

Microfold Cell (M細胞) とそれに内包されるリンパ球の免疫組織学的研究

宮島 宣夫

Peyer 板被蓋上皮に存在する M 細胞は、消化管内腔より抗原物質を取り込み内包するリンパ球、マクロファージに伝達している。この M 細胞に内包されるリンパ球のサブセットは明らかにされておらず、著者は抗マウス monoclonal 抗体 (Thy-1.2, Lyt-1, Lyt-2, L3T4, I-A^d) を用い酵素抗体間接法, biotin-streptoavidin system を使用し光顕および電顕的に観察した。光顕的には上皮細胞間には Lyt-2 陽性細胞 (suppressor/cytotoxic T cell) が L3T4 (helper T cell) より優位にみられ、I-A^d 陽性細胞も認められた。上皮皮下では L3T4 陽性細胞が優位であった。免疫電顕観察では、M 細胞に内包されたリンパ球のサブセットは上皮細胞間リンパ球の光顕観察とほぼ同様であり、M 細胞周辺には I-A^d 陽性細胞が多数認められた。

M 細胞の lateral membrane には I-A^d 陽性像を認め Ia 抗原の表出が確認され、M 細胞の抗原提示細胞として機能の重要性が示唆された。 (昭和63年10月19日採用)

Immunohistochemical Studies of Microfold Cell (M Cell) and Lymphocytes Enfolded by M Cells

Norio Miyashima

M cells are located in the follicle associated epithelium of Peyer's patches, and they transfer antigens from the intestinal lumen to lymphocytes and macrophages enfolded by M cells. Therefore, which lymphocyte subsets are enfolded by M cells is unclear. The author studied the lymphocyte subsets light and electron microscopically by the indirect peroxidase-labeled antibody method and employed the streptoavidin-biotin system using anti-mouse monoclonal antibodies against Thy-1.2, Lyt-1, Lyt-2, L3T4, and I-A^d antigens.

Light microscopically, Lyt-2 positive cells (suppressor/cytotoxic T cells) were more often seen than L3T4 positive cells (helper T cells), and I-A^d positive cells were seldom observed. In the subepithelium, L3T4 positive cells were predominant.

Electron microscopically, using the immunoperoxidase method, the pattern of lymphocyte subsets enfolded by M cells was almost same as that of subsets

observed in intraepithelial lymphocytes at the light microscopic level. I-A^d positive cells were often seen near M cells.

I-A^d positive product was observed at the lateral membrane of M cells. This finding indicates that M cells express the Ia antigen and play an important role as an antigen presenting cell. (Accepted on October 19, 1988) *Kawasaki Igakkaiishi* 15(1): 23-32, 1989

Key Words ① M cell ② Immunoelectron microscopy ③ Lymphocyte subset ④ Antigen presenting cell

緒 言

Peyer 板並びに孤立リンパ濾胞は、消化管リンパ装置 (gut associated lymphoid tissue: GALT) として、腸管局所免疫機構の重要な役割の一部をはたしている。これらのドームを形成するリンパ濾胞の被蓋上皮細胞 (follicle associated epithelium) 間に点在し特異な形態と機能を持つ microfold cell or membranous epithelial cell (以下 M 細胞とする) は、腸管内腔より各種抗原をその細胞内に取り込み、抗原提示細胞 (antigen presenting cell) として抗原情報を内包するリンパ球、マクロファージ、周囲のリンパ球などに伝達している。¹⁾ また、小腸絨毛上皮細胞間、Peyer 板および孤立リンパ濾胞被蓋上皮細胞間には多数のリンパ球 (intraepithelial lymphocyte: IEL) が介在し、腸管局所免疫にあたっていると考えられている。²⁾ 近年、monoclonal 抗体の発達によりこれら GALT を形成するリンパ球サブセットについて免疫組織学的検討がなされるようになった。

しかし、M 細胞に内包されたリンパ球のサブセットに関する免疫電顕による報告はなく、マウス M 細胞自身の抗原表出も明らかではない。

今回著者らは、monoclonal 抗体を用いマウス Peyer 板のリンパ球のサブセットについて光顕的観察を行い、同時に M 細胞と M 細胞に内包されたリンパ球の免疫電子顕微鏡学的解析を行って、GALT において initiator として重要な働きをする M 細胞の機能について検討した。

材料と方法

12~13 週齢の BALB/C white mouse 雄性 8 匹をエーテル麻酔下にて開腹し小腸 Peyer 板を摘出し、一部は一般電顕標本用に 2.5% glutaraldehyde 固定した。ほかは免疫組織化学標本として直ちに periodate-lysine-4% paraformaldehyde (PLP) で 4°C にて 4~6 時間固定し、その後 7.5~20% sucrose 加リン酸緩衝液 (PBS, pH 7.4) で洗浄後、OCT compound に包埋しドライアイス-エタノールにて急速凍結し -80°C で保存した (Table 1)。凍結標本を cryostat にて 6μ に薄切しアルブミンスライドに添付し風乾した。これに

Table 1. Material and fixation method

- | | |
|---|--|
| (1) 材 料 | BALB/C white mouse 雄 12~13 週齢 |
| (2) エーテル麻酔下にて、回腸の Peyer 板を採取後、組織切り出し (5×5×2 mm 大) | |
| (3) PLP 固定 | PLP 固定液 (periodate-lysine-4% paraformaldehyde) にて 4°C, 4 時間振盪固定 |
| (4) 洗 浄 (4°C) | 1) 7.5% sucrose-PBS..... 5 分間, 3 回
2) 7.5% sucrose-PBS..... 12~24 時間
3) 15% sucrose-PBS..... 12~24 時間
4) 20% sucrose-PBS..... 12~24 時間
5) 20% sucrose-PBS+10% glycerin
..... 2 時間 |
| (5) 包埋, 凍結 | 凍結組織包埋剤 (=OCT compound) に包埋後, ドライアイス-エタノールにて急速凍結, -80°C で保存 |

Table 2. Technic of light and electronmicroscopy by the indirect immunoperoxidase method

【酵素抗体法(間接法)】	【酵素抗体法(間接法)】
……光学顕微鏡観察……	……電子顕微鏡観察……
クリオスタット薄切: 6 μ , -30°C, アルブミン スライド使用	抗原抗体反応までは光顕標本に準じ 冷 10% sucrose PBS 洗浄 (10分間, 3回)
↓ 切片乾燥 (3時間, 室温風乾)	↓ 冷 2% glutaraldehyde PBS (5分間)
↓ OCT compound 洗浄 (冷 PBS, 5分間, 3回)	↓ 冷 PBS 洗浄 (5分間, 5回以上)
↓ 《内因性 peroxidase 阻止》	↓ 《発色 (Graham-Karnovsky 法)》
① 5 mmol 過ヨウ素酸水溶液 (10分間, 室温)	DAB 液 ……………30分間, 室温
② 0.3% H ₂ O ₂ メタノール (5分間, 室温)	DAB・H ₂ O ₂ 液…10分間, 室温
↓ 正常血清を滴下, 攪拌 (30分間, 室温)	↓ 冷 PBS 洗浄 (5分間, 3回)
↓ 冷 PBS 洗浄	↓ 2% osmium 後固定 (1時間, 室温)
↓ 《抗原抗体反応》	↓ 冷 PBS 洗浄
1次抗体 (抗マウス monoclonal 抗体)…12~4時間, 4°C	↓ 脱水 (エタノール系)
2次抗体 (HRP 標識ラット Ig F(ab') ₂) 4時間, 4°C	↓ 樹脂包埋 (エポンカプセル)
(HRP 標識抗マウス Ig F(ab') ₂)	↓ 重合 (3日間)
↓ 冷 PBS 洗浄 (5分間, 3回)	↓ 超薄切片作製
↓ DAB・H ₂ O ₂ による発色 (約4分, 室温)	↓ 観 察
↓ 水洗 (5回以上)	
↓ メチルグリーン核染色 (約5分, 室温)	
↓ 脱水 (エタノール系, xylene)	
↓ 封 入	
↓ 観 察	

monoclonal 抗体を用いた酵素抗体間接法及び biotin-streptoavidin system を使用して光顕, 電顕標本を作製した (Table 2).¹⁾ 内因性 peroxidase の除去は, 0.3% H₂O₂ メタノール 5分室温, 5 mmol 過ヨウ素酸 Na (NaIO₄) 10分室温にて行った. 1次抗体は, 抗マウス monoclonal 抗体 Thy-1.2 (pan-T cell), Lyt-1 (pan-T cell), Lyt-2 (suppressor/cytotoxic T cell), L3T4 (helper T cell), I-A^d (B cell, dendritic cell, activated T cell)—Becton Dickinson 社—を用い, 4°Cにて12~24時間反応させた. 酵素抗体間接法は, 2次抗体として peroxidase 標識 anti-rat Ig F(ab')₂, anti-mouse Ig F(ab')₂—Cappel 社—を使用し 4°Cにて4時間反応させた後 3, 3'-diamino-

benzidine-4HCl (DAB) にて発色させた. 光顕標本はメチルグリーン核染色を行いエタノール系脱水後包埋し観察した. 免疫電顕標本は DAB 30分, DAB・H₂O₂ 10分発色後, 2% osmium 1時間固定後脱水, エポンカプセル包埋後薄切し電子染色は行わず透過型電子顕微鏡を用い観察した. biotin-streptoavidin system は, Amersham社を使用, DAB 発色後の操作は酵素抗体間接法と同様に行った.

結 果

1) 光顕観察

マウス Peyer 板は, 一層の上皮細胞に被覆され, その中心部より胚中心, 濾胞域, 傍濾胞

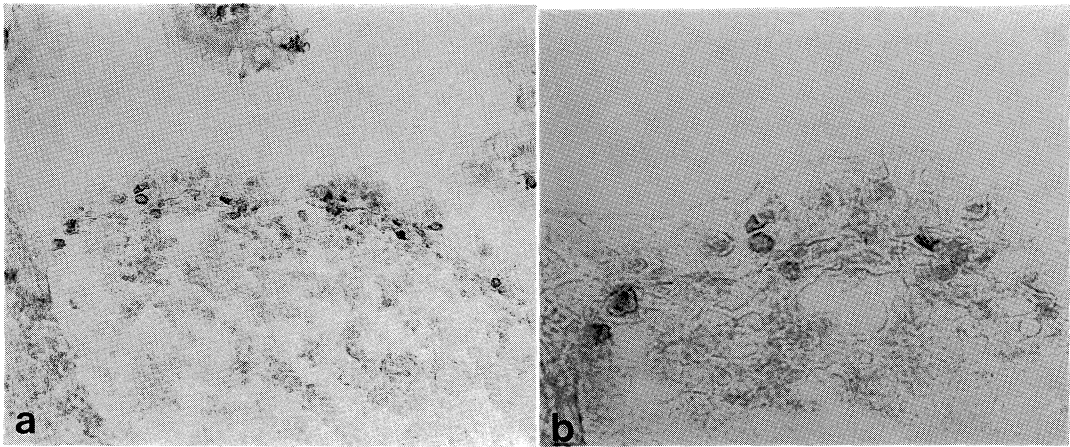


Fig. 1. Light microscopic staining of Lyt-2 positive lymphocytes using peroxidase-labeled antibody method.

- a. Lyt-2 positive lymphocytes are often seen in the epithelium, but rarely seen in the subepithelium of the Peyer's patch (methyl green stain, $\times 400$).
- b. Higher magnification of Lyt-2 positive intraepithelial lymphocytes (methyl green stain, $\times 1000$).

域, 円蓋域により形成されたリンパ濾胞が集合した形態をしている。これはヒト Peyer 板および孤立リンパ濾胞と同様の形態を示している。免疫反応を行った標本ではそれぞれの陽性細胞は他の細胞と容易に区別され, リンパ球細胞の周囲にリング状に茶褐色の DAB 陽性反応産物が認められた。1次抗体を使用せず2次抗体のみ反応させた control 標本では傍濾胞域および円蓋域の好中球, 好酸球と考えられる大型細胞, plasma cell 等の細胞質に濃く顆粒状に認められ, 疎に分布していた。この非特異的反応は, 内因性 peroxidase の阻止として過ヨウ素酸に加え H_2O_2 メタノールを使用した場合, ほぼ完全に阻止された。しかし H_2O_2 による細胞形態傷害が認められ, この所見は電顕標本でも出現し, H_2O_2 濃度は 0.3% 程度が適当と考えられた。

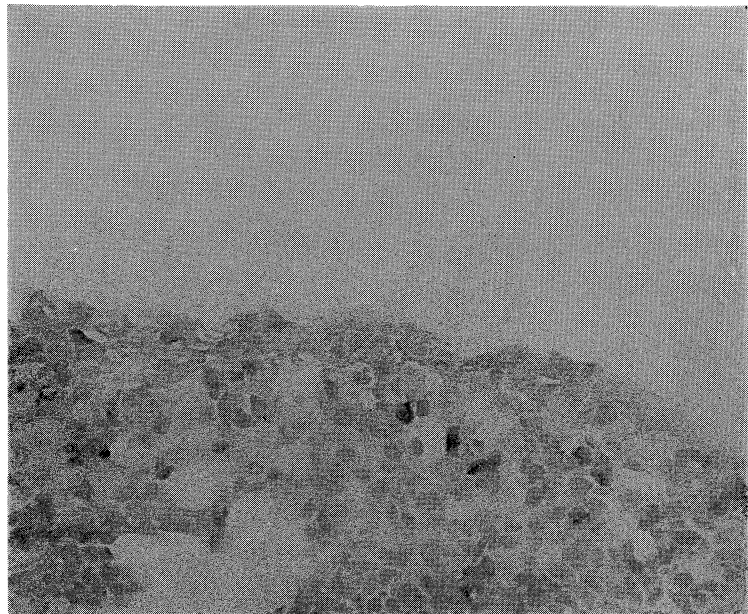


Fig. 2. L3T4 positive lymphocytes are more often seen in the subepithelium than in the epithelium (methyl green stain, $\times 640$).

光顕観察でのリンパ球のサブセットを密に認められる場合(++)、疎に認められる(+)、認められない(-)として **Table 3** に示した。

Thy-1.2, Lyt-1 陽性細胞は, 両者ほぼ同様に Peyer 板被蓋上皮細胞間に散在性陽性像が

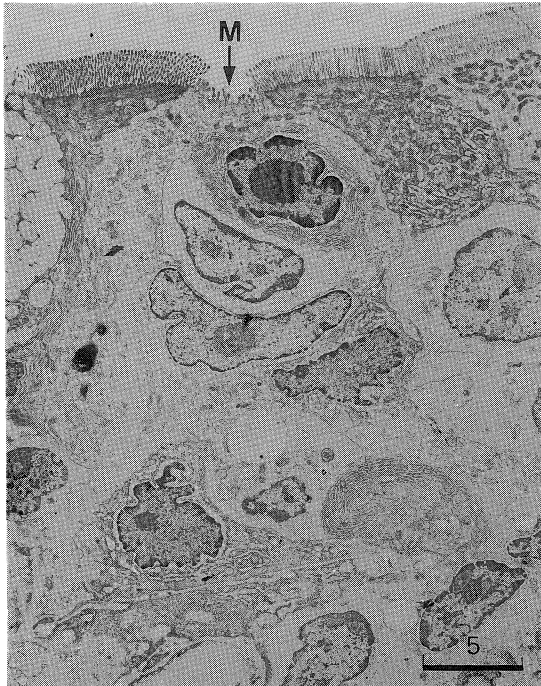


Fig. 3. Routine electron micrograph showing an M cell (M). The M cell has short and sparse microfolds and it is enfolding lymphocytes and macrophages.

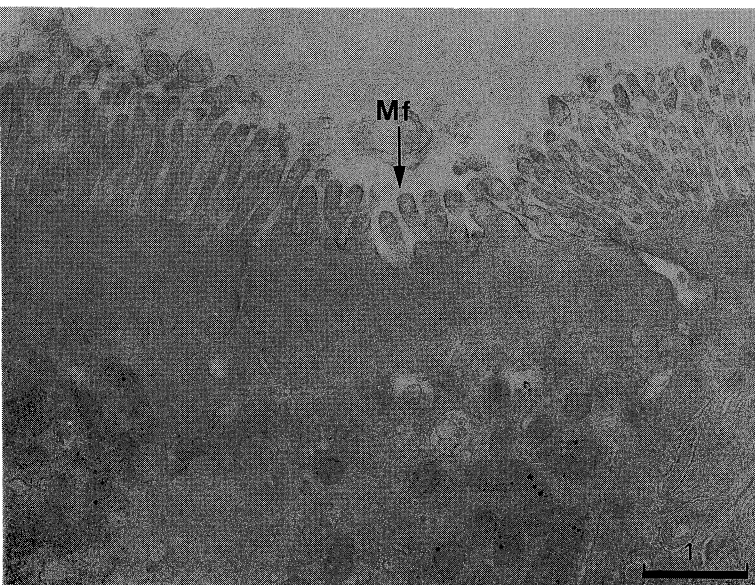


Fig. 4. An immunoelectron micrograph of the M cell surface using Thy-1.2 antibody shows short and sparse microfolds (Mf). The reaction product is not seen on the microfolds and lateral membrane of the M cell.

Table 3. Lymphocyte subsets in mouse Peyer's patch

	Thy-1.2	Lyt-1	Lyt-2	L3T4	I-A ^d
intraepithelial lymphocyte	++	++	++	+	+
subepithelial lymphocyte	++	++	+	++	+
germinal center	+	+	-	+	++

++: 密に認められる +: 疎に認められる
-: 認められない

認められ、T細胞領域とされる粘膜固有層、傍濾胞域には多数認められたが、胚中心および濾胞域にはごく少数であった。

Lyt-2 陽性細胞は、Thy-1.2, Lyt-1 とほぼ同様、少数が被蓋上皮細胞間に分布していたが、粘膜固有層および傍濾胞域にはごく少数であった。Figure 1a では Lyt-2 陽性細胞が被蓋上皮細胞間に多数認められ上皮直下にも少数分布している。陽性上皮細胞間リンパ球の拡大像を示す (Fig. 1b)。

L3T4 陽性細胞は、ごく少数被蓋上皮細胞間に認められ Lyt-2 と比較してより疎の分布を示し、上皮直下の粘膜固有層には多数認められ Lyt-2 より優位をしめていた (Fig. 2)。

I-A^d 陽性細胞は、B cell zone と言われる胚中心、濾胞域に密に存在していた。少数ではあるが上皮細胞間、粘膜固有層にも分布していた。

2) 電顕観察

一般電顕観察では、M細胞は Figure 3 のごとく Peyer 板の被蓋上皮細胞の間に、短く太い microfold が疎に分布した表面構造を持ち、細胞上層には micro-vesicular system が発達し、lysosome の少ない細胞質

を形成し、細胞内側にリンパ球、マクロファージ等を内包しておりヒト、ウサギと同様の形態を示していた。

免疫電顕標本では、M細胞はその特徴的な短く、太い microfold により周囲の上皮細胞と区別でき (Fig. 4), 抗原抗体反応陽性産物はリンパ球様細胞の表面、一部は核周囲腔にも認められ、これらの反応は内因性の peroxidase による非特異的の反応、人工産物と容易に区別可能であった。

M細胞に内包されたそれぞれの抗原に対する陽性リンパ球を観察すると、全周をM細胞に

Table 4. Electron microscopic observation of lymphocyte subsets enfolded by M cell using immunoperoxidase method

Thy-1.2	Lyt-1	Lyt-2	L3T4	I-A ^d
+	+	+	-	+

+: 陽性リンパ球が存在する

-: 陽性リンパ球が存在しない

*: Lyt-2 < Thy-1.2, Lyt-1, I-A^d

覆われたものは少なく、その多くはM細胞の lateral membrane を深く陥入させた形で存在していた。

その陽性リンパ球サブセットを検討すると Table 4 のごとく pan-T cell marker である Thy-1.2, Lyt-1 陽性細胞が多く認められ、suppressor/cytotoxic T cell とされる Lyt-2 も認められた。helper T cell とされる L3T4 はM細胞と関与した像は認められなかった。これら T cell 系マーカーの陽性細胞の多くは吸収細胞間に位置しM細胞近傍には少ない傾向があった。Figure 5 は、M細胞に内包される Thy-1.2 陽性細胞で、隣接する上皮細胞間リンパ球には陽性像を認めない。Figure 6 は2個のM細胞と Thy-1.2 陽性細胞で、左側のM細胞の lateral membrane より深く陥入している。Figure 7 は biotin-streptoavidin system を用いた Lyt-2 陽性細胞とM細胞を示す。

主要組織抗原 (Ia 抗原) を表出し B cell,

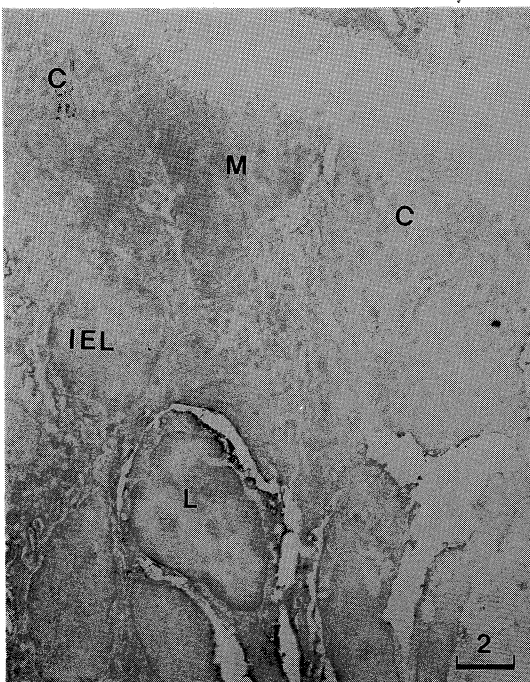


Fig. 5. Thy-1.2 positive lymphocyte (L) enfolded by an M cell (M) and adjacent negative intraepithelial lymphocyte (IEL). Columnner cell (C).

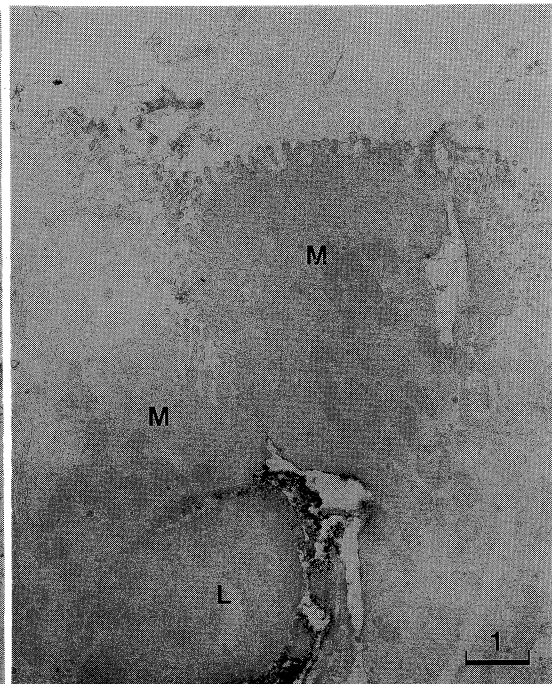


Fig. 6. A Thy-1.2 positive lymphocyte (L) and two M cells (M). The positive lymphocyte is enfolded by lateral membrane of the M cell on the left.

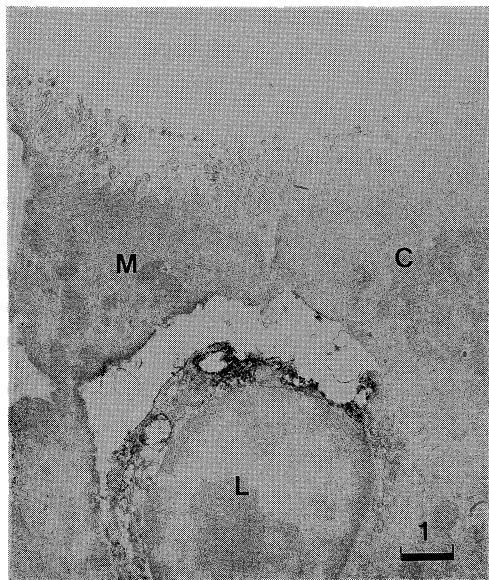


Fig. 7. A Lyt-2 positive lymphocyte (L) and an M cell (M) shown by biotin-streptoavidin system. Columnar cell (C).

dendritic cell に陽性像を示す I-A^d 抗体は M細胞内およびそれに接したリンパ球, dendritic cell に陽性像を示すものが多く, また M細胞直下の粘膜固有層にも陽性細胞が多数認められた。これは, 吸収上皮間よりも M細胞近傍に多い傾向があった。I-A^d 陽性反応は M細胞の lateral membrane にそって表出され, この反応は被蓋上皮細胞間では認められずまた M細胞の表面, microfold には陽性像を認めなかった。Figure 8a は M細胞に内包される I-A^d 陽性リンパ球と上皮細胞間の陰性リンパ球で, 同時に M細胞の lateral membrane にも陽性像が認められる。Figure 8b は M細胞の拡大像で同様の陽性所見を認める。

考 察

1974年 Owen らは, ヒト小腸 Peyer 板ドーム被蓋上皮 (follicle associated epithelium)

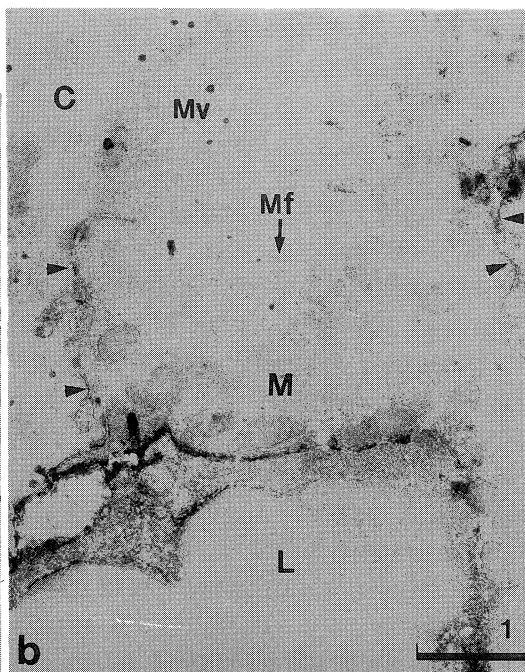
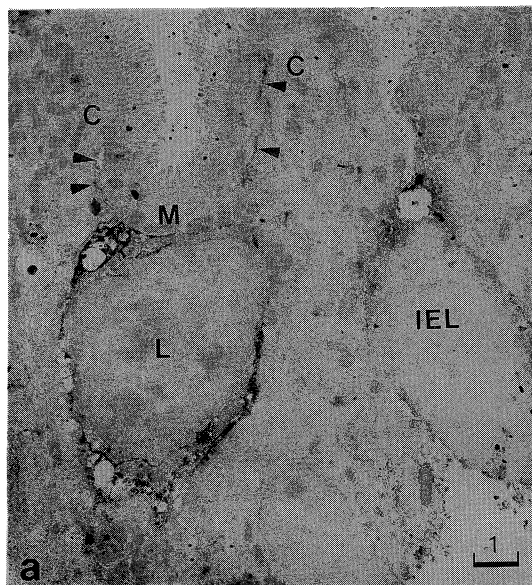


Fig. 8 a. An I-A^d positive lymphocyte (L) enclosed by an M cell (M). The reaction product is also seen on the lateral membrane of the M cell (arrow-head), but this finding was not made on the microfolds of the M cell and the columnar cell surface. Columnar cell (C).

b. Higher magnification of the M cell surface. Microfold (Mf). Microvilli (Mv).

のなかに吸収上皮細胞と異なり太く短い fold (microfold) が疎に配列した表面構造を持ち、細胞内にリンパ球, macrophage, plasma cell 等を内包した細胞を, microfold cell (M cell) と名付けた.²⁾ その後 Owen らは, 異種蛋白抗原である peroxidase や *Vibrio cholerae* をマウス腸管内腔に投与し, M細胞表面より pinocytosis, phagocytosis により細胞内に取り込まれ内包するリンパ球, マクロファージ等に伝達している事実を証明した.^{3),4)} また, Wolf らは, Reovirus (type 1, 3) をマウスに投与し M細胞は吸収上皮に比較しより有意に多量に取り込み, virus の M細胞表面よりの取り込み像, 細胞内での輸送について報告している.^{5),6)} 教室の藤村は, BCG 菌体をウサギ小腸 ligation loop に投与し,⁷⁾ 内田はウサギ虫垂 Peyer 板よりの大腸菌 (0-124, K-72) の取り込み像を電顕的に観察し,⁸⁾ これらの抗原物質は M細胞より特異的に取り込まれ周囲の吸収細胞からの吸収は認められていない。これらの報告に示されるように M細胞の第一の機能として消化管内抗原を認識し特異的に取り込み次に M細胞内で抗原物質は転送されその抗原情報は内包するリンパ球, マクロファージに伝達されている。

一方, 消化管免疫の機能と機序を知る上で重要な GALT 形成するリンパ球のサブセットに関する研究は, 近年リンパ球表面抗原に対する monoclonal 抗体の開発により可能となった。ヒトの研究では, Selby は, 蛍光抗体を用い正常腸管絨毛上皮細胞間 Tリンパ球の 67~90% は OKT-8 陽性の suppressor-cytotoxic T cell と報告し,^{9),10)} 塩田らは酵素抗体法を用い電顕的観察も加え小腸絨毛上皮間 Leu 2a 陽性細胞 (suppressor/cytotoxic T cell) が Leu 3a (helper/inducer) より優位であると報告している。¹¹⁾ 名倉らは孤立リンパ濾胞を免疫電顕的に観察し, 濾胞上皮細胞間リンパ球でも Leu 2a が Leu 3a 陽性細胞より優位を占めていると述べている。^{12),13)} 島田らは, 内視鏡で採取したヒト孤立リンパ濾胞のリンパ球サブセットを若年者, 高齢者の比較, 消化管部位による検討を加

え, 孤立リンパ濾胞上皮間リンパ球は Leu 2a 陽性細胞 (suppressor/cytotoxic cell) が優位であると報告している。^{14),15)} マウスを用いた研究では, Ermak & Owen が, 今回著者らが使用したのと同じ monoclonal 抗体を 1 次抗体とし ABC 法で光顕的に観察し, Peyer 板上皮間には Thy-1.2 が多く認められ, その T cell サブセットでは Lyt-2 が L3T4 より多く認められこの両者の総数が Thy-1.2 にほぼ等しく, 上皮下では L3T4 が優位であると報告している。¹⁶⁾

今回著者の光顕的観察でも Ermak & Owen の報告とほぼ同様の結果が得られ, Peyer 板被蓋上皮間には suppressor/cytotoxic T cell が優位を占め B cell, dendritic cell も少数介在し, 反対に Peyer 板被蓋上皮下では helper T cell が多数見られる。これはヒトおよびマウスにおいて Peyer 板上皮細胞間におけるリンパ球のサブセットは近似していることを示している。

一方, Peyer 板被蓋上皮間に存在し, 腸管内腔よりの抗原物質の侵入門戸とされる M細胞にかかわるリンパ球のサブセットの観察は光顕観察では不可能であり免疫電顕観察が必要となる。免疫電顕標本の固定には形態保持と抗原性の保存という互いに相反する問題があるが, 抗原破壊の少ない paraformaldehyde により組織を固定し, 過ヨウ素酸と lysin で抗原の糖鎖を固定する PLP 固定が最も適切と考え今回使用して良い結果が得られた。リンパ球表面抗原は常温では失活しやすく, またそれに対する monoclonal 抗体も破壊されやすいため凍結切片並びに低温操作が不可欠となる。免疫電顕観察の場合, 6 μ の凍結切片の細胞深部にまで抗体が到達する必要があるため 1 次抗体は 12~24 時間の反応を必要とし, また 2 次抗体には免疫グロブリンをそのまま使わずそのフラグメントである F(ab')₂ に分離して抗体の膜通過性を容易にし, これに比較的分子量の小さい酵素である peroxidase を標識したものを使用して組織浸透性を良好にした。

今回著者の免疫電顕による観察では, M細胞

にかかわるリンパ球サブセットはT細胞系では光顕観察における上皮間リンパ球と同様の分布傾向を示した。

名倉らは、ヒト孤立リンパ球濾胞上皮に見られるM細胞と HLA-DR (Ia) 陽性の上皮細胞間リンパ球, dendritic cell との関係を免疫組織化学を用い電顕的に観察し, M細胞と HLA-DR 陽性細胞が接している像を示し, M細胞により取り込まれた腸管内抗原情報はこれら被覆上皮間リンパ球に伝達されており, M細胞は GALT における antigen presenting cell (APC) system を形成していると報告している。¹³⁾ 今回マウスにおいてもM細胞近傍およびその直下の粘膜固有層にも I-A^d 陽性のリンパ球様細胞, dendritic cell が認められ, M細胞内およびそれに接する上皮細胞間リンパ球 IEL の両方に陽性像を示すものもあり I-A^d 陽性細胞の関与が強く示唆された。I-A^d 抗体は一部の activated T cell にも反応することよりこれらの陽性細胞の中には感作されたT細胞が含まれている可能性もあり, このT細胞は抗原刺激の豊富なM細胞周辺に分布していると考えられる。

また免疫学的機能を知る上でM細胞自身の抗原表出についての検索は重要でありヒトM細胞表面には HLA-DR (Ia) 陽性像がみられ抗原提示機能が示唆されるとの報告がある。¹³⁾ 今回著者のマウスでの研究でも M細胞の lateral membrane に陽性像がみられ, この反応は吸収上皮細胞の lateral membrane では認められておらず, またM細胞内腔側の表面, microfold には陽性像が得られていない。これによりヒトだけではなくマウスにおいても M細胞は

主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex: MHC) class II に属す Ia 抗原を表出することが確認された。また Ia 抗原はリンパ球との種々の免疫応答における interaction の主役であり, リンパ球への抗原提示機能を持ちある種の抗原提示細胞と呼ばれる細胞群では高濃度に表出されている。^{17), 18)} 今回の観察で Ia 陽性像がM細胞の apical に認められず lateral membrane にのみ認められる事実は, 抗原情報を得るリンパ球が接する機会の多い lateral membrane に Ia 抗原を表出しているものと考えられた。

これら免疫反応を利用した超微形態観察より, 消化管局所免疫の機序を考察すると, 腸管内の抗原物質は多くの secretory Ig-A を持つ M細胞表面より選択的に細胞内に取り込まれ, 抗原情報は処理されM細胞内および周辺に接する I-A^d 陽性細胞に伝達され, 粘膜下に多数認められる helper T cell に伝達されこれより放出される interleukin II (IL-II) により suppressor/cytotoxic T cell の上皮間への遊走を促し侵入した抗原物質に対処していると考えられる。

このように消化管免疫機構 GALT において抗原を取り込みその情報を生体内伝達し, その後の一連の免疫反応を促すM細胞の抗原提示細胞 (antigen presenting cell) としての重要性が指摘された。

稿を終るにあたり, 木原 疆教授の直接の御指導と御校閲に深く感謝致します。

本論文の要旨は昭和63年10月, 第30回日本消化器病学会総会において発表した。

文 献

- 1) 渡辺慶一, 泉 伸一, 名倉 宏, 小松達至: 酵素抗体法. 渡辺慶一, 中根一穂編: 改訂版. 東京, 学際企画社. 1985, pp. 39-71, 137-161
- 2) Owen, R. L. and Jones, A. L.: Epithelial cell specialization within human Peyer's patches: An ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles. *Gastroenterology* 66: 189-203, 1974
- 3) Owen, R. L.: Sequential uptake of horseradish peroxidase by lymphoid follicle epithelium of Peyer's patches in normal unobstructed mouse intestine: An ultrastructural study. *Gastroenterology* 72: 440-451, 1977

- 4) Owen, R. L., Pierce, N. F., Apple, R. T. and Cray, W. D., Jr.: Phagocytosis and transport by M cells of intact *Vibrio cholerae* into rabbit Peyer's patch follicles (abstr.). *J. Cell Biol.* 95: 446 a, 1982
- 5) Wolf, J. L., Kaufmann, R. S., Finberg, R., Dambrauskas, R., Fields, B. N. and Trier, J. S.: Determinants of reovirus infection with the intestinal M cells and absorptive cells of murine intestine. *Gastroenterology* 85: 291—300, 1983
- 6) Wolf, J. L., Dambrauskas, R., Sharpe, A. H. and Trier, J. S.: Adherence to and penetration of the intestinal epithelium by reovirus type 1 in neonatal mice. *Gastroenterology.* 92: 82—91, 1987
- 7) Fujimura, Y.: Functional morphology of microfold cells (M cells) in Peyer's patches—phagocytosis and transport of BCG by M cells into rabbit Peyer's patches. *Gastroenterol. Jpn.* 21: 325—335, 1986
- 8) Uchida, J.: An ultrastructural study on active uptake and transport of bacteria by microfold cells (M cells) to the lymphoid follicles in the rabbit appendix. *J. clin. Electron Microscopy* 19: 552—553, 1988
- 9) Selby, W. S., Janossy, G. and Jewell, D. P.: Immunohistological characterization of intraepithelial lymphocytes of the human gastrointestinal tract. *Gut* 22: 169—176, 1981
- 10) Selby, W. S., Janossy, G., Goldstein, G. and Jewell, D. P.: T lymphocyte subsets in human intestinal mucosa: The distribution and relationship to MHC-derived antigens. *Clin. exp. Immunol.* 44: 453—458, 1981
- 11) 塩田吉宣, 名倉 宏, 堤 寛, 斉藤秀樹, 玉置憲一: 単クローン性抗体を用いた免疫組織化学—小腸上皮間リンパ球の解析を中心に—. *消化器と免疫* 10: 149—154, 1983
- 12) 名倉 宏, 堤 寛, 島村和男, 塩田吉宣, 長谷英章, 玉置憲一: ヒト腸管孤立リンパ小節の免疫組織学的研究. *消化器と免疫* 12: 89—93, 1987
- 13) 名倉 宏, 鷺見幸子, 中村司朗: ヒトパイエル板および孤立リンパ小節の被覆上皮細胞間リンパ球の免疫組織化学的観察. *消化器と免疫* 18: 71—75, 1987
- 14) 島田一彦, 藤倉信一郎, 野尻裕之, 小島 隆, 田中三千雄, 佐々木 博: 正常ヒト終末回腸および十二指腸球部における孤立型リンパ小節の形態学的ならびに免疫組織学的検討. *日消病会誌* 82: 1337—1347, 1985
- 15) 島田一彦, 藤倉信一郎, 舟木 淳, 井田一夫, 小島 隆, 田中三千雄, 佐々木 博: 若年者及び高齢者における正常終末回腸パイエル板の免疫組織学的検討. *消化器と免疫* 19: 26—30, 1987
- 16) Ermak, T. H. and Owen, R. L.: Differential distribution of lymphocytes and accessory cells in mouse Peyer's patches. *Anat. Rec.* 215: 144—152, 1986
- 17) Benacerraf, B.: Role of MHC gene products in immune regulation. *Science* 212: 1229—1238, 1981
- 18) Bottazzo, G. F., Pujol-Borrel, R. and Hanafusa, T.: Role of aberrant HLA-DR expression and antigen presentation in induction of endocrine autoimmunity. *Lancet* 2: 1115—1118, 1983