

ヒト胎生期リンパ網内系における S-100 蛋白サブユニット 陽性組織球およびリンパ球の発生に関する研究

岡山大学医学部第二病理学教室 (主任: 赤木忠厚教授)

能 勢 総 一 郎

(昭和63年3月11日受稿)

Key Words : S-100 protein, monospecific antibody, lymphoreticular system,
human fetus and yolk sac

緒 言

S-100 蛋白 (S-100) は、最初仔牛脳から分離されたカルシウム結合性の蛋白質で^{1),2)}、動物種を越えて広く存在していることが知られている。さらにこの蛋白質は、初め神経外胚葉由来の細胞に特異的と考えられていたが^{3),4)}、後に免疫化学的ならびに免疫組織学的方法により種々の組織・細胞に存在することが明かとなってきた。ヒトにおいても神経系以外では、脂肪細胞、軟骨細胞、汗腺の筋上皮細胞、表皮の Langerhans 細胞 (LC)、メラノサイト、リンパ節の interdigitating reticulum cell (IDC) など多くの細胞に証明されている⁵⁾⁻¹⁰⁾。

さらに最近では、S-100 が α 鎖と β 鎖の二種類のサブユニットからなる二量体で、そのサブユニット構成の違いから少なくとも三種類の蛋白質が存在していることが判明した。これらのものは S-100_{αα}、S-100_{αβ}、S-100_{ββ} とよばれ、それぞれが $\alpha\alpha$ 、 $\alpha\beta$ 、 $\beta\beta$ のサブユニット構成を持っている^{11),12)}。

これらのサブユニットに対する特異抗体を用いた研究では、ヒト成人の組織・細胞内において免疫組織学的に観察しうる α 鎖と β 鎖の分布に違いがみられることが判ってきている。ヒト正常組織では α 鎖のみを有する細胞群 (神経細胞など)、 β 鎖のみを有する細胞群 (Schwann 細胞など)、 α および β 鎖の両者を有する細胞群 (メラノサイト、軟骨細胞など) の 3 群が認められ、 β 鎖陽性細胞の分布は、従来 S-100 蛋白混合

物に対する抗体で得られた結果と一致する¹³⁾。

一方、ヒトリンパ網内体系では、S-100 α 鎖 (S-100 α) が、従来 S-100 陰性と考えられていたマクロファージや血中の単球に陽性で、S-100 陽性の LC や IDC には陰性であること、逆に S-100 β 鎖 (S-100 β) は LC や IDC に陽性であるがマクロファージや単球には陰性であることが判明している¹⁴⁾。さらに最近では、ヒト成人において末梢血 T リンパ球の一部に S-100 β 陽性のものが存在し、それらが suppressor/cytotoxic T 細胞に属することも知られるようになってきている^{15),17)}。

今回我々は、これら S-100 各サブユニット陽性のマクロファージ、IDC、および S-100 β 陽性リンパ球のヒト胎生期における動態を免疫組織学的方法で検討したので報告する。

材料および方法

S-100 サブユニット抗体: 高知医科大学、高橋博士から分与されたものを使用した。抗体の作成法、特異性は文献^{13),14)}に記載された通りである。簡単に述べると、S-100 α 、S-100 β に対する特異家兔血清は、それぞれ牛脳から分離・精製した S-100_{αα}、S-100_{ββ} 蛋白を完全 Freund アジュバンドと共に家兔に皮内注射して作製した。得られた抗体の交叉反応を除くために、アフィニティー・クロマトグラフィーで精製を行い、 α 鎖および β 鎖に対する特異性は、アガロース・ゲル内でのオクタロニー二重拡散法および、enzyme-linked immunosorbent assay により確認した。最終的に得られた抗体の濃度は、抗 S-

100 α 抗体が140 μ g/ml, 抗S-100 β 抗体は150 μ g/mlであった。

材料：胎生第4—7週のヒト胎児卵黄嚢15例, および第4—21週のヒト胎児31例を用いた。得られた胎児及び卵黄嚢のうちを図1に示す。新生児としては生後第4週の1例を検索した。胎児におけるリンパ網内組織として, 胸腺・リンパ節・脾・骨髄および肝につき検討した。骨髄は十分量の材料が得られ易かった脊椎骨のものを主に用いた。しかし, 脊椎骨髄腔内に造血系細胞が見られたのは著者の集めた材料では, 胎生第16週以降の胎児であったので, それ以前(8週から15週)のものについては大腿骨髄を観察した。大腿骨では髄腔は胎生第8週で形成され, 第12週にはわずかながら造血が認められた。

いずれの材料も10%緩衝ホルマリンで固定, 通常通りエタノール系列で脱水パラフィン処理し, 4.5 μ mの厚さに薄切した。

免疫組織学的染色：薄切切片はキシレン・ア

ルコール系列で脱パラフィンし, 内因性のペルオキシダーゼ阻止反応を行った後(0.3%過酸化水素水/メタノール, 30分), トリス塩酸緩衝生理食塩水(pH 7.6)中でウサギ抗体に対しては peroxidase anti-peroxidase (PAP) 法¹⁸⁾, 単クローン抗体に対しては avidin-biotin complex (ABCp) 法¹⁹⁾で免疫染色を行った。使用した一次抗体は, 前述のS-100 α およびS-100 β それぞれに対する monospecific な抗体(各1:10), および抗 leukocyte common antigen 抗体(LCA, 1:20)および抗 Isozyme 抗体(LZM, 1:200), (DAKO社, Denmark)である。核染はヘマトキシリンないしメチルグリーンで行なった。

また薄切切片の一部は, S-100 α とLZM, S-100 β とLCAを組み合わせた二重染色を, 影下²⁰⁾の方法に準拠して行なった。即ち薄切した切片を脱パラフィン, 内因性ペルオキシダーゼ阻止を行なった後, 一方の特異抗体を用いた酵素抗体法(PAP法ないしABCp法)を行なった。い

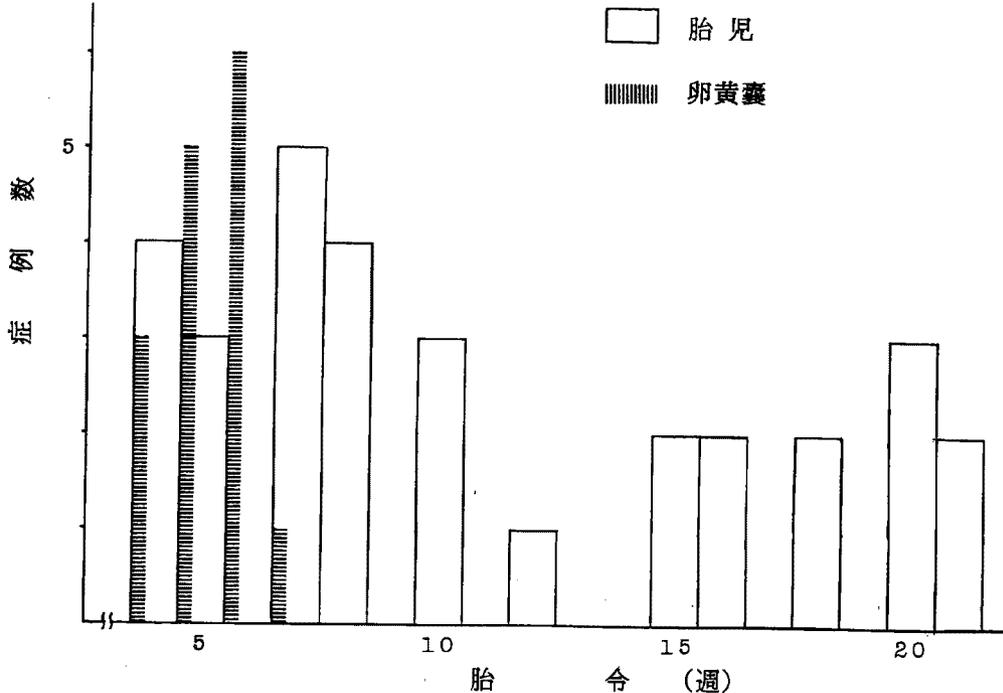


図1 検索に用いた胎児および卵黄嚢の数と胎齢

いずれも H_2O_2 存在下に DAB を用いて発色した。続いて重染色に用いる他方の特異抗体を使い avidin-biotin alkaline phosphatase complex (ABCa) 法で免疫反応を行なった。ABCp 法、ABCa 法は Vector 社 (Burlingame CA, USA) のキットを用いて行ない、ABCa の発色には Fast Blue BB salt (Sigma 社) を用いた。

免疫電顕；材料のいくつかは、以下の方法により免疫電顕的検索を行なうために薄切をした。新鮮材料をマイクロスライサーにより、冷リン酸緩衝生理食塩水中で40—60 μ mの厚さに薄切するか、または0.5%グルタルアルデヒドで4℃、1時間固定した材料を、濃度勾配をつけた蔗糖／リン酸緩衝液で順次置換し、OCT compound に包埋、ドライアイス／アセトンで急速凍結した後、クリオスタットで6—8 μ mの厚さに薄切した。薄切した材料は、10%非感作ブタ血清を室温で10分間反応させた後、horseradish peroxidase で標識した S-100サブユニット特異抗体を反応させた(4℃、1夜)。続いて0.5%グルタルアルデヒドで4℃、10分間再固定し、冷 PBS で十分洗浄した後、 H_2O_2 を添加しない DAB 溶液 (incomplete Graham-Karnovsky's solution) に室温、30分間浸漬、洗浄することなく DAB- H_2O_2 溶液 (complete Graham-Karnovsky's solution) で室温、10分反応した。いずれの DAB 溶液にも、内因性ペルオキシダーゼ阻止の目的で、0.1M アジ化ナトリウムを加えた。冷 PBS で反応を止めた薄切材料は、1%酸化オスミウムで1時間固定後型通りエタノールで脱水、エボン包埋し、LKB Ultramicrotome

type III で超薄切片を作製、電子染色を行なうことなしに電顕 (明石 LEM 2000) による観察を行なった。

結 果

S-100 α 陽性マクロファージ；S-100 α の染色結果を表1に示す。S-100 α 陽性の細胞は、胎生第4週の卵黄囊の間葉細胞間や毛細血管内の血島内あるいは血管壁に付着するようにしてすでに少数ながら認められた(図2)。同様の S-100 α 陽性細胞は、少数ではあるが胎児血管内や未熟な心臓内腔にも存在し、さらに胎児の原始消化管周囲の間質にも少数の S-100 α 陽性細胞が見られた。これらの S-100 α 陽性細胞は比較的豊富な胞体を有しており、一部のものでは、細胞崩壊産物を貪食している像もみられた(図3)。また同じ週齢の肝においては不完全な類洞内に少数の S-100 α 陽性細胞を認めた(図4)。なおこの時期の肝類洞内には成熟した赤芽球を認めるのみで未だ明瞭な肝造血は始まっていなかった。S-100 α はこれらの細胞において胞体内に顆粒状に染まり(図2, 4)、この染色態度は成人における S-100 α 陽性マクロファージと同様で、我々はこれらの陽性細胞がマクロファージに相当するものと判断した。肝では胎生第5週になって、はじめ主として類洞外に赤芽球を主とする造血巣がみられ、ついで類洞内でも造血が活発となる。S-100 α 陽性マクロファージは類洞内に遊離してみられるだけでなく、週齢が進むにつれて類洞内皮の位置に Kupffer 細胞と思われる陽性細胞が認められる様になるとともに、その数を増し

表1 胎生期における S-100 α 陽性マクロファージの分布

胎齢(週)	4	5	7	8	9	12	15	16	18	20	21	生後
胸腺		+	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
脾						++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
リンパ節				+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
肝	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
骨髄				++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++
卵黄囊	+	+	++									

+: ごく少数の S-100 α 陽性細胞がみられる。

++: 比較的容易に陽性細胞が認められる。

+++ : 多数の陽性細胞が認められる。

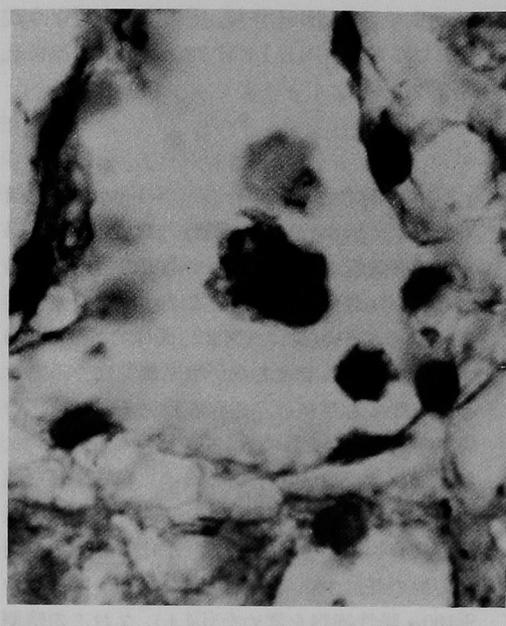


図2 卵黄嚢の毛細血管内に見られたS-100 α 陽性マクロファージ。胞体内に顆粒状の陽性反応を認める。胎生第4週。(ABCp-ヘマトキシリン $\times 300$)



図3 胎生第4週胎児の間葉組織にみられた、細胞崩壊産物(矢印)を貪食したS-100 α 陽性マクロファージ。(ABCp-ヘマトキシリン $\times 300$)

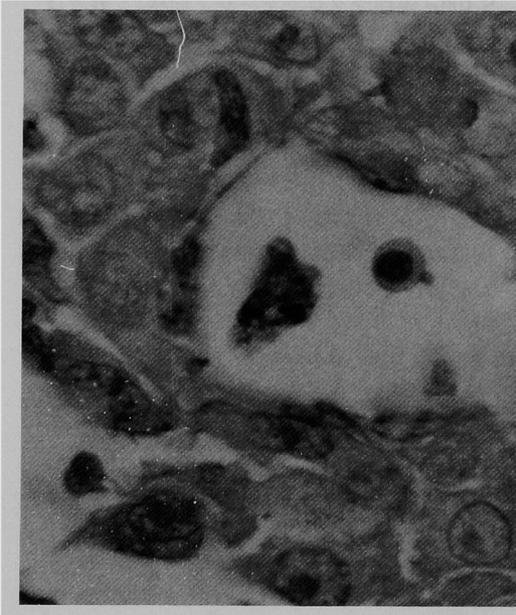


図4 胎生第4週の肝類洞内のS-100 α 陽性細胞。胞体内に顆粒状にS-100 α 陽性所見がみられる。(ABCp-ヘマトキシリン $\times 250$)

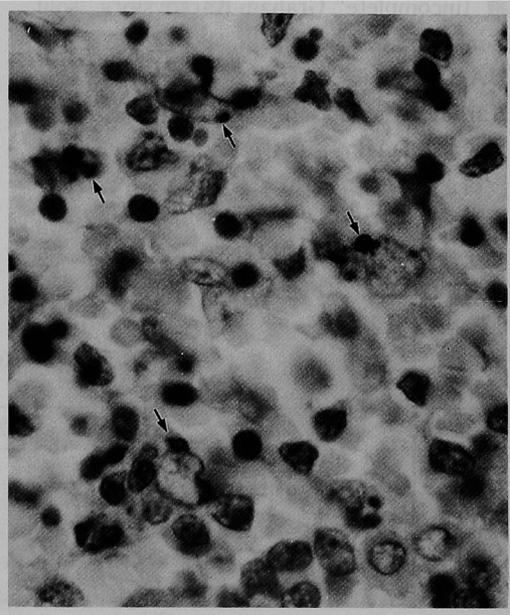


図5 胎生第20週の脾。多数のS-100 α 陽性マクロファージ(矢印)が見られる。(ABCp-ヘマトキシリン $\times 160$)

表2 胎生期におけるS-100 β 陽性組織球およびリンパ球の分布

胎齢(週)		4	5	7	8	9	12	15	16	18	20	21	生後
胸腺	組織球	-	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
	リンパ球様細胞	-	-	-	-	+	++	++	++	++	+++	++	+
脾	組織球	-	-	-	-	-	+	++	++	++	++	+++	++
	リンパ球様細胞	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+++	++	+
リンパ節	組織球	-	-	-	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++
	リンパ球様細胞	-	-	-	-	-	+	++	++	++	+++	+++	+
肝	組織球	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	リンパ球様細胞	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
卵黄囊	組織球	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	リンパ球様細胞	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : 臓器に陽性細胞が認められない。
 + : ごく少数の陽性細胞がみられる。
 ++ : 比較的容易に陽性細胞が認められる。
 +++ : 多数の陽性細胞が認められる。

た。

肝での出現より遅れて、S-100 α 陽性マクロファージは種々のリンパ網内系臓器の原基の完成を待ってこれらの臓器に見られるようになった。今回の検索では、胸腺では第5週、リンパ節では第8週、脾では第12週に初めてS-100 α 陽性マクロファージがみられ週齢が進むにつれて著しくその数を増した(図5)。骨髓にS-100 α 陽性マクロファージが出現するのは大腿骨骨髓では造血開始に先だって髓腔の形成される第8週であった。骨髓での造血は第12週でわずかに認められ、第15週以後著明となったが、造血が開始されると他の造血細胞に混じって多くのS-100 α 陽性マクロファージが確認されるようになった。胎生4ヵ月以降の各臓器におけるS-100 α 陽性マクロファージの分布は、ほぼ新生児における分布と一致した。これらS-100 α 陽性マクロファージの多くは、二重染色による検索で、LZMが陽性であったが、LZMが陰性のものも見られた。これらの細胞は超微形態学的に、少数の細胞突起とライソゾームと思われる胞体内顆粒を有しており、免疫電顕による観察ではその胞体内顆粒や、小胞体に一致して、あるいは原形質内マトリックスの一部にS-100 α 陽性所見がみられた(図6)。

S-100 α 陽性組織球およびリンパ球；S-100 β の染色結果を表2に示す。S-100 β 陽性細胞は、胎生

の第5週において稀ではあるが最初に肝類洞内で認められた(図7)。この時期までに胎児および卵黄囊のいずれの部位にもS-100 β 陽性細胞は認められなかった。これらのS-100 β 陽性細胞は、S-100 α 陽性マクロファージと同様に他の造血細胞と混在して肝類洞内にみられたが、彎曲した不整な核と胞体突起を有する特有の形態学的特徴を持ち、細胞質および核にび慢性に染まるS-100 β 陽性所見から、我々はこの細胞が成人に見られるS-100 β 陽性組織球に相当する細胞であると考えた。肝においては、胎生第21週まで同程度の陽性組織球を類洞内に認めたが、新生児肝には確認できなかった。胎生第8週になると、S-100 β 陽性の組織球は、胸腺やリンパ節の原基において認められるようになった(図8)。この時期、胸腺やリンパ節の原基にリンパ球の存在は形態学的、免疫組織学的に確認し得なかった。週齢が進み、リンパ球が出現してきて胸腺の形態が整ってくると、S-100 β 陽性組織球は主として胸腺の皮髓境界部から髓質に多く認められた。脾臓では胎齢第12週に臓器が確認されるようになった時点で、S-100 β 陽性組織球が少数ながら出現した。これらS-100 β 陽性組織球は胎齢が進むにつれ、胎児リンパ網内系臓器においてその数を増してゆき、胎齢第20週頃には新生児のこれら臓器における陽性組織球の頻度を上回った(図9)。骨髓では胎生16週以後かなりの数のS-

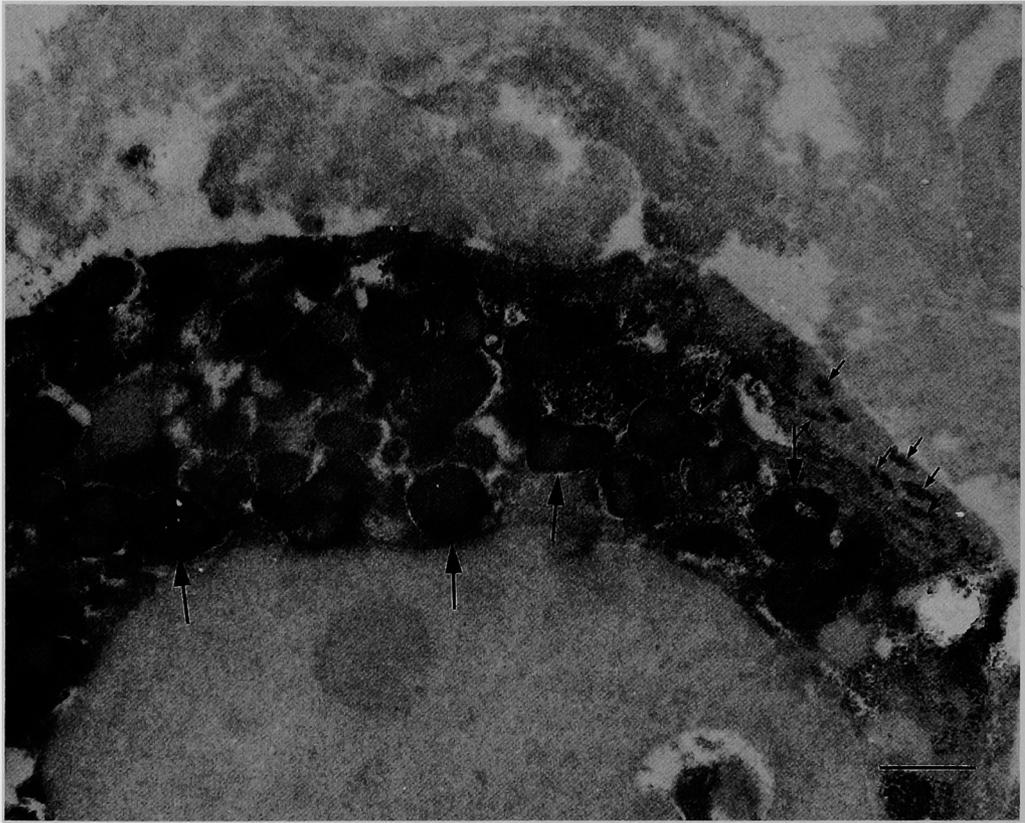


図6 胎生第21週の胸腺組織内のS-100 α 陽性マクロファージの免疫電顕。胞体内顆粒(大矢印)や小胞体(小矢印)に一致して、また一部原形質内マトリックスに顆粒状に免疫反応産物が見られる。(barr; 1 μ m)

100 β 陽性細胞が認められた。しかし、多形核白血球の一部がS-100 β 陽性であり、骨髄における陽性細胞の細胞種同定は非常に困難であった。

これに対して、別の形態学的特徴を持ったS-100 β 陽性細胞が、最初に胎生第12週の胸腺、リンパ節にごくわずかではあるが出現した。これらの細胞は豊富なクロマチンを持った円形の核を有し、胞体はごくわずかで、形態学的にS-100 β 陽性組織球とは区別できた。同様のS-100 β 陽性細胞は、脾では胎生第18週に初めて出現した。この細胞の臓器における局在はS-100 β 陽性組織球のそれと類似していたが、これらの細胞は、二重染色でLCAが陽性で、免疫組織学的にLCAが陰性のS-100 β 陽性組織球とは異なり、S-100 β 陽性リンパ球と考えられた(図10)。こ

したS-100 β 陽性リンパ球は、週齢が進むにつれてその数を増してゆき、全身のリンパ網内系臓器に分布してゆく傾向がみられた(図11)。特に胎生21週で胎児腹水の診断のもとに人工流産を受けた胎児では、多数のS-100 β 陽性リンパ球が胎児の種々の臓器に認められたが、この例は全身のサイトメガロ・ウイルス感染症をともなっていた。肝には一般に胎児期、生後を通じてS-100 β 陽性リンパ球は認められなかったが、この胎児ではサイトメガロ・ウイルス感染症に伴うと思われる、肝のリンパ球集簇にも少数のS-100 β 陽性リンパ球を認めた。なお卵黄嚢においてはいずれの週齢においても、S-100 β 陽性細胞は認められなかった。

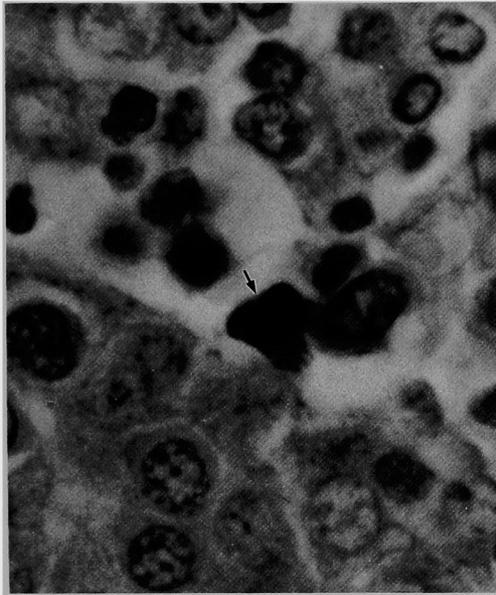


図7 胎生第5週の肝類洞内にみられたS-100 β 陽性細胞(矢印),核,胞体内にび慢性にS-100 β 陽性所見がみられる。(ABCp-ヘマトキシリン $\times 250$)

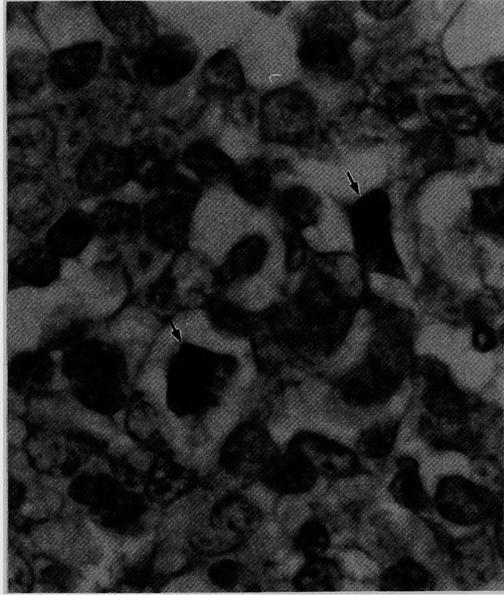


図8 胎生第8週の胸腺原基にみられたS-100 β 陽性組織球(矢印)。(ABCp-ヘマトキシリン $\times 200$)

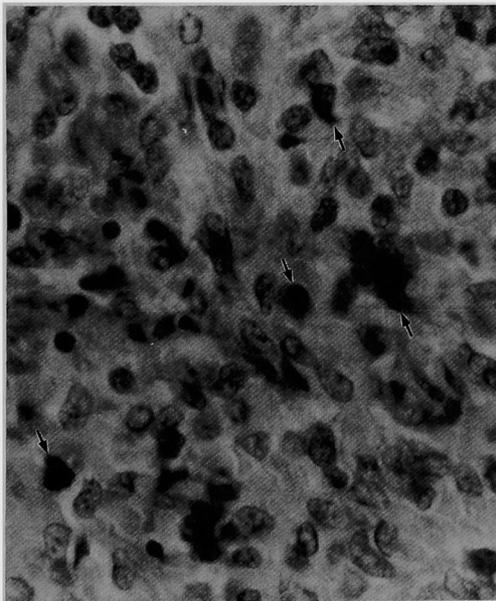


図9 胎生第21週の脾,S-100 β 陽性組織球が散見される(矢印)。(ABCp-ヘマトキシリン $\times 140$)

考 案

マクロファージ;卵黄嚢,胎生期の肝類洞,骨髓,その他のリンパ網内系組織に見いだされるS-100 α 陽性細胞は,成人のリンパ網内系組織に認められるS-100 α 陽性細胞はマクロファージ以外には存在しないこと¹⁴⁾,その形態が不整類円形ないし短紡錘形で遊離して存在し,しばしば貧食能が見られること,免疫電顕で陽性細胞は多数のライゾーム様顆粒を有することなどからマクロファージと考えた。卵黄嚢においてもすでに未熟マクロファージ以外に成熟マクロファージが超微形態学的に認められており²¹⁾,胎生期の成熟マクロファージがS-100 α 陽性であることは明らかであるが,幹細胞あるいは未分化胎生マクロファージからの分化過程のどの時期でS-100 α 陽性になるかは明かでない。

生体内のマクロファージの起源については,現在までに種々の説が提唱されているが,骨髓造血に由来する単球にその起源を求める考え方は, van Furthら²²⁾による単核食細胞系

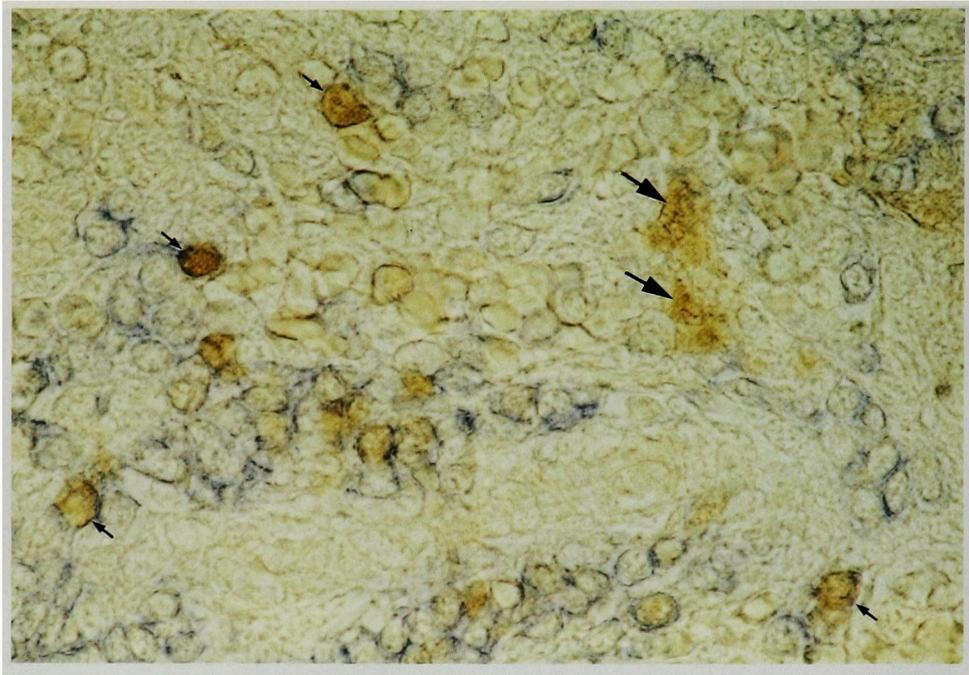


図10 胎生第20週の脾。二重染色 (S-100 β ; 茶, LCA ; 青)。小円形の S-100 β 陽性リンパ球 (小矢印) 不整な形態の S-100 β 陽性組織球 (大矢印) が見られる。前者は胞体辺縁に LCA 陽性所見がみられる。(ABCp-ABCa \times 180)

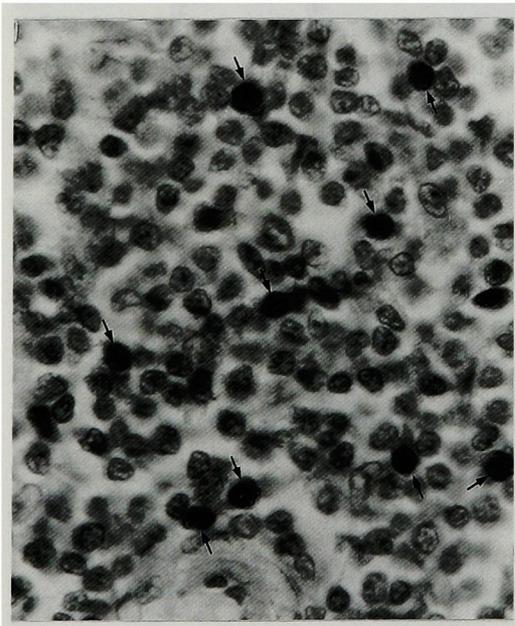


図11 胎生第2週の胸腺にみられた S-100 β 陽性リンパ球。多数の小円形陽性細胞が認められる。(ABCp-ヘマトキシリン \times 140)

(mononuclear phagocyte system, MPS) の提唱により広く受け入れられている。しかし近年、ヒトおよび実験動物を用いた胎生マクロファージの発生源に関する研究で、胎生のごく早期の骨髄形成以前に、肝造血や表皮下間葉組織などの各種組織に未熟なマクロファージが存在することが明かとなった²³⁾⁻²⁷⁾。これらのマクロファージは前単球、単球を経て分化成熟する浸出マクロファージとは異なる細胞系に属するとして、胎生マクロファージと総称された^{24),28)}。はじめ卵黄嚢造血にその起源を有するが、胎生期造血の主座が肝造血に移るとともに、肝造血で産生される胎生マクロファージが血行を介して各組織に分布するという^{21),29)}。

今回の我々の検索でも、ヒト胎児のごく早い時期 (胎生第4週) において、卵黄嚢内の毛細血管腔や毛細血管外間葉組織に S-100 α 陽性のマクロファージがみられたこと、またこの時期の胎児肝には殆ど造血を認めないことは、マクロファージが卵黄嚢由来であることを支持する

ものように思われる。さらに同時期の胎児体内において、いずれの部にも骨髓腔の形成は見られず、ヒト胎児において骨髓腔が形成されるのは胎生第8週になってからのことであり、造血はさらに遅れ、胎生第12週になって大腿骨にわずかに認められた。これらのことから、少なくともヒト胎生早期において存在するマクロファージの起源を胎児骨髓の造血に求めることはできない。胎児体内においては、S-100 α 陽性マクロファージは胎生第4週の肝類洞内や血管腔内に少数だが認められた。ヒト胎生期においてはこの時期以降、卵黄嚢と胎児の循環系が交通するとされている。そのような時期に、卵黄嚢にみられると同様のS-100 α 陽性マクロファージが、胎児肝類洞内や血管内にみられたことは、卵黄嚢で発生したマクロファージが血管系を介して胎児側へ運ばれ、全身に分布していくことを示唆している。卵黄嚢が認められなくなった胎生第8週以降は、S-100 α 陽性マクロファージは主として肝類洞内に他の造血細胞と混在して、あるいは類洞壁を構成するKupffer細胞として多数みられ、以後週齢が進むにつれて胎児体内に広く分布してゆき、リンパ臓器および全身の間葉組織に出現、増加していった。このことは卵黄嚢での造血がみられなくなる8週以降は、胎児肝が第二のマクロファージ産生を受け継ぎ、肝造血がみられなくなるまで続くことを示唆している。それと平行して胎生第12週以降、骨髓造血が開始されると、S-100 α 陽性マクロファージは骨髓でも産生されるようになり、これは生後まで続く。以上を総合すると、胎生期の造血巣が推移してゆくにつれ、マクロファージ産生場が最初は卵黄嚢、ついで肝、骨髓へと順次移行してゆくという考え方が、S-100 α をマーカーとした観点からも支持されるようである。

S-100 β 陽性組織球・リンパ球：前述したように、ヒト成人のリンパ網内系組織においてはいくつかのS-100 β 陽性細胞群が認められる。ひとつはS-100 β 陽性の組織球のグループで、これには皮膚、口腔粘膜などにおけるLCやリンパ節、胸腺などにみられるIDCなどが含まれる^{8),9)}。他方、ヒト成人末梢血においてS-100 β 陽性のリン

パ球の存在が知られるようになってきた。これらS-100 β 陽性リンパ球はTリンパ球の亜分化を構成しており、その表面マーカーの検討から、suppressor/cytotoxic T細胞の性格を有していることが判明している^{16),17)}。こうしたS-100 β 陽性の組織球とリンパ球の関係、特に両者の発生過程における関係は未だ議論の余地のあるところである。

今回の観察では、S-100 β 陽性組織球は最初に肝類洞内に、骨髓造血がみられない胎生第5週で他の造血細胞と混在して認められた。ついで胎生第8週以降、S-100 β 陽性組織球は順次胸腺、リンパ節、脾など全身のリンパ系組織に分布していった。このことは、胎生初期におけるS-100 β 陽性組織球の発生場としての、肝造血巣の重要性を示唆するものである。さらにここで産生されたS-100 β 陽性組織球が、おそらく血流を介して全身のリンパ系組織に分布してゆくことを示していると考えられる。S-100 β 陽性組織球の前駆細胞が、いかなるマーカー、形態学的特徴を有するかは現在明らかにされていない。卵黄嚢にはS-100 β 陽性細胞は認められなかったが、S-100 β 陰性の前駆細胞が卵黄嚢に存在する可能性を否定するものではない。S-100 β 陽性の通常のマクロファージと同様、生後においてはS-100 β 陽性組織球は骨髓の前駆細胞に由来するとされているが²⁰⁾、胎生期においては、少なくとも骨髓造血に先立って肝造血巣が産生場となるようである。S-100 β 陽性マクロファージとS-100 β 陽性組織球の組織内分布は、生後における同様胎生期においても大きく異なり、また出現の時期も異なる。このことは二つの細胞系が発生の上でも異なる細胞系に属することを示唆している。しかし、骨髓の単球コロニーを形成する細胞が、通常のマクロファージのマーカーでもあるLZMの他にT-6やS-100を発現しているという報告もあり²¹⁾、この両者が共通の幹細胞ないし前駆細胞に由来することは十分に考えられる。

一方、S-100 β 陽性リンパ球はS-100 β 陽性組織球よりも遅れて、胎生第12週にはじめて胸腺、リンパ節に出現した。高橋ら¹⁶⁾、およびSansoniら¹⁷⁾によれば、成人におけるS-100 β 陽性リンパ

球は suppressor/cytotoxic T 細胞の性格を持つという。成人では、T 細胞は骨髓に由来する前駆細胞 (プレ T 細胞) が、胸腺を場として T 細胞に分化するといわれる。しかし、S-100 β 陽性リンパ球の出現時期は、未だ骨髓造血がわずかに始まりかけた時期であり、この時期では前駆細胞は主として肝造血に由来すると思われる。S-100 β が Tリンパ球に発現する時期であるが、肝造血巣中には S-100 β 陽性細胞がみられないことから、少なくとも前駆細胞には S-100 β は発現されていないだろう。S-100 β が分化段階のどの時期に陽性となるのか、CD 3, CD 8 などの他の T 細胞マーカー発現との時期的関係などは不明であり、今後の課題として残っている。渡辺ら²²⁾は著者と同様ヒト胎児における S-100陽性組織球の発生と分布を調べ、幹細胞から小型のリンパ球様陽性細胞を経由して S-100陽性組織球に分化すると述べている。しかし、著者らの研究によれば、小型の陽性細胞は S-100 β 陽性 T 細胞に他ならず、S-100 β 陽性組織球とは異なる細胞系列に属するものと考えられる。

結 語

S-100 α あるいは β 陽性組織球並びに β 陽性リンパ球の、ヒト胎生期における個体発生を免疫組織学的に検討して以下の結果を得た。

1) S-100陽性マクロファージは胎生の第 4 週という早期において卵黄嚢に認められ、これが血行により胎児体内に分布する。そしてその産生

の場は、胎児造血と共に肝類洞内、骨髓へと順次移行してゆくことが示唆された。

2) 胎生期における S-100 α 陽性マクロファージは、成人のそれと同様に胞体内の顆粒、小胞体に S-100 α 陽性所見が見られた。

3) S-100 β 陽性の組織球は胎生第 5 週において最初に肝類洞内に出現し、第 8 週以降順次リンパ網内系組織に分布増加していった。胎生 20 週頃には新生児のこれら臓器における陽性組織球の頻度を上回った。肝類洞においては胎生中期まで稀ながら S-100 β 陽性組織球を認めたが、最終的には見られなくなった。

4) 胎生第 12 週において初めて、胸腺にごくわずかの S-100 β 及び LCA 陽性リンパ球がみられた。

5) S-100 β 陽性の組織球とリンパ球は胎生の早期から、それぞれ異なる細胞系に属することが示唆された。

稿を終えるに当たり、御指導、御検閲の労をおとり下さいました指導教官、赤木忠厚教授に深謝致します。また貴重な材料および特異抗体の譲渡をお許し下さいました高知医科大学第二病理学教室、園部宏助教授、高橋聖之博士、同第一病理学教室、円山英昭助教授、さらに免疫染色の実際につき御指導賜りました当教室元井信助教授、吉野正博士、以上の皆様に心よりの感謝を捧げます。

なお、本論文の要旨は第 27 回日本網内系学会で発表した。

文 献

- 1) Moore BW : A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Comm* (1965) 19, 739—744.
- 2) Isobe T and Okuyama T : The amino acid sequence of S-100 protein (PAP-Ib protein) and its relation to the calcium-binding proteins. *Eur J Biochem* (1978) 89, 379—388.
- 3) Ludwin SK, Kosek JC and Eng LF : The topographic distribution of S-100 and GFA proteins in the adult rat brain : An immunohistochemical study using horseradish peroxidase-labelled antibodies. *J Comp Neurol* (1976) 165, 197—208.
- 4) Zomely-Neurath CE and Walker WA : Nervous system specific proteins : 14-3-2 protein, neuron-specific enolase and S-100 protein ; in *Proteins of the Nervous System*, Bradshaw RA ed, 2nd, Raven Press, New York (1980) pp 37—57.
- 5) Kahn HJ, Mark A, Thom H and Baumal R : Role of antibody to S-100 protein in diagnostic

- pathology. *Am J Clin Pathol* (1983) **79**, 341—347.
- 6) Cocchia D, Michetti F and Donato R : Immunochemical and immunocytochemical localization of S-100 antigen in normal human skin. *Nature* (1981) **294**, 85—87.
 - 7) Vanastapel MJ, Gatter KC, De Wolf-Peters C, Mason DY and Desmet VD : New sites of human S-100 immunoreactivity detected with monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol* (1986) **85**, 160—168.
 - 8) Takahashi K, Yamaguchi H, Ishizeki J, Nakajima T and Nakazato Y : Immunohistochemical and immunoelectron microscopic localization of S-100 protein in the interdigitating reticulum cells of the human lymph node. *Virch Arch [Cell Pathol]* (1981) **37**, 125—135.
 - 9) Nakajima T, Watanabe S, Sato Y, Kameya T, Hirota T and Shimosato Y : An Immunoperoxidase study of S-100 protein distribution in normal and neoplastic tissues. *Am J Surg Pathol* (1982) **6**, 715—727.
 - 10) Stefansson K, Wollman RL, Moore BW and Arnason BGW : S-100 protein in human chondrocytes. *Nature* (1982) **295**, 63—64.
 - 11) Isobe T and Okuyama T : The amino-acid sequence of the α subunit in bovine brain S-100a protein. *Euro J Biochem* (1981) **116**, 79—86.
 - 12) Isobe T, Ishioka N, and Okuyama T : Structural relation of two S-100 proteins in bovine brain ; Subunit Composition of S-100a protein. *Eur J Biochem* (1983) **115**, 469—474.
 - 13) Takahashi K, Isobe T, Ohtsuki Y, Akagi T, Sonobe H and Okuyama T : Immunohistochemical study on the distribution of α and β subunits of S-100 protein in human neoplastic and normal tissues. *Virch Arch [Cell Pathol]* (1984) **45**, 385—396.
 - 14) Takahashi K, Isobe T, Ohtsuki Y, Sonobe H, Takada I and Akagi T : Immunohistochemical localization and distribution of S-100 proteins in human lymphoreticular system. *Am J Pathol* (1984) **116**, 497—503.
 - 15) Kanamori M, Endo T, Shirakawa S, Sakurai M and Hidaka H : S-100 antigen in human T lymphocytes. *Biochem Biophys Res Commun* (1982) **108**, 1447—1453.
 - 16) Takahashi K, Isobe T, Ohtsuki Y, Sonobe H, Yamaguchi H and Akagi T : S-100 protein positive human T-lymphocyte. *Am J Clin Pathol* (1985) **83**, 69—72.
 - 17) Sansoni P, Rowden G, Manara GC, Ferrari C and De Panfilis G : S-100-positive T cells are largely restricted to a CD8-positive, 9.3-negative subset. *Virch Arch [Cell Pathol]* (1987) **53**, 301—307.
 - 18) Sternberger LA, Hardy PH, Cuculis JJ, and Meyer HG : The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horse-radish peroxidase-antihorse-radish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem Cytochem* (1970) **18**, 315—333.
 - 19) Hsu SM, Raine L, Fanger H : Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques : A comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* (1981) **29**, 577—580.
 - 20) 影下登志郎, 中島 孝, 森永正二郎, 円谷 勝, 下里幸雄, 石原和之, 荒尾龍喜 : Avidin-Biotin-Alkaline Phosphatase Complex 法を用いた免疫組織化学—二重染色への応用—病理と臨床 (1985) **3**, 803—805.
 - 21) Enzan H : Electron microscopic studies of macrophages in early human yolk sacs. *Acta Pathol Jpn* (1986) **36**, 49—64.
 - 22) van Furth R, Cohn ZA, Hirsch JG, Humphrey JH, Spector WG and Langevoort HL : The mononuclear phagocyte system : A new classification of macrophages, monocytes and their precursor cells. *Bull WHO* (1972) **46**, 845—852.

- 23) Takahashi K, Sakuma H, Naito M, Yaginuma Y, Takahashi H, Asano S and Hojo H : Cytological characters, transformation, and ontogenesis of dermal histiocytes and fibroblasts of rats. *Acta Pathol Jpn* (1980) **30**, 743—766.
- 24) Takahashi K, Takahashi H, Naito M, Sato T and Kojima M : Ultrastructural and functional development of macrophages in the dermal tissue of rat fetuses. *Cell Tissue Res* (1983) **232**, 539—552.
- 25) Cline MJ and Moore MAS : Embryonic origin of the mouse macrophage. *Blood* (1972) **39**, 842—849.
- 26) Naito M and Wisse E : Observation on the fine structure and cytochemistry of sinusoidal cells in fetal and neonatal rat liver ; in *Kupffer Cells and Other Sinusoidal Cells*, Wisse E and Knock DL eds, Elsevier/North Holland, Amsterdam (1977) pp 497—505.
- 27) Enzan H, Hara H, Yamashita Y, Ohkita T and Yamane T : Fine structure of hepatic sinusoids and their development in human embryos and fetuses. *Acta Pathol Jpn* (1983) **33**, 447—466.
- 28) 高橋 博 : ラットの個体発生時における皮膚組織球の細胞学的研究. *日網会誌* (1981) **21**, 27—50.
- 29) 内藤 眞, 高橋 潔, 山村文衛, 末吉信之 : ラット胎生マクロファージの個体発生—肝造血を中心として ; マクロファージとその周辺—分化・動員・機能の多用性とその調節—小島 端, 斉藤和久, 花岡正男編, 羊土社, 東京 (1985) pp 11—29.
- 30) Katz SI, Tamaki K and Sacks DH : Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in bone marrow. *Nature* (1979) **282**, 324—326.
- 31) Goordyal P and Isaacson PG : Immunocytochemical characterization of monocyte colonies of human bone marrow ; A clue to the origin of Langerhans cells and interdigitating reticulum cells. *J Pathol* (1985) **146**, 189—195.
- 32) Watanabe S, Nakajima T, Shimosato Y, Shimamura K and Sakuma H : T-zone histocytes with S100 protein. Development and distribution in human fetuses. *Acta Pathol Jpn* (1983) **33**, 15—22.

**Ontogenesis of human S-100 protein subunit
positive histiocytes and lymphocytes**

Sohichiro NOSE

Second Department of Pathology,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. T. Akagi)

In the human lymphoreticular system, the α subunits of S-100 protein is found in the ordinary monocyte-macrophage lineage, and the β subunit is found in so-called T-zone histiocytes, including interdigitating reticulum cells. The β subunit is also present in some of CD8⁺ T lymphocytes. In the present study, the ontogeny of these histiocytes and lymphocytes was investigated. Human yolk sacs, embryos and fetuses from the 4th to 21st weeks of gestation were examined for the presence of S-100 protein subunits by an immunohistochemical method, using antisera monospecific to each subunit. S-100 α ⁺ histiocytes were present in yolk sacs and hepatic sinusoids by the 4th week of gestation, before bone marrow hematopoiesis had developed. As gestation proceeded, their distribution and frequency became similar to those of S-100 α ⁺ histiocytes of the adults. No S-100 β ⁺ cells were found in yolk sacs. S-100 β ⁺ histiocytes were first detected in the hepatic sinusoids of 5th week embryos and later, they distributed in other lymphoid organs. S-100 β ⁺ lymphocytes were not found in the liver and they were first detected in the thymus at the 12th week of gestation, subsequently distributing in other lymphoid organs.

These results suggest that S-100 β ⁺ lymphocytes and histiocytes may belong to different cell lineages, and that S-100 β ⁺ lymphocytes may not be the precursors of histiocytes.