ヒト扁桃胚中心での apoptosis

— tingible body macrophage を中心に —

川端五十鈴・田部 浩生

An Apoptosis in the Germinal Center of Human Palatine Tonsil

Isuzu Kawabata and Hiroo Tabe

(Saitama Medical Center, Saitama Medical School)

Apoptosis in the human tonsillar germinal center was studied by immunocytochemical methods. It is generally accepted that the germinal center of the lymphoid tissues plays an important role both in cell proliferation and cell death. Although many studies of cell proliferation have been reported, the mechanism of cell death is not yet well understood. According to recent studies, apoptosis indicates programmed cell death, not pathological death, and plays an important role in maintenance, immunity and development of life.

In 1885, Flemming reported hematoxin-stained dense bodies within the cell in the germinal center and named them tingible bodies.

Subsequent studies showed that the tingible body was a mass of nuclear chromatin from dead cells, and the cell containing tingible bodies was the macrophage, then called the tingible body macrophage.

This study investigated the relationship between tingible body macrophages and apoptosis. Tingible body macrophage and adjacent structures were examined by immunostaining. The results were as follows:

1. H.E. stained section : tingible body macrophage and tingible bodies were clearly shown. Tingible body was a hematoxin-stained granule.
2. Observation of apoptosis : immunostained apoptotic body was shown to be same as tingible body by comparing observations on H.E. stained sections.
3. Observation of macrophage : Tingible body macrophage was clearly observed by the CD68 immunostaining method.
4. Observation of S-100 protein positive cell : S-100 protein positive cells consist of large cytoplasm and long cytoplasmic processes. The latter are intermingled with each other to form a network around the tingible body macrophage.
5. Observation of B-cells : The immunostained B-cell is found near the tingible body macrophage.
6. Observation of T-cells : Immunostained T-cells were found in the germinal center, but did not contact the tingible body macrophage.

We discussed apoptosis of the tonsillar germinal center based on the findings cited above.

Key words : apoptosis, tonsil germinal center, tingible body, macrophage, immunostaining

はじめに

Keimzentrum すなわち胚中心は末梢リンパ組織の中で特異な形態を示す部位である。この胚中心は1885年 Flemming¹⁾ がその形態を記載して命名したものであり、その由来は胚中心に多数の細胞分裂像を見出して、細胞産生の中心と考えたからである。同時にこの論文の中で、いわゆる tingible body (可染小体) についても附図をまじえて詳細に記載しているが、その機能については不明であると述べている。その後の研究で tingible body は macrophage によって喰食処理された細胞核の断片であり、胚中心で不用となった細胞の処理機能が存在することがわかり、胚中心はリンパ球の産生部位 (birth place) と同時に死滅部位 (grave yard) の2つの機能をもつ組織と考えられるようになった²⁾³⁾。リンパ球産生に関して従来から多くの研究がおこなわれてきた。私共も BrdU を用いた免疫細胞学的方法で観察し、報告してきた⁴⁾⁵⁾。一方 macrophage を中心とする grave yard 説についてもいくつかの研究がおこなわれてきた。1980年 Wyllie ら⁶⁾ によって提唱された細胞の programmed death は近年 apoptosis の概念に発展し、生体の細胞調節機構として一般に認められるようになった。最近、apoptosis を形態学的に研究する方法として免疫染色法が開発され、apoptotic body の検出が可能となった⁷⁾⁸⁾。私共はヒト口蓋扁桃の胚中心にみられる macrophage について apoptotic body を免疫染色法で観察するとともに、2～3の免疫細胞学的検討をおこなったので、その所見を供覧し、若干の考察をおこなったので報告する。

研究材料と研究方法

研究材料：慢性扁桃炎、扁桃肥大の診断のもとに扁桃摘出術を施行した摘出口蓋扁桃を用いた。症例はおのの5例であり、また慢性扁桃炎症例では手術時に急性増悪などの急性発症期ではない。

研究方法：摘出口蓋扁桃は直ちに10%ホルマリンで固定、パラフィン包埋切片を作成した。切片は次の方法で染色して検鏡した。

1) tingible body の観察

通常の Hematoxylin-Eosin (HE) 染色標本を用いた。

2) apoptotic body の観察

Oncor 社の Apop Tag キットを用いて免疫染色し、検出した。Wijsman ら⁸⁾ の方法に順じて10%中性ホルマリン固定、パラフィン包埋した試料を用いた。切片は脱

パラしたあと、前処理として、proteinase K で処理した。洗浄後、terminal deoxy-nucleotidyl transferase (TdT) で処理をおこない、十分に洗浄後、切片に anti-digoxigenin-peroxidase を滴下して反応させた。その後、0.05% diaminobenzidine に H₂O₂ を加えた染色液で発色させて検鏡した。

3) tingible body macrophage の観察

中性ホルマリン固定、パラフィン包埋の試料を用いた。切片は avidin-biotin 法で免疫染色をおこなった。抗体は DAKO 社製の anti-human macrophage CD68 を用いた。

4) S-100 蛋白陽性細胞の観察

中性ホルマリン固定、パラフィン包埋の試料を用いた。切片は peroxidase-anti-peroxidase 法で免疫染色を施した。抗 S-100 蛋白ポリクローナル抗体は DAKO 社製のものをを用いた。

5) B-細胞の観察

中性ホルマリン固定、パラフィン包埋の試料を用いた。切片は peroxidase-anti-peroxidase 法で免疫染色を施した。抗体は DAKO 社製の anti-human B-cell monoclonal 抗体 CD20、ならびに Euro-Diagnostica 社製の anti-leukocyte monoclonal 抗体 MB1 を用いた。

6) T-細胞の観察

中性ホルマリン固定、パラフィン包埋の試料を用いた。切片は peroxidase-anti-peroxidase 法で免疫染色を施した。抗体は DAKO 社製の anti-human T-cell monoclonal 抗体 CD45RO、ならびに Euro-Diagnostica 社製の anti-leukocyte monoclonal 抗体 MT1 を用いた。

研究成績

1. 胚中心の細胞組織学的所見

ヒト口蓋扁桃の胚中心は円形あるいは橢円形を呈し、陰窩上皮の直下に存在する。HE 染色標本で観察すると(図1a)、濃く染色される暗調部と淡明に染色される明調部の2つに区別される。前者は小リンパ球が集合したものであり、円形の胚中心の中で陰窩上皮側に半月状に存在するので、リンパ外套あるいは暗殻とよばれる。一方、後者は明中心ともいわれ、胚中心の大部分を占め、大型のリンパ球、形質細胞、細網細胞などよりなり、その細胞構成は多彩である。

2. tingible body macrophage

HE 染色で淡明に染色される明中心の中で、さらに染

色性に乏しい部位があり、一見して抜けて無構造のように見え、しかもその形状が不整多角形を呈するので、夜空に輝く星にたとえられ、starry sky patternと呼ばれている部位が散在性に観察される。starry sky patternを拡大したものが図1b(矢頭)である。ここに大きな細胞があり、細胞質も大きく、細胞核も円形で大きい。核質は疎であり、通常1個の核小体があり、核の中心部、あるいは時に辺縁部にみられる。特徴的なことは細胞質の中にヘマトキシリンで濃染される大小不同の顆粒が存在することである。これがFlemming¹⁾の言うtingible bodyであり、この大型の細胞がtingible body macrophageである(図1b矢頭)。この細胞はtingible body macrophageの数が多し、形が大きくなる傾向にあった。tingible body macrophageに接して核がpyknosisをおこしたリンパ球、あるいは細胞核と思われる濃染する小体を数個もつ細胞がみられた。

3. 胚中心における apoptosis

図2aは図1aの隣接切片で、しかも図1で示した同じ胚中心のapoptosisの所見を示した。本免疫染色法では核が破壊され、クロマチンが濃縮したapoptotic bodyは暗褐色の小体として観察される。HE染色標本(図1a)と比較してみると、apoptotic bodyは胚中心にあり、また胚中心の中では暗殻ではなく、明中心に存在する。そして明中心の中では全体にわたって散在性にみられる。拡大してみると(図2b)暗褐色のapoptotic bodyは円形の顆粒状であり、大きさは大小不同である。また強く反応して強く染色反応を示すもの、あるいは染色程度が弱いものなどある。小型の方が染色反応の強い傾向が見られた。多くの場合、apoptotic bodyのまわりは空胞状に抜けてみえる。そしてこの空胞状の中に1個、あるいは数個のapoptotic bodyが見られる。HE染色標本と比較検討すると、apoptotic bodyはtingible bodyに相当するものと思われる。

4. 胚中心の macrophage の免疫染色所見

扁桃胚中心におけるCD68免疫染色の反応陽性細胞の所見を図3aに示した。反応陽性細胞は暗殻ではなく、明中心にのみ見られた。また明中心でも暗殻に接する部位では少ない。拡大してみると(図3b)、反応陽性細胞は隣接の細胞に比べて大きく、円形ないしは、橢円形を呈するが、不整多角形のものもある。核は染色されず、細胞質が反応陽性であるが、時に空胞状に無反応の部位がある。CD68免疫染色陽性細胞は胚中心内の分布状態、

細胞の形状からmacrophage、いわゆるtingible body macrophageと相当するものである。しかし、starry sky patternを示す部位にある細胞でこの反応を示さないものも散見された。

5. 胚中心内の S-100 蛋白陽性細胞

扁桃組織内でのS-100陽性細胞は陰窩上皮、濾胞間領域、胚中心など広く分布している。胚中心内の分布の様子を図4aに示した。S-100陽性細胞は暗殻では小リンパ球の間に極くまれに存在する。この細胞は円形を呈し、細胞突起はなく、また比較的大きな核をもっていた。明中心内での陽性細胞は暗殻直下には少なく、その他の部位では広く分布していた。陽性細胞の強拡大像を図4bに示した。本法では細胞質、細胞突起や細胞核も免疫染色されるので、細胞の形態がよくわかる。核は円形あるいは橢円形を呈し、比較的大型であり、その中央部に核小体が存在する。細胞質は核に比べて狭く、細胞突起を周囲にのばしている。突起は単極性、あるいは双極性のことが多いが、時に多極性にみえる場合もある。そして細胞突起はおたがいに吻合様に連絡しあい網目状構造を形成している。従来の研究^{9)~11)}からS-100陽性細胞はfollicular dendritic cellと考えられた。そしてその細胞突起は反応陰性のtingible body macrophageをとりかこみ、網目状構造の目の所にtingible body macrophageが存在した。しかし時には細胞自体がtingible body macrophageに接している所見もみられた。

6. tingible body macrophage 周辺のリンパ球

tingible body macrophageの周辺には多数のリンパ球が存在する。これらのリンパ球の同定をおこなった。B-リンパ球の証明にはモノクローナル抗体CD20とMB1の免疫染色を用いた。反応陽性細胞は胚中心の明中心ばかりでなく、暗殻にも多数認められた(図5a)。明中心を拡大してみると(図5b)、反応陽性細胞はtingible body macrophageの存在するstarry sky patternに接して多数認められた。一方、T-リンパ球の同定にはモノクローナル抗体CD45 UCHL-1とMT1を用いた。反応陽性細胞は胚中心の明中心にも暗殻にも認められたが、その数は極めて少なかった(図6a)。明中心を拡大したものを図6bに示した。反応陽性細胞は散在性にみられたが(図6b、矢印)、tingible body macrophageの周辺にみられることはまれであった。

図1 扁桃胚中心(HE染色)

扁桃胚中心は円またはダ円形で、小リンパ球より構成される暗調の暗殻(D)と中央部の明調の明中心(L)より成る。明中心ではさらに染色性の低部分が散在し、starry sky patternを示す(図1a弱拡大)。図1bは明中心の強拡大像でstarry sky patternのtingible body macrophageを示す。tingible bodyを有するmacrophageもみられる(矢頭)。

図2 胚中心のapoptosis

図1の隣接切片で、同じ胚中心である。apoptotic bodyは暗殻(D)ではなく、明中心(L)に多くみられる(図2a弱拡大)。図2bは強拡大像で、apoptotic bodyは暗褐色の円形の顆粒である(矢頭)。

図3 胚中心のmacrophage

CD68免疫染色反応陽性のmacrophageは暗殻(D)ではなく、明中心(L)に存在している(図3a弱拡大)。図3bは強拡大像であり、染色反応陽性細胞はstarry sky patternに一致して存在する(矢頭)。

図4 胚中心の S-100 蛋白陽性細胞

陽性細胞は暗殻 (D) には少なく、明中心 (L) に広く分布している (図 4 a 弱拡大). 図 4 b は強拡大像で、明中心の陽性細胞は細胞質より細胞突起を出し、細胞突起はおたがいに吻合して網目状構造をなし、網目状の目の所に tingible body macrophage がみられる (矢印).

図5 胚中心の B-細胞の分布

B-細胞は暗殻 (D) にも明中心 (L) にも広く分布している (図 5 a 弱拡大). 図 5 b は強拡大像で、tingible body macrophage の周辺に多数存在している (矢印).

図6 胚中心の T-細胞の分布

T-細胞は B-細胞にくらべて暗殻 (D) と、明中心 (L) ともに分布は少ない (図 6 a 弱拡大). 図 6 b は強拡大像で、明中心の中の T-細胞は tingible body macrophage の周辺には少ない (矢印).

考 案

1. tingible body について

リンパ組織の胚中心はリンパ球の産生部位であると同時に細胞の死滅の部位でもあるとされている。胚中心内で生じる細胞死は1885年 Flemming¹⁾ の tingible body の観察によってはじまる。Flemming は胚中心の中のある種の細胞質中に独特の形状を呈し、濃染する顆粒を見出して tingible body (可染小体) と名づけた。そしてこの小体は形状、大きさ、あるいはアニリン染色性から色素顆粒と明確に区別でき、また細胞分裂休止期の細胞質内にあり、分裂期のものにはみられないとし、さらにこの小体の本態や生理的な意義は不明であると報告した。

以後 tingible body について多くの研究がおこなわれ、tingible body は macrophage に喰食された細胞の核の断片で、染色体の凝集したものであり、胚中心内で不要となった細胞の処理機能と考えた。そこから胚中心は細胞産生部位と同時に細胞の grave yard 説²⁾³⁾ が提唱された。そして胞体内に tingible body をもつ macrophage を特に tingible body macrophage の名称でよばれている。近年この細胞は電顕でも観察され、喰食される細胞はリンパ球、形質細胞、顆粒球、あるいは赤血球などであり^{12)~16)}、この細胞のもつ細胞処理機能の重要性がうかがえる。

2. apoptosis について

最近、生体内で生じる病的な細胞死でなく、細胞の自殺死、あるいは遺伝子に組み込まれた細胞死 (programmed death) という apoptosis の概念が Wyllie ら⁶⁾ によって提唱された。apoptosis は単なる細胞の死滅ではなく、生体の成長や生体の恒久性維持にとって重要な生体の制御機構と考えられるようになった。

胚中心は前述の如く、細胞死の grave yard であり、tingible body macrophage がその主体をなしている。扁桃の胚中心では tingible body macrophage が容易に観察できるので、apoptosis を研究するのに最適な研究材料と思われる。

最近 apoptosis の形態学的な検出が免疫細胞学的方法で可能になった⁷⁾⁸⁾。apoptosis の最終段階では細胞核内部の溶解がおこり、染色体の分解によって DNA の断片化を生じる。そして $\text{Ca}^{2+}\text{Mg}^{2+}$ 依存の endonuclease によってさらに DNA は分割され、最後には nucleosome の大きさの DNA フラグメントとなる。今回用いた Apop Tag 法では DNA フラグメントの末端に生じた

3-OH を標識目標とするものである。terminal deoxy-nucleotidyl transferase の作用によって digoxigenin を 3-OH に付加したあと、抗 digoxigenin 抗体フラグメントを反応させ、さらに抗 peroxidase を共用結合させ、そのあとで DNB で発色させて apoptosis をみる方法である。本法は壊死などによって生じる DNA フラグメントでは染色することは少ないとされており⁹⁾、またホルマリン固定、パラフィン包埋の試料でも使用できる簡便さがある⁸⁾ので、今回の実験に用いた。

HE 染色された隣接切片と比較すると(図 1a と図 2a)、胚中心の明中心のいわゆる starry sky pattern に対応して apoptosis の反応がみられ、また強拡大像でみると、apoptotic body が顆粒状に免疫染色されて確認できた。

3. tingible body macrophage について

tingible body macrophage の同定に CD68 (DAKO 社) の monoclonal 抗体免疫染色を用いた。CD68 の免疫染色は最近、凍結切片標本ばかりでなく、パラフィン包埋切片でも可能となり、また後者の方が検出にすぐれ、染色性がよいといわれている¹¹⁾ので使用してみた。CD68 抗体は lysosome 顆粒と関係ある細胞内物質と関連しているものとされるので、この免疫染色では脾臓、肝臓、肺、骨髄などの macrophage が反応するが、しかし interdigitating cell や follicular dendritic cell は染色されない¹⁷⁾。したがって胚中心の明中心のように細胞構成の複雑な部位での macrophage の形態を観察するのに適していると思われる。今回の観察で反応陽性細胞は不整多角形を示す大型の細胞で、細胞質全体が染色される。また細胞質内には大小不同の空胞がみられる。また存在部位はいわゆる starry sky pattern の中にみられるものであり、tingible body macrophage をよく表現していると思われる。

今回の所見で少数ではあるが、小型の、おそらく小リンパ球にも免疫染色されるのがみられた。Falini ら¹⁷⁾ は CD68 は活動性のリンパ節に存在する monocytic/macrophage origin と考えられる plasmacytoid T-cell にも反応して染色されると報告しているので今回私共が観察した CD68 反応陽性の小型細胞は macrophage とはまた別の細胞であろう。

4. S-100 陽性反応細胞について

S-100 蛋白は Moore¹⁸⁾ によりウシ、ブタおよびウサギの脳組織より分離されたカルシウム結合性酸性蛋白質で

ある。この蛋白質は全身諸臓器にも存在し、免疫系組織ではリンパ節、胸腺、脾臓ばかりでなく扁桃組織に存在しており、扁桃組織では胚中心における存在が目される。

胚中心における S-100 蛋白陽性細胞は大型の核をもち、細長い細胞突起をもった細胞である。そして図 4 に示すように細胞突起を周囲にのばし、相互に連絡しあって網目状構造を形成するのが特徴である⁹⁾¹⁹⁾²⁰⁾。近年、末梢リンパ組織の恒久性を維持するものとして 4 種類の細胞、すなわち histiocyte (単球系または macrophage 系の細胞)、interdigitating reticulum cell (IRC), follicular dendritic reticulum cells (DRCs) と fibroblastic reticulum cell (FRCs) がある²⁰⁾。histiocyte と IRCs は血液、リンパに由来する細胞であるが、DRCs と FRCs はリンパ組織本来の細胞と考えられている。DRCs と FRCs 両者の区別は光顕や電顕所見からおこなわれていたが、最近は免疫染色による方法が用いられている。DRCs は S-100 蛋白陽性で、FRCs はビメンチン陽性であり^{9)~11)19)20)}、したがって今回観察された胚中心の S-100 蛋白陽性細胞は DRCs に相当するものである。

S-100 蛋白陽性細胞の胚中心内の分布は暗殻にはなく、明中心が主である。私共の観察では明中心の中央部から底部(暗殻との対側)にかけて多く存在した。反応陽性細胞の細胞突起で形成される網目状構造の網目の穴にしばしば tingible body macrophage が存在しており、したがってこの細胞をとりまくように網目状構造があるばかりでなく、時に大きな核をもった細胞質そのものが直接に tingible body macrophage に接している所見もみられた。DRCs の機能として免疫複合体の結合能、正常あるいは腫瘍性のリンパ球の補促能が報告されている^{21)~24)}、そして細胞接着に関与するとされる基底膜因子であるラミニン²⁵⁾²⁶⁾の存在が報告されているので、S-100 陽性反応の DRCs は tingible body macrophage の働きに重要な役割をはたしていると思われる。

5. tingible body macrophage に隣接する細胞

tingible body macrophage の周辺の構成細胞をみるため、免疫染色法によってリンパ球の同定をおこなった。明中心には T-リンパ球は少なく、B-リンパ球が多数存在し、tingible body macrophage に接している場合もあった。扁桃の免疫機能を相当するリンパ球は液性免疫に関与する B-リンパ球と細胞性免疫に重要な T-リンパ球に大別され、両者を識別し、組織内での両者の局在を知

ることは免疫機構を解明するのに重要である。組織切片標本の上で、B-リンパ球、T-リンパ球の同定に関する研究としては γ -グロブリン局在を蛍光抗体法で観察する方法²⁷⁾以来、ロゼット形成法、酵素抗体法などがある。近年免疫組織細胞学の発展にともないモノクローナル抗体の開発がすすめられ、リンパ球の T・B の分類に応用されている。

今回私共が B-リンパ球同定に用いた抗ヒト B-細胞モノクローナル抗体 CD₂₀-L₂₆ は多くの B-リンパ球に存在する抗原に対応するものであり、その抗体は B-細胞に存在する 33KD のポリペプチドと反応する²⁸⁾²⁹⁾。そしてこれは末梢血液やリンパ組織内の大部分の B-リンパ球と反応するとされるので、使用した。図 5 にみられるように本法で免疫染色される B-リンパ球は胚中心に多く認められ、明中心では tingible body macrophage の周辺に認められた。

末梢の B-リンパ球は T-リンパ球よりも積極的に apoptosis に関与しているとされている³⁰⁾³¹⁾。すなわち、B-リンパ球は末梢に出てからもレセプターの遺伝子を突然変異により変化させる機構を有しているために、apoptosis が生じる必要があると考えられている。多田³¹⁾によると、二次リンパ小節の胚中心の明中心で分裂、増殖した幼若な B-リンパ球はレセプターを発現し、分化しながら暗殻に向けて移動する。この時に抗原を認識できた B-リンパ球は生き残るためのシグナルを受け取って、記憶 B-リンパ球となるが、これに反し、抗原に反応しなかった B-リンパ球は apoptosis によって死滅すると考えられている。そして Liu ら³²⁾は、このようにレセプターの突然変異によって抗原に親和性を高める生存機構が存在すると共に、抗原と反応できない細胞の存在は生体にとって不利であり、生体から除去する機構が apoptosis の役割と考えている。しかし幼若な B-リンパ球から成熟した記憶細胞の分化の過程で、どの段階の細胞が apoptosis に関与するのか、あるいは tingible body macrophage の周辺にみられた B-リンパ球は分化の段階のどの細胞に属するかを知ることは重要であり、今後の課題であろう。

結 語

リンパ組織の胚中心は細胞の産生と細胞死滅の処理をおこなっている部位であり、後者は tingible body macrophage が関与するといわれてきた。近年、細胞の

死は病的なものばかりでなく、遺伝子によってプログラムされた細胞の死という apoptosis が提唱された。apoptosis は生体の細胞の制御機構として重要な作用とされた。最近、apoptosis を形態学的に観察するために、免疫染色で apoptotic body を検出する方法が開発されたのでこの方法を用いて、ヒト扁桃中心の apoptotic body を観察し、tingible body との関係、あるいは、tingible body macrophage の周辺の構成細胞を免疫染色で観察し、以下の結果を得た。

1. HE 染色での観察 : tingible body と tingible body macrophage の所見を示した。

2. 免疫染色による apoptotic body の観察 : tingible body は apoptotic body と同じものであることを示した。

3. 免疫染色による macrophage の観察 : CD68 による免疫染色で macrophage を同定した。

4. S-100 蛋白陽性細胞の観察 : macrophage 周辺にある S-100 蛋白陽性細胞は follicular dendritic cell であることを示した。

5. 免疫染色による B-細胞の観察 : macrophage 周辺のリンパ球は主として B-細胞であることを示した。

6. 免疫染色による T-細胞の観察 : T-細胞と macrophage の直接の接触のないことを示した。

7. 以上の所見から扁桃中心の apoptosis の意義について文献を引用しながら若干の考察をおこなった。

本研究は文部省科学研究費補助金(平成6年一般研究C-06671731)の援助をうけた。免疫染色研究にあたり当院共同研究室の青木志津子氏の協力に感謝する。

文 献

- 1) Flemming W : Studien uber regeneration der gewebe. Arch Mikr Anat **24** : 50~91, 1885.
- 2) Heiberg KA : Uber die Phagocytosecentra des Lymphoid Gewebs und uber die Lymphocyten Produktion. Acta Med Scand **65** : 443~460, 1927.
- 3) Ehrlich W : The role of the lymphocyte in the circulation of the lymph. Ann NY Acad Sci **46** : 823~857, 1946.
- 4) Kawabata I, Nakamura M and Tabe H : Functional morphology of tonsillar germinal center. Adv Otorhinolaryngol **47** : 46~50, 1992.
- 5) 川端五十鈴, 田部浩生, 中村雅一 : ヒト口蓋扁桃中心の細胞動態. 日扁桃誌 **32** : 25~30, 1993.
- 6) Wyllie AH, Kerr JR and Currie AR : Cell death ; the significance of apoptosis. Int Rev Cytol **68** : 251~306, 1980.
- 7) Thiry M : Highly sensitive immunodetection of DNA on section with exogenous terminal deoxynucleotidyl transferase and non-isotopic nucleotide analogs. J Histochem Cytochem **40** : 411~419, 1992.
- 8) Wijsman JH, Jonker RR, Keijzer R, et al : A new method to detect apoptosis in paraffin section in situ endlabeling of fragmented DNA. J Histochem Cytochem **41** : 7~12, 1993.
- 9) Carbone A, Polelto A, Manconi R, et al : Demonstration of S-100 protein distribution in human lymphoid tissues by the avidin-biotin complex immunostaining method. Hum Pathol **16** : 1157~1164, 1985.
- 10) 川口 誠, 右沢 伸, 霜田ゆみ, 他 : 扁桃組織内 S-100 蛋白陽性細胞の免疫組織学的検討. 日扁桃誌 **29** : 60~65, 1990.
- 11) Gloghini A and Carbone A : The nonlymphoid micro-environment of reactive follicles and lymphomas of follicular origin as defined by immunohistology on paraffin-embedded tissues. Hum Pathol **24** : 67~76, 1993.
- 12) Swartzendruber DC and Congdon CC : Electron microscope observation of tingible body macrophages in mouse spleen. J Cell Biol **19** : 641~644, 1963.
- 13) Muller-Hermelink HK and Caesar R : Elektromen Mikroskopische Untersuchung der Keimzentrum in Menschlichen Tonsillen. Z Zellforsch **96** : 521~547, 1969.
- 14) Hoefsmit ECM, Kamperdijk EWA, Hendricks HR, et al : Lymph node macrophages. The Reticulendothelial System Vol. 1 (ed by Carrand I and Daems WT). pp 417~468, Plenumpress, New York, 1980.
- 15) 小嶋 瑞 : リンパ節の細胞病理学的研究 —特に2次小節を中心として—. 日病会誌 **58** : 3~29, 1969.
- 16) Okato S, Magari S, Yamamoto Y, et al : An immuno-electron microscopic study on interactions among dendritic cells, macrophages and lymphocytes in the human palatine tonsil. Arch Histol Cytol **52** : 231~240, 1989.
- 17) Falini B, Flenghi L, Pileri S, et al : PG-M1 ; a new monoclonal antibody directed against a fixative-resistant epitope on the macrophage-restricted form of the CD68 molecule. Am J Pathol **142** : 1359~1372, 1993.
- 18) Moore BW : A soluble protein characteristic of the nervous system. Biochem Biophys Res Commun **19** : 739~744, 1965.
- 19) 山本祐三, 岡東周一郎, 和田公平, 他 : 扁桃組織内 T-zone 組織球の分布様式と意義について. 日扁桃誌 **25** : 127~138, 1986.
- 20) Gloghini A, Volpe R and Carbone A : Vimentin immunostaining in fibroblastic reticulum cells within human reactive and neoplastic lymphoid follicles. Hum Pathol **21** : 792~798, 1990.

- 21) Stein H, Gerdes J and Mason DY : The normal and malignant germinal centre. *Clin Lab Haematol* 11 : 531~559, 1982.
- 22) Gerdes J, Stein H, Mason DY, et al : Human dendritic reticulum cells of lymphoid follicles ; their antigenic profile and their identification as multinucleated giant cells. *Virchows Arch Cell Pathol* 42 : 161~172, 1983.
- 23) Heinen E, Lilet-Leclercq G, Mason DY, et al : Isolation of follicular dendritic cells from human tonsils and adenoids ; II. immunocytochemical characterization. *Eur J Immunol* 14 : 267~273, 1984.
- 24) Lilet-Leclercq C, Radoux D, Heinen E, et al : Isolation of follicular dendritic cells from human tonsils and adenoids ; I. procedure and morphological characterization. *J Immunol Methods* 66 : 235~244, 1984.
- 25) Gloghini A, Golombatti A, Bressan G, et al : Basement membrane components in lymphoid follicles ; immunohistochemical demonstration and relationship to the follicular dendritic cell network. *Hum Pathol* 20 : 1001~1007, 1989.
- 26) Gloghini A and Garbone A : Dendritic reticulum cell-related immunostaining for laminin in follicular and diffuse B-cell lymphomas. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 416 : 197~204, 1990.
- 27) Ortega LG and Mellors RC : Cellular sites of formation of gamma globulin. *J Exp Med* 106 : 627~654, 1957.
- 28) Carlund RW, Coles FB and Pastuszak WT : Utilization of monoclonal antibody L26 in the identification and confirmation of B-cell lymphoma. *Am J Pathol* 124 : 415~421, 1987.
- 29) Mason DY, Comans-Bittler WM, Cordell JL, et al : Antibody L26 recognizes an intra cellular epitope on the B-cell-associated CD20 antigen. *Am J Pathol* 136 : 1215~1222, 1990.
- 30) 鏑田武志 : B-リンパ球の選択とアポトーシス. *実験医学* 11 : 2281~2286, 1993.
- 31) 多田隈卓史 : リンパ球とアポトーシス. *蛋白質核酸酵素* 38 : 109~113, 1993.
- 32) Liu Y-J, Johnson GD, Gordon J, et al : Germinal centres in T-cell-dependent antibody responses. *Immunol Today* 13 : 17~21, 1992.

原稿受付 : 平成 7 年 5 月 22 日
原稿採択 : 平成 7 年 7 月 27 日 急載
別刷請求先 : 川端五十鈴
〒350 川越市鴨田辻道町1981
埼玉医科大学総合医療センター耳鼻咽喉科