

Universitäts- und Landesbibliothek Tirol

Charakteristische Aspekte des Migrationsverhaltens kutaner dendritischer Zellen im Humansystem

Lukas, Michael Alexander

1996

IV. Diskussion

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

IV. DISKUSSION

Epidermale Langerhanszellen sind wichtige Induktoren T-Zell-medierter Immunantworten. Infolge ihrer exponierten Position bekommen sie in vielen Fällen als erste Zellen des Immunsystems Kontakt zu Fremdanitigenen. Diese werden von ihnen aufgenommen, prozessiert und in weiterer Folge ruhenden T-Lymphozyten präsentiert. Dies impliziert eine Migration der Langerhanszellen von der Epidermis in die drainierenden Lymphknoten.

1. Eignung des Organkulturmodells zur Untersuchung der Migration humaner kutaner dendritischer Zellen

Die vorliegende Arbeit hatte sich zum Ziel gesetzt, das Wanderungsverhalten humaner kutaner dendritischer Zellen in einem dafür adaptierten Organkultursystem unter verschiedenen, genau definierten Bedingungen zu untersuchen. Larsen et al. hatten beobachtet, daß dendritische Zellen im Anschluß an Transplantationen zu wandern begannen und versuchten die Reproduktion solcher Wanderungsprozesse auch in einem simplen Kultursystem (124). Und tatsächlich emigrierten große Mengen dendritischer Zellen aus kultivierter muriner Ohrhaut in das Nährmedium. Das gleichsam einfache wie effiziente Kultursystem wurde deshalb in seinen Grundsätzen auch für meine Studien übernommen, gleichwohl in leicht modifizierter Form.

Es galt zunächst zu klären, ob das von Larsen ursprünglich für das murine System konzipierte Organkultursystem auch für die Kultivierung humaner Haut geeignet sei und die in der Maus gewonnenen Erkenntnisse über die migratorische Fähigkeiten dendritischer Zellen *in vitro* auf die Verhältnisse im Humansystem übertragbar wären. Im Zuge dieser grundsätzlichen Evaluierung zeigte sich sehr bald, daß dies in der Tat der Fall ist. So konnte in zahlreichen Experimenten gezeigt werden, daß große Mengen epidermaler dendritischer Zellen i.e. Langerhanszellen die Epidermis im Zuge der 48-stündigen Kulturperiode verlassen. Die Emigrationsraten lagen im klassischen Kultursystem durchschnittlich bei 37% (31-46%) nach 24 Stunden bzw. 56% (46-66%) nach 48 Stunden, im sogenannten Epidermis-only System bei 49% (44-57%) respektive 82% (76-87%). Es konnte wiederholt beobachtet werden, daß das Ausmaß der Abwanderung von Langerhanszellen aus der Epidermis nicht nur nennenswerte interindividuelle Differenzen, sondern bisweilen auch beachtliche intraindividuelle Abweichungen aufwies. Dieses Verhalten war in seiner Kausalität nicht schlüssig zu erklären, jedoch mehrten sich die Hinweise, daß die variable Dicke des dermalen Anteils der kultivierten Haut dafür verantwortlich sein könnte. Demnach könnte geschlossen werden, daß mit zunehmender Dicke der Dermis die Emigrationsleistung der Langerhanszellen abnehme. Gestützt werden konnte diese These außerdem retrograd durch die Auswertung zweier Experimente, bei welchen die üblicherweise durchgeführte Reduktion der Hautprobendicke durch ein Dermatom unterlassen worden war. Die in der Folge über einen Zeitraum von 48 Stunden kultivierte Haut wies unterdurchschnittliche epidermale Emigrationsraten auf (Daten nicht gezeigt). Demnach sind möglicherweise auch die primär als interindividuell-determiniert eingestuften Abweichungen letztendlich nur Artefakte, wie sie im Zuge der für die Kultur vorbereitenden technischen Aufbereitung der Hautexzidate oft unvermeidbar sind. Über die Zusammenhänge zwischen Dermisdicke und Emigrationsrate von Langerhanszellen im Organkultursystem läßt sich nur spekulieren. Theoretisch käme hierbei in Frage: (1) eine bei zunehmender Dermisdicke abnehmende Nährstoffversorgung der oberen Hautschichten insbesondere der Epidermis, welche in einer zumindest partiellen Beeinträchtigung der migratorischen Potenz resultieren könnte, (2) eine erschwerte Kontaktaufnahme dendritischer Zellen zu möglicherweise im Nährmedium enthaltenen oder von der traumatisierten Dermis dorthin abgegebenen chemotaktisch wirksamen Substanzen oder (3) eine, infolge der absenten Traumatisierung der papillären Dermis durch die Dermatomhandhabung fehlende oder reduzierte suspekthe chemotaktische oder andersartige Signalwirkung ausgehend von der (oberen) Dermis. Auch ein verstärkt die Auswanderung hemmender dermalen, und damit mit zunehmender Dermisdicke wachsender Einfluß könnte in die Emigration eingreifen. Vergleicht man die Emigrationsraten des klassischen Systems mit jenen des sogenannten Epidermis-only Systems, so wird deutlich, wie effizient die Migration in letzterem vonstatten geht. In diesem System, in welchem de facto ausschließlich eine Kultivierung des epidermalen

Kompartimentes erfolgt und funktionelle Interaktionen mit einer nicht existenten Dermis als Ursache einer Emigrationshemmung ausscheiden, scheint der aktive Exodus (eine passive "Emigration" durch Zerfall der kultivierten Epidermis konnte experimentell ausgeschlossen werden) von Langerhanszellen gleichsam enthemmt. Der Argumentation folgend, daß dies doch logisch erscheine, fehle doch in diesem System die zu überwindende mechanische Barriere der Basalmembranzone, so ist dies sicherlich zutreffend. Jedoch muß zu bedenken gegeben werden, daß sich dieser Umstand der Emigrationserleichterung letztendlich aber nur dann positiv auswirkt, wenn sich auch sehr viele Langerhanszellen aus ihrer angestammten suprabasalen Position "lösen" und den Weg in Richtung Basalmembran antreten. Es hat offenbar den Anschein, als ob im Rahmen der Epidermis-only Kultur nicht alleine emigrationserleichternde, sondern vielmehr auch vermehrt emigrationsinduzierende Signale an die Langerhanszellen herangetragen würden. Denn alleine ob des Fehlens des mechanischen Hindernisses der Basalmembran könnte man wohl keine gesteigerte sondern höchstens eine beschleunigte Emigration bei unveränderter Gesamt-emigrationsleistung erwarten. Die funktionellen Hintergründe der Emigration von Langerhanszellen und ihrer Kinetik dürften in beiden Systemen doch von einer komplexeren Unterschiedlichkeit sein, als dies vielleicht zunächst zu erwarten wäre.

2. Morphologische und phänotypische Veränderungen während der Migration

Ein weiterer wichtiger Schritt im Rahmen der grundsätzlichen Beurteilung des Organkultursystems war, neben der Erfassung emigrationskinetischer Eigenschaften von epidermalen Langerhanszellen, auch die immunhistochemische Darstellung des antigenen Profils kutaner dendritischer Zellen bzw. die Beschreibung etwaiger, im Zuge der 48-stündigen Kulturperiode auftretender Veränderungen in der Ausprägung und Verteilung bestimmter antigener Merkmale. Die Detektion kutaner dendritischer Zellen erfolgte zum Zwecke der Dokumentation ihrer Wanderung prinzipiell über die drei typischen Merkmale CD1a, HLA-DR und Birbeck-Granula. Die über CD1a dargestellte Morphologie der Langerhanszellen innerhalb der Epidermis veränderte sich im Zuge der Migration. Die ursprünglich zarten und weit ausgestreckten Dendriten schienen zunehmend kürzer und plumper, der Zelleib größer zu werden. Es ist anzunehmen, daß dieses Verhalten eine räumliche und funktionelle Umorientierung der Dendriten widerspiegelt. Hatten die Dendriten doch bisher die Aufgabe, auf die Haut einwirkende Antigene aufzugreifen, so liefern sie möglicherweise nun das für die Emigration notwendige Instrumentarium. Zudem rückten die meisten Zellen in die Nähe der Basalmembran und an manchen Stellen hatte man den Eindruck, als würden sie bereits den einen oder anderen plumpen Fortsatz in die papilläre Dermis vorstrecken. Prinzipiell konnte auf offensichtlich emigrierten Langerhanszellen zwar CD1a in unverändertem Maße nachgewiesen werden, jedoch ergab sich häufig eine Diskrepanz zwischen der numerischen Abnahme CD1a+ Zellen in der Epidermis und der analog dazu erwarteten Zunahme in der Dermis. Demgemäß ist zu folgern, daß die Expression von CD1a auf Langerhanszellen im Zuge der Emigration ab dem Erreichen der Dermis deutlich reduziert wird und dies zudem sehr rasch erfolgen muß, da CD1a in der oberen Dermis entweder stark oder überhaupt nicht nachweisbar war. Die Ergebnisse der Detektion von CD1-Antigen tragenden kutanen dendritischen Zellen zeigten somit weitestgehend Übereinstimmung mit früheren Befunden (79,82,188). Besonders interessant zu beobachten war die Expression von MHC Klasse II auf Langerhanszellen. Dieses, auf residenten Langerhanszellen deutlich nachweisbare Merkmal erfuhr bereits nach 24 Stunden Organkultur eine imposante Steigerung seiner Expression, die nach weiteren 24 Stunden ein Maximum erreichte. In diesem Zusammenhang konnte immer wiederkehrend beobachtet werden, daß offenbar jene Keratinozyten, welche sich in unmittelbarer Nähe von einzelnen oder gruppierten stark HLA-DR+ Langerhanszellen befanden, ebenfalls HLA-DR zu exprimieren schienen, wodurch optisch ein wabenartig-gefärbtes Keratinozytenmuster resultierte, welches die Langerhanszellen zu umgeben schien. Das Auftreten dieses Phänomens erscheint überraschend, denn die Expression von HLA-DR bzw. MHC Klasse II in der Epidermis gesunder Haut ist auf Langerhanszellen beschränkt (15). Bei zahlreichen pathologischen Veränderungen der Haut ist zwar häufig eine Expression von MHC Klasse II auf Keratinozyten anzutreffen (189), jedoch tritt dies in der Regel im Anschluß an das Auftreten eines dermalen T-Zell Infiltrates auf (190). Diese T-Zellen gelten auch als Quelle von Interferon Gamma, einem Lymphokin, welchem *in vitro* die Induktion von HLA-DR auf Keratinozyten zugeschrieben werden konnte (191-193). Welche funktionelle Bedeutung einer DR-Expression auf Keratinozyten im Rahmen der Organkultur zukommen könnte, ist nicht bekannt.

Epidermale Langerhanszellen sind *in situ* durch eine einzigartige zytoplasmatische Organelle, das Birbeck-Granulum, charakterisiert. Es wird vermutet, daß sie im Rahmen Rezeptor-mediierter Endozytose und folglich bei der intrazellulären Prozessierung von Antigenen von besonderer Bedeutung sind (194-198). In der über 48 Stunden kultivierten Haut konnten diese spezifischen Granula während der gesamten Kulturperiode in unverändertem Maße in Langerhanszellen immunhistochemisch nachgewiesen werden. Allerdings verschob sich der Ort der Nachweisbarkeit der Birbeck-Granula mit fortwährender Dauer der Kultur zunehmend in Richtung papillärer Dermis. Diese Beobachtung stand somit in gewissem Widerspruch zu den Ergebnissen von Arbeiten, die von einem allmählichen, jedoch nie vollständigem Verlust der Granula im Rahmen der Kultur frisch isolierter humaner Langerhanszellen sprechen (79,107). Anhand von Kryostatschnitten gelang der Nachweis Birbeck-Granula tragender Zellen in der papillären Dermis. Andererseits war dies ein erster sicherer Hinweis für eine tatsächlich stattfindende Emigration von Langerhanszellen aus der Epidermis. Einer mögliche Argumentation, die als Ursache des Verschwindens von Langerhanszellen in der Epidermis im Zuge der Organkultur nicht von einer Emigration, sondern lediglich von einem, aus welchen Gründen auch immer induzierten Verlust bestimmter immunhistochemisch darstellbarer Marker ausging, konnte somit widersprochen werden. Prinzipiell konnte also die Frage nach der Existenz einer Emigration epidermaler Langerhanszellen bejaht werden. Ergänzende Untersuchungen an dermalen Transversalschnitten bestätigten die ursprünglich an Längsschnitten erhobenen Befunde: Dermis frischer, nicht kultivierter Haut wies nur sehr wenige Birbeck-Granula tragende dendritische Zellen auf. Man kann davon ausgehen, daß es sich in diesem Falle um Langerhanszellen handelte, welche noch *in vivo* d.h. präoperativ die Epidermis verlassen hatten. Demgegenüber war nach 24 bzw. 48 Stunden eine stete Zunahme solcher Zellen in der papillären Dermis feststellbar, welche nur im Zuge der *in vitro*-Kultur dorthin gelangt sein konnten. Die Zahl der in der Dermis zu den definierten Zeitpunkten nachgewiesenen dendritischen Zellen epidermaler Provenienz korrelierte mit der zuvor an epidermalen "sheets" ermittelten Emigrationsraten.

Die immunhistochemischen Studien über die Emigration dendritischer Zellen vermochten vor allem anhand dermalen Transversalschnitte die Zusammenhänge zwischen Morphologie, Funktion und Lokalisation zu verdeutlichen. In der *Epidermis* wird ein überwiegender Teil des Zellvolumens dendritischer Zellen für die Ausbildung feinst verästelter Dendriten verwendet und auf diesem Weg die Wahrscheinlichkeit maximiert, in Kontakt mit Antigenen zu treten und diese "aufzufangen". Die Zelleiber erschienen deshalb vergleichsweise klein. Mit zunehmender Wanderungstendenz schienen die Zellen allmählich größer zu werden, was in erster Linie auf eine Umverteilung des Zytoplasmas infolge der Verkürzung der dendritischen Fortsätze zurückzuführen sein dürfte. Solche dendritischen Zellen mit relativ größer erscheinendem Zelleib und recht kurzen und plump wirkenden Dendriten fanden sich vorwiegend im Stratum basale der Epidermis, in der dermalen Junctionszone und in der oberen Dermis. Die Dendriten hatten möglicherweise einen Wandel ihrer funktionellen Bedeutung erfahren, wobei das "Auffangen" von Antigenen durch eine zunehmende Einbindung in Prozesse der Zellfortbewegung in den Hintergrund gedrängt wurden. Interessanterweise konnten in der Dermis zu keinem Zeitpunkt dendritischen Zellen mit nur annähernd so fein verzweigten Fortsätzen entdeckt werden, wie dies bei Langerhanszellen in der Epidermis zu beobachten war. Über die funktionelle Bedeutung der Subpopulation der sogenannten dermalen dendritischen Zellen ist bis dato recht wenig bekannt. Eine These spricht von einer möglichen zweiten Abwehrlinie hinter den epidermalen Langerhanszellen (9). Assoziiert man jedoch die Begriffe "Wachpostenfunktion" und "feinst verzweigte Dendriten", was zumindest auf die Langerhanszellen bezogen, legitim erscheint, so sprechen die von mir gemachten Beobachtungen zwar nicht grundsätzlich gegen diese These, lassen aber eine derartige Funktion weniger wahrscheinlich erscheinen. Noch größer und zudem nahezu kreisrund erschienen die Zelleiber emigrierender dendritischer Zellen erst, nachdem sie sich innerhalb der afferenten Lymphgefäße befanden. Dendritische Fortsätze fehlten völlig. Weder das "Tasten" nach Antigenen, noch aktives Wandern war zu diesem Zeitpunkt mehr notwendig, da *in vivo* nun der Lymphfluß das Erreichen der drainierenden Lymphknoten sichern würde.

Im Zusammenhang mit der Untersuchung der Langerhanszellmigration im Organkultursystem war außerdem noch eine weitere dynamische Eigenschaft kutaner dendritischer Zellen von Interesse: die *funktionelle Maturation*. Dieser Reifungsprozeß, im Zuge dessen aus primär Antigen-präsentierenden Langerhanszellen in der Haut schließlich potente immunstimulatorische Zellen im Lymphknoten werden, ist durch eine Reihe phänotypischer Änderungen von Membrandeterminanten charakterisiert. Hierbei handelt es sich in erster Linie um eine Aufregulation solcher Strukturen, welche für eine immunologisch effektive

Interaktion mit den T-Zellen notwendig sind, wie beispielsweise die akzessorischen Moleküle B7-1, B7-2 und CD40 (82,85-87). Aus der Beobachtung des Expressionsverhaltens dieser Moleküle auf emigrierenden kutanen dendritischen Zellen sollte indirekt geschlossen werden, ob die im Rahmen der Organkultur auftretende Migration auch gleichzeitig von einer Maturation begleitet ist. Die dazu durchgeführten immunhistochemischen Studien ergaben, daß offenbar weder die kostimulatorischen Signale B7-1 und B7-2, noch CD40 auf den abwandernden dendritischen Zellen vermehrt exprimiert wurden. Auch die Zugabe von GM-CSF zum Nährmedium, jenem Zytokin, dem *in vitro* und möglicherweise auch *in vivo* die entscheidende maturationsregulierende Rolle zukommt (77,78,101,199) hatte keinerlei positiven Effekt. Aus diesen Ergebnissen, die im Widerspruch zu allen bisherigen Arbeiten und entsprechenden analogen Versuchen im murinen System (184) standen, erwuchs zunächst der Verdacht einer "Emigratio sine maturatione". Die Untersuchung der T-Zell stimulierenden Kapazität emigrierter kutaner dendritischer Zellen mittels der gemischten Leukozytenreaktion (MLR) einerseits, und der eindeutige Nachweis der Expression von CD83 andererseits, widersprach jedoch dieser Hypothese deutlich. Entweder sind für eine effiziente Stimulation von T-Zellen durch kutane dendritische Zellen bereits sehr geringe - immunhistochemisch nicht mehr nachweisbare - Mengen an akzessorischen bzw. kostimulierenden Signalen ausreichend, oder aber es sind unbekannte technische Gründe für den erfolglosen Nachweis verantwortlich.

3. Migration via afferenter dermalen Lymphgefäße

Das verwendete Organkulturmodell hatte somit seine Prüfung als ein *in vitro*-Modell für die Emigration humaner Langerhanszellen bestanden. Dies war die Basis für die folgende Untersuchung einer zentralen Zielsetzung der vorliegenden Arbeit: dem *direkten* Nachweis, daß humane Langerhanszellen die Haut über die afferenten dermalen Lymphgefäße verlassen um schließlich in die drainierenden Lymphknoten zu gelangen. In der Maus war dies erstmals 1990 der Arbeitsgruppe um Christian P. Larsen (124) gelungen. Sie entdeckte im Anschluß an die Kultivierung *muriner* Ohrhaut in der Dermis charakteristische, strangförmige Zusammenlagerungen stark MHC Klasse II positiver Zellen. Aufgrund der typischen Anordnung der Zellen benannten sie die gefundenen Strukturen als "cords". Die Autoren verwiesen darauf, daß es sich dabei um emigrierte Langerhanszellen handle, welche sich in afferenten Lymphgefäßen befänden. Diese Ergebnisse konnten später durch die Arbeiten von M. Heine (200) sowie U. Ortner (161) reproduziert werden. Bisher gelang es nicht, derartige Akkumulationen emigrierter Langerhanszellen innerhalb der Dermis auch im Humansystem nachzuweisen. Dies war im wesentlichen auf folgende Umstände zurückzuführen: 1. Aufgrund der relativ zur Dermis muriner Ohrhaut um ein Vielfaches dickeren humanen Dermis ergaben sich Probleme bei der Durchführung und Auswertung immunhistochemischer Färbungen. 2. Humane Dermis enthält im Vergleich zu muriner eine Unmenge stark MHC Klasse II positiver Strukturen. Insbesondere die große Zahl HLA-DR+ dermalen Blutgefäße erschwerte das Auffinden der beschriebenen strangförmigen "cords" ungemein. Gelöst wurden die beiden Probleme zum einen dadurch, die jeweils zu explorierende Dermisdicke zu reduzieren, was durch die Entwicklung einer sequentiellen Dermisaufbereitung in Form von Transversalschnitten realisiert wurde sowie andererseits durch die Wahl eines anderen Suchantikörpers für dendritische Zellen. Alternativ zur MHC Klasse II, wenn nicht aufgrund seiner Spezifität für Langerhanszellen grundsätzlich überlegen, erwies sich der gegen die Birbeck-Granula der Langerhanszellen gerichtete monoklonale Antikörper LAG angesichts der bereits weiter oben beschriebenen Vorbefunde als optimal geeignet.

Unter Beachtung dieser Voraussetzungen konnte somit erstmals die Existenz sogenannter "cords" und somit der Weg emigrierender Langerhanszellen auch für das Humansystem direkt demonstriert werden. Untersuchungen an Semidünn-Schnitten sowie die Elektronenmikroskopie bestätigten den akkumulierten Zellen die Zugehörigkeit zum System dendritischer Zellen und bewiesen deren Lage im Lumen afferenter dermalen Lymphgefäße. Analoges konnte Heine im murinen System zeigen (200). Lediglich vereinzelt wurden auch T-Lymphozyten in den "cords" gefunden, deren migratorische Fähigkeit in Organkulturen erst jüngst beschrieben wurde (39).

Im Gegensatz zum murinen System ist jedoch im Humansystem die Häufigkeit dieses charakteristischen Ereignisses vergleichsweise nieder. Dies mag einerseits auf die im murinen System höheren Spontanemigrationsraten innerhalb von 48 Stunden zurückzuführen zu sein, andererseits könnte die Ursache dafür auch in einem stärker vernetzten dermalen Lymphgefäßsystem begründet sein, was bei der in allen Experimenten der genannten Autoren eingesetzten "sensiblen" Mäuseohrhaut nicht so unwahrscheinlich erscheint. Außerdem konnte in meiner Arbeit gezeigt werden, daß die in den dermalen

Lymphgefäßen akkumulierten dendritischen Zellen offenbar keineswegs ausschließlich der Population epidermaler Langerhanszellen zuzurechnen sind, sondern, wenn auch nur zu einem kleineren Teil, sogenannte dermale dendritische Zellen repräsentieren. Dies war daraus zu schließen, weil in letzteren keine Langerhanszell-spezifischen Birbeck-Granula, gleichsam aber CD1a sowie eine hohe Expression von MHC Klasse II nachgewiesen werden konnte. Die Akkumulation dermalen dendritischer Zellen in afferenten dermalen Lymphgefäßen im Zuge der 48-stündigen Kultur dürfte allerdings nicht so zufällig stattfinden, wie dies auf den ersten Blick erscheinen mag. Denn die Auswertung von Experimenten, in denen ausschließlich Dermis kultiviert wurde (sog. "Dermis-only"-Kultur), brachte in keinem Falle jene typischen Akkumulationen dendritischer Zellen zutage, wie dies zuvor bei Vollhautkultur der Fall war. Daß jedoch trotzdem große Mengen dendritischer Zellen aus der kultivierten Dermis emigriert waren und es sich hierbei zweifelsohne zu einer überwältigenden Mehrheit eben um jene dermalen dendritischen Zellen handelte, bewies die phasenkontrastmikroskopische Betrachtung der Kulturgefäßböden sowie eine darauffolgende exemplarische immunhistochemische Studie. Diese Ergebnisse deuten auf eine wesentliche Steuerung einer potentiellen Emigrationsfähigkeit dermalen dendritischer Zellen durch die Epidermis und/oder die emigrierenden epidermalen dendritischen Zellen i.e. Langerhanszellen hin. Offenbar handelt es sich hierbei um einen "emigrationslenkenden Effekt" hin zu den dermalen Lymphgefäßen, ohne den es solange zu einer orientierungslosen Wanderung dermalen dendritischer Zellen kommt, bis diese die Dermis an irgendeiner Stelle verlassen haben. Letztlich kann nicht beurteilt werden, ob die Abwanderung der dermalen dendritischen Zellen in die afferenten dermalen Lymphgefäße, wie sie im Organkultursystem darstellbar war, tatsächlich unter "realen" Verhältnissen *in vivo* stattfindet, oder es sich um ein sogenanntes "organkulturspezifisches Artefakt" handelt. Unter diesen Begriff ließe sich im übrigen wohl auch die Ursache für die direkte Nachweisbarkeit der Emigration kutaner dendritischer Zellen über die dermalen Lymphgefäße in Form der sog. "cords" einordnen. Denn eine derart dicht gelagerte Anhäufung von teilweise hunderten von Zellen in einem Lymphgefäß, in welchem *in vivo* ein steter Lymphfluß herrscht, dürfte hier deshalb nur schwerlich zustandekommen. Nichtsdestotrotz war gerade der fehlende Lymphfluß *in vitro* für die Darstellung des Emigrationsweges kutaner dendritischer Zellen außerordentlich hilfreich. Nicht zuletzt ausschlaggebend für die Demonstration der "cords" waren die im Organkultursystem hohen spontanen Emigrationsraten dendritischer Zellen, welche nicht dem natürlichen "turnover" *in vivo* entsprachen (25,201,202).

4. Stimulation der Migration

Welche aber sind die Mechanismen und Signale, die für die Initiierung und Steuerung der Emigration von Langerhanszellen aus der Epidermis verantwortlich sind? Die Untersuchung dieser bis heute noch wenig verstandenen Frage sollte im Bewußtsein dessen erfolgen, daß es sich bei dem verwendeten Organkultursystem hinsichtlich der Emigration der Langerhanszellen de facto um ein bereits aktiviertes System handelt.

4.1. Mechanisches Trauma

Als wahrscheinlichste These für die prinzipielle Ursache dieser Aktivierung dürfte die beträchtliche mechanische Alteration der Haut in Frage kommen, wie sie im Rahmen der Vorbereitung der Haut für die Einbringung in die Organkultur unvermeidlich ist. Neben der örtlich relativ begrenzten Zerstörung des epidermalen Zellverbandes erfuhr insbesondere die papilläre Dermis eine großflächige Traumatisierung in der Schnittebene des Dermatons. Grundsätzlich konnten die für eine Emigration der Langerhanszellen essentiellen Mechanismen entweder einerseits durch das epidermale Trauma oder andererseits durch das dermale Trauma oder womöglich durch beide parallel aktiviert worden sein. Geht man davon aus, daß traumagen induzierte und potentiell emigrationsstimulierende Signale für ihre Ausbreitung naturgemäß Zeit benötigen, so wäre bei einer ausschließlich durch epidermale Signale induzierten Emigration eine gewisse Abhängigkeit derselben von der Entfernung zum Ort des Traumas zu erwarten. Da aber immunhistochemische Studien epidermaler "sheets" keine beschleunigte Emigration randständiger und folglich traumanaher Langerhanszellen zeigen konnten bzw. vice versa kein verzögertes Emigrationsverhalten vergleichsweise traumaferner Langerhanszellen, ist zu schließen, daß bei der Kultur von Vollhaut vor allem Signale dermalen Provenienz für die ausgeprägte Emigration verantwortlich sein könnten. In diesem Fall würden emigrationsinduzierende Signale die Epidermis über ihre gesamte Fläche und gleichzeitig erreichen. Dies gilt entgegen einer flüchtigen ersten Einschätzung übrigens auch für die

"Epidermis-only"-Kultur. Allerdings ist in diesem speziellen Fall die Zeitspanne, während jener die epidermalen Langerhanszellen möglichen emigrationsfördernden Signalen aus der Dermis ausgesetzt sind, mit maximal 3 Stunden (Zeit zwischen Trauma und Abpräparation der Dermis) vergleichsweise kurz. In Anbetracht der, im Vergleich zur Vollhautkultur höheren Emigrationsraten scheint dies zunächst paradox. Möglicherweise aber ist eine kurze Zeitspanne für die Induktion der Emigration epidermaler dendritischer Zellen ohnehin völlig ausreichend ("Schalteneffekt"?). Nicht zuletzt kommt es bei der Vorbereitung der Haut für das "Epidermis-only" - System, der Trennung von Epidermis und Dermis, zu einer weiteren großflächigen, wenn auch stumpfen Traumatisierung, die möglicherweise entscheidend zu einer verstärkten Auswanderung der Langerhanszellen beitragen könnte. Traumatisierung bedeutet Zellzerstörung und damit die Freisetzung einer Vielzahl an bis zu diesem Zeitpunkt im Zellinneren geborgenen Substanzen. Als ein dementsprechend diffiziles und aufwendiges Unterfangen erweist sich der Versuch, bestimmten Substanzen emigrationsinitiierende oder emigrationsregulierende Wirkungen zuzuweisen. Im Rahmen der Möglichkeiten des Organkultursystems sollte deshalb beispielhaft versucht werden, den Ablauf bzw. das Ausmaß der Emigration der Langerhanszellen durch genau definierte exogene Einflußnahme auf chemischer, physikalischer oder biochemischer Ebene zu modulieren. Aus den Ergebnissen sollten schließlich indirekt Rückschlüsse auf die Mechanismen der Emigration gezogen werden.

4.2. Kontaktallergenapplikation

Zahlreiche Arbeiten wiesen auf die Bedeutung epikutan applizierter "kontaktsensibilisierender Substanzen" für die Initiation der Emigration von Langerhanszellen aus der Epidermis hin (114,125-127,130,203-206). Im Rahmen des Organkultursystems humaner Haut ließ sich einer derartiger Einfluß durch die kontaktsensibilisierende Substanz TNCB jedoch nicht klar eruieren. In einzelnen Experimenten konnte sogar ein leichter Rückgang der Emigration von Langerhanszellen registriert werden. Es wäre jedoch unzulässig, deshalb eine potentielle emigrationsinitiierende Potenz von TNCB grundsätzlich auszuschließen. Zumindest wird aber deutlich, daß sich die Emigration von Langerhanszellen in einem bereits suffizient aktivierten System wie jenem der Organkultur durch den additiven Stimulus von TNCB (in der verwendeten Konzentration) nicht weiter steigern läßt. Die in Einzelfällen bemerkte Abnahme der Emigrationsraten von Langerhanszellen könnte als eine Folge toxischer Beeinträchtigung des sensiblen migratorischen Apparates interpretiert werden. Eine fortführende detaillierte Evaluation der Wirkung unterschiedlicher Arbeitskonzentrationen von TNCB (unter einem Prozent) lag nicht in der Aufgabenstellung dieser Arbeit. Deshalb kann nicht ausgeschlossen werden, daß möglicherweise niedrigere TNCB-Konzentrationen, für welche im übrigen eine sensibilisierende Wirkung nachgewiesen ist (207), durchaus einen emigrationsfördernden Einfluß haben könnten.

4.3. Zytokine

Welches Zytokin bzw. welche Kombination an der Initiation und Amplifikation der Emigration von Langerhanszellen *in vivo* beteiligt sind, ist heute im Detail noch nicht geklärt. Immer deutlicher zeichnet sich jedoch dabei eine zentrale Bedeutung von TNF-alpha ab (208,209). Diese Einschätzung konnte in meinen Studien insofern bekräftigt werden, als daß TNF-alpha, nicht aber GM-CSF oder Interleukin-1 alpha bzw. beta, dazu in der Lage war, die Emigration von Langerhanszellen aus der Epidermis um 6 - 17% gegenüber der Kontrolle zu steigern. Ob und welche Bedeutung den anderen aufgeführten Zytokinen bei der Initiation des Emigrationsprozesses zukommt, ließ sich anhand des Organkultursystems nicht feststellen. Während beispielsweise das Fehlen eines emigrationsfördernden Effektes durch GM-CSF weniger überraschte, so interessant erschien das Ausbleiben einer Emigrationssteigerung durch Interleukin-1 beta. Denn verschiedene Arbeiten (138,210-214) geben Grund zu der Annahme, daß von Langerhanszellen nach Antigenkontakt selbst freigesetztes Interleukin-1 beta, auf parakrine Weise die umliegenden Keratinozyten zur Synthese und Sekretion von TNF-alpha anregt, welches nun direkt, möglicherweise vermittelt über Proteinkinase C (215) die Emigration der Langerhanszellen induzieren könnte (211,216). Unter der Annahme der Richtigkeit dieser Hypothese erscheint die fehlende Steigerungsfähigkeit der Emigration im Organkultursystem durch Interleukin-1 beta unklar. Möglicherweise sind hierbei Besonderheiten im Bereich der Signalübertragung von der Langerhanszelle über Interleukin-1 beta zum Keratinozyten verantwortlich, wie etwa eine Dosisunabhängigkeit, kompetitive Hemmeffekte oder unbekannte Fluktuationen der Interleukin-1 Rezeptorexpression auf der Keratinozytenoberfläche. Auch

eine limitierte oder erschöpfte TNF-alpha Produktion der Keratinozyten wäre vorstellbar, nachdem im Anschluß an die massive initiale Traumatisierung der Haut vielleicht bereits hohe Mengen an Interleukin-1 beta freigesetzt wurden oder aber die Belastbarkeit der Keratinozyten in bezug auf die Produktion und Freisetzung von TNF-alpha durch andere unbekannte Signale an ihre Grenze gebracht wurde. Im Gegensatz dazu könnte die dem Zytokin TNF-alpha zugeordnete emigrationsinitiiierende Signalwirkung insofern eine Dosisabhängigkeit zeigen, als daß entsprechend hohe Dosen von TNF-alpha möglicherweise zu einer beschleunigten Loslösung der einzelnen Langerhanszellen aus ihrer, wie auch immer gearteten Adhäsion an die Keratinozyten führen könnte (Phase 1, "Langerhanszellen in den Startlöchern"). Da die Emigration der Langerhanszellen prinzipiell über ihre Dichte in der Epidermis zu einem genau definierten Zeitpunkt gemessen wurde, resultiert eine solcherart beschleunigte Loslösung mit der in Folge einsetzenden migratorischen Bewegung (Phase 2, "Start") automatisch in einer erhöht erscheinenden Emigrationsrate. Für eine Dosisabhängigkeit des Initiierungsprozesses spricht zudem, daß offenbar sehr hohe Dosen von TNF-alpha (über 1000 U/ml) die Bereitschaft der Langerhanszellen zur Emigration deutlich einschränken (217). Ob dieser blockierende Effekt letztlich aber über denselben Signalweg zustandekommt wie die Stimulation oder ob es sich lediglich um das Resultat einer unspezifischen Toxizität handelt, konnte bisher nicht definitiv geklärt werden.

Die Bedeutsamkeit von TNF-alpha für die Initiation des Emigrationsprozesses konnte im übrigen durch die Blockade des Zytokins durch humanen anti-TNF-alpha verdeutlicht werden. Die hierbei ermittelten Emigrationsraten lagen sowohl im Standard-System als auch im sogenannten "Epidermis-only"-System um etwa 50% unter denjenigen der Kontrollen. Die gleichgewichtete Effizienz von anti-TNF-alpha in beiden Systemen impliziert demnach die Aktivierung analoger Signalwege. Zudem vermochten gleichzeitig verabreichte Überschüßdosen von TNF-alpha die emigrationshemmende Wirkung von anti-TNF-alpha zu antagonisieren. Ein analoges Verhalten von anti-TNF-alpha konnte auch mehrfach im murinen System im Zusammenhang mit Kontaktsensibilisierungsstudien demonstriert werden (218,219).

Weiters konnte in den Experimenten mit anti-TNF-alpha veranschaulicht werden, daß sich hierbei zwar die Emigration von epidermalen Langerhanszellen hemmen läßt, nicht aber die gleichfalls während der Organkultur stattfindende Abwanderung sogenannter dermaler dendritischer Zellen. Afferente dermale Lymphgefäße enthielten nach zweitägiger Organkultur unter Zusatz von anti-TNF-alpha, bezogen auf die Gesamtzahl dort akkumulierter dendritischer Zellen um durchschnittlich 50% weniger dendritische Zellen epidermaler Provenienz als in der Standardkultur ohne Zusätze. Entweder spielt TNF-alpha für die Ingangsetzung der Emigration der in der Dermis lokalisierten dendritischen Zellen nicht jene entscheidende Rolle wie in der Epidermis oder aber unbekannte Faktoren sind für die offenbare Unwirksamkeit von anti-TNF-alpha verantwortlich.

Ähnliche Versuche, in welchen ein lösliches TNF-Rezeptorprotein freien TNF-alpha in seiner Wirkung neutralisieren sollte, schlugen allerdings fehl. Möglicherweise war dieses Protein aber nicht funktionstüchtig. Eine diesbezügliche Evaluierung wurde nicht durchgeführt.

Im Hinblick auf eine künftige, präzisere *in vitro* Untersuchung fraglicher emigrationsinitiiierender Wirkungen bestimmter Zytokine - sowohl auf epidermaler als auch auf dermaler Ebene - wäre es wünschenswert, ließe sich die im Rahmen der Organkultur "spontan" einsetzende Emigration in einem möglichst hohen Maße hemmen, um in weiterer Folge gezielt durch Zytokine initiiert zu werden. Ein erster trivialer Ansatz bestand in der mehrstündigen Kühlung traumatisierter muriner Ohrhaut bei 4°C (161,217), wodurch sich in der Tat die Gesamtmigration partiell inhibieren und später über Zytokine (TNF-alpha, Interleukin-1 beta) restimulieren ließ. Als Ursache dafür wurde angenommen, daß die Wirkung sämtlicher traumatogen induzierter Signale, darunter potentielle emigrationsinitiiierende, über den Zeitraum der Temperaturabsenkung neutralisiert würden. Alle Versuche, einen derartigen Hemmeffekt auch im humanen Organkultursystem zu reproduzieren, scheiterten. Mehr noch, die Emigration kutaner dendritischer Zellen setzte sich auch nach Ende der "antiphlogistischen" Kühlphase fort, ohne daß hierfür exogene Stimulationsversuche über Zytokine notwendig gewesen wären. Dies läßt auf eine weiterhin wirksame emigrationsinitiiierende Signalwirkung schließen. Worin aber besteht der Unterschied zum murinen System? Angesichts der Hypothese von U. Ortner, wonach es während der Kühlphase gleichsam zu einer Neutralisierung der Wirkung u.a. emigrationsinitiiierender Zytokine käme, erscheint es unerklärlich, warum ein unspezifischer Einfluß wie Kälte nicht auch im Humansystem wirksam sein sollte. Eine mögliche Erklärung konnte in der Analyse der experimentellen Protokolle gefunden werden: Während die murine Ohrhaut bereits innerhalb der ersten Minuten im Anschluß an die Traumatisierung gekühlt werden konnte,

verstrichen im Humansystem aus organisatorischen Gründen durchschnittlich eineinhalb Stunden. Offensichtlich war der Emigrationsprozeß innerhalb dieser ersten posttraumatischen neunzig Minuten initiiert bzw. zumindest die "Information" zur Initiation (TNF-alpha?) an die Langerhanszellen weitergegeben worden. Die niedere Temperatur hätte in diesem Fall gewissermaßen lediglich als Bremse eines bereits "vorprogrammierten" Ablaufes fungiert. Bezugnehmend auf die Ergebnisse im murinen System entsteht der Eindruck, als wäre es den traumatogen induzierten Botenstoffen in der so kurzen Zeit bis zur Kühlung nicht gelungen, die Emigration der Langerhanszellen zu initiieren. Dies läßt wiederum darauf schließen, daß diese Botenstoffe zunächst eine größere räumliche Distanz zu überwinden hätten (von der Dermis in die Epidermis?) und/oder für die (finale) Initiierung der Langerhanszellemigration einer kaskadenartigen Aktivierung weiterer Botenstoffe bedürfen.

5. Mechanismen der Emigration - Die Rolle von Adhäsionsmolekülen und Chemotaxis

Weitaus geringer als über potentielle emigrationsinitiierende Mechanismen wie beispielsweise Interleukin-1 beta oder TNF-alpha ist das Wissen über jene Abläufe, welche die Migration der dendritischen Zellen aus der Epidermis in die Dermis bzw. von hier in die afferenten Lymphgefäße regulieren.

Solche Regulative glaubt man unter anderem in bestimmten Adhäsionsmolekülen gefunden zu haben. So konnte gezeigt werden, daß sowohl Langerhanszellen als auch Keratinozyten das Adhäsionsmolekül E-Cadherin exprimieren (167,168). In einer möglicherweise zytokininduzierten uni-, oder bilateral verminderten Expression dieses Moleküls wird die Lösung der Langerhanszellen aus dem Keratinozytenverband und so die Voraussetzung für eine Emigration gesehen (220). Diesbezügliche Untersuchungen im humanen Organkultursystem bestätigten diese Hypothese zumindest dahingehend, als daß auf Langerhanszellen, welche die Epidermis verlassen hatten, immunhistochemisch kein E-Cadherin (mehr) nachweisbar war. Demgegenüber konnte in der Epidermis die Expression von E-Cadherin deutlich demonstriert werden. Daß hier aber die Expression über den gesamten Beobachtungszeitraum von 48 Stunden, sowohl die Intensität als auch die Lokalisation betreffend, nicht veränderte, erscheint widersprüchlich. Daraus könnte der Schluß gezogen werden, daß die für die Emigration essentielle Verminderung der Cadherin-Expression größtenteils oder ausschließlich seitens der Langerhanszellen realisiert wird. Die Tatsache einer gleichmäßigen und unveränderten epidermalen E-Cadherin Ausprägung weist zudem indirekt darauf hin, daß die immunhistochemische Darstellbarkeit und - daraus abgeleitet - die Quantität von E-Cadherin auf Langerhanszellen offensichtlich a priori weit niedriger ist als auf Keratinozyten. Aussagekräftigere Befunde zu diesem Problem könnten sensitivere Untersuchungsmethoden wie beispielsweise die Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung (FACS) liefern (220).

Ein weiteres Adhäsionsmolekül, dessen Expression in einem engen Zusammenhang mit der migratorischen Kapazität dendritischer, aber auch anderer Zellen gesehen wird, ist CD44 (221,222). Man nimmt an, daß eine hohe Expression dieses Adhäsionsmoleküls, wie dies etwa experimentell durch TNF-alpha induzierbar ist (101) ein hohes migratorisches Potential der entsprechenden Zelle signalisiert und umgekehrt auf migrationsträgen Zellen eine reduzierte Expression von CD44 feststellbar ist (221). Die Tatsache, daß ein derartiges Verhalten auf emigrierenden Langerhanszellen im humanen Organkultursystem nicht gefunden werden konnte, gibt Anlaß, an der obigen Anschauung zu zweifeln. Jedoch muß fairerweise zu bedenken gegeben werden, daß die fehlende Detektion einer sich verstärkenden CD44-Expression auf emigrierenden Langerhanszellen auch das Resultat einer unzureichend sensitiven Färbetechnik sein könnte.

Humane Langerhanszellen exprimieren an ihrer Oberfläche β 1-Integrine. Man geht davon aus, daß hierbei sogenannte "very late antigen"-Proteine (VLA) für die Adhäsion von Langerhanszellen an Komponenten der extrazellulären Matrix, wie Fibronectin (VLA-4) oder Laminin (VLA-6) verantwortlich sind (223,224). Seit bekannt wurde, daß die Expression von VLA-4 alpha auf murinen Langerhanszellen im Rahmen ihrer Kultivierung markant hinaufreguliert wurde und auch emigrierte dendritische Zellen, welche sich in den drainierenden Lymphknoten fanden, eine erhöhte Expression von VLA-4 alpha aufwiesen (178), gilt dieser Adhäsionsrezeptor als potentieller Regulator der Emigration epidermaler Langerhanszellen in die Lymphknoten. Die Untersuchung der Expression von VLA-4 alpha auf emigrierenden Langerhanszellen im humanen Organkultursystem konnten ein derartiges Geschehen nicht demonstrieren. Gleichfalls negativ fielen die Ergebnisse von Untersuchungen, VLA-4 betreffend, im murinen System aus, wie sie von Price et al. (225) durchgeführt wurden. Die potentielle emigrationsregulatorische Bedeutung von VLA-4 scheint deshalb zur Zeit fraglich.

Über das kutane Lymphozyten-assoziierte Antigen (CLA) glaubte man ursprünglich, daß es aufgrund seiner Bindungsfähigkeit an E-Selektin dermalen Blutgefäßendothelien ausschließlich eine essentielle Rolle im sogenannten "homing" bestimmter T-Lymphozyten in der Haut spiele (181). Zahlreiche Studien identifizierten die Kohlenhydrate Lewis^x, Sialyl-Lewis sowie Sialyl-Lewis^x als Liganden für E-Selektin (ELAM-1) (226-228). In weiterer Folge stellte sich jedoch heraus, daß CLA auch auf Subpopulationen von dendritischen Zellen in der Epidermis und Dermis exprimiert wird (183,229). Die Ergebnisse dieser Studien wurden dahingehend interpretiert, daß CLA auch für das "homing" von Langerhanszellen in der Epidermis verantwortlich sein könnte, zumal Symington et al. (230) Sialyl-Lewis^x auch auf humanen epidermalen Keratinozyten nachweisen konnten. Umgekehrt läßt sich aus dieser Annahme ableiten, daß CLA später auch ein gewisser regulatorischer Effekt im Rahmen der Emigration von Langerhanszellen zukommen könnte. Diesbezügliche Untersuchungen im humanen Organkultursystem konnten zu sämtlichen Zeitpunkten im Verlauf der Kultur weder in der Epidermis, noch in der Dermis CLA-exprimierende Zellen nachweisen. Obgleich ein derartiger Befund nicht erwartet worden war, so stützt dieses Ergebnis doch die These, wonach CLA als ein Regulativ im Rahmen der Langerhanszellemigration fungieren könnte. In einer polytraumatisierten Haut, in der gleichsam "alle Zeichen auf Langerhanszellemigration stehen", erscheint es nicht verwunderlich, daß alle Signale und Mechanismen, welche eine ökonomische und dauerhafte Positionierung der Langerhanszellen (wie etwa ein CLA-mediiertes "homing") bewirken sollten, reduziert oder abgeschaltet werden. So auch CLA. Die Tatsache, daß selbst in der sogenannten frischen, nicht kultivierten Haut kein CLA mehr immunhistochemisch detektierbar war, könnte ein Hinweis für eine posttraumatisch äußerst rapide verlaufende Reduktion der Expression sein. Denn offenbar war für diesen Vorgang jenes eineinhalb bis zweistündige Zeitintervall zwischen der Traumatisierung und der ersten Befundung der Haut ausreichend.

Die These also, wonach die Positionierung der Langerhanszellen innerhalb des epidermalen Zellverbandes, deren Verbleib und letztlich deren Emigration die Folge einer fluktuierenden Expression eines oder mehrerer Adhäsionsmoleküle seien, erscheint durchaus legitim. Führt man sich allerdings vor Augen, daß eine alleinige Lösung dieser Interzellularkontakte nicht zwingend eine erhöhte migratorische Bereitschaft der Langerhanszellen, geschweisedenn eine gerichtete Emigration nach sich zieht, so stellt sich die Frage nach weiteren essentiellen Mechanismen. Eine entscheidende Rolle könnte hierbei der *Chemotaxis* zukommen. Verschiedenen Autoren gelang es bereits derartige Effekte *in vitro* zu zeigen. Humanes Fibroblasten-konditioniertes Medium (231) sowie bestimmte Formylpeptide bakteriellen Ursprungs, C5a, Monozyten Chemotaktisches Protein (MCP)-1 alpha/LD78 und MCP-3 (232) waren chemotaktisch wirksam und stimulierten die Migration dendritischer Zellen. Welche chemotaktischen Reize aber dendritische Zellen in der Haut rezeptieren und zu welchem Zeitpunkt ihres Lebenszyklus sie möglicherweise für welche Reize besonders empfänglich sind, ist heute noch völlig unbekannt. Vereinfacht stelle ich mir (spekulativ) dabei ein relativ unkompliziertes System vor, welches im wesentlichen auf folgenden Prämissen beruhen könnte: (1) einer *permanenten bidirektionalen "chemotaktischen Brücke"* (zwischen Dermis und Epidermis bzw. vice versa), (2) einer *permanenten migratorischen Aktivität* der Langerhanszellen sowie (3) einer *vom Reifegrad der Langerhanszellen abhängigen Sensitivität* für eine der beiden unter 1. aufgeführten chemotaktischen Reizquellen. Unter diesen Voraussetzungen sollte es möglich sein, daß aus dem Blut stammende Vorläuferzellen von Langerhanszellen von der Dermis in die Epidermis rekrutiert werden (Immigration), wobei der Ursprung des chemotaktischen Reizes etwa im Bereich des Stratum spinosum liegen könnte, da die Langerhanszellen bekanntlich eine suprabasale Position einnehmen. Das scheinbare Verharren der Langerhanszellen in der suprabasalen Epidermis könnte jedoch im Gegenteil einen permanenten Migrationsprozeß darstellen, der in Zusammenspiel mit Adhäsionsmolekülen ein Abdrängen der Langerhanszellen zum Stratum corneum hin durch die stete Proliferation der basalen Keratinozyten neutralisiert. Auch hierfür wäre noch derselbe chemotaktische Reiz ein adäquater. Durch den Kontakt der Langerhanszellen mit Kontaktallergenen induziert könnte es zu einer Verschiebung der Sensitivität weg vom suprabasalen chemotaktischen Reiz hin zu einem von der Dermis (Fibroblasten? Lymphgefäßendothel?) entsandten Signal kommen. Daraus würden letztlich die in dieser Arbeit beschriebenen Akkumulationen kutaner dendritischer Zellen in den afferenten dermalen Lymphgefäßen resultieren.