

DISS. ETH NO. 24512

THE REGULATION OF MEMORY INFLATION

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

presented by
NICOLAS BAUMANN
MSc UZH Biochemistry, University of Zürich

born on 27.02.1987
citizen of Thalwil, ZH

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Annette Oxenius (examiner)
Prof. Dr. Onur Boyman (co-examiner)
Prof. Dr. Christian Münz (co-examiner)

2017

1. General Summary

1.1 English summary

Infection with cytomegalovirus occurs in 60-90% of the human population. Despite being clinically asymptomatic in immunocompetent individuals, it represents a major threat to immunosuppressed individuals. Nowadays it remains a cause of the most frequent prenatal diseases. Yet, even in immunocompetent individuals, CMV infection is never completely eradicated from the infected individual as the virus efficiently establishes a latent state. This feature contributes to a specific pattern of CMV-specific CD8 T cell responses, namely 'memory inflation'. The unconventional accumulation of memory CD8 T cells has been gaining attention in immunological research. We sought to investigate factors that regulate the size, phenotype and function of this inflationary pool of CD8 T cells in peripheral organs with respect to cell intrinsic cues and extrinsic factors.

In the first part of the results section, we investigated what regulatory factors help to promote maintenance / survival of inflationary CD8 T cells in peripheral tissues. Previous data have highlighted that memory inflation is strictly dependent on antigen presentation on non-hematopoietic cells [1]. We showed that local proliferation within peripheral organs is not the main factor to maintain inflationary CD8 T cells at high frequencies. We unravelled an antigen-independent maintenance of inflationary CD8 T cells in the lungs, and we found a markedly prolonged half-life of inflationary CD8 T_{EM} cells from latent MCMV infection compared to T_{EFF} from acute MCMV infection, likely due to increased expression of the anti-apoptotic protein Bcl-2. In addition, we identified that peripheral maintenance of inflationary CD8 T cells is largely interleukin-15 (IL-15)-dependent. IL-15 was also responsible to maintain increased Bcl-2 levels in inflationary CD8 T cells. The non-hematopoietic cell compartment showed to be a prominent cellular source of IL-15, as ablation of IL-15 production in non-hematopoietic cells led to reduced survival of inflationary CD8 T cells in lung tissue. Finally, we show that IL-15R α expression on host cells is important for maintenance of inflationary CD8 T cells in lung tissue, suggesting IL-15 trans-presentation being important in promoting survival of inflationary CD8 T cells in lung tissue.

In the second part of the results, we focussed on the factor that promote and limit the size of the inflationary T cell pool in lung tissue. We substantiate the notion that (re-)activation of MCMV-specific memory CD8 T cells is particularly important in the LNs, triggered by antigen presentation on non-hematopoietic cells, to continuously fuel the peripheral pool of inflationary cells. We show that CD8 T cells unable to migrate to the LNs contribute substantially less to the inflationary response. Furthermore, we exclude "space" constraints in peripheral organs that would limit

General Summary

memory inflation, but rather show that the number memory precursor effector cells (MPECs) elicited during acute MCMV infection in the LNs are indicative of the subsequent size of the inflationary T cell pool during viral latency. We could increase the peripheral inflationary pool size when we increased early MPECs in the LNs. Finally, we show that increased memory inflation was beneficial in conferring protection from peripheral infection with Vaccinia virus (VV) expressing inflationary epitopes. In addition, we show that peripheral protection is restricted to inflationary CD8 T cells, whereas immunity to a non-inflationary epitope does not confer protection from peripheral infection with VV expressing the non-inflationary epitope.

In the general discussion part, we summarise establishment of memory CD8 T cells during acute infections and discuss the antigenic and cellular prerequisites that induce the "memory inflation deviation" from this classical memory responses. We give a perspective of the use of CMV-based vectors for T cell-based vaccines and the role of CMV infection and CMV-induced immunity in the context of heterologous immunity, ageing and immunosenescence.

1.2 German Summary

60-90% der Weltbevölkerung ist mit Zytomegalievirus (CMV) infiziert. Obschon die Infektion in immunkompetenten Individuen klinisch asymptomatisch verläuft, stellt das Virus eine grosse Gefahr für immunsupprimierte Individuen dar. Es ist heutzutage noch eine der häufigsten Pränatalinfektionen. Selbst in gesunden, immunkompetenten Individuen wird die Infektion mit dem CMV zwar kontrolliert, jedoch nie vollständig eliminiert, da sich das Virus effizient in eine Latenzphase begibt. Diese Phase ist durch eine spezifische Kinetik der CMV-spezifischen CD8 T Zellantworten geprägt, genauer der "Gedächtniszell-Inflation". Diese aussergewöhnliche Anreicherung an CD8 T Gedächtniszellen hat in der immunologischen Forschung grosses Interesse ausgelöst. Wir interessierten uns für Regulationsfaktoren, die dazu beitragen, dass der inflationäre T Zell-Pool aufgrund intrinsischer und extrinsischer Faktoren seinen hohen Mengenanteil in peripheren Organen langfristig beibehalten kann.

Im ersten Teil des Resultatkapitels untersuchten wir die Regulationsfaktoren, die die Aufrechterhaltung und das Überleben der inflationären CD8 T Zellen in peripheren Geweben unterstützen können. Frühere Studien in Mäusen haben gezeigt, dass die "Gedächtniszell-Inflation" auf Antigenpräsentation in nicht-hämatopoietischen (nicht-blutbildenden) Zellen angewiesen ist [1]. Wir konnten aufzeigen, dass lokale Proliferation innerhalb peripherer Organe kein relevanter Regulationsfaktor ist, um die Menge inflationärer CD8 T Zellen aufrechtzuhalten. Wir konnten eine Antigen-unabhängige Aufrechterhaltung der inflationären CD8 T Zellen in der Lunge beschreiben. Die Halbwertszeit von CD8 T Effektor-Gedächtniszellen in der latenten Mauscytomegalovirus (MCMV) Infektion ist länger als für CD8 T Effektorzellen in der akuten MCMV Infektion, vermutlich aufgrund erhöhter Expression des anti-apoptischen Proteins Bcl-2. Zusätzlich konnten wir zeigen, dass die relativ lange Halbwertszeit der peripheren inflationären CD8 T Zellpopulation Interleukin (IL)-15-abhängig ist. Das Zytokin IL-15 vermag die erhöhten Bcl-2 Expressionslevels in den inflationären CD8 T Zellen aufrechtzuhalten. Die nicht-hämatopoietischen Zellen erwiesen sich als wichtiges zelluläres Kompartiment, welches die nötigen IL-15 Überlebenssignale produzieren kann. Ausserdem zeigten wir, dass die Überlebenssignale durch IL-15 ebenfalls von der IL-15 Rezeptor α -Kette des Wirtes abhängig sind, was darauf hindeutet, dass ein Transpräsentations-Mechanismus für die Übermittlung dieses Zytokins wichtig ist.

Im zweiten Resultatteil lag der Fokus auf dem inflationären T Zell-Pool und den Mechanismen, welche diesen Pool speisen und limitieren. Ziel war es zu verstehen, von wo der Pool an inflationären Gedächtniszellen gespeisen wird und wir konnten zeigen, dass in diesem Prozess den Lymphknoten eine besondere Rolle zukommt, wo Aktivierung von MCMV-spezifischen CD8

T Gedächtniszellen aufgrund von Antigenpräsentation auf nicht-hämatopoietischen Zellen stattfindet und zur Reaktivierung, Differenzierung und Dissemination dieser Zellen in periphere Organe führt. Wir zeigen, dass CD8 T Zellen, die nicht in die Lymphknoten eintreten können, nur beschränkt inflationäre T Zellantworten durchführen können. In weiteren Experimenten konnten wir zeigen, dass in peripheren Organen wie der Lunge keine intrinsischen "Platznischen" existieren, welche die Akkumulation von inflationären Gedächtniszellen beschränken. Vielmehr konnten wir zeigen, dass Gedächtnisvorläufer-Effektor T Zellen in den Lymphknoten, die in der akuten MCMV Infektion aktiviert wurden, indikativ sind für die Grösse des inflationären T Zell-Pools in der viralen Latenz. Sobald wir diese Gedächtnisvorläufer-Effektor T Zellen in den Lymphknoten erhöhen, führte dies zu einer Erhöhung des peripheren, inflationären T Zell-Pools. Diese Erhöhung des inflationären T Zell-Pools erwies sich als vorteilhaft und schützte vor einer peripheren Infektion mit einem rekombinanten Vacciniavirus, welches dasselbe inflationäre Epitop exprimiert. Dazu konnten wir zeigen, dass dieser periphere Schutz nur von inflationären CD8 T Zellen gewährleistet werden konnte, da T Zell Immunität gegen ein nicht-inflationäres Epitop keinerlei Schutz vor einer Infektion mit Vacciniavirus, welches dasselbe nicht-inflationäre Epitop exprimiert, gewährleistete.

Im Diskussionsteil fassen wir die Entstehung von CD8 T Gedächtniszellen, die in akuten Infektionen beschrieben wurden, zusammen. Wir diskutieren dann die unterschiedliche Bildung von CD8 T Gedächtniszellen in chronischen Virusinfektionen und die Besonderheiten von CMV-spezifischen CD8 T Zellen in einem Beispiel für persistente, latente Virusinfektionen. Zum Schluss gewähren wir einen Ausblick für CMV-basierte Vektoren als Vehikel für T Zell-basierte Impfungen, für die Bedeutung der CMV Infektion im Kontext zu heterologer Immunität, Immunalterung und Immunseneszenz.