

УДК 616.591:616.5-001.4

И.Ф. Курченко
П.М. Волянюк

Буковинская государственная
медицинская академия, г. Черновцы

КОЛОНИЗАЦИЯ КЛЕТКАМИ ЛАНГЕРГАНСА РЕГЕНЕРИРУЮЩЕГО ЭПИДЕРМИСА ЗАЖИВАЮЩЕЙ КОЖНОЙ РАНЫ

Ключевые слова: клетка Лангерганса, эпидермис, регенерация.

Резюме. С целью уяснения особенностей колонизации ростка регенерирующего эпидермиса клетками Лангерганса (КЛ) иммуногистохимическим методом проведено исследование 10-дневной хирургической раны четырёх больных. Появление CD1a+ КЛ не связано с процессом воспаления и присутствием в эпителиальном ростке CD3+, CD4+, CD8+Т-лимфоцитов. Проявление КЛ экспрессии CD1a наблюдалось в окружении кератиноцитов с морфологическими свойствами шиловидных клеток, взаимодействие с которыми, вероятно определяет процесс миграции и становление функциональной зрелости КЛ.

ВСТУПЛЕНИЕ

За последнее десятилетие был достигнут существенный прогресс в понимании предназначения и роли, которую играют клетки Лангерганса (КЛ) в иммунной системе кожи. Установлено, что КЛ является антигенпредставляющей клеткой, осуществляющей надзор за иммунным статусом эпидермиса, клеткой, обеспечивающей иммунную систему организма сигналом о характере воздействия окружающей среды [1].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовать регенерирующий эпидермис хирургической раны кожи. Полагали, что функциональная роль КЛ в процессе регенерации эпидермиса может состоять в направленной активации иммунной системы кожи и становлении адекватной защиты по отношению как к гетеро-, так и аутоантигенам, которые образуются в зоне воспаления, прилегающей к эпителиальному ростку, что должно сопровождаться привлечением КЛ в регенерирующий эпидермис. Все это представляется важным в плане уяснения роли КЛ в патогенезе ряда дерматозов и хронической экземы кожи, для которых характерна пролиферация кератиноцитов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Соответственно задачам было проведено исследование биоптатов края заживающей раны кожи сроком 10 дней у 4 больных, которые подверглись лапаротомии. Из биоптатов готовились серийные криостатные гистологические срезы и проводилось исследование с использованием иммуногистохимического метода. Для оценки иммунных особенностей регенерирующей кожи использовали набор моноклональных

антител (ДАКО): CD1a-антитела применялись для выявления КЛ, CD3 – для выявления Т-лимфоцитов, CD4 – для выявления Т-клеток хелперной популяции, CD8 – для выявления Т-клеток супрессорной популяции и анти-HLA-DR антитела – для выявления иммунологически активированных клеток, экспрессирующих главный комплекс гистосовместимости II класса (МНС II). Визуализация результатов иммунной реакции проводилась стандартным методом (ДАКО) биотин-стрептавидин иммунопероксидазного окрашивания (Strept ABCComplex/HRP, ДАКО) с использованием в качестве хромогена 3-амино-9-этилкарбазола (АЕС).

В целях уяснения особенностей колонизации регенерирующего эпидермиса КЛ весь сформированный эпителиальный росток условно был поделен на равные сегменты, которые, приблизительно, соответствовали 1–3, 4–6 и 7–10 дням зрелости. В каждом из сегментов подсчитывали количество КЛ (CD1a-позитивные клетки) и количество кератиноцитов (КЦ), получившие выражение в соотношении КЛ:КЦ. В ростке также подсчитывали число Т-лимфоцитов каждой популяции (CD3, CD4, CD8).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В десятидневный срок регенерации формируется эпителиальный росток длиной 3мм. В сегменте ростка 1–3 дневной зрелости КЛ встречали редко (КЛ:КЦ–1:200), обычно в более зрелой части ростка, в зоне 3-х дневной зрелости (рис. 1). В сегменте ростка 4–6 дневной зрелости КЛ проявляли себя большим числом, преобладали в зрелой части сегмента, занимая средний уровень эпидермиса. В сегменте 7–10 дневной

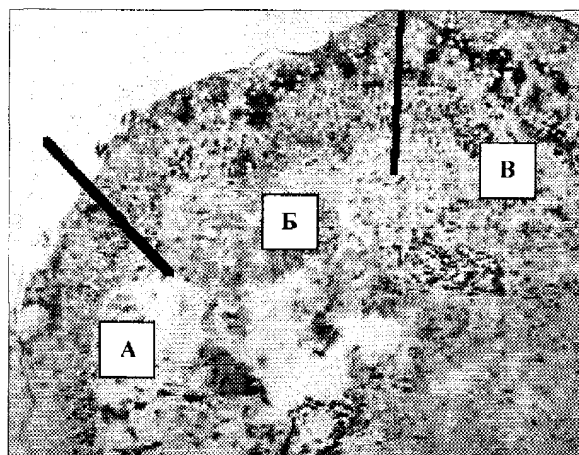


Рис.1. Распределение CD1a+KЛ в эпидермальном ростке кожной раны. А – сегмент 1–3 дневной зрелости. Б – сегмент 4–6 дневной зрелости. В – сегмент 7–10 дневной зрелости. Иммунопероксидазный метод с фоновым окрашиванием гематоксилином. Об. 3.5. Ок.10.

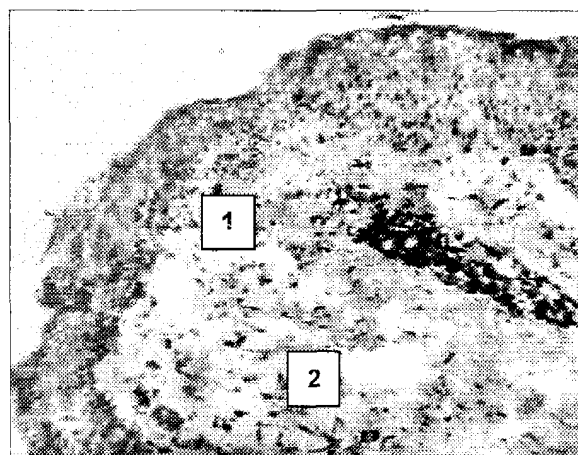


Рис.2. Распределение CD4+Т-лимфоцитов в заживающей кожной ране. 1 – единичные CD4+Т-лимфоциты в эпидермальном ростке. 2 – воспалительные инфильтраты дермы с накоплением CD4+Т-лимфоцитов. Иммунопероксидазный метод с фоновым окрашиванием гематоксилином. Об. 3.5. Ок.10.

зрелости число КЛ было наибольшим (КЛ:КЦ=1:37). Здесь КЛ также распределялись в средней части эпителиального пласта среди кератиноцитов, имеющих морфологические свойства шиловидных клеток. Экспрессия CD1a антигена была характерна только для КЛ и не отмечена на поверхности кератиноцитов, находящихся вблизи КЛ, что столь характерно для вовлеченного в процесс эпидермиса при псориазе [2].

В кератиноцитах регенерирующего эпидермиса не отмечено экспрессии HLA-DR антигена, которая была характерна только для КЛ. Однако в дермальной части, примыкающей к эпидермальному ростку, большая часть клеток сформированных воспалительных инфильтратов и эндотелий сосудов проявляли себя HLA-DR позитивностью.

CD3+ Т-лимфоциты присутствовали во всех сегментах в виде редко встречающихся, единичных клеток, без тенденции к преобладанию в каком-либо из сегментов (рис. 2). Однако в дермальном отделе, вдоль всех сегментов, наблюдалось формирование CD3+ Т-лимфоцитарных скоплений. Такая же особенность распределения была характерна и для CD4+Т- и CD8+Т-лимфоцитов, присутствие которых во всех сегментах ростка было редким, без тенденции к преобладанию в зрелых сегментах, где обычно наблюдалось значительное количество CD1a+ КЛ.

Сопоставление числа КЛ в различных по зрелости сегментах показывает: первое появление КЛ топически соответствует той части ростка, который имеет, как минимум, 3-х дневный срок зрелости (рис.1). При темпе регенерации эпидермиса 0,3 мм в день количество КЛ прогрессивно возрастает от 0,5% (КЛ:КЦ=1:200), в сегменте 1–3 дневной зрелости, до 2,7% (КЛ:КЦ=1:37), в

сегменте 6–9 дневного срока зрелости. Преобладающее накопление КЛ в относительно зрелых сегментах ростка дает основание для предположения о том, что миграция КЛ в эпидермис не связана с антигенами, которые несомненно должны присутствовать в продуктах воспаления в зоне регенерации. Действительно, в конечной части регенераторного побега 1–3-х дневного срока зрелости, вблизи которого наиболее выражены процессы альтерации и эксудации и где наблюдается накопление клеток, характерных для острого воспаления, не проявилась тенденция к увеличению числа CD1a и HLA-DR позитивных КЛ. В дермальном компоненте, прилежащем к этому сегменту, также не отмечено увеличения числа CD1a+ КЛ. Все это резко контрастирует с количественными особенностями распределения КЛ в более зрелой части регенераторного побега, где наблюдали присутствие значительного числа КЛ (КЛ:КЦ=1:37).

Особенность проявления экспрессии HLA-DR антигена показывает, что миграция КЛ в регенерирующий эпидермис не связана с экспрессией кератиноцитами комплекса HLA-DR, которую можно было бы ожидать исходя из известной роли кератиноцита в качестве антигенпредставляющей клетки [6]. В нашем случае экспрессии кератиноцитами HLA-DR антигена не отмечено ни в сегменте 3-х дневной зрелости, ни в сегменте 10-ти дневной зрелости, в котором обычно КЛ присутствовали в значительных количествах.

Колонизация регенерирующего эпидермиса КЛ, по-видимому, не связана с сигналом хемотаксического характера, который мог бы исходить от Т-лимфоцитов, локализующихся непосредственно в образовавшемся эпидермальном ростке. Здесь,

контрастно дерме, не отмечено накопления числа CD3+, CD4+ и CD8+Т-лимфоцитов особенно в той ее части, где обычно КЛ имеют тенденцию к накоплению (сегмент 7-10-ти дневной зрелости). Как отмечено, Т-лимфоциты присутствовали во всех сегментах в виде редко встречающихся, единичных клеток, без тенденции к преобладанию в каком-либо из сегментов.

При сопоставлении числа КЛ, характерного для различных по степени зрелости сегментов, привлекает внимание факт преобладающего возрастания числа КЛ в более зрелых сегментах, т.е. в тех частях регенераторного ростка, где отмечено снижение пролиферативной активности кератиноцитов и где происходит становление морфологических уровней эпидермиса.

Из проведенных сопоставлений следует: миграция клетки-предшественника (CD34+клетка) в эпидермис и последующая ее трансформация в функционально активную КЛ (CD1a+ КЛ) зависит от зрелости окружающих кератиноцитов. Известно, что продукция кератиноцитами хемотаксического протеина моноцитов (MCP-1) является ведущим фактором миграции КЛ в кожу [5], а трансформирующий фактор роста (TGFb-1) и протеин воспаления макрофагов (MIP-3a), продуцируемые кератиноцитами, являются важными хемотаксическими факторами, привлекающими КЛ в эпидермис [9, 3] и определяющими ее трансформацию в CD1a+ клетку [4]. Вполне возможно, что кератиноциты однодневной степени зрелости, не обладая должной продукцией цитокинов не способны проявить позитивный хемотаксический эффект на CD34+клетки или побудить их к трансформации в CD1a+ КЛ [7]. Не исключено также, что в ростке регенерирующего эпидермиса превращение CD34+ миелоидной клетки в функционально активную КЛ, в нашем случае определяемую по появлению экспрессии CD1a и HLA-DR, требует некоторой экспозиции во времени, ограниченной, минимально, 3-х дневным сроком, за которым следует появление в клетке позитивности CD1a и последующее нарастание к 10-ти дневному сроку числа CD1a+ КЛ.

Обращает на себя внимание особенность распределения КЛ непосредственно в регенерирующем ростке (рис. 3).

Преобладающая локализация CD1a+ КЛ в средней части ростка, в окружении шиповидных клеток указывает на то, что созревание КЛ до проявления CD1a и HLA-DR позитивности связано с взаимодействием с шиповидными кератиноцитами, а не кератиноцитами базального уровня. Из отмеченного следует, что функция КЛ

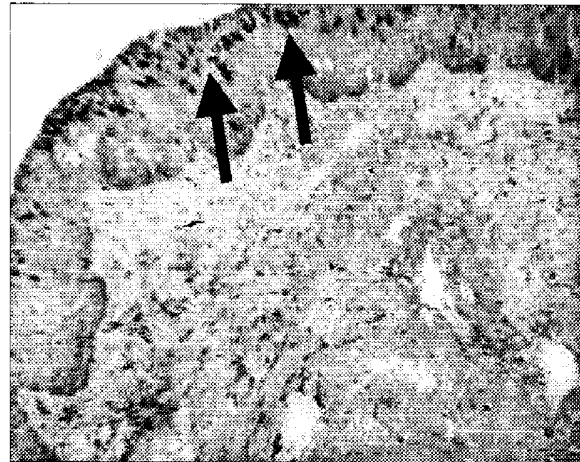


Рис. 3. Преобладающее распределение CD1a+КЛ в формирующемся слое шиповидных клеток (обозначено стрелками). Иммунопероксидазный метод с фоновым окрашиванием гематоксилином. Об.3.5. Ок.10.

в эпидермисе обусловлена и их целевое предназначение определяется уровнем локализации шиповидных клеток. Вполне возможно, что функция КЛ связана с антигенпредставляющими свойствами кератиноцитов, относят к резидентным, т.е. не обладающими способностью к движению, клеткам, которые, однако, способны представлять антиген в комплексе с HLA-DR [6]. В таком случае взаимодействие клеток будет связано с изъятием клеткой Лангерганса антигена с поверхности шиповидного кератиноцита. Антиген может улавливаться, так же, и при посредстве CD1a компонента, оставленного КЛ на поверхности кератиноцита в качестве "ловушки" [2]. Можно предполагать и другое: функция КЛ определяется надзором за кожным барьером, его липидной составляющей, секретируемой шиповидными клетками. КЛ обладает уникальным свойством – способностью представлять антиген не только белковой природы, но и антиген липидной структуры, который процессируется в КЛ в комплексе с CD1a [8].

Интригующим является предположение: а не является ли КЛ клеткой, определяющей дальнейшую судьбу кератиноцита, его последующую функциональную дифференциацию или же способность кератиноцита к пролиферативной активности? Действительно накопление в регенерирующем эпидермисе КЛ совпадает с прекращением деления кератиноцитов и проявлением тенденции к стратификации, т.е. формированию морфологических уровней базального слоя, слоя шиповидных и зернистых клеток. Однако эти предположения требуют дальнейших исследований.

Выводы

1. Появление CD1a+КЛ в регенераторном эпителиальном ростке не связано с процессом воспаления и присутствием в ростке CD3+, CD4+, CD8+ Т-лимфоцитов.

2. Появление в регенераторном эпителиальном ростке КЛ с экспрессией CD1a антигена наблюдается в окружении кератиноцитов со свойствами шиповидных клеток.

Литература. 1. Курченко А. И. Роль клітин Лангерганса в імунній системі шкіри // Укр. ж. дерматол. венерол. косметол. – 2001. – №2-3. – С.6-9. 2. Курченко А.И., Курченко И.Ф. Immunohistopathologic studies of the CD1a expression in the epidermis of involved psoriatic skin. // British J. Dermatol. – 1996. – V.135. – P.843 (73). 3. Caux C., Valladeau J., Dieu M-C. et al. Langerhans cells have unique features illustrating selective migration, antigen uptake and route capacities // J. Leukoc. Biol. – 2000. – V.114. – №1. – P.207. 4. Larregina A.T., Morelli A.E., Spencer L.A. et al. CD14+ CD1a- dermal migratory cells acquire the characteristic of Langerhans after short-term culture in GM-CSF, TGFb-1 and IL-4. // J. Invest. Dermatol. – 2001. – V.117. – №4. – P.1004 (C1). 5. Nakamura K., Saitoh A., Yasaka N. et al. Molecular mechanisms involved in the migration of epidermal dendritic cells in the skin // J. Invest. Dermatol. Symposium Proceedings. – 1999 – V.4 – P.169-172. 6. Nickoloff B.J., Turka L.A. Immunologic function of non-professional antigen presenting cells. Insights from keratinocyte: T cell interactions // Immunol. Today. – 1994 – V.15 – P.464-496. 7. Pieri L., Domenici L., Pomagnoli P. Factors affecting the differentiated state of Langerhans cells in epidermis // J. Invest. Dermatol. – 2001. – V.117 – №4. – P.1015. 8. Salamero J., Bausinger H., Mommas A.M. et al. In freshly isolated human epidermal Langerhans cells CD1a molecules spontaneously internalize, gain access to the endosomal pathway and recycle to the cell surface // J. Leukoc. Biol. – 2000. – V.114. – №1 – P.228 (113). 9. Udey M.C. TGFb-1 and Langerhans cell development // J. Leukoc. Biol. – 2000 – V.114 – №1 – P.209.

КОЛОНІЗАЦІЯ КЛІТИНАМИ ЛАНГЕРГАНСА РЕГЕНЕРУЮЧОГО ЕПІДЕРМІСУ У ШКІРНІЙ РАНИ, ЩО ЗАГОЮЄТЬСЯ

І.Ф. Курченко, П.М. Воляннюк

Резюме. З метою з'ясування особливостей колонізації паростка регенеруючого епідермісу клітинами Лангерганса (КЛ) у 4 хворих імуністехімічним методом було проведено дослідження 10-ти денної хірургічної рани, яка загоювалася. Поява CD1a+ КЛ не пов'язана з процесом запалення та присутністю в паростку CD3+, CD4+, CD8+Т-лімфоцитів. Проява КЛ експресії CD1a спостерігалася в оточенні кератиноцитів з властивостями шипоподібних клітин, взаємодія з якими, напевно, визначає процес міграції та становлення функціональної зрілості КЛ.

Ключові слова: клітини Лангерганса, епідерміс, регенерація.

THE LANGERHANS' CELLS COLONIZATION ACTIVITY TOWARDS THE REGENERATIVE EPIDERMIS OF HEALING SKIN WOUND

I. F. Kurchenko, P. M. Volianiuk

Abstract. With the purpose of understanding the Langerhans' cells (LC) colonization tendency towards the regenerative epidermal sprout the immunohistochemical study of 4 cases of the healing postoperative wound was performed. The LC's allocation in the epidermal sprout was not connected with the inflammation surrounding or with the CD3-, CD4+, CD8+T-lymphocytes presence in the sprout. The accumulation of LC with CD1a positivity was viewed predominantly in the prickle cells surroundings that seems induce LC to the functional maturation (CD1a expression) and migration into epidermal sprout.

Key words: Langerhans' cells, epidermis, regeneration.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. – 2002. – Vol.1, №1. – P.47-50.

Надійшла до редакції 16.05.2002