

VU Research Portal

Signal regulatory protein alpha in phagocyte function

van Beek, E.M.

2009

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

van Beek, E. M. (2009). *Signal regulatory protein alpha in phagocyte function*. s.n.

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 lichaam heeft voortdurend te maken met aanvallen van micro-organismen, zoals bacteriën, virussen, parasieten en schimmels die het goed functioneren van het lichaam bedreigen. Om zichzelf te beschermen, beschikt het lichaam over een eigen verdedigingsmechanisme: het immuunsysteem. Het immuunsysteem bestaat uit een specifiek en niet-specifiek gedeelte. Het specifieke immuunsysteem wordt gemedieerd door bepaalde witte bloedcellen, de lymfocyten. Lymfocyten zijn in staat heel selectief een karakteristieke lichaamsvreemde moleculaire structuur, ook wel antigen genoemd, te herkennen op een micro-organisme en een immuunrespons op te wekken die specifiek tegen het betreffende antigen gericht is. Het niet-specifieke gedeelte van het immuunsysteem vormt de eerstelijns verdediging tegen micro-organismen en is vanaf de geboorte aanwezig en actief. Het bestaat uit mechanische fysiologische barrières zoals de huid en het slijmvlies van de darmen, de luchtwegen en het urogenitale stelsel. Daarnaast spelen fagocyten en andere witte bloedcellen een belangrijke rol in de het niet-specifieke immuunsysteem.

Fagocyten zijn in staat om de binnendringende micro-organismen op te nemen (fagocyteren) en te doden en worden daarom ook wel vreetcellen genoemd. Dit duidt op hun sterk fagocyterend vermogen. Fagocyten kunnen we onderverdelen in monocyten/macrofagen en neutrofielen. Monocyten zijn de voorlopercellen van de macrofagen. Zodra een monocyt uit de bloedsomloop treedt en migreert naar de omliggende weefsels en organen wordt het een macrofaag genoemd. Macrofagen spelen een belangrijke rol in de afweer tegen micro-organismen die het lichaam belagen. De macrofaag kan een micro-organisme herkennen door middel van receptoren voor bijvoorbeeld eiwitten of suikerstructuren die op het oppervlak van bacteriën, virussen en andere lichaamsvreemde deeltjes voorkomen en vormt zich dan om de ziekteverwekker en maakt deze onschadelijk door de productie van verschillende antimicrobiële stoffen. De macrofaag kan nu een nieuw micro-organisme gaan vernietigen. Een neutrofiel werkt bijna hetzelfde. Het enige verschil is dat een neutrofiel maar één ziekteverwekker kan vernietigen omdat hij hierna zelf sterft. Fagocyten zijn niet alleen betrokken bij verdediging tegen micro-organismen maar spelen ook een rol bij het opruimen van tumorcellen. Verder zijn fagocyten, en dan voornamelijk de macrofagen, ook betrokken bij homeostatische processen zoals opruimen van dode cellen, regulatie van de haemopoïese en modulering van weefsel bij ontwikkeling of herstel. Bijvoorbeeld in bot zorgen gespecialiseerde macrofagen, genaamd osteoclasten, voor het afbreken en opruimen van bot bij groei of herstel. Fagocyten hebben dus een groot aantal verschillende functies in het lichaam. Het is daarom een vereiste dat al deze gespecialiseerde functies van de fagocyt onder controle staan om te voorkomen dat de fagocyt overactief wordt en ernstige schade zal toebrengen aan het lichaam. Om dit te bewerkstelligen bezitten fagocyten een groot aantal receptoren voor micro-organismen en lichaamseigen eiwitten die een sleutelrol spelen in de communicatie van de fagocyt met hun omgeving en in de regulatie van de functies. In principe zijn de receptoren onder te verdelen in activerende receptoren en inhibitoire (remmende) receptoren. De activerende receptoren zetten de fagocyt aan tot een bepaalde activiteit. De inhibitoire receptoren daarentegen remmen de fagocyt in

hun actie. De afgelopen jaren zijn er verscheidene inhibitorische receptoren beschreven met verschillende niet-overlappende functies.

Promotieonderzoek

In dit proefschrift zijn we geïnteresseerd in de inhibitorische receptor SIRP α . SIRP α is transmembraan eiwit dat uitsluitend voorkomt op myeloïde en neuronale cellen. SIRP α is een typerend inhibitorische receptor vanwege zijn intracellulaire staart met ITIMs (immunoreceptor tyrosine based inhibition motifs). Deze ITIMs kunnen gefosforyleerd worden na binding van de ligand (bindingspartner), waarna ze tyrosine fosfatases, SHP-1 and SHP-2, aantrekken en activeren. Deze fosfatases kunnen op hun beurt weer eiwitten defosforyleren waardoor verschillende cellulaire functies op een negatieve manier gereguleerd worden. De ligand van SIRP α is de transmembraan eiwit CD47. Na binding van CD47 is SIRP α betrokken in de regulatie van verschillende cellulaire functies van de fagocyt zoals groei, differentiatie, adhesie en transendotheliale migratie. Verder beïnvloedt SIRP α door binding van zijn ligand in negatieve zin de fagocytose en opruiming van erythrocyten. Het doel van dit promotieonderzoek is beter inzicht te krijgen in alle fagocyt functies die SIRP α beïnvloedt.

Hoofdstuk 2 geeft een overzicht van de SIRP familieleden en hun immunologische functies. Tevens wordt er een aantal nieuwe SIRP eiwitten beschreven die tot nu toe nog niet geïdentificeerd waren.

In hoofdstuk 3 is onderzocht of SIRP α een regulerende functie heeft in de fagocyt respiratoire burst. De respiratoire burst is een van de belangrijkste antimicrobiële functies van de fagocyt. Deze wordt gemedieerd door het enzymcomplex, NADPH oxidase. NADPH oxidase zet zuurstof om in superoxide (O_2^-), een reactieve vorm van zuurstof. Superoxide vormt de grondstof voor andere, nog agressievere zuurstofproducten. Hoge concentratie van deze agressieve zuurstofproducten is dodelijk voor micro-organismen maar kan ook schadelijk zijn voor het lichaam zelf en dus is regulatie van de respiratoire burst een vereiste. Retrovirale expressie van SIRP α in humane myeloïde cellen resulteert in remming van de respiratoire burst. Verder laten we zien dat de interactie tussen SIRP α en zijn ligand CD47 en signalering via de SIRP α ITIMs vereisten zijn voor het inhibitorische effect van SIRP α . De intracellulaire SIRP α signalen belemmert de opregulatie van gp91^{phox}, het katalytische component van de fagocyt NADPH oxidase complex, tijdens differentiatie. Consistent met bovengenoemde resultaten, monocyt, macrofagen en granulocyten afkomstig van de muizen die SIRP α cytoplasmatische staart missen en daardoor niet kunnen signaleren, laten een verhoogde respiratoire burst activiteit en gp91^{phox} expressie zien. Als gevolg van de verhoogde respiratoire burst zijn de fagocyten van SIRP α -mutante muizen niet in staat bacteriën op te ruimen. Dit komt omdat de respiratoire burst op een zeker niveau toxisch is voor het lichaam zelf en dus ook voor de omliggende fagocyten. Al deze resultaten leveren het bewijs dat SIRP α een negatieve regulator is van de respiratoire burst waardoor het misschien wel een onderdeel is van een endogeen mechanisme dat de toxische effecten van de

respiratoire burst voor het eigen lichaam limiteert.

Osteoclasten zijn gespecialiseerde macrofagen en zorgen voor de afbraak van bot door middel van botresorptie. Dit is belangrijk voor ontwikkeling, handhaving en reparatie van het bot. Ontregeling van de botresorptie kan leiden tot botziektes zoals osteoporosis. In hoofdstuk 4 hebben we aangetoond dat SIRP α in osteoclasten tot expressie komt. Verder laten we zien dat osteoclasten van de SIRP α -mutante muis normaal gevormd worden maar een verhoogde botresorptie activiteit hebben. Door de verhoogde activiteit van de osteoclasten zijn de SIRP α -mutante muizen osteopenisch en hebben ze een gereduceerde corticale botmassa. Onze resultaten geven bovendien inzicht in het mechanisme waarmee SIRP α botresorptie reguleert. Osteoclasten van de SIRP α -mutante muis hebben een groter aantal actine ringen hetgeen vereist is voor een goede botafbraak. De actine ring is namelijk een onderdeel van een intrinsieke adhesie structuur die zorgt voor een afgezonderde zure micro-omgeving waarin botmatrix kan worden afgebroken. Hiermee is SIRP α de eerste inhibitorische receptor die specifiek de botresorptie reguleert.

Vorige studies hebben laten zien dat de interactie tussen CD47 en SIRP α de antilichaam gemedieerde fagocytose van host cellen kan remmen. In hoofdstuk 5 is onderzocht of de interactie ook invloed heeft op de antilichaam gemedieerde fagocytose en vernietiging van tumorcellen. Interferentie in de interactie van CD47 en SIRP α met behulp van antagonistische antilichamen laat inderdaad zien dat de CD47-SIRP α interactie een negatief effect heeft op de fagocytose en daardoor op de vernietiging van tumorcellen. Verder zien we dat de SIRP α -mutante muis een gereduceerd aantal longmetastasen ontwikkelt na behandeling met het anti-tumor antilichaam, Ta99. Dit geeft aan dat de CD47-SIRP α interactie werkt als een intrinsiek mechanisme dat het therapeutische effect van het anti-tumor antilichaam limiteert.

Hoofdstuk 6 en 7 laten zien dat de SIRP α expressie is verlaagd in 70% van de AML patiënten. Voornamelijk de immature AML subtypes (geclassificeerd als M0-M3) hebben een verlaagde expressie van SIRP α . Deze lage expressie van SIRP α is ook zichtbaar in de patiënten sample van AML subtypes met t(17;21) of t(15;17) translocatie. Met behulp van DNA-methylatie en histone deacetylatie remmers laten we zien dat de lage expressie van SIRP α in t(8,21) AML cellijn waarschijnlijk het gevolg is van epigenetische silencing. Ligatie van SIRP α met behulp van een agonistisch antilichaam induceert apoptose van de t(8;21) en t(15;17) AML cellen. Ten slotte wordt aangetoond dat het pro-apoptische effect van SIRP α synergistisch werkt met chemotherapeutische medicijnen die vaak gebruik worden in AML patiënten. Deze resultaten suggereren dat SIRP α potentie heeft als therapeutisch doel in AML.

Concluderend: De resultaten van dit proefschrift laten zien dat SIRP α invloed heeft op verschillende immunologische en homeostatische functies van de fagocyt. Verder wordt aangetoond dat activatie of blokkering van SIRP α de response op de fagocyt kan veranderen waardoor we een gewenste reactie kunnen opwekken of een ongewenste reactie kunnen blokkeren. Dit geeft aan dat SIRP α therapeutische potenties heeft. Verder onderzoek is nodig om de waarde hiervan aan te tonen *in vivo*.