

Role of chemokines in antiviral immunity and immunopathology

Doctoral Thesis

Author(s):

Junt, Tobias Michael

Publication date:

2003

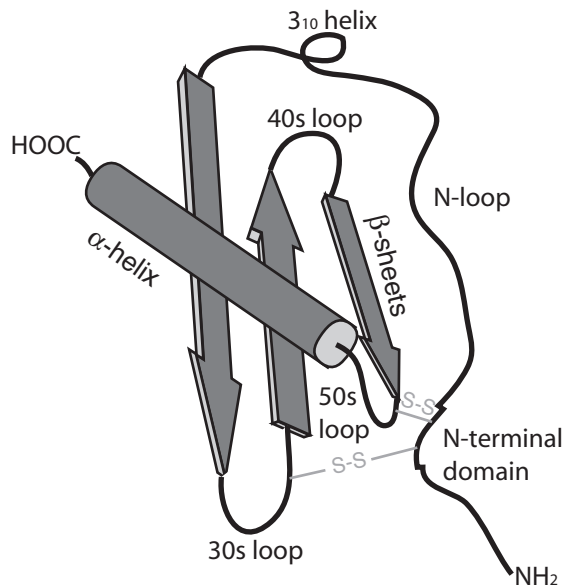
Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004621333>

Rights / license:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

Role of chemokines in antiviral immunity and immunopathology



A dissertation submitted to the
Swiss Federal Institute of Technology
Zürich, Switzerland

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

Presented by
Tobias Michael Junt
Dipl. Natw. ETH
born 09.05.1974
citizen of Germany

March 2003

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Hans Hengartner, examiner
PD Dr. Burkhard Ludewig, co-examiner
Prof. Dr. Reinhold Förster, co-examiner

1. SUMMARY

Chemokines are small (8-14 kDa) proteins with high structural homology. The main task of chemokines is to help to establish local microenvironments of the immune system by the attraction of defined subsets of cells. Functionally, chemokines fall into two groups: a large group of inflammatory chemokines which help to build up the inflammatory environment after an insult in the periphery, and a smaller group of constitutive chemokines which are mainly produced within secondary lymphoid organs and help to form the specialized microenvironments within these organs. Chemokines thus play a central part in compartmentalizing and orchestrating the immune response.

The constitutive chemokines produced within secondary lymphoid organs are CCL19 (ELC; Epstein-Barr virus-induced molecule 1 Ligand Chemokine), CCL21 (SLC; Secondary Lymphoid organ Chemokine) and CXCL13 (BLC; B Lymphocyte Chemoattractant). CCL19 and CCL21 ligate the chemokine receptor CCR7 while CXCL13 ligates the chemokine receptor CXCR5.

These key players organize the lymphoid microstructure, and studies in mice with genetically engineered or natural mutations have evidenced their morphogenetic role. $CCR7^{-/-}$ mice and a natural mouse mutant strain lacking lymphoid CCL19 and CCL21 (*plt/plt*) show a similar phenotype in that splenic T cell zones are absent and the number of T cells within lymph nodes is severely diminished. $CXCR5^{-/-}$ mice show an aberrant organization of the splenic B cell zone with ectopic germinal centers forming around central arterioles of the spleen.

Although the morphogenetic role of CXCR5, CCR7 and their respective ligands was well characterized *in vivo*, their functional role *in vivo*, particularly during virus infections, had not been sufficiently investigated. Mice lacking lymph nodes (*aly/aly*) or certain compartments within lymphoid organs, e.g. the marginal zone, are highly susceptible to virus infections and fail to clear the virus. To learn more about the cellular interactions within secondary lymphoid organs during virus infections and to define the importance of lymphoid microstructures, we infected *plt/plt*, $CCR7^{-/-}$ and $CXCR5^{-/-}$ mice with the noncytopathogenic Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV) and the cytopathogenic Vesicular Stomatitis Virus (VSV).

Surprisingly, *plt/plt* mice did differ in their ability to protect against both viruses, indicating that B and T cell responses can be mounted normally in the absence of a

functional T cell zone. However, CCR7^{-/-} mice, an apparently complementary mouse model, displayed slower kinetics in their antiviral immune response. We hypothesize that in the absence of CCR7 there is this a more pronounced defect in the migration of dendritic cells (DC) from the periphery to secondary lymphoid organs. In addition, CCR7^{-/-} mice allowed us to study the induction and maintenance of antiviral memory. Memory CTL from all organs show the same efficacy of target lysis and interferon production, independently of their CCR7 expression. This challenges the concept of “central” and “peripheral” memory and defines CCR7 as a mere marker for CTL localization rather than a correlate of CTL function.

We found that the impaired immunoglobulin class switch in CXCR5^{-/-} mice is especially pronounced when antigen is limiting, i.e. in the memory phase, after clearance of the virus or after immunization with protein. These findings provide evidence for the fact in cases of limited T and B cell expansion, the induction of functional immune responses relies especially on their correct positioning along chemokine gradients.

Taken together, we conclude that constitutive chemokines represent an innate immune mechanism increasing the probability of contacts between APC and lymphocytes in secondary lymphoid organs.

2. ZUSAMMENFASSUNG

Chemokine sind 8-14 kDa grosse Proteine von hoher struktureller Homologie. Ihre Hauptaufgabe besteht darin, Mikroumgebungen des Immunsystems durch Chemoattraktion bestimmter Zelltypen zu schaffen. Sie lassen sich in zwei funktionelle Gruppen unterteilen: zum einen in eine grosse Gruppe inflammatorischer Chemokine, die das entzündliche Milieu nach einer Verletzung in der Peripherie schaffen, und zum anderen in eine kleine Gruppe konstitutiver Chemokine, die vor allem von sekundären lymphatischen Organen gebildet werden und dort für die Organisation spezialisierter Mikroumgebungen mitverantwortlich sind. Chemokine spielen also eine zentrale Rolle bei der Orchestrierung und Kompartimentalisierung von Immunreaktionen.

Die konstitutiven Chemokine, die von sekundären lymphatischen Organen produziert werden heissen CCL19 (ELC; Epstein-Barr virus-induziertes Molekül 1 Ligand-Chemokin) und CCL21 (SLC; Sekundäres-Lymphoides Organ Chemokin), beides Liganden für den Chemokinrezeptor CCR7. Ein weiteres konstitutives Chemokin, CXCL13, (BLC; B Lymphozyten Chemoattraktans) bindet den Chemokinrezeptor CXCR5.

Diese Schlüssel-moleküle organisieren die lymphoiden Mikroumgebungen und Untersuchungen von genetisch veränderten Mäusen und natürlichen Mausmutanten haben ihre morphogenetische Rolle offengelegt. CCR7^{-/-} Mäuse und eine natürliche Mausmutante, der CCL19 und CCL21 fehlen (*plt/plt*), zeigen einen ähnlichen Phänotyp: die T Zell-Zonen der Milz fehlen und die Anzahl der T Zellen in den Lymphknoten ist deutlich verringert. CXCR5^{-/-} Mäuse hingegen haben eine aberrante Organisation der B Zell-Zone, denn die Keimzentren sind ektopisch um die Zentralarteriole angeordnet.

Obwohl die morphogenetische Funktion von CXCR5, CCR7 und den jeweiligen Liganden bereits gut charakterisiert war, war doch ihre funktionelle Rolle *in vivo*, besonders nach Virusinfektionen, schlecht definiert. Mäuse ohne Lymphknoten (*aly/aly*) oder Mäuse ohne gewisse Kompartimente innerhalb von lymphatischen Organen (z.B. der Marginalzone), sind sehr anfällig für Virusinfektionen und können das Virus nicht aus dem Körper eliminieren. Um mehr über die zellulären Interaktionen während einer Virusinfektion zu erfahren und um die zentrale Bedeutung von lymphoiden Substrukturen zu untersuchen, haben wir *plt/plt* Mäuse,

CCR7^{-/-} Mäuse und CXCR5^{-/-} Mäuse nach Infektion mit dem nicht cytopathogenen Lymphozytischen Choriomeningitis Virus (LCMV) und dem cytopathogenen Vesikulären Stomatitis Virus (VSV) untersucht.

Ueberraschenderweise zeigten *plt/plt* Mäuse keinen Unterschied in der antiviralen Protektion gegenüber beiden Viren, was belegt, dass B und T Zell-vermittelte Immunantworten auch ohne eine funktionelle T Zell-Zone normal induziert werden können. Ein auf den ersten Blick komplementäres Mausmodell, die CCR7^{-/-} Maus, zeigte jedoch eine verlangsamte antivirale Protektion. Wir nehmen an, dass dies durch einen ausgeprägteren Defekt in der Rekrutierung peripherer dendritischer Zellen in die sekundären lymphatischen Organe verursacht wird. Ausserdem konnten wir mit Hilfe von CCR7^{-/-} Mäusen die Induktion und die Aufrechterhaltung des antiviralen immunologischen Gedächtnisses untersuchen. Memory-Zellen von allen untersuchten Organen zeigten die gleiche Fähigkeit zur direkten Zellyse und zur Interferonproduktion, unabhängig von ihrer CCR7-Expression. Dieser Befund stellt das Konzept von "zentralem" und "peripherem Memory" in Frage und definiert CCR7 eher als einen Marker für die Lokalisation zytotoxischer T Zellen, der aber für ihre Funktion selbst bedeutungslos ist.

Im Falle der CXCR5^{-/-} Maus fanden wir, dass der Immunoglobulin-Klassenwechsel in CXCR5^{-/-} Mäusen vor allem dann beeinträchtigt ist, wenn Antigen limitierend ist, d.h. in der Memory-Phase oder nach Immunisierung mit Protein. Diese Daten belegen die Annahme, dass insbesondere in Fällen einer eingeschränkten T und B Zell-Expansion die produktive Induktion von Immunantworten von der korrekten Lage dieser Zellen zueinander abhängt.

Zusammenfassend sehen wir uns zur Annahme berechtigt, dass konstitutive Chemokine eine grundlegende Bedeutung in der angeborenen Immunantwort spielen, da sie die Wahrscheinlichkeit spezifischer Zell-Zell-Kontakte in den sekundären lymphatischen Organen entscheidend steigern.