

Draga Štiblar Martinčič¹

Morfološke značilnosti Langerhansovih celic

Morphological characteristics of Langerhans cells

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: Langerhansove celice – ultrastruktura – imunologija

Langerhansove celice so del obsežnega sistema antigen predstavitev celic, znanih pod imenom dendritične celice, ki imajo osrednjo vlogo pri imunskem odzivu. Prvotno so te specializirane celice, ki imajo izvor v kostnem mozgu, našli v povrhnjici, kasneje pa so jih prikazali tudi v sluznici različnih organov. V preparatih, obarvanih s hematoksilinom in eozinom, so Langerhansove celice v svetlobnem mikroskopu težje prepoznavne, dokažemo pa jih imunohistokemično na osnovi številnih površinskih in /ali citoplazmatskih antigenov. Specifičen označevalec za prepoznavo na elektronskomikroskopski ravni so Birbeckova zrnca. Langerhansove celice omogočajo primarno predelavo in predstavitev antigena limfocitom T v koži in sluznicah.

ABSTRACT

KEY WORDS: Langerhans cells – ultrastructure – immunology

Langerhans cells are part of the widely distributed antigen-presenting cells known as dendritic cells with a key role in immune responses. These specialised bone marrow-derived cells were originally found in the epidermis and later demonstrated in the mucosa of other organs. Langerhans cells are difficult to identify in sections stained with hematoxylin-eosin. A large number of surface and/or cytoplasmic antigens have been localised on Langerhans cells for immunohistochemical detection. The Birbeck granules are the specific markers of Langerhans cells on electron microscopical level. Langerhans cells represent the primary immune defence of the skin and mucosae with various immunological functions, among which the processing and presenting antigen to T lymphocytes are the most important.

79

¹ Prof. dr. Draga Štiblar Martinčič, dr. stom., Medicinska fakulteta v Ljubljani, Inštitut za histologijo in embriologijo, Korytkova 2, 1000 Ljubljana.

UVOD

Leta 1868 je takrat 24-letni nemški študent medicine Paul Langerhans opisal populacijo dendritičnih (razvejanih) celic v suprabazalnem delu povrhnjice, ki se je obarvala pozitivno z zlatim kloridom. Prav zaradi obarvanosti z zlatim kloridom jih je uvrstil med živčne celice. Približno sto let kasneje, leta 1961, pa je Birbeck s sodelavci pri ultrastrukturni študiji vitiliga opazil v citoplazmi dendritičnih celic povrhnjice palici in loparju podobna zrnca, ki jih sedaj imenujejo Birbeckova zrnca ali zrnca Langerhansovih celic (1). Razvoj imunologije in eksperimentalne biologije v zadnjih dvajsetih letih pa je s pomočjo sodobnih metod osvetlil izvor in naloge Langerhansovih celic.

Langerhansove celice so del obsežnega sistema antigen predstavitev celic, znanih pod imenom dendritične celice, ki imajo osrednjo vlogo pri primarnem in sekundarnem imunskem odzivu (2). Dendritične celice zajemajo veliko število celičnih tipov, ki so jim skupni fenotip in naloge. Glede na tkiva, v katerih jih najdemo, pa se različno imenujejo. Na primer dendritične celice v možganih so mikroglijske celice, v mezovalnih so plaščne celice, v tkivu kože in sluznic so Langerhansove celice, v krvi, vranici, kostnem mozgu, srcu, pljučih, ščitnici, jetrih, požiralniku in trebušni slinavki se imenujejo kar dendritične celice (3).

Fenotip Langerhansovih celic kaže, da ne pripadajo monocitno-makrofagnemu sistemu, ampak bolj k limfatičnim dendritičnim celicam. Imunsko odzivne dendritične celice delimo v tri glavne skupine:

- limfatične dendritične celice – celice v limfatičnem tkivu, kot so interdigitativne celice bezgavk in plaščne celice aferentnih mezovalnic,
- tkivne dendritične celice – celice veziv skupaj z dendrociti usnjice in
- epiteljske dendritične celice, katerih glavni predstavnik so Langerhansove celice (4).

Po predhodnih ugotovitvah, ali Langerhansove celice izvirajo iz mezenhimske celice ali iz melanocitov, je danes potrjeno, da so predhodniki Langerhansovih celic v kostnem mozgu, od koder se razpršijo po celotnem telesu.

ANTIGEN PREDSTAVITVENE CELICE

Antigen predstavitvene celice sestavljajo heterogeno celično populacijo, ki vključuje dendritične celice, makrofage, Langerhansove celice, limfocite B in epiteljske retikularne celice v priželjcu. V procesu, znanem pod imenom predelovanje antigenov, delno prebavijo antigene, ki so kemično beljakovine, do manjših peptidov. Proces predelave antigenov je potreben za aktiviranje limfocitov T. Limfociti T lahko prepoznajo samo tiste peptide, ki so vezani na molekule poglobitnega kompleksa tkivne skladnosti (molekule MHC), medtem ko lahko limfociti B neposredno prepoznajo beljakovine, peptide, lipide ali polisaharide. Fagocitirane beljakovine se razgradijo v lizosomih antigen predstavitev celic na manjše peptide (10 do 30 aminokislin) in tvorijo molekule MHC tipa II. Endogene beljakovine prebavijo proteaze na še manjše peptide (8 do 11 aminokislin), ki se prenesejo na endoplazemski retikulum, kjer tvorijo kompleks s tipom I molekul MHC. Oba tipa molekul se nato prenesejo na celično membrano, kjer jih lahko prepoznajo limfociti T (5).

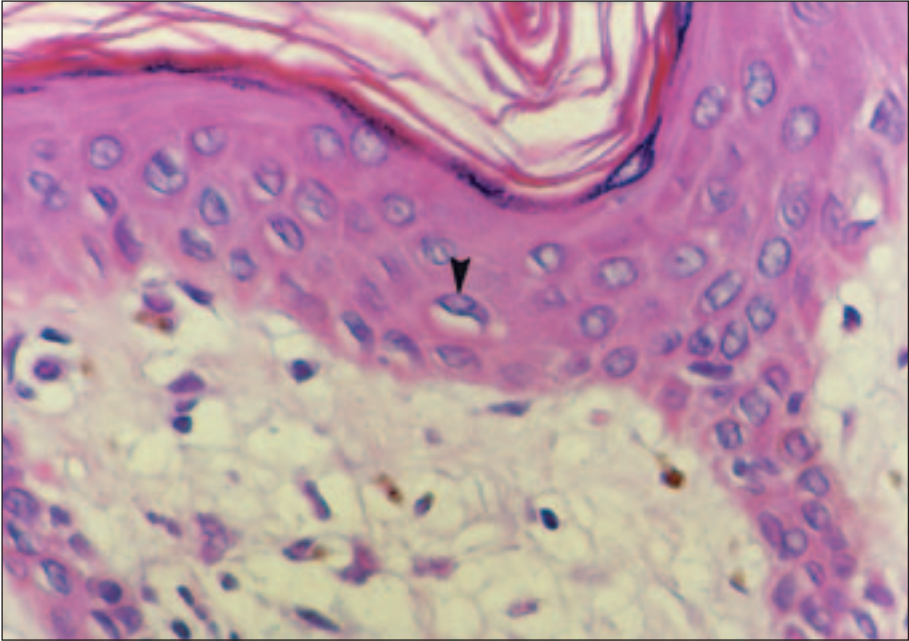
Molekule MHC (iz angl. *major histocompatibility complex*) omogočajo limfocitom T prepoznavanje peptidnih antigenov. Pri človeku se molekule MHC imenujejo HLA (angl. *human leukocyte antigen*), ker so jih najprej odkrili na levkocitih. Obstojata dva tipa molekul MHC: MHC-I, ki so prisotne na vseh celicah, in MHC-II, ki jih najdemo na antigen predstavitev celicah.

METODE ZA DOKAZOVANJE IN PRIKAZOVANJE LANGERHANSOVIH CELIC

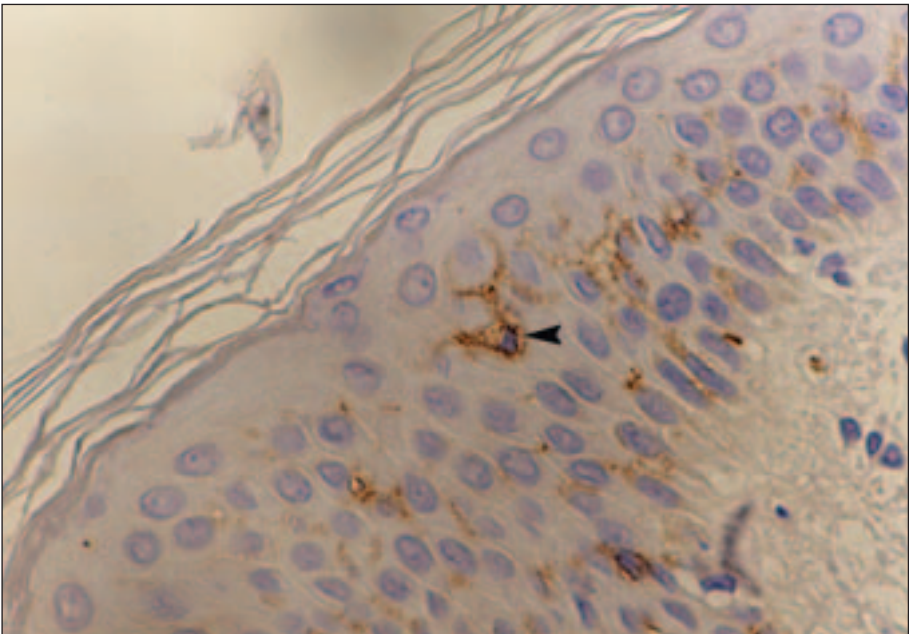
Za prikaz Langerhansovih celic v tkivnih rezinah se uporabljajo različne metode, od svetlobne in elektronske mikroskopije do imunohistokemičnih tehnik. Slednje so poleg elektronske mikroskopije najzanesljivejše za dokazovanje Langerhansovih celic.

Svetlobnomikroskopska raven

V preparatih, obarvanih s hematoksilinom in eozinom, so Langerhansove celice v svetlobnem mikroskopu težje prepoznavne (slika 1).



Slika 1. Langerhansova celica (puščica) v trnasti plasti povrhnjice (barvanje: hematoksilin-eozin, 40-kratna povečava objektivna).



Slika 2. Langerhansova celica (puščica) v trnasti plasti povrhnjice (barvanje: imunohistokemično s protitelesom anti-CD1a, 40-kratna povečava objektivna).

Pojavijo se kot nepravilno oblikovane, svetlo obarvane celice z bledo obarvanim ovalnim jedrom. Prva metoda za prikaz Langerhansovih celic je bila tehnika impregnacije s težkimi kovinami, kot so zlato, ozmijev jodid ali cink-ozmijev jodid. Ker se po impregnaciji tkiva s cink-ozmijevim jodidom prikažejo tudi melanociti in keratinociti, se za prikaz Langerhansovih celic uporabljajo specifične histokemične in imunohistokemične metode.

Langerhansove celice so zelo različno oblikovane. Jedro leži običajno ekcentrično. Celica ima številne citoplazmatske podaljške v obliki trnov, nabreklih psevdopodijev ali jezičkov. V povrhnjici in drugih večskladnih ploščatih epitelijih ležijo suprabazalno in s svojimi dendritičnimi podaljški segajo navzgor proti prosti površini epitelija. Število dendritičnih podaljškov je v različnih področjih različno. Glede na število dendritičnih podaljškov in stopnjo njihove razvejanosti ločijo v vratu maternice pet tipov Langerhansovih celic (6).

Elektronmikroskopska raven

Specifičen označevalec za prepoznavo Langerhansovih celic na elektronmikroskopski ravni so Birbeckova zrnca. Večino zrnec najdemo znotraj Golgijeve regije ali v njeni bližini, lahko pa tudi v preostalih delih citoplazme in v dendritičnih izrastkih. Ne tako redko pa so zrnca lahko pripeta na plazmno membrano. Oblika jedra se od celice do celice razlikuje, vendar pa je največkrat zažeto ali režnjičasto. Jedra zlasti v povezavi s tumorskimi celicami ali pri obolenju histiocitoma X vsebujejo tudi veliko jedrce. Citoplazma Langerhansovih celic je glede na okolico relativno svetlejša in bogata z različnimi organeli, ne vsebuje pa fagocitnih vakuol in velikih lizosomov. V citoplazmi najdemo številne mitohondrije, izrazit Golgijev aparat, ozke cisterne zrnatega endoplazemskega retikuluma, urejene v vzporedne trakove, nekaj manjših lizosomov, običajno v bližini Golgijeve regije, in različno število Birbeckovih zrnec. Mikrofilamenti in sistem mikrotubulov znotraj citoplazme tvori mrežje in omogoča celicam premikanje (1).

Glede izvora Birbeckovih zrnec obstojata dve teoriji. Teorija »endocitotičnega organela« pravi, da se zrnca oblikujejo iz celične

membrane, po teoriji »sekretornega organela« pa naj bi izhajala iz Golgijevega aparata. Natančna naloga zrnec še ni pojasnjena. Če bi se tvorila z endocitozo, potem bi bila lahko pomembna pri požiranju različnih substanc, tudi antigenov (1).

Na osnovi elektronmikroskopskih značilnosti ločimo dva tipa Langerhansovih celic. Tip 1 so močno razvejane s svetlo citoplazmo in številnimi Birbeckovimi zrci. Najdemo jih običajno v suprabazalnem sloju epitelija. Tip 2 ima manj citoplazmatskih podaljškov, gostejšo citoplazmo in manj Birbeckovih zrnec. Najdemo jih običajno v bazalnem sloju epitelija (7).

Imunocitokemija

Langerhansove celice vsebujejo veliko število površinskih in/ali citoplazmatskih antigenov, ki se lahko prikažejo ali z imunoperoksidaznimi ali imunofluorescentnimi metodami. Monoklonsko protitelo, imenovano Lag, specifično regira z Birbeckovimi zrci. To protitelo prepozna glikoprotein 40kDa, ki je prisoten na Birbeckovih zrcih. S tem protitelesom lahko dokažemo Langerhansove celice v različnih tkivih.

Langerhansove celice so v človeški povrhnjici edine celice, ki vsebujejo encim adenozin trifosfatazo (ATP-aza). Barvanje za prikaz ATP-azne aktivnosti je zanesljiva metoda dokazovanja Langerhansovih celic v povrhnjici. S pomočjo elektronske mikroskopije so dokazali ATP-azo na celični membrani Langerhansovih celic. Predvidevajo, da bi ta encim lahko prispeval energijo, potrebno za mobilnost celice ali za membranske aktivnosti (8).

Molekule MHC obeh tipov imajo tudi Langerhansove celice na svoji površini. V normalnih stanjih lahko dokažemo na Langerhansovih celicah oba tipa molekul MHC, pri patoloških stanjih pa lahko tip II dokažemo tudi na keratinocitih (5).

Langerhansove celice izražajo tudi antigen S-100, ki je vezajoča beljakovina. Langerhansove celice izražajo številne označevalce, ki jih v normalnih pogojih druge celice povrhnjice ne. Sem prištevamo CD1, CD11, HLA-D/DR in Fc-immunoglobulin G (IgG). Izražanje omejenih označevalcev je pod kontrolo različnih faktorjev. Fenotipična označevalca, najbolj

značilna za Langerhansove celice, sta tip II molekule MHC in antigen CD1a (slika 2). Najpogosteje uporabljena označevalca za dokaz Langerhansovih celic v povrhnjici sta encima ATP-aza in adenozin difostataza (2).

NALOGE LANGERHANSOVH CELIC

Langerhansove celice predstavljajo pri človeku okrog 4 % vseh celic povrhnjice. Najprej so jih opisali v koži, šele dosti kasneje so jih dokazali v sluznici. Najdemo jih v vseh večskladnih ploščatih epitelijih, kot so epitelij kože, lic, požiralnika, analne odprtine, dihalne poti, v usnjici, limfatičnem tkivu kože in bezgavkah. Prisotne so tudi v kožnih adneksih, v izvodilih lojnic, znojnic in v zunanji lasni ovojnici. V koži jih je povprečno 500 do 1000 na mm². Normalno jih najdemo tudi v dlesni, jeziku, licih, požiralniku, limfatičnem tkivu ustne votline, žrelu, grlu, veznici, priželjcu in materničnem vratu (9).

Langerhansove celice imajo številne imunološke funkcije, med katerimi pa je največkrat omenjena predstavitev antigena limfocitom T. Po aktivaciji se Langerhansove celice selijo iz povrhnjice v drenažne bezgavke, da predstavijo antigen limfocitom T, v parakortikalna področja bezgavk, kjer se prične imunski odziv (10). *In vivo* in *in vitro*

raziskave so pokazale, da so lastnosti Langerhansovih celic, kot so fenotip, morfologija in sposobnost aktiviranja limfocitov T, odvisne od lokalnega mikrookolja, v katerem Langerhansove celice delujejo (8).

Pri človeku imajo Langerhansove celice vlogo pri preobčutljivostnih reakcijah kože. Langerhansove celice vežejo alergene, jih preko limfnih poti vodijo v bezgavke in so tako pomembne v začetnih fazah kontaktne preobčutljivosti kože. Langerhansove celice se poškodujejo v stiku z alergeni in z imunskimi kompleksi, ki nastajajo pri teh reakcijah (11).

SKLEP

Dokazano je, da imajo Langerhansove celice pomembno vlogo v imunskem procesu, predvsem v predstavitvi antigenov limfocitom T. Ni pa še povsem razjasnjena njihova vloga v patoloških stanjih. Odsotnost Langerhansovih celic pri preobčutljivostnih reakcijah je le posredni dokaz za njihovo vlogo pri boleznih. Do odsotnosti Langerhansovih celic pride zaradi zmanjšane sposobnosti obnavljanja ali zmanjšane sposobnosti za selitev v epitelij ali zmanjšane sposobnosti predstavljanja antigena. Langerhansove celice delujejo podobno kot makrofagi, ki predstavljajo heterogeno celično populacijo, medtem ko so Langerhansove celice specializirana oblika makrofagov v sluznicah.

LITERATURA

1. Hammar S. Langerhans cells. *Pathol Annual* 1988; 2: 293-328.
2. Wright-Browne V, McClain KL, Ordonez N. Physiology and pathophysiology of dendritic cells. *Hum Pathol* 1997; 28: 563-79.
3. Sprecher E, Becker Y. Role of Langerhans cells and other dendritic cells in viral diseases. *Arch Virol* 1993; 132: 1-28.
4. Terris B, Potet F. Structure and role of Langerhans' cells in the human oesophageal epithelium. *Digestion* 1995; 56 Suppl 1: 9-14.
5. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. *Basic histology*. Rio de Janeiro: Appleton & Lange, 1998. pp. 347-60.
6. Figueroa CD, Caorsi I. Ultrastructural and morphometrical study of the Langerhans cell in the normal human exocervix. *J Anat* 1980; 131: 669-9.
7. Lombardi T, Hauser C, Budtz-Jørgensen E. Langerhans cells: structure, and role in oral pathological conditions. *J Oral Pathol* 1993; 22: 193-202.
8. Teunissen MBM. Dynamic nature and function of epidermal Langerhans cells in vivo and in vitro: a review, with emphasis on human Langerhans cells. *Histochem J* 1992; 24: 697-716.
9. Hammar S, Bockus D, Remington F, Bartha M. The widespread distribution of Langerhans cells in pathologic tissue: an ultrastructural and immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1986; 17: 894-905.
10. De Graaf JH, Tamminga RY, Kamps WA, Timens W. Expression of cellular molecules in Langerhans cell histiocytosis and normal Langerhans cells. *Am J Pathol* 1995; 147: 1161-71.
11. Hogan AD, Burks AW. Epidermal Langerhans' cells and their function in the skin immune system. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995; 75: 5-10.