

Ying Xiong

Dr. sc. hum

Cofilin redox regulation and its impact on T cell mediated immunity

Institut für Immunologie

Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. Yvonne Samstag

Die dynamische Umlagerung des Aktinzytoskeletts durch das Protein Cofilin ist essentiell für die Migration und Aktivierung von T-Zellen. Cofilin reagiert sensitiv auf Veränderungen des Redoxmikromilieus. Die Oxidation von Cofilin an dessen Cysteinresten führt zum Verlust der Funktion, Aktin zu depolymerisieren und verursacht die Translokation des Proteins in Mitochondrien. In T-Zellen ruft das Hyporesponsivität oder sogar programmierten Zelltod hervor. Die Expression einer nicht-oxidierbaren Form von Cofilin könnte dessen Aktivität in oxidativer Umgebung erhöhen und somit die stressinduzierte Hyporesponsivität von T-Zellen mindern. Aus diesem Grund wurden Cofilin-Mutanten generiert, in denen Cystein gegen nicht-oxidierbares Alanin ausgetauscht ist, sodass Cofilin in seiner reduzierten Form nachgeahmt wird. Mithilfe dieser Mutanten wurden die Auswirkungen der Redoxregulation von Cofilin auf die T-Zell-vermittelte Immunantwort *in vitro* und *in vivo* untersucht.

Nicht-oxidierbare Cystein-zu-Alanin Cofilin Mutanten wurden in T-Zellen aus humanem peripherem Blut exprimiert. C139/C147A Cofilin exprimierende Zellen zeigten eine deutliche Widerstandsfähigkeit gegenüber oxidativem Stress: Die Aktin-depolymerisierende Funktion von Cofilin blieb erhalten und die Zellen zeigten eine gesteigerte Migrationsfähigkeit im Vergleich zu Wildtyp Cofilin exprimierenden Zellen. Trotzdem konnten die Expression von C139/C147A Cofilin die

T-Zell-Adhäsion an Antigen-präsentierende Zellen und T-Zell-Aktivierung in Gegenwart von H₂O₂ nicht wiederherstellen.

Um die Bedeutung der Cysteinreste von Cofilin hinsichtlich Redoxmodifikationen und deren Auswirkungen auf die T-Zell-Entwicklung *in vivo* zu untersuchen, wurden mithilfe des Cre/LoxP-Systems Knock-in Mäuse generiert, die in T-Zellen C39A oder C139/147A Cofilin anstatt endogenem Cofilin exprimierten. Eine detaillierte Analyse von Thymus und peripheren lymphatischen Organen wies keine immunphänotypische Veränderung heterozygoter und homozygoter Kontrollmäuse als auch heterozygoter Knock-in Mäuse verglichen mit B6 Mäusen auf. Demgegenüber zeigten sowohl homozygote C39A als auch C139/C147A Knock-in Mäuse eine ähnlich starke Reduktion der peripheren T-Zell-Population. Die Hälfte der übrigen peripheren T-Zellen war doppelt negativ für CD4 und CD8. Während die Anzahl an $\gamma\delta$ T-Zellen vergleichbar zu Kontrollmäusen war, war die Population der $\alpha\beta$ T-Zellen stark vermindert. Darüber hinaus zeigten die homozygoten Knock-in Mäuse eine ausgeprägte Thymusatrophie. Die Zahl der Thymozyten war um mehr als 99 % reduziert, wobei die wenigen übrigen Zellen in der DN3 Phase akkumulierten und eine verringerte Expression von TCR β auf der Zelloberfläche zeigten. Das in den Thymozyten exprimierte mutante Cofilin war nicht funktional hinsichtlich der Umlagerung von filamentösem Aktin, was zu einer Akkumulation von filamentösen Aktin in diesen Zellen führte.

Zusammenfassend zeigte meine Arbeit, dass die Expression von C139/147A Cofilin die Fähigkeit humaner T-Zellen zur Migration in einer prooxidativen Umgebung aufrecht erhält. Mäuse mit einem T-Zell-spezifischem Knock-in von C39A oder C139/147A Cofilin wiesen eine gestörte Entwicklung von $\alpha\beta$ -T-Zellen im Thymus auf, was zu einer Immundefizienz führte. Diese Ergebnisse unterstreichen, dass eine einwandfreie Funktion von Cofilin für die Entwicklung und Funktion von T-Zellen unerlässlich ist.