

Onze volgende spreker is Michael Sikora, van hier aan Stanford University. Hij werkt in de groep van Lars Steinmetz, aan het Departement Genetica. Ze werken nu ongeveer een jaar samen met Rons groep. Onlangs kregen ze een onderzoekssubsidie van de NIH voor dit project: het onderzoek naar de rol van T-cellen bij ME/CVS. Dank u. Ik nodigde Michael uit om jullie hier een presentatie te geven. Michael is een doctoraatsstudent. Ik doe dit om jullie te tonen wat de kwaliteit is van studenten van Stanford. Dit zijn de personen die een verschil maken in de research. Om hem bij zijn carrière te helpen, zei ik alleen: "jij hebt de leiding". Je hebt geluisterd naar deze drie leden van de faculteit: Mark Davis, Lars Steinmetz - OK - en mij. Zeg ons wat we moeten doen. Hij is de uitdaging aangegaan en ik denk dat dit heel goed is voor zijn carrière. Dit is een gelegenheid om een student bezig te zien en niet alles te moeten horen van mensen die de experimenten niet echt doen. Dank u, Michael. Dank u Ron Ik hoop dat, nu je mij de leiding gaf, ik kan stoppen met de experimenten. Het is echt een eer om hier te mogen komen tussen zo veel gevestigde onderzoekers. Vandaag zal ik het hebben over een project dat we in het lab ontwikkeld hebben, dat we nu toepassen op het vlak van ME/CVS. Ik heb geprobeerd de wetenschap wat makkelijker te maken zodat het voor iedereen toegankelijk is. Misschien is het nog een beetje ingewikkeld maar ik zal jullie wijzen op de belangrijkste punten die, althans voor voorlopige resultaten, veelbelovend zijn. Het project waarover ik het vandaag heb, gaat over het immuunsysteem. Uiteraard is er al vaak gezegd dat het immuunsysteem een grote rol zou kunnen spelen bij ME/CVS. Wellicht weten jullie dat er verschillende ziektemakers zijn die mensen kunnen besmetten. Dat gaat van virussen tot bacteriën. Ron vermeldde ook schimmels. Griep bijvoorbeeld en herpes zijn virale infecties. En je kan tuberculose of longontsteking krijgen van bacteriën. Wat je op deze afbeelding kan zien, is een gedeelte van alle organismen die mensen kunnen besmetten, maar er zijn er veel en dat kan gebeuren overal in het lichaam. De taak van het immuunsysteem is deze infecties te detecteren en te neutraliseren. Op deze tekening wordt een weg getoond die het immuunsysteem volgt om deze potentiële indringers te ontdekken. Vandaag zal ik het specifiek hebben over T-cellen. Dit is een celtipe van het immuunsysteem. Het immuunsysteem is heel complex. Dit is wat vereenvoudigd, enkel om je te leren hoe deze T-cellen werken. Ze reizen door het lichaam doorheen het lymfatisch systeem. Ze zitten ook in het bloed. De T-cellen reizen door heel het lichaam en zoeken al je cellen af. Hartcellen, hersencellen, huidcellen enz. Elk heeft een T-celreceptor, zoals hier. Het lijkt op een arm op de T-cel, die aftast en kijkt naar de cellen, zoals hier aangegeven, of die cel al dan niet geïnfecteerd is. Op basis van een heel specifieke interactie van de T-celreceptor met de cel kan hij bepalen of de cel besmet is. Als hij dan besluit dat ze besmet is, zal hij de besmette cel doden. Zoals ik vermeldde, zijn er veel mogelijke ziektemakers. Wat aangeboden wordt aan de T-cel, hier in het rood, dat is heel wisselend, dus moet het immuunstelsel een boel verschillende T-celreceptoren maken. Ik ga niet verder in op hoe dat gebeurt, maar je hebt veel T-cellen in het lichaam, elk met zijn eigen T-celreceptor. Op die manier, als je wat voor een infectie ook hebt, kan iedere T-cel met zijn eigen T-celreceptor, dergelijke infectie herkennen en wegnemen wat het lichaam ook maar binnendringt. Je begint met vele T-cellen, elk met hun eigen T-celreceptor, zoals aangegeven met de kleuren. Elk heeft zijn eigen specificiteit. Bij een infectie zullen sommige T-cellen een besmette cel herkennen en er zal een proces plaatsvinden dat klonale expansie wordt genoemd. Dit is een cruciaal punt in deze lezing. Deze klonale expansie, als deze T-cel de infectie herkent, dan zal ze zichzelf dupliceren, en de zelfde T-celreceptor behouden. Op die manier heeft het immuunsysteem nu een heleboel van die blauwe T-cellen, die allemaal die besmette cellen herkennen en zo kan er een sterkere reactie komen op de infectie. Het sleutelement is hier die interactie, tussen de T-cel en de besmette cel, waarover ik het daarnet had. Het moet heel specifiek zijn: Deze klonale expansie gebeurt niet gewoon bij toeval. Er moet iets zijn dat het herkent opdat het zich gaat klonen. Dat was een beetje achtergrond, ik zal eens samenvatten wat ik tot nu heb gezegd. De taak van het immuunsysteem is om in het lichaam naar infecties te zoeken. Het immuunsysteem, in dit geval de T-cellen, zullen daarna deze besmette cellen doden. Elk

van die T-cellen heeft T-celreceptoren die heel specifiek zijn voor een bepaalde infectie. Als de cel de specifieke infectie herkent, gaat ze zichzelf klonen. Het is heel zeldzaam dat een enkele T-cel een bepaalde infectie herkent. Dit is het eerste plaatje met gegevens dat ik zal tonen. Ik denk dat Mark Davis vorig jaar tijdens zijn presentatie hier dit plaatje heeft laten zien. Dit is de kern van het project, dat we zullen doen, waarover meer in het volgende deel van mijn presentatie. Elke cirkel is een taartdiagram en stelt de diversiteit van T-celreceptoren voor bij een individu. Bovenaan zie je de gezonde controlepersonen. Het grootste deel van deze taart is wit, wat aangeeft dat de T-cellen elk een unieke receptor hebben. Dit betekent dat er heel weinig klonale expansie is bij deze gezonde controlepersonen. Daar tegenover, hier zijn de Lyme-patiënten en onderaan de MS-patiënten (multiple sclerose). Dit zijn bekende immuunziekten. Er is een antwoord van de T-cellen op deze ziekten bij een bekende infectie. Hier zie je de ME/CVS-patiënten. Ze vertonen een gelijkaardig patroon. Dit suggereert dat er op zijn minst een immuunreactie is bij ME/CVS-patiënten, die je niet ziet bij gezonde controles en die je wel ziet bij andere ziekten met een geactiveerde immuunreactie. Om terug te gaan naar de tekening, bij ME/CVS-patiënten en die andere ziekten is er veel klonale expansie. Bij de gezonde controles heb je enkel unieke T-cellen. Dit is de achtergrond en de reden waarom we ons project starten om deze gekloonde T-cellen te bekijken. Vooraleer tot die resultaten te komen, geef ik je wat meer achtergrond. Dit is het plaatje met de fundamentele achtergrond. Het staat bekend als het centrale dogma van de biologie. Ik denk dat de meeste mensen weten dat we DNA hebben in onze cellen. Dat heeft genen, die RNA maken, wat daarna eiwitten aanmaakt. Deze eiwitten hebben een functie, ze trekken erop uit en doen dingen zoals besmette cellen doden. We gebruiken een technologie, RNA-seq genoemd. Wat we in feite doen, is het RNA lezen van cellen in ons lichaam. Ik loop dat ook met jullie door. Stel je deze lijn voor als jouw DNA. Overal op je DNA bevinden zich genen, aangeduid in het rood. Deze genen komen soms tot uitdrukking, dan maken ze RNA aan en dat RNA zal daarna eiwit aanmaken. De basis van ons project is het feit dat het RNA het eiwit overschrijft, dat is wat er uitkomt en wat het zijn functie geeft. Verschillende genen hebben verschillende functies. Als je op hartcellen een RNA-seq uitvoert, dan zullen de genen belangrijk voor de hartfunctie 'aan' staan. Net zo, in de nieren staan de niergen 'aan' en de andere genen niet. Dit wilden we toepassen op die T-cellen met een klonale expansie. Zoals vermeld is dit zeldzaam en alleen indien heel specifiek voor een infectie. We wilden niet alle T-cellen onderzoeken. Je ziet dat er een heleboel blauwe zijn, maar ook nog oranje en rode. Maar we zijn niet zo geïnteresseerd in de oranje en de rode. We zijn geïnteresseerd in de blauwe T-cellen met klonale expansie. We gebruiken RNA seq van enkele cellen, een nieuwe technologie, steeds vaker gebruikt, die nuttig is om verschillende ziekten te onderscheiden en bij ontwikkeling. Het is een recht toe recht aan concept. Aparte cellen geeft meer informatie dan gemiddelden. Hier is een smoothie en hier wat vruchten. Als je de smoothie neemt, dan weet je niet of dit deel bosbes, framboos of braambes is. Als je daarentegen in de fruitschaal gaat, dan kan je er een uitpikken en begrijpen, dit is een bosbes enz. Terug naar de T-cellen dan, Als we alle T-cellen nemen en naar de genexpressie kijken, dan staan misschien deze twee genen 'aan'. Maar wat als de blauwe deze genen rechts aanzetten en de andere deze links. Gemiddeld betekent dit dat beide tot uitdrukking komen. Dus gebruiken we RNA seq van aparte cellen. De volgende twee plaatjes bevatten meer gegevens. Als je het niet begrijpt, dan verlies je niet veel. Ik vertel je de belangrijkste punten. Dit is een hoofdcomponentenanalyse, waarin we T-cellen uitgelezen hebben van gezonde controlepersonen en van ME/CVS-patiënten. Ieder punt vertegenwoordigt een enkele T-cel. Ze zijn op dit analysediagram gezet op basis van hun gelijkenis. Als je twee T-cellen hebt met een heel gelijkaardige functie, zullen ze op dit diagram heel dicht bijeen staan. Misschien begrijp je de statistiek niet, maar in het rood zijn T-cellen van een ME/CVS-patiënt, in het blauw zijn T-cellen van een gezonde controlepersoon. Je ziet een heel duidelijk verschil tussen een ME/CVS-patiënt en een gezonde controlepersoon. Dit diagram toon ik niet, maar we kunnen gaan kijken naar de genen die bijdragen tot de verschillen tussen ME/CVS en de gezonde controle

personen. Het belangrijkste punt is dat we inderdaad een verschil zien tussen ME/CVS en gezonde controlepersonen. Ik heb het vaak gehad over die cellen met klonale expansie. Dit diagram toont dat niet. Dit is gewoon een boel verschillende T-cellen. Het volgende diagram is een hittegrafiek, die de genen toont die aanstaan bij een boel verschillende cellen. De rijen zijn verschillende genen. Ze hebben RNA dat 'aan' staat. ze hebben verschillende functies. De kolommen zijn verschillende cellen. We hebben ongeveer 200 cellen uitgelezen. Dit is allemaal van een ME/CVS-patiënt. We hebben de cellen gerangschikt van links naar rechts, volgens de mate waarin de cellen klonale expansie hadden. Immunologen kunnen gaan kijken naar deze genen en bepalen wat deze cellen doen. Het zijn een boel interessante genen, in feite zoals verwacht. Je ziet een boel granzyme B, granulysine enz. Dit zijn genen die inderdaad instaan voor het doden van de besmette T-cellen. Om dit samen te vatten. Ik zei dat we een RNA seq doen van aparte cellen. We vroegen ons af of die T-cellen met klonale expressie een expressiepatroon hadden dat afweek van die aparte cellen. Dat is inderdaad het geval. De T-cellen met expansie zetten bv het gen rechts 'aan' en die andere niet. Wat we eigenlijk vinden is dat het gen rechts, samen met andere, instaat voor het verwijderen van besmette cellen. Onze hypothese was dan dat er bij ME/CVS een geactiveerd immuunsysteem is, dat wellicht inderdaad cellen doodt. De samenvatting van de gehele lezing: er zijn twee punten. Vooreerst: bij ME/CVS is het immuunsysteem geactiveerd. Dit gebeurt enkel als een specifieke infectie wordt herkend. Als je naar die cellen kijkt die geactiveerd zijn, dan zetten ze de genen 'aan' die je verwacht: dit zijn genen verantwoordelijk voor het doden van besmette cellen. Dit zijn voorlopige resultaten, maar het geeft veel hoop en zaken om op te volgen. Er is veel dat je in verband kan brengen met ME/CVS. We weten niet of het oorzaak of gevolg is. Iets heel krachtigs met immunologie is dat er iets de T-cellen activeert en dat die dan besmette cellen gaan doden. Momenteel onderzoekt men in het Davis-lab de aard van deze interactie tussen de besmette cel en de T-cel en wat deze T-cellen stimuleert. Ik heb constant gesproken in de context van een infectie, maar er zijn uiteraard veel hypothesen, het kan ook van jezelf zijn, er zou dan sprake zijn van een auto-immuunziekte. Momenteel hebben we duidelijk bewijs van een activatie, maar we weten niet of het een reactie is op een infectie of een reactie op iets van jezelf. Het is spannend, maar we weten niet of je het immuunsysteem wil activeren of onderdrukken. Dat zijn zaken om in de toekomst te onderzoeken. De laatste slide is om vooral het OMF te danken voor de financiering, en dan alle mensen die het werk deden en feedback gaven. Dank u.