

유선조직내에 출현하는 dendritic cell의 형태학적 연구 II. 전자현미경적 관찰

류 시 윤 · 이 차 수*
충남대학교 농과대학 수의학과
경북대학교 수의과대학*
(1988. 7. 29 접수)

Morphological studies on the dendritic cells in the mammary gland II. Electron microscopic observations

Si-yun Ryu, Cha-soo Lee*

*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Chungnam National University
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University**

(Received July 29, 1988)

Abstract: In order to investigate the morphological characteristics of dendritic cells in the mammary gland of the mouse (C57 BL/6), rat (W), rabbit and cat, the fine structures of the dendritic cells have been observed by the electron microscope.

The results obtained were summarized as follows:

The dendritic cells with the well-developed processes had an irregular shape, and lacked the desmosome. The pinocytotic vesicles and tubular invaginations of the cell membrane were frequently observed, and the mitochondria with the well-developed cristae were located in the restricted region in the cytoplasm of the dendritic cells. The nuclei of dendritic cells were indented. In the mice and rats, the dendritic cells had a few Langerhans cell granules(Birbeck granules).

From the above results, it is confirmed that the ATPase-positive dendritic cells in the mammary gland are the Langerhans cells.

Key words: Langerhans cell, dendritic cell, mammary gland.

서 론

긴 돌기를 가지고 있는 dendritic cell(DC)중의 하나인 Langerhans cell(LC)¹은 Paul Langerhans²에 의해 처음 발견된 세포로 초기에는 이 세포의 돌기가 신경 세포돌기와 유사하다고하여 신경조직의 감각세포인 것으로 생각되었으나, 그후에 이 세포의 출현부위와 dendrite의 특징 등을 고려하여 melanocyte계열중 색소생성 능력이 저하된 마지막 단계의 세포라고 하였다.³ 그러나 LC는 전자현미경적 관찰을 통해 막대기 혹은

racket모양의 Langerhans cell granule(LCG) 즉 Birbeck granule을 가지고 있는 세포로서 keratinocyte 및 melanocyte에서와는 달리 tonofilament 및 melanosome 등을 볼 수 없으며 Golgi장치가 발달되어있고 사립체가 다수 출현한다고 하였다.⁴ 한편 LC는 간엽유래라고 하였으나⁵ Frelinger et al⁶ 및 Katz et al⁷은 골수유래라고 보고하였다. 1973년 Silberberg⁸가 수은에 대한 피부의 접촉성 과민반응시험시 LC주위에 입과구가 다수 출현하는 점을 고려하여 처음으로 LC는 면역학적 작용과 어떤 연관성이 있다고 시사한 이래 이에 관한

많은 형태학적 연구를 통해 피부에서의 LC는 항원발현기능이 있다고 하였다.^{9,10} 이후 Stingl et al¹¹에 의해 LC에는 Fc-IgG와 C₃에 대한 수용체가 있다고 하였으며, Klareskog et al¹²과 Rowden et al¹³에 의해 Ia 항원이 세포막에 존재하는 것이 밝혀짐에 따라 LC는 항원발현기능이 있음이 확실시 되었다.^{14,15}

이러한 기능을 수행하는 LC는 H-E염색표본에서 clear cell(CL)로 출현하나^{16,17}, 조직화학적 방법에 의해 긴 돌기를 가지고 있는 DC라고 하였으며^{4,18-24}, 미세구조학적으로 monocyte-macrophage계열과는 핵 및 dendrite의 형태, LCG의 출현유무 등에 의해 구별된다고 하였다.^{5,25,26}

본 연구에서는 유선조직내에 출현하는 ATPase-positive dendritic cells(APDC)의 미세구조를 전자현미경으로 관찰하였던 바 DC는 LC로 인정되었기에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

본 연구에 공시된 동물은 APDC의 출현양상에 대한 결과²⁷를 토대로 포유류종의 마우스(C57BL/6), 랫트(W), 토끼 및 고양이에서 절취한 유선조직편을 2% glutaraldehyde-2.5% paraformaldehyde 액(0.1M phosphate buffer, pH7.4)에 전고정하여 phosphate buffer로 수세한 후 1% OsO₄에 후고정하였다. 이들 조직편은 에타놀에 이행 탈수시킨후 Epon 812에 포매하였으며 포매조직을 ultramicrotome (LKB-V)으로 1 μ m 두께의 절편을 만들어 toluidine blue로 염색한 다음 광학현미경하에서 CL의 출현부위를 확인하였고 이어서 동일한 부위의 초박절편을 작성, uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 전자현미경(JEM 100B)으로 관찰하였다.

결 과

본 연구에 공시된 마우스, 랫트, 토끼 및 고양이의 Epon포매 유선조직을 1 μ m 두께로 절편한 것을 toluidine blue로 염색하여 광학현미경하에서 CL을 확인한 후 이들 세포의 초박절편을 전자현미경으로 관찰하였던 바 동물의 종류에 관계없이 이들 세포의 형태가 거의 비슷하였다. 그리고 이들 CL은 다양한 형태의 dendrite를 여러방향으로 내고 있어 DC임을 확인할 수 있었으며, 세포의 형태가 다양하였다(Fig 1, 2). 이들 DC에서는 pinocytotic vesicle과 세포막이 세포질내로 함몰된 등근 관상내함입이 관찰되기도 하였고(Fig 3, 4), 주위 세포와의 사이에서는 desmosome장치를 볼 수 없었으며 타 세포와의 사이에는 다소의 세포간강이 관찰

되기도 하였다(Fig 3, 5). 세포질은 전반적으로 전자밀도가 낮았으며 r-ER이 소수로 출현하였고, Golgi장치 및 소수의 lysosome 등이 관찰되었다(Fig 3). 그리고 사립체는 cristae가 잘 발달되어 있었으며 소수의 집적을 이루어 한국성으로 출현하는 것이 인정되었다(Fig 2, 6). 유리 ribosome과 polyribosome은 세포질내에 산재하였으며, 핵막주위에서 다수의 ribosome이 관찰되었고, 핵은 다양한 형태로 불규칙하게 함몰되어 있었으며 가끔 분엽상으로 출현하기도 하였다(Fig 2, 6). 마우스와 랫트에 있어서는 LC의 특징적인 구조물인 LCG가 racket 또는 막대기 모양으로 세포질내 소수로 출현하기도 하였다(Fig 7, 8).

전자현미경하에서 관찰된 DC의 출현부위는 광학현미경하에서 관찰된 CL 즉 APDC의 출현부위²⁷와 동일하게 선상피세포사이, 선상피세포와 근상피세포사이, 선상피세포하의 기저막측, 선포간과 염간결합조직내 그리고 도관 상피세포사이에서 관찰되었다(Fig 1, 2, 6).

고 찰

미세구조학적으로 임파구는 DC에 비해 세포내 핵이 차지하는 비율이 크고 유리 ribosome, polyribosome, glycogen 및 filament 등이 풍부하여 전자밀도가 높다고 하였다.²⁵ 한편 macrophage는 핵이 난원형 또는 신장형이고 사립체를 다수 가지고 있지만 DC에 비해 크기가 작고 cristae의 발달이 좋지않다고 한다. 그리고 macrophage에는 Golgi장치, s-ER 및 r-ER 등이 잘 발달되어 있으며 lysosome이 많이 출현한다고 하였다.^{25,28}

본 연구에서 관찰된 DC는 여러방향으로 많은 dendrite를 내고 있어 형태가 다양하였으며 핵은 불규칙하게 함몰되어 있었고, cristae가 잘 발달된 사립체의 한국성 집적과 소수의 lysosome이 관찰되었다. 이와같은 DC의 형태학적 소견은 macrophage 및 임파구와는 차이가 있었으며 타 부위에서 관찰된 DC의 형태학적 소견^{4,8,25,28-34}과 대체로 일치하였다. 한편 Joshi et al²⁸은 유선조직내에 출현하는 DC에서 관상내함입은 관찰되었지만 LCG를 볼 수 없었다고 하였으나 본 조사에서는 pinocytotic vesicle, 관상내함입, 많은 dendrite 그리고 일부 동물의 유선조직에서 DC의 세포질내 LCG가 소수로 출현하는점 등으로 미루어 보아 유선조직내의 DC는 LC인 것으로 사료된다.

결 론

유선조직내에 출현하는 dendritic cell(DC)의 형태학적 특징을 알아보기 위하여 DC에 대한 미세구조를 전

자현미경적으로 추구하고 있던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

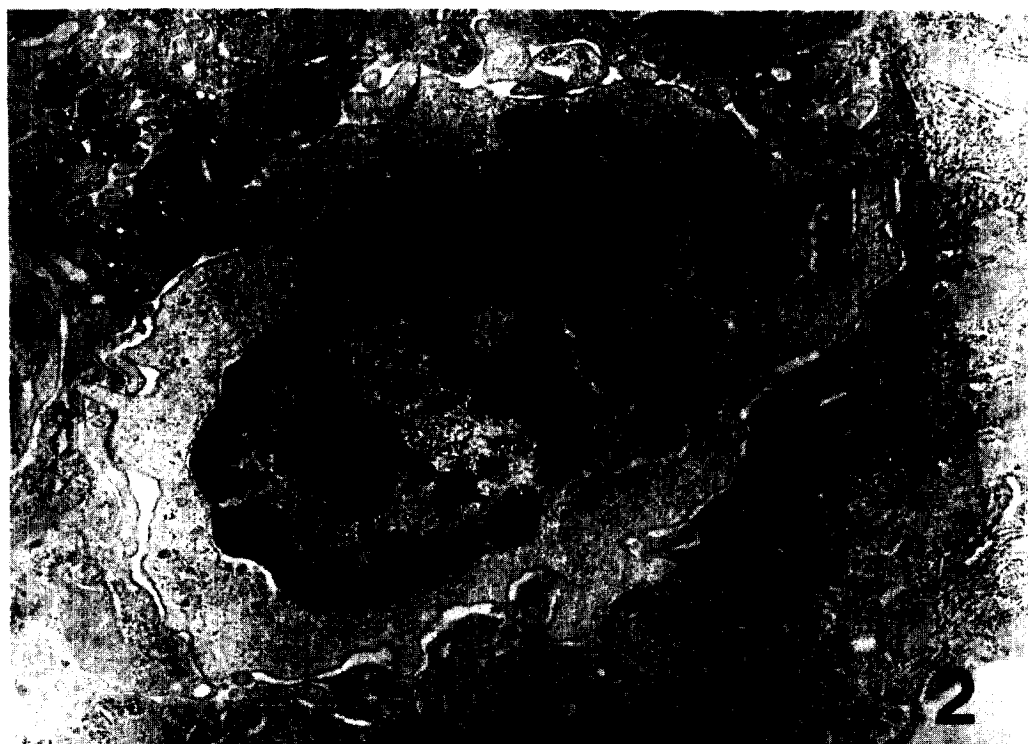
DC는 여러방향으로 많은 dendrite를 내고 있었으며 세포의 형태가 다양하였고 주위세포와의 사이에서는 desmosome장치를 볼 수 없었다. 그리고 세포질내에서는 pinocytotic vesicle 및 세포막의 관상내함이 관찰되기도 하였고 cristae가 잘 발달된 사립체의 한국성 집

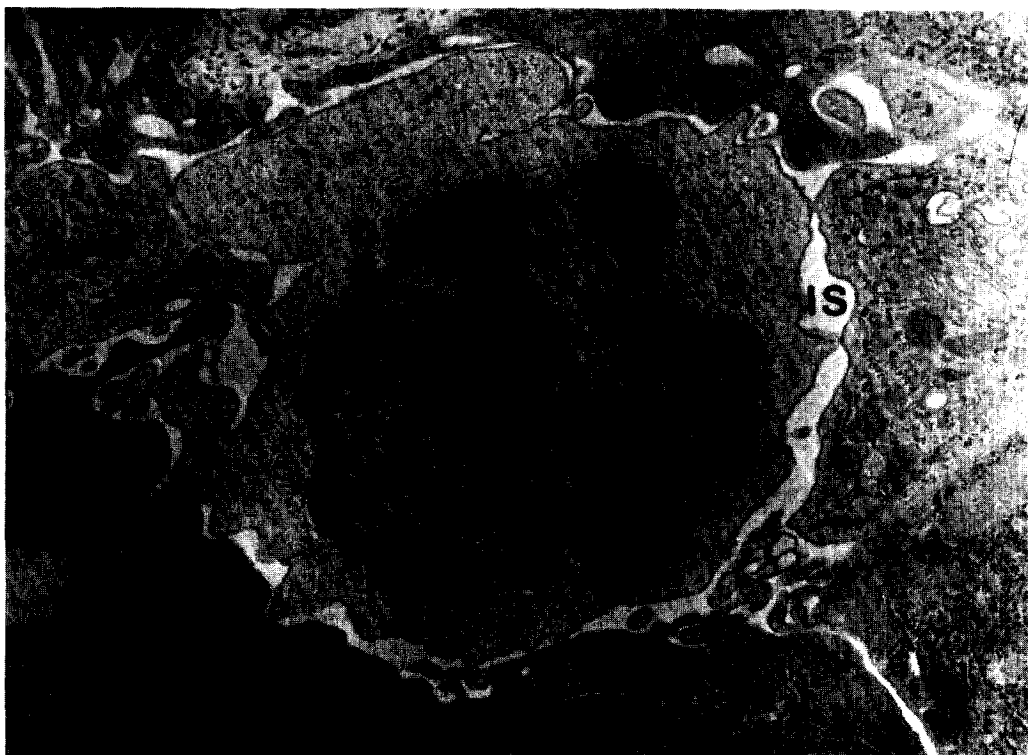
적과 소수의 r-ER 및 lysosome이 관찰되었으며 핵은 대체로 불규칙하게 함몰되어 있었다. 한편 마우스와 랫트의 DC에 있어서는 Langerhans cell granule(Birbeck granule)이 소수 관찰되었다.

이상의 결과로 보아 유선조직내에 출현하는 본 AT-Pase-positive dendritic cell은 Langerhans cell인 것으로 판명되었다.

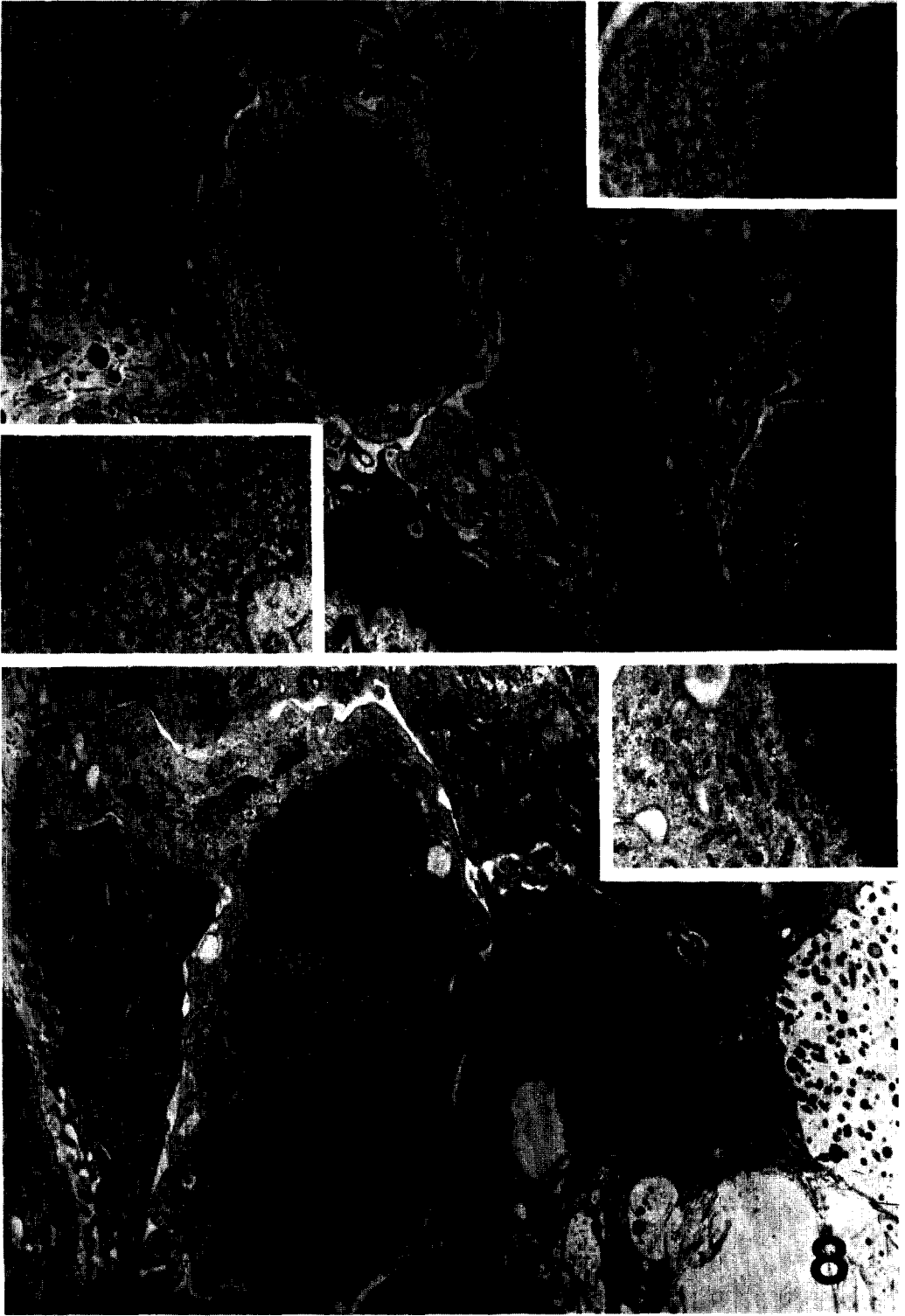
Legends for figures

- Fig 1.** The mammary gland of C57BL/6 mouse, middle period of lactation. A dendritic cell with the arbo-
rized processes has an irregular shape, and is located in between the secretory epithelial cells(SEC)
and the myoepithelial cell(MEC). $\times 8000$. Inset: A semithin section stained with toluidine blue. The
clear cell(arrow) is seen. $\times 200$.
- Fig 2.** The mammary gland of W rat, middle period of lactation. A dendritic cell with the well-developed
processes is seen in between the secretory epithelial cells(SEC). The nucleus is indented and a few
mitochondria(M) are localized in the restricted region. $\times 8000$.
- Fig 3.** The mammary gland of rabbit, middle period of lactation. A dendritic cell which has the pinocy-
totic vesicles and few lysosome(L) and invaginated cytoplasm is separated from the surrounding cells
by the intercellular space (IS). $\times 8000$.
- Fig 4.** The mammary gland of cat, middle period of lactation. Several invaginations terminating in bulbous
ends and pinocytotic vesicles are seen. $\times 10000$.
- Fig 5.** The mammary gland of C57BL/6 mouse, middle period of lactation. A dendritic cell has a few free
ribosome and polyribosome, and is separated from the surrounding cells by the intercellular space
(IS). $\times 13000$.
- Fig 6.** The mammary gland of cat, middle period of lactation. A dendritic cell which is located on the
basal lamina(BL) and the myoepithelial cell(MEC), is possessed of the lobulated nucleus and a few
mitochondria(M) in the restricted region. $\times 8000$.
- Fig 7.** The mammary gland of C57BL/6 mouse, middle period of lactation. The Langerhans cell granules
(Birbeck granules) with a racket-shaped profile(arrow A) and a rod-shaped profile(arrow B) are ob-
served. $\times 8000$. Insets: Higher magnification of arrow A(upper right) and B (lower left).
- Fig 8.** The mammary gland of W rat, middle period of lactation. The Langerhans cell granule with a rod-
shaped profile(arrow) is observed. $\times 8000$. Inset: Higher magnification of arrow.









참 고 문 헌

1. Tew JG, Thorbecke J, Steinman RM. Dendritic cells in the immune response: characteristics and recommended nomenclature: a report from the reticuloendothelial society committee on nomenclature. *J Reticuloendothel Soc* 1982;31: 371~380.
2. Langerhans P. Über die nerven der menschlichen Haut. *Virchows Arch Path Anat* 1868;44: 325~337.
3. Masson P. My conception of cellular nevi. *Cancer* 1951;4:9~38.
4. Birbeck MS, Breathnach AS, Everall JD. An electron microscope study of basal melanocytes and high-level clear cells(Langerhans cells) in vitiligo. *J Invest Dermatol* 1961;37:51~63.
5. Wolff K. The Langerhans cell. *Curr Probl Dermatol* 1972;4:79~145.
6. Frelinger JG, Hood L, Hill S, et al. Mouse epidermal Ia molecules have a bone marrow origin. *Nature* 1979;282:321~323.
7. Katz SI, Tamaki K, Sachs DH. Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in bone marrow. *Nature* 1979;282:324~326.
8. Silberberg I. Apposition of mononuclear cells to Langerhans cells contact allergic reactions. *Acta Dermatovener* 1973;53:1~12.
9. Shelley WB, Juhlin L. Langerhans cells from a reticuloepithelial trap for external contact antigens. *Nature* 1976;261:46~47.
10. Silberberg I, Baer RL, Rosenthal SA. The role of Langerhans cells in allergic contact hypersensitivity. A review of findings in man and guinea pig. *J Invest Dermatol* 1976;66:210~217.
11. Stingl G, Wolff-Schreimn EC, Pichler WJ, et al. Epidermal Langerhans cells bear Fc and C3 receptors. *Nature* 1977;268:245~246.
12. Klareskog L, Tjernlund UM, Forsum U, et al. Epidermal Langerhans cells express Ia antigens. *Nature* 1977;268:248~250.
13. Rowden G, Lewis MG, Sullivan AK. Ia antigen expression on human epidermal Langerhans cells. *Nature* 1977;268:247~248.
14. Stingl G, Katz SI, Clement L, et al. Immunologic functions of Ia-bearing epidermal Langerhans cells. *J Immunol* 1978;121:2005~2013.
15. Chesnut RW, Grey HM. Antigen presenting cells and mechanisms of antigen presentation. *Crit Res Immunol* 1984;5:263~316.
16. Wolff K. Langerhans cell: history, structure, and function. In: Parish JA, ed. *The effect of ultraviolet radiation on the immune system*. NJ: Johnson & Johnson Baby Products Co, 1983;35~58.
17. Choi KL, Sauder DN. The role of Langerhans cells and keratinocytes in epidermal immunity. *J Leukocyte Biol* 1986;39:343~358.
18. Hollis DE, Lyne AG. Acetylcholinesterase-positive Langerhans cells in the epidermis and wool follicles of the sheep. *J Invest Dermatol* 1972; 58:211~217.
19. Khalil HM, Nitiuthai S, Allen JR. Alkaline phosphatase-positive Langerhans cells in the epidermis of cattle. *J Invest Dermatol* 1982;79:47~51.
20. Chaker MB, Tharp MD, Bergstresser PR. Rodent epidermal Langerhans cells demonstrate greater histochemical specificity for ADP than for ATP and AMP. *J Invest Dermatol* 1984;82: 496~500.
21. Hanau D, Fbre M, Stampf J-L, et al. ATPase Langerhans cell staining: a technique allowing progression from light to electron microscope observation. *J Invest Dermatol* 1986;86:5~8.
22. Harrist TJ, Muhlbauer JE, Murphy GF, et al. T6 is superior to Ia (HLA-DR) as a marker for Langerhans cells and indeterminate cells in normal epidermis: a monoclonal antibody study. *J Invest Dermatol* 1983;80:100~103.
23. Rowden G, Misra B, Higley H, et al. Antigens specified by the T1a locus are expressed on the surface of murine Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 1983;81:2~6.
24. Modlin RL, Rowden G, Taylor CR, et al. Comparison of S-100 and OKT6 antisera in human skin. *J Invest Dermatol* 1984;83:206~209.
25. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution.

- J Exp Med* 1973;137:1142~1162.
26. Silberberg-Sinakin I, Baer RL, Thorbecke GJ. Langerhans cells. A review of their nature with emphasis on their immunologic functions. *Prog Allergy* 1978;24:268~294.
 27. 류시윤. 유선조직내 출현하는 Dendritic Cell의 형태학적 연구. 박사학위논문, 경북대학교 대학원. 1987.
 28. Joshi K, Monaghan P, Neville AM. Ultrastructural identification of Ia positive dendritic cells in the lactating rat mammary gland. *Virchows Arch* 1985;406:17~25.
 29. Zelicson AS. The Langerhans cell. *J Invest Dermatol* 1965;44:201~212.
 30. Younes MS, Robertson EM, Bencosme SA. Electron microscope observations on Langerhans cells in the cervix. *Am J Obst Gynec* 1968;102:397~403.
 31. Steinman RM, Nussenzweig MC. Dendritic cells: features and functions. *Immunol Rev* 1980;53:127~147.
 32. Steinman RM. Dendritic cells. *Transplantation* 1981;31:151~155.
 33. Wolff K, Stingl G. The Langerhans cell. *J Invest Dermatol* 1983;80:17s~21s.
 34. Young WG, Newcomb GM, Hosking AR. The effect of atrophy, hyperplasia, and keratinization accompanying the estrous cycle on Langerhans' cells in mouse vaginal epithelium. *Am J Anat* 1985;174:173~186.
-