

## Nederlandse samenvatting voor niet-ingewijden

### *Zoete modulatie van de immuunrespons*

hoe ontstaat er kanker? Elke dag ondervinden cellen in ons lichaam schade. Deze schade wordt meestal gerepareerd, maar wanneer de schade te groot is, worden deze cellen opgeruimd door onze afweer. Wanneer de schade aan cellen niet goed wordt herkend, kunnen deze beschadigde cellen potentieel ontspreiden, resulterend in ongeremde groei. De ongeremde cellen vormen een tumor, oftewel de ziekte kanker. Waarom worden soms ontsproorde schadelijke cellen niet herkend? Doordat kankercellen geen indringers van buitenaf zijn, maar erg veel lijken op normale cellen. Hierdoor heeft de afweer soms moeite met deze te herkennen en een goede immuunrespons in gang te zetten, en ontstaat een tumor.

Ons immuun- of afweersysteem beschermt ons tegen alles wat schadelijk voor ons is. Hieronder kunnen indringers van buitenaf zoals bacteriën, virussen en schimmels worden verstaan, maar ook beschadigde of oude cellen die lichaamseigen zijn. Het immuunsysteem bestaat uit verschillende soorten cellen die ieder een eigen taak hebben. Binnen de immuunrespons spelen de dendritische cellen (DCs) een centrale rol. DCs zijn in staat om de schadelijke deeltjes op te sporen, op te nemen, en zetten T-cellen (de soldaten van ons immuunsysteem) aan om deze deeltjes te belagen.

Hoe werkt dat precies? De DCs zitten op strategische plekken in het lichaam die in contact komen met de buitenwereld zoals de huid en de slijmvliezen. Hier scannen zij de omgeving, dit doen zij met verschillende receptoren (voelsprieten). Deze receptoren herkennen onderdelen van de schadelijke deeltjes. Er zijn verschillende soorten receptoren die de schadelijke deeltjes herkennen. Er zijn onder andere de Toll-like receptoren die onderdelen van bacteriën en virussen herkennen, en tegen de DC zeggen PAS OP! gevaarlijk. Daarnaast zijn er de C-type lectine receptoren die suikerstructuren herkennen op de oppervlakte van een deeltje herkennen en ze dan in de cel opnemen. Nadat een DC het deeltje heeft opgenomen knipt hij het deeltje in stukjes en brengt de stukjes naar de oppervlakte van de cel waar hij het laat zien aan de T-cellen. Hierdoor wordt de T-cel geactiveerd, en kan hij zijn effector functie uitvoeren.

T-cellen kunnen worden onderverdeeld in verschillende klassen. De T-cellen die belangrijk zijn voor een goede antitumor respons zijn de cytotoxische CD8<sup>+</sup> T-cellen die de tumor aanvallen en de Th-1 CD4<sup>+</sup> T-cellen die de CD8<sup>+</sup> T-cellen helpen zo goed mogelijk hun functie uit te voeren. DCs kunnen deze CD8<sup>+</sup>

T-cellen aanzetten door middel van een proces genaamd cross-presentatie. Naïeve CD4<sup>+</sup> T-cellen kunnen worden geactiveerd door de DC via MHC-klasse II presentatie.

In dit proefschrift is een manier beschreven om de DCs zo te prikkelen dat ze de T-cellen aanzetten om toch een bestaande op te ruimen, in plaats van deze te negeren.

Hoe doen wij dit? Om de DCs te prikkelen dat ze de T-cellen activeren gebruiken wij eiwitten die specifiek op de tumorcellen voorkomen maar niet op gezonde cellen, de zogenaamde tumorantigenen. Aan deze tumorantigenen heb ik een vlaggetje gekoppeld, bepaalde suikerstructuren, en deze aan de DCs gegeven. Met deze tumorantigeen-suikerstructuur conjugaten hebben wij geanalyseerd of wij de immuunrespons tegen het tumorantigeen kunnen beïnvloeden, ten bate van de afbraak van de tumor.

In meer detail: In de studies beschreven in dit proefschrift hebben wij gebruik gemaakt van het model antigeen OVA. Het is beschreven dat OVA bindt aan de C-type lectine mannose receptor en dat wanneer hoge concentraties OVA en een extra Toll-Like Receptor-sigitaal (een extra PAS OP! sigitaal) worden gegeven aan DCs, er cross-presentatie naar CD8<sup>+</sup> T-cellen plaats vindt. Tot op heden was het niet bekend welke suikerstructuren OVA op zijn oppervlakte had waarmee de mannose receptor gebonden werd. Wij hebben beschreven dat +/- 20% van de OVA-moleculen hoog-mannose suikerstructuren bevat, welke specificiteit hebben voor mannose receptor (**hoofdstuk 3**).

In **hoofdstuk 2** van dit proefschrift staat beschreven welke suikers er binden aan de C-type lectines MGL1 en MGL2. Wij hebben gevonden dat GalNAc-structuren binden aan MGL2, vergelijkbaar met humaan MGL. In tegenstelling tot humaan MGL, heeft MGL2 geen specificiteit voor galactose, TF-antigeen en Core2 O-glycanen. MGL1 herkent de suikerstructuren Lewis<sup>x</sup> en Lewis<sup>A</sup>, en heeft geen overeenkomsten in suiker-specificiteit met humaan MGL. Naast de suikerspecificiteit van MGL1 en MGL2 staat in hoofdstuk 4 beschreven dat MGL2 bindt aan suikers, zoals GalNAc, die geassocieerd zijn met tumoren. Hierdoor kunnen de DCs die MGL2 tot expressie brengen een interactie aangaan met tumorcellen via GalNAc.

De suikerstructuren met specificiteit voor MGL1 of MGL2 hebben wij gekoppeld aan OVA. Daarna hebben wij verschillende vragen gesteld: of OVA-suikerstructuur conjugaten leiden tot verbeterde opname van het antigeen door DCs en wat de impact is op de geïnduceerde immuun respons.

Wij hebben aangetoond dat Lewis<sup>x</sup>-geconjugeerd antigeen beter wordt opgenomen door de DC via MGL1 vergeleken met niet geconjugeerd antigeen (hoofdstuk 3). Er wordt geen proliferatie van CD4<sup>+</sup> T-cellen geïnduceerd, maar wel werden naïeve CD4<sup>+</sup> T-cellen aangezet om effector Th-1 cellen te worden. Daarnaast resulteert opname van Lewis<sup>x</sup>-geconjugeerd antigeen resulteert in verhoogde proliferatie van CD8<sup>+</sup> T-cellen *in vitro* vergeleken met niet geconjugeerd antigeen. Ook worden na immunisatie *in vivo* meer antigeen-specifieke CD8<sup>+</sup> T-cellen gevonden die het pro-inflammatoire cytokine IFN- $\gamma$  produceren. Er zijn verschillende cellulaire routes beschreven voor cross-presentatie, deze zijn afhankelijk van TAP-moleculen of het protease Cathepsin S. Wij hebben beschreven dat de cross-presentatie geïnduceerd door OVA-lewis<sup>x</sup> conjugaat gaat via een TAP- en Cathepsin S onafhankelijke route. Daarnaast is de cross-presentatie onafhankelijk van signalering via Toll-like receptors.

Wij hebben onderzocht of liganden die Toll-Like Receptor 4 activeren de MGL1-geïnduceerde cross-presentatie kunnen verbeteren (**hoofdstuk 4**). Verassend heb ik gevonden dat LPS MGL-1 geïnduceerde cross-presentatie remt. Dit lijkt te komen doordat OVA-Lewis<sup>x</sup> in de aanwezigheid van LPS word opgenomen door een tweede opname-receptor, wat leidt tot een intracellulaire omleiding die niet leidt tot cross-presentatie naar CD8<sup>+</sup> T-cellen.

In hoofdstuk 5 heb ik beschreven dat de targeting van MGL2 met GalNAC-OVA conjugaten, resulteert in een verbeterde cross-presentatie naar CD8<sup>+</sup> T cellen en de inductie van CD4<sup>+</sup> Th-1 cellen (**hoofdstuk 5**). Dit zou potentieel kunnen leiden tot betere antitumor immuunresponsen en afbraak van de tumor.

In **hoofdstuk 6** is beschreven dat de toevoeging van ander liganden van de mannose receptor, namelijk triGlcNAC en SulfoLe<sup>A</sup>-structuren, cross-presentatie via deze receptor verbeterd. Daarnaast verhoogd het TLR4-ligand LPS de OVA-triGlcNAC en OVA-SulfoLe<sup>A</sup> geïnduceerde cross-presentatie substantieel.

In conclusie: in dit proefschrift heb ik laten zien dat suikermoleculen ervoor zorgen dat de DC de tumorantigenen efficiënter herkent, en de DC T-cellen beter activeert. Dit zou potentieel kunnen leiden tot betere antitumor responsen en afbraak van de tumor. Hierdoor moet de koppeling van suikers aan tumorantigenen overwogen worden in het ontwerpen van nieuwe anti-tumor therapieën.

DCs reguleren niet alleen de afweer tegen tumoren, maar ook afweer tegen pathogenen en ze houden auto-immuniteit in bedwang. Hierdoor kan de vorm van immunotherapie door middel van suiker-antigenen beschreven in dit

proefschrift niet alleen gebruikt worden tegen kanker, maar potentieel ook tegen pathogenen en auto-immuniteit. Hiervoor moeten de randvoorwaarden en de componenten in het vaccin aangepast worden op de soort immunerespons die benodigd is.