



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Not just a protein machine: how ribosomes regulate immune response

Dopler-Zandavalle, A.

Citation

Dopler-Zandavalle, A. (2025, November 27). *Not just a protein machine: how ribosomes regulate immune response*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4283881>

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/1887/4283881>

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

Nederlandse samenvatting

Ribosoomspecialisatie is een opkomend onderzoeksgebied, we beginnen langzaam het effect ervan op fundamentele biologische processen te begrijpen. Lange tijd werd aangenomen dat ribosomen passieve machines zijn die mRNA vertalen, maar recente literatuur heeft duidelijk aangetoond dat dit niet het geval is. We weten nu dat ribosomen dynamische moleculen zijn met complexe functies, en we krijgen steeds meer inzicht in hun rol bij kanker. De functies zijn uiterst divers en reguleren processen zoals oncogene signaalroutes, stressrespons en metastase.

Hoofdstuk 2 van dit proefschrift gaat dieper in op de verschillende vormen van ribosoomspecialisatie en geeft een gedetailleerd overzicht van de specifieke ribosomale eiwitten die bij elk proces betrokken zijn. Dit hoofdstuk introduceert de lezer in het complexe veld van ribosoomspecialisatie bij kanker en biedt een basis voor de daaropvolgende experimentele hoofdstukken van dit proefschrift. Ook wordt belicht welke technische uitdagingen zich in dit onderzoeksproces voordoen en hoe deze de gegenereerde data kunnen beïnvloeden.

De afgelopen jaren is gesuggereerd dat ribosoomspecialisatie een rol speelt in de immuunrespons tegen tumoren, een van de meest bestudeerde processen in de biologie. Dit is waar mijn proefschrift in beeld komt. Omdat immuun responsen zo uitgebreid onderzocht zijn, is het idee dat ribosomen een actieve rol spelen in dit proces bijzonder interessant. In de literatuur werd dit voor het eerst aangetoond door Wei et al. in 2019, waarbij werd gesuggereerd dat een gespecialiseerd "immunoribosoom" selectief antigene peptiden genereert voor immuun surveillance. Om de rol van ribosomen in immuunrespons volledig te begrijpen, is het essentieel om te weten hoe dit proces werkt. CD8⁺ T-cellen herkennen tumorcellen doorgaans via antigenen die worden gepresenteerd op HLA I-moleculen. Deze antigenen zijn de eindproducten van het antigeenverwerkings- en presentatieproces (APP), een complex mechanisme met vele goed gedefinieerde stappen. Tumorcellen hebben echter manieren ontwikkeld om delen van het APP te manipuleren en zo aan immuun detectie te ontsnappen, bijvoorbeeld door HLA I expressie te verlagen of door het gepresenteerde peptideprofiel te veranderen. Hoewel het APP uit meerdere goed beschreven stappen bestaat, vereist een effectieve immuunrespons allereerst de translatie van antigene eiwitten en APP-componenten door het ribosoom. Deze initiële maar cruciale stap wordt vaak over het hoofd gezien, en juist hier spelen gespecialiseerde ribosomen een rol. De cytotoxische capaciteit van CD8⁺ T-cellen komt voort uit hun vermogen om cytokinen uit te scheiden,

waaronder de pro-inflammatoire IFN γ en TNF α . Blootstelling van tumorcellen aan pro-inflammatoire cytokinen leidt tot grote veranderingen, waaronder een versterkte verwerking en presentatie van antigenen. Dit zet tumorcellen in een waakzame toestand, waardoor ze beter zichtbaar worden voor CD8⁺ T-cellen en effectiever worden vernietigd. Daarentegen remt blootstelling aan anti-inflammatoire cytokinen zoals TGF β de functie van CD8⁺ T-cellen. De balans tussen pro- en anti-inflammatoire signalen is daarom cruciaal om een evenwicht te behouden tussen immuun activatie en -remming. In kanker is deze balans echter vaak verstoord, wat resulteert in een onderdrukte immuun functie en tumorontsnapping.

Ondanks de grote impact van cytokinen op tumorgedrag, begrijpen we nog steeds niet volledig hoe ze werken. Momenteel is er weinig bewijs over het effect van cytokinen op het ribosoom en hoe dit de tumorrespons beïnvloedt. Veel componenten in het proces van translatie worden selectief gereguleerd, en gezien de complexiteit van het ribosoom hebben we de hypothese opgesteld dat ook het ribosoom op vergelijkbare wijze gereguleerd zou kunnen worden. Het onderzoek in dit proefschrift richt zich op fundamentele vragen. Wat is het effect van blootstelling aan cytokinen op de ribosoomsamenstelling? Welke ribosomale eiwitten worden gewijzigd door cytokineblootstelling? Hoe beïnvloeden veranderingen in ribosomale eiwitten de translatie binnen het APP? Wat is het effect van veranderingen in ribosomale eiwitten op de peptiden die gegenereerd en gepresenteerd worden op het celoppervlak? En als er een effect is, hoe beïnvloedt dit dan de tumorzichtbaarheid en herkenning door CD8⁺ T-cellen? Deze vragen lijken misschien eenvoudig, maar vanwege de technische complexiteit van ribosoomonderzoek en de beperkte kennis op dit gebied waren ze niet gemakkelijk te beantwoorden.

De **hoofdstukken 3-5** illustreren duidelijk de uiteenlopende rollen die ribosomale eiwitten spelen in de immuunrespons en hoe ze mechanistisch functioneren. In **hoofdstuk 3** hebben we zes ribosomale eiwitten (uS15, eL6, eL28, eS28, P1 en uL14) gedepleteerd en ontdekten we dat depletie van P1 en uL14 een significant verschil had op MART-1 en NY-ESO CD8⁺ T-celherkenning van melanoomcellen.

In **hoofdstuk 4** ontdekten we dat blootstelling aan pro-inflammatoire cytokinen, waaronder IFN γ /TNF α , IFN α /IFN β , IL-1 β , IL-6 en IL-17A, de vorming van P-stalk-bevattende ribosomen (PSR's) bevordert in zowel melanoomcellijnen als cellijnen van andere oorsprong. Verlies van de PSR leidt tot een significante downregulatie van het APP en een verminderde CD8⁺ T-celherkenning en -doding van tumorcellen. Daarentegen remmen anti-inflammatoire cytokinen zoals TGF β de PSR, wat resulteert in een downregulatie van het APP, wat gedeeltelijk gemedieerd is door P-stalk-fosforylering. We konden onze bevindingen ook reproduceren in

zowel muizen als menselijke primaire antigeen presenterende cellen, waaronder macrofagen en dendritische cellen. Daarnaast ontdekten we dat de PSR bij voorkeur mRNA vertaalt dat belangrijk is voor immuun surveillance, waaronder HLA. Bovendien toonde een analyse van de TCGA-database aan dat hoge P1/P2-niveaus positief correleren met een IFN γ -patroon en een effector-CD8⁺ T-celprofiel in melanoom en de meerderheid van de geanalyseerde kankertypen (24 van 36), wat de klinische relevantie van onze bevindingen verder benadrukt.

In **hoofdstuk 5** lieten we zien dat knockdown van uL14 eveneens leidt tot een afname van CD8⁺ T-celherkenning en -doding van tumorcellen. We ontdekten dat uL14 verschillende aspecten van het APP reguleert, waaronder de downregulatie van APP-componenten en de opregulatie van eiwitten die betrokken zijn bij antigeenverwerking. Onze data suggereren dat verlies van uL14 het peptideprofiel dat op het tumorceloppervlak wordt gepresenteerd aanzienlijk verandert, waardoor peptiden met andere kenmerken worden gegenereerd. We stellen de hypothese dat deze veranderingen ten minste gedeeltelijk de waargenomen afname van de CD8⁺ T-celrespons op tumoren kunnen verklaren. In tegenstelling tot de P-stalk verandert de ribosoomassociatie van uL14 niet na blootstelling aan cytokinen, wat suggereert dat uL14 geen onderdeel is van een algemene cytokinerespons.

Gezamenlijk benadrukken de gegevens in dit proefschrift dat veranderingen in het ribosoom meerdere (verschillende) aspecten van het APP reguleren via afzonderlijke mechanismen, afhankelijk van de specifieke verandering.

Tot slot bespreek ik in **hoofdstuk 6** kritisch het belang en de beperkingen van mijn bevindingen. Ik analyseer mijn resultaten in de context van ribosoomspecialisatie en eerder gepubliceerde literatuur, en stel verdere experimentele benaderingen voor om dieper in te gaan op de rol van ribosomale eiwitten in de immuunrespons.