

VU Research Portal

The sweet key: to unlocking full dendritic cell potential

Li, R.J.E.

2020

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Li, R. J. E. (2020). *The sweet key: to unlocking full dendritic cell potential*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Alle organismen bezitten een verdedigingssysteem om zich te beschermen tegen indringers van buitenaf. Het defensiemechanisme in de mens bestaat uit meerdere onderdelen. Wanneer ziekteverwekkers (pathogenen) of andere lichaamsvreemde entiteiten de fysieke barrière van de huid en de slijmvliezen passeren en het lichaam binnentreden, krijgen zij te maken met het immuunsysteem. Allereerst treedt het aangeboren immuunsysteem in werking. Deze vorm van afweer wordt ook wel het specifieke afweer genoemd, omdat de immuuncellen die tot deze linie behoren geen onderscheid maken in het type ziekteverwekker dat binnendringt. Deze 'witte bloedcellen' bevinden zich onder andere in het bloed en lymfvoeistof, en scannen alle weefsels in het lichaam op indringers. Alle indringers die het aangeboren immuunsysteem tegenkomt worden zo snel mogelijk opgenomen. Zo kunnen de immuuncellen de ziekteverwekkers snel elimineren binnen het lichaam. De opgenomen lichaamsvreemde entiteiten worden vervolgens door de immuuncellen van het aangeboren immuunsysteem afgebroken, om zo de indringer op te ruimen. Daarnaast treedt de adaptieve immuunrespons in werking. Dit afweersysteem is erop gericht de afgebroken informatie door te geven naar adaptieve immuuncellen, maar het adaptieve immuunsysteem heeft een langere opstarttijd nodig om hoge specificiteit voor de indringer te ontwikkelen. Adaptieve immuuncellen, zoals bijvoorbeeld de T cellen, kunnen vervolgens geïnfecteerde cellen vernietigen of ontstekingsbevorderende moleculen, zoals cytokines, uitscheiden om eliminatie door immuuncellen te sturen. Daarnaast wordt er in de adaptieve afweerrespons een immunologische herinnering gecreëerd. Dit is een afweerrespons die een hoge mate van specificiteit heeft voor de indringer en die levenslang aanwezig blijft.

Dendritische cellen (DCs) spelen een centrale rol in het immuunsysteem en behoren tot zowel het aangeboren als adaptieve immuunsysteem. Zij zijn de cellen die zowel betrokken zijn bij destructie van de ziekteverwekker, als het aansturen van de immunologische herinnering. DCs zijn aanwezig op plekken waar wij in contact staan met de buitenwereld en bewaken daar ons lichaam. In een immature staat nemen zij de omgeving continue waar, op zoek naar ziekteverwekkers. Wanneer de DC een ziekteverwekker tegenkomt, zal zij deze moeten herkennen en vervolgens direct opnemen en afbreken. Hierna volgt een proces van maturatie, waarbij de DC vanuit de weefsels moet gaan migreren naar de plek waar hij de informatie overdraagt aan de adaptieve afweercellen. Tijdens dit migratieproces verwerkt de DC de ziekteverwekker in fragmenten, zodat de DC deze onderdelen van de ziekteverwekker kan presenteren aan de T cellen die in de lymfeklier aanwezig zijn. Tevens komen er op de DC moleculen tot expressie die de activatie van de T cellen stimuleren, en scheidt de DC cytokines uit om T cel differentiatie te bevorderen. Met al deze informatie kunnen de T cellen zich ontwikkelen om een specifieke immuunrespons

te induceren om elk type ziekteverwekker te kunnen elimineren. Het komt ook voor dat DCs afbraakproducten van lichaamseigen cellen en onschadelijke allergenen kunnen herkennen en opnemen, waarna het immuunrespons onderdrukt moet worden. Wanneer dit niet lukt, of wanneer het immuunrespons juist geactiveerd wordt, ontstaat er een ongewenste reactie tegen lichaamseigen weefsels (auto-immuniteit) of is er sprake van een onbeheerste overgevoeligheid tegen een natuurlijk en onschadelijk product (allergie).

DCs zijn dus erg bepalend in het activeren of afremmen van de afweerreactie en hebben hierin een centrale beslissende rol. Het is daarom dat deze cellen veelal bestudeerd worden voor toepassingen in de immunotherapie. Deze zogenaamde immunotherapiën kunnen ontwikkeld worden om de afweer te stimuleren, zoals bij virussen of kanker wenselijk is, of zij kunnen ingezet worden om de afweer te remmen (in het geval van allergie en auto-immuunziekten). Immunotherapie op basis van DCs beoogt het correct instrueren van de DCs voor de inductie van de gewenste immuunrespons. Hierbij is het echter belangrijk om te weten hoe een DC onderscheidt maakt tussen de herkenning van een lichaamseigen cel of een ziekteverwekker. Met andere woorden, de DC moet weten wanneer de afweer gestimuleerd of geremd moet worden (beschreven in [Hoofdstuk 1](#)). DCs brengen herkenningsreceptoren voor pathogenen (PRR) tot expressie die pathogeengeassocieerde moleculaire patronen (PAMP), maar ook zelf-geassocieerde moleculaire patronen (SAMP) kunnen herkennen. Tot de PRR behoren meerdere receptorgroepen die specifieke liganden kunnen herkennen, zoals Toll-like receptoren (TLRs) en Lectine receptoren. TLRs herkennen pathogeen-elementen en zorgen voor activatie van de DC. Lectine receptoren herkennen suikerstructuren (ook wel glycanen genoemd) die aanwezig kunnen zijn op pathogenen maar ook op lichaamseigen stoffen, en kunnen de opgewekte T cel respons beïnvloeden om zo een afweerreactie op maat te genereren. Het moduleren van lectine receptoren door middel van glycanen, in samenspel met een TLR activator, bij DC-gebaseerde immunotherapiën zou daarom ideaal zijn. Echter, bij het gebruik van lectine receptoren zijn er verscheidene aspecten die extra aandacht verdienen.

Lectine receptoren zijn op verschillende manieren georganiseerd in het celmembraan. DC-SIGN is een lectine receptor die specifiek bindt aan mannose- en fucose-bevattende glycanen, en geclusterd is als een tetrameer op het celoppervlak. Langerin is een receptor die dezelfde suikerstructuren bindt, maar georganiseerd is als een trimeer. MGL clustert ook als trimeer, maar bindt andere type glycanen. Door de multimere structuur van de receptoren is het noodzakelijk om het ligand ook als multimeer (multivalent) aan te bieden om zo goede binding te kunnen induceren. [Hoofdstuk 2](#) beschrijft de optimale mannose (Man) structuur en conformatie die nodig is voor goede DC-SIGN binding. Hierbij wordt er gebruik gemaakt van mannose verbindingen die in een oligomannose (Man_n) aanwezig



zijn (Man, Man α 1-2Man, Man α 1-3Man, Man α 1-6Man, en Man α 1,3Man1,6Man), geclusterd in groepen van 1, 2, 3, en 6 met een 20 liganden in totaal. Hogere affiniteit van de mannose verbindingen voor de receptor werd gemeten met meer clustering. De clusters met de hoogste affiniteit voor DC-SIGN plaatsten we in een lineair vaccin met een model antigeen en een TLR7 ligand (CLR_L-antigeen-TLR_L). We vinden dat gemannosyleerde lineaire antigenen met de hoogste affiniteit voor DC-SIGN niet het meest effectief zijn in het activeren van antigeen-specifieke T cellen door DCs. Voor het gebruik van gemannosyleerde antigenen in immunotherapie moet er dus een gemannosyleerd cluster gekozen worden met een gemiddelde DC-SIGN affiniteit, zoals Man α 1,3Man1,6Man in een cluster van 6. [Hoofdstuk 3](#) omschrijft de binding van dezelfde mannose liganden aan Langerin. Wederom is de affiniteit met de receptor verhoogd, wanneer de mannose structuren meer geclusterd worden. Anders dan bij DC-SIGN worden alle gemannosyleerde antigenen minimaal gepresenteerd aan T cellen na Langerin-gemedieerde opname door DCs. Het verhogen van antigeen presentatie in DCs die Langerin tot expressie brengen is dus niet mogelijk door middel van gemannosyleerde antigenen. In [Hoofdstuk 4](#) synthetiseerden we een zuurresistente mannoside, waar we de natuurlijke O-mannose koppeling vervingen door een C-mannose. Dit laat toe dat de C-mannose al in de peptide synthese ingebouwd kan worden. Clusters met meer kopieën tonen wederom hogere affiniteit voor DC-SIGN. Op een lineair antigeen was de antigeen presentatie van het C-gemannosyleerde construct vergelijkbaar met de O-mannose variant. De volgorde van de verschillende componenten in het lineaire vaccin product was echter van groot belang. De volgorde binnen het CLR_L-antigeen-TLR_L conjugaat was superieur in de inductie van cytokine secretie, en ook voor het versterken van de DC – T cel communicatie. De TLR_L-CLR_L-antigeen variant zorgde met name voor inhibitie van de gemeten processen.

Het tweede belangrijke punt is dat lectine receptoren op DCs meerdere signaleringsroutes kunnen induceren op basis van de gebonden glycaanstructuren. Deze routes werden bestudeerd op (phospho)eiwit- en genexpressie niveau na lectine receptor binding van glycanen, die multivalent worden aangeboden op moleculen met meerdere symmetrische vertakkingen (dendrimer). [Hoofdstuk 5](#) beschrijft de signalering van DC-SIGN op eiwitniveau na binding van oligomannose (Man_{7,9}) of de fucose-bevattende Lewis^y structuren. Dit resulteerde in de identificatie van eiwitten die door beide glycanen beïnvloed werden. Ook werden er processen gevonden die slechts door binding van één specifieke glycaan veranderd werden, bijvoorbeeld na binding van oligomannose aan DC-SIGN. Hierna bestudeerden we de immuunsuppressieve kant die DCs na glycaan binding ook kan bewerkstellingen. [Hoofdstuk 6](#) beschrijft de veranderingen op phospho-eiwitniveau na binding van α 2-3- of α 2-6-gelinkte siaalzuren aan DCs, die veelal gebonden worden door Siglec receptoren op DC. Alleen na binding van de α 2-3 siaalzuur in combinatie met een TLR4 activator LPS werd er een rol gevonden voor de JAK-STAT signaleringsroute,

wat mogelijk bijdraagt aan het specifieke cytokine profiel dat tevens door de DC werd geproduceerd. De kinases die na α 2-3 sialzuur en LPS stimulatie in de DC geactiveerd waren toonden het tegenovergestelde profiel van de JAK-STAT signaleringscascade. In de literatuur zijn eerder correlaties beschreven tussen inhibitie van de JAK-STAT signalering, verminderde IL-12 cytokine secretie, en gereduceerd T helper 1 polarisatie door DCs. Hoofdstuk 7 hebben we de biologische veranderingen in DCs op genexpressie niveau bestudeerd na binding van de α 2-3 sialzuren in combinatie met LPS. Het proces "T cel differentiatie" kwam hierbij naar voren. T cel differentiatie door α 2-3 sialzuur gestimuleerde moDCs werd daarom bestudeerd, waarna wij verminderde T helper 1 polarisatie observeerden. Tevens toonden wij een inhibitie aan van IL-23 secretie en een verhoogd IL-10:IL-12 cytokine ratio. Al deze factoren dragen mogelijk bij aan de naïeve T cel differentiatie richting regulatoire T cellen door α 2-3 sialzuur en LPS blootgestelde DCs. Hoofdstuk 8 hebben we de immuunsuppressieve eigenschappen van de MGL receptor op de DC onderzocht. Deze lectin receptor wordt door antigeen presenterende cellen tot expressie gebracht en herkennen GalNAc-bevattende structuren, die vaak in hoge mate aanwezig zijn op kankercellen. Het DC genexpressie profiel na binding van α GalNAc of GalNAc β 1-4Gal toonde in beide gevallen verminderd glycolytische activiteit aan. Dit is een serie van metabolische reacties waarbij energie wordt vrijgemaakt uit glucose moleculen. Opvallend genoeg kon echter alleen na GalNAc β 1-4Gal binding verhoogd IL-10 cytokine secretie gemeten worden, wat suggereert dat MGL verschillende signaleringsroutes in de DC kan induceren. Tot slot worden in Hoofdstuk 9 de bevindingen bediscussieerd en wordt er gekeken naar de toekomstmogelijkheden voor het gebruik van glycanen in vaccinatie strategieën.

