歯周疾患における免疫系細胞の動態に 関する免疫組織学的研究

2. ランゲルハンス細胞の動態

宮 武 祥 子 原 宜 興 前 田 勝 正
赤 峰 昭 文 相 田 宜 利 青 野 正 男

九州大学歯学部歯科保存学第1教室

(主任：青野正男教授)

(昭和60年12月19日受付)

Immunohistological Study on Movement of Immune Cells in Periodontitis

2. Movement of Langerhans Cells in Periodontitis Gingiva

Sachiko MIYATAKE, Yoshitaka HARA, Katsumasa MAEDA,
Akifumi AKAMINE, Yoshitomi AIDA and Masao AONO

Department of Periodontics and Endodontics, Faculty of Dentistry, Kyushu University

(Chief: Prof. Masao Aono)

Although Langerhans cell (LC) is one of the important immune cells, the function of LC still remains indistinct in periodontitis because of few reports about it. In order to explore the roles of LC in periodontitis, we studied on the movement of LC population in oral epithelium through patients' generation and the degrees of inflammation.

For this study, fifty-two patients with periodontitis were selected and their gingiva of seventy-eight lesions were biopsied at surgical treatment or tooth extraction. The clinically healthy gingiva and gingiva affected by gingivitis were used as control. The patients were divided into three groups by their age; younger, middle and older generation. LCs were indicated immunohistochemically by their reactivity

to S-100 protein. The ratios of LCs to epithelial cells by number were determined in each generation and in each degree of inflammation.

The results obtained were as follows.

According to the severity of inflammation, the number of LCs tended to increase in every generation. Comparing the ratios of LCs in periodontitis with those in control, only in older generation significantly higher ratio was observed. Further there was no difference in younger generation.

The results indicated that LCs functioned as antigen-presenting cells also in inflamed gingiva. In addition, a possibility was suggested that the conditions of inflammation in younger generation were slightly different from those in other generations.

Key words: Periodontitis, Langerhans cell, S-100 protein, Peroxidase anti-peroxidase method

要旨: 辺縁性歯周炎の発症年代と炎症の程度によって、ランゲルハンス細胞 (LC) の動態に相違があるかどうかについて検索を行った。慢性辺縁性歯周炎罹患歯肉 52 症例, 78 部位について, ウサギ抗ヒト S-100 蛋白を一次抗体としたペロキシダーゼ 抗-ペロキシダーゼ (PAP) 法を用いて, 歯肉上皮内の LC を同定し, 上皮細胞中に占めるその割合を

本論文の一部は, 第 28 回春季日本歯周病学会総会 (1986 年 6 月 6 日) において報告した。

算出した。対照には臨床的健康歯肉および歯肉炎罹患歯肉を用いた。その結果、LC は炎症性細胞浸潤が多くなる程増加する傾向があった。辺縁性歯周炎と対照群とでは、高年層の場合に限り、前者に有意に多く、若年層と対照群とでは有意差はなかった。これらのことから LC は炎症歯肉において抗原提示細胞としての機能を発揮しているものと考えられ、さらに若年層の辺縁性歯周炎は中高年層のそれと病態が若干異なる可能性が示唆された。

索引用語：辺縁性歯周炎，ランゲルハンス細胞，S-100 蛋白，PAP 法

緒 言

ランゲルハンス細胞 (LC) は、近年注目を浴びてきている免疫担当細胞の一つであり、ヒト組織では、表皮¹⁻³⁾、真皮^{2,3)}、リンパ節⁴⁻⁶⁾、胸腺⁷⁾などに存在している。超微形態的には、樹枝状突起を有し、細胞質の電子密度の低い細胞で、核はしばしば不整な陥入を伴っており^{2,8)}、Birbeck 顆粒と呼ばれる特徴的な細胞質内小器官⁹⁾ が細胞同定の決め手となる。しかし、LC の機能については現在まで十分に明らかにされているとはいえない。抗原物質を捕捉する点¹⁰⁾、細胞表面に IgG の Fc レセプターや C₃ レセプターを保有し¹¹⁾、Ia 抗原が存在する点¹²⁻¹⁴⁾、また、同種リンパ球混合培養において T リンパ球増殖を引き起こす点¹⁵⁾などの断片的な報告を総括して、マクロファージ同様、抗原提示細胞としての機能を有することが示唆されているにすぎない¹⁶⁻¹⁸⁾。Rausch ら¹⁹⁾は、LC とリンパ節の interdigitating reticulum cell との超微形態的類似性から、LC は皮膚で刺激抗原を捕捉し、真皮を通過後、リンパ管内に入ってリンパ節に到着し、そこで T リンパ球にその抗原を提示するのではないかと推測している。

一方、辺縁性歯周炎の発症と進展には免疫反応が大きく関与するとされ、組織学的にも免疫学的手技を用いた報告が多くなされている。しかし、重要な免疫担当細胞の一つである LC については、歯周領域での研究はまだ数少なく、LC の関与そのものも不明のままのようである。

そこで今回我々は、LC の辺縁性歯周炎における役割を探る端緒として、炎症の程度および発症年代によってその動態に相違があるか否かについて免疫組織学的検索を行った。

材料および方法

材料および方法は先に発表した報告²⁰⁾に準じる。すなわち、歯周外科処置ないし拔牙時に採取した辺縁性歯周炎罹患歯肉を 10% ホルマリン溶液で 48 時間前後固定し

た後、通法に従い約 4 μ のパラフィン切片を作製した。このうち 1 枚には H.E. 染色を行い、別の切片にウサギ抗ヒト S-100 蛋白を一次抗体とした PAP 染色 (DAKO 社製 PAP Kit) を施した。内因性ペロキダーゼの阻止には 3% 過酸化水素水を用いた。二次抗体にはブタ抗ウサギ免疫グロブリンを使用し、さらにウサギ抗ペロキダーゼ抗体からなる PAP complex を架橋させた。これに 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) を発色剤として使用した。また対比核染色としてヘマトキシリン染色を行った。なお、対照として、矯正便宜抜去時の臨床的健康歯肉と残根抜去時の歯肉炎罹患歯肉を用いた。

染色後の切片は、400 倍光学顕微鏡下に、接眼ミクロメーター (7×7 mm, オリンパス社製) を用いて歯肉上皮内の LC の数を測定し、上皮細胞中に占めるその割合を算出した。これを各年代および炎症性細胞浸潤の程度によって細分し、t-検定を用いて統計処理を行い比較検討した。年代については、35 歳以下を若年層 (24 部位 12 名)、36 歳から 50 歳を中年層 (33 部位 23 名)、51 歳以上を高年層 (21 部位 17 名) とした。炎症性細胞浸潤の程度については以下の 3 段階に分けた。細胞浸潤 (－) は、炎症性細胞が上皮下に僅かに存在するのみで、膠原線維の破壊は全く認めないものである。次に、結合組織の一部に炎症性細胞の集簇を認めるが、粘膜固有層全域には広がっていないものを細胞浸潤 (+) とし、細胞浸潤 (++) は、炎症性細胞がほぼ粘膜固有層全域に浸潤し、膠原線維の破壊が顕著なものとした。

結 果

歯肉上皮の有棘細胞層に存在し、S-100 蛋白陽性の樹枝状細胞を LC と同定した。この細胞は、細胞質、核ともに S-100 蛋白陽性であり、核の形状は円形から不整形で、上皮細胞間に複数の突起を伸ばしており、メラニン顆粒は認められなかった。一方、メラノサイトも S-100 蛋白に弱陽性に反応することがあった。この細胞は基底層に存在することが多く、核は円形ないし楕円形で、細胞質突起はなく、細胞質内にメラニン顆粒をもつことがあった。同定困難な細胞は検索対象から除外した。

図 1 辺縁性歯周炎の若年層，細胞浸潤（—）の症例にみられる LC，LC は上皮細胞間に突起を伸ばした S-100 蛋白陽性の 樹枝状細胞である。PAP 染色。×400

図 2 辺縁性歯周炎の中中年層，細胞浸潤（++）の症例にみられる LC，図 1 に比べると，LC の数が多く樹枝状形態もより明確である。PAP 染色。×400

表 1 S-100 蛋白保有細胞の上皮細胞に占める割合 (%)

		若 年 層	中 高 年 層
細胞浸 潤程度	—	0.8	0.6
	+	0.8	1.1
	++	1.1*	2.0*
平 均		0.9	1.1

*：危険率 5 % で有意差あり

図 3 歯冠周囲炎の症例において，上皮細胞間に多数みられる LC。PAP 染色。×200

図 4 上皮直下のリンパ球集簇部においてリンパ球と接する LC，核は不整形であるが，細胞質突起は明確でない。PAP 染色。×1000

はじめに，細胞浸潤程度が変化した場合に，LC の数に変動があるか否かを検討した。すると，LC は細胞浸潤が高度である程多数存在していた（図 1，図 2）。さらに数の増加のみならず，LC の細胞質突起が比較的長く，その数も多くなり，より明確な樹枝状形態をとっていることが観察された。

次に年代別比較では，若年層より中高年層の方が多い傾向にあった。特に細胞浸潤（++）の場合，若年層での割合は 1.1%，中高年層の平均は 2.0% で，危険率 5% で両者間に有意差がみられた（表 1）。また辺縁性歯周炎と対照群との比較では，高年層に有意の増加が認められた

($p < 0.05$) が、若年層と対照群との比較では有意差はなかった。

歯冠周囲炎の症例は、歯肉ポケット形成がみられるため対照群からは除外したが、細胞質、核ともに S-100 蛋白陽性でかつ上皮細胞間に細胞質突起を伸ばしている LC が有棘層に多数観察された (図 3)。上皮細胞中に占めるその比率は 2.1% であった。

また、上皮直下のリンパ球集簇部において、丸味を帯びた S-100 蛋白陽性細胞がリンパ球と接している像も観察された (図 4)。この細胞の核、細胞質ともに S-100 蛋白陽性であり、核は凸凹を伴った不整形であるが細胞質突起は明確でなかった。組織学的特徴が神経鞘細胞とは明らかに異なるため、この細胞は LC であろうと判断した。

考 察

LC と炎症の関係については、1973 年、Silberberg ら²¹⁾ がアレルギー性皮膚炎において LC とリンパ球様単核細胞が密接する像 (apposition) を観察したことに始まる。次いで、LC がこうした抗原物質に対して特異な親和性を持ち、これを取り込むこと¹⁰⁾、皮膚の抗原刺激後、真皮のリンパ管に LC が出現し、さらにリンパ節およびその輸入リンパ管内にも Birbeck 顆粒をもつ細胞が出現してくること^{22,23)}などが報告されてきた。さらにその後の研究で、LC の免疫学的性質も明らかにされてきており、Fc レセプター、C₃ レセプターおよび Ia 抗原を有し^{11~14)}、同種リンパ球混合培養において T リンパ球増殖を引き起こすこと¹⁵⁾などから、マクロファージとの機能の類似性がクローズアップされた^{16~18)}。さらには、リンパ節の interdigitating reticulum cell との超微形態的共通性も示唆され¹⁹⁾、現在では、LC は表皮内において抗原を捕捉し、その抗原情報をリンパ節内の T 領域において T リンパ球に提示する機能があると推測されている²⁴⁾。

一方、歯周病学の分野においても、LC の機能を探るうえで興味深い報告がある。Bos & Burkhardt²⁵⁾ は、無菌マウスに oral flora を形成させると口腔上皮の LC の数が増加すると述べ、Newcomb ら²⁶⁾ は、ヒト健康歯肉にプラークが蓄積するにつれて LC の数が増加すると報告した。さらに、DiFranco ら²⁷⁾ は、歯肉上皮の LC の数は臨床的健康歯肉よりも辺縁性歯周炎罹患歯肉の方に多く、その形態も炎症が存在する場合の方がより樹枝状形態が明確になっていることを観察している。

こうした事実から、LC が歯肉の炎症と密接に関連していることが容易に推測されるが、この分野での研究はいまだに少数である。そこで今回我々は、辺縁性歯周炎における LC の動態に、歯肉の炎症の程度および年代による変化があるのではないかと仮説をたて、本研究を遂行した。

検索を始めるに当たり、まず LC の同定法について考察した。本来 LC は、Langerhans¹⁾ がヒトの皮膚を塩化金で染色した際に発見されたものであるが、その後研究が進むにつれ種々の同定法も用いられるようになってきた。例えば、オスミウム沃化亜鉛によるもの^{28,29)}、L-dopa の取り込みによるもの³⁰⁾、ATPase によるもの^{31~34)}などがある。しかし、現在同定の決め手となっているのは、Birbeck⁹⁾ により発見された LC に特異的な細胞質内小器官である Birbeck 顆粒である。近年、上皮内での S-100 蛋白陽性の樹枝状細胞の透過型電顕像に、Birbeck 顆粒の存在することが証明されたため、S-100 蛋白を LC のマーカーとして使用した報告^{35~37)}もみられる。さらには、LC に Ia 抗原の存在が報告され、これを免疫組織学的検索に利用したもの¹⁴⁾もあり、また、モノクローナル抗体での研究の進歩により、LC が細胞表面に OKT 6 と反応する抗原をもつこと³⁸⁾が確認され、これも鑑別に利用されるようになった。DiFranco ら²⁷⁾ は、この OKT 6 を利用した LC の同定が最良であると述べている。

しかし、今回の研究では、先に発表した検索²⁰⁾と同時に行い、年代および炎症程度の他に、免疫グロブリン保有細胞との関係の中で LC の動態を追求しようと考えたため、あえてパラフィン連続切片での S-100 蛋白による PAP 法を採用した。本来ならば、LC の同定には電顕的に Birbeck 顆粒の存在を認めるべきところであろうが、今回は Nakajima らの報告³⁷⁾を参考にして LC を同定した。すなわち、メラノサイトは光顕レベルの観察では S-100 蛋白陰性が弱陽性であることと、上皮内での存在部位および形態から LC と区別した。

今回の検索で LC と炎症の関係についてみると、辺縁性歯周炎では年代にかかわらず、炎症程度が強くなるにしたがって LC の数が増加していた。従って、LC は炎症の開始時 (プラークの蓄積開始時) のみならず、進行している場合にもその数が多いことが分る。

ところで、このような LC の数の変化は何に起因するものであろうか。LC は骨髓由来の単核細胞を前駆細胞とするとされており^{16,39,40)}、Hoefsmit ら⁴¹⁾によると、これが上皮内に移動してゆき、角化上皮中の何らかの微小環境のせいで Birbeck 顆粒をもつに到るのではないか

としている。上皮内で分裂増殖する LC の割合はごく僅かという報告⁴²⁾もあり、LC の数の変化は結合組織の方から上皮内へ移動してくるためではないと思われる。少なくともこの検索を行った症例中には、上皮内での LC の核分裂像は認められなかった。これはやはり、プラークによる抗原刺激によって歯肉上皮内に誘導されたと考えるべきであろう。このことは、歯冠周囲炎の症例に LC の数が多いことから裏付けられる。すなわち、歯冠周囲炎の場合、歯肉ポケット内のプラークによる抗原刺激を常に受けている点で、辺縁性歯周炎と同様の状況下にあると考えられるためである。

最後に、年代別にみても、今回の検索では、辺縁性歯周炎の若年層と中高年層では LC の上皮細胞に対する割合が有意に低下していた。また、辺縁性歯周炎と対照群との比較では、高年層の場合のみ前者に有意に多く、若年層の場合は数値上大差なかった。しかし、これは若年層における辺縁性歯周炎と対照群の病態の類似性を示すものではない。なぜなら、若年層の辺縁性歯周炎の各免疫グロブリン保有細胞およびその他の細胞の比率からすると、中高年層のそれと近似しており²⁰⁾、対照群とは明らかに病態が異なっているからである。

このように LC の数が年代別に異なっていた原因については定かでない。岡田ら⁴³⁾は、限局型若年性歯周炎の症例で活性型 T リンパ球 (OK Ia 1+ の T リンパ球) が有意に低下していたと報告しており、我々の得た結果と何らかの関連性を示唆するものかもしれないが、即断は避けるべきであろう。しかし観点を変えると、LC の数が低下していた事実から、若年層の辺縁性歯周炎においては、中高年層における辺縁性歯周炎の発症と経過とは若干異なる一面が存在するようである。

結 論

辺縁性歯周炎の発症年代および炎症の程度によって、LC の動態がどのように異なるかについて以下の検索を行った。

辺縁性歯周炎罹患歯肉 52 症例、72 部位、対照として臨床的健康歯肉および歯肉炎罹患歯肉 19 症例、22 部位を採取した。これらの被検材料は通法に従い、パラフィン連続切片を作製し、1 枚に H.E. 染色を、別の 1 枚にウサギ抗ヒト S-100 蛋白を一次抗体としたペロキシダーゼ抗-ペロキシダーゼ (PAP) 法を施した。得られた標本から歯肉上皮中の S-100 蛋白陽性の LC の数を測定し、上皮細胞に占めるその割合を算出した。また、患者をそ

の年齢によって、35 歳以下の若年層、36 歳以上 50 歳以下の中年層、51 歳以上の高年層に分け、さらに各世代ごとに、炎症性細胞浸潤の程度によって、浸潤 (-)、(+), (++) に分けた。

得られた結論は以下の通りである。

1. 上皮細胞に占める LC の数の比率の平均値は、若年層、中年層、高年層の順に、0.9%, 0.9%, 1.4% であり、高年層になる程増加する傾向にあった。
2. 辺縁性歯周炎の全ての年齢層において、炎症性細胞浸潤が多くなる程、LC の数は増加していた。
3. 炎症性細胞浸潤が (++) の場合、若年層の平均は 1.1%, 中高年層の平均は 2.0% で、5% の危険率で有意差があった。
4. 高年層に限った場合、辺縁性歯周炎での平均は 1.4%, 対照群での平均は 0.9% で、5% の危険率で有意差があった。

本研究の一部は、昭和60年度文部省科学研究費、奨励研究(A) (課題番号 60771588) および総合研究(A) (59370044) による。

文 献

- 1) Langerhans, P.: Über die Nerven der menschlichen Haut. Virchows Arch. Path. Anat. Physiol., 44 : 325-337, 1868.
- 2) Zelickson, A.S.: The Langerhans cell. J. Invest. Dermatol., 44 : 201-212, 1965.
- 3) Hashimoto, K., Tarnowski, W.M.: Some new aspects of the Langerhans cell. Arch. Dermatol., 97 : 450-464, 1968.
- 4) Jimbow, K., Sato, S., Kukita, A.: Cells containing Langerhans granules in human lymph nodes of dermatopathic lymphadenopathy. J. Invest. Dermatol., 53 : 295-299, 1969.
- 5) Hoshino, T., Gotoh, T., Takeda, M.: Birbeck granules (Langerhans cell granules) in reticular cells with specialized intercellular junctions in human fetal lymph nodes. J. Electron Microscopy, 20 : 204-205, 1971.
- 6) Vernon, M.L., Fountain, L., Krebs, H.M., Horta-Barbosa, L., Fuccillo, D.A., Sever, J.L.: Birbeck granules (Langerhans' cell granules) in human lymph nodes. Amer. J. Clin. Path., 60 : 771-779, 1973.

- 7) Hoshino, T., Kukita, A., Sato, S. : Cells containing Birbeck granules (Langerhans cell granules) in human thymus. *J. Electron Microscopy*, 19 : 271-276, 1970.
- 8) 奥村一彦, 武山治雄, 遠藤慶一, 黒田延彦, 中谷伸家, 内海順夫 : 歯肉上皮におけるランゲルハンス細胞の微細構造について. *城歯大紀要*, 13 : 38-43, 1984.
- 9) Birbeck, M.S., Breathnach, A.S. and Everall, J.D. : An electron microscopic study of basal melanocytes and high level clear cells (Langerhans cells) in vitiligo. *J. Invest. Dermatol.*, 37 : 51-63, 1961.
- 10) Shelley, W.B., Juhlin, L. : Langerhans cells form a reticuloepithelial trap for external contact antigens. *Nature*, 261 : 46-47, 1976.
- 11) Stingl, G., Wolff-Schreiner, E.C., Pichler, W. J., Gschnait, F., Knapp, W., Wolff, K. : Epidermal Langerhans cells bear Fc and C₃ receptors. *Nature*, 268 : 245-246, 1977.
- 12) Klareskog, L., Tjernlund, U.M., Forsum, U., Peterson, P.A. : Epidermal Langerhans cells express Ia antigens. *Nature*, 268 : 248-250, 1977.
- 13) Stingl, G., Katz, S.I., Shevach, E.M., Wolff-schreiner, E. and Green, I. : Detection of Ia antigens on Langerhans cells in guinea pig skin. *J. Immunol.*, 120 : 570-578, 1978.
- 14) Rowden, G., Lewis, M.G., Sullivan, A.K. : Ia antigen expression on human epidermal Langerhans cells. *Nature*, 268 : 247-248, 1977.
- 15) Stingl, G., Katz, S.I., Green, I. and Shevach, E.M. : The functional role of Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.*, 74 : 315-318, 1980.
- 16) Stingl, G., Tamaki, K. and Katz, S.I. : Origin and Function of epidermal Langerhans cells. *Immunological Rev.*, 53 : 149-174, 1980.
- 17) Thorbecke, G.J., Silberberg, S.I. and Flotte, T.J. : Langerhans cells as macrophages in skin and lymphoid organs. *J. Invest. Dermatol.*, 66 : 210-217, 1976.
- 18) 星野 洸, 小林身哉 : ランゲルハンス細胞と免疫細胞, 12 : 132-140, 1980.
- 19) Rausch, E., Kaiserling, E. and Goos, M. : Langerhans cells and interdigitating reticulum cells in the thymus-dependent region in human dermatopathic lymphadenitis. *Virchows Arch. B Cell Path.*, 25 : 327-343, 1977.
- 20) 原 宜興, 吉村祥子, 前田勝正, 赤峰昭文, 相田宜利, 青野正男 : 歯周疾患における免疫系細胞の動態に関する免疫組織学的研究 1. 世代別にみた免疫グロブリン保有細胞の比率. *日歯周誌*, 27 : 795-806, 1985.
- 21) Silberberg, I. : Apposition of mononuclear cells to Langerhans cells in contact allergic reactions. *Acta Dermatovenere (Stockholm)*, 53 : 1-12, 1973.
- 22) Silberberg, I., Baer, R.L., Rosenthal, S.A. : The role of Langerhans cells in allergic contact hypersensitivity. A review of findings in man and guinea pigs. *J. Invest. Dermatol.*, 66 : 210-217, 1976.
- 23) Silberberg, S.I., Thorbecke, G.J. : Contact hypersensitivity and Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.*, 75 : 61-67, 1980.
- 24) Toews, G.B., Bergstresser, P.R., Streilein, J. W. : Langerhans cells : Sentinels of skin associated lymphoid tissue. *J. Invest. Dermatol.*, 75 : 78-82, 1980.
- 25) Bos, I.R. & Burkhardt, A. : Interepithelial cells of the oral mucosa. *J. of oral Pathol.*, 9 : 65-81, 1980.
- 26) Newcomb, G.M., Seymour, G.J. and Powell, R.N. : Association between plaque accumulation and Langerhans cell number in the oral epithelium of attached gingiva. *J. Clin. Periodontol.*, 9 : 297-304, 1982.
- 27) DiFranco, C.F., Toto, P.D., Rowden, G., Gargiulo, A.W., Keene, J.J. and Connelly, E. : Identification of Langerhans cells in human gingival epithelium. *J. Periodontol.*, 56 : 48-54, 1985.
- 28) Niebauer, G., Krawczyk, W.S., Kidd, R.L. and Wilgram, G.F. : Osmium zinc iodide reactive sites in the epidermal Langerhans cell. *J. Cell Biol.*, 43 : 80-89, 1969.
- 29) Rodriguez, E.M. and Caorsi, I. : A second look at the ultrastructure of Langerhans cell of the human epidermis. *J. Ultrastructure Res.*, 65 :

- 279-295, 1978.
- 30) Falck, B., Agrup, G., Jacobsson, S., Rorsman, H., Rosengren, E., Sachner, K. and Ogren, M. : Uptake of L-dopa and functionally related aromatic amino acids into the Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.*, 66 : 265, 1976.
 - 31) Jarrett, A. and Riley, P.A. : Esterase activity in dendritic cells. *Brit. J. Dermatol.*, 75 : 79-81, 1963.
 - 32) Zelickson, A.S., Mottaz, J.H. : Localization of gold chloride and adenosine triphosphatase in human Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.*, 51 : 365-372, 1968.
 - 33) Mackenzie, I.C. and Squier, C.A. : Cytochemical identification of ATPase-positive Langerhans cells in EDTA separate sheets of mouse epidermis. *Brit. J. Dermatol.*, 92 : 523-533, 1975.
 - 34) Juhlin, L. and Shelley, W.B. : New staining techniques for the Langerhans cell. *Acta Dermatovener.*, 57 : 289-296, 1977.
 - 35) Cocchia, D., Michetti, F. and Donato, R. : Immunochemical and immunocytochemical localization of S-100 antigen in normal human skin. *Nature*, 294 : 85-87, 1981.
 - 36) Nakajima, T., Watanabe, S., Sato, Y., Simosato, Y., Motoi, M. and Lennert, K. : S-100 protein in Langerhans cells, interdigitating reticulum cells and histiocytosis X cells. *Gann*, 73 : 429-432, 1982.
 - 37) Nakajima, T., Sato, Y., Watanabe, S., Simosato, Y., Ishihara, K. and Isobe, T. : Immunoelectron microscopical demonstration of S-100 protein in epidermal Langerhans cells. *Biomedical Res.*, 3 : 226-231, 1982.
 - 38) Fithian, E., Kung, P., Goldstein, G., Rubinfeld M., Fenoglio, C. and Edelson, R. : Reactivity of Langerhans cells with hibridoma antibody. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78 : 2541-2544, 1981.
 - 39) Katz, S.I., Tamaki, K., Sachs, D.H. : Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in the bone marrow. *Nature*, 282 : 324-326, 1979.
 - 40) Tamaki, K., Stingl, G. and Katz, S.I. : The origin of Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.*, 74 : 309-311, 1980.
 - 41) Hoefsmit, E.C.M., Duijvestijn, A.M. and Kamperdijk, E.W.A. : Relation between Langerhans cells, veiled cells and interdigitating cells. *Immunobiol.*, 161 : 255-265, 1982.
 - 42) Gashnait, F. and Brenner, W. : Kinetics of epidermal Langerhans cells. *J. Invest. Dermatol.*, 73 : 566-569, 1979.
 - 43) 岡田 宏, 恵比須繁之, 福原弘喜, 島内英俊, 葛西康宏, 脇田由美子 : 若年層にみられる歯周炎の臨床ならびに免疫学的検討. *日本歯科評論*, 514 : 125-134, 1985.