



Universiteit
Leiden

The Netherlands

How CD4+ T-cell help shapes functional and dysfunctional CD8+ T-cell differentiation

Busselaar, J.L.C.

Citation

Busselaar, J. L. C. (2026, September 1). *How CD4+ T-cell help shapes functional and dysfunctional CD8+ T-cell differentiation*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4308813>

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/1887/4308813>

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



Appendix

Nederlandse Samenvatting

Hoe CD4⁺ T-cel hulp functionele en disfunctionele CD8⁺ T-cel differentiatie vormgeeft

Ons afweersysteem, of immuunsysteem, beschermt ons tegen infecties door bacteriën, virussen en parasieten. Dit gebeurt via het onschadelijk maken en opruimen van de ziekteverwekkers zelf, maar ook door het herkennen en doden van geïnfecteerde lichaamscellen. Ook kan het immuunsysteem kankercellen herkennen en doden, omdat kankercellen er anders uitzien dan gezonde lichaamscellen.

Het afweersysteem is een complexe samenwerking van verschillende soorten immuuncellen met elk hun eigen functie. Het kan worden opgedeeld in twee armen, de zogenaamde 'aangeboren afweer' en de 'verworven afweer'. Het aangeboren afweersysteem vormt de eerste barrière tegen ziekteverwekkers en geeft een snelle, brede respons die ook leidt tot de activatie van het verworven afweersysteem. Het verworven afweersysteem komt wat later op gang maar werkt heel gericht tegen een bepaalde ziekteverwekker. Het vormt ook een zogenaamd 'geheugen' waardoor het de volgende keer diezelfde ziekteverwekker nog sneller en efficiënter kan aanvallen. Dit principe van immunologisch geheugen wordt gebruikt bij vaccinatie. Tijdens vaccinatie wordt ons immuunsysteem blootgesteld aan een kleine hoeveelheid ziekteverwekkers, zoals deeltjes van een virus, wat zorgt voor het vormen van geheugencellen. Deze geheugencellen kunnen bij een tweede blootstelling aan hetzelfde virus direct een efficiënte immuunrespons in gang zetten die je beschermt tegen infectie. Je bent dan immuun.

Twee belangrijke soorten immuuncellen van het verworven afweersysteem zijn B cellen en T cellen. B cellen maken antilichamen, dat zijn moleculen die specifiek kunnen binden aan een bepaald doelwit, zoals een ziekteverwekker. Door de binding van antilichamen kunnen ziekteverwekkers onschadelijk worden gemaakt, of beter worden gezien en opgeruimd door cellen van het immuunsysteem. In mijn proefschrift focus ik op T cellen. T cellen kunnen specifiek lichaamscellen herkennen die er anders uitzien dan normaal, bijvoorbeeld omdat ze geïnfecteerd zijn met een virus, of omdat ze zijn veranderd in tumorcellen. T cellen spelen dus ook een belangrijke rol in de immuunrespons tegen kanker.

T cellen hebben een soort antenne, genaamd de T-cel receptor, waarmee ze kleine stukjes eiwit, genaamd antigeen, kunnen herkennen. De zogenaamde vechter T cellen, of CD8⁺ T cellen, kunnen geïnfecteerde lichaamscellen of tumorcellen doden. Daarnaast heb je de helper T cellen, of CD4⁺ T cellen, die hulp kunnen bieden aan CD8⁺ T cellen of B cellen. Voor dit proefschrift heb ik onderzoek gedaan naar de rol van CD4⁺ T cel hulp aan CD8⁺ T cellen tijdens hun activatie.

Hoofdstuk 1

In dit hoofdstuk introduceer ik het onderwerp en leg ik uit hoe CD4⁺ T cel hulp tijdens CD8⁺ T cel activatie werkt.

Voordat een T cel zijn werk kan gaan doen moet hij eerst geactiveerd worden. Dit geldt zowel voor CD8⁺ als voor CD4⁺ T cellen. Ons lichaam kent een heel divers repertoire aan T cellen, die allemaal iets anders kunnen herkennen. Alleen de T cellen die specifiek een bepaald antigeen herkennen zullen worden geactiveerd wanneer dit antigeen in het lichaam aanwezig is. Dit heet een antigeen-specifieke T cel respons. T cellen die 'hun' antigeen nog nooit hebben gezien, noemen we naïeve T cellen.

Naïeve T cellen worden geactiveerd door andere immuuncellen, genaamd antigeen-presenterende cellen (APCs). Dendritische cellen (DCs), een bepaald soort APCs, kunnen in weefsel resten van dode cellen opeten. Ze verwerken de celresten, presenteren de antigenen die daarbij vrijkomen op hun oppervlakte en migreren vervolgens naar de lymfeknopen om daar de antigenen aan T cellen te laten zien. Naast het presenteren van antigenen geven de DCs ook andere activerende signalen door aan T cellen. Dit gebeurt via direct cel-cel contact (genaamd costimulatie) en via uitgescheiden moleculen (genaamd cytokines). Dit proces waarbij T cellen worden geactiveerd door DCs noemen we ook wel priming. Als een T cel geprimed is gaat hij zich vermenigvuldigen en ontwikkelt hij bepaalde eigenschappen die nodig zijn voor zijn functie. Dit ontwikkelproces heet T-cel differentiatie. Vervolgens verlaat de T cel de lymfeknoep en reist hij via het bloed naar de weefsels waar hij zijn werk kan doen.

De priming van CD8⁺ T cellen gebeurt in twee stappen. Tijdens de eerste stap wordt de CD8⁺ T cel wel geactiveerd door een DC, maar krijgt hij nog geen hulp. Bij de tweede stap kan een CD4⁺ helper T cel hulp afleveren aan een DC, specifiek aan een subtype genaamd cDC1, die deze hulp vervolgens weer door kan geven aan de CD8⁺ T cel. 'Hulp' bestaat hierbij uit meerdere activatiesignalen (costimulatie en cytokines) die worden doorgegeven tussen cellen. Eerdere onderzoeken hebben laten zien dat CD4⁺ T-cel hulp heel belangrijk is voor het vormen van goede vechter CD8⁺ T cellen tijdens virusinfecties en kanker.

Hoofdstuk 2

In dit hoofdstuk hebben we onderzocht wat de rol is van CD4⁺ T-cel hulp voor de vorming van CD8⁺ geheugencellen.

Zoals eerder genoemd kunnen cellen van het verworven afweersysteem, zoals CD8⁺ T cellen, ook geheugencellen worden. In tegenstelling tot vechtercellen die maar kort leven, blijven de geheugencellen lang in leven, ook nog nadat een infectie is afgelopen. Bij een tweede

blootstelling aan hetzelfde antigeen komen de geheugencellen extra snel in actie. Centrale geheugencellen (T_{CM}) kunnen dan heel hard gaan delen, terwijl effector geheugencellen (T_{EM}) snel hun vechtersfunctie kunnen gaan uitoefenen.

Om te onderzoeken wat de rol is van $CD4^+$ T-cel hulp voor de formatie en functie van $CD8^+$ geheugencellen hebben we gebruikgemaakt van proefdieren, muizen, die werden gevaccineerd met twee soorten vaccins. Door het ene vaccin (Help) werden zowel $CD8^+$ T cellen als $CD4^+$ T cellen geactiveerd, waardoor de $CD4^+$ T cellen de $CD8^+$ T cellen konden gaan helpen. Door het andere vaccin (No Help) werden alleen de $CD8^+$ T cellen geactiveerd, die dus niet geholpen konden worden door $CD4^+$ T cellen. We zagen dat in muizen die gevaccineerd waren met het Help vaccin de geholpen T_{CM} cellen langer in stand gehouden werden, en dat er veel meer T_{EM} cellen gevormd werden. Geholpen T_{EM} cellen leken qua profiel erg op geholpen vechtercellen. Wanneer we de muizen een tweede keer vaccineerden, hoefden de geholpen $CD8^+$ T cellen niet nog een keer $CD4^+$ T-cel hulp te ontvangen maar konden ze meteen een robuuste respons geven. Kortom, $CD8^+$ T cellen die $CD4^+$ T-cel hulp hebben ontvangen tijdens hun priming, ‘onthouden’ dit en kunnen de volgende keer hulp-onafhankelijk reageren.

Hoofdstuk 3

In dit hoofdstuk laat ik zien dat ongeholpen $CD8^+$ T cellen erg lijken op zogenaamde ‘stem-like’ cellen in chronische infectie en kanker, en stel ik voor dat dit misschien wel dezelfde cellen zijn.

In chronische infectie en kanker werken $CD8^+$ T cellen vaak niet goed. Ze delen minder, ze zien er anders uit en ze kunnen niet goed hun doelwitcellen doden. Deze disfunctionele staat wordt uitputting genoemd, of ‘exhaustion’ in het Engels. Wetenschappers dachten vroeger dat uitgeputte $CD8^+$ T cellen worden gevormd door vechtercellen die te lang aan hun doelwit waren blootgesteld. Echter, in de afgelopen jaren heeft nieuw onderzoek aangetoond dat uitgeputte cellen niet ontstaan uit vechtercellen, maar uit voorloper cellen, die in het Engels ‘stem-like’ cellen genoemd worden. In dit hoofdstuk vat ik de wetenschappelijke literatuur samen over dit onderwerp. Vervolgens onderzoek ik in hoeverre stem-like cellen uit kanker of chronische infectie lijken op ongeholpen cellen zoals wij ze zien in ons vaccinatiemodel. Dit doe ik op basis van de genexpressieprofielen van deze cellen, dat laat zien welke genen (stukjes DNA) een cel op dat moment actief gebruikt om eiwitten van te maken. Het genexpressieprofiel zegt iets over de identiteit, differentiatie staat en functie van een cel, en kan worden vergeleken tussen cellen. Door de profielen van onze ongeholpen cellen te vergelijken met die van stem-like en uitgeputte cellen, afkomstig uit gepubliceerde datasets van andere onderzoeksgroepen, kwam ik tot de conclusie dat stem-like cellen qua genexpressieprofiel erg lijken op ongeholpen cellen.

Op basis van de genexpressiedata en het literatuuronderzoek, stel ik in dit hoofdstuk een nieuwe theorie voor: De voorlopers van uitgeputte CD8⁺ T cellen in chronische infectie en kanker, de stem-like cellen dus, worden gevormd als gevolg van priming zonder CD4⁺ T-cel hulp. In dit model, wat ik het ‘ongeholpen disfunctiemodel’ noem, zijn stem-like cellen en ongeholpen cellen dus hetzelfde.

Hoofdstuk 4

In dit hoofdstuk hebben we het ‘ongeholpen disfunctiemodel’ uit Hoofdstuk 3 onderbouwd met experimenteel bewijs.

Door gebruik te maken van hetzelfde vaccinatiemodel als in Hoofdstuk 2, hebben we laten zien dat naïeve CD8⁺ T cellen na priming een heel spectrum aan differentiatiestaten kunnen vormen. Van minst tot meest ontwikkeld bestaat dit spectrum uit T_{CM} cellen, stem-like cellen, T_{EM} cellen en als laatste de vechtercellen. CD4⁺ T-cel hulp schuift dit spectrum op, in de richting van de vechtercellen. We laten zien dat in muizen die gevaccineerd worden zonder CD4⁺ T-cel hulp de CD8⁺ T cellen blijven steken in de stem-like staat. Echter, deze ongeholpen cellen kunnen zich alsnog verder ontwikkelen tot vechtercellen wanneer ze CD4⁺ T-cel hulp ontvangen.

Vervolgens hebben we gekeken naar CD8⁺ T-cel differentiatie in tumoren. In een immunogeen muismodel van darmkanker zagen we dat er wel tumor-specifieke stem-like CD8⁺ T cellen, maar geen geholpen vechtercellen werden gevormd. Zelfs als we de tumorcellen expres CD4⁺ T-cel activerende antigenen lieten maken, en de CD4⁺ T cellen ook daadwerkelijk werden geactiveerd, dan nog ontstonden de geholpen vechtercellen niet. Deze resultaten suggereren dat in tumoren CD4⁺ T-cel hulp waarschijnlijk niet goed wordt doorgegeven aan CD8⁺ T cellen door DCs. Dit zou een belangrijke verklaring kunnen zijn waarom CD8⁺ T cellen in kanker hun functie niet goed kunnen uitoefenen, en uiteindelijk uitgeput raken.

Hoofdstuk 5

In dit hoofdstuk hebben we de differentiatie van CD4⁺ T cellen onderzocht, en gevonden dat voorloper CD4⁺ T cellen zich kunnen ontwikkelen tot T helper 1 (Th1) cellen of folliculaire helper (Tfh) cellen, afhankelijk van hun interacties met andere immuuncellen.

Zoals eerder genoemd kunnen CD4⁺ T cellen hulp bieden aan CD8⁺ T cellen of aan B cellen. Dit wordt gedaan door verschillende subtypes van CD4⁺ T cellen: Th1 cellen helpen CD8⁺ T cellen bij hun differentiatie tot vechtercellen, en Tfh cellen helpen B cellen bij het maken van effectieve antilichamen. In dit hoofdstuk hebben we laten zien dat Th1 cellen en Tfh cellen afkomstig zijn uit dezelfde Th1/Tfh voorloper. Deze voorlopers worden gevormd wanneer naïeve CD4⁺ T-cellen hun eerste stap van priming hebben doorlopen. Of ze vervolgens een Th1 of een Tfh cel worden hangt

af van de tweede stap van priming: Gebeurt dit door interactie met een cDC1 dan wordt de CD4⁺ T cel een Th1 cel, maar gebeurt dit door interactie met een B cel dan wordt de CD4⁺ T cel een Tfh cel. Ook de costimulatie signalen die worden doorgegeven verschillen tussen deze scenario's.

Hoofdstuk 6

In dit hoofdstuk hebben we literatuuronderzoek gedaan naar het belang van Type I interferon (IFN-I) voor het mogelijk maken van CD4⁺ T-cel hulp aan CD8⁺ T cellen in kanker.

IFN-I is een cytokine (signaalstof) die wordt uitgescheiden door immuuncellen of andere lichaamscellen op het moment dat ze ziekteverwekkers of schade tegenkomen. Dit signaal werkt als een soort alarmbel: hier is iets aan de hand, het immuunsysteem moet in actie komen! IFN-I zorgt ervoor dat DC (tumor)antigenen beter kunnen presenteren, gaan migreren naar de lymfeknopen en costimulatie moleculen op hun oppervlakte krijgen. Hierdoor kunnen ze beter T cellen activeren.

Ook in de lymfeknoop zelf speelt IFN-I een belangrijke rol, het zorgt er namelijk voor dat T cellen en cDC1 cellen het platform kunnen vormen waarbij CD4⁺ T-cel hulp wordt doorgegeven via de cDC1 aan de CD8⁺ T cel. Kortom, IFN-I is cruciaal voor CD4⁺ T-cel hulp. Echter, in tumoren wordt er vaak maar weinig IFN-I geproduceerd. Dit zou een belangrijke onderliggende reden kunnen zijn waarom CD4⁺ T-cel hulp aan tumor-specifieke CD8⁺ T cellen niet goed op gang komt, en de CD8⁺ T cellen dus disfunctioneel worden.

Hoofdstuk 7

In dit hoofdstuk hebben we literatuuronderzoek gedaan naar de werking van PD-1 blokkade, de op dit moment meest gebruikte en succesvolste immuuntherapie in kankerpatiënten. Ook leggen we uit hoe onze theorie over CD4⁺ T-cel hulp bepaalde mechanismes achter de werking van PD-1 blokkade in kanker kan verklaren.

PD-1 is een receptor, dat wil zeggen een molecuul aan de buitenkant van de cel dat signalen door kan geven, op bepaalde T cellen en andere immuuncellen. Wanneer PD-1 bindt aan zijn bindingspartner PD-L1 wordt er een negatief signaal de cel in gestuurd wat de cel afremt in zijn functie. PD-1 is dus een remmende receptor. Door deze receptor te blokkeren valt de rem weg en zou bijvoorbeeld een CD8⁺ T cel beter zijn werk kunnen gaan doen. PD-1 zit niet op alle CD8⁺ T cellen, maar met name op uitgeputte cellen en op stem-like cellen. PD-L1 kan zitten op tumorcellen of op immuuncellen.

Vroeger werd gedacht dat PD-1 blokkerende immuuntherapie, die wordt gebruikt in kanker, werkt op uitgeputte CD8⁺ T cellen in de tumor. De uitgeputte cellen zouden daardoor hun rem verliezen en weer actief kunnen worden. Recentere studies laten echter zien dat het niet de uitgeputte cellen, maar de stem-like cellen zijn die reageren op PD-1 blokkade. Volgens ons 'ongeholpen disfunctiemodel' zijn stem-like cellen gelijk aan ongeholpen cellen, en dit betekent dat juist ongeholpen CD8⁺ T cellen baat hebben bij PD-1 blokkerende therapie. In dit hoofdstuk stellen we voor dat PD-1 blokkade de signalen van CD4⁺ T-cel hulp deels kan nabootsen. Echter, sinds de publicatie van dit werk in 2021 zijn er weer nieuwe inzichten bijgekomen die erop wijzen dat PD-1 blokkade niet alleen CD4⁺ T-cel hulp zou kunnen nabootsen, maar ook de CD4⁺ T-cellen zelf zou kunnen activeren waardoor deze hulp kunnen bieden aan de CD8⁺ T cellen.

Hoofdstuk 8

In dit hoofdstuk plaats ik de bevindingen en concepten uit dit proefschrift in de bredere context van de bestaande wetenschappelijke literatuur.

Ik ga dieper in op het 'ongeholpen disfunctiemodel' en benoem waar deze theorie aansluit, en waar hij juist botst met bevindingen van andere onderzoekers. Ik ga in op welke vragen er nu beantwoord zijn, en welke nog open liggen. Ook beschrijf ik de klinische relevantie van mijn werk: Wat betekent dit voor de behandeling van kankerpatiënten met immuuntherapie?

Samenvattend, in dit proefschrift stel ik een nieuwe theorie voor over CD8⁺ T-cel differentiatie, en onderbouw ik deze theorie met experimenteel bewijs. Ik laat zien dat CD4⁺ T-cel hulp het differentiatiespectrum van CD8⁺ T cellen opschuift richting vechtercellen. Bovendien identificeer ik een gebrek aan CD4⁺ T-cel hulp als belangrijk onderliggend mechanisme voor het vormen van stem-like en uiteindelijk uitgeputte CD8⁺ T cellen in kanker. Deze bevindingen bieden een nieuw perspectief om eerder onderzoek over T cellen in kanker te herinterpreteren. Ook benadrukken ze dat CD4⁺ T-cel hulp een belangrijk aspect is om te begrijpen en rekening mee te houden bij het ontwikkelen van nieuwe immuuntherapieën tegen kanker.