

**Aus der Klinik und Poliklinik für Kinder- und
Jugendheilkunde
der Universität Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. Christoph Härtel**

**Phänotypisierung von Effektor T-Zellen bei Juveniler
Idiopathischer Arthritis (JIA)**

Inauguraldissertation

**zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der**

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Raimund Dieter Trippen

aus Mainz

Mainz, 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:

20.12.2021

Der Promovend ist Arzt

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	6
1.1 Juvenile Idiopathische Arthritis (JIA).....	6
1.1.1 Epidemiologie der JIA.....	6
1.1.2 Diagnostik der JIA.....	7
1.1.3 Klassifikation der JIA.....	7
1.1.4 Ätiopathogenese der JIA.....	12
1.1.5 Therapie der JIA.....	13
1.2 Humanes Zytomegalievirus (HCMV).....	15
1.2.1 Virusfamilie.....	15
1.2.2 Epidemiologie.....	15
1.3 Autoimmunerkrankungen und Herpesviridae.....	16
1.4 Immunologische Hintergründe.....	17
1.4.1 Das angeborene Immunsystem.....	17
1.4.2 Das adaptive Immunsystem.....	17
1.5 Immunoseneszenz.....	20
1.5.1 Naive T-Zellen.....	20
1.5.2 Zentrale Memory T-Zellen.....	21
1.5.3 Effektor Memory T-Zellen.....	21
1.5.4 Effektor Memory RA T-Zellen (TEMRA).....	21
1.5.5 Immunoseneszenz: Altern als Erfahrungszugewinn oder als Risiko?.....	22
1.6 Chemokinrezeptoren bei JIA und HCMV.....	25
1.6.1 CCR5 und CXCR3.....	26
1.7 Zielsetzung und Fragestellung.....	27
2. Material und Methoden.....	29
2.1 Material.....	29
2.1.1 Verbrauchsmaterialien.....	29
2.1.2 Puffer und Nährmedien.....	30
2.1.3 Gebrauchsfertige Lösungen.....	32
2.1.4 Gebrauchsfertige Kits.....	32
2.1.5 Antikörper.....	33
2.2 Probandinnen und Probanden.....	36
2.2.1 JIA Probandinnen und Probanden.....	36
2.2.2 Kontrollprobandinnen und -probanden.....	37

2.3 Methoden.....	38
2.3.1 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	38
2.3.2 Ficoll Dichtegradientenzentrifugation zur Isolierung von PBMC.....	41
2.3.3 Durchflusszytometrische Messungen.....	43
2.3.4 Statistik.....	45
3. Ergebnisse.....	46
3.1 Epidemiologische Beschreibung der Gesamtpopulation.....	46
3.2 Epidemiologisch-serologische Beschreibung der Gesamtkohorte.....	48
3.3 Verteilung der JIA Subgruppen.....	54
3.4 CD4/CD8-Ratio.....	54
3.5 Durchflusszytometrische Messungen bei Gesundkontrollen und JIA.....	55
3.5.1 Leukozyten bei Gesundkontrollen und JIA.....	56
3.5.2 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA.....	57
3.5.3 T- und B-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA.....	57
3.5.4 CD4 und CD8 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA.....	60
3.5.5 Natürliche Killer T-Zellen (NK T-Zellen) bei Gesundkontrollen und JIA.....	64
3.6 Durchflusszytometrische Messungen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	65
3.6.1 Leukozyten und Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	65
3.6.2 T- und B-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	67
3.6.3 CD4 und CD8 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	69
3.6.4 T-Zell Phänotyp bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	71
3.7 Intrazelluläre Zytokinproduktion bei JIA.....	87
3.7.1 Interferon gamma (IFN γ).....	87
3.7.2 Tumornekrosefaktor alpha (TNF α).....	91
3.8 Chemokinrezeptoren bei Gesundkontrollen und JIA.....	96
3.8.1 Chemokinrezeptor CXCR3.....	96
3.8.2 Chemokinrezeptor CCR5.....	101
3.9 Therapie der JIA in unserer Kohorte.....	113
4. Zusammenfassung der Ergebnisse.....	115
4.1 Epidemiologie.....	115
4.2 Lymphozytenphänotypisierung.....	115

4.3 Zytokinproduktion.....	116
4.4 Chemokinrezeptoren.....	116
5. Diskussion.....	125
5.1 Grundlagen.....	125
5.2 Epidemiologie.....	125
5.3 Leukozyten bei JIA und Gesundheitskontrollen.....	126
5.4 Leukozyten und HCMV.....	127
5.5 Natürliche Killer T-Zellen.....	127
5.6 JIA und Chemokinrezeptoren.....	128
5.7 Immunoseneszenz und HCMV.....	129
5.8 JIA und HCMV.....	130
5.9 Ausblick.....	132
6. Limitationen der Arbeit.....	133
7. Konklusion.....	134
8. Zusammenfassung.....	135
9. Abstract.....	137
10. Referenzen.....	138
Appendix.....	144
I Abkürzungsverzeichnis.....	144
II Abbildungsverzeichnis.....	146
III Tabellenverzeichnis.....	148
IV Danksagung.....	150
V Lebenslauf.....	151
VI Eigenleistung.....	154

1. Einleitung

1.1 Juvenile Idiopathische Arthritis (JIA)

Die JIA wird der Gruppe der Autoimmunerkrankungen zugeordnet und beschreibt die Gesamtheit eines sehr vielgestaltigen Symptomkomplexes [1]. Definitionsgemäß spricht man von einer JIA, wenn ein Patient oder eine Patientin unter einer Gelenkentzündung mit folgenden Konditionen leidet: die Arthritis muss erstmalig vor dem 16. Lebensjahr vorliegen und mindestens 6 Wochen anhalten [1, 2]. Gleichzeitig ist die Ursache der Arthritis als unbekannt zu beschreiben, sonstige mögliche Ursachen für die auftretenden Symptome müssen ausgeschlossen werden, insbesondere maligne, infektiologische oder reaktive Prozesse. Ein wichtiges Schlagwort ist hierbei also die Ausschlussdiagnose [3].

1.1.1 Epidemiologie der JIA

Epidemiologische Beschreibungen der JIA weisen bezüglich der Prävalenz und Inzidenz unterschiedliche Angaben auf. In industrialisierten Nationen wird eine Prävalenz der JIA von 0,16 bis 1,5 auf 1000 Kinder angenommen [2, 3]. Einzelne Autoren gehen allerdings davon aus, dass die Prävalenz in einigen Gebieten unterschätzt sei und postulieren dem entgegenstellend eine Prävalenz von bis zu 4,01 pro 1000 Kinder [2, 3]. Die jährliche Inzidenzrate liegt in industrialisierten Ländern bei 0,02 bis 0,2 Fällen pro 1000 Kindern [1].

Im Wesentlichen werden für diese große Variabilität der statistischen Angaben vier Faktoren verantwortlich gemacht: sich ändernde Diagnosekriterien in den vergangenen 30 Jahren, unterschiedliche Wissens- und Erfahrungsstände der diagnostizierenden Ärztinnen und Ärzte, allgemeine Unterschiede in Gesundheitssystemen verschiedener Länder sowie teilweise kleine Studienpopulationen [3].

1.1.2 Diagnostik der JIA

Entsprechend der oben beschriebenen Definition erfolgt die Diagnose der JIA vor allem anamnestisch und durch die klinische körperliche Untersuchung der jungen Patientinnen und Patienten (Alter bei Erstmanifestation unter 16 Jahre, Arthritis für mehr als 6 Wochen) sowie durch den Ausschluss anderer Ursachen für die vorliegende Arthritis [1, 2].

Bedenkt man diese Tatsache, so ist es auch leicht zu erklären, dass eine sichere Diagnose der JIA oftmals schwierig ist und sehr viel Zeit in Anspruch nehmen kann. Bieten doch zur Zeit weder laborchemische [4] noch bildgebende Verfahren [5] vollständig eindeutige Methoden zur Diagnosesicherung.

Insbesondere bei der systemischen Form der JIA allerdings, finden sich häufig laborchemische Hinweise wie eine Leukozytose, Thrombozytose, Anämie oder erhöhte Werte für Lactatdehydrogenase (LDH), C-reaktives Protein (CrP) oder Ferritin und erhöhte Transaminasenaktivitäten [6], die die systemische Inflammationsreaktion widerspiegeln.

1.1.3 Klassifikation der JIA

Je nach Anzahl und Art der betroffenen Gelenke, serologischen Nachweises des Rheumafaktors oder extraartikulärer Manifestationen wird die JIA weiter subklassifiziert [7, 8]. Allgemein anerkannt ist zur Zeit die Einteilung der JIA nach den Kriterien der „International League of Associations for Rheumatology“ (ILAR) wobei zwischen der Oligo- und Polyarthritiden (seronegativ oder -positiv) (OA, RF-PA, RF+PA), der Psoriasis Arthritis (PsA), Enthesitis-assoziierten Arthritis (EAA), der systemischen JIA (sJIA, M. Still) und der anderen Arthritis unterschieden wird (s. Tabelle 1) [7, 8].

1.1.3.1 Geschlechterverteilung der JIA

Bei den Subgruppen der OA, RF-PA, RF+PA, PsA und anderen Arthritis sind zu etwas mehr als 2/3 der Fälle Mädchen von der Krankheit betroffen [4, 8]. Lediglich bei der sJIA (52% männliche Patienten) und der EAA (63% männliche Patienten) überwiegt der Anteil des männlichen Geschlechts [8].

1.1.3.2 Autoantikörper zur Klassifizierung der JIA

Die Bestimmung Antinukleärer Antikörper (ANA) im Serum der Patientinnen und Patienten hat sich weder als Diagnosekriterium der JIA an sich, noch als Mittel zur Subklassifizierung durchsetzen können [4, 8]. Dies ist nicht zuletzt darauf zurückzuführen, dass ANA vor allem im niedrigtitrigen Bereich auch bei bis zu einem Drittel der gesunden Kinder nachgewiesen werden können [9]. Innerhalb der verschiedenen Subgruppen der JIA schwankt der Nachweis von ANA zwischen 21% und 71% [8] und bietet somit einen geringen Vorhersagewert zur exakten Eingruppierung in eine Unterform (s. Tabelle 1).

1.1.3.3 OA

Bei der OA sind ein bis vier Gelenke innerhalb der ersten sechs Erkrankungsmonate betroffen. Der Rheumafaktornachweis fehlt, die HLA-B27-Positivität (10-12%) spielt eine vergleichsweise untergeordnete Rolle [8]. Hierbei handelt es sich mit ungefähr der Hälfte aller JIA Fälle um die mit Abstand häufigste Subklassifikation der JIA in Mitteleuropa [2, 8]. Solange die Arthritis auch im Krankheitsverlauf auf bis zu vier Gelenke beschränkt bleibt (persistierende OA), ist die Prognose dieser Unterform vergleichsweise gut [8]. Werden jedoch im Verlauf mehr als vier Gelenke in den Krankheitsprozess mit einbezogen (extended OA) so ist sowohl eine Remissionsinduktion deutlich seltener (1/3 gegen 3/4 bei persistierender OA), als auch erosive Gelenkveränderungen deutlich häufiger (bei bis zu 1/3 der Patientinnen und Patienten) (s. Tabelle 1) [8].

1.1.3.4 RF-PA

Die RF-PA beschreibt die Subgruppe, bei der mehr als vier Gelenke innerhalb der ersten sechs Erkrankungsmonate betroffen sind und serologisch kein Rheumafaktor nachweisbar ist [8]. Im Gegensatz zur OA sind hier erosive Gelenkveränderungen [10], dauerhafte Gelenkeinschränkungen und eine Persistenz der Erkrankung bis ins Erwachsenenalter häufig (s. Tabelle 1) [8].

1.1.3.5 RF+PA

Die RF+PA ist mit der Rheumatoiden Arthritis (RA) des Erwachsenenalters vergleichbar. Hier finden sich ebenfalls mehr als vier arthritische Gelenke innerhalb der ersten sechs Erkrankungsmonate; ein positiver Rheumafaktor und eine bedeutsame klinische Progredienz sind die Besonderheiten dieser Subklasse (s. Tabelle 1) [8]. Neuere Veröffentlichungen plädieren für eine Eingruppierung als Frühform der RA des Erwachsenen [11], was auch durch genetische Untersuchungen untermauert wird [12].

1.1.3.6 PsA

Zur Diagnosestellung der PsA bedarf es einer Arthritis und einer Psoriasis oder einer Arthritis und mindestens zweier weiterer Kriterien (Daktylitis, Tüpfelnägel oder Onycholyse oder Psoriasis bei einem Verwandten ersten Grades). Eine HLA-B27-Positivität findet sich bei ca. 1/5 der Patientinnen und Patienten (s. Tabelle 1) [8].

1.1.3.7 EAA

Analog zur PsA beinhaltet die Definition der EAA eine Arthritis und eine Enthesitis oder eine Arthritis mit mindestens zwei weiteren Kriterien (Druckschmerz über den Iliosakralgelenken und/oder entzündlicher Rückenschmerz lumbosakral, HLA-B27-Positivität, Patient männlich und über 6 Jahre alt, akute anteriore Uveitis oder eine ankylosierende Spondylitis, Sakroiliitis bei entzündlicher Darmerkrankung, Reiter-

Syndrom oder akute anteriore Uveitis bei einem Angehörigen ersten Grades) (s. Tabelle 1) [8].

1.1.3.8 sJIA

Definierend sind eine Arthritis, intermittierendes Fieber über wenigstens 2 Wochen sowie mindestens ein weiteres Kriterium (flüchtiger erythematöser Hautausschlag, generalisierte Lymphknotenvergrößerung, Hepato- und/oder Splenomegalie oder Serositis) [8].

Die sJIA unterscheidet sich insofern von den übrigen Subklassen, als hier vielmehr ein autoinflammatorisches als ein autoimmunlogisches Geschehen angenommen wird. Üblicherweise besteht keine Geschlechterprädominanz, keine HLA-B27-Prädisposition und es gelingt kein Nachweis von Autoantikörpern (s. Tabelle 1) [8].

1.1.3.9 Andere Arthritis

Zu dieser Subgruppe werden andere Arthritisformen des Kindesalters gezählt, die nicht eindeutig einer der anderen Subgruppen der JIA zuzuordnen sind. Dies betrifft etwa 3 % der JIA-Diagnosen (s. Tabelle 1) [8].

Tabelle 1 zeigt die JIA Subgruppen anhand der 2006 im Rahmen der Kinderkerndokumentation der Gesellschaft für Kinder- und Jugendrheumatologie (GKJR) erfasster Daten (n=4116) [13]. Sie zeigt die relativen Häufigkeiten der Subgruppen auf, sowie den Anteil der Mädchen, den ANA-Nachweis, die HLA-B27-Positivität, die Häufigkeit von Uveitis und Enthesitis.

Tabelle 1: JIA Subgruppen

JIA Subgruppe [%]	Relative Häufigkeit	Mädchen	Nachweis ANA	HLA-B27-Positivität	Uveitis	Enthesitis
OA:						
Persistierend	46	69	66	11	17	2
Erweitert	7	78	74	9	22	7
RF-PA	15	76	43	10	6	4
EAA	14	40	23	66	9	59
PsA	8	68	51	22	10	24
sJIA	6	51	12	4	1	3
RF+PA	2	87	57	15	1	11
Andere	3	56	35	31	8	18
Gesamt	100	65	52	21	12	13

Tabelle modifiziert nach den Abgaben der GKJR (Gesellschaft für Kinder- und Jugendrheumatologie) [13]. Aufgelistet sind die JIA Subgruppen sowie deren relative Häufigkeit, Anteil der Mädchen, ANA-Nachweis, HLA-B27-Nachweis, Uveitis und Enthesitis. ANA= Antinukleäre Antikörper, EAA= Enthesitis-assoziierte Arthritis, HLA= Humanes Leukozytenantigen, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, OA=Oligoarthritis, PsA= Psoriasisarthritis, RF-PA= Seronegative Polyarthritis, RF+PA= Seropositive Polyarthritis, sJIA= Systemische JIA.

1.1.4 Ätiopathogenese der JIA

Trotz intensiver Bemühungen konnte die Ätiopathogenese der JIA bislang nicht vollständig geklärt werden, sodass die Schlagworte multifaktorielle Genese [1] und Ausschlussdiagnose [3] immer noch dominieren. Risikofaktoren für das begleitende Auftreten einer Uveitis beispielsweise wurden ermittelt, jedoch steht die exakte immunpathologische Erklärung dieser Zusammenhänge noch aus. Zu diesen Risikofaktoren gehören das Geschlecht, das Alter bei Erstmanifestation und das Vorhandensein von ANA [1, 14, 15].

Zwar wird auf Grund von Untersuchungen mit eineiigen Zwillingen eine genetische Komponente bei der Entstehung der JIA angenommen [1, 16], insbesondere die Assoziation mit HLA- und non-HLA-Genen [17] sowie weiterer für die Produktion von Zytokinen verantwortlicher Genloki wurde nachgewiesen [18, 19], jedoch sind bislang gründliche Untersuchungen, die große Zusammenhänge in genom-basierten Signalwegen erklären könnten, rar [1, 17].

Bezüglich einer Beeinflussung des Krankheitsverlaufs durch Faktoren aus der äußeren Umwelt sind kontrollierte beweisende Studien ebenfalls sehr selten durchgeführt worden. Für einzelne Impfungen gegen Meningococcus Typ C [20] und Masern-Mumps-Röteln [20] beispielsweise, wurde keine erhöhte Rate assoziierter Exazerbation der JIA beobachtet [1]. Nichtsdestotrotz wurde ein signifikant erhöhtes proinflammatorisches Milieu nach Meningokokken Typ C Impfung bei Patientinnen und Patienten mit Polyartikulärer JIA nachgewiesen [21].

Eine bedeutende Rolle spielt offenbar die Störung des Gleichgewichts zwischen Inflammation und entgegenstehender Immuntoleranz. So steht zu Beginn der Krankheit vermutlich eine lokale autoimmunologische T- oder B-Zell Reaktion [1], welche sich auf das gesamte Immunsystem ausweitet [1]. So konnten in Untersuchungen entzündeten Gewebes verschiedene Arten von T-Zellen und antigenpräsentierenden dendritischen Zellen nachgewiesen werden [22]. Vermutlich sollte keine einzelne Zellreihe an sich, sondern die Gesamtheit aus Regulatorischen T-Zellen sowie TH1-, TH2- und TH17-Zellen

und die Möglichkeit der gegenseitigen Beeinflussung sowie die Polarisation des Zell-Phänotyps in verschiedene Richtungen Gegenstand weiterer Forschungen sein [1].

1.1.5 Therapie der JIA

Zur Therapie der JIA gehört seit langer Zeit das ganzheitliche Konzept aus pharmakologischer Therapie, physikalischer Therapie und Ergotherapie, sowie fundierter psychosozialer Unterstützung der betroffenen Patientinnen und Patienten. Im Folgenden möchte ich mich vor allem auf die pharmakotherapeutischen Möglichkeiten beziehen, deren Ziel immer die Remissionsinduktion und damit die Verhinderung bleibender gesundheitlicher Einschränkungen sein sollte [2]. Dabei muss bedacht werden, dass die meisten der aktuell bei JIA eingesetzten Medikamente lediglich zu einer Linderung des Beschwerdebildes führen können, aber für sich alleine keinen endgültigen Heilerfolg versprechen können [2].

In erster Instanz erfolgt die Verabreichung von Nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR), deren Wirkung bei Kindern und Jugendlichen erfreulicherweise meist von wenig unerwünschten Nebenwirkungen begleitet wird [2]. Zu den erfolgreich eingesetzten Substanzen zählen insbesondere Indomethacin, Naproxen und Ibuprofen.

Besonders für die Therapie mono- oder oligoarthritischer Verlaufsformen eignet sich zusätzlich die intraartikuläre Steroidinjektion mit Triamcinolonhexacetonid. Systemische Applikationen sollten auf Grund eines breitgefächerten Nebenwirkungsspektrums nur nachrangig eingesetzt werden, wenn andere Basistherapeutika keine zufriedenstellende Wirkung aufweisen können [2].

Bei akzeptablem Wirkungs-Nebenwirkungs-Verhältnis wird zur Therapie der JIA ebenfalls Methotrexat (MTX) in Kombination mit Folsäure eingesetzt. Dies entfaltet seine Wirkung optimal bei parenteraler Applikation [2] und führt bei oligoartikulären und seronegativen polyartikulären Verlaufsformen nachweislich zusätzlich zu einer Reduktion begleitender Uveitiden [23].

Spätestens seit dem vergangenen Jahrzehnt hat die Rolle von Biologika in der Therapie der JIA immens an Bedeutung zugenommen [1, 2]. Hervorzuheben sind insbesondere TNF α -Blocker wie Etanercept, deren Sicherheit (auch in Bezug auf Infektionskrankheiten) [24-27] und Effizienz [2, 28] bewiesen ist.

Der Einsatz weiterer neuer Biologika wie beispielsweise Tocilizumab (IL-6-Rezeptor-Blockade), Ustekinumab (IL-23/IL-12-Rezeptor-Blockade), Secukinumab (IL-17A Blockade) oder Tofacitinib (Janus Kinase-Inhibitor) bei speziellen Subgruppen der JIA liefert vielversprechende Ergebnisse und hält immer mehr Einzug in den klinischen Alltag [29].

1.2 Humanes Zytomegalievirus (HCMV)

1.2.1 Virusfamilie

Das humane Zytomegalievirus (HCMV) wird, ebenso wie das Epstein-Barr-Virus (EBV), der Gruppe der Herpesviridae zugeordnet. Als Humanes Herpesvirus 5 (HHV5) gehört das HCMV den Betaviridae an. Anhand des histologischen Bildes erklärt sich auch die Entstehung des Begriffs Zytomegalievirus: denn bei Infektionen können sich im menschlichen Körper lichtmikroskopisch nachweisbare, stark vergrößerte Zellen („Eulenaugenzellen“) zeigen. Diese Subgruppe der Humanen Herpesviren hat die Eigenschaft inne - meist lebenslang - in Lymphozyten und Granulozyten zu persistieren (lymphotrope Herpesviren) [30] und in verschiedenen Konditionen der Immunsuppression durch eine Reaktivierung apparent zu werden. Dies kann zu ernsthaften gesundheitlichen Komplikationen führen und eine intensive antivirale Therapie notwendig machen [31, 32].

1.2.2 Epidemiologie

Die latente HCMV Infektion ist bei erwachsenen Individuen weltweit stark verbreitet. Jedoch zeigen sich bei der Prävalenz starke geographische sowie sozio-ökonomische Unterschiede. Da insbesondere die transplazentare Transmission des HCMV auf das ungeborene Kind schwere gesundheitliche Schäden verursachen kann - wie beispielsweise Einschränkungen des Seh- und Hörvermögens sowie neurologische Defizite [33, 34] - gibt es zahlreiche Studien, die die Seroprävalenz des HCMV bei schwangeren Frauen und Neugeborenen aufzeigen. Für diesen Zweck eignet sich die Suche nach spezifischen IgG Antikörpern im Patientenserum besonders [35]. Untersuchungen bei schwangeren Frauen ergaben eine Seroprävalenz von ca. 40-60% in Mitteleuropa. In Ballungszentren wie Helsinki oder Stockholm lag die Prävalenz bei über 70% und in Gebieten in der Türkei sogar bei über 90%. Beeinflussende Faktoren waren dabei das Alter der untersuchten Frauen, sowie sozio-ökonomische und ethnische Faktoren [36, 37]. Insbesondere ein niedriger sozio-ökonomischer Hintergrund untersuchter Individuen scheint einen bedeutenden Einfluss auf eine gesteigerte HCMV-

Seroprävalenz zu haben [38]. Eine epidemiologische Untersuchung zeigt bei schwangeren Frauen in Palästina sogar eine Seroprävalenz von HCMV von 96,6% und von 88% bei hospitalisierten Kindern [34].

Fundierte epidemiologische Aussagen zur Seroprävalenz des HCMV bei älteren Kindern und Jugendlichen sind schwer zu treffen. Differieren doch die Raten der Seroprävalenz in unterschiedlichen Untersuchungen bei Kindern und jungen Erwachsenen zwischen 0 und 20 Jahren auch von 10% bis nahezu 100% [37]. Selbstverständlich werden auch diese Zahlen von den oben genannten Faktoren beeinflusst.

1.3 Autoimmunerkrankungen und Herpesviridae

Schon vor 40 Jahren wurde bei Patientinnen und Patienten, die unter RA leiden, ein signifikant höherer Anti-EBNA-Titer (zum Nachweis einer stattgehabten EBV-Infektion) im Vergleich zur gesunden Bevölkerung nachgewiesen [39, 40]. Auch neuere Untersuchungen vermuten weiterhin einen Zusammenhang zwischen RA und EBV [41]. In letzter Zeit werden viele weitere Untersuchungen publiziert, die Zusammenhänge zwischen autoimmunologischen Erkrankungen und Infektionskrankheiten aufweisen. Ein kausaler Zusammenhang konnte bisher nicht nachgewiesen werden [42], jedoch können akute Exazerbationen oder die Progression von Autoimmunerkrankungen mit dem Vorliegen latenter oder akuter infektiologischer Geschehen assoziiert sein [43]. Beispielsweise wird eine gegenseitige Beeinflussung zwischen dem Systemischen Lupus Erythematodes (SLE) und einer Infektion mit EBV postuliert [43]. Kürzlich veröffentlichte Daten beschreiben einen aggravierten Verlauf chronisch entzündlicher Darmerkrankungen bei HCMV seropositiven Patientinnen und Patienten [44]. Bei der RA des Erwachsenen sprechen Untersuchungen einerseits für eine geringere Knochenerosion bei HCMV seropositiven Patientinnen und Patienten [45], andererseits wurde eine Assoziation zwischen einer positiven HCMV-Serologie und dem radiologischen Vorliegen stärkerer Gelenkdestruktionen beschrieben [46].

1.4 Immunologische Hintergründe

1.4.1 Das angeborene Immunsystem

Die erste Barriere, die Mikroben am Eindringen in den menschlichen Organismus hindert, stellt das angeborene Immunsystem dar. Hierzu gehören grundlegende chemisch-physikalische Abwehrmechanismen wie mechanische Barrieren an sich (Haut, Schleimhäute), oder beispielsweise ein saures Milieu auf Haut und Magenschleimhaut.

Der zelluläre Part des angeborenen Immunsystems, welcher Mikroben unmittelbar nach dem Eindringen unspezifisch bekämpft, besteht unter anderem aus Makrophagen, Natürlichen Killerzellen und Granulozyten.

Die Aktivierung des Komplementsystems wird als humorale Immunantwort bezeichnet.

1.4.2 Das adaptive Immunsystem

Das adaptive Immunsystem bezeichnet jegliche Arten von erlernten Immunreaktionen. Diese werden im Folgenden näher erläutert.

1.4.2.1 B-Zellen

B-Lymphozyten werden durch antigenspezifische Stimulation (vor allem durch T-Lymphozyten) zu Plasmazellen und sind somit in der Lage, mikrobenspezifische Antikörper zu produzieren. Außerdem werden nach Kontakt mit Mikrobenantigenen B-Gedächtniszellen ausgebildet, welche bei erneutem Antigenkontakt schneller zur spezifischen Antikörperproduktion fähig sind.

1.4.2.2 T-Zellen

Zytotoxische T-Zellen (CD8)

Zytotoxische T-Zellen werden durch auf MHC I Molekülen präsentierte Antigene aktiviert und können so infizierte Zellen gezielt abtöten.

T-Helfer-Zellen (CD4)

T-Helfer-Zellen erkennen Antigene auf MHC II Molekülen.

Multiple Faktoren führen dazu, dass sich Naive T-Helfer-Zellen in Richtung T-Helfer 1- (TH1-) Zelle oder TH2-Zelle differenzieren. Diese Einteilung erfolgt klassischerweise anhand ihrer Zytokinproduktion.

T-Helfer 1-(TH1-) Zellen

So gilt als Leitzytokin für TH1-Zellen das Zytokin Interferon gamma (IFN γ) [47]. Auch Interleukin-2 (IL-2) und Tumornekrosefaktor alpha (TNF α) werden dieser Klasse zugeordnet. Mithilfe dieser Zytokine sind TH1-Zellen vor allem zur Makrophagenaktivierung befähigt [48]. Die phagozytotische und mikrobezerstörende Aktivität der Makrophagen wird erhöht [47]. Außerdem induziert das Zytokin IFN γ durch Aktivierung der Bildung spezieller IgG Antikörper den Prozess der Opsonierung, sowie eine Differenzierung von CD8 T-Zellen zu zytolytischen T-Zellen [47].

Ein wichtiger Chemokinrezeptor der TH1-Zellen ist CCR5. Auch dies ist ein wichtiger Unterscheidungsfaktor zur Naiven T-Zelle (hier CCR7, s. Kapitel 1.5.1) [49, 50].

Eine TH1-dominierte Immunantwort ist vorwiegend bei Infektionen mit viralen humanpathogenen Erregern und intrazellulären Mikroben zu beobachten [47].

An der Polarisation einer Naiven TH-Zelle zur TH1-Zelle sind beispielsweise die Zytokine IL-12 und IL-18 sowie IFN γ und der Transkriptionsfaktor T-bet beteiligt. IL-4 wirkt konträr [51].

T-Helfer 2- (TH2-) Zellen

Gleichzeitig bewirkt IL-4 aber eine verstärkte Proliferation in Richtung TH2-Zelle. IL-12 wirkt hier inhibitorisch [51]. TH2-Zellen selbst sind charakterisiert durch die Produktion der Zytokine IL-4, IL-5, IL-9 und IL-13. Diese Zytokine sind zum Großteil an der Aktivierung der B-Zell Gruppe [48] und beispielsweise am Antikörperklassenswitch zu

IgE [47] beteiligt. Auch eine verstärkte Differenzierung und Aktivierung eosinophiler Granulozyten durch diese Zytokine ist beschrieben [47]. Zusammenfassend hat die TH2-dominierte Immunantwort also eine große Bedeutung bei der Abwehr extrazellulärer Bakterien und Helminthen [47].

T-Helfer 17- (TH17-) Zellen

Der Gruppe der TH17-Zellen wird eine große Rolle bei der Ätiopathogenese autoimmunologischer Geschehen zugewiesen. So findet sich beispielsweise in der Synovialflüssigkeit von JIA Patientinnen und Patienten eine deutlich höhere Anzahl an TH17-Zellen als im peripheren Blut der selben Probandinnen und Probanden [52]. In Tiermodellen wurde bei Mäusen ohne Fähigkeit zur Bildung von Interleukin-17 eine signifikante Reduktion der Entzündungsaktivität in Gelenken nachgewiesen [53]. Die Zytokine TGF- β , IL-1 β , IL-6, IL-21 und IL-23 können an der Polarisation zur TH17-Zelle beteiligt sein [54].

Natürliche Killer T-Zellen (NK T-Zellen)

Natürliche Killer T-Zellen stellen eine bislang recht unerforschte Population dar. Insgesamt vereinen sie Eigenschaften von Natürlichen Killer Zellen und T-Zellen [55, 56]. Beispielsweise exprimieren sie das Oberflächenmolekül CD56. Während ihre Funktion in großen Zusammenhängen bislang weitgehend ungeklärt ist, so wurde doch bereits gezeigt, dass auch sie unmittelbar an der Bildung proinflammatorischer Zytokine wie IFN γ und IL-4 beteiligt sind [57]. Aber auch bei der Immunsuppression scheinen Natürliche Killer T-Zellen eine Rolle zu spielen [58, 59].

1.5 Immunoseneszenz

Im Laufe des Lebens wird das menschliche Immunsystem immer wieder vor Herausforderungen durch äußere Einflüsse gestellt. Dazu gehört insbesondere die Konfrontation mit humanpathogenen Viren. Der Einfluss dieses ständigen Kampfes ist heutzutage gut messbar. So gibt es doch beispielsweise mit der Durchflusszytometrie eine Messmethode, mit der man Aussagen über den Differenzierungsgrad einer Immunzelle treffen kann (s. Abbildung 1).

1.5.1 Naive T-Zellen

Die Naive T-Zelle hatte noch keinen Kontakt mit erregerspezifischen oder sonstigen Epitopen. Sie bildet die Basis des Spezialisierungspfades und benötigt spezifische Signale zur weiteren Differenzierung, beispielsweise durch Antigenpräsentierende Zellen [60, 61].

Naive T-Zellen - sowohl CD4 als auch CD8 - werden durch die Expression verschiedener Oberflächenmarker wie beispielsweise CD45RA oder CD28 definiert. Die Kombination aus der Bestimmung mehrerer Oberflächenmarker zur Klassifizierung Naiver T-Zellen ist sinnvoll. So steigert sich doch die Spezifität dieser Messmethode enorm bei der Anwendung von zwei (Spezifität CD4: 97-98% und CD8: 87-93%) oder sogar drei (Spezifität CD4: 99% und CD8: 96%) unterschiedlichen Oberflächenmarkern [62]. Weitere Marker, die zur Definition herangezogen werden und auch in unseren Messungen bestimmt werden, sind CD62L und CCR7. CD27 und der IL-7 Rezeptor (CD127) finden in der Literatur ebenfalls Beachtung [63].

Mit steigender Antigenerfahrung erfolgt eine spezifische Ausdifferenzierung der T-Zellen [64]. Ausgehend von der Naiven T-Zelle (CD4+/CD8+CD45RA+CD28+CCR7+CD27+CD62L+) wird ein Differenzierungspfad durchlaufen, der mit dem Verlust oder dem Wiedererlangen einzelner Oberflächenmoleküle einhergeht [64] (s. Abbildung 1).

1.5.2 Zentrale Memory T-Zellen

Zu Beginn dieser Antigen-getriggerten Differenzierung steht der Verlust von CD45RA. Zentrale Memory T-Zellen können also als CD4+/CD8+CD45RA-CD28+CD27+CCR7+CD62L+ beschrieben werden [64, 65]. Der Anteil der zytokinproduzierenden Zellen (wie IFN γ , TNF α , Granzym A/B) steigt gegenüber den Naiven T-Zellen [64] (s. Abbildung 1).

1.5.3 Effektor Memory T-Zellen

Mit weiterer Stimulation zeigt sich der steigende Erfahrungsgrad der T-Zellen durch den Verlust der Oberflächenmarker CD28, CD27 und CCR7. Die Produktion von IFN γ und Granzym A und B steigt weiter [64] (s. Abbildung 1).

1.5.4 Effektor Memory RA T-Zellen (TEMRA)

Man geht aktuell davon aus, dass die Effektor Memory RA T-Zellen eine endgradige Differenzierung widerspiegeln. Sowohl bezüglich der Oberflächenmarker als auch der Zytokinproduktion erscheinen sie den Effektor Memory T-Zellen ähnlich. Besonderes Merkmal ist die Reexpression des Oberflächenmarkers CD45RA [64, 65] (s. Abbildung 1).

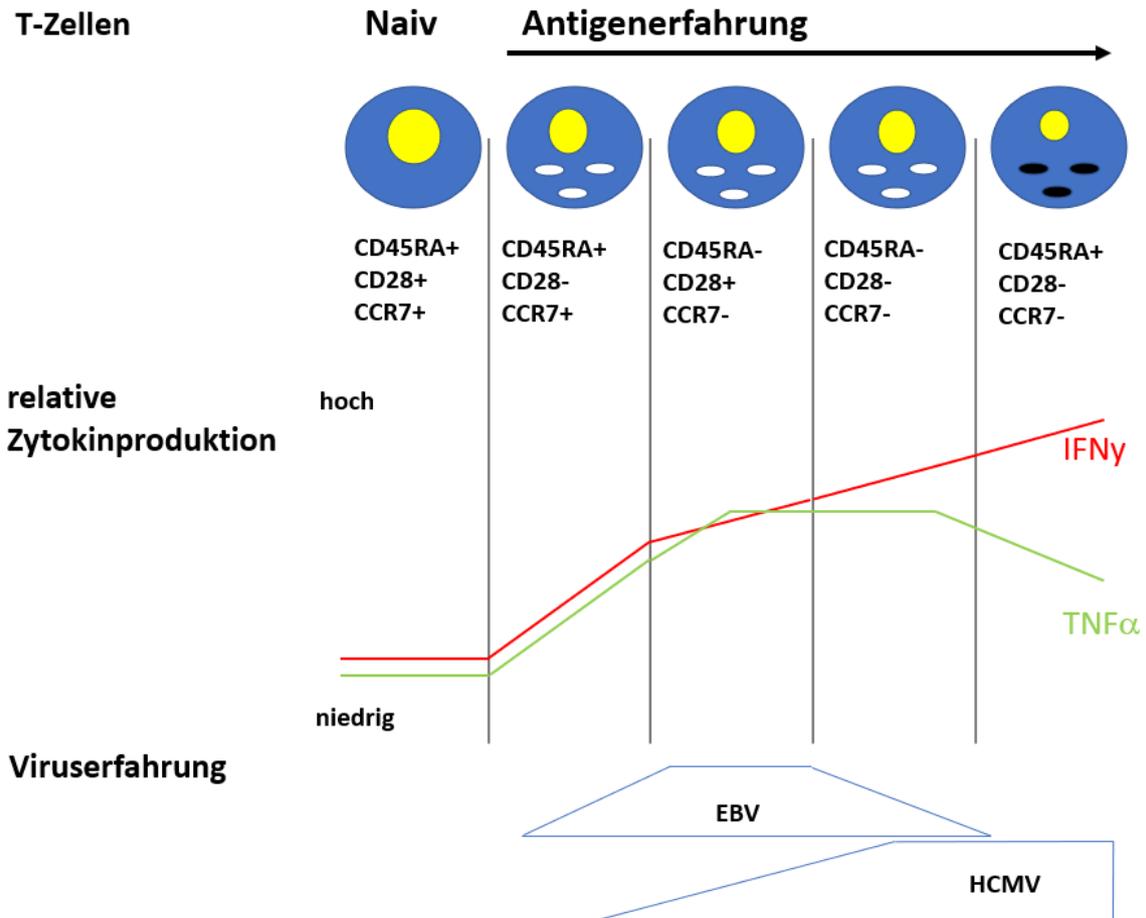


Abbildung 1: T-Zell Differenzierung

Abbildung adaptiert nach Appay [64]. Die Abbildung zeigt schematisch die Entwicklung Naiver T-Zellen zu erfahrenen T-Zellen einhergehend mit dem konsekutiven Verlust des Oberflächenmoleküls CD28, CCR7 und CD45RA. CD45RA wird bei der terminalen Differenzierungsstufe wieder reexprimiert. Auch dargestellt sind die damit verbundene Produktion von IFN γ , TNF α auf unspezifischen Stimulus und die Assoziation zu Seropositivität für EBV und HCMV. EBV= Epstein-Barr-Virus, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, IFN γ = Interferon gamma, TNF α = Tumornekrosefaktor alpha.

1.5.5 Immunoseneszenz: Altern als Erfahrungszugewinn oder als Risiko?

Der Anteil Naiver T-Zellen (CD4 und CD8) ist im peripheren Blut junger gesunder Menschen am größten. Mit steigendem Alter sinkt dieser Anteil signifikant [66]. Neben dem Alter ist auch die latente Infektion mit HCMV ein treibender Faktor, der das Vorkommen der Naiven T-Zellen reduziert [66, 67] und das Auftreten CD28 negativer CD4 T-Zellen (seneszenzente aber hocheffektive Zellen bezüglich der Zytokinproduktion) vorantreibt [45]. Unterstrichen wird der Zusammenhang zwischen HCMV und den CD28 negativen CD4 T-Zellen durch eine Beschreibung, dass eine antivirale Therapie mit

Ganciclovir in bestimmten Fällen auch die Anzahl dieser Zellen reduzieren kann [68]. Bereits in der Altersgruppe der jungen Erwachsenen zeichnet sich der T-Zell Phänotyp durch einen bedeutsamen Verlust Naive Zellen definierender Marker (CD45RA, CD27 und CD4/CD8-Ratio) aus [69]. Diese Tatsache ist innerhalb der Gruppe der JIA Patientinnen und Patienten nicht immer nachweisbar [70].

Trotz der Vorstellung, dass eine längerfristige latente HCMV Infektion die Ausbildung eines erfahrenen Immunsystems mit sich bringt, scheinen einige Abwehrfunktionen auch reduziert zu sein. Moro-Garcia konnte zeigen, dass eine Assoziation zwischen einem hohen Lebensalter einhergehend mit einem hohen Anti-HCMV-Titer und einer schwächeren immunologischen Reaktion auf eine Influenzaimpfung besteht [71]. Auch abgeschwächte Reaktionen auf Tetanusimpfungen wurden bei älteren Menschen beschrieben [72]. Des Weiteren wurden unter Bedingungen eines gealterten Immunsystems bei Mäusen abgeschwächte Reaktionen auf akute Infektionen mit Influenzaviren [73] oder Herpes Simplex Viren [74] beschrieben [75].

Longitudinale Studien in Schweden zeigten an gesunden Patienten mit steigendem Alter beispielsweise einen Verlust der CD4 zu Gunsten der CD8 T-Zellen [76], sowie eine schwächer werdende Stimulierbarkeit dieser Zellgruppen [76]. Patientengruppen, bei denen dieser Effekt verstärkt war, wiesen eine signifikant höhere 2-Jahres-Mortalität auf [76, 77]. Außerdem zeigte sich eine signifikante Assoziation zwischen diesem gealterten Immunsystem und einer HCMV Seropositivität [77, 78].

Dieser Prozess der Immunsystemalterung zeigt sich bei JIA Patientinnen und Patienten deutlich verstärkt [79] (s. Abbildung 2). Ob dies einen Einfluss auf die Krankheitsentstehung an sich hat, oder vielmehr Folge dieser ist [80], bleibt bislang ungeklärt. Ebenso ist unklar, ob die Abwehr gegenüber pathogenen Umwelteinflüssen hierdurch direkt beeinflusst wird [81].

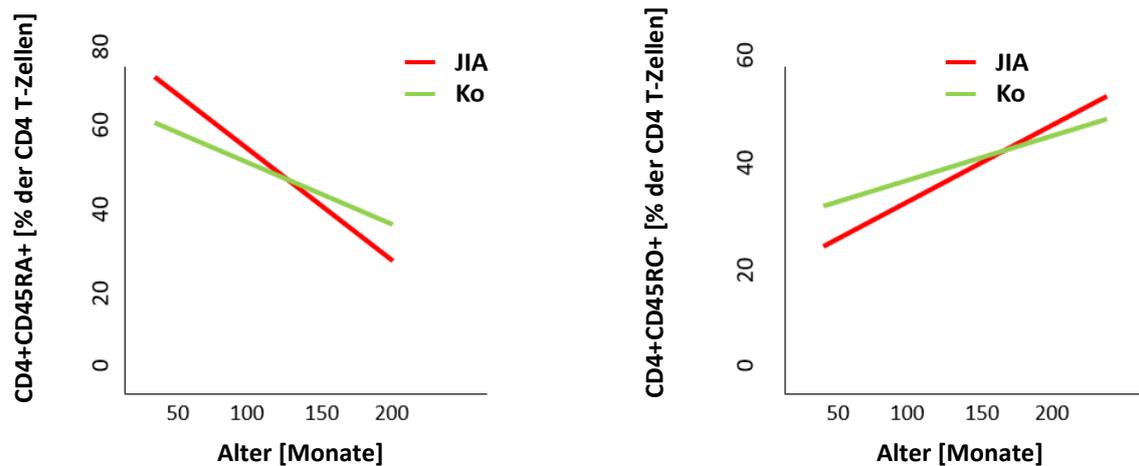


Abbildung 2: Vorzeitige Immunoseneszenz bei JIA Patientinnen und Patienten

Abbildung adaptiert nach Prelog [79]. Die Abbildungen zeigen den prozentualen Anteil der Naiven T-Zellen (links) und der Memory T-Zellen (rechts) in Abhängigkeit vom Alter der Probandinnen und Probanden. Die rote Linie meint jeweils JIA Patientinnen und Patienten, die grüne jeweils Gesundkontrollen. Mit steigendem Alter ist sowohl ein niedrigerer Anteil der Naiven T-Zellen ($p=0,006$), als auch ein höherer Anteil der Memory T-Zellen ($p=0,02$) zu sehen. Dieser Effekt ist bei den JIA Patientinnen und Patienten signifikant, bei den Gesundkontrollen besteht lediglich ein Trend. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen.

1.6 Chemokinrezeptoren bei JIA und HCMV

Die humanen Chemokinrezeptoren (s. Abbildung 3) werden in vier strukturell und funktional unterschiedliche Gruppen eingeteilt: CC, CXC, CX₃C und XC [82]. Dabei stellt sich in der vergangenen Zeit immer mehr die Schlüsselrolle vieler solcher Chemokinrezeptoren bei der (Ätio-)Pathogenese infektiologischer oder autoimmunologischer Krankheitsgeschehen heraus [82]. Abbildung 3 zeigt schematisch den typischen Aufbau von Chemokinrezeptoren mit 7 Transmembrandomänen und der G Protein-Kopplung [83].

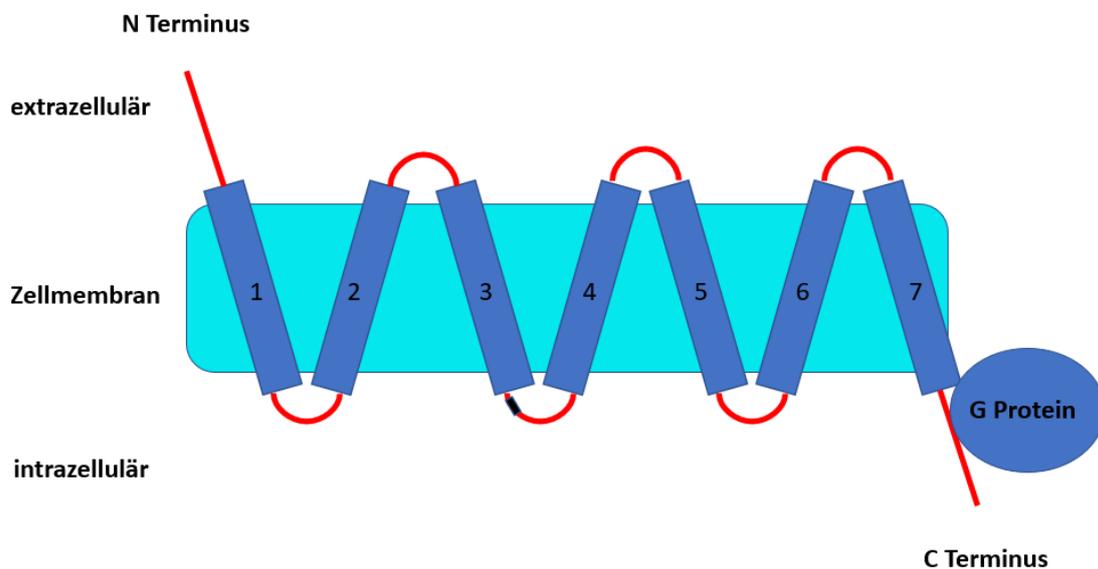


Abbildung 3: Chemokinrezeptor

Abbildung adaptiert nach Abbas [84]. Gezeigt ist der typische Aufbau eines G Protein gekoppelten Chemokinrezeptors mit 7 Transmembrandomänen. C Terminus= Peptidende mit Carboxylgruppe, G Protein= Guaninnukleotid-bindendes Protein, N Terminus= Peptidende mit Aminogruppe.

1.6.1 CCR5 und CXCR3

Grundlegend wird der Chemokinrezeptor CCR5 der IFN γ -dominierten TH1-Reaktion CD4 positiver Lymphozyten zugeordnet [64], und spielt somit bei (Virus-) aktivierten T-Zell Subpopulationen (Zentralen Memory, Effektor Memory, Effektor und Effektor Memory RA T-Zellen) eine wichtige Rolle [85]. CXCR3 ist bei TH1- und TH2-Immunreaktionen von Bedeutung [86].

Die Rolle der Chemokinrezeptoren CCR5 und CXCR3 sowie zugehöriger Liganden wie RANTES/CCL5 (Ligand für CCR5) und IP-10/CXCL10 (Ligand für CXCR3) [87, 88] bei der zielgerichteten Lymphozytenmigration wird in den letzten Jahren immer besser verstanden [82]. Mit CCR5 [89] und CXCR3 [90] wurden Faktoren nachgewiesen, die an der Inflation von Entzündungszellen in entzündete Gelenke beteiligt sind. CCR5 ist darüber hinaus an der Stärke dieser Einwanderungsreaktion [91], sowie - zumindest in Tiermodellen - auch für die Aufrechterhaltung bzw. Regulation der Entzündungsreaktion beteiligt [92, 93].

Gelenkpunktate (diagnostische oder therapeutische Aspirationen intraartikulärer Flüssigkeiten) von Patientinnen und Patienten, die an einer JIA leiden, beinhalten CD4 und CD8 T-Lymphozyten mit einer vermehrten Expression von CCR5 und CXCR3 im Vergleich zur Expression selbiger auf peripher zirkulierenden Lymphozyten [22, 87]. Bei Patientinnen und Patienten mit einer EAA liegen im Serum gemessene (IP)-10/CXCL10 Spiegel höher als bei Gesundkontrollen [87].

Tiermodelle weisen die Möglichkeit auf, durch Strategien zur Blockade der CCR5- [92, 93] oder CXCR3/IP-10/CXCL10- [94, 95] Signalkaskaden, die zielgerichtete Migration von TH-Zellen in periphere Entzündungsgebiete zu senken [93, 95] und sogar die klinische Krankheitsaktivität in autoimmunologisch entzündeten Gelenken zu mindern [92, 94].

Andere Untersuchungen beschreiben bei funktioneller Missmutation im CCR5 Gen einen protektiven Effekt vor der Entwicklung einer JIA [96].

Auch bei der Immunantwort auf das murine Zytomegalievirus (mCMV) spielt CXCR3 eine große Rolle, nämlich bei der Migration mCMV spezifischer, IFN γ sekretierender, CD8 T-Zellen [97].

Sowohl bei einer chronischen Infektion mit dem Hepatitis B als auch dem Hepatitis C Virus ist die Expression des Chemokinrezeptors CXCR3 auf peripheren CD8 T-Zellen und den zugehörigen Subpopulationen erhöht [98].

Kostimulationsversuche mononukleärer Zellen aus Nabelschnurblut mit HCMV-infizierten Monozyten ergaben eine HCMV assoziierte Hochregulation des Oberflächenmoleküls CCR5 auf CD4 Zentralen Memory T-Zellen [99].

1.7 Zielsetzung und Fragestellung

Sowohl in Assoziation zu einem positiven HCMV IgG Serostatus, als auch beim Vorliegen einer JIA wurde eine übermäßige Seneszenz von T-Zellen beschrieben [67, 70]. In der vorliegenden Arbeit soll im Speziellen die Assoziation einer latenten HCMV Infektion mit dem Phänotyp und der Zytokinproduktion von T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA Patientinnen und Patienten untersucht werden. Wir nehmen an, dass HCMV das vorbestehend seneszenzente Immunsystem von JIA Patientinnen und Patienten [79] noch deutlich mehr differenzieren lässt und somit die Zeichen einer Immunoseneszenz akzeleriert.

Zu diesem Zweck wird per ELISA der HCMV Serostatus aller Probandinnen und Probanden bestimmt und der Phänotyp und die Zytokinproduktion der T-Zellen mittels Durchflusszytometrie gemessen. Es stellt sich die Frage, ob bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten eine andere Verteilung der T-Zell Subpopulationen vorliegt, als bei den seronegativen (wie für ältere gesunde Probandinnen und Probanden vorbeschrieben [67]) und Anzeichen einer vorzeitigen T-Zell-Immunoseneszenz mit vermehrter Ausdifferenzierung der T-Zellen bestehen. Ebenso soll diese Hypothese für die intrazelluläre Zytokinproduktion untersucht werden, da eine vermehrte Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen bei den differenzierten T-Zellen bei HCMV-seropositiven Personen gezeigt werden konnte [67].

Außerdem wird die Expression spezieller Migrationsfaktoren wie der Chemokinrezeptoren CCR5 und CXCR3 in diesen Gruppen miteinander verglichen. Für diese beiden Chemokinrezeptoren ist nachgewiesen, dass sie an der Migration von TH1-

Zellen in entzündete Gewebe beteiligt sind [89, 90] und auch bei der HCMV Infektion eine Rolle spielen [97, 99].

2. Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Verbrauchsmaterialien

Die Verbrauchsmaterialien sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Verbrauchsmaterial

	Handelsname	Hersteller	Lot Nr.
Cryo Tubes	Cryo.s™, PP	Greiner Bio-one, Frickenhausen, Deutschland	
Eppendorf Tubes	SafeSeal, 1,5ml	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland	72.706
	SafeSeal, 2ml	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland	72.695.500
Falcon Tubes	Cellstar, 15ml	Greiner Bio-one, Frickenhausen, Deutschland	188271
	Cellstar, 50ml	Greiner Bio-one, Frickenhausen, Deutschland	227261
Frosty Box	Cryo Freezing Container	Nalgene, Rochester, USA	51000001
Glaspipette	Cellstar, 10ml	Greiner Bio-one, Frickenhausen, Deutschland	607 180
Petrischalen	Cellstar, Tissue Culture Dishes, PS, 60x15mm	Greiner Bio-one, Frickenhausen, Deutschland	628160

	Cellstar, Tissue Culture Dishes, PS, 94x16mm	Greiner Bio-one, Frickenhausen, Deutschland	
	Cellstar, 96 Well Cell Culture Plate	Greiner Bio-one, Frickenhausen, Deutschland	
Pipettenspitzen	Biosphere Filter tips, 10µl	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland	70.760.210
	Biosphere Filter tips, 100µl	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland	70.760.212
	Biosphere Filter tips, 1000µl	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland	70.760.211

Aufgelistet sind die allgemein üblichen Bezeichnungen, die Handelsnamen, die Hersteller und die Lot Nummern.

2.1.2 Puffer und Nährmedien

Die Puffer und Nährmedien sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Puffer und Nährmedien

	Handelsname	Hersteller	Lot Nr.
Ficoll	Aqua ad iniectabilia	B. Braun, Melsungen, Deutschland	114558061
	FicoLite-H (Human)	Linaris, Dossenheim, Deutschland	151122P
	Isotonische Kochsalzlösung	Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland	14FA1014
Nährmedium	fetal calf serum (FCS)	GIBCO, Life Technologies, Carlsbad, USA	10270-106

	Glutamin	Biochrom AG, Berlin, Deutschland	0763K
	Penicillin Streptomycin	Biochrom AG, Berlin, Deutschland	A 2213
	RPMI 1640	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	R8758
	TB-1 ClonalExpress (Serum free with Pen-Strep)	BioConcept Ltd. Amimed, Allschwil, CH	1-28F03-I
Pufferlösungen	Bovines Serum Albumin (BSA)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	A2058-1G
	Dimethylsulfoxid (DMSO)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	D8418-50ML
	Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	E-5134
	Phosphate buffered saline (PBS)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	P-9144
Stimuli	Brefeldin A (in Ethanol)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	B6542-5MG
	Ionomycin	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	I9657-1MG
	Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) in DMSO+RPMI	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	P81391-1MG

Aufgelistet sind die allgemein üblichen Bezeichnungen, die Handelsnamen, die Hersteller und die Lot Nummern.
RPMI= Zellkulturmedium (Hydrogenkarbonat Puffersystem).

2.1.3 Gebrauchsfertige Lösungen

Die gebrauchsfertigen Lösungen sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Gebrauchsfertige Lösungen

Einfríermedium	RPMI + 20% FCS + 10% DMSO
Erythrozyten-Lysis-Puffer	8,26g Ammoniumchlorid + 1g Kaliumbicarbonat + 0,037g EDTA in 1l Aqua dest.
FACS-Puffer	0,5% BSA + 0,01% Natriumazid in PBS
Nährmedium	RPMI + 1% PenStrep + 10% FCS
PBS	1 Tablette für 500ml Volumen (gelöst in Aqua dest.)

Aufgelistet sind die allgemein üblichen Bezeichnungen und die genaue Zusammensetzung. BSA= Bovines Serum Albumin, DMSO= Dimethylsulfoxid, EDTA= Ethylenediaminetetraacetic acid, FCS= fetal calf serum (fetales Kälberserum), PBS= Phosphate Buffered Saline (phosphatgepufferte Salzlösung), RPMI= Zellkulturmedium (Hydrogenkarbonat Puffersystem).

2.1.4 Gebrauchsfertige Kits

Die gebrauchsfertigen Kits sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Tabelle 5: Gebrauchsfertige Kits

	Handelsname	Hersteller	Lot Nr.
Fixationspuffer	Cytofix	Biologend, San Diego, USA	420801
Permeabilisierungspuffer	Cytoperm	Biologend, San Diego, USA	421002
Anti-HCMV-ELISA	Anti-CMV-ELISA (IgG)	EUROIMMUN, Lübeck, Deutschland	EI 2570-9601 G
Anti-HCMV-ELISA	Anti-CMV-ELISA (IgM)	EUROIMMUN, Lübeck, Deutschland	EI 2570-9601 M

Aufgelistet sind die allgemein üblichen Bezeichnungen, die Handelsnamen, die Hersteller und die Lot Nummern. ELISA= Enzyme-linked Immunosorbent Assay, HCMV= Humanes Zytomegalievirus.

2.1.5 Antikörper

Die verwendeten Antikörper sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 6: Antikörper

Antikörper	Farbe	Hersteller	Lot	Cat.	Klon
CD 3	FITC	BioLegend, San Diego, USA	B140045	300306	HIT3a
CD 4	APC	BioLegend, San Diego, USA	B136214	317416	OKT4
CD 4	Brilliant Violet 421	BioLegend, San Diego, USA	B149795	300532	RPA-T4
CD 4	PE	BioLegend, San Diego, USA	B142769	317410	OKT4
CD 8	PE	BioLegend, San Diego, USA	B140247	344706	SK1
CD 8	PerCP	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	12928	345774	SK1
CD 19	APC	BioLegend, San Diego, USA	B141887	302212	HIB19
CD 28	Horizon V450	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	17615	561377	CD28.2

CD 31	PE	BioLegend, San Diego, USA	B137345	303106	WM59
CD 45RA	FITC	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	10095	555488	HI100
CD 45RO	PE	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	90248	555493	UCHL1
CD 45RO	PerCP Cy5.5	BioLegend, San Diego, USA	B114906	304222	UCHL1
CD 56	AlexaFluor700	BioLegend, San Diego, USA	B1143230	318306	HCD56
CD 62L	PE	BioLegend, San Diego, USA	B133139	304806	DREG-56
CCR5 (CD 195)	APC Cy7	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	88577	557755	2D7/CCR5
CCR6 (CD196)	PerCP Cy 5.5	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	2597	560467	11A9
CCR6 (CD196)	PE	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	15814	559562	11A9

CCR7	Alexa Fluor 700	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	32652	561143	150503
CXCR3 (CD183)	PerCP Cy5.5	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	2140	560832	1C6/CXCR3
TCR α/β	FITC	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	57784	555547	T10B9.1A-31
TCR γ/δ	FITC	BD Biosciences, Frankling Lakes, USA	88349	347903	11F2
IFN- γ	FITC	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	503022800	120000863	4S.B3
IL-4	APC	BioLegend, San Diego, USA	B135014	500714	8D4-8
TNF- α	FITC	BioLegend, San Diego, USA	B133534	502906	MAb11

Aufgelistet sind die Bezeichnungen der Antikörper, die Farbe, die Hersteller, die Lot Nummern, die Katalog Nummer und die Klone. APC= Allophycocyanin, CCR= CC-Motiv-Chemokinrezeptor, CD= Cluster of Differentiation, CXCR= CXC-Motiv-Chemokinrezeptor, FITC= Fluoreszeinisothiocyanat, IFN- γ = Interferon gamma, IL= Interleukin, PE= Phycoerythrin, PerCP= Peridin-Chlorophyll-Protein, TCR= T-Zell-Rezeptor, TNF- α = Tumornekrosefaktor alpha.

2.2 Probandinnen und Probanden

Die Rekrutierung der Probandinnen und Probanden für unsere Studie erfolgte mit Genehmigung der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg (Ethikvotum Nr. 239/10). Die Aufklärung der Patientinnen und Patienten, der Kontrollprobandinnen und -probanden sowie bei Minderjährigen derer Erziehungsberechtigten, erfolgte mittels eines ausführlichen ärztlichen Gesprächs unter Zuhilfenahme eines übersichtlichen und laienverständlichen Aufklärungsbogens. Alle in die Studie eingeschlossenen Probandinnen und Probanden bzw. deren Erziehungsberechtigte gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme. Grundlage für die Durchführung der Studie war die Deklaration von Helsinki 2013 sowie die Prinzipien der „Good Clinical Practice“ und „Good Laboratory Practice“.

2.2.1 JIA Probandinnen und Probanden

Es handelt sich um eine prospektiv durchgeführte Querschnittsanalyse im Sinne einer kontrollierten Kohorten-Studie. Der Einschluss der JIA Patientinnen und Patienten (n=99) wurde im Rahmen der ambulanten klinischen Routinevorstellung in der kinderrheumatologischen Sprechstunde der Kinderklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Würzburg ermöglicht. Die Erfüllung der JIA-definierenden Kriterien der International League of Associations for Rheumatology (ILAR) war Grundvoraussetzung.

Zum Ausschluss von der Teilnahme an der Studie führten Malignome, Immundefekte, klinisch relevante Infektionen in den letzten acht Wochen (mit ärztlicher Vorstellung), monogenetisch determinierte Syndrome (z.B. Trisomie 21), der Erhalt von Fremdblutprodukten in den letzten drei Monaten (z. B. Thrombozyten- oder Erythrozytenkonzentrate sowie Immunglobuline) oder Impfungen in den letzten vier Wochen.

2.2.2 Kontrollprobandinnen und -probanden

Die Population der Kontrollprobandinnen und -probanden (n=50) konnte aus den Patientinnen und Patienten der kinderchirurgischen Abteilung der Klinik und Poliklinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie, Gefäß- und Kinderchirurgie der Universitätsklinik Würzburg erfolgen. Diese Gesundheitskontrollen waren immunologisch-rheumatologisch gesund und unterlagen den gleichen Ausschlusskriterien wie die JIA Probandinnen und Probanden. Die Blutentnahme wurde stets vor Beginn der anstehenden Operation im Rahmen der Anlage eines peripher venösen Katheters oder einer klinisch notwendigen Blutentnahme durchgeführt. Patientinnen und Patienten mit vorangegangener Fremdkörperimplantation (beispielsweise Metallimplantationen bei unfallchirurgischen Eingriffen) wurden ausgeschlossen, da auch die immunologische Präsentation dieses Fremdkörpers längerfristige immunologische Veränderungen hervorrufen könnte.

2.3 Methoden

2.3.1 Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

2.3.1.1 Testprinzip

Mithilfe des hier verwendeten ELISA (s. Tabelle 5) können humane Antikörper (hier Antikörper der Immunglobulinklasse IgG und IgM) gegen HCMV aus Patientenserum in vitro semiquantitativ oder quantitativ bestimmt werden. Die Reagenzgefäße sind mit HCMV Antigenen beschichtet. Im ersten Schritt werden die Gefäße mit den Patientenproben inkubiert. Bei positiven Proben binden spezifische Antikörper an die entsprechenden Antigene. Zur Darstellung dieser Antikörper inkubiert man die Probe in einem zweiten Schritt mit einem enzymmarkierten Anti-Human-IgG (Enzymkonjugat), welches eine sich anschließende Farbreaktion katalysiert.

2.3.1.2 Durchführung

Die Durchführung des ELISA zur Detektion HCMV-spezifischer IgG und IgM Antikörper erfolgt nach Schema des Herstellers EUROIMMUN (s. Tabelle 5). Der Hersteller gibt für IgG eine Sensitivität von 98,4% und eine Spezifität von 100% [100], für IgM eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 98,3% an [101]. Die Antikörper werden aus Serumproben von JIA Patientinnen und Patienten und Kontrollprobandinnen und -probanden bestimmt. Zu Beginn werden die Proben im Verhältnis 1:100 mit Probenpuffer verdünnt. Auf die 96-well Platte werden je 100µl der Positiv- und Negativkontrolle, der Kalibratoren und verdünnten Patientenproben aufgetragen. Es erfolgt eine Inkubation für 30 Minuten bei Raumtemperatur. Anschließend werden die Reagenzgefäße nach dreimaligem Waschen mit je 100µl Enzymkonjugat (Peroxidase-markiertes Anti Human-IgG/IgM) für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach erneutem dreimaligem Waschen gibt man 100µl Chromogen/Substrat-Lösung in die wells und inkubiert für 15 Minuten bei Raumtemperatur. Durch Hinzugeben der Stopplösung wird die ablaufende Reaktion beendet und die Farblösungen werden innerhalb von 30 Minuten bei 450nm Messwellenlänge und einer Referenzwellenlänge von 620nm bis 650nm photometrisch gemessen.

2.3.1.3 Quantitative Bestimmung der HCMV Antikörper

Mithilfe der gemessenen Extinktion der 3 Kalibratoren wird für jeden Versuchsansatz eine Standardkurve erstellt (s. Abbildung 4).

Dabei ist die relative Einheit (RE)/ml bekannt:

- Kalibrator 1: 2 RE/ml
- Kalibrator 2: 20 RE/ml
- Kalibrator 3: 200 RE/ml

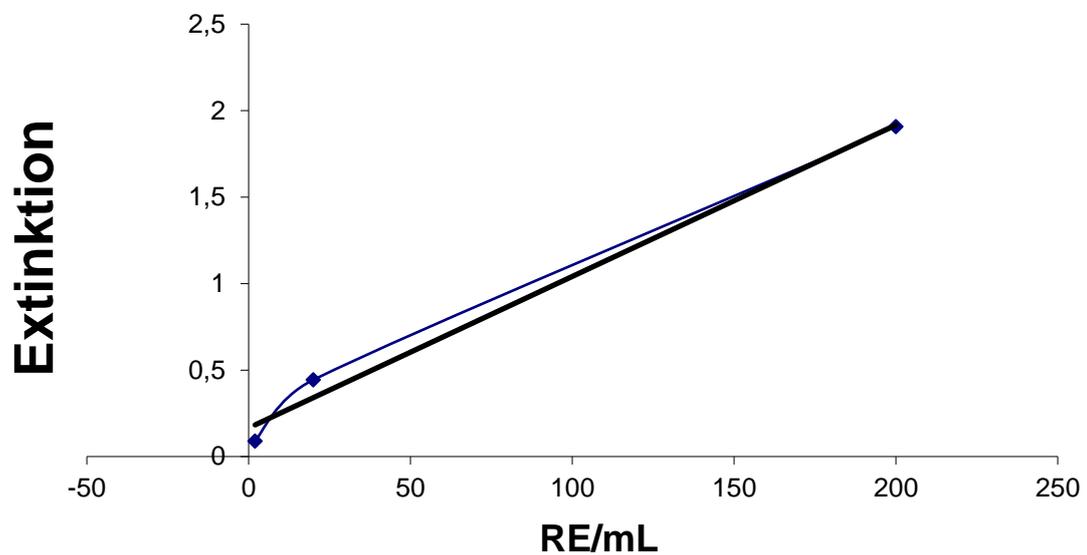


Abbildung 4: Beispiel einer Standardkurve zur quantitativen HCMV Antikörperbestimmung

Auf der Y-Achse ist die gemessene Extinktion, auf der X-Achse sind die Relativen Einheiten (RE)/ml aufgetragen.

Für die Ausgleichsgerade gilt hier $f(x)=0,0088x + 0,1655$.

Für die Funktion der Ausgleichsgerade gilt dann folgende Formel:

$$f(x) \text{ [gemessene Extinktion]} = \text{Steigung} * x \text{ [relative Einheiten/ml]} + \text{Y-Achsenabschnitt}$$

Hieraus lassen sich für jeden einzelnen Messwert die relativen Einheiten/ml berechnen:

$$x \text{ [relative Einheiten/ml]} = (f(x) \text{ [gemessene Extinktion]} - \text{Y-Achsenabschnitt}) / \text{Steigung}$$

Bei dem hier verwendeten ELISA Kit gilt eine Probe bei einer Relativen Extinktion (RE) von ≥ 22 RE/ml als positiv.

2.3.2 Ficoll Dichtegradientenzentrifugation zur Isolierung von PBMC

Zur Isolierung der peripheren zirkulierenden mononukleären Zellen (Peripher Blood Mononuclear Cells, PBMC) wurde die Methode der Ficoll Dichtezentrifugation angewandt.

2.3.2.1 Testprinzip

Hierbei dient das Saccharose-Epichlorhydrin-Copolymer Ficoll als Trennmedium nach dem Prinzip der diskontinuierlichen Dichtegradientenzentrifugation. Das Suspensionsgemisch aus Leukozyten sammelt sich bei ähnlicher Dichte wie die Ficoll Lösung direkt oberhalb dieser. Erythrozyten werden gemäß ihrer Sedimentationsgeschwindigkeit zum Boden des Reagenzgefäßes zentrifugiert, Thrombozyten und Plasma finden sich oberhalb der Lymphozyten (s. Abbildung 5 und Abbildung 6) [102].

2.3.2.2 Durchführung

Die Blutentnahme erfolgte in heparinisierte Monovetten. Die Blutprobe wird unter sterilen Bedingungen vorsichtig auf 20ml Ficoll Lösung aufgeschichtet (s. Abbildung 5) und für 25 Minuten bei 1700rpm ohne Bremse zentrifugiert. Hierbei separieren sich die PBMC (s. Abbildung 6), die nach der Zentrifugation abgenommen werden können. Es folgen weitere Waschschrte, unter anderem auch eine Lyse der verbliebenen Erythrozyten und nach der Zellzählung werden die PBMC mit Einfriermedium (RPMI +10%DMSO +20%FCS) erst bei -80°C und anschließend in Flüssigstickstoff eingefroren.

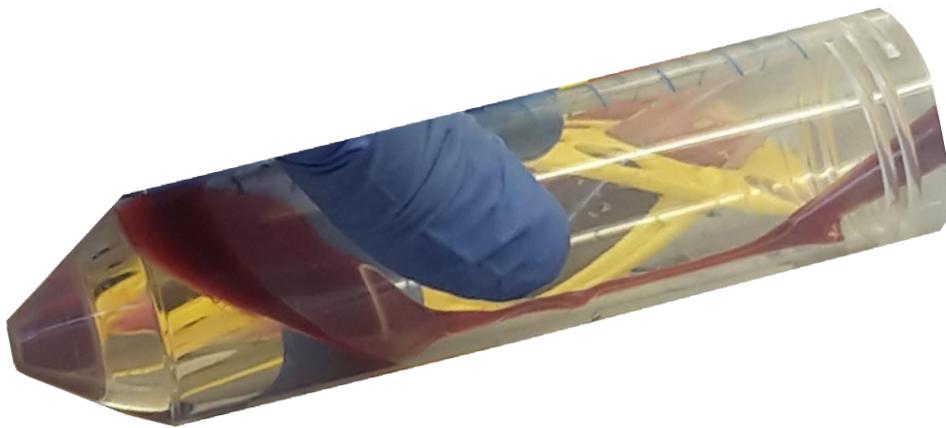


Abbildung 5: Aufschichtung einer Blutprobe auf Ficoll Lösung

Unter sterilen Bedingungen wird die Blutprobe vorsichtig auf die Ficoll Lösung aufgeschichtet, um ein vorzeitiges und unkontrolliertes Vermischen mit der Lösung zu vermeiden.



Abbildung 6: Blutprobe und Ficoll Lösung nach Zentrifugation

Nach der Zentrifugation sind hier von unten nach oben folgenden Schichten erkennbar: Erythrozyten und Thrombozyten, Ficoll Lösung, Lymphozyten, Plasma.

2.3.3 Durchflusszytometrische Messungen

2.3.3.1 Testprinzip

Spezielle fluoreszierende Antikörper binden an Oberflächenmoleküle oder intrazelluläre Moleküle der zu messenden Zellen. Diese gebundenen Antikörper können mithilfe der Durchflusszytometrie gemessen werden. Durch einen Laser werden die Elektronen der Fluoreszenzfarbstoffe auf ein höheres Energieniveau angehoben. Bei der Umkehr dieser Reaktion wird die Energie in Form von Photonen wieder frei, welche mit den Photodetektoren des Durchflusszytometers gemessen werden können. Die Photodetektion verhält sich proportional zur gebundenen Antikörpermenge. Innerhalb einer Sekunde können so circa 1000 Zellen gemessen werden [103, 104].

2.3.3.2 Durchführung

Auftauen der Proben: Das Auftauen der Proben erfolgt durch Resuspendieren der gefrorenen PBMC in 20ml kaltem Nährmedium (RPMI P/S +10% FCS). Nach zweimaligem Waschen (Zentrifugation bei 1500rpm für 5min) werden die PBMC in 8,5ml warmem Nährmedium wiederaufgenommen. Davon werden nun 3ml für die phänotypischen Messungen direkt gefärbt, und 5ml zur Zytokinbestimmung mit unspezifischen Stimulantien inkubiert. Diese Inkubation erfolgt mit PMA (30ng/ml), Ionomycin (1µg/ml) und Brefeldin A (10µg/ml) für 4 Stunden bei 37°C und 4% CO₂.

Anfärbung der Oberflächenmoleküle: Zuerst erfolgt die Aufteilung der Zellsuspension auf 19 FACS-Röhrchen und ein Waschschrift mit jeweils 1ml FACS-Puffer. Nach Hinzugabe der entsprechenden Antikörper werden die PBMC für 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Es folgen ein Waschschrift mit PBS und die Wiederaufnahme der PBMC in 200µl FACS-Puffer.

Anfärbung der intrazellulären Zytokine: Analog erfolgen auch hier die gleichen Schritte wie zur Oberflächenfärbung. Zusätzlich werden im Anschluss die PBMC mit Fixationspuffer fixiert, mit Permeabilisierungspuffer und den entsprechenden intrazellulären Antikörpern für 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und danach mit dem gleichen Puffer wieder gewaschen. Auch hier erfolgt abschließend die Wiederaufnahme in 200µl FACS Puffer.

Nun erfolgt die durchflusszytometrische **Messung** der Proben mithilfe des BD FACSCanto™ II Flow Cytometer (3 Laser, 6 Farben) und die Auswertung mittel BD FACS DIVA Software v6.1.3 (s. Abbildung 7).

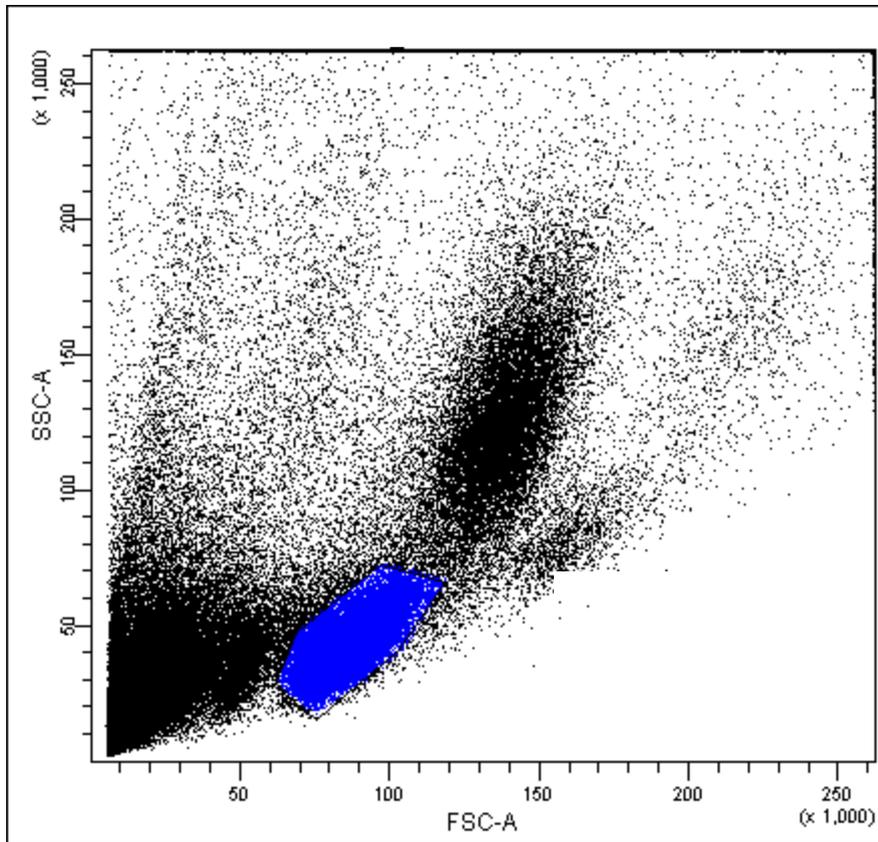


Abbildung 7: FACS Messung der PBMC

Die Abbildung zeigt eine repräsentative durchflusszytometrische Darstellung der PBMC. Jeder Punkt stellt ein Fluoreszenz-Event dar. Auf der X-Achse (FSC) sind die Zellen nach Volumen, auf der Y-Achse (SSC) nach Granularität aufgetragen. Farbig hinterlegt finden sich die Lymphozyten. FSC= Forward Scatter (Vorwärtsstreulicht), SSC= Side Scatter (Seitstreulicht).

2.3.3.3 Substanzen zur Messbarmachung intrazellulärer Zytokine

Die vierstündige Inkubation der PBMC mit PMA, Ionomycin und Brefeldin A ermöglicht eine antikörperbasierte Anfärbung und Messung intrazellulärer Zytokine:

Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) aktiviert die Proteinkinase C und führt somit zu einer starken unspezifischen Zytokinproduktion [105].

Ionomycin wird von dem Bakterium *Streptomyces conglobatus* produziert und stimuliert ebenfalls PBMC unspezifisch [106].

Brefeldin A (BFA) beeinflusst als Pilzmetabolit die Struktur und Funktion des Golgi Apparats negativ [107]. Dies hat zur Folge, dass die intrazellulär produzierten Zytokine nicht aus den Zellen heraustransportiert werden können und ermöglicht somit eine antikörperbasierte intrazelluläre Messung der Zytokine.

2.3.4 Statistik

Die statistische Auswertung der Daten und Erstellung der Grafiken erfolgten mittels IBM SPSS Statistics Version 23 und 24 (Chicago, IL). Mit Komolgorov-Smirnov Test wurde auf Normalverteilung getestet. Der Student-t-Test wurde für normalverteilte unabhängige Daten, der Mann-Whitney-U-Test für nicht normal verteilte unabhängige Daten verwendet. Spearman rank- und Pearson-Korrelationskoeffizient wurde für die Analyse von Korrelationen verwendet, der Chi-Quadrat-Vierfelder-Test für den Vergleich der Häufigkeitsverteilung dichotomer Daten. Auf Grund des explorativen Charakters der Studie wurde nicht auf multiples Testen korrigiert.

Bei der Auswertung galt $p < 0,05$ als signifikant und $p < 0,001$ als hochsignifikant.

3. Ergebnisse

3.1 Epidemiologische Beschreibung der Gesamtpopulation

Die Kriterien der „International League of Associations for Rheumatology“ (ILAR) heranziehend, stellt sich die beschriebene Gesamtstudienpopulation wie folgt dar: 66,4% der Studienteilnehmerinnen und Studienteilnehmer leiden an JIA und 33,6% sind gesunde Kontrollpersonen (s. Tabelle 7).

Tabelle 7: Zusammensetzung der Gesamtkohorte

	Häufigkeit [n]	Anteil an der Gesamtkohorte [%]
JIA	99	66,4
Ko	50	33,6
Gesamt	149	100

Gesamtstudienpopulation n=149, davon sind 66,4% JIA Patientinnen und Patienten und 33,6% Gesundkontrollen. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen.

Die Gesamtgruppe der in die Studie einbezogenen Patientinnen und Patienten umfasst 149 Kinder und junge Erwachsene. Hiervon sind 65 (43,6%) männlichen und 84 (56,4%) weiblichen Geschlechts. Das mittlere Alter bei Blutentnahme betrug 11,67 Jahre (SD +/- 4,87, Min 1,06, Max 21,96) (s. Tabelle 9).

Wie in der Literatur vorbeschrieben, sind die meisten JIA Patienten weiblichen Geschlechts. Dies spiegelt sich auch in unserer Population wider (s. Tabelle 8). Dieser Unterschied zeigt sich unter Zuhilfenahme des Pearson Chi-Quadrat-Tests als hochsignifikant ($p < 0,001$).

Tabelle 8: Geschlechterverteilung innerhalb der Studienpopulationen

	JIA	Ko
Männlich [n]	32 (32,3%)	33 (66,0%)
Weiblich [n]	67 (67,7%)	17 (34,0%)
Gesamt [n]	99 (100%)	50 (100%)
Signifikanz	Pearson Chi-Quadrat: $p < 0,001$	

Innerhalb der JIA Patientinnen und Patienten sind 32,3% weiblichen Geschlechts. Das Signifikanzniveau liegt bei $p < 0,001$. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen.

Von allen Kindern und Jugendlichen wurde mittels HCMV-spezifischem ELISA der Serostatus der latenten HCMV Infektion erhoben (s. Tabelle 9).

3.2 Epidemiologisch-serologische Beschreibung der Gesamtkohorte

Tabelle 9: Übersichtstabelle epidemiologisch-serologische Beschreibung der Gesamtkohorte und wichtige Biomarker

Studienpopulation [Mittelwert] (Min-Max)	Ko		Signifikanz	JIA		Signifikanz
	HCMV -	HCMV +		HCMV -	HCMV +	
Patientenanzahl	50 (33,6%)			99 (66,4%)		
[n]	41 (82,0%)	9 (18,0%)		70 (70,7%)	29 (29,3%)	
Alter	10,9 (1,2-22,0)			12,4 (1,1-21,4)		n.s.
[Jahre]	9,4 (1,2-19,5)	12,4 (4,9-22,0)	n.s.	12,8 (2,2-20,2)	11,9 (1,1-21,4)	n.s.
Geschlecht	17/33			67/32		p<0,001
[weiblich/männlich]	13/28	4/5	n.s.	47/23	20/9	n.s.
Therapie [n]:						
NSAR	-			30/50 (60%)		
	-	-		18/28 (64%)	12/22 (54,5%)	n.s.
Corticosteroide	-			6/51 (11,8%)		
	-	-		4/28 (14,3%)	2/23 (8,7%)	n.s.

MTX	-		25/51 (49%)		
	-	-	19/28 (67,9%)	6/23 (26,0%)	p<0,003
Biologika	-		2/51 (3,9%)		
	-	-	7/35 (2,0%)	2/23 (8,7%)	n.s.
Krankheitsdauer [Jahre]	-		6,2 (0,25-15,7)		
	-	-	6,0 (0,4-15,7)	6,5 (0,3-14,3)	n.s.
Krankheitsdauer [Monate]	-		74,5 (3,0-188,0)		
	-	-	72,2 (5,0-188,0)	78,1 (3,0-171,0)	n.s.
Alter bei Diagnose [Jahre]	-		6,9 (0,6-15,8)		
	-	-	7,2 (1,3-15,78)	6,3 (0,6-13,7)	n.s.
Alter bei Diagnose [Monate]	-		82,5 (7,0-189,0)		
	-	-	86,8 (16,0-189,0)	76,0 (7,0-164,0)	n.s.
Krankheitsaktivität (aktiv/Remission (%))	-		9/11		
	-	-	4/7 (36,4/63,6)	5/4 (55,6/44,4)	n.s.
CrP>1,5 mg/dl [n]	-		2 (4,2%)		
	-	-	0 (0%)	2 (5,7%)	n.s.

BSG [mm/h]	-			9,4 (3,0-40,0)		
	-	-		9,1 (3,0-23,0)	9,6 (3,0-40,0)	n.s.
Leukozyten [*1000/ μ l]	5,9 (3,5-12,5)			7,3 (2,9-13,8)		p=0,028
	5,7 (3,5-10,6)	6,5 (4,3-12,5)	n.s.	7,5 (4,5-13,8)	7,0 (2,9-11,4)	n.s.
Lymphozyten [%]	38,1 (9,4-59,5)			34,5 (6,7-67,0)		n.s.
	39,7 (26,7-59,5)	34,2 (9,4-44,5)	n.s.	31,8 (6,7-67,0)	37,9 (18,0-61,0)	n.s.
Lymphozyten [n*1000/ μ l]	2,1 (1,2-4,8)			2,4 (0,7-7,6)		n.s.
	2,2 (1,3-4,8)	1,9 (1,2-2,3)	n.s.	2,3 (0,7-7,6)	2,6 (1,1-5,9)	n.s.

Vergleich zwischen Gesundkontrollen und JIA Patientinnen und Patienten sowie jeweils zwischen HCMV IgG seronegativen und seropositiven Probandinnen und Probanden. Innerhalb der JIA Patientinnen und Patienten ist der Anteil der weiblichen Probanden signifikant größer ($p < 0,001$). Der Anteil der Gesamtleukozyten ist bei den JIA Patientinnen und Patienten signifikant größer als bei den Gesundkontrollen ($p = 0,028$). Remission definiert nach den Kriterien von Wallace [108]: keine aktive Arthritis, kein Fieber, kein Exanthem, keine Serositis, keine Splenomegalie, keine Lymphknotenschwellung infolge JIA, keine aktive Uveitis, normale BSG/ normales CrP, bestmögliche Globalbewertung, Morgensteifigkeit ≤ 15 Minuten. Aktive Erkrankung definiert als mindestens 30% Verschlechterung in 3 der 6 folgenden Parameter [109]: Globalbewertung durch den Arzt, Globalbewertung durch den Patienten, Zahl der Gelenke mit Arthritis, Zahl der Gelenke mit Bewegungseinschränkung, Funktionsfähigkeit im Alltag, Akut-Phaseparameter (BSG oder CrP). Therapie: NSAR: Naproxen 10-15mg/kg KG/d in 2 Einzeldosen per os, Ibuprofen 20-40mg/kg KG/d in 3-4 Einzeldosen per os; Corticosteroide: Prednison/-olon, Methylprednisolon 0,1-0,2mg/kg KG/d (max. 5mg/d) per os; MTX: 10-15mg/m² Körperoberfläche/Woche subcutan/ per os/ intravenös; Biologica: Etanercept 0,8mg/kg KG/ Woche in 1-2 Einzeldosen subcutan, Adalimumab < 30 kg KG 20mg alle 2 Wochen, ≥ 30 kg KG 40mg alle 2 Wochen subcutan [109]. BSG= Blutsenkungsgeschwindigkeit, CrP= C-reaktives Protein, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen, Max= Maximum, Min= Minimum, MTX= Methotrexat, n.s.= nicht signifikant, NSAR= Nichtsteroidale Antirheumatika.

Zwischen den JIA Patientinnen und Patienten und den Kontrollprobandinnen und -probanden besteht kein signifikanter Altersunterschied (s. Tabelle 9).

Betrachtet man die gesamte Studiengruppe, so zeigen sich bei 38 (25,5%) Kindern und jungen Erwachsenen Zeichen einer stattgehabten HCMV Infektion. 111 Kinder und junge Erwachsene (74,5%) hingegen haben keinen nachweisbaren Titer für HCMV (s. Tabelle 9).

Zur epidemiologisch-serologischen Begutachtung konnten insgesamt 50 gesunde Kontrollpersonen sowie 99 JIA Patientinnen und Patienten eingeschlossen werden. Tabelle 9 zeigt die Unterteilung der Gesundkontrollen und JIA Patientinnen und Patienten nach HCMV IgG Seropositivität. HCMV IgM seropositive Proben mit Verdacht auf eine rezente HCMV Infektion wurden ausgeschlossen.

Tabelle 10: Alter und Geschlecht nach HCMV Serostatus und Studienpopulation

Studienpopulation	Ko	Ko	JIA	JIA
	HCMV- (n=41)	HCMV+ (n=9)	HCMV- (n=70)	HCMV+ (n=29)
Alter [Jahre]:				
Mittelwert	9,4	12,4	12,8	11,9
Median	8,1	12,5	13,6	12,9
SD	4,7	5,6	4,3	5,3
Min	1,2	4,9	2,2	1,1
Max	19,5	22,0	20,2	21,4
25. Perz.	6,0	7,4	10,1	8,1
75. Perz.	14,1	16,3	16,3	16,4
Signifikanz (HCMV-: HCMV+)	n.s.		n.s.	
Geschlecht:				
männlich [n]	28 (68,3%)	5 (55,6%)	23 (32,9%)	9 (31,0%)
weiblich [n]	13 (31,7%)	4 (44,4%)	47 (67,1%)	20 (69,0%)
Signifikanz (HCMV-: HCMV+)	n.s.		n.s.	

Aufteilung der Gesamtpopulation in Gesundkontrollen und JIA Patientinnen und Patienten in HCMV IgG seronegativ und seropositiv. Innerhalb dieser Populationen besteht in Abhängigkeit vom Serostatus kein signifikanter Unterschied in Alter oder Geschlecht. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

In der von uns untersuchten Kohorte besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen Geschlecht und HCMV IgG Serostatus (s. Tabelle 10 und Tabelle 11).

Tabelle 11: Gesamtpopulation und HCMV Serostatus

	HCMV-	HCMV+
Männlich [n]	51 (78,5%)	14 (21,5%)
Weiblich [n]	60 (71,4%)	24 (28,6%)
Gesamt [n]	111 (100%)	38 (100%)
Signifikanz	Pearson Chi-Quadrat: $p < 0,329$	

Die Betrachtung der Gesamtpopulation zeigt keinen Zusammenhang zwischen Geschlecht und HCMV IgG Serostatus. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv.

3.3 Verteilung der JIA Subgruppen

Mit 41,4% aller JIA Patientinnen und Patienten stellt die OA in unserer Kohorte die am häufigsten vertretene Subentität der JIA dar (s. Tabelle 12). Die sJIA wurde aus unseren Betrachtungen wegen der unterschiedlichen Ätiopathogenese mit Betonung des angeborenen Immunsystems und des Inflammasoms im Unterschied zu den anderen T-Zell-medierten artikulär betonten Klassifikationsformen ausgeschlossen (s. Kapitel 1.1.3.7).

Tabelle 12: Verteilung der Studienkohorte auf die JIA Subgruppen

JIA Subgruppen	Anzahl [n]	Anteil [%]
OA	41	41,4
RF-PA	13	13,1
RF+PA	1	1,0
PsA	7	7,1
EAA	11	11,1
Andere Arthritis	26	26,3
Gesamt	99	100,00

Auf die OA entfallen 41,4% der Patientinnen und Patienten. Die Gruppe der anderen Arthritis ist mit 26,3% die zweithäufigste. EAA= Enthesitis-assoziierte Arthritis, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, OA=Oligoarthritis, PsA= Psoriasisarthritis, RF-PA= Seronegative Polyarthritis, RF+PA= Seropositive Polyarthritis.

3.4 CD4/CD8-Ratio

Bei den Messungen ergaben sich bezüglich der CD4/CD8-Ratio weder bei den JIA Patientinnen und Patienten (HCMV+: Mittelwert 2,0, Median 1,9 ± 0,8; HCMV-: Mittelwert 2,2, Median 2,0 ± 0,9; p=0,55), noch bei den Gesundkontrollen (HCMV+: Mittelwert 1,4, Median 1,4 ± 0,5; HCMV-: Mittelwert 1,7, Median 1,6 ± 0,5; p=0,16) signifikante Unterschiede.

3.5 Durchflusszytometrische Messungen bei Gesundheitskontrollen und JIA

Im Folgenden möchte ich die T-Zellen der Patientinnen und Patienten und Kontrollprobandinnen und -probanden phänotypisch charakterisieren. Dabei werden die bereits in der Einleitung näher definierten Zellpopulationen betrachtet. Sowohl die Messwerte der Patientinnen und Patienten als auch der Kontrollen werden nach dem jeweiligen HCMV IgG Serostatus unterteilt.

Innerhalb der Lymphozyten werden folgendermaßen definiert [64]:

- **B-Zellen:** **CD19+**
- **T-Zellen:** **CD3+**

Die T-Zellpopulationen werden im Folgenden so definiert [64]:

- **Naive T-Zellen:** **CD4+/CD8+CD45RA+CD28+CCR7+**
- **Zentrale Memory T-Zellen:** **CD4+/CD8+CD45RA-CD28+CCR7+**
- **Effektor Memory T-Zellen:** **CD4+/CD8+CD45RA-CD28+CCR7-**
- **Effektor T-Zellen:** **CD4+/CD8+CD45RA-CD28-CCR7-**
- **Effektor Memory RA T-Zellen (TEMRA):** **CD4+/CD8+CD45RA+CD28-CCR7-**
- **Natürliche Killer Zellen:** **CD3-CD56+**
- **Natürliche Killer T-Zellen:** **CD3+CD56+**

3.5.1 Leukozyten bei Gesundkontrollen und JIA

Die absolute Gesamtzahl der peripher zirkulierenden Leukozyten liegt bei den JIA Patientinnen und Patienten signifikant höher als bei den Gesundkontrollen (s. Abbildung 8 und Tabelle 13).

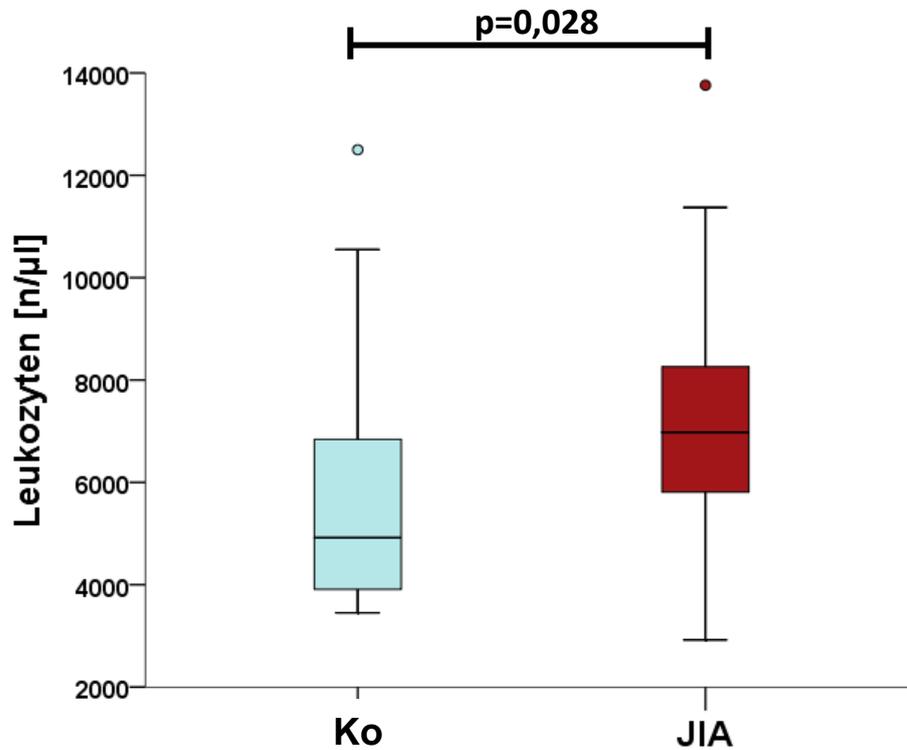


Abbildung 8: Leukozyten bei Gesundkontrollen und JIA

Die Anzahl der Leukozyten liegt bei den JIA Patientinnen und Patienten signifikant höher als bei den Gesundkontrollen ($p=0,028$). Kreise stellen Ausreißer dar. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen.

Tabelle 13: Leukozyten und Lymphozyten bei Gesundheitskontrollen und JIA

Krankheit	Leukozyten		Lymphozyten		Lymphozyten	
	[*1000n/μl]		[%]		[*1000n/μl]	
	Ko	JIA	Ko	JIA	Ko	JIA
Anzahl [n]	18	54	17	52	17	52
Mittelwert	5,9	7,3	38,1	34,5	2,1	2,4
Median	4,9	7,0	38,9	35,5	1,9	0,2
SD	2,5	2,1	10,0	11,9	0,9	1,1
Min	3,5	2,9	9,36	6,7	1,2	0,7
Max	12,5	13,8	59,5	67,0	4,8	7,6
25. Perz.	3,9	5,8	35,6	27,9	1,4	1,8
75. Perz.	7,1	8,3	42,1	41,6	2,6	2,2
Signifikanz	p=0,028		n.s.		n.s.	

Die Zahl der Leukozyten liegt bei den JIA Patientinnen und Patienten signifikant höher als bei den Gesundheitskontrollen (p=0,028). Bei den Lymphozyten besteht kein Unterschied zwischen Gesundheitskontrollen und JIA Patientinnen und Patienten. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundheitskontrollen, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

3.5.2 Lymphozyten bei Gesundheitskontrollen und JIA

Bezüglich der absoluten Anzahl der Lymphozyten sowie des prozentualen Anteils der Lymphozyten an der Gesamtleukozytenzahl besteht kein Unterschied zwischen Gesundheitskontrollen und JIA Patientinnen und Patienten (s. Tabelle 13).

3.5.3 T- und B-Zellen bei Gesundheitskontrollen und JIA

Bei Gesundheitskontrollen und JIA Patientinnen und Patienten wurde der Gesamtanteil der T- und B-Zellen an den peripher zirkulierenden Lymphozyten, sowie der Anteil der CD4 und CD8 Zellen an diesen T-Zellen bestimmt. Insgesamt zeigt sich ein Unterschied des Anteils der B- und T-Zellen innerhalb der Lymphozyten zwischen Gesundheitskontrollen und JIA Patientinnen und Patienten (s. Tabelle 14). Der Anteil der T-Zellen (s. Abbildung 9 und Tabelle 14) ist bei JIA nicht signifikant niedriger und der B-Zell-Anteil (s. Abbildung

10 und Tabelle 14) signifikant höher als bei Gesundkontrollen. Es besteht keine Korrelation zum Patientenalter.

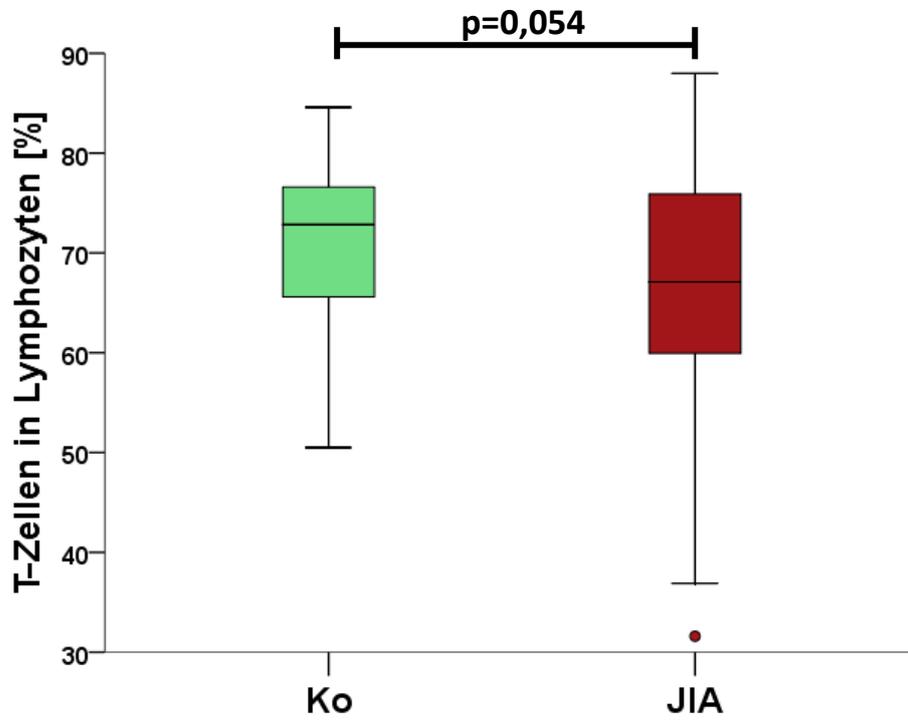


Abbildung 9: T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA

Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt die Zahl der T-Zellen innerhalb der Lymphozyten nicht signifikant niedriger als bei den Gesundkontrollen ($p=0,054$). Kreise stellen Ausreißer dar. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen.

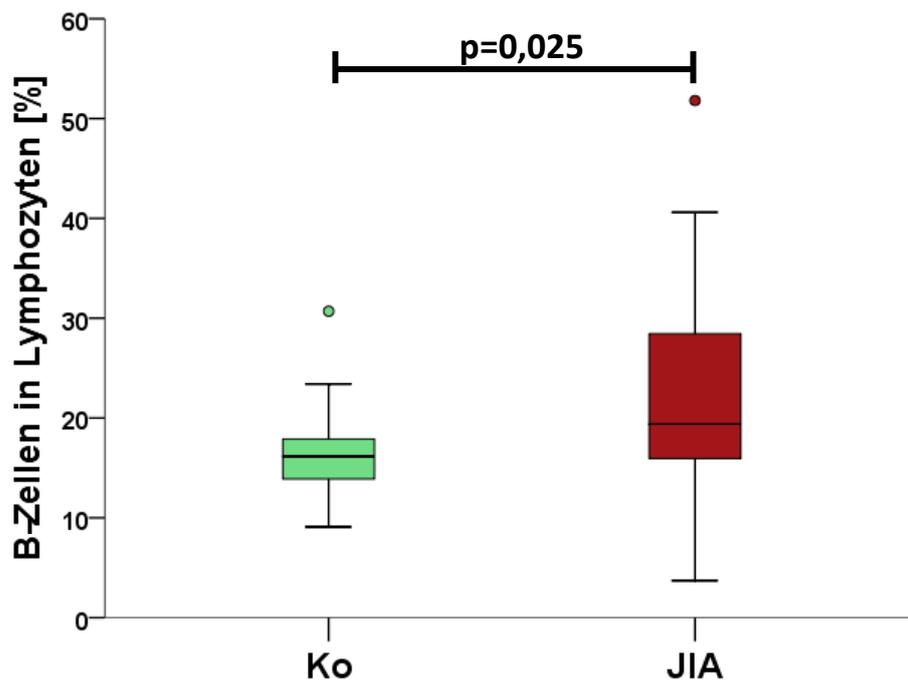


Abbildung 10: B-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA

Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt die Zahl der B-Zellen innerhalb der Lymphozyten signifikant höher als bei den Gesundkontrollen ($p=0,025$). Kreise stellen Ausreißer dar. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen.

Tabelle 14: T- und B-Zellen bei Gesundheitskontrollen und JIA

Zellpopulationen in Lymphozyten [%]	T-Zellen		B-Zellen	
	Ko	JIA	Ko	JIA
Krankheit				
Anzahl [n]	18	56	18	55
Mittelwert	71,2	65,9	16,7	21,7
Median	72,9	67,1	16,2	19,4
SD	8,7	12,8	4,8	9,8
Min	50,5	31,6	9,1	3,7
Max	84,6	88,0	30,7	51,8
25. Perz.	65,5	59,9	13,7	15,9
75. Perz.	76,8	76,1	18,4	29,9
Signifikanz	p=0,054		p=0,025	

Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt die Zahl der T-Zellen innerhalb der Lymphozyten nicht signifikant niedriger als bei den Gesundheitskontrollen (p=0,054). Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt die Zahl der B-Zellen innerhalb der Lymphozyten signifikant höher als bei den Gesundheitskontrollen (p=0,025). JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundheitskontrollen, Max= Maximum, Min= Minimum, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

3.5.4 CD4 und CD8 T-Zellen bei Gesundheitskontrollen und JIA

Auch bei den CD4 und CD8 T-Zellen innerhalb der Lymphozyten bestehen Unterschiede zwischen Gesundheitskontrollen und JIA Patientinnen und Patienten (s. Tabelle 15). Der Anteil der CD4 T-Zellen (s. Abbildung 11 und Tabelle 15) ist bei JIA signifikant größer und der Anteil der CD8 T-Zellen (s. Abbildung 12 und Tabelle 15) signifikant niedriger als bei Gesundheitskontrollen. Es besteht keine Korrelation zum Patientenalter (CD4: R=0,66, p=0,58; CD8: R=0,80, p=0,50).

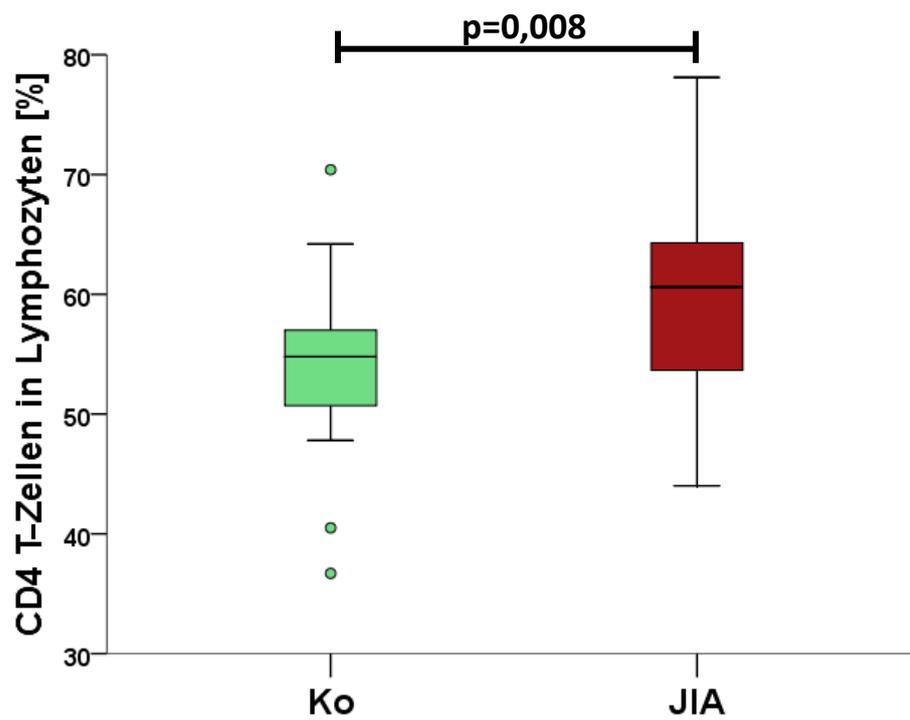


Abbildung 11: CD4 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA

Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt die Zahl der CD4 T-Zellen innerhalb der Lymphozyten signifikant höher als bei den Gesundkontrollen ($p=0,008$). Kreise stellen Ausreißer dar. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen.

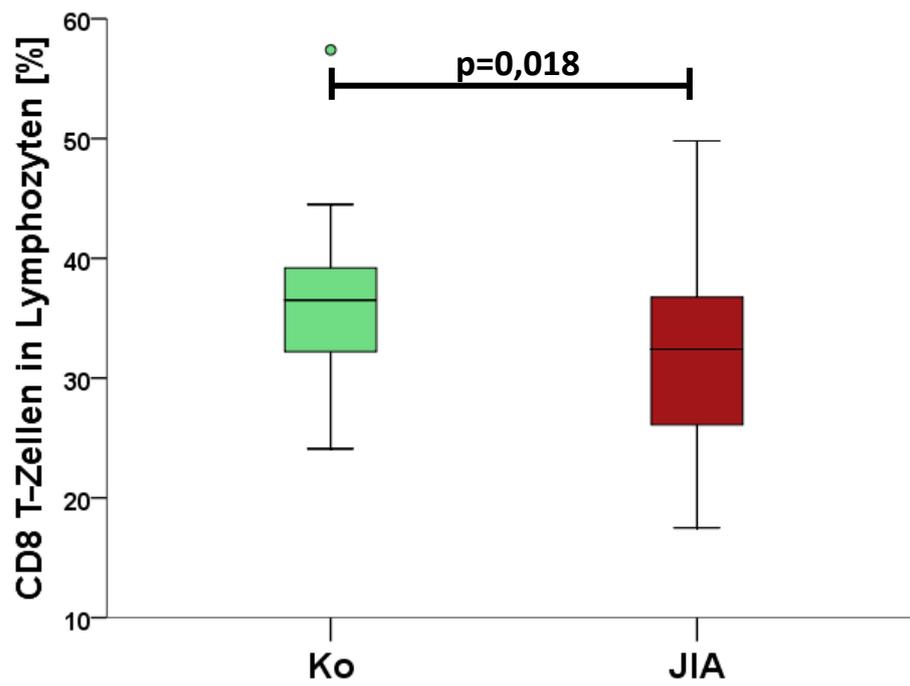


Abbildung 12: CD8 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA

Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt die Zahl der CD8 T-Zellen innerhalb der Lymphozyten signifikant niedriger als bei den Gesundkontrollen ($p=0,018$). Kreise stellen Ausreißer dar. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen.

Tabelle 15: CD4 und CD8 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA

Zellpopulationen in Lymphozyten [%]	CD4 T-Zellen		CD8 T-Zellen	
	Ko	JIA	Ko	JIA
Krankheit				
Anzahl [n]	18	55	18	55
Mittelwert	53,7	59,9	36,3	31,4
Median	54,8	60,6	36,5	32,4
SD	7,6	8,7	7,6	7,3
Min	36,7	44,0	24,1	17,5
Max	70,4	78,1	57,4	49,8
25. Perz.	50,4	53,4	31,7	25,5
75. Perz.	57,1	64,4	39,3	36,8
Signifikanz	p=0,008		p=0,018	

Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt die Zahl der CD4 T-Zellen innerhalb der Lymphozyten signifikant höher als bei den Gesundkontrollen (p=0,008). Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt die Zahl der CD8 T-Zellen innerhalb der Lymphozyten signifikant niedriger als bei den Gesundkontrollen (p=0,018). JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen, Max= Maximum, Min= Minimum, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

3.5.5 Natürliche Killer T-Zellen (NK T-Zellen) bei Gesundkontrollen und JIA

Weder innerhalb der Gruppe der Gesundkontrollen noch der JIA Patientinnen und Patienten findet sich eine Assoziation zwischen dem Anteil der NK T-Zellen und dem HCMV IgG Serostatus. Auch insgesamt besteht hier zwischen Kontrollen und JIA Patientinnen und Patienten kein Unterschied.

In der Kohorte der JIA Patientinnen und Patienten zeigt sich eine Zunahme der NK T-Zellen mit steigendem Alter bei Probenentnahme (Spearman-Rho 0,049, $R=0,297$, $p=0,028$) (s. Abbildung 13). In der Gruppe der Gesundkontrollen ist dies nicht nachweisbar.

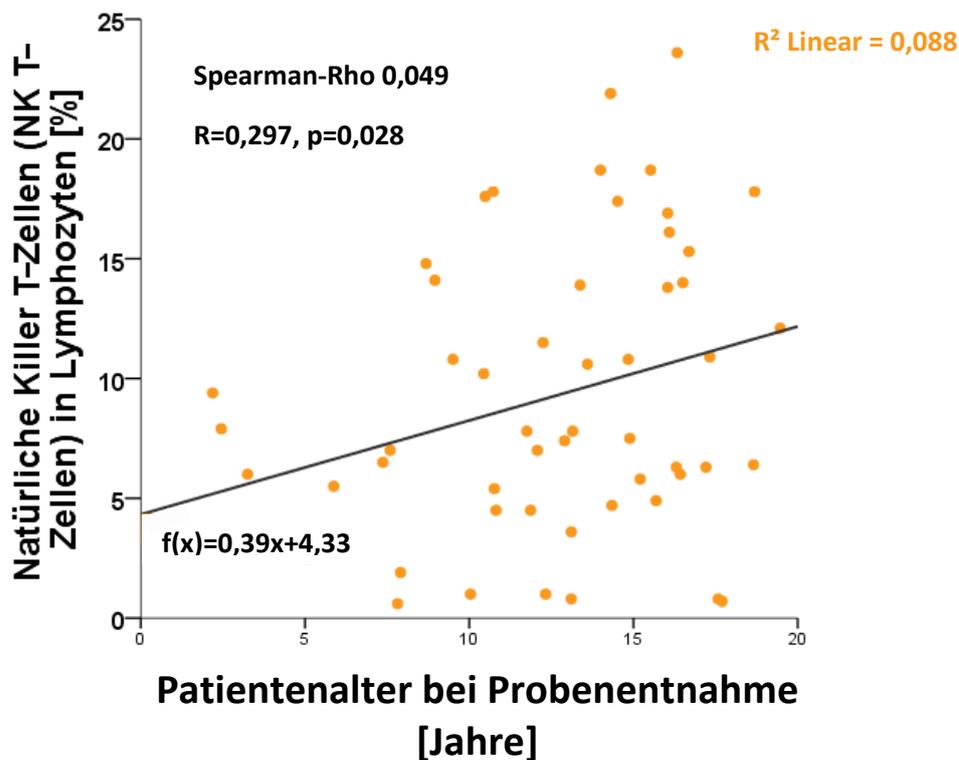


Abbildung 13: Natürliche Killer T-Zellen bei JIA

Bei JIA Patientinnen und Patienten besteht eine positive Korrelation zwischen steigendem Patientenalter bei Probenentnahme und Prozent der Natürlichen Killer T-Zellen (Spearman-Rho 0,049, $R=0,297$, $p=0,028$). R^2 Linear = 0,088. Für die Ausgleichsgerade gilt: $f(x)=0,39x+4,33$. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis.

3.6 Durchflusszytometrische Messungen bei Gesundheitskontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

3.6.1 Leukozyten und Lymphozyten bei Gesundheitskontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Der HCMV IgG Serostatus steht in keiner Assoziation zur Gesamtleukozyten- oder Gesamtlymphozytenzahl (s. Tabelle 16).

Tabelle 16: Leukozyten und Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA

Krankheit	Leukozyten [*1000/ µl]				Lymphozyten [%]				Lymphozyten [*1000/ µl]			
	Ko		JIA		Ko		JIA		Ko		JIA	
HCMV	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Anzahl [n]	13	5	30	24	12	5	29	23	12	5	29	23
Mittelwert	5,7	6,5	7,5	7,0	39,7	34,2	31,8	37,9	2,2	1,9	2,3	2,6
Median	4,7	5,1	7,0	7,0	38,1	38,9	32,0	38,0	1,9	1,9	2,2	2,4
SD	2,3	3,4	2,1	2,2	8,0	14,2	12,8	9,9	1,0	0,5	1,2	1,0
Min	3,5	4,3	4,5	2,9	26,7	9,4	6,7	18,0	1,3	1,2	0,7	1,1
Max	10,6	12,5	13,8	11,4	59,5	44,5	67,0	61,0	4,8	2,3	7,6	5,9
25. Perz.	3,8	4,5	6,0	5,4	35,3	23,2	21,6	31,9	1,4	1,4	1,8	2,0
75. Perz.	7,4	9,3	8,3	8,8	42,5	42,8	38,8	43,0	2,7	2,3	2,6	2,9
Signifikanz	n.s.		n.s.		n.s.		n.s.		n.s.		n.s.	

Innerhalb der Gesundkontrollen und JIA Patientinnen und Patienten besteht kein Zusammenhang zwischen HCMV IgG Serostatus und Leukozyten- oder Lymphozytenzahlen. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

3.6.2 T- und B-Zellen bei Gesundheitskontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Wie bereits oben beschrieben, finden sich proportionale Unterschiede bei T- und B-Zellen, sowie CD4 und CD8 T-Zellen zwischen JIA und Gesundheitskontrollen.

In Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus ist keine Abweichung der T- und B-Zell Proportionen messbar (s. Tabelle 17).

Tabelle 17: T- und B-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population in Lymphozyten [%]	T-Zellen				B-Zellen			
	Ko	Ko	JIA	JIA	Ko	Ko	JIA	JIA
Krankheit	-	+	-	+	-	+	-	+
HCMV	-	+	-	+	-	+	-	+
Anzahl [n]	12	6	31	24	12	6	31	24
Mittelwert	70,7	72,2	77,0	64,5	16,2	17,7	20,8	22,8
Median	71,7	74,4	68,1	66,6	16,2	16,4	18,8	20,2
SD	8,8	9,5	12,1	13,8	3,0	7,6	9,5	10,2
Min	50,5	58,4	31,6	36,9	12,9	9,1	3,7	7,0
Max	83,2	84,6	88,0	87,0	23,4	30,7	51,8	40,6
25. Perz.	65,8	62,5	59,9	56,9	14,0	11,7	16,0	14,3
75. Perz.	76,5	79,2	76,7	73,9	17,1	23,5	23,7	30,8
Signifikanz								
Ko-:Ko+	n.s.				n.s.			
JIA-:JIA+	n.s.				n.s.			
Ko-:JIA-	n.s.				p=0,030			
Ko+:JIA+	n.s.				n.s.			

Der HCMV IgG Serostatus zeigt keinen Einfluss auf die Proportionen der T- und B-Zellen. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, JIA-= JIA HCMV IgG seronegativ, JIA+= JIA HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen, Ko-= Ko HCMV IgG seronegativ, Ko+= Ko HCMV IgG seropositiv, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

3.6.3 CD4 und CD8 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei den HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden liegt der Anteil der CD4 T-Zellen signifikant niedriger als bei den HCMV IgG seronegativen (s. Abbildung 14 und Tabelle 18). Dies ist bei den JIA Patiententinnen und Patienten nicht der Fall. Bei den seropositiven Patientinnen und Patienten liegt der Anteil der CD4 T-Zellen signifikant höher als bei den seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden (s. Abbildung 14 und Tabelle 18). Bei den CD8 T-Zellen oder der CD4/CD8-Ratio zeigt sich bei Gesundkontrollen und JIA keine Assoziation zum HCMV IgG Serostatus.

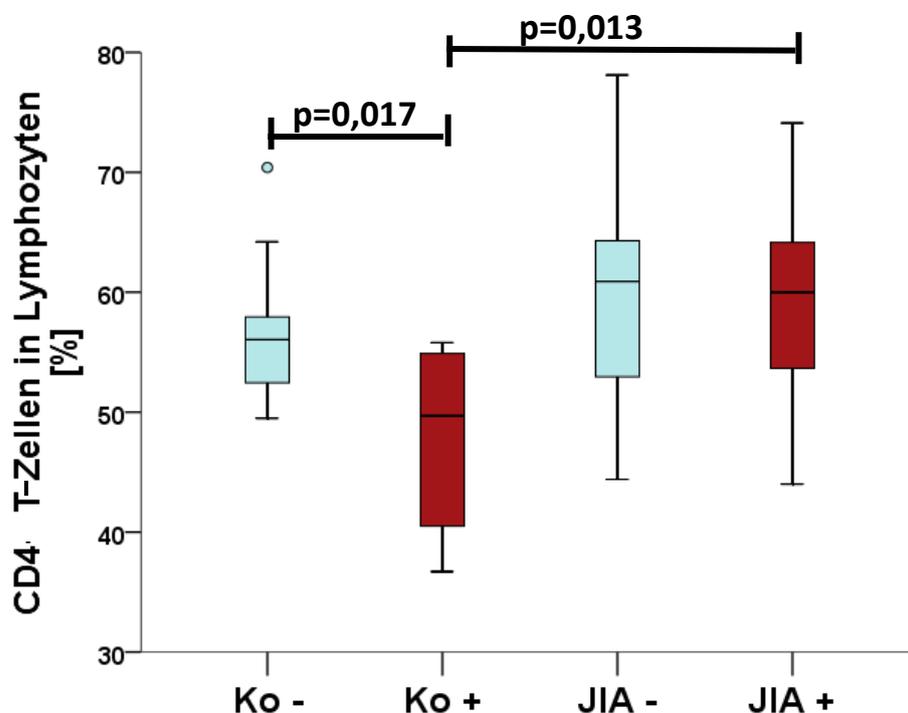


Abbildung 14: CD4 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei den HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden liegt der Anteil der CD4 T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen ($p=0,017$). Bei den HCMV IgG seropositiven Patientinnen und Patienten liegt der Anteil der CD4 T-Zellen signifikant höher als bei den seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden ($p=0,013$). Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

Tabelle 18: CD4 und CD8 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population in Lymphozyten [%]	CD4 T-Zellen				CD8 T-Zellen			
	Ko	Ko	JIA	JIA	Ko	Ko	JIA	JIA
Krankheit	-	+	-	+	-	+	-	+
HCMV	-	+	-	+	-	+	-	+
Anzahl [n]	12	6	31	24	12	6	31	24
Mittelwert	56,6	47,9	60,4	59,3	35,0	38,8	30,7	32,3
Median	56,1	49,7	60,9	60,0	35,8	37,8	30,1	33,0
SD	5,9	7,8	8,8	8,7	5,5	10,8	7,4	7,3
Min	49,5	36,7	44,4	44,0	24,1	25,3	18,4	17,5
Max	70,4	55,8	78,1	74,1	44,5	57,4	42,3	49,8
25. Perz.	52,0	39,6	51,5	53,5	30,6	30,9	25,2	27,9
75. Perz.	58,3	55,1	64,4	64,5	39,2	45,6	38,1	36,3
Signifikanz								
Ko-:Ko+	p=0,017				n.s.			
JIA-:JIA+	n.s.				n.s.			
Ko-:JIA-	n.s.				p=0,077			
Ko+:JIA+	p=0,013				p=0,087			

Bei den HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden liegt der Anteil der CD4 T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen (p=0,017). Ansonsten bestehen bei den CD4 und CD8 T-Zellen keine Abhängigkeiten vom HCMV IgG Serostatus. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, JIA-= JIA HCMV IgG seronegativ, JIA+= JIA HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen, Ko-= Ko HCMV IgG seronegativ, Ko+= Ko HCMV IgG seropositiv, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

3.6.4 T-Zell Phänotyp bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Die phänotypische Klassifizierung der T-Zell Subpopulationen bei den Gesundkontrollen und JIA Patientinnen und Patienten liefert folgendes Bild: einhergehend mit einer stattgehabten HCMV Infektion ist der T-Zell Phänotyp verschoben. Bei HCMV IgG seronegativen Probandinnen und Probanden liegen vorwiegend Naive T-Zellen vor (s. Abbildung 15 und Tabelle 19 - Tabelle 22). Der kleinere Anteil wird von Zentralen Memory T-Zellen, Effektor Memory T-Zellen, Effektor T-Zellen und Effektor Memory RA T-Zellen repräsentiert (s. Abbildung 15 - Abbildung 24 und Tabelle 19 - Tabelle 22).

Vergleicht man diese Zellpopulationen mit denen der HCMV IgG seropositiven Probandinnen und Probanden, so zeigen sich sowohl in den CD4 als auch in den CD8 (s. Abbildung 15 - Abbildung 24 und Tabelle 19 - Tabelle 22) positiven T-Zellen folgende Abweichungen: der Anteil der Naiven T-Zellen ist niedriger zu Gunsten der Effektor Memory T-Zellen, der Effektor T-Zellen und der Effektor Memory RA T-Zellen (s. Abbildung 15 - Abbildung 24 und Tabelle 19 - Tabelle 22).

Der Anteil der Zentralen Memory T-Zellen zeigt keine deutliche Assoziation zum HCMV IgG Serostatus.

Die folgenden Kapitel dienen der Veranschaulichung dieser Ergebnisse.

3.6.4.1 Naive T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA

Der proportionale Anteil der Naiven T-Zellen liegt bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten auf einem signifikant (CD4, s. Abbildung 15 und Tabelle 19) beziehungsweise hochsignifikant (CD8, s. Abbildung 16 und Tabelle 21) geringeren Niveau als bei HCMV IgG seronegativen Patientinnen und Patienten. Auch bei den Gesundkontrollen bestehen analog hierzu signifikante Unterschiede (s. Abbildung 15 und Abbildung 16, Tabelle 19 und Tabelle 21).

3.6.4.2 Zentrale Memory T-Zellen bei Gesundheitskontrollen und JIA

Bei der Bestimmung der Anteile der Zentralen Memory T-Zellen beobachtet man keine signifikanten Unterschiede in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität (s. Abbildung 17 und Abbildung 18, Tabelle 19 und Tabelle 21).

3.6.4.3 Effektor Memory T-Zellen bei Gesundheitskontrollen und JIA

Die Effektor Memory T-Zellen zeigen sowohl in CD4 als auch in CD8 positiven Lymphozyten bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten einen signifikant größeren proportionalen Anteil als bei den HCMV IgG seronegativen. Auch bei den Gesundheitskontrollen ist dies in CD4 T-Zellen signifikant, in CD8 T-Zellen besteht hier nur ein Trend (s. Abbildung 19 und Abbildung 20, Tabelle 20 und Tabelle 22).

3.6.4.4 Effektor T-Zellen bei Gesundheitskontrollen und JIA

Die Effektor Memory T-Zellen zeigen sowohl in CD4 als auch in CD8 positiven Lymphozyten bei HCMV IgG seropositiven Probandinnen und Probanden einen signifikant (CD4: Gesundheitskontrollen) beziehungsweise hochsignifikant (CD4: JIA Patientinnen und Patienten und CD8: Gesundheitskontrollen und JIA Patientinnen und Patienten) größeren proportionalen Anteil als bei den HCMV IgG seronegativen (s. Abbildung 21 und Abbildung 22, Tabelle 20 und Tabelle 22).

3.6.4.5 TEMRA bei Gesundheitskontrollen und JIA

Bei den TEMRA ist bei JIA Patientinnen und Patienten in Assoziation mit HCMV IgG Seropositivität ein hochsignifikant höherer proportionaler Anteil innerhalb der CD4 und CD8 Lymphozyten zu beobachten. Bei den Gesundheitskontrollen ist dieser Unterschied in CD4 Lymphozyten auch signifikant, in CD8 Lymphozyten besteht lediglich ein Trend (s. Abbildung 23 und Abbildung 24, Tabelle 20 und Tabelle 22).

Tabelle 19: Naive und Zentrale Memory T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population in CD4 Lymphozyten [%]	Naive T-Zellen				Zentrale Memory T- Zellen			
	Ko		JIA		Ko		JIA	
Krankheit HCMV	-	+	-	+	-	+	-	+
Anzahl [n]	12	6	30	24	12	6	30	24
Mittelwert	64,0	51,5	65,7	52,9	17,7	16,1	13,2	16,3
Median	65,3	57,9	65,7	56,8	17,9	17,2	13,0	16,0
SD	11,2	12,4	12,1	15,7	5,7	5,1	7,5	7,2
Min	40,4	31,9	40,6	13,3	7,6	8,9	0,4	6,1
Max	81,3	61,1	87,7	73,6	27,1	22,3	34,8	36,4
25. Perz.	56,8	37,8	60,6	43,3	12,7	10,8	9,0	11,0
75. Perz.	73,1	60,5	72,9	64,4	22,1	20,4	15,9	21,1
Signifikanz								
Ko-:Ko+	p=0,041				n.s.			
JIA-:JIA+	p=0,001				n.s.			
Ko-:JIA-	n.s.				p=0,025			
Ko+:JIA+	n.s.				n.s.			

Bei HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden ($p=0,041$) und JIA Patientinnen und Patienten ($p=0,001$) liegt innerhalb der CD4 Lymphozyten der Anteil der Naiven T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen. Bei den Zentralen Memory T-Zellen besteht keine Assoziation zum HCMV IgG Serostatus. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, JIA-= JIA HCMV IgG seronegativ, JIA+= JIA HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen, Ko- = Ko HCMV IgG seronegativ, Ko+= Ko HCMV IgG seropositiv, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

Tabelle 20: Effektor Memory T-Zellen, Effektor T-Zellen und TEMRA in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population in CD4 Lymphozyten [%]	Effektor Memory T-Zellen				Effektor T- Zellen				TEMRA			
	Ko		JIA		Ko		JIA		Ko		JIA	
Krankheit	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
HCMV	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Anzahl [n]	12	6	30	24	12	6	30	24	12	6	30	24
Mittelwert	11,4	18,2	8,0	13,7	0,2	0,9	0,2	1,7	0,3	1,3	0,5	1,3
Median	10,9	14,8	8,1	10,5	0,2	0,8	0,1	1,3	0,4	1,0	0,3	0,8
SD	5,5	7,0	4,6	8,5	0,2	0,6	0,3	1,6	0,2	1,0	0,8	1,4
Min	4,3	12,5	0,5	3,5	0,0	0,4	0,0	0,0	0,1	0,4	0,0	0,2
Max	24,3	27,5	18,7	36,3	0,7	2,0	1,4	5,2	0,7	3,2	4,4	7,1
25. Perz.	6,5	12,8	4,7	8,3	0,1	0,5	0,1	0,5	0,1	0,6	0,2	0,5
75. Perz.	15,0	27,0	10,5	18,1	0,3	1,2	0,3	2,6	0,5	1,9	0,6	1,5
Signifikanz												
Ko-:Ko+	p=0,036				p=0,002				p=0,002			
JIA-:JIA+	p=0,004				p<0,0001				p=0,0001			
Ko-:JIA-	p=0,05				n.s.				n.s.			
Ko+:JIA+	n.s.				n.s.				n.s.			

Bei HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden und JIA Patientinnen und Patienten liegt innerhalb der CD4 Lymphozyten der Anteil der Effektor Memory T-Zellen (Ko: p=0,036, JIA: p=0,004), der Effektor T-Zellen (Ko: p=0,002, JIA: p<0,0001) und der TEMRA (Ko: p=0,002, JIA: p=0,0001) signifikant höher als bei den seronegativen. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, JIA-= JIA HCMV IgG seronegativ, JIA+= JIA HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen, Ko-= Ko HCMV IgG seronegativ, Ko+= Ko HCMV IgG seropositiv, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung, TEMRA= Effektor Memory RA T-Zellen.

Tabelle 21: Naive und Zentrale Memory T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population in CD8 Lymphozyten [%]	Naive T-Zellen				Zentrale Memory T- Zellen			
	Ko		JIA		Ko		JIA	
Krankheit HCMV	-	+	-	+	-	+	-	+
Anzahl [n]	12	6	30	24	12	6	30	24
Mittelwert	64,3	42,5	71,6	44,5	7,9	5,8	6,1	10,9
Median	66,9	49,4	75,7	45,3	7,8	5,4	6,5	6,4
SD	11,7	13,5	13,2	15,7	2,1	2,3	3,1	10,9
Min	37,4	24,1	43,4	5,1	4,5	3,0	0,1	2,3
Max	81,0	54,5	89,3	67,4	11,2	9,1	12,2	47,1
25. Perz.	60,9	25,8	63,1	35,5	6,1	3,8	4,0	5,3
75. Perz.	71,1	52,0	81,6	56,5	9,0	8,3	8,8	11,5
Signifikanz								
Ko-:Ko+	p=0,007				p=0,077			
JIA-:JIA+	p<0,0001						n.s.	
Ko-:JIA-	n.s.				p=0,078			
Ko+:JIA+	n.s.						n.s.	

Bei HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden (p=0,007) und JIA Patientinnen und Patienten (p<0,0001) liegt innerhalb der CD8 Lymphozyten der Anteil der Naiven T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen. Bei den Zentralen Memory T-Zellen besteht keine Assoziation zum HCMV IgG Serostatus. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, JIA-= JIA HCMV IgG seronegativ, JIA+= JIA HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen, Ko- = Ko HCMV IgG seronegativ, Ko+= Ko HCMV IgG seropositiv, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

Tabelle 22: Effektor Memory T-Zellen, Effektor T-Zellen und TEMRA in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population in CD8 Lymphozyten [%]	Effektor Memory T-Zellen				Effektor T-Zellen				TEMRA			
	Ko		JIA		Ko		JIA		Ko		JIA	
Krankheit	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
HCMV	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Anzahl [n]	12	6	30	24	12	6	30	24	12	6	30	24
Mittelwert	6,6	10,5	5,1	8,4	6,0	16,4	3,9	13,8	7,3	13,7	4,0	8,4
Median	6,6	9,8	3,4	7,0	5,6	15,8	3,2	11,5	5,5	12,9	3,0	7,1
SD	2,0	6,8	4,5	6,1	3,4	5,6	3,0	6,6	6,8	7,1	3,8	5,8
Min	3,3	3,4	0,1	1,5	1,6	8,8	0,0	4,6	0,7	4,3	0,0	0,3
Max	10,1	19,1	19,2	25,6	14,0	26,1	11,6	28,2	22,9	22,9	16,3	22,1
25. Perz.	5,1	4,4	2,3	3,9	3,7	13,5	1,9	9,2	2,3	7,3	1,5	4,4
75. Perz.	7,3	17,1	7,1	11,9	8,0	19,0	5,9	17,3	10,1	21,3	4,8	11,4
Signifikanz												
Ko-:Ko+	p=0,221				p=0,0002				p=0,086			
JIA-:JIA+	p=0,021				p<0,0001				p<0,0001			
Ko-:JIA-	p=0,022				p=0,037				p=0,064			
Ko+:JIA+	n.s.				n.s.				p=0,065			

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt innerhalb der CD8 Lymphozyten der Anteil der Effektor Memory T-Zellen (p=0,021), der Effektor T-Zellen (p<0,0001) und der TEMRA (p<0,0001) signifikant höher als bei den seronegativen. Bei den Kontrollprobandinnen und -probanden besteht eine Signifikanz nur bei den Effektor T-Zellen (p=0,0002). HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, JIA-= JIA HCMV IgG seronegativ, JIA+= JIA HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen, Ko-= Ko HCMV IgG seronegativ, Ko+= Ko HCMV IgG seropositiv, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung, TEMRA= Effektor Memory RA T-Zellen.

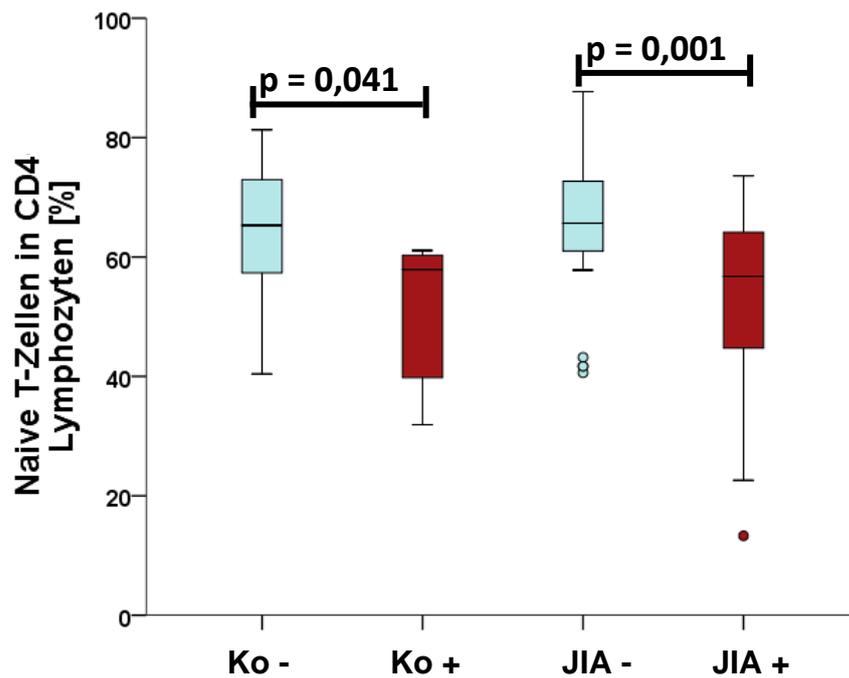


Abbildung 15: Naive T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden ($p=0,041$) und JIA Patientinnen und Patienten ($p=0,001$) liegt innerhalb der CD4 Lymphozyten der Anteil der Naiven T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

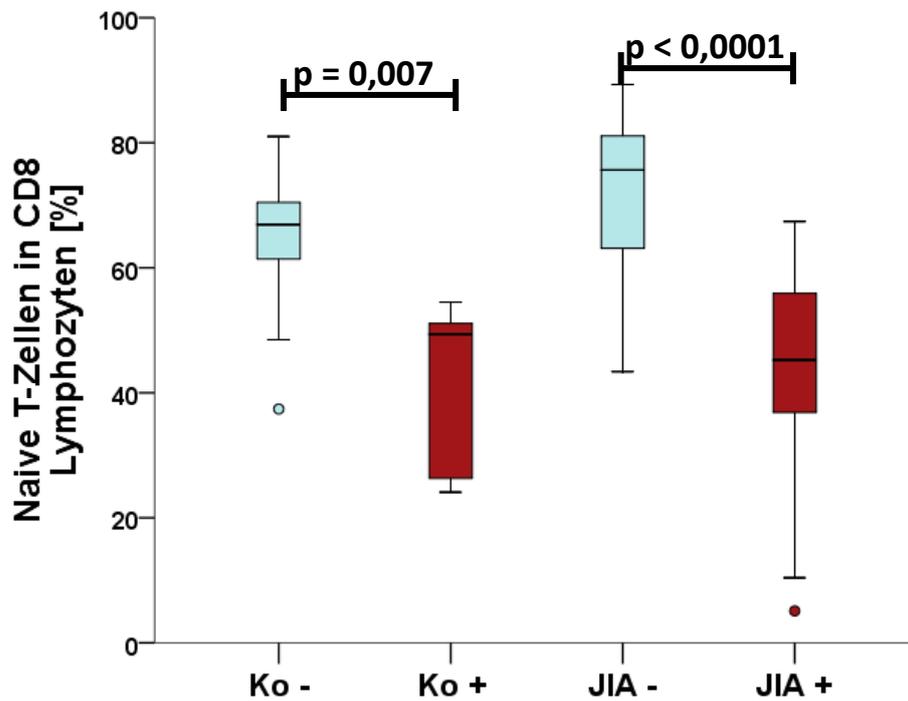


Abbildung 16: Naive T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden ($p=0,007$) und JIA Patientinnen und Patienten ($p<0,0001$) liegt innerhalb der CD8 Lymphozyten der Anteil der Naiven T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

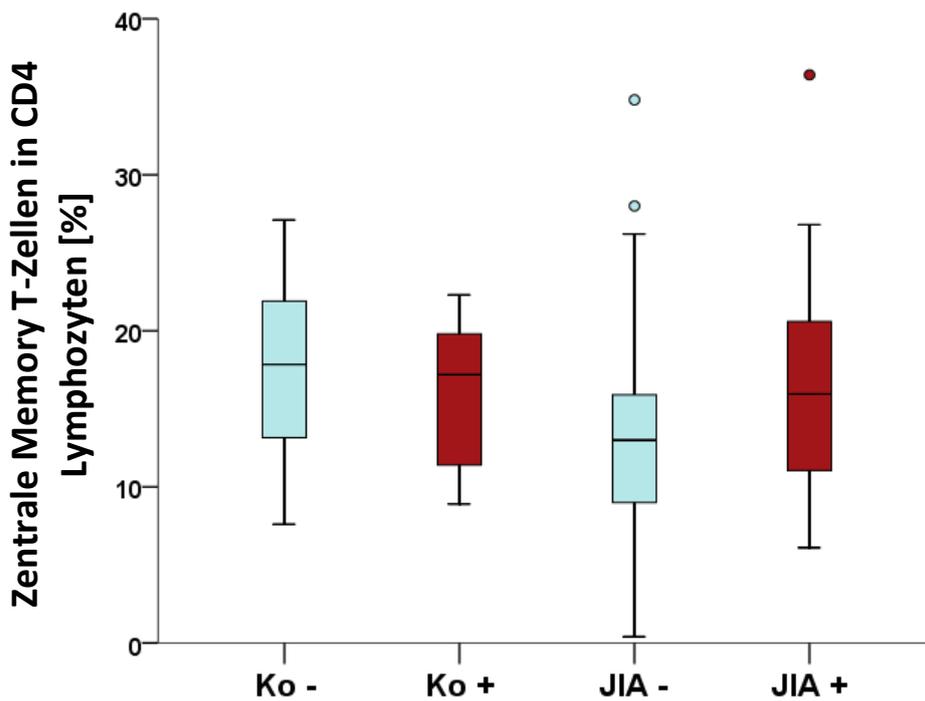


Abbildung 17: Zentrale Memory T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Es bestehen keine Unterschiede im Anteil der Zentralen Memory T-Zellen in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

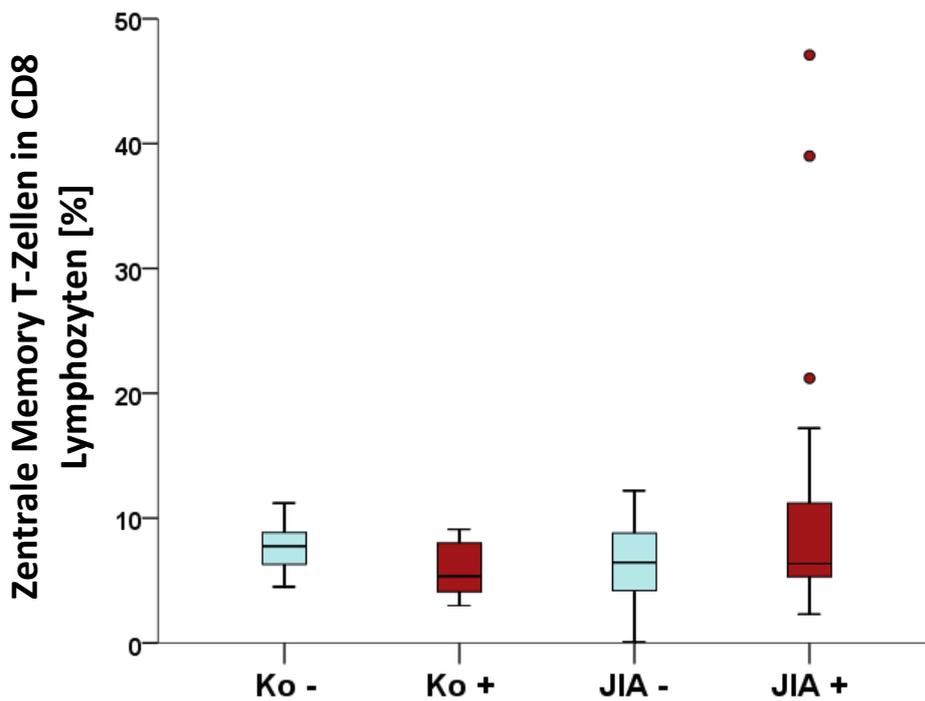


Abbildung 18: Zentrale Memory T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Es bestehen keine Unterschiede im Anteil der Zentralen Memory T-Zellen in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

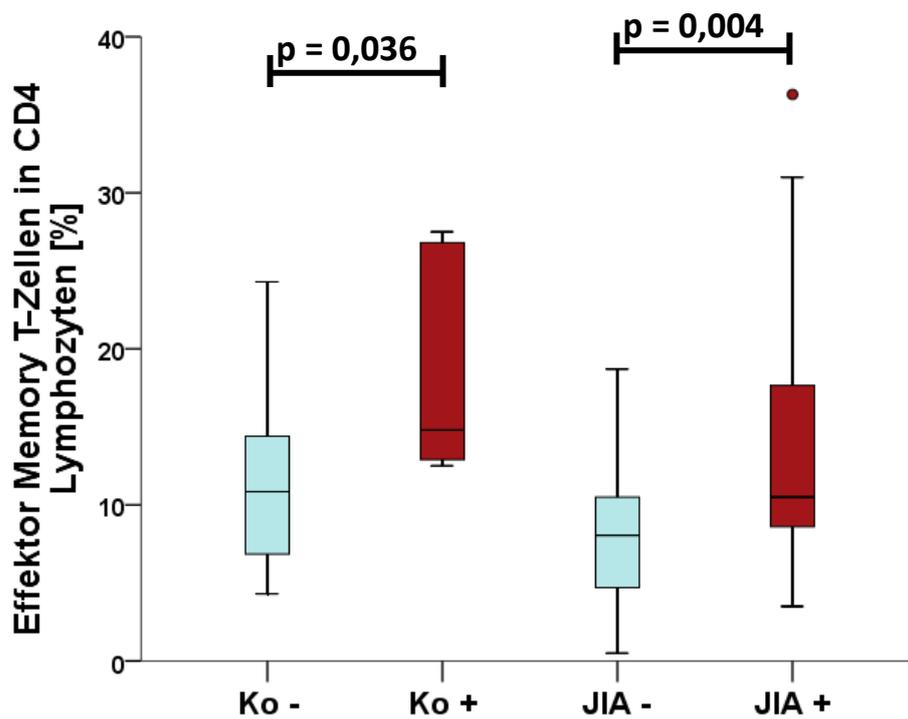


Abbildung 19: Effektor Memory T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden ($p=0,036$) und den JIA Patientinnen und Patienten ($p=0,004$) liegt innerhalb der CD4 Lymphozyten der Anteil der Effektor Memory T-Zellen signifikant höher als bei den seronegativen. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

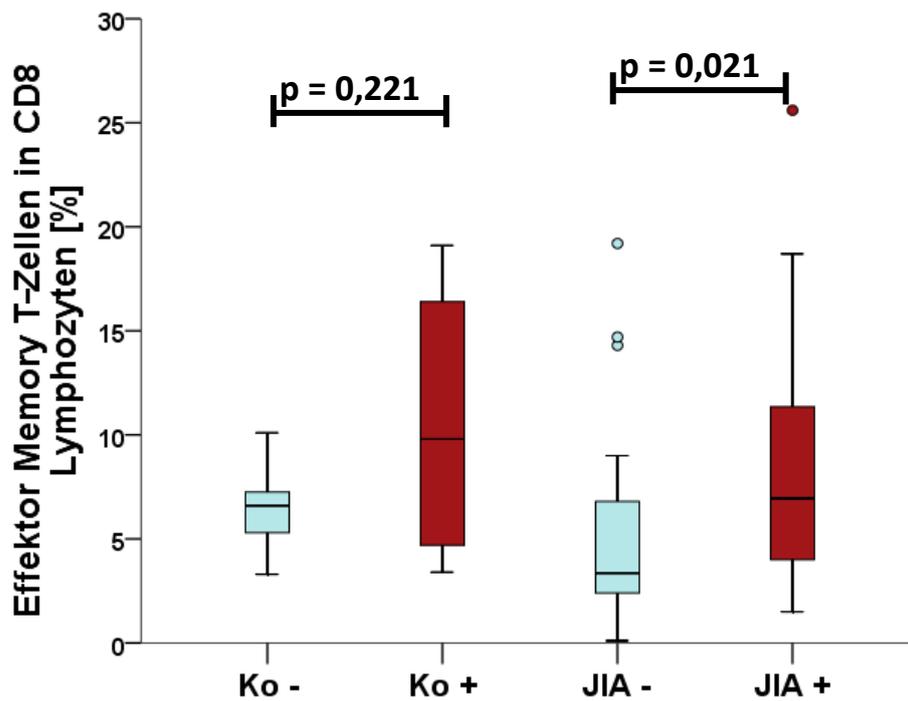


Abbildung 20: Effektor Memory T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten ($p=0,021$) liegt innerhalb der CD4 Lymphozyten der Anteil der Effektor Memory T-Zellen signifikant höher als bei den seronegativen. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

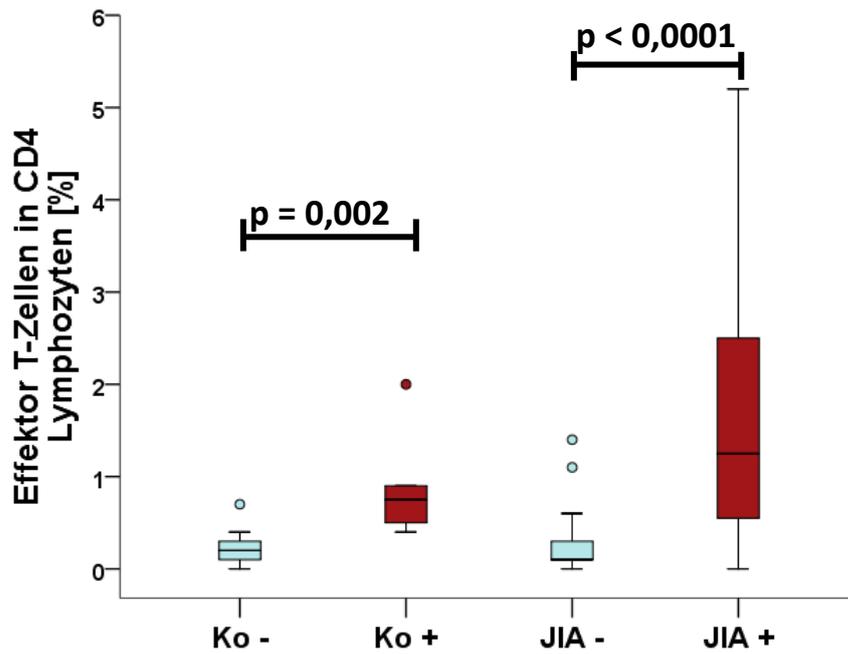


Abbildung 21: Effektor T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden ($p=0,002$) und JIA Patientinnen und Patienten ($p<0,0001$) liegt innerhalb der CD4 Lymphozyten der Anteil der Effektor T-Zellen signifikant höher als bei den seronegativen. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

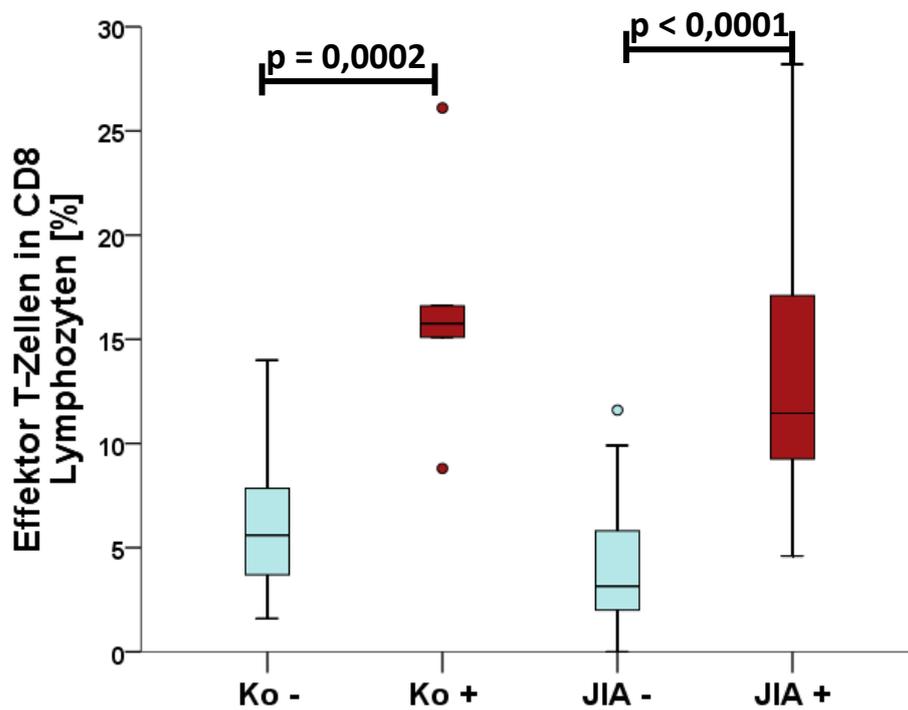


Abbildung 22: Effektor T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden ($p=0,0002$) und JIA Patientinnen und Patienten ($p<0,0001$) liegt innerhalb der CD8 Lymphozyten der Anteil der Effektor T-Zellen signifikant höher als bei den seronegativen. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

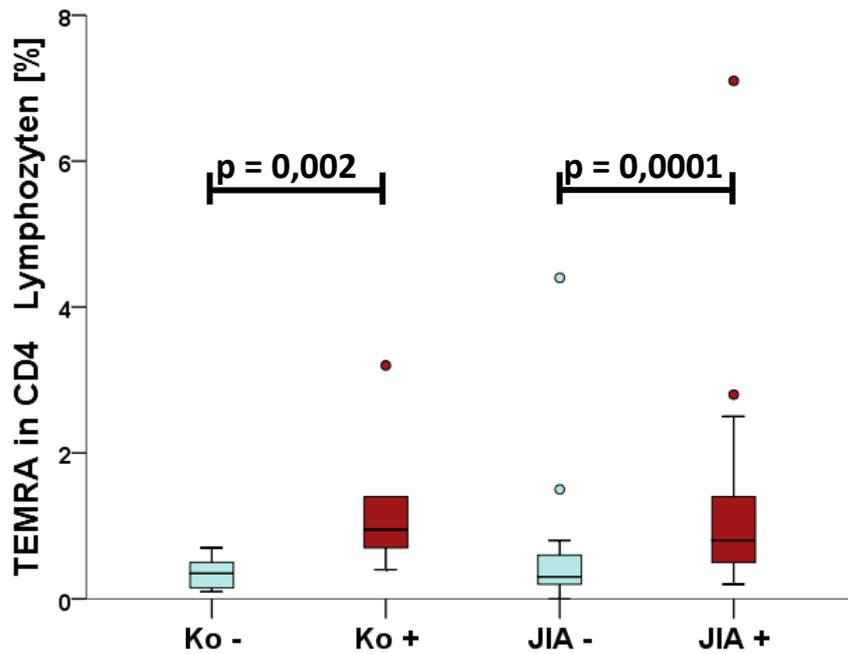


Abbildung 23: TEMRA in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven Kontrollprobandinnen und -probanden ($p=0,002$) und JIA Patientinnen und Patienten ($p=0,0001$) liegt innerhalb der CD4 Lymphozyten der Anteil der TEMRA signifikant höher als bei den seronegativen. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv, TEMRA= Effektor Memory RA T-Zellen.

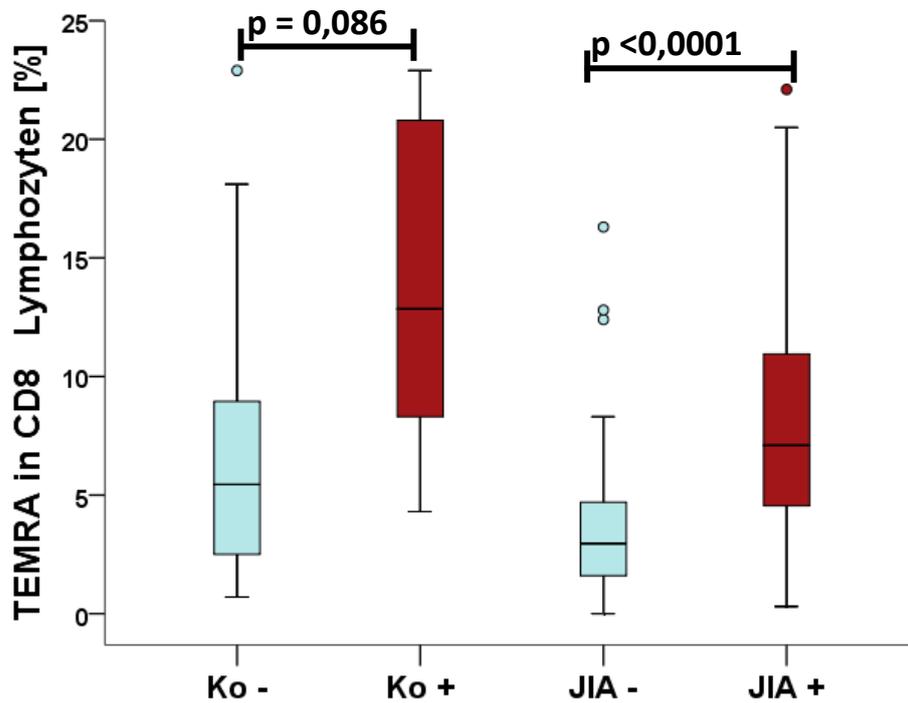


Abbildung 24: TEMRA in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten ($p < 0,0001$) liegt innerhalb der CD8 Lymphozyten der Anteil der TEMRA signifikant höher als bei den seronegativen. Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv, TEMRA= Effektor Memory RA T-Zellen.

3.7 Intrazelluläre Zytokinproduktion bei JIA

Die Bestimmung der intrazellulären Zytokinproduktion erfolgte innerhalb der Gruppe der JIA Patientinnen und Patienten. Im Folgenden wird die Zytokinproduktion auf unspezifischen Stimulus bei HCMV IgG seronegativen und -positiven JIA Patientinnen und Patienten miteinander verglichen.

3.7.1 Interferon gamma (IFN γ)

Bei CD8 Lymphozyten ist ein positiver HCMV IgG Serostatus mit einer signifikant gesteigerten IFN γ Produktion assoziiert (s. Abbildung 25 und Tabelle 23). Bei den CD4 Lymphozyten ist dies nicht der Fall.

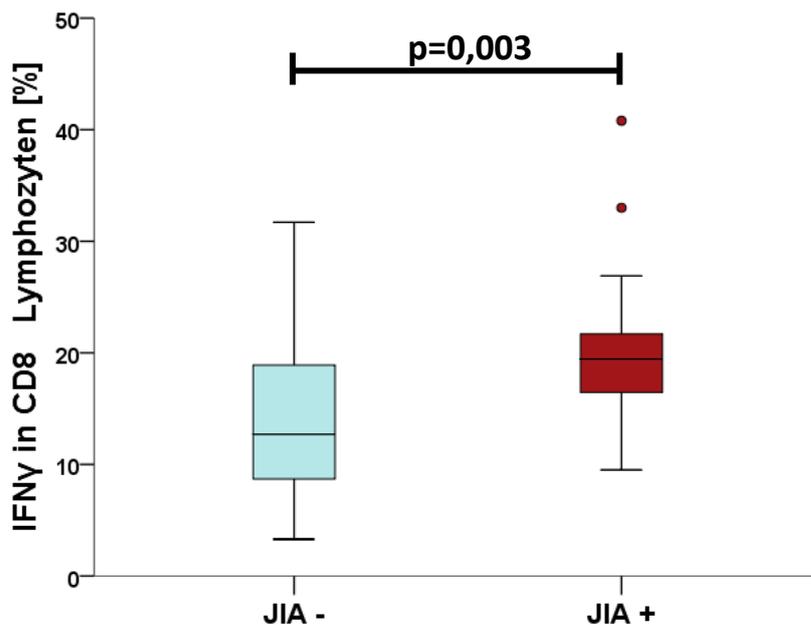


Abbildung 25: IFN γ in CD8 Lymphozyten bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die IFN γ Produktion in CD8 Lymphozyten signifikant höher als bei den seronegativen ($p=0,003$). Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, IFN γ = Interferon gamma, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv.

Innerhalb der einzelnen T-Zell Subpopulationen findet sich bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten eine höhere intrazelluläre IFN γ Produktion auf unspezifischen Stimulus als bei den seronegativen. Bei den CD4 Effektor T-Zellen (s. Abbildung 26 und Tabelle 23) und CD4 TEMRA (s. Abbildung 27 und Tabelle 23) ist dies signifikant. Innerhalb der übrigen vorher betrachteten Zellgruppen findet sich hierzu keine beweisende Signifikanz.

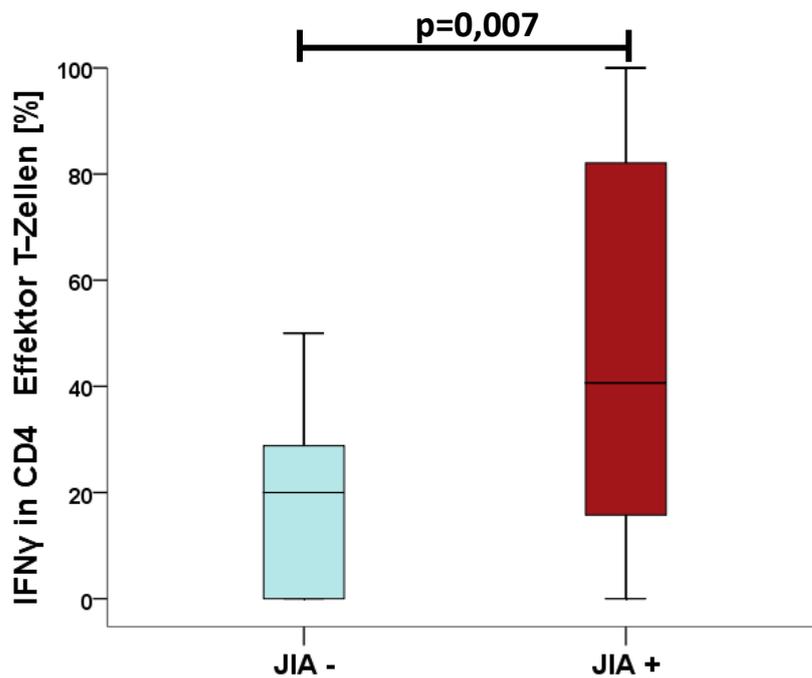


Abbildung 26: IFN γ in CD4 Effektor T-Zellen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die IFN γ Produktion in CD4 Effektor T-Zellen signifikant höher als bei den seronegativen ($p=0,007$). HCMV= Humanes Zytomegalievirus, IFN γ = Interferon gamma, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv.

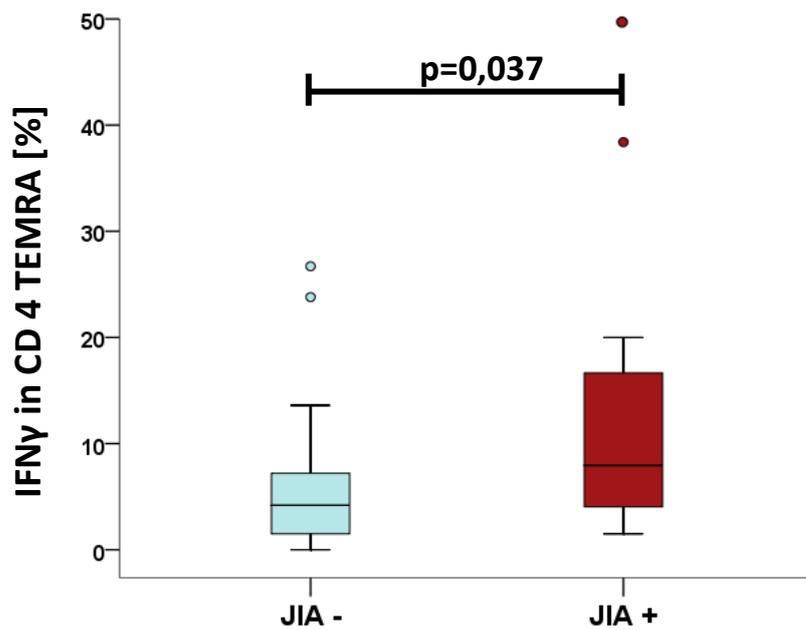


Abbildung 27: IFN γ in CD4 TEMRA bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die IFN γ Produktion in CD4 TEMRA signifikant höher als bei den seronegativen ($p=0,037$). Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, IFN γ = Interferon gamma, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, TEMRA= Effektor Memory RA T-Zellen.

Tabelle 23: IFN γ innerhalb der Zellpopulationen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population [%]	IFN γ in CD8 T-Zellen		IFN γ in CD4 Effektor T-Zellen		IFN γ in CD4 TEMRA	
	-	+	-	+	-	+
HCMV						
Anzahl [n]	30	16	29	16	29	16
Mittelwert	13,3	20,7	18,8	45,3	6,0	12,7
Median	12,7	19,5	20,0	40,7	4,2	8,0
SD	6,5	7,7	16,5	32,7	6,4	13,6
Min	3,3	9,5	0,0	0,0	0,0	1,5
Max	31,7	40,8	50,0	100,0	26,7	50,0
25. Perz.	8,6	16,1	0,0	15,0	1,5	4,0
75. Perz.	19,0	21,9	29,4	82,4	7,3	17,4
Signifikanz	p=0,003		p=0,007		p=0,037	

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die IFN γ Produktion in CD8 Lymphozyten (p=0,003), CD4 Effektor T-Zellen (p=0,007) und CD4 TEMRA (p=0,037) signifikant höher als bei den seronegativen. JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, IFN γ = Interferon gamma, Max= Maximum, Min= Minimum, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung, TEMRA= Effektor Memory RA T-Zellen.

3.7.2 Tumornekrosefaktor alpha (TNF α)

In Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität zeigt sich innerhalb der CD8 Lymphozyten insgesamt eine signifikant erhöhte TNF α Produktion (s. Abbildung 28 und Tabelle 24). Innerhalb spezieller T-Zell Subpopulationen (CD4 Naive T-Zellen (s. Abbildung 29 und Tabelle 24), CD4 Zentrale Memory T-Zellen (s. Abbildung 30 und Tabelle 24), sowie innerhalb CD8 Effektor Memory T-Zellen (s. Abbildung 31 und Tabelle 24)) ist die Produktion des Zytokins TNF α in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität jeweils signifikant erniedrigt.

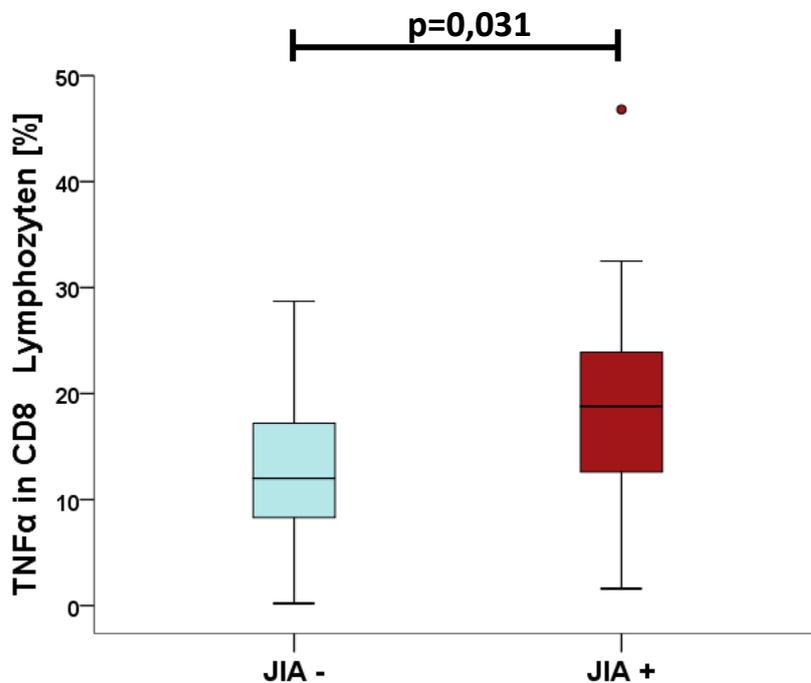


Abbildung 28: TNF α in CD8 Lymphozyten bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die TNF α Produktion in CD8 Lymphozyten signifikant höher als bei den seronegativen ($p=0,031$). Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, TNF α = Tumornekrosefaktor alpha.

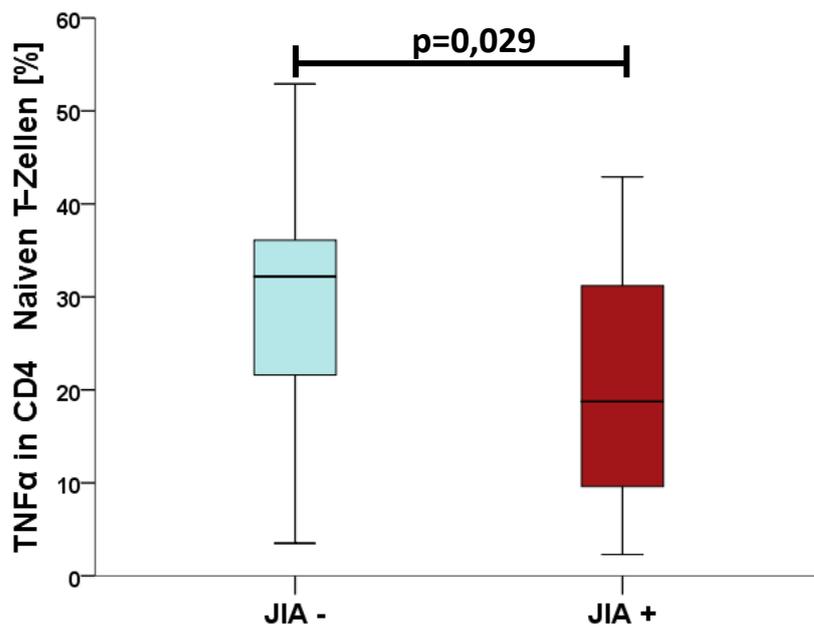


Abbildung 29: TNF α in CD4 Naiven T-Zellen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die TNF α Produktion in CD4 Naiven T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen ($p=0,029$). HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, TNF α = Tumornekrosefaktor alpha.

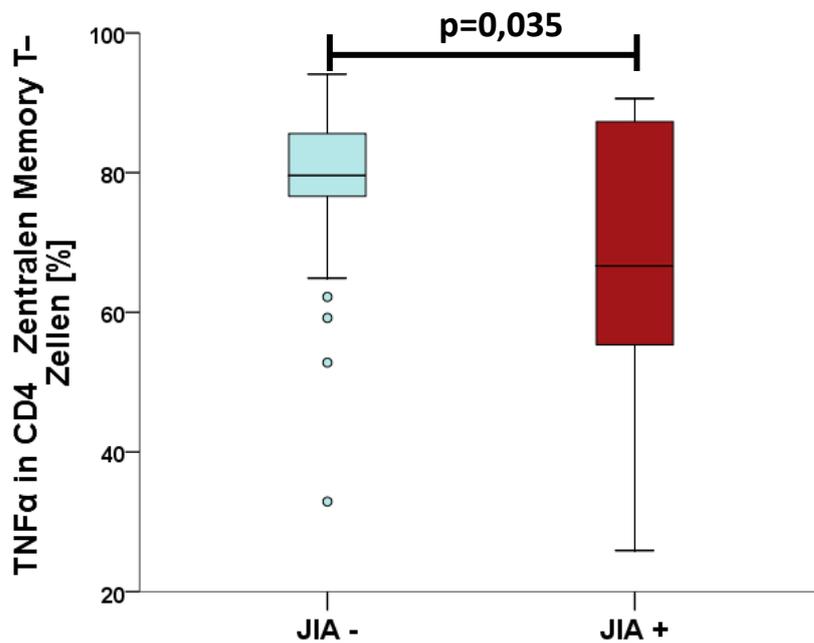


Abbildung 30: TNF α in CD4 Zentralen Memory T-Zellen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die TNF α Produktion in CD4 Zentralen Memory T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen ($p=0,035$). Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, TNF α = Tumornekrosefaktor alpha.

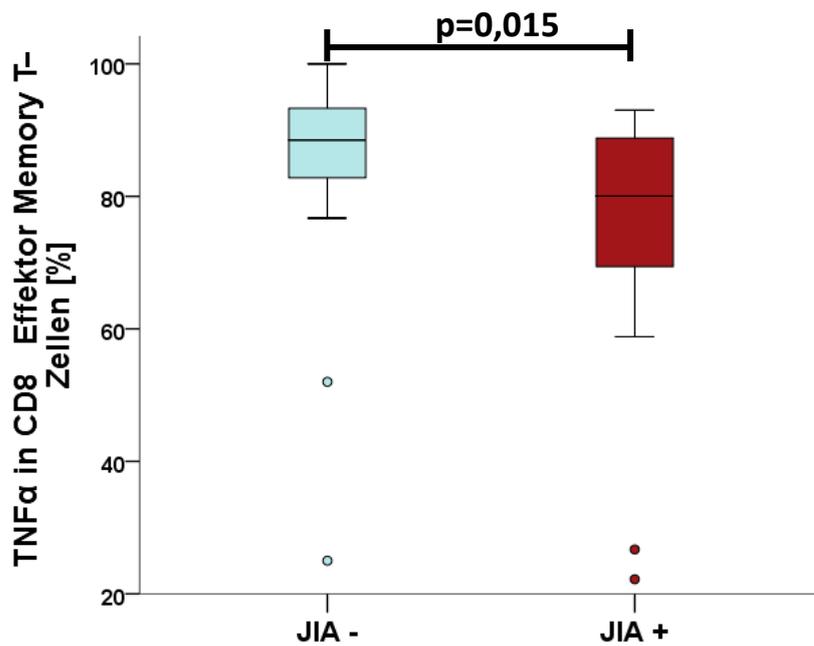


Abbildung 31: TNFα in CD8 Effektor Memory T-Zellen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die TNFα Produktion in CD8 Effektor Memory T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen ($p=0,015$). Kreise stellen Ausreißer dar. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, TNFα = Tumornekrosefaktor alpha.

Tabelle 24: TNF α innerhalb der Zellpopulationen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population [%]	TNF α in CD8 Lymphozyten		TNF α in CD4 Naiven T-Zellen		TNF α in CD4 Zentralen Memory T-Zellen		TNF α in CD8 Effektor Memory T-Zellen	
	-	+	-	+	-	+	-	+
HCMV								
Anzahl [n]	30	16	29	16	29	16	29	16
Mittelwert	13,3	19,2	30,0	21,0	77,9	67,4	85,4	74,0
Median	12,0	18,8	32,2	18,8	79,6	66,7	88,5	80,1
SD	6,8	11,2	12,5	13,4	13,2	19,9	14,9	21,5
Min	0,2	1,6	3,5	2,3	32,9	25,9	25,0	22,2
Max	28,7	46,8	52,9	42,9	94,1	90,6	100,0	93,0
25. Perz.	8,2	12,4	21,2	8,2	75,2	55,1	81,3	67,1
75. Perz.	17,4	24,0	36,5	31,3	86,2	88,0	93,7	89,3
Signifikanz	p=0,031		p=0,029		p=0,035		p=0,015	

Bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die TNF α Produktion in CD8 Lymphozyten ($p=0,031$) signifikant höher als bei den seronegativen. Bei den CD4 Naiven T-Zellen ($p=0,029$), den CD4 Zentralen Memory T-Zellen ($p=0,035$) und den CD8 Effektor Memory T-Zellen ($p=0,015$) liegt die TNF α Produktion bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten signifikant niedriger als bei den seronegativen. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Max= Maximum, Min= Minimum, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung, TNF α = Tumornekrosefaktor alpha.

3.8 Chemokinrezeptoren bei Gesundheitskontrollen und JIA

Die Oberflächenmoleküle CXCR3 und CCR5 wurden sowohl in CD4 und CD8 Lymphozyten, als auch in deren Subgruppen gemessen.

Da hier in allen Fällen (CXCR3 und CCR5) keine Korrelation zwischen den erhobenen Messdaten und dem Patientenalter bei Probenentnahme besteht (CXCR3 in CD4: $R=1,52$, $p=0,21$, CXCR3 in CD8: $R=-1,75$, $p=0,141$; CCR5 in CD4: $R=0,84$, $p=0,484$; CCR5 in CD8: $R=0,162$, $p=0,178$), können die Daten ohne Altersanpassung der Gruppen verglichen werden.

3.8.1 Chemokinrezeptor CXCR3

3.8.1.1 CXCR3 bei Gesundheitskontrollen und JIA

Begutachtet man die Expression des Oberflächenmoleküls CXCR3, so ergeben sich bei den CD4 und CD8 Lymphozyten insgesamt keine Differenzen in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus. Unterschiede zwischen Gesundheitskontrollen und JIA Patientinnen und Patienten bestehen ebenfalls nicht.

Signifikante Unterschiede hingegen liegen innerhalb der CD4 und CD8 T-Zell Subpopulationen zwischen den HCMV IgG seronegativen und -positiven JIA Patientinnen und Patienten vor. Dies gilt für die CD4 Zentralen Memory T-Zellen, die CD8 Effektor T-Zellen und die CD8 TEMRA. Bei den Gesundheitskontrollen bestehen diese Trends - jedoch ohne beweisende Signifikanz - ebenfalls (s. Tabelle 25). Bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die Expression des Oberflächenmarkers CXCR3 signifikant niedriger als bei den seronegativen (CD4 Zentrale Memory T-Zellen ($p=0,028$; s. Abbildung 32 und Tabelle 25), CD8 Effektor T-Zellen ($p=0,01$; s. Abbildung 33 und Tabelle 25) und CD8 TEMRA ($p=0,017$; s. Abbildung 34 und Tabelle 25)).

Innerhalb anderer T-Zell Subpopulationen konnten keine signifikanten Unterschiede gezeigt werden. Eine Korrelation zum Alter besteht bei keiner der nachfolgend beschriebenen Subgruppen.

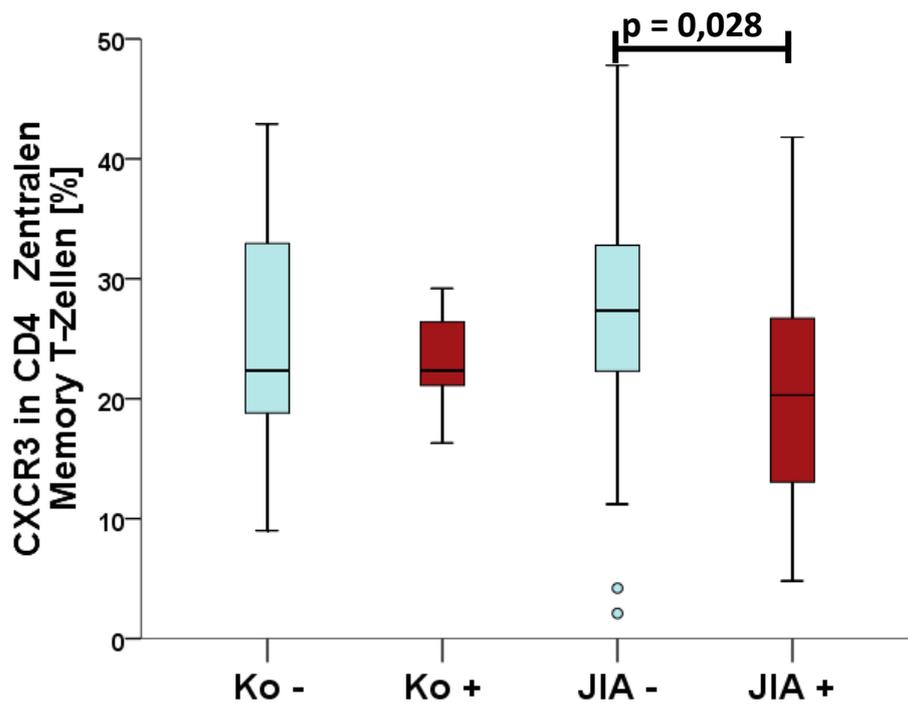


Abbildung 32: CXCR3 Expression in CD4 Zentralen Memory T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die Expression von CXCR3 bei den CD4 Zentralen Memory T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen ($p=0,028$). Kreise stellen Ausreißer dar. CXCR3= CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 3, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

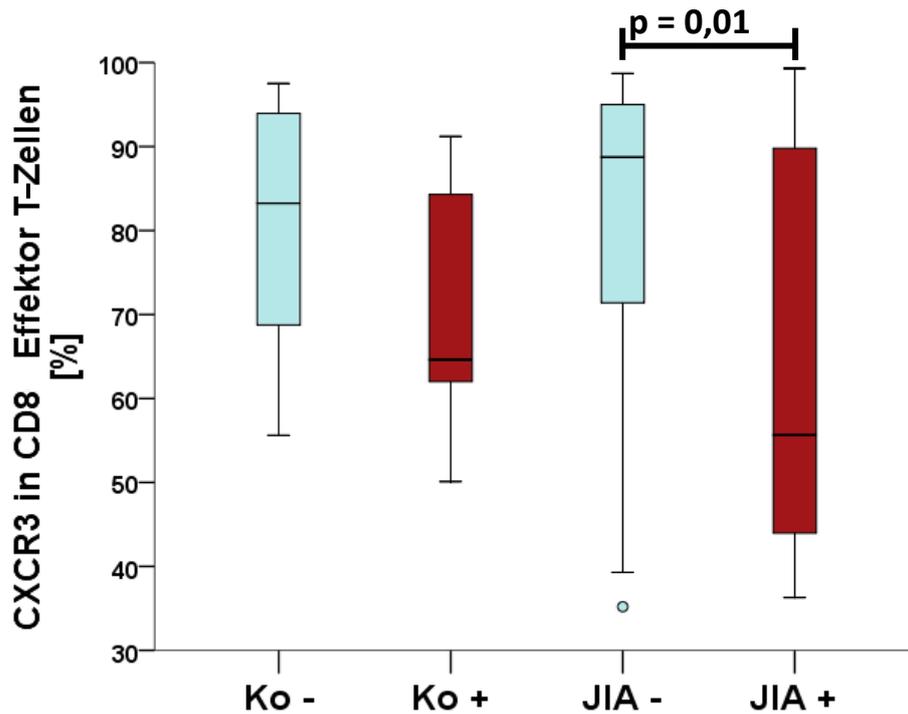


Abbildung 33: CXCR3 Expression in CD8 Effektor T-Zellen bei Gesundheitskontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die Expression von CXCR3 bei den CD8 Effektor T-Zellen signifikant niedriger als bei den seronegativen ($p=0,01$). Kreise stellen Ausreißer dar. CXCR3= CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 3, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundheitskontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundheitskontrollen HCMV IgG seropositiv.

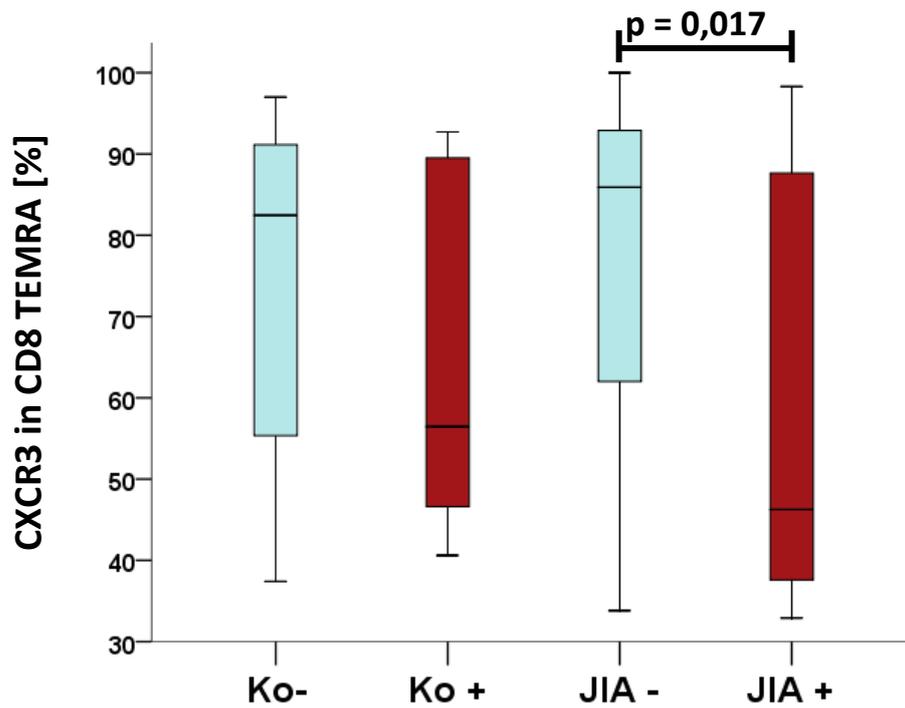


Abbildung 34: CXCR3 Expression in CD8 TEMRA bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die Expression von CXCR3 bei den CD8 TEMRA signifikant niedriger als bei den seronegativen ($p=0,017$). CXCR3= CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 3, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv, TEMRA= Effektor Memory RA T-Zellen.

Tabelle 25: CXCR3 Expression in T-Zell Subgruppen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population [%]	CXCR3 in CD4 Zentralen Memory T-Zellen				CXCR3 in CD8 Effektor T-Zellen				CXCR3 in CD8 TEMRA			
	Ko	Ko	JIA	JIA	Ko	Ko	JIA	JIA	Ko	Ko	JIA	JIA
Krankheit												
HCMV	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Anzahl [n]	12	6	30	24	12	6	28	24	12	6	29	24
Mittelwert	24,9	23,0	27,2	20,8	80,5	69,5	81,3	64,0	74,6	63,7	76,9	59,5
Median	22,4	22,4	27,4	20,3	83,3	64,6	88,8	55,7	82,5	56,5	85,9	46,3
SD	10,5	4,5	10,6	9,7	14,8	15,3	17,4	22,7	21,2	22,9	20,5	25,3
Min	9,0	16,3	2,1	4,8	55,6	50,1	35,2	36,3	37,4	40,6	33,8	32,9
Max	42,9	29,2	47,8	41,8	97,5	91,2	98,7	99,3	97,0	92,7	100,0	98,3
25. Perz.	18,0	19,9	22,2	13,0	67,4	59,0	71,4	43,4	53,7	45,1	59,0	37,4
75. Perz.	32,3	27,1	33,1	27	94,8	86,0	95,4	90,0	91,6	90,3	93,6	89,2
Signifikanz												
Ko-:Ko+	n.s.				n.s.				n.s.			
JIA-:JIA+	p=0,028				p=0,01				p=0,017			
Ko-:JIA-	n.s.				n.s.				n.s.			
Ko+:JIA+	n.s.				n.s.				n.s.			

Bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten liegt die Expression von CXCR3 bei den CD4 Zentralen Memory T-Zellen (p=0,028), bei den CD8 Effektor T-Zellen (p=0,01) und bei den CD8 TEMRA (p=0,017) signifikant niedriger als bei den seronegativen. CXCR3= CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 3, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, JIA-= JIA HCMV IgG seronegativ, JIA+= JIA HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen, Ko-= Ko HCMV IgG seronegativ, Ko+= Ko HCMV IgG seropositiv, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung, TEMRA= Effektor Memory RA T-Zellen.

3.8.2 Chemokinrezeptor CCR5

3.8.2.1 CCR5 bei Gesundkontrollen und JIA

Die Expression des Oberflächenmoleküls CCR5 wurde innerhalb der CD4 und CD8 Lymphozyten bestimmt. Insgesamt zeigen sich signifikant niedrigere CCR5 Expressionslevel der CD8 Lymphozyten bei den JIA Patientinnen und Patienten im Vergleich zu den Gesundkontrollen (s. Abbildung 35 und Tabelle 26). Eine Korrelation zum Alter besteht nicht. Ein Unterschied bei Stratifizierung nach dem HCMV Serostatus besteht ebenfalls nicht (JIA HCMV- zu JIA HCMV+: CD4 $p=0,345$, CD8 $p=0,372$; Ko HCMV- zu Ko HCMV+: CD4 $p=0,151$, CD8 $p=0,291$).

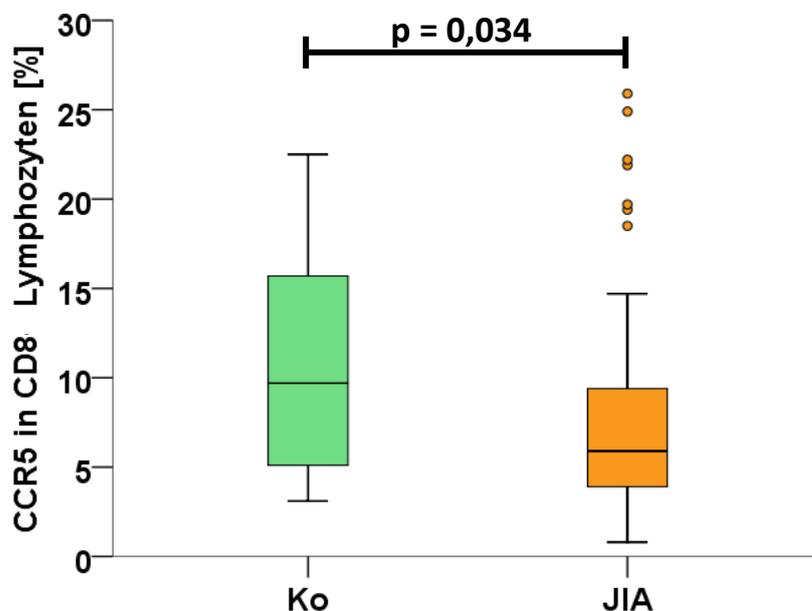


Abbildung 35: CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA

Bei den CD8 Lymphozyten liegt die CCR5 Expression bei den JIA Patientinnen und Patienten signifikant niedriger als bei den Gesundkontrollen ($p=0,034$). Kreise stellen Ausreißer dar. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen.

Tabelle 26: CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA

T-Zell Population [%]	CCR5 in CD 8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA			
	CD4		CD8	
Krankheit	Ko	JIA	Ko	JIA
Anzahl [n]	18	53	18	53
Mittelwert	3,9	3,3	11,0	8,1
Median	3,5	2,5	9,7	5,9
SD	2,2	2,6	5,9	6,3
Min	0,8	0,4	3,1	0,8
Max	8,1	11,2	22,5	25,9
25. Perz.	2,1	1,6	5,1	3,8
75. Perz.	5,6	4,5	15,7	9,7
Signifikanz	p=0,146		p=0,034	

Bei den CD8 Lymphozyten liegt die CCR5 Expression bei den JIA Patientinnen und Patienten signifikant niedriger als bei den Gesundkontrollen (p=0,034). CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen, Max= Maximum, Min= Minimum, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

3.8.2.2 CCR5 innerhalb der JIA Subgruppen

Bei Betrachtung der JIA Subentitäten werden ebenfalls signifikante Unterschiede bezüglich der CCR5 Expression beobachtet. Die Gruppe der EAA zeigt eine signifikant höhere CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten als die Gruppe der OA und RF-PA ($p=0,005$; s. Abbildung 36 und Tabelle 27). Bei der letzteren Gruppe (OA und RF-PA) liegt die CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten außerdem noch niedriger als bei den übrigen JIA Subgruppen ($p=0,035$; RF+PA, PsA und andere Arthritis) und den Gesundkontrollen ($p=0,005$; s. Abbildung 36 und Tabelle 27). In der Gruppe der CD4 Lymphozyten finden sich analog hierzu eine signifikant geringere CCR5 Expression in der Gruppe der OA oder RF-PA zu übriger JIA (s. Abbildung 37 und Tabelle 28). Ansonsten bestehen keine signifikanten Veränderungen.

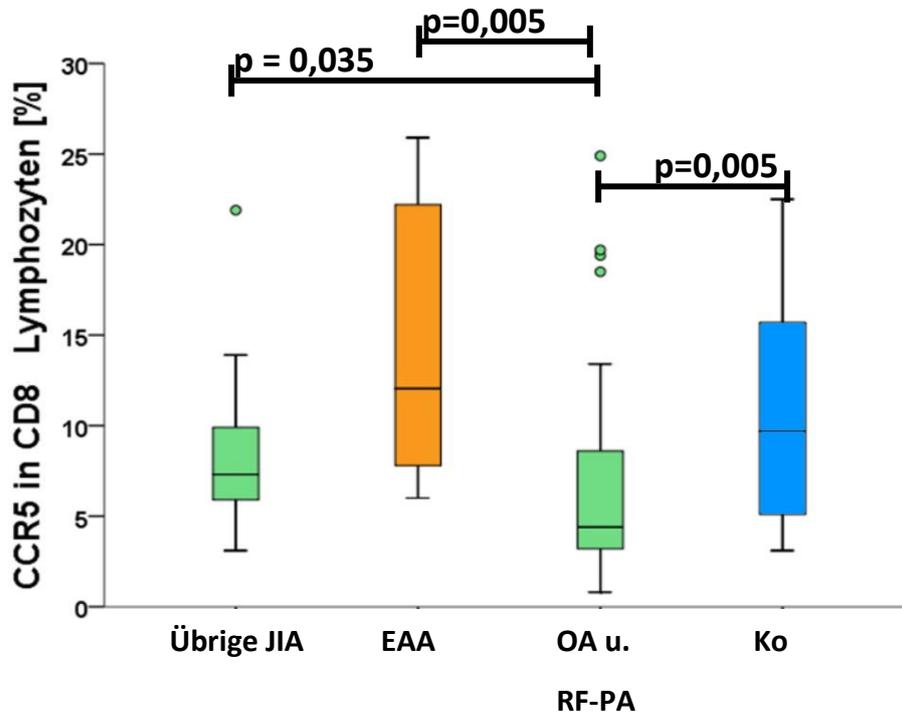


Abbildung 36: CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und innerhalb der JIA Subentitäten

Die CCR5 Expression in den CD8 Lymphozyten liegt innerhalb der Subgruppe der EAA signifikant höher als in der Gruppe der OA und RF-PA ($p=0,005$). Bei der Gruppe OA und RF-PA liegt die CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten außerdem noch niedriger als bei Übrige JIA ($p=0,035$) und Ko ($p=0,005$). Übrige JIA beinhaltet hier andere Arthritis, RF+PA und PsA. Kreise stellen Ausreißer dar. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, EAA= Enthesitis-assoziierte Arthritis, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen, OA= Oligoarthritis, PsA= Psoriasisarthritis, RF-PA= Seronegative Polyarthritis, RF+PA= Seropositive Polyarthritis.

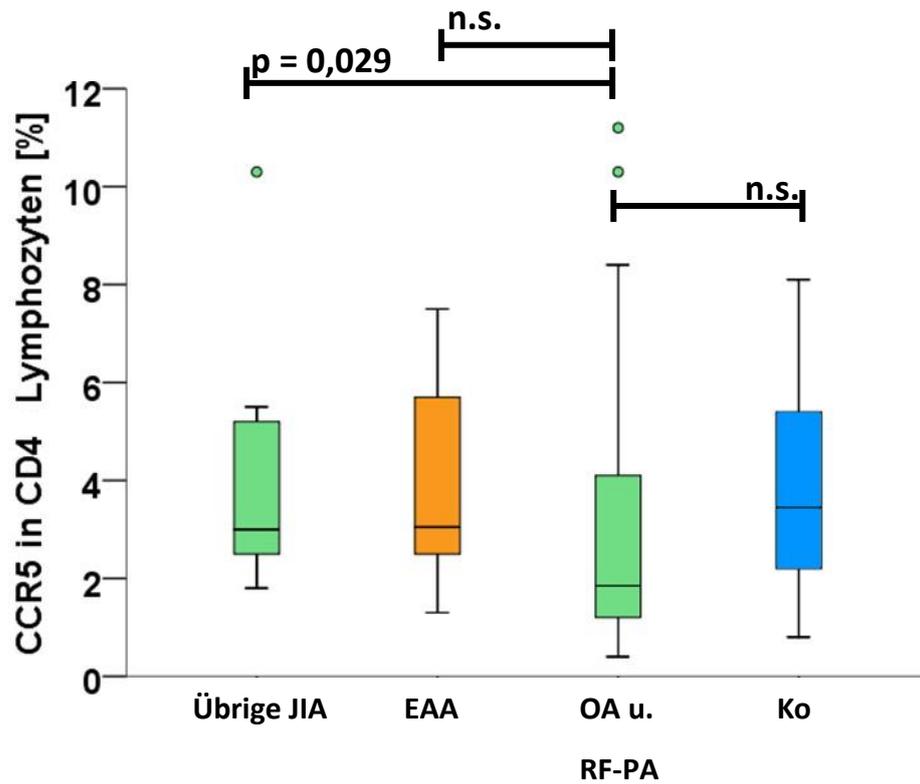


Abbildung 37: CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und innerhalb der JIA Subentitäten

Die CCR5 Expression in den CD4 Lymphozyten liegt innerhalb der Subgruppe der OA und RF-PA signifikant niedriger als bei Übrige JIA ($p=0,029$). Übrige JIA beinhaltet hier andere Arthritis, RF+PA und PsA. Kreise stellen Ausreißer dar. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, EAA= Enthesitis-assoziierte Arthritis, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen, OA= Oligoarthritis, PsA= Psoriasisarthritis, RF-PA= Seronegative Polyarthritis, RF+PA= Seropositive Polyarthritis.

Tabelle 27: CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und innerhalb der JIA Subentitäten

T-Zell Population [%]	CCR5 in CD8 Lymphozyten bei JIA			
JIA Subgruppe	Übrige JIA	EAA	OA und RF-PA	Ko
Anzahl [n]	13	6	34	18
Mittelwert	8,7	14,3	6,8	11,0
Median	7,3	12,1	4,4	9,7
SD	5,0	8,2	5,9	5,9
Min	3,1	6,0	0,8	3,1
Max	21,9	25,9	24,9	22,5
25. Perz.	5,7	7,4	3,2	5,1
75. Perz.	11,3	23,1	8,7	15,7
Signifikanz				
Übrige : EAA	p=0,072			
EAA : OA u. RF-PA	p=0,005			
Übrige : OA u. RF-PA	p=0,035			
OA u. RF-PA : Ko	p=0,005			

Die CCR5 Expression in den CD8 Lymphozyten liegt innerhalb der Subentität der EAA signifikant höher als in der Gruppe der OA und RF-PA (p=0,005). Bei der Gruppe OA und RF-PA liegt die CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten außerdem noch niedriger als bei Übrige JIA (p=0,035) und Ko (p=0,005). Übrige JIA beinhaltet hier andere Arthritis, RF+PA und PsA. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, EAA= Enthesitis-assoziierte Arthritis, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen, Max= Maximum, Min= Minimum, OA= Oligoarthritis, PsA= Psoriasisarthritis, Perz.= Perzentile, RF-PA= Seronegative Polyarthritis, RF+PA= Seropositive Polyarthritis, SD= Standardabweichung.

Tabelle 28: CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten bei Gesundheitskontrollen und innerhalb der JIA Subentitäten

T-Zell Population [%]	CCR5 in CD4 Lymphozyten bei JIA			
JIA Subgruppe	Übrige JIA	EAA	OA und RF-PA	Ko
Anzahl [n]	13	6	34	18
Mittelwert	4,0	3,9	3,0	3,9
Median	3,0	3,1	1,9	3,5
SD	2,3	2,3	2,7	2,2
Min	1,8	1,3	0,4	0,8
Max	10,3	7,5	11,2	8,1
25. Perz.	2,4	2,2	1,2	2,1
75. Perz.	5,4	6,2	4,1	5,6
Signifikanz				
Übrige : EAA	n.s.			
EAA : OA u. RF-PA	n.s.			
Übrige : OA u. RF-PA	p=0,029			
OA u. RF-PA : Ko	n.s.			

Die CCR5 Expression in den CD4 Lymphozyten liegt innerhalb der Subgruppe der OA und RF-PA signifikant niedriger als bei Übrige JIA (p=0,029). Übrige JIA beinhaltet hier andere Arthritis, RF+PA und PsA. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, EAA= Enthesitis-assoziierte Arthritis, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundheitskontrollen, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, OA= Oligoarthritis, PsA= Psoriasisarthritis, Perz.= Perzentile, RF-PA= Seronegative Polyarthritis, RF+PA= Seropositive Polyarthritis, SD= Standardabweichung.

3.8.2.3 CCR5 und HCMV

Bei den JIA Patientinnen und Patienten ist eine bestehende Seropositivität für HCMV IgG mit einer signifikanten Erhöhung der CCR5 Expression sowohl innerhalb der CD4 ($p=0,017$; s. Abbildung 38 und Tabelle 29) als auch der CD8 Lymphozyten ($p=0,002$; s. Abbildung 39 und Tabelle 29) assoziiert. Bei den Gesundkontrollen zeigt sich diese Assoziation nicht. Auch hier besteht keine Korrelation zum Alter bei Probenentnahme.

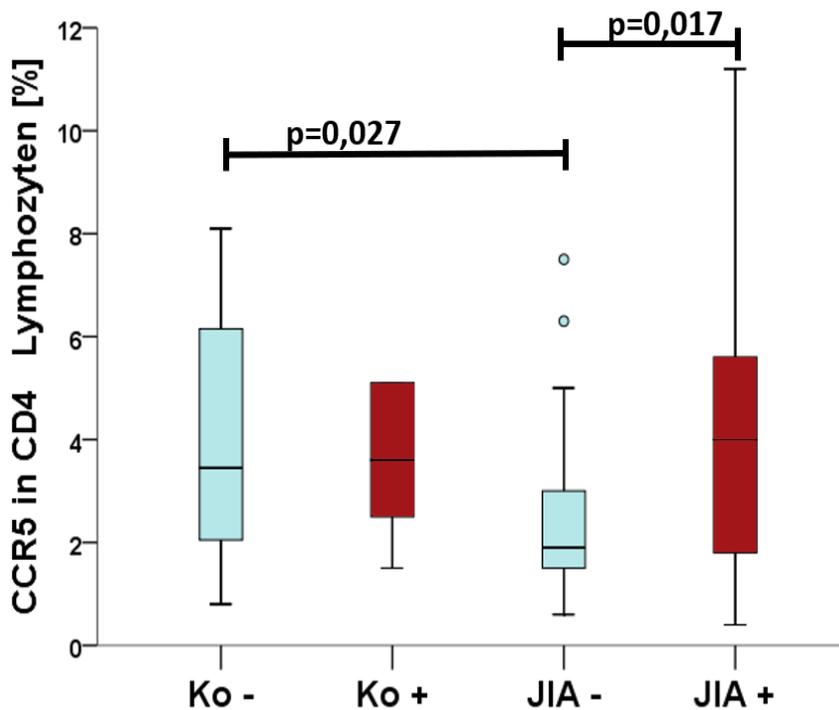


Abbildung 38: CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Die CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten liegt bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten signifikant höher als bei den seronegativen ($p=0,017$). Kreise stellen Ausreißer dar. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

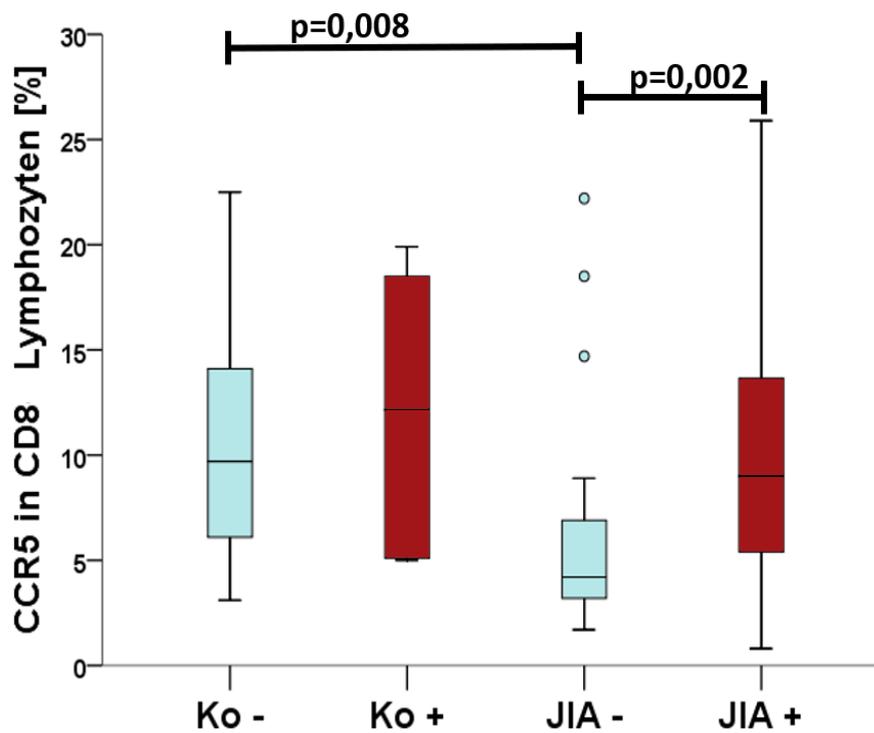


Abbildung 39: CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Die CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten liegt bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten signifikant höher als bei den seronegativen ($p=0,002$). Kreise stellen Ausreißer dar. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, JIA-= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seronegativ, JIA+= Juvenile Idiopathische Arthritis HCMV IgG seropositiv, Ko-= Gesundkontrollen HCMV IgG seronegativ, Ko+= Gesundkontrollen HCMV IgG seropositiv.

Tabelle 29: CCR5 Expression in CD4 und CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population [%]	CCR5 in CD4				CCR5 in CD8			
	Ko	Ko	JIA	JIA	Ko	Ko	JIA	JIA
Krankheit								
HCMV	-	+	-	+	-	+	-	+
Anzahl [n]	12	6	29	24	12	6	29	24
Mittelwert	4,1	3,6	2,5	4,4	10,5	12,1	6,0	10,7
Median	3,5	3,6	1,9	4,0	9,7	12,2	4,2	9,0
SD	2,5	1,6	1,6	3,1	5,7	6,7	4,8	7,0
Min	0,8	1,5	0,6	0,4	3,1	5,0	1,7	0,8
Max	8,1	5,1	7,5	11,2	22,5	19,9	22,2	25,9
25. Perz.	2,0	2,3	1,5	1,8	5,5	5,1	3,2	5,2
75. Perz.	6,2	5,1	3,1	5,7	14,5	18,9	7,0	13,8
Signifikanz								
Ko-:Ko+	n.s.				n.s.			
JIA-:JIA+	p=0,017				p=0,002			
Ko-:JIA-	p=0,027				p=0,008			
Ko+:JIA+	n.s.				n.s.			

Die CCR5 Expression in CD4 (p=0,017) und CD8 (p=0,002) Lymphozyten liegt bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten signifikant höher als bei den seronegativen. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, JIA-= JIA HCMV IgG seronegativ, JIA+= JIA HCMV IgG seropositiv, Ko= Gesundkontrollen, Ko-= Ko HCMV IgG seronegativ, Ko+= Ko HCMV IgG seropositiv, Max= Maximum, Min= Minimum, n.s.= nicht signifikant, Perz.= Perzentile, SD= Standardabweichung.

3.8.2.4 CCR5 und HCMV innerhalb der JIA Entitäten

Besonders innerhalb der JIA Subentität der OA und RF-PA lässt sich diese Assoziation (Assoziation zwischen einer HCMV IgG Seropositivität und der CCR5 Expression in CD4 und CD8 Lymphozyten) auch nachweisen (s. Abbildung 40 und Abbildung 41 und Tabelle 30).

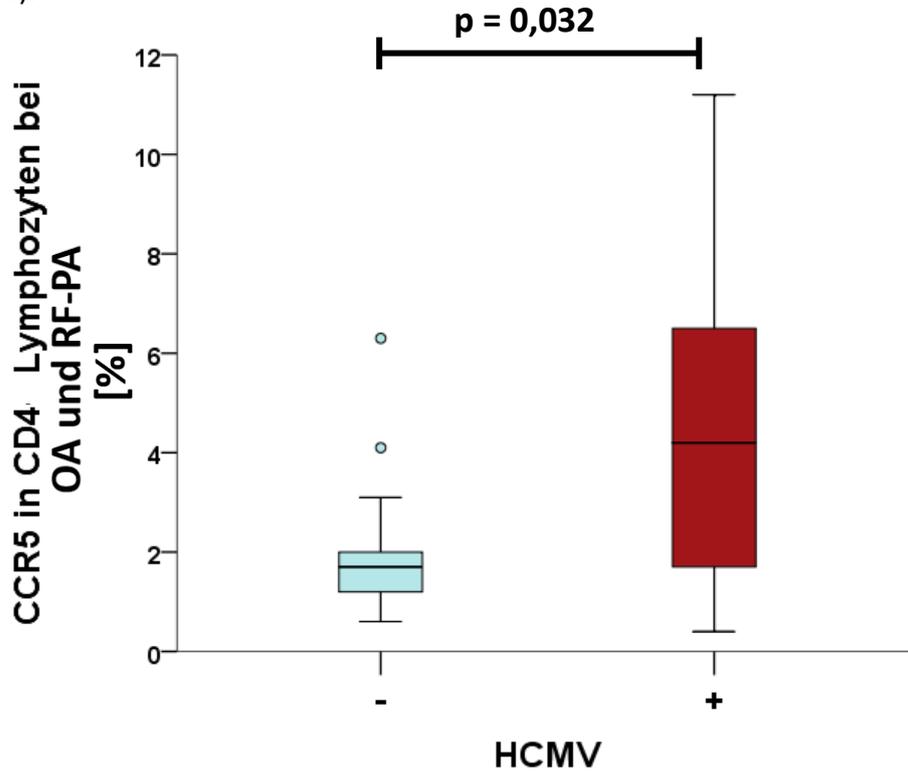


Abbildung 40: CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten bei OA und RF-PA in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus

Die CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten bei OA und RF-PA liegt bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten signifikant höher als bei seronegativen ($p=0,032$). Kreise stellen Ausreißer dar. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV- = HCMV IgG seronegativ, HCMV+ = HCMV IgG seropositiv, OA= Oligoarthritis, RF-PA= Seronegative Polyarthritis.

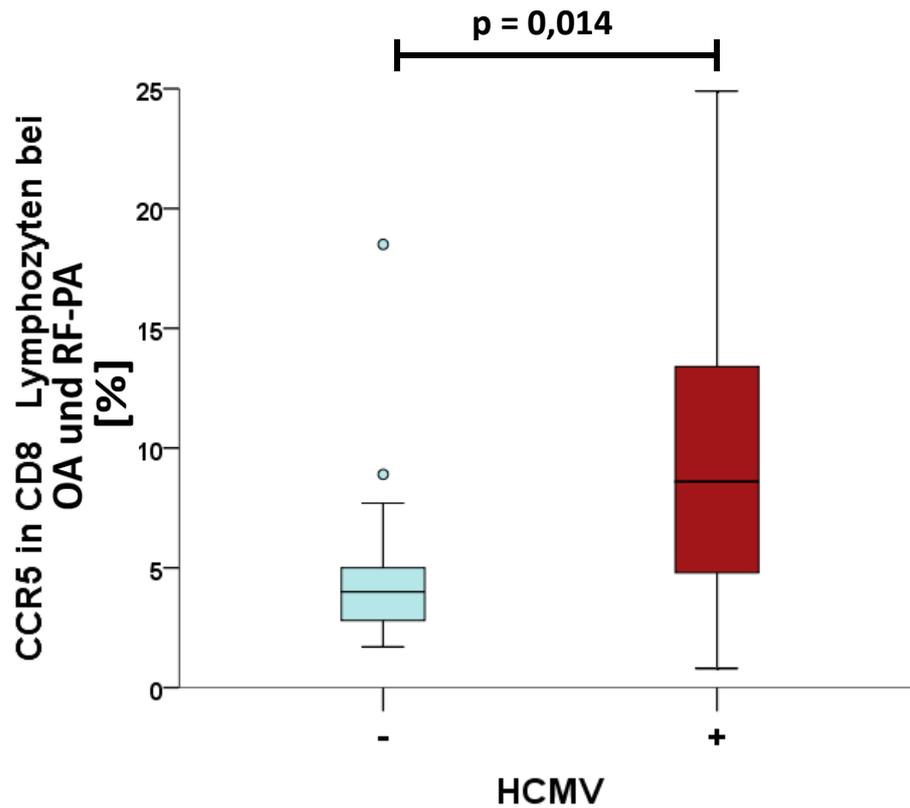


Abbildung 41: CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei OA und RF-PA in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus

Die CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei OA und RF-PA liegt bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten signifikant höher als bei den seronegativen ($p=0,014$). Kreise stellen Ausreißer dar. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV- HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, OA= Oligoarthritis, RF-PA= Rheumafaktor negative Polyarthritis.

Tabelle 30: CCR5 Expression in CD4 und CD8 Lymphozyten bei OA und RF-PA in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus

T-Zell Population [%]	CCR5 in Lymphozyten bei OA und RF-PA			
	CD4		CD8	
HCMV	-	+	-	+
Anzahl [n]	21	13	21	13
Mittelwert	2,0	4,7	4,8	10,0
Median	1,7	4,2	4,0	8,6
SD	1,3	3,6	3,7	7,4
Min	0,6	0,4	1,7	0,8
Max	6,3	11,2	18,5	24,9
25. Perz.	1,2	1,3	2,7	4,3
75. Perz.	2,1	7,5	5,1	16,4
Signifikanz	p=0,032		p=0,014	

Die CCR5 Expression in CD4 (p=0,032) und CD8 (p=0,014) Lymphozyten bei OA und RF-PA liegt bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten signifikant höher als bei seronegativen. CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, Max= Maximum, Min= Minimum, OA= Oligoarthritis, Perz.= Perzentile, RF-PA= Seronegative Polyarthritis, SD= Standardabweichung.

3.9 Therapie der JIA in unserer Kohorte

Tabelle 31 stellt die Häufigkeitsverteilung der verschiedenen medikamentösen Therapieoptionen in unserer Kohorte dar.

Tabelle 31: Therapie der JIA in unserer Kohorte

Therapie [n]	JA	NEIN
NSAR	30 (60,0%)	20 (40,0%)
Corticosteroide	6 (11,8%)	45 (88,2%)
MTX	25 (49,0%)	26 (51,0%)
Biologika	2 (3,9%)	49 (96,1%)

In unserer Studienkohorte erhalten 60% der JIA Patientinnen und Patienten NSAR, 11,8% Corticosteroide, 49% MTX und 3,9% Biologika. NSAR: Naproxen 10-15mg/kg KG/d in 2 Einzeldosen per os, Ibuprofen 20-40mg/kg KG/d in 3-4 Einzeldosen per os; Corticosteroide: Prednison/-olon, Methylprednisolon 0,1-0,2mg/kg KG/d (max 5mg/d) per os; MTX: 10-15mg/m² Körperoberfläche/Woche subcutan/ per os/ intravenös; Biologica: Etanercept 0,8mg/kg KG/ Woche in 1-2 Einzeldosen subcutan, Adalimumab <30kg KG 20mg alle 2 Wochen, ≥30kg KG 40mg alle 2 Wochen subcutan [109]. MTX= Methotrexat, NSAR= Nichtsteroidale Antirheumatika.

Insgesamt wird hier der große Stellenwert der Basistherapie mit Nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR) (60,0% der Patienten) und MTX (49,0% der Patienten) deutlich. Eine Therapie mit Corticosteroiden erhalten nur 11,8% und mit Biologika nur 3,9% der Patientinnen und Patienten (s. Tabelle 31).

Stellt man den HCMV IgG Serostatus in Bezug zur Therapie, die die Patientinnen und Patienten erhalten, so zeigt sich folgende Assoziation: die HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten erhalten signifikant seltener eine Basistherapie mit MTX als die seronegativen Patientinnen und Patienten (s. Tabelle 32, Pearson Chi-Quadrat: $p < 0,003$).

Tabelle 32: MTX Therapie in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus

Therapie [n]	mit MTX	ohne MTX
HCMV -	19 (67,9%)	9 (32,1%)
HCMV +	6 (26,1%)	17 (73,9%)
Gesamt	25 (100%)	26 (100%)
Signifikanz	Pearson Chi-Quadrat: $p < 0,003$	

HCMV IgG seropositive JIA Patientinnen und Patienten erhalten signifikant seltener eine Basistherapie mit MTX als die seronegativen (Person Chi-Quadrat: $p < 0,003$). MTX: 10-15mg/m² Körperoberfläche/Woche subcutan/ per os/ intravenös [109]. HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV=- HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, MTX= Methotrexat.

Für alle anderen Medikamentengruppen zeigen sich hier keine Unterschiede.

Die Expression des Chemokinrezeptors CCR5 steht in keiner Assoziation zu einer Therapie mit MTX (CCR5 in CD4 Pearson Chi-Quadrat: $p = 0,304$; CCR5 in CD8 Pearson Chi-Quadrat: $p = 0,43$).

4. Zusammenfassung der Ergebnisse

4.1 Epidemiologie

Insgesamt wurden 149 Kinder und Jugendliche in die Studie eingeschlossen. Davon sind 99 (66,4%) JIA Patientinnen und Patienten und 50 (34,6%) Kontrollprobandinnen und -probanden. Die Mehrzahl der Patienten ist weiblich, die häufigste Subklassifikation die OA. Bei 38 Kindern liegt eine stattgehabte HCMV Infektion vor (25,5%) (s. Kapitel 3.1 - 3.3 und Tabelle 33).

4.2 Lymphozytenphänotypisierung

Gegenüber den Gesundkontrollen besteht eine signifikante Leukozytenerhöhung bei den JIA Patientinnen und Patienten. Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt der Anteil der T-Zellen an allen Lymphozyten niedriger als bei den Gesundkontrollen, mit dem prozentualen Anteil der B-Zellen verhält es sich dementsprechend umgekehrt. CD4 Lymphozyten sind bei den JIA Patientinnen und Patienten höher, CD8 Lymphozyten niedriger als bei den Gesundkontrollen (s. Kapitel 3.4 - 3.5 und Tabelle 33).

Bei unseren JIA Patientinnen und Patienten findet sich mit steigendem Patientenalter eine Zunahme des Anteils der Natürlichen Killer T-Zellen an den Lymphozyten (s. Kapitel 3.5.5).

Der HCMV IgG Serostatus hat in unserer Studienkohorte weder eine Assoziation mit der Gesamtleukozyten- oder Lymphozytenanzahl, noch mit den Proportionen der B-Zellen, T-Zellen oder CD8 T-Zellen. Bei den Gesundkontrollen allerdings liegt der Anteil der CD4 T-Zellen an allen T-Zellen in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität signifikant tiefer (umgekehrte CD4/CD8-Ratio) (s. Kapitel 3.4 – 3.5 und Tabelle 33).

Sowohl bei den JIA Patientinnen und Patienten als auch bei den Gesundkontrollen ist ein positiver HCMV IgG Serostatus assoziiert mit einem niedrigeren Anteil der Naiven T-Zell Population und einem relativen höheren Anteil differenzierter T-Zellen (Effektor T-Zellen, Effektor Memory T-Zellen und TEMRA) (s. Kapitel 3.6 und Tabelle 33).

4.3 Zytokinproduktion

Innerhalb einzelner T-Zell Subpopulationen bestehen erhöhte IFN γ Konzentrationen bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten im Vergleich zu seronegativen (s. Kapitel 3.7.1 und Tabelle 33).

In Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität zeigt sich innerhalb der CD8 Lymphozyten insgesamt eine signifikant erhöhte TNF α Produktion (s. Tabelle 33). Innerhalb spezieller T-Zell Subpopulationen (CD4 Naive T-Zellen, CD4 Zentrale Memory T-Zellen, sowie innerhalb CD8 Effektor Memory T-Zellen) ist die Produktion des Zytokins TNF α in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität jeweils signifikant erniedrigt (s. Kapitel 3.7.2 und Tabelle 33).

4.4 Chemokinrezeptoren

In der Gruppe der JIA Patientinnen und Patienten ist bei den CD4 Zentralen Memory T-Zellen, den CD8 Effektor T-Zellen und den CD8 TEMRA die CXCR3 Expression in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität erniedrigt (s. Kapitel 3.8.1 und Tabelle 33). Bei den Gesundkontrollen besteht dieser Trend auch, jedoch ohne Signifikanz.

Innerhalb aller Lymphozyten ist die CCR5 Expression in dem Kollektiv der HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten höher als bei den seronegativen, nicht so bei den Kontrollprobandinnen und -probanden (s. Kapitel 3.8.2 und Tabelle 33).

In der Gruppe der JIA Patientinnen und Patienten mit einer OA und RF-PA zeigen sich insgesamt niedrigere CCR5 Expressionen im Vergleich zu den anderen Subgruppen. Eine HCMV IgG Seropositivität allerdings ist auch hier mit einer höheren CCR5 Expression korreliert (s. Kapitel 3.8.2 und Tabelle 33).

Tabelle 33: Zusammenfassung der Ergebnisse

Studienpopulation [Mittelwert] (Min-Max)	Ko		Signifikanz	JIA		Signifikanz
	HCMV -	HCMV +		HCMV -	HCMV +	
Patientenanzahl	50 (33,6%)			99 (66,4%)		
[n]	41 (82,0%)	9 (18,0%)		70 (70,7%)	29 (29,3%)	
Alter	10,9 (1,2-22,0)			12,4 (1,1-21,4)		n.s.
[Jahre]	9,4 (1,2-19,5)	12,4 (4,9-22,0)	n.s.	12,8 (2,2-20,2)	11,9 (1,1-21,4)	n.s.
Geschlecht	17/33			67/32		p<0,001
[weiblich/männlich]	13/28	4/5	n.s.	47/23	20/9	n.s.
Therapie [n]:						
NSAR	-			30/50 (60%)		
	-	-		18/28 (64%)	12/22 (54,5%)	n.s.
Corticosteroide	-			6/51 (11,8%)		
	-	-		4/28 (14,3%)	2/23 (8,7%)	n.s.
MTX	-			25/51 (49%)		
	-	-		19/28 (67,9%)	6/23 (26,0%)	p<0,003

Biologika	-			2/51 (3,9%)		
	-	-		7/35 (2,0%)	2/23 (8,7%)	n.s.
Krankheitsdauer [Jahre]	-			6,2 (0,25-15,7)		
	-	-		6,0 (0,4-15,7)	6,5 (0,3-14,3)	n.s.
Krankheitsdauer [Monate]	-			74,5 (3,0-188,0)		
	-	-		72,2 (5,0-188,0)	78,1 (3,0-171,0)	n.s.
Alter bei Diagnose [Jahre]	-			6,9 (0,6-15,8)		
	-	-		7,2 (1,3-15,78)	6,3 (0,6-13,7)	n.s.
Alter bei Diagnose [Monate]	-			82,5 (7,0-189,0)		
	-	-		86,8 (16,0-189,0)	76,0 (7,0-164,0)	n.s.
Krankheitsaktivität (aktiv/Remission (%))	-	-		9/11 (0,45/0,55)		n.s.
				4/7 (36,4/63,6)	5/4 (55,6/44,4)	
CrP>1,5 mg/dl [n]	-			2 (4,2%)		
	-	-		0 (0%)	2 (5,7%)	n.s.

BSG [mm/h]	-			9,4 (3,0-40,0)		
	-	-		9,1 (3,0-23,0)	9,6 (3,0-40,0)	n.s.
Leukozyten [*1000/ μ l]	5,9 (3,5-12,5)			7,3 (2,9-13,8)		p=0,028
	5,7 (3,5-10,6)	6,5 (4,3-12,5)	n.s.	7,5 (4,5-13,8)	7,0 (2,9-11,4)	n.s.
Lymphozyten [%]	38,1 (9,4-59,5)			34,5 (6,7-67,0)		n.s.
	39,7 (26,7-59,5)	34,2 (9,4-44,5)	n.s.	31,8 (6,7-67,0)	37,9 (18,0-61,0)	n.s.
Lymphozyten [n*1000/ μ l]	2,1 (1,2-4,8)			2,4 (0,7-7,6)		n.s.
	2,2 (1,3-4,8)	1,9 (1,2-2,3)	n.s.	2,3 (0,7-7,6)	2,6 (1,1-5,9)	n.s.
T-Zellen in Lymphozyten [%]	71,2 (50,5-84,6)			65,9 (31,6-88,0)		n.s.
	70,7 (50,5-83,2)	72,2 (58,4-84,6)	n.s.	67,0 (31,6-88,0)	64,5 (36,9-87,0)	n.s.
B-Zellen in Lymphozyten [%]	16,7 (9,1-30,7)			21,7 (3,7-51,8)		p=0,025
	16,2 (12,9-23,4)	17,7 (9,1-30,7)	n.s.	20,8 (3,7-51,8)	22,7 (7,0-40,6)	n.s.
CD4 T-Zellen in Lymphozyten [%]	53,7 (36,7-70,4)			59,9 (44,0-78,1)		p=0,008
	56,6 (49,5-70,4)	47,9 (36,7-55,8)	p=0,017	60,4 (44,4-78,1)	59,3 (44,0-74,1)	n.s.

CD8 T-Zellen in Lymphozyten [%]	36,3 (24,1-57,4)			31,4 (17,5-49,8)		p=0,018
	35,0 (24,1-44,5)	38,8 (25,3-57,4)	n.s.	30,7 (25,3-57,4)	32,3 (17,5-49,8)	n.s.
Naive T-Zellen in CD4 [%]	64,0 (40,4-81,3)	51,5 (31,9-61,1)	p=0,041	65,7 (40,6-87,7)	52,9 (13,3-73,6)	p=0,001
Zentrale Memory T-Zellen in CD4 [%]	17,7 (7,6-27,1)	16,1 (8,9-22,3)	n.s.	13,2 (0,4-34,8)	16,3 (6,1-36,4)	n.s.
Effektor Memory T-Zellen in CD4 [%]	11,4 (4,3-24,3)	18,2 (12,5-27,5)	p=0,036	8,0 (0,5-18,7)	13,7 (3,5-36,3)	p=0,004
Effektor T-Zellen in CD4 [%]	0,2 (0,0-0,7)	0,9 (0,4-2,0)	p=0,002	0,2 (0,0-1,4)	1,7 (0,0-5,2)	p<0,0001
TEMRA in CD4 [%]	0,3 (0,1-0,7)	1,3 (0,4-3,2)	p=0,002	0,5 (0,0-4,4)	1,3 (0,2-7,1)	p=0,0001
Naive T-Zellen in CD8 [%]	64,3 (37,4-81,0)	42,5 (43,4-89,3)	p=0,007	71,6 (43,4-89,3)	44,5 (5,1-67,4)	p<0,0001
Zentrale Memory T-Zellen in CD8 [%]	7,9 (4,5-11,2)	5,8 (3,0-9,1)	n.s.	6,1 (0,1-12,2)	10,9 (2,3-47,1)	n.s.
Effektor Memory T-Zellen in CD8 [%]	6,6 (3,3-10,1)	10,5 (3,4-19,1)	p=0,221	5,1 (0,1-19,2)	8,4 (1,5-25,6)	p=0,021
Effektor T-Zellen in CD8 [%]	6,0 (1,6-14,0)	16,4 (8,8-26,1)	p=0,0002	3,9 (0,0-11,6)	13,8 (4,6-28,2)	p<0,0001

TEMRA in CD8 [%]	7,3 (0,7-22,9)	13,7 (4,3-22,9)	p=0,086	4,0 (0,0-16,3)	8,4 (0,3-22,1)	p<0,0001
IFNγ in CD8 [%]	-	-		13,3 (3,3-31,7)	20,7 (9,5-40,8)	p=0,003
IFNγ in CD4 Effektor T-Zellen [%]	-	-		18,8 (0,0-50,0)	45,3 (0,0-100,0)	p=0,007
IFNγ in CD4 TEMRA [%]	-	-		6,0 (0,0-26,7)	12,7 (1,5-50,0)	p=0,037
TNFα in CD8 [%]	-	-		13,3 (0,2-28,7)	19,2 (1,6-46,8)	p=0,031
TNFα in CD4 Naiven T-Zellen [%]	-	-		30,0 (3,5-52,9)	21,0 (2,3-42,9)	p=0,029
TNFα in CD4 Zentralen Memory T-Zellen [%]	-	-		77,9 (32,9-94,1)	67,4 (25,9-90,6)	p=0,035
TNFα in CD8 Effektor Memory T-Zellen [%]	-	-		85,4 (25,0-100,0)	74,0 (22,2-93,0)	p=0,015
CXCR3 in CD4 Zentralen Memory T-Zellen [%]	24,9 (9,0-42,9)	23,0 (16,3-29,2)	n.s.	27,2 (2,1-47,8)	20,8 (55,6-97,5)	p=0,028

CXCR3 in CD8 Effektor T-Zellen [%]	80,5 (55,6-97,5)	69,5 (50,1-91,2)	n.s.	81,3 (35,2-98,7)	64,0 (36,3-99,3)	p=0,01
CXCR3 in CD8 TEMRA [%]	74,6 (37,4-97,0)	63,7 (40,6-92,7)	n.s.	76,9 (33,8-100,0)	59,5 (32,9-98,3)	p=0,017
CCR5 in CD4 [%]	3,9 (0,8-8,1)			3,3 (0,4-11,2)		n.s.
	4,1 (0,8-8,1)	3,6 (1,5-5,1)	n.s.	2,5 (0,6-7,5)	4,4 (0,4-11,2)	p=0,017
CCR5 in CD8 [%]	11,0 (3,1-22,5)			8,1 (0,8-25,9)		p=0,034
	10,5 (3,1-22,5)	12,1 (5,0-19,9)	n.s.	6,0 (1,7-22,2)	10,7 (0,8-25,9)	p=0,002
CCR5 in CD4 Lymphozyten bei OA und RF-PA [%]	-	-		2,0 (0,6-6,3)	4,7 (0,4-11,2)	p=0,032
CCR5 in CD8 Lymphozyten bei OA und RF-PA [%]	-	-		4,8 (1,7-18,5)	10,0 (0,8-24,9)	p=0,014

Studienpopulation [Mittelwert] (Min-Max)	Übrige JIA	OA o. RF-PA	Signifikanz
CCR5 in CD8 [%]	8,7 (3,1-21,9)	6,8 (0,8-24,9)	p=0,035
CCR5 in CD4 [%]	4,0 (1,8-10,3)	3,0 (0,4-11,2)	p=0,029
	EAA	OA o. RF-PA	Signifikanz
CCR 5 in CD8 [%]	14,3 (6,0-25,9)	6,8 (0,8-24,9)	p=0,005
CCR5 in CD4 [%]	3,9 (1,3-7,5)	3,0 (0,4-11,2)	n.s.
Therapie	Mit MTX	Ohne MTX	Signifikanz
HCMV- [n]	19 (67,9%)	9 (32,1%)	Pearson Chi- Quadrat: p<0,003
HCMV+ [n]	6 (26,1%)	17 (73,9%)	

Die Tabelle fasst alle bisher genannten Ergebnisse zusammen. Signifikante Ergebnisse sind fett gedruckt. Dargestellt werden die Vergleiche zwischen Gesundkontrollen und JIA Patientinnen und Patienten insgesamt, sowie jeweils die Aufschlüsselung anhand des HCMV IgG Serostatus. Außerdem sind Vergleiche der CCR5 Expression innerhalb der JIA Subentitäten und die MTX Therapie in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus dargestellt. Übrige JIA beinhaltet hier andere Arthritis, RF+PA und PsA. Remission definiert nach den Kriterien von Wallace [108]: keine aktive Arthritis, kein Fieber, kein Exanthem, keine Serositis, keine Splenomegalie, keine Lymphknotenschwellung infolge JIA, keine aktive Uveitis, normale BSG/ normales CrP, bestmögliche Globalbewertung, Morgensteifigkeit \leq 15 Minuten. Aktive Erkrankung definiert als mindestens 30% Verschlechterung in 3 der 6 folgenden Parameter [109]: Globalbewertung durch den Arzt, Globalbewertung durch den Patienten, Zahl der Gelenke mit Arthritis, Zahl der Gelenke mit Bewegungseinschränkung, Funktionsfähigkeit im Alltag, Akut-Phaseparameter (BSG oder CrP). Therapie: NSAR: Naproxen 10-15mg/kg KG/d in 2 Einzeldosen per os, Ibuprofen 20-40mg/kg KG/d in 3-4

Einzel Dosen per os; Corticosteroide: Prednison/-olon, Methylprednisolon 0,1-0,2mg/kg KG/d (max 5mg/d) per os; MTX: 10-15mg/m² Körperoberfläche/Woche subcutan/ per os/ intravenös; Biologica: Etanercept 0,8mg/kg KG/ Woche in 1-2 Einzeldosen subcutan, Adalimumab <30kg KG 20mg alle 2 Wochen, ≥30kg KG 40mg alle 2 Wochen subcutan [109]. BSG= Blutsenkungsgeschwindigkeit, CCR5= CC-Motiv-Chemokinrezeptor 5, CrP= C-reaktives Protein, CXCR3= CX-Motiv-Chemokinrezeptor 3, EAA= Enthesitis-assoziierte Arthritis, HCMV= Humanes Zytomegalievirus, HCMV-= HCMV IgG seronegativ, HCMV+= HCMV IgG seropositiv, IFN γ = Interferon gamma, JIA= Juvenile Idiopathische Arthritis, Ko= Gesundkontrollen, Max= Maximum, Min= Minimum, MTX= Methotrexat, n.s. = nicht signifikant, NSAR= Nichtsteroidale Antirheumatika, OA= Oligoarthritis, PsA= Psoriasisarthritis, RF-PA= Seronegative Polyarthritis, RF+PA= Seropositive Polyarthritis, TEMRA= Effektor Memory RA T-Zellen, TNF α = Tumornekrosefaktor alpha.

5. Diskussion

5.1 Grundlagen

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der phänotypischen Beschreibung peripher zirkulierender Lymphozyten von JIA Patientinnen und Patienten sowie Gesundheitskontrollen im Rahmen einer Querschnittsanalyse einer prospektiven kontrollierten Kohortenstudie. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei auf der Eingruppierung der Messdaten anhand des HCMV IgG Serostatus; denn wir nehmen an, dass HCMV zu einer verstärkten Seneszenz - des bei JIA ohnehin vorzeitig gealterten Immunsystems [80] - führt.

Da der sJIA vermutlich eine andere Pathogenese zugrunde liegt, haben wir uns auf die Betrachtung der übrigen artikulär betonten JIA Entitäten beschränkt. Bei der sJIA handelt es sich um eine Erkrankung aus dem autoinflammatorischen Formenkreis, wobei den anderen Subgruppen eher ein autoimmunologisches Geschehen mit einer Betonung der T-Zell-medierten Immunantwort zu Grunde liegt [8].

5.2 Epidemiologie

Wie aus früheren Beschreibungen bekannt, sind auch in unserer Kohorte 2/3 der JIA Patientinnen und Patienten weiblichen Geschlechts und 41,4% der Erkrankungen entfallen auf die Subgruppe der OA [8]. In unserer Kohorte weisen insgesamt 25,5% der Kinder und Jugendlichen einen HCMV IgG seropositiven Status auf. Dieser Prozentsatz fügt sich gut ein in andere Untersuchungen welche von 40-60% latenter HCMV Infektionen bei Erwachsenen in Mitteleuropa sprechen [36, 37]. Global gesehen handelt es sich um einen vergleichsweise geringen Anteil, wird doch aktuell in der östlichen Mittelmeerregion beispielsweise eine Durchseuchung von 90% bei Erwachsenen angenommen [110].

5.3 Leukozyten bei JIA und Gesundheitskontrollen

Wie in der Literatur vor allem für die sJIA beschrieben [8], zeigt sich in unserer Studienpopulation über alle Subentitäten hinweg eine signifikante Leukozytenerhöhung gegenüber den Gesundheitskontrollen. Bei den JIA Patientinnen und Patienten liegt der Anteil der T-Zellen an allen Lymphozyten niedriger als bei den Gesundheitskontrollen, mit dem prozentualen Anteil der B-Zellen verhält es sich dementsprechend umgekehrt. CD4 Lymphozyten sind bei den JIA Patientinnen und Patienten erhöht, CD8 erniedrigt (s. Kapitel 3.5). All diese beobachteten Effekte sind vermutlich auf die immunmodulierende Therapie, die die JIA Patientinnen und Patienten erhalten, zurückzuführen. Beispielsweise führt eine MTX Therapie bei in vivo Modellen nachweislich zu einer Reduktion der Gesamtleukozytenzahl [111]. Zwar beobachten wir hier insgesamt eine Erhöhung der Gesamtleukozytenzahlen, aber mit Sicherheit ist unsere Kohorte zu klein, um aussagekräftige Unterschiede in Abhängigkeit von der Therapie herauszuarbeiten. Die entscheidende Schlussfolgerung wird sein, dass verschiedene Kombinationen aus verschiedenen immunmodulatorischen Therapieformen auch verschiedene Kombinationen an Effekten auf die unterschiedlichen Zellpopulationen haben. Teils sind dies sicher auch die gewünschten Effekte, die zu einer klinischen und laborchemischen Besserung der krankheitsspezifischen Probleme führen.

Ziel künftiger Medikamentenstudien muss sein, die wirklichen pathophysiologischen Prozesse autoimmunologischer Erkrankungen noch besser zu verstehen, um Therapieformen noch gezielter entwickeln zu können, generalistische unkontrollierte Immunsuppression noch geringer halten zu können. Beispielsweise werden in einzelnen Studien bei der sJIA initial immunmodulatorische Therapien wie IL-1 Blocker eingesetzt. In der genannten Studie lag dadurch der Einsatz von Glukokortikoiden in der Initialphase der sJIA nur bei 33% der Patientinnen und Patienten im Gegensatz zu 80-90% bei anderen Kohorten [112]. Ebenso wird eine Rolle von konkomitant systemisch eingesetzter Glukokortikoide diskutiert, die zu einer verstärkten peripheren Mobilisation von Leukozyten führt [113, 114]. Diese wurden allerdings nur bei 11,8% der Patienten unserer Kohorte eingesetzt.

5.4 Leukozyten und HCMV

Der HCMV IgG Serostatus hat in unserer Studienkohorte weder einen Einfluss auf die Gesamtleukozyten- oder Lymphozytenanzahl, noch auf die Proportionen der B-Zellen, T-Zellen oder CD8 T-Zellen. Bei den Gesundkontrollen allerdings ist der Anteil der CD4 T-Zellen an allen T-Zellen in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität signifikant erniedrigt. Dies stimmt mit den Angaben der Literatur überein, die eine umgekehrte CD4/CD8-Ratio bei HCMV Infektion beschreibt [67, 69]. Die Bestimmung dieses Quotienten ergab bei uns - vermutlich wegen der geringen Fallzahl - keinen Unterschied. Bei den JIA Patientinnen und Patienten jedoch bleibt der Anteil der CD4 T-Zellen in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus im Unterschied zu Gesunden unbeeinflusst. Wie oben beschrieben, liegt der Anteil der CD4 T-Zellen bei den JIA Patienten ohnehin auf einem höheren Niveau. Ist das proinflammatorische Milieu der JIA, das die Ausbildung der CD4 Lymphozyten möglicherweise vorantreibt, zu stark? Überwiegt dieser Reiz dem Reiz der latenten HCMV Infektion, vermehrt zytotoxische CD8 Lymphozyten zu bilden? Ist damit die Immunantwort bei JIA Patientinnen und Patienten auf eine HCMV Infektion sogar eingeschränkt? Könnte dies an der Erkrankung selbst liegen oder auch an der immunmodulatorischen Therapie? Bislang sind keine Studien bekannt, die ein vermehrtes Auftreten von Infektionserkrankungen bei JIA Patientinnen und Patienten beweisen, auch nicht unter immunmodulatorischer Therapie [26, 27, 115]. Fatale HCMV Infektionen sind Einzelfallberichte [116], jedoch ist die Studienlage unzureichend und Verbindungen diesbezüglich sind in alle Richtungen denkbar.

5.5 Natürliche Killer T-Zellen

Die Rolle Natürlicher Killer T-Zellen ist bislang nicht vollständig verstanden [55], bilden sie doch sowohl pro- als auch antiinflammatorische Zytokine [55]. Bei unseren JIA Patientinnen und Patienten findet sich mit höherem Patientenalter ein höherer Anteil der Natürlichen Killer T-Zellen an den Lymphozyten (s. Kapitel 3.5.5). Können auch sie Trigger sein, längerfristig ein erhöhtes proinflammatorisches Milieu aufrechtzuerhalten? Oder sind sie Folge dieses erhöhten proinflammatorischen Milieus bei einer chronischen autoimmunologischen Erkrankung? Übernehmen sie mit

steigendem Patientenalter sogar durch ihre Fähigkeit zur Bildung pro- und antiinflammatorischer Zytokine mehr und mehr die Funktion, für eine gesunde Balance zwischen Inflammation und Immunsuppression zu sorgen? Nicht selten spielt eine in der frühen Kindheit vorliegende JIA im Erwachsenenalter klinisch keine Rolle mehr. Ist die Zunahme der Natürlichen Killer T-Zellen mit steigendem Alter daran beteiligt? Bei unseren Kontrollprobandinnen und -probanden ist dieses Phänomen des höheren Anteils der Natürlichen Killer T-Zellen mit höherem Alter nämlich nicht nachweisbar, auch scheint keine Assoziation zum HCMV IgG Serostatus zu bestehen. Zwar beschreiben wir hier lediglich den Anteil der Natürlichen Killer T-Zellen an den Lymphozyten - genauere Untersuchungen bezüglich ihrer Aufgaben im Gefüge der sonstigen Immunzellen sind wünschenswert - aber dennoch zeigen wir hier diesbezüglich einen signifikanten Unterschied zwischen JIA Patientinnen und Patienten und Gesundkontrollen (s. Kapitel 3.5.5).

5.6 JIA und Chemokinrezeptoren

Insgesamt, unabhängig vom HCMV Serostatus, zeigt sich bei den JIA Patientinnen und Patienten eine signifikant niedrigere CCR5 Expression als bei Gesundkontrollen. Dies könnte für ein verstärkte Migration CCR5 positiver T-Zellen in Entzündungsloki sprechen. Denn daran ist CCR5 nachweislich beteiligt [89].

In der Gruppe der JIA Patientinnen und Patienten mit einer OA und RF-PA zeigen sich insgesamt erniedrigte CCR5 Expressionen im Vergleich zu den anderen Subgruppen. Haben die Lymphozyten dieser Patienten eine geringere Potenz zur Migration? Auf jeden Fall spricht auch diese Beobachtung dafür, dass der Gruppe der OA und der RF-PA eine andere Pathophysiologie zu Grunde liegt als beispielsweise der RF+PA [11,12].

Für den Chemokinrezeptor CXCR3 werden ebenso wie für CCR5 Schlüsselrollen bei der Migration von Entzündungszellen angenommen [87]. Wir können hier in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität eine Herabregulation von CXCR3 innerhalb einiger Lymphozytensubpopulationen zeigen (CD4 Zentrale Memory T-Zellen, CD8 Effektor T-Zellen und CD8 Effektor Memory T-Zellen). Eine latente HCMV Infektion könnte also

durch niedrigere CXCR3 Expression eine Lymphozytenmigration in Entzündungsgebiete vermindern. CXCR3 positive Effektor T-Zellen könnten aber auch bereits in Entzündungsregionen migriert sein, und somit im peripher zirkulierenden Blut nicht mehr nachweisbar sein.

Mit Sicherheit wäre es von großem Interesse, die Abhängigkeit der Expression von CCR5 und CXCR3 auf den verschiedenen T-Zell Subgruppen noch näher zu untersuchen; auch in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus. Beispielsweise könnten T-Zellen von HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten und Gesundkontrollen, ähnlich zu Studien aus der Erwachsenenrheumatologie [117] in vitro mit HCMV-spezifischen Antigenen über verschiedene Zeiten kultiviert, und der Einfluss auf die CCR5 und CXCR3 Expression quantifiziert werden.

5.7 Immunoseneszenz und HCMV

Für gesunde ältere Personen, die an einer latenten HCMV Infektion leiden, wurde eine akzelerierte Immunoseneszenz beschrieben [67]. Ebenso wurde für JIA Patientinnen und Patienten unabhängig vom HCMV Serostatus eine vorzeitige Immunoseneszenz beschrieben, welche mit einem relativen Verlust der Naiven zu Gunsten der Memory T-Zellen einhergeht [79]. Wir konnten die Assoziation zum HCMV Serostatus nun sowohl für unsere gesunden Kontrollprobandinnen und -probanden als auch für die JIA Patientinnen und Patienten im gleichen Maße nachweisen: In beiden Gruppen ist ein positiver HCMV IgG Serostatus mit einem niedrigeren Anteil der Naiven T-Zell Population und einem relativen höheren Anteil differenzierter T-Zellen (Effektor T-Zellen, Effektor Memory T-Zellen und TEMRA) assoziiert. Unsere Beobachtung geht in Einklang mit Daten aus der Erwachsenenmedizin: HCMV ist das einzig nachgewiesene Antigen, das die Entstehung der seneszenten CD28 negativen CD4 T-Zellen fördert [42]. Diese Zellen produzieren eine große Menge proinflammatorischer Zytokine wie IFN γ und TNF α [42, 118]. Der Effekt der HCMV-assoziierten Immunoseneszenz ist bei uns sowohl bei Gesundkontrollen als auch bei JIA Patientinnen und Patienten nachzuweisen. Diesbezüglich sehen wir also bei den JIA Patientinnen und Patienten, die ohnehin schon

eine Akzeleration der Immunoseneszenz zeigen [79], keine Defizienz in der grundlegenden immunologischen Reaktion beziehungsweise der peripheren T-Zell Homöostase. Wir haben uns zur Phänotypisierung hier auf die Bestimmung der Oberflächenmoleküle CD4, CD8, CD45RA/RO, CD28 und CCR7 beschränkt. Mit Sicherheit werden in künftigen Untersuchungen zur Beschreibung der T-Zell Homöostase bei JIA Patientinnen und Patienten weitere Oberflächenmoleküle, Indikatorzytokine und weitere Messmethoden nötig sein, um die Spezifität der Messmethoden zu erhöhen.

5.8 JIA und HCMV

Welchen Einfluss hat nun die stattgehabte HCMV Infektion auf die JIA? Hat die latente Infektion für klinische Überlegungen bezüglich der JIA überhaupt eine Relevanz?

In Studien der Erwachsenenrheumatologie mehren sich die Hinweise, dass HCMV bei der Entstehung der RA an sich zwar höchstens eine untergeordnete Rolle spielt [119], aber durchaus sowohl positive [45] als auch negative [120] Effekte auf den Krankheitsprozess haben kann. Es wäre wünschenswert, auch in der pädiatrischen Rheumatologie intensiver die klinischen Zusammenhänge zwischen HCMV und Autoimmunität zu untersuchen.

In unserer Studienkohorte zeigen sich Hinweise dafür, dass eine latente HCMV Infektion bei JIA Patientinnen und Patienten mit einer verstärkten proinflammatorischen Antwort assoziiert ist. So zeigen sich bei uns innerhalb einzelner T-Zell Subpopulationen erhöhte IFN γ Konzentrationen (s. Kapitel 3.7.1) bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten im Vergleich zu seronegativen, also ein stärkeres TH1 Signal. Darüberhinausgehend ist in dem Kollektiv der HCMV seropositiven JIA Patientinnen und Patienten die CCR5 Expression innerhalb der Lymphozyten höher als bei den seronegativen. Eine Gruppe um L. Johnson konnte die CCR5 Expression auf einigen Zellpopulationen (z. B. Zentralen Memory T-Zellen) durch Konfrontation mit HCMV *in vitro* erhöhen [99]. CCR5 ist nachweislich als Migrationsfaktor [89] für Lymphozyten in entzündete Gelenke, als auch als Teil der TH1 Antwort bedeutend [49]. Interessanterweise zeigt sich dieser Effekt der höheren CCR5 Expression bei HCMV

seropositiven Probandinnen und Probanden innerhalb unserer Gesundheitskontrollen nicht. Dies ist ein Hinweis auf eine alterierte T-Zell Homöostase bei JIA Patientinnen und Patienten in Form einer möglicherweise überschießenden Abwehrreaktion auf HCMV. Unsere Ergebnisse sprechen also dafür, dass eine latente HCMV Infektion bei JIA Patientinnen und Patienten möglicherweise mit einer stärkeren inflammatorischen TH1 Antwort einhergeht als es bei Gesundheitskontrollen der Fall ist. Unterstützt wird diese Beobachtung von einer Untersuchung bezüglich der RA des Erwachsenen: unter anderem wurden CD4CD8 doppelpositive T-Zellen von Gesundheitskontrollen und RA Patienten mit latenter HCMV Infektion HCMV-spezifisch stimuliert. In dieser Studie lag die IFN γ Produktion bei den RA Patienten signifikant höher als bei den Gesundheitskontrollen [117].

Unsere HCMV IgG seropositiven Patientinnen und Patienten erhalten seltener eine systemische MTX Therapie als die seronegativen. Auch dies könnte dazu führen, dass die CCR5 Expression in dieser Gruppe also weniger stark unterdrückt wird. Wir finden zwar Daten dazu, dass eine MTX Therapie den Anteil der seneszenten CD28 negativen CD4 T-Zellen reduziert [42, 121], aber finden in der Literatur keine Daten zu einer Beeinflussung der CCR5 Expression durch eine MTX Therapie.

Innerhalb unserer Zellpopulationen zeigt sich eine niedrigere Produktion des Zytokins TNF α in Assoziation zu einer HCMV IgG Seropositivität. In der bekannten Literatur finden sich hierzu aktuell keine kongruenten Hinweise, spielt doch die Reduktion der TNF α Level aktuell eine große Rolle in der Therapie [2, 109], ein Aufflammen der RA bei Unterbrechung der anti-TNF Therapie wurde beschrieben [42].

Zum geplanten direkten Vergleich der Zytokinproduktion (IFN γ und TNF α) zwischen Gesundheitskontrollen und JIA Patientinnen und Patienten gelang es leider im Rahmen dieser Arbeit nicht, genug Probenmaterial für die Messung der Zytokine innerhalb HCMV IgG seropositiver Gesundheitskontrollen zu gewinnen. Um statistisch signifikante Unterschiede bei den von uns durchgeführten Zytokinmessungen zu erreichen, wird eine höhere Zellzahl benötigt.

5.9 Ausblick

Wir nehmen an, dass eine latente HCMV Infektion Auswirkungen auf das schon seneszenzente Immunsystem der JIA Patientinnen und Patienten hat. Insbesondere bezüglich der TH1 Immunantwort sehen wir hier HCMV assoziierte Unterschiede zwischen JIA Patientinnen und Patienten und Gesundkontrollen. Es wäre von großem Interesse auch in der Kinderrheumatologie analog zur Erwachsenenrheumatologie Studien durchzuführen, die im Detail den Einfluss der HCMV Infektion auf Autoimmunerkrankungen untersuchen: einerseits sollte in vitro der Einfluss von HCMV auf bestimmte Zellpopulationen und deren Merkmale wie Chemokinrezeptoren und Zytokinproduktion bestimmt und andererseits der Einfluss von HCMV auf klinische Merkmale wie beispielsweise Gelenkdestruktion und das Auftreten von Krankheitsschüben untersucht werden.

6. Limitationen der Arbeit

Die Seltenheit der Krankheit hat auch dazu beigetragen, dass die hier untersuchte Zahl der JIA Patientinnen und Patienten gering ist (s. Kapitel 1.1.1). Gerade bei Kindern und Jugendlichen sind Blutentnahmen bei gesunden Personen selten, was auch für diese Arbeit die Möglichkeit der Rekrutierung der Probandinnen und Probanden begrenzt.

Alle unsere Messungen wurden bei jeder Probandin und jedem Probanden nur einmalig durchgeführt und zeigen somit eine Momentaufnahme im Rahmen einer Querschnittsanalyse. Für detailliertere Beobachtung wären z. B. Längsschnittstudien notwendig.

Die JIA an sich ist eine Krankheit, die sich durch eine große Heterogenität auszeichnet (s. Kapitel 1). Dazu kommen eine unterschiedliche Ausprägung der Krankheitsaktivität zum Zeitpunkt der Probenentnahme. Weiterhin war unsere Studienpopulation zu gering, um die Gruppen sinnvoll weiter zu unterteilen, wie z.B. nach aktueller Therapie, Krankheitsdauer oder Alter bei Beginn der Erkrankung.

Kinder und Jugendliche, die eine HCMV IgM Seropositivität aufwiesen, wurden ausgeschlossen. Somit lag in der hier beschriebenen Studienpopulation keine Primärinfektion oder manifeste Reaktivierung vor. Dennoch war durch die Messungen nicht feststellbar, wann es zur Primärinfektion gekommen war, wie lange also das Immunsystem schon der latenten HCMV Infektion ausgesetzt gewesen war. Auch die Bindungsstärke der vorliegenden anti-HCMV IgG als Zeichen der etablierten Gedächtnisfunktion der B-Zellen und damit eine ausreichende Latenz der HCMV Infektion wurde hier nicht überprüft.

Selbstverständlich können wir hier immer nur eine Assoziation zwischen HCMV Serostatus und Phänotyp beziehungsweise Interleukinproduktion der Immunzellen beschreiben. Für einen Kausalitätsbeweis bedürfte es anderer Studiendesigns.

7. Konklusion

Die grundlegende Phänotypisierung der T-Zellen zeigt über alle Subpopulationen hinweg eine deutliche Immunoseneszenz in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität, d.h. einen geringeren Anteil der Naiven T-Zellen zugunsten differenzierter T-Zellen wie Effektor T-Zellen, Effektor Memory T-Zellen und TEMRA). Dieses Phänomen liegt bei JIA Patientinnen und Patienten und Kontrollprobandinnen und -probanden in gleichem Maße vor.

Insgesamt zeigt sich bei HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten eine deutliche Verschiebung zu einer stärkeren TH1 Immunantwort als bei den seronegativen JIA Patienten. Dies ist zu erkennen an der höheren Produktion des inflammatorischen Zytokins $INF\gamma$ und der höheren CCR5 Expression. Diese unterschiedliche CCR5 Expression in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus ist bei den Gesundkontrollen nicht nachweisbar, was für eine alterierte T-Zell Homöostase bei den JIA Patientinnen und Patienten spricht und möglicherweise für eine verstärkte inflammatorische Antwort, die durch eine latente HCMV Infektion mit getriggert werden könnte.

8. Zusammenfassung

Die JIA ist eine seltene Erkrankung des Kindes- und Jugendalters, für die eine alterierte T-Zell Homöostase in der Literatur vorbeschrieben ist [1, 3, 79, 80]. Unser Ziel war es zu untersuchen, welchen Einfluss eine latente HCMV Infektion, die auch für sich allein mit einer vorzeitigen Immunoseneszenz bei gesunden Menschen assoziiert ist [67], zusätzlich auf das Immunsystem der JIA Patientinnen und Patienten hat (s. Kapitel 1).

Trotz der Limitationen durch das Studiendesign einer Querschnittsanalyse und durch die Schwierigkeiten bei der Rekrutierung der Probandinnen und Probanden sowie der Gewinnung ausreichender Mengen des Probenmaterials, konnten wir beim phänotypischen Vergleich zwischen Patientinnen und Patienten und Gesundkontrollen in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus signifikante Ergebnisse darstellen (s. Kapitel 3 und 6). Die phänotypischen Merkmale der Zellen bestimmten wir mittels Durchflusszytometrie (FACS), den HCMV Serostatus mittels ELISA (s. Kapitel 2).

Die prägnantesten Ergebnisse erbrachte die Betrachtung der phänotypischen Seneszenzmerkmale. So zeigte sich bei den JIA Patientinnen und Patienten und Gesundkontrollen gleichermaßen, in Assoziation zu HCMV IgG Seropositivität, eine vorzeitige Immunoseneszenz. Bei HCMV IgG Seropositivität war der Anteil der Naiven T-Zellen signifikant niedriger als bei HCMV IgG seronegativen Probandinnen und Probanden. Gleichzeitig war der Anteil differenzierter T-Zellen (Effektor T-Zellen, Effektor Memory T-Zellen und TEMRA) signifikant größer (s. Kapitel 3).

Ein deutlicher Unterschied zwischen den JIA Patientinnen und Patienten und den Gesundkontrollen bestand hingegen im Sinne von Hinweisen auf eine TH1 Prädominanz bei den Erstgenannten:

Der Chemokinrezeptor CCR5 gilt als wichtiger Rezeptor der TH1-Zellen [50] (s. Kapitel 1), wobei seine Expression durch eine HCMV-spezifische Stimulation getriggert werden kann [99]. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass bei den JIA Patientinnen und Patienten die CCR5 Expression in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität signifikant höher war, bei den Gesundkontrollen jedoch nicht. Damit fanden wir einen weiteren

Hinweis für die in der Literatur vorbeschriebene veränderte T-Zell Homöostase bei JIA Patientinnen und Patienten [70] (s. Kapitel 3).

Zusätzlich lag bei den HCMV IgG seropositiven JIA Patientinnen und Patienten die IFN γ Produktion signifikant höher als bei den seronegativen. Zur Zytokinmessung bei den Gesundkontrollen konnten leider nicht ausreichend HCMV IgG seropositive Probandinnen und Probanden rekrutiert werden.

Außerdem zeigen unsere Untersuchungen, dass für ein besseres Verständnis der Pathophysiologie der Erkrankung genau bedacht werden muss, um welche Subgruppen der Erkrankung es sich handelt. Denn betrachten wir die Gruppe der OA und RF-PA einzeln - in der neueren Literatur wird beispielsweise gelegentlich die RF+PA ätiopathogenetisch gesondert betrachtet [11] (s. Kapitel 1) - zeigt sich bei erstgenannten in unseren Untersuchungen eine signifikant niedrigere CCR5 Expression als bei den restlichen JIA Subgruppen. Diese Beobachtung ist bei uns unabhängig vom HCMV IgG Serostatus (s. Kapitel 3).

Da bereits auf der Ebene der T-Zellen und B-Zellen die Beeinflussungen durch die Medikation bekannt ist [111] (s. Kapitel 5) sollte diese Einflüsse auch auf Ebene der T-Zell Subpopulationen in zukünftigen Studien genauer untersucht werden.

Als wichtigste Erkenntnisse bleiben in Assoziation zur HCMV IgG Seropositivität zusammenfassend zwei Ergebnisse zu nennen. Die Beobachtungen bezüglich der Immunoseneszenz bei Patientinnen und Patienten gegenüber Gesundkontrollen sind, ohne signifikante Unterschiede, vergleichbar. Die stärkere Prädominanz der TH1 Immunantwort sehen wir hingegen nur bei JIA Patientinnen und Patienten.

9. Abstract

Background: Juvenile Idiopathic Arthritis (JIA) is a heterogeneous disease with unknown etiology of arthritis for more than six weeks in patients aged under 16 years. Human Cytomegalovirus (HCMV) is a lymphotropic betaherpesvirus that persists in the human body and causes ongoing stimulation of the effector T-cell system. For both, JIA and HCMV, a premature immunosenescence is shown.

Aim: To investigate the potential influence of HCMV on the prematurely altered immune system of JIA patients.

Methods: T-cell phenotype, intracellular cytokine production and the expression of chemokine receptors were measured by flow cytometry (FACS). HCMV serostatus was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Phenotype and cytokine production of lymphocytes derived from JIA patients and healthy donors were compared regarding their HCMV serostatus.

Results: Both JIA patients and healthy donors showed an association between HCMV seropositivity and immunosenescence resulting in low proportions of naive T-cells and relatively higher proportions of differentiated T-cells. Within the JIA patients HCMV seropositivity was associated with higher intracellular IFN γ production. T-cells in JIA patients showed a higher CCR5 expression in association with HCMV seropositivity. This association was not seen in healthy donors.

Conclusion: The T-cell phenotype was similarly associated with HCMV in JIA patients and healthy donors. In contrast, JIA patients showed evidence of TH1 predominance in association with HCMV seropositivity. Regarding CCR5 this effect is significantly stronger in JIA patients than in healthy donors. The present study suggests that HCMV associated changes of the T-cell differentiation may be corroborated in JIA patients.

10. Referenzen

1. Prakken, B., S. Albani, and A. Martini, *Juvenile idiopathic arthritis*. Lancet, 2011. **377**(9783): p. 2138-49.
2. Ravelli, A. and A. Martini, *Juvenile idiopathic arthritis*. Lancet, 2007. **369**(9563): p. 767-78.
3. Manners, P.J. and C. Bower, *Worldwide prevalence of juvenile arthritis why does it vary so much?* J Rheumatol, 2002. **29**(7): p. 1520-30.
4. Krause, M.L., et al., *Juvenile Idiopathic Arthritis in Olmsted County 1960-2013*. Arthritis Rheumatol, 2015.
5. Colebatch-Bourn, A.N., et al., *EULAR-PreS points to consider for the use of imaging in the diagnosis and management of juvenile idiopathic arthritis in clinical practice*. Ann Rheum Dis, 2015.
6. Tsai, H.Y., et al., *Initial manifestations and clinical course of systemic onset juvenile idiopathic arthritis: a ten-year retrospective study*. J Formos Med Assoc, 2012. **111**(10): p. 542-9.
7. 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.
8. Minden, K. and M. Niewerth, *[Juvenile idiopathic arthritis--clinical subgroups and classification]*. Z Rheumatol, 2008. **67**(2): p. 100, 102-6, 108-10.
9. McGhee, J.L., L.M. Kickingbird, and J.N. Jarvis, *Clinical utility of antinuclear antibody tests in children*. BMC Pediatr, 2004. **4**: p. 13.
10. Oen, K., et al., *Radiologic outcome and its relationship to functional disability in juvenile rheumatoid arthritis*. J Rheumatol, 2003. **30**(4): p. 832-40.
11. Martini, A., et al., *Toward New Classification Criteria for Juvenile Idiopathic Arthritis: First Steps, Pediatric Rheumatology International Trials Organization International Consensus*. J Rheumatol, 2019. **46**(2): p. 190-197.
12. Hinks, A., et al., *Brief Report: The Genetic Profile of Rheumatoid Factor-Positive Polyarticular Juvenile Idiopathic Arthritis Resembles That of Adult Rheumatoid Arthritis*. Arthritis Rheumatol, 2018. **70**(6): p. 957-962.
13. GKJR, *Definition und Merkmale der einzelnen JIA-Subgruppen*. 2016.
14. Saurenmann, R.K., et al., *Prevalence, risk factors, and outcome of uveitis in juvenile idiopathic arthritis: a long-term followup study*. Arthritis Rheum, 2007. **56**(2): p. 647-57.
15. Saurenmann, R.K., et al., *Risk factors for development of uveitis differ between girls and boys with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(6): p. 1824-8.
16. Prahalad, S., et al., *Twins concordant for juvenile rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2000. **43**(11): p. 2611-2.
17. Hersh, A.O. and S. Prahalad, *Immunogenetics of juvenile idiopathic arthritis: A comprehensive review*. J Autoimmun, 2015.
18. Prahalad, S. and D.N. Glass, *A comprehensive review of the genetics of juvenile idiopathic arthritis*. Pediatr Rheumatol Online J, 2008. **6**: p. 11.
19. Prahalad, S., *Genetics of juvenile idiopathic arthritis: an update*. Curr Opin Rheumatol, 2004. **16**(5): p. 588-94.
20. Zonneveld-Huijssoon, E., et al., *Safety and efficacy of meningococcal c vaccination in juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2007. **56**(2): p. 639-46.

21. Ronaghy, A., et al., *Vaccination leads to an aberrant FOXP3 T-cell response in non-remitting juvenile idiopathic arthritis*. *Ann Rheum Dis*, 2011. **70**(11): p. 2037-43.
22. 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.
23. Papadopoulou, C., et al., *Methotrexate therapy may prevent the onset of uveitis in juvenile idiopathic arthritis*. *J Pediatr*, 2013. **163**(3): p. 879-84.
24. Lovell, D.J., et al., *Safety and efficacy of up to eight years of continuous etanercept therapy in patients with juvenile rheumatoid arthritis*. *Arthritis Rheum*, 2008. **58**(5): p. 1496-504.
25. McCroskery, P., et al., *Summary of worldwide pediatric malignancies reported after exposure to etanercept*. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2010. **8**: p. 18.
26. Nagy, A., et al., *The effects of TNF-alpha inhibitor therapy on the incidence of infection in JIA children: a meta-analysis*. *Pediatr Rheumatol Online J*, 2019. **17**(1): p. 4.
27. Walters, H.M., et al., *A prospective study comparing infection risk and disease activity in children with juvenile idiopathic arthritis treated with and without tumor necrosis factor-alpha inhibitors*. *Clin Rheumatol*, 2015. **34**(3): p. 457-64.
28. Lovell, D.J., et al., *Etanercept in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis*. *Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group*. *N Engl J Med*, 2000. **342**(11): p. 763-9.
29. Webb, K. and L.R. Wedderburn, *Advances in the treatment of polyarticular juvenile idiopathic arthritis*. *Curr Opin Rheumatol*, 2015. **27**(5): p. 505-10.
30. Groß, U., *Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektionslogie*. 2009. **2**: p. 125.
31. Naithani, R. and B. Tarai, *Cytomegalovirus reactivation after autologous stem cell transplantation in multiple myeloma patients treated with novel agents*. *Transpl Infect Dis*, 2015.
32. Shaban, E., R. Gohh, and B.M. Knoll, *Late-onset cytomegalovirus infection complicated by Guillain-Barre syndrome in a kidney transplant recipient: case report and review of the literature*. *Infection*, 2015.
33. Schleiss, M.R., *Congenital cytomegalovirus infection: molecular mechanisms mediating viral pathogenesis*. *Infect Disord Drug Targets*, 2011. **11**(5): p. 449-65.
34. Neirukh, T., et al., *Seroprevalence of Cytomegalovirus among pregnant women and hospitalized children in Palestine*. *BMC Infect Dis*, 2013. **13**: p. 528.
35. Dollard, S.C., et al., *Cytomegalovirus viral and antibody correlates in young children*. *BMC Res Notes*, 2014. **7**: p. 776.
36. Ludwig, A. and H. Hengel, *Epidemiological impact and disease burden of congenital cytomegalovirus infection in Europe*. *Euro Surveill*, 2009. **14**(9): p. 26-32.
37. Cannon, M.J., D.S. Schmid, and T.B. Hyde, *Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection*. *Rev Med Virol*, 2010. **20**(4): p. 202-13.
38. Janicki-Deverts, D., et al., *Childhood environments and cytomegalovirus serostatus and reactivation in adults*. *Brain Behav Immun*, 2014. **40**: p. 174-81.
39. Catalano, M.A., et al., *Antibodies to Epstein-Barr virus-determined antigens in normal subjects and in patients with seropositive rheumatoid arthritis*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1979. **76**(11): p. 5825-8.
40. Balandraud, N., J. Roudier, and C. Roudier, *Epstein-Barr virus and rheumatoid arthritis*. *Autoimmun Rev*, 2004. **3**(5): p. 362-7.
41. Kudaeva, F.M., M.R. Speechley, and J.E. Pope, *A systematic review of viral exposures as a risk for rheumatoid arthritis*. *Semin Arthritis Rheum*, 2019. **48**(4): p. 587-596.

42. Bano, A., et al., *CD28 (null) CD4 T-cell expansions in autoimmune disease suggest a link with cytomegalovirus infection*. F1000Res, 2019. **8**.
43. Rigante, D. and S. Esposito, *Infections and Systemic Lupus Erythematosus: Binding or Sparring Partners?* Int J Mol Sci, 2015. **16**(8): p. 17331-43.
44. Lv, Y.L., et al., *Is cytomegalovirus infection related to inflammatory bowel disease, especially steroid-resistant inflammatory bowel disease? A meta-analysis*. Infect Drug Resist, 2017. **10**: p. 511-519.
45. Rauwel, B., et al., *Reduced progression of bone erosion in cytomegalovirus seropositive rheumatoid arthritis patients*. Arthritis Res Ther, 2020. **22**(1): p. 13.
46. Davis, J.M., 3rd, et al., *A profile of immune response to herpesvirus is associated with radiographic joint damage in rheumatoid arthritis*. Arthritis Res Ther, 2012. **14**(1): p. R24.
47. Abbas, A.K., K.M. Murphy, and A. Sher, *Functional diversity of helper T lymphocytes*. Nature, 1996. **383**(6603): p. 787-93.
48. Glimcher, L.H. and K.M. Murphy, *Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up*. Genes Dev, 2000. **14**(14): p. 1693-711.
49. Kutukculer, N., et al., *CD4+CD25+Foxp3+ T regulatory cells, Th1 (CCR5, IL-2, IFN-gamma) and Th2 (CCR4, IL-4, IL-13) type chemokine receptors and intracellular cytokines in children with common variable immunodeficiency*. Int J Immunopathol Pharmacol, 2016. **29**(2): p. 241-51.
50. Mosmann, T.R. and S. Sad, *The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more*. Immunol Today, 1996. **17**(3): p. 138-46.
51. Scott, P., *IFN-gamma modulates the early development of Th1 and Th2 responses in a murine model of cutaneous leishmaniasis*. J Immunol, 1991. **147**(9): p. 3149-55.
52. 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 Rheum, 2008. **58**(3): p. 875-87.
53. Nakae, S., et al., *Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice*. J Immunol, 2003. **171**(11): p. 6173-7.
54. Ueno, A., et al., *Th17 plasticity and its changes associated with inflammatory bowel disease*. World J Gastroenterol, 2015. **21**(43): p. 12283-95.
55. Bojarska-Junak, A., et al., *Intracellular IL-4 and IFN-gamma expression in iNKT cells from patients with chronic lymphocytic leukemia*. Oncol Lett, 2018. **15**(2): p. 1580-1590.
56. Gapin, L., *Development of invariant natural killer T cells*. Curr Opin Immunol, 2016. **39**: p. 68-74.
57. Matsuda, J.L., et al., *Tracking the response of natural killer T cells to a glycolipid antigen using CD1d tetramers*. J Exp Med, 2000. **192**(5): p. 741-54.
58. Gumperz, J.E., et al., *Functionally distinct subsets of CD1d-restricted natural killer T cells revealed by CD1d tetramer staining*. J Exp Med, 2002. **195**(5): p. 625-36.
59. Matsuda, J.L., et al., *CD1d-restricted iNKT cells, the 'Swiss-Army knife' of the immune system*. Curr Opin Immunol, 2008. **20**(3): p. 358-68.
60. Swain, S.L., et al., *CD4+ T-cell memory: generation and multi-faceted roles for CD4+ T cells in protective immunity to influenza*. Immunol Rev, 2006. **211**: p. 8-22.
61. McKinstry, K.K., T.M. Strutt, and S.L. Swain, *The potential of CD4 T-cell memory*. Immunology, 2010. **130**(1): p. 1-9.
62. De Rosa, S.C., et al., *11-color, 13-parameter flow cytometry: identification of human naive T cells by phenotype, function, and T-cell receptor diversity*. Nat Med, 2001. **7**(2): p. 245-8.
63. Swainson, L., et al., *IL-7R alpha gene expression is inversely correlated with cell cycle progression in IL-7-stimulated T lymphocytes*. J Immunol, 2006. **176**(11): p. 6702-8.

64. Appay, V., et al., *Phenotype and function of human T lymphocyte subsets: consensus and issues*. Cytometry A, 2008. **73**(11): p. 975-83.
65. Moro-Garcia, M.A., R. Alonso-Arias, and C. Lopez-Larrea, *When Aging Reaches CD4+ T-Cells: Phenotypic and Functional Changes*. Front Immunol, 2013. **4**: p. 107.
66. Chidrawar, S., et al., *Cytomegalovirus-seropositivity has a profound influence on the magnitude of major lymphoid subsets within healthy individuals*. Clin Exp Immunol, 2009. **155**(3): p. 423-32.
67. Almanzar, G., et al., *Long-term cytomegalovirus infection leads to significant changes in the composition of the CD8+ T-cell repertoire, which may be the basis for an imbalance in the cytokine production profile in elderly persons*. J Virol, 2005. **79**(6): p. 3675-83.
68. Chanouzas, D., et al., *Subclinical Reactivation of Cytomegalovirus Drives CD4+CD28null T-Cell Expansion and Impaired Immune Response to Pneumococcal Vaccination in Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis*. J Infect Dis, 2019. **219**(2): p. 234-244.
69. Turner, J.E., et al., *Rudimentary signs of immunosenescence in Cytomegalovirus-seropositive healthy young adults*. Age (Dordr), 2014. **36**(1): p. 287-97.
70. Prelog, M., et al., *Indications for a disturbed peripheral T-cell homeostasis in juvenile idiopathic arthritis (JIA): absent expansion of CD28 T-cells and no decrease of naive T-cells in cytomegalovirus-positive patients with JIA*. J Rheumatol, 2008. **35**(3): p. 520-7.
71. Moro-Garcia, M.A., et al., *Relationship between functional ability in older people, immune system status, and intensity of response to CMV*. Age (Dordr), 2012. **34**(2): p. 479-95.
72. Burns, E.A., et al., *Specific humoral immunity in the elderly: in vivo and in vitro response to vaccination*. J Gerontol, 1993. **48**(6): p. B231-6.
73. Ahmed, M., et al., *Clonal expansions and loss of receptor diversity in the naive CD8 T cell repertoire of aged mice*. J Immunol, 2009. **182**(2): p. 784-92.
74. Messaoudi, I., et al., *Age-related CD8 T cell clonal expansions constrict CD8 T cell repertoire and have the potential to impair immune defense*. J Exp Med, 2004. **200**(10): p. 1347-58.
75. Haynes, L. and A.C. Maue, *Effects of aging on T cell function*. Curr Opin Immunol, 2009. **21**(4): p. 414-7.
76. Wikby, A., et al., *Changes in CD8 and CD4 lymphocyte subsets, T cell proliferation responses and non-survival in the very old: the Swedish longitudinal OCTO-immune study*. Mech Ageing Dev, 1998. **102**(2-3): p. 187-98.
77. Wikby, A., et al., *Expansions of peripheral blood CD8 T-lymphocyte subpopulations and an association with cytomegalovirus seropositivity in the elderly: the Swedish NONA immune study*. Exp Gerontol, 2002. **37**(2-3): p. 445-53.
78. Olsson, J., et al., *Age-related change in peripheral blood T-lymphocyte subpopulations and cytomegalovirus infection in the very old: the Swedish longitudinal OCTO immune study*. Mech Ageing Dev, 2000. **121**(1-3): p. 187-201.
79. Prelog, M., et al., *Premature aging of the immune system in children with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2008. **58**(7): p. 2153-62.
80. Mayerl, C. and M. Prelog, *Immunosenescence and juvenile idiopathic arthritis*. Autoimmun Rev, 2012. **11**(5): p. 297-300.
81. Prelog, M., *Aging of the immune system: a risk factor for autoimmunity?* Autoimmun Rev, 2006. **5**(2): p. 136-9.
82. Charo, I.F. and R.M. Ransohoff, *The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation*. N Engl J Med, 2006. **354**(6): p. 610-21.
83. Knieke, K., et al., *Migration of Th1 lymphocytes is regulated by CD152 (CTLA-4)-mediated signaling via PI3 kinase-dependent Akt activation*. PLoS One, 2012. **7**(3): p. e31391.

84. Abbas, A.K., Lichtman, A. H., Pillai, S., *Cellular and Molecular Immunology*. Vol. Nine. 2018, Philadelphia: Elsevier. p. 147.
85. Fukada, K., et al., *Functional expression of the chemokine receptor CCR5 on virus epitope-specific memory and effector CD8+ T cells*. J Immunol, 2002. **168**(5): p. 2225-32.
86. Loetscher, P., et al., *CCR5 is characteristic of Th1 lymphocytes*. Nature, 1998. **391**(6665): p. 344-5.
87. Aggarwal, A., S. Agarwal, and R. Misra, *Chemokine and chemokine receptor analysis reveals elevated interferon-inducible protein-10 (IP)-10/CXCL10 levels and increased number of CCR5+ and CXCR3+ CD4 T cells in synovial fluid of patients with enthesitis-related arthritis (ERA)*. Clin Exp Immunol, 2007. **148**(3): p. 515-9.
88. van de Berg, P.J., et al., *Cytomegalovirus-induced effector T cells cause endothelial cell damage*. Clin Vaccine Immunol, 2012. **19**(5): p. 772-9.
89. Suzuki, N., et al., *Selective accumulation of CCR5+ T lymphocytes into inflamed joints of rheumatoid arthritis*. Int Immunol, 1999. **11**(4): p. 553-9.
90. Martini, G., et al., *CXCR3/CXCL10 expression in the synovium of children with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Res Ther, 2005. **7**(2): p. R241-9.
91. Desmetz, C., et al., *Cell surface CCR5 density determines the intensity of T cell migration towards rheumatoid arthritis synoviocytes*. Clin Immunol, 2007. **123**(2): p. 148-54.
92. Okamoto, H. and N. Kamatani, *A CCR-5 antagonist inhibits the development of adjuvant arthritis in rats*. Rheumatology (Oxford), 2006. **45**(2): p. 230-2.
93. Yang, Y.F., et al., *A non-peptide CCR5 antagonist inhibits collagen-induced arthritis by modulating T cell migration without affecting anti-collagen T cell responses*. Eur J Immunol, 2002. **32**(8): p. 2124-32.
94. Salomon, I., et al., *Targeting the function of IFN-gamma-inducible protein 10 suppresses ongoing adjuvant arthritis*. J Immunol, 2002. **169**(5): p. 2685-93.
95. Xie, J.H., et al., *Antibody-mediated blockade of the CXCR3 chemokine receptor results in diminished recruitment of T helper 1 cells into sites of inflammation*. J Leukoc Biol, 2003. **73**(6): p. 771-80.
96. Hinks, A., et al., *Association of the CCR5 gene with juvenile idiopathic arthritis*. Genes Immun, 2010. **11**(7): p. 584-9.
97. Hokeness, K.L., et al., *CXCR3-dependent recruitment of antigen-specific T lymphocytes to the liver during murine cytomegalovirus infection*. J Virol, 2007. **81**(3): p. 1241-50.
98. de Niet, A., et al., *Upregulation of CXCR3 expression on CD8+ T cells due to the pervasive influence of chronic hepatitis B and C virus infection*. Hum Immunol, 2013. **74**(8): p. 899-906.
99. Johnson, E.L., et al., *Cytomegalovirus upregulates expression of CCR5 in central memory cord blood mononuclear cells, which may facilitate in utero HIV type 1 transmission*. J Infect Dis, 2015. **211**(2): p. 187-96.
100. EUROIMMUN, *Anti-CMV-ELISA (IgG) Arbeitsanleitung*. p. 6.
101. EUROIMMUN, *Anti-CMV-ELISA (IgM) Arbeitsanleitung*. p. 6.
102. Boyum, A., *Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g*. Scand J Clin Lab Invest Suppl, 1968. **97**: p. 77-89.
103. Horan, P.K. and L.L. Wheelless, Jr., *Quantitative single cell analysis and sorting*. Science, 1977. **198**(4313): p. 149-57.
104. Fulwyler, M.J., *Electronic separation of biological cells by volume*. Science, 1965. **150**(3698): p. 910-1.
105. PMA. 23.03.2018]; Available from: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p1585?lang=de®ion=DE>.

106. Ionomycin. 23.03.2018]; Available from: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/i3909?lang=de®ion=DE>.
107. Brefeldin A. 23.03.2018]; Available from: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/b7651?lang=de®ion=DE>.
108. 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.
109. Karen Baltruschat, C.D., Ivan Foeldvari, Gerd Ganser, Johannes-Peter Hass, Claas Hinze, Dirk Holzinger, Anton Hospach, Hans-Iko Huppertz, Arnold Illhardt, Michael Jung, Tilmann Kallinich, Ariane Klein, Kirsten Minden, Kirsten Mönkemöller, Sonja Mrusek, Tim Niehues, Ulrich Neudorf, Matthias Schneider, Philipp Schoof, Angelika Thon, Michael Wachowsky, Norbert Wagner, *S2k-Leitlinie "Therapie der Juvenilen Idiopathischen Arthritis" (3. Auflage, 2019)*. AWMF online Das Portal der wissenschaftlichen Medizin, 2019.
110. Zuhair, M., et al., *Estimation of the worldwide seroprevalence of cytomegalovirus: A systematic review and meta-analysis*. Rev Med Virol, 2019. **29**(3): p. e2034.
111. Montesinos, M.C., et al., *The antiinflammatory mechanism of methotrexate depends on extracellular conversion of adenine nucleotides to adenosine by ecto-5'-nucleotidase: findings in a study of ecto-5'-nucleotidase gene-deficient mice*. Arthritis Rheum, 2007. **56**(5): p. 1440-5.
112. Ter Haar, N.M., et al., *Treatment to Target Using Recombinant Interleukin-1 Receptor Antagonist as First-Line Monotherapy in New-Onset Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis: Results From a Five-Year Follow-Up Study*. Arthritis Rheumatol, 2019. **71**(7): p. 1163-1173.
113. Diaz-Jimenez, D., et al., *Glucocorticoids mobilize macrophages by transcriptionally up-regulating the exopeptidase DPP4*. J Biol Chem, 2020. **295**(10): p. 3213-3227.
114. Cavalcanti, D.M., et al., *Endogenous glucocorticoids control neutrophil mobilization from bone marrow to blood and tissues in non-inflammatory conditions*. Br J Pharmacol, 2007. **152**(8): p. 1291-300.
115. Torre-Cisneros, J., et al., *Infliximab does not activate replication of lymphotropic herpesviruses in patients with refractory rheumatoid arthritis*. Rheumatology (Oxford), 2005. **44**(9): p. 1132-5.
116. Toussi, S.S., et al., *Infections in children and adolescents with juvenile idiopathic arthritis and inflammatory bowel disease treated with tumor necrosis factor-alpha inhibitors: systematic review of the literature*. Clin Infect Dis, 2013. **57**(9): p. 1318-30.
117. Quandt, D., et al., *Peripheral CD4CD8 double positive T cells with a distinct helper cytokine profile are increased in rheumatoid arthritis*. PLoS One, 2014. **9**(3): p. e93293.
118. Skelton, V., et al., *The generation of concentration gradients using electroosmotic flow in micro reactors allowing stereoselective chemical synthesis*. Analyst, 2001. **126**(1): p. 11-3.
119. Davignon, J.L., B. Combe, and A. Cantagrel, *Cytomegalovirus infection: friend or foe in rheumatoid arthritis?* Arthritis Res Ther, 2021. **23**(1): p. 16.
120. Pierer, M., et al., *Association of anticytomegalovirus seropositivity with more severe joint destruction and more frequent joint surgery in rheumatoid arthritis*. Arthritis Rheum, 2012. **64**(6): p. 1740-9.
121. Maly, K. and M. Schirmer, *The story of CD4+ CD28- T cells revisited: solved or still ongoing?* J Immunol Res, 2015. **2015**: p. 348746.
122. Almanzar, G., et al., *Significant IFNgamma responses of CD8+ T cells in CMV-seropositive individuals with autoimmune arthritis*. J Clin Virol, 2016. **77**: p. 77-84.

Appendix

I Abkürzungsverzeichnis

Abb.:	Abbildung
ANA:	Antinukleäre Antikörper
APC:	Allophycocyanin
BFA:	Brefeldin A
BSA:	Bovine Serum Albumin
CCR:	CC-Motiv-Chemokinrezeptor
CD:	Cluster of Differentiation
CXCR:	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor
Dest:	destilliert
DMSO:	Dymethylsulfoxid
EDTA:	Ethylenediaminetetraacetic acid
EAA:	Enthesitis-assoziierte Arthritis
EBV:	Epstein-Barr-Virus
ELISA:	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FACS:	Fluorescence activated cell sorting (Durchflusszytometrie)
FCS:	Fetal Calf Serum (fetales Kälberserum)
FITC:	Fluoreszeinisothiocyanat
FSC:	Forward Scatter (Vorwärtsstreulicht)
HCMV:	humanes Zytomegalievirus
HLA:	humanes Leukozytenantigen
Ig:	Immunglobulin
IL:	Interleukin
IFN γ :	Interferon gamma
JIA:	Juvenile Idiopathische Arthritis
Kap:	Kapitel
Ko:	Gesundkontrolle
Max:	Maximum
MCMV:	murines Zytomegalievirus
Min:	Minimum
ml:	Milliliter
μ l:	Mikroliter

MTX:	Methotrexat
Neg (-):	negativ
NK T-Zelle:	Natürliche Killer T-Zelle
Nr:	Nummer
n.s.:	Nicht signifikant
NSAR:	Nichtsteroidale Antirheumatika
OA:	Oligoarthritis
PA:	Polyarthritis
PBMC:	Peripheral Blood Mononuclear Cells (periphere Mononukleäre Zellen)
PBS:	Phosphate Buffered Saline (phosphatgepufferte Salzlösung)
PE:	Phycoerythrin
PerCP:	Peridin-Chlorophyll-Protein
PMA:	Phorbol 12-myristate 13-acetate
Pos (+):	positiv
PsA:	Psoriasisarthritis
sJIA:	systemische Juvenile Idiopathische Arthritis
SLE:	Systemischer Lupus Erythematodes
SSC:	Side Scatter (Seitstreulicht)
SD:	Standard deviation (Standardabweichung)
RA:	Rheumatoide Arthritis
RF:	Rheumafaktor
RF+PA:	seropositive Polyarthritis
RF-PA:	seronegative Polyarthritis
Rpm:	Rotations Per Minute (Rotationen pro Minute)
RPMI:	Zellkulturmedium (Hydrogenkarbonat Puffersystem)
RPMI P/S:	Zellkulturmedium (s.o.) mit Penicillin und Streptomycin
Tab.:	Tabelle
TCR:	T-Zell-Rezeptor
TEMRA:	Effektor Memory RA T-Zellen
TH-Zelle:	T-Helfer-Zelle
TNF α :	Tumornekrosefaktor alpha
Quant:	quantitativ

II Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	T-Zell Differenzierung.....	22
Abbildung 2:	Vorzeitige Immunoseneszenz bei JIA Patientinnen und Patienten	24
Abbildung 3:	Chemokinrezeptor	25
Abbildung 4:	Beispiel einer Standardkurve zur quantitativen HCMV Antikörperbestimmung.....	39
Abbildung 5:	Aufschichtung einer Blutprobe auf Ficoll Lösung	42
Abbildung 6:	Blutprobe und Ficoll Lösung nach Zentrifugation.....	42
Abbildung 7:	FACS Messung der PBMC.....	44
Abbildung 8:	Leukozyten bei Gesundkontrollen und JIA	56
Abbildung 9:	T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA	58
Abbildung 10:	B-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA.....	59
Abbildung 11:	CD4 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA	61
Abbildung 12:	CD8 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA	62
Abbildung 13:	Natürliche Killer T-Zellen bei JIA	64
Abbildung 14:	CD4 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	69
Abbildung 15:	Naive T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	77
Abbildung 16:	Naive T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	78
Abbildung 17:	Zentrale Memory T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	79
Abbildung 18:	Zentrale Memory T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	80
Abbildung 19:	Effektor Memory T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	81
Abbildung 20:	Effektor Memory T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	82
Abbildung 21:	Effektor T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	83
Abbildung 22:	Effektor T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	84
Abbildung 23:	TEMRA in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	85
Abbildung 24:	TEMRA in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	86

Abbildung 25:	IFN γ in CD8 Lymphozyten bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	87
Abbildung 26:	IFN γ in CD4 Effektor T-Zellen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	88
Abbildung 27:	IFN γ in CD4 TEMRA bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	89
Abbildung 28:	TNF α in CD8 Lymphozyten bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	91
Abbildung 29:	TNF α in CD4 Naiven T-Zellen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	92
Abbildung 30:	TNF α in CD4 Zentralen Memory T-Zellen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	93
Abbildung 31:	TNF α in CD8 Effektor Memory T-Zellen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	94
Abbildung 32:	CXCR3 Expression in CD4 Zentralen Memory T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	97
Abbildung 33:	CXCR3 Expression in CD8 Effektor T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	98
Abbildung 34:	CXCR3 Expression in CD8 TEMRA bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	99
Abbildung 35:	CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA	101
Abbildung 36:	CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und innerhalb der JIA Subentitäten	103
Abbildung 37:	CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und innerhalb der JIA Subentitäten	104
Abbildung 38:	CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	107
Abbildung 39:	CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	108
Abbildung 40:	CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten bei OA und RF-PA in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus	110
Abbildung 41:	CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei OA und RF-PA in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus	111

III Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	JIA Subgruppen	11
Tabelle 2:	Verbrauchsmaterial	29
Tabelle 3:	Puffer und Nährmedien	30
Tabelle 4:	Gebrauchsfertige Lösungen	32
Tabelle 5:	Gebrauchsfertige Kits.....	32
Tabelle 6:	Antikörper	33
Tabelle 7:	Zusammensetzung der Gesamtkohorte	46
Tabelle 8:	Geschlechterverteilung innerhalb der Studienpopulationen	47
Tabelle 9:	Übersichtstabelle epidemiologisch-serologische Beschreibung der Gesamtkohorte und wichtige Biomarker.....	48
Tabelle 10:	Alter und Geschlecht nach HCMV Serostatus und Studienpopulation.....	52
Tabelle 11:	Gesamtpopulation und HCMV Serostatus	53
Tabelle 12:	Verteilung der Studienkohorte auf die JIA Subgruppen	54
Tabelle 13:	Leukozyten und Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA.....	57
Tabelle 14:	T- und B-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA.....	60
Tabelle 15:	CD4 und CD8 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA.....	63
Tabelle 16:	Leukozyten und Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA.....	66
Tabelle 17:	T- und B-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	68
Tabelle 18:	CD4 und CD8 T-Zellen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	70
Tabelle 19:	Naive und Zentrale Memory T-Zellen in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	73
Tabelle 20:	Effektor Memory T-Zellen, Effektor T-Zellen und TEMRA in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	74
Tabelle 21:	Naive und Zentrale Memory T-Zellen in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	75
Tabelle 22:	Effektor Memory T-Zellen, Effektor T-Zellen und TEMRA in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	76
Tabelle 23:	IFN γ innerhalb der Zellpopulationen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	90
Tabelle 24:	TNF α innerhalb der Zellpopulationen bei JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	95

Tabelle 25:	CXCR3 Expression in T-Zell Subgruppen bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus.....	100
Tabelle 26:	CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA	102
Tabelle 27:	CCR5 Expression in CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und innerhalb der JIA Subentitäten	105
Tabelle 28:	CCR5 Expression in CD4 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und innerhalb der JIA Subentitäten	106
Tabelle 29:	CCR5 Expression in CD4 und CD8 Lymphozyten bei Gesundkontrollen und JIA in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	109
Tabelle 30:	CCR5 Expression in CD4 und CD8 Lymphozyten bei OA und RF-PA in Assoziation zum HCMV IgG Serostatus.....	112
Tabelle 31:	Therapie der JIA in unserer Kohorte	113
Tabelle 32:	MTX Therapie in Abhängigkeit vom HCMV IgG Serostatus	114
Tabelle 33:	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	117

IV Danksagung

Herzlichst möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. med. Martina Prelog für die allzeit fortwährende Förderung und Forderung bedanken. Sie hat mir - über die Erstellung dieser Arbeit hinaus – die Möglichkeit gegeben, Ergebnisse meiner Forschungsarbeit auf verschiedenen internationalen Kongressen zu präsentieren und hat in mir die Freude am wissenschaftlichen Arbeiten geweckt und aufrechterhalten.

Herrn PD Dr. rer. nat. Giovanni Almanzar möchte ich danken, der mich vor allem durch seine geduldige Art durch die Grundzüge der Planung, Durchführung und Auswertung des experimentellen Arbeitens geführt hat und bei Problemen immer einen guten Rat wusste.

Den medizinisch-technischen Assistentinnen Kerstin Höfner, Barbara Ottensmeier und Gaby Haase danke ich ebenfalls für die zuverlässige unermüdliche Unterstützung bei der praktischen Laborarbeit.

Frau Dr. med. Klara Sustal danke ich für die wunderbare freundschaftliche Zusammenarbeit.

Allen hier genannten und darüber hinaus Frau Angelika Will danke ich für die freundliche Arbeitsatmosphäre durch die sich das gesamte Team des Labors wie eine zweite Familie angefühlt hat.

Herrn Peter Wermke danke ich für die wertvolle Unterstützung bei der Formatierung meiner Arbeit mit Microsoft Word.

V Lebenslauf

Raimund Dieter Trippen

Gänsmarkt 12 • 55128 Mainz • mobil: 0176-80296743

E-Mail: raimundtrippen@gmx.de

Zur Person

Raimund Dieter Trippen

Geboren am 13.05.1987 in Saarbrücken-Dudweiler

Ledig

Beruflicher Werdegang

- | | |
|--------------------------------|---|
| Seit 02. Dez. 2020: | Ärztlicher Fachdozent für die Berufsfachschule für Notfallsanitäter des DRK Landesverbandes Rheinland-Pfalz e.V. |
| 01. Apr. 2016 – 01. Dez. 2020: | Assistenzarzt an der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg- Universität Mainz, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin |
| 01. Dez. 2014 – 31. Mrz. 2016 | Wissenschaftlicher Mitarbeiter, Medizinische Fakultät der Julius-Maximilians-Universität Würzburg - Lehrklinik |
| 06. Nov. 2014 | Approbation als Arzt, Julius-Maximilians-Universität Würzburg |
| 01. Dez. 2011 - 31. Nov. 2014 | Studentischer Tutor, Medizinische Fakultät der Julius-Maximilians-Universität Würzburg - Lehrklinik |
| Seit 01. Mai 2011 | Doktorand, Medizinische Fakultät der Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Kinderklinik und Poliklinik |
| 21. Mrz. - 22. Jul. 2009 | Ausbildung zum Ausbilder für den Bereich Breitenausbildung, Johanniter-Unfall-Hilfe e.V. Landesverband Bayern, Unterschleißheim |
| Apr. 2008 - Nov. 2014 | Studium der Humanmedizin, Julius-Maximilians-Universität Würzburg |

15. Okt. 2007 - 29. Feb. 2008	Ausbildung zum Rettungsassistenten, DRK-Bildungswerk für soziale und pflegerische Berufe Sachsen e. V., Wilthen
Sept. 2007	Ehrenamtliche Tätigkeit als Rettungsassistent, DRK Rettungswachen Ottweiler und Kusel
18. Sept. 2006 - 17. Sept. 2007	Freiwilliges Soziales Jahr im Rettungsdienst, DRK Rettungswache Ottweiler, Qualifikation: Rettungsassistent
24. Jul. 2006 - 20. Okt. 2006	Ausbildung zum Rettungsassistent, Rettungsdienstschule Saar, Lebach

Schulischer Werdegang

1997 - 2006	Gymnasium Wendalinum St. Wendel, Allgemeine Hochschulreife
-------------	--

Berufsbezogene Fortbildungen

10. Nov. 2018	wissenschaftlicher Vortrag, Immundefekte bei Kindern und Erwachsenen; Diagnostik, Klinik und Behandlung, 2017, DSAI e.V., Mainz
04. Nov. 2017	wissenschaftlicher Vortrag, Immundefekte bei Kindern und Erwachsenen; Diagnostik, Klinik und Behandlung, 2017, DSAI e.V., Mainz
12. Nov. 2016	wissenschaftlicher Vortrag, Immundefekte bei Kindern und Erwachsenen; Diagnostik, Klinik und Behandlung, 2016, DSAI e.V., Mainz
30. Sept. - 03. Okt. 2015	Jahrestagung der Gesellschaft für medizinische Ausbildung (GMA) 2015, Leipzig
13. - 14. Mrz. 2015	Skills Lab Symposium 2015, Halle und Leipzig
19.- 20. Okt. 2013	Fortbildung zum Ausbilder für den Bereich „Automatisierte externe Defibrillation (AED)“, Johanniter-Unfall-Hilfe e.V. Landesverband Bayern, Schweinfurt
25. - 27. Apr. 2013	Postervortrag, Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie (DGPI) 2013, Würzburg

19. - 22. Sept. 2012	Postervortrag, Deutsche Gesellschaft für Rheumatologie e.V. (DGRH) 2012, Bochum
06. - 09. Jun. 2012	wissenschaftlicher Vortrag, European League Against Rheumatism (EULAR) 2012, Berlin
23. - 24. Mrz. 2012	Skills Lab Symposium 2012, Marburg und Göttingen
12. - 13. Feb. 2011	Fortbildung zum Ausbilder für den Bereich „Erste Hilfe am Kind“, Johanniter-Unfall-Hilfe e.V. Landesverband Bayern, Nürnberg

Ehrenamtliches Engagement

2013	Organisation des studentischen Weihnachtschors für Patientinnen und Patienten am Universitätsklinikum Würzburg
Okt. 2009 - Okt. 2014	ehrenamtliche Tätigkeit als Ausbilder im Bereich Breitenausbildung, Johanniter-Unfall-Hilfe e.V. Regionalverband Unterfranken
2009 – 2011	Organisation der Würzburger „Teddyklinik“

VI Eigenleistung

Frau Kerstin Höfner, Frau Prof. Dr. med. Martina Prelog und Herr PD Dr. rer. nat. Giovanni Almanzar haben mich ausführlich in die praktische Durchführung aller Experimente eingewiesen. So hatte ich die Möglichkeit das breite Feld der Forschungsarbeit angefangen bei der Blutentnahme, über die Lymphozytenisolierung mittels Ficoll, die Messung der HCMV-spezifischen Antikörper mittels ELISA und die Zellkulturen bis hin zur durchflusszytometrischen Bestimmung der T-Zellen zu erfahren. Ebenso erlernte ich die statistische Auswertung der Ergebnisse. All diese genannten Arbeiten durfte ich für die hier vorliegende Arbeit eigenständig durchführen.

Frau Prof. Dr. med. Martina Prelog ermöglichte mir, vorläufige Forschungsergebnisse auf internationalen Kongressen zu präsentieren. Ich durfte 2012 anlässlich des Kongresses der European League Against Rheumatism (EULAR) einen wissenschaftlichen Vortrag halten. Außerdem durfte ich 2012 auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Rheumatologie e.V. (DGRH) und 2013 auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie (DGPI) einen Postervortrag geben.

Wesentliche Ergebnisse dieser Arbeit wurden schließlich im Jahr 2016 Teil der folgenden Publikation: „Significant IFN γ responses of CD8+ T cells in CMV-seropositive individuals with autoimmune arthritis“ [122].