ヒト喉頭粘膜の抗原提示細胞について

石田 春彦, 岩江 信法, 天津 睦郎

Antigen-presenting Cells in Human Laryngeal Mucosa

Haruhiko Ishida, M.D., Shigemichi Iwae, M.D., and Mutsuo Amatsu, M.D.

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Kobe University School of Medicine, Kobe

Antigen-presenting cells (APCs) are considered to be initiators of the allergic reaction, and Langerhans cells and macrophages are APCs found in the human nasal cavity. We studied the distribution of Langerhans cells and macrophages in human laryngeal mucosa.

Mucosal specimens were obtained from four normal larynxes that were resected due to carcinoma of the mesopharynx or oral cavity. Sections were prepared from the epiglottis, vocal cords, subglottis and the arytenoid portion of the larynx. Langerhans cells and macrophages were investigated immunohistochemically using antibody S-100 protein for the Langerhans cells, CD68 for the macrophages, and the antihuman HLA-DR antibody as an MHC-class II antigen.

Langerhans cells were more abundant than macrophages in the epiglottis and arytenoid portions. In contrast, in the subglottis macrophages were more common than Langerhans cells. Few Langerhans cells or macrophages were seen in the mucosa of the vocal cords. MHC-class II antigens were present in most of the Langerhans cells and macrophages.

These findings suggest that Langerhans cells and macrophages function as APCs in the human larynx. Langerhans cells are present in the squamous epithelium of the larynx, except in the vocal cords, and macrophages are present in the ciliated columnar epithelium.

Key words : ヒト喉頭, ランゲルハンス細胞, マクロファージ, 主要組織適合抗原

I. はじめに

われわれはこれまで喉頭において I 型アレルギー反応が起こるかどうかについて、ヒトおよびモルモット喉頭を用いて、主に肥満細胞に着目して検討を行ってきた。その結果、ヒト喉頭粘膜では粘膜固有層浅層には粘膜肥満細胞が存在し、IgE 抗体を有することが証明された^{1,2)}。またモルモット喉頭では声門下で肥満細胞が他の部位より有意に多く存在し、さらに感作モル

モットの喉頭を抗原に暴露させると、抗原暴露直後に灌流液中のヒスタミン濃度が有意に上昇した³⁾。これらの事実より喉頭においても I 型アレルギー反応は起こり得るとの結果を得た。

I 型アレルギー反応においても、まず抗原提示細胞が抗原を貪食して、その情報を T リンパ球に伝達することから始まると考えられている。現在ヒトの抗原提示細胞は皮膚ではランゲルハンス細胞 (L 細胞)⁴⁾、鼻粘膜ではマクロファージ (M ϕ)⁵⁾ であると考えられている。喉頭には重層扁平上皮と多列線毛円柱上皮の両者が存在している。そこで今回われわれはヒト喉頭粘膜における L 細胞と M ϕ の存在の有無、およびその分布について検討した。

神戸大学医学部耳鼻咽喉科学教室
別刷請求：〒650 兵庫県神戸市中央区楠町7-5-1
神戸大学医学部耳鼻咽喉科 石田春彦
投稿受付：1996年 9月26日

II. 対象および方法

対象は口腔, 中咽頭癌症例で, 喉頭摘出を余儀なくされた 4 例であった。対象症例の年齢は 52~75 歳(平均年齢 60.8 歳), 男性 3 例, 女性 1 例であった(表 1)。いずれの症例も喉頭への腫瘍の進展はなく, 術前放射線治療なども行われていない。また 4 症例ともハウスダストの皮内テストは陰性であった。

摘出喉頭から直ちに喉頭蓋, 声帯, 声門下, 披裂部より組織を採取し, ホルマリン固定を行い, パラフィン包埋を施した。その後 5 μ m の連続切片を作製した。L 細胞に対しては抗ウシ s-100・ウサギポリクローナル抗体 (DAKO), M ϕ に対しては抗ヒトマクロファージ・マウスモノクローナル抗体 (DAKO) を用いた。また主要組織適合抗原 (MHC class II) の発現を検討する目的で, 抗ヒト HLA-DR・マウスモノクローナル抗体 (DAKO) を用いた。2 次抗体以下は DAKO の LSAB キット (2 次抗体: ピオチン標識抗ウサギイムノグロブリン・ヤギ抗体

表 1 症例

症例	年齢	性	診 断
1	60	女性	舌根腫瘍
2	75	男性	舌根腫瘍
3	52	男性	中咽頭腫瘍
4	56	男性	口腔底腫瘍

表 2 抗原提示細胞の分布
(M: マクロファージ, L: ランゲルハンス細胞)

		喉頭蓋		声帯		披裂部		声門下	
		M	L	M	L	M	L	M	L
症 例	1	+	++	+	+	+	++	++	-
	2	+	++	+	-	+	+	+	-
	3	+	++	-	-	-	++	++	-
	4	+	+++	-	+	+	++	++	-

- : 200 倍で検鏡し 0 個
+ : 200 倍で検鏡し 2 個未満
++ : 200 倍で検鏡し 2 個以上 5 個未満
+++ : 200 倍で検鏡し 5 個以上 10 個未満

図 1 喉頭蓋の M ϕ と L 細胞 ($\times 200$)
M ϕ に比べ L 細胞を多く認める。上段: M ϕ と隣接する切片の HLA-DR 抗原 (▲)。下段: L 細胞と隣接する切片の HLA-DR 抗原 (▲)。

図2 声帯の M ϕ と L 細胞 ($\times 200$)

M ϕ , L 細胞ともに少ない。上段: M ϕ と隣接する切片の HLA-DR 抗原 ($\blacktriangle$)。下段: L 細胞と隣接する切片の HLA-DR 抗原 ($\blacktriangle$)。

図3 声門下の M ϕ と L 細胞 ($\times 200$)

L 細胞は全く認められない。一方 M ϕ が上皮内に存在していた。上段: M ϕ と隣接する切片の HLA-DR 抗原 ($\blacktriangle$)。下段: L 細胞と隣接する切片の HLA-DR 抗原 ($\blacktriangle$)。

図4 披裂部の $M\phi$ と L 細胞 ($\times 200$)
L 細胞を多く認める。上段: $M\phi$ と隣接する切片の HLA-DR 抗原 ($\blacktriangle$)。下段: L 細胞と隣接する切片の HLA-DR 抗原 ($\blacktriangle$)。

およびビオチン標識抗マウスイムノグロブリン・ヤギ抗体, 標識抗体: パーオキシダーゼ標識ストレプトアビジン, 発色基質: 3-アミノ-9-エチルカルバゾール) を使用した。

III. 結 果 (表2)

上記の方法で染色された標本を200倍で検鏡した。1部位について5枚の標本を検鏡した。また1枚の標本内で任意の3~4視野を選んで陽性細胞数を数え, その平均を求めて1視野中の細胞数とした。1視野に染色された細胞が見られない場合 (-), 2個未満の場合 (+), 2個以上5個未満の場合 (++) , 5個以上の場合 (+++) として評価した。

1. 喉頭蓋 (図1)

喉頭蓋ではL細胞, $M\phi$ 両者とも存在していたが, L細胞は (++) または (+++) であったのに対し, $M\phi$ は4症例とも (+) であり, L細胞のほうがより多数認められた。しかしHLA-DR 抗原はL細胞, $M\phi$ のどちらにも発現していた。

2. 声帯 (図2)

声帯ではL細胞は2症例で (+), 他の2症例で (-) であり, $M\phi$ も同様に (+) と (-) が2症例ずつであった。すなわち声帯ではL細胞, $M\phi$ ともに少数認められた。いずれも HLA-DR 抗原は存在していた。

3. 声門下 (図3)

声門下ではL細胞は4症例ともに (-) であったのに対し, $M\phi$ は3症例で (++), 1例で (+) であり, 声門下には $M\phi$ のほうが多く認められた。また HLA-DR 抗原も認められた。

4. 披裂部 (図4)

披裂部ではL細胞は3症例で (++), 1例で (+) であった。一方 $M\phi$ は3例で (+), 1例で (-) であった。つまり披裂部ではL細胞のほうが多く, 喉頭蓋と同様の傾向であった。また披裂部でも HLA-DR 抗原の発現が確認された。

IV. 考 察

抗原提示細胞は抗原性物質を貪食して, その

情報を MHC class II を介して T リンパ球に伝達する。T リンパ球からは IL-4, 5, 6 が分泌されて B リンパ球の増殖, 分化, 成熟を促し, IgE 抗体が産生されるようになる。したがって抗原提示細胞は I 型アレルギー反応に不可欠な細胞であるということができる。現在のところヒトの抗原提示細胞としては L 細胞など数種類の樹状細胞と M ϕ が考えられている⁹⁾。L 細胞は皮膚や鼻前庭など重層扁平上皮の存在する部位で機能しており^{4,7)}, M ϕ は下鼻甲介粘膜など線毛円柱上皮の存在する部位で機能している⁵⁾と考えられている。

今回われわれは喉頭蓋, 披裂部, 声帯, 声門下について検討を行ったが, その中で声門下のみが多列線毛円柱上皮であり, 他の部位はすべて重層扁平上皮で被覆されている。これらの部位に存在する L 細胞と M ϕ を免疫組織化学的手法を用いて検討した結果, 喉頭蓋および披裂部には L 細胞が多く, 声門下では M ϕ が多く観察された。喉頭においても鼻腔など同様に重層扁平上皮の存在する部位では L 細胞が認められ, 円柱線毛上皮の存在する部位では M ϕ が認められた。

このように上皮細胞の種類によって抗原提示細胞の種類が異なるということは大変興味深い所見であり, 上皮細胞から何らかのサイトカインが遊離され, それが抗原提示細胞を決定しているのかもしれない。また L 細胞, M ϕ ともに HLA-DR 抗原を発現していた。このことは喉頭に存在する L 細胞, M ϕ が実際に抗原情報を T リンパ球に伝達している可能性を強く示唆する所見であると思われる。

一方声帯では, L 細胞, M ϕ ともにほとんど認められなかった。声帯では肥満細胞も非常に少なく, これらの所見より声帯はアレルギー反応が非常に起こりにくい部位であるということができる。声門は気道の中でも最も狭い部位であり, この部位でアレルギー反応が起きれば容易に呼吸困難を来すであろうと想像できる。したがって抗原提示細胞, 肥満細胞ともにほとん

ど存在しないということは, 生体にとって合目的な構造であるということができる。

以上のように, ヒト喉頭でも声帯以外の部位では抗原提示細胞が存在し, HLA-DR 抗原も発現していた。抗原提示細胞から抗原情報を受け取るリンパ球についても検討する必要があるものの, この所見はこれまでのわれわれの研究結果と同様に喉頭においても I アレルギー反応が起こり得ることを示唆するものであると考える。

V. ま と め

1) ヒト喉頭における抗原提示細胞について検討した。

2) 喉頭蓋, 披裂部では L 細胞が多く認められた。

3) 声門下では M ϕ が多く認められた。

4) 声帯には L 細胞, M ϕ ともにほとんど認められなかった。

5) L 細胞, M ϕ ともに HLA-DR 抗原を発現していた。

本論文の要旨は第47回日本気管食道科学会総会において口演した。

文 献

- 1) 石田春彦, 岩江信法, 天津睦郎: ヒト喉頭粘膜の肥満細胞について—非アレルギー症例での検討—. 日気食会報, 46: 287-291, 1995.
- 2) 石田春彦, 岩江信法, 天津睦郎: 喉頭における I 型アレルギー反応の基礎的研究. 耳鼻, 41: 860-865, 1995.
- 3) 岩江信法, 石田春彦, 天津睦郎: モルモット喉頭における I 型アレルギー. 喉頭, 7: 1-6, 1995.
- 4) 田中洋一, 吉田彦太郎: 樹状細胞. アレルギーの領域, 1: 72-75, 1994.
- 5) 川原孝文, 宮口 衛, 酒井俊一・他: 鼻・副鼻腔病変における樹状細胞とマクロファージの免疫組織学的研究. 日耳鼻, 97: 240-246, 1994.
- 6) 稲葉カヨ: 樹状細胞と免疫応答. 臨床免疫, 1: 264-283, 1989.
- 7) 吉見龍一郎, 高村博光, 高崎賢治・他: 鼻粘膜における抗原提示細胞—第2報—. 日耳鼻, 96: 1252-1257, 1993.