

5. Zusammenfassung

T-Zell-abhängige Immunantworten resultieren aus einem komplexen, räumlich und zeitlich koordinierten Zusammenspiel von dendritischen Zellen, CD4 T-Zellen und B-Zellen in sekundären lymphatischen Organen. CD4 T-Zellen spielen dabei eine zentrale Rolle bei der Aktivierung von B-Zellen und deren Differenzierung in Antikörper-produzierende Plasmazellen.

Naive, rezirkulierende CD4 T-Zellen werden zunächst durch dendritische Zellen in den T-Zell-Zonen sekundärer lymphatischer Organe aktiviert, bevor sie als T-Helfer-Zellen die Differenzierung von B-Zellen zu Plasmazellen steuern können. Die Aktivierung ist mit einer transienten Expression des Chemokinrezeptors CXCR5 verbunden, dessen Ligand spezifisch in den B-Zell-Follikeln dieser Organe produziert wird. Aktivierte, CXCR5-exprimierende CD4 T-Zellen wandern zunächst in den Grenzbereich von T-Zell-Zone und B-Zell-Follikel, um dort B-Zellen mit gleicher Antigen-Spezifität zu aktivieren. Vollständig aktivierte B-Zellen können in die B-Zell-Follikel einwandern und Keimzentren ausbilden, in denen die Affinitätsreifung und der Isotypen-Klassenwechsel der B-Zellen stattfinden. CXCR5-exprimierende CD4 T-Zellen, die in Keimzentren einwandern werden als follikuläre B-Helfer T (T_{FH})-Zellen bezeichnet, da sie direkten Einfluss auf die Keimzentrumsreaktion haben indem sie beispielsweise B-Zellen stimulieren, Antikörper zu produzieren, und am Wechsel der Isotypen-Klassen beteiligt sind. Ursprünglich wurde angenommen, dass diese Aufgabe durch klassische T-Helfer Zellen des Typs 2 übernommen wird, neuere Ergebnisse legen nahe, dass es sich bei T_{FH} -Zellen um eine eigenständige Population von CD4 T-Zellen handelt. Ziel der Arbeit war eine präzise Beschreibung des Phänotyps und der funktionellen Eigenschaften follikulärer B-Helfer T-Zellen sowie eine vergleichende Analyse der Genexpression von CD4 T-Zell-Populationen zur Identifizierung von Genen, die für die Funktion und Differenzierung von T_{FH} -Zellen von besonderer Bedeutung sind.

Etwa 60 % der tonsillären CD4 T-Zellen exprimieren den Chemokinrezeptor CXCR5. Die überwiegende Zahl dieser Zellen exprimiert zudem den Memory-Marker CD45RO, unterschiedliche Level des kostimulatorischen Moleküls ICOS und eine Subpopulation zudem das CD57 Antigen. Basierend auf dem charakteristischen Expressionsmuster von CXCR5 und ICOS wurden drei Populationen tonsillärer CD4 T-Zellen ($CXCR5^{-}ICOS^{-/lo}$, $CXCR5^{lo}ICOS^{int}$ und $CXCR5^{hi}ICOS^{hi}$) isoliert. Alle drei Populationen zeigen im Unterschied zu Memory/Effektor CD4 T-Zellen aus peripherem Blut ein eine sehr restriktives Expressionsmuster für Chemokinrezeptoren. $CXCR5^{lo}ICOS^{int}$ und $CXCR5^{hi}ICOS^{hi}$

CD4 T-Zellen unterscheiden sich zudem nicht in ihrer chemotaktischen Antwort auf CXCL13. Im direkten Vergleich zeigte sich, dass nur CXCR5^{hi}ICOS^{hi} CD4 T-Zellen effektive B-Zell-Hilfe leisten, indem sie autologe B-Zellen stimulieren, IgG zu sekretieren. Interessanterweise sekretieren CXCR5^{hi}ICOS^{hi} CD4 T-Zellen gleichzeitig große Mengen CXCL13. Im Vergleich zu CXCR5^{lo}ICOS^{-/lo} und CXCR5^{lo}ICOS^{int} Zellen zeigen CXCR5^{hi}ICOS^{hi} CD4 T-Zellen jedoch eine deutlich geringere Proliferation und eine starke Neigung zur Apoptose; beides könnte ein Hinweis auf einen terminalen Differenzierungszustand dieser Zellen sein.

Bisher wurde angenommen, dass es sich bei den Zellen mit B-Helfer Funktion tatsächlich um die Fraktion der CD57⁺ CD4 T-Zellen handelt, da CD57⁺ CD4 T-Zellen eine stärkere Sekretion von IgG durch B-Zellen induzieren als CD57⁻ CD4 T-Zellen. Allerdings zeigte sich beim Vergleich von CD57⁺ und CD57⁻ CD4 T-Zellen der CXCR5^{lo}ICOS^{int} und CXCR5^{hi}ICOS^{hi} Populationen, dass die Stimulierung der IgG Sekretion durch B-Zellen unabhängig von CD57, aber abhängig vom Expressionslevel von ICOS und CXCR5 ist. Dieses Ergebnis stützt unsere Hypothese, dass es sich bei CXCR5^{hi}ICOS^{hi} CD4 T-Zellen um folliculäre B-Helfer T-Zellen handelt, während es sich bei einem Teil der CXCR5^{lo}ICOS^{int} CD4 T-Zellen vermutlich um Vorläufer dieser Zellen handelt. Im Gegensatz dazu repräsentieren CXCR5^{lo}ICOS^{-/lo} CD4 T-Zellen überwiegend Antigen-unerfahrene T-Zellen, eine Annahme die durch den hohen Anteil an CD45RA exprimierenden Zellen in dieser Population unterstützt wird.

Für die vergleichende Analyse der Genexpression und zur Identifizierung von Genen, die eine besondere Rolle für die Funktion oder Differenzierung von T_{FH}-Zellen besitzen wurden mit Hilfe von DNA-Microchips globale mRNA Expressionsprofile für die tonsillären CD4 T-Zell-Populationen sowie naive und Effektor/Memory T-Zell-Populationen aus peripherem Blut erstellt. Die Analyse ergab, dass es sich bei CXCR5^{hi}ICOS^{hi} CD4 T-Zellen um eine distinkte Zellpopulation handelt, die nur entfernt mit anderen Effektor/Memory T-Zell-Populationen verwandt ist. Zudem zeigte sich, dass CXCR5^{lo}ICOS^{int} CD4 T-Zellen in Bezug auf die Expression vieler Gene eine Zwischenstellung zwischen CXCR5^{lo}ICOS^{-/lo} und CXCR5^{hi}ICOS^{hi} CD4 T-Zellen einnehmen, was ein weiteres Indiz für das Vorkommen von T_{FH}-Vorläuferzellen in dieser Zellpopulation ist.

Zusammengefasst deuten die Ergebnisse darauf hin, dass B-Zell-Hilfe während der Keimzentrumsreaktion nicht über klassische T-Helfer 1 und T-Helfer 2 Zellen erfolgt, sondern über eine hoch spezialisierte Population von T_{FH}-Zellen, die ausschließlich in sekundären lymphatischen Organen vorkommen ist. Die Analyse

der differentiellen Expression von Genen ergab, dass sich T_{FH}-Zellen eindeutig über ihr Genexpressionsmuster von anderen Effektor/Memory T-Zell-Populationen unterscheiden. Die Genexpressionsanalyse ergab zudem Hinweise auf wichtige Gene und Signalwege, die bisher nicht mit der Differenzierung oder Funktion von T-Helferzellen assoziiert wurden und damit Ansatzpunkte für künftige Projekte in diesem Bereich bieten.