

5 ZUSAMMENFASSUNG

Dendritische Zellen (DC) initiieren und unterhalten die T-Zell-vermittelte Immunantwort. DC liefern die für eine T-Zell-Aktivierung notwendigen Signale über den T-Zell-Rezeptor und über kostimulatorische Moleküle der CD28-Familie (CD28-CTLA-4). Kürzlich wurde in unserem Labor ein neues T-Zell-spezifisches Mitglied der CD28-Familie, ICOS (Inducible Costimulator), kloniert.

In dieser Arbeit wurde die Expression und Regulation von ICOS auf T-Zellen und seinem Liganden, ICOS-Ligand (ICOS-L), auf *in vitro*-generierten und *ex vivo*-isolierten DC untersucht. Die Histologie zeigte, daß ICOS-L von LC in der Epidermis exprimiert wurde. Sowohl Langerhans-Zellen (LC) *ex vivo* als auch Monozyten-generierte DC exprimierten ICOS-L, CD80 und CD86 in vergleichbarem Maß. *In vitro* Maturation von DC führte zu entgegengesetzter Regulation von ICOS-L im Vergleich zu CD80 und CD86: Nach Zugabe verschiedener Reifungsstimulantien wurde ICOS-L leicht herunterreguliert, während die Expression von CD80 und CD86 stark zunahm. In einer Kokultur von T-Zellen mit DC in Anwesenheit von Superantigen wurde ICOS innerhalb kurzer Zeit stark heraufreguliert. Die Expression von ICOS-L auf DC nahm dagegen in der Kokultur ab. Diese Beobachtung zeigt, daß die Interaktion von ICOS/ICOS-L auf ein enges Zeitfenster begrenzt ist. Blockadestudien zeigten, daß die frühe Expression und Interaktion von CD28/CD80-CD86 Voraussetzung für die Expression von ICOS war.

Einen weiteren Schwerpunkt der Arbeit bildete der funktionelle Vergleich der ICOS/ICOS-L und CD28/CD80-CD86 Signalwege in der Superantigen-vermittelten Interaktion von T-Zellen mit DC. Blockadeexperimente zeigten unterschiedliche Rollen von ICOS/ICOS-L und CD28/CD80-CD86 Interaktionen bezüglich der Zytokinsekretion der T-Zellen. In einer Primärkultur hatte der CD28/CD80-CD86 Signalweg einen verstärkenden Einfluß auf die Sekretion der Zytokine IL-2, IL-6, IFN- γ und TNF- α . Die ICOS/ICOS-L Interaktion führte, wenn auch schwächer, zur Induktion der frühen Zytokine IFN- γ und TNF- α . In der Restimulation von Gedächtnis/Effektor-T-Zellen zeigte sich durch die CD28/CD80-CD86 Interaktion eine Erhöhung der Freisetzung der Zytokine IL-2, IL-6, IFN- γ und IL-13, wohingegen ICOS/ICOS-L Interaktion keinen Einfluß auf diese Zytokine hatte. Im Gegensatz dazu wurde IL-10 in der Restimulation andersartig reguliert: Die Interaktion von ICOS/ICOS-L führte zu einer starken Erhöhung der Sekretion von IL-10, während die Interaktion von CD28/CD80-CD86 IL-10 Freisetzung hemmte.

5 SUMMARY

Dendritic cells (DC) initiate and maintain T cell mediated immune responses. By engagement of the T cell receptor and costimulatory molecules, such as members of the CD28-family (CD28, CTLA-4), DC deliver signals that are crucial for full activation of T cells. Recently, a new T cell specific member of the CD28-family, ICOS (Inducible Costimulator), has been cloned by our group.

This work examines the expression and regulation of ICOS on T cells and its ligand, ICOS-ligand (ICOS-L), on *in vitro* generated and *ex vivo* isolated-DC. As shown by histology, ICOS-L was expressed on LC in the epidermis. Langerhans-cells (LC) *ex vivo* as well as monocyte-derived DC expressed ICOS-L, CD80 and CD86 at comparable levels. *In vitro* maturation of DC resulted in reverse regulation of ICOS-L compared to CD80 and CD86: ICOS-L was slightly downregulated, whereas CD80 and CD86 were strongly upregulated. In superantigen-mediated co-cultures of T cells with DC, ICOS was quickly upregulated. At the same time, ICOS-L expression decreased. These observations showed that interaction of ICOS/ICOS-L was restricted to a narrow time period. Blocking experiments demonstrated, that expression and interaction of CD28 with CD80/CD86 was necessary for the induction of ICOS.

Another main focus of this work was the functional comparison of the ICOS/ICOS-L and the CD28/CD80-CD86 pathways in the superantigen-mediated interaction of T cells with DC. Blocking experiments revealed different roles of the interaction of ICOS/ICOS-L and CD28/CD80-CD86 regarding cytokine secretion by T cells. In primary cultures, CD28/CD80-CD86 promoted the secretion of IL-2, IL-6, IFN- γ and TNF- α , while the ICOS/ICOS-L interaction led to a low secretion of the early cytokines IFN- γ and TNF- α only. During restimulation of memory/effector T cells CD28/CD80-CD86 interaction augmented the release of the cytokines IL-2, IL-6, IFN- γ and IL-13, whereas ICOS/ICOS-L had no influence on the secretion of these cytokines. Only IL-10 was regulated differently upon restimulation: the interaction of ICOS/ICOS-L strongly enhanced the secretion of IL-10, whereas CD28/CD80-CD86 acted as an inhibitor of IL-10 release.