

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1</b>	<b>Das Immunsystem</b>	<b>1</b>
<b>1.2</b>	<b>Toll-like Rezeptoren</b>	<b>3</b>
1.2.1	Die Familie der <i>Toll-like</i> Rezeptoren	3
1.2.2	Lokalisation der TLR's	4
1.2.3	TLR-Liganden	4
1.2.3.1	<i>Resiquimod (R848)</i>	6
1.2.3.2	<i>Gardiquimod</i>	6
1.2.3.3	<i>Loxoribine</i>	7
1.2.3.4	<i>Lipopolysaccharid (LPS)</i>	7
1.2.3.5	<i>CpG ODN's</i>	8
1.2.3.6	<i>iODN's</i>	9
1.2.4	Die Signalkaskade der TLR's	10
<b>1.3</b>	<b>Die dendritischen Zellen</b>	<b>12</b>
1.3.1	DC-Subpopulationen	13
1.3.2	DC-Migration und –Reifung	14
1.3.3	Aufnahme von Antigenen	15
1.3.4	DC-Aktivierung und –Reifung	16
1.3.5	Antigen-Aufarbeitung und –Präsentation	17

1.3.5.1	<i>MHC-Klasse II</i>	17
1.3.5.2	<i>MHC-Klasse I</i>	18
1.3.6	T-Zell-Aktivierung	18
1.3.7	Plastizität der dendritischen Zellen	19
<b>1.4</b>	<b>T-Zellen</b>	<b>19</b>
1.4.1	T-Zell-Subpopulationen	20
1.4.2	T-Zell-Aktivierung	21
<b>1.5</b>	<b>Verschiedene Marker-Moleküle</b>	<b>23</b>
1.5.1	HLA-DR	23
1.5.2	CD40, CD83, CD86	23
1.5.3	BDCA-2, BDCA-4, BDCA-1	23
1.5.4	CD25	24
1.5.5	CD123	24
1.5.6	CD122	25
1.5.7	FOXP3	25
<b>1.6</b>	<b>Verschiedene inflammatorische und antiinflammatorische Zytokine</b>	<b>25</b>
1.6.1	IL-1 $\beta$	25
1.6.2	IL-6	26
1.6.3	IL-8	27

1.6.4	IL-10	27
1.6.5	IL-12p70	28
1.6.6	TNF	28
<b>1.7</b>	<b>Zielsetzung</b>	<b>29</b>
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>31</b>
<b>2.1</b>	<b>Material</b>	<b>31</b>
2.1.1	Geräte	31
2.1.2	Verbrauchsmaterialien	32
2.1.3	Chemikalien	33
2.1.4	Fertige Reagenziensätze	34
2.1.5	Immunmodulatoren	35
2.1.6	Zytokine	35
2.1.7	Antikörper	35
2.1.8	Computersoftware	37
2.1.9	Humanes Probenmaterial	38
2.1.10	Statistik	38
<b>2.2</b>	<b>Methoden</b>	<b>39</b>
2.2.1	Isolierung von peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC's) aus dem <i>buffy coat</i>	39

2.2.2	- Separation von CD14+-Zellen mit Hilfe des <i>automated magnetic activating cell sorting</i> (AutoMACS <sup>®</sup> )	40
2.2.3	Bestimmung der Leukozytenzahl mit dem Automatischen Hämatologieanalysator KX-21N (Sysmex)	42
2.2.4	Kultivierung und Stimulation der Monozyten für die durchflusszytometrische Untersuchung	42
2.2.5	Durchflusszytometrie (FACS: <i>fluorescent activating cell sorting</i> )	43
2.2.6	T-Zell-Proliferationstest	48
2.2.7	Kultivierung und Stimulation der Monozyten für den <i>Cytometric Bead Array</i> (CBA)	52
2.2.8	<i>Human Inflammatory Cytokines Cytometric Bead Array</i> (CBA)	53
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>56</b>
<b>3.1</b>	<b>Der TLR7/8-Ligand R848 modifiziert dosisabhängig die Differenzierung konventioneller MoDC's</b>	<b>56</b>
<b>3.2</b>	<b>Die Wirkung von R848 auf die DC-Differenzierung ist TLR8 vermittelt</b>	<b>61</b>
3.2.1	Der Einfluss des spezifischen TLR7-Liganden Gardiquimod auf die DC-Differenzierung	61
3.2.2	Der Einfluss von Loxoribine, eines weiteren TLR7-Liganden, auf die DC-Differenzierung	67
3.2.3	Die Verwendung verschiedener inhibitorischer Oligonukleotide (iODN's) zur Verifizierung der TLR8-Wirkung	69

<b>3.3</b>	<b>R848-DC's exprimieren größere Mengen an T-Zell kostimulatorischen Molekülen und HLA-DR</b>	<b>72</b>
3.3.1	R848-DC's exprimieren größere Mengen an T-Zell kostimulatorischen Molekülen und HLA-DR im Vergleich zu konventionellen MoDC's	72
3.3.2	R848-DC's exprimieren CD123	78
<b>3.4</b>	<b>Die Expression von FOXP3 und CD122</b>	<b>80</b>
3.4.1	Expression von FOXP3	80
3.4.2	Expression von CD122	81
<b>3.5</b>	<b>R848-DC's zeigen auch nach dem Entfernen des Stimulators R848 einen stabilen Phänotyp</b>	<b>82</b>
<b>3.6</b>	<b>R848-DC's induzieren eine bessere T-Zell-Proliferation als konventionelle MoDC's</b>	<b>84</b>
<b>3.7</b>	<b>R848-DC's produzieren verschiedene Zytokine mit immunregulatorischen Funktionen</b>	<b>88</b>
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>93</b>
4.1	Expression der T-Zell kostimulatorischen Moleküle CD40, CD83, CD86, HLA-DR und CD123	94
4.2	TLR8 als Vermittler der immunmodulatorischen Wirkung von R848 auf MoDC's	96

<b>4.3</b>	<b>Induktion der allogenen T-Zell-Proliferation durch R848-DC's</b>	<b>97</b>
<b>4.4</b>	<b>Zytokinproduktion der R848-DC's</b>	<b>98</b>
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>100</b>
<b>6.</b>	<b>Summary</b>	<b>102</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>104</b>
<b>8.</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>116</b>
<b>9.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>124</b>
<b>10.</b>	<b>Danksagung</b>	<b>130</b>
<b>11.</b>	<b>Publikationen</b>	<b>131</b>