



Doctoral Thesis

Diversity of the human memory T cell repertoire to pathogens and vaccines

Author(s):

Becattini, Simone

Publication Date:

2014

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010271553> →

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 22166

**DIVERSITY OF THE HUMAN MEMORY T CELL
REPertoire
TO PATHOGENS AND VACCINES**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

SIMONE BECATTINI

MSc. Medical Biology
University of Florence, Italy

Born on 24.06.1983
in Fiesole, Florence, Italy

accepted on the recommendation of

Prof. Antonio Lanzavecchia (examiner)
Dr. Federica Sallusto (co-examiner)
Prof. Dr. Salomé LeibundGut-Landmann (co-examiner)

Zurich, 2014

2. General Summary

2.1. Summary (English)

Human CD4⁺ T cells are key players in orchestrating the response to pathogens and vaccines. Upon first antigen encounter, naïve T cells get activated and clonally expand, meanwhile acquiring effector functions to control the threat and later becoming memory T cells to assure appropriate response in case of re-challenge. Different classes of pathogens are known to induce distinct polarized T cell subsets, each characterized by specific homing and functional properties, that can mount the most efficient response tailored to the challenging pathogen. Thus, viruses and intracellular bacteria induce IFN- γ -producing Th1 cells while helminths induce IL-4-producing Th2 and fungi and extracellular bacteria induce IL-17-producing Th17 cells. Once considered terminally differentiated stages, polarized T cells can show remarkable flexibility and have been proven to undergo phenotypic switch or divergent differentiation in several experimental systems. Understanding the generation of diversity in the human T cell memory compartment would have enormous implications both on a biological and on a clinical level.

Using cell sorting of human memory Th1, Th2, and Th17 cells followed by CFSE labeling, antigenic stimulation, and next generation TCR V β sequencing, we were able to demonstrate that memory T cells specific for pathogens such as *Candida albicans* and *Mycobacterium tuberculosis* or tetanus toxoid vaccine could be present in all subsets, albeit at different frequencies. Interestingly, several clonotypes were present in more than one subset and, in some cases, even in all subsets, while other clonotypes were restricted to one particular subset. By cloning antigen-specific T cells from memory subsets we were able to isolate several T cell clones from Th1, Th2, and Th17 subsets and show that they share the same TCR but display different transcription factors, cytokine production and chemokine receptor expression, characteristic of the subset from which they were isolated. Collectively, these results indicate that the T cell response to pathogens and vaccines can comprise T cell clones that in spite of identical TCR, display different, sometimes divergent types of effector functions and provide for the first time demonstration of intraclonal diversification in the human T cell response.

2.2 Riassunto (Italiano)

I linfociti T CD4⁺ umani rivestono un ruolo fondamentale nel dirigere la risposta a patogeni e vaccini. In seguito all'iniziale riconoscimento dell'antigene, le cellule T naive si attivano e vanno incontro ad espansione clonale, acquisendo allo stesso tempo specifiche proprietà funzionali. Queste consentono di controllare il pericolo nell'immediato e, venendo ereditate da cellule T della memoria, anche di garantire una risposta appropriata in caso di successivo incontro col medesimo antigene. Classi diverse di patogeni inducono diversi sottotipi di cellule T, ognuno caratterizzato da specifiche capacità migratorie e proprietà funzionali, tramite le quali può rispondere efficacemente al microbo sollecitante. In particolare, virus e batteri intracellulari promuovono lo sviluppo di cellule Th1 che producono IFN- γ , gli elminti quello di Th2 che producono IL-4, funghi e batteri extracellulari quello di cellule Th17 che producono IL-17. Sebbene i subset di linfociti T siano stati per molto tempo considerati entità irreversibilmente differenziate e' oggi chiaro che queste cellule presentano una notevole plasticità, e la loro capacità di modificare il proprio fenotipo o di differenziare in maniera divergente in seguito al riconoscimento dell'antigene e' stata dimostrata in molti modelli sperimentali.

Abbiamo utilizzato un protocollo che prevede l'ottenimento di cellule della memoria di tipi diversi (Th1, Th2, Th17) tramite citofluorimetria a flusso, seguito da marcatura con CFSE, stimolazione antigenica, e sequenziamento di ultima generazione della regione V β del TCR delle cellule proliferanti. Tramite questo approccio abbiamo potuto dimostrare che le cellule della memoria specifiche per patogeni quali *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* o il tossoide tetanico (vaccino) sono presenti in tutti i sottotipi di linfociti T, sebbene con frequenze differenti. Inaspettatamente, abbiamo identificato vari clonotipi presenti in più compartimenti, talvolta addirittura in tutti quelli analizzati, mentre altri sono risultati selettivamente appartenere ad uno specifico gruppo. Attraverso clonaggio abbiamo isolato alcune di queste cellule presenti allo stesso tempo nei compartimenti Th1, Th2 e Th17, e confermato che possiedono un identico TCR, ma differiscono per l'espressione di fattori di trascrizione, citochine, e recettori chemochinici, in accordo con la classe di appartenenza. In definitiva, questi risultati dimostrano che l'insieme di cellule T che rispondono ad un patogeno o ad un vaccino comprende cloni che, nonostante un identico recettore per l'antigene, mostrano divergenti, talvolta contrapposte, proprietà funzionali, e rappresentano perciò la prima dimostrazione di differenziamento intra-clonale nella risposta dei linfociti T nell'uomo.