

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden ein monoklonaler Antikörper des IgG-Isotyps mit Spezifität für C.jejuni-LPS und seine IgA-Isotyp-Switch-Variante auf ihre Fähigkeit untersucht, die Darmkolonisation von C.jejuni in einem Mausmodell zu beeinflussen.

Es wurde ein Kolonisationsmodell für C.jejuni SP10 bei Mäusen etabliert, wobei die Besiedlung verschiedener Darmabschnitte und des Kots als Parameter dienten. Durch die Kombination verschiedener Infektionsmethoden, insbesondere durch die Anzucht von C.jejuni in Flüssignährmedium, konnte bei bis zu 100% der infizierten Mäuse eine Darmbesiedlung erreicht werden.

Die Erzeugung von Hybridomazelltumoren zur passiven Immunisierung des Gastrointestinaltraktes führte nach der bereits in der Literatur beschriebenen Methode der subcutanen Injektion von Hybridomazellen nur bei 15-20% der Mäuse zur Ausbildung eines Tumors. Mit der in dieser Arbeit angewendeten chirurgischen Tumorumplantation konnte die Tumorangangsrate auf über 80% gesteigert werden. Dadurch reduzierte sich die Versuchstierzahl erheblich. Die Tumoren wuchsen schneller und innerhalb des Kollektivs synchron, so daß die Versuchsplanung erleichtert wurde. Das Verfahren ist auf andere Klone übertragbar und stellt eine deutliche Verbesserung dieses passiven Immunisierungssystems dar.

In diesem System wurden die spezifischen IgA- und IgG-Antikörper im Darmlumen in Abhängigkeit von der spezifischen Serumantikörperkonzentration quantifiziert. Der Anteil von spezifischem IgA in den Dünndarmlavagen stieg proportional mit der spezifischen IgA-Serumkonzentration an und lag zwischen 0,1-0,62% vom Gesamt-IgA (bei einer Serumkonzentration von 53-256µg/ml). Dieser Anteil lag im Dünndarm im Vergleich zum Dickdarm durchschnittlich um den Faktor 6,25 höher. Im Gegensatz zu IgA konnte bei einer spezifischen Serumkonzentration von 80-90µg/ml kein IgG im Darmlumen nachgewiesen werden, was den selektiven Transport von spezifischem Serum-IgA in das Darmlumen dokumentiert. Bei sehr hohen spezifischen IgG-Serumkonzentrationen wurde jedoch gezeigt, daß größere Mengen von Serum-IgG in das Darmlumen, vermutlich durch passive Diffusion, übertreten können.

Weder für die IgA-Isotyp-Switch-Variante noch für den IgG Elternklon konnte eine signifikante Beeinflussung der Darmkolonisation von C.jejuni im Mausmodell nachgewiesen werden. Ein möglicher Effekt deutete sich aber bei hohen Anti-C.jejuni LPS-IgG-Konzentrationen im Darmlumen an, wie sie bei den extrem hohen Serumkonzentrationen des IgG-Klons im

Rucksacktumormodell erreicht wurden. Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, daß die Anti-C.jejuni-LPS-Antikörper möglicherweise in der Lage sind, die Darmkolonisation zu beeinflussen, und die spezifischen IgA-Antikörperkonzentrationen im Darmlumen in den Versuchen zu gering waren, um zu einer Verringerung der Darmbesiedlung zu führen. Zur weitergehenden Abklärung müßte ein passives Immunisierungssystem gefunden werden, in dem wesentlich höhere IgA- bzw. IgG-Konzentrationen im Darmlumen zu erreichen sind als im Rucksacktumormodell bei adulten Mäusen. Die Verwendung gnotobiotischer Mäuse wäre eine denkbare Möglichkeit.

6 Summary

Klaus Johannes Renner

Investigations upon the influence of monoclonal anti-Campylobacter jejuni-I.PS-IgG and an IgA isotyp switch variant on the intestinal colonization of Campylobacter jejuni.

A monoclonal antibody of the IgG isotype with specificity for C.jejuni-I.PS and its IgA isotype switch variant were examined in a mouse model for their ability to influence the intestinal colonization of C.jejuni.

A colonization model for C.jejuni SP10 in mice was established, using the colonization of various sections of the intestine and the feces as parameters. The combination of various methods of infection, particularly with cultures of C.jejuni in liquid media, resulted in an intestinal colonization of almost 100 % of the infected mice.

Hybridoma cell tumors induced for passive immunization of the gastro-intestinal tract led to formation of tumors in 15 - 20 % of the mice after subcutaneous injection of hybridoma cells using a method described in the literature. By means of surgical tumor implantation the rate of tumors increased to over 80 %. This reduced the consumption of experimental animals. The tumors developed more quickly and synchronously, which facilitated the planning of the experiments. The method is transferable to other clones and represents a considerable improvement to this system of passive immunization.

Using this system, the specific IgA and IgG antibodies in the intestinal lumen were quantified in relation to the concentrations of specific serum antibody. The proportion of specific IgA in the small intestine lavage rose proportionately to the specific serum concentration and produced values of 0.1 - 0.62 % of total IgA (at serum concentrations of 53 - 256 µg/ml). Values in the small intestine were higher than in the large intestine (factor 6.25). In contrast to IgA, it was impossible to quantify any IgG in the intestinal lumen at a specific serum concentration of 80 - 90 µg/ml. This demonstrates the selective transport of specific IgA from the serum into the intestinal lumen. For very high serum concentrations of specific IgG it could be shown that larger amounts of serum IgG can pass into the intestinal lumen, probably by passive diffusion.

Neither for the IgA isotype switch variant nor for the IgG parent clone a significant influence on the intestinal colonization of *C.jejuni* in a mouse model could be demonstrated. A possible effect was, however, suggested at high concentrations of anti-*C.jejuni*-LPS antibody in the intestinal lumen, which occurred at extremely high serum concentrations of the IgG clone in the backpack tumor model. Probably, the anti-*C.jejuni*-LPS antibodies may be able to influence the intestinal colonization. In the experiments performed, the concentrations of specific IgA antibody in the intestinal lumen were obviously not sufficient to reduce the colonization of *C.jejuni* in the intestine. For further experiments, a system of passive immunization resulting in higher concentrations of IgA or IgG in the intestinal lumen than in the backpack tumor model in adult mice might be worthwhile. One possibility would be the use of gnotobiotic mice.