

ヒト組織内リンパ球 subpopulation の分布に関する研究

第 2 編

臓器内浸潤リンパ球 subpopulation の分布——自己 免疫性疾患を中心として.

岡山大学医学部第二内科教室 (主任: 木村 郁郎教授)

研究生 郡 山 健 治

(昭和52年 2月14日受稿)

緒 言

生体の免疫監視機構にあずかり、免疫応答を担っているリンパ球は、胸腺由来リンパ球 (以下T細胞と略す)と骨髄由来リンパ球 (以下B細胞と略す) という大きく二群の subpopulation¹⁾ に分類されることが近年明らかになった。機能的には、T細胞は大部分の抗原を認識し、B細胞へ抗体産生の情報を伝達すると共にB細胞の抗体産生を調節して、細胞性免疫にあずかる。他方B細胞は一部分の抗原に関してはT細胞の指令に基き、一部の抗原に対しては直接それを認識することにより抗体産生を含む体液性免疫に関わっている。これら機能的に異なるリンパ球は、浮遊細胞の状態ではそれぞれの膜形質の相違を利用して形態的に識別することが可能である。Lay. W・H²⁾ らによって明らかにされた如く、ヒツジ赤血球 rosette 形成細胞 (以下 E-RFC) をT細胞として、また Bianco, C³⁾ らによって認められた IgM 感作補体結合ヒツジ赤血球 rosette 形成細胞 (以下 CRC と略) あるいは Unanue⁴⁾ ら, Pernis⁵⁾ らによって報告された膜表面免疫 globulin 保有細胞 (以下 SmIgBC と略) をB細胞として同定することが可能となって以来、末梢血中のリンパ球 subpopulation が各種疾患で検索されるようになった。しかしながら、組織内のリンパ球 subpopulation^{6,7)} を検索した研究は殆んどない。ヒトの病巣部に浸潤しているリンパ球の subpopulation の分布を組織レベルで同定することができれば、疾病の成立に関与している障害標的細胞とT細胞あるいはB細胞との関わり

方を顕微鏡下で形態学的に検索することが可能となる。疾病が自己免疫性疾患であれば、その成因がまだ不詳である現在、その病因論により具体的な一歩を更に踏み出すことも可能であろう。Dukor⁸⁾ らのマウス・リンパ組織におけるリンパ球 subpopulation の同定、および Silveira⁹⁾ らによるヒト・リンパ系組織におけるリンパ球 subpopulation の分布同定の報告に基いて、著者はヒトの組織内リンパ球 subpopulation の同定法に基礎的検討を加えた¹⁰⁾ が、この同定法を用いて主として自己免疫性疾患における標的臓器内リンパ球 subpopulation の分布を明らかにしようと試みた。

材料と方法

Sjögren 症候群患者 (4名) の唾液腺、橋本氏病患者 (4名) の甲状腺の生検時標品を用いた。また再生不良性貧血患者 (2名) の摘出脾、胸腺腫合併の重症筋無力症患者の胸腺摘出術で得られた非腫瘍性胸腺を用いた。また対照にはヒトリンパ節を用いた。標品は汙紙に載せ、O・C. T compound (Ame-s Co, U. S. A.) で包埋し、N-Hexan 内で-80℃にて瞬間凍結し、-25℃で4~6μの連続凍結切片として、第一編と同様に下記の手技で組織内リンパ球の subpopulation を検索した。また再生不良性貧血の摘出脾では、組織を PH. 7.2 Eagle MEM 液 (日水製薬) 中で細切したのち、18 mesh filter を通して Eagle MEM 液中に浮遊細胞を回収し、Conray Ficoll 比重遠沈法にてリンパ球分離を行ない中田らの方法¹⁰⁾ に準じてT細胞とB細胞の比率を算定した。

すなわち分離リンパ球についてヒツジ赤血球 rosette 形成細胞 (E-RFC) 陽性率と, IgM 感作補体結合ヒツジ赤血球 rosette 形成細胞 (C-RC) 陽性率を200個のリンパ球について算定した。

組織内T細胞同定法: 4℃に保存した採血後1ヶ月以内の Alsever 液浮遊ヒツジ赤血球(日本バイオテスト製)を生食液にて3回洗浄後, PH 7.4, gelatin veronal buffer (以下 GVB と略)で, 5%ヒツジ赤血球 (以下Eと略) 浮遊液を作製し, Eを組織内T細胞の marker とした。卵白 albumin を塗布した cover glass 上に各々の cryosection を載せ, Eを滴下後37℃, 15分孵置後, 内径3cmの plastic tube に入れ, ×200gにて5分間遠沈後, tube のまま0℃氷水上に60分間静置し, cold GVBにて, 余分のEを充分洗い落とし, 2.5% glutaraldehyde にて1時間固定し, Hematoxylin-Eosin 染色を施した。

組織内B細胞同定法: 抗ヒツジ赤血球ウサギ血清すなわち Hemolysin (北里研究所製) 10ml を塩析後, Sephadex G-200にて gel filtration を行ない, 第1の peak を IgM 抗体, 第2の peak を IgG 抗体として分画回収した。得られた IgM および IgG 抗体はヒツジ赤血球凝集価を測定し, それぞれヒツジ赤血球の最小凝集濃度の1/2容量と, 等量の5% E・GVB 液を37℃, 30分反応せしめて, 感作ヒツジ赤血球として, EA (IgM), EA (IgG) を作製した。EA (IgM) は GVB にて洗浄後, 新鮮ヒト血清 (O型, Rh (-)) の20倍希釈 GVB 液と等量で混和し, 37℃, 30分 incubate した。この際軽度溶血することを確認後, GVB に洗浄し, 再浮遊せしめて, 5% 補体結合 IgM 感作ヒツジ赤血球 (以下 EAC と略) を作製し, この EAC を組織内B細胞の marker とした。cover glass に載せた凍結切片を4℃にて充分, 冷風で乾燥させ, EAC を滴下し, 37℃, 30分間 incubate 後, cold GVB にて, 余分の EAC を充分洗い落とし, 組織内T細胞の同定法と同様に固定染色

を施した。対照に EA (IgM) を用いた。再生不良性貧血患者の脾切片では, リンパ球腺表面免疫 globulin を同定するために, 膜免疫蛍光法を用いた。すなわち脾の凍結切片 (4μ) を slide glass に載せ, 4℃にて充分乾燥せしめたのち, 固定をせずに PH 7.2, 0.15M phosphate buffer saline (以下 PBS と略)で10倍に希釈した FITC 標識ヒト IgG, IgM, IgA 各ウサギ血清 (いずれも F/P mol 比 2/3, Behringwerke 製) を載せ, 4℃, 30分間反応せしめた後, cold PBS にて充分洗浄し, glycerol 加 PBS を滴下し cover glass を置き paraffin にて密封後, Nikon 蛍光顕微鏡にて一次 filter は B・O filter, 二次 filter は No. 1 を用いて BV 励起法で観察した。

成 績

Sjögren 症候群と診断した4例は, いずれも40~50才代の女性で, 自覚的に xerostomia があり, 唾液分泌量 (市販ガムを10分間咀嚼させて計る) の低下 (2~10ml/10min), 唾液腺造影術にて sialectasis¹²⁾ を認め, Schirmer test 陽性, 赤沈中等度亢進 (20~80mm/1hr), 2.0g/dl 以上の高γ-globulin 血症を呈した症例であった (表1)。これらの唾液腺生検組織には, 瀰漫性単核細胞の浸潤を認め, 一部には epimyoeptithelial island も認めた。この唾液腺切片に EAC を反応せしめると, 大部分の浸潤リンパ球にリンパ球1個あたり平均2~3個の EAC を結合してB細胞と同定された (写真1)。E は導管の近傍に浸潤したリンパ球に平均1~2個の割に付着する傾向がみられた (写真2)。EAC を結合した大部分のリンパ球には, E も EA (IgG) も付着しなかった。一方導管近傍の浸潤リンパ球には, 一部 EAC の結合を認めた。EA (IgG) は浸潤細胞に対して, 一定の付着傾向を認めることは出来なかった。

橋本氏病と診断した4例は, 30~50才代の女性で瀰漫性柔ないし弾性硬の甲状腺腫があり, 血中抗 thyroglobulin 抗体および抗 microsome 抗体の陽性

表1 Sjögren 症候群症例の臨床所見

	sex	age	parotis swelling	KCS ※	salivary excretion	Schirmer test	ESR 1/2 h	sialo ※※ graphy
Case 1	F	42	+	+	3.5 ml/10 min	6 mm	50/78	3
Case 2	F	56	+	+	10.5	3	33/58	2
Case 3	F	55	-	+	12.0	2	43/83	3
Case 4	F	39	+	+	16.0	8	38/70	3

※ KCS: keratoconjunctivitis sicca

※※ sialography grade¹²⁾

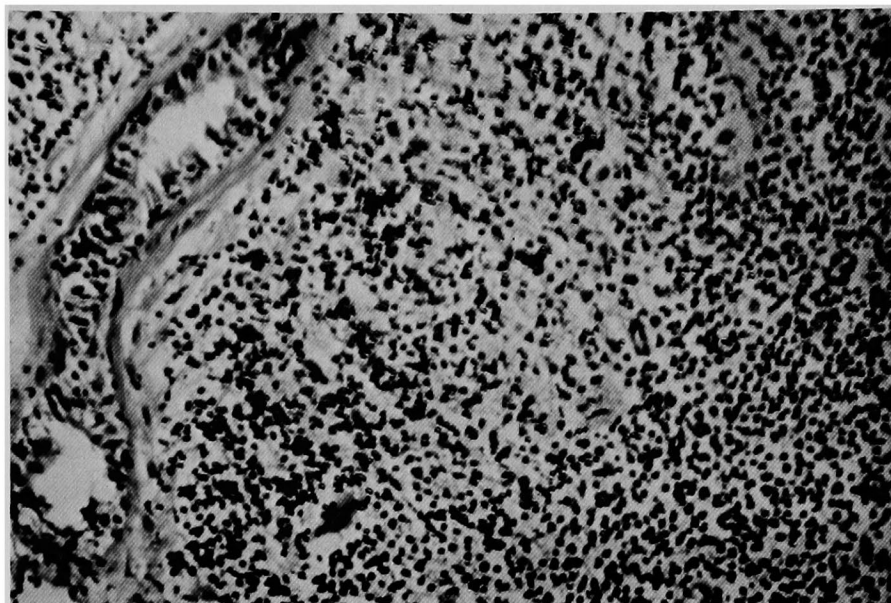


写真 1 : Sjögren 症候群の唾液腺.

浸潤リンパ球は大部分 EAC (白点) を結合している. (H・E 染色: 微分干涉顕微鏡, 100倍)

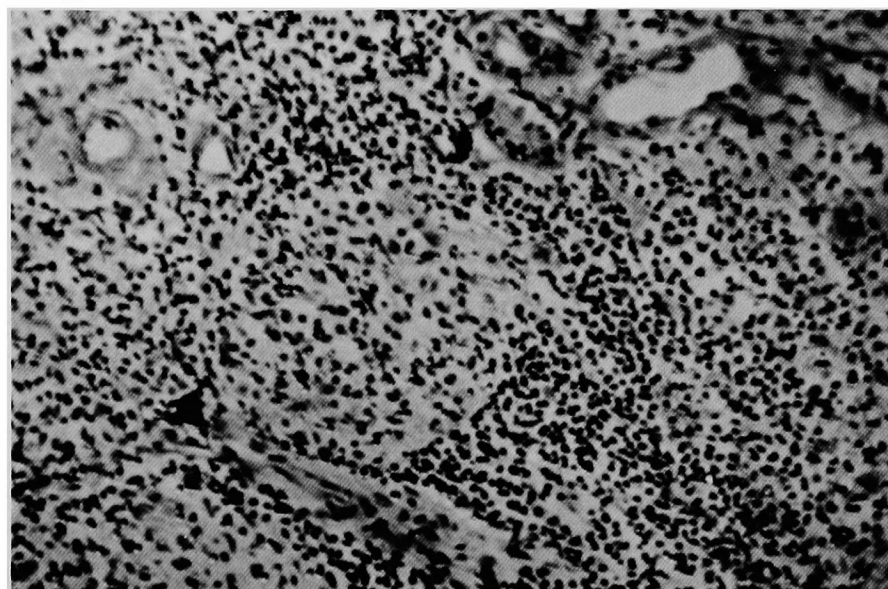


写真 2 : Sjögren 症候群の唾液腺.

E は導管周辺の浸潤リンパ球に付着する. (H・E 染色: 微分干涉顕微鏡, 100倍)

を認め, 血清 Triiodothyronine は正常ないし低下, ^{131}I -uptake は上昇ないしは正常であり, いずれも高 γ -globulin 血症を認める臨床的典型例であった (表 2). 病理所見では, 萎縮性の eosinophilic な上皮細胞によって形成された甲状腺濾胞の大小不同が著しく,

1例には結合組織の増生が認められた. 他の 3例の間質には, 芽中心を伴う瀰漫性細胞浸潤を認めた. これらの橋本氏病甲状腺の凍結切片に各 reagents を載せた結果, EAC は間質に浸潤した大部分のリンパ球に結合し (写真 3), その結合率はリンパ球 1個平

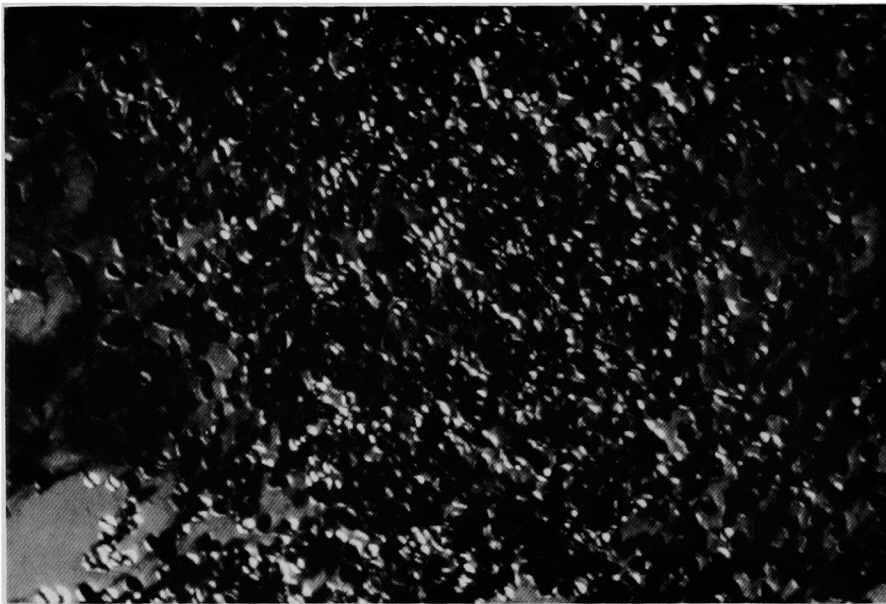


写真 3：橋本氏病甲状腺.

EAC (白点)が大部分の浸潤リンパ球に結合している。(H・E染色：微分干涉顕微鏡，200倍)

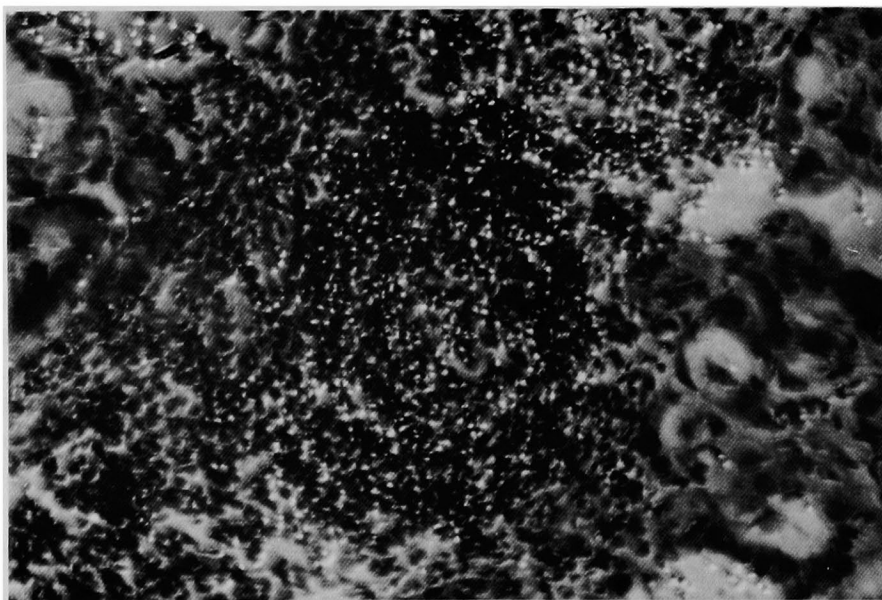


写真 4：橋本氏病甲状腺.

EAC (白点)は甲状腺内リンパ細胞に特異的に結合している。(H・E染色：微分干涉顕微鏡，100倍)

表 2 橋本氏病症例の臨床所見

	Sex	Age	Struma	^{131}I -uptake ※	Triosorb ※※	Anti-Thyroglobulin	γ -globulin
Case 1	F	42	elastic	24.0 (%)	34 (%)	(++)	1.8 (g/dl)
Case 2	F	34	soft	46.5	21	(+)	2.1
Case 3	F	47	elastic	18.0	27	(++)	1.7
Case 4	F	53	firm	32.0	8	(+++)	2.7

※ 正常値：10～40(%) ※※ 正常値：25～35(%)

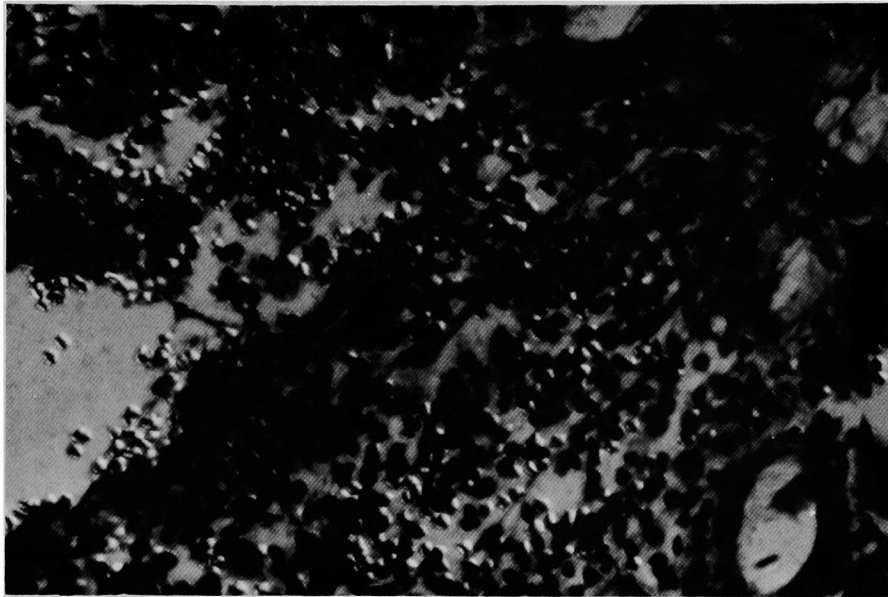


写真 5：橋本氏病甲状腺。

E (白点) は甲状腺濾胞周囲の浸潤リンパ球に付着する。(H・E 染色：微分干涉顕微鏡, 200倍)

均 EAC 3～4 個であった。また間質に認めたりリンパ濾胞には、暗殻および芽中心に特異的に EAC が結合しており (写真 4)、暗殻部の小リンパ球 1 個には EAC 2～3 個、芽中心を形成する中リンパ球 1 個には EAC 平均 5～6 個の結合率であった。EA (IgG) の甲状腺切片に対する反応は EA (IgM) と比較して特有の分布を認めることはできなかった。E はいずれの甲状腺切片においても、リンパ濾胞あるいは間質の大部分のリンパ球には付着せず、甲状腺濾胞上皮細胞の近傍に浸潤したリンパ球に付着する傾向を認め (写真 5)、その付着率はリンパ球 1 個につき平均 E 2～3 個であった。

再生不良性貧血の脾切片では白脾髄を形成しているリンパ球が 1 個あたり 4～5 個の EAC を結合し、白脾髄が CRC の集簇領域と同定された (写真 6)。連続切片で EA (IgG) を載せると EA (IgG) は白

脾髄内の細胞には全く付着せず、赤脾髄に存在する単核細胞が 1 個あたり平均 3～4 個 EA (IgG) を結合していた (写真 7)。E は脾切片に対して殆んど付着せず、組織片との反応時間、温度を変えてみても、あるいは酵素処理として 25 単位 neuraminidase で 37℃, 30 分または 0.5% bromelain で 37℃, 10 分間の処理を E あるいは脾切片に加えても、いずれの条件でも付着を認めることはできなかった。いっぽう摘出脾より分離した浮遊リンパ球 (trypan blue による viability 95% 以上) における EAC rosette 陽性率, EA (IgG) rosette 陽性率, Erosette 陽性率はそれぞれ, 46.5%, 33.5%, 24.0% であった (表 3)。すなわち脾の分離リンパ球では E-RFC を 20% 以上認めたにも拘らず、脾切片では E の付着が認められなかった。膜免疫蛍光法で脾切片を観察すると、白脾髄は主として抗 IgG 血清で膜蛍光陽性を呈する細

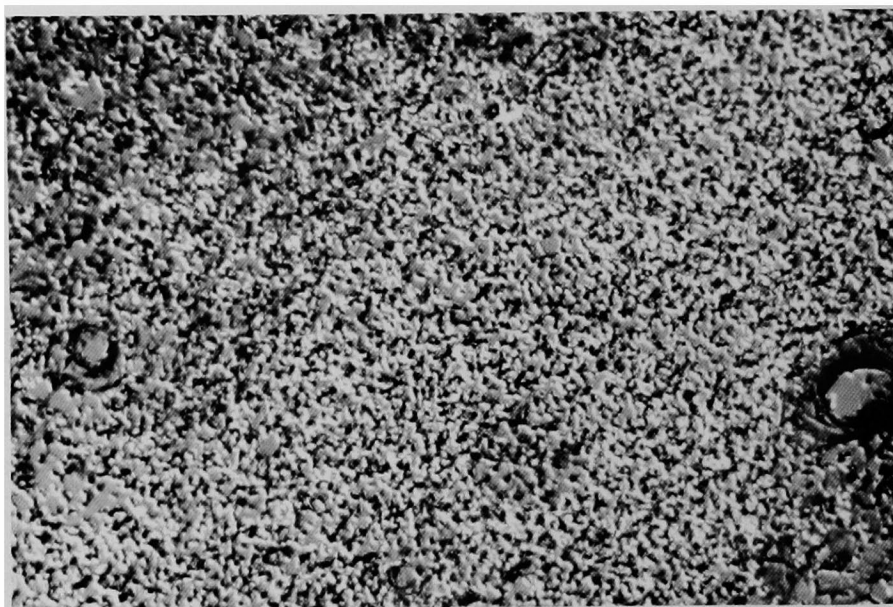


写真 6：再生不良性貧血の脾臓。

EAC（白点）は白脾髄内リンパ球に特異的に結合している。（H・E染色：微分干渉顕微鏡
微鏡，100倍）

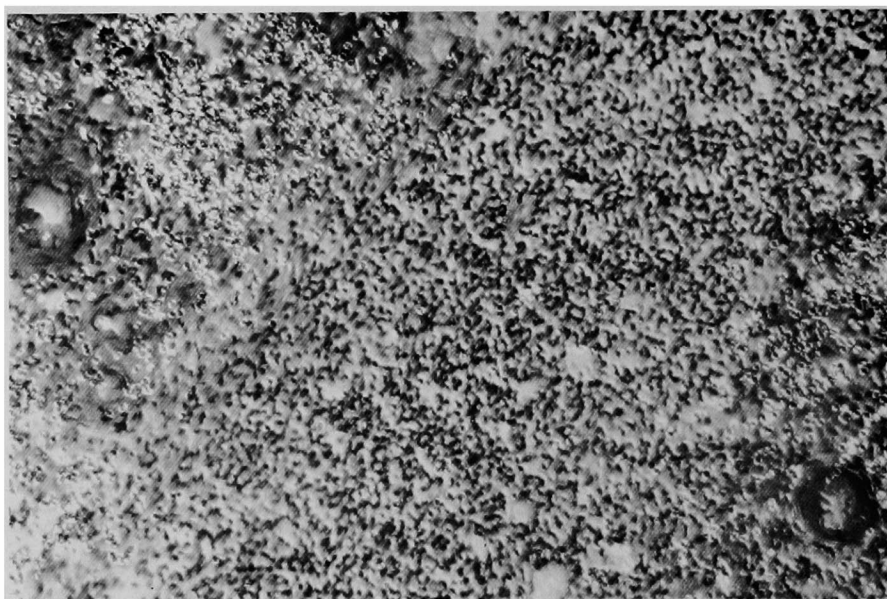


写真 7：再生不良性貧血の脾臓。

写真 6 の連続切片——EA（IgG）（白点）は白脾髄に付着せず赤脾髄に特異的に結合し
ている。（H・E染色：微分干渉顕微鏡，100倍）

表3 脾とリンパ節の分離細胞および切片への各 reagents の結合性

	Spleen		Lymph Node	
	Suspended Cells	Cryosection	Suspended Cells (M ± S. D)	Cryosection
EAC rosette	46.5 (%) 39.0	white pulp	31.50 ± 5.88 (%)	lymph follicle
EA rosette	33.5 36.0	red pulp	4.83 ± 3.66	not specific
E rosette	24.0 22.0	not detected	50.00 ± 7.92	paracortical area

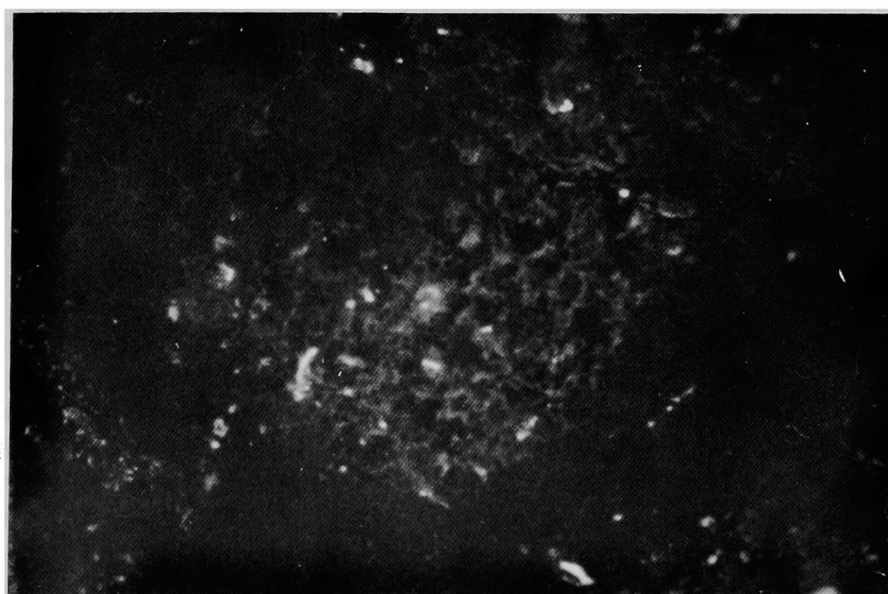


写真8：再生不良貧血の脾臓。

膜免疫蛍光法——白脾髄のリンパ球は抗 IgG 血清で膜蛍光陽性を呈する。(BV 励起法：蛍光顕微鏡, 200倍)

胞集団として認められ(写真8), 抗 IgM 及び抗 IgA 血清では膜蛍光陽性を示す細胞はほとんど見られなかった。

胸腺腫を合併した重症筋無力症—Osserman 分類 IIb 型—の非腫瘍部胸腺切片では, リンパ濾胞が数個認められたが, EAC はこれらの芽中心を有するリンパ濾胞内リンパ球に特異的に結合していた(写真9)。EAC のリンパ濾胞内リンパ球への付着率は, 芽中心に存在するリンパ球1個に平均5～6個, 暗殻部のリンパ球1個には平均2～3個の結合率であった。EA (IgG) は特異的な分布を示さなかった。E はリンパ濾胞に付着せず, リンパ濾胞間に存在するリンパ球200個に対し, 平均60～70個の付着率であった。

考 察

臨床所見から, 典型的 Sjögren 症候群と診断した患者4例の唾液腺にはいずれにも著明な単核細胞の浸潤を認めた。EAC はこれらの大部分の浸潤リンパ球に結合したことから, 浸潤リンパ球は殆んどB細胞であると考えられる。Chused⁹⁾らは, Sjögren 症候群患者の minor salivary gland について, B細胞 marker として著者と同様 EAC を用いて検索し, 大部分の唾液腺浸潤リンパ球が EAC を結合したことからB細胞と同定した。しかし彼等は唾液腺内T細胞を同定することができなかった。それは組織内T細胞の同定法に Silveira⁸⁾らの方法論を用いたため

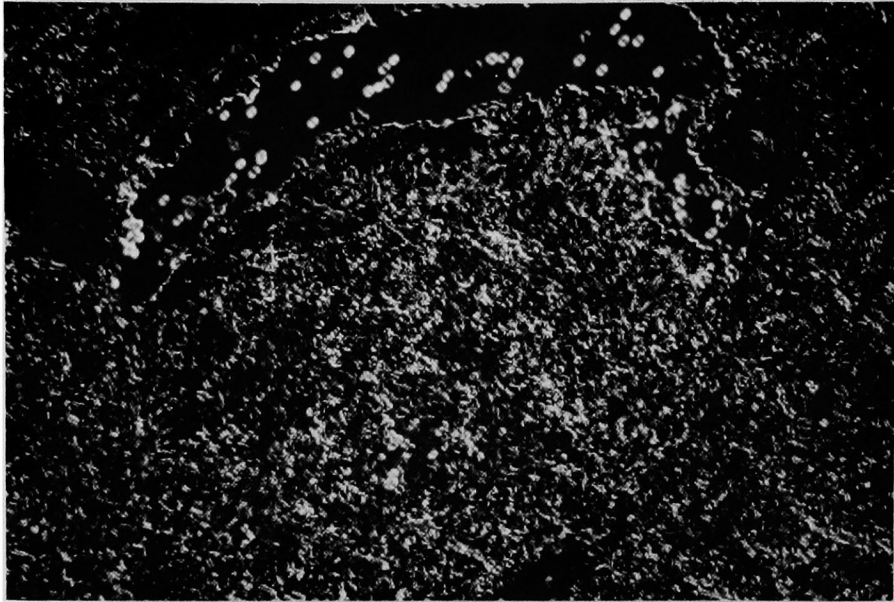


写真 9：重病筋無力症の非腫瘍部胸腺。

髄質のリンパ細胞は EAC（白点）を濃密に結合する。（H・E 染色：微分干渉顕微鏡，100倍）

と考えられる。Silveira らはヒトリンパ節、胸腺切片上において T 細胞の分布が E rosette 法を用いて可能と結論したが、その条件は E を組織切片と、37℃、15分反応後、0℃にて1時間静置するという方法論であった。第1編で述べた如く、cryosection で彼等の E rosette 法を用いるのは、リンパ節ではある程度可能であるが、胸腺では殆んど不可能なことが判明した。著者は cryosection に E を滴下し、37℃、15分間の incubation に続いて×200g、5分間の遠沈操作を加えることによって胸腺リンパ球への E の付着をみることができた。この方法論を用いて、Sjögren 症候群の唾液腺内浸潤リンパ球を検索すると、E は導管細胞の周辺に浸潤しているリンパ球に付着する傾向を認めることができた。Talai¹³⁾ らは、抗 T 血清を用いた蛍光抗体法で Sjögren 症候群患者の唾液腺内浸潤リンパ球の検索を行った結果、導管周辺部に T 細胞が多かったとしている。しかしながら彼等は B 細胞の分布については検索していない。著者の方法論で Sjögren 症候群の唾液腺内の浸潤リンパ球 subpopulation を同定すると、大部分の浸潤リンパ球は B 細胞であり、T 細胞は標的細胞と考えられる導管上皮細胞の周辺に存在すると結論される。

橋本氏病の甲状腺における浸潤リンパ球の sub-

population を組織レベルで検索した報告はまだない。

著者の検索した 4 例の甲状腺は、病理組織学的に間質内に瀰漫性単核細胞の浸潤を認める典型的橋本氏病であった。浸潤リンパ球には一部に芽中心の形成も認めた。これらの間質に浸潤したリンパ球は、リンパ細胞を形成するに至ったリンパ球を含めて EAC を特異的に結合したことから B 細胞であると同定された。E は間質内リンパ細胞には付着せず、甲状腺細胞上皮細胞の周辺に浸潤したリンパ球に付着する傾向を認めることができた。この所見は Sjögren 症候群の唾液腺におけるリンパ球 subpopulation の分布と相以している。すなわち橋本氏病においても、Sjögren 症候群と同様、感作 T 細胞は標的細胞（Sjögren では導管細胞、橋本氏病では甲状腺細胞上皮細胞）に直接関わって存在している可能性がある。桜美ら¹⁴⁾ Brostoff¹⁵⁾ らは橋本氏病患者の末梢リンパ球を甲状腺抗原とともに培養すると、MIF および甲状腺上皮細胞に対して細胞障害性を示す lymphotoxin が産生されるという実験結果から感作 T 細胞による細胞性免疫を重視している。著者の検索結果は、これらの感作 T 細胞が標的細胞に直接関わっていることを形態学的に観察したものである。しかしながら、橋本氏病甲状腺ではリンパ細胞を始めとして大部分リンパ球が B 細胞であると同定されたことは、橋

本氏病では感作T細胞が病変の起点ではあっても、B細胞による液性免疫の関与の可能性を否定することはできない。

つぎに再生不良性貧血の脾内リンパ球 subpopulation について考察する。用いた2例の摘出脾は、厚生省の診断基準に従って、特発性と考えられ、貧血、出血症状および汎血球減少症があり、末梢血液所見で赤血球数300万/cm³以下、hemoglobin 10g/dl以下、白血球3000/cm³以下、血小板数5万/cm³以下の条件を満たす定型的再生不良性貧血患者の摘出脾であった。白脾髄には軽度萎縮傾向がみられ、また赤脾髄には細網細胞の軽度の増加は認められたが、腺維症などの明らかな異常所見は認められなかった。runt病を初めとするGVH反応が骨髄の低形成を常に伴う事実^{16,17)}やpure red cell aplasiaでは胸腺腫や重症筋無力症を伴う症例が多く^{18,19,20)}またまれではあるが、再生不良性貧血患者血清中に赤血球、白血球、血小板に対する抗体^{21,22)}が証明されることもあることから、ある種の再生不良性貧血の成因に細胞性免疫の異常が関与するという考え方もある。島峰²³⁾らは再生不良性貧血においては、胸腺および脾臓を含めて一般に萎縮性と主張している。これらの観点より再生不良性貧血患者の末梢血リンパ球 subpopulationを量的および機能的に解析した有森ら²⁴⁾の報告では、重症例ではT細胞数が減少しPHAなどのmitogenに対する反応性が極度に低下したとしている。今回用いた摘出脾では、分離リンパ球としてはE-rosette陽性細胞が20%以上に認められるにも拘わらず、脾切片では、T細胞の分布領域であることが実験動物で明らかにされているperiarterial lymphoid sheath²⁵⁾を含めてEの付着が殆んど認められなかったのは、再生不良性貧血では末梢血と同様、脾内T細胞のE-rosette形成能が低下しているためと考えられる。実験動物では²⁶⁾リンパ節のT細胞が成熟型であるいっぽう、脾内T細胞は、未熟型であるとされており、第1編で述べた如く、ヒトリンパ節切片で傍皮質領域にEの付着を認めたことと対比すると、脾内T細胞は分離浮遊細胞としてはE-RFCとして同定されても、凍結切片とした際には、膜形質が脆弱なため、凍結あるいは融解という物理的变化を受け易く、そのため、E-RFCとして同定されないという可能性もある。

次にEA(IgG)が赤脾髄内の単核細胞に結合したのは、摘出脾の比重遠沈法で得られた分離単核細胞においても30%以上であったことを考慮すると、

macrophagのIgG-Fc receptor²⁷⁾を介してEA(IgG)が特有の分布を示したと考えられる。²⁸⁾Bastenらによれば、IgG-Fc receptorはmonocyte系細胞およびB細胞に存在するとしているが、白脾髄にはEACが結合し、赤脾髄にはEA(IgG)がそれぞれ特異的に結合したことから、組織レベルではB細胞は、Fc receptorによって同定することができず、またmonocyte-macrophage系細胞はIgG-Fc receptor保有細胞としては同定できるが、C-RCとして同定することができないと考えられる。

以上のことは、再生不良性貧血患者の脾臓における特殊性という可能性もあるが、ヒト正常脾における検索が全くなされてないので、これ以上の考察はなし得ないのが現状である。ただ、膜免疫蛍光法では、白脾髄が抗IgG血清で陽性蛍光を呈することが多かった。第1編で述べた如く、扁桃リンパ球によってリンパ母細胞が形成されることが多かったことに比較すると、脾臓のリンパ母細胞は細胞膜としては成長した機能を有するリンパ球から形成されている可能性もあるが、再生不良性貧血における脾内リンパ母細胞の属性とも考えられ、今後なお、検討を加える必要がある。

重症筋無力症が胸腺腫を合併することをWeigert²⁹⁾らが記載し、抗筋抗体³⁰⁾および抗運動神経終板抗体³¹⁾が重症筋無力症患者血清中に証明されることから、重症筋無力症と自己免疫性疾患の関連性が検索されているが、胸腺腫あるいは胸腺過形成という胸腺異常と重症筋無力症の関係についてはまだ不明な点が多く、重症筋無力症にみられる胸腺髄質の胚中心を有するリンパ母細胞³²⁾は、他の自己免疫性疾患(全身性エリトマトーデス、橋本氏病、その他)より頻度も大きさも大であるが、その性格は明らかにされていない。Sigelerら³³⁾は、NZBマウスの胸腺内リンパ母細胞は循環リンパ球の浸潤によって形成されたと考え、末梢循環リンパ球の半数以上がT細胞であるところから、T細胞と考えた。Smiley³⁴⁾らは胸腺リンパ母細胞は、自己抗原が胸腺内に侵入することより、抗体産生細胞あるいはその前駆細胞が増殖してリンパ母細胞になるのであるとし、B細胞と考えた。Staber³⁵⁾らは重症筋無力症における増生型胸腺切片において、胚中心を形成したリンパ母細胞のリンパ球が特異的にEACを結合したことから、増生型胸腺のリンパ母細胞がB細胞集簇部であることを形態学的に初めて同定した。著者は胸腺腫を合併した重症筋無力症において、非腫瘍部胸腺の切片で数個の

リンパ細胞を認め、これらのリンパ細胞を形成するリンパ球が特異的に EAC を結合したことから、重症筋無力症における非腫瘍部胸腺のリンパ細胞も、増生型胸腺もリンパ節内のリンパ細胞と同様、B 細胞より成ると考えた。すなわち Goldstein³⁶⁾ らが仮設した如く、重症筋無力症は、胸腺腫あるいは胸腺リンパ細胞の出現から考えて、自己の acetylcholine receptor に由来する抗原が胸腺内で B 細胞を中心として免疫反応を招来し、その結果生じた胸腺炎がその発症原因であると推論される。

結 論

各種自己免疫性疾患の標的臓器内浸潤リンパ球の subpopulation の分布を、E を組織内 T 細胞 marker として、また EAC を B 細胞 marker として検討した結果、以下の結論を得た。

1. Sjögren 症候群の唾液腺では浸潤リンパ球の殆んどは B 細胞であり、T 細胞は導管上皮細胞の周辺に存在していた。

2. 橋本氏病甲状腺においても間質内リンパ細胞

を初め、大部分の浸潤リンパ球は B 細胞と同定されたが、T 細胞は甲状腺上皮細胞の近傍に存在していた。

3. 再生不良性貧血脾臓では E rosette 法によって組織レベルで T 細胞は同定できなかった。白脾髄は B 細胞集簇部として同定された。また膜免疫蛍光法では白脾髄は主としてリンパ球膜表面 IgG 保有細胞より形成されていた。赤脾髄内の macrophage は EA (IgG) を結合し、脾臓においては macrophage は IgG-Fc receptor を介して同定することができる。

4. 胸腺腫合併の重症筋無力症においては非腫瘍部胸腺内のリンパ細胞は末梢リンパ系組織のリンパ細胞と同様、B 細胞の集簇部である。

稿を終えるにあたり、御厚情を賜りました恩師高知医科大学学長平木潔教授(岡山大学名誉教授)および木村郁郎教授(岡山大学医学部第二内科)に謝意を表しますと共に、直接、ご指導、ご校閲を戴きました 有森茂教授(東海大学医学部内科学)に心より深謝致します。

文 献

- 1) Roitte, I. M., Greaves, M. F., Torrigiani, G., Brostoff, J. and Playfair, J. H. L.: The cellular basis of immunological responses. A synthesis of some current reviews. *Lancet* 2, 367 - 374, 1969.
- 2) Lay, W. H., Mendes, N. F., Bianco, C. and Nussenzweig, V.: Binding of sheep red blood cells to a large population of human lymphocytes. *Nature* 230, 531-532, 1971.
- 3) Bianco, C., Patrick, R. and Nussenzweig, V.: A population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody-complement complexes. I. Separation and characterization. *J. Exp. Med.* 132, 702-720, 1970.
- 4) Unanue, E. R., Gray, H. M., Rabellino, E., Campbell, P. and Schmidt, J.: Immunoglobulins on the surface of lymphocytes. II. The bone marrow as the main source of lymphocytes with detectable surface-bound immunoglobulin. *J. Exp. Med.* 133, 1188-1198, 1971.
- 5) Pernis, B., Formi, L. and Amante, L.: Immunoglobulins as cell receptors, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 190, 420-424, 1971.
- 6) Silveira, N. A., Mendes, N. F. and Tolnai, M. E. A.: Tissue localization of two populations of human lymphocytes distinguished by membrane receptor. *J. Immunol.* 108, 1456-1460, 1972.
- 7) Chused, T. M., Hardin, J. A., Frank, M. M. and Green, I.: Identification of cells infiltrating the minor salivary glands in patient with Sjögren's syndrome. *J. Immunol.* 112, 641-648, 1974.

- 8) Dukor, P., Bianco, C. and Nussenzweig, V.: Tissue localization of lymphocytes bearing membrane receptor for antigen-antibody-complement complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **67**, 991-997, 1970.
- 9) 郡山健治: ヒト組織内リンパ球 subpopulation の分布に関する研究, 第1編 組織内リンパ球 subpopulation の分布同定法の基礎的検討および各リンパ組織におけるその分布, 岡山医学会雑誌投稿中.
- 10) 中田安成, 多田慎也, 有森茂: 自己免疫性疾患における lymphocytes subpopulation, *アレルギー* **23**, 742~752, 1974.
- 11) Gray, H. M., Rabellino, E. and Pirofsky, B.: Immunoglobulin on the surface of lymphocytes. *J. Clin. Invest.* **50**, 2368-2375, 1971.
- 12) 市川幸延, 郡山健治, 中田安成, 有森茂: Sjögren 症候群. 唾液腺組織像と唾液腺造影所見の相関を中心として. *アレルギー* **25**, 441~446, 1976.
- 13) Talal, N., Sylvester, R. A., Daniels, T. E., Greenspan, J. S. and Williams, J. R. C.: T and B lymphocytes in peripheral blood and tissue lesions in Sjögren's syndrome. *J. Clin. Invest.* **53**, 180-189, 1974.
- 14) 桜美武彦, 栗原二郎, 難波秀弘, 加地隆彦, 上原弘道, 深瀬政市: 橋本病, *日本臨床* **31**, 3461~3467, 1973.
- 15) Brostoff, J.: Migration inhibition studies in human disease. *Proc. R. Soc. Med.* **63**, 905-913, 1970.
- 16) Billingham, R. E., Detendi, V., Silvers, W. K. and Steinmuller, D.: Quantitative studies on runt disease in neonatal rats. *J. Natl. Cancer Inst.* **28**, 365-435, 1962.
- 17) Cornelius, E. A. and Pearson, H. A.: Depression of erythrocyte maturation as a result of the graft-vs-host reaction. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **132**, 564-567, 1969.
- 18) Chalmers, J. N. M. and Boheimer, K.: Pure red cell anemia in patient with thymic tumors. *Brit. Med. J.* **2**, 1514-1522, 1954.
- 19) Hirnrichs, V. R. and Stevenson, T. D.: Thymoma, myasthenia gravis and aplastic anemia. *Ohio Med. J.* **61**, 31-39, 1965.
- 20) Hirst, E. and Robertson, T. I.: The syndrome of thymoma and erythroblastopenic anemia. A review of 56 cases including 3 case reports. *Medicine* **46**, 225-242, 1967.
- 21) Stacher, A.: Zur Klinik und Therapie der Knochenmarksinsuffizienz. *Wien. Klin. Wochenschr.* **76**, 785, 1964.
- 22) Weinreich, J. und Muller, W.: Immunhaematologische Untersuchungen bei Panzytopenien. *Acta Haematol.* **16**, 376-384, 1956.
- 23) 島峰徹郎, 石原桂子, 丹下剛: 再生不良性貧血の病理. *最新医学* **29**, 1055~1061, 1974.
- 24) 有森茂, 中田安成, 郡山健治, 市川幸延: 再生不良性貧血患者リンパ球に関する研究. *日本血液学会誌* **38**, 557~563, 1975.
- 25) Goldschneider, I. and McGregor, D. D.: Anatomical distribution of T and B lymphocytes in the rat. Development of lymphocyte specific antisera. *J. Exp. Med.* **138**, 1443-1462, 1973.
- 26) Cantor, H. and Asofsky, R.: Synergy among lymphoid cells mediating the GVH response. IV. Evidence for interaction between two types of thymus-derived cells. *J. Exp. Med.* **135**, 764-779, 1972.
- 27) Huber, H. Douglas, S. D. and Fudenberg, H. H.: The IgG receptor: an immunological marker or the characterization of mononuclear cells. *Immunol.* **17**, 7-21, 1971.
- 28) Basten, A., Miller, J. F. A. P., Sprnet, J. and Pye, J.: A receptor for antibody on B lymphocytes. 1. Method of detection and functional significance. *J. Exp. Med.* **135**, 610-616, 1972.
- 29) Weigert, C.: Pathologische-anatomischen Beitrag zur Erbschen Krankheit. *Arch. F. Psych-*

- iat. Berl. 34, 1063-1066, 1971.
- 30) Simpson, J. A. : Myasthenia gravis as an autoimmune disease. Clinical aspects. Ann. N. Y. Acad. Sci. 135, 506-516, 1966.
- 31) 有森茂, 多田慎也, 小橋秀広, 市川幸延, 郡山健治 : *invivo* で証明された重症筋無力症患者血清 IgG 分画にふくまれる抗膜抗体と, 抗運動終板抗体. アレルギー 23, 839~841, 1974.
- 32) Sloan, H. E. : Thymus in myasthenia gravis with observations on the normal anatomy and histology of the thymus. Surger. 13, 154-174, 1943.
- 33) Siegler, R. : Pathogenesis of thymic changes in NZB mice with hemolytic anemia. J. Exp. Med. 122, 929-942, 1965.
- 34) Smiley, J. D., Bradley, J., Daly, D. and Ziff, M. : Immunoglobulin synthesis *in vitro* by human thymus. Comparison of myasthenia gravis and normal thymus. Clin. Exp. Immunol. 4, 387-399, 1969.
- 35) Staber, F. G., Fink, U. and Sack, W. : B lymphocytes in the thymus of patients with myasthenia gravis. New Engl. Med. 292, 1032-1033, 1975.
- 36) Goldstein, G. : The thymus and neuromuscular function, a substance in thymus which causes myositic and myasthenic neuromuscular block in ginea pigs. Lancet. 2, 119-122, 1968.

**Studies on the distribution of lymphocyte subpopulations
in human tissues**

**Part 2. Identification of lymphocyte subpopulations infiltrating
in autoimmune diseases**

Kenji KORIYAMA

Second Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Professor Ikuro Kimura)

The lymphocyte subpopulations were detected in the target organs obtained from various autoimmune disorders on the tissue cryosections. Thymus-derived lymphocytes (T cells) and bone marrow-derived lymphocytes (B cells) were detected by rosette formation with sheep erythrocytes (E) or with sheep erythrocytes coated with antibody and complement (EAC) respectively. Almost all infiltrating lymphocytes in the salivary glands in patients with Sjogren's syndrome were identified as B cells and T cells were detected only along the ducts. In Hashimoto's thyroiditis, infiltrating lymphocytes with the lymph follicles in the thyroid gland were mostly B cells whereas T cells localized as surrounded the thyroid follicles. T cells would not be detected in the spleen sections obtained from the patients with hypoplastic anemia at all. The white pulp was constituted by B cells, and the mononuclear cells in the red pulp might be macrophages of which these cell surfaces had IgG-Fc receptors.

The lymph follicles of the thymus in a patient with myasthenia gravis complicated with thymoma was demonstrated to be formed with B cells.

Therefore, it could be concluded that B cells were predominant lymphocytes in the target organs, while T cells localized in situ developing the autoimmune reactions in various autoimmune diseases.