

5. ZUSAMMENFASSUNG

Das Migrationsverhalten lymphatischer Zellen unter physiologischen Bedingungen ist für eine effektive Immunantwort von zentraler Bedeutung. Lymphozyten präferieren für ihre Extravasation in sekundäre lymphatische Organe spezialisierte postkapilläre Gefäße mit charakteristischem hohem Endothel, die als "high endothelial venules" (HEV) bezeichnet werden. Die gezielte Aufsuchung ganz bestimmter lymphatischer Gewebe durch einzelne Lymphozytenpopulationen wird über sog. "Homing" Rezeptoren gesteuert, die mit komplementären "vaskulären Adressinen" auf den HEC interagieren. Im murinen System gilt LPAM-1 als Peyersche Platten-spezifischer lymphozytärer "Homing" Rezeptor und bindet an das vaskuläre Adressin MAdCAM-1, das von HEC der Peyerschen Platten selektiv exprimiert wird. MEL-14 wird als peripherer Lymphknoten-spezifischer "Homing" Rezeptor angesehen, der an GlyCAM-1 auf den HEC der Lymphknoten bindet.

In der vorliegenden Arbeit wurden an 20 Mäusen morphologische Untersuchungen an den am "Homing" beteiligten Strukturen, insbesondere an den HEV, durchgeführt. Desweiteren sollte ein Verfahren zur lichtmikroskopischen Darstellung der murinen „Homing“ Rezeptoren LPAM-1 und MEL-14 in Lymphknoten und Peyerschen Platten etabliert werden. Mit Hilfe dieses Verfahrens sollten die Adhäsionsrezeptorprofile der genannten lymphatischen Strukturen verglichen werden. Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefaßt werden:

1. HEV waren in den jeweils T-Zell-abhängigen parafollikulären bzw. parakortikalen Arealen von Peyerschen Platten und peripheren Lymphknoten in zahlreicher Form lokalisiert. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung stellten sich diese Gefäße mit deutlich kuboiden Endothelzellen dar. Die Migration leukozytärer Zellen, insbesondere Lymphozyten und Granulozyten, erfolgte interzellulär. Die Zellen bedienten sich dabei der temporären Ausbildung von Zytoplasmafortsätzen.
2. Die SABC-Technik erwies sich als geeignet zur Darstellung der Rezeptoren in Kryostatschnitten. Die Antikörper CD49d und LECAM-1 erkannten in hohen Konzentrationen spezifisch die jeweiligen "Homing" Rezeptoren. Die Reaktionsprodukte konnten

lichtmikroskopisch als schwarz-braune ringförmige Aggregate einzelnen Zellen topochemisch zugeordnet werden. Neben der sorgfältigen Durchführung der Technik kamen der Organaufbereitung und Qualität der Kryostatschnitte eine bedeutende Rolle zu.

3. Kleine T- und B-Lymphozyten in Peyerschen Platten und Lymphknoten exprimierten MEL-14 und LPAM-1 in mittlerem bis starkem Maße. Stark positive T- und B-Zellen fanden sich vor allem in enger Lokalisation zu den HEV. Blastische Zellen zeigten generell keine Expression der Rezeptoren. Hingegen exprimierten Zentrozyten in den Keimzentren der Peyerschen Platten LPAM-1 nur in geringem Maße, während Zentrozyten der Lymphknoten schwach MEL-14 positiv waren.

Neutrophile Granulozyten in beiden Organen exprimierten beide „Homing“ Rezeptoren in starkem Umfang und waren vorzugsweise in der Nähe der HEV lokalisiert.

Unklar war, daß Bindegewebsstrukturen ebenfalls durch CD49d und LECAM-1 dargestellt wurden.

Mit der beobachteten Verteilung der „Homing“ Rezeptoren konnte das bisherige von den meisten Autoren angenommene Konzept für das Migrationsverhalten von Lymphozyten bestätigt werden.

SUMMARY

Anke Rothe

Morphologic studies on lymphatic tissues to characterize the homing of lymphatic cells. Expression of MEL-14 and LPAM-1 in peripheral lymph nodes and peyer's patches in mouse

Migration of lymphoid cells play a central role in the induction of an immune response. For the extravasation to secondary lymphatic tissues lymphocytes prefer certain postcapillary venules termed high endothelial venules (HEV). The migration to certain lymphatic tissues is supervised by lymphocyte homing receptors interacting with corresponding vascular addressins of high endothelial cells (HEC). In the murine system LPAM-1 is known as homing receptor specific for peyer's patches. This homing receptor contacts the addressin of peyer's patch-HEV: MAdCAM-1. MEL-14 is considered as lymph node specific homing receptor which interacts to GlyCAM-1 of lymph node-HEC.

20 mice were studied to investigate morphologically tissue structures taking part in the homing process. Apart from this, a lightmicroscopical method should be established to detect the murine homing receptors LPAM-1 and MEL-14. Furthermore the adhesion receptor expression in lymph nodes and peyer's patches should be compared. The results can be summarized as follows:

1. In the T cell-dependent areas of lymph nodes and peyer's patches - paracortex and parafollicular zone - HEV were frequently found. By transmission electron microscopy, these vessels were characterized by cuboid endothelium. Migration of lymphocytes took place via the intercellular route with migrating cells temporary forming pseudopodium-like structures.
2. The SABC-method proved to be suitable to demonstrate homing receptors in cryosections by the monoclonal antibodies CD49d and LECAM-1. A positive reaction was recognized by a circular black-brown staining surrounding the cells. Apart from a carefully conducted immunohistochemical reaction, tissue preparation and sectioning were of special importance.

3. Small T- and B-lymphocytes in lymph nodes and peyer's patches expressed moderate high levels of MEL-14 and LPAM-1. Highly positive T- and B-lymphocytes were mainly localized close to HEV. Lymphoblasts did not express any of the receptors. Centrocytes expressed low levels of MEL-14 (in lymph nodes), respectively of LPAM-1 (in peyer's patches). Neutrophilic granulocytes were highly positive for both homing receptors.in lymph nodes and peyer's patches and were predominantly localized close to HEV. The reasons for positive staining of connective tissue by both antibodies were unknown.

The observed expression of homing receptors confirms known concepts of lymphocyte migration.