



Doctoral Thesis

Anti-viral humoral responses and beyond New insights into B cell functions provided by vesicular stomatitis virus-specific B cells

Author(s):

Fink, Katja

Publication Date:

2006

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005128660> →

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](#).

**Anti-viral Humoral Responses and Beyond:
New Insights into B Cell Functions Provided by Vesicular Stomatitis
Virus-specific B Cells**

A dissertation submitted to the
FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by

KATJA FINK

dipl. biochem, University of Zurich

born 6.3.1975

citizen of Mosnang SG

accepted on the recommendation of
Prof. Hans Hengartner, examiner
Prof. Rolf M. Zinkernagel, co-examiner
PD Dr. Burkhard Ludewig, co-examiner

2006

Summary

In the presented thesis the induction and regulation of B cell responses in mice following infection with vesicular stomatitis virus (VSV) was investigated. As a model antigen, VSV is interesting for two reasons: firstly, it is a live virus and thus represents a situation of physiological relevance, i.e. where the initiation of an appropriate immune response determines protection or disease; secondly, VSV induces both an early extrafollicular B cell response resulting in the production of large amounts of IgM antibodies (Abs), and a germinal center response which is required for the generation of isotype-switched antibodies and the formation of memory B cells. The VSV infection model thus enables the analysis of both aspects of the humoral response, and importantly, the analysis of factors required to trigger one or the other B cell differentiation pathway.

To study B cell responses following VSV infection, VSV-specific B cells of a gene-targeted mouse (VI10), which expresses the rearranged V_HDJ_H-variable region of a VSV-neutralizing Ab (monoclonal Ab VI10), were analyzed. In addition, T cell receptor (TCR) transgenic mice specific for a VSV-epitope presented on major histocompatibility complex MHC class II were used to study the impact of specific T cell help on the humoral response.

This thesis describes four projects, aiming at identifying B cell intrinsic mechanisms of the antibody response following VSV infection.

In the first project, we have revealed an important direct action of the antiviral cytokine interferon- α (IFN- α) on B cells to augment activation and early differentiation of specific B cells to plasma cells. Moreover, we found that the induction of IFN- α was dependent on Toll like receptor (TLR)7 in a dose-dependent manner, and that TLR7 triggering in B cells increased generation of early VSV-neutralizing antibodies.

In the second project we found that chemokine receptor CCR7 expression on VSV-specific B cells was required to guide activated B cells from the B cell follicles to the T cell zone to enable efficient contacts with T helper cells. We found that T-B contacts augmented early plasma cell formation and Ab production. Furthermore, we showed that B cells induced T helper cell proliferation at the T-B border of the splenic white pulp and that these T-B contacts were independent of the presence of dendritic cells.

For the third project, peripheral B cell development of VI10 mice was investigated. VI10 mice have an increased population of marginal zone B cells, and these mice generate high titers of "natural" VSV-neutralizing antibodies. We revealed differences in the peripheral development of specific B cells in VI10 weanlings depending on the presence or absence of specific (VI10) maternal antibodies. From these results we propose that self-antigens are

responsible for positive selection of marginal zone B cells and that these self-antigens can be masked by maternal VI10 antibodies.

In the fourth project we investigated germinal center formation of VSV-specific B cells. In a situation with restricted specific T cell help, B cell intrinsic mechanisms appeared to control the onset of a germinal center response. Homozygous VI10 B cells exclusively differentiated into extrafollicular plasma cells following infection, whereas heterozygous VI10 B cells formed both extrafollicular and germinal center responses. When sufficient specific T cell help was available, both homo- and heterozygous B cells formed equal germinal center responses, demonstrating a dominant effect of Th cells on B cell differentiation into germinal center founder B cells.

In summary, we identified VSV-specific B cells as dominant players during an anti-viral response, influencing the response of T cells. VSV-specific B cells produced high amounts of IgM and IgG following infection, whereby isotype switch strictly required T cell help. Moreover, B cells acted as APCs and supported T cell expansion very early after infection, setting the stage for an optimal T cell dependent phase of the antibody response.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Induktion und Regulation einer B-Zell-Antwort bei Mäusen untersucht, welche mit vesikulärem Stomatitis Virus (VSV) infiziert wurden. VSV als Modell-Antigen ist aus zwei Gründen interessant: Erstens handelt es sich um ein replizierendes Virus. Dieses repräsentiert eine physiologisch relevante Situation, bei der die Immunantwort über Protektion oder Krankheit entscheidet. Zweitens induziert VSV eine extrafollikuläre Antwort und eine follikuläre B-Zell-Antwort. In der extrafollikulären Antwort werden grosse Mengen IgM Antikörper produziert, während die follikuläre- oder Keimzentrum-Antwort für das Entstehen von Isotyp-gewichteten Zellen und Gedächtniszellen zuständig ist. Eine VSV-Infektion erlaubt so die Analyse beider Zweige einer humoralen Antwort. Zudem konnte beobachtet werden, welche Faktoren die eine und welche die andere Antwort auslösen.

Um die B-Zell Antwort nach VSV-Infektion studieren zu können, wurden gezielt genetisch veränderte Mäuse analysiert, welche die rearrangierte variable V_HDJ_H -Region eines VSV-neutralisierenden Antikörpers (monoklonaler Ak VI10) produzieren. Zusätzlich wurden VSV-spezifische T-Zell-Rezeptor-transgene Mäuse eingesetzt, deren T-Helfer (Th)- Zellen ein VSV T-Zell Epitop erkennen, welches auf dem Histokompatibilitäts-Antigen MHC Klasse II präsentiert wird.

Die vorliegende Arbeit umfasst vier Projekte, deren Ziel es ist, B-Zell-spezifische Mechanismen einer Immunantwort gegen VSV genauer zu untersuchen.

Im ersten Projekt haben wir entdeckt, dass das antivirale Zytokin interferon- α (IFN- α) direkt auf B-Zellen wirkt und die Aktivierung und Differenzierung von spezifischen B-Zellen zu Plasmazellen entscheidend verbessert. Die Induktion von IFN- α war abhängig von der Virus-Dosis und der Expression des Toll like Rezeptors TLR7, wobei die TLR7-Ligation in B-Zellen die IgM-Antwort direkt verbesserte.

Das zweite Projekt zeigt, dass der Chemokin-Rezeptor CCR7 auf VSV-spezifischen B-Zellen notwendig ist, um aktivierte B-Zellen von den B-Zell-Follikeln zur T-Zell-Zone zu führen, damit ein effizienter Kontakt mit Th-Zellen zustande kommt. Wir haben herausgefunden, dass T-B-Zell-Kontakte die frühe Plasmazell- und Ak-Produktion erhöhen. Zudem hat sich herausgestellt, dass B-Zellen an der Grenze der T- und B-Zell-Zone die Proliferation von Th-Zellen induzieren, und dass diese T-B-Kontakte unabhängig von Dendritischen Zellen (DCs) zustande kommen.

Im dritten Projekt wurde die B-Zell-Entwicklung in der Peripherie untersucht. VI10 Mäuse weisen eine vergrösserte Population von Marginalzonen-B-Zellen auf. Zudem produzieren

diese Mäuse hohe Titer "natürlicher" VSV-spezifischer Antikörper. Im Rahmen dieses dritten Projekts haben wir entdeckt, dass die periphere B-Zell Entwicklung in neugeborenen V110 Mäusen vom Vorhandensein spezifischer (V110) Ak abhängig ist, welche von der Mutter aufgenommen werden. Aufgrund unserer Resultate nehmen wir an, dass Selbst-Antigene für eine positive Selektion von Marginalzonen-B-Zellen verantwortlich sind, und dass diese Selbst-Antigene von mütterlichen Antikörpern maskiert werden können.

Ein viertes Projekt widmete sich der Entstehung von Keimzentren mit VSV-spezifischen B-Zellen. In einer Situation mit limitierter T-Zell-Hilfe schienen B-Zell-spezifische Mechanismen das Entstehen eines Keimzentrums zu kontrollieren. Nach einer Infektion differenzierten homozygote V110 B-Zellen ausschliesslich zu extrafollikulären Plasmazellen, während heterozygote V110 B Zellen entweder eine extrafollikuläre Antwort oder eine Keimzentrum-Antwort machten. Bei genügend vorhandener T-Zell-Hilfe war die Keimzentrums-Bildung aus homo- und heterozygoten B-Zellen jedoch gleich. Wir beobachteten also einen dominanten Effekt von Th-Zellen auf die B-Zell-Differenzierung zu Zellen, welche Keimzentren bilden.

Zusammenfassend haben wir VSV-spezifische B-Zellen als dominierende Akteure einer antiviralen Immunantwort identifiziert, welche die T-Zell-Antwort beeinflussen. VSV-spezifische B-Zellen produzieren nach einer Infektion grosse Mengen IgM und IgG, wobei der Isotypen-Switch strikt Th-abhängig ist. B-Zellen agieren auch als antigen-präsentierende Zellen und unterstützen die T-Zell-Expansion sehr früh nach einer Infektion, womit optimale Bedingungen für die zweite, T-Zell-abhängige Phase der Antikörper-Antwort, geschaffen werden.