



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Role of metabolic pathways and sensors in regulation of dendritic cell-driven T cell responses

Pelgrom, L.R.

Citation

Pelgrom, L. R. (2022, February 23). *Role of metabolic pathways and sensors in regulation of dendritic cell-driven T cell responses*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3275848>

Version: 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/1887/3275848>

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

Nederlandse samenvatting

Het afweersysteem en dendritische cellen

Het wemelt van de micro-organismen om ons heen. Bacteriën, virussen, schimmels en parasieten. Ze zitten in de lucht om ons heen, op onze huid, en zelfs in ons lichaam. Toch worden we zelden ziek. Dit komt omdat we een afweersysteem hebben dat ons beschermt. Tegen ziektemakers van buitenaf en kankercellen van binnenuit. We hebben onder andere een praktisch ondoordringbare huid, slijm dat ziektemakers afvoert, antistoffen in dit slijm en andere vloeistoffen, en afweercellen –die ziektemakers kunnen opeten. De zogenaamde aangeboren tak van ons afweersysteem.

Maar soms zijn er simpelweg te veel ziektemakers of hebben ze trucjes waarmee ze ons afweersysteem te slim af zijn. In dat geval moet een tweede verdedigingslinie geactiveerd worden. De zogenaamde verworven tak van ons afweersysteem. Deze bestaat onder andere uit afweercellen die T cellen worden genoemd. Deze kunnen zich snel vermenigvuldigen en eigenschappen aanmeten die specifiek zijn voor, en passen bij, de te elimineren ziekteverwekkers. Dit snelle vermenigvuldigen kunnen we soms ook opmerken. Zo kunnen er knobbels in de hals ontstaan tijdens een keelontsteking. Dat zijn dan de snel delende cellen van ons afweersysteem wat hard aan het werk is.

T cellen moeten wel verteld worden wie aan te vallen en wanneer dit gepast is. Speciaal opgeleid voor het doorgeven van dergelijke informatie aan T cellen zijn zogenaamde dendritische cellen. Als we kunnen beïnvloeden hoe dendritische cellen informatie doorgeven, dan kunnen we misschien bepalen of er überhaupt een afweerreactie tot stand komt, welke vorm deze aanneemt en hoe sterk deze is. Dit kan relevant zijn voor bijvoorbeeld het verbeteren van preventieve vaccinaties en bepaalde vormen van kankerbehandeling.

De link tussen stofwisseling en de afweerrespons

Stofwisseling is het geheel aan chemische reacties in cellen waarbij de ene organische stof in een andere stof wordt omgezet. Stofwisseling kan grofweg worden onderverdeeld in anabole/opbouwende stofwisseling en katabole/afbrekende stofwisseling. In het eerste geval worden kleine/simpele stoffen omgezet in grotere/meer complexe stoffen, een proces waarbij energie wordt opgeslagen. In het tweede geval worden grote/complexe stoffen omgezet in kleinere/meer simpele stoffen, een proces waarbij energie vrijkomt.

In de afgelopen jaren is duidelijk geworden dat de manier waarop dendritische cellen voedingstoffen opnemen, verwerken en verteren verandert nadat ze met ziektemakers in aanraking komen. Voorbeelden van voedingstoffen zijn suikers,

vetten en aminozuren. Bovendien is duidelijk geworden dat deze verandering in stofwisseling bepaalt wat voor signalen dendritische cellen doorgeven aan T cellen. Als wat en hoe de dendritische cel eet direct gevolgen heeft voor hoe de dendritische cel informatie doorgeeft aan T cellen, dan is het beïnvloeden van dendritische celstofwisseling wellicht een manier om afweerreacties in de gewenste richting te sturen. Dit kan relevant zijn voor het ontwikkelen van nieuwe immuuntherapieën of het verbeteren van bestaande therapieën.

In dit proefschrift heb ik onderzocht hoe de stofwisseling van dendritische cellen verandert nadat ze blootgesteld zijn aan verschillende ziektemakers, maar ook aan stoffen die zorgen voor een ontstekingsremmende/tolerogene functie van dendritische cellen. Vervolgens heb ik onderzocht of er ook unieke stofwisselingsprofielen zijn waarmee deze dendritische cellen van elkaar onderscheiden kunnen worden en of deze unieke profielen gemanipuleerd kunnen worden om op een gerichte manier ontstekingsbevorderende antibacteriële, antischimmel, anti-parasitaire en ontstekingsremmende/regulatorische T cellen te genereren. Al laatste heb ik onderzocht of dit ook bereikt kan worden door in dendritische cellen aanpassingen te maken in eiwitten die respectievelijk een anabole en katabole stofwisseling aansturen.

Hoofdstukken

In **hoofdstuk 2** geven we een ge-update overzicht van wat bekend is over dendritische cellen en hun stofwisseling. Het lijkt erop dat dendritische cellen die beschermen tegen bacteriën, virussen en schimmels vaker gebruik maken van een opbouwende stofwisseling, gedreven door de verbranding van glucose zonder zuurstof. Een belangrijke rol is weggelegd voor het eiwitcomplex 'mechanistic target of rapamycin (mTOR)' wat meet of er voldoende voedingsstoffen aanwezig zijn en een signaal afgeeft voor meer anabole stofwisseling. Daar en tegen lijkt het erop dat dendritische cellen die beschermen tegen parasieten en auto-immuunziekten vaker gebruik maken van een afbrekende stofwisseling, gedreven door de verbranding van vetzuren met behulp van zuurstof. Een belangrijke rol lijkt hier weggelegd voor het eiwit 'adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)' wat meet of er weinig energie is en een signaal afgeeft voor meer katabole stofwisseling. Dit laatste om zo meer energie te genereren.

In **hoofdstuk 3** leggen we uit hoe de techniek 'extracellular flux (XF)' analyse werkt en hoe deze op dendritische cellen toegepast kan worden. Door te meten hoeveel verzuring er plaats vindt en hoeveel zuurstof er wordt opgenomen kan een indruk worden gekregen van in hoeverre een cel gebruik maakt van een verbranding van glucose zonder zuurstof versus de verbranding van

voedingstoffen met zuurstof. Bij de verbranding van glucose zonder zuurstof wordt namelijk melkzuur (lactaat) gevormd.

In **hoofdstuk 4** laten we zien dat dendritische cellen in staat zijn om glucose op te slaan in de vorm van glycogeen. Dit blijkt cruciaal te zijn om de dendritische cellen voor te bereiden op situaties waar er weinig suiker voor handen is, maar er toch gereageerd moet worden op bacteriën. Blokkeer je de afbraak van glycogeen in glucose, dan kan de dendritische cel nog maar beperkt informatie doorgeven aan T cellen. Deze informatie zou gebruikt kunnen worden om dendritische cellen beter voor te bereiden op het doen van hun werk in omgevingen met weinig glucose, zoals tijdens infecties en in tumoren.

Sommige bacteriën zijn goed voor ons doordat zij in onze darmen voedingstoffen omzetten in boterzuur (butyraat), een korte vetzige stof. Butyraat kan dendritische cellen stimuleren om meer ontstekingsremmende T cellen te activeren, maar de manier waarop was nog niet duidelijk. In **hoofdstuk 5** laten wij zien dat butyraat dendritische cellen niet meer energie geeft, maar hun energieproductie juist verlaagt. Wel stimuleert butyraat dendritische cellen om retinoïnezuur aan te maken en uit te scheiden. Deze uit vitamine A verkregen stof was uiteindelijk verantwoordelijk voor de vorming van regulatoire T cellen door butyraat-gestimuleerde dendritische cellen. Deze studie bevestigt de positieve werking van sommige korte vetzuren op ons afweersysteem, maar laat ook zien welke eiwitten op en in dendritische cellen reageren op butyraat. Dit laatste kan nieuwe aangrijpingspunten voor de ontwikkeling van medicijnen opleveren.

In **hoofdstuk 6** benadrukken we nog eens hoe weinig er bekend is over de stofwisseling van dendritische cellen die anti-parasitaire T helper 2 cellen activeren. Daarom onderzoeken we in **hoofdstuk 7** wat er gebeurt met de stofwisseling van dendritische cellen wanneer zij worden blootgesteld aan de producten van parasitaire wormen. We laten zien dat deze dendritische cellen juist minder glucose gaan verbranden. De verbranding van glucose blokkeren in dendritische cellen an sich is zelfs voldoende om ze T helper 2 cellen te laten activeren. Anti-parasiet dendritische cellen maken wel meer uridinedifosfaat N-acetylglucosamine aan, een nucleotide suiker dat gebruikt kan worden om eiwitten aan of uit te zetten. Deze bijzondere manier van eiwit regulatie bleek cruciaal te zijn voor T helper 2 activatie door aan parasiet producten blootgestelde dendritische cellen. Dit geldt ook voor dendritische cellen die T helper 2 responsen activeren in reactie op allergenen. Hiermee is een stofwisselingsroute in dendritische cellen gevonden die wellicht gemanipuleerd kan worden om specifiek T helper 2 responsen te stimuleren of te remmen.

In **hoofdstuk 8** laten we zien dat het eiwit 'liver kinase B 1 (LKB1)' - dat nodig is voor de activering van AMPK – een belangrijke rol speelt in het bevorderen van katabole stofwisseling in dendritische cellen en het beperken van hun T cel activerende capaciteit. Waar we verwacht hadden dat muizen waarin LKB1 genetisch was verwijderd in dendritische cellen gekenmerkt zouden worden door een ophoping van ontstekingsbevorderende T cellen, was het tegenovergestelde het geval. We vonden een ophoping van ontstekingsremmende T cellen in deze muizen. Deze T cellen bleken afkomstig uit de zwezerik (thymus). We zagen dat er meer type 2 dendritische cellen in de zwezerik waren en dat ze ook meer geactiveerd waren. Het waren deze thymus type 2 dendritische cellen die beter in staat waren om regulatoire T cellen voort te brengen na verlies van LKB1. Op dit moment zijn er echter nog geen medicijnen die specifiek ingrijpen op LKB1. Maar dit onderzoek – vooral in combinatie met het tegelijkertijd gepubliceerde werk van collega's in Amerika – laat wel zien dat afhankelijk van waar de dendritische cellen zich bevinden een verandering in de katabole stofwisseling van dendritische cellen kan leiden tot zowel immunologische tolerantie of ontsteking.

In **hoofdstuk 9** laten we zien dat het eiwitcomplex 'mTOR complex 1 (mTORC1)' in conventionele dendritische cellen nodig is voor hun aanmaak van eiwitten waarmee ze ontstekingsbevorderende T cellen kunnen activeren. Dit in tegenstelling tot eerdere onderzoeken waarin dendritische cellen in kweekschalen in het lab blootgesteld waren aan het mTORC1 remmende medicijn rapamycin (ook bekend als Sirolimus) en juist minder van deze eiwitten aanmaakten. Waar het blokkeren van mTORC1 in dendritische cellen door het genetisch weghalen van het eiwit 'raptor' geen effect had op afweer responsen tegen systemische infecties met bacteriën en parasitaire wormen, zagen we dat afweerreacties na immunisaties in de huid sterker waren. We merkten op dat Langerhans cellen in de huid, een aan dendritische cellen verwante cel soort, na verlies van raptor juist meer ontstekingsbevorderende eiwitten aanmaakten. Het is nu nog onduidelijk of het inderdaad de Langerhans cellen zijn die zorgen voor een sterkere afweerreactie in de huid na verlies van raptor. Het is het wel duidelijk dat het blokkeren van mTORC1 – wat een veel toegepaste behandeling is in de geneeskunde – uiteenlopende effecten kan hebben op cellen, afhankelijk van de locatie en het type cellen die eraan blootgesteld worden.

In **hoofdstuk 10** wordt geprobeerd de bevindingen in dit proefschrift, meestal gedaan met dendritische cellen in kweekschalen in het lab, te plaatsen in situaties van natuurlijke infectie. Gedurende het verloop van een infectie komen dendritische cellen op veel verschillende plekken, waar ze worden blootgesteld aan verschillende soorten voedingsstoffen en verschillende samenstellingen

van cellen. Een kweekschaal kan nooit deze diversiteit nabootsen. Maar de beschikbaarheid van technieken om de stofwisseling van individuele cellen in een groep cellen te bestuderen zijn nog beperkt. Daarom is innovatie in de detectie van celstofwisseling in een complexe omgeving gewenst om zo snel mogelijk tot therapieën te komen die relevant zijn voor de patiënt.

Conclusie

De studies in dit proefschrift laten zien dat eiwitten die ofwel een afbrekende ofwel een opbouwende stofwisseling bevorderen in dendritische cellen een belangrijke rol spelen in hun T cel activerende eigenschappen. LKB1 verlaagt de ontstekingskracht van dendritische cellen (**hoofdstuk 8**), terwijl mTORC1 de ontstekingskracht van dendritische cellen verhoogt (**hoofdstuk 9**). Maar afhankelijk van het type cel en de locatie kan de tot stand gekomen afweerreactie verschillen (**hoofdstuk 8 en 9**). Aan de ene kant verbranden dendritische cellen die anti-bacterie en antischimmel T cellen tot stand brengen verbranden veel suiker zonder zuurstof (**hoofdstuk 4 en 7**). Aan de andere kant hebben dendritische cellen die ontstekingsremmende T cellen (**hoofdstuk 5**) en anti-parasiet/allergische T helper 2 cellen activeren (**hoofdstuk 7**) relatief een lage stofwisseling, maar wel met unieke eigenschappen. Deze dendritische cellen maken respectievelijk retinoïnezuur en de nucleotide suiker uridinedifosfaat N-acetylglucosamine aan om T cellen de juiste instructie te geven. Bovendien slaan dendritische cellen glucose op in de vorm van glycogeen om een buffer te hebben tegen omstandigheden van weinig suiker (**hoofdstuk 4**). Deze verkregen inzichten over hoe de functie van dendritische cellen door hun stofwisseling wordt gestuurd, bieden nieuwe aanknopingspunten om de functionaliteit van dendritische cellen te verbeteren voor therapeutisch gewin. Een voorbeeld van een klinische setting waarbij dit goed kan worden toegepast is dendritische celtherapie. Hierbij worden dendritische cellen uit het lichaam van de patiënt gehaald, veranderd, en vaak ook vermenigvuldigd, voordat ze terug worden gebracht. Wel zou het helpen als we een beter beeld krijgen over de stofwisseling van dendritische cellen in situaties van natuurlijke infectie, om zo beter te kunnen inspelen op de obstakels die dendritische cellen tegenkomen, wanneer ze ons proberen te beschermen tegen micro-organismen en kankercellen.