

Aus dem Institut für Medizinische Immunologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Untersuchungen zur Zytokinregulation CD14-abhängiger
Funktionen der Monozyten: Phagozytose von Gram-
negativen Bakterien und apoptotischen Zellen**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von
Marcel Lingnau
aus Luckenwalde

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. H.-D. Volk
2. Prof. Dr. med. F. Emmrich
3. Prof. Dr. R. Jack

Datum der Promotion: 23.03.2007

Widmung

Diese Arbeit ist meiner ganzen Familie, aber besonders meiner Frau Jenny gewidmet.

Abkürzungsverzeichnis

APC	Antigen-präsentierende Zellen
AK	Antikörper
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
CR	Komplementrezeptor
DC	Dendritische Zellen
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
Fc- γ R	Fc- γ -Rezeptoren
IFN	Interferon
IL	Interleukin
Ig	Immunglobulin
LBP	LPS-bindendes Protein
LPS	Lipopolysaccharid, Endotoxin
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
NK-Zellen	Natürliche Killer-Zellen
PAMP	<i>Pathogen-associated Molecular Pattern</i>
PBMC	Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PRR	<i>Pattern Recognition Receptors</i>
PS	Phosphatidylserin
RMO52	monoklonaler muriner anti-CD14-Antikörper
sCD14	lösliches CD14
TGF	Transformierender Wachstumsfaktor
Th-Zellen	T-Helferzellen
TLR	Toll-like-Rezeptoren
TNF	Tumornekrosefaktor

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	8
1.1	Aufgaben des Immunsystems	8
1.1.1	Bedeutung des Immunsystems beim Gewebeumbau	8
1.1.2	Bedeutung des Immunsystems in der Tumorabwehr	9
1.1.3	Bedeutung des Immunsystems bei der Abwehr von Erregern	10
1.2	Rolle der Zytokine bei der Immunregulation	11
1.2.1	Charakterisierung von ausgewählten Zytokinen	12
1.2.2	Wechselwirkungen der Zytokine	15
1.3	Bedeutung der Monozyten, Makrophagen und Dendritischen Zellen	16
1.3.1	Herkunft und Entwicklung	16
1.3.2	Funktionen	16
1.3.3	Zusammenfassung	20
1.4	Monozyten/Makrophagen bei der Abwehr von Bakterien	20
1.4.1	Inflammatorische Reaktion	20
1.4.2	Phagozytose von Bakterien	21
1.4.3	Regulation der Phagozytose von Bakterien	23
1.4.4	Rolle von CD14 bei der Phagozytose von Bakterien	24
1.5	Monozyten/Makrophagen beim Gewebeumbau	25
1.5.1	Antiinflammation durch Abräumung apoptotischen Materials	25
1.5.2	Phagozytose von apoptotischen Zellen	26
1.5.3	Regulation der Phagozytose von apoptotischen Zellen	27
1.5.4	Bedeutung von CD14 bei der Phagozytose von apoptotischen Zellen	28
1.6	Aufgabenstellung	29
1.6.1	Allgemeines Anliegen	29
1.6.2	Spezielle Fragestellungen	30
2	MATERIAL UND METHODEN	31
2.1	Verwendete Geräte und Materialien	31
2.1.1	Geräte	31

2.1.2	Computer-Software	31
2.1.3	Verbrauchsmaterialien	32
2.1.4	Chemikalien, Zellkulturmedien, Zellstimulatoren	32
2.1.5	Zelllinie, Zytokine, Antikörper, Zellfärbung, Test-Kits und ELISA.....	34
2.2	Methoden	36
2.2.1	Probanden	36
2.2.2	Zellpräparation und Zelllinien	36
2.2.3	Einfluss von Zytokinen auf die monozytäre Expression CD14 und die Freisetzung von löslichem CD14 in PBMC-Kulturen Untersuchungen.....	37
2.2.4	sCD14-Enzymimmunoassay (ELISA).....	37
2.2.5	CD14-Expression auf Monozyten.....	38
2.2.6	CD14-abhängige Phagozytose von <i>E. coli</i> -Bakterien	40
2.2.7	Untersuchung des Einflusses von Zytokinen auf die CD14-abhängige Phagozytose von apoptotischen Zellen.....	43
2.2.8	Statistik	45
3	ERGEBNISSE	47
3.1	Nachweis der CD14-Abhängigkeit des Phagozytosesystems	47
3.1.1	Charakterisierung des anti-CD14-Antikörpers RMO 52	47
3.1.2	Überprüfung der CD14-Abhängigkeit	48
3.2	Effektivität der CD14-abhängigen Phagozytose von Bakterien.....	49
3.3	Regulation der monozytären CD14-Expression und Freisetzung	52
3.4	Regulation der CD14-abhängigen Phagozytose von Bakterien	55
3.4.1	Einfluss von IL-10	55
3.4.2	Einfluss von TGF- β 1 und IFN- γ	57
3.4.3	Untersuchung von Kurzeffekten der Zytokine	59
3.5	Phagozytose von apoptotischen Zellen.....	61
3.5.1	Herstellung und Färbung der apoptotischen Zellen	61
3.5.2	Einfluss von IL-10 auf die Phagozytose von apoptotischen Zellen	63
4	DISKUSSION	66
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	66

4.2 Effektivität und Bedeutung der CD14-abhängigen Phagozytose von Bakterien	67
4.2.1 Phagozytosearten	67
4.2.2 Funktionelle Kapazität und Bedeutung der CD14-abhängigen Phagozytose ...	70
4.3 Zytokinregulation der monozytären CD14-Expression und der Monozytendifferenzierung und –funktion	72
4.3.1 Zytokinregulation der Membranexpression von CD14 und der Freisetzung von löslichem CD14.....	72
4.3.2 CD14-Expression und Zytokinregulation der APC-Differenzierung.....	73
4.3.3 Regulation der CD14-abhängigen Entzündungsfunktion	74
4.4 Zytokinregulation der CD14-abhängigen Phagozytose von Bakterien	75
4.4.1 Zytokinregulation der Komplement- und Antikörper-abhängigen Phagozytose	75
4.4.2 Zytokinregulation der CD14-abhängigen Phagozytose.....	76
4.5 CD14-abhängige Phagozytose von apoptotischen Zellen	77
4.5.1 Mechanismen zur Phagozytose von apoptotischen Zellen	77
4.5.2 Kapazität und Regulation der CD14-abhängigen Phagozytose von apoptotischen Lymphozyten	78
4.6 Bedeutung der Zytokinregulation der CD14-abhängigen Phagozytenfunktionen	79
4.6.1 Allgemeines	79
4.6.2 Phagozytose von Bakterien.....	80
4.6.3 Phagozytose von apoptotischen Zellen.....	81
4.6.4 Wechselwirkung der Zytokine	83
4.7 Ausblick	85
5 ZUSAMMENFASSUNG	87

Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bedanken für die sehr gute Zusammenarbeit mit allen Mitarbeitern des Institutes für Medizinische Immunologie der Charité – Campus Mitte. Das offene und freundschaftliche Klima waren die Grundlage für ein motiviertes und wissensdurstiges Miteinander.

Besonderer Dank gilt Dr. Robert Sabat und Dr. Wolf-Dietrich Döcke, mit denen mich mehr verbindet als die stets begeisterte wissenschaftliche Zusammenarbeit.

Ich denke gern an diese Zeit zurück und werde sie in guter Erinnerung behalten.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Eidstattliche Erklärung

Ich, Marcel Lingnau, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Untersuchungen zur Zytokinregulation CD14-abhängiger Funktionen der Monozyten: Phagozytose von Gram-negativen Bakterien und apoptotischen Zellen“ 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.

Datum

Unterschrift