

DE LYMFOCYTEN VAN HET VARKEN ... MEER DAN ALLEEN MAAR HELPER T-CELLEN, CYTOTOXISCHE T-CELLEN EN B-CELLEN !

W. Van den Broeck¹, E. Cox², B.M. Goddeeris^{2,3}

¹Vakgroep Morfologie, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

²Vakgroep Virologie, Parasitologie en Immunologie, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België

³Laboratorium voor Fysiologie en Immunologie van de Huisdieren, Faculteit der Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Katholieke Universiteit Leuven, Kardinaal Mercierlaan 92, B-3001 Heverlee, België

wim.vandenbroeck@rug.ac.be

SAMENVATTING

Dit overzicht over het immuunsysteem van het varken beschrijft voornamelijk de verschillende lymfocytenuitpopulaties en -subpopulaties die bij het varken kunnen optreden. De onderverdeling van deze lymfocytenuitpopulaties gebeurt op basis van de aan- of afwezigheid van de celmerkers CD1, CD2, CD3, CD4, CD5, CD6 en CD8, waarbij voornamelijk de CD4- en CD8-merkers van groot belang zijn. Zo blijkt dat er naast de gebruikelijke CD4⁺ CD8⁻ (helper T-cellen) en CD4⁻ CD8⁺ (cytotoxische T-cellen) celpopulaties een reeks andere populaties en subpopulaties bestaat waarvan de functie nauwelijks gekend is. Twee celgroepen die bij het varken in hoge mate aanwezig zijn, maar bij andere diersoorten bijna niet voorkomen, zijn de CD4⁺ CD8⁺ (dubbel positief) en CD4⁻ CD8⁻ (dubbel negatief) cellen. Hieruit blijkt dat de verschillende celpopulaties een complexe verzameling van immunocompetente cellen vormen. Na antigenisch contact zal de wisselwerking tussen deze populaties onderling finaal resulteren in het opwekken van een immunoreactie of in het uitblijven van een immunoreactie, dit wil zeggen tolerantie. Daarom is het vanuit klinisch standpunt noodzakelijk om de verschillende populaties en subpopulaties te kennen met hun mogelijke functie(s) en interacties bij de ontwikkeling van efficiënte vaccins.

INLEIDING

Gedurende vele jaren werd het varken als proefdier gebruikt in humaan geneeskundig onderzoek, voornamelijk omwille van de vele gelijkenissen die er bestaan tussen het varken en de mens (Tumbleson *et al.*, 1996). Inderdaad, beide soorten vertonen overeenkomsten wat onder andere grootte, voedselpatroon, huidstructuur en cardiologische en pulmonaire fysiologie en anatomie betreft. Deze gelijkenissen gaan zo ver dat men overweegt om varkens te gebruiken als orgaan-donor voor de mens (Sachs, 1994). Ondanks deze overeenkomsten zijn er, ook op het gebied van het immuunsysteem, duidelijke verschillen op te merken.

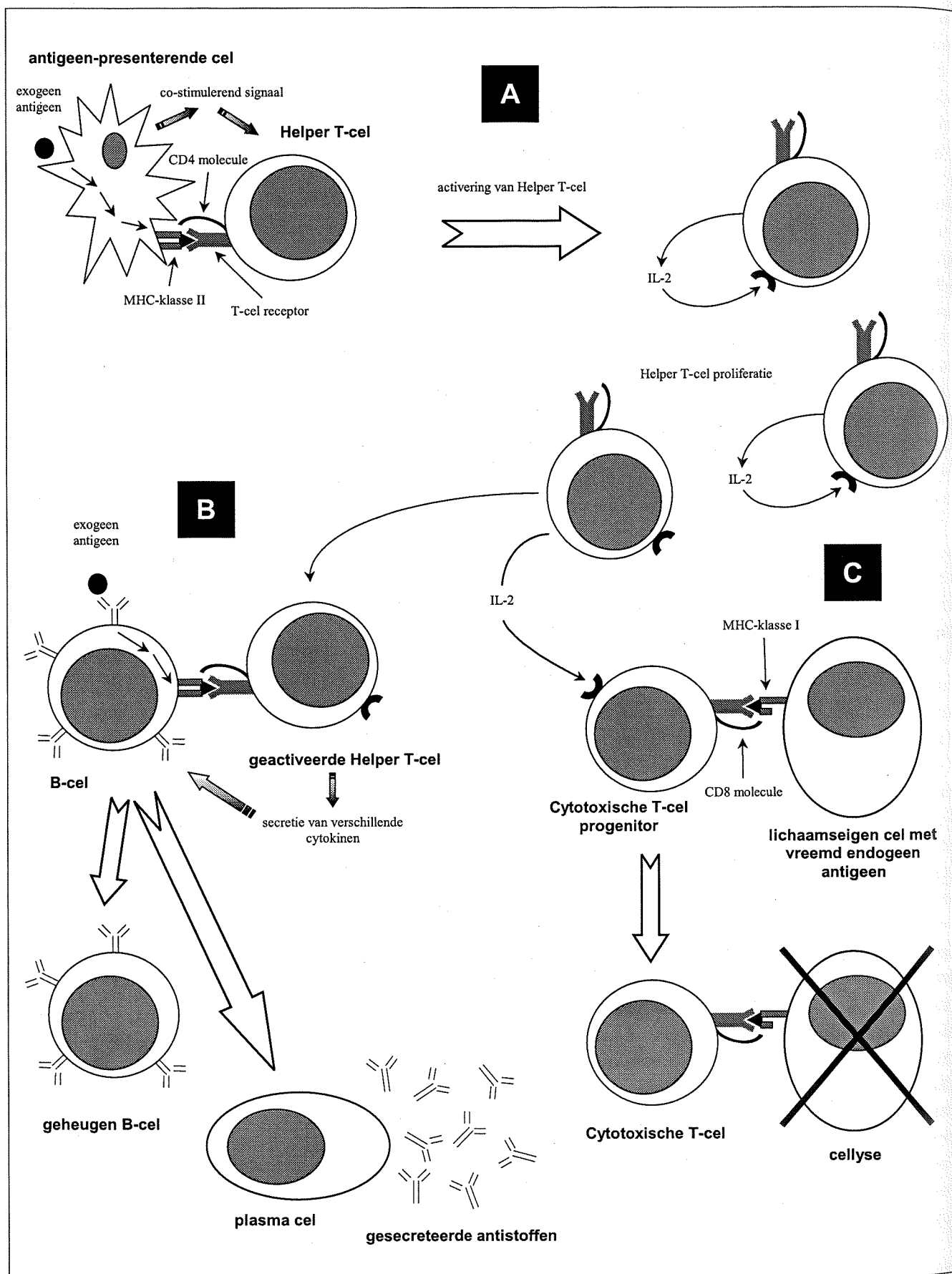
Zo beschikt het varken over een aantal merkwaardige immunobiologische kenmerken, zoals de omgekeerde histologische structuur van de lymfeknopen (Trautmann, 1925; Hunt, 1968), de ongebruikelijke circulatie van lymfocyten en voornamelijk het bestaan van verschillende en unieke T-celpopulaties. Dit laatste ken-

merk verschaft de mogelijkheid om de aard en de fysiologische functies van gespecialiseerde lymfocytenuitpopulaties en -subpopulaties nader te onderzoeken.

Dit overzicht geeft bondig de karakteristieken van het immuunsysteem van het varken weer, waarbij voornamelijk de verschillende lymfocytenuitpopulaties en -subpopulaties met hun mogelijke functie(s) beschreven worden.

DE INDUCTIE VAN EEN IMMUNRESPONS: ENKELE ALGEMEENHEDEN

Vooraleer onmiddellijk in detail te treden, worden kort enkele algemeenheden in verband met de inductie van een immunorespons besproken (Figuur 1). Dit laat toe om het verband tussen de verschillende componenten van het immuunsysteem te begrijpen. Voor een meer uitgebreid overzicht van de werking van het immuunsysteem wordt verwezen naar een eerder ver-



Figuur 1. Schematische voorstelling van de cellulaire interacties die betrokken zijn bij de inductie van een immuunrespons; activering van helper T-cellen (A) is vereist voor de ontwikkeling van een humorale respons (B) en een cel-gemedieerde respons (C).

schenen overzichtsartikel in dit tijdschrift (Goddeeris, 1996).

Het immuunsysteem is een afweermechanisme dat het individu beschermt tegen binnendringende micro-organismen en vreemde partikels, die algemeen "antigenen" worden genoemd. Deze antigenen activeren in de meeste gevallen het immuunsysteem en induceren een immuunrespons (primaire respons) die gekenmerkt wordt door zijn specificiteit en geheugen. Inderdaad, het immuunsysteem is in staat om een onderscheid te maken tussen vreemde moleculen enerzijds en lichaamseigen moleculen anderzijds. Het kan zelfs verschillende antigenen van elkaar onderscheiden. Tegelijkertijd wordt een geheugen opgebouwd, zodat bij een tweede contact met hetzelfde antigeen een snellere en intensere respons (secundaire respons) ontstaat.

De humorale immuunrespons

Wanneer een "exogeen" antigeen (exogeen = afkomstig van buiten de gastheercellen, dus NIET geproduceerd in het endoplasmatisch reticulum van de gastheercellen) het lichaam is binnengedrongen, kan het opgenomen worden door antigeen presenterende cellen, zoals bijvoorbeeld dendrietcellen en macrofagen (Figuur 1). Deze antigeen presenterende cellen worden alle gekenmerkt door het feit dat zij "klasse II major histocompatibiliteitsmoleculen" (MHC-klasse II; een heterodimeer molecuul bestaande uit een α - en een β -keten) tot expressie brengen aan hun celoppervlak (Figuur 5). Nadat het exogeen antigeen is opgenomen door deze cellen zal het intracellulair afgebroken worden tot kleine peptidefragmenten. Deze peptiden worden vervolgens door de antigeen presenterende cellen gepresenteerd op hun celoppervlak, in een groeve van de MHC-klasse II moleculen ("peptide - MHC-klasse II complex"). Een welbepaalde antigeenspecifieke helper T-cel (alle helper T-cellen worden gekenmerkt door de aanwezigheid van CD4-moleculen aan hun celoppervlak, in tegenstelling tot de cytotoxische T-lymfocyten die CD8-moleculen tot expressie brengen; voor verdere informatie omtrent de CD-nomenclatuur wordt verwezen naar de rubriek "CD-classificatie") gaat met zijn T-celreceptor en het CD4-molecuul een interactie aan met het "peptide-MHC-klasse II complex". Als deze interactie gepaard gaat met de nodige costimulerende signalen verstrekt door de antigeen presenterende cellen (onder andere de interactie tussen de B7-moleculen van de antigeen presenterende cellen en de CD28-mole-

culen van de helper T-cel), dan wordt de helper T-cel geactiveerd. Hierdoor gaat deze laatste receptoren voor interleukine-2 (IL-2) tot expressie brengen aan haar celoppervlak en vervolgens het cytokine IL-2 secreteren. Dit gesecreteerde IL-2 bindt op deze receptoren waardoor de geactiveerde helper T-cel zichzelf stimuleert (autostimulatie) met proliferatie tot gevolg (Figuur 1A). Op die manier ontstaat een populatie identieke antigeenspecifieke helper T-cellen (klonaal geëxpandeerde populatie), die een belangrijke rol speelt in de activering van B-lymfocyten (humorale respons; Figuur 1B) en cytotoxische T-lymfocyten (celgemedieerde respons; Figuur 1C). Helper T-cellen zullen ook andere cytokines produceren waardoor verscheidene niet-specifieke effectorcellen, zoals macrofagen en "natural killer cellen", gestimuleerd worden.

Naast de antigeenspecifieke helper T-cel zal ook een volledig volgroeide en rijpe (= rijpingsproces in het primaire lymfoïde orgaan volledig doorlopen) maar inactieve antigeenspecifieke B-cel het antigeen herkennen. Deze inactieve B-cel circuleert via het bloed en de lymfe doorheen de verschillende lymfoïde organen. Zij heeft slechts een korte levensduur, tenzij ze ergens een welbepaald specifiek antigeen herkent. Dit antigeen bindt op de "B-celreceptor", wat in feite een membraangebonden antistofmolecuul is. Na deze binding wordt het antigeen opgenomen, intracellulair verwerkt en aan het celoppervlak, samen met de MHC-klasse II moleculen, gepresenteerd aan de (geactiveerde) antigeenspecifieke helper T-cel. De B-cel speelt hier dus de rol van antigeen presenterende cel. Daarop secreteert de helper T-cel verscheidene cytokines (dit zijn signaalmoleculen, zoals IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 en interferon- γ [IFN- γ]), die inwerken op de B-cel en deze activeren. Als gevolg daarvan ondergaat de geactiveerde B-lymfocyt gedurende een vijftal dagen een aantal celdelingen om finaal te differentiëren in een populatie van identieke antistofsecreterende plasmacellen enerzijds (deze produceren alle identieke antigeenspecifieke antistoffen) en rustende antigeenspecifieke geheugencellen anderzijds. De antistoffen worden gesecreteerd in de lichaamsvocht (lichaamsvocht = humor), vandaar dat deze immuunrespons de humorale respons wordt genoemd.

De cellulaire immuunrespons

De celgemedieerde respons wordt opgebouwd door cytotoxische effectorcellen, zoals T-lymfocyten die gekenmerkt worden door CD8-oppervlaktemoleculen. Net zoals bij de humorale respons is ook hier

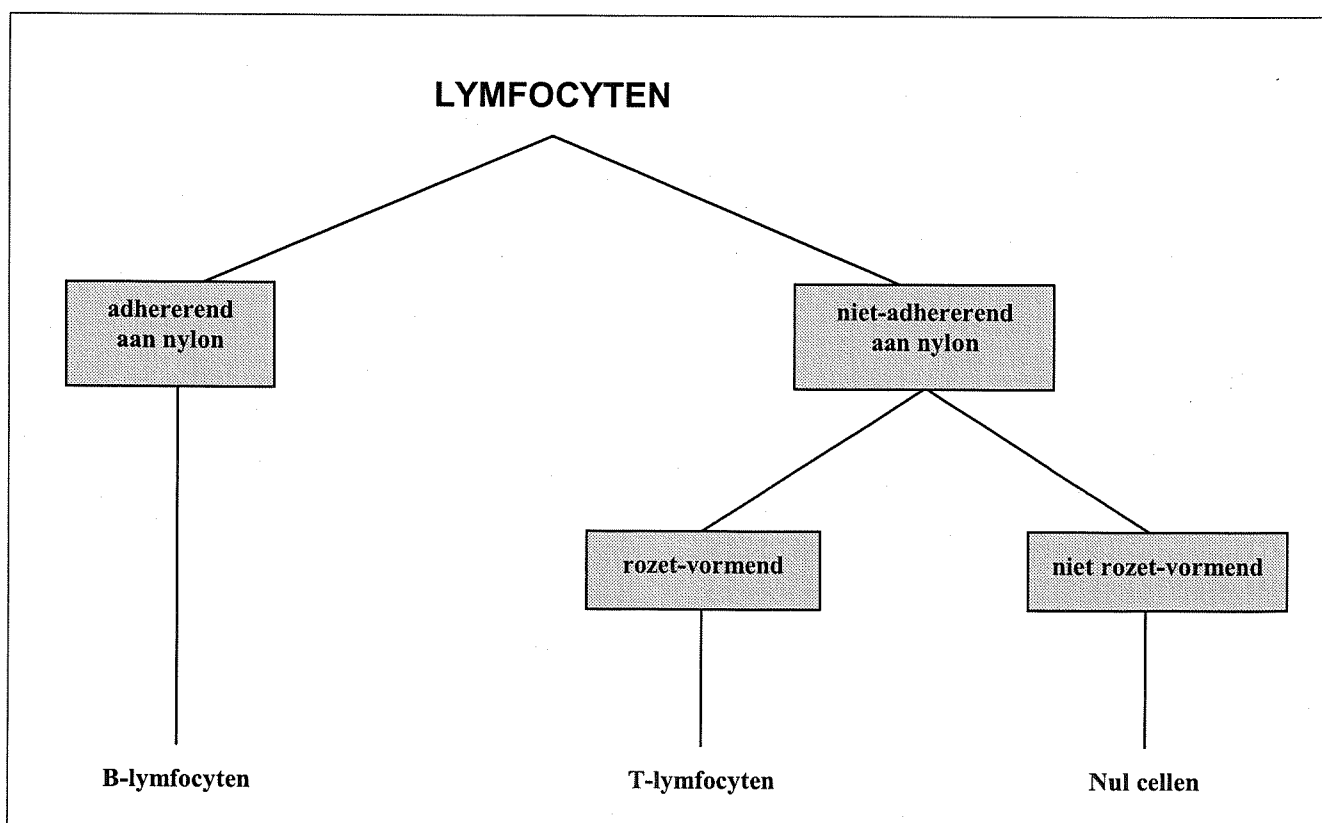
een klonaal geëxpandeerde populatie helper T-cellen vereist. Een antigeenspecifieke, inactieve CD8⁺ cytotoxische T-cel herkent via zijn "T-cel receptor - CD8 complex" een "endogeen" antigeen (endogeen = geproduceerd binnenin de gastheercellen, bijvoorbeeld viruspartikels) dat gepresenteerd wordt door MHC-klasse I moleculen (Figuur 5). Deze MHC-klasse I moleculen bevinden zich aan het celoppervlak van elke gekernde cel (in tegenstelling tot MHC-klasse II moleculen die enkel op antigeenpresenterende cellen aanwezig zijn). Deze interactie, samen met het door de helper T-cellen gesecreteerde IL-2, activeren de inactieve cytotoxische T-cel tot een actieve cytotoxische T-lymfocyt (CTL). Deze CTL zal de gastheercellen die vreemde antigenen samen met MHC-klasse I presenteren aan hun oppervlak, doden via beschadiging van de celmembraan en/of inductie van apoptosise (= cellulaire zelfmoord; de cel doodt zichzelf). In bepaalde gevallen dragen antistoffen ook bij tot de celgemedieerde respons, wat de antistofafhankelijke, celgemedieerde cytotoxiciteit of ADCC wordt genoemd. In dit proces binden antistoffen specifiek aan doelwitantigenen op vreemde cellen, bijvoorbeeld virusgeïnficeerde cellen, waarna ze met hun Fc-deel aan macrofagen, neutrofielen, of "natural killer cellen" kunnen binden. Deze laatste

worden daardoor geactiveerd en kunnen vervolgens de door de antistoffen herkende cellen doden.

DE VERSCHILLENDE LYMFOCYTEN VAN HET VARKEN

CD-classificatie

Lange tijd werden de lymfocyten van het varken opgedeeld in nylonadhererende cellen (B-cellen of B-lymfocyten) en niet-adhererende cellen (Binns, 1982) (Figuur 2). De niet-adhererende cellen werden op hun beurt verder onderverdeeld in cellen die, gemengd met rode bloedcellen, rozetten vormen (T-cellen of T-lymfocyten), en cellen die deze eigenschap niet vertonen (nul-cellen) (Binns *et al.*, 1977). Een meer gedetailleerde analyse van de verschillende populaties werd mogelijk door de ontwikkeling van monoklonale antistoffen (MA's) die bepaalde membraanmoleculen aanwezig op leukocyten herkennen. Aangezien sommige van deze membraanmoleculen specifiek zijn voor welbepaalde lymfocytenpopulaties kunnen zij gebruikt worden als merkers. De eerste MA's gericht tegen deze "lymfocytenmerkers" van het varken waren beschikbaar in 1984 (Pescovitz *et al.*, 1984), waarna snel andere werden ontwikkeld.



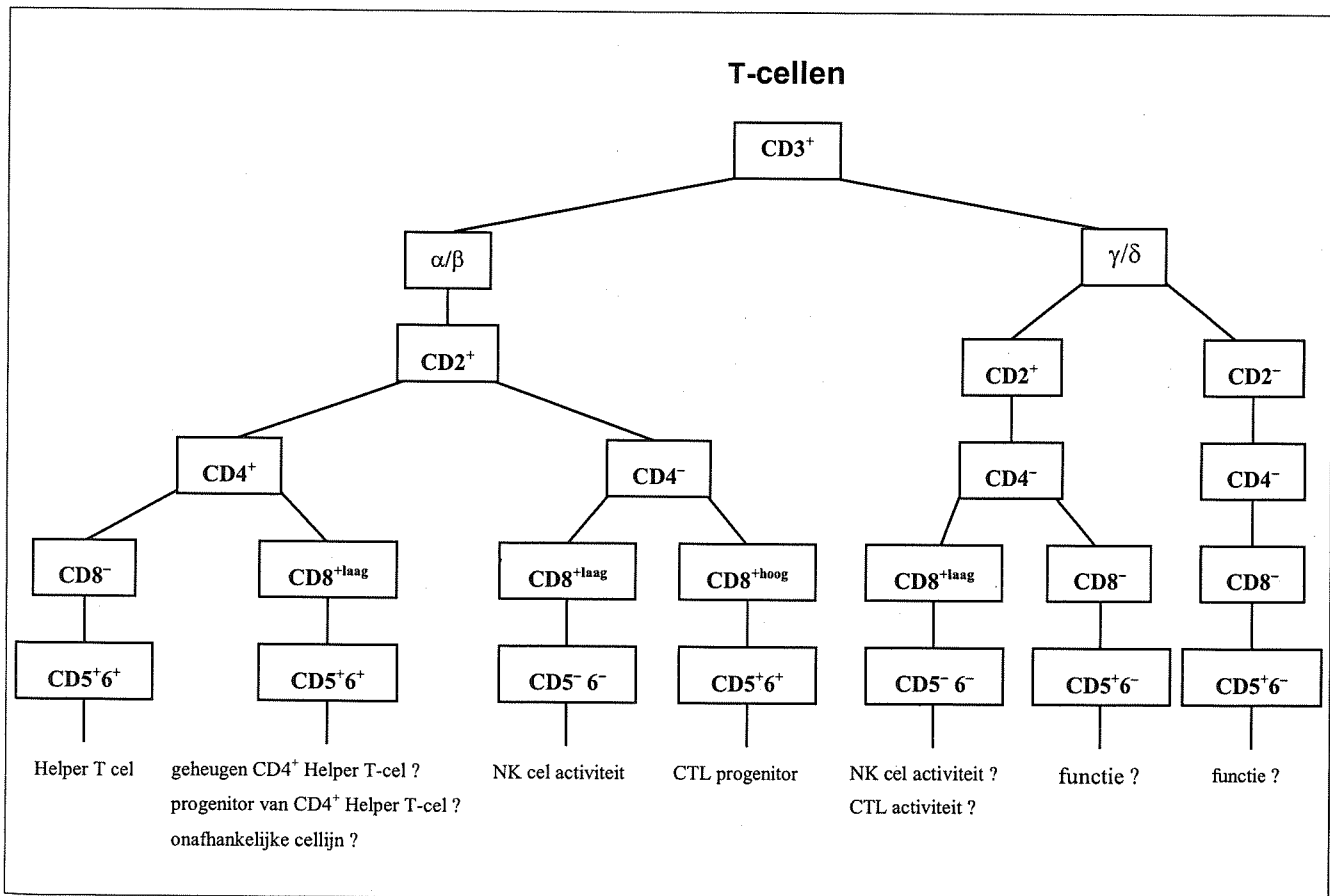
Figuur 2. Classificatie van lymfocytenpopulaties bij het varken op basis adhererende en rozet-vormende eigenschappen.

Om tot een uniforme nomenclatuur te komen van al deze, door verschillende laboratoria ontwikkelde MA's en hun herkende doelwitmoleculen, werden ze gegroepeerd in "clusters voor differentiatie (CD)" op het First International Swine CD Workshop in 1992 (Lunney *et al.*, 1994). Daarbij werden alle beschikbare MA's die dezelfde merker herkennen, verzameld in één cluster. Vervolgens werden de aldus bekomen clusters voor differentiatie numeriek gerangschikt. Het membraanmoleculen dat herkend werd door alle MA's van de eerste cluster werd bijgevolg "CD1" genoemd, het membraanmoleculen dat herkend werd door de MA's van de tweede cluster werd "CD2" genoemd, enzovoort. Wanneer men dus spreekt over CD4 dan bedoelt men het membraanmoleculen dat herkend wordt door alle MA's die behoren tot de "cluster (of groep) voor differentiatie" nummer 4. De nummering van deze clusters is dezelfde voor mens en dier. Voor het varken werden een tweede (Saalmüller *et al.*, 1998) en een derde workshop georganiseerd in respectievelijk 1995 en 1998. Als resultaat werden reeds verschillende markkers voor varkenslymfocyten erkend, waardoor een duidelijke differentiatie van lym-

focyten in verschillende populaties en subpopulaties mogelijk wordt.

T-cellen (Figuur 3)

Eén van de belangrijkste hulpmiddelen om T-cellen te identificeren zijn MA's tegen het CD3-moleculen, een eiwit dat geassocieerd is met de T-celreceptor (Kirkham *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 1996, Pescovitz *et al.*, 1998) (Figuur 5). Alle huidige anti-CD3-antistoffen reageren met één welbepaald deel van het moleculen, namelijk de ε-keten, maar waarschijnlijk bestaan bij het varken ook de γ-, δ- en ζ-ketens (Kirkham *et al.*, 1996). Binnen de CD3-positieve (CD3⁺) populatie (dus binnen de T-lymfocyten) wordt een verder onderscheid gemaakt op basis van het type T-celreceptor (TCR). De TCR is de receptor die het antigeen herkent wanneer dit gepresenteerd wordt in combinatie met MHC-klasse I of MHC-klasse II. Uit analyse van de TCR van het varken blijkt dat er twee typen receptoren bestaan die opgebouwd zijn uit ofwel een α- en een β-keten, ofwel uit een γ- en een δ-keten (Hirt *et al.*, 1990; Thome *et al.* 1993; Yang *et al.*, 1996; PESCO-



Figuur 3. Classificatie van T-cel populaties en subpopulaties bij het varken op basis van de CD-antigenen; de mogelijke functie(s) van deze populaties is (zijn) weergegeven.

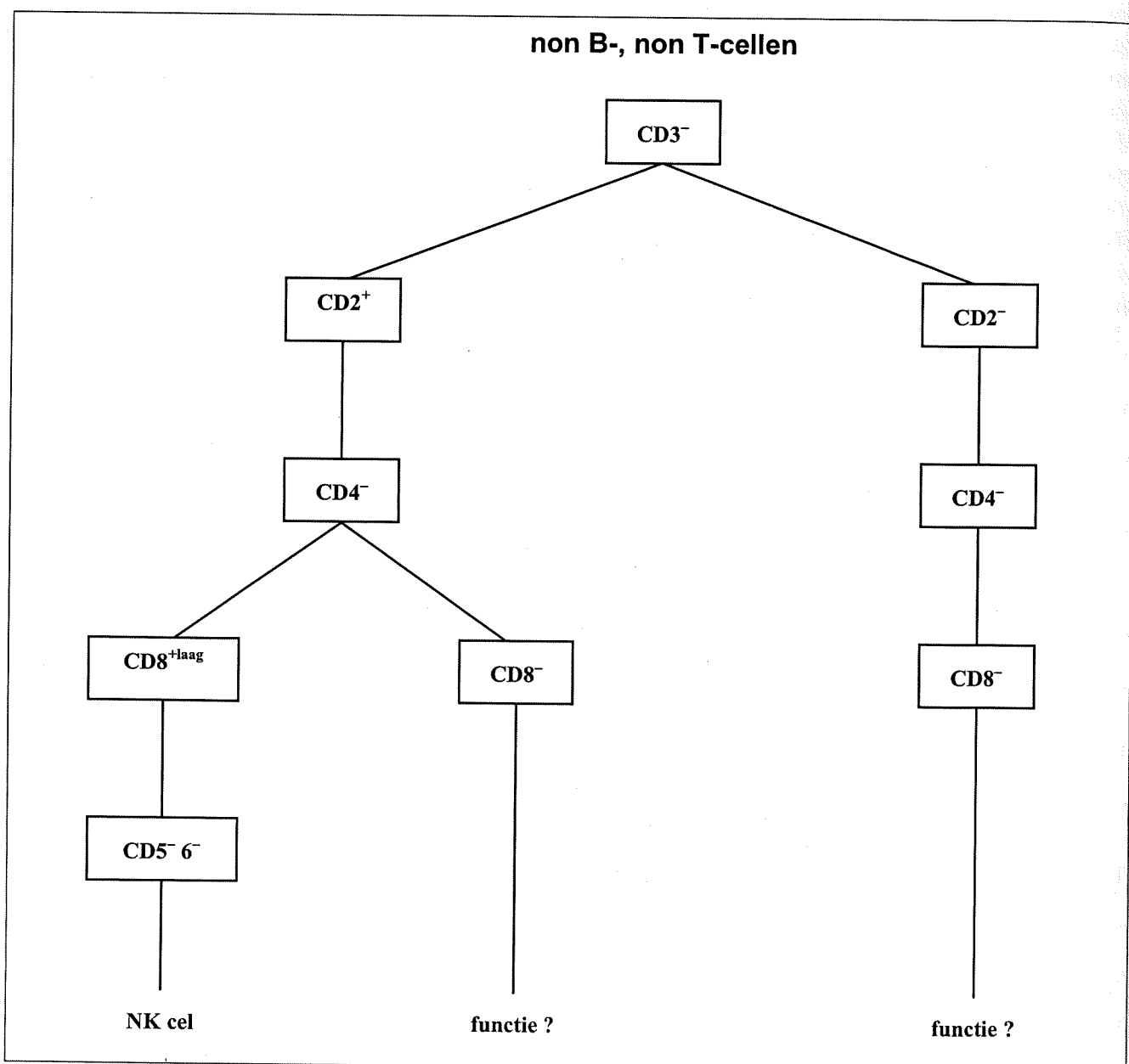
vitz *et al.*, 1998) (Figuur 5). De α/β -lymfocyten kunnen verder onderverdeeld worden in vier populaties, terwijl de γ/δ -cellen onderscheiden worden in drie populaties (Yang en Parkhouse, 1996) (Figuur 3).

α/β T-cellen

De α/β TCR is een dimere molecule (Hirt *et al.*, 1990). De α/β T-cellen brengen steeds CD2 tot expressie, en dit CD2-molecule kan vreemde erythrocyten binden om zo rozetten te vormen (Hammerberg en Schurig, 1986). Deze α/β TCR⁺ populatie kan verder onderverdeeld worden in een CD4⁺ en een CD4⁻ po-

pulatie met behulp van anti-CD4 MA's (Pescovitz *et al.*, 1984; 1985). Binnen de CD4⁺ en CD4⁻ populaties wordt nogmaals een onderscheid gemaakt op basis van de CD8-expressie met behulp van anti-CD8 MA's (Pescovitz *et al.*, 1984; 1985; Jonjic en Koszinowski, 1984). Deze CD8-expressie is heterogeen (hoge of lage expressie). Uiteindelijk kunnen er in de α/β TCR⁺ populatie dus vier subpopulaties onderscheiden worden: een CD4⁺ CD8⁻, een CD4⁺ CD8^{+laag}, een CD4⁻ CD8^{+laag}, en een CD4⁻ CD8^{+hoog} subpopulatie.

De eerste subpopulatie wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van CD4 en de afwezigheid van CD8. Zij prolifereren na stimulatie met mitogenen, verto-



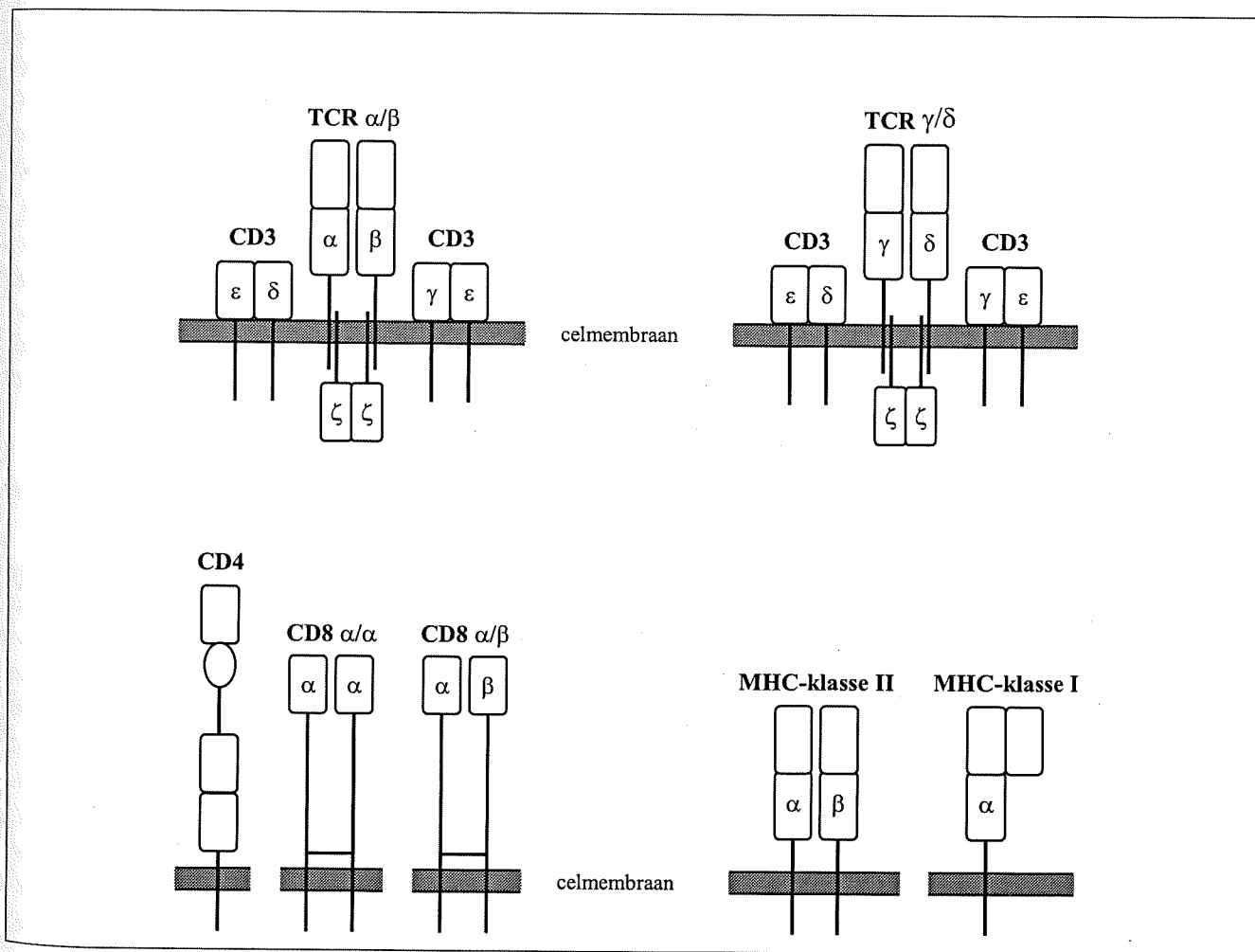
Figuur 4. Classificatie van non B-, non T-cel populaties en subpopulaties bij het varken op basis van de CD-antigenen; de mogelijke functie(s) van deze populaties is (zijn) weergegeven.

nen helper T-celactiviteit voor cytotoxische T-lymfocyten en helpen B-cellen bij de productie van antistoffen (Pescovitz *et al.*, 1994). Deze gegevens tonen aan dat deze CD4⁺ CD8⁻ subpopulatie cellen bevat van het helper fenotype, zoals bij andere diersoorten.

De tweede subpopulatie, prominent aanwezig bij het varken maar eerder zeldzaam bij andere diersoorten, is een CD4⁺ CD8^{laag} groep (zowel positief voor CD4 als CD8, dus dubbel positief, maar met een lage CD8-expressie) (Pescovitz *et al.*, 1985; De St Groth *et al.*, 1986; Saalmüller *et al.*, 1987). Bij de mens brengen CD8^{laag} lymfocyten het CD8 α/α homodimeer tot expressie (Moebius *et al.*, 1991). Daarom werd geopperd dat ook bij het varken het CD8-molecul van deze dubbel positieve cellen uit een α/α homodimeer zou bestaan, terwijl deze van CD4⁻ CD8⁺ cellen zou bestaan uit een α/β heterodimeer (Figuur 5). Nochtans beschrijven Hirt en medewerkers (1990) het CD8-molecul van dubbel positieve cellen als twee

ketens met verschillend moleculair gewicht, wat een heterodimere structuur suggereert. De exacte functie van deze CD4⁺ CD8⁺ cellen bij het varken blijft onopgehelderd, maar verschillende hypothesen werden reeds geopperd. Zo zou deze populatie CD4⁺ geheugen helper T-cellen bevatten (Pescovitz *et al.*, 1994) of voorlopers van CD4⁺ helper T-cellen (Licence en Binns, 1995) of cellen die tot een onafhankelijke cellijn behoren zonder direct verband te houden met de CD4⁺ lymfocyten (Pescovitz *et al.*, 1994). Saalmüller *et al.* (1991) beschrijven dat deze dubbel positieve cellen, net zoals de CD4⁻ CD8⁺ lymfocyten (Lunney en Pescovitz, 1987), ook MHC-klasse II moleculen tot expressie brengen. De exacte functionele betekenis van deze MHC-klasse II positieve CD8⁺ cellen is op dit ogenblik niet gekend.

De derde en vierde subpopulaties bevatten CD4⁻ CD8⁺ T-lymfocyten en worden gekenmerkt door een heterogene expressie van CD8-moleculen (CD4⁻ CD8^{laag} en CD4⁻ CD8^{hoog}) en een co-expressie van



Figuur 5. Schematische voorstelling van de T-cel receptor TCR α/β en TCR γ/δ , van de CD3, CD4 en CD8 moleculen, en van de MHC-klasse I en MHC-klasse II moleculen.

MHC-klasse II antigenen (Lunney en Pescovitz, 1987). Deze subpopulaties kunnen ook op basis van hun CD5- en CD6-expressie verder onderverdeeld worden in een CD5⁻ CD6⁻ en een CD5⁺ CD6⁺ groep (Saalmüller *et al.*, 1994 a, b&c; Pauly *et al.*, 1996). De CD4⁻ CD8^{+laag} CD5⁻ CD6⁻ groep bevat cellen met een lage CD8-expressie en vertonen een vermoedelijke "natural killer" (NK) activiteit tegen tumorale cellen (Pescovitz *et al.*, 1988). Blokkeringsexperimenten met CD8-specifieke MA's hebben aangetoond dat de CD8-moleculen blijkbaar niet betrokken zijn bij deze cytolytische activiteit (Pescovitz *et al.*, 1988) en bijgevolg betreft het hier cellen die niet tot de klassieke CD8⁺ CTL behoren, maar een aparte groep cellen vormen die ook een cytolytische werking hebben waarbij MHC-klasse I moleculen niet betrokken zijn. De CD4⁻ CD8^{+hoog} CD5⁺ CD6⁺ cellen daarentegen, die alle een hoge CD8-expressie vertonen, zijn de klassieke CTL's waarbij CD8 en MHC-klasse I moleculen betrokken zijn (Jonjic en Koszinowski, 1984; Pescovitz *et al.*, 1985; Martins *et al.*, 1993).

γ/δ T-cellen

Binnen de γ/δ TCR⁺ cellen wordt een eerste opdeling gemaakt op basis van de aan- of afwezigheid van het CD2-molecule. Zowel de CD2⁻ als CD2⁺ cellen zijn negatief voor CD4 maar verschillen in de CD8-, CD5- en CD6-expressie. De CD2⁻ γ/δ T-lymfocyten zijn ook negatief voor CD8 en CD6 maar positief voor CD5. De CD2⁺ groep wordt opgesplitst in een eerste subpopulatie die negatief is voor CD8 en CD6 maar positief voor CD5 en in een tweede subpopulatie die zwak positief is voor CD8 maar negatief voor CD5 en CD6.

Er zijn dus 2 γ/δ T-celsubpopulaties die negatief zijn voor zowel CD4 als CD8 (dubbel negatief) maar die onderling verschillen door hun CD2-expressie (CD2⁺ of CD2⁻). Tot op heden is niets gekend over de functie van deze dubbel negatieve T-lymfocyten. Over de functie van de CD8^{+laag} γ/δ T-cellen bestaat enige controverse. Inderdaad, Yang en Parkhouse (1997) beweren dat de cellen van deze populatie CTL-activiteit bezitten, terwijl De Bruin en medewerkers (1997) deze cellen beschouwen als cellen met NK-activiteit.

B-cellen

De studie van de B-lymfocyten van het varken startte ongeveer 25 jaar geleden toen de verschillende isotypen of klassen, namelijk klasse G, M, en A, van

de immunoglobulines (Ig) van het varken geïsoleerd werden en IgG-, IgM- en IgA-specifieke polyklonale antisera ontwikkeld werden (Curtis en Bourne, 1971). Recentelijk werden MA's tegen de verschillende isotypen en zelfs tegen de verschillende subklassen ontwikkeld (Van Zaane en Hulst, 1987), waardoor een meer specifieke analyse van de B-cellen mogelijk werd. Daardoor kunnen zowel inactieve rijpe B-cellen, gekenmerkt door de aanwezigheid van oppervlakte-immunoglobulines (Ig⁺ cellen), als geactiveerde antistofproducerende B-cellen (of plasmacellen) *in situ* gelokaliseerd worden door middel van immunohistochemische technieken (Allen en Porter, 1973; Brown en Bourne, 1976). Bovendien kunnen de antistofsecreterende cellen (ASC) gekwantificeerd worden in de verschillende lymfoïde organen met behulp van een plaque forming assay (PFC-assay) (Buschmann *et al.*, 1974; Scheffel *et al.*, 1979) of een enzyme-linked immunosorbent spot (ELISpot) assay (Russell *et al.*, 1987; Bianchi *et al.*, 1990; VanCott *et al.*, 1993).

non B-, non T-cellen (Figuur 4)

Naast de populatie T-lymfocyten (CD3⁺) en B-lymfocyten (Ig⁺) bestaat er een derde populatie lymfocyten die negatief is voor zowel Ig als CD3 (non B-, non T-cellen). Binnen deze populatie wordt een verder onderscheid gemaakt tussen een CD2⁺ CD4⁻ CD8^{+laag} subpopulatie, een CD2⁺ CD4⁻ CD8⁻ subpopulatie en een CD2⁻ CD4⁻ CD8⁻ subpopulatie (Yang en Parkhouse, 1996). De CD2⁺ CD4⁻ CD8^{+laag} subpopulatie bevat de echte NK-cellen die verder negatief zijn voor CD5⁻ en CD6⁻. De functie van de andere twee subpopulaties blijft onduidelijk.

CONCLUSIE

De analyse van de lymfocytenpopulaties en -subpopulaties van het varken heeft vooral de laatste jaren vooruitgang geboekt, voornamelijk dankzij de ontwikkeling van MA's die gericht zijn tegen celspecifieke merkers. Hieruit blijkt dat de onderverdeling van de verschillende lymfocyten complexer is dan bij andere diersoorten en bij de mens. Twee ongewone T-celsubpopulaties, namelijk de CD4⁺ CD8⁺ en de CD4⁻ CD8⁻ subpopulatie, zijn bij het varken in belangrijke mate aanwezig. De functie van deze en andere T-lymfocyten werd voornamelijk *in vitro* bestudeerd, waardoor slechts weinig gekend is over hun specifieke *in vivo* functie. De verdere opheldering van deze *in vitro* en *in vivo* functies zal ongetwijfeld nieuwe in-

zichten verschaffen omtrent het immuunsysteem van het varken in het bijzonder en van de fysiologische rol van deze speciale populaties in het immuunsysteem van andere diersoorten en de mens in het algemeen. De specifieke functionele karakterisatie van de porcine T-lymfocyten kan nieuwe regulerende functies van deze T-cellen en misschien zelfs nieuwe mechanismen die betrokken zijn bij de herkenning van antigenen aan het licht brengen. Ook de differentiatie en functionele regulatie van de verschillende populaties en subpopulaties zijn onvoldoende gekend en vereisen verder onderzoek. Waarschijnlijk vervult de beïnvloedende rol van allerhande cytokines hierbij een belangrijke functie.

Uit deze korte beschrijving blijkt dat de immunocompetente cellen van het varken een complexe verzameling van celpopulaties en subpopulaties vormen. De wisselwerking tussen deze cellen onderling is van cruciaal belang bij het al dan niet ontstaan van een immunorespons. Daarom is het, met het oog op de ontwikkeling en productie van efficiënte vaccins, niet alleen noodzakelijk om deze populaties met hun mogelijke functie(s) te kennen, maar ook om bij toekomstig onderzoek het web van hun mogelijke interacties te ontrafelen.

REFERENTIES

- Allen W.D., Porter P. (1973). The relative distribution of IgM and IgA cells in intestinal mucosa and lymphoid tissue of the young unweaned pig and their significance in ontogenesis of secretory immunity. *Immunology* 24, 493-501.
- Bianchi A.T.J., Scholten J.W., Jongenelen I.M.C.H., Koch G. (1990). The use of monoclonal antibodies in an enzyme immunospot assay to detect isotype-specific antibody-secreting cells in pigs and chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 24, 125-134.
- Binns R.M. (1982). Organisation of the lymphoreticular system and lymphocyte markers in the pig. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 3, 95-146.
- Binns R.M., Pallares V., Symons D.B.A., Sibbons P. (1977). Effect of thymectomy on lymphocyte subpopulations in the pig. *International Archives of Allergy and Applied Immunology* 55, 96-101.
- Brown P.J., Bourne F.J. (1976). Distributions of immunoglobulin-containing cells in alimentary tract, spleen, and mesenteric lymph node of the pig demonstrated by peroxidase-conjugated antiserums to porcine immunoglobulins G, A, and M. *American Journal of Veterinary Research* 37, 9-13.
- Buschmann H., Junge V., Krausslich H., Radzikowski A. (1974). A study of the immune response to sheep erythrocytes in several breeds of swine. *Medical Microbiology and Immunology* 159, 179-190.
- Curtis J., Bourne F.J. (1971). Immunoglobulin quantitation in sow serum, colostrum and milk and in the serum of young pigs. *Biochimica et Biophysica Acta* 236, 319-332.
- de Bruin M.G.M., van Rooij E.M.A., Voermans J.J.M., de Visser Y.E., Bianchi A.T.J., Kimman T.G. (1997). Establishment and characterization of porcine cytolytic cell lines and clones. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 59, 337-347.
- De St. Groth B.F., Gallagher P.F., Miller J.F. (1986). Involvement of Lyt-2 and L3T4 in activation of hapten-specific Lyt-2⁺ L3T4⁺ T-cell clones. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 83, 2594-2598.
- Goddeeris B.M. (1996). Het immuunsysteem: het orkest en de muziek. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 65, 123-128.
- Hammerberg C., Schurig G.G. (1986). Characterization of monoclonal antibodies directed against swine leukocytes. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 11, 107-121.
- Hirt W., Saalmüller A., Reddehase M.J. (1990). Distinct γ/δ cell receptors define two subsets of circulating porcine CD2⁻ CD4⁻ CD8⁻ T lymphocytes. *European Journal of Immunology* 20, 265-269.
- Hunt A.C. (1968). Microanatomy of the lymph nodes of the pig. *British Journal of Experimental Pathology* 49, 338-339.
- Jonjic S., Koszinowski U.H. (1984). Monoclonal antibodies reactive with swine lymphocytes. I. Antibodies to membrane structures that define the cytolytic T lymphocyte subset in the swine. *The Journal of Immunology* 133, 647-652.
- Kirkham P.A., Takamatsu H., Yang H., Parkhouse R.M. (1996). Porcine CD3 ϵ : its characterization, expression and involvement in activation of porcine T-lymphocytes. *Immunology* 87, 616-623.
- Licence S.T., Binns R.M. (1995). Major long-term changes in $\gamma\delta$ T-cell receptor-positive and CD2⁺ T-cell subsets after neonatal thymectomy in the pig: a longitudinal study lasting nearly 2 years. *Immunology* 85, 276-284.
- Lunney J.K., Pescovitz M.D. (1987). Phenotypic and functional characterization of pig lymphocyte populations. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 17, 135-144.
- Lunney J.K., Walker K., Goldman T., Aasted B., Bianchi A., Binns R., Licence S., Bischof R., Brandon M., Blecha F., Kielian T.L., McVey D.S., Chu R.M., Carr M., Howard C., Sopp P., Davis W., Dvorak P., Dominguez J., Canals A., Vizcaino M.S., Kim Y.B., Laude H., Mackay C.R., Magnusson U., McCullough K., Misfeldt M., Murtaugh M., Molitor T., Choi C., Pabst R., Parkhouse R.M., Denham S., Yang H., Pescovitz M., Pospisil R., Tlaskalova H., Saalmüller A., Weiland E., Salmon H., Sachs D., Arn Z., Shimizu M., Stokes C., Stevens K., Valpotic I., Zuckermann F., Husmann R. (1994). Overview of the First International Workshop to define swine leukocyte cluster of differentiation (CD) antigens. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 43, 193-206.

- Martins C.L., Lawman M.J., Scholl T., Mebus C.A., Lunney J.K. (1993). African swine fever virus specific porcine cytotoxic T cell activity. *Archives of Virology* 129, 211-225.
- Moebius U., Kober G., Griscelli A.L., Hercend T., Meuer S.C. (1991). Expression of different CD8 isoforms on distinct human lymphocyte subpopulations. *European Journal of Immunology* 21, 1793-1800.
- Pauly T., Weiland E., Hirt W., Dreyer-Bux C., Maurer S., Summerfield A., Saalmüller A. (1996). Differentiation between MHC-restricted and non-MHC-restricted porcine cytolytic T lymphocytes. *Immunology* 88, 238-246.
- Pescovitz M.D., Book B.K., Aasted B., Dominguez J., Ezquerro A., Trebichavsky I., Novikov B., Valpotic I., Nielsen J., Arn S., Sachs D.H., Lunney J.K., Boyd P.C., Walker J., Lee R., Lackovic G., Kirkham P., Parkhouse R.M.E., Saalmüller A. (1998). Analyses of monoclonal antibodies reacting with porcine CD3: Results from the Second International Swine CD Workshop. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 60, 261-268.
- Pescovitz M.D., Lowman M.A., Sachs D.H. (1988). Expression of T-cell associated antigens by porcine natural killer cells. *Immunology* 65, 267-271.
- Pescovitz M.D., Lunney J.K., Sachs D.H. (1984). Preparation and characterization of monoclonal antibodies reactive with porcine PBL. *The Journal of Immunology* 133, 368-375.
- Pescovitz M.D., Lunney J.K., Sachs D.H. (1985). Murine anti-swine T4 and T8 monoclonal antibodies: Distribution and effects on proliferative and cytotoxic T cells. *The Journal of Immunology* 134, 37-44.
- Pescovitz M.D., Sakopoulos A.G., Gaddy J.A., Husmann R.J., Zuckermann F.A. (1994). Porcine peripheral CD4⁺/CD8⁺ dual expressing T-cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 43, 53-62.
- Russell P.H., Mackay D.K.J., Odzemir I., Mackenzie N.M. (1987). A rapid enzyme-linked semi-microwell assay for the enumeration of antibody-forming cells to viral and bacterial antigens in domestic animals. *Journal of Immunological Methods* 101, 229-233.
- Saalmüller A., Aasted B., Canals A., Dominguez J., Goldman T., Lunney J.K., Maurer S., Pauly T., Pescovitz M.D., Pospisil R., Salmon H., Trebichavsky I., Valpotic I., Vizcaino J.S., Weiland E., Zuckermann F. (1994a). Analyses of monoclonal antibodies reactive with porcine CD6. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 43, 243-247.
- Saalmüller A., Aasted B., Canals A., Dominguez J., Goldman T., Lunney J.K., Maurer S., Pescovitz M.D., Pospisil R., Salmon H., Summerfield A., Tlaskalova H., Valpotic I., Vizcaino J.S., Weiland E., Zuckermann F. (1994b). Analyses of monoclonal antibodies reactive with porcine CD5. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 43, 237-242.
- Saalmüller A., Pauly T., Lunney J.K., Boyd P., Aasted B., Sachs D.H., Arn S., Bianchi A., Binns R.M., Licence S., Whyte A., Blecha F., Chen Z., Chu R.M., Davis W.C., Denham S., Yang H., Whittall T., Parkhouse R.M., Dominguez J., Ezquerro A., Alonso F., Horstick G., Howard C., Sopp P., Kim Y.B., Lipp J., Mackay C., Magyar A., McCullough K., Arriens A., Summerfield A., Murtough M., Nielsen J., Novikov B., Pescovitz M.D., Schuberth H.J., Leibold W., Schütt C., Shimizu M., Stokes C., Haverson K., Bailey M., Tlaskalova H., Trebichavsky I., Valpotic I., Walker J., Lee R., Zuckermann F. (1998). Overview of the Second International Workshop to define swine cluster of differentiation (CD) antigens. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 60, 207-228.
- Saalmüller A., Hirt W., Maurer S., Weiland E. (1994c). Discrimination between two subsets of porcine CD8⁺ cytolytic T lymphocytes by the expression of CD5 antigen. *Immunology* 81, 578-583.
- Saalmüller A., Reddehase M.J., Buhning H.J., Jonjic S., Koszinowski U.H. (1987). Simultaneous expression of CD4 and CD8 antigens by a substantial proportion of resting porcine T lymphocytes. *European Journal of Immunology* 17, 1297-1301.
- Saalmüller A., Weiland F., Reddehase M.J. (1991). Resting porcine T lymphocytes expressing class II major histocompatibility antigen. *Immunobiology* 183, 102-114.
- Sachs D.H. (1994). The pig as a potential xenograft donor. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 43, 185-191.
- Scheffel J.W., Setcavage T.M., Kim Y.B. (1979). IgM and IgG direct plaque-forming cells develop during the immune response of miniature swine to sheep erythrocytes. *Cellular Immunology* 44, 109-124.
- Thome M., Saalmüller A., Pfaff E. (1993). Molecular cloning of porcine T cell receptor α , β , γ and δ chains using polymerase chain reaction fragments of the constant regions. *European Journal of Immunology* 23, 1005-1010.
- Trautmann A. (1925). Die Lymphknoten (Lymphonodi) von *Sus scrofa*, ins besondere deren Lymphstrom-, Färbungs- und Rückbildungsverhältnisse. *Zeitschrift für die gesamte Anatomie* 78, 733-755.
- Tumbleson M., Schook L.B. (1996). Advances in swine in biomedical research. In: Tumbleson M. and Schook L.B. (editors). *Advances in Swine in Biomedical Research*. Plenum Press, New York, p. 1-4.
- VanCott J.L., Brim T.A., Simkins R.A., Saif, L.J. (1993). Isotype-specific antibody-secreting cells to transmissible gastroenteritis virus and porcine respiratory coronavirus in gut- and bronchus-associated lymphoid tissues of suckling pigs. *The Journal of Immunology* 150, 3990-4000.
- Van Zaane D., Hulst M.M. (1987). Monoclonal antibodies against porcine immunoglobulin isotypes. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 16, 23-36.
- Yang H., Oura C.A., Kirkham P.A., Parkhouse R.M. (1996). Preparation of monoclonal anti-porcine CD3 antibodies and preliminary characterization of porcine T lymphocytes. *Immunology* 88, 577-585.
- Yang H., Parkhouse R.M. (1996). Phenotypic classification of porcine lymphocyte subpopulations in blood and lymphoid tissues. *Immunology* 89, 76-83.
- Yang H., Parkhouse R.M. (1997). Differential expression of CD8 epitopes amongst porcine CD8-positive functional lymphocyte subsets. *Immunology* 92, 45-52.