

Medizinische Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

aus der Klinik für Gastroenterologie, Infektiologie und Rheumatologie  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Martin Zeitz  
Abteilung: Rheumatologie  
Abteilungsleiter: Prof. Dr. med. Joachim Sieper

**Analyse von T-Zell Subpopulationen  
hinsichtlich Frequenz und spezifischer  
Zytokinsekretion in HLA B27-positiven  
AS-Patienten und Kontrollen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der  
medizinischen Doktorwürde  
der Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von Siegfried Kohler  
aus Wangen im Allgäu

Referent: Prof. Dr. med. J. Braun

Koreferent: Prof. Dr. med J. Sieper

Gedruckt mit Genehmigung der Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 23.06.06

## **Vorbemerkung**

Teile dieser Dissertation werden an einem zum Zeitpunkt der Einreichung dieser Arbeit unbekanntem Datum in der Zeitschrift *Clinical and Experimental Rheumatology* mit folgendem Titel veröffentlicht werden:

Siegfried Kohler, Andreas Thiel, Martin Rudwaleit, Jochen Sieper, Jürgen Braun  
**CD27<sup>+</sup> memory and CD27<sup>-</sup> effector CD8<sup>+</sup> T cells are responsible for a decreased production of proinflammatory cytokines in HLA B27-positive subjects**

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>Deckblatt</b> .....	
<b>Vorbemerkung</b> .....	
<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>1</b>
<b>I. Einleitung</b> .....	<b>3</b>
<b>I.1. Klinische Aspekte der Ankylosierenden Spondylitis</b> .....	<b>3</b>
<b>I.2. Äthiologie und Pathogenese der Ankylosierenden Spondylitis</b> .....	<b>4</b>
I.2.1. Die Assoziation mit HLA B27	
I.2.2. Untersuchungen im Tiermodell	
I.2.3. Infektionen und AS	
I.2.4. Spezielle Eigenschaften von HLA B27	
I.2.5. weitere Genassoziationen	
I.2.6. Zytokinexpression und HLA B27	
<b>I.3. Immunologische Grundlagen</b> .....	<b>8</b>
I.3.1. Major Histokompatibilitäts Komplex (MHC)	
I.3.2. Zytotoxische T-Zellen	
I.3.3. T-Helfer-Zellen	
<b>I.4. Aktivierung und Differenzierung naiver Th-Zellen</b> .....	<b>11</b>
I.4.1. TH1/TH2 Differenzierung	
I.4.2. Eigenschaften von TH1, bzw. TH2 Zellen	
<b>I.5. Subpopulationen von CD4<sup>+</sup> und CD8<sup>+</sup> T-Zellen</b> .....	<b>14</b>
I.5.1. Unterteilung von CD4 <sup>+</sup> T-Zellen	
I.5.2. Unterteilung von CD8 <sup>+</sup> T-Zellen	
<b>I.6. Das Oberflächenmolekül CD27 auf T-Zellen</b> .....	<b>15</b>
I.6.1. CD27 auf CD4 <sup>+</sup> T-Zellen	
I.6.2. CD27 auf CD8 <sup>+</sup> T-Zellen	
<b>I.7. Ziele dieser Arbeit</b> .....	<b>19</b>
<b>II. Material und Methoden</b> .....	<b>20</b>
<b>II.1. Blutspender</b> .....	<b>20</b>
<b>II.2. Isolierung von PBMCs aus peripherem Blut</b> .....	<b>20</b>
<b>II.3. Isolierung von CD4<sup>+</sup>/ CD8<sup>+</sup> T-Zellen durch MACS</b> .....	<b>21</b>

II.3.1. Die T-Zell Separation	
II.3.2. Depletion	
<b>II.4. Zellkulturmedien und –bedingungen.....</b>	<b>23</b>
<b>II.5. Polyklonale <i>in vitro</i> Th-Zell Stimulation.....</b>	<b>23</b>
<b>II.6. Fixierung von Zellen in Suspension.....</b>	<b>23</b>
<b>II.7. Durchflußzytometrie.....</b>	<b>24</b>
<b>II.8. Antikörperfärbungen.....</b>	<b>25</b>
<b>II.9. Statistische Analysen.....</b>	<b>26</b>
<b>III. Ergebnisteil.....</b>	<b>27</b>
III.1. Separation von CD4 <sup>+</sup> und CD8 <sup>+</sup> T-Lymphozyten aus peripherem Blut.....	27
III.2. Frequenz von CD4 <sup>+</sup> bzw. CD8 <sup>+</sup> T-Zell Subpopulationen im peripheren Blut.....	28
III.3. Identifizierung von T-Zell Subpopulationen mit verminderter Zytokinproduktion in HLA B27 positiven Personen.....	32
III.4. <i>In vivo</i> TH1/TH2 Differenzierung der Gedächtnis CD4 <sup>+</sup> T-Zell Subpopulationen.....	37
III.5. Charakterisierung der Zytokinproduktion in Gedächtnis CD4 <sup>+</sup> T-Zell Subpopulationen.....	42
<b>IV. Diskussion.....</b>	<b>44</b>
IV.1. Zusammenfassung.....	52
<b>V. Anhang.....</b>	<b>54</b>
V.1. Referenzen.....	54
V.2. Abkürzungsverzeichnis.....	63
V.3. Danksagung.....	65
V.4. Lebenslauf.....	66
V.5. Erklärung.....	68