

ZUSAMMENFASSUNG

Th-Zellen regulieren den Ausgang von Immunreaktionen u.a. durch die Sekretion von Zytokinen. Naïve Th-Zellen erhalten nach Antigenstimulation im Rahmen ihres Differenzierungsprozesses eine Prägung für bestimmte Zytokinmuster. Von dieser Prägung hängt wesentlich ab, ob es in Antwort auf das Antigen zu einer angemessenen oder pathologischen Immunantwort kommt. In den Differenzierungsprozess der Th-Zellen einzugreifen, ist daher eine Strategie, Autoimmunkrankheiten zu behandeln. Eine Möglichkeit einer solchen Einflussnahme ist die DNA Immunisierung. Bei dieser wird DNA in Form einfacher Expressionsplasmide appliziert, und es kommt zur Immunantwort gegen das *in vivo* produzierte Protein. Durch Koapplikation von DNA, die immunmodulatorische Proteine codiert, kann der Ausgang der Immunantwort gezielt beeinflusst werden.

In dieser Arbeit wurden verschiedene DNA Koimmunisierungen mit Zytokinen und Kostimulatoren mit dem Ziel durchgeführt, antigenspezifische Th-Zellen zu induzieren, die die Wirkung bzw. Entstehung pro-inflammatorischer Th1 Zellen unterdrücken. Da die Zahl der antigenspezifischen Th-Zellen im nicht immunisierten Tier für eine direkte Analyse zu gering ist, wurde ein Transfersystem verwendet, mit dessen Hilfe es möglich war, die frühe Th-Zell-differenzierung nach DNA Immunisierung auf Einzelzellebene zu analysieren. Unter den getesteten Immunisierungen stellte sich die GeneGun als die zuverlässigste Route heraus. Sie induzierte eine gut reproduzierbare Th-Zellreaktion, die in ihrer Stärke einer Immunisierung mit Protein+Adjuvanz glich. Aufgrund der verwendeten Untersuchungsmethode konnten wir erstmalig zeigen, dass die GeneGun eine Th1 Antwort mit einem Übergewicht an IFN γ über IL-4 Produzenten induziert. Auch konnte mit Hilfe dieser Methode erstmalig der Einfluss verschiedener DNA Koimmunisierungen auf die unmittelbare Th-Zellreaktion analysiert werden. Dabei zeigte sich, dass das zentrale Th1 Differenzierung induzierende Zytokin IL-12 wie erwartet eine deutliche Th1 Verschiebung induzierte. IL-4 als zentrales Th2 Differenzierung induzierendes Zytokin, welches mit dem Ziel, Th2 Entwicklung zu fördern, bereits mehrfach in DNA Koimmunisierungsstudien therapeutisch verwendet wurde, induzierte völlig unerwartet ebenfalls Th1 Entwicklung. In einem Th1 abhängigen Arthritismodell verstärkte IL-4 Koimmunisierung die Krankheit. Diese Th1 Verschiebung wurde wahrscheinlich durch dendritische Zellen (DCs) vermittelt, deren erhöhte TNF α Produktion durch IL-4 Koimmunisierung wir auch zeigen konnten. Eine Bestimmung der Anzahl und des Phänotyps der direkt transfizierten DCs ergab, dass etwa 30 DCs pro drainierenden Lymphknoten nach GeneGun Immunisierung eine detektierbare Menge an Protein produzierten. Unser Ansicht nach kann diese geringe Zahl an direkt transfizierten DCs in Verbindung mit der großen Zahl an DCs, die durch residente Zellen produziert werden, Antigen aufnehmen und so ohne den Kostimulus präsentieren, als wesentliche Ursache für die unerwarteten Effekte einiger Koimmunisierungen angesehen werden.

Für eine zuverlässige und rationelle Entwicklung potentieller DNA Immunisierung basierter Therapien müssen die Effekte der verwendeten Immunmodulatoren auf unterschiedliche Zelltypen *in vivo* berücksichtigt werden. Dies könnte z.B. durch die Restriktion der Expression des Antigens und des Kostimulus auf diejenigen Zellen geschehen, die tatsächlich das Antigen präsentieren.