



Universiteit
Leiden
The Netherlands

p53 Specific (auto)immunity in mice

Lauwen, M.M.

Citation

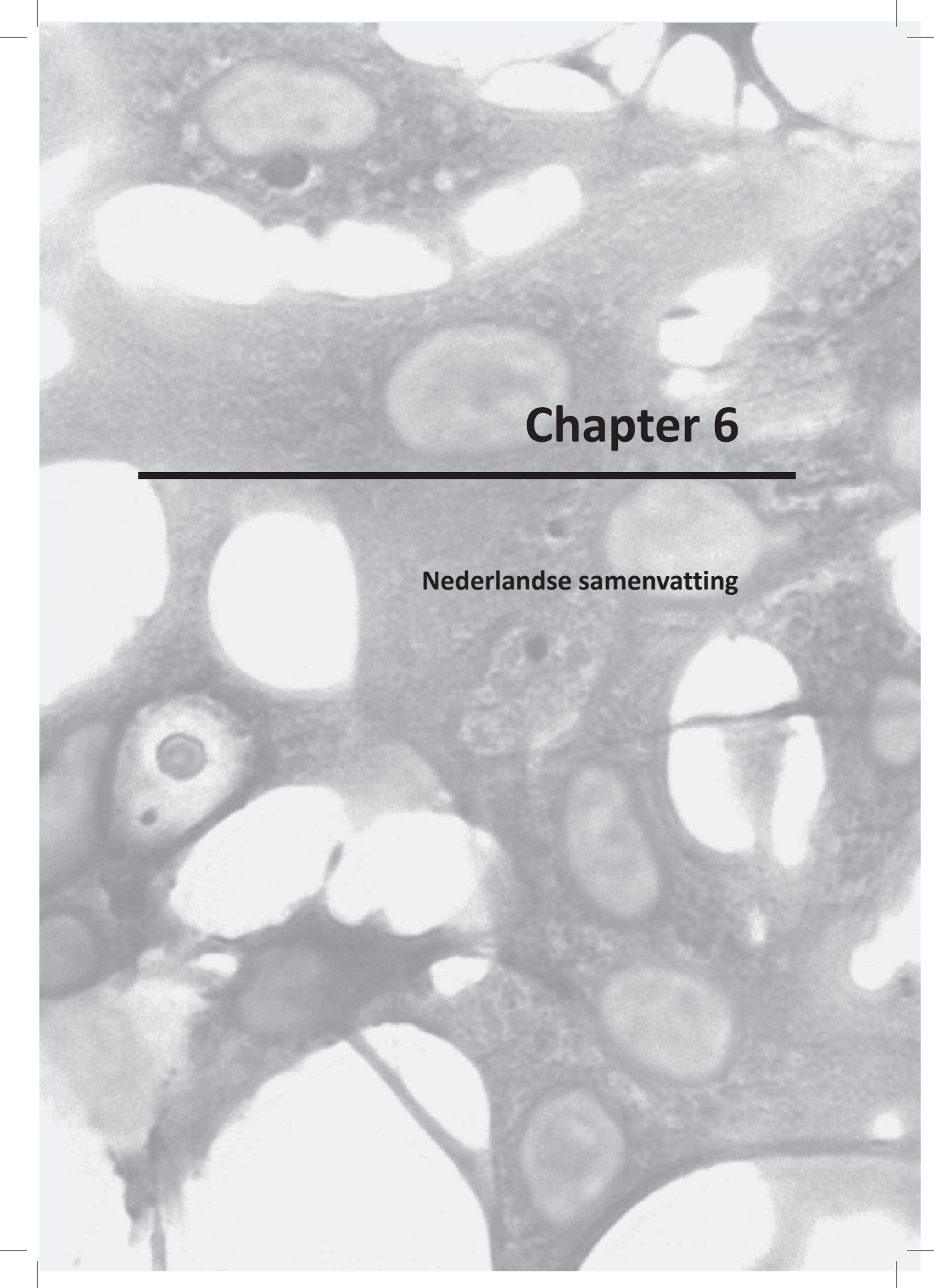
Lauwen, M. M. (2008, October 16). *p53 Specific (auto)immunity in mice*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/13147>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/13147>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

A grayscale microscopic image of biological tissue, likely a cross-section of an organ, showing various cellular structures and large, clear, oval-shaped spaces (possibly cysts or vacuoles).

Chapter 6

Nederlandse samenvatting

Het immuunsysteem

Het immuunsysteem (of afweersysteem) beschermt het lichaam tegen lichaamsvreemde en ziekmakende organismen zoals virussen, bacteriën, schimmels en wormen (pathogenen). Door het hele lichaam bevinden zich verschillende soorten cellen van het immuunsysteem met elk een unieke functie. De cellen communiceren met elkaar via direct contact en door het uitscheiden van signaal stoffen die cytokinen worden genoemd. Cellen die pathogenen opeten en afbreken heten antigeen presenterende cellen. Een bepaalde soort antigeen presenterende cel is de dendritische cel. Zij presenteren kleine stukjes van de pathogenen (antigeen) aan de buitenkant van het cel oppervlak in het MHC complex. Een ander celtype van het immuunsysteem is de T-lymfocyt (T-cel), deze is gespecialiseerd in het herkennen van antigenen in een MHC complex, op bijvoorbeeld een dendritische cel, via zijn T-cel receptor (TCR). Als er een infectie optreedt, bijvoorbeeld door een virus, raakt een dendritische cel geactiveerd en communiceert met de T-cel ook nog via andere versterkende moleculen, zogenaamde co-stimulatie moleculen. Dit is het signaal voor de T-cel om te gaan delen en de virusdeeltjes onschadelijk te maken. Als het virus is opgeruimd gaan veel T-cellen ook dood, maar een paar 'ervaren' T-cellen blijven leven voor het geval een infectie met hetzelfde virus nog eens optreedt. Voor de directe communicatie tussen de T-cel en de dendritische cel zijn twee klassen MHC moleculen belangrijk; klasse I en klasse II. Alle eiwitten die zich binnenin een cel bevinden worden gepresenteerd in MHC klasse I moleculen. Eiwitten van buiten de cel worden opgenomen door antigeen presenterende cellen en gepresenteerd in MHC klasse II moleculen. MHC klasse I moleculen worden herkend door cytotoxische T-cellen met een CD8 molecuul, terwijl MHC klasse II moleculen herkend worden door T-helper cellen met een CD4 molecuul.

T-cel selectie

De meeste cellen in het bloed ontstaan uit gemeenschappelijke voorloper cellen (stamcellen) in het beenmerg. Alle cellen volgen een uniek ontwikkelings programma waardoor ze een gespecialiseerde cel worden. T-cellen moeten nog verder ontwikkelen (differentiëren) in de thymus (zwezerik). Hier krijgen de T-cellen onder andere een T-cel receptor en CD4 of CD8 moleculen. De specifieke antigeen herkenning door een T-cel wordt gevormd door een toevallige herrangschikking van stukjes T-cel receptor gen. De variatie van antigeen specificiteiten van alle T-cel receptoren is oneindig. Het is dus ook mogelijk dat er T-cellen zijn die lichaamseigen eiwitten herkennen en mogelijk aanvallen, wat kan leiden tot auto-immuniteit. Dit is bijvoorbeeld het geval in reumatoïde artritis (reuma) en type I diabetes (suikerziekte). Om te voorkomen dat T-cellen lichaamseigen antigenen herkennen en als gevolg gezonde lichaamscellen aanvallen, moeten ze eerst gecontroleerd worden. In de thymus bevinden zich speciale antigeen presenterende cellen die alle mogelijke lichaamseigen antigenen presenteren. Als T-cellen hier antigenen herkennen gaan de T-cellen dood. Pas als T-cellen deze antigenen niet herkennen kunnen ze volledig differentiëren en een functionele T-cel receptor en CD8 of CD4 moleculen tot expressie brengen zodat ze de thymus kunnen verlaten. T-cellen met een CD8 molecuul (cytotoxische T-cellen) scheiden stoffen uit waardoor een doelwit-cel direct doodgaat. T-cellen met een CD4 molecuul (T-helper cellen) spelen een belangrijke rol bij het reguleren van een immuunrespons.

Tumor vorming

Wanneer cellen delen wordt het DNA vermenigvuldigd (gerepliceerd) waarbij mutaties kunnen ontstaan. Cellen kunnen mutaties herstellen en meestal wordt hierbij de celdeling tijdelijk stilgelegd. Een belangrijk eiwit betrokken bij het herstel van mutaties is p53. Alle cellen in het lichaam brengen p53 tot expressie. Wanneer eiwitten zoals p53 zelf gemuteerd zijn, gaat een cel soms oneindig delen en kan een tumor ontstaan. In veel verschillende weefsels ontstaan tumoren met een mutatie in p53. Sommige tumoren brengen unieke eiwitten tot expressie die niet in gezonde cellen voorkomen (tumorantigeen). Echter, in veel gevallen brengt een tumor alleen gemuteerd eiwit tot expressie, wat veel lijkt op niet-gemuteerd eiwit in gezonde cellen. Onder deze condities is een tumor cel voor het immuunsysteem moeilijk te onderscheiden van een gezonde cel. Omdat door de mutaties de normale eiwitafbraak soms verstoord is brengt een tumor cel heel veel gemuteerd eiwit tot expressie (over-expressie). Op basis van de verhoogde expressie niveaus (gemuteerd) p53 kan een tumorcel door het immuunsysteem soms wel worden onderscheiden van een gezonde cel.

Immuuntherapie

Doordat tumorcellen vaak tumorantigenen tot expressie brengen kunnen ze herkend worden door T-cellen. In veel gevallen zijn de T-cellen echter niet goed genoeg geactiveerd om de tumorcellen te doden. Door het geven van immuuntherapie kan men T-cellen van de patient zo activeren dat de tumor wel (gedeeltelijk) wordt opgeruimd. Voor succesvolle immuuntherapie zijn een aantal zaken belangrijk. Ten eerste dienen er tumor specifieke T-cellen aanwezig zijn die geactiveerd kunnen worden. Ten tweede moet de tumor onderscheiden kunnen worden van gewone cellen, bijvoorbeeld door de expressie van een specifiek tumorantigeen. Beide voorwaarden vormen tevens de uitdaging voor het ontwikkelen van effectieve immuuntherapie. Namelijk, men moet onderzoeken of bij gebruik van een bepaald tumor-antigeen als doelwit geen auto-immuniteit ontstaat. Verder worden door selectie van T-cellen in de thymus veel T-cellen die lichaamseigen antigenen herkennen (dus ook tumor antigenen) gedood. Dat kan betekenen dat tumor specifieke T-cellen simpelweg niet aanwezig zijn. In deze gevallen is immuuntherapie alleen mogelijk door injectie van tumor specifieke T-cellen.

In dit proefschrift bestuderen we in de muis in hoeverre negatieve selectie een effect heeft op de aanwezigheid en effectiviteit van T-cellen die het tumor antigeen p53 herkennen. Dit is belangrijk voor het verder ontwikkelen van nieuwe immuuntherapieën met p53 als doelwit antigeen.

Dit proefschrift

Hoofdstuk 1 geeft een algemene inleiding op de vraagstellingen van de verschillende hoofdstukken in dit proefschrift.

Hoofdstuk 2 beschrijft de afwezigheid van tolerantie op p53 specifieke T-helper cellen. Dit hebben we bestudeerd door de diversiteit en functionaliteit van p53 specifieke T-helper cellen in muizen met p53 expressie (p53+/+) en in muizen zonder p53 expressie (p53-/-, p53 knock out) te vergelijken. Ondanks de expressie van p53, is het gehele repertoire van p53

specifieke T-helper cellen aanwezig en functioneel. Een belangrijke consequentie hiervan is dat in kankerpatienten ook veel goede p53 specifieke T-helper cellen aanwezig zouden moeten zijn. Met behulp van gerichte vaccinaties zouden deze zo geactiveerd kunnen worden dat ze cytotoxische T-cellen kunnen assisteren in het opruimen van een tumor met p53 overexpressie.

In **Hoofdstuk 3** hebben we onderzocht hoe het type mutatie in een tumor antigeen bepalend kan zijn op de uiteindelijke immunrespons. We hebben een aantal goed beschreven mutaties van antigenen in colon carcinomen (dikke darm kanker) vergeleken op het gebied van accumulatie in de cel, directe presentatie in MHC klasse I en kruis-presentatie op antigeen presenterende cellen. De resultaten van dit hoofdstuk tonen aan dat niet alleen een meetbare accumulatie in de tumorcel maar ook andere factoren een rol kunnen spelen in de beschikbaarheid van het tumorantigeen voor T-cellen. Dit bepaalt mede de waarschijnlijkheid waarmee cytotoxische T-cellen of T-helper cellen een rol kunnen spelen bij het opruimen van de tumor.

Hoofdstuk 4 beschrijft in 3 delen het maken van cellen met een p53 T-cel receptor (TCR) doormiddel van een p53 TCR transgene muis (p53 TCR-tg, hoofdstuk 4.1) en retrovirale gentransductie (hoofdstuk 4.3) en de effecten van deze p53 specifieke CD8+ T-cellen (hoofdstuk 4.2). In muizen met p53 expressie worden p53 specifieke CD8+ T-cellen negatief geselecteerd in de thymus. Alleen p53 TCR-tg cellen uit een p53 -/- muis (p53 knock out) zijn functioneel. Wanneer cellen met een p53 TCR worden ingespoten en geactiveerd doormiddel van vaccinatie in een muis met p53 expressie, treedt een levensbedreigende destructie van hematopoietische cellen op. Deze situatie kan alleen worden voorkomen door de muis een beenmerg transplantatie te geven van een p53-/- donor muis of van een donor muis waarvan het beenmerg p53 niet goed presenteert (Bm1). Cellen met een p53 TCR kunnen ook een hematologische tumor opruimen. Op dit moment is al veel onderzoek gedaan om p53 TCR therapie in kankerpatiënten toe te passen, maar er is nooit echt bestudeerd of het wel werkzaam en veilig genoeg is. Samengevat laten de resultaten in dit hoofdstuk zien dat het bestrijden van (hematologische) tumoren met behulp van CD8+ T-cellen die een p53 TCR tot expressie brengen ingewikkeld is maar niet onmogelijk.

De algemene discussie in **hoofdstuk 5** plaatst de resultaten van dit proefschrift in de context van wetenschappelijke literatuur. Verder worden ontbrekende kennis en suggesties voor toekomstig onderzoek besproken.

In conclusie lijkt tolerantie geen rol te spelen bij selectie van p53 specifieke CD4+ T-cellen, terwijl p53 specifieke CD8+ T-cellen wel negatief geselecteerd worden. Dat betekent dat p53 specifieke CD4+ T-cellen via passieve immuuntherapie (vaccinatie) ingezet kunnen worden voor de behandeling van kanker. Echter p53 specifieke CD8+ T-cellen kunnen alleen door actieve immuuntherapie (injectie van cellen) worden ingezet. Omdat dit tevens kan leiden tot vernietiging van het beenmerg, moet dit gecombineerd worden met een beenmerg transplantatie. Naar mijn mening is er op dit moment echter een te beperkte kennis over de oorzaak van de beenmerg vernietiging om injectie van p53 CD8+ T-cellen te gebruiken als anti-kanker therapie.

