

E. Knop¹ · N. Knop²

¹ Augenklinik-Forschungslabor, Charite-Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum, Abteilung für Zellbiologie in der Anatomie, Medizinische Hochschule Hannover

² Abteilung für Zellbiologie in der Anatomie, Medizinische Hochschule Hannover

Augen-assoziiertes lymphatisches Gewebe (EALT) durchzieht die Augenoberfläche kontinuierlich von der Tränendrüse bis in die ableitenden Tränenwege

Die Augenoberfläche wird neben der Kornea großflächig von der konjunktivalen Schleimhaut bedeckt. Eine ihrer Hauptaufgaben ist es, die Befeuchtung der Augenoberfläche durch die Stabilisierung des Tränenfilms sicherzustellen, um die Integrität und Transparenz der Kornea zu erhalten [22, 75]. Gleichzeitig ist die Augenoberfläche dabei verschiedenen Umwelteinflüssen ausgesetzt; dies beinhaltet neben physikalisch-chemischen Einflüssen vor allem eine Besiedelung durch Keime, die in unterschiedlichem Maße pathogen werden können [9, 68]. Obwohl die Konjunktiva im Vergleich zu anderen Schleimhäuten des Körpers eine recht direkte Exposition zur Außenwelt zeigt, ist sie doch erstaunlich resistent gegen Infektionen [66].

Das Schleimhautimmunsystem stellt einen wichtigen Faktor für die Erhaltung der Integrität von Schleimhautoberflächen dar

Dies wird zum Teil durch das unspezifisch chemische Abwehrsystem mit Hilfe antibakteriell aktiver Peptide und Proteine gewährleistet, die in der Tränendrüse, aber auch in der Konjunktiva selbst produziert werden [16, 29, 30, 65]. Daneben gibt es ein unspezifisches zelluläres Abwehrsystem durch Phagozytose [19, 81].

In neuerer Zeit wird zunehmend auch die Bedeutung des sog. Schleimhautimmunsystems als wichtiger Faktor für die Erhaltung der Integrität von Schleimhautoberflächen erkannt [12]. Die Schleimhautorgane des Körpers stellen einen Außenposten des Immunsystems dar und bilden zusammen das mukosaassoziierte lymphatische Gewebe („mucosa-associated lymphoid tissue“, MALT) [10, 55]. Die Organe dieses Systems sind durch die regulierte Wanderung lymphatischer Zellen verbunden [17, 77, 78]. Die lymphatischen Zellen werden in follikulär organisiertem lymphatischem Gewebe nach Antigenkontakt aktiviert und besiedeln später als Effektorzellen (Lymphozyten und Plasmazellen) das sog. diffuse lymphatische Gewebe [51] desselben oder anderer Schleimhautorgane. MALT dient neben der Erkennung und Abwehr von Antigenen [11] auch der Erzeugung einer Immuntoleranz gegen nicht pathogene Antigene [54] zur Vermeidung ständiger unnötiger Entzündungen [81].

Nachdem die Tränendrüse als Quelle des spezifischen Immunglobulin A (IgA) im Tränenfilm etabliert war [26], konzentrierten sich die Untersuchungen vor allem auf die Konjunktiva. Dort sind Lymphozyten und Plasmazellen schon seit längerer Zeit bekannt [1, 36, 58]. Die Frage jedoch, ob hier ein funktionell aktives lymphatisches Gewebe vorliegt, ist ungenügend untersucht. Ältere Studien hatten eine rein histologische Identifizierung verschiedener Zelltypen durchgeführt [1, 36, 58]. Spätere immunhistologische Untersuchungen dagegen waren meist auf kleine Gewebeproben von klinischen Biopsien beschränkt [24, 32, 70]. Hierdurch wird die Konjunktiva aber offensichtlich nicht in ihrer gesamten Ausdehnung repräsentiert, sodass in Abhängigkeit von der gewählten Untersuchungsregion teils widersprüchliche Befunde gewonnen wurden. Zum Beispiel schwanken die Angaben über die Menge und Verteilung lymphatischer Zellen in der Konjunktiva [7, 8, 24, 32, 70, 80]. Die ableitenden Tränenwege wurden im gleichen Zeitraum kaum untersucht. Neuere Studien an Totalpräparaten [39] der Konjunktiva [41, 50] und der ableitenden Tränenwege [44, 47, 59, 74] haben jedoch Belege dafür erbracht, dass in beiden Organen [40] Komponenten eines Schleimhautimmunsystems vorliegen, die entsprechend der englischen Nomenklatur als „conjunctiva-associated lymphoid tissue“ (CALT) [4, 50] bzw. als „lacri-

phatisches Gewebe vorliegt, ist ungenügend untersucht. Ältere Studien hatten eine rein histologische Identifizierung verschiedener Zelltypen durchgeführt [1, 36, 58]. Spätere immunhistologische Untersuchungen dagegen waren meist auf kleine Gewebeproben von klinischen Biopsien beschränkt [24, 32, 70]. Hierdurch wird die Konjunktiva aber offensichtlich nicht in ihrer gesamten Ausdehnung repräsentiert, sodass in Abhängigkeit von der gewählten Untersuchungsregion teils widersprüchliche Befunde gewonnen wurden. Zum Beispiel schwanken die Angaben über die Menge und Verteilung lymphatischer Zellen in der Konjunktiva [7, 8, 24, 32, 70, 80]. Die ableitenden Tränenwege wurden im gleichen Zeitraum kaum untersucht. Neuere Studien an Totalpräparaten [39] der Konjunktiva [41, 50] und der ableitenden Tränenwege [44, 47, 59, 74] haben jedoch Belege dafür erbracht, dass in beiden Organen [40] Komponenten eines Schleimhautimmunsystems vorliegen, die entsprechend der englischen Nomenklatur als „conjunctiva-associated lymphoid tissue“ (CALT) [4, 50] bzw. als „lacri-

Die Untersuchungen dieser Arbeitsgruppe über das Schleimhautimmunsystem der Augenoberfläche wurden mit dem Sicca-Preis 2000 and 2002 der „Arbeitsgruppe Trockenes Auge“ des BVA ausgezeichnet.

Tabelle 1

Daten zu Herkunft und Präparation der Gewebe

	Körperspender	Alter	Geschlecht (w:m)	Gewebe	Aufhellungspräparate	Paraffin	Kryo	REM	TEM
Konjunktiva	27	76,1 Jahre (SD 12,3)	16:11	53	34	7	4	2	6
Ableitende Tränenwege	31	79,5 Jahre (SD 13,8)	19:12	53	8	26	8	2	9
Tränendrüse	7	77,7 Jahre (SD 20,0)	4:3	9		9			

Tabelle 2

Daten der verwendeten Primärantikörper

Antikörper	Spezifität	Vertreiber	Typ
CD3	Pan-T-Lymphozyten	Sigma C7930	Kaninchen, polyklonal
CD8	Zytotoxische/Suppressor-T-Zellen	Dako M0707	Maus, monoklonal
CD20	Pan-B-Lymphozyten	Dako M0755	Maus, monoklonal
HML-1	Mukosaszpezifische Lymphozyten	Dako M0847	Maus, monoklonal
MHC-II	Haupthistokompatibilitätskomplex	Dako M0775	Maus, monoklonal
IgA	Immunglobulin A	Dako M0728	Maus, monoklonal
SC	Sekretorische Komponente	Dako A0187	Kaninchen, polyklonal

mal drainage-associated lymphoid tissue“ (LDALT) [44] bezeichnet werden. Dennoch ist unklar, ob und wie die Anteile des Schleimhautimmunsystems am Auge morphologisch zusammenhängen und wie sie zusammenwirken könnten, um gemeinsam die Integrität des Auges zu schützen.

Weiterhin ist die Anwesenheit der Komponenten des sekretorischen Immunsystems (Plasmazellen, IgA, und sein Transportermolekül sekretorische Komponente – SC), das spezifische IgA-Antikörper herstellt und an die Augenoberfläche befördert, in diesem System nur in der Tränendrüse akzeptiert [26]. Da IgA und SC in der Vergangenheit immunhistologisch nur inkonstant in der Konjunktiva nachgewiesen wurden, gilt trotz neuerer Untersuchungen [42, 43, 44, 50] immer noch die Tränendrüse als alleinige Quelle des IgA im Tränenfilm [2, 70, 72, 79].

Eine Klärung dieser Fragen und eine daraus folgende genauere Kenntnis der Immunsystems der Augenoberfläche ist allerdings von erheblicher klinischer Bedeutung. So gibt es Hinweise darauf, dass lymphatische Zellen nicht nur die physiologische Immunprotektion von Schleimhäuten sicherstellen, sondern bei Fehlregulation auch entzündliche Reaktionen beeinflussen können [53], wie sie bei im-

munologischen Erkrankungen und Infektionen der Augenoberfläche, aber auch bei häufigen Funktionsstörungen, z. B. aus dem Formenkreis des trockenen Auges, auftreten können [3, 5, 6, 25, 63].

Unser eigener Forschungsansatz zur Untersuchung des lymphatischen Gewebes der Augenoberfläche bezieht sich auf die Erfassung von kompletten Totalpräparaten der Konjunktiva des Menschen, die hier zusammen und im Vergleich mit der Tränendrüse und den ableitenden Tränenwegen untersucht wird.

Material und Methode

Gewebe

Es wurden komplette normale menschliche Gewebe der Konjunktiva (53), Tränendrüse (9) und der ableitenden Tränenwege (53) von Körperspendern aus der Anatomie untersucht. Dabei wurde nur Gewebe von Augen entnommen, die makroskopisch normal und reizfrei waren. Die Entnahme erfolgte an Leichen aus dem Anatomischen Institut der Medizinischen Hochschule Hannover. Dieses Gewebe stammte von Körperspendern, die zu Lebzeiten auf dem Wege einer Vermächtniserklärung ihre ausdrückliche Zustimmung zur Verwendung für Forschung und

Lehre erklärt hatten. Die Studie entspricht den Bedingungen der Deklaration von Helsinki. Das Durchschnittsalter der Verstorbenen lag am Ende des 7. Lebensjahrzehnts. Das Geschlechterverhältnis war relativ ausgeglichen mit einem leichten Überwiegen weiblicher Spender (s. Daten in [Tabelle 1](#)).

Präparation

Flache Aufhellungspräparate

Für die Übersicht und Auswertung in der Durchsicht wurde das Konjunktivagewebe nach der Präparation flach ausgebreitet [39] und dann durch Immersion in 4% Paraformaldehyd (in 0,1 M Natriumcacodylatpuffer, pH 7,4) oder einem Aldehydgemisch nach Karnovsky (2,5% Glutaraldehyd und 2% Paraformaldehyd in 0,1 M Natriumcacodylatpuffer, pH 7,4) [35] fixiert. Anschließend wurde das Gewebe in toto mit unverdünntem Meyer's Hämatoxilin (Fa. Merck) für 8 min gefärbt. Später erfolgte eine optische Klärung durch Immersion und Einbettung in Anisöl [36] oder in Methacrylat.

Zur Untersuchung der topographischen Verteilung des lymphatischen Gewebes wurden die geklärten Totalpräparate in der Durchsicht durch die gesamte Gewebedicke mit der Stereolupe analysiert und dokumentiert.

Schnittmorphologie

Zur histologischen Analyse wurden eingebettete Konjunktivalsäcke entlang vorgegebener Lokalisationen in Streifen von der marginalen Konjunktiva bis zum Limbus zersägt, um einen systematischen Anschnitt der verschiedenen Zonen (nasal, medial und temporal, [Abb. 6b](#)) zu erzielen. Die ableitenden Tränenwegssysteme wurden so getrennt, dass ein Anschnitt im Bereich der verschiedenen anatomi-

Ophthalmologie 2003 · 100:929–942
DOI 10.1007/s00347-003-0936-6
© Springer-Verlag 2003

E. Knop · N. Knop

Augen-assoziiertes lymphatisches Gewebe (EALT) durchzieht die Augenoberfläche kontinuierlich von der Tränendrüse bis in die ableitenden Tränenwege

Zusammenfassung

Hintergrund. Komponenten des Schleimhautimmunsystems (MALT) für die Intakterhaltung der Augenoberfläche befinden sich neben der Tränendrüse auch in der Konjunktiva (als CALT) und den ableitenden Tränenwegen (als LDALT). Ihr struktureller und funktioneller Zusammenhang ist allerdings noch ungeklärt.

Material und Methode. Es wurden normale Gewebe der Konjunktiva, der ableitenden Tränenwege und der Tränendrüse mittels Betrachtung von Aufhellungspräparaten, Histologie, Immunhistologie sowie Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie untersucht.

Ergebnisse. Ein typisches diffuses lymphatisches Gewebe aus Effektorzellen des Immunsystems unter einem Epithel, das den IgA-Trans-

porter SC enthält, liegt nicht isoliert in der Konjunktiva und den ableitenden Tränenwegen vor. Es verläuft anatomisch kontinuierlich vom periazinösen Bindegewebe der Tränendrüse entlang ihrer Ausführungsgänge in die Konjunktiva und setzt sich in den ableitenden Tränenwegen bis zur Nase fort. B-Lymphozyten wurden fast ausschließlich in Lymphfollikeln gefunden, die einer der Mehrzahl der Präparate seitengleich auftraten. Die Topographie von CALT korrespondiert mit der Position der Kornea bei geschlossenem Auge.

Schlussfolgerung. Das Schleimhautassoziierte lymphatische Gewebe von Tränendrüse, Konjunktiva und ableitenden Tränenwegen bildet eine anatomische und funktionelle Einheit zur

Immunprotektion der Augenoberfläche. Daher ist es als „Eye-Associated Lymphoid Tissue“ (EALT) in das Schleimhautimmunsystem des Körpers einzuordnen. EALT kann über Lymphfollikel Antigene der Augenoberfläche erkennen und über die regulierte Rezirkulation lymphatischer Zellen andere Organe sowie die Augenoberfläche einschließlich der Tränendrüse mit spezifischen Effektorzellen versorgen.

Schlüsselwörter

Augen-assoziiertes lymphatisches Gewebe (EALT) · Tränendrüse · Ableitende Tränenwege · Immunprotektion

Eye-associated lymphoid tissue (EALT) is continuously spread throughout the ocular surface from the lacrimal gland to the lacrimal drainage system

Abstract

Introduction. Components of the mucosal immune system (MALT) have been identified in the conjunctiva (as CALT) and the lacrimal drainage system (as LDALT). Their structural and functional relation with the established immune protection by the lacrimal gland is unclear.

Material and methods. Macroscopically normal and complete tissues of the conjunctiva, lacrimal drainage system and lacrimal gland from human body donors were investigated by analysis of translucent whole mounts, and using histology, immunohistology as well as scanning and transmission electron microscopy.

Results. A typical diffuse lymphoid tissue, composed of effector cells of the immune system

(T-lymphocytes and IgA producing plasma cells) under an epithelium that contains the IgA transporter SC, is not isolated in the conjunctiva and lacrimal drainage system. It is anatomically continuous from the lacrimal gland along its excretory ducts into the conjunctiva and from there via the lacrimal canaliculi into the lacrimal drainage system. Lymphoid follicles occur in a majority (about 60%) and with bilateral symmetry. The topography of CALT corresponds to the position of the cornea in the closed eye.

Conclusion. These results show that the MALT of the lacrimal gland, conjunctiva and lacrimal drainage system constitute an anatomical and functional unit for immune protection of the

ocular surface. Therefore it should be integrated as an “eye-associated lymphoid tissue” (EALT) into the MALT system of the body. EALT can detect ocular surface antigens by the lymphoid follicles and can supply other organs and the ocular surface including the lacrimal gland with specific effector cells via the regulated recirculation of lymphoid cells.

Keywords

Eye-associated lymphoid tissue (EALT) · Lacrimal glands · Conjunctiva · Lacrimal drainage system · Immune protection

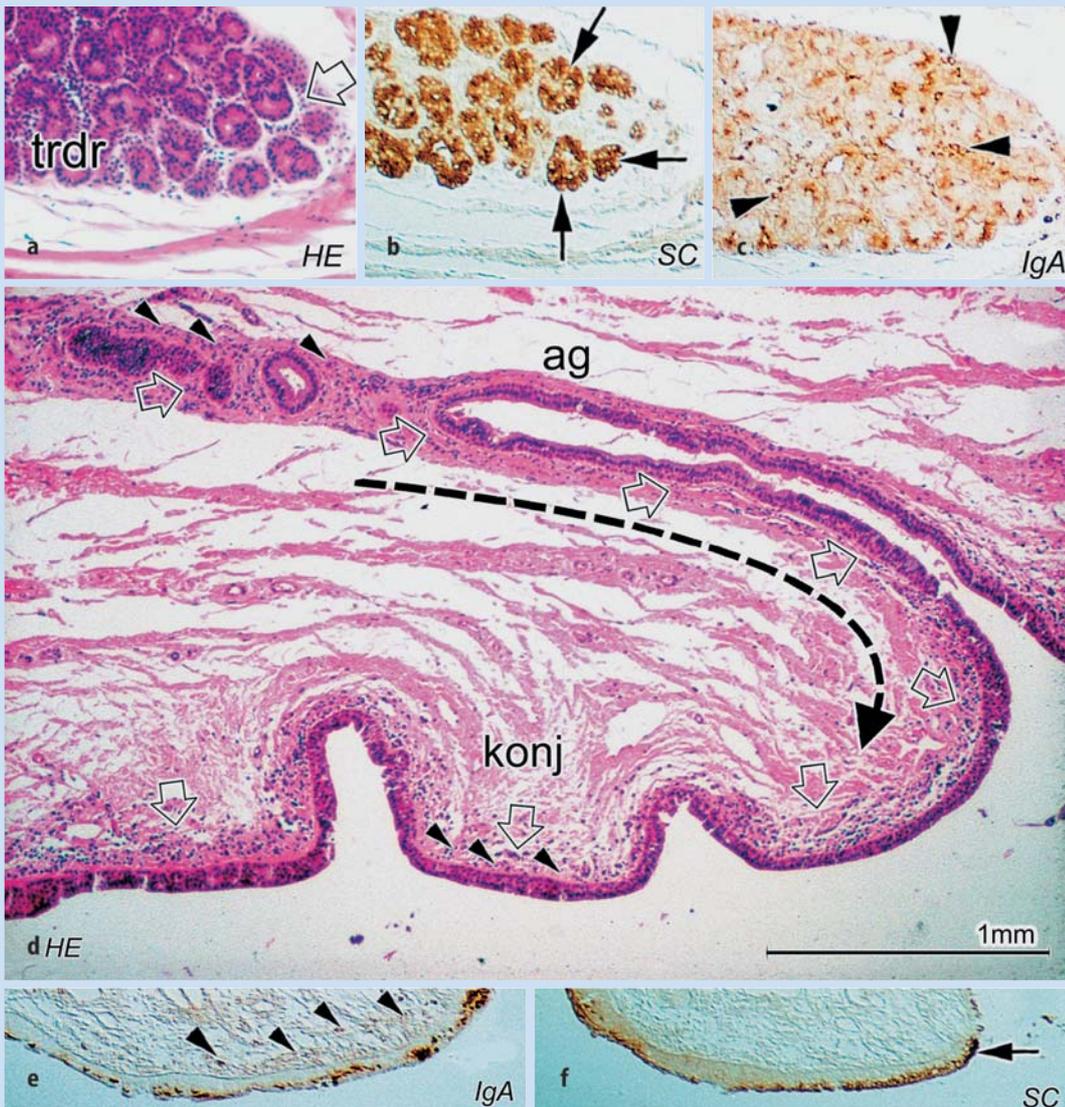


Abb. 1a-f ▲ Lymphatisches Gewebe in der Tränendrüse und ihren Ausführungsgängen. In der normalen Tränendrüse (*trdr*) des Menschen – hier ein Teil des palpebralen Drüsenlappens nahe der Konjunktiva – befindet sich zwischen den Epithelzellen der Drüsenendstücke ein lockeres Bindegewebe mit Lymphozyten und Plasmazellen (*offener Pfeil* in a). Die Epithelzellen der Endstücke (*Pfeile* in b) enthalten viel von dem Transportermolekül SC. Die dazwischen liegenden Plasmazellen sowie einige Epithelzellen enthalten IgA (*Pfeilspitzen* in c). In einem Längsschnitt (d) durch einen Ausführungsgang (*ag*) der Tränendrüse ist erkennbar, dass sich das dichte zellreiche lymphatische Gewebe (*offene Pfeile*) mit Plasmazellen (*Pfeilspitzen*) entlang des Ganges (*gebogener Pfeil*) kontinuierlich von der Tränendrüse bis in die Lamina propria der Konjunktiva (*konj*) fortsetzt. Immunfärbungen für IgA und SC zeigen auch in der Konjunktiva eine entsprechende Anfärbung der Plasmazellen für IgA (*Pfeilköpfe* in e) und der Epithelzellen für SC (*Pfeil* in f). Serielle Paraffinschnitte, histologische Färbung (HE) oder immunhistologische Färbung (IgA oder SC); Maßstab, gezeigt in b, entspricht 1 mm in allen Teilabbildungen

schen Anteile (Canaliculi, Tränensack, Tränennasengang) erfolgen konnte. Tränendrüsen wurden längs oder quer geteilt und angeschnitten.

Histologie und Immunhistologie

Für die Histologie und Immunhistologie wurden Paraffin- und Gefrierpräparate hergestellt. Für die Paraffinhistologie wurde

das Gewebe in Paraformaldehyd (s. oben) fixiert und nach der Entwässerung in üblicher Weise mit einem Einbettungsautomaten in Paraffin eingebettet. Ein Konjunktivalsack wurde vorher gefärbt und ebenfalls zur Follikelmorphometrie verwendet. Für Gefrierschnitte wurde das Gewebe in einer Gefrierlösung (OCT-Compound, Tissue Tec, Ted Pella, Irvine, Ca) in flüssigem Stickstoff eingefroren.

Es wurden 5 µm dicke Paraffinschnitte und ca. 10 µm dicke Gefrierschnitte zur Orientierung mit Hämatoxylin und Eosin (HE) histologisch gefärbt und konsekutive Schnitte von interessierenden Regionen mit der indirekten Avidin-Biotin-Komplex-Methode [33] (ABC, Fa. Dianova) immunhistologisch gefärbt. Die Bindung des Primärantikörpers wurde durch einen biotinkoppelten Sekundäranti-

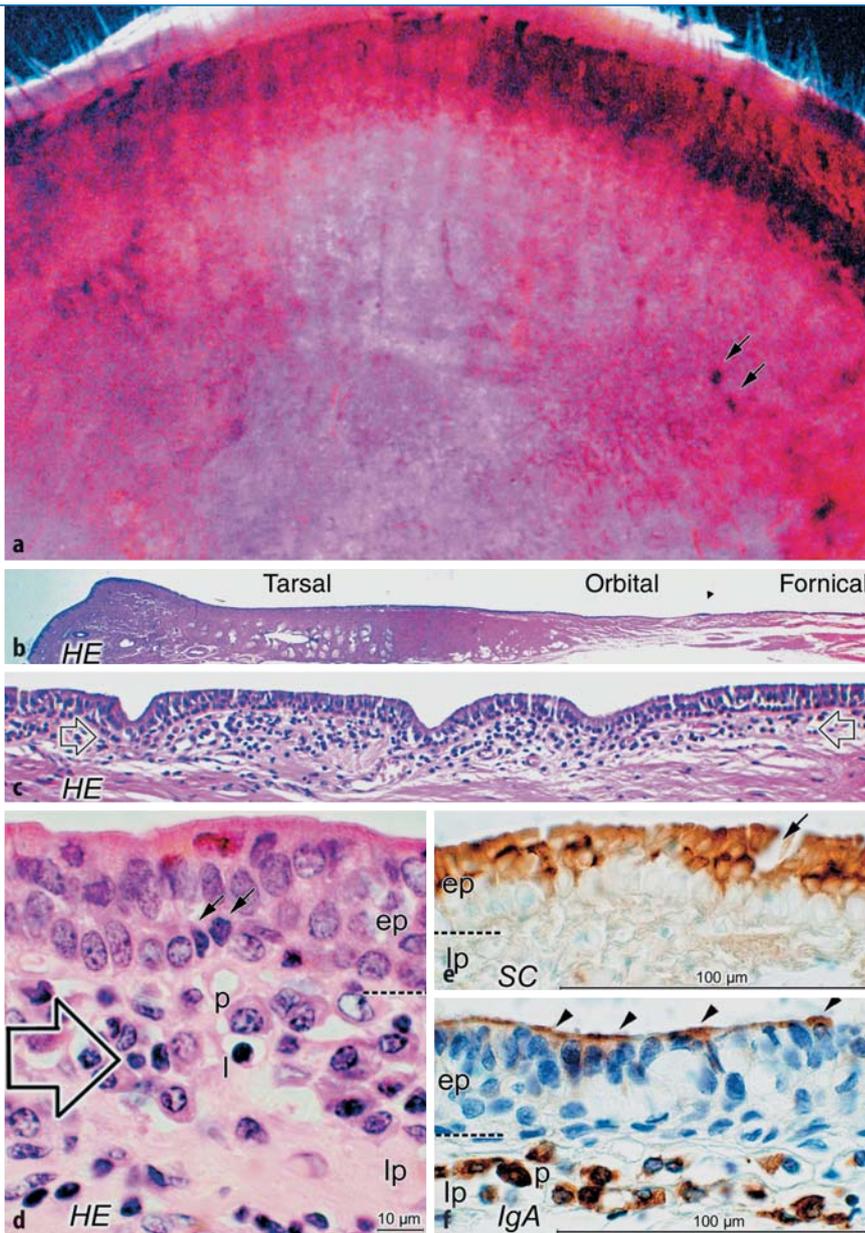


Abb. 2a–f ▲ Diffuses lymphatisches Gewebe in der Konjunktiva. Ein mit Hämatoxylin gefärbtes und optisch gekläartes Aufhellungspräparat zeigt eine normale Konjunktiva des Menschen vom Lidrand mit Wimpern (oben), über die tarsale bis zur orbitalen Konjunktiva, Zonen unterschiedlicher Dichte (a); Pfeile zeigen auf Follikel. Ein Paraffinschnitt zeigt dieselben Zonen in vergleichbarer Vergrößerung (b). In stärkerer Vergrößerung (c), hier mit einigen Einsenkungen der konjunktivalen Krypten, wird erkennbar, dass die unterschiedliche Dichte vor allem dem unterschiedlichen Gehalt der lymphatischen Zellen in der lockeren Bindegewebsschicht der Lamina propria (lp und offene Pfeile in c, d) unter dem Epithel entspricht. Starke Vergrößerung (d) zeigt, dass hier Lymphozyten (l) und Plasmazellen (p) ein diffuses lymphatisches Gewebe bilden, ähnlich wie in der Tränendrüse und entlang ihrer Ausführungsgänge (Abb. 1). Auch in den basalen Schichten des Epithels (ep) befinden sich einzelne Lymphozyten (Pfeile). Der Immunglobulintransporter SC (e) befindet sich in den oberen Schichten des Epithels. IgA färbt sich stark in den Plasmazellen (p), teils im Epithel sowie hier an der Epitheloberfläche (Pfeilköpfe in f). Die Lage der Basalmembran wird durch eine unterbrochene Linie angedeutet (d–f). Histologische Färbungen mit Hämatoxylin (a), HE (b–d) oder immunhistologische Färbung IgA, SC (e, f); Maßstab wie angegeben

körper nachgewiesen und mit einem Streptavidin-Peroxydase-Komplex markiert, der mit Diaminobenzidin (DAB) zu einem braunschwarzen Farbstoff entwickelt wurde.

Primärantikörper gegen verschiedene Oberflächenantigene von Lymphozyten sowie gegen die Komponenten des sekretorischen Immunsystems (IgA, und sein Transportermolekül SC) wurden verwen-

det (Tabelle 2). Negative Kontrollen wurden durch Ersatz des Primärantikörpers durch ein Nonimmunserum derselben Spezies in der Verdünnung 1:1.000 durchgeführt.

Transmissionselektronenmikroskopie

Gewebe wurde nach Karnovsky (s. oben) für 24 h fixiert, in der aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert, über das Intermedium Toluol in Epoxydharz (Epon) überführt und ausgehärtet. Ein solcher Konjunktivalsack wurde ebenfalls zur Follikelmorphometrie verwendet.

Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Das Gewebe wurde nach Karnovsky (s. oben) für 24 h fixiert, in einer aufsteigenden Acetonreihe dehydriert und in einem Critical Point Gerät (Fa. Balzers) getrocknet. Danach wurde es in einem Sputtercoating Gerät (Fa. Balzers) mit Gold-Palladium beschichtet um eine elektrische Leitfähigkeit herzustellen und in einem Philips-SEM-500-Rasterelektronenmikroskop untersucht.

Ergebnisse

Diffuses lymphatisches Gewebe

In der Tränendrüse lagen zwischen den Epithelzellen der sekretorischen Drüsenendstücke (Azini) im lockeren Bindegewebe der Lamina propria diffus verteilte Lymphozyten und Plasmazellen. Immunhistologische Färbungen zeigten, dass IgA stark in den Plasmazellen und in unterschiedlicher Stärke auch im Epithel und im Lumen der Drüsenendstücke nachweisbar war. Das Epithel der Endstücke war stark positiv für SC (Abb. 1a–c). Beim palpebralen Lappen der Tränendrüse, der nahe an der palpebralen Konjunktiva liegt, konnte an geeigneten Anschnitten festgestellt werden, wie das sekretorische Epithel der Drüsenendstücke in die Ausführungsgänge übergang und wie diese sich in die Konjunktiva eröffneten wobei das Gangepithel dort kontinuierlich in das Epithel der Konjunktiva übergang. Das mit Lymphozyten und Plasmazellen durchsetzte Bindegewebe setzte sich ebenfalls vom periazinösen Bereich kontinuierlich

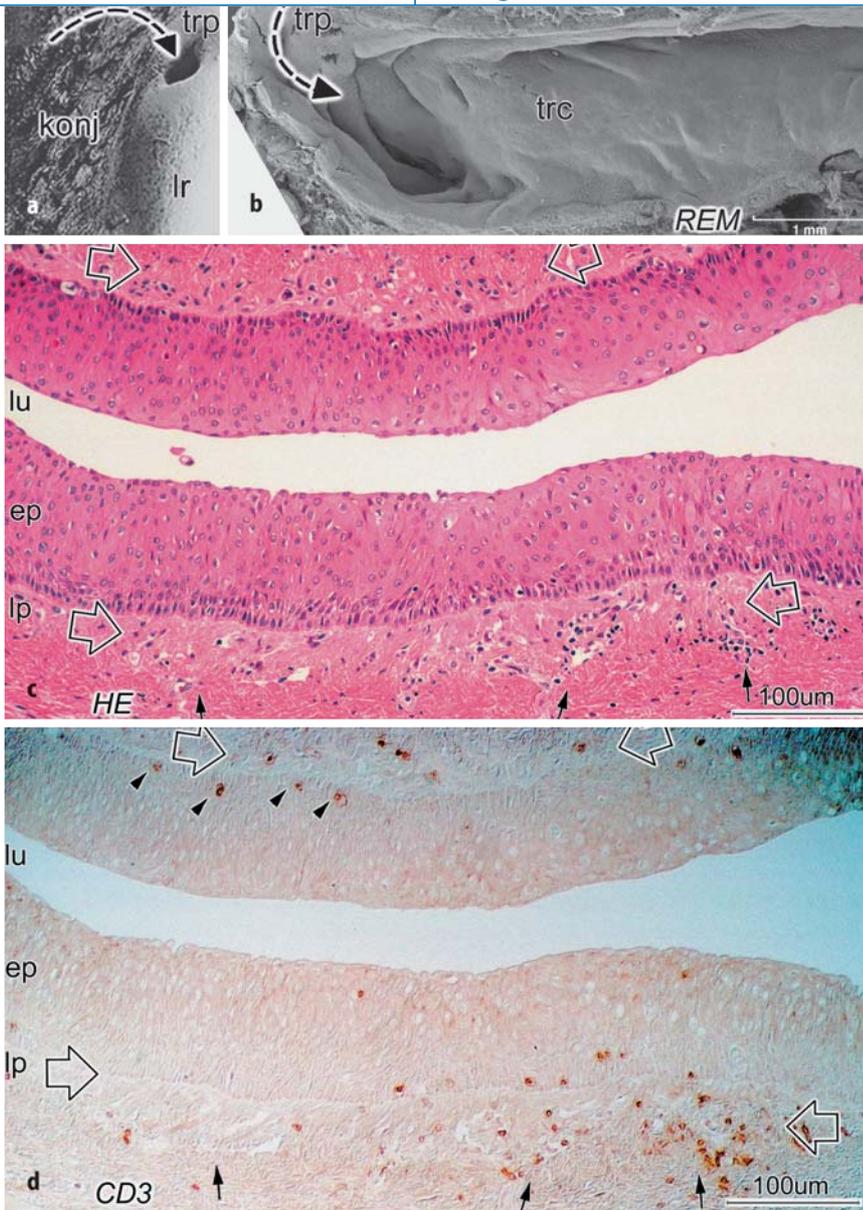


Abb. 3a–d ▲ Fortsetzung des lymphatischen Gewebes im Tränenkanal. Das rasterelektronenmikroskopische (REM) Bild (a) zeigt die marginale Konjunktiva (konj) mit der Öffnung (unterbrochener Pfeil) der ableitenden Tränenwege, dem Tränenpunkt (trp), am Lidrand (lr). In b ist ein im Längsschnitt eröffneter und aufgeklappter Tränenkanal (trc) des Menschen sichtbar, in den hinein sich die Schleimhaut der Augenoberfläche fortsetzt (unterbrochener Pfeil). Paraffinschnitte zeigen eine ähnliche Situation (c). Das Lumen (lu) des Tränenkanals ist sichtbar und wird an beiden Seiten von einem mehrschichtigen Plattenepithel (ep) bedeckt. In der Lamina propria (lp und offene Pfeile) ist erkennbar, dass sich das diffuse lymphatische Gewebe der Konjunktiva in den ableitenden Tränenwegen fortsetzt und dort eine zuerst meist dünne Zellschicht (offene Pfeile) bildet. Im Bereich kleiner Gefäße (Pfeile) nimmt die Zellzahl zu. Die meisten Lymphozyten sind CD3-positive T-Zellen (d), die sich auch als intraepitheliale Lymphozyten (Pfeilköpfe) in den basalen Epithelschichten aufhalten

entlang der Ausführungsgänge in die Konjunktiva hinein fort (Abb. 1d). Das Epithel des Ausführungsganges behielt die Immunreaktivität für SC und die darunter liegenden Plasmazellen, und einzelne Depots im Epithel waren positiv für IgA (nicht gezeigt). Dasselbe Färbungsmuster setzte sich in der Konjunktiva fort (Abb. 1e, f).

Die flachen Aufhellungspräparate der Konjunktiva waren in ihrer gesamten Schichtdicke der Untersuchung mit der Stereolupe und dem Lichtmikroskop gut zugänglich (Abb. 2a). Ähnliche Präparate wurden nach Einbettung auch ange-schnitten (Abb. 2b). Da bei der Färbung des Gewebes der Farbstoff Hämatoxilin

nur in die oberflächlichen Schichten eingedrungen war (bis in die Lamina propria), bildete sich der unterschiedliche Gehalt von lymphatischen Zellen in Lamina propria und Epithel als unterschiedliche Dunkelfärbung des Gesamtpräparates ab. Stellenweise waren rundliche, dunkle Zonen eingelagert, und auch die Region der netzartig verzweigten Stieda'schen konjunktivalen Krypten am Tarsusrand war gut erkennbar (Abb. 2a).

Die Analyse von HE-gefärbten Schnitten zeigte, dass die Färbung der Aufhellungspräparate durch diffus verteilte lymphatische Zellen in der Lamina propria hervorgerufen wurde (Abb. 2c). Diese bestanden vor allem aus Lymphozyten und Plasmazellen (Abb. 2d), von denen die meisten positiv für IgA waren (Abb. 2f). Die Plasmazellen hatten deutliche ultrastrukturelle Aktivitätszeichen. Das Zytoplasma war angefüllt mit konzentrischen, häufig erweiterten und proteingefüllten Zisternen des rauen endoplasmatischen Retikulums. Der Zellkern war reich an Euchromatin und hatte einen prominenten Nukleolus (Abb. 4i). Im lockeren Bindegewebe der Lamina propria gab es zahlreiche kleine Gefäße mit üblicher Morphologie. Daneben kamen gelegentlich Gefäße mit den histologischen und ultrastrukturellen Kennzeichen von hochendothelialen Venulen vor. Die Endothelzellen hatten ein rundliches helles Zytoplasma, ließen nur ein kleines Lumen frei, wurden außen von einer oder mehreren Lagen von Perizyten umgeben und enthielten in der Gefäßwand und Umgebung zahlreiche lymphatische Zellen (Abb. 4j). Außerdem wurden gelegentlich Mastzellen und sehr selten einzelne segmentkernige Granulozyten beobachtet. Da die lymphatischen Zellen vor allem in der lockeren Lamina propria lagen und kaum im tiefer darunter liegenden Bindegewebe, entstand der Eindruck einer lymphatischen Schicht. Die lymphatische Schicht ließ sich kontinuierlich entlang der Konjunktiva verfolgen, war aber häufig nicht ganz regelmäßig, sondern hatte eine lokal unterschiedliche Dicke von einer bis zu mehreren Zelllagen. Abgesehen von solchen lokalen Unregelmäßigkeiten gab es eine unterschiedliche topographische Verteilung lymphatischer Zellen in den verschiedenen Zonen der Konjunktiva (s. unten). Im darü-

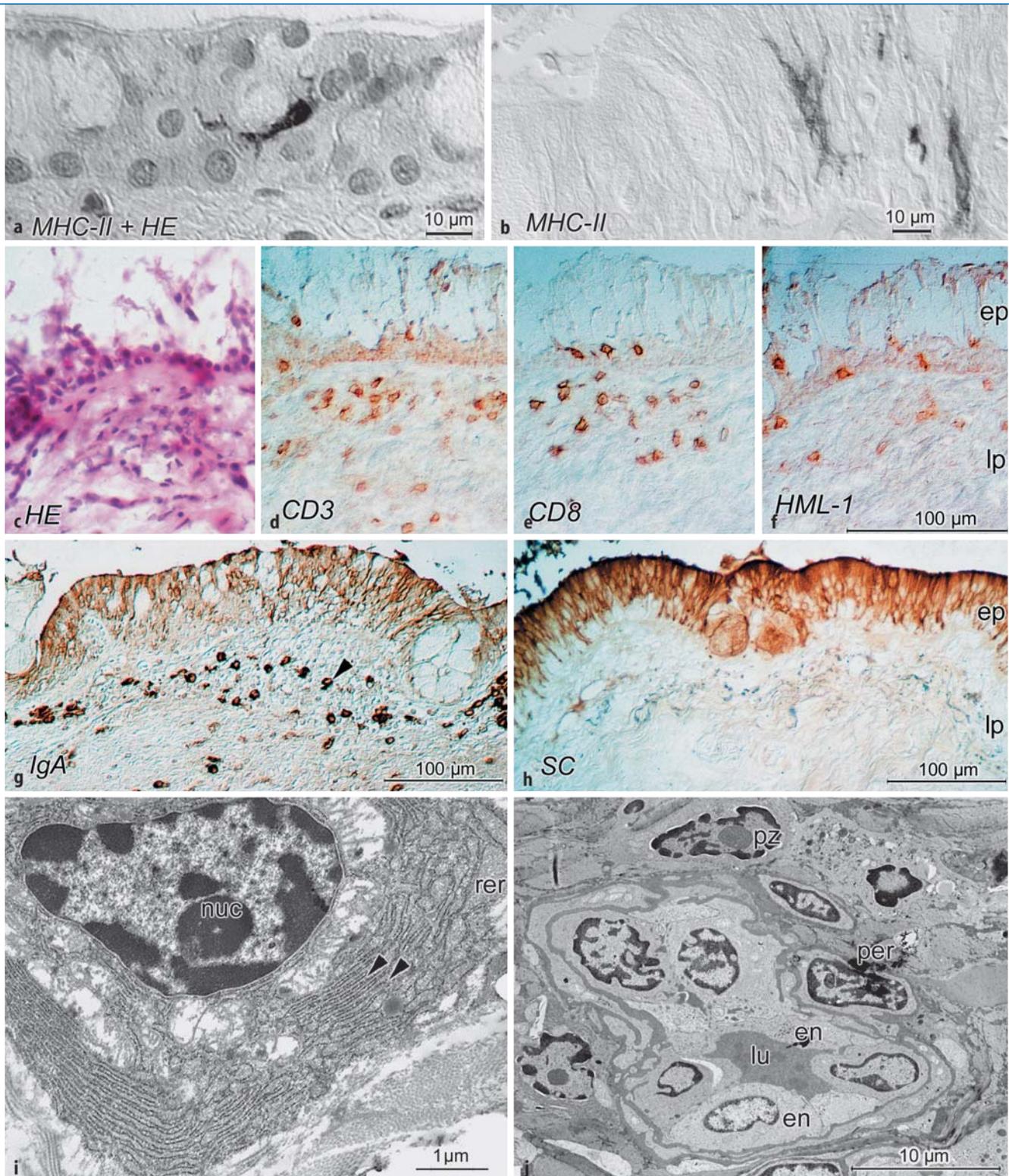


Abb. 4a–j ▲ Charakteristika lymphatischen Gewebes in Konjunktiva und ableitenden Tränenwegen. MHC-II-positive Zellen mit dendritischer Zellform finden sich regelmäßig im Epithel und in der Lamina propria der Konjunktiva (a) und der ableitenden Tränenwege (b). In den ableitenden Tränenwegen nimmt die Menge lymphatischen Gewebes in Richtung auf den Tränensack und Tränennasengang zu. Das diffuse Gewebe (c) besteht überwiegend aus CD3-positiven T-Zellen (d), von denen die meisten CD8-positive Suppressor-/zytotoxische Zellen sind (e). Schleimhautspezifische Lymphozyten mit dem HML-1-Antigen kommen regelmäßig vor (f). IgA kommt in Plasmazellen (Pfeilkopf) und in wechselnden Mengen im Epithel vor (g); das Epithel ist stark positiv für SC (h). Transmissionselektronenmikroskopie zeigt deutliche Aktivitätszeichen der Plasmazellen (hier in der Konjunktiva). Das Zytoplasma ist angefüllt mit konzentrischen Zisternen (Pfeilspitzen) des rauen ER (rer) die durch ihren Inhalt erweitert sind; im Kern ist ein prominenter Nukleolus (nuc). Spezialisierte Gefäße (HEV) (hier in der Konjunktiva) haben große, runde, helle Endothelzellen (en), die nur ein kleines Lumen (lu) freilassen. Serielle Kryo- (c–f) und Paraffinschnitte (a, b, g, h), TEM (i, j); Färbung und Maßstab wie angegeben

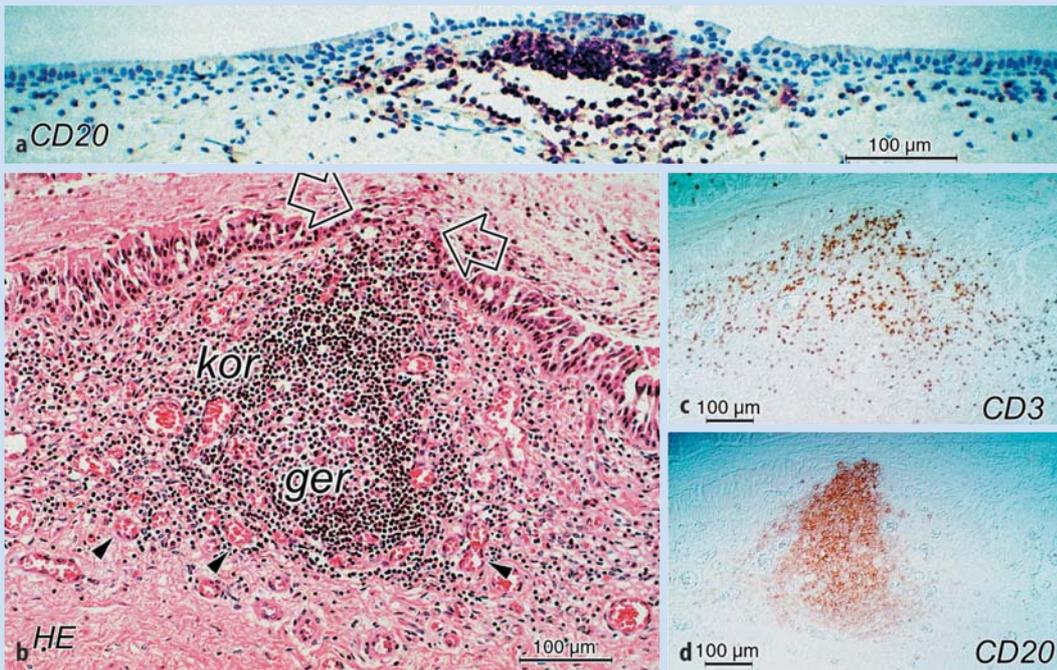


Abb. 5a–d ▲ Follikulär organisiertes lymphatisches Gewebe. Lymphfollikel kommen regelmäßig in der Konjunktiva und in den ableitenden Tränenwegen vor. Sie bestehen aus Anhäufungen von CD20-positiven B-Lymphozyten (a) und sind in der Konjunktiva meist relativ flach (a). Lymphfollikel in den ableitenden Tränenwegen sind meist größer und rundlicher (b–d). In der Peripherie gibt es viele kleine Gefäße einschließlich HEV (Pfeilspitzen). Gelegentlich zeigen sie ein helles germinatives Zentrum (ger) mit dunkler Lymphozytenkorona (kor); das darüber liegende Epithel hat Spezialisierungen eines follikelassoziierten Epithels (offene Pfeile). Die zentrale Anhäufung von CD20-positiven B-Lymphozyten (d), ist in diffus verteilte (c) oder an den Follikelrändern angehäufte CD3-positive T-Zellen eingelagert

ber liegenden Epithel fanden sich, meist basal, intraepitheliale Lymphozyten (■ Abb. 2d). Der obere Teil des Epithels zeigte regelmäßig eine starke Immunreaktivität für SC (■ Abb. 2e).

Immunhistologische Färbungen gegen MHC-II zeigten regelmäßig Zellen mit dendritischer Morphologie im Epithel und auch in der Lamina propria (■ Abb. 4a). Lymphatische Zellen waren auch um die tubulären Henle-Krypten herum deutlich ausgeprägt und bildeten dort – wie auch bei den Stieda-Krypten des Tarsusrandes – ein assoziiertes lymphatisches Gewebe (■ Abb. 2c).

Die Schleimhaut der Konjunktiva geht an den Tränenpunkten des Lidrandes, rasterelektronenmikroskopisch erkennbar, kontinuierlich in die Schleimhaut der ableitenden Tränenwege über (■ Abb. 3a,b). In den ableitenden Tränenwegen kam ebenfalls ein diffuses lymphatisches Gewebe vor (■ Abb. 3c). Im Bereich der Tränenkanälchen war die lymphatische Schicht zuerst meist relativ zellarm und wurde zur Mündung der Canaliculi in den Tränensack, im Tränensack selbst (■ Abb. 4c)

sowie im anschließenden Tränennasengang zellreicher. Im Epithel und in der Lamina propria befanden sich regelmäßig MHC-II-positive Zellen mit dendritischer Zellform (■ Abb. 4b); in der Lamina propria war ihre Form häufig rundlicher. Die Zusammensetzung der lymphatischen Zellen und die immunhistologischen Kennzeichen waren in den ableitenden Tränenwegen ähnlich wie in der Konjunktiva. Bei den Lymphozyten des diffusen lymphatischen Gewebes handelte es sich überwiegend um CD3-positive T-Zellen (■ Abb. 3d, 4d); viele davon waren CD8-positive Suppressor-/zytotoxische Zellen (■ Abb. 4e). Lymphozyten, die positiv für das menschliche Schleimhautlymphozytenantigen 1 (HML-1) waren, kamen regelmäßig vor (■ Abb. 4f). T-Zellen lagen außer in der diffusen Schicht auch im Randbereich von Lymphfollikeln. CD20-positive B-Zellen wurden in der diffusen lymphatischen Schicht nur selten beobachtet und waren auf die follikulären Lymphozytenhaufen beschränkt (s. unten).

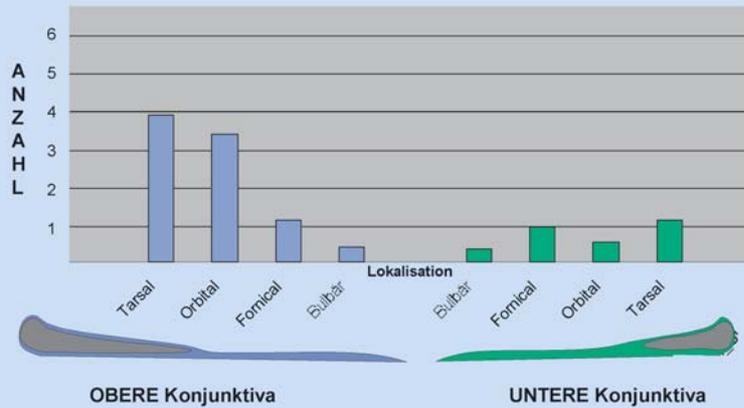
Die Immunreaktion mit einem Antikörper gegen IgA ergab eine deutliche An-

färbung der Plasmazellen in der Lamina propria sowie zu unterschiedlichen Anteilen auch der Zellen des darüber liegenden Epithels (■ Abb. 4g). Das Epithel war stark positiv für SC (■ Abb. 4h).

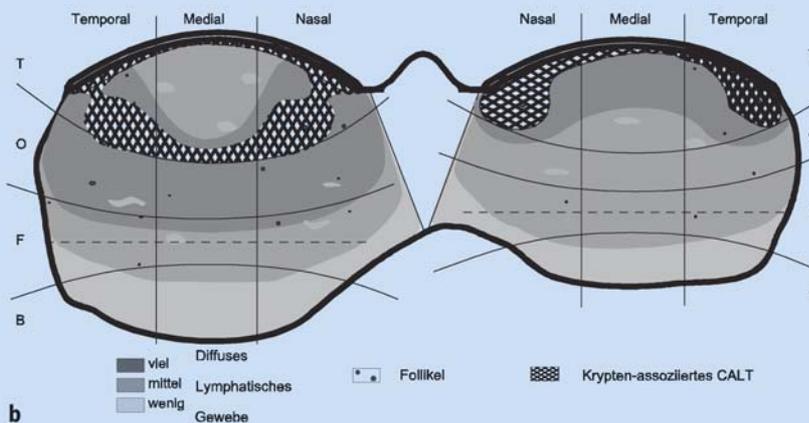
Lymphfollikel

In der Konjunktiva und in den ableitenden Tränenwegen gab es eingestreute Lymphfollikel; in den Tränendrüsen kamen gelegentlich kleinere Lymphozytenhaufen vor, aber keine Follikel. In den flachen Aufhellungspräparaten der Konjunktiva erschienen sie in der Durchsicht als rundliche Verdichtungen (Pfeile in ■ Abb. 2a). Bei Betrachtung mit der Stereolupe erschienen sie leicht prominent. In Schnitten entsprachen sie linsenförmig abgeflachten, kompakten Akkumulationen von zahlreichen Lymphozyten. Sie hatten einen Durchmesser von ca. 0,1 bis über 1 mm (Durchschnitt ca. 0,25 mm) und ein meist homogenes Aussehen in der HE-Färbung. Immunhistologische Färbungen zeigten, dass die Lymphfollikel aus Anhäufungen von CD20-positiven B-Zellen bestanden

Durchschnittliche Anzahl der Follikel in der Konjunktiva

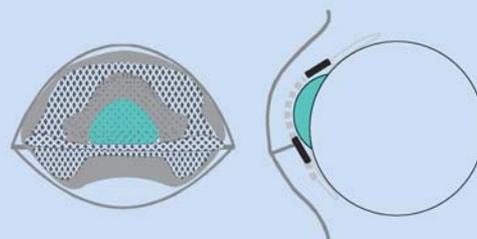


a



Augenoberfläche mit geschlossenem Lid
(Ansicht von vorne)

c



Sagittalschnitt

Abb. 6a–c ▲ **Topografie des konjunktivaassoziierten lymphatischen Gewebes (CALT).** Die Häufigkeit von Lymphfollikeln (a) ist in Beziehung zu einer schematischen Zeichnung von Ober- und Unterlid gesetzt. Diese liegen meist in der tarsalen (T in b) Konjunktiva, wobei am Oberlid die orbitale (O in b) Zone folgt, während am Unterlid fornikal (F in b) ähnlich viele Follikel liegen. b Die Häufigkeit des diffusen schleimhautassoziierten lymphatischen Gewebes an der Konjunktiva ist in zunehmend dunkleren Graustufen dargestellt und maximal in der tarsalen und orbitalen Konjunktiva ausgeprägt. Diffuses lymphatisches Gewebe, Lymphfollikel und das kryptenassoziierte lymphatische Gewebe (s. Legende in b) zeigen eine ähnliche Verteilung und sind auf dem Bulbus (T in b) deutlich reduziert (b). Diese topographische Verteilung ist kongruent mit der Position der Kornea beim Lidschluss (c), wobei die zentrale Kornea von dem mit den Henle-Krypten assoziierten lymphatischen Gewebe bedeckt ist

(Abb. 5a). In den ableitenden Tränenwegen dagegen waren die Lymphfollikel regelmäßig größer und rundlicher als in der Konjunktiva (Abb. 5b–d). Das Epithel über den Follikeln wurde von flacheren Zellen als in der Umgebung gebildet, war frei von Becherzellen und häufig durchsetzt von Lymphozyten, die gelegentlich in Gruppen lagen. Es zeigte damit typische Kennzeichen eines sog. follikelassoziierten Epithels (FAE). In der Peripherie befanden sich regelmäßig zahlreiche Gefäße einschließlich solcher mit der Morphologie hochendothelialer Venulen (Abb. 5b, Abb. 4j). Die Lymphozytenakkumulationen wurden von CD20-positiven B-Zellen gebildet, während sich unter dem FAE und in den Randbereichen um die peripher gelegenen hochendothelialen Venulen herum CD3-positive T-Zellen aufhielten (Abb. 5c, d). Einige Lymphfollikel besaßen ein helleres Keimzentrum (Abb. 5b) das die Bildung von Effektorzellen nach Antigenkontakt anzeigt und diese Follikel als Sekundärfollikel kennzeichnet.

Topographie

Grundsätzlich hatte das lymphatische Gewebe sowohl für den diffusen Typ wie auch für die Lymphfollikel eine deutliche Häufung im Bereich der palpebralen Konjunktiva mit Bevorzugung der tarsalen und orbitalen Region von Unter- und besonders Oberlid. Im Unterlid waren im Bereich des Fornix ähnlich viele Follikel wie in der tarsalen Konjunktiva (Abb. 6a). An der bulbären Konjunktiva und besonders zum Limbus der Kornea hin war das Vorkommen lymphatischen Gewebes deutlich reduziert (Abb. 6b). Diese Verteilung ließ sich am Ober- und Unterlid in ähnlicher Weise beobachten, allerdings differierte sie in Abhängigkeit von der unterschiedlichen Gestalt des Tarsus. Daher befand sich am Oberlid die bevorzugte Lokalisation von lymphatischem Gewebe in einer näherungsweise hantelförmigen Region entlang des Tarsusrandes mit einem relativen Minimum in der mittleren Tarsusbindehaut, während das lymphatische Gewebe am Unterlid eher eine streifenförmige Zone bildete (Abb. 6b). Eine Projektion der topographischen Verteilung des lymphatischen

Tabelle 3

Follikelmorphometrie				
	Ausgewertete Gewebe	Follikelanteil [%]	Follikelgröße [mm]	Bilaterale Symmetrie [%]
CALT	36 (Aufhellungspräparate)	58	0,1–1,25 Mittel 0,25	86
LDALT	43 (Schnittpräparate)	44	0,1–0,8 Mittel 0,5	78
	18 (nur komplette Gewebe)	56		

Gewebes auf den Bulbus zeigte, dass sich die Hauptmasse (tarsale und orbitale Konjunktiva) in einem Bereich befand, der beim Lidschluss relativ genau auf der dabei leicht nach oben gerichteten Kornea lag (Abb. 6c).

Epidemiologie

Lymphfollikel kamen in einer Mehrzahl der Körperspender vor, und zwar ähnlich häufig in der Konjunktiva (58%) wie auch in den ableitenden Tränenwegen (56% der kompletten ableitenden Tränenwege) (Tabelle 3). Die Follikel zeigten eine hohe bilaterale Symmetrie an der Konjunktiva (86%) und in den ableitenden Tränenwegen (78%) bei den Probanden, von denen Gewebe beider Seiten verglichen werden konnte. Die durchschnittliche Häufigkeit betrug in der Konjunktiva 10 Follikel dabei waren die Follikel im Bereich der oberen Konjunktiva wesentlich häufiger. Der Durchmesser der beobachteten Lymphfollikel war bei den ableitenden Tränenwegen höher und homogener verteilt (0,1–0,8 mm mit einem Mittel bei ca. 0,5 mm) als bei der Konjunktiva, die kleinere Follikel besaß (0,1 bis ca. 1,25 mm mit einem Mittel bei ca. 0,25 mm).

Diskussion

An normalen Totalpräparaten von Tränenrüse, Konjunktiva und ableitenden Tränenwegen des Menschen konnten wir in einer licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchung nachweisen, dass diese Organe durch ein schleimhautassoziiertes lymphatisches Gewebe kontinuierlich verbunden werden. Es beginnt im periazinösen Bindegewebe der Tränenrüse, setzt sich entlang ihrer Ausführungsgänge in die Konjunktiva fort und

zieht von dort über die Tränenpunkte kontinuierlich in die ableitenden Tränenwege bis zum Übergang in die Nase. Daher bilden diese Organe vermutlich ein gemeinsames Schleimhautimmunsystem des Auges. Es besteht aus Lymphozyten und Plasmazellen und erfüllt insgesamt die Kriterien eines lymphatischen Gewebes von diffusen Typ [51]. Organisiertes follikuläres lymphatisches Gewebe ist in einer Mehrheit der Individuen seitengleich darin eingestreut.

In einem kombinierten Verfahren von Durchsichtbetrachtung des gesamten Gewebes und anschließender Schnittmorphologie konnte nachgewiesen werden, dass das lymphatische Gewebe der Konjunktiva eine typische topographische Verteilung aufweist, die kongruent mit der Position der Kornea beim Lidschluss ist. Da die Kornea selbst frei von lymphatischen Zellen ist, könnte das Schleimhautimmunsystem der Konjunktiva hier eine wichtige Funktion zur Unterstützung der Immunabwehr der Kornea erfüllen.

Augen-assoziiertes lymphatisches Gewebe (EALT)

Diese Befunde legen nahe, dass das Schleimhautimmunsystem der Konjunktiva und der Adnexe (Tränenrüse und ableitende Tränenwege) eine funktionelle Einheit zur Immunabwehr des Auges bildet. Der Aufbau dieses Gewebes am Auge, die beteiligten Zelltypen und die gebildeten funktionellen Proteine zeigen, dass es ein Teil des mukosaassoziierten lymphatischen Gewebes (MALT) des Körpers ist. Daher sollte es in Analogie zu anderen Schleimhautorganen und entsprechend der internationalen Nomenklatur als augen-assoziiertes lymphatisches Gewebe (im englischen als „Eye-Associated

Lymphoid Tissue“, abgekürzt EALT) bezeichnet werden (Abb. 7).

Neben der anatomischen Kontinuität des Gewebes werden die 3 Organe durch den Fluss der Tränen verbunden, der von der Tränenrüse über die Konjunktiva in die ableitenden Tränenwege verläuft. Hierdurch teilen sie protektive und aggressive Substanzen, die entweder bereits von der Tränenrüse abgegeben werden oder später, an der Konjunktiva aus der Umwelt, in den Tränenfilm gelangen. Dies betrifft z. B. antibakterielle Proteine (wie Lysozym, Laktoferrin etc.) und spezifische IgA-Antikörper oder Wachstumsfaktoren [57] aus der Tränenrüse, aber auch Entzündungsmediatoren (inflammatorische Zytokine), die z. B. beim Sjögren-Syndrom von einer entzündeten Tränenrüse abgegeben werden können [64], sowie pathogene und nichtpathogene Antigene aus der Umwelt. Durch diesen Einfluss gleichartiger Faktoren wird die Immunabwehr von Tränenrüse, Konjunktiva und ableitenden Tränenwegen zwangsläufig funktionell verbunden. Weiterhin kommen in der Konjunktiva und in den ableitenden Tränenwegen regelmäßig spezialisierte Gefäße vor (hochendotheliale Venulen), die für eine regulierte, organspezifische Wanderung lymphatischer Zellen wichtig sind. Obwohl es in der Tränenrüse keine hochendotheliale Venulen gibt, ist sie offenbar trotzdem auch über übliche flachendotheliale Gefäße an die regulierte Wanderung lymphatischer Zellen angeschlossen, da sie selektiv IgA-positive Plasmazellen enthält. In der Konjunktiva und in den ableitenden Tränenwegen kommen regelmäßig Lymphfollikel vor, die die Funktion haben, Antigene zu erkennen und entsprechende Effektorzellen zu bilden. Daher können hier Antigene, die an der Augenoberfläche vorkommen, erkannt und spezifische Effektorzellen (T-Lymphozyten und Plasmazellen) dagegen produziert werden. Diese Effektorzellen können dann über die Rezirkulation lymphatischer Zellen im Körper entweder dieselben Organe oder die Tränenrüse besiedeln. Obwohl die Hauptmasse der Plasmazellvorläufer offenbar im Schleimhautimmunsystem des Darms gebildet wird [13], kann es durchaus sinnvoll sein, Antigene auch an der Augenoberfläche zu erkennen, da vermutlich

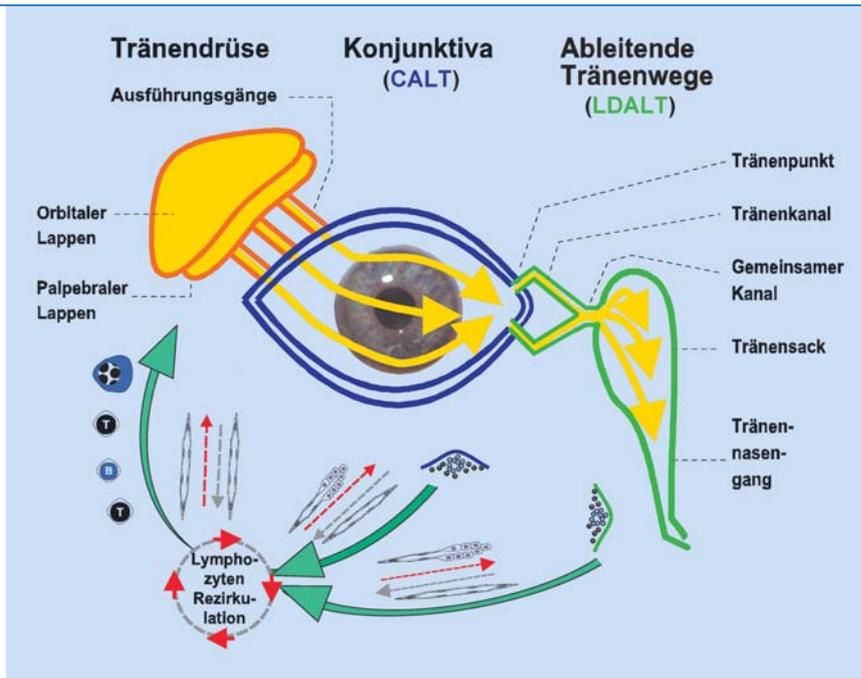


Abb. 7 ▲ Konzept eines augen-assoziierten lymphatischen Gewebes (EALT). Das lymphatische Gewebe an der Augenoberfläche und der Adnexe ist anatomisch kontinuierlich von der Tränendrüse über ihre Ausführungsgänge in die Konjunktiva (als CALT) und über den Tränenpunkt in die ableitenden Tränenwege (als LDALT) bis zur Nase. Die 3 Organe sind verbunden über den Fluss der Tränen (gelbe Pfeile) und über die regulierte Wanderung lymphatischer Zellen im Körper (Rezirkulation) mittels spezialisierte Gefäße (kleine Pfeile). Das augenassoziierte lymphatische Gewebe ist so an die anderen Organe des Schleimhautimmunsystems des Körpers (MALT) angeschlossen und ist durch die Produktion von sekretorischem IgA in allen 3 Organen auch ein Teil des sekretorischen Immunsystems. Lymphfollikel in der Konjunktiva und den ableitenden Tränenwegen ermöglichen die Erkennung von Antigenen der Augenoberfläche und die Versorgung dieser Organe und speziell auch der Tränendrüse mit entsprechenden Effektorzellen (grüne Pfeile) zur Immunprotektion

nicht alle Antigene, die an der Augenoberfläche vorkommen, auch im Darm vorliegen müssen.

Lange umstritten: lymphatisches Gewebe am Auge

Die Diagnose lymphatischer Zellen in den Organen der Augenoberfläche und der Adnexe ist nicht neu, aber bisher gab es widersprüchliche Befunde, und daher war ihre Einordnung als ein normaler Teil der Schleimhaut umstritten. Das hier vorgestellte Konzept einer funktionellen Einheit zur Immunabwehr der Augenoberfläche (EALT) [37], betrachtet das Auge als einen integralen Teil des Schleimhautimmunsystems des Körpers und stellt es in eine Reihe mit etablierten Anteilen des Schleimhautimmunsystems, wie z. B. gastrointestinales-assoziiertes lymphatisches Gewebe (GALT), bronchusassoziiertes lymphatisches Gewebe (BALT), Urogenitalsystem etc. Da die Augenoberfläche einen sehr direkten Kontakt zur Umwelt

hat, erscheint dies auch funktionell sinnvoll.

Widersprüchliche Befunde zum Vorliegen lymphatischer Zellen an der Augenoberfläche kamen vor allem aus Studien, die kleine Gewebeproben aus Biopsien untersuchten, und bezogen sich auf das Vorkommen verschiedener Zelltypen, ihre Häufigkeit und ihre topografische Verteilung. Lymphatische Zellen sind schon seit dem 19. Jahrhundert an der Augenoberfläche bekannt (zur Übersicht s. [76]) und wurden auch später histologisch beschrieben [36, 58]. Allerdings wurden noch in den 70er-Jahren des 20. Jahrhunderts Lymphozyten und Plasmazellen in der Konjunktiva als „inflammatorische Zellen“ bezeichnet, obwohl sie regelmäßig und zahlreich gefunden wurden [1]. Ebenso umstritten war das Vorkommen von Lymphfollikeln, die in Totalpräparaten beschrieben wurden [58], aber in bioptischen Untersuchungen nicht beachtet oder nicht gefunden wurden [7, 8, 32].

Wir finden in der menschlichen Konjunktiva und den ableitenden Tränenwegen alle Komponenten eines funktionsfähigen Immunsystems. Es gibt einen afferenten Schenkel der Immunantwort in Form von Lymphfollikeln zur Antigenerkennung sowie einem efferenten Schenkel der aus den Effektorzellen besteht, die das diffuse lymphatische Gewebe bilden.

Diffuses lymphatisches Gewebe – Teil des sekretorischen Immunsystems

Die hier gezeigten Befunde zur Präsenz einzelner Zelltypen bestätigen im Wesentlichen die Befunde bioptischer Arbeiten, ergänzen diese aber um die wichtige Untersuchung der topographischen Verteilung. Im Epithel befinden sich überwiegend CD8-positive Suppressor-/zytotoxische T-Zellen und in der Lamina propria etwa gleiche Mengen von diesen und Helfer-T-Zellen [24, 32, 70]. Schleimhautspezifische Lymphozyten (HML-1-positiv) kommen regelmäßig vor [24, 32] was eine Eingliederung in das Schleimhautimmunsystem des Körpers bestätigt. Da T-Suppressorzellen in der Konjunktiva überwiegen, wird angenommen, dass hier (entzündliche) Immunreaktionen eher unterdrückt werden [24, 32, 70] mit dem Ziel einer Erhaltung der feinen Struktur der Augenoberfläche [81]. Die eindeutige Einordnung dieser lymphatischen Zellen als sog. diffuser Typ lymphatisches Gewebes war erst durch die Untersuchung von menschlichen Totalpräparaten der Konjunktiva [39, 41, 46, 50] und die Anwendung neuerer Erkenntnissen über das Schleimhautimmunsystem [51] möglich. Ähnliches diffuses lymphatisches Gewebe kommt auch in den ableitenden Tränenwegen vor [44, 45, 48, 49, 59, 60, 74]. Auch hier wird lokal sekretorisches IgA [45] produziert [43, 44], das bereits im Tränensack nachgewiesen war, ohne eine Quelle dafür zu kennen [62]. Dendritische Zellen, die die Funktion haben, aufgenommene Antigene an die Lymphozyten zu präsentieren und dabei auch immunregulatorische Funktionen auszuüben, kommen regelmäßig an der Augenoberfläche und den Anhangsorganen vor, ähnlich wie auch an anderen Schleimhautoberflächen [12, 51, 54].

Das regelmäßige Vorkommen von IgA-positiven Plasmazellen und SC an der normalen menschlichen Augenoberfläche zeigt, dass nicht nur die Tränendrüse und die akzessorischen Tränendrüsen eine Quelle der spezifischen Immunabwehr durch sekretorisches IgA im Tränenfilm [2, 26, 70, 72, 79] darstellen. Wir konnten mit modernen Antikörper- und Detektionssystemen zeigen, dass die Konjunktiva und die ableitenden Tränenwege ebenfalls die Komponenten des sekretorischen Immunsystems enthalten, die in der Konjunktiva vorher mit historischen immunhistologischen Methoden nicht regelmäßig nachweisbar waren [2, 18]. Kürzlich konnte das regelmäßige Vorkommen der mRNA von IgA und SC auch mit molekularbiologischen Methoden (RT-PCR) verifiziert werden [38]. Diese Befunde unterstreichen zusammen mit der hier festgestellten Kontinuität des diffusen lymphatischen Gewebes von der Tränendrüse über die Konjunktiva in die ableitenden Tränenwege, dass die Augenoberfläche nicht (allein) auf einen spezifischen Immunschutz durch die Tränendrüse angewiesen ist.

Lymphfollikel – normaler Bestandteil der Augenoberfläche

B-Lymphozyten befinden sich nur selten im diffusen lymphatischen Gewebe, sondern sind in den Lymphfollikeln konzentriert, wo die nach Kontakt mit Antigenen und Stimulierung durch T-Helferzellen, die ebenfalls in der Konjunktiva beschrieben sind [24, 32, 70], zu Plasmazellvorläufern differenzieren [13].

Lymphfollikel im augenassoziierten lymphatischen Gewebe zeigen einen üblichen Aufbau wie auch in anderen Teilen des Schleimhautimmunsystems. Allerdings sind sie in der Konjunktiva meist klein und relativ flach. Da auch die selten bereits im terminalen Teil der Tränenkanäle auftretenden Lymphfollikel eine ähnliche Form haben, während die Lymphfollikel von Tränensack und Tränennasengang meist größer und rundlich sind, hängt die Form der Follikel vermutlich vom zur Verfügung stehenden Platz in der Lamina propria ab.

Die Häufigkeitsangaben in der Literatur über das Vorkommen organisierter

Lymphfollikel in der normalen menschlichen Konjunktiva schwanken erheblich. Diese Unterschiede sind aber vermutlich dadurch beeinflusst, dass ihre Anzahl von natürlichen Einflussfaktoren abhängt, die in die entsprechenden Untersuchungen eingegangen sind. So nimmt die Follikelanzahl mit dem Alter ab [58]. Weiterhin ist sie auch abhängig von der untersuchten Lokalisation, da Lymphfollikel eine unterschiedliche topografische Verteilung in der Konjunktiva zeigen. Dies ist von Bedeutung, da die meisten Untersuchungen auf Biopsien oder ausgewählten Regionen der Konjunktiva basieren und dabei nie [7, 8], in 50% [1] oder in bis zu 100% [58] der Individuen Follikel fanden. In den Totalpräparaten der Konjunktiva von alten Menschen fanden wir in 58% [50] Follikel. Für die ableitenden Tränenwege werden ähnliche Zahlen berichtet mit Lymphfollikeln in 41% [60], 44% [44] oder bis zu 56% älterer Individuen, von denen komplette Totalpräparate [49] untersucht wurden.

Wir konnten zeigen, dass Lymphfollikel bei Geweben von demselben Spender in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle seitengleich auftreten sowohl in der Konjunktiva (86%) wie auch in den ableitenden Tränenwegen (78%). Dies spricht gegen eine zufällige Entstehung der Follikel aufgrund von z. B. (einseitigen) Infektionen des Gewebes. Da an der Augenoberfläche [58] und anderen lymphatischen Organen [20] gezeigt ist, dass die Anzahl der Lymphfollikel mit dem Alter abnimmt, legen diese Befunde nahe, dass Lymphfollikel daher während der überwiegenden Zeit des Lebens einen normalen Bestandteil des augenassoziierten lymphatischen Gewebes darstellen. Auf diesem Wege können hier Antigene, die relevant für die Augenoberfläche sind, erkannt werden und so die okulären Gewebe mit entsprechenden Effektorzellen versorgt werden.

Vermutlich unterschiedliche Aufgaben von Tränendrüse, Konjunktiva und ableitenden Tränenwegen bei der Immunabwehr der Augenoberfläche

Eine möglicherweise unterschiedliche spezifische Funktion und Bedeutung des lymphatischen Gewebes in der Tränen-

drüse, Konjunktiva und den ableitenden Tränenwegen ist bisher unklar. Unsere Befunde weisen aber auf eine stärkere Bedeutung der Konjunktiva und möglicherweise auch der ableitenden Tränenwege bei der Immunabwehr der Augenoberfläche hin, als dies bisher angenommen wurde. Da die Konjunktiva und die ableitenden Tränenwege über Lymphfollikel verfügen, sind sie in der Lage, Effektorzellen, vor allem Plasmazellen, zu bilden. Beim Kaninchen ist die Stimulierbarkeit von B-Zellen aus konjunktivalen Follikeln zu IgA-positiven Plasmazellen gezeigt [27]. Diese können dann in dieselben Organe oder z. B. in die Tränendrüse einwandern, wo vermutlich die Hauptmasse der protektiven Immunglobuline produziert wird.

Die Lokalisation des lymphatischen Gewebes im EALT reflektiert möglicherweise die Menge der Antigenexposition. Das CALT ist am stärksten in der tarsoorbitale Konjunktiva ausgeprägt, wo auch eine bevorzugte Ablagerung von Fremdstoffen beschrieben ist [82]. LDALT ist am stärksten ausgeprägt im Bereich von Tränensack und Tränennasengang. Da es hier durch eine Zunahme des Lumens zu einem langsameren Fluss der Tränen kommt, ist ein intensiver Kontakt des Schleimhautimmunsystems mit den darin enthaltenen Antigenen möglich und tatsächlich finden sich hier auch zahlreiche Follikel [44, 60].

Bedeutung des EALT für die Physiologie und Pathophysiologie der Augenoberfläche

Neben der Herstellung eines Oberflächenschutzes hat das konjunktivale lymphatische Gewebe aber vermutlich noch andere Aufgaben. So weiß man z. B. aus dem Bereich des Darmimmunsystems, dass die Erzeugung von Toleranz (Nichtreaktivität) gegen häufig vorkommende nichtpathogene Antigene (dort z. B. Nahrungsmittelallergene) eine weitere wichtige Funktion darstellt [11], um ständige und unnötige destruktive inflammatorische Reaktionen zu verhindern. Auch für die Augenoberfläche ist dies eine sinnvolle Maßnahme, da hier neben einer normalen Keimflora zahlreiche nichtpathogene Antigene (Stäube, Pollen etc.) direkt auf die Schleimhaut einwirken. Interessanter-

weise ist es zumindest tierexperimentell möglich, durch eine topische Antigengabe in den Konjunktivalsack eine Toleranz gegen eine experimentelle Autoimmunität zu erzeugen [23].

Weiterhin sind die Zellen des lymphatischen Gewebes eine wichtige Quelle löslicher Immunmodulatoren (Zytokine). Regulationsstörungen des Schleimhautimmunsystems können dazu führen, dass dieses eigentlich protektive Gewebe dann Entzündungsreaktionen unterstützt oder aufrechterhält, obwohl der zugrunde liegende Stimulus dies nicht rechtfertigt. Das kann bei primär immunologischen Erkrankungen auftreten oder auch bei Regulationsstörungen infolge von (chronischen) Verletzungen und Infektionen. Primär immunologische Erkrankungen der Augenoberfläche wie allergische Konjunktivitis [28, 56], Sjögren-Syndrom [34] oder vernarbendes Pemphigoid [69] gehen z. B. mit dem Einfluss lymphatischer Zellen oder mit Veränderungen des Zytokinmusters einher. Ähnliche Beziehungen zum lymphatischen System gibt es bei Infektionen (z. B. Herpes [73], Pseudomonas [31]) oder parasitären Erkrankungen (z. B. Onchozerkose [61]). Daneben können aber auch andere weit verbreitete Funktionsstörungen der Augenoberfläche, wie z. B. solche aus dem Formenkreis des „trockenen Auges“ [15], eine entzündliche Komponente enthalten oder entwickeln [3, 5, 6, 25, 63]. Befunde von entzündlichen Erkrankungen an anderen Schleimhäuten [53] haben gezeigt, dass diese ebenfalls von den Zellen des Immunsystems und ihren Mediatoren beeinflusst werden (s. dazu unseren Beitrag über das trockene Auge im diesem Heft). Daher sind entsprechende Therapieversuche ausgewählter Fälle eines trockenen Auges mit Immunsuppressiva im Rahmen multizentrischer Studien durchgeführt worden [21, 52, 71].

Die bevorzugte Ausprägung des von uns nachgewiesenen Augen-assoziierten lymphatischen Gewebes (EALT) im Bereich des oberen Tarsus erklärt möglicherweise, dass einige klinische Krankheitsbilder, für die eine immunologische Beteiligung diskutiert wird (z. B. gigantopapilläre Konjunktivitis oder Conjunctivitis vernalis), ihre bevorzugte Lokalisation ebenfalls in diesem Bereich haben. Die

Erkrankungen gehen auch mit Benetzungsstörungen der Augenoberfläche [14] einher, sodass ein ursächlicher Zusammenhang bestehen könnte. Fortschritte auf dem Gebiet der Schleimhautimmunologie der Augenoberfläche, zu denen wir mit dieser Arbeit beitragen möchten, führen daher möglicherweise auch zu Fortschritten bei der Behandlung des trockenen Auges.

Bedeutung des EALT für die Kornea

Die enge topographische Beziehung, die das EALT bei geschlossenem Auge zur Kornea hat, weist möglicherweise auf eine funktionelle Beziehung hin. In dieser Position liegt das lymphatische Gewebe der Konjunktiva direkt auf der Kornea und ist dann in der Lage, die Immunprotektion der selbst von Lymphozyten freien Kornea zu unterstützen. Es ist denkbar, dass es beim regelmäßigen Lidschlag wie ein „immunologischer Scheibenwischer“ funktioniert und beim Schlaf als „immunologisches Schutzkissen“ wirkt. Dabei kann das EALT eine afferente Immunfunktion ausüben, um Antigene auf der Kornea zu erkennen und entsprechende Effektorzellen zu bilden, oder es kann im efferenten Schenkel des Immunsystems die Kornea direkt mit protektiven IgA-Antikörpern aus dem hier stark ausgeprägten sekretorischen Immunsystem der Konjunktiva versorgen.

Es ist ebenfalls denkbar, dass das EALT durch den engen Kontakt mit der Hornhaut eine bisher unbekannt Rolle bei der Entscheidung über Akzeptanz oder Abstoßung eines Hornhauttransplantates [67] spielen könnte.

Korrespondierender Autor

Priv.-Doz. Dr. E. Knop

Augenklinik-Forschungslabor,
Charite-Universitätsmedizin Berlin,
Campus Virchow Klinikum, Augustenburger Str. 1,
13353 Berlin
E-Mail: erich.knop@charite.de

Literatur

1. Allansmith MR, Greiner JV, Baird RS (1978) Number of inflammatory cells in the normal conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 86:250–259
2. Allansmith MR, Hahn GS, Simon MA (1976) Tissue, tear, and serum IgE concentrations in vernal conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 81:506–511

3. Augustin AJ, Spitznas M, Kaviani N et al. (1995) Oxidative reactions in the tear fluid of patients suffering from dry eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 233:694–698
4. Axelrod AJ, Chandler JW (1979) Morphologic characteristics of conjunctival lymphoid tissue in the rabbit. In: Silverstein AM, Connor GR (eds) *Proceedings of the Second International Symposium on the Immunology and Immunopathology of the Eye*. Masson Publishing, New York, pp 292–301
5. Barton K, Monroy DC, Nava A, Pflugfelder SC (1997) Inflammatory cytokines in the tears of patients with ocular rosacea. *Ophthalmology* 104:1868–1874
6. Baudouin C, Haouat N, Brignole F et al. (1992) Immunopathological findings in conjunctival cells using immunofluorescence staining of impression cytology specimens. *Br J Ophthalmol* 76:545–549
7. Belfort R Jr, Mendes NF (1979) T- and B-lymphocytes in the human conjunctiva and lacrimal gland. In: Silverstein AM, O'Connor RG (eds) *Immunology and immunopathology of the eye*. Masson Publishing, New York, pp 287–291
8. Bhan AK, Fujikawa LS, Foster CS (1982) T-cell subsets and Langerhans cells in normal and diseased conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 94:205–212
9. Bialasiewicz AA, Barthelmeß S, Lang GK et al. (1984) Zur Abklärung infektiöser, entzündlicher äußerer Augenerkrankungen. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 185:174–176
10. Bienenstock J, McDermott M, Befus D, O'Neill M (1978) A common mucosal immunologic system involving the bronchus, breast and bowel. *Adv Exp Med Biol* 107:53–59
11. Brandtzaeg P (1998) Development and basic mechanisms of human gut immunity. *Nutr Rev* 56:55–18
12. Brandtzaeg P, Berstad AE, Farstad IN et al. (1997) Mucosal immunity—a major adaptive defence mechanism. *Behring Inst Mitt* 98:1–23
13. Brandtzaeg P, Farstad IN (1999) The human mucosal B-cell system. In: Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME et al. (eds) *Handbook of mucosal immunology*, 2nd edn. Academic Press, San Diego
14. Brewitt H (1997) Das „trockene Auge“. *Z Allg Med* 73:729–735
15. Brewitt H (2000) Das Trockene Auge. Was war? Was ist? Was wird? *Z Prakt Augenheilkd* 21:52–58
16. Brewitt H, Zierhut M (2001) Physiologie des Tränenfilms. In: Brewitt H, Zierhut M (Hrsg) *Trockenes Auge*. Kaden, Heidelberg, S 33–41
17. Butcher EC, Picker LJ (1996) Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 272:60–66
18. Cohen EJ, Allansmith MR (1981) Fixation techniques for secretory component in human lacrimal gland and conjunctiva. *Am J Ophthalmol* 91:789–793
19. Collins FM (1978) Cellular antimicrobial immunity. *CRC Crit Rev Microbiol* 7:27–91
20. Cornes JS (1965) Number, size, and distribution of Peyer's patches in the human small intestine. Part I: the development of Peyer's Patches. Part II: The effect of age on Peyer's Patches. *Clin Exp Immunol* 6:225–233
21. Cross WD, Lay LF Jr, Walt JG, Kozma CM (2002) Clinical and economic implications of topical cyclosporin A for the treatment of dry eye. *Manag Care Interface* 15:44–49
22. Doane MG (1985) Tear spreading, turnover and drainage. In: Holly FJ (ed), *Proc 1. Int Tear Film Symposium*, Lubbock, Texas, pp 652–661
23. Dua HS, Donoso LA, Laibson PR (1994) Conjunctival instillation of retinal antigens induces tolerance. *Ocular Immunol Inflamm* 2:29–36
24. Dua HS, Gomes JA, Jindal VK et al. (1994) Mucosa specific lymphocytes in the human conjunctiva, corneoscleral limbus and lacrimal gland. *Curr Eye Res* 13:87–93

25. Dursun D, Wang M, Monroy D et al. (2002) Experimentally induced dry eye produces ocular surface inflammation and epithelial disease. *Adv Exp Med Biol* 506:647–655
26. Franklin RM, Kenyon KR, Tomasi TB Jr (1973) Immunohistologic studies of human lacrimal gland: localization of immunoglobulins, secretory component and lactoferrin. *J Immunol* 110:984–992
27. Franklin RM, Remus LE (1984) Conjunctival-associated lymphoid tissue: evidence for a role in the secretory immune system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25:181–187
28. Fujishima H, Saito I, Takeuchi T et al. (1997) Characterization of cytokine mRNA transcripts in conjunctival cells in patients with allergic conjunctivitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:1350–1357
29. Gillette TE, Greiner JV, Allansmith MR (1981) Immunohistochemical localization of human tear lysozyme. *Arch Ophthalmol* 99:298–300
30. Haynes RJ, Tighe PJ, Dua HS (1999) Antimicrobial defensin peptides of the human ocular surface. *Br J Ophthalmol* 83:737–741
31. Hazlett LD (2002) Pathogenic mechanisms of *P. aeruginosa* keratitis: a review of the role of T cells, Langerhans cells, PMN, and cytokines. *DNA Cell Biol* 21:383–390
32. Hingorani M, Metz D, Lightman SL (1997) Characterisation of the normal conjunctival leukocyte population. *Exp Eye Res* 64:905–912
33. Hsu SM, Raine L, Fanger H (1981) Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29:577–580
34. Jones DT, Monroy D, Ji Z et al. (1994) Sjogren's syndrome: cytokine and Epstein-Barr viral gene expression within the conjunctival epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:3493–3504
35. Karnovsky MJ (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J Cell Biol* 27:137–138
36. Kessing SV (1968) Mucous gland system of the conjunctiva. A quantitative normal anatomical study. *Acta Ophthalmol Copenh [Suppl]* 95:1–133
37. Knop E (2001) Konzept eines Augen-assoziierten lymphatischen Gewebes als funktionelle Einheit zur Immunabwehr der Augenoberfläche. *Habilitationschrift, Medizinische Hochschule Hannover*
38. Knop E, Claus P, Knop N (2003) Eye-Associated Lymphoid Tissue (EALT): RT-PCR verifies the presence of mRNA for IgA and its transporter (secretory component) in the normal human conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44:53801
39. Knop E, Knop N (1996) Flachpräparation des Konjunktivalsackes: eine Methode zur topografischen und mikroskopischen Untersuchung seiner Bestandteile. *Verh Anat Ges [Anat Anz Suppl]* 178:92:262
40. Knop E, Knop N (1996) MALT tissue of the conjunctiva and nasolacrimal system in the rabbit and human. *Vis Res* 36:60
41. Knop E, Knop N (1997) The mucosa associated lymphoid tissue of the human conjunctiva consists of three components: solitary follicles, crypt associated MALT and a lymphoid layer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:125
42. Knop E, Knop N (1998) Die menschliche Konjunktiva enthält mukosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe vom organisierten und diffusen Typ. *Verh Anat Ges [Anat Anz Suppl]* 180:70
43. Knop E, Knop N (2000) The human lacrimal drainage system contains lymphoid tissue and is a component of the secretory immune system. *Verh Anat Ges [Anat Anz Suppl]* 182:95:44
44. Knop E, Knop N (2001) Lacrimal drainage associated lymphoid tissue (LDALT): a part of the human mucosal immune system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42:566–574
45. Knop E, Knop N (2002) Human lacrimal drainage-associated lymphoid tissue (LDALT) belongs to the common mucosal immune system. *Adv Exp Med Biol* 506:861–866
46. Knop N, Knop E (1996) Mucosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe in Konjunktiva und nasolacrimalen System des Kaninchens. *Ophthalmologe* 93:62
47. Knop N, Knop E (1996) The lacrimal sac in the rabbit and human is associated with MALT. *Vis Res* 36:195
48. Knop N, Knop E (1997) The MALT tissue of the ocular surface is continued inside the lacrimal sac in the rabbit and human. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:126
49. Knop N, Knop E (1998) Mukosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe im Tränensack von Mensch und Kaninchen. *Verh Anat Ges [Anat Anz Suppl]* 93:132
50. Knop N, Knop E (2000) Conjunctiva-associated lymphoid tissue in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41:1270–1279
51. Kraehenbuhl JP, Neutra MR (1992) Molecular and cellular basis of immune protection of mucosal surfaces. *Physiol Rev* 72:853–879
52. Kunert KS, Tisdale AS, Stern ME et al. (2000) Analysis of topical cyclosporine treatment of patients with dry eye syndrome: effect on conjunctival lymphocytes. *Arch Ophthalmol* 118:1489–1496
53. MacDonald TT, Bajaj-Elliott M, Pender SL (1999) T cells orchestrate intestinal mucosal shape and integrity. *Immunol Today* 20:505–510
54. McGhee JR, Lamm ME, Strober W (1999) Mucosal immune responses: an overview. In: Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME et al. (eds) *Handbook of mucosal immunology*, 2nd edn. Academic Press, San Diego, pp 485–506
55. Mestecky J, McGhee JR, Michalek SM et al. (1978). Concept of the local and common mucosal immune response. *Adv Exp Med Biol* 107:185–192
56. Metz DP, Hingorani M, Calder VL et al. (1997) T-cell cytokines in chronic allergic eye disease. *J Allergy Clin Immunol* 100:817–824
57. Nava A, Barton K, Monroy DC, Pflugfelder SC (1997) The effects of age, gender, and fluid dynamics on the concentration of tear film epidermal growth factor. *Cornea* 16:430–438
58. Osterlind G (1944) An investigation into the presence of lymphatic tissue in the human conjunctiva, and its biological and clinical importance. *Acta Ophthalmol Copenh [Suppl]* 23:1–79
59. Paulsen FP, Paulsen JI, Thale AB et al. (2002) Organized mucosa-associated lymphoid tissue in human nasolacrimal ducts. *Adv Exp Med Biol* 506:873–876
60. Paulsen FP, Paulsen JI, Thale AB, Tillmann BN (2000) Mucosa-associated lymphoid tissue in human efferent tear ducts. *Virchows Arch* 437:185–189
61. Pearlman E, Lass JH, Bardenstein DS et al. (1995) Interleukin 4 and T helper type 2 cells are required for development of experimental onchocercal keratitis (river blindness). *J Exp Med* 182:931–940
62. Perra MT, Serra A, Sirigu P, Turno F (1995) A histochemical and immunohistochemical study of certain defense mechanisms in the human lacrimal sac epithelium. *Arch Histol Cytol* 58:517–522
63. Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z et al. (1999) Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjogren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 19:201–211
64. Pflugfelder SC, Solomon A, Stern ME (2000) The diagnosis and management of dry eye: a twenty-five-year review. *Cornea* 19:644–649
65. Pleyer U (2001) Immunologie des Tränenfilms. In: Bre-witt H, Zierhut M (Hrsg) *Trockenes Auge*. Kaden Verlag, Heidelberg, S 49–56
66. Pleyer U, Baatz H (1997) Antibacterial protection of the ocular surface. *Ophthalmologica* 211 [Suppl 1]:2–8
67. Pleyer U, Dannowski H, Volk HD, Ritter T (2001) Corneal allograft rejection: current understanding. I. Immunobiology and basic mechanisms. *Ophthalmologica* 215:254–262
68. Ruprecht KW, Bialasiewicz AA (1987) Bakterielle Konjunktivitis. *Fortschr Ophthalmol* 84:55–64
69. Sacks EH, Jakobiec FA, Wieczorek R et al. (1989) Immunophenotypic analysis of the inflammatory infiltrate in ocular cicatricial pemphigoid. Further evidence for a T cell-mediated disease. *Ophthalmology* 96:236–243
70. Sacks EH, Wieczorek R, Jakobiec FA, Knowles DM (1986) Lymphocytic subpopulations in the normal human conjunctiva. A monoclonal antibody study. *Ophthalmology* 93:1276–1283
71. Sall K, Stevenson OD, Mundorf TK, Reis BL (2000) Two multicenter, randomized studies of the efficacy and safety of cyclosporine ophthalmic emulsion in moderate to severe dry eye disease. *CsA Phase 3 Study Group*. *Ophthalmology* 107:631–639
72. Sullivan DA (1999) Ocular mucosal immunity. In: Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME et al. (eds) *Handbook of mucosal immunology*, 2nd edn. Academic Press, San Diego, pp 1241–1281
73. Tang Q, Chen W, Hendricks RL (1997) Proinflammatory functions of IL-2 in herpes simplex virus corneal infection. *J Immunol* 158:1275–1283
74. Thale A, Paulsen F, Kohla G et al. (2001) The efferent lacrimal ducts of the human. Morphological and biochemical studies. *Ophthalmologe* 98:67–73
75. Tiffany JM, Bron AJ (1978) Role of tears in maintaining corneal integrity. *Trans Ophthalmol Soc UK* 98:335–338
76. Virchow H (1910) *Mikroskopische Anatomie der äusseren Augenhaut und des Lidapparates*. In: Saemisch T (Hrsg) *Graefe-Saemisch Handbuch der gesamten Augenheilkunde*, Band 1, 1. Abteilung, Kapitel II, 2. Aufl. W. Engelmann, Leipzig, S 431
77. Westermann J, Engelhardt B, Hoffmann JC (2001) Migration of T cells in vivo: molecular mechanisms and clinical implications. *Ann Intern Med* 135:279–295
78. Westermann J, Pabst R (1996) How organ-specific is the migration of „naive“ and „memory“ T cells? *Immunol Today* 17:278–282
79. Wieczorek R, Jakobiec FA, Sacks EH, Knowles DM (1988) The immunoreactivity of the normal human lacrimal gland. Relevancy for understanding pathologic conditions. *Ophthalmology* 95:100–109
80. Wotherspoon AC, Hardman L, Isaacson PG (1994) Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) in the human conjunctiva. *J Pathol* 174:33–37
81. Zierhut M, Stiemer R (1997) Physiological protective mechanisms of the eye. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 211:1–11
82. Zuckerman BD (1966) Conjunctival pigmentation due to cosmetics. *Am J Ophthalmol* 62:672–676 (abst)