

# VU Research Portal

## Regulation of adaptive immune responses by lymph node stromal cells

Nadafi, R.

2020

### **document version**

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

### **citation for published version (APA)**

Nadafi, R. (2020). *Regulation of adaptive immune responses by lymph node stromal cells*. [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)

## NEDERLANDSE SAMENVATTING

Een kenmerk van het immuunsysteem is het vermogen om efficiënt te reageren op een breed scala aan lichaamsvreemde antigenen zonder een ongepaste reactie uit te lokken op lichaamseigen antigenen. Om dit te bereiken bieden strategisch geplaatste lymfeklieren in het lichaam de infrastructuur voor een efficiënte bewaking van immuun cellen en, indien nodig, voor een robuuste immuun reactie op lichaamsvreemde antigenen. Lymfeklieren hebben verschillende belangrijke functies, waaronder het filteren van antigenen uit de lymfe, aantrekken van antigeen presenterende cellen en naïeve lymfocyten, het starten van adaptieve immuun reacties tegen lichaamsvreemde antigenen en onderdrukking van immuun reacties tegen lichaamseigen antigenen. Deze verschillende activiteiten in een lymfeklier worden uitgevoerd door stromale cellen die geen onderdeel zijn van het immuun systeem. Deze stromale cellen spelen een sleutelrol bij de migratie en overleving van lymfocyten en het in bedwang houden van lymfocyten die het eigen lichaam kunnen aanvallen. Bovendien organiseren stromale cellen de lymfeklier in functionele compartimenten die de scheiding van de verschillende adaptieve immuun cellen (T- en B-lymfocyten) mogelijk maakt. Deze indeling in functionele compartimenten maakt de interactie tussen zeldzame antigeen-specifieke lymfocyten met hun verwante antigeen mogelijk. Dit resulteert in een snelle adaptieve immuun reactie op lichaamsvreemde antigenen.

Bij het binnendringen van ziekteverwekkers (virussen, bacteriën, etc.) in het lichaam zullen dendritische cellen (DC's) deze ziekteverwekkers op de plaats van infectie vangen en ze naar de dichtstbijzijnde lymfeklier vervoeren. Hier wordt vervolgens een adaptieve immuun reactie tegen deze ziekteverwekkers gestart. DC's in de huid moeten echter eerst een collageenrijke laag in de dermis doorkruisen en afbreken om de lymfevaten te bereiken. In **hoofdstuk 2** laten we zien dat muizen met veranderde collageen fibrillogenese dikkere collageenvezels in de dermis bevatten en hierdoor een verminderde DC migratie van de huid naar de lymfeklieren vertoonden. Daarnaast was ook de kwaliteit van de adaptieve immuun reactie significant verminderd bij deze muizen met veranderde collageen fibrillogenese. Met behulp van dit muismodel is nieuw bewijs aangeleverd dat veranderde collageen fibrillogenese, en daarmee dikkere collageenvezels in de dermis, nadelige gevolgen heeft voor het initiëren van een efficiënte adaptieve immuun reactie in de huid.

DC's zijn echter ook in staat om lichaamseigen antigenen naar lymfeklieren te vervoeren. Activering van immuun cellen tegen lichaamseigen antigenen is gevaarlijk aangezien het tot auto-immuniteit kan leiden. De strategische positionering van de lymfeklieren is daarom ook vereist om de activering van T-cellen (CD8<sup>+</sup> en CD4<sup>+</sup> T-cellen), die lichaamseigen antigenen herkennen, te onderdrukken. In **hoofdstuk 3** laten we zien dat

stromale cellen de activering van zelf-reactieve CD8<sup>+</sup> en CD4<sup>+</sup> T-cellen reguleren door lichaamseigen antigenen te presenteren via major histocompatibility complex (MHC) klasse I en klasse II moleculen. Daarnaast is aangetoond dat het ontbreken van MHC klasse II-moleculen op stromale cellen resulteert in een vermindering van T-regulerende (T<sub>REG</sub>) cellen. T<sub>REG</sub>-cellen vormen een subpopulatie van T-cellen die het immuunsysteem reguleren door de immuun reacties op lichaamseigen antigenen te onderdrukken en voorkomen daarmee het ontstaan van auto-immuunziekten. Inductie van T<sub>REG</sub>-cellen door stromale cellen is daarom van groot belang. In **hoofdstuk 3** beschrijven we nieuwe mechanismen waarmee de presentatie van lichaamseigen antigenen door stromale cellen in muizen resulteerde in de omvorming van zelf-reactieve CD4<sup>+</sup> T-cellen naar T<sub>REG</sub>-cellen. Hierdoor werd de adaptieve immuun reactie tegen het lichaamseigen antigen beperkt. Verder laten we in **hoofdstuk 4** zien dat stromale cellen in verschillende organen functioneel verschillend zijn. In dit hoofdstuk beschrijven we dat de presentatie van huidantigenen alleen gebeurde door de stromale cellen van huid drainerende lymfkleuren, terwijl de stromale cellen in darm drainerende lymfeklieren deze huid-geassocieerde antigenen niet tot expressie brachten. Dit heeft tot gevolg dat de omzetting van zelf-reactieve CD4<sup>+</sup> T-cellen in T<sub>REG</sub>-cellen tegen huid-geassocieerde antigenen beperkt is tot de lymfeklieren die de huid draineren en niet plaatsvindt in lymfeklieren in andere organen. Daarnaast laten we zien in **hoofdstuk 4** dat de omzetting van CD4<sup>+</sup> T-cellen naar T<sub>REG</sub>-cellen door stromale cellen, en daarmee de regulerende functie van stromale cellen, volledig was verdwenen na activatie met lipopolysacharide (LPS), afkomstig van bacteriën. Deze kennis is van groot belang aangezien ziekteverwekkers, zoals bacteriën, gezien worden als belangrijke omgevingsfactoren die auto-immuniteit kunnen initiëren of verergeren. Het kan dus zijn dat stromale cellen hun immuun cel onderdrukkende vermogen verliezen bij de invasie van pathogenen en dat dit vervolgens bijdraagt aan het ontstaan van auto-immuniteit.

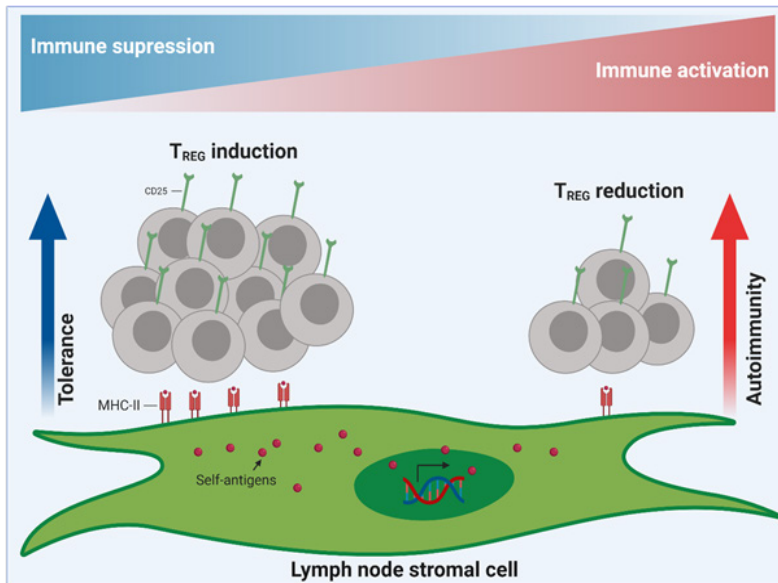
Desalniettemin is de productie van auto-antilichamen door B-cellen, jaren voordat verschillende auto-immuunziekten zoals reumatoïde artritis (RA) zich openbaren, het grootste probleem bij auto-immuniteit. De toename, differentiatie en overleving van B-cellen wordt gecoördineerd door een gespecialiseerde subset van T-helpercellen, bekend als T-folliculaire helper (T<sub>FH</sub>) -cellen. Bij T<sub>FH</sub>-B-cel interacties migreren T<sub>FH</sub>- en B-cellen naar het midden van het B-celgebied in de lymfeklier en vormen ze een aparte substructuur die kiemcentrum wordt genoemd. Er wordt gespeculeerd dat T<sub>FH</sub>-cellen de centrale spelers zijn in de pathogenese van auto-immuunziekten aangezien zij de selectieve expansie van zelf-reactieve B-cellen met hoge affiniteit voor lichaamseigen antigenen aansturen. Met behulp van lymfeklier transplantaties in muizen hebben we aangetoond dat de expressie van een gedefinieerd lichaamseigen antigen, Ovalbumine (Ova), door stromale cellen de expansie van zelf-reactieve T<sub>FH</sub>-cellen remt. Als gevolg van deze remming werd ook de inductie van zelf-reactieve B-cellen tegen Ova in de

getransplanteerde lymfeklieren geremd. Samenvattend hebben we laten zien dat stromale cellen de activering van immuun cellen kunnen regelen door  $T_{REG}$ -cellen te genereren en de activering van zelf-reactieve  $T_{FH}$ -cellen en B-cellen te onderdrukken.

Muisstudies hebben het belang van stromale cellen bij het onderdrukken van zelf-reactieve T-cellen aangetoond, maar dergelijke studies voor humane stromale cellen en hun mogelijke rol bij auto-immuunziekten zoals RA ontbreken nogt. Om deze destructieve ziekte uiteindelijk te genezen of te voorkomen, is het essentieel om de eerste veranderingen in het immuunsysteem te begrijpen. Om de regulerende functie van humane stromale cellen te onderzoeken zijn we begonnen met het verzamelen en bestuderen van unieke humane lymfeklier biopten die zijn verkregen tijdens de preklinische en vroege fasen van RA. In **hoofdstuk 5** beschrijven we de karakterisatie van humane stromale cellen laten zien dat stromale cellen een effect hebben op T-cel proliferatie en dat dit effect afhankelijk is van de verhouding tussen stromale cellen en T-cellen. In RA patiënten is deze verhouding verstoord. Dit suggereert dat de immuun regulerende functie van stromale cellen in de lymfeklieren van (preklinische) artritispatiënten een micro-omgeving creëert die kan dragen aan de vroege activering van zelf-reactieve T- en B-cellen in de initiële fase van de ziekte. Bovendien toonden onze resultaten aan dat humane stromale cellen, net als stromale cellen van muizen, MHC klasse I of II eiwitten bezitten om verschillende lichaamseigen antigenen tot expressie te brengen en deze te kunnen presenteren aan T-cellen.

Het vermogen van stromale cellen om zelf-reactieve T-cellen te onderdrukken kan ook worden gebruikt om immuun reacties tegen tumoren te manipuleren. Aangezien tumor antigenen vaak lichaamseigen antigenen zijn, zou het verstoren van de onderdrukkende functie van stromale cellen op zelf-reactieve T-cellen een mogelijkheid kunnen bieden tot het initiëren van een immuun reactie tegen de tumor. In hoofdstuk laten we zien dat in verschillende tumormodellen in muizen een verhoogde frequentie van  $T_{REG}$ -cellen aanwezig zijn in de lymfeklier die het dichtst bij de tumor zit wanneer we dat vergelijken met dezelfde lymfeklier in muizen die geen tumoren bevatten. Deze verhoogde frequentie correleerde met een toename van MHC klasse II expressie op stromale lymfeklier cellen. We kunnen daarom speculeren dat veranderingen in de frequentie van antigeen-presenterende stromale cellen mogelijk ook de frequentie van  $T_{REG}$ -cellen kan veranderen. Dit zou resulteren in een effectieve onderdrukking van de adaptieve immuun reactie tegen lichaamseigen antigenen (Figuur 1).

Om het mechanisme te ontcijferen waarmee stromale cellen T-cel gemedieerde B-cel reacties controleert, zijn toekomstige studies met muismodellen en ook met humaan materiaal vereist. Dit kan uiteindelijk leiden tot de identificatie van nieuwe targets voor het moduleren van immuun reacties en de behandeling van RA.



**Figuur 1. De hypothetische immuun regulerende functie van stromale lymfeklier cellen door de controle van regulerende T ( $T_{REG}$ ) -cellen.** Verhoging van lichaamseigen antigenen en MHC klasse II expressie door stromale cellen kan resulteren in de inductie van  $T_{REG}$ -cellen tegen lichaamseigen antigenen en vormt daarmee een immuun-onderdrukkende micro-omgeving in de lymfeklieren. Een afname in de expressie van lichaamseigen antigenen en MHC klasse II door stromale cellen daarentegen vermindert het aantal  $T_{REG}$ -cellen en verhoogt daarmee de activering van zelf-reactieve T-cellen tegen lichaamseigen antigenen.