

## 6 Diskussion

Chemokine und ihre Rezeptoren wirken bei der Positionierung von Zellen des Immunsystems im Organismus mit, indem sie die Zellmigration steuern (51). Man unterscheidet konstitutiv exprimierte homöostatische Chemokine von den inflammatorischen, die im Falle einer Entzündung induziert werden.

Plasmazellen sowie ihre direkten Vorläuferzellen, die Plasmablasten, stellen als Produzenten von Antikörpern Effektorzellen bei der humoralen Immunantwort dar (116). Sie entstehen in den sekundären lymphatischen Organen, dementsprechend kann man sie dort in den ersten Tagen nach einer Immunisierung nachweisen (10). Später sind sie dann im Knochenmark zu finden, außerdem auch in chronisch entzündetem Gewebe (117). Man geht davon aus, dass sie von den Organen ihrer Entstehung zu diesen Orten migrieren (38). Die Lokalisation der Plasmazellen an diesen Stellen ist eine Voraussetzung für ihre Fähigkeit, über ausgedehnte Zeiträume zu überleben und Antikörper zu produzieren (116). Daher hat der Vorgang der Migration für die Biologie von Plasmazellen eine große Bedeutung.

In dieser Arbeit wurde größtenteils der Begriff „Antikörper sezernierende Zelle“ (ASC) der Bezeichnung „Plasmazelle“ vorgezogen, denn die Zellen wurden bei den meisten Versuchen im ELISPOT aufgrund ihrer Fähigkeit zur Antikörperproduktion identifiziert. Mit dieser Detektionsmethode konnte nicht zwischen Plasmablasten (noch teilungsfähige Zellen, die schon mit der Sekretion von Antikörpern begonnen haben) und Plasmazellen (nicht mehr teilungsfähig) unterschieden werden. Die Bezeichnungen dieser beiden Differenzierungsstadien stammen aus der Zytologie und es ist nicht eindeutig definiert, zu welchem Zeitpunkt der Übergang vom frühen Plasmablasten- ins terminal differenzierte Plasmazellenstadium erfolgt. Es ist durchaus möglich, dass diese Entwicklung der ASC beim Verlassen der Milz noch nicht abgeschlossen ist. Zumindest läßt der größere Durchmesser der Spots von ASC aus dem Knochenmark den Schluss zu, dass die Zellen aus der Milz ihre Entwicklung noch nicht vollendet haben. Bei einem ELISPOT ist nämlich die relative Größe der Spots proportional zur Rate der Ig-Synthese der einzelnen ASC (118). Die ASC aus dem Knochenmark sind also unter identischen Versuchsbedingungen zur Sekretion einer größeren Menge von Antikörpermolekülen pro Zeiteinheit befähigt, ein Indiz dafür, dass sie zumindest bezüglich ihrer Antikörperproduktion weiter ausgereift sind als aus der Milz stammende ASC. Ähnliches wird bei der Analyse von ASC berichtet, die spezifisch für das Lymphozytäre Choriomeningitis Virus (LCMV) sind (27). Es existieren auch Hinweise darauf, dass aus den

sekundären lymphatischen Organen eine Mischpopulation aus reifen ASC sowie deren noch proliferierenden Vorläuferzellen ins Knochenmark migrieren (49).

In dieser Studie sollte untersucht werden, ob und welche Chemokine an einer Migration der ASC beteiligt sind. In Anbetracht der Tatsache, dass die Akkumulation der ASC unter physiologischen Bedingungen im Knochenmark erfolgt, man sie aber im pathologischen Zustand einer chronischen Entzündung auch in anderen Geweben findet, sollte die Migration der ASC sowohl zu homöostatischen als auch zu inflammatorischen Chemokinen getestet werden.

## **6.1 Diskussion der Methodik**

### *Immunisierung und Detektion antigenspezifischer ASC mittels ELISPOT*

Zunächst musste ermittelt werden, zu welchem Zeitpunkt nach der Immunisierung Antigen-spezifische ASC in Milz und Knochenmark auftauchen. Es bestehen in der Literatur unterschiedliche Angaben darüber, die in den jeweils verwendeten Immunisierungsprotokollen und Nachweismethoden begründet sind. Für diese Studie wurde die Immunisierung von BALB/c-Mäusen mit OVA gewählt. Dies war in der Arbeitsgruppe bereits zuvor etabliert worden und es hatte sich gezeigt, dass im Knochenmark von BALB/c-Mäusen nach Sekundärimmunisierung über mindestens 90 Tage OVA-spezifische ASC nachzuweisen waren (32).

Die Verwendung von OVA als Antigen ermöglichte, dass sich mittels ELISPOT das Auftauchen OVA-spezifischer IgG-ASC in den beteiligten Organen präzise quantifizieren ließ (119). Der ELISPOT stellt eine sensitive Methode zum Nachweis von einzelnen Zellen mit Hilfe ihrer Sekretionsprodukte dar (118). Bei dem hier durchgeführten OVA-spezifischen ELISPOT ließen sich IgG-ASC ab der Frequenz von einer dieser Zellen pro 500 000 Milzzellen nachweisen. In der Literatur finden sich bei vergleichbaren Versuchsbedingungen Angaben in ähnlicher Größenordnung (119). Dadurch, dass hier ausschließlich jene Zellen detektiert werden, die OVA-spezifische IgGs sezernieren, ist es möglich, eine genaue Kinetik dieser humoralen Immunantwort zu erstellen. ASC anderer Spezifitäten, die zum Beispiel bei früher abgelaufenen Immunreaktionen in den Tieren entstanden sind, können so die Resultate nicht beeinflussen. Der Einfluss von solchen Immunreaktionen wurde in dieser Studie zusätzlich durch die spezifisch pathogen-freie Haltung der Versuchstiere minimiert. Insgesamt betrachtet ist das hier gewählte Modell daher gut geeignet, um das

Migrationsverhalten von ASC nach einer Immunisierung zu untersuchen. Bei OVA handelt es sich um ein Proteinantigen, wie es bei einigen Impfungen eingesetzt wird. Es werden dabei immunogene Teile von Organismen verabreicht, die nicht vermehrungsfähig sind, jedoch zur Bildung protektiver Antikörper gegen die Erreger führen (108). Solche Spalt- oder auch Subunit-Impfstoffe werden in der Veterinärmedizin vielfach eingesetzt (109). Die humorale Immunantwort auf vermehrungsfähige Erreger wie Bakterien und Viren kann - zum Beispiel in ihrem zeitlichen Ablauf - anders aussehen als bei Proteinantigenen, was in weiterführenden Experimenten untersucht werden sollte. Sicherlich muss ebenfalls überprüft werden, ob die in dieser Arbeit identifizierten Chemokine ihre Funktionen in der humoralen Immunantwort auch bei anderen Spezies erfüllen. Das Ziel dieser Arbeit war es, zunächst einen Überblick darüber zu gewinnen, welche Chemokine die Migration der IgG-ASC zu welchem Zeitpunkt bzw. an welchem Ort im Körper steuern. Als Voraussetzung dafür war eine zeitlich genau determinierbare Immunantwort nötig, die sich im Mausmodell mit OVA gut durchführen ließ. Da die genetischen Sequenzen von Chemokinen häufig stark konserviert zwischen den Spezies sind, ist es wahrscheinlich, dass die analogen Liganden bei unterschiedlichen Tierarten ähnliche Funktionen erfüllen (51). Basierend auf den Ergebnissen dieser Studie wurden bereits Untersuchungen der Chemotaxis von ASC aus humanem Blut durchgeführt, die diese Annahme bestätigen konnten.

Es wurden ausschließlich ASC nachgewiesen, die OVA-spezifische IgG-Antikörper sezernierten. IgG stellt im hier verwendeten Immunisierungsprotokoll den vorherrschenden Isotyp dar (32), und es ist auch der im Serum von Maus und Mensch vorherrschende Isotyp (4). Plasmazellen, die Antikörper unterschiedlicher Isotypen sezernieren, sind im Körper an verschiedenen Stellen zu finden (4). Es ist daher möglich, dass sich die Chemotaxis von ASC, die Antikörper anderer Isotypen als IgG sezernieren, von der hier ermittelten bezüglich der relevanten Chemokin-Rezeptor-Liganden-Paare unterscheidet. Dies könnte dann zum Beispiel dazu führen, dass die Zellen in andere Zielorgane als die hier untersuchten gelangen. In mehreren kürzlich publizierten Studien wurde die Chemotaxis von IgA-sezernierenden Zellen untersucht. Antikörper dieses Isotyps sind unter anderem an der Oberfläche der Mukosa zu finden. Es konnte gezeigt werden, dass der Chemokinrezeptor CCR9 an der Oberfläche von IgA-ASC diese Zellen selektiv in die Lamina propria des Dünndarmes dirigiert, wo der entsprechende Ligand CCL25 von dort ansässigen Zellen produziert wird (120). Auch CCR10 und sein Ligand CCL28 spielen eine Rolle bei der Migration von IgA-ASC. Im Unterschied zu CCL25 wird CCL28 aber vermehrt im Dickdarm, in der Lunge sowie in Speichel- und Milchdrüsen exprimiert (93, 121). Über die Chemotaxis von ASC anderer Isotypen ist bisher

noch wenig bekannt. Der prozentuale Anteil von IgM-ASC, der zu CXCL12 migriert, scheint geringer zu sein als bei den IgG- und IgA-ASC (120).

#### *Chemotaxisversuche im Transwell®-System*

Mit den Transwell®-Migrationskammern lässt sich die Fähigkeit von Zellen überprüfen, zu bestimmten chemotaktisch wirkenden Faktoren zu migrieren. Die Chemotaxis erfolgt dabei unter genau definierten Bedingungen. Man vermeidet so zum Beispiel den Einfluss von im Gewebe vorhandenen Chemokinen auf die Migration der zu untersuchenden Zellen. Auch die Zeit, in der die Zellen migrieren, ist genau definiert. Zusammen machen diese Punkte das System zu einer gut reproduzierbaren Methode, außerdem erhält man eine eindeutige Aussage über die Funktionalität der Rezeptoren. Gerade bei den Chemokinrezeptoren, für die bekannt ist, dass ihre Expression auf der Zelloberfläche häufig nicht mit der Chemotaxis zu den entsprechenden Liganden korreliert (122), ist ein funktioneller Test notwendig. Allerdings muss man sich bei der Bewertung der Daten aus diesem *in vitro*-System über die Unterschiede, die *in vivo* herrschen, im Klaren sein. Die Bedingungen weichen von denen, die in einem im dreidimensionalen Gewebeverband herrschen, ab. Es konnte gezeigt werden, dass die Positionierung von B-Zellen im Gewebe das Resultat einer Art Balance ihrer Reaktivität zu verschiedenen Chemokinen darstellt, und dies gilt wahrscheinlich auch für andere Zellarten (82). Allerdings setzen die Untersuchungen dieses Phänomens voraus, dass man zunächst die einzelnen Chemokinrezeptoren, die bei bestimmten Zellen Chemotaxis auslösen, identifiziert.

#### *FACS-Analyse der CXCR4-Expression auf OVA-spezifischen Plasmazellen*

Die Analyse der Expression von CXCR4 an der Oberfläche der Plasmazellen wurde mittels FACS durchgeführt. Eine technische Schwierigkeit stellte hierbei die geringe Frequenz der CD138<sup>+</sup>OVA<sup>+</sup> Plasmazellen (0,1 % aller Zellen in der Analyse) dar. Bei solchen geringen Zellzahlen ist es schwierig, die Zellen im FACS von der Hintergrundfärbung abzugrenzen. Es wurden jedoch Kontrollfärbungen durchgeführt, bei denen die Zellen intrazellulär gegen IgG1 gefärbt wurden. Die CD138<sup>+</sup> Zellen waren stark positiv für intrazelluläres Immunglobulin. Dadurch konnte bestätigt werden, dass es sich bei ihnen um Plasmazellen handelte.

### *Analyse der Chemokinexpression im Gewebe mittels quantitativer PCR*

Mit der Lightcycler®-PCR wurde eine Methode gewählt, um Unterschiede in der Expression der Chemokine in den Gewebeproben quantifizieren zu können (115). Es konnten bei der Expression von CXCL9, 10, 11 und 12 keine regelmäßigen Unterschiede in Abhängigkeit vom Immunisierungsstatus der Mäuse in Milz und Knochenmark festgestellt werden. Eindeutig waren die Ergebnisse bei der Analyse des inflammatorischen Chemokins CXCL10, wenn NZB/W-Mäuse analysiert wurden. CXCL10 Ligand war nämlich ausschließlich im Gewebe dieser autoimmunkranken Tiere detektierbar. Es ließ sich also eine Induktion von CXCL10 im chronisch entzündeten Gewebe feststellen. Im Falle der anderen Chemokine müssten die hier erhaltenen Ergebnisse durch andere Methoden ergänzt werden, um weitere Informationen zu erhalten. Zum Beispiel konnten möglicherweise vorhandene Unterschiede in der Verteilung der Chemokine im Gewebe mit der Lightcycler®-PCR nicht detektiert werden. Eine Möglichkeit, um dieser Frage nachzugehen, wäre die Anfertigung von Gewebeschnitten und die Detektion der Chemokine mittels immunhistologischer Methoden oder *in-situ* Hybridisierung.

## **6.2 Diskussion der Ergebnisse**

### *Anzahl und Migrationsverhalten OVA-spezifischer IgG-ASC unterscheiden sich bei Primär- und Sekundärimmunisierung voneinander*

Vergleicht man die Kinetiken aus den Abbildungen 6 und 7 miteinander, so fällt zunächst auf, dass in der Primärantwort nur eine sehr geringe Zahl von ASC im Knochenmark zu finden ist. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass bei der Sekundärantwort in der Milz die 100-fache Zahl an OVA-spezifischen IgG-ASC generiert wird. Je mehr solcher ASC entstehen, umso wahrscheinlicher wird es, dass man diese Zellen nach ihrer Migration im Zielorgan Knochenmark nachweisen kann. Es könnte aber auch sein, dass die in der Primärantwort entstehenden ASC nicht ins Knochenmark einwandern können. Obgleich ein Chemotaxisversuch mit diesen Zellen nach primärer Immunisierung aufgrund ihrer geringen Anzahl nicht durchführbar war, können die Kinetiken Aufschluss darüber geben. Wenn sich das Migrationsverhalten in Primär- und Sekundärantwort nicht unterscheidet, so würde man in beiden Fällen ein ähnliches Verhältnis der Zahlen von Milz- und Knochenmarks-ASC zueinander erwarten. Wie in Abb. 7 dargestellt ist, steigt die Zahl der OVA-spezifischen IgG-ASC in der Sekundärantwort zum Zeitpunkt der Migration (zwischen Tag 4 und Tag 6) in

beiden Organen gleichermaßen an. Der wesentliche Unterschied besteht darin, dass der Anstieg der Zahl der ASC im Knochenmark mit der zeitlichen Verzögerung von einem Tag erfolgt. Die Anzahl der an diesen Tagen im Knochenmark detektierten ASC bewegt sich in einer ähnlichen Größenordnung wie die in der Milz. Anders verhält es sich in der Primärantwort, bei der auf den Anstieg der Zahl OVA-spezifischer IgG-ASC in der Milz auf etwa 300 Zellen keine Erhöhung der Zahl im Knochenmark erfolgt. Dies deutet darauf hin, dass sich neben den quantitativen Unterschieden bei den ASC aus Primär- und Sekundärantworten auch deren Migrationsverhalten ändert, so dass sie nach der Sekundärimmunisierung bevorzugt ins Knochenmark wandern. Seit langem ist bekannt, dass lang anhaltende spezifische Antikörpertiter im Serum sich erst nach wiederholtem Kontakt mit einem Antigen nachweisen lassen (14). Eine aktuelle Hypothese geht davon aus, dass Plasmazellen im Knochenmark in so genannten Überlebensnischen ein bestimmtes Mikromilieu vorfinden, welches ihr Überleben und die Sezernierung von Antikörpern fördert (116). Hiernach ist die Fähigkeit, in dieses Organ einzuwandern, eine wichtige Voraussetzung zur Aufrechterhaltung spezifischer Antikörpertiter über lange Zeiträume.

*Die Fähigkeit, ins Knochenmark zu migrieren, ist bei den Plasmazellen intrinsisch reguliert*

Als nächstes stellt sich die Frage, worauf die Unterschiede in der Migrationskapazität bei den Plasmazellen aus Primär- und Sekundärantworten beruhen. Prinzipiell kommen zwei Mechanismen in Frage, über die eine Regulation erfolgen kann: Denkbar wäre zum einen, dass die Fähigkeit zur Chemotaxis bei den ASC beispielsweise über die Expression oder Modulation der Chemokinrezeptoren gesteuert wird. Als zweite Möglichkeit könnte sich auch die Expression von Chemokinen verändern, und zwar sowohl im Zielgewebe, dem Knochenmark, als auch in der Milz. Die in Abb. 20 dargestellten Daten aus den Transferexperimenten sprechen bei der Wanderung der IgG-ASC ins Knochenmark mehr für die erste der beiden Hypothesen: Die OVA-spezifischen IgG-ASC waren im Knochenmark der Rezipienten zu finden, unabhängig davon, ob diese Tiere zuvor mit einem irrelevanten Antigen sekundärimmunisiert worden waren oder nicht. Die ASC stammten aus der Milz von OVA-primärimmunisierten Donoren. Während des Transfers wurde OVA mit appliziert und dadurch eine Aktivierung wie bei einer Sekundärantwort bei den transferierten Zellen provoziert. Die Tatsache, dass in der Milz der Rezipienten als einem Ort der Aktivierung keine OVA-spezifischen ASC detektiert wurden, hat wahrscheinlich den Grund, dass sie zum Zeitpunkt der Analyse dieses Organ bereits verlassen hatten. Dieses Ergebnis stimmt mit Versuchen von Dilosa et al. überein (26), bei denen drei Tage nach einem Zelltransfer von

OVA-spezifischen Keimzentrums-B-Zellen die daraus hervorgegangenen ASC nur im Knochenmark, jedoch nicht in Milz, Lymphknoten oder Peyer's Patches detektiert werden konnten. Dagegen konnten bei ähnlichen Versuchen ASC in der Milz nachgewiesen werden, wenn die Analyse innerhalb von 48 Stunden nach Transfer erfolgte (123).

Diese Resultate deuten darauf hin, dass die Migration der Plasmazellen ins Knochenmark nach einer Sekundärimmunisierung intrinsisch reguliert wird und nicht bzw. nicht ausschließlich durch ein verändertes Chemokinmilieu im Gewebe. Dies wird durch die Ergebnisse untermauert, die mittels quantitativer PCR zur vergleichenden Expression von CXCR3- und CXCR4-Liganden im Gewebe gewonnen wurden. Weder in der Milz noch im Zielorgan Knochenmark ließen sich dabei regelmäßig quantitative Unterschiede in der Expression einzelner Liganden zwischen naiven, primär- oder sekundärimmunisierten Mäusen feststellen. In der Literatur ist zudem mehrfach beschrieben, dass CXCR3- und CXCR4-Liganden im Knochenmark sowie auch in sekundären lymphatischen Organen konstitutiv exprimiert werden (113, 124).

Man nimmt an, dass präferentiell solche Zellen ins Knochenmark einwandern, die Antikörper von höherer Affinität sezernieren und dazu eine Keimzentrumsreaktion durchlaufen haben (38). Sowohl in der Primär- als auch in der Sekundärantwort entstehen die ASC in der Milz zunächst in extrafollikulären Foci, nach einigen Tagen bilden sich dann die Keimzentren, aus denen weitere ASC hervorgehen, die dort ihre Affinitätsreifung vollzogen haben (125). Der Unterschied liegt unter anderem darin, dass die Keimzentrumsreaktionen in der Sekundärantwort früher einsetzen und es zur Akkumulation einer wesentlich höheren Zahl von ASC im Knochenmark kommt (10, 17). In diesem Zusammenhang ist die Beobachtung interessant, dass sich zwei Wochen nach der Primärimmunisierung im Knochenmark OVA-spezifische IgG-ASC nachweisen ließen (Abb. 6), während ihre Zahl zuvor unterhalb des Detektionslimits lag. Dies legt die Vermutung nahe, dass diese ASC aus Zellen hervorgegangen sind, die in der Milz eine Keimzentrumsreaktion durchlaufen haben. Es wäre denkbar, dass sich im Verlauf dieser Reaktion die Expression der Chemokinrezeptoren auf den Plasmazellen verändert, wodurch sie befähigt werden, ins Knochenmark zu migrieren. Somit könnten die hier identifizierten Rezeptoren auf den ASC mit daran beteiligt sein, die Effektivität einer Gedächtnis-Immunantwort zu verbessern, indem sie denjenigen ASC den Eintritt ins Kompartiment der langlebigen Plasmazellen ermöglichen, die hochaffine Antikörper sezernieren.

*Die Migration der ASC vollzieht sich innerhalb eines engen Zeitfensters*

Aus der Kinetik nach Sekundärimmunisierung (Abb. 7) kann man außerdem entnehmen, dass die ASC mit kurzer zeitlicher Verschiebung erst in der Milz und dann im Knochenmark auftauchen. In der Milz erreichten sie ihre maximale Zahl an Tag 5, nur 2 Tage nachdem die ersten dieser Zellen dort nachweisbar waren. Bereits an Tag 6 ist das Maximum der Anzahl an ASC im Knochenmark detektierbar. Dies zeigt, dass sich die Translokation der ASC innerhalb eines engen Zeitfensters vollzieht und die Zellen direkt zu ihrem Zielorgan gelangen. Dafür spricht auch, dass sich zu diesem Zeitpunkt eine erhöhte Anzahl von OVA-spezifischen IgG-ASC im Blut der Mäuse feststellen lässt. Dies steht im Einklang mit den in der Literatur verfügbaren Informationen über den Transport der ASC auf dem Blutweg (22-25). Auch die Resultate von Zelltransfers mit antigenspezifischen ASC bestätigen, dass diese Zellen innerhalb einer kurzen Zeit migrieren: schon zwei Tage nach Injektion der Zellen lassen sich die ASC im Knochenmark nachweisen (123).

*Die Anzahl spezifischer IgG-ASC im Knochenmark reduziert sich zwischen Tag 6 und Tag 12 nach Sekundärimmunisierung*

In der Kinetik der Sekundärantwort ist zwischen Tag 6 und Tag 12 ein Rückgang der ASC im Knochenmark um den Faktor 5 erkennbar. Für den Verbleib dieser „überzähligen“ ASC bestehen unterschiedliche Möglichkeiten: Es ist denkbar, dass ein Teil der an Tag 6 vorhandenen Zellen apoptotisch wurde. In einer durchgeführten Annexin-V-FACS-Färbung war zwar ein Teil der OVA-spezifischen Plasmazellen aus dem Knochenmark an Tag 6 positiv für diesen Marker frühapoptotischer Zellen. Die Frequenz der Plasmazellen war insgesamt zu gering, um eine quantitative Aussage treffen zu können und Unterschiede zu anderen Zeitpunkten (zum Beispiel Tag 12) festzustellen. Die Resultate deuteten aber darauf hin, dass Apoptose bei einem Teil der Plasmazellen erfolgte, nachdem sie im Knochenmark angekommen waren. Dies befindet sich auch im Einklang mit in der Literatur verfügbaren Daten über den Verlauf von Serumtitern spezifischer Antikörper nach einer Immunisierung, die innerhalb der ersten Wochen zunächst absinken, bevor sie sich auf ein konstantes Niveau einpendeln (126). Es sind weitere Untersuchungen zum Nachweis der Apoptose der ASC im Knochenmark nötig, um diese Annahme zu untermauern, zum Beispiel histologisch mittels TUNEL-Technik, wie es an ASC aus der Milz gezeigt wurde (10).

Eine andere Möglichkeit für den Verbleib der ASC wäre ihre Migration zu anderen Stellen im Organismus. Da es sich bei den für die Immunisierung mit OVA verwendeten BALB/c-Mäusen um gesunde Tiere ohne Anzeichen für eine ablaufende chronische Entzündung handelte, ist eine Akkumulation der ASC in entzündetem Gewebe hier auszuschließen. Es ist bekannt, dass in der Mukosa ASC in großer Zahl zu finden sind. Diese sezernieren jedoch hauptsächlich IgA (120). Eine Abwanderung von IgG-ASC in diese Gewebe erscheint daher unwahrscheinlich.

*Zum Zeitpunkt, an dem die OVA-spezifischen IgG-ASC die Milz verlassen, läßt sich bei ihnen Chemotaxis zu CXCR3- und CXCR4-Liganden auslösen*

Nachdem ermittelt worden war, wann die ASC aus der Milz verschwinden, konnte als nächstes gezeigt werden, dass die Zellen zu genau diesem Zeitpunkt empfänglich für chemotaktische Reize waren. Jeweils ein Ligand für jeden in der Maus bekannten Chemokinrezeptor (51) wurde überprüft. Von 21 getesteten Chemokinen waren 4 dazu fähig, bei den ASC Chemotaxis auszulösen (Tabelle 3). Es handelte sich um CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC) und CXCL12 (SDF-1a). Die drei erstgenannten sind Liganden für CXCR3 (127) und zählen zu den inflammatorischen Chemokinen. Ihre Beteiligung an Entzündungsprozessen ist vielfach dokumentiert (128), so rekrutieren sie zum Beispiel Effektor-T-Zellen zu entsprechenden Orten im Gewebe (129). CXCR3 wurde auch auf malignen B-Zellen (130, 131), plasmazytoiden und myeloiden dendritischen Zellen (132, 133) und Endothelzellen (134, 135) beschrieben. Das homöostatische Chemokin CXCL12 stellt mit großer Wahrscheinlichkeit den einzigen Liganden für CXCR4 dar (136). Der Rezeptor wurde auf vielen verschiedenen Zellarten gefunden (114). Der Bereich der wirksamen Konzentration auf ASC war bei CXCL12 mit Werten zwischen 10 und 100 nM breiter angelegt (Abb. 9) als bei den CXCR3-Liganden, die nur in einem sehr engen Bereich um 100 nM eine Chemotaxis induzierten (Abb. 11). Außerdem migrierten mit bis zu 80 % der größte Teil an OVA-spezifischen IgG-ASC zu CXCL12, während die CXCR3-Liganden maximal bei etwa 30 % der Zellen Chemotaxis auslösten. Zu CXCL11 ließ sich nur bei 10 % der ASC Chemotaxis induzieren. An T-Zellen wurde gezeigt, dass CXCL11 nach der Bindung an CXCR3 zu einer schnelleren Internalisierung des Rezeptors führt als CXCL9 und CXCL10 (137). Berücksichtigt man das Versuchssystem zur Ermittlung der Chemotaxis, so kann dies eine Erklärung liefern, warum zu CXCL11 eine geringere Zahl an ASC migrierte als zu den anderen CXCR3-Liganden, deren Dosis-Wirkungskurven nahezu identisch sind (Abb. 11). Die Chemokine aus dem unteren Kompartiment eines Transwells® können

nämlich in die obere Abteilung diffundieren. So ist es vorstellbar, dass CXCL11 im oberen Kompartiment zu einer Internalisierung von CXCR3 führte, bevor es zu einer vollständigen Migration der ASC kam. Gegen diese Theorie spricht allerdings, dass auch für CXCL12 eine schnelle Internalisierung beschrieben wurde (138), was offensichtlich keinen Einfluss auf die Chemotaxis der ASC hatte.

Mit keinem der anderen getesteten Chemokine ließ sich eine Migration oberhalb des Basalniveaus (d. h. Migration gegen Medium ohne Chemokine, <1,5 % der ASC) auslösen (Tabelle 3). In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, dass CXCL13 (der Ligand von CXCR5) keine Chemotaxis bei den ASC bewirkte. Dieses Chemokin wirkt stark chemotaktisch auf B-Zellen (139, 140) und spielt bei der Lokalisation dieser Zellen in den Follikeln eine Rolle (141, 142). Die in dieser Studie erzielten Resultate bezüglich CXCR5 sind im Einklang mit Veröffentlichungen von Hargreaves et al. (124) sowie Wehrli et al. (143). In der letztgenannten Publikation wurde zusätzlich gezeigt, dass in Plasmablasten und -zellen im Gegensatz zu B-Zellen keine CXCR5-mRNA vorhanden war. Kürzlich konnte mittels Genexpressionsanalysen nachgewiesen werden, dass die Expression des Chemokinrezeptors CXCR5, der von Bedeutung für die Lokalisation der B-Zellen in den Follikeln ist, durch den für Plasmazellen spezifischen Transkriptionsfaktor Blimp-1 herunterreguliert wird (144). Auch CCL19 und CCL21 (die Liganden von CCR7), die nach Aktivierung des B-Zell-Rezeptors für die Wanderung der B-Zellen in die T-Zell-Zone der Milz verantwortlich sind (82), konnten keine Migration der ASC auslösen. Im Laufe ihrer Differenzierung zu ASC schienen daher B-Zellen die Fähigkeit der Migration zu den homöostatischen Chemokinen CXCL13, CCL19 und CCL21 zu verlieren.

Grundsätzlich ist der Einfluss weiterer Chemokine auf die Migration von ASC außer den hier ermittelten allerdings nicht ausgeschlossen. Dadurch, dass die Konzentrationsspanne für die Chemokine sehr breit gewählt wurde, wurden falsch negative Ergebnisse vermieden, ebenso durch die immer mitgeführte Kontrolle der Migration der Zellen gegen CXCL12. Soweit möglich, wurden auch Positivkontrollen für die Funktionalität eingesetzten Chemokine durchgeführt (Tabelle 4). Bei den restlichen Chemokinen konnten keine Positivkontrollen durchgeführt werden, weil sich der Nachweis der Zielzellen zu aufwändig gestaltete. Da es sich bei den Chemokinen um kommerziell erhältliche rekombinante Proteine handelte, war zumindest eine Überprüfung der Funktionalität der einzelnen Chargen durch den Hersteller garantiert. ASC, die zu anderen Zeitpunkten oder aus anderen Geweben isoliert wurden, migrieren jedoch möglicherweise zu völlig anderen Chemokinen. Auch der Isotyp der von den Zellen sezernierten Antikörper beeinflusst ihre Chemotaxis, die Unterschiede im

Verhalten von IgA-ASC wurden hier bereits erwähnt (93, 120, 121). Man kann aus den Ergebnissen dieser Arbeit also den sicheren Schluss ziehen, dass IgG-ASC aus der Milz zu dem Zeitpunkt, an dem sie ins Knochenmark wandern, zu den Liganden von CXCR3 und CXCR4 migrieren, allerdings müssen dies nicht die ausschließlich an der Migration dieser ASC beteiligten Chemokine sein.

*Die Fähigkeit der Migration von ASC zu CXCR3- und CXCR4-Liganden ist transient und entspricht zeitlich ihrer Translokationsphase von der Milz ins Knochenmark*

Die Migration der OVA-spezifischen IgG-ASC aus der Milz zu Liganden von CXCR3 und CXCR4 deutete auf eine Funktion dieser Chemokine bei der Migration der ASC in der sekundären Immunantwort hin. Die Versuche mit ASC aus dem Knochenmark konnten diese Vermutung bestätigen. Der Anteil migrierender Zellen unterschied sich an Tag 6 zwischen Zellen, die aus der Milz stammten, und den Knochenmarks-ASC nur unwesentlich. Auch zum Migrationsverhalten der ASC aus der Milz an Tag 4 ließen sich keine bedeutenden Unterschiede feststellen (vgl. Abb. 9, 11 und 15). Wurden die ASC aus dem Knochenmark jedoch zu einem späteren Zeitpunkt nach der Sekundärimmunisierung analysiert, so ging der Anteil migrierender Zellen auf ein Niveau zurück, welches nur knapp über dem der Basalmigration lag. Dies befand sich im Einklang mit dem Konzept der Einwanderung und Persistenz der ASC im Knochenmark: Am Tag 6 erfolgte noch ein starker Influx der ASC ins Knochenmark, während an Tag 12 der größte Teil von ihnen schon dort ansässig war. Die Knochenmarks-ASC, die an Tag 6 auf chemotaktische Reize durch Chemokin-Liganden reagieren, haben vermutlich ihre endgültige Position innerhalb des Organs noch nicht erreicht. Die Vitalität von ASC hängt entscheidend von ihrer Umgebung ab (33, 48). Man nimmt an, dass im Knochenmark so genannte Nischen für ASC existieren (116). Dort finden die ASC eine optimale Umgebung vor, in der sie langfristig überleben können. Möglicherweise sind CXCR3 und/oder CXCR4 daran beteiligt, sie im Knochenmark zu diesen Nischen zu dirigieren. Dies könnte auch eine Erklärung für den bereits erwähnten Rückgang der Anzahl der ASC im Knochenmark zwischen Tag 6 und Tag 12 liefern: Eventuell können sich nur die ASC im Knochenmark ansiedeln, die eine solche Überlebensnische erreichen, die restlichen Zellen sterben oder migrieren in andere Gewebe.

CXCL12 wird konstitutiv von Knochenmarksstromazellen produziert, es konnte in diesem Gewebe erstmalig nachgewiesen werden und erhielt daraufhin seinen deskriptiven Namen Stromal Derived Factor-1a (SDF-1a) (136). Mäuse, die eine genetische Defizienz für CXCL12 aufweisen (CXCL12<sup>-/-</sup>-Mäuse), besitzen phänotypisch schwere Defekte in der B-

Zell-Lymphopoese und der Myelopoese (145), der Angiogenese (146) und der Entwicklung des Kleinhirns (147). Dass dieser Phänotyp identisch bei Mäusen zu finden ist, die CXCR4-defizient sind (CXCR4<sup>-/-</sup>-Mäuse), spricht dafür, dass es sich bei CXCL12 um den einzigen Liganden für CXCR4 handelt (145). Da diese Defekte sich perinatal letal auswirken ist es nicht möglich, die Migration von Plasmazellen bei CXCR4-defizienten Tieren in vivo zu untersuchen. In einer kürzlich publizierten Arbeit konnte jedoch gezeigt werden, dass bei fötalen Leberchimären (Mäuse, die nach Bestrahlung zur Zerstörung des Lymphozytenkompartiments mit fötalen Leberzellen von CXCR4<sup>-/-</sup>-Mäusen rekonstituiert wurden, die Leber ist in diesem Entwicklungsstadium der Ort der Hämatopoese) die normale Akkumulation von CXCR4<sup>-/-</sup>-Plasmazellen im Knochenmark gestört ist (124). Parallel wurde eine erhöhte Anzahl von Plasmazellen im Blut dieser Tiere beobachtet. Auch die Lokalisation dieser Zellen in der Milz war verändert.

In einer weiteren Studie konnten Untersuchungen an Plasmablasten aus Lymphknoten eine Rolle von CXCL12 in der Migration dieser Zellen bestätigen (143). Allerdings wurde in dieser Studie im Verlauf der Entwicklung zu Plasmazellen ein Verlust der Migrationsfähigkeit zu CXCL12 festgestellt, was als Voraussetzung zum Verlassen des Lymphknotens interpretiert wurde. Es ist bislang unklar, ob diese Diskrepanz in der unterschiedlichen Herkunft der Zellen oder im experimentellen Ansatz begründet liegt.

*Die ASC verlieren im Knochenmark ihre Fähigkeit gegen CXCL12 zu migrieren, obwohl CXCR4 weiterhin an ihrer Oberfläche exprimiert wird*

Es stellte sich nun die Frage nach dem Signal, welches dafür verantwortlich war, dass die ASC im Knochenmark zwar an Tag 6, aber nicht mehr an Tag 12 nach der Sekundärimmunisierung migrierten. Eine Eigenschaft von Chemokinrezeptoren, die speziell für CXCR3 und CXCR4 gezeigt werden konnte, ist ihre rapide Internalisierung nach der Bindung ihrer Liganden. Die Zellen werden daher refraktär gegenüber dem betreffenden Chemokin (137, 138, 148). Um zu überprüfen, ob eine solche Internalisierung von CXCR3 und CXCR4 der Grund für den Verlust der Migration der OVA-spezifischen IgG-ASC war, wurden die Zellen in Chemokin-freiem Medium vorinkubiert. Dabei hatten die Zellen die Gelegenheit, zuvor internalisierte Rezeptoren wieder zurück an die Zelloberfläche zu transportieren und sie somit zu rezyklieren. Bei den ASC konnte die Fähigkeit zur Migration jedoch durch die Vorinkubation nicht wiederhergestellt werden (Abb. 16).

CXCR4 konnte in der FACS-Analyse auch am Tag 12 an der Oberfläche der ASC trotz nicht mehr vorhandener Chemotaxis detektiert werden (Abb. 19). Zusammen ergeben diese

Resultate, dass die nicht mehr vorhandene Migration der Knochenmarks-ASC am Tag 12 weder durch eine Internalisierung noch durch eine nicht mehr vorhandene Expression von CXCR4 an der Oberfläche der ASC bedingt war.

Die Expression von Chemokinrezeptoren korreliert häufig nicht mit der Chemotaxis von Zellen zu den entsprechenden Liganden. Dies wurde speziell im Falle von CXCR4 auf B-Zellen unterschiedlicher Entwicklungsstadien aus dem humanen Knochenmark beschrieben (122). Neben der Auslösung von Chemotaxis haben Chemokinrezeptoren noch einige andere Funktionen, was die Unterschiede zwischen Rezeptorexpression und Migration zum Teil erklärt: Endothelzellen aus den Knochenmarkssinusoiden können CXCL12 exprimieren (149, 150) und veranlassen dadurch CXCR4<sup>+</sup>-Zellen zur Adhäsion an die Gefäßwände, was die Voraussetzung für den Übertritt der Zellen ins Gewebe darstellt. Auch konnte für CXCR4 eine Rolle bei der Retention von B-Vorläuferzellen und Granulozyten im Knochenmark gezeigt werden (151). An welchem Punkt hat CXCR4 nun aber eine Bedeutung bei der Lokalisierung der Plasmazellen im Knochenmark? Die Frage nach einer Rolle bei der Transmigration ließ sich hier nicht hinreichend beantworten, dazu wären andere Untersuchungen, beispielsweise mit Hilfe einer Strömungskammer, nötig. Weiterhin könnte aber CXCR4 bei der Migration der ASC innerhalb des Gewebes benötigt werden und schließlich für ihre Retention dort notwendig sein. Dass CXCR4 auf den im Knochenmark ansässigen Plasmazellen nachweisbar bleibt, obwohl sie nicht mehr zu CXCL12 migrieren, deutet auf eine weitere Funktion dieses Rezeptors in der Biologie der Plasmazellen hin. Dies könnte zum Beispiel die Retention dieser Zellen in den Überlebensnischen sein, die das Knochenmark ihnen bietet. Andererseits spricht die ausgeprägte Chemotaxis der Knochenmarks-ASC zu CXCL12 an Tag 6 dagegen, dass die Retention eine ausschließliche Funktion von CXCR4 auf diesen Zellen darstellt. Es ist möglich, dass der Rezeptor auf den Zellen eine duale Funktion einnimmt, indem er sie zunächst zu ihren Überlebensnischen im Knochenmark dirigiert und dann dort an ihrer Fixierung beteiligt ist.

Die Regulation der Migration ins Knochenmark scheint bei den ASC intrinsisch zu sein, wie die Transferexperimente (Abb. 20) zeigen. Außerdem korreliert die Expression von CXCR4 an der Zelloberfläche nicht mit der Fähigkeit der ASC zur Chemotaxis. Daher beeinflusst anscheinend ein Regulationsmechanismus die Chemotaxis, der im Signaltransduktionsweg unterhalb der Rezeptorebene liegt.

In diesem Zusammenhang ist weiterhin zu erwähnen, dass sich CXCL12 als ein potenter Überlebensfaktor erwiesen hat, wenn ASC einige Wochen nach der Immunisierung mit OVA aus dem murinen Knochenmark isoliert und kultiviert werden (152). Solche Zellen sterben

normalerweise innerhalb weniger Tage, der Zusatz von CXCL12 konnte aber bis zu 60 % dieser ASC vor dem Zelltod retten. Die Eigenschaft, das Überleben von Zellen zu fördern, konnte für dieses Chemokin auch an peritonealen B-Zellen (153) und an T-Zellen gezeigt werden (154). CXCL12 hat also nicht nur die Aufgabe, ASC zu den oben erwähnten Überlebensnischen im Knochenmark zu leiten, sondern stellt vermutlich selber einen funktionellen Bestandteil von diesen dar.

Zusammengefasst läßt sich die Hypothese erstellen, dass die Bindung von CXCL12 durch CXCR4 auf den ASC unterschiedliche Signalwege in Gang setzen kann, die je nach Lokalisation bzw. Reifungszustand der ASC zur Auslösung von Chemotaxis oder Adhäsion, aber auch zur Übermittlung von Überlebenssignalen bei den ASC führen. Die Chemokinrezeptoren zählen zur Gruppe der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, deren Funktionalität durch so genannte RGS-Proteine (regulators of G-protein signaling) moduliert wird (155). Dies wurde speziell im Falle von CXCR4 gezeigt (156), daher könnte die Analyse dieser Proteine bei den ASC aufschlussreich sein, um die Regulation der verschiedenen Funktionen von CXCR4 auf diesen Zellen zu verstehen.

#### *Die Rolle von CXCR3 bei der Akkumulation der ASC im entzündeten Gewebe*

Als Modell einer chronischen Entzündung, bei deren Pathogenese ASC maßgeblich beteiligt sind, wurden NZB/W-Mäuse untersucht. Die weiblichen Tiere dieses Stammes entwickeln im Alter von etwa 5 Monaten eine Autoimmunkrankheit. Sie gilt als Immunkomplex-vermittelt und ähnelt dem humanen SLE, zu dessen Erforschung sie als Tiermodell dient (89). Die Erkrankung manifestiert sich unter anderem an den Nieren der Mäuse in Form einer chronischen Glomerulonephritis. IgG-ASC akkumulieren in diesen Organen in ähnlichem Maße wie im Knochenmark der NZB/W-Mäuse. Chronisch entzündetem Gewebe wird daher die Fähigkeit zugeschrieben, in ähnlichem Maße wie das Knochenmark die Persistenz dieser Zellen zu unterstützen (157).

CXCL9, 10 und 11 sind Liganden von CXCR3. Sie gehören zu den Chemokinen, deren Expression bei entzündlichen Vorgängen im Gewebe induziert wird (158).

Die Resultate dieser Studie weisen auf eine Beteiligung von CXCR3 und seinem Liganden CXCL10 an der Einwanderung von IgG-ASC in entzündetes Gewebe hin. Im Einzelnen wird dies durch folgende Beobachtungen impliziert: 1. Bei weiblichen NZB/W-Mäusen war mRNA des CXCR3-Liganden CXCL10 in Milz, Knochenmark und entzündeter Niere detektierbar. Dagegen konnte bei gesunden weiblichen Mäusen des Stammes BALB/c die Expression dieses inflammatorischen Chemokins in den gleichen Geweben nicht

nachgewiesen werden (Abb. 22). 2. CXCL10 wirkte zu dem Zeitpunkt chemotaktisch auf IgG-ASC, an dem diese Zellen den Ort ihrer Entstehung (hier die Milz) verließen. 3. Nachdem die ASC in ihrem Zielgewebe ansässig geworden waren, verloren sie die Fähigkeit zur Chemotaxis zu CXCR3-Liganden (Abb. 15).

Eine Expression von CXCL10 konnte nicht ausschließlich in den entzündeten Nieren detektiert werden, sondern in allen überprüften Organen der NZB/W-Mäuse. Dies spiegelt die systemische Manifestation der Erkrankung (89) wider. Es ist nicht auszuschließen, dass eine Akkumulation von ASC auch in anderen Organen außer den entzündeten Nieren erfolgt. Bislang konnte nicht geklärt werden, ob eine Redundanz in der Funktion der drei CXCR3-Liganden besteht oder ob sie jeweils spezifische Aufgaben erfüllen. Es gibt zwar Berichte darüber, dass sie im Verlauf von Entzündungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten exprimiert werden (158), und auch eine organ- bzw. zellspezifische Expression wird diskutiert (159). Die Beobachtung, dass in den Organen der NZB/W-Mäusen nur bei CXCL10, nicht aber bei den restlichen beiden CXCR3-Liganden eine Veränderung der Expression feststellbar war, deutet darauf hin, dass die Expression der drei Chemokine unabhängig voneinander reguliert wird. Dies spricht dafür, dass CXCL10 hier nicht-redundante Funktionen im Entzündungsverlauf erfüllt. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass bei SLE-Patienten eine Korrelation zwischen der im Serum enthaltenen Menge an CXCL10 und dem schubweisen Auftreten der Krankheitssymptome besteht (90), während ein solcher Zusammenhang bei anderen Chemokinen nicht nachweisbar ist. Sowohl bei den Mäusen als auch in der humanen Erkrankung spielen Antikörper gegen verschiedene Autoantigene eine wichtige Rolle im Krankheitsverlauf (89). Ähnlich wie CXCL10 korreliert auch der Verlauf der Serumtiter von Anti-DNA-Antikörpern mit dem schubweisen Auftreten von Krankheitssymptomen bei SLE-Patienten (89). Es ist denkbar, dass während eines Krankheitsschubes ASC entstehen, die Anti-DNA-Antikörper produzieren und dass diese ASC dann mit Hilfe von CXCL10 bzw. CXCR3 ins entzündete Gewebe rekrutiert werden. Weiterhin ist in diesem Zusammenhang zu erwähnen, dass die Autoantikörpertiter bei IFN- $\gamma$ -defizienten NZB/W-Mäusen stark erniedrigt sind und dass diese Tiere weniger häufig an einer Glomerulonephritis erkranken (160). Es ist bekannt, dass die Expression von CXCL10 durch IFN- $\gamma$  induziert wird (113).

Es stellte sich die Frage, ob die CXCR3-Liganden und CXCL12 auf denselben ASC Chemotaxis auslösen konnten, oder ob diese beiden Chemokinrezeptoren zwei unterschiedliche Populationen von ASC kennzeichneten. Falls letzteres zuträfe, so müsste sich der Anteil der ASC, der einzeln zu CXCL12 bzw. zu den CXCR3-Liganden migriert, bei

einem Gemisch aus beiden Chemokinen summieren. Dies war jedoch nicht der Fall, wie Abb. 13 zeigt. Die Population, die zu CXCR3-Liganden wanderte, war also ebenso für chemotaktische Signale über CXCR4 empfänglich. CXCL12 scheint daher für die Positionierung der ASC in beiden Fällen eine Rolle zu spielen, während CXCR3-Liganden ausschließlich für die Migration ins entzündete Gewebe zuständig sind. Eine Rolle von CXCR4 im Entzündungsgeschehen wurde in mehreren Studien gezeigt (161, 162). Es könnte sein, dass CXCR3 zunächst ein Eintreten der ASC ins entzündete Gewebe ermöglicht. Nachdem die Zellen dort angekommen sind, könnte CXCR4 bei der Positionierung und/oder Retention der ASC mitwirken, und auch eine Funktion für CXCL12 als Überlebensfaktor kommt in Frage. Solche ASC, die nicht zu CXCR3-Liganden migrieren, würden somit nicht ins entzündete Gewebe gelangen. Sie hätten dann aber die Möglichkeit, mit Hilfe von CXCR4 ins Knochenmark zu wandern.

### **6.3 Ausblick**

Basierend auf den hier gewonnenen Erkenntnissen soll nun das Migrationsverhalten von ASC detaillierter untersucht werden. Mit der Verfügbarkeit eines Antikörpers gegen den murinen CXCR3-Rezeptor wird es möglich sein, die Expression dieses Rezeptors auf den ASC in verschiedenen Geweben und Entwicklungsstadien zu analysieren. An CXCR3-defizienten Mäusen kann direkt überprüft werden, ob der Rezeptor an der Migration der IgG-ASC in entzündete Gewebe beteiligt ist. Insbesondere sollen auch die vermutlich unterschiedlichen Funktionen, die CXCR3 und CXCR4 auf den ASC besitzen, untersucht werden. Dabei deuten die bisherigen Resultate zumindest bezüglich CXCR4 auf einen Regulationsmechanismus der Signaltransduktion unterhalb der Rezeptorebene, dessen genaue Analyse aufschlussreich sein könnte.

Schließlich muss auch die wichtige Rolle, die Adhäsionsmoleküle wie Selektine und Integrine bei der Extravasation spielen, berücksichtigt werden. Die Chemokine bewirken eine Aktivierung der Adhäsionsmoleküle, was den Übertritt der Zellen ins Gewebe ermöglicht (64). Es existieren bereits Publikationen, in denen die Expression von Adhäsionsmolekülen auf Plasmazellen analysiert wurde. Dabei konnte gezeigt werden, dass murine IgG-Plasmazellen die Integrine  $\alpha_4\beta_1$  (163) sowie leukocyte function-associated antigen 1 (LFA-1) tragen, außerdem CD44 und P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) (164). Es wurde auch gezeigt, dass  $\alpha_4\beta_1$  an der Einwanderung von verschiedenen Zellarten ins Knochenmark (165) und in Entzündungsgebiete (166-168) beteiligt ist. Um ein komplettes Bild der Migration der

ASC zu erhalten ist es nötig, das Zusammenspiel von Chemokinen und Adhäsionsmolekülen auf diesen Zellen zu untersuchen.

Durch die Erforschung der Migration von ASC könnten sich in Zukunft Möglichkeiten finden, Einfluss auf die Funktion dieser Zellen zu nehmen. Denkbar ist beispielsweise, dass man ASC, die protektive Antikörper produzieren, gezielt ins Knochenmark dirigiert. Umgekehrt ist es aber auch vorstellbar, dass man die Einwanderung von ASC in chronisch entzündete Gewebe verhindert und so beispielsweise neue Wege in der Behandlung Antikörper-vermittelter Autoimmunerkrankungen findet.