



Doctoral Thesis

Differential dendritic cell activation in peripheral T cell tolerance

Author(s):

Jaramillo, Silvia Daniela

Publication Date:

2016

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010819448> →

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 NR. 23992

DIFFERENTIAL DENDRITIC CELL ACTIVATION IN PERIPHERAL T CELL TOLERANCE

A THESIS SUBMITTED TO ATTAIN THE DEGREE OF
DOCTOR OF SCIENCES OF ETH ZURICH
(DR. S.C. ETH ZURICH)

PRESENTED BY
SILVIA DANIELA JARAMILLO
MSC. ETH IN BIOLOGY

BORN ON 09.11.1987
CITIZEN OF BUBENDORF BL AND GUATEMALA

ACCEPTED ON THE RECOMMENDATION OF
PROF. DR. ANNETTE OXENIUS (EXAMINER)
DR. ROMAN SPÖRRI (CO-EXAMINER)
PROF. DR. SABINE WERNER (CO-EXAMINER)
PROF. DR. DIETMAR ZEHN (CO-EXAMINER)

2016

ENGLISH SUMMARY

Dendritic cells (DCs) are the main antigen presenting cells of the immune system and play a pivotal role in regulating T cell responses. The current dogma states that antigen presentation by mature DCs evokes T cell immunity, whereas antigen presentation by immature DCs results in T cell tolerance. DCs are activated upon direct interaction with pathogens via so-called pattern recognition receptors (e.g. Toll-like receptors). Alternatively, DCs can be activated in an indirect manner via inflammatory mediators produced by other pathogen-exposed cells. As both directly and indirectly activated DCs exhibit a high costimulatory potential, differentially activated DCs are commonly not distinguished and interchangeably referred to as 'mature' DCs. Nevertheless, indirectly activated DCs lack production of pro-inflammatory cytokines and hence, fail to support effector T cell responses. Although indirectly activated DCs occur widespread within the host during infections, their functional role remains elusive. On the other hand, enormous advances in the field of DC-based vaccines have been made in the past decade and several receptors expressed by DCs were identified that mediate the uptake of exogenous antigens and their subsequent presentation. In particular, the receptor Clec9A was identified, which is selectively expressed in both mice and humans by DCs specialized in presenting exogenous antigens to CD8⁺ T cells. Therefore, antigen targeting to Clec9A⁺ DCs is currently believed to hold great potential for the development of DC-based vaccines aiming to manipulate T cell responses in various disease settings. However, it is currently not known whether antigen targeting to Clec9A⁺ DCs can also be exploited to induce antigen-specific CD8⁺ T cell tolerance.

This doctoral thesis aimed to investigate the functional properties of indirectly activated DCs and in particular, to unveil whether endogenous DCs activated by inflammatory cues have the potential to induce T cell tolerance *in vivo*.

Results presented in this study demonstrate that Clec9A⁺ DCs do not express Toll-like receptor 7 (TLR7), and that consequently this DC subset is activated via inflammatory mediators, such as type I IFNs and TNF α , upon *in vivo* administration of a TLR7 agonist. To target the model antigen gp33 to indirectly activated Clec9A⁺ DCs we thus fused gp33 to anti-Clec9A antibodies and injected these hybrid antibodies along with a TLR7 agonist into mice. In that manner, we could analyse the ability of indirectly activated Clec9A⁺ DCs to regulate T cell responses. Our results provide evidence that while indirectly activated Clec9A⁺ DCs fail to elicit CD8⁺ T immunity, they confer

antigen-specific CD8⁺ T cell tolerance *in vivo*. Thus, CD8⁺ T cells primed by indirectly activated Clec9A⁺ DCs were refractory to antigen re-encounter. Therefore, it is tempting to speculate that indirectly activated DCs contribute in maintaining peripheral T cell tolerance and hence, tissue homeostasis during an inflammatory response. Further, this study challenges the current dogma and highlights that the term 'mature' has been used to describe a heterogeneous population, comprising DCs which might considerably differ in their functional properties.

In summary, the data presented in this thesis give new insights into the functional properties of endogenous DCs activated *in vivo* by an inflammatory milieu and bear practical implications for the design of novel immunotherapies, aiming to specifically inhibit T cell responses in the context of autoimmunity.

GERMAN SUMMARY

Dendritische Zellen (DZ) sind die wichtigsten Antigen-präsentierenden Zellen des Immunsystems und spielen eine essentielle Rolle bei der Regulation von T Zell Antworten. Das gegenwärtige Dogma besagt, dass Antigen-Präsentation durch aktivierte DZ T Zell Immunität auslöst, wohingegen Antigen-Präsentation durch DZ im Ruhezustand T Zell Toleranz hervorruft. DZ werden typischerweise durch die direkte Interaktion mit Pathogenen durch spezialisierte Rezeptoren, wie z.B. Toll-like Rezeptoren, aktiviert. Alternativ können DZ auch durch Entzündungs-Mediatoren indirekt aktiviert werden, welche von anderen Zellen freigesetzt wurden, die direkt mit Pathogenen in Kontakt gekommen sind. Da sowohl direkt wie auch indirekt aktivierte DZ ein hohes kostimulatorisches Potential aufweisen, werden differenziell aktivierte DZ oft nicht unterschieden und auswechselbar als aktivierte DZ bezeichnet. Allerdings produzieren indirekt aktivierte DZ keine pro-inflammatorische Zytokine und können daher keine T Zell Immunität zu initiieren. Auch wenn indirekt aktivierte DZ bei jeder Infektion in grosser Zahl vorhanden sind, ist deren funktionelle Rolle unbekannt. Andererseits gab es im letzten Jahrzehnt beachtliche Fortschritte bei der Entwicklung von DZ-basierten Impfstrategien. Es wurden verschiedene durch DZ exprimierte Rezeptoren beschrieben, welche die Aufnahme und darauffolgende Präsentation von Peptide vermitteln. Insbesondere, wurde der Rezeptor Clec9A identifiziert, welcher in der Maus und im Menschen selektiv von DZ exprimiert wird, die auf die Präsentation von exogenen Antigenen an zytotoxische T Zell-Vorgänger spezialisiert sind. Daher werden Clec9A⁺ DZ als sehr vielversprechend erachtet für die Entwicklung von neuartigen Therapien, die darauf abzielen zytotoxische T Zell Antworten in verschiedenen Krankheitssituationen zu manipulieren. Es ist jedoch zurzeit noch unklar, ob Clec9A⁺ DZ dazu benützt werden können um Immunotherapien zu entwickeln, die darauf abzielen Antigen-spezifisch T Zell Toleranz hervorzurufen.

Das Ziel dieser Doktorarbeit war es, die funktionellen Eigenschaften von indirekt aktivierten DZ zu ergründen und insbesondere herauszufinden, ob endogene DZ die ausschliesslich durch Entzündungs-Mediatoren aktiviert wurden *in vivo* T Zell Toleranz induzieren können.

Die Ergebnisse dieser Dissertation zeigen, dass Clec9A⁺ DZ kein Toll-like Rezeptor 7 (TLR7) exprimieren und folglich indirekt über Entzündungs-Mediatoren wie z.B. Typ I Interferone und TNF α aktiviert werden, wenn ein TLR7 Agonist *in vivo* verabreicht wird.

Daher haben wir anti-Clec9A-gp33 Hybrid-Antikörpern zusammen mit einem TLR7 Agonist injiziert, damit unser Modelantigen gp33 durch indirekt aktivierte Clec9A⁺ DZ präsentiert wurde. Somit konnten die funktionellen Eigenschaften von indirekt aktivierten Clec9A⁺ DZ untersucht werden. Die Resultate dieser Studie haben gezeigt, dass indirekt aktivierte Clec9A⁺ DZ keine CD8⁺ T Zell Immunität hervorrufen, aber stattdessen Antigen-spezifisch T Zell Toleranz auslösen. Das bedeutet, dass CD8⁺ T Zellen welche durch indirekt aktivierten DZ aktiviert wurden, unempfindlich auf erneute Antigen-Stimulation werden. Daher spekulieren wir, dass indirekt aktivierte DZ während einer Entzündungsreaktion dazu beitragen, periphere T Zell Toleranz und somit Gewebemöostase aufrechtzuerhalten.

Darüber hinaus stellen unsere Resultate das derzeitige Dogma in Frage und weisen darauf hin, dass 'aktivierte DZ' eine heterogene Population darstellt. Dabei besteht diese Population aus DZ, denen mitunter gegensätzliche funktionelle Eigenschaften zugesprochen werden können.

Zusammenfassend tragen die Erkenntnisse dieser Dissertation dazu bei, die funktionellen Eigenschaften von DZ, welche *in vivo* durch Entzündungs-Mediatoren aktiviert wurden besser zu verstehen. Zudem liefern unsere Resultate wichtige Erkenntnisse für die Entwicklung neuartige Ansatzmöglichkeiten um spezifisch T Zell Antworten zu inhibieren, was im Kontext von Autoimmunität von hohem Interesse ist.