

Entwicklung und Funktion von T-Zellen



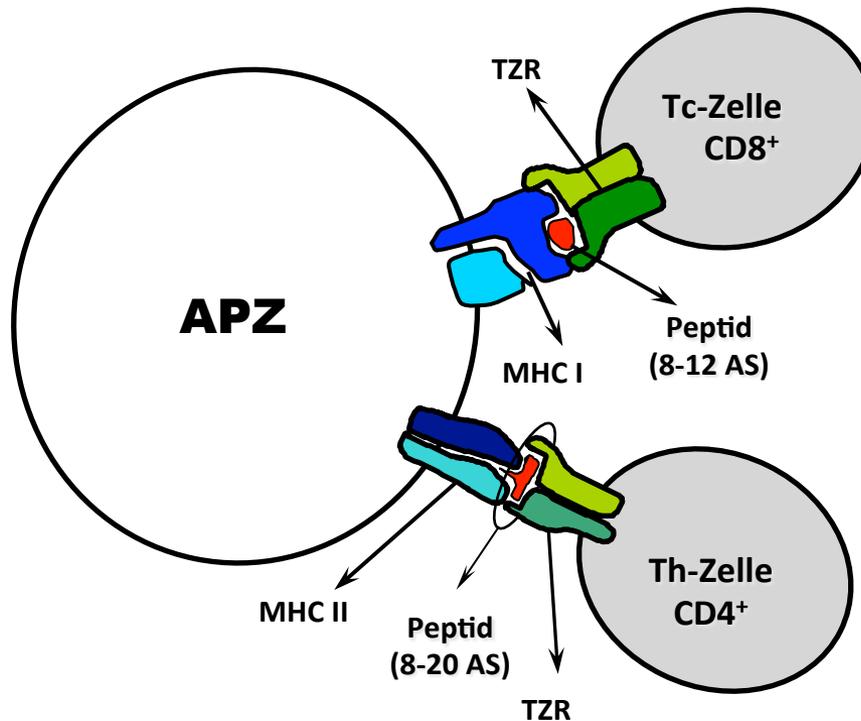
Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Michael Stassen

Inhalt der Vorlesung

- Antigenerkennung durch T-Zellen
- Thymusentwicklung
- Entstehung der T-Zell Rezeptor-Diversität
- Thymocyten: Positiv- und Negativselektion, zentrale Toleranz
- Entwicklung regulatorischer T-Zellen im Thymus und Funktion
- Aktivierung von Effektorzellen in der Peripherie
- Funktionelle Polarisierung: Das Th1/Th2-Konzept am Beispiel Leishmaniose und Lepra

Rekapitulation: Antigenerkennung durch T-Zellen

- 1) Die T-Zelle erkennt kein freies natives Antigen.
- 2) Die primäre AS-Sequenz eines Peptides (8-20 AS; denaturiert, keine Tertiärstruktur) wird von der T-Zelle erkannt.
- 3) Das Peptid wird nur erkannt, wenn es von einer Antigenpräsentierenden Zelle (APZ: Makrophagen, Dendritische Zellen, B-Zellen) präsentiert wird.
- 4) Das Peptid wird nur erkannt, wenn es an Moleküle des "Major Histocompatibility Complex (MHC)" gebunden ist.
- 5) Die T-Zelle erkennt Peptid **und** MHC (MHC-Restriktion).



Tc: cytotoxische T-Zelle
Th: T-Helferzelle
MHC: Major Histocompatibility Complex
TZR: T-Zell-Rezeptor

T-Zellen entwickeln sich im Thymus aus unreifen Vorläufern, die aus dem Knochenmark über das Blut einwandern

Knochenmark:

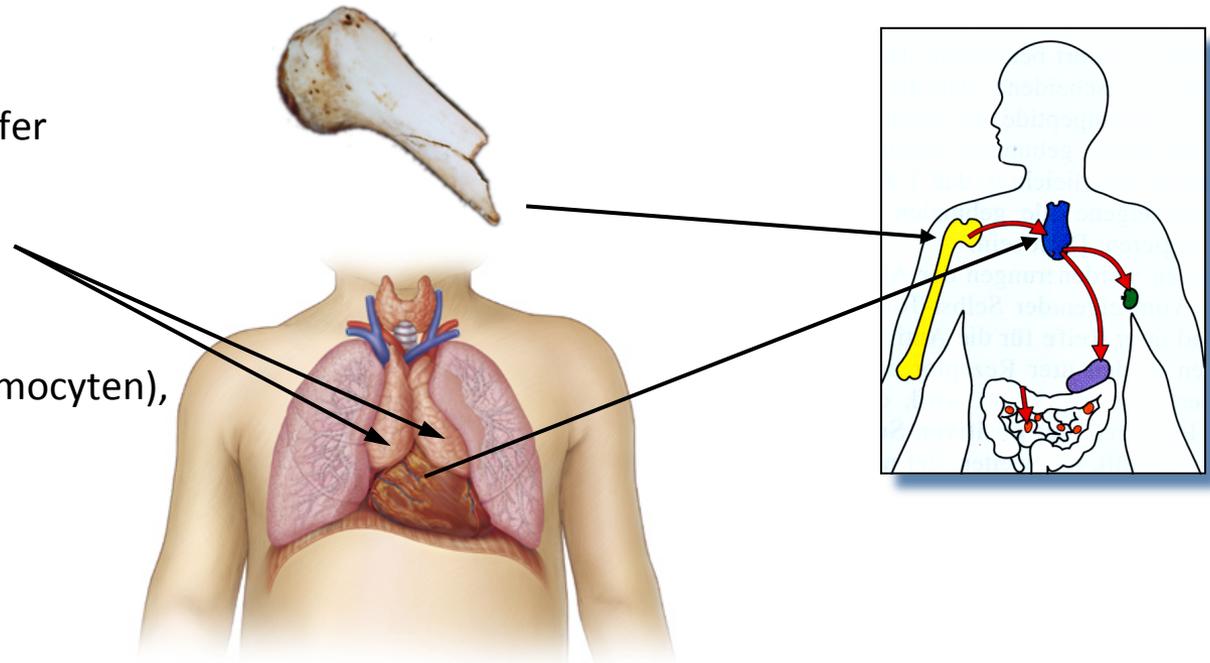
Entstehung der T-Zell Vorläufer
(10-100 pro Tag)

Thymus:

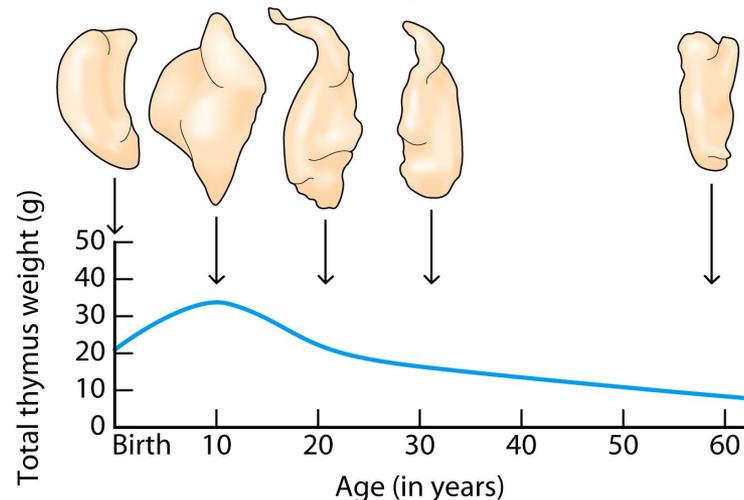
Entstehung der T-Zellen aus Vorläuferzellen des KM (Thymocyten),
"Erziehung" der T-Zellen

Peripherie:

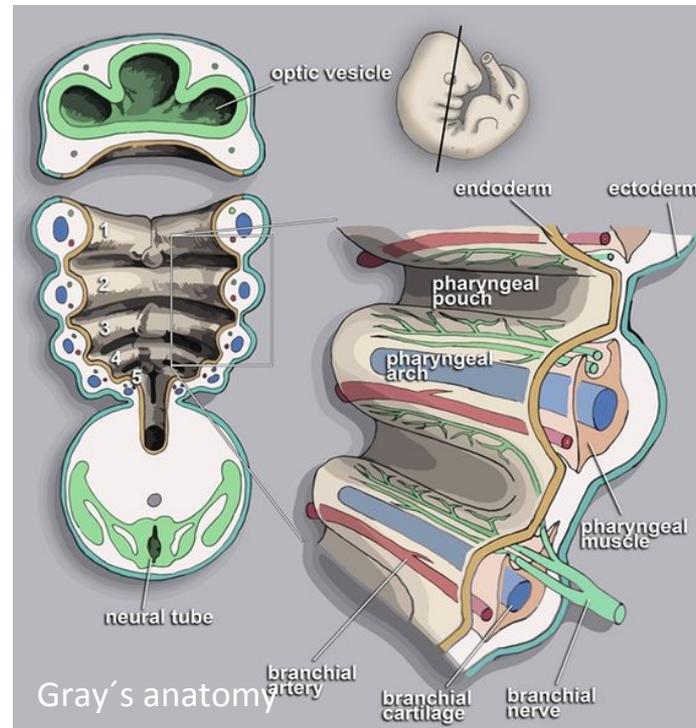
„Naive“ T-Zellen
(10^6 pro Tag)



Involution: Ersatz des Thymusgewebes durch Fettgewebe



Der Thymus entwickelt sich aus dem Entoderm der 3. Schlundtasche

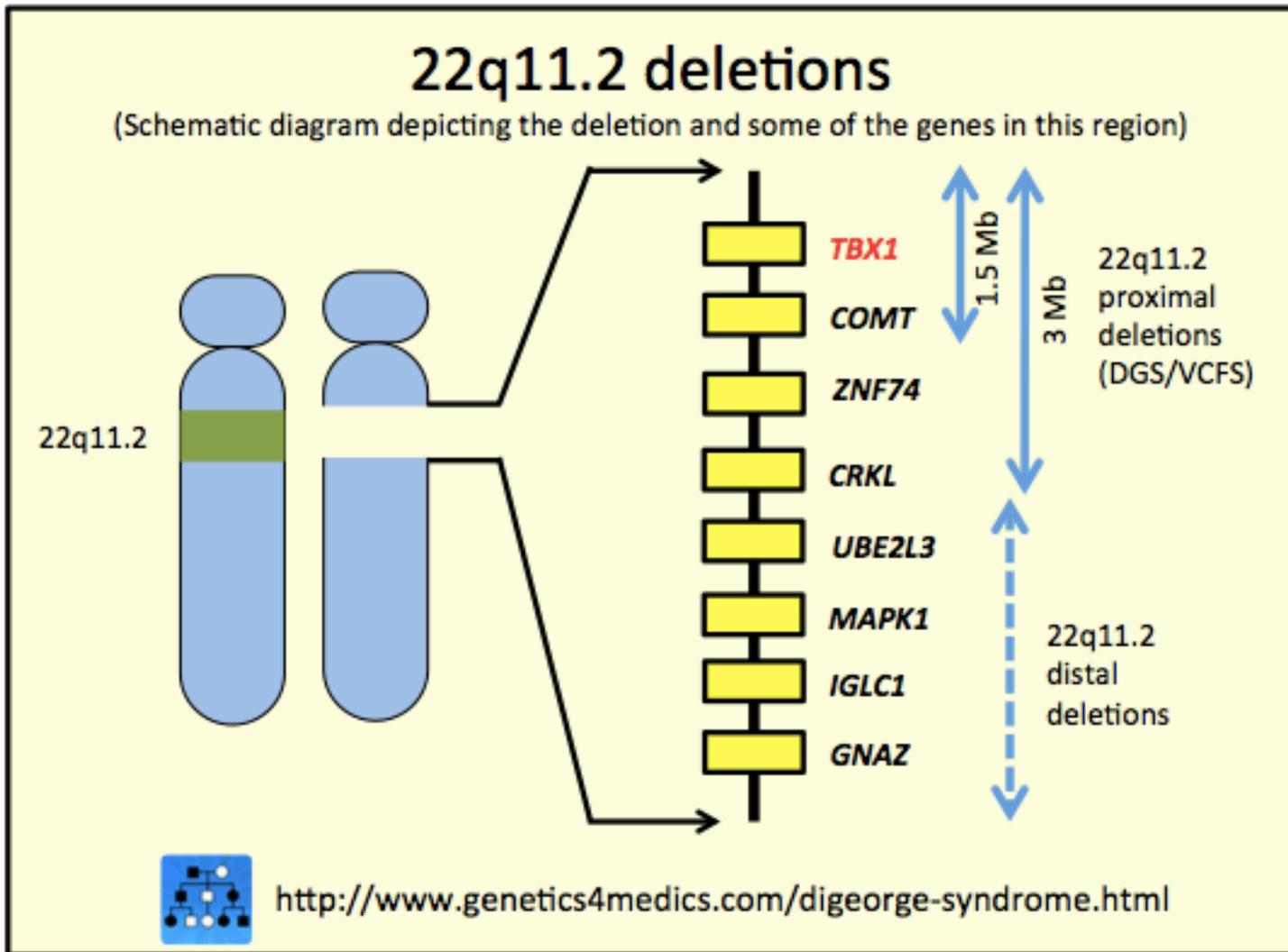


Der Transkriptionsfaktor TBX1 ist für die korrekte Entwicklung des embryonalen Pharynx essentiell



Hieraus entstehen Thymus, Nebenschilddrüsen, Teile von Herz, Kiefer, Gaumen etc.

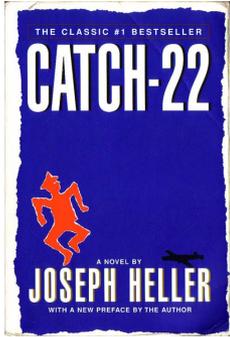
Deletionen führen zum Verlust von TBX1 und weiterer Gene





DiGeorge Syndrom (CATCH 22 Syndrom)

Cardiac Anomalies, Anomalous Face, Thymusaplasie/Hypoplasie, Cleft palate, Hypocalcemia, microdeletion on Chr 22



Abwesenheit von T-Zellen führt zu opportun. Infektionen und Tod im Alter von 1-2 Jahren

„A catch-22 is a paradoxical situation from which an individual cannot escape because of contradictory rules“

Das **DiGeorge Syndrom** beruht auf einer **gestörten Entwicklung der dritten und vierten Kiemenbogentasche**.
⇒ Anlage/Entwicklungsstörung einer Reihe von Organen, u.a. Aortenbogen, **Thymus**, Nebenschilddrüse, Gaumenbogen und Schlundmuskulatur, Gehörgänge und Zahnanlagen.

Diagnose

Chromosomenanalyse nach Geburt bei auffälligen Gesichtszügen

oder angeborenen Herzfehlern

Prävalenz: 20/100.000 Einwohner

Behandlung

Substitution mit Immunglobulinen

Antibiotische Prophylaxe

In seltenen Fällen Thymustransplantation

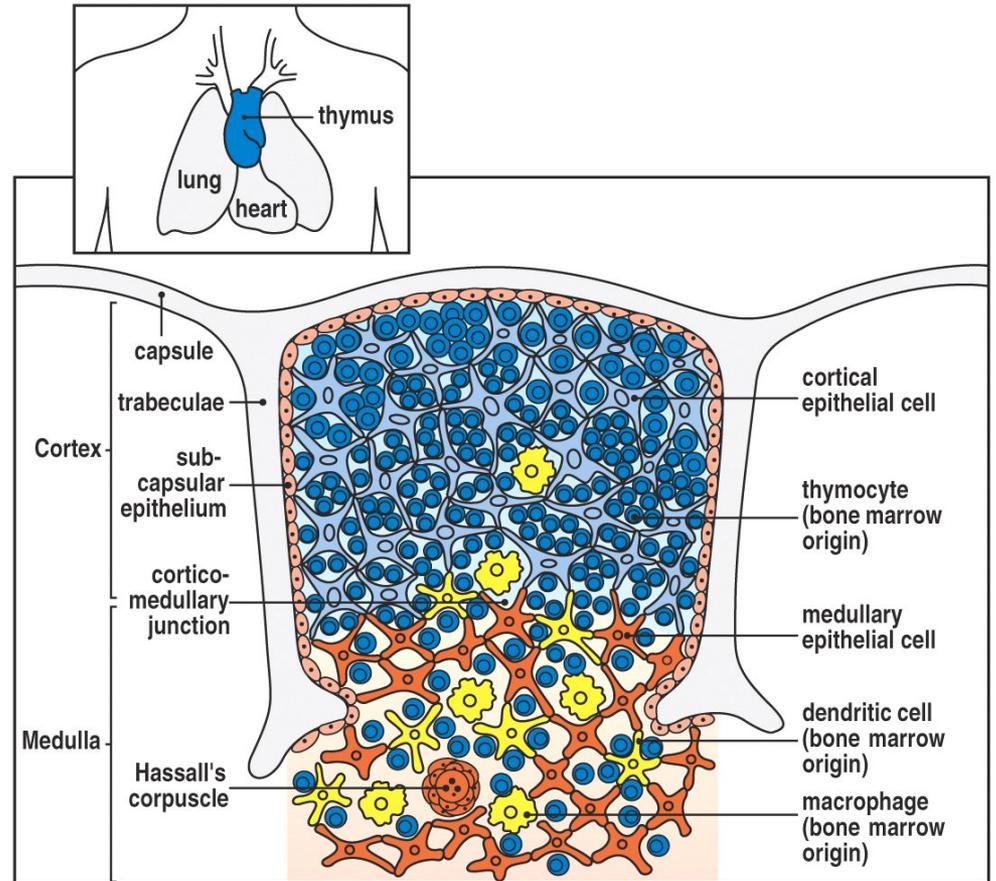
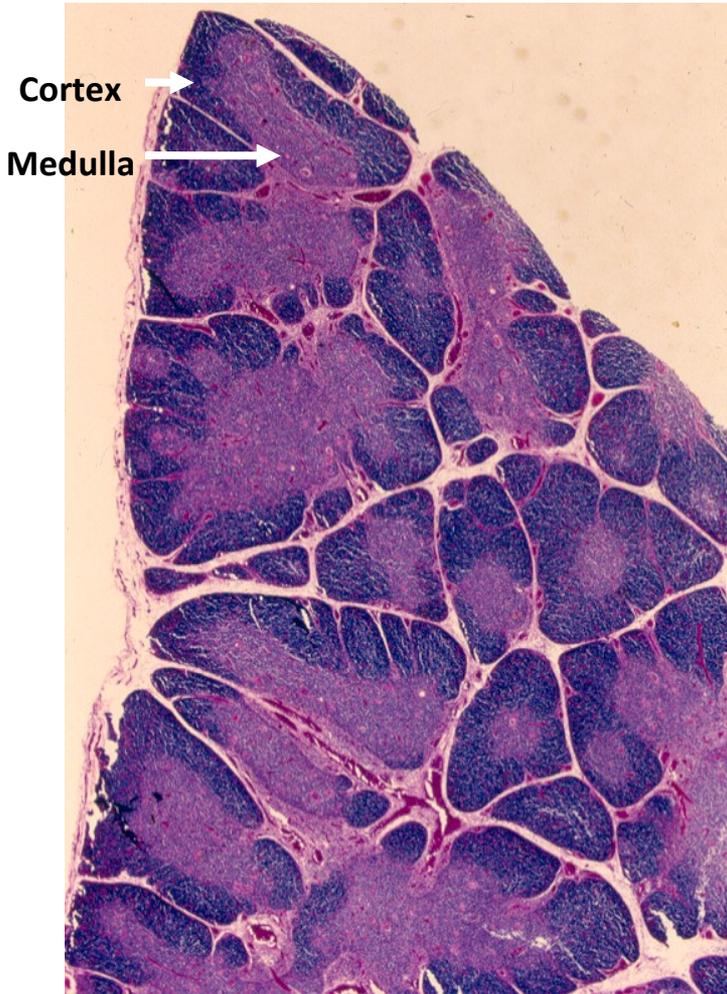


Figure 7-8 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

T-Zell-Entwicklung im Thymus: DN → DP → SP

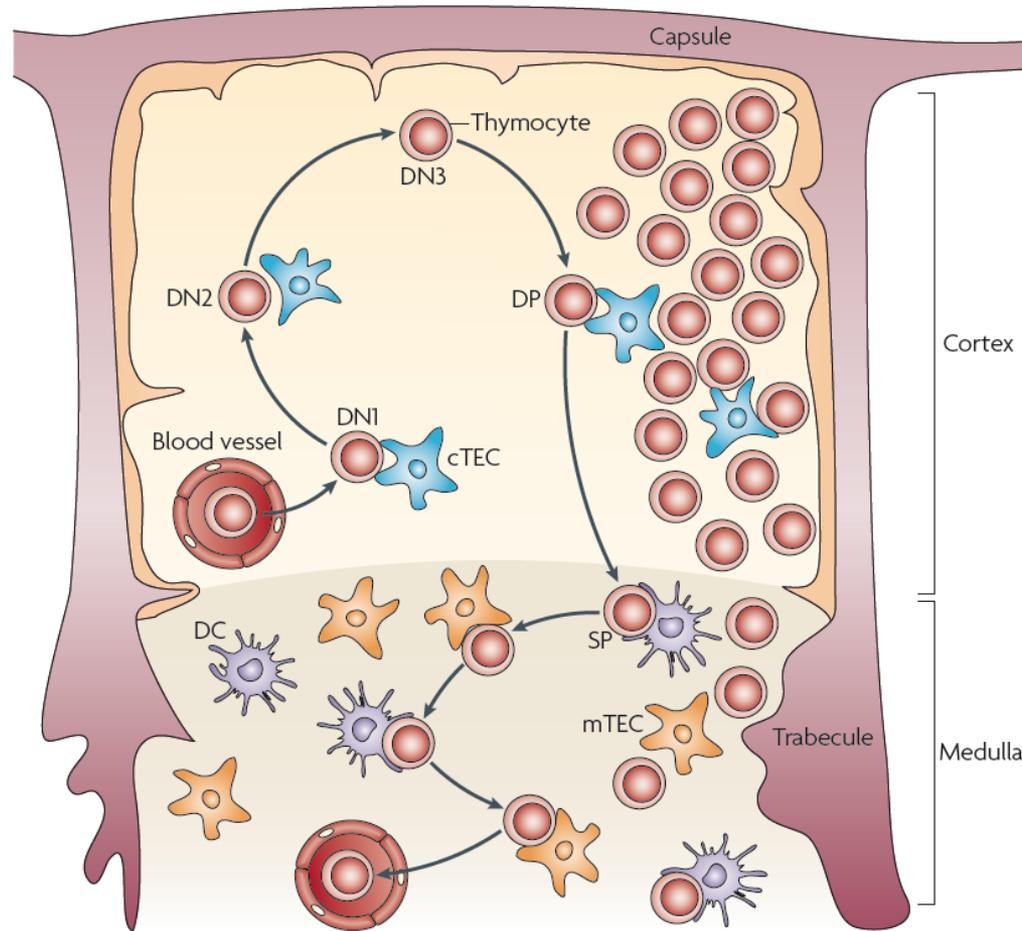


Figure 2 | **Stromal cell interactions along the migratory route of developing T cells.**

T cell progenitors enter the thymus through blood vessels near the cortico-medullary junction. Development of sequential stages of double-negative (DN) thymocytes is accompanied by an outward movement of cells towards the sub-capsular zone. After T cell receptor β -selection, double-positive (DP) cells randomly move through the cortex and presumably scan cortical thymic epithelial cells (cTECs) for positively selecting ligands^{119–121}. After positive selection and CD4 or CD8 lineage commitment, single-positive (SP) thymocytes rapidly relocate to the medulla, where they scan medullary antigen-presenting cells (mostly dendritic cells (DCs) and medullary TECs (mTECs)), presumably for their entire 4–5 day residency^{48,70}.

„β-Selektion“

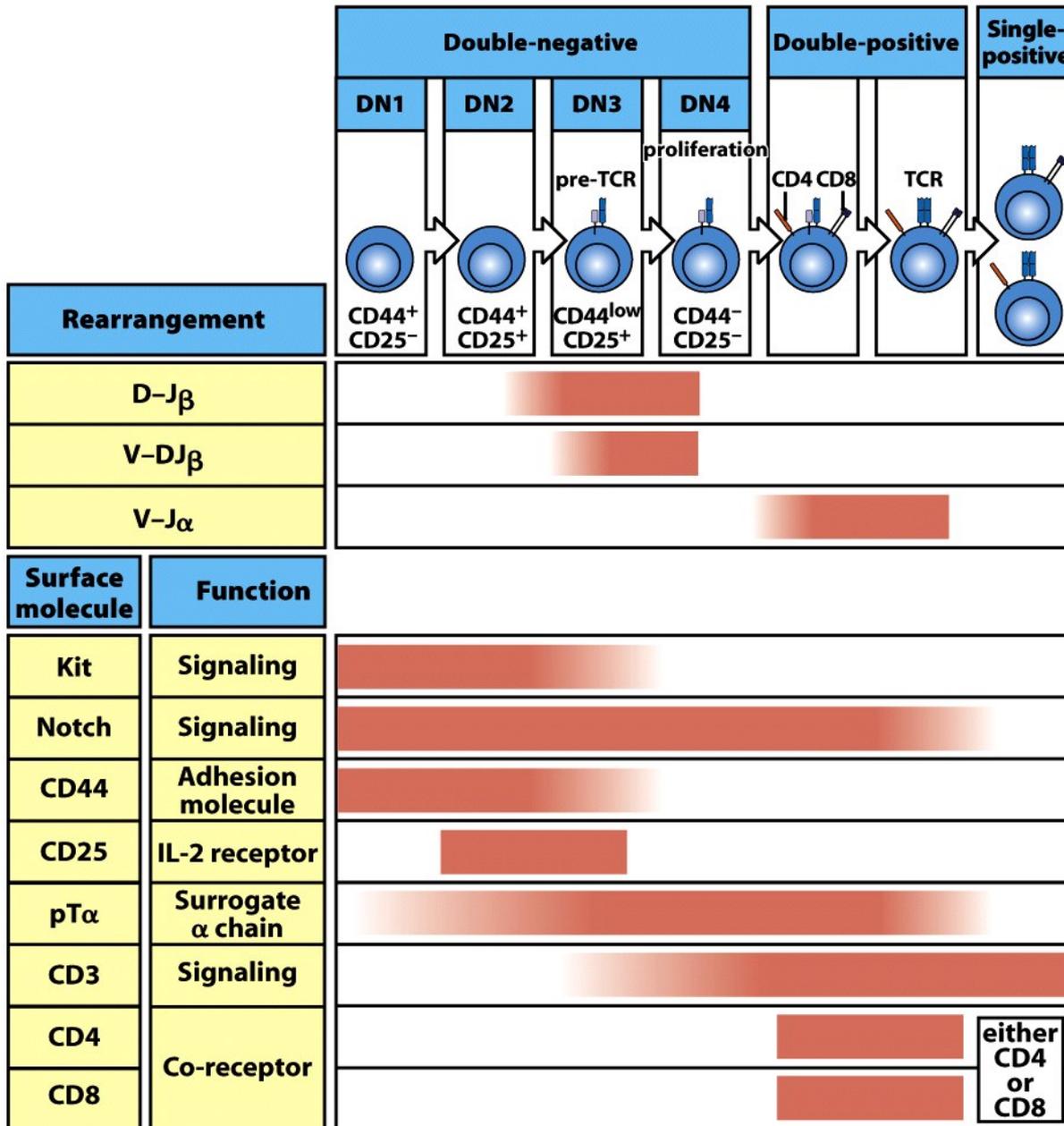


Figure 7-20 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Somatische Rekombination (Rearrangement auf DNA-Ebene)

α -Kette: VJC 1 x; β -Kette: VDJC 1 x*

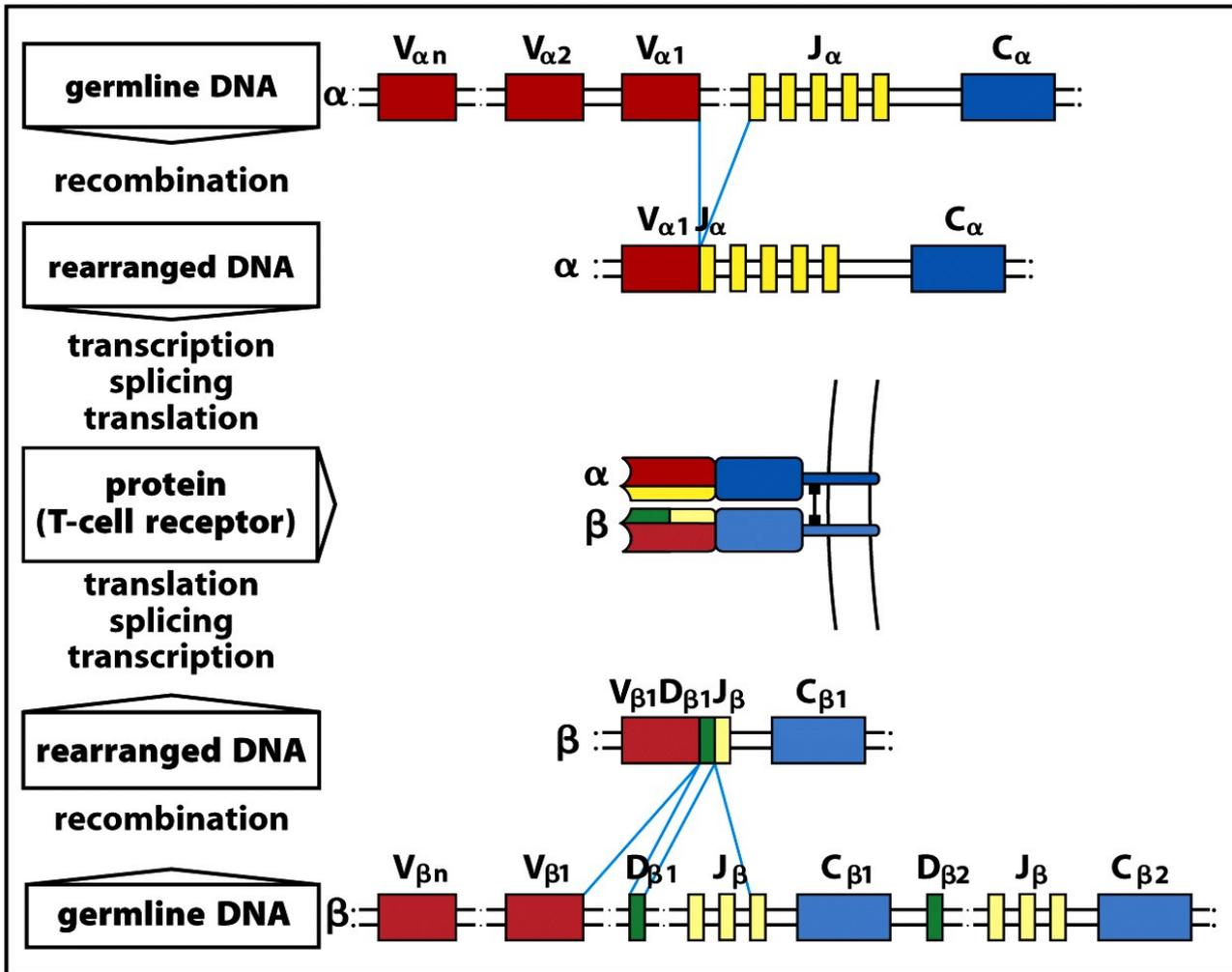


Figure 4-10 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Diversität der T-Zellrezeptor Ketten durch Zusammenbau aus Gensegmenten

Heterodimer (α -, β -Kette); Keimbahnkonfiguration (DNA):

α -Kette: V-Segment: 70-80 x
J-Segment: 61 x
C-Segment: 1 x

β -Kette: V-Segment: 52 x
D-Segment: 2 x
J-Segment: 6 x, 7x
C-Segment: 2 x

entspricht leichter Ak-Kette

entspricht schwerer Ak-Kette



Kombinatorik ergibt $4,5 \times 10^6$ mögliche T-Zell Rezeptoren

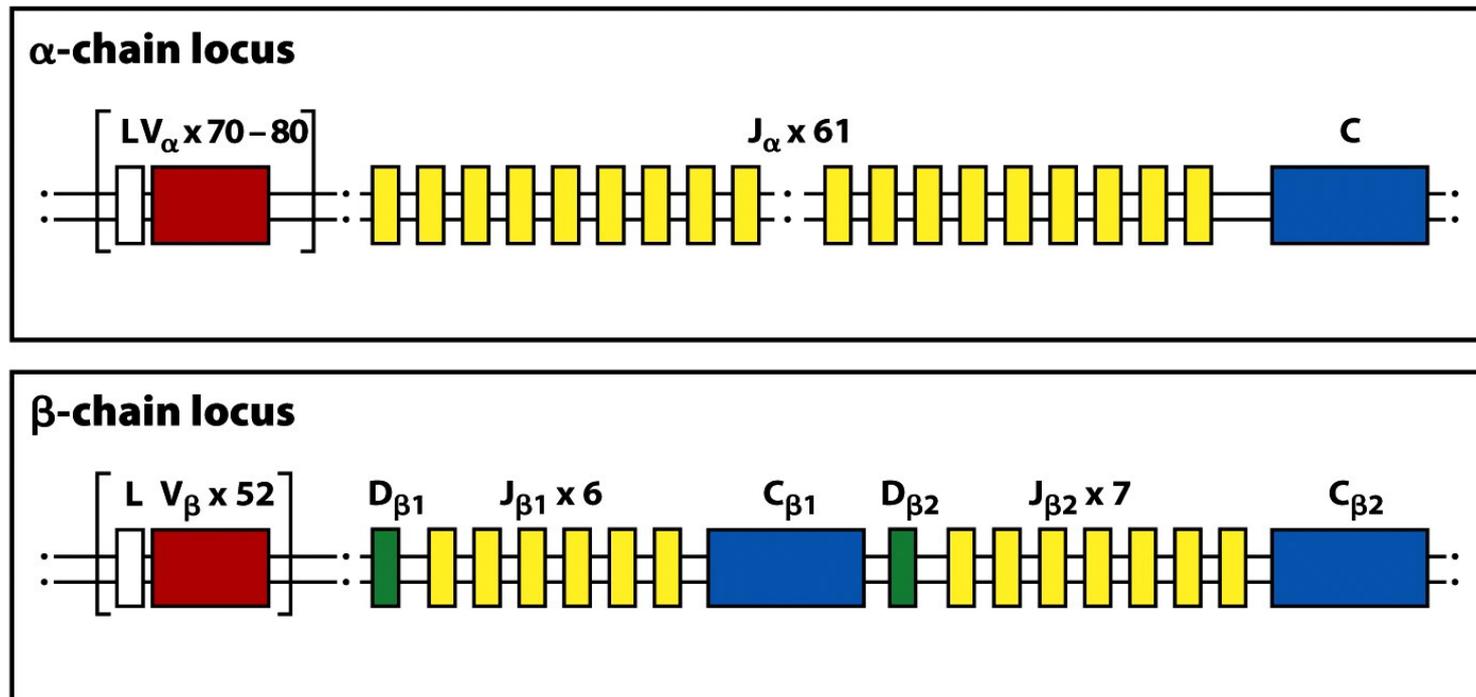
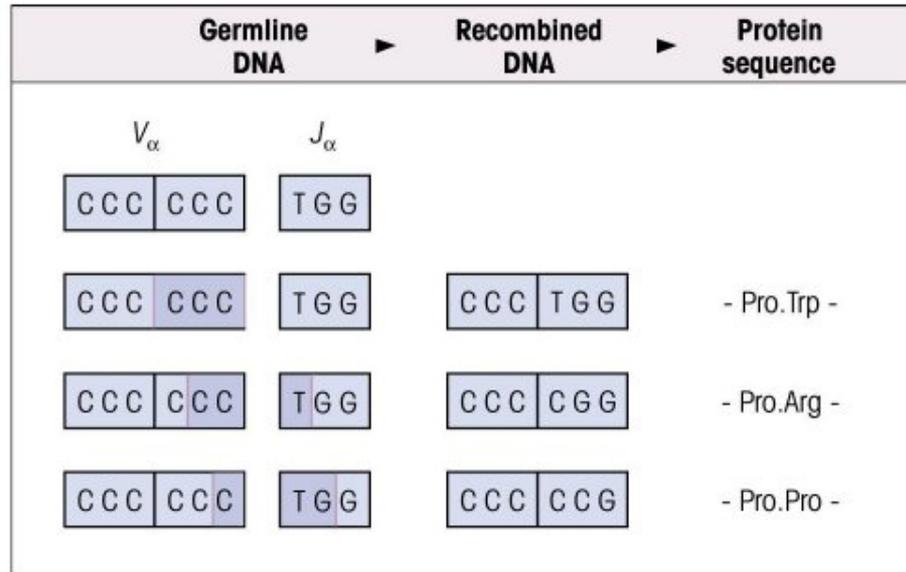


Figure 4-9 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Der ungenaue Zusammenbau an den Spleißstellen erhöht die Variabilität etwa x1000



Delves *et al.* *Roitt's Essential Immunology, 12th ed.*
 © 2011 Delves *et al.* Published 2011 by Blackwell
 Publishing Ltd.

Figure 4.12. Junctional diversity between a TCR V_α and J_α germline segment producing three variant protein sequences.

The nucleotide triplet that is spliced out is colored the darker blue. For TCR β chain and Ig heavy chain genes junctional diversity can apply to V , D and J segments.

Kombinatorik und ungenauer Zusammenbau ergibt
 $4,5 \times 10^9$ mögliche T-Zell Rezeptoren

Die Korezeptoren CD4 und CD8 binden an konservierte Abschnitte von MHCII und MHC I

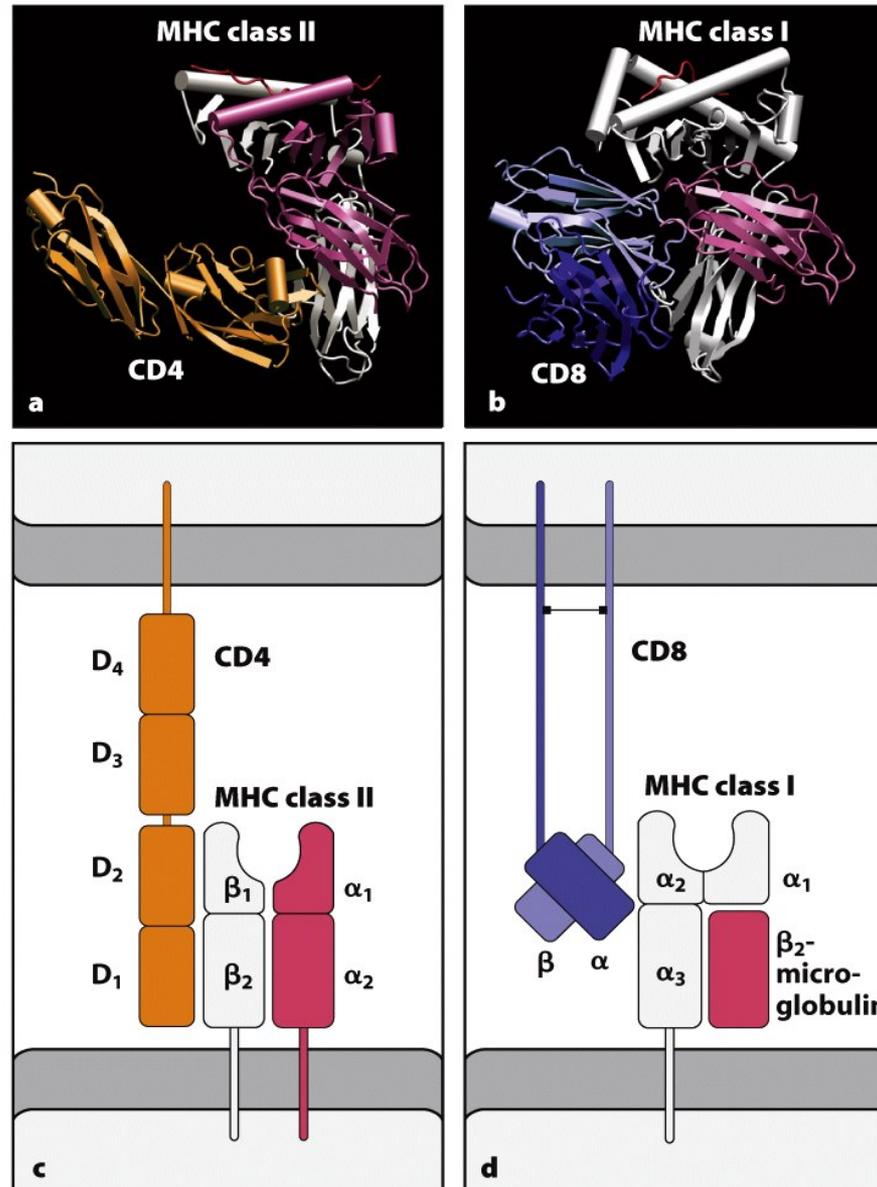
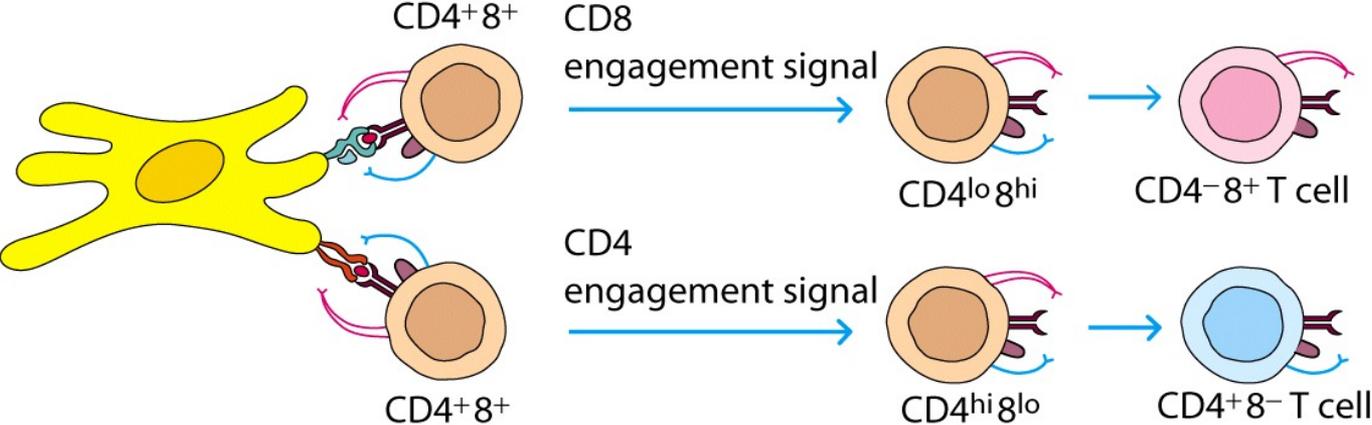


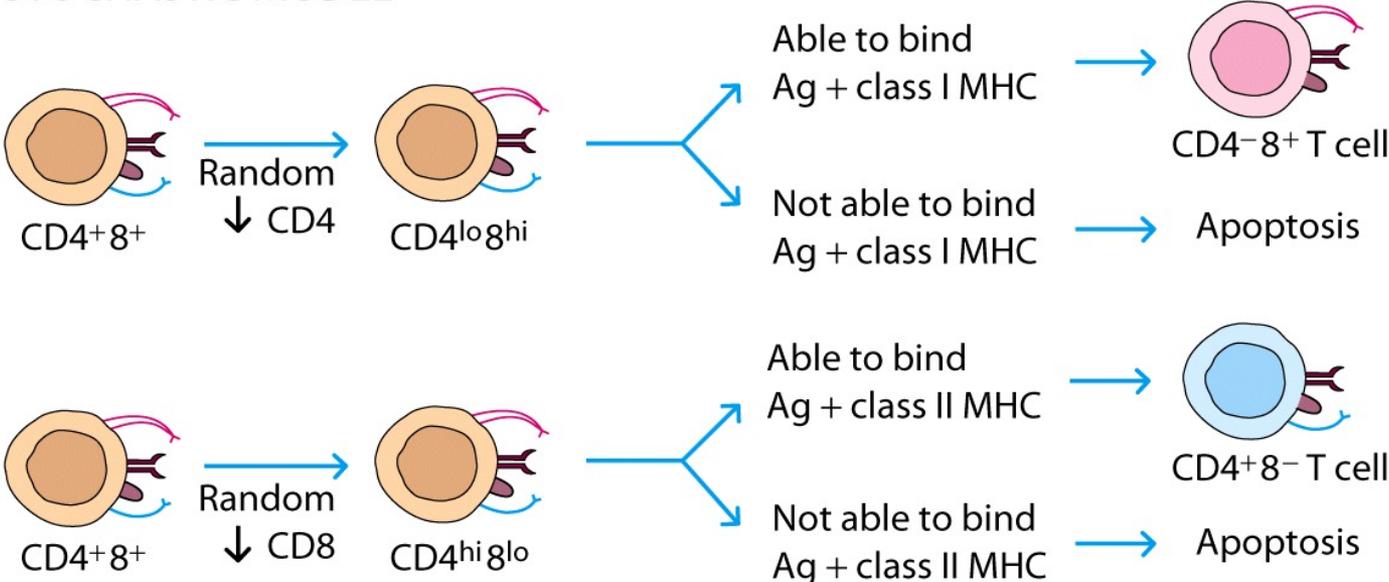
Figure 3-25 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Entwicklung von CD4⁺ oder CD8⁺ T-Zellen aus doppelpositivem Vorläufer

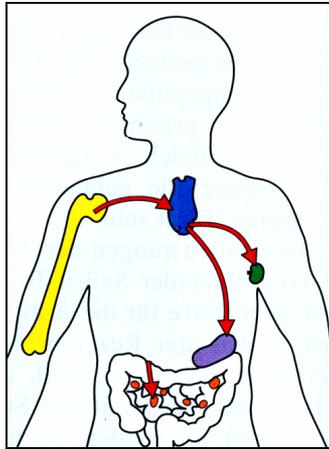
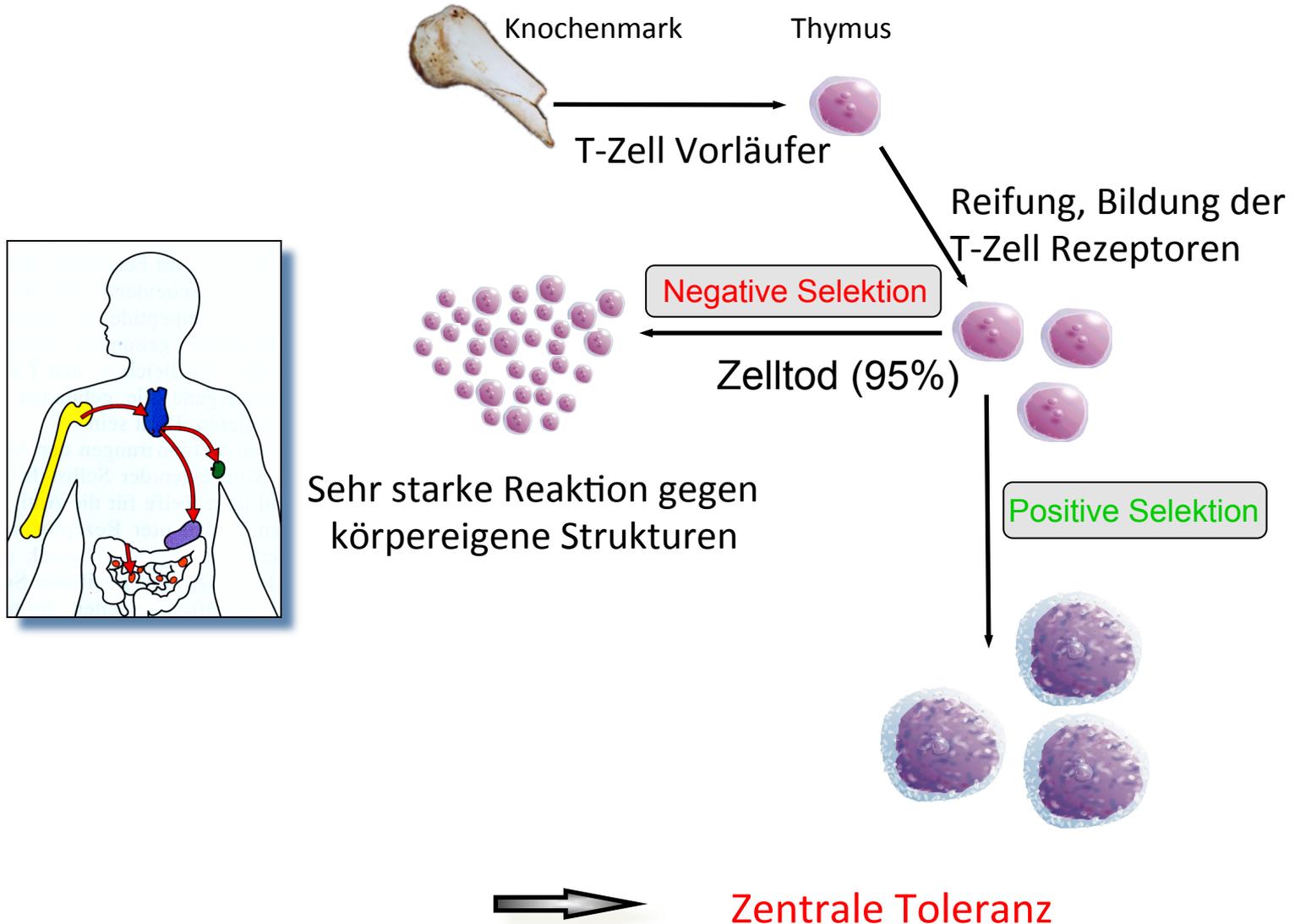
INSTRUCTIVE MODEL



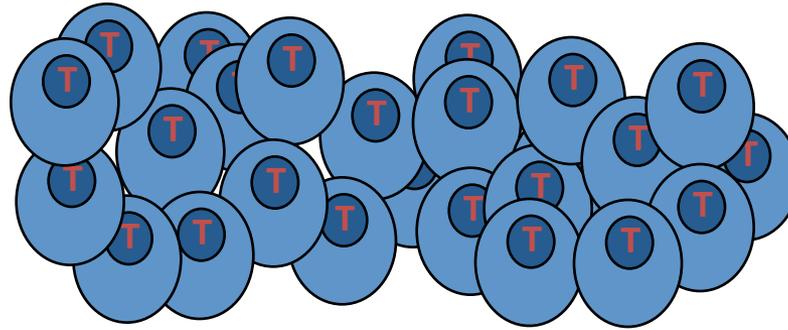
STOCHASTIC MODEL



Vernichtung stark eigenreaktiver T-Zellen am Ort ihrer Reifung

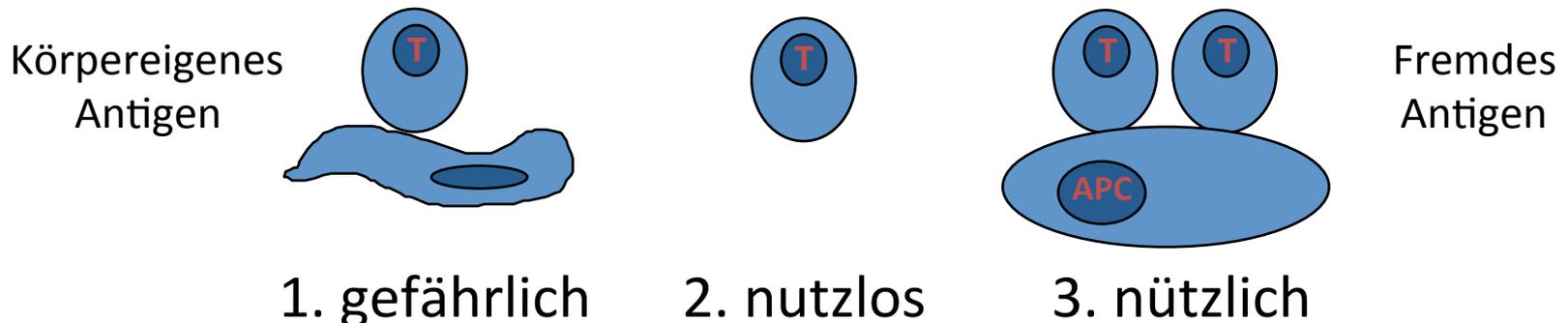


Benötigen wir Mechanismen, die eine Immunreaktion von T-Zellen gegen körpereigene Proteine verhindern?

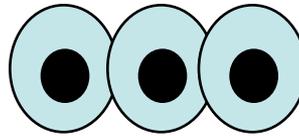


Ja, denn...

...die Generierung des TCR beinhaltet viele zufällige/ ungerichtete Mechanismen
...die Spezifitäten von unreifen T-Zellen beinhalten solche, die stark auf körpereigene peptide reagieren

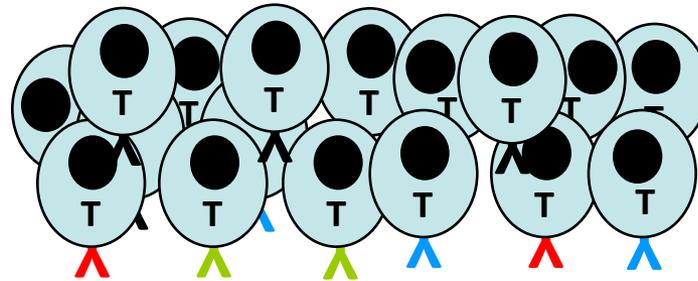


Vermehrung und „Erziehung“ der Thymocyten im Thymus



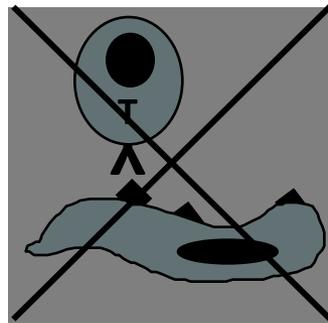
Knochenmark

Randomisierte
Entstehung der T-Zell
Rezeptoren



Thymus

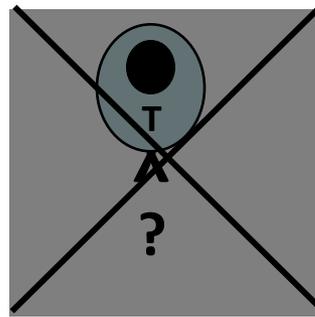
Sehr starke
Erkennung
von „Selbst“



Gefährlich

Negativselektion

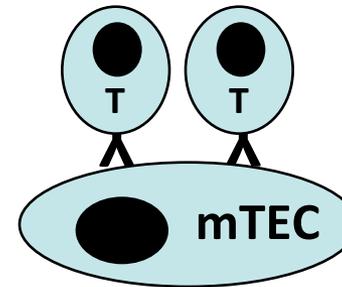
Keine
Erkennung



Nutzlos

Ignoranz

Intermediäre
Erkennung
von „Selbst“



Nützlich

Positivselektion

Positive Selektion:

Bei diesem Prozess wird der T-Zellrezeptor alleine auf seine Fähigkeit getestet, **an eigenes MHC zu binden** (MHC Restriktion!). T-Zellen, deren TZR nicht an eigene MHC Moleküle binden können, sterben durch Apoptose (*“death by neglect”*).

Negative Selektion:

Unter negativer Selektion versteht man die gezielte Elimination von sich entwickelnden T-Zellen, die körpereigene Peptide an MHC gebunden **sehr stark** erkennen.

Wie funktioniert die Negativselektion ?

Projection of an Immunological Self Shadow Within the Thymus by the Aire Protein

**Mark S. Anderson,¹ Emily S. Venanzi,¹ Ludger Klein,²
Zhibin Chen,¹ Stuart P. Berzins,¹ Shannon J. Turley,¹
Harald von Boehmer,² Roderick Bronson,³ Andrée Dierich,⁴
Christophe Benoist,^{1*} Diane Mathis^{1*}**

SCIENCE VOL 298 15 NOVEMBER 2002

1395

Der Transkriptionsfaktor AIRE

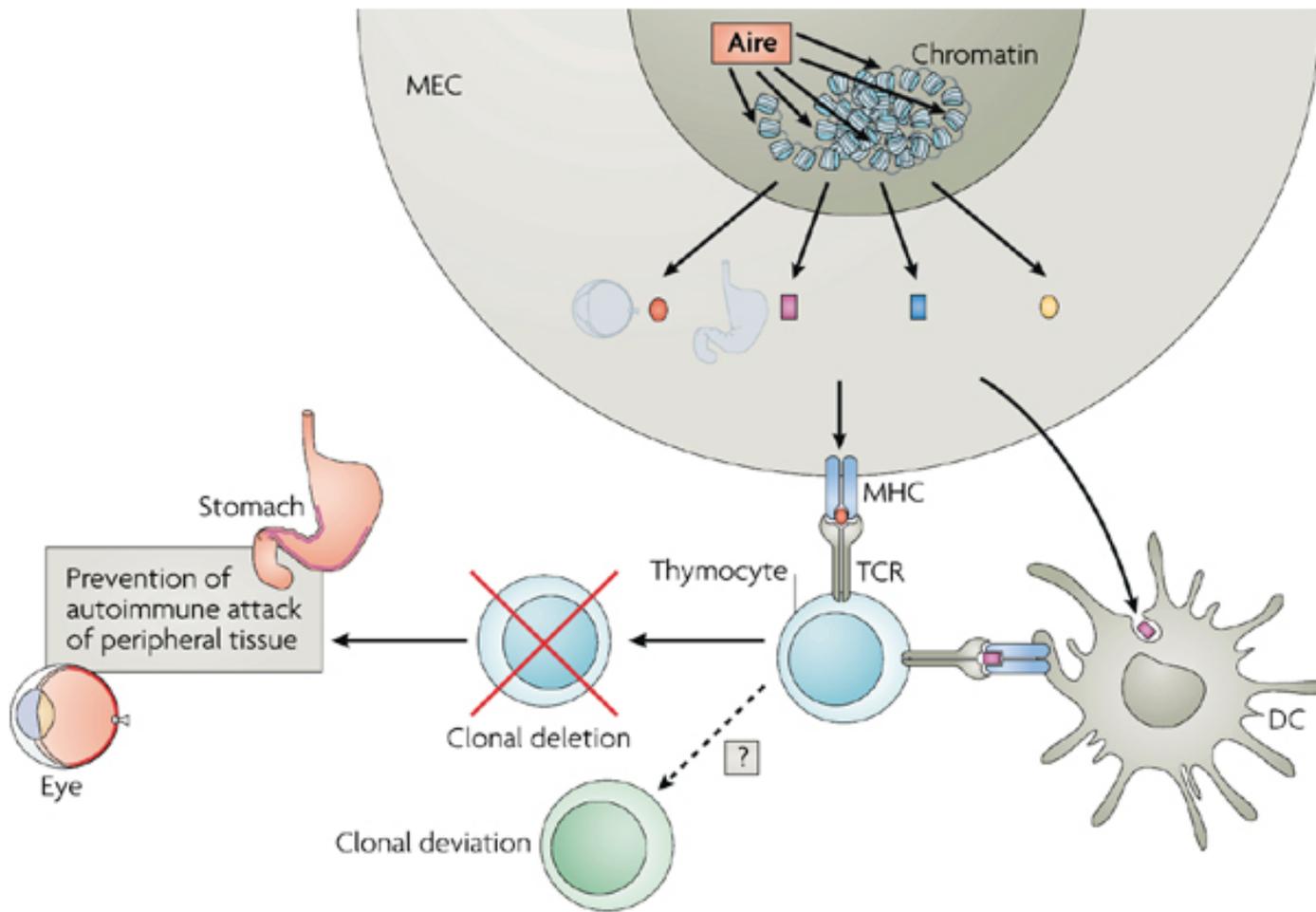
AIRE: Autoimmune regulator.

- Transkriptionsfaktor
- Wird stark von medullären Thymusepithelzellen exprimiert
- Autosomal rezessive Mutation führt zum



autoimmun-bedingten pluriglandulären Syndrome, Typ1 (APS-1)
APECED - autoimmune polyendocrinopathie – candidiasis -ectodermal dystrophie

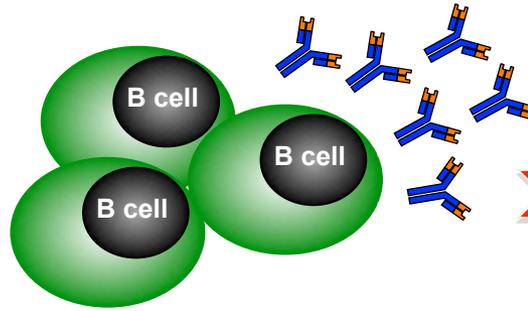
Als **autoimmun-bedingtes pluriglanduläres Syndrom** werden seltene, aber statistisch überzufällig beobachtete Assoziationen mehrerer [autoimmun bedingter Erkrankungen des Endokriniums, aber auch nicht endokriner Organsysteme, bezeichnet.](#)



Nature Reviews | Immunology



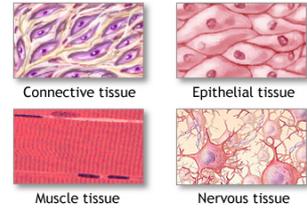
Serum



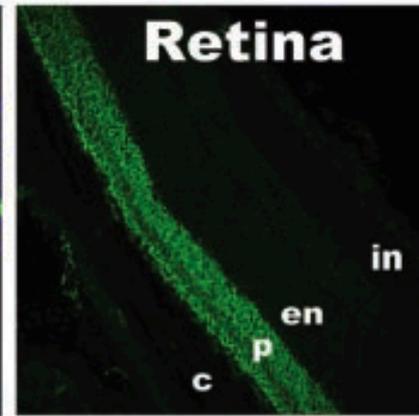
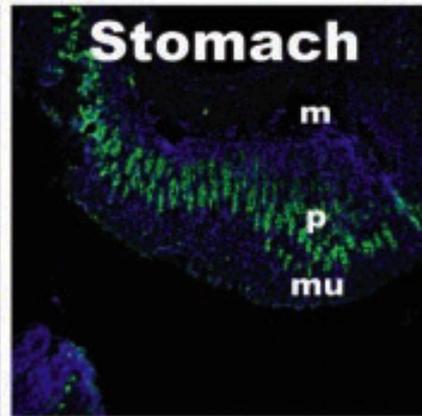
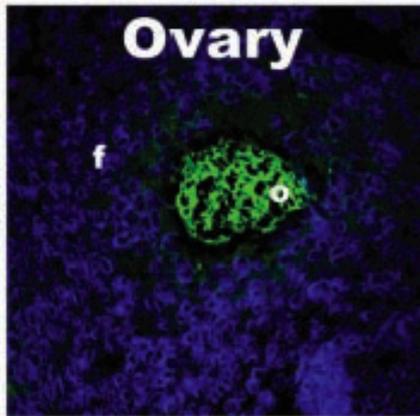
Histologie



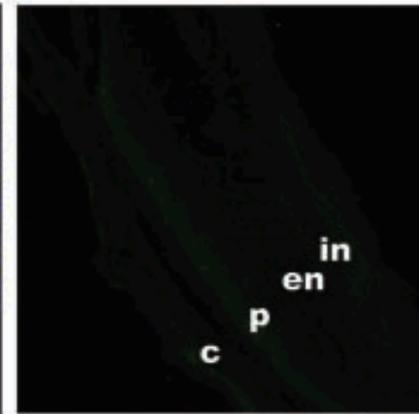
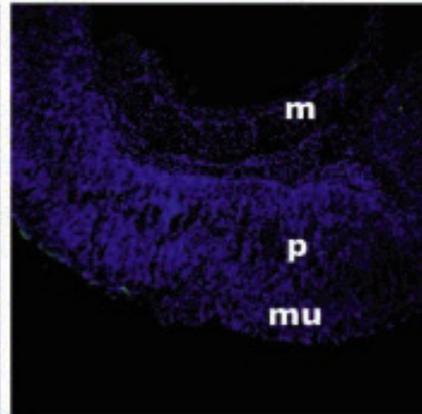
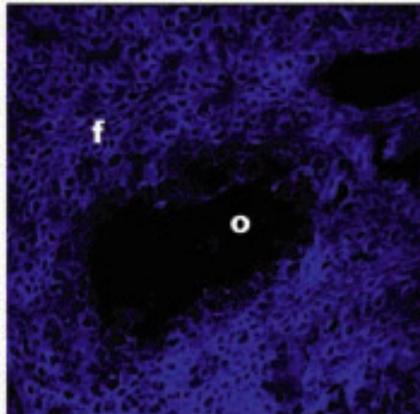
Four types of tissue



ADAM



Aire^{-/-}



Aire^{+/+}

Zusammenfassung:

Zentrale Toleranz

Die Generierung neuer TZR beinhaltet ungerichtete Gen-Rearrangements und birgt die Gefahr von potentiell stark autoreaktiven T-Zellen! Auf der anderen Seite ist dies die Voraussetzung für ein möglichst großes TZR Repertoire

- ▶ Positive und Negative Selektion.
- ▶ T Zell Selektion findet in verschiedenen Kompartimenten im Thymus statt.
 - Positive Selektion im Cortex
 - Negative Selektion in der Medulla

Eine große Anzahl verschiedenster Gewebsspezifischer Proteine wird im Thymus durch medulläre Thymusepithelzellen (APCs im Thymus) exprimiert.

Alle T-Zellen werden während der negativen Selektion an körpereigenen Peptiden selektiert !!!!

Ist die zentrale Toleranz ausreichend ?

 NEIN, nicht alle körpereigenen Antigene werden im Thymus exprimiert

 NEIN, die alpha-Kette des TCR unterliegt nicht der allelen Exklusion

 NEIN, ein einzelner T-Zell-Rezeptor kann eine Vielzahl leicht unterschiedlicher Peptid/MHC-Komplexe erkennen (“Promiskuität”).



Viele potentiell autoreaktive T-Zellen verlassen den Thymus

Wie kann die Aktivierung autoreaktiver T-Zellen in der Peripherie verhindert werden ?

Die “dritte Funktion” des Thymus

- **Negativselektion stark autoreaktiver T-Zellen**
- **Positivselektion peripherer T-Effektorzellen**
- **Positivselektion von CD4⁺CD25⁺ Tregs**

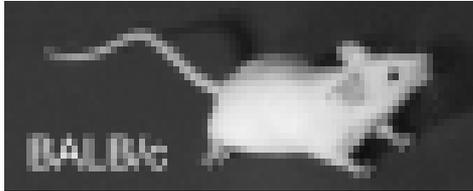


Nicht alle Treg entstammen dem Thymus (nTreg bzw. tTreg)



Treg können auch in der Peripherie entstehen (pTreg bzw. iTreg)
(Siehe Vorlesung „mucosale Immunität“)

Wildtype

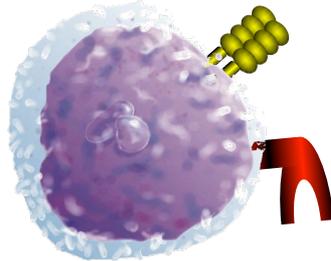


Transfer of CD4⁺ T cells
upon depletion of CD25⁺ T cells

T-Cell-deficient
"healthy"



Co-transfer of CD25^{pos}CD4⁺ T cells
prevents the development of
autoimmune diseases



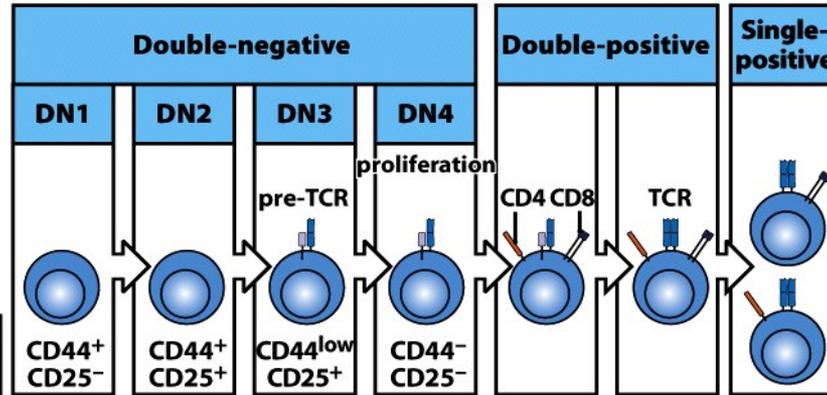
Development of
autoimmune diseases
Thyroiditis
Gastritis
Splenitis

CD25^{pos}CD4⁺ T cells



peripheral regulatory T cells (Tregs)

CD25 ist kein spezifischer Marker für Tregs sondern die α -Kette des IL-2 Rezeptors



„ β -Selektion“

Rearrangement		DN1	DN2	DN3	DN4	Double-positive	Single-positive
D-J β							
V-DJ β							
V-J α							
Surface molecule	Function						
Kit	Signaling						
Notch	Signaling						
CD44	Adhesion molecule						
CD25	IL-2 receptor						
pT α	Surrogate α chain						
CD3	Signaling						
CD4	Co-receptor						either CD4 or CD8
CD8							

Figure 7-20 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

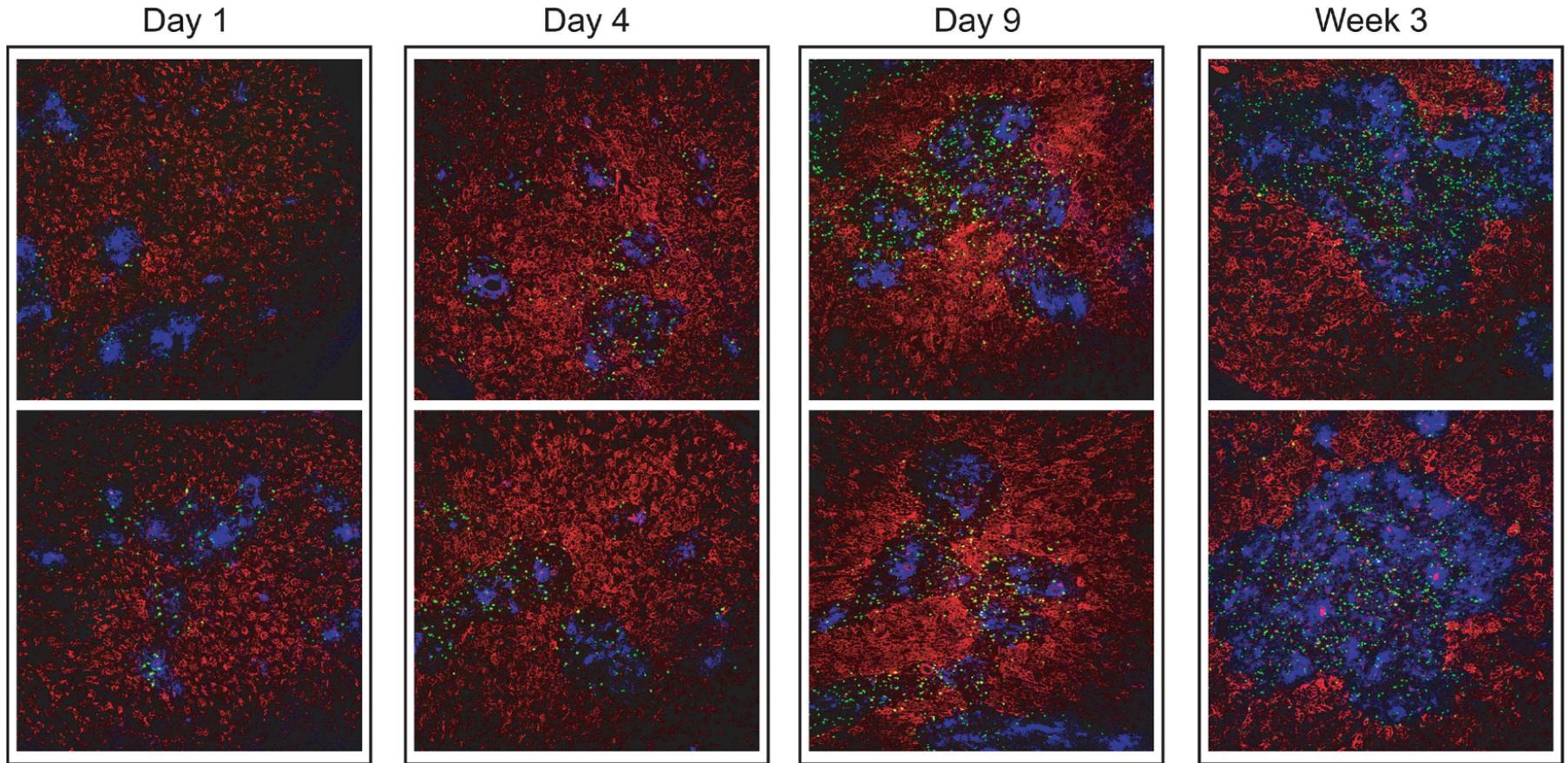
FoxP3 (“scurfin”) ist wichtig für Entwicklung und Funktion von Treg

- **Transkriptionsfaktor der „forkhead“-Familie**
- **„Loss of function“ Mutationen erzeugen den „scurfy“ Phänotyp:**
 - X-gekoppelte rezessive lymphoproliferative Erkrankung**
 - Hyperreaktive CD4⁺ T-Zellen**
 - Überexpression versch. Cytokine (IL-2, IL-4, etc.)**
 - Spontaner autoimmuner Phänotyp (Diabetes, Thyroiditis etc.)**
 - Schwere Infektionen**



- **Humanes Equivalent: IPEX-Syndrom
(Immunodysregulation, polyendocrinopathy and enteropathy, X-linked)**

Treg verlassen den Thymus mit zeitlicher Verzögerung gegenüber T-Effektorzellen



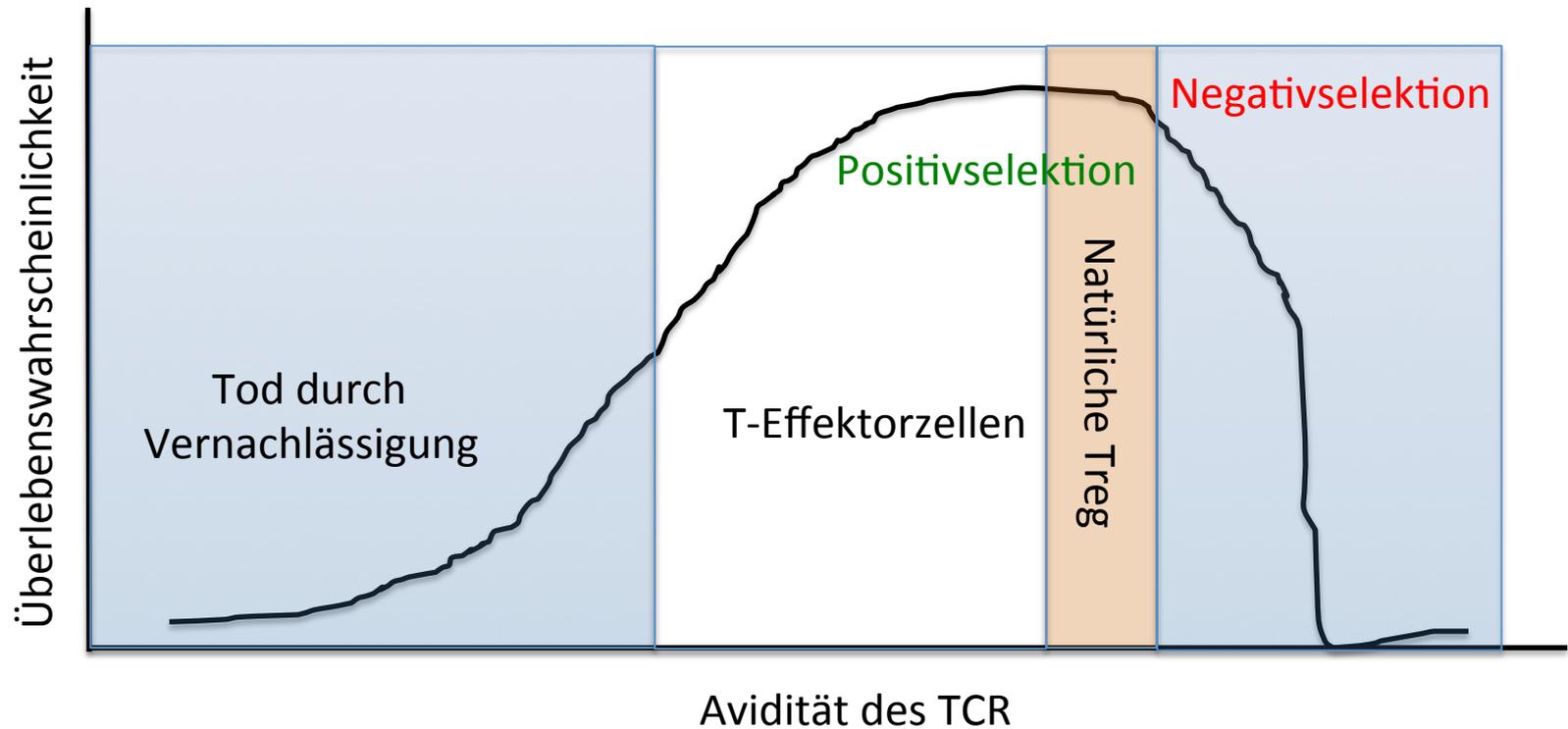
Thymektomie von Mäusen an d3 nach Geburt führt spontan zur Entstehung eines autoimmunen Phänotyps

Rot: Cortex d. Thymus
Blau: Medulla d. Thymus
Grün: GFP-FoxP3 Fusionsprotein

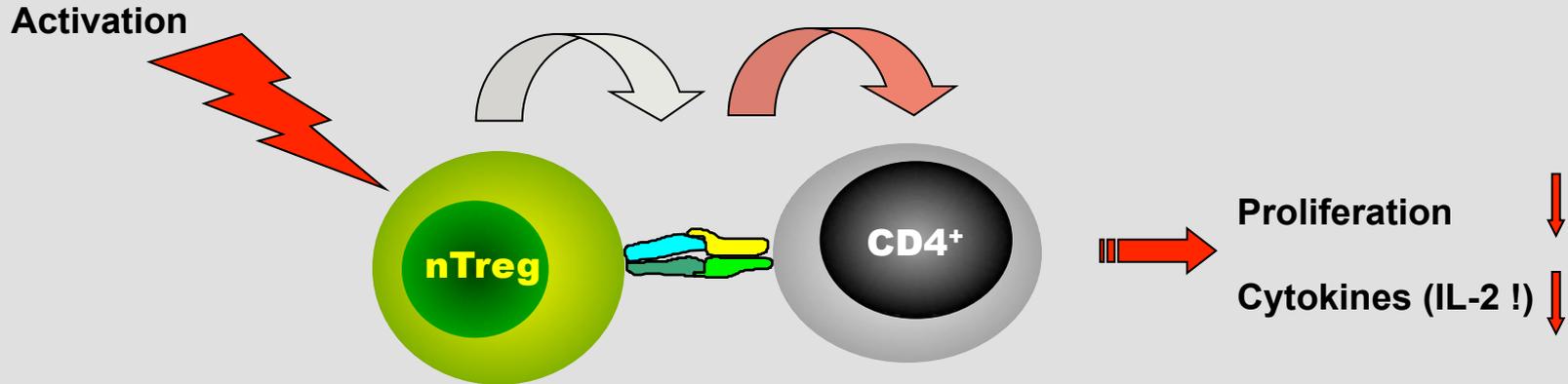
Wie entstehen nTreg bzw. tTreg ?

Aviditätsmodell:

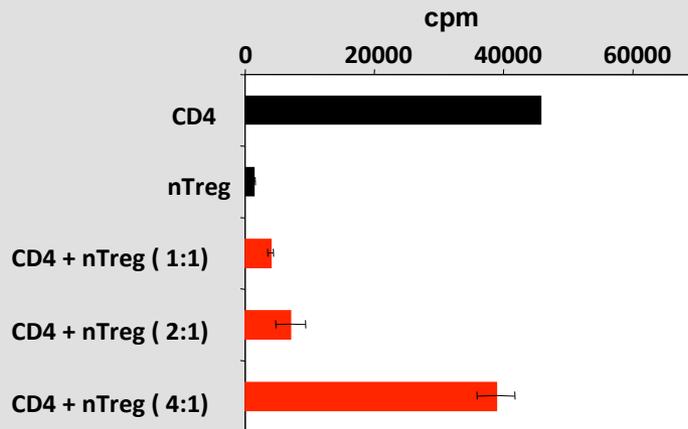
Schicksal der Thymocyten abhängig von der Bindungsstärke
T-Zell Rezeptor zu MHC/Peptid-Komplex



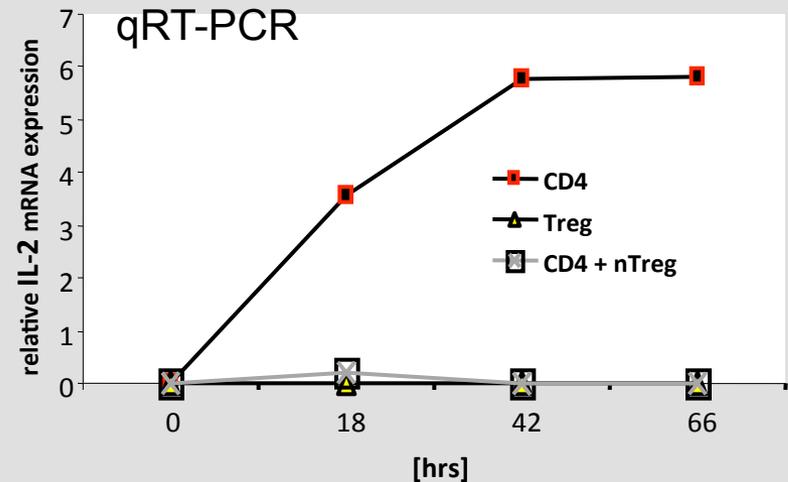
Mechanisms of nTregs mediated suppression



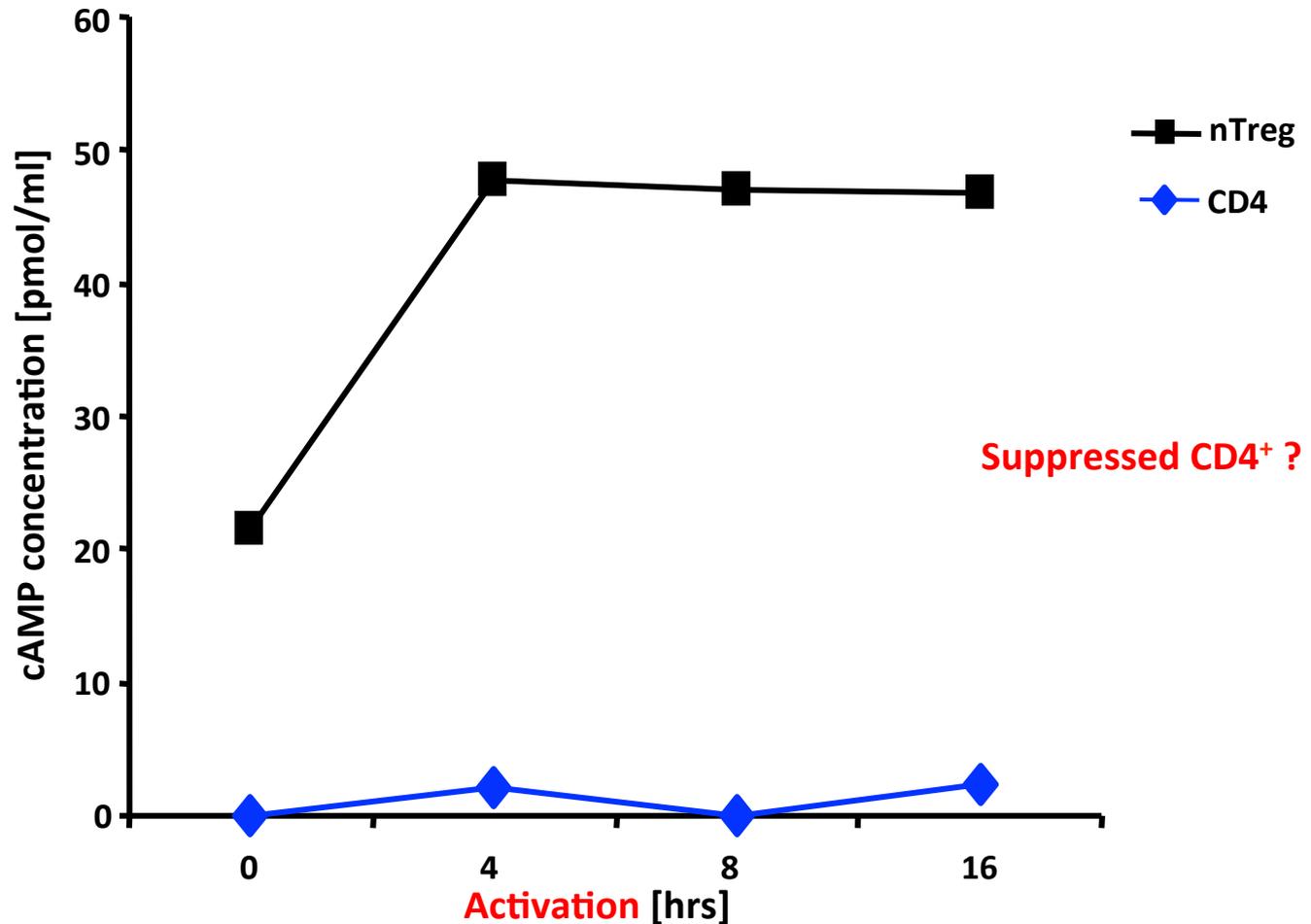
Proliferation



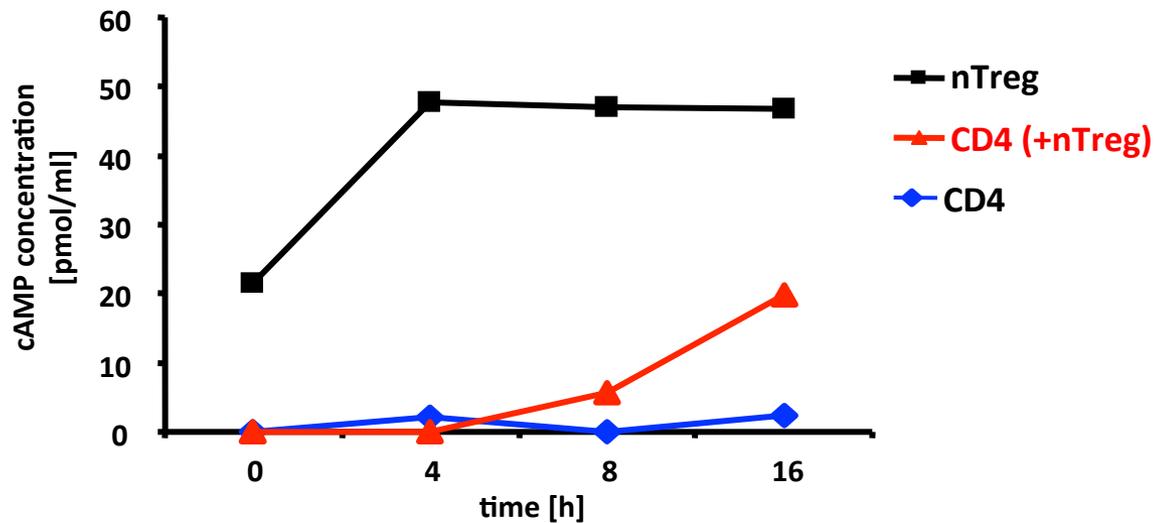
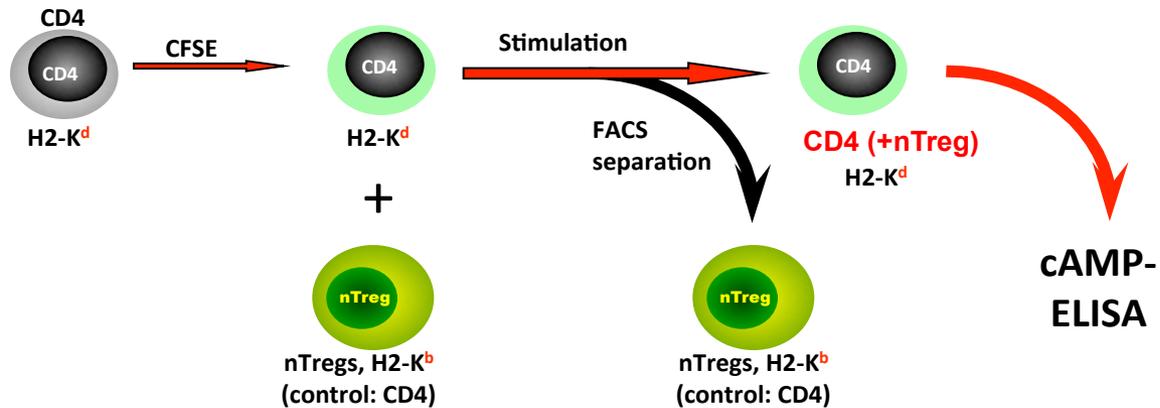
Interleukin-2



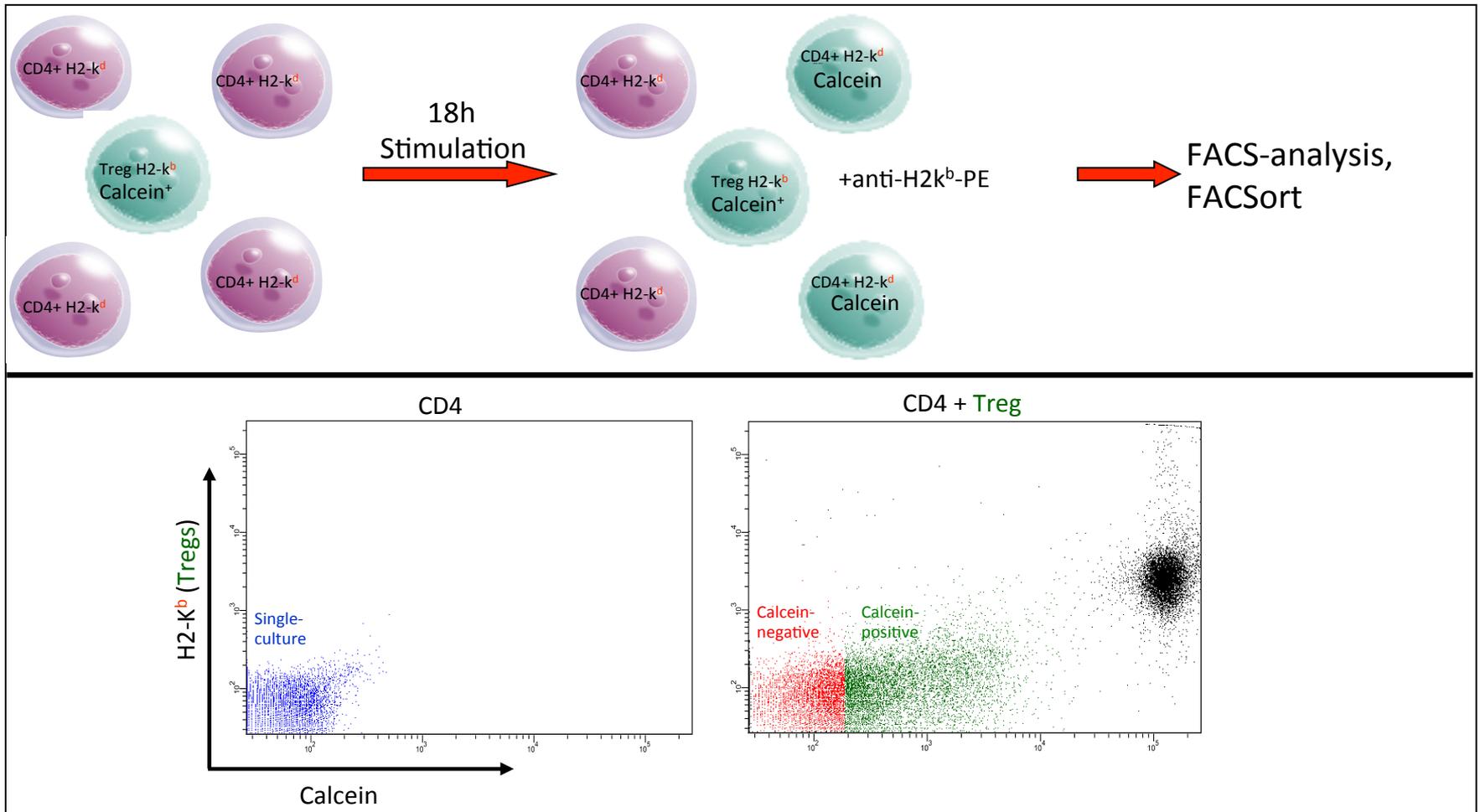
nTregs harbour high intracellular concentrations of the potent second messenger cAMP



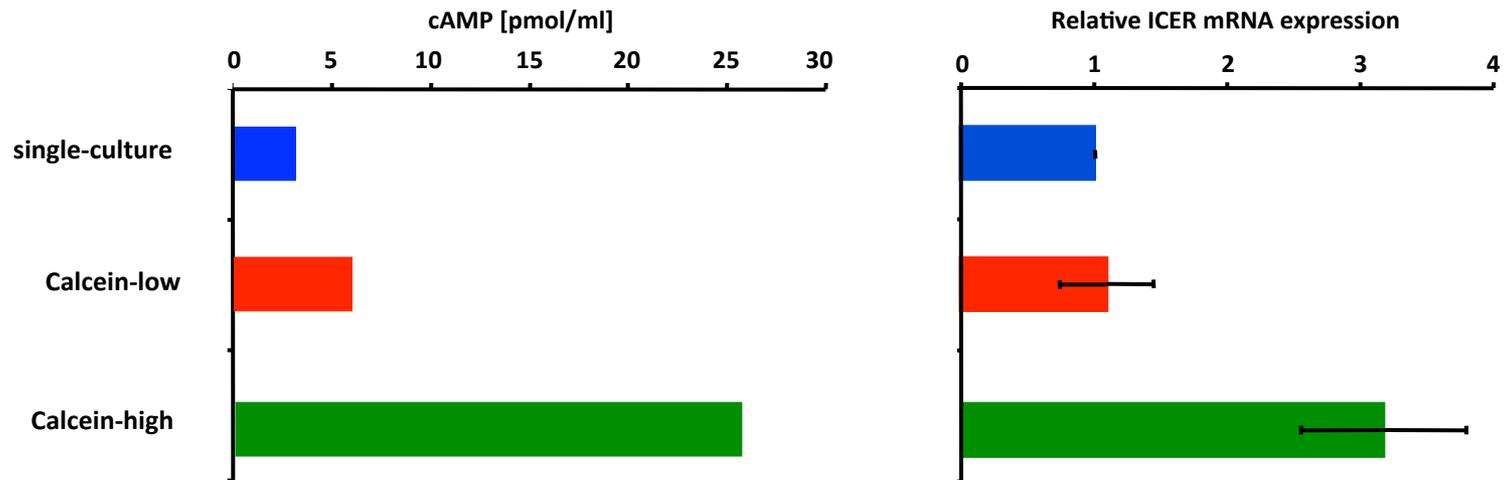
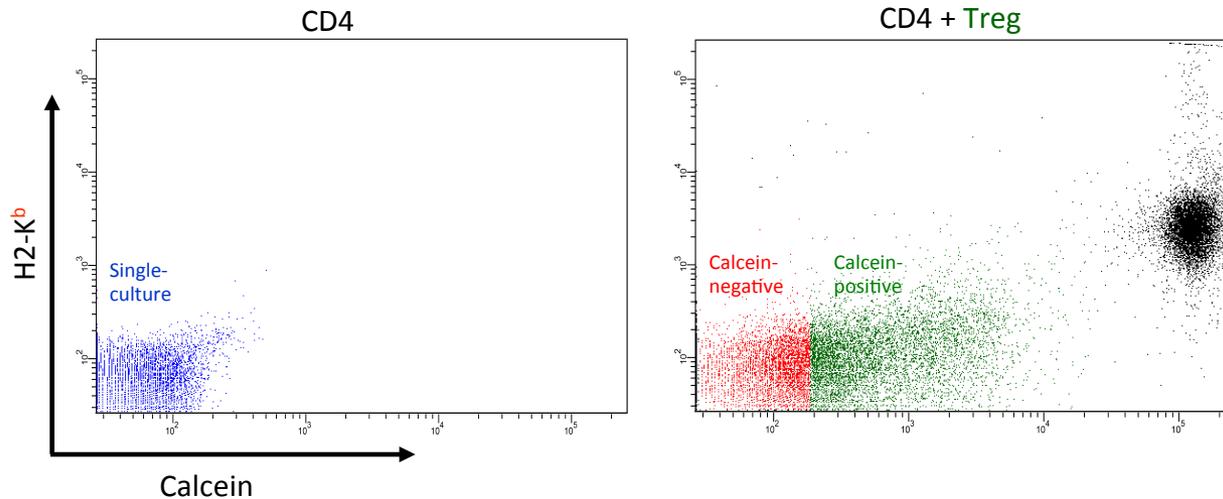
nTreg-mediated suppression is accompanied by an increase in cAMP in the suppressed CD4⁺ T cells



cAMP ,travels ' from nTregs to CD4+ T cells via gap junctions (I)



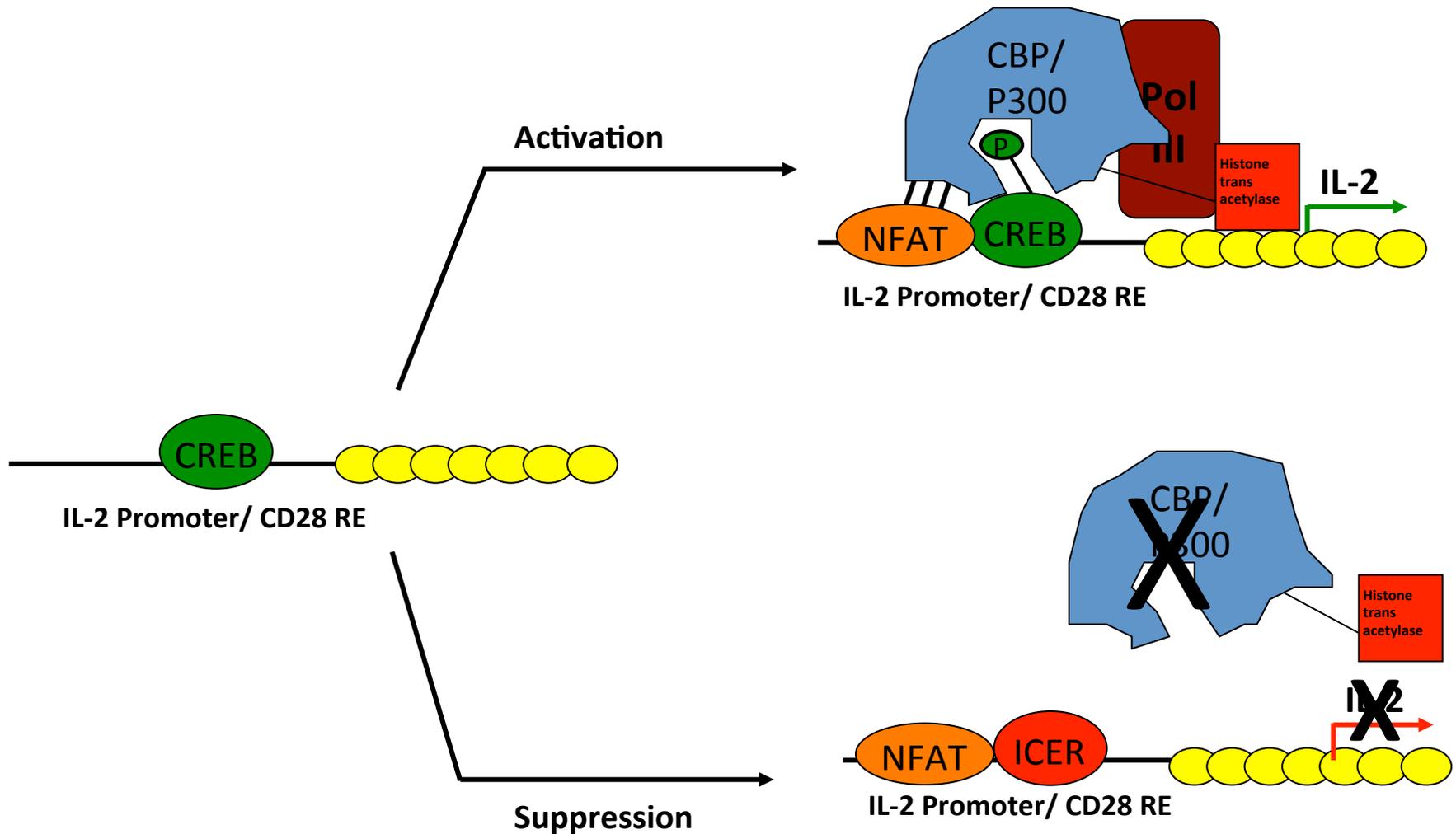
Molecular basis of nTreg-mediated suppression



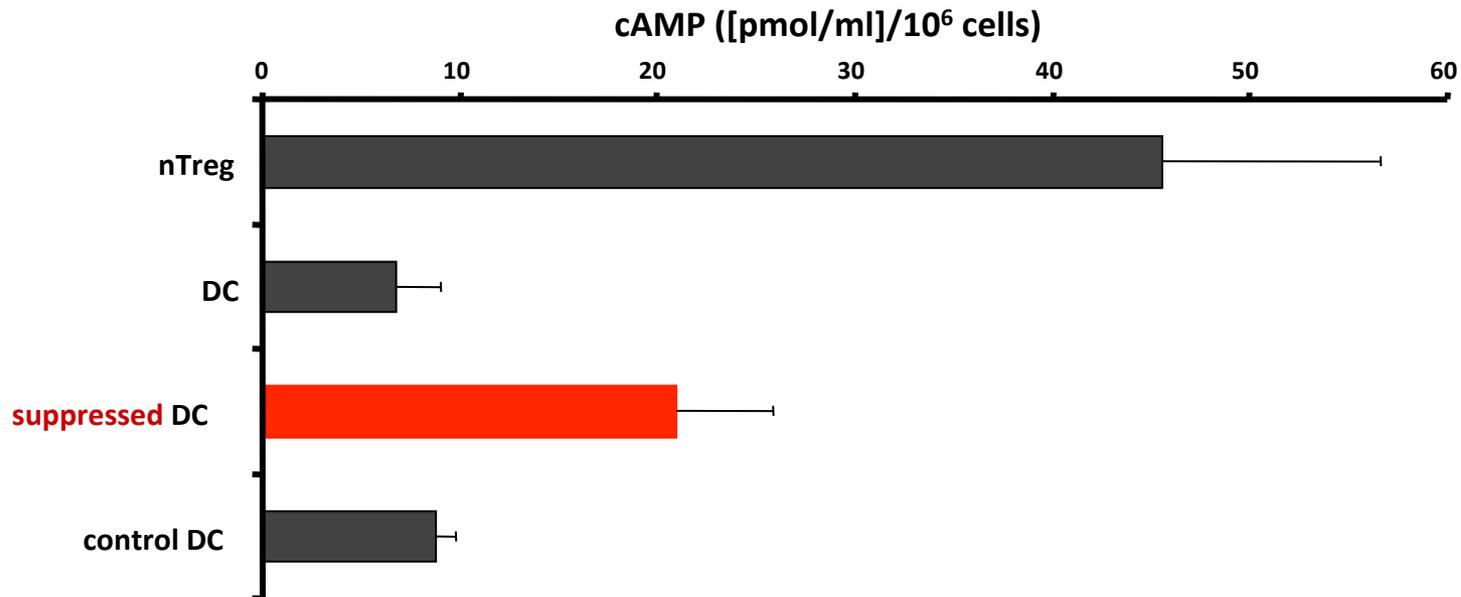
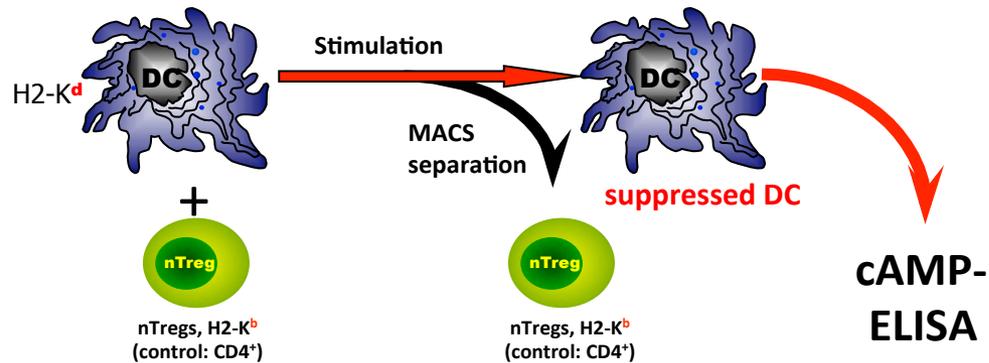
Co-culture of conventional CD4⁺ T cells with nTregs induces the expression of the transcriptional repressor ICER

ICER-mediated attenuation of IL-2 gene expression

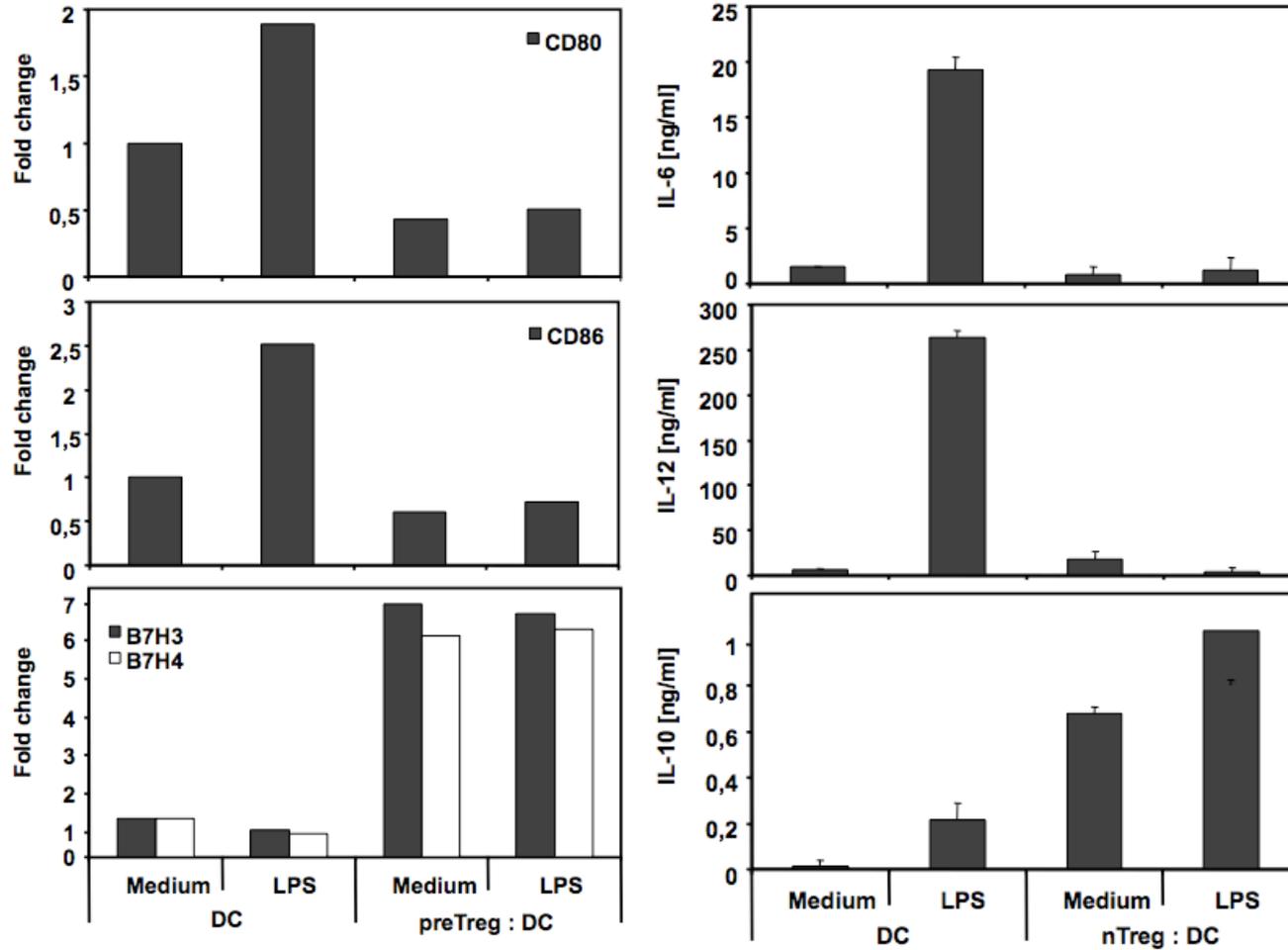
("inducible cAMP early repressor")



The nTreg-mediated suppression of DC is accompanied by a strong increase in cAMP



DC phenotype after nTreg coculture



Mechanisms of Treg-mediated suppression of DC function

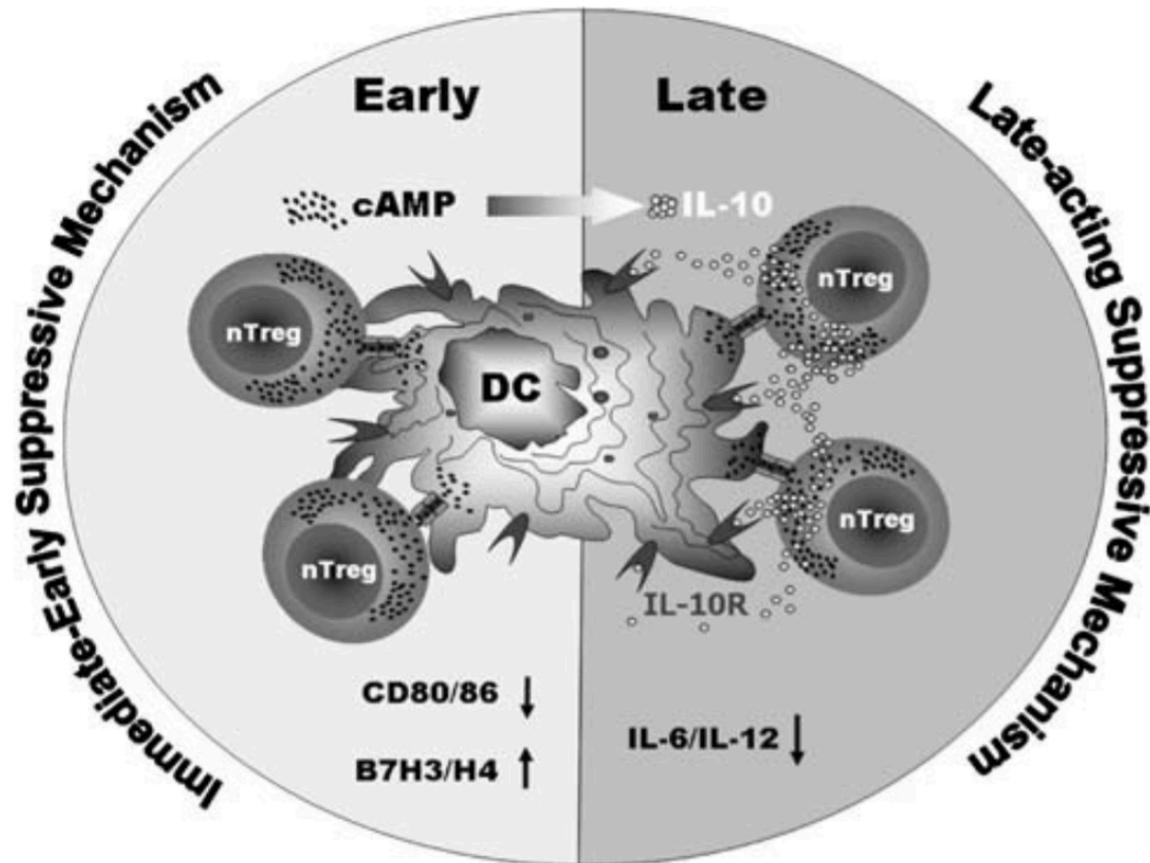
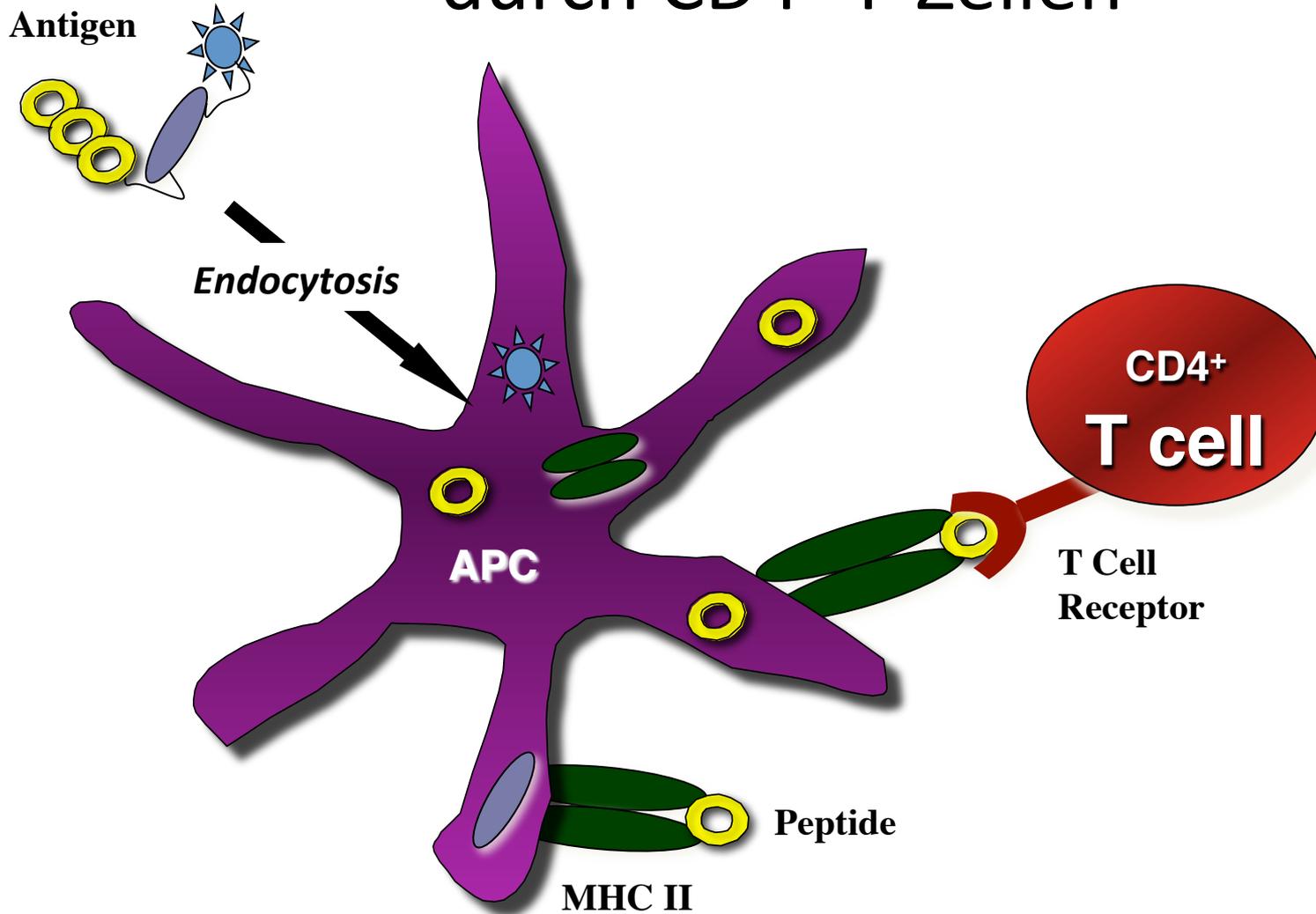
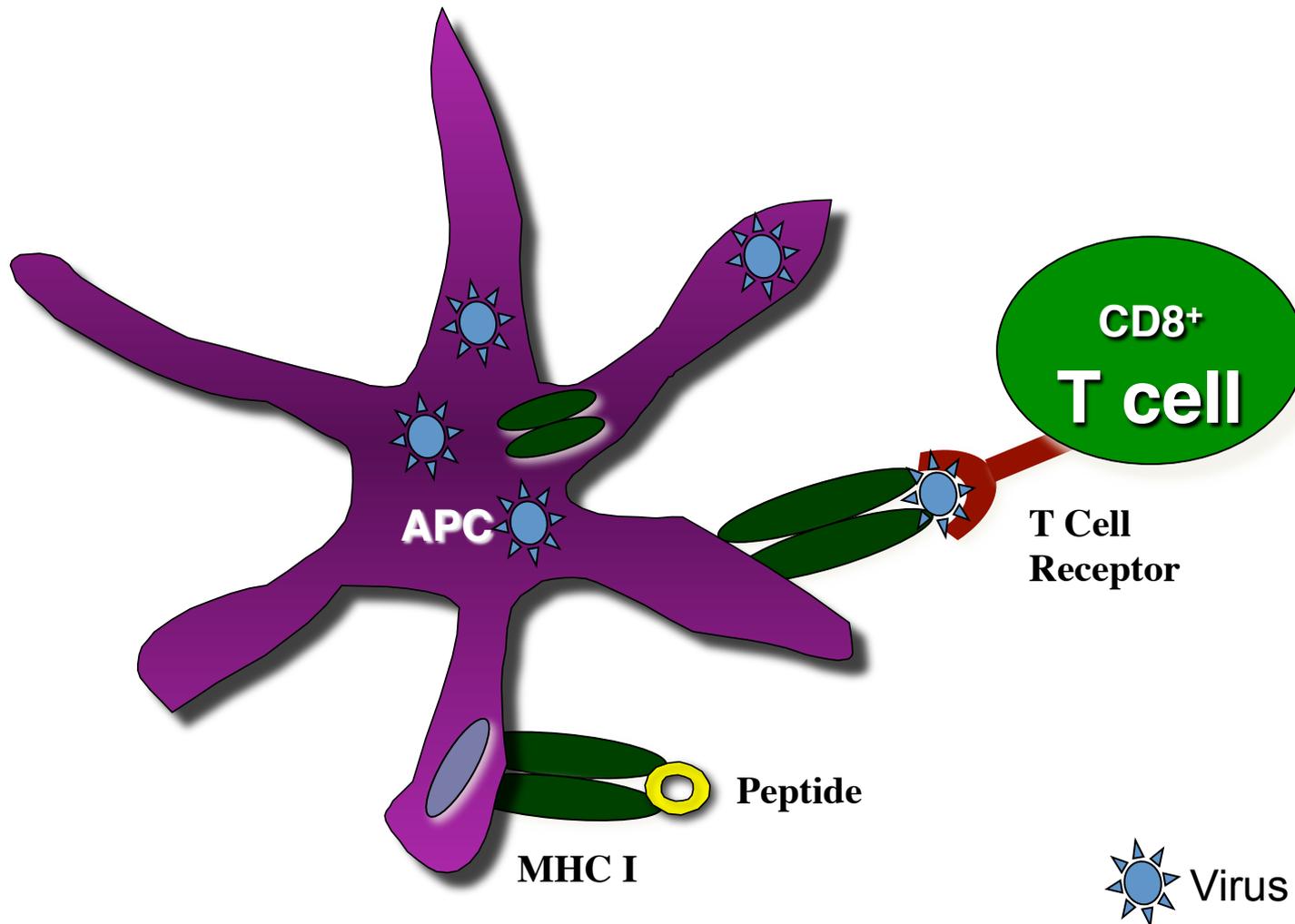


Fig. 1 Bi-phasic model of Treg-mediated suppression of the co-stimulating function of DCs

Erkennung exogener Antigene (z.B. Bakterien) durch CD4⁺ T-Zellen



Erkennung endogen entstandener/ nicht aufgenommener Antigene (Viren) durch CD8⁺ T-Zellen



CD8⁺ zytotoxischer T-Lymphozyt (CTL)

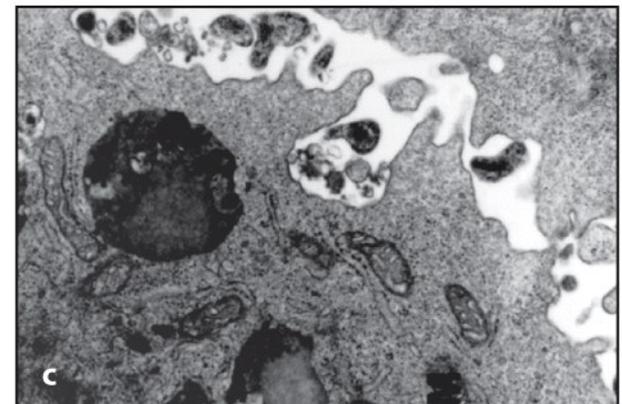
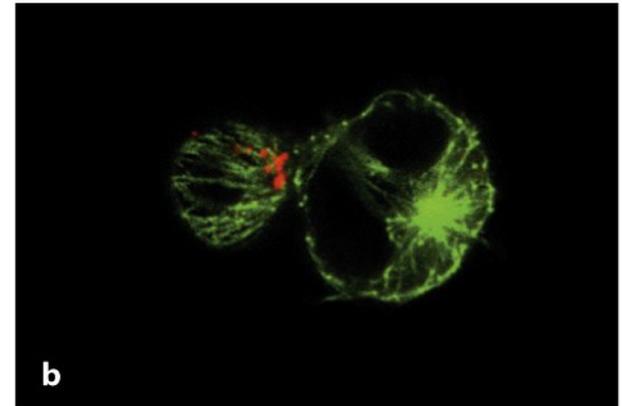
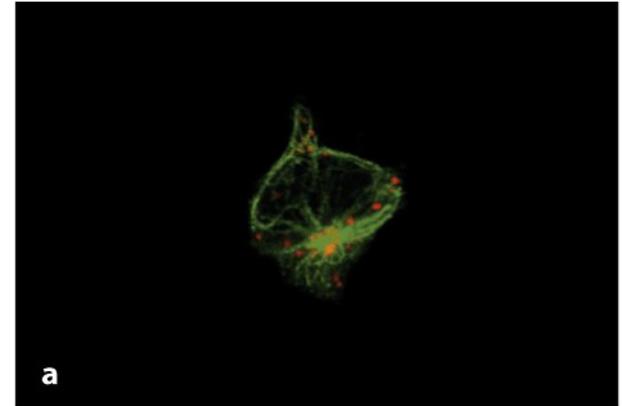
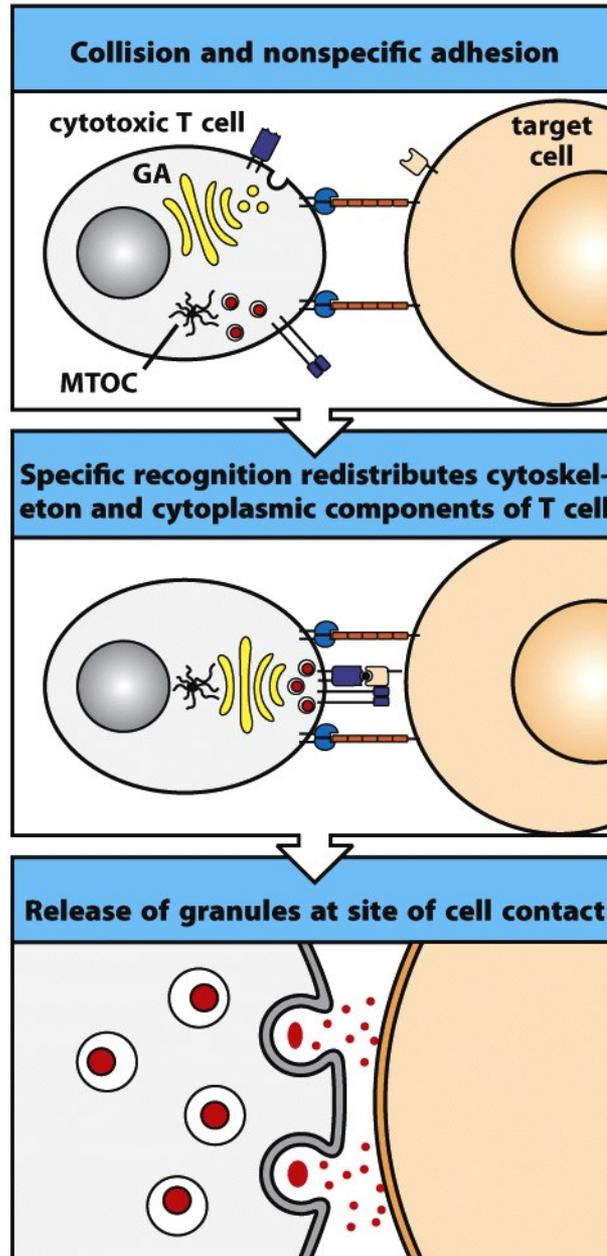
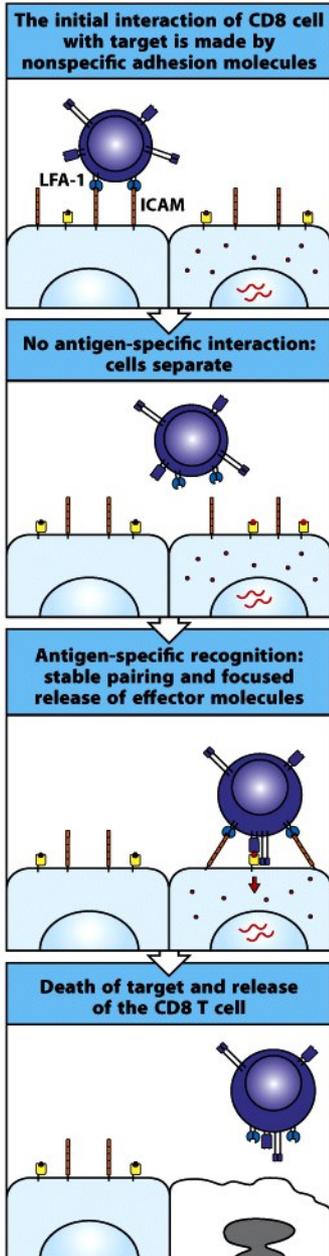
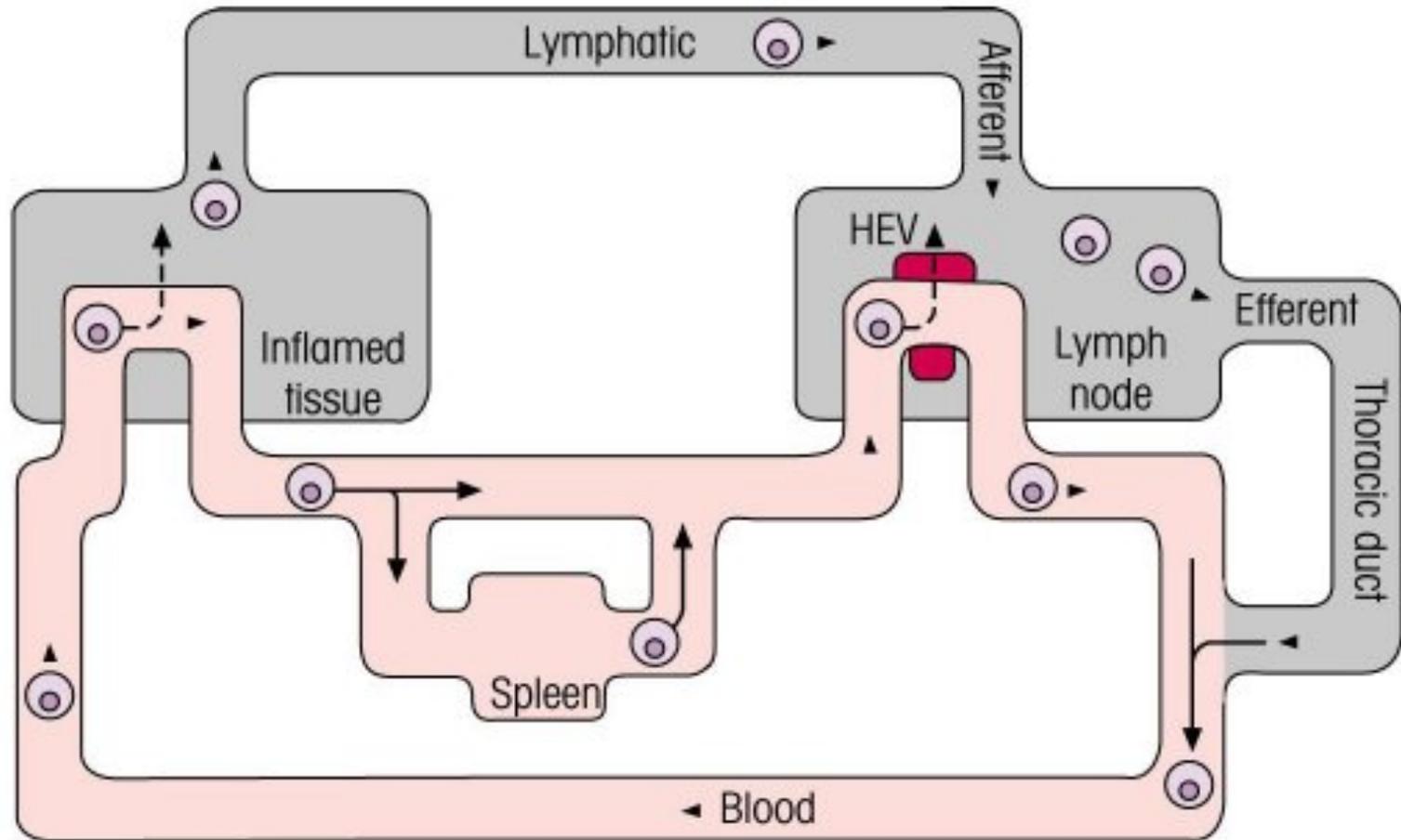


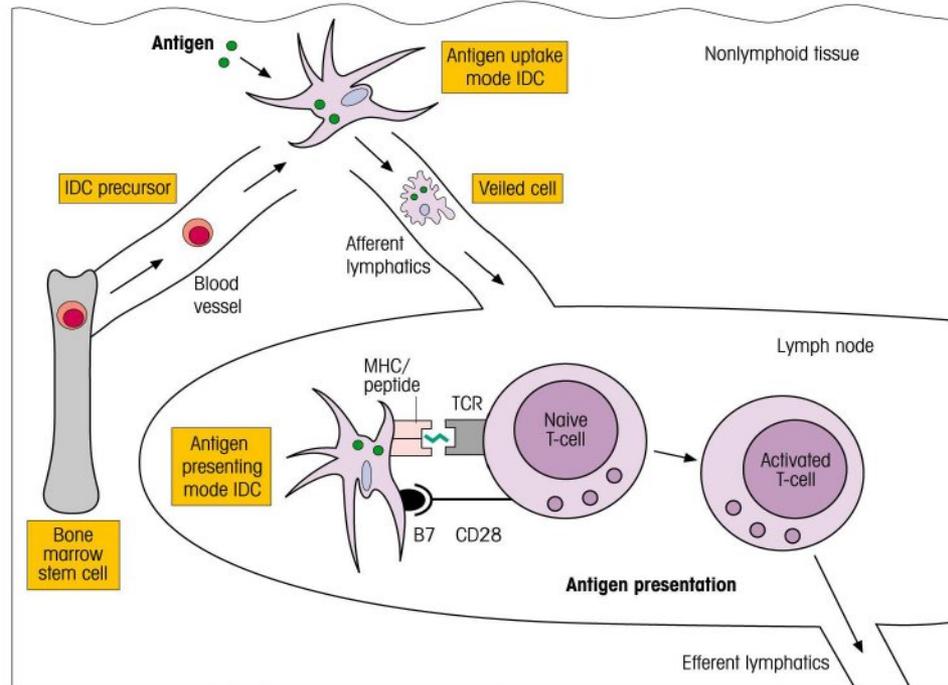
Figure 8-30 Immunobiology, 7ed. (© G Figure 8-32 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

Nach dem Verlassen des Thymus patrouillieren naive T-Zellen in Blut und Lymphe



Delves *et al.* *Roitt's Essential Immunology*, 12th ed.
© 2011 Delves *et al.* Published 2011 by Blackwell
Publishing Ltd.

Aktivierung naiver T-Zellen durch professionelle Antigenpräsentierende Zellen



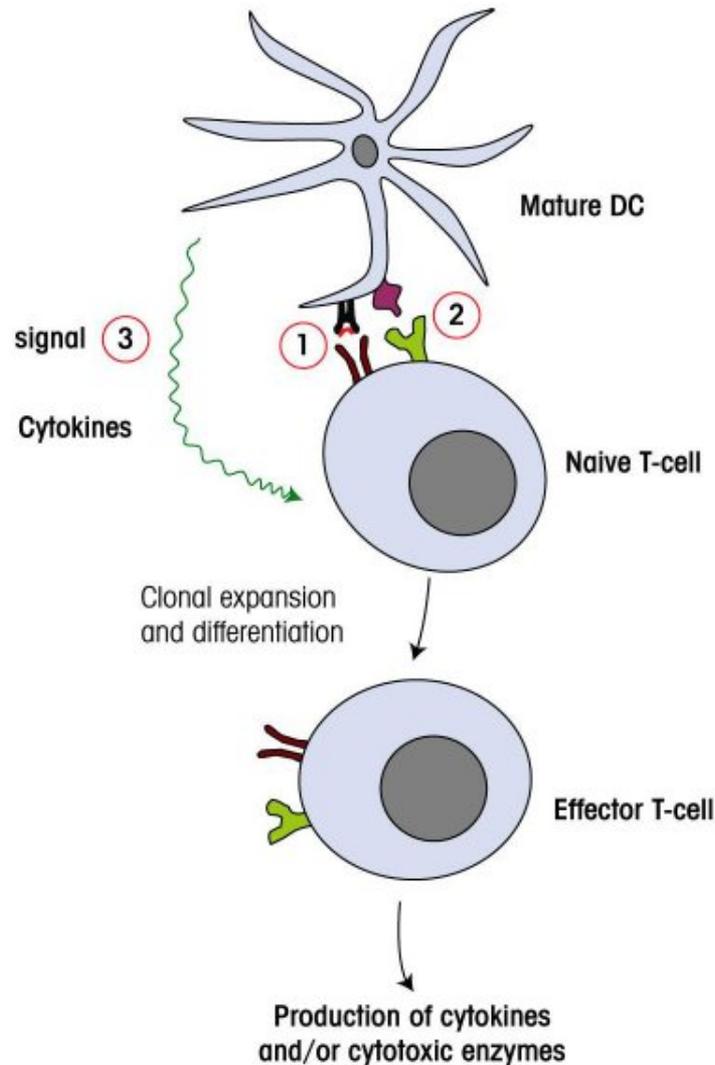
Delves et al. *Roitt's Essential Immunology*, 12th ed.
 © 2011 Delves et al. Published 2011 by Blackwell Publishing Ltd.

Figure 7.17. Migration of interdigitating dendritic cells (IDCs).

The precursors of the IDCs are derived from bone marrow stem cells. They travel via the blood to nonlymphoid tissues. At this stage in their life these IDCs, e.g. Langerhans' cells in skin, are specialized for antigen uptake. Subsequently they travel via the afferent lymphatics as veiled cells (cf. Figure 7.16a) to take up residence within secondary lymphoid tissues (cf. Figure 7.16b)

where they express high levels of MHC class II and co-stimulatory molecules such as B7 (CD80 and CD86). These cells are highly specialized for the activation of naive T-cells. The activated T-cell may carry out its function in the lymph node or, after imprinting with relevant homing molecules, recirculate to the appropriate tissue.

Die Antigenpräsentierende Zelle löst 3 verschiedene Signale in CD4⁺ T-Zellen aus:

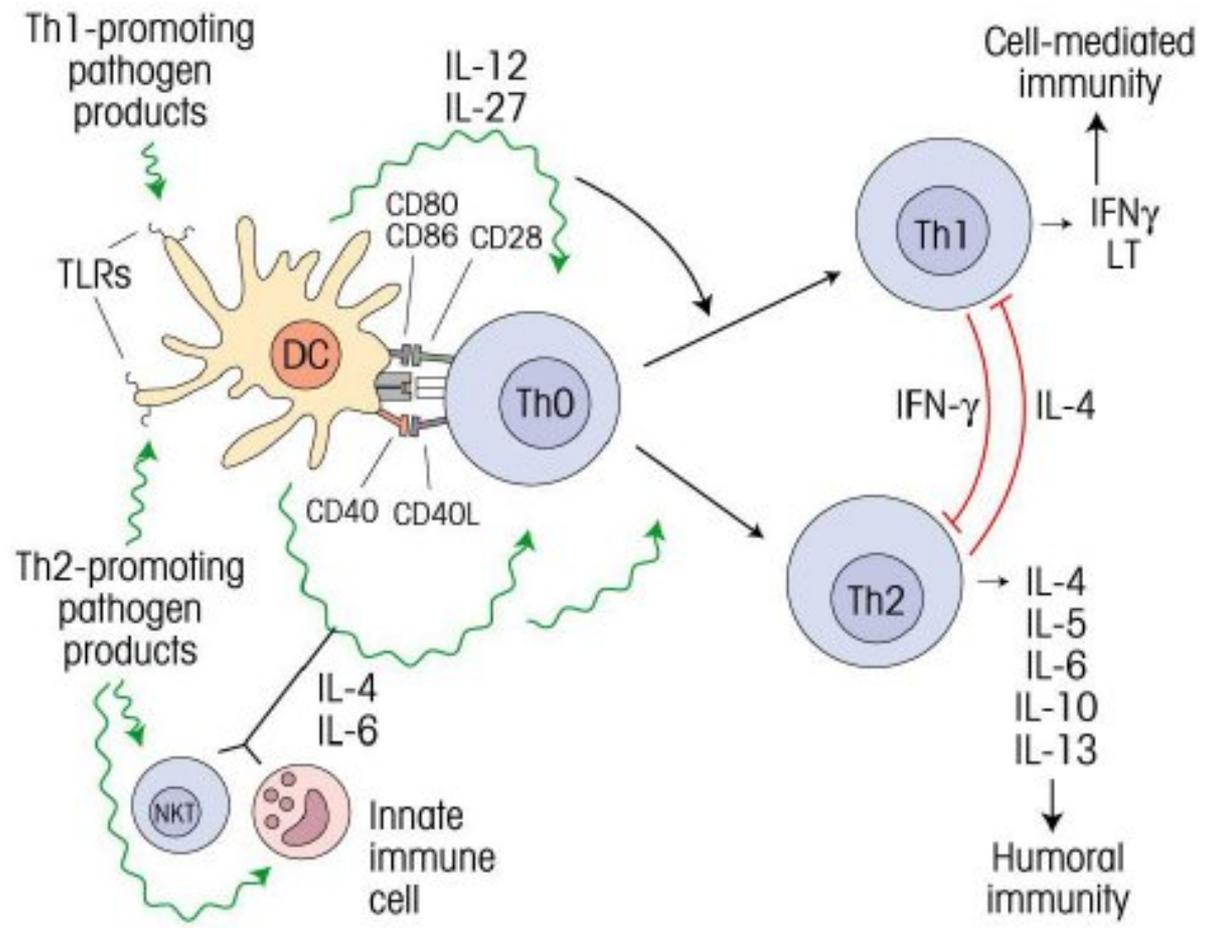


Signal 1: T-Zellrezeptor Signal
(durch Bindung von MHC II + Peptid)

Signal 2: Ko-Stimulation (Signalverstärkung)
(durch Bindung von CD80/CD86 an CD28)

Signal 3: Differenzierungssignal
(durch Cytokine)

Funktionelle Polarisierung der CD4⁺ T-Zellen in der Peripherie: Instruktion durch Cytokinmilieu



Delves et al. *Roitt's Essential Immunology*, 12th ed.
 © 2011 Delves et al. Published 2011 by Blackwell
 Publishing Ltd.

TABLE 12-4**Cytokine secretion and principal functions of mouse T_H1 and T_H2 subsets**

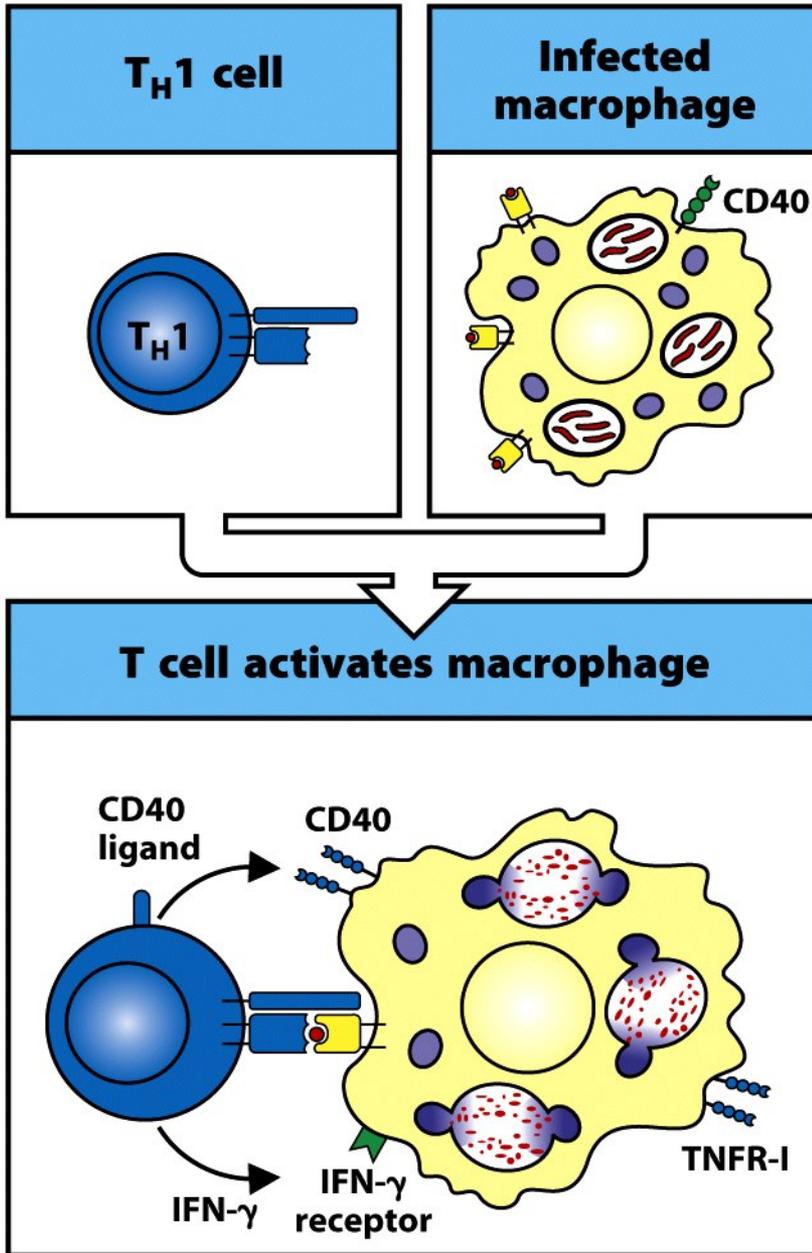
Cytokine/function	T_H1	T_H2
FUNCTIONS		
Help for total antibody production	+	++
Help for IgE production	-	++
Help for IgG2a production	++	+
Eosinophil and mast-cell production	-	++
Macrophage activation	++	-
Delayed-type hypersensitivity	++	-
T_C -cell activation	++	-

SOURCE: Adapted from F. Powrie and R. L. Coffman, 1993, *Immunol. Today* 14:270.

TABLE 12-4Cytokine secretion and principal functions of mouse T_H1 and T_H2 subsets

Cytokine/function	T _H 1	T _H 2
CYTOKINE SECRETION		
IL-2	+	-
→ IFN-γ	++	-
TNF-β	++	-
GM-CSF	++	+
IL-3	++	++
→ IL-4	-	++
IL-5	-	++
IL-10	-	++
IL-13	-	++

SOURCE: Adapted from F. Powrie and R. L. Coffman, 1993, *Immunol. Today* 14:270.



T_H1 Zellen:

**Aktivierung infizierter
Makrophagen**

Figure 8-41 Immunobiology, 7ed. (© Garland Science 2008)

TH1 immune responses

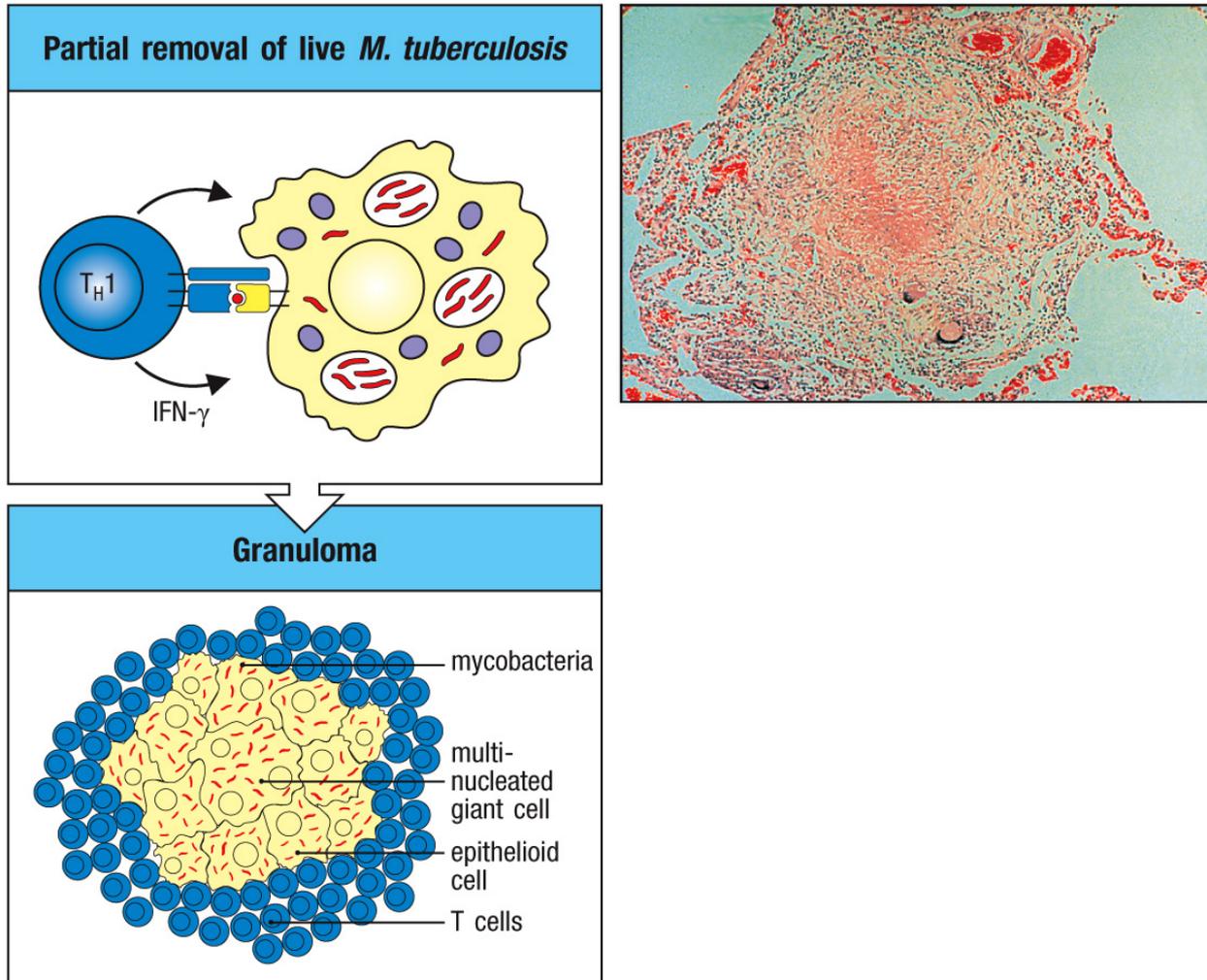


Figure 11.13 Janeway's Immunobiology, 9th ed. (© Garland Science 2017)

Cytokine der T_H2-Zelle induzieren den Klassenwechsel der Antikörper



Hyper-IgM-Syndrom:
 Stark vermindertes IgA/IgG
 Defekte in CD40L oder CD40
 Erhöhte Infektanfälligkeit

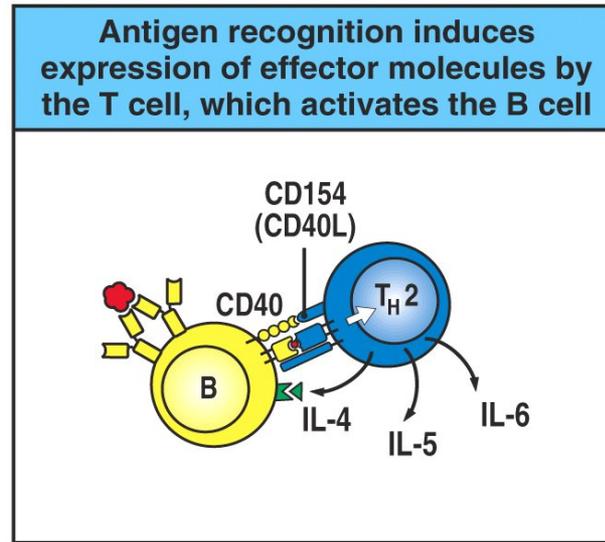


Figure 9-5 part 1 of 2 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

Role of cytokines in regulating Ig isotype expression

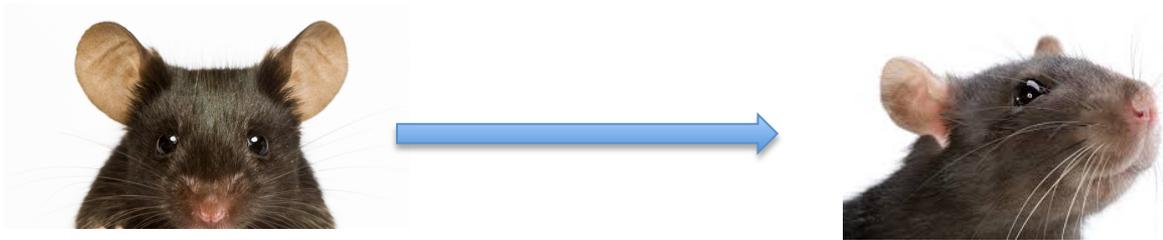
Cytokines	IgM	IgG3	IgG1	IgG2b	IgG2a	IgE	IgA
IL-4	Inhibits	Inhibits	Induces		Inhibits	Induces	
IL-5							Augments production
IFN- γ	Inhibits	Induces	Inhibits		Induces	Inhibits	
TGF- β	Inhibits	Inhibits		Induces			Induces

Figure 9-7 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

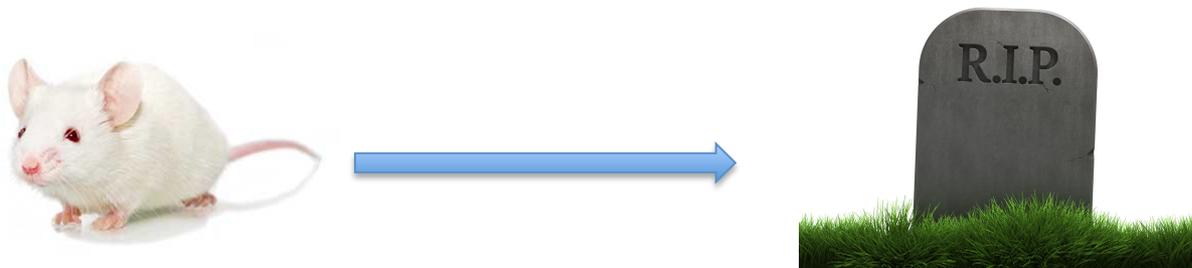
Das Th1/Th2 Gleichgewicht in der Leishmaniose

Leishmaniose in Mäusen (Richard Locksley)

- C57BL/6 Mäuse entwickeln eine Th1-vermittelte adaptive Immunantwort und klären die Infektion.



- BALB/c Mäuse entwickeln eine Th2-vermittelte adaptive Immunantwort und leiden unter Leishmaniose.



Induction of TH1 or TH2 cells determines pathogen-specific immunity

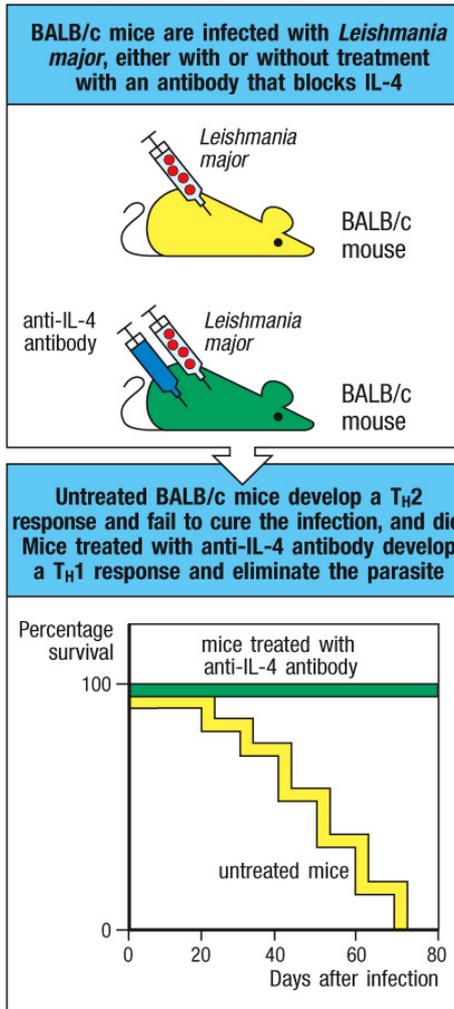


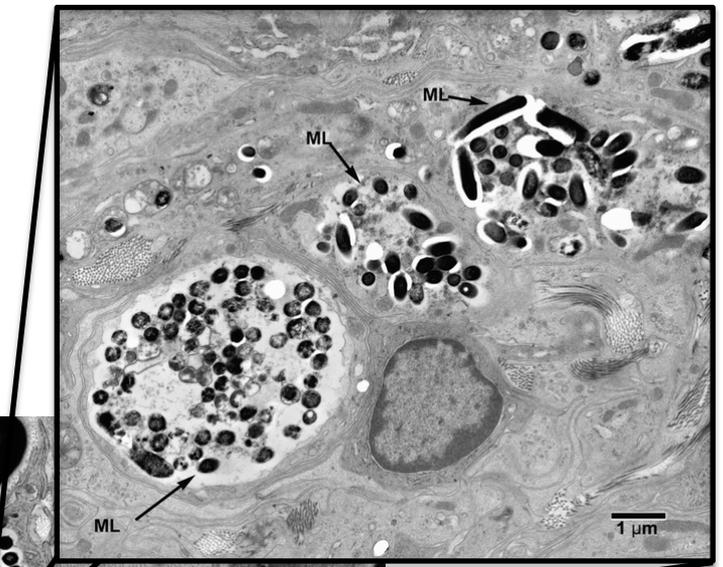
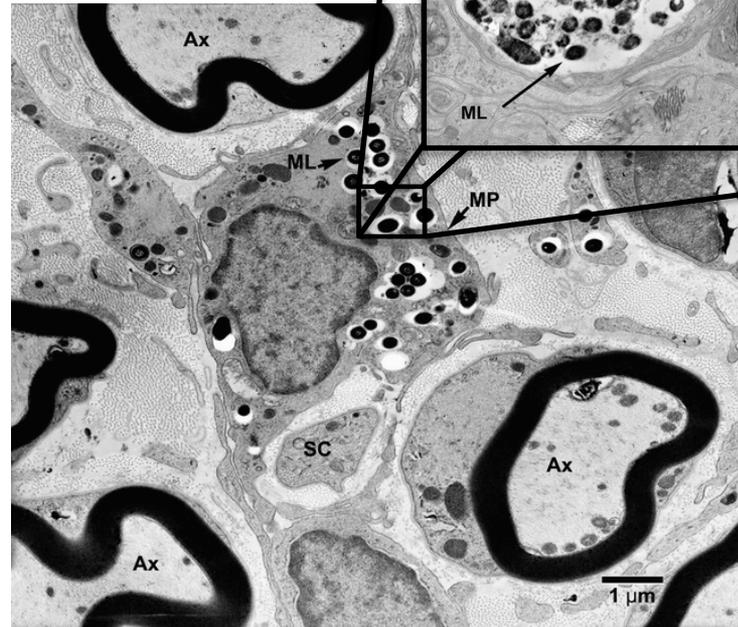
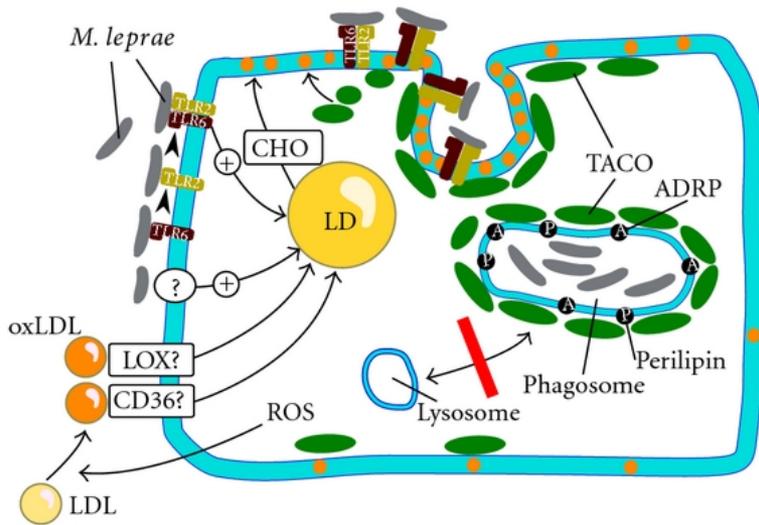
Figure 9.35 Janeway's Immunobiology, 9th ed. (© Garland Science 2017)



Klinische Relevanz von Th1 und Th2 Zellen:

**Tuberkuloide vs. Lepromatöse Lepra
(*Mycobakterium leprae*)**

M. Leprae ist ein intrazelluläres Bakterium das in Macrophagen persistiert.





Tuberkuloide Lepra:
Langsamer, oft gutartiger
Verlauf der Erkrankung.



©1999 Elsevier Science/Garland Publishing

Lepromatöse Lepra:
Schwerste Form der Erkrankung
durch unkontrollierte Vermehrung
von *M. leprae*.

Ein T Helferzell-Ungleichgewicht bestimmt den Verlauf der Erkrankung

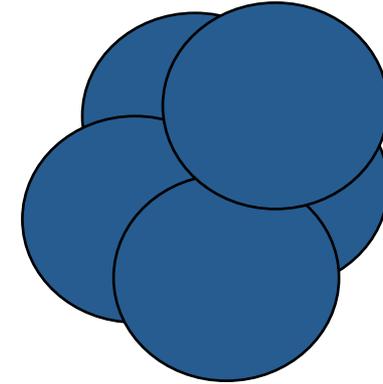
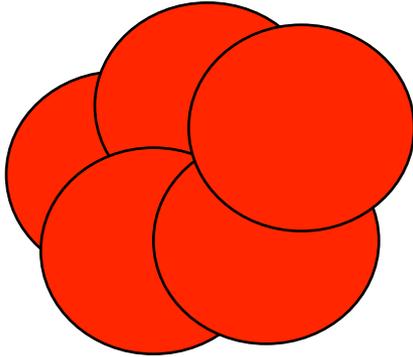
T _H 1 activity		T _H 2 activity	
Tuberculoid	Lepromatous	Tuberculoid	Lepromatous



RNA aus Hautläsionen von Lepra-Patienten

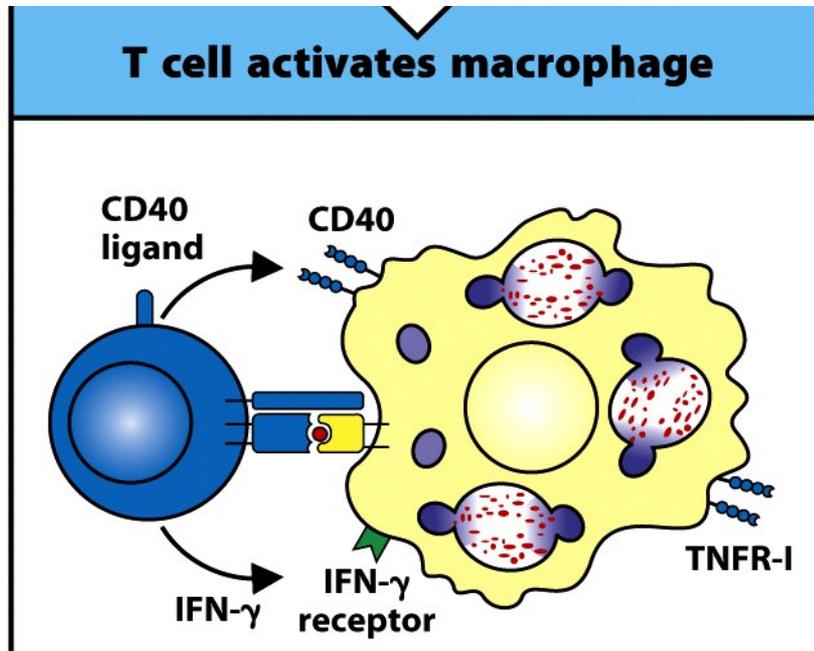
Die Aktivierung des infizierten Makrophagen durch Th1 Zellen führt zur Zerstörung des Bakteriums im Phago-Lysosom.

T_h1
IL-2, IFN- γ

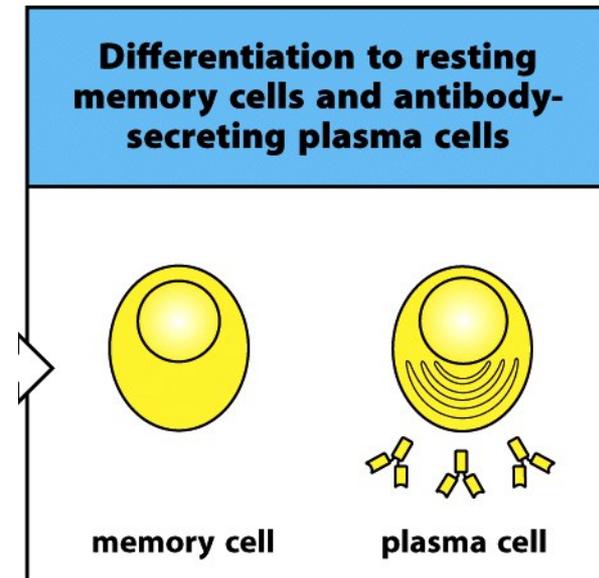


T_h2
IL-4, IL-10

Tuberkuloide Lepra



Lepromatöse Lepra



Das Th1/Th2 Gleichgewicht in der Leishmaniose

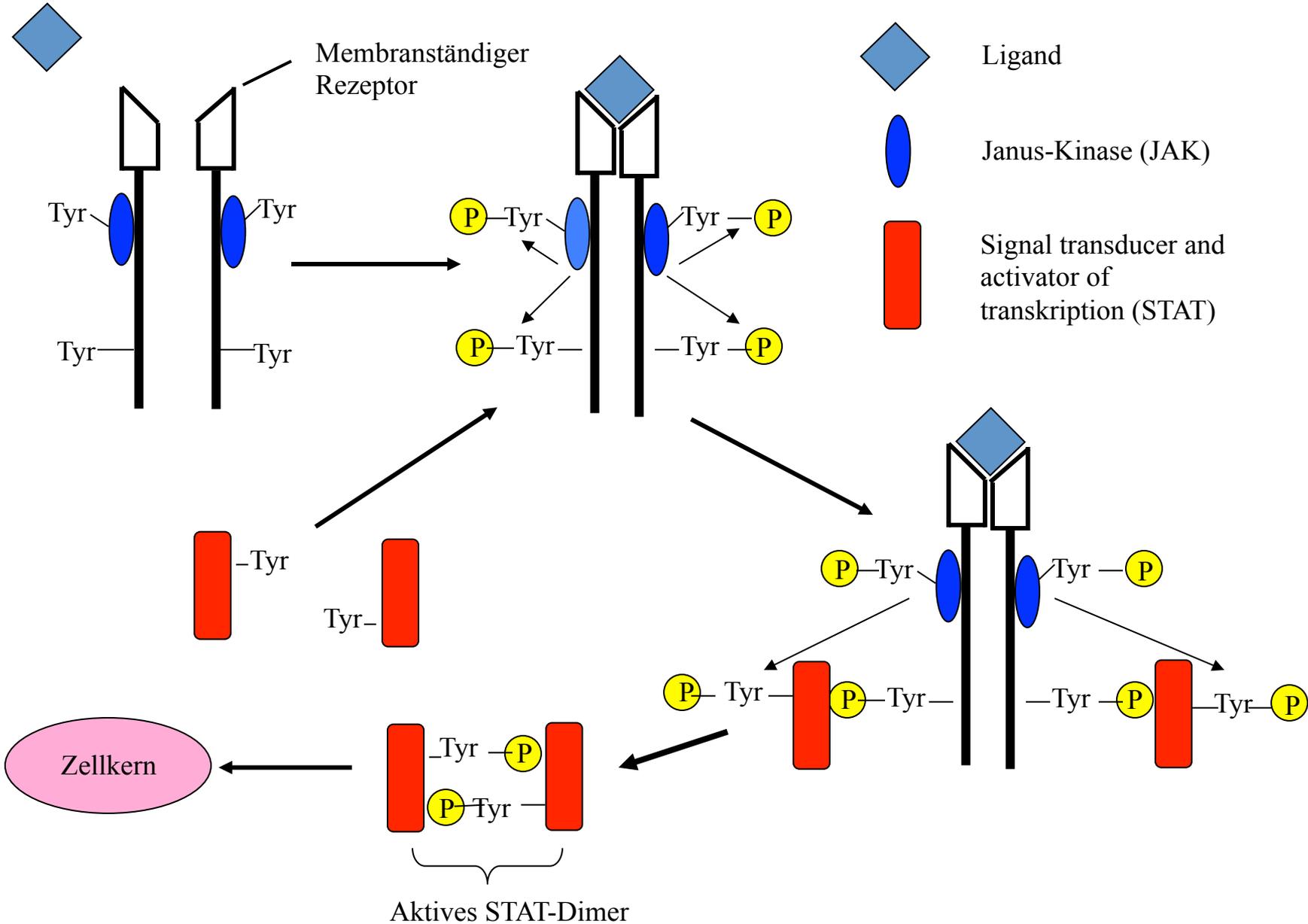
Leishmaniose in Mäusen (Richard Locksley)

- C57BL/6 Mäuse entwickeln eine Th1-vermittelte adaptive Immunantwort und klären die Infektion.
- BALB/c Mäuse entwickeln eine Th2-vermittelte adaptive Immunantwort und leiden unter Leishmaniose.

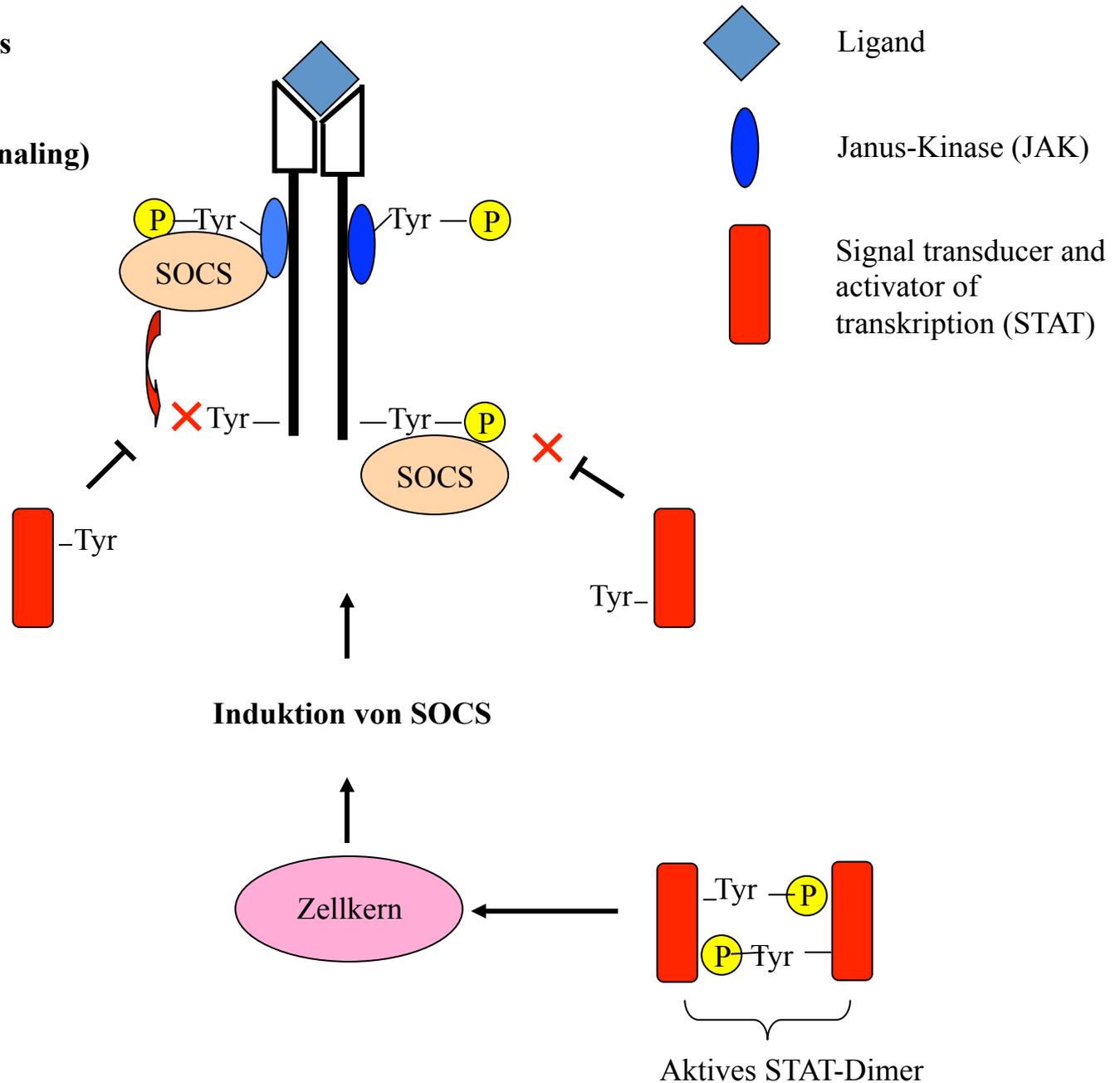
Lepra im Menschen (Robert Modlin)

- Tuberkuloide Form wird von Th1-Zellen vermittelt und führt zur Heilung.
- Lepromatöse Form wird von Th2-Zellen vermittelt und führt zur unkontrollierten Erkrankung.

Der JAK-STAT-Weg: Schalter der T-Zell-Differenzierung



**Negative Rückkoppelung des
JAK-STAT-Wegs durch
Induktion von SOCS
(Suppressors of cytokine signaling)**



Instruktives Modell der Th1-/Th2-Differenzierung: Entscheidung durch Cytokinmilieu

