

5. Zusammenfassung

Chemokinrezeptoren vermitteln die Wirkung von Chemokinen auf Migration und Aktivierung von Immunzellen. Die Chemokinrezeptoren CCR5 und CXCR4 sind darüberhinaus HIV-Corezeptoren und vermitteln zusammen mit CD4, den Eintritt von HIV in die Zielzelle. Eine besondere Rolle im Rahmen der HIV-Infektion kommt dem intestinalen mukosalen Immunsystem zu, da es zugleich virale Eintrittspforte und wichtiges Virusreservoir während sämtlicher Stadien der HIV-Infektion ist.

Da sich intestinale und periphere T-Zellen phänotypisch und funktionell voneinander unterscheiden, untersuchten wir die Expression von CCR5 und CXCR4 sowohl auf intraepithelialen Lymphozyten (IEL) und Lamina-propria-Lymphozyten (LPL) der intestinalen Mukosa, als auch auf T-Zellen des peripheren Blutes (PBL). Es wurde darüberhinaus untersucht, ob die Expression von CCR5 und CXCR4 vom Aktivierungs- und Differenzierungszustand einer T-Zellpopulation abhängt.

Wir isolierten IEL und LPL aus makroskopisch unauffälligen Anteilen von chirurgischen Darmresektaten von zehn Patienten, bei denen keine HIV-Infektion bekannt war. PBL wurden von fünf klinisch gesunden Labormitarbeiterinnen isoliert. Die Isolation der intestinalen Lymphozyten erfolgte nach enzymatischem Verdau über Dichtgradientenzentrifugation. Die isolierten Zellen wurden mit monoklonalen fluoreszenzmarkierten Antikörpern gefärbt und mittels Dreikanal-Fluoreszenzzytometrie analysiert. Verwendet wurden Antikörper gegen CCR5, CXCR4, CD3, CD4, CD8, CD45R0, CD69, CD103, HLA-DR und TCR $\gamma\delta$.

89% (72-97%) der IEL-T-Zellen exprimierten CCR5 gegenüber 73% (57-99%) der LPL- und 19% (1-26%) der PBL-T-Zellen (Median der Mittelwerte, Spannweite). CXCR4 wurde auf 91% der LPL (73-98%), 37% (0-92%) der IEL und 27% (2-36%) der PBL exprimiert. Intestinale T-Zellen waren zu einem signifikant größeren Anteil CCR5-positiv als PBL-T-Zellen ($p < 0,01$). Die prozentuale CXCR4-Expression auf LPL war signifikant höher als auf PBL und IEL ($p < 0,01$). Auf CD4-positiven Zellen wurde CCR5 auf 66% (44-99%) der LPL, 83% (21-97%) der IEL und 11% (1-16%) der PBL exprimiert. CXCR4 exprimierten 89% (72-89%) der CD4-positiven LPL, 38% (1-92%) der IEL und 14% (0-15%) der PBL. CCR5 wurde bevorzugt auf CD45R0-, CD69- und CD103-positiven T-Zellen exprimiert ($p < 0,05$ für CD45R0-IEL, $p < 0,01$ für CD69- und CD103-positive intestinale T-Zellen und für CD45R0-positive LPL, $p < 0,05$ für CD69 positive PBL).

CXCR4 wurde bevorzugt auf CD103-negativen LPL und IEL exprimiert ($p < 0,05$ bei LPL, $p < 0,01$ bei IEL) sowie auf CD45R0-negativen LPL ($p < 0,01$). CXCR4 war vermehrt auf intestinalen CD4- gegenüber CD8-Zellen exprimiert ($p < 0,01$ für IEL und $p < 0,05$ für LPL), CCR5 wurde stärker auf CD8-T-Zellen exprimiert ($p < 0,01$ für LPL). TCR $\gamma\delta$ -positive Zellen exprimierten mehr CCR5 als TCR $\gamma\delta$ -negative ($p < 0,05$ für PBL), für CXCR4 verhielt es sich umgekehrt ($p < 0,01$ für LPL und $p < 0,05$ für IEL).

Intestinale T-Zellen zeigten somit eine hochgradige Expression der beiden Chemokinrezeptoren CCR5 und CXCR4. CCR5 war auf intestinalen T-Zellen zu einem signifikant höheren Prozentsatz exprimiert als auf T-Zellen des peripheren Blutes. Die Expression von CXCR4 war auf LPL am ausgeprägtesten und lag deutlich über der CXCR4-Expression auf IEL und PBL. Die Verteilungsverhältnisse der CCR5- und CXCR4-Expression im Vergleich von LPL, IEL und PBL-T-Zellen blieben dabei in den verschiedenen untersuchten T-Zell-Subpopulationen erhalten. CCR5 und CXCR4 als HIV-Corezeptoren wurden auf intestinalen CD4-T-Zellen sowie auf CD4-Zellen im peripheren Blut exprimiert. Sowohl intestinale als auch periphere CD4-Zellen wären somit seitens des Chemokinrezeptorstatus' für eine Infektion mit R5 und X4-Stämmen von HIV empfänglich. Die Selektion von R5-Stämmen, die im Rahmen der HIV-Erstinfektion stattfindet, kann nicht durch eine unzureichende Expression von CXCR4 erklärt werden. Die starke Expression der HIV-Corezeptoren auf intestinalen CD4-Zellen könnte die ausgeprägte Virusreplikation und den frühen Verlust mukosaler CD4-Zellen bei der HIV-Infektion mit erklären.

CCR5 und CXCR4 zeigten ein komplementäres Expressionsverhalten. CCR5 wurde bevorzugt auf aktivierten, differenzierten T-Zellen exprimiert, wohingegen CXCR4 eher auf naiven, bzw. ruhenden T-Zellen exprimiert wurde.

Intestinale T-Zellen ähneln peripheren T-Memory-Zellen phänotypisch. CCR5 und CXCR4 wurde jedoch auch auf peripheren Memory-T-Zellen zu einem deutlich geringeren Anteil exprimiert als auf intestinalen CD45R0-positiven T-Zellen. Dieser Befund verweist auf den speziellen Aktivierungs- und Differenzierungszustand intestinaler T-Zellen. Mögliche Perspektiven in Hinblick auf die HIV-Therapie könnten in der erfolgreichen Entwicklung von Chemokinrezeptorblockern liegen. Auch gentherapeutische Strategien wie eine Herunterregulation von Chemokinrezeptoren durch Intrakine oder mittels RNA-Interferenz sind Gegenstand aktueller Forschung.