

Luxia Chen

Dr.med.

CD73, more than an ectonucleotidase: Analysis of the phenotype and functions of CD73⁺ T cells in mice

Dermatologie

Doktorvater: Prof. Dr. rer.nat. Karsten Mahnke

CD73 ist ein Enzym (Ectonucleotidase), das Adenosinmonophosphat zu Adenosin diphosphoryliert. Dieses freigesetzte Adenosin hat weitestgehend immunsuppressive Eigenschaften, die über Adenosin A2 Rezeptoren auf Immunzellen ausgeübt werden. CD73 ist daher z.B. auf suppressiven regulatorischen T Zellen exprimiert und deren Adenosin-vermittelte Immunsuppression ist gut untersucht. Allerdings gibt es auch Berichte, denen zufolge CD73 eine wichtige Rolle bei der Zelladhäsion hat und T Zell-kostimulatorische Eigenschaften besitzt.

Die Funktion von CD73, über die Rolle als Ectonucleotidase hinaus, ist also noch nicht erforscht und bildet die Hypothese für diese Dissertation. Sie hat sich zum Ziel gesetzt, die Funktionen von CD73 bei der T Zell Aktivierung und Differenzierung zu analysieren.

In dieser Arbeit wurde festgestellt, dass gegen CD73 gerichtete Antikörper in der Lage sind, die Proliferation von T Zellen *in vitro* zu reduzieren, indem sie in die Signaltransduktionskaskade der T Zell Aktivierung eingreifen. Gleichzeitig konnte eine Reduktion der Oberflächenexpression von CD73 beobachtet werden. Diese Reduktion war jedoch unabhängig von Phospholipase C and Metalloproteinase 9, zwei Kandidatenmolekülen, die in der Literatur als mögliche Induktoren des CD73 „sheddings“ genannt wurden. Damit bleibt der verantwortliche Mechanismus der CD73 Herunterregulation ungeklärt.

In der Maus ist die Expression von CD73 in CD4⁺ T Zellen klar in zwei Subpopulationen unterteilt, sodass ca. 50 % der CD4⁺ Zellen CD73 exprimieren, hingegen die anderen 50% der CD4⁺ T Zellen CD73 negativ sind. Deshalb wurden zur weiteren Charakterisierung dieser beiden Subpopulationen CD73⁺ and CD73⁻ CD4⁺ T Zellen aus naiven Mäusen mittels FACS sortiert und funktional und phänotypisch charakterisiert. Die Ergebnisse zeigen, dass CD73⁺ T Zellen nach *ex vivo* Stimulation mit CD3/CD28 Antikörpern besser proliferieren und deutlich mehr Zytokine, wie IFN- γ und TNF- α , produzieren.

Wird des Weiteren die Aufteilung von CD73⁺ und CD73⁻ Subpopulationen in naive, gewebeständige- (Trm) und Effektor Gedächtniszellen (Tem) vorgenommen, ließ sich ein deutlich höherer Anteil von Trm (10%) und Tem Zellen (20%) in CD73⁺ T Zellen, gegenüber CD73⁻ T Zellen (<2%) nachweisen. Im Gegenzug dazu waren in der CD73⁻ CD4⁺ Zellpopulation die Zellen mehrheitlich (90%) naiv (CD62L⁺CD44⁻).

Wurde nun die Genexpression in isolierten, naiven (CD62⁺ CD44⁻, CD25⁻) CD73⁺ vs. CD73⁻ CD4⁺ T Zellen mittels qRT-PCR analysiert, ergab sich ein ähnliches Bild. Hier exprimierten CD73⁺ T Zelle verstärkt Gene, die sowohl für die Differenzierung in Th1 Zellen, als auch für die Retention im Gewebe („Tissue memory“ Phänotyp) notwendig sind. Diese Daten wurden durch Zytokin Expressionsmuster Analysen ergänzt, die zeigen, dass CD73⁺ Zellen mehr IL1-β und IFN-γ produzieren und eine höhere Überlebensrate nach Stimulation in vitro haben.

Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse, dass CD73 ein geeigneter Marker sein könnte, um innerhalb von naiven CD4⁺ T Zellen bereits „vordifferenzierte“ Th1 Effektor Zellen zu identifizieren, die durch ihre Langlebigkeit und gewebe-spezifisches „homing“ zur Entstehung von „Gedächtniszellen“ beitragen könnten.

CD73 spezifische Antikörper, oder CD73 blockierende Agenzien, werden bereits als Check-Point Inhibitoren eingesetzt, da die Funktion von CD73 bisher isoliert als suppressives, Adenosin-produzierendes Enzym betrachtet wurde. Die hier gezeigten Ergebnisse legen jedoch den Schluss nahe, dass CD73 weitere Funktion als nur die Produktion von Adenosin besitzt. CD73⁺ T Zellen scheinen eine Vordifferenzierung in Richtung Effektor- Gedächtniszellen zu besitzen und eine ziellose Blockade von CD73 durch Antikörper könnte für die Etablierung einer stabilen (Tumor-) Immunität auch adverse Effekte haben. Die hier begonnenen Untersuchungen müssen weitergeführt werden, um die diversen Rollen von CD73 bei der Regulation von Immunantworten genau zu analysieren.