

LTT auf SARS-CoV-2-Peptide zum Nachweis der T-lymphozytären Immunantwort auf das neuartige Coronavirus

Bisher wurde in der Routine-Labordiagnostik zur Beurteilung einer (wahrscheinlichen) Immunität nach durchgemachter Infektion ausschließlich die Antikörperantwort auf das SARS-CoV-2-Virus betrachtet. Die Antikörper können durch neutralisierende Effekte die Infektion verhindern bzw. die Erregerelimination „unterstützen“. Allerdings entwickeln längst nicht alle Patienten nach Viruskontakt eine messbare Antikörpermenge, vor allem nicht bei asymptomatischen oder auch sehr milden Verläufen (Mallapaty, 2020; Long et al., 2020). Zusätzlich deuten wissenschaftliche Daten darauf hin, dass die Antikörperantwort nach erfolgter Infektion in einigen Fällen nur kurzlebig ist; ähnlich wie bei SARS-CoV-1 im Jahr 2003. Die T-zelluläre Antwort spielt hingegen eine zentrale Rolle bei der Virusabwehr und das T-Zell-Gedächtnis kann über mehrere Jahre persistieren, um gegen schwere Reinfektionen zu schützen (Channappanavar et al., 2014).

Insofern stellt der nun mögliche Nachweis SARS-CoV-2-spezifischer T-Zellen eine bedeutende Bereicherung der SARS-CoV-2-Labordiagnostik dar. Der „LTT SARS-CoV-2“ ist in den letzten 4 Monaten im IMD Berlin methodisch und auch klinisch validiert worden. Die Stimulation der Patientenzellen erfolgt hierbei mit spezifischen Peptiden, d.h. Gemischen aus kleinen Bruchstücken des immunodominanten Spike-Glykoproteins des Virus (S-Protein). Im „LTT SARS-CoV-2“ werden Peptid-Gemische aus 2 Bereichen eingesetzt. Sie umspannen einmal das sogenannte C-terminale Ende (C-Term) und das N-terminale Ende (N-Term) des gesamten S-Proteins (Abb.1).

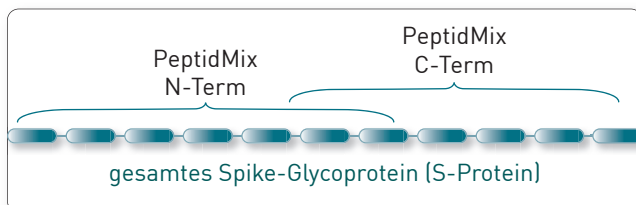


Abb 1. Stimuliert wird mit einer „Peptid-Bibliothek“ aus 158 überlappenden Peptiden aus dem N-Term- bzw. 157 Peptiden aus dem C-Term-Bereich

Spezifität des LTT-SARS-CoV-2

Es wurde gezeigt, dass der N-Term sehr spezifisch für SARS-CoV-2 ist, wohingegen der C-Term höhere Homologien zu anderen beta-Coronaviren aufweist (Braun et al, 2020). Passend zu diesen Ergebnissen traten auch in unserer Kontrollgruppe (kein Infektionsverdacht, keine Antikörper) keine Reaktionen auf N-Term-Peptide auf. Dagegen zeigten ca. 20-30 % der Probanden eine moderate Reaktion auf den C-Term-Bereich. Eine isolierte C-Term-Reaktion wird mit einer Kreuzreaktivität zu anderen beta-Coronaviren assoziiert. Ob und welchen Einfluss solch eine Kreuzreaktion auf den Verlauf einer SARS-CoV-2-Infektion haben kann, ist aktuell noch Gegenstand der Forschung.

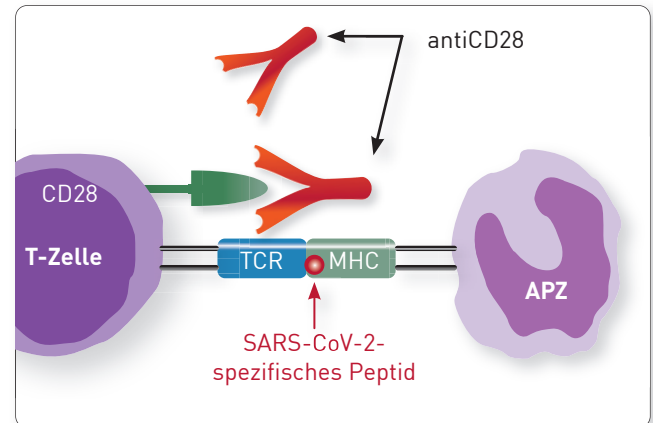



Abb 2. Darstellung der T-Zell-Aktivierung durch Peptide:

Das wichtigste Signal für die Aktivierung einer T-Zelle ist die spezifische Erkennung eines Peptids mit dem T-Zell-Rezeptor (TCR). Hierbei muss das Peptid genau „passen“, es gilt also das Schlüssel-Schloss-Prinzip. Für eine vollständige Aktivierung benötigt die T-Zelle zusätzlich noch „Co-Signale“ der Antigen-präsentierenden Zelle (APZ). Dieses Signal wird in vitro bei Peptid-Stimulation unterstützt durch die Gabe von anti-CD28-Antikörpern.

Sensitivität des LTT-SARS-CoV-2

Alle in unseren Studien untersuchten nachweislich mit SARS-CoV-2 infizierten Personen (PCR-positiv) zeigten eine deutliche Reaktivität sowohl auf N-, als auch C-Term-Peptide. Auch 5 Monate nach Infektion waren die Untersuchten im LTT auf SARS-CoV-2 noch deutlich positiv.



Ärztlicher Befundbericht

Lymphozytentransformationstest LTT SARS-CoV-2

SARS-CoV2-spezifische Peptide	SI	
Spike-N-Term	17,0	Hinweise zur Untersuchungsmethode: Die Zahlen rechts neben den Balkengrafiken sind die Stimulationsindizes (SI) für das SARS-Peptid, welches den Patientenzellen zugesetzt wird (jeweils Mittelwert von 3-fach Ansätzen). Der Stimulationsindex (SI) ist der Quotient aus der Peptid-induzierten und der CD28-stimulierten Thymidineinbaurate (Leerwert in cpm, angegeben ist jeweils der Mittelwert von 3 Paralleluntersuchungen). Die Positivkontrolle dient ausschließlich dem Nachweis der Reaktionsfähigkeit der Lymphozyten.
Spike-C-Term	17,6	
antiCD28	1,1	
Positivkontrolle (Antigen)	17,5	
Mitogenkontrolle (PWM)	42,0	
Leerwert (Negativkontrolle)	1349	

Abb 3. Beispielbefund für einen positiven LTT auf SARS-CoV-2-Peptide

Haben Sie Fragen? Unser Service Team beantwortet sie gerne unter +49 (0)30 770 01-220.

Bei welchen Fragestellungen kann der LTT SARS-CoV-2 eingesetzt werden?

1. Hat eine Infektion in der Vergangenheit stattgefunden?

Diese Indikation ist wichtig bei allen Patienten mit unsicherer (fraglicher) oder primär fehlender Antikörperantwort.

2. Zeigen PCR-positive/Antikörper-negative Patienten eine T-Zellantwort?

Man geht weiterhin davon aus, dass eine T-zelluläre Immunität mit einem starken Immunschutz einhergeht, auch bei fehlendem Antikörpernachweis.

3. Haben PCR-positive/Antikörper-negativ gewordene Patienten eine T-Zellantwort?

Nach heutigem Wissen verlieren etwa 10 % der Patienten mit Symptomen und 40 % der symptomlosen Patienten ihre IgG-Antikörper, so dass eine zurückliegende Infektion unter Umständen nur noch über die T-Zellantwort nachweisbar ist.

4. Ist bei bisher nicht infizierten Patienten eine T-Zellantwort auf C-Term-Peptide nachweisbar (bei fehlender Antwort auf das hochspezifische N-Term)?

Diese Konstellation (siehe Abb. 4) kann auf eine Kreuzreaktivität zu endemisch zirkulierenden Erkältungs-Coronaviren (229E, OC43, NL63 und HUK1) hindeuten. Hier gibt es erste wissenschaftliche Erkenntnisse, dass diese Kreuzreaktivität eine zumindest teilweise Immunität auch gegen SARS-CoV-2 vermitteln könnte. Dies wäre eine mögliche Erklärung dafür, dass manche Kontaktpersonen nicht oder nur mit milden Symptomen erkranken. Für eine abschließende Aussage in diesem Punkt sind aber weitere aktuell laufende Studien abzuwarten.

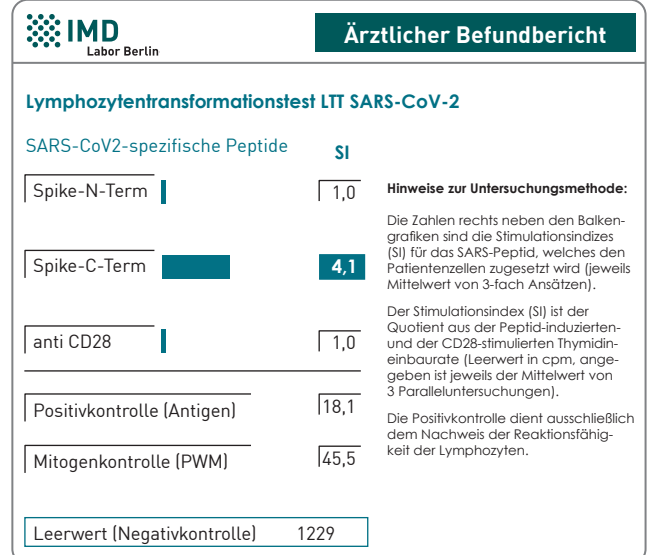


Abb 4. Es zeigt sich eine moderate T-zelluläre Gedächtniszell-Immunantwort lediglich auf den C-terminalen Bereich des Spike-Proteins, nicht aber auf den SARS-CoV-2-spezifischeren N-terminalen Bereich. Nach aktuellen Studien tritt diese Befundkonstellation bei ca. 30 % der Nicht-Infizierten auf, da der C-terminale Bereich eine höhere Sequenzhomologie zu endemisch zirkulierenden Coronaviren aufweist. Der Befund spricht gegen eine stattgefundene Infektion mit SARS-CoV-2, deutet allerdings auf eine Kreuzreaktivität und somit eventuelle „Teilimmunität“ hin.

Material

Für die Untersuchung werden 20 ml Heparin- und 5 ml Vollblut zur Serumgewinnung benötigt.

Der Probenversand erfolgt per Kurier. Bitte kontaktieren Sie unsere kostenfreie Kurier-Hotline unter 030 77001-450.

Abrechnung

Eine Abrechnung ist gegenwärtig nur im privatärztlichen Bereich (GOÄ) gegeben. Für Selbstzahler (IGeL) kostet die Untersuchung 122,97 €.

Literatur

- Long, Q.X., Tang, X.J., Shi, Q.L., Li, Q., Deng, H.J., Yuan, J., Hu, J.L., Xu, W., Zhang, Y., Lv, F.J., et al. (2020). Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. Nat Med.
- Channappanavar, R., Fett, C., Zhao, J., Meyerholz, D.K., and Perlman, S. (2014). Virus-specific memory CD8 T cells provide substantial protection from lethal severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. J Virol 88, 11034-11044.
- Mallapaty, S. (2020). Will antibody tests for the coronavirus really change everything? Nature 580, 571-572.
- Braun, J., Loyal, L., Frensch, M., Wendisch, D., Georg, P., Kurth, F., Hippenstiel, S., Dingeldey, M., Kruse, B., Fauchere, F., et al. (2020). SARS-CoV-2-reactive T cells in healthy donors and patients with COVID-19. Nature.