

# 应用ATPase组化法及TEM法对皮肤癣菌病患者表皮郎格罕细胞的观察

白桦\* 黄醒亮

(第一附属医院皮肤科)

**提要** 本文应用ATPase组化方法首次对30例皮肤癣菌病患者皮损表皮及70例对照者相应部位表皮作了郎格罕细胞(LC)观察,并对其中3例患者及1例对照者表皮LC作了透射电镜(TEM)观察。结果发现患者表皮LC形态改变、数量减少或消失及细胞超微结构受损;且上述改变程度随病变范围扩大及病程延长而加重。本文首次提出LC与皮肤癣菌病的免疫病理改变有密切关系,可能皮肤癣菌的入侵使表皮LC受损,从而干扰了T淋巴细胞诱导的机体对病原体的清除功能。本文还讨论了两种方法的注意点。

**关键词** 皮肤癣菌病 郎格罕细胞 ATPase组化染色

近年来,在应用特异性抗原皮试,特异性淋转试验及淋巴因子检测等方法对皮肤癣菌病的免疫致病机理的研究中,一些作者发现慢性皮肤癣菌病患者存在着抗原特异性细胞免疫缺陷<sup>[1,2]</sup>。1983年Kaaman等在体外实验中证实了抗原表达细胞-郎格罕细胞(LC)参与了皮肤癣菌病的免疫致病过程。本实验进一步应用ATPase组化法对30例患者皮肤表皮及70例对照者相应部位表皮作了LC观察,并对其中3例患者及1例对照者皮肤作了TEM观察。

## 材料与方 法

**临床资料** 门诊患者30例,年龄16~53岁,男性16例,女性14例,均经临床表现及镜检发现典型丝状菌丝确诊;病型分布例数如表1;病程:6例在一月以内,余均长于半年。对照组:10例为健康志愿者,60例为门诊小手术者(脂肪瘤或纤维瘤患者),年龄、性别、取材部位与皮肤癣菌病患者组相近,无癣菌感染。两组实验对象均无其它疾患。

表1 患者组病型分布

病型	泛发性 体癣	体及 足癣	股及 足癣	体癣	股癣	手及 足癣
病例数	5	5	4	5	5	6

**方法** ①ATPase组化法:切取患处及对

照组相应部位皮肤( $0.5 \times 1 \text{ cm}^2$ ),于15分钟内修整为 $0.4 \times 0.8 \text{ cm}^2$ 含表皮及少量真皮之皮片,浸于EDTA分离液中,37℃,1小时,用眼科镊子小心分离出表皮,若较难分离,可适当延长EDTA浸泡时间,余步骤同陈洪铎法<sup>[3]</sup>。在LC分布均匀处(包括皮纹毛囊处),用网格目镜( $10 \times 40$ )计数8~10个视野(少数6个视野)之LC个数/ $\text{mm}^2$ 。2例分离表皮石蜡包埋切片及HE染色观察表皮全层保留完整;②TEM法:取全层皮肤,立即修整为含薄层真皮之 $0.1 \text{ cm}^3$ 皮片,按常规方法制作,H-600TEM观察。

## 结 果

### 一、ATPase组化法及LC形态、密度观察

1.对照组:70例均呈典型圆形胞体及树枝状突起外观,分布均匀(图1见插页),各部位计数见表2。经统计处理,各部位LC计数差异无显著性(方差分析,  $P > 0.05$ );健康者表皮LC计数与小手术者表皮LC计数差异无显著性( $t$ -test,  $P > 0.05$ )。

2.患者组:胸部3例,背部4例,腹股沟9例,足缘6例,臀部4例,上肢4例。其中10例未见LC,2例偶见LC,4例 $< 400/\text{mm}^2$ ,

\* 研究生

表2 正常人表皮郎格罕细胞密度计数(个/mm<sup>2</sup>)

部位	胸部	颈部	肩背部	腹部	臀部	腹股沟	上肢	下肢	足部
例数	20	6	10	5	5	2	8	3	5
计数	1024±154	889±193	901±83	870±162	864±114	902±38	904±127	844±87	818±87

3例100~600/mm<sup>2</sup>, 余11例>600/mm<sup>2</sup>。除2例病程短于1月及小范围皮损患者LC形态基本正常外, 余LC细胞形态明显异常: 突起不清, 胞体钝圆(图2, 见插页)或突起细长而胞体不清。其中2例皮损对应部位表皮LC形态正常, 计数为759及800/mm<sup>2</sup>。

## 二、TEM法LC超微结构观察

1. 对照组 可见典型LC特征, 位于基底细胞上方, 与邻近细胞无桥粒连接, 胞浆具典型Birbeck颗粒, 细胞器正常, 且在切片中易找到。

2. 患者组 1例慢性泛发性体股癣患者未找到LC, 但有正常表皮结构; 1例病程短于一月之股足癣患者及1例病程长于半年之体股癣患者LC稀疏偶见, 前例下移贴于基底膜上。2例均见LC超微结构受损表现。如胞浆出现较多空泡, 滑面内质网扩张(图3, 见插页), 部分线粒体肿胀, 嵴断裂或消失, 前例尚见次级溶酶体活跃及髓样体形成, 且Birbeck颗粒较对照组增多, 柄粗长, 部份体部溶解(图4, 见插页)。

## 讨 论

近年来, 在一些免疫性及与免疫有关的疾病表皮LC研究中, 一些作者发现LC数量、形态、超微结构大都有明显改变。如在接触性超敏反应早期、皮肤肿瘤、AIDS、麻风病、红斑狼疮、疥疮及花斑癣等病人皮损中均见LC数量减少, 消失或超微结构改变。本文首次发现在皮肤癣菌病皮损中, ATPase组化法及TEM法检查有一致性LC密度减少或消失及LC形态受损表现, 提示LC与皮肤癣菌病免疫病理变化有密切关系。本实验还发现LC受损程度随病程延长及病变范围增大而加重, 如10例LC消失患者9

例病程长于2年, 且8例为大范围皮损患者。关于LC在本病中受损机制是由于LC受病原体直接破坏, 或ATPase酶标记活性丧失或LC游入真皮所致, 有待进一步研究。本实验尚见一例病程短于1月患者皮损LC之Birbeck颗粒增多、柄粗长、部份体部溶解, 推测可能与此颗粒积极参与LC的抗原加工过程及出现免疫损伤有关。另本实验对患者皮损对应部位正常表皮LC观察中, 未发现形态数量异常, 与张文娟<sup>[4]</sup>在花斑癣病LC研究中结果不同, 可能因为两病致病机理不同, 本病LC改变为继发变化所致。本实验结果对照组各部位LC密度差异无显著性, 与Berman结果一致, 但比陈洪铎之计数要高<sup>[3]</sup>, 可能与个体差异有关。

关于LC识别方法, 目前以抗LC之Birbeck颗粒之单克隆抗体标记之方法特异性最高<sup>[5]</sup>。但ATPase染色法仍不失一特异性好, 易于普遍应用之方法<sup>[6]</sup>。为保存更多酶活性, 本实验缩短了EDTA浸泡时间, 且改常用解剖显微镜下分离表皮法为肉眼分离, 操作简便, 石蜡切片证实表皮全层结构保留完整。而保证完整分离表皮的关键是取材快、皮片小、修整薄。电镜标本则应注意在厚片定位时, 保留全层表皮。

## 参 考 文 献

- [1] Svejgard E. Immunologic investigation of dermatophytes and dermatophytosis. *Seminars in Dermatol* 1985; 4: 201.
- [2] Kaaman B, et al. Human epidermal langerhans cells induce cellular immune response to trichophytin in dermatophytosis. *Brit J Dermatol* 1983; 109: 293.
- [3] 陈洪铎, 等. 用ATP酶染色检查人及豚鼠Langerhans细胞的研究. *中山医科大学学报* 1984; 5: 1.

- [4] 张文娟, 等. 花斑癣患者表皮郎格罕细胞的观察. 中华皮肤科杂志 1987; 3:157.
- [5] Kashibrara. A monoclonal antibody specifically relative to human langerhans cell. J Invest Dermatol 1986; 5: 602.
- [6] Wolff K, et al. Ultrastructural localization of nucleoside triphosphatase in langerhans cells. J Invest Dermatol 1967; 48:50.

## The Investigations on Epidermal Langerhans Cell of the Dermatophytosis Patients Using ATPase Histochemical Method and TEM

Bai Hua      Humang Xinliang

( Department of Dermatology, First Affiliated Hospital )

### Abstract

The investigations of Langerhans cell (LC) in involved epidermides of 30 dermatophytosis patients and in corresponding positions of 70 controls were made by using ATPase staining, of which 3 patients and 1 control were observed by using TEM. The results showed that the numbers of LC of the patients were diminished or disappeared, the shapes were changed, and the ultrastructure were damaged. These changes were related to the course and the forms of the eruptions of the patients. The close correlation of LC with the immunopathogenesis in dermatophytosis was preliminarily unveiled. Since the invading dermatophytes impairs the LC, it is possible that the discharging function to the patient induced by T-cell is interfered. In addition, the important aspects of these two methods are discussed.

**Key words:** Dermatophytosis      Langerhans cell      ATPase

涎腺多形性腺瘤的免疫细胞化学研究 (正文见第56页)

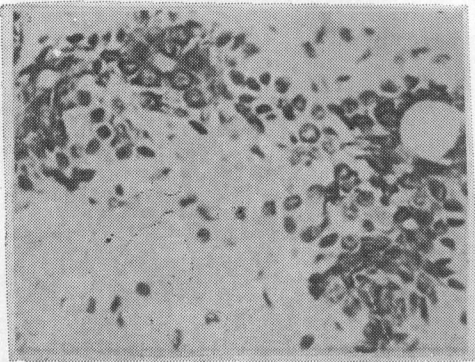


图1 多克隆角蛋白抗体阳性染色细胞 (×40)

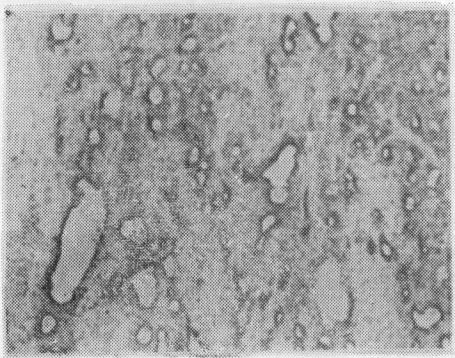


图2 单克隆低分子量角蛋白抗体阳性染色细胞 (×10)

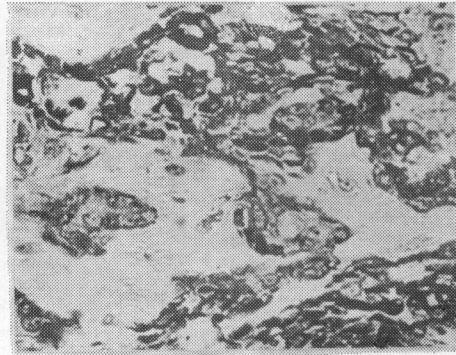


图3 S-100蛋白抗体阳性染色细胞 (×40)

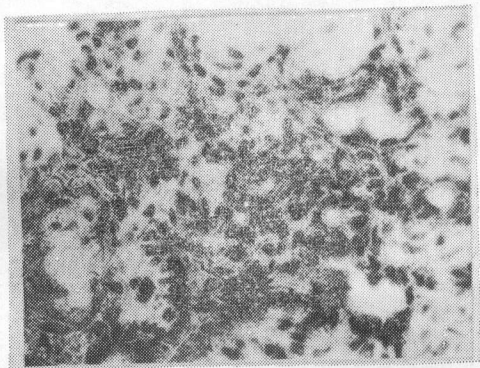


图4 波形蛋白抗体阳性染色细胞 (×40)

— ※ — ※ — ※ — ※ — ※ —

应用ATPase组化法及TEM法对皮肤癣菌病患者表皮郎格罕细胞的观察 (正文见第60页)

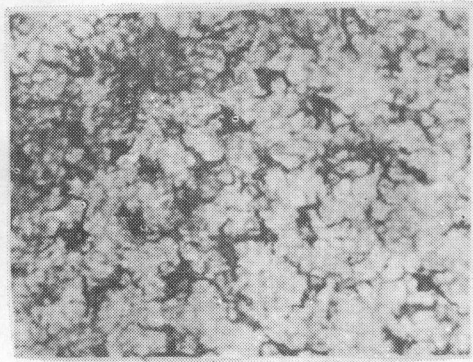


图1 40×10正常人腹股沟表皮ATPase染色见LC呈典型圆形细胞体及树枝状突起, 分布均匀

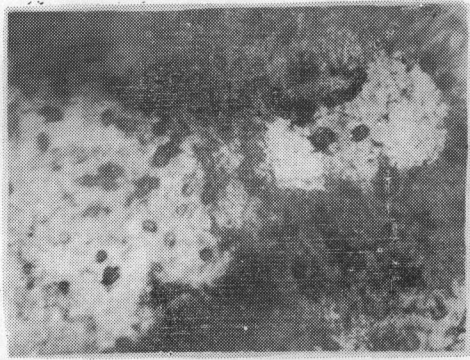


图2 40×10患者腹股沟表皮ATPase染色见LC突起不滑胞体钝圆

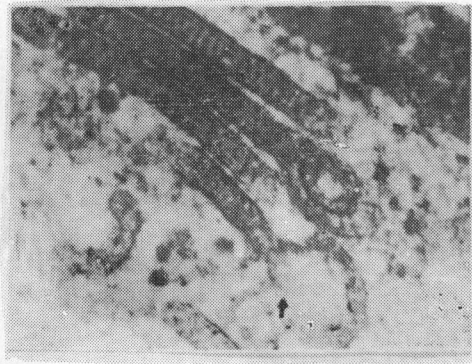


图3 ×4,000患者前臂表皮TEM见LC胞浆出现较多空泡(↑),滑面的质网扩张(↑)

图4 ×25,000患者背部表皮TEM:见LC胞浆Birbeck颗粒增多柄粗长,部份体部溶解(↑)

— ※ — ※ — ※ — ※ —

食管血管瘤——附2例报告(正文见第69页)

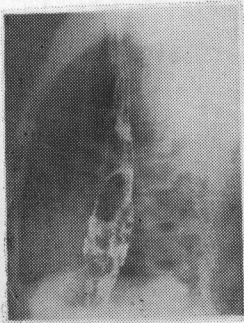


图1 显示食管腔内可见局限性充盈缺损, 钡剂通过无明显受阻, 管壁柔软度良好, 并呈分流征, 食管外无软组织阴影, 该图显示病灶长约19cm。

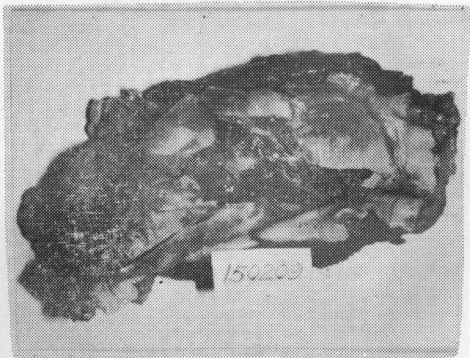


图2 肿瘤自粘膜表面呈息肉状突出腔内, 大小为8×3.5×3cm

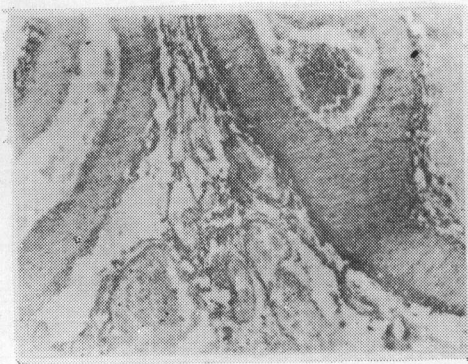


图3 血管腔大而不规则, 管壁厚薄不均