

## **Universitäts- und Landesbibliothek Tirol**

# **Charakteristische Aspekte des Migrationsverhaltens kutaner dendritischer Zellen im Humansystem**

**Lukas, Michael Alexander**

**1996**

Inhaltsverzeichnis

[urn:nbn:at:at-ubi:2-12531](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:at:at-ubi:2-12531)

# INHALTSVERZEICHNIS

	<b>Seite</b>
Abkürzungen	7
Glossar	7
<b><u>I. EINLEITUNG</u></b>	<b><u>8</u></b>
<b>A. Die Haut als Immunorgan</b>	<b>8</b>
<b>B. Langerhanszellen</b>	<b>8</b>
1. Geschichtlicher Rückblick	8
2. Vorkommen, Dichte	9
3. Phänotypische und funktionelle Marker	9
4. Herkunft, Einordnung	9
<b>C. Das System Dendritischer Zellen</b>	<b>9</b>
1. Die Dendritische Zellreihe	9
2. Charakteristika	10
3. Vorkommen	10
4. Reifung Dendritischer Zellen	11
5. Komponenten Dendritischer Zellfunktion	13
(a) Wachpostenfunktion	13
(b) Migratorische Funktion	14
(c) Adjuvante Funktion	14
<b>D. Fragestellung</b>	<b>16</b>
<b><u>II. MATERIAL &amp; METHODIK</u></b>	<b><u>17</u></b>
<b>1. Kulturmedium</b>	<b>17</b>
<b>2. PBS(phosphate buffered saline)</b>	<b>17</b>
<b>3. Phosphatpuffer</b>	<b>17</b>
<b>4. Ammoniumthiocyanatlösung</b>	<b>17</b>
<b>5. Humane Haut</b>	<b>17</b>
<b>6. Organkultur humaner Haut</b>	<b>18</b>
6.1. Vorbereitung der Haut	18
6.2. Organkultur	18
<b>7. Herstellung von Gefrierschnitten</b>	<b>20</b>
7.1. Beschichtete Objektträger	20
7.2. Gefrierschnitttechnik	20
<b>8. Indir. Immunperoxidasefärbung von Gefrierschnitten</b>	<b>20</b>
8.1. Vorbereitung	20
8.2. Färbesequenz	21
<b>9. Herstellung epidermaler "sheets" und Gewinnung von Dermis</b>	<b>22</b>
<b>10. Färbung epidermaler "sheets"</b>	<b>23</b>
<b>11. Eine neue Methode der sequentiellen Dermis-</b>	<b>24</b>
<b>Aufbereitung als Grundlage für die Herstellung</b>	
<b>"humaner dermaaler sheets"</b>	
11.1. Einleitende Vorbemerkungen	24
11.2. Prämissen	25
11.3. Prinzip	25
11.4. Ergebnis	25
11.5. Technik	25

11.6. Immunhistochemie "Dermaler Transversalschnitte"	27
<b>12. Herstellung und Färbung von Zytozentrifugenpräparaten</b>	<b>27</b>
12.1. Ernten der Zellen	27
12.2. Herstellung der Präparate	27
12.3. Immunhistochemie	27
<b>13. Elektronenmikroskopie</b>	<b>28</b>
<b>14. Mikroskopische Befundung und Auswertung</b>	<b>28</b>
14.1. Phasenkontrast	28
14.2. Durchlicht	28
14.3. Immunfluoreszenz	28
14.4. Ermitteln der Langerhanszellichte	29
14.5. Photographische Dokumentation	29
<b>15. Tabellarische Antikörperübersicht</b>	<b>30</b>
<b><u>III. ERGEBNISSE</u></b>	<b><u>32</u></b>
<b>A. Langerhanszellen verlassen die Epidermis während der Organkultur</b>	<b>32</b>
1. <i>Der Gefrierschnitt-Simultane Beurteilung von Epidermis und Dermis</i>	32
1.1. Das CD1 Antigen	32
1.1.1. Subcluster CD1a	32
1.1.2. Subcluster CD1b	34
1.1.3. Subcluster CD1c	34
1.2. MHC Klasse II Antigene	34
1.3. Langerhanszellgranula (Birbeck-Granula)	35
2. <i>Das epidermale Häutchenpräparat ("sheet"-Präparat)</i>	36
2.1. LC-Morphologie und Expression von CD1a, MHC Klasse II sowie LC-Granula im Verlauf der Organkultur	37
2.1.1. CD1 Antigen	37
2.1.2. MHC Klasse II	37
2.1.3. Langerhanszellgranula	38
3. <i>Epidermale Emigrationskinetik</i>	39
3.1. Emigrationskinetik im klassischen Organkultursystem	39
3.2. Emigrationskinetik im "Epidermis-only" - System	41
<b>B. Langerhanszellen emigrieren in die Dermis während der Organkultur</b>	<b>42</b>
1. <i>Standard-Organokultur</i>	42
1.1. Die Dermis zum Zeitpunkt "Null Stunden"	43
1.2. Die Dermis zum Zeitpunkt "24 Stunden"	43
1.3. Die Dermis zum Zeitpunkt "33 Stunden"	43
1.4. Die Dermis zum Zeitpunkt "48 Stunden"	43
1.5. Die Dermis zum Zeitpunkt "72 Stunden"	44
2. <i>Die "Dermis-only" - Kultur</i>	46
2.1. Dermis zum Zeitpunkt "48 Stunden" (standard)	47
2.2. Dermis zum Zeitpunkt "48 Stunden" (invert)	47
<b>C. Langerhanszellen akkumulieren in afferenten Lymphgefäßen</b>	<b>47</b>
1. Untersuchung der räumlichen Beziehung sämtlicher Akkumulationsmuster zum dermalen Blutgefäßsystem	47
2. Ergebnisse der Semidünnschnitt-Auswertung	50
3. Ergebnisse der Ultradünnschnitt-Auswertung	50

<b>D. Mechanismus der Emigration von Langerhanszellen aus der Epidermis</b>	<b>53</b>
<b>(a) Ansätze zur Stimulation der Emigration</b>	<b>53</b>
1. Versuche mit 2,4,6,-Trinitrochlorobenzol (TNCB)	53
2. Versuch der Stimulation durch Zytokine	54
2.1. Tumornekrose-Faktor alpha (TNF-alpha)	55
2.1.1. Einfluß auf die Expression von CD1a, HLA-DR und Birbeck-Granula	55
2.1.2. Einflüsse auf die Emigrationskinetik	55
2.1.3. Einfluß auf die Akkumulationsprozesse in der Dermis	55
2.2. Granulozyten/Makrophagen-Colonie Stimulierender Faktor (GM-CSF)	55
2.2.1. Einfluß auf die Expression von CD1a, HLA-DR und Birbeck-Granula	55
2.2.2. Einfluß auf die Emigrationskinetik	56
2.2.3. Einfluß auf die Akkumulationsprozesse in der Dermis	56
2.3. Interleukin-1 alpha, Interleukin-1 beta	56
2.3.1. Einfluß auf die Expression von CD1a, HLA-DR und Birbeck-Granula	56
2.3.2. Einfluß auf die Emigrationskinetik	56
2.3.3. Einfluß auf die Akkumulationsprozesse in der Dermis	57
2.4. Zytokin-"Cocktail" (TNF-alpha, GM-CSF, IL-1)	57
2.4.1. Einfluß auf die Expression von CD1a, HLA-DR und Birbeck-Granula	57
2.4.2. Einfluß auf die Emigrationskinetik	57
2.4.3. Einfluß auf die Akkumulationsprozesse in der Dermis	58
<b>(b) Ansätze zur Hemmung der Emigration</b>	<b>58</b>
1. Versuche der physikalischen Emigrationshemmung durch Kühlung	58
1.1. Einfluß auf die Emigrationskinetik	58
1.2. Einfluß auf die Akkumulationsvorgänge in der Dermis	59
2. Versuch der Emigrationshemmung durch Anti-TNF-alpha	59
2.1. Einfluß auf die Emigrationskinetik	59
2.2. Einfluß auf die Akkumulationsprozesse in der Dermis	60
2.3. Emigrationshemmende Wirkung von Anti-TNF-alpha im "Epidermis-only" - System	60
2.3.1. Einfluß auf die Emigrationskinetik	61
3. Versuch der Emigrationshemmung durch löslichen humanen TNF-Rezeptor	61
3.1. Einfluß auf die Emigrationskinetik im Standardsystem	61
3.2. Einfluß auf die Emigrationskinetik im "Epid.-only" - System	62
4. Versuch der Emigrationshemmung durch Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Protein	62
4.1. Einfluß auf die Emigrationskinetik im Standardsystem	62
4.2. Einfluß auf die Emigrationskinetik im "Epid.-only" - System	63
<b>(c) Expression von Adhäsionsmolekülen</b>	<b>63</b>
1. E-Cadherin	64
2. CD44-Molekül	64
3. Alpha-4 Integrin	65
4. Kutanes Lymphozyten-assoziiertes Antigen (CLA)	65
<b>E. Charakterisierung emigrierter kutaner dendritischer Zellen</b>	<b>66</b>
1. Immunhistochemische Charakterisierung	67
1.1. Expression von CD80/B7-BB1	67

1.2. Expression von CD86/B7-2	67
1.3. Expression von CD40	68
1.4. Expression von CD83	68
1.5. Expression von TRAP (humaner CD40-Ligand)	68
1.6. Einfluß von Zytokinen auf die Expression von CD80, CD86 und CD40	68
2. Funktionelle Charakterisierung	69
<b><u>IV. DISKUSSION</u></b>	<b><u>70</u></b>
1. <i>Eignung des Organkulturmodells zur Untersuchung der Migration</i>	70
2. <i>Morphologische und phänotypische Veränderungen während der Migration</i>	71
3. <i>Migration via afferente dermale Lymphgefäße</i>	73
4. Stimulation der Migration	74
4.1. Mechanisches Trauma	74
4.2. Kontaktallergen-Applikation	75
4.3. Zytokine	75
5. <i>Mechanismen der Emigration-Die Rolle von Adhäsionsmolekülen und Chemotaxis</i>	77
<b><u>V. ZUSAMMENFASSUNG</u></b>	<b><u>79</u></b>