

原 著 II

Fc receptor の組織学的証明方法の検討

マウス肝を対象として

浜松医科大学病理学第二講座

室 博 之, 白 澤 春 之
高 橋 洋 平, 五 藤 雅 博

(昭和54年10月1日受付)

緒 言

Fc receptor (FcR) はリンパ球¹⁻⁵⁾, 大食細胞^{6) 7)}, 好中球^{8) 9)}などにあり, IgG¹⁰⁾, 変性 IgG^{3) 5)}あるいは免疫複合体^{1) 2)}の Fc 部分と特異的に結合する受容体で, 免疫応答あるいは貪食機構に重要な役割をなしていると想像されている。

従来, この FcR の研究は主に単離生細胞¹⁻¹⁰⁾を対象としてきた。単離生細胞の得がたい組織固着細胞の FcR の検索や, FcR 保有細胞の臓器内分布をみるためには組織学的な研究が必要であるが, FcR の組織学的研究の大部分は未固定の凍結切片¹¹⁻¹⁴⁾ないし凍結切片を乾燥固定したもの¹⁵⁻¹⁸⁾によるものである。このために組織細胞形態の詳細な観察は不十分であったといわざるをえない。

今回, われわれはより優れた FcR の組織学的検索方法を追求する立場で, 各種の固定方法に対する FcR の耐性をマウス肝を使って吟味した。その結果, FcR 活性を保存できる数種の固定方法を見出し, 同時にマウス肝における FcR 保有細胞の分布についても新しい知見をえた。

検索材料ならびに方法

6~10週令のマウス(ICR/SLC♂)肝を使い, FcR の検出は horseradish peroxidase (HRPO) を抗原とする抗原過剰域可溶性免疫複合体 (PAPIgG) を使う方法¹⁴⁾によった。PAPIgG 法と比較のために, 従来汎用されている erythrocyte antierythrocyte IgG (IgG-EA) による凍結切片上での EA-rosette 形成法も実施した。

PAPIgG および PAPF(ab')₂の調製

抗 HRPO 血清はウサギを 3 mg あて 2 回の HRPO

(RZ=3.4 東洋紡)の皮下注射により免疫して得た。初回注射は Freund's complete adjuvant emulsion とし, 第 2 回注射は生理的食塩水溶液として初回後 4 週目に行った。採血は第 2 回注射後 7 日目に行った。この抗血清の 33% 硫酸分画を Sephadex G-200 でゲル濾過し IgG 分画を分離した。さらに Grey の方法¹⁹⁾でこの IgG 分画をペプシン分解し抗 HRPO F(ab')₂ (PAPF(ab')₂) を得た。PAPIgG と HRPO-anti HRPO F(ab')₂ (PAPF(ab')₂) の調製は Sternberger の方法²⁰⁾によった。抗 HRPO IgG を 56°C30 分の加熱により非動化した²¹⁾。PAPIgG と PAPF(ab')₂ の濃度は HRPO 含量を指標として 0.3 mg/ml の phosphate buffered saline, pH.7.3, (PBS) 溶液にした。なお HRPO 濃度は 403nm における吸光度係数 (0.001 OD 403 は 0.444μg の lyophilized HRPO protein に相当) による。

Native IgG の調製

非感作ウサギ血清を DEAE-cellulose のカラム・クロマトグラフにかけて native IgG を採取し, 免疫電気泳動で IgG 分子のみであることを確認した。

EA-rosette のための IgG-EA および F(ab')₂-EA の調製

ウサギ抗ヒツジ赤血球血清を Sephadex G-200 でゲル濾過し IgG と IgM を採り, ペプシン分解で抗 EF(ab')₂ を得た。Tönder の方法¹⁵⁾で IgG-EA, IgM-EA および F(ab')₂-EA を調製し, 抗体濃度は最小凝集価の 1/2, 1, 2, 4 倍の各々を用いた。

PAPIgG の門脈内注入による FcR 検出

FcR の検出には, まず従来標準的に用いられた生細胞ないし未固定細胞を対象とする方法¹⁻¹⁰⁾に準拠して, 未固定肝の門脈内に PAPIgG を注入する方法をとった。マウスを sodium pentobarbital (Nem-

butal, Abott Lab', North Chicago, Illinois) 麻酔下で開腹し, heparin 加 PBS (4°C) で血管腔を十分に洗浄した後, 4°Cに保ちながら3.0mlの PAPIgG 溶液を門脈内に注入した。30分間静置後, 再び充分量の PBS で血管腔を洗浄した。この肝組織片をドライアイス・アセトンで凍結し, クライオスタット (Bright Instrument co. LTD) で薄切し, スライドガラスに拾い直ちに Cytokeep (isopropyl alcohol と polyethylen glycol の合剤, 日本商事) で固定した。凍結切片を PBS で洗浄後, 0.1M phosphate buffer (PB) で 2.5%とした glutaraldehyde で20分再固定した。PBS で洗浄した後, 0.005% H₂O₂ と 3.3'-diaminobenzidine 20mg/dl を含む 0.05M Tris HCl buffer, pH7.6に5分間浸し peroxidase 反応 (DAB 反応)²²⁾を実施した。

固定組織を用いての FcR 検出の試み

ドライアイス・アセトンで凍結した未固定肝の凍結切片をスライドガラス(ゼラチン被覆, 25% glutaraldehyde で処理後, 水洗乾燥したスライドガラス, 渡辺慶一氏よりの私信)に拾い直ちに固定処理した。

用いた固定方法は以下のごとくである。

- (i) 冷風乾燥 5分
- (ii) 95%エタノール 4°C 5分
- (iii) Cytokeep 室温 5分
- (iv) 2% paraformaldehyde (0.1MPB 溶液, pH 7.3) 4°C30分
- (v) periodate-lysine-paraformaldehyde (PLP)²³⁾ 4°C30分
- (vi) 2.5% glutaraldehyde (0.1MPB 溶液, pH 7.3) 4°C30分

上記の各々による固定切片について PAPIgG との反応性をみる群と EA rosette 形成をみる群に2分した。PAPIgG とは湿室中, 室温で30分反応させ, PBS で洗浄後, 再度2.5% glutaraldehyde で20分固定, 次いで DAB 反応を実施した。固定組織切片上での EA-rosette 形成は Tönder の方法¹⁵⁾によった。

対照実験および characterization 実験

PAPIgG 門脈内注入法と PAPIgG 固定切片法の対照実験として, PAPIgG の替りに PAPF(ab')₂ および単独 HRPO 溶液を用いた。また, IgG-EA rosette 法の対照に IgM-EA, F(ab')₂-EA を使った。PAPIgG と EA-rosette 法の双方による固定切片上の FcR 検出に, 非感作ウサギ native IgG による抑制実験を実施した。さらに FcR の性格を吟味するために, 0.02% 窒化ソーダと 0.02M ethylenediamine-

tetraacetate (EDTA) を添加²⁴⁾した PAPIgG を門脈内注入法と固定切片法に用いた。内因性のペルオキシダーゼ活性をたしかめるために, 各々の固定法の切片につき PBS 洗浄後 PAPIgG を作用させることなく直ちに DAB 反応を実施した。

結 果

PAPIgG 注入肝の顕微鏡所見

褐色細顆粒状の酵素反応産物が肝類洞壁にそって認められた。30μの切片では一見反応産物は類洞に一致した連続的網をなす細管として見えた。6μ切片ではこの細管は断続的となり, 強拡大では褐色の反応産物は明らかに類洞構成細胞上にあった (写真1)。しかし, 中心静脈近くの類洞壁細胞には反応産物はほとんど認められなかった。また類洞の内腔, 動静脈の内皮およびグリソン氏鞘には反応産物は見られなかった。

PAPIgG 固定切片法の所見

(i) 乾燥固定: 褐色の不完全, 寸断状細管を認めたが, 細胞形態の保存が悪いため FcR 保有細胞の局在と詳細な細胞所見の観察は不能であった (写真2)。

(ii) 95%エタノール: 類洞壁に一致した酵素反応産物を認め, その分布は PAPIgG 門脈注入法と同一である。反応産物の局在と組織形態の観察も可能であった。

(iii) Cytokeep: PAPIgG 門脈注入法に等しい反応産物の分布と密度を示し, 組織形態保持も良好で一般的なパラフィン包埋肝組織に近い状態であった (写真3)。

(iv) paraformaldehyde: 類洞壁に一致した褐色反応産物を認め, その分布も門脈内注入標本と同じであるが, 組織形態は不鮮明であり反応産物の量は少なかった (写真4)。

(v) PLP: 反応産物の分布は Cytokeep と同様であるが, その濃度と組織形態の保持状態は Cytokeep 固定と paraformaldehyde 固定の中間に位置した (写真5)。

(vi) glutaraldehyde: 類洞壁に一致した酵素反応産物は見られず, 組織構成細胞の核および細胞質が褐色に染まった (写真6)。

固定切片上 EA-rosette 形成法

乾燥固定切片では類洞を中心として赤血球の付着を認めたが一部肝細胞質上にもあり, その局在はきわめて不明確であった。抗体濃度については最小凝集価の1/2から4倍まで赤血球の分布状態は同じであったが,

結合数は濃度が高いものに多い傾向を認め、最小凝集価の $\frac{1}{2}$ では少数の赤血球の付着をみたにすぎない。エタノール, Cytokeep および paraformaldehyde では組織への赤血球付着は起らなかった。PLP 固定組織では EA のみならず非感作赤血球も結合し、特異的な FcR 活性は観察できなかった。

対照実験および characterization 実験

対照実験: PAPIgG 門脈内注入法と PAPIgG 固定切片法において、PAPIgG の替りに PAPF(ab')₂ と HRPO 単独液を使った場合、すべての標本で類洞壁に一致した HRPO の反応産物は認められなかった(写真7)。glutaraldehyde 固定標本では核と細胞質が褐色に染まった。EA-rosette 法においても IgM-EA と F(ab')₂-EA は PLP 固定以外の組織切片と結合し得なかった。PLP 固定では、上記のごとく、非感作赤血球のみでなく、F(ab')₂-EA および IgM-EA のいずれも結合し FcR とは無関係とみなされた。

抑制実験: PAPIgG 溶液中に0.1~1.0mg/mlの割合で非感作動物 IgG を混合した場合、不完全な抑制が起り、類洞壁に斑点状の陽性部が残った。しかし、5mg/ml以上では完全な抑制をみた(写真8)。

窒化ソーダおよび EDTA の影響: 0.02% 窒化ソーダないし 0.02M EDTA を添加した PAPIgG を使用した場合、注入法においても固定切片法においても無添加のものと有意の差はみられなかった。しかし、EDTA 添加 PAPIgG 門脈内注入標本では、細胞間の解離が起り組織は浮腫状になった。

内因性 peroxidase の検討: 室温で5分反応させる DAB 反応では、いずれの固定においても類洞壁細胞の内因性 peroxidase 活性は検出されなかった。30分以上反応させた時には、核周囲に DAB 反応産物を持った類洞構成細胞が現れた。この内因性 peroxidase 保有細胞は類洞構成細胞の一部であった。

考 察

以上、門脈内 PAPIgG 注入と固定切片上での PAP IgG 結合と EA-rosette 形成について観察した。PAP IgG 門脈内注入によって PAPIgG は類洞構成細胞の大部分に結合したが、PAPF(ab')₂ および単独 HRPO はいずれも全く結合しなかった。この事実と C1q を含む補体成分を非動化した²¹⁾ AntiHRPOIgG を使って PAPIgG を調製していることから、PAPIgG は IgG 分子の Fc 部分で細胞と結合したといえる。さらにこの反応が窒化ソーダあるいは EDTA の影響を受けないことも FcR を介するものとして矛盾するもの

ではない²⁴⁻²⁶⁾。

エタノール, Cytokeep, paraformaldehyde および PLP による各固定切片上の分布は、PAPIgG 門脈内注入法によって観察できた肝内 FcR の分布と同一であった。すなわち、PAPIgG 門脈内注入標本においても固定切片法においても、PAPIgG が類洞壁に結合し、しかも中心静脈近くでは反応が弱く、動脈内皮細胞およびグリソン氏鞘要素とは反応しない点で同一の分布であった。したがって、glutaraldehyde を除くこれら各固定切片上で肝の FcR 保有細胞は過不足なしに検出されたと言ってよいであろう。さらに PAPIgG 門脈内注入法におけると同じく PAPF(ab')₂ および単独 HRPO は固定細胞と反応せず、PAPIgG の組織との結合は高濃度 native IgG により抑制され、前述のごとく、窒化ソーダおよび EDTA の影響を受けなかった。これらの事実は固定切片上への PAPIgG の結合が FcR を介する反応であることを推論させる。つぎに本実験で用いられた PAPIgG が組織中の C1q と結合した可能性が問題になる^{7) 16) 18) 26) 27)}。しかし、この PAPIgG と組織中の C1q

の問題はすでに Matre らによって吟味されている²⁸⁾。彼らは抗ヒト C1q で組織 C1q の反応性を阻止した乾燥固定ヒト胎盤凍結切片でも PAPIgG は充分に反応したことを報告している。われわれも IgG の Fc 部分と C1q の結合を抑制する monodextran sulfate⁸⁸⁾ を使い、PAPIgG と固定組織の反応には C1q は関与していないことを確めている⁸⁹⁾。以上の考察から、われわれの設定した条件下でエタノール, Cytokeep, paraformaldehyde および PLP の各固定剤に肝類洞の FcR は一応の耐性を示すと言いうる。

FcR の組織学的検索に固定組織を使用する試みは Tönder 一派によって、EA-rosette 法を使って検討されている。その結果、ヒト脾、リンパ節は4%以上の formaldehyde 10分処理で失活し、肝は16%まで耐えること²⁵⁾、さらにヒト悪性腫瘍は ether, methanol, ethanol および phenol 処理で失活し、4% formaldehyde では一定の結果が得られなかったこと²⁹⁾を報告している。しかし、Matre らはヒト胎盤の FcR を EA-rosette 法で検出する場合、formaldehyde 処理で完全に EA-rosette 形成が抑制される¹⁶⁾が、PAPIgG 法では1% paraformaldehyde 処理1時間まで活性が残ったこと²⁸⁾を報告している。われわれも PAPIgG と同一条件でエタノール, Cytokeep, paraformaldehyde および PLP で処理した凍結切片に EA-rosette 法を実施したが、FcR 活

性を検出することができなかった。以上より EA-rosette 法で FcR を検出する場合、肝以外の組織は固定剤で完全に失活するかあるいは短時間のうちにその活性は劣化するといえる。比較的固定に耐える肝組織も、Tönder らによれば EA-rosette の結果は安定したものでない^{25) 26)}。この PAPIgG と EA-rosette 法の相反する結果の真の原因は定かではないが、EA は PAPIgG の数百倍の大きさがある²⁰⁾ ために rosette を形成するにはより強い結合を必要とするか、あるいは EA と PAPIgG では FcR との親和力に差があるのかのいずれかであろう。乾燥固定凍結切片 EA-rosette 法では最小凝集価の少量では反応は充分でなく、最小凝集価ないしその4倍量の抗体を要し、抗体濃度の上昇とともに付着赤血球の増加する傾向を認めた。すなわち1個の EA の細胞表面への付着はいくつかの FcR と IgG の結合によってはじめて強固になるものと想像される。乾燥固定ないしその他の固定処理によって FcR の細胞膜内移動が阻害され赤血球表面の IgG と結合する FcR 数が限定されるか、あるいは FcR の IgG との結合力が低下することによって EA-rosette 形成能が劣化する可能性を考えたい。

肝類洞を構成する細胞としては、内皮細胞、Kupffer 星細胞、脂肪摂取細胞(伊藤細胞)に加うるに pit cell があげられている³⁰⁾。このうち Kupffer 細胞が FcR を持つことは分離細胞を使った多くの報告³¹⁻³³⁾からも明らかである。ラット肝では類洞構成細胞の20~40%が Kupffer 細胞である³⁴⁻³⁶⁾といわれ、われわれが観察したマウス肝においても、内因性 peroxidase 保有細胞を Kupffer 細胞とみた^{33) 37)}場合、Kupffer 細胞は統報するごとく類洞構成細胞のはほぼ36%である。一方、類洞の FcR の分布がほぼ連続的であることからみて、類洞には Kupffer 細胞

以外に FcR を保有する細胞が存在する可能性が強く示唆されるが、このような報告はまだ見当たらない。内皮細胞が FcR を持つ可能性については統報において詳細に検討する。

結 語

Fc receptor (FcR) の組織学的局在を明確にできる方法を追求する立場で、FcR の各種組織固定方法に対する耐性を吟味した。対象組織をマウス肝とし、FcR 検出方法は peroxidase-antiperoxidase IgG (PAPIgG) 法によった。その成績は次の通りである。

1. マウス肝では Kupffer 細胞を含む類洞壁に多数の FcR 保有細胞があった。
2. この FcR はエタノールと Cytokeep のそれぞれに強い耐性を示した。アルデハイド系固定剤においては、paraformaldehyde および paraformaldehyde-lysine-periodate (PLP) に若干の耐性を示したが、glutaraldehyde には耐性はなかった。

3. FcR の特異性を PAP(ab')₂ と単独 peroxidase を使った対照実験と native IgG による抑制実験によって検討した結果、固定切片上で検出される FcR はその特異性を保っていた。

4. PAPIgG を門脈内に注入し、in situ で予め FcR と PAPIgG を反応させた標本で観察される FcR の分布と固定切片上で検出される FcR の分布が同じであったことより、固定切片上でも FcR を保有する細胞は過不足なく検出されたといえる。

5. erythrocyte antierythrocyte (EA) rosette 法と PAPIgG 法の対比において、EA-rosette 法では乾燥固定を除くいずれの固定法でも特異的 FcR 活性は検出できなかった。

※ 本研究の一部は文部省科学研究費(課題番号357126)の補助による。

文 献

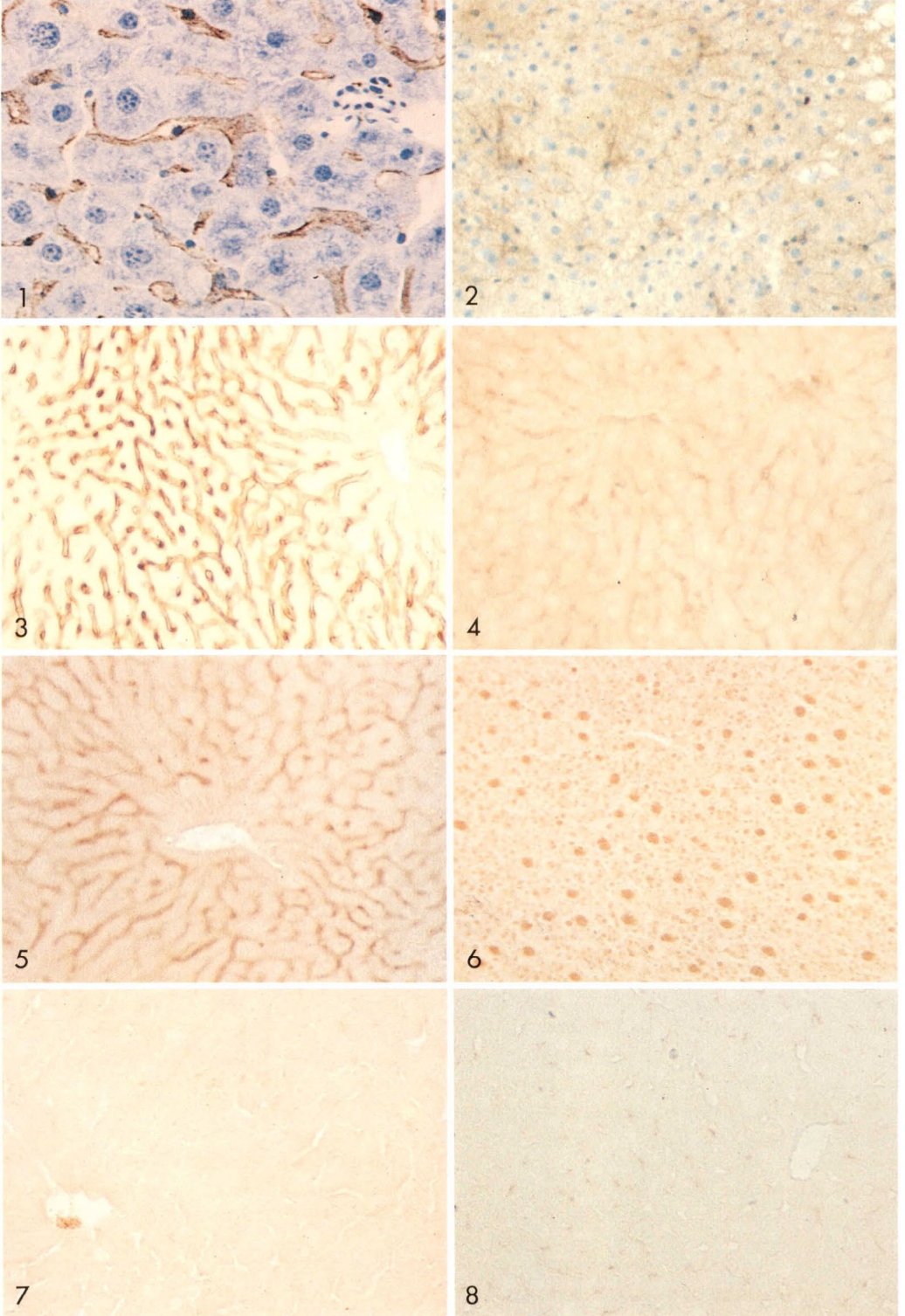
- 1) Lobglio, A.F., Cotrn, R.S. and Jandele, J.H.: Red cell coated with immunoglobulin G: binding and sphering by mononuclear cells in man. *Science*, 158: 1582, 1967.
- 2) Basten, A., Miller, J.F.A.P., Srent, J. and Pye, J.: A receptor for antibody on B lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 135: 610, 1972.
- 3) Dickler, H.B.: Studies of the human lymphocyte receptor for heataggregated or antigen-complexed immunoglobulin. *J. Exp. Med.*, 140: 508, 1974.
- 4) Yoshida, T.O. and Andersson, B.: Evidence for a receptor recognizing antigen complexed immunoglobulin on the surface of activated mouse thymus lymphocytes. *Scand. J. Immunol.*, 1: 401, 1972.
- 5) Anderson, C.L. and Grey, H.M.: Receptor for aggregated IgG on mouse lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 139: 1175, 1975.
- 6) Phillips-Quagliata, J.M., Levine, B.B. and

- Uhr, J.W. : Studies on the mechanism of binding of immune complexes to phagocytes. *Nature*. 222 : 1290, 1969.
- 7) Huber, M., Douglas, S.D. and Fundenberg, H.H. : The IgG receptor : an immunological marker for the characterization of mononuclear cells. *Immunol.*, 17 : 7, 1969.
- 8) Henson, P.M. : The adherence of leucocytes and platelets induced by fixed IgG antibody or complement. *Immunol.*, 16 : 107, 1969.
- 9) Messner, R.P. and Jelinex, J. : Receptor for human rG globulin on human neutrophils. *J. Clinic. Invest.*, 49 : 2165, 1970.
- 10) Boyden, S.V. : Cytophilic antibody in guinea-pigs with delayed-type hypersensitivity. *Immunol.*, 7 : 747, 1964.
- 11) Edelson, R.L., Smith, R.W., Frank, M.M. and Green, I. : Identification of subpopulations of mononuclear cells in cutaneous infiltrates. *J. Invest. Dermatol.*, 61 : 82, 1973.
- 12) Chused, T.M., Hardin, J.A., Frank, M.M. and Green, I. : Identification of cells infiltrating the minor salivary glands in patients with Sjogren's syndrome. *J. Immunol.*, 112 : 641, 1974.
- 13) Jaffe, E.S., Shevach, E.M., Frank, M.M., Berad, C.W. and Green, I. : Nodular lymphoma-evidence for origin from follicular B lymphocytes. *New. Eng. J. Med.*, 290 : 813, 1973.
- 14) Itoh, G., Miura, S. and Suzuki, I. : Immunohistochemical detection of Fc receptor. 1. Light microscopic demonstration of Fc receptor by using soluble immune complexes of peroxidase-antiperoxidase immunoglobulin G. *J. Histochem. Cytochem.*, 25 : 252, 1977.
- 15) Tönder, O., Humphrey, L.J. and Morse, P. A. : Further observations on Fc receptors in human malignant tissue and normal lymphoid tissue. *Cancer*, 35 : 580, 1975.
- 16) Matre, R. : Similarities of Fc_r receptors on trophoblasts and placental endothelial cells. *Scand. J. Immunol.*, 6 : 953, 1977.
- 17) Brubaker, D.B. and Whiteside, T.L. : Localization of human T lymphocytes in tissue sections by a rosetting technique. *AM. J. Pathol.*, 88 : 323, 1977.
- 18) Mizoguchi, Y., Tanimoto, K., Yoshinoya, S., Mitamura, T., Morito, T., Nakai, H., Horiuchi, Y. and Umeda, T. : Detection of Fc-receptor on human renal glomerulus. *Clinic. Immunol. Immunopathol.*, 10 : 129, 1978.
- 19) Grey, H.M. and Kunkel, H.G. : H chain subgroups of myeloma proteins and normal 7s r-globulin. *J. Exp. Med.*, 120 : 253, 1964.
- 20) Sternberger, L.A., Hardy, P.H., Cuculis, J.J. and Meyer, H.G. : The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry : Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.*, 18 : 315, 1970.
- 21) Moller-Eberhard, H.J. and Kunkel, H.G. : Isolation of a thermolabile serum protein which precipitates r-globulin aggregates and participates in immune hemolysis. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 106 : 219, 1960.
- 22) Graham, R.C. and Karnovsky, M.J. : The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney : ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.* 14 : 291, 1966.
- 23) Mclean, I.W. and Nakane, P.K. : Periodate-lysine-paraformaldehyde fixative : a new fixative for immunoelectron microscopy. *J. Histochem. Cytochem.* 22 : 1077, 1974.
- 24) Dickler, H.B. and Kunkel, H.G. : Interaction of aggregated r-globulin with B lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 136 : 191, 1972.
- 25) Matre, R., Tönder, O., Thunold, S. and Solhaug, J.H. : Properties of Fc_r receptor in normal and malignant human tissues. *Scand. J. Immunol.* 5 : 361, 1976.
- 26) Lay, W.H. and Nussenzweig, V. : Ca⁺⁺ -dependent binding of antigen-19s antibody complexes to macrophages. *J. Immunol.* 102, 1969.
- 27) Basten, A., Warner, N.L. and Mandel, T. : A receptor for antibody on B lymphocytes. II. Immunochemical and electron microscopy

- characteristic. *J. Exp. Med.*, 135 : 627 1972.
- 28) Matre, R. and Haugen, Å. : The placental Fc₁ receptors studied using immune complexes of peroxidase. *Scand. J. Immunol.* 8 : 187, 1978.
- 29) Tönder, O. and Thunold, S. : Receptors for immunoglobulin Fc in human malignant tissues. *Scand. J. Immunol.* 2 : 207, 1973.
- 30) Wisse, E. : Ultrastructure and function of Kupffer cells and other sinusoidal cells in liver in Kupffer cells and other liver sinusoidal cells. Wise, E. and Knook, L., editor. Elsevier/North-Holland Biomedical Press Ltd., Amsterdam, Netherlands, p.33-60.
- 31) Munthe-Kasse, A.C., Berg, T., Seglen, P.O. and Seljelid, R. : Mass isolation and culture of rat Kupffer cells. *J. Exp. Med.* 141 : 1, 1975.
- 32) Munth-Kaas, A.C. : Phagocytosis in Kupffer cells in vitro. *Exp. Cell Res.* 99 : 319, 1976.
- 33) Crofton, R.W., Disselhoff-den Dulk, M.M.C. and van Furth, R. : The origine, kinetics, and characteristics of the Kupffer cells in the normal steady state. *J. Exp. Med.* 148 : 1, 1978.
- 34) Fahimi, H.D. : The fine structural localization of endogenous and exogenous peroxidase activity in Kupffer cells of rat liver. *J. Cell Biol.* 47 : 247, 1970.
- 35) Widman, J.J., Cotran, R.S. and Fahimi, H.D. : Mononuclear phagocytes (Kupffer cells) and endothelial cells. *J. Cell Biol.* 52 : 159, 1972.
- 36) Emeis, J.J. and Planque, B. : Heterogeneity of cells isolated from rat liver by pronase digestion : ultrastructure, cytochemistry and cell culture. *J. Reticuloendothel. Soc.* 20 : 11, 1976.
- 37) Wisse, E. : Observations on the fine structure and peroxidase cytochemistry of normal rat liver Kupffer cells. *J. Ultrastruct. Res.* 46 : 393, 1974.
- 38) Raepple, E., Hill, H.U. and Loos, M. : Mode of interaction of different polyanions with the first (C1), the second (C2) and the fourth (C4) component of complement-I. Effect on fluid phase C1 and C1 bound to EA or EAC4. *Immunochem.*, 13 : 251, 1976.
- 39) 室博之, 白澤春之, 中村達, 坂本真 : 胃癌および大腸癌における Fc receptor の局在とその意義。消化器と免疫。No.5 : 1980, 印刷中。

写真説明

1. PAPIgG を門脈内注入した肝の Cytokeep 固定凍結切片にベンチジン反応を施したもの；褐色顆粒状の HRPO 反応産物を類洞壁にみとめる。6 μ , メチレンブルー後染, $\times 500$
2. 凍結切片を乾燥固定し, PAPIgG 処理後ベンチジン反応；HRPO 反応産物は少なく, 類洞構造は断片的である。核および細胞質の空胞化もある。6 μ , メチレンブルー後染, $\times 250$
3. Cytokeep 固定凍結切片, PAPIgG 処理後ベンチジン反応；類洞に一致した褐色細管状の HRPO 反応産物を見とめる。30 μ , $\times 220$
4. 凍結切片を paraformaldehyde で固定し, PAPIgG 処理後ベンチジン反応；Cytokeep 固定 (Fig 3) と同じく, HRPO 反応産物は細管状に分布するが, その濃度は低く不鮮明である。30 μ , $\times 250$
5. 凍結切片を PLP で固定し, PAPIgG 処理後ベンチジン反応；Cytokeep 固定 (Fig 3) に類似した細管状構造を見とめるが, その像は不鮮明である。30 μ , $\times 250$
6. 凍結切片を glutaraldehyde で固定し, PAPIgG 処理後ベンチジン反応；核は褐色に染り, 細胞質も褐色顆粒状を呈するが, 類洞壁に一致した HRPO 反応産物はない。30 μ , $\times 250$
7. Cytokeep 固定凍結切片, PAPF(ab')₂ 処理後ベンチジン反応30分；類洞には細管状の HRPO 反応産物を見とめないが, 内因性 peroxidase の褐色反応物を見とめる。なお, 中心静脈内の反応産物塊は赤血球である。6 μ , $\times 250$
8. Cytokeep 固定凍結切片, 0.5mg/ml の native rabbit IgG を含む PAPIgG で処理後ベンチジン反応；褐色細管状物を見とめず, わずかな褐色点状の HRPO 反応物を見とめるにすぎない。native IgG による完全抑制を意味する。6 μ , $\times 250$



Fc receptor の組織学的証方法の検討, マウス肝を対象として