

Histiocytóza z Langerhansových buněk z pohledu patologa

R. Kodet, M. Mrhalová

Ústav patologie a molekulární medicíny 2. lékařské fakulty UK a FN Motol Praha, přednosta prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

Souhrn: Histiocytóza z Langerhansových buněk je klinicko-patologickou jednotkou s variabilními klinickými a morfologickými nálezy. Její definice byla formulována na základě postupného rozpoznání 3 jednotek – chorob Hand-Schüller-Christianovy, Letterer-Siweovy a eozinofilního granulomu kostí. Později byly tyto jednotky sloučeny pod názvem histiocytóza X. S identifikací společného jmenovatele onemocnění – Langerhansových buněk – byl zaveden název histiocytóza z Langerhansových buněk (LCH). V přehledu shrnujeme více než 100 let vývoje poznatků o LCH. Langerhansovy buňky lze rozpoznat na základě histopatologického vyšetření a ultrastrukturálním průkazem specifických membránových intracytoplazmatických struktur – Birbeckových granul. V současnosti se pro podporu diagnózy LCH využívá imunohistochemické vyšetření, které u Langerhansových buněk prokazuje expresi S-100 proteinu, molekuly CD1a a langerinu (CD207). Tyto molekuly jsou v krátkém přehledu charakterizovány. Využitelnost dalších diagnosticky podpůrných metod zahrnuje aplikaci markerů buněčného cyklu, zejména molekuly Ki-67. Posouzení proliferativní aktivity onemocnění by mohlo mít význam v odhadu dalšího vývoje nemoci, zejména zachycené v časném stadiu vývoje nebo při monoorgánové formě, u které by mohla nastat progresse a generalizace druhotně. Histopatologická diferenciální diagnóza LCH musí odlišit tuto chorobu od nenádorových reaktivních změn Langerhansových buněk, histiocytárních chorob i od četných dalších nádorových procesů, jejichž spektrum uvádíme v přehledu.

Klíčová slova: histiocytóza z Langerhansových buněk – klasifikace – histopatologické a imunofenotypické nálezy – diferenciální diagnóza

Langerhans cell histiocytosis: a pathologist view

Summary: Langerhans cell histiocytosis is a clinico-pathological entity with a wide spectrum of clinical and morphological findings. The disease was defined on the basis of recognition of three entities in medical history – Hand-Schüller-Christian disease, Letterer-Siwe disease and eosinophilic granuloma of bone. Later on in the past, these diseases were linked under a term histiocytosis X. With identification of a common cell of origin, the Langerhans cell, a name “Langerhans cell histiocytosis” (LCH) has been accepted. This review summarizes more than a hundred-year evolution of views on the disease. Langerhans cells are identified with the aid of histopathological investigations and an ultrastructural demonstration of specific membranous intracytoplasmic structures – Birbeck granules. At present the diagnosis of LCH utilizes immunohistochemical investigations to demonstrate positivity of S-100 protein, CD1a and langerin (CD207) in Langerhans cells. Characteristics of these molecules are briefly summarized. Further supportive laboratory methods may be used to demonstrate expression of proteins of the cell cycle, namely Ki-67. The evaluation of the proliferation activity might support the estimation of a potential of the disease to progress or disseminate, especially in cases diagnosed at early stages or in situations they involve a single organ or tissue, and the progression might evolve secondarily. The histopathological differential diagnosis should separate LCH from reactive non-neoplastic Langerhans cell proliferations, histiocytic diseases and a number of neoplastic diseases which are briefly reviewed.

Key words: Langerhans cell histiocytosis – classification – histopathological and immunophenotypical findings – differential diagnosis

Úvod

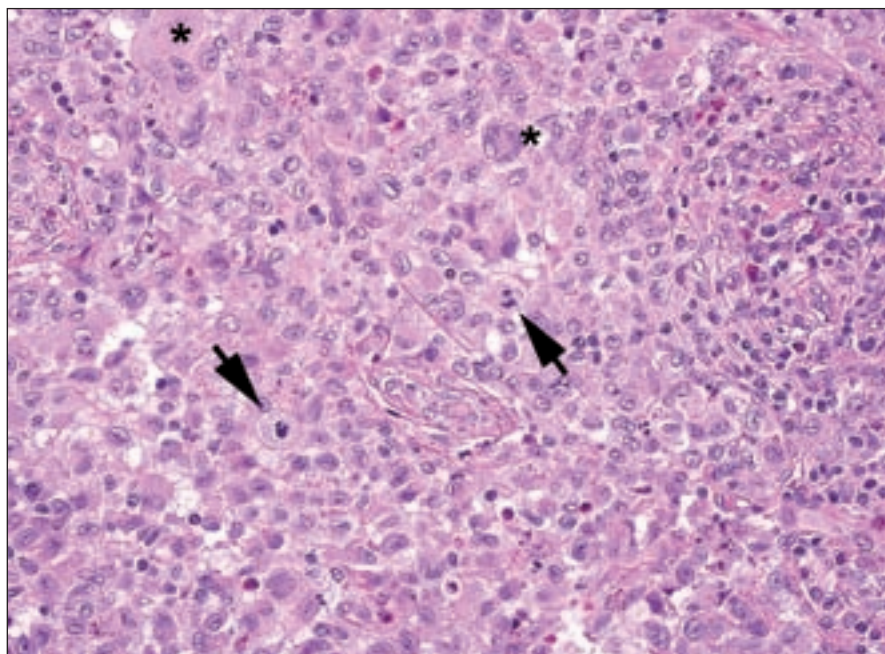
Objasnění a vyčlenění klinicko-patologické jednotky a názvosloví

Histiocytóza z Langerhansových buněk (LCH) je skupinou onemocnění vycházejících z dendritických Langerhansových buněk. Projevy a biologické chování jsou mimořádně variabilní. Onemocnění může být generalizované s rychlým a smrtícím průběhem nebo na druhém konci spektra projevů může být lokalizované a chronické. Postiženy bývají většinou děti, avšak onemocnění se vyskytuje i u dospělých [1].

Míra agresivity a generalizace choroby mají k věku nemocných přímý vztah. Obecně platí, čím mladší jedinec, tím rizikovější je průběh nemoci. Generalizované formy s rychlým průběhem postihují převážně děti v kojeneckém a batolecím věku, zatímco lokalizované formy jsou častější u starších dětí a u dospělých nemocných. LCH je pevně zakotvena ve WHO klasifikaci nádorů hemopoetického a lymfoidního systému. Kromě vlastní „typické LCH“ je zde samostatně vyčleněna jednotka „sarkom z Langerhansových buněk“ [2]. Jde o mimořádně vzácné

onemocnění i ve vztahu k frekvenci výskytu vzácné samotné LCH a krátce o něm pojednáme na konci této statě. Přehledný článek o histiocytózách, včetně LCH klasifikace a terapie, podává Adam et al v supplementu 1 tohoto časopisu z roku 2009 [3].

Názory na LCH se rodily v první polovině minulého století, resp. s prvními popisy dr. Alfreda Handa od konce 19. století. Nezávisle na tom byly publikovány další případy, a to v letech 1915–1916 (Arthur Schüller) a 1920 (Henry Asbury Christian). Ve 20. letech 20. století byly tyto pří-



Obr. 1. Langerhansovy buňky při velkém zvětšení. Je patrné, že mají eozinofilní cytoplazmu, indentovaná jádra. Objevují se i mnohоядерné formy (označeny hvězdičkami). V tomto zorném poli jsou zachyceny dvě mitózy (šipky), což je jev spíše ojedinělý.

pady referovány jako onemocnění Christianovo, pak Schüllerovo a Christianovo a nakonec bylo do názvu včleněno také jméno A. Handa jako autora do té doby prvního známého popisu nemoci. V roztržitém názvosloví se tedy ustálilo označení buď Schüller-Christianova, nebo Hand-Schüller-Christianova choroba [4]. Uvažuje se však, že vůbec první popis choroby uvedl Thomas Smith v roce 1865 [4]. Onemocnění bylo pomalu progresivní s iniciálně popsanou trias zahrnující osteolytické kostní defekty, exoftalmus a diabetes insipidus. Druhou, nezávisle popsanou skupinou bylo agresivní a rychle probíhající letální onemocnění Letterer-Siweovo (L-S) – název zvolili Arthur F. Abt a Edward J. Denenholz v roce 1936 [5]. Nejpozději, v letech 1940–1942, bylo identifikováno také lokalizované postižení kostí – eozinofilní granulom. Protože postižení kostí tímto onemocněním vyvolávalo v té době velkou pozornost, vznikla kolem rozpoznání charakteru osteolytických kostních lézí histiocytárního charakteru malá epidemie publikací [6–8]. Již ve 40. letech minulého století se však začalo uvažovat, že uvedené choroby

mají společného jmenovatele [9–12] a někteří autoři poukazovali na překryvy těchto jednotek a na skutečnost, že některé případy nelze jednoduše zařadit do jednotlivých kategorií. Vznikaly první návrhy na sjednocení uvedených jednotek pod společného jmenovatele. První takový pokus provedli Dennis a Rosahn v roce 1951, kteří navrhli označení „primární retikuloendoteliální granulom“ [13]. Avšak teprve v roce 1953 sjednotil pohled na onemocnění Louis Lichtenstein ve své práci publikované v časopisu *Archives of Pathology* [14]. Lichtenstein koncipoval základní principy morfologických nálezů a zejména klinického průběhu nemoci. Původně izolované jednotky, které po stránce průběhu označil jako akutní nebo subakutní diseminované onemocnění (syndrom Letterer-Siwe – L-S) a subchronicky nebo chronicky probíhající chorobu (syndrom Schüller-Christian – S-C), sloučil jako formy diseminované histiocytózy. K tomu přiřadil eozinofilní granulom kosti jako lokalizovanou formu téhož onemocnění, bez viscerálního postižení. Pro uvedené syndromy zvolil zastřešující název – histiocytosis X. Pís-

meno X uvedl Lichtenstein proto, že mělo krátce a výstižně vyjadřovat značnou variabilitu projevů nemoci a mělo být stimulem k pátrání po její etiologii, která nebyla jasná. Zároveň doložil, že mezi uvedenými jednotkami jsou přechodné formy a že akutní/subakutní diseminovaná forma (L-S) může přejít v chronickou (S-C) a naopak, subchronická/chronická forma onemocnění může akcelarovat do podoby s akutní. V té době se onemocnění sice považovalo za histiocytární, jak již název napovídal, ale teprve ultrastrukturální pozorování (elektronová mikroskopie) odhalilo, že se jedná o specializovanou formu histiocytů, v dnešní době správněji buněk zařazených do skupiny buněk dendritických. Tyto buňky byly označeny jako buňky Langerhansovy. Dopomohla k tomu identifikace svérázných diskoidních intracytoplazmatických membranózních struktur v Langerhansových buňkách epidermis, odlišných od melanosomů v melanocytech [15]. Jak se ukázalo, tyto struktury, později nazvané jako granula X nebo Birbeckova granula, slouží jako buněčně specifický ultrastrukturální znak pro skupinu dendritických buněk označených jako Langerhansovy buňky. V krátké době byla Birbeckova granula prokázána i u histiocytózy X [16,17] a tento nález vedl k ucelené představě o původu buněk v rámci všech projevů histiocytózy X [18]. Stále však existovaly dohady, jak LCH vzniká. Původní práce chorobu S-C řadily mezi stádavé metabolické choroby, jakými jsou choroba Nieman-Pickova nebo Gaucherova. Tyto názory byly podrobeny kritice a vyvráceny v řadě pozdějších prací [11]. Eozinofilní granulom kosti byl pod názvem „solitární granulom kosti“ považován za benigní granulomatózní proces o neznámé příčině a nebyl vyloučen potraumatický [6] nebo virový [7] původ. O LCH se ještě v 80. letech minulého století spekulovalo jako o nenádorové reaktivní chorobě schopné spontánně regredovat [19]. V současnosti je prokázáno, že LCH je ve většině případů klonálním

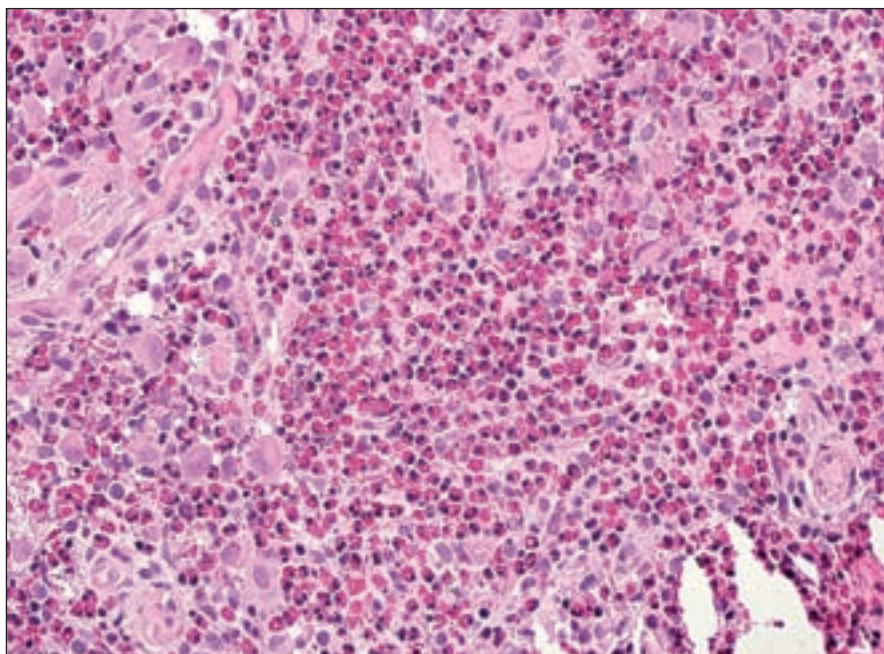
onemocněním [20,21]. Výjimku tvoří separátně klasifikované plicní histiocytózy z Langerhansových buněk u dospělých, které vznikají polyklonální proliferací Langerhansových buněk a vývoj tohoto onemocnění je přímo spjat s kuřáctvím [22]. I když průkaz klonality proliferujících buněk není považován za dostatečný důkaz nádorové povahy, je zřejmé, že u individuálních nemocných jde o poruchu jedné (klonální) populace Langerhansových buněk a onemocnění je nádoru přinejmenším blízké, obdobně jako některá monoklonální lymfoproliferativní onemocnění. Dosud nebyl identifikován žádný molekulárně specifický znak LCH, ale pro nádorovou – autonomní povahu svědčí některé poruchy klíčových regulačních proteinů buněčného cyklu [23], cytogenetické změny [24] a také průkaz ztráty heterozygosity některých chromozomálních úseků [25].

Po rozpoznání charakteru buněk v infiltrátech onemocnění histiocytózou X jako buněk Langerhansových byl doporučen nový název, a to histiocytóza z Langerhansových buněk, LCH [26]. Tento název se ujal a je běžně používán, včetně závazné WHO klasifikace nádorů krve a krvetvorných orgánů [2].

Histopatologický obraz LCH

Langerhansovy buňky jsou v histopatologickém vyšetření charakteristické a liší se od tkáňových histiocyťů – makrofágů jak na úrovni světelné mikroskopie při běžném barvení a v expresi charakteristických proteinů, tak na úrovni ultrastrukturální.

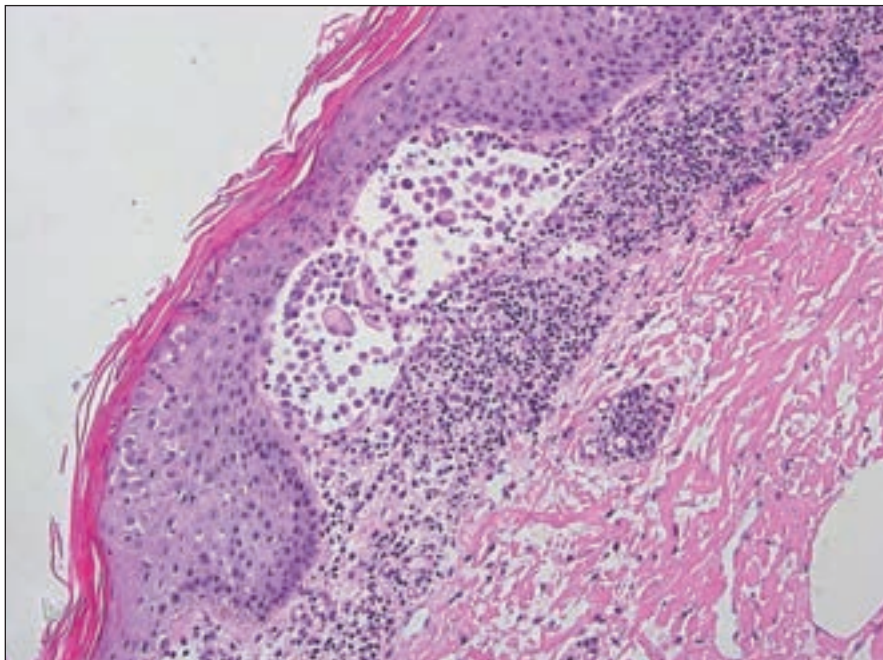
Ve světelném mikroskopu jsou Langerhansovy buňky střední velikosti (obvykle kolem 12–15 µm), mají polygonální nebo mírně nepravidelně okrouhlý tvar a zřetelné buněčné hranice (obr. 1). Cytoplazma je v přehledném histologickém barvení hematoxylinem a eozinem homogenní, světle eozinofilní. Na rozdíl od epidermálních Langerhansových buněk netvoří v lézích LCH tyto buňky dendritické výběžky. Cytoplazma neobsahuje



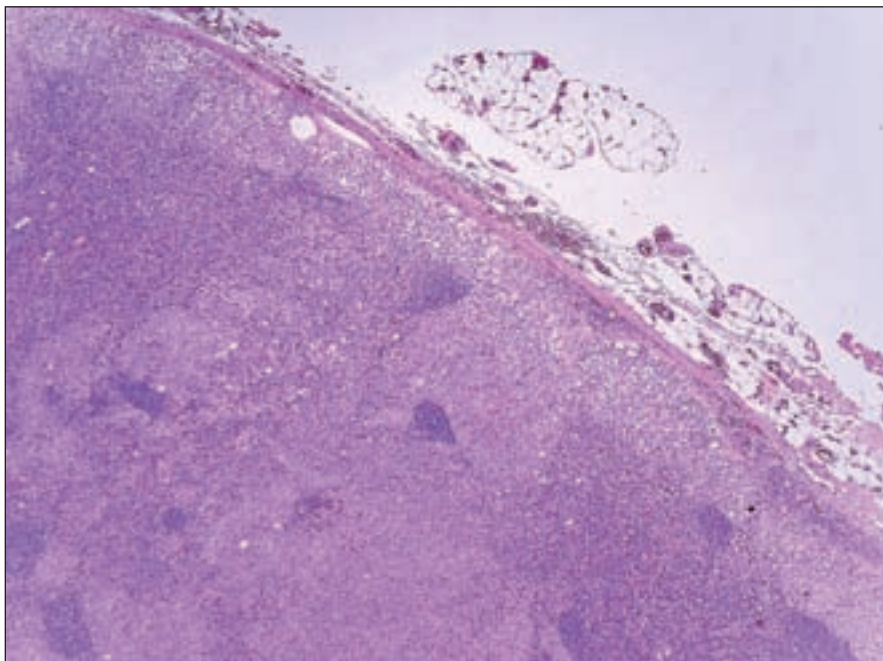
Obr. 2. Kostní infiltrát při LCH – eozinofilní granulom kosti. Histiocytární infiltrát je zachycen jen částečně, podílí se na něm dvoujaderné i vícejaderné buňky a je překryt masivní infiltrací eozinofilními leukocyty. Zároveň jsou přítomny novotvořené cévy, což připomíná tvorbu granulační tkáně při zánětu.

fagocytovaný materiál, fagocytované buňky ani pigmenty (např. hemosiderin nebo antrakotický pigment), jak tomu je u tkáňových makrofágů. Jádro Langerhansových buněk je typicky nepravidelně oválné, ledvinovité s charakteristickými invaginacemi jaderného povrchu (obr. 1). Někdy jsou na jádru patrné četné drobné indentace, připodobňované k mozkovým závitům a brázdám, tzv. cerebriformní charakter jader. Jadérka jsou drobná, nenápadná. Mitotická aktivita kolísá případ od případu, avšak u typických forem je nízká. Někdy ji nelze identifikovat vůbec. Infiltráty Langerhansových buněk při LCH mohou být monomorfní, ale často vídáme variabilní příměs velkých vícejaderných – mnohojaderných Langerhansových buněk. Není jisté, zda tyto mnohojaderné buňky vznikají fúzí mononukleárních forem nebo spíše dělením jader samotných. U kostních lézí a v lymfatických uzlinách jsou též často přítomny mnohojaderné buňky, v kostech charakteru osteoklastů, v uzlinách tzv. mnohojaderné buňky typu z cizích těles. V kostních ložiscích LCH zmnožené a metabolicky aktivní osteoklasty pravděpodobně zodpovídají za osteoly-

tický charakter infiltrátů [27]. Infiltráty lézí LCH doplňuje příměs leukocytů, zejména T-lymfocytů a eozinofilních granulocytů (obr. 2). Eozinofilní leukocyty mohou místy až zakrývat podstatu infiltrátu z Langerhansových buněk nebo jsou tak hojné a rozpadají se, že se vytvářejí eozinofilní abscesy. Z rozpadlých granulocytů se někdy tvoří Charcot-Leydenovy krystaly. U perzistujících lézí klesá v infiltrátech podíl Langerhansových buněk s klasickým morfolo- gickým obrazem a objevují se buňky pění- tého charakteru. Obraz pak silně připomíná pseudoxantomy při chronickém hnisání, např. ve stěně pyogenní membrány. V takových případech je rozpoznání povahy infiltrátu bez navazujících specializovaných vyšetření nebo bez přihlédnutí k anamnéze nemocného problematické. Na rozdíl od pění- tých histiocyťů zá- nětlivého původu však bývají infiltráty steatotických buněk vysloveně masivní a tumoriformní, žluté barvy, zejména při postižení kostí a thymu, někdy i jiných orgánů. V perzistujících infiltrátech také přibývá stromálních buněk – myofibroblastů a extracelulární matrix, což odpovídá jizvení.



Obr. 3. Kožní forma LCH. Histiocytární infiltrace provázená lymfocyty tvoří souvislý dermální pruh, ale Langerhansovy buňky jsou lymfoidním pozadím mírně překryty. Pronikají však mezi keratinocyty a jsou dobře patrné v epidermálním puchýři ležícím nad samotnou bazální membránou epidermis.



Obr. 4. Přehledné zvětšení řezu lymfatickou uzlinou. Světlejší okrsky pod pouzdem a v sinusech kory odpovídají histiocytárním infiltrátům LCH, tmavší okrsky představují zachované části lymfatické uzliny.

V rámci komplexu LCH jsou mikroskopické projevy variabilní. Při orgánové manifestaci nacházíme nejčastěji monomorfní uspořádání Langerhansových buněk (obr. 1), někdy s příměsí obrovských mnohojaderných buněk podobných osteoklastům pů-

vodu tkáňových makrofágů. Při kostní formě LCH, monoostotické nebo polyostotické, tzv. eozinofilním granulomou kostí, je typická již zmíněná příměs eozinofilních leukocytů, která může ložiskově až početně převažovat nad Langerhansovými buňkami. Eozino-

filní leukocyty se však v různé míře objevují i u orgánových manifestací LCH. Kostní ložiska jsou makroskopicky zřetelně osteolytická, tvoří souvislé masy měkké, šedorůžové až nažloutlé barvy. V okolí může být přítomna reaktivní osifikující periostitida. U starších lézí přibývá zmíněných pěnitých buněk a onemocnění může být mylně považováno za chronickou nespecifickou hnisavou osteomyelitidu. Poněkud odlišný je mikroskopický obraz v kožních lézích. V kůži jsou Langerhansovy buňky při LCH lokalizované v horní dermis a bývají zde hojnější T-lymfocyty. Langerhansovy buňky projevují výrazný epidermotropismus, tj. pronikají přes bazální membránu mezi keratinocyty epidermis a při shlukování tvoří charakteristické vezikulární formace tvořené tekutinou s Langerhansovými buňkami a T-lymfocyty (obr. 3). U akutně probíhajících forem LCH s multiorgánovým postižením (dříve nemoc Letterer-Siwe) na tyto nálezy nasedají projevy hemoragické diatézy – hemoragie s přítomností erytrocytů v dermis a epidermis. Makroskopicky pak papulovesikulární projevy komplikuje hemoragický charakter [28]. Při mírnějším průběhu se kožní změny podobají nálezům u seborrhoické dermatitidy. Nejčastěji je postižena kůže vlasaté části hlavy, kde je také nejvíce zastoupena přirozená populace Langerhansových buněk. Infiltráty bývají také časté na trupu a případně na proximálních částech končetin. V rámci variability LCH může být postižení kůže součástí celkového onemocnění (u dětí), u starších nemocných může být kožní manifestace monoorgánová a jako jediná známka LCH (tzv. eozinofilní granulom kůže). Sami jsme pozorovali izolované kožní onemocnění u 4 nemocných ve věku 17, 27, 66 a 73 let (3 muži, 1 žena). U pacientky převažoval infiltrát v oblasti kůže přední hrudní stěny a v mikroskopické diferenciální diagnóze bylo nutné odlišit mycosis fungoides. Teprve pečlivé vyšetření jednotlivých buněk infiltrátu odhalilo přítom-

nost četných Langerhansových buněk v dermis i v epidermis. Netvořily se tzv. Pautrierovy mikroabscesy, ale typické vezikuly s četnými Langerhansovými buňkami. V lymfatických uzlinách je zpočátku patrná intrasinusoidální propagace Langerhansových buněk (obr. 4), později infiltráty přestupují do parakortexu a splývají v souvislé masy. Lymfatické uzliny mohou být postiženy v rámci systémového multiorgánového onemocnění, méně často jako vedlejší nález ve spádových uzlinách při drenáži z kostních ložisek. U starších nemocných bývají lymfatické uzliny postiženy samostatně [29]. Ve slezině je při LCH postižena převážně červená pulpa. V játrech bývají infiltráty vázány na intrahepatické žlučové cesty a při nepříznivém vývoji onemocnění vzniká v chronické fázi obraz sklerózující cholangitidy [30]. K hepatosplenomegalii u diseminovaných forem přispívají také kompaktnější tumoriformní infiltráty (obr. 5). Kromě uvedených orgánů jsou při systémové LCH postiženy plíce, thymus a někdy také centrální nervový systém. Formy a intenzita infiltrátů jsou velmi proměnlivé a liší se případ od případu. Souhrn morfologických nálezů u LCH je uveden v tab. 1.

Při regresi LCH po terapii Langerhansovy buňky, případně další buňky jako součást nenádorové zánětlivé příměsi někdy vymizí – např. z kůže. Jindy je regrese provázena jizvením – viz sklerózující cholangitida při jaterním postižení. Jizvení jsme pozorovali také v plicích s rozvojem tzv. voštinovité plíce a klinickými projevy respiračního selhání [31].

Kromě základního histopatologického vyšetření je důležitým diagnostickým znakem identifikace Langerhansových buněk na úrovni ultrastrukturální – průkaz tzv. Birbeckových granul v cytoplasmě. Birbeckova granula jsou membránová pentalamelární struktury připomínající svým uspořádáním vzhledu zipu (obr. 6). Sám Michael S. C. Birbeck ve svém popisu těchto struktur hovoří o granulech, ale postřehl, že mají spíše diskoidní tvar. V některých rovinách ultratenkého řezu se zachytí jejich dilato-



Obr. 5. Uzlovité infiltráty (označení šipkami) v játrech při diseminované multiorgánové formě LCH.

Tab. 1. Mikroskopické a fenotypické charakteristiky buněk LCH.

Mikroskopický nález

Langerhansovy buňky a způsob růstu cytoplazma	okrouhlé 12–15 μm velké i větší, rostou v solidních skupinách, vzácněji připomínající granulomy, bez atypií eozinofilní, světlá, homogenní
jádra	u chronických forem pěnitá s tukovými kapénkami oválná, ledvinovitá, se zářezy až mnohotnými indentacemi v kostní tkáni a lymfatických uzlinách časté mnohojaderné formy
jadérka	malá, nenápadná
mitotická aktivita	variabilní, bez atypií
buněčná příměs	eozinofilní leukocyty, až eozinofilní mikroabscesy, někdy Charcot-Leydenovy krystaly T-lymfocyty; méně často plazmatické buňky tkáňové makrofágy (i mnohojaderné), v kostech osteoklasty

Ultrastrukturální nález (elektronová mikroskopie)

jádro	členité se zářezy
cytoplazma	chudá na organela Birbeckova granula v různém procentu zastoupení

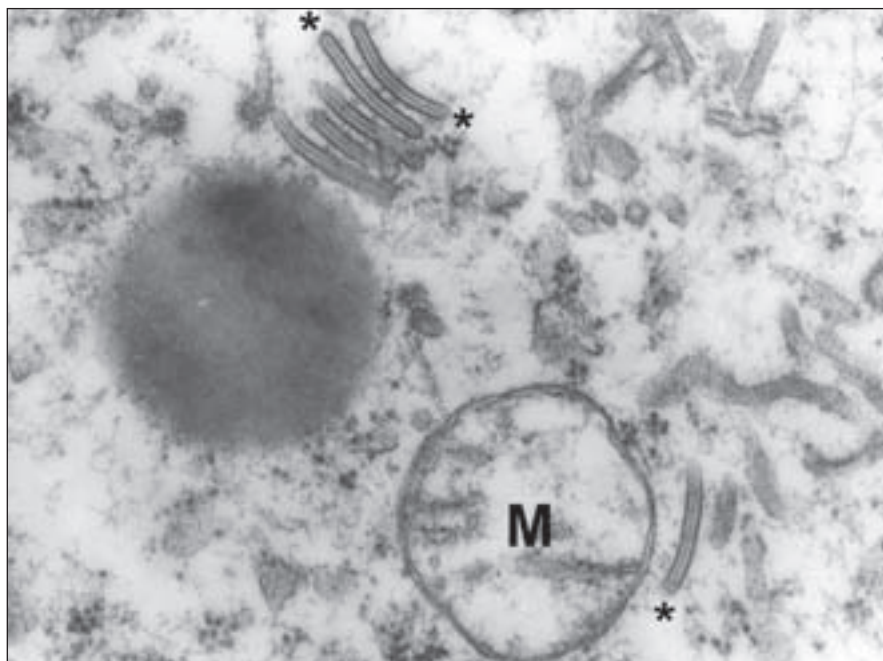
Imunohistochemický nález (nejčastěji vyšetřované diagnostické markery*)

S-100 protein	pozitivní cytoplazma, jádro
CD1a	pozitivní buněčné membrány
langerin	pozitivní Birbeckova granula
CD68 (PGM-1)	nekonstantně pozitivní lysozomy

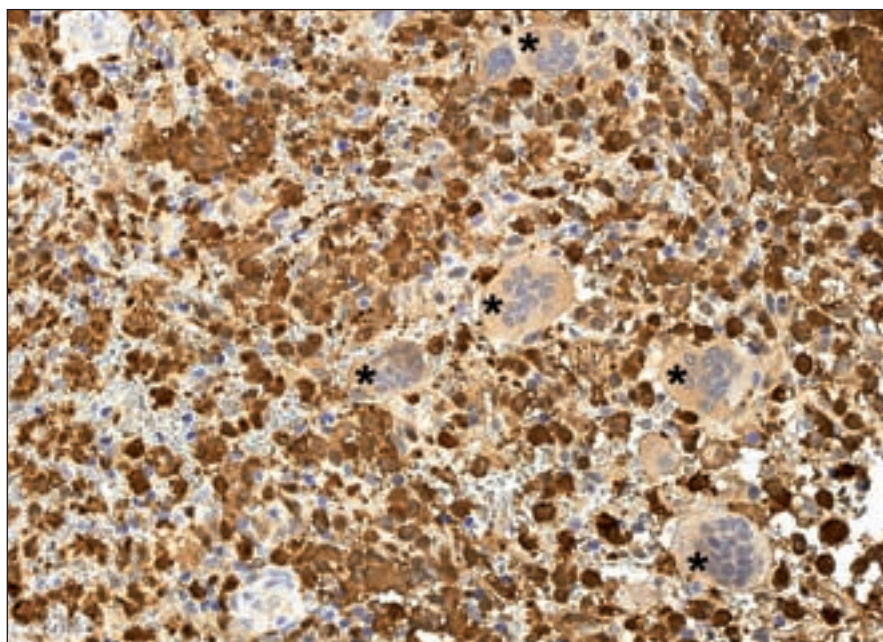
*diferenciální diagnóza LCH (tab. 2) vyžaduje podle okolností vyšetření exprese řady dalších markerů, výčet přesahuje rámec této publikace

vané úseky a pak granula tvarem připomínají tenisovou raketu. Přestože se prokáží prakticky ve všech případech LCH, procento Langerhansových buněk, u kterých lze granula prokázat, silně kolísá. Podle našich zkušeností byla v některých případech LCH Birbeckova granula velmi hojná, jindy je bylo

třeba zdlouhavě hledat. V jedné detailnější studii se záchyt Birbeckových granul u jednotlivých případů pohyboval od 2 % do 79 % Langerhansových buněk [32]. To podle našich zkušeností odpovídá i heterogenní pozitivitě v imunohistochemickém průkazu langerinu, o kterém je pojednáno níže.



Obr. 6. Ultrastrukturální snímek výseku cytoplazmy Langerhansovy buňky s typickými Birbeckovými granuly (označeny hvězdičkami). Pro srovnání velikosti – mitochondrie označena „M“.



Obr. 7. S-100 protein – imunohistochemické vyšetření. Cytoplazmatická i jaderná pozitivita Langerhansových buněk kostního infiltrátu LCH (hnědý precipitát), osteoklasty (označeny hvězdičkami) se pouze přibarvují, jádra dobarvena hematoxylinem.

Z enzymů, které jsou typické pro Langerhansovy buňky, lze v diagnostice využít průkaz kysel α -D-mannosidázy [33], avšak pro technickou náročnost se toto vyšetření v praxi neuplatnilo a nahrazuje jej průkaz exprese níže uvedených proteinů imunohistochemickými metodami.

Zařazení Langerhansových buněk a jejich imunofenotypické markery používané v diagnostické praxi

Langerhansovy buňky jsou jednou z forem buněk skupiny tzv. buněk dendritických. Jejich funkcí je prezentace antigenu T- a NK-lymfocytům. Dendritické buňky se rozdělují do 2 hlav-

ních skupin – myeloidní a plazmacytoidní. Epidermální dendritické buňky (podle různých pramenů zastoupeny v 1–8% všech epidermálních buněk) odpovídají v nezářné kůži klasickým Langerhansovým buňkám. Jsou roztroušené mezi bazálními a suprabazálními keratinocyty. Mají zřetelně výběžkatou cytoplazmu, s výběžky vsunutými mezi jednotlivé keratinocyty (z toho důvodu byly svým objevitelem, P. Langerhansem, považovány za neurony – 1868). Leží při bazální části epidermálních buněk.

Langerhansovy buňky jsou derivované z monocytů. V epidermis jsou v „nezralém“ stavu, mají malý migrační potenciál a exprimují kostimulační molekuly v nízkých hladinách. Pro diferenciaci Langerhansových buněk je třeba transformující růstový faktor β (TGF- β) [34] a další molekuly. Dendritické buňky lokalizované v epidermis hrají klíčovou roli v rozpoznání antigenů a iniciují vrozenou i adaptivní odezvu. V normální kůži jsou přítomné 2 hlavní populace dendritických buněk – epidermální Langerhansovy buňky a dermální (nebo intersticiální) dendritické buňky. Langerhansovy buňky pocházejí z progenitorů v kostní dřeni. Proces diferenciace a migrace Langerhansových buněk do epidermis není zatím přesně prostudován. Podle jedné teorie se prekurzory Langerhansových buněk dostávají z periferní krve přes dermis do epidermis (prekurzory v kostní dřeni exprimují „myeloid cutaneous lymphocyte associated antigen“ – CLA). Jiné studie naznačují, že prekurzory Langerhansových buněk za normálních, nezářných podmínek sídlí v dermis. Tyto prekurzory koexprimují langerin a molekulu CD14. Finální migrace těchto buněk do suprabazální vrstvy epidermis je pravděpodobně řízena impulzy z keratinocytů. Finální diferenciace prekurzorů Langerhansových buněk závisí na cytokinovém prostředí v epidermis. Langerhansovy buňky zpracují antigen. Poté migrují do lymfatických cév a s lymfatickou drenáží do parakortexu lym-

fatických uzlin. Během této migrace ztrácí schopnost internalizovat další antigeny a naopak získávají schopnosti prezentovat antigen naivním T-lymfocytům (tzv. maturace) [35].

V normálních tkáních a v rámci LCH netvoří Langerhansovy buňky cytoplazmatické výběžky a neudržují mezi sebou žádné pevné kontakty. Vytvářejí se difúzní splývající infiltráty relativně uniformního charakteru.

Na úrovni exprese proteinů jsou Langerhansovy buňky charakterizované řadou molekul, avšak z diagnostického pohledu se v současnosti nejčastěji využívají molekuly tři – tzv. S-100 protein, CD1a a langerin. Protože se v literatuře o LCH běžně nesetkáváme se specifikací těchto molekul a v praktickém využití se situace většinou natolik zjednodušuje, že se přebírají jen názvy a výsledky stanovení protilátek v imunohistochemickém vyšetření, považujeme za vhodné seznámit zájemce s každou z těchto molekul blíže.

Do diagnostického procesu se jednotlivé molekuly zapojovaly postupně. Z tohoto pohledu je nejdéle známá skupina S-100 proteinů (80. léta 20. století), za ní následovala charakterizace molekuly CD1a (převážně 90. léta 20. století). Objevení langerinu a jeho využití v diagnostice je poměrně nové. Průkaz langerinu se začal uplatňovat až po roce 2000. S dostupností komerčních protilátek použitelných na formolem fixovaných tkání je postupně vytlačována ultrastrukturální diagnostika, která používá méně dostupnou a časově náročnější elektronovou mikroskopii.

S-100 proteiny

Jak již bylo zmíněno výše, k diagnostickému průkazu Langerhansových buněk se používá stanovení exprese takzvaného S-100 proteinu. Pod označením S-100 se však skrývá řada různých molekul. Proteiny S-100 jsou malé kyselé proteiny o molekulové hmotnosti 10–12 kD. První člen této rodiny byl identifikován již v roce 1965. Jednalo se o subcelulární frakci izolova-

nou z hovězího mozku. Jelikož součástí této frakce byly rozpustné ve 100% nasyceném roztoku síranu amonného při neutrálním pH, byla tato frakce pojmenována S-100 – „soluble in 100% saturated ammonium sulphate at neutral pH“. Tento popisný název se natolik vžil, že je běžně používán do současnosti [36]. Mezi S-100 proteiny patří molekuly kódované v klastru v oblasti 1. chromozomu 1q21 – ty jsou označovány písmenem A a dále arabskou číslovkou (S-100 A1–A16). Dalšími členy „S-100 rodiny“ jsou proteiny kódované geny ležící mimo oblast 1q21. Ty jsou pojmenovány pouze S-100 a následně písmenem bez číselnice – S-100B (21q22.3), S-100G (Xp22.2), S-100P (4p16) a S-100Z (5q13.3) [37]. S-100 proteiny se podílejí na regulaci buněčných dějů, a to intracelulárních i extracelulárních (např. na progresi buněčným cyklem nebo na diferenciaci). Jsou lokalizovány v cytoplazmě a/nebo v jádře širokého spektra různých typů buněk. Navíc jsou také prokazovány v extracelulárním prostoru, kde účinkují podobně jako cytokiny – přes receptory. Kromě vysoké afinity k vápenatým iontům vykazuje řada S-100 proteinů také afinitu k iontům zinečnatým a měďnatým, což může ovlivňovat jejich aktivitu v extracelulárním prostoru [38]. Langerhansovy buňky exprimují S-100B protein [39,40]. Kromě silné exprese S-100B proteinu je u Langerhansových buněk popisován také slabý stupeň exprese S-100A6 proteinu [41]. Na našem pracovišti používáme pro průkaz exprese skupiny S-100 proteinů u LCH v histologických řezech z formolem fixovaných a do parafinu zalitých tkání králičí polyklonální protilátku anti-S-100 (Dako) (obr. 7).

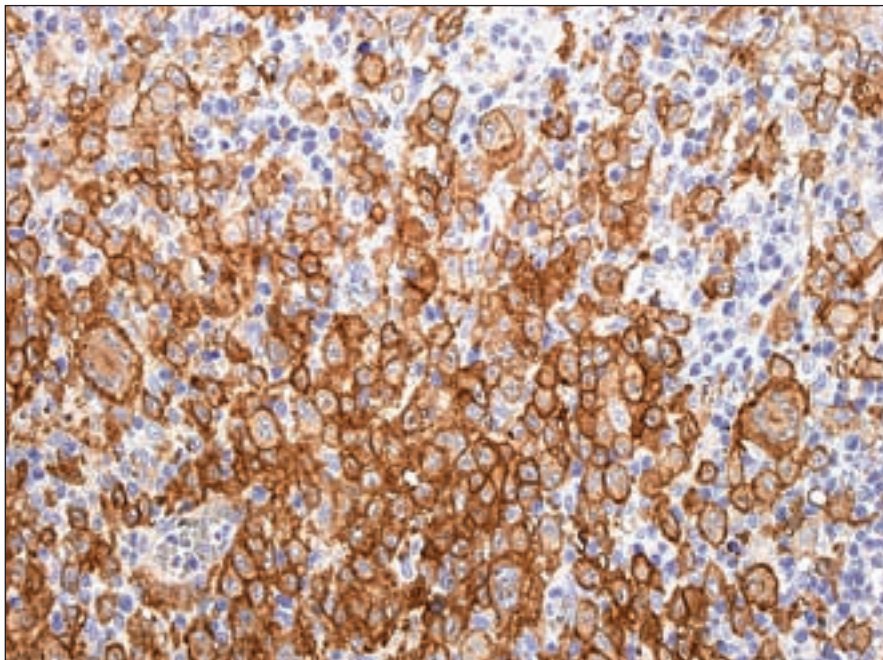
Molekula CD1a

Další molekulou, jejíž průkaz se používá pro identifikaci Langerhansových buněk, je CD1a. CD1a má řadu synonymických názvů [37], ale označení podle CD klasifikace (cluster of differentiation) je nejpoužívanější. Molekula patří do ro-

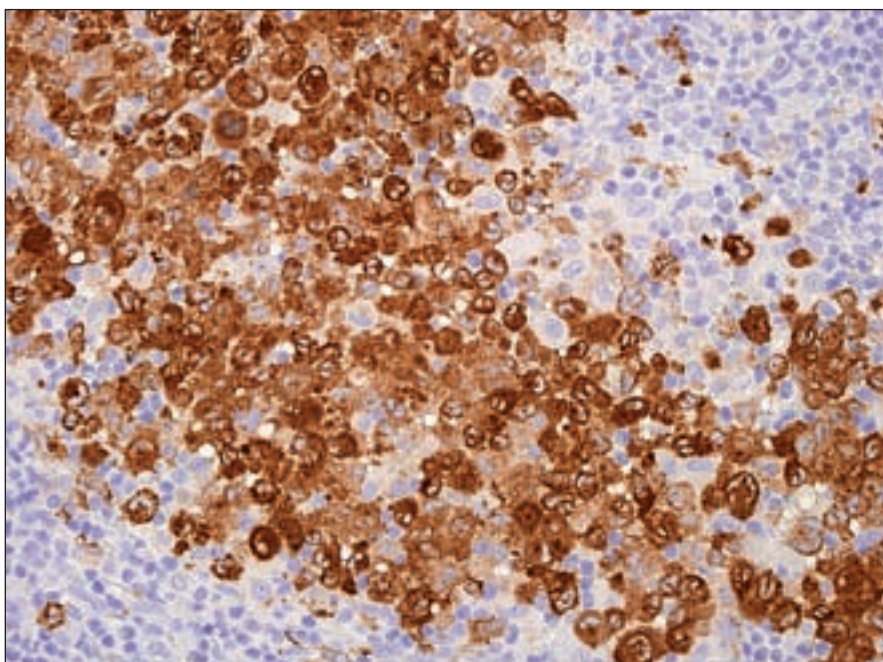
diny transmembránových glykoproteinů, které jsou strukturálně podobné MHC proteinům I. třídy („major histocompatibility complex“). CD1 proteiny zprostředkovávají prezentaci primárně lipidových a glykolipidových antigenů vlastního nebo mikrobiálního původu pro T-lymfocyty a NK buňky. Lidský genom obsahuje 5 izoforem CD1. Dělí se na skupinu 1 (CD1a, b, c, e) a na skupinu 2 (CD1d). Geny jsou organizované v klastrech na 1. chromozomu. Členové rodin se pravděpodobně liší buněčnou lokalizací a specifitou pro konkrétní lipidové ligandy. Gen *CD1A* se nachází na dlouhém raménku prvního chromozomu 1q22-q23. Protein CD1a (molekulová hmotnost 37 kDa) je lokalizován na buněčné membráně a na vezikulech časného endocytického systému. CD1a exprimují kortikální thymocyty, Langerhansovy buňky a další typy dendritických buněk [42]. Molekula CD1a, která nemá internalizační motiv s tyrozinem, je internalizována do časného endozomu mechanismem nezávislým na systému klatrin/dynamin (klatrinové vezikuly jsou v buňkách hlavními transportéry pro materiál pohlcený endocytózou). CD1a se recykluje zpátky na buněčný povrch mechanismem závislým na malých GTPázách [43,44]. Na našem pracovišti používáme pro průkaz exprese molekuly CD1a u LCH v histologických řezech z formolem fixovaných a do parafinu zalitých tkání myší monoklonální protilátku proti lidské molekule CD1a (klon O10, Immunotech/Beckman Coulter) (obr. 8).

Langerin

Jak jsme zmínili, dendritické buňky se dělí do několika skupin. Jedním z kritérií je dělení podle exprese C-typu lektinů. Lektiny C-typu jsou proteiny dependentní na vápenatých iontech, které vážou glykany. Jsou homologní v primární a sekundární struktuře oblasti pro vazbu cukru („carbohydrate-recognition domain“ – CRD). C-typy lektinů tvoří homodimery, heterodimery a oligomery. Liší se v typu glykanu, který



Obr. 8. CD1a – imunohistochemické vyšetření. Silná membránová a slabší granulární pozitivita v cytoplazmě Langerhansových buněk (hnědý precipitát), jádra dobarvena hematoxylinem.



Obr. 9. Langerin (CD207) – imunohistochemické vyšetření. Cytoplazmatická výrazně granulární pozitivita Langerhansových buněk (hnědý precipitát), jádra dobarvena hematoxylinem.

jsou schopny s vysokou afinitou rozeznat. Tyto proteiny slouží jako receptory adheze a signální receptory při mnoha funkcích imunitního systému (imunita zánětů, nádorů a virových infekcí) [45]. Ze skupiny lektinů C-typu exprimují Langerhansovy buňky tzv. langerin [46]. Langerin (mo-

lekulová hmotnost 37 kD) je transmembránový protein II. typu s extracelulární CRD doménou. Rozpoznává a váže manózu, fukózu a N-acetylglukozamin. Langerin je synonymicky nazýván CD207 („Cluster of Differentiation 207“), nebo také „C-type lectin domain family 4 member K“, CLEC4K

nebo „Langerhans cell specific C-type lectin“ [37]. Langerin je exprimován pouze v Langerhansových buňkách, ve kterých je lokalizován v Birbeckových granulech. Gen *CD207* se nachází na druhém chromozomu, v oblasti 2p13. Vazba manózy na langerin vede k internalizaci antigenu nesoucího manózu procesem, který připomíná „zipování“ do membránových struktur Langerhansovy buňky. Spojováním membrán vznikají Birbeckova granula [47]. Ke zpracování antigenu dochází tedy variantní cestou, odlišnou od klasické cesty zprostředkované makrofágy. Extracelulární doména langerinu, a zvláště CRD, má klíčovou roli v zipování membrány při tvorbě Birbeckových granul (důležitou roli hraje i cytoplazmatická doména). Langerin ovlivňuje nejen tvorbu Birbeckových granul, ale také celkové morfologické změny Langerhansových buněk [48]. Na základě studií s langerinem vyplynulo, že Birbeckova granula mohou vznikat jak z buněčné membrány, tak z membrán Golgiho systému. Identifikace langerinu jako receptoru pro endocytózu indukujícího tvorbu Birbeckových granul, ukazuje, že Birbeckova granula fungují v dráze zpracování antigenů [47]. Pro průkaz exprese langerinu v histologických řezech z formolem fixovaných a do parafinu zalitých tkání na našem pracovišti používáme v současnosti myši monoclonální protilátku proti lidskému langerinu (klon 12D6, Novocastra/Leica) (obr. 9).

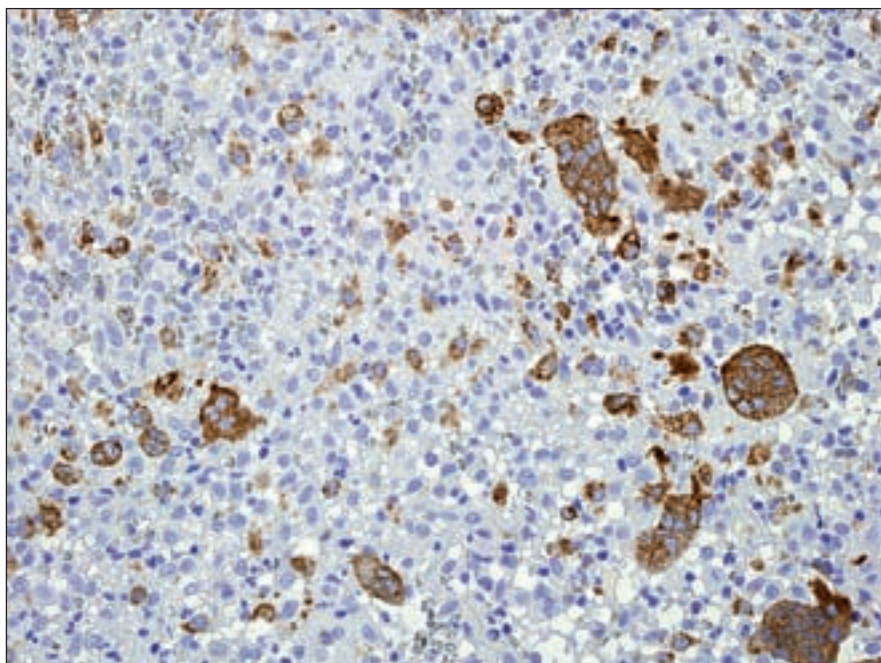
Molekula CD68

Expresí S-100B proteinu, langerinu a molekuly CD1a se Langerhansovy buňky odlišují od tkáňových makrofágů, u kterých se exprese ani jednoho z těchto proteinů neprokáže. Makrofágy jsou naproti tomu charakteristické silnou pozitivitou molekuly CD68, která je v Langerhansových buňkách prokazována variabilně nebo je negativní (obr. 10).

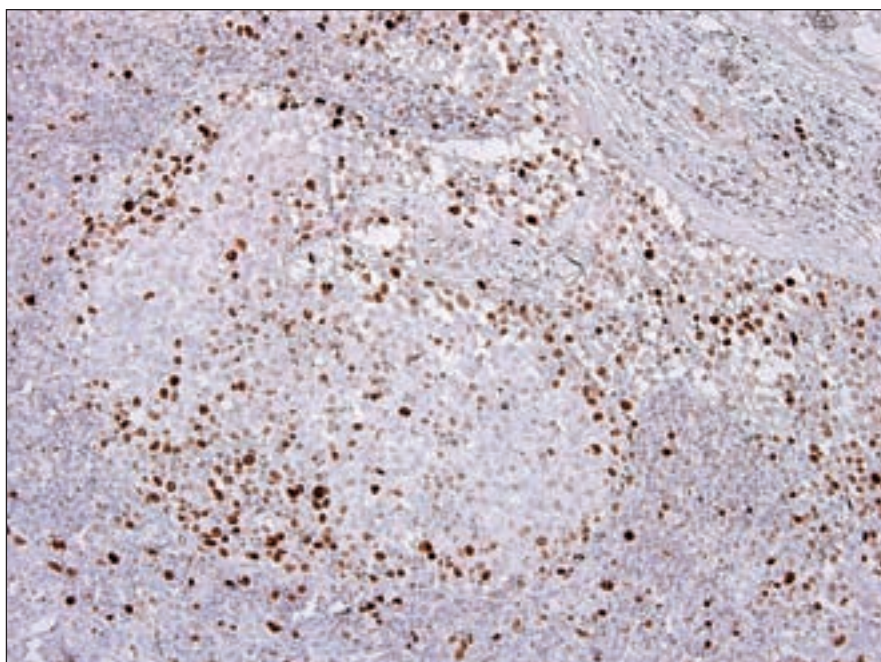
Ki-67

Z praktického hlediska má význam stanovení proliferativní aktivity Lan-

gerhansových buněk v rámci různých forem LCH. Kromě sledování mitotické aktivity je v posledních letech dostupné vyšetření řady molekul buněčného cyklu, které lze k posouzení proliferační frakce různých patologických procesů využít. Z rutinně využívaných markerů se ujala detekce proliferačního markeru Ki-67 [23]. Molekula Ki-67 (synonymicky „antigen identified by monoclonal antibody Ki-67“, molekulová hmotnost 359 kD) je kódována genem *MKI67*, který se nachází na 10. chromozomu v oblasti 10q25-qter. Název tohoto proteinu vznikl spojením počátečních písmen města, kde byla protilátka produkována a popsána (Univerzita v Kielu v Německu) a čísla „67“ originálního klonu v 96jamkové destičce [49]. Ki-67 je jaderný nehistonový protein, který je nezbytný pro proliferaci buněk. Přestože je popsána sekvence molekuly a mnoho jejích vlastností, je zatím velmi málo známo o její funkci v buňce. Ki-67 je exprimována v G1, S, G2 a M fázi buněčného cyklu. Během interfáze je molekula Ki-67 detekována relativně homogenně v jádře, zatímco v mitóze je většina proteinu lokalizována na povrchu chromozomů. Hladina exprese proteinu Ki-67 kolísá v průběhu buněčného cyklu. Je nízká v G1 a S fázi, maximum exprese dosahuje v M fázi. Po vstupu do klidové fáze (G0) je molekula Ki-67 rychle degradována a není exprimována. Na rozdíl od mnoha jiných proteinů spojených s regulací buněčného cyklu a používaných pro odhad stupně mitotické aktivity se molekula Ki-67 neúčastní opravných procesů DNA. Z těchto důvodů se exprese molekuly Ki-67 velmi dobře hodí ke sledování proliferační aktivity buněk a je také k těmto účelům nejčastěji používána v diagnostické praxi i v experimentálních podmínkách. Protilátka Ki-67 nebyla vhodná pro použití pro formolem fixované tkáň. Teprve později byly vyvinuté nové protilátky pro identifikaci exprese Ki-67, které byly schopny se navázat na Ki-67 antigen i po formo-



Obr. 10. CD68 (PGM-1) – imunohistochemické vyšetření. Mnohojaderné makrofágy jsou pozitivní silně (hnědý precipitát), mononukleární Langerhansovy buňky jsou pozitivní jen ojediněle, jádra dobarvena hematoxylinem.



Obr. 11. Antigen Ki-67 (MIB-1) – imunohistochemické vyšetření. Jaderná pozitivita (hnědý precipitát) Langerhansových buněk v korovém splavu lymfatické uzliny při LCH, jádra dobarvena hematoxylinem.

lové fixaci (MIB-1 a MIB-3). V současnosti je známo několik protilátek pro detekci exprese Ki-67, ale nejčastěji se používá monoklonální myší protilátka MIB-1. Výsledek imunohistochemické reakce s protilátkou Ki-67/MIB-1 je hodnocen procentuálním zastoupením pozitivních nádorových buněk.

Proliferační frakce posuzovaná podle positivity Ki-67 je u LCH variabilní a podle různých autorů kolísá od 3 % do 25 % Langerhansových buněk [50]. Paradoxně je často pozorováno pouze malé množství mitóz, jak jsme již uvedli. Významně vyšší procento Ki-67 pozitivních Langerhansových

Tab. 2. Nejčastější jednotky v diferenciální diagnóze LCH.

Kožní onemocnění

dětský věk	atopický exém, seborrhoická dermatitida s příměsí CD1a pozitivních buněk jiná histiocytární onemocnění – juvenilní xantogranulom
dospělí pacienti	monocytní a myelomonocytní leukemie některé chronické dermatitidy lymfomatoidní papulóza/ALCL* mycosis fungoides

Kostní infiltráty LCH

nenádorová onemocnění	chronická hnisavá osteomyelitida
nádorová onemocnění	chondroblastom Hodgkinův lymfom (metastázy) ALCL*

Lymfatické uzliny

nenádorová onemocnění	reaktivní sinusová histiocytóza dermatopatická lymfadenopatie syndrom Rosai-Dorfman reaktivní hyperplazie Langerhansových buněk (viz text)
nádorová onemocnění	ALCL* Hodgkinův lymfom, klasická forma periferní T lymfom sarkomy z dendritických buněk metastatické nádory (melanom, některé karcinomy)

Plicní infiltráty z Langerhansových buněk

dospělí pacienti	histiocytóza z Langerhansových buněk u kuřáků
------------------	---

*anaplastický velkobuněčný lymfom

buněk bylo zaznamenáno u nemocných s multiorgánovým onemocněním než u forem monoorgánových [51]. Využitelnost posouzení proliferativní aktivity u LCH je však stále málo prozkoumaná. Z našich zkušeností vyplývá, že vyšší proliferativní obrát např. u monoorgánových forem může signalizovat schopnost progresu onemocnění, recidivy nebo potenciální progresi a diseminaci (obr. 11). Konzultčně jsme vyšetřovali lymfatické uzliny u 26letého muže s krční lymfadenopatií, u kterého četné Langerhansovy buňky vykazovaly mitotickou aktivitu a Ki-67/MIB-1 bylo pozitivní v 10 % a fokálně až ve 30 % nádorové populace. Z toho důvodu jsme se obávali progresu nemoci. Ta měla skutečně progresivní průběh s postižením dalších lymfatických uzlin. Langerin byl v tomto případě pozitivní prakticky v celé populaci patologických Langerhansových buněk, nález signalizující

nezralost těchto buněk a pravděpodobný blok diferenciace. Využití proliferativních markerů u LCH bude nepochybně oceněno teprve s průběhem analýzy většího množství případů.

Sarkom z Langerhansových buněk

Kromě typické histiocytózy z Langerhansových buněk WHO klasifikace oficiálně vyčleňuje případy s atypickými Langerhansovými buňkami odpovídající nádoru vysokého stupně malignity – sarkom z Langerhansových buněk [2]. Jde o vzácné onemocnění, se kterým sami nemáme zkušenosti. Do roku 2007 bylo zaznamenáno 20 případů s přijatelně charakterizovanou nádorovou populací [52]. Sarkom z Langerhansových buněk postihuje dospělé osoby, častěji ženy. Vyskytuje se v kůži a v měkkých tkáních, při multiorgánové manifestaci postihuje lymfatické uzliny, játra, slezinu, kosti a plíce. Při diagnóze bývá onemocnění často již

v pokročilém stadiu. Nádorové buňky mají charakteristiky pleomorfního maligního nádoru s vysokým mitotickým obrátem. K identifikaci buněk je nutné použít imunohistochemické vyšetření, jehož výsledky jsou svým spektrem průkazu antigenů obdobné jako u klasické LCH, avšak exprese markerů jsou uváděné jako fokální a slabší. Ultrastrukturní vyšetření má význam v průkazu Birbeckových granul, pokud se neaplikuje protilátka proti langerinu. Z tohoto pohledu, i když máme jen zprostředkované znalosti o obrazu této formy LCH, lze usuzovat, že případy LCH s vysokou proliferativní frakcí u dospělých by mohly být blízké sarkomu z Langerhansových buněk. Sarkom by pak mohl být vystupňovanou formou s vysokou proliferativní aktivitou za současné ztráty buněčné kontroly reparativních mechanismů a apoptotické aktivity Langerhansových buněk [53].

Diferenciální diagnóza histiocytózy z Langerhansových buněk

Vzhledem k širokému spektru věkového výskytu LCH je i histopatologická diferenciální diagnóza rozmanitá. V raném dětském věku je třeba při postižení kůže odlišit seborrhoickou dermatitidu, juvenilní xantogranulom a případně tak zvané self-healing histiocytózy [54], u dospělých např. kožní formy lymfomů – lymfomatoidní papulóza/anaplastický velkobuněčný lymfom (ALCL) nebo mycosis fungoides. Při uzlinovém postižení je nutné vyloučit reaktivní hyperplazie Langerhansových buněk (např. při drenáži nádorových onemocnění do spádových lymfatických uzlin [55]), reaktivní sinusovou histiocytózu u zánětů, tzv. sinusovou histiocytózu s masivní lymfadenopatií (syndrom Rosai-Dorfman) [56], granulomatózní lymfadenitidy a z maligních onemocnění zejména klasickou formu Hodgkinova lymfomu, ALCL a sarkomy z dendritických buněk. U kostních projevů je v chronickém stadiu LCH s výskytem pěníných makrofágů možná záměna s chronic-

kou hnisavou osteomyelitidou. Z našich zkušeností s LCH v kostní oblasti víme, že je možná záměna s chondroblastomem (S-100 protein pozitivní), zejména při biopsiích malého rozsahu bez přítomnosti diferencující se chrupavky. Samostatnou kapitolu představují plicní histiocytózy z Langerhansových buněk u dospělých pacientů, kuřáků, které mají polyklonální povahu a reaktivní charakter [57,58]. Přehled diferenciální diagnózy LCH podává tab. 2.

Závěr

Přes pokroky v charakterizaci Langerhansových buněk a v diagnostice LCH zůstává stále otevřené pole k řešení otázek, jež se rodí s novými poznatky. Není dosud jasná především sama podstata nemoci. Nevíme, zda jde o klonální onemocnění primárně vznikající na základě mutačních kroků nebo zda je LCH chorobou vznikající deregulací Langerhansových buněk antigenními stimuly, následným růstem populace Langerhansových buněk a s klonálním zvratem až v další fázi vývoje choroby. Dosud známé změny na chromozomech mohou být pouze druhotné. Etiologie je tedy také stále nejasná. Zůstává otevřená otázka proliferace Langerhansových buněk a faktory jejich lokální stabilizace v monoorgánové podobě (kostní, uzlinové, kožní) a faktory, které umožňují diseminaci do lymforetikulárních a hemopoeticky aktivních tkání ve formách multiorgánových. Není také jasný tzv. homing fenomén buněk Langerhansovy histiocytózy, a tím zůstává otevřená otázka, jaké faktory umožní např. kolonizaci plic v rámci systémové LCH dětí a naopak, proč tyto buňky v rámci generalizace neprokazujeme např. v ledvinách. Je pravděpodobné, že se také bude lépe definovat vztah klasické LCH a sarkomu z Langerhansových buněk a přechodné formy – viz zmíněný případ pacienta s LCH s vysokou proliferací frakcí. Z hlediska hledání nových přístupů k léčbě nabývá na významu přesná diagnostika a charakterizace

buněk LCH (obdobně jako u jiných onkologických onemocnění). Patolog v této situaci musí hledat cesty nejen ve zjemnění diagnózy s charakterizací Langerhansových buněk, ale ve spolupráci s imunology je třeba zkoumat také vztahy mezi subpopulacemi těchto buněk (např. langerin pozitivní vs negativní) a vztahy cytokinové komunikace mezi buňkami dendritickými, tkáňovými histiocyty a osteoklasty a mezi populacemi lymfoidních buněk. Zde by mohl být klíč k rozpoznání chování této „záhadné“ histiocytózy, původně koncipované jako „neznámá veličina“ – histiocytóza X. I když mnohé otázky zůstávají zatím nezodpovězeny, je možné říci, že rekapitulace poznatků více než jednoho století zájmu o tuto chorobu ukazuje, že se naše poznání posunulo podstatně kupředu.

Práce byla podpořena projekty MZO FNM 2005/6704 a MSM 0021620813.

Literatura

- Adam Z, Pour L, Krejčí M et al. Histiocytóza z Langerhansových buněk u osob dospělého věku – nemoc s mnoha tvářemi. Zkušenosti jednoho pracoviště a přehled projevů nemoci. *Vnitř Lék* 2008; 54: 1063–1080.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 2nd ed. Lyon: IARC Press 2008.
- Adam Z, Krejčí M, Pour L. Histiocytární choroby. *Vnitř Lék* 2009; 55: 109–124.
- Fraser J. Skeletal lipoid granulomatosis (Hand-Shüller-Cristian's Disease). *Br J Surg* 1935; 22: 800–824.
- Abt AF, Denenholz EJ. Letterer-Siwe's disease: Splenohepatomegaly associated with widespread hyperplasia of nonlipoid-stroing macrophages. Discussion of the so-called reticulo-endothelioses. *Am J Dis Child* 1936; 51: 499–522.
- Otani S, Ehrlich JC. Solitary granuloma of bone: simulating primary neoplasm. *Am J Pathol* 1940; 16: 479–490.
- Lichtenstein L, Jeffe HL. Eosinophilic granuloma of bone: with report of a case. *Am J Pathol* 1940; 16: 595–604.
- Wallgren A. Systemic reticuloendothelial granuloma: Nonlipod reticuloendotheliosis and Schuller-Christian disease. *Am J Dis Child* 1940; 60: 471–500.
- Farber S. The nature of "solitary eosinophilic granuloma" of bone. *Am J Pathol* 1941; 17: 625–629.
- Green WT, Farber S. "Eosinophilic or solitary granuloma" of bone. *J Bone Joint Surg* 1942; 24: 499–526.
- Mallory TB. Pathology: Diseases of Bone. *N Engl J Med* 1942; 227: 955–960.
- Laymon CW, Sevenants JJ. Systemic reticuloendothelial granuloma; comparison of Letterer-Siwe disease, Schueller-Christian disease and eosinophilic granuloma. *Arch Derm Syphilol* 1948; 57: 873–890.
- Dennis JW, Rosahn PD. The primary reticulo-endothelial granulomas, with report of an atypical case of Letterer-Siwe's disease. *Am J Pathol* 1951; 27: 627–653.
- Lichtenstein L. Histiocytosis X, Integration of eosinophilic: granuloma of bone, "Letterer-Siwe disease", and "Schüller-Christian disease" as related manifestations of a single nosologic entity. *Arch Pathol* 1953; 56: 84–102.
- Birbeck MS, Breathnach AS, Everall JD. An electron microscope study of nasal melanocytes and high-level clear cells (Langerhans cells) in vitiligo. *J Invest Dermat* 1961; 37: 51–63.
- Basset F, Turiaf MJ. Identification par la microscopie électronique de particules de nature probablement virale dans les liaisons granulomateuses d'une histiocytose "X" pulmonaire. *C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D* 1965; 261: 3701–3703.
- Basset F, Nezelof C, Turiaf J. Presence en microscopie électronique de structures filamenteuses originales dans les lésions pulmonaires et osseuses de l'histiocytose x. Etat actuel de la question. *Bull Mem Soc Med Hop Paris* 1966; 117: 413–426.
- Nezelof C, Basset F, Rousseau MF. Histiocytosis X histogenetic arguments for a Langerhans cell origin. *Biomedicine* 1973; 18: 365–371.
- Nezelof C, Barbey S. Histiocytosis: nosology and pathobiology. *Pediatr Pathol* 1985; 3: 1–41.
- Yu RC, Chu C, Buluwela L et al. Clonal proliferation of Langerhans cells in Langerhans cell histiocytosis. *Lancet* 1994; 343: 767–768.
- Willman CL, Busque L, Griffith BB et al. Langerhans'-cell histiocytosis (histiocytosis X) – a clonal proliferative disease. *N Engl J Med* 1994; 331: 154–160.
- Yousem SA, Colby TV, Chen YY et al. Pulmonary Langerhans' cell histiocytosis: molecular analysis of clonality. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 630–636.
- Schouten B, Egeler RM, Leenen PJ et al. Expression of cell cycle-related gene products in Langerhans cell histiocytosis. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002; 24: 727–732.
- Betts DR, Leibundgut KE, Feldges A et al. Cytogenetic abnormalities in Langerhans cell histiocytosis. *Br J Cancer* 1998; 77: 552–555.

25. Murakami I, Gogusev J, Fournet JC et al. Detection of molecular cytogenetic aberrations in Langerhans cell histiocytosis of bone. *Hum Pathol* 2002; 33: 555–560.
26. Histiocytosis syndromes in children. Writing Group of the Histiocyte Society. *Lancet* 1987; 1: 208–209.
27. da Costa CE, Annels NE, Faaij CM et al. Presence of osteoclast-like multinucleated giant cells in the bone and nonostotic lesions of Langerhans cell histiocytosis. *J Exp Med* 2005; 201: 687–693.
28. Kodet R, Elleder M, Šmelhaus V et al. Diseminovaná histiocytóza X. *Česk Patol* 1984; 20: 19–26.
29. Williams JW, Dorfman RF. Lymphadenopathy as the initial manifestation of histiocytosis X. *Am J Surg Pathol* 1979; 3: 405–421.
30. Favara B. Histopathology of the liver in histiocytosis syndromes. *Pediatr Pathol Lab Med* 1996; 16: 413–433.
31. Kodet R, Zítková M. Morfologické a rentgenologické plicní nálezy při diseminované histiocytóze X. *Česk Pediatr* 1985; 40: 634–638.
32. Mierau GW, Favara BE, Brenman JM. Electron microscopy in histiocytosis X. *Ultrastruct Pathol* 1982; 3: 137–142.
33. Elleder M. Activity of alpha-d-mannosidase in human Langerhans epidermal cells. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1975; 19: 93–96.
34. Novak N, Gros E, Bieber T et al. Human skin and oral mucosal dendritic cells as 'good guys' and 'bad guys' in allergic immune responses. *Clin Exp Immunol* 2010; 161: 28–33.
35. Toebak MJ, Gibbs S, Bruynzeel DP et al. Dendritic cells: biology of the skin. *Contact Dermatitis* 2009; 60: 2–20.
36. Salama I, Malone PS, Mihaimeed F et al. A review of the S-100 proteins in cancer. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 357–364.
37. Safran M, Dalah I, Alexander J et al. GeneCards Version 3: the human gene integrator. Database (Oxford) 2010; Print 2010.
38. Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G. S-100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature). *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 1111–1122.
39. Park HR, Min SK. Expression of S-100A2 and S-100B proteins in epithelial tumors of the skin. *J Cutan Pathol* 2003; 30: 373–378.
40. Nishikawa Y, Sato H, Oka T et al. Immunohistochemical discrimination of plasmacytoid dendritic cells from myeloid dendritic cells in human pathological tissues. *J Clin Exp Hematop* 2009; 49: 23–31.
41. Shrestha P, Muramatsu Y, Kudeken W et al. Localization of Ca(2+)-binding S-100 proteins in epithelial tumours of the skin. *Virchows Arch* 1998; 432: 53–59.
42. Krenács L, Tiszalvicz L, Krenács T et al. Immunohistochemical detection of CD1a antigen in formalin-fixed and paraffin-embedded tissue sections with monoclonal antibody. *J Pathol* 1993; 171: 99–104.
43. Salamero J, Bausinger H, Mommaas AM et al. CD1a molecules traffic through the early recycling endosomal pathway in human Langerhans cells. *J Invest Dermatol* 2001; 116: 401–408.
44. Salio M, Silk JD, Cerundolo V. Recent advances in processing and presentation of CD1 bound lipid antigens. *Curr Opin Immunol* 2010; 22: 81–88.
45. Varki A, Cummings RD, Esko JD et al. eds. *Essentials of Glycobiology*, Cold Spring Harbor. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press 2009.
46. Valladeau J, Duvert-Frances V, Pin JJ et al. The monoclonal antibody DCGM4 recognizes Langerin, a protein specific of Langerhans cells, and is rapidly internalized from the cell surface. *Eur J Immunol* 1999; 29: 2695–2704.
47. Valladeau J, Ravel O, Dezutter-Dambuyant C et al. Langerin, a novel C-type lectin specific to Langerhans cells, is an endocytic receptor that induces the formation of Birbeck granules. *Immunity* 2000; 12: 71–81.
48. Thépaut M, Valladeau J, Nurisso A et al. Structural studies of langerin and Birbeck granule: a macromolecular organization model. *Biochemistry* 2009; 48: 2684–2698.
49. Gerdes J, Schwab U, Lemke H et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983; 31: 13–20.
50. Egeler RM, van Halteren AG, Hogendoorn PC et al. Langerhans cell histiocytosis: fascinating dynamics of the dendritic cell-macrophage lineage. *Immunol Rev* 2010; 234: 213–232.
51. Amir G, Weintraub M. Association of cell cycle-related gene products and NF-kappaB with clinical parameters in Langerhans cell histiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50: 304–307.
52. Bohn OL, Ruiz-Argüelles G, Navarro L et al. Cutaneous Langerhans cell sarcoma: a case report and review of the literature. *Int J Hematol* 2007; 85: 116–120.
53. Bank MI, Rengtved P, Carstensen H et al. p53 expression in biopsies from children with Langerhans cell histiocytosis. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002; 24: 733–736.
54. Kodet R, Elleder M, De Wolf-Peeters C et al. Congenital histiocytosis: a heterogeneous group of diseases, one presenting as so-called congenital self-healing histiocytosis. *Pathol Res Pract* 1991; 187: 458–466.
55. Safali M, McCutcheon JM, Wright DH. Langerhans cell histiocytosis of lymph nodes: draining a papillary carcinoma of the thyroid. *Histopathol* 1997; 30: 599–603.
56. Kodetová D, Kodet R, Syrůček M et al. Sinusová histiocytóza s masivní lymfadenopatií – diseminovaná forma syndromu Rosai-Dorfman. *Česk Patol* 1996; 32: 53–59.
57. Abbott GF, Rosado-de-Christenson ML, Franks TJ et al. From the archives of the AFIP: pulmonary Langerhans cell histiocytosis. *Radiographics* 2004; 24: 821–841.
58. Tazi A. Adult pulmonary Langerhans' cell histiocytosis. *Eur Respir J* 2006; 27: 1272–1285.

prof. MUDr. Roman Kodet, CSc.

www.lf2.cuni.cz

e-mail: roman.kodet@lfmotol.cuni.cz

Doručeno do redakce: 9. 9. 2010