

# Factor H-gerelateerde eiwitten bij gezondheid en infectieziekten

Factor H family proteins in health and infectious disease

dr. A.E. van Beek

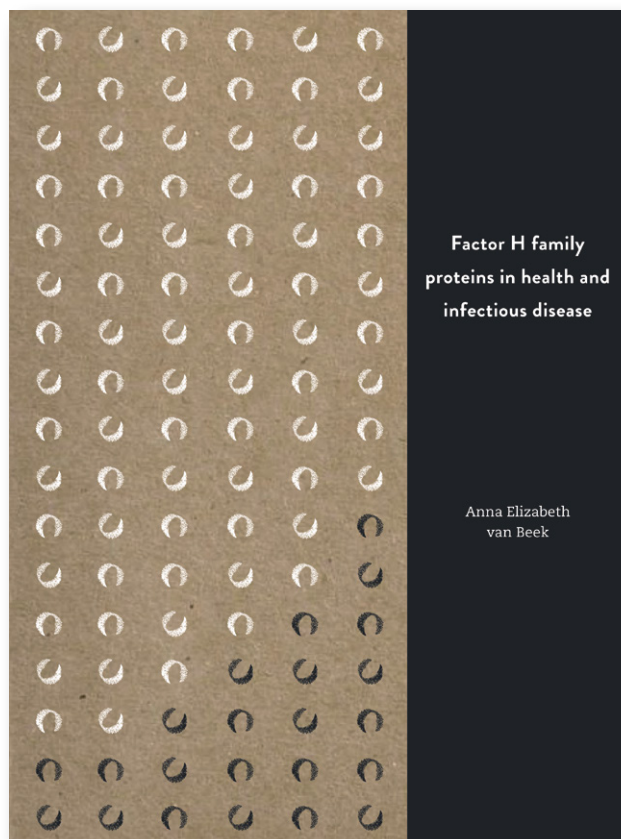
## SAMENVATTING

Op 27 september 2019 promoveerde Anna van Beek aan de Universiteit van Amsterdam op het proefschrift getiteld 'Factor H family proteins in health and infectious disease'. Het onderzoek werd uitgevoerd onder leiding van promotor prof. dr. T.W. Kuijpers en co-promotores dr. D. Wouters en dr. I. Jongerius. In dit artikel worden de belangrijkste bevindingen besproken.

(TIJDSCHR INFECT 2020;15(4):155-7)

## SUMMARY

On September 27<sup>th</sup>, 2019, Anna van Beek defended her PhD thesis entitled 'Factor H family proteins in health and infectious disease', supervised by prof. dr. T.W. Kuijpers, dr. D. Wouters and dr. I. Jongerius. This article summarizes the most important findings of the thesis.



## INLEIDING

Het complementsysteem is een essentieel onderdeel van de aangeboren immuniteit.<sup>1</sup> Het complementsysteem kan pathogenen herkennen via antistoffen of lectinen, waarna een cascade van enzymreacties plaatsvindt, maar kan ook spontaan ontstaan op niet beschermde oppervlakken. Dit zorgt er vervolgens voor dat (gramnegatieve) pathogenen direct worden

gedood, immuuncellen naar de juiste plek migreren en dat deze cellen geholpen worden met het verwijderen van het pathogeen. Om schade te voorkomen aan eigen weefsel, kan het complementsysteem bij vrijwel elke stap in de cascade worden geremd door specifieke regulatoren.<sup>2</sup>

Een belangrijk plasma-eiwit dat ervoor zorgt dat de schade aan eigen weefsel wordt geminimaliseerd, is complement-

Correspondentie richten aan: mw. dr. A.E. van Beek, postdoctoral scientific collaborator, department of Medical Parasitology and Infection Biology, Swiss Tropical and Public Health Institute, Socinstrasse 57, 4051 Basel, Zwitserland; tel.: +41 61 284 83 14, e-mailadres: anna.vanbeek@swisstph.ch

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: European Union 7<sup>th</sup> FP, EC-GA no. 279185 (EUCLIDS: [www.euclids-project.eu](http://www.euclids-project.eu)).

**Trefwoorden:** complement, ELISA, immunologie, malaria, meningokokkeninfecties, plasmaconcentraties, vatbaarheid.

**Keywords:** complement, ELISA, immunology, malaria, meningococcal disease, plasma levels, susceptibility.

ONTVANGEN 23 DECEMBER 2019, GEACCEPTEERD 16 JANUARI 2020.

factor H (FH). FH zorgt ervoor dat C3b, het centrale eiwit van complementactivatie, wordt geïnactiveerd zodra het op gezond weefsel terecht komt. In het algemeen herkent FH C3b alleen in aanwezigheid van humane suikers, zodat alleen het eigen weefsel wordt beschermd en niet dat van pathogenen. Sommige pathogenen zijn echter zo geëvolueerd dat ze complementactivatie kunnen ontwijken door middel van de expressie van specifieke FH-bindende eiwitten.<sup>3</sup> Met deze strategie kunnen onder andere *Neisseria meningitidis* en *Plasmodium falciparum* beter overleven in het bloed.<sup>4-6</sup>

Recentelijk is ontdekt dat mensen ook FH-gerelateerde (FHR)-eiwitten tot expressie brengen.<sup>7</sup> Deze eiwitten lijken op FH in de domeinen die betrokken zijn bij de binding aan gezond weefsel, maar missen de domeinen die nodig zijn voor inactivatie van C3b. Een gangbare hypothese is dat de FHR-eiwitten de regulerende werking van FH kunnen 'dereguleren' op gezond weefsel. Een andere hypothese is dat de FHR-eiwitten een functie hebben als 'lokaas'-eiwitten, om hiermee het misbruik van FH door pathogenen te beperken. In dit proefschrift is onderzoek gedaan naar de functies van FH en de FHR-eiwitten in relatie tot infectieziekten. Bestudeerd is hoe sommige FHR-eiwitten complexen vormen met elkaar en laboratoriumtesten zijn ontwikkeld om plasmaconcentraties te bepalen. Ook zijn tijdens en na ziekte plasmaconcentraties van kinderen bepaald die geïnfecteerd waren met *N. meningitidis* of *P. falciparum*.

## ONTWIKKELING LABORATORIUMTESTEN

Aan het begin van het promotietraject was het onduidelijk in welke vorm en in welke concentratie de FHR-eiwitten in plasma circuleren. In het kader van een grote Europese studie zijn antistoffen gegenereerd. Met behulp hiervan is uitgezocht hoe FHR-1, FHR-2 en FHR-5 complexen met elkaar vormen in plasma; essentieel voor het ontwikkelen van complex-specifieke testen.<sup>8</sup> Na het ontwikkelen van alle benodigde testen konden referentie-intervallen worden bepaald bij gezonde Nederlandse volwassenen en kinderen.<sup>8-11</sup> Hiermee had de onderzoeksgroep als eerste een compleet beeld van de eiwitten in plasma. De concentraties van de FHR-eiwitten in plasma bleken veel lager dan eerder voorspeld, en de mogelijkheid om een competitie aan te gaan met FH in plasma leek daardoor zeer klein onder gezonde omstandigheden.

## FHR-EIWITTEN BIJ INFECTIEZIEKTEN

Uit een genetische studie was reeds gebleken dat FH en FHR-3 geassocieerd zijn met de vatbaarheid voor meningokokkeninfectie bij kinderen.<sup>12</sup> Om te begrijpen of FH en

de FHR-eiwitten ook een rol spelen gedurende een meningokokkeninfectie is een cohortstudie uitgevoerd, waarbij gebruik werd gemaakt van serum dat was afgenomen tijdens de acute fase.

De concentraties van alle FHR-eiwitten waren sterk verlaagd tijdens de acute fase, waarbij de kinderen die het niet overleefden de laagste concentraties hadden. Omdat tijdens een meningokokkeninfectie veel processen tegelijkertijd plaatsvinden waar FH en mogelijk ook de FHR-eiwitten bij zijn betrokken, en onduidelijk is wat precies de oorzaak is van deze lage concentraties, werd alles in de context geplaatst van klinische parameters. Van alle FHR-eiwitten bleek FH zelf het sterkst geassocieerd met de parameters die een verband legden met diffuse intravasale stolling en met basenoverschot, op de voet gevolgd door FHR-1 en FHR-5. Een specifieke verlaging van de FH-concentratie die veroorzaakt zou zijn door de binding aan *N. meningitidis* kon niet worden aangetoond. De onderzoekers vermoedden dat een lage FH-concentratie tijdens een infectie met name problematisch is voor de bescherming van het eigen weefsel.

## FH BIJ MALARIA

De laatste studie van het proefschrift richtte zich op FH in de context van malaria.<sup>13</sup> Hoewel in-vitrostudies hebben aangetoond dat *P. falciparum* zich kan beschermen met FH tegen complementschade, was het onbekend in hoeverre dit van belang is tijdens een infectie.<sup>6</sup> De onderzoekers beschrijven een cohort van Gambiaanse kinderen die in het ziekenhuis werden behandeld voor malaria. De kinderen hadden de diagnose milde of ernstige malaria, op basis van van de gangbare criteria. Plasma was afgenomen na een maand, als 'proxy' voor de 'steady-state'.

Kinderen die een ernstige malaria-infectie hadden doormaakt, hadden een hogere FH-concentratie dan de kinderen met een milde infectie. Beide groepen hadden een hogere FH-concentratie dan gezonde Gambiaanse kinderen uit de regio. Hoewel een hogere FH-concentratie ervoor kan zorgen dat circulerende parasieten worden beschermd tegen complementschade, kan het er ook voor zorgen dat de vaatwand beter wordt beschermd, waardoor parasieten minder goed kunnen vasthouden. Dit is ook wat de resultaten laten zien: de hoge FH-concentratie is onder andere geassocieerd met het aantal circulerende parasieten, maar laat een negatieve associatie zien met de hoeveelheid parasieten die zich vasthouden aan de vaatwand (en dus niet zichtbaar zijn op een bloedfilm). In een latere studie (gebruikmakend van hetzelfde cohort) is aangetoond dat de FH-concentratie een rol speelt bij de snelheid waarmee een parasiet zich kan voortplanten in het bloed.<sup>14</sup>

## AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1 Plasmaconcentraties van factor H (FH) en de FH-gerelateerde eiwitten kunnen worden gemeten in een laboratorium. Tijdens een infectie kunnen de concentraties sterk afwijken.**
- 2 Een lage FH-concentratie tijdens een meningokokkeninfectie is geassocieerd met een ernstig verloop van de ziekte, al is een afkapwaarde nog niet bekend.**

## CONCLUSIE

Dit proefschrift heeft een belangrijke bijdrage geleverd aan het onderzoek naar de rol van FHR-eiwitten en FH tijdens een infectie, zowel door biochemisch onderzoek naar de complexvorming van de FHR-eiwitten, als door analyse van plasmaconcentraties bij zowel gezonde volwassenen als kinderen tijdens een infectie. Tijdens een meningokokkeninfectie en een infectie met malariaparasieten speelt FH een duidelijke rol bij de vatbaarheid voor en de ernst van de ziekte. De toekomst zal moeten uitwijzen of er ook een significante rol is voor de FHR-eiwitten.

## REFERENTIES

1. Merle NS, Church SE, Fremeaux-Bacchi V, et al. Complement system part I - molecular mechanisms of activation and regulation. *Front Immunol* 2015;6:262.
2. Schmidt CQ, Lambris JD, Ricklin D. Protection of host cells by complement regulators. *Immunol Rev* 2016;274:152-71.
3. Ermer D, Ram S, Laabei M. The hijackers guide to escaping complement: Lessons learned from pathogens. *Mol Immunol* 2019;114:49-61.
4. Madico G, Welsch JA, Lewis LA, et al. The meningococcal vaccine candidate GNA1870 binds the complement regulatory protein factor H and enhances serum resistance. *J Immunol* 2006;177:501-10.
5. Schneider MC, Exley RM, Chan H, et al. Functional significance of factor H binding to *Neisseria meningitidis*. *J Immunol* 2006;176:7566-75.
6. Kennedy AT, Schmidt CQ, Thompson JK, et al. Recruitment of factor H as a novel complement evasion strategy for blood-stage *Plasmodium falciparum* infection. *J Immunol* 2016;196:1239-48.
7. Sanchez-Corral P, Pouw RB, Lopez-Trascasa M, et al. Self-damage caused by dysregulation of the complement alternative pathway: relevance of the factor H protein family. *Front Immunol* 2018;9:1607.
8. van Beek AE, Pouw RB, Brouwer MC, et al. Factor H-related (FHR)-1 and FHR-2 form homo- and heterodimers, while FHR-5 circulates only as homodimer in human plasma. *Front Immunol* 2017;8:1328.
9. Pouw RB, Brouwer MC, Geissler J, et al. Complement factor H-related protein 3 serum levels are low compared to factor H and mainly determined by gene copy number variation in CFHR3. *PLoS One* 2016;11:e0152164.
10. Pouw RB, Brouwer MC, van Beek AE, et al. Complement factor H-related protein 4A is the dominant circulating splice variant of CFHR4. *Front Immunol* 2018;9:729.
11. van Beek AE, Kamp A, Kruihof S, et al. Reference intervals of factor H and factor H-related proteins in healthy children. *Front Immunol* 2018;9:1727.
12. Davila S, Wright VJ, Khor CC, et al. Genome-wide association study identifies variants in the CFH region associated with host susceptibility to meningococcal disease. *Nat Genet* 2010;42:772-6.
13. van Beek AE, Sarr I, Correa S, et al. Complement factor H levels associate with *Plasmodium falciparum* malaria susceptibility and severity. *Open Forum Infect Dis* 2018;5:ofy166.
14. Georgiadou A, Lee HJ, Walther M, et al. Modelling pathogen load dynamics to elucidate mechanistic determinants of host-*Plasmodium falciparum* interactions. *Nat Microbiol* 2019;4:1592-602.