

VU Research Portal

Orchestrating the immune system to initiate adaptive anti-tumor immunity

Schetters, S.T.T.

2020

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

Schetters, S. T. T. (2020). *Orchestrating the immune system to initiate adaptive anti-tumor immunity*. [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

Ons immuunsysteem is geëvolueerd om onszelf te beschermen tegen bedreigingen en schade van zowel buiten (pathogenen zoals bacteriën) als van binnen (beschadigde cellen of tumoren). Het aangeboren immuunsysteem is in staat om snel te reageren op vooraf gedefinieerde pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen (PAMP's), terwijl het adaptieve immuunsysteem kan worden geleerd te reageren op een specifiek deel (antigeen) van een pathogeen. Hoewel ontstaan in afzonderlijke gebeurtenissen tijdens de evolutie, functioneert het aangeboren en adaptieve immuunsysteem op een sterk gecoördineerde manier om een immuunrespons te garanderen die specifiek is afgestemd in zowel ruimte als tijd, wanneer ziekteverwekkers worden aangetroffen. Het aanleren van de adaptieve immuunrespons door het aangeboren immuunsysteem maakt ook snellere responstijden mogelijk bij een tweede ontmoeting met hetzelfde antigeen, wat leidt tot langdurige immuniteit. Het begrijpen van de principes van beschermende immuniteit en de onderliggende aangeboren-adaptieve immuniteit kan tot rationele benaderingen van vaccinontwerp leiden. Momenteel zijn succesvolle vaccins gebaseerd op het genereren van beschermende antilichamen gericht tegen pathogenen, ook bekend als humorale immuniteit. Vaccins die gericht zijn op het genereren van antigeen-specifieke T-lymfocyten om virale infecties of tumoren (cellulaire immuniteit) te bestrijden, zijn echter notoir moeilijk te ontwikkelen. In Deel I van dit proefschrift richten we ons op vaccinonderdelen waarvan wordt verondersteld dat ze T-cel-gemedieerde adaptieve immuunresponsen verbeteren. Met behulp van *in vitro* kweeksystemen van dendritische cellen en TCR-gespecificeerde T-cellen, evenals *in vivo* immunisatiestrategieën, testen we het vermogen van onze vernieuwende vaccinonderdelen en vaccinatiestrategieën om antigeen-specifieke T-cel responsen te induceren. In Deel II onderzoeken we de wijzen van immuunonderdrukking die worden gebruikt door tumorcellen die adaptieve anti-tumor immuunresponsen belemmeren.

Onze hypothese was dat om rationeel vaccin-componenten te kunnen formuleren met het vermogen om adaptieve immuunresponsen te induceren, dat het samenspel van aangeboren en adaptieve immuuncellen moest worden onderzocht. In dit proefschrift hebben we verschillende vaccin-componenten onderzocht op hun vermogen om aangeboren immuunactivatie en antigeenspecifieke T-lymfocytreacties te induceren. In hoofdstuk 2 beschrijven we het gebruik van buitenmembraanvesicles (OMV's), afgeleid van genetisch gemanipuleerde bacteriën, als PAMP-rijk immunogeen vaccinonderdeel. OMV's inducerden MyD88-afhankelijke dendritische cel (DC) activatie, antigeenverwerking en antigeenpresentatie aan CD8⁺ T-cellen. Een andere bacteriële component (Inclusion bodies; IB's) werd onderzocht in hoofdstuk 3, die een hoog potentieel van antigeenpresentatie door DCs aan CD8⁺ en CD4⁺ T-cellen *in vitro* vertoont, hoewel voor effectieve immunisatie *in vivo* IB's aanvullende adjuvant hulpstoffen vereisten. Beschermende immuniteit vereist niet alleen activatie van het aangeboren, maar ook antigeen specifiek voor de pathogeen, bij voorkeur lokaal afgegeven aan de dendritische cel. In hoofdstuk 5 beschrijven we de modificatie van antigenen met een enkele lipidestaart, wat leidt tot membraanbelasting van DC's en krachtige antigeen presentatie naar CD8⁺ T-cellen. Om antigeen efficiënt aan de dendritische cel af te leveren, kunnen DC-specifieke endocytische receptoren worden getarget met behulp van antigenen chemisch gehecht aan receptor-specifieke antilichamen of natuurlijke liganden. In hoofdstuk 4 hebben we de misortholoog van de endocytische receptor, DC-SIGN, onderzocht. Muis DC-SIGN (mDC-SIGN) bleek overlappende functionaliteit te vertonen met zijn menselijke tegenhanger, waardoor antigeen targeting voor vaccinatiedoeleinden mogelijk was. Door conjugatie van een model-antigeen aan een anti-mDC-SIGN-antilichaam, konden mDC-SIGN-positieve DC's *in vivo* worden getarget voor het initiëren van adaptieve immuunresponsen. Als alternatief kan het natuurlijke ligand van DC-SIGN, de glycaan Lewis Y, worden toegevoegd aan een trimeer antigeen (Antigen MATriX; AMAX). De resulterende geglycosyleerde AMAX maakte het *in vivo* targeten van DC-SIGN mogelijk bij muizen die de menselijke vorm van de receptor op dendritische cellen tot expressie brengen (hoofdstuk 7).

DC-SIGN is een endocytair receptor tot expressie gebracht door DC's die differentiëren uit de

monocytaire lijn van immuun cellen. Onze hypothese was dat antigeenafgifte zou kunnen worden verbeterd door eerst monocyt-afgeleide dendritische cellen die DC-SIGN tot expressie brengen naar de vaccinatieplaats te werven en te differentiëren alvorens te targeten met een DC-SIGN-specifiek antigeen-antilichaamconjugaat. In hoofdstuk 6 beschrijven we de rekrutering van DC-SIGN⁺ monocyt-afgeleide dendritische cellen naar de huid na steriele adjuvans-geïnduceerde ontsteking. Interessant is dat het richten van huid-infiltrerende moDC's *in situ* met behulp van DC-SIGN-richtende antilichamen tot een toename van antigeen-specifieke antilichaamproductie en een afname van antigeen-specifieke CD8⁺ T-cellen leidde. Daarmee beïnvloedde de timing van lokale vaccinatieplaatsontsteking met het antigeen de adaptieve immuunresponsen. Ter afsluiting van deel I bespreken we in hoofdstuk 8 onze bevindingen in het licht van de zich ontwikkelende wetenschap van vaccinologie. Bovendien behandelen we de vraag of vaccinontwerp rationeel kan worden benaderd, gezien de huidige lacunes in basiskennis over het genereren van beschermende immuniteit. Ook bespreken we de positie van de academische wetenschaps- en farmaceutische bedrijven in het zoeken naar en ondersteunen van succesvolle vaccins. Ten slotte belichten we de motivatie van academische wetenschappers en hoe de ontwikkeling van vaccins past in dit motiverende schema.

In deel II onderzoeken we de wijzen van evolutionaire ontsnapping waardoor tumoren immuunvernietiging kunnen ontwijken. Met behulp van muis-tumormodellen onderzoeken we welke vormen van immuunsuppressie bestaan, waar ze door de tumor worden misbruikt en hoe ze kunnen worden geblokkeerd om de immuniteit tegen tumoren te verbeteren. Eerst onderzoeken we de aangeboden en adaptieve immuunrespons in de tumor micro-omgeving bij PD1 immuun checkpoint blokkade (ICB; Hoofdstuk 10). We laten zien dat monocytten tijdens PD1 ICB de tumor infiltreren en een bimodaal differentiatiepad volgen, waarvan het DC-achtige pad correleert met succesvolle anti-tumorimmuniteit in zowel muismodellen als menselijke melanoompatiënten. Vervolgens beschrijven we de immuunvingerafdruk van een muismodel van glioblastoom, de meest kwaadaardige vorm van hersentumor (hoofdstuk 11). We laten zien dat het immuunsysteem contralateraal ten opzichte van de buiktumor is veranderd en een immuunonderdrukt fenotype vertoont. Onze hypothese is dat de tumorcellen die de contralaterale hemisfeer infiltreren, het doelwit kunnen zijn van immuunblokkadeblokkering vanwege de hersenbrede werkzaamheid. In hoofdstuk 12 schakelen we over op het veld van glycobioïlogie, met het argument dat veranderingen in glycosylering in de micro-omgeving van de tumor verschillende immuunonderdrukte omgevingen markeren (glyco-code). We verwachten dat het richten op de specifieke glyco-code bij kanker de recente inspanningen zal versterken om de immuniteit tegen tumoren te verhogen. Om deze gedachtegang te concretiseren, beschrijven we de glyco-code van pancreas ductaal carcinoom (PDAC) in hoofdstuk 13. Met behulp van multi-plex microscopie en geavanceerde beeldvormingstechnieken laten we zien dat de afwijkende glycosyleringsveranderingen (verhoogde siaalzuurexpressie) in PDAC worden geassocieerd met stromale afgeleide extracellulaire matrix. Met behulp van verschillende PDAC-muismodellen laten we zien dat van gastheer afkomstige stromale cellen hoge niveaus van siaalzuur tot expressie brengen en de sleutel zijn tot de fibrose die zo kenmerkend is voor PDAC. We concluderen in hoofdstuk 14 dat immunotherapie van kanker idealiter uit twee componenten moet bestaan: targetering van convergente fenotypes (gedeeld tussen patiënten) en unieke immunogene genotypes (uniek voor individuele patiënten). Een multidimensionale benadering van tumoruitroeiing zal individuele behandelingsstrategieën en uiteindelijk langdurige overleving in de vele patiëntengroepen stimuleren.

Het onderzoek dat in dit proefschrift wordt beschreven, is de aanwas van vijf jaar onderzoek in het kader van onderzoek naar ziekte en genezing. Zoals het merendeel van de wetenschap, zullen de gemaakte conclusies en gegeven verklaringen tijdens mijn leven worden weerlegd. De gegevens zijn echter zuiver en zullen naar verwachting de tand des tijds doorstaan. Dat is het fundamentele lot van wetenschappelijk onderzoek en tevens de persoonlijke motivatie om me herhaaldelijk op onbekend terrein te begeven, in een romantische zoektocht naar het onbekende.