



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Regulation of the Th1 immune response : the role of IL-23 and the influence of genetic variations

Wetering, D. van de

Citation

Wetering, D. van de. (2010, November 17). *Regulation of the Th1 immune response : the role of IL-23 and the influence of genetic variations*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/16155>

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/1887/16155>

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

Nederlandse samenvatting

Het immuunsysteem

Het immuunsysteem is essentieel voor de mens om te overleven. Het immuunsysteem verdedigt het lichaam tegen pathogenen zoals virussen en bacteriën die het lichaam binnen dringen. Tevens beschermt het ons tegen de ontwikkeling van kanker door ontspoorde cellen van het eigen lichaam op te ruimen. De huid en de mucosale membranen, zoals in de darm, voorkomen dat ziekteverwekkers het lichaam binnendringen. In het geval deze eerste verdedigingslijn wordt doorbroken, dan zal ons immuunsysteem proberen de ziekteverwekker uit te schakelen. Het immuunsysteem kan worden onderverdeeld in een aspecifiek (aangeboren) en een adaptief specifiek (verworven) deel. De specifieke afweer heeft dagen tot weken nodig om een volledig effect te hebben. De aspecifieke afweer daarentegen werkt direct, maar is minder effectief.

De aspecifieke afweer.

De eerste verdedigingslijn tegen ziekteverwekkers die het lichaam zijn binnengedrongen wordt gevormd door het aspecifieke immuunsysteem. Het aspecifieke immuunsysteem heeft zich ontwikkeld om zo snel mogelijk een enorm breed scala aan pathogenen te kunnen herkennen. Het systeem bestaat uit zowel een humoraal deel, als een cellulair deel. Het humorale deel van de afweer bestaat uit eiwitten die zich in lichaamsvloeistoffen bevinden, zoals bijvoorbeeld antilichamen. Het complement systeem is een belangrijk onderdeel van de humorale arm. Het complement systeem bestaat uit een reeks eiwitten die in het bloed na activatie een cascade vormen en aanleiding geven tot lysis van pathogenen. Daarnaast leidt activatie van het complement tot het aantrekken van ontstekingscellen. Fagocytose (= het internaliseren van pathogenen door cellen) is een van de eerste stappen in een immuun reactie. Fagocyten zoals monocyten en macrofagen brengen receptoren tot expressie op het cel oppervlak waarmee ze ziekteverwekkers kunnen herkennen. De aspecifieke afweer werkt met receptoren die verschillende structuren die in vele pathogenen voorkomen herkennen. Binding van ziekteverwekkers aan de receptoren leidt tot internalisatie en uiteindelijk tot de destructie van de ziekteverwekker. Tegelijkertijd geeft de fagocyt informatie aan andere cellen van het immuunsysteem over de ziekteverwekker.

De specifieke afweer.

Als ziekteverwekkers niet kunnen worden uitgeschakeld door het aspecifieke deel van de afweer, dan komt het specifieke deel van de afweer in actie. Dit deel van het afweer systeem zorgt voor een sterkere en specifiekere respons. Net als het aspecifieke immuunsysteem bestaat het specifieke deel van het immuunsysteem uit een cellulaire en een humorale compartiment. B-cellen en T-cellen zijn de voornaamste witte bloedcellen die deel uitmaken van het specifiek afweer systeem. B-cellen produceren specifieke antilichamen die ziekteverwekkers kunnen binden en daarmee de uitschakeling van deze ziekteverwekkers kunnen bevorderen. Antilichamen zelf maken deel uit van

het humorale deel van de specifieke afweer. T-cellen hebben een belangrijke rol in het uitschakelen van geïnfecteerde cellen. Tevens reguleren deze cellen de immuun respons.

De aspecifieke en de specifieke immuun respons zijn niet simpelweg opeenvolgende afweerreacties, maar twee met elkaar verweven mechanismen die elkaar reguleren en beïnvloeden. Cellen van het aspecifieke immuunsysteem bijvoorbeeld, voorzien cellen van het specifieke immuunsysteem van informatie over de ziekteverwekker middels oplosbare signaalstoffen en cel-cel contact. Een van deze signaalstoffen is interferon gamma (IFN- γ).

Interferon gamma.

Het immuunsysteem heeft verschillende repertoires om verschillende pathogenen te bestrijden.

IFN- γ speelt een centrale rol in de aspecifieke en in de specifieke immuun respons tegen een verscheidenheid aan pathogenen. Een immuun respons welke wordt gedomineerd door IFN- γ wordt een type-1 ofwel een Th1 respons genoemd. IFN- γ geproduceerd door Th1 cellen heeft vele verschillende effecten op meerdere celtypen. IFN- γ zet macrofagen bijvoorbeeld aan tot het uitschakelen van pathogenen die zij hebben gefagocyteerd. Tevens zorgt het ervoor dat macrofagen delen van het pathogeen beter presenteren op hun oppervlak, zodat o.a. T cellen hierdoor weer beter kunnen worden geïnformeerd over het pathogeen wat het lichaam is binnengedrongen. De productie van IFN- γ wordt door meerdere factoren gereguleerd. IL-12 wordt gezien als het belangrijkste IFN- γ inducerende cytokine gezien, echter, voor de productie van IL-12 zelf is IFN- γ nodig. Het is niet goed bekend hoe vroeg in een immuunrespons de IFN- γ productie wordt gereguleerd.

Het 2^e en 3^e hoofdstuk beschrijven hoe monocyt en macrofagen IL-23 en geen IL-12 produceren na infectie met *Salmonella* of na stimulatie met verschillende pathogene structuren. Naast IL-23 produceren monocyt en macrofagen IL-1 β en IL-18. Het is bekend dat IL-12, in combinatie met IL-18 of IL-1 β , de productie van IFN- γ kan induceren. In het 3^e hoofdstuk wordt beschreven hoe IL-23, in combinatie met IL-1 β en/of IL-18, de productie van IFN- γ induceert in CD56⁺ NK-achtige T cellen en in NK cellen, zonder dat daarbij specifieke stimulatie van de T cel receptor nodig is. Deze resultaten laten zien dat de door infectie met *Salmonella* geïnduceerde cytokines IL-23, IL-1 β en IL-18 samen de productie van IFN- γ kunnen induceren, zonder dat daarvoor IL-12 nodig is. Het door deze combinatie van cytokines geïnduceerde IFN- γ maakt vervolgens de productie van IL-12 mogelijk. Ook zorgde stimulatie van CD56⁺ cellen met IL-23 in combinatie met IL-1 β of IL-18, voor de productie van GM-CSF. Van GM-CSF is bekend dat het differentiatie van monocyt in IL-23 producerende pro-inflammatoire macrofagen stimuleert. In hoofdstuk 3 wordt getoond dat zowel IFN- γ , als GM-CSF, de productie van IL-23 door monocyt in respons op verschillende stimulaties

versterkt. Dit impliceert dat er sprake is van een zogenaamde positieve terugkoppeling, waarin IL-23 zijn eigen productie kan versterken via de inductie van IFN- γ en GM-CSF.

Genetische variaties.

In het 4^e en 5^e hoofdstuk wordt beschreven hoe genetische varianten van de IL-23R en de IFN- γ R1 de respons op respectievelijk IL-23 en IFN- γ beïnvloeden.

In hoofdstuk 4 worden verschillende varianten van de IL-23R functioneel met elkaar vergeleken. Samen met de IL-12R β 1 keten, vormt de IL-23R het IL-23 receptorcomplex. Van de R381Q en de P310L varianten is beschreven dat deze geassocieerd zijn met auto-immuun ziekten. Dit suggereert dat deze varianten functioneel verschillen van de *wild-type* receptor. Om de verschillende receptor varianten functioneel te vergelijken met de *wild-type* receptor hebben wij deze varianten en een nieuw ontdekte variant, namelijk de Y173H, gekloneerd en tot expressie gebracht in T-cel blasten. Echter, in T-cel blasten konden wij geen verschillen in signaaltransductie aantonen. Ook vonden wij geen significante verschillen in de door IL-23 geïnduceerde cytokine productie. Wij concluderen dan ook dat de beschreven associatie tussen de R381Q en P310L varianten van de IL-23R en auto-immuun ziekten niet wordt bepaald door functionele verschillen van deze receptor varianten. De door ons nieuw beschreven variant Y173H verschilde functioneel niet van de *wild-type* receptor

Hoofdstuk 5 toont het effect van genetische variaties van de IFN- γ R1 op de signaaltransductie en cellulaire effecten van IFN- γ . Tegen eenzelfde genetische achtergrond hebben wij twee nieuw ontdekte IFN- γ R1 variaties, ontdekt in patiënten met mycobacteriële infecties, vier bekende polymorfismen (V14M, V61I, H335P, L467P), en alle zeven gerapporteerde missense mutaties (V61Q, V63G, Y66C, C77Y, C77F, C85Y, I87T) en een mutant met een deletie (818delTTAA), in functie met elkaar en de *wild-type* receptor vergeleken. De twee nieuw ontdekte mutanten, S149L en I352M, evenals de V14M, V61I, H335P en L467P verschilden in functionaliteit niet van de *wild-type* receptor. De V14M expressie op het cel oppervlak was significant minder. De andere varianten zijn mutanten waarvan V61E, V61Q, Y66C, C77F, C77Y en C85Y resulteren in complete IFN- γ R1 deficiëntie, en V63G en I87T leiden tot een partiële IFN- γ R1 deficiëntie.

Complete IFN- γ R deficiëntie wordt gekarakteriseerd door ernstige infecties met mycobacteriën of *M. bovis* BCG (vaccinatie-stam). Patiënten met een partiële IFN- γ R deficiëntie kunnen baat hebben bij behandeling met recombinant IFN- γ tijdens infecties. Patiënten die een complete IFN- γ R deficiëntie hebben, hebben geen baat bij behandeling met recombinant IFN- γ , simpelweg omdat de receptor niet functioneert. IFN- α vertoont qua signaal transductie veel overeenkomsten met IFN- γ ; beiden induceren de fosforylatie van het signaaltransductiemolecuul STAT1. Vanwege deze overlap zou IFN- α mogelijk (deels) kunnen compenseren voor de afwezige effecten van IFN- γ in patiënten met een complete IFN- γ R deficiëntie. In verschillende artikelen wordt gesuggereerd dat tijdens mycobacteriële infecties het geven van IFN- α aan patiënten die een defect

van de IFN- γ R hebben, een gunstig effect zou hebben. In hoofdstuk 6 is gekeken of IFN- α kan compenseren voor de afwezige effecten van IFN- γ in cellen van een patiënt met een complete IFN- γ R1 deficiëntie. Ondanks het feit dat IFN- α STAT1 fosforylatie induceerde in cellen van de patiënt, zorgde stimulatie van cellen met IFN- α niet voor de opregulatie van de membraangebonden activatie markers CD54 en CD64, waarvoor IFN- γ normaal zorgt. Ook kon IFN- α niet substitueren voor de afwezigheid van een IFN- γ effect in het versterken van de productie van bepaalde cytokine in respons op het bacteriële lipopolysaccharide (LPS). In cellen van gezonde donoren inhibeerde IFN- α zelfs effecten van IFN- γ . Concluderend kan gesteld worden dat er *in vitro* geen aanwijzingen zijn dat het geven van IFN- α tijdens infecties aan patiënten met een complete IFN- γ R deficiëntie nuttig is.

Conclusies

Dit proefschrift beschrijft de rol van IL-23 in de Th1 immuun respons. In het algemeen wordt aangenomen dat IL-12 de primaire stimulus is die leidt tot de inductie van de Th1 respons. Echter, voor de inductie van IL-12 productie is het Th1 cytokine IFN- γ nodig. In dit proefschrift laten we zien dat voor de inductie van IL-23 geen IFN- γ nodig is en dat IL-23 zelf wel IFN- γ productie kan induceren. Door het induceren van IFN- γ productie, maakt IL-23 vervolgens de productie van IL-12 mogelijk. Hoewel IL-23 de productie van IFN- γ kan induceren, is uit muizenstudies reeds gebleken dat IL-23 niet strikt noodzakelijk is voor de inductie van een Th1 respons. Van andere cytokinen die vroeg in de immuun respons worden geproduceerd, zoals IL-27, is bekend dat zij ook de productie van IFN- γ kunnen aanzetten. De primaire prikkel en de exacte cytokinen die leiden tot de vorming van een Th1 respons zijn nog niet opgehelderd. Concluderend suggereren wij een model, waarin IL-12 nodig is voor de versterking en de continuering van een Th1 respons, terwijl andere cytokinen, waaronder IL-23, nodig zijn voor de inductie van een Th1 respons.