

Transmembrane Signalübertragung bei T-Lymphocyten durch ligandinduzierte Rezeptorkomplexbildung

Von Klaus Eichmann*

T-Lymphocyten (T-Zellen) leiten als der zentrale Zelltyp jede Art von Immunantwort ein. Sie können im Organismus Zellen erkennen, in die belebte oder unbelebte fremde Materie eingedrungen ist. In solchen Zellen werden fremde Peptide, die durch intrazellulären Abbau entstanden sind, mit Molekülen des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC-Molekülen) komplexiert, die speziell für die Bindung von Peptiden konzipiert sind. Peptidbeladene MHC-Moleküle werden dann auf der Zelloberfläche präsentiert und stimulieren damit das Immunsystem. Der molekulare Komplex, den T-Zellen für die Erkennung von peptidbeladenen MHC-Molekülen nutzen, gehört zu den höchstentwickelten und vielseitigsten Rezeptorsystemen, die man in der Biologie kennt. Er besteht aus spezifischen und unspezifischen transmembranen Komponenten, die sich durch die Ligandbindung zu einer funktionellen Signalübertragungseinheit zusammenlagern. Die korrekte Zusammenlagerung führt zur Aktivierung und Umverteilung von Enzymen, einschließlich membranassozierter Tyrosin-spezifischer Protein-Kinasen und -Phosphatasen. Die transmembrane Signalübermittlung in T-Zellen hängt von der korrekten Komplexbildung und dem Zusammenwirken vieler molekularer Komponenten ab. Entsprechend können von diesem T-Zell-Rezeptorkomplex eine Vielzahl zellulärer Reaktionen von T-Zellen in unterschiedlichen Differenzierungsstadien ausgehen.

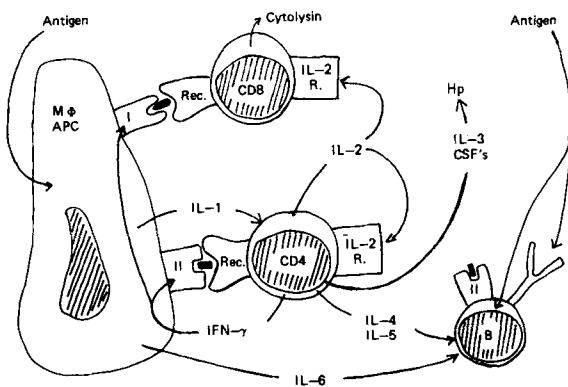
1. Einleitung

Eine der Hauptaufgaben des Immunsystems besteht darin, den Makroorganismus von Wirbeltieren vor unzähligen Mikroorganismen zu schützen. Zu diesem Zweck ist das Immunsystem in der Lage, eine Reihe von Effektorzellen und -molekülen zu erzeugen, die zur Eliminierung der meisten Eindringlinge geeignet sind. Bei den Effektorzystemen handelt es sich um Antikörper zur Neutralisation extrazellulärer infektiöser Agentien, um Zellen und Moleküle mit cytotischen Eigenschaften, mit denen insbesondere Tumorzellen oder Zellen, die infektiöse Agentien tragen, vernichtet werden, um molekulare Systeme zur Stimulation von Phagozyten, die mit antimikrobiellen Prinzipien arbeiten, z.B. der Erzeugung reaktiver Stickstoff- oder Sauerstoff-Intermediäte, usw. Die Mannigfaltigkeit der Effektorzysteme ist dabei als direkte Folge der Heterogenität infektiöser Agentien zu sehen. Trotzdem wird jede Immunantwort durch die gleichen grundlegenden Ereignisse, die in Schema 1 stark vereinfacht zusammengefaßt sind, eingeleitet: Ein Antigen begegnet, nachdem es in den Körper eingedrungen ist, zunächst Makrophagen, Zellen mit einer für das Antigen „klebrigen“ Oberfläche, die im Blutstrom und allen Gewebearten zu finden sind. Neben einigen anderen Zelltypen sind Makrophagen der Phagocytose und anschließender Zerstörung des internalisierten Materials auf phagolysosomalem Weg fähig. Für die meisten Mikroorganismen bedeutet dies bereits das Ende; sie werden in unspezifischer Weise eliminiert, ohne daß das Eingreifen der Komponenten des spezifischen Immunsystems nötig wäre. Allerdings sind eine Reihe infektiöser Agentien einschließlich Viren, Bakterien und Parasiten mehr oder weniger resistent gegenüber diesem Zerstörungsmechanismus. Trotzdem werden einige ihrer Antigene von Makrophagen prozessiert, d. h. Proteine werden zu Peptiden abgebaut, die dann mit den Produkten des Haupt-

histokompatibilitätskomplexes (MHC) komplexiert und auf der Zelloberfläche präsentiert werden^[1]. Zwei Typen von MHC-Molekülen sind für zwei Prozessierungswege verantwortlich: Proteine, die von phagocytierten extrazellulären Antigenen stammen, werden so prozessiert, daß die entstehenden Peptide zusammen mit Klasse-II-MHC-Molekülen präsentiert werden. Im Gegensatz dazu werden Peptide, die aus intrazellulär, z.B. von Viren, synthetisierten Proteinen entstanden sind, mit Klasse-I-MHC-Molekülen präsentiert^[1]. Die zusammen mit MHC-Molekülen präsentierten Peptide werden von T-Lymphocyten erkannt, die infolge der beiden Prozessierungsstrategien und MHC-Molekültypen in zwei Untergruppen einzuordnen sind: CD4-T-Zellen und CD8-T-Zellen^[2]. CD4-Zellen haben ein Erkennungssystem für Klasse-II-MHC-gebundene Peptide und werden deshalb hauptsächlich von externen infektiösen Agentien aktiviert. Aktivierte CD4-Zellen produzieren Cytokine, die an der Verstärkung einer Entzündungsreaktion und der Aktivierung („Helperzellen“) von B-Lymphocyten beteiligt sind, die ihrerseits Antikörper produzieren. CD8-Zellen erkennen dagegen Peptide, die von Klasse-I-MHC-Molekülen präsentiert werden; demzufolge werden sie hauptsächlich von intrazellulären infektiösen Agentien aktiviert^[3]. Aufgrund ihrer cytotoxischen Eigenschaft („Killerzellen“) sind aktivierte CD8-Zellen in der Lage, infizierte Zellen zu zerstören.

Wie in Schema 1 gezeigt, ist die Antigen-induzierte Aktivierung der Lymphocyten ein in sich geschlossener Prozeß zellulären Zusammenspiels, der von direkten Zell-Zell-Wechselwirkungen sowie von Zell-Zell-Kommunikationen durch lösliche Mediatoren (Lymphokine) bestimmt wird. Zusätzlich zu CD8- und CD4-T-Zellen werden bei diesem Vorgang Makrophagen und B-Lymphocyten aktiviert. Die Hauptaufgabe aktiverter Makrophagen besteht darin, intrazelluläre Pathogene zu eliminieren, während aktivierte B-Zellen Antikörper sekretieren. Der Versuch, die Gesamtheit aller bekannten zellulären und molekularen Phänomene, die eine Immunantwort charakterisieren, zu erläutern, kann

[*] Prof. Dr. K. Eichmann
Max-Planck-Institut für Immunbiologie
Postfach 1169, W-7800 Freiburg



Schema 1. Stark vereinfachte, schematische Darstellung der Zelltypen, Rezeptormoleküle, löslichen Mediatoren und Reaktionspfade bei einer spezifischen Immunantwort. Abkürzungen: MΦ = Makrophage, APC = antigenpräsentierende Zelle, I/II = Molekül der Klasse I bzw. II des Haupthistokompatibilitätskomplexes, CD8/CD4 = zur CD8- bzw. CD4-Untergruppe gehörende T-Zellen, Rec. = MHC/Antigen-spezifischer T-Zell-Rezeptor, IFN- γ = Interferon γ , IL = Interleukin, IL-2R = Interleukin-2-Rezeptor, CSF = Kolonie-stimulierender Faktor, B = B-Lymphocyt, Hp = Hämatoopoese. Dieser Aufsatz konzentriert sich auf die Ereignisse bei der molekularen Erkennung zwischen CD4- und CD8-T-Zellen einerseits und Makrophagen andererseits.

nicht Gegenstand dieses Aufsatzes sein^[*]. Vielmehr möchte ich mich darauf beschränken, den multimolekularen Membrankomplex, der die Erkennung und Aktivierung von CD4- und CD8-T-Zellen vermittelt, zu beschreiben.

2. Die Ontogenese von T-Lymphocyten

Die Stammzellen aller hämatopoetischen (blutbildenden) Zellen von Wirbeltieren finden sich während der Embryonalentwicklung vorwiegend im Dottersack, im Fötalstadium hauptsächlich in der Leber und beim ausgewachsenen Tier im Knochenmark^[4]. Diese Stammzellen entwickeln sich zu determinierten hämatopoetischen Vorläuferzellen, die die T-Zellen, B-Zellen, Zellen der Makrophagen-Granulocyten-Klasse usw. erzeugen. Auf den T-Zelltyp festgelegte Vorläuferzellen verlassen ihr Ursprungsgewebe und wandern in den Thymus, ein epitheliales Organ, das sich aus dem 5. Kiemenbogen (Schlundtasche) entwickelt hat und der primäre Ort für die Bildung reifer T-Lymphocyten und die Selektion von T-Zell-Rezeptoren (TCRs) ist, die „Eigenes“ von „Fremdem“ unterscheiden^[5, 6]. Reife T-Lymphocyten ver-

[*] Anmerkung der Redaktion: Ein Gesamtbild und weitere Grundlagen vermitteln gute Lehrbücher der Immunologie oder Biochemie, z.B.: J. Klein, *Immunologie*, VCH, Weinheim, 1991; D. Voet, J. G. Voet, *Biochemie*, VCH, Weinheim, 1992.

lassen den Thymus und verteilen sich in den peripheren lymphoiden Organen als „naive“, ruhende periphere T-Zellen. Die Reifung der T-Lymphocyten beginnt beim Föten, verstärkt sich in der Adoleszenz und setzt sich im Leben des Erwachsenen fort, geht allerdings im Alter zurück. Reife naive T-Lymphocyten sterben normalerweise in der Peripherie innerhalb von Tagen bis Wochen ab, es sei denn, sie treffen auf antigenpräsentierende Zellen (APCs), die ein geeignetes Peptid mit ihren MHC-Molekülen präsentieren und sie aktivieren. Die Peptid-MHC-Einheit wird dabei vom spezifischen T-Zell-Erkennungssystem registriert. Eine aktivierte T-Zelle teilt sich mehrere Male und bildet einen Klon von Effektorzellen, die nach der Beseitigung des Antigens in den ruhenden Zustand zurückkehren und zu langlebigen Gedächtnis-T-Zellen werden, die alle dasselbe Erkennungssystem aufweisen. Gedächtnis-T-Zellen können von derselben MHC-Peptid-Kombination zu jedem beliebigen späteren Zeitpunkt wieder aktiviert werden, wobei eine neue Effektor- und Gedächtniszellen-Population mit der gleichen Spezifität entsteht^[7].

Ein T-Lymphocyt-Klon besteht also während seiner Lebenszeit aus T-Zellen mit demselben Erkennungssystem in ganz verschiedenen Differenzierungsstadien. Die Erkennung von MHC-Peptid-Komplexen führt auf jeder Differenzierungsstufe zu völlig verschiedenen zellulären Antworten. Im Thymus resultiert aus der MHC-Peptid-Erkennung (beides „selbst“) eine von zwei möglichen Antworten: Thymus-T-Zellen mit effizienter Erkennung (hohe Affinität?) werden aktiv eliminiert, um die Selbst-Toleranz sicherzustellen – ein Phänomen, das als negative Selektion bezeichnet wird. Im Gegensatz dazu werden bei der positiven Selektion andere T-Zellen im Thymus zur Reifung angeregt. Positive Selektion erfolgt auf einem bis heute wenig verstandenen Wege (geringe Affinität?) der Erkennung von MHC-Peptid-Molekülen^[5]. Positiv selektierte T-Zellen erscheinen in der Peripherie und ihre Rezeptoren erkennen Selbst-MHC-Moleküle mit Fremd-Peptiden, die während der T-Zell-Selektion im Thymus nicht präsent waren. Zellen, die weder positiv noch negativ selektiert wurden, d. h. solche, die Selbst-MHC-Moleküle nicht erkennen, sterben im Thymus ab. Die MHC-Peptid-Erkennung ist sodann Ursache für die Aktivierung naiver peripherer T-Zellen, um Klone funktionell kompetenter Effektorzellen zu bilden. Erneut benötigen aktivierte Effektorzellen ihr Erkennungssystem, um Effektormoleküle zu synthetisieren und auszuschütten. Gedächtniszellen werden von ihrem Erkennungssystem reaktiviert und differenzieren zu sekundären Effektor- und Gedächtniszellen. Zusammenfassend induziert das spezifische T-Zell-Er-



Klaus Eichmann wurde 1939 in Kassel geboren. 1959 bis 1965 studierte er Medizin an den Universitäten Marburg und München (Promotion 1966 in Marburg). Darauf folgte ein Forschungsaufenthalt von drei Jahren, zunächst als Research Associate, später als Assistant Professor, an der Rockefeller Universität New York im Department von Prof. Richard M. Krause. Nach seiner Rückkehr nach Deutschland war er zunächst Arbeitsgruppenleiter im Institut für Genetik der Universität Köln, dann Abteilungsleiter im Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg. Seit 1981 ist er Mitglied der Max-Planck-Gesellschaft und Direktor am Max-Planck-Institut für Immunbiologie in Freiburg. Seit Mitte der achtziger Jahre beschäftigt sich seine Arbeitsgruppe mit molekularen Prozessen an der T-Zell-Membran, die zur Signaltransduktion und Aktivierung führen.

kennungssystem eine Vielzahl verschiedener zellulärer Reaktionen – ein Phänomen, das einzigartig für T-Lymphocyten ist und eine detaillierte molekulare Analyse lohnend erscheinen läßt.

3. Moleküle, die an der T-Zell-Erkennung beteiligt sind

In diesem Aufsatz sollen Natur und Eigenschaften des Erkennungskomplexes auf T-Lymphocyten diskutiert werden, wobei besonderer Wert darauf gelegt wird, wie die beteiligten Komponenten miteinander wechselwirken und die Funktion des jeweiligen „Partners“ regulieren. Dies erfordert einige Kenntnisse über ihre Struktur, die hier nur kurz beschrieben wird; der interessierte Leser sei auf viele ausgezeichnete Übersichtsartikel zu diesem Themenkomplex verwiesen^[8 – 13]. Weiterhin ist es nicht möglich, die T-Zell-Erkennung zu verstehen, ohne kurz auf die physiologischen Liganden, die MHC-Peptid-Komplexe auf APCs, einzugehen. Auch zu diesem Thema gibt es ausführlichere Übersichtsartikel^[1, 8].

3.1. MHC-Moleküle und Peptidpräsentation

Der MHC ist in allen untersuchten Wirbeltierspezies ein hochkonservierter Genkomplex^[14]. Er besteht aus mehreren Typen von Genen, die mehr oder weniger mit Immunfunktionen korreliert sind. Für die folgende Diskussion ist es ausreichend, zwei Typen der MHC-Gene zu diskutieren, die Klasse-I- und die Klasse-II-Gene; beide kommen in mehreren ähnlichen funktionellen Kopien pro haploidem Genom vor (Haplotyp)^[15]. Sie zeichnen sich durch einen ungewöhnlich hohen Polymorphismus aus. Folglich repräsentiert jeder individuelle Haplotyp eine einzigartige Allelkombination, so daß keine zwei Phänotypen identisch sind. Diese Tatsache erklärt die meisten Probleme, die im Zusammenhang mit Gewebetransplantationen auftreten^[14, 15].

Proteine, die von Klasse-I- und -II-MHC-Genen codiert werden, gehören zur Superfamilie der Immunglobuline (Ig), denen als Strukturelement eine Ig-ähnliche Domäne aus ungefähr 110 Aminosäuren gemeinsam ist. Diese sind in zwei parallel angeordneten Schichten gefaltet, bestehend aus je einem antiparallelen drei- und viersträngigen β -Faltblatt, die meist über eine Disulfidbrücke verknüpft sind^[16]. Klasse-I-MHC-Proteine sind aus drei Tandemdomänen aufgebaut; die beiden Amino-terminalen (α_1 - und α_2 -) Domänen bilden atypischerweise α -helicale Regionen, die auf einem einzelnen β -Faltblatt aufliegen (Abb. 1). Die α -helicalen Bereiche der α_1 - und α_2 -Domänen sind parallel angeordnet, wobei sich zwischen ihnen eine Furche ausbildet, deren Boden die β -Faltblattstränge beider Domänen bilden. Die α_3 -Domäne ist typisch Ig-ähnlich und mit der Zelloberfläche über eine transmembrane Region verbunden, an die sich ein cytoplasmatischer Teil anschließt. Das Nicht-MHC-codierte β_2 -Mikroglobulin (β_2 M), das die Struktur einer einzelnen Ig-Domäne aufweist, ist nichtkovalent an die α_3 -Domäne assoziiert^[8]. Klasse-II-MHC-Proteine sind Heterodimere; jede Kette besteht aus einer N-terminalen atypischen Domäne (α_1 und β_1), gefolgt von einer typischen Ig-Domäne (α_2 und β_2) und transmembranen sowie cytoplasmatischen Berei-

chen. Die α_1 - und β_1 -Domänen bilden zusammen eine Struktur, die der oben beschriebenen Struktur der α_1 - und α_2 -Domänen des Klasse-I-MHC ähnelt (Abb. 1).

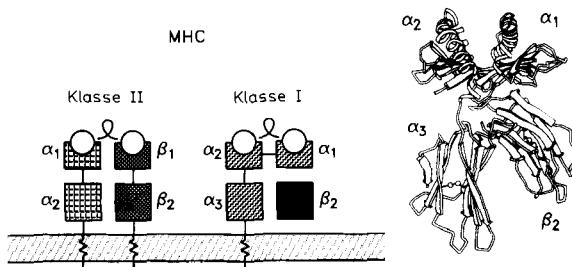


Abb. 1. Schematische Darstellung der Klasse-II- und Klasse-I-MHC-Moleküle und die dreidimensionale Struktur eines menschlichen Klasse-I-MHC-Moleküls im Kristall. Die typischen Ig-Domänen sind als Quadrate dargestellt. Die α -helicalen Bereiche der atypischen Domänen sind als leere Kreise gekennzeichnet. Die Position des Peptids in der Spalte zwischen den α -helicalen Regionen ist als Schleife angegeben; im Strukturbild rechts ist die Spalte zwischen den α -helicalen Bereichen leer. Die Struktur im Kristall zeigt keine transmembranen Bereiche, da das zur Kristallisation verwendete Protein durch enzymatische Spaltung des Klasse-I-MHC-Moleküls auf der Zelloberfläche mit Papain gewonnen wurde (vgl. [1, 8]).

In beiden MHC-Molekültypen fungieren die Furchen als Bindungstaschen für Peptide mit acht bis zehn Aminosäuren bei Klasse-I-MHC und etwas längeren Sequenzen bei Klasse-II-MHC^[17, 18]. Verschiedene Algorithmen wurden entwickelt, um die Peptidsequenz, die zu einer MHC-Furche komplementär ist, vorherzusagen; allerdings ist bis heute keines dieser Modelle besonders zuverlässig^[11]. Viele Daten weisen darauf hin, daß die MHC-Komplementarität von nicht mehr als einer oder zwei Aminosäurepositionen an einem oder beiden Peptidenden bestimmt wird, während der Rest der Sequenz stark variieren kann^{[17 – 20][*]}. Demnach kann ein MHC-Moleköl viele verschiedene Peptide binden und präsentieren. Es deutet nichts darauf hin, daß auf dieser Stufe irgendwelche Unterschiede zwischen körpereigenen und -fremden Peptiden gemacht werden. Aufgrund der Selektion im Thymus mobilisieren jedoch nur solche Peptide das T-Zellsystem, die aufgrund der Anwesenheit fremder Eindringlinge in einer antigenpräsentierenden Zelle gebildet werden.

3.2. Der T-Zell-Rezeptor

Der T-Zell-Rezeptor (TCR), auch $\alpha\beta$ -CD3-Komplex genannt, setzt sich aus sieben transmembranen Polypeptidketten zusammen (Abb. 2). Zwei davon, die α - und β -Ketten bilden ein Heterodimer, das eine ähnliche molekulare Diversität aufweist wie die Antikörpermoleküle; dies verleiht dem TCR sowie den diesen exprimierenden T-Zellen spezifische Erkennungseigenschaften^[21, 22]. Wie die antikörperproduzierenden B-Zellen lagern die T-Zellen die Gene für α - und β -Ketten, die in V- (variable), D- (diversifizierende), J- (verknüpfende) und C-Gensegmenten (konstante) organisiert sind, so um, daß eine sehr große Zahl verschiedener α - und β -Ketten entsteht. Eine T-Zelle exprimiert jedoch immer nur

[*] Anmerkung der Redaktion: Über neue Erkenntnisse aus Kristallstrukturanalysen von MHC-Peptid-Komplexen wurde jüngst berichtet: D. H. Fremont, M. Matsumura, E. A. Stura, P. A. Peterson, I. A. Wilson, *Science* **1992**, 257, 919; M. Matsumura, D. H. Fremont, P. A. Peterson, I. A. Wilson, *ibid.* **1992**, 257, 927; siehe auch M. Barinaga, *ibid.* **1992**, 257, 880.

ein einziges Paar (α , β) mit einer definierten Strukturkombination. Dieses Paar, resultierend aus den neugeordneten Rezeptogenen, wird auf alle Nachkommen einer T-Zelle übertragen, wodurch für alle Mitglieder eines T-Zell-Klons dieselbe Erkennungsspezifität determiniert wird. Die Genstruktur des T-Zell-Rezeptors und deren Reorganisation sind detailliert beschrieben^[8, 13]. Die α - und β -Ketten haben je zwei extrazelluläre Ig-Domänen, wobei die distalen Domänen die variablen Bereiche enthalten und die Kontaktregion für MHC-Peptid-Komplexe bilden, während die proximalen Domänen invariant sind. Die α - und β -Ketten sind über eine Disulfidbrücke verknüpft und in der Zellmembran über transmembrane Regionen mit sehr kurzen cytoplasmatischen Sequenzbereichen verankert. Bis heute gibt es keine Informationen über die dreidimensionale Struktur von TCR- $\alpha\beta$ -Heterodimeren.

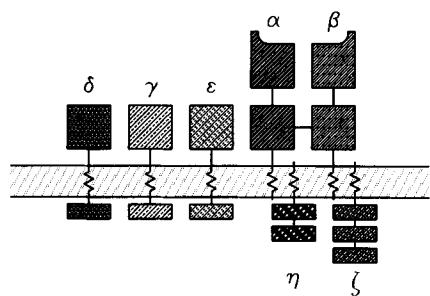


Abb. 2. Schematische Darstellung der Bestandteile des $\alpha\beta$ -CD3-T-Zell-Rezeptors. Die α - und β -Ketten bilden Disulfid-verbrückte Heterodimere. Die distalen Domänen beider Ketten enthalten die Bindungsregion für MHC-Peptid-Komplexe. Diese beiden Ketten sowie die γ , δ - und ϵ -Ketten gehören zur Superfamilie der Immunglobuline (Ig). η - und ζ -Ketten bestehen hauptsächlich aus cytoplasmatischen Bereichen. Ig-Domänen sind als schraffierte Quadrate, Domänen, die intrazelluläre Signalsequenzen enthalten, als Rechtecke gezeigt. Die ζ -Kette kommt als Homodimer oder als ein Heterodimer mit η vor. Die genaue Zusammensetzung des CD3-Komplexes ist nicht bekannt, ebenso existieren keine dreidimensionalen Strukturinformationen über irgendeine seiner Komponenten.

Die fünf zusätzlichen Polypeptide des CD3-Komplexes (γ , δ , ϵ , η , ζ) sind mit $\alpha\beta$ nichtkovalent verknüpft. Sie haben größere cytoplasmatische Bereiche, wobei man annimmt, daß sie eine Rolle bei der transmembranen Signalübertragung spielen. Während der extrazelluläre Bereich der η - und ζ -Untereinheiten aus nur neun Aminosäuren besteht, sind die großen intrazellulären Sequenzabschnitte aus charakteristischen Sequenzmotiven aufgebaut, die vermutlich für die Verknüpfung des CD3-Komplexes mit intrazellulären Protein-Tyrosin-Kinasen verantwortlich sind^[23–25]. Sie kommen als $\zeta\zeta$ -Homo- und $\zeta\eta$ -Heterodimere vor. Die η - und ζ -Untereinheiten sind untereinander und zur γ -Kette des hochaffinen IgE-Rezeptors (Fc ϵ RI) homolog^[26]; zusammen bilden sie eine neue Proteinfamilie von Signalvermittlern mit offensichtlich ähnlicher Funktion. Die γ -, δ - und ϵ -Untereinheiten besitzen extrazelluläre Ig-Domänen und werden als nichtkovalent assoziierte $\delta\epsilon$ - und $\gamma\epsilon$ -Paa-re exprimiert^[27–29]. Aufgrund ihrer Verwandtschaft mit der Ig-Superfamilie^[30] wird vermutet, daß diese Ketten an der Bindung des CD3-Komplexes an andere Oberflächenrezeptoren beteiligt sind (siehe unten). Ihre cytoplasmatischen Bereiche enthalten Sequenzmotive, die den für η - und ζ -Untereinheiten charakteristischen Motiven ähnlich sind, jedoch weniger Wiederholungen aufweisen^[31].

3.3. Die Corezeptoren CD4 und CD8

Diese Moleküle sind zunächst als *Marker* bekannt geworden, anhand derer die beiden Hauptklassen der T-Zellen, Helfer- und Killer-T-Zellen, unter Verwendung passender monoklonaler Antikörper unterschieden werden können^[2, 32, 33]. Die Moleküle gewannen mit der Entdeckung, daß ausnahmslos $\alpha\beta$ -TCR auf CD4-T-Zellen Klasse-II-MHC erkennen und CD8-T-Zellen $\alpha\beta$ -TCR mit Klasse-I-MHC-Erkennungsspezifität exprimieren^[2], an Interesse. Da es prinzipiell zwischen den $\alpha\beta$ -TCR der beiden Zelltypen keine Unterschiede gab, wurde sehr bald klar, daß CD4 und CD8 selbst als Rezeptoren bei der MHC-Erkennung eine Rolle spielen müssen.

Sowohl CD4 als auch CD8 gehören zur Superfamilie der Immunglobuline (Ig)^[11, 12, 34, 35]. CD4 besteht als monomeres transmembranes Polypeptid aus vier extrazellulären Ig-ähnlichen Domänen (Abb. 3). Ein Fragment, bestehend aus den beiden distalen Domänen, wurde kristallisiert; beide Domänen sind starr über einen durchgehenden Strang eines β -Faltblattes verknüpft^[36, 37]. CD8 besteht aus einem Disulfid-verbrückten Heterodimer von α - und β -Ketten, wovon jede eine einzelne Ig-ähnliche Domäne bildet, die über eine Gelenkregion (hinge-Region) mit ihrem transmembranen Bereich verbunden ist. Während noch keine Informationen über die dreidimensionale Struktur von CD8 existieren^[*], weisen Überlegungen zur Funktion darauf hin, daß sich die Ig-Domänen α und β von CD8 in der gleichen Entfernung von der Zelloberfläche befinden wie die äußerste, sogenannte distale Domäne von CD4. Die Gelenkregionen beider Domänen müssen deshalb eine sehr gestreckte, lineare Struktur haben. Die cytoplasmatischen Sequenzabschnitte von CD4 und der α -Kette von CD8 sind mit der cytoplasmatischen Protein-Tyrosin-Kinase p56^{lck} (lck) assoziiert^[38–40].

Werden CD4 oder die α -Kette von CD8 in COS-Zellen^[**] überexprimiert, so vermittelt CD4 die Adhäsion an Klasse-

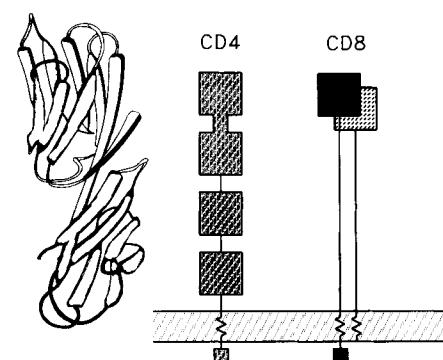


Abb. 3. Schematische Darstellung der Corezeptoren CD4 und CD8. Schraffierte Quadrate symbolisieren Ig-ähnliche Domänen. Links: Struktur eines Fragments im Kristall, das aus den beiden distalen Ig-Domänen von CD4 besteht (vgl. [36, 37]). Man erkennt einen zentralen β -Strang als starre Verbindung zwischen den beiden Domänen, was vermuten läßt, daß sie eine funktionelle Einheit bilden. Die beiden Ig-Domänen von CD8 (α und β) können alternativ zu der gezeigten Konstellation eine ähnliche Struktur wie die beiden distalen Domänen von CD4 einnehmen. Die cytoplasmatischen Teile von CD4 und der CD8- α -Kette enthalten eine Sequenz, die als Kontaktregion für p56^{lck} dient.

[*] Jüngst wurden die Ergebnisse einer Kristallstrukturanalyse eines CD8 α -Homodimers beschrieben: D. J. Kahy, R. Axel, W. A. Hendrickson, *Cell* 1992, 68, 1145.

[**] COS-Zellen: Bezeichnung für eine von der etablierten Affenieren-Zelllinie CV1 abgeleitete Zelllinie, die durch Behandlung der Zellen mit einer Mutante des Affenvirus SV40 entstanden ist.

II-MHC-tragende Zellen^[41], die CD8- α -Kette die Adhäsion an Klasse-I-MHC-exprimierende Zellen^[42, 43]. Durch Mutationsexperimente konnte die Bindungsregion von CD4 für Klasse-II-MHC weitgehend definiert werden; sie erstreckt sich über eine Seite der beiden distalen Ig-Domänen und überlappt mit der kleineren, begrenzten Region, die in die HIV-gp120-Bindung involviert ist^[44, 45]. Die Bindungsregion im Klasse-II-MHC für CD4 ist hingegen noch nicht identifiziert; man vermutet sie aber in nicht-polymorphen Bereichen, d. h. den α_2 - und/oder β_2 -Domänen.

Mutationsexperimente belegen, daß in CD8 die Bindungsregion für Klasse-I-MHC in der Ig-Domäne der α -Kette liegt^[46]. Die Bindungsregion für CD8 auf dem Klasse-I-MHC wurde durch Mutationsexperimente und Untersuchungen an natürlichen Varianten auf einen definierten Bereich in der α_3 -Domäne festgelegt, d. h. ebenfalls auf einen konservierten Teil des Moleküls^[43, 47-49].

3.4. Moleküle für die Tyrosin-Phosphorylierung

3.4.1. Tyrosin-Kinasen

Der T-Zell-Rezeptor scheint zwei Signalübertragungsmechanismen zu aktivieren^[50]. Der eine Reaktionspfad involviert die Phospholipase C γ 1 (PLC γ 1), die Phosphatidylinositol in Inositolphosphat und Diacylglycerin spaltet, was einerseits einen Anstieg des intrazellulären Ca^{2+} -Spiegels, andererseits die Aktivierung der Protein-Kinase C zur Folge hat. Dies führt bei vielen Komponenten, einschließlich der CD3- γ -Kette^[51], zur Phosphorylierung von Serin und einer schnellen Aktivierung sekundärer Botenstoffe, wie p21-ras und der c-raf-Kinase^[52, 53]. Es ist bisher ungeklärt, auf welche Art der CD3-Komplex an PLC γ 1 gekoppelt ist und mit welchen weiteren Botensystemen, die den Zellkern erreichen, er interagiert^[50]. Der zweite, vielleicht wichtigere Signalübertragungsweg scheint über die Phosphorylierung von Tyrosin in verschiedenen Substraten, einschließlich CD3 und PLC γ 1, zu verlaufen^[54-56]. Zwar zeigt keine der CD3-Untereinheiten intrinsische Protein-Tyrosin-Kinase (PTK)-Aktivität, doch können cytoplasmatische PTKs mit Komponenten von CD3 sowie mit CD4 und CD8 assoziieren: fyn^[50] und lck^[38-40] – beides Mitglieder der src-Familie. Über fyn ist kaum mehr bekannt, als daß es mit dem CD3-Komplex copräzipitiert werden kann; lck ist mit CD4 und CD8 als Coimmunpräzipitat nachweisbar^[38-40]. Nach Deletions- und Mutationsanalysen bindet lck an einen einzelnen cysteinreichen Sequenzabschnitt im cytoplasmatischen Teil^[57-59]. lck wurde erstmals als eine Tyrosin-Kinase beschrieben, die in einer Lymphozyten-Leukämiezelllinie überexprimiert ist^[38]. Während der carboxyterminale Teil des Moleküls hohe Homologie zu Mitgliedern der src-Familie aufweist, zeigen einzigartige Strukturmerkmale des Amino-terminus Bindungsmotive für CD4/CD8 sowie die Myristylierungsstelle, die die Assoziation an die Innenseite der T-Zellmembran vermittelt (Abb. 4). Die beiden Tyrosinreste 394 und 505 scheinen die lck-Aktivität zu regulieren: die Phosphorylierung von Tyr 394 verstärkt die lck-Aktivität, während die Phosphorylierung von Tyr 505 den Verlust der Kinase-Aktivität zur Folge hat. Tatsächlich überführt die Mutation von Tyrosin 505 in Phenylalanin lck in eine konstitutiv aktive Form^[60].

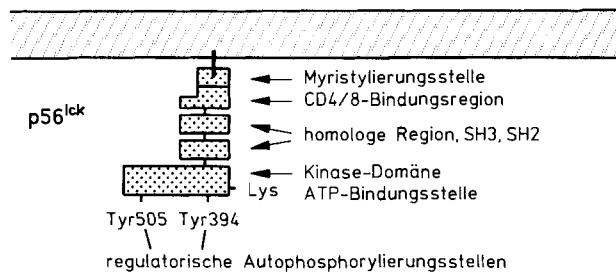


Abb. 4. Die schematische Darstellung von p56^{lck} verdeutlicht die typischen strukturellen Eigenheiten aller Mitglieder der src-Tyrosin-Kinase-Familie (übernommen aus [60]). Die CD4/CD8-Bindungsregion ist für p56^{lck} einzigartig. Die homologen Bereiche SH3 und SH2 können mit Komponenten des Cytoskeletts wechselwirken. Man vermutet, daß die Autophosphorylierung des regulatorischen Tyrosins den Bindungswinkel zwischen der Kinase-Domäne und dem Rest des Moleküls verändert und damit die Kinase-Aktivität reguliert.

3.4.2. CD45, eine Tyrosin-Phosphatase

CD45 wurde ursprünglich als „leukocytengemeinsames Antigen“ (leucocyte common antigen) bezeichnet und wird auf allen Zellen hämatopoetischen Ursprungs exprimiert^[61]. Es besteht aus einer extrazellulären Domäne, einer transmembranen Region und einem cytoplasmatischen Bereich mit zwei Tyrosin-Phosphatase-Tandemdomänen (Abb. 5)^[62, 63]. Isoliertes CD45 weist Tyrosin-spezifische Phosphatase-Aktivität auf^[63].

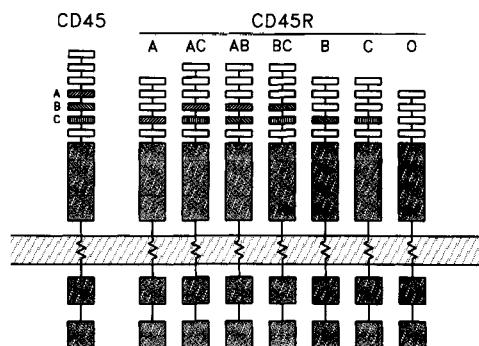


Abb. 5. Schematische Darstellung des vollständigen CD45-Moleküls (links) und der durch Spleißen entstandenen Familie von Isoformen. Man unterscheidet mit Hilfe monoklonaler Antikörper Isoformen, die Exon A (CD45RA) und B (CD45RB) enthalten, vom vollständigen CD45 und von CD45R0. Es konnte noch nicht klar bewiesen werden, daß T-Zellen alle möglichen Isoformen exprimieren. CD45 gehört nicht zur Superfamilie der Immunglobuline (Ig). Mit Untersuchungen zu Struktur und Funktion konnte gezeigt werden, daß es sich beim intrazellulären Teil um eine Protein-Tyrosin-Phosphatase handelt (vgl. [61]).

Von besonderem Interesse ist die extrazelluläre Domäne von CD45, da sie aufgrund unterschiedlichen Spleißens der RNA zu multiplen Molekülvarianten führt^[61]. Dieser Teil des Moleküls wird von sieben Exons codiert, von denen drei mit A, B und C bezeichnet werden. Je nach Art des Spleißens können so insgesamt acht mögliche Isoformen resultieren (Abb. 5)^[64]. Das vollständige Molekül, das die Exons A, B und C enthält, wird auf allen weißen Blutzellen exprimiert^[61]. Im Gegensatz dazu werden unvollständige Varianten in restriktiver Weise (CD45R) exprimiert. Sie markieren T-Zellen in bestimmten Differenzierungsstadien: naive peripherie T-Zellen exprimieren unvollständige Isoformen, die eines oder zwei der drei variablen Exons, meist A (CD45RA) oder B (CD45RB) enthalten, während Gedächtnis-T-Zellen

eine kurze Variante exprimieren, der alle drei Exons fehlen (CD45R0)^[64–76]. Letztere Form kann auch von unreifen Thymozyten exprimiert werden^[68, 69].

Die Expression verschiedener Varianten der extrazellulären Domäne von CD45 während definierter T-Zell-Entwicklungsstadien lässt vermuten, daß CD45 bei der auf Erkennung basierenden Signalübertragung eine regulatorische Rolle spielt. Wahrscheinlich wechselwirken verschiedene Isoformen mit anderen Zelloberflächenmolekülen entweder auf derselben oder einer anderen Zelle. Zum Beispiel können Isoformen mit niedriger Molekülmasse auf Gedächtnis-T-Zellen mit Komponenten des CD3-Komplexes oder mit CD4 assoziieren^[77, 78]. Dagegen scheinen Isoformen mit hoher Molekülmasse vom TCR in der Membran naiver T-Zellen unabhängig zu sein^[77].

In Quervernetzungsexperimenten und in transformierten Zelllinien, die lck mit CD4 oder CD8 in Gegenwart oder in Abwesenheit von CD45 exprimieren, konnte gezeigt werden, daß die PTK lck als Substrat für CD45 fungiert^[79, 80]. Das Ausmaß der lck-Autophosphorylierung bei oberflächenvernetztem CD4/CD8 war in Gegenwart von CD45 reduziert. Darüber hinaus führte die Quervernetzung von CD45 mit CD4/CD8 zur Dephosphorylierung von lck. In diesen Experimenten war die Dephosphorylierung von lck von einem Anstieg der Kinase-Aktivität begleitet; dies weist darauf hin, daß CD45 die lck-Aktivität über die Dephosphorylierung von Tyr 394 reguliert. Antikörper gegen CD45 übten inhibitorische oder stimulierende Effekte auf verschiedene zelluläre Funktionen aus^[81–84].

4. Experimentelle Ansätze zum Studium T-Zell-aktivierender Moleküle

Zwei genetische Methoden dienten dazu, die funktionelle Bedeutung T-Zell-aktivierender Moleküle zu studieren. Die erste Methode basiert auf der Auswahl von Deletionsvarianten von T-Zelllinien oder -Klonen, die *in vitro* wachsen, und/oder auf der Transfektion mit den passenden normalen oder mutierten Genen, um die zu untersuchenden Moleküle zu reexprimieren. Dieses Verfahren ist auf *in vitro* wachsende T-Zellen beschränkt, bei denen es sich per Definition um aktivierte, d.h. in einem späten Differenzierungsstadium sich befindende T-Zellen handelt. Die zweite Methode basiert auf der Untersuchung genetisch manipulierter Mäuse, in denen relevante Gene als Transgene eingeführt oder durch homologe Rekombination in embryonalen Zellen inaktiviert werden. Transgene Expression oder Deletion („knockout“) von Molekülen, die in diesem Aufsatz behandelt werden, führt meist zur Störung der Zellreifung im Thymus. Deshalb beschränken sich die Ergebnisse dieser Studien auf die frühen T-Zell-Entwicklungsstadien. Naive periphere T-Zellen, per Definition ruhende T-Zellen, können nicht kontinuierlich *in vitro* kultiviert werden. Trotzdem gilt diesem Zelltyp das primäre Interesse bei Untersuchungen der T-Zell-Aktivierung. In diesen Untersuchungen werden deshalb oft primäre T-Zellen verwendet, die *ex vivo* aus Blut oder lymphoiden Organen gewonnen werden, und die man dann in Kurzzeitkulturen analysiert. Da diese Art der Versuchsdurchführung keine genetischen Manipulationen klonaler Zellen zuläßt, sind die Ergebnisse nicht immer eindeutig. Resultate von genetischen Manipulationen wiederum sind

nur eingeschränkt interpretierbar, da sie sich auf sehr frühe oder sehr späte Stadien in der T-Zell-Entwicklung beziehen.

4.1. Transmembrane Signalübertragung bei ruhenden peripheren T-Lymphocyten

In diesem Abschnitt sollen die molekularen Vorgänge an der Membran naiver peripherer T-Zellen während der T-Zell-Aktivierung beschrieben werden. Es handelt sich dabei nur um den Anfang einer komplizierten Kaskade molekularer Prozesse, die sich durch das Cytoplasma in den Kern fortsetzen und damit die Gentranskription auslösen. Da ich mich auf die einleitenden Schritte beschränke, möchte ich den Leser auf einen vor kurzem erschienenen Übersichtsartikel^[50] verweisen, der sich mit den auf die Aktivierung folgenden intrazellulären Ereignissen befaßt.

Während der physiologischen T-Zell-Aktivierung wechseltwirkt eine T-Zelle mit einer antigenpräsentierenden Zelle (APC); dies schließt die spezifische Erkennung des peptidpräsentierenden MHC-Moleküls auf der APC durch das $\alpha\beta$ -Heterodimer auf der T-Zellmembran ein. Zell-Zell-Wechselwirkungen können auf molekularer Ebene nur sehr schwer untersucht werden. Man versucht deshalb, mit löslichen Rezeptorfragmenten die Komplexität des Problems zu verringern, ein Ansatz, der bis heute noch nicht endgültig zum Erfolg führte. Alternativ dazu wurden Liganden auf der APC-Oberfläche durch lösliche Reagenzien, z.B. mitogene Lectine oder Antikörper ersetzt. Lectine haben sich in gewissem Umfang als nützlich erwiesen, jedoch besitzen sie häufig eine breite und ungenau definierte Ligandspezifität. Monoklonale Antikörper (mAbs) mit definierter Spezifität gegenüber individuellen T-Zell-Oberflächenmolekülen konnten dagegen erfolgreich in diesen Studien eingesetzt werden; einige Schlüsselexperimente sollen hier diskutiert werden.

4.1.1. Die Bedeutung von Quervernetzung

Gibt man einen monoklonalen Antikörper (mAb) gegen eine beliebige Komponente des $\alpha\beta$ -CD3-Komplexes zu einer Kultur peripherer Lymphocyten aus dem Blut oder der Milz, so führt dies zur Aktivierung der T-Zellen in der Kultur; als Maßgrößen dienen dabei verschiedene Parameter wie die Zellgröße, die Mobilisierung von Ca^{2+} , die Aktivierung verschiedener Enzyme, die Transkription von Genen für Lymphokine und Lymphokin-Rezeptoren, die Zellteilung usw.^[85–88]. Eine Aktivierung erzielt man auch mit mAbs gegen einige andere T-Zell-Oberflächenkomponenten, doch wird die Bedeutung dieser Beobachtungen noch nicht völlig verstanden^[89]. Ich möchte diese Diskussion auf Ereignisse während der Signalübertragung beschränken, die den $\alpha\beta$ -CD3-Komplex betreffen; dies entspricht der T-Zell-Aktivierung durch eine spezifische antigene Herausforderung.

Eine Aktivierung von T-Zellen durch anti-TCR-mAbs involviert auch Nicht-T-Zellen mit Fc-Rezeptoren, z.B. Makrophagen. Entfernt man Fc-Rezeptor-positive Zellen aus der Zellkultur, ist ein anti-TCR-mAb nicht mehr in der Lage, T-Zellen zu aktivieren. Trotzdem können T-Zellen auch ohne Fc-Rezeptor-positive Zellen effizient aktiviert werden, wenn nämlich der anti-TCR-mAb an einen Festphasenträger gebunden ist^[88, 90, 91]. Dies zeigt, daß die Belegung eines

einzelnen TCRs mit einem Liganden (oder sogar seine Dimerisierung) nicht ausreicht, um eine T-Zelle zu aktivieren. Vielmehr ist eine Aggregation des TCRs auf der Zelloberfläche Voraussetzung für eine erfolgreiche Signalübertragung durch die Membran.

4.1.2. Die Bedeutung von CD4 und CD8 auf ruhenden T-Zellen

Lösliche mAbs gegen CD4 und CD8 verhindern die Aktivierung der entsprechenden T-Zelle, und zwar unabhängig davon, ob die Anregung durch APC, Lectine oder festphasen gebundene anti-TCR-mAbs induziert wird^[190, 92–99]. Da bei den beiden letzten Aktivierungsmethoden keine MHC-Moleküle als Liganden von CD4 und CD8 involviert sind, kann die Inhibition mit anti-CD8/4-mAbs nicht auf eine Blockierung der MHC-Bindung zurückgeführt werden. Dies führte zu einer langen Diskussion über die Möglichkeit, ob die Corezeptoren als Empfänger für negative oder inaktivierende Signale an T-Zellen fungieren. Obwohl diese These immer noch von einigen Forschern vertreten wird^[100], kann meiner Meinung nach eine negative Signalübertragung aufgrund folgender Ergebnisse ausgeschlossen werden:

Die Effizienz der T-Zell-Aktivierung durch Vernetzung des TCRs mit anti-TCR-mAbs wird um mindestens zwei Größenordnungen gesteigert, wenn Antikörper gegen CD8/CD4 mit einbezogen werden, d. h. wenn der TCR mit CD8/CD4 coaggregiert wird^[190, 92, 93, 101–105]. Verwendet man heterozygote T-Zellen, die zwei verschiedene CD8-Allele exprimieren, erfolgt die Aktivierung auch aufgrund der Coaggregation nur eines CD8-Allels mit dem TCR. Diese Aktivierung kann mit Antikörpern gegen das coaggregierte CD8-Allel, nicht aber mit Antikörpern gegen das freie CD8-Allel inhibiert werden^[192]. Das Experiment belegt demnach, daß die Inhibition der T-Zell-Aktivierung mit anti-CD8/4-mAbs über eine Blockierung der Anlagerung des Corezeptors an den TCR verläuft. Die Aggregation des TCRs allein – mittels eines beliebigen Liganden – induziert eine ausreichend hohe Anlagerung von CD4/CD8, so daß eine geringe Aktivierung resultiert, die mit CD4/CD8-mAbs blockiert werden kann. Die spontane Assoziation (TCR-CD4/CD8) nach einer TCR-Quervernetzung kann extrem verstärkt werden, wenn der Corezeptor zwangsweise mit dem TCR coaggregiert wird. Dies erreicht man entweder – experimentell – mit Festphasen-Antikörpern oder – unter physiologischen Bedingungen – mit MHC-Molekülen auf APCs, an die gleichzeitig sowohl der TCR, als auch der Corezeptor bindet. Die Corezeptoren müssen nach diesem Modell zwei Bindungsregionen aufweisen, eine für das MHC-Molekül auf der APC und eine andere für den TCR auf derselben T-Zelle (siehe nächsten Abschnitt).

Es ist allgemein akzeptiert, daß die Notwendigkeit für die räumliche Nähe zwischen TCR und CD4/CD8 während der Aktivierung ruhender T-Zellen mit der Wanderung der Protein-Tyrosin-Kinase (PTK) lck zum CD3-Komplex kombiniert sein muß. lck ist, wie in Abschnitt 3.4.1 erwähnt, auf der Innenseite der T-Zellmembran mit CD8/CD4 verknüpft. Weiterhin wird CD3-Phosphorylierung und TCR-CD4-Vernetzung von denselben Antikörpern in vergleichbarer Weise induziert^[100]. Damit könnte der einzige Zweck der TCR-

CD4/CD8-Komplexbildung darin zu suchen sein, eine Tyrosin-Phosphorylierung der CD3- ζ -Kette zu gewährleisten.

4.1.3. Die Beziehung zwischen CD4/CD8 und dem T-Zell-Rezeptor in ruhendem Zustand

Die im vorigen Abschnitt beschriebenen Experimente zur transmembranen Signalübertragung bei ruhenden peripheren T-Zellen deuten auf die Bildung eines Komplexes zwischen dem TCR und CD4/CD8 hin. Dies wirft die Frage nach der Konformation beider molekularer Komponenten im ruhenden Zustand auf. Die einfachste Annahme wäre eine vollständige Unabhängigkeit beider Komponenten auf der T-Zellmembran, wobei die räumliche Nähe zwischen beiden erst aufgrund der Bindung eines passenden Liganden zustande käme (Abb. 6 oben). Über einige experimentelle Belege zugunsten dieses Modells wurde berichtet^[106–109]. Ergebnisse einiger früherer indirekter Experimente weisen jedoch darauf hin, daß eine Art Assoziation ständig besteht^[110–113]. Dies wurde kürzlich durch direkte Immunpräzipitationsexperimente bestätigt, die klar zeigten, daß CD4/CD8 mit der CD3- δ -Kette auf ruhenden T-Zellen assoziiert sind^[114]. Fast jedes CD3- δ ist mit einem Corezeptor verbunden. Im Gegensatz dazu kann diese Assoziation nach der Aktivierung nicht mehr nachgewiesen werden. Dies läßt vermuten, daß sich der TCR-CD4/CD8-Komplex hochdynamisch verhält und zwischen verschiedenen Konformationszuständen oszilliert, die jeweils mit einem funktionellen Status der T-Zelle korrelieren.

4.1.4. Modelle zur Bildung des Aktivierungskomplexes

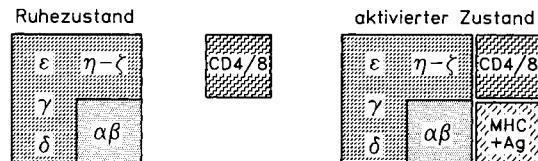
Ein Flip-Flop-Modell

Im ruhenden Zustand (Flip-Zustand) ist CD4/CD8 mit der CD3- δ -Kette assoziiert^[114]. Für die Aktivierung muß lck in die Nähe der CD3- ζ -Kette wandern. Es ist deshalb möglich, daß CD4/CD8 von CD3- δ auf CD3- ζ überspringt (Flop-Zustand) und lck mit überträgt (Abb. 6 Mitte). In diesem Modell würde lck im ruhenden Zustand in einiger Entfernung von CD3 gehalten, so daß eine zufällige Begegnung, die eine Aktivierung auslösen würde, verhindert wird; erst der passende MHC-Ligand induziert den Übergang in den Flop-Zustand. Das Modell setzt Konformationsänderungen zumindest innerhalb einer Komponente des Komplexes voraus.

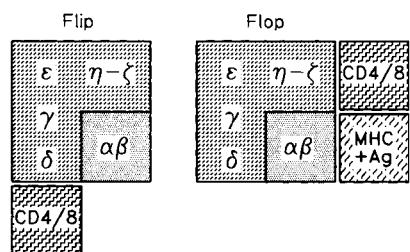
Das Vernetzungsmodell

Dieser Mechanismus kann durchaus mit einem Flip-Flop-Mechanismus kombiniert sein. Das Modell schlägt ganz einfach vor, daß die Aggregation des Komplexes, wie er im ruhenden Zustand existiert, zu zufälliger Annäherung von CD3- ζ und CD4/CD8-lck führt, was den Beginn der Aktivierung einleitet (Abb. 6 unten). Im Gegensatz zum Flip-Flop-Modell gibt es hier keinen Mechanismus, der eine zufällige Aktivierung verhindert. Außerdem sind auch keine Konformationsänderungen nötig.

Modell der induzierten Nähe



Flip-Flop-Modell



Quervernetzungsmodell

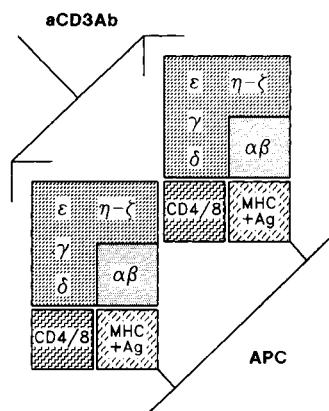


Abb. 6. Drei Modelle für die Komplexbildung zwischen $\alpha\beta$ -CD3, den Corezeptoren CD4/CD8 und dem MHC-Peptid-Komplex während der T-Zell-Aktivierung. Oben: „Modell der induzierten Nähe“ (Induction-of-Proximity Model). Es basiert auf der Annahme, daß die Corezeptoren und $\alpha\beta$ -CD3 auf der T-Zellmembran ohne den MHC-Liganden voneinander unabhängig sind. Die wechselseitige Bindung beider Komponenten an den MHC-Peptid-Komplex induziert eine räumliche Nähe zwischen CD4/CD8 und $\alpha\beta$ -CD3 auf der Zellaußenseite, was wiederum die Annäherung von lck an den cytoplasmatischen Teil der CD3-Komponenten auf der Innenseite der T-Zellmembran zur Folge hat. Mitte: „Flip-Flop-Modell“. Es berücksichtigt die Assoziation zwischen den Corezeptoren CD4/CD8 und der CD3- δ -Kette auf ruhenden T-Zellen und impliziert zwei Komplexkonfigurationen; in der einen stabilisiert die Verbindung zwischen CD4/CD8 und CD3- δ den ruhenden Zustand, und in der anderen induziert die MHC-Bindung die Wanderung von CD4/CD8 zu CD3- ζ , was zur Phosphorylierung der ζ -Kette und zur T-Zell-Aktivierung führt. Unten: „Quervernetzungsmodell“ (crosslinking model). Es erfordert während der Aktivierung keine Veränderungen innerhalb des Komplexes. Es kann die T-Zell-Aktivierung durch den MHC auf APCs sowie die durch anti-CD3-Antikörper-vermittelte Quervernetzung erklären. Es ist aber möglich, daß die Antikörper-induzierte T-Zell-Aktivierung nach dem Quervernetzungsmodell verläuft, während die T-Zell-Aktivierung durch MHC-Peptid-Bindung dem Flip-Flop-Mechanismus gehorcht.

Abbildung 7 zeigt ein gegenwärtig akzeptables schematisches Bild von einer möglichen Konfiguration des Aktivierungskomplexes während der transmembranen Signalübertragung. Es ist offensichtlich, daß es sich hierbei nur um ein Minimalmodell handelt. Über CD45 gibt es z.B. zu wenig Information, um vernünftige Vorhersagen bezüglich seiner Beteiligung am Aktivierungskomplex treffen zu können. Um solche multimolekularen funktionalen Komplexe in der Zellmembran aufzuklären zu können, müssen verfeinerte Techniken entwickelt werden.

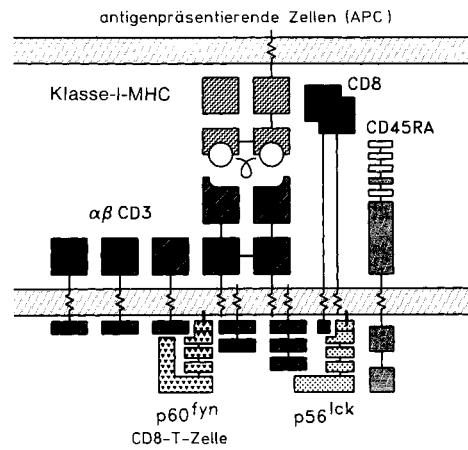


Abb. 7. Mögliche Anordnung der Komponenten des T-Zell-Erkennungskomplex während der Aktivierung. Der genaue molekulare Aufbau von Assoziationen zwischen p60^{fyn} und Komponenten des CD3-Komplexes ist noch nicht geklärt. Ebenso sind die mit CD45 oder CD45R wechselwirkenden Moleküle unbekannt. Ein ähnliches Bild läßt sich für Klasse-II-MHC und CD4 vorstellen.

4.2. Transmembrane Signalübertragung in aktivierten T-Zellen

Eine T-Zelle antwortet auf das Zusammentreffen mit antigenpräsentierenden Zellen (APCs) mit verschiedenen Reaktionen mit oder ohne Auslösung einer Transkriptionsaktivität. Die Ausschüttung zytolytischer Moleküle durch aktivierte CD8⁺-T-Zellen (CTL) erfordert z.B. keine Transkription. Im Gegensatz dazu bedarf es bei der Produktion von Cytokinen durch CD4⁺- oder CD8⁺-T-Zellen in den meisten Fällen der Transkription korrespondierender Gene. T-Zelllinien oder Hybridome, die die Mehrzahl aktivierter T-Zelltypen repräsentieren, konnten erfolgreich für genetische Analysen eingesetzt werden. Zunächst führte die Transfektion der Gene für die α - und β -Ketten einzelner TCRs in Hybridome zu der Erkenntnis, daß das $\alpha\beta$ -Heterodimer des CD3-Komplexes allein für die MHC-Peptid-Spezifität einer T-Zelle verantwortlich ist^[21, 22]. Trotzdem zeigten diese Experimente, daß der Erkennungsprozeß ohne den richtigen Corezeptor nicht ausreichend war: TCRs, die Klasse-I-MHC-Moleküle erkennen, benötigen CD8^[115-118], während TCRs, die Klasse-II-MHC-Moleküle erkennen, zur optimalen Erkennung CD4 benötigen^[119]; allerdings übten auch die jeweils heterologen Corezeptoren einen, allerdings geringeren verstärkenden Effekt aus^[119-123]. Diese Untersuchungen bildeten die Grundlagen für die Hypothese einer affinitätssteigernden Funktion der Corezeptoren: Die Bindung des TCRs und Corezeptors an dasselbe MHC-Molekül erhöht die per se niederaffine TCR-MHC-Interaktion sehr effizient; ein weitaus geringerer Steigerungseffekt tritt ein, wenn der Corezeptor an ein anderes MHC-Molekül auf der APC bindet.

Untersuchungen zur signalübertragenden Funktion der Corezeptoren in aktivierten T-Zellen lieferten nicht so eindeutige Ergebnisse. Ein Typ von Experimenten benutzte die Transfektion von Genen, denen die cytoplasmatische Teilsequenz fehlt, d.h. deren Produkte nicht mit lck assoziieren können. Man fand, daß diese Corezeptorfragmente trotzdem die Aktivierung durch APC förderten, wenn auch weniger wirkungsvoll als vollständige Moleküle^[124-127]. Bei einer anderen Art von Versuchen verwendete man Deletions-

varianten von CTL und ihre CD8-transfizierten Revertanten. Während die Aktivierung dieser Zellen durch APCs entscheidend von CD8 abhängt, blieb ihre Aktivierung durch anti-TCR-mAbs in den CD8-Verlustvarianten vollständig erhalten und zwar bezüglich transkriptions- und nicht-transkriptions-assozierter Reaktionen^[117, 118, 128]. Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, daß aktivierte T-Zellen bis zu einem gewissen Grad unabhängig von der transmembranen Signalübertragungsfunktion der Corezeptoren sind. Dies wird in Situationen deutlich, in denen der TCR einen hochaffinen Liganden, z.B. einen anti-TCR-mAb, bindet. Diese Deutungen stimmen auch mit früher gemachten Beobachtungen überein, daß einzelne aktivierte CD8⁺- und CD4⁺-T-Zelllinien und -Klonen mit anti-CD8/4-mAbs nicht inhibiert werden können^[129–131]. Aus T-Zell-Klonen selektierte Varianten, die nur wenig CD4 exprimieren, haben sich sogar sensitiver gegenüber der Aktivierung durch APCs erwiesen als Zellen, die CD4 normal exprimierten^[132]. Untersuchungen an mit CD3- $\gamma\delta\epsilon$ transfizierten Zellen, denen eine funktionelle CD3- ζ -Kette fehlt, zeigten, daß in diesen Hybridomzellen effizient eine Transkriptionsantwort induziert werden kann. Dadurch verdeutlichen diese Experimente eine teilweise Unabhängigkeit aktivierter T-Zellen vom CD4/CD8-lck-CD3- ζ -Signalübertragungsweg. Es wurde vorgeschlagen, daß die CD3- $\gamma\delta\epsilon$ -Komponenten zu einem alternativen Signalübertragungsmechanismus beitragen^[31]. Möglicherweise ist dieser Mechanismus in naiven T-Zellen von verhältnismäßig untergeordneter Bedeutung, während er erst in aktivierten T-Zellen zum Tragen kommt.

4.3. Die bifunktionale Natur der Corezeptoren

Die Aktivierung ruhender naiver T-Zellen hängt in erster Linie von der transmembranen Signalübertragung durch die TCR-CD4/CD8-Assoziation ab. Im Gegensatz dazu ist die transmembrane Signalübertragung in aktivierten T-Zellen teilweise von CD4/CD8 unabhängig. Trotzdem benötigen die meisten aktivierten T-Zellen CD4/CD8 zur Erkennung des MHC-Peptid-Komplexes, zweifelsohne wegen deren MHC-Bindungsfunktion. Diese Umstände wurden in einer neueren Untersuchung ausgenutzt, um mit Hilfe monoklonaler anti-CD8-mAb-Epitope, die mit der Bindung von MHC an CD8 korrespondieren, von denen zu unterscheiden, die für die TCR-Assoziation verantwortlich sind^[133]. Das Experiment zeigte, daß verschiedene Regionen auf dem CD8-Molekül in jeder dieser Funktionen involviert sind. Beide Funktionen erfordern jedoch Epitope auf der α - und der β -Kette von CD8. Während die MHC-Bindungsregion zweifelsfrei in der V-Domäne der α - und vielleicht auch in der β -Kette lokalisiert ist, gibt es bis jetzt keine Strukturinformationen über die Lage der TCR-Bindungsregion. Logischerweise würde man diesen Bereich irgendwo zwischen der V-Domäne und der Zelloberfläche vermuten, d.h. innerhalb der Gelenkregion von CD8 (Abb. 7).

5. Der Erkennungskomplex und die Selektion im Thymus

Thymus-Selektion erfordert einen intakten Thymus entweder *in vivo* oder in einer Organkultur. Es war deshalb

bisher nicht möglich, die T-Zell-Selektion im Thymus auf der Ebene einzelner Zellen zu analysieren, ganz zu schweigen von der molekularen Ebene. Deshalb sind bis heute biochemische Signalübertragungswege, die zu positiver und negativer Selektion führen, von einigen Ausnahmen abgesehen^[134], noch nicht schlüssig untersucht worden. Trotzdem haben hochentwickelte Untersuchungsmethoden, in denen transgene Mäuse oder Mäuse, in denen bestimmte Gene deletiert wurden (Knock-out-Mäuse), dazu beigetragen, die funktionelle Bedeutung verschiedener Komponenten des T-Zell-Erkennungskomplexes während der Selektion im Thymus aufzuklären.

Die Aufgaben des TCR- $\alpha\beta$ -Heterodimers wurden mit transgenen Mäusen untersucht; sie enthielten fertig umgelaerte α - und β -Gene mit bekannter MHC-Peptid-Erkennungsspezifität, die aus individuellen CD8- oder CD4-T-Zell-Klonen isoliert wurden^[5, 6]. Das Zusammentreffen eines solchen TCR- $\alpha\beta$ -Heterodimers mit dem homologen MHC-Peptid-Komplex während der T-Zell-Entwicklung im Thymus führt zum programmierten Zelltod (Apoptose), so daß selbstreaktive Zellen daran gehindert werden, den Thymus zu verlassen. Das Ausbleiben eines Zusammentreffens mit dem richtigen MHC-Molekül im Thymus verhindert den Reifungsprozeß. Die erfolgreiche Bildung reifer T-Zellen, die den Thymus verlassen können, hängt also von der Verfügbarkeit des richtigen MHC-Moleküls während der T-Zell-Entwicklung im Thymus ab. Diese Ergebnisse beweisen, daß das TCR- $\alpha\beta$ -Heterodimer als Werkzeug für die Selektion von T-Zellen im Thymus dient: Das Zusammentreffen mit dem Komplex „Selbst-MHC/Selbst-Peptid“ veranlaßt eine Eliminierung der betreffenden T-Zelle, das Zusammentreffen mit einem Selbst-MHC-Molekül allein induziert ihre Reifung, und das Ausbleiben eines Zusammentreffens mit einer passenden Struktur überhaupt resultiert in einem Entwicklungsabbruch.

T-Zellen, die Transgene für einen TCR mit Klasse-I-MHC-Erkennungsspezifität tragen, verlassen den Thymus ausschließlich als CD8⁺-Zellen, während T-Zellen mit Transgenen für einen TCR mit Klasse-II-MHC-Spezifität den Thymus nur als CD4⁺-Zellen verlassen. Diese Ergebnisse demonstrieren, daß nur jene T-Zellen positiv selektiert werden und reifen, die einen $\alpha\beta$ -TCR exprimieren, dessen Spezifität mit dem Corezeptor korreliert. Es konnte gezeigt werden, daß dies das Ergebnis eines Reifungsprozesses ist, der in dem Stadium induziert wird, in dem unreife T-Zellen im Thymus CD4 und CD8 exprimieren; dieser Zustand endet damit, daß der nicht korrespondierende Corezeptor nicht mehr exprimiert wird^[135, 136]. Vermutlich werden Thymozyten dadurch positiv selektiert, daß der $\alpha\beta$ -TCR und der Corezeptor an dasselbe MHC-Molekül binden^[137]. Mäuse mit mutierten transgenen MHC-Molekülen, die nicht in der Lage sind, CD8 oder CD4 zu binden, können T-Zellen, die solche MHC-Moleküle erkennen, weder positiv noch negativ selektionieren^[138]. Folglich scheint eine Art Kooperation zwischen dem TCR und dem Corezeptor bei der positiven und negativen Selektion nötig zu sein. Die Unterschiede zwischen den Vorgängen bei der transmembranen Signalübertragung, die zu einer positiven oder negativen Selektionsantwort führen, sind derzeit Gegenstand intensiver Forschungen. Die Experimente mit transgenen Mäusen wurden kürzlich durch solche ergänzt, bei denen Mausstämmen eingesetzt wurden, in denen korrespondierende Gene

fehlten. Wie erwartet gelingt es Mäusen, die keine Klasse-I-^[139] oder Klasse-II-MHC-Moleküle^[140] exprimieren können, nicht, CD8- bzw. CD4-T-Zellen zu entwickeln. Außerdem gelingt es Mäusen, die keine CD8- oder CD4-Moleküle exprimieren können, nicht, T-Zellen zu entwickeln, deren TCR Klasse-I-MHC- bzw. Klasse-II-MHC-Moleküle erkennen^[141].

Zusammenfassend besteht kaum ein Zweifel daran, daß dasselbe Erkennungssystem, das zur T-Zell-Aktivierung in der Peripherie führt, auch an der T-Zell-Selektion im Thymus beteiligt ist. Allerdings sind die in Thymocyten ausgelösten Antworten gänzlich verschieden von denen in peripheren T-Zellen. Die Unterschiede liegen wahrscheinlich in der Art und Weise, in der sich der Erkennungskomplex zusammensetzt, oder darin, welche Komponenten des Komplexes an sekundäre und weitere Botensysteme im Cytoplasma gekoppelt sind. Zweifellos ist der T-Zell-Erkennungskomplex einer der höchstentwickelten und vielseitigsten Strukturen zur Signalübertragung in der Biologie.

6. Zusammenfassung

T-Lymphocyten sind in der Lage, andere Zellen, die fremde lebende oder nicht-lebende Materie aufgenommen haben (antigenpräsentierende Zellen, APCs) zu erkennen. Die fremden Strukturen werden in den APCs abgebaut, und resultierende Peptide werden mit neu synthetisierten MHC-Molekülen komplexiert und auf der Zellmembran präsentiert. Komplexe aus MHC-Molekülen und fremden Peptiden werden von einem Erkennungskomplex auf der T-Zellmembran, der sich aus spezifischen und unspezifischen Komponenten zusammensetzt, erkannt und gebunden. Infolge der Erkennung und Bindung lagern sich spezifische und unspezifische Komponenten des Erkennungskomplexes in der T-Zellmembran so zusammen, daß eine transmembrane Signalübertragung stattfindet; höchstwahrscheinlich sind dafür die Wanderung und Aktivierung membrangebundener Protein-Tyrosin-Kinasen und -Phosphatasen, sowie Tyrosin-Phosphorylierungs-/Dephosphorylierungsprozesse verantwortlich. Die durch diesen Komplex hervorgerufenen zellulären Antworten sind mannigfaltig und unterscheiden sich je nach Stadium der T-Zell-Entwicklung und -Differenzierung. Die Art der Komplexierung sowie die Bindung an intrazelluläre Botenstoffe nehmen als determinierende Faktoren Einfluß auf die Natur der T-Zell-Antwort.

Weitere Untersuchungen, die zu einem detaillierten Bild des T-Zell-Aktivierungskomplexes führen, sind sowohl der reinen Erkenntnis halber, als auch wegen möglicher medizinischer Anwendungen der Erkenntnisse wünschenswert. So könnte die Entwicklung von Methoden zum medizinischen Eingreifen bei Störungen des Immunsystems, z.B. bei Autoimmunkrankheiten, Allergien und Immundefizienzen, dadurch erleichtert werden. Dies würde neue Techniken voraussetzen, die geeignet wären, makromolekulare Komplexe, wie sie in der Membran vorkommen, einschließlich ihres dynamischen Verhaltens zu analysieren. Die Immunologie hat in der Vergangenheit stark von grundlegenden analytischen Techniken profitiert, die in vielen anderen wissenschaftlichen Disziplinen einschließlich der Chemie entwickelt wurden. Die Aufgabe, neue Analysenmethoden zum Studium makromolekularer Komplexe und ihrer Dynamik

zu entwickeln, ist eine neue Herausforderung für Chemiker, insbesondere Protein- und Membranchemiker. Sofern diese Bemühungen zum Erfolg führen, würde ein tieferer Einblick in funktionelle Vorgänge in Zellmembranen möglich, einschließlich der transmembranen Signalübertragung bei T-Lymphocyten.

Eingegangen am 27. April 1992 [A 889]
Übersetzt von Dipl.-Chem. Marion Gurrath,
Technische Universität München

- [1] J. B. Rothbard, M. L. Gefter, *Annu. Rev. Immunol.* **1991**, *9*, 527.
- [2] S. L. Swain, *Immunol. Rev.* **1983**, *74*, 129.
- [3] G. Möller (Hrsg.), *Immunol. Rev.* **1987**, *98*.
- [4] G. Möller (Hrsg.), *Immunol. Rev.* **1988**, *104*.
- [5] H. A. von Boehmer, *Annu. Rev. Immunol.* **1988**, *6*, 309.
- [6] B. J. Fowlkes, D. M. Pardoll, *Adv. Immunol.* **1989**, *44*, 207.
- [7] G. Möller (Hrsg.), *Immunol. Rev.* **1986**, *91*.
- [8] M. M. Davis, P. J. Bjorkman, *Nature* **1988**, *334*, 395.
- [9] J. D. Ashwell, R. D. Klausner, *Annu. Rev. Immunol.* **1990**, *8*, 139.
- [10] B. E. Bierer, B. P. Sleckman, S. E. Ratnofsky, S. J. Burakoff, *Annu. Rev. Immunol.* **1989**, *7*, 579.
- [11] J. R. Parnes, *Adv. Immunol.* **1989**, *44*, 265.
- [12] D. R. Littman, *Annu. Rev. Immunol.* **1987**, *5*, 561.
- [13] P. Marrack, J. Kappler, *Adv. Immunol.* **1986**, *38*, 1.
- [14] G. Möller (Hrsg.), *Immunol. Rev.* **1990**, *113*.
- [15] *Molecular Evolution of the Major Histocompatibility Complex* (Hrsg.: J. Klein, D. Klein) (*NATO ASI Ser. H: Cell Biol.* **1991**, *59*).
- [16] A. F. Williams, A. N. Barclay, *Annu. Rev. Immunol.* **1988**, *6*, 381.
- [17] O. Rötsche, K. Falk, *Immunol. Today* **1991**, *12*, 447.
- [18] T. S. Jardetzky, W. S. Lane, R. A. Robinson, D. R. Madden, D. C. Wiley, *Nature* **1991**, *353*, 326.
- [19] G. M. Van Bleek, G. G. Nathensen, *Nature* **1990**, *348*, 213.
- [20] O. Rötsche, K. Falk, K. Deres, H. Schild, H. Narda, J. Metzger, G. Jung, H. G. Rammensee, *Nature* **1990**, *348*, 252.
- [21] Z. Dembic, W. Haas, S. Weiss, J. McCubrey, H. Kiefer, H. von Boehmer, M. Steinmetz, *Nature* **1986**, *320*, 232.
- [22] T. Saito, A. Weiss, J. Miller, M. A. Norcross, R. N. Germain, *Nature* **1987**, *325*, 125.
- [23] A. M. Weissman, M. Baniyash, D. Hou, L. E. Samelson, W. H. Burgess, R. D. Klausner, *Science* **1988**, *239*, 1018.
- [24] Y. J. Jin, L. K. Clayton, F. D. Howard, S. Koyasu, M. Sieh, R. Steinbrich, G. E. Tarr, E. L. Reinherz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 3319.
- [25] M. Reth, *Nature* **1989**, *338*, 383.
- [26] H. Küster, H. Thompson, J. P. Kinet, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 6448.
- [27] F. Koning, W. L. Maloy, J. E. Coligan, *Eur. J. Immunol.* **1990**, *20*, 299.
- [28] R. S. Blumberg, S. Ley, J. Sancho, N. Lonberg, E. Lacy, F. McDermott, V. Schad, J. L. Greenstein, C. Terhorst, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 7220.
- [29] A. de la Hera, U. Müller, C. Olsson, S. Isaaz, A. Tunnacliffe, *J. Exp. Med.* **1991**, *173*, 7.
- [30] D. P. Gold, H. Clevers, B. Alarcon, S. Dunlap, J. Novotny, A. Williams, C. Terhorst, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, *84*, 7649.
- [31] A. M. K. Wegener, F. Klournier, A. Noevelar, T. Broker, F. Luton, B. Malissen, *Cell* **1992**, *68*, 83.
- [32] H. Cantor, E. A. Boyse, *J. Exp. Med.* **1975**, *141*, 1376.
- [33] D. P. Dialynas, D. B. Wilde, P. Marrack, A. Pierres, K. A. Wall, W. L. Havran, G. K. Otten, M. R. Loken, M. Pierres, J. Kappler, F. W. Fitch, *Immunol. Rev.* **1983**, *74*, 29.
- [34] P. J. Madden, D. R. Littman, M. Godfrey, D. E. Madden, L. Chess, R. Axel, *Cell* **1985**, *42*, 93.
- [35] P. J. Madden, S. M. Molineaux, D. E. Madden, K. A. Zimmerman, M. Godfrey, F. W. Alt, L. Chees, R. Axel, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1987**, *84*, 9155.
- [36] J. Wang, Y. Yan, T. P. J. Garrett, J. Liu, D. W. Rodgers, R. L. Garlick, G. E. Tarr, Y. Husain, E. L. Reinherz, S. C. Harrison, *Nature* **1990**, *348*, 411.
- [37] S.-E. Ryu, P. D. Kwong, A. Truneh, T. G. Porter, J. Arthos, M. Rosenberg, X. Dai, N.-H. Xuong, R. Axel, R. W. Sweet, W. A. Hendrickson, *Nature* **1990**, *348*, 419.
- [38] J. D. Marth, E. G. Peet, E. G. Krebs, R. M. Perlmuter, *Cell* **1985**, *43*, 393.
- [39] C. E. Rudd, J. M. Trevillyan, J. V. Dasgupta, L. L. Wong, S. F. Schlossman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 5190.
- [40] A. Veillette, M. A. Bookman, E. M. Horak, J. B. Bolen, *Cell* **1988**, *55*, 301.
- [41] C. Doyle, J. L. Strominger, *Nature* **1987**, *330*, 256.
- [42] A. M. Norment, R. D. Salter, P. Parham, V. H. Engelhard, D. R. Littman, *Nature* **1988**, *336*, 79.

- [43] R. D. Salter, A. M. Norment, B. P. Chen, C. Clayberger, A. M. Krensky, D. R. Littman, P. Parham, *Nature* **1989**, *338*, 1.
- [44] D. Lamarre, A. Ashkenazi, S. Fleury, D. H. Smith, R. P. Sekaly, D. J. Capon, *Science* **1989**, *245*, 743.
- [45] L. K. Clayton, M. Sieh, D. A. Pious, E. L. Reinherz, *Nature* **1989**, *339*, 548.
- [46] S. K. Sanders, R. O. Fox, P. Kavathas, *J. Exp. Med.* **1991**, *174*, 371.
- [47] J. M. Connolly, T. H. Hansen, A. L. Ingold, T. A. Potter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 2137.
- [48] T. A. Potter, T. V. Rajan, R. F. Dick II, J. A. Bluestone, *Nature* **1989**, *337*, 73.
- [49] R. D. Salter, R. J. Benjamin, P. K. Wesley, S. E. Buxton, T. P. J. Garrett, C. Clayberger, A. M. Krensky, A. M. Norment, D. R. Littman, P. Parham, *Nature* **1990**, *345*, 41.
- [50] R. D. Klausner, L. E. Samelson, *Cell* **1991**, *64*, 875.
- [51] D. A. Cantrell, A. A. Davies, M. J. Crumpton, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 8158.
- [52] J. Downward, J. D. Graves, P. H. Warne, S. Rayter, D. A. Cantrell, *Nature* **1990**, *348*, 719.
- [53] J. N. Siegel, R. D. Klausner, U. R. Rapp, L. E. Samelson, *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 18472.
- [54] L. E. Samelson, M. D. Patel, A. M. Weissman, J. B. Harford, R. D. Klausner, *Cell* **1986**, *46*, 1083.
- [55] D. J. Park, H. W. Rho, S. G. Rhee, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 5453.
- [56] A. Weiss, G. Koretsky, R. Schatzman, T. Kadlecak, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 5484.
- [57] A. S. Shaw, K. E. Amrein, C. Hammond, D. F. Stern, B. M. Sefton, J. K. Rose, *Cell* **1989**, *59*, 627.
- [58] A. S. Shaw, J. Chalupny, J. A. Whitney, C. Hammond, K. E. Amrein, P. Kavathas, B. M. Sefton, J. K. Rose, *Mol. Cell. Biol.* **1990**, *10*, 1853.
- [59] J. M. Turner, M. H. Brodsky, B. A. Irving, S. D. Levin, R. M. Perlmuter, D. R. Littman, *Cell* **1990**, *60*, 755.
- [60] A. Veillette, N. Abraham, L. Caron, D. Davidson, *Semin. Immunol.* **1991**, *3*, 143.
- [61] M. L. Thomas, *Annu. Rev. Immunol.* **1989**, *9*, 339.
- [62] H. Charbonneau, N. K. Tonks, K. A. Walsh, E. H. Fischer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 7182.
- [63] N. K. Tonks, H. Charbonneau, C. D. Diltz, E. H. Fischer, K. A. Walsh, *Biochemistry* **1989**, *27*, 8695.
- [64] L. Lefrancois, M. L. Thomas, M. J. Bevan, I. S. Trowbridge, *J. Exp. Med.* **1986**, *163*, 1337.
- [65] E. B. Bell, S. M. Sparshott, *Nature* **1990**, *348*, 163.
- [66] M. L. Birkeland, P. Johnson, I. S. Trowbridge, E. Pure, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 6734.
- [67] K. Bottomly, M. Luqman, L. Greenbaum, S. Carding, J. West, T. Pasqualini, D. Murphy, *Eur. J. Immunol.* **1989**, *19*, 617.
- [68] C. Janossy, M. Bofill, D. Rowe, J. Muir, P. C. L. Beverley, *Immunology* **1989**, *66*, 517.
- [69] D. A. Law, L. L. Spruyt, D. J. Paterson, A. F. Williams, *Eur. J. Immunol.* **1989**, *19*, 2289.
- [70] M. Luqman, P. Johnson, I. Trowbridge, K. Bottomly, *Eur. J. Immunol.* **1990**, *20*, 17.
- [71] M. Merkenschlager, P. C. L. Beverley, *Int. Immunol.* **1989**, *1*, 449.
- [72] M. Merkenschlager, H. Ikeda, D. Wilkinson, P. C. L. Beverley, J. Trowsdale, A. G. Fisher, D. M. Altmann, *Eur. J. Immunol.* **1991**, *21*, 79.
- [73] F. Powrie, D. Mason, *J. Exp. Med.* **1989**, *169*, 653.
- [74] F. Powrie, D. Mason, *Cur. Top. Microbiol. Immunol.* **1990**, *159*, 81.
- [75] D. M. Rothstein, A. Yamada, S. F. Schlossman, C. Morimoto, *J. Immunol.* **1991**, *146*, 1175.
- [76] M. Sanders, M. W. Makgoba, S. Shaw, *Immunol. Today* **1988**, *9*, 195.
- [77] U. Dianzani, M. Luqman, J. Rojo, J. Yagi, J. L. Baron, A. Woods, C. A. Janeway jr., K. Bottomly, *Eur. J. Immunol.* **1990**, *20*, 2249.
- [78] C. Volarevic, M. Burns, J. J. Sussman, J. D. Ashwell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 7085.
- [79] H. L. Ostergaard, I. S. Trowbridge, *J. Exp. Med.* **1990**, *172*, 347.
- [80] J. A. Ledbetter, G. L. Schieven, F. M. Uckun, J. B. Imboden, *J. Immunol.* **1991**, *146*, 1577.
- [81] J. A. Ledbetter, N. K. Tonks, E. H. Fischer, E. A. Clark, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 8628.
- [82] J. Marvel, G. Poirier, E. Lightstone, *Eur. J. Immunol.* **1989**, *19*, 2005.
- [83] G. Pawelec, H. J. Bühring, C. Muller, *Cell. Immunol.* **1990**, *127*, 514.
- [84] T. C. R. Prickett, D. N. J. Hart, *Immunology* **1990**, *68*, 250.
- [85] S. C. Meuer, R. E. Hussey, D. A. Cantrell, J. C. Hodgdon, S. F. Schlossman, K. A. Smith, E. L. Reinherz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, *81*, 1509.
- [86] A. Weiss, J. Imboden, D. Shoback, J. Stobo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1984**, *81*, 4169.
- [87] A. Weiss, J. Imboden, K. Hardy, B. Manger, C. Terhorst, J. Stobo, *Annu. Rev. Immunol.* **1986**, *4*, 593.
- [88] I. N. Crispe, M. J. Bevan, U. D. Staerz, *Nature* **1985**, *317*, 627.
- [89] G. Möller (Hrsg.), *Immunol. Rev.* **1989**, 111.
- [90] K. Eichmann, N. W. Boyce, R. Schmidt-Ullrich, J. I. Jönsson, *Immunol. Rev.* **1989**, *109*, 39.
- [91] C. A. Janeway, U. Dianzani, P. Portoles, S. Rath, E. P. Reich, J. Rojo, J. Yagi, and D. B. L. P. Murphy, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1989**, *54*, 657.
- [92] J. I. Jönsson, N. W. Boyce, K. Eichmann, *Eur. J. Immunol.* **1989**, *19*, 253.
- [93] N. W. Boyce, J. I. Jönsson, F. Emmrich, K. Eichmann, *J. Immunol.* **1988**, *141*, 2882.
- [94] M. Bekoff, T. Kakiuchi, H. M. Grey, *J. Immunol.* **1985**, *134*, 1337.
- [95] C. A. Janeway, Jr., *Nature* **1988**, *335*, 208.
- [96] P. Wassmer, C. Chan, L. Lodgeberg, E. M. Shevach, *J. Immunol.* **1985**, *135*, 2237.
- [97] P. M. Rosoff, S. J. Burakoff, J. L. Greenstein, *Cell* **1987**, *49*, 845.
- [98] J. P. Tite, A. Sloan, C. A. Janeway Jr., *J. Mol. Cell. Immunol.* **1986**, *2*, 179.
- [99] I. Bank, L. Chess, *J. Exp. Med.* **1985**, *162*, 1294.
- [100] U. Dianzani, A. Shaw, B. K. Al-Ramadi, R. T. Kubo, C. A. Janeway, Jr., *J. Immunol.* **1992**, *148*, 678.
- [101] F. Emmrich, U. Strittmatter, K. Eichmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1986**, *83*, 8298.
- [102] F. Emmrich, L. Kanz, K. Eichmann, *Eur. J. Immunol.* **1987**, *17*, 643.
- [103] F. Emmrich, P. Rieber, R. Kurle, K. Eichmann, *Eur. J. Immunol.* **1988**, *18*, 645.
- [104] K. Eichmann, J. I. Jönsson, I. Falk, F. Emmrich, *Eur. J. Immunol.* **1987**, *17*, 643.
- [105] P. Anderson, M. Blue, C. Morimoto, S. F. Schlossman, *J. Immunol.* **1987**, *139*, 678.
- [106] A. Kupfer, S. J. Singer, C. A. Janeway Jr., S. L. Swain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1987**, *84*, 5888.
- [107] A. Kupfer, S. J. Singer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 8216.
- [108] A. Kupfer, S. J. Singer, *J. Exp. Med.* **1989**, *170*, 1697.
- [109] R. S. Mitterl, S. J. Goldman, G. L. Spitalny, S. J. Burakoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 8531.
- [110] J. M. Rojo, C. A. Janeway, Jr., *J. Immunol.* **1988**, *140*, 1081.
- [111] J. M. Rojo, K. Saizawa, C. A. Janeway, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 3311.
- [112] K. Saizawa, J. Rojo, C. A. Janeway, Jr., *Nature* **1987**, *328*, 260.
- [113] P. Anderson, M. L. Blue, S. F. Schlossman, *J. Immunol.* **1988**, *140*, 1732.
- [114] S. Suzuki, I. Kupsch, K. Eichmann, K. M. Saizawa, *Eur. J. Immunol.* **1992**, *22*, 2475.
- [115] Z. Dembic, W. Haas, R. Zamoyska, J. R. Parnes, M. Steinmetz, H. von Boehmer, *Nature* **1987**, *326*, 510.
- [116] J. Gabert, C. Langler, R. Zamoyska, J. R. Parnes, A. M. Schmidt-Verhulst, B. Malissen, *Cell* **1987**, *50*, 545.
- [117] R. Schmidt-Ullrich, K. Eichmann, *Int. Immunol.* **1990**, *2*, 247.
- [118] D. Lj. Jankovic, D. Woodland, I. Melchers, H. U. Weltzien, R. T. Kubo, K. Eichmann, *J. Exp. Med.* **1986**, *163*, 1459.
- [119] J. L. Greenstein, J. Kappler, P. Marrack, S. J. Burakoff, *J. Exp. Med.* **1984**, *159*, 1213.
- [120] J. L. Greenstein, B. Malissen, S. J. Burakoff, *J. Exp. Med.* **1985**, *162*, 369.
- [121] W. G. Ballhausen, A. B. Reske-Kunz, B. Tourvieille, P. S. Ohashi, J. R. Parnes, T. W. Mak, *J. Exp. Med.* **1988**, *167*, 1493.
- [122] B. Jones, P. A. Khavari, P. J. Conrad, C. A. Janeway, Jr., *J. Immunol.* **1987**, *139*, 380.
- [123] P. Aparicio, J. A. Lopez de Castro, *Hum. Immunol.* **1989**, *24*, 295.
- [124] M. C. Miceli, J. R. Parnes, *Semin. Immunol.* **1991**, *3*, 133.
- [125] M. C. Miceli, J. R. Parnes, *Semin. Immunol.* **1991**, *3*, 133.
- [126] N. Glaichenhaus, N. Shastri, D. R. Littman, J. M. Turner, *Cell* **1991**, *64*, 511.
- [127] N. J. Chalupny, J. A. Ledbetter, P. Kavathas, *EMBO J.* **1991**, *10*, 1201.
- [128] A. Reimann, E. Ehrfeld, J. Kupsch, B. Maier, K. M. Saizawa, B. Clinchy, K. Eichmann, *Immunol. Lett.* **1991**, *30*, 149.
- [129] R. Shimonkevitz, B. Luescher, J. C. Cerottini, H. R. MacDonald, *J. Immunol.* **1985**, *135*, 892.
- [130] J. L. Maryanski, P. Pala, J. C. Cerottini, H. R. MacDonald, *Eur. J. Immunol.* **1988**, *18*, 1863.
- [131] P. Marrack, R. Endres, R. Shimonkevitz, A. Zlotnik, D. Dialynas, F. W. Fitch, J. Kappler, *J. Exp. Med.* **1983**, *158*, 1077.
- [132] M. K. Saizawa, E. Hug, S. Haque, P. Portholes, S. Suzuki, K. Eichmann, *J. Immunol.* **1992**, *148*, 702.
- [133] K. Eichmann, E. Ehrfeld, I. Falk, H. Goebel, J. Kupsch, A. Reimann, A. Zgaga-Griesz, K. M. Saizawa, P. Yachelini, K. Tomonari, *J. Immunol.* **1991**, *147*, 2075.
- [134] T. H. Finkel, R. T. Kubo, J. C. Cambier, *Immunol. Today* **1991**, *12*, 79.
- [135] P. Borgulya, H. Kishi, U. Muller, J. Kirberg, H. von Boehmer, *EMBO J.* **1991**, *10*, 913.
- [136] E. A. Robey, B. J. Fowlkes, J. W. Gordon, D. Kiousis, H. von Boehmer, F. Ramsdell, R. Axel, *Cell* **1991**, *64*, 99.
- [137] P. Yachelini, I. Falk, and K. Eichmann, *J. Immunol.* **1990**, *145*, 1382.
- [138] A. L. Ingold, C. Landel, C. Knoll, G. A. Evans, T. A. Potter, *Nature* **1991**, *352*, 721.
- [139] M. Zijlstra, N. E. Simister, J. M. Loring, D. H. Raulet, R. Jaenisch, *Nature* **1990**, *344*, 742.
- [140] D. Cosgrove, D. Gray, A. Dierich, J. Kaufman, M. Lemeur, C. Benoit, D. Mathis, *Nature* **1992**, im Druck.
- [141] W. P. Fungleung, M. W. Schilhan, A. Rahemtulla, T. M. Kundig, M. Vollenweider, J. Potter, W. van Ewijk, T. W. Mak, *Cell* **1991**, *65*, 443.