



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Metabolism and lipid mediators as regulators of innate immune cell function: implications for inflammation and immune responses

Almeida, L.

Citation

Almeida, L. (2026, June 23). *Metabolism and lipid mediators as regulators of innate immune cell function: implications for inflammation and immune responses*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4306933>

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/1887/4306933>

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

Nederlandse Samenvatting

Achtergrond

Het immuunsysteem vormt de belangrijkste verdedigingslinie tegen de miljoenen potentiële pathogenen en andere gevaren, zoals kankercellen en allergenen, waaraan mensen dagelijks worden blootgesteld. Dit systeem is een complex en verfijnd netwerk van vele verschillende moleculen, cellen, weefsels en organen, die allemaal gelijktijdig functioneren binnen een strikt gereguleerd geheel, zij het met verschillende functies en werkingsmechanismen.

Het immuunsysteem kan worden onderverdeeld in twee hoofdonderdelen – het aangeboren immuunsysteem en het adaptieve immuunsysteem. Het aangeboren immuunsysteem werkt op een snelle en brede manier, met een algemene specificiteit, en wordt geactiveerd door generiek geconserveerde moleculaire patronen, zoals PAMP's (pathogeen-geassocieerde moleculaire patronen), die aanwezig zijn in pathogenen/micro-organismen, en DAMP's (schade-geassocieerde moleculaire patronen), die vrijkomen uit onze eigen cellen wanneer deze beschadigd en/of aangevallen zijn. Het adaptieve immuunsysteem daarentegen, hoewel trager in werking, is zeer precies en efficiënt, doordat het een specifiek antigeen herkent en zich daardoor kan richten op een individueel type pathogeen of molecuul.

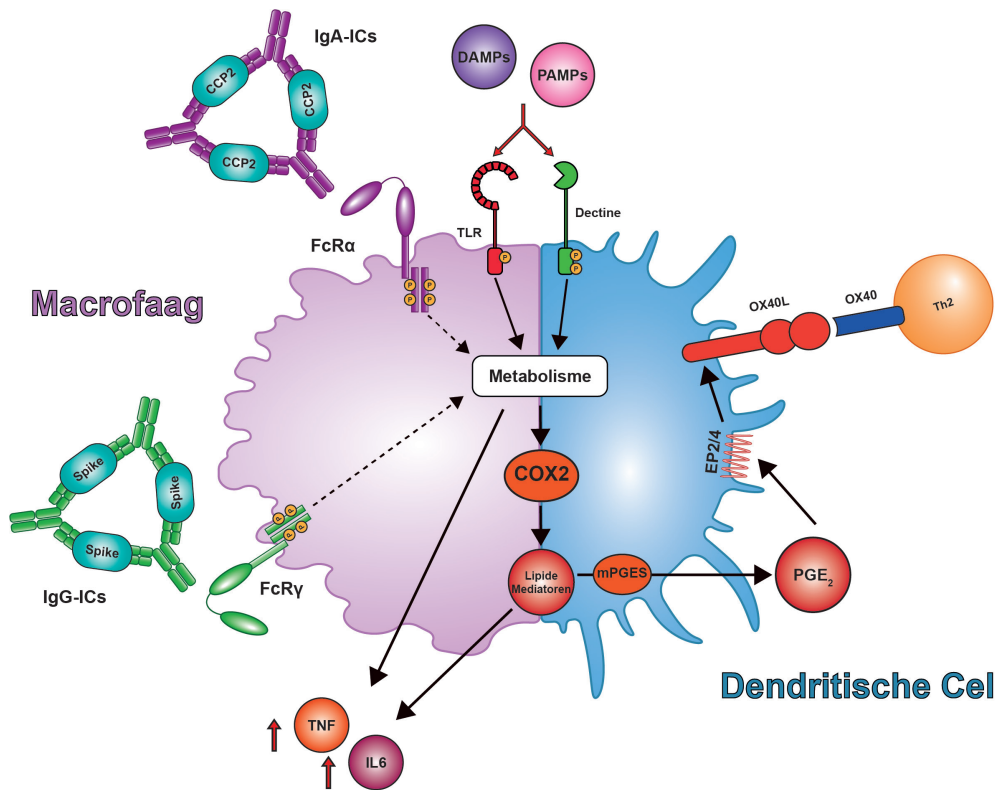
Zonder de initiële input van het aangeboren immuunsysteem kan het adaptieve immuunsysteem echter niet worden geactiveerd. Dit maakt het aangeboren immuunsysteem een sleutelcomponent in de algehele immunrespons. Daarom is het bestuderen van de werkingsmechanismen die de functie van aangeboren immuuncellen reguleren een essentieel om te begrijpen hoe het immuunsysteem in ons voordeel kan worden gemanipuleerd. Het versterken zou de immunrespons tegen infecties kunnen verbeteren, de effectiviteit van vaccins te verhogen, de antitumorale respons te bevorderen. Vice versa, het remmen zou kunnen helpen bij het voorkomen van bepaalde inflammatoire reacties (bijv. ernstige COVID-19), of op auto-immuunziekten (bijv. reumatoïde artritis), die worden gekenmerkt door chronische ontstekingsreacties tegen lichaamseigen antigenen (ook wel zelfantigenen genoemd). Dit ontstaat doordat immuuncellen het eigen lichaam beginnen aan te vallen als gevolg van verlies van immuuntolerantie – in eenvoudige termen: immuuncellen gaan het eigen lichaam zien als een bedreiging die geëlimineerd moet worden.

Belangrijke cellen van het aangeboren immuunsysteem zijn twee type myeloïde cellen: macrofagen en dendritische cellen (DC's), (Fig. 1). Macrofagen zijn immuuncellen aanwezig in weefsels en verantwoordelijk voor het handhaven van de homeostase van deze weefsels. In reactie op inflammatoire signalen kunnen zij pro-inflammatoire



functies aannemen, gekenmerkt door de synthese van pro-inflammatoire cytokinen (bijv. TNF en IL-6). Enkele voorbeelden van klassieke inflammatoire signalen in macrofagen zijn:

- stimulatie van toll-like receptoren (TLR's) door PAMP's en DAMP's, die verschillende inflammatoire signaalroutes activeren, afhankelijk van welke TLR wordt gestimuleerd;
- binding van het Fc-gedeelte van antilichamen (vaak aangeduid als de "staart" van het Y-vormige antilichaam (Fig. 1)) aan Fc-receptoren (FcR) die aanwezig zijn op macrofagen;



Figuur 1: **Metabolisme en lipidemediatoren spelen een centrale rol in de functie van aangeboren immuuncellen.** Extrinsieke stimuli induceren metabole veranderingen in zowel macrofagen als dendritische cellen via patroonherkende receptoren (PRR's; zoals TLR's en Dectine) en/of via Fc-receptoren (FcR's). Deze metabole veranderingen reguleren de cellulair immunerespons, onder andere via de synthese van COX-2-afhankelijke lipidemediatoren en pro-inflammatoire cytokinen.

Deze twee stimuli kunnen synergetisch werken en het inflammatoire fenotype van macrofagen versterken, waardoor een sterkere en robuustere respons tegen een pathogeen wordt gegenereerd, in gevallen waarin het Fc-gedeelte van het antilichaam

een activerende Fc-receptor bindt.

Tegenwoordig is bekend dat macrofaagdifferentiatie en -activatie een zeer plastisch proces is dat zich op een spectrum bevindt. twee uitersten op dat spectrum zijn sterk pro-inflammatoire macrofagen, doorgaans aangeduid als “M1-achtig”, aan de een kant, en anti-inflammatoire macrofagen/macrofagen die de resolutie van het inflammatoire proces bevorderen (d.w.z. pro-resolverende macrofagen), doorgaans aangeduid als “M2-achtig”, aan de ander kant Over het algemeen zijn M1-achtige macrofagen belast met het patrouilleren en elimineren van mogelijke pathogenen via een proces dat fagocytose wordt genoemd en door de productie van pro-inflammatoire cytokinen, terwijl M2-achtige macrofagen wondgenezing bevorderen door de productie van anti-inflammatoire cytokinen, weefselregeneratie en door het opnemen van dode cellen of cellen die celdood ondergaan (d.w.z. apoptose) via een proces dat efferocytose wordt genoemd.

De belangrijkste functie van DC's het induceren en sturen van de differentiatie en activatie van het adaptieve immuunsysteem, met name via de presentatie van antigenen aan T-cellen. Zodra DC's een antigeen tegenkomen, hetzij afkomstig van een externe indringer zoals een pathogeen, hetzij van een interne bron (bijv. een zelfantigeen of een kankercel), ondergaan zij specifieke veranderingen in activatie en worden zij ofwel immunogeen ofwel tolerogeen. Immunogene DC's zullen de differentiatie en activatie van cytotoxische CD8+ T-cellen en/of CD4+ T-helpercellen induceren, zoals Th1-, Th2- of Th17-cellen, elk met specifieke functies die zijn afgestemd op het bestrijden van specifieke pathogenen en immuunuitdagingen. Tolerogene DC's daarentegen zullen de differentiatie en activatie van Treg-cellen induceren, die functioneren als ingebouwde immunologische rem die immuunresponsen tegen een bepaald antigeen beperken, hetzij een zelfantigeen om auto-immuunziekten te voorkomen, hetzij een vreemd maar onschadelijk antigeen zoals die in voedsel voorkomt.

In een indrukwekkend staaltje van cellulaire coördinatie migreren de nieuw geactiveerde T-cellen naar de specifieke plaats waar het gepresenteerde antigeen zich bevindt, en sturen zij de immuunrespons door cytokinen te produceren die niet alleen inwerken op het aangeboren immuunsysteem, zoals de macrofagen die reeds op de betreffende locatie aanwezig zijn, maar ook -in het geval van Th1-, Th2- en Th17-cellen - signalen afgeven om verdere migratie van aanvullende aangeboren immuuncellen te bevorderen om de specifieke dreiging te bestrijden, , of juist om de inflammatoire immuunrespons te beëindigen en tolerantie te bevorderen, in het geval van Treg-cellen.

Daarnaast kunnen DC's ook Tfh-cellen (T folliculaire helpercellen) activeren, die nauw betrokken zijn bij het initiëren en vormgeven van responsen van de *andere*



tak van het adaptieve immuunsysteem – de B-cellen. Na deze “activatietriniteit” tussen B-cellen, DC’s en Tfh-cellen migreren B-cellen naar de specifieke plaats waar het door DC’s gepresenteerde antigeen vandaan kwam, waar zij vervolgens antilichamen produceren en uitscheiden. Deze antilichamen, meestal in de vorm van immunoglobuline G (IgG) of immunoglobuline A (IgA), zijn in staat het antigeen te herkennen en er direct aan te binden, waarbij immuuncomplexen worden gevormd. Hierbij binden de *twee kleine armpjes* van het Y-vormige antilichaam het antigeen, terwijl de “*staart*”, d.w.z. het Fc-gedeelte, uitsteekt (Fig. 1). Deze immuuncomplexen kunnen vervolgens worden herkend door macrofagen via Fc-receptoren, die het Fc-gedeelte binden, en zo bijdragen aan verdere pro-inflammatoire activatie van deze macrofagen. Deze mechanismen positioneren DC’s als het eerste doelwit binnen een strategie van immuunmodulatie, aangezien zij de activatiestatus van T-cellen en B-cellen bepalen, terwijl macrofagen als het laatste doelwit worden beschouwd, aangezien zij de uiteindelijke uitvoerders zijn in deze aangeboren-adaptieve-aangeboren immunologische keten.

Een van de meer recente onderzoeksgebieden binnen de immunologie dat tracht te begrijpen hoe immuunresponsen gemoduleerd kunnen worden, is immuunmetabolisme. Dit veld is ontstaan uit de ontdekking dat immuuncellen, afhankelijk van de functie die zij vervullen, specifieke metabole herprogrammering ondergaan, waarbij bepaalde metabole routes worden bevoordeeld boven andere, niet alleen om in hun energiebehoefte te voorzien, maar ook voor de synthese van cruciale metabolieten die worden gebruikt tijdens hun activatie- en differentiatiestadia. Zo is beschreven dat pro-inflammatoire macrofagen en immunogene DC’s *over het algemeen* afhankelijk zijn van glycolyse en vetzuursynthese, terwijl pro-resolverende macrofagen en tolerogene DC’s juist afhankelijk zijn van vetzuuroxidatie (FAO) en oxidatieve fosforylering (OXPHOS). Met deze kennis ontstond ook de hypothese dat, door het metabolisme van macrofagen en DC’s te moduleren, men hun activatiestatus zou kunnen sturen. Bijvoorbeeld door stofwisseling belangrijk voor het ondersteunen van pro-inflammatoire/immunogene fenotypes te remmen of metabole routes die bijdragen aan pro-resolverende/tolerogene fenotypes te stimuleren, zou de cel kunnen omschakelen van een pro-inflammatoire naar een anti-inflammatoire toestand en vice versa.

Een veel bestudeerde stofwisselingsroute binnen het immuunmetabolisme veld is het lipidenmetabolisme. Hoewel lipiden lange tijd werden beschouwd als moleculen voor energieopslag en als bouwstenen voor celmembranen, is inmiddels duidelijk dat hun rol veel breder is. Lipidenmetabolisme speelt een centrale rol in de synthese van metabolieten die door immuuncellen worden gebruikt voor hun specifieke functies. Zo kan vetzuursynthese leiden tot de vorming van lipidedruppels (kleine, ronde aggregaten van lipidemoleculen binnen de cel, vergelijkbaar met de oliedruppels

die zichtbaar zijn op het oppervlak van soepen en stoofgerechten) in macrofagen en DC's, waarvan is aangetoond dat zij betrokken zijn bij immuunfuncties zoals cytokineproductie, fagocytose en antigeenpresentatie. Daarentegen is aangetoond dat FAO belangrijk is omdat acetyl-CoA, afkomstig van vetzuuroxidatie, kan worden gebruikt voor histonacetylering, een mechanisme waarmee de cel reguleert welke genen tot expressie komen en/of worden onderdrukt.

Daarnaast omvat het lipidenmetabolisme ook de synthese van lipidemediatoren. Lipidemediatoren vormen een groep moleculen die een zeer belangrijke rol spelen in cellulaire communicatie. Deze moleculen ontstaan uit de oxidatie van vetzuren en functioneren als chemische boodschappers. Deze mediators kunnen inwerken op de cel zelf (autocriene signalering), op nabijgelegen cellen (paracriene signalering) of op cellen op grotere afstand (endocriene signalering). Deze mediators behoren tot de belangrijkste communicatiemiddelen tussen immuuncellen en zijn in staat signaalroutes te induceren in macrofagen en DC's die ofwel de synthese van pro-inflammatoire cytokinen en T-celpriming bevorderen, dan wel ontsteking dempen door weefselregeneratie en immuuntolerantie te stimuleren. Het ontrafelen van de mechanismen die leiden tot de synthese van deze lipidemediatoren en de wijze waarop zij inwerken op immuuncellen zelf, is daarom cruciaal om inzicht te krijgen in potentiële therapeutische aangrijpingspunten vanuit een immuunmetabool perspectief.

Desondanks blijft er nog veel onbekend. Zoals hierboven vermeld, neigen pro-inflammatoire macrofagen en immunogene DC's *in het algemeen* naar glycolyse en vetzuursynthese, terwijl anti-inflammatoire macrofagen en tolerogene DC's eerder oxidatieve fosforylering en vetzuuroxidatie prefereren. Sommige studies suggereren echter dat deze immuunmetabole dichotomie niet altijd opgaat, wat aangeeft dat de metabole herprogrammering die macrofagen en DC's ondergaan bij activatie afhankelijk is van een breed scala aan factoren, zoals celtype, weefsellocatie, activatiestimulus en zelfs tijdsverloop. Daarom is het essentieel om het cellulaire immunometabole profiel in elke specifieke context te bestuderen.

Dit geldt eveneens voor de rol van lipidemediatoren. Zo kan één en dezelfde lipidemediator (bijv. prostaglandine E2) in bepaalde contexten een pro-inflammatoire respons in macrofagen induceren of een Th1-primingrespons in DC's stimuleren, terwijl deze in andere situaties juist een anti-inflammatoire respons kan induceren en/of een Th2-respons kan bevorderen.

Daarom had deze thesis, gezien de noodzaak om de metabole vereisten van macrofagen en DC's in specifieke situaties te onderzoeken, tot doel te bestuderen hoe metabolisme en lipidemediatoren de functie van immuuncellen vormgeven en reguleren in verschillende inflammatoire en cellulaire contexten

Opzet van de Hoofdstukken van de Thesis:

Hoofdstuk 2 vormt een meer diepgaande theoretische introductie tot deze thesis. Hierin wordt achtergrondinformatie gegeven over het veld van immuunmetabolisme in de context van aangeboren immuniteit, met specifieke aandacht voor vetzuurmetabolisme in DC's en macrofagen, en de nauwe verwevenheid tussen metabole profielen en immuunfuncties. We hebben het beschikbare bewijs besproken dat het belang aantoont van vetzuren (bijv. meervoudig onverzadigde vetzuren) en lipidemediatoren (bijv. prostaglandinen) in het beïnvloeden van de functie en het metabolisme van macrofagen en DC's. Tevens hebben we de veelzijdige rol van vetzuurmetabolisme in zowel het bevorderen als remmen van ontsteking onderzocht, en geconcludeerd dat dit de noodzaak onderstreept om elke specifieke context afzonderlijk te bestuderen om een volledig beeld te krijgen van de metabole behoeften van immuuncellen en om immuunresponsen effectief te kunnen moduleren via metabole interventies.

In **hoofdstuk 3** hebben wij de rol van SARS-CoV-2 anti-spike IgG (Fig. 1) onderzocht in het bevorderen van een hyperinflammatoire toestand in macrofagen. IgG bereikt dit door specifieke metabole veranderingen te induceren die deze macrofagen voorbereiden op overmatige expressie van pro-inflammatoire cytokinen. Door deze metabole routes te remmen, kunnen we de IgG-geïnduceerde hyperinflammatie te voorkomen. Op vergelijkbare wijze hebben wij in **hoofdstuk 4** de rol onderzocht van IgA tegen CCP2 (gecitrullineerde peptiden die veelvoorkomende zelfantigenen in de gewrichten zijn (Fig. 1)) in het bevorderen van chronische ontsteking bij reumatoïde artritis. IgA induceert een hyperinflammatoire toestand in macrofagen die afhankelijk is van zowel specifieke metabole veranderingen als de synthese van lipidemediatoren stroomafwaarts van cyclo-oxygenase-2, waarmee potentiële aangrijpingspunten worden geïdentificeerd voor de behandeling van deze door auto-antilichamen aangedreven chronische ontstekingsziekten.

In **hoofdstuk 5** beschrijf ik hoe DC's oplosbare ei-antigenen (SEA) van de parasitaire worm *Schistosoma mansoni* herkennen via Dectine-2 (een receptor op het celoppervlak van DC's), hoe zij worden geprogrammeerd om de differentiatie van Th2-cellen te induceren, en hoe de synthese van lipidemediatoren in DC's chemisch kan worden gemoduleerd om hun immuunfunctie in deze context te sturen. Eerder is aangetoond dat SEA via Dectine-2 op DC's signaleert om de synthese van PGE₂ (een type lipidemediator, behorend tot de prostaglandinen, stroomafwaarts van het enzym cyclo-oxygenase-2) te induceren. Dit PGE₂ werkt autocrien op DC's en bevordert de expressie van OX40L, een molecuul dat DC's in staat stelt een Th2-respons te initiëren.

We hebben dit werk verder uitgebreid door aan te tonen dat Dectine-2 direct bindt aan

SEA op een wijze die afhankelijk is van de aanwezigheid van hoog-mannoseglycanen (moleculen opgebouwd uit meerdere mannosesuikerresiduen die onderling verbonden zijn). In afwezigheid van deze glycanen was de binding van Dectine-2 verminderd, evenals de daaropvolgende synthese van PGE₂, de expressie van OX40L en het vermogen om Th2-cellen te primen. Bovendien hebben we aangetoond dat, bij stimulatie van DC's met SEA, chemische remming van de synthese van PGE₂ eveneens leidde tot een verminderde expressie van OX40L en een afgenomen capaciteit om Th2-cellen te primen. Samengevat hebben we nieuwe inzichten verkregen in de wijze waarop *Schistosoma mansoni* DC's conditioneert om een Th2-respons te induceren, en hebben we potentiële moleculaire doelwitten geïdentificeerd voor het reguleren van door wormen geïnduceerde Th2-immunresponsen.

In **hoofdstuk 6** geef ik een uitgebreide discussie waarin de nieuwe bevindingen van deze thesis worden uiteengezet en ga ik in op toekomstige onderzoeksrichtingen om de complexiteit van immuunmetabolisme in inflammatoire contexten verder te ontrafelen, evenals de mogelijke maatschappelijke en klinische toepassingen van deze kennis. Ik laat zien hoe lipidenmetabolisme nauw verweven is met de functie van macrofagen en DC's, niet alleen via metabole herprogrammering, maar ook via de synthese van lipidemediatoren die zowel autocriene als paracriene effecten uitoefenen.

Specifiek toon ik aan dat mediators stroomafwaarts van cyclo-oxygenase-2 een centrale rol spelen in zowel type 1- als type 2-immunresponsen, waarbij DC's PGE₂ nodig hebben voor Th2-priming (type 2-respons), terwijl macrofagen andere mediators dan PGE₂ nodig hebben om een *M1-achtig* fenotype (type 1-respons) te verkrijgen. Tevens bespreek ik dat metabole herprogrammering geen binair proces is en dat de metabole vereisten per context verschillen. Dit blijkt onder meer uit het feit dat dezelfde stimulus (IgA) verschillende metabole routes vereist in verschillende celtypen om ontsteking te induceren (glycolyse in DC's versus mitochondriaal metabolisme in macrofagen), evenals uit het feit dat één celtype (macrofagen) verschillende metabole routes gebruikt afhankelijk van het type antilichaam (mitochondriaal metabolisme voor IgA versus glycolyse, pentosefosfaatroute en vetzuursynthese voor IgG).

Ten slotte formuleer ik hypothesen over toekomstige toepassingen van deze bevindingen en de mogelijke vertaling naar klinische toepassingen, bijvoorbeeld door gebruik te maken van chemische remmers en/of activatoren om specifieke metabole routes te onderdrukken of te stimuleren en zo gerichte immunresponsen te bewerkstelligen. Voorbeelden hiervan zijn het stimuleren van glycolyse en vetzuursynthese in combinatie met IgG-gebaseerde therapieën, het bevorderen van mitochondriale activiteit in combinatie met IgA-gebaseerde therapieën om een sterkere macrofaagrespons te verkrijgen, of het remmen van PGE₂ in DC's om

ongewenste type 2-responsen te onderdrukken en type 1-responsen te bevorderen. Tegelijkertijd benadruk ik dat dergelijke benaderingen contextafhankelijk zijn en niet universeel toepasbaar.

Na het bespreken van toekomstige perspectieven, waaronder de integratie van ruimtelijke lipidomics met functionele immuunassays en de relevantie van deze bevindingen voor actuele pathologieën zoals kanker, obesitas en leeftijdsgerelateerde neurologische aandoeningen, concludeer ik dat het identificeren van effectieve therapeutische doelwitten vereist dat elke pathologische context afzonderlijk wordt bestudeerd, met een cel-specifieke benadering.

Conclusie

Samenvattend draagt deze thesis bij aan het groeiende inzicht in het belang van lipidenmetabolisme en Fc-receptoren in de biologie van macrofagen en dendritische cellen, binnen de context van auto-immuniteit, chronische ontsteking, kanker, obesitas en infecties. Het bestuderen van de effecten van lipidemediatoren, FcR-signalering en het basale immunometabole fenotype van weefsel-geassocieerde myeloïde cellen, in combinatie met lipidomics-technieken, kan waardevolle inzichten opleveren in de onderliggende mechanismen van deze pathologieën, bijdragen aan het voorspellen van ziekteontwikkeling en progressie, en uiteindelijk leiden tot nieuwe therapeutische strategieën voor preventie, behandeling en genezing.