

Langerhans cell

Porntip Puvabanditsin MD.

ABSTRACT:

PUVABANDITSIN P. LANGERHANS CELL. THAI J DERMATOL 2002; 18:100-14.

DIVISION OF DERMATOLOGY, DEPARTMENT OF MEDICINE, FACULTY OF MEDICINE, CHULALONGKORN UNIVERSITY, BANGKOK, THAILAND.

Basic knowledge of Langerhans cell (LC) is revised, including the origin, the life cycle and function of LC. The immunohistochemical properties, immunolabelling stainings and the morphologic electron microscopic findings were described in detail.

Key words: Langerhans cell, antigen presenting cell

บทคัดย่อ:

พรทิพย์ ภูวบัณฑิตสิน เซลล์ต่างเกอร์ฮานส์ วารสารโรคผิวหนัง 2545; 18:100-14.

สาขาวิชาตจวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทความนี้เสนอความรู้พื้นฐานเรื่องเซลล์ต่างเกอร์ฮานส์ เช่น การกำเนิด วงจรชีวิตและหน้าที่ของเซลล์ และได้อธิบายลักษณะของเซลล์ โดยการย้อมวิธีพิเศษด้วยแอนไชม์ การตรวจหาแอนติเจนบนผิวเซลล์และการดูแลลักษณะเซลล์โดยจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

คำสำคัญ: เซลล์ต่างเกอร์ฮานส์, เซลล์นำเสนอแอนติเจน

ผิวหนังกำพร้า (epidermis) ประกอบด้วยเซลล์ 3 ชนิด คือ keratinocyte, melanocyte และ Langerhans cell รวมเป็น KLM unit ซึ่งทั้ง 3 เซลล์มีความสัมพันธ์เชื่อมโยงซึ่งกันและกัน

Langerhans cell (LC)^{1,2,3} เป็น immunocompetent dendritic cell พบมากที่บริเวณชั้น suprabasilar ของหนังกำพร้า (epidermis) และเยื่อเมือก (mucous membrane) LC เป็นเซลล์ที่มีสายพันธุ์เดียวกับกลุ่มเม็ดเลือดขาว LC มีหน้าที่ย่อยโปรตีน เปลี่ยนเป็นแอนติเจนและก่อให้เกิดขบวนการสร้างภูมิคุ้มกันตามมา LC สร้างจากไขกระดูกจะเคลื่อนย้ายผ่านเข้าในกระแสโลหิตและเมื่อเซลล์เจริญเต็มที่ จะเคลื่อนไปอยู่ในชั้นหนังกำพร้า เมื่อ LC ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน LC ที่บริเวณผิวหนังจะเคลื่อนย้ายกลับเข้าท่อน้ำเหลืองและต่อมน้ำเหลืองตามลำดับ

Langerhans cell ถูกค้นพบมานานกว่า 100 ปี แต่หน้าที่และความสำคัญนั้นเพิ่งจะทราบมากขึ้นเมื่อประมาณ 20-30 ปีที่ผ่านมา นักวิจัยโดยส่วนใหญ่ให้ความสนใจในการเป็น antigen presenting cell โดย LC ทำให้เกิดการตอบสนองของร่างกายต่อแอนติเจนที่ได้รับและพบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ LC กับความรุนแรงของปฏิกิริยาการตอบสนอง ส่วนการกระจายตัวของ LC ในสัตว์แต่ละชนิดและจำนวนของ LC^{4,5} ในบริเวณแต่ละส่วนของร่างกายจะแตกต่างกันไป เช่น ในหนูพบ LC ในบริเวณใบหู หลัง และอุ้งเท้า แต่ไม่พบ LC ที่บริเวณ cornea จากการศึกษาในชั้นผิวหนังพบ LC ประมาณร้อยละ 4-5 ของเซลล์ชั้น epidermis

ต่อมาได้มีการศึกษาจำนวน LC⁶ ในมนุษย์ก็ให้ผลเช่นเดียวกับในสัตว์ โดยมีจำนวน LC แตกต่างกันในบริเวณลำตัว หนังศีรษะ ขาแขน และเยื่อช่องปาก พบ LC มากที่สุดบริเวณหน้าและคอ และพบ LC น้อยที่สุดที่บริเวณ sacrococcyx และฝ่ามือ ฝ่าเท้า ส่วนการศึกษา LC ในบริเวณเยื่อช่องปากพบว่าปริมาณ LC แตกต่างกันระหว่าง keratinized และ non-keratinized tissue

Langerhans cell^{7,8} ค้นพบครั้งแรกโดยนักศึกษาแพทย์ชาวเยอรมันชื่อ Paul Langerhans ในปี ค.ศ. 1858 Paul Langerhans ได้ศึกษาระบบประสาทของชั้นผิวหนังกับ Rudolf Virchow ที่ Berlin Pathological Institute โดยการย้อมเนื้อเยื่อผิวหนังด้วย gold salts และเนื่องจากคุณสมบัติของ gold chloride ใช้ย้อมเนื้อเยื่อประสาทและเมื่อ LC ติดสีนี้ด้วย จึงทำให้เกิดความเข้าใจผิดว่าเซลล์นี้เป็นส่วนหนึ่งของระบบประสาท ซึ่งนักวิจัยหลายท่านก็ได้ค้นคว้าในแนวความเชื่อนี้ ในปี ค.ศ.1950-1970 ได้เริ่มมีกลุ่มนักวิจัยที่เชื่อว่า LC เป็นเซลล์ที่มีการวิวัฒนาการมาจาก melanocyte โดยบางกลุ่มเชื่อว่าเป็นเซลล์ที่แบ่งตัวแยกออกมาระหว่างการสร้าง melanocytes โดยเซลล์ทั้ง 2 ชนิดมีลักษณะเป็น dendritic เหมือนกัน จากการศึกษาการกระจายตัวของเซลล์ 2 ชนิดนี้ พบว่าที่บริเวณแขนมี LC น้อยกว่าที่หลัง แต่มี melanocyte มากกว่า และใน vitiligo พบว่ามี LC เพิ่มขึ้น แต่ melanocyte ลดลง จึงเชื่อว่า LC เป็น melanocyte ที่หยุดการเจริญเติบโต แต่ความเชื่อนี้ก็ได้ถูกลบล้างเมื่อ Birbeck ได้ค้นพบลักษณะเฉพาะภายในเซลล์คือพบ Langerhans granules และยังพบเซลล์ LC ที่ mesodermal tissues

อื่นๆ และในเนื้อเยื่อ histiocytosis-X ความสนใจจึงเบนมาสู่ที่ mesenchymal origin อันเป็นการเปิดศักราชใหม่ของเซลล์นี้

LC สามารถตรวจพบที่หนังกำพร้าของมนุษย์ได้ตั้งแต่เมื่อเป็นตัวอ่อน (fetus) อายุ 14 สัปดาห์ แต่ขณะนั้นพบว่า LC ไม่สามารถเคลื่อนผ่าน dermoepidermal junction ได้แต่เมื่อเข้าสู่วัย adult จะพบการเคลื่อนตัวของ LC ผ่านเข้าไปภายในส่วนอื่นของร่างกายได้ ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่า LC มีกำเนิดมาจากไขกระดูก และมีคุณสมบัติลักษณะของเซลล์และการทำงานของเซลล์บางส่วนคล้าย macrophage

ในปี ค.ศ.1976 Silberbers¹⁰ และคณะได้วิจัยพบว่า LC มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิด allergic contact dermatitis¹¹ และจากการศึกษาด้วย electron microscope พบว่าในผิวหนังของคนและหนูตะเภาเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย mercuric chloride หรือ dinitrochlorobenzene (DNCB) เซลล์ lymphocyte จะเคลื่อนมาชิดกับ LC ภายใน 3-5 ชั่วโมง และมีการทำลาย LC ภายใน 15 ชั่วโมงต่อมา แต่ไม่พบลักษณะเช่นนี้ใน irritant contact dermatitis

สรุป

ประวัติศาสตร์การศึกษาเรื่อง Langerhans cell^{2,8} (LC)

1868 ค้นพบเซลล์ LC โดย Paul Langerhans^{7,8}

โดยเข้าใจว่าเป็นเซลล์ระบบประสาท

1950-1960 เข้าใจว่า LC คือ เซลล์ระบบประสาท

1948-1968 ศึกษาความเป็นไปได้ว่า melanocyte

และ LC มาจากจุดกำเนิดเดียว

1961 Birbeck และคณะพบ Langerhans granules¹¹

จากการตรวจผิวหนังผู้ป่วยต่างชาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

1965 พบว่า histiocytosis X มี Langerhans granules

1967 สามารถตรวจหาค่า LC ได้ด้วย adenosine triphosphatase (ATPase)

1973 พบว่า LC เป็นเซลล์ antigen presenting ใน allergic contact dermatitis

1974 พบ LC เคลื่อนย้ายเข้าท่อน้ำเหลืองและต่อมน้ำเหลือง

1976 พบ reticulo-epithelial trap ใน contact allergens¹²

1977 พบ cell membrane receptor for Fc^{13,14} fragment of IgG และ Ia surface antigen

1978 สามารถอธิบายได้ว่า LC ทำให้เกิด immune response

1979 พบว่า LC สร้างจากไขกระดูก

การกระจายตัวของ LC^{1,5,15}

จำนวนของ LC จะแตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิดและ LC ยังมีการกระจายในแต่ละตำแหน่งของผิวหนังแตกต่างกันในบริเวณใบหน้า ศีรษะ คอ ลำตัวและแขนขา พบประมาณ 600-1000 เซลล์/ต่อตารางมิลลิเมตร พบน้อยบริเวณฝ่ามือ ฝ่าเท้า เชื้อบริเวณอวัยวะเพศและ sacrococcyx จำนวน LC จะลดลงเมื่อสูงอายุและพบจำนวน LC ในบริเวณนอกร่มผ้าจะน้อยกว่าในร่มผ้าเพราะรังสีอัลตราไวโอเลตทำให้จำนวน LC ลดลงและยังพบ LC ในหนังแท้ ท่อน้ำเหลืองของผิวหนัง ผังหลอดเลือด ต่อมน้ำเหลืองและต่อมไทมัส

ในปี พ.ศ.2534 วชิรา อิงสกุลรุ่งเรือง² ได้ศึกษาจำนวน LC ในผิวหนังและเยื่อของคนไทยอายุ 30-50 ปี ใช้วิธีย้อมเซลล์ 2 แบบ วิธีแรกใช้วิธีแยกผิวหนังเอาเฉพาะผิวหนังกำพร้า (epidermal sheet) ย้อม immunohistochemistry ด้วย ATPase และนับจำนวนเซลล์ต่อพื้นที่ผิว 1 ตารางมิลลิเมตร และวิธีที่ 2 ตัดชิ้นเนื้อผิวหนัง cross-section และนำมาย้อม monoclonal antibody ด้วย CD_{1a} ตรวจดูลักษณะการกระจายตัวของเซลล์และนับจำนวนเซลล์ตามความยาวของ epidermis เป็นมิลลิเมตร ผลพบ LC ในบริเวณผิวหนัง 199.09-649.12 เซลล์/มม² (เฉลี่ย 574.74 เซลล์/มม²) โดยการย้อม ATPase พบมีจำนวนเซลล์สูงในบริเวณหน้าอก แขนและหน้า (623.67, 634.39, 610.43 เซลล์/มม²) ตามลำดับ ส่วนบริเวณฝ่ามือพบ 199.09 เซลล์/มม² และเมื่อย้อมผิวหนัง (cross section) ด้วย CD1a นับจำนวนเซลล์ตามความยาวพบ 7.93-34.94 เซลล์/มม² และจำนวนเซลล์ในแต่ละพื้นที่ผิวก็ต่างกันสอดคล้องเช่นการใช้ ATPase ย้อม ส่วน LC ในช่องปากพบว่าบริเวณริมฝีปาก 591.9 เซลล์/มม² เยื่อช่องปาก 587.69 เซลล์/มม² และเพดาน 308.72 เซลล์/มม² เมื่อย้อมด้วย ATPase และเมื่อย้อมด้วย CD1a จำนวนเซลล์นี้พบก็สอดคล้องกับการย้อมด้วย ATPase ส่วนการเรียงตัวของ LC พบว่าในผิวหนังส่วนใหญ่จะเป็น reticulate pattern แต่ในช่องปากจะพบเป็น discrete pattern (ภาพที่ 4-8) ผลทั้งหมดก็สอดคล้องกับรายงานอื่นๆ

วงจรชีวิตของ LC¹

ปัจจุบันมีหลักฐานยืนยันว่า LC สร้างมาจากไขกระดูกเหมือนเซลล์เม็ดเลือดอื่นๆ เพราะพบว่า LC

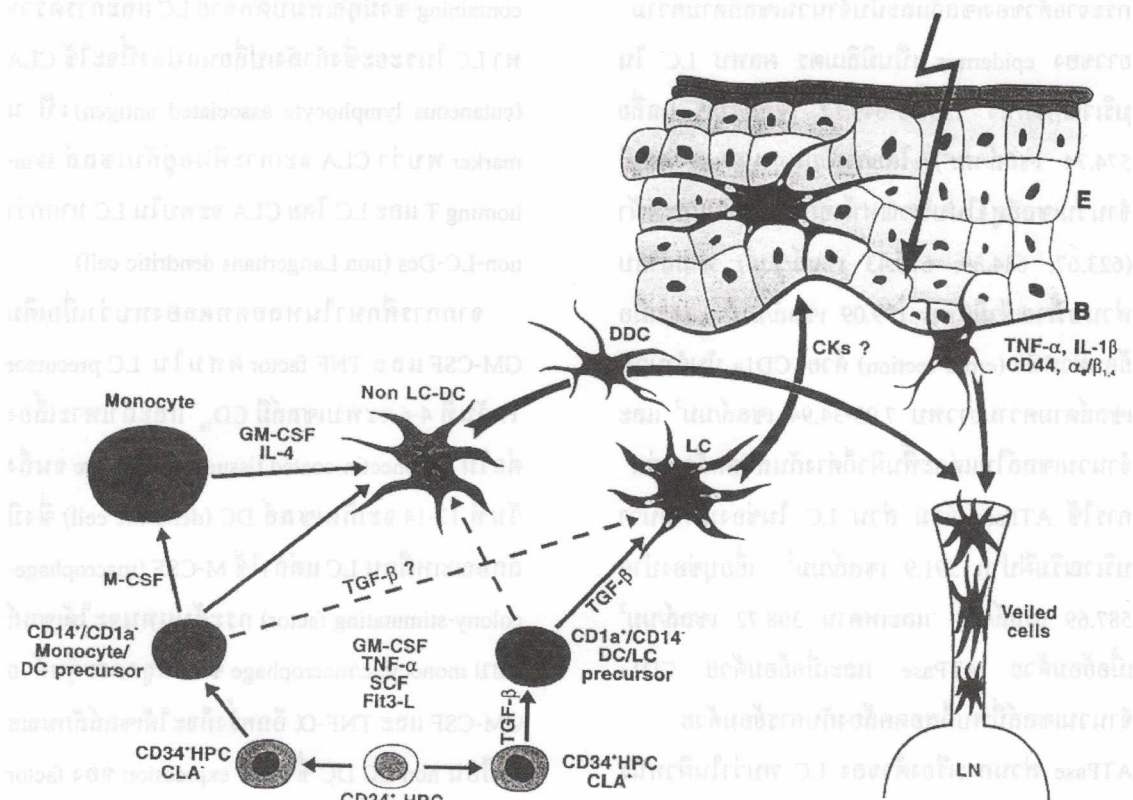
จะมี CD₄₅ surface antigens เหมือนเซลล์ hematopoietic อื่นๆ และเมื่อปลูกถ่ายเนื้อเยื่อไขกระดูกจะพบ LC ของ donor ส่วนหลักฐานที่ช่วยสนับสนุนที่สำคัญคือเมื่อนำเซลล์ CD₃₄ hematopoietic stem cell มากระตุ้นด้วย granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) และ tumor necrosis factor (TNF) จะได้เซลล์ชนิด CD_{1a}⁺, E-cadherin⁺, Birbeck granule-containing ซึ่งมีคุณสมบัติคล้าย LC และการตรวจหา LC ในระยะซึ่งกำลังเปลี่ยนแปลงนี้จะใช้ CLA (cutaneous lymphocyte associated antigen) เป็น marker พบว่า CLA จะเกาะติดอยู่กับเซลล์ skin-homing T และ LC โดย CLA จะพบใน LC มากกว่า non-LC-Dcs (non Langerhans dendritic cell)

จากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่าเมื่อเติม GM-CSF และ TNF factor ผสมใน LC precursor ในวันที่ 4-6 จะพบเซลล์มี CD_{1a}⁺ และถ้าเพาะเลี้ยงต่อใน fibronectin-coated tissue culture plate จนถึงวันที่ 12-14 จะเกิดเซลล์ DC (dendritic cell) ซึ่งมีลักษณะเหมือน LC แต่ถ้าใช้ M-CSF (macrophage-colony-stimulating factor) กระตุ้นแทนจะได้เซลล์แบบ monocytic/macrophage ซึ่งมีเมื่อถูกกระตุ้นด้วย GM-CSF และ TNF- α อีกครั้งก็จะได้เซลล์ลักษณะเหมือน non-LC DC ซึ่งจะมี expression ของ factor XII_a, CD_{1a}, CD₆₈, CD_{11b}, CD₃₆ ไม่มี E-cadherin และไม่พบ Birbeck granule เซลล์ชนิดนี้จะต่างจาก LC โดยสามารถมี macropinocytic และสามารถกระตุ้นการเกิด B cell ได้ ความสัมพันธ์ระหว่าง LC และ DC อื่นๆ ยังไม่สามารถอธิบายรายละเอียดได้ และเนื่องจาก DC จะพบในบริเวณ T cell zones

ของ skin draining lymph node ซึ่งเป็นที่รองรับของ antigen-laden LC ดังนั้น DC จึงอาจเป็น LC ที่เคลื่อนย้ายจากหนังกำพร้าเข้ามาในต่อมน้ำเหลือง

เนื่องจาก LC/DC จะมีต้นกำเนิดจากเซลล์ CD_{34}^{+} และสิ่งกระตุ้นให้เซลล์ตัวอ่อนเปลี่ยนเป็น LC/DC คือ GM-CSF, TNF- α , SCF (stem cell factor) Flt3-ligand ได้เซลล์รุ่นแรก ซึ่งมี CD_{1a} CD_{14}

monocytic/DC precursor และ trans-forming growth factor (TGF) β จะกระตุ้นต่อไปได้ CD_{1a} , CD_{14} , LC precursor เซลล์นี้ก็จะเปลี่ยนเป็น LC ซึ่งเจริญเต็มที่ตามลำดับ ส่วนการเคลื่อนย้ายของ LC เข้าไปในชั้นผิวหนังกำพร้าคงจะอาศัย chemokine ชนิด chemoattractant cytokines (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 กำเนิดและวงจรชีวิต LC¹

E - epidermis,
B - basement membrane,
HPC - hematopoietic progenitor cell,
DC - dendritic cell,
LC - Langerhans cell,
DDC - dermal dendritic cell,
BM - bone marrow,
PB - peripheral blood,
LN - lymph node

IL-1 β - interleukin 1 β ,
IL-4 - interleukin 4,
SCF - stem cell factor,
GM-CSF - granulocyte/macrophage
colony - stimulating factor,
M-CSF - macrophage colony-
stimulating factor,
TNF- α - tumor necrosis factor α ,

CKs - chemokines,
TGF- β - transforming growth
factor β ,
CLA - cutaneous lymphocyte-
associated antigen,
Flt-3-L - Flt-3 ligand,
 $\alpha_6\beta_{1,4}$ - $\alpha_6\beta_{1,4}$ integrins

เมื่อตัวอ่อนมนุษย์อายุ 6-7 สัปดาห์ จะสามารถตรวจพบเซลล์ HLADR/ATPase+DC ซึ่งเป็นเซลล์มาจาก yolk sac หรือจากตับ ในตัวอ่อนอายุ 12 สัปดาห์ เซลล์ยังเป็น CD_{1a} และไม่มี Birbeck granule และ LC ที่มีต้นกำเนิดจากไขกระดูกเมื่อเปลี่ยนเป็น LC ที่เจริญเต็มที่จะเข้ามาในชั้นหนังกำพร้าและมีการหมุนเวียนของ LC ดังกล่าวภายในร่างกาย แต่บางครั้ง LC อาจมีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อ ส่วนการหายไปจากผิวหนังของ LC อาจเกิดจากการเคลื่อนย้ายของ LC เข้าท่อน้ำเหลืองหรือต่อมน้ำเหลืองหรือมีการเสื่อมสลายของเซลล์ไปตามกาลเวลา

คุณสมบัติและลักษณะของ Langerhans cell²

1. Light Microscope

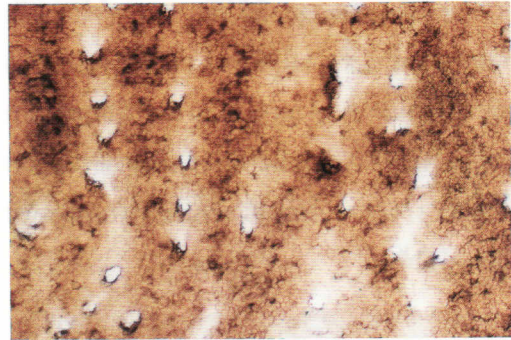
1.1 ในการย้อมชิ้นเนื้อของผิวหนังทั่วไปด้วยสีย้อม hematoxylin และ eosin ไม่สามารถแสดงลักษณะของ LC ให้เห็นชัดเจนได้ เพียงแต่เห็นเป็น clear cell ในบริเวณชั้น suprabasilar เพราะขบวนการย้อมทำให้มีการเหี่ยวของ cytoplasm ของเซลล์ ดังนั้นจึงต้องมีวิธีย้อมพิเศษหลายวิธีเพื่อให้เห็นรูปร่าง LC ชัดเจนขึ้น

1.1.1 Gold chloride methods วิธีนี้เป็นวิธีแรกที่ทำให้ค้นพบเซลล์นี้ แต่เนื่องจากผลของการย้อมไม่แน่นอน จึงไม่เป็นที่นิยม

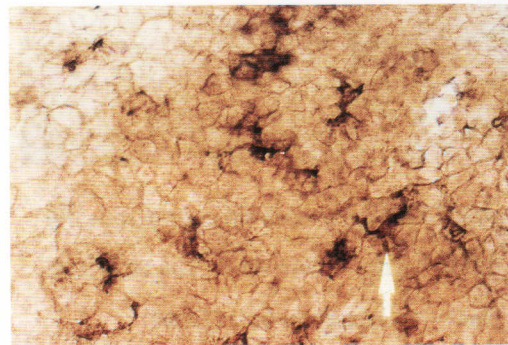
1.1.2 Osmium iodide และ Osmium-Zinc-iodide วิธีย้อมนี้ทำให้เห็นลักษณะรูปร่างของ LC ได้ชัดเจนมาก แต่เนื่องจาก melanocyte จะติดสีนี้เช่นกัน จึงไม่สามารถจะใช้แยกเซลล์ LC ได้

1.1.3 Supravital technique with Quinone-Imine dyes ใช้วิธีนี้ตรวจหา LC ใน unfixed skin แต่สีชนิด

นี้จะย้อมติด melanocyte ด้วยและสีจะจางลงในเวลาอันรวดเร็วจึงไม่เป็นที่นิยม



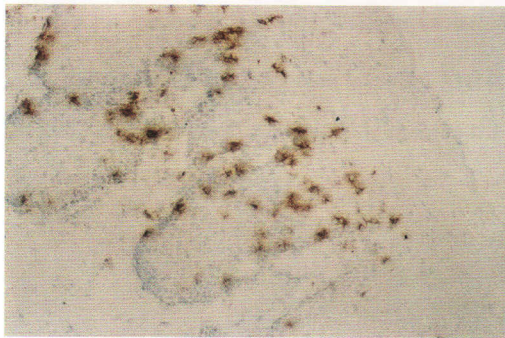
ภาพที่ 2 Buccal mucosa sheet ซึ่งย้อมเฉพาะชั้น epidermal ย้อมด้วย ATPase (ขยาย X 100)²



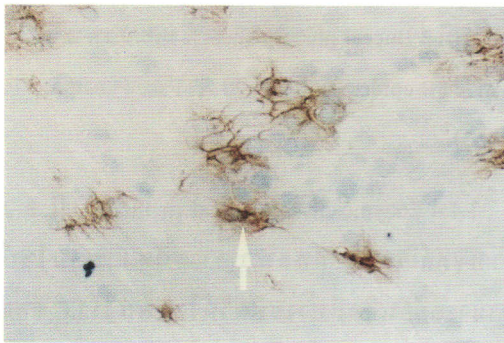
ภาพที่ 3 Buccal mucosa sheet ซึ่งแยกเฉพาะชั้น epidermal ย้อมด้วย ATPase (ขยาย X 400)²

1.1.4 Enzyme histochemical methods³ เนื่องจากเซลล์มีเอนไซม์หลากหลายชนิดและเอนไซม์สามารถย้อมติดสีบางชนิดได้โดยพบว่า LC ของมนุษย์ หนูตะเภาและลิง Rhesus จะมี membrane-bound formalin resistant, sulfhydryl-dependent adenosinetriphosphatase (ATPase) โดยบริเวณที่มีเอนไซม์นี้หนาแน่น คือบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของ LC และไม่พบเอนไซม์นี้ใน

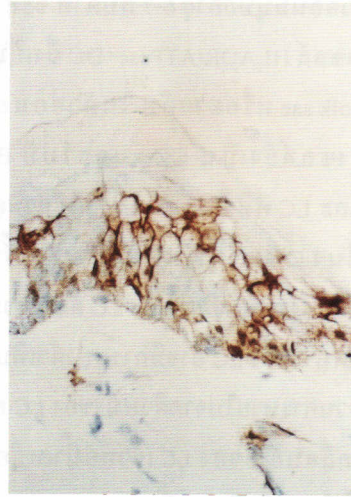
epidermal cell อื่น และพบว่าเซลล์ที่มี ATPase-positive จะมี DOPA-negative เสมอ จึงช่วยให้แยก LC ออกจาก melanocyte ได้ วิธีการตรวจใช้ผิวหนังซึ่งแยกเฉพาะชั้นหนังกำพร้า (epidermal sheet) พลิกกลับด้าน basal layer วางบนสไลด์และย้อม ATPase จะเห็น LC ซึ่งมีลักษณะ dendritic (ดังภาพที่ 2 และ 3) จะสามารถนับจำนวนเซลล์ต่อตารางพื้นที่ผิวหนังได้



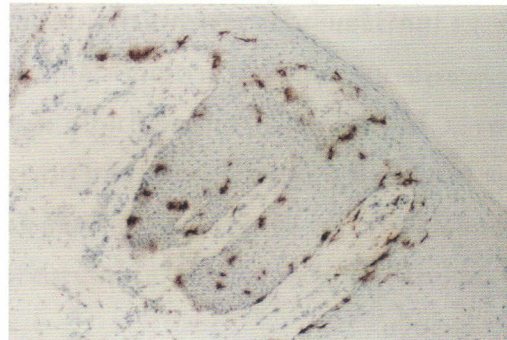
ภาพที่ 4 Buccal mucosa ตัด cross-section เมื่อย้อมด้วย CD_{1a} แสดงตำแหน่งของ LC บริเวณ basal และ suprabasal layer (X 100)²



ภาพที่ 5 ย้อมด้วย CD_{1a} เห็น LC ติดสีน้ำตาลเข้มชัดเจนลักษณะเป็น dendritic cell (X 400)²



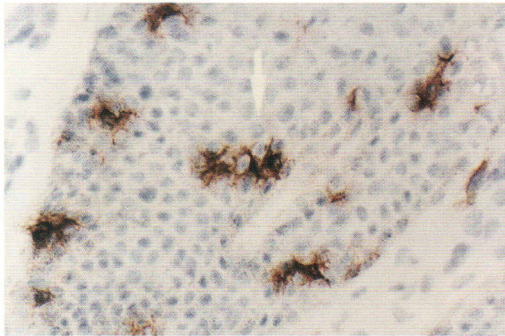
ภาพที่ 6 ผิวหนังบริเวณ Outer forearm ย้อม CD_{1a} ดูด้วยกำลังขยายสูงขึ้น เห็น LC เป็นลักษณะ reticulate pattern ชัดเจน (X 400)²



ภาพที่ 7 แสดง LC ที่บริเวณ lower labial mucosa เรียงตัวเป็น discrete pattern (X 100)

เอนไซม์ ATPase นี้เข้าใจว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับ การควบคุมการเคลื่อนย้ายของสารภายในเซลล์และ อาจเกี่ยวข้องกับการเชื่อมโยงระหว่าง LC กับ keratinocyte และยังพบว่า ATPase ของ LC มีคุณสมบัติเหมือนกับ ATPase ของ actomyosin ดังนั้น

เอนไซม์นี้จะเกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายของเซลล์



ภาพที่ 8 แสดง LC ที่บริเวณ lower labial mucosa เรียงตัวเป็น discrete pattern (X 400)²

2. Immunolabelling procedures¹

มีการใช้ monoclonal antibody ย้อมหาลักษณะของ LC โดยใช้วิธี immunofluorescence หรือ immunoperoxidase พบหลากหลายแอนติเจน เช่น

2.1 panhematopoietic marker CD₄₅

2.2 Class II MHC encoded HLA-D region

2.3 CD_{1a} antigens²

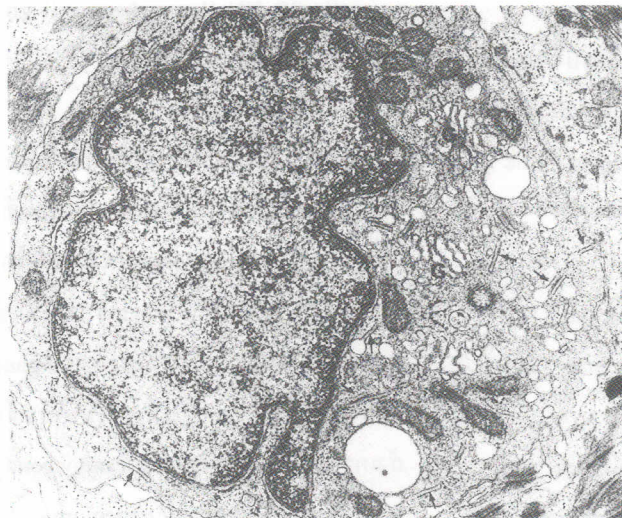
2.4 S-100 protein

2.5 Cytoskeleton antigen vimentin จะพบใน intermediate-sized filaments ของ LC

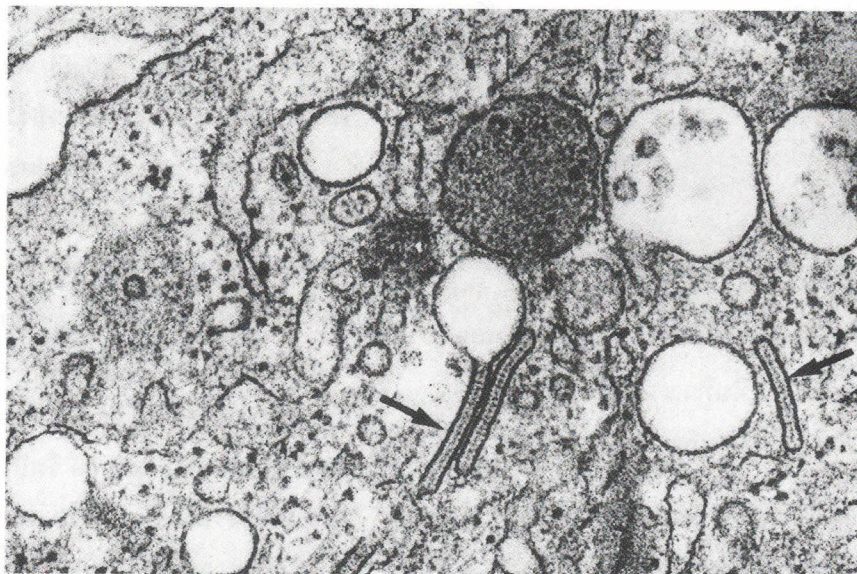
2.6 Birbeck granule-associated antigen เมื่อใช้ mAb Lag

โดย CD_{1a} จะพบใน LC ทั้งในบริเวณ membrane surface หรือ cytoplasm ของ LC เมื่อข้อมจะติดสีเห็นชัดเจน (ภาพที่ 4-8) และเมื่อเกิดการอักเสบของผิวหนังมีเซลล์หลากหลายชนิดในรอยผื่นก็สามารถตรวจพบ CD_{1a} ได้ จึงเป็น surface marker ที่ดีที่สุดของ LC ส่วน HLA-DR antigen จะพบเฉพาะใน LC จากผิวหนังปกติเท่านั้น

CD₄₅ antigen จะพบในเซลล์ทุกชนิดที่มีกำเนิดมาจากไขกระดูก



ภาพที่ 9 LC จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ลูกศรแสดง LC granule ขยาย 19000³



ภาพที่ 10 ลูกศรแสดง LC granule 85000³

3. ลักษณะของ LC เมื่อตรวจด้วย electron microscope^{1,3,16}

ในปี ค.ศ.1961 Birbeck และคณะได้ศึกษาเซลล์ผิวหนังกำพร้าด้วยกล้อง electron microscope และสามารถแยก LC ออกจาก keratinocyte และ melanocyte ได้โดยลักษณะเซลล์ LC มีดังนี้ คือ

- (I) Clear cytoplasm
- (II) A lobulated and convoluted nucleus
- (III) The absence of desmosomes and tonofilaments ซึ่งเป็นลักษณะของ keratinocyte
- (IV) The absence of premelanosomes and melanosomes ซึ่งเป็นลักษณะของเซลล์ melanocyte

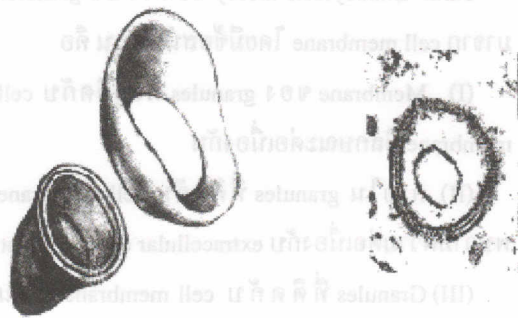
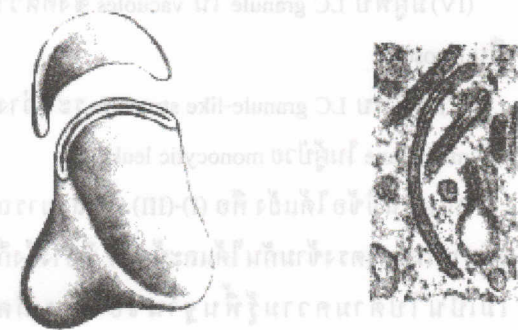
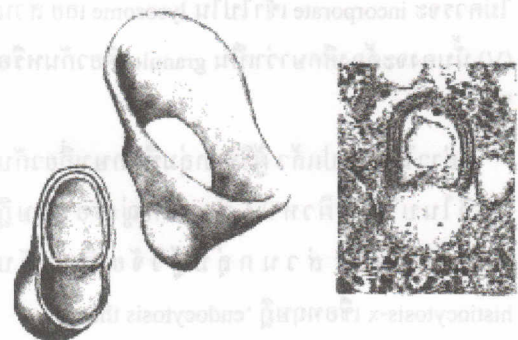
(V) The presence of a special type of organells คือ พบ 'Langerhans cell granule' หรือ 'Birbeck granule'

3.1 General features

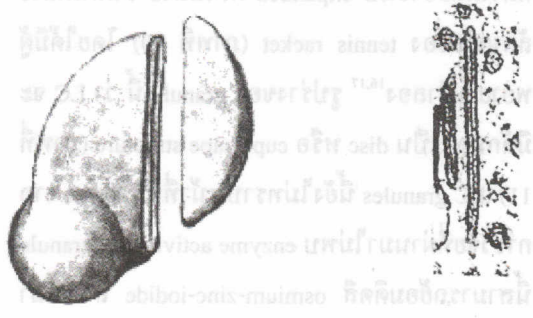
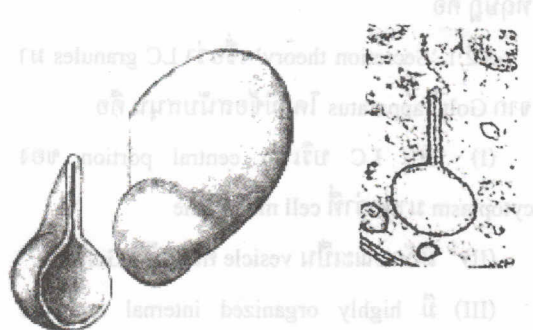
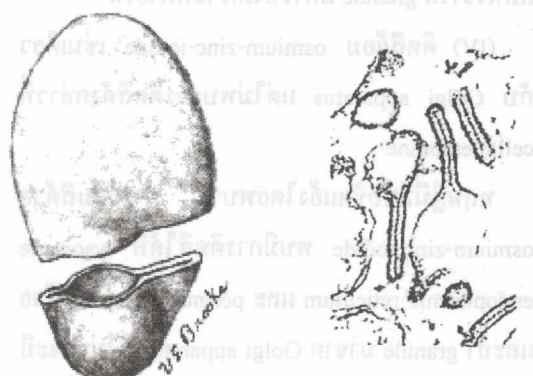
โดยทั่วไป LC จะอยู่ชิดกับ keratinocyte ไม่เห็น intercellular space ส่วน nucleus ที่มีลักษณะเฉพาะคือเป็น lobulated (ภาพที่ 9) หรือ folded แต่บางครั้งอาจพบลักษณะกลมได้เช่นกัน ใน cytoplasm ของ LC ประกอบด้วย organelles หลายอย่างแสดงว่าเซลล์นี้มีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีน โดยพบมี mitochondria, smooth และ rough endoplasmic reticulum และ centrioles

นอกจากนี้ยังพบ Golgi apparatus และ lysosome ด้วย

Golgi apparatus มีลักษณะที่ชัดเจนเป็น vesicle ที่มี dilated cystemae และพบ small vesicles อยู่ภายใน



ใน นอกจากนั้นยังพบ Golgi apparatus ที่มีลักษณะเป็น fuzzy coat ที่ internal surface ของ membrane ด้วย และเมื่อ cross section บริเวณนี้แล้วจะพบลักษณะเหมือนกับ LC granules



ภาพที่ 11 ภาพจำลอง Langerhans granules ซึ่งเข้าใจว่ามีลักษณะรูปร่างเป็นถ้วย (cupped shape) (ภาพซ้าย) และเป็นจาน (disc shape) (ภาพขวา) โดยใช้ชุดภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนประกอบ

3.2 Langerhans granule^{1,2,6,11,16,17}

Birbeck และ Breathnach ได้บรรยายลักษณะ granule นี้ว่าเป็น rod-shaped trilaminated cytoplasmic organelle ซึ่งมี striated density อยู่ตรงกลางและอาจพบ expanded ตรงปลาย จึงเห็นคล้ายลักษณะของ tennis racket (ภาพที่ 10) โดยได้มีผู้พยายามจำลอง^{16,17} รูปร่างของ granule นี้ว่า LC จะมีลักษณะเป็น disc หรือ cup shape structure (ภาพที่ 11) LC granules นี้ยังไม่ทราบหน้าที่ที่แน่นอน จากการวิจัยที่ผ่านมาไม่พบ enzyme activity แต่ granule นี้สามารถย้อมติดสี osmium-zinc-iodide ส่วนที่มาของ LC granules ยังเป็นที่ถกเถียงกันโดยมี 2 ทฤษฎี คือ

3.2.1 'Secretion theory' เชื่อว่า LC granules มาจาก Golgi apparatus โดยมีข้อสนับสนุน คือ

(I) พบ LC บริเวณ central portion ของ cytoplasm มากกว่าที่ cell membrane

(II) มีลักษณะเป็น vesicle คล้ายกับ Golgi

(III) มี highly organized internal structure แสดงว่าใน granule มีการสังเคราะห์ภายใน

(IV) ติดสีย้อม osmium-zinc-iodide เช่นเดียวกับ Golgi apparatus แต่ไม่พบการติดสีดังกล่าวที่ cell membrane

ทฤษฎีนี้มีข้อขัดแย้งโดยพบว่า การย้อมสีด้วย osmium-zinc-iodide พบมีการติดสีได้ที่ lysosome endoplasmic reticulum และ perinuclear space ด้วย และถ้า granule มาจาก Golgi apparatus ก็ไม่น่าจะมี synthetic activities เหลืออยู่ จึงกล่าวโดยสรุปถ้าจะเชื่อตามทฤษฎีนี้ว่า LC granules นี้มาจาก Golgi apparatus แต่มีคุณสมบัติที่สามารถสังเคราะห์ได้

ภายใน granules ยังเหลืออยู่ มีการเคลื่อนย้ายของ granule ไปถึงบริเวณขอบของเซลล์และเมื่อ granule สัมผัส cell membrane ก็จะเปิดออกสู่ intercellular space และกระจายเข้าสู่ extracellular compartment

3.2.2 'Endocytosis theory' เชื่อว่า LC granules มาจาก cell membrane โดยมีข้อสนับสนุน คือ

(I) Membrane ของ granules ที่อยู่ติดกับ cell membrane มีลักษณะต่อเนื่องกัน

(II) ภายใน granules ที่ติดกับ cell membrane พบว่ามีความต่อเนื่องกับ extracellular compartment

(III) Granules ที่ติดกับ cell membrane ส่วนใหญ่มี organelle น้อย

(IV) มีผู้พบ LC granule ใน vacuoles ซึ่งคิดว่า เป็น lysosome

(V) มีผู้พบ LC granule-like structure ระหว่าง cell membrane ในผู้ป่วย monocytic leukemia

ทฤษฎีนี้มีข้อโต้แย้ง คือ (I)-(III) นั้นสามารถอธิบายในทางตรงข้ามกันได้และข้อ IV ที่อ้างถึงก็ไม่ใช่เป็นไปตามความรู้พื้นฐานของการเกิด endocytosis ยกเว้นจะมีการ fuse กับ lysosome แต่ก็ไม่ควรจะ incorporate เข้าไปใน lysosome เลย ส่วน (V) นั้นคงจะต้องศึกษาว่าเป็น granule เดียวกันหรือไม่

กล่าวโดยสรุปแล้ว ผู้วิจัยกลุ่มที่ศึกษาเกี่ยวกับ LC ที่ในบริเวณผิวหนัง ส่วนใหญ่เชื่อทฤษฎี 'secretion theory' ส่วนกลุ่มผู้วิจัยเกี่ยวกับ histiocytosis-x เชื่อทฤษฎี 'endocytosis theory'

Indeterminate cell^{1,2}

Indeterminate cell เป็น dendrite cell อีกชนิดหนึ่งนอกเหนือจาก LC และ melanocyte จะพบใน

ชั้นหนึ่งกำพริา indeterminate cell คือ 'type-3 cells' หรือ 'alpha cells' มีคุณสมบัติทั่วไปเหมือนกับ LC เมื่อศึกษาด้วย light microscope และ electron microscope คือ เป็น dendrite cell ที่ไม่มี desmosome หรือ tonofilament หรือ melanosome แต่ขาดคุณสมบัติที่สำคัญของ LC คือ ไม่พบ Birbeck's granules อย่างไรก็ตามได้มีผู้วิจัยบางท่านพบว่า LC granules ดังนั้นเซลล์นี้อาจจะเป็นเซลล์เดียวกับ LC

บทบาทและหน้าที่ของเซลล์¹⁸

เนื่องจาก T cell ไม่สามารถตอบสนองต่อแอนติเจนได้โดยตรงจะต้องอาศัยการกระตุ้นผ่าน T cell receptor (TCR) ซึ่งเป็นสาย peptide เกาะกับ MHC-locus-encoded molecules บน T cell หรือ LC และเมื่อมีการรับรู้จะเกิดการแบ่งตัวเพิ่มเป็น memory T cell ที่จำเพาะกับแอนติเจนและ effector T cell (activated T helper cell T_H , cytotoxic T lymphocyte T_C) ซึ่งมี CD_4 และ CD_8 บนผิว T cell จะกำหนดหน้าที่ของ T cell โดย CD_4^+ T cell คือ T helper cell (T_H) และเป็น class II MHC restricted และ CD_8^+ T cell คือ T cytotoxic cell (T_C) จะเป็น Class I MHC restricted

T_H cell จะถูกกระตุ้นโดย complex ของแอนติเจนและ class II MHC molecule บนผิวของ APC (antigen presenting cell) ให้แบ่งตัวและเพิ่มจำนวนเป็นกลุ่มเซลล์ (clone) ที่มีความจำเพาะกับ complex ของแอนติเจนและ class II MHC molecule เดียวกับที่มากระตุ้น T_H cell ตัวแรก และหลังไซโตไคน์ออกมา 2 รูปแบบที่แตกต่างกัน คือ

1. T_H 1 response หรือ T_H 1 subset จะหลั่งไซโตไคน์ที่ส่งเสริมให้เกิดการอักเสบ กระตุ้นแมคโครฟาจและ T cell บางชนิด ตัวอย่างของไซโตไคน์ เช่น IL-1, IFN- γ และ INF- β ดังนั้นถ้ามีการกระตุ้น T_H 1 การตอบสนองที่ได้จะเป็นแบบ cell-mediated immune response

2. T_H 2 response หรือ T_H 2 subset จะหลั่ง IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ซึ่งทำหน้าที่หลักในการกระตุ้น B cell ให้กลายเป็น plasma cell และ หลั่งแอนติบอดี ซึ่งเป็นการตอบสนองแบบ humoral immune response

ส่วน T_C จะถูกกระตุ้นโดย complex ของแอนติเจนและ class I MHC molecule ที่อยู่บนผิวของเซลล์ตัวเองที่เปลี่ยนไป เช่น เซลล์ที่ติดเชื้อไวรัสหรือเซลล์มะเร็ง เรียกรวมๆ ว่า เซลล์เป้าหมาย (target cells) และถ้ามีไซโตไคน์บางชนิดจาก T_H จะทำให้ T_C เปลี่ยนไปเป็น effector cell เรียก cytotoxic T lymphocyte (CTL) ทำหน้าที่กำจัด target cell บางครั้ง T cell จะทำหน้าที่กดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (T suppressor cells, T_S)

การที่ระบบภูมิคุ้มกันจะมีปฏิกิริยาตอบสนองต่อแอนติเจนจะต้องมีขั้นตอนการรับรู้แอนติเจนก่อนใน T cell แอนติเจนจะต้องถูกนำเสนอ บนผิวเซลล์ ในรูปของ peptide-MHC complex เมื่อแอนติเจนดูดซึมเข้าในชั้นผิวผนังจะมีขบวนการย่อยโปรตีนขนาดใหญ่ให้เป็น peptide เรียกขบวนการนี้ว่า antigen processing ต่อจากนั้น peptide จะถูกนำไปติดกับ MHC molecule ภายในเซลล์เป็น peptide-MHC complex และขั้นตอนต่อมา peptide-MHC complex จะถูกลำเลียงขึ้นมายู่บนผิวเซลล์

และนำเสนอให้กับ T cell รับรู้ ขบวนการนี้เรียก antigen presentation เซลล์ที่ทำหน้าที่ในการย่อย และนำเสนอแอนติเจนเรียก ว่า antigen presenting cell (APC) เนื่องจากเซลล์ที่มีนิวเคลียสทุกชนิดมี class I MHC molecule อยู่บนผิวและบางชนิดมี class II MHC molecule บนผิวเซลล์ด้วย ดังนั้น เซลล์ทุกชนิดจึงเป็น APC ได้ แต่โดยทั่วไป เราเรียก เซลล์ที่นำเสนอแอนติเจน (peptide) คู่กับ class I MHC molecule ให้กับ CD_8^+ T cell หรือ T_c ว่าเป็น target cell และเรียกเซลล์ที่นำเสนอ peptide คู่กับ class II MHC molecule ให้แก่ CD_4^+ T cell หรือ T_H ว่าเป็น antigen presenting cell (APC)

การแปรรูปและนำเสนอ

เมื่อเกิดแอนติเจนชนิด MHC-restricted T cell จะถูกกระตุ้น 2 ขั้นตอน หลังได้รับแอนติเจนชนิด นั้น การรับรู้ในขั้นแรก คือ TCR จะจับกับ APC-bound peptide MHC complex ขั้นที่สอง T cell กับ costimulators B_{7-1} (CD_{80}), B_{7-2} (CD_{86}) และ cytokine ($TNF-\alpha$, $IL-1\beta$) จะกระตุ้นเซลล์ซึ่งจำเพาะนี้ให้ แบ่งตัวและเปลี่ยนเป็น effector หรือ memory cell โดย CD_{28} บน T cell จะเกาะกับ B_7 ทำให้เกิด anti-apoptotic protein ($Bcl-X_L$) และ cytokine เช่น $IL-2$ ส่วน costimulator อื่นๆ จะช่วยยืดอายุ T lymphocyte พบว่าการเกาะกันของ APC-T cell จะ เกาะกันด้วย lymphocyte function associated antigen (LFA) 1 ของ T cell เกาะกับ intercellular adhesion molecule (ICAMs) ของ APC ส่วน CD_2 ของ T cell จะเกาะกับ LFA-3 ของ APC และยังมี ligand อื่นๆหลายตัวซึ่งจะเสริมให้การ เกาะยึด ของ APC กับ T cell แน่นขึ้น เช่น heat-stable antigen

(CD_{24}/CD_{24} ligand L), $CD_{40}/CD_{40}L$, $CD_{27}L/CD_{70}$, $OX_{40}L/OX_{40}(CD_{134})$ และ RANK L/RANK การ เกาะของ ligand เหล่านี้ยังช่วยเสริมการส่งสัญญาณ ระหว่างเซลล์

1. Immune surveillance function

ผิวหนังและเยื่อต่างๆ เป็น barrier ชั้นนอกสุด ของร่างกายซึ่งต้องสัมผัสกับสารและสิ่งแปลกปลอม LC มีความสำคัญในการต่อต้าน virus และ tumor associated antigen โดยช่วยให้ร่างกาย สามารถจดจำและกำจัดเซลล์ซึ่งมีความผิดปกติแบบ ผ่าเหล่าและป้องกันการลุกลามของการติดเชื้อไวรัส ที่บริเวณผิวหนัง

2. Contact hypersensitivity^{10,19}

ในปี ค.ศ.1976 Silberberg¹⁰ และคณะ พบว่า เนื้อเยื่อที่มี LC อยู่ด้วย จะสามารถถูกชักนำให้เกิด contact hypersensitivity ได้ แต่เนื้อเยื่อที่ไม่มี LC หรือเนื้อเยื่อที่ LC ถูกทำลายรังสี UVB หรือได้รับยา corticosteroid ก่อนสัมผัสสารแอนติเจนจะไม่เกิด ภาวะการชักนำนี้ แสดงว่า LC มีส่วนสำคัญในการ ทำให้เกิด allergic contact dermatitis และยังพบว่า ถ้าทาสารแอนติเจนในบริเวณที่มี LC น้อยนอกจาก ไม่เกิดการแพ้ยังอาจกระตุ้นการเกิด suppressor T cell ได้ และการทาสารแอนติเจนในปริมาณต่ำก็อาจ ทำให้เกิด tolerance ได้เช่นกัน

3. Graft rejection

ใน epidermal allograft Ia positive LC เป็น ตัว present 'Resident Leucocyte Allograft' ทำให้เกิดมี stimulus สำหรับ allosensitization ซึ่ง Streilein และ คณะ ได้ทดลองโดยใช้ mouse cornea ปลุกถ่ายบน

ผิวหนัง พบว่าถ้าใช้ graft ที่มี LC แล้วจะเกิดการ reject ขึ้น

ปัจจัยที่มีผลต่อ Langerhans cell

เป็นที่ยอมรับกันว่า LC มีส่วนเกี่ยวข้องกับ immune response ของร่างกาย แม้จะยังไม่ทราบ biologic process ที่แน่นอน แต่ก็มีความหลักฐานแสดงว่ามีปัจจัยและสารบางอย่างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะและหน้าที่ของเซลล์โดยการเปลี่ยนแปลงนี้จะมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดปริมาณและระยะเวลาที่สัมผัสของปัจจัยเหล่านั้น

1. รังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet light)^{1,21-22}

ผู้วิจัยหลายท่าน ได้ศึกษาผลของรังสีอัลตราไวโอเลตต่อ LC โดยพบว่า

1.1 Low dose UVB มีผลทำให้ cell surface ATPase activity CD_{1a}^+ ของ LC ลดลง และบางการศึกษาพบว่าลักษณะของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปทั้งจำนวนและรูปร่างของ granule ด้วย

1.2 UVA และ PUVA มีผลทำให้มีการลดจำนวนลงของเซลล์ ATPase+ และ CD_{1a}^+ การที่รังสีอัลตราไวโอเลตมีผลต่อ LC นี้ อาจส่งผลให้ระบบการป้องกันของร่างกายต่อไวรัสและเนื้อเยื่อเหล่านี้เสียไป ทำให้มีการแพร่กระจายของไวรัสและมะเร็งได้

2. Ionizing radiation¹

X-radiation และ Grenz rays ทำให้มีการลดจำนวนของ CD_{1a}^+ และ ATPase+LC รวมทั้งเสียคุณสมบัติในการเป็น alloantigen presenter ด้วย

3. Chemical agents

3.1 Glucocorticoids

หลังจากการให้ topical corticosteroid treatment วันละ 1 ครั้ง เป็นเวลานาน 5 วัน หรือการให้ intraperitoneal administration (50 mg/kg) ในหนู พบว่า LC มีจำนวนลดลง

3.2 Retinoids

เนื่องจากได้มีการนำยาที่ใช้ในโรคผิวหนังหลายโรคทั้ง inflammatory disorders, hyperproliferative, neoplastic conditions, และ UV accelerated aging ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาผลของ retinoid ต่อ LC โดยผู้วิจัยบางท่านพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของ LC แต่บางรายงานกลับพบว่าไม่มีผลเกี่ยวข้องกับ LC

References

1. Stingl G, Maurer D, Hausu C, Wolff K. The epidermis: An immunologic microenvironment. In: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine (ed 5) eds. Freedberg IM et al. McGraw-Hill 1999P. 343-57.
2. วชิรา อิงสกุลรุ่งเรือง. จำนวน Langerhans cell ในบริเวณต่างๆของเยื่อหนังของปากในคนไทย: วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; กรุงเทพฯ. พ.ศ.2534.
3. Wolff K. Langerhans cell: History, Structure, and Function. In: The effect of ultraviolet radiation on the immune system. Parrish JA ed. 1983; 35-58.
4. Zeilickson AS, Mottaz JH. Epidermal dendritic cells: A quantitative study. Arch Dermatol 1968; 98: 652-9.
5. Wolff K, Winkelmann RK. Quantitative studies on the Langerhans cell population of guinea pig epidermis. J Invest Dermatol 1967; 48: 504-14.
6. Chen H, Yuan J, Wang Y, Silvers WK. Distribution of ATPase-positive Langerhans in normal adult human skin. Br J Dermatol 1985; 113: 707-711.
7. Ebling FJG. Homage to Paul Langerhans. J Invest Dermatol 1980; 75: 3-5.
8. Baer RL. Introductory remarks to the session on langerhans cell. J Invest Dermatol 1980; 74: 307-8.
9. Tamaki K, Stingl G, Katz SI. The origin of Langerhans cell. J Invest Dermatol 1980; 74: 309-11.
10. Silberberg I, Baer RL, Rosenthal SA. The role of Langerhans cell in allergic contact hypersensitivity. A review of findings in man and guinea pigs. J Invest Dermatol 1976; 66: 210-7.

11. Birbeck MS, Breathnach AS, Overall JD. An electron microscopic study of basal melanocytes and high level clear cells (Langerhans cell) in vitiligo. *J Invest Dermatol* 1961; 37: 51-64.
12. Shelley WB, Juhlin L. Langerhans cell form a reticuloepithelial trap for external contact allergens. *Nature* 1976; 261: 46-7.
13. Stingl G, Wolff-Schreiner EL, Pichler WJ, et al. Epidermal Langerhans cells bear Fc and C3 receptors. *Nature* 1977; 258: 245-6.
14. Klareskog L, Tjerlund UM, Forsum U, et al. Epidermal Langerhans cell express Ia antigens. *Nature* 1977; 268: 248-50.
15. Hutchens LH, Sagebiel RW, Clarke MA. Oral epithelial dendritic cells of the rhesus monkey histologic demonstration, fine structure and quantitative distribution. *J Invest Dermatol* 1971; 56: 325-6.
16. Wolff K. The fine structure of the Langerhans cell granule. *J Cell Biol* 1967; 35: 466-73.
17. Sagebiel RW, Reed TH. Serial reconstruction of the characteristic granule of the Langerhans cell. *J Cell Biol* 1968; 36: 595-602.
18. ทวีศักดิ์ ตีระวัฒนพงษ์. กลไกการเกิดปฏิกิริยาตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน: วิทยาภูมิคุ้มกันพื้นฐานและคลินิก; ไหม รัตนารักษ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; กรุงเทพฯ, พ.ศ.2543: 42-55.
19. Streilein JW, Toews GT, Gilliam JN, Bergstresser PR. Tolerance of hypersensitivity to 2,4 dinitrofluorobenzene: The role of Langerhans cell density within epidermis. *J Invest Dermatol* 1980; 74: 319-22.
20. Theirs BH, Maize JC, Spicer SS, Cantor AB. The effect of aging and chronic sun exposure on human Langerhans cell population. *J Invest Dermatol* 1980; 82: 223-6.
21. Friedmann PS. Disappearance of epidermal Langerhans cell during PUVA therapy. *Br J Dermatol* 1981; 105: 219-21.
22. Gilchrist BA, Murphy GF, Soter NA. Effect of chronologic aging and ultraviolet irradiation on Langerhans cells in human epidermis. *J Invest Dermatol* 1982; 79: 85-8.