



Doctoral Thesis

## Parameters governing B cell responses to lymphocytic choriomeningitis virus infection

**Author(s):**

Zellweger, Raphaël Marc Antoine

**Publication Date:**

2005

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005063143> →

**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. 16150

**Parameters Governing B Cell Responses to  
Lymphocytic Choriomeningitis Virus Infection**

A dissertation submitted to the

SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZÜRICH

for the degree of

Doctor of Natural Sciences

presented by

RAPHAËL MARC ANTOINE ZELLWEGER

Dipl. Natw. ETH

born 17.03.1975

citizen of

Trogen, AR, Switzerland

and France

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Hans Hengartner, examiner

Prof. Dr. Rolf M. Zinkernagel, co-examiner

Dr. Lars Hangartner, co-examiner

2005

## SUMMARY

In this study we investigated the interaction between lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) and neutralizing antibody responses specific for the glycoprotein (GP) of LCMV. Those parameters studied included activation of B cells following infection with LCMV (chapter one), escape of LCMV from the neutralizing antibody response (chapter two) and chronic stimulation of LCMV-specific B cells (chapter three). To facilitate investigations of specific antibody responses, we used the LCMV-GP-specific immunoglobulin gene-targeted mouse model TgH(KL25), where 5-10% of all B cells express antibodies recognizing the neutralizing epitope of LCMV and thus react homogeneously following infection.

In the first chapter the fate of naïve high affinity neutralizing B cells was analyzed following infection with LCMV. We identified the ratio between viral antigenic stimulus and specific B cell precursor frequency as a crucial parameter in determining the outcome of the humoral immune response against LCMV. A high antigen to B cell ratio, as encountered by a restricted number of specific B cell precursors following infections with high viral doses, resulted in proliferation of LCMV-specific B cells, which then terminally differentiated into short-lived IgM antibody forming cells (AFC). As a consequence, both IgG and memory responses were impaired. Lowering the antigen to B cell ratio, or providing additional bystander help, could rescue the IgG and memory responses. These observations may help to explain the poor neutralizing antibody responses observed in wild type mice following infection with LCMV.

In the second chapter we analyzed various LCMV strains found to be resistant against neutralization mediated by KL25, a monoclonal antibody specific for the glycoprotein of LCMV. Amongst those strains, some could still bind to KL25, and this residual binding correlated with accelerated clearance from a murine host. These results indicated that loss of neutralization does not necessarily correlate with loss of binding. They additionally revealed that non-neutralizing (binding) antibodies, whose function is poorly understood, may have an important *in vivo* function in the restriction of viral replication through a complement-dependent mechanism.

In the third chapter the behavior of LCMV-neutralizing B cells under conditions of chronic antigenic stimulation was investigated in congenitally LCMV-infected TgH(KL25). No B cell tolerance was detected in these mice, instead LCMV readily escaped the neutralizing antibody response in transplacentally infected offspring. Tolerance was also not observed when DEE mice, expressing LCMV-GP as a transgene, were crossed to TgH(KL25) mice. Interestingly,

---

the gene used for the generation of the DEE mouse strain is thought to encode a GP variant that does not reach the cell surface. Our findings may therefore indicate that autoantigen sequestered within cells cannot tolerize B cells and that the cellular location of antigen is a crucial factor in the establishment of B cell tolerance. However, based on these findings, any definitive statement regarding B cell tolerance is difficult. A transgenic mouse line expressing the correctly folded LCMV-GP at the surface of the cells, together with the existing TgH(KL25) mouse strain, would help to clarify the fate of LCMV-neutralizing B cells subjected to chronic antigen stimulation.

We additionally present supplementary data (chapter four) which either supports or extends the results presented in the first three chapters of this work. This supplementary data mainly relates to the role of T help during neutralizing antibody responses against LCMV, and includes some preliminary results concerning the generation of a transgenic mouse line expressing the correctly folded LCMV-GP at the surface of cells.

## RÉSUMÉ

Dans ce travail, nous avons étudié l'interaction entre le virus de la chorioméningite lymphocytaire (VCML) et les réponses en anticorps neutralisants spécifiques pour la glycoprotéine de ce virus. Dans le premier chapitre, l'activation des lymphocytes B après une infection avec le VCML a été analysée. Le deuxième chapitre concerne l'émergence de VCML ayant échappé aux anticorps neutralisants et le troisième chapitre traite de la stimulation chronique des lymphocytes B spécifiques pour le VCML. Pour faciliter l'investigation de la réponse humorale spécifique, nous avons utilisé comme modèle la ligne de souris génétiquement modifiée TgH(KL25) dont 5-10% des lymphocytes B synthétisent un anticorps qui reconnaît l'épitope neutralisant du VCML et répondent de façon homogène à une infection par le VCML.

Dans le premier chapitre, l'analyse du destin des lymphocytes B neutralisants dotés d'une affinité élevée pour la glycoprotéine du VCML a permis d'identifier le rapport entre le stimulus viral et la fréquence des précurseurs des lymphocytes B spécifiques comme un paramètre crucial qui détermine l'issue de la réponse immune humorale suite à une infection par le VCML. Un rapport élevé entre le stimulus viral et les lymphocytes B, comme lorsqu'un nombre limité de précurseurs des lymphocytes B spécifiques est confronté à une haute dose de VCML, pousse les lymphocytes B spécifiques à proliférer pour se différencier de façon terminale en cellules de courte vie produisant des IgM. En conséquence, l'induction d'IgG et la réponse humorale lors d'une seconde infection sont réduites. La diminution du rapport entre le stimulus viral et les lymphocytes B ou l'apport d'aide, même non spécifique, permet de rétablir l'induction d'IgG et la réponse humorale lors d'une seconde infection. Nos observations pourraient contribuer à expliquer la faible réponse en anticorps observée dans les souris type sauvage suite à une infection par le VCML.

Le deuxième chapitre décrit l'analyse de diverses souches de VCML résistantes à la neutralisation par KL25, un anticorps monoclonal spécifique pour la glycoprotéine du VCML. Parmi ces virus, certains peuvent encore se lier à KL25. Une corrélation a pu être établie entre cette affinité résiduelle et la capacité d'un virus à être éliminé d'un hôte infecté. Nos résultats indiquent que perdre la susceptibilité à être neutralisé par un anticorps n'implique pas forcément de ne plus pouvoir s'y lier, et que les anticorps non-neutralisants, dont la fonction est mal comprise, jouent un rôle important *in vivo*, notamment en réduisant la réplication virale en collaboration avec le système du complément.

Dans le troisième chapitre, les lymphocytes B neutralisants spécifiques pour le VCML ont été observés en situation de stimulation chronique dans les souris TgH(KL25) infectées de façon congénitale par le VCML. Les lymphocytes B n'ont pas montré de signe de tolérance envers le VCML, mais le VCML a rapidement échappé à la réponse immune humorale dans les petits infectés par voie transplacentaire. Aucune tolérance n'a été observée non plus lors du croisement entre les souris transgéniques DEE, qui expriment la glycoprotéine du VCML, et les souris TgH(KL25). Par contre, étant donné la suspicion que le gène employé pour la génération des souris DEE code une glycoprotéine modifiée qui n'atteint pas la surface des cellules, nos résultats confirment qu'un auto-antigène séquestré à l'intérieur d'une cellule n'induit pas de tolérance des lymphocytes B, et que la localisation cellulaire d'un antigène influence de façon cruciale l'établissement de la tolérance. Sur la base de nos résultats, une conclusion plus précise concernant la tolérance des lymphocytes B est difficile. Une ligne de souris transgéniques qui exprimeraient la glycoprotéine du VCML correctement pliée à la surface de leurs cellules, combinée avec la ligne TgH(KL25), aiderait à clarifier le destin des lymphocytes B soumis à une stimulation antigénique chronique.

Pour terminer, nous présentons dans le quatrième chapitre des données supplémentaires qui corroborent ou élargissent certains résultats présentés dans les trois premiers chapitres de ce travail. Ces résultats concernent principalement le rôle de l'aide fournie par les lymphocytes T durant les réponses en anticorps neutralisants suite à une infection par le VCML, ainsi que des données préliminaires concernant la génération d'une ligne de souris transgéniques exprimant la glycoprotéine du VCML correctement pliée à la surface de leurs cellules.