

Nederlandse samenvatting

Helminth glycanen en hun interactie met het immuunsysteem

Infecties met parasitaire helminthen (wormen) tasten de gezondheid aan van mens en dier, en vormen derhalve zowel een medisch als economisch probleem. Parasitaire infecties kunnen ertoe leiden dat de gastheer te weinig voedingsstoffen binnen krijgt en/of te veel bloed verliest. Daarnaast kunnen er andere medische complicaties optreden, zoals lever cirrose bij *Schistosoma mansoni* infectie. In het ergste geval kunnen parasitaire infecties leiden tot de dood van de gastheer. De meeste parasitaire infecties kunnen tegenwoordig bestreden worden met antiparasitaire middelen. Deze hebben echter heel vaak als nadeel dat zij geen bescherming vormen tegen herinfectie en het komt ook steeds frequenter voor dat de parasiet een resistentie ontwikkelt tegen deze geneesmiddelen. Daarom wordt het alsnog belangrijker om nieuwe technieken te ontwikkelen om deze infecties te bestrijden, bijvoorbeeld door vaccinatie. Hierbij is het van belang dat er onderzocht wordt hoe de parasiet communiceert met het immuunsysteem van de gastheer. De afgelopen decennia is de meeste aandacht uitgegaan naar de interactie van helminth eiwitten met het immuunsysteem van de gastheer, maar in de afgelopen jaren wordt het steeds duidelijker dat ook glycanen (suikermoleculen) bij deze interactie een belangrijke rol spelen.

Cellen die een cruciale rol spelen bij de herkenning van worm antigenen (lichaamsvreemde componenten) zijn antigeen presenterende cellen (APC). Deze cellen zijn in staat hun omgeving te scannen en antigenen te herkennen. Na herkenning kunnen ze het antigeen opnemen, afbreken en vervolgens in stukjes presenteren op hun celoppervlakte zodat de effector cellen van het lichaam zoals T-cellen en B-cellen een signaal krijgen om het antigeen op te ruimen. De dendritische cel (DC) is een heel belangrijke APC. DCs zijn in staat om hun omgeving te herkennen via verschillende receptoren zoals Toll-like receptoren (TLRs) en lectines. TLRs zijn oppervlakte moleculen die geconserveerde structuren kunnen herkennen in pathogenen zoals lipopolysaccharide (LPS), wat een onderdeel is van de celwand van bacteriën. Herkenning van deze structuren induceert een signaal in de cel waardoor de DC wordt geactiveerd om de effector cellen van het lichaam aan te trekken en aan te sturen. Lectines, die zowel uitgescheiden kunnen worden als op het oppervlakte van DCs tot expressie kunnen worden gebracht, zijn daarentegen gespecialiseerd in de herkenning van glycanen. Er bestaan veel verschillende lectine receptoren. In deze thesis wordt onderzoek gepresenteerd betreffende twee subsets van lectines: C-type lectines en galectines. C-type lectines zijn vooral bekend omdat ze in staat zijn om componenten uit de omgeving te internaliseren. Er zijn echter sommige C-type lectines, zoals DC-SIGN, die ook in staat zijn te

signaleren en op die manier de afweerreactie te beïnvloeden. Galectines zijn oplosbare lectines die extra- en intracellulair kunnen voorkomen. Een van de meest bestudeerde galectines is galectine-3 (Gal-3). De invloed van Gal-3 op het immuunsysteem is zeer veelzijdig. Het is bijvoorbeeld betrokken bij de celdood van immuuncellen, de secretie van cytokinen en het aantrekken van sommige effector cellen. Daarnaast is er van Gal-3 ook bekend dat het Gal β 1-4GlcNAc (LDN) herkent, een structuur die veel gevonden wordt in helminthen. Ook hebben ze in voorgaande onderzoeken aangetoond dat Gal-3 voorkomt in de laesies die ontstaan rond *Schistosoma mansoni* eitjes in de lever van de gastheer. Dit zijn beiden aanwijzingen dat Gal-3 een rol speelt in de afweerreactie tegen helminthen

In deze thesis worden de moleculaire interacties belicht die helminth glycanen hebben met het immuunsysteem van de gastheer. Het onderzoek werd uitgevoerd met twee verschillende wormen, namelijk de gastro-intestinale nematode *Haemonchus contortus* (**Hoofdstuk 2**) en de trematode *Schistosoma mansoni* (**Hoofdstuk 5**). In **Hoofdstuk 2** wordt aangetoond dat het serum van schapen, die beschermd waren tegen infectie na vaccinatie met *H. contortus* ES proteïnen (uitgescheiden eiwitten), immunoglobuline G (IgG) antilichamen bevat die de glycaan antigenen Gal α 1-3-GalNAc-R en GalNAc β 1-4(Fuc α 1-3)GlcNAc-(LDNF) herkennen. Met behulp van specifieke antilichamen hebben we ook aangetoond dat *H. contortus* glycanen naast Gal α 1-3-GalNAc- structuren ook Gal α 1-3-Gal structuren bevatten. De afweerreactie die ontstaat tegen deze glycanen is een indicatie dat deze structuren als zijnde lichaamsvreemd worden herkend. Deze structuren zouden dus eventueel in de toekomst gebruikt kunnen worden in de context van een vaccin om de afweer tegen *H. contortus* infectie te verhogen. **Hoofdstuk 3** omschrijft een methode om de helminth glycanen GalNAc β 1-4GlcNAc (LDN) en α 3-gefucosyleerd LDN (LDNF) te synthetiseren. Hiermee hebben we de mogelijkheid gecreëerd om bepaalde glycaan structuren op grotere schaal te synthetiseren. Dit maakt het mogelijk om de specifieke interactie van deze glycanen met het immuunsysteem te bestuderen waardoor duidelijker wordt hoe dergelijke glycanen de afweerreactie van hun gastheer beïnvloeden. Daarnaast zouden deze structuren eventueel ook gebruikt kunnen worden als component van een vaccin tegen helminthen.

Uit eerder werk is bekend dat het gastheer lectine Gal-3 een belangrijke rol speelt bij de interactie van helminth glycanen met het immuunsysteem. Om meer inzicht te krijgen in de rol van Gal-3 in helminth infecties hebben we in **Hoofdstuk 4** gekeken naar het expressie profiel van Gal-3 in DCs. We hebben deze DC subset *in vitro* verkregen na de stimulatie van monocytten met de cytokinen GM-CSF en IL-4. In dit hoofdstuk is vooral belicht welke invloeden deze twee cytokinen hebben op de Gal-3 expressie en secretie. Hieruit blijkt dat de verhoogde mRNA expressie van Gal-3, die geïnduceerd wordt door IL-4, wordt onderdrukt door GM-CSF en dat GM-CSF de secretie van Gal-3 induceert, hetgeen geremd wordt door

IL-4. Dit geeft aan dat Gal-3 expressie en secretie zeer afhankelijk is van het samenspel van deze cytokinen. Daarnaast zien we ook dat de oppervlakte expressie van Gal-3 op monocyten bijna volledig verdwijnt na stimulatie met IL-4 en/of GM-CSF. Dit zou erop kunnen wijzen dat de DCs die gevormd worden minder gevoelig zijn voor de extracellulaire effecten van Gal-3, zoals celdood, hetgeen belangrijk is voor de functie van een DC.

In **Hoofdstuk 5** wordt bewijs geleverd dat glycolipiden geïsoleerd uit *S. mansoni* volwassen wormen de maturatie van DC en een T helper 1 respons induceren. De resultaten laten zien dat de worm glycolipiden deze respons faciliteren via de activatie van TLR4 en zo een ontstekingsreactie induceren. Interessant is dat de worm glycolipiden niet rechtstreeks TLR4 kunnen activeren, maar alleen wanneer ze gelijktijdig binden aan het C-type lectine DC-SIGN. In de glycolipiden fractie, die in staat is deze activatie te induceren, zijn glycolipiden aanwezig die Gal β 1-4(Fuc α 1-3)GlcNAc- (Le^x) en LDNF glycaan antigenen bevatten. Uit deze resultaten kunnen we afleiden dat het glycaan gedeelte van de worm glycolipiden een interactie aangaat met DC-SIGN en dat de binding aan DC-SIGN cruciaal is voor de activatie van de DC via TLR4.