

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/35155> holds various files of this Leiden University dissertation.

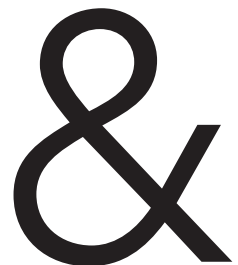
Author: Hussaarts, Leonie

Title: Immune modulation by schistosomes : mechanisms of T helper 2 polarization and implications for metabolic disorders

Issue Date: 2015-09-10

ADDENDUM

Nederlandse samenvatting
Dankwoord / Acknowledgements
Curriculum vitae
List of publications



NEDERLANDSE SAMENVATTING

Het immuunsysteem

Het afweersysteem, ook wel het immuunsysteem genoemd, beschermt ons tegen pathogene ziekteverwekkers zoals virussen, bacteriën en parasitaire wormen. Het immuunsysteem kan grofweg worden onderverdeeld in twee takken: de aspecifieke afweer en de specifieke afweer, die samenwerken als er een infectie optreedt. Pathogenen die door de huid of de slijmvliezen het lichaam weten binnen te dringen, stuiten als eerste op de witte bloedcellen van de aspecifieke afweer. Onderdeel van de aspecifieke afweer zijn de dendritische cellen (DCs), die in staat zijn om de specifieke afweer te activeren. Zodra een DC een pathogeen tegen komt, presenteert de DC delen van het pathogeen (antigenen) op zijn buitenzijde en migreert naar een lymfeklier. Daar bevinden zich de T-helpercellen, onderdeel van de specifieke afweer. Komt de DC een T-helpercel tegen die gericht is tegen het gepresenteerde antigen, dan wordt de T-helpercel geactiveerd. De T-helpercel geeft vervolgens specifieke signalen af, die helpen bij het activeren van andere witte bloedcellen die de ziekteverwekker opruimen.

Niet alle ziekteverwekkers worden bestreden met hetzelfde type afweerreactie, binnen de T-helpercellen worden dan ook verschillende soorten onderscheiden. Zo activeren virale of bacteriële infecties veelal T-helper-1 (Th1)-cellen, die helpen bij het initiëren een type 1 afweerreactie. Parasitaire wormen wekken daarentegen een type 2-afweerreactie op, waarin de Th2-cellen centraal staan. De activatie van verschillende typen T-helpercellen wordt T-helpercel-differentiatie genoemd. Dit proces wordt aangestuurd door de DCs die in staat zijn verschillende antigenen van elkaar te onderscheiden: op basis van het type antigeen geven de DCs signalen af die de T-helpercel-differentiatie beïnvloeden. Een DC heeft in zijn interactie met het specifieke afweersysteem dus twee belangrijke taken: het presenteren van de antigenen die vereist zijn voor T-cel-activatie, en het afgeven van signalen die de differentiatie van T cellen sturen.

Naast het afweren van pathogenen heeft het immuunsysteem ook andere functies. Zo helpen bepaalde type 2-afweercellen (de M2-macrofagen) bijvoorbeeld bij het opruimen van dode lichaamscellen. Helaas kan het immuunsysteem zich ook tegen ons keren: als verschillende componenten van het immuunsysteem uit balans zijn, kunnen er allergieën en auto-immuunziekten ontstaan. Recent onderzoek heeft aangetoond dat het immuunsysteem ook ontregeld is bij mensen met overtollig vetweefsel, wat de kans op diabetes type 2 vergroot.

Afweerreacties en diabetes type 2

Patiënten met diabetes type 2, beter bekend als ouderdomsdiabetes, zijn minder gevoelig voor het hormoon insuline. Insuline zorgt ervoor dat glucose uit het bloed kan worden opgenomen door alle cellen in het lichaam, die dit gebruiken om energie van te maken. Als de cellen in het lichaam echter niet meer reageren op insuline, oftewel insulineresistent zijn geworden, blijven de bloedsuikerspiegels hoog wat op lange termijn zenuwen en bloedvaten kan beschadigen.

Vetweefsel van muizen op een normaal dieet bevat vooral type 2-afweercellen, die het vetweefsel gezond houden en de werking van insuline bevorderen. In vetweefsel van muizen



met overgewicht ontstaat echter een chronische ontsteking, gekenmerkt door een groot aantal type 1-afweercellen die de werking van insuline belemmeren. Om diabetes type 2 te kunnen behandelen, is het dus essentieel dat de type 1-afweercellen in het vetweefsel weer plaats maken voor type 2-afweercellen.

Zoals hierboven beschreven zijn type 2-afweercellen bij uitstek aanwezig tijdens infecties met parasitaire wormen. Daarnaast is aangetoond dat een infectie met de parasitaire worm *Nippostrongylus brasiliensis* een positief effect heeft op de insulinegevoeligheid in muizen met overgewicht. Door te onderzoeken hoe parasitaire wormen een type 2-afweerreactie bewerkstelligen, kunnen we dus ook meer leren over hoe diabetes type 2 bestreden zou kunnen worden.

Leren van wormen

Naar schatting een kwart van de wereldbevolking is geïnfecteerd met parasitaire wormen, vooral in tropische landen. Er zijn veel verschillende soorten parasitaire wormen, waaronder de *Schistosoma*-platwormen die vaak worden gebruikt in onderzoek naar type 2-afweerreacties. Dit komt doordat de antigenen van *Schistosoma*-eitjes (SEA) sterke Th2-sturende capaciteiten bezitten, zowel *in vivo* (in de muis) als *in vitro* (in het laboratorium).

Om uit te kunnen zoeken hoe het komt dat SEA DCs aanzet tot Th2-differentiatie, wordt vaak gebruik gemaakt van een *in vitro* DC-model. Dat houdt in dat DCs in het laboratorium worden blootgesteld aan SEA, waarna de DCs worden gekweekt met T-helpercellen om de differentiatie te bestuderen. Met behulp van dit model is ontdekt dat een klein eiwit in SEA, genaamd *omega-1*, sterke Th2-sturende capaciteiten heeft. Door het effect van *omega-1* op DCs te bestuderen, proberen we te ontrafelen welke mechanismen ten grondslag liggen aan Th2-differentiatie.

Onderzoek beschreven in dit proefschrift

Hoofdstuk 2 beschrijft onderzoek met behulp van het DC-model naar het molecuul *omega-1*. *Omega-1* is een enzym dat RNA kan knippen (dit wordt RNase-activiteit genoemd) en dat suikermoleculen op zijn oppervlak heeft (glycosylering). Zowel na het inactiveren van de RNase-activiteit als na het weghalen van de glycosylering bleek *omega-1* niet meer in staat DCs aan te zetten tot Th2-differentiatie. Nader onderzoek wees uit dat *omega-1* zijn suikermoleculen gebruikt om te binden aan de mannosereceptor op het oppervlak van DCs, zodat het kan worden opgenomen door deze cellen. Eenmaal in de cellen bleek de RNase-activiteit van *omega-1* van belang. Op basis van informatie uit het DNA maakt een cel eiwitten met behulp van RNA. Door RNA te knippen, belemmerde *omega-1* de eiwitproductie in de DCs. In het kort blijkt glycosylering dus nodig te zijn voor de opname van *omega-1* via de mannosereceptor, waarna de RNase-activiteit essentieel was om de DCs aan te zetten tot Th2-differentiatie.

Hoe het belemmeren van eiwitproductie door *omega-1* precies leidt tot een signaal voor Th2-differentiatie werd onderzocht in **hoofdstuk 3**, wederom met het DC-model. We bestudeerden de mTOR-signaleringsroute, een keten van regelprocessen die signalen van

binnen en buiten de cel integreert en daardoor celgroei en activatie van witte bloedcellen kan beïnvloeden. Deze signaleringsroute kan worden geblokkeerd door het geneesmiddel rapamycin. Dit medicijn wordt gebruikt om afstoting na orgaantransplantatie te voorkomen, omdat het middel het immuunstelsel onderdrukt. Rapamycin bleek, net als omega-1, DCs aan te zetten tot Th2-differentiatie. Dit leidde tot de hypothese dat stimulatie met omega-1 wellicht een effect heeft op de activiteit van de mTOR-signaleringsroute. Dit was echter niet het geval: omega-1 had geen effect op activatie van het mTOR-eiwit of op andere eiwitten binnen de mTOR-signaleringsroute. Bovendien leidde co-stimulatie van DCs met rapamycin en omega-1 tot een sterkere Th2-differentiatie dan stimulatie met alleen rapamycin of omega-1. Uit deze resultaten kan geconcludeerd worden dat DCs op verschillende manieren aangezet kunnen worden tot Th2-differentiatie: via mTOR-afhankelijke en -onafhankelijke mechanismen.

In **hoofdstuk 4** werden DCs na stimulatie met omega-1 bestudeerd met behulp van massaspectrometrie, een techniek voor het identificeren en kwantificeren van eiwitfragmenten. In de gestimuleerde cellen werden in totaal 208 verschillende eiwitten geïdentificeerd en gekwantificeerd. Uit een nadere analyse bleek dat de aanwezigheid van omega-1 een sterk effect had op de eiwitten betrokken bij antigeenpresentatie: in vergelijking met DCs die niet waren gestimuleerd, bezaten DCs na stimulatie met omega-1 minder van deze eiwitten. Eerder is al aangetoond dat een zwakke interactie tussen DCs en T-helpercellen tijdens de antigeenpresentatie kan leiden tot Th2-differentiatie. Omdat omega-1 zorgt voor een verlaging van de eiwitten betrokken bij antigeenpresentatie, suggereren de resultaten dat Th2-differentiatie door omega-1 wellicht ook tot stand komt door een zwakke interactie tussen DCs en T-helpercellen. Om deze hypothese te toetsen is verder onderzoek nodig.

Zoals in de inleiding beschreven, is recent aangetoond dat een infectie met de worm *N. brasiliensis* de insulinegevoeligheid kan bevorderen in muizen met overgewicht. Echter, *N. brasiliensis* is een worm die alleen knaagdieren voor een korte duur kan infecteren. In **hoofdstuk 5** is onderzocht of *Schistosoma*-wormen, die wereldwijd meer dan 200 miljoen mensen chronisch infecteren, hetzelfde effect hebben op het glucosepijl. Om dit te bestuderen zijn muizen met obesitas blootgesteld aan *Schistosoma mansoni*. Muizen op een hoog-vetdieet met een chronische *S. mansoni* infectie werden minder dik, de cellen in het lichaam namen glucose sneller op en de muizen waren gevoeliger voor insuline, in vergelijking met niet-geïnfecteerde soortgenoten. Dit ging gepaard met een type 2-afweerreactie in het vetweefsel. Het positieve effect van *S. mansoni*-wormen op de insulinegevoeligheid bleek te reproduceren door de muizen te injecteren met enkel SEA, wat perspectief biedt voor een eventuele therapeutische toepassing van wormen als bescherming tegen diabetes type 2.

Tot slot is in **hoofdstuk 6** gekeken naar de rol van de mannosereceptor (MR) in het ontstaan van insulineresistentie. In hoofdstuk 2 was met behulp van omega-1 al aangetoond dat de MR een belangrijke rol speelt in Th2-differentiatie. Daarnaast was ook al bekend dat de MR in grote mate aanwezig is op M2-macrofagen (onderdeel van de type 2-afweerreactie), en juist laag tot expressie komt op M1-macrofagen (onderdeel van de type 1-afweerreactie). Om de rol van de MR in het ontstaan van insulineresistentie te onderzoeken, zijn muizen waarin de MR door middel van genetische manipulatie werd uitgeschakeld (MR-*knockout* muizen)



blootgesteld aan een hoog-vet-dieet. In vergelijking met gewone muizen, waren er in de *MR-knockout* muizen tegen de verwachting in juist minder M1-macrofagen te vinden in het vetweefsel en in de lever. Dit ging gepaard met een verhoging van de insulinegevoeligheid. Hoe de afwezigheid van de mannosereceptor een positief effect op de suikerhuishouding veroorzaakt, is nog onduidelijk en vraagt om verder onderzoek.

Conclusie

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift draagt bij aan een beter begrip van de mechanismen die ten grondslag liggen aan Th2-differentiatie. Daarnaast laten de studies zien dat wormmoleculen in muizen met obesitas bijdragen aan een gezonde suikerhuishouding. Er is echter nog veel onbekend over het ontstaan van type 2-afweerreacties. Daarom is het noodzakelijk om verder onderzoek te verrichten naar wormmoleculen, DCs en Th2-differentiatie. Dit is niet alleen relevant voor het verschaffen van inzichten in basale immunologische processen, maar draagt ook bij aan het ontwikkelen van therapieën voor ziekten waarbij een type 2-afweerreactie wenselijk is, zoals diabetes type 2.