



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Medizinische Fakultät Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Regulation der Interleukin-12 Sekretion humaner dendritischer Zellen nach Stimulation über Toll-like-Rezeptoren**

Autor: Natali Sarah Pflug  
Institut / Klinik: Klinische Kooperationseinheit Dermato-Onkologie des  
DKFZ und der Medizinischen Fakultät Mannheim  
Doktorvater: Prof. Dr. D. Schadendorf

Die Immuntherapie maligner Erkrankungen versucht körpereigene physiologische Vorgänge gezielt zur Elimination entarteter Zellen zu nutzen. Eine zentrale Rolle in zahlreichen Therapieansätzen spielen dendritische Zellen (DCs). Bereits in den neunziger Jahren wurden Strategien entwickelt, in denen Tumorantigen tragende DCs als Impfstoffe für Tumorpatienten eingesetzt wurden. Bis heute besteht allerdings eine Diskrepanz zwischen den *in vitro* beobachteten Effekten und klinischen Resultaten. Eine kritische Rolle bei der Immunmodulation durch dendritische Zellen spielt das heterodimere Zytokin IL-12. Dieser Botenstoff wird von reifen stimulierten dendritischen Zellen sezerniert und besitzt u.a. die Fähigkeit die Immunreaktion in eine T<sub>H</sub>1 basierte Antwort zu polarisieren.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss des Promotorpolymorphismus IL-12B<sub>pro</sub> auf die Sekretion der großen Untereinheit IL-12p40, sowie auf das komplette Zytokin IL-12p70 an *in vitro* generierten MACS/IL-4 DCs untersucht. Hierzu wurde der Genotyp von 120 humanen Spendern bestimmt und aus PBMCs generierte DCs über TLR 2, 3 und 4, sowie über CD40 stimuliert. Beim Vergleich der beiden homozygoten Genotypen zeigte sich, dass der Promotorpolymorphismus auf die p40- bzw. p70-Sekretion keinen Einfluss besitzt. Überraschenderweise konnte allerdings bei homozygoten Spendern eine insgesamt höhere Sekretion als bei heterozygoten Spendern nachgewiesen werden. Dieser Zusammenhang war für die IL-12p40 Sekretion nach Stimulation mit LPS ( $p \leq 0,035$ ), LTA ( $p \leq 0,0001$ ), sowie CD40L ( $p \leq 0,008$ ) signifikant. Bei der genauen Analyse der IL-12 Produktion zeigte sich ein äußerst heterogenes Bild. Als bester Stimulus erwies sich CD40L, gefolgt von LPS. Nach Stimulation mit LTA und Poly I:C konnte keine IL-12p70 Sekretion nachgewiesen werden. Alle Stimuli waren allerdings in der Lage bei einem Teil der Spender eine p40 Sekretion zu erzielen.

Beim Vergleich p70 sekretierender Spender mit *nicht*-p70 sekretierenden Spendern nach Stimulation mit CD40L bzw. LPS zeigte sich, dass die mittlere p40 Sekretion der p70 sekretierenden Spender signifikant höher lag als die der *nicht*-p70 sekretierenden Spender ( $p \leq 0,001$  bzw.  $p \leq 0,008$ ). Auch gegenüber der mittleren p40 Sekretion nach Stimulation mit LTA und Poly I:C, bei der praktisch keine p70 Sekretion nachgewiesen werden konnte, lag die mittlere p40 Sekretion der p70 sekretierenden Spender um mehr als eine Zehnerpotenz höher. Weiterhin ist die Korrelation zwischen p70 und p40 Sekretion nach Stimulation mit CD40L, die wie bereits beschrieben die beste Sekretion auslöste, deutlich ausgeprägter als nach Stimulation mit LPS. Zusammenfassend legen die hier gewonnenen Daten die Vermutung nahe, dass die IL-12p70 Sekretion dendritischer Zellen zum einem von der Höhe der p40 Sekretion, zum anderen von einem zu überschreitenden Schwellenwert bzw. einem diskreten p40/p35 Quotienten abhängt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde der wechselseitige Einfluss zwischen IL-12 und IL-23 Sekretion untersucht. Es sollte getestet werden, ob die Höhe der IL-12-Sekretion einen messbaren Einfluss auf die IL-23 Sekretion besitzt. Zwischen der Höhe der IL-12p40 Sekretion und der Höhe der IL-12p70 Sekretion besteht kein linearer Zusammenhang. Die Vermutung, dass das im Überschuss produzierte p40 in anderem Zusammenhang verwendet wird, liegt folglich nahe. Es wurden insgesamt 14 Spenderpaare ausgewählt, deren p70 Sekretion nach Stimulation mit CD40L möglichst identisch war, während die Höhe der p40 Sekretion möglichst divergierte. Mittels ELISA wurde in den Probenüberständen das sekretierte IL-23 bestimmt. Es zeigte sich allerdings, dass in keiner der Proben IL-23 nachgewiesen werden konnte.