

Abschlußbericht für das Forschungsvorhaben:

**Zytokine bei rheumatischen Erkrankungen: Analyse der
differentiellen Genexpression des aktivierten Monozyten-
Makrophagensystems bei Patienten mit rheumatoider Arthritis**

im Rahmen des Verbundprojektes

**Pathomechanismen von Immun- und Autoimmunerkrankungen und deren Beein-
flussung durch körpereigene immunmodulatorische Substanzen**

vorgelegt von:

Prof. Dr. Gerd R. Burmester
Dr. B. Stuhlmüller

Medizinischen Klinik III
Universitätsklinik Charité
Humboldt-Universität zu Berlin
Schuhmannstraße 20/21
D-10098 Berlin
Tel. 030-2802-8286
Fax 030-2802-8300

Einleitung

Die rheumatoide Arthritis (RA), die sich hervorragend als Modell zur Untersuchung der entzündlichen Gelenkerkrankungen eignet, ist durch ein hohes Aktivierungsgeschehen der peripheren Blutzellen gekennzeichnet. Insbesondere kommt dabei den aktivierten phagozytierenden Zellen des Monozyten/Makrophagen Systems, die beim Entzündungsgeschehen im Gelenk beteiligt sind, eine bedeutende Rolle zu. Neben der konventionellen Therapie bei Patienten mit RA hat sich die Leukapherese-Therapie (1) bewährt. Aufgrund dieser Behandlung stehen außerdem fast unbegrenzte Menge an mononukleären Zellen des Blutes zur Verfügung. Die Leukapherese-Therapie wurde mehrmals im 2-3 tägigen Abstand wiederholt, so, daß zwei völlig verschiedenartig aktivierte Monozytenpopulationen für die im Rahmen dieses Projektes durchgeführten Versuchsansätze zur Verfügung standen. Auf Protein- aber auch auf Transkriptionsebene zeigte sich, daß es durch die Leukapherese-Therapie möglich war, verschiedene für die Entzündung charakteristische Zytokine (IL-1 β , TNF α) und Mediatoren (Neopterin, PGE $_2$) auf ein dem gesunden Blutspender Monozyten vergleichbares Niveau zu reduzieren. Im Verlauf dieser Therapieform werden zunächst hochaktivierte phagozytäre mononukleäre Zellen abgeschöpft, die dann durch nachwandernde nicht-aktivierte Monozyten aus dem Knochenmark ersetzt werden. Das Ziel dieses Vorhabens ist/war es, die Analyse der differentiellen Gen-Expression aktivierter Monozyten/Makrophagen als Werkzeug zum Studium der zellulären Aktivierungsmechanismen heranzuziehen.

Zusammenfassung:

Differentielle Hybridisierung

Zunächst wurden aus der mRNA der aktivierten Monozyten (1. Leukapherese) eine cDNA in λ -gt11 erzeugt, die dann nach weiterer Bearbeitung dazu benutzt wurde um eine cDNA Bank zu erzeugen. Die cDNA Bank wies sich, nach gewissenhafter Prüfung, durch eine hohe Qualität aus und wurde daraufhin in einer sogenannten "Differentiellen Hybridisierung" als Screeningsystem eingesetzt. Durch die Hybridisierung mit einzelsträngiger cDNA, die aus der Monozyten-mRNA der 1. Leukapherese und der 3.