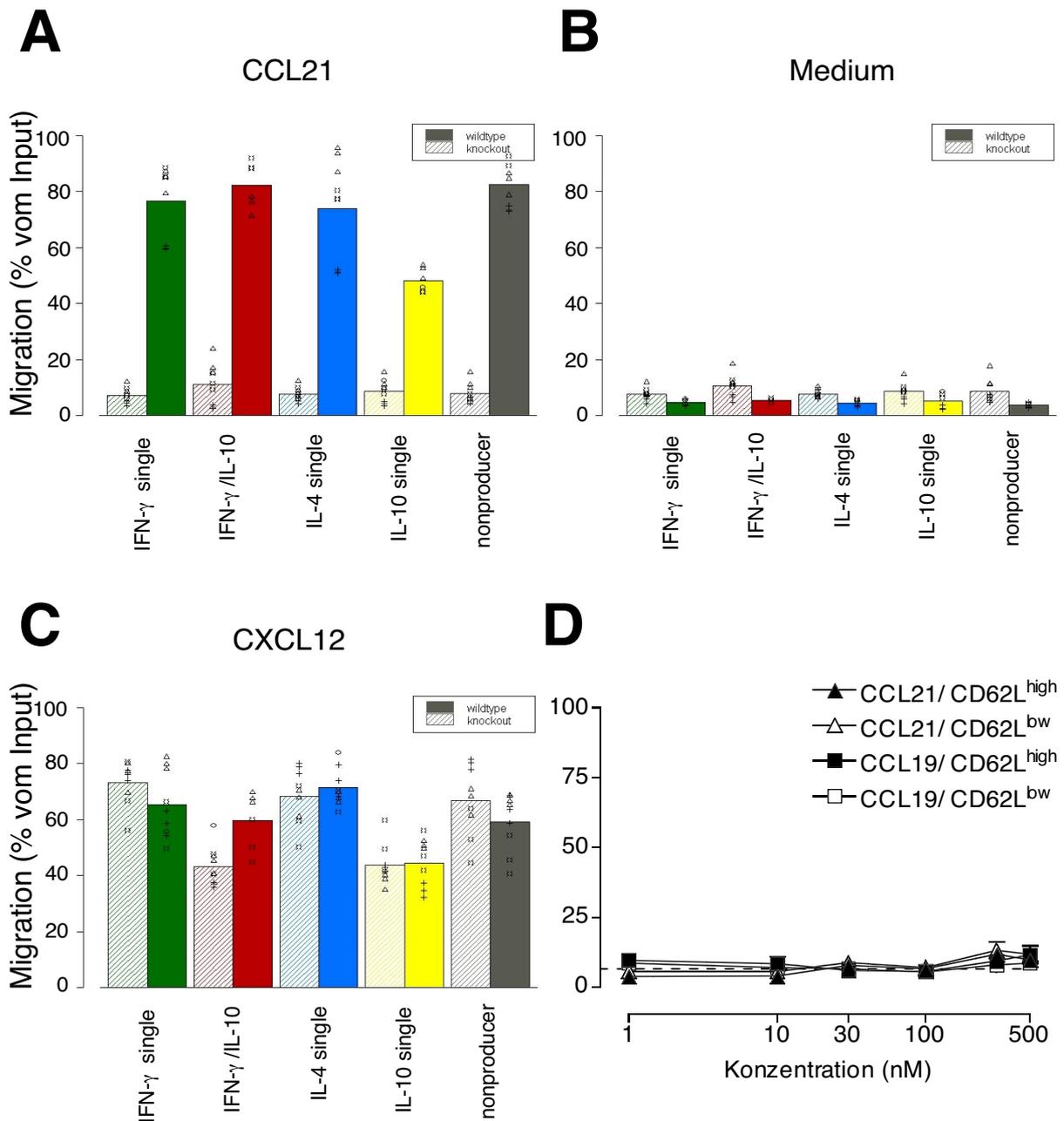


**Abbildung 12: Chemotaktisches Antwortprofil verschiedener zytokinproduzierender CD4<sup>+</sup> T-Zellsubpopulationen *ex vivo* zu CCL21 von BALB/c und 129Sv-Mäusen.**

Chemotaxis CD4<sup>+</sup> Zytokinproduzenten aus Milzen von Mäusen auf 129Sv- und BALB/c- Hintergrund zu CCL21 und Medium wurde *ex vivo* getestet, im FACS analysiert und Migration CD4<sup>+</sup> Zellen in drei Kammern/Chemokin quantifiziert. Zur Zytokinanalyse wurden Aliquots von Input- und migrierten Zellen für 4h mit PMA/ Ionomycin stimuliert und intrazellulär für IL-4, IL-10 und IFN- $\gamma$  angefärbt. Die Ergebnisse zeigen den Prozentsatz migrierter Zellen, der entsprechenden Subpopulation, der in die untere Kammer gelangte. Dargestellt ist der Mittelwert  $\pm$  SD eines durchgeführten Versuchs. Die gemessenen Einzelwerte sind im Tabellenanhang angegeben.

Nun konnten die Versuche mit CCR7-defizienten- und Wildtyp-Mäusen durchgeführt werden. Die Wildtyptiere waren, je nach Versuch, Wurfgeschwister bzw. Geschwister oder ähnlich eng verwandte Tiere, die in Gruppen gleichen Geschlechts und Alters eingesetzt wurden. Abb. 13 zeigt, dass CCR7-Wildtyp-Zellen die gleiche hohe Bereitschaft zur Chemotaxis gegen CCL21 besaßen, wie auch schon in vorigen Experimenten für T-Zellen aus BALB/c-Mäusen gezeigt (Abb. 13A). Hingegen wiesen CCR7-defiziente Zellen eine der Basalmigration entsprechende, reduzierte Migration zu CCL21 auf (Abb. 13A, B). CCR7<sup>-/-</sup> und CCR7<sup>+/+</sup> T-Zellen zeigten allerdings die gleiche Migrationskapazität gegen CXCL12 zu migrieren, so dass ein genereller Migrationsdefekt CCR7-defizienter Zellen ausgeschlossen werden konnte (Abb.13C). Somit benutzten CD4<sup>+</sup>-Effektor/Memory-Zellen keinen anderen Rezeptor als CCR7, um in diesen Versuchsansätzen (Abb. 11-13) gegen CCL21 zu migrieren. Um dies noch weiter abzusichern, wurden die beiden CCR7-Liganden CCL21 und CCL19 an CCR7-defizienten- T-Zellen austitriert. Abb. 13D zeigt, dass CCR7-defiziente-Memory (CD62L<sup>low</sup>) und naive (CD62L<sup>high</sup>) T-Zellen zwischen 1 und 500 nM keine Reaktivität zu diesen Chemokinen zeigten.



**Abbildung 13: Chemotaktisches Antwortprofil zytokinproduzierender CD4<sup>+</sup> T-Zellen aus Milzen von CCR7<sup>-/-</sup> und CCR7<sup>+/+</sup> Mäusen.**

Die chemotaktische Antwort von CD4<sup>+</sup>-Milzzellen aus CCR7-Wildtyp (wildtype, blasse Balken) oder CCR7-defizienten (knockout, ausgefüllte Balken) Mäusen wurde gegen CCL21 (A), Medium (B) und CXCL12 (C) *ex vivo* im Chemotaxisassay getestet, im FACS analysiert und Migration von CD4<sup>+</sup> Zellen in drei Kammern/Chemokin quantifiziert. A-C, zur Zytokinanalyse wurden Aliquots von Input- und migrierten Zellen, für 4h mit PMA/ Ionomycin stimuliert und intrazellulär für IL-4, IL-10 und IFN- $\gamma$  angefärbt. Die Ergebnisse zeigen den Prozentsatz migrierter Zellen der entsprechenden Subpopulation, der in die untere Kammer gelangte. D, Migration von CD62L<sup>high</sup> und CD62L<sup>low</sup>-exprimierender CCR7<sup>-/-</sup> CD4<sup>+</sup> T-Zellen zu CCL19 sowie CCL21. Die gepunktete Linie zeigt die Migration gegen Medium. (A-C) Der Mittelwert und die gemessenen Einzelwerte von jeweils drei unabhängigen Versuchen sind dargestellt, wobei jeder Versuch mit einem anderen Symbol gekennzeichnet ist. (D) Dargestellt ist der Mittelwert  $\pm$  SD eines typischen von drei unabhängigen Experimenten, wobei die Einzelwerte im Tabellenanhang angegeben sind.

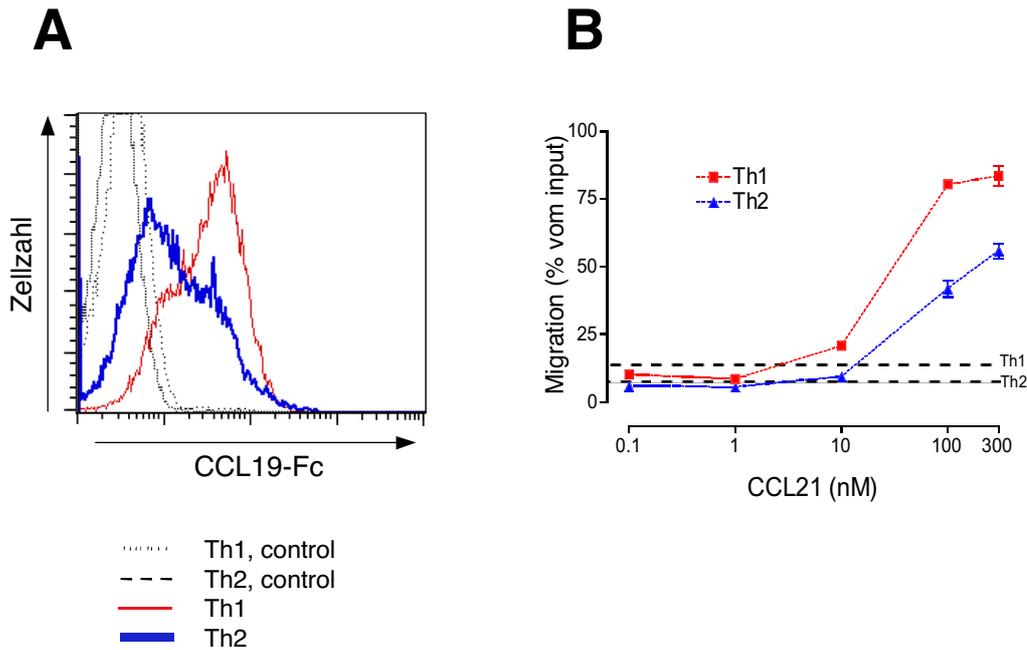
#### **4.1.6. Migration *in vitro* polarisierter Th1- und Th2-Zellen zu CCL21 und Expression des korrespondierenden Rezeptors CCR7**

Randolph et al. (76) hatten gezeigt, dass *in vitro* polarisierte Th1-Zellen, im Gegensatz zu Th2-Zellen CCR7 exprimieren und auch differentiell mit  $Ca^{2+}$ -Flux auf Aktivierung mit CCR7-Liganden reagieren. Die Versuche mit *in vivo* entstandenen Effektor/Memory-Zellen ließen aber keine Präferenz in der Chemotaxis einer Subpopulation erkennen (Abb.11-13). Deshalb wurde getestet, ob sich die Unterschiede zwischen *in vitro* differenzierten Th1- und Th2-Zellen reproduzieren lassen.

Um dies zu prüfen, wurden Th1- und Th2-Zellen, *in vitro*, im Ova-TCR-transgenen System durch Ag-spezifische Stimulation naiver T-Zellen mit OVA-Peptid und APC, unter polarisierenden Zytokinzusätzen, erzeugt. Nach zweifacher Polarisierung (Restimulation der T-Zellen am Tag 7) wurde am Tag 6 nach Restimulation der Erfolg der Polarisierung durch Stimulation mit PMA/Ionomycin und anschließender intrazellulärer Zytokinfärbung bestätigt. Zu diesem Zeitpunkt waren 70 % der Th1-Zellen positiv für IFN- $\gamma$  und weniger als 0,4 % für IL-4, von den Th2-Zellen exprimierten hingegen 40 % IL-4 und weniger als 0,8 % IFN- $\gamma$  (nicht gezeigt).

Am Tag 6 nach Restimulation wurden die T-Zellen auf ihre Fähigkeit getestet, gegen den CCR7-Liganden CCL21 zu migrieren. Gleichzeitig wurde Oberflächen-CCR7 durch Färbung mit dem CCR7-Liganden CCL19-Fc bestimmt. CCL19-Fc ist ein rekombinantes chimäres Protein, in dem CCL19 mit humanem Fc $\gamma$  fusioniert wurde und in einem weiteren Färbeschritt mit einem anti-human Fc $\gamma$ -Ak nachgewiesen werden kann (141).

Abb. 14A zeigt, dass *in vitro* erzeugte Th1-Zellen mehr CCR7 exprimieren, da diese CCL19 bedeutend effizienter banden. Allerdings färbten auch ca. 40 % der Th2-Zellen positiv für den Rezeptor (Th1-Zellen zu 80 % positiv). Auch in der Migrationseffizienz zeichneten sich Th1-Zellen dadurch aus, sich besser von CCL21 anlocken zu lassen (Abb. 14B). Diese Unterschiede waren aber nicht absolut, wenn sich auch maximal 85 % der Th1-Zellen rekrutieren ließen, so wanderten immerhin noch 55 % der Th2 Zellen zu CCL21 (Abb. 14B).



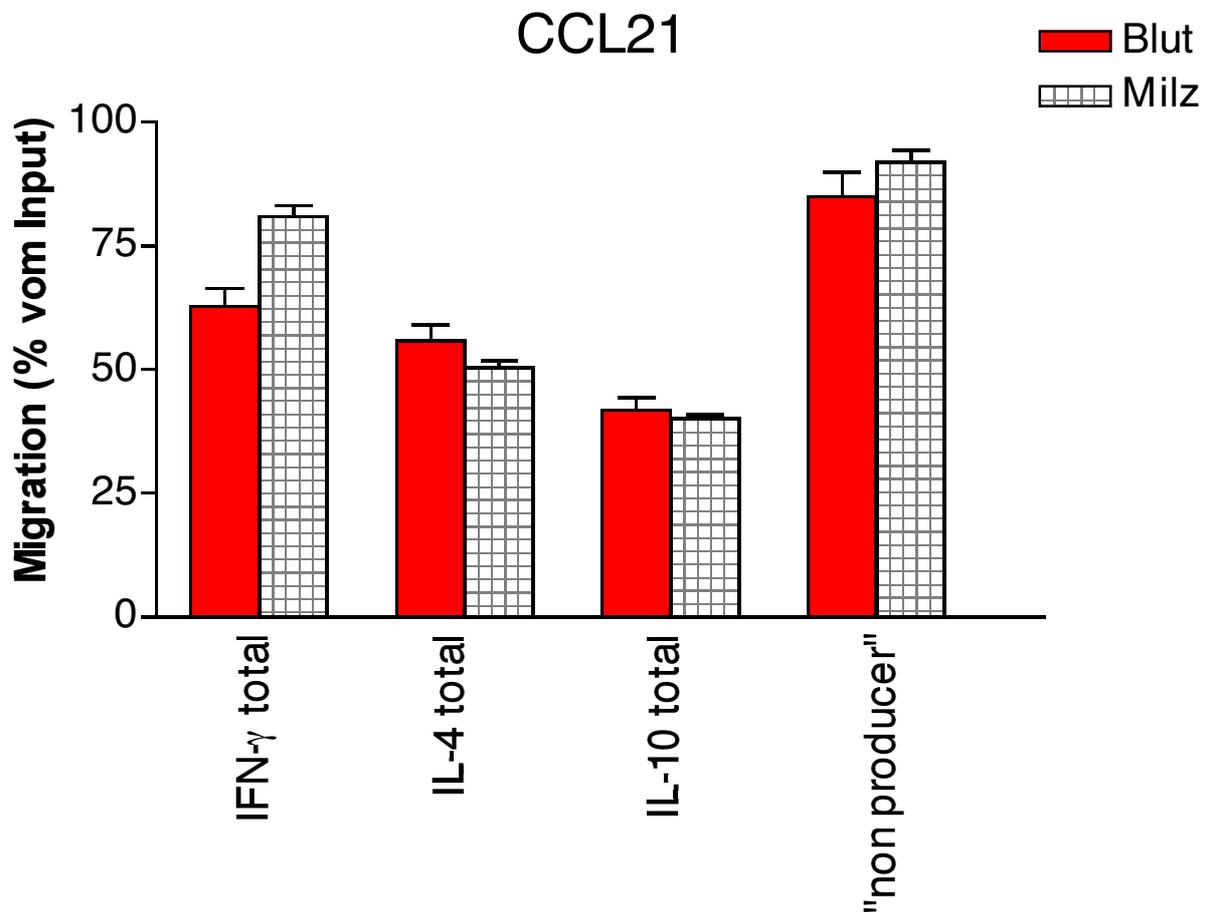
**Abbildung 14: CCR7-Oberflächenexpression und chemotaktische Antwort zu CCL21 *in vitro* differenzierter Th1- und Th2- Zellen.**

OVA-TCR-transgene naive T-Zellen wurden mit APC und OVA unter polarisierenden Bedingungen kultiviert, am Tag 7 unter gleichen Bedingungen restimuliert und am Tag 6 nach Restimulation, mittels CCL19-Fc, für CCR7 angefarbt (**A**) bzw. Chemotaxis zu CCL21 im Chemotaxisassay getestet (**B**). **A**, die mittels FACS ermittelte Bindung von CCL19-Fc wurde als Histogramm aufgetragen. **B**, die Migrationskapazität der Th1- und Th2-Zellen zu verschiedenen Konzentrationen von CCL21 wurde ermittelt. Hierfür wurde die Zellmigration in drei Kammern/Titrationstufe im FACS quantifiziert. Der Mittelwert  $\pm$  SD eines Versuchs ist dargestellt. Die gemessenen Einzelwerte sind im Tabellenanhang angegeben. Die gepunkteten Linien zeigen die Migration zu Medium ohne Chemokinzusatz. Einer von zwei ähnlichen Versuchen ist dargestellt.

#### 4.1.6. Vergleich der Migration von Zytokinproduzenten aus Blut und Milz zu CCL21

Im humanen System gab es Berichte, dass Effektor/Memory T-Zellen aus dem peripheren Blut CCR7 wären. Da die in der hier vorliegenden Studie analysierten murinen Effektor/Memory T-Zellen aus der Mäusemilz dagegen vorwiegend positiv für diesen Rezeptor waren, musste geklärt werden, ob CCR7-Expression kompartimentabhängig ist. Hierfür wurde die Fähigkeit, von murinen CD4<sup>+</sup>-Zytokinproduzenten aus dem Blut gegen CCL21 zu wandern, mit Effektor/Memory T-Zellen, die aus Milzen der gleichen Tiere isoliert wurden, verglichen. Da sich aus Mäuseblut nur eine sehr geringe Menge an Zellen isolieren lässt, wurden die Tiere mit Ova/Alum immunisiert, um größere Zellzahlen für den Chemotaxisassay zu erhalten. Abb. 15 zeigt, dass sich Effektor/Memory-Zellen aus dem Blut

und der Milz immunisierter Tiere prinzipiell nicht in ihrer Fähigkeit unterschieden gegen CCL21 zu migrieren. Sowohl zytokinproduzierende T-Zellen aus der Milz als auch aus dem Blut ließen sich im Mittel zu ca. 60 % von CCL21 anlocken (Abb. 15).



**Abbildung 15: Chemotaktisches Antwortprofil zytokinproduzierender CD4<sup>+</sup> T-Zellen aus Milzen und Blut Ova/Alum-immunisierter Mäuse.**

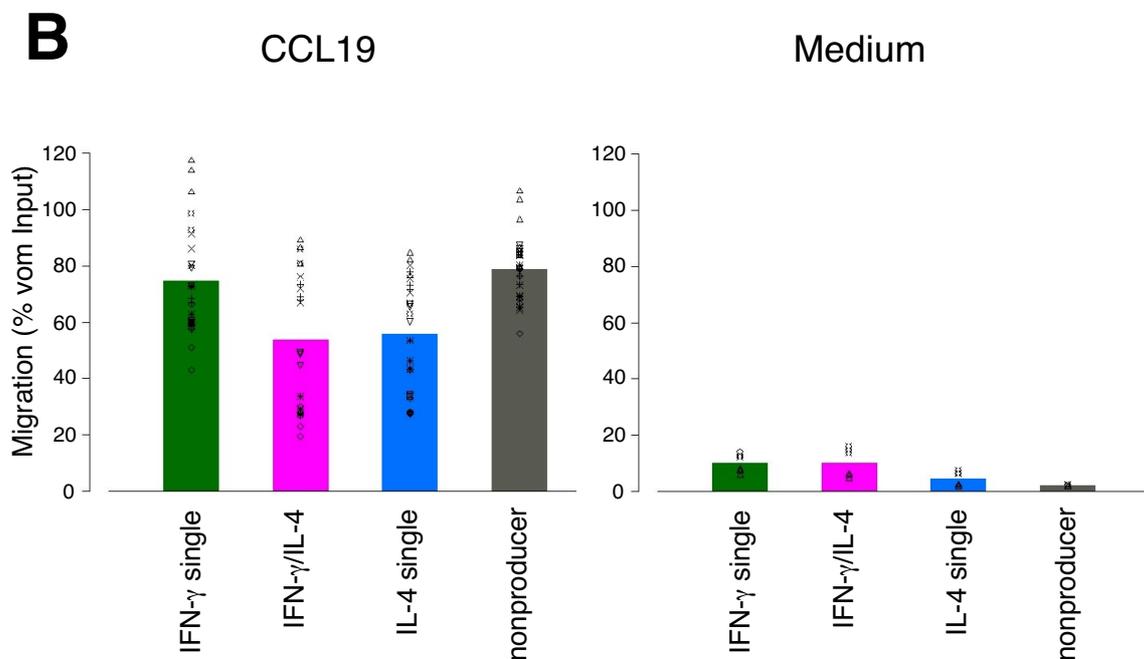
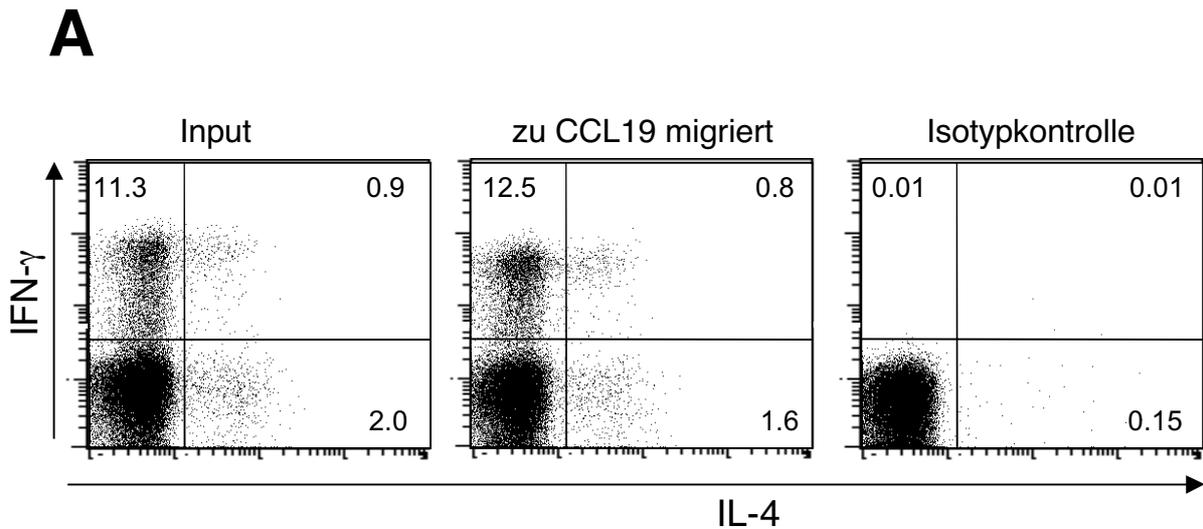
Die chemotaktische Antwort CD4<sup>+</sup> Milz- und Blutzellen aus 10 Tieren wurde gegen CCL21 *ex vivo* im Chemotaxisassay getestet, im FACS analysiert und Migration CD4<sup>+</sup> Zellen in drei Kammern/Chemokin quantifiziert. Zur Zytokinanalyse wurden Aliquots von Input- und migrierten Zellen, für 4h mit PMA/Ionomycin stimuliert und intrazellulär für IL-4, IL-10 und IFN- $\gamma$  angefärbt. Die Ergebnisse zeigen den Prozentsatz migrierter Zellen, der entsprechenden Subpopulation, der in die untere Kammer gelangte. „total“ bedeutet, dass die Zellen positiv für das angegebene Zytokin sind. „Non producer“ sind negativ für IL-4, IL-10 und IFN- $\gamma$ . Der Mittelwert  $\pm$  SD eines Versuchs ist dargestellt. Die gemessenen Einzelwerte sind im Tabellenanhang angegeben.

#### **4.1.7. Migrationsprofil zytokinproduzierender T-Zellen aus humanem Blut zu CCL19**

Die Daten mit murinen Effektor/Memory- Zellen zeigten eindeutig, dass die Mehrheit dieser Zellen in Abhängigkeit von CCR7 zu den entsprechenden Liganden migrierte.

Da es im humanen System aufgrund kontroverser Daten nicht klar war, ob IL4/IFN- $\gamma$ -Produzenten CCR7 exprimieren, konnten die Daten im Maussystem auch damit erklärt werden, dass es Speziesunterschiede zwischen Maus und Mensch gibt. Um dies auf funktionellem Wege zu testen, wurde die Migration von IL-4 und/oder IFN- $\gamma$  produzierenden CD4<sup>+</sup> T-Zellen aus dem peripheren Blut freiwilliger gesunder Spender gegen CCL19 analysiert. In diesem Fall wurde CCL19 und nicht CCL21 gewählt, da für dieses Chemokin bisher kein anderer funktioneller korrespondierender Rezeptor als CCR7 beschrieben wurde. Hierfür wurden periphere mononukleäre Blutzellen (PBMCs) aus frischen heparinisierten Blutproben mittels Dichtegradientenzentrifugation aufgereinigt und anschließend im Chemotaxisassay eingesetzt. Die Analyse erfolgte analog den Mauszellen, mit der Ausnahme, dass jeder Spender einzeln analysiert wurde. Lediglich für die Mediumkontrolle wurden die Zellen verschiedener Spender direkt vor Einsatz im Assay zu gleichen Verhältnissen gemischt. Quantifizierung und Zytokinanalyse erfolgten wieder analog der Vorgehensweise bei den Mauszellen, wobei die Zellen zusätzlich zu CD4 auch für CD3 angefärbt wurden, so dass alle Analysen für CD3/CD4 doppelt-positive Zellen vorgenommen wurden, um humane Monozyten (CD4-intermediär exprimierend) von der Analyse auszuschließen.

Bereits die FACS-Analyse der Frequenzen von Zytokinproduzenten eingesetzter und migrierter Zellen zeigte, dass Zytokinproduzenten und Nichtproduzenten ähnlich effizient migriert sind, da kaum Frequenzänderungen zwischen Input und migrierter Fraktion feststellbar waren (Abb.16A). Eine genaue Quantifizierung (Abb.16B) zeigte, dass die Mehrzahl (im Mittel ca. 60 %) humaner IL-4 und/oder IFN- $\gamma$ -produzierender T-Zellen zu dem CCR7-Liganden CCL19 migriert sind. Auch hier fand sich keine bevorzugte Reaktivität einer Subpopulation: zwischen IL-4 und/ oder IFN- $\gamma$ - positive T-Zellen finden sich im Mittel nur geringe Unterschiede in der Migrationseffizienz (Abb. 16B).



**Abb. 16: Chemotaktisches Antwortprofil humaner Zytokin-produzierender CD4<sup>+</sup> T-Zellen zu CCL19.**

Humane PBMCs von gesunden Spendern wurden *ex vivo* im Chemotaxisassay auf ihre Fähigkeit, gegen CCL19 zu migrieren, getestet, im FACS analysiert und die Migration CD3<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> Zellen in drei Kammern/Chemokin quantifiziert. Für die Zytokinanalyse wurden Aliquots von Input- und migrierten Zellen für 4h mit PMA/Ionomycin stimuliert und intrazellulär für IL-4 und IFN- $\gamma$  angefärbt. Die Ergebnisse zeigen den Prozentsatz migrierter Zellen der entsprechenden Subpopulation, der in die untere Kammer gelangte. **A**, FACS-Analyse der Input- und zu CCL19-migrierten Zellen. Gezeigt sind CD3/CD4 doppelt-positive Zellen eines repräsentativen Spenders. **B**, Antwortprofil der unterschiedlichen Zytokinsubpopulationen. Jeder Spender wurde individuell analysiert, lediglich für die Mediumkontrolle wurden gleiche Anteile an Zellen je Donor direkt vor der Migration zusammengefügt. Der Mittelwert und die gemessenen Einzelwerte von neun verschiedenen Spendern aus zwei unabhängigen Versuchen sind dargestellt, wobei jeder Spender mit einem anderen Symbol gekennzeichnet ist. Messwerte über 100 % lassen sich durch immer vorhandene Schwankungen der Messgenauigkeit bei der Analyse von Input- und migrierten Zellen erklären.

#### 4.1.8. Expressionshöhe von CCR7 auf naiven und Effektor/Memory T-Zellen

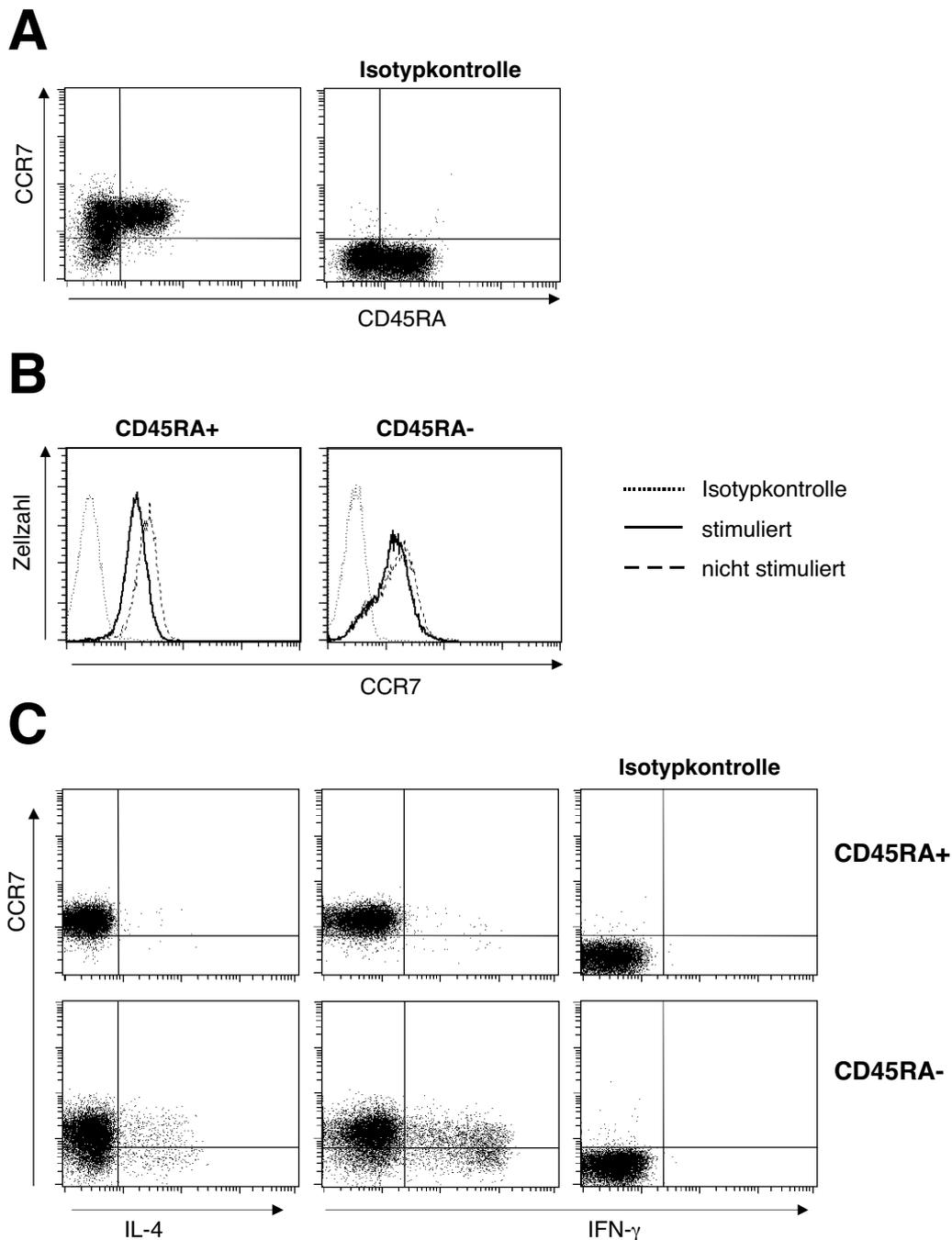
Die in dieser Studie durchgeführten Versuche zeigten, dass die Mehrzahl der Effektor/Memory T-Zellen CCR7-abhängig gegen CCR7-Liganden migriert (Abb. 13). Unterschiede zu den Ergebnissen von Sallusto et al. (61), die zeigten, dass Effektor/Memory T-Zellen CCR7<sup>-</sup> sind, könnten damit erklärt werden, dass Effektor/Memory-Zellen wenig CCR7 auf der Zelloberfläche exprimierten, das aber durchaus funktionell wäre.

Um aus diesem Grund die Expressionshöhe von CCR7 auf der Zelloberfläche von CD4<sup>+</sup> Effektor/Memory-Zellen aus humanem peripheren Blut oder Mäusemilz zu bestimmen, wurden CD4<sup>+</sup> Zellen mittels MACS-Technologie isoliert und mit PMA/Ionomycin stimuliert. Anschließend wurde auf humanen Zellen CD45RA als Marker für naive Zellen und CCR7 gefärbt. Mauszellen wurden mit CCL19-Fc angefärbt. Nach erfolgter Oberflächenfärbung wurden die Zellen fixiert und intrazellulär IL-4 und IFN- $\gamma$  (human) oder IFN- $\gamma$  und IL-10 bzw. IL-4 (murin) detektiert. Kontrollzellen wurden mit Ausnahme der Stimulationsbehandlung (PMA/Ionomycin, Brefeldin A) gleichbehandelt.

In Übereinstimmung mit Ergebnissen aus der Literatur (60, 61) zeigt Abb. 17A, dass humane unstimulierte naive T-Zellen (CD45RA<sup>+</sup>) eine uniform hohe, CD45RA<sup>-</sup>-Memory T-Zellen hingegen sehr heterogene Expression von CCR7 hatten.

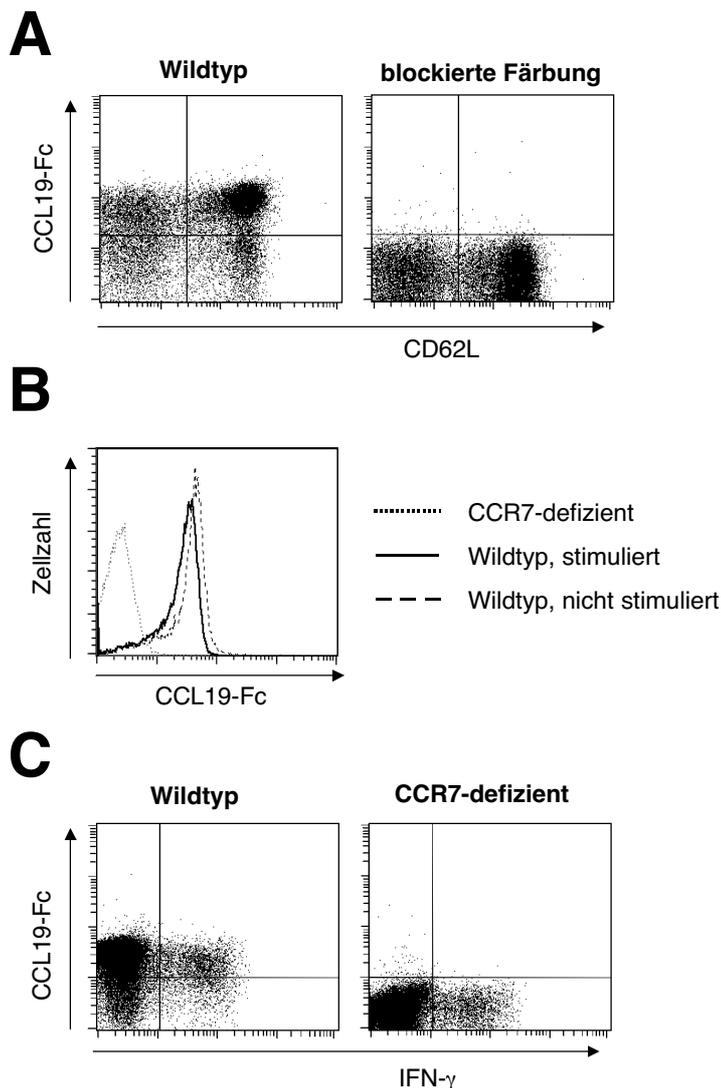
Ein ähnliches Bild ergab sich bei der Analyse der Mauszellen, wobei naive CD62L<sup>high</sup>-exprimierende T-Zellen etwas heterogener in der CCR7-Expression waren, als humane naive T-Zellen (Abb.17, 18).

Durch die 4h-Stimulation humaner oder muriner T-Zellen wurde keine erhöhte Oberflächenexpression von CCR7 induziert; im Gegenteil, es war ein leichter Abfall der Expression erkennbar (Abb.17B und Abb.18B). Somit konnte davon ausgegangen werden, dass in der weiteren Analyse keine Zellen als „CCR7-positiv“ detektiert wurden, die es nicht auch schon vor der Stimulationsbehandlung waren.



**Abbildung 17: FACS-Analyse der CCR7- Oberflächenexpression auf naiven und Effektor/Memory CD4<sup>+</sup> T-Zellen aus humanem peripheren Blut.**

MACS-sortierte CD4<sup>+</sup> T-Zellen aus dem peripheren Blut wurden für CD45RA und CCR7 gefärbt. **A**, CCR7-Expression auf unstimulierten naiven und Memory T-Zellen. **B**, Effekt der PMA/ Ionomycin-Stimulation auf die CCR7-Expression. CD4<sup>+</sup> T-Zellen wurden hierfür 4h mit PMA/ Ionomycin stimuliert oder unbehandelt als Kontrolle mitgeführt, anschließend für CCR7 und CD45RA gefärbt, fixiert und permeabilisiert. **C**, CCR7-Expression und intrazelluläre Zytokinfärbung nach Stimulation für CD45RA<sup>+</sup> (*obere Reihe*) und CD45RA<sup>-</sup> (*untere Reihe*) T-Zellen. Die Daten zeigen ein typisches Beispiel von acht individuell analysierten Spendern aus drei unabhängigen Experimenten.



**Abbildung 18: FACS-Analyse der CCR7- Oberflächenexpression auf naiven und Effektor/Memory CD4<sup>+</sup> T-Zellen aus der murinen Milz.**

Murine CD4<sup>+</sup> T-Zellen von BALB/c- Wildtyp oder CCR7-defizienten Tieren wurden entweder für CD4<sup>+</sup> gefärbt (A) oder MACS-sortiert (B, C) und die Bindung an CCL19-Fc getestet (A-C). A, CCL19-Fc-Bindung und CD62L-Koexpression muriner CD4<sup>+</sup> Milzzellen. B, CD4<sup>+</sup> T-Zellen von CCR7-Wildtyp und -defizienten Tieren wurden für 4h mit PMA/ Ionomycin stimuliert, fixiert und permeabilisiert oder kontrollbehandelt und (C) zusätzlich intrazellulär für IFN- $\gamma$  gefärbt. Die Daten zeigen ein typisches Beispiel von drei unabhängigen Experimenten mit jeweils zwei bis drei zusammen analysierten Tieren pro Gruppe.

Eine Analyse der CCR7-Expression von humanen Zytokinproduzenten zeigte, dass die Mehrzahl der humanen IFN- $\gamma$ - oder IL-4-positiven Memory T-Zellen (CD45RA<sup>-</sup>) positiv für CCR7 färbten, auch wenn die Expression sehr heterogen ausfiel. Selbst nach Stimulation und

intrazellulärer Färbung waren naive ( $CD45RA^+$ ) T- Zellen noch immer uniform positiv für CCR7 und produzierten erwartungsgemäß weder IL-4 noch IFN- $\gamma$  (Abb.17C).

Bei Gesamt- $CD4^+$ -Zellen aus der Maus ergab sich ein ähnliches Bild. Auch hier färbte der Großteil der IFN- $\gamma$ - Produzenten positiv für CCR7, was durch Bindung von CCL19-Fc detektiert wurde (Abb.18D). CCR7-defiziente T-Zellen waren nicht in der Lage CCL19-Fc zu binden, was auf eine sehr spezifische Bindung an CCR7 hinwies und bestätigte, dass diese T-Zellen keinen weiteren dominanten Rezeptor für CCL19 exprimierten.

#### **4.1.9. Ist die Einwanderung von Effektorzellen in entzündetes Gewebe abhängig von CCR7?**

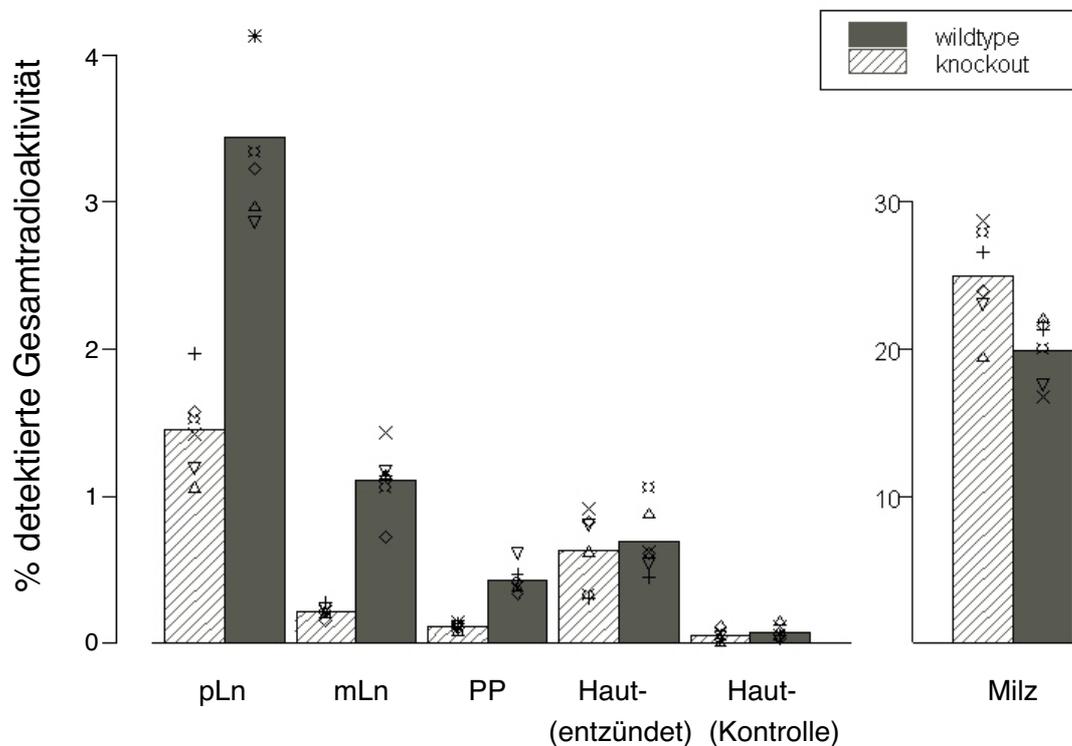
Da Effektor/Memory-Zellen sich so effektiv von CCR7-Liganden rekrutieren ließen, stellte sich die Frage, ob CCR7-Liganden, neben ihren Funktionen in sekundären lymphatischen Organen, nicht auch von Bedeutung sind bei der Einwanderung von Effektorzellen in entzündete Gewebe. Um dies zu testen, wurden naive ( $CD62L^{high}$ )  $CD4^+$  T-Zellen aus den Milzen von CCR7-Wildtyp und -defizienten Mäusen an anti-CD3-, anti-CD28-benetzten Platten und polarisierenden Zytokinen (IL-12, IFN- $\gamma$ ) zu Th1-Zellen differenziert. Am Tag 6 der Kultur produzierten die Th1- Zellen jeweils zu ca. 40 % IFN- $\gamma$  nach Stimulation mit PMA/Ionomycin (nicht gezeigt). Parallel dazu wurden die Th1-Zellen mit  $^{51}Cr$  radioaktiv markiert und in Mäuse transferiert, die eine DNFB-induzierte, DTH-ähnliche Hautentzündung trugen.

Nach 3h wurde das Wanderungsverhalten der  $CCR7^{+/+}$ - und  $CCR7^{-/-}$ -Th1-Zellen, anhand der Verteilung von Radioaktivität in den einzelnen Organen ermittelt. Abb. 19 zeigt, dass sowohl CCR7-Wildtyp als auch -defiziente Th1 Zellen -im Vergleich zur Kontrollhaut- verstärkt und in vergleichbarem Umfang in das entzündete Hautareal eingewandert sind. Somit erschien die Einwanderung von Th1-Effektorzellen in diese Entzündung unabhängig von CCR7.

Im Vergleich zu Wildtyp-Zellen war die Einwanderung CCR7-defizienter Th1-Zellen in mesenteriale Lymphknoten sowie Peyer'sche Plaques stark reduziert (Abb. 19). Der Unterschied war signifikant ( $p=0,004$ ).

Diese Unterschiede zeigten, dass auch Effektorzellen den CCR7-CCL19/CCL21 Weg nutzten, um in lymphatische Organe zu rezirkulieren. Die Reduktion der Einwanderung von  $CCR7^{-/-}$  Th1-Zellen in die peripheren Lymphknoten war zwar signifikant ( $p=0,004$ ), aber weniger drastisch (Abb. 19). Das Erreichen der Milz als solches war nicht beeinträchtigt; dies ist nicht

verwunderlich, da bekannterweise die Einwanderung in dieses Organ unabhängig von CCR7 und seinen Liganden erfolgt (68, 69).



**Abbildung 19: Homing *in vitro* erzeugter Th1-Zellen von CCR7<sup>-/-</sup> und CCR7<sup>+/+</sup> Tieren in lymphatische Organe und die entzündete Haut.**

Durch polyklonale Stimulation differenzierte Th1-Zellen aus CCR7-Wildtyp (wildtype) bzw. CCR7-defizienten (knockout) Tieren wurden am Tag 6 der Kultur radioaktiv mit <sup>51</sup>Cr markiert und i.v. über die Schwanzvenen in BALB/c-Mäuse übertragen, die an jeweils einer Flanke eine DNFB-induzierte Hautentzündung trugen. Nach 3h wurde die Verteilung der Zellen anhand der gemessenen Radioaktivität in Haut, lymphatischen Organen und dem Körperrest ermittelt. Dargestellt ist der Prozentsatz markierter Zellen, der in Haut und lymphatische Organe von sechs Tieren pro Gruppe einwanderte. Es sind der Mittelwert und die gemessenen Einzelwerte jedes Einzeltieres dargestellt, wobei für jede Maus ein anderes Symbol steht. Eines von zwei ähnlichen Experimenten ist abgebildet. Abkürzungen: pLn, periphere Lymphknoten; mLn, mesenteriale Lymphknoten; PP, Peyer'sche Plaques.

#### 4.2. Migration zu induzierbaren (inflammatorischen) Chemokinen in Homöostase und nach Immunisierung

Für eine Reihe von inflammatorischen Chemokinen wurde beschrieben, dass diese differentiell auf Th1- und Th2- Zellen wirken und diese Zellen entsprechende Rezeptoren