

# 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](mailto:vuresearchportal.ub@vu.nl)

# **APPENDIX**

List of Abbreviations  
Nederlandse Samenvatting  
**中文摘要**  
List of Publications  
Dankwoord  
PhD Portfolio  
Curriculum Vitae

## LIST OF ABBREVIATIONS

$\alpha$ 2-3sia	$\alpha$ 2-3 sialic acid	GPI	Glucose-6-Phosphate Isomerase
$\alpha$ 2-6sia	$\alpha$ 2-6 sialic acid	HIF1 $\alpha$	Hypoxia induced factor 1 $\alpha$
ACT	Adoptive cell transfer	HK3	Hexokinase 3
ALDOA	Fructose-Bisphosphate Aldolase A	HM	High mannose
APC	Antigen presenting cells	HPA	<i>Helix pomatia</i> agglutinin
BLC	B-lymphoblastic cell line	ICB	Immune checkpoint blocking
BSA	Bovine Serum Albumin	IDH	Isocitrate Dehydrogenases
CD207	Langerin	IFN	Interferon
CD209	DC-SIGN	IL	Interleukin
CD301	MGL	INKA	Integrative Inferred Kinase Activity
CFL1	Cofilin-1	ITIM	Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif
CLR	C-type lectin receptor	LC	Langerhans cells
CLRL	C-type lectin receptor ligand	LCP1	Plastin-2
Ctrl	Control	LeY	Lewis <sup>Y</sup>
DAMP	Danger-associated molecular pattern	LPS	Lipopolysaccharide
DC	Dendritic cell	M $\phi$	Macrophage
DC-SIGN	Dendritic Cell-Specific Intercellular adhesion molecule-3-Grabbing Non-integrin	MAL-1	<i>Maackia amurensis</i> lectin I
DCM	Dichloromethane	Man	Mannose
DEG	Differentially expressed genes	MDS	Multidimensional scaling
ECAR	Extracellular acidification rate	MGL	Macrophage galectin-type lectin
ECD	Extracellular domain	MHC	Major histocompatibility complex
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	Mmt	monomethoxytrityl
FCS	Fetal calf serum	MoDC	Monocyte-derived dendritic cell
FDR	False discovery rate	MV	Measles virus
GAPDH	Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase	NLR	NOD-like receptor
GBS	Group B Streptococcus	NSCLC	Non-small cell lung cancer
Glc	Glucose	NWK	NetworkKIN
GLM	Generalized linear model	OCR	Oxygen consumption rate
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony stimulating factor	OM	Oligomycin
GO	Gene ontology	PAMP	Pathogen-associated molecular pattern
Gp100	Glycoprotein 100	PBA	PBS supplemented with 0.5% BSA and 0.02% NaN <sub>3</sub>
		PRR	Pattern recognition receptor
		PSP	PhosphoSitePlus

---

PTMsigDB	post-translational modification database with site-specific signature information
SAM	Sequence Alignment Map
SAMP	Self-associated molecular pattern
SHP	SH domain-containing tyrosine phosphatase
Siglec	Sialic acid-binding immunoglobulin-type lectins
SI.	Supplementary
SNA	<i>Sambucus Nigra</i> lectin
SPPS	Solid phase peptide synthesis
SPR	Surface Plasmon Resonance
SRA	Sequence Read Archive
ssRNA	Single strand RNA
STAR	Spliced Transcripts Alignment to a Reference
TAA	Tumor-associated antigen
TCA	Tricarboxylic acid
TFA	Trifluoroacetic acid
TFE	Trifluoroethanol
TGF	Tumor growth factor
T <sub>H</sub>	T helper
TiO <sub>2</sub>	Titanium dioxide
TLR	Toll-like receptor
TLRL	Toll-like receptor
TMB	3,3',5,5'-tetramethylbenzidine
TMM	Trimmed mean of M-values
TNF	Tumor Necrosis Factor
TSLP	Thymic stromal lymphopoietin
UEA-1	<i>Ulex Europaeus</i> Agglutinin I
VVL	<i>Vicia villosa</i> lectin



## 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 immunrespons 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 immunrespons

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<sub>n</sub>) aanwezig



zijn (Man, Man $\alpha$ 1-2Man, Man $\alpha$ 1-3Man, Man $\alpha$ 1-6Man, en Man $\alpha$ 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<sub>L</sub>-antigeen-TLR<sub>L</sub>). 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 $\alpha$ 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<sub>L</sub>-antigeen-TLR<sub>L</sub> conjugaat was superieur in de inductie van cytokine secretie, en ook voor het versterken van de DC – T cel communicatie. De TLR<sub>L</sub>-CLR<sub>L</sub>-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<sub>7,9</sub>) of de fucose-bevattende Lewis<sup>y</sup> 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  $\alpha$ 2-3- of  $\alpha$ 2-6-gelinkte siaalzuren aan DCs, die veelal gebonden worden door Siglec receptoren op DC. Alleen na binding van de  $\alpha$ 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  $\alpha$ 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  $\alpha$ 2-3 sialzuren in combinatie met LPS. Het proces "T cel differentiatie" kwam hierbij naar voren. T cel differentiatie door  $\alpha$ 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  $\alpha$ 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  $\alpha$ GalNAc of GalNAc $\beta$ 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 $\beta$ 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.





## 中文摘要

所有生物都有防御系统，以保护自己免受异物体的侵害。人类的防御机制包括了几个部分。当病原体或其他异物穿过皮肤和粘膜的物理屏障并进入人体时，它们必须与免疫系统直接对抗。首先，先天的免疫系统将先产生活性。这种防御方式也称为非特异性防御，因为属于该系的免疫细胞无法区分入侵的病原体类型。这些“白细胞”可在血液和淋巴液中找到，并能扫描人体所有的组织以寻找入侵异物；把这些异物在最短时间内完全吸收。由此，免疫细胞可以迅速消除体内的病原异物。被吸收的异物随后将会被先天免疫系统的免疫细胞降解，把它从人体清除。另外，适应性免疫应答也起了作用。该免疫系统旨在将降解的信息传递给适应性免疫细胞，固然适应性免疫系统需要较长的启动时间才能对入侵异物产生高度特异性。适应性免疫细胞（例如T细胞）可以消除感染的细胞或用分泌抗炎分子（例如细胞因子）来引导免疫细胞对受感染细胞的清除。适应性免疫应答中在该过程中也产生了免疫记忆。这是一种防御措施，对入侵异物具有高度的特异性，并且可以终生存在。

树突状细胞（英语“DC”）在免疫系统中起着核心作用，即属于先天性免疫系统也属于适应性免疫系统。它们涉及病原体破坏以及驱动免疫记忆的细胞。DC 在我们与外界接触的所在地活动并能有效地保护

我们身体。在未成熟的状态下，它们不断观察环境以寻找病原体。一旦DC接触到病原体并再加以识别后，它会马上把病原体吸收并加以分解。过后，DC便进入成熟过程。必须从感染处迁移到组织部位以便信息能传输到自适应防御细胞的位置。在这迁移过程中，DC将病原体处理成碎片，以方便DC把病原体呈递给淋巴结中的T细胞。同时，被排出的DC分子也刺激活化T细胞，并分泌DC细胞因子以促进T细胞分化。具有了所有信息，T细胞就可以诱导特定的免疫反应，从而消除任何类型的病原体。DC还会识别并吸收人体自身细胞和无害的过敏原的分解产物，其后则须抑制免疫反应。若这种方法不起作用，或者免疫反应被过分激活，后果就包括对人体自身的组织产生不良反应（例如自身免疫），或者对天然无害的产品产生无控制性的超敏反应（例如过敏）。DC对激活或抑制免疫反应至关重要并在其中起决定性作用。DC细胞也因此备受研究以了解它们在免疫治疗中的应用。免疫疗法可进一步发展来刺激免疫系统。这效果对病毒或癌症防御是可取的，也或者可以用于抑制免疫系统（在过敏和自身免疫性疾病的情况下应用）。基于DC的免疫疗法旨在正确指示DC引导所需的免疫反应。但能识别DC如何区分人体自身细胞或病原体是很重要的。也就是说，DC需要知道何时需要刺激或抑制免疫系统（在第1章中介绍）。DC排出的病原识别受体（英语“PRR”）可识别病原体相关的分子模式（英语“PAMP”）以及自身相关的分子模式（英语“SAMP”）。PRR包含了多个可以识别特定配

体的受体基团，例如Toll样受体（英语“TLR”）和凝集素受体。TLR能识别病原体元素并激活DC。凝集素受体则能识别存在于病原体上及人体自身的物质上的糖结构（也称为聚糖）并可影响被引导过的T细胞反应，从而产生独特的免疫反应。因此，在基于DC的免疫疗法中，通过聚糖与TLR激活剂一起调节凝集素受体将是理想的。只是，在使用凝集素受体时，有几个方面需要特别注意。

凝集素受体在细胞膜中以不同的方式组织。DC-SIGN是一种凝集素受体，可特异性结合含甘露糖和岩藻糖的聚糖，并以四聚体形式聚集在细胞表面。Langerin是一种结合相同糖结构但结构像三聚体的受体。MGL也聚集成三聚体，但结合其他类型的聚糖。由于受体的结构，它必须为配体提供多聚体（多价）以诱导良好的结合。第2章介绍了良好DC-SIGN结合所需的最佳甘露糖（英语“Man”）结构和构象。它使用存在于低聚甘露糖（Man<sub>9</sub>）中的甘露糖化合物（Man，Man α 1-2Man，Man α 1-3Man，Man α 1-6Man和Man α 1,3Man1,6Man），聚集在1、2、3和6组中，共有20个配体。甘露糖化合物在高度聚类的情况下对受体有更高的亲和力。我们针对让DC-SIGN具有最高亲和力的集群放置在带有模型抗原和TLR7配体的线性疫苗中（CLR<sub>L</sub>-抗原-TLR<sub>L</sub>）。我们发现，亲和力最高的DC-SIGN甘露糖基化线性抗原在激活DC的抗原特异性T细胞方面并非最有效。因此，为了在免疫疗法中使用甘露糖基化抗原，必须选择具有平均DC-SIGN亲和力的甘露糖基化簇，例如6个簇中

的Man  $\alpha$  1, 3Man1, 6Man。第3章描述了相同的甘露糖配体与Langerin的结合。当甘露糖结构变得更聚簇时，它与受体的亲和力会再次增加。与DC-SIGN相比，所有的甘露糖基化的抗原在DC摄取Langerin 后会以最少含量呈递给T细胞。由此可见，我们不可能通过糖基化的抗原来增强DC 所排出的Langerin的抗原呈递。在第4章中，我们合成了一种耐酸的甘露糖苷，其中我们用C-甘露糖代替了天然的O-甘露糖。这使得C-甘露糖可以已经掺入肽合成中。具有更多副本的群集再次显示对DC-SIGN的更高亲和力。在线性抗原上，C-甘露糖基化构建体的抗原呈递与O-甘露糖变体相当。但必须提的是，线性疫苗产品中不同成分的顺序带有极大的重要性。CLR<sub>L</sub>-抗原-TLR<sub>L</sub>缀合物中的顺序在诱导细胞因子分泌以及增强DC-T细胞通讯方面是优越的。TLR<sub>L</sub>-CLR<sub>L</sub>-抗原变体主要抑制了所测量的过程。

第二个重要点是，DC上的凝集素受体可以基于结合的聚糖结构引导多种信号传导途径。在聚糖的凝集素受体结合后，这些途径会在（磷酸）蛋白和基因的层面上被加以研究，并以多价方式呈现在具有多个对称分支的分子上（树状聚合物）。

第5章描述了寡甘露糖（Man7-9）或含岩藻糖的LewisY结构结合后在蛋白质水平上DC-SIGN的信号传导。蛋白质已在双类聚糖的影响下被识别。我们也另外发现仅通过结合一种特定聚糖而改变的过程，例如在寡甘露糖与DC-SIGN结合之后。接下来，我们研究了DC在聚糖结合后所

产生的免疫抑制作用。第6章描述了 $\alpha$  2-3-或 $\alpha$  2-6连接的唾液酸与DC结合后磷酸蛋白水平的变化。这些唾液酸通常与DC上的Siglec受体结合。只有在 $\alpha$  2-3唾液酸与TLR4激活剂LPS结合后我们才发现JAK-STAT信号转导通路的作用，这可能有助于DC产生特定细胞因子谱。DC经 $\alpha$  2-3唾液酸和LPS刺激后所活化的激酶显示出JAK-STAT信号级联反应的相反情况。先前文献中已描述了JAK-STAT信号的抑制，IL-12细胞因子分泌减少和DC的T辅助1细胞极化减少之间的相关性。在第7章中，我们研究了 $\alpha$  2-3唾液酸与LPS结合后DC在基因表达水平上的生物学变化。“T细胞分化”过程出现了。我们因此研究了 $\alpha$  2-3唾液酸刺激的DCs对T细胞的分化，之后我们也观察到了T辅助1极化的降低。我们还证明了对IL-23细胞因子分泌的抑制作用和IL-10：IL-12细胞因子比例的增加。这所有因素都可能通过 $\alpha$  2-3唾液酸和LPS暴露的DC促进幼稚T细胞向调节性T细胞的分化。

在第8章中，我们研究了MGL受体在DC上的免疫抑制特性。该凝集素受体由抗原呈递细胞表达并识别通常在癌细胞上高度存在的GalNAc的结构。在两种情况下， $\alpha$  GalNAc或GalNAc  $\beta$  1-4Gal结合后的DC基因表达谱显示糖酵解活性降低。这是一系列代谢反应，其中能量从葡萄糖分子释放。然而，值得注意的是，仅在GalNAc  $\beta$  1-4Gal结合后才能测量到IL-10细胞因子分泌的增加，这表明MGL可能在DC中诱导不同的信号通路。最后，在第9章中讨论了研究结果，并研究了在疫苗接种策略中

使用聚糖的未来可能性。



## LIST OF PUBLICATIONS

### **Targeting of the C-Type Lectin Receptor Langerin Using Bifunctional Mannosylated Antigens**

R.J. Eveline Li<sup>§</sup>, Tim P. Hogervorst<sup>§</sup>, Silvia Achilli, Sven C.M. Bruijns, Corinne Vivès, Michel Thépaut, Dima V. Filippov, Gijs A. van der Marel, Sandra J. van Vliet, Franck Fieschi, Jeroen D.C. Codée<sup>‡</sup>, Yvette van Kooyk<sup>‡</sup>.

*Front. Cell Dev. Biol.* 2020 Jul 14. doi: 10.3389/fcell.2020.00556

### **Activation of the C-Type Lectin MGL by Terminal GalNAc Ligands Reduces the Glycolytic Activity of Human Dendritic Cells**

R. J. Eveline Li<sup>§</sup>, Anouk Zaal<sup>§</sup>, Joyce Lübbers, Sven C.M. Bruijns, Hakan Kalay, Yvette van Kooyk, Sandra J. van Vliet<sup>‡</sup>

*Front. Immunol.* 2020 Feb 25. doi: 10.3389/fimmu.2020.00305

### **C-Mannosyl Lysine for Solid Phase Assembly of Mannosylated Peptide Conjugate Cancer Vaccines**

R.J. Eveline Li<sup>§</sup>, Tim P. Hogervorst<sup>§</sup>, Laura Marino, Sven C.M. Bruijns, Nico J. Meeuwenoord, Dima V. Filippov, Hermen S. Overkleef, Gijs A. van der Marel, Sandra J. van Vliet, Yvette van Kooyk<sup>‡</sup>, Jeroen D.C. Codée<sup>‡</sup>.

*ACS Chem Biol.* 2020 Feb 20. doi: 10.1021/acscchembio.9b00987

### **Systematic Dual Targeting of Dendritic Cell C-Type Lectin Receptor DC-SIGN and TLR7 Using a Trifunctional Mannosylated Antigen.**

R.J. Eveline Li<sup>§</sup>, Tim P. Hogervorst<sup>§</sup>, Silvia Achilli, Sven C.M. Bruijns, Tim Arnoldus, Corinne Vivès, Chung C. Wong, Michel Thépaut, Nico J. Meeuwenoord, Hans van den Elst, Hermen S. Overkleef, Gijs A. van der Marel, Dmitri V. Filippov, Sandra J. van Vliet, Franck Fieschi, Jeroen D.C. Codée<sup>‡</sup>, Yvette van Kooyk<sup>‡</sup>.

*Front Chem.* 2019 Oct 4;7:650. doi: 10.3389/fchem.2019.00650.

### **Chemically engineered glycan-modified cancer vaccines to mobilize skin dendritic cells.**

Sanne Duinkerken, R.J. Eveline Li, Floortje J. van Haften, Tanja D. de Gruijl, Fabrizio Chiodo, Sjoerd T.T. Schetters, Yvette van Kooyk<sup>‡</sup>.

*Curr Opin Chem Biol.* 2019 Dec;53:167-172. doi: 10.1016/j.cbpa.2019.10.001.

### **Using the glycan toolbox for pathogenic interventions and glycan immunotherapy.**

R.J. Eveline Li, Sandra J. van Vliet, Yvette van Kooyk<sup>‡</sup>.

*Curr Opin Biotechnol.* 2018 Jun;51:24-31. doi: 10.1016/j.copbio.2017.11.003.

**Characterization of hematopoietic GATA transcription factor expression in mouse and human dendritic cells.**

Scheenstra MR, Vishal Salunkhe, Iris M. de Cuyper, Mark Hoogenboezem, [R.J. Eveline Li](#), Taco W. Kuijpers, Timo K. van den Berg, Laura Gutiérrez<sup>‡</sup>.

*Blood Cells Mol Dis.* 2015 Dec;55(4):293-303. doi: 10.1016/j.bcmd.2015.07.006.

**Quantitative phosphoproteomic analysis reveals dendritic cell- specific STAT signaling after  $\alpha$ 2-3-linked sialic acid ligand binding**

[R.J. Eveline Li](#), J. Ernesto Rodriguez-Camejo, Hakan Kalay, Anouk Zaal, Connie R. Jimenez, Sander R. Piersma, Thang V. Pham, Alex A. Henneman, Richard R. de Goeij- de Haas, Sandra J. van Vliet, Yvette van Kooyk<sup>‡</sup>

*Manuscript in preparation*

**$\alpha$ 2-3 Sialic Acid Binding and Uptake by Human monocyte-derived dendritic cells alter cytokine release and initiates tolerizing T cell programming**

[R.J. Eveline Li](#)<sup>§</sup>, Joyce Lübbers<sup>§</sup>, Sven C.M. Bruijns, Ashley Gallagher, Hakan Kalay, Martino Ambrosini, Douwe Molenaar, Sandra J. van Vliet, Yvette van Kooyk<sup>‡</sup>

*Manuscript in preparation*

**Adaptable antigen matrix platforms for peptide vaccination strategies and T cell-mediated immunity**

Sjoerd T.T. Schetters, [R.J. Eveline Li](#), Laura Kruijssen, Hakan Kalay, Steef Engels, Juan J. Garcia-Vallejo, Wendy Unger, Yvette van Kooyk<sup>‡</sup>

*Manuscript in revision*

**Sialic acids in pancreatic cancer cells drive tumour-associated macrophage differentiation via Siglec-7 and Siglec-9**

Ernesto Rodriguez, Kelly Boelaars, Kari Brown, [R.J. Eveline Li](#), Laura Kruijssen, Sven C. M. Bruijns, Sjoerd T.T. Schetters, Thijs Crommentuijn, Sandra J. van Vliet, Geert Kazemier, Elisa Giovannetti, Juan J. Garcia-Vallejo, Yvette van Kooyk

*Manuscript in revision*

**Novel ACE2-Independent Carbohydrate-Binding of SARS-CoV-2 Spike Protein to Host Lectins and Lung Microbiota**

Fabrizio Chiodo, Sven C.M. Bruijns, Ernesto Rodriguez, [R.J. Eveline Li](#), Antonio Molinaro, Alba Silipo, Flaviana Di Lorenzo, Dagma Garcia-Rivera, Yury Valdes-Balbin, Vincente Verez-Bencomo, Yvette van Kooyk

*bioRxiv preprint doi:10.1101/2020.05.13.092478*

§ Shared first author, ‡ Shared last author





## PHD PORTFOLIO

R.J. Eveline Li

PhD period Dec 2014 – Mei 2019

<b>Courses &amp; Workshops</b>	<b>Year</b>	<b>Workload</b>
Introduction day VUmc	2014	0.2 ECTs
Advanced Immunology	2015	2.0 ECTs
In the footsteps of Antoni van Leeuwenhoek	2015	3.0 ECTs
Summer School on Advanced Immunology	2015	2.0 ECTs
Valkuilen bij Pipetteren	2015	0.3 ECTs
MGC Technology Facilities	2016	1.2 ECTs
Biomedical Proteomics	2016	3.0 ECTs
Scientific Data Visualization	2016	0.2 ECTs
Wetenschappelijke Integriteit	2016	2.0 ECTs
ICI PhD programme	2016-2019	4.0 ECTs
Workshop Prof. Bing Zhang	2016	0.3 ECTs
Statistics with R	2018	3.0 ECTs

<b>Seminars &amp; lectures</b>	<b>Year</b>	<b>Workload</b>
Masterclasses	2015-2019	2.0 ECTs
Weekly Department meetings/TrIm	2014-2019	4.0 ECTs
Weekly Tumor Immunology group meeting	2019-2019	4.0 ECTs
Weekly Group Sandra meeting	2014-2019	4.0 ECTs
Weekly Glycotreat group meeting	2018-2019	2.0 ECTs
All&I Infectious Diseases	2018	0.3 ECTs

<b>Symposia &amp; congresses</b>	<b>Year</b>	<b>Workload</b>
NVVI A Future Heritage	2014	1.0 ECTs
1 <sup>st</sup> ICI conference <sup>†</sup>	2015	0.3 ECTs
NVVI Lunteren	2015	0.5 ECTs
Balancing immunological processes in inflammation & cancer	2015	0.3 ECTs
Cancer Vaccine Conference	2015	0.3 ECTs
NVVI Winterschool	2015	0.5 ECTs
2 <sup>nd</sup> ICI conference <sup>†</sup>	2016	0.3 ECTs
Oxford Chemical Immunology Conference <sup>†</sup>	2016	1.4 ECTs
Glycobiology in Health/Disease <sup>†</sup>	2016	1.0 ECTs

<b>Symposia &amp; congressen</b>	<b>Year</b>	<b>Workload</b>
Dendritic cells and Macrophages <sup>‡</sup>	2016	1.0 ECTs
OOA PhD retreat <sup>†</sup>	2016	1.0 ECTs
14 <sup>th</sup> International Symposium on Dendritic Cells <sup>†</sup>	2016	2.2 ECTs
Translational Oncoproteomics	2016	0.3 ECTs
1 <sup>st</sup> Annual CCA retreat <sup>†</sup>	2017	0.5 ECTs
All&l Kick off meeting	2017	0.1 ECTs
3 <sup>rd</sup> ICI conference <sup>†</sup>	2017	0.3 ECTs
NVVI Lunteren <sup>n‡</sup>	2017	0.5 ECTs
All&l PhD Retreat <sup>†</sup>	2017	1.0 ECTs
NVVI Winterschool <sup>†</sup>	2017	0.5 ECTs
4 <sup>th</sup> ICI conference <sup>‡</sup>	2018	0.3 ECTs
NVVI Lunteren <sup>†</sup>	2018	0.5 ECTs
15 <sup>th</sup> International Symposium on Dendritic Cells <sup>†</sup>	2018	2.2 ECTs
All&l Annual meeting	2018	0.3 ECTs
5 <sup>th</sup> European Congress of Immunology <sup>†</sup>	2018	1.2 ECTs
3 <sup>rd</sup> Annual Retreat CCA <sup>†</sup>	2019	0.5 ECTs

<sup>†</sup> Oral presentation  
<sup>‡</sup> Poster presentation

<b>Teaching activities</b>	<b>Year</b>	<b>Workload</b>
Supervision Master student (2x)	2017-2018	2.0 ECTs
Supervision HAVO student	2018	1.0 ECTs
Practical course "Serum"	2015	1.0 ECTs
Practical course "Glucose"	2016-2017	2.0 ECTs
Practical course "Fagocytose"	2017-2018	2.0 ECTs

**Total 67.2 ECTs**



## CURRICULUM VITAE

Rui Jún Eveline Li was born on the 3<sup>rd</sup> of May 1991 in The Hague, the Netherlands. After completing secondary school at the Christelijk Gymnasium Sorghvliet in 2009, she started her bachelor's programme Bio-Pharmaceutical Sciences at the Leiden University in Leiden. In 2012, she obtained her bachelor's degree with a minor in "Disease Signaling and Drug targeting", and a research internship on the department of Toxicology at the Leiden Academic Centre for Drug Research (LACDR) under supervision of Prof. Dr. Erik. H.J. Danen and Jiang Ling Xiong. Hereafter, she continued with Bio-Pharmaceutical Science Research master's program at the Leiden University, where she completed her master's internship at the department of Toxicology at the Leiden Academic Centre for Drug Research (LACDR) under supervision of Prof. Dr. Erik. H.J. Danen and Jiang Ling Xiong. Hereafter, she did a secondary master's internship at the department of Blood Cell Research at Sanquin Blood Supply, under the supervision of Dr. Laura Gutiérrez and Dr. Maaïke R. Scheenstra. After obtaining her master's degree in 2014, she started her PhD graduate program at the department of Molecular Cell Biology and Immunology at the Amsterdam UMC – location VUmc, under the supervision of Prof. Dr. Yvette van Kooyk and Dr. Ing. Sandra van Vliet. Eveline is currently working as Project Manager at DC4U Technologies.

