



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Genetic-tracing of CD8+ T cell fate decisions

Kok, L.

Citation

Kok, L. (2023, February 15). *Genetic-tracing of CD8+ T cell fate decisions*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3563375>

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/1887/3563375>

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

NEDERLANDSE SAMENVATTING

De rol van CD8⁺ T cellen in het immuunsysteem

Om zich te kunnen beschermen tegen een breed scala aan pathogenen, zoals bacteriën, virussen, schimmels en parasieten, hebben gewervelde dieren—met name zoogdieren—een extreem complex afweersysteem ontwikkeld. Dit afweersysteem is in staat om pathogenen die het lichaam weten binnen te dringen snel onder controle te krijgen en te elimineren. Vervolgens kan een pathogeen-specifieke immuniteit worden opgebouwd, waardoor het desbetreffende pathogeen significant minder kans heeft om de host bij een volgende infectie (ernstig) ziek te maken. Het afweersysteem is opgebouwd uit tientallen verschillende type witte bloedcellen. Deze verschillen in hun functies en capaciteiten en collectief zijn ze nodig om voldoende weerstand te bieden tegen pathogenen. CD8⁺ T lymfocyten, of wel CD8⁺ T cellen genoemd, zijn type witte bloedcellen die kleine stukjes van virussen en bepaalde type bacteriën kunnen herkennen en cellen kunnen doden die geïnfecteerd zijn met zulke pathogenen. Het vermogen van T cellen om lichaamsvreemde eiwitten te herkennen wordt bewerkstelligd door een receptor dat elke CD8⁺ T cel op de oppervlakte draagt, genaamd de T Cel Receptor (TCR). Het bijzondere aspect van deze receptor is dat tijdens de ontwikkeling elke individuele CD8⁺ een unieke TCR ontwikkelt. Hierdoor kan elke CD8⁺ T cel een ander stukje lichaamsvreemd eiwit herkennen. Naar schatting kunnen er miljoenen tot miljarden CD8⁺ T cellen met een unieke TCR in een mens gevormd worden. Door deze enorme diversiteit kan de CD8⁺ T cel poel bescherming bieden tegen veel verschillende virussen en bacteriën.

Naïeve T cellen (i.e. T cellen welke nog niet in aanraking zijn gekomen met het lichaamsvreemde eiwit dat ze kunnen herkennen) circuleren constant door het lichaam via het bloed. Verder zijn deze cellen veel te vinden in de milt en lymfeklieren. Dit zijn twee weefsels waar lichaamsvreemde eiwitten gepresenteerd kunnen worden voor CD8⁺ T cellen om te scannen. Bij infectie of vaccinatie zullen tijdens deze “scan controle” een klein aantal naïeve CD8⁺ T cellen een lichaamsvreemd eiwit herkennen. Deze naïeve T cellen zullen vervolgens geactiveerd raken, wat in houdt dat deze cellen snel en veel gaan delen. Tijdens deze expansie zullen de nakomelingen veranderen in effector T cellen, een type T cel welk in staat zijn om geïnfecteerde cellen te doden. Op de piek van de expansiefase (meestal 7-12 dagen na start van infectie) kan de poel van effector T cellen zo’n 100.000 keer groter zijn dan de naïeve T cel poel waaruit de effector T cellen gecreëerd waren. Zodra de geïnfecteerde cellen volledig geëlimineerd zijn, zal zo’n ~95%, van alle effector T cellen in apoptose (i.e. geprogrammeerde celdood) gaan. De resterende ~5% zal zich verder ontwikkelen tot lang levende geheugen T cellen. Deze geheugen T cellen zijn superieur in het bieden van bescherming tegen herinfectie en dit komt doordat:

- 1) Geheugen T cellen in grotere aantallen aanwezig zijn dan de pathogeen-specifieke naïeve T cellen die aanwezig waren voor infectie
- 2) Geheugen T cellen geconditioneerd zijn om snel te reageren tijdens een herinfectie
- 3) Geheugen T cellen te vinden zijn in weefsels waar pathogenen kunnen binnen dringen, zoals in de huid, darmen en longen. Samengevat, CD8⁺ T cellen zijn een belangrijk onderdeel van het immuunsysteem omdat deze cellen het vermogen hebben geïnfecteerde cellen te doden en na infectie getraind worden om een herinfectie snel onder controle te krijgen.

Deze aspecten maken CD8⁺ T cellen dus ook belangrijke spelers in het opbouwen van immuniteit geïnduceerd door vaccinaties.

CD8⁺ T cel subtypes

Zowel de poel van effector als van geheugen T cellen bestaan uit verschillende subtypen. Zoals hierboven al kort beschreven, ontwikkelen sommige effector T cellen tot langlevende geheugen cellen. Deze cellen zijn meerdere jaren na infectie nog te vinden in het lichaam, terwijl andere effector T cellen binnen twee weken na infectie of vaccinatie al afsterven. Deze twee type effector cellen, de geheugen voorloper en kortlevende effector T cellen, kunnen niet alleen onderscheiden worden op basis van hun levensduur, maar ook aan de hand van fenotype (i.e welke genen of eiwitten de cellen expresseren), en functionele eigenschappen zoals het vermogen om te delen, om te migreren naar weefsels en om geïnfecteerde cellen te doden. Ook geheugen T cellen kunnen worden onderverdeeld op basis van gen/eiwit-expressie en functie. Globaal worden er drie type geheugen subtypes onderscheiden:

- 1) Centrale geheugen T cellen (*central memory T cells*, afgekort T_{CM}), te vinden in de circulatie. Deze cellen zullen vlug gaan delen en nieuwe effector cellen genereren in het geval van een her-infectie
- 2) Effector geheugen T cellen (effector memory T cells, afgekort T_{EM}), ook te vinden in de circulatie. Deze bezitten direct het vermogen om snel geïnfecteerde cellen te doden tijdens her-infectie
- 3) Weefsel-residerende geheugen T cellen (*tissue-resident memory T cells*, afgekort T_{RM}), te vinden in weefsels zoals de huid, darm en longen. Deze vormen een eerste verdedigingslinie tegen binnendringende pathogenen.

We hebben de laatste twee decennia veel geleerd over de moleculaire programma’s die de vorming van verschillende effector en geheugen T cel subtypes bewerkstelligen. Toch is er nog zeer weinig inzicht verkregen in hoe de gevormde verschillende T cel subtypes verschillen in hun geschiedenis en afkomst. Het is bijvoorbeeld onduidelijk wanneer geactiveerde T cellen de keuze maken welk subtype ze uiteindelijk gaan vormen en hoe die keuze precies tot stand komt. Aangezien bepaalde subtypes beter zijn in het bestrijden of voorkomen van infectie van bepaalde ziekteverwekkers, is het van belang dat er meer

inzicht wordt verkregen in hoe de CD8⁺ T cel subtypes tot stand komen. Zo kunnen bijvoorbeeld vaccinatie strategieën kunnen worden ontwikkeld die de formatie van bepaalde subtypes sterker induceren dan andere subtypes. In mijn promotieonderzoek heb ik de ontwikkeling en origine van verschillende CD8⁺ T cel subtypes na de infectie en vaccinatie onderzocht.

Mijn onderzoeksdoelen en bevindingen

Meer dan 15 jaar geleden was een hypothese opgesteld die postuleert dat zodra een naïeve T cel geactiveerd raakt en een eerste celdeling ondergaat, het twee dochtercellen vormt, waarvan één uitsluitend kortlevende effector cellen zal genereren en de ander uitsluitend langlevende geheugen voorloper cellen zal produceren. Dit zou betekenen dat de keuze om te vormen tot een bepaald subtype al vastgelegd is na een enkele celdeling. Echter, er bestaan ook aanwijzing in het veld die deze hypothese tegenspreken. Daarom hebben collega's en ik een methode ontworpen waarmee direct kan worden bestudeerd of de eerste generaties nakomelingen van naïeve T cellen inderdaad uitsluitend kort- of langlevende cellen produceren. We laten zien dat T cellen welke 1, 2 of 3 celdelingen hebben ondergaan nog even goed in staat zijn om kortlevende effector cellen en langlevende geheugen cellen te vormen als T cellen die nog niet gedeeld hebben. Dit onderzoek spreekt tegen de hypothese dat de T cellen na een enkele deling al volledig toegewijd zijn aan de productie van een enkel subtype en staat beschreven in **hoofdstuk 2**.

Celdeling is een fundamenteel onderdeel van de T cel immuunrespons. Het was alleen onduidelijk of verschillende effector en geheugen T cel subtypes verschillen in de hoeveelheid celdelingen die de formatie van de populaties voorafging. Om hier meer inzicht in te verkrijgen hebben collega's en ik in kaart gebracht hoeveel T cel subtypes gedeeld hebben. Zo vonden we dat de gemiddelde T_{CM} , in tegenstelling tot de gemiddelde T_{EM} , een lange tijd nadat de infectie geklaard is nog door blijft delen. Hierdoor heeft de gemiddelde T_{CM} vele malen meer gedeeld dan T_{EM} . Verder vonden wij dat de poel van T_{CM} cellen eigenlijk bestaat uit twee groepen cellen welke significant verschillen in genexpressie en de hoeveelheid delingen ondergaan. Namelijk, naast een groep T_{CM} die constant door delen, vonden we T_{CM} die nauwelijks delen als er geen inflammatie is, maar tijdens herinfectie juist extensief gaan delen en superieur zijn in het produceren van een nieuwe golf effector T cellen. Dit onderzoek staat beschreven in **hoofdstuk 3**.

Behalve T_{CM} en T_{EM} in de circulatie worden er na infectie ook T_{RM} in weefsels gevormd. In **hoofdstuk 4** bediscussiëren we de studies die significant hebben bijgedragen aan onze kennis over hoe T_{RM} gevormd worden. Ondanks dat er veel bekend is over de factoren die een rol spelen in de formatie van T_{RM} , is er nog weinig duidelijk over wanneer en welke effector T cellen de keuze maken om te migreren naar perifere weefsels en daar zich vervolgens ontwikkelen tot T_{RM} . Daarom zijn collega's en ik de origine van huid T_{RM} gevormd na vaccinatie gaan bestuderen. We vonden dat van alle naïeve T cellen die

reageren op de vaccinatie een kleine fractie superieur is in het vormen van geheugen T cellen in de huid. Verder ontdekte we dat deze naïeve T cellen ook veel effector T cellen produceren die op T_{RM} lijken, een effector populatie die nog niet eerder beschreven was. Ons onderzoek wijst uit dat na vaccinatie van de huid er een groep effector T cellen in het bloed ontstaat welke de keuze al hebben gemaakt om te ontwikkelen tot T_{RM} , zelfs voordat deze cellen de huid hebben bereikt. Dit onderzoek staat beschreven in **hoofdstuk 5**. Naar aanleiding van de bevindingen gemaakt in dit hoofdstuk, heb ik samen met collega's een overzicht geschreven van de studies die onderzoek hebben gedaan naar factoren die een rol kunnen spelen in het voorbereiden van naïeve en effector T cellen om zich later te ontwikkelen tot T_{RM} voordat de cellen naar het desbetreffende weefsel zijn gemigreerd. Dit werk is te vinden in **hoofdstuk 6**.

Tot slot, in **hoofdstuk 7** bediscussieer ik welke grote open vragen er nog zijn betreffende de vorming en origine van CD8⁺ T subtypes. Ook geef ik mijn visie over hoe deze vragen elegant geadresseerd kunnen worden met behulp van diverse genetische technieken. Het werk gepresenteerd in deze thesis heeft bijgedragen aan een beter begrip van de diversiteit in de CD8⁺ T cel poel na infectie en vaccinatie, en hoe deze diversiteit tot stand komt. Deze kennis zal essentieel zijn om de strategieën te ontwikkel die de formatie van verschillende T cel subtype beïnvloed. Dit kan bijvoorbeeld aantrekkelijk zijn voor het produceren van effectieve vaccine.