

DISS. ETH NO. 24922

# Tuning of Immune Homeostasis and Immune Responsiveness by Persistent Viral Infections

A Thesis submitted to attain the degree of

**DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH**  
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

**ISABEL CHRISTIANE BARNSTORF**

MSc Molecular Cell and Developmental Biology  
University of Innsbruck, Austria

born on 27.12.1987  
citizen of Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Annette Oxenius (examiner)

Prof. Dr. Nicole Joller (co-examiner)

Prof. Dr. Antonio Lanzavecchia (co-examiner)

Prof. Dr. Christian Münz (co-examiner)

Zurich, 2018

## 1.1 Summary

Humans acquire 8-12 chronic virus infections during their lifetime. We have gained substantial knowledge about the regulation of virus-specific T and B cell immunity in these highly prevalent actively replicating and latent/ reactivating chronic virus infections over the past decades. These chronic viral infections affect immune responsiveness e.g. by inducing and sustaining altered baseline levels of pro-inflammatory or immunomodulatory cytokines, by boosting innate immune responsiveness, by changing the composition of lymphocyte populations and antigen presenting cell function.

The aim of this thesis was to go beyond the analysis of immune responses, which are specific for the persistently infecting virus, to assess the consequences of persistent viral infections on *de novo* induction of, or existing heterologous immunity, i.e. their "bystander effects".

The first part of the results section is dedicated to the investigation of the impact of persistent virus infections on fully formed memory bystander T cells. Previous studies showed sustained loss of "bystander" memory T cells in experimental murine infection with LCMV, as well as impaired effector to memory transition of primed non virus-specific CD8 T cells in presence of chronic LCMV infection. We determined that active chronic virus infection had a profound impact on total numbers, phenotype and function of memory bystander T cells. There was a link between phenotypic alterations in bystander memory CD8 T cells and prolonged viremia. The phenotypic changes included upregulation of markers commonly associated with effector cells that were selectively induced by elevated levels of IL-6 in the context of chronic virus infection. Furthermore, bystander CD8 T cell functions were reduced with respect to their ability to produce inflammatory cytokines and to undergo secondary expansion upon cognate antigen challenge. However, these compromised functions were only observed within chronically infected hosts, and not upon transfer into naïve hosts, indicative of major cell-extrinsic contributions responsible for the diminished memory potential of bystander CD8 T cells.

The second part of the results section assesses the consequences of persistent viral infections on *de novo* induction of heterologous immunity. It has been shown that the antigen inexperienced T cell pool of patients with chronic hepatitis C virus (cHCV) infection exhibited a phenotype of central memory T cells and lower CD5 expression, which correlated with a lower threshold for TCR signalling and heightened immune responsiveness. We demonstrate that

chronic virus infections have a profound effect on total numbers, phenotype and function of naïve bystander CD8 T cells. Importantly, primary expansion upon antigen encounter and acquisition of an effector phenotype was severely compromised in chronically infected hosts. Naïve CD8 T cells being exposed to heterologous chronic viral infection exhibited reduced CD5 expression, a negative regulator of TCR signalling, and enhanced expansion and effector cell differentiation after cognate activation in a naïve host. Thus, naïve bystander CD8 T cells are compromised in their expansion and effector cell differentiation in chronically infected hosts, but show enhanced expansion and effector cell differentiation following transfer and activation in naïve hosts.

## 1.2 Zusammenfassung

Der Großteil der Weltbevölkerung ist von chronischen viralen Infektionen betroffen mit einer Schätzung von 8-12 Infektionen pro Individuum. In den letzten Jahrzehnten haben wir uns ein sehr umfangreiches Wissen über die Regulation der virusspezifischen T- und B- Zellimmunität bei aktiv replizierenden und latent / reaktivierenden chronischen Virusinfektionen angeeignet. Diese chronischen Virusinfektionen beeinflussen die Reaktionsfähigkeit des Immunsystems beispielsweise durch die Induktion und Aufrechterhaltung erhöhter Werte von proinflammatorischen oder immunmodulatorischen Zytokinen, durch das Verstärken der angeborenen Immunantwort, oder durch die Veränderung der Komposition von Lymphozytenpopulationen und der antigenpräsentierenden Zellfunktionen.

Ziel unserer Studie war es über die Analyse von virusspezifischen Immunantworten hinauszugehen, um die Folgen von persistenten Virusinfektionen auf die *de novo* Induktion oder bereits existierende heterologe T-Zell-Immunität, d. h. deren "Bystander-Effekte", zu ergründen.

Im ersten Teil dieser Arbeit untersuchten wir die Auswirkungen von persistenten Virusinfektionen auf voll ausgebildete "Bystander" Gedächtnis T-Zellen. Frühere Studien zeigten einen dauerhaften Verlust von "Bystander" Gedächtnis T-Zellen während einer experimentellen Mausinfektion mit LCMV, sowie eine gestörte Differenzierung von Effektor- zur Gedächtniszelle bei induzierten, nicht virusspezifischen CD8 T-Zellen in Gegenwart einer chronischen LCMV-Infektion. Wir stellten fest, dass eine aktive chronische LCMV Infektion eine tiefgreifende Auswirkung auf die Gesamtanzahl, den Phänotyp und die Funktion von "Bystander" Gedächtnis T-Zellen hat. Es besteht indes ein Zusammenhang zwischen den phänotypischen Veränderungen in "Bystander" Gedächtnis CD8 T-Zellen und anhaltender Virämie. Die phänotypischen Veränderungen umfassen eine erhöhte Expression von Oberflächenmarkern, welche üblicherweise mit Effektorzellen assoziiert sind. Diese Veränderungen werden während einer chronischen Virusinfektion selektiv durch IL-6 induziert. Funktionell sind diese "Bystander" CD8 T-Zellen in ihrer Fähigkeit inflammatorische Zytokine zu produzieren, sowie sekundär zu expandieren deutlich beeinträchtigt. Diese kompromittierten Funktionen wurden jedoch nur innerhalb von chronisch infizierten Wirten beobachtet, was auf wesentliche zell-extrinsische Effekte hinweist, welche der Grund für das verminderte Gedächtnispotential von "Bystander" CD8 T-Zellen sein könnten.

Des Weiteren untersuchten wir die Folgen persistierender viraler Infektionen auf *de novo* Induktion von heterologer T-Zell-Immunität. In einer Studie konnte bereits gezeigt werden, dass der antigenunerfahrene T-Zellpool von Patienten mit chronischer Hepatitis-C-Infektion (cHCV) einen Phänotyp von zentralen Gedächtniszellen und eine erniedrigte CD5 Expression aufwies. Dies korrelierte mit einem niedrigeren Schwellenwert für T-Zellrezeptor (TZR) Signaltransduktion und einer verstärkten Immunantwort. Wir zeigen in unserer Studie, dass chronische Virusinfektionen eine tiefgreifende Auswirkung auf die Gesamtzahl, den Phänotyp und die Funktion von naiven "Bystander" CD8 T-Zellen haben. Hervorzuheben ist, dass die primäre Expansion nach Antigenkontakt und der Erwerb eines Effektorphänotyps bei chronisch infizierten Wirten stark beeinträchtigt war. CD5, ein negativer Regulator der TZR-Signaltransduktion, ist von naiven CD8 T-Zellen während einer heterologen chronischen Virusinfektion vermindert exprimiert. Zudem verstärkt eine heterologe chronische Virusinfektion die Expansion und Effektorzellendifferenzierung der naiven "Bystander" nach kognater Aktivierung in einem naiven Wirt. Naive "Bystander" CD8 T-Zellen sind folglich in chronisch infizierten Wirten in ihrer Expansion und Effektorzellendifferenzierung kompromittiert, zeigen jedoch eine verstärkte Expansion und Effektorzellendifferenzierung nach Transfer und Aktivierung in naiven Wirten.