

VU Research Portal

Lymph node microenvironment in control of immune responses

van der Marel, A.P.J.

2007

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

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

citation for published version (APA)

van der Marel, A. P. J. (2007). *Lymph node microenvironment in control of immune responses*. [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 lymfekliermicromilieu voor controle over
immunoreacties

Introductie

Het afweersysteem heeft voortdurend te maken met allerlei stoffen die gewenst of ongewenst het lichaam binnenkomen. De binnenkomst van deze antigenen vindt vooral plaats op locaties met slijmvlies (mucosa), zoals de luchtwegen en het maag-darmstelsel, die in open contact staan met de omgeving. Schadelijke antigenen moeten door het immuunsysteem zo snel mogelijk afgevoerd worden om ziekte te voorkomen. Hiertoe beschikt het immuunsysteem over een grote diversiteit aan afweercellen die met behulp van specifiek gevormde moleculen (receptoren) de antigenen kunnen herkennen. Bovendien is er een grote variëteit aan specialisaties binnen de afweercellen, zodat er voor elk soort antigeen een efficiënte en passende immunreactie kan worden opgebouwd. De dendritische cel (DC) is een afweercel die gespecialiseerd is in het patrouilleren op plekken waar antigenen kunnen binnenkomen. Als hij een antigeen oppakt breekt hij deze af en waarschuwt hij vervolgens andere afweercellen. Dit doet hij door het afgebroken antigeen te presenteren in de lymfeklieren, waar veel soorten afweercellen aanwezig zijn. De afweercellen worden op deze manier geactiveerd door de DC en zo ontstaat er een immunreactie. Eén van de cellen die door DC geactiveerd kan worden is de T-cel. De activatie van een T-cel vindt plaats als de T-cel het door de DC gepresenteerde antigeen herkent en hij ook de juiste activatiesignalen van de DC krijgt. Door activatie gaat de T-cel delen en op deze manier ontstaan er vele T-cel klonen die met zijn allen het antigeen snel kunnen opruimen.

Niet alle antigenen zijn schadelijk. Denk hierbij aan stoffen die dagelijks het lichaam binnenkomen zoals voedsel, pollen en stof, maar ook aan bacteriën die in grote hoeveelheden in de darm aanwezig zijn. Het immuunsysteem herkent deze antigenen wel, maar kiest ervoor om geen actie tegen ze te ondernemen. Deze immunologische tolerantie is zeer belangrijk om onnodige immunreacties te voorkomen. In dit proces speelt een specifiek type T-cel een belangrijke rol. Deze T-cel onderneemt geen actie om antigenen af te breken, maar blokkeert juist de immunreactie tegen bepaalde antigenen door andere T-cellen af te remmen. Door deze regulatoire eigenschap wordt deze T-cel een regulatoire T-cel (Treg-cel) genoemd. Omdat DC belangrijke antigeen-presenterende cellen (APC) zijn die nodig zijn voor de instructie van T-cellen, zijn we in onze studies op zoek gegaan naar specifieke mechanismen en interacties tussen T-cellen en DC die een rol spelen in het ontstaan van deze Treg-cellen. We hebben laten zien dat bepaalde moleculen en enzymen belangrijk zijn voor dit proces. Ook is uit onze studies gebleken dat het micromilieu in de lymfeklieren een belangrijke rol speelt in het sturen van de immunreactie. Dit micromilieu wordt gevormd door de cellen die de lymfeklier vorm en structuur geven, de stromale cellen. Deze stromale cellen faciliteren de ontmoeting van DC, T-cellen en andere afweercellen, zodat er een efficiënte immunreactie kan optreden.

Hoofdstuk 2 beschrijft de aanwezigheid van het enzym secretory leukoprotease inhibitor (SLPI) in DC in lymfeklieren die de mucosa van de neus draineren, de cervicale lymfeklieren. Wij hebben laten zien dat SLPI verhoogd aanwezig is in DC in cervicale lymfeklieren wanneer we deze vergelijken met DC in niet-mucosale of perifere lymfeklieren. Wanneer lipopolysaccharide (LPS) in de neus wordt toegediend, gaan de DC nog meer SLPI maken. LPS is een veel voorkomende component van het celmembraan van bacteriën. Het immuunsysteem kan hier sterk op reageren, zodat de bacteriën snel opgeruimd worden. Nu zou men kunnen verwachten dat SLPI het immuunsysteem activeert, omdat het aangemaakt wordt door stimulatie met LPS, maar dat is niet zo. SLPI remt juist de activatie van het immuunsysteem door de signalering binnen de DC te blokkeren, zodat de DC geen moleculen kan maken die nodig zijn om de andere cellen van het immuunsysteem (zoals T-cellen) te activeren. De aanwezigheid van SLPI in DC in cervicale lymfeklieren remt de activatie van de DC en op deze manier kan er, ondanks het vele LPS, toch immunologische tolerantie ontwikkeld worden voor onschadelijke antigenen die gelijktijdig de neus binnenkomen.

Hoofdstuk 3 handelt over de rol van het enzym indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in de inductie van immunologische tolerantie voor antigenen die via de neus binnenkomen (nasale tolerantie). IDO is een enzym dat tryptofaan, een essentieel aminozuur voor de opbouw en deling van cellen, afbreekt. Bij deze afbraak ontstaan er kleinere moleculen (metabolieten), die de eigenschap hebben om afweercellen te remmen in hun immuunreactie. Wij hebben laten zien dat er meer IDO gemaakt wordt in DC in cervicale lymfeklieren dan in DC in perifere lymfeklieren. Wanneer we de werking van IDO blokkeerden met een specifieke remmer, kon er geen nasale tolerantie meer geïnduceerd worden. Dit komt waarschijnlijk doordat IDO blokkade de inductie van Treg-cellen remt. Hoe IDO precies Treg-cellen en tolerantie induceert is nog niet duidelijk, maar in onze studie bleek dat dit niet gebeurt door geprogrammeerde celdood (apoptose) of door remming van de celdeling van T-cellen.

Hoofdstuk 4 laat zien dat het molecuul CD200 essentieel is voor de productie van IDO in DC en voor nasale tolerantie inductie. In de literatuur is beschreven dat CD200 via binding aan de CD200-receptor op DC de productie van IDO kan induceren. In onze studies vonden we in DC in cervicale lymfeklieren van muizen die geen CD200 kunnen maken (CD200 knock-out, CD200^{-/-} muizen) een verlaagde expressie van IDO wanneer we deze vergeleken met DC in cervicale lymfeklieren van normale muizen (wild-type, WT muizen). Bovendien was het niet mogelijk om in de CD200^{-/-} muizen nasale tolerantie te induceren, doordat er door de afwezigheid van IDO waarschijnlijk geen of niet voldoende Treg-cellen geïnduceerd konden worden. Op weefselkleuringen van de lymfeklieren was te zien dat een bepaald type stromale cel, de fibroblastische, reticulaire cel (FRC) CD200 tot expressie brengt. Opvallend is dat FRC in

cervicale lymfeklieren meer CD200 tot expressie brengen dan FRC in perifere lymfeklieren. Op deze manier zouden FRC de verhoogde productie van IDO in DC in cervicale lymfeklieren kunnen bewerkstelligen, maar CD200 wordt ook gemaakt in geactiveerde T-cellen en andere hematopoietische cellen. Om te bepalen welke CD200-producerende cellen belangrijk zijn voor IDO-inductie werden beenmergtransplantaties uitgevoerd in muizen. Na bestraling kregen CD200^{-/-} muizen WT beenmerg en WT muizen CD200^{-/-} beenmerg. Wanneer deze muizen antigeen via de neus toegediend kregen, kon nasale tolerantie in beide groepen niet goed geïnduceerd worden. Hieruit bleek dat CD200-expressie op zowel stromale cellen als op hematopoietische cellen nodig is voor nasale tolerantie-inductie.

Hoofdstuk 5 gaat verder in op de stromale cellen binnen de lymfeklier. We laten zien dat stromale cellen vele moleculen kunnen produceren die de immunoreactie kunnen beïnvloeden. We hebben een onderscheid kunnen maken tussen verschillende soorten stromale cellen binnen de lymfeklier door het gebruik van verschillende markers in combinatie met CD200. Zo is het nu mogelijk om FRC, folliculaire dendritische cellen (FDC) en endotheelcellen (EC) binnen de lymfeklier te onderscheiden, die door middel van productie van immunologische factoren elk een specifieke rol in immunoreacties kunnen vervullen.

Hoofdstuk 6 typeert de stromale cellen als instructeurs van DC. Wanneer DC op een bepaalde plek antigeen oppikken en vervolgens in de lymfeklier het antigeen presenteren, dan moeten de geactiveerde T-cellen in de lymfeklier de locatie weten waar de DC vandaan komen om het antigeen te kunnen opruimen. Om T-cellen te instrueren kunnen DC signalen geven waardoor T-cellen bepaalde receptoren tot expressie brengen. Met behulp van deze receptoren kunnen T-cellen binden aan specifieke moleculen van het weefsel waar de DC ze naartoe stuurt, waardoor ze efficiënt het antigeen kunnen vinden en kunnen opruimen. In onze studie hebben we gekeken naar de inductie van receptoren op T-cellen waardoor ze naar de darm kunnen migreren. Voor de inductie van deze specifieke receptoren is retinolzuur nodig, een metabool die ontstaat als vitamine A door enzymen wordt afgebroken. Retinal dehydrogenase-2 (RALDH2) is een enzym dat zorgt voor de productie van retinolzuur. Uit onze experimenten bleek dat RALDH2 verhoogd was in DC in de lymfeklieren die de darm draineren, de mesenteriale lymfeklieren, wanneer we deze DC vergeleken met DC uit perifere lymfeklieren. Omdat uit eerdere studies al was gebleken dat het micromilieu van een mucosale lymfeklier essentieel is voor tolerantie-inductie, besloten we om de rol van het micromilieu in de inductie van deze receptoren te bestuderen. Hiertoe werden in muizen perifere lymfeklieren weggehaald, waarna er vervolgens een mesenteriale lymfeklier op de plaats van de perifere lymfeklier getransplanteerd werd. Door transplantatie verdwijnen alle hematopoietische

cellen uit de getransplanteerde lymfeklier, maar de stromale cellen blijven achter. Wanneer er vervolgens antigeen werd toegediend op deze perifere plaats, bleek dat de geactiveerde T-cellen nog steeds de receptoren voor de darm tot expressie brachten in de getransplanteerde mesenteriale lymfeklier. Tevens produceerden de DC in de getransplanteerde mesenteriale lymfeklier RALDH2. Dit wees erop dat het door stromale cellen gecreëerde micromilieu in de getransplanteerde mesenteriale lymfeklier de DC en zo ook de T-cellen beïnvloedt om de juiste enzymen en receptoren tot expressie te brengen voor migratie naar de darm, ondanks het feit dat deze lymfeklier nu op een andere plaats zit en een ander weefsel draineert.

Concluderend hebben we gezien dat het immuunsysteem via SLPI de LPS geïnduceerde activatie van DC kan remmen. Hierdoor is het mogelijk dat er tolerantie geïnduceerd kan worden tegen onschadelijke antigenen, een proces waarbij moleculen zoals IDO betrokken zijn. De CD200-expressie door stromale cellen kan via de CD200-receptor op DC de productie van IDO induceren. Naast CD200 brengen stromale cellen veel andere moleculen tot expressie die een rol kunnen spelen in immuunreacties. We hebben aangetoond dat het micromilieu wat gecreëerd wordt door stromale cellen in de lymfeklier een rol speelt bij de inductie van receptoren voor migratie van T-cellen. Stromale cellen in lymfeklieren zijn dus geen passieve bouwstenen, maar nemen actief deel aan immuunreacties en zijn zelfs in staat deze te reguleren.