

Immunhistochemische und immunelektronenmikroskopische Untersuchungen zum Vorkommen von dendritischen Zellen im Pankreas der Ratte

Immunhistochemical and Immune Electron Microscopical Investigations of the Occurrence of Dendritic Cells in the Pancreas of the Rat

U. HEUSERMANN¹, R. NÖTHLING, M. L. HANSMANN und K. ULRICHS

Summary

Dendritic cells, first described by STEINMAN and COHN in the mouse spleen and now called lymphoid dendritic cells (LDC), were investigated in the rat pancreas with the monoclonal antibodies 29A1-L. T. and MRC-OX17, which both recognize the Ia-antigen immunohistochemically and immune electron microscopically. Ia-positive cells with a dendritic morphology were found in the connective tissue of the exocrine and endocrine pancreas. Immune electron microscopically, the Ia-antibodies were localized on the cell surface and in small vesicles. A small portion of the Ia-positive cells showed additional acid phosphatase positivity, i. e. were Ia-positive macrophages. The other Ia-positive cells were probably LDC, which may be important in the elimination of foreign antigens, e.g. bacteria and viruses.

Einleitung

Sog. accessory-cells spielen bei verschiedenen Immunreaktionen eine wichtige Rolle (LANGNER 1985). Zu dieser Gruppe von Zellen gehören auch neben den Makrophagen lymphoide dendritische Zellen (TEW et al. 1982), die erstmals von STEINMAN und COHN (1973) in der Mäusemilz beschrieben wurden. Diese Zellen, die aus dem Knochenmark stammen sollen, besitzen keine oder allenfalls eine geringe endozytische Aktivität, sie sind konstant Ia-positiv, während andere Oberflächenmarker (Ig, Thy-1, Fc-Rezeptor) negativ sind (NUSSENZWEIG und STEINMAN 1982). Morphologisch besitzen sie verzweigte Zellausläufer, einen gekerbten Kern sowie reichlich Mitochondrien. Nach Untersuchungen von HART und FABRE (1981) sollen diese Zellen auch weitverbreitet in parenchymatösen Organen vorkommen, so auch im Pankreas. Ziel dieser Untersuchung war es, das Vorkommen und die Verteilung dieser Zellen im Pankreas der Ratte genauer zu lokalisieren.

Material und Methoden

Von 15, zwei bis drei Monate alten Ratten verschiedener Stämme (LEW (RT1^l), (AP (RT1^c), AUG (RT1^c)) wurde Pankreasgewebe von Schwanz, Körper und Kopf entnommen und Gefrierschnitte für immunhistochemische Untersuchungen mit dem monoklonalen Antikörper MRC-OX 17 (Camon, Wiesbaden) und dem Antikörper 29A1 (ULRICHS et al., 1987) durchgeführt. Immunelektronenmikroskopische Untersuchungen mit beiden Antikörpern wurden entsprechend den Angaben von HANSMANN et al. (1984) vorgenommen. Ergänzend wurden Gewebeproben vom Pankreas konventionell transmissionselektronenmikroskopisch untersucht. Ferner wurden weiterhin an den Gefrierschnitten eine saure Phosphatase sowie eine unspezifische Esterasereaktion, entsprechend den Angaben von STUTTE (1974), durchgeführt.

¹ Abteilung Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie und Abteilung für Immunologie der Universität Kiel.

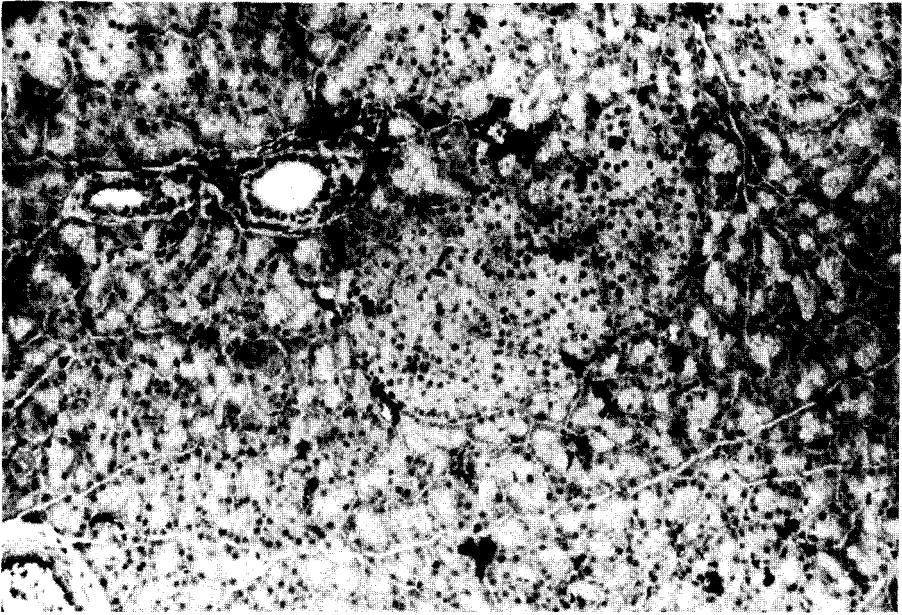


Abb. 1: Immunhistochemische Darstellung von Ia-positiven dendritischen Zellen (schwarz) im Interstitium des Rattenpankreas mit dem A.K. 29A1-L.T. 100 \times .

Ergebnisse und Diskussion

Bei beiden verwendeten Antikörpern, die jeweils gegen das Ia-Antigen gerichtet sind, zeigte sich immunhistochemisch ein identischer Befund. Auch bei den verschiedenen Rattenstämmen waren keine Unterschiede erkennbar. Locker verteilt im Interstitium des Pankreas fanden sich Ia-positive Zellen, die bei stärkerer Vergrößerung verzweigte Zellausläufer besaßen (Abb. 1).

Der Kern war wenig chromatindicht und deutlich gelappt, nicht selten hatte man den Eindruck, daß er bilobiert war. Neben diesen Ia-positiven Zellen waren auch nicht angefärbte Fibroblasten mit spindelförmigen Kernen vorhanden. Keine Anfärbung zeigten auch die Parenchymzellen des exo- und endocrinen Pankreas, die Zylinderepithelien der Drüsenausführungsgänge sowie die Endothelien der Blutgefäße. Die Ia-positiven dendritischen Zellen kamen etwas häufiger in den größeren bindegewebigen Septen, sowie an der Grenze der Langerhansschen Inseln zum exocrinen Pankreas vor. Aber auch zwischen den Epithelien der Langerhansschen Inseln waren dendritische Zellen nachweisbar. Schwanz, Körper und Kopf des Pankreas zeigten keine Unterschiede in der Menge und Verteilung der dendritischen Zellen. Immunelektronenmikroskopisch war eine positive Immunreaktion mit beiden Antikörpern an der Zelloberfläche erkennbar (Abb. 2). Auch zeigten kleine Vesikel in der Nachbarschaft der Zellmembran eine positive Reaktion. Ultrastrukturell wiesen die Ia-positiven Zellen einen stark gekerbten Kern mit mäßig reichlich Heterochromatin am Rande auf. Das Zytoplasma war zumeist schmal mit nur wenigen Zellorganellen. Bei vergleichenden Untersuchungen, die elektronenmikroskopisch mit der üblichen Technik vorgenommen wurden, konnten in diesen Zellen vereinzelt auch lysosomenartige Partikel nachgewiesen werden. Diese Zellen konnten ultrastrukturell eindeutig von Makrophagen sowie Fibroblasten abgegrenzt werden, die ebenfalls im Interstitium des Pankreas vorkamen. Bei der sauren Phosphatase-Reaktion waren im Interstitium des Pankreas nur einzelne, mäßig stark positive Zellen im Interstitium erkennbar. Vergleicht man das Muster und die Menge der Ia-positiven mit dem der sauren Phosphatase positiven Zellen, so wird deutlich, daß die

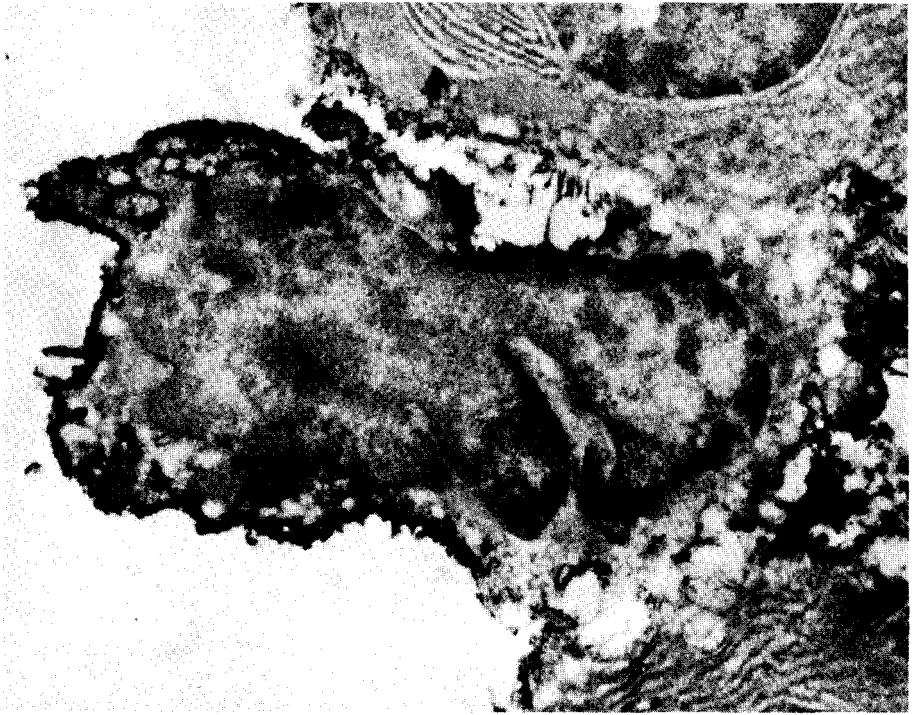


Abb. 2: Ia-positive dendritische Zelle mit stark gekerbtem Kern und schmalen Zytoplasmasaum. Positive Immunreaktion an der Zelloberfläche und in kleinen Vesikeln. Immunperoxidase-Färbung mit dem A.K. 29A1-L.T. Nachfixierung mit 1% Osmiumtetroxid. Aralditeinbettung. 13 000 \times .

Gruppe der Ia-positiven dendritischen Zellen zum einen aus Ia-positiven Makrophagen besteht, die saure Phosphatase-positiv sind. Zum anderen handelt es sich um saure Phosphatase-negative Ia-positive dendritische Zellen, die mit großer Wahrscheinlichkeit der lymphoiden dendritischen Zelle von STEINMAN und COHN entsprechen dürften. Zu ähnlichen Ergebnissen sind auch HART und FABRE (1981) bei ihrer Untersuchung von dendritischen Zellen des Rattenherzens gekommen. Sie konnten in den Ia-positiven dendritischen Zellen im Interstitium des Herzens keine Aktivität bei der sauren Phosphatase der Beta-glukuronidase und ATPase nachweisen. Unsere Untersuchungen zeigen, daß es sich im Gegensatz zu den Befunden am Rattenherzen bei den Ia-positiven dendritischen Zellen um keine einheitliche Zellpopulation handelt. Dies wurde auch von STEINIGER et al. (1974) bei der Untersuchung mit verschiedenen Antikörpern aufgezeigt.

Nach STEINMAN und NUSSENZWEIG (1980) ist die lymphoide dendritische Zelle vor allem bei der Antigenpräsentation bei T-Zell vermittelter Reaktion beteiligt. Diese bisher wenig beachtete Zelle dürfte damit für die Probleme der Pankreastransplantation von Bedeutung sein. Die physiologische Aufgabe dieser Zellen könnte die Eliminierung von Bakterien und Viren, möglicherweise auch von Tumorzellen sein.

Literatur

HANSMANN, M. L., H. J. RADZUN, E. KAISERLING, and M. R. PARWARESCH: Immunelectron microscopic demonstration of tissue antigens with monoclonal antibodies. *Virchow Arch. Cell Pathol.* 46, 1–12 (1984). – HART, D. N. J. and J. W. FABRE: Demonstration and characterisation of Ia-positive dendritic cells in the interstitial connective tissue of rat heart and other tissue but not brain. *J. Exp. Med.* 153, 347–361 (1981). – LANGNER, J.: Antigenprocessing und Antigenpräsentation durch akzessorische

Zellen des Immunsystems. *Allerg. u. Immunol.* 31, 131–156 (1985). – NUSSENZWEIG, M. C. and R. STEINMAN: The cell surface of mouse lymphoid dendritic cells. *Immunol. Today* 3, 65–68 (1982). – STEINIGER, B., J. KLEMPNAUER, and K. WONIGIT: Phenotype and histological distribution of interstitial dendritic cells in the rat pancreas liver, heart and kidney. *Transplantation* 38, 169–175 (1984). – STEINMAN, R. M. and Z. A. COHN: Identification of a novel celltype in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J. Exp. Med.* 137, 1142 (1973). – STEINMAN, R. M. M. C. NUSSENZWEIG: Dendritic cells: Features and functions. *Immunol. Rev.* 53, 127–147 (1980). – STUTTE, H. J.: Hypersplenismus und Milzstruktur. Fermenthistochemische und biometrische Untersuchungen an menschlichen Milzen. Thieme-Verlag, Stuttgart, 1974. – TEW, J. G., G. J. THORBECKE, and R. M. STEINMAN: Dendritic cells in the immune response: Characteristics and recommended nomenclature (a report from the reticuloendothelial society committee on nomenclature). *RES* 31, 371–380 (1982). – ULRICH, K., R. NÖTHLING, R. KELLER, U. HEUSERMANN, and W. MÜLLER-RUCHHOLTZ: Genetically determined variation of constitutive major histocompatibility complex class II antigen expression in various rat strains and cell types. *Transplant. Proc.* 19, 181–186 (1987).