

VU Research Portal

Human skin dendritic cells as target for anti-tumor vaccination

Fehres, C.M.

2015

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

Fehres, C. M. (2015). *Human skin dendritic cells as target for anti-tumor vaccination*. [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

Het immuunsysteem beschermt ons tegen schadelijke invloeden van buitenaf, zoals bacteriën en virussen (pathogenen), maar ook van binnenuit, zoals beschadigde, oude cellen of tumor cellen. Bij deze processen zijn verschillende soorten cellen betrokken. Aan de basis van een immuunrespons staat vaak de dendritische cel (DC), dit is een antigeen presenterende cel die door middel van het herkennen van pathogenen, deze kan opnemen in de cel en het pathogeen daar in kleine stukjes (peptides) kan verwerken om vervolgens deze stukjes te presenteren aan andere cellen van het immuunsysteem, de T cellen. Er zijn twee soorten T cellen te onderscheiden: de cytotoxische CD8⁺ T cellen die pathogeen-geïnfecteerde of tumor cellen kunnen doden en de CD4⁺ T helper cellen. Deze laatste zijn betrokken bij het geven van hulp aan andere immuun cellen, waaronder bijvoorbeeld antigeen-specifieke B cellen. Ook kunnen CD4⁺ T helper cellen de immuunrespons beïnvloeden door de productie van immuun-activerende of immuun-remmende cytokines. Een goede communicatie en samenwerking tussen de verschillende cellen is nodig voor een efficiënte opruiming van pathogenen en beschadigde (tumor) cellen.

Ons immuunsysteem is in principe in staat om tumor cellen te herkennen en te doden. Toch zijn sommige tumor cellen in staat om aan het immuunsysteem te ontsnappen en uit te groeien en de ziekte kanker te veroorzaken. Dit wordt veroorzaakt doordat tumor cellen lichaamseigen zijn, en dus moeilijker voor het immuunsysteem te herkennen als schadelijk. Het doel van immuuntherapie tegen kanker is om het immuunsysteem dusdanig te beïnvloeden dat het de tumor cellen wel kan herkennen en vervolgens vernietigen. Immuuntherapie kan op verschillende manieren gebeuren. In dit proefschrift worden manieren beschreven om verschillende soorten DCs, die aanwezig zijn in de huid, te stimuleren om antigenen, afkomstig van een melanoom, een type huidtumor, op te nemen en te presenteren aan T cellen, zodat deze in staat zijn om de melanoom cellen te doden.



Allereerst hebben wij de verschillende soorten van DCs in de humane huid in kaart gebracht in hoofdstuk 2. Dit is belangrijk, omdat niet elk subtype DC even goed in staat is om antigenen op te nemen, te presenteren en de juiste T cellen te activeren. Kennis van de voorwaarden van elk subtype DC om dit te kunnen is belangrijk om de therapie tegen huidkanker zo efficiënt mogelijk te maken. In hoofdstuk 2 wordt beschreven dat de humane huid drie grote populaties aan DCs bevat: de Langerhans cellen (LCs) in de opperhuid, oftewel epidermis en twee populaties van DCs in de dermis van de huid die gekarakteriseerd worden door de expressie van CD14 en CD1a. LCs hebben een relatief hoge expressie van activerende moleculen op hun oppervlak en zijn goed in staat om antigeen te presenteren aan CD8⁺ T cellen. Ze zijn makkelijk te identificeren door de expressie van langerin, een C-type lectine receptor (CLR). De CD14⁺ dermale DCs daarentegen hebben een lagere expressie van deze

activerende moleculen op hun oppervlak, maken weinig cytokines aan en presenteren antigeen nauwelijks aan de T cellen zonder extra stimulatie. Deze cellen zijn echter wel zeer goed in het opnemen van particles en kunnen worden herkend door een hoge expressie van de CLR's DC-SIGN en mannose receptor. De CD1a⁺ dermale DCs zitten wat betreft fenotype en functie tussen de LCs en CD14⁺ dermale DCs in en kunnen worden herkend door de hoge expressie van de C-type lectine MGL.

CLR's, zoals hierboven beschreven, zijn receptoren op het oppervlak van DC subtypes, die verschillende specifieke suikerstructuren kunnen herkennen. Binding van een suiker aan de CLR kan leiden tot de internalisatie van de receptor inclusief het gebonden antigeen. Van deze eigenschap is gebruik gemaakt in de hoofdstukken 3, 4 en 5 van dit proefschrift. Omdat de CLR's op verschillende subtype huid DCs tot expressie komen, wordt er daarom in hoofdstuk 3 en 4 meer in detail gekeken naar respectievelijk DC-SIGN op de CD14⁺ dermale DCs en langerin op de LCs.

Zoals beschreven in hoofdstuk 3, heeft DC-SIGN affiniteit voor de liganden Lewis a, b, X en Y (Le^a, Le^b, Le^x en Le^y). Koppeling van deze liganden aan liposomen zorgt ervoor dat DCs deze liposomen in een DC-SIGN afhankelijke manier opnemen in de cel. Liposomen zijn vrij grote structuren bestaande uit een lipide laag die een waterig milieu omsluit. Hierbinnen kunnen antigenen (melanoom antigenen) worden opgelost die na liposoom opname in de DC terecht komen. Aan de buitenkant van deze liposomen worden moleculen gebonden die kunnen worden herkend door DC-SIGN, zoals de suikers Le^b en Le^x. Injectie van deze gemodificeerde liposomen in de huid zorgt voor een opname door DC-SIGN⁺ CD14⁺ dermale DCs, die vervolgens in staat zijn om tumor-specifieke CD8⁺ T cellen te activeren om de tumor cellen te doden. Als we naast de liposomen ook de cytokines GM-CSF en IL-4 in de huid spuiten, is een verhoogde expressie van DC-SIGN op dermale DCs waar te nemen, en neemt de capaciteit van deze DCs om uit de huid te migreren naar de plaats waar zij de T cellen ontmoeten toe. Daarnaast brengen zij ook meer immuun-activerende moleculen tot expressie. Dit leidt ertoe dat de tumor-specifieke CD8⁺ T cellen nog beter geactiveerd worden.

In hoofdstuk 4 is beschreven dat de CLR langerin exclusief in LCs tot expressie komt en dat de receptor affiniteit heeft voor een beperktere selectie van Lewis antigenen, namelijk alleen voor Le^b en Le^y. Koppeling van deze suikers aan peptides, zeer klein fragmenten van tumor antigenen, leidt tot een verhoogde opname via langerin en een hogere activatie van melanoom-specifieke CD4⁺ en CD8⁺ T cellen. Wij hebben aan kunnen tonen dat opname van antigeen via langerin zorgt dat de antigenen naar specifieke intracellulaire compartimenten worden geleid, waardoor deze antigenen worden beschermd tegen totale afbraak en als peptides aan de CD8⁺ T cellen kunnen worden gepresenteerd. Daarnaast is aangetoond dat deze processen



worden gestimuleerd door het molecuul polyI:C, waardoor een verhoogde activatie van de tumor-specifieke CD8⁺ T cellen wordt waargenomen na langerin-afhankelijke opname van het tumor-specifieke peptide.

Hoofdstuk 5 beschrijft vervolgens de verschillen tussen de CLR's DC-SIGN en langerin wat betreft de capaciteit om antigeen op te nemen. DC-SIGN heeft een voorkeur voor grote particles, zoals de liposomen, die meerdere suikermoleculen bevatten. Doordat meerdere suikermoleculen tegelijkertijd meerdere DC-SIGN moleculen binden, wordt de cel geactiveerd om het liposoom te internaliseren en in fragmenten te knippen. In tegenstelling, binding van één suikermolecuul aan één DC-SIGN molecuul geeft niet voldoende activerende signalen de cel in, waardoor het ligand en de receptor niet geïnternaliseerd worden. Voor langerin werkt het daarentegen precies andersom: binding van één suikermolecuul aan langerin zorgt voor genoeg signalen om tot internalisatie te leiden. Ondanks dat wij hebben aangetoond in hoofdstuk 5 dat langerin aan grote Le^Y-bevattende liposomen kan binden, leidt dit niet tot opname van deze liposomen. Deze eigenschap is specifiek voor de receptor langerin en niet LC's in het algemeen, omdat het tot expressie brengen van langerin in andere celtypen dezelfde resultaten heeft laten zien.

Niet alleen het formaat en de suikermodificatie van het antigeen bepaald of specifieke cellen en receptoren het antigeen kunnen opnemen en presenteren aan de T cellen (zoals aangetoond in hoofdstuk 5), ook de activatiestatus van de DC's speelt een grote rol in dit proces. Adjuvantia zijn stoffen die het immuunsysteem activeren en daarbij helpen de functie beter uit te voeren. In hoofdstuk 6 hebben wij beschreven dat het adjuvant Aldara huid crème leidt tot sterk verbeterde migratie van de DC's. Het verhoogde tevens de expressie van activerende moleculen en cytokines in de DC's en zorgde voor een verhoogde activatie van tumor-specifieke CD8⁺ T cellen wanneer Aldara gecombineerd werd met peptide vaccinatie in de humane huid.

In conclusie, het werk beschreven in dit proefschrift laat zien dat in de huid aanwezige DC's kunnen worden gebruikt om anti-tumor immunoresponsen op te wekken door middel van suiker-gemodificeerde vaccins. Ook laat dit proefschrift zien dat niet alle huid DC's en de receptoren die zij tot expressie brengen dezelfde voorwaarden stellen aan het vaccin en dat de uitkomst van de immunorespons gereguleerd kan worden door het juiste adjuvant te gebruiken.

