

6. Zusammenfassung

Zur Aktivierung ruhender T-Zellen sind zwei Signale erforderlich: Eines wird antigen-abhängig über den T-Zellrezeptor (TZR) gegeben, ein zweites erfolgt über kostimulatorische Rezeptoren. Der wichtigste kostimulatorische Rezeptor ist CD28. Lange Zeit galt unumstritten die Zwei-Signal-Hypothese, nach der die Beteiligung zweier Rezeptoren zwei unterschiedliche Signale induziert, die gemeinsam Genexpression initiieren. Signalintegration erfolgt sowohl auf der Ebene der Signalkaskaden, besonders des JNK-Weges, als auch der Transkriptionsfaktoren im Kern. Nach neueren Befunden induziert Kostimulation mit CD28 Transportprozesse und Umorganisation des Zytoskeletts, wodurch Mikrodomänen mit Signalmolekülen in den Kontaktbereich von TZR und antigen-präsentierender Zelle (APZ) gebracht werden. Diese Akkumulation von Signalmolekülen verstärkt und verlängert TZR-Signale. Dabei ist unklar, ob sich der Beitrag von CD28 bzw. des Signals 2 zur Zellaktivierung auf die Unterstützung des TZR beschränkt oder ob eigene, vom TZR-Weg unterscheidbare Signale gegeben werden.

Die mitogene Aktivität einiger mAb spezifisch für CD28 der Ratte, die alle ruhenden primären Ratten-T-Zellen ohne TZR-Ligation zu Proliferation und IL-2-Produktion anregen können, scheint der Zwei-Signal-Hypothese zu widersprechen. In der vorliegenden Arbeit wurden die Signalwege nach dieser direkten CD28-Stimulation und nach Kostimulation analysiert und verglichen. Dies sollte Aufschluß darüber geben, ob CD28 spezifische, vom TZR-Weg unterscheidbare Signalwege aktivieren kann.

Proliferationsversuche zeigten, daß sowohl Kostimulation als auch direkte CD28-Stimulation für die Induktion von Proliferation von src-Kinasen und der MAPK ERK abhängig sind. Beide Stimulationsarten unterschieden sich in der Abhängigkeit von PI3-K, Proliferation durch Kostimulation war im Gegensatz zur direkten CD28-Stimulation insensitiv gegenüber der Inhibition von PI3-K.

Biochemische Analysen bestätigten die Wichtigkeit von src-Kinasen für die T-Zellstimulation, da die src-Kinase Ick sowohl nach Kostimulation als auch direkter CD28-Stimulation aktiviert wurde. Direkte CD28-Stimulation scheint sich aber nicht einfach in den TZR-Weg einzuschleichen: ZAP-70, ein zentrales Element des TZR-Signalweges, war nach Stimulation mit dem mitogenen CD28-spezifischen mAb nicht, LAT und SLP-76, zwei für den TZR wichtige Adapterproteine, waren kaum und erst zu späten Zeitpunkten phosphoryliert.

Zusätzlich löst direkte CD28-Stimulation nur schwache Phosphorylierung der ERK Kinase aus, einer MAPK, die hauptsächlich durch den TZR kontrolliert wird und damit unabhängig von Kostimulation ist. Die zwei als Signalintegratoren

beschriebenen MAPK JNK und p38 werden vergleichbar stark durch Kostimulation und direkte CD28-Stimulation aktiviert. Damit konnte zum ersten Mal gezeigt werden, daß CD28 direkt JNK ansprechen kann.

Sowohl die durch Kostimulation als auch die durch direkte CD28-Stimulation induzierte JNK-Aktivität ist von src-Kinasen und einem intakten Zytoskelett abhängig. Im Gegensatz dazu beeinflussen Hemmung von PI3-K oder PKC die JNK-Aktivität nach direkter CD28-Stimulation nicht oder kaum, während ihre Inhibition durch Kostimulation induzierte JNK-Aktivität reduziert.

Diese Ergebnisse deuten auf unterschiedliche Signalwege nach Kostimulation mit TZR-Beteiligung und direkter CD28-Stimulation hin und zeigen, daß direkte CD28-Stimulation nicht den TZR-Signalweg imitiert. CD28 scheint nur in mobilisierter Form, die auf ruhenden T-Zellen kaum verfügbar ist, zu mitogenen Signalen befähigt. Der genaue Mechanismus der Mobilisierung ist noch nicht geklärt, beruht aber vermutlich auf vom Zytoskelett abhängigen Veränderungen der molekularen Umgebung von CD28. Die direkte CD28-Stimulation steht damit nur in scheinbarem Widerspruch zur Zwei-Signal-Hypothese, da offenbar der mitogene CD28-spezifische Antikörper die CD28-Mobilisierung induziert, während unter physiologischen Bedingungen der TZR (Signal 1) diese Aufgabe übernimmt. In dem hypothetischen Zwei-Schritt-Modell der Kostimulation mobilisiert der TZR zunächst CD28, das dann in einem zweiten Schritt mitogene Signale liefert.

Daher unterstützt CD28 als kostimulatorisches Molekül nicht nur TZR-vermittelte Signaltransduktion, sondern fungiert auch als eigenständiges Signalmolekül, das spezifische mitogene Signale generiert. Diese Eigenschaft von CD28 könnte für die Art der induzierten Immunreaktion von Bedeutung sein, da das Verhältnis der Stärke von TZR- und CD28-Signal die funktionelle Differenzierung von T-Zellen in Th1- oder Th2-Zellen bestimmt.