

Nederlandse samenvatting voor niet-ingewijden



Signaleringsroutes bij de herkenning van micro-organismen door het immuunsysteem

Inleiding

Het immuunsysteem beschermt ons lichaam tegen infecties met micro-organismen zoals bacteriën, virussen en schimmels. Verantwoordelijk voor een goede afweer tegen deze micro-organismen zijn de witte bloedcellen. Witte bloedcellen komen voor in een grote variatie verschillende soorten, met allemaal hun eigen specifieke functie. Een zeer belangrijke soort witte bloedcel voor de herkenning van micro-organismen is de dendritische cel. Zodra een micro-organisme het lichaam binnendringt wordt het door deze cel herkend. Door herkenning van het micro-organisme wordt de dendritische cel geactiveerd en verplaatst hij zich naar de lymfeklier, waar grote aantallen T-cellen aanwezig zijn. De geactiveerde dendritische cel activeert vervolgens specifieke T-cellen, die daardoor gestimuleerd worden zich te delen en zich te ontwikkelen tot actieve T-cellen die in staat zijn om het micro-organisme te bestrijden. De dendritische cel speelt dus een belangrijke rol bij het op gang brengen van een goede afweerreactie tegen micro-organismen door het stimuleren van specifieke T-cellen.

Echter, voor een effectieve afweer tegen verschillende micro-organismen zijn verschillende soorten T-helpercelreacties nodig. Tot dusver zijn er vier typen T-helpercelreacties geïdentificeerd: T-helper 1 voor virussen en micro-organismen die in cellen verblijven; T-helper 2 voor parasieten; T-helper 17 voor schimmels en bacteriën die buiten cellen verblijven; en regulatoire T-helpercellen die overmatige activering van het immuunsysteem onderdrukken. De keuze voor de T-helpercelrespons wordt bepaald door de herkenning van het specifieke micro-organisme door de dendritische cel. Na herkenning van het type micro-organisme produceert de dendritische cel specifieke ontstekings-eiwitten, zogenaamde cytokinen, die de T-cellen aanstuurt om T-helper 1, 2, 17 of regulatoir te worden. Aangezien activering van het juiste type T-helpercel cruciaal is voor het opruimen van micro-organismen, is herkenning en identificatie van het micro-organisme door de dendritische cel essentieel.

Voor de herkenning en identificatie van micro-organismen zijn dendritische cellen uitgerust met verschillende eiwitten, ook wel receptoren genoemd, die zich in en op de cel bevinden. Deze verschillende receptoren herkennen specifieke structuren van micro-organismen. De binding van micro-organismen aan deze receptoren zorgt voor specifieke signalen die de dendritische cel in worden gestuurd. Deze specifieke

signalen vormen samen een signaleringsroute. Aangezien elk micro-organisme zijn eigen set receptoren activeert kan de dendritische cel hiermee onderscheid maken tussen verschillende micro-organismen en daardoor specifieke T-helperresponsen activeren.

Vraagstelling

Voor een aantal receptoren op dendritische cellen zijn de laatste jaren de signaleringsroutes die de cel in worden gestuurd geïdentificeerd. Voor twee belangrijke receptoren bij de herkenning van micro-organismen, te weten DC-SIGN en dectin-1, waren de signaleringsroutes echter grotendeels onbekend. DC-SIGN herkent een grote variatie aan micro-organismen waaronder de virussen HIV-1 (AIDS) en MV (mazelen) en de bacteriën *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculose) en *Helicobacter pylori* (maagzweer). Dectin-1 herkent een grote variatie aan schimmels waaronder *Candida albicans* (candidiasis). Aangezien de kennis over de signaleringsroutes van deze receptoren niet alleen een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan het beter begrijpen van onze afweer tegen micro-organismen, maar wellicht ook tot nieuwe inzichten kunnen leiden voor potentiële nieuwe therapieën, was het doel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift het identificeren van de signaleringsroutes van de receptoren DC-SIGN en dectin-1.

Resultaten

In hoofdstuk 2 t/m 4 behandelen we de interactie van micro-organismen met DC-SIGN. Eerdere studies hebben laten zien dat mycobacteriën zoals *Mycobacterium tuberculosis* een mannose-cap (een suikerstructuur aan de buitenkant van de bacterie) hebben die een belangrijke rol speelt bij de afweer tegen deze bacterie, doordat de mannose-cap bindt aan DC-SIGN op dendritische cellen. In hoofdstuk 2 laten we echter zien dat de mannose-cap geen grote rol speelt bij de interactie van mycobacteriën en de gastheer. Dit geeft aan dat ook andere mannose-structuren op mycobacteriën de immuunrespons veranderen door binding aan DC-SIGN.

In hoofdstuk 3 beschrijven we de identificatie van de signaleringsroute van DC-SIGN. We laten zien dat de binding van mycobacteriën, virussen en gisten aan DC-SIGN de immuunrespons tegen deze micro-organismen verandert door de activering van het signalerings-eiwit Raf-1, dat vervolgens de productie van specifieke cytokinen verhoogt.

Het effect van binding van een micro-organisme aan DC-SIGN op een dendritische cel is echter niet altijd hetzelfde. Binding van micro-organismen die een suikerstructuur met mannose aan de buitenkant

hebben (virussen en mycobacteriën) aan DC-SIGN resulteert in een andere immuunrespons dan binding van bacteriën die een suikerstructuur met fucose hebben. In hoofdstuk 4 laten we zien dat dit verschil veroorzaakt wordt doordat er verschillende signaleringsroutes in de dendritische cel worden aangezet. Micro-organismen met mannose activeren een signaleringsroute die afhankelijk is van een complex met de eiwitten LSP1, KSR1, CNK en Raf-1, terwijl micro-organismen met fucose het complex van KSR1, CNK en Raf-1 juist ontbinden. Dit leidt vervolgens tot een verandering van de T-helperrespons.

Vervolgens hebben we de signaleringsroute van dectin-1 bestudeerd, een receptor die een belangrijke rol speelt in de afweer tegen schimmels. Eerdere studies hebben laten zien dat dectin-1 een signaleringsroute activeert met het eiwit Syk, maar het was onduidelijk hoe deze signaleringsroute er voor zorgt dat er T-helper 1 en T-helper 17-cellen geactiveerd worden. In hoofdstuk 5 laten we zien dat dectin-1 ook een signaleringsroute met Raf-1 activeert. De uiteindelijke immuunrespons is het resultaat van een complexe interactie van deze twee signaleringsroutes. Syk activeert de eiwitten p65, c-Rel en RelB, terwijl Raf-1 de activering van p65 versterkt en de activering van RelB vermindert. Alleen de combinatie van beide signaleringsroutes leidt tot de activering van T-helper 1 en T-helper 17-cellen die nodig zijn voor een efficiënte afweer tegen schimmels.

Dectin-1 zorgt, naast het activeren van T-helpercellen, ook voor het opruimen van schimmels. Dit proces heet fagocytose, wat eigenlijk inhoudt dat het micro-organisme letterlijk wordt opgegeten door de witte bloedcel. De binding van schimmels aan dectin-1 op een witte bloedcel zorgt ervoor dat de schimmel wordt opgegeten, maar de signaleringsroute die hiervoor nodig is was nog onbekend. In hoofdstuk 6 laten we zien dat het eiwit LSP1 hiervoor essentieel is. LSP1 zit gebonden aan dectin-1 en het is verantwoordelijk voor de opname van zowel dode als levende schimmels.

Conclusies

Samenvattend hebben we de signaleringsroutes van twee belangrijke receptoren voor micro-organismen, DC-SIGN en dectin-1, geïdentificeerd. Deze bevindingen geven nieuwe inzichten in hoe het immuunsysteem ervoor zorgt dat bij infectie met verschillende micro-organismen de juiste afweerreactie tot stand komt. Uiteindelijk zou de kennis over deze signaleringsroutes tot nieuwe therapeutische strategieën kunnen leiden tegen infecties of voor het samenstellen van nieuwe vaccins.

Dankwoord

Promoveren doe je niet alleen, en ik zou daarom iedereen die de afgelopen vier jaar een bijdrage heeft geleverd aan de totstandkoming van dit proefschrift van harte willen bedanken!

Een aantal mensen zou ik graag bij naam willen noemen. In de eerste plaats mijn begeleiders Yvette, Theo en Sonja. Yvette, bedankt voor de mogelijkheid om te promoveren in jouw groep, de begeleiding in de laatste fase van het promotietraject en de carrièreadviezen. Theo, dank voor alle begeleiding gedurende de vier jaar van mijn promotie. Ik bewonder je scherpe blik en je doortastendheid. Mijn promotie komt net te vroeg voor je om die dag al in toga gekleed te zijn, maar ik wens je heel veel succes als professor op het AMC. Sonja, vanaf het eerste praatje dat ik van je zag heb je me enthousiast gemaakt voor signalering. Je expertise en inzet zijn van ongekend niveau, en ik wil je bedanken voor alles wat je me geleerd hebt. Het is vervelend dat je gezondheid je passie voor het onderzoek vaak in de weg zit, maar jij en Theo zijn een gouden team en ik kijk uit naar alle prachtige publicaties die jullie ongetwijfeld nog voort zullen brengen.

Ik zou mijn voltallige leescommissie willen bedanken voor de aandacht die ze aan mijn proefschrift hebben besteed. Ben, bedankt voor de prettige samenwerking met de studies met mycobacteriën en helicobacter, het zijn mooie stukken geworden. Esther, bedankt voor de mogelijkheid mijn carrière als postdoc voort te zetten in jouw groep, ik heb het er fantastisch naar mijn zin.

Ook zou ik iedereen van het MCBI en in het bijzonder groep rood willen bedanken voor een hele leerzame en tevens enorm gezellige tijd. Heel groep Theo bedankt voor de fijne samenwerking en de fantastische sfeer. Ronald, roei- en schaatsbuddy, heel veel succes met de afronding van je proefschrift en je nieuwe baan op het AMC. En mochten we inderdaad kamergenoten worden, dan moeten we de traditie van kabouterborrels ook zeker voortzetten op het AMC. Boris, mijn Lunteren-roomy, in vier jaar hebben we toch alle nummers van ACDC tot ZZ Top gehad op je iPod. Succes met je verdere carrière en ik hoop dat je die felbegeerde overwinning op de MCBI-pokeravond een keer kunt binnenhalen.

Mijn studenten Brigitte en Kim, bedankt voor jullie inzet. Brigitte, ik hoop dat je talent behouden blijft voor de wetenschap, wellicht kruisen onze wegen elkaar weer in de toekomst.

Menno, bedankt voor de fijne samenwerking en excuses voor de keren dat ik je met je hele gezin naar de VU heb laten komen om de candida uit te platen. Jij hebt mij veel geleerd over *Candida albicans*, en ik jou over *Saccharomyces cerevisiae* (in de vorm van biergist welteverstaan). Desondanks is het er nog niet van gekomen om samen een biertje te drinken, de 23^e juni lijkt me hiervoor een ideale gelegenheid. Heel veel succes met de afronding van je eigen proefschrift, ik weet zeker dat het een heel mooi boekje zal worden.

En dan natuurlijk mijn kamergenoten van de Miepenkamer C-260. Zowel de "oude miepen" Ellen, Ellis en Pia, "nieuwe miepen" Linda en Karien en de "harde kern" Lisa, Trieneke, Caroline (na al die jaren eindelijk goed gespeld ☺), Marieke en Saskia: van harte bedankt voor alle gezelligheid en de fantastische sfeer op de kamer. Heel veel succes met jullie promoties en dat we nog maar lang door mogen gaan met de miepenuitjes! Paranimfen Lisa en Trieneke, jullie in het bijzonder bedankt dat jullie me bij willen staan op het moment suprême.

Cees, door een speling van het lot valt onze promotie op precies dezelfde dag (en nog bijna hetzelfde tijdstip ook). Je zult begrijpen dat ik er niet bij kan zijn maar ik wens je alle sterkte de 23^e. Roel, al vanaf de middelbare school ben ik onder de indruk van je tekenvaardigheden. Mijn dank is groot voor alle tijd en moeite die je in de illustraties voor dit proefschrift hebt gestoken, het is een prachtig geheel geworden. Arjen, bedankt voor de hulp bij het drukken van de cd's en natuurlijk voor de foto's tijdens de promotie.

Freek en Leonie, dank voor alle gezelligheid tijdens de "wazige maandagen" (of woensdagen of welke dagen dan ook). Het is lastig de traditie voort te zetten maar het blijven gouden herinneringen. Freek, met je positieve instelling (en niet te vergeten ook je kookkunsten) had ik me geen betere huisgenoot kunnen wensen. Succes met het afronden van je studie en je fiets- en schaakpraktijken.

Pa, ma en Ven, dank voor jullie onvoorwaardelijke steun, niet alleen in de afgelopen vier jaar maar ook in alle jaren daarvoor. Opa en oma, de "studie" zit er eindelijk op, fantastisch dat jullie er bij kunnen zijn. Marein, verreweg de grootste ontdekking van mijn aio-periode. Dank voor alle steun en liefde. Volgend jaar vieren we het feest voor jou!

Curriculum Vitae

Jeroen den Dunnen werd geboren op 5 juni 1980 te Papendrecht. Na het behalen van zijn diploma op het gymnasium Camphusianum te Gorinchem in 1998 begon hij datzelfde jaar met zijn studie medische biologie aan de Universiteit Utrecht. Hier liep hij stage op de afdeling Experimentele Neurologie bij Dop Bär, waar hij een organotypisch in vitro-model opzette voor de neurologische ziekte ALS. Daarna liep hij stage bij het Eijkman-Winkler Instituut te Utrecht bij Rob Schuurman, waar hij een methode opzette om replicatieverschillen van HIV-mutanten te bepalen met real-time PCR. In 2003 studeerde hij af, waarna hij een half jaar als analist werkzaam was bij PhotoBioChem N.V. te Leiden, waar hij werkte aan een pathogeen-inactivatiesysteem voor bloedtransfusies. In 2004 begon hij zijn promotieonderzoek bij Yvette van Kooyk en Theo Geijtenbeek op de afdeling Moleculaire Celbiologie en Immunologie aan het VU Medisch Centrum in Amsterdam. De resultaten van dat promotieonderzoek staan beschreven in dit proefschrift. Momenteel is hij werkzaam als postdoc bij Martien Kapsenberg en Esther de Jong binnen de afdeling Celbiologie en Histologie van het AMC in Amsterdam.

List of publications

1. Gringhuis SI, den Dunnen J, Litjens M, van der Vlist M, Geijtenbeek TB. Carbohydrate-specific signalling through dynamic regulation of the DC-SIGN signalosome directs immunity to mycobacteria, HIV-1 and Helicobacter pylori. Submitted for publication.
2. den Dunnen J, Oudhoff MJ, van der Vlist M, de Jong MAWP, Litjens M, Gringhuis SI, Geijtenbeek TB. Leukocyte-specific protein 1 is essential for phagocytosis of Candida albicans by Dectin-1 on human macrophages. Submitted for publication.
3. den Dunnen J*, Gringhuis SI*, Litjens M, van der Vlist M, Wevers B, Bruijns SCM, Geijtenbeek TB. Raf-1 signaling by Dectin-1 controls Syk-dependent RelB activation to direct T helper cell differentiation. Nat Immunol. 2009; Feb; 10(2):203-13.
* both authors contributed equally
4. den Dunnen J, Gringhuis SI, Geijtenbeek TB. Innate signaling by the C-type lectin DC-SIGN dictates immune responses. Cancer Immunol Immunother. 2008; in press.
5. Appelmeik BJ, den Dunnen J, Driessen NN, Ummels R, Pak M, Nigou J, Larrouy-Maumus G, Gurcha SS, Movahedzadeh F, Geurtsen J, Brown EJ, Eysink Smeets MM, Besra GS, Willemsen PT, Lowary TL, van Kooyk Y, Maaskant JJ, Stoker NG, van der Ley P, Puzo G, Vandenbroucke-Grauls CM, Wieland CW, van der Poll T, Geijtenbeek TB, van der Sar AM, Bitter W. The mannose cap of mycobacterial lipoarabinomannan does not dominate the Mycobacterium-host interaction. Cell Microbiol. 2008 Apr; 10(4): 930-44.
6. Hovius JW, de Jong MA, den Dunnen J, Litjens M, Fikrig E, van der Poll T, Gringhuis SI, Geijtenbeek TB. Salp15 Binding to DC-SIGN Inhibits Cytokine Expression by Impairing both Nucleosome Remodeling and mRNA Stabilization. PLoS Pathog. 2008 Feb 15; 4(2):e31.
7. van Vliet SJ, den Dunnen J, Gringhuis SI, Geijtenbeek TB, van Kooyk Y. Innate signaling and regulation of dendritic cell immunity. Curr Opin Immunol. 2007 Aug; 19(4).
8. den Dunnen J*, Gringhuis SI*, Litjens M, van het Hof B, van Kooyk Y, Geijtenbeek TB. C-type lectin DC-SIGN modulates Toll-like receptor signaling via Raf-1 kinase-dependent acetylation of transcription factor NF-kappaB. Immunity. 2007 May; 26(5):605-16.
* both authors contributed equally

9. Wieland CW, Koppel EA, den Dunnen J, Florquin S, McKenzie AN, van Kooyk Y, van der Poll T, Geijtenbeek TB. Mice lacking SIGNR1 have stronger T helper 1 responses to Mycobacterium tuberculosis. *Microbes Infect.* 2007 Feb; 9(2):134-41.