

Aus der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Infektiologie und  
Pneumologie der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

DISSERTATION

Konstitutive Expression von IFN- $\gamma$ , den Rezeptoruntereinheiten 1  
und 2, den Tyrosinkinase JAK1 und JAK2 sowie den  
Transkriptionsfaktoren STAT1, STAT2 und STAT3 und ihre  
Regulation in LPS exponierten Rattenlungen

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Eckehard Martin Frisch  
aus Innsbruck

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. St. Hippenstiel  
2. Priv.-Doz. Dr. med. Q. Dinh  
3. Prof. Dr. med. T. Tschernig

Datum der Promotion: 27.03.2009

# INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG .....	1
1.1	Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS) .....	1
1.1.1	Pathoätiologie des ARDS .....	1
1.2	Lipopolysaccharid.....	2
1.3	Interferon- $\gamma$ .....	5
1.4	Interferon- $\gamma$ -Rezeptor und Signaltransduktion .....	7
1.5	Januskinasen und Signal Transducers and Activators of Transcription .....	10
1.6	Fragestellung.....	13
2	MATERIAL UND METHODEN.....	14
2.1	Material.....	14
2.1.1	Versuchsmaterial .....	14
2.1.2	Reagenzien.....	14
2.1.3	Technische Geräte.....	16
2.2	Methoden .....	16
2.2.1	Präparation .....	16
2.2.2	Immunhistologie.....	17
2.2.3	Auswertung.....	18
2.2.4	Dokumentation.....	18
2.2.5	Statistik .....	19
3	ERGEBNISSE.....	20
3.1	Methodische Kontrollen.....	20
3.2	Konstitutive immunhistologische Lokalisation von IFN- $\gamma$ , den Rezeptor- untereinheiten $\alpha$ und $\beta$ , den Tyrosinkinase JAK 1 und JAK2, sowie den Transkriptionsfaktoren STAT 1, STAT2 und STAT3 in zentralen Organsystemen .....	20
3.2.1	Kardio-pulmonales System .....	20
3.2.2	Gastro-Intestinal-Trakt .....	22
3.2.3	Speicheldrüsen und Pankreas .....	23
3.2.4	Leber.....	24
3.2.5	Retikulo-endotheliales System.....	25
3.2.6	Haut .....	25

3.3	Regulation von IFN- $\gamma$ , seinem Rezeptor, den Kinasen und Transkriptionsfaktoren in isolierten, LPS-stimulierten Rattenlungen .....	26
3.3.1	Kontrollgruppen.....	26
3.3.2	Expression von IFN- $\gamma$ nach LPS-Stimulation.....	26
3.3.3	Expression des IFN- $\gamma$ Rezeptor nach LPS-Stimulation .....	26
3.3.4	Expression der Januskinase 1 nach LPS-Stimulation.....	27
3.3.5	Expression derJanuskinase 2 nach LPS-Stimulation.....	27
3.3.6	Expression von STAT1 und p-STAT1 nach LPS-Stimulation.....	28
3.3.7	Expression von STAT2 nach LPS-Stimulation.....	28
3.3.8	Expression von STAT3 und p-STAT3 nach LPS-Stimulation.....	28
4	TABELLEN.....	30
5	BILDANHANG.....	60
5.1	Konstitutive Zytokinexpression in Ratten- und humanen Lungen .....	60
5.2	Konstitutive Zytokinexpression in verschiedenen Organen der Ratte und des Menschen .....	61
5.3	Konstitutive Zytokinexpression gegenüber LPS-Exposition in der Rattenlunge	62
6	DISKUSSION.....	63
6.1	Konstitutive Zytokinexpression .....	63
6.2	Vergleich LPS exponierter Rattenlungen.....	73
7	ZUSAMMENFASSUNG .....	78
8	AUSBLICK .....	80
9	LITERATURVERZEICHNIS.....	81
10	ANHANG.....	94
10.1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	94
10.2	Lebenslauf .....	96
10.3	Erklärung.....	98

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Adult Respiratory Distress Syndrome (ARDS)

Das akute Atemnotsyndrom des Erwachsenen (ARDS) ist die klinische Manifestation einer schweren, akut verlaufenden Lungenschädigung, welche erstmals 1967 von Ashbaugh et. al beschrieben wurde<sup>1</sup>. In einer neueren Studie aus den Vereinigten Staaten im Jahre 2005 wird die Inzidenz dieser Erkrankung mit 78.9/100.000 Personen und Jahr beschrieben<sup>2</sup>. In einer aktuellen Meta-Analyse aus 72 Studien mit insgesamt 11.426 Patienten in dem Zeitraum von 1994 bis 2006 konnte eine durchschnittliche Mortalität von 43 % errechnet werden. Dabei scheint es, dass die Prognose eines ARDS in den letzten zehn Jahren verbessert werden konnte<sup>3</sup>. Pathogenetisch wird dabei ein ARDS durch direkte (pulmonale Infektion, Aspiration von Mageninhalt, etc.) und indirekte (Sepsis, Polytrauma, etc.) Schädigung der Lunge unterschieden<sup>4</sup>. Ausgedehnte inflammatorische Prozesse im mikrovaskulären, interstitiellen und alveolären Kompartiment der Lunge charakterisieren das ARDS<sup>5</sup>. Diese führen u.a. zu vasomotorischen Veränderungen der pulmonalen Strombahn, Extravasation von Plasmaproteinen, Zellschädigung und schweren Störungen der Gasaustauschfunktion<sup>5</sup>.

### 1.1.1 Pathoätiologie des ARDS

Die initiale exsudative Phase des ARDS ist pathophysiologisch durch eine endo- und epitheliale Schrankenstörung und Übertritt von proteinreichem Exsudat in das interstitielle und alveoläre Kompartiment gekennzeichnet. In der Folge kommt es zum Anstieg des pulmonalvaskulären Widerstandes sowie ausgeprägtem intrapulmonalen Shunt-Fluß und zu alveolärer Instabilität mit Ausbildung von Atelektasen. Die dadurch verursachte Ventilations-Perfusions-Inhomogenität resultiert in einer schweren Gasaustauschstörung. Eine einheitliche Definition der Pathoätiologie des ARDS ist, auf Grund der mannigfaltigen Ursachen die zu diesem Syndrom führen, bisher nicht möglich<sup>4</sup>.

Neutrophile Granulozyten (polymorphkernige neutrophile Granulozyten, PMN) scheinen eine bedeutende Rolle beim ARDS zu spielen<sup>6</sup>, obgleich auch Fälle von ARDS bei

neutropenen Patienten beschrieben wurden<sup>7</sup>. Durch proinflammatorische Zytokine wie Tumor Nekrose Faktor (TNF)  $\alpha$ , Interleukin (IL) -1, IL-6<sup>8</sup> und IL-8, das aus Alveolarmakrophagen nach Trauma<sup>9</sup> oder Aspiration von Magensäure<sup>10</sup> freigesetzt wird, werden neutrophile Granulozyten angelockt und aktiviert. Zusätzlich spielen hier auch Chemokine als potente chemotaktische Zytokine eine bedeutende Rolle<sup>11</sup>. Rekrutierte und aktivierte PMN's sezernieren aggressive Sauerstoffradikale und mikrobizide Substanzen (z.B. Proteasen), welche, neben z.B. mikrobiellen Produkten (unter anderem Exo- und Endotoxine von Bakterien), eine Zerstörung der Lungenstruktur zur Folge haben können<sup>4</sup>. Zudem führen freigesetzte Proteasen zu einer Reduktion der Oberflächenspannung durch Schädigung der surfactantspezifischen Proteine A, B und C<sup>12</sup>, welches weiter zur Verschlechterung der Gasaustauschfunktion der Lunge beiträgt. Insgesamt können also neben einer direkten Schädigung der Lunge (z.B. Säure bei Aspiration, freigesetzte Virulenzfaktoren von Mikroorganismen) auch endogene, im Rahmen der Wirtsreaktion freigesetzte Mediatoren wesentlich zur Ausprägung des klinischen Bildes eines ARDS beitragen<sup>13</sup>.

## 1.2 Lipopolysaccharid

In Sepsis-Patienten ist der Beginn der systemisch-entzündlichen Reaktion (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) am besten untersucht. Die Anwesenheit von Lipopolysacchariden im Blutkreislauf von Patienten korreliert mit der Entstehung eines ARDS<sup>14</sup>. Durch Absterben gram-negativer Bakterien wird Endotoxin (Lipopolysaccharid, LPS) in den Blutkreislauf freigesetzt, was Initial zur Aktivierung der angeborenen Immunität führt. LPS führt durch direkte Stimulation von PMN's zur Freisetzung von Proteasen<sup>15</sup> und Sauerstoffradikalen<sup>16</sup>. Dabei spielt der cluster of differentiation (CD) 14, der unter anderem an der Zelloberfläche von PMN und Makrophagen expremiert wird<sup>17</sup>, eine wesentliche Rolle.

Endotoxin bzw. Lipopolysaccharid (LPS) ist ein Glykolipid, das einen integralen Bestandteil der äußeren Membran gram-negativer Bakterien darstellt und im Rahmen von bakteriellem Zerfall freigesetzt werden kann. Die anschließende zelluläre Aktivierung führt zu einer systemischen Freisetzung aktivierter, pro-inflammatorischer Zytokine, wodurch die Toxizität des LPS systemisch vermittelt wird<sup>18</sup>. Schon ab einer Konzentration von 1 pg/ml ist das Endotoxin in der Lage Makrophagen zu aktivieren<sup>19</sup>.

Dabei spielen zwei Proteine, das LPS-bindende Protein (LBP) und der Rezeptor CD14, der sowohl membranständig als auch löslich (soluble, s) vorkommt, eine bedeutende Rolle. Nach Bindung von LPS an LBP katalysiert dieses den sofortigen Transport an den CD14-Rezeptor<sup>19</sup>. LBP beschleunigt dabei die Bindung von LPS-Monomeren an CD14 und erhöht dadurch die Sensitivität der Zellen gegenüber LPS<sup>20;21</sup>. Andere Untersuchungen haben gezeigt, dass LBP neben einer Aktivitätssteigerung auch eine Neutralisation von biologisch aktivem LPS bedingen kann. Dabei überträgt LBP LPS an Lipoproteine, wodurch dieses funktionell neutralisiert wird<sup>22</sup>. LBP ist ein Akut-Phase-Protein<sup>23</sup>, welches hauptsächlich in der Leber produziert wird, das nach inflammatorischem Stimulus, inklusive bakterieller Sepsis, einen starken Anstieg in der Plasmakonzentration zeigt<sup>24</sup>. Neben der Leber ist auch die Lunge in der Lage LBP zu produzieren<sup>4</sup>. So konnte in der Lavage von ARDS-Patienten eine 64-fach höhere Konzentration an LBP gegenüber der Kontrollgruppe gemessen werden, wobei die Serumwerte für LBP erhöht waren, diese jedoch nicht mit der BAL-Konzentration von LBP korrelierten<sup>4</sup>. Eine von der Arbeitsgruppe Golenbock et al. etablierte LBP-knock-out (k.o.) Maus erbrachte zusätzliche Informationen über dieses Protein. Während bei Blutzellen aus den LBP<sup>-/-</sup>-Tieren eine 1000-fach geringere Reaktion gegenüber den LBP<sup>+/-</sup>-Tieren auf LPS-Stimulation zu sehen war, zeigte der Ganztierversuch eine annähernd identische Antwort zwischen den homo- und heterozygoten Tieren<sup>25</sup>. Dabei zeigten vorausgegangene Untersuchungen, dass LPS in Abwesenheit von LBP in der Lage war, an CD14 zu binden, wobei das Verhältnis der Bindung von der Menge an sCD14 abhängig war<sup>21</sup>. sCD14 ist zudem für die Aktivierung CD14 negativer Zellen, wie z.B. Endothel oder glatte Muskulatur, durch LPS von Bedeutung<sup>26</sup>. So nahm die Endotoxin-Sensitivität an humanen Endothelzellen, gemessen an der NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa ( $\kappa$ ) B) Phosphorylierung, durch Zusatz von sCD14- und LBP-haltigem Serum in *in-vitro* Versuchen um das bis zu 3000-fache zu<sup>27</sup>.

CD14 wird in der Leber und im Fettgewebe gebildet<sup>28</sup>. Dabei handelt es sich um einen Glykosylphosphatidylinositol verankerten Rezeptor, der keine transmembranäre und intrazelluläre Domäne besitzt<sup>20</sup>. Die wesentliche Rolle von CD14 bei der Vermittlung von LPS wird durch folgende Untersuchung unterstrichen. Transgene Mäuse, die humanes CD14 exprimierten, waren in verstärktem Maß suszeptibel gegenüber LPS, was sich in einer erhöhten Anfälligkeit einen septischen Schock zu entwickeln zum Ausdruck kam<sup>29</sup>. Dagegen waren CD14<sup>-/-</sup>-Mäuse gegenüber septischem Geschehen, entweder durch gram-negative Bakterien oder aufgereinigtes LPS induziert, sehr

widerstandsfähig<sup>30</sup>. Der Mechanismus, über welchen CD14 ein transmembranäres Signal vermittelt, ist noch nicht endgültig geklärt. Zusätzliche transmembranäre Rezeptoren scheinen dabei, partiell in Interaktion mit CD14, eine Rolle zu spielen. So zeigten Studien, dass LPS zumindest teilweise in der Lage ist, auch ohne CD14 an Zellen zu binden<sup>31</sup>.

Eine wesentliche Rolle bei der Signaltransduktion des LPS übernimmt der Toll-like-Rezeptor (TLR) 4, der 1997 in humanem Gewebe von der Arbeitsgruppe um Janeway charakterisiert und mit erworbener Immunität in Verbindung gebracht wurde<sup>32</sup>. 1998 zeigten genetische Analysen an den beiden Maus-Inzucht-Stämmen C3H/HeJ und C57BL/10ScCr, die einen Gendefekt in der LPS-Antwort aufzeigen, eine Mutation im TLR4-Gen<sup>33</sup>. Zusätzlich stellten TLR4<sup>-/-</sup> Mäuse die bedeutende Rolle des Rezeptors heraus, da sie keine pathophysiologische Reaktion auf LPS-Stimulation zeigten<sup>34</sup>. Bei Patienten werden Mutationen im Bereich des TLR4-Gens mit einer verminderten Reaktion auf LPS in Zusammenhang gebracht<sup>35</sup>. Für die Signaltransduktion am TLR4-Rezeptor werden zwei weitere Proteine, MD-2 und MyD88, benötigt. MD-2 bildet dabei mit der extrazellulären Domäne von TLR4 einen Komplex, und ermöglicht somit die Wechselwirkung von TLR4 mit LPS<sup>36</sup>. MyD88 ist, mit Ausnahme des TLR-3-Rezeptors<sup>37</sup>, das gemeinsame Adapterprotein aller TLR's und interagiert direkt mit der intrazellulären Domäne bei der Signaltransduktion<sup>38</sup>. Dabei gibt es einen MyD88-abhängigen Signalweg, der für die Aktivierung proinflammatorischer Zytokine verantwortlich scheint, und einen MyD88 unabhängigen Signalweg, der die Gene der Typ I Interferone aktiviert<sup>39</sup>.

Es ist allgemein anerkannt, dass die inflammatorische Reaktion des Organismus auf LPS-Stimulation über TLR4 vermittelt wird. Dabei spielen mehrere Zellen/Zellkompartimente eine Rolle. Eine bedeutende Funktion hat die Zelllinie der Monozyten/Makrophagen. Unter LPS-Stimulation exprimieren sie eine Vielzahl an bioaktiven Mediatoren, wie beispielsweise IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 und TNF $\alpha$ <sup>40</sup>. Zudem sind LPS sensitive Makrophagen, im Gegensatz zu LPS resistenten Makrophagen aus C3H/HeJ Mäusen, in der Lage, einen Endotoxin-Schock zu vermitteln<sup>41</sup>. Neben den immunkompetenten Zellen beteiligen sich auch Zellen des Gefäßsystems (Endothel, Gefäßmuskulatur) und epitheliale Zellen an inflammatorischen Prozessen während schwerer Infektionen<sup>42</sup>. Dabei exprimieren sie, z.T. nach unterschiedlichen Stimuli, Zytokine wie IL-1, IL-6 und IL-8 sowie weitere Faktoren wie Prostazyklin, NO (Stickstoffmonoxid), PAF und Interferone<sup>26;42-44</sup>.

In einem ARDS Model mittels Aspiration von Salzsäure schien eine Acute Lung Injury durch IL-6 vermittelt zu sein, wobei dieses via TLR4, jedoch MyD88 unabhängig, aktiviert wurde<sup>45</sup>. Im selben Model konnte jedoch eine Hochregulation für zahlreiche proinflammatorische Zytokine, wie zum Beispiel TNF $\alpha$  und IFN- $\gamma$ , nicht gezeigt werden. In dem hier verwendeten Model der isoliert perfundierten Lunge zeigte sich aber nach LPS-Stimulation eine vermehrte Bildung und Sekretion für TNF $\alpha$ <sup>46</sup>. Für IFN- $\gamma$ , ein wesentliches Zytokin für angeborene und erworbene Immunität viraler und bakterieller Infektionen<sup>47-49</sup>, ist die lokal-pulmonale und zelluläre Expression sowie die Regulation unter LPS-Stimulation bislang erst unvollständig untersucht. Aus diesem Grund versucht die vorliegende Arbeit, einen Beitrag zu den Erkenntnissen über dieses Zytokin und seine sich anschließende Signalkaskade zu leisten.

### 1.3 Interferon- $\gamma$

Interferon- $\gamma$  spielt eine bedeutende Rolle bei der Induktion und Modulation einer Vielzahl von Immunantworten. Dabei wird die zelluläre Antwort auf IFN- $\gamma$  durch seinen Oberflächenrezeptor (IFN- $\gamma$ R) vermittelt, der über Aktivierung verschiedener distaler Mediatoren zur Regulation IFN- $\gamma$  abhängiger Genexpression führt<sup>50</sup>.

Ursprünglich vor über 35 Jahren als ein antivirales Agens entdeckt, ist IFN- $\gamma$  seither als ein homodimeres Glykoprotein mit pleiotropen immunologischen Funktionen bekannt<sup>50</sup>. Im Jahr 1982 gelang die Isolierung der cDNA des humanen IFN- $\gamma$ <sup>51</sup>. Bisher gilt, dass IFN- $\gamma$  hauptsächlich von aktivierten natürlichen Killer-(NK)-Zellen<sup>52</sup>, von aktivierten NKT-Zellen<sup>53</sup>, aktivierten T-Helfer(Th)-Zellen vom Subtyp Th 1<sup>54</sup> und von aktivierten zytotoxischen CD 8<sup>+</sup>-Zellen des Phänotyps TC1<sup>55</sup> produziert wird. Für NK und NKT Zellen ist darüber hinaus konstitutiv mRNA für IFN- $\gamma$  beschrieben<sup>53</sup>.

Dabei spielt IFN- $\gamma$  eine Rolle bei der Aktivierung von Makrophagen, der Vermittlung antiviraler und antibakterieller Immunität, der Verbesserung der Antigenpräsentation über MHC (major histocompatibility complex) I und II, der Initiierung angeborener Immunität, der Koordinierung von Lymphozyten-Endothel-Interaktionen, der Regulierung des Th1/Th2 Gleichgewichts und der Kontrolle des zellulären Wachstums und der zellulären Apoptose<sup>50</sup>. Im Rahmen der außergewöhnlichen Komplexität dieses Zytokines richtet die vorliegende Arbeit das Augenmerk auf dessen immun- und infek-

modulatorische Funktion und versucht den Kenntnisstand über die konstitutive Expression in murinen und humanen Organen sowie die Regulation in LPS-stimulierten Lungen zu erweitern.

In der Immunantwort spielt IFN- $\gamma$  eine zentrale Rolle, da k.o.-Tiere für IFN- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ R1 und STAT1 (beide essentiell für die biologische Antwort auf IFN- $\gamma$ ) phänotypische Anomalien im Bereich des lymphatischen Systems zeigen und eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber bestimmten viralen und bakteriellen Erregern zeigen<sup>56;57</sup>.

Hardy und Sawada zeigten, dass IFN- $\gamma$  seine eigene Expression in NK Zellen stark hochregulieren kann<sup>58</sup>. Darüber hinaus ist IFN- $\gamma$  in der Lage, die Oberflächenexpression seines eigenen Rezeptors zu vermindern<sup>59</sup>. IFN- $\gamma$  wird, neben der Autostimulation<sup>58</sup>, durch die Zytokine IL-12 und IL-18, teils synergistisch, induziert<sup>60</sup>. IL-12, ein zentraler Regulator der zellulären Immunität<sup>61</sup>, wird nach Stimulation von dendritischen Zellen<sup>62</sup>, von PMNs und vor allem von Makrophagen sezerniert<sup>61</sup>. Dabei wirkt IL-12 direkt auf die Gen-Transkription<sup>63</sup> und Sekretion<sup>61</sup> von IFN- $\gamma$ . Im Gegenzug wird IL-12 aktiv durch IFN- $\gamma$  in Makrophagen und Monozyten induziert<sup>61</sup>. IL-18 wird von Makrophagen, dendritischen Zellen, Osteoblasten, synovialen Fibroblasten<sup>64</sup> und PMNs produziert<sup>65</sup>. IL-18 kann direkt die Promoterregion von IFN- $\gamma$  regulieren<sup>66</sup>, agiert aber bei der Produktion IFN- $\gamma$  betreffend mit IL-12 synergistisch<sup>67</sup>. IL-12 und IL-18 können beide durch LPS Stimulation expremiert werden<sup>68;69</sup>, so dass dies, neben einer direkten LPS-getriggerten Induktion, eine weitere Möglichkeit darstellen könnte, die Expression von IFN- $\gamma$  zu gewährleisten.

Nach Expression ist IFN- $\gamma$  vor allem in Synergismus mit TNF $\alpha$  und IL-1 $\beta$  in der Lage, Chemokine wie IP-10, MIP-1 $\alpha$  und MIP-1 $\beta$ , RANTES und MCP-1 sehr stark zu induzieren<sup>70;71</sup>. Dabei werden diese von verschiedensten Zellen wie Lymphozyten, Makrophagen, Endothelzellen und anderen sezerniert und sind für die Chemotaxis von Lymphozyten und Monozyten verantwortlich. Zusätzlich von Bedeutung für die leukozytäre-endotheliale Interaktion ist die Hochregulation der Integrin Liganden ICAM-1 und VCAM-1 auf Endothelzellen durch IFN- $\gamma$ <sup>72</sup>. Viele Gene die durch IFN- $\gamma$  induzierbar sind, können auch durch TNF $\alpha$  induziert werden, häufig agieren sie dabei synergistisch. Dem Synergismus dieser beiden Zytokine scheint eine Interaktion zwischen NF- $\kappa$ B und IRF-1 (ein IFN- $\gamma$  induzierbarer Transkriptionsfaktor) zu Grunde zu liegen<sup>73</sup>. Andererseits scheint IRF-1 auch direkt durch TNF $\alpha$  aktiviert zu werden<sup>74</sup>, sowie NF- $\kappa$ B durch IFN- $\gamma$ <sup>73</sup>.

Im Rahmen des respiratory burst erhöht IFN- $\gamma$  den mikrobiziden Status von Makrophagen. Dabei stellte sich der Makrophagen aktivierende Faktor (MAF), der durch antigen-stimulierte T-Lymphozyten freigesetzt wird, schließlich als IFN- $\gamma$  heraus<sup>75</sup>. Bei der Ausbildung von Sauerstoffradikalen wird die Oxidation über eine NADPH abhängige Oxidase vermittelt. Einige Komponenten dieses Flavocytochrom-Enzyms werden über IFN- $\gamma$  direkt oder in Synergie mit TNF $\alpha$  beeinflusst<sup>76</sup>. Das instabile Gas NO, ein intrazelluläres Signalmolekül, das neben diversen zellulären Prozessen wie vaskulärer Homeostasis und Neurotransmission auch eine Rolle bei antimikrobieller und antiviraler Abwehr spielt, wird ebenfalls von IFN- $\gamma$  beeinflusst. Die Regulation von NO-Produkten durch IFN- $\gamma$  in Makrophagen beinhaltet die transkriptionelle Ko-Induktion von iNOS und zwei weiteren Enzymen, die in der Synthese von Substraten und Kofaktoren bei der Produktion von NO eine Rolle spielen<sup>77</sup>.

Zusammengenommen könnten diese Eigenschaften des IFN- $\gamma$  einen erheblichen Einfluss auf die Migration und Funktion verschiedener Leukozytenpopulationen im ARDS haben. Damit kann dieses Zytokin ein elementares Stellglied dieser Erkrankung darstellen. Für die Frühphase dieser schwerwiegenden Erkrankung wurde die Expression von IFN- $\gamma$  im Tiermodell bisher nicht untersucht und könnte weitere Einsichten in die komplexen Zusammenhänge der angeborenen und erworbenen Immunität liefern.

#### **1.4 Interferon- $\gamma$ -Rezeptor und Signaltransduktion**

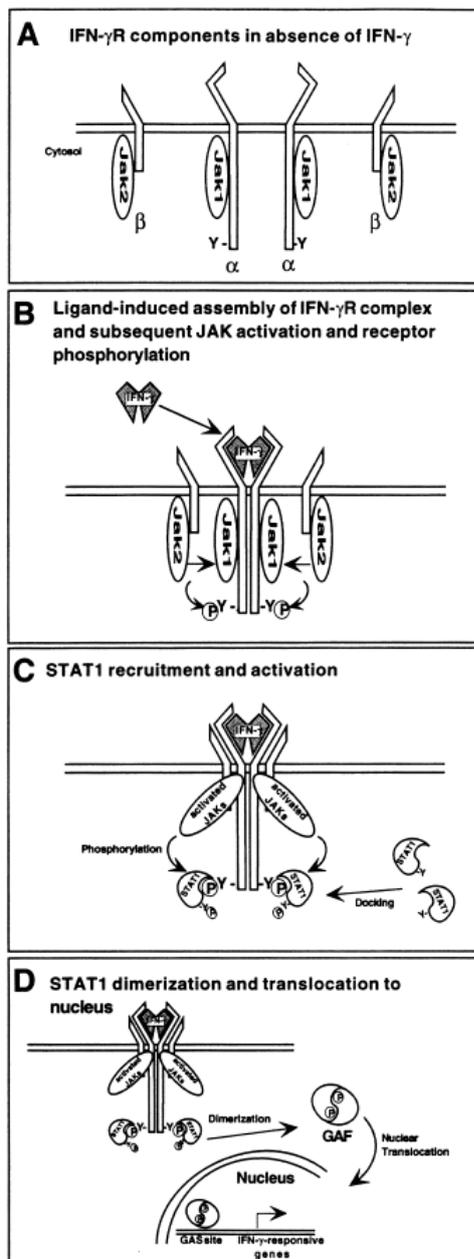
20 Jahre nach der Identifikation von IFN- $\gamma$  wurde sein Oberflächenrezeptor entdeckt<sup>78</sup>, der auf nahezu allen kernhaltigen Zellen expremiert wird<sup>79</sup>. Mit 200-25000 Bindungsstellen/Zelle wird der Rezeptor ständig und mit wechselnder Rezeptordichte präsentiert und ist außerhalb des lymphatischen Gewebes am stärksten repräsentiert<sup>79</sup>. Der Rezeptorkomplex, der die komplette biologische Funktion von IFN- $\gamma$  vermittelt, besteht aus mindestens zwei Ketten. Die  $\alpha$ -Kette des IFN- $\gamma$ R, auch bekannt als IFN- $\gamma$ R1 oder CD119, wurde als erste Komponente des Rezeptors identifiziert und kloniert<sup>80</sup>. Obwohl er mit einer relativ hohen Affinität an IFN- $\gamma$  bindet, ist der IFN- $\gamma$ R1 alleine nicht in der Lage, die biologische Antwort dieses Zytokins zu vermitteln<sup>81</sup>. Um einer Zelle die Möglichkeit zu geben, auf IFN- $\gamma$  zu reagieren, benötigt sie zusätzlich die  $\beta$ -Kette des

IFN- $\gamma$ R, auch bekannt als IFN- $\gamma$ R2<sup>82</sup>. IFN- $\gamma$ R1 ist die Rezeptoruntereinheit, deren Eigenschaft die hohe Affinität mit  $K_a = 10^9 - 10^{10} \text{ M}^{-1}$  des Rezeptors darstellt, wobei es zu einem Verhältnis zwischen Rezeptor und Ligand von 2:1 kommt<sup>83</sup>. IFN- $\gamma$ R2 erhöht die Affinität von IFN- $\gamma$ R1 gegenüber seinem Liganden, vermutlich durch Stabilisierung des Rezeptorkomplexes, spielt aber bei der direkten Ligandenbindung eine untergeordnete Rolle<sup>84</sup>. Jedoch ist die  $\beta$ -Kette für die Transduktion des IFN- $\gamma$  Signals obligatorisch<sup>82;84</sup>. Beide Ketten des IFN- $\gamma$  Rezeptors sind Mitglieder der Klasse-II-Zytokinrezeptoren, die unter anderem tissue factor, den IL-10-Komplex und beide Ketten des IFN- $\alpha$  Rezeptors beinhalten<sup>85</sup>. Wie auch andere Mitglieder dieser Familie besitzt weder die  $\alpha$ - noch die  $\beta$ -Kette eine intrinsische Aktivität. Spezifische Residuen innerhalb der zytoplasmatischen Domäne sowohl der  $\alpha$ - als auch der  $\beta$ -Kette des IFN- $\gamma$ R sind entscheidend für die Transduktion des IFN- $\gamma$  Signals von der Zelloberfläche bis zum Kern über die Aktivierung intrazellulärer Signalwege<sup>86</sup>. Die Signaltransduktion über den IFN- $\gamma$ R wird durch JAK1 und JAK2 vermittelt, die zu den Tyrosinkinase der Janus-Familie zählen<sup>87</sup>. Diese sind konstitutiv mit spezifischen, membran-proximal gelegenen Residuen der zytoplasmatischen Domäne des IFN- $\gamma$ R assoziiert<sup>87</sup>. Dabei bindet JAK1 an den IFN- $\gamma$ R1, während JAK2 an den IFN- $\gamma$ R2 bindet<sup>88</sup>.

Die Bindung des Liganden führt zu einer Oligomerisierung des Rezeptors, wobei zwei IFN- $\gamma$ R1 Ketten an ein IFN- $\gamma$ -Homodimer binden, und im Anschluss zwei IFN- $\gamma$ R2-Ketten sich an den Komplex anlagern<sup>89</sup>. Eine IFN- $\gamma$  vermittelte Aggregation seiner Rezeptorkomponenten bringt die inaktiven JAKs, die mit dem zytoplasmatischen Ende der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Kette assoziiert sind, in enge Nachbarschaft zueinander (Abbildung 1). Einmal so aneinander gelagert, werden die JAKs wechselseitig durch sequentielle Auto- und Transphosphorylierung aktiviert<sup>87</sup>. Aktivierte JAKs wiederum phosphorylieren ein spezifisches Tyrosinresiduum nahe dem C-terminalem Ende des IFN- $\gamma$ R1<sup>88</sup> (Abbildung 1). Dieses Paar phosphorylierter Tyrosinresiduen (je eines innerhalb der beiden IFN- $\gamma$ R1 Ketten) ist eingebaut in eine Erkennungsregion, an die STAT1 (ein Mitglied der Signal Transducers and Activators of Transcription-Familie) über seine Src-homologe-2 (SH2) Domäne bindet<sup>90</sup>. Die Koppelung von STAT1 an diese Zielsequenz wird gefolgt von einer Phosphorylierung durch die rezeptorassoziierten JAKs<sup>91</sup> (Abbildung 1). Einmal phosphoryliert, homodimerisieren zwei STAT1 Proteine über wechselseitige SH2-Phosphotyrosin Interaktion und bilden dabei einen Proteinkomplex der ursprünglich als GAF (gamma-activated factor) bezeichnet wurde<sup>92</sup>. Dieses STAT1-

Homodimer transloziert dann zum Kern, wo es an eine neun Nukleotide große Konsensussequenz, bekannt als GAS (gamma-activated site), bindet<sup>92</sup>. Diese Bindungsstelle wurde als regulierende Region für über 200 Gene identifiziert; folglich kann die Erkennung dieses Elements durch STAT1 zur Regulation einer Vielzahl von Genen führen, die dabei die biologische Funktion von IFN- $\gamma$  vermitteln<sup>50</sup>.

Die Signalwirkung über den IFN- $\gamma$ R kann an den unterschiedlichsten Stellen innerhalb des Signalweges reguliert werden. Einen Mechanismus stellt die Anpassung der Rezeptorexpression dar. Die Kontrolle des Expressionslevels von IFN- $\gamma$ R auf der Zelloberfläche wurde als ein Mechanismus diskutiert, über welchen eine Zelle seine Sensitivität gegenüber IFN- $\gamma$  verändern kann<sup>93</sup>. Die Abschwächung des IFN- $\gamma$  Signals über diesen Mechanismus wurde durch Unterschiede in der biologischen Antwort von Zellen entdeckt, die unterschiedliche Mengen von IFN- $\gamma$ R1 exprimieren. Darüber hinaus reagierten ein Teil der IFN- $\gamma$  produzierenden T-Zellen nach Reduktion der IFN- $\gamma$ R2 Expression nicht mehr auf IFN- $\gamma$ <sup>94</sup>.



**Abbildung 1: Die IFN- $\gamma$  Signalkaskade:**  
 A) Der IFN- $\gamma$ R besteht aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Ketten. JAK1 wird mit IFN- $\gamma$ R1 und JAK2 mit IFN- $\gamma$ R2 konstitutiv assoziiert.

B) Die Bindung von IFN- $\gamma$  an seinen Rezeptor führt zur Aggregation der Rezeptorkomponenten. Anschließend kommt es zur Aktivierung der JAK's durch Auto- und Transphosphorylierung. Die aktivierten JAK's phosphorylieren daraufhin Tyrosinresiduen am C-terminalen Ende von IFN- $\gamma$ R1.

C) STAT1 Moleküle lagern sich an den phosphorylierten Rezeptor und werden dann von aktivierten JAK's phosphoryliert.

D) Phosphorylierte STAT1 Proteine homodimerisieren über reziproke SH2-Phosphotyrosin-Interaktion und translozieren zum Kern, wo sie die Transkription der Gene regulieren. Abbildung nach Tau et al.<sup>95</sup>.

### 1.5 Januskinasen und Signal Transducers and Activators of Transcription

Für die Familie der Januskinasen, die zu den rezeptorassoziierten Tyrosinkinassen gehören, sind innerhalb der Säuger vier Mitglieder beschrieben: JAK1, JAK2, JAK3, Tyk2<sup>96</sup>. JAKs bestehen aus sieben konservierten JAK-Homologie (JH)-Domänen. Der Carboxy-terminale Anteil dieser Moleküle beinhaltet eine ausgeprägte Pseudokinase-Domäne (JH1) und eine Tyrosinkinase-Domäne (JH2)<sup>96</sup>.

Beide hier untersuchten Januskinasen werden, ähnlich den Rezeptoruntereinheiten, ubiquitär expremiert<sup>97</sup>. Das erste Indiz, dass die Signaltransduktion von Zytokinen JAKs beinhalten, kam durch Studien mit Zellen, die einen Defekt bei der Signalübermittlung von Interferonen aufwiesen<sup>98</sup>. Der obligate Bedarf zweier JAKs ist sehr gut am Beispiel der Reaktion auf Interferone beschrieben. Für die Signaltransduktion von IFN- $\alpha/\beta$  sind JAK1 und Tyk2 erforderlich, während IFN- $\gamma$  JAK1 und JAK 2 benötigt<sup>99;100</sup>. In mutierten Zelllinien, denen individuelle JAKs fehlten, zeigte die Abwesenheit von JAK1, dass eine Aktivierung von Tyk2 nach IFN- $\alpha$ -Stimulation nicht mehr stattfindet<sup>99</sup>. Dasselbe gilt für JAK2 nach IFN- $\gamma$ -Stimulation<sup>100</sup>. Im umgekehrten Fall verhindert das Fehlen von Tyk2 oder JAK2 eine Aktivierung von JAK1 nach entsprechender Stimulation<sup>99</sup>. Obwohl spezifische JAKs mit unterschiedlichen Zytokinrezeptoren assoziiert sind, wird dadurch keine Spezifität des Zytokinsignals gewährleistet. Zum einen aktivieren eine Vielzahl von Zytokinen JAK1 und JAK2 (z.B. IL-2, IL-4, IL-7, IL-3, IL-5, G-CSF, etc.). Zum anderen haben Versuche, bei denen die Tyrosinkinase an verschiedenen Rezeptoren beliebig ausgetauscht wurden, gezeigt, dass unterschiedliche Kinasen der Janusgruppe das Signal nicht verändern<sup>101</sup>. Dennoch deckten Untersuchungen mit Gendelektionsmodellen charakteristische Defekte in der Signalkaskade auf. So zeigten diese Versuche, dass JAK 1 eine bedeutende Rolle bei der biologischen Antwort auf die IL-6, IL-2, und IFN/IL-10 Rezeptorfamilie spielt<sup>102</sup>. Die JAK1<sup>-/-</sup> Maus hingegen zeigte eine perinatale Letalität. Die JAK2<sup>-/-</sup> Maus verstirbt in der Mitte der Gestation (ca. nach 12,5 Tagen), wobei eine unvollständige Erythropoese zugrunde liegt. Untersuchungen mit Gewebe aus JAK2<sup>-/-</sup> Lebern zeigten Defekte in der Antwort auf Tpo, IL-3, Mitglieder der IL-2 Familie und IFN- $\gamma$ , aber nicht bei IL-6 oder IFN- $\alpha$ <sup>103</sup>.

Die Familie der Signal Transducers and Aktivators of Transkription besteht aus sieben Mitgliedern: STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, STAT6<sup>96</sup>. Die biologische Funktion der einzelnen STATs konnte durch die Erzeugung einzelner k.o.-Mäuse gut dargestellt werden. Als erstes konnten die k.o.-Mäuse für STAT1 gezüchtet werden. Diese Mäuse sind lebensfähig und zeigten keine Defekte in ihrer Entwicklung. Da STAT1 über IFN- $\alpha/\beta$  und IFN- $\gamma$  aktiviert wird, fehlten alle physiologischen Funktionen, die mit Interferonen assoziiert sind. Die Interferone sind dafür bekannt, Makrophagen zu aktivieren und die wirtsvermittelte Immunantwort auf mikrobielle Pathogene zu triggern. Das Fehlen von STAT1 führte daher zu einer

außergewöhnlichen Empfindlichkeit gegenüber viralen Infekten und anderen Pathogenen<sup>57</sup>.

Ähnlich den STAT1-defizienten Mäusen sind auch STAT2-k.o.-Mäuse empfindlicher gegenüber viralen Infektionen<sup>104</sup>. STAT2 wird nahezu ausschließlich von IFN- $\alpha/\beta$  aktiviert, was zur Ausbildung des ISGF-3 (IFN-stimulated gene factor-3)-Komplexes führt, der aus STAT1, STAT2 und p48 besteht. STAT2 spielt dabei eine bedeutende Rolle bei der biologischen Antwort auf IFN- $\alpha$ . Mäusen, denen das STAT2 Protein fehlt, sind ebenso wie STAT1-defiziente Mäuse lebensfähig und entwickeln sich ohne phänotypische Auffälligkeiten<sup>104</sup>.

Im Gegensatz zu allen anderen Mitgliedern der STAT-Familie hatte die Entfernung von STAT3 embryonale Letalität zur Folge<sup>105</sup>. Zusätzlich wird STAT3 durch eine große Anzahl von Zytokinen, Wachstumsfaktoren und anderen Stimuli aktiviert<sup>106</sup>. Diese und andere Ergebnisse führten zu der Hypothese, dass STAT3 eine Art Ur-STAT darstellen könnte. Um dennoch Untersuchungen an ausdifferenzierten Geweben durchführen zu können, wurde das STAT3 Protein für einzelne Gewebe oder Zellpopulationen in Mäusen entfernt. So geschehen für Makrophagen<sup>107</sup>, zeigten diese Tiere eine größere Anfälligkeit gegenüber dem Endotoxinschock bei gleichzeitig erhöhten Serumkonzentrationen für TNF $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , und IFN- $\gamma$ . Die STAT3-defizienten Makrophagen antworteten dabei auf Endotoxin mit einer überhöhten Produktion von inflammatorischen Zytokinen und einer gesteigerten Expression von MHC II-Molekülen. Die gesteigerte Aktivität der Makrophagen führte bei den für STAT3 mutierten Tieren zur Ausbildung einer chronischen Enterokolitis mit erhöhter IFN- $\gamma$  Produktion. Weitere Untersuchungen an konditionellen k.o.-Tieren wurden für T-Zellen<sup>108</sup>, die Haut<sup>109</sup> und Brustdrüsen<sup>110</sup> durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass STAT3 an einer Vielzahl physiologischer Prozesse beteiligt ist und dabei anscheinend zu gegensätzlichen biologischen Antworten führt. Überdies scheint STAT3 eine Schlüsselrolle bei der Pathogenese verschiedener Krebsarten einzunehmen, was es zu einem interessanten Ziel für mögliche Therapien werden lässt<sup>111</sup>. Die biologische Bedeutung der STAT-Familie konnte durch die Erzeugung von k.o.-Mäusen aufgezeigt werden. Da Zytokine in vielerlei Hinsicht in Immundefekte und Erkrankungen involviert sind, gewinnen folglich ihre Signalproteine, hier die STAT Familie, an Bedeutung. Bis heute ist die zelluläre Expression der hier untersuchten JAK/STAT-Proteine in Lungengewebe weitestgehend unbekannt. Ebenso gilt dies für die pulmonale Regulation des IFN- $\gamma$ -Rezeptors mit

---

seiner Signalkaskade nach LPS Stimulation. Somit versucht diese Arbeit, weitere Einblicke in intrazelluläre Regulation und Aktivierung zu ermöglichen.

## 1.6 Fragestellung

Bislang existieren nur unvollständige Untersuchungen über ein spezies- (Tier und Mensch) sowie organ- und zelltyp-spezifisches Expressionsmuster von IFN- $\gamma$  und dessen assoziierten Signalkomponenten. Darüber hinaus lassen die dargelegten Eigenschaften und Funktionen die Hypothese zu, dass IFN- $\gamma$  mit seinem Rezeptorkomplex, den Tyrosinkinase und Transkriptionsfaktoren ein zentrales Stellglied im Verlauf eines ARDS darstellen könnte. Um einen Erkenntnisbeitrag zu diesen Sachverhalten zu leisten widmet sich die vorliegende Arbeit der Darstellung eines spezies-übergreifenden und zelltyp-spezifischen Expressionsmusters der beschriebenen Mediatoren. Ferner sollen diese Ergebnisse als Grundlage dienen, die zelltyp-spezifische Regulation dieser Proteine in einem Modell der isoliert-perfundierten und LPS exponierten Rattenlunge zu analysieren, um somit zum Verständnis der pathogenetischen Zusammenhänge der ARDS Entstehung beizutragen. Um dieses Ziel zu erreichen wurden folgende Fragestellungen formuliert und bearbeitet.

1. Kann eine konstitutive, speziesübergreifende Expression von IFN- $\gamma$ , seinem Rezeptorkomplex und den sich anschließenden signaltransduzierenden Komponenten in zentralen Organsystemen von Ratte und Mensch nachgewiesen werden?
2. Findet sich eine organbezogene, zelluläre Kompartimentierung dieser Komponenten?
3. Zeigen sich zwischen dem Expressionsmuster der Ratte und dem des Menschen organ- und zelltyp-spezifische Unterschiede?
4. Welche zellulären Veränderungen des pulmonalen Expressionsmusters von IFN- $\gamma$ , seinem Rezeptor und deren signaltransduzierenden Proteinen treten nach LPS-Exposition im Modell der isoliert-perfundierten Rattenlunge ein?
5. Haben Plasmafaktoren (z.B. sCD14 und LBP) einen Einfluss auf die Regulation der hier untersuchten Proteine in isoliert-perfundierten und LPS-exponierten Rattenlungen?

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Versuchsmaterial

Als Versuchstiere für das Modell der isoliert-perfundierten Lunge wurden CD-Ratten (Sprague Dawley) mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 350-400 Gramm verwendet, die von Charles River (Sulzfeld, Deutschland) bezogen wurden. Die Vorgehensweise bei den Tierversuchen orientierten sich streng an den Richtlinien des nationalen amerikanischen Instituts für Gesundheit <sup>112</sup>.

Insgesamt wurden 65 Rattenlungen untersucht. Fünf Rattenlungen wurden unbehandelt als physiologische Proben entnommen und kurz blutfrei gespült. Alle weiteren Lungen wurden im isolierten Lungenmodell jeweils über ein und zwei Stunden mit Pufferlösung perfundiert (siehe Kapitel 2.2.1). Neben den Lungen wurden weitere Organe entnommen. Zu diesen zählten die Glandula submandibularis, Magen, Duodenum, Leber, Pankreas, Ileum, Kolon, Milz, Thymus, Trachea, Herz und Haut. Von jedem Organ wurden Gewebeproben aus fünf unterschiedlichen Tieren untersucht.

Die Gewebeproben der humanen Lungen stammten aus Resektaten von Patienten mit Tumorerkrankungen, denen aus therapeutischen Gründen Gewebeproben entnommen wurden. Das hier untersuchte Lungengewebe wurde aus tumorfernen Arealen entnommen und auf Entzündungsfreiheit sowie morphologische Unversehrtheit hin untersucht.

Die humanen Proben von Magen, Kolon, Milz, Haut und Trachea stammten teils aus Sektionsmaterial, teils aus Operationsmaterial, und ebenfalls aus Geweberegionen ohne pathologisch feststellbare Veränderungen. Für jedes Organ wurden zwischen drei und sieben Patientenproben untersucht.

#### 2.1.2 Reagenzien

Der polyklonale IFN- $\gamma$  Antikörper wurde von Biosource International (Camarillo, CA) bezogen. Die polyklonalen Antikörper gegen IFN- $\gamma$ R1, IFN- $\gamma$ R2, JAK1, JAK2, STAT1,

STAT2 und STAT3, wurden von Santa Cruz Biotechnologie, Inc. (Santa Cruz, CA, USA) bezogen. Die monoklonalen anti-Phospho-STAT1 und anti-Phospho-STAT3 stammten von Upstate Biotechnology (Lake Placid, NY, USA).

Der IFN- $\gamma$  Antikörper ist gegen natürliches und rekombinantes IFN- $\gamma$  von Ratte und Maus sowie humanes IFN- $\gamma$  gerichtet (vom Hersteller nicht näher spezifiziert). Anti-IFN- $\gamma$ R1 richtet sich gegen die Aminosäuren 23-42 am N-terminalen Ende, anti-IFN- $\gamma$ R2 gegen die Aminosäuren 312-331 am C-terminalen Ende. Der Antikörper gegen JAK1 richtet sich gegen die Aminosäuren 270-375 des N-Terminus, der gegen JAK2 bindet eine innere Domäne von JAK2 (vom Hersteller nicht näher spezifiziert). Anti-STAT1 richtet sich gegen die Aminosäuren 688-710 und anti-STAT3 gegen die Aminosäuren 750-769 des C-Terminus, anti-STAT2 gegen die Aminosäuren 7-26 der terminalen Stickstoffgruppe. Anti-Phospho-STAT1 korrespondierte mit den Aminosäuren 718-730, anti-Phospho-STAT3 mit den Aminosäuren 718-729 der terminalen Carboxylgruppe.

Sämtliche hier verwendeten Antikörper wurden bereits in zahlreichen Arbeiten verwendet und veröffentlicht. Nachzusehen sind diese Veröffentlichungen auf den Internetseiten der jeweiligen Hersteller (Biosource International: [www.invitrogen.com](http://www.invitrogen.com); Santa Cruz Biotechnologie: [www.scbt.com](http://www.scbt.com); Upstate Biotechnology: [www.millipore.com](http://www.millipore.com)). Exemplarisch sollen hier zwei wesentliche Arbeiten für IFN- $\gamma$  zitiert werden. Zum einen die Arbeit von Van der Meide et al., in der die Herstellung des polyklonalen IFN- $\gamma$ -Antikörpers zur Charakterisierung von rekombinantem IFN- $\gamma$  aus der Ratte beschrieben wird<sup>113</sup>. Zum anderen die Arbeit von Ljungdahl et al., in der dieser polyklonale Antikörper mit sieben anderen monoklonalen eingesetzt wird<sup>114</sup>, um IFN- $\gamma$  im zentralen und peripherem Nervengewebe nachzuweisen.

Als Sekundärantikörper wurden ein mit Peroxidase markierter Ak der Firma Rockland (Gilbertsville, USA) und ein mit alkalischer Phosphatase markierter Ak der Firma Leinco Technologies, Inc (Ballwin, USA) verwendet.

Die Substrat Kits (VectorRed®, TMB) wurden von Vector Laboratories, Inc. (Burlingame, USA) bezogen. Alle weiteren Chemikalien stammten von den Firmen Merck (Darmstadt, Deutschland) und Sigma (Deisenhofen, Deutschland).

### 2.1.3 Technische Geräte

Die Gewebeproben wurden mit einem Kryostaten (CM 3050) der Firma Leica (Wetzlar, Deutschland) geschnitten. Die semiquantitative Auswertung fand an einem Mikroskop (DMRXA) der Firma Leica (Wetzlar, Deutschland) statt. Mit einer Scanningcamera (Micro Lumina) der Firma Leaf (Tempe, AZ, USA) wurde die Photodokumentation durchgeführt und anschließend serverseitig gespeichert und digital verarbeitet.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Präparation

Die Technik der isolierten, perfundierten Kaninchenlunge ist ein etabliertes und schon regelhaft angewendetes Verfahren<sup>115</sup>. In den Arbeiten von Ermert et al.<sup>46;116</sup> wurde das Modell modifiziert und auf Rattenlungen übertragen. Die Versuche an den Rattenlungen wurden im Rahmen weiterer Dissertationen durchgeführt (A. Althof, M. Merckle, JLU-Gießen).

Fünf Rattenlungen wurden für ca. 5 Minuten perfundiert, um das Blut auszuwaschen. Weitere 60 Lungen wurden für ein bzw. zwei Stunden ohne oder mit Dosen von 50 ng/ml, 1 µg/ml oder 10 µg/ml Lipopolysaccharid (LPS) des Bakteriums *Salmonella abortus equi* perfundiert (n=5/Gruppe). In zusätzlichen Lungenversuchen wurde, bei sonst identischen Versuchsbedingungen, zusätzlich 1,5%-iges Plasma ins Pufferperfusat appliziert (n=5/Gruppe). Nach Versuchsende wurden die Lungen mit Tissue Tek (Sekura Firetek, Zoeterwoude, NL) instilliert und in flüssigem Stickstoff eingefroren. Im Anschluß wurden die Objekte im Kryostaten bei minus 20° C zu ca. ein Mal ein Zentimeter großen Blöcken präpariert. 10 µm dicke Kryostatschnitte wurden auf Poly-L-Lysin beschichtete Objektträger aufgebracht und bis zur immunhistologischen Aufarbeitung bei minus 80° C gelagert.

Die Entnahme der Rattenorgane erfolgte parallel zur Präparation der Lunge. Die Organe wurden nach Entnahme in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Nach Aufblocken in Tissue Tek wurden Schnitte mit einer Dicke von 10 µm angefertigt und bis zur Färbung bei minus 80° C gelagert. Mit den humanen Proben wurde in gleicher Weise verfahren.

Von jeder Gewebeprobe wurde ein Schnitt mit Hämalaun und Eosin (Technik nach Romais) gefärbt und begutachtet.

### 2.2.2 Immunhistologie

Die im Nachfolgenden beschriebene Technik wurde für die zu untersuchenden Proben modifiziert. Das immunhistologische Verfahren wurde bereits in mehreren Studien erfolgreich eingesetzt und wurde für die vorliegende Arbeit entsprechend angepasst<sup>46;116;117</sup>.

Von jeder Probe wurde pro Antikörper ein Schnitt gefärbt. Die Konzentrationen und Färbezeiten wurden durch entsprechende Vorversuche ermittelt. Die Konzentration des Primärantikörpers lag zwischen 1:50 und 1:1200, die des mit alkalischer Phosphatase markierten Sekundärantikörpers bei 1:2000, die des mit Peroxidase markierten bei 1:10000. Die Färbezeit für VectorRed© lag zwischen 30 und 60 Minuten, die für TMB zwischen 6,5 und 9 Minuten.

Die Schnitte der Rattenlungen wurden in 3%-igem Paraformaldehyd für fünf, die restlichen Gewebeschnitte für zehn Minuten fixiert. Im Anschluss an 3 mal 5 Minuten Waschen im Spülpuffer (PBS: 0,01 M, 150 mM NaCl, pH 7,6) wurden die Schnitte für 15 Minuten mit 1%-igem Triton behandelt. Zur Blockade unspezifischer Bindungen erfolgte eine 30 minütige Inkubation mit 5%-igem Serum (Verdünnungsmedium: PBS + 1% BSA + 0,05% Tween-20). Der Primärantikörper wurde in den verschiedenen Konzentrationen mit dem Verdünnungsmedium über Nacht bei 4°C inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Objekte gewaschen und der Sekundärantikörper in der entsprechenden Konzentration mit dem Verdünnungsmedium inkl. 1% Serum des Sekundärantikörper-Wirtes über Nacht bei 4°C inkubiert. Am dritten Tag wurden die Schnitte mit dem entsprechenden Substrat-Kit entwickelt, nachdem sie zuvor 3 mal 5 Minuten gewaschen wurden. Um die endogene alkalische Phosphatase zu blockieren, wurden 2,5 mM Levamisol der VectorRed© Lösung beigefügt. Im Anschluss erfolgte eine Kerngegenfärbung mit Methylgrün.

Um die endogene Peroxidase zu blockieren wurden die Objekte nach dem Permeabilisationsschritt mit 2%-iger Wasserstoffperoxidlösung für eine halbe Stunde behandelt. Zur Entwicklung wurde ein TMB-Kit verwendet. Zum besseren Kontrast wurde hier mit Kernechtrot gegengefärbt.

Zur Kontrolle jeder Färbung wurden zwei Schnitte mitgeführt, einer ohne Primär-Antikörper, um die spezifische Bindung des Sekundär-Antikörpers zu belegen, der andere ohne Antikörper, um die komplette Blockade der endogenen alkalischen Phosphatase bzw. der endogenen Peroxidase zu zeigen.

### **2.2.3 Auswertung**

Zu Beginn wurde für jedes Organ die zu beurteilenden Strukturen festgelegt. Zur Bewertung der Färbung wurde eine Skala von fünf Stufen festgelegt (0 = keine Färbung, 1 = schwache Färbung, 2 = mittlere Färbung, 3 = starke Färbung, 4 = sehr starke Färbung). Die Übersichtsauswertung am Mikroskop erfolgte zunächst mit hundertfacher Vergrößerung. Die einzelnen Zelltypen wurden morphologisch zugeordnet und mindestens fünf korrespondierende Strukturen wurden ausgewertet, wobei, z.B. für AM und Endothelzellen, im Maximum eine tausendfache Vergrößerung eingesetzt wurde. Die Ergebnisse wurden in Tabellen gelistet und für jede Struktur der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet. Für die Strukturen der Lungen wurden Diagramme angelegt, um den Verlauf der Färbung unter LPS zu dokumentieren. Abschließend wurden die einzelnen Proteinexpressionen miteinander verglichen und dokumentiert.

### **2.2.4 Dokumentation**

Zur Bilddokumentation der gefärbten Strukturen wurden die unter Kapitel 2.1.4 erwähnten Mikroskope und Kameras verwendet. Auflösung, Belichtung, Zoom und Filter wurden standardisiert verwendet. Jedes Bild wurde mit einem Metadatenatz (Datum, Spezies, Organ, Struktur, Antikörper, Färbetechnik, Schnittbezeichnung, Mikroskop, Vergrößerung, Zoom, Belichtung, Filter, Kamera und Auflösung) versehen und in einer Bilddatenbank archiviert. Insgesamt wurden für jedes untersuchte Protein ca. 150 Schnitte für die Rattenorgane und ca. 60 Schnitte für das humane Gewebe angefertigt. Die dort gesichteten Ergebnisse wurden mit ca. 250-300 Bildern pro Protein dokumentiert.

### **2.2.5 Statistik**

Die statistischen Tests wurden mit dem Programm SAS ausgeführt. Die Daten wurden nach Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk auf Normalverteilung getestet und der exakte Test für die Rangkorrelation nach Spearman berechnet und auf Signifikanzen ( $P < 0.05$ ) geprüft.

### **3 ERGEBNISSE**

#### **3.1 Methodische Kontrollen**

Auf Grund der mitgeführten Antikörper-Kontrollpräparate (Kapitel 2.2.2) konnten in den untersuchten Geweben unspezifische Färbungen und Hintergrundfärbungen (Background) soweit vorhanden differenziert und ausgeschlossen werden.

#### **3.2 Konstitutive immunhistologische Lokalisation von IFN- $\gamma$ , den Rezeptor-untereinheiten $\alpha$ und $\beta$ , den Tyrosinkinase JAK 1 und JAK2, sowie den Transkriptionsfaktoren STAT 1, STAT2 und STAT3 in zentralen Organsystemen**

Im Folgenden werden die Begriffe „keine Färbung, schwach, mittel, stark und sehr stark“ gemäß der in „Material und Methoden Kapitel 2.2.3“ beschriebenen numerischen Zuordnung der Farbintensitäten verwendet.

##### **3.2.1 Kardio-pulmonales System**

Das Trachealepithel der Ratte (Tabelle 1, S. 30) zeigte eine starke bis sehr starke Färbeintensität für alle Marker. Besonders im Bereich von Trachealdrüsen und Knorpel war eine meist starke Färbung zu beobachten. Die Gefäßmuskulatur und die glatte Muskulatur der Trachea blieben ohne Färbung. Das Gefäßendothel war, mit Ausnahme einer schwachen Färbung der Rezeptoruntereinheit  $\alpha$ , mittel bis stark gefärbt. Tracheale Nervenfasern wiesen keine Färbung für das Zytokin auf, während bei den übrigen Markern eine deutliche Färbung zu erkennen war.

Das gesamte Bronchialepithel der Rattenlunge (Tabelle 3, S. 31; Abb. 1 bis 5, S. 60) zeigte eine starke Färbung und war damit im Durchschnitt etwas schwächer als das respiratorische Oberflächenepithel der Trachea gefärbt. Zudem schwächte sich die Färbeintensität für IFN- $\gamma$  in Richtung distaler Bronchien ab. Die Bronchialmuskulatur (Abb. 1, S. 60) war entweder sehr schwach oder gar nicht gefärbt. Das dem

Bronchialsystem assoziierte lymphatische Gewebe (bronchiatic associated lymphatic tissue = BALT, Abb. 1, S. 60) zeigte eine zumeist schwache aber deutlich sichtbare Färbung. Bei den Makrophagen innerhalb des Alveolarraumes (Abb. 5, S. 60) ebenso wie bei den einzelnen Zellen in Septum (Abb. 5 60) war eine starke Färbeintensität zu beobachten. Eine Ausnahme stellt IFN- $\gamma$  dar, bei dem die Alveolarmakrophagen eine schwächere Intensität präsentierten als einzelne Zellen im Septum. Diese konnten für eine abschließende Zuordnung nicht hinreichend differenziert werden, entsprachen aber nach Lage, Größe und Morphologie am ehesten alveolären Typ II-Zellen. Das Septum wies eine gleichmäßige, sehr schwache Färbung für alle Markerproteine auf. Zur besseren Differenzierung der pulmonalen Strombahn wurden Venen, Arterien und teilmuskularisierte Gefäße der Rattenlungen getrennt begutachtet. Die hier als teilmuskularisiert bezeichneten Gefäße entsprechen den prä- bzw. postkapillären Kapazitätsgefäßen.

Die Gefäßmuskulatur der Arterien (Abb. 5, S. 60) war nicht gefärbt. Die der Kapazitätsgefäße (Abb. 9, S. 60) hingegen zeigte eine schwache Färbung sämtlicher Marker. Die Muskelzellen der großen Hilusvenen (Abb. 9, S. 60), die bei der Ratte strukturell mit den Herzmuskelzellen verwandt sind und die Vena pulmonalis in das Lungenparenchym begleiten, waren ebenfalls schwach positiv. Innerhalb des Gefäßendothels, das durchweg schwach bis mittel gefärbt war, zeigte sich eine Zunahme der Immunreaktivität in Richtung der Kapazitätsgefäße (Abb. 5, S. 60). Ausgenommen hiervon war IFN- $\gamma$ R1, das für alle Gefäßendothelien schwach gefärbt war. Auch zeigten Endothelzellen für die aktivierten Formen p-STAT1 und p-STAT3 eine deutlich geringere Färbeintensität.

Die humane Trachea (Tabelle 4, S. 32) zeigte ein Färbemuster, das schwächer, aber ähnlich dem der Ratte war. Während das Trachealepithel eine starke Färbung aufwies, nahm die Intensität für Trachealdrüsen und Knorpel ab (Abb. 17, S. 60). IFN- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ R2 und JAK1 waren in Trachealknorpelzellen nicht zu detektieren. Die Trachealmuskulatur und die Gefäßmuskulatur blieben, ebenso wie bei der Ratte, ohne Immunreaktion. Innerhalb des Endothels stellten sich R1 und STAT1 ohne, R2 mit einer schwachen Färbung dar. Die übrigen Marker waren für das Endothel zumeist stark gefärbt.

Das humane Bronchialepithel (Tabelle 6, S. 33; Abb. 9, S. 60) war deutlich gefärbt, mit einer tendenziellen Abschwächung in Richtung peripherer Bronchien. Die Bronchialmuskulatur zeigte keine Färbung. Im Gegensatz zur Ratte war bei humanen

Proben das lymphatische Gewebe in der Nähe der Bronchien kaum bis gar nicht gefärbt. Alveolarmakrophagen und einzelne Zellen im Septum hingegen präsentierten eine starke Färbereaktion (Abb. 13, S. 60). Die Zellen der alveolären Septen waren sehr schwach detektiert. Die Muskulatur der großen Gefäße war blank, die der teilmuskularisierten schwach oder gar nicht gefärbt (Abb. 15 und 16, S. 60). Das Endothel der großen und teilmuskularisierten Gefäße zeigte für die Rezeptoruntereinheiten sowie den Transkriptionsfaktor STAT1 schwache bis gar keine Färbung, die anderen Marker waren mittel bis stark sichtbar (Abb. 15 und 16, S. 60). Die Herzmuskulatur und das Kapillarendothel des Endocards von Ratte und Mensch zeigten eine schwache bis keine Färbung (Tabelle 2, S. 30; Tabelle 5, S. 32; Abb. 21, S. 61).

### **3.2.2 Gastro-Intestinal-Trakt**

Das Stratum basale des Oesophagus (Tabelle 7, S. 34; Abb. 22, S. 61) zeigte eine zum Teil schwache Färbung für alle Marker. Eine ähnliche Färbeintensität präsentierte das Drüsenepithel des Magens. Beim Oberflächenepithel war meist eine stärkere Färbereaktion zu beobachten (Abb. 21, S. 61). In der Tunica muscularis konnte keine Detektion nachgewiesen werden. Die Ganglien zeigten ein sehr homogenes Färbemuster von mittlerer bis starker Intensität. Innerhalb des Duodenums war das Oberflächenepithel im Durchschnitt am stärksten gefärbt (Abb. 21, S. 61). Becherzellen und Brunner-Drüsen fielen in ihrer Intensität ab. Die Tunica muscularis war nicht gefärbt, die Ganglien schwach bis stark. Das Ileum präsentierte sich in der Tendenz wie das Duodenum. Dennoch war der Unterschied zwischen Oberflächenepithelien und Drüsenepithelien nicht ganz so deutlich (Abb. 25, S. 61). Die Peyer Plaques, Vertreter des lymphatischen Gewebes, zeigten, ebenso wie die Tunica muscularis, keine Färbung. In diesem Abschnitt des Dünndarms waren die Ganglien am schwächsten aber dennoch deutlich angefärbt. Das Colon zeigte für den ganzen Gastro-Intestinal-Trakt die stärkste Immunreaktion (Abb. 25, S. 61). Oberflächenepithelien und Drüsenepithelien wiesen sehr starke Intensitäten auf. Nur für IFN- $\gamma$  waren die Becherzellen schwächer detektierbar als die Epithelien der Oberfläche. Auch die Ganglien zeigten in diesem Bereich die deutlichste Färbung. Die Tunica muscularis war, wie im gesamten Magen-Darm-Trakt, nicht gefärbt. Ebenso zeigte die glatte Muskulatur

der Gefäße keine Färbung. Das Endothel war innerhalb des gesamten GIT einerseits mittel bis stark, andererseits für R1 und STAT1 nicht gefärbt. Der humane Magen (Tabelle 8, S. 35; Abb. 25, S. 61) zeigte ein ähnliches Expressionsmuster wie der Magen der Ratte. Jedoch war der Unterschied zwischen den Oberflächenepithelien und den Drüsenepithelien nicht ganz so deutlich. Beide Strukturen waren schwach bis mittel gefärbt. Der Ratte entsprechend war die Tunica muscularis ohne Detektion. Die Ganglien präsentierten sich inhomogen. Das Zytokin war nicht gefärbt, JAK1 schwach, alle anderen deutlich. Beim Duodenum war eine schwächere Färbeintensität, sowohl im Vergleich zur Ratte, als auch zum humanen Magen, zu beobachten. Oberflächen- und Drüsenepithel, sowie Brunner-Drüsen unterschieden sich nur marginal. Sie besaßen meist eine schwache aber gut sichtbare Färbung. Die Tunica muscularis war nicht gefärbt. Innerhalb der Ganglien war eine schwache bis mittlere Färbung zu sehen. Auch im humanen Gastro-Intestinal-Trakt präsentierte sich das Ileum mit der durchschnittlich schwächsten Färbeintensität. Sowohl das Oberflächenepithel als auch das Drüsenepithel waren schwach, aber deutlich sichtbar gefärbt. Ausnahme war R1, welches im Drüsenepithel nicht detektiert werden konnte; ebenso die lymphatischen Strukturen und die Tunica muscularis. Bei den Ganglien war, mit Ausnahme von STAT2, eine schwache bis mittlere Färbung zu sehen. Im Kolon war für den humanen Magen-Darm-Trakt die stärkste Färbeintensität zu sehen (Abb. 25, S. 61). Das Oberflächenepithel war zumeist stark gefärbt, die Drüsenepithelien im Durchschnitt etwas schwächer. Nur IFN- $\gamma$  und R2 waren für diese Strukturen mit schwacher Färbeintensität zu beobachten. Die Tunika muskularis war, wie im gesamten Organsystem, ohne Färbung. Die Ganglien des Kolons zeigten von schwacher bis sehr starker Färbung jede Ausprägung. Im gesamten Organsystem konnte kein Nachweis der Proteine in der Gefäßmuskulatur geführt werden. Das Endothel war mit Ausnahmen zweier Proteine deutlich gefärbt. R1 war gänzlich nicht detektierbar, STAT1 nur schwach.

### **3.2.3 Speicheldrüsen und Pankreas**

Die Glandula submandibularis (Tabelle 9, S. 36; Abb. 29, S. 61) zeigte für die Ausführungsgänge mittlere bis starke Färbeintensitäten, für den mukösen Anteil schwache bis mittlere und für den serösen keine bis schwache Färbungen aller

Proteinmarker. Auffällig waren einzelne Zellen innerhalb der Speicheldrüse, die eine starke Färbereaktion für das Zytokin zeigten. Sie waren morphologisch von den umgebenden Zellen nicht zu differenzieren. Der seröse Anteil des Pankreas zeigte ein schwaches Färbemuster, mit einer Lücke bei STAT1. Die Langerhans'schen Inselzellen wiesen für die Transkriptionsfaktoren und die Rezeptoruntereinheit 2 eine stärkere Färbung auf und konnten somit gut vom umgebenden Gewebe abgegrenzt werden (Abb. 29, S. 61). Innerhalb der Inseln zeigten sich für IFN- $\gamma$ , R1 und vor allem für STAT1 einzelne Zellen mit deutlicher Färbereaktion (Abb. 29, S. 61). Sie waren morphologisch von den umgebenden Zellen nicht zu unterscheiden. Die Gangepithelien des Pankreas zeigten schwache bis starke Färbungen (Abb. 29, S. 61).

Innerhalb dieser Organgruppe konnten für humanes Material keine Speicheldrüsen asserviert werden. Die histologischen Anteile des Pankreas waren nicht bzw. nur schwach positiv, mit Ausnahme einzelner Zellen innerhalb der Langerhans'schen Inseln (Tabelle 10, S. 37; Abb. 33, S. 61). Dort zeigten IFN- $\gamma$ , R2, STAT1 und STAT3 eine starke bis sehr starke Färbeintensität. R1 und STAT2 hingegen waren nicht gefärbt. Die Gangepithelien stellten sich inhomogen dar und konnten nicht eindeutig beurteilt werden. Beide Tyrosinkinase sowie R2 und STAT3 zeigten eine Färbung, die übrigen Marker waren nicht nachweisbar.

### **3.2.4 Leber**

Die Leber (Tabelle 9, S. 36; Abb. 33, S. 61) zeigte ein homogenes Färbemuster. Hepatozyten, Kupffer Zellen und die Epithelien der Gallengänge waren meist schwach, selten stärker gefärbt. Für die Gangepithelien fehlte die Färbung von STAT1. Die Gefäßmuskulatur zeigte keine bis mäßige Färbereaktionen. Das Endothel war schwach bis stark gefärbt, außer R1, der keine Färbung aufwies.

Das humane Gewebe zeigte für die Leber ein ähnliches Färbemuster, von schwächerer Intensität. JAK1 und STAT1 waren dabei nicht gefärbt.

Auch die Gefäßmuskulatur zeigte keine Färbereaktion. Das Endothel war mittel bis stark gefärbt, außer JAK1, STAT1 und STAT3, die keine Färbung aufwiesen.

### 3.2.5 Retikulo-endotheliales System

Innerhalb des Retikulo-endothelialen Systems (Tabelle 11, S. 38) zeigten die Strukturen der Milz für alle Marker größten Teils eine schwache Färbung. Die Strukturen des Thymus waren schwach bis gar nicht gefärbt. Vor allem der Rezeptorkomplex war nicht zu detektieren. Ausnahme bei beiden Organen stellten einzelne Zellen dar, die starke bis sehr starke Färbungen aufwiesen (Abb. 33 und 35, S. 61). Sie waren gleichmäßig über beide Organe verteilt und besaßen dieselbe mononukleäre Kernstruktur wie die sie umgebenden Zellen. Sie waren auf Grund ihrer Lokalisation und uniformen Morphologie nicht näher zu differenzieren. Die Gefäßmuskulatur zeigte für dieses Organsystem keine Färbung. Das Zytokin sowie R2, JAK1 und STAT3 waren beim Endothel positiv gefärbt. Die übrigen Marker zeigten keine positive Detektion.

Die humane Milz (Tabelle 12, S. 38) präsentierte sich ähnlich der Rattenmilz. Die meisten Strukturen waren schwach bis gar nicht gefärbt. Die einzelnen Zellen stellten mit starker bis sehr starker Färbung die Ausnahme dar (Abb. 37, S. 61). Die Gefäßmuskulatur war ohne Färbung, ebenso das Endothel, mit Ausnahme von JAK2 und STAT3, die stark gefärbt waren.

### 3.2.6 Haut

Im Stratum basale der Haut (Tabelle 13, S. 39) konnte eine schwache bis mittlere Färbung, mit Ausnahme der negativen Rezeptoruntereinheit 1, detektiert werden. Talgdrüsen und Follikelepithelien zeigten hingegen, außer bei JAK1, eine stärkere Färbeintensität (Abb. 37, S. 61).

Die Färbungen des Stratum basale der humanen Haut (Tabelle 14, S. 39; Abb. 37, S. 61) erwiesen sich für einige Antikörper um ein bis zwei Stufen intensiver. Eine Ausnahme bildete R2, welcher keine Färbung zeigte. Follikelepithelien und Talgdrüsen des Menschen verhielten sich in der Immunhistologie ähnlich dem Färbemuster der Ratte. Somit konnte die Zunahme der Färbung vom Stratum basale in Richtung Follikelepithel auch bei den humanen Hautproben beobachtet werden.

### **3.3 Regulation von IFN- $\gamma$ , seinem Rezeptor, den Kinasen und Transkriptionsfaktoren in isolierten, LPS-stimulierten Rattenlungen**

#### **3.3.1 Kontrollgruppen**

Die zehn unbehandelten Kontrollungen zeigten für sämtliche Marker nahezu keine Unterschiede in ihrer basalen Ausgangsintensität im Vergleich zu den plasma-perfundierten Kontrollungen (kein LPS, 2h Versuchsdauer). Die Gruppe ohne Plasma zeigte tendenziell in einigen Zellen für alle Marker eine geringfügig schwächere, die mit Plasma eine geringfügig stärkere Färbung. Diese Unterschiede konnten jedoch nicht als statistisch signifikant identifiziert werden.

#### **3.3.2 Expression von IFN- $\gamma$ nach LPS-Stimulation**

Für das distale Bronchialepithel war nach Stimulation mit LPS ohne Zusatz von Plasmafaktoren eine geringfügige Abnahme der Färbeintensität zu erkennen, die statistisch keine Signifikanz zeigte. Jedoch konnte für dieselbe Struktur unter Stimulation mit Plasmazusatz und LPS eine Abnahme der Färbeintensität beobachtet werden, welche nach einstündiger Stimulation mit 1  $\mu\text{g/ml}$  LPS eine statistische Signifikanz aufwies (Abb. 41, S. 62). Ein Abfall der Färbung war für Alveolarmakrophagen nach 2h Stimulation mit 10  $\mu\text{g/ml}$  LPS, Plasmafaktoren unabhängig zu sehen, die statistisch keine Signifikanz zeigten (Abb. 41, S. 62). In den übrigen Zellen fanden keine relevanten Veränderungen nach LPS Exposition statt. Mittelwerte aller Gruppen für IFN- $\gamma$  siehe Tabelle 15 (S. 40) und Tabelle 16 (S. 41).

#### **3.3.3 Expression des IFN- $\gamma$ Rezeptor nach LPS-Stimulation**

Die Rezeptoruntereinheit 1 zeigte für alle Gruppen stimulierter Lungen mit Plasmazusatz eine tendenziell leichte Zunahme der Immunreaktion für sämtliche Endothelien. Für die Rezeptoruntereinheit 2 nahmen nur Zellen des BALT an Intensität zu. Für die Gruppen ohne Plasma war ein kontinuierlicher Anstieg mit seinem Maximum an Färbeintensität nach 2h Stimulation mit 10  $\mu\text{g/ml}$  LPS zu erkennen. Für die Gruppen

mit Plasma erreichte die Färbeintensität ihren Höhepunkt nach 1h Stimulation mit 1 µg/ml LPS, um dann wieder annähernd auf das Ausgangsniveau abzufallen. Sämtliche Befunde für den Rezeptor zeigten keine statistische Signifikanz. Ansonsten waren für die Rezeptoruntereinheiten 1 und 2, unabhängig von der Zugabe von Plasmafaktoren zum Pufferperfusat, keine Veränderung unter LPS-Stimulation zu erkennen. Mittelwerte aller Gruppen für den IFN- $\gamma$ -Rezeptor siehe Tabelle 17 (S. 42), Tabelle 18 (S. 43), Tabelle 19 (S. 44) und Tabelle 20 (S. 45).

### **3.3.4 Expression der Januskinase 1 nach LPS-Stimulation**

Für die Bronchialmuskulatur war bei JAK1, unabhängig vom Plasmazusatz, eine Zunahme der Färbeintensität zu beobachten. Für die stimulierten Lungen ohne Plasma konnte nach 2h und 10 µg/ml LPS mit einer statistisch signifikanten Zunahme das Maximum der Färbeintensität beobachtet werden. Für die Gruppen ohne Plasma waren dosisunabhängig nach 2h mit 1µg/ml bzw. 10 µg/ml LPS die stärksten Zunahmen der Expressionen zu sehen. Diese Veränderungen waren deutlich, aber statistisch nicht signifikant. Ebenso bei JAK1 war eine Zunahme der Färbeintensität für das BALT zu sehen. Nach 1h bzw. 2h mit 10µg/ml LPS war eine statistisch signifikante Zunahme der Färbeintensität für Lungen ohne Plasmazusatz erreicht. LPS-stimulierte Lungen ohne Zugabe von Plasmafaktoren hatten ihre Intensitätsmaxima nach 1h mit 1 µg/ml bzw. 10 µg/ml LPS, wiesen jedoch keine statistische Signifikanz auf.

In allen anderen Zelltypen war das Expressionsniveau nahezu konstant. Mittelwerte aller Gruppen für JAK1 siehe Tabelle 21 (S. 46) und Tabelle 22 (S. 47).

### **3.3.5 Expression der Januskinase 2 nach LPS-Stimulation**

Für JAK2 konnte, unabhängig von der Zugabe löslicher Plasmafaktoren zum Pufferperfusat der stimulierten Lungen, weder eine statistisch signifikante noch eine marginal bedeutende Veränderung in einem der Zellkompartimente detektiert werden. Mittelwerte aller Gruppen für JAK2 siehe Tabelle 23 (S. 48) und Tabelle 24 (S. 49).

### **3.3.6 Expression von STAT1 und p-STAT1 nach LPS-Stimulation**

Für STAT1 war weder mit noch ohne Zugabe löslicher Plasmafaktoren zum Pufferperfusat eine Veränderung für stimulierte Lungen zu erkennen. Auch wurde unter LPS-Stimulation STAT1 nicht vermehrt phosphoryliert, so dass das Expressionsniveau von p-STAT1 in allen Zellkompartimenten für alle Gruppen nahezu konstant blieb. Mittelwerte aller Gruppen für STAT1 siehe Tabelle 25 (S. 50) und Tabelle 26 (S. 51) und für seine aktivierte Form p-STAT1 siehe Tabelle 27 (S. 52) und Tabelle 28 (S. 53).

### **3.3.7 Expression von STAT2 nach LPS-Stimulation**

STAT 2 zeigte eine statistisch signifikante Veränderung für das Endothel der Hilusarterien nach 2h Stimulation mit 10 µg/ml LPS (Abb. 45 und 46, S. 62). Für die Lungen mit Plasmazusatz war diese Veränderung sogar hoch-signifikant. Die übrigen Gruppen blieben für das Arterienendothel im Vergleich zur Kontrolle in ihrem Färbeverhalten nahezu unverändert. Eine statistisch signifikante Zunahme zeigte sich auch für das Endothel der teilmuskularisierten Gefäße. Ohne Plasmazugabe waren signifikante Veränderungen für 2h Stimulation mit 1 µg/ml und 10 µg/ml LPS zu beobachten. Für Lungen mit Plasmazusatz war neben den vorher genannten Gruppen auch noch eine signifikante Zunahme der Färbung für 1h Stimulation 10µg/ml LPS zu sehen. Die übrigen Zelltypen verhielten sich in den einzelnen Gruppen, unabhängig der Zugabe löslicher Plasmafaktoren zum Perfusat, in ihrer Expression annähernd konstant. Mittelwerte aller Gruppen für STAT2 siehe Tabelle 29 (S. 54) und Tabelle 30 (S. 55).

### **3.3.8 Expression von STAT3 und p-STAT3 nach LPS-Stimulation**

Das Expressionsniveau für STAT3 war für alle Gruppen in allen Zellkompartimenten nahezu gleich. Weder mit noch ohne Plasmazusatz war eine Veränderung für stimulierte Lungen zu erkennen. Jedoch wurde STAT3 unter LPS-Stimulation in einige Strukturen vermehrt phosphoryliert. Für p-STAT3 zeigte sich in Rattenlungen, ohne Plasmazugabe zum Perfusat, im Endothel teilmuskularisierter Gefäße nach 1h und 2h Stimulation mit 10 µg/ml LPS ein signifikanter Anstieg der Färbeintensität. Im BALT war ein kontinuierlicher Anstieg mit seinem Maximum an Färbeintensität nach 2h Stimulation mit 1 µg/ml LPS zu erkennen. Für die übrigen Strukturen stimulierter

Gruppen ohne Plasmazusatz war kein nennenswerter Anstieg gegenüber der basalen Expression zu erkennen.

Für das proximale und distale Bronchialepithel war in Gruppen mit Plasmazusatz ab einer Stimulation mit 1 µg/ml LPS pro Stunde eine deutliche jedoch nicht signifikante Zunahme der Färbeintensität zu sehen. Für das Endothel teilmuskularisierter Gefäße hingegen war ab derselben Dosis pro Zeit eine statistisch signifikante Zunahme der Färbeintensität zu beobachten, die für 1h Stimulation mit 10 µg/ml LPS sogar hochsignifikant war (Abb. 45S. 62). Auch AM zeigten, mit Ausnahme von 50 ng/ml LPS für 2h, in allen getesteten Dosis-Zeit-Kombinationen eine signifikante Zunahme an p-STAT3 (Abb. 49 und 50, S. 62). In einzelnen Zellen des Septums führte die Stimulation der Lungen mit LPS und Plasmazusatz im Perfusat zum Anstieg von p-STAT3, der mit 10 µg/ml LPS nach 1h signifikant war (Abb. 49 und 52, S. 62). Ein deutlicher Anstieg der Färbung zeigte sich im Nervengewebe für alle getesteten Dosis-Zeit-Kombinationen, der nach Stimulation mit 10 µg/ml LPS für 1h und 2h signifikant war.

Der BALT hatte für die Gruppen mit Plasmazusatz einen kontinuierlichen Anstieg der Färbeintensität, mit seinem Maximum nach 1h Stimulation mit 1 µg/ml LPS, um dann wieder annähernd auf das Ausgangsniveau abzufallen. Die übrigen Zelltypen verhielten sich in ihrer Färbung annähernd konstant. Mittelwerte aller Gruppen für STAT3 siehe Tabelle 31 (S. 56) und Tabelle 32 (S. 57) und für seine aktivierte Form p-STAT3 siehe Tabelle 33 (S. 58) und Tabelle 34 (S. 59).

## 4 TABELLEN

Tabelle 1: Färbeintensitäten Trachea (Ratte)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Trachealepithel	+++	++++	++++	+++	+++	++++	+++	+++
Trachealdrüsen	++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Trachealknorpel	++	+++	+++	+++	++	+++	++	++
Trachealmuskulatur	o	o	o	o	o	o	o	o
Gefäßmuskulatur	o	o	o	o	o	o	o	o
Gefäßendothel	+++	+	++	+++	+++	++	++	++
Nerven	o	+++	++	++	++	+++	++	+

(o = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 2: Färbeintensitäten Herz (Ratte)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Herzmuskulatur	+	+	o	+	o	+	o	+
Kapillarendothel	++	+	o	+	++	+	o	+

(o = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 3: Färbeintensitäten Lunge (Ratte)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3	p-STAT1	p-STAT3
Bronchial-epithel proximal	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Bronchial-epithel distal	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Bronchial-muskulatur	+	+	o	+	o	o	o	+	o	o
Lunge BALT	+	+	++	+	+	++	+	++	+	+
Alveolar-makrophagen	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Einzelne Zellen im Septum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Alveolarepithel	++	+	+	+	+	+	+	+	+	o
Gefäßmuskulatur Arterie	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Gefäßmuskulatur Vene	+	+	+	++	+	+	++	+	+	+
Muskulaturteilmusk. Gefäße	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gefäßendothel Arterie	++	+	+++	+++	+++	++	+++	++	+	+
Gefäßendothel Vene	++	+	+++	+++	+++	++	++	++	+	+
Endothel teilmusk. Gefäße	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
Lunge Nerv	+	+++	+++	++	++	++	++	+	+++	+++

(o = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 4: Färbeintensitäten Trachea (Human)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Trachealepithel	+++	+++	+++	++	++++	+++	+++	+++
Trachealdrüsen	+	++	++	++	++	+++	++	++
Trachealknorpel	o	+++	o	o	++	+++	+++	++
Trachealmuskulatur	o	o	o	o	o	o	o	o
Gefäßmuskulatur	o	o	o	o	o	o	o	o
Gefäßendothel	+++	o	+	+++	++	o	+++	+++

(o = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 5: Färbeintensitäten Herz (Human)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Herzmuskulatur	+	o	o	+	o	o	o	o
Kapillarendothel	+	o	o	+	o	o	o	+++

(o = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 6: Färbeintensitäten Lunge (Human)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Bronchialepithel proximal	++	++	++	++	++++	+++	+++	+++
Bronchialepithel distal	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
Bronchialmuskulatur	0	0	0	0	0	0	0	0
BALT	0	0	0	0	+	0	+	++
Alveolarmakrophagen	++	+++	++	++	++	+++	+++	+++
Einzelne Zellen im Septum	++	+++	++	++	++	+++	+++	+++
Alveolarepithel	+	0	+	+	+	0	+	0
Große GefäßeMuskulatur	0	0	0	0	0	0	0	0
Muskulatur teilmusk. Gefäße	0	0	0	0	+	0	+	0
Große Gefäße Gefäßendothel	++	0	+	++	++	0	+++	+++
Endothel teilmusk. Gefäße	++	0	+	++	+++	+	+++	+++
Nerv	0	0	0	0	++	+++	+	0

(0 = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 7: Färbeintensitäten GIT (Ratte)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Oesophagus Stratum basale	++	+	++	+	++	+++	+	++
Magen Oberflächenep.	++	++++	+++	++	++	+++	+++	++
Magen Drüsenepithel	++	+	+	++	++	+	+	++
Magen Tunika muskularis	0	0	0	0	0	0	0	0
Magen Ganglien	++	++	+++	++	+++	++	++	++
Duodenum Oberflächenep.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Duodenum Becherzellen	++	++	++	++	++	++	+	++
Duodenum Brunner Drüsen	+++	+++	++	+	+	++	+	+
Duodenum Tunika muskula.	0	0	0	0	0	0	0	0
Duodenum Ganglien	++	++	+	+	++	+++	+	++
Ileum Oberflächenep.	++	++	++	++	+	+++	+	+++
Ileum Becherzellen	++	++	++	+	+	++	+	++
Ileum PEYER Plaques	0	0	0	0	0	0	0	0
Ileum Tunika muskularis	0	0	0	0	0	0	0	0
Ileum Ganglien	+	++	+	+	+	+++	+	++
Colon Oberflächenep.	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
Colon Becherzellen	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
Colon Tunika muskularis	0	0	0	0	0	0	0	0
Colon Ganglien	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
GIT Gefäßmuskulatur	0	0	0	0	0	0	0	0
GIT Gefäßendothel	+++	0	++	++	++	0	++	+++

(0 = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 8: Färbeintensitäten GIT (Human)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Magen Oberflächenepi.	++	++	+	+	++	++	++	++
Magen Drüsenepithel	++	+	+	++	++	+	++	++
Magen Tunika muskularis	0	0	0	0	0	0	0	0
Magen Ganglien	0	++	++	+	+++	++	+++	++
Duodenum Oberflächenepi.	+	+	++	+	++	+	++	++
Duodenum Drüsenepithel	+	+	+	+	++	+	+	+
Duodenum Brunner Drüsen	+	+	+++	++	+	+	+	+
Duodenum Tunika musk.	0	0	0	0	0	0	0	0
Duodenum Ganglien	++	+	++	++	++	+	+	++
Ileum Oberflächenepi.	+	+	++	+	+	+	+	+++
Ileum Drüsenepithel	+		+	+	+	+	+	+++
Ileum PEYER Plaques	0	0	0	0	0	0	0	0
Ileum Tunika muskularis	0	0	0	0	0	0	0	0
Ileum Ganglien	+	++	+	+	++	+	0	++
Colon Oberflächenepi.	+	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
Colon Drüsenepithel	+	++	+	++	+++	++	+++	+++
Colon Tunika muskularis	0	0	0	0	0	0	0	0
Colon Ganglien	+	++	++	+	+++	++	++++	+++
GIT Gefäß-muskulatur	0	0	0	0	0	0	0	0
GIT Gefäßendothel	++	0	++	++	+++	+	+++	+++

(0 = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 9: Färbeintensitäten der endokrinen Organe (Ratte)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Gl. Submandi-bularis mukös	++	+	++	+	++	0	++	++
Gl. Submandi-bularis serös	0	0	+	+	0	0	+	+
Gl. Submandi. Gangepithel	+	++++	+++	++	++	+++	++	+++
Pankreas Serös	++	+	+	+	+	0	+	+
Langerhans Inseln	++	+	++	+	+	++	++	++
Langerhans Einzelne Zellen	+++	++	++	+	+	++++	++	++
Pankreas Gangepithel	++	+++	++	+	++	++	+	++
Hepatozyten	+	+	+	+	++	+	+	+
Leber Kupffer Zellen	+	+	+	+	++	+	+	+
Leber Gallengang Epithel	+	+	++	+	+++	0	+	+
Leber Zentralvene	0	0	0	+	0	+	0	0
Gefäßmuskulatur Arterie	0	0	0	+	0	+	0	0
Gefäßmuskulatur Vene	0	0	0	+	0	+	0	0
Leber Gefäßendothel	+	0	+++	++	++	+	++	+

(0 = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 10: Färbeintensitäten der endokrinen Organe (Human)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Pankreas Serös	0	0	0	+	0	0	0	+
Langerhans Inseln	0	0	0	+	+	0	0	+
Langerhans Einzelne Zellen	+++	0	+++	+	+	++++	0	++++
Pankreas Gangepithel	0	0	+++	+	++	0	0	+
Hepatozyten	+	+	+	0	+	0	+	+
Kupffer Zellen	+	+	+	0	+	0	+++	+
Gallengang Epithel	+	+	+	0	+++	0	+	0
Leber Zentralvene	0	0	0	0	0	0	0	0
Leber Gefäßmuskulatur Arterie	0	0	0	0	0	0	0	0
Leber Gefäßmuskulatur Vene	0	0	0	0	0	0	0	0
Leber Gefäßendothel	+	+	+	0	++	0	+	0

(0 = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 11: Färbeintensitäten RES (Ratte)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Milz PALS	+	+	+	+	+	++	+	++
Lymphfollikel zentral	+	+	+	+	+	++	+	+
Lymphfollikel marginal	+	+	+	+	+	++	+	++
Milz PMS	+	+	++	+	+	++	+	++
Milz Sinusoide	+	+	0	+	+	++	+	++
Einzelne Zellen in der Milz	++++	++++	+++	+++	++++	++++	+++	++++
Thymus Cortex	+	0	0	+	+	0	+	0
Thymus Medulla	+	0	0	+	+	+	+	++
Einzelne Zellen im Thymus	++++	++++	+++	+++	+++	++++	+++	++++

(0 = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 12: Färbeintensitäten RES (Human)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Milz PALS	+	0	0	0	0	0	0	++
Lymphfollikel zentral	+	0	0	0	0	0	0	++
Lymphfollikel marginal	+	0	0	0	0	0	0	++
Milz PMS	0	0	0	0	0	0	0	+
Milz Sinusoide	0	0	0	0	0	0	0	0
Einzelne Zellen in der Milz	+++	++++	+++	+++	+++	++++	+++	++++

(0 = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 13: Färbeintensitäten Haut (Ratte)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Haut Stratum basale	+	o	+	++	++	+	+	++
Haut Follikelpithel	+++	+++	++++	++	+++	+++	+	++
Haut Talgdrüsen	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+++

(o = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 14: Färbeintensitäten Haut (Human)

Struktur/Marker	IFN- $\gamma$	IFN- $\gamma$ R1	IFN- $\gamma$ R2	JAK1	JAK2	STAT1	STAT2	STAT3
Haut Stratum basale	++	+	o	++	+++	+	++	++
Haut Follikelepithel	++	++	+++	++	++	++	+++	+++
Haut Talgdrüsen	++	+++	++	+++	+++	++	++++	+++

(o = keine Färbung, + = schwache Färbung, ++ = mittlere Färbung, +++ = starke Färbung, ++++ = sehr starke Färbung)

Tabelle 15: Zelluläre Expression von IFN- $\gamma$  in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 $\mu$ g, 2 h	50 ng, 2 h	1 $\mu$ g, 1 h	1 $\mu$ g, 2 h	10 $\mu$ g, 1 h	10 $\mu$ g, 2 h
proximales Bronchialepithel	2,80 $\pm$ 0,40	2,40 $\pm$ 0,49	2,40 $\pm$ 0,49	2,60 $\pm$ 0,49	2,60 $\pm$ 0,49	2,60 $\pm$ 0,49
distales Bronchialepithel	2,60 $\pm$ 0,49	2,20 $\pm$ 0,40	2,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	2,20 $\pm$ 0,40	2,00 $\pm$ 0,00
Bronchialmuskulatur	0,80 $\pm$ 0,40	0,80 $\pm$ 0,40	0,40 $\pm$ 0,49	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,20 $\pm$ 0,40	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
VSMC der Hilusvenen	0,33 $\pm$ 0,47	1,00 $\pm$ 0,82	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,75	1,20 $\pm$ 0,75
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,80 $\pm$ 0,40	2,00 $\pm$ 0,00	1,80 $\pm$ 0,40	1,60 $\pm$ 0,49	1,80 $\pm$ 0,40	1,80 $\pm$ 0,40
Endothel von Hilusarterien	2,80 $\pm$ 0,40	3,00 $\pm$ 0,00	2,33 $\pm$ 0,47	2,80 $\pm$ 0,40	2,80 $\pm$ 0,40	3,00 $\pm$ 0,00
Endothel von Hilusvenen	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	2,75 $\pm$ 0,43	3,00 $\pm$ 0,00	2,80 $\pm$ 0,40
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	2,80 $\pm$ 0,40	2,80 $\pm$ 0,40	2,80 $\pm$ 0,40
Alveolarmakrophagen	2,60 $\pm$ 0,49	2,80 $\pm$ 0,40	2,60 $\pm$ 0,49	3,00 $\pm$ 0,63	2,60 $\pm$ 0,49	2,00 $\pm$ 0,00
Einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,60 $\pm$ 0,49	4,00 $\pm$ 0,00	3,60 $\pm$ 0,49	3,60 $\pm$ 0,49	3,80 $\pm$ 0,40	3,60 $\pm$ 0,49
Alveolarseptum	2,00 $\pm$ 0,00	2,20 $\pm$ 0,40	2,20 $\pm$ 0,40	1,60 $\pm$ 0,49	2,00 $\pm$ 0,00	1,80 $\pm$ 0,40
Nervenfasern	1,00 $\pm$ 0,00	1,50 $\pm$ 0,50	1,50 $\pm$ 0,50	2,00 $\pm$ 0,00	1,33 $\pm$ 0,47	1,00 $\pm$ 0,00
Zellen des BALT	1,33 $\pm$ 0,47	1,50 $\pm$ 0,50	1,60 $\pm$ 0,49	1,33 $\pm$ 0,47	1,50 $\pm$ 0,50	1,25 $\pm$ 0,43

Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 16: Zelluläre Expression von IFN- $\gamma$  in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 $\mu$ g, 2 h	50 ng, 2 h	1 $\mu$ g, 1 h	1 $\mu$ g, 2 h	10 $\mu$ g, 1 h	10 $\mu$ g, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	2,60 $\pm$ 0,49	2,60 $\pm$ 0,49	2,80 $\pm$ 0,40	2,60 $\pm$ 0,49
distales Bronchialepithel	3,00 $\pm$ 0,00	2,40 $\pm$ 0,49	2,00 $\pm$ 0,00 **	2,60 $\pm$ 0,49	2,40 $\pm$ 0,49	2,40 $\pm$ 0,49
Bronchialmuskulatur	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	0,40 $\pm$ 0,49	0,60 $\pm$ 0,49	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
VSMC der Hilusvenen	1,25 $\pm$ 0,43	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,25 $\pm$ 0,83	1,00 $\pm$ 0,63	1,33 $\pm$ 0,47
VSMC teilmuskulärer Gefäße	2,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,89	1,60 $\pm$ 0,49	1,60 $\pm$ 0,49
Endothel von Hilusarterien	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	2,75 $\pm$ 0,43	2,80 $\pm$ 0,40	3,00 $\pm$ 0,00	2,50 $\pm$ 0,50
Endothel von Hilusvenen	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	2,80 $\pm$ 0,40
Alveolarmakrophagen	2,60 $\pm$ 0,49	3,00 $\pm$ 0,00	2,60 $\pm$ 0,49	2,80 $\pm$ 0,75	2,20 $\pm$ 0,40	2,00 $\pm$ 0,00
Einzelne Zellen im Alveolarsept.	4,00 $\pm$ 0,00	3,60 $\pm$ 0,49	3,60 $\pm$ 0,49	4,00 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40
Alveolarseptum	2,20 $\pm$ 0,40	2,40 $\pm$ 0,49	1,60 $\pm$ 0,49	2,00 $\pm$ 0,89	2,00 $\pm$ 0,63	1,60 $\pm$ 0,49
Nervenfasern	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,40 $\pm$ 0,49	1,50 $\pm$ 0,50	1,40 $\pm$ 0,49	1,25 $\pm$ 0,43
Zellen des BALT	1,75 $\pm$ 0,83	1,67 $\pm$ 0,47	1,60 $\pm$ 0,49	2,00 $\pm$ 0,71	2,00 $\pm$ 0,71	1,33 $\pm$ 0,47

Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 17: Zelluläre Expression von IFN- $\gamma$ R1 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 $\mu$ g, 2 h	50 ng, 2 h	1 $\mu$ g, 1 h	1 $\mu$ g, 2 h	10 $\mu$ g, 1 h	10 $\mu$ g, 2 h
Proximales Bronchialepithel	3,80 $\pm$ 0,45	3,75 $\pm$ 0,50	3,80 $\pm$ 0,45	3,80 $\pm$ 0,45	3,80 $\pm$ 0,45	3,75 $\pm$ 0,50
distales Bronchialepithel	3,60 $\pm$ 0,55	3,75 $\pm$ 0,50	3,60 $\pm$ 0,55	3,60 $\pm$ 0,55	3,60 $\pm$ 0,55	3,50 $\pm$ 0,58
Bronchialmuskulatur	1,20 $\pm$ 0,45	1,00 $\pm$ 0,00				
VSMC der Hilusarterien	0,00 $\pm$ 0,00	0,25 $\pm$ 0,50	0,00 $\pm$ 0,00	0,25 $\pm$ 0,50	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00
VSMC der Hilusvenen	1,25 $\pm$ 0,50	1,00 $\pm$ 0,00	1,25 $\pm$ 0,50	1,33 $\pm$ 0,58	1,25 $\pm$ 0,50	1,25 $\pm$ 0,50
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,20 $\pm$ 0,45	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00
Endothel von Hilusarterien	1,40 $\pm$ 0,55	1,33 $\pm$ 0,58	1,50 $\pm$ 0,58	1,50 $\pm$ 0,58	1,60 $\pm$ 0,55	1,75 $\pm$ 0,50
Endothel von Hilusvenen	1,50 $\pm$ 0,58	1,50 $\pm$ 0,71	1,50 $\pm$ 0,58	1,67 $\pm$ 0,58	1,75 $\pm$ 0,50	1,75 $\pm$ 0,50
Endothel teilmuskulärer Gefäße	1,80 $\pm$ 0,45	2,00 $\pm$ 0,00				
Alveolarmakrophagen	3,40 $\pm$ 0,55	3,50 $\pm$ 0,58	3,60 $\pm$ 0,55	3,60 $\pm$ 0,55	3,60 $\pm$ 0,55	3,75 $\pm$ 0,50
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,20 $\pm$ 0,45	3,50 $\pm$ 0,58	3,40 $\pm$ 0,55	3,60 $\pm$ 0,55	3,60 $\pm$ 0,55	3,50 $\pm$ 0,58
Alveolarseptum	1,00 $\pm$ 0,00					
Nervenfasern	3,60 $\pm$ 0,55	3,67 $\pm$ 0,58	3,67 $\pm$ 0,58	3,75 $\pm$ 0,50	3,60 $\pm$ 0,55	3,75 $\pm$ 0,50
Zellen des BALT	1,00 $\pm$ 0,00					

Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 18: Zelluläre Expression von IFN- $\gamma$ R1 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 $\mu$ g, 2 h	50 ng, 2 h	1 $\mu$ g, 1 h	1 $\mu$ g, 2 h	10 $\mu$ g, 1 h	10 $\mu$ g, 2 h
Proximales Bronchialepithel	3,75 $\pm$ 0,50	3,75 $\pm$ 0,50	3,80 $\pm$ 0,45	3,80 $\pm$ 0,45	3,75 $\pm$ 0,50	3,80 $\pm$ 0,45
distales Bronchialepithel	3,50 $\pm$ 0,58	3,75 $\pm$ 0,50	3,80 $\pm$ 0,45	3,60 $\pm$ 0,55	3,75 $\pm$ 0,50	3,60 $\pm$ 0,55
Bronchialmuskulatur	1,00 $\pm$ 0,00	1,25 $\pm$ 0,50	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 $\pm$ 0,00					
VSMC der Hilusvenen	1,33 $\pm$ 0,58	1,33 $\pm$ 0,58	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,25 $\pm$ 0,50	1,25 $\pm$ 0,50
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,33 $\pm$ 0,58	1,50 $\pm$ 0,58	1,60 $\pm$ 0,54	1,67 $\pm$ 0,58	1,75 $\pm$ 0,50	1,67 $\pm$ 0,58
Endothel von Hilusarterien	1,33 $\pm$ 0,58	1,50 $\pm$ 0,58	1,60 $\pm$ 0,55	1,67 $\pm$ 0,58	1,75 $\pm$ 0,50	1,67 $\pm$ 0,58
Endothel von Hilusvenen	1,33 $\pm$ 0,58	1,33 $\pm$ 0,58	1,75 $\pm$ 0,50	2,00 $\pm$ 0,00	1,75 $\pm$ 0,50	1,75 $\pm$ 0,50
Endothel teilmuskulärer Gefäße	1,75 $\pm$ 0,50	2,00 $\pm$ 0,00				
Alveolarmakrophagen	3,75 $\pm$ 0,50	3,75 $\pm$ 0,50	3,40 $\pm$ 0,55	3,60 $\pm$ 0,55	3,75 $\pm$ 0,50	3,60 $\pm$ 0,55
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,50 $\pm$ 0,58	3,50 $\pm$ 0,58	3,40 $\pm$ 0,55	3,60 $\pm$ 0,55	3,75 $\pm$ 0,50	3,60 $\pm$ 0,55
Alveolarseptum	1,00 $\pm$ 0,00					
Nervenfasern	3,67 $\pm$ 0,58	3,75 $\pm$ 0,50	3,80 $\pm$ 0,45	3,75 $\pm$ 0,50	3,75 $\pm$ 0,50	3,60 $\pm$ 0,55
Zellen des BALT	1,00 $\pm$ 0,00					

Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 19: Zelluläre Expression von IFN- $\gamma$ R2 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 $\mu$ g, 2 h	50 ng, 2 h	1 $\mu$ g, 1 h	1 $\mu$ g, 2 h	10 $\mu$ g, 1 h	10 $\mu$ g, 2 h
Proximales Bronchialepithel	3,80 $\pm$ 0,40	4,00 $\pm$ 0,00	4,00 $\pm$ 0,00	3,60 $\pm$ 0,49	3,60 $\pm$ 0,80	3,80 $\pm$ 0,40
distales Bronchialepithel	3,40 $\pm$ 0,49	3,60 $\pm$ 0,49	3,40 $\pm$ 0,49	3,60 $\pm$ 0,49	3,40 $\pm$ 0,80	3,20 $\pm$ 0,40
Bronchialmuskulatur	0,40 $\pm$ 0,49	0,20 $\pm$ 0,40				
VSMC der Hilusarterien	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,25 $\pm$ 0,43	0,00 $\pm$ 0,00	0,20 $\pm$ 0,40
VSMC der Hilusvenen	0,75 $\pm$ 0,43	0,50 $\pm$ 0,50	0,75 $\pm$ 0,43	0,67 $\pm$ 0,47	0,25 $\pm$ 0,43	1,00 $\pm$ 0,00
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,20 $\pm$ 0,40	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,40	0,80 $\pm$ 0,40
Endothel von Hilusarterien	3,33 $\pm$ 0,47	2,75 $\pm$ 0,43	3,00 $\pm$ 0,00	2,75 $\pm$ 0,43	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
Endothel von Hilusvenen	3,25 $\pm$ 0,47	2,75 $\pm$ 0,43	3,00 $\pm$ 0,00	2,75 $\pm$ 0,43	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,40 $\pm$ 0,49	3,00 $\pm$ 0,00				
Alveolarmakrophagen	4,00 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40	4,00 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40
einzelne Zellen im Alveolarsept.	4,00 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40	4,00 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40
Alveolarseptum	1,00 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,40				
Nervenfasern	3,20 $\pm$ 0,40	3,00 $\pm$ 0,00				
Zellen des BALT	1,75 $\pm$ 0,43	2,00 $\pm$ 0,63	1,67 $\pm$ 0,47	2,33 $\pm$ 0,47	2,33 $\pm$ 0,47	2,75 $\pm$ 0,43

Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 20: Zelluläre Expression von IFN- $\gamma$ R2 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 $\mu$ g, 2 h	50 ng, 2 h	1 $\mu$ g, 1 h	1 $\mu$ g, 2 h	10 $\mu$ g, 1 h	10 $\mu$ g, 2 h
Proximales Bronchialepithel	4,00 $\pm$ 0,00	4,00 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40	3,60 $\pm$ 0,49	3,80 $\pm$ 0,40
distales Bronchialepithel	3,25 $\pm$ 0,83	3,40 $\pm$ 0,49	3,40 $\pm$ 0,49	3,60 $\pm$ 0,49	3,20 $\pm$ 0,40	3,60 $\pm$ 0,49
Bronchialmuskulatur	0,25 $\pm$ 0,43	0,60 $\pm$ 0,49	0,60 $\pm$ 0,49	0,40 $\pm$ 0,49	0,20 $\pm$ 0,40	0,20 $\pm$ 0,40
VSMC der Hilusarterien	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,20 $\pm$ 0,40	0,50 $\pm$ 0,50
VSMC der Hilusvenen	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,40	1,00 $\pm$ 0,00
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,25 $\pm$ 0,43	1,00 $\pm$ 0,00	1,20 $\pm$ 0,40	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00
Endothel von Hilusarterien	2,67 $\pm$ 0,47	2,75 $\pm$ 0,43	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,20 $\pm$ 0,40	3,00 $\pm$ 0,00
Endothel von Hilusvenen	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	2,80 $\pm$ 0,40	2,75 $\pm$ 0,43
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,25 $\pm$ 0,43	3,20 $\pm$ 0,40	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00
Alveolarmakrophagen	3,75 $\pm$ 0,43	3,80 $\pm$ 0,40	4,00 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,50 $\pm$ 0,50	3,80 $\pm$ 0,40	4,00 $\pm$ 0,00	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40	3,80 $\pm$ 0,40
Alveolarseptum	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,40	0,80 $\pm$ 0,40
Nervenfasern	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,00	3,00 $\pm$ 0,71	2,60 $\pm$ 0,80
Zellen des BALT	1,50 $\pm$ 0,50	2,00 $\pm$ 0,00	2,67 $\pm$ 0,47	2,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,71	1,80 $\pm$ 0,40

Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 21: Zelluläre Expression von JAK1 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
Proximales Bronchialepithel	3,75 ±0,43	3,60 ±0,49	3,60 ±0,49	3,40 ±0,49	3,80 ±0,40	3,80 ±0,40
distales Bronchialepithel	3,25 ±0,43	3,40 ±0,49	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40
Bronchialmuskulatur	1,75 ±0,43	1,60 ±0,49	1,60 ±0,49	2,40 ±0,49	2,40 ±0,49	2,80 ±0,40 *
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,20 ±0,40	0,20 ±0,40	0,25 ±0,43
VSMC der Hilusvenen	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,40 ±0,49	2,33 ±0,47
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,75 ±0,43	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,20 ±0,40	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	2,75 ±0,43	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel von Hilusvenen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarmakrophagen	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	2,00 ±0,00	2,50 ±0,50	2,00 ±0,00	2,40 ±0,49	2,00 ±0,00	2,25 ±0,43
Zellen des BALT	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,33 ±0,47	1,50 ±0,50	2,00 ±0,00 *	2,00 ±0,00 *

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 22: Zelluläre Expression von JAK1 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
Proximales Bronchialepithel	3,80 ±0,40	3,80 ±0,40	3,40 ±0,49	3,60 ±0,49	3,80 ±0,40	3,80 ±0,40
distales Bronchialepithel	3,20 ±0,40	3,20 ±0,49	2,80 ±0,40	3,40 ±0,49	3,20 ±0,40	3,20 ±0,40
Bronchialmuskulatur	1,80 ±0,75	1,60 ±0,49	2,00 ±0,89	3,00 ±0,00	2,20 ±0,40	2,60 ±0,49
VSMC der Hilusarterien	0,20 ±0,40	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,20 ±0,40
VSMC der Hilusvenen	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,20 ±0,40	2,20 ±0,40
VSMC teilmuskulärer Gefäße	2,20 ±0,40	1,80 ±0,40	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,20 ±0,40	2,20 ±0,40
Endothel von Hilusarterien	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel von Hilusvenen	3,00 ±0,00	2,75 ±0,43	3,00 ±0,63	2,80 ±0,40	3,00 ±0,63	3,00 ±0,63
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarmakrophagen	3,40 ±0,49	3,20 ±0,40	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,20 ±0,40	3,20 ±0,40	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	2,33 ±0,47	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,25 ±0,43	2,25 ±0,43	2,33 ±0,47
Zellen des BALT	1,50 ±0,50	1,75 ±0,43	2,00 ±0,82	1,75 ±0,43	2,25 ±0,43	1,80 ±0,75

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 23: Zelluläre Expression von JAK2 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
distales Bronchialepithel	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Bronchialmuskulatur	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,25 ±0,43	1,25 ±0,43	1,50 ±0,50	1,25 ±0,43	1,33 ±0,47	1,50 ±0,50
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	3,25 ±0,43	3,25 ±0,43	3,25 ±0,43	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel von Hilusvenen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,20 ±0,40	3,25 ±0,43	3,25 ±0,43	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00
Alveolarmakrophagen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	2,50 ±0,50	2,00 ±0,00	2,33 ±0,47	2,00 ±0,00	2,40 ±0,49	2,00 ±0,00
Zellen des BALT	2,00 ±0,00	1,50 ±0,50	2,00 ±0,00	1,67 ±0,47	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 24: Zelluläre Expression von JAK2 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00
distales Bronchialepithel	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Bronchialmuskulatur	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,25 ±0,43	1,50 ±0,50	1,50 ±0,50	1,50 ±0,50	1,60 ±0,49	1,67 ±0,47
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	3,25 ±0,43	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00
Endothel von Hilusvenen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,25 ±0,43	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00
Alveolarmakrophagen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,25 ±0,43	2,33 ±0,47
Zellen des BALT	1,75 ±0,43	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 25: Zelluläre Expression von STAT1 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,60 ±0,58	3,25 ±0,50	3,25 ±0,50	3,50 ±0,58	3,50 ±0,58	3,50 ±0,58
distales Bronchialepithel	3,20 ±0,50	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,25 ±0,50	3,00 ±0,00
Bronchialmuskulatur	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,25 ±0,43	1,00 ±0,00	1,33 ±0,58	1,33 ±0,58	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	2,20 ±0,45	2,25 ±0,50	2,33 ±0,58	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00
Endothel von Hilusvenen	2,25 ±0,50	2,00 ±0,00	2,33 ±0,58	2,33 ±0,58	2,33 ±0,58	2,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,25 ±0,50	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarmakrophagen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	2,33 ±0,58	2,25 ±0,50	2,00 ±0,00	2,25 ±0,50	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00
Zellen des BALT	2,50 ±0,58	2,33 ±0,58	2,00 ±0,00	2,33 ±0,58	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 26: Zelluläre Expression von STAT1 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,50 ±0,58	3,50 ±0,58	3,40 ±0,55	3,40 ±0,55	3,67 ±0,58	3,50 ±0,58
distales Bronchialepithel	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,20 ±0,45	3,20 ±0,45	3,00 ±0,00	3,25 ±0,50
Bronchialmuskulatur	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,33 ±0,58	1,00 ±0,00	1,25 ±0,50	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,33 ±0,58
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	2,25 ±0,50	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00
Endothel von Hilusvenen	2,33 ±0,58	2,25 ±0,50	2,25 ±0,50	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarmakrophagen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	2,00 ±0,00	2,33 ±0,58	2,25 ±0,50	2,25 ±0,50	2,00 ±0,00	2,25 ±0,50
Zellen des BALT	2,33 ±0,58	2,33 ±0,58	2,33 ±0,58	2,33 ±0,58	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 27: Zelluläre Expression von p-STAT1 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,40 ±0,49	3,50 ±0,50	3,50 ±0,50	3,40 ±0,49	3,40 ±0,49	3,50 ±0,50
distales Bronchialepithel	3,40 ±0,49	3,50 ±0,50	3,50 ±0,50	3,40 ±0,49	3,20 ±0,40	3,50 ±0,50
Bronchialmuskulatur	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,00 ±0,00	1,33 ±0,47	1,33 ±0,47	1,20 ±0,40	1,00 ±0,00	1,33 ±0,47
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00
Endothel von Hilusvenen	1,75 ±0,43	1,50 ±0,50	1,75 ±0,43	1,33 ±0,47	1,20 ±0,40	1,33 ±0,47
Endothel teilmuskulärer Gefäße	2,60 ±0,49	2,75 ±0,43	2,50 ±0,50	2,60 ±0,49	2,80 ±0,40	2,75 ±0,43
Alveolarmakrophagen	3,00 ±0,00	2,75 ±0,43	2,75 ±0,43	3,00 ±0,00	2,80 ±0,40	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,00 ±0,00	2,75 ±0,43	2,75 ±0,43	3,00 ±0,00	2,80 ±0,40	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	0,75 ±0,43	0,75 ±0,43	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	2,75 ±0,43	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Zellen des BALT	1,00 ±0,00	1,25 ±0,43	1,33 ±0,47	1,50 ±0,50	1,40 ±0,49	1,33 ±0,47

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 28: Zelluläre Expression von p-STAT1 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,40 ±0,49	3,50 ±0,50	3,60 ±0,49	3,40±0,495	3,60 ±0,49	3,50 ±0,50
distales Bronchialepithel	3,40 ±0,49	3,50 ±0,50	3,60 ±0,49	3,40±0,495	3,60 ±0,49	3,50 ±0,50
Bronchialmuskulatur	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,20±0,40	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,00 ±0,00	1,50 ±0,50	1,00 ±0,00	1,25±0,43	1,25 ±0,43	1,00 ±0,00
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	1,75 ±0,43	1,33 ±0,47	1,67 ±0,47	1,60±0,49	1,60 ±0,49	1,75 ±0,43
Endothel von Hilusvenen	2,00 ±0,00	1,75 ±0,43	2,00 ±0,00	2,00±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	2,60 ±0,49	2,50 ±0,50	2,60 ±0,49	2,60±0,49	2,60 ±0,49	2,75 ±0,43
Alveolarmakrophagen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00±0,00	2,80 ±0,40	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00±0,00	2,80 ±0,40	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	0,75 ±0,43	1,00 ±0,00	1,00±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	2,80 ±0,40	2,75 ±0,43	2,80 ±0,40	3,00±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Zellen des BALT	1,33 ±0,47	1,50 ±0,50	1,50 ±0,50	1,33±0,47	1,25 ±0,43	1,00 ±0,00

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 29: Zelluläre Expression von STAT2 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,60 ±0,49	3,60 ±0,49	3,20 ±0,40	3,80 ±0,40	3,75 ±0,43	3,80 ±0,40
distales Bronchialepithel	3,60 ±0,49	3,60 ±0,49	3,00 ±0,00	3,60 ±0,49	3,25 ±0,43	3,40 ±0,49
Bronchialmuskulatur	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,20 ±0,40	0,00 ±0,00	0,20 ±0,40
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	2,50 ±0,50	2,33 ±0,47	2,50 ±0,50	2,67 ±0,47	2,50 ±0,50	2,00 ±0,00
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,20 ±0,40	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	2,80 ±0,40	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,40 ±0,49	3,25 ±0,43	4,00 ±0,00 **
Endothel von Hilusvenen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	2,80 ±0,40	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,80 ±0,40 *	3,50 ±0,50	3,80 ±0,40 *
Alveolarmakrophagen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	2,60 ±0,80	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	2,50 ±0,50	3,00 ±0,00
Zellen des BALT	2,00 ±0,71	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 30: Zelluläre Expression von STAT2 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,40 ±0,49	3,60 ±0,49	3,40 ±0,49	3,60±0,49	3,80 ±0,40	3,80 ±0,40
distales Bronchialepithel	3,20 ±0,40	3,40 ±0,49	3,20 ±0,40	3,60±0,49	3,60 ±0,49	3,60 ±0,80
Bronchialmuskulatur	0,20 ±0,40	0,40 ±0,49	0,00 ±0,00	0,00±0,00	0,00 ±0,00	0,20 ±0,40
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	2,50 ±0,50	2,50 ±0,50	2,00 ±0,00	3,00±0,00	2,00 ±0,00	2,50 ±0,50
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00±0,00	1,00 ±0,00	1,20 ±0,40
Endothel von Hilusarterien	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,20±0,40	3,20 ±0,40	4,00 ±0,00 *
Endothel von Hilusvenen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,20 ±0,40	3,80±0,40 *	3,80 ±0,40 *	4,00 ±0,00 **
Alveolarmakrophagen	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,20 ±0,40	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	2,50 ±0,50	2,80 ±0,40	2,00 ±0,00	2,33±0,47	2,75 ±0,43	3,00 ±0,00
Zellen des BALT	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00 ±0,00	2,00±0,00	2,33 ±0,47	2,25 ±0,43

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 31: Zelluläre Expression von STAT3 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,60 ±0,49	3,40 ±0,49	3,50 ±0,50	3,80 ±0,40	3,60 ±0,49	4,00 ±0,00
distales Bronchialepithel	3,60 ±0,49	3,60 ±0,49	3,50 ±0,50	3,60 ±0,49	3,40 ±0,49	3,60 ±0,49
Bronchialmuskulatur	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,20 ±0,40	1,20 ±0,40	1,00 ±0,00
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,20 ±0,40
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,20 ±0,40	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel von Hilusvenen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarmakrophagen	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	0,80 ±0,75	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,33 ±0,47	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Zellen des BALT	2,00 ±0,00	2,25 ±0,43	2,25 ±0,43	2,50 ±0,50	2,25 ±0,43	2,50 ±0,50

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 32: Zelluläre Expression von STAT3 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,60 ±0,49	3,40 ±0,49	3,60 ±0,49	3,60 ±0,49	3,80 ±0,40	4,00 ±0,00
distales Bronchialepithel	3,40 ±0,49	3,40 ±0,49	3,40 ±0,49	3,40 ±0,49	3,80 ±0,40	3,67 ±0,47
Bronchialmuskulatur	1,00 ±0,00	1,00 ±0,63	1,40 ±0,49	1,20 ±0,40	1,00 ±0,00	1,17 ±0,37
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,17 ±0,37
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	2,75 ±0,43	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Endothel von Hilusvenen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,17 ±0,37
Endothel teilmuskulärer Gefäße	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00	3,20 ±0,40	3,00 ±0,00
Alveolarmakrophagen	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
einzelne Zellen im Alveolarsept.	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Nervenfasern	1,33 ±0,47	1,25 ±0,43	1,33 ±0,47	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,20 ±0,40
Zellen des BALT	2,00 ±0,00	2,25 ±0,43	2,25 ±0,43	2,00 ±0,00	2,33 ±0,47	2,25 ±0,43

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 33: Zelluläre Expression von p-STAT3 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation ohne Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,40 ±0,49	3,50 ±0,50	3,50 ±0,50	3,60 ±0,49	3,50 ±0,50	3,43 ±0,49
distales Bronchialepithel	3,60 ±0,49	3,75 ±0,83	3,50 ±0,50	3,60 ±0,49	3,50 ±0,50	3,43 ±0,49
Bronchialmuskulatur	0,20 ±0,40	0,25 ±0,43	0,25 ±0,43	0,00 ±0,00	0,50 ±0,50	0,57 ±0,49
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,00 ±0,00	1,50 ±0,50	1,00 ±0,00	1,25 ±0,43	1,00 ±0,00	1,50 ±0,50
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,50 ±0,50	1,00 ±0,00	1,25 ±0,43	1,17 ±0,37
Endothel von Hilusvenen	1,25 ±0,43	1,00 ±0,00	1,50 ±0,50	1,25 ±0,43	1,50 ±0,50	1,00 ±0,00
Endothel teilmuskulärer Gefäße	1,80 ±0,40	2,25 ±0,43	2,25 ±0,43	2,40 ±0,49	2,75 ±0,43 *	2,71 ±0,45 *
Alveolarmakrophagen	2,20 ±0,40	2,25 ±0,43	2,50 ±0,50	2,40 ±0,49	2,25 ±0,43	2,57 ±0,49
einzelne Zellen im Alveolarsept.	2,60 ±0,49	2,50 ±0,50	2,75 ±0,43	3,00 ±0,00	3,00 ±0,71	3,00 ±0,00
Alveolarseptum	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,25 ±0,43	0,00 ±0,00	0,25 ±0,43	0,00 ±0,00
Nervenfasern	3,40 ±0,49	3,50 ±0,50	3,75 ±0,83	3,25 ±0,43	3,50 ±0,50	3,50 ±0,50
Zellen des BALT	1,25 ±0,43	1,33 ±0,47	1,67 ±0,47	2,00 ±0,00	1,50 ±0,50	1,25 ±0,43

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

Tabelle 34: Zelluläre Expression von p-STAT3 in Rattenlungen nach LPS-Stimulation mit Plasmazugabe zum Perfusat

Dosis LPS/ml, Zeit in h	0 µg, 2 h	50 ng, 2 h	1 µg, 1 h	1 µg, 2 h	10 µg, 1 h	10 µg, 2 h
proximales Bronchialepithel	3,40 ±0,49	3,75 ±0,83	4,20 ±0,40	4,00±0,00	4,50 ±0,50	4,25 ±0,43
distales Bronchialepithel	3,40 ±0,49	3,75 ±0,83	4,20 ±0,75	4,33±0,47	4,25 ±0,43	4,50 ±0,50
Bronchialmuskulatur	0,20 ±0,40	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00±0,00	0,75 ±0,43	0,25 ±0,43
VSMC der Hilusarterien	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
VSMC der Hilusvenen	1,00 ±0,71	1,33 ±0,47	1,33 ±0,47	1,67±0,47	2,00 ±0,00	1,67 ±0,47
VSMC teilmuskulärer Gefäße	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,00±0,00	1,25 ±0,43	1,00 ±0,00
Endothel von Hilusarterien	1,00 ±0,00	1,00 ±0,00	1,67 ±0,47	1,67±0,47	1,75 ±0,00	1,50 ±0,50
Endothel von Hilusvenen	1,25 ±0,43	1,00 ±0,00	1,67 ±0,47	1,67±0,47	1,75 ±0,43	1,33 ±0,47
Endothel teilmuskulärer Gefäße	1,60 ±0,49	2,50 ±0,50	2,80 ±0,40 *	2,80±0,40 *	3,00 ±0,00 **	2,75 ±0,43 *
Alveolarmakrophagen	2,20 ±0,40	2,50 ±0,50	3,00 ±0,00 *	3,00±0,00 *	3,00 ±0,00 *	3,00 ±0,00 *
einzelne Zellen im Alveolarsept.	2,40 ±0,49	3,00 ±0,00	3,40 ±0,49	3,40±0,49	3,75 ±0,43 *	3,50 ±0,50
Alveolarseptum	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00
Nervenfasern	3,20 ±0,40	3,75 ±0,43	3,80 ±0,40	4,00±0,58	4,50 ±0,50 *	4,50 ±0,50 *
Zellen des BALT	1,33 ±0,47	1,50 ±0,50	2,50 ±0,50	2,00±0,00	1,50 ±0,50	1,50 ±0,50

Mittelwert ± Standardabweichung; Statistische Signifikanzen: Vergleich mit Kontrollgruppe (0 LPS, 2h) P<0,05 \*, P<0,01 \*\*, P<0,001 \*\*\*; signifikante Werte;

## 5 BILDANHANG

### 5.1 Konstitutive Zytokinexpression in Ratten- und humanen Lungen



Abb. 1: Ratte  
IFN- $\gamma$  BE

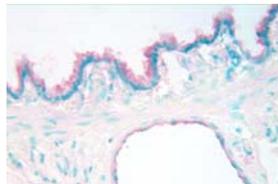


Abb. 2: Ratte  
JAK2 BE, BM, Arterie

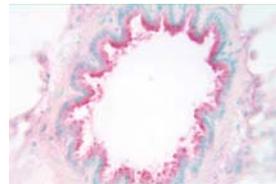


Abb. 3: Ratte  
STAT3 BE

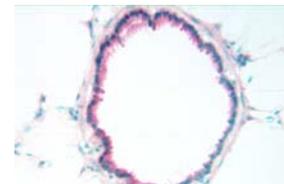


Abb. 4: Ratte  
p-STAT3 BE

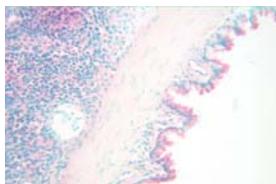


Abb. 5: Ratte  
STAT1 BE, BM, BALT

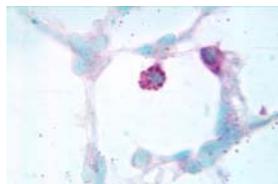


Abb. 6: Ratte  
R2 AM, Alveolarepithel

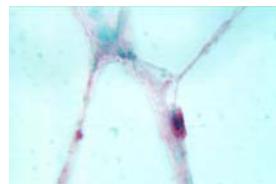


Abb. 7: Ratte  
IFN- $\gamma$  Alveolarepithel



Abb. 8: Ratte  
STAT2 Arterie

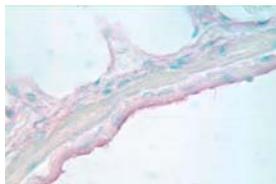


Abb. 9: Ratte  
STAT3 V. pulmonalis

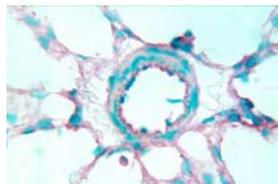


Abb. 10: Ratte  
JAK2 tmG

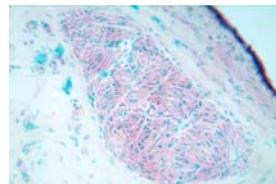


Abb. 11: Ratte  
p-STAT1 N.Vagus



Abb. 12: Mensch  
IFN- $\gamma$  BE

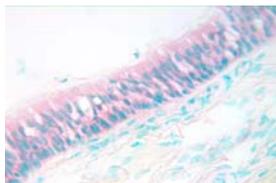


Abb. 13: Mensch  
JAK2 BE



Abb. 14: Mensch  
STAT1 BE

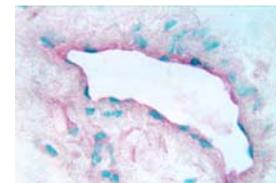


Abb. 15: Mensch  
JAK2 Arterie

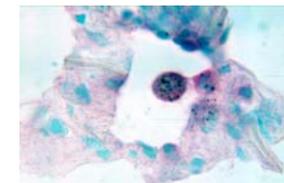


Abb. 16: Mensch  
STAT3 AM, tmG



Abb. 17: Mensch  
IFN- $\gamma$  Alveolarepithel

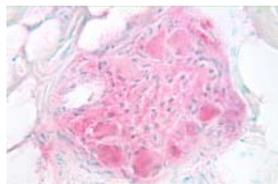


Abb. 18: Mensch  
STAT1 Nerv

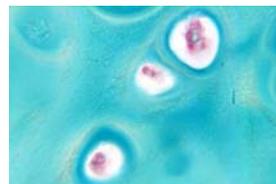


Abb. 19: Mensch  
STAT1 Chondrozyten

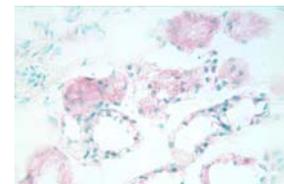


Abb. 20: Mensch  
JAK1 Gl. submucosae

## 5.2 Konstitutive Zytokinexpression in verschiedenen Organen der Ratte und des Menschen

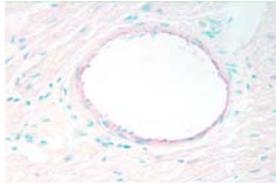


Abb. 21: Ratte

JAK2 Herz, Endothel

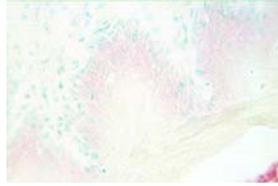


Abb. 22: Ratte

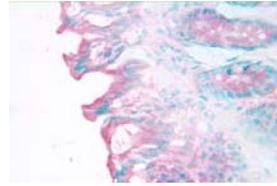
IFN- $\gamma$  Oesophagus

Abb. 23: Ratte

R2 Magen

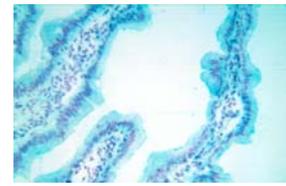


Abb. 24: Ratte

STAT3 Dünndarm

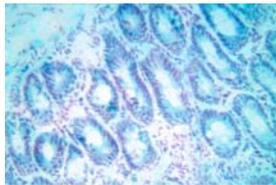


Abb. 25: Ratte

STAT3 Dünndarm

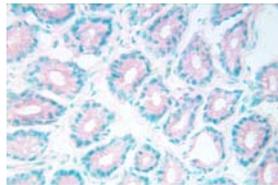


Abb. 26: Ratte

STAT2 Colon

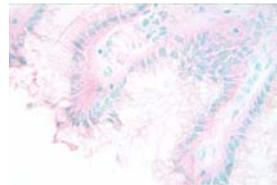


Abb. 27: Mensch

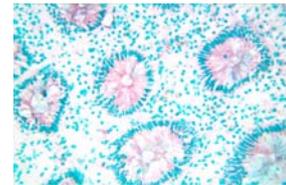
IFN- $\gamma$  Magen

Abb. 28: Mensch

R1 Colon

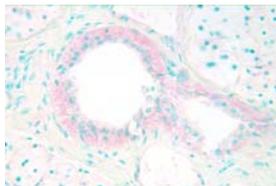


Abb. 29: Ratte

R2 Gl. submandibularis

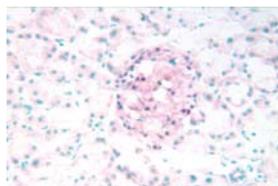


Abb. 30: Ratte

STAT2 Inselzellapparat

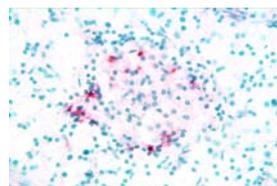


Abb. 31: Ratte

STAT1 Inselzellapparat

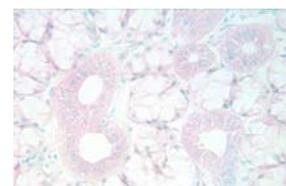


Abb. 32: Ratte

STAT2 Pankreas

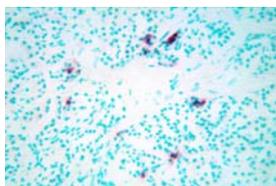


Abb. 33: Mensch

STAT1 Inselzellapparat

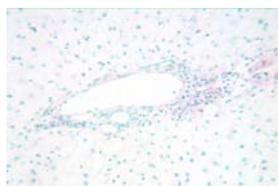


Abb. 34: Ratte

STAT1 Leber

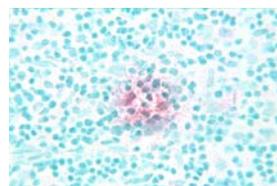


Abb. 35: Ratte

Ra Thymus

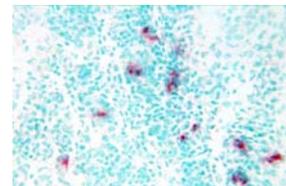


Abb. 36: Ratte

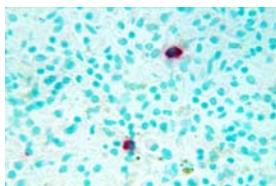
IFN- $\gamma$  Milz

Abb. 37: Mensch

JAK1 Milz

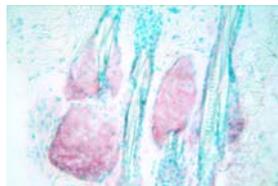


Abb. 38: Ratte

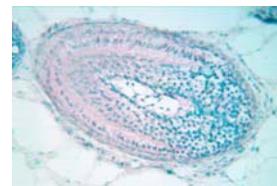
IFN- $\gamma$  Haut

Abb. 39: Ratte

JAK1 Haut

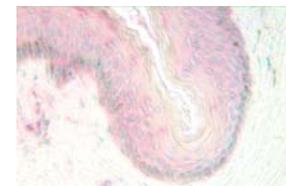


Abb. 40: Mensch

STAT2 Haut

### 5.3 Konstitutive Zytokinexpression gegenüber LPS-Exposition in der Rattenlunge

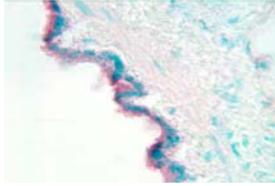


Abb. 41:  
IFN- $\gamma$  BE, Kontrolle

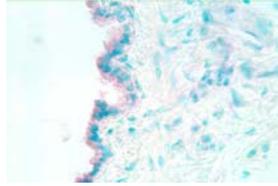


Abb. 42:  
IFN- $\gamma$  BE, 1  $\mu$ g, 1h, PI<sup>+</sup>



Abb. 43:  
IFN- $\gamma$  AM, Kontrolle

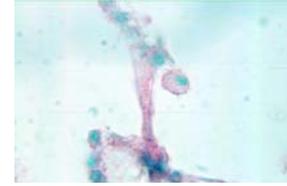


Abb. 44:  
IFN- $\gamma$  AM, 10  $\mu$ g, 2h, PI<sup>+</sup>

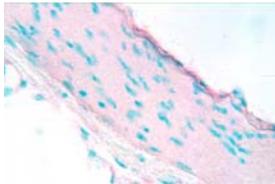


Abb. 45:  
STAT2, A.pul., Kontrolle

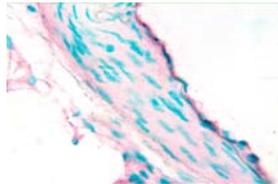


Abb. 46:  
STAT2, A.pul., 10  $\mu$ g, 1h, PI<sup>+</sup>

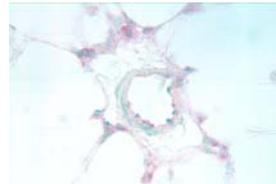


Abb. 47:  
p-STAT3 tmG, Kontrolle

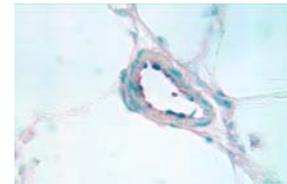


Abb. 48:  
p-STAT3 tmG, 10  $\mu$ g, 1h, PI<sup>+</sup>

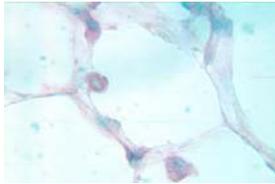


Abb. 49:  
p-STAT3 AM, Kontrolle

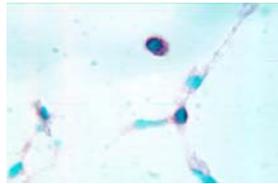


Abb. 50:  
p-STAT3 AM, 10 $\mu$ g, 2h, PI<sup>+</sup>

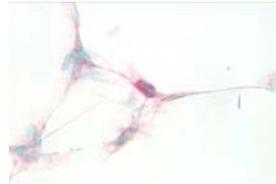


Abb. 51:  
p-STAT3 e.Z.i.S., Kontrolle

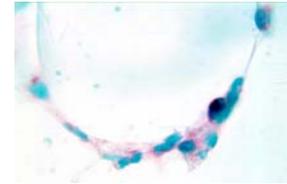


Abb. 52:  
p-STAT3 e.Z.i.S., 10 $\mu$ g, 2h, PI<sup>+</sup>

## 6 DISKUSSION

### 6.1 Konstitutive Zytokinexpression

Die vorliegende Arbeit demonstriert die differenzierte konstitutive Expression von IFN- $\gamma$  und seinen signaltransduzierenden Komponenten in normalem Rattenlungengewebe und 12 weiteren Organen der Ratte. Zusätzlich wurde die Expression von IFN- $\gamma$ , seinem Rezeptorkomplex, den Januskinasen 1 und 2, sowie STAT1, 2 und 3 in einer repräsentativen Auswahl humaner Gewebeproben aus Lunge, Trachea, Herz, Pankreas, Leber, Magen, Duodenum, Ileum, Kolon, Milz und Haut untersucht und mit den Rattenorganen verglichen.

Weder war die konstitutive Expression in allen untersuchten Organen anzunehmen, noch war ein ausführliches Profil zellulärer Lokalisation für diese Mediatoren bisher erstellt worden.

Die aktuelle Datenlage für die Expression von IFN- $\gamma$  beschränkte sich bisher im Wesentlichen auf Zelltypen des hämatopoetischen Systems. Meist wurde IFN- $\gamma$  nach unterschiedlicher Stimulation in immunkompetenten Zellen (Makrophagen, neutrophilen Granulozyten, natürlichen Killer-Zellen, T-Helfer-Zellen, etc.) detektiert<sup>52-55</sup>. Für NK- und NKT-Zellen ist zudem eine konstitutive Expression von IFN- $\gamma$  anzunehmen<sup>53</sup>. Neuere Arbeiten demonstrierten jedoch erstmalig auch die Expression in anderen Zell- und Gewebetypen. Folkerth et al. zeigte z.B. für die periventrikuläre Leukomalazie (PVL) neben Makrophagen im Bereich der nekrotischen Areale auch IFN- $\gamma$ -positive Astrozyten im Bereich des Marklagers<sup>118</sup>. Die Arbeitsgruppe um Pawankar et al. fand eine Hochregulation von IFN- $\gamma$  nach Stimulation im Innenohr ihrer Versuchstiere im Bereich der Perilymphe und Oberflächenmembran des knöchernen Labyrinths, dem Ligamentum spirale cochleae, suprastrial der Stria vascularis und bei den kleinen Venen der Schneckenwindel und den mittleren Venen der Cochlea<sup>119</sup>. Ein weiterer Nachweis von IFN- $\gamma$  gelang Reddy et al. in murinem Pankreas nach Stimulation mit Cyclophosphamid<sup>120</sup>. Neben Makrophagen, CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup>-T-Lymphozyten zeigte ein Teil der  $\beta$ -Zellen in den Langerhans'schen Inseln eine schwache Färbung für IFN- $\gamma$ .

Ebenso war das Endothel einiger Gefäße der Langerhans'schen Inseln und des exokrinen Pankreas gefärbt<sup>120</sup>.

Überdies konnte hier gezeigt werden, dass eine Vielzahl weiterer Zelltypen signifikante Quellen von IFN- $\gamma$  darzustellen scheinen. Die Oberflächenepithelien der Lunge, des Gastrointestinaltraktes (GIT) und die Folikelepitheelien der Haut zeigten die deutlichste Färbung innerhalb der einzelnen Gewebekompartimente für IFN- $\gamma$ . Dabei war eine abnehmende Tendenz der konstitutiven Expression des respiratorischen Bronchialepithels von tracheo-proximal nach distal basal zu sehen. Die Drüsen- und Gangepithelien der entsprechenden Organe waren geringgradig schwächer gefärbt. Die übrigen Drüsen- und Gangepithelien zeigten, bis auf die mukösen Anteile der Glandula submandibularis, die keine Färbung aufwies, einen Nachweis von IFN- $\gamma$ .

Für Epithelien ist bisher weder eine konstitutive noch eine post-stimulatorische Expression von IFN- $\gamma$  beschrieben. Jedoch ist z.B. für das Bronchialepithel bekannt, dass es in der Lage ist, Pathogene zu erkennen und mit der Expression proinflammatorischer Zytokine zu reagieren, um somit zu der Rekrutierung und Aktivierung klassischer Immunzellen beizutragen<sup>121;122</sup>. Da IFN- $\gamma$  z.B. neben der Induktion chemotaktischer Substanzen<sup>70;71</sup> noch andere weitreichende immunmodulatorische Fähigkeiten besitzt<sup>47-49</sup>, wäre eine konstitutive Expression an Oberflächenepithelien, welche als erste das Eindringen von Pathogenen erkennen können, als sinnvoll zu erachten.

Neben einer gut sichtbaren Färbung für das exokrine Pankreas waren einzelne Zellen innerhalb der Langerhans'schen Inseln, die sich mit einer deutlichen Färbereaktion für IFN- $\gamma$ , R1 und STAT1 vom umgebenden Gewebe abhoben, auffällig. Ob es sich dabei um die konstitutive Expression von IFN- $\gamma$  in  $\beta$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln oder einzelne Lymphozyten handelt, muß in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

Dass IFN- $\gamma$  in chronischen Autoimmunerkrankungen, wie z.B. dem juvenilen Diabetes mellitus, eine wesentliche Rolle spielt, wird auch von anderen Arbeitsgruppen gestützt<sup>123</sup>. So unterstützen die hier präsentierten Ergebnissen die Daten von Reddy et al., die ebenfalls IFN- $\gamma$  in den Langerhans'schen Inseln nachweisen konnten<sup>120</sup>. Sie unterstreichen die Hypothese, dass IFN- $\gamma$  möglicherweise eine Schlüsselrolle in der Entwicklung eines juvenilen Diabetes mellitus spielen könnte.

Die Gefäßmuskulatur der teilmuskularisierten Gefäße der Lunge zeigten eine diskrete Färbung für IFN- $\gamma$ , während die übrige Gefäßmuskulatur ebenso wie die glatte

Muskulatur von Trachea und Gastrointestinaltrakt keine Färbung zeigte. Das Gefäßendothel der Lunge und des GIT waren mittel bis stark gefärbt, die Endothelien der übrigen Organe waren schwach gefärbt. Im Bereich der Lunge zeigte sich darüber hinaus eine Zunahme der Färbeintensität in Richtung der Kapazitätsgefäße. Für das Endothel kleiner Venen im Innenohr<sup>119</sup> und einiger Gefäße der Langerhans'schen Inseln und des exokrinen Pankreas<sup>120</sup> konnte nach Stimulation eine Expression von IFN- $\gamma$  beschrieben werden. Da der Fokus dieser Untersuchungen nicht auf endothelialer Expression von IFN- $\gamma$  lag, stehen diese Ergebnisse nicht in unmittelbarem Widerspruch mit den hier erhobenen Daten, da methodische Unterschiede wahrscheinlich sind. Dennoch würde auch für Endothelien, vor allem in Bereichen anatomischer Nähe zu den Oberflächenepithelien, wie z.B. in der Lunge, die Freisetzung von Chemo- und Zytokinen Sinn machen, vor allem wenn Pathogene die epitheliale Schranke überwinden konnten.

Dies trifft ebenfalls und in besonderem Maße für Alveolar-Makrophagen zu, bei denen eine starke Färbeintensität für IFN- $\gamma$  zu beobachten war, da sie wohl die bedeutensten Abwehrzellen des Alveolarraums darstellen<sup>48;49;123</sup>. So konnte von Cappelli et al. neben einer basalen mRNA Expression von IFN- $\gamma$  in humanen Makrophagen vermehrt IFN- $\gamma$  mRNA nach Infektion mit einem klinisch gewonnenen, virulenten *M. tuberculosis*-Stamm gezeigt werden<sup>124</sup>. Die Proteinexpression von IFN- $\gamma$  nach Infektion war, im Vergleich zu einem avirulenten Laborstamm, um das 3-fache erhöht.

Einzelne Zellen im Septum, die nach Lage, Größe und Morphologie am ehesten alveolären Typ II-Zellen entsprachen, übertrafen die AM an Färbeintensität. Typ II-Zellen sind für etliche Funktionen, wie die Regulation des pulmonalen Surfactant Systems oder den Ersatz verletzter Typ I-Zellen, verantwortlich<sup>122</sup>, so dass die Möglichkeit einer IFN- $\gamma$ -Expression dieser funktional wichtigen Zellen realistisch erscheint. Ob es sich jedoch wirklich um alveoläre Typ II-Zellen handelt, muss, z.B. durch immunhistologische Doppeltypisierung, noch geklärt werden.

Ebenso zeigte sich eine intensive Färbung für einzelne Lymphozytenpopulationen in Milz und Thymus. Eine spezifische Zuordnung dieser einzelnen Zellen leukozytären Ursprungs ist allein anhand der Kernmorphologie und ohne immunhistologische Doppeltypisierung nur eingeschränkt möglich. Anhand der Lokalisation könnten diese einzelnen Zellen NK-Zellen sein, für die eine konstitutive Expression angenommen werden kann<sup>53</sup>. Das jedoch nur einige wenige dieser in der Milz häufig vorkommenden

NK-Zellen hier vermehrt IFN- $\gamma$  exprimieren könnten, lässt sich nach aktuellem Kenntnisstand nicht erklären. Dennoch können diese Zellnester ein weiterer Hinweis auf die außerordentliche Funktion von IFN- $\gamma$  in diesem Organ sein, da IFN- $\gamma$  für die Differenzierung, Proliferation und Apoptose von Th-Zellen eine bedeutende Rolle spielt<sup>125</sup>.

Die übrigen lymphatischen Strukturen präsentierten eine schwache bis keine Färbung. Diese Tatsache steht in gutem Einklang mit der aktuellen Datenlage, bei der eine IFN- $\gamma$  Expression für die entsprechenden Lymphozyten nur nach Stimulation beschrieben wurde<sup>54;55</sup>.

Im Gegensatz zu IFN- $\gamma$  ist die konstitutive Expression seines Rezeptors besser untersucht. Für IFN- $\gamma$ R1, der mit einer hohen Affinität an IFN- $\gamma$  bindet, wird eine konstitutive Expression auf nahezu allen kernhaltigen Zellen beschrieben<sup>79</sup>. Bei IFN- $\gamma$ R2, der für die Transduktion des IFN- $\gamma$  Signals obligatorisch<sup>82;84</sup> ist, beschränken sich die Angaben über seine zellulären Verteilung hauptsächlich auf murine und humane T-Lymphozyten<sup>125</sup>. Dabei konnte in diesen Veröffentlichungen die Bedeutung des IFN- $\gamma$ R2 als Stellglied der IFN- $\gamma$ -vermittelten Antwort von T-Lymphozyten gezeigt werden.

In dieser Arbeit erfolgte nun eine differenzierte histologische Untersuchung der konstitutiven Expression beider Rezeptoruntereinheiten.

Bis auf wenige Ausnahmen zeigten die beiden Rezeptoruntereinheiten ein ähnliches Färbeverhalten im Vergleich zu IFN- $\gamma$  für die Oberflächen-, Drüsen- und Gangepithelien, für die glatte und Gefäßmuskulatur und die Zellen des Immunsystems. So war ein Abfall der Färbeintensität innerhalb des respiratorischen Bronchialepithels nicht zu erkennen. Der IFN- $\gamma$ R1 zeigte ebenso wie das Zytokin einzelne Zellen innerhalb der Langerhans'schen Inseln, die sich mit einer deutlichen Färbereaktion vom umgebenden Gewebe abhoben. Bei deutlicher Färbung der Langerhans'schen Inseln für den R2 konnten sich jedoch keine einzelnen Zellen färberisch absetzen. Die einzelnen Zellen mit hochpositiver Färbung für IFN- $\gamma$  im Thymus und der Milz waren auch für den Rezeptor im Vergleich zum umgebenden Gewebe stark gefärbt.

Ob diese Expressionsmuster für das Pankreas und die einzelnen Zellen in Thymus und Milz einen Hinweis auf (auto-)regulatorische Mechanismen geben, muss in weiteren Studien untersucht werden.

Ein deutlicher Unterschied im Färbeverhalten von Zytokin zu Rezeptoruntereinheiten und innerhalb der Rezeptoruntereinheiten zeigte sich für die Gefäßendothelien. Während IFN- $\gamma$ R2 für alle Gefäße zumindest eine deutliche bis starke Färbung zeigte, variierte die Färbeintensität für IFN- $\gamma$ R1 innerhalb der einzelnen Organe. Für sämtliche Gefäße innerhalb der Lunge zeigte sich eine schwache Färbung. Eine Färbung des Endothels der übrigen Organe konnte jedoch für die Rezeptoruntereinheiten 1 nicht nachgewiesen werden. Für das hier untersuchte humane Gewebe zeigte sich ein identisches Färbeverhalten für den Rezeptor mit jedoch meist reduzierter Färbeintensität. Einzige Ausnahme bildete der IFN- $\gamma$ R1, der auch für das Gefäßendothel der humanen Lunge keine Färbung zeigte. Dazu ist anzumerken, dass die geringfügigen Unterschiede innerhalb der Spezies auf unterschiedliche Verarbeitungszeiten der Gewebe beruhen könnten. So waren für Organentnahmen aus der Ratte optimale Bedingungen mit sofortigem Gefrieren der Proben anzunehmen, während es nach der Entnahme humaner Gewebeproben zu zeitlichen Verzögerungen bis zu einer halben Stunde kommen konnte.

Einige der hier erhobenen Ergebnisse, vor allem in Bezug zur Endothelfärbung, stehen damit im Widerspruch zu der Veröffentlichung von Valente et. al, in der eine starke Färbung für die Endothelien großer, mittlerer und kleiner Gefäße in humanem Gewebe, ohne Differenzierung der Organzugehörigkeit, beschrieben wird<sup>79</sup>. Ebenso zeigt sich dort eine deutliche Färbung für die glatte Muskulatur des GIT und die Gefäßmuskulatur, welche in dieser Arbeit nicht nachvollzogen werden konnte.

Die einzelnen Zellen mit hochpositiver Färbung im Thymus und der Milz fanden in dieser Publikation ebenfalls keine Bestätigung. Die anderen, in beiden Arbeiten untersuchten Strukturen wiesen jedoch ein nahezu identisches Färbeverhalten auf.

Zu den Unterschieden ist zu sagen, dass die Ergebnisse von Valente et al. noch vor der Erstbeschreibung der Rezeptoruntereinheiten 2 veröffentlicht wurden, so dass eine klare Differenzierung des Färbeverhaltens von IFN- $\gamma$ R1 und R2 dort nicht beschrieben werden konnte. Sollten die verwendeten Antikörper dieser Arbeit sowohl an R1 wie auch an R2 binden, würde sich der Unterschied zu den hier erhobenen Daten auf die glatte und Gefäßmuskulatur reduzieren, was auf unterschiedliche immunhistochemische Verfahren zurückzuführen sein könnte. In der aktuellen Diskussion wird jedoch die Arbeit von Valente et al. mit der Rezeptoruntereinheit 1 gleichgesetzt<sup>126;127</sup>, obwohl dies aus der Veröffentlichung nicht eindeutig hervorgeht.

Andererseits birgt die hier gezeigte konstitutive Expression der Rezeptoruntereinheiten weitere Möglichkeiten der zellulären Regulation von IFN- $\gamma$ . Für humane Lymphozyten ist bekannt, dass die Kombination einer hohen R1-Expression bei gleichzeitig geringem R2-Niveau zur Proliferation derselben führt, während es zur Apoptose der T-Lymphozyten kommt, wenn beide Rezeptoruntereinheiten stark expremiert werden. Ein weiteres Beispiel ist die Differenzierung von Th1- und Th2-Zellen durch IFN- $\gamma$ , wobei sich die Th1-Subpopulation durch das Fehlen von IFN- $\gamma$ R2 auszeichnet<sup>94</sup>.

Eine mögliche Hochregulation *in vivo* des R1 auf Gefäßendothelien unter entsprechender Stimulation und gleichzeitiger autokriner Expression von IFN- $\gamma$ , z.B. stimuliert durch IL-12 und IL-18, aus dem Endothel (siehe oben) könnte eine effektive Kontrolle der leukozytären-endothelialen Interaktion darstellen, bei der IFN- $\gamma$ , via Hochregulation der Integrin-Liganden ICAM-1 und VCAM-1 auf Endothelzellen, eine bedeutende Rolle zugeschrieben wird<sup>72</sup>. Pestka et al. postulierten diesbezüglich, dass die Anwesenheit zweier unterschiedlicher Rezeptoreinheiten eine effektivere Kontrolle und Feinabstimmung in der Antwort auf den entsprechenden Liganden ermöglichen<sup>127</sup>. Den genaue Mechanismus und die Regulation dieses Prozesses gilt es in weiterführenden Untersuchungen zu klären.

Der JAK/STAT-Signaltransduktionsweg stellt einen Hauptmechanismus der Signalübermittlung für eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren und Zytokinen dar<sup>96;98</sup>. Die Aktivierung dieser Signalkaskade hat weitreichenden Einfluss auf die Proliferation und Differenzierung von Zellen, bis hin zur Apoptose, und spielt ebenso eine bedeutende Rolle bei der Zellmigration<sup>96;128</sup>. Bisher haben sich kaum Arbeiten mit der zellulären Lokalisation von JAK1 und 2 beschäftigt, so dass ein ubiquitäres Vorkommen zwar angenommen wird, aber bisher noch nicht nachgewiesen wurde<sup>129</sup>. Für die Januskinasen nahmen wir ein Expressionsprofil an, welches eng mit der Verteilung des IFN- $\gamma$ R korreliert, da die korrespondierenden Rezeptoruntereinheiten mit den Januskinasen eine funktionelle Einheit bei der Signaltransduktion darstellen<sup>87;130</sup>. So entsprach das Expressionsprofil bis auf wenige Ausnahmen dem Verteilungsmuster der Rezeptoruntereinheiten. Ebenso verhielt es sich für die Färbeintensität innerhalb der einzelnen Gewebekompartimente.

Im Gegensatz zu seiner korrespondierenden Rezeptoruntereinheit R1 zeigte JAK1 eine deutliche Färbung aller Endothelien unabhängig der Organlokalisierung. Für die glatte

und die Gefäßmuskulatur waren sowohl Ausdehnung als auch Intensität beider Januskinasen etwas deutlicher wie für das Zytokin und seinen Rezeptor.

Zum einen kann diese Konstellation ein Hinweis für eine mögliche Regulation auf Ebene des Rezeptors, wie für T-Lymphozyten bereits bekannt<sup>94</sup>, sein, zum anderen ist im Bereich dieser Strukturen eine Assoziation der beiden Januskinasen mit anderen Zytokinrezeptoren möglich<sup>131;132</sup>.

Der JAK/STAT-Signalweg wird von einer Vielzahl von Zytokinen benutzt, wobei entsprechend dem Zytokin spezifische STAT's phosphoryliert werden<sup>131;132</sup>. STAT1 stellt dabei den hauptsächlichen Signalübermittler für IFN- $\gamma$  dar<sup>50;57</sup>, während STAT1 und STAT2 durch Aktivierung des IFN- $\alpha$  Rezeptors aktiviert werden können<sup>57;104</sup>. STAT3 hingegen wird über IL-6 und andere gp130 verwandte Zytokine aktiviert<sup>106</sup>. Bei all diesen Signalwegen spielt die Januskinase 1 eine bedeutende Rolle<sup>102</sup>, da JAK1, meist in Kombination mit einer weiteren Tyrosinkinase, für die Phosphorylierung und damit Aktivierung der drei hier untersuchten STAT-Proteine verantwortlich ist<sup>131;132</sup>. Damit war eine der Januskinase 1 ähnliche Lokalisation für alle drei STAT's anzunehmen. Da die hier untersuchten STAT-Proteine über diese drei Zytokinvermittelten Signalkaskaden hinaus an einer Vielzahl Mediator-vermittelter Prozesse beteiligt sind, ist von einer weiterreichenden zellulären Expression in eukaryonten Zellen auszugehen. Daher wurden in dieser Arbeit ausführliche histologische Untersuchungen über die konstitutive Expression dieser Signalfaktoren *in vivo* durchgeführt.

Die konstitutive Expression von STAT1 ergab ein kongruentes Bild mit dem Zytokin, seinem Rezeptor und den beiden Tyrosinkinasen. So zeigte sich für STAT1, ebenso wie für die beiden Rezeptoruntereinheiten und die beiden Januskinasen, eine deutliche Färbung der Oberflächenepithelien, mit Abnahme der Expression bei den Drüsen- und Gangepithelien. Die einzelnen Zellen im Septum, der Langerhans'schen Inseln sowie Thymus und Milz zeigten ebenfalls eine vom übrige Gewebe deutlich abgehobene Färbung. Bemerkenswert ist, dass das Expressionsmuster von STAT1 dem des Rezeptor 1 am ähnlichsten ist. So war für die Endothelien der Lunge eine schwache aber deutliche und für die Endothelien des Gastrointestinaltraktes keine Färbung zu detektieren.

Für das aktivierte STAT-Protein zeigte sich eine hohe Aktivität im Bereich der proximalen und distalen Bronchialepithelien, sowie der Alveolarmakrophagen und der

einzelnen Zellen im Septum. Die Gefäßendothelien waren im Vergleich dazu und im Vergleich zur inaktiven Form deutlich schwächer detektiert.

Zytokine, sind in der Lage, parakrine, autokrine und endokrine Effekte zu erzielen. Dabei können sie in geringsten Konzentrationen durch Bindungen an hochaffine Rezeptoren, wie hier zum Beispiel den IFN- $\gamma$  Rezeptor, ihre Wirkung entfalten. Für IFN- $\gamma$  sind autoregulatorische Mechanismen bekannt, wie zum Beispiel die Verminderung der Oberflächenexpression seines eigenen Rezeptors<sup>59</sup> oder die Stimulation von T-Lymphozyten zur IFN- $\gamma$ -Produktion, die wiederum STAT1 abhängig ist<sup>133</sup>.

Zudem gibt die ubiquitäre Expression des IFN- $\gamma$  Rezeptors, wie schon in der Studie von Valente et al.<sup>79</sup> beschrieben, einen Hinweis auf eine weit größere konstitutive Produktion seines Bindungspartners. Auch spricht die konstitutive Expression von phosphoryliertem STAT1, wie in dieser Studie gezeigt, für eine physiologische Bedeutung der Interferone, da STAT1 hauptsächlich für die Signaltransduktion der Interferone verantwortlich ist<sup>50;57;104</sup>.

Die zelluläre Expression des Zytokines zeigte eine große Übereinstimmung mit beiden Rezeptoruntereinheiten R1 und R2. So waren die Epithelzellen aller hier untersuchten Organsysteme sowohl für IFN- $\gamma$  wie auch für R1 und R2 positiv gefärbt. Die zelluläre STAT1-Expression korreliert wiederum eng mit der Rezeptorverteilung. Diese Erkenntnisse legen die Vermutung nahe, dass die Expression des IFN- $\gamma$ R auf einer Zelle die IFN- $\gamma$ -vermittelte Signaltransduktion dort ermöglicht und die physiologische Rolle dieses Zytokins unterstreicht.

STAT1 konnte, mit Ausnahme der Endothelien, nur in Zellen detektiert werden, auf denen ebenfalls die Rezeptoreinheit 1 auf der Oberfläche expremiert wird. Dieser „Mismatch“ beschränkt sich ausschließlich auf Endothelzellen, wobei auch in den Endothelien aktiviertes STAT1 zu detektieren war. Nicht auszuschließen ist, dass sich in diesen Zellen der IFN- $\gamma$ R1-Gehalt unter der immunhistochemischen Nachweisgrenze befindet oder die Regulation der Rezeptoruntereinheit, wie oben diskutiert, hier die führende Rolle spielt.

In der Zusammenschau unterstützen diese Ergebnisse die Vermutung, dass die IFN- $\gamma$ -vermittelte Signaltransduktion in Epithelien und Endothelien des gesamten Organismus eine physiologische Bedeutung hat. Betrachtet man nun im Speziellen das pulmonale Expressionsmuster dieser zwei für das ARDS bedeutende Zelltypen, so zeigt

sich eine enge Korrelation der Ratte mit den für humane Lungen erhobenen Daten. Dies wiederum legt eine physiologische Bedeutung von IFN- $\gamma$  und dessen downstream-Komponenten im Menschen nahe.

STAT2, das ebenso wie STAT1 zur Signalübermittlung der Typ I-Interferone via der IFN- $\alpha/\beta$ -Rezeptoren unter zu Hilfenahme der Tyrosinkinase JAK1 und Tyk2 aktiviert wird<sup>104</sup>, zeigte ein konstitutives Expressionsmuster, welches eng mit der Tyrosinkinase JAK1 und seinem Komplexbildner STAT1 assoziiert war. Dies galt in gleichem Maße für murines wie für humanes Gewebe. Es war eine deutliche Färbung der Oberflächenepithelien mit Abnahme der Expression bei den Drüsen- und Gängepithelien zu sehen. Einzelne Zellen im Bereich der Langerhans'schen Inseln konnten im Gegensatz zu STAT1 nicht gefärbt werden, jedoch zeigte sich eine mittlere Färbung für die gesamten Langerhans'schen Inseln. Auch für IFN- $\alpha$  wird eine, vor allem nach Virusinfektionen, potentielle Rolle bei der Entstehung eines juvenilen Diabetes diskutiert<sup>134</sup>, was durch die hier erhobenen Daten nicht ausgeschlossen werden kann.

Einzelne Zellen im Thymus und der Milz konnten ebenso wie bei STAT1 mit deutlicher Expression nachgewiesen werden. Dies stellt keinen Widerspruch zu der oben diskutierten These, dass diese Zellen NK-Zellen sind, da IFN- $\alpha$  in der Lage ist, NK-Zellen via IL-15 Expression zu aktivieren<sup>135</sup>.

Zur weiteren Untersuchung der Bedeutung und Funktion der STAT-Proteine wurden entsprechende k.o.-Mäuse für jedes dieser Proteine generiert. Für STAT3 zeigte sich eine nicht lebensfähige k.o.-Maus<sup>105</sup>, so dass für einen weiterführenden Informationsgewinn unterschiedliche Zelllinien mit funktioneller Inaktivierung des STAT3-Gens entwickelt wurden. Im wesentlichen handelte es sich hier um T-Zellen<sup>108</sup>, Keratinozyten<sup>109</sup>, die komplette Leber<sup>136</sup> sowie Mono- und Granulozyten<sup>107</sup>. Zusätzlich sollte hier noch erwähnt werden, dass vor allem STAT1 und STAT3, neben STAT5, eine nicht unwesentliche Rolle bei der Onkogenese einiger Tumoren zu spielen scheinen: So wird zum Beispiel berichtet, dass die erhöhte Aktivität von STAT3 in Tumorzellen die Proliferation und Anti-Apoptose derselben unterstützen, während die reduzierte Aktivität von STAT1 häufig mit hochmalignen Tumoren assoziiert wird<sup>137</sup>. Dabei zeigte STAT3 unter anderem erhöhte Aktivität beim hepatozellulären Karzinom, dem Malignen Melanom, in Tumoren des Pankreas, des Magens, des Dickdarms und der Lunge<sup>138</sup>. Zusätzlich wird bei Inaktivierung von STAT1 ein vermehrtes Auftreten von Tumoren, sowohl spontan als auch chemisch induziert, beobachtet<sup>139</sup>. Für alle hier

analysierten Organe zeigte sich eine ausgeprägte Expression beider Transkriptionsfaktoren, was mit der hohen physiologischen Bedeutung dieser beiden Signalfaktoren korreliert<sup>138;139</sup>.

Ebenso wie JAK1 war auch STAT3 am stärksten in den Oberflächenepithelien von Lunge, Magen-Darm-Trakt und der Haut exprimiert, wobei im humanen Gewebe eine intensivere Färbung für STAT3 im Vergleich zu STAT1 zu sehen war. Eine deutliche Detektion war auch in den einzelnen Zellen der Lunge, inklusive der Alveolarmakrophagen, des Thymus und der Milz zu sehen, wobei für JAK1 in der humanen Milz bis auf einzelne Zellen keine Färbung zu sehen war, während STAT3 bis auf die Sinusoide der humanen Milz ubiquitär prominente Färbungen zeigte. Drüsen- und Gangepithelien waren schwächer gefärbt. In dem endogenen Pankreas der Ratte war keine prominente Färbung einzelner Zellen zu sehen, während für das humane Gewebe, ebenso wie bei STAT1, deutlich einzelne Zellen innerhalb der Langerhans'schen Inseln erkennbar waren. Diese Daten korrelieren gut mit den vorhandenen Publikationen, die über STAT3-Lokalisation und physiologische bzw. pathophysiologische Aktivität in Haut, Leber, Pankreas, Gastrointestinaltrakt, Dickdarm, Lunge und unterschiedlichen Leukozytenpopulationen berichten<sup>107-109;136;138</sup> und erhöhen die Evidenz für eine ausgeprägte physiologische Bedeutung der STAT-Proteine.

Ebenso unterstützt wird dies durch die Beobachtung, dass auch aktiviertes STAT3 in der Rattenlunge nachweisbar war. Dabei zeigte sich, dass für alle Strukturen, die für STAT3 eine Färbung aufzeigten, eine konstitutive Phosphorylierung und damit Aktivierung unterschiedlichen Ausmaßes zu sehen war. So war für das phosphorylierte STAT3 eine ähnlich hohe Aktivität im Bereich der proximalen und distalen Bronchialepithelien im Vergleich zu nicht-phosphoryliertem STAT3 zu sehen. Die Alveolarmakrophagen und einzelnen Zellen im Septum waren im Vergleich dazu und im Vergleich zur inaktiven Form schwächer, die Gefäßendothelien deutlich schwächer detektiert.

Die Oberflächenepithelien des Respirations- und Gastrointestinaltraktes stellen eine natürliche Grenze des Körpers dar, die, gleich der Haut, permanent exogenen Stimuli ausgesetzt sind. Neben der Nahrungsaufnahme und der normalen Bakterienflora spielen dabei auch inhalative Noxen eine wesentliche Rolle. Somit deutet die prominente konstitutive Expression von IFN- $\gamma$ , seinem Rezeptor und dessen Signalkaskade im Bronchialepithel und im intestinalen Epithel auf eine

pathophysiologische Bedeutung während Genese und Verlauf infektiöser Erkrankungen hin. Zudem deuten die breite Expression und die konstitutive Phosphorylierung von STAT1 und 3 im Bereich der Bronchialepithelien auf eine potentielle immunmodulatorische Bedeutung bereits unter physiologischen Bedingungen hin.

Abschließend ist zu erwähnen, dass sich die hier beobachtete zelluläre Expression murinen Materials mit der Expression im humanen Gewebe weitestgehend deckt. Dies unterstreicht die besondere Bedeutung experimenteller Wirbeltiermodelle bei der Erforschung physiologischer und pathophysiologischer Vorgänge und scheint evidente Vergleiche mit dem Menschen zu ermöglichen.

## 6.2 Vergleich LPS exponierter Rattenlungen

Neben der konstitutiven, pulmonalen Expression von IFN- $\gamma$  und seinen signaltransduzierenden Komponenten in normalem Rattenlungengewebe konnte die zelluläre Regulation LPS-exponierter Rattenlungen bis zu zwei Stunden untersucht werden. Ergänzend wurden LPS exponierte Rattenlungen im selben Versuchsaufbau mit und ohne Plasma perfundiert und verglichen. Unabhängig von der Zugabe von Plasmafaktoren zum Pufferperfusat der isoliert perfundierten Lungen war die basale Expression der hier untersuchten Proteine für alle drei LPS-freien Gruppen (physiologische Lungen, +/- Plasma) in ihrem Färbeverhalten nahezu identisch und es zeigten sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Es ist allgemein anerkannt, dass wesentliche inflammatorische Reaktionen des Organismus auf LPS-Stimulation über TLR4 vermittelt werden<sup>32-35;39</sup>. Dabei wird zunehmend deutlich, dass zur kompletten Ausbildung der angeborenen Immunantwort eine Reihe von Zytokinen induziert werden müssen<sup>140</sup>.

Bei der angeborenen Immunität induziert IFN- $\gamma$  unter anderem Chemokine wie IP-10, MIP-1 $\alpha$  und 1 $\beta$ , RANTES und MCP-1<sup>70;71</sup>. Diese werden von Lymphozyten, Makrophagen, Endothelzellen und anderen sezerniert und führen zur Chemotaxis von PMN's, Monozyten und Lymphozyten<sup>70;71</sup>. Eine Verstärkung erfährt die Induktion dieser Chemokine im Synergismus mit TNF $\alpha$  und IL-1 $\beta$ <sup>70;71</sup>. Bei der erworbenen Immunität hat IFN- $\gamma$  Effekte auf die Differenzierung von Th 1-Zellen und unterdrückt die Zytokinantwort von Th 2-Zellen<sup>94</sup>. Diese Eigenschaften lassen vermuten, dass IFN- $\gamma$  auch eine zentrale

Rolle im Rahmen der angeborenen Immunantwort spielt und wesentlich an der Initiierung subsequent erworbener Immunantwort teilhat<sup>141</sup>.

IFN- $\gamma$  scheint ebenfalls eine wesentliche Rolle bei der Ausbildung einer schweren Sepsis mit Multiorganversagen und erhöhter Letalität zu spielen: So zeigten Moore et al. im Vergleich zwischen einer pulmonalen versus einer systemischen Infektion mit *Klebsiella pneumoniae* bei IFN- $\gamma$ <sup>-/-</sup> knock-out-Mäusen eine verminderte pulmonale Clearance der Mikroorganismen und erhöhte Letalität bei der Pneumonie, während sich bei der systemischen Infektion geringere Bakteriemie und Leberschädigung, sowie verbessertes Überleben zeigte<sup>142</sup>. In einem neueren *in vivo*-Maus-Modell von Spörri et al. wird IFN- $\gamma$  als Schlüssel-Zytokin nach *L. pneumophila*-Infektion beschrieben, wobei das fehlen von NK-Zellen oder dem IFN- $\gamma$ -Rezeptor zu einer schweren, nicht mehr kontrollierbaren Infektion führte<sup>143</sup>.

Betrachtet man nun die für IFN- $\gamma$  erhobenen Ergebnisse, so zeigt sich eine Abnahme der Färbeintensität im Bereich der distalen Bronchialepithelien, die unter Zusatz von Plasmafaktoren statistisch signifikant sind. Ebenso war dies für Alveolarmakrophagen, unabhängig von der Zugabe löslicher Plasmafaktoren, zu sehen, und könnte für eine Zytokinausschüttung beider Zelltypen nach Stimulation sprechen.

Der IFN- $\gamma$ -Rezeptor zeigte keine wesentlichen Veränderungen. Bei der Rezeptoruntereinheit 1 war eine tendenziell leichte Zunahme der Färbeintensität für sämtliche Endothelien unter Zusatz von Plasmafaktoren zu sehen, während R2 keine wesentlichen Veränderungen für stimulierte Lungen, mit oder ohne Plasma, zeigte.

IFN- $\gamma$ R1 ist die Rezeptoruntereinheit, deren Eigenschaft die hohe Affinität des Rezeptors darstellt, während die  $\beta$ -Kette für die Transduktion des IFN- $\gamma$  Signals obligatorisch ist<sup>82;84</sup>. Die Anpassung der Rezeptorexpression stellt einen Mechanismus dar, über welchen eine Zelle seine Sensitivität gegenüber IFN- $\gamma$  verändern kann<sup>93</sup>. Dieser Mechanismus wurde durch Unterschiede in der biologischen Antwort von Zellen entdeckt, die unterschiedliche Mengen von IFN- $\gamma$ R1 exprimierten<sup>94</sup>. Solche autoregulatorischen Mechanismen sind zum Beispiel für die Verminderung der Oberflächenexpression seines eigenen Rezeptors<sup>59</sup>, oder die Stimulation von T-Lymphozyten zur IFN- $\gamma$  Produktion, welche STAT1-abhängig ist, beschrieben.

Für JAK2 ist eine Aktivierung (Phosphorylierung) – keine vermehrte Expression – innerhalb von Minuten bis Stunden unter LPS-Stimulation *in vitro* und *in vivo* beschrieben<sup>144;145</sup>.

Sowohl beide hier untersuchten Januskinasen als auch STAT1 zeigten keine signifikanten Veränderungen unter Stimulation. Auch konnte keine vermehrt Phosphorylierung von STAT1 gezeigt werden, so dass das Expressionsniveau von phosphoryliertem STAT1 in allen Zellkompartimenten konstant blieb.

Als einzige Ausnahme ist die signifikante Hochregulation für JAK1 im Bereich der Bronchialmuskulatur und des lymphatischen Gewebes erwähnenswert. Für die Expression von JAK1 sind keine Untersuchungen nach LPS-Stimulation zu finden. Die Arbeitsgruppe um Okugawa hingegen konnte in einem *in vitro* Modell für Makrophagen (RAW264.7) zeigen, dass unter LPS-Stimulation ausschließlich JAK2 phosphoryliert wurde, wobei JAK1 keine Aktivierung erfuhr<sup>145</sup>.

Eine Induktion von IFN- $\gamma$  durch LPS in der Frühphase (bis 2 Stunden) der pulmonalen gram-negativen Infektion ist auf Grundlage der hier erhobenen Daten nicht zu sehen. Für TNF $\alpha$  jedoch konnte in diesem Modell in diesem Zeitraum bereits eine signifikant vermehrte Proteinexpression und Sekretion gezeigt werden<sup>46</sup>. Somit stellt sich die Frage, ob IFN- $\gamma$  durch LPS *in vivo* wie andere proinflammatorische Zytokine via TLR4 und MyD88 induziert wird<sup>39</sup>, oder mittels IL-12 und IL-18<sup>60</sup>, die beide durch LPS-Stimulation expremiert werden<sup>68;69</sup>. IL-12 z.B. wird erst in einer späteren Phase nach Endotoxämie, mit einem Höhepunkt nach 8 Stunden, produziert<sup>146</sup>, was zeitlich gut zu den Untersuchungen von Spörri et al. passt, die eine erhöhte IFN- $\gamma$  Produktion nach 12 bis 16 Stunden feststellen konnten<sup>143</sup>. Zur Klärung dieser Frage würde ein Modell mit IL-12 und IL-18 k.o.-Mäusen Sinn machen.

STAT2 zeigte einen deutlichen Anstieg der Färbeintensität für die Endothelien der Hilusvenen und der teilmuskularisierten Gefäße. Das Endothel der Arterien zeigte keine Dynamik. Unter Zugabe von Plasmafaktoren kam es für das Endothel der teilmuskularisierten Gefäße bereits nach 1 Stunde zur Hochregulation, während für das Endothel der Hilusvenen eine vermehrte Detektion erst nach 2 Stunden möglich war. Ob die Hochregulation des Proteins auch mit vermehrter Phosphorylierung korreliert, muss in weiterführenden Studien untersucht werden. In Zusammenschau der Befunde mit JAK1 erscheint eine Regulation des JAK-STAT-Pathways nicht nur über die vermehrte Phosphorylierung der STAT-Proteine sondern auch über vermehrte Expression der Moleküle möglich.

Im Gegensatz zu STAT2 war für STAT3 ein nahezu konstantes Expressionsniveau für alle Gruppen, unabhängig der Zugabe von Plasma, zu sehen. Jedoch zeigte sich,

abhängig vom Plasma, eine vermehrte Phosphorylierung. Dabei war hier für die Gruppen ohne Plasma ein signifikanter Anstieg nur für das Endothel teilmuskularisierter Gefäße bei hoher Dosierung von LPS erkennbar, während für die anderen Kompartimente keine Veränderung der Färbintensität sichtbar wurde. Für die Gruppen mit Plasma zeigte sich, neben einer vermehrten Aktivierung der Endothelien teilmuskularisierter Gefäße, auch ein statistisch signifikanter Anstieg im Bereich der Nervenfasern und im Bereich der einzelnen Zellen in den Alveolarsepten und in den Alveolarmakrophagen. Für das Endothel teilmuskularisierter Gefäße und für Alveolarmakrophagen ist zu erwähnen, dass es hier bereits bei geringerer LPS-Dosierung und nach einer Stunde zu einer wesentlichen Zunahme der Färbung kam.

Diese Daten stimmen gut mit der Veröffentlichung von Severgnini et al. überein, der eine deutliche Aktivierung von JAK 2 und STAT3 innerhalb von Minuten bis Stunden unter LPS-Stimulation *in vivo* beobachtete<sup>144</sup>. Severgnini et al. hält dabei eine Aktivierung von STAT3 via LPS aufgrund von *in vitro*-Daten (Epithel und Endothel der Lunge) für unwahrscheinlich und favorisiert IL-6 als möglichen Kandidaten für die Aktivierung von STAT3<sup>144</sup>. Da IL-6 die STATs über JAK1 und 2 aktiviert<sup>131;132</sup>, müsste eine Phosphorylierung auch für JAK1 stattfinden. Dies widerspricht den oben bereits erwähnten Daten von Okugawa et al., die eine Aktivierung für JAK1 unter LPS-Stimulation nicht nachweisen konnten<sup>145</sup>. Die aktuelle Datenlage unterstreicht die Komplexität des JAK/STAT-Pathways und macht weitere Untersuchungen nötig.

STAT1 und 3 werden aktuell im Rahmen der Diskussion über Tumorgenese (siehe oben) als potentielle therapeutische Targets angesehen<sup>111;137-139</sup>. Dabei sollte bedacht werden, dass es unter der Therapie mit zukünftigen STAT-Inhibitoren zu schweren Komplikationen im Rahmen begleitender Infektionen kommen könnte. So beschreibt Yoo et al. in einer Arbeit aus 2002 essentielle *in vivo*-Funktionen von STAT3 bei der Antwort auf Endotoxin, was durch die hier erhobenen Daten unterstützt wird<sup>147</sup>. Dabei kommt es nach selektiver Blockade der STAT3b Isoform in Mäusen zu einer verzögerten Erholung nach septischem Schock und zu einer Überempfindlichkeit einiger endotoxin-induzierbarer Gene der Leber. Ebenso unerwünschte Wirkungen wurden zum Beispiel bei der anti-TNF- $\alpha$ -Therapie (Infliximab), die eine erhöhte Inzidenz für Tuberkulose zeigte, beobachtet<sup>148</sup>.

Wie bei Ermert et al., der in seinen Arbeiten über die Expression und Regulation von Cyclooxygenase-2 am Modell der isolierten und perfundierten Rattenlunge ein unterschiedliches Regulationsprofil der Cyclooxygenase -2 bei Lungen mit und ohne

Plasma nach LPS Exposition zeigte, ist hier ein deutlicher Unterschied für phosphoryliertes STAT3 für LPS-stimulierte Rattenlungen mit oder ohne Plasma zu sehen<sup>116</sup>. Dabei könnten die im Plasma vorhandenen Faktoren sCD14 und LBP, welche für die LPS-Signaltransduktion von zentraler Bedeutung sind<sup>19-21</sup>, auch für die hier gewonnenen Befunde wesentlich sein. So ist sCD14 für die Aktivierung CD14-negativer Zellen, wie z.B. Endothel, durch LPS von Bedeutung<sup>26</sup>. Andere Studien zeigten, dass LPS zumindest teilweise in der Lage ist auch ohne CD14 an Zellen zu binden<sup>31</sup>. Dies scheint auch hier der Fall zu sein, wobei im Gegensatz zu plasmaperfundierten Lungen eine Aktivierung des Endothels der teilmuskularisierten Gefäße erst unter erhöhter LPS-Dosis stattfindet. Somit scheinen Plasmafaktoren einen Einfluss auf die Regulation der in diesem Modell untersuchten Proteine zu besitzen.

Durch die Freisetzung von Chemo- und Zytokinen nach Pathogenkontakt tragen Lungenepithelzellen zur Rekrutierung und Aktivierung von Immunzellen bei<sup>122</sup>. Gleichzeitig kommt es zur proentzündlichen Aktivierung des Endothels, welches sich in direkter anatomischer Beziehung zum pulmonalen Alveolarepithel befindet<sup>121;122</sup>. Betrachtet man die hier erhobenen Beobachtungen nach LPS-Stimulation in isolierten Rattenlungen, so wird deutlich, dass besonders Endothelzellen der Lunge eine Reaktion auf vaskulär angebotenes LPS zeigen. Die Transkriptionsfaktoren STAT2 und 3 werden in diesen unter Stimulation vermehrt exprimiert und erscheinen direkt reguliert. In Bronchialepithelzellen ist eine Regulation für IFN- $\gamma$  und STAT3 zu beobachten. Dies unterstützt die These, dass Endothel und Epithel nicht nur Zielzellen, sondern auch Regulatoren bei inflammatorischen Prozessen darstellen können<sup>121;122</sup>. Somit erscheint die ausgeprägte Expression in diesen wichtigen Zellkompartimenten eines derart elementaren Zytokines wie dem IFN- $\gamma$  nur folgerichtig.

## 7 ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit demonstriert eine konstitutive Expression von IFN- $\gamma$ , seinem Rezeptor, den Januskinasen JAK1 und JAK2, sowie den Transkriptionsfaktoren STAT1, STAT2 und STAT3 in allen untersuchten Organen der Ratte. Dabei zeigte sich eine differenzierte Expression auf zellulärer Ebene, bei der die epithelialen und endothelialen Zellen eine Detektion der Proteine aufwiesen und die Bedeutung dieser beiden Zellkompartimente für physiologische und pathophysiologische Vorgänge unterstreicht. Zusätzlich konnte für die Endothelien eine Expression gezeigt werden, die auf Regulationsmechanismen im Bereich des Rezeptors hinweisen. Einzelne Zellen mit einer ausgeprägten Immunreaktion im Bereich der Langerhan'schen Inseln stützen die potentielle Rolle von IFN- $\gamma$  in der Genese des juvenilen Diabetes, während einzelne Zellen mit starker Färbung für IFN- $\gamma$  in der Milz weitere Fragen über die Rolle von IFN- $\gamma$  für physiologische Prozesse bei der T-Zell Entwicklung aufwerfen.

Vergleicht man nun die konstitutive zelluläre Expression zwischen normalen Rattenlungen und humanen Lungengewebeproben, so zeigt sich ein nahezu identisches Expressionsprofil für beide Spezies, soweit das begrenzt zur Verfügung stehende humane Untersuchungsmaterial dies zuließ. Das aus Operationspräparaten gewonnene humane Gewebe ließ nicht für alle Strukturen der humanen Lunge eine abschließende Untersuchung zu. Dennoch lassen sich die diskreten Unterschiede methodisch erklären, so dass evidente Vergleiche zwischen den Spezies möglich scheinen.

Unter Exposition isoliert-perfundierter Rattenlungen mit vaskulärem LPS zeigte sich für alle hier untersuchten Proteine, mit Ausnahme von STAT3, im Untersuchungszeitraum von maximal 2 Stunden keine bzw. eine nur sehr gering ausgeprägte Regulation in den einzelnen Zellkompartimenten. Dies scheint gegen die Induktion von IFN- $\gamma$  durch LPS via TLR4 und MyD88 in der Frühphase der pulmonalen gram-negativen Infektion zu sprechen und könnte alternativ durch die Induktion von IFN- $\gamma$  über IL-12 und IL-18 bedingt sein.

Für STAT3 zeigte sich hingegen eine ausgeprägte Phosphorylierung des Proteins unter LPS-Stimulation, was die Bedeutung dieses Transkriptionsfaktors unterstreicht. Nach

Zugabe von Plasma war STAT 3 stärker aktiviert was wiederum die Bedeutung von Plasmafaktoren für die LPS getriggerte Stimulation zu unterstützen scheint.

Diese deskriptiven Untersuchungen legen wichtige Grundlagen zur tiefer gehenden funktionellen Charakterisierung des IFN- $\gamma$ -Systems bei pulmonalen Infektionen und unterstützen die These, dass IFN- $\gamma$  ein zentrales Zytokin bei der angeborenen und erworbenen Immunität auf Pathogene darstellt.

## 8 AUSBLICK

Die Entwicklung der gegenwärtigen Grundlagenforschung macht deutlich, dass die immunmodulatorischen Eigenschaften von IFN- $\gamma$  von zentraler Bedeutung sind<sup>48</sup>.

Es mehren sich die Hinweise, dass die alleinige Messung sezernierter Moleküle in z.B. Plasma und die klinische Beobachtung von Versuchstieren nicht ausreicht, um die komplexen immunmodulatorischen Vorgänge zu verstehen, sondern dass vielmehr die exakte Kenntnis einzelner beteiligter Zellen und Zellkompartimente wesentlich ist.

Neben der Analyse klassischer Modulatoren der Immunantwort wie Leukozyten, Epithelien und Endothelien gilt es, auch die Natur und Funktion anderer Zellen wie z. B. die hier beschriebenen einzelnen Zellen im Lungenseptum weiter zu differenzieren und ihre Rolle im inflammatorischen Geschehen besser zu verstehen. Die durchgeführten deskriptiven Experimente legen dabei die Grundlage für folgende funktionelle Untersuchungen. Darüber hinaus müssen längere Untersuchungszeiträume gewählt werden, z.B. Ganztiermodelle, um mittel- und längerfristige Regulationen zu erfassen. Obgleich die durchgeführten Experimente im Wesentlichen ähnliche Befunde für Ratten- und humane Lunge erbrachten, sollte stets eine Verifizierung der gewonnenen Ergebnisse in humanem Material angestrebt werden. Auch sollte bedacht werden, dass der Einsatz gereinigter Virulenzfaktoren (in dieser Studie LPS) zwar kleine Wissensseinheiten hoher analytischer Aussagekraft erbringt, dass jedoch der Ausprägung von Krankheitsbildern wie dem ARDS beim Menschen ungleich komplexere Interaktionen zugrunde liegen.

Somit sollten zukünftige Untersuchungen die extra- und intrazelluläre Regulation der hier untersuchten Proteine in der angeborenen Immunantwort für die unterschiedlichen Zellkompartimente exakt offen legen.

## 9 LITERATURVERZEICHNIS

1. Ashbaugh DG, Bigelow DB, Petty TL, et al. 1967. Acute respiratory distress in adults. *Lancet*. 2:319-323.
2. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, et al. 2005. Incidence and outcomes of acute lung injury. *N.Engl.J.Med*. 353:1685-1693.
3. Zambon M and Vincent JL. 2008. Mortality rates for patients with acute lung injury/ARDS have decreased over time. *Chest*. 133:1120-1127.
4. Gattinoni L, Pelosi P, Suter PM, et al. 1998. Acute respiratory distress syndrome caused by pulmonary and extrapulmonary disease. Different syndromes? *Am J Respir.Crit.Care Med*. 158:3-11.
5. Walmrath D, Günther A, Grimminger F, et al. 2000. Das alveoläre Surfactantsystem, seine pathogenetische Bedeutung für das akute Lungenversagen (ARDS) und therapeutische Perspektiven. *Intensivmedizin und Notfallmedizin* 37:0307-0317.
6. Glauser FL and Fairman RP. 1985. The uncertain role of the neutrophil in increased permeability pulmonary edema. *Chest*. 88:601-607.
7. Ognibene FP, Martin SE, Parker MM, et al. 1986. Adult respiratory distress syndrome in patients with severe neutropenia. *N.Engl.J Med*. 315:547-551.
8. Meyrick BO, Ryan US, and Brigham KL. 1986. Direct effects of E coli endotoxin on structure and permeability of pulmonary endothelial monolayers and the endothelial layer of intimal explants. *Am J Pathol*. 122:140-151.
9. Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL, et al. 1993. Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet*. 341:643-647.
10. Folkesson HG, Matthay MA, Hebert CA, et al. 1995. Acid aspiration-induced lung injury in rabbits is mediated by interleukin-8-dependent mechanisms. *J Clin.Invest*. 96:107-116.
11. Zlotnik A and Yoshie O. 2000. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 12:121-127.
12. Liau DF, Yin NX, Huang J, et al. 1996. Effects of human polymorphonuclear leukocyte elastase upon surfactant proteins in vitro. *Biochim.Biophys.Acta* 1302:117-128.

13. Martin TR 1999. Lung cytokines and ARDS: Roger S. Mitchell Lecture. *Chest*. 116:2S-8S.
14. Parsons PE, Worthen GS, Moore EE, et al. 1989. The association of circulating endotoxin with the development of the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev.Respir.Dis*. 140:294-301.
15. Smedly LA, Tonnesen MG, Sandhaus RA, et al. 1986. Neutrophil-mediated injury to endothelial cells. Enhancement by endotoxin and essential role of neutrophil elastase. *J Clin.Invest*. 77:1233-1243.
16. Holman RG and Maier RV. 1988. Superoxide production by neutrophils in a model of adult respiratory distress syndrome. *Arch.Surg*. 123:1491-1495.
17. Ingalls RR, Heine H, Lien E, et al. 1999. Lipopolysaccharide recognition, CD14, and lipopolysaccharide receptors. *Infect.Dis.Clin.North.Am* 13:341-53, vii.
18. Raetz CR 1990. Biochemistry of endotoxins. *Annu.Rev.Biochem*. 59:129-70.:129-170.
19. Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, et al. 1990. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science*. 249:1429-1431.
20. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, et al. 1990. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science*. 249:1431-1433.
21. Hailman E, Vasselon T, Kelley M, et al. 1996. Stimulation of macrophages and neutrophils by complexes of lipopolysaccharide and soluble CD14. *J Immunol*. 156:4384-4390.
22. Munford RS, Hall CL, Lipton JM, et al. 1982. Biological activity, lipoprotein-binding behavior, and in vivo disposition of extracted and native forms of *Salmonella typhimurium* lipopolysaccharides. *J Clin.Invest*. 70:877-888.
23. Tobias PS, Soldau K, and Ulevitch RJ. 1986. Isolation of a lipopolysaccharide-binding acute phase reactant from rabbit serum. *J Exp.Med*. 164:777-793.
24. Myc A, Buck J, Gonin J, et al. 1997. The level of lipopolysaccharide-binding protein is significantly increased in plasma in patients with the systemic inflammatory response syndrome. *Clin.Diagn.Lab.Immunol*. 4:113-116.
25. Wurfel MM, Monks BG, Ingalls RR, et al. 1997. Targeted deletion of the lipopolysaccharide (LPS)-binding protein gene leads to profound suppression of LPS

responses ex vivo, whereas in vivo responses remain intact. *J Exp.Med.* 186:2051-2056.

26. Pugin J, Schurer-Maly CC, Leturcq D, et al. 1993. Lipopolysaccharide activation of human endothelial and epithelial cells is mediated by lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:2744-2748.

27. Read MA, Cordle SR, Veach RA, et al. 1993. Cell-free pool of CD14 mediates activation of transcription factor NF-kappa B by lipopolysaccharide in human endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:9887-9891.

28. Fearn C, Kravchenko VV, Ulevitch RJ, et al. 1995. Murine CD14 gene expression in vivo: extramyeloid synthesis and regulation by lipopolysaccharide. *J Exp.Med.* 181:857-866.

29. Ferrero E, Jiao D, Tsuberi BZ, et al. 1993. Transgenic mice expressing human CD14 are hypersensitive to lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:2380-2384.

30. Haziot A, Ferrero E, Kontgen F, et al. 1996. Resistance to endotoxin shock and reduced dissemination of gram-negative bacteria in CD14-deficient mice. *Immunity* 4:407-414.

31. Triantafilou M, Triantafilou K, and Fernandez N. 2000. Rough and smooth forms of fluorescein-labelled bacterial endotoxin exhibit CD14/LBP dependent and independent binding that is influenced by endotoxin concentration. *Eur.J Biochem.* 267:2218-2226.

32. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, and Janeway CA Jr. 1997. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature.* 388:394-397.

33. Poltorak A, He X, Smirnova I, et al. 1998. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene. *Science.* 282:2085-2088.

34. Hoshino K, Takeuchi O, Kawai T, et al. 1999. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol.* 162:3749-3752.

35. Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, et al. 2000. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat.Genet.* 25:187-191.

36. Shimazu R, Akashi S, Ogata H, et al. 1999. MD-2, a molecule that confers lipopolysaccharide responsiveness on Toll-like receptor 4. *J Exp.Med.* 189:1777-1782.

37. Jiang Z, Zamanian-Daryoush M, Nie H, et al. 2003. Poly(I-C)-induced Toll-like receptor 3 (TLR3)-mediated activation of NFkappa B and MAP kinase is through an interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK)-independent pathway employing the signaling components TLR3-TRAF6-TAK1-TAB2-PKR. *J Biol Chem* 278:16713-16719.
38. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Kopp E, et al. 1998. MyD88 is an adaptor protein in the hToll/IL-1 receptor family signaling pathways. *Mol Cell* 2:253-258.
39. Lu Y C, Yeh WC, and Ohashi P S. 2008. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*. 42:145-151.
40. Rietschel ET, Brade H, Holst O, et al. 1996. Bacterial endotoxin: Chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification. *Curr.Top.Microbiol.Immunol.* 216:39-81.:39-81.
41. Freudenberg MA, Keppler D, and Galanos C. 1986. Requirement for lipopolysaccharide-responsive macrophages in galactosamine-induced sensitization to endotoxin. *Infect.Immun.* 51:891-895.
42. Loppnow H and Libby P. 1989. Adult human vascular endothelial cells express the IL6 gene differentially in response to LPS or IL1. *Cell Immunol.* 122:493-503.
43. Loppnow H. 1994. LPS, recIL1 and smooth muscle cell-IL1 activate vascular cells by specific mechanisms. *Prog.Clin.Biol.Res.* 388:309-21.:309-321.
44. Camussi G, Mariano F, Biancone L, et al. 1995. Lipopolysaccharide binding protein and CD14 modulate the synthesis of platelet-activating factor by human monocytes and mesangial and endothelial cells stimulated with lipopolysaccharide. *J Immunol.* 155:316-324.
45. Imai Y, Kuba K, Neely GG, et al. 2008. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell.* 133:235-249.
46. Ermert M, Pantazis C, Duncker HR, et al. 2003. In situ localization of TNFalpha/beta, TACE and TNF receptors TNF-R1 and TNF-R2 in control and LPS-treated lung tissue. *Cytokine* 22:89-100.
47. Schoenborn JR and Wilson CB. 2007. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. *Adv.Immunol.* 96:41-101.
48. Strieter R M, Belperio J A, and Keane M P. 2002. Cytokines in innate host defense in the lung. *J Clin Invest* 109:699-705.

49. Strieter RM, Belperio JA, and Keane MP. 2003. Host innate defenses in the lung: the role of cytokines. *Curr.Opin.Infect.Dis.* 16:193-198.
50. Boehm U, Klamp T, Groot M, et al. 1997. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu.Rev.Immunol.* 15:749-95.:749-795.
51. Gray PW and Goeddel DV. 1982. Structure of the human immune interferon gene. *Nature.* 298:859-863.
52. Perussia B. 1991. Lymphokine-activated killer cells, natural killer cells and cytokines. *Curr.Opin.Immunol.* 3:49-55.
53. Stetson DB, Mohrs M, Reinhardt RL, et al. 2003. Constitutive cytokine mRNAs mark natural killer (NK) and NK T cells poised for rapid effector function. *J.Exp.Med.* 198:1069-1076.
54. Mosmann TR and Coffman RL. 1989. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu.Rev.Immunol.* 7:145-73.:145-173.
55. Sad S, Marcotte R, and Mosmann TR. 1995. Cytokine-induced differentiation of precursor mouse CD8<sup>+</sup> T cells into cytotoxic CD8<sup>+</sup> T cells secreting Th1 or Th2 cytokines. *Immunity* 2:271-279.
56. Dalton D K, Pitts-Meek S, Keshav S, et al. 1993. Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon-gamma genes. *Science.* 259:1739-1742.
57. Durbin JE, Hackenmiller R, Simon MC, et al. 1996. Targeted disruption of the mouse Stat1 gene results in compromised innate immunity to viral disease. *Cell* 84:443-450.
58. Hardy KJ and Sawada T. 1989. Human gamma interferon strongly upregulates its own gene expression in peripheral blood lymphocytes. *J Exp.Med.* 170:1021-1026.
59. Farrar MA and Schreiber RD. 1993. The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor. *Annu.Rev.Immunol.* 11:571-611.:571-611.
60. Robinson D, Shibuya K, Mui A, et al. 1997. IGIF does not drive Th1 development but synergizes with IL-12 for interferon-gamma production and activates IRAK and NFkappaB. *Immunity.* 7:571-581.
61. Trinchieri G. 1995. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. *Annu.Rev.Immunol.* 13:251-76.:251-276.

62. Macatonia SE, Hosken NA, Litton M, et al. 1995. Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4+ T cells. *J Immunol.* 154:5071-5079.
63. Lederer JA, Perez VL, DesRoches L, et al. 1996. Cytokine transcriptional events during helper T cell subset differentiation. *J Exp.Med.* 184:397-406.
64. Gracie JA, Robertson SE, and McInnes IB. 2003. Interleukin-18. *J.Leukoc.Biol.* 73:213-224.
65. Robertson SE, Young JD, Kitson S, et al. 2006. Expression and alternative processing of IL-18 in human neutrophils. *Eur.J.Immunol.* 36:722-731.
66. Barbulescu K, Becker C, Schlaak JF, et al. 1998. IL-12 and IL-18 differentially regulate the transcriptional activity of the human IFN-gamma promoter in primary CD4+ T lymphocytes. *J.Immunol.* 160:3642-3647.
67. Tominaga K, Yoshimoto T, Torigoe K, et al. 2000. IL-12 synergizes with IL-18 or IL-1beta for IFN-gamma production from human T cells. *Int.Immunol.* 12:151-160.
68. Hayes MP, Wang J, and Norcross MA. 1995. Regulation of interleukin-12 expression in human monocytes: selective priming by interferon-gamma of lipopolysaccharide-inducible p35 and p40 genes. *Blood.* 86:646-650.
69. Okamura H, Tsutsi H, Komatsu T, et al. 1995. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature.* 378:88-91.
70. Taub DD, Lloyd AR, Conlon K, et al. 1993. Recombinant human interferon-inducible protein 10 is a chemoattractant for human monocytes and T lymphocytes and promotes T cell adhesion to endothelial cells. *J Exp.Med.* 177:1809-1814.
71. Tanaka Y, Adams DH, Hubscher S, et al. 1993. T-cell adhesion induced by proteoglycan-immobilized cytokine MIP-1 beta. *Nature.* 361:79-82.
72. Pober JS and Cotran RS. 1990. Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol Rev.* 70:427-451.
73. Siebenlist U, Franzoso G, and Brown K. 1994. Structure, regulation and function of NF-kappa B. *Annu.Rev.Cell Biol.* 10:405-55.:405-455.
74. Fujita T, Reis LF, Watanabe N, et al. 1989. Induction of the transcription factor IRF-1 and interferon-beta mRNAs by cytokines and activators of second-messenger pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:9936-9940.

75. Nathan C. 1992. Interferon and inflammation. In I. G. R. S. JI Gallin, editor *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*, 2nd ed.
76. Gupta JW, Kubin M, Hartman L, et al. 1992. Induction of expression of genes encoding components of the respiratory burst oxidase during differentiation of human myeloid cell lines induced by tumor necrosis factor and gamma-interferon. *Cancer Res.* 52:2530-2537.
77. Baek KJ, Thiel BA, Lucas S, et al. 1993. Macrophage nitric oxide synthase subunits. Purification, characterization, and role of prosthetic groups and substrate in regulating their association into a dimeric enzyme. *J Biol.Chem.* 268:21120-21129.
78. Novick D, Orchansky P, Revel M, et al. 1987. The human interferon-gamma receptor. Purification, characterization, and preparation of antibodies. *J Biol.Chem.* 262:8483-8487.
79. Valente G, Ozmen L, Novelli F, et al. 1992. Distribution of interferon-gamma receptor in human tissues. *Eur.J Immunol.* 22:2403-2412.
80. Aguet M, Dembic Z, and Merlin G. 1988. Molecular cloning and expression of the human interferon-gamma receptor. *Cell* 55:273-280.
81. Jung V, Rashidbaigi A, Jones C et al 1987. Human chromosomes 6 and 21 are required for sensitivity to human interferon gamma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84:4151-4155.
82. Hemmi S, Bohni R, Stark G, et al. 1994. A novel member of the interferon receptor family complements functionality of the murine interferon gamma receptor in human cells. *Cell* 76:803-810.
83. Bach EA, Aguet M and Schreiber RD. 1997. The IFN gamma receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annu.Rev.Immunol.* 15:563-91.:563-591.
84. Marsters SA, Pennica D, Bach E, et al. 1995. Interferon gamma signals via a high-affinity multisubunit receptor complex that contains two types of polypeptide chain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:5401-5405.
85. Walter MR, Windsor WT, Nagabhushan TL, et al. 1995. Crystal structure of a complex between interferon-gamma and its soluble high-affinity receptor. *Nature.* 376:230-235.
86. Kotenko SV, Izotova LS, Pollack BP, et al. 1995. Interaction between the components of the interferon gamma receptor complex. *J Biol.Chem.* 270:20915-20921.
87. Igarashi K, Garotta G, Ozmen L, et al. 1994. Interferon-gamma induces tyrosine phosphorylation of interferon-gamma receptor and regulated association of

protein tyrosine kinases, Jak1 and Jak2, with its receptor. *J Biol.Chem.* 269:14333-14336.

88. Greenlund AC, Farrar MA, Viviano BL, et al. 1994. Ligand-induced IFN gamma receptor tyrosine phosphorylation couples the receptor to its signal transduction system (p91). *EMBO.J* 13:1591-1600.

89. Greenlund AC, Schreiber RD, Goeddel DV, et al. 1993. Interferon-gamma induces receptor dimerization in solution and on cells. *J Biol.Chem.* 268:18103-18110.

90. Heim MH, Kerr IM, Stark GR, et al. 1995. Contribution of STAT SH2 groups to specific interferon signaling by the Jak-STAT pathway. *Science.* 267:1347-1349.

91. Schindler C, Shuai K, Prezioso VR, et al. 1992. Interferon-dependent tyrosine phosphorylation of a latent cytoplasmic transcription factor. *Science.* 257:809-813.

92. Decker T, Lew DJ, Mirkovitch J, et al. 1991. Cytoplasmic activation of GAF, an IFN-gamma-regulated DNA-binding factor. *EMBO.J* 10:927-932.

93. Novelli F, Bernabei P, Ozmen L, et al. 1996. Switching on of the proliferation or apoptosis of activated human T lymphocytes by IFN-gamma is correlated with the differential expression of the alpha- and beta-chains of its receptor. *J Immunol.* 157:1935-1943.

94. Pernis A, Gupta S, Gollob KJ, et al. 1995. Lack of interferon gamma receptor beta chain and the prevention of interferon gamma signaling in TH1 cells. *Science.* 269:245-247.

95. Tau G and Rothman P. 1999. Biologic functions of the IFN-gamma receptors. *Allergy* 54:1233-1251.

96. Ihle JN 2001. The Stat family in cytokine signaling. *Curr.Opin.Cell Biol.* 13:211-217.

97. Wilks AF, Harpur AG, Kurban RR, et al. 1991. Two novel protein-tyrosine kinases, each with a second phosphotransferase-related catalytic domain, define a new class of protein kinase. *Mol Cell Biol.* 11:2057-2065.

98. Darnell JE Jr., Kerr IM, and Stark GR. 1994. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science.* 264:1415-1421.

99. Muller M, Briscoe J, Laxton C, et al. 1993. The protein tyrosine kinase JAK1 complements defects in interferon-alpha/beta and -gamma signal transduction. *Nature*. 366:129-135.
100. Watling D, Guschin D, Muller M, et al. 1993. Complementation by the protein tyrosine kinase JAK2 of a mutant cell line defective in the interferon-gamma signal transduction pathway. *Nature*. 366:166-170.
101. Kotenko SV, Izotova LS, Pollack BP, et al. 1996. Other kinases can substitute for Jak2 in signal transduction by interferon-gamma. *J Biol.Chem.* 271:17174-17182.
102. Rodig SJ, Meraz MA, White JM, et al. 1998. Disruption of the Jak1 gene demonstrates obligatory and nonredundant roles of the Jaks in cytokine-induced biologic responses. *Cell* 93:373-383.
103. Neubauer H, Cumano A, Muller M, et al. 1998. Jak2 deficiency defines an essential developmental checkpoint in definitive hematopoiesis. *Cell* 93:397-409.
104. Park C, Li S, Cha E, et al. 2000. Immune response in Stat2 knockout mice. *Immunity* 13:795-804.
105. Takeda K, Noguchi K, Shi W, et al. 1997. Targeted disruption of the mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:3801-3804.
106. Hirano T, Ishihara K, and Hibi M. 2000. Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors. *Oncogene*. 19:2548-2556.
107. Takeda K, Clausen BE, Kaisho T, et al. 1999. Enhanced Th1 activity and development of chronic enterocolitis in mice devoid of Stat3 in macrophages and neutrophils. *Immunity* 10:39-49.
108. Takeda K, Kaisho T, Yoshida N, et al. 1998. Stat3 activation is responsible for IL-6-dependent T cell proliferation through preventing apoptosis: generation and characterization of T cell-specific Stat3-deficient mice. *J Immunol.* 161:4652-4660.
109. Sano S, Itami S, Takeda K, et al. 1999. Keratinocyte-specific ablation of Stat3 exhibits impaired skin remodeling, but does not affect skin morphogenesis. *EMBO.J* 18:4657-4668.
110. Chapman RS, Lourenco PC, Tonner E, et al. 1999. Suppression of epithelial apoptosis and delayed mammary gland involution in mice with a conditional knockout of Stat3. *Genes.Dev.* 13:2604-2616.

111. Bromberg J. 2002. Stat proteins and oncogenesis. *J Clin. Invest.* 109:1139-1142.
112. US National Institutes of Health. Guide for the care and use of laboratory animals. NIH publication No 86-23. 1985. US Government Printing Office, Washington D.C., 20402-9325.
113. Van der Meide PH, Dubbeld M, Vijverberg K, et al. 1986. The purification and characterization of rat gamma interferon by use of two monoclonal antibodies. *J.Gen.Virol.* 67:1059-1071.
114. Ljungdahl A, Olsson T, Van der Meide PH, et al. 1989. Interferon-gamma-like immunoreactivity in certain neurons of the central and peripheral nervous system. *J.Neurosci.Res.* 24:451-456.
115. Schutte H, Rosseau S, Czymek R, et al. 1997. Synergism between endotoxin priming and exotoxin challenge in provoking severe vascular leakage in rabbit lungs. *Am.J.Respir.Crit.Care Med.* 156:819-824.
116. Ermert L, Ermert M, Merkle M, et al. 2000. Rat pulmonary cyclooxygenase-2 expression in response to endotoxin challenge: differential regulation in the various types of cells in the lung. *Am.J.Pathol.*2000.Apr.;156.(4.):1275.-87. 156:1275-1287.
117. Hocke AC, Ermert M, Althoff A, et al. 2006. Regulation of interleukin IL-4, IL-13, IL-10, and their downstream components in lipopolysaccharide-exposed rat lungs. Comparison of the constitutive expression between rats and humans. *Cytokine.* 33:199-211.
118. Folkerth RD, Keefe RJ, Haynes RL, et al. 2004. Interferon-gamma expression in periventricular leukomalacia in the human brain. *Brain Pathol.* 14:265-274.
119. Pawankar R, Tomiyama S, Ikezono T, et al. 2004. Interferon-gamma expression in the inner ear of rats following secondary immune reaction in the endolymphatic sac. *Acta Otolaryngol.Suppl.*6-12.
120. Reddy S, Karanam M, Poole CA, et al. 2000. Dual-label immunohistochemical study of interleukin-4-and interferon-gamma-expressing cells within the pancreas of the NOD mouse during disease acceleration with cyclophosphamide. *Autoimmunity.* 32:181-192.
121. Bals R and Hiemstra PS. 2004. Innate immunity in the lung: how epithelial cells fight against respiratory pathogens. *Eur Respir J* 23:327-333.

122. Hippenstiel S, Opitz B, Schmeck B, et al. 2006. Lung epithelium as a sentinel and effector system in pneumonia--molecular mechanisms of pathogen recognition and signal transduction. *Respir Res* 7:97.
123. Skurkovich B and Skurkovich S. 2003. Anti-interferon-gamma antibodies in the treatment of autoimmune diseases. *Curr.Opin.Mol.Ther.* 5:52-57.
124. Cappelli G, Volpe P, Sanduzzi A, et al. 2001. Human macrophage gamma interferon decreases gene expression but not replication of Mycobacterium tuberculosis: analysis of the host-pathogen reciprocal influence on transcription in a comparison of strains H37Rv and CMT97. *Infect.Immun.* 69:7262-7270.
125. Bernabei P, Allione A, Rigamonti L, et al. 2001. Regulation of interferon-gamma receptor (INF-gammaR) chains: a peculiar way to rule the life and death of human lymphocytes. *Eur Cytokine Netw.* 12:6-14.
126. Pestka S, Kolenko SV, Muthukumaran G, et al. 1997. The interferon gamma (IFN-gamma) receptor: a paradigm for the multichain cytokine receptor. *Cytokine.Growth.Factor.Rev.* 8:189-206.
127. Pestka S, Krause CD, and Walter WR. 2004. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev* 202:8-32.
128. Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, et al. 2002. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene.* 285:1-24.
129. O'Shea JJ, Gadina M, and Schreiber RD. 2002. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell* 109 Suppl:S121-S131.
130. Sakatsume M, Igarashi K, Winestock KD, et al. 1995. The Jak kinases differentially associate with the alpha and beta (accessory factor) chains of the interferon gamma receptor to form a functional receptor unit capable of activating STAT transcription factors. *J Biol.Chem.* 270:17528-17534.
131. Liu KD, Gaffen SL, and Goldsmith MA. 1998. JAK/STAT signaling by cytokine receptors. *Curr.Opin.Immunol* 10:271-278.
132. Rawlings JS, Rosler KM, and Harrison DA. 2004. The JAK/STAT signaling pathway. *J Cell Sci* 117:1281-1283.
133. Lighvani AA, Frucht DM, Jankovic D, et al. 2001. T-bet is rapidly induced by interferon-gamma in lymphoid and myeloid cells. *Proc Natl.Acad Sci U.S A* 98:15137-15142.

134. Devendra D and Eisenbarth GS. 2004. Interferon alpha--a potential link in the pathogenesis of viral-induced type 1 diabetes and autoimmunity. *Clin.Immunol.* 111:225-233.
135. Taki S. 2002. Type I interferons and autoimmunity: lessons from the clinic and from IRF-2-deficient mice. *Cytokine Growth Factor Rev.* 13:379-391.
136. Alonzi T, Maritano D, Gorgoni B, et al. 2001. Essential role of STAT3 in the control of the acute-phase response as revealed by inducible gene inactivation [correction of activation] in the liver. *Mol Cell Biol* 21:1621-1632.
137. Yoshimura A. 2006. Signal transduction of inflammatory cytokines and tumor development. *Cancer Sci* 97:439-447.
138. Hodge DR, Hurt EM, and Farrar WL. 2005. The role of IL-6 and STAT3 in inflammation and cancer. *Eur J Cancer* 41:2502-2512.
139. Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, et al. 2001. IFNgamma and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 410:1107-1111.
140. Belardelli F. 1995. Role of interferons and other cytokines in the regulation of the immune response. *APMIS* 103:161-179.
141. Romagnani S. 1992. Induction of TH1 and TH2 responses: a key role for the 'natural' immune response? *Immunol Today* 13:379-381.
142. Moore TA, Perry ML, Getsoian AG, et al. 2002. Divergent role of gamma interferon in a murine model of pulmonary versus systemic *Klebsiella pneumoniae* infection. *Infect.Immun.* 70:6310-6318.
143. Sporri R, Joller N, Albers U, et al. 2006. MyD88-dependent IFN-gamma production by NK cells is key for control of *Legionella pneumophila* infection. *J.Immunol.* 176:6162-6171.
144. Severgnini M, Takahashi S, Rozo LM, et al. 2004. Activation of the STAT pathway in acute lung injury. *Am.J.Physiol Lung Cell Mol.Physiol.* 286:L1282-L1292.
145. Okugawa S, Ota Y, Kitazawa T, et al. 2003. Janus kinase 2 is involved in lipopolysaccharide-induced activation of macrophages. *Am.J.Physiol Cell Physiol.* 285:C399-C408.
146. Aste-Amezaga M, Ma X, Sartori A, et al. 1998. Molecular mechanisms of the induction of IL-12 and its inhibition by IL-10. *J Immunol* 160:5936-5944.

---

147. Yoo JY, Huso DL, Nathans D, et al. 2002. Specific ablation of Stat3beta distorts the pattern of Stat3-responsive gene expression and impairs recovery from endotoxic shock. *Cell* 108:331-344.

148. Keane J, Gershon S, Wise RP, et al. 2001. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 345:1098-1104.

## 10 ANHANG

### 10.1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AM	Alveolarmakrophagen
AE	Alveolarepithel
ARDS	adult respiratory distress syndrome
BE	Bronchialepithel
BM	Bronchialmuskulatur
CD	cluster of differentiation
e.Z.i.S.	einzelne Zellen im Alveolarseptum
IL	Interleukin
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IFN- $\gamma$ R	Interferon- $\gamma$ Rezeptor
IFN- $\gamma$ R1	Interferon- $\gamma$ Rezeptoruntereinheit 1
IFN- $\gamma$ R2	Interferon- $\gamma$ Rezeptoruntereinheit 2
JAK	Janus-Kinasen
JH	JAK Homologie
k.o.	knock-out
LBP	LPS-binding-protein
LPS	Lipopolysaccharid, Endotoxin
MHC	major histocompatibility complex
NF $\kappa$ B	nuclear factor kappa ( $\kappa$ ) B
NK Zellen	Natürliche Killerzellen
NKT Zellen	Natürliche Killer-T-Zellen
NO	Stickstoffmonoxid
PMN	polymorphkernige neutrophile Granulozyten
p-STAT	phosphorylierter signal transducer and activator of transcription
R	Rezeptor/ Rezeptoruntereinheit
s	löslich (soluable)
SH2	Src-homologe-2
STAT	signal transducer and activator of transcription

Th	T-Helfer-Zellen
TLR	Toll like receptors
tmG	teilmuskularisierte Gefäße
TNF	Tumor Nekrose Faktor

## **10.2 Lebenslauf**

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

### **10.3 Erklärung**

„Ich, Eckehard Martin Frisch, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Konstitutive Expression von IFN- $\gamma$ , den Rezeptoruntereinheiten 1 und 2, den Tyrosinkinase JAK1 und JAK2 sowie den Transkriptionsfaktoren STAT1, STAT2 und STAT3 und ihre Expression in LPS exponierten Rattenlungen“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 21.09.2008

Eckehard Frisch