

ランゲルハンス細胞顆粒の生物学的意義について

富山医科薬科大学皮膚科学教室

高橋省三

要約

ランゲルハンス細胞 (LC) の歴史とランゲルハンス細胞顆粒 (LCG) について概説した。次に正常ヒトでは LC と特異的に反応する OKT6 モノクローナル抗体が LCG と反応するかどうかを免疫電顕的に検討した。さらに、LC は異物を貪食することはよく知られているが、この異物貪食に LCG が関与するのかがどうかについても電顕的に検討した。その結果、OKT6 は最初、LC の細胞膜と反応し時間の経過とともに、細胞膜が陥入し、さらに、細胞質内に移動した LCG とも反応した。また、異物摂取の tracer として使用した horseradish peroxidase (HRP) は、細胞質内で LCG に摂取され、lysosome に接する LCG は HRP 陽性であった。これらの所見は、LCG が細胞膜由来であり、また異物摂取に関与していることを示唆するものである。

はじめに

1) LCの歴史

LC は、1868年 Langerhans により塩化金染色で表皮内の樹枝状細胞として発見された。1961年、Birbeck ら (1961) はこの細胞を電顕的に確認しその特徴を明らかにした。この細胞の有する特異な顆粒は、LCG または Birbeck 顆粒とよばれている。1971年、Silberberg は、LC は抗原提示細胞であることを接触性皮膚炎において示唆した。1977年、Stingl らは、LC が IgG-Fc receptor や C3 receptor を持つことを明らかにした。1979年、Katz らや Frelinger は、LC が骨髄由来であることを証明した。また LC がアルデヒド、アミン類、重金属などの接触抗原を取り込むことは Shelley and Juhlin (1976) により報告された。

2) LCG の意義

LCG は、通常の電顕像では、3層構造を有し桿状

や球状を呈する。LC の最終的な同定は、現在でも電顕による LCG の確認である。

LCG の由来に関しては、Golgi 由来説 (Wolff and Schreiner, 1970) と細胞膜由来説 (Hashimoto, 1971) とがある。Golgi 由来説は 1) Golgi 領域近くに LCG がよくみられる 2) オスミウムヨード亜鉛法で Golgi, 核膜, vesicle, LCG, lysosome, coated vesicle が陽性などの所見による。一方、細胞膜由来説は、1) 細胞膜に付着している LCG は、細胞膜と連続しその内部は細胞外部と連続している 2) lysosome 様構造と LCG が結合しているなどの所見による。

そこで今回 LCG の由来を電顕レベルから明らかにするために、免疫電顕的検討を行った。皮膚では LC と特異的に反応する OKT3 モノクローナル抗体を正常ヒト皮膚で使用すると、もし LCG が細胞膜由来であれば、LC の細胞膜と反応した OKT6 は、最初に細胞膜の陥入により生じた LCG に陽性となり、これらの LCG の細胞内への移動が認められれば、OKT6 陽性 LCG の存在が推測される。

著者は OKT6 が細胞膜と反応した後、細胞質内の LCG が OKT6 陽性となるかどうかを検討した (Takahashi and Hashimoto, 1985a)。また、LC が貪食した異物の細胞質内での動態についてはまだ議論のあるところである。この異物貪食に LCG が関与しているかどうかを HRP を tracer として検討を行った (Takahashi et al., 1985b)。

材料と方法

1) LCG と OKT6 との反応性の実験

臨床的に正常な大腿の皮膚 (植皮の際の患皮膚) より採取した皮膚を 2% EDTA 液を使い表皮層を得た。この表皮層を MEM 培養液に OKT6 モノクローナル抗体を溶解し 4℃ で 120分反応後、洗浄し、MEM 培養液で 37℃ で 120分まで培養した。その後

4%パラフォルムアルデヒド液に0.05%サポニン添加した溶液で5分固定後、サポニンのみを抜いた同じ固定液でさらに4℃で4時間固定を行い、リン酸緩衝液で洗浄した。その後表皮層を HRP でラベルした2次抗体と室温で2時間反応させた後、diaminobenzidine (DAB) と過酸化水素で発色させた。1% glutaraldehyde 液で前固定、1% osmic acid で後固定を行い、Araldite に包埋した。超薄切片作成後 Zeiss EM109 や Hitachi H-300 電子顕微鏡で観察した。

2) 異物摂取の実験

モルモット背部の皮膚を生検し、表皮細胞層を上記と同様の方法で得た。この表皮層を0.15% HRP を含む MEM 培養液中で37℃、120分まで反応後、5% glutaraldehyde で4℃で4時間前固定し、洗浄後 DAB と過酸化水素で4℃、60分反応させた。1% osmic acid で4℃、60分後固定し、Araldite に包埋した。超薄切片作成後上記と同様の電子顕微鏡で観察した。

結 果

1) ヒト表皮層では、培養15分後には、LC の細胞膜は OKT6 陽性となり、細胞膜の陥入が始まり、LCG の形成が開始された(図1)。30分後には LCG

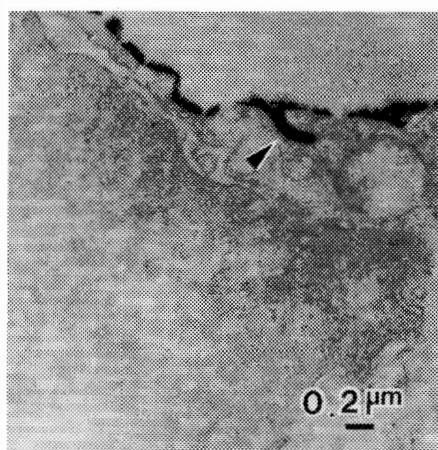


図1 細胞膜が陥入して形成された OKT6 陽性 LCG (▶)。

は細胞膜より分離し、細胞内へと移動し、rod 状の LCG となり、OKT6 陽性部位は、trilaminar の両外膜にみられ、中間板は染色されず周期性が観察された(図2)。60分から120分後には、ラケット状の rod と bulb がみられ、OKT6 陽性部分は、rod の

みに見られ、bulb には認められなかった。

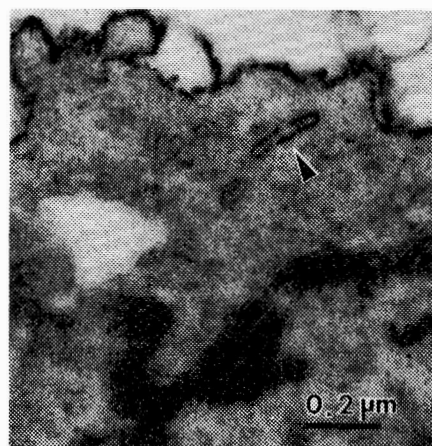


図2 LC の細胞質内にみられる OKT6 陽性 LCG (▶)。LCG の三層構造が認められる。

2) モルモット表皮層では、HRP 30分反応後、LC の細胞膜の近くに桿状の HRP 陽性物質が認められた(図3)。連続切片で観察すると、HRP 陽性

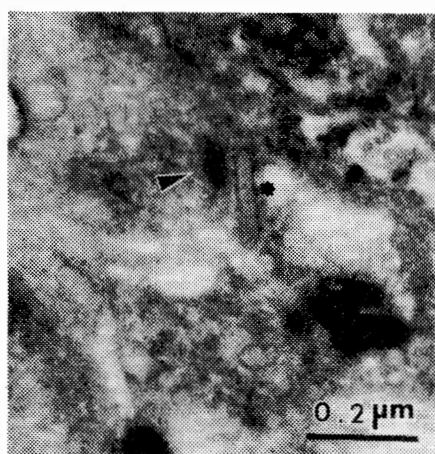


図3 HRP 陽性 LCG (▶) と HRP 陰性 LCG (*)。

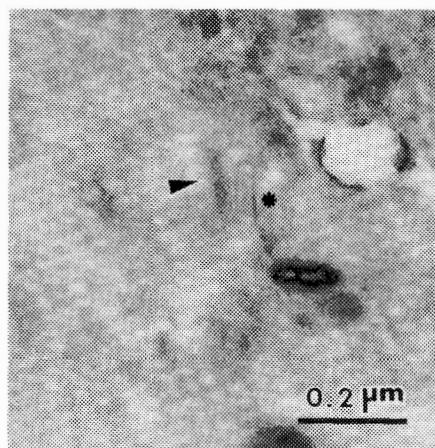


図4 Fig. 3 の連続切片。LCG の特異構造がみられる (▶)。

の LCG の構造がみられた(図4)。60分から120分反応のものでは lysosome 様の空胞に HRP 陽性の rod が接している像が見られた。

考 按

1) LCG の由来について

これまでの通常の免疫電顕的手法では Ia や OKT6 陽性とならなかった LCG が、この実験で陽性に認められた。細胞表面の immune complex や receptor の endocytosis に関する報告はこれまでにいくつかある (Takahashi et al., 1985a)。今回著者はこれらと同様の方法で抗体を一定時間反応させた後に 37°C の培養液で培養し endocytosis の促進を計った。さらにサポニンを固定液に添加することにより二次抗体の浸透を促進させた。その結果細胞表面で反応した OKT6 は、細胞膜の陥入により形成された LCG や細胞質内へ移動した LCG にも陽性に認められこれらの LCG が細胞膜由来であることを証明できた。

2) 異物摂取について

HRP を LC の異物貪食の tracer とした実験はいくつかある。Wolff and Schreiner (1970) は貪食に LCG は関与しないと、Hashimoto (1971) や Masutani and Hashimoto (1979) は貪食に LCG が関与するとしている。今回の実験で、時間の経過と共に HRP 陽性の LCG は細胞膜から離れて細胞質内に移動し、さらに lysosome と接する所見も認められた。この所見は LC が異物貪食を行う際に異物が LCG を介して摂取され、lysosome 内に運ばれる可能性を示唆する。

文 献

- Birbeck M. S., Breathnach A. S. and Everal J. D. : An electron microscopic study of basal melanocytes and high-level clear cells (Langerhans cells) in vitiligo. *J. Invest. Dermatol.* 37 : 51-64, 1961.
- Hashimoto K. : Langerhans' cell granule. An endocytic organelle. *Arch. Dermatol.* 104 : 148-160, 1971.
- Masutani M. and Hashimoto K. : Phagocytic and lysosomal activity of Langerhans cells in sensitized guinea pig (abstr). *J. Invest. Dermatol.* 72 : 281, 1979.
- Shelley W. B. and Juhlin L. : Langerhans cells from a reticuloepithelial trap for external contact allergens. *Nature* 261 : 46-47, 1976.
- Takahashi S. and Hashimoto K. : Derivation of Langerhans cell granules from cytomembrane. *J. Invest. Dermatol.* 84 : 469-471, 1985a.
- Takahashi S., Morohashi M. and Hashimoto K. : Phagocytic activity of Langerhans cell granules (abstr). *J. Invest. Dermatol.* 84 : 363, 1985b.
- Wolff K., and Schreiner F. : Uptake, intracellular transport and regeneration of exogenous protein by Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.* 54 : 37-47, 1970.