

## 5 Zusammenfassung

Einleitung: Monozyten und Makrophagen spielen eine wichtige Rolle im spezifischen und unspezifischen Immunsystem durch Antigenpräsentation, Freisetzung von immunregulatorischen Mediatoren und Phagozytose. Als professionelle Phagozyten stehen ihnen eine Vielzahl verschiedener Phagozytoserezeptoren und –mechanismen zur Verfügung.

Das CD14-Molekül erkennt und bindet Lipopolysaccharide (LPS), einen Bestandteil der Bakterienwand Gram-negativer Bakterien, und kann so die Einleitung einer Entzündungsreaktion vermitteln. [11] Neu und Ausgangspunkt für diese Arbeit war die Beobachtung, dass CD14 auch als Phagozytoserezeptor für Gram-negative Bakterien (*E. coli*) dienen kann. [44, 45] CD14 hat aber nicht nur die Fähigkeit LPS zu binden, sondern erkennt darüber hinaus auch andere Elemente der Bakterienwand und auf apoptotischen Zellen. So wurde CD14 auch als Rezeptor für die Phagozytose von apoptotischen Zellen beschrieben. [58, 99]

Aufgabenstellung: Folgende Fragen sollten im Rahmen dieser Arbeit beantwortet werden:

- 1) Wie ist die Kapazität der monozytären CD14-abhängigen Bakterienphagozytose ?
- 2) Wie werden die monozytäre CD14-Expression und die CD14-abhängige Phagozytose durch die wichtigen immunregulatorischen Zytokine IL-10, IFN $\gamma$  und TGF $\beta$  beeinflusst?

Ergebnisse und Diskussion: Wir konnten zeigen, dass die Kapazität der Monozyten, nicht-opsonierte *E. coli*-Bakterien durch einen CD14-abhängigen Weg aufzunehmen, ebenso groß ist wie die monozytäre Kapazität für eine uneingeschränkte Phagozytose von mit Komplement und Immunglobulin opsonierten *E. coli* im Vollblut. Diese Ergebnisse sowie die Fähigkeit des CD14-Moleküls, eine Vielzahl von Liganden auf Gram-positiven wie -negativen Bakterien zu binden, und Publikationen über eine gesteigerte Bakterienvermehrung und Gewebeschädigung durch eine *in vivo* CD14-Blockade unterstützen die Bedeutung der CD14-abhängigen Phagozytose. [27, 46, 68, 69] Wir verstehen die CD14-abhängige Phagozytose als einen möglichen Weg unter vielen, welcher jedoch unter bestimmten Umständen den einzigen bzw. limitierenden Weg darstellen kann.

Weiterhin untersuchten wir die Regulation der monozytären CD14-Expression und der Freisetzung von löslichem CD14 (sCD14) durch die wichtigen immunregulatorischen Zytokine IFN- $\gamma$ , IL-10 und TGF- $\beta$ 1 mit folgenden Ergebnissen: IL-10 steigert und IFN- $\gamma$  hemmt sowohl die monozytäre CD14-Expression als auch die Freisetzung von sCD14; TGF- $\beta$ 1 reduziert zwar die Expression von CD14, hat aber auf die Freisetzung von sCD14

keinen Einfluss. Diese Ergebnisse sind interessant, da die monozytäre CD14-Expression (Induktion durch IL-10 und Hemmung durch IFN- $\gamma$ ) und die CD14-vermittelte Inflammation (Hemmung durch IL-10 und Steigerung durch IFN- $\gamma$ ) gegenläufig reguliert werden. Für die Regulation der CD14-vermittelten Entzündungsantwort scheinen somit weniger die von uns beobachteten Veränderungen der CD14-Expression als vielmehr der Einfluss auf die „Toll-like“-Rezeptoren bzw. das NF $\kappa$ B-System wichtig zu sein. [11, 81, 82]

Im Unterschied dazu verläuft die Regulation der CD14-abhängigen Phagozytose parallel zu dem Einfluss von IL-10, TGF- $\beta$  und IFN- $\gamma$  auf die CD14-Expression. IL-10 (nach 24 Stunden) steigert sowohl die monozytäre CD14-Expression als auch die CD14-abhängige Phagozytose von Bakterien, während IFN- $\gamma$  und TGF $\beta$  (nach 48 Stunden) sowohl die monozytäre CD14-Expression als auch die Phagozytose von *E. coli*-Bakterien hemmen. Da es sich nicht um schnelle bzw. kurzfristige Veränderungen der Funktion (keine bzw. nur geringe Veränderungen nach 1 bzw. 4 Stunden in unseren Versuchen) handelt, ist eher an komplexe und anhaltende Veränderungen wie die beginnende Differenzierung der Monozyten zu Makrophagen bzw. Dendritischen Zellen zu denken. [36, 94]

Abschließend untersuchten wir den Einfluss von IL-10 auf die uneingeschränkte monozytäre Phagozytose von apoptotischen lymphozytären Zellen in Vollblutkulturen. Die zum größten Teil CD14-abhängige Phagozytose von apoptotischen Jurkat-Zellen wird durch IL-10 deutlich gesteigert, wobei sich sowohl die CD14-abhängigen, als auch die CD14-unabhängigen Phagozytoseleistungen nahezu verdoppeln. Die Relevanz dieser IL-10-Regulation lässt sich auch daraus ableiten, dass zum einen IL-10 von Zellen im Prozess der Apoptose freigesetzt wird und zum anderen die Aufnahme von apoptotischen Zellen die Phagozyten zur IL-10-Sekretion stimuliert. Darüber hinaus verhindert IL-10 eine effektive Antigenpräsentation und damit eine Immunantwort gegen körpereigenes Material. [50, 51]

Die Regulation der CD14-abhängigen Phagozytose fügt sich in das bestehende Bild der Zytokinregulation der schon länger bekannten Antikörper- und Komplement-abhängigen Phagozytose gut ein. So wirken IL-10 stimulierend sowie IFN- $\gamma$  und TGF- $\beta$  hemmend auch auf die CD14-unabhängige monozytäre Phagozytosefähigkeit. [36, 37, 40, 42]

Ausblick: Die physiologische Bedeutung der CD14-abhängigen Phagozytose von Gram-negativen aber zusätzlich auch von Gram-positiven Erregern sollte in weiteren *In vitro*- und *In vivo*-Modellen untersucht werden. Die Erforschung der Zytokinregulation der Phagozytose von apoptotischen Zellen könnte das Verständnis der Immunologie z.B. von Gewebeschädigungen, Transplantationen und Vakzinierungen wesentlich erweitern.