

**Aus der Kinderklinik und Poliklinik**

**der Universität Würzburg**

**Direktor: Professor Dr. med. Christoph Härtel**

**Einfluss von IL-1 $\beta$  sowie der Inhibierung von IL-1 $\beta$  bzw.  
seines Rezeptors auf regulatorische T-Helfer-Zellen gesunder  
Probandinnen, JIA- und RA-Patientinnen**

**Inauguraldissertation**

**zur Erlangung der Doktorwürde der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

**vorgelegt von**

**Marie Menche**

**aus Langen**

**Würzburg, Juli 2021**

**Referentin:**

**Prof. Dr. med. Martina Prelog**

**Korreferent:**

**Prof. Dr. med. Hans-Peter Tony**

**Dekan:**

**Prof. Dr. med. Matthias Frosch**

**Tag der mündlichen Prüfung: 16.11.2021**

**Die Promovendin ist Ärztin.**

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1	Das angeborene und erworbene Immunsystem.....	1
1.2	T-Zellsubpopulationen.....	1
1.3	T-Helfer-Zellen.....	3
1.3.1	Th1-Zellen.....	4
1.3.2	Th2-Zellen.....	4
1.3.3	Th17-Zellen.....	5
1.3.4	Regulatorische T-Helfer-Zellen.....	5
1.3.5	Th9-Zellen.....	6
1.3.6	Th22-Zellen.....	6
1.3.7	Tfh-Zellen .....	6
1.4	Wirkweise der Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-17 und IFN- $\gamma$ .....	6
1.4.1	Interleukin-1 $\beta$ .....	6
1.4.2	Interleukin-10 .....	7
1.4.3	Interleukin-17 .....	8
1.4.4	IFN- $\gamma$ .....	8
1.5	Rheumatoide Arthritis.....	8
1.5.1	Epidemiologie.....	9
1.5.2	Ätiologie.....	9
1.5.3	Pathophysiologie .....	9
1.5.4	Klinische Erscheinung .....	10
1.5.5	Diagnostik .....	11
1.5.6	Therapie .....	11
1.6	Juvenile Idiopathische Arthritis.....	12

1.6.1	Subtypen.....	13
1.6.2	Epidemiologie.....	14
1.6.3	Ätiologie.....	14
1.6.4	Pathophysiologie .....	14
1.6.5	Klinische Erscheinung .....	15
1.6.6	Diagnostik .....	15
1.6.7	Therapie .....	15
1.7	Zielsetzung und Fragestellung.....	17
2.	Material und Methoden .....	18
2.1	Material .....	18
2.1.1	Geräte.....	18
2.1.2	Verbrauchsmaterialien .....	19
2.1.3	Puffer und Medien .....	20
2.1.4	Stimuli, Antikörper, Proliferationsmarker und Zellfärbung .....	21
2.1.5	Gebrauchsfertige Kits .....	22
2.1.6	Antikörper zur Zellfärbung .....	23
2.1.7	Ethikvotum und Aufklärung.....	24
2.1.8	JIA-Patientenkollektiv .....	24
2.1.9	RA-Patientenkollektiv.....	26
2.1.10	Gesunde Kontrollprobandinnen.....	29
2.2	Methoden.....	29
2.2.1	PBMC Isolierung.....	31
2.2.1.1	Dichtegradientenzentrifugation.....	31
2.2.1.2	Zellzählung anhand der Neubauer-Zählkammer .....	32
2.2.1.3	Kryokonservierung.....	32
2.2.1.4	Serum-Aufbereitung.....	33

2.2.2	CD4+ T-Zellisolierung.....	33
2.2.2.1	Magnetische Zellseparation .....	33
2.2.2.2	Feederzellen.....	35
2.2.2.3	Effektorzellen.....	36
2.2.2.4	Durchflusszytometrie .....	37
2.2.2.5	FACS (= Fluorescence Activated Cell Sorting) .....	39
2.2.3	In-vitro Kulturen.....	40
2.2.3.1	IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch.....	40
2.2.4	Suppression Assay .....	42
2.2.4.1	Prästimulations-Suppression Assay .....	42
2.2.4.2	Poststimulations-Suppression Assay.....	43
2.2.5	Prä- und Poststimulus Analyse.....	43
2.2.5.1	Stimulierung mit Brefeldin A (BFA), Phorbol-12-Myristat-13-Acetat (PMA) und Ionomycin .....	44
2.2.5.2	Zellviabilitätsfärbung .....	45
2.2.5.3	Extrazelluläre Fluoreszenzfärbung.....	46
2.2.5.4	Intrazelluläre Fluoreszenzfärbung.....	46
2.2.5.5	Apoptosedetektion mittels Annexin V- und 7-AAD-Färbung.....	47
2.2.6	Sandwich-ELISA: quantitativer Nachweis von IL-10, IL-17 und INF- $\gamma$ .	48
2.2.6.1	Humanes IFN- $\gamma$ Sandwich-ELISA.....	48
2.2.6.2	Ready-to use humane IL-10 und IL-17A Sandwich-ELISA .....	50
2.2.7	Statistische Auswertung der Daten.....	52
3.	Ergebnisse.....	53
3.1	PBMC Phäotypisierung der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen .....	53
3.2	Analyse des IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuchs .....	58
3.2.1	CD4+CD25+CD127- Zellen in der Prästimulation.....	58

3.2.2	CD4+CD25-CD127- Zellen in der Prästimulation.....	59
3.2.3	CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert .....	59
3.2.4	CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$ .....	60
3.2.5	CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$ .....	61
3.2.6	CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation RI.....	61
3.2.7	Zusammenfassung der CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation .....	62
3.2.8	Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert .....	63
3.2.9	Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$ .	63
3.2.10	Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL- 1 $\beta$ .....	64
3.2.11	Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation RI .....	65
3.2.12	Zusammenfassung der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation.....	66
3.2.13	CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert.....	66
3.2.14	CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$ .....	67
3.2.15	CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$ .....	68
3.2.16	CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation RI.....	68
3.2.17	Zusammenfassung der CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation .....	69
3.2.18	Vergleich der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI .....	69
	Auswirkung der Stimulationsbedingungen auf die CD4+CD25+CD127- Zellen ..	70
3.2.18.1	Auswirkung der Stimulationsbedingungen auf die konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen.....	73
3.2.18.2	Auswirkung der Stimulationsbedingungen auf die CD4+CD25-CD127- Zellen .....	76

3.2.19	Vorher-Nachher Vergleich der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen .....	83
3.2.20	Vergleich zwischen den originären CD4+CD25+CD127- und den konvertierten CD4+CD25+CD127-Zellen .....	91
3.2.21	Apoptoseverhalten der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127-Zellen .....	96
3.2.21.1	Vorher -Nachher Vergleich des Apoptoseverhalten der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen.....	99
3.2.21.2	Apoptoseverhalten unter den Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI.....	100
3.3	Auswertung der Suppression Assays .....	103
3.3.1	Deskriptive Statistik der Suppression Assays und der Vergleich zwischen den HD, den JIA- und den RA-Patientinnen .....	103
3.3.2	Vorher-Nachher Vergleich der Suppressionsfähigkeit .....	106
3.3.3	Suppressionsfähigkeit unter den Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI.....	110
3.4	Zytokin-ELISA .....	111
3.4.1	IL-17 ELISA.....	111
3.4.2	IL-10 ELISA.....	115
3.4.3	IFN- $\gamma$ ELISA .....	118
4.	Diskussion.....	121
4.1	Vergleich und Interpretation der PBMC Charakterisierung .....	121
4.1.1	Unterschiede in den T-Helfer-Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen .....	121
4.2	Vergleich und Interpretation des IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuchs.....	122
4.2.1	Unterschiede in den Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen	122
4.2.1.1	CD4+CD25+CD127- Zellen.....	122
4.2.1.2	Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen .....	124

4.2.1.3	CD4+CD25-CD127- Zellen.....	125
4.2.2	Auswirkung der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI .....	126
4.2.3	Vorher-Nachher Vergleich der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen .....	128
4.2.4	Unterschiede in den originären CD4+CD25+CD127- und den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen .....	130
4.2.5	Vergleich und Interpretation des Apoptoseverhalten .....	131
4.2.5.1	Unterschiede in den CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen .....	131
4.2.6	Vorher-Nachher Vergleich der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen .....	132
4.2.6.1	Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI auf das Apoptoseverhalten .....	133
4.3	Vergleich und Interpretation des Suppression Assays.....	133
4.3.1	Unterschiede in der Suppressionsfähigkeit der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen .....	133
4.3.2	Vorher-Nachher Vergleich der Suppressionsfähigkeit.....	134
4.3.3	Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI auf die Suppressionsfähigkeit.....	135
4.4	Vergleich und Interpretation der Zytokin-ELISAs.....	136
4.4.1	IL-17 ELISA.....	136
4.4.2	IL-10 ELISA.....	137
4.4.3	IFN- $\gamma$ ELISA .....	138
4.5	Technische Limitationen der Arbeit .....	139
4.6	Ausblick .....	140
5.	Zusammenfassung.....	142
6.	Summary.....	143

7.	Literaturverzeichnis.....
8.	Abkürzungsverzeichnis .....
9.	Abbildungsverzeichnis .....
10.	Tabellenverzeichnis .....
11.	Danksagung .....
12.	Lebenslauf.....
13.	Appendix .....

# 1. Einleitung

## 1.1 Das angeborene und erworbene Immunsystem

Das humane Immunsystem bildet ein hoch-ausdifferenziertes und mit den einzelnen Komponenten eng vernetztes Gebilde, um sich gegen pathogene und nicht-pathogene Mikroorganismen, Viren, entartete körpereigene Zellen, Allergene und Toxine behaupten zu können.[1, 2] Dazu stellt die menschliche Oberfläche, die sich mit der Umwelt auseinandersetzen muss, die erste abwehrende Barriere dar.[3] So schützen die Epidermis und die respiratorischen, urogenitalen und gastrointestinalen Schleimhäute sowie die Mukosa der Konjunktiven, des Innenohres und der Gänge der exokrinen Drüsen primär rein mechanisch davor, dass Pathogene in den Körper gelangen können.[2-4] Darüber hinaus werden die Adhäsion und das Eindringen derer durch die Sekretion von Mukus und antimikrobiellen Proteinen zusätzlich erschwert.[3, 5] Sollte diese erste Hürde von den zu schädigenden Substanzen allerdings überwunden worden sein, greifen nun die zwei Mechanismen des Immunsystems: die angeborene und die adaptive Immunabwehr.[3] Zuerst vermag es die angeborene Immunantwort auf das Pathogen zu reagieren, welche sich aus zellulären Bestandteilen wie den Makrophagen, den Granulozyten und den Natural Killer Zellen und einer azellulären Komponente wie dem Komplement zusammensetzt.[3] Dieser Abschnitt des Immunsystems ist in der Lage eine Vielzahl von potentiell gefährlichen Molekülen zu erkennen und sich schnell, aber auch unspezifisch, zur Wehr zu setzen.[2] Um dem Pathogen aber mit einer hohen Spezifität und Präzision begegnen zu können, muss die erworbene Immunantwort aktiv werden.[2] Diese umfasst eine zellvermittelte und eine humorale Abteilung.[3] Die humorale Immunabwehr beinhaltet die B-Zellen und die von ihnen produzierten löslichen Immunglobuline, wohingegen das zellvermittelte Abwehrsystem die T-Zellen enthält.[3] Beide Komponenten müssen bei Antigen Kontakt erst proliferieren und reifen und können dann mit einer zeitlichen Latenz effektiv eingreifen und Gedächtniszellen bilden, welche bei erneuter Interaktion mit dem bekannten Antigen wesentlich schneller reagieren können. [2]

## 1.2 T-Zellsubpopulationen

Der T-Zell-Rezeptor (TZR) stellt ein transmembranes Heterodimer dar und kann sich wie folgt zusammensetzen: aus einer  $\alpha$ - und  $\beta$  Kette (90% aller T-Lymphozyten)

beziehungsweise einer  $\gamma$ - und  $\delta$  Kette (10% aller T-Lymphozyten).[1, 3] Dabei ist es aufgrund einer hohen genetischen Diversität und durch die Rekombination der betroffenen Gene möglich bis zu  $10^8$  T-Zell-Rezeptoren zu generieren und damit eine Fülle von Antigenen zu erkennen.[1] Auf den T-Lymphozyten befinden sich zudem weitere Co-Rezeptoren, die für die T-Zell Aktivierung benötigt werden und zudem die T-Lymphozyten in zwei Kategorien einteilen, nämlich das CD8- und das CD4-Glykoprotein.[3] Hierbei können die CD8+ T-Zellen (zytotoxische T-Zellen) mit dem MHC-Molekül der Klasse I wechselwirken, wohingegen die CD4+ T-Zellen (T-Helfer-Zellen) dafür ein MHC-Molekül der Klasse II benötigen.[3, 6] Das MHC-Klasse-I Molekül befindet sich auf allen kernhaltigen Zellen und dient den zytotoxischen T-Zellen als Indikator, ob die betroffene Zelle infiziert oder auf andere Weise entartet ist und bekämpft werden soll, dagegen verwenden das MHC-Klasse-II Molekül nur spezielle Antigen-präsentierende Zellen wie z.B. die dendritische Zellen um so ihre aufgenommenen Antigene darbieten zu können.[3, 6, 7] Darüber hinaus stellen der CD3 und der CD28 Co-Rezeptor bei beiden Gruppen ein wichtiges zweites Signal dar um die T-Zellen zusätzlich adäquat zu stimulieren, proliferieren zu lassen und vital zu halten.[8-12]

Die T-Lymphozyten haben ihren Ursprung in multipotenten hämatopoetischen Stammzellen im Knochenmark, die weitere Ausdifferenzierung findet im Thymus statt.[13, 14] Im Rahmen dieser Reifung verändert sich das Profil der Oberflächenmoleküle; aus den Vorläuferzellen werden vereinfacht dargestellt CD4-CD8-T-Zellen, anschließend CD4+CD8+T-Zellen und schlussendlich reife CD4+CD8-beziehungsweise CD8+CD4- T-Zellen.[15] Dieser Vorgang ist sehr komplex und zahlreiche Faktoren sind daran beteiligt, wie z.B. IL-7, die TZR-Signalwirkung und Notch- sowie MAP Kinase Signalwege.[15] Voraussetzung für ein Durchschreiten dieser Entwicklungsschritte ist, dass die unreifen T-Zellen den CD4 oder den CD8 Co-Rezeptor besitzen und mit dem jeweiligen körpereigenen MHC-Molekül interagieren (positive Selektion), aber an dieses nicht zu fest binden, was ein Anzeichen für Autoreaktivität darstellen würde (negative Selektion).[16] Nur 5% der ursprünglichen Lymphozyten genügen den Qualitätsansprüchen und werden in die Peripherie entlassen, die restlichen Zellen gehen innerhalb des Thymus in Apoptose.[3] Die so entstandenen immunkompetenten CD8+ T-Zellen können nun z.B. Virus infizierte Zellen oder auch

Tumorzellen durch Sezernierung von Perforinen und Granzymen direkt abtöten oder durch Bindung an den Fas-Liganden diese in die Apoptose treiben.[7, 17] Darüber hinaus können die zytotoxischen T-Zellen Zytokine, wie Interferon- $\gamma$  erzeugen, die bei der Bekämpfung helfen.[17] Die Sekretion von Zytokinen ist allerdings die Hauptaufgabe der CD4<sup>+</sup> Lymphozyten, denn sie gestalten und koordinieren maßgeblich die Immunantwort mit.[18] Welchen Einfluss sie allerdings genau auf die Immunreaktion nehmen, hängt von den unterschiedlichen T-Helfer-Zellsubpopulationen ab, denn abhängig von der Gruppenzugehörigkeit variiert ihr Zytokin-Profil und die damit verbundenen Funktionen.[19]

### 1.3 T-Helfer-Zellen

Der indeterminierte naive T-Helfer-Zelle (Th-Zelle) stehen mehrere Differenzierungsmöglichkeiten offen.[20] So kann sie in Richtung Th1-, Th2-, Th17-, Th22-, Th9-, Tfh oder regulatorische T-Helfer-Zelle (Treg) ausreifen.[21] Die sich anschließende Abbildung 1 führt die wichtigsten Möglichkeiten schematisch auf.

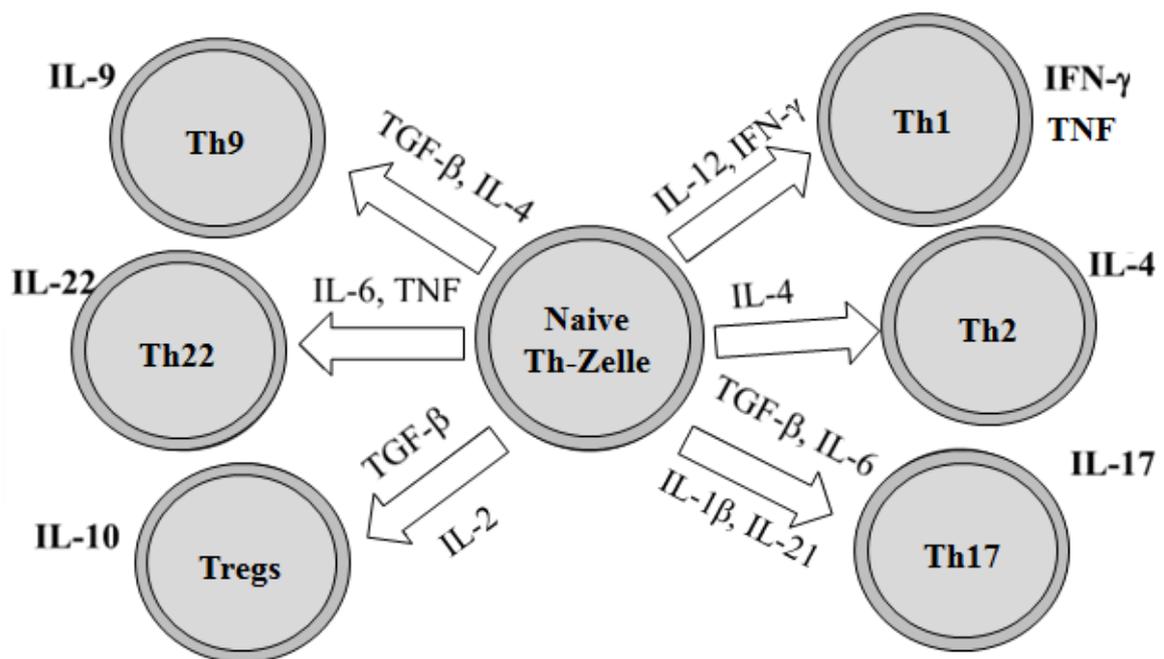


Abbildung 1 T-Helfer-Zellsubpopulationen modifiziert nach [19] mit freundlicher Genehmigung von Elsevier.

### **1.3.1 Th1-Zellen**

Diese Zellsubpopulation wird vornehmlich mit der Abwehr von intrazellulären Pathogenen und der Typ IV Allergie (verzögerter Typ) in Verbindung gebracht.[19] Der Th1-Differenzierungsweg wird vor allem durch die Sekretion von IFN- $\gamma$  und IL-12 forciert, welche durch eine vermehrte Aktivierung des STAT4 Signalweges die Hochregulation des Transkriptionsfaktors T-bet veranlasst.[19, 22] Die aktivierte Th1-Zelle wiederum zeichnet sich durch die Produktion von TNF und IFN- $\gamma$  aus, wobei letzteres auf die sezernierte Th1-Zelle selbst zurückwirkt und diese unmittelbar stimuliert.[21, 23] Dabei gelten ein erhöhter Th1-Zellspiegel und vermehrte IFN- $\gamma$  Proportionen als pro-inflammatorisch und sind mit Autoimmunerkrankungen wie Multiple Sklerose (MS), Rheumatoide Arthritis (RA), Uveitis oder Diabetes mellitus Typ I assoziiert.[24] So ist der Botenstoff IFN- $\gamma$  in der Lage die angeborene Abwehr zu mobilisieren, indem er die Anzahl der Toll-like-Rezeptoren auf Makrophagen und Monozyten hochreguliert und diese gegenüber Pathogenen sensibilisiert.[25, 26] Nichtsdestotrotz besitzt IFN- $\gamma$  auch homöostatische Eigenschaften und kann die Expansion und Persistenz von T-Lymphozyten durch Induktion von Apoptose vermindern.[27]

### **1.3.2 Th2-Zellen**

Die Hauptaufgabe der Th2-Zellen liegt in der Bekämpfung von extrazellulären Infektionserregern und Parasiten.[19] Dabei sind sie insbesondere für die Regulierung der humoralen Immunantwort verantwortlich, unterstützen unter anderem den Klassenwechsel der von den B-Zellen produzierten Antikörpern und sind vorrangig in der Lunge und dem Verdauungstrakt anzutreffen.[19, 21] Pathologien innerhalb der Th2-Zellen sind assoziiert mit Allergien und atopischen Krankheitsbildern.[28, 29] IL-4 regt über Stimulierung des STAT6 Signalweges die Th2-Differenzierung an, indem vermehrt der Transkriptionsfaktor GATA3 exprimiert wird.[21, 30] Die stimulierte Th2-Zelle ist nun gekennzeichnet durch die Sezernierung von IL-4, IL-5 und IL-13, wobei IL-4 sich vor allem als Wachstumsfaktor für Lymphozyten hervortut und als Zytokin, welches die Differenzierung der Plasmazellen anregt und den Antikörper-Klassenwechsel hin zu IgE und IgG1 forciert.[21, 31, 32]

### 1.3.3 Th17-Zellen

Die Differenzierung der Th17-Zellen wird durch TGF- $\beta$ , IL-21, IL-6 und IL-1 $\beta$  induziert, welche vor allem von aktivierten Makrophagen und dendritischen Zellen in entzündetem Gewebe exprimiert werden.[33-35] Die Th17-Zellen selbst produzieren IL-17, IL-21 und IL-22 und sind somit an der Bekämpfung von extrazellulären Pathogenen und an der Pathogenese von Autoimmunerkrankungen beteiligt.[36] So finden sich erhöhte Anteile dieser Zellen in der Synovialflüssigkeit und im peripheren Blut von an RA bzw. Juveniler Idiopathischer Arthritis (JIA) erkrankten Personen.[37, 38] Des Weiteren sind sie gekennzeichnet durch die Expressierung des Transkriptionsfaktors ROR $\gamma$ T und des Chemokinrezeptors CCR6.[35]

### 1.3.4 Regulatorische T-Helfer-Zellen

Als wichtiger Bestandteil der Immunregulation fungieren die Tregs.[39, 40] . Als anti-inflammatorische Zellpopulation fördern sie die Selbst-Toleranz und verhindern überschießende Immunreaktionen.[40] Sie regulieren die Aktivität von Th17- und Th1-Zellen und wirken demnach dämpfend auf Autoimmunerkrankungen und können Abstoßreaktionen nach Transplantationen mildern.[41] So werden die JIA, die RA und die Systemische Sklerose (SSc) mit einer Beeinträchtigung der Funktionalität der Tregs in Verbindung gebracht.[42-44] Die Tregs sind durch die Expression von CD25, die Herunterregulierung von CD127 sowie durch den Transkriptionsfaktor Foxp3 charakterisiert.[21] Sie sezernieren IL-10 und TGF- $\beta$ . [21] Weiter lassen sich die regulatorischen T-Zellen in natürliche (nTregs) und induzierte (iTregs) differenzieren.[40] Die nTregs entstammen dem Thymus und ihre Foxp3-Promotor-Region wird noch im Vorläuferzell-Stadium aktiv demethyliert, wohingegen die iTregs im peripheren Blut aus naiven T-Zellen oder in-vitro unter IL-2 und TGF- $\beta$  Stimulierung entstehen.[45-48] Ein bestimmender Parameter für eine kräftige Treg-Abstammungslinie ist der Methylierungsgrad der Foxp3-Region.[40] Ein geringes Maß an Methylierung ist gleichzusetzen mit einer hohen Expressionsrate dieses Transkriptionsfaktors und somit aktiven und stabilen Tregs.[40, 49, 50]

### **1.3.5 Th9-Zellen**

Die Th9-Zellen sind charakterisiert durch die Produktion von IL-9.[51] Sie sind beteiligt an der Immunität gegenüber Helminthen und Tumoren, können aber auch Allergien fördern und Autoimmunerkrankungen verstärken.[21, 51]

### **1.3.6 Th22-Zellen**

Die Th22-Zellen stellen eine IL-22 produzierende, gewebespezifische Subpopulation dar und können mit der Homöostase der Haut und Autoimmunphänomenen der Haut in Zusammenhang gebracht werden.[52, 53] Sie exprimieren den Chemokinrezeptor CCR6 und die hautspezifischen Homing-Rezeptoren CCR4 und CCR10.[52]

### **1.3.7 Tfh-Zellen**

Die folliculären T-Helfer-Zellen stimulieren die B-Zellen und unterstützen die Antikörperproduktion.[21] Sie produzieren IL-21 und exprimieren den Chemokinrezeptor CXCR5.[21]

## **1.4 Wirkweise der Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-17 und IFN- $\gamma$**

Zytokine sind lösliche, zum Teil membrangebundene Signalmoleküle, welche das Verhalten der Zielzelle autokrin, parakrin bzw. endokrin beeinflussen.[1] Häufig beeinflussen sie Zellteilung, Zellaktivierung, Zellbewegung und Apoptose.[1] Werden die Zytokine von Leukozyten produziert und wirken auf selbige, heißen sie Interleukine, können sie durch chemische Reize eine Wanderungsbewegung (Chemotaxis) auslösen, werden sie Chemokine genannt und greifen sie in die virale Replikation ein und besitzen folglich eine antivirale Wirkung, handelt es sich um Interferone.[1]

### **1.4.1 Interleukin-1 $\beta$**

Interleukin-1 setzt sich aus elf Interleukinen zusammen, darunter sieben pro-inflammatorische, zu denen IL-1 $\beta$  gezählt wird.[54] Die vermehrte Produktion, Prozession und Sekretion von IL-1 $\beta$  wird bei Kontakt mit bakteriellen Bestandteilen wie Lipopolysacchariden in den Monozyten und Makrophagen induziert.[55, 56] Dabei wird IL-1 $\beta$  als biologisch inaktive Vorstufe translatiert und muss erst durch die Caspase-1 in

die biologisch aktive Form prozessiert werden.[57] In seiner aktiven Form besitzt es pyrogene Eigenschaften und ist ein wichtiger pro-inflammatorischer Mediator bezüglich Zellproliferation, –aktivierung und –differenzierung.[57, 58] Wesentlicher Bestandteil seiner pro-inflammatorischen Wirkweise liegt in der Zellpolarisation aus naiven Th-Zellen hin zu einer Th17-Zellentwicklung begründet.[59] Ebenfalls induziert IL-1  $\beta$  die IL-8 Expression.[60] IL-8 fördert die Aggregation von neutrophilen Granulozyten und fördert auf diesem Weg die Inflammation.[60] Des Weiteren regt IL-1 $\beta$  die Produktion von Akute-Phase-Proteinen in der Leber an, aktiviert das Endothel und unterstützt so die Leukodiapedese, fördert die Bildung von antimikrobiellen Proteinen und induziert die Expression von pro-inflammatorischen Genen wie der Cyclooxygenase Typ 2.[57] Als Regulationsmaßnahmen dienen einerseits der IL-1-Rezeptor-Antagonist (IL-1Ra), welcher unter dem Einfluss von IL-1, derselbe Stimulus, welcher eine IL-1  $\beta$  Produktion anregt und anti-inflammatorischen Zytokinen wie IL-10 verstärkt, exprimiert wird. Andererseits ist ebenso der IL-1-Rezeptor-2 (IL-1R2), welcher im Gegensatz zum IL-1-Rezeptor-1 (IL-1R1) eine Rezeptorattrappe darstellt und IL-1 abfängt, aber kein Signal intrazellulär weiterleitet, an der Regulation von IL-1 $\beta$  beteiligt.[61] IL-1 $\beta$  nimmt eine zentrale Stellung in der Pathogenese der RA und der JIA ein.[62, 63] Es wurde gezeigt, dass sich bei Patienten mit RA erhöhte IL-1 $\beta$  -Serum-Spiegel finden und diese positiv mit der Entzündungsaktivität, der Angabe von Schmerzen und der Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) korrelieren.[62] Desweiteren erhöhen sie die Prädisposition für Arthrose, finden sich unter anderem bei dem Cryopyrin-assoziierten periodischen Syndrom, einem auto-inflammatorischen Krankheitskomplex, welcher durch Mutationen im IL-1-Inflammasom ausgelöst wird und bei Probanden mit einem erhöhten Risiko für eine Diabetes mellitus Typ 1 Erkrankung.[54, 64, 65]

#### **1.4.2 Interleukin-10**

Eine IL-10 Produktion findet sich bei fast allen Leukozyten. [66] Eine besondere Rolle spielt das Interleukin bei den regulatorischen T-Helfer-Zellen; es dient der Immunsuppression und soll Autoimmunität und überschießende Immunantworten unterdrücken.[66] Dieser Vorgang findet auf verschiedenen Zellebenen statt, so supprimiert IL-10 die Produktion von IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , MHC-Molekülen der Klasse II, GM-CSF und G-CSF, es blockiert eine NF- $\kappa$ B Aktivität und

inhibiert durch eine Reduktion der IL-2 Produktion und einer Interferenz mit der CD28-Co-Stimulation die T-Zellaktivierung und Proliferation.[66-74] Andererseits ist IL-10 essentiell für die Entwicklungs- und Überlebensfähigkeit der B-Zellen und stimuliert die B-Zellimmunantwort.[66, 75]

### **1.4.3 Interleukin-17**

IL-17 wurde zuerst 1993 unter dem Namen CTLA-8 beschrieben.[76] Mittlerweile sind sechs Untergruppierungen bekannt (IL-17A-F).[77] IL-17 ist ein potentes proinflammatorisches Interleukin, welches neutrophile Granulozyten stimuliert, sie in entzündetem Gewebe akkumulieren lässt und die Granulopoese steigert.[77] Dies gelingt durch die Induktion von Chemokinen (CXCL8, CXCL6, CXCL1), Interleukinen (IL-6), Wachstumsfaktoren (GM-CSF, G-CSF) und Adhäsionsmolekülen (ICAM-1).[77] Stimuliert wird die IL-17 Produktion durch die Sekretion von IL-23 durch Makrophagen und dendritischen Zellen.[77] Ein Ungleichgewicht zugunsten der Th17-Zellen, den Hauptproduzenten von IL-17, gilt als starker, begünstigender Faktor für die Entwicklung von Autoimmunerkrankungen.[78]

### **1.4.4 IFN- $\gamma$**

IFN- $\gamma$  wird von Zellen des angeborenen und adaptiven Immunsystems produziert.[57] Vor allem Th1-Zellen können hohe Level von IFN- $\gamma$  generieren und folglich Makrophagen aktivieren, MHC-Moleküle der Klasse I und II hochregulieren, die Antigen-Präsentation steigern sowie einen Klassenwechsel der Immunglobuline hin zu einer IgG<sub>2a</sub>-Produktion vornehmen.[57]

## **1.5 Rheumatoide Arthritis**

Die RA ist eine chronische, systemisch-entzündliche Autoimmunerkrankung.[79] In erster Linie ist für die RA eine Gelenkbeteiligung charakteristisch, da es sich jedoch um eine systemische Erkrankung handelt, finden sich ebenfalls extraartikuläre Manifestationen.[80] Die RA kann zu schmerzhaften Gelenksdestruktionen mit Funktionseinbußen führen und ist mit einer verminderten Lebensqualität, einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für Arbeitsunfähigkeit und vermehrten Komorbiditäten wie Depressionen und einem erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziiert.[81-85]

### 1.5.1 Epidemiologie

Mit einer Prävalenz von 1% in der Gesamtbevölkerung stellt die RA die häufigste Form der entzündlichen Arthritis dar.[79] Die Frauen-Männer-Ratio ist mit 2-5/1 zugunsten der Frauen erhöht.[79] Des Weiteren findet sich eine zunehmende Prävalenz mit zunehmendem Alter, sodass die RA gehäuft bei 40-70-Jährigen auftritt.[79]

### 1.5.2 Ätiologie

Bei der Entstehung der RA wird ein multifaktorielles Geschehen angenommen, welches sich aus einer genetischen Prädisposition, epigenetischen Modifikationen und Umweltfaktoren zusammensetzt.[80] So existieren verschiedene Genloci, die die Zytokinproduktion und die Signaltransduktionswege der T- beziehungsweise B-Zellen beeinflussen und mit der Entwicklung einer RA assoziiert sind.[86] Einen prominenten Vertreter bildet das HLA-DRB1-Gen.[80] Als Risiko erhöhenden Umweltfaktor konnte unter anderem das Rauchen eruiert werden.[80] Ebenfalls werden Infektionserreger wie *Porphyromonas gingivalis* im Rahmen einer Parodontitis mit der Genese einer RA in Zusammenhang gebracht.[80, 87] Zwar scheinen sie als alleiniger Faktor nicht ausreichend um eine RA auszulösen, allerdings können sie die Entstehung und Unterhaltung fördern, indem sie citrullinierte Peptide generieren gegen die einerseits keine Immuntoleranz besteht und die andererseits durch eine molekulare Mimikry die Bildung von Autoantikörpern forcieren können.[87]

### 1.5.3 Pathophysiologie

Den Ausgangspunkt der Erkrankung bildet zunächst eine Inflammation der Synovialschleimhaut mit Endothelaktivierung, Leukozyteninfiltration, Neoangiogenese und Fibroblastenaktivierung.[88] Diese Vorgänge sind zu großen Anteilen Th1- und Th17-Zell-vermittelt.[88] Es zeigt sich, dass die T-Zell-Homöostase zwischen Th17-Zellen und Tregs zuungunsten der Tregs verschoben ist und diese zusätzlich funktionell beeinträchtigt zu sein scheinen.[89] Darüber hinaus wird auch dem proinflammatorischen IL-1 $\beta$  eine Aktivierung von Endothelzellen, Leukozyten, Chondrozyten und Osteoklasten zugeschrieben.[90] Diese aktivierten mesenchymalen Zellen sind unter IL-1  $\beta$  Einfluss wiederum in der Lage Knorpel destruierende Matrix-

Metalloproteasen (MMP) freizusetzen und den Gelenksknorpel sukzessive zu zerstören.[91] Die Höhe der gemessenen IL-1-Spiegel im Patientenplasma ist dabei regelmäßig erhöht und korreliert positiv mit der Erkrankungsaktivität der RA.[62, 90] Des Weiteren nehmen aktivierte CD20+ B-Zellen durch die Präsentation von Autoantigenen, die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen und die Bildung von Autoantikörpern wie Rheumafaktoren (RF) und Antikörper gegen das cyclische citrullinierte Peptid (Anti-CCP-Ak) eine zentrale Rolle bei der Pathogenese der RA ein.[88] Diese Autoantikörper können zusätzlich zur Diagnostik der RA eingesetzt werden und sind mit einer schwereren Verlaufsform assoziiert, indem sie unter anderem selbst als Pathogene wirken, da es ihnen möglich ist Makrophagen und Osteoklasten zu aktivieren.[80]

#### **1.5.4 Klinische Erscheinung**

Charakteristisch für die RA ist ein Auftreten von einer Gelenkbeteiligung mit Entzündungszeichen.[92] Die vorherrschenden Kardinalzeichen sind dabei Schmerzhaftigkeit, Steifigkeit, insbesondere Morgensteifigkeit mit einer Persistenz über 30 Minuten und die Schwellung peripherer Gelenke.[79] Des Weiteren werden in den arthritischen Symptomkomplex Überwärmung, Funktionseinbußen und ein nächtliches Beschwerdemaximum mit eingeschlossen.[92] Klassischerweise liegt eine Polyarthrit (mindestens 4 Gelenke sind betroffen) vor mit einem symmetrischen Befall der kleinen Gelenke wie den Metakarpophalangeal (MCP)-, proximalen Interphalangeal (PIP)-, Hand- und Metatarsophalangeal (MTP)-Gelenken.[92] Zudem zeigen sich typischerweise begleitend Allgemeinsymptome wie eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes und subfebrile Temperaturen.[79] Serologisch und laborchemisch sind oft Rheumafaktoren (RF) und spezifische Antikörper gegen das cyclische citrullinierte Peptid (Anti-CCP-Ak) sowie eine Erhöhung des C-reaktiven Proteins (CRP) bzw. der Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) vorhanden.[93] Die klinische Entwicklung gestaltet sich sehr variabel und erstreckt sich von milden bis progressiven, multisystemischen Verlaufsformen mit extraartikulären Manifestationen.[79] Diese können eine dermale, vaskuläre, okuläre, pulmonale, neurologische, psychische, kardiale, hepatische und hämatologische Beteiligung beinhalten.[79]

### 1.5.5 Diagnostik

Um eine möglichst frühe Diagnosestellung einer RA zu ermöglichen, wurden 2010 die neuen Klassifikationskriterien der American College of Rheumatology (ACR) in Zusammenarbeit mit der European League Against Rheumatism (EULAR) verfasst, welche den Schwerpunkt auf klinische Merkmale legen, die mit frühen Krankheitsstadien assoziiert sind.[93] Mit Hilfe dieser neuen Klassifikationskriterien soll eine rechtzeitige Therapie eingeleitet werden können um Spätkomplikationen zu minimieren.[93] Die folgende Tabelle 1 fasst die oben erwähnten Kriterien zusammen. Ab einer erreichten Punktzahl  $\geq 6$  kann die Diagnose einer RA gestellt werden.[93]

**Tabelle 1 ACR/EULAR Klassifikationskriterien zur Diagnosestellung einer RA (modifiziert nach [93])**

Welche Patienten sollen getestet werden?		1) mind. 1 Gelenk mit gesicherter Synovitis (Schwellung) 2) Synovitis kann durch andere Ursachen nicht besser erklärt werden		
Punkte	Gelenkbeteiligung	Serologie (mind. 1 Testergebnis)	Entzündungsparameter im Blut (mind. 1 Testergebnis)	Symptombdauer
0	1 großes Gelenk	RF + Anti-CCP-Ak negativ	CRP + BSG normal	<6 Wochen
1	2-10 große Gelenke		CRP oder BSG erhöht	$\geq 6$ Wochen
2	1-3 kleine Gelenke	RF oder Anti-CCP-Ak schwach positiv		
3	4-10 kleine Gelenke	RF oder Anti-CCP-Ak hoch positiv		
5	>10 Gelenke (davon $\geq 1$ kleines Gelenk)			

### 1.5.6 Therapie

Das Therapiekonzept der RA fußt auf verschiedenen medikamentösen und nicht-medikamentösen Modalitäten, welche Physiotherapie, eine suffiziente Analgesie mit nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR), Glukokortikoide vor allem für einen raschen

antientzündlichen Effekt, eine Basistherapie mit konventionellen Medikamenten (DMARDs) und eine Basistherapie mit Biologika inkludieren.[92]

Begonnen wird eine medikamentöse Dauertherapie in der Regel zunächst mit DMARDs.[94] Je nach Krankheitsaktivität wird dabei eine Mono- oder Kombinationstherapie angestrebt.[94] Empfohlene Wirkstoffe umfassen Methotrexat, Hydroxychloroquin, Leflunomid, Minocyclin und Sulfasalazin.[94]

Falls sich nach einer 3-monatigen Methotrexat-Monotherapie oder einer DMARDs-Kombinationstherapie weiterhin eine hohe Krankheitsaktivität der RA zeigt, wird die Hinzunahme oder alleinige Gabe eines Anti-TNF-Biologikums angeraten, welche als Zielstruktur gegen den Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) gerichtet ist.[94] Namentlich zu erwähnen sind die Substanzen Adalimumab, Etanercept, Infliximab, Certolizumab pegol und Golimumab.[94]

Besteht nach 3-monatiger Applikation eines Anti-TNF-Biologikums noch immer eine hohe Krankheitsaktivität oder treten unerwünschte Arzneimittelwirkungen auf, sollte ein Wechsel innerhalb der Anti-TNF-Biologika oder ein Wechsel auf ein Biologikum, welches gegen eine andere Zielstruktur (Non-TNF-Biologikum) gerichtet ist, erfolgen.[94] Bei diesen Non-TNF-Biologika handelt es sich vor allem um Tocilizumab (rekombinanter, monoklonaler Antikörper gegen IL-6), Abatacept (Inhibitor der T-Zellaktivierung), Rituximab (monoklonaler Antikörper gegen CD20) und Anakinra (IL-1-Rezeptor-Antagonist).[94, 95]

## **1.6 Juvenile Idiopathische Arthritis**

Die JIA umfasst nach Klassifikationskriterien der International League of Associations for Rheumatology (ILAR) sieben JIA-Subtypen, welche als gemeinsames Merkmal eine idiopathische Arthritis aufweisen, die vor dem 16. Lebensjahr beginnt und für mindestens 6 Wochen anhält.[96] Die Klassifikationskriterien orientieren sich hierbei an der klinischen Erscheinung, der Familiengeschichte und ggf. an laborchemischen Befunden.[96, 97] Die JIA persistiert oft bis in das Erwachsenenalter hinein und geht gehäuft mit Veränderungen der Körperstruktur beziehungsweise –funktion einher.[98]

### 1.6.1 Subtypen

Die nachfolgende Tabelle 2 verschafft einen Überblick über die bereits erwähnten JIA-Subtypen.

**Tabelle 2 ILAR Klassifikation der JIA-Subtypen: Second Revision, Edmonton 2011 (modifiziert nach[96])**

JIA-Subtyp	Definition	Ausschlusskriterien
Systemische Arthritis	Arthritis von $\geq 1$ Gelenk + intermittierendes Fieber + $\geq 1$ Begleitsymptom (flüchtiges Exanthem, generalisierte Lymphknotenschwellung, Hepatomegalie / Splenomegalie, Serositis)	a, b, c, d
Oligoarthritis	Arthritis von $\leq 4$ Gelenken während der ersten 6 Erkrankungsmonate	a, b, c, d, e
Seronegative Polyarthritis	Arthritis von $\geq 5$ Gelenken während der ersten 6 Erkrankungsmonate RF negativ	a, b, c, d, e
Seropositive Polyarthritis	Arthritis von $\geq 5$ Gelenken während der ersten 6 Erkrankungsmonate RF positiv ( $\geq 2$ positive Tests im Abstand von mind. 3 Monaten während der ersten 6 Erkrankungsmonate)	a, b, c, e
Psoriasis-Arthritis	Arthritis + Psoriasis oder Arthritis + $\geq 2$ Begleitsymptome (Daktylitis, Nagelveränderungen, Psoriasis bei Verwandten 1. Grades)	b, c, d, e
Enthesitis-assoziierte Arthritis	Arthritis + Enthesitis oder Arthritis oder Enthesitis + $\geq 2$ Begleitsymptome (sakroiliakaler Gelenkschmerz oder entzündlicher lumbosakraler Schmerz, HLA-B27 positiv, Beginn der Arthritis bei einem $\geq 6$ -jährigen männlichen Patienten, akute (symptomatische) Uveitis anterior, Ankylosierende Spondylitis, Enthesitis-assoziierte Arthritis, Sakroiliitis bei entzündlicher Darmerkrankung, Reiter-Syndrom oder akute anteriore Uveitis bei Verwandten 1. Grades)	a, d, e
Undifferenzierte Arthritis	Arthritis, welche die Kriterien keiner oder $\geq 2$ Subtypen erfüllt	
Ausschlusskriterien	a. Psoriasis oder Psoriasis in der Patientenanamnese oder bei Verwandten 1. Grades b. HLA-B27-positiv, $\geq 6$ -jähriger männlicher Patient	

- |  |   |
|--|---|
|  | <ul style="list-style-type: none"> <li>c. Ankylosierende Spondylitis, Enthesitis-assoziierte Arthritis, Sakroiliitis bei chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen, Reiter-Syndrom oder akute anteriore Uveitis, aktuell oder anamnestisch, bei Verwandten 1. Grades</li> <li>d. IgM-Rheumafaktor <math>\geq 2</math> positive Tests im Abstand von mind. 3 Monaten</li> <li>e. Systemische JIA</li> </ul> |
|--|---|

### 1.6.2 Epidemiologie

Mit einer Prävalenz in den Industrienationen von 16-150 Betroffenen pro 100.000 Vergleichspersonen stellt die JIA die häufigste chronische Erkrankung aus dem rheumatischen Formenkreis dar.[99] Den größten Anteil unter den JIA-Subtypen nimmt mit einer Häufigkeit von 27-56% die Oligoarthritis ein, gefolgt von der seronegativen Polyarthritis (11-28%), der undifferenzierten Arthritis (11-21%), der systemischen Arthritis (4-17%), der Enthesitis-assoziierten Arthritis (3-11%), der Psoriasis-Arthritis (2-11%) und der seropositiven Polyarthritis (2-7%).[99]

### 1.6.3 Ätiologie

Bei der Ursache für die Entwicklung einer JIA handelt es sich wahrscheinlich um ein multifaktorielles Geschehen, welches eine genetischer Prädisposition und Umwelteinflüsse beinhaltet.[99] Einerseits existieren MHC-assoziierte genetische Risikofaktoren wie das HLA-B27-Gen bezüglich der Enthesitis-assoziierten Arthritis oder das HLA-DR1- und das HLA-DR4-Gen hinsichtlich der Polyarthritis, andererseits finden sich auch Non-MHC-assoziierte genetische Risikofaktoren.[100] Zu diesen zählen vor allem Gene, welche T-Zellrezeptoren, Zytokine und Zytokinrezeptoren betreffen.[100] Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass das Immunsystem von JIA-Patienten im Vergleich zu biologisch gleichaltrigen Vergleichspersonen vorzeitig gealtert zu sein scheint.[101]

### 1.6.4 Pathophysiologie

Trotz zum Teil heterogener JIA-Subtypen liegen häufig gemeinsame pathophysiologische Mechanismen vor.[99] So finden sich bei JIA-Patienten in den arthritischen Gelenken eine entzündliche Hyperplasie, Neoangiogenese und Infiltration der Synovialschleimhaut mit mononukleären Zellen, darunter T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, dendritischen Zellen und Plasmazellen, wobei der CD4/CD8-Quotient zugunsten der CD4+ Zellen verschoben ist.[99, 102, 103] Auf zellulärer Ebene scheint

vor allem eine Dysbalance innerhalb der Th-Zellsubtypen eine entscheidende Rolle einzunehmen.[102] Es konnte gezeigt werden, dass in den entzündeten Gelenken der JIA-Patienten erhöhte Th1- und Th17-Zellspiegel vorliegen und dass zusätzlich einerseits die Expression von Th17-Zellen und Tregs invers korreliert und andererseits die Funktionalität der Tregs beeinträchtigt zu sein scheint.[38, 43, 104, 105] Hinsichtlich des Zytokinprofils wurden erhöhte Produktionen der pro-inflammatorischen Interleukine IL-6, IL-18, IL-17 und des TNF- $\alpha$  festgestellt sowie verminderte Spiegel des anti-inflammatorischen IL-10.[38, 102, 106] Als einer der Haupt-Mediatoren hat sich zudem IL-1 herauskristallisiert.[63] So produzieren aktivierte mononukleäre Zellen des peripheren Blutes (PBMCs) von JIA-Patienten, welche an der systemischen Form erkrankt sind, vermehrt IL-1 $\beta$ . Darüber hinaus kann das Serum dieser Patienten die PBMCs von gesunden Probanden zu einer gesteigerten IL-1 Bildung anregen.[63]

### **1.6.5 Klinische Erscheinung**

Das verbindende Merkmal der sieben JIA-Subtypen stellt die Arthritis dar, welche vor dem 16. Lebensjahr beginnt und für mindestens 6 Wochen anhält.[96] Je nach Unterform sind eine unterschiedliche Anzahl an Gelenken betroffen und treten neben der Arthritis verschiedene Begleitsymptome in Erscheinung.[96] Die klinischen Charakteristika sind in der Tabelle 2 kompakt zusammengefasst.

### **1.6.6 Diagnostik**

Die JIA ist eine vornehmlich klinische Diagnose.[96] Folgende Parameter werden dabei zur Untermauerung der Diagnose und zur weiteren Einteilung benutzt: Das Erkrankungsalter, eine genaue klinische Beschreibung der Arthritis (Ausbreitungsform, Anzahl der betroffenen Gelenke), laborchemische und serologische Befunde, Begleitsymptome und genetische Faktoren.[96]

### **1.6.7 Therapie**

Das Therapiekonzept der JIA verfolgt einen multimodalen Ansatz und setzt sich aus Physiotherapie, Ergotherapie, psychologischer Hilfestellung und medikamentöser Therapie zusammen.[99] Eine frühzeitige Therapie ist dabei essentiell für die

Langzeitprognose und hilft körperliche und psychologische Folgeschäden zu minimieren.[99, 107]

Da die JIA nicht ein homogenes Krankheitsbild repräsentiert, unterscheiden sich auch die genauen Therapieempfehlungen der jeweiligen Subtypen voneinander.[99]

Einheitlich kommen zur Behandlung der JIA als pharmakologische Substanzen für Kinder zugelassene NSAR, Glukokortikoide systemisch oder intraartikulär, eine Basistherapie mit DMARDs und eine Basistherapie mit Biologika in Frage.[108] Der Therapieerfolg sollte dabei alle 3 Monate überprüft werden und das angestrebte Therapieziel beinhaltet die Inaktivität der Erkrankung und die klinische Remission.[108] Zur Definition der inaktiven JIA haben sich die folgenden Kriterien etabliert: Keine Arthritis, kein Fieber, kein Exanthem, keine Serositis, keine Splenomegalie und keine generalisierte Lymphadenopathie, welche einer JIA zuordenbar wäre, keine Uveitis, keine pathologisch erhöhte BSG, kein pathologisch erhöhtes CRP und eine bestmögliche ärztliche Globalbewertung des Patienten.[109] Ist die Erkrankung ohne medikamentöse Behandlung über einen Zeitraum von 12 Monaten bzw. mit medikamentöser Behandlung über einen Zeitraum von 6 Monaten inaktiv, wird von einer Remission gesprochen.[109]

Bei den eingesetzten DMARDs handelt es sich vor allem um Methotrexat.[108] Bei einem Nichtansprechen kann ebenfalls die Gabe von Sulfasalazin oder Hydroxychloroquin erwogen werden.[108]

Die zur Therapie der JIA empfohlenen Biologika beinhalten Anti-TNF-Biologika wie Adalimumab, Etanercept oder Golimumab und Non-TNF-Biologika wie Tocilizumab (rekombinanter, monoklonaler Antikörper gegen IL-6) und Abatacept (Inhibitor der T-Zellaktivierung).[108] Zu den ebenfalls verwendeten Non-TNF-Biologika, die sich vor allem bei der systemischen JIA als effektiv erwiesen haben, zählen die IL-1-Inhibitoren.[110] Aktuell sind in dieser Gruppe die Präparate Anakinra (IL-1-Rezeptor-Antagonist), Canakinumab (monoklonaler Antikörper gegen IL-1 $\beta$ ) und Rilonacept (lösliche Rezeptorattrappe, welche hauptsächlich IL-1 $\beta$  und in geringerem Ausmaß IL-1 $\alpha$  neutralisiert) vertreten.[110]

## 1.7 Zielsetzung und Fragestellung

Eine ausgeglichene T-Zell-Homöostase ist essentiell für den Gesundheitszustand eines Individuums; Defizite einer solchen machen sich mit Funktionseinbußen und inadäquaten Immunreaktionen bemerkbar.[101]

So werden erhöhte Th17-/Th1-Zell-Spiegel mit Autoimmunerkrankungen wie der RA und der JIA in Zusammenhang gebracht.[38, 78] Bei beiden Krankheitsbildern handelt es sich um eine chronische, systemisch-entzündliche Autoimmunerkrankung, welche sich schwerpunktmäßig an den Gelenken manifestiert.[79, 96] Daneben spielen auch Tregs bei Immunreaktionen eine ausschlaggebende Rolle; diese regulieren unter anderem die Aktivität von Th17- und Th1- Zellen und wirken demnach dämpfend auf Autoimmunerkrankungen und können Abstoßreaktionen nach Transplantationen mildern.[41] Dabei unterliegen die Th-Zellsubpopulationen einer hohen Plastizität und ihre Funktion und ihre Regulation hängen stark von dem vorherrschenden Zytokinmilieu ab.[111, 112] So weiß man, dass IL-1 $\beta$  ein starker Stimulus hin zu einer Th17-Zellentwicklung ist.[59]

Gegenstand dieser Forschungsarbeit soll die Untersuchung der Auswirkungen von IL-1 $\beta$  sowie der Inhibierung von IL-1 $\beta$  bzw. seines Rezeptors auf Tregs sein.

Unser Schwerpunkt liegt dabei einerseits auf phänotypischen Veränderungen und wie weit IL-1 $\beta$  sowie die IL-1 $\beta$ - bzw. IL-1 Rezeptor-Inhibierung die Stabilität von Tregs und die Induzierung von iTregs beeinflussen. Diese Analysierung erfolgt anhand einer geeigneten Antikörper-vermittelten Fluoreszenzfärbung gegen spezifische Oberflächenmarker, Transkriptionsfaktoren und intrazelluläre Zytokine sowie der Messung mittels Durchflusszytometrie.

Zusätzlich interessieren wir uns welche Effekte IL-1 $\beta$  sowie die Inhibierung von IL-1 $\beta$  bzw. seines Rezeptors auf die Funktionalität der Tregs ausüben. Dabei wird die Funktionalität einerseits durch die Sekretion von Zytokinen mittels Zytokin-ELISAs und die supprimierende Eigenschaft auf die Proliferation von Effektorzellen anhand von Suppression Assays überprüft.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Material

An dieser Stelle schließt sich eine tabellarische Aufzählung über die verwendeten Materialien an.

#### 2.1.1 Geräte

Im Folgenden sind in Tabelle 3 die verwendeten Geräte aufgeführt.

Tabelle 3 Geräte

Produkt	Handelsname	Hersteller
Sterile Arbeitsbank	Gelaire BSBS 6A	Flow Laboratories GmbH, Meckenheim, Deutschland
Inkubator	Nuaire IR Autoflow, CO2 Water Jacketed Incubator	Varolab, Gießen, Deutschland
Mikroskop	Phase Contrast LWD o52	Nikon, Tokio, Japan
Bestrahlungsgerät	RT 200	C.H.F. Müller/ Philips, Hamburg, Deutschland
	Universal 32R	
Zentrifuge	Rotanta/K	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland
	Rotixa/P	
Kühlschrank	Comfort -20°C	Liebherr, Ochsenhausen, Deutschland
	Typ 4°C	Liebherr, Ochsenhausen, Deutschland
Flowzytometer	Hera Freeze -80°C	Thermo Fisher, Langenselbold, Deutschland
	FACS Canto II	BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA
MACS	FACS Aria III	
	VarioMACS™ Separator	Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Deutschland
MACS	QuadroMACS™ Separator	
Zählkammer	Neubauer Zählkammer	Neubauer, Marienfeld, Deutschland

Vortexer	RetschMixer	A. Hartenstein, Würzburg, Deutschland
Pipetten	Research plus 10µl	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
	Research plus 100µl	
	Research plus 200µl	
	Research plus 1000µl	
Pipettierhilfe	Pipetboy	Integra, Fernwald, Deutschland
Frosty Box	Cyro Freezing Container	Nalgene, Rochester, USA
Inkubationsbad		GFL, Burgwedel, Deutschland

### 2.1.2 Verbrauchsmaterialien

Die Tabelle 4 listet die genutzten Verbrauchsmaterialien auf.

**Tabelle 4 Verbrauchsmaterialien**

Produkt	Handelsname	Hersteller
Blutentnahme-Set	Safety-Multifly-Set	Sarstedt , Nürnberg, Deutschland
Blutröhrchen	S-Monovette Serum 9ml	Sarstedt , Nürnberg, Deutschland
	S-Monovette NH4-Heparin 9 ml	
Zellkultur-Schalen	Cellstar, Tissue Culture Dishes, PS, 60x15mm	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland
	Cellstar, 96 Well Cell Culture Plate	
Zentrifugenröhrchen	Cellstar 15ml	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland
	Cellstar 50ml	
FACS-Röhrchen	5ml	Becton Dickinson Austria GmbH, Wien, Österreich
Reagiergefäße	Safe Seal 1,5ml	Sarstedt , Nürnberg, Deutschland
	Safe Seal 2ml	

	Safe Seal 10ml	
Kyro-Röhrchen	Cyro.s™, PP	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland
LS Columns		Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Deutschland
	Biosphere Filter Tips 10µl	
Pipettenspitzen	Biosphere Filter Tips 100µl	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
	Biosphere Filter Tips 1000µl	
Glaspipetten	Cellstar 5ml	
	Cellstar 10ml	Greiner Bio-One, Frickenhausen, Deutschland
	Cellstar 20ml	

### 2.1.3 Puffer und Medien

In Tabelle 5 finden sich die eingesetzten Puffer und Medien.

**Tabelle 5 Puffer und Medien**

Handelsname	Hersteller
PBS (Phosphate Buffered Saline)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
EDTA (Ethyldiamintetraessigsäure)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
DMSO (Dimethylsulfoxid)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
BSA (Bovines Serum Albumin)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA
RPMI 1640 L-Glutamin	Lonza Group AG, Basel, Schweiz
X-Vivo Medium	Lonza Group AG, Basel, Schweiz
Penicillin/Streptomycin	Biochrom AG, Berlin, Deutschland
FCS (Fetales Kälber Serum)	GIBCO, Life Technologies, Carlsbad, USA
FicoLite-H (Human)	Linaris, Dossenheim, Deutschland

	Aqua ad injectabilia	B. Braun, Melsungen, Deutschland
	Isotonische Kochsalzlösung	Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland
	Aqua destillata	B. Braun, Melsungen, Deutschland
Fixationspuffer		Biolegend, San Diego, USA
Permeabilisierungspuffer		Biolegend, San Diego, USA
Nährmedium	RPMI1640 L-Glutamin + 1% Penicillin/Streptomycin + 10% FCS	
Erythrozyten-Lyse-Puffer	8,26g Ammoniumchlorid + 1g Kaliumbicarbonat + 0,037g EDTA in 1l Aqua destillata	
Einfriermedium	RPMI1640 L-Glutamin + 20% FCS + 10% DMSO	
PBS-Puffer	1 Tablette für 500ml Aqua destillata	
FACS-Puffer	0,5% BSA + 0,01% Natriumazid in PBS-Puffer	
MACS-Puffer	0,5% BSA + 2mM EDTA in PBS	

#### 2.1.4 Stimuli, Antikörper, Proliferationsmarker und Zellfärbung

Die Tabelle 6 bietet einen Überblick über die verwendeten Stimuli, Antikörper, Proliferationsmarker und Zellfärbemittel.

**Tabelle 6 Stimuli, Antikörper, Proliferationsmarker und Zellfärbemittel**

Handelsname	Hersteller	Bestellnummer
Rekombinantes IL-1 $\beta$ (Human)	Biolegend, San Diego, USA	579404
anti-IL-1 $\beta$ Antikörper	Biolegend, San Diego, USA	508304
anti-IL-1Ra Antikörper	R & D Systems, Minneapolis, USA	AF-280-SP
Rekombinantes IL-2 (Human)	Biolegend, San Diego, USA	589102
TGF- $\beta$ (Human)	Biolegend, San Diego, USA	580704

anti-CD3 Antikörper	Biolegend, San Diego, USA	300301
anti-CD28 Antikörper	Biolegend, San Diego, USA	302901
Brefeldin A	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	B7651
Ionomycin	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	I0634
PMA (Phorbol-12-Myristat-13Acetat)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	P8139-10MG
CFSE (Carboxyfluoresceinsuccinimidylester)	Biolegend, San Diego, USA	423801
Trypanblau	Merck, Darmstadt, Deutschland	1117320025

### 2.1.5 Gebrauchsfertige Kits

Die nachstehende Tabelle 7 führt die eingesetzten gebrauchsfertigen Kits auf.

**Tabelle 7 Gebrauchsfertige Kits**

Handelsname	Hersteller	Lot. Nr.
CD4+ T Cell Isolation Kit (Human)	Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Deutschland	5150911184
FITC Annexin 4 Apoptosis Detection Kit with 7-AAD		
Annexin V Binding Buffer	Biolegend, San Diego, USA	B191880
7-AAD Viability Staining Solution		B187940
Human IL17A Platinum ELISA Kit	Affymetrix/eBioscience, Santa Clara, Kalifornien, USA	117564019
Human IL10 Platinum ELISA Kit	Affymetrix/eBioscience, Santa Clara, Kalifornien, USA	111671036
Human IFN- $\gamma$ ELISA MAX <sup>TM</sup> Standard Sets	Biolegend, San Diego, USA	430101
Zombie Green <sup>TM</sup> Fixable Viability Kit	Biolegend, San Diego, USA	

## 2.1.6 Antikörper zur Zellfärbung

In Tabelle 8 werden die verwendeten Antikörper zur Zellfärbung aufgeführt. Diese sind unterteilt in Antikörper für die Oberflächenfärbung, die intrazelluläre Färbung und die Apoptosedetektion.

**Tabelle 8 Antikörper zur Zellfärbung**

Antikörper zur Oberflächenfärbung				
Antikörper	Farbe	Hersteller	Lot. Nr.	Klon
CD4	FITC	Biolegend, San Diego, USA	B176551	Okt 04
CD8	APCH7	BD Biosciences, Franklin Lakes, USA	4246528	SK1
CD25	PE-CY7	Biolegend, San Diego, USA	B188231	BC96
CD127	Brilliant Violet 421	Biolegend, San Diego, USA	B189053	AO19D5
CD103	PE	BD Biosciences, Franklin Lakes, USA	80934	
CCR6 (CD 196)	APC	Biolegend, San Diego, USA	B189862	G034E3
CCR6 (CD 196)	PE	BD Biosciences, Franklin Lakes, USA	15814	11A9
CD62L	APC-CY7	Biolegend, San Diego, USA	B187351	DREG-56
IL-1R	PE	R & D Systems, Minneapolis, USA	AAFG0514051	
Antikörper zur intrazellulären Färbung				
Antikörper	Farbe	Hersteller	Lot. Nr.	Klon
FoxP3	PerCP-CY 5.5	BD Biosciences, Franklin Lakes, USA	4181986	236A/E7
IL 10	APC	Biolegend, San Diego, USA	B193895	JES3-19F1
IL 17A	Alexa Fluor 700 / Zombie	Biolegend, San Diego, USA	B183422	BL168
Ki67	FITC	BD Biosciences, Franklin Lakes, USA	88789	B56
Antikörper zur Apoptosedetektion				

Antikörper	Farbe	Hersteller	Lot. Nr.	Klon
Annexin V	FITC	Biolegend, San Diego, USA	B191137	
7-AAD	APC	Biolegend, San Diego, USA	B149025	

### 2.1.7 Ethikvotum und Aufklärung

Das Projekt wurde von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät, Universität Würzburg genehmigt (Nr. 239/10). Alle Patientinnen und Probandinnen beziehungsweise bei Minderjährigen deren Sorgeberechtigte wurden ausführlich über die Aspekte der Studie unterrichtet und sowohl mündlich wie auch schriftlich aufgeklärt. Es wurde jeweils eine Einverständniserklärung zur Partizipation unterzeichnet. Die Studie geht konform mit den Kriterien der Deklaration von Helsinki 2011.[113]

### 2.1.8 JIA-Patientenkollektiv

Das Kollektiv der JIA-Patientinnen setzt sich aus 8 Teilnehmerinnen zusammen, die in der Kinder-Rheumatologischen Sprechstunde der Kinderklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Würzburg zur Studienteilnahme gewonnen werden konnten. Als Voraussetzung für die Teilnahme an der Studie mussten die ILAR-Kriterien für die Diagnosestellung der JIA erfüllt werden. Zudem wurden nur weibliche Teilnehmer rekrutiert. Es wurde versucht, neben den Stammdaten wie Alter, Geschlecht und Diagnose Daten zum Krankheitsstatus, zur aktuellen Medikation und zu laborchemischen Entzündungsparameter zu erheben. Als Ausschlusskriterien wurden Malignome, Transplantationen, Immundefekte, klinisch relevante Infekte in den letzten 2 Monaten und Transfusion mit Blutprodukten definiert. Die JIA-Patientinnen befanden sich in laborchemischer Remission, definiert mit CRP <0,5 mg/dl und BSG <10 mm in der ersten Stunde. Ausgenommen sind die JIA-Patientin mit der Codierung 2, welche einen CRP-Wert von 0,84 mg/dl hatte und die JIA-Patientin mit der Codierung 5, welche bei einem CRP-Wert <0,5 mg/dl eine BSG von 12 mm in der ersten Stunde erzielte. Die Tabelle 9 führt die erhobenen Daten bezüglich des JIA-Patientenkollektivs auf.

**Tabelle 9 JIA-Patientenkollektiv**

Krankheitsstatus, aktuelle Medikation, **BSG** (Blutsenkungsgeschwindigkeit) und **CRP** (C-reaktives Protein) beziehen sich auf Zeitraum der Probenentnahme; leere Felder bedeuten, dass keine Daten vorliegen. **MTX** = Methotrexat, p.o. = per os, s.c. = subkutan, Standarddosierung: 10-15 mg / m<sup>2</sup> Körperoberfläche / Woche.[114] **Ibuprofen** Standarddosierung: 30-40 mg / kg Körpergewicht / täglich.[115] **Adalimumab** Standarddosierung: 10 kg bis < 30 kg Körpergewicht: 20 mg s.c. jede 2 Woche, ≥ 30 kg Körpergewicht: 40 mg s.c. jede 2 Woche.[116]

JIA-Patientenkollektiv				
Codierung	Alter (Jahre) bei Probenentnahme	Alter (Jahre) bei Erstdiagnose	Diagnose	Aktuelle Medikation
1	18 5/12	14 11/12	JIA (seronegative Polyarthritits)	MTX 22,5 mg/Woche s.c.
2	7 7/12	7 2/3	JIA	Adalimumab 25mg s.c. alle 2 Wochen
3	14 11/12	1 5/6	JIA (frühkindliche Oligoarthritits)	MTX 20 mg/Woche p.o.
4	19	2 1/3	JIA (frühkindliche Oligoarthritits)	MTX 10mg/Woche p.o.
5	15 2/3	12 1/4	JIA (seronegative Polyarthritits)	Keine
6	14 2/3	-	JIA	Ibuprofen 3x 300 mg/täglich
7	13 1/3	-	JIA (frühkindliche Oligoarthritits)	MTX 20 mg/Woche p.o.
8	11 5/6	-	JIA (Enthesitis-assoziierte Arthritits)	MTX 10mg/Woche s.c.

### **2.1.9 RA-Patientenkollektiv**

Das RA-Patientenkollektiv beinhaltet 13 Teilnehmerinnen, die in der Universitätsklinik Würzburg für Innere Medizin II, Rheumatologie und Immunologie rekrutiert wurden. Das Patientenkollektiv setzt sich ausschließlich aus weiblichen Teilnehmern zusammen, die an einer seropositiven rheumatoiden Arthritis erkrankt waren. Als Einschlusskriterium wurde eine entsprechend der ACR-Definitionskriterien diagnostizierte RA Erkrankung gefordert. Analog zu den Ausschlusskriterien der JIA-Patientinnen setzen sich die für das RA-Patientenkollektiv ebenfalls aus Malignomen, Transplantationen, Immundefekten, klinisch relevanten Infekte in den letzten 2 Monaten und Transfusionen mit Blutprodukten zusammen. Wenn möglich wurden neben den Stammdaten wie Alter, Geschlecht und Diagnose gleichermaßen der Krankheitsstatus, die aktuellen Medikation und laborchemischen Entzündungsparameter erfasst.

Im Folgenden fasst die Tabelle 10 die erhobenen Daten des RA-Patientenkollektivs zusammen.

**Tabelle 10 RA-Patientenkollektiv**

**DAS28** (disease activity score 28) ist ein von der **EULAR** (European League Against Rheumatism) entworfenes Bewertungssystem um die Krankheitsaktivität der RA zu erfassen sowie eine Verlaufskontrolle abbilden zu können.[117] DAS28 setzt sich zusammen aus der Anzahl der geschwollenen Gelenke von 28 vorher definierten Gelenken, der Anzahl der druckschmerzhaften Gelenke von 28 vorher definierten Gelenken, der Blutkörperkungsgeschwindigkeit (mm/h) und der Beurteilung der Krankheitsaktivität aus Patientensicht mittels visueller Analogskala.[117] **DAS28-CRP** bedeutet, dass anstelle der **BSG** (Blutsenkungsgeschwindigkeit) der **CRP-Wert** (C-reaktives Protein) verwendet wird.[117] DAS28 < 2.6 definiert die Remission, DAS28 < 3.2 definiert eine niedrige Krankheitsaktivität, DAS28 < 5.1 definiert eine moderate Krankheitsaktivität und DAS28 ≥ 5.1 definiert eine hohe Krankheitsaktivität.[118] BSG und CRP beziehen sich auf Zeitraum der Probenentnahme. **MTX** = Methotrexat, p.o. = per os, s.c. = subkutan, Standarddosierung: 5-25 mg / Woche.[118] **Leflunomid** Standarddosierung: Aufsättigungsdosis von 100 mg / täglich über 3 Tage, dann Erhaltungsdosis von 10-20 mg / täglich.[118, 119] **Sulfasalazin** Standarddosierung: 2000 mg / täglich.[118, 120] **Hydroxychloroquin** Standarddosierung: Startdosis 400 mg / täglich, nach 3 Monaten Reduktion auf die Zieltagesdosis von 200 mg / täglich.[121] **Prednison** Standarddosierung: Startdosis 10-30 mg / täglich, innerhalb von 8 Wochen Reduktion auf die Zieltagesdosis von 5 mg / täglich.[118] **Adalimumab** Standarddosierung: 40 mg s.c. alle 14 Tage.[122] **Infliximab** Standarddosierung: 3 mg / kg i.v., nach der Erstinfusion erfolgen die weiteren Infusionen nach 2 und 6 Wochen (Induktionstherapie), im Anschluss alle 8 Wochen (Erhaltungstherapie).[123] **Rituximab** Standarddosierung: Behandlungszyklus bestehend aus zwei intravenösen Infusionen, die erste Infusion beinhaltet 1000 mg, die zweite Infusion beinhaltet ebenfalls 1000 mg und erfolgt zwei Wochen später.[124] **Tocilizumab** Standarddosierung: 162 mg s.c. / Woche.[125] **Abatacept** Standarddosierung: 125 mg s.c. / Woche.[126]

RA-Patientinnen							
Codierung	Alter (Jahre) bei Probenentnahme	Alter (Jahre) bei Erstdiagnose	DAS28	DAS28-CRP	Aktuelle Medikation	BSG mm/h (1h)	CRP mg/dl
9	56 8/12	44	2,38	1,9	Adalimumab, MTX 7,5 mg s.c.	11	0,08
10	72 7/12	52	2,58	2	Adalimumab, MTX	12	0,06
11	64 9/12	41	2,36	1,6	Infliximab, MTX	16	0,07
12	64	49 1/12	4,29	3,4	Leflunomid, MTX	17	0,06
13	74 7/12	62	4,51	3,9	Rituximab	18	0,23
14	73 9/12	44	4,62	4,1	MTX, Sulfasalazin, Hydroxychloroquin	39	1,88
15	55 5/12	53 3/12	2,53	2,7	Sulfasalazin	5	0,13
16	70 1/12	57 10/12	2,34	2	Adalimumab, MTX 7,5mg p.o.	19	0,67

17	69	52 7/12	4,63	4,4	Prednison 2,5mg	13	0,5
18	83 7/12	72 10/12	3,52	2,7	Leflunomid, Prednison	17	0,09
19	58 11/12	51 5/12	1,98	2,5	Tocilizumab, MTX	2	0,02
20	76	72 3/12	4,37	4,3	Abatacept, Prednison	18	1,47
21	62 5/12	57	5,73	4,4	Leflunomid 10 mg, MTX 15 mg s.c.	71	0,64

### 2.1.10 Gesunde Kontrollprobandinnen

In das Kollektiv der gesunden Kontrollprobandinnen wurden 5 immunologisch gesunde Personen eingeschlossen, die zum Zeitpunkt der Teilnahme keine akuten oder chronischen Erkrankungen und keine dauerhafte Medikation aufwiesen. Da die JIA bei Kindern beziehungsweise Jugendlichen auftritt und die RA bei älteren Erwachsenen, wurden 2 jüngere Erwachsene und 3 ältere Erwachsene in das Kollektiv aufgenommen.[79, 96] Ebenso bestand die Gruppe der gesunden Kontrollprobandinnen aus Gründen der geschlechterspezifischen Verteilung ausschließlich aus weiblichen Teilnehmern, da die RA häufiger bei Frauen vorkommt und diesbezüglich ebenfalls weibliche Patienten rekrutiert wurden.[79]

Die nachfolgende Tabelle 11 umreißt die Gruppe der gesunden Kontrollprobandinnen.

**Tabelle 11 Gesunde Kontrollprobandinnen**

<b>Gesunde Kontrollprobandinnen</b>	
Codierung	Alter (Jahre) bei Probenentnahme
22	54 11/12
23	53 10/12
24	48 10/12
25	24 3/12
26	24 1/12

## 2.2 Methoden

Zur experimentellen Untersuchung der Arbeitshypothese wurden aus den gesammelten Blutproben der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen mit Hilfe der Dichtegradientenzentrifugation und unter Verwendung eines Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymers (Ficoll) die PBMCs isoliert. Ein Teil der PBMCs wurden nach der Isolierung mittels Durchflusszytometrie phänotypisiert (HD n=5, JIA n=5, RA n=6 bzw. 11). Die verbliebenen PBMCs konnten mittels magnetischer Zellseparation (MACS Technologie,

Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Deutschland) und der Durchflusszytometrie in weitere T-Zellpopulationen unterteilt werden. Die gewonnenen CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen wurden dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch und dem Suppression Assay zugeführt. Bei dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch wurden die Zellen für 3 Tage kultiviert und polarisiert (unstimulierte Kontrolle, IL-1 $\beta$ , anti-IL1 $\beta$ , RI) und deren Zytokinproduktion sowie deren Phänotyp vor (Prästimulationsanalyse) und nach (Poststimulationsanalyse) den Kulturbedingungen anhand der Durchflusszytometrie analysiert (HD n=5, JIA n=5, RA n=5). Schließlich konnten mit Unterstützung von ELISAs einzelne Zytokinkonzentrationen (IL-17, IL-10, IFN- $\gamma$ ) aus den gesammelten Überständen der IL-1 $\beta$  3 Tage Kulturen und aus den gewonnenen Serumproben gesondert gemessen werden (HD n=2, JIA n=3, RA n=3). Die Funktionalität der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen wurde durch Suppression Assays überprüft (HD n=5, JIA n=5, RA n=5). Suppression Assays wurden vor den Kulturbedingungen (unstimulierte Kontrolle, IL-1 $\beta$ , anti-IL1 $\beta$ , RI) und nach den Kulturbedingungen angefertigt.

Abbildung 2 verbildlicht den Versuchsablauf zur besseren Übersichtlichkeit.

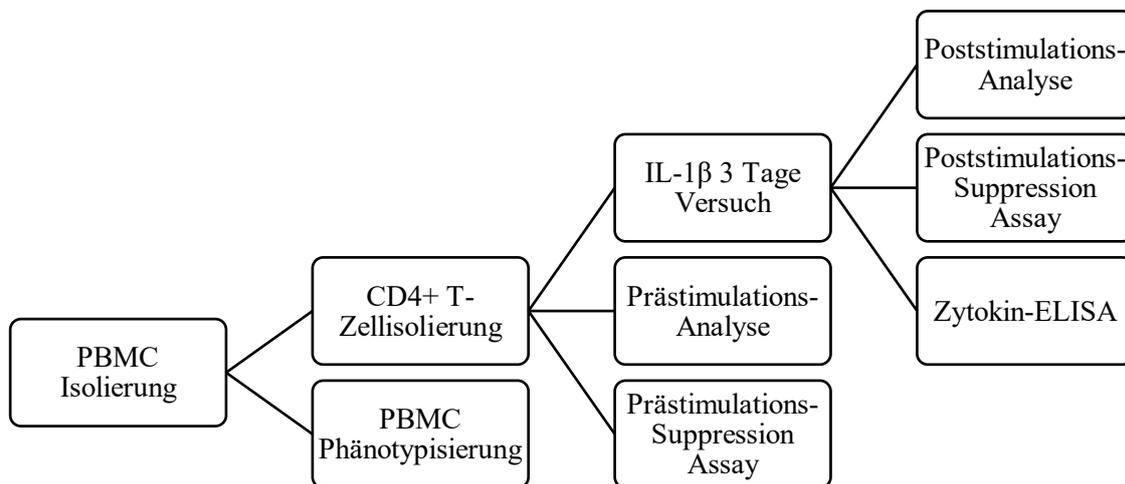


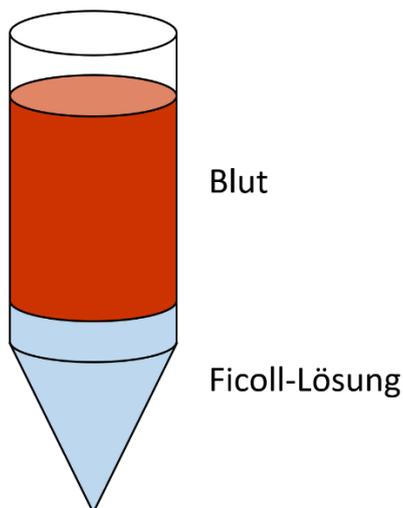
Abbildung 2 Versuchsablauf

## 2.2.1 PBMC Isolierung

### 2.2.1.1 Dichtegradientenzentrifugation

Um die mononukleären Zellen des peripheren Blutes aus den gesammelten, venösen Blutproben zu gewinnen, wurde die Dichtegradientenzentrifugation mit einem Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer (Ficoll-Lösung) verwendet. Hierbei werden Makromoleküle und Zellbestandteile in einer Ultrazentrifuge anhand ihrer Dichte oder ihrer Sedimentationsgeschwindigkeit sortiert, wobei die Ficoll-Lösung als Trennmedium dient.[127] Zu erwarten wäre, dass schwerere Makromoleküle, wie Erythrozyten und Granulozyten, idealerweise ein Zellpellet unterhalb der Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer Schicht bilden und Lymphozyten mit ähnlich hoher Dichte, wie die der Trennschicht, dieser als Ring direkt aufliegen.[127] Oberhalb des Lymphozytenringes würden sich dann das Plasma und die Thrombozyten anschließen, sodass sich wie in Abbildung 3 dargestellt von unten nach oben aufgelistet folgende sichtbare Schichten ergeben: Erythrozyten und Granulozyten idealerweise als Pellet, die Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer Schicht, der Lymphozytenring und das Plasma inklusive Thrombozyten.[127, 128]

Vor Zentrifugation



Nach Zentrifugation

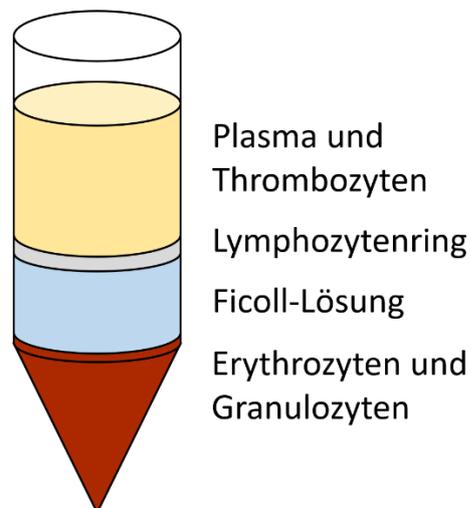


Abbildung 3 Ficoll-Schichtung vor und nach dem Zentrifugationsschritt

Zur Durchführung wurden in zwei 50 ml Falcon Röhrchen 15 ml Ficoll vorgelegt und diese vorsichtig mit 30 ml Blut überschichtet. Danach wurden die beschichteten Röhrchen

zentrifugiert (25 min, RT, 1700 rpm ohne Bremse). Weiter wurde der Lymphozytenring geerntet, in ein weiteres 50 ml Falcon Röhrchen transferiert und mit 0,9% Natriumchlorid-Lösung aufgefüllt. Es folgte ein weiterer Zentrifugationsschritt (10 min, RT, 1700 rpm). Der Überstand wurde abgesaugt, das Zellpellet mit 5 ml Erythrozyten-Lyse-Puffer resuspendiert und die Lösung für 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Im Anschluss daran wurde die Reaktion mit 10 ml Nährmedium (RPMI 10% FCS 1% PenStrep) gestoppt, die Zellsuspension gewaschen (Zentrifugation für 5 min, bei RT, mit 1500rpm und danach Absaugung des Überstandes) und das Pellet wiederum in 5 ml Nährmedium aufgenommen.

### **2.2.1.2 Zellzählung anhand der Neubauer-Zählkammer**

Die Neubauer-Zählkammer ist ein einfaches Hilfsmittel um lichtmikroskopisch die Zellzahl in einer Zellsuspension bestimmen zu können. In diesem Fall diente das Verfahren zur Zählung der Lymphozyten. Hierfür wurden 10 µl dieser Suspension mit 90 µl Trypanblau, ein Farbstoff, der von Zellen mit einer intakten Zellmembran nicht aufgenommen wird und somit ein Marker für die Zellviabilität darstellt, in einem Mikroreaktionsgefäß vermengt, diese Mischung anschließend auf die Zählkammer aufgetragen und das Ergebnis ausgewertet.[129]

### **2.2.1.3 Kryokonservierung**

Damit Zellen und Gewebe in einem möglichst vitalen Zustand längerfristig gelagert werden können, bietet es sich an, diese in flüssigem Stickstoff zu verwahren.[130]

Um zu diesem Punkt zu gelangen, wurden die PBMCs nach der Zellzählung erneut gewaschen und danach  $5-7 \times 10^6$  Zellen pro Kryoröhrchen in 1 ml Einfriermedium (RPMI 10% DMSO 20% FCS) pipettiert. Dabei dient das Dimethylsulfoxid (DMSO) als eine Art Gefrierschutzmittel, welches verhindern soll, dass sich beim Akt des Einfrierens Eiskristalle bilden, die die Zellen zerstören.[131] Dieser Arbeitsschritt sollte möglichst zügig von statten gehen, da DMSO dosisabhängig zelltoxisch ist, sodass längerer Kontakt zu einer Zellreduktion führen könnte.[131] Nachdem die befüllten Kryoröhrchen bei  $-80^\circ\text{C}$  für eine Woche zwischenlagerten, wurden sie danach letztendlich in die Stickstoffkühlung überführt.

#### **2.2.1.4 Serum-Aufbereitung**

Zusätzlich zu den Heparin-Blutentnahmeröhrchen wurde den Studienteilnehmerinnen jeweils ein Serum-Gel-Röhrchen entnommen, dessen Inhalt aufbereitet bei -21° Celsius gelagert wurde. Zur Aufbereitung wurden diese zentrifugiert (5 min, RT, 3000rpm), die obere Flüssigkeitsschicht abpipettiert und in Aufbewahrungsröhrchen transferiert.

#### **2.2.2 CD4+ T-Zellisolierung**

Einen Tag vor Verwendung der PBMCs, wurden diese rasch im Wasserbad bei 37° Celsius aufgetaut und mit 20 ml nicht über 37° Celsius erwärmten Nährmedium gewaschen um das zytotoxische DMSO weitestgehend zu eliminieren. Danach wurde die Zellsuspension über Nacht in 5 ml ebenfalls nicht über 37° Celsius erwärmten X-Vivo im Inkubator bebrütet (37° Celsius, pCO<sub>2</sub> = 5,0). Dieser Schritt führte zu einer Regeneration der PBMCs.

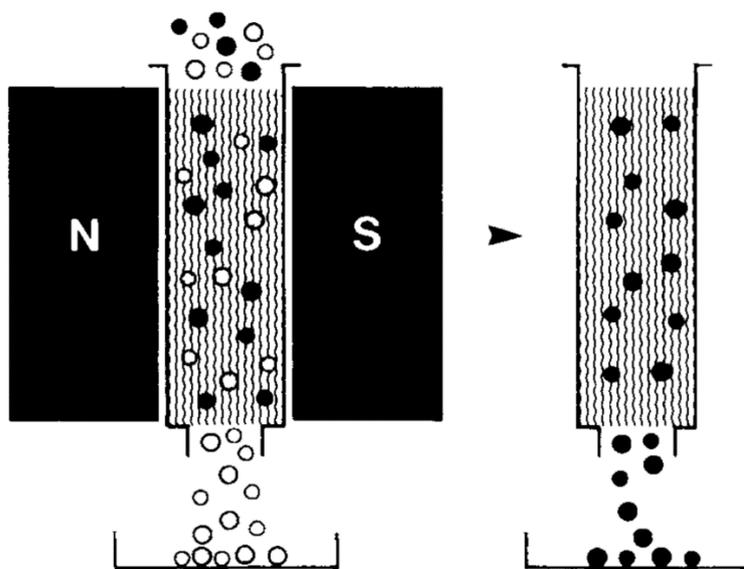
Bevor die PBMCs allerdings am folgenden Tag der magnetischen Zellseparation zugeführt wurden, wurde der Zellsuspension 100 µl Inhalt entnommen, dieser mit 100 µl Nährmedium aufgefüllt und über Nacht in den Brutschrank gegeben. Mit den entnommenen mononukleären Zellen wurde am nächsten Tag die PBMC Phänotypisierung vorgenommen.

##### **2.2.2.1 Magnetische Zellseparation**

Um die CD4+ T-Zellisolierung durchzuführen, wurde das CD4+ T Cell Isolation Kit human® (MACS Technologie, Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Deutschland) unter Verwendung des vom Hersteller beigelegten Protokolls benutzt. Einzig bei der empfohlenen Zeitangabe hinsichtlich des Zentrifugierens wurde von der Beschreibung abgewichen und diese aus Gründen der Praktikabilität verkürzt.

Die magnetische Zellseparation beruht auf der Verwendung von superparamagnetischen Nanopartikeln, die an definierte Oberflächenmoleküle binden und somit die entsprechenden Zellen magnetisch kennzeichnen.[132] Dabei führen sie auf Grund ihrer geringen Größe zu keiner Zellaktivierung beziehungsweise zu keinem Zelluntergang und rufen keine Rezeptorsättigung hervor, sodass die Zellen weiterhin stimulierbar

bleiben.[132] Nach der Markierung durchlaufen die Zellen eine Säule, welche in einem Magneten positioniert und von ferromagnetischen Sphären durchzogen ist und somit einen hohen magnetischen Gradienten aufzubauen vermag.[132] Dieser Gradient hält die magnetisch markierten Zellen in der Säule, wohingegen die unmarkierten Zellen die Säule passieren können (negative Selektion).[132] In diesem Fall wurde, wie in Abbildung 4 illustriert, das Prinzip der unangetasteten Isolation angewendet, das heißt die Zielzellen wurden nicht markiert und konnten während des ersten Durchflusses extrahiert werden.[132]



**Abbildung 4 Veranschaulichung des MACS Trennprinzips mit freundlicher Genehmigung von [132]**  
Die Zellsuspension wird durch magnetische Separation in unmarkierte (weiße) und markierte (schwarze) Zellen aufgeteilt.

Zu Beginn wurden die Zellen zentrifugiert (5 min, RT, 1500rpm), der Überstand abgesaugt und das verbliebene Pellet in 40 µl MACS Puffer je 10<sup>6</sup> Zellen resuspendiert. Desweiteren wurden pro 10<sup>6</sup> Zellen 10 µl CD4<sup>+</sup> T Cell Biotin-Antibody Cocktail (bestehend aus Biotin konjugierten Antikörpern gegen CD8, CD14, CD15, CD16, CD19, CD36, CD56, CD123, TCR $\gamma/\delta$  und CD235a) hinzugefügt um sämtliche Nicht-CD4<sup>+</sup> T-Zellen zu markieren, nämlich CD8<sup>+</sup> T-Zellen, Monozyten, neutrophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten, B-Zellen, dendritische Zellen, NK Zellen,  $\gamma/\delta$  T-Zellen und Erythrozyten. Darauf folgend wurde die Zellsuspension auf einem Vortexer vermengt und es schloss sich eine Inkubationszeit von 5 Minuten bei 4° Celsius an. Nach einem weiteren Waschschrift mit 30 µl MACS Puffer je 10<sup>6</sup> Zellen, wurde das Zellpellet in 20

$\mu\text{l}$  pro  $10^6$  Zellen CD4<sup>+</sup> T Cell MicroBead Cocktail gelöst, zusammengesetzt aus an Nanomagnetpartikel konjugierten monoklonalen anti-Biotin Antikörpern, um die bereits markierten CD4<sup>-</sup> T-Zellen nun zusätzlich magnetisch zu kennzeichnen. Anschließend inkubierten die PBMCs für weitere 10 Minuten bei 4° Celsius und wurden dann der magnetischen Zellseparation zugeführt. Um folgende Schritte zu verwirklichen wurde je nach Verfügbarkeit von dem VarioMacs® beziehungsweise dem QuadroMacs® (MACS Technologie, Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Deutschland) Gebrauch gemacht. Zur Sortierung der Zellen, wurden die LS bzw. die LD Säulen mit 3 ml MACS Puffer vorbereitet, die Zellsuspension appliziert, mit 3 ml MACS Puffer nachgespült und im ersten Durchfluss die unmarkierten CD4<sup>+</sup> Lymphozyten aufgefangen. Um die magnetisierten CD4<sup>-</sup> T-Zellen zu extrahieren, wurden schnell 5 ml MACS Puffer außerhalb des Separators auf die LS bzw. LD Säule transferiert und mit einem Stempel hinunter gedrückt. Auch diese Zellen wurden in einem sterilen Sammelröhrchen zur weiteren Benutzung aufbewahrt.

Zu erwähnen ist, dass sämtliche Reagenzien auf Eis gelagert wurden.

Die CD4<sup>-</sup> Lymphozyten dienen in den folgenden in-vitro Kulturen als Antigen-präsentierende „Feeder“- oder als Effektorzellen.

#### **2.2.2.2 Feederzellen**

Feederzellen bezeichnen dabei Zellen, die durch radioaktive Bestrahlung oder zytotoxische Antibiotika ihre Fähigkeit zur Zellteilung verloren haben und deren Lebenszeit stark verkürzt ist.[133, 134] Daher verunreinigen sie die zu untersuchende Zellpopulation nicht, sezernieren aber benötigte Wachstumsfaktoren und stellen den gewünschten Zellkontakt innerhalb der in-vitro Kultur her, damit die Zielzellen proliferieren und nicht in Apoptose gehen.[133, 134] In diesem Fall wurden die Feederzellen radioaktiv bestrahlt (Strahlendosis 30 Gy, maschinelle Einstellungen: 15 min, 100kV, 17,5mA, Leerfilter), da dieses Verfahren ihre Effektivität weniger einschränkt.[134]

### 2.2.2.3 Effektorzellen

Effektorzellen stellen die proliferierenden Zellen dar und werden unter anderem für Suppression Assays benötigt, anhand derer die Funktionalität der regulatorischen T-Helfer-Zellen bestimmt werden soll.[135] Dabei wird untersucht inwiefern die Tregs in der Lage sind die Proliferation von Effektor T-Zellen zu supprimieren.[135] Um diesen Parameter bestimmen zu können, werden die Effektorzellen mit Carboxyfluorescein Diacetat Succinimidyl Ester (CFDA-SE) in Verbindung gebracht, ein gut membrangängiges Färbemittel, welches in dieser Form aber noch nicht fluoreszierend ist.[136] Intrazellulär angereichert, werden durch Esterasen zwei Acetat-Gruppen entfernt, sodass Carboxyfluorescein Succinimidyl Ester (CFSE) entsteht.[136] Durch den Verlust der Acetat-Gruppen gewinnt das CFSE seine fluoreszierende Eigenschaft.[136] Darüber hinaus ist das entstandene CFSE weit weniger membrangängig, reichert sich folglich im Zytoplasma der Zelle an und bindet über reaktive Seitengruppen an Proteine.[136] Falls die Zelle nicht proliferiert, verbleibt das CFSE für mehrere Tage stabil intrazellulär.[136] Sollte die Zelle jedoch proliferieren, wird der Farbstoff gleichmäßig auf die beiden Tochterzellen aufgeteilt.[136] Dies lässt sich durchflusszytometrisch durch einen Verlust der Fluoreszenzintensität nachweisen.[136] Dabei können bis zu acht Tochtergenerationen nachvollzogen werden, bis das Signal nicht mehr detektierbar ist.[136]

Die CD4- T-Zellen wurden mit Hilfe der Neubauer-Zählkammer gezählt, danach gewaschen und anschließend in 4 ml Nährmedium aufgenommen. Die anschließende Verteilung der Zellsuspension erfolgte nach dem in Abbildung 5 abgebildeten Schema.

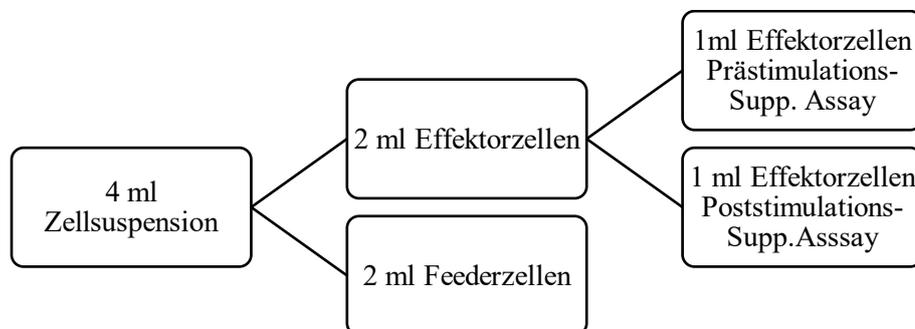


Abbildung 5 Schematisierte Darstellung der CD4- Zellaufteilung

Die Feederzellen wurden auf Eis zu dem Bestrahlungsgerät transportiert und dort einer Strahlendosis von 30 Gy ausgesetzt (maschinelle Einstellungen: 15 min, 100kV, 17,5mA, Leerfilter).

Indessen wurde der eine Teil der Effektorzellen für den sich anschließenden Prästimulations-Suppression Assay gefärbt. Dafür wurden die Zellen erneut gewaschen. Zudem wurde 1 µl CFSE in 2 ml PBS gelöst und die Zellen in 1 ml aus dieser Mischung mit 1 ml 5% FCS/PBS resuspendiert. Danach wurden die Zellen für 5 Minuten, bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubiert. Nach dieser Zeit wurde die Reaktion mit 10 ml RPMI 10% FCS 1% PenStrep gestoppt und es schloss sich ein weiterer Waschschrift an. Anschließend wurden die Zellen in einer angepassten Menge Nährmedium aufgenommen, sodass die Konzentration der für die Kulturansätze gewünschten Konzentration entsprach.

Die verbliebenen Feeder- und die für den Poststimulations-Suppression Assay benötigten Effektorzellen wurden nach der bereits beschriebenen Methode kryokonserviert.

#### **2.2.2.4 Durchflusszytometrie**

Zusammenfassend gesehen waren bis zu dieser Stelle des Protokolls CD4+ Lymphozyten aus den gesamten peripheren mononukleären Zellen isoliert und aus den CD4- T-Zellen Feeder- und Effektorzellen generiert worden. Die schlussendlichen Zielzellen bildeten allerdings die CD4+CD25+CD127- Zellen (regulatorische T-Helfer-Zellen) und die CD4+CD25-CD127- Kontroll-Zellen (nicht-regulatorische T-Helfer-Zellen). Um zu diesen Zellpopulationen zu gelangen, wurden in einem weiteren Arbeitsschritt die CD4+ Lymphozyten mit monoklonalen Antikörpern, die sich gegen spezifische Zellepitope richteten und an welche ein Fluorochrom konjugiert war, markiert. Die gekoppelten Zellen konnten nun mittels des Durchflusszytometers BD FACS Canto II® phänotypisiert und anhand des BD FACS AriaIII® sortiert werden.

Die Durchflusszytometrie stellt ein wichtiges Instrument zur Zellanalyse in der naturwissenschaftlichen Forschung sowie auch in der medizinischen Diagnostik dar.[137, 138] Dabei lassen sich die Partikel anhand ihres Volumens, ihrer Granularität und gegebenenfalls ihrer Fluoreszenzmarkierung unterscheiden.[137, 139, 140] Zu Beginn liegen die zu charakterisierenden Zellen unsortiert in einer Zellsuspension vor. Damit sie

von dem Durchflusszytometer analysiert werden können, werden diese innerhalb des Gerätes in eine Durchflussmesszelle eingesaugt, sodass sie in der Folge als Einzelzellsuspension, eingeschlossen in einem Hüllstrom, vorliegen.[137, 140] In dieser fokussierten Form kann die Probe exakt und schnell untersucht werden. Die einzelnen Zellen werden danach bei ihrer Passage durch die Durchflussmesszelle von einem oder mehreren Laserstrahlen angeregt.[137, 140] Daraufhin werden deren Lichtstreuung, sowie bei vorheriger Färbung, die Fluoreszenzemission der an Antikörper gekoppelten Fluorophore mithilfe von Detektoren gemessen.[140] Bei erstem handelt es sich um das Phänomen, dass die mit dem Laserstrahl abgetasteten Zellen eine Art Streulicht emittieren.[137, 140] Das Volumen der Zelle wird dabei durch die Beugung des Lichts von dem Vorwärtsstreulicht (Forward Scatter: FSC) determiniert.[137, 139, 140] Komplementierend dazu bildet die Brechung des Lichts im rechten Winkel das Seitwärtsstreulicht (Side Scatter: SSC), welches Auskunft über die Granularität der Zellen gibt und sich unter anderem von der Anzahl intrazellulärer Vesikel oder der Größe und Struktur des Nucleus ableitet.[137, 140] Bei zweitem können durch zusätzliche Fluoreszenzfärbungen weitere spezifische Oberflächenmoleküle, intrazelluläre Zytokine oder die Zellviabilität analysiert werden.[140] Hierbei werden die an den Antikörper gekoppelten Fluorochrome bei der Passage durch die Durchflusszelle von einem Laserstrahl angeregt und das emittierte Fluoreszenzlicht einer bestimmten Wellenlänge gemessen.[140] Dieser Vorgang entspricht einem sogenannten Ereignis („Event“). Die erfassten Ereignisse werden schließlich mithilfe einer Software in Form von Dot Plots (Punktauftragungen) wiedergegeben und lassen sich so auswerten.[140] In unserem Fall wurde die BD FACSDiva Software verwendet. Abbildung 6 fasst die oben getroffenen Aussagen bildlich zusammen.

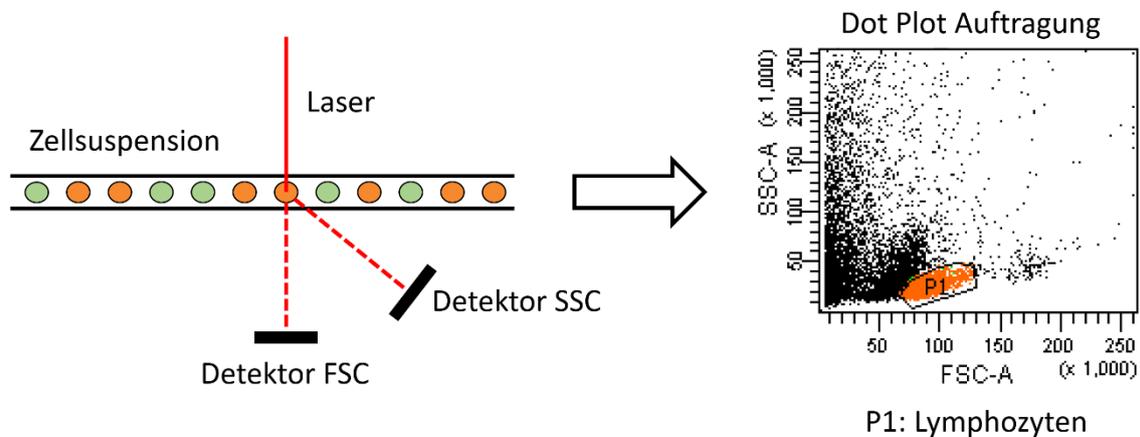


Abbildung 6 Verfahrensweise einer FACS Untersuchung mit anschließender Dot Plot Auftragung

### 2.2.2.5 FACS (= Fluorescence Activated Cell Sorting)

Bei der zuvor beschriebenen Methode werden die Zellen analysiert, stehen danach aber nicht mehr für Versuche zur Verfügung. Im nächsten Schritt der Experimente war es aber von großer Wichtigkeit, dass die Zellen weiterhin eingesetzt werden konnten und darüber hinaus zusätzlich sortiert wurden. Zu diesem Zweck fand das BD FACS Aria III® Gerät Verwendung. Es separiert jede einzelne Zelle in dem Einzelzellstrom zusätzlich als einen kleinen Tropfen.[141] Dieser wird daraufhin elektrisch polarisiert und eine Umlenkplatte vermag anhand der elektrischen Ladung jeweils gleiche Zellpopulationen zu sortieren und in Sammelröhrchen aufzufangen.[141, 142]

Die eluierten CD4<sup>+</sup> T-Zellen wurden nach dem zuvor beschriebenen MACS®-Trennverfahren direkt gewaschen und das Zellpellet in einem Mastermix bestehend aus 100 µl MACS Puffer, sowie je 2 µl Anti-CD25 PE-CY7 und 2 µl Anti-CD127 BV421 Farbstoff resuspendiert. Im Anschluss daran wurde die Suspension auf dem Vortexer vermengt und für 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Nach der Inkubation wurden die gefärbten Zellen mit 1 ml MACS Puffer gewaschen und in 1 ml, aufgrund der geringen Zellausbeute im Verlauf der Experimente nur noch in 0,5 ml, Nährmedium transferiert. Neben dem Falcon Röhrchen mit den CD4<sup>+</sup> T-Zellen, wurden pro Blutprobe zwei weitere Falcon Röhrchen benötigt, welche jeweils mit 0,7 ml Nährmedium befüllt und mit den Aufschriften CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup> beziehungsweise

CD4+CD25-CD127- etikettiert wurden. Letztlich wurden die Zellen unter Benutzung des BD FACS AriaIII® in die T-Zellsubpopulationen CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- sortiert und indessen gezählt. Direkt im Anschluss wurde die Reinheit der beiden Untergruppen bestimmt, wobei sich diese bei den Zellen, die dem IL-1 $\beta$  3 Tage Kulturversuch zugeführt wurden, bei  $\geq 97,8\%$  befand.

### 2.2.3 In-vitro Kulturen

#### 2.2.3.1 IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch

Der „IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch“ stellte die Methode der Wahl dar, anhand welcher der Effekt von den zu untersuchenden Stimuli auf die Ziel- und Kontrollzellen ermittelt werden sollte. Dabei wurden zu Beginn die isolierten CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen in 250  $\mu$ l Nährmedium aufgenommen und diese entsprechend Abbildung 7 aufgeteilt.

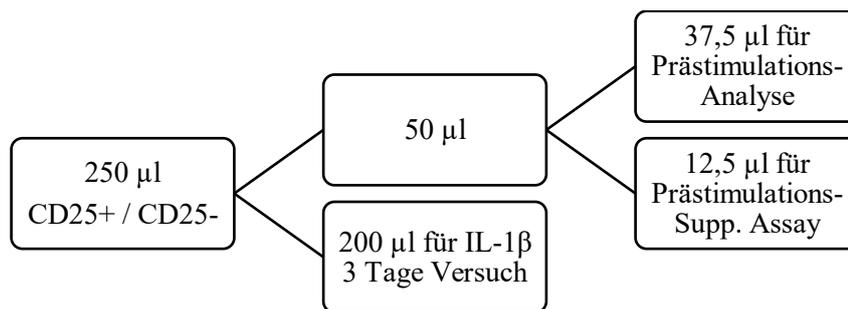


Abbildung 7 Schema der Zellaufteilung

Für diesen Versuchsaufbau wurden die Zellen in die entsprechenden Wells einer 96-Well-U-Bottom Platte transferiert und für 3 Tage in einem Inkubator kultiviert. In jede okkupierte Vertiefung der Mikrotiterplatte wurden zudem im Verhältnis 5:1 Feederzellen hinzugefügt. Des Weiteren bedurften die T-Zellen zur Differenzierung und Expansion einer Co-Aktivierung ihrer CD3- und CD28-Rezeptoren.[143] Um dies zu erreichen wurde ein Stimulations-Cocktail bestehend aus Nährmedium mit löslichen Antikörpern gegen diese Zielantigene in der Konzentration von 0,5  $\mu$ g/ml präpariert. Darüber hinaus wurden darin die Zytokine IL-2 (10 ng/ml) und TGF- $\beta$  (50 ng/ml) gelöst, damit die vorhandenen Tregs in ihrer Funktion stabilisiert und weitere regulatorische T-Helfer-

Zellen aus dem Pool der naiven T-Zellen induziert werden konnten.[144-147] Um schließlich den Effekt der zu untersuchenden Stimuli aufdecken zu können, wurden die Ziel- und Kontrollzellen in vier Gruppen eingeteilt und jeweils nicht spezifisch oder mit IL-1 $\beta$  (20 ng/ml), einem löslichen IL-1 $\beta$  Antikörper (10  $\mu$ g/ml) beziehungsweise einem anti-IL-1RI (125 ng/ml) gegen den IL-1 Rezeptor I stimuliert. Tabelle 12 zeigt schematisch den Versuchsaufbau.

**Tabelle 12 Darstellung der Inhalte der einzelnen Vertiefungen der Mikrotiterplatte.**

Die CD4+CD25+CD127- bzw. CD4+CD25-CD127- Zellen sowie die Feederzellen werden als Zellzahl angegeben. Die Zellzahl variiert in dem angegebenen Bereich. Die CD4+CD25+CD127- bzw. CD4+CD25-CD127- Zellen und die Feederzellen stehen im Verhältnis 5:1. Der unstimulierten Kontrolle wurden 50  $\mu$ l Nährmedium hinzugegeben, IL-1 $\beta$  (20 ng/ml), anti-IL-1 $\beta$  (10  $\mu$ g/ml) und anti-IL-1RI (125 ng/ml) wurden als 50  $\mu$ l pipettiert. Jede Vertiefung wurde zudem mit dem Stimulations-Cocktail bestehend aus anti-CD3/CD28 (0,5  $\mu$ g/ml), IL-2 (10 ng/ml) und TGF- $\beta$  (50 ng/ml) stimuliert.

	<b>Unstimuliert</b>	<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>anti-IL-1<math>\beta</math></b>	<b>RI</b>
<b>CD4+CD25+CD127- / CD4+CD25-CD127-</b>	20.000 - 200.000	20.000 - 200.000	20.000 - 200.000	20.000 - 200.000
<b>Feederzellen</b>	4.000 - 40.000	4.000 - 40.000	4.000 - 40.000	4.000 - 40.000
<b>Nährmedium</b>	50 $\mu$ l			
<b>IL-1<math>\beta</math></b>		20 ng/ml		
<b>anti-IL-1<math>\beta</math></b>			10 $\mu$ g/ml	
<b>anti-IL-1RI</b>				125 ng/ml

} **Ratio 5:1**

Nach der Inkubationszeit wurde die Mikrotiterplatte zentrifugiert (5 min, RT, 1500rpm), der Zellkulturüberstand abgenommen und bei -21° Celsius bis zur Durchführung der ELISAs eingefroren. Das verbliebene Zellpellet wurde in 160  $\mu$ l Nährmedium resuspendiert. Hieraus wurden 40  $\mu$ l für den Poststimulations-Suppression Assay reserviert und die restlichen 120  $\mu$ l Zellsuspension mit 80  $\mu$ l Nährmedium auf ein Zielvolumen von 200  $\mu$ l aufgefüllt. Dieser Ansatz wurde im Anschluss stimuliert und der Post-Stimulus Analyse zugeführt.

## 2.2.4 Suppression Assay

Anhand der Kernkompetenz regulatorischer T-Helfer-Zellen Effektorzellen supprimieren zu können, wird mittels Suppression Assay über ein valides Messinstrument verfügt, welches die Funktionalität der Tregs quantifizieren kann.[148, 149]

### 2.2.4.1 Prästimulations-Suppression Assay

Um die Funktionalität der ursprünglich vorkommenden, regulatorischen T-Helfer-Zellen bei den HD, den JIA- und den RA-Patientinnen einschätzen und etwaige Unterschiede aufzeigen zu können, wurde ein Versuchsansatz mit den extrahierten CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen direkt nach der Isolierung angelegt. Dazu wurden die Tregs alternativ die Kontrollzellen im Verhältnis 1:1 mit Effektorzellen und 3:1 mit Feederzellen in Kultur gegeben. Zwecks einer Stimulierung der Tregs, wurde auch an dieser Stelle mit anti-CD3/CD28 (je 0,5 µg/ml) stimuliert. Da dies den aktuellen Zustand der regulatorischen T-Helfer-Zellen ohne Intervention widerspiegeln sollte, wurde auf jede weitere Stimulierung verzichtet und die Wells der Mikrotiterplatte bis zu dem Zielvolumen von 200 µl mit RPMI 10% FCS 1% PenStrep aufgefüllt. Als Negativkontrolle wurde ein weiterer Kulturansatz präpariert, der keine CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen aufwies, ansonsten aber identisch war. Tabelle 13 stellt diesbezüglich eine Zusammenschau dar.

**Tabelle 13** Übersichtsdarstellung des Prästimulations-Suppression Assay.

Die CD4+CD25+CD127- bzw. CD4+CD25-CD127- Zellen, die Effektorzellen sowie die Feederzellen werden als Zellzahl angegeben. Die Zellzahl variiert in dem angegebenen Bereich. Die CD4+CD25+CD127- bzw. CD4+CD25-CD127- Zellen und die Effektorzellen stehen im Verhältnis 1:1 oder 0:1. Die Effektorzellen und die Feederzellen stehen im Verhältnis 3:1. Jede Vertiefung wurde zudem mit anti-CD3/CD28 (0,5 µg/ml) stimuliert.

<b>Ratio 3:1</b>					
<b>CD4+CD25+CD127- / CD4+CD25-CD127-</b>	<b>Effektorzellen</b>	<b>Feederzellen</b>	<b>Stimulations- Cocktail</b>	<b>Nährmedium</b>	<b>Ratio Ziel- zu Effektorzellen</b>
10.000 - 50.000	10.000 - 50.000	3.333 - 16.666	40 µl	40 µl	1:1
0	10.000 - 50.000	3.333 - 16.666	40 µl	80 µl	0:1

Der Stimulationscocktail bestand dabei aus den in Abschnitt 2.2.3.1 gezeigten Antikörpern und Zytokinen. Die befüllte 96-Well-U-Bottom Platte wurde für 4 Tage in einem Brutschrank bei 37°C, 95% Luftfeuchte und 5% CO<sub>a</sub> inkubiert.

#### **2.2.4.2 Poststimulations-Suppression Assay**

Für den Poststimulations-Suppression Assay wurden die aus dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch extrahierten Zellen geordnet nach Zelltypus und Stimulus in die entsprechenden Vertiefungen einer 96-Well-U-Bottom Mikrotiterplatte transferiert und deckungsgleich zu dem Prästimulations-Suppression Assay mit Feederzellen, Effektorzellen und löslichen Antikörpern gegen die CD3- und CD28-Rezeptoren in der Konzentration 0,5  $\mu$ g/ml hinzugegeben. Die Feeder- und Effektorzellen mussten, bevor sie Benutzung fanden, zuerst aufgetaut und die Effektorzellen gemäß dem oben beschriebenen CFSE-Färbeprotokoll mit CFSE markiert werden. Desweiteren wurden die CD4+CD25+CD127- und die CD4+CD25-CD127- Zellen in gleicher Weise zu dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch entweder nicht spezifisch oder mit IL-1 $\beta$  (20 ng/ml), einem löslichen IL-1 $\beta$  Antikörper (10  $\mu$ g/ml) beziehungsweise einem anti-IL-1RI (125 ng/ml) stimuliert. Schließlich wurden die Wells bis auf ein Zielvolumen von 200  $\mu$ l mit Nährmedium aufgefüllt. Danach wurde der Versuchsansatz für 4 Tage in einem Inkubator kultiviert. Analog zu dem Prästimulations-Suppression Assay wurde auch in dieser in-vitro Kultur eine Negativkontrolle angefertigt. Die CD4+CD25+CD127- und die CD4+CD25-CD127- Zellen befanden sich in der vorherigen IL-1 $\beta$  3 Tage Kultur für 3 Tage in der Präsenz von den Stimuli IL-2 und TGF- $\beta$ . Mit Hilfe dieses Ansatzes wurde die Qualität der iTregs bestimmt, sowie der Einfluss von IL-1 $\beta$  beziehungsweise von der Antagonisierung von IL-1 $\beta$  bzw. seines Rezeptors untersucht. Die Prästimulations- sowie die Poststimulations-Suppression Assays wurden mittels der Durchflusszytometrie unter Benutzung des BD FACS Canto II® (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) gemessen. Die Auswertung erfolgte anhand der BD FACSDiva Software.

#### **2.2.5 Prä- und Poststimulus Analyse**

Analysiert wurden der Phänotyp der anfangs isolierten PBMCs und die CD4+CD25+CD127- und die CD4+CD25-CD127- Zellen jeweils vor und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch.

### **2.2.5.1 Stimulierung mit Brefeldin A (BFA), Phorbol-12-Myristat-13-Acetat (PMA) und Ionomycin**

Um eine Zytokinproduktion und eine T-Zelldifferenzierung zu induzieren, wurden die Wells der Mikrotiterplatte mit den unspezifischen T-Zellaktivatoren PMA (30 ng/ml) und Ionomycin (1 µg/ml) versetzt.[150, 151] PMA regt dabei die zelluläre Proteinkinase C an, welche über sekundäre Botenstoffe vielfache Zell-Aktivierungssignalwege forciert.[150] Ionomycin stellt ein Calcium-Ionophor dar und erhöht durch Anhebung der Membranpermeabilität für Calcium-Ionen deren intrazelluläre Konzentration.[151] Dies wiederum stimuliert Calcium-Calmodulin-abhängige Proteinkinasen.[151] Darüber hinaus vermag Ionomycin zusätzlich selbst die zelleigene Proteinkinase C zu aktivieren und begünstigt die Hydrolyse von Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP<sub>3</sub> Signaltransduktion).[151] Somit wirken PMA und Ionomycin synergistisch.[151] Damit die durch die Stimulation vermehrt gebildeten Zytokine und Transkriptionsfaktoren in der Zelle verbleiben um mittels Durchflusszytometrie analysiert werden zu können, wurden die Zellen zudem BFA in der Konzentration von 5 µg/ml ausgesetzt. Dabei verhindert BFA den anterograden Vesikeltransport vom Endoplasmatischen Retikulum hin zum Golgi-Apparat, gleichzeitig induziert es den retrograden Transport, was letztlich zu einem Zusammenbruch des Golgi-Apparates führt.[152] Als Konsequenz führt dies zu einer Hemmung der Zytokinsekretion und zu einer Akkumulation der produzierten Proteine im Zytoplasma.[152]

Die stimulierten Zellkulturen wurden für 3 Stunden in einem Inkubator inkubiert. Damit ein Zielvolumen von 200 µl erreicht wurde, wurden die Wells mit der entsprechenden Menge Nährmedium aufgefüllt. Nach der Kultivierung wurden die Zellen gemäß Tabelle 14 in die jeweiligen FACS Röhren aufgeteilt. Diese wurden anschließend mit 1 ml PBS Puffer gewaschen.

**Tabelle 14 Schema der Zellaufteilung für die PBMC-Phänotypisierung und die Prä- und Poststimulus Analyse**  
**PBMC Farbpanel** = CD25 PE-CY7, CD127 BV421, CD4 FITC, CD8 APCH7, CCR6 APC, CD103 PE, FoxP3  
**PerCP-CY 5.5 Farbpanel 1** = CD25 PE-CY7, CD127 BV421, CCR6 PE, FoxP3 PerCP-CY 5.5, IL-10 APC, IL-17  
**Alexa Fluor 700 Farbpanel 2** = CD 25 PE-CY7, CD127 BV421, CCR6 APC, CD62L APC-CY7, IL-1R PE, FoxP3  
**PerCP-CY 5.5, Ki67 FITC**

<b>Art der Zellen</b>	<b>Zellaufteilung</b>
200 µl PBMCs	50 µl ungefärbte Kontrolle
	150 µl PBMC Farbpanel
200 µl CD4+CD25+CD127-	66 µl Farbpanel 1
	66 µl Farbpanel 2
	66 µl Annexin V / 7-AAD Farbpanel
200 µl CD4+CD25-CD127-	40 µl ungefärbte Kontrolle
	50 µl Farbpanel 1
	50 µl Farbpanel 2
	50 µl Annexin V / 7-AAD Farbpanel

### 2.2.5.2 Zellviabilitätsfärbung

Die folgenden Angaben beziehen sich mit Ausnahme der Negativkontrollen, die während des gesamten Prozesses ungefärbt blieben und der Annexin V / 7-AAD-Färbung, welche an späterer Stelle gesondert erläutert wird, auf alle Proben.

Als nächster Schritt folgte die Viabilitätsfärbung anhand des Zombie Green™ Fixable Viability Kits (Biolegend). Dieser fluoreszierende Farbstoff kann vitale Zellen mit einer intakten Zellmembran nicht passieren, wohingegen er bei avitalen Zellen infolge derer beschädigten Zellmembran in das Zytoplasma zu gelangen vermag um dort intrazelluläre Strukturen zu markieren.[153] Somit können sich bei der späteren FACS Analyse vitale von avitalen Zellen unterscheiden lassen und die Auswertung kann ausschließlich unter Berücksichtigung der lebendigen Zellen vorgenommen werden.

Zu Beginn erfolgte die Präparation des Kits gemäß den Angaben des Herstellers. Im Anschluss wurde 1 µl des vorbereiteten Zombie Green™ Farbstoffes mit 499 µl PBS Puffer verdünnt. Aus dieser Dilution wurden 50 µl mit den zuvor in 1 ml PBS Puffer

gewaschenen Zellen vermengt. Danach folgte ein Inkubationsschritt (15 min, bei RT, in Dunkelheit).

### 2.2.5.3 Extrazelluläre Fluoreszenzfärbung

Während der Inkubation erfolgte die Herstellung der Farbpanels für die extrazelluläre Fluoreszenzfärbung. Wie bereits in 2.2.2.4. erörtert, handelt es sich dabei um an Fluorochrom gekoppelte IgG-Antikörper gegen spezifische Oberflächenmarker. Zur Generierung des entsprechenden Farbpanels wurde gemäß Tabelle 15 der jeweilige Antikörper-Fluoreszenzfarbstoff-Komplex mit 50 µl PBS Puffer vermischt. Dabei wurde die folgende Menge gewählt: 0,3 µl CD25 PE-CY7, 0,3 µl CD127 BV421, 0,3 µl CD4 FITC, 0,3 µl CD8 APCH7, 0,3 µl CCR6 APC, 0,3 µl CCR6 PE, 0,5 µl CD103 PE, 0,3 µl CD62L APC-CY7 und 1 µl IL-1R PE. Im Anschluss wurde die korrespondierende Zellsuspension darin aufgenommen, mittels Vortexer vermengt und für 20 Minuten, bei Raumtemperatur, im Dunkeln inkubiert.

**Tabelle 15** Schematische Darstellung des Farbpanels für die extrazelluläre Fluoreszenzfärbung pro FACS-Röhrchen

<b>PBMC Farbpanel</b>	<b>Farbpanel 1</b>	<b>Farbpanel 2</b>
CD25 PE-CY7	CD25 PE-CY7	CD25 PE-CY7
CD127 BV421	CD127 BV421	CD127 BV421
CD4 FITC	CCR6 PE	CCR6 APC
CD8 APCH7		CD62L APC-CY7
CCR6 APC		IL-1 RI PE
CD103 PE		

### 2.2.5.4 Intrazelluläre Fluoreszenzfärbung

Anschließend wurden die Zellen gewaschen und jedes Röhrchen mit 200 µl Fixation Puffer versetzt. Dieser Reagenz kommt hierbei die Aufgabe zu, die Zellen, deren Zellmembran im nächsten Schritt für die intrazelluläre Färbung permeabilisiert wird, zu stabilisieren.[154] Die Röhrchen wurden erneut mit dem Vortexer durchmischt und analog zu den Inkubationsbedingungen in 2.2.5.3 inkubiert. Hieran schloss sich ein Waschschritt mit 1 ml Permeabilisierung-Puffer an, der wie bereits erwähnt die

Zellmembran perforiert, damit die intrazellulär verbliebenen Zytokine und Transkriptionsfaktoren markiert werden können.[155] Um diese anzufärben, wurden pro Röhrchen 1 µl intrazelluläres Antikörper-Fluorochrom-Konjugat mit 50 µl Permeabilisierung-Puffer suspendiert und die Zellen mit der jeweilig hergestellten Lösung vermengt. Für die folgende intrazelluläre Färbung fand das in Tabelle 16 aufgelistete Farbpanel Verwendung.

**Tabelle 16 Schematische Darstellung des Farbpanels für die intrazelluläre Fluoreszenzfärbung pro FACS-Röhrchen**

<b>PBMC Farbpanel</b>	<b>Farbpanel 1</b>	<b>Farbpanel 2</b>
FoxP3 PerCP-CY 5.5	FoxP3 PerCP-CY 5.5 IL-10 APC IL-17 Alexa Fluor700	FoxP3 PerCP-CY 5.5 Ki67 FITC

Die Suspensionen wurden erneut, wie in 2.2.5.3 beschrieben, inkubiert und danach mit 1 ml Permeabilisierungs-Puffer gewaschen. Zuletzt wurden die Zellen in 100 µl FACS-Puffer aufgenommen und bis zur durchflusszytometrischen Analyse bei 4° Celsius aufbewahrt.

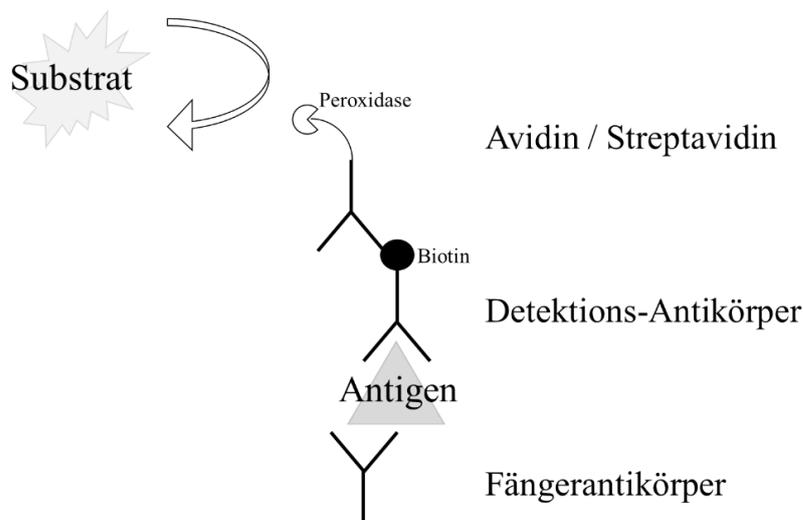
### **2.2.5.5 Apoptosedetektion mittels Annexin V- und 7-AAD-Färbung**

Zur Untersuchung der Zellviabilität und gegebenenfalls der provozierten Unterschiede durch die einzelnen Kulturbedingungen, wurde dieses Färbeprotokoll verwendet. Dabei spielen die in der Überschrift erwähnten Marker eine wichtige Rolle um zwischen einer beginnenden Apoptose, einer fortgeschrittenen Apoptose oder einer Zellnekrose zu differenzieren.[156] Annexin V bindet an Phosphatidylserin, einem Bestandteil der Zellmembran, der sich bei vitalen Zellen ausschließlich intrazellulär befindet.[156] Folglich werden lebendige Zellen nicht angefärbt, Zellen, die sich in der frühen Apoptose befinden und bei denen die Asymmetrie der Zellmembran nicht mehr aufrecht erhalten werden kann, werden hingegen markiert.[156] Bei weiter fortgeschrittener Apoptose oder bei der Zellnekrose kann zusätzlich der DNA-Interkalator 7-AAD (7-Aminoactinomycin) intrazellulär binden und die betroffenen Zellen akzentuieren.[156]

Nach dem Waschen der FACS Röhrrchen mit 1 ml PBS Puffer, wurde das Zellpellet in 100 µl Annexin V Binding Buffer suspendiert. Im Anschluss wurden 0,5 µl Annexin V FITC und 0,5 µl 7-AAD Staining Solution hinzugegeben. Darauf folgend wurden die Zellen für 15 Minuten, bei Raumtemperatur, in Dunkelheit inkubiert und erneut in 150 µl Annexin V Binding Buffer suspendiert. Bis zur Untersuchung mit Hilfe des FACS Canto II ® verblieben die Zellen bei 4° Celsius.

### 2.2.6 Sandwich-ELISA: quantitativer Nachweis von IL-10, IL-17 und INF-γ

Das in 2.2.2.4 beschriebene Verfahren ist förderlich um die Zytokinproduktion einzelner Zellpopulationen charakterisieren zu können. Um in Kulturüberständen die gesamte Zytokinproduktion zu quantifizieren, stellen ELISAs (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) die vorrangige Methode dar.[157] Abbildung 8 erläutert die Funktionsweise eines Sandwich-ELISAs.



**Abbildung 8** Schematische Darstellung des Testprinzips eines Sandwich-ELISAs (eigene Abbildung angelehnt an [158]).

Das zu untersuchende Antigen wird zwischen zwei Antikörpern fixiert, wobei an den Detektions-Antikörper Biotin gekoppelt ist. Daran bindet ein Avidin-HRP Komplex. Die Peroxidase bewirkt nach Substratzugabe einen Farbumschlag, wobei sich die enzymatische Aktivität proportional zu der Menge des gebundenen Zielmoleküls verhält.

#### 2.2.6.1 Humanes IFN-γ Sandwich-ELISA

Einen Tag vor Durchführung des IFN-γ Sandwich-ELISAs wurde eine 96-Well Mikrotiterplatte mit einem Fängerantikörper gegen IFN-γ beschichtet, welcher zu diesem

Zweck 1:200 mit einem Coating Puffer diluiert werden musste. Aus dieser Verdünnung wurden 100 µl in jedes Well der Mikrotiterplatte hinzugefügt und diese hieran über Nacht bei 4° Celsius gelagert. Zum Schutz des geringen Volumens vor Verdunstung, wurden die Wells mit einer Zellophanfolie abgedichtet. Am darauffolgenden Tag wurden alle Reagenzien, einschließlich der Zellkulturüberstände und der Serumproben, auf Raumtemperatur gebracht und die Mikrotiterplatte gewaschen. Der Waschschrift beinhaltete ein Verwerfen des Platteninhaltes, ein 4-maliges Reinigen der Vertiefungen mit jeweils 200 µl Wasch-Puffer, wobei dieser hierbei für 10-20 Sekunden in den Wells verbleiben sollte und ein abschließendes festes Ausklopfen der ELISA-Platte zur restlosen Wasch-Puffer Entfernung. Zwecks Vermeidung eines hohen Hintergrundsignals durch unspezifisch und nicht intendierte Antigen-Antikörper-Bindung, wurde im Anschluss jedes Well durch Hinzufügen von 200 µl Assay-Verdünnungsmittel zusätzlich geblockt und danach für 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Indessen wurde eine doppelt angelegte IFN- $\gamma$  Standardverdünnungsreihe angefertigt, anhand derer im Rahmend der Auswertung die Standardkurve generiert werden konnte. Dafür wurde die IFN- $\gamma$  Stammlösung (42,5 ng/ml) durch Zugabe des Assay-Verdünnungsmittels von 500 pg/ml sukzessive auf 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,3 pg/ml, 15,6 pg/ml und 7,8 pg/ml diluiert. Als Blindwert diente das Assay-Verdünnungsmittel in Reinform (0 pg/ml). Nach der Inkubation wurde die Mikrotiterplatte gemäß der vorherigen Beschreibung erneut gewaschen und 50 µl von den präparierten Standardverdünnungen beziehungsweise 50 µl von der Negativkontrolle in die korrespondierenden Vertiefungen transferiert. Gleichzeitig wurden zusätzlich in die entsprechenden Wells 50 µl von den Serumproben wie auch von den Zellkulturüberständen hinzugefügt. Die Mikrotiterplatte wurde neuerlich abgedeckt und für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Während dieser Zeit konnte das IFN- $\gamma$  Antigen in den Standardverdünnungen und in den Proben mit den in den Wells adsorbierten Fängerantikörpern einen Komplex bilden. Darauf folgend wurde die ELISA-Platte nochmalig gewaschen und der vortitrierte Biotin gekoppelte Detektions-Antikörper 1:200 mit Assay-Verdünnungsmittel diluiert und hieraus 100 µl in die Wells transferiert. Nach einem wiederholten Inkubationsschritt von 1 Stunde bei Raumtemperatur konnte das Biotin-Detektions-Antikörper-Konjugat an ein weiteres Epitop des bereits gekoppelten IFN- $\gamma$  Antigens gebunden werden. Erneut wurde die Mikrotiterplatte

gewaschen und danach mit 100 µl 1:1000 in Assay-Verdünnungsmittel diluiertem Avidin-HRP (HRP = Horseradish Peroxidase) befüllt. In der darauffolgenden Inkubationszeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur wurde das in dem Avidin-HRP enthaltene Avidin hoch-spezifisch von dem Biotin in dem Biotin-Detektions-Antikörper-Komplex fixiert. Zur optimalen Minimierung des Hintergrundsignals wurde die Mikrotiterplatte im Unterschied zu dem oben geschilderten Vorgehen an dieser Stelle 5-malig mit dem Wasch-Puffer gesäubert und dieser für 30-60 Sekunden in den einzelnen Wells belassen. Um das Ausmaß der IFN- $\gamma$  Konzentrationen in den Standardverdünnungen und in den Proben optisch quantifizieren zu können, wurden die Wells jeweils mit 100 µl TMB (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin) Substrat, bestehend aus einer 1:1 Suspension von TMB Substrat Reagenz A und B, versetzt. Die sich in dem Avidin-HRP befindliche HRP katalysierte die Aktivierung des hinzugefügten TMB-Substrates, welches im Zuge dessen ein bläuliches Reaktionsprodukt formte. Dabei entsprach das Ausmaß der umgesetzten Substratmenge der IFN- $\gamma$  Konzentrationen in den einzelnen Vertiefungen. Diese Reaktion benötigte eine Inkubationszeit von 20 Minuten, bei Raumtemperatur, in Dunkelheit und wurde anschließend durch die Zugabe von 100 µl Stopp-Lösung aus den Ready-to use IL10 und IL17A Sandwich-ELISA Kits pro Well antagonisiert. Das in der Lösung vorhandene Dihydrogensulfat induzierte wiederum einen gelben Farbumschlag und signalisierte das Ende des Reaktionsprozesses. Zuletzt wurde direkt im Anschluss unter Verwendung eines Spektrophotometers die Absorption bei einer Wellenlänge von 450 nm (Referenzwellenlänge = 620nm) gemessen.

#### **2.2.6.2 Ready-to use humane IL-10 und IL-17A Sandwich-ELISA**

Die Detektion der IL-10 und der IL-17A Produktion in den Serumproben sowie in den Zellkulturüberständen erfolgte anhand gebrauchsfertiger Kits. Diese beinhalteten eine bereits mit Fängerantikörpern beschichtete ELISA-Platte und vorpräparierte Streptavidin-HRP-, TMB-Substrat- und Stopp-Lösungen. Zur Vorbereitung des Versuches wurden die Pufferkonzentrate auf Raumtemperatur gebracht und nach den beiliegenden Angaben des Herstellers unter Verwendung von destilliertem Wasser die entsprechenden Dilutionen generiert (Wasch-Puffer 1:20, Proben-Puffer 1:20). Ebenso wurden das Biotin-Konjugat und das Streptavidin-HRP gemäß den Angaben des Herstellers mittels Proben-Puffer verdünnt (Biotin-Konjugat 1:100, Streptavidin-HRP

1:100 für den IL-10 ELISA und 1:200 für den IL-17A ELISA). Hierbei musste Beachtung finden, dass diese Lösungen erst kurz vor Benutzung diluiert werden sollten, da der Hersteller 30 Minuten nach Dilution nicht mehr für die Integrität der Lösungen gewährleistet. Zuletzt wurde der IL-10 Standard beziehungsweise der IL-17A Standard rekonstituiert und anschließend die jeweiligen Standardverdünnungen angefertigt und sukzessive mittels Proben-Puffer verdünnt (Standardverdünnung für den IL-10 ELISA 200-100-50-25-12,5-6,3-3,1 (pg/ml), Standardverdünnung für den IL-17A ELISA 100-50-25-12,5-6,3-3,1-1,6 (pg/ml)). Die Standardverdünnung wurde in zweifacher Form angelegt. Als Blindwert diente der Proben-Puffer.

Aufgrund der weitestgehenden Übereinstimmung der Durchführung der IL-10 und IL-17A Sandwich-ELISAs werden im Folgenden die nächsten Schritte für beide ELISAs zusammengefasst.

Die ELISA-Platten wurden zweimalig analog zu 2.2.6.1 mit 200 µl Wasch-Puffer pro Well gewaschen. Im Anschluss wurden 100 µl der Standardverdünnungen in die korrespondierenden Wells transferiert. Danach wurden in die Blindwertvertiefungen 100 µl Proben-Puffer pipettieren (0 pg/ml). Es wurden 50 µl Serumprobe beziehungsweise 50 µl Zellkulturüberstand in die entsprechenden Probenvertiefungen hinzugegeben und mit 50 µl Proben-Puffer suspendiert. In jedes Well gelangten 50 µl diluiertes Biotin-Konjugat. Die ELISA-Platten wurden mit Zellophanfolie abgedichtet und für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Es schloss sich ein erneuter Waschschrift an: 3-maliges Waschen für den IL-10 ELISA bzw. 4-maliges Waschen für den IL-17A ELISA. Nach dem Waschschrift wurden 100 µl präpariertes Streptavidin-HRP in jede Vertiefung transferiert. Jetzt wurden die ELISA-Platten erneut mit Zellophanfolie abgedichtet und für 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubation folgte ein 3-maliges Waschen des IL-10 ELISAs bzw. ein 4-maliges Waschen des IL-17A ELISA. In jedes Well wurden nun 100 µl TMB-Substratlösung hinzugegeben. An dieser Stelle konnte eine Farbentwicklung beobachtet werden und die ELISA-Platten wurden für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Es schloss sich ein rasches Hinzufügen von 100 µl Stopp-Lösung in jede Vertiefung an. Direkt im Anschluss erfolgte die spektrophotometrische Auswertung bei einer primären Wellenlänge von 450 nm (Referenzwellenlänge = 620nm).

### 2.2.7 Statistische Auswertung der Daten

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte anhand der Computersoftware IBM SPSS Statistics, Version 23. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte durch die Promovendin.

Für die deskriptive Statistik wurden jeweils der Mittelwert inklusive Standardabweichung, der Median, der Minimalwert und der Maximalwert ermittelt.

Es wurde der Komolgorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung durchgeführt und bei nicht-parametrischen Verteilungen der Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben und der Wilcoxon-Rank-Test für verbundene Stichproben angewendet. Dabei fand der Rangsummentest nach Mann-Whitney-U Benutzung bei der Analyse nicht verbundener Variablen wie z.B. der Überprüfung nach signifikanten Unterschieden in der Expression von Oberflächenmarkern oder Zytokinen bei den jeweiligen Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. Der Wilcoxon-Test diente zur Auswertung verbundener Variablen und eignete sich z.B. zum statistischen Vergleich der Vorher-Nachher-Untersuchungen. Die primäre Hypothese, dass eine Inhibition von IL-1 $\beta$  zu einer proportionalen Vermehrung von FoxP3<sup>+</sup> Tregs führt wurde konfirmatorisch betrachtet. Alle weiteren sekundären Parameter wurden nicht-konfirmatorisch, explorativ untersucht. Auf eine Korrektur bezüglich einer Adjustierung des Alpha-Fehlers wurde aus diesem Grund für die anderen Parameter verzichtet. Aufgrund der kleinen Fallzahl wurden auf Mehrgruppenvergleiche und Berechnungen von Korrelationen verzichtet.

Wir deklarierten ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  als signifikant und ein Signifikanzniveau von  $p < 0,01$  als hochsignifikant.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 **PBMC Phänotypisierung der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen**

Die Auswertung der ermittelten PBMC FACS-Daten der drei Vergleichsgruppen mit Hilfe des Mann-Whitney-U Tests legt in der prozentualen Zusammensetzung der CD4+ und der CD8+ T-Zellen einige Unterschiede offen. Für eine detaillierte Einsichtnahme sämtlicher untersuchter Daten ist die Tabelle 17 behilflich. Anhand ihrer können signifikante p-Werte durch eine fett markierte Schriftart und eine graue Zellenhinterlegung schnell erblickt werden. Darüber hinaus zeigen die hochgestellten Buchstaben <sup>m</sup> (für HD), <sup>j</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>r</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist. Färbetechnisch bedingt, weichen bei einigen Fällen die Fallzahlen für die PBMC Phänotypisierung bei den RA-Patientinnen ab. Diese sind mit dem folgenden Symbol \* markiert und signalisieren, dass an dieser Stelle die Fallzahl für die RA-Gruppe nicht 6, wie ansonsten, sondern 11 beträgt. Die sich anschließende Ausführung erfolgt aufgeteilt in die drei Vergleichsgruppen.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Bei der Gegenüberstellung der PBMC-Auswertung beider Gruppen wird beobachtet, dass in zwei Fällen PBMC-Subpopulationen der HD signifikant höhere proportionale Anteile besitzen. Zum einen scheinen bei ihnen CD4+CD25+CCR6+ Zellen gehäuft vorzukommen und zum anderen sind CD8+CD25+CD127- Zellen zu größeren proportionalen Anteilen vertreten. Weitere signifikante Abweichungen finden sich nicht.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** In diesem Vergleich imponieren ebenfalls einzelne Zellsubpopulationen der HD mit signifikant höheren Rangsummen. So weisen bei den HD die CD4+ T-Zellen signifikant erhöht den Phänotyp CD4+CD25+ sowie CD4+CD25+CD127- auf und bei den CD8+ T-Zellen finden sich signifikant höhere proportionale Anteile von CD8+CD25+ und CD8+CD25+CD127- Zellen.

**Vergleich zwischen JIA- und RA-Patientinnen:** Bei der Nebeneinanderstellung der prozentualen Werte der erkrankten Personen, bestehen bei den JIA- und den RA-Patientinnen ebenfalls relevante Ungleichheiten zwischen den CD4+ und den CD8+ T-

Zellen. So ist das Verhältnis zwischen den CD4<sup>+</sup> und den CD8<sup>+</sup> T-Zellen in der JIA-Gruppe im Vergleich zu den RA-Patientinnen signifikant zugunsten der CD8<sup>+</sup> T-Zellen verschoben. Darüber hinaus sind diese CD8<sup>+</sup> T-Zellen signifikant häufiger CD127 Rezeptor positiv, speziell in der Kombination mit einem negativen CD25 Rezeptor Status. Wiederum bei den JIA-Patientinnen finden sich innerhalb der CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> Zellpopulation signifikant höhere proportionale Anteile von CCR6<sup>+</sup>CD103<sup>+</sup> Zellen.

**Tabelle 17 PBMC Phänotypisierung der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.**

Es werden die verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den PBMCs gezeigt. Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean) ± Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist. Das Symbol \* signalisiert, dass an dieser Stelle die Fallzahl für die RA-Gruppe nicht 6, wie ansonsten, sondern 11 beträgt.

		HD			JIA			RA			p-Wert				
		Mean ± SD	Median	Min - Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	Mean ± SD	Median	Min- Max	HD-JIA	HD-RA	JIA-RA		
CD4+	CD4+	59,0 ± 7,0	62,1	50,4 - 65,2	46,9 ± 10,1	46,3	31,5 - 56,2	59,2 ± 12,5	58,5	33,4 - 79,1	0,095	1,000	<b>0,052<sup>R</sup></b>	*	
	CD127+	39,9 ± 15,1	34,6	24,8 - 62,4	45,5 ± 15,6	37,9	34,7 - 71,6	44,1 ± 8,8	44,1	32,9 - 63,5	0,310	0,377	0,827	*	
	CD25+	4,2 ± 1,4	4,1	2,4 - 5,9	3,2 ± 1,2	3,5	1,5 - 4,3	2,6 ± 1,3	2,4	1,0 - 5,7	0,548	<b>0,052<sup>HD</sup></b>	0,267	*	
	CD25+CD127-	CD25+CD127-	3,4 ± 0,9	3,3	2,3 - 4,6	2,6 ± 1,4	3,3	1,2 - 4,1	2,2 ± 1,0	2,0	0,8 - 4,2	0,548	<b>0,038<sup>HD</sup></b>	0,661	*
		Foxp3+	3,8 ± 3,1	2,3	1,2 - 8,8	6,3 ± 7,6	2,9	0,0 - 19,2	5,6 ± 5,0	4,8	0,0 - 16,3	0,690	0,661	0,743	*
		Foxp3+CD103+	6,1 ± 5,9	3,6	1,3 - 15,2	5,0 ± 5,6	2,0	0,0 - 12,5	23,3 ± 34,6	1,3	0,0 - 100,0	0,690	0,583	1,000	*
		Foxp3+CD103-	93,9 ± 5,9	96,4	84,8 - 98,7	75,0 ± 42,2	90,7	0,0 - 98,9	67,6 ± 40,5	97,7	0,0 - 100,0	0,690	1,000	0,743	*
		Foxp3-	96,2 ± 3,1	97,7	91,2 - 98,8	93,7 ± 7,6	97,1	80,8 - 100,0	94,4 ± 5,0	95,2	83,7 - 100,0	0,690	0,661	0,743	*
		Foxp3+CCR6-	2,1 ± 2,1	1,0	0,7 - 5,8	4,7 ± 5,9	2,2	0,0 - 14,8	3,3 ± 3,4	2,5	0,6 - 9,8	0,548	0,792	0,792	
		Foxp3+CCR6+	1,2 ± 0,9	0,8	0,3 - 2,4	0,9 ± 1,2	0,6	0,0 - 3,0	3,3 ± 2,4	3,2	0,0 - 6,1	0,690	0,177	0,126	
		Foxp3-CCR6+	25,1 ± 6,3	22,7	17,6 - 34,1	15,8 ± 5,8	12,5	11,1 - 23,2	37,1 ± 20,5	39,7	0,8 - 61,9	0,095	0,126	0,082	
		FoxP3+	3,3 ± 3,0	1,8	1,0 - 8,2	5,7 ± 7,1	2,6	0,0 - 17,8	6,6 ± 5,5	5,6	0,8 - 15,9	0,690	0,429	0,537	
		CCR6+	26,2 ± 6,7	25,1	18,1 - 35,9	16,7 ± 5,5	14,3	11,1 - 23,9	40,4 ± 21,7	44,9	0,8 - 64,0	0,056	0,126	0,082	
	CD25+CD127+	0,8 ± 0,5	0,8	0,1 - 1,3	0,6 ± 0,5	0,3	0,2 - 1,3	0,4 ± 0,4	0,3	0,1 - 1,5	0,690	0,267	0,583	*	
	CD25-CD127-	56,7 ± 14,5	61,4	35,3 - 72,3	51,8 ± 14,5	58,8	27,2 - 61,8	53,7 ± 9,5	54,0	32,4 - 65,6	0,548	0,661	0,913	*	
	CD25-CD127+	39,1 ± 15,3	33,4	24,4 - 62,3	45,0 ± 15,3	37,0	34,5 - 70,3	43,6 ± 8,5	43,7	32,7 - 62,0	0,310	0,441	0,827	*	
	CCR6+CD103-	8,8 ± 2,7	8,5	5,5 - 12,4	10,0 ± 3,5	8,6	6,7 - 15,2	12,4 ± 7,1	13,3	0,4 - 21,1	0,690	0,247	0,329		
	CCR6+CD103+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,690	0,662	0,931		
	CCR6-CD103+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,2	0,0	0,0 - 0,5	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,548	0,537	0,931		
	CCR6+	8,8 ± 2,7	8,5	5,5 - 12,4	10,1 ± 3,5	8,6	6,8 - 15,2	12,4 ± 7,1	13,3	0,4 - 21,2	0,690	0,247	0,329		

	CD103+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,3	0,0	0,0 - 0,6	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,548	0,662	0,931	
	CD25+CCR6-	2,8 ± 1,4	2,3	1,7 - 5,3	2,9 ± 1,1	2,8	1,3 - 3,9	1,8 ± 1,0	1,6	0,7 - 3,7	0,548	0,126	0,126	
	CD25+CCR6+	0,9 ± 0,2	0,8	0,7 - 1,2	0,5 ± 0,2	0,6	0,3 - 0,8	1,1 ± 0,9	1,0	0,0 - 2,6	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,429	0,082	
	CD25-CCR6+	7,1 ± 2,8	6,3	3,9 - 10,7	8,3 ± 3,7	7,2	4,4 - 13,7	11,6 ± 6,7	12,9	0,1 - 19,3	0,690	0,177	0,247	
	Foxp3-	58,1 ± 6,4	61,1	50,2 - 64,0	46,2 ± 9,8	45,0	31,8 - 55,5	57,6 ± 12,1	57,1	33,6 - 77,3	0,095	0,913	0,090	*
	Foxp3+	0,6 ± 0,5	0,6	0,1 - 1,3	0,3 ± 0,1	0,2	0,2 - 0,5	0,4 ± 0,5	0,2	0,0 - 1,5	0,421	0,441	0,913	*
Foxp3+	CCR6+CD103-	18,4 ± 3,9	20,4	12,2 - 21,8	16,6 ± 5,2	14,8	11,6 - 25,0	22,6 ± 11,4	25,5	0,0 - 30,4	0,548	0,082	0,177	
	CCR6+CD103+	1,7 ± 2,8	0,5	0,2 - 6,8	4,2 ± 4,8	2,4	0,6 - 12,5	0,5 ± 0,6	0,4	0,0 - 1,6	0,151	0,429	<b>0,009<sup>J</sup></b>	
	CCR6-CD103+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	2,1 ± 4,8	0,2	0,0 - 11,8	0,548	0,429	0,126	
	CCR6+	20,1 ± 5,7	20,8	12,4 - 27,5	20,8 ± 9,6	17,6	14,0 - 37,5	23,1 ± 11,6	26,4	0,0 - 30,9	0,841	0,177	0,429	
	CD103+	1,8 ± 2,8	0,7	0,2 - 6,8	4,2 ± 4,8	2,5	0,6 - 12,5	2,6 ± 4,6	0,7	0,1 - 11,8	0,222	1,000	0,247	
	CD4-	41,0 ± 7,0	37,9	34,8 - 49,6	53,1 ± 10,1	53,7	43,8 - 68,5	40,8 ± 12,5	41,5	20,9 - 66,6	0,095	1,000	<b>0,052<sup>J</sup></b>	*
	CD4-Foxp3+	0,3 ± 0,3	0,2	0,0 - 0,7	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,3	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,7	0,690	0,510	0,913	*
CD8+	CD8+	17,3 ± 7,8	17,9	8,1 - 27,4	25,3 ± 6,7	26,4	15,2 - 31,5	15,9 ± 6,9	15,6	4,7 - 29,0	0,151	0,743	<b>0,038<sup>J</sup></b>	*
	CD127+	43,8 ± 17,1	39,5	28,0 - 70,7	50,7 ± 9,3	53,7	40,3 - 60,5	31,7 ± 12,8	33,0	11,6 - 49,9	0,310	0,267	<b>0,013<sup>J</sup></b>	*
	CD25+	2,3 ± 1,2	2,1	0,7 - 4,0	0,9 ± 0,6	0,7	0,5 - 1,9	1,1 ± 1,0	0,6	0,3 - 3,4	0,056	<b>0,038<sup>HD</sup></b>	0,913	*
	CD25+CD127-	1,4 ± 0,8	1,1	0,5 - 2,6	0,4 ± 0,2	0,3	0,2 - 0,7	0,6 ± 0,5	0,4	0,2 - 1,8	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	<b>0,052<sup>HD</sup></b>	0,510	*
	CD25+CD127+	0,9 ± 0,4	1,0	0,2 - 1,4	0,5 ± 0,4	0,5	0,2 - 1,2	0,5 ± 0,5	0,3	0,1 - 1,6	0,310	0,069	0,510	*
	CD25-CD127+	42,9 ± 17,6	38,5	26,6 - 70,5	50,2 ± 9,1	52,5	40,1 - 60,0	31,3 ± 12,5	32,9	11,5 - 48,3	0,310	0,267	<b>0,013<sup>J</sup></b>	*
	CCR6+CD103-	8,7 ± 5,1	7,1	3,2 - 16,9	8,9 ± 3,4	10,5	4,4 - 11,9	8,3 ± 5,9	6,7	3,4 - 19,4	0,841	0,931	0,537	
	CCR6+CD103+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,690	0,662	1,000	
	CCR6-CD103+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,6 ± 1,2	0,0	0,0 - 2,8	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,841	0,792	1,000	
	CCR6+	8,8 ± 5,1	7,2	3,2 - 16,9	9,0 ± 3,4	10,5	4,5 - 12,0	8,4 ± 5,9	6,8	3,6 - 19,4	0,841	0,931	0,537	
	CD103+	0,1 ± 0,0	0,1	0,1 - 0,1	0,6 ± 1,3	0,1	0,0 - 2,9	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,3	1,000	1,000	0,792	
	Foxp3+CCR6-	1,8 ± 1,7	1,1	0,1 - 3,7	0,4 ± 0,2	0,5	0,2 - 0,7	1,2 ± 1,4	0,7	0,2 - 3,7	0,310	0,792	0,537	
	Foxp3+CCR6+	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,3	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,3	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,6	1,000	0,429	0,429	
Foxp3-CCR6+	6,0 ± 2,7	6,5	2,9 - 9,5	8,8 ± 3,3	10,5	4,4 - 12,0	8,1 ± 5,6	6,6	3,5 - 18,6	0,222	0,537	0,537		

□	FoxP3+	1,9 ± 1,7	1,2	0,2 - 4,0	0,6 ± 0,3	0,6	0,3 - 1,0	1,4 ± 1,6	0,8	0,2 - 4,3	0,222	0,662	0,931
	CCR6+	6,1 ± 2,8	6,8	3,0 - 9,7	9,0 ± 3,2	10,6	4,7 - 12,1	8,3 ± 5,6	6,7	3,7 - 18,6	0,222	0,662	0,537
	CD8-	82,7 ± 7,8	82,1	72,6 - 91,9	74,7 ± 6,7	73,6	68,5 - 84,8	84,1 ± 6,9	84,4	71,0 - 95,3	0,151	0,743	<b>0,038<sup>R</sup></b> *

## 3.2 Analyse des IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuchs

Dieser Versuchsabschnitt handelt von der Fragestellung, ob sich die CD4+CD25+CD127- und die CD4+CD25-CD127- Zellen während des IL-1 $\beta$  3 Tage Versuchs phänotypisch verändert haben. Dazu wurden verschiedene Oberflächenmoleküle, intrazellulären Zytokine und Transkriptionsfaktoren in ihrer prozentualen Zusammensetzung vor und nach der Intervention verglichen. Zudem war es von Interesse, ob die verschiedenen Stimuli Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und RI einen spezifischen Einfluss auf den Zellphänotypen ausgeübt haben und ob sich die CD4+CD25+CD127- bzw. die CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und RA-Patientinnen unterschieden. Zuletzt wurde mit einer AnnexinV/7-AAD Färbung überprüft, ob die Zellen in ihrer Vitabilität und in ihrem Apoptoseverhalten abhängig von ihrem CD25 Rezeptor Status, den hinzugefügten Stimuli oder ihrer Versuchsgruppenzugehörigkeit differieren.

### 3.2.1 CD4+CD25+CD127- Zellen in der Prästimulation

Die genaue Zellphänotypisierung ist Tabelle 34 im Appendix zu entnehmen.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Die untersuchten Zellen der HD und der JIA-Patientinnen unterscheiden sich in der Prästimulation nicht signifikant in ihrer FoxP3 Transkription. Auch die IL-10 und die IL-17 Produktion liegen annähernd auf einem Niveau. Der Proliferationsmarker Ki67 hingegen ist in den CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA-Gruppe signifikant höher exprimiert. Die Oberflächenmoleküle CCR6, CD62L und der IL-1 Rezeptor zeigen keine signifikanten Unterschiede.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** In der direkten Gegenüberstellung differieren die CD4+CD25+CD127- Zellen der HD und der RA-Patientinnen nicht signifikant für den Transkriptionsfaktor FoxP3, für IL-10 und IL-17, für den Proliferationsmarker Ki67, für den IL-1 Rezeptor und für CD62L. In der proportionalen Zusammensetzung sind die CD4+CD25+CD127- FoxP3-CCR6+ Zellen in der RA-Gruppe signifikant erhöht, andere Konstellationen, die auf eine erhöhte CCR6 Expression bei den RA-Patientinnen schließen lassen, verfehlen knapp das Signifikanzniveau, sodass nur von einem nicht-signifikanten Trend gesprochen werden kann.

### 3.2.2 CD4+CD25-CD127- Zellen in der Prästimulation

Die ausführliche deskriptive Statistik der CD4+CD25-CD127- Zellen in der Prästimulation aller drei Vergleichsgruppen findet sich in Tabelle 35 im Appendix.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Die untersuchten Zellen beider Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant in ihrer FoxP3 Expression, der IL-10 und IL-17 Produktion und der Ki67 Expression. Es liegen allerdings hochsignifikant erhöhte CCR6 Rezeptor Anteile bei den CD4+CD25-CD127- Zellen der JIA-Gruppe vor. Zudem liegen die Rangsummen der proportionalen Anteile des CD62L Rezeptors bei den JIA-Patientinnen deutlich über denen der HD, werden aber statistisch nicht signifikant. Hinsichtlich des IL-1 Rezeptors tun sich keine wesentlichen Ungleichheiten auf.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Bei der Analyse der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD und der RA-Patientinnen finden sich keine signifikanten Unterschiede.

### 3.2.3 CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert

Tabelle 36 im Appendix stellt die genauen Ergebnisse der CD4+CD25+CD127- Zellcharakterisierung in der Poststimulation Unstimuliert dar.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Anders als in der Prästimulation existieren in der Poststimulation Unstimuliert signifikante bis hochsignifikante Unterschiede hinsichtlich der FoxP3 Expression zwischen den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD und der JIA-Patientinnen. So können vermehrte Anteile von FoxP3+CCR6-, FoxP3+IL-17- und FoxP3+CD62L- Zellen innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD beobachtet werden, was auf eine verstärkte Transkription von FoxP3 Rückschlüsse ziehen lässt. Darüber hinaus finden sich bei den HD innerhalb der untersuchten Zellen eine signifikante Anreicherung von Foxp3-IL10+ und IL-17-IL-10+ Zellen. Das Zytokin IL-17 betreffend, liegen die Rangsummen annähernd auf einem Niveau und auch für den Proliferationsmarker Ki67 sowie für CCR6 werden keine wesentlichen Unterschiede verzeichnet. Bei den JIA-Patientinnen finden sich unter den CD4+CD25+CD127- Zellen hochsignifikant erhöhte FoxP3-CD62L+ Zellproportionen und auch in anderen Konstellationen nehmen die Rangsummen für eine

vermehrte CD62L Rezeptorexprimierung bei der JIA-Gruppe höhere Werte an, verbleiben allerdings im nicht-signifikanten Bereich. Schließlich lässt sich festhalten, dass die Zellpopulationen der CD4+CD25+CD127- FoxP3-IL-1R+ und der der CD4+CD25+CD127- CD62L-IL-1R+ Zellen hochsignifikant höhere Zellanteile erreichen.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** In der Gegenüberstellung von den HD und den RA-Patientinnen zeigt sich bei den HD hochsignifikant vermehrt FoxP3+CCR6-Zellen und bei den RA-Patientinnen hochsignifikant erhöhte Anteile von FoxP3-IL-17+ und CD62L+IL-1R- Zellen innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen. In Bezug auf das Zytokin IL-10 sowie auf den Marker Ki67 und den IL-1 Rezeptor treten keine relevanten Ungleichheiten auf. CCR6 andererseits ist bei den analysierten Zellen RA-Patientinnen hochsignifikant hochreguliert.

### **3.2.4 CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$**

In Tabelle 37 im Appendix werden sämtliche analysierten Merkmale der CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$  detailliert dargestellt.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Mit Ausnahme der hochsignifikant höheren Zellproportionen der CD4+CD25+CD127- FoxP3+CD62L- Zellen der HD, ergeben sich für den Transkriptionsfaktor FoxP3 im Vergleich beider Gruppen keine weiteren signifikanten Unterschiede. Ebenfalls lassen sich innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD erhöhte Zellanteile von IL-17-IL-10+ und CD62L-IL-1R+ Zellen feststellen. Für eine verstärkte CD62L Rezeptorexpression bei den JIA-Patientinnen ist ein nicht-signifikanter Trend zu erkennen, welcher für die CD4+CD25+CD127-CD62L+IL-1R- und die CD4+CD25+CD127-CD62L+CCR6-Zellen signifikant wird. Ansonsten zeichnen sich für die untersuchten Zytokine, den Proliferationsmarker Ki67 und CCR6 keine aussagekräftigen Ungleichheiten ab.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Die statistische Auswertung spricht für eine signifikante Mehrexprimierung von FoxP3 bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD. Andere intrazellulär angefärbte Zellbestandteile wie IL-10, IL-17 und Ki67 zeigen keine wesentlichen Unterschiede. Auch differieren die Expression des Oberflächenmoleküls CD62L und die des IL-1 Rezeptors bei beiden Vergleichsgruppen

nicht signifikant. Anders verhält es sich mit dem CCR6 Chemokinrezeptor: Dieser ist bei den untersuchten Zellen der RA-Patientinnen signifikant hochreguliert.

### **3.2.5 CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$**

Die konkreten Zahlenwerte der in der Überschrift erwähnten Analyse sind in Tabelle 38 im Appendix zu finden.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD ergeben sich signifikant bis hochsignifikante Hinweise für eine erhöhte FoxP3 Transkription. Desweiteren lassen sich wiederum bei den untersuchten Zellen der HD signifikant erhöhte IL-10 Werte und eine signifikant bis hochsignifikant vermehrte IL-1 Rezeptor Expressierung ableiten. Für Ungleichheiten in der Sezernierung von IL-17 oder in der Expression von Ki67, CCR6 und CD62L finden sich in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$  keine aussagekräftigen Anhaltspunkte.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Der Transkriptionsfaktor FoxP3 wird von den untersuchten Zellen der HD signifikant bis hochsignifikant vermehrt exprimiert. Die analysierten Zellen der RA-Gruppe hingegen imponieren erneut durch eine signifikante Mehrexpression des Chemokinrezeptors CCR6. Die CD4+CD25+CD127-FoxP3+CD62L+ Zellen treten signifikant gehäuft bei den RA-Patientinnen auf. Des Weiteren existieren bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der RA-Patientinnen Anzeichen für einen nicht-signifikanten Trend, der eine Hochregulierung des CD62L Oberflächenmoleküls widerspiegelt. Hinsichtlich der weiteren Merkmale sind keine wesentlichen Unterschiede zu beobachten.

### **3.2.6 CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation RI**

Die ausführliche Darstellung der CD4+CD25+CD127- Zellcharakteristika in der Poststimulation RI wird in Tabelle 39 im Appendix präsentiert.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Im direkten Vergleich fällt ein nicht-signifikanter Trend für eine gesteigerte FoxP3 Transkription bei den Zellen der HD auf, welcher für die CD4+CD25+CD127-FoxP3+CD62L- hochsignifikant wird. Für die Sezernierung von IL-17 ergeben sich keine wesentlichen Unterschiede, das Zytokin IL-10 scheint hingegen bei den HD verstärkt produziert zu werden, so treten in dieser Gruppe

bei den CD4+CD25+CD127- Zellen signifikant gehäuft Zellen auf, welche FoxP3-IL-10+ und IL-17-IL-10+ sind. Die Werte für den Proliferationsmarker Ki67 und für das Oberflächenmolekül CCR6 wiederum liegen annähernd auf einem Niveau. Den IL-1 Rezeptor betreffend, finden sich signifikant gesteigerte Proportionen von FoxP3-IL1R+ und CD62L-IL1R+ Zellen innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD. Im Hinblick auf das Adhäsionsmolekül CD62L lässt sich festhalten, dass sich signifikant höhere proportionale Anteile von CD4+CD25+CD127-CD62L+CCR6- Zellen bei den JIA-Patientinnen finden lassen, weitere Zellpopulationen aber knapp das Signifikanzniveau verfehlen.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Die CD4+CD25+CD127- Zellen der HD exprimieren signifikant bis hochsignifikant vermehrt den Transkriptionsfaktor FoxP3. Die betreffenden Zellen der RA-Patientinnen zeichnen sich durch eine signifikant bis hochsignifikante Mehrexpression des Oberflächenmoleküls CCR6 aus.

### **3.2.7 Zusammenfassung der CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation**

In der Zusammenschau werden bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD die höchsten Expressionsraten für den Transkriptionsfaktor FoxP3 erzielt. Diese Beobachtung tritt vorrangig in Relation zu den RA-Patientinnen auf, lässt sich geringer ausgeprägt aber ebenfalls im Vergleich zu den JIA-Patientinnen festhalten. Für IL-17 lässt sich im Wesentlichen kein konkreter Trend registrieren und für IL-10 könnte es eine diskrete Tendenz zu einer erhöhten Sezernierung bei den HD geben. Für den Proliferationsmarker Ki67 zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den HD und den JIA-Patientinnen bzw. zwischen HD und den RA-Patientinnen. Im Profil der Oberflächenmoleküle existieren relevante Unterschiede in den proportionalen Anteilen. So finden sich bei den RA-Patientinnen die signifikant höchsten Rangsummen für den CCR6 Chemokinrezeptor, was auf eine höhere Expression schließen lässt. Weiter fällt eine signifikante Verschiebung in der proportionalen Zusammensetzung von CD62L+ Zellen bei den JIA-Patientinnen hin zu größeren Anteilen auf, wenn diese in Bezug zu den generierten Daten der HD gesetzt werden. Zuletzt lässt sich durch die statistische Analyse bei den JIA-Patientinnen eine signifikant verminderte Expression des IL-1 Rezeptors im Vergleich zu den HD verzeichnen.

### **3.2.8 Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation**

#### **Unstimuliert**

Die detaillierten Zahlenwerte der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert werden in Tabelle 40 im Appendix aufgeführt.

Bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen handelt es sich um Zellen, welche ursprünglich CD4+CD25-CD127- waren und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch CD4+CD25+CD127- geworden sind.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Die Rangsummenwerte der CD25 positiv gewordenen Zellen der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen der HD erreichen für die FoxP3+CCR6-, FoxP3+Ki67+, FoxP3+CD62L- Zellpopulationen das Signifikanzniveau und sprechen somit für relevant höhere Expressionsraten des Transkriptionsfaktors FoxP3. Ebenfalls bei den HD kann die Mehrexprimierung des Proliferationsmarkers Ki67 signifikant bis hochsignifikante Werte erzielen. Die Zytokinproduktion unterscheidet sich zwischen den beiden Vergleichsgruppen nicht wesentlich voneinander. Hinsichtlich der Zusammensetzung des Oberflächenmolekülprofils ist bei den JIA-Patientinnen ein signifikant bis hochsignifikant erhöhtes CD62L Rezeptor Auftreten zu beobachten sowie eine verstärkte Transkription des Chemokinrezeptors CCR6. Die Expressionsrate des IL-1 Rezeptors wiederum differiert nicht signifikant zwischen den HD und den JIA-Patientinnen.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Im Rahmen dieses Vergleichs ist ein Gefälle hin zu einer signifikant bis hochsignifikant vermehrten FoxP3 Expressierung bei den analysierten Zellen der HD zu registrieren. Die CD62L Expression ist bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD hingegen hochsignifikant vermindert. Weitere signifikante Unterschiede finden sich nicht.

### **3.2.9 Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$**

Die gesammelten Daten der deskriptiven Statistik können in Tabelle 41 im Appendix nachgeschlagen werden.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Bei der Gegenüberstellung der Werte der beiden Vergleichsgruppen weichen die proportionalen Anteile der FoxP3+CD62L-

Zellen innerhalb der untersuchten Zellpopulation voneinander ab. So nehmen sie bei den HD signifikant höhere Rangsummen an. Zudem scheinen die konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD ebenfalls verstärkt den Proliferationsmarker Ki67 zu produzieren. Für die Phänotypen IL-1R-Ki67+ und CD62L-Ki67+ ergeben sich signifikant höhere Anteile und andere Kombinationen mit gesteigerter Ki67 Expression verfehlen nur knapp den signifikanten Bereich. Hinsichtlich der Zytokine stellt sich folgendes Bild dar: Die IL-10 Produktion unterscheidet sich nicht relevant voneinander, IL-17 wird von den konvertierten Zellen der JIA-Patientinnen signifikant vermehrt gebildet. Wiederum bei der JIA-Gruppe zeigt sich zudem für CCR6 eine signifikante und für CD62L eine hochsignifikante Mehrexprimierung. Die Vergleichsdaten für den IL-1 Rezeptor liegen annähernd auf einem Level.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Bei dem Vergleich zwischen den HD und den RA-Patientinnen zeigen sich Anzeichen für eine gesteigerte CCR6 Expression bei den CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen, die für die FoxP3-CCR6+ Zellpopulation signifikant wird. Zusätzlich findet sich bei den analysierten Zellen der RA-Patientinnen eine hochsignifikant bzw. signifikant vermehrte Exprimierung der Oberflächenmoleküle CD62L und des IL-1 Rezeptors. Für weitere signifikante Unterschiede ergeben sich keine Hinweise.

### **3.2.10 Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$**

Tabelle 42 im Appendix gibt eine komplette Auflistung aller untersuchten Zellcharakteristika der betreffenden konvertierten Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$  wieder.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Gemessen an den untersuchten Zellen der JIA-Patientinnen finden sich bei denen der HD hochsignifikant erhöhte proportionale Anteile von FoxP3+CCR6- Zellen und signifikant erhöhte proportionale Anteile von FoxP3+CD62L- Zellen. Weiterhin exprimieren die konvertierten Zellen der HD signifikant bis hochsignifikant verstärkt den Proliferationsmarker Ki67. Für IL-10 ergeben sich keine signifikanten Unterschiede, aber IL-17+IL-10- Zellen treten innerhalb der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA-Patientinnen signifikant gehäuft auf. Darüber hinaus zeichnet sich die JIA-Gruppe durch eine signifikant erhöhte CCR6

sowie eine hochsignifikant vermehrte CD62L Rezeptor Expressierung aus. Die gesammelten Daten für den IL-1 Rezeptor differieren nicht wesentlich voneinander.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Korrespondierend zu dem obigen Vergleich zwischen den HD und den JIA-Patientinnen, manifestiert sich auch in dieser Nebeneinanderstellung bei den analysierten Zellen der HD signifikant bis hochsignifikant höhere proportionale Anteile von FoxP3 positiven Zellen. Die RA-Gruppe hingegen imponiert durch signifikant erhöhte Proportionen von FoxP3-CCR6+ und FoxP3-IL-10+ Zellanteilen innerhalb der CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen. Zudem scheinen sie das Adhäsionsmolekül CD62L signifikant vermehrt zu exprimieren. Die Werte für die Zytokine, den Proliferationsmarker und die weiteren Oberflächenmoleküle liegen nahezu auf einem Niveau.

### **3.2.11 Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation RI**

Der Tabelle 43 im Appendix ist die vollständige Aufführung der ermittelten Charakteristika der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation RI zu entnehmen.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Gegenüber den JIA-Patientinnen kommen bei den HD signifikant angereicherte FoxP3+CD62L- Zellproportionen in der untersuchten Zellpopulation vor. Zusätzlich sind bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD hochsignifikant erhöhte Ki67 Transkriptionsraten zu verzeichnen. Hinsichtlich des Zytokinprofils und des IL-1 Rezeptorstatus sind keine relevanten Unterschiede vorhanden. Die Mehrexpressionen von CD62L und von CCR6 nehmen bei den ausgewerteten Zellen der JIA-Patientinnen hochsignifikante bzw. signifikante Werte an.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Verglichen mit den konvertierten Zellen der RA-Patientinnen exprimieren die der HD hochsignifikant vermehrt den Transkriptionsfaktor FoxP3. Für IL-17 besteht ein insgesamt nicht-signifikanter Trend für eine erhöhte Sezernierung bei den untersuchten Zellen der RA-Patientinnen, welcher für die IL-17+IL-10- Zellen innerhalb der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen signifikant wird. Für IL-10 finden sich keine signifikanten Unterschiede. Bei den analysierten Zellen der HD zeigen sich signifikant erhöhte Proportionen für IL-1R-

Ki67+, CD62L-Ki67+ und CCR6-Ki67+ Zellen, die Rangsummen für eine globale Mehrtranskription des Proliferationsmarkers Ki67 verfehlen indessen knapp das Signifikanzniveau. Die ermittelten Werte für die den IL-1 und den CCR6 Rezeptor befinden sich annäherungsweise auf einem Level, das Adhäsionsmolekül CD62L dagegen wird bei den RA-Patientinnen signifikant vermehrt exprimiert.

### **3.2.12 Zusammenfassung der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation**

Bei Zusammentragung aller ermittelten Daten lässt sich für den Transkriptionsfaktor FoxP3 innerhalb der CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen der HD die signifikant höchste Expressionsrate registrieren. Wie bereits zuvor in den Ausführungen der originären CD4+CD25+CD127- Zellen festzustellen war, findet sich diese Beobachtung insbesondere im Vergleich zu den RA-Patientinnen. Nichtsdestotrotz zeigt sich die vermehrte Expressierung, wenn auch geringer ausgeprägt, auch gegenüber den JIA-Patientinnen. Für die Zytokine IL-10 und IL-17 bestehen vereinzelt signifikante Abweichungen, die allerdings nicht auf einen generellen Trend schließen lassen. Verglichen mit der JIA-Gruppe transkribieren die untersuchten Zellen der HD zum Teil hochsignifikant vermehrt den Proliferationsmarker Ki67. Der Chemokinrezeptor CCR6 scheint bei den analysierten Zellen der JIA-Kohorte im Vergleich zu denen der HD gehäuft vertreten zu sein. Das Adhäsionsmolekül CD62L wird in Relation zu den beiden Patientengruppen bei den HD signifikant vermindert exprimiert. Zuletzt zeigen sich keine relevanten Unterschiede in der IL-1 Rezeptor Expression.

### **3.2.13 CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert**

Die Tabelle 44 im Appendix stellt die Daten der gesamten untersuchten CD4+CD25-CD127- Zellmerkmale inklusive der ermittelten p-Werte in der Poststimulation Unstimuliert dar.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Beide Vergleichsgruppen differieren weder signifikant in ihrer FoxP3 Transkription noch in dem Ausmaß ihrer Zytokinsekernierung. Zusätzlich befinden sich die Werte für die IL-1 Rezeptorexpression

auf einem ähnlichen Level. Der Proliferationsmarker Ki67 andererseits wird von den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD hochsignifikant vermehrt exprimiert, wohingegen die untersuchten Zellen der JIA-Patientinnen über hochsignifikant höhere CD62L Rezeptoranteile verfügen. Eine Mehrexpression des Glykoproteins CCR6 bei der JIA-Kohorte verfehlt jeweils knapp das Signifikanzniveau.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Gemessen an den erzielten Werten der HD transkribieren die analysierten Zellen der RA-Patientinnen signifikant bis hochsignifikant verstärkt das Adhäsionsmolekül CD62L. Abgesehen von dieser Abweichung existieren keine weiteren relevanten Unterschiede.

### **3.2.14 CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$**

In Tabelle 45 im Appendix ist die komplette deskriptive Statistik der CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$  enthalten.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** In der Auswertung finden sich für den Vergleich der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD und der JIA-Patientinnen keine signifikanten Diskrepanzen für die FoxP3 Transkription, die Zytokinsezernierung oder die IL-1 Rezeptorexpression. Im Hinblick auf die Ki67 Expressierung lassen sich signifikant bis hochsignifikant höhere Raten für die analysierten Zellen der HD vermerken. Das Oberflächenmolekül CD62L wird demgegenüber hochsignifikant verstärkt von der JIA-Gruppe transkribiert. Wiederum in diesem Patientenkollektiv zeigt sich zusätzlich eine Tendenz hin zu einer Mehrexpression des CCR6 Rezeptors, welcher allerdings keine signifikanten Werte annimmt

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Bei der Nebeneinanderstellung beider Zellpopulationen präsentieren sich die CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen durch eine signifikant höhere Expressierung des Glykoproteins CCR6. Desweiteren sind die untersuchten Zellen der RA-Gruppe charakterisiert durch eine hochsignifikant vermehrte CD62L Rezeptorexpression. Die weiteren erhobenen Daten weichen nicht signifikant voneinander ab.

### **3.2.15 CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$**

Tabelle 46 im Appendix zeigt die vollständig aufgeführte deskriptive Statistik der CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$ .

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Verglichen mit den CD4+CD25-CD127- Zellen der JIA-Patientinnen imponieren die der HD durch eine signifikant bis hochsignifikante Mehrexpression des Transkriptionsfaktors FoxP3. Weiterhin sind bei den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD signifikant erhöhte Expressionsraten des Proliferationsmarkers Ki67 detektierbar. Die Messwerte der IL-17 Produktion sind bei beiden Vergleichsgruppen annähernd gleichwertig. Für die Bildung des Zytokins IL-10 besteht bei den analysierten Zellen der HD ein nicht-signifikanter Trend für eine gesteigerte Sezernierung. Hinsichtlich des Oberflächenmolekülprofils weicht die proportionale Verteilung des IL-1 Rezeptors in beiden Gruppen nicht wesentlich voneinander ab. Anders präsentiert sich die Situation für CCR6 und CD62L. Beide Glykoproteine treten bei den untersuchten Zellen der JIA-Patientinnen signifikant gehäuft auf, wobei für den CD62L Rezeptor sogar hochsignifikante Werte erzielt werden können.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Bei den CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen finden sich zum Teil hochsignifikant höhere proportionale Anteile von CD62L+ Zellen. Diesen Unterschied ausgenommen, bestehen keine weiteren relevanten Abweichungen der Messwerte.

### **3.2.16 CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation RI**

Tabelle 47 im Appendix stellt sämtliche Werte der deskriptiven Statistik der CD4+CD25-CD127- Zellen dar, welche im Rahmen der Poststimulation RI erhoben wurden.

**Vergleich zwischen HD und JIA-Patientinnen:** Im Hinblick auf den Transkriptionsfaktor FoxP3 und den IL-1 Rezeptor sind keine aussagekräftigen Ungleichheiten zwischen den beiden Gruppen ersichtlich. Analog dazu befinden sich auch die produzierten Zytokinspiegel annäherungsweise auf einem Level. Der Proliferationsmarker Ki67 wird hochsignifikant vermehrt von den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD gebildet. Die Glykoproteine CD62L und CCR6 werden im Gegensatz dazu

hochsignifikant beziehungsweise signifikant verstärkt von den untersuchten Zellen der JIA-Patientinnen exprimiert.

**Vergleich zwischen HD und RA-Patientinnen:** Wesentliche Unterschiede zwischen den HD und den RA-Patientinnen bestehen für den Transkriptionsfaktor FoxP3 und das Adhäsionsmolekül CD62L: So zeigt sich bei den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD einerseits eine signifikant erhöhte FoxP3 Expression, andererseits sind die analysierten Zellen der RA-Patientinnen durch eine signifikant bis hochsignifikante Mehrexpression des CD62L Rezeptors charakterisiert. Weitere relevante Abweichungen sind nicht detektierbar.

### **3.2.17 Zusammenfassung der CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation**

In der Zusammenschau existieren Hinweise dafür, dass verglichen mit allen Vergleichsgruppen der Transkriptionsfaktor FoxP3 am stärksten von den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD exprimiert wird. Für die Zytokine IL-17 und IL-10 können keine signifikanten Unterschiede erhoben werden. Der Proliferationsmarker Ki67 wird gemessen an den erzielten Transkriptionsraten der JIA-Patientinnen insgesamt signifikant vermehrt von den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD gebildet. Schließlich stellen die CD4+CD25-CD127- Zellen der HD in der Nebeneinanderstellung aller drei Vergleichsgruppen diejenigen mit den niedrigsten CD62L Rezeptor positiven Zellanteilen dar. Diese Beobachtung bleibt über sämtliche Stimulierungsbedingungen hinweg stets hochsignifikant. Bei den untersuchten Zellen der JIA-Patientinnen wiederum finden sich Anzeichen, die darauf hinweisen, dass diese die höchste Expressionsrate für das Glykoprotein CCR6 besitzen. Der IL-1 Rezeptor wird von den betreffenden Zellen sämtlicher Kohorten letztendlich kaum gebildet und das Maß der Ausprägung unterscheidet sich nicht signifikant.

### **3.2.18 Vergleich der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI**

In der folgenden Abhandlung wird auf die verschiedenen Stimuli und ihren ausgeübten Einfluss auf die originären CD4+CD25+CD127-, die konvertierten CD4+CD25+CD127- und die CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen

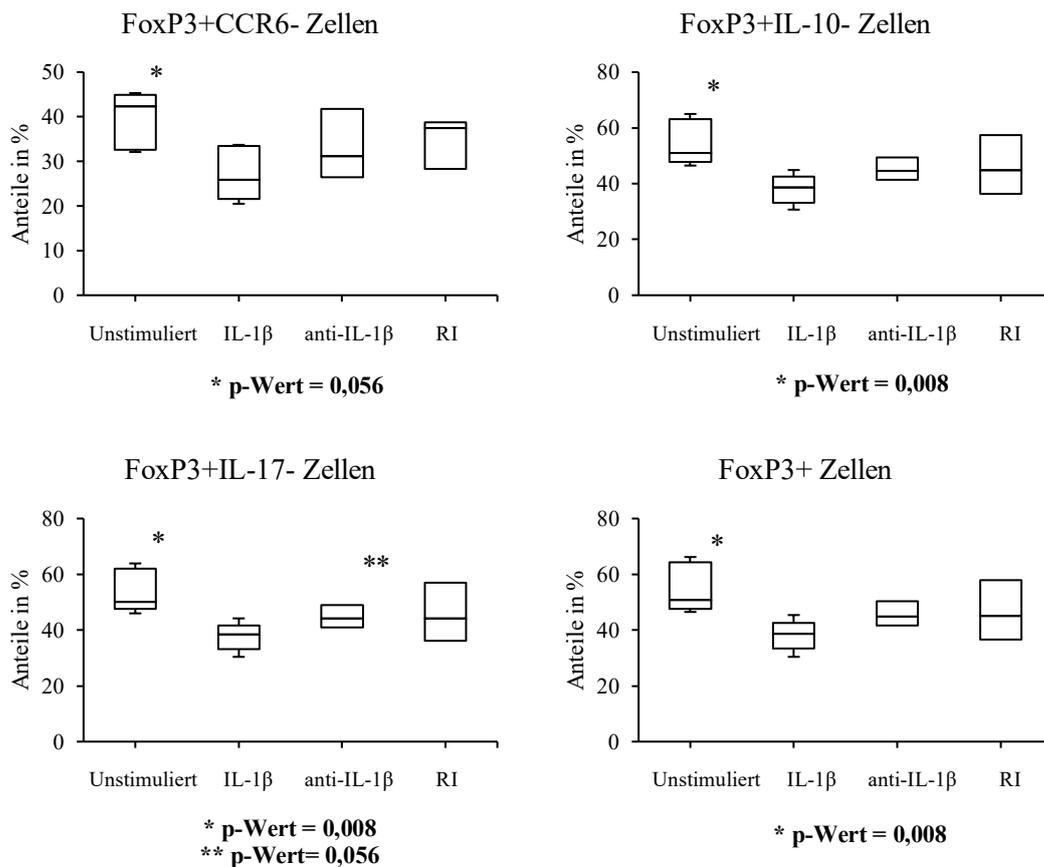
eingegangen. Näher untersucht werden hierbei der Transkriptionsfaktor FoxP3, die Zytokine IL-10 und IL-17, der Proliferationsmarker Ki67 und die Oberflächenmoleküle CCR6, CD62L und der IL-1 Rezeptor. Zur Einsichtnahme sämtlicher p-Werte sei an dieser Stelle auf die Tabellen 48-56 im Appendix verwiesen. In den weiteren Ausführungen wird vorrangig auf die signifikanten Ergebnisse Bezug genommen. Diese werden des Weiteren, von drei Ausnahmen abgesehen, genauer erwähnt und zusätzlich grafisch dargestellt. Herausgenommen wurden bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen der HD das signifikante Ergebnis der FoxP3-IL-1R+ Zellpopulation, innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD das der FoxP3+IL-10+ Zellen und bei den RA-Patientinnen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der signifikante Wert der FoxP3+CD62L+ Zellen. Für diese Zellpopulationen wurden zu geringe Zellzahlen verzeichnet, sodass etwaige Analysen aufgrund dessen ohne Aussagekraft bleiben würden.

#### **Auswirkung der Stimulationsbedingungen auf die CD4+CD25+CD127- Zellen**

**HD:** Bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD finden sich signifikant unterschiedliche FoxP3 Expressionsraten, die in Abhängigkeit zu der jeweiligen Stimulierung stehen. Wie die Abbildungen 9 und 19 verdeutlichen, ist ein Trend für eine Verminderung der FoxP3 Transkription unter IL-1 $\beta$  Kulturbedingungen ersichtlich, welcher insbesondere verglichen mit den erhobenen Daten der unstimulierten Zellen zum Teil hochsignifikant wird. Abgesehen davon, sind für die untersuchten Zellen der HD keine weiteren Stimuli abhängigen Ungleichheiten zu ermitteln.

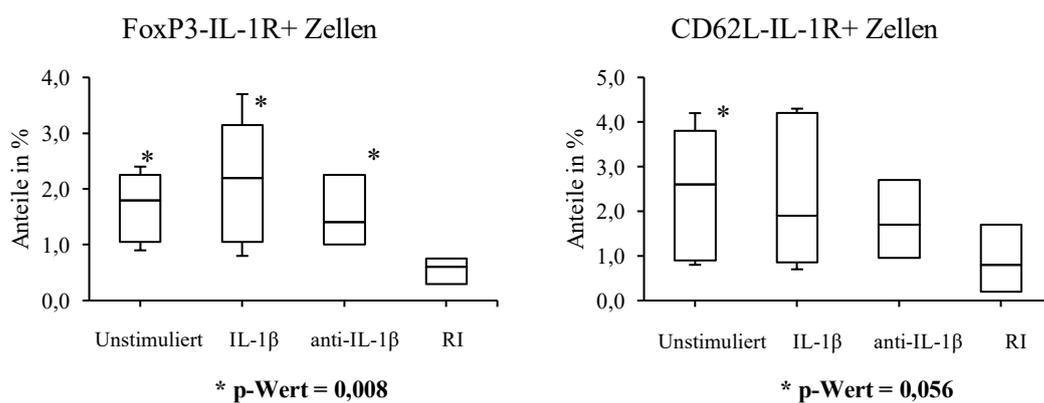
**JIA-Patientinnen:** Bei den analysierten Zellen der JIA-Patientinnen zeigt sich, wie in Abbildung 10 grafisch dargestellt, für die CD4+CD25+CD127-FoxP3-IL-1R+ und die CD4+CD25+CD127-CD62L-IL-1R+ Zellsubpopulationen eine hochsignifikante und eine knapp das Signifikanzniveau verfehlende Minderproduktion des IL-1 Rezeptors unter Einfluss des RIs. Darüber hinaus sind für die gemessenen Werte, welche die Zytokinbildung, die FoxP3 Expression, die Ki67 Transkription und die Glykoproteine CCR6 und CD62L betreffen, keine signifikanten Unterschiede detektierbar. Die Abbildung 20 zeigt die prozentuale FoxP3 Transkription in den CD4+CD25+CD127, den konvertierten CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen einer JIA-Patientin.

**RA-Patientinnen:** Es liegt kein signifikanter Hinweis vor, dass die uneinheitliche Stimulierung einen Einfluss auf das Verhalten der CD4+CD25+CD127- Zellen der RA-Patientinnen ausübt. Die Abbildung 21 veranschaulicht als Dot Plot die prozentuale FoxP3 Expression in den CD4+CD25+CD127, den konvertierten CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen einer RA-Patientin.



**Abbildung 9 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25+CD127-Zellen der HD in der Poststimulation**

Die signifikanten bzw. beinahe-signifikanten p-Werte sind mit einem \* bzw. \*\* markiert und stehen in Relation zu IL-1β.



**Abbildung 10 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25+CD127-Zellen der JIA-Patientinnen in der Poststimulation**

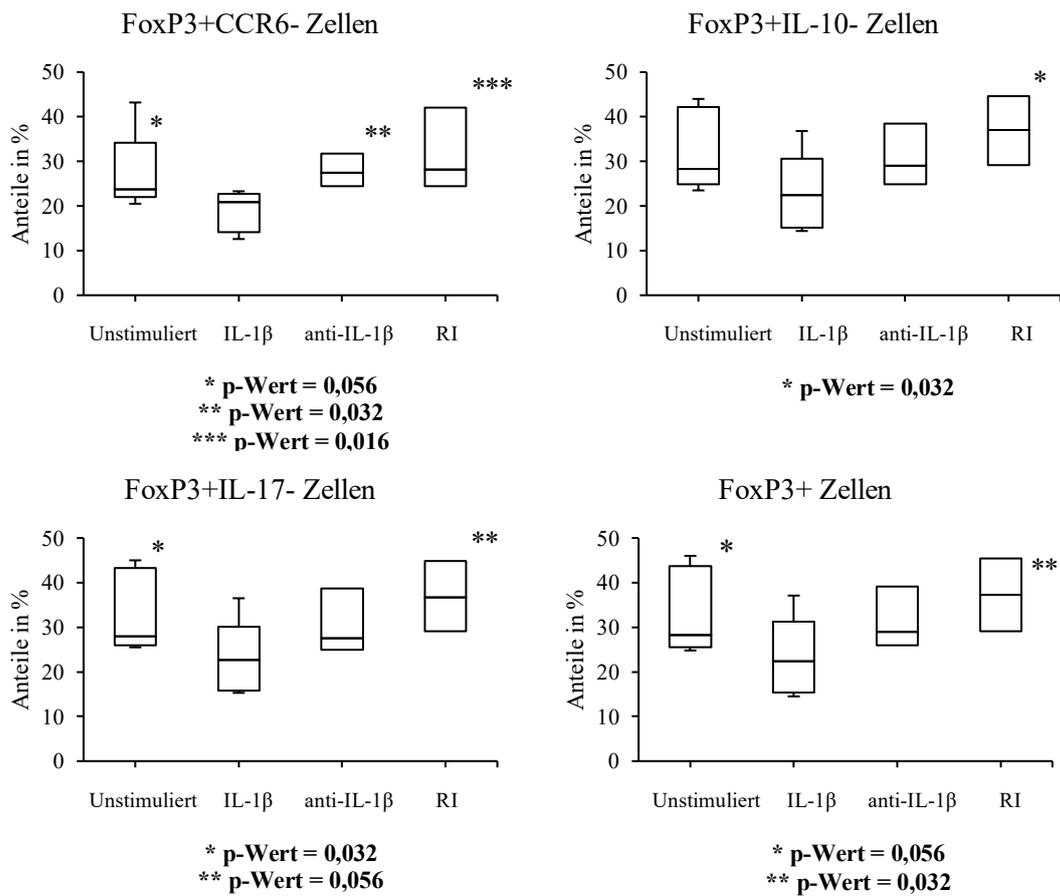
Die signifikanten bzw. beinahe-signifikanten p-Werte sind mit einem \* markiert und stehen in Relation zum RI.

### **3.2.18.1      Auswirkung der Stimulationsbedingungen auf die konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen**

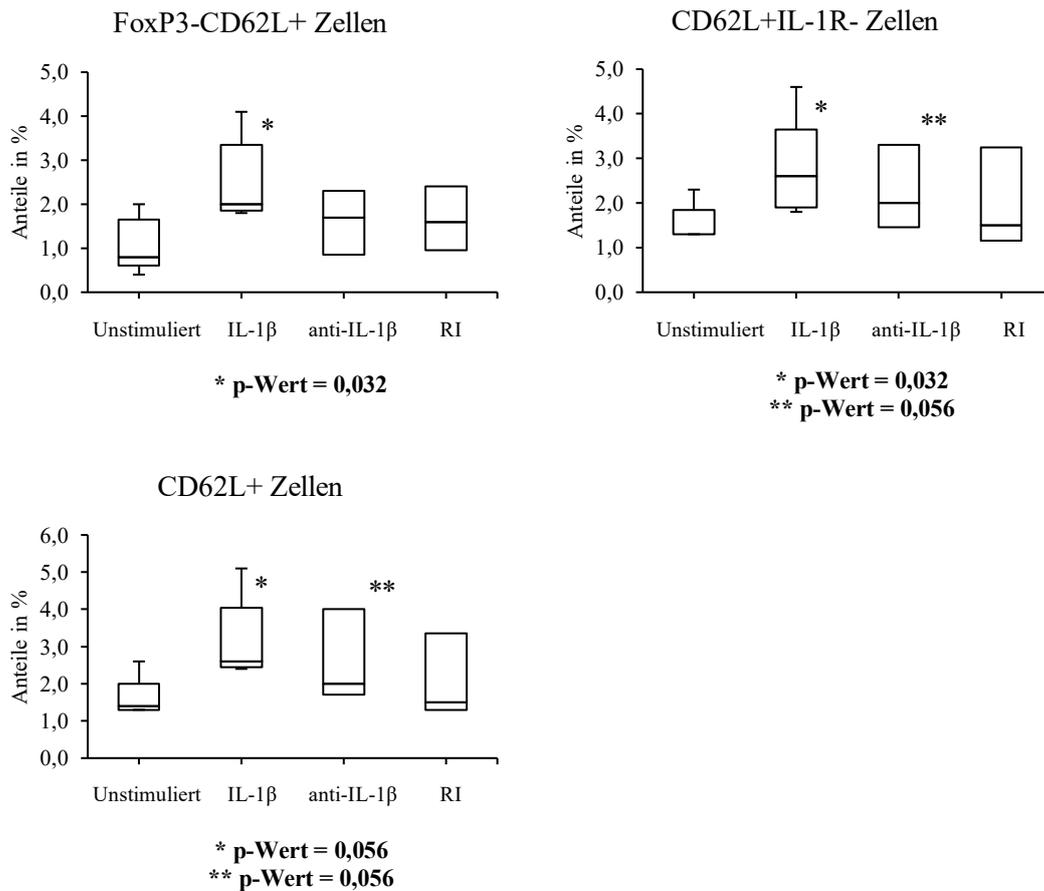
**HD:** Analog zu den originären CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, präsentiert sich ebenfalls bei den konvertierten Zellen eine zum Teil signifikant erniedrigte FoxP3 Transkription unter IL-1 $\beta$  Stimulierung. Zusätzlich existiert ein Trend für eine erhöhte CD62L Rezeptorexpression bei den untersuchten Zellen, wenn diese für 3 Tage mit dem Zytokin IL-1 $\beta$  versetzt werden und Hinweise dafür, dass vor allem bei den unstimulierten Zellen das Glykoprotein CD62L vermindert gebildet wird. Der Vergleich zwischen den Kulturbedingungen Unstimuliert und IL-1 $\beta$  wird dabei häufig signifikant, der zwischen Unstimuliert und anti-IL-1 $\beta$  verfehlt jeweils knapp das Signifikanzniveau. Abschließend wird einmalig bei den FoxP3-IL-1R+ Zellen der HD die Minderproduktion des IL-1 Rezeptors unter RI Zugabe signifikant, wenn die Expressionsquoten mit denen der anti-IL-1 $\beta$  Stimulation verglichen werden. Die Abbildungen 11, 12 und 19 illustrieren diese Beobachtungen. Weitere relevante Ungleichheiten bezüglich der Zytokine, des Proliferationsmarkers Ki67 und des Oberflächenmoleküls CCR6 sind nicht zu eruieren.

**JIA-Patientinnen:** Die CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen der JIA-Patientinnen reagieren nicht wesentlich unterschiedlich auf die beigesetzten Stimuli.

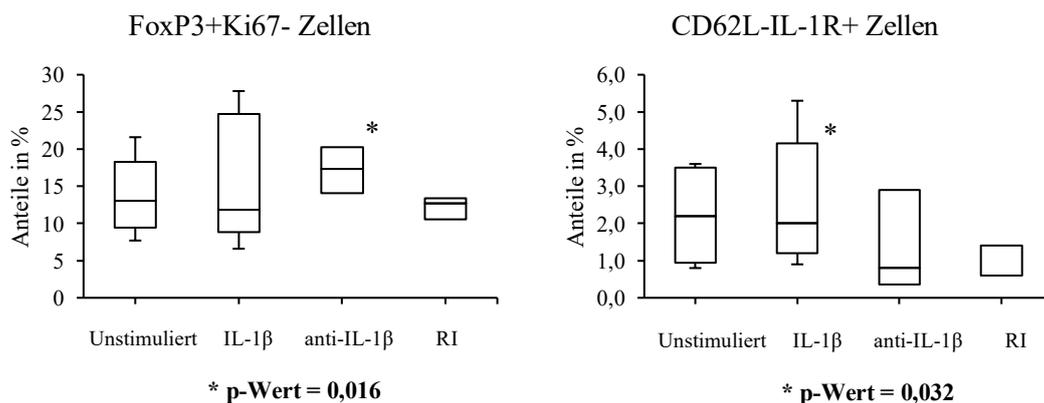
**RA-Patientinnen:** Bei den untersuchten Zellen der RA-Patientinnen bestehen, wie in Abbildung 13 dargestellt, für die Zellpopulationen FoxP3+Ki67- und CD62L-IL-1R+ signifikante Abweichungen in Abhängigkeit von den jeweiligen Kulturbedingungen. So fällt bei den FoxP3+Ki67- Zellen in der Gegenüberstellung anti-IL-1 $\beta$  und RI eine signifikant erhöhte FoxP3 Expression unter anti-IL-1 $\beta$  Stimulation auf und bei den CD62L-IL-1R+ Zellen unter RI Einfluss eine signifikant verminderte IL-1 Rezeptorexprimierung, insbesondere im Vergleich zu den erzielten Werten der IL-1 $\beta$  Stimulierung. Die weiteren Merkmale liegen trotz verschiedenartiger Stimulationen annähernd in einem Bereich.



**Abbildung 11 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD in der Poststimulation**  
 Die signifikanten bzw. beinahe signifikanten p-Werte sind mit einem \*, \*\* bzw. \*\*\* markiert und stehen in Relation zu IL-1β.



**Abbildung 12 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD in der Poststimulation**  
Die signifikanten bzw. beinahe signifikanten p-Werte sind mit einem \* und \*\* markiert und stehen in Relation zu Unstimuliert.



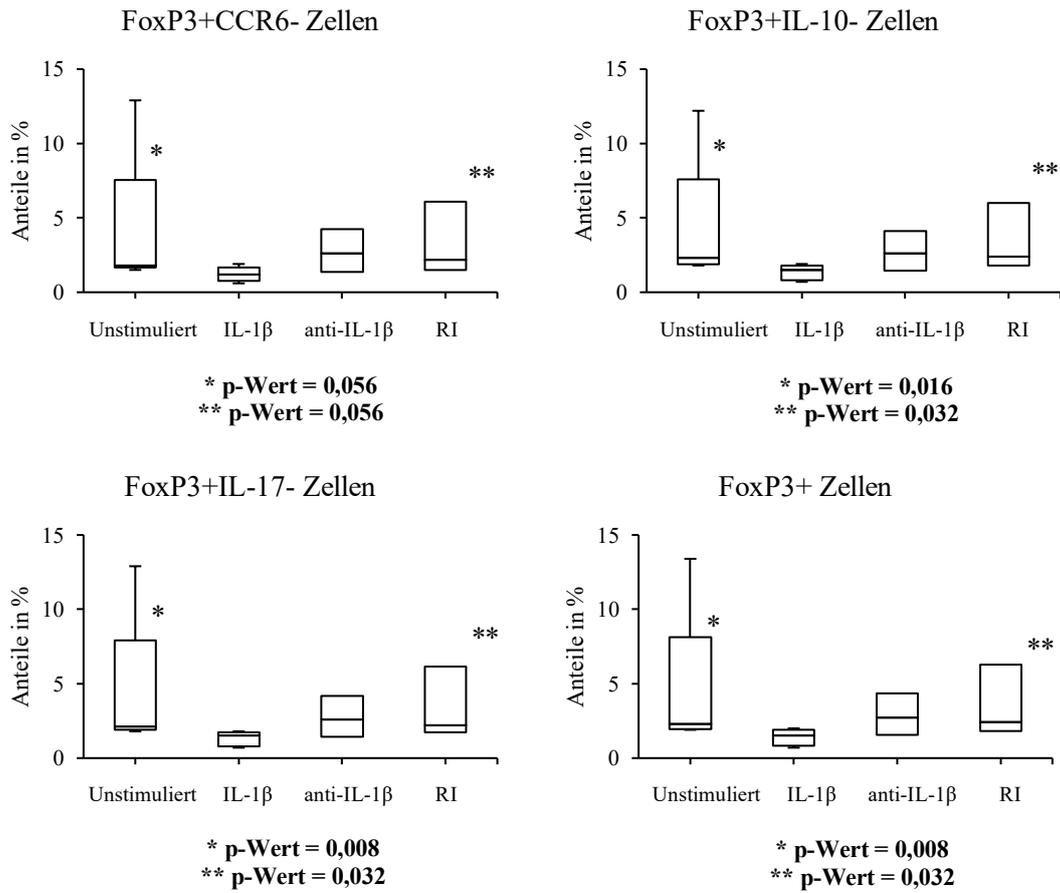
**Abbildung 13 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der RA-Patientinnen in der Poststimulation**  
Die signifikanten p-Werte sind mit einem \* markiert und stehen in Relation zum RI.

### **3.2.18.2      Auswirkung der Stimulationsbedingungen auf die CD4+CD25- CD127- Zellen**

**HD:** Für die CD4+CD25-CD127- Zellen der HD lässt sich festhalten, dass erneut unter IL-1 $\beta$  Einwirkung die geringste FoxP3 Expression zu verzeichnen ist. Verglichen mit den erzielten Expressionsraten der Kulturbedingungen Unstimuliert und RI wird dieser Unterschied signifikant bis hochsignifikant. Die Abbildungen 14 und 19 fassen die relevanten Ergebnisse zusammen. Weiterhin besteht eine signifikante Abweichung in der IL-10 Produktion innerhalb der unterschiedlich stimulierten CD4+CD25-CD127-CCR6-IL-10+ Zellen. Der anti-IL-1 $\beta$  Stimulus imponiert hierbei verglichen mit der IL-1 $\beta$  Stimulierung durch signifikant höhere proportionale IL-10 Anteile. Zur Veranschaulichung dient die Abbildung 15. Auf die Expression des Zytokins IL-17, des Proliferationsmarkers Ki67, des Oberflächenmoleküls CCR6 und des IL-1 Rezeptors hingegen üben die verschiedenen Stimulierungen an dieser Stelle keinen wesentlichen Einfluss aus. Abschließend zeigt sich in der Untersuchung, dass IL-1 $\beta$  im Gegensatz zu den anderen Stimuli eine Hochregulierung des Glykoproteins CD62L bewirkt. Diese Beobachtung wird, wie in der Abbildung 16 dargestellt, mehrfach signifikant bis hochsignifikant.

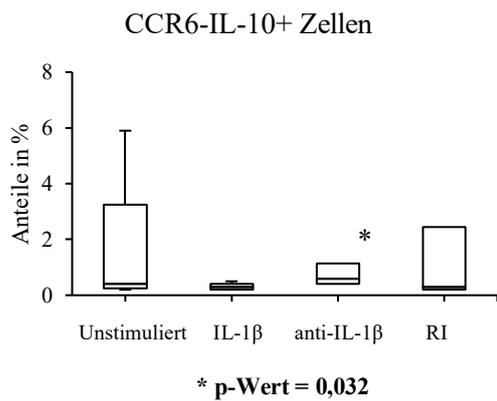
**JIA-Patientinnen:** In der JIA-Patientengruppe waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Kulturbedingungen zu eruieren.

**RA-Patientinnen:** Bei den analysierten Zellen der RA-Patientinnen finden sich in der Gegenüberstellung der Stimuli anti-IL-1 $\beta$  und RI signifikant höhere proportionale Anteile von FoxP3+ Zellpopulationen unter anti-IL-1 $\beta$  Stimulierung. Dies wird in den Abbildungen 17 und 18 verdeutlicht. Zusätzliche signifikante Abweichungen zeigen sich nicht.

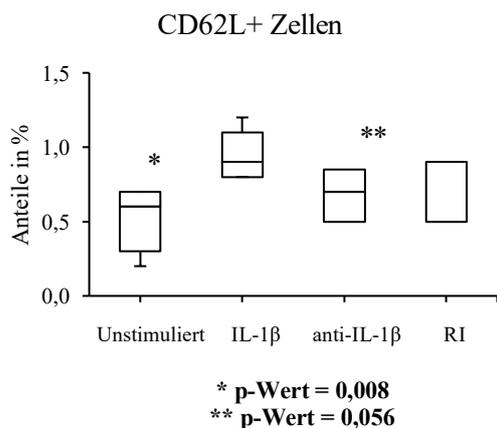
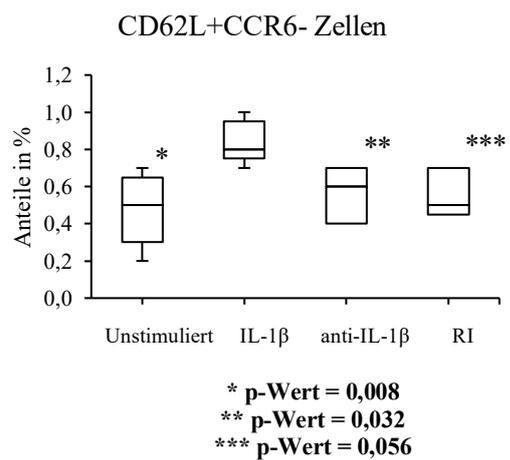
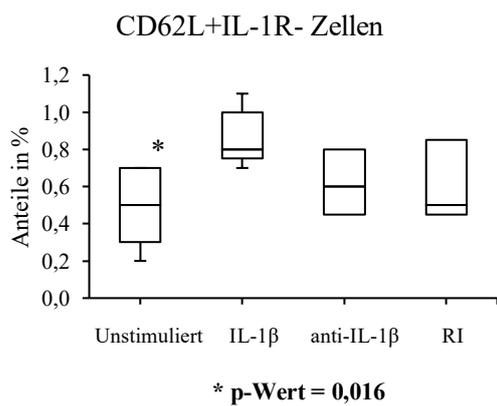


**Abbildung 14 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD in der Poststimulation**

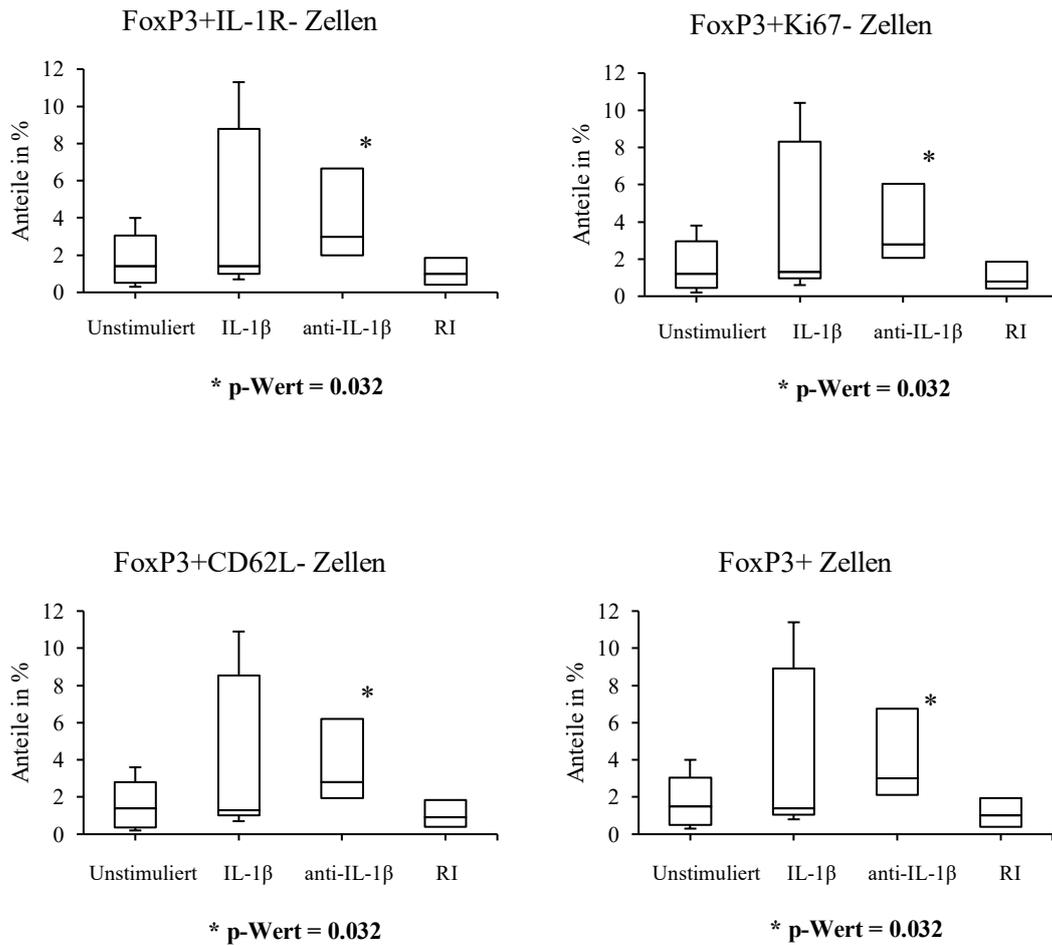
Die signifikanten bzw. beinahe-signifikanten p-Werte sind mit einem \* und \*\* markiert und stehen in Relation zu IL-1β.



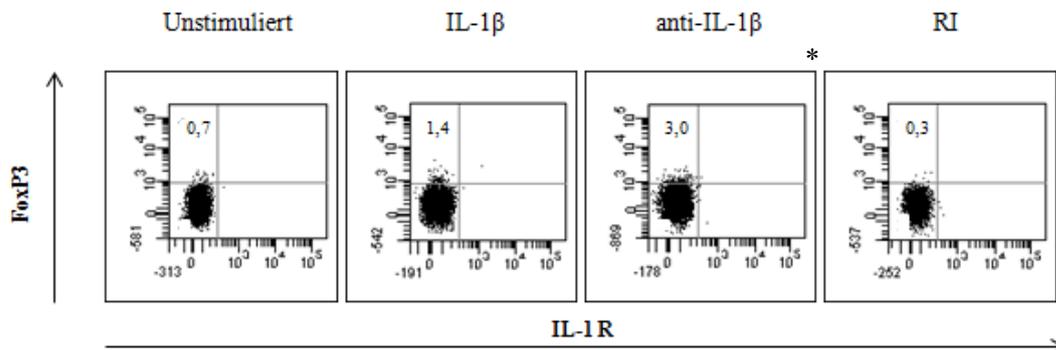
**Abbildung 15 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127-Zellen der HD in der Poststimulation**  
Die signifikanten p-Werte sind mit einem \* markiert und stehen in Relation zu IL-1β.



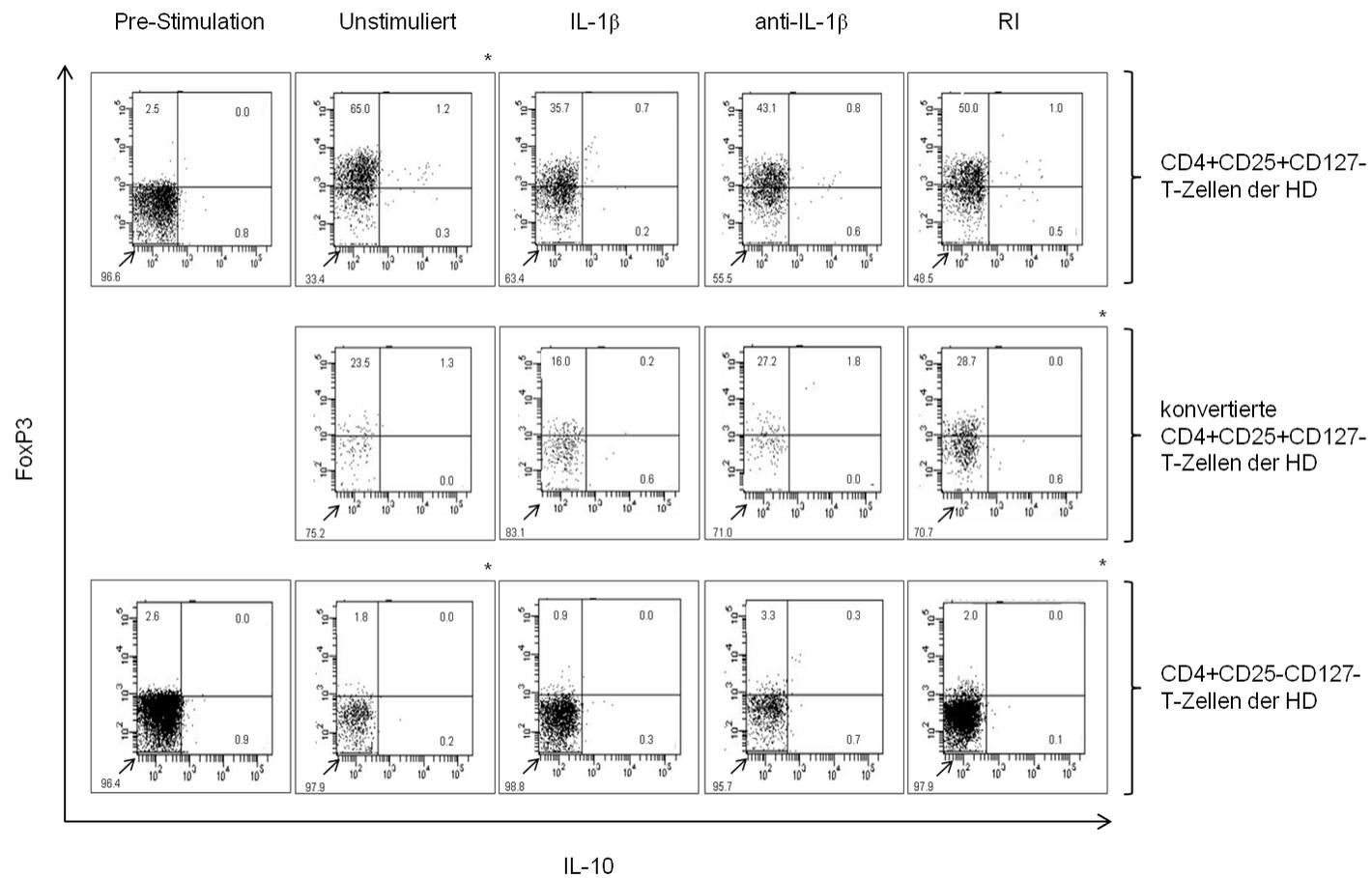
**Abbildung 16 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127-Zellen der HD in der Poststimulation**  
Die signifikanten bzw. beinahe-signifikanten p-Werte sind mit einem \*, \*\* und \*\*\* markiert und stehen in Relation zu IL-1β.



**Abbildung 17** Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen in der Poststimulation  
Die signifikanten p-Werte sind mit einem \* markiert und stehen in Relation zum RI.



**Abbildung 18** Repräsentative prozentuale FoxP3 Transkription in den CD4+CD25-CD127- Zellen eines RA-Patientinnen (Codierung 10) in Abhängigkeit von der jeweiligen Stimulierung.  
Die signifikanten p-Werte sind mit einem \* markiert und stehen in Relation zum RI



**Abbildung 19** Repräsentative prozentuale FoxP3 Transkription in den CD4+CD25+CD127, den konvertierten CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen zweier HD (Codierung 23 und 25) in Abhängigkeit von der jeweiligen Stimulierung.

Die signifikanten bzw. beinahe-signifikanten p-Werte sind mit einem \* markiert und stehen in Relation zu IL-1 $\beta$ .

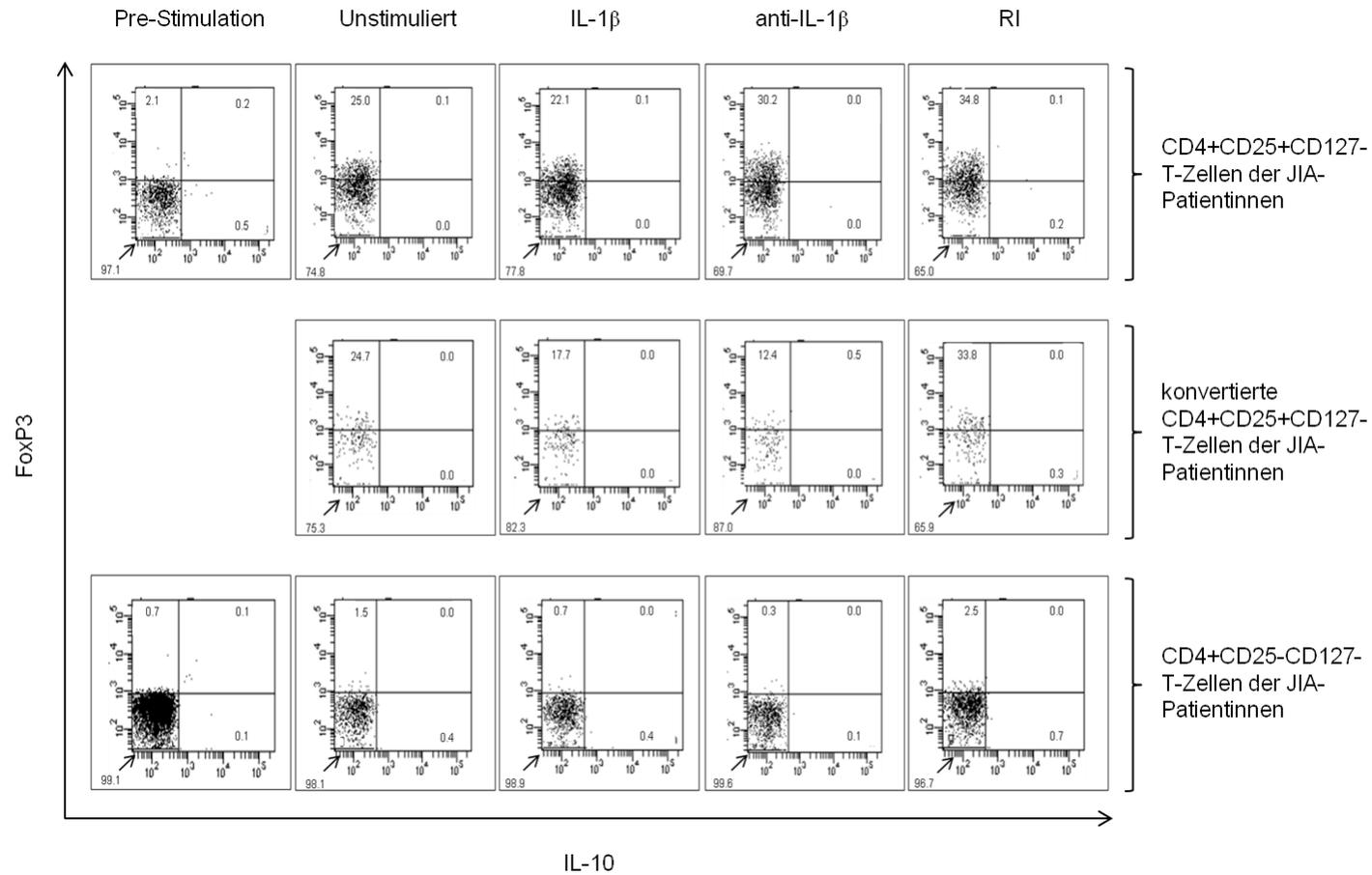


Abbildung 20 Repräsentative prozentuale FoxP3 Transkription in den CD4+CD25+CD127-, den konvertierten CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen einer JIA-Patientin (Codierung 4) in Abhängigkeit von der jeweiligen Stimulierung.

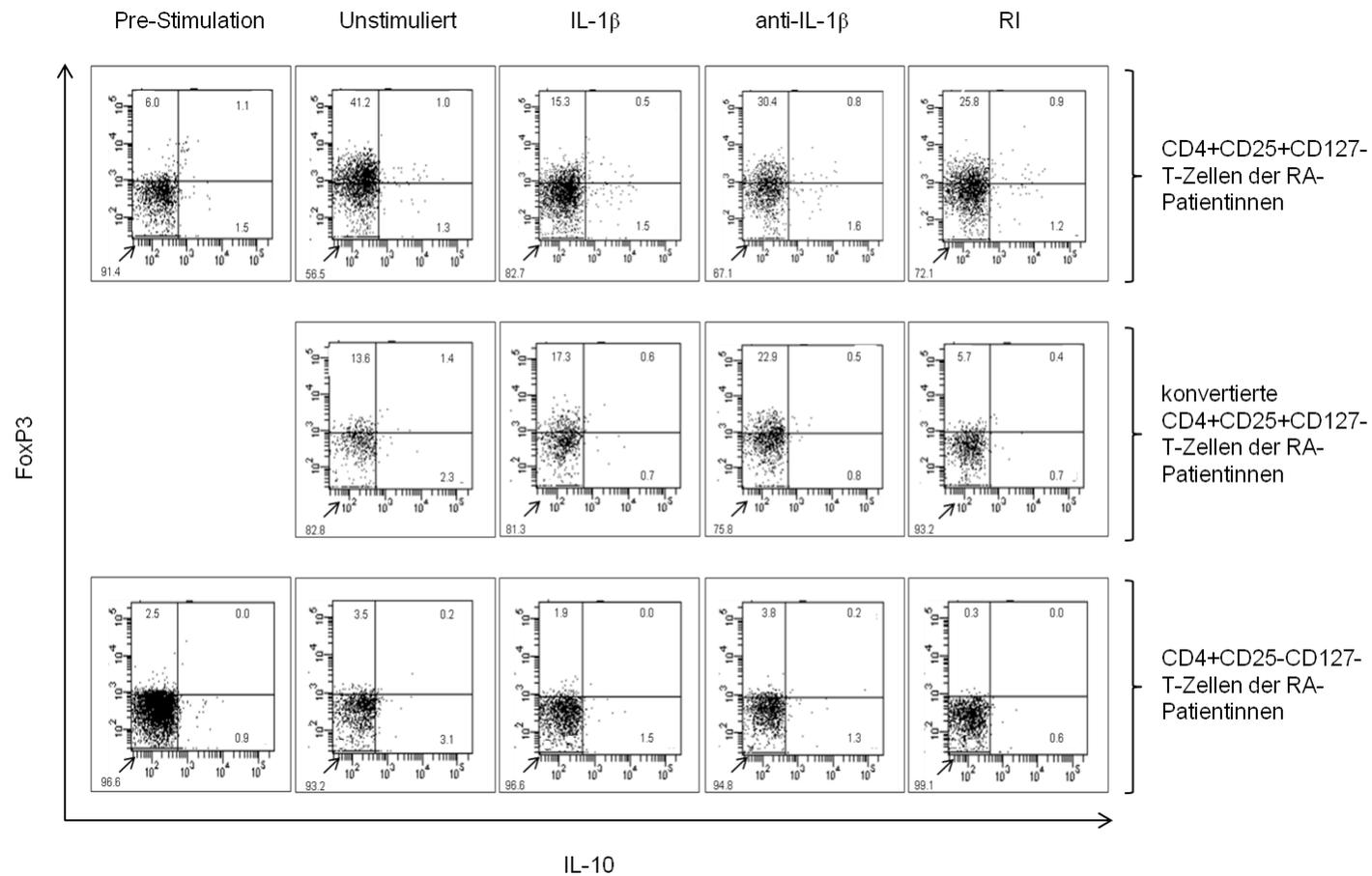


Abbildung 21 Repräsentative prozentuale FoxP3 Transkription in den CD4+CD25+CD127-, den konvertierten CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen einer RA-Patientin (Codierung 12) in Abhängigkeit von der jeweiligen Stimulierung.

### **3.2.19 Vorher-Nachher Vergleich der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen**

In dieser Untersuchung sollte der Arbeitshypothese nachgegangen werden ob und falls ja, inwiefern sich die betreffenden Zellen vor und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch in ihrem Phänotyp verändert haben. Ein spezielles Interesse gilt hierbei den verschiedenen Oberflächenmarkern, Zytokinen, Chemokinen und den intrazellulär Zellbestandteilen wie den Transkriptionsfaktoren.

Auffallend ist die phänotypische Veränderung der CD4+CD25+CD127- Zellen, die bei der HD-, der JIA- sowie der RA-Gruppe ihre CD25 Rezeptoren nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch signifikant herunterregulieren. Bei den CD4+CD25-CD127- Zellen liegt das genau entgegengesetzte Bild vor; hier sind nach der Intervention über alle drei Vergleichsgruppen hinweg signifikant höhere Proportionen von CD4+CD25+CD127- Zellen zu finden. Die näheren Ausführungen erfolgen in die zwei Subgruppen unterteilt und können in den Tabellen 18 und 19 eingesehen werden.

**CD4+CD25+CD127- Zellen:** Nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch exprimieren die CD4+CD25+CD127- Zellen signifikant vermehrt den Transkriptionsfaktor FoxP3. Diese Beobachtung findet sich über alle drei Kohorten hinweg. Hinsichtlich des Zytokins IL-17 zeigen sich zum Teil widersprüchliche Ergebnisse, dennoch liegt eine Tendenz für ein gehäuftes Vorkommen in der Poststimulation vor. IL-10 scheint vor der Intervention vermehrt sezerniert zu werden. Der Proliferationsmarker Ki67 liegt dagegen nach der Kultur bei den HD und den RA-Patientinnen zu signifikant größeren proportionalen Anteilen vor. Bei diesen beiden Gruppen zeigen sich nach der Stimulierung zudem Unterschiede in der Expression der Oberflächenmoleküle CD62L, CCR6 und des IL-1 Rezeptors. So sind die Glykoproteine CD62L und CCR6 vor dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch signifikant höher exprimiert, wohingegen der IL-1 Rezeptor nach der Stimulierung hochreguliert wird. Dieser Trend spiegelt sich in geringerem Maße auch bei den JIA-Patientinnen wider. Hier tritt diese Beobachtung vorrangig bei den CD4+CD25+CD127-FoxP3-CD62L+, den CD4+CD25+CD127-FoxP3+IL1R+, den CD4+CD25+CD127-FoxP3+CCR6+ und den CD4+CD25+CD127-FoxP3-CCR6+ Zellen auf.

**CD4+CD25-CD127- Zellen:** Bei den CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen bilden sich bei der zusätzlichen anti-IL-1 $\beta$  Inhibierung signifikante Unterschiede in der FoxP3 Expression heraus, so wird dieser Transkriptionsfaktor nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch vermehrt produziert. Bei weiteren Konstellationen wird das Signifikanzniveau verfehlt. In der Analyse der Zytokine IL-10 und IL-17 werden keine relevanten Ungleichheiten erkennbar. Im Vorher-Nachher-Vergleich werden bei den untersuchten Zellen der HD für Ki67 in der Poststimulation signifikant höhere Proportionen sichtbar, während sich bei der JIA-Gruppe für die CD4+CD25-CD127-FoxP3-Ki67+ und die CD4+CD25-CD127-CD62L+Ki67+ Zellen vor der Intervention ein Trend für eine vermehrte Ki67 Expressierung abzeichnet. Die Transkriptionsraten des Chemokinrezeptors CCR6 verändern sich nicht signifikant. Für den IL-1 Rezeptor werden nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch vereinzelt bei den HD signifikant erhöhte proportionale Anteile gemessen, wohingegen sich analog zu den weiter oben beschriebenen CD4+CD25+CD127- Zellen eine signifikant vermehrte Expressierung des Adhäsionsmoleküls CD62L in der Prästimulation findet. Vorrangig tritt diese Beobachtung bei den HD und den JIA-Patientinnen auf.

**Tabelle 18 Vorher-Nachher Vergleich der proportionalen Anteile der T-Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen (vor und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Die signifikanten p-Werte sind markiert. Der hochgestellte Buchstabe <sup>P</sup> hinter den signifikanten p-Werten kennzeichnet die Zellcharakteristika, welche nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet sind. Befindet sich keine weitere Markierung hinter den signifikanten p-Werten bedeutet dies, dass die höheren Rangsummen in der Prästimulation zu finden sind.

	Unstimuliert			IL-1 $\beta$			anti-IL-1 $\beta$			RI		
	HD	JIA	RA									
CD25+CD127-	<b>0,043</b>											
IL-17+CCR6-	0,416	0,080	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,461	0,138	0,104	0,104	0,078	<b>0,042</b> <sup>P</sup>	0,144	0,080	0,144
IL-17+CCR6+	0,223	<b>0,042</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,223	0,273	0,144	0,138	0,686	0,138	0,223	0,686	0,080
IL-17-CCR6+	<b>0,043</b>	0,080	0,080	0,080	0,225	0,225	0,080	0,225	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>
FoxP3+CCR6-	<b>0,043</b> <sup>P</sup>											
FoxP3+CCR6+	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,042</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>						
FoxP3-CCR6+	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>						
FoxP3+IL-10-	<b>0,043</b> <sup>P</sup>											
FoxP3+IL10+	0,102	0,498	0,465	0,336	0,176	0,588	1,000	0,176	0,786	1,000	0,715	0,465
FoxP3-IL-10+	<b>0,042</b>	<b>0,043</b>	0,276	0,066	<b>0,043</b>	0,068	0,141	0,068	0,279	0,104	<b>0,042</b>	0,225
FoxP3+IL-17-	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,138	<b>0,043</b> <sup>P</sup>									
FoxP3+IL-17+	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,068	<b>0,042</b> <sup>P</sup>	0,461	0,080	0,078	0,080	0,104	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,279	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>
FoxP3-IL17+	<b>0,043</b>	0,197	<b>0,042</b> <sup>P</sup>	0,138	0,416	0,080	0,102	0,500	0,144	0,078	0,686	0,138
CCR6+IL10-	<b>0,043</b>	0,345	0,138	0,080	0,500	0,223	0,080	0,686	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,893	<b>0,043</b>
CCR6+IL10+	<b>0,038</b>	0,279	0,465	<b>0,042</b>	0,078	0,104	0,104	0,068	0,680	0,066	0,343	0,144
CCR6-IL10+	0,686	0,176	0,225	1,000	<b>0,042</b>	1,000	0,498	0,223	0,588	0,588	0,279	0,345
IL17+IL10-	0,273	0,080	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,686	0,138	0,068	0,197	0,223	0,080	0,498	0,080	0,080
IL17+IL10+	0,066	0,713	0,713	0,066	0,258	0,705	0,066	0,276	1,000	0,066	0,785	0,705
IL17-IL10+	0,715	<b>0,043</b>	1,000	0,285	<b>0,042</b>	0,068	0,893	0,080	0,465	0,893	<b>0,043</b>	0,715
FoxP3+IL-1R-	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,138	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,138	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,080	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>
FoxP3+IL-1R+	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,068	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,042</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,066	<b>0,043</b> <sup>P</sup>					

FoxP3-IL-1R+	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,104	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	0,080	0,225	<b>0,043 P</b>
FoxP3+Ki67-	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,042 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>
FoxP3+Ki67+	<b>0,043 P</b>	0,223	<b>0,042 P</b>	0,068	0,131	0,068	0,068	0,144	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,104	<b>0,043 P</b>
FoxP3-Ki67+	0,285	1,000	0,068	0,414	0,141	0,104	0,109	0,586	0,336	0,066	0,715	0,357
FoxP3+CD62L-	<b>0,043 P</b>	0,225	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,225	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,136	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>
FoxP3+CD62L+	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	0,279	0,104	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,138	0,080
FoxP3-CD62L+	<b>0,043</b>	<b>0,042</b>	<b>0,043</b>									
IL-1R+Ki67-	<b>0,043 P</b>	0,078	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,465	<b>0,043 P</b>
IL-1R+Ki67+	0,068	0,068	<b>0,043 P</b>	0,080	0,141	<b>0,043 P</b>	0,080	0,066	<b>0,043 P</b>	0,176	0,581	<b>0,042 P</b>
IL-1R-Ki67+	<b>0,043 P</b>	0,686	<b>0,042 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,684	0,279	<b>0,043 P</b>	0,686	0,068	<b>0,043 P</b>	0,500	0,078
CD62L+IL-1R-	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>									
CD62L+IL-1R+	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	0,078	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,197	<b>0,043 P</b>				
CD62L-IL-1R+	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,042 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,893	<b>0,043 P</b>
CD62L+Ki67-	<b>0,043</b>	0,138	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,138	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,138	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>
CD62L+Ki67+	0,414	0,225	0,197	0,705	0,461	0,102	0,785	0,223	0,144	0,480	0,144	0,336
CD62L-Ki67+	<b>0,043 P</b>	0,465	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,686	0,068	<b>0,043 P</b>	0,684	<b>0,042 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,279	0,068
CD62L+CCR6-	<b>0,043</b>	0,345	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,345	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,225	0,080	<b>0,043</b>	0,345	<b>0,043</b>
CD62L+CCR6+	<b>0,043</b>	0,138	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,345	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,500	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,138	<b>0,043</b>
CD62L-CCR6+	0,686	0,138	0,686	0,686	0,138	0,686	0,500	<b>0,043</b>	0,588	0,686	<b>0,043</b>	0,715
CCR6+Ki67-	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,345	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,225	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>
CCR6+Ki67+	0,080	0,223	0,104	0,176	0,194	0,078	0,197	0,180	0,080	0,104	1,000	0,078
CCR6-Ki67+	<b>0,043 P</b>	0,225	<b>0,039 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,686	0,068	<b>0,043 P</b>	0,416	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,144	0,068
CCR6+IL-1R-	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>
CCR6+IL-1R+	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,500	<b>0,043 P</b>
CCR6-IL-1R+	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,042 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,080	<b>0,043 P</b>	<b>0,043 P</b>	0,416	<b>0,043 P</b>
CCR6+	<b>0,043</b>	0,345	0,138	0,080	0,500	0,225	0,080	0,686	<b>0,043</b>	0,080	0,893	<b>0,043</b>
IL-10+	0,104	0,225	0,686	<b>0,039</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,285	<b>0,043</b>	0,892	0,345	0,345	0,500
FoxP3+	<b>0,043 P</b>											

IL-17+	0,225	0,080	<b>0,043</b> P	0,345	0,138	0,080	0,500	0,223	0,080	0,500	0,080	0,080
CD62L+	<b>0,043</b>	0,138	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,225	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,225	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,138	<b>0,043</b>
Ki67+	<b>0,042</b> P	0,225	<b>0,043</b> P	0,080	0,686	0,080	<b>0,043</b> P	0,416	<b>0,043</b> P	<b>0,043</b> P	0,225	0,078
IL-1R+	<b>0,043</b> P	0,080	<b>0,043</b> P	<b>0,043</b> P	0,080	<b>0,043</b> P	<b>0,043</b> P	0,080	<b>0,043</b> P	<b>0,043</b> P	0,465	<b>0,043</b> P
CD25-	<b>0,043</b> P											

**Tabelle 19 Vorher-Nachher Vergleich der proportionalen Anteile der T-Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen (vor und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Die signifikanten p-Werte sind markiert. Der hochgestellte Buchstabe <sup>P</sup> hinter den signifikanten p-Werten kennzeichnet die Zellcharakteristika, welche nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet sind. Befindet sich keine weitere Markierung hinter den signifikanten p-Werten bedeutet dies, dass die höheren Rangsummen in der Prästimulation zu finden sind.

	Unstimuliert			IL-1 $\beta$			anti-IL-1 $\beta$			RI		
	HD	JIA	RA	HD	JIA	RA	HD	JIA	RA	HD	JIA	RA
CD25-CD127-	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>						
IL-17+CCR6-	0,465	0,785	0,180	0,109	0,194	0,416	0,180	0,197	0,854	0,593	0,180	0,285
IL-17+CCR6+	1,000	0,655	0,564	0,157	0,157	1,000	0,157	1,000	1,000	0,157	0,564	0,414
IL-17-CCR6+	0,498	0,686	0,686	0,492	0,500	0,225	0,500	0,498	0,686	0,893	0,500	0,686
FoxP3+CCR6-	0,225	0,893	0,138	0,893	0,686	0,144	0,138	0,500	0,080	0,138	0,893	0,225
FoxP3+CCR6+	0,197	0,684	0,416	1,000	0,500	0,588	0,713	0,500	0,892	0,705	0,498	1,000
FoxP3-CCR6+	0,498	0,686	0,686	0,500	0,500	0,345	0,498	0,500	0,893	0,893	0,500	0,893
FoxP3+IL-10-	0,225	0,893	0,080	0,684	0,715	0,273	0,138	0,686	<b>0,043<sup>P</sup></b>	0,138	1,000	0,225
FoxP3+IL-10+	0,317	1,000	0,679	1,000	0,083	1,000	0,066	0,564	0,461	0,180	0,705	0,197
FoxP3-IL-10+	0,786	0,892	0,104	0,273	0,225	0,138	1,000	0,068	0,176	0,593	0,285	0,225
FoxP3+IL-17-	0,225	0,893	0,104	0,684	0,715	0,197	0,138	0,715	<b>0,043<sup>P</sup></b>	0,144	1,000	0,225
FoxP3+IL-17+	0,317	0,317	0,317	0,317	0,317	0,564	0,276	1,000	0,655	1,000	1,000	1,000
FoxP3-IL-17+	0,593	0,783	0,109	0,285	0,461	0,680	0,705	0,655	1,000	0,715	0,458	0,891
CCR6+IL-10-	0,498	0,893	0,686	0,500	0,500	0,500	0,500	0,500	0,345	0,500	0,500	0,416
CCR6+IL-10+	0,317	0,715	0,285	0,317	0,066	0,317	1,000	0,357	0,336	1,000	0,496	0,180
CCR6-IL-10+	0,891	1,000	0,138	0,223	0,273	0,138	0,465	0,059	0,138	0,715	0,465	0,225
IL-17+IL-10-	0,414	0,785	0,066	0,109	0,194	0,279	0,197	0,197	0,581	0,285	0,180	0,285
IL-17+IL-10+	0,317	0,317	0,317	1,000	0,317	0,317	0,157	1,000	0,655	1,000	0,655	1,000
IL-17-IL-10+	0,786	0,893	0,080	0,273	0,225	0,138	0,588	0,066	0,144	0,465	0,785	0,225
FoxP3+IL-1R-	0,080	0,893	0,345	0,500	0,500	0,080	0,138	0,500	<b>0,042<sup>P</sup></b>	0,144	0,893	0,144
FoxP3+IL-1R+	0,317	0,317	0,317	1,000	0,157	0,083	0,317	0,157	0,157	1,000	0,317	0,157

FoxP3-IL-1R+	0,157	0,564	0,102	<b>0,046</b> P	0,257	0,336	0,109	0,180	0,102	0,083	0,180	0,414
FoxP3+Ki67-	0,080	0,786	0,345	0,498	0,500	0,104	0,176	0,500	<b>0,043</b> P	0,225	0,893	0,144
FoxP3+Ki67+	0,109	0,317	0,317	0,180	0,157	0,102	0,066	1,000	0,066	<b>0,042</b> P	0,157	0,317
FoxP3-Ki67+	<b>0,043</b> P	0,197	0,109	<b>0,043</b> P	0,414	0,223	<b>0,043</b> P	1,000	0,197	<b>0,043</b> P	<b>0,042</b>	0,285
FoxP3+CD62L-	0,080	0,893	0,345	0,416	0,686	0,080	0,080	0,500	<b>0,042</b> P	0,080	0,893	0,223
FoxP3+CD62L+	0,109	0,588	0,414	0,109	0,279	0,317	0,197	0,273	0,257	0,465	0,461	0,197
FoxP3-CD62L+	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,042</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080
IL-1R+Ki67-	0,157	0,564	0,129	0,083	0,257	0,336	0,102	0,059	0,109	0,083	0,157	0,197
IL-1R+Ki67+	0,317	0,317	0,157	1,000	0,180	0,317	0,317	0,317	0,317	1,000	0,317	0,317
IL-1R-Ki67+	<b>0,043</b> P	0,141	0,102	<b>0,043</b> P	0,197	0,273	<b>0,043</b> P	0,854	0,131	<b>0,043</b> P	0,109	0,465
CD62L+IL-1R-	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>
CD62L+IL-1R+	1,000	0,317	1,000	1,000	1,000	0,180	1,000	1,000	0,180	0,317	0,317	0,317
CD62L-IL-1R+	0,180	0,157	0,078	<b>0,046</b> P	0,102	0,197	0,109	<b>0,034</b> P	0,068	0,102	0,109	0,109
CD62L+Ki67-	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,078	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080
CD62L+Ki67+	0,157	<b>0,046</b>	1,000	0,157	<b>0,046</b>	1,000	0,564	<b>0,046</b>	0,414	0,564	<b>0,046</b>	1,000
CD62L-Ki67+	<b>0,043</b> P	0,461	0,102	<b>0,042</b> P	0,783	0,273	<b>0,043</b> P	0,680	0,144	<b>0,043</b> P	0,197	0,465
CD62L+CCR6-	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080
CD62L+CCR6+	<b>0,043</b>	0,080	0,109	0,068	0,080	0,257	0,109	0,080	0,461	0,109	0,080	0,109
CD62L-CCR6+	0,500	0,686	0,500	0,500	0,345	0,786	0,498	0,345	0,684	0,498	0,345	0,500
CCR6+Ki67-	0,500	0,500	0,686	0,500	0,138	0,345	0,500	0,345	0,686	0,498	0,345	0,500
CCR6+Ki67+	0,157	1,000	0,102	0,157	0,317	1,000	0,317	0,317	0,655	0,083	0,564	0,564
CCR6-Ki67+	<b>0,043</b> P	0,131	0,336	0,068	1,000	0,273	<b>0,042</b> P	0,680	0,131	<b>0,043</b> P	0,066	0,465
CCR6+IL-1R-	0,500	0,500	0,686	0,498	0,138	0,345	0,500	0,345	0,686	0,500	0,345	0,500
CCR6+IL-1R+	0,317	0,564	0,257	0,317	0,655	0,414	0,317	1,000	0,197	1,000	0,705	0,564
CCR6-IL-1R+	0,317	0,083	0,102	0,083	0,109	0,197	0,180	0,066	0,131	0,102	0,109	0,157
CCR6+	0,498	0,686	0,686	0,498	0,500	0,225	0,500	0,500	0,686	0,893	0,498	0,684
IL-10+	0,786	0,680	0,225	0,273	0,176	0,197	0,357	0,068	0,144	0,465	0,465	0,223
FoxP3+	0,225	0,893	0,104	0,686	0,715	0,273	0,138	0,715	0,080	0,144	1,000	0,225

IL-17+	0,593	0,680	0,109	0,197	0,461	0,892	1,000	0,593	1,000	0,715	0,465	1,000
CD62L+	<b>0,043</b>	<b>0,043</b>	0,080									
Ki67+	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,336	0,141	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,581	0,273	<b>0,042</b> <sup>P</sup>	1,000	0,223	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	0,109	0,465
IL-1R+	0,180	0,414	0,104	<b>0,046</b> <sup>P</sup>	0,197	0,336	0,102	0,102	0,109	0,102	0,285	0,197
CD25+CD127-	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>	<b>0,042</b> <sup>P</sup>	<b>0,043</b> <sup>P</sup>							

### 3.2.20 Vergleich zwischen den originären CD4+CD25+CD127- und den konvertierten CD4+CD25+CD127-Zellen

In der folgenden Übersichtsdarstellung wird beschrieben inwiefern sich der Zellphänotyp der originären CD4+CD25+CD127- Zellen von dem der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen unterscheidet. Dabei werden die Zellen innerhalb ihrer Vergleichsgruppen und anhand der bereits zuvor erwähnten Zellmerkmale verglichen. Tabelle 20 präsentiert das Ergebnis bündig. Die Pfeile ↑ und ↓ zeigen an, dass die erzielten Werte der konvertierten Zellen im Vergleich zu denen der originären CD4+CD25+CD127- Zellen signifikant erhöht beziehungsweise erniedrigt sind, die Doppelpfeile ↑↑ und ↓↓ markieren hochsignifikante Abweichungen und die eingeklammerten Pfeile (↑) und (↓) sind ein Indikator für knapp das Signifikanzniveau verfehlende p-Werte.

Zusammenfassend gesehen lässt sich für die Gegenüberstellung festhalten, dass über alle Stimulierungen hinweg bei jeder Versuchsgruppe die konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen prozentual nie die Anteile der originären CD4+CD25+CD127- Zellen erreichen. Die weitere Erörterung erfolgt aufgetrennt in die drei Vergleichskohorten.

**HD:** Innerhalb dieser Gruppe sind zwischen den zwei untersuchten Zellpopulationen die meisten Abweichungen zu verzeichnen. Es zeigen sich signifikante bis hochsignifikante p-Werte für eine verminderte FoxP3 Expression bei den konvertierten Zellen. Im Hinblick auf die Zytokinsekernierung von IL-10 und IL-17 sind keine aussagekräftigen Unterschiede zu beobachten. Den Proliferationsmarker Ki67 betreffend sind die CD4+CD25+CD127- Zellen der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen über mehrere Stimulierungen hinweg mit hochsignifikant, signifikant und knapp das Signifikanzniveau verfehlend höheren Rängen verbunden, scheinen diesen demnach vermehrt zu transkribieren. Des Weiteren finden sich bei den konvertierten Zellen starke Hinweise für eine Herunterregulierung der untersuchten Oberflächenmoleküle. So wird CCR6 signifikant vermindert exprimiert, für CD62L und den IL-1 Rezeptor zeigen sich sogar hochsignifikante Tendenzen.

**JIA-Patientinnen:** Die originären und die induzierten CD4+CD25+CD127- Zellen dieser Kohorte ähneln sich auffallend. Es sind vereinzelt signifikante und knapp das

Signifikanzniveau verfehlende p-Werte zu registrieren, welche für eine Hochregulierung des Glykoproteins CCR6 bei den CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen sprechen. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu den gefundenen Daten der HD und der RA-Patientinnen; hier zeichnet sich ein gegenläufiger Trend ab. Die weiteren singular signifikant gewordenen Werte, deuten möglicherweise auf eine verminderte Produktion des IL-1 Rezeptors und eine potenziell verstärkte Ki67 Transkription bei den konvertierten Zellen hin.

**RA-Patientinnen:** In Analogie zu den induzierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD sind für die CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen ebenfalls signifikant bis hochsignifikant erniedrigte prozentuale Anteile von FoxP3 und eine meistens hochsignifikante Minderexprimierung des IL-1 Rezeptors festzuhalten. Darüber hinaus findet sich bei den konvertierten Zellen der RA-Patientinnen zusätzlich ein signifikanter Trend für eine verminderte Expression das Adhäsionsmolekül CD62L. Für den Chemokinrezeptor CCR6 lässt sich eine ähnliche Tendenz ableiten, wenngleich weniger ausgeprägt, verglichen mit den Zellen der HD. Für den Transkriptionsfaktor Ki67 und das Zytokin IL-17 finden sich keine relevanten Ungleichheiten. Für das Zytokin IL-10 zeigen sich einmalig nicht-signifikante Hinweise für eine vermehrte Produktion der konvertierten Zellen bezogen auf die Sezernierungsraten der originären CD4+CD25+CD127- Zellen

**Tabelle 20 Vergleich zwischen den proportionalen Anteilen der T-Zellsubpopulationen innerhalb der originären CD4+CD25+CD127-Zellen und den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.**

Bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen handelt es sich um Zellen, welche ursprünglich CD4+CD25-CD127- waren und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch CD4+CD25+CD127- geworden sind. Die Pfeile  $\uparrow$  und  $\downarrow$  zeigen an, dass die erzielten Werte der konvertierten Zellen im Vergleich zu denen der originären CD4+CD25+CD127- Zellen signifikant erhöht beziehungsweise erniedrigt sind, die Doppelpfeile  $\uparrow\uparrow$  und  $\downarrow\downarrow$  markieren hochsignifikante Abweichungen und die eingeklammerten Pfeile ( $\uparrow$ ) und ( $\downarrow$ ) sind ein Indikator für knapp das Signifikanzniveau verfehlende p-Werte.

	HD				JIA				RA			
	Unstimuliert	IL-1 $\beta$	anti-IL-1 $\beta$	RI	Unstimuliert	IL-1 $\beta$	anti-IL-1 $\beta$	RI	Unstimuliert	IL-1 $\beta$	anti-IL-1 $\beta$	RI
CD25+CD127-	<b>0,008</b> $\downarrow\downarrow$											
IL-17+CCR6-	0,222	0,310	1,000	0,151	0,421	0,548	0,690	0,548	0,310	0,690	0,548	1,000
IL-17+CCR6+	0,310	0,421	0,151	0,310	0,690	0,841	0,548	0,548	0,056 ( $\downarrow$ )	0,310	0,421	0,151
IL-17-CCR6+	0,151	0,095	<b>0,032</b> $\downarrow$	<b>0,032</b> $\downarrow$	0,056 ( $\uparrow$ )	0,056 ( $\uparrow$ )	0,690	0,548	0,095	0,056 ( $\downarrow$ )	<b>0,032</b> $\downarrow$	<b>0,016</b> $\downarrow$
FoxP3+CCR6-	0,056	0,095	0,310	1,000	0,310	0,222	0,421	0,310	0,151	0,310	0,690	0,421
FoxP3+CCR6+	0,095	0,095	0,095	0,151	0,841	0,548	0,548	0,421	<b>0,032</b> $\downarrow$	<b>0,016</b> $\downarrow$	<b>0,008</b> $\downarrow\downarrow$	<b>0,016</b> $\downarrow$
FoxP3-CCR6+	0,151	<b>0,032</b> $\downarrow$	<b>0,016</b> $\downarrow$	0,222	0,310	0,222	0,151	0,421	0,222	0,222	0,056 ( $\downarrow$ )	0,095
FoxP3+IL-10-	<b>0,008</b> $\downarrow\downarrow$	<b>0,032</b> $\downarrow$	<b>0,016</b> $\downarrow$	0,151	0,421	0,421	0,841	0,421	<b>0,032</b> $\downarrow$	0,056 ( $\downarrow$ )	0,056 ( $\downarrow$ )	0,095
FoxP3+IL-10+	1,000	0,310	0,690	0,421	0,310	0,310	0,841	0,222	0,841	0,841	0,690	0,548
FoxP3-IL-10+	0,690	0,222	0,421	0,690	0,548	0,841	0,690	0,310	0,310	0,421	0,841	0,841
FoxP3+IL-17-	<b>0,008</b> $\downarrow\downarrow$	<b>0,032</b> $\downarrow$	<b>0,016</b> $\downarrow$	0,151	0,841	0,548	1,000	0,841	<b>0,032</b> $\downarrow$	0,151	0,056 ( $\downarrow$ )	0,151
FoxP3+IL-17+	0,222	0,310	0,548	0,310	0,310	0,690	1,000	0,421	0,056 ( $\downarrow$ )	1,000	0,310	0,841
FoxP3-IL-17+	0,310	0,548	0,421	0,095	0,841	0,841	1,000	0,841	0,310	0,056 ( $\downarrow$ )	0,548	0,548
CCR6+IL-10-	0,151	0,095	<b>0,032</b> $\downarrow$	<b>0,032</b> $\downarrow$	0,310	0,310	0,841	1,000	0,095	<b>0,032</b> $\downarrow$	<b>0,016</b> $\downarrow$	<b>0,016</b> $\downarrow$
CCR6+IL-10+	0,841	0,841	0,548	1,000	0,310	0,548	1,000	0,222	1,000	1,000	1,000	0,548
CCR6-IL-10+	0,841	0,548	0,690	0,841	0,310	0,310	0,841	0,690	0,095	0,548	0,421	1,000
IL-17+IL-10-	0,222	0,151	0,222	0,095	0,841	0,841	0,841	0,690	0,095	0,548	0,310	0,841
IL-17+IL-10+	0,548	0,310	1,000	1,000	0,421	0,841	1,000	0,222	1,000	0,690	1,000	0,548
IL-17-IL-10+	0,841	0,548	0,310	0,421	0,690	0,421	0,548	0,310	0,056 ( $\uparrow$ )	0,690	1,000	0,548
FoxP3+IL-1R-	0,151	0,151	0,841	0,310	0,421	1,000	0,310	0,690	0,222	0,421	0,421	<b>0,032</b> $\downarrow$

FoxP3+IL-1R+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,032</b> ↓	0,151	0,151	0,421	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,032</b> ↓
FoxP3-IL-1R+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	0,548	0,151	0,222	0,841	<b>0,016</b> ↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓
FoxP3+Ki67-	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,032</b> ↓	0,421	0,841	0,310	0,548	<b>0,008</b> ↓↓	0,056 (↓)	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓
FoxP3+Ki67+	0,056 (↑)	0,151	0,421	0,310	0,310	1,000	0,222	0,421	1,000	1,000	0,841	0,841
FoxP3-Ki67+	<b>0,008</b> ↑↑	<b>0,008</b> ↑↑	<b>0,008</b> ↑↑	<b>0,008</b> ↑↑	0,841	0,056 (↑)	0,548	0,841	0,056 (↑)	0,421	0,151	0,841
FoxP3+CD62L-	<b>0,016</b> ↓	0,056 (↑)	0,421	0,310	0,310	0,841	0,548	0,548	<b>0,032</b> ↓	0,151	<b>0,016</b> ↓	<b>0,008</b> ↓↓
FoxP3+CD62L+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	0,548	0,548	0,548	0,690	0,056 (↓)	<b>0,032</b> ↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓
FoxP3-CD62L+	<b>0,016</b> ↓	0,095	<b>0,032</b> ↓	0,151	0,690	1,000	0,548	0,690	0,690	0,310	0,151	0,151
IL-1R+Ki67-	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,016</b> ↓	0,222	0,095	0,151	0,310	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓
IL-1R+Ki67+	0,095	0,095	0,095	0,310	0,310	1,000	0,056 (↓)	0,421	0,095	0,690	0,056 (↓)	0,310
IL-1R-Ki67+	<b>0,008</b> ↑↑	<b>0,032</b> ↑	<b>0,032</b> ↑	<b>0,016</b> ↑	1,000	0,310	1,000	0,841	0,222	0,310	0,421	1,000
CD62L+IL-1R-	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,016</b> ↓	0,095	<b>0,016</b> ↓	0,841	1,000	0,841	1,000	0,095	1,000	0,056 (↓)	<b>0,008</b> ↓↓
CD62L+IL-1R+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	0,310	0,310	0,095	0,310	<b>0,016</b> ↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	0,095
CD62L-IL-1R+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,016</b> ↓	0,421	0,056 (↓)	0,222	1,000	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓
CD62L+Ki67-	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,016</b> ↓	0,841	0,690	0,841	1,000	<b>0,032</b> ↓	<b>0,032</b> ↓	<b>0,032</b> ↓	<b>0,008</b> ↓↓
CD62L+Ki67+	0,421	0,095	0,095	1,000	0,310	0,151	0,310	0,151	0,548	1,000	0,421	1,000
CD62L-Ki67+	<b>0,016</b> ↑	0,056 (↑)	0,151	0,056 (↑)	1,000	0,310	0,841	0,841	0,421	0,421	0,421	0,841
CD62L+CCR6-	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	0,222	0,222	0,548	0,421	0,151	0,841	0,056 (↓)	0,056 (↓)
CD62L+CCR6+	<b>0,016</b> ↓	<b>0,032</b> ↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,032</b> ↓	0,841	0,421	1,000	0,548	0,151	0,095	0,151	0,151
CD62L-CCR6+	0,151	0,056 (↓)	<b>0,016</b> ↓	0,056 (↓)	0,056 (↑)	0,548	0,421	0,151	0,222	0,151	0,095	0,222
CCR6+Ki67-	0,095	<b>0,032</b> ↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,032</b> ↓	0,222	0,690	0,841	0,310	0,151	0,151	0,095	0,222
CCR6+Ki67+	0,421	0,548	0,690	0,421	1,000	0,548	0,841	0,548	0,841	1,000	1,000	0,841
CCR6-Ki67+	<b>0,016</b> ↑	0,095	0,095	0,095	0,421	0,310	0,841	0,841	0,421	0,548	0,548	1,000
CCR6+IL-1R-	0,310	0,095	0,056 (↓)	0,095	<b>0,032</b> ↑	0,421	0,310	0,222	0,421	0,310	0,421	0,421
CCR6+IL-1R+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	0,310	0,095	0,151	0,310	0,095	0,056 (↓)	<b>0,016</b> ↓	0,095
CCR6-IL-1R+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,032</b> ↓	0,222	0,056 (↓)	0,222	0,548	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,032</b> ↓	<b>0,032</b> ↓	<b>0,008</b> ↓↓
CCR6+	0,151	0,095	<b>0,032</b> ↓	<b>0,032</b> ↓	0,310	0,310	1,000	1,000	0,095	<b>0,032</b> ↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,016</b> ↓
IL-10+	1,000	0,310	1,000	0,841	0,151	0,841	0,548	0,548	0,056 (↑)	0,548	1,000	0,841

FoxP3+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,032</b> ↓	<b>0,016</b> ↓	0,151	0,548	0,421	0,841	0,421	<b>0,032</b> ↓	0,056 (↓)	0,056 (↓)	0,095
IL-17+	0,222	0,222	0,690	0,222	0,841	0,841	0,841	0,548	0,151	0,690	0,310	0,841
CD62L+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	0,841	0,690	0,841	1,000	<b>0,016</b> ↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,016</b> ↓	<b>0,016</b> ↓
Ki67+	<b>0,008</b> ↑↑	0,056 (↑)	0,095	0,056 (↑)	0,841	0,310	0,841	0,548	0,421	0,548	0,548	1,000
IL-1R+	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	0,151	0,095	0,095	0,310	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓	<b>0,008</b> ↓↓
CD25-CD127-	<b>0,008</b> ↑↑											

### **3.2.21 Apoptoseverhalten der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127-Zellen**

Wie in 2.2.5.5 erläutert, dient diese Doppelfärbung zur Illustration der Zellvitalität.[156] Bei doppelt-negativen Zellen handelt es sich um vitale Zellen, sind sie für das Protein AnnexinV anfärbbar, nicht jedoch für den DNA-Interkalator 7-AAD, befinden sie sich in dem Zustand der Frühapoptose und färbt sich zusätzlich noch das Molekül 7-AAD an, wird von spätapoptotischen Lymphozyten gesprochen.[156] Zu erwähnen ist, dass auch nekrotische Zellen sowohl auf die AnnexinV wie auch die 7-AAD Färbung doppelt-positiv reagieren.[156]

Die Tabellen 21 und 22 führen die deskriptive Statistik und die berechneten p-Werte an. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen), zeigen an, welche der drei Kohorten im Vergleich untereinander mit den signifikant höheren positiven Rängen verbunden ist.

Bei dieser Gegenüberstellung heben sich vorrangig die Daten der RA-Patientinnen ab. So lässt sich für deren CD4+CD25+CD127- Zellen in der Prästimulation feststellen, dass sie sich bereits vor jeglicher Intervention signifikant gehäuft in dem Zustand der Frühapoptose befinden. Nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch finden sich signifikante bis hochsignifikante Unterschiede zwischen den CD4+CD25+CD127- und weniger ausgeprägt zwischen den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD und der RA-Gruppe. Hierbei zeigt sich, dass die untersuchten Zellen der RA-Patientinnen zu größeren proportionalen Anteilen spätapoptotisch beziehungsweise nekrotisch geworden sind

**Tabelle 21 Apoptosedetektion und deskriptive Statistik der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. Es werden die prozentualen Anteile innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen angegeben.**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean) ± Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist

	HD			JIA			RA			p-Wert			
	Mean ± SD	Median	Min -Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA		
<b>Prästimulation</b>	AnnexinV+7AAD-	3,1 ± 1,0	2,7	2,1 - 4,4	3,5 ± 1,0	3,4	2,4 - 5,2	5,7 ± 1,3	5,9	4,0 - 7,6	0,548	<b>0,016<sup>R</sup></b>	
	AnnexinV+7AAD+	0,3 ± 0,4	0,1	0,1 - 1,0	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,6	0,4 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,7	1,000	0,310	
	AnnexinV-7AAD-	96,5 ± 1,3	97,1	94,5 - 97,7	95,9 ± 1,3	96,3	94,3 - 97,5	93,9 ± 1,2	93,9	92,0 - 95,2	0,548	<b>0,032<sup>G</sup></b>	
	AnnexinV-7AAD+	0,1 ± 0,0	0,1	0,1 - 0,2	0,4 ± 0,8	0,1	0,0 - 1,8	0,1 ± 0,0	0,1	0,0 - 0,1	0,841	0,421	
<b>Poststimulation</b>	<b>Unstimuliert</b>												
	AnnexinV+7AAD-	23,0 ± 2,7	23,8	18,5 - 25,1	25,9 ± 8,0	25,8	17,9 - 35,1	37,2 ± 12,2	43,7	17,5 - 46,1	0,690	0,151	
	AnnexinV+7AAD+	0,6 ± 0,3	0,5	0,4 - 1,1	1,3 ± 1,1	1,1	0,1 - 2,6	2,9 ± 1,6	2,6	1,1 - 5,0	0,421	<b>0,008<sup>R</sup></b>	
	AnnexinV-7AAD-	76,3 ± 2,9	75,0	74,3 - 81,1	72,8 ± 8,4	73,7	62,6 - 82,0	59,9 ± 13,1	54,5	49,0 - 81,3	0,548	0,151	
	AnnexinV-7AAD+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	1,000	0,548	
	<b>IL-1β</b>												
	AnnexinV+7AAD-	29,4 ± 6,4	28,1	22,2 - 39,3	29,0 ± 9,5	30,7	14,8 - 40,5	33,5 ± 11,0	35,0	17,0 - 45,5	0,841	0,421	
	AnnexinV+7AAD+	0,7 ± 0,4	0,5	0,4 - 1,3	1,5 ± 1,0	2,0	0,4 - 2,3	1,8 ± 0,9	1,6	0,6 - 3,0	0,548	<b>0,032<sup>R</sup></b>	
	AnnexinV-7AAD-	69,9 ± 6,3	71,5	60,1 - 76,5	69,5 ± 9,6	67,0	57,2 - 83,2	64,6 ± 11,3	62,7	52,9 - 82,4	0,841	0,310	
	AnnexinV-7AAD+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,310	0,690	
	<b>anti-IL-1β</b>												
	AnnexinV+7AAD-	30,1 ± 6,6	26,6	25,3 - 40,7	33,0 ± 13,9	31,9	13,0 - 51,3	35,9 ± 13,8	36,2	14,6 - 52,0	0,690	0,310	
	AnnexinV+7AAD+	0,7 ± 0,6	0,5	0,3 - 1,8	1,4 ± 0,9	1,6	0,3 - 2,3	8,5 ± 14,1	1,9	0,7 - 33,5	0,222	<b>0,032<sup>R</sup></b>	
	AnnexinV-7AAD-	69,2 ± 6,4	71,6	59 - 74,2	65,6 ± 14,0	67,8	47,0 - 84,9	55,6 ± 19,8	55,3	32,7 - 84,6	0,548	0,222	
	AnnexinV-7AAD+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	1,000	0,310	
	<b>RI</b>												
AnnexinV+7AAD-	25,8 ± 2,9	26,7	21,0 - 28,2	31,4 ± 10,2	32,2	16,3 - 45,0	36,3 ± 13,3	40,4	14,3 - 48,6	0,151	0,151		
AnnexinV+7AAD+	0,6 ± 0,3	0,5	0,4 - 1,0	1,3 ± 0,7	1,5	0,4 - 2,0	1,9 ± 1,0	1,9	0,5 - 3,3	0,151	0,056		
AnnexinV-7AAD-	73,5 ± 3,1	72,7	70,9 - 78,5	67,3 ± 10,1	66,4	53,2 - 81,7	61,8 ± 13,8	57,7	49,8 - 85,2	0,151	0,151		
AnnexinV-7AAD+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,690	0,690		

**Tabelle 22 Apoptosedetektion und deskriptive Statistik der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. Es werden die prozentualen Anteile innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen angegeben.**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean) ± Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert		
	Mean ± SD	Median	Min -Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA	
<b>Prästimulation</b>	AnnexinV+7AAD-	4,2 ± 2,2	3,5	2,0 - 6,6	4,9 ± 1,2	5,1	3,1 - 6,2	5,9 ± 2,7	5,6	3,3 - 9,9	0,841	0,310
	AnnexinV+7AAD+	0,6 ± 0,9	0,2	0,1 - 2,2	0,5 ± 0,4	0,4	0,2 - 1,2	0,5 ± 0,6	0,2	0,0 - 1,5	0,222	0,841
	AnnexinV-7AAD-	95,2 ± 2,8	96,3	91,2 - 97,8	94,5 ± 1,5	94,4	92,5 - 96,5	93,6 ± 3,2	94,2	88,5 - 96,6	0,690	0,421
	AnnexinV-7AAD+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	1,000	0,690
<b>Poststimulation</b>	<b>Unstimuliert</b>											
	AnnexinV+7AAD-	20,1 ± 1,8	19,6	18,0 - 22,5	17,4 ± 7,1	18,2	10,6 - 28,3	28,6 ± 20,9	20,6	13,8 - 65,5	0,310	0,548
	AnnexinV+7AAD+	1,0 ± 0,8	0,6	0,5 - 2,4	1,1 ± 0,8	0,8	0,3 - 2,1	2,3 ± 2,6	1,1	0,5 - 6,9	0,841	0,548
	AnnexinV-7AAD-	78,9 ± 1,7	79,5	76,3 - 80,5	81,4 ± 7,5	81,0	69,6 - 88,1	69,0 ± 23,5	78,4	27,5 - 85,7	0,151	0,548
	AnnexinV-7AAD+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,310	0,841
	<b>IL-1β</b>											
	AnnexinV+7AAD-	23,3 ± 6,5	21,2	15,8 - 33,2	19,8 ± 5,2	19,1	13,1 - 27,1	29,9 ± 17,6	22,7	16,9 - 60,7	0,548	0,548
	AnnexinV+7AAD+	0,6 ± 0,2	0,7	0,4 - 0,8	1,3 ± 1,0	0,8	0,3 - 2,4	2,4 ± 2,3	1,1	0,8 - 6,0	0,421	<b>0,008<sup>R</sup></b>
	AnnexinV-7AAD-	76,1 ± 6,5	78,1	66,0 - 83,7	78,9 ± 5,4	80,1	70,5 - 84,7	67,6 ± 19,8	76,4	33,2 - 82,2	0,548	0,548
	AnnexinV-7AAD+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	1,000	0,690
	<b>anti-IL-1β</b>											
	AnnexinV+7AAD-	21,8 ± 4,8	22,1	15,1 - 28,2	21,1 ± 7,3	20,2	13,0 - 32,1	32,4 ± 16,0	33,0	17,6 - 58,0	1,000	0,310
	AnnexinV+7AAD+	0,9 ± 0,5	0,6	0,5 - 1,5	1,1 ± 0,7	1,0	0,2 - 1,8	2,2 ± 1,4	1,5	1,1 - 4,3	0,548	0,095
	AnnexinV-7AAD-	77,3 ± 4,8	77,2	70,4 - 83,4	77,8 ± 7,5	79,0	66,2 - 85,3	65,4 ± 17,2	65,7	37,7 - 81,2	1,000	0,310
	AnnexinV-7AAD+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,310	1,000
	<b>RI</b>											
AnnexinV+7AAD-	20,4 ± 5,6	20,9	11,7 - 26,0	19,9 ± 4,3	19,8	14,0 - 25,5	31,3 ± 18,7	24,9	18,2 - 63,9	0,841	0,421	
AnnexinV+7AAD+	0,7 ± 0,2	0,7	0,5 - 0,9	1,0 ± 0,7	0,7	0,3 - 2,1	2,3 ± 1,7	2,0	0,7 - 5,0	0,841	<b>0,032<sup>R</sup></b>	
AnnexinV-7AAD-	78,9 ± 5,5	78,2	73,3 - 87,4	79,1 ± 4,1	79,5	73,0 - 83,9	66,4 ± 20,4	72,4	31,1 - 81,0	1,000	0,310	
AnnexinV-7AAD+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,690	0,690	

### **3.2.21.1 Vorher -Nachher Vergleich des Apoptoseverhalten der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen**

**CD4+CD25+CD127- Zellen:** Bei allen drei Vergleichsgruppen imponiert der signifikante Trend, dass in der Poststimulation die proportionalen Zellanteile der vitalen Zellen abnehmen und die der frühapoptotischen zunehmen. Desweiteren wird in der Poststimulation bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA-Patientinnen gehäuft und bei denen der RA-Patientinnen einmalig beobachtet, dass signifikant mehr Zellen spätapoptotisch respektive nekrotisch geworden sind.

**CD4+CD25-CD127- Zellen:** Entsprechend der CD4+CD25+CD127- Zellen, findet sich auch bei den CD4+CD25-CD127- Zellen über alle drei Kohorten hinweg die signifikante Tendenz, dass nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch weniger vitale und vermehrt frühapoptotische Zellen vorhanden sind.

Die Tabelle 23 stellt eine Übersicht des Vorher-Nachher Vergleichs der oben beschriebenen Zellen dar. Die Pfeile  $\uparrow$  und  $\downarrow$  hinter den signifikanten p-Werten signalisieren dabei, ob die gemessenen Werte der Poststimulation verglichen mit denen der Prästimulation signifikant erhöht oder vermindert sind.

**Tabelle 23 Vorher-Nachher Vergleich des Apoptoseverhaltens der CD4+CD25+CD127- beziehungsweise CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.**

Es werden die p-Werte angegeben. Signifikante p-Werte sind markiert. Die Pfeile ↑ und ↓ markieren dabei signifikante Erhöhungen bzw. Verminderungen in der Poststimulation im Vergleich zur Prästimulation.

	HD	JIA	RA	HD	JIA	RA
	CD4+CD25+CD127- Zellen			CD4+CD25-CD127- Zellen		
<b>Unstimuliert</b>						
AnnexinV+7AAD-	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,042 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>
AnnexinV+7AAD+	0,276	0,080	<b>0,043 ↑</b>	0,345	0,223	0,104
AnnexinV-7AAD-	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>
AnnexinV-7AAD+	<b>0,025 ↓</b>	0,059	0,564	0,317	0,317	0,655
<b>IL-1β</b>						
AnnexinV+7AAD-	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>
AnnexinV+7AAD+	0,078	<b>0,042 ↑</b>	0,080	0,498	0,225	0,138
AnnexinV-7AAD-	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>
AnnexinV-7AAD+	<b>0,046 ↓</b>	0,059	0,083	0,317	0,317	0,564
<b>anti-IL-1β</b>						
AnnexinV+7AAD-	<b>0,042 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>
AnnexinV+7AAD+	0,343	<b>0,043 ↑</b>	0,068	0,500	0,223	0,068
AnnexinV-7AAD-	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>
AnnexinV-7AAD+	<b>0,046 ↓</b>	0,102	<b>0,046 ↓</b>	0,317	0,317	1,000
<b>RI</b>						
AnnexinV+7AAD-	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,042 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>	<b>0,043 ↑</b>
AnnexinV+7AAD+	0,078	<b>0,042 ↑</b>	0,078	0,500	0,279	0,080
AnnexinV-7AAD-	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>
AnnexinV-7AAD+	<b>0,046 ↓</b>	0,059	0,083	1,000	0,317	1,000

### 3.2.21.2 Apoptoseverhalten unter den Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1β, anti-IL-1β und RI

An dieser Stelle wird ausgewertet, inwiefern sich die verschiedenartigen Stimulierungen auf die Zellvitalität und das Apoptoseverhalten der untersuchten Zellen ausgewirkt haben. Sämtliche p-Werte sind in der Tabelle 24 benannt.

**CD4+CD25+CD127- Zellen:** Einzig bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD wird ein hochsignifikanter Unterschied in dem Vergleich der Stimulationsbedingungen Unstimuliert und anti-IL-1β auffällig. Die vitalen Zellen sind in der Kulturbedingung Unstimuliert hochsignifikant vermehrt und die frühapoptotischen hochsignifikant vermindert vorhanden.

**CD4+CD25-CD127- Zellen:** Die verschiedenen Stimuli scheinen über alle drei Vergleichsgruppen hinweg keinen wesentlichen Effekt auf die Zellvitalität und das Apoptoseverhalten der analysierten Zellen auszuüben.

**Tabelle 24 Vergleich der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und RI in der Apoptosedetektion bei den CD4+CD25+CD127- sowie den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.**

Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

HD	CD4+CD25+CD127- Zellen						CD4+CD25-CD127- Zellen					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
AnnexinV+7AAD-	0,095	<b>0,008</b>	0,095	1,000	0,421	0,548	0,548	0,421	0,841	0,841	0,548	0,841
AnnexinV+7AAD+	0,690	1,000	0,841	0,841	1,000	0,841	0,690	0,841	1,000	0,548	0,548	0,841
AnnexinV-7AAD-	0,056	<b>0,008</b>	0,095	1,000	0,548	0,548	0,310	0,421	0,690	1,000	0,548	0,841
AnnexinV-7AAD+	0,690	0,690	0,690	1,000	1,000	1,000	0,310	1,000	0,690	0,310	0,690	0,690
<b>JIA</b>												
AnnexinV+7AAD-	0,690	0,548	0,690	0,841	0,690	1,000	0,548	0,421	0,421	1,000	1,000	1,000
AnnexinV+7AAD+	1,000	1,000	1,000	0,841	0,548	0,841	0,841	1,000	0,690	0,841	0,690	0,841
AnnexinV-7AAD-	0,841	0,548	0,690	1,000	0,548	1,000	0,548	0,421	0,548	1,000	1,000	1,000
AnnexinV-7AAD+	0,690	0,690	1,000	0,310	0,690	0,690	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<b>RA</b>												
AnnexinV+7AAD-	0,421	0,841	0,841	0,841	0,841	1,000	0,690	0,690	0,690	0,841	0,841	0,841
AnnexinV+7AAD+	0,310	1,000	0,421	0,548	0,841	0,690	1,000	0,421	0,841	0,548	1,000	0,841
AnnexinV-7AAD-	0,421	0,841	0,841	0,421	0,548	0,690	0,690	0,548	0,841	0,841	0,841	0,841
AnnexinV-7AAD+	0,548	0,310	0,548	0,690	1,000	0,690	0,548	0,841	0,841	0,690	0,690	1,000

### **3.3 Auswertung der Suppression Assays**

Bei der Auswertung der Suppression Assays diente der Wilcoxon Test zur Untersuchung der Suppressionsfähigkeit der CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen vor und nach den spezifischen Stimulationsbedingungen. Diese beinhalten einen Versuchsarm, welcher einzig mit dem bereits erwähnten Treg-Stimulus behandelt wurde und in der folgenden Erörterung als Unstimuliert bezeichnet wird und drei weiteren, die zusätzlich mit IL-1 $\beta$ , anti-IL1- $\beta$  und dem RI versetzt wurden. Daneben wurde der Mann-Whitney-U Test eingesetzt, um etwaige Unterschiede zwischen den HD, den JIA- und den RA-Patientinnen, zwischen den CD25 Rezeptor positiven und negativen Zellpopulationen und zwischen den verschiedenen spezifischen Stimuli aufzuzeigen.

#### **3.3.1 Deskriptive Statistik der Suppression Assays und der Vergleich zwischen den HD, den JIA- und den RA-Patientinnen**

Die folgende Tabelle 25 stellt die deskriptive Statistik der Suppression Assays und die ermittelten p-Werte zwischen den drei Vergleichsgruppen dar. Dabei illustrieren die Zahlenwerte die Proliferation der Effektorzellen in Prozent. Des Weiteren beschreiben die Abkürzungen CD25+ und CD25- die CD4+CD25+CD127- bzw. die CD4+CD25-CD127- Zellen. Die Formulierung 1:1 respektive 1:0 steht stellvertretend dafür, dass die Effektorzellen entweder im Verhältnis 1:1 mit den CD4+CD25+/-CD127- Zellen kultiviert wurden oder dass sich im Suppression Assay nur Effektorzellen und keine der Zielzellen befanden, es sich hierbei um die Negativkontrollen handelt (1:0).

Bei Betrachtung der Tabelle 25 fällt auf, dass die einzigen signifikanten Unterschiede in der Prästimulation gefunden werden können. Hierbei scheinen die CD4+CD25+CD127- Zellen der HD die Proliferation der Effektorzellen signifikant besser hemmen zu können als die der RA-Patientinnen. Darüber hinaus finden sich signifikant höhere Proliferationsraten bei den beiden Negativkontrollen der JIA-Patientinnen, wenn diese mit den Werten der HD verglichen werden. Nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch existieren keine signifikanten Ungleichheiten mehr.

**Tabelle 25 Auswertung des Suppression Assays der CD4+CD25+CD127-, der CD4+CD25-CD127- Zellen und der negativen Kontrollen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. Die Zahlenwerte illustrieren die Proliferation der Effektorzellen in Prozent.**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean) ± Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist. Die Abkürzungen CD25+ und CD25- stehen stellvertretend für die CD4+CD25+CD127- bzw. die CD4+CD25-CD127- Zellen. Die Formulierung 1:1 respektive 1:0 steht stellvertretend dafür, dass die Effektorzellen entweder im Verhältnis 1:1 mit den CD4+CD25+/-CD127- Zellen kultiviert wurden oder dass es sich um die Negativkontrollen handelt (1:0).

		HD			JIA			RA			p-Wert	
		Mean ± SD	Median	Min -Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
<b>Prästimulation</b>	CD25+ 1:1	47,5 ± 14,9	46,5	27,1 - 62,0	53,6 ± 8,2	55,5	39,6 - 63,4	69,7 ± 12,7	72,6	48,3 - 81,2	0,662	<b>0,032<sup>R</sup></b>
	CD25- 1:1	71,0 ± 5,9	70,6	64,9 - 80,5	75,8 ± 12,2	77,7	53,2 - 87,0	78,0 ± 8,7	79,1	64,6 - 89,0	0,247	0,421
	CD25+ 1:0	70,1 ± 13,0	74,3	48,7 - 81,3	83,2 ± 5,3	83,6	76,5 - 89,6	77,0 ± 9,3	76,8	65,0 - 90,9	<b>0,052<sup>J</sup></b>	0,690
	CD25- 1:0	69,9 ± 12,2	73,5	50,1 - 81,7	83,4 ± 3,8	82,4	78,0 - 88,4	77,0 ± 9,3	77,7	65,2 - 90,8	<b>0,009<sup>J</sup></b>	0,548
<b>Poststimulation</b>	<b>Unstimuliert</b>											
	CD25+ 1:1	38,1 ± 11,2	35,3	26,9 - 53,4	38,2 ± 11,3	35,0	25,4 - 59,0	44,7 ± 7,8	41,8	37,9 - 56,7	1,000	0,310
	CD25- 1:1	50,2 ± 17,3	52,2	29,5 - 67,8	52,0 ± 12,7	49,3	40,9 - 74,8	60,5 ± 4,4	62,3	54,0 - 63,4	0,792	0,730
	CD25+ 1:0	61,9 ± 23,8	76,3	33,5 - 83,4	76,3 ± 16,1	81,8	46,3 - 88,7	69,9 ± 10,1	70,5	57,4 - 85,2	0,177	1,000
	CD25- 1:0	63,1 ± 23,1	76,7	32,9 - 83,5	74,6 ± 15,7	81,5	45,9 - 86,9	74,0 ± 8,4	72,9	65,0 - 85,4	0,247	0,905
	<b>IL-β</b>											
	CD25+ 1:1	37,5 ± 11,8	32,8	30,6 - 58,5	41,8 ± 11,0	39,2	31,5 - 60,5	46,5 ± 6,3	46,1	38,9 - 54,4	0,429	0,151
	CD25- 1:1	53,4 ± 18,2	55,6	32,9 - 72,9	58,3 ± 12,0	58,5	45,2 - 79,2	64,0 ± 3,9	64,9	58,6 - 67,8	0,662	0,730
	CD25+ 1:0	64,1 ± 21,2	77,2	38,7 - 82,8	79,2 ± 9,6	81,5	64,8 - 88,5	71,4 ± 9,4	71,7	58,1 - 84,6	0,177	1,000
	CD25- 1:0	61,7 ± 24,0	75,3	30,0 - 82,3	78,9 ± 9,0	80,4	64,9 - 88,3	74,7 ± 6,9	72,7	68,8 - 84,6	0,247	0,905
	<b>anti-IL-1β</b>											
	CD25+ 1:1	34,5 ± 9,5	33,5	24,1 - 50,0	35,2 ± 12,0	31,8	23,0 - 53,3	44,7 ± 11,1	45,3	32,7 - 62,1	0,931	0,222
	CD25- 1:1	48,0 ± 17,8	49,8	26,1 - 65,9	54,6 ± 12,9	55,2	41,5 - 76,8	58,1 ± 2,2	58,6	55,3 - 60,0	0,662	0,730
CD25+ 1:0	63,8 ± 21,7	76,9	36,6 - 83,3	73,2 ± 12,6	73,8	58,2 - 87,1	69,4 ± 11,9	69,7	51,3 - 84,2	0,429	1,000	
CD25- 1:0	63,3 ± 21,1	75,7	35,5 - 82,3	77,3 ± 8,1	78,8	64,9 - 86,0	74,7 ± 7,3	73,0	67,8 - 84,9	0,329	0,905	
<b>RI</b>												

□	CD25+ 1:1	35,1 ± 10,6	34,1	25,8 - 52,6	35,7 ± 13,7	33,7	20,6 - 57,9	43,4 ± 6,9	42,9	33,8 - 51,3	1,000	0,310
	CD25- 1:1	48,3 ± 18,6	52,8	26,0 - 66,6	52,3 ± 14,4	51,0	34,6 - 74,4	57,6 ± 4,7	58,3	51,2 - 62,6	0,792	0,905
	CD25+ 1:0	62,0 ± 24,0	76,8	33,0 - 83,6	76,4 ± 9,8	78,1	58,9 - 86,1	70,0 ± 10,3	68,6	56,8 - 85,5	0,537	1,000
	CD25- 1:0	62,5 ± 22,9	74,3	33,1 - 83,6	76,3 ± 12,4	78,7	56,1 - 88,4	75,7 ± 7,6	74,5	67,9 - 85,9	0,429	0,730

### 3.3.2 Vorher-Nachher Vergleich der Suppressionsfähigkeit

Im Rahmen dieser Untersuchung ist ein Trend zu beobachten, dass eine bessere Funktionalität der CD4+CD25+CD127- sowie der CD4+CD25-CD127- Zellen vorliegt, wenn diese nach dem IL-1 $\beta$  Versuch analysiert werden. Bei den CD4+CD25+CD127- Zellen spiegelt sich das deutlich bei den beiden Patientenkollektiven wieder und bei den CD4+CD25-CD127- Zellen vorrangig bei den HD. Wobei an dieser Stelle erwähnt werden muss, dass bei den RA-Patientinnen ebenfalls sämtliche Werte der CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation, verglichen mit der Prästimulation, mit kleineren Rängen besetzt sind, sie demnach besser supprimieren können, die Fallzahl für die CD4+CD25-CD127- Zellen und der korrespondierenden Negativkontrolle der RA-Patientinnen aber nur 4 beträgt und somit erschwert signifikant werden kann. Schließlich werden die Werte der CD4+CD25+CD127- Zellen zugehörigen Negativkontrolle der RA-Gruppe signifikant und deuten eine verminderte Proliferation der Effektorzellen in der Poststimulation an.

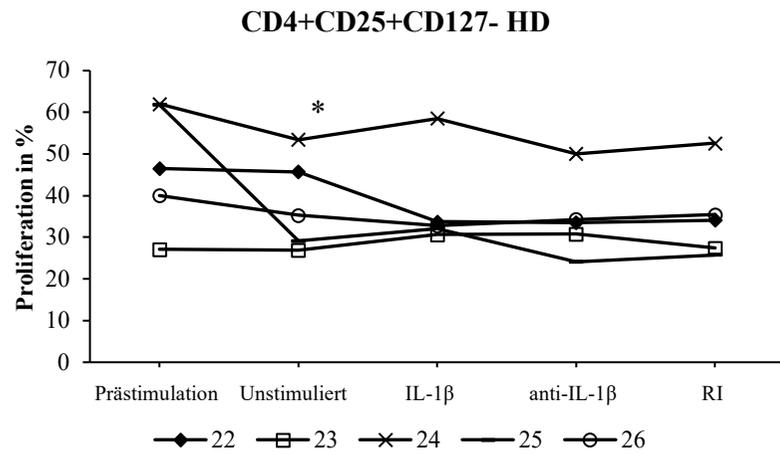
Die Tabelle 26 fasst die obigen Aussagen zusammen.

Die sich anschließenden Abbildungen 22 und 23 bilden zusätzlich die verbesserte Suppressionsfähigkeit der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation grafisch ab.

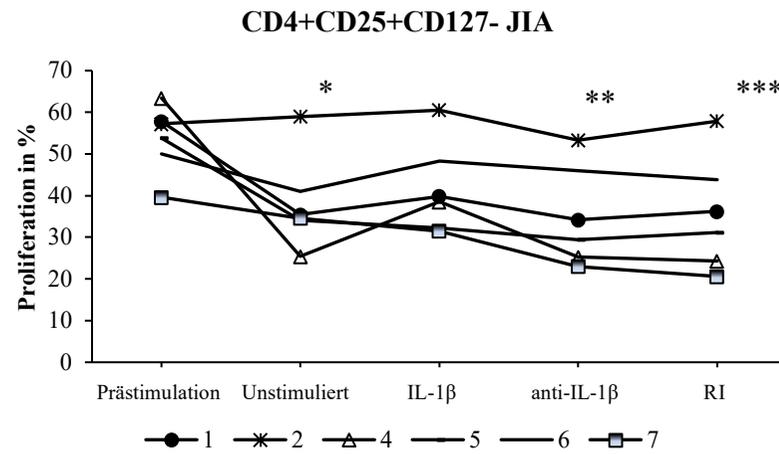
**Tabelle 26 Vorher-Nachher Vergleich der Suppressionsfähigkeit der CD4+CD25+CD127-, der CD4+CD25-CD127- Zellen und der negativen Kontrollen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.**

Es werden die p-Werte angegeben. Signifikante p-Werte sind markiert. Die Pfeile ↑ und ↓ markieren signifikant erhöhte oder verminderte Rangsummen in der Poststimulation verglichen mit den Werten der Prästimulation. Die Abkürzungen CD25+ und CD25- stehen stellvertretend für die CD4+CD25+CD127- bzw. die CD4+CD25-CD127- Zellen. Die Formulierung 1:1 respektive 1:0 steht stellvertretend dafür, dass die Effektorzellen entweder im Verhältnis 1:1 mit den CD4+CD25+/-CD127- Zellen kultiviert wurden oder dass es sich um die Negativkontrollen handelt (1:0).

		CD25+ 1:1	CD25- 1:1	CD25+ 1:0	CD25- 1:0
Unstimuliert	HD	<b>0,043 ↓</b>	<b>0,043 ↓</b>	0,279	0,686
	JIA	<b>0,046 ↓</b>	<b>0,046 ↓</b>	0,249	0,173
	RA	<b>0,043 ↓</b>	0,068	<b>0,043 ↓</b>	0,068
IL-1β	HD	0,104	0,080	0,416	0,225
	JIA	0,075	0,116	0,249	0,173
	RA	<b>0,043 ↓</b>	0,068	<b>0,043 ↓</b>	0,068
anti-IL-1β	HD	0,080	<b>0,043 ↓</b>	0,500	0,500
	JIA	<b>0,028 ↓</b>	0,075	0,116	0,116
	RA	<b>0,043 ↓</b>	0,068	<b>0,043 ↓</b>	0,068
RI	HD	0,080	<b>0,043 ↓</b>	0,345	0,225
	JIA	<b>0,046 ↓</b>	0,075	0,116	0,207
	RA	<b>0,043 ↓</b>	0,068	<b>0,042 ↓</b>	0,068



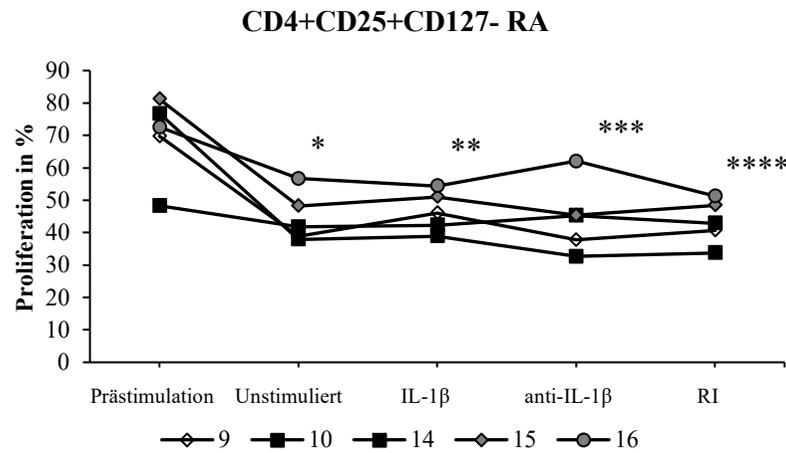
\* p-Wert = 0,043



\* p-Wert = 0,46

\*\* p-Wert = 0,28

\*\*\* p-Wert = 0,46



\*p-Wert = 0,043

\*\* p-Wert = 0,043

\*\*\* p-Wert = 0,043

\*\*\*\* p-Wert = 0,043

Abbildung 22 Dargestellt wird die Proliferation der Effektorzellen in %. Signifikante p-Werte sind mit einem \* markiert und stehen in Relation zur Prästimulation. Die Zahlen 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 14, 15, 16, 22, 23, 24, 25 und 26 in der Legende unter den Diagrammen beziehen sich auf die Patientencodierung und spiegeln die Ergebnisse dieser Probandin wider.

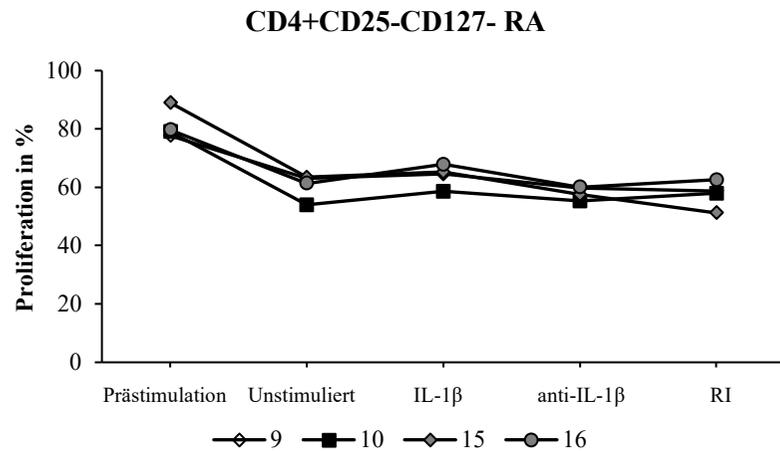
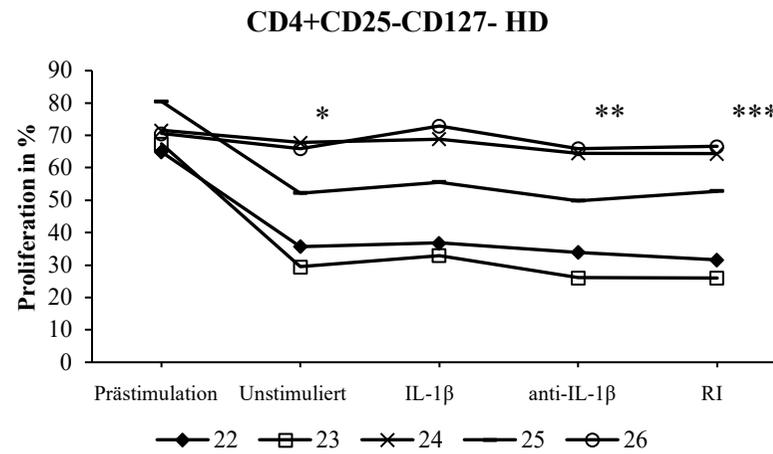
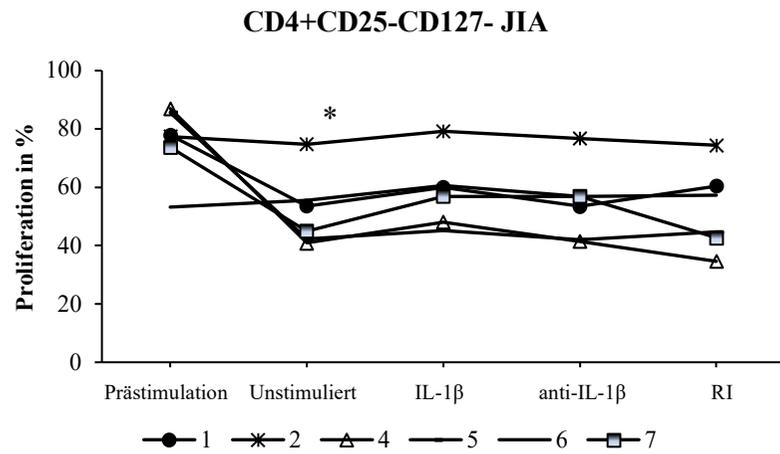


Abbildung 23 Dargestellt wird die Proliferation der Effektorzellen in %. Signifikante p-Werte sind mit einem \* markiert und stehen in Relation zur Prästimulation. Die Zahlen 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 14, 15, 16, 22, 23, 24, 25 und 26 in der Legende unter den Diagrammen beziehen sich auf die Patientencodierung und spiegeln die Ergebnisse dieser Probandin wider.

### 3.3.3 Suppressionsfähigkeit unter den Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI

Bei der Analyse ob die verschiedenen Stimuli IL-1 $\beta$ , anti-IL1 $\beta$  und der RI untereinander und im Vergleich zu der alleinigen Treg Polarisierung einen Effekt auf die Funktionalität der CD4+CD25+CD127- respektive der CD4+CD25-CD127- Zellen ausüben, zeigt sich, dass die untersuchten Rangsummen auf einem ähnlichen Niveau liegen und demnach keine relevante Einflussnahme vorliegt. Für einen detaillierten Einblick in die statistische Auswertung dieses Vergleichs dient die Tabelle 27.

**Tabelle 27 Vergleich der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und RI auf die Suppressionsfähigkeit der CD4+CD25+CD127-, der CD4+CD25-CD127- Zellen und der Negativkontrollen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.**

Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die Abkürzungen CD25+ und CD25- stehen stellvertretend für die CD4+CD25+CD127- bzw. die CD4+CD25-CD127- Zellen. Die Formulierung 1:1 respektive 1:0 steht stellvertretend dafür, dass die Effektorzellen entweder im Verhältnis 1:1 mit den CD4+CD25+/-CD127- Zellen kultiviert wurden oder dass es sich um die Negativkontrollen handelt (1:0).

HD						
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25+ 1:1	1,000	0,690	0,690	1,000	1,000	0,841
CD25- 1:1	0,548	0,548	0,841	0,548	0,421	1,000
CD25+ 1:0	0,690	0,841	1,000	1,000	0,841	0,841
CD25- 1:0	0,841	1,000	1,000	0,841	1,000	1,000
JIA						
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25+ 1:1	0,699	0,485	0,699	0,310	0,310	1,000
CD25- 1:1	0,180	0,699	0,937	0,394	0,394	0,937
CD25+ 1:0	0,937	0,589	0,699	0,394	0,589	0,818
CD25- 1:0	0,818	0,937	0,818	0,589	0,937	0,937
RA						
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25+ 1:1	0,548	0,841	1,000	0,548	0,690	1,000
CD25- 1:1	0,200	0,343	0,343	0,114	0,114	1,000
CD25+ 1:0	0,421	1,000	1,000	0,690	0,548	1,000
CD25- 1:0	0,886	0,886	0,686	0,886	0,886	0,686

### **3.4 Zytokin-ELISA**

Zur näheren Betrachtung der Zytokinproduktion der CD4+CD25+CD127- respektive der CD4+CD25-CD127- Zellen wurden am Ende des IL-1 $\beta$  3 Tage Versuchs die entsprechenden Zellüberstände entnommen und den jeweiligen ELISAs zugeführt. Damit trotz ungleicher Zellzahl die erzielten Werte vergleichbar bleiben, wurden sie mittels eines Korrekturfaktors angeglichen, sodass bei der statistischen Untersuchung von korrespondierenden Zellzahlen ausgegangen werden konnte. Daneben wurden zusätzlich Serumproben der jeweiligen Probandinnen mittels ELISAs analysiert. Die generierten Daten wurden hinsichtlich möglicher Unterschiede der Zytokinquantität zwischen den drei Vergleichsgruppen, zwischen den einzelnen Stimuli und zwischen den CD25 Rezeptor positiven und negativen Zellen ausgewertet. Es muss darauf hingewiesen werden, dass es sich bei dieser Versuchsreihe um eine Untersuchung mit stark explorativem Charakter handelt, die Fallzahl anhand dessen klein gewählt wurde und vorhandene Abweichungen demnach erschwert signifikant werden und eher eine Tendenz abbilden können.

#### **3.4.1 IL-17 ELISA**

Der IL-17 ELISA deckt bei dieser Versuchsreihe keine signifikanten Abstufungen in der IL-17 Quantität zwischen den HD, den JIA- und den RA-Patientinnen auf. Dieses Resultat lässt sich detaillierter in den Tabellen 28 und 29 nachschlagen. Auch bei der Gegenüberstellung der Stimuli Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und dem RI zeigen sich keine signifikanten Unterschiede, allerdings bleibt auffällig, dass die CD4+CD25+CD127- und die CD4+CD25-CD127- Zellen der HD sowie die CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA- und der RA-Patientinnen bei der IL-1 $\beta$  Polarisierung stets die höchsten Rangsummen inne haben, folglich verstärkt das Zytokin IL-17 zu sezernieren scheinen. Die folgende Abbildung 24 führt diese Beobachtung grafisch auf. Deskriptiv lässt sich festhalten, dass außer in zwei RA-Serumproben in keiner weiteren IL-17 nachgewiesen werden konnte.

**Tabelle 28 IL-17 ELISA Stimulus-Vergleich.**

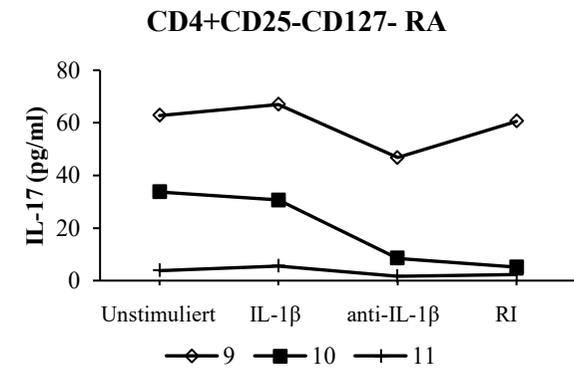
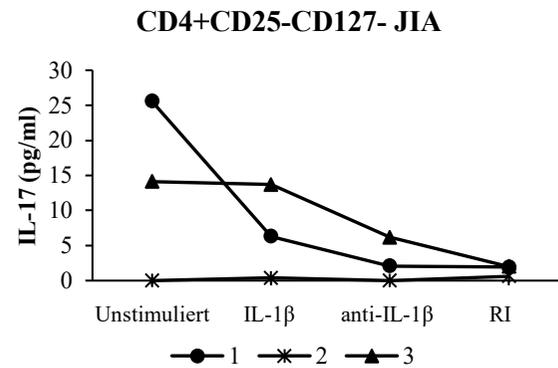
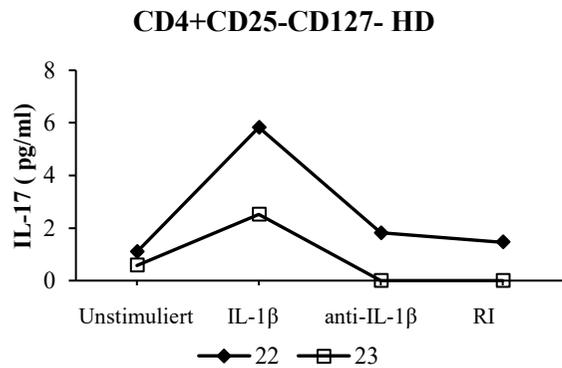
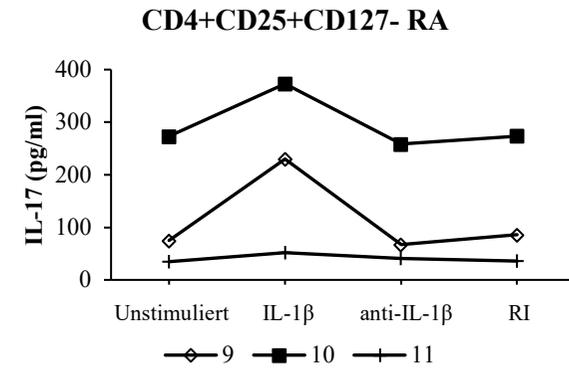
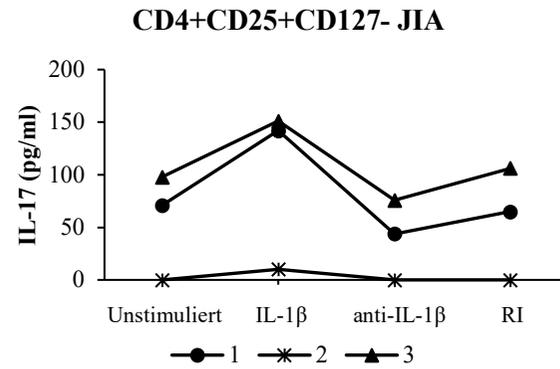
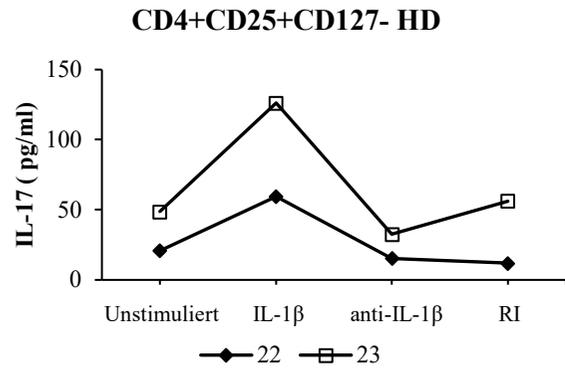
Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	CD4+CD25+CD127-			CD4+CD25-CD127-		
	HD	JIA	RA	HD	JIA	RA
Serum vs Unstimuliert	0,333	0,200	0,400	0,333	0,200	0,700
Serum vs IL-1 $\beta$	0,333	0,100	0,200	0,333	0,100	0,700
Serum vs anti-IL-1 $\beta$	0,333	0,200	0,400	0,667	0,200	1,000
Serum vs RI	0,333	0,200	0,400	0,667	0,100	1,000
Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	0,333	0,400	0,700	0,333	0,700	1,000
Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	0,667	0,700	1,000	1,000	0,400	0,700
Unstimuliert vs RI	1,000	1,000	0,700	1,000	0,700	0,700
IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	0,333	0,400	0,700	0,333	0,400	0,700
IL-1 $\beta$ vs RI	0,333	0,400	0,700	0,333	0,700	0,400
anti-IL-1 $\beta$ vs RI	1,000	0,700	1,000	0,667	0,700	1,000

**Tabelle 29 Deskriptive Statistik des IL-17 ELISAs sowie die ermittelten p-Werte der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.**

Gemessen wurden die IL-17 Konzentrationen in pg/ml bei einer O.D. von 450nm (Referenzwellenlänge 620 nm). Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean) ± Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. CD25+ steht stellvertretend für die CD4+CD25+CD127- Zellen und CD25- für die CD4+CD25-CD127- Zellen.

	HD (n = 2)			JIA (n = 3)			RA (n = 3)			p-Wert	
	Mean ± SD	Median	Min -Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
Serum	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	55,7 ± 93,7	3,1	0,0 - 163,9	1,000	0,400
CD25+ Unstimuliert	34,9 ± 19,6	34,9	21,0 - 48,7	56,3 ± 50,6	71,0	0,0 - 97,9	127,6 ± 127,7	75,0	34,7 - 273,2	0,800	0,400
CD25+ IL-1β	92,8 ± 47,2	92,8	59,5 - 126,2	101,1 ± 79,0	142,1	10,1 - 151,2	218,2 ± 160,9	229,9	51,8 - 373,0	0,800	0,800
CD25+ anti-IL-1β	24,0 ± 12,2	24,0	15,4 - 32,6	39,8 ± 38,1	43,7	0,0 - 75,8	122,2 ± 118,8	67,2	41,0 - 258,5	0,800	0,200
CD25+ RI	34,2 ± 31,3	34,2	12,0 - 56,3	57,0 ± 53,5	64,9	0,0 - 106,1	131,9 ± 125,4	85,4	36,5 - 273,9	0,800	0,400
CD25- Unstimuliert	0,8 ± 0,4	0,8	0,6 - 1,1	13,2 ± 12,8	14,1	0,0 - 25,6	33,5 ± 29,5	33,7	3,9 - 62,9	0,800	0,200
CD25- IL-1β	4,2 ± 2,3	4,2	2,5 - 5,8	6,8 ± 6,7	6,3	0,4 - 13,7	34,4 ± 30,9	30,7	5,5 - 67,0	0,800	0,400
CD25- anti-IL-1β	0,9 ± 1,3	0,9	0,0 - 1,8	2,8 ± 3,1	2,1	0,0 - 6,2	19,0 ± 24,4	8,5	1,6 - 46,8	0,400	0,400
CD25- RI	0,7 ± 1,0	0,7	0,0 - 1,5	1,5 ± 0,8	1,9	0,6 - 2,0	22,7 ± 32,9	5,1	2,2 - 60,7	0,400	0,200



**Abbildung 24 IL-17 ELISA der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, JIA- und RA-Patientinnen**

Darstellung der IL-17 Konzentration in pg/ml bei einer O.D. von 450nm (Referenzwellenlänge 620 nm) der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, JIA- und RA-Patientinnen unter den verschiedenen Stimulierungen. Die Zahlen 1, 2, 3, 9, 10, 11, 22 und 23 in der Legende unter den Diagrammen beziehen sich auf die Patientencodierung und spiegeln die Ergebnisse dieser Probandin wider.

### 3.4.2 IL-10 ELISA

Mit dem IL-10 ELISA wurde analog zu den beiden anderen Zytokin-ELISAs verfahren. Die folgende Abbildung 25 und die Tabelle 30 veranschaulichen die Quantität der IL-10 Produktion im Vergleich zwischen den verschiedenen Stimuli und aufgeteilt in die drei Kohorten. Hierbei ergibt sich kein signifikantes Gefälle der IL-10 Sezernierung zwischen den einzelnen Vergleichsgruppen beziehungsweise zwischen den verschiedenen Stimulierungen. In dem Serum einer JIA-Patientin konnte IL-10 festgestellt werden, bei allen weiteren Serumproben bleibt die Konzentration unter der Nachweisgrenze. Für eine ausführliche Einsichtnahme der deskriptiven Statistik dient die Tabelle 31.

**Tabelle 30 IL-10 ELISA Stimulus-Vergleich.**

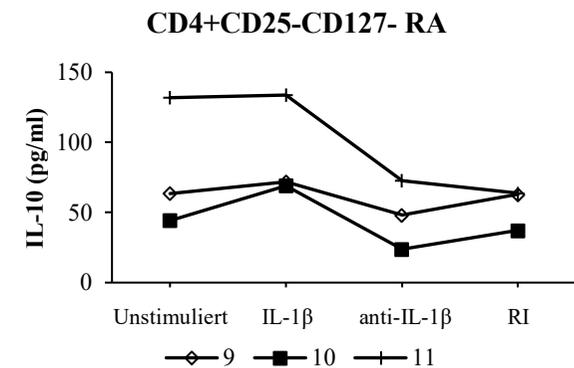
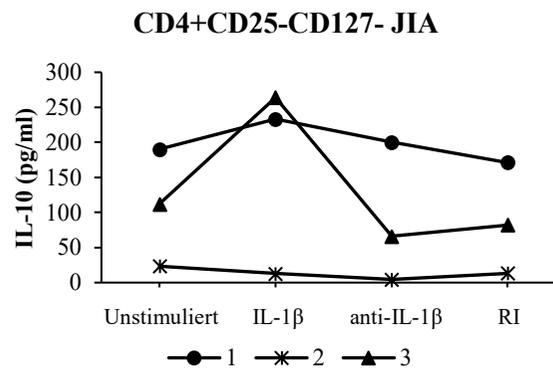
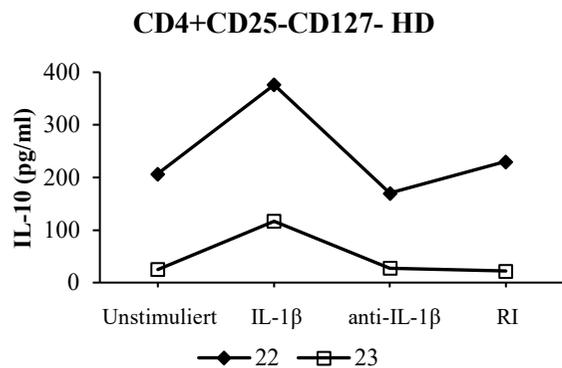
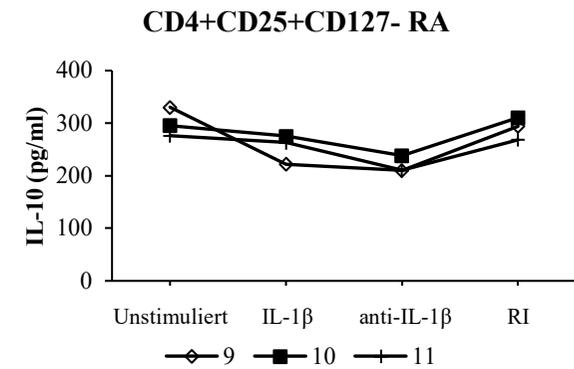
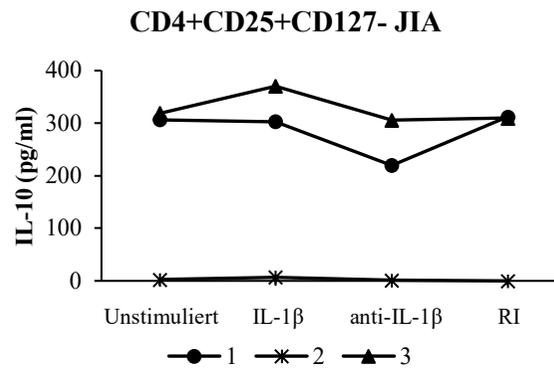
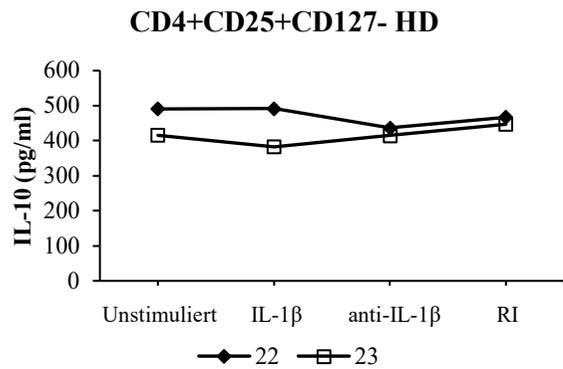
Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	CD4+CD25+CD127-			CD4+CD25-CD127-		
	HD	JIA	RA	HD	JIA	RA
Serum vs Unstimuliert	0,333	0,200	0,100	0,333	0,200	0,100
Serum vs IL-1 $\beta$	0,333	0,200	0,100	0,333	0,200	0,100
Serum vs anti-IL-1 $\beta$	0,333	0,200	0,100	0,333	0,400	0,100
Serum vs RI	0,333	0,400	0,100	0,333	0,200	0,100
Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	1,000	1,000	0,100	0,667	0,700	0,400
Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	0,667	0,400	0,100	1,000	1,000	0,700
Unstimuliert vs RI	1,000	1,000	0,700	1,000	0,700	0,700
IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	1,000	0,700	0,200	0,667	0,400	0,400
IL-1 $\beta$ vs RI	1,000	1,000	0,200	0,667	0,700	0,100
anti-IL-1 $\beta$ vs RI	0,333	0,700	0,100	1,000	1,000	1,000

**Tabelle 31 Deskriptive Statistik des IL-10 ELISAs sowie die ermittelten p-Werte der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.**

Gemessen wurden die IL-10 Konzentrationen in pg/ml bei einer O.D. von 450nm (Referenzwellenlänge 620 nm). Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean) ± Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. CD25+ steht stellvertretend für die CD4+CD25+CD127- Zellen und CD25- für die CD4+CD25-CD127- Zellen.

	HD (n = 2)			JIA (n = 3)			RA (n = 3)			p-Wert	
	Mean ± SD	Median	Min -Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
Serum	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	23,4 ± 40,5	0,0	0,0 - 70,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,800	1,000
CD25+ Unstimuliert	453,2 ± 53,3	453,2	415,6 - 490,9	209,4 ± 179,2	306,8	2,5 - 318,8	300,7 ± 27,5	295,5	276,2 ± 330,4	0,200	0,200
CD25+ IL-1β	437,2 ± 77,4	437,2	382,4 - 491,9	226,7 ± 193,4	303,2	6,7 - 370,3	253,6 ± 27,8	263,3	222,2 ± 275,3	0,200	0,200
CD25+ anti-IL-1β	425,9 ± 15,4	425,9	415,0 - 436,8	175,4 ± 157,2	219,6	0,9 - 305,8	219,7 ± 16,1	210,5	210,2 ± 238,3	0,200	0,200
CD25+ RI	457,2 ± 14,7	457,2	446,8 - 467,6	207,1 ± 179,4	309,4	0,0 - 312,1	291,3 ± 21,0	294,5	268,8 ± 310,5	0,200	0,200
CD25- Unstimuliert	116,1 ± 128,6	116,1	25,2 - 207,0	108,5 ± 83,5	112,0	23,3 - 190,1	80,0 ± 46,0	63,6	44,4 ± 131,9	0,800	1,000
CD25- IL-1β	246,4 ± 183,5	246,4	116,7 - 376,2	170,0 ± 137,0	233,3	12,8 - 263,9	91,6 ± 36,6	71,8	69,0 ± 133,8	0,800	0,400
CD25- anti-IL-1β	98,8 ± 101,1	98,8	27,3 - 170,3	90,2 ± 99,9	66,3	4,5 - 200,0	48,3 ± 24,5	48,2	23,8 ± 72,9	1,000	0,800
CD25- RI	126,3 ± 147,3	126,3	22,1 - 230,4	88,9 ± 79,1	82,1	13,4 - 171,2	54,6 ± 15,2	62,9	37,1 ± 63,8	0,800	1,000



**Abbildung 25 IL-10 ELISA der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, JIA- und RA-Patientinnen**

Darstellung der IL-10 Konzentration in pg/ml bei einer O.D. von 450nm (Referenzwellenlänge 620 nm) der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, JIA- und RA-Patientinnen unter den verschiedenen Stimulierungen. Die Zahlen 1, 2, 3, 9, 10, 11, 22 und 23 in der Legende unter den Diagrammen beziehen sich auf die Patientencodierung und spiegeln die Ergebnisse dieser Probandin wider.

### 3.4.3 IFN- $\gamma$ ELISA

Die sich anschließende Abbildung 26 illustriert die IFN- $\gamma$  Bildung der zwei untersuchten Zellpopulationen in Berücksichtigung ihrer Gruppenzugehörigkeit und der jeweiligen Stimulierung. Werden die Messergebnisse in Relation zueinander gesetzt, gelangen sie unter keiner der untersuchten Bedingungen in einen signifikanten Bereich, wie in Tabelle 32 eingesehen werden kann. In bis auf einer JIA-Serumprobe konnte in jeder weiteren Serumprobe IFN- $\gamma$  nachgewiesen werden. Die deskriptive Statistik findet sich in der Tabellen 33.

**Tabelle 32 IFN- $\gamma$  ELISA Stimulus-Vergleich.**

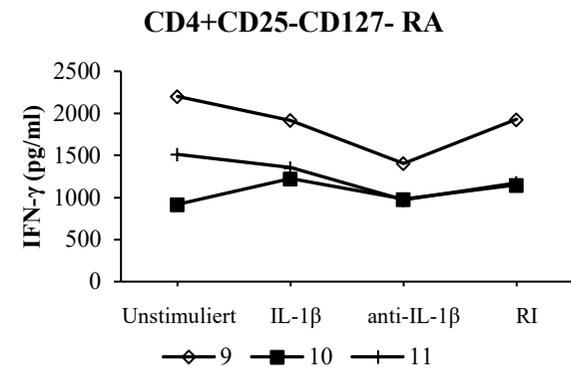
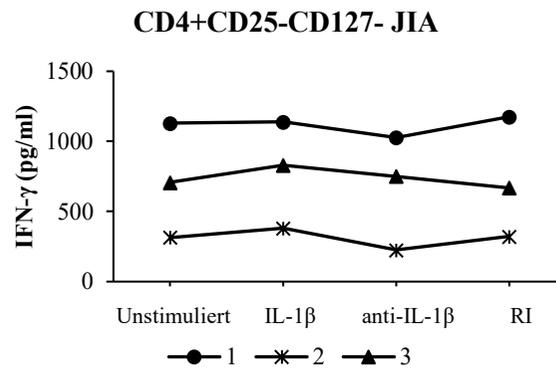
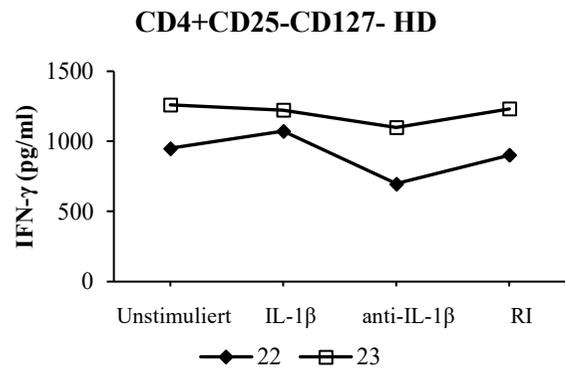
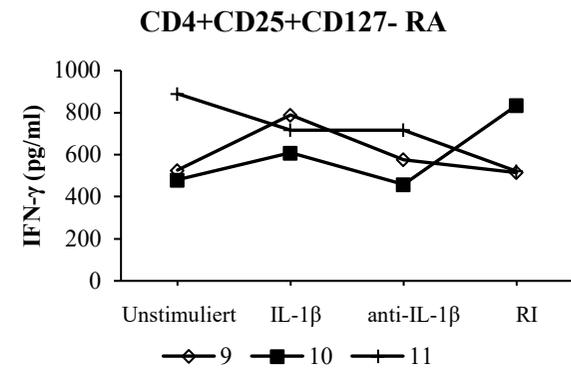
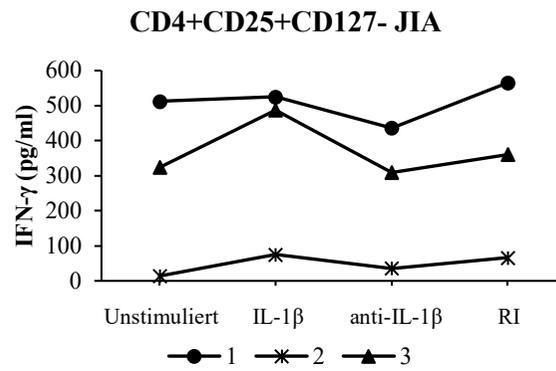
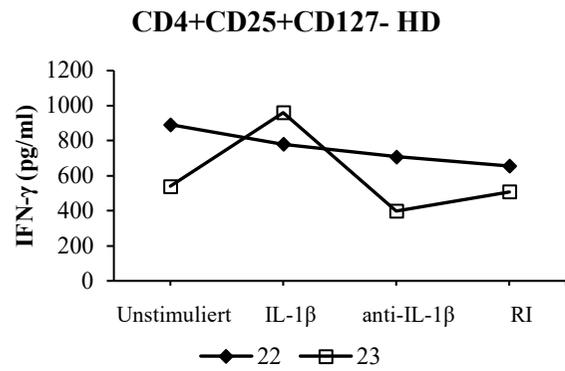
Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	CD4+CD25+CD127-			CD4+CD25-CD127-		
	HD	JIA	RA	HD	JIA	RA
Serum vs Unstimuliert	0,333	0,700	0,700	0,333	0,400	0,400
Serum vs IL-1 $\beta$	0,333	0,700	0,700	0,333	0,400	0,400
Serum vs anti-IL-1beta	0,333	0,700	0,700	0,333	0,700	0,700
Serum vs RI	0,333	0,700	0,700	0,333	0,400	0,400
Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	0,667	0,700	0,700	1,000	0,700	1,000
Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	0,667	1,000	1,000	0,667	1,000	0,700
Unstimuliert vs RI	0,667	0,700	1,000	0,667	1,000	1,000
IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	0,333	0,400	0,400	0,667	0,700	0,400
IL-1 $\beta$ vs RI	0,333	1,000	0,700	1,000	1,000	0,700
anti-IL-1 $\beta$ vs RI	1,000	0,700	1,000	0,667	1,000	0,400

**Tabelle 33 Deskriptive Statistik des IFN- $\gamma$  ELISAs sowie die ermittelten p-Werte der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.**

Gemessen wurden die IFN- $\gamma$  Konzentration in pg/ml bei einer O.D. von 450nm (Referenzwellenlänge 620 nm). Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. CD25+ steht stellvertretend für die CD4+CD25+CD127- Zellen und CD25- für die CD4+CD25-CD127- Zellen.

	HD (n = 2)			JIA (n = 3)			RA (n = 3)			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
Serum	89,2 $\pm$ 50,0	89,2	53,9 - 124,5	364,4 $\pm$ 622,0	10,5	0,0 - 1082,5	667,0 $\pm$ 1029,6	73,9	71,2 - 1855,9	0,800	0,800
CD25+ Unstimuliert	715,4 $\pm$ 249,2	715,4	539,2 - 891,6	283,3 $\pm$ 251,6	324,0	13,8 - 512,1	632,4 $\pm$ 224,1	526,5	480,9 - 889,8	0,200	0,400
CD25+ IL-1 $\beta$	870,1 $\pm$ 126,9	870,1	780,3 - 959,9	362,7 $\pm$ 249,5	487,2	75,4 - 525,4	705,0 $\pm$ 90,6	717,0	609,0 - 789,0	0,200	0,400
CD25+ anti-IL-1 $\beta$	553,6 $\pm$ 219,3	553,6	398,5 - 708,7	260,2 $\pm$ 204,6	309,1	35,6 - 436,0	584,2 $\pm$ 129,8	576,5	458,5 - 717,8	0,400	0,800
CD25+ RI	582,3 $\pm$ 103,3	582,3	509,2 - 655,3	330,7 $\pm$ 250,6	360,8	66,4 - 564,9	623,4 $\pm$ 182,6	521,2	514,8 - 834,2	0,400	0,800
CD25- Unstimuliert	1105,0 $\pm$ 219,9	1105,0	949,5 - 1260,5	717,1 $\pm$ 407,9	708,2	313,8 - 1129,3	1543,9 $\pm$ 642,3	1512,2	918,0 - 2201,5	0,400	0,800
CD25- IL-1 $\beta$	1147,9 $\pm$ 105,6	1147,9	1073,3 - 1222,5	783,0 $\pm$ 380,5	830,2	381,1 - 1137,7	1499,0 $\pm$ 367,4	1355,3	1225,1 - 1916,5	0,400	0,200
CD25- anti-IL-1 $\beta$	899,1 $\pm$ 282,9	899,1	699,1 - 1099,2	668,2 $\pm$ 406,8	751,4	226,3 - 1027,1	1118,7 $\pm$ 247,1	979,9	972,2 - 1404,0	0,800	0,800
CD25- RI	1067,4 $\pm$ 234,5	1067,4	901,6 - 1233,2	721,9 $\pm$ 429,2	668,0	322,1 - 1175,4	1416,6 $\pm$ 444,0	1173,7	1147,0 - 1929,0	0,400	0,800



**Abbildung 26 IFN- $\gamma$  ELISA der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, JIA- und RA-Patientinnen**

Darstellung der IFN- $\gamma$  Konzentration in pg/ml bei einer O.D. von 450nm (Referenzwellenlänge 620 nm) der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, JIA- und RA-Patientinnen unter den verschiedenen Stimulierungen. Die Zahlen 1, 2, 3, 9, 10, 11, 22 und 23 in der Legende unter den Diagrammen beziehen sich auf die Patientencodierung und spiegeln die Ergebnisse dieser Probandin wider.

## **4. Diskussion**

### **4.1 Vergleich und Interpretation der PBMC Charakterisierung**

#### **4.1.1 Unterschiede in den T-Helfer-Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen**

Im ersten Teil des Projekts wurden die CD4+ und die CD8+ Zellen aller drei Gruppen auf ihre Verteilung und ihren Phänotyp hin untersucht. Im Rahmen dieser Untersuchung konnten Unterschiede beobachtet werden.

So zeigte sich bei der Gegenüberstellung, dass die T-Helfer-Zellen der HD signifikant höhere Proportionen an CD8+CD25+CD127- Zellen aufwiesen. Im Vergleich zu den JIA-Patientinnen ließen sich ebenfalls erhöhte Anteile von CD4+CD25+CCR6+ Zellen finden und im Vergleich zu den RA-Patientinnen zeigten sich erhöhte Anteile von CD4+CD25+ und CD8+CD25+ Zellen. Die meisten Abweichungen fanden sich zwischen den JIA-Patientinnen und den RA-Patientinnen. Die T-Helfer-Zellen der RA-Patientinnen wiesen höhere Proportionen an CD4+ Zellen auf. Dementgegen verfügten die T-Helfer-Zellen der JIA-Patientinnen über signifikant höhere Anteile von CD8+ und CD8+CD127+ Zellen. Ebenfalls waren die Proportionen der CD4+FoxP3+CCR6+CD103+ Zellen hochsignifikant gesteigert, da diese Zellen zahlenmäßig aber äußerst gering vertreten waren, ist die Aussagekraft des Ergebnisses als gering einzustufen.

Auffällig ist bei den drei Vergleichsgruppen ein gewisser Altersunterschied. Es wurde zwar versucht, wenn möglich eine weitestgehende Vergleichbarkeit zu erzielen, allerdings sind vor allem die JIA-Patientinnen und die RA-Patientinnen aufgrund des Altersunterschiedes schwer zu vergleichen. So liegt bei den JIA-Patientinnen der Altersdurchschnitt bei 14,4 Jahren, bei den RA-Patientinnen bei 67,8 Jahren und bei den HD bei 41,2 Jahren. Bekannt ist, dass die T-Zelldifferenzierung maßgeblich von dem Alter abhängig ist.[159] Im Rahmen dieser T-Zelldifferenzierung kommt es zu einer Veränderung einiger Oberflächenmoleküle wie etwa CD127, welches im Rahmen der Zelldifferenzierung herunter reguliert wird, sodass es mit zunehmenden Alter zu einer proportionalen Zunahme von CD127- Zellen auf Grund der proportionalen Zunahme von

differenzierten T-Zellen kommt.[160] Daher sind die beobachteten Unterschiede in der PBMC-Phänotypisierung am ehesten auf den Altersunterschied zurückzuführen.

## **4.2 Vergleich und Interpretation des IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuchs**

### **4.2.1 Unterschiede in den Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen**

#### **4.2.1.1 CD4+CD25+CD127- Zellen**

In der Prästimulation zeigte sich bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA-Patientinnen im Vergleich zu den Zellen der HD signifikant höhere Anteile von Ki67+ Zellen. Die FoxP3-CCR6+ Zellen der RA-Patientinnen konnten innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellpopulation signifikant höhere proportionale Anteile verglichen mit den FoxP3-CCR6+ Zellen der HD erzielen.

Nach dem IL- 1 $\beta$  3 Tage Versuch konnten bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD im Vergleich zu den jeweiligen Zellen der JIA -und der RA-Patientinnen signifikant höhere Anteile von FoxP3+ Zellen detektiert werden. Diese Ergebnisse sind konkordant zu mehreren Studien, die ebenfalls eine Verminderung des Transkriptionsfaktors FoxP3 und demnach einen erniedrigten Treg-Quotienten bei Autoimmunerkrankungen feststellen konnten.[38, 161] Nichtsdestotrotz existieren, wie in dem Review von Noack et al. konstatiert, ebenso Arbeiten, die eine erhöhte Anzahl von Tregs im peripheren Blut und der Synovia von RA-Patienten feststellten und als Pathomechanismus infolgedessen nicht die Quantität, sondern die gestörte Funktionalität beziehungsweise eine insgesamt erhöhte Th17-/Treg-Zellratio in den Fokus setzen.[161-163] Weiter zeigte sich eine Signifikanz bezüglich einer verminderter CD62L Expressierung bei den HD vor allem in Relation mit den Zellen der JIA-Gruppe, zum geringeren Ausmaß aber auch mit denen der RA-Patientinnen. CD62L ist ein L-Selektin, welches bevorzugt von naiven T-Zellen exprimiert wird und für die Rezirkulation zwischen dem Blutkompartiment und dem Lymphsystem eine wichtige Rolle spielt.[164] Bei Aktivierung der Immunzellen durch pro-inflammatorische Zytokine wird CD62L herunterreguliert und Integrine, die die Adhäsion und Leukodiapedese fördern hochreguliert.[165] Diese ermittelten Werte stehen allerdings im Widerspruch zu den bisherigen Erkenntnissen, dass das

Immunsystem von JIA- und RA-Patienten vorgealtert zu sein scheint.[101, 166] So konnten bei Prelog et al. demonstriert werden, dass sowohl die proportionalen Anteile der CD4+CD25+CD62L+ als auch die der CD4+CD45RA+CD62L+ Zellen bei den JIA-Patienten verglichen mit den HD verringert waren.[101] Allerdings wurden bei dieser Studie mehr Probanden inkludiert und das durchschnittliche Alter der Studienteilnehmer lag annähernd auf gleichem Niveau mit den Kontrollpersonen, was die gefundenen Unterschiede erklären könnte. Zu geringeren Anteilen fanden sich in dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch Hinweise, dass die IL-10 Produktion bei den HD verglichen mit der JIA-Gruppe signifikant gesteigert war. Zwar existieren Daten, dass eine erniedrigte Bildung von IL-10 mit der JIA und der RA vergesellschaftet ist[106], allerdings gestaltet sich in der vorliegenden FACS-Analyse des IL-1 $\beta$  3 Tage Versuchs die Auswertung der Zytokine IL-10 und IL-17 als herausfordernd. Begründet liegt das in der insgesamt sehr geringen Anzahl von IL-10+ und IL-17+ Zellen und damit wenig detektierbaren Events, sodass die Interpretation dieser Daten unter Vorbehalt erfolgen sollte.

Innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA-Patientinnen waren die geringsten Anteile von IL-1R+ Zellen zu finden. Signifikant wird diese Feststellung weitestgehend konsistent für die FoxP3-IL-1R+ und die CD62L-IL-1R+ Zellen. Vereinzelt auch bei den CD62L+IL-1R+ Zellen. Hierbei könnte eine verminderte Empfänglichkeit für IL-1-bedingte Stimuli bei der Gruppe der CD4+CD25+CD127- Zellen vorliegen.

In der Poststimulation setzt sich bei den RA-Patientinnen über alle Stimulationsbedingungen hinweg die signifikante Beobachtung fort, dass CCR6+ Zellen in der Gegenüberstellung mit den untersuchten Zellen der HD jeweils signifikant vermehrt exprimiert wurden. Bereits andere Studien konnten feststellen, dass CCR6+ Zellen vermehrt im peripheren Blut sowie in der Synovia von RA-Patienten zu finden sind.[37] Wie von Alunno et al. zusammengefasst, könnte dies zum einen auf den erhöhten Th-17 Zellanteil bei RA-Patienten zurückzuführen sein.[89] Zum anderen scheinen aber auch andere T-Zellsubpopulationen bei der RA vermehrt CCR6+ zu bilden.[37] Li et al. konnten dies auch bei Tregs von RA-Patienten aufzeigen.[167]

#### 4.2.1.2 Konvertierte CD4+CD25+CD127- Zellen

In der Poststimulation wurden von den CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen der HD signifikant vermehrt der Transkriptionsfaktor FoxP3 exprimiert. Dies kann verglichen mit beiden Patientenkohorten registriert werden; besonders ausgeprägt allerdings in Relation zu den RA-Patientinnen. Die proportionalen Anteile von CD62L+ Zellen waren bei den HD signifikant am niedrigsten. Diese Beobachtungen decken sich mit den der bereits weiter oben ausgewerteten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD. Zudem ließen sich bei der HD-Gruppe im Vergleich zu den Zellen der JIA-Patientinnen signifikant häufiger Ki67+ Zellen finden. Ki67 ist ein Marker für die Proliferation und findet sich nur bei proliferierenden Zellen.[168] Bei ruhenden Zellen, die sich in der G<sub>0</sub>-Phase befinden, ist Ki67 nicht vorhanden.[168] Die verstärkte Proliferationstätigkeit könnte auch auf eine erhöhte Aktivierung der konvertierten Zellen hinweisen, die CD 25 reexprimieren und zugleich unter den Kulturbedingungen proliferieren. Diese Resultate eines erhöhten Anteils von Ki67+ Zellen bei HD im Vergleich zu Patientinnen mit Autoimmunarthritis sind widersprüchlich zu bereits bestehenden Studien. So konnten bei Prelog et al. bei den CD4+CD45RA+ T-Zellen (als naiv definierte T-Zellen) der JIA-Kohorte höhere proportionale Anteile an sich replizierenden Zellen gefunden werden.[101] Almanzar et al. konnte in einer anderen Studie ähnliche Ergebnisse aufzeigen. Hier waren in einem akuten Schub der JIA signifikant mehr CD4+CD28+CD45RA+ T-Zellen (als naiv definierte T-Zellen) Ki67 positiv als bei den HD.[169] Zwar gab es Hinweise, dass bei den JIA-Patienten generell höhere proportionale Anteile von Ki67+ T-Zellen vorhanden sind[101], allerdings wurden die Projekte nicht explizit auf CD4+CD25+CD127- beziehungsweise CD4+CD25-CD127- Zellen ausgerichtet, sodass die divergierenden Ergebnisse darin begründet liegen könnten, dass die Gesamtpopulation der peripheren T-Zellen betrachtet wurde.

Bei den JIA-Patientinnen erlangten die erhöhten Anteile von CCR6+ Zellen wiederholt das Signifikanzniveau im Vergleich zu der HD-Kohorte. Diese Feststellung könnte auf einem ähnlichen Pathomechanismen wie bei den RA-Patientinnen beruhen. CCR6 findet sich bevorzugt auf Th17-Zellen und die JIA wird mit einer Erhöhung dieser Zellen assoziiert.[35, 38] Die gesteigerte Expressionsrate von CCR6 auf den

CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen könnte sich dahingehend erklären lassen, dass wie bereits beschrieben, CCR6 sich nicht nur auf Th17-Zellen sondern auch auf anderen Immunzellen inklusive Tregs finden lässt.[37, 167, 170] Dabei scheint es eine essentielle Rolle für die Migration von pro- und antiinflammatorischen Zellen bei Autoimmunerkrankungen zu spielen.[170] CCR6 wird auch mit induzierten Tregs in inflammatorischen Umgebungsbedingungen assoziiert, so konnte gezeigt werden, dass CCR6 in Tregs bei Patienten mit Autoimmunarthritis vermehrt exprimiert wird und dass das Level der CCR6 Expression dabei positiv mit der Krankheitsaktivität korreliert.[167]

Sowohl bei den JIA- als auch den RA-Patientinnen existierten signifikante Abweichungen, die auf eine Mehrproduktion von IL-17 im Vergleich zu den HD schließen lassen. Das würde mit erhobenen Studien übereinstimmen.[35, 89, 171] Allerdings sind die in diesem Projekt gefundenen Daten diesbezüglich nicht konsistent und wie bereits erwähnt ist die Interpretation der Zytokine in der FACS-Analyse des IL-1 $\beta$  3 Tage Versuchs auf Grund der geringen Anzahl der Events nur eingeschränkt möglich, sodass dieser Trend nicht generalisiert werden kann.

#### **4.2.1.3 CD4+CD25-CD127- Zellen**

In der Prästimulation zeigen sich bei den CD4+CD25-CD127- Zellen der JIA-Patientinnen signifikant bis hochsignifikant höhere Werte für CCR6+ Zellen im Vergleich zu den HD. Die Beobachtung für höhere proportionale Anteile von CD62L+ Zellen bei den JIA-Patientinnen im Vergleich zu den HD verfehlt knapp das Signifikanzniveau.

In der Poststimulation können bei den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD erneut höhere Anteile von FoxP3+ Zellen konstatiert werden. Allerdings in einer geringeren und inkonstanteren Ausprägung verglichen mit den CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- der ursprünglichen CD4+CD25+CD127- Zellen der HD. Allerdings stellt FoxP3 einen Marker für Tregs dar.[172] Somit könnten die inkonstanteren Daten bezüglich der höheren proportionalen Anteile von FoxP3 innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD darin begründet liegen, dass Nicht-Tregs untersucht wurden. Des

Weiteren konnte erneut in der CD4+CD25-CD127- Population eine vermehrte Ki67 Expression bei den HD in Relation zu den JIA-Patientinnen registriert werden. Zudem bleibt auch an dieser Stelle mit zum Teil hochsignifikanten Werten der Trend bestehen, dass bei den HD die geringsten proportionalen Anteile an CD62L+ Zellen vertreten sind. Schließlich spiegelt sich ebenfalls bei den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD die Beobachtung wieder, dass sie über die niedrigste Expressierung von CCR6 verfügen. Dies lässt sich vor allem im Vergleich zu den JIA-Patientinnen feststellen und weniger ausgeprägt für die RA-Patientinnen. Wahrscheinlich liegt dies an den bereits erläuterten Mechanismen.

Die CD4+CD25-CD127- Zellen der JIA-Patientinnen scheinen die größten proportionalen Anteile von CCR6+ Zellen zu besitzen. Dieser Effekt wird verglichen mit den RA-Patientinnen für die CD62L+CCR6+ Zellen signifikant. Weitere Daten verfehlen das Signifikanzniveau, sodass an dieser Stelle nur von einer Tendenz gesprochen werden kann. CD62L stellt einen wichtigen Liganden für das Homing der T-Zellen in die sekundär lymphatischen Organe dar.[164] Außerdem wird CD62L mit aktivierten Tregs assoziiert.[173] Dies passt zum geringeren proportionalen Anteil in HD verglichen zu einem vermutlich stärker inflammatorisch veränderten und damit induzierten Aspekt bei Autoimmunarthritis.

#### **4.2.2 Auswirkung der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI**

In der Literatur finden sich widersprüchliche Angaben bezüglich der Auswirkungen von IL-1 $\beta$  auf den Transkriptionsfaktor FoxP3. Bei unseren durchgeführten Versuchen konnten wir eine signifikante Herunterregulierung von FoxP3 unter IL-1  $\beta$  Stimulierung bei den CD4+CD25+CD127-, den CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD feststellen. Wurde der Zellkultur ein anti-IL-1 $\beta$  Antikörper beziehungsweise ein IL-1Rezeptor-Inhibitor hinzugegeben, fanden sich anti-inflammatorische Zustände. Ähnliches konnten auch Wang et al. konstatieren. Sie demonstrierten, dass sich die Expressionsraten von FoxP3 unter dem Einfluss von IL-1  $\beta$  reduzieren.[174] Sie schlossen daraus, dass mit Hilfe einer verminderten Immunsuppression eine Verbesserung der Immunantwort erreicht werden könne, wenn der Organismus Stressfaktoren ausgesetzt sei.[174] Ähnliches konnten Dai

et al. festhalten. In ihrer Forschungsarbeit nahm gleichfalls aufgrund von IL-1 $\beta$  der Prozentsatz von Tregs unter den CD4<sup>+</sup> T-Zellen ab.[175] Andererseits existieren Publikationen, die einen konträren Effekt von IL-1 $\beta$  beschreiben. Zu erwähnen ist die Forschungsarbeit von Ganesh et al. Im Rahmen der dort durchgeführten Untersuchungen konnten sie zeigen, dass IL-1 $\beta$  eine TGF- $\beta$  und IL-2 abhängige Zunahme der FoxP3 Expressionsrate in Tregs und Effektor-T-Zellen bewirkt.[176] Diese Untersuchung gleicht im Versuchsaufbau dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch in einem besonderen Maß, da im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch ebenfalls mit TGF- $\beta$  und IL-2 costimuliert wurde. Da IL-1 $\beta$  verstärkt unter inflammatorischen Bedingungen gebildet wird, folgerten sie daraus, dass auf diese Weise die immunsuppressive Wirkweise der Tregs gefördert werden soll, damit im Rahmen einer Immunantwort nicht Autoimmunität und lymphoproliferativen Prozessen eintreten.[176] Einzelne signifikante Messungen wie die erhöhte FoxP3 Expression unter anti-IL-1 $\beta$  Stimulierung bei den CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>FoxP3<sup>+</sup>Ki67<sup>-</sup> der ursprünglichen CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>CD127<sup>-</sup> Zellen sowie bei den CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>CD127<sup>-</sup> Zellen der RA-Patientinnen in der Gegenüberstellung anti-IL-1 $\beta$  und RI finden sich ebenfalls.

Des Weiteren ließen sich Hinweise erkennen, dass IL-1 $\beta$  und der RI Einfluss auf die Exprimierung des IL-1R besitzen. Deutlich wurde dies bei den CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup> Zellen der JIA-Patientinnen, die zugleich FoxP3-IL-1R<sup>+</sup> und CD62L-IL-1R<sup>+</sup> waren. Sie besaßen proportional weniger IL-1R, wenn sie mit dem RI kultiviert wurden, was vermutlich auf einer kompetitiven Hemmung durch den Antikörper gegen IL-1R beruht, weshalb der Fluorochrom-markierte Antikörper den IL-1R in der Durchflusszytometrie nur mehr geringfügig detektieren konnte. Bei den CD62L-IL-1R<sup>+</sup> der ursprünglichen CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup> Zellen der RA-Patientinnen war dies ebenfalls zu erkennen; im Vergleich zwischen den Stimulationsbedingungen IL-1 $\beta$  und RI exprimierten die analysierten Zellen unter IL-1 $\beta$  Stimulation signifikant verstärkt und unter RI Einfluss signifikant vermindert den IL-1R. Während Valmori et al. in ihrer Arbeit keinen Einfluss von IL-1 $\beta$  auf die Exprimierung des IL-1R1 bei Tregs feststellen konnten, beobachteten Raffin et al. eine Hochregulierung des IL-1R unter IL-1 $\beta$  Stimulierung.[177, 178] Auch Docagne et al. konnten eine vermehrte Expression des IL-1R1 und des IL-1R2 mit IL-1 $\beta$  in Zusammenhang bringen.[179] Eine mögliche Erklärung wäre, dass auf diese Weise Tregs Inflammationen detektieren und gegebenenfalls abmildern können, indem zum Beispiel der IL-1R2 in der Lage ist IL-1 $\beta$  zu neutralisieren.[180]

Zusätzlich konnten Effekte von IL-1 $\beta$  auf die Expression von CD62L bei den CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD beobachtet werden. Dabei lassen sich höhere proportionale Anteile von CD62L positiven Zellen messen, wenn diesen IL-1 $\beta$  hinzugegeben wurde. Soweit beurteilbar wurde der Einfluss von IL-1 $\beta$  auf CD62L bisher noch nicht untersucht. Dieses Resultat lässt sich auch nicht plausibel mit unseren bisherigen Ergebnissen erklären. Da in dieser Forschungsarbeit unter IL-1 $\beta$  Stimulierung die signifikant niedrigsten proportionale Anteile von FoxP3 positiven Zellen bei den analysierten Zellen der HD gefunden werden konnten, hätte eher eine Abnahme von CD62L erwartet werden können, da CD62L als Marker für naive Zellen und Tregs angewendet werden kann.[181]

Bei den aktuell vorliegenden Forschungsarbeiten zeichnet sich ab, dass IL-1 $\beta$  zu verminderten IL-10 Spiegeln beiträgt.[182, 183] So deklarieren Zielinski et al. IL-1 $\beta$  als einen potenten Inhibitor für die IL-10 Produktion bei sowohl Th-17 als auch Gedächtnis-T-Zellen und Bjarnadottir stellten gleichfalls fest, dass durch IL-1 $\beta$  angeregte CD8+ iTregs niedrigere Level an IL-10 sezernieren.[182, 183] Somit erscheinen unsere analysierten Daten plausibel. Wir konnten zeigen, dass in der Gegenüberstellung zwischen IL-1 $\beta$  und anti-IL-1 $\beta$  die FoxP3+IL-10+ Zellen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD unter IL-1 $\beta$  Stimulierung signifikant weniger proportionale Anteile besaßen. Allerdings muss diese Aussage mit Einschränkungen erfolgen, da die gemessenen Werte an IL-10 positiven Zellen insgesamt sehr niedrig ausgefallen waren.

#### **4.2.3 Vorher-Nachher Vergleich der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen**

Nach dem Cell Sorting lag die Reinheit der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen bei  $\geq 92,8\%$ . Bei den Zellen, die dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch zugeführt wurden und im Folgenden ausgewertet werden, befand sie sich sogar bei  $\geq 97,8\%$ . Daraus lässt sich ableiten, dass der CD25 Rezeptor-Verlust bei den CD4+CD25+CD127- beziehungsweise die CD25 Hochregulierung bei den CD4+CD25-CD127- Zellen im Rahmen der Kulturbedingungen stattgefunden haben müssen.

Besonders prägnant bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen war die signifikante Zunahme der FoxP3 Expression. Ki67 wurde in der

Poststimulation ebenfalls bei den HD und den RA-Patientinnen signifikant vermehrt exprimiert. Ebenfalls bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD und der RA-Patientinnen fanden sich eine signifikante Hochregulierung des IL-1 Rezeptors beziehungsweise eine signifikante Abnahme der proportionalen Anteile der CD62L und CCR6 positiven Zellen. Diese Abnahme lässt sich auch in geringerem Maße bei den JIA-Patientinnen finden. Hinsichtlich der Zytokine liegen widersprüchliche Daten vor, dennoch scheint es so, dass IL-17 zu größeren Anteilen in der Poststimulation und IL-10 in der Prästimulation produziert wurden.

Bei den CD4+CD25-CD127- Zellen existierten analog zu den CD4+CD25+CD127- Zellen Hinweise, dass es zu einer Zunahme des Transkriptionsfaktors FoxP3 gekommen war. Allerdings wurde dies nur bei den RA-Patientinnen einmalig signifikant; weitere Konstellationen verfehlten das Signifikanzniveau. Bei den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD und JIA-Patientinnen fanden sich in der Poststimulation ebenfalls höhere proportionale Anteile von Ki67 positiven Zellen. Der IL-1 Rezeptor wurde in der Poststimulation bei den HD inkonstant signifikant häufiger und CD62L bei den HD und den JIA-Patientinnen signifikant vermindert exprimiert.

In Zusammenschau der Daten lässt sich festhalten, dass eine erfolgreiche Treg-Polarisierung und Zellproliferation stattgefunden hat. In der Kultur wurden die Zellen mit anti-CD3 und anti-CD28 Antikörpern stimuliert, die als Mitogene fungieren.[143] Somit sind die erhöhten Ki67 Werte im Rahmen einer erfolgten T-Zell-Expansion plausibel, zumal auch an anderer Stelle beobachtet werden konnte, dass Tregs unter Aktivierung Ki67 positiv werden.[184] Ebenso bildet IL-2 einen essentiellen Bestandteil für die Treg-Aktivierung und Proliferation.[145, 185] De la Rosa et al. konnten zeigen, dass IL-2 eine Hochregulierung von CD25 in Tregs und in konventionellen CD4+CD25- T-Zellen induziert, auf diese Weise könnte die Zunahme von CD25+ Zellen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen erklärt werden.[144] Natürlich stehen diese Ergebnisse dann im Gegensatz zu der Abnahme von CD25+ Zellen innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen. Die Erhöhung der FoxP3 Anteile vor allem in den CD4+CD25+CD127- Zellen könnten in der TGF- $\beta$  und IL-2 Supplementierung begründet liegen, da beide Faktoren in der Lage sind FoxP3 positive Zellen zu induzieren.[146, 147, 186] Ein weiterer Effekt von TGF- $\beta$  und IL-2 findet sich in seinem Einfluss auf den CCR6 Rezeptor.[187] CCR6

wird bevorzugt von den Th17 Zellen gebildet, kann aber auch in geringeren Anteilen von anderen Immunzellen wie den Tregs exprimiert werden.[187] Dabei konnte gezeigt werden, dass TGF- $\beta$  ein potenter Induktor von CCR6 in T-Zellen ist.[187] Dieser Effekt lässt sich allerdings durch IL-2 antagonisieren, sodass die Reduktion von CCR6 nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch auf die Wirkung von IL-2 zurückzuführen sein könnte.[187] Hinsichtlich der Abnahme von CD62L finden sich entgegengesetzte Studien. So deutet die Arbeit von Lu et al. darauf hin, dass sich unter alleiniger TGF- $\beta$  Aktivierung sowie im Zusammenspiel mit all-trans-Retinsäure aus naiven CD4<sup>+</sup> T-Zellen iTregs generieren lassen, die sich phänotypisch den nTregs angleichen und infolgedessen CD62L, einen Marker für naive Zellen beziehungsweise Tregs, retinieren.[181] Daher widerspricht die hier gefundene Abnahme von CD62L den erwarteten Befunden. Dass der IL-1 Rezeptor in der Poststimulation vermehrt gemessen werden konnte, spiegelt sich hingegen in einer anderen Untersuchung wider. Mercer et al. konnten in ihren Versuchen ebenfalls zeigen, dass nach Stimulation mit anti-CD3 und anti-CD28 Antikörpern die IL-1R1 und die IL-1R2 Rezeptoren sowohl auf den Tregs als auch auf anderen CD4<sup>+</sup> T-Zellen hochreguliert wurden.[180] Analog zu den hier gefundenen Ergebnissen überwog auch bei Mercer et al. dieser Effekt bei den Tregs.[180] Bezüglich der Auswertung der Zytokine kann keine solide Aussage getroffen werden, da die Zellzahl zu gering war und die Daten sich zu inkonsistent präsentierten.

#### **4.2.4 Unterschiede in den originären CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>- und den konvertierten CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>- Zellen**

Bei den CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>- und den konvertierten CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>- Zellen der ursprünglichen CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>- Zellen fanden sich bei den HD, den RA- und den JIA-Patientinnen einige Unterschiede. Zu erwähnen ist, dass sich die meisten Abweichungen bei den HD und die wenigsten bei den JIA-Patientinnen verzeichnen ließen.

Bei den HD und den RA-Patientinnen zeigte sich, dass trotz einer stattgefundenen Treg-Polarisation, die konvertierten CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>- Zellen zu zum Teil hochsignifikant geringeren Anteilen FoxP3 exprimierten als die originären CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>- Zellen. Ki67 fand sich bei den konvertierten CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>-</sup>- Zellen der HD und teilweise bei den JIA-Patientinnen zu größeren proportionalen Anteilen. Bei CD62L und dem IL-

1 Rezeptor ließ sich bei den HD und RA-Patientinnen die Beobachtungen konstatieren, dass diese Oberflächenmoleküle von den CD4+CD25+CD127- der ursprünglichen CD4+CD25-CD127- Zellen hochsignifikant vermindert exprimiert wurden. Bei den JIA-Patientinnen wurde dies nur bei den FoxP3+IL-1R+ Zellen einmalig deutlich. Hinsichtlich CCR6 finden sich widersprüchliche Ergebnisse. Die konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD und RA-Patientinnen besaßen signifikant weniger CCR6, wohingegen CCR6 bei den konvertierten Zellen der JIA-Patientinnen diskret hochreguliert zu sein schien. Die produzierten Zytokine schienen bis auf eine einmalige Abweichung annähernd auf einem Niveau zu liegen.

Soweit beurteilbar lassen sich in der Literatur ähnliche Untersuchungen nicht finden. NTregs und iTregs ähneln sich phänotypisch und funktionell sehr.[188] So sind beide Gruppen durch eine hohe Expression von Foxp3 und CD25, eine niedrige Expression von CD127 und ähnliche suppressive Eigenschaften gekennzeichnet.[188] Zwar scheinen Unterscheidungsmerkmale wie das Helios-Protein aus der Familie des Ikaros Transkriptionsfaktorkomplexes und Neuropilin 1 zur nTreg-Identifikation anwendbar zu sein, allerdings lassen sich diese bis zu einem gewissen Grad ebenfalls in iTregs induzieren.[188-191] Somit lässt sich festhalten, dass die hier gefundenen Resultate in der Auswertung signifikant geworden sind, sich aber nicht durch andere Publikationen überprüfen lassen.

#### **4.2.5 Vergleich und Interpretation des Apoptoseverhalten**

##### **4.2.5.1 Unterschiede in den CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen**

Mit Hilfe dieser Untersuchung konnten Unterschiede hinsichtlich der Zellvitalität zwischen den CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen und den HD sowie zu einem kleinen Anteil der JIA-Patientinnen aufgedeckt werden. So zeigte sich, dass sich die CD4+CD25+CD127- Zellen der RA-Patientinnen bereits in der Prästimulation signifikant gehäuft in Frühapoptose befanden. In der Poststimulation waren die CD4+CD25+CD127- und zu einem geringeren Anteil auch die CD+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen im Vergleich zu den Zellen der HD zu größeren proportionalen Anteilen spätapoptotisch beziehungsweise nekrotisch geworden.

Gleich zu Beginn der Interpretation sollte eine Berücksichtigung der aktuellen Medikation im Probandenkollektiv erfolgen. So muss beachtet werden, dass die Mehrheit der eingeschlossenen Patientinnen im Gegensatz zu den HD zum Zeitpunkt der Blutentnahme unter immunsuppressiver beziehungsweise immunmodulierender Medikation stand, die die Funktion der T-Zellen beeinflussen und somit Auswirkungen auf die Ergebnisse der Untersuchung gehabt haben könnten. Besonders unter den RA-Patientinnen finden sich Personen, die regelmäßig Methotrexat appliziert bekommen haben. Wie Genestier et al. demonstrieren konnten, wirkt Methotrexat unter anderem anti-inflammatorisch indem es die Apoptose von aktivierten Lymphozyten induziert.[192] Solche apoptotischen Effekte auf Immunzellen finden sich auch bei den eingesetzten Glukokortikoiden und den Anti-TNF-Biologika.[193, 194] Somit steht zur Überlegung, ob die gemessenen Daten nicht am ehesten auf die unterschiedliche Medikation zurückzuführen sind, zudem sie konträr zu der generellen Annahme stehen, dass bei den Immunzellen von RA-Patienten die Apoptose dysreguliert ist und seltener initiiert wird.[195, 196]

#### **4.2.6 Vorher-Nachher Vergleich der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen**

Sowohl bei den CD4+CD25+CD127- als auch den CD4+CD25-CD127- Zellen aller drei Vergleichsgruppen zeigte sich die signifikante Beobachtung, dass in der Poststimulation die proportionalen Zellanteile der vitalen Zellen abgenommen und dafür die proportionalen Zellanteile der frühapoptotischen Zellen zugenommen haben. Des Weiteren fand sich bei den CD+CD25+CD127- Zellen der JIA- und einmalig bei denen der RA-Patientinnen, dass signifikant mehr Zellen spätapoptotisch beziehungsweise nekrotisch geworden sind.

Diese Abnahme der vitalen Zellen deckt sich mit der Studie von Miyara et al. In dieser Arbeit wurden verschiedene Treg-Populationen miteinander verglichen und weiterführend untersucht wie sie sich unter Aktivierung verhalten. Und es zeigte sich, dass je nach Subtyp bereits nach 4 Tagen der Großteil der untersuchten Zellen nicht mehr vital war und sich für Marker der Frühapoptose anfärben ließ.[184] Besonders ausgeprägt war die Apoptoserate bei den CD25+CD45RA-FoxP3+ Tregs, im geringeren Ausmaß ließ sich dieser Effekt bei allen Treg-Populationen feststellen.[184] Einer weiteren

Untersuchung zufolge regulieren Tregs nach einer Antigen-spezifischen Stimulation das anti-apoptotische Protein Bcl-2 herunter.[40, 197] Sakaguchi et al. schlussfolgerten daraus, dass mit Hilfe dieser Mechanismen eine Homöostase der Tregs und eine annähernd konstante Anzahl an Tregs im Organismus gewährleistet werden sollen.[40]

#### **4.2.6.1 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI auf das Apoptoseverhalten**

Bei den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD waren die proportionalen Zellanteile der vitalen Zellen in der Kulturbedingung Unstimuliert hochsignifikant höher als in der Kulturbedingung anti-IL-1 $\beta$ . Bei den frühapoptotischen Zellen fand sich ein gegenläufiges Ergebnis.

Da im Rahmen der Untersuchung die weiteren Daten keine zusätzlichen signifikanten Ergebnisse aufdeckten, erscheint an dieser Stelle eine zufällige signifikante Messung am wahrscheinlichsten, sodass auf keinen relevanten Trend geschlossen werden kann.

### **4.3 Vergleich und Interpretation des Suppression Assays**

#### **4.3.1 Unterschiede in der Suppressionsfähigkeit der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen**

Bei der Gegenüberstellung der Suppressionsfähigkeit der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen zeigten sich in der Prästimulation signifikante Unterschiede. Hierbei schienen die CD4+CD25+CD127- Zellen der HD die Proliferation der Effektorzellen signifikant besser hemmen zu können als die der RA-Patientinnen. Ebenso zeigte sich eine signifikant verminderte Proliferation der Effektorzellen in den Negativkontrollen der JIA-Patientinnen im Vergleich zu denen der HD. In der Poststimulation fanden sich solche Unterschiede nicht mehr.

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass die Tregs von JIA-Patienten und RA-Patienten funktionell eingeschränkt zu sein scheinen; so können sie einerseits weniger effektiv die Proliferation sowie andererseits die Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen der Effektorzellen hemmen.[43, 198] Auf diesen Umstand könnte die verbesserte Funktionalität der HD CD4+CD25+CD127- Zellen in der Prästimulation

zurück zu führen sein. Andererseits lassen sich auf diese Weise nicht die ungefähr gleichen Suppression-Niveaus in der Poststimulation zwischen den Gruppen und die signifikant verminderte Proliferation der HD Negativkontrollen in der Prästimulation erklären. Ein weiterführender Interpretationsansatz verfolgt die Idee, dass die eingeschränkte Funktionalität der Tregs im Wesentlichen auf die verminderte Supprimierung von pro-inflammatorischen Zytokinen zurückzuführen sei.[199] In der Arbeit von Ehrenstein et al. konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt vor allem bei Patienten zum Zeitpunkt einer aktiven RA überwiegt; in dieser Studie fand sich ebenfalls kein relevanter Unterschied in den ausgewerteten Suppression Assays.[199]

#### **4.3.2 Vorher-Nachher Vergleich der Suppressionsfähigkeit**

Im Rahmen dieser Untersuchung war ein zum Teil signifikanter Trend zu beobachten, dass eine bessere Funktionalität der CD4+CD25+CD127- sowie der CD4+CD25-CD127-Zellen aller drei Vergleichsgruppen vorlag, wenn diese nach dem IL-1 $\beta$  Versuch analysiert wurden.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit früheren Untersuchungen. In diesen konnte demonstriert werden, dass in-vitro expandierte Tregs eine supprimierende Funktion einnehmen können.[149] Folglich kann daraus geschlossen werden, dass eine Treg-Polarisation stattgefunden hat und die expandierten Tregs ihrer supprimierenden Funktion nachkommen. Interessanterweise findet sich diese Beobachtung nicht nur wie erwartet bei den CD4+CD25+CD127- Zellen, sondern ebenfalls bei den CD4+CD25-CD127- Zellen. Einerseits könnten sich auch bei den CD4+CD25-CD127- Zellen einige Zellen bedingt durch die Stimulationsbedingungen zu Tregs entwickelt haben. Wie im Abschnitt Material und Methoden bereits erwähnt, sind IL-2 und TGF- $\beta$  essentieller Bestandteil für eine stabile Funktionalität der Tregs und gleichfalls in der Lage aus CD4+CD25- Vorläuferzellen Tregs zu induzieren.[144, 146, 147] Andererseits existieren Hinweise, dass sich unter CD4+ Zellen im entzündlich veränderten Milieu, die CD25 nur schwach beziehungsweise nicht exprimieren, funktionierende FoxP3+ Tregs befinden, die über ähnliche suppressive Eigenschaften verfügen.[200]

### **4.3.3 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI auf die Suppressionsfähigkeit**

Die ermittelten Werte dieser Analyse erbrachten in der Auswertung keine signifikanten Ergebnisse.

Anhand dieser Untersuchung konnte auf keine relevante Einflussnahme der verschiedenen Stimulationsbedingungen auf die Suppressionsfähigkeit der untersuchten Zellen geschlossen werden. Diese Erkenntnis steht im Widerspruch zu unseren Erwartungen. IL-1 $\beta$  gilt als pro-inflammatorisches Zytokin, welches die Aktivierung und Proliferation von Endothelzellen, Leukozyten, Chondrozyten und Osteoklasten induziert.[57, 90] Unterstützend konnte in der Arbeit von Raffin et al. konstatiert werden, dass Tregs, die für den Transkriptionsfaktor Helios negativ sind, ihre suppressive Kapazität unter IL-1 $\beta$  Stimulierung zu großen Anteilen verlieren.[178] Diese Zellen besitzen im Gegensatz zu den Helios positiven Tregs IL-1 Rezeptoren und sind somit reagibel auf IL-1 $\beta$ . [178] O'Sullivan et al. waren in der Lage ähnliche Rückschlüsse zu ziehen. In ihrer Forschungsarbeit konnten sie zeigen, dass aus Mäusen gewonnene Tregs gleichfalls auf die Beimengung von IL-1 $\beta$  mit einer Abnahme ihrer suppressiven Fähigkeit reagieren.[201] Somit wäre eine gesteigerte Proliferation der Effektorzellen unter Einfluss von IL-1 $\beta$  und eine verminderte Proliferation unter Inhibierung von IL-1 $\beta$  bzw. seines Rezeptors plausibel erschienen. Solche Resultate konnten Mitchell et al. vorzeigen. Ihnen gelang es die durch IL-1 $\beta$  beeinträchtigte Suppressionsfähigkeit der Tregs mit Hilfe eines IL-1RA teilweise wieder herzustellen.[202] Ein Erklärungsansatz könnte sein, dass die Wirkung von IL-1 $\beta$  dosisabhängig ist und im vorliegenden Fall mit 20 ng/ml zu gering gewählt wurde. So wurde bei O'Sullivan et al. Konzentration von bis zu 50 ng/ml verwendet.[201] Bei Raffin et al. entschied man sich zwar für eine IL-1 $\beta$  Konzentration von 10 ng/ml, allerdings wurden die Tregs in dieser Untersuchung in Subpopulationen gesplittet, sodass der Effekt auf empfängliche Gruppen möglicherweise sensitiver wahrgenommen werden konnte.[178] Eine weitere Erklärung könnte sein, dass ein in-vitro Suppression Assay nicht detailgetreu die in-vivo Verhältnisse widerspiegeln kann.[148] So spielen neben dem direkten Zellkontakt zwischen den Tregs und den Effektorzellen auch lösliche Faktoren eine große Rolle für eine erfolgreiche Supprimierung.[148, 203] Zudem ist die pro-inflammatorische Wirkweise von IL-1 $\beta$

vielfältig und beinhaltet neben einer gesteigerten Zellproliferation auch die vermehrte Sekretion von entzündungsfördernden Zytokinen, die Expressierung von Akute-Phase-Proteinen in der Leber, aktiviert das Endothel, fördert die Produktion von antimikrobiellen Proteinen und induziert die Expression von pro-inflammatorischen Genen.[57] Eine weitere Wirkweise von IL-1 $\beta$  ist die veränderte Zelldifferenzierung mit einer Zunahme der Th17-Zell-Proportionen.[59, 204] Somit wäre es denkbar, dass diese Effekte in-vivo überwiegen und die gesteigerte Zellproliferation eine untergeordnete Bedeutung einnimmt und sich in den durchgeführten Suppression Assays daher nicht regelhaft widerspiegelt. Hinzukommt, dass sich in der Literatur teilweise widersprüchliche Ergebnisse finden. So konstatieren Ganesh et al., dass ihre untersuchten CD4+CD25+ T-Zellen über eine bessere Suppressionsfähigkeit verfügten, wenn sie unter dem Einfluss von IL-1 $\beta$  standen; bei den CD4+CD25- T-Zellen fand sich dieser Effekt nicht.[176] Wie in 4.2.2 beschrieben, soll mittels Stärkung der immunsuppressiven Wirkweise der Tregs Autoimmunität und lymphoproliferative Prozesse während einer Inflammation verhindert werden.[176]

#### **4.4 Vergleich und Interpretation der Zytokin-ELISAs**

Wie im Ergebnisteil bereits erwähnt, besitzen die Untersuchungen, die anhand der Zytokin ELISAs erfolgten, einen stark explorativen Charakter. Es liegt nur eine kleine Anzahl an Daten vor, sodass die Auswertungen unter Vorbehalt erfolgen sollten.

##### **4.4.1 IL-17 ELISA**

Deskriptiv lässt sich festhalten, dass in nur zwei Serumproben IL-17 detektiert werden konnte. Diese beiden Proben waren den RA-Patientinnen zuzuordnen. Die ermittelten Mittelwerte und Medianwerte der CD4+CD25+CD127- Zellen sowie der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD verfügten über den geringsten Zahlenwert für IL-17 und könnten so auf einen Trend schließen lassen, dass IL-17 vermehrt von JIA- und RA-Patientinnen sezerniert wird. Diese Überlegung wurde allerdings nicht signifikant und kann somit nicht mit Sicherheit getroffen werden. Die CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen sowie die CD4+CD25-CD127- Zellen der HD sind unter IL-1 $\beta$  Einfluss mit den höchsten Rangsummen für eine gesteigerte IL-17 Produktion assoziiert,

scheinen demnach unter IL-1 $\beta$  Stimulierung vermehrt IL-17 bilden zu können. Hierbei wird allerdings erneut das Signifikanzniveau verfehlt.

Obwohl die oben getroffenen Aussagen sich statistisch nicht untermauern lassen, würden sie sich in bereits validierten Studien wiederfinden. Dhaouadi et al. konnten in ihrer Studie anführen, dass im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden die IL-17 Spiegel im Serum der RA-Patienten signifikant gesteigert waren.[205] Bei den JIA-Patienten lassen sich erhöhte IL-17 Konzentrationen vorrangig in der Synovialflüssigkeit feststellen.[206]

Auch lässt sich die Bedeutung von IL-1 $\beta$  auf die IL-17 Sezernierung in mehreren Publikationen festhalten. Voo et al. berichten in ihrer Untersuchung von 2009 von IL-17 produzierenden Tregs, welche Charakteristika sowohl von Tregs als auch von Th17 Zellen präsentieren und sich verstärkt von IL-1 $\beta$  und IL-6 induzieren lassen.[207] Ebenso betonen Deknuydt et al. in ihrer Studie, dass zwischen Tregs und Th17 Zellen keine strenge Gegensätzlichkeit, sondern eher eine gewisse Plastizität herrsche.[208] Ihnen gelang es zu demonstrieren, dass sich unter IL-2 und IL-1 $\beta$  Einfluss aus Tregs Th17 Zellen generieren lassen.[208] Analog dazu postulieren Li et al. und Afzali et al. die Rolle von IL-1 $\beta$  als entscheidenden Faktor für die Generierung von IL-17 produzierenden Zellen aus Tregs.[209, 210] Somit sei es möglich, dass Tregs neben ihrer anti-inflammatorischen Funktion unter inflammatorischen Bedingungen auch die Immunantwort unterstützen beziehungsweise Autoimmunerkrankungen und Inflammationen unterhalten könnten.[207, 208]

#### **4.4.2 IL-10 ELISA**

In der Zusammenschau der Daten konnte in einer Serumprobe einer JIA-Patientin IL-10 detektiert werden; weitere Proben blieben unter der Nachweisgrenze. Im Vergleich zwischen den CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen fand sich kein signifikanter Unterschied. Ebenso ließ sich kein Trend für eine veränderte IL-10 Sezernierung unter den verschiedenen Stimulationsbedingungen aufzeigen.

Im Hinblick auf bereits vorhandene Untersuchungen, hätte ein eine verringerte Produktion von IL-10 unter IL-1 $\beta$  Stimulierung erwartet werden können. Im Rahmen ihrer Forschungsarbeit bezüglich CD8+ iTregs zeigten Bjarnadottir et al., dass IL-1 $\beta$  die

IL-10 Sekretion von CD8+ iTregs reduziert.[183] Weiter konnten sie eine eingeschränkte Suppressionsfähigkeit der CD8+ iTregs unter IL-1 $\beta$  Einfluss aufdecken und führten dies auf das durch IL-1 $\beta$  veränderte Zytokinprofil zurück.[183] Allerdings handelte es sich bei den von Bjarnadottir et al. untersuchten Zellen um CD8+ iTregs und nicht, wie in dieser Arbeit, um CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen, sodass sich die dort erörterten Ergebnisse nicht automatisch auf unser Projekt übertragen lassen. Ein ähnliches Interpretationsproblem verursacht die Studie von Zielinski et al. von 2012. Sie stellten fest, dass IL-1 $\beta$  ein potenter Inhibitor der IL-10 Produktion von Th17 und T-Gedächtniszellen ist.[182] Der Effekt auf CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen wurde von Zielinski et al. ebenfalls nicht untersucht. Dennoch erscheint es schlüssig, dass IL-1 $\beta$  auch bei diesen Zellen die IL-10 Sekretion reduzieren sollte. Aufgrund dessen kann das Ausbleiben dieses Ergebnisses am wahrscheinlichsten in der kleinen Fallzahl begründet liegen.

#### **4.4.3 IFN- $\gamma$ ELISA**

In beinahe jeder Serumprobe ließ sich IFN- $\gamma$  feststellen. In der Gegenüberstellung zwischen den CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Ebenso ließ sich kein Trend für eine veränderte IFN- $\gamma$  Produktion unter den verschiedenen Stimulationsbedingungen konstatieren.

Unter Berücksichtigung der Forschungsarbeit von O'Sullivan et al., wurde mit einem Anstieg des IFN- $\gamma$  Spiegels unter IL-1 $\beta$  Stimulierung und einer Aufhebung dieses Effekts unter IL-1 $\beta$ - bzw. unter IL-1 Rezeptor-Inhibierung gerechnet. Dass eine solche Feststellung nicht getroffen werden konnte, könnte auf zwei möglichen Ursachen zurückzuführen sein. Zum einen wird, wie bereits erwähnt, von O'Sullivan et al. postuliert, dass die Wirkung von IL-1 $\beta$  dosisabhängig ist und in ihrer Studie wird mit Konzentrationen von bis zu 50 ng/ml gearbeitet, sodass die von uns gewählte Konzentration von 20 ng/ml gegebenenfalls zu niedrig ausgesucht wurde.[201] Zum anderen könnte wie bereits erwähnt unsere Fallzahl zu klein gewesen sein, damit mögliche Abweichungen signifikant hätten werden können. Entgegen der praktischen Annahme, dass IL-1  $\beta$  als pro-inflammatorisches Zytokin die IFN- $\gamma$  Sezernierung steigern sollte, finden sich in einer Studie Hinweise, dass unter IL-1 $\beta$  die IFN- $\gamma$  Bildung rückläufig

ist.[183] Bjarnadottir et al. demonstrierten diesen Effekt allerdings an CD8+ iTregs, sodass die Übertragbarkeit auf unsere CD4+CD25+CD127- und CD4+CD25-CD127- Zellen insgesamt fraglich erscheint.

#### **4.5 Technische Limitationen der Arbeit**

**HD-Gruppe und Patientenkollektive:** Als Limitation ist zum einen die geringe Teilnehmerzahl aufzuführen. In dieser Arbeit wurde abhängig von der Untersuchung ein kleiner Stichprobenumfang mit Gruppierungen von jeweils 5 Personen miteinander verglichen. Dennoch denken wir, dass der Stichprobenumfang ausreichen müsste, um einen Effekt, sofern einer vorliegt, zu erkennen oder zumindest einen Trend ausmachen zu können.

Zum anderen müssen die verschiedenen Krankheitsverläufe mit unterschiedlicher Therapie und Medikation berücksichtigt werden, so bildet vor allem die JIA ein heterogenes Krankheitsbild mit sieben Subgruppen.[96] Zur Verbesserung der Vergleichbarkeit wurde das Geschlecht vereinheitlicht und nur Frauen beziehungsweise Mädchen in die Studie eingeschlossen. Da JIA-Patienten und RA-Patienten durch den unterschiedlichen Erkrankungsbeginn stark in ihrem Alter divergieren, entschieden wir uns in die HD-Gruppe 2 Probandinnen aufzunehmen, die bezüglich des Alters den JIA-Patientinnen entsprechen und 3 Probandinnen, die sich dahingehend an den RA-Patientinnen orientieren.[79, 96] Des Weiteren gelang es uns mit besonderem Erfolg bei dem RA-Patientenkollektiv die Unterkategorie der Erkrankung aufeinander abzustimmen, sodass alle Patientinnen die seropositive Form der RA besaßen.

**Definitionskriterien der Tregs:** Im Konsens mit der gegenwärtigen Literatur haben wir unsere CD4+CD25+CD127-FoxP3+ Zellen als Tregs definiert.[211] Allerdings konnte in anderen Arbeiten festgestellt werden, dass auch Nicht-Tregs vorübergehend in der Lage sind den Transkriptionsfaktor FoxP3 zu exprimieren.[212] Somit kann nicht gänzlich ausgeschlossen werden, dass zu einem gewissen Prozentsatz Nicht-Tregs in die Auswertung der Tregs inkludiert wurden.

**FoxP3 Auswertung mittels Durchflusszytometrie:** Mit Hilfe der Durchflusszytometrie und geeigneter Antikörper-vermittelter Fluoreszenzfärbung kann der

Transkriptionsfaktor FoxP3 in untersuchten Zellen detektiert werden. Jedoch ist es mit dieser Methode nicht möglich eine Aussage über den Methylierungsgrad der Foxp3-Promotor-Region zu treffen; dabei wäre gerade der Methylierungsgrad essentiell für die Interpretation der Aktivität und Stabilität der Tregs.[45] In Ermangelung dessen haben wir Funktionsanalysen wie die Suppression Assays durchgeführt, um Rückschlüsse auf die Funktionalität der Tregs ziehen zu können.

**Zellseparation mittels MACS:** Gerade bei einer kleinen Zellpopulation wie den Tregs können technische Limitationen im Rahmen der MACS-Zellseparation auftreten.[132] Um eine höhere Reinheit zu erzielen, haben wir die MACS-Zellseparation mit einem Cell Sorting-Schritt mittels FACS AriaIII kombiniert. Damit befand sich die Zellreinheit der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen bei  $\geq 92,8\%$ .

#### **4.6 Ausblick**

Obwohl in-vitro Untersuchungen nicht zwangsläufig in-vivo Prozesse rekapitulieren, sind sie aufgrund ihrer einfacheren Handhabung ein häufig verwendetes Hilfsmittel um Grundlagen zu erforschen.[148]

Nach der Durchführung und der Auswertung unserer Versuche, lagen uns Hinweise vor, dass IL-1 $\beta$  einen deutlichen Effekt auf Tregs, induzierte Tregs und Nicht-Tregs ausübt. Mittels durchflusszytometrischer Analyse konnten signifikant reduzierte proportionale Anteile des Transkriptionsfaktors FoxP3 unter IL-1 $\beta$  Stimulierung in den untersuchten Zellen der HD gefunden werden und anhand von Zytokin-ELISAs zeigte sich ein nicht-signifikanter Trend für eine IL-1 $\beta$  induzierte Mehrproduktion von IL-17 vorrangig in den Tregs der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen und den Nicht-Tregs der HD. Unter Inhibierung von IL-1 $\beta$  und seines Rezeptors fanden sich diese Beobachtungen nicht.

Es wäre von großem Interesse diese Ergebnisse mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) zu validieren. Somit könnte der Methylierungsgrad des Transkriptionsfaktors FoxP3 überprüft und anschließend die FoxP3 Transkription mittels PCR untersucht werden und ggf. die erwartete Hypothese bestätigt werden, dass durch die Inhibition von IL-1 $\beta$  bzw. seines Rezeptors die Foxp3-Promotor-Region der Tregs demethyliert wird. Dies würde

zu einer hohen Expressionsrate dieses Transkriptionsfaktors und damit zur Generierung von aktiven und stabilen Tregs führen.[49, 50]

Ein weiterer wesentlicher Punkt wäre eine Überführung in in-vivo Untersuchungen um eine mögliche Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den „Gesamtorganismus Mensch“ zu zeigen. Sollte dies gelingen, könnten sich praktisch-klinische Überlegungen ergeben. So wäre es denkbar, dass sich unter IL-1 $\beta$ - bzw. IL-1 Rezeptor-Blockade stabile und funktionsfähige Tregs in-vitro generieren lassen, die im Anschluss an Patienten mit Autoimmunerkrankungen transferiert werden können um so eine Regredienz der Beschwerden zu fördern. Andererseits stehen bereits erfolgreiche Therapien mit IL-1 $\beta$  und IL-1 Rezeptor-blockierenden monoklonalen Antikörpern zur Verfügung, deren weitere Erforschung, Ergänzung und Optimierung für Patienten und Patientinnen relevant wäre.

## 5. Zusammenfassung

**Hintergrund:** IL-1 $\beta$  gilt als ein potentes pro-inflammatorisches Zytokin, welches mit zahlreichen Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht wird. Prominente Vertreter sind die Juvenile Idiopathische Arthritis (JIA) und die Rheumatoide Arthritis (RA), chronische, systemisch-entzündliche Autoimmunerkrankungen mit den Gelenken als Manifestationsschwerpunkt. Die Wirkweise von IL-1 $\beta$  auf einzelne Zellpopulationen ist Bestandteil aktueller Forschung.

**Fragestellung:** Welche Auswirkung besitzt IL-1 $\beta$  sowie der Inhibierung von IL-1 $\beta$  bzw. seines Rezeptors auf Tregs?

**Methoden:** Diese Arbeit widmet sich der durchflusszytometrischen Analyse der PBMCs von 5 HD, 5 JIA- und 6 bzw. 11 RA-Patientinnen sowie den phänotypischen und funktionellen Veränderungen von Tregs und Nicht-Tregs von 5 HD, 5 JIA- und 5 RA-Patientinnen unter IL-1 $\beta$  Einfluss bzw. unter IL-1 $\beta$ - und IL-1 Rezeptor-Inhibierung. Die Funktionalität wurde mittels Suppression Assays und Zytokin-ELISAs überprüft.

**Ergebnisse:** Es zeigte sich, dass IL-1 $\beta$  den größten Einfluss auf die untersuchten Zellen der HD ausübte. Hierbei konnte beobachtet werden, dass die Tregs, die induzierten Tregs und die Nicht-Tregs der HD unter IL-1 $\beta$  Einfluss den Treg-spezifischen Transkriptionsfaktor FoxP3 signifikant vermindert exprimierten. Unter IL-1 $\beta$ - und IL-1 Rezeptor-Inhibierung lagen anti-inflammatorische Verhältnisse vor. Hinsichtlich des Apoptoseverhaltens und der Suppressionsfähigkeit konnten wir keinen signifikanten Effekt von IL-1 $\beta$  oder seiner Inhibierung eruieren. Bei dem IL-17 ELISA ließ sich ein nicht-signifikanter Trend für erhöhte IL-17 Spiegel unter IL-1 $\beta$  Stimulierung bei den Tregs der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen sowie bei den Nicht-Tregs der HD detektieren.

**Diskussion:** Zusammenfassend scheint IL-1 $\beta$  einen destabilisierenden Effekt auf den Treg-spezifischen Transkriptionsfaktor FoxP3 und einen proinflammatorischen auf das Zytokinprofil auszuüben. Diese Vorgänge lagen nicht bei IL-1 $\beta$ - und IL-1 Rezeptor-Inhibierung vor. Hinsichtlich zukünftiger Therapiestrategien könnten tiefergehende Studien bezüglich der genauen Wirkweise von IL-1 $\beta$  bzw. seine Inhibierung auf die Funktionalität der Tregs wichtige Erkenntnisse erbringen.

## 6. Summary

**Background:** IL-1 $\beta$  is supposed to be a potent, pro-inflammatory cytokine, which is associated with numerous autoimmune diseases such as juvenile idiopathic arthritis (JIA) and rheumatoid arthritis (RA). Both diseases fall under the group of chronic, systemic-inflammatory autoimmune diseases, which primarily appear on the joints. How it exactly exerts its effect on single cell populations remains yet to be studied, particularly its effect on regulatory T cells (Tregs).

**Rationale:** To investigate the effects of IL-1 $\beta$  respectively the inhibition of IL-1 $\beta$  or its receptor on Tregs was the leading question of our research work.

**Methods:** The present study analyzed by flowcytometry PBMCs of 5 HD, 5 JIA- and 6 respectively 11 RA-patients and changes in phenotype and function of isolated Tregs and Non-Tregs of 5 HD, 5 JIA- and 5 RA-patients after IL-1 $\beta$  intervention or inhibition of IL-1 $\beta$  respectively inhibition of IL-1 receptor. In addition, we examined the function of Tregs and Non-Tregs by means of suppression assays and cytokine-ELISAs.

**Results:** It was shown that IL-1 $\beta$  exerted its largest effect on the analyzed cells of the HD. The significantly lowest amounts of FoxP3, a Treg specific transcription factor, in Tregs, induced Tregs and Non-Tregs of the HD were observed when these cells were stimulated with IL-1 $\beta$ . When IL-1 $\beta$  or its receptor was inhibited, we found anti-inflammatory conditions. Regarding the apoptotic behavior and the ability to suppress the proliferation of effector cells, no significant effect of IL-1 $\beta$  could be detected. The IL-17 ELISA demonstrated a non-significant trend for elevated IL-17 levels, when the Tregs of HD, JIA- and RA-patients and the Non-Tregs of HD were cultivated with IL-1 $\beta$ .

**Discussion:** In summary, it can be stated that IL-1 $\beta$  has a distinct effect on Tregs, induced Tregs and Non-Tregs. It was shown that IL-1 $\beta$  could destabilize FoxP3 and that IL-1 $\beta$  seemed to induce higher levels of the pro-inflammatory cytokine IL-17. These results were not found under IL-1 $\beta$  respectively IL-1 receptor inhibition. More profound studies could prove helpful to investigate the exact effects of IL-1 $\beta$  respectively its inhibition on the functionality of Tregs, regarding future therapy strategies.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Parkin, J. and B. Cohen, *An overview of the immune system*. Lancet, 2001. **357**(9270): p. 1777-89.
2. Chaplin, D.D., *Overview of the immune response*. J Allergy Clin Immunol, 2010. **125**(2 Suppl 2): p. S3-23.
3. Delves, P.J. and I.M. Roitt, *The immune system. First of two parts*. N Engl J Med, 2000. **343**(1): p. 37-49.
4. Holmgren, J. and C. Czerkinsky, *Mucosal immunity and vaccines*. Nat Med, 2005. **11**(4 Suppl): p. S45-53.
5. Tomasi, T.B., Jr. and S. Zigelbaum, *The Selective Occurrence of Gamma-1a Globulins in Certain Body Fluids*. J Clin Invest, 1963. **42**: p. 1552-60.
6. Ellmeier, W., S. Sawada, and D.R. Littman, *The regulation of CD4 and CD8 coreceptor gene expression during T cell development*. Annu Rev Immunol, 1999. **17**: p. 523-54.
7. Moretta, A., et al., *Major histocompatibility complex class I-specific receptors on human natural killer and T lymphocytes*. Immunol Rev, 1997. **155**: p. 105-17.
8. Davis, L.S., M.C. Wacholtz, and P.E. Lipsky, *The induction of T cell unresponsiveness by rapidly modulating CD3*. J Immunol, 1989. **142**(4): p. 1084-94.
9. Esensten, J.H., et al., *CD28 Costimulation: From Mechanism to Therapy*. Immunity, 2016. **44**(5): p. 973-88.
10. Geppert, T.D. and P.E. Lipsky, *Activation of T lymphocytes by immobilized monoclonal antibodies to CD3. Regulatory influences of monoclonal antibodies to additional T cell surface determinants*. J Clin Invest, 1988. **81**(5): p. 1497-505.
11. Jenkins, M.K., et al., *CD28 delivers a costimulatory signal involved in antigen-specific IL-2 production by human T cells*. J Immunol, 1991. **147**(8): p. 2461-6.
12. Wacholtz, M.C., S.S. Patel, and P.E. Lipsky, *Patterns of costimulation of T cell clones by cross-linking CD3, CD4/CD8, and class I MHC molecules*. J Immunol, 1989. **142**(12): p. 4201-12.
13. Ciofani, M. and J.C. Zuniga-Pflucker, *The thymus as an inductive site for T lymphopoiesis*. Annu Rev Cell Dev Biol, 2007. **23**: p. 463-93.
14. Miller, J.F., *Immunological function of the thymus*. Lancet, 1961. **2**(7205): p. 748-9.
15. Killeen, N., et al., *Signaling checkpoints during the development of T lymphocytes*. Curr Opin Immunol, 1998. **10**(3): p. 360-7.
16. Bevan, M.J., *In thymic selection, peptide diversity gives and takes away*. Immunity, 1997. **7**(2): p. 175-8.
17. Delves, P.J. and I.M. Roitt, *The immune system. Second of two parts*. N Engl J Med, 2000. **343**(2): p. 108-17.
18. Swain, S.L., et al., *Helper T-cell subsets: phenotype, function and the role of lymphokines in regulating their development*. Immunol Rev, 1991. **123**: p. 115-44.
19. Raphael, I., et al., *T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases*. Cytokine, 2015. **74**(1): p. 5-17.

Figure 1 reprinted in Abbildung 1 with permission from Elsevier

20. Duncan, D.D. and S.L. Swain, *Role of antigen-presenting cells in the polarized development of helper T cell subsets: evidence for differential cytokine production by Th0 cells in response to antigen presentation by B cells and macrophages*. Eur J Immunol, 1994. **24**(10): p. 2506-14.
21. Ivanova, E.A. and A.N. Orekhov, *T Helper Lymphocyte Subsets and Plasticity in Autoimmunity and Cancer: An Overview*. Biomed Res Int, 2015. **2015**: p. 327470.
22. Jacobson, N.G., et al., *Interleukin 12 signaling in T helper type 1 (Th1) cells involves tyrosine phosphorylation of signal transducer and activator of transcription (Stat)3 and Stat4*. J Exp Med, 1995. **181**(5): p. 1755-62.
23. Fitch, F.W., et al., *Differential regulation of murine T lymphocyte subsets*. Annu Rev Immunol, 1993. **11**: p. 29-48.
24. Skurkovich, S., B. Skurkovich, and J. Kelly, *Anticytokine therapy, particularly anti-IFN-gamma, in Th1-mediated autoimmune diseases*. Expert Rev Clin Immunol, 2005. **1**(1): p. 11-25.
25. Bosisio, D., et al., *Stimulation of toll-like receptor 4 expression in human mononuclear phagocytes by interferon-gamma: a molecular basis for priming and synergism with bacterial lipopolysaccharide*. Blood, 2002. **99**(9): p. 3427-31.
26. Schroder, K., et al., *Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions*. J Leukoc Biol, 2004. **75**(2): p. 163-89.
27. Refaeli, Y., et al., *Interferon gamma is required for activation-induced death of T lymphocytes*. J Exp Med, 2002. **196**(7): p. 999-1005.
28. Robinson, D.S., et al., *Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma*. N Engl J Med, 1992. **326**(5): p. 298-304.
29. Lee, G.R. and R.A. Flavell, *Transgenic mice which overproduce Th2 cytokines develop spontaneous atopic dermatitis and asthma*. Int Immunol, 2004. **16**(8): p. 1155-60.
30. Shimoda, K., et al., *Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted Stat6 gene*. Nature, 1996. **380**(6575): p. 630-3.
31. Layton, J.E., et al., *Clonal analysis of B cells induced to secrete IgG by T cell-derived lymphokine(s)*. J Exp Med, 1984. **160**(6): p. 1850-63.
32. Coffman, R.L., et al., *B cell stimulatory factor-1 enhances the IgE response of lipopolysaccharide-activated B cells*. J Immunol, 1986. **136**(12): p. 4538-41.
33. Acosta-Rodriguez, E.V., et al., *Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells*. Nat Immunol, 2007. **8**(9): p. 942-9.
34. Yang, L., et al., *IL-21 and TGF-beta are required for differentiation of human T(H)17 cells*. Nature, 2008. **454**(7202): p. 350-2.
35. Kugyelka, R., et al., *Enigma of IL-17 and Th17 Cells in Rheumatoid Arthritis and in Autoimmune Animal Models of Arthritis*. Mediators Inflamm, 2016. **2016**: p. 6145810.
36. Korn, T., et al., *IL-17 and Th17 Cells*. Annu Rev Immunol, 2009. **27**: p. 485-517.
37. Paulissen, S.M., et al., *The role and modulation of CCR6+ Th17 cell populations in rheumatoid arthritis*. Cytokine, 2015. **74**(1): p. 43-53.

38. Nistala, K., et al., *Interleukin-17-producing T cells are enriched in the joints of children with arthritis, but have a reciprocal relationship to regulatory T cell numbers*. *Arthritis and Rheumatism*, 2008. **58**(3): p. 875-887.
39. Gershon, R.K. and K. Kondo, *Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes*. *Immunology*, 1970. **18**(5): p. 723-37.
40. Sakaguchi, S., et al., *Regulatory T cells and immune tolerance*. *Cell*, 2008. **133**(5): p. 775-87.
41. Afzali, B., et al., *The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease*. *Clinical and Experimental Immunology*, 2007. **148**(1): p. 32-46.
42. Henderson, L.A., et al., *Next Generation Sequencing Reveals Restriction and Clonotypic Expansion of Regulatory T Cells in Juvenile Idiopathic Arthritis*. *Arthritis Rheumatol*, 2016.
43. Herrath, J., et al., *The inflammatory milieu in the rheumatic joint reduces regulatory T-cell function*. *Eur J Immunol*, 2011. **41**(8): p. 2279-90.
44. Ugor, E., et al., *Increased proportions of functionally impaired regulatory T cell subsets in systemic sclerosis*. *Clin Immunol*, 2017. **184**: p. 54-62.
45. Toker, A., et al., *Active demethylation of the Foxp3 locus leads to the generation of stable regulatory T cells within the thymus*. *J Immunol*, 2013. **190**(7): p. 3180-8.
46. Floess, S., et al., *Epigenetic control of the foxp3 locus in regulatory T cells*. *PLoS Biol*, 2007. **5**(2): p. e38.
47. Zheng, S.G., J. Wang, and D.A. Horwitz, *Cutting edge: Foxp3+CD4+CD25+ regulatory T cells induced by IL-2 and TGF-beta are resistant to Th17 conversion by IL-6*. *J Immunol*, 2008. **180**(11): p. 7112-6.
48. Curotto de Lafaille, M.A. and J.J. Lafaille, *Natural and adaptive foxp3+ regulatory T cells: more of the same or a division of labor?* *Immunity*, 2009. **30**(5): p. 626-35.
49. Janson, P.C., et al., *FOXP3 promoter demethylation reveals the committed Treg population in humans*. *PLoS One*, 2008. **3**(2): p. e1612.
50. Lal, G., et al., *Epigenetic regulation of Foxp3 expression in regulatory T cells by DNA methylation*. *J Immunol*, 2009. **182**(1): p. 259-73.
51. Kaplan, M.H., M.M. Hufford, and M.R. Olson, *The development and in vivo function of T helper 9 cells*. *Nat Rev Immunol*, 2015. **15**(5): p. 295-307.
52. Trifari, S., et al., *Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells*. *Nat Immunol*, 2009. **10**(8): p. 864-71.
53. Eyerich, S., et al., *Th22 cells represent a distinct human T cell subset involved in epidermal immunity and remodeling*. *J Clin Invest*, 2009. **119**(12): p. 3573-85.
54. Palomo, J., et al., *The interleukin (IL)-1 cytokine family--Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases*. *Cytokine*, 2015. **76**(1): p. 25-37.
55. Kahlenberg, J.M. and G.R. Dubyak, *Differing caspase-1 activation states in monocyte versus macrophage models of IL-1beta processing and release*. *J Leukoc Biol*, 2004. **76**(3): p. 676-84.
56. Simanski, M., et al., *The Inflammasome and the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Are Involved in the Staphylococcus aureus-Mediated*

- Induction of IL-1alpha and IL-1beta in Human Keratinocytes.* PLoS One, 2016. **11**(1): p. e0147118.
57. Akdis, M., et al., *Interleukins, from 1 to 37, and interferon-gamma: receptors, functions, and roles in diseases.* J Allergy Clin Immunol, 2011. **127**(3): p. 701-21 e1-70.
  58. Dinarello, C.A., L. Renfer, and S.M. Wolff, *Human leukocytic pyrogen: purification and development of a radioimmunoassay.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1977. **74**(10): p. 4624-7.
  59. Chung, Y., et al., *Critical regulation of early Th17 cell differentiation by interleukin-1 signaling.* Immunity, 2009. **30**(4): p. 576-87.
  60. Mitsuyama, K., et al., *IL-8 as an important chemoattractant for neutrophils in ulcerative colitis and Crohn's disease.* Clin Exp Immunol, 1994. **96**(3): p. 432-6.
  61. Sims, J.E. and D.E. Smith, *The IL-1 family: regulators of immunity.* Nat Rev Immunol, 2010. **10**(2): p. 89-102.
  62. Eastgate, J.A., et al., *Correlation of plasma interleukin 1 levels with disease activity in rheumatoid arthritis.* Lancet, 1988. **2**(8613): p. 706-9.
  63. Pascual, V., et al., *Role of interleukin-1 (IL-1) in the pathogenesis of systemic onset juvenile idiopathic arthritis and clinical response to IL-1 blockade.* J Exp Med, 2005. **201**(9): p. 1479-86.
  64. Bertin-Maghit, S., et al., *Interleukin-1beta produced in response to islet autoantigen presentation differentiates T-helper 17 cells at the expense of regulatory T-cells: Implications for the timing of tolerizing immunotherapy.* Diabetes, 2011. **60**(1): p. 248-57.
  65. Cai, H., et al., *Relationships of common polymorphisms in IL-6, IL-1A, and IL-1B genes with susceptibility to osteoarthritis: a meta-analysis.* Clin Rheumatol, 2015. **34**(8): p. 1443-53.
  66. Saxena, A., et al., *Interleukin-10 paradox: A potent immunoregulatory cytokine that has been difficult to harness for immunotherapy.* Cytokine, 2015. **74**(1): p. 27-34.
  67. Schottelius, A.J., et al., *Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of kappaB kinase activity and nuclear factor kappaB DNA binding.* J Biol Chem, 1999. **274**(45): p. 31868-74.
  68. de Waal Malefyt, R., H. Yssel, and J.E. de Vries, *Direct effects of IL-10 on subsets of human CD4+ T cell clones and resting T cells. Specific inhibition of IL-2 production and proliferation.* J Immunol, 1993. **150**(11): p. 4754-65.
  69. Fiorentino, D.F., M.W. Bond, and T.R. Mosmann, *Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones.* J Exp Med, 1989. **170**(6): p. 2081-95.
  70. Fiorentino, D.F., et al., *IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages.* J Immunol, 1991. **147**(11): p. 3815-22.
  71. Joss, A., et al., *IL-10 directly acts on T cells by specifically altering the CD28 co-stimulation pathway.* Eur J Immunol, 2000. **30**(6): p. 1683-90.
  72. Bogdan, C. and C. Nathan, *Modulation of macrophage function by transforming growth factor beta, interleukin-4, and interleukin-10.* Ann N Y Acad Sci, 1993. **685**: p. 713-39.
  73. Wang, P., et al., *Interleukin-10 inhibits interleukin-8 production in human neutrophils.* Blood, 1994. **83**(9): p. 2678-83.

74. de Waal Malefyt, R., et al., *Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes*. J Exp Med, 1991. **174**(5): p. 1209-20.
75. Go, N.F., et al., *Interleukin 10, a novel B cell stimulatory factor: unresponsiveness of X chromosome-linked immunodeficiency B cells*. J Exp Med, 1990. **172**(6): p. 1625-31.
76. Rouvier, E., et al., *CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene*. J Immunol, 1993. **150**(12): p. 5445-56.
77. Kolls, J.K. and A. Linden, *Interleukin-17 family members and inflammation*. Immunity, 2004. **21**(4): p. 467-76.
78. Cosmi, L., et al., *Th17 and Non-Classic Th1 Cells in Chronic Inflammatory Disorders: Two Sides of the Same Coin*. International Archives of Allergy and Immunology, 2014. **164**(3): p. 171-177.
79. Lee, D.M. and M.E. Weinblatt, *Rheumatoid arthritis*. Lancet, 2001. **358**(9285): p. 903-11.
80. Smolen, J.S., D. Aletaha, and I.B. McInnes, *Rheumatoid arthritis*. The Lancet, 2016. **388**(10055): p. 2023-2038.
81. Kvien, T.K. and T. Uhlig, *Quality of life in rheumatoid arthritis*. Scand J Rheumatol, 2005. **34**(5): p. 333-41.
82. Sokka, T., et al., *Work disability in rheumatoid arthritis 10 years after the diagnosis*. J Rheumatol, 1999. **26**(8): p. 1681-5.
83. Verstappen, S.M., et al., *Overview of work disability in rheumatoid arthritis patients as observed in cross-sectional and longitudinal surveys*. Arthritis Rheum, 2004. **51**(3): p. 488-97.
84. Kitas, G.D. and S.E. Gabriel, *Cardiovascular disease in rheumatoid arthritis: state of the art and future perspectives*. Ann Rheum Dis, 2011. **70**(1): p. 8-14.
85. Treharne, G.J., et al., *Cardiovascular disease and psychological morbidity among rheumatoid arthritis patients*. Rheumatology (Oxford), 2005. **44**(2): p. 241-6.
86. Okada, Y., et al., *Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery*. Nature, 2014. **506**(7488): p. 376-81.
87. Wegner, N., et al., *Peptidylarginine deiminase from Porphyromonas gingivalis citrullinates human fibrinogen and alpha-enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(9): p. 2662-72.
88. McInnes, I.B. and G. Schett, *The pathogenesis of rheumatoid arthritis*. N Engl J Med, 2011. **365**(23): p. 2205-19.
89. Alunno, A., et al., *Altered immunoregulation in rheumatoid arthritis: the role of regulatory T cells and proinflammatory Th17 cells and therapeutic implications*. Mediators Inflamm, 2015. **2015**: p. 751793.
90. Ruscitti, P., et al., *Efficacy of inhibition of IL-1 in patients with rheumatoid arthritis and type 2 diabetes mellitus: two case reports and review of the literature*. J Med Case Rep, 2015. **9**: p. 123.
91. Shingu, M., et al., *The effects of cytokines on metalloproteinase inhibitors (TIMP) and collagenase production by human chondrocytes and TIMP production by synovial cells and endothelial cells*. Clin Exp Immunol, 1993. **94**(1): p. 145-9.

92. Lorenz, H.M., [*Rheumatoid arthritis: diagnostics and therapy 2012*]. Orthopade, 2012. **41**(7): p. 514-9.
93. Aletaha, D., et al., *2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(9): p. 2569-81.
94. Singh, J.A., et al., *2012 update of the 2008 American College of Rheumatology recommendations for the use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis*. Arthritis Care Res (Hoboken), 2012. **64**(5): p. 625-39.
95. Vivar, N. and R.F. Van Vollenhoven, *Advances in the treatment of rheumatoid arthritis*. F1000Prime Rep, 2014. **6**: p. 31.
96. Petty, R.E., et al., *International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001*. J Rheumatol, 2004. **31**(2): p. 390-2.
97. Eisenstein, E.M. and Y. Berkun, *Diagnosis and classification of juvenile idiopathic arthritis*. J Autoimmun, 2014. **48-49**: p. 31-3.
98. Minden, K., et al., *Long-term outcome in patients with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2002. **46**(9): p. 2392-401.
99. Ravelli, A. and A. Martini, *Juvenile idiopathic arthritis*. Lancet, 2007. **369**(9563): p. 767-78.
100. Glass, D.N. and E.H. Giannini, *Juvenile rheumatoid arthritis as a complex genetic trait*. Arthritis Rheum, 1999. **42**(11): p. 2261-8.
101. Prelog, M., et al., *Premature aging of the immune system in children with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2008. **58**(7): p. 2153-62.
102. Prakken, B., S. Albani, and A. Martini, *Juvenile idiopathic arthritis*. The Lancet, 2011. **377**(9783): p. 2138-2149.
103. Hunter, P.J., et al., *Biologic predictors of extension of oligoarticular juvenile idiopathic arthritis as determined from synovial fluid cellular composition and gene expression*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(3): p. 896-907.
104. Wedderburn, L.R., et al., *Selective recruitment of polarized T cells expressing CCR5 and CXCR3 to the inflamed joints of children with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2000. **43**(4): p. 765-74.
105. Olivito, B., et al., *Th17 Transcription Factor RORC2 Is Inversely Correlated with FOXP3 Expression in the Joints of Children with Juvenile Idiopathic Arthritis*. Journal of Rheumatology, 2009. **36**(9): p. 2017-2024.
106. Fife, M.S., et al., *Novel IL10 gene family associations with systemic juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Res Ther, 2006. **8**(5): p. R148.
107. Webb, K. and L.R. Wedderburn, *Advances in the treatment of polyarticular juvenile idiopathic arthritis*. Curr Opin Rheumatol, 2015. **27**(5): p. 505-10.
108. Horneff, G., et al., *Protocols on classification, monitoring and therapy in children's rheumatology (PRO-KIND): results of the working group Polyarticular juvenile idiopathic arthritis*. Pediatr Rheumatol Online J, 2017. **15**(1): p. 78.
109. Wallace, C.A., et al., *Preliminary criteria for clinical remission for select categories of juvenile idiopathic arthritis*. J Rheumatol, 2004. **31**(11): p. 2290-4.
110. Toplak, N., S. Blazina, and T. Avcin, *The role of IL-1 inhibition in systemic juvenile idiopathic arthritis: current status and future perspectives*. Drug Des Devel Ther, 2018. **12**: p. 1633-1643.

111. Cosmi, L., et al., *Th17 plasticity: pathophysiology and treatment of chronic inflammatory disorders*. *Current Opinion in Pharmacology*, 2014. **17**: p. 12-16.
112. Cosmi, L., et al., *T helper cells plasticity in inflammation*. *Cytometry A*, 2014. **85**(1): p. 36-42.
113. World Medical, A., *World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects*. *JAMA*, 2013. **310**(20): p. 2191-4.
114. <FI-4477.pdf>.
115. Kim, K.N., *Treatment of juvenile rheumatoid arthritis*. *Korean J Pediatr*, 2010. **53**(11): p. 936-41.
116. <humira-epar-product-information\_de.pdf>.
117. Wells, G., et al., *Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate*. *Ann Rheum Dis*, 2009. **68**(6): p. 954-60.
118. Fiehn, C., et al., [*S2e guideline: treatment of rheumatoid arthritis with disease-modifying drugs*]. *Z Rheumatol*, 2018. **77**(Suppl 2): p. 35-53.
119. <Leflunomid ratiopharm® 10 mg Filmlipletten.pdf>.
120. <FI-4837.pdf>.
121. <Hydroxychloroquin-ratiopharm 200 mg Filmlipletten - 1.pdf>.
122. <amgevita-fachinformation.pdf>.
123. <remicade.pdf>.
124. <Fachinformation-MabThera-100-mg500-mg-032020-1.pdf>.
125. <Fachinformation-RoActemra-Fertigspritze-042020-1.pdf>.
126. <ORENCIA-Injloesung-Fertigpen.pdf>.
127. Targowski, S.P., *Separation of mononuclear leukocytes and polymorphonuclear leukocytes from equine blood*. *Can J Comp Med*, 1976. **40**(3): p. 285-90.
128. Lin, Z., et al., *In vivo antigen-driven plasmablast enrichment in combination with antigen-specific cell sorting to facilitate the isolation of rare monoclonal antibodies from human B cells*. *Nat Protoc*, 2014. **9**(7): p. 1563-77.
129. Strober, W., *Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability*. *Curr Protoc Immunol*, 2015. **111**: p. A3 B 1-3.
130. <https://www.britannica.com/technology/cryopreservation>. 2018; Available from: <https://www.britannica.com/technology/cryopreservation>.
131. Fry, L.J., et al., *Assessing the toxic effects of DMSO on cord blood to determine exposure time limits and the optimum concentration for cryopreservation*. *Vox Sang*, 2015. **109**(2): p. 181-90.
132. Miltenyi, S., et al., *High gradient magnetic cell separation with MACS*. *Cytometry*, 1990. **11**(2): p. 231-8.  
Figure 2 reprinted in Abbildung 4 with permission from John Wiley and Sons.
133. Puck, T.T. and P.I. Marcus, *A Rapid Method for Viable Cell Titration and Clone Production with Hela Cells in Tissue Culture: The Use of X-Irradiated Cells to Supply Conditioning Factors*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1955. **41**(7): p. 432-7.
134. Roy, A., et al., *Increased efficiency of gamma-irradiated versus mitomycin C-treated feeder cells for the expansion of normal human cells in long-term cultures*. *J Hematother Stem Cell Res*, 2001. **10**(6): p. 873-80.

135. Fulcher, D. and S. Wong, *Carboxyfluorescein succinimidyl ester-based proliferative assays for assessment of T cell function in the diagnostic laboratory*. Immunol Cell Biol, 1999. **77**(6): p. 559-64.
136. Quah, B.J.C., H.S. Warren, and C.R. Parish, *Monitoring lymphocyte proliferation in vitro and in vivo with the intracellular fluorescent dye carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester*. Nature Protocols, 2007. **2**(9): p. 2049-2056.
137. Horan, P.K. and L.L. Wheelless, Jr., *Quantitative single cell analysis and sorting*. Science, 1977. **198**(4313): p. 149-57.
138. Peters, J.M. and M.Q. Ansari, *Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia*. Arch Pathol Lab Med, 2011. **135**(1): p. 44-54.
139. Fulwyler, M.J., *Electronic separation of biological cells by volume*. Science, 1965. **150**(3698): p. 910-1.
140. <https://www.antikoerper-online.de/resources/17/1247/durchflusszytometrie-facsmessprinzip-aufbau/>. 2013; Available from: <https://www.antikoerper-online.de/resources/17/1247/durchflusszytometrie-facsmessprinzip-aufbau/>.
141. <http://www.bdbiosciences.com/us/instruments/research/cell-sorters/bd-facsaria-iii/m/744763/features/fluidics>. 2018.
142. <http://www.bdbiosciences.com/us/instruments/research/cell-sorters/bd-facsaria-iii/m/744763/features/sorting>. 2018.
143. Trickett, A. and Y.L. Kwan, *T cell stimulation and expansion using anti-CD3/CD28 beads*. J Immunol Methods, 2003. **275**(1-2): p. 251-5.
144. de la Rosa, M., et al., *Interleukin-2 is essential for CD4+CD25+ regulatory T cell function*. Eur J Immunol, 2004. **34**(9): p. 2480-8.
145. Gasteiger, G. and W. Kastentmuller, *Foxp3+ Regulatory T-cells and IL-2: The Moirai of T-cell Fates?* Front Immunol, 2012. **3**: p. 179.
146. Fu, S., et al., *TGF-beta induces Foxp3 + T-regulatory cells from CD4 + CD25 - precursors*. Am J Transplant, 2004. **4**(10): p. 1614-27.
147. Chen, W. and J.E. Konkel, *TGF-beta and 'adaptive' Foxp3(+) regulatory T cells*. J Mol Cell Biol, 2010. **2**(1): p. 30-6.
148. Collison, L.W. and D.A. Vignali, *In vitro Treg suppression assays*. Methods Mol Biol, 2011. **707**: p. 21-37.
149. Earle, K.E., et al., *In vitro expanded human CD4+CD25+ regulatory T cells suppress effector T cell proliferation*. Clinical Immunology, 2005. **115**(1): p. 3-9.
150. Hashimoto, S., et al., *Mechanism of calcium ionophore and phorbol ester-induced T-cell activation. Accessory cell requirement for T-cell activation*. Scand J Immunol, 1991. **33**(4): p. 393-403.
151. Chatila, T., et al., *Mechanisms of T cell activation by the calcium ionophore ionomycin*. J Immunol, 1989. **143**(4): p. 1283-9.
152. Fujiwara, T., et al., *Brefeldin-a Causes Disassembly of the Golgi-Complex and Accumulation of Secretory Proteins in the Endoplasmic-Reticulum*. Journal of Biological Chemistry, 1988. **263**(34): p. 18545-18552.
153. <https://www.biolegend.com/en-us/global-elements/pdf-popup/zombie-green-fixable-viability-kit-9340?filename=Zombie%20Green%20Fixable%20Viability%20Kit.pdf&pdfgen=true>. 2016; Available from: <https://www.biolegend.com/en-us/global->

- elements/pdf-popup/zombie-green-fixable-viability-kit-9340?filename=Zombie%20Green%20Fixable%20Viability%20Kit.pdf&pdfgen=true.
154. <https://www.biolegend.com/en-us/global-elements/pdf-popup/fixation-buffer-1496?filename=Fixation%20Buffer.pdf&pdfgen=true>. 2015; Available from: <https://www.biolegend.com/en-us/global-elements/pdf-popup/fixation-buffer-1496?filename=Fixation%20Buffer.pdf&pdfgen=true>.
  155. <https://www.biolegend.com/en-ie/global-elements/pdf-popup/intracellular-staining-permeabilization-wash-buffer-10x-1497?filename=Intracellular%20Staining%20Permeabilization%20Wash%20Buffer%2010X.pdf&pdfgen=true>. 2015; Available from: <https://www.biolegend.com/en-ie/global-elements/pdf-popup/intracellular-staining-permeabilization-wash-buffer-10x-1497?filename=Intracellular%20Staining%20Permeabilization%20Wash%20Buffer%2010X.pdf&pdfgen=true>.
  156. <https://www.biolegend.com/en-gb/global-elements/pdf-popup/fitc-annexin-v-apoptosis-detection-kit-with-7-aad-8264?filename=FITC%20Annexin%20V%20Apoptosis%20Detection%20Kit%20with%207-AAD.pdf&pdfgen=true>. 2012; Available from: <https://www.biolegend.com/en-gb/global-elements/pdf-popup/fitc-annexin-v-apoptosis-detection-kit-with-7-aad-8264?filename=FITC%20Annexin%20V%20Apoptosis%20Detection%20Kit%20with%207-AAD.pdf&pdfgen=true>.
  157. Leng, S.X., et al., *ELISA and multiplex technologies for cytokine measurement in inflammation and aging research*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2008. **63**(8): p. 879-84.
  158. Cox, K.L., et al., *Immunoassay Methods*, in *Assay Guidance Manual*, G.S. Sittampalam, et al., Editors. 2004: Bethesda (MD).
  159. Prelog, M., *Aging of the immune system: a risk factor for autoimmunity?* Autoimmun Rev, 2006. **5**(2): p. 136-9.
  160. Hintzen, R.Q., et al., *Regulation of CD27 expression on subsets of mature T-lymphocytes*. J Immunol, 1993. **151**(5): p. 2426-35.
  161. Noack, M. and P. Miossec, *Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases*. Autoimmunity Reviews, 2014. **13**(6): p. 668-677.
  162. Mottonen, M., et al., *CD4+ CD25+ T cells with the phenotypic and functional characteristics of regulatory T cells are enriched in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis*. Clin Exp Immunol, 2005. **140**(2): p. 360-7.
  163. Wang, W., et al., *The Th17/Treg imbalance and cytokine environment in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis*. Rheumatol Int, 2012. **32**(4): p. 887-93.
  164. Hengel, R.L., et al., *Cutting edge: L-selectin (CD62L) expression distinguishes small resting memory CD4+ T cells that preferentially respond to recall antigen*. J Immunol, 2003. **170**(1): p. 28-32.
  165. Waters, W.R., et al., *Expression of L-Selectin (CD62L), CD44, and CD25 on activated bovine T cells*. Infect Immun, 2003. **71**(1): p. 317-26.
  166. Koetz, K., et al., *T cell homeostasis in patients with rheumatoid arthritis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(16): p. 9203-8.

167. Li, N., et al., *The abnormal expression of CCR4 and CCR6 on Tregs in rheumatoid arthritis*. Int J Clin Exp Med, 2015. **8**(9): p. 15043-53.
168. Gerdes, J., et al., *Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67*. J Immunol, 1984. **133**(4): p. 1710-5.
169. Almanzar, G., et al., *Increased replication of CD4+ naive T cells and changes in T cell homeostasis in a case of acute exacerbation of juvenile idiopathic arthritis: a case comparison study*. J Med Case Rep, 2013. **7**: p. 135.
170. Yamazaki, T., et al., *CCR6 regulates the migration of inflammatory and regulatory T cells*. J Immunol, 2008. **181**(12): p. 8391-401.
171. Xu, L.Y., et al., *Potential Effects of Interleukins on the Pathogenesis of Systemic Onset Juvenile Idiopathic Arthritis*. Pediatr Neonatol, 2015.
172. Walker, M.R., et al., *Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+CD25- T cells*. J Clin Invest, 2003. **112**(9): p. 1437-43.
173. Workman, C.J., et al., *The development and function of regulatory T cells*. Cell Mol Life Sci, 2009. **66**(16): p. 2603-22.
174. Wang, Y., et al., *Stress-activated Dendritic Cells (DC) Induce Dual Interleukin (IL)-15- and IL1beta-mediated Pathways, Which May Elicit CD4+ Memory T Cells and Interferon (IFN)-stimulated Genes*. J Biol Chem, 2015. **290**(25): p. 15595-609.
175. Dai, X., et al., *Paeoniflorin regulates the function of human peripheral blood mononuclear cells stimulated by rhIL-1beta by up-regulating Treg expression*. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2015. **37**(3): p. 252-7.
176. Ganesh, B.B., et al., *IL-1beta promotes TGF-beta1 and IL-2 dependent Foxp3 expression in regulatory T cells*. PLoS One, 2011. **6**(7): p. e21949.
177. Valmori, D., et al., *Human RORgammat+ TH17 cells preferentially differentiate from naive FOXP3+Treg in the presence of lineage-specific polarizing factors*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(45): p. 19402-7.
178. Raffin, C., et al., *Human memory Helios- FOXP3+ regulatory T cells (Tregs) encompass induced Tregs that express Aiolos and respond to IL-1beta by downregulating their suppressor functions*. J Immunol, 2013. **191**(9): p. 4619-27.
179. Docagne, F., et al., *Differential regulation of type I and type II interleukin-1 receptors in focal brain inflammation*. Eur J Neurosci, 2005. **21**(5): p. 1205-14.
180. Mercer, F., L. Kozhaya, and D. Unutmaz, *Expression and function of TNF and IL-1 receptors on human regulatory T cells*. PLoS One, 2010. **5**(1): p. e8639.
181. Lu, L., et al., *Characterization of protective human CD4CD25 FOXP3 regulatory T cells generated with IL-2, TGF-beta and retinoic acid*. PLoS One, 2010. **5**(12): p. e15150.
182. Zielinski, C.E., et al., *Pathogen-induced human TH17 cells produce IFN-gamma or IL-10 and are regulated by IL-1beta*. Nature, 2012. **484**(7395): p. 514-8.
183. Bjarnadottir, U., et al., *The suppressive function of human CD8(+) iTregs is inhibited by IL-1beta and TNFalpha*. Scand J Immunol, 2014. **80**(5): p. 313-22.
184. Miyara, M., et al., *Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor*. Immunity, 2009. **30**(6): p. 899-911.

185. Almeida, A.R., et al., *Homeostasis of peripheral CD4+ T cells: IL-2R alpha and IL-2 shape a population of regulatory cells that controls CD4+ T cell numbers.* J Immunol, 2002. **169**(9): p. 4850-60.
186. Horwitz, D.A., S.G. Zheng, and J.D. Gray, *The role of the combination of IL-2 and TGF-beta or IL-10 in the generation and function of CD4+ CD25+ and CD8+ regulatory T cell subsets.* J Leukoc Biol, 2003. **74**(4): p. 471-8.
187. Wang, C., et al., *The roles of CCR6 in migration of Th17 cells and regulation of effector T-cell balance in the gut.* Mucosal Immunol, 2009. **2**(2): p. 173-83.
188. Szurek, E., et al., *Differences in Expression Level of Helios and Neuropilin-1 Do Not Distinguish Thymus-Derived from Extrathymically-Induced CD4+Foxp3+ Regulatory T Cells.* PLoS One, 2015. **10**(10): p. e0141161.
189. Thornton, A.M., et al., *Expression of Helios, an Ikaros transcription factor family member, differentiates thymic-derived from peripherally induced Foxp3+ T regulatory cells.* J Immunol, 2010. **184**(7): p. 3433-41.
190. Lin, X., et al., *Advances in distinguishing natural from induced Foxp3(+) regulatory T cells.* Int J Clin Exp Pathol, 2013. **6**(2): p. 116-23.
191. Shevach, E.M. and A.M. Thornton, *tTregs, pTregs, and iTregs: similarities and differences.* Immunol Rev, 2014. **259**(1): p. 88-102.
192. Genestier, L., et al., *Immunosuppressive properties of methotrexate: apoptosis and clonal deletion of activated peripheral T cells.* J Clin Invest, 1998. **102**(2): p. 322-8.
193. Amsterdam, A. and R. Sasson, *The anti-inflammatory action of glucocorticoids is mediated by cell type specific regulation of apoptosis.* Mol Cell Endocrinol, 2002. **189**(1-2): p. 1-9.
194. Shen, C., et al., *Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: a comparative study with infliximab and etanercept.* Aliment Pharmacol Ther, 2005. **21**(3): p. 251-8.
195. Pope, R.M., *Apoptosis as a therapeutic tool in rheumatoid arthritis.* Nat Rev Immunol, 2002. **2**(7): p. 527-35.
196. Eggleton, P., et al., *Changes in apoptotic gene expression in lymphocytes from rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus patients compared with healthy lymphocytes.* J Clin Immunol, 2010. **30**(5): p. 649-58.
197. Yamaguchi, T., et al., *Control of immune responses by antigen-specific regulatory T cells expressing the folate receptor.* Immunity, 2007. **27**(1): p. 145-59.
198. Haufe, S., et al., *Impaired suppression of synovial fluid CD4+CD25- T cells from patients with juvenile idiopathic arthritis by CD4+CD25+ Treg cells.* Arthritis Rheum, 2011. **63**(10): p. 3153-62.
199. Ehrenstein, M.R., et al., *Compromised function of regulatory T cells in rheumatoid arthritis and reversal by anti-TNFalpha therapy.* J Exp Med, 2004. **200**(3): p. 277-85.
200. Raghavan, S., et al., *FOXP3 expression in blood, synovial fluid and synovial tissue during inflammatory arthritis and intra-articular corticosteroid treatment.* Ann Rheum Dis, 2009. **68**(12): p. 1908-15.
201. O'Sullivan, B.J., et al., *IL-1 beta breaks tolerance through expansion of CD25+ effector T cells.* J Immunol, 2006. **176**(12): p. 7278-87.

202. Mitchell, P.J., et al., *Helicobacter pylori* induces in-vivo expansion of human regulatory T cells through stimulating interleukin-1beta production by dendritic cells. Clin Exp Immunol, 2012. **170**(3): p. 300-9.
203. Collison, L.W., et al., Regulatory T cell suppression is potentiated by target T cells in a cell contact, IL-35- and IL-10-dependent manner. J Immunol, 2009. **182**(10): p. 6121-8.
204. Duhon, T. and D.J. Campbell, *IL-1beta* promotes the differentiation of polyfunctional human CCR6+CXCR3+ Th1/17 cells that are specific for pathogenic and commensal microbes. J Immunol, 2014. **193**(1): p. 120-9.
205. Dhaouadi, T., et al., *IL-17A*, *IL-17RC* polymorphisms and *IL17* plasma levels in Tunisian patients with rheumatoid arthritis. PLoS One, 2018. **13**(3): p. e0194883.
206. Agarwal, S., R. Misra, and A. Aggarwal, Interleukin 17 levels are increased in juvenile idiopathic arthritis synovial fluid and induce synovial fibroblasts to produce proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinases. J Rheumatol, 2008. **35**(3): p. 515-9.
207. Voo, K.S., et al., Identification of IL-17-producing FOXP3+ regulatory T cells in humans. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. **106**(12): p. 4793-8.
208. Deknuydt, F., et al., *IL-1beta* and *IL-2* convert human Treg into T(H)17 cells. Clin Immunol, 2009. **131**(2): p. 298-307.
209. Li, L., J. Kim, and V.A. Boussiotis, *IL-1beta*-mediated signals preferentially drive conversion of regulatory T cells but not conventional T cells into IL-17-producing cells. J Immunol, 2010. **185**(7): p. 4148-53.
210. Afzali, B., et al., *CD161* expression characterizes a subpopulation of human regulatory T cells that produces IL-17 in a STAT3-dependent manner. Eur J Immunol, 2013. **43**(8): p. 2043-54.
211. Ruprecht, C.R., et al., Coexpression of CD25 and CD27 identifies FoxP3+ regulatory T cells in inflamed synovia. J Exp Med, 2005. **201**(11): p. 1793-803.
212. Wang, J., et al., Transient expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4+ T cells. Eur J Immunol, 2007. **37**(1): p. 129-38.

## 8. Abkürzungsverzeichnis

µl	Mikroliter
7-AAD	7-Aminoactinomycin D
ACR	engl. American College of Rheumatology
Anti-CCP-Ak	Antikörper gegen das cyclische citrullinierte Peptid
APC	Allophycocyanin (Fluorochrom)
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
CCR	Chemokinrezeptor
CD	engl. cluster of differentiation
CRP	C-reaktives Protein
CXCL	Chemokinligand
CXCR	Chemokinrezeptor
CY	Cyanin (Fluorochrom)
DAS28	eng. disease activity score
DAS28-CRP	eng. disease activity score inclusive CRP
ED	Erstdiagnose
ELISA	engl. enzyme linked immunosorbent assay
EULAR	engl. European League Against Rheumatism
FACS	engl. fluorescence activated cell sorting
FCS	fetales Kälber Serum
FITC	Fluoresceinisothiocyanat (Fluorochrom)
FoxP3	engl. forkhead box protein P3
FSC	engl. forward scatter
G-CSF	engl. granulocyte-colony-stimulating factor
GM-CSF	engl. granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor
Gy	Gray
HD	engl. healthy donor
HRP	engl. horseradish peroxidase
ICAM-1	engl. intercellular adhesion molecule 1
IgG	Immunglobulin gamma
IL	Interleukin
IL-1R1	IL-1-Rezeptor-1
IL-1R2	IL-1-Rezeptor-2
IL-1RI	IL-1-Rezeptor-Inhibitor
IL-1Ra	IL-1-Rezeptor-Antagonist
ILAR	eng. International League Against Rheumatism
INF-γ	Interferon-γ
iTreg	Induzierte regulatorische T-Helfer-Zelle
JIA	Juvenile Idiopathische Arthritis
MACS	engl. magnetic activated cell sorting
MHC	engl. major histocompatibility complex
min	Minuten
ml	Milliliter
MMP	Matrixmetalloproteinase
MS	Multiple Sklerose

MTX	Methotrexat
N	engl. number = Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NFκB	engl. nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
nTreg	Natürliche T-Helfer-Zelle
p.o.	per os
PBMC	engl. peripheral blood mononuclear cell
PCR	Polymerasekettenreaktion
PE	Phycoerythrin (Fluorochrom)
PerCP	Peridinin-Chlorophyll-Protein Complex (Fluorochrom)
pg	Pikogramm
PMA	Phorbol-12-myristat-13-acetat
RA	Rheumatoide Arthritis
RF	Rheumafaktor
RORγt	engl. retinoic acid orphan receptor gamma t
rpm	engl. revolutions per minute = Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
s.c.	subkutan
SD	engl. standard deviation
SSC	engl. side scatter
STAT	engl. signal transducer and activator of transcriptions
Stim	Stimulus
T-bet	engl. T-box transcription factor
TZR	T-Zell-Rezeptor
TGF	engl. transforming growth factor
Th	T-Helferzelle
TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
Treg	regulatorische T-Helfer-Zelle
vs	versus
z.B.	zum Beispiel

## 9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 T-Helfer-Zellsubpopulationen modifiziert nach [19] .....	3
Abbildung 2 Versuchsablauf .....	30
Abbildung 3 Ficoll-Schichtung vor und nach dem Zentrifugationsschritt (modifiziert nach [128]) .....	31
Abbildung 4 Veranschaulichung des MACS Trennprinzips (modifiziert nach [132]).....	34
Abbildung 5 Schematisierte Darstellung der CD4- Zellaufteilung .....	36
Abbildung 6 Verfahrensweise einer FACS Untersuchung mit anschließender Dot-Plot Grafik (modifiziert nach [141] und [142]) .....	39
Abbildung 7 Schema der Zellaufteilung .....	40
Abbildung 8 Schematische Darstellung des Testprinzips eines Sandwich-ELISAs (eigene Abbildung angelehnt an [160]). .....	48
Abbildung 9 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD in der Poststimulation .....	72
Abbildung 10 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA-Patientinnen in der Poststimulation.....	72
Abbildung 11 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD in der Poststimulation.....	74
Abbildung 12 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD in der Poststimulation.....	75
Abbildung 13 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der RA-Patientinnen in der Poststimulation .....	75

Abbildung 14 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD in der Poststimulation .....	77
Abbildung 15 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD in der Poststimulation .....	78
Abbildung 16 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD in der Poststimulation .....	78
Abbildung 17 Proportionale Anteile verschiedener Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen in der Poststimulation.....	79
Abbildung 18 Repräsentative prozentuale FoxP3 Transkription in den CD4+CD25-CD127- Zellen eines RA-Patientinnen (Codierung 10) in Abhängigkeit von der jeweiligen Stimulierung.....	79
Abbildung 19 Repräsentative prozentuale FoxP3 Transkription in den CD4+CD25+CD127, den konvertierten CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen zweier HD (Codierung 23 und 25) in Abhängigkeit von der jeweiligen Stimulierung.....	80
Abbildung 20 Repräsentative prozentuale FoxP3 Transkription in den CD4+CD25+CD127, den konvertierten CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen einer JIA-Patientin (Codierung 4) in Abhängigkeit von der jeweiligen Stimulierung.....	81
Abbildung 21 Repräsentative prozentuale FoxP3 Transkription in den CD4+CD25+CD127, den konvertierten CD4+CD25+CD127- und den CD4+CD25-CD127- Zellen einer RA-Patientin (Codierung 12) in Abhängigkeit von der jeweiligen Stimulierung .....	82
Abbildung 22 Dargestellt wird die Proliferation der Effektorzellen in %. Signifikante p-Werte sind mit einem * markiert und stehen in Relation zur Prästimulation. Die Zahlen 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 14, 15, 16, 22, 23, 24, 25 und 26 in der Legende unter den Diagrammen beziehen sich auf die Patientencodierung und spiegeln die Ergebnisse dieser Probandin wieder. ....	108

Abbildung 23 Dargestellt wird die Proliferation der Effektorzellen in %. Signifikante p-Werte sind mit einem \* markiert und stehen in Relation zur Prästimulation. Die Zahlen 1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 14, 15, 16, 22, 23, 24, 25 und 26 in der Legende unter den Diagrammen beziehen sich auf die Patientencodierung und spiegeln die Ergebnisse dieser Probandin wieder. .... 109

Abbildung 24 IL-17 ELISA der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, JIA- und RA-Patientinnen ..... 114

Abbildung 25 IL-10 ELISA der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, JIA- und RA-Patientinnen ..... 117

Abbildung 26 IFN- $\gamma$  ELISA der CD4+CD25+CD127- und der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, JIA- und RA-Patientinnen..... 120

## 10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 ACR/EULAR Klassifikationskriterien zur Diagnosestellung einer RA (modifiziert nach [93]) .....	11
Tabelle 2 ILAR Klassifikation der JIA-Subtypen: Second Revision, Edmonton 2011 (modifiziert nach[96]) .....	13
Tabelle 3 Geräte.....	18
Tabelle 4 Verbrauchsmaterialien .....	19
Tabelle 5 Puffer und Medien .....	20
Tabelle 6 Stimuli, Antikörper, Proliferationsmarker und Zellfärbemittel .....	21
Tabelle 7 Gebrauchsfertige Kits .....	22
Tabelle 8 Antikörper zur Zellfärbung .....	23
Tabelle 9 JIA-Patientenkollektiv .....	24
Tabelle 10 RA-Patientenkollektiv .....	27
Tabelle 11 Gesunde Kontrollprobandinnen .....	29
Tabelle 12 Darstellung der Inhalte der einzelnen Vertiefungen der Mikrotiterplatte....	41
Tabelle 13 Übersichtsdarstellung des Prästimulations-Suppression Assay. ....	42
Tabelle 14 Schema der Zellaufteilung für die PBMC-Phäotypisierung und die Prä- und Poststimulus Analyse .....	45
Tabelle 15 Schematische Darstellung des Farbpanels für die extrazelluläre Fluoreszenzfärbung pro FACS-Röhrchen.....	46
Tabelle 16 Schematische Darstellung des Farbpanels für die intrazelluläre Fluoreszenzfärbung pro FACS-Röhrchen.....	47
Tabelle 17 PBMC Phäotypisierung der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.....	55
Tabelle 18 Vorher-Nachher Vergleich der proportionalen Anteile der T-Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen (vor und nach dem IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch). ....	85
Tabelle 19 Vorher-Nachher Vergleich der proportionalen Anteile der T-Zellsubpopulationen innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen (vor und nach dem IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch). ....	88
Tabelle 20 Vergleich zwischen den proportionalen Anteilen der T-Zellsubpopulationen innerhalb der originären CD4+CD25+CD127-Zellen und den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.....	93

Tabelle 21 Apoptosedetektion und deskriptive Statistik der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. Es werden die prozentualen Anteile innerhalb der CD4+CD25+CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen angegeben. ....	97
Tabelle 22 Apoptosedetektion und deskriptive Statistik der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. Es werden die prozentualen Anteile innerhalb der CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen angegeben. ....	98
Tabelle 23 Vorher-Nachher Vergleich des Apoptoseverhaltens der CD4+CD25+CD127- beziehungsweise CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. ....	100
Tabelle 24 Vergleich der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI in der Apoptosedetektion bei den CD4+CD25+CD127- sowie den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. ....	102
Tabelle 25 Auswertung des Suppression Assays der CD4+CD25+CD127-, der CD4+CD25-CD127- Zellen und der negativen Kontrollen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. Die Zahlenwerte illustrieren die Proliferation der Effektorzellen in Prozent. ....	104
Tabelle 26 Vorher-Nachher Vergleich der Suppressionsfähigkeit der CD4+CD25+CD127-, der CD4+CD25-CD127- Zellen und der negativen Kontrollen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. ....	107
Tabelle 27 Vergleich der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und RI auf die Suppressionsfähigkeit der CD4+CD25+CD127-, der CD4+CD25-CD127- Zellen und der Negativkontrollen der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. ....	110
Tabelle 28 IL-17 ELISA Stimulus-Vergleich. ....	112
Tabelle 29 Deskriptive Statistik des IL-17 ELISAs sowie die ermittelten p-Werte der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. ....	113
Tabelle 30 IL-10 ELISA Stimulus-Vergleich. ....	115
Tabelle 31 Deskriptive Statistik des IL-10 ELISAs sowie die ermittelten p-Werte der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen. ....	116
Tabelle 32 IFN- $\gamma$ ELISA Stimulus-Vergleich. ....	118

Tabelle 33 Deskriptive Statistik des IFN- $\gamma$ ELISAs sowie die ermittelten p-Werte der HD, der JIA- und der RA-Patientinnen.....	119
Tabelle 34 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Prästimulation (vor Stimulierung mittels IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch).....	
Tabelle 35 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Prästimulation (vor Stimulierung mittels IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch).....	
Tabelle 36 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert (nach Stimulierung „Unstimuliert“ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch). ....	
Tabelle 37 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$ (nach Stimulierung „IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch).....	10
Tabelle 38 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$ (nach Stimulierung „anti-IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch). ....	13
Tabelle 39 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1RI (nach Stimulierung „RI“ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch).....	
Tabelle 40 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert (nach Stimulierung „Unstimuliert“ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch). ....	19
Tabelle 41 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$ (nach Stimulierung „IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch).....	
Tabelle 42 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$ (nach Stimulierung „anti-IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch).....	25
Tabelle 43 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1RI (nach Stimulierung „RI“ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch).....	28

Tabelle 44 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert (nach Stimulierung „Unstimuliert“ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch). .....	
Tabelle 45 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$ (nach Stimulierung „IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch). .....	
Tabelle 46 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$ (nach Stimulierung „anti-IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch). .....	
Tabelle 47 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1RI (nach Stimulierung „RI“ im IL-1 $\beta$ 3 Tage Versuch). .....	
Tabelle 48 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD. ....	
Tabelle 49 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA-Patientinnen. ....	
Tabelle 50 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen der RA-Patientinnen. ....	
Tabelle 51 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der HD. ....	
Tabelle 52 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA-Patientinnen. ....	
Tabelle 53 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen der RA-Patientinnen. ....	11

Tabelle 54 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD. ....	13
Tabelle 55 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen der JIA-Patientinnen. ....	15
Tabelle 56 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$ und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen. ....	17

## **11. Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Martina Prelog. Sie war für uns Doktoranden und Doktorandinnen wirklich außergewöhnlich engagiert, stand uns mit Rat und Tat zur Seite und hat es stets geschafft uns mit ihrer Liebe zur Wissenschaft und ihrem Forscherdrang anzustecken. Selbst in schwierigen Situationen vermochte sie es uns aufzumuntern und mit neuen Ideen und Verbesserungsvorschlägen zu unterstützen. Vielen Dank, Frau Prof. Prelog, ohne Sie hätte sich mein Weg um einiges schwieriger gestaltet. Und ein großes Dankeschön auch dafür, dass Sie immer am gleichen oder spätestens am nächsten Tag auf E-Mails geantwortet haben und sich persönliche Treffen stets zeitnah einrichten konnten!

Herzlichst bedanken möchte ich mich auch bei den weiteren wissenschaftlichen und nicht-wissenschaftlichen Mitarbeitern/-innen und den Doktoranden/-innen unserer Arbeitsgruppe. Insbesondere Herr PD Dr. rer. nat. Giovanni Almanzar stand mir mit seinem Fachwissen und seinen praktischen Erfahrungen unermüdlich zur Seite. Dank seiner vielen Ideen und Hilfestellungen konnte ich so manche widrige Situation meistern. Und mit Frau Kerstin Höfer habe ich einige Experimente zusammen durchgeführt und ohne ihre Hilfe hätte ich das Studium und die Laborarbeit nicht vereinen können. In unserer Arbeitsgruppe herrschte ein sehr kollegiales und herzliches Arbeitsklima. Vielen Dank für die schöne Zeit!

Weiter möchte ich mich bei den Teilnehmerinnen der Studie und den Mitarbeitern/-innen der Kinder-Rheumatologischen Sprechstunde der Kinderklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Würzburg und der Rheumaambulanz der Inneren Medizin II, Rheumatologie und klinische Immunologie des Universitätsklinikums Würzburg sowie den Doktoranden/-innen, die mich bei der Patientenrekrutierung und dem Probensammeln unterstützt haben, bedanken. Ohne sie und ihren Einsatz wäre meine Arbeit überhaupt nicht möglich gewesen!

Schließlich gilt mein Dank auch Constantin, meinen Eltern, meinen Großeltern, meinem besten Freund und meinem gesamten Freundeskreis. Ihr habt ein unerschöpfliches Maß an Verständnis und Optimismus aufgebracht, rege an meiner Arbeit Anteil genommen und mich in jeder Situation unterstützt. Vielen Dank für euren stetigen Zuspruch!

## 12. Lebenslauf

Aus Datenschutzgründen wurde der Lebenslauf in dieser Fassung entfernt.

### 13. Appendix

**Tabelle 34** Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Prästimulation (vor Stimulierung mittels IL-1β 3 Tage Versuch).

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean) ± Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean ± SD	Median	Min - Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	Mean ± SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25+CD127-	99,2 ± 0,4	99,2	98,8 - 99,7	99,1 ± 0,1	99,1	98,9 - 99,2	99,2 ± 0,8	99,6	97,8 - 99,7	0,841	0,548
IL-17+CCR6-	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,6	1,1 ± 1,8	0,3	0,2 - 4,4	0,1 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,2	0,421	0,421
IL-17+CCR6+	1,1 ± 0,8	0,6	0,4 - 2,2	1,8 ± 2,3	0,7	0,5 - 5,9	0,7 ± 0,5	0,6	0,2 - 1,5	0,841	0,548
IL-17-CCR6+	39,5 ± 4,0	40,5	34,4 - 44,9	32,0 ± 9,6	31,4	19,8 - 46,7	56,2 ± 11,0	56,2	39,4 - 67,5	0,151	0,056
FoxP3+CCR6-	1,6 ± 0,8	2,1	0,3 - 2,3	3,1 ± 2,8	2,0	0,7 - 7,7	1,7 ± 0,6	1,7	0,9 - 2,3	0,690	0,841
FoxP3+CCR6+	2,8 ± 2,1	2,0	0,6 - 5,0	3,9 ± 5,7	1,3	1,1 - 14,1	4,9 ± 3,8	2,5	2,4 - 10,9	0,690	0,222
FoxP3-CCR6+	38,1 ± 3,2	37,8	33,8 - 42,3	30,3 ± 10,4	29,6	19,4 - 46,6	52,5 ± 9,1	54,3	38,0 - 63,0	0,151	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3+IL-10-	3,8 ± 2,3	3,8	0,7 - 6,0	6,5 ± 7,9	2,9	2,1 - 20,6	5,9 ± 3,7	4,4	3,1 - 12,3	1,000	0,421
FoxP3+IL-10+	0,5 ± 0,5	0,2	0,0 - 1,1	0,4 ± 0,3	0,2	0,1 - 0,9	0,5 ± 0,4	0,4	0,1 - 1,1	1,000	0,690
FoxP3-IL-10+	0,8 ± 0,7	0,6	0,2 - 2,1	0,7 ± 0,6	0,5	0,2 - 1,6	1,0 ± 0,5	1,0	0,3 - 1,5	0,841	0,548
FoxP3+IL-17-	3,7 ± 2,2	3,8	0,7 - 5,8	5,9 ± 7,0	2,8	1,9 - 18,2	6,0 ± 3,8	4,3	3,1 - 12,4	1,000	0,421
FoxP3+IL-17+	0,5 ± 0,6	0,2	0,0 - 1,2	0,8 ± 1,2	0,3	0,2 - 3,0	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,4	0,548	0,690
FoxP3-IL-17+	0,8 ± 0,3	0,8	0,3 - 1,1	1,6 ± 2,2	0,7	0,4 - 5,6	0,5 ± 0,4	0,4	0,1 - 1,2	1,000	0,421
CCR6+IL-10-	39,5 ± 4,2	40,2	34,6 - 45,5	32,8 ± 9,7	32,0	20,0 - 46,8	55,5 ± 10,4	55,8	39,5 - 66,3	0,222	0,056
CCR6+IL-10+	0,8 ± 0,5	0,9	0,3 - 1,3	0,6 ± 0,4	0,6	0,2 - 1,3	1,0 ± 0,8	0,6	0,2 - 2,2	0,690	0,841
CCR6-IL-10+	0,5 ± 0,5	0,4	0,0 - 1,4	0,5 ± 0,4	0,3	0,2 - 1,2	0,5 ± 0,2	0,5	0,2 - 0,7	1,000	0,548
IL-17+IL-10-	1,1 ± 0,6	1,0	0,4 - 1,9	2,5 ± 3,8	0,8	0,7 - 9,4	0,6 ± 0,3	0,6	0,3 - 1,2	0,841	0,222
IL-17+IL-10+	0,3 ± 0,3	0,1	0,0 - 0,6	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,4	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	1,000	0,421
IL-17-IL-10+	1,1 ± 0,8	0,8	0,2 - 2,3	0,9 ± 0,7	0,5	0,4 - 2,1	1,3 ± 0,8	1,0	0,3 - 2,3	0,690	0,548

FoxP3+IL-1R-	4,2 ± 5,0	2,0	0,6 - 12,9	8,3 ± 6,0	8,1	1,4 - 17,6	7,3 ± 4,1	6,0	2,7 - 13,6	0,310	0,151
FoxP3+IL-1R+	0,3 ± 0,4	0,1	0,0 - 1,0	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,5	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,548	0,690
FoxP3-IL-1R+	0,6 ± 0,5	0,3	0,2 - 1,4	0,7 ± 0,5	0,8	0,2 - 1,3	0,6 ± 0,4	0,7	0,0 - 1,0	0,690	0,841
FoxP3+Ki67-	4,6 ± 5,4	2,2	0,6 - 14,1	8,6 ± 6,3	8,4	1,6 - 18,4	7,6 ± 4,4	6,0	2,8 - 14,4	0,310	0,151
FoxP3+Ki67+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,4	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,310	0,222
FoxP3-Ki67+	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,3	0,3 ± 0,1	0,3	0,1 - 0,5	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,3	0,222	0,841
FoxP3+CD62L-	2,32 ± 3,1	0,9	0,2 - 7,7	4,5 ± 2,7	4,5	0,5 - 7,4	4,0 ± 2,2	3,7	1,8 - 7,7	0,421	0,151
FoxP3+CD62L+	2,0 ± 2,1	1,2	0,4 - 5,7	3,8 ± 3,8	2,7	1,3 - 10,4	3,4 ± 2,0	2,8	0,9 - 6,1	0,222	0,310
FoxP3-CD62L+	42,3 ± 11,3	37,3	29,4 - 57,4	36,0 ± 12,7	35,7	23,4 - 52,5	37,3 ± 6,0	35,1	31,5 - 45,2	0,421	0,548
IL-1R+Ki67-	0,8 ± 0,9	0,4	0,2 - 2,3	1,0 ± 0,5	1,0	0,4 - 1,6	0,8 ± 0,5	1,0	0,0 - 1,3	0,421	0,690
IL-1R+Ki67+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	1,000	0,222
IL-1R-Ki67+	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,3	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,6	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,3	0,095	0,690
CD62L+IL-1R-	44,0 ± 9,9	38,9	34,3 - 57,5	39,4 ± 14,1	38,9	24,5 - 54,0	40,4 ± 6,3	37,3	34,9 - 49,4	0,690	0,548
CD62L+IL-1R+	0,3 ± 0,2	0,2	0,2 - 0,7	0,3 ± 0,2	0,2	0,2 - 0,5	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,5	0,841	0,690
CD62L-IL-1R+	0,6 ± 0,7	0,3	0,1 - 1,7	0,7 ± 0,5	0,8	0,2 - 1,4	0,6 ± 0,4	0,7	0,0 - 0,9	0,421	0,690
CD62L+Ki67-	44,1 ± 9,8	38,8	34,7 - 57,5	39,5 ± 14,1	38,8	24,5 - 54,1	40,4 ± 6,4	37,5	34,9 - 49,8	0,690	0,548
CD62L+Ki67+	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,3	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,4	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	1,000	0,151
CD62L-Ki67+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,3 ± 0,1	0,3	0,1 - 0,4	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,310
CD62L+CCR6-	25,9 ± 5,6	23,9	21,2 - 34,8	23,5 ± 8,6	22,3	13,1 - 35,2	19,2 ± 8,5	16,7	12,4 - 33,5	0,841	0,095
CD62L+CCR6+	18,4 ± 4,6	16,5	13,8 - 23,8	16,3 ± 10,0	13,5	6,1 - 32,2	21,4 ± 11,8	25,2	2,5 - 30,8	0,421	0,310
CD62L-CCR6+	23,1 ± 6,5	21,5	15,1 - 31,0	18,3 ± 9,4	16,9	11,3 - 34,3	27,7 ± 16,1	28,9	1,5 - 42,8	0,310	0,421
CCR6+Ki67-	41,1 ± 4,4	41,6	36,2 - 47,2	33,9 ± 12,0	34,8	17,4 - 47,2	48,8 ± 27,1	58,9	3,7 - 69,2	0,421	0,222
CCR6+Ki67+	0,2 ± 0,1	0,3	0,0 - 0,3	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,5	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,421	0,310
CCR6-Ki67+	0,1 ± 0,0	0,1	0,0 - 0,1	0,2 ± 0,1	0,3	0,1 - 0,4	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,095	0,421
CCR6+IL-1R-	40,0 ± 4,4	39,3	35,7 - 46,4	33,2 ± 11,8	34,1	16,7 - 46,1	47,8 ± 26,7	57,5	3,4 - 68,0	0,310	0,222
CCR6+IL-1R+	0,8 ± 0,9	0,4	0,2 - 2,3	0,7 ± 0,3	0,7	0,3 - 1,1	0,7 ± 0,5	0,9	0,0 - 1,1	0,690	0,548
CCR6-IL-1R+	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,4 ± 0,3	0,5	0,1 - 0,6	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,151	0,690
CCR6+	40,6 ± 4,7	41,4	35 - 47,1	33,7 ± 10,0	32,6	20,3 - 47,8	56,9 ± 11,2	56,9	40,0 - 69,0	0,222	0,056

IL-10+	1,3 ± 0,8	1,4	0,3 - 2,3	1,1 ± 0,8	0,7	0,4 - 2,5	1,5 ± 0,8	1,1	0,5 - 2,6	0,690	0,841
FoxP3+	4,2 ± 2,7	3,9	0,9 - 6,9	6,7 ± 8,1	3,0	2,2 - 21,2	6,2 ± 3,8	4,4	3,3 - 12,5	1,000	0,421
IL-17+	1,3 ± 0,8	0,9	0,5 - 2,3	2,5 ± 3,4	0,9	0,7 - 8,6	0,7 ± 0,5	0,6	0,2 - 1,6	0,690	0,222
CD62L+	44,3 ± 9,8	39,1	35,0 - 57,7	39,8 ± 14,3	39,2	24,7 - 54,5	40,6 ± 6,4	37,6	34,8 - 49,9	0,841	0,421
Ki67+	0,3 ± 0,1	0,3	0,1 - 0,4	0,5 ± 0,1	0,6	0,4 - 0,6	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,3	<b>0,016<sup>†</sup></b>	0,421
IL-1R+	0,9 ± 0,9	0,5	0,3 - 2,4	1,1 ± 0,5	0,9	0,4 - 1,7	0,8 ± 0,5	1,1	0,0 - 1,2	0,548	0,690
CD25-CD127-	0,8 ± 0,4	0,8	0,3 - 1,2	0,9 ± 0,1	0,9	0,8 - 1,1	0,8 ± 0,8	0,4	0,3 - 2,2	0,841	0,548

**Tabelle 35 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Prästimulation (vor Stimulierung mittels IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25-CD127-	99,2 $\pm$ 0,3	99,3	98,7 - 99,4	98,7 $\pm$ 0,9	99,2	97,4 - 99,4	99,0 $\pm$ 0,5	99,1	98,3 - 99,5	0,841	0,548
IL-17+CCR6-	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,1 - 0,5	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,4 $\pm$ 0,2	0,5	0,1 - 0,6	0,548	0,421
IL-17+CCR6+	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,690	0,690
IL-17-CCR6+	3,1 $\pm$ 0,7	3,0	2,3 - 4,3	22,8 $\pm$ 11,9	25,8	4,3 - 35,9	9,5 $\pm$ 5,6	10,0	2,7 - 17,1	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,095
FoxP3+CCR6-	1,1 $\pm$ 1,1	0,3	0,2 - 2,5	1,1 $\pm$ 1,2	0,4	0,0 - 2,8	1,5 $\pm$ 1,0	1,2	0,3 - 2,9	1,000	0,421
FoxP3+CCR6+	0,2 $\pm$ 0,1	0,1	0,1 - 0,3	1,9 $\pm$ 3,0	0,4	0,1 - 7,1	0,5 $\pm$ 0,3	0,5	0,1 - 0,8	0,151	0,151
FoxP3-CCR6+	3,0 $\pm$ 0,8	2,8	2,3 - 4,3	21,1 $\pm$ 11,1	21,9	4,2 - 34,7	9,2 $\pm$ 5,6	9,5	2,7 - 17,0	<b>0,016<sup>J</sup></b>	0,056
FoxP3+IL-10-	1,2 $\pm$ 1,1	0,5	0,3 - 2,6	2,9 $\pm$ 4,0	0,7	0,1 - 9,7	1,8 $\pm$ 1,3	1,5	0,4 - 3,6	0,841	0,548
FoxP3+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,151	0,151
FoxP3-IL-10+	0,5 $\pm$ 0,3	0,4	0,3 - 0,9	0,6 $\pm$ 0,6	0,3	0,1 - 1,4	0,7 $\pm$ 0,5	0,8	0,1 - 1,2	0,841	0,690
FoxP3+IL-17-	1,2 $\pm$ 1,1	0,5	0,3 - 2,6	2,8 $\pm$ 4,0	0,7	0,1 - 9,6	1,8 $\pm$ 1,2	1,6	0,5 - 3,5	0,690	0,310
FoxP3+IL-17+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	1,000	1,000
FoxP3-IL-17+	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,1 - 0,6	0,2 $\pm$ 0,3	0,0	0,0 - 0,5	0,4 $\pm$ 0,2	0,5	0,2 - 0,6	0,421	0,222
CCR6+IL-10-	3,1 $\pm$ 0,7	2,9	2,3 - 4,3	22,5 $\pm$ 11,8	25,6	4,2 - 35,4	9,4 $\pm$ 5,6	9,8	2,7 - 17,1	<b>0,016<sup>J</sup></b>	0,095
CCR6+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,095	0,095
CCR6-IL-10+	0,5 $\pm$ 0,3	0,4	0,3 - 0,9	0,4 $\pm$ 0,4	0,2	0,1 - 0,9	0,5 $\pm$ 0,4	0,8	0,1 - 0,9	0,421	1,000
IL-17+IL-10-	0,3 $\pm$ 0,2	0,1	0,1 - 0,6	0,2 $\pm$ 0,3	0,1	0,0 - 0,6	0,4 $\pm$ 0,2	0,4	0,2 - 0,6	0,690	0,310
IL-17+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,690	0,690
IL-17-IL-10+	0,6 $\pm$ 0,3	0,4	0,3 - 1,0	0,6 $\pm$ 0,6	0,3	0,1 - 1,4	0,6 $\pm$ 0,4	0,6	0,2 - 1,1	0,690	1,000
FoxP3+IL-1R-	1,2 $\pm$ 1,4	0,4	0,1 - 3,2	1,7 $\pm$ 1,6	1,2	0,2 - 3,5	2,3 $\pm$ 2,1	1,0	0,4 - 5,0	0,548	0,222
FoxP3+IL-1R+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	1,000	1,000

FoxP3-IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,310	0,310
FoxP3+Ki67-	1,2 ± 1,4	0,4	0,1 - 3,2	1,7 ± 1,6	1,2	0,2 - 3,5	2,3 ± 2,1	1,0	0,4 - 5,0	0,548	0,222
FoxP3+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	1,000	1,000
FoxP3-Ki67+	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,6	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,6	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,3	1,000	0,151
FoxP3+CD62L-	1,0 ± 1,2	0,3	0,0 - 2,7	1,3 ± 1,2	0,9	0,1 - 2,6	2,1 ± 2,0	0,8	0,4 - 4,8	0,841	0,222
FoxP3+CD62L+	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,4 ± 0,4	0,2	0,0 - 1,0	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,421	0,841
FoxP3-CD62L+	13,9 ± 4,9	13,7	8,2 - 21,5	20,1 ± 5,5	18,4	14,4 - 26,2	8,6 ± 3,9	8,5	3,5 - 14,1	0,056	0,151
IL-1R+Ki67-	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,310	0,310
IL-1R+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	1,000	1,000
IL-1R-Ki67+	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,6	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,6	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,3	0,841	0,222
CD62L+IL-1R-	14,5 ± 5,0	14,4	8,5 - 22,1	20,9 ± 5,9	19,3	14,8 - 27,4	9,1 ± 3,9	9,2	4,0 - 14,6	0,095	0,151
CD62L+IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,690	1,000
CD62L-IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,690	0,690
CD62L+Ki67-	14,0 ± 4,9	14,0	8,1 - 21,5	20,4 ± 5,7	18,9	14,5 - 26,6	8,7 ± 3,9	8,9	3,6 - 14,1	0,095	0,151
CD62L+Ki67+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,0	0,1	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,310	0,690
CD62L-Ki67+	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,5	0,2 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,5	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,3	0,548	0,222
CD62L+CCR6-	13,2 ± 4,5	13,1	7,7 - 20,1	13,5 ± 4,5	11,9	8,7 - 20,6	7,8 ± 3,6	7,8	3,5 - 13,3	0,841	0,151
CD62L+CCR6+	0,4 ± 0,4	0,3	0,1 - 1,0	6,4 ± 4,9	5,6	0,7 - 14,2	0,6 ± 0,6	0,5	0,0 - 1,6	<b>0,016<sup>J</sup></b>	0,548
CD62L-CCR6+	2,4 ± 0,5	2,4	1,8 - 3,1	18,1 ± 9,6	20,4	3,6 - 26,5	6,4 ± 6,0	3,6	1,5 - 16,3	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,222
CCR6+Ki67-	2,8 ± 0,7	2,6	2,0 - 3,9	24,4 ± 12,9	31,7	4,2 - 34,3	7,0 ± 6,5	4,1	1,5 - 17,6	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,222
CCR6+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,310	1,000
CCR6-Ki67+	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,6	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,6	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,3	0,548	0,222
CCR6+IL-1R-	2,8 ± 0,8	2,5	2,0 - 4,0	24,3 ± 12,8	31,6	4,2 - 34,1	6,9 ± 6,6	4,0	1,3 - 17,7	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,222
CCR6-IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	1,000	0,690
CCR6+IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,151	0,690
CCR6+	3,2 ± 0,7	3,0	2,4 - 4,3	22,9 ± 12,0	25,8	4,3 - 36,1	9,5 ± 5,7	10,1	2,7 - 17,2	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,095
IL-10+	0,5 ± 0,3	0,4	0,3 - 0,9	0,7 ± 0,6	0,3	0,2 - 1,5	0,7 ± 0,4	0,9	0,2 - 1,2	0,841	0,421
FoxP3+	1,2 ± 1,1	0,5	0,3 - 2,6	2,8 ± 4,0	0,7	0,1 - 9,7	1,8 ± 1,2	1,6	0,5 - 3,5	0,841	0,421

IL-17+	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,6	0,2 ± 0,3	0,0	0,0 - 0,6	0,4 ± 0,2	0,5	0,2 - 0,6	0,421	0,310
CD62L+	13,6 ± 4,9	13,6	7,8 - 21,1	19,9 ± 5,6	18,3	14,3 - 26,1	8,4 ± 3,8	8,5	3,5 - 13,8	0,056	0,151
Ki67+	0,4 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,7	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,6	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,4	0,841	0,310
IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,151	0,310
CD25+CD127-	0,4 ± 0,4	0,1	0,0 - 0,9	0,7 ± 0,9	0,2	0,1 - 2,2	0,5 ± 0,3	0,5	0,2 - 0,8	0,421	0,421

**Tabelle 36 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert (nach Stimulierung „Unstimuliert“ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25+CD127-	66,2 $\pm$ 9,1	65,8	55,4 - 78,9	71,1 $\pm$ 13,5	74,2	47,7 - 81,8	74,5 $\pm$ 9,1	73,0	63,0 - 87,7	0,421	0,222
IL-17+CCR6-	0,7 $\pm$ 0,6	0,5	0,2 - 1,6	7,8 $\pm$ 9,8	1,3	0,1 - 18,6	1,5 $\pm$ 1,4	0,7	0,5 - 3,9	0,421	0,310
IL-17+CCR6+	0,9 $\pm$ 0,7	0,7	0,0 - 1,7	9,2 $\pm$ 11,3	1,2	0,7 - 22,6	3,2 $\pm$ 2,6	2,8	0,8 - 7,5	0,222	0,056
IL-17-CCR6+	27,9 $\pm$ 7,9	30,7	14,2 - 33,2	22,5 $\pm$ 4,4	22,5	15,5 - 26,8	45,8 $\pm$ 9,7	42,6	34,7 - 60,6	0,151	<b>0,008<sup>R</sup></b>
FoxP3+CCR6-	39,5 $\pm$ 6,4	42,3	32,1 - 45,3	22,1 $\pm$ 14,8	18,8	2,5 - 42,0	21,0 $\pm$ 8,3	21,5	11,3 - 31,4	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CCR6+	15,5 $\pm$ 5,8	17,1	6,5 - 21,7	17,5 $\pm$ 14,8	12,9	3,6 - 39,5	20,7 $\pm$ 8,2	20,4	10,0 - 28,8	0,841	0,421
FoxP3-CCR6+	13,2 $\pm$ 3,4	14,9	7,7 - 15,9	14,0 $\pm$ 6,9	13,9	5,3 - 23,8	28,0 $\pm$ 7,3	31,4	19,3 - 34,4	1,000	<b>0,008<sup>R</sup></b>
FoxP3+IL-10-	54,6 $\pm$ 8,1	50,9	46,5 - 65,0	39,5 $\pm$ 27,5	42,4	6,3 - 80,5	41,3 $\pm$ 13,4	42,5	20,9 - 58,6	0,151	0,056
FoxP3+IL-10+	0,6 $\pm$ 0,6	0,2	0,1 - 1,2	0,4 $\pm$ 0,5	0,1	0,0 - 1,2	0,7 $\pm$ 0,7	0,6	0,0 - 1,8	0,421	1,000
FoxP3-IL-10+	0,2 $\pm$ 0,1	0,3	0,1 - 0,3	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,7 $\pm$ 0,8	0,4	0,0 - 1,7	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,548
FoxP3+IL-17-	53,9 $\pm$ 7,7	50,2	46,0 - 63,9	25,3 $\pm$ 16,4	23,7	6,1 - 42,0	39,0 $\pm$ 11,2	41,3	20,9 - 51,6	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,056
FoxP3+IL-17+	1,2 $\pm$ 1,0	0,8	0,2 - 2,3	14,5 $\pm$ 18,8	1,5	0,2 - 39,7	3,0 $\pm$ 3,4	2,2	0,6 - 8,8	0,421	0,548
FoxP3-IL-17+	0,3 $\pm$ 0,3	0,4	0,0 - 0,7	2,6 $\pm$ 3,9	1,1	0,4 - 9,5	1,7 $\pm$ 0,8	1,6	0,7 - 2,8	0,056	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CCR6+IL-10-	28,1 $\pm$ 8,0	31,1	14,2 - 33,6	31,1 $\pm$ 8,4	27,3	22,7 - 43,6	47,8 $\pm$ 10,5	48,0	34,8 - 63,1	1,000	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CCR6+IL-10+	0,3 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 1,0	0,2 $\pm$ 0,3	0,1	0,0 - 0,8	0,7 $\pm$ 0,7	1,0	0,0 - 1,4	0,690	0,310
CCR6-IL-10+	0,6 $\pm$ 0,3	0,5	0,2 - 1,1	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,8 $\pm$ 0,6	0,9	0,0 - 1,4	0,056	0,690
IL-17+IL-10-	1,5 $\pm$ 1,1	1,0	0,2 - 2,8	16,7 $\pm$ 20,7	2,5	0,7 - 40,1	4,5 $\pm$ 3,8	3,5	1,2 - 10,9	0,421	0,095
IL-17+IL-10+	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,3 $\pm$ 0,4	0,1	0,0 - 1,0	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	0,421	0,841
IL-17-IL-10+	0,8 $\pm$ 0,6	0,5	0,2 - 1,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,1 - 0,2	1,4 $\pm$ 1,1	1,8	0,0 - 2,4	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,548
FoxP3+IL-1R-	42,6 $\pm$ 12,9	47,8	19,6 - 50,3	34,6 $\pm$ 21,5	45,1	3,8 - 55,7	27,2 $\pm$ 16,2	20,6	9,5 - 50,6	0,421	0,310
FoxP3+IL-1R+	11,9 $\pm$ 8,2	8,6	5,1 - 23,9	6,2 $\pm$ 4,8	4,8	0,1 - 12,1	12,4 $\pm$ 8,7	7,2	6,4 - 26,8	0,222	0,841

FoxP3-IL-1R+	6,3 ± 6,1	3,3	3,1 - 17,1	1,7 ± 0,6	1,8	0,9 - 2,4	13,3 ± 10,0	11,1	2,2 - 23,8	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,310
FoxP3+Ki67-	52,2 ± 8,3	52,0	40,4 - 63,8	39,1 ± 23,4	45,5	3,9 - 66,7	37,2 ± 12,7	39,1	22,3 - 54,2	0,310	0,151
FoxP3+Ki67+	2,4 ± 2,1	1,3	0,4 - 5,8	1,7 ± 1,9	1,1	0,0 - 4,4	2,4 ± 2,7	1,3	0,4 - 6,9	0,421	0,841
FoxP3-Ki67+	0,5 ± 0,5	0,3	0,0 - 1,1	0,3 ± 0,2	0,3	0,0 - 0,5	0,8 ± 0,8	0,3	0,2 - 2,2	0,690	0,690
FoxP3+CD62L-	50,0 ± 7,3	49,8	39,5 - 57,1	23,2 ± 17,3	32,2	3,7 - 38,9	33,2 ± 12,6	34,6	19,9 - 50,9	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,056
FoxP3+CD62L+	4,4 ± 2,0	3,9	2,2 - 6,9	17,4 ± 13,4	13,8	0,2 - 35,1	6,1 ± 2,9	4,9	3,7 - 11,1	0,151	0,548
FoxP3-CD62L+	3,2 ± 1,2	3,4	1,3 - 4,5	10,2 ± 8,4	6,3	4,8 - 25,0	8,5 ± 5,0	8,9	2,6 - 14,7	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,095
IL-1R+Ki67-	16,8 ± 13,7	8,9	7,2 - 39,0	6,8 ± 5,0	5,2	1,0 - 12,2	24,0 ± 16,5	17,8	7,3 - 46,1	0,222	0,548
IL-1R+Ki67+	1,2 ± 1,0	0,8	0,2 - 2,5	0,8 ± 0,7	1,2	0,0 - 1,5	1,5 ± 1,5	1,3	0,3 - 4,1	0,548	1,000
IL-1R-Ki67+	1,6 ± 1,7	0,7	0,2 - 4,2	1,2 ± 1,6	0,0	0,0 - 3,5	1,7 ± 2,1	0,4	0,2 - 5,1	0,310	0,690
CD62L+IL-1R-	4,7 ± 2,0	5,3	2,4 - 6,9	21,6 ± 12,9	20,1	4,8 - 39,1	8,0 ± 2,2	7,1	6,2 - 11,6	0,056	<b>0,032<sup>R</sup></b>
CD62L+IL-1R+	2,5 ± 1,8	2,0	0,9 - 5,0	5,3 ± 5,5	2,3	0,0 - 11,3	6,2 ± 4,5	4,5	1,8 - 12,1	0,690	0,222
CD62L-IL-1R+	15,5 ± 12,3	10,4	6,4 - 35,9	2,4 ± 1,5	2,6	0,8 - 4,2	19,5 ± 13,3	13,8	6,7 - 38,2	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,690
CD62L+Ki67-	6,9 ± 2,4	7,3	3,3 - 9,4	25,5 ± 17,7	20,5	4,7 - 49,2	13,0 ± 4,5	15,5	7,1 - 16,9	0,095	0,095
CD62L+Ki67+	0,1 ± 0,1	0,2	0 - 0,2	0,8 ± 0,7	1,2	0,0 - 1,4	0,6 ± 0,9	0,3	0,0 - 2,3	0,421	0,421
CD62L-Ki67+	2,7 ± 2,6	1,4	0,3 - 6,5	1,2 ± 1,5	0,3	0,0 - 3,4	2,5 ± 2,7	1,3	0,6 - 6,9	0,222	1,000
CD62L+CCR6-	5,1 ± 1,2	5,1	3,3 - 6,5	19,9 ± 11,0	19,3	4,4 - 33,9	8,3 ± 4,9	7,0	4,2 - 16,5	0,095	0,222
CD62L+CCR6+	3,2 ± 1,8	4,1	0,6 - 4,8	8,8 ± 8,0	4,5	0,9 - 18,1	7,1 ± 5,3	6,2	0,7 - 12,5	0,421	0,310
CD62L-CCR6+	22,8 ± 7,9	24,9	9,7 - 29,8	13,0 ± 7,1	12,1	6,0 - 24,1	29,1 ± 16,5	39,0	1,8 - 39,8	0,095	0,310
CCR6+Ki67-	24,9 ± 9,2	29,1	9,6 - 32,2	20,8 ± 4,3	23,2	14,7 - 24,8	34,6 ± 20,1	45,1	2,2 - 50,3	0,421	0,421
CCR6+Ki67+	0,6 ± 0,3	0,6	0,2 - 1,0	0,5 ± 0,5	0,5	0,0 - 1,0	1,1 ± 1,5	0,6	0,0 - 3,8	0,690	1,000
CCR6-Ki67+	2,3 ± 2,6	0,9	0,3 - 6,3	1,5 ± 1,7	1,1	0,0 - 3,8	2,0 ± 2,2	0,6	0,4 - 5,5	0,690	1,000
CCR6+IL-1R-	15,8 ± 7,7	17,6	5,7 - 26,4	17,3 ± 4,1	15,5	13,4 - 23,9	19,4 ± 12,7	22,5	1,1 - 35,9	0,841	0,690
CCR6+IL-1R+	9,7 ± 6,2	6,9	4,4 - 19,7	4,0 ± 2,9	3,4	1,0 - 8,2	16,3 ± 15,3	9,4	1,1 - 36,3	0,095	0,690
CCR6-IL-1R+	8,5 ± 8,0	7,4	1,6 - 21,4	3,8 ± 2,7	3,2	0,0 - 6,8	9,3 ± 6,5	9,3	2,3 - 17,2	0,421	0,841
CCR6+	28,8 ± 8,4	32,1	14,2 - 34,4	31,7 ± 8,9	27,5	22,9 - 45,1	49,0 ± 10,3	49,9	35,5 - 63,4	1,000	<b>0,008<sup>R</sup></b>
IL-10+	0,8 ± 0,6	0,5	0,2 - 1,5	0,4 ± 0,5	0,2	0,1 - 1,2	1,4 ± 1,2	2,2	0,0 - 2,3	0,222	0,548
FoxP3+	55,1 ± 8,7	51,0	46,6 - 66,2	39,8 ± 27,9	42,7	6,3 - 81,7	42,0 ± 13,8	42,6	21,5 - 60,4	0,151	0,056

IL-17+	1,6 ± 1,2	1,1	0,2 - 3,0	17,1 ± 21,2	2,6	0,8 - 41,3	4,7 ± 4,1	3,5	1,3 - 11,6	0,421	0,095
CD62L+	8,3 ± 2,9	9,0	3,9 - 11,3	28,7 ± 18,6	23,8	5,3 - 52,0	15,4 ± 5,4	17,2	9,1 - 21,0	0,095	0,056
Ki67+	2,9 ± 2,6	1,5	0,5 - 6,8	2,0 ± 2,1	1,6	0,0 - 4,8	3,1 ± 3,7	1,6	0,6 - 9,3	0,690	1,000
IL-1R+	18,2 ± 13,9	11,8	8,2 - 41,1	7,9 ± 5,4	6,6	1,0 - 14,2	25,7 ± 17,9	18,3	8,5 - 50,5	0,222	0,421
CD25-CD127-	33,3 ± 9,0	33,5	20,8 - 44,1	28,6 ± 13,5	25,6	18,1 - 52,1	24,8 ± 9,3	26,5	11,4 - 36,6	0,421	0,222

**Tabelle 37 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$  (nach Stimulierung „IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25+CD127-	66,6 $\pm$ 8,6	69,3	55,9 - 76,6	74,6 $\pm$ 8,4	79,4	62,8 - 82,0	73,8 $\pm$ 9,0	73,4	59,9 - 82,0	0,222	0,151
IL-17+CCR6-	0,5 $\pm$ 0,4	0,3	0,3 - 1,2	7,3 $\pm$ 9,2	1,5	0,0 - 18,2	1,1 $\pm$ 1,4	0,4	0,0 - 3,5	0,421	0,841
IL-17+CCR6+	0,7 $\pm$ 0,4	0,6	0,2 - 1,1	7,6 $\pm$ 9,7	1,1	0,2 - 20,7	2,8 $\pm$ 3,1	1,1	0,6 - 7,7	0,310	0,151
IL-17-CCR6+	28,3 $\pm$ 9,0	29,9	13,8 - 38,5	22,6 $\pm$ 6,2	22,4	14,1 - 31,5	47,0 $\pm$ 12,8	46,3	32,8 - 66,9	0,421	<b>0,016<sup>R</sup></b>
FoxP3+CCR6-	27,2 $\pm$ 6,0	25,9	20,5 - 33,7	20,5 $\pm$ 12,5	16,3	5,3 - 36,9	17,9 $\pm$ 8,9	14,4	8,2 - 29,2	0,421	0,151
FoxP3+CCR6+	10,9 $\pm$ 4,2	10,4	5,5 - 17,2	15,3 $\pm$ 13,7	11,4	3,7 - 37,7	17,0 $\pm$ 8,1	13,5	7,4 - 26,5	0,841	0,222
FoxP3-CCR6+	17,8 $\pm$ 5,4	20,2	8,4 - 22,0	14,8 $\pm$ 8,2	11,8	6,1 - 27,7	32,7 $\pm$ 12,1	33,8	20,0 - 45,8	0,421	0,095
FoxP3+IL-10-	38,0 $\pm$ 5,3	38,7	30,7 - 44,9	36,0 $\pm$ 24,7	33,1	9,1 - 74,6	34,6 $\pm$ 14,5	36,9	15,3 - 54,5	0,690	0,690
FoxP3+IL-10+	0,3 $\pm$ 0,3	0,2	0,1 - 0,7	0,2 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,4 $\pm$ 0,5	0,3	0,0 - 1,2	0,421	0,841
FoxP3-IL-10+	0,2 $\pm$ 0,2	0,2	0,0 - 0,6	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,6 $\pm$ 0,6	0,4	0,0 - 1,5	0,095	0,310
FoxP3+IL-17-	37,6 $\pm$ 5,1	38,4	30,4 - 44,2	23,9 $\pm$ 15,4	20,6	9,0 - 40,3	32,9 $\pm$ 12,7	36,9	14,2 - 47,7	0,421	0,548
FoxP3+IL-17+	0,7 $\pm$ 0,4	0,6	0,3 - 1,2	12,2 $\pm$ 16,2	1,4	0,1 - 35,2	2,1 $\pm$ 3,3	0,5	0,0 - 8,0	0,222	0,841
FoxP3-IL-17+	0,4 $\pm$ 0,4	0,2	0,2 - 1,0	2,8 $\pm$ 4,3	1,2	0,1 - 10,4	1,9 $\pm$ 1,6	1,1	0,5 - 3,8	0,421	0,056
CCR6+IL-10-	28,4 $\pm$ 9,2	30,0	13,8 - 38,9	29,7 $\pm$ 8,6	29,0	22,1 - 43,3	49,1 $\pm$ 12,5	46,5	33,0 - 67,5	1,000	<b>0,016<sup>R</sup></b>
CCR6+IL-10+	0,2 $\pm$ 0,2	0,2	0,0 - 0,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,5 $\pm$ 0,5	0,6	0,0 - 1,1	0,548	0,421
CCR6-IL-10+	0,3 $\pm$ 0,3	0,3	0,1 - 0,8	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,5 $\pm$ 0,4	0,4	0,0 - 1,0	0,151	0,690
IL-17+IL-10-	1,1 $\pm$ 0,7	0,8	0,5 - 2,1	14,8 $\pm$ 18,5	2,6	0,2 - 36,8	3,8 $\pm$ 4,3	1,5	0,6 - 10,8	0,310	0,222
IL-17+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,3	0,310	0,310
IL-17-IL-10+	0,6 $\pm$ 0,5	0,3	0,2 - 1,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,9 $\pm$ 0,8	1,0	0,0 - 1,8	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,690
FoxP3+IL-1R-	41,2 $\pm$ 13,0	44,5	23,5 - 56,4	26,9 $\pm$ 18,9	18,8	6,8 - 55,9	21,8 $\pm$ 11,1	16,1	14,6 - 41,0	0,222	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
FoxP3+IL-1R+	9,6 $\pm$ 5,8	8,0	4,3 - 19,5	5,3 $\pm$ 4,2	4,0	0,6 - 10,3	9,8 $\pm$ 7,2	5,2	3,8 - 18,1	0,421	0,690

FoxP3-IL-1R+	5,5 ± 5,1	3,1	2,3 - 14,4	2,1 ± 1,1	2,2	0,8 - 3,7	14,3 ± 7,7	12,9	3,0 - 22,0	0,151	0,151
FoxP3+Ki67-	49,1 ± 8,6	47,9	41,2 - 61,9	31,5 ± 22,1	27,7	7,2 - 66,0	30,6 ± 9,3	31,4	19,6 - 44,7	0,151	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
FoxP3+Ki67+	1,7 ± 1,3	1,8	0,2 - 3,5	0,8 ± 0,9	0,2	0,1 - 2,1	1,0 ± 0,9	0,9	0,0 - 1,9	0,222	0,421
FoxP3-Ki67+	0,3 ± 0,2	0,3	0,0 - 0,5	0,1 ± 0,2	0,0	0,0 - 0,3	0,4 ± 0,2	0,4	0,2 - 0,6	0,222	0,310
FoxP3+CD62L-	45,6 ± 10,3	43,0	34,7 - 58,9	16,7 ± 11,7	15,8	4,6 - 29,5	26,9 ± 9,2	27,3	15,9 - 41,0	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CD62L+	4,9 ± 1,6	5,1	2,6 - 7,0	15,3 ± 14,4	10,3	1,5 - 36,6	4,5 ± 1,5	4,5	2,5 - 6,1	0,222	0,690
FoxP3-CD62L+	4,6 ± 2,6	4,4	2,1 - 8,0	11,4 ± 7,7	8,9	5,6 - 24,9	9,0 ± 3,5	8,9	4,0 - 13,8	0,056	0,056
IL-1R+Ki67-	14,3 ± 10,7	9,9	6,1 - 32,8	6,9 ± 4,3	5,8	1,1 - 11,2	23,1 ± 14,0	17,7	6,8 - 38,3	0,222	0,222
IL-1R+Ki67+	0,6 ± 0,4	0,7	0,0 - 1,0	0,4 ± 0,4	0,2	0,1 - 1,1	0,8 ± 0,6	0,7	0,2 - 1,7	0,548	1,000
IL-1R-Ki67+	1,3 ± 1,1	1,3	0,2 - 2,9	0,5 ± 0,7	0,0	0,0 - 1,4	0,6 ± 0,7	0,3	0,0 - 1,7	0,151	0,222
CD62L+IL-1R-	6,8 ± 3,2	6,3	2,8 - 11,6	21,1 ± 12,1	16,5	8,3 - 36,5	7,5 ± 2,6	6,4	5,7 - 12,0	<b>0,016<sup>J</sup></b>	0,690
CD62L+IL-1R+	2,4 ± 1,5	1,7	1,1 - 4,8	4,9 ± 4,7	2,3	0,3 - 10,4	5,3 ± 2,7	5,0	1,8 - 8,7	0,548	0,056
CD62L-IL-1R+	12,6 ± 9,4	9,5	4,9 - 29,0	2,4 ± 1,7	1,9	0,7 - 4,3	18,7 ± 11,7	13,0	5,7 - 31,3	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,222
CD62L+Ki67-	8,7 ± 3,9	8,8	4,0 - 13,9	24,9 ± 16,5	17,5	8,1 - 45,7	12,1 ± 3,3	12,6	7,4 - 16,5	0,056	0,222
CD62L+Ki67+	0,2 ± 0,1	0,2	0,0 - 0,3	0,3 ± 0,3	0,2	0,1 - 0,8	0,3 ± 0,2	0,4	0,0 - 0,6	0,310	0,421
CD62L-Ki67+	1,8 ± 1,4	2,1	0,2 - 3,8	0,6 ± 0,8	0,0	0,0 - 1,7	1,0 ± 0,9	1,4	0,0 - 2,1	0,095	0,310
CD62L+CCR6-	6,9 ± 3,2	6,0	3,6 - 11,9	17,8 ± 8,8	16,5	7,0 - 30,4	7,8 ± 5,5	5,0	4,6 - 17,4	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,841
CD62L+CCR6+	3,2 ± 1,5	4,2	1,3 - 4,5	9,9 ± 9,7	3,6	2,3 - 21,9	6,3 ± 3,7	7,9	0,8 - 10,2	0,548	0,151
CD62L-CCR6+	22,7 ± 6,5	23,4	12,0 - 28,7	14,4 ± 6,2	14,7	5,5 - 22,7	30,6 ± 17,7	36,3	2,1 - 46,0	0,151	0,310
CCR6+Ki67-	25,1 ± 7,9	27,2	12,2 - 32,0	23,8 ± 8,9	24,1	15,2 - 37,8	36,1 ± 21,0	43,5	2,6 - 53,6	0,841	0,310
CCR6+Ki67+	0,4 ± 0,3	0,5	0,0 - 0,7	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,5	0,5 ± 0,4	0,4	0,0 - 1,1	0,222	1,000
CCR6-Ki67+	1,5 ± 1,2	1,8	0,2 - 3,2	0,7 ± 0,9	0,2	0,0 - 1,9	0,8 ± 0,7	0,9	0,0 - 1,8	0,222	0,310
CCR6+IL-1R-	16,9 ± 7,1	16,5	8,0 - 27,3	20,1 ± 7,4	18,6	12,8 - 30,8	20,9 ± 14,0	21,2	1,2 - 40,2	0,690	0,548
CCR6+IL-1R+	8,6 ± 5,0	7,5	4,9 - 17,0	4,0 ± 2,4	3,2	1,0 - 7,1	15,7 ± 13,0	13,8	1,4 - 31,2	0,095	0,548
CCR6-IL-1R+	6,6 ± 6,1	5,4	1,5 - 17,0	3,5 ± 2,0	3,7	0,3 - 5,7	8,4 ± 6,1	8,8	2,4 - 16,7	0,548	0,841
CCR6+	29,0 ± 9,3	30,3	14,0 - 39,6	30,3 ± 8,8	29,4	22,7 - 44,3	49,8 ± 12,3	47,4	33,4 - 67,5	1,000	<b>0,016<sup>R</sup></b>
IL-10+	0,6 ± 0,5	0,3	0,2 - 1,2	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,4	1,0 ± 0,9	1,0	0,0 - 2,0	0,222	0,690
FoxP3+	38,3 ± 5,3	38,7	30,8 - 45,4	36,1 ± 24,8	33,3	9,1 - 74,9	35,0 ± 14,7	36,9	15,7 - 55,7	0,690	0,690

IL-17+	1,1 ± 0,7	0,8	0,5 - 2,2	15,0 ± 18,9	2,6	0,2 - 37,5	4,0 ± 4,5	1,6	0,6 - 11,3	0,310	0,222
CD62L+	10,1 ± 4,4	10,2	4,9 - 16,1	27,7 ± 17,7	20,1	9,3 - 49,5	14,2 ± 3,4	15,2	9,3 - 18,2	0,056	0,222
Ki67+	2,0 ± 1,4	2,3	0,2 - 3,9	0,9 ± 1,0	0,2	0,1 - 2,4	1,3 ± 1,0	1,5	0,3 - 2,5	0,222	0,690
IL-1R+	15,1 ± 10,9	10,8	6,5 - 34,0	7,4 ± 4,2	6,6	1,3 - 11,6	24,0 ± 14,3	18,1	7,7 - 40,0	0,310	0,222
CD25-CD127-	33,2 ± 8,6	30,2	23,3 - 44,0	25,0 ± 8,3	20,3	17,8 - 36,8	25,5 ± 9,4	25,7	17,0 - 39,7	0,222	0,151

**Tabelle 38 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$  (nach Stimulierung „anti-IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25+CD127-	67,0 $\pm$ 10,3	64,6	53,8 - 81,7	68,7 $\pm$ 7,2	69,4	57,9 - 77,8	73,0 $\pm$ 10,8	73,7	56,5 - 82,6	0,841	0,310
IL-17+CCR6-	0,6 $\pm$ 0,3	0,5	0,2 - 1,1	5,9 $\pm$ 7,4	0,9	0,0 - 15,8	1,4 $\pm$ 1,6	0,6	0,4 - 4,2	0,310	0,421
IL-17+CCR6+	0,8 $\pm$ 0,5	0,6	0,3 - 1,7	6,2 $\pm$ 7,9	0,6	0,1 - 14,9	3,2 $\pm$ 4,1	1,0	0,0 - 10,0	0,841	0,310
IL-17-CCR6+	27,3 $\pm$ 9,5	29,4	11,6 - 37,2	24,1 $\pm$ 9,2	20,4	15,7 - 38,7	44,3 $\pm$ 8,2	46,3	32,3 - 54,2	0,548	<b>0,016<sup>R</sup></b>
FoxP3+CCR6-	33,5 $\pm$ 8,5	31,1	25,5 - 46,4	18,8 $\pm$ 10,4	23,6	5,1 - 30,2	16,6 $\pm$ 5,9	15,8	8,6 - 24,1	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CCR6+	12,2 $\pm$ 4,8	12,0	5,9 - 19,3	14,1 $\pm$ 11,5	7,8	5,7 - 32,2	15,8 $\pm$ 4,6	15,2	10,2 - 21,0	0,690	0,222
FoxP3-CCR6+	15,8 $\pm$ 5,7	18,4	5,9 - 19,9	16,0 $\pm$ 9,6	12,5	9,7 - 33,0	31,5 $\pm$ 7,3	33,6	19,5 - 38,7	0,548	<b>0,016<sup>R</sup></b>
FoxP3+IL-10-	45,3 $\pm$ 4,4	44,7	39,7 - 51,1	32,9 $\pm$ 18,5	30,2	11,1 - 62,4	32,0 $\pm$ 8,1	35,8	18,4 - 38,3	0,151	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
FoxP3+IL-10+	0,6 $\pm$ 0,4	0,6	0,1 - 1,2	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,7 $\pm$ 0,9	0,5	0,0 - 2,2	0,151	0,690
FoxP3-IL-10+	0,3 $\pm$ 0,2	0,2	0,1 - 0,6	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,7 $\pm$ 0,7	0,6	0,0 - 1,6	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,690
FoxP3+IL-17-	44,9 $\pm$ 4,5	44,2	39,2 - 51,4	23,9 $\pm$ 13,2	29,4	9,3 - 39,1	30,2 $\pm$ 7,2	33,1	18,6 - 36,4	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
FoxP3+IL-17+	1,0 $\pm$ 0,5	0,9	0,6 - 1,8	9,0 $\pm$ 11,8	0,7	0,1 - 23,5	2,4 $\pm$ 3,0	0,8	0,2 - 7,4	1,000	1,000
FoxP3-IL-17+	0,4 $\pm$ 0,4	0,3	0,1 - 1,1	3,1 $\pm$ 4,5	0,8	0,3 - 10,9	2,3 $\pm$ 2,8	1,5	0,0 - 6,9	0,151	0,222
CCR6+IL-10-	27,4 $\pm$ 9,7	30,2	11,1 - 37,1	29,7 $\pm$ 10,3	29,8	18,7 - 41,2	46,2 $\pm$ 8,5	48,6	31,8 - 54,2	0,841	<b>0,016<sup>R</sup></b>
CCR6+IL-10+	0,3 $\pm$ 0,2	0,2	0,1 - 0,6	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,9 $\pm$ 0,9	0,9	0,0 - 2,0	0,222	0,690
CCR6-IL-10+	0,6 $\pm$ 0,4	0,5	0,2 - 1,2	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,6 $\pm$ 0,5	0,9	0,0 - 1,0	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,841
IL-17+IL-10-	1,3 $\pm$ 0,8	1,0	0,9 - 2,7	11,9 $\pm$ 15,1	1,4	0,4 - 30,3	4,3 $\pm$ 5,3	1,6	0,5 - 13,2	0,421	0,310
IL-17+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,3 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 1,0	0,222	0,548
IL-17-IL-10+	0,9 $\pm$ 0,6	0,7	0,3 - 1,5	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	1,2 $\pm$ 1,1	1,8	0,0 - 2,3	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,690
FoxP3+IL-1R-	39,5 $\pm$ 12,4	44,4	21,1 - 50,9	27,8 $\pm$ 18,0	24,0	7,1 - 56,0	24,9 $\pm$ 10,3	25,3	13,1 - 39,7	0,421	0,095
FoxP3+IL-1R+	10,5 $\pm$ 8,3	7,7	4,9 - 24,8	5,3 $\pm$ 4,9	2,4	0,6 - 11,3	11,8 $\pm$ 7,7	7,6	4,5 - 22,6	0,310	1,000

FoxP3-IL-1R+	5,7 ± 4,0	3,8	1,9 - 11,3	1,6 ± 0,7	1,4	0,8 - 2,5	12,5 ± 8,6	9,0	2,8 - 21,9	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,310
FoxP3+Ki67-	46,4 ± 9,1	48,6	31,1 - 54,0	32,1 ± 21,5	30,1	7,6 - 66,6	34,8 ± 4,9	35,5	28,8 - 42,0	0,151	0,095
FoxP3+Ki67+	3,6 ± 3,7	1,8	0,2 - 9,0	1,0 ± 1,1	0,8	0,0 - 2,8	1,8 ± 1,7	1,4	0,2 - 4,6	0,222	0,548
FoxP3-Ki67+	0,7 ± 0,7	0,3	0,1 - 1,7	0,2 ± 0,3	0,1	0,0 - 0,7	0,7 ± 0,9	0,2	0,0 - 2,2	0,151	0,841
FoxP3+CD62L-	45,5 ± 11,2	49,6	25,7 - 52,7	16,8 ± 10,5	20,2	4,8 - 27,7	28,6 ± 6,7	26,7	21,3 - 39,3	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,095
FoxP3+CD62L+	4,2 ± 1,2	4,8	2,2 - 5,3	16,0 ± 16,1	8,2	0,8 - 39,2	7,9 ± 3,9	6,1	4,9 - 14,4	0,151	<b>0,016<sup>R</sup></b>
FoxP3-CD62L+	5,1 ± 5,0	3,4	1,9 - 14,0	9,5 ± 7,3	7,5	4,2 - 22,2	10,4 ± 5,3	10,4	4,1 - 16,6	0,095	0,056
IL-1R+Ki67-	14,6 ± 10,7	9,3	6,3 - 31,8	6,3 ± 4,9	4,2	1,4 - 11,7	23,1 ± 15,2	15,9	6,5 - 41,0	0,222	0,421
IL-1R+Ki67+	1,5 ± 1,7	0,7	0,1 - 4,2	0,4 ± 0,3	0,5	0,0 - 0,8	1,0 ± 0,9	0,8	0,1 - 2,4	0,310	0,841
IL-1R-Ki67+	2,7 ± 2,7	1,5	0,2 - 6,5	0,8 ± 1,1	0,1	0,0 - 2,5	1,6 ± 1,9	0,5	0,2 - 4,5	0,151	0,548
CD62L+IL-1R-	6,3 ± 4,6	5,0	1,9 - 13,9	19,9 ± 13,8	14,6	4,9 - 36,2	10,3 ± 2,6	11,3	7,0 - 13,5	0,095	0,151
CD62L+IL-1R+	2,6 ± 1,6	1,6	1,2 - 4,6	5,0 ± 5,5	1,4	0,1 - 11,1	7,3 ± 6,4	3,7	1,5 - 16,7	1,000	0,310
CD62L-IL-1R+	13,5 ± 10,8	9,8	5,5 - 31,9	1,8 ± 1,0	1,7	0,6 - 3,3	16,8 ± 9,9	12,3	5,7 - 27,8	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,690
CD62L+Ki67-	8,4 ± 5,6	6,7	3,4 - 17,9	23,7 ± 18,8	14,6	4,8 - 46,2	16,4 ± 7,6	14,9	7,7 - 26,7	0,222	0,095
CD62L+Ki67+	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,6	0,4 ± 0,3	0,4	0,0 - 0,8	0,7 ± 1,0	0,2	0,0 - 2,5	0,310	0,548
CD62L-Ki67+	4,0 ± 4,1	2,0	0,3 - 10,1	0,8 ± 1,1	0,1	0,0 - 2,3	1,9 ± 1,7	1,0	0,3 - 4,3	0,151	0,421
CD62L+CCR6-	6,5 ± 4,1	5,3	3,0 - 13,6	16,1 ± 9,8	14,0	3,8 - 28,0	10,2 ± 4,7	10,1	5,3 - 16,2	0,151	0,222
CD62L+CCR6+	3,4 ± 2,0	3,2	1,4 - 6,6	10,4 ± 10,9	2,9	1,7 - 22,5	9,0 ± 7,6	7,8	0,4 - 19,2	0,690	0,222
CD62L-CCR6+	20,9 ± 6,4	21,7	10,4 - 26,0	14,3 ± 7,9	11,5	7,8 - 28,0	26,6 ± 15,3	28,6	1,3 - 42,1	0,421	0,151
CCR6+Ki67-	23,3 ± 7,2	27,7	11,4 - 28,0	24,0 ± 8,6	29,3	13,4 - 31,9	34,2 ± 19,8	44,8	1,6 - 48,5	0,421	0,151
CCR6+Ki67+	0,6 ± 0,5	0,5	0,1 - 1,3	0,2 ± 0,1	0,2	0,0 - 0,3	1,0 ± 1,1	0,6	0,0 - 2,9	0,095	0,690
CCR6-Ki67+	3,7 ± 4,0	1,6	0,2 - 9,5	1,0 ± 1,2	0,5	0,1 - 2,7	1,5 ± 1,6	0,5	0,4 - 3,9	0,310	0,548
CCR6+IL-1R-	15,0 ± 6,5	16,5	5,9 - 23,3	20,2 ± 6,9	22,4	12,3 - 28,3	19,6 ± 13,1	19,7	0,9 - 36,8	0,310	0,548
CCR6+IL-1R+	8,9 ± 5,1	5,8	5,3 - 17,1	3,9 ± 3,2	2,6	1,0 - 7,8	15,7 ± 13,8	12,0	0,8 - 31,9	0,222	0,690
CCR6-IL-1R+	7,3 ± 7,1	5,8	1,7 - 19,1	3,0 ± 1,9	2,3	0,5 - 5,0	8,7 ± 5,8	10,8	2,1 - 15,3	0,310	0,690
CCR6+	28,1 ± 9,7	31,1	11,9 - 37,8	30,3 ± 10,5	30,6	19,0 - 42,1	47,5 ± 8,8	50,6	32,3 - 55,0	0,841	<b>0,016<sup>R</sup></b>
IL-10+	0,9 ± 0,6	0,7	0,3 - 1,5	0,2 ± 0,2	0,3	0,0 - 0,5	1,4 ± 1,3	1,8	0,0 - 2,8	0,056	0,690
FoxP3+	45,8 ± 4,8	44,8	39,8 - 52,3	32,9 ± 18,6	30,1	11,0 - 62,6	32,6 ± 8,4	35,8	18,8 - 40,5	0,151	<b>0,016<sup>HD</sup></b>

IL-17+	1,4 ± 0,8	1,0	0,9 - 2,9	12,1 ± 15,3	1,5	0,4 - 31,1	4,7 ± 5,7	1,7	0,5 - 14,3	0,421	0,310
CD62L+	9,9 ± 6,0	8,9	4,4 - 20,2	26,5 ± 20,3	16,9	5,5 - 50,1	19,2 ± 9,1	16,6	9,8 - 32,4	0,222	0,056
Ki67+	4,2 ± 4,4	2,1	0,3 - 10,8	1,2 ± 1,2	0,8	0,1 - 3,0	2,5 ± 2,6	1,6	0,4 - 6,8	0,222	0,841
IL-1R+	16,3 ± 12,0	11,6	7,0 - 36,2	6,9 ± 5,1	4,9	1,5 - 12,8	24,3 ± 16,2	16,1	7,4 - 44,0	0,222	0,421
CD25-CD127-	32,8 ± 10,2	35,2	18,2 - 45,9	30,8 ± 7,0	30,2	22,0 - 41,3	26,1 ± 11,2	26,1	15,6 - 42,9	0,690	0,310

**Tabelle 39 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1RI (nach Stimulierung „RI“ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25+CD127-	66,6 $\pm$ 8,5	67,9	54,1 - 76,4	70,8 $\pm$ 11,5	70,3	53,0 - 82,6	76,0 $\pm$ 8,3	74,1	68,9 - 89,3	0,548	0,151
IL-17+CCR6-	0,6 $\pm$ 0,3	0,5	0,4 - 1,1	8,5 $\pm$ 11,0	1,0	0,0 - 23,5	1,1 $\pm$ 1,6	0,4	0,0 - 3,9	0,310	0,690
IL-17+CCR6+	0,5 $\pm$ 0,4	0,5	0,2 - 1,1	9,3 $\pm$ 11,9	0,7	0,5 - 23,7	2,7 $\pm$ 3,0	1,3	0,4 - 7,7	0,222	0,095
IL-17-CCR6+	28,0 $\pm$ 7,9	29,4	14,9 - 36,4	21,6 $\pm$ 6,8	19,3	15,6 - 32,5	44,9 $\pm$ 6,6	42,3	36,6 - 51,7	0,421	<b>0,008<sup>R</sup></b>
FoxP3+CCR6-	34,3 $\pm$ 7,3	37,5	21,6 - 39,7	23,6 $\pm$ 17,3	22,2	4,3 - 50,4	21,3 $\pm$ 10,3	20,9	9,9 - 34,2	0,310	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CCR6+	12,5 $\pm$ 7,8	10,0	5,1 - 25,3	16,7 $\pm$ 13,7	9,0	4,9 - 36,7	18,3 $\pm$ 8,2	19,5	6,9 - 26,0	1,000	0,222
FoxP3-CCR6+	15,8 $\pm$ 5,0	16,2	9,7 - 21,3	13,9 $\pm$ 9,2	12,2	2,3 - 28,0	28,9 $\pm$ 9,7	27,0	16,7 - 41,1	0,841	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3+IL-10-	46,5 $\pm$ 12,5	44,9	30,1 - 64,7	40,0 $\pm$ 27,8	34,8	9,3 - 85,2	39,4 $\pm$ 16,9	46,7	17,2 - 53,7	0,421	0,841
FoxP3+IL-10+	0,5 $\pm$ 0,4	0,5	0,1 - 1,0	0,5 $\pm$ 0,9	0,1	0,0 - 2,0	0,6 $\pm$ 0,4	0,8	0,1 - 1,1	0,310	0,548
FoxP3-IL-10+	0,3 $\pm$ 0,2	0,4	0,1 - 0,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,6 $\pm$ 0,5	0,8	0,0 - 1,2	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,421
FoxP3+IL-17-	46,1 $\pm$ 12,4	44,2	29,8 - 63,9	25,0 $\pm$ 14,1	30,1	9,1 - 40,9	37,5 $\pm$ 15,9	46,2	16,7 - 53,7	0,056	0,690
FoxP3+IL-17+	0,8 $\pm$ 0,4	0,7	0,4 - 1,2	15,4 $\pm$ 21,0	1,1	0,3 - 46,3	2,3 $\pm$ 3,5	0,6	0,3 - 8,5	0,421	1,000
FoxP3-IL-17+	0,4 $\pm$ 0,3	0,3	0,2 - 0,8	2,4 $\pm$ 3,9	0,7	0,3 - 9,4	1,4 $\pm$ 1,3	1,0	0,0 - 3,3	0,222	0,222
CCR6+IL-10-	27,9 $\pm$ 8,1	29,6	14,6 - 36,6	30,1 $\pm$ 8,0	32,3	19,6 - 37,7	46,5 $\pm$ 7,4	48,9	35,8 - 53,3	0,548	<b>0,016<sup>R</sup></b>
CCR6+IL-10+	0,2 $\pm$ 0,2	0,3	0,0 - 0,4	0,3 $\pm$ 0,4	0,2	0,0 - 1,1	0,6 $\pm$ 0,4	0,4	0,3 - 1,2	0,841	0,056
CCR6-IL-10+	0,6 $\pm$ 0,3	0,5	0,4 - 1,1	0,2 $\pm$ 0,4	0,1	0,0 - 0,9	0,7 $\pm$ 0,5	0,9	0,0 - 1,2	0,095	0,421
IL-17+IL-10-	1,1 $\pm$ 0,5	0,9	0,6 - 1,7	17,3 $\pm$ 22,3	1,7	0,4 - 45,5	3,6 $\pm$ 4,5	1,3	0,4 - 11,4	0,421	0,548
IL-17+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,4 $\pm$ 0,7	0,2	0,0 - 1,7	0,2 $\pm$ 0,2	0,2	0,0 - 0,3	0,056	0,222
IL-17-IL-10+	0,8 $\pm$ 0,4	0,8	0,5 - 1,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,3	1,1 $\pm$ 0,7	1,1	0,1 - 1,8	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,310
FoxP3+IL-1R-	49,9 $\pm$ 10,2	49,1	37,6 - 64,2	29,6 $\pm$ 13,9	26,8	9,5 - 44,7	27,5 $\pm$ 9,4	27,6	14,4 - 38,4	0,056	<b>0,016<sup>HD</sup></b>
FoxP3+IL-1R+	5,9 $\pm$ 4,7	4,7	1,7 - 13,2	3,8 $\pm$ 4,7	0,7	0,1 - 9,9	8,5 $\pm$ 9,3	5,1	0,8 - 23,7	0,421	0,841

FoxP3-IL-1R+	2,1 ± 1,7	1,0	0,8 - 4,2	0,5 ± 0,3	0,6	0,0 - 0,8	6,9 ± 6,2	3,0	1,7 - 14,2	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,222
FoxP3+Ki67-	51,5 ± 8,0	49,5	43,7 - 62,2	31,6 ± 15,5	34,2	9,7 - 52,1	33,3 ± 9,3	35,2	23,6 - 42,6	0,056	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
FoxP3+Ki67+	4,3 ± 4,4	1,9	0,4 - 10,8	1,8 ± 1,9	1,4	0,0 - 4,8	2,7 ± 4,0	1,1	0,1 - 9,8	0,310	0,310
FoxP3-Ki67+	0,4 ± 0,3	0,4	0,1 - 0,9	0,3 ± 0,3	0,1	0,0 - 0,7	0,6 ± 1,0	0,2	0,1 - 2,4	0,310	0,690
FoxP3+CD62L-	50,8 ± 12,6	47,7	38,3 - 64,7	19,0 ± 10,7	23,2	7,3 - 31,3	30,2 ± 9,7	31,8	19,9 - 39,4	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CD62L+	4,7 ± 1,2	4,4	3,5 - 6,7	14,3 ± 13,1	9,9	1,2 - 29,2	5,6 ± 3,5	4,2	3,5 - 11,7	0,548	0,841
FoxP3-CD62L+	3,8 ± 2,6	2,9	1,1 - 7,6	10,2 ± 6,0	7,1	6,0 - 20,2	8,5 ± 3,1	7,5	4,7 - 12,7	0,056	0,095
IL-1R+Ki67-	6,9 ± 5,4	4,2	2,1 - 14,3	3,6 ± 3,9	1,1	0,4 - 8,0	14,0 ± 13,0	7,7	3,1 - 32,0	0,222	0,421
IL-1R+Ki67+	0,9 ± 1,2	0,2	0,0 - 2,8	0,7 ± 1,2	0,2	0,0 - 2,8	1,2 ± 1,9	0,3	0,1 - 4,6	0,690	1,000
IL-1R-Ki67+	3,9 ± 3,5	2,1	0,5 - 8,9	1,5 ± 2,0	0,4	0,0 - 4,8	2,2 ± 3,2	0,7	0,2 - 7,8	0,151	0,310
CD62L+IL-1R-	7,1 ± 3,2	5,7	4,2 - 11,5	20,5 ± 12,7	20,0	6,8 - 38,4	9,7 ± 1,9	9,3	7,8 - 12,7	0,056	0,310
CD62L+IL-1R+	1,1 ± 0,9	0,6	0,4 - 2,4	3,4 ± 4,2	0,5	0,0 - 8,1	4,0 ± 3,8	2,5	0,6 - 9,3	1,000	0,095
CD62L-IL-1R+	6,7 ± 5,5	4,9	1,7 - 15,4	0,9 ± 1,0	0,8	0,0 - 2,5	11,4 ± 11,0	5,6	2,4 - 27,4	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,548
CD62L+Ki67-	7,6 ± 3,7	5,7	4,1 - 13,3	22,5 ± 16,1	18,6	6,6 - 45,1	12,5 ± 3,4	13,3	7,9 - 15,7	0,056	0,056
CD62L+Ki67+	0,2 ± 0,2	0,3	0,0 - 0,4	0,9 ± 1,0	0,4	0,0 - 2,5	0,6 ± 1,0	0,1	0,0 - 2,4	0,421	1,000
CD62L-Ki67+	4,5 ± 4,5	2,2	0,5 - 11,3	1,3 ± 1,5	0,7	0,0 - 3,7	2,7 ± 4,0	1,0	0,2 - 9,9	0,222	0,310
CD62L+CCR6-	5,7 ± 1,9	4,8	3,8 - 8,5	17,1 ± 10,0	18,0	5,8 - 31,1	8,2 ± 3,9	7,4	4,7 - 14,7	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,310
CD62L+CCR6+	3,4 ± 2,1	3,2	0,8 - 6,3	8,4 ± 7,3	3,8	2,1 - 17,6	6,7 ± 4,8	6,8	0,4 - 12,2	0,310	0,310
CD62L-CCR6+	21,5 ± 7,2	22,1	9,8 - 27,4	13,1 ± 5,8	13,1	6,1 - 21,7	29,0 ± 16,6	35,2	1,0 - 42,6	0,151	0,151
CCR6+Ki67-	23,7 ± 8,4	27,9	9,7 - 30,6	20,3 ± 3,5	21,8	15,7 - 23,4	34,1 ± 19,8	42,9	1,1 - 48,0	0,310	0,222
CCR6+Ki67+	0,8 ± 0,6	0,8	0,1 - 1,6	0,6 ± 0,9	0,0	0,0 - 2,1	1,2 ± 1,6	0,7	0,0 - 4,0	0,310	0,690
CCR6-Ki67+	3,9 ± 4,2	1,8	0,4 - 10,1	1,6 ± 1,7	1,1	0,0 - 4,3	2,2 ± 3,5	0,8	0,2 - 8,3	0,421	0,310
CCR6+IL-1R-	20,3 ± 7,8	20,9	8,1 - 29,7	18,2 ± 2,7	17,1	15,8 - 22,6	24,2 ± 15,1	27,9	1,0 - 42,0	0,421	0,841
CCR6+IL-1R+	4,2 ± 3,1	2,3	1,9 - 8,8	2,7 ± 2,9	0,8	0,4 - 7,0	11,1 ± 11,2	6,8	0,1 - 26,3	0,310	0,421
CCR6-IL-1R+	3,8 ± 3,2	3,2	0,6 - 8,6	1,6 ± 1,9	0,7	0,0 - 3,9	4,4 ± 4,0	3,1	1,1 - 10,7	0,310	1,000
CCR6+	28,5 ± 8,2	30,0	15,1 - 37,5	30,8 ± 8,5	33,0	20,0 - 39,3	47,6 ± 7,4	50,0	37,0 - 54,8	0,548	<b>0,016<sup>R</sup></b>
IL-10+	0,8 ± 0,4	0,7	0,5 - 1,5	0,5 ± 0,8	0,2	0,0 - 2,0	1,3 ± 0,7	1,4	0,3 - 2,1	0,151	0,310
FoxP3+	46,9 ± 12,7	45,3	30,2 - 65,1	40,5 ± 28,6	34,8	9,4 - 87,2	39,8 ± 17,1	46,8	17,0 - 54,7	0,421	0,841

IL-17+	1,2 ± 0,6	0,9	0,6 - 1,9	17,8 ± 22,9	1,7	0,6 - 47,4	3,8 ± 4,7	1,3	0,4 - 11,8	0,421	0,548
CD62L+	9,0 ± 3,8	7,0	5,5 - 14,8	25,5 ± 16,8	21,8	7,9 - 48,7	14,9 ± 4,5	15,1	9,6 - 20,6	0,056	0,056
Ki67+	4,7 ± 4,6	2,3	0,5 - 11,7	2,1 ± 2,1	2,1	0,0 - 5,1	3,3 ± 5,1	1,5	0,2 - 12,3	0,421	0,421
IL-1R+	8,0 ± 6,3	5,5	2,5 - 17,4	4,3 ± 4,8	1,4	0,4 - 10,5	15,5 ± 14,9	8,1	3,2 - 37,0	0,222	0,548
CD25-CD127-	33,2 ± 8,4	32,0	23,5 - 45,6	28,7 ± 11,4	29,2	17,1 - 46,3	23,3 ± 8,7	25,0	9,9 - 31,1	0,548	0,151

**Tabelle 40 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert (nach Stimulierung „Unstimuliert“ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen handelt es sich um Zellen, welche ursprünglich CD4+CD25-CD127- waren und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch CD4+CD25+CD127- geworden sind. Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25+CD127-	12,2 $\pm$ 8,4	8,7	7,2 - 27,0	13,0 $\pm$ 9,7	11,0	3,9 - 27,2	15,7 $\pm$ 8,4	15,5	5,1 - 27,6	1,000	0,421
IL-17+CCR6-	0,3 $\pm$ 0,5	0,0	0,0 - 1,1	4,8 $\pm$ 6,3	1,3	0,0 - 13,9	0,6 $\pm$ 0,9	0,0	0,0 - 1,8	0,310	0,690
IL-17+CCR6+	0,3 $\pm$ 0,4	0,3	0,0 - 0,7	6,7 $\pm$ 7,8	2,6	0,0 - 17,4	0,8 $\pm$ 0,7	0,6	0,0 - 1,8	0,095	0,421
IL-17-CCR6+	14,7 $\pm$ 20,0	5,2	4,6 - 50,3	38,3 $\pm$ 13,8	38,8	24,7 - 58,6	26,7 $\pm$ 15,6	21,7	12,4 - 52,6	0,095	0,095
FoxP3+CCR6-	27,2 $\pm$ 9,1	23,7	20,5 - 43,2	11,4 $\pm$ 8,9	8,5	0,9 - 23,3	13,7 $\pm$ 4,6	12,4	9,4 - 21,4	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	<b>0,016<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CCR6+	6,2 $\pm$ 8,3	2,8	1,3 - 20,9	18,4 $\pm$ 20,7	7,0	2,7 - 50,0	7,7 $\pm$ 4,4	6,1	3,1 - 13,7	0,151	0,222
FoxP3-CCR6+	8,9 $\pm$ 11,9	3,3	2,5 - 30,1	26,6 $\pm$ 18,1	21,9	10,4 - 57,8	19,8 $\pm$ 11,4	15,7	10,3 - 39,3	0,095	0,095
FoxP3+IL-10-	32,5 $\pm$ 9,1	28,3	23,5 - 44,0	29,6 $\pm$ 27,0	24,7	4,3 - 71,9	20,1 $\pm$ 5,8	19,1	13,6 - 28,6	0,548	0,056
FoxP3+IL-10+	0,9 $\pm$ 0,9	1,0	0,0 - 2,0	0,3 $\pm$ 0,6	0,0	0,0 - 1,4	1,2 $\pm$ 1,4	0,6	0,0 - 3,6	0,421	0,841
FoxP3-IL-10+	0,4 $\pm$ 0,5	0,1	0,0 - 1,0	0,1 $\pm$ 0,3	0,0	0,0 - 0,7	1,4 $\pm$ 1,2	1,8	0,0 - 2,6	0,310	0,222
FoxP3+IL-17-	33,2 $\pm$ 9,2	27,9	25,5 - 45,0	22,1 $\pm$ 17,1	23,4	4,3 - 48,3	21,0 $\pm$ 6,1	19,6	14,7 - 30,4	0,151	0,056
FoxP3+IL-17+	0,5 $\pm$ 0,5	0,3	0,0 - 1,3	8,3 $\pm$ 11,7	0,9	0,0 - 26,0	0,5 $\pm$ 0,8	0,0	0,0 - 1,8	0,690	0,690
FoxP3-IL-17+	0,2 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	3,4 $\pm$ 5,2	1,3	0,0 - 12,6	1,0 $\pm$ 1,2	0,4	0,0 - 2,4	0,056	0,421
CCR6+IL-10-	14,8 $\pm$ 19,9	5,7	4,6 - 50,3	44,6 $\pm$ 17,6	51,4	24,7 - 61,2	26,3 $\pm$ 15,6	20,9	12,3 - 52,1	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,095
CCR6+IL-10+	0,2 $\pm$ 0,3	0,0	0,0 - 0,7	0,2 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 1,0	0,8 $\pm$ 0,6	0,6	0,4 - 1,8	0,841	0,056
CCR6-IL-10+	1,0 $\pm$ 1,1	1,0	0,0 - 2,8	0,2 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 1,0	1,8 $\pm$ 1,1	1,8	0,0 - 2,9	0,095	0,310
IL-17+IL-10-	0,6 $\pm$ 0,7	0,4	0,0 - 1,7	11,6 $\pm$ 13,7	2,6	0,0 - 27,2	1,3 $\pm$ 1,1	1,8	0,0 - 2,4	0,095	0,310
IL-17+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,3	0,0	0,0 - 0,7	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	1,000	1,000
IL-17-IL-10+	1,3 $\pm$ 1,3	1,3	0,0 - 3,3	0,4 $\pm$ 0,7	0,0	0,0 - 1,7	2,7 $\pm$ 1,3	3,0	0,4 - 3,6	0,222	0,151
FoxP3+IL-1R-	33,3 $\pm$ 5,9	31,4	28,1 - 43,5	20,6 $\pm$ 17,0	16,0	5,7 - 50,0	14,9 $\pm$ 5,6	15,0	7,8 - 21,7	0,151	<b>0,008<sup>HD</sup></b>

FoxP3+IL-1R+	1,0 ± 1,1	0,4	0,0 - 2,3	1,3 ± 1,8	0,0	0,0 - 3,5	1,7 ± 1,5	1,5	0,0 - 3,3	0,841	0,421
FoxP3-IL-1R+	0,3 ± 0,3	0,4	0,0 - 0,7	1,3 ± 1,0	1,1	0,0 - 2,9	1,1 ± 1,0	0,9	0,4 - 2,9	0,095	0,151
FoxP3+Ki67-	24,5 ± 5,6	25,0	15,3 - 30,1	21,3 ± 17,6	17,0	5,7 - 51,5	13,7 ± 5,2	13,0	7,7 - 21,6	0,310	<b>0,016<sup>HD</sup></b>
FoxP3+Ki67+	9,9 ± 10,6	5,6	3,5 - 28,6	0,8 ± 1,1	0,0	0,0 - 2,0	3,0 ± 5,1	0,7	0,0 - 12,0	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,095
FoxP3-Ki67+	9,1 ± 8,5	6,6	3,3 - 24,1	1,0 ± 1,7	0,0	0,0 - 4,0	3,9 ± 4,7	2,2	0,4 - 12,0	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,151
FoxP3+CD62L-	33,2 ± 5,6	31,8	27,6 - 42,7	11,0 ± 10,7	8,0	2,7 - 29,3	14,0 ± 6,6	11,6	6,6 - 21,7	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CD62L+	0,8 ± 0,4	0,8	0,3 - 1,3	10,2 ± 8,6	6,4	1,1 - 22,7	2,0 ± 1,9	2,2	0,0 - 5,0	<b>0,016<sup>J</sup></b>	0,548
FoxP3-CD62L+	1,1 ± 0,6	0,8	0,4 - 2,0	14,1 ± 10,7	8,6	3,4 - 29,9	5,4 ± 0,8	5,0	4,7 - 6,5	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
IL-1R+Ki67-	1,1 ± 1,3	0,7	0,0 - 3,0	2,5 ± 2,5	2,1	0,0 - 6,7	2,6 ± 1,5	2,9	0,4 - 4,3	0,421	0,151
IL-1R+Ki67+	0,3 ± 0,4	0,2	0,0 - 0,9	0,4 ± 0,9	0,0	0,0 - 2,0	0,2 ± 0,3	0,0	0,0 - 0,7	0,548	0,841
IL-1R-Ki67+	19,0 ± 19,2	12,0	7,4 - 53,0	1,4 ± 2,6	0,0	0,0 - 6,0	6,6 ± 9,8	3,2	1,0 - 23,9	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,095
CD62L+IL-1R-	1,5 ± 0,4	1,3	1,3 - 2,3	21,3 ± 13,0	24,0	4,5 - 38,9	6,2 ± 2,2	5,4	4,3 - 10,0	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	1,4 ± 2,0	0,0	0,0 - 4,3	0,8 ± 1,1	0,0	0,0 - 2,2	0,690	0,690
CD62L-IL-1R+	1,3 ± 1,3	0,9	0,0 - 2,7	1,8 ± 1,0	2,1	0,0 - 2,4	2,2 ± 1,3	2,2	0,8 - 3,6	1,000	0,310
CD62L+Ki67-	1,3 ± 0,5	1,3	0,8 - 2,0	22,5 ± 14,7	24,0	4,5 - 43,5	6,3 ± 2,1	5,4	4,8 - 10,0	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+Ki67+	0,4 ± 0,3	0,4	0,0 - 0,7	0,3 ± 0,7	0,0	0,0 - 1,5	0,8 ± 1,1	0,0	0,0 - 2,2	0,310	0,841
CD62L-Ki67+	18,5 ± 18,7	12,0	6,4 - 51,6	1,5 ± 2,5	0,5	0,0 - 6,0	5,8 ± 8,4	1,9	1,1 - 20,7	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,095
CD62L+CCR6-	1,3 ± 0,4	1,1	0,9 - 2,0	11,5 ± 6,9	11,7	2,3 - 20,0	4,8 ± 2,0	4,3	3,3 - 8,3	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+CCR6+	0,4 ± 0,2	0,4	0,1 - 0,7	11,4 ± 12,0	4,0	2,1 - 27,7	2,3 ± 1,7	1,8	0,0 - 4,3	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,151
CD62L-CCR6+	10,1 ± 12,5	5,8	2,4 - 32,1	23,3 ± 8,3	19,1	16,0 - 35,2	15,0 ± 13,5	8,9	1,9 - 36,7	0,095	0,421
CCR6+Ki67-	9,4 ± 12,2	5,8	1,3 - 30,8	34,1 ± 13,3	37,5	20,0 - 47,5	15,8 ± 13,7	10,9	1,9 - 37,8	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,310
CCR6+Ki67+	1,1 ± 0,8	1,3	0,3 - 2,0	0,5 ± 0,7	0,0	0,0 - 1,5	1,3 ± 1,3	0,8	0,0 - 3,0	0,151	0,841
CCR6-Ki67+	17,8 ± 18,7	11,2	5,0 - 50,6	1,3 ± 2,6	0,0	0,0 - 6,0	5,3 ± 8,7	1,4	0,7 - 20,7	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,095
CCR6+IL-1R-	9,6 ± 11,8	5,8	2,4 - 30,4	32,8 ± 12,1	36,4	20,0 - 45,5	15,1 ± 13,3	9,8	0,5 - 35,6	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,421
CCR6+IL-1R+	0,8 ± 0,9	0,3	0,0 - 2,0	1,7 ± 1,4	1,1	0,0 - 3,5	1,9 ± 1,1	2,2	0,4 - 3,3	0,421	0,095
CCR6-IL-1R+	0,5 ± 0,5	0,7	0,0 - 1,0	1,5 ± 1,4	1,1	0,0 - 3,7	1,1 ± 0,6	1,1	0,4 - 1,9	0,095	0,222
CCR6+	15,0 ± 20,2	5,9	4,6 - 51,0	45,0 ± 17,8	51,4	24,7 - 61,2	27,5 ± 15,5	21,7	13,4 - 53,0	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,095
IL-10+	1,2 ± 1,2	1,3	0,0 - 3,0	0,4 ± 0,9	0,0	0,0 - 2,1	2,6 ± 1,3	3,0	0,4 - 3,7	0,222	0,095

FoxP3+	33,7 ± 9,6	28,3	25,5 - 46,3	30,4 ± 27,9	25,6	4,3 - 74,3	21,5 ± 6,7	19,6	15,3 - 32,2	0,548	0,056
IL-17+	0,6 ± 0,7	0,4	0,0 - 1,8	11,8 ± 13,9	2,6	0,0 - 27,3	1,4 ± 1,2	1,8	0,0 - 2,6	0,095	0,310
CD62L+	1,6 ± 0,6	1,4	1,3 - 2,7	22,8 ± 14,7	24,0	4,6 - 43,4	7,0 ± 2,2	7,6	4,3 - 10,0	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
Ki67+	18,9 ± 18,9	12,5	7,0 - 52,3	1,8 ± 2,5	1,1	0,0 - 6,0	6,6 ± 9,2	3,7	1,1 - 22,9	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,095
IL-1R+	1,4 ± 1,4	1,0	0,0 - 3,0	3,2 ± 2,6	2,2	0,0 - 6,6	3,0 ± 1,4	3,3	0,8 - 4,4	0,421	0,095

**Tabelle 41 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$  (nach Stimulierung „IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen handelt es sich um Zellen, welche ursprünglich CD4+CD25-CD127- waren und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch CD4+CD25+CD127- geworden sind. Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25+CD127-	7,6 $\pm$ 3,5	5,7	5,1 - 13,4	10,4 $\pm$ 5,2	10,2	5,1 - 16,1	16,7 $\pm$ 9,0	14,6	7,4 - 28,6	0,548	0,056
IL-17+CCR6-	0,2 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	4,9 $\pm$ 6,6	0,4	0,0 - 13,7	0,5 $\pm$ 0,6	0,4	0,0 - 1,5	0,421	0,548
IL-17+CCR6+	0,5 $\pm$ 0,7	0,2	0,0 - 1,6	3,7 $\pm$ 3,7	2,0	0,4 - 7,8	0,8 $\pm$ 0,7	1,0	0,0 - 1,7	0,056	0,421
IL-17-CCR6+	11,0 $\pm$ 12,5	5,1	3,4 - 33,0	32,2 $\pm$ 10,7	26,3	24,0 - 48,6	25,8 $\pm$ 14,8	25,4	11,0 - 42,7	0,056	0,056
FoxP3+CCR6-	19,0 $\pm$ 4,6	20,9	12,6 - 23,3	11,9 $\pm$ 6,8	11,0	2,7 - 21,6	12,4 $\pm$ 6,6	10,2	6,7 - 22,8	0,095	0,151
FoxP3+CCR6+	4,2 $\pm$ 6,0	1,9	0,4 - 14,9	11,8 $\pm$ 12,1	4,3	2,7 - 30,5	5,9 $\pm$ 2,3	6,8	3,2 - 8,5	0,056	0,151
FoxP3-CCR6+	7,4 $\pm$ 6,5	4,1	3,0 - 18,7	24,2 $\pm$ 13,1	22,0	14,7 - 46,6	20,8 $\pm$ 12,2	20,3	8,7 - 34,2	<b>0,032<sup>J</sup></b>	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3+IL-10-	22,8 $\pm$ 8,9	22,4	14,4 - 36,8	23,3 $\pm$ 17,7	17,7	5,4 - 51,4	18,0 $\pm$ 4,3	16,9	14,8 - 25,5	0,841	0,690
FoxP3+IL-10+	0,2 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 1,0	0,2 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 0,8	0,3 $\pm$ 0,5	0,0	0,0 - 1,1	0,690	0,841
FoxP3-IL-10+	0,6 $\pm$ 0,4	0,6	0,0 - 1,2	0,2 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 1,0	1,0 $\pm$ 1,0	0,7	0,0 - 2,5	0,222	0,548
FoxP3+IL-17-	22,9 $\pm$ 8,5	22,6	15,3 - 36,5	17,9 $\pm$ 12,0	16,3	4,7 - 37,5	17,8 $\pm$ 4,4	15,5	15,3 - 25,5	0,548	0,421
FoxP3+IL-17+	0,5 $\pm$ 0,6	0,2	0,0 - 1,6	5,9 $\pm$ 6,9	1,0	0,7 - 14,7	1,0 $\pm$ 0,7	1,1	0,0 - 1,7	0,056	0,421
FoxP3-IL-17+	0,2 $\pm$ 0,2	0,2	0,0 - 0,5	3,2 $\pm$ 4,1	2,0	0,0 - 9,9	0,4 $\pm$ 0,7	0,0	0,0 - 1,7	0,548	0,690
CCR6+IL-10-	11,1 $\pm$ 12,8	5,0	3,4 - 33,7	35,4 $\pm$ 10,7	32,2	25,0 - 49,3	25,3 $\pm$ 14,3	25,4	10,9 - 41,6	0,056	0,056
CCR6+IL-10+	0,3 $\pm$ 0,4	0,1	0,0 - 1,0	0,2 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 0,8	0,5 $\pm$ 0,5	0,8	0,0 - 1,1	0,421	0,690
CCR6-IL-10+	0,5 $\pm$ 0,4	0,6	0,0 - 1,0	0,2 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 1,0	0,8 $\pm$ 0,8	0,5	0,0 - 1,7	0,222	0,690
IL-17+IL-10-	0,6 $\pm$ 0,6	0,4	0,1 - 1,6	8,9 $\pm$ 10,2	3,0	0,7 - 21,7	1,2 $\pm$ 0,8	1,1	0,0 - 2,2	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,310
IL-17+IL-10+	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,4	0,2 - 0,3	0,0	0,0 - 0,5	0,690	0,841
IL-17-IL-10+	0,7 $\pm$ 0,2	0,6	0,5 - 1,0	0,5 $\pm$ 0,5	0,5	0,0 - 1,0	1,2 - 1,1	0,9	0,0 - 2,5	0,548	0,841
FoxP3+IL-1R-	30,3 $\pm$ 9,6	29,7	21,2 - 45,4	24,0 $\pm$ 10,3	23,0	14,0 - 40,2	16,0 $\pm$ 11,1	11,0	3,9 - 31,0	0,310	0,151

FoxP3+IL-1R+	0,9 ± 0,4	0,9	0,4 - 1,5	1,7 ± 2,3	0,0	0,0 - 4,7	1,5 ± 0,8	1,4	0,6 - 2,6	0,690	0,310
FoxP3-IL-1R+	0,3 ± 0,3	0,3	0,0 - 0,7	0,9 ± 1,1	0,7	0,0 - 2,6	1,6 ± 1,2	1,5	0,0 - 3,0	0,421	0,095
FoxP3+Ki67-	23,4 ± 4,2	21,2	19,9 - 30,3	24,7 ± 11,3	21,3	14,0 - 41,3	15,8 ± 8,7	11,8	6,6 - 27,8	1,000	0,310
FoxP3+Ki67+	7,9 ± 10,5	3,0	1,5 - 26,5	1,0 ± 1,2	0,7	0,0 - 2,8	1,9 ± 2,4	0,8	0,0 - 5,6	0,056	0,222
FoxP3-Ki67+	6,1 ± 7,3	3,0	0,5 - 18,4	1,6 ± 1,8	1,1	0,0 - 4,5	1,9 ± 1,6	2,5	0,0 - 3,7	0,222	0,310
FoxP3+CD62L-	30,1 ± 9,5	29,0	21,7 - 45,2	15,4 ± 6,2	13,2	11,1 - 26,3	15,6 ± 9,6	10,1	6,6 - 29,2	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,095
FoxP3+CD62L+	0,8 ± 0,2	0,8	0,5 - 1,1	10,0 ± 8,1	7,9	0,8 - 19,5	1,8 ± 1,5	2,0	0,0 - 3,7	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,548
FoxP3-CD62L+	2,5 ± 1,0	2,0	1,8 - 4,1	11,7 ± 6,0	11,9	5,4 - 20,6	6,6 ± 2,4	6,1	4,0 - 10,5	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,016<sup>R</sup></b>
IL-1R+Ki67-	0,9 ± 0,5	0,9	0,3 - 1,6	1,8 ± 2,8	0,8	0,0 - 6,6	2,7 ± 2,0	2,7	0,6 - 5,3	0,841	0,222
IL-1R+Ki67+	0,3 ± 0,2	0,4	0,0 - 0,5	0,9 ± 1,3	0,4	0,0 - 3,2	0,5 ± 0,5	0,5	0,0 - 0,9	0,690	0,421
IL-1R-Ki67+	13,8 ± 17,8	5,7	1,5 - 44,8	1,9 ± 2,1	0,7	0,0 - 4,5	3,4 ± 3,6	3,4	0,0 - 8,8	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,151
CD62L+IL-1R-	2,7 ± 1,1	2,6	1,8 - 4,6	18,4 ± 9,6	19,6	5,4 - 31,9	7,3 ± 2,1	6,5	5,1 - 10,5	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+IL-1R+	0,4 ± 0,2	0,5	0,0 - 0,6	2,3 ± 3,1	0,4	0,0 - 6,9	0,6 ± 0,6	0,9	0,0 - 1,4	1,000	0,548
CD62L-IL-1R+	0,8 ± 0,4	1,0	0,3 - 1,1	0,6 ± 0,6	0,7	0,0 - 1,3	2,5 ± 1,7	2,0	0,9 - 5,3	0,548	0,056
CD62L+Ki67-	2,6 ± 1,0	2,4	1,9 - 4,4	19,6 ± 11,8	19,7	6,2 - 38,0	7,5 ± 1,9	6,7	6,0 - 10,5	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+Ki67+	0,5 ± 0,3	0,6	0,0 - 0,7	1,5 ± 1,2	1,5	0,0 - 3,2	0,5 ± 0,6	0,3	0,0 - 1,4	0,095	1,000
CD62L-Ki67+	13,3 ± 17,5	5,7	1,5 - 43,9	1,2 ± 1,3	0,7	0,0 - 3,0	3,1 ± 3,2	2,7	0,0 - 7,4	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,222
CD62L+CCR6-	2,3 ± 1,0	2,4	1,0 - 3,7	10,7 ± 5,2	11,0	2,3 - 16,1	6,2 ± 1,9	5,4	4,7 - 9,2	0,056	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+CCR6+	0,8 ± 0,6	0,6	0,2 - 1,5	10,2 ± 8,0	6,7	3,9 - 23,0	1,7 ± 0,8	1,5	0,6 - 2,7	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,151
CD62L-CCR6+	9,3 ± 9,7	6,4	2,8 - 26,2	17,7 ± 8,1	18,1	7,5 - 29,5	13,2 ± 9,2	11,9	2,1 - 27,6	0,151	0,421
CCR6+Ki67-	9,3 ± 9,5	7,4	2,4 - 25,5	26,9 ± 11,5	31,0	11,9 - 40,0	14,1 ± 9,5	12,7	2,7 - 28,9	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,222
CCR6+Ki67+	0,8 ± 0,5	0,5	0,3 - 1,6	0,8 ± 0,9	0,7	0,0 - 2,1	0,7 ± 0,9	0,3	0,0 - 2,0	1,000	0,548
CCR6-Ki67+	13,1 ± 17,6	5,4	1,5 - 43,7	1,8 ± 1,8	1,7	0,0 - 4,5	3,0 ± 3,4	1,7	0,0 - 7,9	0,095	0,222
CCR6+IL-1R-	9,0 ± 9,2	6,9	2,7 - 25,1	25,9 ± 10,0	29,5	11,9 - 35,4	12,1 ± 7,4	11,3	1,8 - 22,4	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,548
CCR6+IL-1R+	0,8 ± 0,4	0,9	0,4 - 1,4	1,7 ± 2,2	0,4	0,0 - 5,1	2,1 ± 2,7	0,9	0,0 - 6,6	0,841	1,000
CCR6-IL-1R+	0,3 ± 0,2	0,3	0,0 - 0,6	1,2 ± 1,4	0,8	0,0 - 3,1	1,4 ± 1,5	0,9	0,0 - 3,9	0,548	0,095
CCR6+	11,5 ± 12,5	6,3	3,4 - 33,6	36,0 ± 10,7	32,6	26,0 - 49,3	26,7 ± 14,4	27,1	12,0 - 42,7	0,056	0,056
IL-10+	0,8 ± 0,3	0,8	0,5 - 1,2	0,4 ± 0,5	0,0	0,0 - 1,0	1,4 ± 1,2	1,3	0,0 - 2,7	0,222	0,690

FoxP3+	23,4 ± 8,8	22,8	15,3 - 37,1	23,8 ± 17,9	18,1	5,4 - 52,2	18,8 ± 4,8	17,0	15,5 - 27,1	0,841	0,690
IL-17+	0,8 ± 0,8	0,4	0,3 - 2,1	9,0 ± 10,4	3,0	0,7 - 22,0	1,4 ± 1,0	1,6	0,0 - 2,8	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,421
CD62L+	3,1 ± 1,1	2,6	2,4 - 5,1	20,9 ± 12,2	20,5	6,2 - 39,1	7,9 ± 1,9	7,4	6,0 - 10,5	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
Ki67+	13,9 ± 17,7	5,7	2,0 - 44,7	2,7 ± 2,0	3,8	0,0 - 4,5	3,8 ± 3,9	3,7	0,0 - 9,3	0,056	0,222
IL-1R+	1,1 ± 0,4	1,0	0,7 - 1,6	2,9 ± 3,6	1,2	0,0 - 8,2	3,4 ± 2,0	3,4	1,5 - 6,6	1,000	<b>0,016<sup>R</sup></b>

**Tabelle 42 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$  (nach Stimulierung „anti-IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen handelt es sich um Zellen, welche ursprünglich CD4+CD25-CD127- waren und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch CD4+CD25+CD127- geworden sind. Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25+CD127-	9,2 $\pm$ 5,7	7,0	4,9 - 19,1	9,6 $\pm$ 6,8	8,1	3,1 - 18,6	18,5 $\pm$ 12,9	16,0	6,6 - 39,1	0,841	0,222
IL-17+CCR6-	0,9 $\pm$ 1,0	0,4	0,0 - 2,4	4,9 $\pm$ 5,8	1,9	0,9 - 14,6	1,0 $\pm$ 1,0	0,4	0,0 - 2,3	0,151	0,841
IL-17+CCR6+	0,3 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 1,0	3,6 $\pm$ 4,5	0,9	0,0 - 8,9	0,6 $\pm$ 0,7	0,4	0,0 - 1,5	0,421	0,421
IL-17-CCR6+	8,5 $\pm$ 11,2	4,3	1,2 - 28,4	30,8 $\pm$ 15,3	26,1	15,1 - 48,8	23,3 $\pm$ 12,4	18,5	10,4 - 41,9	0,056	0,056
FoxP3+CCR6-	28,0 $\pm$ 4,5	27,5	22,0 - 34,6	12,2 $\pm$ 5,1	11,3	5,6 - 17,6	14,9 $\pm$ 4,5	15,9	8,1 - 19,7	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CCR6+	3,8 $\pm$ 6,2	1,4	0,0 - 14,8	14,0 $\pm$ 15,7	5,6	1,9 - 38,7	6,0 $\pm$ 2,8	5,3	3,3 - 10,1	0,095	0,151
FoxP3-CCR6+	4,9 $\pm$ 5,4	2,9	1,2 - 14,5	20,4 $\pm$ 11,2	15,7	13,2 - 40,2	17,9 $\pm$ 10,0	15,6	7,9 - 34,3	<b>0,016<sup>J</sup></b>	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3+IL-10-	31,1 $\pm$ 7,3	29,0	22,6 - 41,0	25,9 $\pm$ 19,9	13,2	11,2 - 56,2	20,3 $\pm$ 4,4	20,6	15,7 - 26,0	0,548	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
FoxP3+IL-10+	0,6 $\pm$ 0,7	0,4	0,0 - 1,8	0,2 $\pm$ 0,3	0,0	0,0 - 0,6	0,6 $\pm$ 1,0	0,0	0,0 - 2,3	0,421	0,548
FoxP3-IL-10+	0,2 $\pm$ 0,3	0,0	0,0 - 0,7	0,3 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 0,9	0,7 $\pm$ 0,4	0,8	0,4 - 1,3	0,841	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3+IL-17-	31,0 $\pm$ 7,5	27,5	23,2 - 41,3	20,2 $\pm$ 14,2	13,0	10,3 - 44,1	20,3 $\pm$ 4,4	20,6	15,7 - 26,0	0,151	<b>0,016<sup>HD</sup></b>
FoxP3+IL-17+	0,9 $\pm$ 1,0	0,4	0,0 - 2,4	6,3 $\pm$ 7,5	1,9	0,0 - 15,8	0,7 $\pm$ 1,0	0,4	0,0 - 2,3	0,310	0,690
FoxP3-IL-17+	0,3 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 0,7	2,6 $\pm$ 3,4	1,1	0,0 - 8,5	1,2 $\pm$ 1,2	1,1	0,0 - 2,4	0,056	0,310
CCR6+IL-10-	8,2 $\pm$ 11,4	3,8	0,6 - 28,4	33,4 $\pm$ 18,0	33,6	13,2 - 56,6	22,9 $\pm$ 12,3	17,8	10,9 - 41,9	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,095
CCR6+IL-10+	0,2 $\pm$ 0,2	0,3	0,0 - 0,4	0,3 $\pm$ 0,5	0,0	0,0 - 0,9	0,9 $\pm$ 0,9	0,5	0,0 - 2,3	1,000	0,095
CCR6-IL-10+	0,6 $\pm$ 0,7	0,5	0,0 - 1,8	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	0,4 $\pm$ 0,4	0,4	0,0 - 0,8	0,310	1,000
IL-17+IL-10-	0,8 $\pm$ 0,4	0,7	0,4 - 1,4	8,7 $\pm$ 10,1	1,9	1,1 - 23,5	1,5 $\pm$ 1,4	1,1	0,0 - 3,1	<b>0,016<sup>J</sup></b>	0,690
IL-17+IL-10+	0,4 $\pm$ 0,8	0,0	0,0 - 1,8	0,2 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 0,8	0,4 $\pm$ 0,6	0,0	0,0 - 1,5	0,841	0,841
IL-17-IL-10+	0,4 $\pm$ 0,5	0,4	0,0 - 1,0	0,3 $\pm$ 0,4	0,2	0,0 - 0,9	1,2 $\pm$ 0,7	1,0	0,4 - 2,2	0,841	0,151
FoxP3+IL-1R-	34,8 $\pm$ 12,1	34,0	21,5 - 53,4	19,6 $\pm$ 12,4	19,1	5,6 - 39,0	18,6 $\pm$ 6,2	16,7	13,3 - 29,2	0,095	<b>0,032<sup>HD</sup></b>

FoxP3+IL-1R+	0,6 ± 0,5	0,5	0,0 - 1,2	1,2 ± 1,7	0,8	0,0 - 4,2	0,9 ± 0,5	0,8	0,5 - 1,7	1,000	0,421
FoxP3-IL-1R+	0,6 ± 0,4	0,5	0,2 - 1,0	1,0 ± 1,4	0,4	0,0 - 3,3	1,0 ± 1,1	0,5	0,0 - 2,8	1,000	0,841
FoxP3+Ki67-	23,7 ± 8,0	20,4	13,9 - 33,5	20,7 ± 13,3	20,6	5,6 - 41,0	17,2 ± 3,6	17,3	13,1 - 22,6	0,841	0,222
FoxP3+Ki67+	11,8 ± 16,3	5,2	1,6 - 40,8	0,3 ± 0,7	0,0	0,0 - 1,6	2,5 ± 2,9	1,6	0,0 - 7,5	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,151
FoxP3-Ki67+	7,7 ± 7,3	4,4	2,1 - 19,7	1,2 ± 1,6	0,2	0,0 - 3,6	2,8 ± 2,6	2,3	0,0 - 6,6	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,222
FoxP3+CD62L-	33,8 ± 12,5	32,6	19,9 - 53,2	12,5 ± 9,2	11,9	2,2 - 25,7	17,1 ± 4,4	15,9	12,9 - 24,5	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	<b>0,016<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CD62L+	1,2 ± 0,7	1,1	0,5 - 2,1	7,8 ± 7,0	5,5	1,2 - 17,0	2,0 ± 1,6	1,2	0,7 - 4,7	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,310
FoxP3-CD62L+	1,6 ± 0,7	1,7	0,7 - 2,5	11,4 ± 5,4	10,5	6,0 - 18,0	5,2 ± 2,1	6,0	2,4 - 7,2	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,016<sup>R</sup></b>
IL-1R+Ki67-	1,0 ± 0,7	0,8	0,4 - 2,1	2,2 ± 2,2	1,2	0,0 - 5,4	1,8 ± 1,3	1,1	0,7 - 3,6	0,310	0,222
IL-1R+Ki67+	0,3 ± 0,4	0,1	0,0 - 0,8	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,2 ± 0,3	0,0	0,0 - 0,6	0,310	0,690
IL-1R-Ki67+	19,5 ± 23,0	10,0	4,2 - 59,8	1,4 ± 2,0	0,0	0,0 - 3,6	5,2 ± 5,5	4,4	0,0 - 14,2	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,151
CD62L+IL-1R-	2,3 ± 1,1	2,0	1,4 - 4,0	16,8 ± 8,4	20,6	7,1 - 26,4	6,3 ± 2,8	6,0	3,0 - 10,4	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,016<sup>R</sup></b>
CD62L+IL-1R+	0,4 ± 0,4	0,4	0,0 - 1,0	1,2 ± 2,4	0,0	0,0 - 5,5	0,6 ± 0,6	0,3	0,0 - 1,5	0,690	0,841
CD62L-IL-1R+	0,9 ± 0,7	1,0	0,0 - 1,7	1,0 ± 1,4	0,8	0,0 - 3,3	1,5 ± 1,6	0,8	0,0 - 4,0	0,690	0,690
CD62L+Ki67-	2,2 ± 1,4	1,6	1,0 - 4,2	17,8 ± 10,1	20,2	7,1 - 31,9	6,6 ± 3,1	6,2	3,2 - 11,3	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,016<sup>R</sup></b>
CD62L+Ki67+	0,5 ± 0,2	0,5	0,2 - 0,7	0,2 ± 0,3	0,0	0,0 - 0,8	0,3 ± 0,6	0,0	0,0 - 1,4	0,151	0,151
CD62L-Ki67+	18,9 ± 23,3	9,4	3,1 - 59,6	1,3 ± 1,8	0,0	0,0 - 3,6	4,6 ± 5,1	3,5	0,0 - 13,2	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,151
CD62L+CCR6-	2,0 ± 0,7	1,8	1,2 - 2,9	10,8 ± 5,5	9,5	5,6 - 17,4	4,8 ± 1,5	4,6	2,7 - 6,6	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,016<sup>R</sup></b>
CD62L+CCR6+	0,7 ± 0,6	0,6	0,0 - 1,5	7,2 ± 6,5	3,6	1,2 - 16,4	2,1 ± 1,9	1,6	0,4 - 4,7	<b>0,016<sup>J</sup></b>	0,222
CD62L-CCR6+	6,3 ± 6,4	4,6	1,3 - 17,5	20,9 ± 12,8	15,1	9,5 - 41,1	13,5 ± 7,6	14,2	1,2 - 20,5	0,056	0,310
CCR6+Ki67-	6,2 ± 6,3	4,6	1,4 - 17,1	27,7 ± 14,3	31,2	12,6 - 44,4	14,4 ± 7,9	17,0	1,2 - 22,1	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,310
CCR6+Ki67+	0,7 ± 0,9	0,1	0,0 - 1,9	0,3 ± 0,5	0,0	0,0 - 1,2	1,2 ± 1,1	1,6	0,0 - 2,3	0,548	0,548
CCR6-Ki67+	18,7 ± 23,0	7,7	3,7 - 59,0	1,2 ± 1,5	0,2	0,0 - 3,2	4,0 ± 4,8	2,6	0,0 - 12,3	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,056
CCR6+IL-1R-	5,8 ± 6,3	4,1	1,3 - 16,9	26,9 ± 13,3	28,5	12,3 - 42,2	14,3 ± 8,3	17,9	0,4 - 21,4	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,222
CCR6+IL-1R+	0,8 ± 0,5	0,9	0,1 - 1,5	1,1 ± 1,3	0,4	0,0 - 2,7	0,8 ± 0,9	0,5	0,0 - 2,4	0,841	0,548
CCR6-IL-1R+	0,5 ± 0,1	0,5	0,3 - 0,7	1,2 ± 1,1	1,0	0,0 - 3,1	1,3 ± 1,3	0,9	0,5 - 3,6	0,151	0,056
CCR6+	8,7 ± 11,6	4,3	1,2 - 29,4	34,4 ± 17,7	35,0	15,1 - 57,0	24,0 ± 11,8	18,9	11,7 - 41,9	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,095
IL-10+	0,8 ± 0,7	0,8	0,0 - 1,8	0,5 ± 0,5	0,5	0,0 - 1,0	1,3 ± 1,1	1,3	0,4 - 3,1	0,690	0,548

FoxP3+	31,9 ± 7,2	29,0	23,2 - 41,6	26,5 ± 20,3	13,2	11,2 - 57,0	21,0 ± 4,7	22,9	15,7 - 26,4	0,548	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
IL-17+	1,2 ± 0,8	0,9	0,4 - 2,4	8,9 ± 10,5	1,9	1,1 - 24,3	1,9 ± 2,0	1,1	0,0 - 4,6	0,095	0,841
CD62L+	2,7 ± 1,3	2,0	1,5 - 4,4	18,0 ± 10,2	20,9	7,2 - 32,1	6,9 ± 3,3	6,2	3,2 - 11,3	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,032<sup>R</sup></b>
Ki67+	19,4 ± 23,4	9,6	3,7 - 60,3	1,5 ± 1,9	0,2	0,0 - 3,6	5,1 ± 5,5	4,8	0,0 - 14,2	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,151
IL-1R+	1,3 ± 0,6	1,5	0,4 - 2,1	2,3 ± 2,3	1,2	0,0 - 5,8	2,1 ± 1,5	1,2	0,9 - 4,0	0,841	0,690

**Tabelle 43 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1RI (nach Stimulierung „RI“ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen handelt es sich um Zellen, welche ursprünglich CD4+CD25-CD127- waren und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch CD4+CD25+CD127- geworden sind. Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25+CD127-	10,0 $\pm$ 7,0	6,6	5,7 - 22,2	9,7 $\pm$ 6,3	10,4	3,7 - 19,3	17,2 $\pm$ 9,2	15,3	6,7 - 31,5	1,000	0,151
IL-17+CCR6-	0,2 $\pm$ 0,3	0,1	0,0 - 0,7	3,1 $\pm$ 4,7	0,9	0,0 - 11,4	0,6 $\pm$ 0,5	0,4	0,0 - 1,2	0,095	0,310
IL-17+CCR6+	0,3 $\pm$ 0,5	0,0	0,0 - 1,2	3,1 $\pm$ 4,3	0,9	0,0 - 9,9	0,8 $\pm$ 0,3	0,8	0,4 - 1,1	0,421	0,151
IL-17-CCR6+	12,6 $\pm$ 11,9	8,8	1,5 - 27,3	30,3 $\pm$ 16,3	22,9	12,6 - 50,0	18,8 $\pm$ 12,6	16,5	6,4 - 38,4	0,222	0,548
FoxP3+CCR6-	32,2 $\pm$ 9,2	28,2	23,0 - 42,4	13,3 $\pm$ 10,2	12,4	1,8 - 29,7	13,7 $\pm$ 6,1	14,0	4,7 - 21,8	0,056	<b>0,008</b> <sup>HD</sup>
FoxP3+CCR6+	5,1 $\pm$ 4,5	5,9	0,5 - 11,4	12,4 $\pm$ 15,2	4,4	1,8 - 38,1	5,1 $\pm$ 3,1	4,2	1,4 - 9,6	0,548	1,000
FoxP3-CCR6+	7,9 $\pm$ 7,8	4,1	1,0 - 16,4	21,0 $\pm$ 13,9	17,5	8,2 - 44,2	14,3 $\pm$ 9,7	12,5	5,9 - 29,5	0,095	0,222
FoxP3+IL-10-	36,9 $\pm$ 8,0	37,1	28,7 - 47,6	25,5 $\pm$ 18,1	26,9	3,5 - 50,0	18,2 $\pm$ 7,3	21,8	5,7 - 23,7	0,310	<b>0,008</b> <sup>HD</sup>
FoxP3+IL-10+	0,3 $\pm$ 0,5	0,0	0,0 - 1,1	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	0,6 $\pm$ 1,0	0,4	0,0 - 2,3	0,548	0,841
FoxP3-IL-10+	0,9 $\pm$ 1,1	0,6	0,0 - 2,7	0,4 $\pm$ 0,4	0,3	0,0 - 0,9	0,8 $\pm$ 0,9	0,7	0,0 - 2,4	0,690	1,000
FoxP3+IL-17-	36,9 $\pm$ 8,1	36,7	28,7 - 47,6	21,4 $\pm$ 15,1	17,6	2,7 - 39,6	18,3 $\pm$ 7,6	21,5	5,6 - 24,8	0,151	<b>0,008</b> <sup>HD</sup>
FoxP3+IL-17+	0,4 $\pm$ 0,5	0,4	0,0 - 1,2	4,6 $\pm$ 5,6	0,9	0,0 - 10,9	0,6 $\pm$ 0,3	0,6	0,4 - 1,1	0,222	0,421
FoxP3-IL-17+	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	2,0 $\pm$ 3,1	0,9	0,0 - 7,3	0,8 $\pm$ 0,6	0,7	0,0 - 1,6	0,421	0,095
CCR6+IL-10-	12,7 $\pm$ 11,9	9,4	1,5 - 27,3	32,4 $\pm$ 20,0	27,8	11,6 - 59,9	18,4 $\pm$ 12,3	16,2	6,4 - 37,3	0,095	0,548
CCR6+IL-10+	0,2 $\pm$ 0,3	0,1	0,0 - 0,6	0,2 $\pm$ 0,4	0,0	0,0 - 0,8	0,7 $\pm$ 0,4	0,7	0,0 - 1,1	0,548	0,095
CCR6-IL-10+	1,0 $\pm$ 1,1	0,6	0,0 - 2,3	0,3 $\pm$ 0,4	0,3	0,0 - 0,9	0,8 $\pm$ 0,7	0,4	0,0 - 1,6	0,548	0,841
IL-17+IL-10-	0,4 $\pm$ 0,4	0,6	0,0 - 0,8	6,5 $\pm$ 8,0	1,8	0,0 - 17,6	1,3 $\pm$ 0,4	1,5	0,7 - 1,7	0,222	<b>0,016</b> <sup>R</sup>
IL-17+IL-10+	0,1 $\pm$ 0,3	0,0	0,0 - 0,6	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	1,000	1,000
IL-17-IL-10+	1,5 $\pm$ 1,2	1,6	0,0 - 2,7	0,5 $\pm$ 0,5	0,8	0,0 - 1,0	1,8 $\pm$ 1,5	1,8	0,0 - 3,8	0,310	0,548
FoxP3+IL-1R-	42,3 $\pm$ 11,6	42,5	31,0 - 58,0	25,8 $\pm$ 17,5	25,3	2,8 - 51,8	13,4 $\pm$ 3,0	12,7	9,6 - 17,7	0,095	<b>0,008</b> <sup>HD</sup>

FoxP3+IL-1R+	0,6 ± 1,0	0,2	0,0 - 2,3	1,3 ± 1,7	0,7	0,0 - 3,9	0,4 ± 0,6	0,0	0,0 - 1,1	0,841	0,548
FoxP3-IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,2	0,0 - 0,3	0,8 ± 1,1	0,0	0,0 - 2,4	1,1 ± 0,5	0,9	0,6 - 1,7	1,000	<b>0,008<sup>R</sup></b>
FoxP3+Ki67-	31,1 ± 10,1	26,9	21,5 - 45,3	26,5 ± 17,5	25,7	2,8 - 52,2	12,1 ± 1,6	12,7	9,6 - 13,9	0,841	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
FoxP3+Ki67+	12,0 ± 14,0	5,8	4,3 - 36,9	0,8 ± 0,8	0,7	0,0 - 2,0	1,9 ± 2,5	1,3	0,0 - 6,1	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,056
FoxP3-Ki67+	6,0 ± 4,5	5,1	2,3 - 13,7	0,5 ± 0,6	0,0	0,0 - 1,2	1,5 ± 1,9	0,6	0,0 - 4,4	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,056
FoxP3+CD62L-	41,7 ± 12,2	39,4	30,0 - 57,3	16,3 ± 11,8	19,5	2,8 - 32,0	12,2 ± 2,8	11,5	8,7 - 16,0	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CD62L+	1,0 ± 1,1	0,8	0,0 - 2,7	10,6 ± 9,0	8,0	0,0 - 20,9	1,4 ± 1,0	0,9	0,6 - 2,8	0,095	0,548
FoxP3-CD62L+	1,7 ± 0,7	1,6	0,8 - 2,5	11,8 ± 7,2	9,2	5,1 - 23,8	5,4 ± 1,6	5,5	3,8 - 7,7	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
IL-1R+Ki67-	0,6 ± 0,9	0,2	0,0 - 2,3	1,8 ± 2,6	0,7	0,0 - 6,3	1,0 ± 0,4	0,9	0,6 - 1,6	0,841	0,151
IL-1R+Ki67+	0,1 ± 0,1	0,2	0,0 - 0,2	0,4 ± 0,9	0,0	0,0 - 2,0	0,5 ± 0,8	0,0	0,0 - 1,7	0,548	1,000
IL-1R-Ki67+	18,2 ± 18,2	9,8	8,4 - 50,6	1,0 ± 1,0	1,2	0,0 - 2,3	3,0 ± 3,9	1,9	0,0 - 9,4	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
CD62L+IL-1R-	2,1 ± 1,4	1,5	1,1 - 4,5	19,8 ± 10,7	16,1	8,4 - 36,9	5,6 ± 1,6	6,1	3,8 - 7,7	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,032<sup>R</sup></b>
CD62L+IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	1,1 ± 1,7	0,0	0,0 - 3,9	0,7 ± 1,0	0,0	0,0 - 2,2	0,690	0,690
CD62L-IL-1R+	0,7 ± 0,9	0,2	0,0 - 2,3	1,2 ± 1,4	0,7	0,0 - 2,9	0,9 ± 0,6	0,6	0,6 - 1,9	0,690	0,421
CD62L+Ki67-	2,0 ± 1,3	1,3	1,1 - 4,3	20,8 ± 12,3	16,1	8,4 - 40,8	5,5 ± 1,8	5,9	3,2 - 7,7	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,032<sup>R</sup></b>
CD62L+Ki67+	0,2 ± 0,3	0,2	0,0 - 0,5	0,2 ± 0,5	0,0	0,0 - 1,2	0,8 ± 0,9	0,6	0,0 - 2,2	0,548	0,421
CD62L-Ki67+	17,6 ± 18,0	9,4	7,9 - 49,7	1,0 ± 1,1	0,7	0,0 - 2,3	2,5 ± 3,5	1,3	0,0 - 8,3	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
CD62L+CCR6-	1,3 ± 1,1	1,4	0,0 - 2,9	12,2 ± 4,1	12,6	7,5 - 17,5	4,5 ± 1,4	4,2	2,5 - 6,1	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,016<sup>R</sup></b>
CD62L+CCR6+	0,8 ± 0,7	0,6	0,2 - 1,8	8,8 ± 10,0	3,4	0,9 - 23,3	1,8 ± 1,6	1,3	0,0 - 3,9	0,056	0,421
CD62L-CCR6+	8,2 ± 9,7	4,3	3,0 - 25,6	23,8 ± 10,4	18,9	12,6 - 37,4	13,7 ± 12,1	8,1	1,4 - 31,8	0,056	0,421
CCR6+Ki67-	8,4 ± 9,3	4,7	2,7 - 24,9	32,3 ± 13,6	38,3	16,1 - 45,5	14,3 ± 12,4	8,8	1,4 - 32,8	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,421
CCR6+Ki67+	0,6 ± 1,0	0,2	0,0 - 2,3	0,2 ± 0,4	0,0	0,0 - 0,8	1,2 ± 1,5	0,6	0,0 - 3,3	0,421	0,690
CCR6-Ki67+	17,3 ± 18,3	9,4	6,3 - 49,7	1,1 ± 1,2	0,7	0,0 - 2,4	2,1 ± 3,0	1,3	0,0 - 7,2	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	<b>0,016<sup>HD</sup></b>
CCR6+IL-1R-	8,5 ± 10,0	4,7	3,0 - 26,3	31,0 ± 13,0	37,4	16,1 - 44,7	14,5 ± 11,7	9,9	1,4 - 31,5	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,421
CCR6+IL-1R+	0,4 ± 0,5	0,3	0,0 - 1,2	0,9 ± 1,2	0,7	0,0 - 2,9	1,0 ± 0,7	1,3	0,0 - 1,7	0,690	0,151
CCR6-IL-1R+	0,4 ± 0,5	0,2	0,0 - 1,2	1,4 ± 2,0	0,0	0,0 - 3,9	0,6 ± 0,4	0,6	0,0 - 1,1	1,000	0,690
CCR6+	12,9 ± 11,9	10,0	1,5 - 27,7	33,4 ± 19,3	27,8	12,6 - 59,9	19,6 ± 12,7	16,9	7,3 - 39,5	0,095	0,421
IL-10+	1,2 ± 1,1	0,6	0,0 - 2,7	0,5 ± 0,4	0,5	0,0 - 0,9	1,5 ± 1,1	1,1	0,0 - 2,7	0,421	0,690

FoxP3+	37,4 ± 8,6	37,1	28,7 - 48,8	26,0 ± 18,3	28,2	3,6 - 50,5	18,9 ± 7,6	21,9	6,2 - 25,9	0,310	<b>0,008<sup>HD</sup></b>
IL-17+	0,6 ± 0,5	0,7	0,0 - 1,2	6,7 ± 8,2	1,8	0,0 - 17,9	1,4 ± 0,6	1,5	0,7 - 2,2	0,310	0,056
CD62L+	2,2 ± 1,4	1,6	1,2 - 4,7	21,0 ± 12,3	16,0	8,4 - 40,8	6,3 ± 2,5	6,5	3,8 - 10,0	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,032<sup>R</sup></b>
Ki67+	17,9 ± 18,2	9,6	8,1 - 50,3	1,2 ± 1,4	0,7	0,0 - 3,2	3,4 ± 4,4	1,9	0,0 - 10,5	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,056
IL-1R+	0,8 ± 0,9	0,5	0,0 - 2,4	2,3 ± 3,0	0,7	0,0 - 6,8	1,6 ± 0,9	1,7	0,6 - 2,8	0,690	0,151

**Tabelle 44 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation Unstimuliert (nach Stimulierung „Unstimuliert“ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25-CD127-	87,4 $\pm$ 8,4	91,0	72,6 - 92,7	86,3 $\pm$ 9,7	88,6	72,0 - 95,8	83,2 $\pm$ 9,1	84,2	70,6 - 94,4	1,000	0,421
IL-17+CCR6-	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	1,000	1,000
IL-17+CCR6+	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,690	1,000
IL-17-CCR6+	8,1 $\pm$ 14,3	1,7	1,5 - 33,7	30,0 $\pm$ 15,5	29,3	14,2 - 45,8	12,3 $\pm$ 13,6	7,3	2,7 - 35,6	0,056	0,095
FoxP3+CCR6-	4,0 $\pm$ 5,0	1,8	1,5 - 12,9	1,5 $\pm$ 2,4	0,7	0,0 - 5,8	2,7 $\pm$ 2,4	1,7	0,5 - 6,6	0,095	0,548
FoxP3+CCR6+	0,5 $\pm$ 0,6	0,2	0,1 - 1,4	5,0 $\pm$ 7,7	0,5	0,0 - 17,8	0,7 $\pm$ 0,5	0,8	0,1 - 1,2	0,841	0,548
FoxP3-CCR6+	7,7 $\pm$ 13,9	1,5	1,4 - 32,5	25,2 $\pm$ 12,9	22,8	14,3 - 45,8	11,8 $\pm$ 13,3	6,5	2,8 - 34,6	0,095	0,095
FoxP3+IL-10-	4,3 $\pm$ 4,5	2,3	1,8 - 12,2	6,5 $\pm$ 9,9	1,5	0,1 - 23,3	3,4 $\pm$ 2,6	2,9	0,6 - 7,5	0,548	0,841
FoxP3+IL-10+	0,2 $\pm$ 0,5	0,0	0,0 - 1,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,841	0,841
FoxP3-IL-10+	1,3 $\pm$ 1,9	0,5	0,2 - 4,7	0,4 $\pm$ 0,4	0,4	0,1 - 0,8	1,6 $\pm$ 1,4	0,8	0,4 - 3,1	0,548	0,548
FoxP3+IL-17-	4,3 $\pm$ 4,8	2,1	1,8 - 12,9	6,4 $\pm$ 9,6	1,5	0,1 - 22,7	3,3 $\pm$ 2,6	2,9	0,6 - 7,5	0,548	0,690
FoxP3+IL-17+	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,690	0,690
FoxP3-IL-17+	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,2 $\pm$ 0,1	0,2	0,1 - 0,4	0,2 $\pm$ 0,2	0,2	0,0 - 0,5	0,310	0,548
CCR6+IL-10-	6,9 $\pm$ 12,5	1,4	1,2 - 29,2	26,4 $\pm$ 15,0	26,5	11,2 - 41,8	10,2 $\pm$ 11,4	5,8	1,9 - 29,5	0,056	0,095
CCR6+IL-10+	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,310	1,000
CCR6-IL-10+	1,5 $\pm$ 2,5	0,4	0,2 - 5,9	0,4 $\pm$ 0,3	0,3	0,0 - 0,7	1,6 $\pm$ 1,5	0,8	0,3 - 3,3	0,548	0,548
IL-17+IL-10-	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,841	0,690
IL-17+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,690	0,690
IL-17-IL-10+	1,6 $\pm$ 2,5	0,6	0,2 - 6,0	0,5 $\pm$ 0,5	0,4	0,1 - 1,2	1,7 $\pm$ 1,6	0,8	0,4 - 3,5	0,548	0,548
FoxP3+IL-1R-	3,7 $\pm$ 2,4	3,3	1,6 - 7,5	1,6 $\pm$ 1,8	0,7	0,7 - 4,8	1,7 $\pm$ 1,5	1,4	0,3 - 4,0	0,095	0,151
FoxP3+IL-1R+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	1,000	1,000

FoxP3-IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,4	1,000	0,151
FoxP3+Ki67-	3,0 ± 1,3	2,9	1,6 - 4,4	1,5 ± 1,8	0,7	0,6 - 4,7	1,6 ± 1,4	1,2	0,2 - 3,8	0,151	0,151
FoxP3+Ki67+	0,7 ± 1,3	0,2	0,0 - 3,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,222	0,222
FoxP3-Ki67+	3,4 ± 5,0	1,3	0,7 - 12,4	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,5	1,0 ± 1,5	0,3	0,2 - 3,6	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,095
FoxP3+CD62L-	3,6 ± 2,4	3,1	1,6 - 7,4	1,3 ± 1,5	0,6	0,5 - 4,0	1,5 ± 1,4	1,4	0,2 - 3,6	0,056	0,151
FoxP3+CD62L+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,6	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	<b>0,032<sup>J</sup></b>	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3-CD62L+	0,5 ± 0,2	0,6	0,3 - 0,7	6,2 ± 4,0	3,9	3,5 - 12,7	3,4 ± 2,1	2,6	0,9 - 6,3	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
IL-1R+Ki67-	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,4	1,000	0,222
IL-1R+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	1,000	0,690
IL-1R-Ki67+	4,0 ± 6,2	1,3	0,9 - 15,2	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,4	0,9 ± 1,4	0,3	0,2 - 3,4	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,095
CD62L+IL-1R-	0,5 ± 0,2	0,5	0,2 - 0,7	5,9 ± 3,5	3,6	3,5 - 11,5	3,3 ± 2,0	2,6	0,9 - 5,8	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,690	1,000
CD62L-IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,5	1,000	0,310
CD62L+Ki67-	0,5 ± 0,2	0,5	0,2 - 0,7	6,0 ± 3,6	3,6	3,6 - 11,8	3,3 ± 2,1	2,6	0,7 - 5,9	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,016<sup>R</sup></b>
CD62L+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	1,000	0,690
CD62L-Ki67+	4,1 ± 6,3	1,3	1,0 - 15,3	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,5	1,0 ± 1,5	0,3	0,2 - 3,6	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,095
CD62L+CCR6-	0,5 ± 0,2	0,5	0,2 - 0,7	3,1 ± 1,6	2,7	1,4 - 5,7	3,0 ± 2,1	2,0	0,7 - 5,7	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+CCR6+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	3,1 ± 3,6	2,0	0,7 - 9,4	0,3 ± 0,3	0,3	0,0 - 0,8	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,056
CD62L-CCR6+	5,3 ± 9,6	1,1	0,7 - 22,5	19,0 ± 8,3	19,0	9,4 - 32,0	8,6 ± 10,0	4,2	0,0 - 25,0	0,095	0,421
CCR6+Ki67-	5,1 ± 9,4	1,1	0,6 - 21,9	21,6 ± 9,7	20,3	9,6 - 34,2	8,6 ± 10,0	3,9	0,0 - 25,1	0,056	0,421
CCR6+Ki67+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,841	0,690
CCR6-Ki67+	4,0 ± 6,2	1,3	0,7 - 15,0	0,1 ± 0,2	0,0	0,0 - 0,5	0,8 ± 1,3	0,3	0,1 - 3,1	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,095
CCR6+IL-1R-	5,2 ± 9,4	1,1	0,7 - 22,1	21,7 ± 9,6	20,4	9,7 - 34,2	8,7 ± 10,1	4,2	0,0 - 25,4	0,056	0,421
CCR6+IL-1R+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	1,000	0,421
CCR6-IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,2 ± 0,1	0,2	0,0 - 0,4	0,548	0,222
CCR6+	8,1 ± 14,4	1,7	1,5 - 33,8	30,1 ± 15,6	29,5	14,2 - 45,9	12,4 ± 13,7	7,3	2,7 - 35,7	0,056	0,095
IL-10+	1,5 ± 2,5	0,5	0,2 - 5,9	0,5 ± 0,5	0,4	0,1 - 1,1	1,6 ± 1,5	0,8	0,4 - 3,3	0,548	0,548
FoxP3+	4,4 ± 4,9	2,1	1,8 - 13,1	6,5 ± 9,8	1,5	0,1 - 23,2	3,3 ± 2,6	2,9	0,6 - 7,5	0,548	0,690

IL-17+	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,6	0,3 ± 0,3	0,2	0,1 - 0,8	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,5	0,310	0,690
CD62L+	0,5 ± 0,2	0,6	0,2 - 0,7	6,2 ± 3,6	3,9	3,7 - 12,0	3,3 ± 2,0	2,6	0,9 - 6,0	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
Ki67+	4,1 ± 6,2	1,3	1,0 - 15,2	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,5	0,9 ± 1,4	0,3	0,2 - 3,5	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,095
IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,3 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,5	0,841	0,222

**Tabelle 45 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation IL-1 $\beta$  (nach Stimulierung „IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25-CD127-	92,2 $\pm$ 3,4	94,1	86,5 - 94,8	89,1 $\pm$ 5,2	89,2	83,4 - 94,5	82,5 $\pm$ 9,4	85,0	70,2 - 92,2	0,310	0,056
IL-17+CCR6-	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,3 $\pm$ 0,2	0,3	0,0 - 0,6	0,690	0,151
IL-17+CCR6+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	1,000	0,310
IL-17-CCR6+	4,7 $\pm$ 7,5	1,6	0,9 - 18,1	19,3 $\pm$ 8,9	16,7	11,2 - 29,6	14,7 $\pm$ 10,9	19,7	2,9 - 26,6	0,056	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3+CCR6-	1,2 $\pm$ 0,5	1,2	0,6 - 1,9	0,6 $\pm$ 0,4	0,6	0,1 - 1,1	2,4 $\pm$ 2,3	1,4	0,9 - 6,5	0,056	0,421
FoxP3+CCR6+	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,1 - 0,6	2,0 $\pm$ 2,6	0,1	0,0 - 5,0	0,7 $\pm$ 0,8	0,4	0,1 - 2,1	0,841	0,151
FoxP3-CCR6+	4,6 $\pm$ 7,3	1,5	0,8 - 17,6	17,6 $\pm$ 8,4	12,3	11,3 - 29,6	14,1 $\pm$ 10,6	17,8	2,8 - 26,2	0,056	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3+IL-10-	1,3 $\pm$ 0,5	1,5	0,7 - 1,9	2,5 $\pm$ 2,9	0,7	0,1 - 6,0	3,0 $\pm$ 3,0	1,7	1,5 - 8,4	0,690	0,222
FoxP3+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	1,000	0,310
FoxP3-IL-10+	0,3 $\pm$ 0,2	0,3	0,1 - 0,6	0,3 $\pm$ 0,2	0,3	0,1 - 0,4	1,8 $\pm$ 2,1	1,5	0,2 - 5,3	0,690	0,222
FoxP3+IL-17-	1,3 $\pm$ 0,5	1,5	0,7 - 1,8	2,4 $\pm$ 2,8	0,7	0,2 - 5,8	3,0 $\pm$ 3,0	1,7	1,6 - 8,3	0,690	0,151
FoxP3+IL-17+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	1,000	0,310
FoxP3-IL-17+	0,1 $\pm$ 0,0	0,1	0,1 - 0,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,3 $\pm$ 0,3	0,3	0,0 - 0,8	0,421	0,421
CCR6+IL-10-	3,9 $\pm$ 6,4	1,3	0,6 - 15,4	16,2 $\pm$ 8,7	14,1	8,1 - 26,9	12,0 $\pm$ 9,2	16,2	1,9 - 21,7	0,056	<b>0,032<sup>R</sup></b>
CCR6+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,2 $\pm$ 0,3	0,1	0,0 - 0,7	0,841	0,151
CCR6-IL-10+	0,3 $\pm$ 0,1	0,3	0,2 - 0,5	0,2 $\pm$ 0,1	0,2	0,1 - 0,4	1,7 $\pm$ 2,0	1,4	0,2 - 5,1	0,421	0,151
IL-17+IL-10-	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,2 $\pm$ 0,3	0,1	0,0 - 0,7	0,690	0,548
IL-17+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	1,000	1,000
IL-17-IL-10+	0,3 $\pm$ 0,2	0,3	0,2 - 0,6	0,3 $\pm$ 0,2	0,3	0,1 - 0,5	1,9 $\pm$ 2,2	1,5	0,3 - 5,8	0,690	0,095
FoxP3+IL-1R-	2,9 $\pm$ 3,1	2,2	0,7 - 8,3	1,3 $\pm$ 1,1	1,0	0,1 - 2,5	4,2 $\pm$ 4,6	1,4	0,7 - 11,3	0,421	0,841
FoxP3+IL-1R+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,310	0,151

FoxP3-IL-1R+	0,1 ± 0,0	0,1	0,0 - 0,1	0,2 ± 0,3	0,1	0,0 - 0,6	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,841	0,841
FoxP3+Ki67-	2,4 ± 2,0	2,1	0,7 - 5,8	1,2 ± 1,0	0,9	0,1 - 2,3	4,0 ± 4,2	1,3	0,6 - 10,4	0,548	0,841
FoxP3+Ki67+	0,5 ± 1,1	0,0	0,0 - 2,5	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,2 ± 0,4	0,1	0,0 - 0,9	0,841	0,841
FoxP3-Ki67+	1,5 ± 2,0	0,7	0,4 - 5,0	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,6	0,5 ± 0,6	0,3	0,0 - 1,5	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,151
FoxP3+CD62L-	2,9 ± 3,0	2,1	0,7 - 8,2	1,1 ± 1,0	0,9	0,1 - 2,2	4,1 ± 4,4	1,3	0,7 - 10,9	0,310	0,841
FoxP3+CD62L+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 ± 0,1	0,2	0,0 - 0,3	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,151	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3-CD62L+	1,0 ± 0,2	0,9	0,8 - 1,3	5,3 ± 3,6	3,4	1,9 - 10,5	3,3 ± 1,6	2,5	1,7 - 5,1	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
IL-1R+Ki67-	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,2 ± 0,3	0,1	0,0 - 0,7	0,548	0,548
IL-1R+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 ± 0,2	0,0	0,0 - 0,4	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,310	0,690
IL-1R-Ki67+	2,0 ± 3,0	0,8	0,3 - 7,3	0,2 ± 0,1	0,2	0,0 - 0,3	0,7 ± 0,9	0,3	0,0 - 2,3	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,151
CD62L+IL-1R-	0,9 ± 0,2	0,8	0,7 - 1,1	5,1 ± 3,5	3,2	2,0 - 10,3	3,1 ± 1,5	2,2	1,8 - 4,9	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,690	0,310
CD62L-IL-1R+	0,1 ± 0,0	0,1	0,0 - 0,1	0,2 ± 0,3	0,2	0,0 - 0,7	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,548	0,841
CD62L+Ki67-	0,9 ± 0,2	0,8	0,7 - 1,1	5,1 ± 3,6	3,2	2,0 - 10,4	3,2 ± 1,6	2,2	2,0 - 5,0	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	1,000	0,690
CD62L-Ki67+	2,0 ± 3,0	0,8	0,4 - 7,3	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,6	0,7 ± 0,9	0,3	0,0 - 2,3	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,151
CD62L+CCR6-	0,8 ± 0,1	0,8	0,7 - 1,0	3,4 ± 2,0	2,8	1,0 - 6,0	3,0 ± 1,5	2,3	1,6 - 4,9	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+CCR6+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	1,8 ± 2,2	1,0	0,4 - 5,7	0,3 ± 0,3	0,1	0,0 - 0,8	<b>0,008<sup>J</sup></b>	0,841
CD62L-CCR6+	4,7 ± 7,9	1,4	0,6 - 18,8	12,7 ± 5,5	13,0	5,2 - 18,8	5,8 ± 5,4	4,8	0,0 - 14,7	0,095	0,548
CCR6+Ki67-	4,6 ± 7,7	1,5	0,5 - 18,4	14,3 ± 6,7	13,6	5,5 - 22,5	5,8 ± 4,9	5,1	0,0 - 13,7	0,056	0,548
CCR6+Ki67+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,548	0,548
CCR6-Ki67+	1,9 ± 2,9	0,6	0,4 - 7,2	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,6	0,7 ± 0,9	0,3	0,0 - 2,3	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,222
CCR6+IL-1R-	4,7 ± 7,8	1,5	0,5 - 18,6	14,3 ± 6,7	13,8	5,4 - 22,3	5,9 ± 5,3	5,1	0,0 - 14,5	0,056	0,548
CCR6+IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,222	0,548
CCR6-IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,548	0,548
CCR6+	4,7 ± 7,5	1,6	0,9 - 18,1	19,3 ± 8,9	16,7	11,2 - 29,6	14,8 ± 10,9	19,9	2,9 - 26,7	0,056	<b>0,032<sup>R</sup></b>
IL-10+	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,6	0,3 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,4	1,8 ± 2,2	1,5	0,2 - 5,5	0,690	0,222
FoxP3+	1,3 ± 0,5	1,5	0,7 - 1,8	2,4 ± 2,8	0,7	0,2 - 5,8	3,1 ± 3,0	1,8	1,6 - 8,4	0,690	0,095

IL-17+	0,1 ± 0,0	0,1	0,1 - 0,2	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,4 ± 0,4	0,3	0,0 - 0,9	0,421	0,421
CD62L+	0,9 ± 0,2	0,9	0,8 - 1,2	5,2 ± 3,6	3,2	2,0 - 10,4	3,3 ± 1,6	2,3	2,0 - 5,1	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
Ki67+	2,0 ± 3,0	0,8	0,4 - 7,3	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,7	0,7 ± 1,0	0,3	0,0 - 2,4	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,151
IL-1R+	0,1 ± 0,0	0,1	0,0 - 0,1	0,3 ± 0,3	0,2	0,0 - 0,7	0,2 ± 0,3	0,1	0,0 - 0,6	0,548	0,841

**Tabelle 46 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1 $\beta$  (nach Stimulierung „anti-IL-1 $\beta$ “ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25-CD127-	90,5 $\pm$ 5,7	93,0	80,6 - 94,8	90,0 $\pm$ 6,7	91,6	81,3 - 96,6	80,7 $\pm$ 13,4	83,8	59,2 - 93,2	0,841	0,222
IL-17+CCR6-	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,3 $\pm$ 0,4	0,1	0,1 - 1,0	0,310	0,690
IL-17+CCR6+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,310	0,310
IL-17-CCR6+	4,0 $\pm$ 6,5	1,3	0,4 - 15,7	20,8 $\pm$ 12,9	19,4	8,2 - 39,7	9,9 $\pm$ 6,6	9,5	3,3 - 18,4	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,095
FoxP3+CCR6-	2,8 $\pm$ 1,6	2,6	0,8 - 4,9	0,6 $\pm$ 0,4	0,5	0,2 - 1,3	3,4 $\pm$ 3,6	1,9	0,6 - 9,5	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,841
FoxP3+CCR6+	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	2,1 $\pm$ 2,9	0,1	0,0 - 5,9	0,6 $\pm$ 0,9	0,2	0,2 - 2,3	0,548	0,151
FoxP3-CCR6+	4,0 $\pm$ 6,4	1,2	0,4 - 15,4	18,9 $\pm$ 11,1	15,2	8,3 - 34,2	9,4 $\pm$ 6,3	9,5	3,3 - 18,1	0,056	0,095
FoxP3+IL-10-	2,7 $\pm$ 1,6	2,6	0,6 - 4,9	2,7 $\pm$ 3,2	0,5	0,3 - 7,1	3,8 $\pm$ 4,2	2,1	0,9 - 11,0	0,690	1,000
FoxP3+IL-10+	0,2 $\pm$ 0,1	0,2	0,0 - 0,3	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,2 $\pm$ 0,3	0,1	0,0 - 0,7	0,095	0,690
FoxP3-IL-10+	0,6 $\pm$ 0,4	0,4	0,3 - 1,2	0,3 $\pm$ 0,2	0,1	0,1 - 0,6	1,9 $\pm$ 1,8	1,3	0,2 - 4,1	0,151	0,421
FoxP3+IL-17-	2,8 $\pm$ 1,6	2,6	0,6 - 5,0	2,6 $\pm$ 3,2	0,4	0,3 - 6,9	3,8 $\pm$ 4,4	2,1	0,8 - 11,4	0,690	1,000
FoxP3+IL-17+	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,548	0,690
FoxP3-IL-17+	0,2 $\pm$ 0,0	0,2	0,1 - 0,2	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,4 $\pm$ 0,5	0,2	0,1 - 1,3	0,421	0,690
CCR6+IL-10-	3,3 $\pm$ 5,4	0,9	0,4 - 13,0	17,6 $\pm$ 11,5	16,8	6,1 - 34,1	7,8 $\pm$ 5,7	7,4	1,9 - 15,4	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,095
CCR6+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,2 $\pm$ 0,3	0,1	0,0 - 0,5	0,095	0,222
CCR6-IL-10+	0,7 $\pm$ 0,4	0,6	0,3 - 1,4	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,6	1,9 $\pm$ 1,8	1,4	0,2 - 4,4	0,056	0,690
IL-17+IL-10-	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,3 $\pm$ 0,4	0,1	0,1 - 1,0	0,841	0,421
IL-17+IL-10+	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,548	0,548
IL-17-IL-10+	0,8 $\pm$ 0,5	0,6	0,3 - 1,5	0,3 $\pm$ 0,3	0,1	0,1 - 0,8	2,1 $\pm$ 2,0	1,5	0,2 - 4,8	0,095	0,548
FoxP3+IL-1R-	4,7 $\pm$ 4,6	2,3	1,6 - 12,4	0,9 $\pm$ 0,4	0,8	0,4 - 1,3	4,1 $\pm$ 2,6	3,0	1,9 - 8,0	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,690
FoxP3+IL-1R+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,690	0,548

FoxP3-IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,6	0,3 ± 0,3	0,2	0,1 - 0,8	0,690	0,421
FoxP3+Ki67-	3,4 ± 2,3	2,2	1,4 - 6,5	0,9 ± 0,4	0,8	0,4 - 1,4	3,8 ± 2,3	2,8	1,9 - 7,5	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,548
FoxP3+Ki67+	1,2 ± 2,5	0,2	0,0 - 5,7	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,2 ± 0,3	0,1	0,0 - 0,7	<b>0,032<sup>HD</sup></b>	0,690
FoxP3-Ki67+	2,8 ± 3,4	1,5	1,0 - 8,9	0,4 ± 0,5	0,2	0,1 - 1,2	0,8 ± 1,0	0,3	0,1 - 2,5	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,095
FoxP3+CD62L-	4,6 ± 4,5	2,3	1,6 - 12,2	0,8 ± 0,3	0,7	0,4 - 1,3	3,8 ± 2,3	2,8	1,8 - 7,3	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,841
FoxP3+CD62L+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,2 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,4	0,222	<b>0,032<sup>R</sup></b>
FoxP3-CD62L+	0,7 ± 0,2	0,6	0,4 - 1,0	4,8 ± 2,8	2,9	2,5 - 8,3	3,4 ± 1,0	3,4	2,0 - 4,6	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
IL-1R+Ki67-	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,2 ± 0,1	0,1	0,1 - 0,4	0,3 ± 0,3	0,2	0,1 - 0,8	0,222	0,151
IL-1R+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,2	0,0	0,0 - 0,4	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	1,000	1,000
IL-1R-Ki67+	4,0 ± 5,9	1,6	0,9 - 14,5	0,3 ± 0,3	0,2	0,1 - 0,8	1,0 ± 1,2	0,3	0,2 - 3,0	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,151
CD62L+IL-1R-	0,6 ± 0,2	0,6	0,3 - 0,9	4,5 ± 2,6	2,7	2,6 - 7,9	3,3 ± 1,0	3,3	2,0 - 4,5	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,690	0,310
CD62L-IL-1R+	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,2 ± 0,2	0,1	0,1 - 0,6	0,3 ± 0,2	0,2	0,1 - 0,7	0,548	0,310
CD62L+Ki67-	0,6 ± 0,3	0,6	0,3 - 1,0	4,6 ± 2,7	2,7	2,5 - 8,0	3,4 ± 0,9	3,4	2,1 - 4,4	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,690	0,548
CD62L-Ki67+	4,0 ± 5,9	1,6	1,0 - 14,5	0,4 ± 0,5	0,2	0,1 - 1,2	1,0 ± 1,1	0,4	0,2 - 2,9	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,151
CD62L+CCR6-	0,6 ± 0,2	0,6	0,3 - 0,8	3,4 ± 2,5	2,6	1,2 - 7,6	3,1 ± 1,0	2,9	1,9 - 4,6	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+CCR6+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	1,3 ± 1,5	0,6	0,0 - 3,9	0,4 ± 0,4	0,5	0,0 - 1,0	0,095	0,151
CD62L-CCR6+	2,4 ± 3,5	1,1	0,4 - 8,6	13,1 ± 7,8	14,5	4,5 - 22,1	7,1 ± 5,1	7,0	0,0 - 14,4	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,421
CCR6+Ki67-	2,4 ± 3,4	1,1	0,4 - 8,4	14,0 ± 8,3	18,0	4,4 - 22,6	7,2 ± 5,3	7,4	0,0 - 14,9	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,421
CCR6+Ki67+	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,690	0,841
CCR6-Ki67+	4,0 ± 5,9	1,6	1,0 - 14,5	0,3 ± 0,4	0,2	0,1 - 1,0	1,0 ± 1,1	0,3	0,2 - 2,9	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,151
CCR6+IL-1R-	2,5 ± 3,4	1,2	0,4 - 8,5	14,0 ± 8,3	18,1	4,3 - 22,6	7,2 ± 5,3	7,3	0,0 - 14,8	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,421
CCR6+IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,310	0,222
CCR6-IL-1R+	0,1 ± 0,2	0,0	0,0 - 0,4	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,6	0,421	0,310
CCR6+	4,0 ± 6,5	1,3	0,4 - 15,7	20,9 ± 13,0	19,6	8,2 - 39,9	9,9 ± 6,6	9,5	3,4 - 18,4	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,095
IL-10+	0,8 ± 0,4	0,5	0,4 - 1,4	0,3 ± 0,3	0,2	0,1 - 0,7	2,1 ± 2,0	1,5	0,2 - 4,8	0,056	0,548
FoxP3+	2,9 ± 1,6	2,6	0,8 - 5,0	2,6 ± 3,2	0,4	0,3 - 7,0	3,8 ± 4,5	2,1	0,8 - 11,6	0,690	0,690

IL-17+	0,3 ± 0,1	0,2	0,1 - 0,4	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,4 ± 0,6	0,2	0,1 - 1,5	0,421	0,841
CD62L+	0,7 ± 0,2	0,7	0,3 - 1,0	4,7 ± 2,8	2,8	2,6 - 8,2	3,5 ± 1,0	3,4	2,1 - 4,6	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
Ki67+	4,1 ± 5,9	1,6	1,0 - 14,6	0,3 ± 0,4	0,2	0,1 - 1,1	1,0 ± 1,3	0,3	0,2 - 3,2	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	0,151
IL-1R+	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,3 ± 0,3	0,1	0,1 - 0,8	0,4 ± 0,4	0,2	0,1 - 1,0	0,310	0,151

**Tabelle 47 Prozentualer Anteil der verschiedenen T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen in der Poststimulation anti-IL-1RI (nach Stimulierung „RI“ im IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch).**

Sämtliche Werte werden als Mittelwert (Mean)  $\pm$  Standardabweichung (SD) aufgeführt. Desweiteren werden der Median und die Minimal- beziehungsweise Maximalwerte (Min – Max) angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert. Die hochgestellten Buchstaben <sup>HD</sup> (für HD), <sup>J</sup> (für JIA-Patientinnen) und <sup>R</sup> (für RA-Patientinnen) hinter den signifikanten p-Werten geben an, welche der drei Versuchsarme mit den höheren Rangsummen vergesellschaftet ist.

	HD			JIA			RA			p-Wert	
	Mean $\pm$ SD	Median	Min -Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	Mean $\pm$ SD	Median	Min - Max	HD - JIA	HD - RA
CD25-CD127-	89,6 $\pm$ 6,9	93,1	77,6 - 93,9	89,9 $\pm$ 6,3	88,9	80,5 - 96,0	82,2 $\pm$ 9,4	83,9	67,9 - 93,0	1,000	0,151
IL-17+CCR6-	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,1 - 0,5	0,421	0,421
IL-17+CCR6+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,1 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,690	0,310
IL-17-CCR6+	5,2 $\pm$ 7,3	2,9	0,6 - 18,1	21,1 $\pm$ 13,5	16,2	8,8 - 43,1	9,5 $\pm$ 10,1	6,0	1,5 - 26,0	0,056	0,421
FoxP3+CCR6-	3,5 $\pm$ 3,1	2,2	1,0 - 8,9	0,9 $\pm$ 0,8	0,8	0,2 - 2,3	2,7 $\pm$ 2,4	2,5	0,3 - 6,7	0,056	0,841
FoxP3+CCR6+	0,2 $\pm$ 0,2	0,2	0,0 - 0,6	2,8 $\pm$ 4,1	0,3	0,1 - 9,7	0,6 $\pm$ 0,8	0,2	0,0 - 1,9	0,310	0,841
FoxP3-CCR6+	5,0 $\pm$ 7,1	2,7	0,6 - 17,5	18,5 $\pm$ 10,2	13,7	8,6 - 33,7	9,1 $\pm$ 9,5	5,5	1,5 - 24,5	0,056	0,421
FoxP3+IL-10-	3,6 $\pm$ 2,8	2,4	1,6 - 8,5	3,6 $\pm$ 4,1	2,5	0,4 - 10,2	3,1 $\pm$ 2,7	2,4	0,3 - 7,1	1,000	0,690
FoxP3+IL-10+	0,1 $\pm$ 0,2	0,0	0,0 - 0,5	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,2 $\pm$ 0,2	0,2	0,0 - 0,3	0,690	0,690
FoxP3-IL-10+	1,0 $\pm$ 1,1	0,4	0,1 - 2,9	0,3 $\pm$ 0,2	0,3	0,1 - 0,7	1,8 $\pm$ 1,7	1,6	0,2 - 4,5	0,310	0,421
FoxP3+IL-17-	3,6 $\pm$ 3,0	2,2	1,5 - 8,9	3,5 $\pm$ 4,0	2,6	0,4 - 10,1	3,1 $\pm$ 2,6	2,5	0,3 - 7,0	1,000	0,841
FoxP3+IL-17+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	1,000	1,000
FoxP3-IL-17+	0,2 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,1 $\pm$ 0,0	0,1	0,0 - 0,1	0,4 $\pm$ 0,4	0,4	0,0 - 1,0	0,421	0,421
CCR6+IL-10-	4,3 $\pm$ 6,5	2,1	0,5 - 15,9	17,9 $\pm$ 13,0	13,9	6,5 - 39,1	7,5 $\pm$ 8,3	4,4	0,9 - 21,1	0,056	0,421
CCR6+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,3 $\pm$ 0,2	0,2	0,0 - 0,5	0,095	0,056
CCR6-IL-10+	1,1 $\pm$ 1,5	0,3	0,1 - 3,6	0,3 $\pm$ 0,2	0,2	0,1 - 0,6	1,8 $\pm$ 1,7	1,5	0,2 - 4,5	0,310	0,421
IL-17+IL-10-	0,1 $\pm$ 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,1 $\pm$ 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,3 $\pm$ 0,2	0,2	0,1 - 0,6	0,841	0,222
IL-17+IL-10+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,690	0,310
IL-17-IL-10+	1,2 $\pm$ 1,4	0,4	0,1 - 3,6	0,4 $\pm$ 0,3	0,3	0,2 - 0,9	2,0 $\pm$ 1,9	1,8	0,2 - 5,0	0,421	0,421
FoxP3+IL-1R-	5,7 $\pm$ 5,7	3,9	1,7 - 15,8	1,7 $\pm$ 1,6	1,2	0,2 - 4,2	1,1 $\pm$ 0,9	1,0	0,3 - 2,7	0,151	<b>0,016<sup>HD</sup></b>
FoxP3+IL-1R+	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 $\pm$ 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 $\pm$ 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,690	0,310

FoxP3-IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,548	0,841
FoxP3+Ki67-	4,2 ± 2,9	3,7	1,6 - 9,1	1,7 ± 1,5	1,1	0,2 - 4,1	1,1 ± 1,0	0,8	0,3 - 2,7	0,151	<b>0,016<sup>HD</sup></b>
FoxP3+Ki67+	1,5 ± 2,9	0,2	0,1 - 6,6	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	<b>0,016<sup>HD</sup></b>	<b>0,032<sup>HD</sup></b>
FoxP3-Ki67+	2,6 ± 3,2	1,1	0,9 - 8,3	0,1 ± 0,2	0,0	0,0 - 0,4	0,7 ± 0,8	0,2	0,0 - 1,6	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,310
FoxP3+CD62L-	5,6 ± 5,6	3,8	1,7 - 15,5	1,5 ± 1,4	1,2	0,2 - 3,8	1,1 ± 0,9	0,9	0,3 - 2,7	0,095	<b>0,016<sup>HD</sup></b>
FoxP3+CD62L+	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,2	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,4	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,421	0,690
FoxP3-CD62L+	0,6 ± 0,2	0,6	0,5 - 0,9	5,4 ± 2,5	6,7	2,1 - 7,9	3,0 ± 1,7	2,6	1,1 - 5,3	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
IL-1R+Ki67-	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,1	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,548	0,310
IL-1R+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,690	0,690
IL-1R-Ki67+	3,9 ± 5,9	1,2	1,2 - 14,5	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,7 ± 0,8	0,2	0,0 - 1,6	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,222
CD62L+IL-1R-	0,6 ± 0,2	0,5	0,4 - 1,0	5,2 ± 2,3	6,3	2,1 - 7,6	2,8 ± 1,6	2,5	1,1 - 5,0	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,690	1,000
CD62L-IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,690	0,421
CD62L+Ki67-	0,6 ± 0,2	0,5	0,5 - 1,0	5,3 ± 2,3	6,5	2,4 - 7,8	2,8 ± 1,5	2,5	1,1 - 4,9	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+Ki67+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,1	0,690	1,000
CD62L-Ki67+	4,0 ± 5,9	1,2	1,2 - 14,6	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,7 ± 0,8	0,2	0,0 - 1,8	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,310
CD62L+CCR6-	0,6 ± 0,2	0,5	0,4 - 0,9	4,0 ± 2,3	3,3	1,2 - 7,5	2,7 ± 1,5	2,4	1,1 - 4,6	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
CD62L+CCR6+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	1,5 ± 1,3	1,3	0,2 - 3,5	0,2 ± 0,2	0,2	0,0 - 0,5	<b>0,016<sup>J</sup></b>	0,690
CD62L-CCR6+	3,8 ± 6,4	0,8	0,6 - 15,3	16,3 ± 8,6	18,7	5,6 - 26,0	6,0 ± 5,9	2,7	0,0 - 12,9	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,548
CCR6+Ki67-	3,7 ± 6,2	0,9	0,7 - 14,7	17,4 ± 9,3	21,8	5,7 - 27,5	6,0 ± 5,9	2,8	0,0 - 13,0	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,548
CCR6+Ki67+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,548	0,548
CCR6-Ki67+	3,9 ± 6,0	1,2	1,0 - 14,6	0,1 ± 0,2	0,0	0,0 - 0,4	0,7 ± 0,8	0,2	0,0 - 1,7	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,222
CCR6+IL-1R-	3,8 ± 6,3	0,9	0,7 - 15,0	17,5 ± 9,2	21,6	5,9 - 27,6	6,0 ± 5,9	2,9	0,0 - 13,0	<b>0,032<sup>J</sup></b>	0,548
CCR6+IL-1R+	0,0 ± 0,0	0,0	0,0 - 0,0	0,1 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,3	0,0 ± 0,1	0,0	0,0 - 0,1	0,310	0,310
CCR6-IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,3	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,690	0,690
CCR6+	5,2 ± 7,3	2,9	0,6 - 18,1	21,1 ± 13,5	16,2	8,8 - 43,3	9,6 ± 10,2	6,2	1,5 - 26,3	0,056	0,421
IL-10+	1,1 ± 1,3	0,4	0,1 - 3,4	0,4 ± 0,2	0,3	0,1 - 0,7	1,9 ± 1,8	1,9	0,2 - 4,8	0,310	0,421
FoxP3+	3,6 ± 3,1	2,2	1,5 - 9,0	3,6 ± 4,0	2,6	0,4 - 10,2	3,1 ± 2,7	2,5	0,3 - 7,1	1,000	0,841

IL-17+	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,6	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,4 ± 0,4	0,4	0,0 - 1,1	0,690	0,548
CD62L+	0,7 ± 0,3	0,5	0,5 - 1,1	5,5 ± 2,4	6,5	2,5 - 8,1	2,9 ± 1,6	2,6	1,1 - 5,1	<b>0,008<sup>J</sup></b>	<b>0,008<sup>R</sup></b>
Ki67+	4,0 ± 6,0	1,3	1,2 - 14,7	0,1 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,4	0,7 ± 0,8	0,2	0,0 - 1,8	<b>0,008<sup>HD</sup></b>	0,310
IL-1R+	0,1 ± 0,1	0,1	0,0 - 0,2	0,2 ± 0,3	0,1	0,0 - 0,5	0,2 ± 0,2	0,1	0,0 - 0,5	0,690	0,421

**Tabelle 48 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen der HD.**  
Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	HD					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25+CD127-	1,000	1,000	1,000	1,000	0,841	1,000
IL-17+CCR6-	1,000	1,000	0,841	0,548	0,222	1,000
IL-17+CCR6+	0,690	0,841	0,548	0,841	0,690	0,548
IL-17-CCR6+	0,841	0,690	1,000	0,690	0,841	1,000
FoxP3+CCR6-	0,056	0,310	0,421	0,310	0,095	0,690
FoxP3+CCR6+	0,222	0,310	0,421	0,421	1,000	0,841
FoxP3-CCR6+	0,095	0,151	0,421	0,310	0,548	1,000
FoxP3+IL-10-	<b>0,008</b>	0,095	0,222	0,095	0,222	1,000
FoxP3+IL-10+	0,548	1,000	0,841	0,421	0,690	0,690
FoxP3-IL-10+	0,421	1,000	0,222	0,548	0,310	0,548
FoxP3+IL-17-	<b>0,008</b>	0,095	0,310	0,056	0,222	1,000
FoxP3+IL-17+	0,548	1,000	0,690	0,310	0,690	0,690
FoxP3-IL-17+	0,690	1,000	0,690	0,841	1,000	1,000
CCR6+IL-10-	0,841	0,690	0,841	1,000	0,841	0,841
CCR6+IL-10+	0,841	0,421	0,841	0,548	1,000	0,690
CCR6-IL-10+	0,222	0,841	1,000	0,151	0,151	1,000
IL-17+IL-10-	0,548	1,000	0,548	0,421	0,690	0,548
IL-17+IL-10+	0,310	0,548	0,548	0,690	0,690	1,000
IL-17-IL-10+	0,421	0,841	0,548	0,222	0,421	0,690
FoxP3+IL-1R-	1,000	0,841	0,548	0,690	0,421	0,310
FoxP3+IL-1R+	0,841	0,690	0,151	1,000	0,310	0,222
FoxP3-IL-1R+	0,421	0,841	0,222	1,000	0,222	0,151
FoxP3+Ki67-	0,690	0,421	0,841	1,000	0,548	0,690
FoxP3+Ki67+	0,841	1,000	0,421	0,690	0,548	0,690
FoxP3-Ki67+	0,690	0,690	1,000	0,548	0,421	0,841
FoxP3+CD62L-	0,548	0,690	1,000	1,000	0,421	1,000
FoxP3+CD62L+	0,690	1,000	0,690	0,421	0,548	0,841
FoxP3-CD62L+	0,548	0,841	1,000	0,841	0,690	0,841
IL-1R+Ki67-	1,000	0,690	0,222	1,000	0,310	0,222
IL-1R+Ki67+	0,548	1,000	0,548	0,548	1,000	0,548
IL-1R-Ki67+	0,841	0,548	0,421	0,548	0,222	0,548
CD62L+IL-1R-	0,222	0,841	0,421	0,690	1,000	0,690
CD62L+IL-1R+	1,000	0,841	0,151	1,000	0,151	0,151
CD62L-IL-1R+	0,841	0,690	0,151	0,841	0,151	0,222
CD62L+Ki67-	0,421	1,000	1,000	0,690	0,690	0,841
CD62L+Ki67+	0,841	1,000	0,421	0,841	0,421	0,690
CD62L-Ki67+	0,690	0,690	0,421	0,690	0,421	0,690
CD62L+CCR6-	0,310	1,000	1,000	0,690	0,690	1,000

CD62L+CCR6+	1,000	1,000	1,000	1,000	0,841	0,841
CD62L-CCR6+	1,000	0,548	0,690	0,421	0,690	0,690
CCR6+Ki67-	1,000	0,421	0,548	0,690	0,690	0,690
CCR6+Ki67+	0,310	0,690	0,690	0,841	0,222	0,548
CCR6-Ki67+	0,841	0,690	0,310	0,690	0,548	0,690
CCR6+IL-1R-	0,841	0,841	0,310	0,690	0,310	0,310
CCR6+IL-1R+	1,000	0,690	0,151	0,690	0,222	0,222
CCR6-IL-1R+	0,690	0,841	0,310	0,690	0,310	0,421
CCR6+	0,841	0,690	1,000	0,841	0,841	0,841
IL-10+	0,421	1,000	0,690	0,222	0,310	0,841
FoxP3+	<b>0,008</b>	0,095	0,222	0,095	0,310	1,000
IL-17+	0,548	1,000	0,548	0,421	0,690	0,421
CD62L+	0,548	1,000	1,000	0,841	0,841	0,841
Ki67+	0,690	0,841	0,421	0,690	0,548	0,690
IL-1R+	0,841	0,548	0,151	0,841	0,310	0,151
CD25-CD127-	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

**Tabelle 49 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen der JIA-Patientinnen.**

Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	JIA					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25+CD127-	0,690	0,310	1,000	0,310	0,690	0,690
IL-17+CCR6-	0,690	0,690	1,000	0,690	0,841	0,548
IL-17+CCR6+	0,690	0,222	0,548	0,421	1,000	0,548
IL-17-CCR6+	0,841	1,000	0,841	1,000	0,841	0,690
FoxP3+CCR6-	0,690	1,000	1,000	0,841	1,000	1,000
FoxP3+CCR6+	0,841	0,841	1,000	0,841	1,000	0,841
FoxP3-CCR6+	0,841	1,000	1,000	0,841	0,841	1,000
FoxP3+IL-10-	0,690	0,841	1,000	0,841	0,841	0,548
FoxP3+IL-10+	0,690	0,841	1,000	0,841	1,000	1,000
FoxP3-IL-10+	0,690	0,841	0,841	0,841	0,841	1,000
FoxP3+IL-17-	0,690	0,841	0,841	1,000	0,841	0,841
FoxP3+IL-17+	0,690	0,421	0,841	0,548	0,841	0,421
FoxP3-IL-17+	1,000	1,000	0,421	0,690	1,000	0,690
CCR6+IL-10-	0,841	0,841	1,000	0,841	0,841	1,000
CCR6+IL-10+	0,548	0,690	0,690	0,841	0,421	0,548
CCR6-IL-10+	0,690	0,548	0,690	0,841	0,841	1,000
IL-17+IL-10-	0,690	0,421	0,690	0,690	0,690	0,548
IL-17+IL-10+	0,548	0,841	0,690	0,690	0,421	0,548
IL-17-IL-10+	0,548	0,421	0,548	1,000	1,000	0,841
FoxP3+IL-1R-	0,690	0,841	0,548	0,690	0,690	0,690
FoxP3+IL-1R+	0,690	0,690	0,548	0,841	0,421	0,421
FoxP3-IL-1R+	0,548	0,841	<b>0,008</b>	0,421	<b>0,008</b>	<b>0,008</b>
FoxP3+Ki67-	0,548	0,421	0,690	0,841	0,841	0,690
FoxP3+Ki67+	0,841	0,690	0,841	0,841	0,421	0,548
FoxP3-Ki67+	0,222	0,548	0,841	0,841	0,310	0,690
FoxP3+CD62L-	0,548	0,548	0,690	1,000	0,690	0,548
FoxP3+CD62L+	0,841	1,000	0,841	1,000	0,841	1,000
FoxP3-CD62L+	0,690	0,841	0,690	0,310	0,841	0,841
IL-1R+Ki67-	1,000	0,690	0,310	1,000	0,222	0,222
IL-1R+Ki67+	0,421	0,421	0,548	0,841	0,690	0,548
IL-1R-Ki67+	0,690	1,000	0,548	0,690	0,310	0,548
CD62L+IL-1R-	1,000	0,841	0,841	0,841	1,000	1,000
CD62L+IL-1R+	0,841	0,548	0,421	1,000	0,421	0,421
CD62L-IL-1R+	1,000	0,548	0,056	0,690	0,151	0,222
CD62L+Ki67-	1,000	0,841	0,841	1,000	0,841	1,000
CD62L+Ki67+	0,548	0,421	1,000	0,841	0,421	0,690
CD62L-Ki67+	0,548	1,000	0,841	0,421	0,310	0,690

CD62L+CCR6-	0,841	0,548	0,841	0,841	1,000	1,000
CD62L+CCR6+	1,000	1,000	0,841	1,000	0,841	1,000
CD62L-CCR6+	0,841	1,000	1,000	0,690	0,690	1,000
CCR6+Ki67-	0,548	0,548	0,548	1,000	0,548	0,548
CCR6+Ki67+	0,548	0,548	0,841	0,841	0,841	0,841
CCR6-Ki67+	0,548	0,841	1,000	0,548	0,421	0,841
CCR6+IL-1R-	0,690	0,690	0,421	1,000	0,841	0,841
CCR6+IL-1R+	1,000	0,841	0,310	0,841	0,310	0,222
CCR6-IL-1R+	0,841	0,548	0,421	0,841	0,222	0,310
CCR6+	0,841	0,841	1,000	0,841	0,841	1,000
IL-10+	0,548	0,690	1,000	0,841	0,841	1,000
FoxP3+	0,690	0,841	1,000	0,841	0,841	0,548
IL-17+	0,548	0,421	0,690	0,690	0,690	0,548
CD62L+	1,000	0,841	0,841	1,000	0,841	1,000
Ki67+	0,690	0,841	0,841	0,690	0,421	0,548
IL-1R+	0,841	0,690	0,310	1,000	0,310	0,222
CD25-CD127-	0,690	0,310	1,000	0,310	0,841	0,690

**Tabelle 50 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25+CD127- Zellen der RA-Patientinnen.**

Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	RA					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25+CD127-	1,000	1,000	0,841	0,841	1,000	1,000
IL-17+CCR6-	0,310	0,690	0,310	0,310	1,000	0,310
IL-17+CCR6+	0,690	0,690	0,690	1,000	1,000	0,841
IL-17-CCR6+	1,000	0,841	0,841	0,841	1,000	1,000
FoxP3+CCR6-	0,548	0,421	1,000	1,000	0,690	0,548
FoxP3+CCR6+	0,421	0,421	0,548	0,841	0,841	0,690
FoxP3-CCR6+	0,548	0,548	0,841	0,690	0,690	0,841
FoxP3+IL-10-	0,310	0,095	1,000	0,690	0,841	0,548
FoxP3+IL-10+	0,548	0,841	1,000	0,690	0,421	0,548
FoxP3-IL-10+	1,000	0,841	0,841	1,000	0,690	1,000
FoxP3+IL-17-	0,310	0,095	0,841	0,548	0,690	0,548
FoxP3+IL-17+	0,222	0,690	0,310	0,841	0,841	1,000
FoxP3-IL-17+	0,841	0,841	0,690	0,841	0,690	0,841
CCR6+IL-10-	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,841
CCR6+IL-10+	0,548	0,841	1,000	0,548	1,000	0,841
CCR6-IL-10+	0,421	0,548	0,841	0,841	0,421	0,690
IL-17+IL-10-	0,548	0,690	0,548	0,841	1,000	0,690
IL-17+IL-10+	0,841	0,690	0,548	0,690	0,841	1,000
IL-17-IL-10+	0,421	0,690	0,548	0,548	0,690	0,690
FoxP3+IL-1R-	0,690	1,000	0,841	0,690	0,548	0,841
FoxP3+IL-1R+	0,421	1,000	0,310	0,548	0,690	0,548
FoxP3-IL-1R+	1,000	0,841	0,421	0,690	0,222	0,310
FoxP3+Ki67-	0,548	0,841	0,690	0,310	0,841	0,841
FoxP3+Ki67+	0,421	1,000	1,000	0,421	0,690	0,841
FoxP3-Ki67+	0,690	0,548	0,421	1,000	0,421	1,000
FoxP3+CD62L-	0,690	0,841	0,841	1,000	0,841	0,841
FoxP3+CD62L+	0,421	0,222	0,421	0,095	1,000	0,095
FoxP3-CD62L+	1,000	0,548	1,000	0,548	0,841	0,841
IL-1R+Ki67-	1,000	1,000	0,310	1,000	0,310	0,310
IL-1R+Ki67+	0,548	0,841	0,310	0,841	0,690	0,690
IL-1R-Ki67+	0,310	1,000	0,690	0,310	0,310	0,690
CD62L+IL-1R-	0,548	0,222	0,151	0,151	0,095	0,841
CD62L+IL-1R+	0,841	1,000	0,310	1,000	0,548	0,310
CD62L-IL-1R+	1,000	0,690	0,222	0,421	0,222	0,310
CD62L+Ki67-	0,841	0,690	0,690	0,421	0,841	0,690
CD62L+Ki67+	1,000	1,000	0,841	0,841	1,000	0,690
CD62L-Ki67+	0,548	0,841	1,000	0,548	1,000	1,000

CD62L+CCR6-	0,841	0,690	1,000	0,310	0,548	0,548
CD62L+CCR6+	1,000	0,690	0,841	1,000	1,000	0,690
CD62L-CCR6+	0,690	0,841	0,841	0,548	0,690	0,690
CCR6+Ki67-	0,690	0,841	1,000	0,690	0,690	1,000
CCR6+Ki67+	0,841	1,000	0,841	0,548	0,690	1,000
CCR6-Ki67+	0,548	0,690	0,841	0,548	1,000	0,841
CCR6+IL-1R-	0,841	1,000	0,690	0,841	0,690	0,421
CCR6+IL-1R+	1,000	0,841	0,548	1,000	0,548	0,548
CCR6-IL-1R+	0,841	0,841	0,222	1,000	0,310	0,151
CCR6+	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
IL-10+	0,310	1,000	0,548	0,690	0,548	0,841
FoxP3+	0,310	0,095	1,000	0,841	0,841	0,548
IL-17+	0,548	0,690	0,548	0,841	1,000	0,841
CD62L+	0,690	0,690	1,000	0,421	1,000	0,548
Ki67+	0,421	0,841	0,841	0,421	1,000	0,841
IL-1R+	1,000	1,000	0,222	0,841	0,310	0,310
CD25-CD127-	1,000	1,000	0,841	1,000	1,000	1,000

**Tabelle 51 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127-Zellen der HD.**

Bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen handelt es sich um Zellen, welche ursprünglich CD4+CD25-CD127- waren und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch CD4+CD25+CD127- geworden sind. Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	HD					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25+CD127-	0,222	0,222	0,310	0,690	0,310	1,000
IL-17+CCR6-	1,000	0,310	0,841	0,310	0,690	0,310
IL-17+CCR6+	1,000	0,841	0,841	0,421	0,421	1,000
IL-17-CCR6+	0,841	0,095	1,000	0,310	0,841	0,841
FoxP3+CCR6-	0,056	0,421	0,421	<b>0,032</b>	<b>0,016</b>	0,690
FoxP3+CCR6+	0,310	0,222	1,000	0,548	0,841	0,690
FoxP3-CCR6+	0,690	0,310	0,841	0,151	0,690	0,690
FoxP3+IL-10-	0,095	1,000	0,310	0,151	<b>0,032</b>	0,222
FoxP3+IL-10+	0,310	0,841	0,421	0,310	0,841	0,548
FoxP3-IL-10+	0,690	0,548	0,690	0,222	1,000	0,421
FoxP3+IL-17-	0,056	0,690	0,310	0,151	<b>0,032</b>	0,151
FoxP3+IL-17+	0,841	0,548	1,000	0,548	0,841	0,548
FoxP3-IL-17+	0,548	0,690	1,000	0,841	0,421	1,000
CCR6+IL-10-	0,690	0,095	1,000	0,310	1,000	0,841
CCR6+IL-10+	0,548	0,690	0,690	0,841	1,000	0,841
CCR6-IL-10+	0,548	0,548	0,841	0,690	0,841	0,548
IL-17+IL-10-	1,000	0,421	1,000	0,310	1,000	0,310
IL-17+IL-10+	0,548	1,000	1,000	0,841	0,841	1,000
IL-17-IL-10+	0,690	0,310	0,841	0,421	0,310	0,222
FoxP3+IL-1R-	0,548	1,000	0,310	0,548	0,151	0,421
FoxP3+IL-1R+	0,690	0,841	0,690	0,421	0,151	0,548
FoxP3-IL-1R+	0,548	0,310	0,310	0,222	0,548	<b>0,032</b>
FoxP3+Ki67-	0,690	1,000	0,690	0,841	0,151	0,222
FoxP3+Ki67+	0,222	1,000	0,548	0,548	0,222	0,548
FoxP3-Ki67+	0,310	0,548	0,548	0,548	0,690	1,000
FoxP3+CD62L-	0,548	1,000	0,548	0,690	0,151	0,421
FoxP3+CD62L+	0,841	0,548	0,841	0,548	1,000	0,690
FoxP3-CD62L+	<b>0,032</b>	0,310	0,222	0,222	0,222	0,841
IL-1R+Ki67-	1,000	0,841	0,690	1,000	0,222	0,151
IL-1R+Ki67+	0,841	1,000	0,548	0,841	0,421	0,841
IL-1R-Ki67+	0,310	0,841	1,000	0,548	0,310	1,000
CD62L+IL-1R-	<b>0,032</b>	0,056	1,000	0,421	0,151	0,548
CD62L+IL-1R+	0,095	0,310	1,000	0,841	0,095	0,310
CD62L-IL-1R+	1,000	0,841	0,421	0,690	0,310	0,548
CD62L+Ki67-	<b>0,016</b>	0,310	0,548	0,421	0,151	0,841
CD62L+Ki67+	0,690	0,690	0,548	0,548	0,151	0,151

CD62L-Ki67+	0,222	0,841	0,841	0,548	0,310	0,841
CD62L+CCR6-	0,095	0,095	1,000	0,690	0,222	0,310
CD62L+CCR6+	0,548	0,690	0,310	0,841	0,841	0,690
CD62L-CCR6+	0,690	0,690	1,000	0,548	0,841	0,841
CCR6+Ki67-	0,548	0,841	1,000	0,421	0,841	0,548
CCR6+Ki67+	0,548	0,222	0,310	0,548	0,421	1,000
CCR6-Ki67+	0,421	0,841	1,000	0,421	0,310	0,841
CCR6+IL-1R-	0,690	0,548	1,000	0,421	1,000	0,421
CCR6+IL-1R+	0,690	1,000	0,548	1,000	0,151	0,222
CCR6-IL-1R+	0,421	0,690	0,690	0,222	1,000	0,548
CCR6+	1,000	0,095	1,000	0,310	1,000	0,841
IL-10+	0,690	0,690	1,000	0,690	1,000	0,690
FoxP3+	0,056	1,000	0,310	0,151	<b>0,032</b>	0,310
IL-17+	0,690	0,151	0,841	0,222	1,000	0,222
CD62L+	0,056	0,056	0,548	0,421	0,095	0,421
Ki67+	0,222	0,841	1,000	0,548	0,310	0,841
IL-1R+	1,000	0,841	0,548	0,548	0,151	0,310

**Tabelle 52 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127-Zellen der JIA-Patientinnen.**

Bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen handelt es sich um Zellen, welche ursprünglich CD4+CD25-CD127- waren und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch CD4+CD25+CD127- geworden sind. Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	JIA					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25+CD127-	0,841	0,548	0,548	0,690	0,841	0,690
IL-17+CCR6-	1,000	0,690	1,000	0,421	0,841	0,310
IL-17+CCR6+	0,690	0,421	0,421	1,000	0,690	1,000
IL-17-CCR6+	0,421	0,548	0,421	0,841	0,548	1,000
FoxP3+CCR6-	0,841	0,841	0,690	1,000	1,000	1,000
FoxP3+CCR6+	0,841	0,690	0,690	1,000	1,000	0,841
FoxP3-CCR6+	1,000	0,421	0,421	0,421	0,421	1,000
FoxP3+IL-10-	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
FoxP3+IL-10+	1,000	0,841	1,000	0,841	1,000	0,548
FoxP3-IL-10+	1,000	0,690	0,310	0,841	0,548	0,690
FoxP3+IL-17-	0,841	1,000	1,000	1,000	0,841	0,841
FoxP3+IL-17+	0,841	0,841	0,841	0,841	0,421	0,548
FoxP3-IL-17+	1,000	1,000	0,690	1,000	0,690	0,548
CCR6+IL-10-	0,421	0,310	0,421	1,000	0,841	1,000
CCR6+IL-10+	1,000	0,841	1,000	0,548	1,000	0,548
CCR6-IL-10+	1,000	0,841	0,548	0,841	0,548	0,421
IL-17+IL-10-	0,841	0,548	0,421	0,841	0,421	0,421
IL-17+IL-10+	1,000	0,690	1,000	0,548	1,000	0,690
IL-17-IL-10+	0,690	0,841	0,690	0,690	0,841	0,548
FoxP3+IL-1R-	0,548	1,000	0,421	0,421	0,841	0,421
FoxP3+IL-1R+	0,690	0,841	0,841	1,000	1,000	1,000
FoxP3-IL-1R+	0,548	0,548	0,548	1,000	0,841	0,841
FoxP3+Ki67-	0,548	1,000	0,421	0,548	0,841	0,421
FoxP3+Ki67+	0,841	0,548	1,000	0,310	0,841	0,421
FoxP3-Ki67+	0,421	0,841	1,000	0,548	0,310	0,548
FoxP3+CD62L-	0,151	0,841	0,548	0,548	1,000	0,548
FoxP3+CD62L+	1,000	0,690	1,000	0,690	0,841	0,690
FoxP3-CD62L+	1,000	0,841	1,000	1,000	1,000	1,000
IL-1R+Ki67-	0,421	0,841	0,421	0,690	1,000	0,690
IL-1R+Ki67+	0,421	1,000	1,000	0,222	0,421	1,000
IL-1R-Ki67+	0,548	1,000	0,690	0,310	0,690	1,000
CD62L+IL-1R-	0,841	0,690	0,841	0,841	0,841	0,841
CD62L+IL-1R+	0,548	1,000	0,841	0,548	0,548	1,000
CD62L-IL-1R+	0,095	0,421	0,841	0,690	0,690	1,000
CD62L+Ki67-	0,690	0,690	0,841	1,000	0,841	0,841
CD62L+Ki67+	0,095	0,841	1,000	0,056	0,095	0,841

CD62L-Ki67+	0,841	0,841	1,000	0,690	0,690	1,000
CD62L+CCR6-	0,841	0,841	1,000	1,000	0,841	0,690
CD62L+CCR6+	0,690	0,690	0,548	0,310	0,548	1,000
CD62L-CCR6+	0,548	0,421	1,000	1,000	0,548	0,690
CCR6+Ki67-	0,310	0,310	0,690	0,841	0,421	0,421
CCR6+Ki67+	0,690	0,841	0,548	0,421	0,310	0,690
CCR6-Ki67+	0,421	0,841	0,690	0,548	0,548	0,841
CCR6+IL-1R-	0,222	0,548	0,690	0,841	0,421	0,421
CCR6+IL-1R+	0,690	0,421	0,222	0,690	1,000	1,000
CCR6-IL-1R+	0,690	0,421	0,690	0,841	1,000	0,841
CCR6+	0,421	0,310	0,310	1,000	0,841	1,000
IL-10+	0,841	0,548	0,310	0,690	0,690	1,000
FoxP3+	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
IL-17+	0,841	0,548	0,421	0,841	0,421	0,421
CD62L+	0,841	0,690	0,841	1,000	1,000	0,841
Ki67+	0,548	1,000	1,000	0,222	0,222	0,841
IL-1R+	0,690	0,548	0,690	1,000	0,841	0,841

**Tabelle 53 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den konvertierten CD4+CD25+CD127-Zellen der RA-Patientinnen.**

Bei den konvertierten CD4+CD25+CD127- Zellen handelt es sich um Zellen, welche ursprünglich CD4+CD25-CD127- waren und nach dem IL-1 $\beta$  3 Tage Versuch CD4+CD25+CD127- geworden sind. Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	RA					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25+CD127-	1,000	0,841	0,841	1,000	1,000	1,000
IL-17+CCR6-	1,000	0,310	0,841	0,548	0,841	0,690
IL-17+CCR6+	0,841	0,690	0,690	0,690	0,841	0,690
IL-17-CCR6+	0,841	0,841	0,421	0,841	0,310	0,421
FoxP3+CCR6-	0,690	0,690	0,548	0,421	0,841	0,690
FoxP3+CCR6+	0,841	0,690	0,421	0,841	0,841	0,841
FoxP3-CCR6+	1,000	0,690	0,421	0,841	0,310	0,421
FoxP3+IL-10-	0,690	1,000	1,000	0,421	0,548	1,000
FoxP3+IL-10+	0,310	0,310	0,421	1,000	0,841	0,841
FoxP3-IL-10+	0,690	0,548	0,690	1,000	0,841	0,690
FoxP3+IL-17-	0,548	1,000	1,000	0,222	0,690	1,000
FoxP3+IL-17+	0,421	0,690	0,310	0,548	0,548	0,690
FoxP3-IL-17+	0,421	0,841	1,000	0,421	0,421	0,841
CCR6+IL-10-	0,841	0,690	0,421	1,000	0,310	0,548
CCR6+IL-10+	0,841	1,000	0,841	0,690	1,000	1,000
CCR6-IL-10+	0,095	0,095	0,095	0,421	0,690	0,548
IL-17+IL-10-	0,690	0,841	0,690	0,841	1,000	0,841
IL-17+IL-10+	0,690	0,690	1,000	1,000	0,690	0,690
IL-17-IL-10+	0,056	0,095	0,421	1,000	0,548	0,548
FoxP3+IL-1R-	1,000	0,548	0,690	0,548	1,000	0,095
FoxP3+IL-1R+	1,000	0,690	0,151	0,222	0,095	0,421
FoxP3-IL-1R+	0,548	0,690	0,690	0,548	0,548	0,421
FoxP3+Ki67-	1,000	0,151	0,690	0,548	1,000	<b>0,016</b>
FoxP3+Ki67+	1,000	0,690	1,000	0,690	1,000	0,690
FoxP3-Ki67+	0,548	1,000	0,421	0,690	0,690	0,548
FoxP3+CD62L-	0,841	0,421	0,841	0,548	1,000	0,095
FoxP3+CD62L+	0,841	0,841	0,690	0,841	0,841	0,421
FoxP3-CD62L+	0,421	0,841	0,841	0,548	0,310	1,000
IL-1R+Ki67-	1,000	0,421	0,151	0,548	0,222	0,310
IL-1R+Ki67+	0,421	0,841	0,690	0,421	1,000	0,690
IL-1R-Ki67+	0,841	0,841	0,548	0,690	0,841	0,548
CD62L+IL-1R-	0,310	0,841	1,000	0,421	0,222	1,000
CD62L+IL-1R+	1,000	0,841	1,000	1,000	1,000	0,690
CD62L-IL-1R+	1,000	0,310	0,056	0,222	<b>0,032</b>	0,690
CD62L+Ki67-	0,095	0,841	0,841	0,548	0,151	0,690
CD62L+Ki67+	1,000	0,690	0,841	0,548	0,841	0,548

CD62L-Ki67+	0,841	1,000	0,421	0,841	0,841	0,421
CD62L+CCR6-	0,095	0,548	1,000	0,222	0,222	0,548
CD62L+CCR6+	0,548	0,841	0,548	1,000	1,000	0,841
CD62L-CCR6+	0,841	0,841	0,690	0,690	0,841	1,000
CCR6+Ki67-	0,841	1,000	0,690	0,690	0,841	1,000
CCR6+Ki67+	0,421	0,841	0,841	0,690	0,690	1,000
CCR6-Ki67+	0,841	0,841	0,548	0,690	0,690	0,421
CCR6+IL-1R-	0,841	1,000	1,000	0,690	0,841	1,000
CCR6+IL-1R+	0,690	0,222	0,151	0,548	0,841	0,421
CCR6-IL-1R+	1,000	1,000	0,222	0,841	0,421	0,421
CCR6+	0,841	0,690	0,421	0,841	0,421	0,421
IL-10+	0,151	0,222	0,151	1,000	1,000	1,000
FoxP3+	0,548	1,000	1,000	0,548	0,690	0,690
IL-17+	0,841	0,841	0,841	0,841	0,841	0,841
CD62L+	0,690	1,000	0,421	0,548	0,310	1,000
Ki67+	0,690	0,841	0,690	0,841	0,841	0,548
IL-1R+	0,841	0,548	0,151	0,222	0,151	0,548

**Tabelle 54 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen der HD.**  
Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	HD					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25-CD127-	0,222	0,222	0,310	0,548	0,310	1,000
IL-17+CCR6-	0,841	0,690	0,841	0,310	0,421	0,841
IL-17+CCR6+	0,310	0,310	0,310	1,000	1,000	1,000
IL-17-CCR6+	0,548	0,222	1,000	0,548	0,841	0,548
FoxP3+CCR6-	0,056	0,690	0,690	0,095	0,056	1,000
FoxP3+CCR6+	0,421	0,222	0,841	0,690	0,421	0,421
FoxP3-CCR6+	0,690	0,421	1,000	0,548	1,000	0,690
FoxP3+IL-10-	<b>0,016</b>	0,841	1,000	0,151	<b>0,032</b>	1,000
FoxP3+IL-10+	0,690	0,310	0,841	<b>0,032</b>	0,310	0,421
FoxP3-IL-10+	0,222	1,000	0,690	0,151	0,421	0,841
FoxP3+IL-17-	<b>0,008</b>	0,841	1,000	0,151	<b>0,032</b>	0,841
FoxP3+IL-17+	0,690	0,690	1,000	0,310	0,690	0,548
FoxP3-IL-17+	0,841	0,222	0,690	0,151	0,841	0,548
CCR6+IL-10-	0,310	0,095	1,000	0,421	0,841	0,690
CCR6+IL-10+	0,841	0,548	0,548	0,690	0,690	1,000
CCR6-IL-10+	0,310	0,548	0,841	<b>0,032</b>	0,548	0,690
IL-17+IL-10-	0,841	0,841	1,000	0,421	0,841	0,841
IL-17+IL-10+	0,690	0,548	0,690	0,310	1,000	0,310
IL-17-IL-10+	0,222	0,841	0,841	0,095	0,421	0,841
FoxP3+IL-1R-	0,548	1,000	0,690	0,421	0,222	0,548
FoxP3+IL-1R+	0,690	1,000	0,690	0,690	1,000	0,690
FoxP3-IL-1R+	0,841	0,690	1,000	0,841	0,690	0,548
FoxP3+Ki67-	0,548	0,841	0,841	0,421	0,222	0,690
FoxP3+Ki67+	0,548	1,000	0,548	0,310	0,095	0,421
FoxP3-Ki67+	0,151	0,841	0,841	0,095	0,095	0,421
FoxP3+CD62L-	0,548	1,000	0,690	0,421	0,222	0,548
FoxP3+CD62L+	1,000	0,310	0,310	0,310	0,310	0,690
FoxP3-CD62L+	<b>0,008</b>	0,548	0,690	0,056	<b>0,032</b>	0,841
IL-1R+Ki67-	1,000	0,841	1,000	0,841	1,000	0,841
IL-1R+Ki67+	0,690	1,000	0,690	0,690	1,000	0,690
IL-1R-Ki67+	0,095	0,841	1,000	0,095	0,095	0,690
CD62L+IL-1R-	<b>0,016</b>	0,548	0,548	0,095	0,095	0,841
CD62L+IL-1R+	1,000	1,000	0,690	1,000	0,690	0,690
CD62L-IL-1R+	0,841	0,690	1,000	0,841	1,000	0,690
CD62L+Ki67-	<b>0,032</b>	0,548	0,548	0,095	0,056	0,548
CD62L+Ki67+	1,000	0,690	0,690	0,690	0,690	1,000
CD62L-Ki67+	0,095	0,841	1,000	0,095	0,095	0,841
CD62L+CCR6-	<b>0,008</b>	0,548	0,841	<b>0,032</b>	0,056	0,690

CD62L+CCR6+	0,222	0,222	0,421	0,690	1,000	0,841
CD62L-CCR6+	0,841	0,690	0,548	0,548	0,548	1,000
CCR6+Ki67-	0,841	0,841	1,000	0,690	0,548	1,000
CCR6+Ki67+	0,841	0,690	1,000	0,841	0,690	0,548
CCR6-Ki67+	0,151	0,690	1,000	0,095	0,095	0,841
CCR6+IL-1R-	0,841	1,000	0,841	0,548	0,548	1,000
CCR6+IL-1R+	1,000	1,000	0,690	1,000	0,690	0,690
CCR6-IL-1R+	0,548	0,690	0,548	0,841	0,841	0,841
CCR6+	0,421	0,222	1,000	0,548	0,841	0,548
IL-10+	0,222	0,690	0,841	0,056	0,310	0,690
FoxP3+	<b>0,008</b>	0,841	1,000	0,095	<b>0,032</b>	0,841
IL-17+	0,841	0,222	0,841	0,095	0,841	0,421
CD62L+	<b>0,008</b>	0,310	0,690	0,056	0,095	0,690
Ki67+	0,095	0,841	0,841	0,095	0,095	0,841
IL-1R+	0,841	0,841	1,000	1,000	1,000	1,000

**Tabelle 55 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen der JIA-Patientinnen.**

Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	JIA					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25-CD127-	0,690	0,690	0,548	0,690	0,841	0,841
IL-17+CCR6-	0,421	0,548	0,548	0,841	0,690	0,841
IL-17+CCR6+	0,310	0,841	0,548	0,310	0,690	0,690
IL-17-CCR6+	0,310	0,310	0,310	0,841	1,000	1,000
FoxP3+CCR6-	1,000	1,000	0,841	1,000	0,690	0,841
FoxP3+CCR6+	0,841	0,841	1,000	1,000	0,548	0,548
FoxP3-CCR6+	0,310	0,548	0,310	1,000	0,690	1,000
FoxP3+IL-10-	0,841	1,000	0,841	0,841	0,690	1,000
FoxP3+IL-10+	0,310	0,841	0,690	0,310	0,690	0,841
FoxP3-IL-10+	0,548	0,421	0,690	1,000	1,000	0,548
FoxP3+IL-17-	1,000	1,000	0,841	0,841	0,690	0,690
FoxP3+IL-17+	0,310	0,548	0,548	0,690	0,690	1,000
FoxP3-IL-17+	0,095	0,421	0,095	0,690	1,000	0,841
CCR6+IL-10-	0,310	0,310	0,310	0,841	1,000	1,000
CCR6+IL-10+	0,310	0,841	1,000	0,310	0,310	0,841
CCR6-IL-10+	0,690	0,548	0,841	0,690	0,690	0,548
IL-17+IL-10-	0,421	0,841	0,548	0,548	0,690	0,841
IL-17+IL-10+	1,000	0,690	0,690	0,690	0,690	1,000
IL-17-IL-10+	0,548	0,548	1,000	1,000	0,548	0,421
FoxP3+IL-1R-	1,000	1,000	0,690	0,841	0,841	0,421
FoxP3+IL-1R+	0,690	0,690	1,000	1,000	0,690	0,690
FoxP3-IL-1R+	0,690	0,421	0,690	0,841	1,000	0,841
FoxP3+Ki67-	1,000	0,690	0,548	0,841	0,841	0,548
FoxP3+Ki67+	0,690	0,690	0,690	0,310	1,000	0,310
FoxP3-Ki67+	0,548	0,690	0,548	1,000	0,151	0,151
FoxP3+CD62L-	1,000	0,548	0,690	0,841	0,841	0,690
FoxP3+CD62L+	0,841	0,421	1,000	0,690	0,690	0,548
FoxP3-CD62L+	0,310	0,310	0,690	0,690	1,000	1,000
IL-1R+Ki67-	0,690	0,151	0,548	0,421	0,841	0,690
IL-1R+Ki67+	0,548	1,000	1,000	0,690	0,548	1,000
IL-1R-Ki67+	1,000	0,690	0,841	0,841	0,690	0,421
CD62L+IL-1R-	0,310	0,310	0,690	0,690	0,841	1,000
CD62L+IL-1R+	1,000	1,000	0,841	1,000	0,690	0,690
CD62L-IL-1R+	0,421	0,095	0,548	1,000	1,000	0,548
CD62L+Ki67-	0,310	0,310	0,690	0,690	0,841	1,000
CD62L+Ki67+	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
CD62L-Ki67+	0,548	0,690	0,841	1,000	0,310	0,421

CD62L+CCR6-	1,000	0,841	0,421	1,000	0,690	0,690
CD62L+CCR6+	0,310	0,222	0,421	0,690	1,000	0,841
CD62L-CCR6+	0,222	0,310	0,690	0,841	0,548	0,548
CCR6+Ki67-	0,310	0,310	0,548	1,000	0,690	0,548
CCR6+Ki67+	0,548	0,548	0,841	1,000	0,690	0,690
CCR6-Ki67+	0,222	0,310	0,841	1,000	0,151	0,151
CCR6+IL-1R-	0,310	0,310	0,548	1,000	0,548	0,421
CCR6+IL-1R+	0,548	0,421	0,690	1,000	1,000	0,841
CCR6-IL-1R+	0,548	0,310	0,548	0,841	1,000	0,690
CCR6+	0,310	0,310	0,310	0,841	1,000	1,000
IL-10+	0,548	0,548	0,690	1,000	0,690	0,690
FoxP3+	1,000	1,000	0,841	0,841	0,690	0,690
IL-17+	0,095	0,310	0,151	0,690	0,690	0,841
CD62L+	0,310	0,310	0,690	0,690	0,841	1,000
Ki67+	0,690	0,841	0,690	1,000	0,310	0,421
IL-1R+	0,548	0,310	0,690	0,841	1,000	0,548

**Tabelle 56 Auswirkungen der Stimulationsbedingungen Unstimuliert, IL-1 $\beta$ , anti-IL-1 $\beta$  und anti-IL-1RI (RI) auf die prozentuale Zusammensetzung der T-Zellsubpopulationen in den CD4+CD25-CD127- Zellen der RA-Patientinnen.**

Es werden die p-Werte angegeben. Die signifikanten p-Werte sind markiert.

	RA					
	Unstimuliert vs IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs anti-IL-1 $\beta$	Unstimuliert vs RI	IL-1 $\beta$ vs anti-IL-1 $\beta$	IL-1 $\beta$ vs RI	anti-IL-1 $\beta$ vs RI
CD25-CD127-	1,000	0,841	0,841	1,000	1,000	1,000
IL-17+CCR6-	0,421	0,310	0,310	0,841	1,000	1,000
IL-17+CCR6+	0,841	0,841	0,690	1,000	0,841	0,841
IL-17-CCR6+	0,690	0,690	0,548	0,548	0,421	0,690
FoxP3+CCR6-	0,690	0,841	1,000	0,841	0,690	1,000
FoxP3+CCR6+	0,841	0,548	0,421	0,841	0,548	0,548
FoxP3-CCR6+	0,690	0,690	0,548	0,841	0,421	0,690
FoxP3+IL-10-	0,548	1,000	0,841	1,000	1,000	1,000
FoxP3+IL-10+	0,841	0,690	0,421	0,548	0,310	0,841
FoxP3-IL-10+	0,841	0,841	1,000	1,000	0,690	0,841
FoxP3+IL-17-	0,548	1,000	0,841	1,000	1,000	1,000
FoxP3+IL-17+	0,310	0,690	0,690	0,841	0,690	1,000
FoxP3-IL-17+	0,548	0,548	0,548	1,000	0,841	1,000
CCR6+IL-10-	0,841	0,841	0,548	0,421	0,421	0,690
CCR6+IL-10+	0,310	0,421	0,151	0,841	0,841	0,690
CCR6-IL-10+	1,000	0,841	1,000	1,000	0,690	0,841
IL-17+IL-10-	1,000	0,690	0,421	0,548	0,690	0,690
IL-17+IL-10+	1,000	0,690	0,310	0,690	0,310	0,690
IL-17-IL-10+	0,841	0,690	1,000	1,000	0,841	0,841
FoxP3+IL-1R-	0,548	0,095	0,548	0,548	0,151	<b>0,032</b>
FoxP3+IL-1R+	0,310	0,548	0,690	1,000	0,690	0,690
FoxP3-IL-1R+	0,548	0,841	0,421	0,421	0,841	0,222
FoxP3+Ki67-	0,421	0,095	0,690	0,548	0,151	<b>0,032</b>
FoxP3+Ki67+	0,421	0,151	1,000	0,690	0,421	0,151
FoxP3-Ki67+	0,690	0,690	0,421	0,841	1,000	0,690
FoxP3+CD62L-	0,548	0,095	0,690	0,548	0,151	<b>0,032</b>
FoxP3+CD62L+	1,000	0,151	0,222	0,310	0,222	<b>0,032</b>
FoxP3-CD62L+	0,841	1,000	0,841	1,000	1,000	0,548
IL-1R+Ki67-	0,690	0,690	0,690	0,310	0,841	0,421
IL-1R+Ki67+	0,690	0,841	0,690	1,000	1,000	1,000
IL-1R-Ki67+	0,690	1,000	0,421	0,548	0,841	0,421
CD62L+IL-1R-	0,690	1,000	0,841	0,841	0,841	0,548
CD62L+IL-1R+	0,310	0,310	0,690	1,000	0,548	0,548
CD62L-IL-1R+	0,690	1,000	0,421	0,421	1,000	0,421
CD62L+Ki67-	0,841	1,000	0,841	0,841	0,548	0,548
CD62L+Ki67+	1,000	0,548	1,000	0,548	1,000	0,548
CD62L-Ki67+	0,690	1,000	0,421	0,690	0,841	0,548

CD62L+CCR6-	0,841	0,841	0,841	0,841	0,690	0,548
CD62L+CCR6+	0,690	0,690	0,421	0,421	1,000	0,310
CD62L-CCR6+	0,841	0,841	0,690	0,421	0,690	0,690
CCR6+Ki67-	0,841	0,841	0,690	0,310	0,690	0,690
CCR6+Ki67+	0,222	0,421	0,421	1,000	0,690	0,841
CCR6-Ki67+	1,000	0,690	0,841	0,548	0,841	0,421
CCR6+IL-1R-	0,841	0,841	0,690	0,310	0,690	0,690
CCR6+IL-1R+	0,841	0,690	0,548	0,548	0,841	0,421
CCR6-IL-1R+	0,548	0,841	0,548	0,690	0,841	0,690
CCR6+	0,690	0,690	0,548	0,548	0,421	0,690
IL-10+	0,841	0,841	1,000	1,000	0,690	1,000
FoxP3+	0,548	1,000	0,841	1,000	1,000	1,000
IL-17+	0,548	0,548	0,548	1,000	0,841	1,000
CD62L+	0,841	1,000	0,841	1,000	0,690	0,548
Ki67+	0,690	1,000	0,421	0,548	0,841	0,421
IL-1R+	0,690	1,000	0,548	0,421	1,000	0,421

