

5. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Expression von Zelloberflächenproteinen (CD14, CD64, CD32, CD33, CD11a, CD11b, HLA-DR und CD16) auf Monozyten von Patienten mit der systemischen Form der JIA zu untersuchen. Diese Ergebnisse sollten mit denen von Kindern mit atopischer Dermatitis verglichen werden. Die atopische Dermatitis ist ebenfalls eine chronisch entzündliche Erkrankung, bei der aber andere Pathomechanismen bedeutsam sind. Das Interesse lag unter anderem darin, ob es spezielle Expressionsmuster für die Krankheitsaktivität gibt und ob bestimmte Monozytensubpopulationen bei der Pathogenese der beiden chronischen Erkrankungen bedeutsam sind. Da in der Literatur bisher keine Normwerte bei Kindern zu den untersuchten Markern existierten, wurden als gesunde Vergleichsgruppe immunologisch gesunde Kinder untersucht.

Monozyten sind keine homogene Zellpopulation. Es lassen sich zwei Hauptgruppen charakterisieren: „regular“ und „intermediate“ Monozyten. Diese unterscheiden sich sowohl im Phänotyp und als auch in ihrer Funktion innerhalb des Abwehrsystems. So sind „regular“ Monozyten größer und zeigen eine stärkere antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität als „intermediate“ Monozyten. Grage-Griebenow et al. (2001) definierten weitere Monozytensubpopulationen anhand der Analyse der Expression von CD64 und CD16. Dabei ergaben sich vier Populationen (CD64+CD16- Monozyten, CD64+CD16+ Monozyten, CD64-CD16+ Monozyten, CD64-CD16- Monozyten), die sich in der Expression weiterer Oberflächenproteine unterscheiden und somit verschiedene Aufgaben besitzen. So sind CD64-CD16+ Monozyten beispielsweise phänotypisch eng verwandt mit CD14dim/CD16+ Monozyten oder Makrophagen ähnlichen Zellen (Grage-Griebenow E et al., 2001). Eine genauere Charakterisierung dieser definierten Subpopulationen ist in der Tabelle 21 zusammengestellt. Dort ist weiterhin dargestellt, dass diese Monozytensubpopulationen lymphoide Marker wie CD3, CD19 und CD56 nicht exprimieren

Tab. 21: Charakterisierung von Monozytensubpopulationen (abgewandelt nach Grage-Griebenow E et al., 2001)

	"Intermediate" Monozyten CD64-		"Regular" Monozyten CD64+	
	CD64-CD16-	CD64-CD16+	CD64+CD16+	CD64+CD16-
Prozentualer Anteil	<10%	<10%	<10%	>80%
Phänotyp / Morphologie	plasmazytoid	monozytisch	monozytisch	monozytisch
Myeloide Marker:				
CD14	-	+	+++	+++
CD33	-	+	+++	+++
CD32	-	+	+++	+++
CR 3	-	+/-	+++	+++
Lymphoide Marker:				
CD3	-	-	-	-
CD19	-	-	-	-
CD56	-	-	-	-
Phagozytose	-	+	+++	+++
Chemotaktische Aktivität	?	+++	+++	+++
TNF- α ; IL-6; IL-1	-	+	+++	+++
MHC1; MHC2	+	+++	+++	++
Vermehrtes Auftreten bei	-	Sepsis, Aids, HIV, System. Vasculitis	-	Sepsis, Arteriosklerose

5.1. Beurteilung der angewandten Methodik

Es wurde eine neue Methode zur Analyse von Monozytenoberflächenproteinen erarbeitet. Ziel war es, eine Manipulation der Zellen durch die Art der Aufbereitung möglichst zu vermeiden, da es zu einer Aktivierung der Zellen mit einer veränderten Expression von Zelloberflächenproteinen kommen kann. Das Blut wurde sofort nach Abnahme aufgearbeitet. Nach Erylyse wurden die Zellen mehrfach mit PBS gewaschen und anschließend gefärbt. Dabei wurden die Zellen ständig gekühlt. Nach Färbung auf Eis wurden mindestens 10000 Zellen sofort am FACS Calibur untersucht. Es wurde auf eine Zellsortierung verzichtet, da sie ebenfalls zu einer Aktivierung der Zellen führen kann. Es wurden Kinder verschiedener Altersstufen untersucht. Mit 5ml Blut pro untersuchtem Kind stand verhältnismäßig wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung,

sodass auch aus diesem Grund eine vorherige Zellsortierung nicht möglich war. Eine Fixierung wurde nicht durchgeführt, da es nach Fixierung schwierig ist, tote Zellen zu unterscheiden. Diese Zellen könnten möglicherweise unspezifisch färben.

Bei der Auswertung wurde eine Methode erarbeitet, die es ermöglicht, die Monozytenpopulation möglichst genau zu detektieren. In den meisten Untersuchungen werden, teilweise nach vorheriger Zellsortierung, zur Definition der Monozytenpopulation, Granularität, Größe bzw. CD14 Expression berücksichtigt. Dabei können aber unter Umständen bestimmte Monozyten übersehen werden oder aber andere Zellen mit als Monozyten isoliert werden. Deshalb wurden bei dieser Untersuchung vier Parameter zur möglichst genauen Definition der Monozytenpopulation benutzt: 1. Granularität, 2. Größe, 3. Expression von CD13 und 4. Fehlende Expression von CD3, CD15, CD19, CD56 und BDCA1/2.

Durch diese Art der Auswertung können die verschiedenen Monozytensubpopulationen erfasst werden, ohne die Zellen durch die Art der Aufbereitung, wie Zellsortierung, zu manipulieren. So kann von einem in-vivo Zustand der untersuchten Monozyten ausgegangen werden.

Es wurde versucht, eine Manipulation der Zellen zu vermeiden. Dennoch scheinen die meisten Methoden (so auch die hier durchgeführte Erylyse) einen Effekt, auf die zu analysierenden Zellen zu haben. Diese Manipulation betrifft besonders solche Zellen, die aus einer pathologischen Umgebung stammen (Radbruch A et al., 2000). Durch die fehlende Fixierung neigten die Zellen, bedingt durch ihre natürlichen Eigenschaften, eher zu einer Zusammenlagerung.

Besonders schwierig und komplex ist die Auswahl einer geeigneten Region bei der Auswertung mit dem Programm Cell Quest zur Isolierung der Monozytenpopulation, um keine Zellen zu übersehen. Wird beispielsweise eine relativ enge Monozytenregion zur Vermeidung des Einschlusses störender Zellen gewählt, können wichtige Monozyten ausgeschlossen werden. So sind CD14+CD16+ Monozyten kleiner und besitzen eine geringere Granularität, sodass sie bei der Analyse der Zellen im FSC gegen den SSC nahe der Lymphozyten liegen (Hübl W et al., 2000).

Diese neue Untersuchungsmethode zur möglichst genauen Definition der Monozytenpopulation und anschließenden Analyse ihrer Zelloberflächenproteine ist besonders für Untersuchungen geeignet, bei denen wenig Material zur Verfügung steht. Sie ermöglicht die Erfassung der gesamten Monozytenpopulation, ohne sie zu aktivieren.

5.2. Beurteilung der ermittelten Ergebnisse

Bei der Untersuchung der Oberflächenmarkerfrequenzen zeigten sich signifikante und tendenzielle Unterschiede. Es konnten bestimmte Monozytensubpopulationen anhand der Expression von ausgewählten Zelloberflächenproteinen einerseits erstmalig bei immunologisch gesunden Kindern charakterisiert werden und andererseits ergab sich ein veränderter Anteil bestimmter Monozytensubpopulationen bei den Erkrankungsgruppen.

5.2.1. CD11b als entscheidender Oberflächenmarker bei den Erkrankungsgruppen

Die Menge der CD11b exprimierenden Monozyten war bei beiden Erkrankungsgruppen vermindert. CD11b ist ein Komplementrezeptor für iC3b. Das Komplementsystem besteht aus verschiedenen Plasmaproteinen, die miteinander reagieren, um Pathogene zu opsonieren und eine Serie von Entzündungsreaktionen zu induzieren. Nach Aktivierung des Komplementsystems kommt es zu einer Initiierung der Komplementkaskade, bei der C3b ein Schlüsselprotein ist. Einerseits bindet es an Komplementrezeptoren von Phagozyten und führt über eine Opsonierung von Pathogenen zur Stimulierung der Phagozytose. Andererseits kommt es über eine weitere Kaskade an Komplementfaktoren (C5b, C6, C7, C8 und C9) zur Lyse von Pathogenen bzw. Zellen. Eine Reduzierung der CD11b exprimierenden Monozyten könnte durch Bindung von iC3b (als natürlichen Liganden) begründet sein, da so der fluoreszenzmarkierte Antikörper nicht binden kann. Es zeigen sich also weniger CD11b exprimierende Monozyten in der FACS-Analyse. Diese Beobachtung könnte somit in einer chronischen Aktivierung des Komplementsystems begründet sein. Diese Theorie setzt voraus, dass das gesamte CD11b einer Zelle durch den natürlichen Liganden besetzt ist und so die gesamte Zelle der Kopplung durch den monoklonalen Antikörpers entgeht. Würde nur ein gewisser Anteil des Komplementrezeptors besetzt sein, müsste sich eine verminderte Expression von CD11b zeigen.

Andererseits ist CD11b Teil der β_2 -Integrine und hat damit die Funktion eines Adhäsionsproteins, das bei der Interaktion zwischen Endothel und Zelle mitwirkt. Dadurch hat es eine Bedeutung bei der transendothelialen Migration und folglich auch bei der Reifung von Monozyten zu gewebsinfiltrierenden Makrophagen. Dagegen war bei der Untersuchung von Lioté et al. (1996) die absolute Zahl der CD14⁺ Monozyten im peripheren Blut, die CD11b exprimierten, von Patienten mit RA erhöht. Er deutete diese Ergebnisse als ersten Schritt der Monozyten zur Migration

in die Synovia.

Wenn von einer speziellen Aktivierung der Monozyten bei den hier untersuchten Erkrankungsgruppen ausgegangen wird, die eher das Potential zur transendothelialen Migration haben, könnten diese Zellen bereits in das entzündete Gewebe migriert sein. Das bedeutet, dass diese Monozyten nicht mehr im Blut vorhanden sind und auf diese Weise der durchflusszytometrischen Analyse entgehen. Diese Vermutung würde den reduzierten Anteil der CD11b exprimierenden Monozyten erklären. Bei Morbus Still könnte eine Migration unter anderem in das Gelenk, bei der atopischen Dermatitis in die Haut erfolgt sein.

Auf der anderen Seite sind nicht unbedingt die Ergebnisse von Untersuchungen bei RA mit denen der vorliegenden Arbeit gleichzusetzen. Möglicherweise sind andere Pathomechanismen bei Kindern von Bedeutung. Denn der reduzierte Anteil von CD11b+ Monozyten wurde sowohl bei Morbus Still als auch bei der atopischen Dermatitis gefunden. Deshalb bestand die immunologisch gesunde Vergleichsgruppe aus Kindern verschiedener Altersgruppen.

Bei beiden Erkrankungsgruppen zeigten sowohl CD11b positive als auch CD11b negative CD16- Monozyten eine erhöhte mittlere Fluoreszenzintensität. Diese Beobachtung könnte durch eine Autofluoreszenz der untersuchten Zellen verursacht sein, die aus einem pathologischem Milieu stammen. Autofluoreszenz bezeichnet die Eigenschaft von bestimmten Stoffen oder Zellen, die ohne vorherige Färbung fluoreszieren und so identifiziert werden können. Eine Autofluoreszenz ist aber eher unwahrscheinlich, da dann die Monozyten der Erkrankungsgruppen auch ungefärbt eine gewisse „Grundfluoreszenz“ besitzen müssten. Dieses müssten die MFI der anderen Marker ebenfalls erhöhen. Das Phänomen wurde aber nur bei der Analyse von CD11b beobachtet.

Bei beiden Erkrankungsgruppen wurde eine vermehrte Expression von CD11b gefunden. Hepburn et al. (2004) beobachteten ebenfalls eine vermehrte Expression von CR3 (CD11b/CD18) auf Monozyten bei der RA. Auch andere Untersuchungen bei der RA bestätigen diese Ergebnisse. Diese Hochregulierung von CD11b als Teil von einem β_2 -Integrin kann mit einer Aktivierung der Monozyten verbunden sein, wodurch eine bessere Adhäsion und damit transendotheliale Migration ermöglicht wird (Liotè F et al., 1996; Torsteinsdóttir I et al., 1999). Die stärkere Expression von CD11a (++) bei den Still Patienten und teilweise bei der atopischen Dermatitis stützt diese Hypothese. Bei den Still Patienten war auch der Anteil der CD11a++CD16- Monozyten erhöht. CD11a ist eine Untereinheit des Integrins LFA-1, über das ebenfalls eine Adhäsion

vermittelt und damit eine Migration in das Gewebe besser möglich wird.

Nach Monozytenmigration durch endotheliale Zellen wurde eine stärkere Expression von unter anderem CD11a, CD33 und HLA-DR beobachtet. Dieser Phänotyp ist durch eine Interaktion zwischen Monozyten und endothelialen Zellen induziert (Grisar J et al., 2001).

Die ermittelten Ergebnisse können durch Torsteinsdóttir et al. (1999) bestätigt werden, in dieser Untersuchung wurde eine stärkere Expression von unter anderem CD11a, CD11b, CD32 und CD64 auf Monozyten bei aktiver RA als Zeichen der Aktivierung für Adhäsion und Phagozytose gefunden. Dieses Expressionsmuster normalisierte sich aber nach eine 4-6 wöchigen Therapie mit Prednisolon. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation der Prednisolon induzierten verminderten Expression von CD11b und einer klinischer Besserung (Torsteinsdóttir I et al., 1999). Nach diesen Daten hätten man bei den Still Patienten eine weitestgehend normale Expression von CD11b erwarten können, da sie durch eine medikamentöse Therapie wie Prednisolon und MTX überwiegend in einer klinisch stabilen Phase waren. Möller et al. (2002) untersuchten den Einfluss von MTX auf die Entwicklung von Monozyten. Sie beobachteten einen dosisabhängigen Anstieg der CD11b und CD14 Expression (Möller B et al., 2002). Dennoch können die ermittelten Daten durch Hepburn et al. (2004) bestätigt werden, da bei deren Untersuchung die stärkere Expression von CR3 (CD11b/CD18) bei RA unabhängig von der Krankheitsaktivität bzw. Prednisolontherapie war. Auch die Ergebnisse bei der Untersuchung der Kinder mit atopischer Dermatitis bestätigen diese Daten, da die Atopiker keine systemische immunsuppressive Therapie erhielten und dennoch eine stärkere Expression von CD11b hatten. So kann man davon ausgehen, dass die CD11b exprimierenden Monozyten bei beiden Erkrankungen bedeutsam sind. Sie repräsentieren aktivierte Monozyten, die besser in das entzündete Gewebe migrieren können. Dabei ist die Stärke der Expression unabhängig von der medikamentösen Therapie und der Krankheitsaktivität.

5.2.2. Allgemeine Beurteilung der ermittelten mittleren Fluoreszenzintensitäten (MFI)

Die Analyse der MFI von HLA-DR, CD33 und CD11a (++) auf CD16+ und CD16-Monozyten zeigte, dass CD16+ Monozyten HLA-DR und CD11a stärker bzw. CD33 schwächer exprimieren. Dieses Expressionsmuster wurde bei allen drei Untersuchungsgruppen beobachtet. Sánchez-Torres et al. (2001) bestätigen diese Ergebnisse, in ihrer Untersuchung konnte gezeigt werden, dass CD16+ Monozyten unter anderem CD11a und HLA-DR stärker exprimieren. Die Expression von CD14, CD33, CD64 und CD11b auf CD16+ Monozyten war hingegen vermindert ver-

glichen mit CD16- Monozyten. Die Induktion der T-Zellproliferation war bei CD16+/- Monozyten ähnlich. Es wird angenommen, dass CD16+ Monozyten durch die Reifung von CD16- Monozyten erzeugt werden können und reifen Gewebsmakrophagen ähneln (Sánchez-Torres C et al., 2001). Somit sind diese Monozyten eine bedeutsame Population, insbesondere bei chronisch entzündlichen Erkrankungen.

5.2.3. CD16+ Monozyten als reifere Monozyten bei den Erkrankungsgruppen

Die Untersuchung der AD Patienten ergab einen erhöhten Anteil von CD33+CD16+ Monozyten (CD33+CD16-Monozyten vermindert) im Vergleich zu den immunologisch gesunden Kindern. CD16 ist ein niedrigaffiner Fc γ -Rezeptor zur Vermittlung der Phagozytose. Es wird zwischen CD16a als transmembrane Form und CD16b als glykosylphosphatidylinositol gebundene Form unterschieden. Über Bindung von IgG - Antigenkomplexen an CD16a wird vor allem die Phagozytose und die antikörperabhängige zelluläre Zytotoxizität vermittelt. Ein kleiner Teil der Monozytenpopulation exprimiert CD16. Eine vermehrte Expression ist mit einer Reifung verbunden.

So sind CD14+CD16+ Monozyten beispielsweise eine reifere Version der Monozytenpopulation, die Eigenschaften von Gewebsmakrophagen besitzen und MHCII bzw. Adhäsionsproteine stärker exprimieren. Damit scheinen sie potentere antigenpräsentierende Zellen zu sein (Grage-Griebenow E et al., 2001; Ziegler-Heitbrock HWL et al., 1996). Der Anteil der CD16+ Monozyten scheint den Grad der Aktivität des Monozyten – Makrophagen - Systems zu repräsentieren und somit tragen CD16+ Monozyten zur Entzündung bei RA bei. So wurde bei aktiver RA ein vermehrter Anteil CD16+ Monozyten gefunden (Kawanaka N et al., 2002). Weiterhin gehen chronische und akute Entzündung mit einer Vermehrung der CD16+ Monozyten einher (Sánchez-Torres C et al., 2001). CD16+ Monozyten scheinen relevante Vorläufer von gewebständigen dendritischen Zellen zu sein. Ein Merkmal der aus CD16+ Monozyten gewonnenen dendritischen Zellen ist die bevorzugte Aktivierung der TH2 Antwort (Rivas-Carvalho A et al., 2004).

Eine andere Untersuchung zeigte einen vermehrten Anteil von CD14+CD64-CD16+ Monozyten während der Exazerbation der atopischen Dermatitis, der nach 2 wöchiger topischer Therapie mit Tacrolimus (Calcineurin antagonist) und Beschwerdebesserung auf Normalwerte fiel (Novak N et al., 2002). Die Daten aus der Literatur können in dieser Untersuchung bestätigt werden. Der Anteil der CD64-CD16+ Monozyten war bei atopischer Dermatitis tendenziell vermehrt. Diese Monozyten können Blutvorläufern für einen bestimmten Typ von Makrophagen entsprechen

(Grage-Griebenow E et al., 2001). Der Vergleich beider Erkrankungsgruppen zeigte bei den AD Patienten einen vermehrten Anteil CD16+ Monozyten, die aber CD33, HLA-DR und CD11a (++) exprimierten. Diese Ergebnisse stützen die Hypothese, dass es bei der atopischen Dermatitis zu einem vermehrten Anteil reiferer bzw. aktivierter Monozyten kommt. Es ist unter anderem gerade jener Anteil von Monozyten vermehrt, der Marker exprimiert, die für die Zelladhäsion bedeutsam sind, sodass eine stärkere Migration in das Gewebe möglich ist. Dagegen war bei der atopischen Dermatitis der Anteil der „regulären“ Monozyten vermindert.

Bei den Still Patienten war der Anteil der CD16+ Monozyten, die bestimmte Expressionsmuster zeigten, nicht verändert. Im Gegensatz zur RA fand sich in dieser Untersuchung auch keine Erhöhung der CD16+ Monozyten. Als mögliche Erklärungen dieser Beobachtungen sind folgende Dinge zu berücksichtigen: 1. immunsuppressive Therapie der Still Patienten 2. untersuchte Kinder mit Morbus Still waren zum Zeitpunkt der Untersuchung in klinisch stabiler Phase (durch die medikamentöse Therapie bedingt) 3. Pathogenese des M. Still ist nur bedingt vergleichbar mit der RA des Erwachsenen. Bei der Untersuchung von Kawanaka et al. (2002) war der Anteil von CD16+ Monozyten bei aktiver RA erhöht. Dieser reduzierte sich bei den Patienten, die gut auf eine medikamentöse Therapie wie NSAID, Prednisolon und MTX oder Sulfasalazin ansprachen, stieg aber bei Nonrespondern. Es ergab sich eine positive Korrelation zwischen der Frequenz der CD16+ Monozyten und der Höhe des CRPs. Somit spiegelt die Veränderung der Frequenz der CD16+ Monozyten die Krankheitsaktivität wieder (Kawanaka N et al., 2002). Nach diesen Daten bei der RA war ein normaler Anteil von CD16+ Monozyten bei Morbus Still zu erwarten. Wahrscheinlich zeigen Still Patienten mit akuter Erkrankung, die noch nicht therapiert sind, einen erhöhten Anteil von CD16+ Monozyten. Während des Untersuchungszeitraums konnten keine neu diagnostizierten Kinder mit Morbus Still ohne Therapie rekrutiert werden.

Auch der Anteil von CD14+CD16+ Monozyten reduziert sich beispielsweise nach einer Glukokortikoidtherapie (Fingerle-Rowson G et al., 1998). Es gibt wahrscheinlich eine Glukokortikoid-induzierte Apoptose, die selektiv für CD14+CD16+ Monozyten ist. Eine mögliche Erklärung dafür ist ein höherer Anteil Glukokortikoidrezeptoren auf CD14+CD16+ Monozyten (Dayyani F et al., 2003). Somit scheint gerade diese Monozytensubpopulation, durch Glukokortikoide beeinflusst zu werden.

Bei der Analyse der CD16 Expression zeigten AD Patienten sowohl im Vergleich zu den immunologisch gesunden Kindern als auch zu den Still Patienten eine verminderte Expression diese

Markers. Kümmerle-Deschner et al. (1998) beschrieben eine Zweiteilung der Monozyten analog zu derer in TH1-Zellen und TH2-Zellen. M1 Monozyten sind dabei proinflammatorische Zellen. Sie repräsentieren klassische antigenpräsentierende Zellen, die einerseits MHCII und B7 Moleküle (als kostimulatorisches Signal für die T-Zellaktivierung) stark exprimieren (als ++ gekennzeichnet). Andererseits zeigen sie eine geringere Expression von CD16 (als + bezeichnet). M2 Zellen exprimieren demgegenüber B7 und MHCII in geringerem Maße, vermitteln aber über eine stärkere CD16 Expression die antikörperabhängige zelluläre Zytotoxizität. M2 Zellen fehlt die Fähigkeit der antigenspezifischen T-Zellaktivierung. M1 und M2 Zellen haben gegensätzliche Effekte auf die T-Helferzellentwicklung. M1 Zellen generieren IL-12, das die Entwicklung von TH1-Zellen erleichtert. Während M2 Zellen IL-10 freisetzen, das die Bildung der TH2-Zellen unterstützt. Die Interaktion zwischen M1/M2 Monozyten und TH1/TH2-Zellen ist in der Abbildung 16 schematisch als Modell dargestellt (Kümmerle-Deschner JB et al., 1998).

So entsprechen die in der vorliegenden Untersuchung analysierten Monozyten, die CD16 schwächer exprimieren, vermutlich den proinflammatorischen Monozyten (M1 Zellen). Diese sind für die antigenspezifische T-Zellaktivierung bedeutsam und unterstützen die TH1-Zellentwicklung. Diese Ergebnisse stützen die Hypothese, dass die atopische Dermatitis nicht nur eine TH2-zellvermittelte Erkrankung ist, sondern auch die TH1-Zellreaktion pathogenetisch bedeutsam ist. Es scheint somit bei der atopischen Dermatitis eine Interaktion zwischen bestimmten Monozytensubpopulationen und TH-Zellen vorzuliegen.

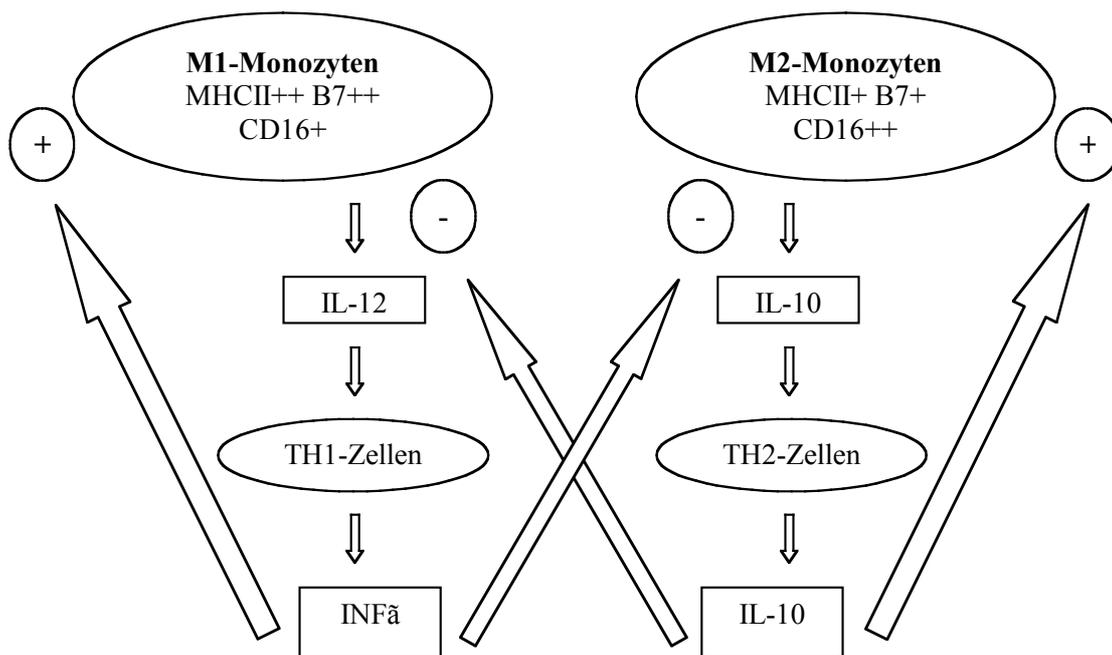


Abb. 16: Schematische Darstellung der Interaktion zwischen M1 / M2 Monozyten und TH 1 / 2 - Zellen

5.2.4. Beurteilung von Einzelfällen

Ein Kind mit Morbus Still hatte keine CD16 exprimierenden Monozyten. Die Ursache dieser Beobachtung ist nicht geklärt. Es ist aber eher unwahrscheinlich, dass diese Befunde durch die Erkrankung bedingt sind, da diese Ergebnisse bei keinem anderen Still Patienten beobachtet wurden. Dennoch ist ein Einfluss durch den Morbus Still nicht auszuschließen, da nur eine relativ kleine Patientengruppe untersucht wurde. Durch die fehlende CD16 Expression sind sehr wahrscheinlich die Reifung der Monozyten zu gewebsinfiltrierenden Makrophagen und damit unter anderem die Phagozytose behindert. Somit kann von einer gestörten unspezifischen Abwehr ausgegangen werden. Da gerade CD16+ Monozyten potente antigenpräsentierende Zellen sind, ist folglich auch die T-Zellaktivierung beeinträchtigt.

Bei der Untersuchung eines anderen Still Patienten, der einen Monat zuvor ein MAS erlitten hatte, zeigte sich eine neue zusätzliche Monozytensubpopulation: HLA-DR-CD16+ Monozyten. Normalerweise gibt es bei der Analyse der Expression von HLA-DR und CD16 zwei Monozytensubpopulationen: 1. HLA-DR+CD16- und 2. HLA-DR+CD16+. In dieser Untersuchung hatten HLA-DR-CD16+ Monozyten eine schwächere Expression von CD16 als die HLA-

DR+CD16+ Monozyten. Die HLA-DR-CD16+ Monozyten können eine andere Gruppe reiferer Monozyten repräsentieren, die bei der Entwicklung von MAS bedeutsam ist. Das MAS ist ein Syndrom, bei dem es zur exzessiven Aktivierung und Proliferation von Makrophagen kommt und somit möglicherweise auch zu einer Reifung von Monozyten als Vorstufe der Makrophagen. HLA-DR-CD16+ Monozyten können also Zellen darstellen, die das Potential besitzen, unkontrolliert zu proliferieren. Andererseits können diese Ergebnisse aber durch die starke immunsuppressive Therapie (Cyclosporin A; MTX und Prednisolon) bedingt sein. Denn die Daten einer älteren Untersuchung zeigten eine reduzierte Expression von HLA-DR auf Monozyten durch Cyclosporin A (Whisler RL et al., 1985).

Die Untersuchungsergebnisse von Emminger et al. (2001) erbrachten einen vermehrten Anteil von CD14dimCD16bright Monozyten bei einem Patienten mit hämophagozytierender Lymphohistiozytose (Synonym für MAS). Dieser Anteil reduzierte sich, nachdem sich der Zustand des Patienten durch immunsuppressive Therapie stabilisierte. CD14dimCD16bright Monozyten sind bei akuten entzündlichen Bedingungen vermehrt (Emminger W et al., 2001). Der Anteil dieser Monozytensubpopulation war bei dem untersuchten Kind mit Zustand nach MAS nicht verändert, da dieses Kind durch eine erfolgreiche immunsuppressive Therapie klinisch stabil war.

Die Rolle der neu entdeckten Monozytensubpopulation bleibt somit weiterhin unklar und ist rein spekulativ. Vielleicht könnte in diesem Zusammenhang auch das Alter des Kindes eine Rolle spielen. In einem Alter von 1 Jahr könnte das Abwehrsystem noch „nicht voll funktionsfähig“ bzw. noch relativ unreif sein.

Dennoch bieten diese Ergebnisse Grundlagen für weitergehende Untersuchungen.

5.3. Ausblick

Die erhobenen Daten besagen, dass es Monozytensubpopulationen gibt, die bei der Pathogenese des Morbus Still und der atopischen Dermatitis bedeutsam sind. Gerade die Art der CD11b Expression spielt bei beiden Erkrankungen eine Rolle. Es konnten reifere Monozyten charakterisiert werden, die CD11b stärker exprimieren und als Zeichen der Aktivierung bereits in das entzündete Gewebe migriert sind. Auf dieser Grundlage sind weiterführende Untersuchungen mög-

lich, bei denen zur intensiveren Diagnostik gegebenenfalls Monozyten sortiert werden können und die Zytokinsynthese der Subgruppen untersucht werden kann. Eine Verlaufsbeobachtung und die Untersuchung größerer Erkrankungsgruppen bzw. unbehandelter Still Patienten wäre von Vorteil. Zur Untersuchung der Bedingungen, die zu einer veränderten Expression führen, eignet sich eine parallele Zytokinbestimmung. Weiterhin könnten funktionelle Untersuchungen von Monozyten durchgeführt und die Art der Expression anderer Komplementrezeptoren wie CR2 (CD21) und CR4 (CD11c/CD18) sowie Komplementfaktoren bestimmt werden, um so die Rolle des Komplementsystems intensiver zu untersuchen. Dadurch könne diagnostische Parameter für Patienten mit Morbus Still zur genaueren klinischen Einschätzung und wichtige Verlaufsparameter entdeckt werden.

Bei einem Kind mit Zustand nach MAS zeigte sich eine neue Monozytensubpopulation (HLA-DR-CD16+). Über die genaue Bedeutung dieser Population kann bei einem Einzelfall nur spekuliert werden. Somit könnten Untersuchungen der HLA-DR bzw. CD16 Expression auf Monozyten weiterer MAS Kinder diese Ergebnisse möglicherweise bestätigen und die Rolle dieser Population näher analysieren. Gerade Untersuchungen bei akutem Ausbruch von MAS und Verlaufsbeobachtungen könnten weitere neue Erkenntnisse erbringen. Eine Manifestation von MAS findet sich nicht nur bei Patienten mit der systemischen Form der JIA, sondern auch bei anderen Erkrankungen. Interessant wäre es, einerseits Still Patienten mit MAS und andererseits Kinder mit anderen Grunderkrankungen und MAS zu untersuchen. Möglicherweise gibt es verschiedene Mechanismen (abhängig von der Grunderkrankung), die zu einer Entwicklung von MAS führen. In diesem Zusammenhang könnten vielleicht andere Monozytensubpopulationen eine Rolle spielen und somit wäre eine Unterteilung von MAS möglich. Diese Ergebnisse können dann zur Risikoabschätzung im Bezug auf die Entwicklung von MAS dienen.

Es konnte gezeigt werden, dass Kinder mit atopischer Dermatitis einen größeren Anteil reiferer bzw. aktivierter Monozyten haben. Auf dieser Grundlage sollten größere Erkrankungsgruppen analysiert werden und dabei insbesondere eine Verlaufsbeobachtung hinsichtlich der Krankheitsaktivität durchgeführt werden. Relevante Marker zur Charakterisierung dieser Monozytensubpopulationen scheinen in diesem Zusammenhang CD16, CD33, HLA-DR und CD11a zu sein. Durch Einsatz der erarbeiteten Methode können alle Monozytensubpopulationen ohne Aktivierung erfasst werden. Eine parallele Zytokinbestimmung wäre auch hier von Vorteil. Bei der atopischen Dermatitis konnten proinflammatorische M1 Monozyten identifiziert werden, die eine schwächere Expression von CD16 haben. Dies als Grundlage betrachtend sollten Untersuchun-

gen insbesondere bei verschiedenen Aktivitätsphasen der Erkrankung durchgeführt werden. Zusätzlich sollte gleichzeitig die Expression von MHCII und B7 untersucht werden, um zu bestätigen, dass die proinflammatorischen M1 Monozyten bei der atopischen Dermatitis bedeutsam sind. Eine gleichzeitige Analyse von TH-Zellen und eine Zytokinbestimmung könnte die Interaktion bestimmter Monozytensubpopulationen und TH-Zellen näher untersuchen. Dadurch kann möglicherweise die Hypothese bestätigt werden, dass auch die TH1-Zellreaktion bei AD bedeutsam ist.