

## 9 Zusammenfassung

Auf Grund degenerativer Peptiderkennung sind autoreaktive CD8<sup>+</sup> T-Zellen, die körpereigene Peptidstrukturen erkennen, ein Bestandteil des natürlichen T-Zellrepertoires. Solche T-Zellen sind möglicherweise verantwortlich für die Entstehung von Autoimmunerkrankungen wie Multipler Sklerose, Rheumatoider Arthritis und Typ I Diabetes. Besonders die Erkennung ubiquitärer, hochkonservierter Proteine wie z.B. der Hitzeschockproteine (Hsp) gilt als ein möglicher Mechanismus zur Aktivierung autoreaktiver T Zellen.

Ziel dieser Arbeit war die Charakterisierung des T-Zellrezeptors (TZR) eines Hsp-spezifischen CD8<sup>+</sup> T-Zellklons, der eine autoimmune Entzündungsreaktion im Dünndarm verursacht. Diese T-Zellen, Klon UZ3/4, kreuzreagieren mit definierten Peptiden des mykobakteriellen und murinen Hsp60.

Zu Beginn wurden die in dem T-Zellklon UZ3/4 rearrangierten TZR-Gene, zwei  $\alpha$ - und eine  $\beta$ -Kette, kloniert und charakterisiert. Es wurde der Frage nachgegangen, ob beide  $\alpha$ -Ketten mit der  $\beta$ -Kette einen funktionellen TZR bilden können und ein sogenannter "dualer TZR" an der Kreuzreaktivität dieser T-Zellen beteiligt ist. Die Analyse TZR defizienter Thymoma-Zelllinien, die mit den verschiedenen  $\alpha$ - und  $\beta$ -TZR Kombinationen stabil transfiziert wurden, zeigte, dass ein singulärer promisker TZR für die Peptiderkennung sowohl der mykobakteriellen als auch der murinen Hsp60 Peptide ausreicht. Obwohl die zweite TZR- $\alpha$ -Kette des T-Zellklons UZ3/4 im Leseraster rearrangiert war, konnte sie keinen funktionellen TZR an der Zelloberfläche exprimieren.

Basierend auf diesen *in vitro*-Befunden wurden im Rahmen dieser Arbeit verschiedene TZR-transgene Mäuse hergestellt, die den funktionellen Hsp60 spezifischen TZR (TZR- $\alpha$ 8 und TZR- $\beta$ 8 Kette) konstitutiv in ihren T-Lymphozyten exprimieren. Es zeigte sich, dass diese TZR transgenen T-Zellen trotz ihres autoreaktiven Potenzials nicht durch thymische Selektionsmechanismen deletiert werden. Wie der T-Zellklon UZ3/4 weisen diese T-Zellen die Expression des Korezeptors CD8 auf und erkennen spezifisch mykobakterielles Hsp60 Peptid. Nach dem jetzigen Stand der Untersuchungen tritt bei diesen Tieren keine spontane intestinale Autoimmunreaktion auf, d.h. die transgenen T-Zellen werden nicht allein

durch die Erkennung von Peptiden des murinen Hsp60 aktiviert. Somit stellen diese Tiere ein Modell zur Untersuchung der Aktivierung potenziell autoreaktiver CD8<sup>+</sup> T-Zellen dar. Besonders informativ ist hierbei die Frage, ob eine durch diese T-Zellen vermittelte Autoimmunreaktion durch eine mykobakterielle Infektion induziert werden kann.

Weiterhin konnte mit Hilfe von MHC-Klasse-I-Tetrameren gezeigt werden, dass auch in normalen Mäusen das durch den T-Zellklon UZ3/4 erkannte Epitop im mykobakteriellen Hsp60 relevant für eine CD8<sup>+</sup> T-Zellantwort gegen Mykobakterien ist. Deshalb eignen sich die TZR transgenen Mäuse auch generell zum Studium der CD8<sup>+</sup> T-Zellantwort gegen Mykobakterien.

Die Expression der zweiten TZR- $\alpha$ -Kette (TZR- $\alpha$ 7) des T-Zellklons UZ3/4 in den T-Lymphozyten TZR defizienter Mäuse demonstrierte, dass diese TZR Kette grundsätzlich nicht im Stande war einen normalen  $\alpha\beta$  TZR zu bilden. Überraschenderweise wurde in solchen Tieren jedoch eine erhöhte Frequenz von unkonventionellen CD4<sup>+</sup> TZR  $\alpha^- \beta^+$  T-Zellen gefunden. Letztere T-Zellpopulation ist in TZR defizienten Mäusen für die Entstehung einer entzündlichen Dickdarmpathologie ähnlich der Ulcerativen Colitis im Menschen verantwortlich. Entsprechend ist der Krankheitsverlauf dieser Darmentzündung in Mäusen, die eine erhöhte Frequenz dieser unkonventionellen T-Zellen zeigen, schneller und stärker ausgeprägt. Interessanterweise waren die CD4<sup>+</sup> TZR  $\alpha^- \beta^+$  T-Zellen chronisch aktiviert.

Die Bedeutung solcher CD4<sup>+</sup> TZR  $\alpha^- \beta^+$  T-Zellen in immunkompetenten Individuen ist jedoch unklar. Hier konnte gezeigt werden, dass eine nicht paarungsfähige TZR- $\alpha$ -Kette neu gebildete TZR- $\beta$ -Ketten stabilisieren und damit die Entwicklung von CD4<sup>+</sup> TZR  $\alpha^- \beta^+$  T-Zellen begünstigen kann. Wir vermuten daher, dass solche T-Zellen auch unter physiologischen Bedingungen vorkommen und eine Rolle in der Ätiologie der Ulcerativen Colitis spielen.