

CHARACTERIZING THE IMMUNE IMBALANCE IN PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA (POAG)

Prendergast, Laila C.

Department of Ophthalmology, Schepens Eye Research Institute

Harvard Medical School

20 Staniford St, Boston, 02114 MA, USA

ABSTRACT

Our previous study has demonstrated that the count of inflammatory T helper cells type 1 (Th1), especially the heat shock protein (HSP)-specific Th1 cell subset, is upregulated in association with glaucomatous neurodegeneration in mouse models and patients with primary open-angle glaucoma (POAG). Here, our aim was to further investigate the imbalance between regulatory and inflammatory T cell populations as a key contributing factor to neural damage in glaucoma. *In vitro* stimulation with HSP60 of bacterial and human origin proves similar exacerbation of the inflammatory response in mice. For flow cytometric analysis of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) (n=26), 12 POAG patients (visual field mean deviation, -3.9 ± 1.0 dB) and 14 controls were selected, with the POAG patient group having a lower age (65 ± 11 vs 72 ± 5 years, $P=0.023$). In the POAG patients, we found significantly higher inflammatory cell counts of both unspecific ($9.5 \pm 2.6\%$ vs $2.1 \pm 0.7\%$, $P<0.001$) and Human HSP60-specific ($11.2 \pm 2.6\%$, $P=0.013$) CD4⁺/IFN- γ ⁺ Th1 compared to control ($3.4 \pm 0.7\%$), while regulatory CD4⁺/LAG-3⁺/IL-10⁺ Tr1 and CD4⁺/GZMB⁺ cytotoxic T cells (CTL) do not differ from controls. Real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-QPCR) indicated that mRNA levels of LAG-3 in PBMC (n=36) were significantly downregulated (2.98 vs 0.414 relative mRNA fold change, $P=0.020$), while enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) showed the serum protein levels of LAG-3 (n=36) to be significantly upregulated (1.438 vs 0.396 ng/mL, $P<0.001$) in 22 POAG patients (visual field mean deviation, -7.2 ± 6.3 dB) compared to 14 control subjects that were age-matched. The results further support autoimmunity as the underlying mechanism behind neurodegeneration in glaucoma while highlighting the imbalance between regulatory and inflammatory T-cell responses in POAG patients.

Laila Prendergast

Augustus 2023 - Januari 2024

Boston, Amerika

STAGEVERSLAG

Op 25 August 2023 verhuisde ik met mijn twee koffers naar Boston. De hele vlucht zat ik in mijn stoel te stuiten. Eindelijk was het zo ver! Toen ik aankwam had ik gelijk al veel plezier met snel uitzoeken hoe ik mijn Amerikaanse nummer en telefonisch netwerk aan de praat kreeg om een taxi te boeken naar mijn nieuwe thuis. Eenmaal aangekomen werd ik warm ontvangen door mijn huurbaas, een gezellig vrouw waar ik me gelijk al vertrouwd bij voelde. Omdat het al laat was, moest ik helaas tot de ochtend wachten om de stad te gaan ontdekken. Op de vroege ochtend liep ik in het ochtend zonnetje voor het eerste naar de metrostop naast mijn huis. Tijdens deze eerste paar dagen, een half weekje voordat ik daadwerkelijk aan het werk zou gaan op mijn stage, verkende ik de toeristische kant van Boston. Ik wandelde de welbekende *Freedom Trail*, zette mijn eerste stappen door de Boston Common en Public Garden, en bezocht Carson Beach. Ik had de grootste lol in het metrosysteem mijn eigen maken, met de eerste keer een scheut van trots toen ik de halte waar ik uit moest stappen herkende in plaats van mijn telefoon bij de hand te moeten houden. Zelfs in deze eerste paar dagen voelde ik me al ongelooflijk thuis in deze stad, die groots maar toch gezellig klein aanvoelde.

Op de dinsdagochtend begon mijn stage eindelijk. Op mijn lab werd ik hartelijk ontvangen, en van iedere kant welkom geheten. Ik werd op sleeptouw genomen door mijn collega's die over hun projecten vertelden en mij hun experimenten lieten zien. Al snel had ik helemaal mijn eigen plekje op de werkvloer. De ontzettend fijne werksfeer waar ik op onze afdeling van heb genoten zorgt ervoor dat ik nooit met tegenzin naar werk ben vertrokken. De discussies die we dagelijks hadden wekte mijn passie voor onderzoek met de dag aan, en keer op keer realiseerde ik me hoe fantastisch interessant deze carrière is.

Boston is een bruisend centrum met betrekking tot de biomedische wereld en onderzoek dat daar betrekking tot heeft. Hierdoor heb ik het geluk gehad veel goede connecties te leggen op verschillende symposia waar ik ben geweest, zoals het *Axon Biology Symposium*, *4th Biennial International Ocular Regeneration Symposium*, en *6th Biennial International Symposium on AMD* (age-related macular degeneration). Het was bijzonder zo vaak in een redelijk informele

sfeer, tijdens de borrelgelegenheden van de symposia, met zulke talentvolle en gedreven onderzoekers te staan en te kunnen discussiëren over hun projecten. Ook heb ik op door mijn begeleider op het lab de kans gekregen met haar een hoofdstuk te schrijven voor de *Encyclopedia of the Eye* over glaucoom, de ziekte waaraan mijn onderzoek gerelateerd is.

Verder werd ik aangemoedigd om een deel van mijn onderzoek in te dienen om dit te presenteren op het jaarlijkse congress van de *Association for Research in Vision and Ophthalmology* in Seattle, waar ik deze aankomende mei ook daadwerkelijk zal staan.

Ik zou mijn verblijf in Boston kunnen omschrijven als een kleine voorproef van wat er gaat komen na mijn studententijd. En wat vond ik het fantastisch. Ik heb genoten van de verantwoordelijkheden die ik op me had, niet enkel aan mijn werk op het lab gerelateerd, maar ook op mezelf wonen, het verhuizen naar een ander land en alle technische en praktische zaken die daarbij komen kijken zoals een visum regelen, bankrekeningen en verzekeringen afsluiten, gezondheidszorg regelen, en nieuwe sociale kringen opbouwen. Ik vond het fantastisch om zo op mijn eigen benen te staan en te laten zien dat dit mij goed af ging.

Omdat Boston zo bekend is voor de kansen die worden geboden binnen biomedisch gebied, zitten veel studenten die ik hier heb leren kennen in hetzelfde carrieregebied. Het leuke hieraan is, is dat iedereen dezelfde interesses deelt en het geweldig vind over elkaars onderzoek en werk te horen. De steun die je vindt in het feit dat iedereen mee kan praten en eigen ervaringen kan delen over een mislukt experiment, late uurtjes op het lab, of moeilijke vergaderingen is iets wat ik enorm heb gewaardeerd. Ik vond het een enorm fijn en motiverend om een sociale kring te hebben waarin iedereen elkaar op dit vlak goed begrijpt.

Tussen Nederland en Amerika zijn er een aantal welbekende cultuurverschillen, zoals het extreem enthousiaste gedrag van Amerikanen waarmee de nuchterse Nederlanders soms kunnen clashen. Persoonlijk heb ik erg genoten van deze hartstochtelijke sfeer. Men typeert Nederlanders altijd als erg direct, maar ik heb gemerkt dat Amerikanen dit zeker ook zijn. De meeste mensen zijn gelijk in voor een praatje, zeker wanneer je een onderwerp aansnijdt waar ze zich gepassioneerd over voelen.

Op het lab werd ik, zoals al eerder genoemd, hartelijk ontvangen. Hoewel men aan alle kanten klaar stond om hulp te bieden waarneer nodig, werd ik ook grondig op eigen benen gezet. Het duurde niet lang voordat ik zelfstandig mijn deel van het project dreef, en genoten van eigen verantwoordelijkheden op het lab. Onder de goede begeleiding die ik ervaarde, heb

ik veel ervaring opgedaan met niet alleen algemene labvaardigheden, maar onder andere ook de specifieke technieken zoals dissecties van oogbolllen, Flow Cytometry, Immunohistochemie, Western Blot, rt-qPCR, ELISA en cell cultuur. Een obstakel kwam op mijn pad toen mijn supervisor plots voor enkele weken naar haar thuisland China terugkeerde en hierna slechts half-tijd terugkwam op werk. Ik moest vlot leren mijn deel van het project volledig zelfstandig te drijven, en hoewel dit moeilijk was denk ik ook dat dit mij een bijzondere mogelijkheid gaf om voor kort te mogen proeven van volledig op eigen beneden in het lab staan. Dit voorproefje van de cariere waar ik naar toe aan het werken ben heeft aanstekelijk gewerkt, en ik kan niet wachten tot ik mij weer in deze positie bevind.

Al met al heb ik de afgelopen maanden ongelooflijk genoten van de kansen die ik geboden heb gekregen met hier mijn onderzoek doen. Ik heb een geweldige basis kunnen leggen op het gebied van onderzoeksvaardigheden en netwerk voor de rest van mijn academische carriere. Mijn passie voor onderzoek, in het bijzonder in de opthalamology is zo mogelijk nog verder aangewakkert. In zulk nauw contact staan met mensen die het al zo ver hebben gebracht in dit carriere gebied geeft me veel ambitie hen na te streven. Ik kan met trots zeggen dat ik rijker aan zowel kennis, vaardigheden, ambitie, en passie uit mijn buitenland stage ben gekomen. Voor uw bijdrage hieraan wil ik graag u en uw stichting nogmaals bedanken.