

TGF- β 1이 사람의 말초혈액 단구에서 랑게르한스세포로의 분화에 미치는 영향

신종란¹ · 강진문² · 이민걸^{1,2}

연세대학교 의과대학 피부과학교실², 피부생물학 연구실¹

The Effect of TGF- β 1 on the Differentiation of Langerhans Cells from Human Peripheral Blood Mononuclear Cells

Jong-Lan Shin¹, Jin-Moon Kang², and Min-Geol Lee^{1,2}

Department of Dermatology² and Cutaneous Biology Research Institute¹, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea.

Langerhans cells (LC), dendritic cells (DC) in the epidermis, are potent antigen presenting cells. Epidermal LC can be generated *in vitro* from CD34+ hematopoietic cell, and dermal DC can be generated *in vitro* from CD14+ mononuclear cells. Since CD14+ mononuclear cells constitutes about 5 to 10% of the peripheral blood mononuclear cells, and CD34+ cells less than 0.1%, it would greatly facilitate the study of Langerhans cells if they could be generated from the CD14+ mononuclear cells.

It is well known that TGF- β 1 is a critical cytokine for differentiation of LC. Recently, it has been demonstrated that TGF- β 1 can induce further differentiation of monocyte derived dendritic cells to epidermal LC although some do not agree that TGF- β 1-treated monocyte-derived DC are identical to LC. Our intention was to culture LC from human peripheral blood monocytes using TGF- β 1 and compare their characteristics with those of the monocyte-derived DC.

Human peripheral blood monocytes were cultured in the presence of ① GM-CSF and IL-4, ② GM-CSF, IL-4 and TGF- β 1 (1 ng/ml), ③ GM-CSF, IL-4, and TGF- β 1 (10 ng/ml) for 7 days. CD1a, CLA, E-cadherin expressions on DC were increased in the presence of TGF- β 1 and their expressions were proportionally increased according to the increasing concentrations of TGF- β 1. However, the expressions of CD83 and HLA-DR on DC were decreased when TGF- β 1 was added. Endocytic capacity was assessed by examining DCs incubated with FITC-dextran using flow cytometry and the capacity was slightly decreased when TGF- β 1 was added to the culture. Our data suggest that LC may be induced from peripheral blood monocyte in response to TGF- β 1 stimulation.

Key words: Langerhans cells, Dendritic cells, TGF- β 1

* 본 논문의 요지는 2001년도 제11차 대한피부연구학회 춘계학술대회(구연발표) 연제로 발표되었음.

저자연락처 : 이민걸, (120-752) 서울특별시 서대문구 신촌동 134번지, 연세대학교 의과대학 피부과학교실, 피부생물학 연구소,
Tel. 02) 361-5720 / Fax. 02) 393-9157 / E-mail: mglee@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

수상돌기 세포 (Dendritic cell)는 피부, 임파절, 비장, 가슴샘 등에 존재하는 강력한 항원전달세포 (antigen presenting cell)로 naive T cell을 자극하여 일차면역반응을 유발한다¹⁻³.

랑게르한스세포 (Langerhans cell)는 표피, 기관지, 점막에 존재하는 수상돌기세포이다⁴. 랑게르한스세포는 Fc receptor와 같이 antigen capturing에 필요한 분자를 다량 발현하고⁵ 있어 피부에 알레르겐이나 면역자극물질을 처리하면 그 항원을 잡아먹고 주위 임파절의 T 임파구가 많은 지역으로 이동하여 T 임파구에 항원을 전달하면서 T 임파구를 활성화시킨다. 피부의 수상돌기세포에는 표피의 랑게르한스세포와 진피의 수상돌기 세포가 있지만, 표피의 랑게르한스세포가 외부에서 들어온 항원을 전달하는데 일차적으로 중요한 역할을 하리라 생각된다.

생체내에서 강력한 면역조절인자로 알려져 있는 TGF- β 1은 *in vivo*와 *in vitro*에서 랑게르한스세포로의 분화에 중요한 역할을 한다^{6,7}. TGF- β 1은 사람의 제대혈액에서 분리한 CD34양성조혈모세포 (hematopoietic progenitor)^{7,8}와 쥐의 랑게르한스세포 전구체⁹⁻¹¹로 부터 표피의 랑게르한스세포와 비슷한 수상돌기세포로 배양하는데 절대적으로 필요하다¹². 또한, TGF- β 1이 발현되지 않은 쥐의 표피에 랑게르한스세포가 관찰되지 않는 것으로¹³ 보아도 TGF- β 1이 랑게르한스세포 형성에 중요한 역할을 함을 알 수 있다.

피부의 수상돌기세포는 제대혈액, 골수와 말초혈액에 존재하는 CD34양성조혈모세포로부터 만들어진다^{14,16}. CD34양성 조혈모세포는 CD1a와 CD14양성세포 전구체로 분화하는데 TGF- β 1은 CD14양성세포 전구체가 E-cadherin (양성), Lag (양성), CD68 (음성), FactorXIIIa (음성)의 랑게르한스세포로 분화하는데 꼭 필요하다¹². 이와 같이 랑게르한스세포는 CD34양성조혈모세포로부터 배양할 수 있으나, CD34양성조혈모세포는 그 수가 매우 적어 랑게르한스세포의 배양에 어려움이 많았다. 그러나 말초혈액 단구에 GM-CSF와 IL-4를 첨가하여 배양하면 진피의 수상돌기 형태의 세포¹⁷가 만들어지지만 GM-CSF와 IL-4와 함께 TGF- β 1을 첨가하여 배양하면 랑게르한스세포가 배양된다는 보고가 있었다¹⁸. 그래서 본 연구자들은 랑게르한스세포를 배양하고 싶었지만 충분한 수의 CD34양성조혈모세포를 얻기 어려워, 진피의 수상돌기세포만을 말초혈액 단구로부터 배양해 오다가 말초혈액단구에서 GM-CSF, IL-4와 함께 TGF- β 1을 첨가하여 배양하면 랑게르한스세포로 배양할 수 있는지를 확인하기 위해 본 실험을 시작하였다.

재료 및 방법

1. 배양액 및 사이토카인

본 실험에서 배양액은 RPMI 1640 (Gibco, Grand Island, NY, USA)에 antibiotic-antimycotic (100 \times , Gibco) 및 56 $^{\circ}$ C로 비동화시킨 10% 우태아혈청 (Gibco), 800 U/ml 농도의 GM-CSF (Novartis, Frimley, UK), 1000 U/ml 농도의 IL-4 (Strathmann Biotech, Hannover, Germany), TGF- β 1 (R&D System, Minneapolis, USA)을 첨가하여 사용하였다.

2. 수상돌기 세포의 배양

1) 말초혈액 단핵세포를 얻는 방법

정상인의 혈액 20ml를 Ficoll / Hypaque (density: 1.0777 g/ml, Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) 용액에 부은후 15분간 원심분리를 하였다 (200 \times g). 원심분리후 중간층의 세포를 조심스럽게 모아 5 mM EDTA가 포함된 PBS용액으로 5차례에 걸쳐 세척하여 (200g, 8 min) 말초혈액 단핵세포를 얻었다.

2) 세포 유착법을 통한 단구의 분리

분리된 말초혈액 단핵세포를 3%혈장이 첨가된 RPMI 1640용액에 다시 부유시킨 후, 6-well tissue culture plate에서 1시간동안 정치시킨다 (37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂). 1시간 후 유착되지 않은 부유상태의 세포는 가볍게 PBS를 3회 세척하여 제거하고 바닥에 유착되어 있는 세포를 배양에 이용하였다¹⁹.

3) 미성숙 수상돌기 세포의 배양

6-well tissue culture plate 바닥에 유착되어 있는 세포를 3 ml의 배양액과 800 U/ml GM-CSF, 1000 U/ml IL-4를 넣고 37 $^{\circ}$ C의 5% CO₂배양기에서 배양하였다. 배양 2, 4, 6일째, 각 well의 배양 상층액을 1 ml씩 제거한 후 새로운 1600 U/ml의 GM-CSF와 1000 U/ml의 IL-4이 포함된 배양액을 1 ml씩 첨가하였다. TGF- β 1은 1 ng/ml과 10 ng/ml의 농도로 GM-CSF, IL-4와 함께 배양 첫날부터 2, 4, 6일째에 첨가하였다. 배양 7일째에 비유착 세포를 수집하여 GM-CSF와 IL-4만으로 배양한 군과 GM-CSF, IL-4에 TGF- β 1을 첨가한 군의 세포를 얻어 이들의 특성을 비교, 관찰하였다.

3. 수상돌기세포 수 측정

GM-CSF와 IL-4로 배양한 군과 GM-CSF와 IL-4에 TGF- β 1을 1 ng/ml, 10 ng/ml로 첨가하여 배양한 군의 수상돌기세포 수를 tryphan blue 염색을 통해 측정하였다.

4. 유세포계측기를 이용한 수상돌기세포의 특성 분석

7일간 배양한 세포를 PBS용액으로 두번 세척한 후 CD1a (Becton Dickinson, San Jose, USA), cutaneous leukocyte antigen (Becton Dickinson), E-cadherin (HECD-1, M. Takeichi교수, 일본교토대학), CD83 (Serotec, Oxford, England), HLA-DR (Becton Dickinson)에 대한 1차 항체를 적정농도로 희석하여 첨가하고 30분 동안 4℃에서 배양하였다. 대조군으로 mouse Ig G₁ (Southern Biotechnology Associates, Birmingham, USA)을 사용했다. 0.5% BSA가 포함된 PBS용액 (0.5% BSA/PBS)으로 2번 세척한 후 적정농도의 FITC-conjugated anti-mouse immunoglobulin (Biosource, Camarillo, CA, USA)을 2차 항체로 첨가하고, 30분 동안 4℃에서 배양한 후 2번 세척하고 FACScan (Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA)을 이용하여 유세포 분석을 시행하였다.

5. 수상돌기세포의 TGF-β 1에 첨가 여부에 따른 세포내 이입의 차이 측정

수상돌기 세포의 세포내 이입능력의 차이를 알아보기 위해 세포 배양 7일에 세포를 얻었다. 얻은 배양 세포를 1mg/ml 농도의 FITC-dextran (42,000 Da, Sigma, St. Louis, USA)을 넣은 후 각각을 37℃ CO₂배양기와 4℃의 냉장고에 분리하여 넣고 1시간 동안 배양한 후 0.5% BSA/PBS로 2번 세척하여 유세포 분석을 실시하였다.

결 과

1. 수상돌기세포의 수

말초혈액에서 분리한 단구에서 GM-CSF와 IL-4로 배양한 수상돌기세포에 TGF-β1을 첨가 또는 제외하여 배양한 7일째에 세포의 수를 비교하였다. GM-CSF와 IL-4로 7일간 배양한 수상돌기세포 (9.0 ± 1.8 × 10⁵ cell/ml)에 비해 배양 첫날부터 TGF-β1을 1 ng/ml과 10 ng/ml로 첨가 배양한 수상돌기 세포의 수는 각각 18.3 ± 3.3 × 10⁵ cell/ml, 11.7 ± 3.7 × 10⁵ cell/ml이었다 (Fig. 1).

2. TGF-β1 첨가에 따른 수상돌기세포의 표면항원 변화

GM-CSF와 IL-4로 배양한 수상돌기세포에 TGF-β1을 첨가 또는 제외하여 7일간 배양한 후, 랑게르한스세포에서 주로 발현되는 CLA, E-cadherin, 성숙 수상돌기세포에서 발현되는 CD83, 그리고 HLA-DR과 CD1a의 표면항원을 비교하였다.

TGF-β1을 첨가하지 않은 군에서 CD1a양성세포는 30%로

매우 낮았으나 TGF-β1을 첨가한 군에서는 74%로 매우 높았다. CLA의 경우도 GM-CSF와 IL-4만으로 배양한 세포군에서 평균형광강도값이 196.3 ± 18.4인 반면에 TGF-β1을 첨가한 군의 값은 322.8 ± 46.1로 65%이상 더 높았다. 그리고 TGF-β1 없이 배양한 경우 E-cadherin양성세포는 20%였으나 TGF-β1을 첨가한 군에서는 40%로 증가하였다. 그러나 CD83의 발현은 TGF-β1을 첨가한 군에서 거의 발현하지 않았고, HLA-DR의 발현도 TGF-β1을 첨가한 군에서 평균형광강도 값은 356.6 ± 86.5로 첨가하지 않은 군의 753.3 ± 186.6에 비해 52% 정도 감소하는 양상을 보였다 (Fig. 2).

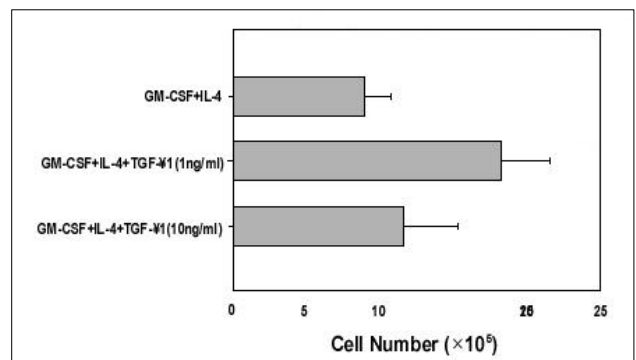


Fig. 1. The effects of TGF-β1 on the yield of monocyte derived dendritic cells.

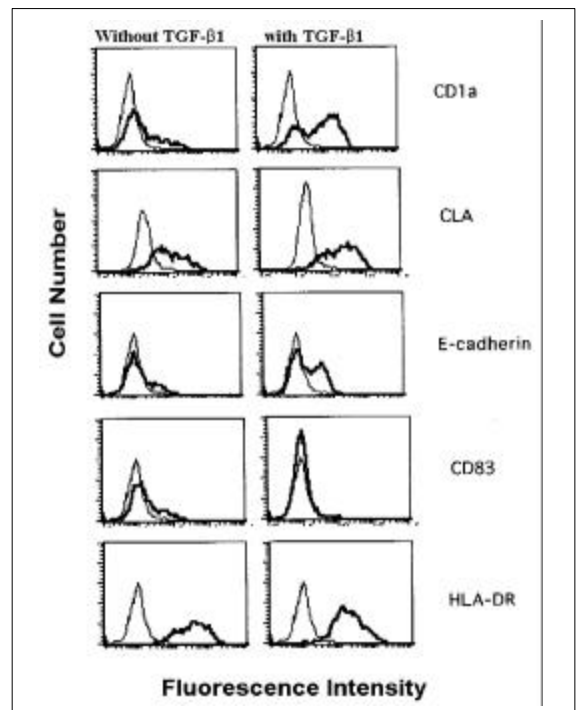


Fig. 2. Expression of CD1a, CLA, E-cadherin, CD83 and HLA-DR on the monocyte derived dendritic cells treated with TGF-β1 (10ng/ml).

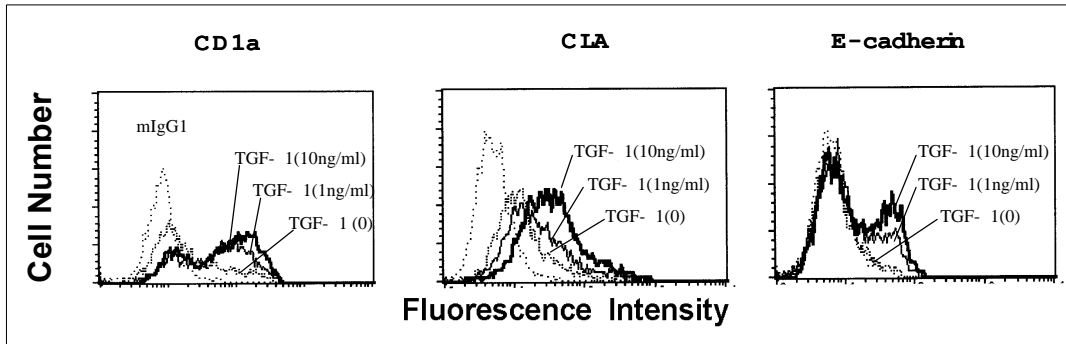


Fig. 3. Dose-dependent induction of CD1a, CLA, E-cadherin expression on the monocyte derived dendritic cells by TGF-β 1.

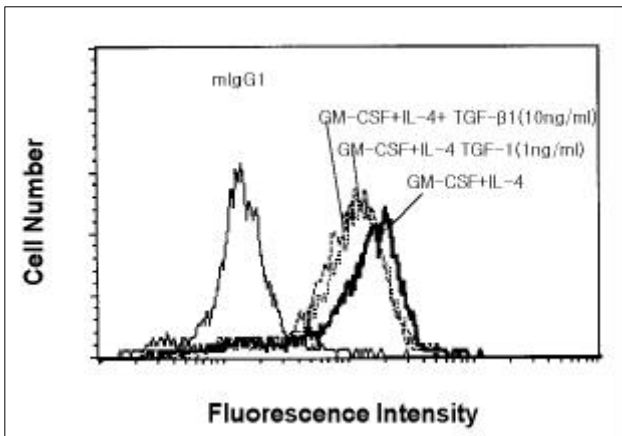


Fig. 4. FITC-dextran uptake by the monocyte derived dendritic cells treated with TGF-β 1.

3. TGF-β 1의 농도에 따른 수상돌기세포의 표면항원 변화

GM-CSF와 IL-4에 TGF-β 1을 첨가하여 배양하면, TGF-β 1의 농도가 1ng/ml일때 보다 10ng/ml일때 CD1a, CLA, E-cadherin의 발현은 모두 TGF-β 1의 농도에 따라 증가한 양상을 보였다(Fig. 3).

4. TGF-β 1 첨가에 따른 수상돌기세포의 세포내 이입 변화

TGF-β 1을 첨가하지 않은 군(148.8 ± 1.5)에 비해 첨가한 군의 평균형광강도값은 1ng/ml일 때 116.7 ± 4.8, 10ng/ml일때 115.2 ± 1.5로 각각 19%와 24% 세포내 이입이 감소하였지만, TGF-β 1농도에 따른 세포내 이입정도의 차이는 크지 않았다(Fig. 4).

고 찰

본 연구에서 말초혈액에서 분리한 단구에서 진피의 수상

돌기세포 분화에 필요한 GM-CSF와 IL-4에 TGF-β 1을 첨가하여 배양하면 랑게르한스세포로 분화하는지를 관찰하였다.

생체내에서 강력한 면역조절인자로 알려져 있는 TGF-β 는 25 kDa의 동종이형 단백질로 TGF-β 1, TGF-β 2, TGF-β 3의 세가지 형태로 구성된다. TGF-β 1은 혈소판, 대식세포, T세포, B세포, 가슴샘의 Hassall 소체 등에서 생성되고 피부에서는 각질형성 세포와 랑게르한스세포에 존재하여 랑게르한스세포의 생성에 중요하게 작용한다^{20,21}.

CD34양성조혈모세포를 GM-CSF와 TNF-α 가 첨가된 배양액에서 배양하면 CD1a+/CD14-세포와 CD1a-/CD14+세포로 분화되는데 CD1a+/CD14-세포는 TGF-β 1의 유무에 상관없이 표피의 랑게르한스세포로 분화하며, CD1a-/CD14+세포는 다시 CD14+/CD11b-와 CD14+/CD11b+세포로 분화되는데 여기에 TGF-β 1을 첨가하여 배양하면 CD14+/CD11b-세포는 표피의 랑게르한스세포로 분화하나 CD14+/CD11b+세포는 진피의 수상돌기세포로 분화하게 된다²¹. 그리고 사람 혈액의 수상돌기세포를 CD1a+/CD11c+, CD1a-/CD11c+, CD1a-/CD11c-세포의 세종류로 나누어 GM-CSF, IL-4, TGF-β 1의 존재하에 배양하면 CD1a+/CD11c+세포가 피부 랑게르한스세포의 성격을 가진 세포로 분화한다. 그래서 CD1a+/CD11c+세포가 랑게르한스세포의 직접적인 전구체일 것이라고 생각한다²². 그리고 최근, 사람의 단구를 이용해 표피의 랑게르한스세포 분화 연구가 진행되고 있다. Geissman 등은 GM-CSF, IL-4에 TGF-β 1을 첨가하여 사람의 말초혈액 단구를 배양하면 E-cadherin을 발현하면서, 배양한 세포의 26-33%가 Birbeck granule을 가지는 등 사람의 표피 랑게르한스세포의 전형적인 양상이 보임을 보고하면서 사람의 단구로부터 랑게르한스세포로의 분화가 가능함을 보고하였다¹⁸.

본 연구에서 GM-CSF와 IL-4에 첨가한 TGF-β 1의 농도에 따라 얻을 수 있는 수상돌기 세포의 수가 달랐다. 즉 GM-

CSF와 IL-4에 1 ng/ml의 TGF- β 1을 첨가한 군은 GM-CSF와 IL-4만으로 배양한 7일째의 수상돌기 세포에 비해 세포의 수가 2배로 증가되었고, 10 ng/ml의 농도에서도 약 30% 정도 그 수가 증가하였다. Strobl 등은 GM-CSF, TNF- α , stem cell factor가 포함된 혈청이 없는 배양액에 낮은 농도 (0.5 ng/ml)의 TGF- β 1을 첨가하면 높은 농도 (10 ng/ml)의 TGF- β 1을 첨가한 경우에서 보다 세포의 수가 증가하고 랑게르한스세포 표식 분자인 CD1a양성의 세포수가 증가함을 보고하였다⁷. 그리고 Kawamura 등도 GM-CSF, IL-4에서 배양한 수상돌기 세포와 비교해서 TGF- β 1을 첨가하여 7일간 배양한 수상돌기 세포의 수는 약 2배 더 많았다고 보고하였다²⁴. 이와같이 TGF- β 1을 첨가하면 GM-CSF와 IL-4만으로 배양한 경우와 비교해서 더 많은 수상돌기세포를 얻을 수 있음을 본 연구에서도 확인할 수 있었다.

표피의 랑게르한스세포는 각질형성세포와 함께 E-cadherin을 발현하는데 이 E-cadherin에 의해서 각질형성세포와 결합되어 표피에 붙어있다. 그리고 skin homing antigen인 CLA와 Lag Ag을 가지고 있으며 전자현미경으로 Birbeck granule을 관찰할 수 있다²⁵⁻²⁸. 진피의 수상돌기세포는 표피의 수상돌기세포인 랑게르한스세포와는 달리 E-cadherin, CLA, Lag Ag, Birbeck granule을 갖지 않는 점으로 서로 구별이 가능하다^{29,30}. 본 연구에서 말초혈액단구를 GM-CSF, IL-4로 배양하여 표면항원을 관찰했을 때 E-cadherin, CLA의 발현은 거의 되지 않는 것으로 보아 진피의 수상돌기세포와 비슷함을 알 수 있다. 그러나 GM-CSF, IL-4에 TGF- β 1을 함께 첨가하여 배양하면 E-cadherin, CLA, CD1a의 발현이 증가하여 랑게르한스세포로의 표면항원 발현양상을 보인다. 그리고 TGF- β 1의 농도가 증가할수록 각 표면항원의 발현이 함께 비례적으로 증가함을 알 수 있었다. 랑게르한스세포의 특징적인 표면항원인 E-cadherin은 TGF- β 1의 농도 증가에 따라 더 많이 발현됨이 보고된바 있다¹⁸.

또한 본 연구에서 CD83은 TGF- β 1을 첨가하지 않은 군에서 소량이 발현되나 TGF- β 1을 첨가하면 CD83의 발현은 관찰되지 않았다. HLA-DR의 발현도 TGF- β 1을 첨가했을 때 첨가하지 않은 군에 비해 평균형광강도가 감소하였다. Geissman 등과 Kawamura 등도 말초혈액의 단구에 TGF- β 1을 첨가하여 배양한 세포에서 CD80, CD86, CD83, HLA-DR의 발현이 감소하는 현상을 관찰하였다^{18,24}. 수상돌기세포의 성숙억제에 관하여 Riedl 등은 E-cadherin이 랑게르한스세포의 성숙을 방해하는 역할이 있다고 보고하였다²⁹. 제대혈액의 CD34양성세포에 GM-CSF, TNF- α , stem cell factor, Flt3 ligand, TGF- β 1을 첨가하여 1차 배양하면 E-cadherin이 발현하면서 세포의 뭉침현상을 볼 수 있다. 이렇게 뭉쳐 있는

세포를 인위적으로 분리시켜 TNF- α 나 CD40 ligand를 첨가하여 2차 배양하면, 분리하지 않고 뭉쳐져서 계속 배양된 세포에 비해 CD83과 CD86의 발현이 증가하여 성숙 수상돌기세포로 배양이 가능하였다. 그리고 인위적으로 분리한 세포에 anti-E-cadherin mAb를 첨가하면 E-cadherin을 활성화시켜 수상돌기세포의 성숙을 방해하였다³¹. 이와같이 수상돌기세포에서 E-cadherin의 발현이 증가하면, 수상돌기 세포의 성숙이 억제됨을 알 수 있었다. 수상돌기세포에 TGF- β 1을 첨가하면, E-cadherin의 발현이 증가되므로, 이 때문에 수상돌기세포의 성숙이 억제될 수 있으리라 생각한다. 이와같이 TGF- β 1은 면역반응을 억제하는 사이토카인⁹으로 랑게르한스세포의 성숙을 억제하는데도 관여할 것으로 생각된다. 그러나 Aiba 등은 사람의 말초혈액 단구로부터 GM-CSF, IL-4에 TGF- β 1을 첨가하여 배양한 수상돌기세포에 NiCl₂ 등의 함텐을 자극하면 CD83, CD86, MHC class I, II의 발현이 증가하여 수상돌기세포가 성숙됨을 보고하였다³². 이 보고로 볼 때, TGF- β 1이 TGF- β 1을 첨가하여 배양한 수상돌기세포의 성숙에 어떠한 역할을 할지에 관하여는 좀 더 많은 연구가 필요하리라 생각한다.

따라서 이상의 결과를 종합해 볼 때, 사람의 말초혈액에서 분리한 단구에 GM-CSF, IL-4와 TGF- β 1을 첨가하면 미성숙 랑게르한스세포로의 분화가 가능할 뿐 아니라, 더 많은 수의 수상돌기세포를 얻을 수 있음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Sallusto F, Lanzavecchia A. *Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor α* . J Exp Med 1994;179:1109-18
2. Steinman RM. *The dendritic cell system and its role in immunogenicity*. Annu Rev Immunol 1991;9:271-96
3. Banchereau J, Steinman RM. *Dendritic cells and the control of immunity*. Nature 1998;392:245-52
4. Langerhans P. *Über die nerven der menschlichen Laur*. Virchows Arch.(Pathol. Anat.) 1868;44:325-7
5. Sautes C, Teillaud JL, Hanau D, Bieber T. *Functions of Fc receptors on human dendritic Langerhans cells*. Int Rev Immunol 1997;6(1-2):187-203
6. Borkowski TA, Letterio JJ, Udey MC, et al. *A role for TGF- β 1 in Langerhans cell biology*. J Clin Invest 1997;100:575-81
7. Strobl H, Riedl E, Knapp W, et al. *TGF- β 1 promotes in vitro development of dendritic cells from CD34+hematopoietic*

- progenitors J Immunol 1996;157:1499-507
8. Strobl H, Bello-Fernandez C, Knapp W, et al. *Flt3 ligand in cooperation with TGF- β 1 potentiates in vitro development of Langerhans type dendritic cells and allows single-cell dendritic cell cluster formation under serum free conditions.* Blood 1997;90(4):425-34
 9. Yamaguchi Y, Tsumura H, Miwa M, Inaba K. *Contrasting effects of TGF- β 1 and TNF- α on the development of dendritic cells from progenitors in mouse bone marrow.* Stem cells 1997;15:144-53
 10. Yamaguchi Y. *Regulation of GM-CSF-induced dendritic cell development by TGF- β 1 and co-developing macrophages.* Microbiol Immunol 1998;42:627-37
 11. Zhang Y, Zang YY, Matsushima K, et al. *TGF- β 1 polarizes murine hematopoietic progenitor cells to generate Langerhans cell-like dendritic cells through a monocyte/macrophage differentiation pathway.* Blood 1999;93:1208-20
 12. Caux D, Massacrier C, Saeland S, et al. *Respective involvement of TGF- β and IL-4 in the development of Langerhans cells and non-Langerhans dendritic cells from CD34+ progenitors.* J Leuko Bio 1999;66:781-91
 13. Borkowski TA, Letterio JJ, Farr AG, Udey MC. *A role for endogenous TGF- β 1 in Langerhans cell biology: The skin of TGF- β 1null mice is devoid of epidermal Langerhans cells.* J Exp Med 1996;184:2417-22
 14. Caux C, Vanbervliet B, Banchereau J, et al. *CD34+hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to GM-CSF+TNF- α .* J Exp Med 1996;184:695-706
 15. Strunk D, Pappersberger K, Stingl G, et al. *Generation of human dendritic cells/Langerhans cells from circulating CD34+ hematopoietic progenitor cells.* Blood 1996;87:1292-302
 16. Strunk D, Egger C, Leitner G, Hanau D, Stingl G. *A skin homing molecule defines the Langerhans cell progenitor in human peripheral blood.* J Exp Med 1997;185:1131-6
 17. Lenz A, Heine M, Schuler G, Romani N. *Human and murine dermis contain dendritic cells.* J Clin Invest 1993;92:2587-96
 18. Geissmann F, Prost C, Monnet JP, Dy M, Brousse N, Hermine O. *TGF- β 1, in the presence GM-CSF and IL-4, induces differentiation of human peripheral blood monocyte into dendritic Langerhans cells.* J Exp Med 1998;187:961-6
 19. Choi GS, Kang JM, Lee MG. *Analysis of methods for the generation of dendritic cells from human peripheral blood monocytes.* Yonsei Med J 2000;41:642-50
 20. Nelson BJ, Ralph P, Green SJ, Nacy CA. *Differential susceptibility of activated macrophage cytotoxic effector reactions to the suppressive effects of TGF- β 1.* J Immunol 1991;146:1849-57
 21. Gruschwitz MS, Hornstein OP. *Expression of TGF- β on human epidermal dendritic cells.* J Invest Dermatol 1992;99:114-6
 22. Jaksits S, Kriehuber E, Charbonnier AS, et al. *CD34+ cell-derived CD14+precursor cells develop into Langerhans cells in a TGF- β 1-dependent manner.* J Immunol 1999;163:4869-77
 23. Ito T, Inaba M, Inaba K, et al. *A CD1a+/CD11c+subset of human blood dendritic cells is a direct precursor of Langerhans cells.* J Immunol 1999;163:1409-19
 24. Kawamura T, Qualbani M, Thomas EK, Orenstein JM, Blauvelt A. *Low levels of productive HIV infection in Langerhans cell-like dendritic cells differentiated in the presence of TGF- β 1 and increased viral replication with CD40 ligand-induced maturation.* Eur J Immunol 2001;31:360-8
 25. Tang A, Masayuki AA, Granger LG, Stanley JR, Udey MC. *Adhesion of epidermal Langerhans cells to keratinocytes mediated by E-cadherin.* Nature 1993;361:82-5
 26. Ross EL, Baker JN, Allen MH, et al. *Langerhans cell expression of the selectin ligand, sialyl Lewis x.* Immunology 81: 303-8
 27. Yasaka N, Furue M, Tamaki K. *Expression of cutaneous lymphocyte-associated antigen defined by monoclonal antibody HECA-452 on human Langerhans cells.* J Derm Sci 1996;11:19-27
 28. Birbeck M, Breathnach A, Everall J. *An electron microscopy study of basal melanocytes and high-level clear cells (Langerhans cells) in vitro.* J Invest Dermatol 1961;37:51-63
 29. Lenz A, Heine M, Schuler G, Romani N. *Human and murine dermis contain dendritic cells.* J Clin Invest 1993;92:2587-96
 30. Strunk D, Egger C, Leitner G, Hanau D, Stingl G. *A skin homing molecule defines the Langerhans cell progenitor in human peripheral blood.* J Exp Med 1997;185:1131-6
 31. Riedl E, Stockl J, Majdic O, et al. *Ligation of E-cadherin on in vitro-generated immature Langerhans type dendritic cells inhibits their maturation.* Blood 2000;96:4276-84
 32. Aiba S, Manome H, Yoshino Y, Tagami H. *In vitro treatment of human transforming growth factor- β 1-treated monocyte derived dendritic cells with haptens can induce the phenotypic and functional changes similar to epidermal Langerhans cells in the initiation phase of allergic contact sensitivity reaction.* Immunology 2000;101:68-75