

VU Research Portal

The functional consequences of glycosylation on dendritic cell biology

Bax, M.

2010

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

Bax, M. (2010). *The functional consequences of glycosylation on dendritic cell biology*. [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

De functionele consequenties van glycosylering voor de biologie van de dendritische cel

Het immuun systeem

Ons lichaam wordt constant blootgesteld aan ziekteverwekkers, zoals bacteriën, virussen en schimmels. Het immuunsysteem is erop gericht ons te beschermen tegen deze ziekteverwekkers. Een belangrijke cel van ons immuunsysteem is de dendritische cel. Dendritische cellen bevinden zich op strategische plaatsen in ons lichaam waar ziekteverwekkers gemakkelijk kunnen binnendringen, zoals de huid, de longen en de slijmvliezen. Dendritische cellen zijn gespecialiseerd in het vangen van ziekteverwekkers met hun lange uitlopers (dendrieten). Wanneer een dendritische cel zijn omgeving afzoekt naar ziekteverwekkers zijn deze cellen in een zogenaamde immature conditie. Na de herkenning van een ziekteverwekker raakt de dendritische cel geactiveerd en wordt een cellulair maturatie proces gestart. Vervolgens migreert de mature dendritische cel vanuit het weefsel naar de lymfeklier. T cellen zijn de soldaten van ons immuunsysteem en deze cellen zijn in groten getale aanwezig in het bloed en in de lymfeklier. In de lymfeklier geeft de dendritische cel informatie aan de T cel over waar in het lichaam de ziekteverwekker was gevonden en wat voor type T cel respons nodig is om de infectie op te ruimen. Het overbrengen van informatie wordt gevolgd door migratie van de T cel naar de plaats van infectie om de ziekteverwekkers te doden.

Glycosylering

Ziekteverwekkers kunnen door ons immuunsysteem herkend worden aan hun specifieke suikerstructuren. Maar niet alleen ziekteverwekkers zijn bedekt met suiker structuren, ook onze eigen cellen brengen suikerstructuren tot expressie. Het diverse en uitgebreide repertoire van verschillende suikers die op de oppervlakte van cellen kunnen voorkomen worden geproduceerd door middel van een proces dat glycosylering wordt genoemd. Het glycosyleringsproces verbindt suikers met andere suikers, of verbindt suikers met eiwitten of vetten. Dit wordt tot stand gebracht door enzymen, chaperones, regulatoire moleculen, co-factors, suikerdonors en andere moleculen, die gezamenlijk de “glycosylerings machine” omvatten. Bij de enzymen van de “glycosylerings machine” horen de glycosyltransferases, die een suikergroep van een geactiveerde donor naar een specifieke acceptor overbrengen. De stapsgewijze toevoeging van suikers aan andere suikers, eiwitten of vetten vindt plaats in speciale organellen in de cel, namelijk het Endoplasmatisch Reticulum en het Golgi apparaat. Uiteindelijk worden de eiwitten of vetten die bedekt zijn met suikers naar het celmembraan vervoerd, of ze worden door de cel uitgescheiden.

Suiker bindende receptoren die door de dendritische cel tot expressie worden gebracht

Een goed functionerend immuunsysteem zou ziekteverwekkers en tumorcellen aan moeten vallen, en onze gezonde eigen cellen met rust moeten laten. Dit is ontregeld in autoimmuunziekten, waar lichaamseigen cellen ook worden aangevallen door het immuunsysteem. Over het algemeen vereisen verschillende klassen ziekteverwekkers

specifieke immuunresponsen om de infectie op te ruimen die door deze ziekteverwekkers veroorzaakt is. Zoals eerder al beschreven, zijn onze eigen cellen behangen met suikerstructuren. De dendritische cel heeft veel suiker herkende sensoren op zijn oppervlakte. Deze sensoren, of lectines, zijn in staat om onderscheid te maken tussen zelfstructuren en vreemde structuren en kunnen zelfs onderscheid maken tussen de verschillende klassen van ziekteverwekkers. Na suiker herkenning door de lectines, de dendritische cel is in staat om een passende immuunrespons te initiëren na herkenning van ziekteverwekkers, of kan tolerantie induceren als een eigen antigeen is herkend.

Een goed gekarakteriseerde groep van lectines die tot expressie wordt gebracht door dendritische cellen zijn de C-type lectines. DC-SIGN is een klassiek lid van de familie van C-type lectines. In **hoofdstuk 2** hebben we de binding onderzocht van een melanoom eiwit, genaamd gp100, aan DC-SIGN op dendritische cellen. Gp100 bindt slecht aan DC-SIGN, maar als de suiker die aan gp100 vastzit wordt veranderd tot een speciale suikerstructuur die herkend wordt door DC-SIGN, werd de binding van gp100 aan dendritische cellen verhoogd. De interactie van DC-SIGN met de gemodificeerde vorm van gp100 resulteerde in een verhoogde antigeen presentatie aan T cellen. Dit laat zien dat lectines die dendritische cellen tot expressie worden gebracht getarget kunnen worden met specifieke suikerstructuren om een immuunrespons aan T cellen te verbeteren.

Vervolgens hebben we in **hoofdstuk 3** onderzocht of suikerstructuren op ziekteverwekkers die binden aan verschillende lectines die op de dendritische cel aanwezig zijn een immuunrespons kunnen veranderen. We vergeleken twee stammen van de bacterie *Campylobacter jejuni*, een mogelijke veroorzaker van het Guillan-Barré syndroom met elkaar. Het enige verschil tussen deze twee stammen is de verbinding van de laatste suiker aan de onderliggende suikerstructuur. In deze studie hebben we een ander lid van de familie van lectines die door de dendritische cel tot expressie worden gebracht onderzocht, namelijk de Siglecs. Wij vonden dat Siglec-1 alleen aan een van de twee bacteriestammen van *C. jejuni* bond, terwijl Siglec-7 met hoge affiniteit aan de andere stam van *C. jejuni* bond. Het was heel interessant dat het targeten van deze verschillende Siglecs die zich op het celoppervlak van dendritische cellen bevonden met verschillende stammen van *C. jejuni* met alleen een klein verschil in de binding van laatste de suikerstructuur resulteerde in tegenovergestelde T helper cel responsen (Th1 versus Th2). Dit laat ons zien dat het targeten van specifieke lectines van dendritische cellen niet alleen een T cel respons kan verbeteren (hoofdstuk 2), maar ook een T cel respons kan veranderen (hoofdstuk 3).

Een andere belangrijke eigenschap van dendritische cellen is om het verschil te herkennen tussen eigen en niet eigen antigenen. C-type lectines en Siglecs binden naast geglycosyleerde ziekteverwekkers ook aan geglycosyleerde eigen antigenen. Siglecs die tot expressie worden gebracht door dendritische cellen hebben “remmende motieven” in hun cytoplasmatisch gedeelte. In **hoofdstuk 4** hebben we bestudeerd of suikers die gevonden worden op eigen humane antigenen tolerantie kunnen induceren met behulp van dendritische cellen. Hiervoor hebben we de suikerligand voor Siglec-E, dat onder normale situaties tot expressie wordt gebracht door gangliosiden in onze hersenen, gekoppeld aan een model antigeen. De koppeling van een eigen suikerstructuur aan een model antigeen resulteerde inderdaad aan een verhoogde binding aan dendritische cellen vergeleken met de binding van het onveranderd model antigeen. Zoals we hadden verwacht bond het model antigeen met veranderde suikerstructuren aan Siglec-E op

dendritische cellen. Siglec-E is een Siglec met een “remmend motief”. Binding van het geglycosyleerde antigeen aan Siglec-E resulteerde in verlaagde antigeen presentatie van dendritische cellen aan T cellen. Dit vertelde ons dat het targeten van lectines op dendritische cellen een immuun respons kan verbeteren (hoofdstuk 2), kan veranderen (hoofdstuk 3) of kan verlagen (hoofdstuk 4), afhankelijk van de suikerstructuur en welke lectine wordt getarget met deze suikerstructuur.

Glycosylering van immuuncellen

De glycosylering van gezonde cellen speelt een belangrijke rol in het behouden van homeostase. Niet lang geleden is aangetoond dat suikers die aanwezig zijn op immuuncellen betrokken zijn bij veel aspecten van het immuunsysteem. Alle cellen van het immuunsysteem brengen hun eigen suikerset tot expressie en deze suikerstructuren worden veranderd tijdens celulaire activatie, differentiatie en apoptose. Verder worden andere essentiële immuuncel functies, zoals celmigratie, cellulaire interacties, antigeen- en cytokine receptor activatie, autoimmunitet en ziekteverwekker herkenning, gerelateerd aan veranderingen van suikerstructuren.

Terwijl immature dendritische cellen zich in het weefsel bevinden waar ze ziekteverwekkers vangen, zijn mature dendritische cellen in staat T cellen te activeren in de lymfeklier. Deze dramatische verandering van functie van immature naar mature dendritische cellen wordt gemedieerd door een belangrijke genetische herprogrammering. Om de betrokkenheid van de verandering van glycosylering gedurende dendritische celmatuatie te onderzoeken hebben we de verschillen tussen de expressie van suikers en de glycosyleringsmachine van immature dendritische cellen en mature dendritische cellen bekeken in **hoofdstuk 5**. We hebben een grondige maturatie-geïnduceerde opregulatie van suikerstructuren gevonden. Deze suikerstructuren kunnen als liganden dienen voor Siglecs en Galectines. Onze bevinding dat Sialoadhesin (Siglec-1) alleen bindt aan mature dendritische cellen en niet aan immature dendritische cellen was verder onderzocht in **hoofdstuk 6**. Sialoadhesin wordt door macrophagen tot expressie gebracht. Macrophagen zijn net als dendritische cellen gespecialiseerd in het presenteren van antigeen. Sialoadhesin dat tot expressie wordt gebracht op macrophagen, bindt aan suikerstructuren die gevonden zijn op mature dendritische cellen, en hierdoor worden cellulaire interacties tussen dendritische cellen en macrophagen geïnduceerd om antigenen uit te wisselen. Door de uitwisseling van antigenen wordt het immuunrespons verbeterd door een verhoogde mogelijkheid van de dendritische cellen om antigenen aan T cellen te presenteren in de lymfeklier.

Suikerstructuren die opgereguleerd zijn op de celoppervlakte van de dendritische cel tijdens maturatie zijn niet alleen betrokken bij lectine binding, maar deze suikerstructuren verbeteren ook de migratie capaciteit van mature dendritische cellen. In **hoofdstuk 7** beschrijven we dat de suikerstructuur Polysialic acid, een lange homopolymer van aan elkaar gebonden sialic acid (een bepaalde suikersoort) chemokines kan vangen die uitgescheiden worden door de lymfeklier. Hierdoor wordt de migratie van mature dendritische cellen naar de lymfeklieren, waar de T cellen zich bevinden, verbeterd.

Conclusie

Het wordt steeds duidelijker dat glycosylering een essentiële rol speelt in het immuunsysteem. In dit proefschrift laten we zien dat glycosylering van ziekteverwekkers, tumorcellen en eigen antigenen, een dendritische cel gemedieerd immuunrespons kan veranderen. Onze resultaten duiden erop dat een verandering van suikers op tumor antigenen om lectines op dendritische cellen te targeten een nieuwe methode kan zijn om vaccinatie strategieën te ontwikkelen. We hebben laten zien dat *in vivo* targeten van Siglecs, die tot expressie worden gebracht op dendritische cellen, met specifieke suikers veelbelovend is om ongewilde T cel responsen die in autoimmuunziekten voorkomen te remmen. Naast de rol van suikerstructuren op ziekteverwekkers en tumorcellen voor de modulatie van dendritische cel eigenschappen, hebben we de glycosylering van de dendritische cel zelf ook onderzocht. We hebben de functionele consequenties van suikerstructuren die zijn opgereguleerd gedurende dendritische cel maturatie deels opgelost. Suikerstructuren die alleen op de celoppervlakte van mature dendritische cellen voorkomen zijn betrokken bij de cellulaire interacties van dendritische cellen met andere cellen van het immuunsysteem. Naast cellulaire interacties reguleren suikers die tot expressie worden gebracht op mature dendritische cellen de migratie van deze cellen richting de T cellen in de lymfeklier. Wij bevelen aan om suikerstructuren op dendritische cellen te analyseren voor vaccinatie therapieën waarin efficiënte migratie van *ex vivo* gegenereerd dendritische cellen is vereist, gebaseerd op de resultaten van deze studie. Over het algemeen genomen concluderen we dat de glycosylering belangrijke functionele consequenties heeft voor de dendritische cel biologie.