

HZI - Abteilung für Experimentelle Immunologie

Gemeinsame Berufungen mit dem Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung

■ Leiter: Prof. Dr. Jochen Hühn

Tel.: 0531/6181-3310 • E-Mail: jochen.huehn@helmholtz-hzi.de • www.helmholtz-hzi.de/de/forschung/forschungsschwerpunkte/immunsystem_und_immunabwehr/experimentelle_immunologie/unsere_forschung/

■ Keywords: Regulatorische T-Zellen, T-Zell-Differenzierung, Epigenetik, Immunsuppression, Toleranz, Infektionen

Forschungsprofil

Das Immunsystem hat verschiedene Strategien entwickelt, um den Organismus vor Infektionen zu schützen und eindringende Pathogene effizient zu eliminieren. Neben dem schnell verfügbaren, aber unspezifischen Angeborenen Immunsystem gibt es das Adaptive Immunsystem, welches sich nicht nur durch eine sehr hohe Spezifität, sondern auch durch ein immunologisches Gedächtnis auszeichnet. Zentrale Akteure dieses Adaptiven Immunsystems sind die sogenannten CD4⁺ Helfer-T-Zellen, welche im Fokus der Abteilung Experimentelle Immunologie stehen. Die CD4⁺ Helfer-T-Zellen besitzen eine hohe Plastizität und können nach Antigenkontakt in verschiedene Effektor-T-Zell-Subpopulationen differenzieren. Die Population an CD4⁺ Helfer-T-Zellen besteht jedoch nicht nur aus inflammatorischen Effektor-T-Zellen. Vor einigen Jahren wurde eine CD4⁺ T-Zell-Subpopulation beschrieben, die suppressorische Eigenschaften besitzt und Immunantworten effizient unterdrücken kann. Diese sogenannten regulatorischen T-Zellen, kurz Tregs genannt, spielen eine Schlüsselrolle für die Aufrechterhaltung immunologischer Toleranz. Ohne Tregs würde das Immunsystem körpereigene Strukturen attackieren und Autoimmunerkrankungen auslösen. Sind sie jedoch in zu großer Zahl vorhanden, können sie notwendige und erwünschte Immunantworten gegen Krankheitserreger oder Tumore unterdrücken. Ihre korrekte Zahl ist daher ein wichtiger Bestandteil in der Balance des Immunsystems. Eine Modulation ihrer Zahl oder eine gezielte Beeinflussung ihrer funktionellen Eigenschaften birgt daher großes therapeutisches Potential, nicht nur zur Unterdrückung unerwünschter Immunreaktionen (z. B. Autoimmunität, Graft-versus-Host-Disease oder Transplantatabstoßung), sondern auch, um eine effektivere Immunantwort gegen chronische Infektionen oder Tumore zu ermöglichen. Aus diesen Gründen untersuchen wir die Faktoren, die die Entstehung, Homöostase und Wirkmechanismen der Tregs beeinflussen.

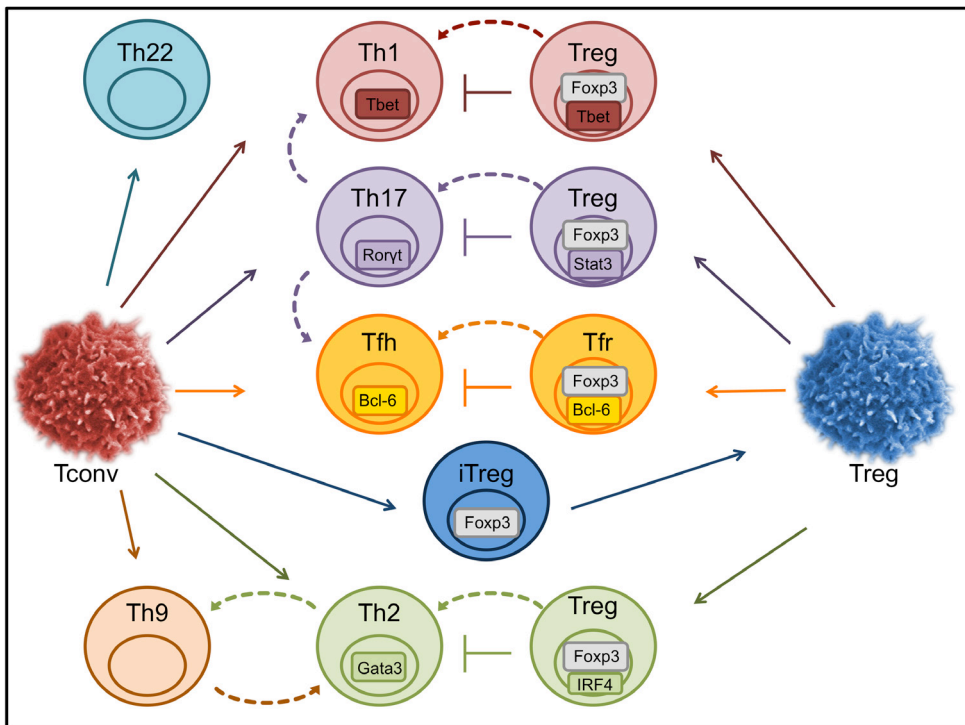
Obwohl seit einiger Zeit bekannt ist, dass epigenetische Mechanismen zur Fixierung von Immunzellphänotypen beitragen, sind die molekularen Details dieser Prozesse weitgehend unbekannt. Durch ein besseres Verständnis der Ereignisse, die zu einem epigenetischen Imprinting von Genexpressionsmustern führen, wird es in Zukunft möglich sein, maßgeschneiderte Immunzellpopulationen mit epigenetisch fixierten Eigenschaften für therapeutische Anwendungen herzustellen. Darüber hinaus gibt es bisher nur unzureichende Kenntnisse von dem Einfluss von Infektionen sowie anderen Umweltfaktoren wie z. B. Ernährung, Mikrobiota oder chronische Entzündungen auf die Epigene von Immunzellen. Diese epigenetischen Veränderungen können, insbesondere wenn sie im jungen Alter erworben werden, langanhaltende Konsequenzen für die Funktionalität des Immunsystems nach sich ziehen. Ein wesentlicher Forschungsschwerpunkt der Abteilung Experimentelle Immunologie ist die Untersuchung des Einflusses von Infektionen und anderen Faktoren auf die Epigene von Immunzellen. Darüber hinaus stehen insbesondere die epigenetischen Veränderungen im Fokus, die mit der Differenzierung der CD4⁺ Helfer-T-Zellen in Effektor-T-Zell-Subpopulationen und Tregs einhergehen und die eine Rolle für die Stabilisierung der besonderen Funktionen dieser T-Zellen spielen.

Ausgewähltes Forschungsprojekt (mit Stichtag 01.12.2015)

Epigenetische Signaturen von regulatorischen und inflammatorischen T-Helfer-Zellen

■ Projektleiter: Hühn, Jochen (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Lochner, Matthias (Dr.), Twincore; Sparwasser, Tim (Prof. Dr.), Twincore; Werfel, Thomas (Prof. Dr.); Witte, Torsten (Prof. Dr.); Förderung: DFG (KFO250), Helmholtz-Gemeinschaft (iMed), EU (ITN ENLIGHT-TEN)

Naive, konventionelle CD4⁺ T-Zellen sind sehr plastisch und können nach Antigenkontakt in hochspezialisierte Effektor-T-Zell-Subpopulationen differenzieren, wie z. B. Th1-, Th2-, Th9-, Th17-, Th22- und TFH-Zellen, die durch die Expression von spezifischen Transkriptionsfaktoren sowie unterschiedlichen Zytokinen gekennzeichnet sind (Abbildung 1).



Diese Differenzierung geht einher mit einer Reihe von epigenetischen Veränderungen, welche die Fixierung von Effektor-T-Zell-Phänotypen in den unterschiedlichen T-Helfer-Zellen ermöglicht. Gleiches gilt für die immunsuppressorischen regulatorischen T-Zellen (Tregs), welche entweder während der Reifung der T-Zellen im Thymus entstehen oder in sekundären lymphatischen Organen aus naiven CD4⁺ T-Zellen differenzieren. Die Aufklärung der einzigartigen epigenetischen Signaturen von regulatorischen T-Zellen (Tregs) sowie inflammatorischen Effektor-T-Zell-Subpopulationen eignen sich nicht nur als neuartige Biomarker zur Quantifizierung von unterschiedlichen T-Zell-Subpopulationen in Patientenmaterial, sondern erlauben zum anderen neue Erkenntnisse über die Differenzierung dieser T-Zell-Subpopulationen sowie über ihre funktionellen Eigenschaften.

Kürzlich konnten wir mittels einer Genom-weiten DNA-Methylierungsanalyse von ex vivo isolierten murinen T-Zell-Subpopulationen erstmals die epigenetische Signatur von Interleukin-17-produzierenden Th17-Zellen beschreiben, welche nicht nur eine wichtige Rolle bei der Abwehr von verschiedenen Pathogenen spielen, sondern auch in die Pathogenese verschiedener Autoimmunerkrankungen involviert sind. Die Th17-spezifische epigenetische Signatur besteht aus sieben Genregionen (Il17a, Zfp362, Ccr6, Acsbg1, Dpp4, Rora und Dcl1), deren CpG-Motive in Th17-Zellen

verstärkt demethyliert vorliegen (Abbildung 2).

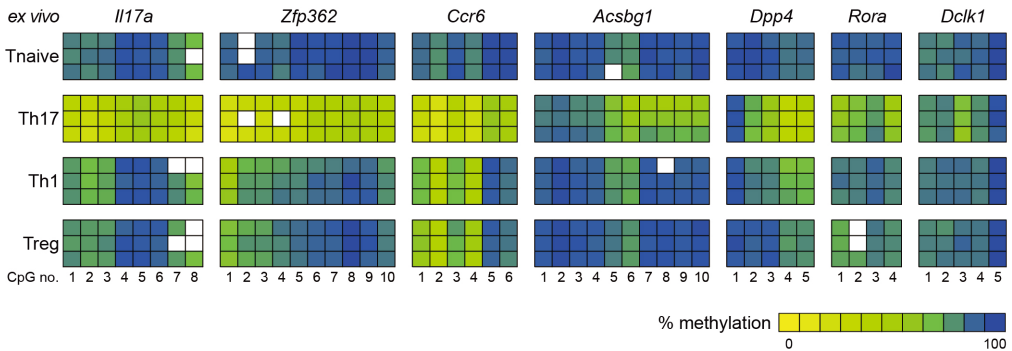


Abb. 2: Die Th17-spezifische epigenetische Signatur. Jedes Kästchen entspricht einem CpG-Motiv; der Methylierungsgrad ist farbkodiert.

Interessanterweise zeigen jedoch nicht nur Interleukin 17-produzierende Th17-Zellen eine verstärkte Demethylierung der sieben Genregionen der Th17-spezifischen epigenetischen Signatur, sondern auch eine Subpopulation an Tregs, welche zusätzlich zu dem Treg-spezifischen Transkriptionsfaktor Foxp3 noch den für Th17-Zellen spezifischen Transkriptionsfaktor ROR γ t exprimiert. Die Foxp3⁺ROR γ t⁺ T-Zellen weisen demnach einen Hybridphänotyp auf und zeigen Eigenschaften von Tregs und Th17-Zellen. Funktionelle Studien deuten jedoch darauf hin, dass die Foxp3⁺ROR γ t⁺ T-Zellen als Tregs fungieren und eine besonders hohe suppressorische Kapazität im Kontext von gastrointestinalen Entzündungen besitzen.

Derzeit analysieren wir epigenetische Signaturen von ex vivo isolierten humanen T Helfer-Zell-Klonen mittels Genom-weiter Bisulfidsequenzierungen (Bi-Seq). Auch diese Klone weisen einzigartige DNA-Methylierungsmuster auf, welche in Zukunft nicht nur hinsichtlich ihrer funktionellen Bedeutung für den Phänotyp der unterschiedlichen Effektor-T-Zell-Subpopulationen untersucht werden sollen, sondern auch hinsichtlich ihres Potentials für die Nutzung als neuartige und hochspezifische Biomarker. Für die immunsuppressorischen Tregs konnten wir mit der sogenannten TSDR, der Treg-specific demethylated region, schon einen solchen hochspezifischen Biomarker identifizieren. In dieser evolutionär konservierten Region des Foxp3 Locus sind alle CpG-Motive in Tregs, welche einen stabilen Phänotyp aufweisen, selektiv demethyliert. Dadurch ist eine zweifelsfreie und verlässliche Quantifizierung von Tregs in Patientensmaterial mit Hilfe eines epigenetischen Assays möglich. Mit Hilfe dieses Assays konnten wir zeigen, dass die Frequenz an Tregs im peripheren Blut von Lupus-Patienten sowie von Patienten mit schwerer atopischer Dermatitis im Vergleich zum peripheren Blut von gesunden Spendern signifikant erhöht ist.

Weitere Forschungsprojekte

Generierung von stabilen, Alloantigen-spezifischen Foxp3⁺ regulatorischen T-Zellen

■ Projektleiter: Hühn, Jochen (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Jaeckel, Elmar (Dr.); Hardtke-Wolenski, Matthias (PD Dr.); Förderung: DFG (SFB738)

Tolerogene Eigenschaften von Stromazellen Darm-drainierender Lymphknoten

■ Projektleiter: Hühn, Jochen (Prof. Dr.); Förderung: EU (Marie Skłodowska-Curie Stipendium)

Entwicklung, Differenzierung und Homöostase von Foxp3⁺ regulatorischen T-Zellen

■ Projektleiter: Hühn, Jochen (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Meyer-Hermann, Michael (Prof. Dr.); HZI; Förderung: DAAD

Die immunologische Synapse von regulatorischen T-Zellen

■ Projektleiter: Hühn, Jochen (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Jänsch, Lothar (Prof. Dr.), HZI; Förderung: DFG (SFB854)

Hemmung der suppressorischen Eigenschaften von Foxp3⁺ regulatorischen T-Zellen

■ Projektleiter: Hühn, Jochen (Prof. Dr.); Kooperationspartner: Sparwasser, Tim (Prof. Dr.), Twincore; Förderung: Wilhelm-Sander Stiftung

Originalpublikationen

Milanez-Almeida, P., Ulas, T., Pasztoi, M., Glage, S., Schughart, K., Lutz, M. B., Schultze, J. L., Huehn, J. CD11b+Ly6C++Ly6G- cells with suppressive activity towards T cells accumulate in the lungs of influenza A virus-infected mice. *Eur J Microbiology and Immunology* 5:246-55

Pasztoi, M., Pezoldt, J., Huehn, J. Microenvironment matters: unique conditions within gut draining lymph nodes favor efficient de novo induction of regulatory T cells. *Progress in Molecular Biology and Translational Science* 136:35-56

Klysz, D., Tai, X., Robert, P.A., Craveiro, M., Cretenet, G., Oburoglu, L., Mongellaz, C., Floess, S., Fritz, V., Matias, M., Yong, C., Surh, N., Marie, J.C., Huehn, J., Zimmermann, V., Kinet, S., Dardalhon, V., Taylor, N. Glutamine-dependent α -ketoglutarate production regulates the balance between T helper 1 cell and regulatory T cell generation. *Sci Signal*. 8:ra97

Yang, B.-H., Hagemann, S., Mamareli, P., Lauer, U., Hoffmann, U., Beckstette, M., Föhse, L., Prinz, I., Pezoldt, J., Suerbaum, S., Sparwasser, T., Hamann, A., Floess, S., Huehn, J.*, Lochner, M.* Foxp3⁺ T cells expressing ROR γ t represent a stable regulatory T cell effector lineage with enhanced suppressive capacity during intestinal inflammation. *Mucosal Immunol* doi: 10.1038/mi.2015.74.

Roesner, L.M., Floess, S., Witte, T., Olek, S., Huehn, J.*, Werfel, T.* Foxp3⁺ regulatory T cells are expanded in severe atopic dermatitis patients. *Allergy* doi: 70:1656-60

Braun A, Dewert N, Brunnert F, Schnabel V, Hardenberg JH, Richter B, Zachmann K, Cording S, Claßen A, Brans R, Hamann A, Huehn J, Schön MP. Integrin α (CD103) is involved in regulatory T-cell function in allergic contact hypersensitivity. *J Invest Dermatol*. 135:2982-91

Huehn, J., Floess, S., Ohkura, N., Sakaguchi, S. Comment on „Cutting Edge: Epigenetic regulation of Foxp3 defines a stable population of CD4⁺ regulatory T cells in tumors from mice and humans“ *J Immunol* 194:3533

Huehn, J, Beyer, M. Epigenetic and transcriptional control of Foxp3⁺ regulatory T cells. *Semin Immunol* 27:10-18.

Yang, B.-H., Floess, S., Hagemann, S., Deyneko, I.V., Groebe, L., Pezoldt, J., Sparwasser, T., Lochner, M., Huehn, J. Imprinting of a unique epigenetic signature during in vivo Th17 differentiation. *Nucleic Acids Res* 43:1537-1548.

Tebartz, C., Horst, S.A., Sparwasser, T., Huehn, J., Beineke, A., Peters, G., Medina, E. A Major Role for Myeloid-Derived Suppressor Cells and a Minor Role for Regulatory T Cells in Immunosuppression during *Staphylococcus aureus* Infection. *J Immunol* 194:1100-1011.

Franckaert, D, Dooley, J, Roos, E, Floess, S, Huehn, J, Luche, H, Fehling, HJ, Liston, A, Linterman, MA, Schlenner, SM. Promiscuous Foxp3-cre activity reveals a differential requirement for CD28 in Foxp3⁺ and Foxp3⁻ T cells. *Immunol Cell Biol* 93:417-23

*gleichberechtigte Autoren

Stipendien

Szente-Pasztoi, Maria (Dr.): Marie Skłodowska-Curie Stipendium.

Elfaki, Yassin: DAAD Stipendium.

Weitere Tätigkeiten in der Forschung

Höhn, Jochen (Prof. Dr.): Vorstandsmitglied im SFB738 und SFB854, Beiratsmitglied der Deutschen Gesellschaft für Immunologie (DGfI), Gutachter für verschiedene Forschungsförderer, Ad hoc Reviewer für verschiedene Fachzeitschriften.