



Samenvatting proefschrift Ester B.M. Remmerswaal

“Human virus-specific T cells in peripheral blood and lymph nodes: phenotype, function and clonal relationships”

Promotie: 19 november 2014
Universiteit van Amsterdam

Promotor:
Prof. dr. R.A.W. van Lier
Prof. dr. R.J.M. ten Berge

Organen die getransplanteerd worden, kunnen virussen met zich meedragen. Dit zijn over het algemeen virussen die na de primaire infectie niet volledig opgeruimd worden, maar latent aanwezig blijven. Dergelijke persisterende virussen kunnen reacteren als bijvoorbeeld het immuunsysteem onderdrukt wordt. Echter, indien het immuunsysteem van de ontvanger het virus niet eerder heeft gezien, is er een grote kans dat de patiënt een primaire virale infectie zal krijgen, veroorzaakt door de virussen uit het donororgaan.

Daarnaast worden patiënten na een transplantatie behandeld met middelen die het immuunsysteem onderdrukken en daarmee afstoting van het getransplanteerde orgaan kunnen voorkomen. Hierdoor kunnen echter virussen die in de ontvanger latent aanwezig zijn, reacteren. Twee van deze virussen die latent aanwezig blijven na de primaire infectie zijn cytomegalovirus (CMV) en Epstein-Barr virus (EBV).

In patiënten met een onderdrukt immuunsysteem kunnen CMV en EBV ernstige complicaties veroorzaken. Voorbeelden daarvan zijn CMV pneumonie, CMV colitis en PTLD (post transplant lymphoproliferative disease). Inzicht in de immunrespons tegen dergelijke virale infecties is dan ook van groot belang. Het kan gebruikt worden in de diagnostiek, in de ontwikkeling van medicatie en voor de ontwikkeling van vaccins. T cellen spelen een grote rol in de antivirale immunrespons. Ze dragen op hun oppervlak de zeer variabele T cel receptor (TCR), waarmee ze kunnen controleren of andere cellen geïnfecteerd zijn. Ze herkennen namelijk de stukjes virus die een dergelijke geïnfecteerde cel op het oppervlak draagt, waarna deze door de T cel, of door andere cellen die door de T gerekruteerd worden, opgeruimd worden. Elke T cel draagt een unieke TCR en daardoor kunnen de T cellen heel veel verschillende virusstukjes herkennen. Nadat een T cel een stukje virus herkent, gaat hij delen en alle dochtercellen zullen dezelfde TCR hebben. Wij noemen dit een clone. De TCR kan



dus als het ware als een vingerafdruk gebruikt worden om T cellen met dezelfde voorouder te traceren en daarmee onderlinge relaties te onderzoeken. Het onderzoek in dit proefschrift is erop gericht een beter inzicht te krijgen in de ontwikkeling, het fenotype (uiterlijk), de functies en de onderlinge relaties van CD4⁺ en CD8⁺ T cellen gericht tegen persisterende virale infecties. Wij hebben dit zowel in het bloed als in de lymfklieren van niertransplantatie-patiënten onderzocht.

Onderzoek van (virus-specifieke) CD8⁺ T cellen wordt op dit moment veelal gedaan door naar oppervlakte markers (meestal een combinatie van CD45RA, CCR7, CD28 en CD27) te kijken en aan de hand van de expressie van deze markers functies van de cellen te voorspellen. Wij laten zien dat zowel bovenstaande markers alsook transcriptiefactoren (T-bet en eomes) redelijk goede voorspellers zijn van functie, maar dat de combinatie van beiden veel beter is. Tevens laten wij zien dat de persisterende virale infecties niet alleen hun indruk achterlaten op alle CD8⁺ T cellen, maar ook op virus-specifieke cellen gericht tegen andere ziekteverwekkers. Hierna bestudeerden wij de virus-specifieke CD8⁺ T cellen op de plek waar naïve T cellen geactiveerd worden, namelijk de lymfklier, en vergeleken deze met de virus-specifieke CD8⁺ T cellen in het bloed. Wij en anderen hebben laten zien dat tot wel de helft van alle CD8⁺ T cellen in het bloed van een persoon die latent geïnfecteerd is met CMV, gericht kan zijn tegen CMV en dat CMV-specifieke CD8⁺ T cellen in het bloed een effector fenotype hebben. Daarom ging men er lange tijd vanuit dat CMV-infectie de 'immunologische ruimte' voor andere virus-specifieke responsen zou kunnen beperken. Wij laten echter zien dat de CMV-specifieke CD8⁺ T cellen in lymfklieren meer lijken op memory-fenotype cellen. Ook zijn er verhoudingsgewijs heel veel minder CMV-specifieke cellen in de lymfklier dan in het bloed. Wij laten zien dat het lage percentage CMV-specifieke CD8⁺ T cellen in de lymfklieren zeer waarschijnlijk een direct gevolg is van de expressie van CCR7 (aantrekking van cellen naar lymfklier) en de expressie van CX3CR1 (aantrekking naar geïrriteerd endotheel van o.a. vaatwanden). Het lijkt dan ook onwaarschijnlijk dat CMV-specifieke CD8⁺ T cellen in de lymfklieren de immunologische ruimte voor andere virus-specifieke responsen kan verdringen. Door middel van TCR analyse laten wij zien dat CMV- en EBV-specifieke T cel clones die uitgroeien tijdens een primaire infectie in niertransplantatie-patiënten tot wel 5 jaar stabiel kunnen blijven. In gezonde donoren en niertransplantatiepatiënten EBV- en CMV-specifieke CD8⁺ T cel clones blijken tot de grootste clones in de totale CD8⁺ T cel populatie te behoren. Deze TCR analyse gebruikten wij ook om de relatie tussen virus-specifieke T cellen in bloed en lymfklier te onderzoeken. Wij tonen aan dat lymfklieren vaak clones bevatten die niet gevonden kunnen worden in het bloed. Door CMV-specifieke clones te onderzoeken in niertransplantatie-patiënten die een CMV reactivatie krijgen na transplantatie, laten wij zien dat nieuwe clones die tijdens de reactivatie gevonden worden in het bloed, zelden uit de lymfklier worden gerekruteerd. Wij denken dan ook dat de lymfklier niet de plek is waar de memory-type voorlopers zich ophouden. Mogelijk bevinden zij zich in de milt of in het beenmerg. Ten slotte beschrijven wij een speciale subset van cytotoxische CD28⁻CD4⁺ T cellen die verschijnen na primaire CMV-infectie. Wij laten zien dat deze cellen alleen voorkomen bij mensen die latent geïnfecteerd zijn met CMV en dat de percentages van deze cellen hoger zijn in niertransplantatie-patiënten. Wij tonen aan dat deze cellen



prolifereren, cytokines maken en de cellen doden als deze met CMV-antigeen beladen zijn. Ze reageren niet op andere virale of bacteriele eiwitten van varizella zoster virus (VZV), tetanus of tuberculose. Wij concluderen dan ook dat cytotoxische CD28⁻CD4⁺ T cellen CMV-specifiek zijn. Door de TCR te analyseren gedurende de primaire CMV en de latente fase bij twee niertransplantatie-patiënten tonen wij ook aan dat CD28⁻CD4⁺ T cellen voornamelijk gericht te zijn tegen eiwitten die niet in de acute fase tot expressie komen, of dat ze ontstaan uit slechts een zeer beperkte clonale populatie van de acute fase.

Dit onderzoek geeft inzicht in het verloop van anti-virale T cel immuun responsen in de mens. Tevens laten wij zien dat het mogelijk is om met een steeds kleiner wordend specimen steeds meer informatie over de functie, het fenotype, het gebruik van transcriptie-factoren en clonale relaties te onderzoeken. Hierdoor kan er in de toekomst mogelijk gekeken gaan worden naar zeer kleine samples afkomstig van biopten uit getransplanteerde nieren, maar ook naar extreem laagfrequente virus-specifieke cellen.