

Nederlandse samenvatting

In het menselijk lichaam heeft het maagdarmsstelsel de belangrijke taak om het voedsel te verteren en voedingsstoffen tot zich te nemen. Om deze functie uit te voeren bestaat het maagdarmsstelsel uit verschillende componenten waarbij de darmen opgedeeld zijn in de dunne darm, waar voornamelijk voedingsstoffen worden opgenomen, en de dikke darm, welke verantwoordelijk is voor de absorptie van water. Doordat het maagdarmsstelsel in direct contact staat met de buitenwereld, en dus met factoren uit de omgeving die mogelijk schadelijke componenten bevatten, is het van belang dat het lichaam verdedigingsmechanismen tegen deze componenten heeft. Ter bescherming zijn de darmen bedekt met een laag mucus die direct contact tussen de inhoud van de darmen en de darmen zelf voorkomt. Onder deze laag mucus bevindt zich de epitheliale barrière. De epitheelcellen zijn innig met elkaar verbonden door eiwitten die een zo genoemde 'ritssluiting' vormen. Stoffen kunnen alleen via actief transport over deze epitheliale barrière heen het lichaam binnen komen. Direct onder de epitheliale barrière bevindt zich de lamina propria die samen met een dunne spierlaag en de epitheelcellen de mucosa vormen. Naast de mechanistische barrières om schadelijke componenten buiten het lichaam te houden is het mucosale immuunsysteem van groot belang voor het adequaat elimineren van pathogenen. Naast deze essentiële taak, moet het mucosale immuunsysteem juist weer tolerant zijn tegen onschadelijke, maar wel lichaamsvreemde, antigenen die in grote mate aanwezig zijn in het darmlumen. De balans die het mucosale immuunsysteem hiervoor moet hanteren is een ingewikkeld en strak gereguleerd proces wat nog niet volledig begrepen is.

Het mucosale immuunsysteem is met name geconcentreerd in lymfoïd weefsel, zoals de drainerende lymfeklieren van de darmen en patches die zich bevinden in de dunne en dikke darm. Naast de aanwezigheid van het mucosale immuunsysteem in lymfoïd weefsel zijn er tevens veel losse cellen van het immuunsysteem terug te vinden in de lamina propria van de darmen. Zowel cellen van de aangeboren als de verworven afweer spelen een belangrijke rol in de homeostase van het mucosale immuunsysteem. Bij het binnendringen van een pathogeen zullen allereerst de cellen van de aangeboren afweer in actie komen om het pathogeen te elimineren. Belangrijke cellen van de aangeboren afweer zijn macrofagen en dendritische cellen (DCs). Deze cellen zijn onder andere in staat om pathogenen op te nemen, om deze vervolgens af te breken. Daarnaast zullen deze cellen antigenen afkomstig van de pathogenen presenteren aan cellen van de verworven afweer, waardoor deze cellen geactiveerd worden. Naast deze bekende antigeen presenterende cellen van de aangeboren afweer zijn er tevens 'innate lymphoid cells' (ILCs) aanwezig in de darmen. Deze cellen bestaan uit verschillende subgroepen waaronder de 'lymphoid tissue inducer' (LTi) cellen die verantwoordelijk zijn voor de ontwikkeling van lymfoïd weefsel. Daarnaast zijn er in de afgelopen jaren additionele



functies beschreven van verschillende ILC subgroepen die tevens een belangrijke rol spelen in de homeostase van het mucosale immuunsysteem door de productie van specifieke cytokines. Na activatie van de cellen van de aangeboren afweer, na het binnendringen van pathogenen, zullen cellen van de verworven afweer, de lymfocyten, geactiveerd worden. Lymfocyten zijn na activatie in staat om een specifieke reactie tegen het pathogeen te genereren. Hiervoor hebben de lymfocyten specifieke antigeen receptoren op het celoppervlak, waarmee delen van het pathogeen herkend kunnen worden. Alleen wanneer herkenning heeft plaatsgevonden zullen deze cellen geactiveerd worden en gaan delen, zodat er snel veel antigeen specifieke cellen aanwezig zullen zijn. Gezamenlijk met de aangeboren afweer zal dit leiden tot het elimineren van de schadelijke antigenen. Naast de cellen van het immuunsysteem kunnen omliggende ondersteunde cellen als het epitheel of stroma tevens een belangrijke rol spelen in de regulatie van het mucosale immuunsysteem.

Het handhaven van de homeostase van het mucosale immuunsysteem is een ingewikkeld proces dat wordt gereguleerd door verschillende factoren. Componenten die hierbij een rol spelen zijn zowel genetische als omgevingsfactoren. In de laatste jaren is het duidelijk geworden dat voedingscomponenten die aanwezig zijn in de darmen invloed hebben op het mucosale immuunsysteem en zelfs de homeostase kunnen beïnvloeden. Ondervoeding of een lage diversiteit in voedselinname kan zelfs leiden tot immuun falen. Tegelijkertijd is er in de afgelopen decennia een toename in immuun gerelateerde ziektes in westerse landen waarneembaar. Alhoewel in eerste instantie voornamelijk de hygiëne hypothese, welke inhoudt dat de verbeterde hygiëne in de Westerse wereld leidt tot een overactief immuun systeem, als oorzaak hiervoor naar voren werd geschoven, blijken veranderingen in de voedselinname tevens een grote rol te kunnen spelen.

Eén van de bekende voedingscomponenten die het mucosale immuunsysteem kan beïnvloeden is vitamine A. Omdat het lichaam niet in staat is om vitamine A zelf te produceren kan deze enkel via het dieet verkregen worden. Vitamine A is met name te vinden in verschillende groenten, melkproducten en vette vis. Mensen uit ontwikkelingslanden die niet de mogelijkheid hebben om voldoende vitamine A tot zich te nemen kunnen daarom klinische symptomen van vitamine A deficiëntie vertonen wat zich uit in verminderde groei en aantasting van het gezichtsvermogen, hevige diarree, immuun falen en mogelijk zelfs sterfte.

Het is beschreven dat de actieve metabooliet van vitamine A, retinolzuur, geproduceerd door epitheelcellen een tolerogeen fenotype induceert in DCs die zich bevinden in de lamina propria van de darmen. Het induceren van deze tolerogene DCs leidt tot een cascade van opeenvolgende processen die allen betrokken zijn bij het in stand houden van de homeostase van het mucosale immuunsysteem. Deze tolerogene DCs zijn in staat om te migreren naar de drainerende lymfeklieren om daar regulatoire T lymfocyten te induceren en IgA producerende B lymfocyten.

Daarnaast worden er moleculen geïnduceerd op deze lymfocyten die verantwoordelijk zijn voor de migratie richting de darmen waar zij hun functies kunnen uitvoeren. Al deze processen die geïnduceerd worden door tolerogene DCs zijn afhankelijk van de hoge productie van retinolzuur door deze DCs zelf.

Aansluitend zijn in de afgelopen paar jaren additionele processen van het immuunsysteem beschreven die afhankelijk zijn van vitamine A of retinolzuur gestuurde signalering. Vitamine A is echter niet het enige component uit de voeding welke het mucosale immuunsysteem kan beïnvloeden. Vitamine D en aryl hydrocarbon receptor liganden zijn tevens beschreven als voedingscomponenten die een effect hebben op de functie van het mucosale immuunsysteem. Naast de rol van voedingscomponenten op het mucosale immuunsysteem bevatten de darmen een enorme diversiteit aan bacteriën die nodig zijn voor het verwerken van onze voeding. Daarom is het van belang dat het lichaam in een symbiose leeft met deze aanwezige bacteriën in de darmen. Deze bacteriën verwerken niet alleen voedingscomponenten, maar produceren tevens factoren die het mucosale immuunsysteem kunnen beïnvloeden. Tegelijkertijd hangt de compositie van bacteriën in de darmen af van de voedingscomponenten die beschikbaar zijn en de compositie van de darmbacteriën kan dus veranderen wanneer aanpassingen in het dieet worden gemaakt.

In dit proefschrift

We hebben in dit proefschrift de rol van verschillende omgevingsfactoren voor de homeostase van het mucosale immuunsysteem bestudeerd. Doordat er al een duidelijke rol voor vitamine A beschreven is in de regulatie van tolerogene DCs hebben wij in hoofdstuk 2 van dit proefschrift gekeken of er tevens een rol is voor vitamine A en de differentiatie van macrofagen die aanwezig zijn in de darmen. Wij hebben aangetoond dat het fenotype van deze macrofagen afhankelijk is van vitamine A. In de afwezigheid van vitamine A hebben macrofagen in de darm pro-inflammatoire eigenschappen, terwijl deze macrofagen een anti-inflammatoir karakter hebben in muizen die een normale hoeveelheid vitamine A ontvingen. Daarnaast hebben we aangetoond dat de expressie van de Dectin-1 receptor op macrofagen is gereguleerd door de actieve metabooliet van vitamine A, retinolzuur. Tegelijkertijd zorgde de expressie van deze receptor ervoor dat macrofagen snel kunnen omschakelen van anti- naar pro-inflammatoir na binding aan deze receptor. Hierdoor zijn de macrofagen in de darmen in staat om adequaat te kunnen reageren op de binnenkomst van pathogenen. Deze resultaten demonstreren dat vitamine A niet alleen een belangrijke rol heeft in de DCs, maar dat tevens macrofagen, die aanwezig zijn in de darmen, afhankelijk zijn van vitamine A voor hun anti-inflammatoire eigenschappen.



In hoofdstuk 3 hebben we de rol van vitamine A in de ontwikkeling van ILCs in de volwassen darmen onderzocht. Deze studie is uitgevoerd als opvolging van onze eerdere bevindingen waarin we de rol van vitamine A hebben bestudeerd gedurende embryogenese. In onze studie hebben we waargenomen dat specifiek de ROR γ^+ ILCs verminderd in de darmen aanwezig zijn wanneer muizen een vitamine A deficiënt dieet ontvangen in vergelijking met controle muizen. Terwijl muizen die extra retinolzuur ontvangen een specifieke verhoging van ROR γ^+ ILCs in de darmen laten zien. Daarnaast hebben we de ontwikkeling van postnatale lymfoïde structuren in de darmen bestudeerd die afhankelijk zijn van deze ROR γ^+ ILCs. We hebben gevonden dat er een verminderd aantal van zowel cryptopatches als 'isolated lymphoid follicles' in de darmen aanwezig zijn in dieren waar retinolzuur signalering verminderd of afwezig is. Verder hebben we kunnen aantonen dat dit een direct effect is van retinolzuur signalering in ROR γ^+ cellen, door het gebruik van muizen die specifiek de signalering van retinolzuur missen in ROR γ^+ cellen. In de darmen van deze dieren zagen wij een eenzelfde verlaging van ROR γ^+ ILCs als dat we in vitamine A deficiënte dieren zagen. Al deze data samen laten een belangrijke rol voor vitamine A in de regulatie van een specifieke subgroep van ILCs in de darmen zien.

Omdat deze data aantoont dat vitamine A een belangrijke factor is in de regulatie van het mucosale immuunsysteem hebben we in hoofdstuk 4 onderzoek gedaan naar de mogelijkheden hoe we het vitamine A metabolisme kunnen modifieren. In dit hoofdstuk hebben we vitamine A metabolisme onderzocht in genetisch verschillende muizen. We hebben aangetoond dat BALB/c muizen een hoger vitamine A metabolisme hebben dan C57Bl/6 muizen. De verhoogde productie van secretair IgA en aanwezig regulatoire T lymfocyten in BALB/c muizen resulteert in een betere barrière in de darmen ten opzichte van C57Bl/6 muizen. Daarnaast zijn BALB/c muizen beter bestand tegen een chemisch geïnduceerde darmontsteking en hebben wij aangetoond dat muizen die een vitamine A deficiëntie hebben een heftigere darmontsteking ontwikkelen ten opzichte van controle muizen. Samenvattend laten deze data zien dat een goede omzetting van vitamine A cruciaal is voor een efficiënt werkend mucosaal immuunsysteem. Een goed werkend immuun systeem is beter in staat om adequate bescherming te geven wanneer darmschade optreedt, zoals bijvoorbeeld gedurende een chemisch geïnduceerde darmontsteking.

Epitheliale cellen in de darmen zijn in staat om het onderliggende mucosaal immuunsysteem te beïnvloeden. In hoofdstuk 5 tonen we aan dat vezels vanuit de voeding in staat zijn om de expressie van vitamine A producerende enzymen te induceren in epitheliale darmcellen. Deze inductie, en vervolgens de verhoogde productie van retinolzuur, leidt tot verhoogde aantallen tolerogene DCs. Daarmee wordt tevens de aanwezigheid van regulatoire T lymfocyten verhoogd en de

productie van IgA door B lymfocyten beïnvloedt. De verantwoordelijke componenten die uiteindelijk zorgen voor de verhoogde vitamine A metabolisme in epitheliale cellen in de darm zijn korte keten vetzuren, welke geproduceerd worden door bacteriën aanwezig in de darmen vanuit vezels. Daarnaast hebben we aangetoond dat veranderingen in hoeveelheid vezels in het dieet leidt tot wijzigingen in de compositie van de bacteriën die aanwezig zijn in de darmen. Bovendien hebben we aangetoond dat hiermee tevens de concentratie van de aanwezige korte keten vetzuren verandert. In conclusie laten deze data zien dat veranderingen in het dieet kunnen leiden tot modulatie van het mucosale immuunsysteem.

Conclusie

Samengevat hebben we in dit proefschrift verder de cruciale rol van vitamine A in de homeostase van het mucosale immuunsysteem onderzocht. Naast al eerder beschreven processen die afhankelijk zijn van vitamine A of retinolzuur signalering hebben wij nieuwe inzichten in additionele processen gegenereerd. Vitamine A blijkt tevens een belangrijk rol te hebben in de eigenschappen van de macrofagen en ILCs die gesitueerd zijn in de lamina propria van de darmen. Aansluitend speelt vitamine A niet alleen een rol in de ontwikkeling van lymfoïd weefsel voor de geboorte, maar ook na de geboorte in de vorming van lymfoïd weefsel in de darmen. Daarnaast hebben wij aangetoond dat vitamine A metabolisme zowel van genetische factoren als van omgevingsfactoren, zoals voedingsvezels en bacteriën, afhankelijk is. Daarom leidt de data, zoals beschreven in dit proefschrift, tot nieuwe mogelijke strategieën om de homeostase van het mucosale immuunsysteem te beïnvloeden door aanpassingen in de voeding en de compositie van de bacteriën. Hierbij resulteert een gezond en gevarieerd dieet in symbiose tussen het lichaam en darmbacteriën, waarmee de homeostase van het mucosale immuunsysteem gewaarborgd is, en er tolerantie voor onschadelijke antigenen bestaat.

