

6.1. Zusammenfassung

Chemotaxis von T-Zellsubpopulationen *ex vivo*

Chemokine sind wichtig in der Homöostase und Regulation des Immunsystems. Neben ihrer Fähigkeit Lymphozyten in lymphatische Organe und distinkte Gewebekompartimente zu locken, erfüllen sie wichtige Funktionen in Entzündung.

Von Studien mit *in vitro* erzeugten Th1- und Th2-Zellen ist bekannt, dass diese Zellen differentiell auf chemotaktische Einflüsse reagieren. Um zu klären, ob dies auch für CD4⁺ Effektor/Memory T-Zellen gilt, die *in vivo* entstanden sind, wurden solche Zellen aus Milzen unbeeinflusster und immunisierter Mäuse gewonnen und *ex vivo* im Chemotaxisassay eingesetzt. Hierbei wurde die Migration zu verschiedenen induzierbaren und homöostatischen Chemokinen getestet.

Die Ergebnisse zeigen, dass IL-4 produzierende T-Zellen die höchste Antwortfähigkeit gegenüber dem „Th2-Chemokin“ CCL17 zeigten, während das „Th1-Chemokin“ CXCL9 präferentiell, aber nicht ausschließlich, IFN- γ -produzierende T-Zellen anlockte.

CXCL13, ein Chemokin, das für die Verteilung von T- und B-Zellen in den B-Zell-Follikel lymphatischer Organe verantwortlich ist, hat bevorzugt IL-10-produzierende T-Zellen angelockt, wohingegen andere Zytokinproduzenten weniger reagierten. Nach Immunisierung änderte sich dieses Migrationsprofil und IL-4⁺ T-Zellen waren die am stärksten reaktive Fraktion zu CXCL13.

Der korrespondierende Rezeptor für CCL21 und CCL19, CCR7 wurde, wie in der Literatur berichtet, hauptsächlich auf der *in vitro* erzeugten Th1-Subpopulation gefunden. Im Gegensatz dazu, konnte *ex vivo* eine starke Migration von IL-4 und/oder IFN- γ -produzierenden T-Zellen zu CCL21 detektiert werden.

CCR7 wurde zuvor beschrieben humane Memory T-Zellen in zwei funktionell unterschiedliche Subpopulationen zu trennen, wobei alle Zytokinproduzenten innerhalb der CCR7-negativen Fraktion liegen sollten. In der vorliegenden Studie migrierten dagegen die meisten der murinen oder humanen Effektor/Memory T-Zellen zu CCR7-Liganden. Im Einklang dazu, zeigten die Zellen auch eine positive Oberflächenfärbung für den Rezeptor. Durch Versuche mit CCR7^{-/-}- Mäusen konnte gezeigt werden, dass CCR7 der einzige Rezeptor ist, der für die Chemotaxis zu CCL21 verantwortlich ist. CCR7-defiziente Th1-Zellen waren in ihrer Fähigkeit in Lymphknoten und Peyer'sche Plaques zu migrieren stark beeinträchtigt, aber in der Lage in eine Hautentzündung einzudringen.

Die Ergebnisse weisen daraufhin, dass Effektor/Memory T-Zellen zwar subpopulationsspezifische Präferenzen für induzierbare Chemokine besitzen, diese aber weniger streng ausfallen, als für *in vitro* differenzierte Effektorzellen. Außerdem behalten *in vivo* erzeugte Effektor/Memory T-Zellen ihre Fähigkeit in sekundäre lymphatische Organe durch CCR7 zu rezirkulieren.

Schlagworte:

Immunologie, Th1/Th2, Chemotaxis, Effektor/Memory T-Zellen, Chemokine

6.2. Summary

Chemotaxis of T cell subsets *ex vivo*

Chemokines are important in the homeostasis and regulation of the immune system. Besides their capability of targeting lymphocytes into lymphoid organs and respective tissue compartments they fulfill specialized roles in inflammation.

It is known from studies with *in vitro* generated Th1 and Th2 cells that these cells respond differentially to chemotactic agents. To clarify whether this also applies for *in vivo* primed effector/memory T cells, we isolated them from spleens of untreated and immunized mice and analyzed their migratory properties to various inducible and lymphoid chemokines *ex vivo* in a chemotaxis assay.

The results show, that IL-4 producing T cells exhibited the highest response to the "Th2 chemokine" CCL17, whereas the "Th1 chemokine" CXCL9 preferentially, but not exclusively, attracted IFN- γ producing cells.

CXCL13 a chemokine that attracts T and B cells into the B cell-follicle of lymphoid tissues was found to preferentially attract IL-10-producing T cells, whereas other cytokine subsets reacted at lower levels. Interestingly, after immunization this migration pattern changed and IL-4-positive T cells exhibited the strongest response toward CXCL13.

The corresponding receptor for CCL21 and CCL19 CCR7 was found, as reported, to be dominantly expressed by murine *in vitro* polarized Th1 cells. Conversely, we detected *ex vivo* a strong migratory response of IL-4 and/or IFN- γ positive T cells toward CCL21.

In the human system CCR7 was described to discriminate between two functional subsets of memory T cells, with all effector cytokine-producing T cells within the CCR7-negative subset. In contrast to that, we found the majority of mouse and human cytokine producing T cells responsive toward CCR7 ligands and in addition they also stained on the cell surface for the receptor.

By using CCR7^{-/-} mice we were able to show that CCR7 is the only responsible receptor on CCL21-responsive murine T cells. Th1 cells generated from CCR7^{-/-} mice were reduced in their capacity to enter lymph nodes and Peyer's patches, but did enter a site of inflammation.

These findings indicate that CD4⁺ cells producing effector cytokines upon stimulation exhibit subset specific preferences for inducible chemokines, which are less restricted than for *in vitro* primed effector cells. Additionally, *in vivo* differentiated effector/memory T cells retain the capacity to recirculate through lymphoid tissues via CCR7.

Keywords:

immunology, Th1/Th2, chemotaxis, effector/memory T cells, chemokines