Universiteit
Leiden
The Netherlands

AMPK signaling in dendritic cells: a metabolic sensor controlling the balance between immunity and tolerance

Brombacher, E.C.

Citation
Brombacher, E. C. (2024, March 7). *AMPK signaling in dendritic cells: a metabolic sensor controlling the balance between immunity and tolerance*. Retrieved from https://hdl.handle.net/1887/3719960

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/1887/3719960

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

Appendices

Nederlandse samenvatting

De rol van dendritische cellen in het immuunsysteem

Het immuunsysteem beschermt het menselijk lichaam tegen zowel lichaamseigen (bv. cellen met een afwijking, zoals tumorcellen) als lichaamsvreemde (bv. virussen en bacteriën) ziekteverwekkers en bestaat uit de aspecifieke/algemene afweer en de specifieke afweer.
Een ziekteverwekker wordt in eerste instantie herkend door cellen van de aspecifieke afweer. Dit zijn onder andere **Dendritische Cellen (DCs)**, de cellen die centraal staan in dit proefschrift. DCs kunnen ziekteverwekkers herkennen en worden dan geactiveerd. Een geactiveerde DC kan vervolgens het specifieke immuunsysteem activeren. Cellen van het specifieke immuunsysteem kunnen heel gericht ziekteverwekkers herkennen en vernietigen. Belangrijke cellen van deze tak van het immuunsysteem zijn T cellen. Een geactiveerde DC gaat een interactie aan met naïeve T cellen, die zich vervolgens vermenigvuldigen en ontwikkelen tot een bepaald subtype.

Sommige subtypes, de **pro-inflammatoire T cellen**, brengen een ontstekingsreactie/ inflammatie op gang. Pro-inflammatoire T cellen zijn belangrijk bij de afweer tegen bijvoorbeeld virussen maar kunnen ook bijdragen aan ontstekingsreacties in bijvoorbeeld auto-immuun ziekten. Een naïeve T cel kan zich ook ontwikkelen tot een **regulatoire T cel**. Een regulatoire T cel onderdrukt het immuunsysteem en is bijvoorbeeld belangrijk om een ontstekingsreactie te stoppen of om auto-immuunreacties tegen te gaan. Welk type T cel ontwikkelt wordt grotendeels bepaald door DCs.

DC activering hangt nauw samen met omgevingsfactoren

Net als bij T cellen zijn er ook meerdere typen DCs. De omgeving waarin een DC zich bevindt op het moment dat deze een ziekteverwekker tegenkomt, is van grote invloed op hoe een DC geactiveerd wordt en welk type T cel ze gaan stimuleren. Zo zijn er immuun-gerelateerde omgevingsfactoren en metabool-gerelateerde omgevingsfactoren; beide spelen een belangrijke rol bij DC activering.

Immuun-gerelateerde omgevingsfactoren

Als er net een infectie heeft plaatsgevonden ontstaat er een pro-inflammatoire omgeving. Deze omgeving stimuleert activering van **immunogene DCs**. Een immunogene DC promoot de ontwikkeling van pro-inflammatoire T cellen (Fig. 1A). DC activering kan ook plaatsvinden in een anti-inflammatoire omgeving. Dit zorgt voor **tolerogene DCs** die de ontwikkeling van regulatoire T cellen bevorderen (Fig. 1B). De dikke darm is een voorbeeld van een anti-inflammatoire omgeving. In de dikke darm zitten namelijk veel nuttige bacteriën en regulatoire T cellen zorgen ervoor dat ons immuunsysteem niet een ontstekingsreactie start tegen deze bacteriën.

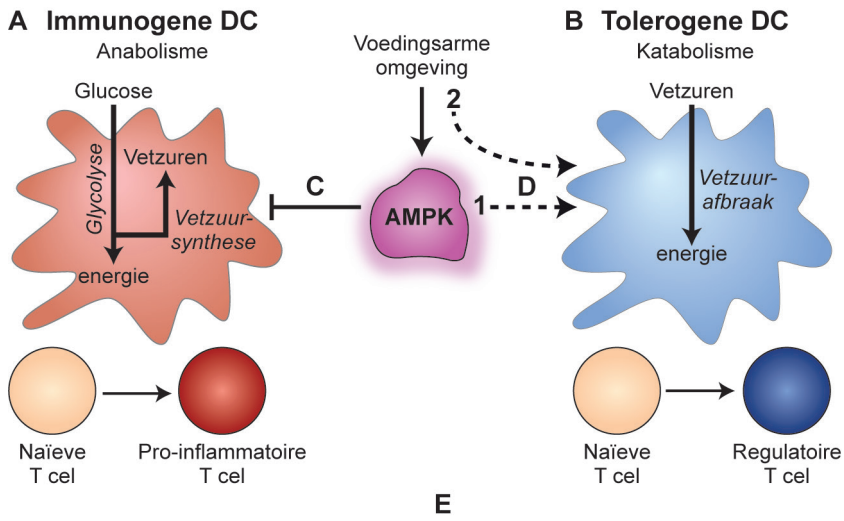
Metabool-gerelateerde omgevingsfactoren

Met metabool-gerelateerde omgevingsfactoren bedoelen we onder andere de hoeveelheid voedingsstoffen en het type voedingsstoffen (bijvoorbeeld suikers, eiwitten of vetten) die aanwezig zijn in de omgeving van een cel. De metabole omgeving is heel belangrijk voor DCs, omdat DC activering nauw verwant is aan de energiehuishouding binnen in de cel, het **intracellulaire metabolisme**.

Voor activering van een immunogene DC is heel veel glucose nodig (Fig. 1A). Glucose wordt verbrand in de cel om er energie uit te halen, een proces dat we **glycolyse** noemen. Glucose wordt ook gebruikt voor **vetzuursynthese**, een metabole route die zorgt voor de opbouw van vetzuren. Metabole processen die leiden tot de opbouw van voedingsstoffen noemen we **anabole processen**, en daarom wordt ook wel gezegd dat immunogene DCs een anabool metabolisme hebben. Vetzuursynthese is essentieel voor DCs om pro-inflammatoire T cellen te stimuleren.

In tegenstelling tot immunogene DCs halen tolerogene DCs hun energie niet uit glucose, maar uit vetzuren (Fig. 1B). **Vetzuurafbraak** levert meer energie op dan glycolyse, maar is een trager proces. Dit **katabole proces** (afbraak van voedingsstoffen) blijkt belangrijk te zijn voor tolerogene DCs om regulatoire T cellen te activeren.

Het verschil in functie tussen immunogene en tolerogene DCs wordt dus deels veroorzaakt door een verschil in intracellulair metabolisme en een juiste combinatie van immuun-gerelateerde en metabool-gerelateerde omgevingsfactoren is dus cruciaal om de juiste immuunrespons in gang te zetten.



Figuur 1: AMPK signalering in dendritische cellen: onderzoeksvragen. (A) Immunogene DCs promoten de ontwikkeling van naïeve T cellen tot pro-inflammatoire T cellen. Hiervoor verbranden DCs veel glucose en hebben ze een anabool metabolisme nodig, gekenmerkt door vetzuursynthese. **(B)** Tolerogene DCs promoten de ontwikkeling van regulatoire T cellen uit naïeve T cellen. Katabole processen zoals vetzuurafbraak zijn hiervoor belangrijk. **(C)** Onderzoek heeft aangetoond dat actief AMPK de activering van immunogene DCs remt. **(D+E)** Dit zijn de belangrijkste onderzoeksvragen uit dit proefschrift.

→ promotie —| remming - - → hypothese

Metabole sensor AMPK verbindt de metabole omgeving met intracellulair metabolisme

Intracellulair metabolisme hangt dus nauw samen met de metabole condities buiten de cel. Dit wordt gereguleerd door enzymen in een cel die de hoeveelheid voedingsstoffen in de directe omgeving van de cel kunnen waarnemen, zogenoemde metabole sensors. Een belangrijke metabole sensor die actief wordt als er te weinig voeding in de omgeving is, is **AMP-activated protein kinase (AMPK).** Als reactie op het energietekort remt AMPK anabole processen die energie kosten, zoals vetzuursynthese. Daarnaast stimuleert AMPK katabool metabolisme dat energie oplevert, zoals vetzuurafbraak. Door het promoten van katabool in plaats van anabool metabolisme zorgt AMPK ervoor dat een cel kan overleven in een voedingsarme omgeving.

In veel verschillende celtypen is aangetoond dat AMPK een belangrijke schakel is tussen de metabole omgeving en het intracellulaire metabolisme, maar er is nog weinig onderzoek gedaan naar de rol van AMPK in DCs. Wat wel opvalt is dat AMPK activatie metabole processen die belangrijk zijn voor tolerogene DCs (vetzuurafbraak) stimuleert en processen die belangrijk zijn voor immunogene DCs (vetzuursynthese) remt. Of AMPK ook daadwerkelijk belangrijk is voor de deze processen in DCs en daarmee ook voor de regulatie van immunogene en/of tolerogene DCs is onbekend.

Het onderzoek in dit proefschrift

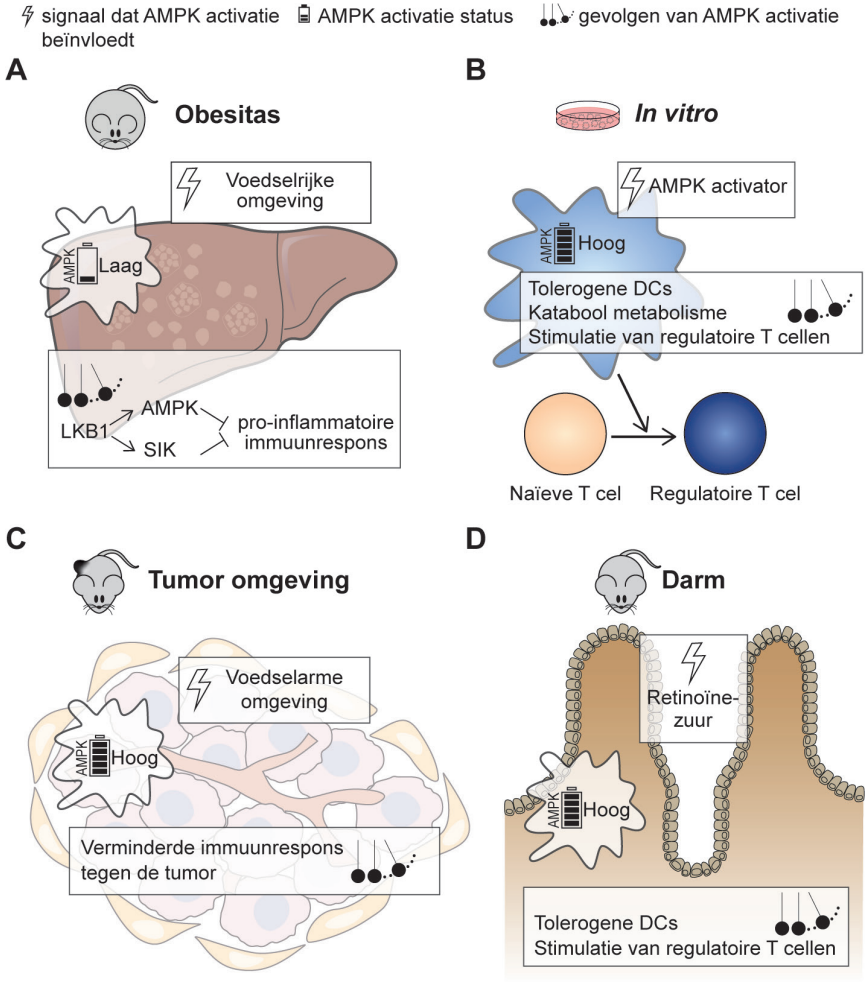
Over de rol van AMPK op DC activering is dus weinig bekend, maar gezien de invloed van metabole omgevingsfactoren en intracellulair metabolisme op DC activering is het niet onwaarschijnlijk dat AMPK hier invloed op heeft. Bovendien is wel aangetoond dat als je tijdens het stimuleren van immunogene DCs ook AMPK activeert, je de activering van immunogene DCs remt (Fig. 1C). Door AMPK activatie krijgt de DC een soort signaal dat er niet voldoende voedingstoffen aanwezig zijn en dit zorgt voor remming van immunogene DC activering. Hoe het komt dat AMPK activatie immunogene DCs remt en of deze DCs ook tolerogeen worden, en dus een ander type T cel stimuleren, is echter nog niet onderzocht. De eerste belangrijke onderzoeksvraag van dit proefschrift gaat hierover (Fig. 1D+E). Onze hypothese is namelijk dat AMPK activatie leidt tot katabool metabolisme (met name vetzuurafbraak) en dat dit ervoor kan zorgen dat AMPK activatie tolerogene DCs promoot.

Daarnaast denken wij dat AMPK een link kan vormen tussen de metabole omgeving en de DC activering. Het is namelijk zo dat in een voedselrijke omgeving, bijvoorbeeld in het vetweefsel van mensen met obesitas, immuuncellen continu actief zijn. Deze voedselrijke omgeving zorgt voor een chronische ontsteking wat type II diabetes kan veroorzaken. Een voedselarme omgeving daarentegen is geassocieerd met onderdrukking van het immuunsysteem. Dit kan bijvoorbeeld gebeuren in een tumor omgeving, waar snel delende tumorcellen alle voedingsstoffen gebruiken en er een te kort kan ontstaan voor immuuncellen. Immuuncel activatie verloopt dan niet goed met als gevolg dat de tumorcellen niet herkend en vernietigd kunnen worden. Een voedselrijke omgeving is dus geassocieerd met over-activatie van immuuncellen, waaronder DCs, en een voedselarme omgeving kan zorgen voor onderdrukking van het immuunsysteem. De tweede onderzoeksvraag van dit proefschrift gaat over de mogelijk verbindende rol van AMPK tussen de metabole omgeving en de activering van DCs (Fig. 1D+E). Zou AMPK bijvoorbeeld actief worden in de DCs die zich in de voedselarme tumor-omgeving bevinden en kan dit bijdragen aan tolerogene tumor-DCs en onderdrukking van de anti-tumor immuunrespons?

Belangrijkste resultaten

De verschillende hoofdstukken in dit proefschrift vormen samen een antwoord op deze vragen. We hebben hierbij gekeken naar de rol van AMPK signalering in immunogene DCs (hoofdstuk 4) en de rol van AMPK in tolerogene DCs (hoofdstuk 5, 6 en 7).

In **hoofdstuk 4** (Fig. 2A) kijken we naar hoe AMPK signalering immunogene DCs beïnvloedt in een muizen model voor obesitas. Hier zien we dat LKB1 (een eiwit dat AMPK activeert), door middel van AMPK en SIK activatie (SIK is een soort broertje van AMPK) het immuunsysteem onderdrukt en daarmee voor een betere glucose huishouding zorgt. In DCs in de lever van muizen met obesitas zien we dat deze LKB1-AMPK/SIK signaalroute niet goed werkt. Daardoor ontstaat er een pro-inflammatoire response die mogelijk kan leiden tot type II diabetes als gevolg van obesitas.



Figuur 2: belangrijkste resultaten van de onderzoekhoofdstukken in dit proefschrift. Grafische samenvatting van de belangrijkste resultaten uit **(A)** hoofdstuk 4 **(B)** hoofdstuk 5 **(C)** hoofdstuk 6 en **(D)** hoofdstuk 7.

In **hoofdstuk 5** (Fig. 2B) zien we hoe AMPK activatie in DCs leidt tot tolerogene DCs *in vitro* (in een kweekschaal). Deze AMPK-geactiveerde DCs stimuleren de ontwikkeling van regulatoire T cellen uit naïeve T cellen. We laten zien dat dit komt doordat AMPK katabole metabole processen in de cel stimuleert, zoals vetzuurafbraak, die cruciaal zijn voor de ontwikkeling van tolerogene DCs.

In **hoofdstuk 6** (Fig. 2C) bestuderen we DCs uit tumoren van muizen. We zien dat DCs uit de tumor-omgeving een verhoogde AMPK activatie hebben ten opzichte van DCs uit de milt. Als we tumoren laten groeien in muizen die genetisch gemanipuleerd zijn zodat AMPK afwezig is in hun DCs, zien we dat de tumoren kleiner zijn ten opzichte van de controle groep (waar wel AMPK activatie plaats vindt in tumor-infiltrerende DCs). Het lijkt er dus op dat de tumor-omgeving voor AMPK activatie in DCs zorgt en daardoor ontstaan tolerogene DCs die geen immuunrespons tegen de tumor in gang kunnen zetten. Zonder AMPK lijkt er een betere anti-tumor immuunrespons te zijn en worden tumoren minder groot. Hoe dit precies werkt moet nog verder worden uitgezocht.

In **hoofdstuk 7** (Fig. 2D) kijken we naar DCs in de darmen van muizen, net als de tumor-omgeving een anti-inflammatoire omgeving. Hier tonen we aan dat de AMPK activering hoger is in DCs die zich in de darm bevinden dan in DCs uit andere organen. Dit komt mogelijk door de aanwezigheid van retinoïnezuur, een metaboliet dat veel voorkomt in de darm en dat *in vitro* kan leiden tot tolerogene DCs, door middel van AMPK activatie. Uit onze experimenten blijkt ook dat AMPK signalering in DCs ook *in vivo* (in muizen) een belangrijke rol speelt bij de stimulatie van tolerogene DCs en de ontwikkeling van regulatoire T cellen.

Conclusie

In dit proefschrift hebben we aangetoond dat AMPK signalering leidt tot onderdrukking van immunogene DCs en ontwikkeling van tolerogene DCs. Ook laten we zien dat dit komt doordat AMPK katabool metabolisme promoot (vraag 1). Uit onze experimenten blijkt dat AMPK activatie in DCs afhankelijk is van de omgeving waar een DC zich bevindt. AMPK activatie *in vivo* vindt plaats in een anti-inflammatoire omgeving en kan leiden tot tolerogene DCs die de ontwikkeling van regulatoire T cellen stimuleren. AMPK is dus een centrale schakel die op basis van signalen uit de metabole omgeving de T cel stimulerende eigenschappen van DCs reguleert (vraag 2).

Deze kennis kan mogelijk toegepast worden bij de ontwikkeling van immuuntherapieën. Zo worden er bijvoorbeeld therapieën ontwikkeld om patiënten met een auto-immuunziekte te behandelen met in het lab gekweekte tolerogene DCs. Onze resultaten suggereren dat AMPK activatie een methode is om tolerogene DCs te produceren. Ook immunogene DCs worden gekweekt in het lab voor bijvoorbeeld de behandeling van kanker. Onze data laat zien dat het mogelijk nuttig kan zijn om AMPK te remmen in deze DCs, zodat de DCs die in een tumor-omgeving terecht komen minder gevoelig zijn voor de voedselarme omgeving.

Kortom, AMPK is een belangrijke schakel tussen de metabole omgeving en DC activering en manipulatie van deze metabole sensor kan mogelijk leiden tot nieuwe en verbeterde immuuntherapieën.