
**Characterization of the T helper 17 response
to the fungal commensal *Candida albicans*
in health and disease**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität Kiel

vorgelegt von
Ann-Kristin Kamps

2024,
Kiel, Deutschland

Erste Gutachterin & Betreuerin (First Reviewer & Supervisor):

Prof. Dr. Petra Bacher

Zweite Gutachterin (Second Reviewer):

Prof. Dr. Olivia Roth

Tag der Disputation (Date of Defense):

10.09.2024

Abstract

T helper 17 cells play a crucial role in enhancing the barrier function of mucosal epithelial surfaces exposed to various microbes. However, their aberrant activation and pathogenic modulation has been observed in diverse inflammatory diseases. *Candida albicans*, a fungal commensal which colonizes skin and mucosal surfaces, is a major inducer of human Th17 cells. Nevertheless, the precise mechanisms underlying the host-fungal interaction leading to the induction of Th17 cells remain unknown. In order to elucidate the mechanisms involved in the interaction between *C. albicans* and the immune system, we characterized the human CD4⁺ T cell response to *C. albicans* in both healthy individuals, as well as patients with skin- and gut-associated inflammatory diseases, where aberrant Th17 responses have been suggested to play a role in disease pathogenesis. This was possible by using the antigen reactive T cell enrichment (ARTE) assay to identify and characterize directly *ex vivo* antigen-specific T cells from blood and tissue samples. We identified several *C. albicans* proteins, such as SUN41 and HYR1, as the major targets of the *C. albicans*-specific Th17 response in healthy individuals. Notably, these proteins were enriched in extracellular vesicles (EVs) released by *C. albicans* and exhibited low homology to proteins from related *Candida* species, highlighting the unique ability of *C. albicans* to activate Th17 cells. In addition to the expression of IL-17A, the Th17 response to the major *C. albicans* targets was characterized by the expression of IL-22, IL-21, GM-CSF, and the skin-homing marker CLA. Furthermore, we observed major target-specific T cells in the skin, and skin-derived APCs secreted Th17 priming cytokines in response to *C. albicans*. Moreover, EVs derived from skin-associated bacteria, but not gut-associated bacteria, activated an increased Th17 response compared to a Th1 response. These findings suggest that the skin may serve as a potential important priming site for homeostatic *C. albicans*-specific Th17 cells, with EVs facilitating antigen transportation across an intact epithelial barrier. We observed several alterations of *C. albicans*-specific T cell responses in patients with Bullous Pemphigoid (BP) and Crohn's Disease (CD). In BP patients, the *C. albicans*-specific T cell response driven by the major targets exhibited elevated levels of IL-17A and IL-21, potentially contributing to disease progression and blister formation. Conversely, CD patients displayed two distinct *C. albicans*-specific T cell phenotypes. The primary *C. albicans*-specific Th17 response, although increased in total frequencies and characterized by increased levels of IL-22 and IL-21, was still driven by the major targets. These cells are potentially replenished from skin-derived major target-specific T cells and may

provide protection in the context of CD. Additionally, an increase in IFN- γ ⁺ *C. albicans*-specific T cells independent of the major target proteins, suggests a broader T cell response to *C. albicans* under inflammatory conditions. In summary, our findings highlight the intricate and diverse T cell response to *C. albicans* in health and disease across different anatomical sites.

Zusammenfassung

T-Helferzellen 17 spielen eine entscheidende Rolle bei der Stärkung der Barrieren von mukosalen Oberflächen, die von verschiedensten Mikroben besiedelt werden. Allerdings sind Th17-Zellen auch an der Entstehung diverser entzündlicher Erkrankungen beteiligt. *Candida albicans*, ein kommensaler Hefepilz, der Haut- und Schleimhautoberflächen besiedelt, gehört zu den wenigen bekannten Mikroben, die homöostatische Th17-Reaktionen auslösen. Dennoch bleiben die genauen Wechselwirkungen zwischen Wirt und Pilz, insbesondere die Aktivierung der Th17-Zellen, unbekannt. Um die Interaktion zwischen *C. albicans* und dem Immunsystem zu verstehen, haben wir die T-Zell-Antwort auf *C. albicans* sowohl bei gesunden Personen als auch bei Patienten mit haut- und darmassoziierten entzündlichen Erkrankungen, bei denen eine veränderte Th17-Antwort vermeintlich an der Pathogenese beteiligt ist, charakterisiert. Dies war möglich mittels der Antigen-reaktiven T-Zell Anreicherung (ARTE) zur Identifizierung und Charakterisierung von antigen-spezifischen T-Zellen direkt *ex vivo* aus Blut- und Gewebeproben. Wir identifizierten mehrere *C. albicans* Proteine, wie SUN41 und HYR1, als Hauptziele der *C. albicans*-spezifischen Th17-Antwort bei gesunden Personen. Diese Proteine waren besonders in extrazellulären Vesikeln (EVs) von *C. albicans* angereichert und wiesen eine geringe Homologie zu Proteinen verwandter *Candida* Arten auf. Dies unterstreicht die Aktivierung von Th17-Zellen als Alleinstellungsmerkmal von *C. albicans*. Die Th17-Antwort auf die Hauptziele von *C. albicans* zeichnete sich neben der Produktion von IL-17A durch die Produktion von IL-22, IL-21, GM-CSF und dem Haut-Homing-Marker CLA aus. Darüber hinaus haben wir *C. albicans*-spezifische T-Zellen in der Haut und Th17-Priming-Zytokine, die von aus der Haut stammenden APCs als Reaktion auf *C. albicans* sezerniert wurden, detektiert. Des Weiteren zeigten EVs, die von hautassoziierten Bakterien, jedoch nicht von darmassoziierten Bakterien stammen, eine erhöhte Th17-Antwort im Vergleich zur Th1-Antwort. Dies betont die Bedeutung der Haut als potenziellen Ort für die Aktivierung homöostatischer *C. albicans*-spezifischer Th17-Zellen, wobei EVs den Transport von Antigenen über eine intakte Epithelbarriere erleichtern. Bei Patienten mit Bullösem Pemphigoid (BP) und Morbus Crohn (MC) beobachteten wir Veränderungen in der *C. albicans*-spezifischen T-Zell-Antwort. Bei BP-Patienten zeigte die T-Zell-Antwort auf die Hauptziele von *C. albicans* eine erhöhte Produktion von IL-17A und IL-21, was möglicherweise zur Pathogenese und Blasenbildung beiträgt. Im Gegensatz dazu zeigten MC Patienten zwei verschiedene *C. albicans*-spezifische T-Zell-Phänotypen. Die primäre *C. albicans*-spezifische Th17-Antwort,

weiterhin auf die Hauptziele gerichtet, zeigte erhöhte T-Zell-Frequenzen und eine erhöhte Produktion von IL-22 und IL-21. Diese Zellen stammen möglicherweise aus der Haut und könnten Schutz in Bezug auf MC bieten. Darüber hinaus stellten wir einen Anstieg von IFN- γ + *C. albicans*-spezifischen T-Zellen unabhängig von der primären *C. albicans*-spezifischen Th17-Antwort, fest, was auf eine breitere *C. albicans*-spezifische T-Zell-Antwort unter entzündlichen Bedingungen hinweist. Alles in allem heben unsere Ergebnisse die komplexe und vielfältige T-Zell-Antwort auf *C. albicans* bei gesunden und kranken Personen an diversen anatomischen Stellen hervor.