

Zusammenfassung

Dynamik proximaler Signaltransduktionsereignisse nach TCR/CD8-vermittelter Induktion von Proliferation oder Apoptose in reifen CD8⁺ T-Zellen

Dipl.-Biol. Xiaoqian Wang

Die Stimulation des T-Zell-Rezeptors (TCR) kann zu verschiedenen funktionellen Ereignissen wie Aktivierung, Proliferation oder Apoptose der T-Zellen führen. Es ist jedoch bis jetzt nicht vollständig geklärt, wie die Spezifität dieses Signals erreicht wird, da verschiedene Signale gemeinsame intrazelluläre Signalkaskaden nutzen. Das Ziel dieser Arbeit ist herauszufinden, wie ein transgener TCR in peripheren T-Zellen zwischen verschiedenen Liganden unterscheidet, die zu unterschiedlichen funktionellen Antworten führen. Hierfür wurde ein experimentelles System etabliert, welches entweder Proliferation (durch Stimulation mit OT1-Streptameren) oder Apoptose (durch Stimulation mit monoklonalen Antikörpern gegen CD3 und CD8) in reifen OT1-TCR transgenen T-Zellen induziert. Die zellulären Ereignisse korrelieren mit verschiedenen Kinetiken bei der Aktivierung und Phosphorylierung von Schlüsselmolekülen, die sich auf der Ebene von LAT / PLC γ 1 zu trennen scheinen. Die initialen Signale, die zur Apoptose führen, induzieren eine starke, aber transiente Aktivierung von PLC γ 1, PKD1 und ERK1/2. Die Phosphorylierung von ERK1/2 wurde vor allem an der Plasmamembran beobachtet. Diese vorübergehende Aktivierung ist teilweise durch eine „aktivierungsinduzierte Degradation“ der ζ -Kette, Lck und ZAP-70 zu erklären. Weiterhin führte die Inhibierung der Degradation der ζ -Kette durch NH₄Cl nach Antikörperstimulation zu einer konstanten

Phosphorylierung von ERK1/2 und zur T-Zell-Aktivierung anstatt zu Apoptose. Im Gegensatz hierzu erzeugten Stimuli, die die Proliferation der Zellen bewirken, eine schwache und andauernde Aktivierung von PLC γ 1, PKD1 und ERK1/2. Phosphorylierte ERK1/2 transloziert von der Plasmamembran zu den Endosomen, in denen auch der TCR, PLC γ 1 und Ras akkumulieren. Diese Endosomen könnten als zweite Plattform für die andauernde Signalaktivierung dienen. Außerdem induzierten OT1-Streptamere die Expression des anti-apoptotischen Moleküls Bcl-xL und den Abbau des pro-apoptotischen Moleküls Bim, was die Apoptose der T-Zellen verhindert. Zusammenfassend zeigen diese Daten die Kopplung von Signalwegen, die zur Proliferation und Apoptose in T-Zellen führen.

Summary

Dynamics of proximal signaling events after TCR/CD8-mediated induction of proliferation or apoptosis in mature CD8⁺ T cells

Dipl.-Biol. Xiaoqian Wang

Engagement of the same TCR can result in different functional outcomes such as activation, proliferation, survival, or apoptosis. However, it is not yet completely understood how signal specificity is achieved when different signals are relayed by the common intracellular signal transduction pathways. The aim of this project is to elucidate how a single-specificity TCR in peripheral T cells distinguishes between ligands which trigger distinct biological responses. Thus, an experimental system was established in which either proliferation (by treatment with OT1-streptamers) or apoptosis (by treatment with anti-CD3/CD8 mAbs) can be induced in mature OT1 TCR transgenic T cells. The cellular outcomes correlate with distinct activation/phosphorylation kinetics of key molecules involved in T cell activation, which appeared to bifurcate at the level of LAT / PLC γ 1. The input signals leading to apoptosis induced a strong, but transient activation of PLC γ 1, PKD1 and ERK1/2. Among these molecules, ERK1/2 phosphorylation occurs mainly at the plasma membrane and its transient nature of activation is partially due to the “activation-induced degradation” of ζ chain, Lck, and ZAP-70. In support of this observation, the inhibition of ζ chain degradation (by NH₄Cl) led to sustained ERK1/2 phosphorylation and T cell activation instead of apoptosis upon antibody stimulation. In contrast, stimuli promoting proliferation generate a low and sustained activation of PLC γ 1, PKD1 and ERK1/2. Phosphorylated ERK1/2 shuttles from the plasma membrane to the endosomes, which are also positive for the TCR, PLC γ 1, and Ras. These endosomes may serve as the second platform for sustained signal activation. Moreover, OT1-streptamers induce the expression of the anti-apoptotic molecule Bcl-xL and the degradation of the pro-apoptotic molecule Bim, which are required to prevent T cell apoptosis. Collectively, these data provide signaling signatures that are associated with proliferation or apoptosis of T cells.