



# Skin resident T cells

## *Implications for immune homeostasis and disease*

T.R. Matos

---

Op vrijdag 8 november 2019 verdedigde Tiago R. Matos aan de Universiteit van Amsterdam zijn proefschrift getiteld *Skin Resident T cells. Implications for immune homeostasis and disease*. Tiago promoveerde met toekenning van het *judicium cum laude*. Het is meer dan dertig jaar geleden dat dit *cum laude judicium* werd toegekend aan een promovendus van de afdeling Dermatologie van de Universiteit van Amsterdam. Het onderzoek werd verricht op Harvard Medical School (Boston, USA) en op de afdeling Dermatologie van het Amsterdam UMC (AMC, Amsterdam) onder begeleiding van zijn promotoren prof. dr. M. A. de Rie (dermatoloog, Amsterdam UMC), prof. dr. R.A. Clark (dermatoloog, Harvard Medical University and Brigham and Women's Hospital) en zijn copromotor dr. M.B.M. Teunissen (Immunoloog, Amsterdam UMC). De belangrijkste bevindingen staan hieronder beschreven.



*Tiago Matos ontvangt zijn bul uit handen van de promotoren prof. dr. R.A. Clark en prof. dr. M.A. de Rie.*

Tissue resident memory T cells oftewel weefselresidente T-geheugencellen (afgekort tot  $T_{RM}$ -cellen) zijn cruciale cellen voor het behoud van gezond weefsel. In de huid gelokaliseerde  $T_{RM}$ -cellen zijn niet alleen belangrijke spelers bij het in stand houden van de cutane immuunhomeostase, maar kunnen wanneer ze afwijkende activatiesignalen ontvangen ook een essentiële rol spelen bij verschillende huidaandoeningen (hoofdstuk 1).

### **OORSPRONG, DIFFERENTIATIE EN MIGRATIE**

In **deel I** gaat we dieper in op de oorsprong, differentiatie en migratie van  $T_{RM}$ -cellen. In **hoofdstuk 2** wordt het sleutelartikel van Jan Bos et al. (1987, AMC - Amsterdam) besproken, waarin voor eens en voor altijd bevestigd werd dat lymfocyten permanent aanwezig zijn in een gezonde huid. Deze cruciale ontdekking heeft bijgedragen aan een nieuwe richting van het immunologisch onderzoek van de huid, waarbij het belang

---

Aios, afdeling Dermatologie, Amsterdam UMC, locatie AMC, Amsterdam

van T-cellen voor de gezonde en zieke huid duidelijk wordt. In **hoofdstuk 3** onderzochten we hoe  $T_{RM}$ -cellen kunnen ontstaan uit verschillende circulerende T-cel subsets die naar de huid kunnen migreren. Hoewel de zogenoemde centrale T-geheugencellen ( $T_{CM}$ ) de meest effectieve voorlopers zijn, kunnen  $T_{RM}$ -cellen ook ontstaan uit andere circulerende T-cel subsets. Dit illustreert de enorme overmaat en flexibiliteit van T-cellen in hun reacties op ziekteverwekkers in perifere weefsels. Na te hebben vastgesteld dat  $T_{RM}$ -cellen kunnen worden gegenereerd uit alle subtypen circulerende T-cellen, wordt in **hoofdstuk 4** verder benadrukt hoe afzonderlijke lymfocytsubtypen in de bloedcirculatie een rol kunnen spelen in de bewaking van weefsel. Humane  $T_{CM}$  en effector-T-geheugencellen ( $T_{EM}$ ) zijn beide aanwezig in gezond menselijk weefsel en kunnen onder andere homingreceptoren voor perifere weefsel tot expressie brengen, hebben indrukwekkende effectorfuncties en kunnen zelfstandig een huidontsteking induceren. Dit ondersteunt een nieuwe rol voor humane  $T_{CM}$  bij primaire immunosurveillance van perifere weefsels. Met als uitgangspunt dat er verschillende subklassen van lymfocyten aanwezig zijn in perifere weefsels die voor immunosurveillance zorgen, geven we in **hoofdstuk 5** een gedetailleerde beschrijving van de relatieve verhoudingen en functionele activiteiten van residente versus recirculerende T-cellen in de menselijke huid. In deze studie tonen we aan dat de menselijke huid wordt beschermd door vier functioneel verschillende populaties van T-cellen: twee residente ( $T_{RM}$   $CD103^+$  of  $CD103^-$ ) en twee recirculerende ( $T_{CM}$  en  $T_{MM}$ ) T-cel subsets, met verschillende migratie-eigenschappen (epidermis versus dermis) en verschillende functionele activiteiten. In **hoofdstuk 6** bewijzen we dat epidermale  $T_{RM}$ -cellen mobiel zijn, zowel bij de mens als bij de muis.  $CD8^+$   $T_{RM}$  patrouilleren door de huid door voortdurend te migreren door de papillaire dermis en epidermis, net onder het niveau van sessiele langerhanscellen.

### **PATHOGENISCHE $T_{RM}$ -CELLEN IN HUIDZIEKTEN**

In **deel II** hebben we de rol van  $T_{RM}$ -cellen bij psoriasis, graft-versus-hostziekte (GvHD) en vitiligo bestudeerd. In **hoofdstuk 7** is de bijdrage van residente T-celpopulaties bij psoriasis onderzocht. In dit hoofdstuk tonen we aan dat IL-17-producerende  $\alpha\beta$ -T-celklonen met psoriasis-specifieke antigeenreceptoren aanwezig zijn in klinisch genezen psoriatische huidlaesies. Mogelijk vertegenwoordigen deze oligoklonale T-celpopulaties een groep van ziekte-initiërende pathogene T-cellen bij psoriasis en zou langdurige genezing van deze ziekte kunnen worden bereikt door onderdrukking van deze residente T-celpopulaties. In **hoofdstuk 8** beschrijven we de rol van interleukine-9 (IL-9) als een vroege ontstekingsversterker en de invloed ervan op  $T_{RM}$ -cellen. IL-9-producerende  $CD4^+$ -T-helpercellen zijn even frequent aanwezig als IL-17 producerende T-helpercellen (TH17-cellen) bij psoriasis, maar het meeste IL-9 werd geproduceerd door niet-TH17 cellen. IL-9 heeft vroege effecten op  $T_{RM}$ -cellen, hetgeen consistent is met een rol van IL-9 als een vroege ontstekingsversterker in diverse inflammatoire huid-aandoeningen. In **hoofdstuk 9** hebben we de rol van  $T_{RM}$ -cellen bij GvHD onderzocht. GvHD is een belangrijke oorzaak van ziekte en overlijden bij patiënten na hematopoëtische stamceltransplantatie. We laten zien dat wanneer  $T_{RM}$ -cellen in de

## Nieuwe behandelingen gericht op pathogene $T_{RM}$ -cellen kunnen patiënten wellicht genezen van chronische inflammatoire huidziekten.

huid worden geprikkeld door allogene donorafgeleide antipresenterende cellen,  $T_{RM}$ -cellen gaan prolifereren en cytokinen produceren waarvan bekend is dat ze deelnemen aan de pathogenese van GvHD. De resultaten suggereren dat  $T_{RM}$ -uitputtingsstrategieën nuttig zouden kunnen zijn bij het verminderen van GvHD. In **hoofdstuk 10** laten we zien hoe cutane  $T_{RM}$ -cellen bijdragen aan het ontstaan van vitiligo en het cutane melanoom, en daarom een potentieel therapeutisch target zijn. De aanwezigheid van autoreactieve  $T_{RM}$ -cellen in humane vitiligolaesies en in muismodellen van vitiligo geven aan dat het remmen van deze cellen effectief kan zijn als een duurzame behandelingsstrategie voor vitiligo. Omgekeerd is de inductie van melanoomreactieve  $T_{RM}$ -cellen nodig om effectieve bescherming tegen tumorgroei te bereiken.

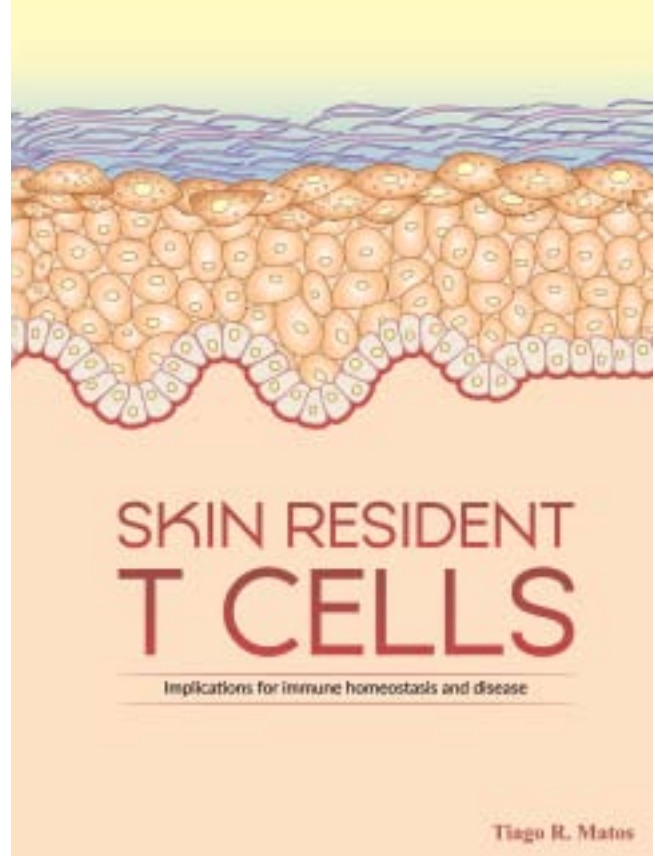
### **LICHTTHERAPIE VOOR $T_{RM}$ -HUIDZIEKTEN**

In **deel III** beschrijven we de waarde van lichttherapie voor  $T_{RM}$ -gerelateerde ziekten, zoals psoriasis en vitiligo. In **hoofdstuk 11** introduceren we lichttherapie als misschien wel de oudste vorm van behandeling in de dermatologie voor een breed scala van huidziekten. Het is een uiterst effectieve, veilige en algemeen gebruikte vorm van behandeling. De ultraviolette straling (UVR), afkomstig van de zon of kunstmatige lichtbronnen, heeft een krachtig immunomodulerend effect. In **hoofdstuk 12** geven we een overzicht van de immunologische mechanismen waardoor ultraviolette straling werkt.

UVR activeert meestal het aangeboren immuunsysteem, terwijl het adaptieve immuunsysteem wordt onderdrukt en leidt tot zowel lokale als systemische effecten. Het effect is anti-geenspecifiek, werkt op zowel effector- als regulerende T-cellen, verandert de antigen presenterende celfunctie en induceert de uitscheiding van cytokinen en oplosbare mediators. UVR kan een gunstig effect hebben op de huid (denk aan vitamine D), maar is tegelijkertijd ook de belangrijkste oorzaak van huidkanker. In **hoofdstuk 13** worden de moleculaire en cellulaire mechanismen beschreven die leiden tot lichttherapiegeïnduceerde carcinogenese. In **hoofdstuk 14** gaan we in op de bestaande literatuur van vier belangrijke ultraviolette B (UVB)-modaliteiten van lichttherapie bij de behandeling van psoriasis: heliotherapie, breedband UVB, smalband UVB (NBUVB) en de excimerlaser en -lamp. In dit hoofdstuk bieden we een geactualiseerd en uitgebreid overzicht van UVB-lichttherapieën voor psoriasis. Lichttherapie was ook de eerste beschikbare behandeling voor vitiligo en is de meest veilige en efficiëntste therapie gebleken. NBUVB is in staat repigmentatie te stimuleren en ziekteregressie te induceren.

## RESEARCH TECHNIQUES MADE SIMPLE

In **deel IV** beschrijven we de nieuwste technologieën die voor dit proefschrift worden gebruikt, zoals massacytometrie en *high-throughput sequencing* van de T-celreceptor (TCR). In **hoofdstuk 15** bespreken we de uitdaging van effectieve communicatie tussen wetenschappers en artsen. Tevens vindt introductie plaats van de hoofdstukken waarin onderzoekstechnieken in eenvoudige bewoordingen worden beschreven - *research techniques made simple* (RTMS). Manuscripten in RTMS-format zijn fundamentele hulpmiddelen om onderzoekskennis en vocabulaire te delen die noodzakelijk zijn voor een effectieve communicatie tussen klinici en onderzoekers. In **hoofdstuk 16** beschrijven we de belangrijkste experimentele methoden voor *mass cytometry by time of flight* (CyTOF) – een massacytometrietechniek waarbij cellen (gelabeld met een grote serie antilichamen die elk geconjugeerd zijn met een uniek metaalisotoop) geïoniseerd worden, waarna een massaspectrometer de tijd determineert die de verschillende ionen nodig heeft om de detectieplaat te bereiken. Geavanceerde CyTOF kan een grote impact hebben op onze wetenschappelijke kennis. Het succes van massacytometrie-experimenten hangt echter af van het volledig begrijpen van de methode en van het beheersen van variaties bij het maken van vergelijkingen tussen monsters. In **hoofdstuk 17** bespreken we enkele veelgebruikte en toegankelijke massacytometrie data-analysetools, waaronder *Principal Component Analysis* (PCA), *Spanning-tree Progression Analysis van Density-normalized Events* (SPADE), *t-distributed stochastic neighbor embedding* (t-SNE)-gebaseerde visualisatie (viSNE), automatische classificatie van cellulaire expressie door niet-lineaire stochastische inbedding (ACCENSE) en clusteridentificatie, karakterisering en regressie (CITRUS). *High-throughput-sequencing* (HTS) van de TCR is een andere nieuwe snel voortschrijdende immunologische techniek die gevoelige en nauwkeurige identificatie en kwantificering mogelijk maakt van elke afzonderlijke T-celkloon die aanwezig is in elk biologisch monster. In **hoofdstuk 18** gaan we in op de methodologie, vooruitgang en beperkingen van



Het proefschrift is te vinden op:

<http://hdl.handle.net/11245.1/088e57f2-8667-4ba4-b56b-14b8f3052c70>

HTS van de TCR en beschrijven we nieuwe toepassingen van deze techniek op het gebied van dermatologisch onderzoek. We recapituleren de hoofdstukken van deel IV door middel van een quiz. In **hoofdstuk 19** worden de technieken die in dit deel van het proefschrift werden besproken samengevat in een PowerPoint presentatie en een quiz.

## TOEKOMSPERSPECTIEVEN

Ter afsluiting van het proefschrift worden in **hoofdstuk 20** de belangrijkste resultaten en definitieve conclusie van deze thesis besproken. In **hoofdstuk 21** presenteren we de toekomstige perspectieven van  $T_{RM}$ -cellen in de preventieve en therapeutische geneeskunde. Er zou meer onderzoek gedaan moeten worden naar de veiligheid van het blokkeren en induceren van  $T_{RM}$ -cellen in mensen. Over deze nieuwe subset van T-cellen kan veel worden geleerd. Het gebruik van deze kennis bij de ontwikkeling van therapeutische en preventieve therapieën kan leiden tot een betere kwaliteit van leven van veel patiënten met huidaandoeningen. Nieuwe behandelingen gericht op pathogene  $T_{RM}$ -cellen kunnen patiënten wellicht genezen van chronische inflammatoire huidziekten. Bovendien worden vaccins doorgaans gegenereerd om systemische geheugenrespons te induceren, wat soms leidt tot onvoldoende bescherming. Het herkennen van  $T_{RM}$ -cellen als sterke versterkers van weefselspecifieke immuniteit kan een revolutie teweegbrengen in vaccinatiestrategieën van de toekomst. Het is noodzakelijk om ons begrip van  $T_{RM}$ -biologie, pathogeniciteit en bijbehorende mechanismen van immuunbescherming uit te breiden, om effectievere behandelingen te ontwikkelen die mogelijk ook infectieziekten kunnen voorkomen.

## CORRESPONDENTIEADRES

Tiago Matos

E-mail: [t.matos@amsterdamumc.nl](mailto:t.matos@amsterdamumc.nl)