



Doctoral Thesis

Priming and tolerance of lymphocytic choriomeningitis virus specific cytotoxic T Cells

Author(s):

Probst, Hans Christian

Publication Date:

2004

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004782989> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 15407

**Priming and Tolerance of Lymphocytic Choriomeningitis
Virus Specific Cytotoxic T Cells**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by

HANS CHRISTIAN PROBST

Dipl. Natw. ETH

born 05.02.1974

citizen of Germany

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Hans Hengartner, examiner
Prof. Dr. Rolf M. Zinkernagel, co-examiner
Dr. Maries van den Broek, co-examiner

2004

Summary

Infection of mice with lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) elicits a vigorous cytotoxic T cell response that is instrumental to virus control. The three studies that form this thesis use the LCMV murine infection model to address fundamental questions concerning the induction and tolerization of cytotoxic T cell responses.

The first chapter of this thesis is formed by two studies investigating the immunodominance of the CTL response against LCMV in C57BL/6 mice. In the first study we test the hypothesis that competition for access to antigen presenting cells by T cells of different specificities influences the immunodominance of CTL responses. This hypothesis was proposed in a recent study using ovalbumin as a model antigen, and it received considerable attention. Using LCMV-specific TCR transgenic CD8⁺ T cells we analyzed whether an increased frequency of CTL precursors specific for one LCMV epitope would inhibit the priming of CTL specific for other LCMV epitopes. Adoptive transfer of TCR transgenic T cells inhibited the endogenous response of the same specificity in a dose dependent manner. However, even when transfer of more than 10⁶ TCR transgenic cells was combined with weak priming, no reduction of responses to other epitopes was observed. Thus, competition for antigen presenting cells by CTLs of different specificities is not of functional relevance in antiviral immune responses.

The second study investigates the dependence of immunodominance on viral load. The CTL response against LCMV is directed against both structural proteins, the nucleoprotein (NP) and the glycoprotein (GP). We found that a small load of LCMV led to immunodominance of NP-CTL, whereas a large viral load resulted in dominance of GP-CTL. We demonstrate that an infected cell presents NP-derived peptides considerably earlier than GP-derived peptides. This results in a stronger stimulus for NP-specific CTL as compared to GP-specific CTL, which led to preferential priming of NP-CTL at low viral loads but also made NP-CTL more susceptible to exhaustion at higher viral

loads. This is the first study describing that immunodominance is not fixed after infection with a given pathogen, but varies with the viral load instead.

The study that forms the second chapter of this thesis investigates the role of dendritic cells (DC) in the maintenance of self tolerance of cytotoxic T cells. DC are known as inducers of immune responses par excellence. They also appear to be responsible for the induction of peripheral T cell tolerance under steady state conditions. To investigate these controversial functions without adoptive transfers, we generated a system that allows inducible antigen presentation by DC *in vivo*. We found that presentation of LCMV-derived CTL epitopes by resting DC resulted in antigen-specific tolerance, which could not be broken by subsequent infection with LCMV. On the other hand, antigen presentation by activated DC primed endogenous CTL to expand and to develop protective effector function.

Zusammenfassung

Die Infektion von Mäusen mit dem Lymphozytären Choriomeningitis Virus (LCMV) löst eine heftige zytotoxische T Zelle (CTL) Antwort aus, die entscheidend für die Kontrolle des Virus ist. Die drei Arbeiten, aus denen sich diese Dissertation zusammensetzt, untersuchen anhand dieses Mausmodells grundlegende Fragen zur Induktion und Tolerisierung zytotoxischer T Zelle Antworten.

Das erste Kapitel dieser Dissertation besteht aus zwei Arbeiten zur Immundominanz der CTL Antwort gegen LCMV in C57BL/6 Mäusen. In der ersten Arbeit überprüfen wir die Hypothese, dass Konkurrenz von T Zellen unterschiedlicher Spezifität um antigenpräsentierende Zellen die Immundominanz von CTL Antworten beeinflusst. Diese Hypothese wurde in einer kürzlich veröffentlichten Arbeit, in der Ovalbumin als Modellantigen verwendet wurde, vorgeschlagen und erhielt erhebliche Beachtung. Unter Verwendung von LCMV spezifischen T Zelle Rezeptor (TCR) transgenen T Zellen haben wir untersucht, ob eine erhöhte Frequenz von CTL Vorläufern mit Spezifität für ein bestimmtes LCMV Epitop das Priming von CTL mit Spezifität für andere LCMV Epitope hemmen würde. Durch adoptiven Transfer von TCR transgenen T Zellen wurde die endogene Antwort der gleichen Spezifität dosisabhängig gehemmt. Eine Beeinträchtigung der Antwort gegen andere Epitope wurde hingegen selbst bei Transfer von mehr als 10^6 TCR transgenen T Zellen, kombiniert mit schwachem Priming, nicht beobachtet. Konkurrenz von T Zellen verschiedener Spezifität um antigenpräsentierende Zellen hat daher keine funktionelle Bedeutung für antivirale Immunantworten.

Die zweite Arbeit beleuchtet die Anhängigkeit der Immundominanz von der Viruslast. Die CTL Antwort gegen LCMV richtet sich gegen beide strukturelle Proteine des Virus, das Nukleoprotein (NP) und das Glykoprotein (GP). Wir beobachteten, dass eine geringe Viruslast zu Immundominanz von NP-CTL führte, während eine hohe Viruslast zu Dominanz von GP-CTL führte. Wir konnten zeigen, dass eine infizierte Zelle Peptide aus dem Nukleoprotein

deutlich früher präsentiert als Peptide aus dem Glykoprotein. Dadurch werden NP spezifische CTL verglichen mit GP spezifischen CTL stärker stimuliert. Dies führt zu bevorzugtem Priming von NP-CTL bei tiefer Viruslast macht NP-CTL aber auch empfindlicher für Exhaustion bei höher Viruslast. Diese Arbeit zeigt daher zum ersten Mal, dass die Immundominanz in der Infektion mit einem bestimmten Virus nicht festgelegt ist sondern von der Viruslast abhängt

Die Arbeit, die das zweite Kapitel dieser Dissertation bildet, behandelt die Rolle von dendritischen Zellen (DC) für die Aufrechterhaltung der Selbst-Toleranz von zytotoxischen T Zellen. DC sind bekannt als exzellente Stimulatoren von T Zell Antworten. Sie scheinen zudem für das Etablieren der peripheren T Zell Toleranz unter homöostatischen Bedingungen verantwortlich zu sein. Wir haben ein System entwickelt, das uns erlaubt, diese gegensätzlichen Funktionen unter Vermeidung von adoptiven Zelltransfers zu untersuchen. Wir haben beobachtet, dass die Präsentation von CTL Epitopen aus LCMV durch ruhende DC zu antigenspezifischer Toleranz führte, die nicht durch eine darauffolgende Infektion mit LCMV gebrochen werden konnte. Antigenpräsentation durch aktivierte DC löste hingegen eine Effektor CTL Antwort aus, welche die Maus vor einer nachfolgenden LCMV Infektion schützte.