



Universiteit
Leiden
The Netherlands

How costimulation directs regulatory T cell responses

Mensink, M.

Citation

Mensink, M. (2024, October 29). *How costimulation directs regulatory T cell responses*.

Version: Publisher's Version

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

Downloaded from:

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

Nederlandse samenvatting

Het immuunsysteem beschermt het lichaam tegen infectieziekten door binnendringende micro-organismen. Verschillende celtypen zorgen gezamenlijk voor aangeboren en adaptieve immuniteit. Door onmiddellijk in actie te komen na een infectie voorkomen cellen van het aangeboren immuunsysteem de snelle verspreiding van ziekteverwekkers door het lichaam. Cellen van het adaptieve immuunsysteem reageren door klonale expansie en functionele maturatie van de cellen die de ziekteverwekkers specifiek kunnen herkennen. Deze reactie is langzamer, maar veel gericht en robuuster. Het adaptieve immuunsysteem kan reacties tegen specifieke ziekteverwekkers onthouden, wat leidt tot sterkere en snellere reacties bij herinfectie.

T-cellen spelen een sleutelrol binnen het adaptieve immuunsysteem. Elke T-cel brengt een unieke T-celreceptor (TCR) tot expressie op het celoppervlak, die wordt gebruikt voor antigeenherkenning. Antigenen zijn peptiden (eiwitfragmenten) die kunnen worden gepresenteerd op 'major histocompatibility complex' (MHC) moleculen op het celoppervlak van andere cellen. CD4⁺ en CD8⁺ T-cellen binden verschillende MHC-moleculen, en de activatie van T-cellen hangt af van herkenning van het peptide-MHC-complex. Over het algemeen brengen lichaamseigen antigenen geen T-celrespons teweeg, terwijl lichaamsvreemde antigenen dat wel doen. Lichaamsvreemde antigenen kunnen afkomstig zijn van ziekteverwekkers, maar ook van tumorcellen die gemuteerde eiwitten tot expressie brengen. Dendritische cellen (DC's) zijn professionele antigeen-presenterende cellen die een belangrijke rol spelen bij de initiële activatie van zowel CD4⁺ als CD8⁺ T-cellen. DC's nemen ziekteverwekkers en dode cellen in weefsels op en breken ze af, migreren naar lymfeklieren en presenteren antigenen aan T-cellen. Wanneer DC's geactiveerd zijn door ziekteverwekkers of gevaarsignalen brengen ze hoge niveaus van co-stimulatoire moleculen tot expressie en geven ze cytokines vrij. Dit is nodig voor optimale T-celactivatie. Vervolgens ondergaan naïeve T-cellen een snelle expansie en differentiatie tot gespecialiseerde effectorcellen. Effector CD4⁺ T-cellen werken samen met andere immuuncellen om immunoreacties te bevorderen, terwijl effector CD8⁺ T-cellen cytotoxisch worden en doelwitcellen direct kunnen elimineren.

Immuniteit gaat gepaard met immunologische tolerantie voor het lichaam zelf, en voor onschadelijke lichaamsvreemde stoffen zoals voedsel. Immunologische tolerantie kan worden onderverdeeld in twee takken: centrale en perifere tolerantie. Centrale tolerantie betreft de negatieve selectie (d.w.z. eliminatie) van auto-reactieve T-cellen tijdens hun ontwikkeling in de thymus. Perifere tolerantie zorgt ervoor dat auto-reactieve T-cellen, die aan centrale tolerantie ontsnappen, niet responsief worden in andere weefsels. DC's spelen een belangrijke rol in dit proces. Zonder van ziekteverwekkers afkomstige signalen of gevaarsignalen blijven DC's in een tolerantie-inducerende staat met lage expressie van MHC- en co-stimulatoire moleculen. Een T-celrespons tegen lichaamseigen antigenen wordt dan voorkomen, wegens een gebrek aan co-stimulatie. Verder kunnen tolerantie-inducerende DC's zorgen voor responsen van regulatoire T-cellen (Treg-cellen). Treg-cellen zijn een gespecialiseerde subgroep van CD4⁺ T-cellen

die ongewenste en overmatige immuunreacties onderdrukken. Ze zijn essentieel om auto-immuun- en ontstekingsziekten te voorkomen. Bovendien dragen Treg-cellen bij aan weefselherstel en homeostase.

Onderzoek van de afgelopen decennia heeft veel kennis opgeleverd over Treg-cellen, van hun ontdekking tot hun rol in gezondheid en ziekte. Treg-cellen kunnen in grote hoeveelheden aanwezig zijn binnen tumoren, waardoor een suppressieve micro-omgeving ontstaat die immuniteit tegen tumoren afremt. Om deze rem op te heffen is het gewenst om tumor-infiltrerende Treg-cellen te verhinderen of te elimineren. Aan de andere kant kan de functie van Treg-cellen juist worden benut voor de behandeling van auto-immuunziekten, de afstoting van transplantaten en 'graft-versus-host disease' (GvHD). Om de behandeling van bovengenoemde ziekten te verbeteren, is het nodig de signalen te begrijpen die Treg-cellen dirigeren, ook in vergelijking met conventionele T-cellen (Tconv-cellen). Zowel Treg- als Tconv-cellen worden geactiveerd door TCR-stimulatie, die hun responsen aandrijft samen met co-stimulatoire signalen en cytokines. Treg- en Tconv-cellen hebben een verschillende intracellulaire configuratie, wat waarschijnlijk samengaat met verschillende signaalfafhankelijkheden en responsen. Zoals wordt geïntroduceerd in **hoofdstuk 1**, richt dit proefschrift zich op de effecten van co-stimulatie op de responsen van humane CD4⁺ Treg- en Tconv-cellen.

In **hoofdstuk 2** worden eerst verschillende typen Treg-cellen behandeld. Thymus-afgeleide (t)Treg-cellen ontwikkelen zich in de thymus, hebben een TCR-repertoire gericht op lichaamseigen antigenen en zijn belangrijke remmers van systemische en weefsel-specifieke auto-immuniteit. Perifeer-geïnduceerde (p)Treg-cellen worden omgezet vanuit geactiveerde Tconv-cellen in aanwezigheid van specifieke factoren, zoals TGF- β , en herkennen lichaamsvreemde antigenen. pTreg-cellen zijn tot nu toe alleen op specifieke locaties in het lichaam gevonden, zoals het darmkanaal. Een gebruikelijke methode om Treg-cellen in vitro te bestuderen is het stimuleren van Tconv-cellen in aanwezigheid van TGF- β , wat leidt tot in vitro-geïnduceerde (i)Treg-cellen die Treg-celachtige eigenschappen krijgen. Momenteel zijn er geen strategieën om humane effector tTreg- en pTreg-cellen te isoleren. Het is echter wel mogelijk om naïeve tTreg-cellen te zuiveren. Daarom hebben we een fenotypische analyse uitgevoerd op tTreg-, iTreg- en Tconv-cellen, met behulp van gepubliceerde benchmarks die kerneigenschappen van Treg-cellen beschrijven. Door totale eiwitexpressie in kaart te brengen concluderen we dat tTreg- en iTreg-cellen zeer verschillend zijn en dat iTreg-cellen de genoemde kerneigenschappen van Treg-cellen niet tot expressie brengen, terwijl tTreg-cellen dat wel doen. Dit beperkt de betrouwbaarheid van iTreg-cellen als een in vitro model voor Treg-cellen.

Treg-cellen brengen verschillende co-stimulatoire receptoren tot expressie, waarvan we er twee tot in detail hebben bestudeerd. CD28 is een bekende co-stimulatoire receptor op T-cellen in het algemeen, terwijl TNF receptor 2 (TNFR2) met name voor Treg-cellen wordt beschouwd als een belangrijke co-stimulatoire receptor. In **hoofdstuk 3** leggen we voor dat deze co-stimuli verschillende gevolgen kunnen hebben voor de responsen van Treg-cellen. We hebben hun effecten op de identiteit van tTreg-cellen bestudeerd

en ook hoe de verkregen celpopulaties zich verhouden tot Treg-cellen die in vivo worden gevonden. Treg-cellen zijn in het hele lichaam te vinden: in het perifere bloed, lymfoïde weefsels (bijv. lymfeklieren, milt) en niet-lymfoïde weefsels (bijv. longen, spieren). Hoewel Treg-cellen betrokken zijn bij de regulatie van immuunreacties binnen lymfoïde weefsels, spelen ze een gespecialiseerdere rol bij immuunregulatie, weefselherstel en homeostase binnen niet-lymfoïde weefsels. We tonen aan dat TNFR2 co-stimulatie de differentiatie van bloed-afgeleide, naïeve tTreg-cellen aanstuurt richting de effector Treg-cellen die in niet-lymfoïde weefsels aanwezig zijn. Daarentegen handhaaft CD28 co-stimulatie een fenotype van Treg-cellen die in het bloed of in lymfoïde weefsels te vinden zijn. Onze bevindingen zijn belangrijk voor de ontwikkeling van Treg-celtherapieën. Huidige strategieën om Treg-celproducten te creëren maken gebruik van CD28 co-stimulatie, maar ons onderzoek laat zien dat TNFR2 co-stimulatie niet-lymfoïde weefselspecifieke eigenschappen aan tTreg-cellen geeft die geschikter kunnen zijn bij het behandelen van weefselspecifieke auto-immun- en ontstekingsziekten.

T-celresponsen worden bepaald door de wisselwerking tussen signalering van immuunreceptoren met de beschikbaarheid van nutriënten in de micro-omgeving en het celmetabolisme. Het begrijpen van verschillende afhankelijkheden van metabole programma's kan kwetsbaarheden in Treg- versus Tconv-cellen onthullen die voor therapeutische doeleinden kunnen worden benut. Tconv-cellen drijven na TCR/CD28-activatie het metabole pad glycolyse aan, dat extracellulaire glucose omzet in bouwstenen voor snelle proliferatie en differentiatie in effectorcellen. Van geactiveerde Treg-cellen werd gedacht dat glycolyse door deze cellen niet gewenst is, maar in **hoofdstuk 4** tonen wij aan dat tTreg-cellen wel glycolytisch worden na TNFR2 co-stimulatie. Daarmee identificeren we TNFR2 als metabole regulator. De toename in glycolytische activiteit is belangrijk voor de identiteit en suppressieve functie van tTreg-cellen. Verder beschrijven we adaptaties in glucosemetabolisme, omdat tTreg-cellen minder lactaat, het eindproduct van glycolyse, uitscheiden dan Tconv-cellen.

In **hoofdstuk 5** borduren we voort op deze bevindingen door het verband tussen glucose- of lactaatmetabolisme en lipidemetabolisme in dezelfde cellen te onderzoeken. De samenstelling van lipiden reguleert de functie, differentiatie en identiteit van cellen. We laten zien dat door TNFR2 geïnduceerde glycolyse de vetzuursynthese in tTreg-cellen voedt. Belangrijk is dat we ook beschrijven dat tTreg-cellen lactaat kunnen gebruiken als een alternatieve bron voor vetzuursynthese. We demonstreren dat tTreg-cellen afhankelijk zijn van vetzuursynthese voor hun proliferatie en suppressieve functie, terwijl Tconv-cellen minder afhankelijk zijn van vetzuursynthese om te prolifereren. Onze bevindingen verklaren dus hoe tTreg-cellen kunnen functioneren in een micro-omgeving met weinig glucose en veel lactaat, zoals aanwezig in tumoren. Ons onderzoek onthult ook een specifieke kwetsbaarheid van tTreg-cellen, die therapeutisch benut zou kunnen worden.

Steeds meer onderzoek toont aan dat TNFR2 een belangrijke receptor is voor Treg-cellen, maar TNFR2 komt niet alleen tot expressie op Treg-cellen. Tconv-cellen brengen TNFR2 bijvoorbeeld ook tot expressie, zij het in mindere mate. In **hoofdstuk 6**

bespreken we de literatuur over de rol van TNFR2 op deze celtypen. Daarnaast presenteren we nieuwe data die laten zien dat TNFR2 co-stimulatie een veel grotere impact op genexpressie heeft in tTreg-cellen. Echter laten we ook zien dat TNFR2 co-stimulatie in zowel tTreg- als Tconv-cellen voor een toename in glutaminemetabolisme zorgt, dat proliferatie en differentiatie kan ondersteunen. We opperen dat therapeutische strategieën gericht op TNFR2 rekening dienen te houden met de mogelijke gevolgen voor andere celtypen dan Treg-cellen.

Discussiepunten in **hoofdstuk 7** zijn onder andere wanneer en waar in het lichaam TNFR2 een rol speelt in de biologie van Treg-cellen, hoe TNFR2 de differentiatie van Treg-cellen kan beïnvloeden, en hoe TNFR2 voor metabole flexibiliteit kan zorgen binnen uitdagende micro-omgevingen. Mogelijke rollen van andere co-stimulatoire receptoren worden ook besproken. Tenslotte worden de klinische implicaties van ons werk voor Treg-celtherapie en therapieën met geneesmiddelen bediscussieerd. Treg-celproducten worden momenteel gemaakt met CD28 co-stimulatie, maar onze bevindingen laten zien dat TNFR2 co-stimulatie meer een equivalent creëert van effector Treg-cellen in niet-lymfoïde weefsels, wat optimaal kan zijn voor celtherapie. Veel auto-immuunziekten worden op dit moment behandeld met TNF-remmers om de pro-inflammatoire effecten van TNF receptor 1 (TNFR1) te verminderen. Deze geneesmiddelen hebben echter beperkingen, omdat ze ook signalering via TNFR2 en daarmee de responsen van Treg-cellen blokkeren. De potentie van selectievere benaderingen om TNF-signalering op ligand- of receptorniveau te beïnvloeden wordt besproken, waaronder TNFR2-agonisme om auto-immuun- en ontstekingsziekten te bestrijden, maar ook TNFR2-antagonisme om immuniteit tegen tumoren te verbeteren.