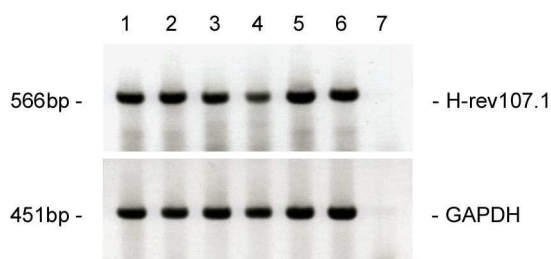


## 4 Ergebnisse

### 4.1 Expression von H-rev107.1 in der Hämatopoese

#### 4.1.1 Expression von H-rev107.1 in mononukleären Zellen des Blutes und Knochenmarks

Die mRNA des H-rev107.1-Gens konnte in den untersuchten Proben mononukleärer Zellen (MNC) gesunder Spender nachgewiesen werden. Sowohl Zellen aus dem peripherem Blut als auch aus Knochenmarksproben zeigten eine Expression des H-rev107.1-Gens. Abbildung 4-1 zeigt das Ergebnis einer standardisierten RT-PCR von MNC aus Buffycoat und Knochenmark, daneben sind die Expressionsbanden für Fibroblasten zu sehen, die als Positivkontrolle verwendet wurden. Die Negativ-Kontrolle ist ebenfalls abgebildet. In den nächsten Abschnitten dieses Kapitels wird auf die Darstellung der Positiv- und Negativ-Kontrolle verzichtet:



**Abbildung 4-1:** Expressionsbanden des H-rev107.1-Gens nach standardisierter RT-PCR von RNA-Proben aus MNC, gewonnen aus Buffycoat, Knochenmark und Fibroblasten:

1 und 2: Buffycoat MNC, zwei unabhängige Proben

3 und 4: Knochenmark MNC, zwei unabhängige Proben

5 und 6: Fibroblasten, zwei unabhängige Proben

7: Negativ-Kontrolle

#### 4.1.2 Expression von H-rev107.1 in CD34<sup>+</sup>-Vorläuferzellen

In CD34<sup>+</sup>-Vorläuferzellen war das H-rev107.1-Gen im Vergleich zur Gesamtpopulation der mononukleären Zellen in der Mehrzahl der Versuche nicht exprimiert. Es zeigte sich in zwei von vier Versuchen mit CD34<sup>+</sup>-Zellen aus peripherem Blut keine Expression. Weiterhin fand sich eine fehlende Expression in vier Versuchen mit CD34<sup>+</sup>-Vorläuferzellen aus Knochenmark. Die Ergebnisse der standardisierten RT-PCRs sind in Tabelle 4-1 dargestellt.

	<b>H-rev107.1</b>
<b>CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem Knochenmark, Spender KM/1</b>	-
<b>CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem Knochenmark, Spender KM/2</b>	-
<b>CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem Knochenmark, Spender KM/3</b>	-
<b>CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem Knochenmark, Spender KM/4</b>	-
<b>CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem peripheren Blut, Spender pB/1</b>	-
<b>CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem peripheren Blut, Spender pB/2</b>	+
<b>CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem peripheren Blut, Spender pB/3</b>	-
<b>CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem peripheren Blut, Spender pB/4</b>	+

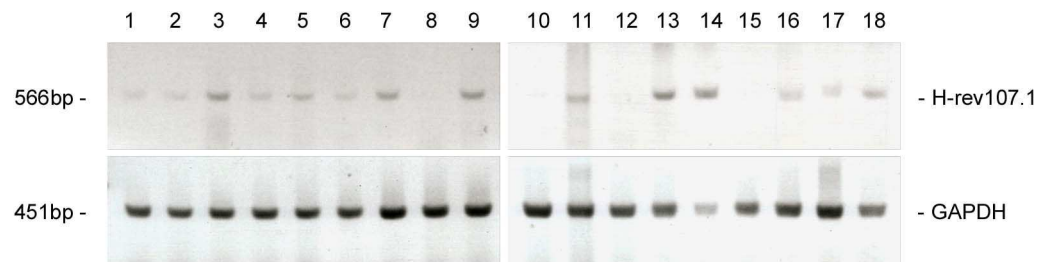
**Tabelle 4-1:** Ergebnisse von standardisierten RT-PCRs mit RNA aus angereicherten CD34<sup>+</sup>-Zellen.

#### 4.1.3 Expression von H-rev107.1 in CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>+</sup>-, CD14<sup>+</sup>-, CD19<sup>+</sup>-, CD45RO<sup>+</sup>- und CD56<sup>+</sup>-Zellen

Es wurden drei Versuchen mit Leukozyten-Subpopulationen aus peripherem Blut gesunder Spender durchgeführt. Die Expression von H-rev107.1 war heterogen. Bei den Subpopulationen der CD14<sup>+</sup>-Zellen und CD45RO<sup>+</sup>-Zellen variierten die Ergebnisse von „negativ“ bis zu „doppelt-positiv“ (Tabelle 4-2, Abbildung 4-2).

	<b>Spender 1</b>	<b>Spender 2</b>	<b>Spender 3</b>
<b>CD3<sup>+</sup>-Zellen</b>	+	+	++
<b>CD4<sup>+</sup>-Zellen</b>	+	+	+
<b>CD14<sup>+</sup>-Zellen</b>	++	-	++
<b>CD19<sup>+</sup>-Zellen</b>	-	+	-
<b>CD45RO<sup>+</sup>-Zellen</b>	++	++	-
<b>CD56<sup>+</sup>-Zellen</b>	+	+	++

**Tabelle 4-2:** Ergebnisse der Untersuchung zur H-rev107.1-Expression in Subpopulation mononukleärer Zellen aus dem peripheren Blut von 3 Probanden, vgl. Abbildung 4-2.



**Abbildung 4-2:** Expression von H-rev107.1 in Subpopulationen mononukleärer Zellen aus dem periphere Blut, vgl. Tabelle 4-2.

1-3: CD3<sup>+</sup>-Zellen der Spender 1-3

10-12: CD19<sup>+</sup>-Zellen der Spender 1-3

4-6: CD4<sup>+</sup>-Zellen der Spender 1-3

13-15: CD 45RO<sup>+</sup>-Zellen der Spender 1-3

7-9: CD14<sup>+</sup>-Zellen der Spender 1-3

16-18: CD56<sup>+</sup>-Zellen der Spender 1-3

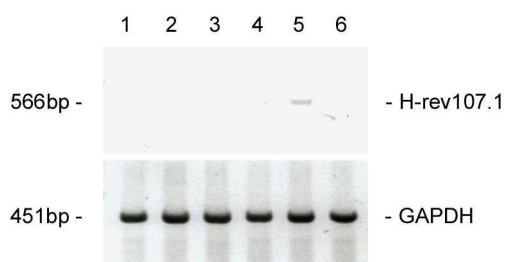
## 4.2 Regulation der Expression von H-rev107.1 in der Hämatopoese

### 4.2.1 Regulation von H-rev107.1 in CD34<sup>+</sup>-Vorläuferzellen

Die Induzierbarkeit der Expression von H-rev107.1 wurde an CD34<sup>+</sup>-Vorläuferzellen mit Hilfe verschiedener Substanzen untersucht. Dabei zeigte sich bei einem von vier Versuchen eine Hochregulation durch IFN $\gamma$ . In den übrigen Ansätzen konnte keine Induktion beobachtet werden (Tabelle 4-3 und Abbildung 4-3).

	CD34 <sup>+</sup> , pB, Spender pB/1	CD34 <sup>+</sup> , pB, Spender pB/2	CD34 <sup>+</sup> , KM, Spender KM/1	CD34 <sup>+</sup> , KM, Spender KM/2 (vgl. Abb. 4-3)
<b>Kontrolle</b>	-	+	-	-
<b>G-CSF</b>	-	+	-	-
<b>EPO</b>	-	+	n. u.	-
<b>IFN<math>\alpha</math></b>	-	+	n. u.	-
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	-	+	-	+
<b>ATRA</b>	-	+	n. u.	-

**Tabelle 4-3:** Ergebnisse der Versuche zur H-rev107.1-Expression in CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem peripheren Blut und Knochenmark nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen. Für die Untersuchung der Probe des Spenders KM/1 konnten nicht genügend CD34<sup>+</sup>-Zellen für alle Ansätze separiert werden (n. u. = nicht untersucht).



**Abbildung 4-3:** Exemplarische Darstellung der Expression von H-rev107.1 in CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem Knochenmark des Spenders KM/2 nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen, vgl. Tabelle 4-3.

1: Kontrolle    2: G-CSF    3: EPO    4: IFN $\alpha$     5: IFN $\gamma$     6: ATRA

In vier folgenden Versuchen wurden verschiedene Hemmer der intrazellulären Signalverarbeitung mit IFN $\gamma$  kombiniert. Auch hier zeigte sich in einer von vier untersuchten Proben eine Induktion durch IFN $\gamma$ , die durch AG490, einem JAK-Inhibitor, unterdrückt wurde (Tabelle 4-4 und Abbildung 4-4).

	CD34 <sup>+</sup> , pB, Spender pB/3	CD34 <sup>+</sup> , pB, Spender pB/4	CD34 <sup>+</sup> , KM, Spender KM/3	CD34 <sup>+</sup> , KM, Spender KM/4 (vgl. Abb.4-4)
<b>DMSO</b>	-	+	-	-
<b>AG 490</b>	-	n. u.	n. u.	-
<b>PD95059</b>	-	+	-	-
<b>SB202190</b>	-	+	+	-
<b>IFN<math>\gamma</math> + DMSO</b>	-	+	-	+
<b>IFN<math>\gamma</math> + AG490</b>	-	n. u.	n. u.	-
<b>IFN<math>\gamma</math> + PD95059</b>	-	+	-	+
<b>IFN<math>\gamma</math> + SB202190</b>	-	n. u.	-	+

**Tabelle 4-4:** Ergebnisse der Versuche zur H-rev107.1-Expression in CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem peripheren Blut und Knochenmark nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen. Aufgrund der ungenügenden Zellzahl nicht untersuchte Ansätze wurden als „n. u.“ gekennzeichnet.



**Abbildung 4-4:** Exemplarische Darstellung der Expression der Gene H-rev107.1 und H-rev107.2 in CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem Knochenmark des Spenders KM/4 nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen, vgl. Tabelle 4-4.

1: DMSO                      2: AG490                      3: PD95059                      4: SB202190  
5: IFN $\gamma$  + DMSO            6: IFN $\gamma$  + AG490            7: IFN $\gamma$  + PD95059            8: IFN $\gamma$  + SB202190

#### 4.2.2 Regulation von H-rev107.1 in ausgewählten Subpopulationen

Die oben dargestellten Untersuchungen verschiedener Subpopulationen von MNC zeigten eine heterogene Expression von H-rev107.1-mRNA. Es bestand die Vermutung, dass die Expression aktivitätsabhängig sein könnte. Um verschiedene Aktivitätszustände der Zellen zu provozieren, wurden die immunomodulatorischen Zytokine IL2 und IFN $\gamma$  als Kulturzusätze verwendet.

Es wurden zwei Versuche durchgeführt, bei denen die Gesamtpopulationen der MNC aus Buffycoats kultiviert und inkubiert wurden. Anschließend wurden Subpopulationen separiert und die Expression analysiert. Die Kultivierung und Inkubation der Gesamtpopulationen der MNC wurde durchgeführt, um Interaktionen zwischen den verschiedenen Immunzellen zu ermöglichen. Diese Ansätze wurden mit hoher Zelldichte kultiviert. Die Ergebnisse dieser Versuche nach dem Schema Inkubation-Separation-Analyse zeigten ein heterogenes Bild (Tabelle 4-5).

Zwei Versuche wurden nach einem vereinfachten Modell durchgeführt: Die Zellen wurden zuerst in die zu untersuchenden Subpopulationen separiert und anschließend getrennt inkubiert. Die Ergebnisse dieser Versuche nach dem Schema Separation-Inkubation-Analyse zeigten durchgehend „einfach-positive“ Banden für CD3<sup>+</sup>-, CD19<sup>+</sup>- und CD14<sup>+</sup>-Zellen ohne regulierenden Einfluss von IFN $\gamma$  oder IL2 (nicht dargestellt).

Orientierende Versuche mit TGF $\beta$  und dem MEK-Inhibitor PD95059 wiesen nicht auf eine Regulation der H-rev107.1-Expression hin (nicht dargestellt).

	CD3 <sup>+</sup>		CD19 <sup>+</sup>		Ad	
	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 1	Versuch 2
<b>Kontrolle</b>	++	+	++	+	-	+
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	+	+	+	+	-	+
<b>IL2</b>	+	+	+	+	+	+

**Tabelle 4-5:** Ergebnisse zur Expression von H-rev107.1 in Subpopulationen mononukleärer Zellen aus dem peripheren Blut nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen. Die Tabelle zeigt zwei Versuche, bei denen erst Gesamtpopulationen von MNC inkubiert und anschließend separiert und analysiert wurde. Die in der Kultur adhärent gewordenen Zellen wurden als Ad gekennzeichnet.

### 4.3 Zusätzliche Untersuchungen zu H-rev107.1

#### 4.3.1 Expression von H-rev107.1 in Zelllinien hämatologischer Neoplasien

Es wurden fünf verschiedene Zelllinien stichprobenartig untersucht. Die Ergebnisse zeigten eine hohe Variabilität (Tabelle 4-6).

Bezeichnung	Art	H-rev107.1
CEM*	T-ALL	++
Jurkat	T-ALL	-
K562	CML im Blastenschub	+
HL60	AML-M2	-
UB937	Akute monoblast. Leuk.	+

**Tabelle 4-6:** Ergebnisse der Versuche zur Expression von H-rev107.1 in Zelllinien.

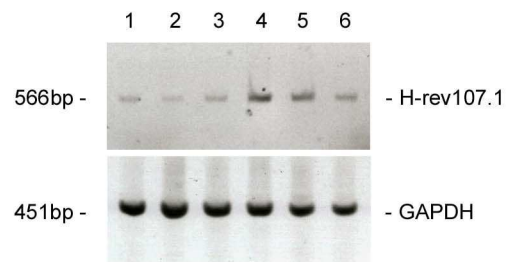
\*auch als Positivkontrolle verwendet

#### 4.3.2 Expression von H-rev107.1 in CML-Zellen

Untersuchungen an MNC aus dem peripheren Blut und Knochenmark von CML-Patienten erbrachten die in Tabelle 4-7 und Abbildung 4-5 gezeigten Ergebnisse. Die Expression von H-rev107.1 wurde mit unterschiedlicher Ausprägung in allen Proben gefunden.

	H-rev107.1
CML, KM	+
CML, KM	+
CML, KM	+
CML, KM	++
CML, pB	++
CML, pB	+

**Tabelle 4-7:** Ergebnisse zur Expression von H-rev107.1 in mononukleären Zellen aus dem peripheren Blut und Knochenmark von CML-Patienten, vgl. Abbildung 4-6.



**Abbildung 4-5:** Expression von H-rev107.1 in MNC des peripheren Bluts und Knochenmarks von CML-Patienten, vgl. Tabelle 4-7.

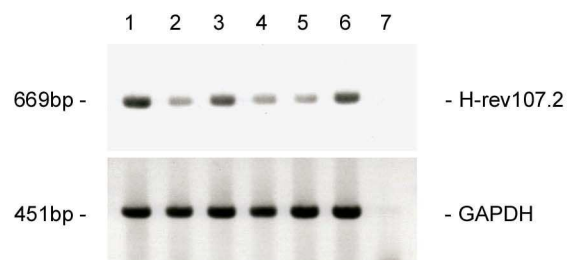
1: KM 2: KM 3:KM 4: KM 5: pB 6: pB



## 4.4 Expression von H-rev107.2 in der Hämatopoese

### 4.4.1 Expression von H-rev107.2 in mononukleären Zellen des Blutes und Knochenmarks

Die untersuchten mononukleären Zellen (MNC) des peripheren Blutes und des Knochenmarks gesunder Spender exprimierten das H-rev107.2-Gen. Abbildung 4-6 zeigt die Ergebnisse einer standardisierten RT-PCR von MNC aus Buffycoat und Knochenmark.



**Abbildung 4-6:** Expressionsbanden des H-rev107.2-Gens nach standardisierter RT-PCR von RNA-Proben aus MNC, gewonnen aus Buffycoat, Knochenmark und Fibroblasten:

1 und 2: Buffycoat MNC, zwei unabhängige Proben

3 und 4: Knochenmark MNC, zwei unabhängige Proben

5 und 6: Fibroblasten, zwei unabhängige Proben

7: Leerprobe

### 4.4.2 Expression von H-rev107.2 in CD34<sup>+</sup>-Vorläuferzellen

Die Untersuchung angereicherter CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem peripheren Blut gesunder Spender zeigte, dass das H-rev107.2-Gen in drei von vier standardisierten Versuchen nicht exprimiert wurde. In zwei von vier Versuchen zeigten die Vorläuferzellen des Knochenmarks keine Expression des H-rev107.2-Gens (Tabelle 4-8).

	H-rev107.2
CD34 <sup>+</sup> -Zellen aus dem Knochenmark, Spender KM/1	-
CD34 <sup>+</sup> -Zellen aus dem Knochenmark, Spender KM/2	+
CD34 <sup>+</sup> -Zellen aus dem Knochenmark, Spender KM/3	+
CD34 <sup>+</sup> -Zellen aus dem Knochenmark, Spender KM/4	-
CD34 <sup>+</sup> -Zellen aus dem peripheren Blut, Spender pB/1	+
CD34 <sup>+</sup> -Zellen aus dem peripheren Blut, Spender pB/2	-
CD34 <sup>+</sup> -Zellen aus dem peripheren Blut, Spender pB/3	-
CD34 <sup>+</sup> -Zellen aus dem peripheren Blut, Spender pB/4	-

**Tabelle 4-8:** Ergebnisse von standardisierten RT-PCRs mit RNA aus angereicherten CD34<sup>+</sup>-Zellen.

#### 4.4.3 Expression von H-rev107.2 in CD3<sup>+</sup>-, CD4<sup>-</sup>, CD14<sup>+</sup>-, CD19<sup>+</sup>-, CD45RO<sup>+</sup>- und CD56<sup>+</sup>-Zellen

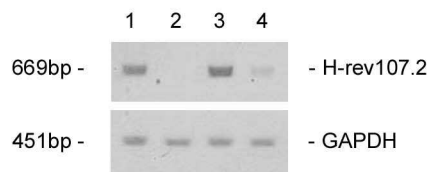
Es wurden drei Versuchen mit Leukozyten-Subpopulationen aus dem peripheren Blut gesunder Spender durchgeführt. Ein spezifisches Expressionsmuster des H-rev107.2-Gen wurde nicht gefunden. Bei den Subpopulationen der CD19<sup>+</sup>-Zellen wurde die größte Variabilität gefunden. Es zeigte sich neben einem negativen RT-PCR-Ergebnis auch eine deutlich positive Bande (Tabelle 4-9).

	Spender 1	Spender 2	Spender 3
CD3 <sup>+</sup> -Zellen	++	++	+
CD4 <sup>+</sup> -Zellen	++	+	++
CD14 <sup>+</sup> -Zellen	++	+	+
CD19 <sup>+</sup> -Zellen	++	+	-
CD45RO <sup>+</sup> -Zellen	++	n. v.	+
CD56 <sup>+</sup> -Zellen	++	++	+

**Tabelle 4-9:** Ergebnisse der Versuche zur H-rev107.2-Expression in Subpopulation mononukleärer Zellen aus dem peripheren Blut. Ein aufgrund einer deutlich schwächeren GAPDH-Bande nicht verwertbares Ergebnis wurde mit „n. v.“ gekennzeichnet.

#### 4.4.4 Expression von H-rev107.2 in CD4<sup>+</sup>/CD45RA<sup>-</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>/CD27<sup>+</sup>- und CD19<sup>+</sup>/CD27<sup>-</sup>-Zellen

Die Expression von H-rev107.2 wurde orientierend in aufgereinigten CD4<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>-Zellen (naive/ruhende T-Helfer-Zellen) und CD4<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>-Zellen (aktivierte/Gedächtnis- T-Helfer-Zellen) sowie CD19<sup>+</sup>/CD27<sup>+</sup>-Zellen (B-Gedächtniszellen) und CD19<sup>+</sup>/CD27<sup>-</sup>-Zellen (naive B-Zellen) untersucht. Es zeigte sich eine fehlende Expression des Gens in CD4<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>-Zellen und CD19<sup>+</sup>/CD27<sup>-</sup>-Zellen (Abbildung 4-7). Der Versuch wurde aufgrund des großen Aufwands nur einmal durchgeführt.



**Abbildung 4-7:** Expression von H-rev107.2 in:

1: CD19<sup>+</sup>/CD27<sup>+</sup>

2: CD19<sup>+</sup>/CD27<sup>-</sup>

3: CD4<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>

4: CD4<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup>

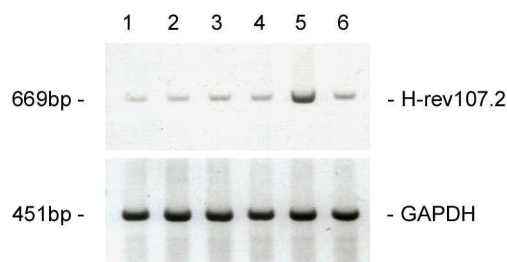
## 4.5 Regulation der Expression von H-rev107.2 in der Hämatopoese

### 4.5.1 Regulation von H-rev107.2 in CD34<sup>+</sup>-Vorläuferzellen

H-rev107.2 lässt sich in allen Versuchen mit CD34<sup>+</sup>-Vorläuferzellen durch IFN $\gamma$  induzieren. In vier Versuchen wurden Interferone, hämatopoetische Wachstumsfaktoren und Retinolsäure verwendet. Die durchgeführten RT-PCRs zeigten eine in allen Versuchen reproduzierbare Hochregulation der H-rev107.2-Expression durch IFN $\gamma$  (Tabelle 4-10 und Abbildung 4-8).

	CD34 <sup>+</sup> , pB 1, Spender pB/1	CD34 <sup>+</sup> , pB 2, Spender pB/2	CD34 <sup>+</sup> , KM 1, Spender KM/1	CD34 <sup>+</sup> , KM 2, Spender KM/2 (vgl. Abb. 4-8)
<b>Kontrolle</b>	+	-	-	+
<b>G-CSF</b>	+	-	-	+
<b>EPO</b>	+	-	n. u.	+
<b>IFN<math>\alpha</math></b>	+	-	n. u.	+
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	++	+	+	++
<b>ATRA</b>	+	-	n. u.	+

**Tabelle 4-10:** Ergebnisse der Versuche zur H-rev107.2-Expression in CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem peripheren Blut und Knochenmark nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen. Aufgrund der ungenügenden Zellzahl nicht untersuchte Ansätze wurden als „n. u.“ gekennzeichnet



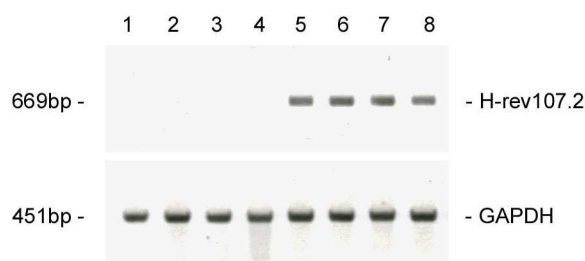
**Abbildung 4-8:** Exemplarische Darstellung der Expression von H-rev107.2 in CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem Knochenmark des Spenders KM/2 nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen, vgl. Tabelle 4-10.

1: Kontrolle    2: G-CSF    3: EPO    4: IFN $\alpha$     5: IFN $\gamma$     6: ATRA

In vier Versuchen mit Kombinationen von IFN $\gamma$  und Signaltransduktionsinhibitoren war die Induktion von H-rev107.2 durch IFN $\gamma$  ebenfalls in allen Ansätzen zu beobachten. Die Signaltransduktionsinhibitoren alleine zeigten keine Induktion von H-rev107.2 (Tabelle 4-10 und Abbildung 4-9).

	CD34 <sup>+</sup> , pB, Spender pB/3	CD34 <sup>+</sup> , pB, Spender pB/4	CD34 <sup>+</sup> , KM, Spender KM/3	CD34 <sup>+</sup> , KM, Spender KM/4 (vgl. Abb. 4-9)
<b>DMSO</b>	-	-	+	-
<b>AG 490</b>	-	n. u.	n. u.	-
<b>PD95059</b>	-	-	+	-
<b>SB202190</b>	-	+	+	-
<b>IFN<math>\gamma</math> + DMSO</b>	++	++	++	++
<b>IFN<math>\gamma</math> + AG490</b>	++	n. u.	n. u.	++
<b>IFN<math>\gamma</math> + PD95059</b>	++	+	+	++
<b>IFN<math>\gamma</math> + SB202190</b>	++	n. u.	++	++

**Tabelle 4-11:** Ergebnisse der Versuche zur H-rev107.2-Expression in CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem peripheren Blut und Knochenmark nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen. Aufgrund der ungenügenden Zellzahl nicht untersuchte Ansätze wurden mit „n. u.“ gekennzeichnet.



**Abbildung 4-9:** Exemplarische Darstellung der Expression von H-rev107.2 in CD34<sup>+</sup>-Zellen aus dem Knochenmark des Spenders KM/4 nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen, vgl. Tabelle 4-11.

1: DMSO                      2: AG490                      3: PD95059                      4: SB202190  
5: IFN $\gamma$  + DMSO              6: IFN $\gamma$  + AG490              7: IFN $\gamma$  + PD95059              8: IFN $\gamma$  + SB202190

#### 4.5.2 Regulation von H-rev107.2 in ausgewählten Subpopulationen

Zur Untersuchung der Regulation von H-rev-107.2 in Subpopulationen reifer Leukozyten erfolgten vier Versuche, zunächst zwei nach dem Schema Inkubation-Separation-Analyse und anschließend zwei nach dem Schema Separation-Inkubation-Analyse. Die Überlegungen zum Versuchsaufbau wurden oben im Abschnitt zu H-rev107.1 besprochen (vgl. 4.2.2.). Die durchgeführten Versuche zur Regulation von H-rev107.2 ergaben ebenso wie für H-rev107.1 ein heterogenes Bild. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 4-12 und 4-13 zusammengefasst.

	CD3 <sup>+</sup>		CD19 <sup>+</sup>		Ad	
	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 1	Versuch 2
<b>Kontrolle</b>	++	++	++	+	-	+
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	+	++	+	+	+	+
<b>IL2</b>	+	++	+	+	++	+

**Tabelle 4-12:** Ergebnisse zur Expression von H-rev107.2 in Subpopulationen mononukleärer Zellen aus dem peripheren Blut nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen. In zwei Versuchen wurden erst die Gesamtpopulationen von MNC inkubiert und anschließend separiert und analysiert. Die in der Kultur adhärent gewordenen Zellen wurden als Ad gekennzeichnet.

	CD3 <sup>+</sup>		CD19 <sup>+</sup>		CD14 <sup>+</sup>	
	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 1	Versuch 2
<b>Kontrolle</b>	+	+	++	-	+	+
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	+	+	+	++	+	+
<b>IL2</b>	+	+	+	-	-	+

**Tabelle 4-13** Ergebnisse zur Expression von H-rev107.2 in Subpopulationen mononukleärer Zellen aus dem peripheren Blut nach Kultivierung mit Zusatz der aufgeführten Substanzen. In zwei Versuchen wurden die Zellen erst separiert und anschließend inkubiert und analysiert.

## 4.6 Zusätzliche Untersuchungen zu H-rev107.2

### 4.6.1 Expression von H-rev107.2 in Zelllinien hämatologischer Neoplasien

Es wurden fünf verschiedene Zelllinien stichprobenartig untersucht (Tabelle 4-14).

Bezeichnung	Art	H-rev107.2
CEM*	T-ALL	++
Jurkat	T-ALL	+
K562	CML im Blastenschub	-
HL60	AML-M2	-
UB937	Akute monoblast. Leuk.	-

**Tabelle 4-14:** Ergebnisse der Versuche zur Expression von H-rev107.2 in Zelllinien.

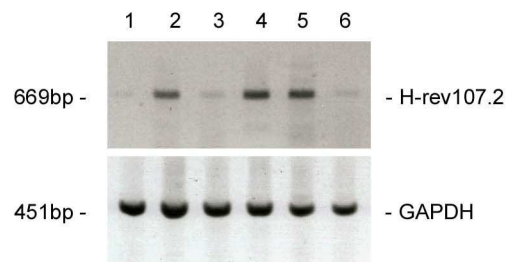
\*auch als Positivkontrolle verwendet

### 4.6.2 Expression von H-rev107.2 in CML-Zellen

Die Untersuchungen an MNC aus dem peripherem Blut und Knochenmark von CML-Patienten zeigten ein heterogenes Bild der Expression von H-rev107.2 in CML-Zellen (Tabelle 4-15 und Abbildung 4-10).

	H-rev107.2
CML, KM	+
CML, KM	++
CML, KM	+
CML, KM	++
CML, pB	++
CML, pB	+

**Tabelle 4-15:** Ergebnisse zur Expression von H-rev107.2 in mononukleären Zellen aus dem peripheren Blut und Knochenmark sowie in Stromazellen von CML-Patienten, vgl. Abbildung 4-10.



**Abbildung 4-10:** Expression von H-rev107.2 in Proben von CML-Patienten, vgl. Tabelle 4-15.

1: KM 2: KM 3:KM 4: KM 5: pB 6: pB