uppmärksamhet. Den egenskap som helt klart borde utforskas vidare är FIVs utnyttjande av CXCR4 som en möjlig inkörsport i målceller. Detta är en mekanism som viruset delar med flertalet HIV-1 stammar och som absolut kan vara av värde för vidare forskning. Enligt Yamamoto *et al.* (2007) har FIV visat sig kunna använda såväl felin som human CXCR4 vilket skulle kunna förklaras av att receptorerne visat sig erhålla stora likheter (Bienzle, 2014). Vidare forskning på felin CXCR4 skulle därför kunna gynna både katt och människa.

Den andra likheten som skulle kunna växa storartat genom mer tid i rampljuset är virusspecifika CD8+ CTLs. Enligt Kahn & Walker (1998) har den initiala reduceringen av virala plasmanivåer hos människa kunnat kopplats till det ökade antalet virusspecifika CTLs varvid cellerna tros ha en viktig roll i den tidiga kontrollen av viruset. I likhet till detta lade Bienzle (2014) fram att ökningen av CTLs hos katt till stor del tros tjäna för att begränsa virusreplikeringen under den asymtomatiska fasen och därmed bromsa sjukdomsförloppet. På det sättet verkar CD8+ CTLs vara högst betydande för att tysta ner viruset. Frågan är om cellerna hade kunnat utrota viruset om immunsvaret kunnat kvarstå och sjukdomsförloppet kunnat bromsas till en högre grad. Hos infekterade katter och människor verkar det dock mer eller mindre omöjligt för immunförsvaret att upprätthålla svaret någon längre tid. Som Bienzle (2014) lade fram ackumuleras det snabbt förändringar i *env* som också är det huvudsakliga målet för cellerna (Kahn & Walker, 1998; Bienzle, 2014). För att få svaret på frågan behövs därför fler studier på möjliga CTL-epitoper av vikt för immunsvaret. För en bra bedömning verkar komplimenterade studier på FIV och inte minst katter vaccinerade med Fel-O-Vax[®] FIV kunna ge betydande information (Abbott *et al.*, 2011).

Liksom Uhl *et al.* (2008) lägger fram är det svårt att utveckla ett effektivt vaccin mot HIV-1 på grund av den breda genetiska mångfalden hos viruset. För att kunna komma runt problemet och kunna identifiera skyddande virala epitoper lade Sanou *et al.* (2013) fram värdet med att rikta fokus åt mer bevarade regioner hos viruset. Ett fokus som samtidigt troligen skulle kunna öka chansen att kunna komma åt flertalet olika stammar av HIV-1. I studien som Sanou *et al.* (2013) genomförde undersöktes olika immunogena peptider på HIV-1-och FIV RT närmare med målet att kunna identifiera evolutionärt bevarade CTL-associerade epitoper av vikt för ett effektivt T-cellsbaserat vaccin mot HIV-1. I studien sågs överlag högre IFN-nivåer mot HIV-peptidpoolerna än mot FIV-peptidpoolerna men förvånande uppkom väldigt starka och varaktiga svar mot en specifik FIV-pool, vilket inte kunde ses hos motsvarande HIV-pool. Som förklaring till fenomenet diskuterades ett ökat selektionstryck mot HIV-1 hos människa än mot FIV hos katt. Skulle teorin stämma har de starkare immunsvaren som uppmättes mot vissa FIV-pooler alltså ha gått förlorade hos HIV-1 genom ett högre selektionstryck hos människa. En möjlig orsak till teorin skulle kunna vara en eventuellt

längre och mer spridd evolutionär utveckling hos HIV-1 än hos FIV och att fler gynnande egenskaper hunnit selekterats fram. Om så inte är fallet verkar det finnas ett högre smittryck i drabbade HIV-områden än i områden där FIV finns, något som skulle kunna vara en orsak till det samma (Yamamoto *et al.*, 2007). Till skillnad från F3-poolen kunde trots allt inga varaktiga svar mot motsvarande HIV-pool identifieras (Sanou *et al.*, 2013) vilket indikerar att HIV-1 utvecklade mekanismer som gör det mer benäget att snabbt kunna undkomma immunförsvaret. Forskare har varit inne på liknande spår tidigare. Som Yamamoto *et al.* (2007) påpekade i sin studie förefaller antalet cirkulerande rekombinanter av FIV vara betydligt mindre till antalet än vad som ses hos HIV-1. Ett faktum som enligt deras egna slutsatser kan bero på att FIV har en mycket lägre rekombinationshastighet än HIV-1. För att kunna dra bättre slutsatser behöver teorierna kompletteras med fler studier, men spektionerna har ändå väckt frågan: skulle det kunna vara så att FIV peptider kan komma till användning i ett vaccin mot HIV-1?

Vid experimentell infektion med FIV ses ett väldigt likartat immunsvaret i jämförelse till HIV-1. På grund av att smittörföringen oftast sker genom blodsmitta tros immunsvaret dock kunna startas tidigare (Bienzle, 2014). Kanske kan detta vara en orsak till att viruset verkar vara mer bevarat hos katt? Som framfördes av Yamamoto *et al.* (2010) kan de akuta symtomen hos katt vara så pass milda att de uteblir. Kanske är det en följd av att viruset oftast trycks ner snabbt av immunförsvaret? Genom att snabbt kunna begränsa den initiala virusreplikeringen och smittspridningen i kroppen borde också risken för nya mutationer och rekombinanter minska. Skulle teorin stämma kvarstår dock frågan om varför viruset inte hittat vägar för att komma runt problemet. Som Elder *et al.* (2008) påpekar påminner sjukdomsförloppet hos katt mycket om det som ses hos HIV-1. Genom progression i kroppen ger viruset så småningom upphov till en förvärvad immunbrist varpå katten oftast dör i sviterna av olika opportunistiska infektioner och sjukdomar. Viruset behöver alltså inte några ytterligare initiala mekanismer, infektionen kan inte botas i vilket fall.

Grundfrågeställningen om huruvida FIV speglar en bra modell för HIV-1 eller inte är enligt min egen åsikt väldigt entydig. Som Elder *et al.* (2010) lägger fram delar FIV trots vissa genetiska skillnader många strukturella och patofysiologiska likheter med HIV-1. Det gör katten till en bra modell för utveckling av strategier relevanta för sjukdomsutveckling hos både katt och människa. Till detta tyder fakta på att FIV är mer bevarat än HIV-1 och att evolutionärt bevarade immunologiska epitoper kan vara av vikt för ett effektivt vaccin. Skulle inte en bioinformatisk jämförelse av FIV och HIV epitoper direkt kunna identifiera strukturer av vikt för vaccination mot HIV, verkar det därför mycket möjligt att vissa bevarade FIV peptider kan komma att vara del av ett framtida vaccin mot HIV-1.

LITTERATURHÄNVISNING

- Abbott, J. R., Sanou, M. P., Coleman, J. K. & Yamamoto, J. K. (2011). Evolutionarily conserved T-cell epitopes on FIV for designing an HIV/AIDS vaccine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143: 246–254.
- Altfeld, M. & Gale, M. (2015). Innate immunity against HIV-1 infection. *Nature Immunology*, 16: 554–562.
- Aranyos, A. M., Roff, S. R., Pu, R., Owen, J. L., Coleman, J. K. & Yamamoto, J. K. (2016). An initial examination of the potential role of T-cell immunity in protection against feline immunodeficiency virus (FIV) infection. *Vaccine*, 34: 1480–1488
- Barouch, D. H. & Deeks, S. G. (2014). Immunologic strategies for HIV-1 remission and eradication. *Science*, 345: 169–174.
- Bienzle, D. (2014). FIV in cats - a useful model of HIV in people? *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 159: 171–179.
- Clements, J. E. & Zink, M. C. (1996). Molecular biology and pathogenesis of animal lentivirus infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 9: 100–117.
- Elder, J. H., Lin, Y.-C., Fink, E. & Grant, C. K. (2010). Feline Immunodeficiency Virus (FIV) as A Model for Study of Lentivirus Infections: Parallels with HIV. *Current Hiv Research*, 8: 73–80.
- Elder, J. H., Sundstrom, M., de Rozieres, S., de Parseval, A., Grant, C. K. & Lin, Y.-C. (2008). Molecular mechanisms of FIV infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123: 3–13.
- Goto, T., Nakai, M. & Ikuta, K. (1998). The life-cycle of human immunodeficiency virus type 1. *Micron (Oxford, England: 1993)*, 29: 123–138.
- Kahn, J. O. & Walker, B. D. (1998). Acute Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *New England Journal of Medicine*, 339: 33–39.
- Levy, J. A. (2011a). Virus-host interactions in HIV pathogenesis: directions for therapy. *Advances in dental research*, 23: 13–8.
- Manocheewa, S., Mittler, J. E., Samudrala, R. & Mullins, J. I. (2015). Composite Sequence-Structure Stability Models as Screening Tools for Identifying Vulnerable Targets for HIV Drug and Vaccine Development. *Viruses-Basel*, 7: 5718–5735.
- Mascola, J. R. (2015). The modern era of HIV-1 vaccine development. *Science*, 349: 139–140.
- McCullough, M. J., Firth, N. A. & Reade, P. C. (1997). Human immunodeficiency virus infection: A review of the mode of infection, pathogenesis, disease course, and the general and clinical manifestations. *Australian Dental Journal*, 42: 30–37.
- Miedema, F., Hazenberg, M. D., Tesselaar, K., van Baarle, D., de Deboer, R. J. & Borghans, J. A. M. (2013). Immune activation and collateral damage in AIDS pathogenesis. *Frontiers in Immunology*, 4, p UNSP 298.
- Moench, T. R. (2014). Cell-Associated Transmission of HIV Type 1 and Other Lentiviruses in Small-Animal Models. *Journal of Infectious Diseases*, 210: S654–S659.
- Persaud, D., Zhou, Y., Siliciano, J. M. & Siliciano, R. F. (2003). Latency in human immunodeficiency virus type 1 infection: No easy answers. *Journal of Virology*, 77: 1659–1665.
- Reggeti, F., Ackerley, C. & Bienzle, D. (2008). CD134 and CXCR4 expression corresponds to feline immunodeficiency virus infection of lymphocytes, macrophages and dendritic cells. *Journal of General Virology*, 89: 277–287.
- Sanou, M. P., Roff, S. R., Mennella, A., Sleasman, J. W., Rathore, M. H., Yamamoto, J. K. & Levy, J. A. (2013). Evolutionarily conserved epitopes on human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)

and feline immunodeficiency virus reverse transcriptases detected by HIV-1-infected subjects. *Journal of Virology*, 87: 10004–10015.

Uhl, E. W., Martin, M., Coleman, J. K. & Yamamoto, J. K. (2008). Advances in FIV vaccine technology. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 123: 65–80.

UNAIDS (2015-11-24). *AIDS by the numbers 2015*.

http://www.unaids.org/en/resources/documents/2015/AIDS_by_the_numbers_2015. [2016-03-15]

Wu, L. & KewalRamani, V. N. (2006). Dendritic-cell interactions with HIV: infection and viral dissemination. *Nature Reviews Immunology*, 6: 859–868.

Yamamoto, J. K., Pu, R., Sato, E. & Hohdatsu, T. (2007). Feline immunodeficiency virus pathogenesis and development of a dual-subtype feline-immunodeficiency-virus vaccine. *AIDS (London, England)*, 21: 547–563.

Yamamoto, J. K., Sanou, M. P., Abbott, J. R. & Coleman, J. K. (2010). Feline Immunodeficiency Virus Model for Designing HIV/AIDS Vaccines. *Current Hiv Research*, 8: 14–25.