

1. Einleitung	7
1.1. Das Immunsystem	8
1.2. Die Antigenpräsentation	9
1.2.1. Antigenpräsentierende Zellen	10
1.2.1.1. Makrophagen	10
1.2.1.2. B-Zellen	11
1.2.1.3. Dendritische Zellen	11
1.2.1.3.1. Konventionelle dendritische Zellen	12
1.2.1.3.2. Plasmazytoide dendritische Zellen	13
1.3. Toll-like Rezeptoren	13
1.4. Die T-Zell-Differenzierung	14
1.4.1. T_H1 -, T_H2 - und T_H17 -Zellen	15
1.4.2. Regulatorische T-Zellen	16
1.5. Die Regulation von Immunantworten durch T-Zellen	17
1.5.1. Die Suppression von Immunantworten durch regulatorische T-Zellen	18
1.5.2. Das immunsuppressive Zytokin IL-10	19
1.6. Notch – ein transmembranärer Rezeptor und seine Liganden	20
1.6.1. Der Notch-Signalweg	21
1.6.2. Die Expression von Notch-Komponenten im Immunsystem	22
1.6.3. Der Einfluss von Notch auf die T-Zell-Aktivierung	23
1.6.4. Der Einfluss von Notch auf die T-Zell-Differenzierung	24
1.6.4.1. Regulation der T_H1 -Differenzierung	24
1.6.4.2. Regulation der T_H2 -Differenzierung	25
1.6.4.3. Induktion regulatorischer T-Zellen	26
1.6.4.4. Notch als Modulator der T_H -Zell-Differenzierung	27
2. Zielsetzung	29
3. Material & Methoden	31
3.1. Medien und Puffer	32
3.2. Chemikalien und Reagentien	33
3.3. Antikörper	34
3.3.1. für die Fluoreszenzmarkierung zum durchflusszytometrischen Nachweis ...	34
3.3.2. für die Blockade von Zytokinen	35

3.3.3. für die <i>in vivo</i> Anwendung	35
3.4. Rekombinante Zytokine	35
3.5. TLR-Stimuli	35
3.6. Mäuse	36
3.7. Zellpräparationen	36
3.7.1. Isolierung von Lymphozyten aus Milz und Lymphknoten	36
3.7.2. Isolierung von dendritischen Zellen aus Milz und Lymphknoten	36
3.8. Magnetische Zellsortierung (MACS)	37
3.8.1. Prinzip der magnetischen Zellsortierung	37
3.8.2. Anreicherung naiver Lymphozyten für den adoptiven Transfer	37
3.8.3. Anreicherung naiver CD4 ⁺ Lymphozyten für die <i>in vitro</i> Kultivierung	38
3.8.4. Anreicherung von Antigenpräsentierenden Zellen	39
3.9. Durchflusszytometrie	40
3.9.1. Prinzip der Durchflusszytometrie	40
3.9.2. Fluoreszenzmarkierung von Oberflächenmolekülen	41
3.9.3. Verstärkung des Fluoreszenzsignales mittels FASER-Kit	41
3.9.4. Intrazelluläre Fluoreszenzmarkierung	42
3.9.5. CFDA-SE Markierung	42
3.9.6. Fluoreszenzaktivierte Zellsortierung	43
3.9.6.1. Isolierung von DZ Subpopulationen	43
3.10. T-Zell-Kulturen	43
3.11. Restimulation und Fixierung	44
3.12. Tierexperimentelle Methoden	44
3.12.1. Adoptiver Transfer	44
3.12.2. Immunisierungen	44
3.12.2.1. Die Immunisierung mit TLR-Liganden	44
3.12.2.2. Die Immunisierung mit antigenbeladenen DZ	45
3.12.3. Die Blockade des Notch-Signalweges <i>in vivo</i>	46
3.12.3.1. Die Blockade von Notch-Liganden	46
3.12.3.2. Die Inhibition des Enzyms γ -Sekretase	46
3.12.4. Die Depletion von plasmazytoiden dendritischen Zellen	46
3.13. Statistik	46

4. Ergebnisse	49
4.1. Die IL-10- Induktion in T _H 1-Zellen durch Aktivierung des Notch-Signalweges ...	50
4.1.1. Etablierung einer Immunisierungsstrategie	50
4.1.2. Die Blockade des Notch-Signalweges durch Inhibition der γ -Sekretase	51
4.1.2.1. Die Depletion von MZ B-Zellen	52
4.1.2.2. Die Blockade der IL-10 Induktion durch Inhibition der γ -Sekretase	53
4.1.3. Die Charakterisierung der Immunisierung mit Ovalbumin und CpG	55
4.1.3.1. Das Zytokinprofil OVA-TZR transgener T-Zellen	55
4.1.3.2. Das Zytokinprofil der endogenen CD4 ⁺ T-Zellen	57
4.1.3.3. Die Verteilung von CD4 ⁺ , CD8 ⁺ , CD19 ⁺ , CD11c ⁺ Zellen und pDZ nach CpG/OVA Immunisierung	58
4.2. Die Beteiligung der Notch-Liganden an der IL-10 Induktion in T _H 1-Zellen	60
4.2.1. Die Blockade von Notch-Liganden <i>in vivo</i>	60
4.3. Die Analyse der Beteiligung verschiedener APZ an der IL-10 Induktion	63
4.3.1. Die Notch-Liganden Expression auf verschiedenen DZ Populationen	63
4.3.1.1. Die murinen DZ Populationen in Milz und Lymphknoten	63
4.3.1.2. Die Expression von Notch-Liganden <i>ex vivo</i>	64
4.3.1.3. Die Expression von Notch-Liganden nach Immunisierung	66
4.3.2. Die Rolle von pDZ für die IL-10 Induktion in T _H 1-Zellen	68
4.3.2.1. pDZ induzieren IL-10 in T _H 1-Zellen <i>in vitro</i>	69
4.3.2.2. Die Rolle von ICOS für die IL-10 Induktion durch pDZ	70
4.3.2.3. pDZ induzieren IL-10 in T _H 1-Zellen <i>in vivo</i>	72
4.3.2.4. Die Depletion von pDZ	73
4.3.2.4.a. Die Effizienz der pDZ Depletion	73
4.3.2.4.b. Die Blockade der IL-10 Induktion nach pDZ Depletion ..	74
4.3.3. Die Rolle von B-Zellen für die IL-10 Induktion in T _H 1-Zellen	76
4.3.3.1. Analyse der Beteiligung von B-Zellen an der IL-10 Induktion	76
4.3.3.2. Die Notch-Liganden Expression auf B-Zellen	78
4.3.3.2.a. Die Notch-Liganden Expression <i>ex vivo</i>	78
4.3.3.2.b. Die Notch-Liganden Expression nach OVA/CpG	79
5. Diskussion	81
5.1. Die Aktivierung der Notch-Signalweges <i>in vivo</i>	82
5.1.1. Notch und die T-Zell-Differenzierung	82

5.1.2. Notch induziert das immunsuppressive Zytokin IL-10 in T _H 1-Zellen	83
5.2. Die IL-10 Induktion in T _H 1-Zellen durch Liganden der Delta-Like Familie	84
5.3. Die IL-10 Induktion in T _H 1-Zellen durch verschiedene APZ Populationen	86
5.3.1. Die IL-10 Induktion in T _H 1-Zellen durch pDZ	87
5.3.1.1. pDZ können Immunantworten regulieren	87
5.3.1.2. Wie wird die Ligandenexpression reguliert?	89
5.3.1.3. pDZ als Induktoren einer Immunantwort	90
5.3.2. Die IL-10 Induktion in T _H 1-Zellen durch konventionelle DZ	92
5.3.3. Die IL-10 Induktion in T _H 1-Zellen durch B-Zellen	93
5.4. Die Notchvermittelte Immunregulation als Mechanismus der Selbstlimitation? ...	94
5.5. Hat der Notch-Signalweg therapeutisches Potential?	96
5.6. Ausblick und offene Fragen.....	98
6. Zusammenfassung	101
7. Summary	105
8. Literaturverzeichnis	107
9. Anhänge	131
I Abbildungsverzeichnis	132
II Tabellenverzeichnis	133
III Abkürzungsverzeichnis	134
IV Erklärung	137
V Danksagung	138
VI Kongressbeiträge	141
VII Publikationen	142