

Bettina Hämmerling
Dr. med.

Molekulare Charakterisierung der verschiedenen Zell-Zell-Verbindungsstrukturen („Junctions“) in Lymphknoten höherer Säugetiere

Geboren am 25.05.1978 in Köln
Staatsexamen am 05.12.2005 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. St. Meuer

Zusammenfassung

Erstaunlicherweise ist das Lymphsystem – und besonders der Lymphknoten – trotz seiner offenkundigen Bedeutung in der Evolution, Immunologie und der Pathologie noch wenig erforscht. Insbesondere sind die nicht-lymphocytären, gewissermaßen architektonischen Gerüstelemente des Lymphknotens – wohl auch wegen der Vulnerabilität dieser Strukturen – kaum untersucht worden.

Die Sinus des Lymphknotens sind von einem dreidimensionalen, vielfach verzweigten Maschenwerk ausgekleidet, welches aus kollagenhaltigen Fasern (Retikulinfasern) und sog. Retothelzellen besteht. Die Retothelzellen nehmen eine Schlüsselstellung im Bereich des Lymphknotens ein, da sie als Erste mit einströmenden Antigenen in Kontakt treten.

Die langen Fortsätze der Retothelzellen sind dabei durch spezielle Zell-Zell-Verbindungen („Junctions“) eines besonderen Typs miteinander verbunden, des *Syndesmos*. Der *Syndesmos* kann dabei als spezielle Anordnungsform des *Complexus adhaerens* aufgefasst werden, einer Zell-Zell-Verbindung, die auch in anderen lymphatischen Endothelien vorkommen kann. Dieser *Complexus adhaerens* lässt sich nicht einem der drei klassischen Junction-Typen (Desmosom, Adhaerens-Verbindung, Tight Junction) zuordnen, sondern stellt ein Sonder- bzw. Mischform dar (vgl. z.B. Schmelz et al., 1994).

Mit immunhistologischen, proteinbiochemischen und elektronenmikroskopischen Methoden wurde der *Syndesmos* und die *Complexus adhaerentes* der kleinen lymphatischen Gefäße der *Lamina propria* der Zunge ausführlich charakterisiert. Zusätzlich wurden im Lymphknoten die Zell-Zell-Verbindungen der kleinen Blutgefäße, der folliculären dendritischen Zellen (FDC) und der interstitiellen Reticulum-Zellen untersucht. Der endotheliale Charakter von Zellen konnte dabei jeweils durch den Nachweis von Faktor VIII-verwandtem Protein bestätigt werden.

In Einzel- und Doppelimmunfluoreszenz-Analysen konnten im *Syndesmos* als desmosomale Proteine Desmoplakin und Plakoglobin identifiziert werden, jedoch keine desmosomalen Cadherine und keines der Plakophiline. Als einziges Transmembranprotein konnte stattdessen das endotheliale VE-Cadherin nachgewiesen werden, jedoch weder N-Cadherin, P-Cadherin, M-Cadherin noch Cadherin-11. α - und β -Catenin, Protein p120^{ctn} und L-Afadin waren ebenfalls positiv. Außerdem ließen sich im bzw. am *Syndesmos* die Tight Junction-Proteine Claudin-1, Claudin-5, JAM-A und ZO-1 identifizieren. Analysen mit dem Laser-Scanning-Mikroskop ergaben, dass die im *Syndesmos* identifizierten Proteine mit Desmoplakin als „*Syndesmos*-Referenzmarker“ kolokalisierten.

Bei der Analyse der Zell-Zell-Verbindungen der FDC konnten dagegen echte Desmosomen, bestehend aus Desmoplakin, Plakoglobin, Desmoglein 2, Desmocollin 2, Plakophilin 2 und Plakophilin 3 nachgewiesen werden. Zusätzlich wurde eine neuartige Form von *Puncta*

adhaerentia entdeckt, die α - und β -Catenin, Protein p120^{cm} und L-Afadin in Verbindung mit den Transmembran-Glykoproteinen N-Cadherin und Cadherin-11 enthält.

Zwischen den interstitiellen Reticulum-Zellen konnte ebenfalls eine neuartige Form von *Puncta adhaerentia* identifiziert werden, die positiv auf Antikörper gegen β -Catenin, N-Cadherin und Cadherin-11 reagierte, deren Untersuchung aber im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht abgeschlossen werden konnte.

Unter den Gefäßen der *Lamina propria* der Zunge konnten zwei Arten identifiziert werden: Desmoplakin-positive und Desmoplakin-negative. Bei ersteren handelt es sich durchweg um lymphatische Gefäße mit einer ähnlichen Antigen-Ausstattung wie bei den Retothelzellen.

Außerdem ergaben die immunfluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen, dass Syndecan-1 ein Bestandteil der Zell-Zell-Verbindungen des Retothels, der FDC und der Gefäße ist.

Elektronenmikroskopisch stellte sich der *Syndesmos* meist als lang gestreckte, nicht selten mehrfach dachziegelartig überlappende, flache Struktur mit großen Desmoplakin-positiven cytoplasmatischen Plaques dar.

Die neuartige molekulare Zusammensetzung des *Complexus adhaerens* der Lymphknoten-Sinus wie auch bestimmter peripherer Lymphgefäße wird im Zusammenhang mit den besonderen Funktionen des Sinus-Rethels in normalen und pathologischen Zuständen diskutiert.