

## パイエル板 M 細胞(microfold cell)における *Salmonella enteritidis* の取り込みに関する形態学的研究

鴨井 隆一

パイエル板リンパ濾胞上皮上に存在する M 細胞は、腸管腔内の抗原性物質を選択的に取り込み、内包したリンパ球及びマクロファージに伝達するという抗原提示細胞としての機能があり、現在までに種々の細菌の M 細胞からの取り込みが確認されている。

一方、*Salmonella enteritidis* はヒト食中毒の起因菌として一般的な腸内細菌であるが、その侵入様式は明らかにされていない。そこで、著者は、家兎においてパイエル板を含めた回腸結紮ループ内に *Salmonella enteritidis* GIFU 3161 (ATCC 13076) を投与して蛍光抗体間接法並びに電子顕微鏡的観察を行った。また、0.5%ホルマリン処理死菌の投与も行った。その結果、生菌は投与後90分で既に M 細胞に付着、取り込まれ、180分後では内包したリンパ球やマクロファージに受け渡されている像が確認された。一方、絨毛上皮並びに濾胞上皮上の吸収上皮細胞からは取り込まれなかった。死菌投与においては、6時間後でもいかなる細胞からも取り込みを認めなかった。また、死菌による感作実験として経口投与と経静脈投与の方法で行ったが、経静脈投与では640倍の凝集価の上昇を認めたのに対し、経口投与では8倍であった。経静脈感作した家兎における生菌の回腸結紮ループ内投与実験では、未感作家兎に比べて M 細胞への付着の低下を認めた。

(平成3年9月13日採用)

### Morphological Studies of *Salmonella enteritidis* Uptake by Microfold Cells (M Cells) of the Peyer's Patch

Ryuichi Kamoi

M cells present in the follicle-associated epithelium (FAE) of the Peyer's patches take up antigenic substances within the intestinal lumen selectively to transmit them to enfolded lymphocytes and macrophages as antigen-presenting cells. The uptake of various bacteria by M cells has already been confirmed.

The route of invasion of *Salmonella enteritidis*, a common causative agent for food poisoning in humans which resides in the intestine, has not been clarified. *Salmonella enteritidis* GIFU 3161 (ATCC 13076) was therefore placed in a ligated ileal loop including the Peyer's patches of eight-week-old New Zealand white male rabbits for an indirect immunofluorescence study and electron microscopic observation. Bacteria killed by 0.5% formalin were also placed in the ligated ileal loop. Ninety minutes after inoculation, live bacteria had already adhered to the M cells

and were taken up. After 180 minutes the picture of the bacteria being transmitted to enfolded lymphocytes and macrophages was confirmed. No uptake was noted from the absorptive epithelial cells in the villi and FAE. On inoculation with killed bacteria, no uptake was seen by any cells even after six hours. In an experiment of immunization with killed bacteria, oral and intravenous routes of administration were employed. After intravenous administration, the agglutination titer rose 640 times, but only an eight-fold rise was noted after oral administration. On inoculation of live bacteria into the ligated ileal loop of the rabbits immunized intravenously, the adherence of bacteria to M cells was decreased as compared with that in the non-immunized rabbits. (Accepted on September 13, 1991) *Kawasaki Igakkaishi* 17(3): 225-235, 1991

**Key Words** ① M cell ② *Salmonella enteritidis* ③ Oral immunity

## 緒 言

腸管関連リンパ装置 (gut-associated lymphoid tissue : GALT) のなかでパイエル板並びに孤立リンパ濾胞は、種々の抗原性物質や微生物の侵入門戸として重要であり、最初の免疫応答の場である。これらのリンパ濾胞上皮 (follicle-associated epithelium : FAE) 間に、M細胞 (microfold cell : M cell) と呼ばれる特異な形態と機能をもつ細胞が存在する。M細胞は、抗原提示細胞 (antigen presenting cell) として、腸管腔内の抗原性物質を選択的に取り込み、内包されたリンパ球及びマクロファージに伝達することが知られており、現在、M cell より取り込まれることが確認されている細菌としては、*Vibrio cholerae*,<sup>1)</sup> *Salmonella typhi*,<sup>2)</sup> BCG,<sup>3)</sup> *Escherichia coli* (O : 124, K : 72株),<sup>4)</sup> OK-432, *Streptococcus pyogenes*,<sup>5)</sup> *Campylobacter jejuni*,<sup>6)</sup> *Yersinia enterocolitica*<sup>7)</sup>などが報告されている。

*Salmonella enteritidis* は、ヒトの食中毒の起因菌として一般的な細菌である。近年、鶏卵の消費増大とともに本菌による食中毒が増加の傾向にある。<sup>8)</sup> そこで *Salmonella enteritidis* の腸管からの侵入部位、M細胞との関係について家兎腸管を用い蛍光抗体間接法及び電子顕微鏡的に検討した。

## 実験材料と方法

### 1. 投与細菌

投与した細菌は岐阜大学医学部微生物学教室より供与を受けた *Salmonella enteritidis* GIFU 3161 (ATCC 13076) (以下、*S. enteritidis* と略す) で、heart infusion (HI) 培養液で37°C 18時間培養した後、0.1M リン酸緩衝液 (PB) で洗浄、 $1 \times 10^{10}$ /ml の菌体浮遊液に調整して使用した。

死菌浮遊液は、0.5%ホルマリンで4°C 24時間作用させた後、PBで洗浄、 $1 \times 10^{10}$ /ml になるように調整した。斜面培地で菌の死滅を確認した後、10%アジ化ナトリウム液を1/100容加えて4°Cで保存した。

### 2. 抗血清作製及び動物感作

生後5週齢のNew Zealand white系雄性家兎に、前採血にてあらかじめ凝集反応にて抗体価が陰性であることを確認した後、 $1 \times 10^{10}$ /ml 死菌浮遊液を耳介静脈より初回1ml、その後4日おきに2mlずつ3回投与、その1週間後に2ml追加、更に1週間後に全採血を行った。血清分離して-80°Cで凍結保存した。投与実験に用いた家兎も上記の方法で感作した。

また、経口感作として、生後5週齢のNew Zealand white系雄性家兎を凝集反応にて抗体価が陰性であることを確認した後、4日おきに

【家兎感作】																												
○経静脈感作																												
Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
i. v.	1ml				2ml				2ml				2ml						2ml									↑
	前採血											途中採血							途中採血									全採血
○経口感作																												
Day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
p. o.	15ml				15ml				15ml				15ml						15ml									↑
	前採血											途中採血							途中採血									全採血

Fig. 1. Methods of intravenous and oral immunization by *Salmonella enteritidis*

1×10<sup>10</sup>/ml 死菌浮遊液を15 ml ずつ、プラスチックチューブを経口的に胃内に挿入して4回投与、その1週間後に15 ml 追加、更に1週間後に全採血を行った (Fig. 1)。

### 3. 動物投与実験

生後8週齢の New Zealand white 系雄性家兎、体重1.4から1.6 kg を48時間絶食後、ペントバルビタール (0.4 mg/kg) にて静脈麻酔下に開腹し、パイエル板を含んだ約5 cm の回腸を血管を避けて結紮、その回腸ループ内に菌体浮遊液を結紮腸管の長さに応じ2から2.5 ml ずつ注入した。対照群には生理食塩水を同量注入した。注入後速やかに閉腹、投与90分、180分、6時間後に再開腹して組織を摘出し、冷生理食塩水で十分洗浄後、電顕材料、蛍光抗体法材料に分け、それぞれの目的に応じた固定液にいった。

死菌浮遊液の投与や、あらかじめ死菌で経静脈感作した家兎への生菌投与についても同様の方法で行った。

### 4. 蛍光抗体間接法

摘出組織を periodate-lysin-4% paraformaldehyde (PLP) 液にて4℃4時間固定、10%から40%までの sucrose を加えた0.01M リン酸緩衝液 (PBS) で段階的に洗浄、凍結用包埋剤 (OCT-compound, Miles 社製) に包埋、ドライアイス-エタノールにて急速凍結して、-80℃で保存した。

これらの組織からクリオスタットにて6 μm の凍結切片を作製し、無蛍光スライドグラスに載せ、3時間空気乾燥した。冷 PBS で OCT-com-

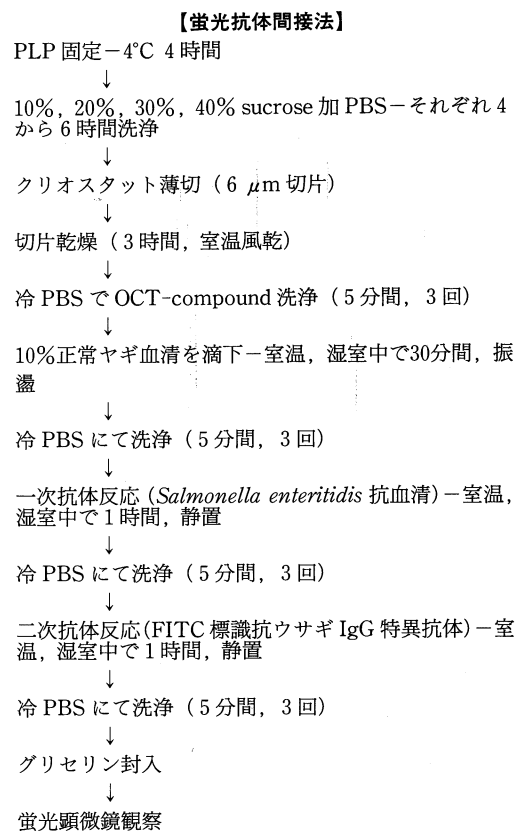


Fig. 2. Indirect immunofluorescence method

pound を洗浄した後、非特異反応のブロックのため10%正常ヤギ血清を室温で30分間反応させた。次に一次抗体を室温で1時間反応させた。一次抗体は前述の方法で作製した *S. enteritidis* 抗血清を使用した。コントロールには正常ウサギ血清を用いた。次に二次抗体を室温で1時間

反応させた。二次抗体には FITC 標識抗ウサギ IgG 特異抗体 (ヤギ, MBL 社) を使用した。無蛍光グリセリンで封入して蛍光顕微鏡で観察した (Fig. 2)。

### 5. 菌体の電子顕微鏡的観察

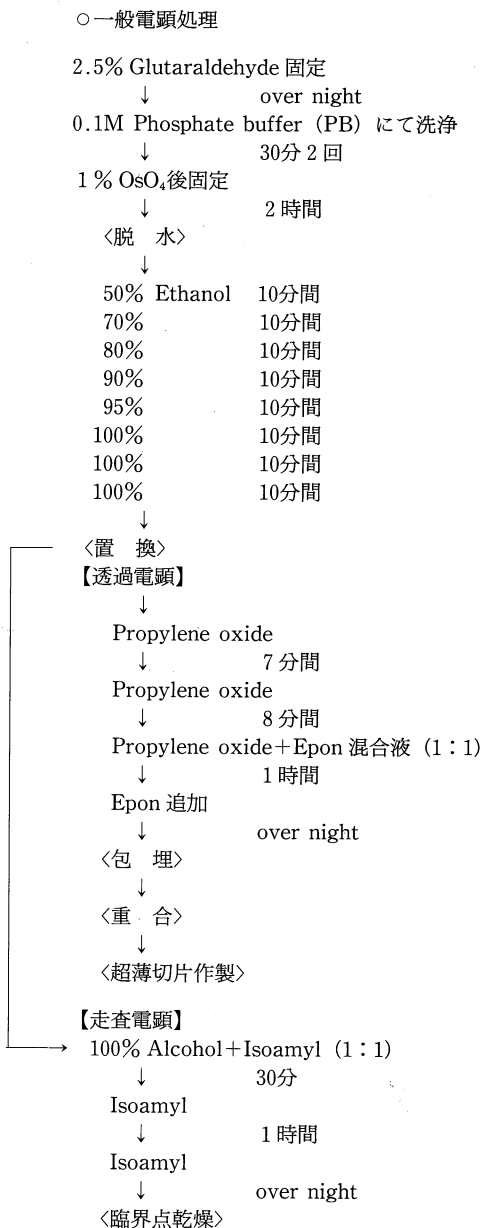


Fig. 3. Methods of scanning and transmission electron microscopy

走査電顕の観察は、横田ら<sup>9)</sup>の方法にしたがって、菌を培養した HI 培地 3 ml に 25% グルタルアルデハイド 0.1 ml を加え、ミリポアフィルター (VC, 孔径 0.1  $\mu$ m) に 1 から 3 滴滴下し、2.5% グルタルアルデハイドにて 1 時間固定、PB にて 30 分間洗浄後、アルコール系列で脱水し、そのまま臨界点乾燥、白金パラジウムを蒸着して観察した。

透過電顕の観察は、菌体浮遊液を遠沈したペレットを 2.5% グルタルアルデハイドで 1 時間、1% 四酸化オスミウムで 1 時間固定後、他の透過電顕材料と同様にアルコール系列で脱水、エポキシ樹脂に包埋、超薄切片作製、酢酸ウラニール、クエン酸鉛二重染色を行い観察した。

ネガティブ染色は、コロジオン膜をはった銅メッシュを親水処理してから菌体浮遊液を滴下、2 分後余分な液を吸い取り、さらに 1% 酢酸ウラン水溶液を滴下、余分な液を吸い取り、37°C 30 分間乾燥後観察した。

### 6. 組織の電子顕微鏡的観察

摘出組織を冷生理食塩水にて洗浄後、速やかに 2.5% グルタルアルデハイドにて固定、絨毛上皮部とパイエル板に分け、それぞれを走査電顕用と透過電顕用に細切した。

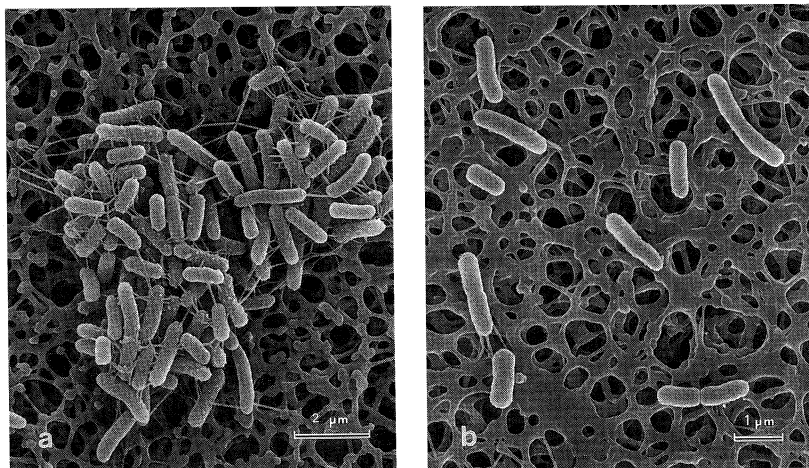
走査電顕材料は 1% 四酸化オスミウムにて 2 時間後固定後、アルコール系列で脱水し、イソアルミを経て臨界点乾燥後、白金パラジウム蒸着して日立 S-570 走査電子顕微鏡にて観察した。

透過電顕材料は、1% 四酸化オスミウム 2 時間後固定後、アルコール系列で脱水し、プロピレンオキシド置換後、エポキシ樹脂に包埋、超薄切片作製、酢酸ウラニール、クエン酸鉛二重染色を行い、日立 H-500 透過電子顕微鏡にて観察した (Fig. 3)。

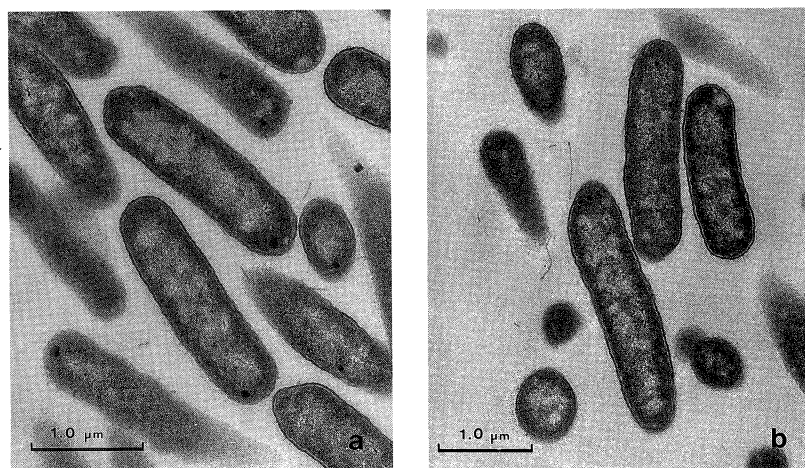
## 結 果

### 1. 菌体の形態学的観察

*S. enteritidis* 生菌は走査電顕で観察すると、短径 0.4  $\mu$ m、長径 0.9 から 3.5  $\mu$ m のほとんどが表面平滑な桿菌として観察され、遠沈操作をす



**Fig. 4.** a. Scanning electron micrograph of cultured *Salmonella enteritidis* before washing. Flagella are seen. The background is the millipore filter (VC,  $0.1\ \mu\text{m}$ ).  
b. Scanning micrograph of 0.5% formalin treated *Salmonella enteritidis*. The background is the millipore filter (VC,  $0.1\ \mu\text{m}$ ).



**Fig. 5.** a. Transmission electron micrograph of cultured *Salmonella enteritidis*  
b. Transmission electron micrograph of 0.5% formalin-treated *Salmonella enteritidis*

る前の生菌は周毛性鞭毛をもっており、遠沈操作により鞭毛の多くは脱落してしまう。全体の10から20%の割合で表面が粗な菌体が見られた。ホルマリン処理死菌は、大きさは生菌と変わらないが、遠沈操作により鞭毛はほとんど消失している (Fig. 4 a, b)。

透過電顕にて観察すると、生菌、死菌で表面及び内部構造に特に大きな変化を認めなかった (Fig. 5 a, b)。

ネガティブ染色して観察すると、HI培養液で18時間培養後、遠沈していない生菌は鞭毛の発達した菌体が多数認められるが、線毛をもった菌体はごくわずかで全体の1%以下と思われる。遠沈後の生菌は、鞭毛の切れた菌体が多数みられ、線毛は遠沈前と同様わずかであった。ホルマリン処理死菌は、鞭毛はほとんどなく、線毛をもった菌体も認められなかった。

## 2. 感 作

経静脈感作においては、凝集反応で最終的に640倍の力価の抗血清が得られた。

経口感作においては、8倍の力価しか上昇しなかった。なお、この抗血清にて *Salmonella typhi* OH 抗原との交叉反応を行ったが、2倍の上昇を認めた。

## 3. 蛍光抗体間接法

蛍光抗体間接法にて菌体を注入した腸管を観察すると、パイエル板濾胞上皮層に特異的に多数の顆粒状の蛍光反応を認めたが、絨毛部上皮層には反応を認めなかった (Fig. 6 a)。一次抗体を使用せず、二次抗体のみ反応させたコントロール標本には反応を認めなかった。

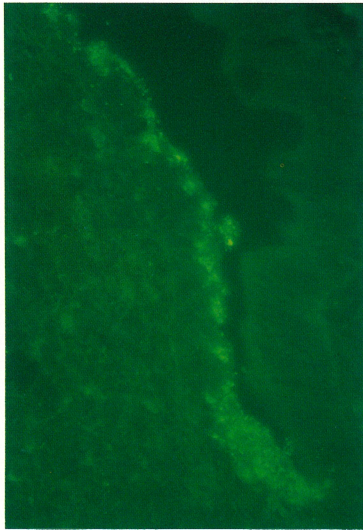


菌体非投与群では、いずれの部位にも蛍光反応は認めなかった。

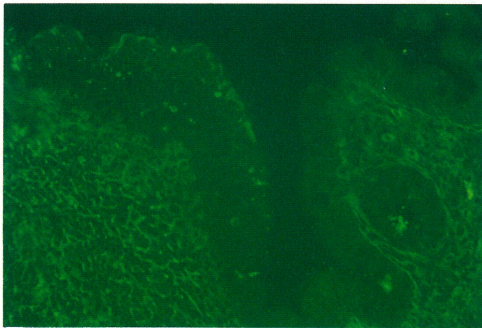
経静脈感作家兎における投与実験では、パイエル板濾胞上皮層に顆粒状の蛍光反応を認めるが、未感作家兎における実験より明らかに蛍光反応は低下していた (Fig. 6 b)。

#### 4. 電顕的観察

走査電顕にて観察すると、パイエル板濾胞上皮は、丈の高い微絨毛をもつ吸収上皮細胞と微絨毛の短く糖衣の少ない M 細胞が存在し、S.



a



b

Fig. 6. Indirect immunofluorescence study of a *Salmonella enteritidis* infected rabbit's Peyer's patch 180 min after inoculation. Granular immunofluorescence reactions are seen in FAE.

a : Non-immunized rabbit ( $\times 200$ )

b : Immunized rabbit ( $\times 100$ )

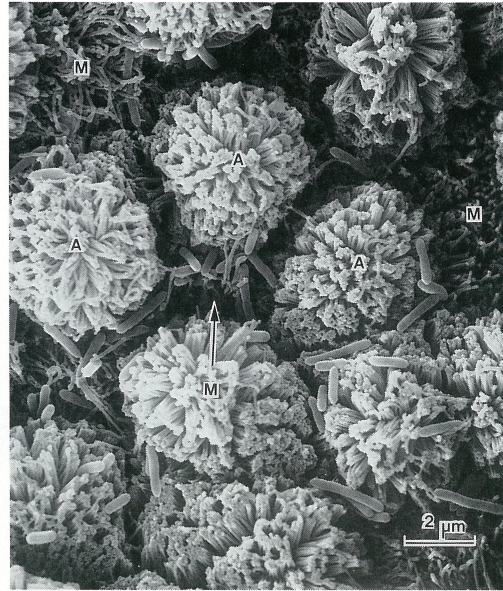


Fig. 7. Scanning electron micrograph 90 min after inoculation of *Salmonella enteritidis*. The rod-shaped bacteria adhered chiefly to the surface of M cells (M : M cell, A : absorptive cell).

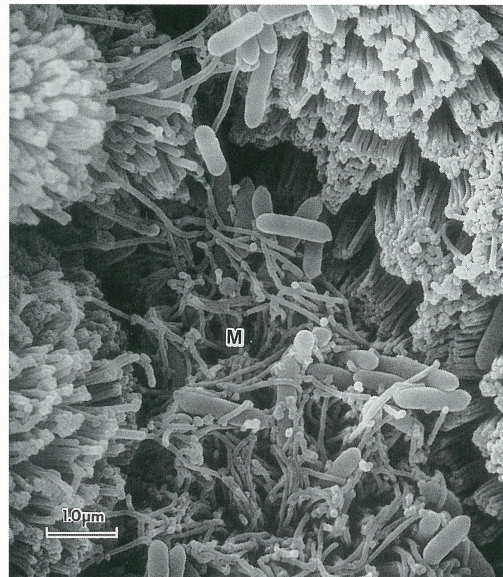


Fig. 8. Scanning electron micrograph 90 min after inoculation. The microfolds of the M cell catch rod-shaped bacteria.

*enteritidis* は投与後90分でM細胞を中心に多数付着していた (Fig. 7). 菌体の付着したM細胞の微絨毛は、偽足様に伸び菌体を捕捉する像が観察された (Fig. 8). たまたま吸収上皮に付着しても吸収上皮の微絨毛にはそのような変化

は全く認められなかった. 一方、絨毛上皮部の吸収細胞には菌体付着を認められなかった. 対照群においては、どの細胞にも菌体付着は認めなかった.

透過電顕にて観察すると、パイエル板濾胞上

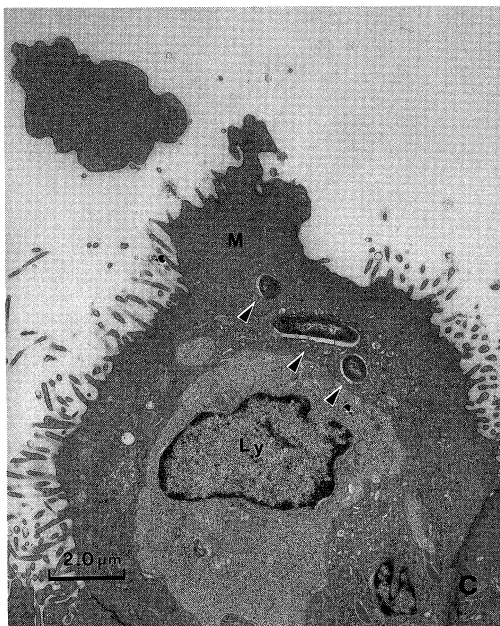
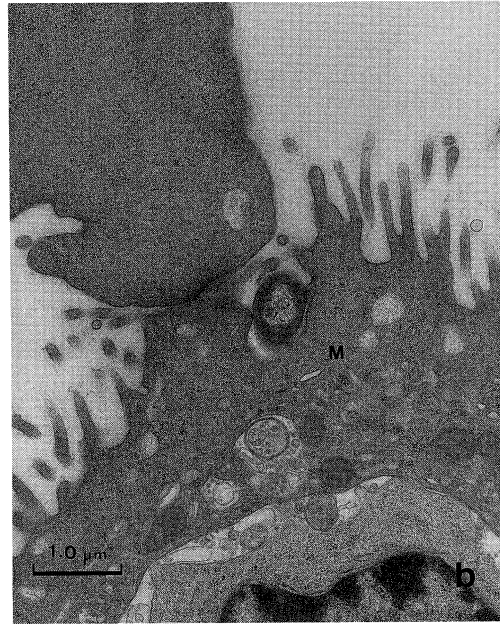
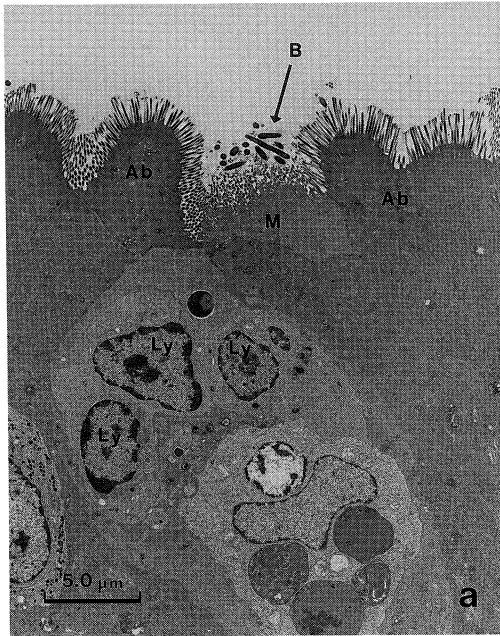
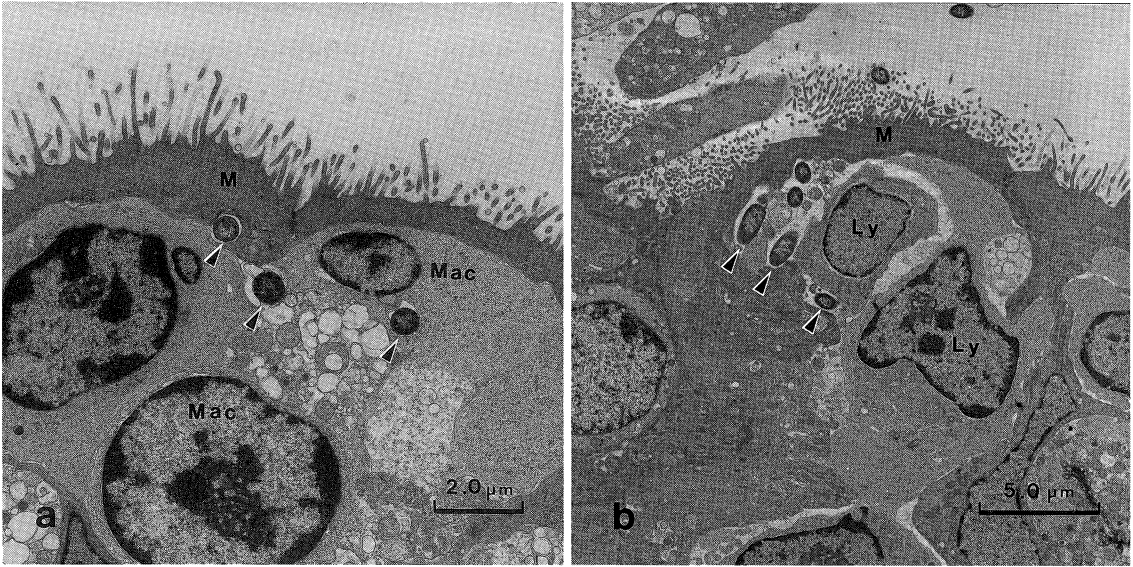


Fig. 9. Transmission electron micrograph 90 min after inoculation of *Salmonella enteritidis*

- a : The bacteria (B) are adhering to an M cell.
- b : The bacteria have been caught by an M cell.
- c : The bacteria (arrowhead) are phagocytized by an M cell (Ly : lymphoid cell).





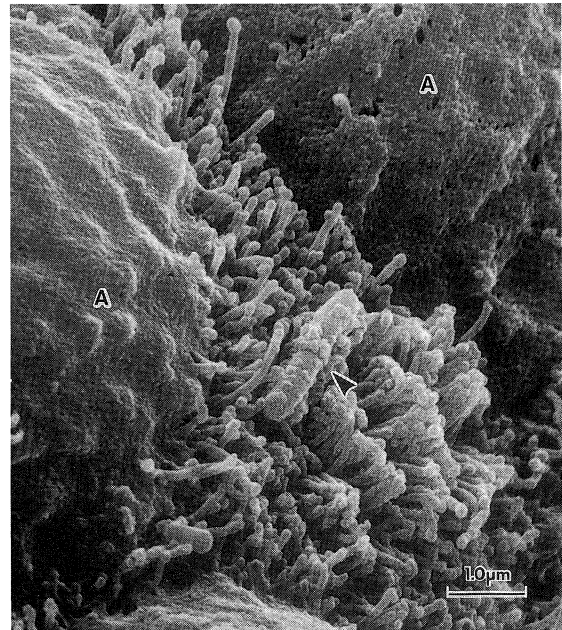
**Fig. 10.** Transmission electron micrograph 180 min after inoculation

**a :** The bacteria (arrowhead) may be recognized in a macrophage (Mac) enfolded by an M cells.

**b :** The bacteria (arrowhead) may be recognized in the intracellular space between an M cell and enfolded lymphoid cells.



**Fig. 11.** Transmission electron micrograph 180 min after inoculation. The macrophage enfolded by an M cell is migrating into the intestinal lumen (arrowhead : inoculated bacteria).



**Fig. 12.** Scanning electron micrograph 180 min after inoculation into immunized rabbits. The microfolds of the M cell catch a bacillus (arrowhead).



皮では、投与後90分でM細胞を中心に菌体の付着を認めた (Fig. 9 a). Figure 9 bではM細胞が菌体を捕らえ、Figure 9 cでは完全に取込まれている。このように90分後に既にM細胞内小胞に *S. enteritidis* 生菌が取り込まれる過程を観察できた。吸収上皮細胞内にはまったく取り込みを認めなかった。絨毛部の吸収上皮細胞にも取り込みを認めなかった。投与後180分には、M細胞に内包されたマクロファージの小胞内、あるいは内包されたリンパ球様細胞に接した細胞間隙にも菌体を認めた (Fig. 10 a, b)。また、菌体を取り込んだM細胞からマクロファージが管腔内へ遊走する像が認められた (Fig. 11)。対照群には上記のいかなる像も認められなかった。これらの観察から、投与された菌体はM細胞に選択的に取り込まれ、内包されたマクロファージに食食されるかまたは、リンパ球様細胞に接するM細胞との間隙に存在することが確認された。

死菌投与実験においては、走査電顕、透過電顕とも詳細かつ多数の標本にて観察したが、投与後6時間においても菌体の付着も取り込みも認められなかった。

経静脈感作家兎における生菌投与実験では、走査電顕の観察にて180分後にごくわずかにM細胞のみに菌体付着を認めた。しかし、未感作家兎における実験と比べると明らかに付着数が少なかった。この場合もM細胞のmicrofoldが偽足様に伸び、付着した菌体を捕捉する像が認められた (Fig. 12)。

## 考 察

パイエル板FAE上に存在するM細胞は、1974年、Owenら<sup>10)</sup>によって命名、定義づけられた細胞で、形態学的には太く短い微絨毛を有し、細胞内にリンパ球、マクロファージ、形質細胞などを内包するため、M細胞の核は下方に押しやられて細胞質が膜様に薄くなっている。M細胞と内包された細胞の関係を連続切片にて観察すると、<sup>11)</sup> M細胞の基底膜側は開口しており

基底膜自体にも開口部が存在するという事実、また、内包された細胞とM細胞の間にはtight junctionが存在しないということなどより、内包された細胞はM細胞内と濾胞内または管腔内へと自由に出入りすることが可能なことが形態学的観察で明らかになっている。今回の家兎の実験でもマクロファージがM細胞から管腔内へ遊走する像が捕らえられた。

機能的には、免疫組織化学的研究でヒトのM細胞及びM細胞に接するリンパ球、樹枝状細胞においてHLA-DR(1a)の陽性像がみられ、<sup>12)</sup> 抗原提示細胞としての機能が示唆されている。

M細胞は抗原性物質を選択的に取り込み、内包したリンパ球、マクロファージに提示する機能があるが、サルモネラ属の *S. enteritidis* 以外の細菌について観察した文献をみると、OwenらがM細胞の定義を確立する以前の1971年、Takeuchi<sup>13)</sup> は、opiumで処置したモルモットに *Salmonella typhimurium* を経口投与し、その小腸絨毛上皮細胞への侵入過程を透過電顕にて観察している。それによると、回腸上皮細胞の線条縁あるいは細胞間隙のtight junctionを破壊して菌体が細胞質内に侵入し、次第に細胞質、線条縁が修復され、菌体は細胞質内空腔に内包されるとしている。

Kohbataら<sup>2)</sup> の *Salmonella typhi* のマウス腸管結紮ループ内投与実験においては、菌体はM細胞に選択的に付着し、菌体の付着したM細胞は完全に破壊されて、M細胞内にendocytosisされた像は認められなかった。

一方、著者の *S. enteritidis* の家兎回腸結紮ループ内投与実験においては、菌体はM細胞に選択的に侵入し、内包されたマクロファージ、リンパ球様細胞にそのままの形態で受け渡され、M細胞の破壊像やM細胞以外の細胞よりの侵入像は認めなかった。

ところで、従来より種々の感染症に対して経口免疫の方法が試みられてきた。現在、効果が認められているものにはSabin vaccine,<sup>14)</sup> BCG,<sup>15)</sup> *Salmonella typhi* Gal-E変異菌Ty21a<sup>16)</sup> などがある。著者は *S. enteritidis* において、ホ

ホルマリン処理した死菌を経口投与したが、血清抗体は凝集反応にて8倍しか上昇しなかった。また、死菌の回腸結紮ループ内投与実験の電子顕微鏡的観察では、付着も取り込みも認められなかった。Kimuraら<sup>17)</sup>の、*Salmonella typhi*ホルマリン処理死菌の家兎への経口感作においても、凝集価の上昇は認められなかったと述べている。著者は*S. enteritidis*をホルマリン固定以外の方法で処理した実験は行っていないが、Owenら<sup>18)</sup>は、*Vibrio cholerae*の家兎回腸結紮ループ内投与実験で、0.025Mホルマリン固定に加えて、2.5%グルタルアルデヒド、0.8%パラホルムアルデヒド固定、56°C30分加熱、紫外線30秒照射などの方法で処理した細菌でオートラジオグラフィにて取り込みを観察しているが、どの方法でも取り込みを認めなかったとしている。著者並びにOwenらの観察で、ホルマリンや上記のような処理を行った菌体ではM細胞に付着、捕捉されなかった事実は、菌体の付着因子が障害されM細胞から取り込まれないため、抗体価の上昇も低いと考えられる。しかし、*S. enteritidis*の付着因子がいかなるものであるか明らかにされていない。*Vibrio cholerae*においては、M細胞への付着因子として菌体結合ヘマグルチニンと線毛の二種類が考えられている。その他、腸炎ビブリオ、腸管毒素原性大腸菌(ETEC)、腸管病原性大腸菌(EPEC)などにおいても細胞付着因子として線毛が大きな役割を占めるとされている。<sup>19)</sup>*S. enteritidis*の生菌浮遊液とホルマリン処理死菌浮遊液をネガティブ染色で観察すると、液体培地で18時間培

養後の生菌では線毛の発達した菌体は1%以下で、ホルマリン処理死菌においては線毛は観察できなかった。*S. enteritidis*では、生菌と死菌の付着状態の差は、線毛の有無によるものだけではなく、線毛以外にも何らかの付着因子が存在すると思われる。

ホルマリン処理した死菌にて経静脈的に確実に免疫化した家兎での回腸結紮ループ内生菌投与実験においては、免疫化していない家兎に比べて明らかに付着の低下を認めた。これは、Crayら<sup>20)</sup>が*Vibrio cholerae* O1株の家兎における経口投与実験で2回目のcolonizationが阻害されたという結果と一致する。この結果についてCrayらは、侵襲性の弱い病原菌では、特異的に免疫された分泌型IgAにより粘膜面での付着が阻害されるため、取り込まれないのであろうと仮説を立てている。教室の加藤<sup>21)</sup>の免疫電顕の研究で、家兎において吸収上皮細胞よりM細胞の管腔側表面に分泌型IgAが多く分布していることを明らかにした。感作家兎でのM細胞表面における付着菌数の低下は、Crayらと同様、M細胞表面での*S. enteritidis*の付着に分泌型IgAの関与が考えられた。

稿を終えるにあたり、木原 強教授の直接のご指導とご校閲に深く感謝いたします。また、終始有益な助言と協力をいただいた川崎医療福祉大学生物学 美禰弘子助教授に感謝いたします。

本論文の要旨は平成3年10月、第33回日本消化器病学会総会において発表予定である。

## 文 献

- 1) Owen, R. L., Pierce, N. P., Apple, R. L. and Cray, W. D., Jr.: Phagocytosis and transport by M cell of intact *Vibrio cholerae* into rabbit Peyer's patch follicles (abstr.). *J. Cell Biol.* 95: 446a, 1982
- 2) Kohbata, S., Yokoyama, H. and Yabuuchi, E.: Cytopathogenic effect of *Salmonella typhi* GIFU 1007 on M cells of murine ileal Peyer's patches in ligated ileal loops: An ultrastructural study. *Microbiol. Immunol.* 12: 1225-1237, 1986
- 3) 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

- 4) 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* 20 : 379—394, 1987
- 5) 長崎貞臣：パイエル板上の microfold cell (M細胞) による *Streptococcus pyogenes* 並びに streptococcus preparation OK-432の取り込みに関する形態学的研究. *川崎医学会誌* 15 : 13—22, 1989
- 6) Walker, R. I., Schmauder-Chock, E. A. and Parker, J. L. : Selective association and transport of *Campylobacter jejuni* through M cells of rabbit Peyer's patches. *Can. J. Microbiol.* 34 : 1142—1147, 1988
- 7) Grutzkau, A., Hahn, C. and Riecken, E. O. : Involvement of M cells in the bacterial invasion of Peyer's patches : A common mechanism shared by *Yersinia enterocolitica* and other enteroinvasive bacteria. *Gut* 31 : 1011—1015, 1990
- 8) Rodrigue, D. C., Tauxe, R. V. and Rowe, B. : International increase in *Salmonella enteritidis* : A new pandemic? *Epidemiol. Infect.* 105 : 21—27, 1990
- 9) 横田秀幸, 大森 茂, 清水良夫, 岡田隆幸, 高杉信男：腸内細菌 (サルモネラ菌) の電子顕微鏡用試料作製と観察. *札幌市衛研究年報* 15 : 83—98, 1989
- 10) 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
- 11) Shimazui, T. : An ultrastructural study of the pathway and the location of migrating lymphocytes through the intestinal microfold cells (M cells). *J. Clin. Electron Microscopy* 18 : 127—147, 1985
- 12) 名倉 宏, 鷲見幸子, 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. *消と免疫* 18 : 71—75, 1987
- 13) Takeuchi, A. : Penetration of the intestinal epithelium by various microorganisms. *Curr. Top. Pathol.* 54 : 1—27, 1971
- 14) Sabin, A. B. : Present position of immunization against poliomyelitis with live virus vaccines. *Br. Med. J.* 14 : 663—680, 1959
- 15) 室橋豊穂, 三浦 馨, 高橋 宏, 木ノ本雅通：BCG 経口接種モルモットの抗結核免疫力. *結核* 53 : 465—470, 1978
- 16) Germanier, R. : Oral vaccination against enteric bacterial infections : An overview. *Infection* 12 : 138—142, 1984
- 17) Kimura, A. : The epithelial-macrophagic relationship in Peyer's patches : An immunopathological study. *Bull. Osaka Med. Coll.* 23 : 67—91, 1977
- 18) Owen, R. L., Pierce, N. F. and Cray, W. C., Jr. : Effect of bacterial inactivation methods, Toxin production and oral immunization on uptake of *Vibrio cholerae* by Peyer's patch lymphoid follicles. *In Advances in Research on Cholerae and Related Diarrheas*, ed. by Kuwahara, S. and Pierce, N. F. 4th ed. Tokyo, KTK Scientific Publishers. 1988, pp. 189—197
- 19) Yamamoto, T., Fujita, K. and Yokota, T. : Adherence characteristics to human small intestinal mucosa of *Escherichia coli* isolated from patients with diarrhea or urinary tract infections. *J. Infect. Dis.* 162 : 896—908, 1990
- 20) Cray, W. C., Jr., Tokunaga, E. and Pierce, N. F. : Successful colonization and immunization of adult rabbits by oral inoculation with *Vibrio cholerae* O1. *Infect. Immun.* 41 : 735—741, 1983
- 21) Kato, T. : A study of secretory immunoglobulin A on membranous epithelial cells (M cells) and adjacent absorptive cells of rabbit Peyer's patches. *Gastroenterol. Jpn.* 25 : 15—23, 1990