ラット臼歯部付着上皮における 酸性ホスファターゼの電顕的証明

山崎 章 二階 宏昌 伊集院直邦

仁井谷 究 高田 隆

広島大学歯学部口腔病理学講座

(主任：二階宏昌教授)

(昭和54年8月13日受付)

Cytochemical Demonstration of Acid Phosphatase in the Junctional Epithelium of Rat Molar Gingiva

Akira YAMASAKI, Hiromasa NIKAI, Naokuni IJUHN,
Kiwamu NIITANI, and Takashi TAKATA

Department of Oral Pathology, School of Dentistry,

Hiroshima University

(Director: Prof. Hiromasa NIKAI)

Cells of the junctional epithelium (JE) of rat molar gingiva were investigated for ultracytochemical demonstration of acid phosphatase (ACPase). Enzymatic activity was greatest in the intermediate zone of JE and localized in elements of the Golgi complex and a variety of lysosomal structures. Numerous primary lysosomes were revealed in the basal to intermediate cells, whereas secondary lysosomes (hetero- and autolysosomes) increased toward the coronal direction of JE. ACPase-positive lysosomes were often found in close proximity to or fused with the cytoplasmic vacuoles which were characteristically abundant in JE cells. Reaction product for ACPase was also demonstrated in some of these vacuoles. These observations strongly suggest that the vacuoles represent the heterophagosomes endocytizing the intercellular materials, and they constitute the "vacuolar" or endocytic-lysosomal system which might play an important role for defense mechanism by JE cells and presumably for catabolic processes in these cells, as well.

緒 言

歯肉のいわゆる付着上皮 (attachment or junctional epithelium, 以下 JE と略す) は、慢性辺縁性歯周炎の主要な局所的原因とみなされる歯垢内細菌由来の起炎物質の侵入経路であるとともに、それらに対する宿主の反応の場でもあり、本疾患の進行上特に重要な病変である歯周ポケット形成の起点として注目されている¹⁻³⁾。し

たがって、この部の構造や機能、さらにはその破壊の過程を明らかにすることがきわめて重要であるが、歯周疾患に関する近年の研究の多くは局所因子に対する宿主の歯周組織の反応についての生化学的、免疫学的解析を中心に展開されており、形態面から JE の変化を追求した研究はきわめて少ない。

最近、著者らは^{4,5)}、歯周ポケットの pathogenesis を検討するための実験モデルを確立する目的で、通常および無菌飼育ラットの臼歯部 JE の超微構造について検索した。その結果、JE 全層を通じて細胞内に発達したゴルジ野と豊富な lysosome 様構造が認められることや細

本研究の要旨は、第21回秋季日本歯周病学会総会(昭和53年10月)において発表した。

胞質空胞が多数出現するなどの特異は所見に注目し、これらの構造がおそらくは JE 細胞の食食消化機能を表わすものであり、同部における防禦と破壊の機序に関与するものと推定した。本研究では、これらの構造の機能面をより明らかにする目的で、lysosome の代表的な標識酵素である酸性ホスファターゼ (acid phosphatase, 以下 ACP-ase と略す) の JE における局在を超微レベルで検討した。

材料ならびに方法

7~10 週齢の Wistar 系ラット 15 匹を用い、ネンブター麻酔下で断頭の後上下顎第一臼歯を頰側歯肉を歯面に付着させたまま採取し、0.1 M カコジル酸ナトリウム緩衝 2% パラホルムアルデヒド -2.5% グルタルアルデヒド固定液⁶⁾ (pH 7.2, 4°C), あるいは同緩衝液で調整した 4% パラホルムアルデヒド固定液 (pH 7.4, 4°C, 7% 蔗糖を含む) にて 1~2 時間固定した。次に固定試料を同緩衝液で洗浄の後、塩酸で pH を調整した 5% EDTA-4 Na 水溶液 (pH 7.4, 4°C, 7% 蔗糖を含む) に 36~48 時間浸漬することによって歯の表面を部分的に脱灰し、硬組織から分離した辺縁部歯肉を細切した。これらの細切片の一部は、通法にしたがってオスミック酸による後固定を経て Epon 812 に包埋し、通常の電顕観察に用いた。

一方、ACP-ase 活性検出のための細切歯肉片からは、Vibratome で約 40 μm 厚の切片を作成し、これらを、基質として β -グリセロリン酸を用いる Barka and Anderson の方法⁷⁾による浸漬液で incubate した。浸漬は 37°C で 30~60 分間行った。なお、基質を除いた浸漬液、あるいは 0.01 M 濃度にフッ化ナトリウムを酵素阻害剤として加えた浸漬液で incubate した切片を negative control とした。Incubation を終えた切片は、緩衝液で洗浄の後、オスミック酸による後固定を経て Epon 812-Araldite 502 混合樹脂⁸⁾に包埋した。ACP-ase 反応検索部位の orientation は、超薄切片に先だって作成し、トルイジンブルーで染色した約 1 μm 厚の樹脂切片の光顕観察に基づいた。超薄切片は、酢酸ウラニル・クエン酸鉛による二重染色を施し、あるいは無染色のまま、HITACHI HS-8 (加速電圧 50 kv) または H-500 H (加速電圧 75, 100 kv) 電子顕微鏡にて観察し、撮影した。

結 果

ラット臼歯部 JE は、光顕的には脱灰エナメル質空隙と角化歯肉溝上皮との間を占める、歯軸と平行に配列した数層の扁平な上皮細胞より成る小領域として観察され、電顕的に角化扁平上皮と異なる特有の超微構造を備えていた (図 1)。すなわち、JE のほぼ全層を通じて、細胞内に発達したゴルジ野と豊富な lysosome 様構造が観察されたのに対して、本上皮には角化上皮に一般的な、keratin filament や keratohyalin 顆粒の形成、membrane coating granule の出現などは全く認められなかった。さらに、JE 細胞内には歯肉の外縁上皮や歯肉溝上皮には見られない多数の細胞質空胞 (0.1~0.5 μm 径) が観察された。これらの空胞は JE 中間部において最も顕著に出現ししばしば互いに融合しあっていたが、一方、歯肉結合組織およびエナメル質空隙に面する細胞層ではほとんど目立たなかった。なお、細胞表面では endocytosis の過程を経て形成されたとみなされる空胞がしばしば観察され、また、細胞深部にあっても多数の空胞が細胞間物質に類似した雲絮状内容物を含有していた。

ACP-ase による反応産物は、対照切片では見ることでできない電子密度のきわめて高い顆粒状沈着物として、JE 細胞内のゴルジ野および lysosome 様構造に観察された。反応の程度は、無染色切片でようやく確認できるほど微弱なものから、反応産物の沈着した小器官の内部構造が全く見えなくなるほど強いものまで様々であった。部位的には JE の中間部あたりで最も強い反応が見出され、根尖側、結合組織側および歯冠頂側へ向うほど活性の低い傾向がうかがわれた。また、歯面に接する細胞も酵素活性を示す小器官に乏しかった。ゴルジ野では、反応産物はもっぱらゴルジ槽内に局在し、その一端の強い活性を示す膨隆部が分離しつつあるような像も認められた (図 2)。またゴルジ槽に近接した小空胞内にも時折活性が認められた。次に、JE 細胞内に多数存在する lysosome 様構造の大部分に ACP-ase 活性が種々の程度に検出され、これらの構造が lysosome であることが証明された。これらの lysosome はその形態的特徴から 2 種類に大別され、以下のような分布を示していた。すなわち、JE 基底層から中間部にかけては、内部に均質で密な matrix を有する小球状の lysosome (0.2~0.4 μm 径) が多数を占めていた (図 3, 4)。これらの中には著しく伸長したものも認められ、時には糸粒体などの小器官を包みこむようにカップ状を呈していた (図

5)。これに対して、中間部のほとんどを占める JE 細胞内には、膜様の内部構造を有しミエリン像を呈するものや、vesicle を含有したいわゆる multivesicular body, あるいは種々の細胞質要素を容れたいわゆる autolysosome など、secondary lysosome の形態を示す構造が多数観察された(図 6, 7)。さらに歯冠頂側に向うにつれてこれらの ACP-ase 活性は次第に減弱し、歯肉溝底や歯肉溝の側壁を構成する JE 細胞内の secondary lysosome 様構造には活性を全く示さないものが多かった(図 8)。

これらの ACP-ase 活性を示す各種の lysosome と前述の細胞質空胞との間にはしばしば接近、融合を示す像が認められた(図 4, 9, 10)。このような所見は空胞が豊富に分布し空胞同士の融合の目立つ JE 中間部において最も著明であった。なお、細胞質空胞自体には ACP-ase の活性を認めることは一般に稀であったが、JE の中間部ないし歯冠頂側部を構成する細胞内には、限界膜に沿ってわずかに反応を示す細胞質空胞も時折認められた(図 11)。また、歯肉溝付近の JE 細胞内には細菌を含有した空胞が遭遇され、それらの空胞内にもしばしば酵素活性が検出された(図 12)。

考 察

表皮や口腔上皮などの被覆扁平上皮に lysosome 酵素の活性の見られることが組織化学的に知られてきたが、近年その局在が電顕レベルで検索されるに及んで、その機能的意義が明らかにされつつある⁹⁻¹¹⁾。しかしながら JE および歯肉溝上皮に関しては、光顕レベルで ACP-ase を検索した若干の研究^{12,13)}があるだけで、lysosome 酵素を電顕的に証明した報告はほとんど見当たらないようである。JE を機械的損傷なしに電顕観察するためには歯の脱灰操作が不可欠であり、これによって酵素活性の損なわれやすいことがこの部の電顕細胞化学的研究を行い難い理由の一つにあげられよう。著者らは、EDTA-4 Na を用い、脱灰操作を最小限度にとどめるとともに、Vibratome により作成した非凍結切片を incubate することによって、JE の ACP-ase 活性を電顕的に検出することができた。

I. JE における lysosomal system の動態について

周知のごとく、ACP-ase は lysosome を電顕細胞化学的に検索するための標識酵素として利用されている。lysosome が物質の消化を主な機能とすることがよく知られており、これを独立の小器官ではなく細胞の diges-

tive system の一部分とみなす考えが今日一般的である。しかしながら、lysosome はその機能状態に応じて形態的多様性を示すため、その動態を理解することは容易ではない。de Duve and Wattiaux は¹⁴⁾、この system に関係する全ての小器官を vacuolar apparatus と総称し、機能的状態に基づいた lysosome の分類を提唱している。そこで、著者らも本研究結果をこの分類にしたがって整理することにより、JE における lysosomal system の動態を検討してみたい。

ゴルジ野が ACP-ase 活性を示すことがよく知られており、lysosome が分泌顆粒と同様の過程により形成されることと結びつけられている¹⁵⁾。本研究でも、しばしばゴルジ槽内に反応産物が見られるとともに、その一端が膨隆、分離しつつある像や、近接する小空胞が酵素活性を示す所見に接したが、これらはゴルジ野における lysosome の形成段階を示すものであろう。

著者らが、ラットの JE に関する報告で^{4,5,16)} lysosome 様と呼んだ構造の大部分に ACP-ase 活性の認められたことから、これらが lysosome であることが改めて確認された。JE の基底層から中間部にかけて多数出現した、小型で均質な matrix を有する小顆粒は好中球顆粒と形態的に似ており、phagosome と推定される細胞質空胞との接近、融合、さらには後述のごとく autolysosome 形成への関与が認められたことなどから、いまだ作用する基質を有していない、酵素の担体としての primary lysosome に分類されるべきものと思われる。一方、JE の中間部から歯冠頂側にかけて目立った大型で複雑な内部構造物を有する lysosome は、この場で加水分解が行われている secondary lysosome とみなされる。これらが異物貪食により形成された heterolysosome(phagolysosome)なのか、それとも自己貪食による autolysosome (cytolysosome)なのかを形態的に弁別することはしばしば困難であったが、種々の細胞内小器官を含有し明らかに後者とみなされるものも多数存在した。前述の primary lysosome とみなされる構造が糸粒体などの細胞内小器官を被包するような像(いわゆる wrapping mechanism)もまた、JE 細胞内で自己貪食の active に営まれていることを示唆する所見であろう。また、JE の最歯冠頂側部で lysosome 様構造が増えるにもかかわらず酵素活性が消失した点については、これらを消化の完了に近いあるいは完了した telolysosome (residual body) とみなすのが妥当であろう。

著者らがラット臼歯部 JE の最も特徴的な所見として注目し、貪食空胞の可能性を考えてきた細胞質空胞の

ACP-ase 活性に興味をもたれたが、空胞自体は大部分酵素活性を示さなかった。しかしながら、これらの空胞と酵素活性を示す lysosome との接近や融合が JE の中間部で頻繁に観察されたことや、ACP-ase 活性を示す空胞も時折出現したことなどから、これらの空胞が vacuolar apparatus の一部であることが示唆される。すなわち、空胞の大部分は endocytosis による異物の取込みを行ったがいまだ酵素の供給のない phagosome (heterophagosome) であり、vacuolar system を構成する prelysosome であると推定される。なお、空胞内細菌の存在については、空胞が heterophagosome であることの証拠とみなされるが、細菌自体も酵素を有している¹⁷⁾ので、その ACP-ase 活性を細胞による消化作用を表わしたものとは断定できない。

以上をまとめると、JE 細胞が歯冠頂側方向へ移動するにつれて貪食作用が盛んとなり、細胞内に vacuolar ないし endocytic-lysosomal system が発達してくるものと推定される。しかしながら、この推定は細胞質空胞が heterophagosome であるとの仮定に基づいているので、今後、適当な tracer を用いてこのことを確証し、同時に lysosome 酵素の動向を追求したいと考えている。

II. JE における lysosomal system の存在意義について

前項で考察した vacuolar ないし endocytic-lysosomal system は JE においてどのような役割を演じているのであろうか。JE が内外からの物質の侵入に対して有効な防壁となりえないことは角化層を欠き、細胞間結合のゆるやかなその構造的特徴からも推測されるが、tracer を用いた実験によってもその高い透過性が示されている¹⁸⁾。著者らは、JE における細胞質空胞の所見から、JE 細胞自体が JE 内に容易に侵入してくる種々の物質に対して貪食作用をもって対処する可能性を推定してきた。本研究において空胞と lysosome との密接な関連が示されたことは、この推定の有力な根拠となるであろう。すなわち、JE における lysosomal system の役割は、第一に異物貪食によるこの部の防禦にあるように思われる。Lange and Schroeder¹³⁾もヒト JE に発達した lysosomal system の存在を認め、これが JE 内に遊走してきた好中球とともに同部での防禦に貢献すると述べている。さらに最近、仁井谷¹⁶⁾は、ラット臼歯の萌出に伴う JE の形成過程を電顕的に検索し、歯冠が口腔内に露出し始める時期に一致して、退縮エナメル上皮由来の新生細胞内に空胞が出現し、歯冠の露出が進むにつれて数を増して lysosome 様構造と密接な関係を示すこと

を認め、これらの空胞が口腔からの外来刺激に起因して形成されると主張している。

Lysosomal system が存在し、能動的な貪食能を有することは、内外からの侵襲に対して保護作用を営むところの表皮や口腔上皮を構成する keratinocyte にも証明されている^{9,10,11,19,20)}。これらの被覆上皮では、角化の進行とともに細胞内小器官が減少、消失するが、lysosomal system はこの生理的現象にも重要な役割を演ずると考えられる。また、これらの上皮では、有棘層上層から顆粒層にかけて特に強い ACP-ase 活性の見られることが光顕的に知られてきたが、電顕的検索によって、本反応が同部細胞内における membrane coating granule (MCG) (keratinosome) の出現とその内容物の細胞間腔への放出によるものであることが判明した^{21,22)}。その結果、MCG は keratinocyte 内の特殊な primary lysosome とみなされ、細胞の desquamation のための細胞間結合の破壊、あるいは上皮内透過物質に対する barrier の形成などの機能が推測されている^{23,24)}。また、MCG に該当する構造は非角化口腔上皮にも存在することが電顕的に証明されている^{25,26)}。しかしながら、JE には角化層はもとより、MCG も ACP-ase 陽性の細胞間物質も認められず、一般の被覆上皮に備わる防禦機構の欠如していることが明らかである。したがって、JE においては、上皮内に常在する白血球とともに、JE 細胞自体の vacuolar system が防禦の第一線を担っていると解さざるをえない。また、JE に頻繁に観察される autophagosome については、同部の透過物質による細胞の障害を表わすほか、JE の生理的 turnover のための自己消化を示す所見とも解せられる。JE が他部口腔上皮に比して高い turnover rate を示すという Beagrie and Skogaard²⁷⁾の報告はこの点で興味深い。細胞の剝脱する面積が狭小な JE においては、速やかな細胞の移動と崩壊を必然的にきたしているのであろうか。

このように、JE における lysosomal system は、heterophagosome による異物貪食で示される防禦機構と、autophagosome で示される細胞の catabolism の2つの役割を演じているように思われる。生理的状況下では、lysosomal system のこれら両機能面が均衡を保っていると考えられるが、病的状況下では、刺激が JE 細胞の防禦能を上廻り、過剰な空胞 (heterophagosome) 形成による細胞の破綻、ないし autophagosome の形成による自己融解をきたし、JE 内裂隙を生じて歯周ポケットの形成につながる可能性がある。JE の破壊過程における lysosomal system の動態について、今後、超微レベ

ルで検討する必要がある。

総 括

7～10 週齢の Wistar 系ラット 15 匹を用い、臼歯部付着上皮 (JE) における酸性ホスファターゼ (ACP-ase) の超微局在を検索した。

ACP-ase の活性は、JE の中間部において最も著しく、JE 細胞に特徴的に発達したゴルジ野および各種の lysosome 様構造内に反応産物が種々の程度に検出された。基底層から中間部にかけては、ゴルジ野起源とみなされる primary lysosome が目立ったのに対して、中間部から歯冠頂側にかけては secondary lysosome (heterolyso- some および autolysosome) が豊富に認められた。JE 細胞内に特異的に多数出現する細胞質空胞と ACP-ase 活性を示す lysosome との間には接近、融合像がしばしば観察され、時には空胞自体にも酵素活性が認められたところから、これらの空胞が細胞間物質を貪食した heterophagosome であることが強く示唆された。角化層や membrane coating granule による防壁を欠く JE においては、これらの空胞と lysosome より成る vacuolar system, すなわち JE 細胞自体の発達した貪食消化システムが、JE 内に遊走する白血球とともに、同部における防禦、さらには歯周ポケットの形成につながる組織破壊の機構にも重要な役割を演ずるものと推測された。

文 献

- 1) Page, R.C. and Schroeder, H.E. : Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work : Lab. Invest., 33 : 235-249, 1976.
- 2) Schroeder, H.E. and Listgarten, M.A. : Fine Structure of the Developing Epithelial Attachment of Human Teeth. In : Monographs in Developmental Biology, Vol. 2 (Wolsky, A., ed.) : Basel, München, Paris, London, New York, and Sidney, 1971, S. Karger.
- 3) 秋吉正豊 : 歯周ポケットの形成機序 : 日歯周誌, 16 : 63-66, 1974.
- 4) 山崎 章 : ラット臼歯部における上皮付着の電子顕微鏡的研究 : 阪大歯学誌, 21 : 39-68, 1976.
- 5) Yamasaki, A., Nikai, H., Niitani, K., and Ijuhin, N. : Ultrastructure of the junctional epithelium of germfree rat gingiva : J. Periodontol., 50 (12), 1979 (in press).
- 6) Karnovsky, M.J. : A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy : J. Cell Biol. 27 : 137A-138 A, 1965.
- 7) Barka, T. and Anderson, P.J. : Histochemical methods for acid phosphatase using hexazonium pararosaniline as coupler : J. Histochem., 10 : 741-753, 1962.
- 8) Mollenhauer, H.H. : Plastic embedding mixtures for use in electron microscopy : Stain Technol., 39 : 111-114, 1964.
- 9) Olson, R.L. and Nordquist, R.E. : Ultramicroscopic localization of acid phosphatase in human epidermis : J. Invest. Dermatol., 46 : 431-435, 1966.
- 10) Squier, C.A. and Waterhouse, J.P. : Lysosomes in oral epithelium : The ultrastructural localization of acid phosphatase and non-specific esterase in keratinized oral epithelium in man and rat : Arch. oral Biol., 15 : 153-168, 1970.
- 11) Wolff, K. and Schreiner, E. : Epidermal lysosomes. Electron microscopic-cytochemical studies : Arch. Dermatol., 101 : 276-286, 1970.
- 12) Lange, D. and Camilleri, G.E. : Cytochemical demonstration of lysosomes in exfoliated epithelial cells of the gingival cuff : J. Dent. Res., 46 : 625, 1967.
- 13) Lange, D. and Schroeder, H.E. : Cytochemistry and ultrastructure of gingival sulcus cells : Helv. Odont. Acta., 15 (suppl VI) : 65-86, 1971.
- 14) de Duve, C. and Wattiaux, R. : Functions of lysosomes : A. Rev. Physiol., 28 : 435-492, 1966.
- 15) Novikoff, A.B., Essner, E., and Quintana, N. : Golgi apparatus and lysosomes : Fedn. Proc., 23 : 1010-1022, 1964.
- 16) 仁井谷 究 : ラット臼歯部付着上皮の形成過程に関する超微形態学的研究 : 日歯周誌, 21 : 111-133, 1979.
- 17) Frank, R.M. and Cimasoni, G. : Electron microscopy of acid phosphatase in the exudate from inflamed gingiva : J. Periodont. Res., 7 : 213-225, 1972.

- 18) McDougall, W.A. : Penetration pathways of a topically applied foreign protein into rat gingiva : *J. Periodont. Res.*, 6 : 89-99, 1971.
 - 19) Wolff, K. and Hönigsmann, H. : Permeability of the epidermis and the phagocytic activity of keratinocytes. Ultrastructural studies with Thorotrast as a marker : *J. Ultrastruct. Res.*, 36 : 176-190, 1971.
 - 20) Wolff, K. and Konrad, K. : Phagocytosis of latex beads by epidermal keratinocytes in vivo : *J. Ultrastruct. Res.*, 39 : 262-280, 1972.
 - 21) Weinstock, M. and Wilgram, G.F. : Fine structural observations on the formation and enzymatic activity of keratinosomes in mouse tongue filiform papillae : *J. Ultrastruct. Res.*, 30 : 262-274, 1970.
 - 22) Gonzalez, L.F., Krawczyk, W.S., and Wilgram, G.F. : Ultrastructural observations on the enzymatic activity of keratinosomes : *J. Ultrastruct. Res.*, 55 : 203-211, 1976.
 - 23) Wolff, K. and Holubar, K. : Keratinosomes als epidermale Lysosomen : *Arch. Klin. Exp. Dermatol.*, 231 : 1-19, 1967.
 - 24) Squier, C.A. : The permeability of keratinized and nonkeratinized oral epithelium to horseradish peroxidase : *J. Ultrastruct. Res.*, 43 : 160-177, 1973.
 - 25) Hayward, A.F. and Hackemann, M. : Electron microscopy of membrane-coating granules and a cell surface coat in keratinized and nonkeratinized human oral epithelium : *J. Ultrastruct. Res.*, 43 : 205-219, 1973.
 - 26) Squier, C.A. : Membrane coating granules in nonkeratinizing oral epithelium : *J. Ultrastruct. Res.*, 60 : 212-220, 1977.
 - 27) Beagrie, G.S. and Skougard, M.R. : Observations of the life cycle of the gingival epithelial cells of mice as revealed by autoradiography : *Acta Odont. Scand.*, 20 : 15-31, 1962.
-

付 図 説 明

- 図 1 junctional epithelium (JE) 中間部の細胞内に多数の空胞が出現する。ES：脱灰エナメル質空隙，PMNL：多形核白血球（×8,400）
- 図 2 発達したゴルジ野(G)の cisternae 先端の膨隆部に ACP-ase の強い活性が認められる（矢印）。（×57,000）
- 図 3 均質な dense matrix をもつ小球状の lysosome (Ly) に ACP-ase の反応が種々の程度に認められる。（×47,000）
- 図 4 空胞(V)に近接した，dense matrix をもつ lysosome (Ly) の1つに ACP-ase の反応産物が認められる。（×40,000）
- 図 5 ACP-ase 活性を示す lysosome (Ly) が糸粒体(M)を包みこむようにカップ状を呈している。（×47,000）
- 図 6 ミエリン像を示す lysosome (Ly) 内に ACP-ase の反応産物の沈着が認められる。（×24,000）挿入図は無染色標本で，空胞(?)内にも反応が認められる（*印）。（×20,000）
- 図 7 autophagosome とみなされる構造物にも種々の程度に ACP-ase 反応が検出される（矢印）。（×15,500）。挿入図は同切片の無染色観察例（×54,000）
- 図 8 歯肉溝(GC)に面する細胞内の lysosome (Ly) には ACP-ase の反応がほとんど見出されない。（×17,000）
- 図 9 空胞(V)に近接する lysosome (Ly) に ACP-ase の強い反応が認められる。（×24,000）
- 図 10 ミエリン像を示す ACP-ase 陽性の lysosome (Ly) と空胞(V)との融合像が観察される。ICS：細胞間腔（×36,000）
- 図 11 時には空胞内にもわずかながら ACP-ase 反応が証明される（▲印）。LG：脂肪顆粒（×25,000）
- 図 12 細菌(B)を貪食した空胞の1つに ACP-ase の反応産物が認められる（矢印）。（×25,000）