

# 牦牛胸腺增龄性变化的形态学观察

张倩, 余四九, 何俊峰, 崔燕\*

(甘肃农业大学动物医学院, 兰州 730070)

**摘要:** 本研究旨在为进一步探讨胸腺生理或免疫功能提供形态学资料。选取 3 个年龄段(1 日龄、5 月龄及成年)健康牦牛的胸腺样本, 通过组织学、免疫组织化学和统计学的方法对牦牛胸腺组织结构增龄性变化进行研究。结果显示, 随着增龄, 牦牛胸腺皮、髓质分界不清, 细胞排列稀疏, 小叶间结缔组织和脂肪组织增多占据了胸腺原有的功能区, 被膜增厚; 各年龄段 S100 阳性胸腺树突状细胞(TDCs)位于皮髓交界、髓质区域, 单位面积内此种细胞的数量随增龄下降, 各年龄段组间差异极显著( $P < 0.01$ ); 单位面积内 Caspase-3 阳性胸腺凋亡细胞平均数目随增龄上升, 各年龄段牦牛胸腺皮质单位面积内此种细胞数目组间差异极显著( $P < 0.01$ ), 而 5 月龄与成年牦牛髓质单位面积内此种细胞数目差异不显著( $P > 0.05$ ), 但二者均与 1 日龄时差异极显著( $P < 0.01$ )。结果提示, 随着增龄, 牦牛胸腺结构呈退化趋势; 胸腺功能减退, 这可能与抗原递呈细胞(TDCs)的数量下降和皮质胸腺细胞凋亡现象显著相关, 其机制有待于进一步研究。

**关键词:** 牦牛胸腺; 组织结构; 增龄变化; TDCs; 胸腺凋亡细胞

中图分类号: S852.16

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2013)08-1305-06

## Morphological Observation of Age-Associated Changes in the Thymus of the Yak

ZHANG Qian, YU Si-jiu, HE Jun-feng, CUI Yan\*

(College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to study thymuses physiological and immunological functions. The age-associated changes in histology of the healthy yak's thymus at three different age groups (one-day-old, five-month-old and adult) were observed by histology, immunohistochemistry and statistics methods. The results showed that as the age increased, identifiable corticomedullary delineation became unclear; thymocytes in both the cortical and the medulla became sparse. These changes were accompanied by a marked increase in the content of interlobular connective and adipose tissue and thickening of the thymic capsule. S100 positive thymic dendritic cells (TDCs) were localized in the corticomedullary junction and medullary zones in each group. The average number of S100 positive thymic dendritic cells decreased per area while the age increased. And differences between each age group were significant ( $P < 0.01$ ). Moreover, the average number of Caspase-3 positive thymocytes per area increased while the age increased. Particularly, the average number of this cell in the cortex increased and there were significant differences between each age group ( $P < 0.01$ ). No difference ( $P > 0.05$ ) were observed between 5-month-old and adult group, but these two groups were significantly higher ( $P < 0.01$ ) than the 1-day-old group, respectively. The results indicated that the yak's thymus showed obvious degeneration trend in structure and function which is possibly associated with the decrease of TDCs and increase of cortical apoptotic thymocytes. The underlying mechanism need to be investigated further.

收稿日期: 2013-03-05

基金项目: 国家自然科学基金(31272616)

作者简介: 张倩(1988-), 女, 甘肃兰州人, 硕士, 主要从事动物组织学与胚胎学的研究, E-mail: zq880204@126.com

\* 通信作者: 崔燕, 教授, E-mail: cuiyan369@sina.com

**Key words:** yak thymuses; histology; aging changes; TDCs; apoptotic thymocytes

牦牛 (*Bos grunniens*) 被喻为“高原之舟”, 是青藏高原高山草原特有的牛种。胸腺属于中枢(初级或一级)免疫器官之一, 是 T 细胞分化、发育和成熟的场所, 具有免疫调节和屏障作用, 并能建立自身抗原耐受性、维持免疫自稳<sup>[1]</sup>。胸腺是随增龄变化最敏感的中枢免疫器官, 它的形态、组织结构及功能会随着增龄而出现相应的变化。但由于牦牛特殊的生存环境, 有关其胸腺的研究甚少, 仅见国内俞红贤课题组的研究<sup>[2]</sup>, 至今尚未有关牦牛胸腺组织结构增龄性变化的相关报道。国内外学者对哺乳动物胸腺的形态学研究多集中于人<sup>[3]</sup> 和大鼠 (*Rattus norvegicus*)<sup>[4]</sup>, 其次猪 (*Sus domestica*)<sup>[5]</sup>、豚鼠 (*Cavia porcellus*)<sup>[6]</sup>、牛 (*Bos gaurus*)<sup>[7]</sup>、野山羊 (*Capra hircus*)<sup>[8]</sup> 等。

胸腺树突状细胞 (thymic dendritic cells, TDCs) 是构成胸腺微环境的重要组成部分, 也是胸腺内一种独特的抗原递呈细胞, 通过递呈各种抗原来促进胸腺 T 淋巴细胞活化、调控阴性选择、诱导耐受自身抗原及促进成熟 T 细胞的增殖, 在调节细胞免疫和体液免疫中起重要的作用<sup>[9]</sup>。B. W. Moore 在 1965 年首次发现了 S100 这种酸性的钙结合蛋白<sup>[10]</sup>, 一直以来人们普遍认为它是一种特异性的神经胶质细胞标记物, 直到 1981 年, 有学者研究表明其是一种标记淋巴器官内树突状细胞的有效蛋白<sup>[11]</sup>, 其在淋巴器官的表达随着机体增龄下调<sup>[9]</sup>, 胸腺增龄性抗原递呈功能下降与其数量减少有密切关联。

细胞凋亡是程序性的细胞死亡, 涉及组织器官的形态发生和内环境稳态。凋亡始终贯穿于免疫系统的发育和调节过程中, 能够清除自体反应的 T、B 细胞, 调节免疫记忆以及参与细胞毒性 T 细胞 (Tc) 介导的靶细胞溶菌作用。Caspase 家族引发的级联反应是细胞凋亡的中心环节, Caspase-3 位于级联反应下游, 是凋亡的效应子, 它一旦被激活将引起不可逆的细胞死亡, 因此 Caspase-3 被认为是细胞凋亡的标志, 它可用在淋巴组织中检测和量化凋亡细胞, 被认为是一种可靠、有效的免疫组化标记方法<sup>[12]</sup>。在胸腺的增龄性退化过程中, Caspase-3 表达上调, 胸腺功能减退与此密切相关。

本研究运用组织学、免疫组织化学和统计学的方法, 对牦牛胸腺组织结构的增龄性变化进行研究, 旨在为进一步探讨胸腺生理或免疫功能提供形态学资料, 并探索牦牛胸腺结构退化与功能减退间的关

系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

从合作市、西宁市以及临夏市屠宰场分别采集 1 日龄、5 月龄及成年健康牦牛的胸腺组织样本, 每个年龄段 5 头份, 所有胸腺样本在动物颈动脉放血致死迅速采集。

抗体购自 Abcam (rabbit polyclonal to S100, ab868; rabbit polyclonal to Caspase-3, ab4501); SP 试剂盒、DAB kit 及防脱片均购自中山金桥公司。

### 1.2 组织学切片观察

牦牛胸腺通过 4% 的多聚甲醛固定。常规方法制作石蜡切片 (厚 3~4  $\mu\text{m}$ )。分别进行 HE 染色、Masson's 三色染色、Giemsa 染色以及硫堇染色。

免疫组织化学染色分别采用 S100 和 Caspase-3 两种多克隆抗体, 均 1:100 稀释后使用。具体染色方法和步骤参照 SP 试剂盒说明书进行, 用 0.02 mol·L<sup>-1</sup> 的 PBS 代替一抗作阴性对照。用 Olympus DP71 显微镜观察并拍照。

### 1.3 细胞计数和统计分析

Image-Pro Express 计算机辅助图像分析软件进行细胞计数, 每张切片随机选取 8 个 0.148 mm<sup>2</sup> 区域 (大约为 8 个 400 $\times$  的高倍视野), 计数单位面积内 S100 阳性胸腺树突状细胞以及 Caspase-3 阳性凋亡胸腺细胞的数量。

采用 SPSS20.0 软件处理不同年龄段牦牛胸腺相关数据: 1) 单位面积内 S100 阳性胸腺树突状细胞的数量; 2) Caspase-3 阳性凋亡胸腺细胞的数量, 进行单因素方差分析, 并用 SNK 法对平均数进行多重比较, 所有结果以“平均数 $\pm$ 标准误 ( $\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$ )”表示。

## 2 结果

### 2.1 胸腺大体解剖观察

牦牛胸腺位于胸骨柄后方的前纵膈内, 表面有被膜, 呈长扁条状, 眼观黄白色, 分为颈叶、中间叶和胸叶 (图 1)。左、右颈叶沿气管两侧伸至咽部, 胸叶左、右合并, 底部居于心包和大血管上方, 中间叶较窄, 位于胸前口处, 连接颈叶和胸叶。

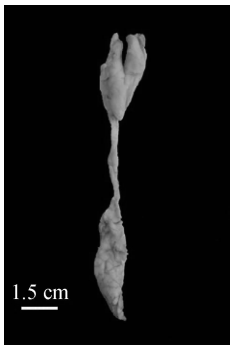


图 1 1 日龄牦牛胸腺 (标尺=1.5 cm)

Fig. 1 1-day-old yak's thymus (Bar=1.5 cm)

## 2.2 胸腺显微观察

胸腺表面有被膜,被膜结缔组织深入实质形成小叶间隔,将实质分为若干小叶。每个胸腺小叶由外围染色较深、淋巴细胞密集的皮质区域,以及内部染色较浅、含有胸腺小体的髓质部分构成(图 2A),皮髓交界处分布有毛细血管后微静脉(图 2B)。胸腺实质的主要细胞成分包括淋巴细胞、上皮细胞、肥大细胞、胸腺树突状细胞以及嗜酸性粒细胞等(图 2C~2E)。1 日龄牦牛胸腺被膜薄、细胞密集,皮髓分界明显,小叶间结缔组织很薄(图 2F~2G)。5 月龄牦牛胸腺结构依然清晰,皮质厚,淋巴细胞充足,偶见脂肪组织浸润胸腺实质(图 2H)。成年牦牛胸腺皮髓分界不清,大量的脂肪组织浸润替代胸腺原有功能区,被膜增厚、细胞密度减小,小叶间或小叶内结缔组织增厚(图 2I~2K)。

各个年龄段牦牛胸腺髓质内均可见到胸腺小体。1 日龄牦牛胸腺内可以看到大量单独存在的小型胸腺小体,这些胸腺小体呈圆形,很少有囊状变性和坏死(图 2L)。而 5 月龄和成年牦牛胸腺,主要以以下 3 种大型胸腺小体为主:(1)“幼稚胸腺小体”,由大量卵圆形或不规则形上皮细胞组成,没有显著的嗜酸性,没有坏死或细胞碎屑(图 2M);(2)“成熟胸腺小体”,中心区域坏死或囊状变性,周边为鳞状上皮,有时富含淋巴细胞(图 2N);(3)“衰老胸腺小体”,不含任何上皮细胞,只有钙化的、坏死的细胞碎屑或显著的囊状变性(图 2O)。

## 2.3 胸腺免疫组织化学观察

2.3.1 S100 免疫组织化学标记 S100 抗体主要标记胸腺树突状细胞,S100 阳性树突状细胞密度随年龄增长呈下降趋势(图 3A、B)。阳性细胞主要分布在皮髓交界、髓质区域,形态多样,主要呈不规

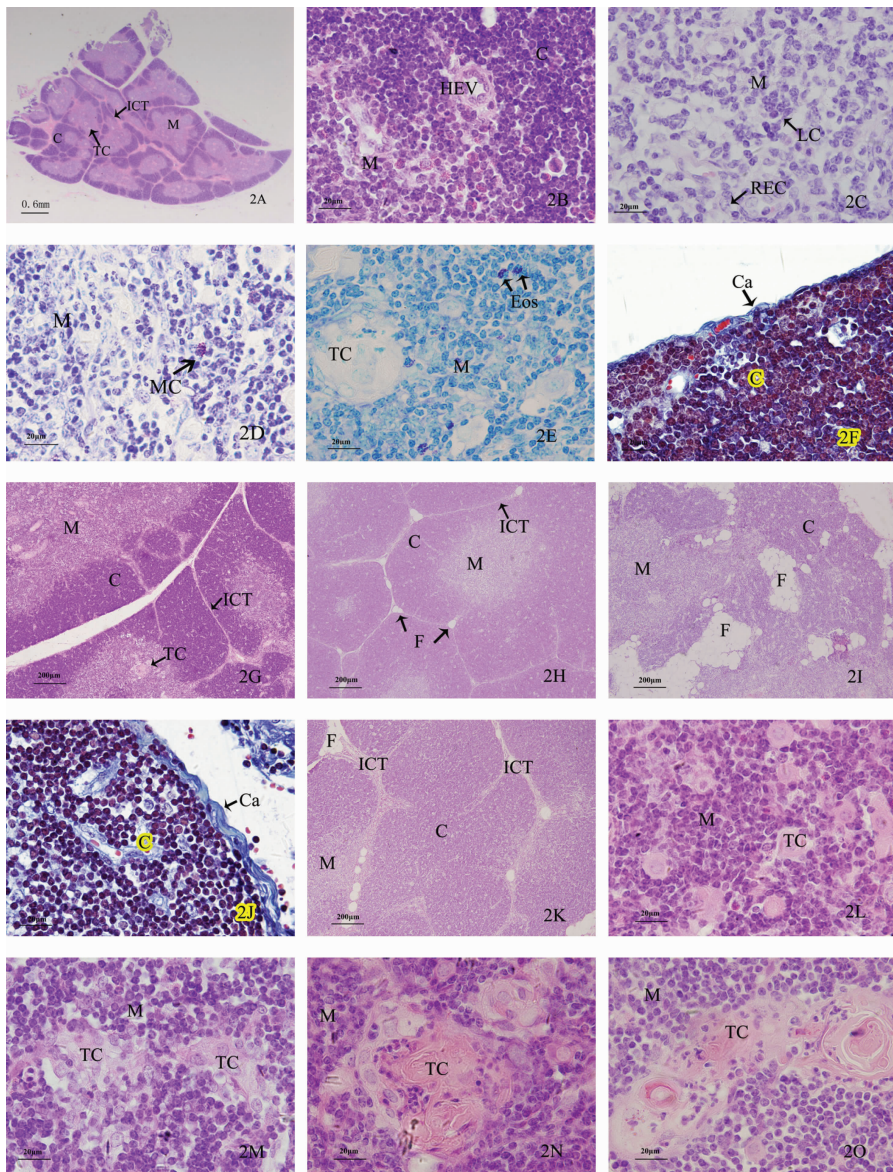
则形、圆形或狭长形,有的阳性细胞围绕在胸腺小体周围,还有的分布在胸腺小体内部(图 3C)。由图 4 可知,各年龄组单位面积内树突状细胞平均值随增龄下降,组间差异极显著( $P < 0.01$ )。

2.3.2 Caspase-3 免疫组织化学标记 Caspase-3 抗体主要标记凋亡淋巴样细胞的胞核,阳性细胞在皮质、髓质都有散在分布,各年龄组内皮质较髓质有更多的阳性细胞分布,有些细胞内可以见到明显的核染色质浓缩(图 3D~3F)。由图 5 可知单位面积内 Caspase-3 阳性胸腺凋亡细胞平均数目随增龄上升,各年龄段牦牛胸腺皮质单位面积内此种细胞数目组间差异极显著( $P < 0.01$ ),而 5 月龄与成年牦牛髓质单位面积内此种细胞数目差异不显著( $P > 0.05$ ),但二者均与 1 日龄时差异极显著( $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

牦牛胸腺解剖位置、组织结构与许多家畜相似。胸腺表面有被膜,被膜结缔组织深入实质形成小叶间隔,将实质分为若干小叶,每个小叶由皮质和髓质组成,但 G. Pearse<sup>[13]</sup> 等学者观察到,小鼠胸腺小叶间结缔组织很薄,甚至没有。牦牛胸腺组织结构的增龄性变化,表现在胸腺功能区减少,伴随有小叶间结缔组织和脂肪组织的代偿性增加,这与学者 B. F. Haynes<sup>[14]</sup>、I. Lubis<sup>[7]</sup>、B. Plečaš-Solarović<sup>[4]</sup> 等的研究结果相似,胸腺结构的变化是胸腺退化的重要表现,而胸腺退化是机体增龄过程中免疫衰老的重要标志,几乎所有脊椎动物胸腺都有增龄性退化<sup>[15]</sup>。另外,B. F. Haynes 等<sup>[14]</sup> 的研究结果显示人类至 70 岁时,胸腺皮质、髓质依然可以看到胸腺细胞,这说明胸腺在机体老年时依然具有一定免疫功能。

牦牛的胸腺小体与人类相似,发育良好,而小鼠和大鼠胸腺小体发育状况一般<sup>[16]</sup>。日前随着研究的深入,有学者认为胸腺小体是变性淋巴细胞的“坟墓”,在吞噬胸腺变性细胞和促进髓质胸腺细胞的成熟方面发挥积极作用<sup>[17]</sup>。还有一些研究结果表明,胸腺小体的上皮细胞具有活跃的分泌细胞因子和生长因子的功能<sup>[18]</sup>,另外,上皮细胞构成的胸腺小体内含有一定数量的 S100 阳性胸腺树突状细胞,笔者的研究结果与此一致。据以上数据推测,构成胸腺小体的上皮细胞可能积极的介导抗原递呈细胞与胸腺 T 细胞间的联系,就其机制,还有待于研究。

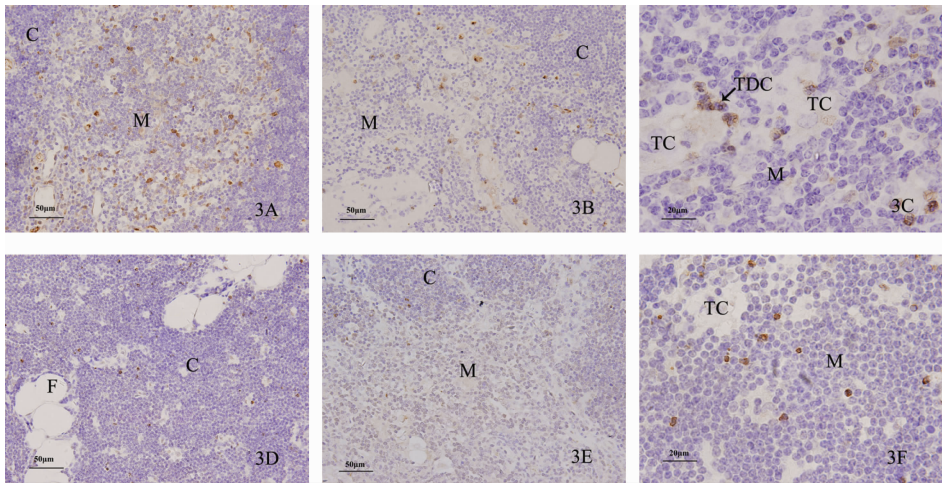


A. 1日龄牦牛胸腺, HE染色, 19 $\times$ ; B. 1日龄牦牛胸腺皮髓交界, HE染色, 950 $\times$ ; C. 1日龄牦牛胸腺髓质, HE染色, 950 $\times$ ; D. 5月龄牦牛胸腺髓质肥大细胞, 硫堇染色, 950 $\times$ ; E. 5月龄牦牛胸腺髓质嗜酸性粒细胞, Giemsa染色, 950 $\times$ ; F. 1日龄牦牛胸腺被膜, Masson's三色(苯胺蓝)染色, 950 $\times$ ; G~I. 分别为1日龄、5月龄及成年牦牛胸腺, HE染色, 95 $\times$ ; J. 成年牦牛胸腺被膜, Masson's三色(苯胺蓝)染色, 950 $\times$ ; K. 成年牦牛胸腺小叶间隔, HE染色, 95 $\times$ ; L. 1日龄牦牛胸腺小叶, HE染色, 950 $\times$ ; M, N. 5月龄牦牛胸腺小叶, HE染色, 950 $\times$ ; O. 成年牦牛胸腺小叶, HE染色, 950 $\times$ ; C. 皮质; M. 髓质; TC. 胸腺小叶; ICT. 小叶间结缔组织; HEV. 毛细血管后微静脉; LC. 淋巴细胞; REC. 网状上皮细胞; MC. 肥大细胞; Eos. 嗜酸性粒细胞; Ca. 被膜; F. 脂肪组织

A. Thymus of 1-day-old yak, HE stain, 19 $\times$ ; B. Corticomedullary junction of 1-day-old yak's thymus, HE stain, 950 $\times$ ; C. The thymus medulla of 1-day-old yak, HE stain, 950 $\times$ ; D. Mast cells in the medulla of 5-month-old yak's thymus, Thionine stain, 950 $\times$ ; E. Eosinophils in the medulla of 5-month-old yak's thymus, Giemsa stain, 950 $\times$ ; F. Capsule of 1-day-old yak's thymus, Masson's trichrome (aniline blue) stain, 950 $\times$ ; G-I. Thymuses from 1-day-old, 5-month-old and adult yaks respectively, HE stain, 95 $\times$ ; J. Capsule of 1-day-old yak's thymus, Masson's trichrome (aniline blue) stain, 950 $\times$ ; K. Interlobular connective tissue of adult yaks, HE stain, 95 $\times$ ; L. Thymic corpuscles (TC) of 1-day-old yak's thymus, HE stain, 950 $\times$ ; M, N. TC of 5-month-old yak's thymus, HE stain, 950 $\times$ ; O. TC of adult yak's thymus, HE stain, 950 $\times$ ; C. Cortex; M. Medulla; TC. Thymic corpuscles; ICT. Interlobular connective tissue; HEV. High endothelial venule; LC. Lymphocytes; REC. Epithelial reticular cells; MC. Mast cells; Eos. Eosinophils; Ca. Capsule; F. Fat tissue

图2 不同年龄段牦牛胸腺组织结构特点

Fig. 2 General histological features of the yak thymus at different age groups

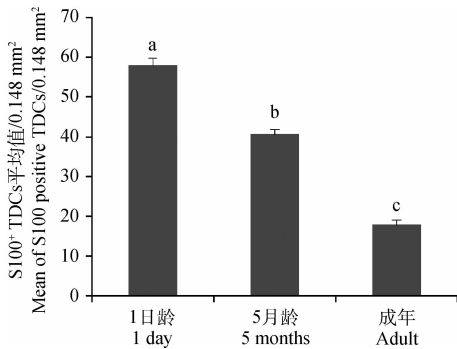


A. 1日龄牦牛胸腺髓质 S100 免疫组织化学反应,400×;B. 成年牦牛胸腺 S100 免疫组织化学反应,400×;C. 1日龄牦牛胸腺髓质 S100 阳性 TDCs,1 000×;D. 1日龄牦牛胸腺皮质 Caspase-3 免疫组织化学反应,400×;E. 成年牦牛胸腺髓质 Caspase-3 免疫组织化学反应,400×;F. 成年牦牛胸腺髓质 Caspase-3 阳性凋亡胸腺细胞,1 000×;C. 皮质;M. 髓质;TC. 胸腺小体;TDC. 胸腺树突状细胞;F. 脂肪组织

A. S100 immunohistochemistry stain in the medulla of 1-day-old yak's thymus, 400×; B. S100 immunohistochemistry stain in the medulla of 5-month-old yak's thymus, 400×; C. S100 positive TDCs in the medulla of 1-day-old yak's thymus, 1 000×; D. Caspase-3 immunohistochemistry stain in the cortex of 5-month-old yak's thymus, 400×; E. Caspase-3 immunohistochemistry stain in the medulla of 5-month-old yak's thymus, 400×; F. Caspase-3 positive apoptotic thymocytes in the medulla of adult thymus, 1 000×; C. Cortex; M. Medulla;TC. Thymic corpuscles; TDC. Thymic dendritic cell; F. Fat tissue

图 3 不同年龄段牦牛胸腺免疫组织化学染色

Fig. 3 Immunohistologic analysis of the yak thymus at different age groups



标有不同字母的组间差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 标有相同字母的组间无差异 ( $P > 0.05$ ), 下表同

Different letters mean significant difference between the groups ( $P < 0.01$ ), same letters mean no difference between ages ( $P > 0.05$ ). The same as below

图 4 各年龄段牦牛胸腺单位面积内 S100 阳性 TDCs 数  
Fig. 4 Age-related changes in the number (per 0.148 mm²) of S100+ TDCs

关于胸腺树突状细胞数量的增龄变化研究很少,由于胸腺的细胞构成随着增龄下降,胸腺树突状细胞的数量也会相应下降。本研究选用 S100 做标记物,研究结果显示 S100 阳性树突状细胞位于皮髓交界及髓质,1日龄牦牛胸腺树突状细胞数量为 58 个  $\cdot 0.148 \text{ mm}^{-2}$ ,5月龄数量 41 个  $\cdot 0.148 \text{ mm}^{-2}$ ,

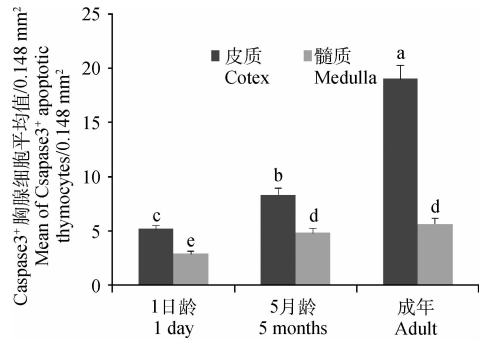


图 5 各年龄段牦牛胸腺单位面积内 Caspase-3 阳性凋亡细胞数

Fig. 5 Age-related changes in the number (per 0.148 mm²) of Caspase-3+ apoptotic thymocytes

成年数量为 18 个  $\cdot 0.148 \text{ mm}^{-2}$ ,不同年龄段数量差异极显著。M. Nakahama 等<sup>[19]</sup>对 6 月龄至 70 岁的人类胸腺树突状细胞进行了定量分析,分析表明胸腺树突状细胞数量随增龄下降,笔者的研究结果与此相似。胸腺树突状细胞的这种数量下降从出生时就已经开始,在老年时下降更为显著,这可能与 T 细胞数量减少以及与诱导自身耐受、T 细胞阴性选择的辅助细胞逐渐减少有关<sup>[11]</sup>。因此,此种细胞含量的下降也是胸腺退化的一个显著表现,推测胸腺

抗原递呈功能下降与此密切相关。

免疫系统的增龄性衰老,使得机体对感染、自身免疫疾病以及癌症更易感。伴随增龄,胸腺微环境改变,同时培育成熟 T 细胞的能力也下降,因此老龄机体细胞凋亡水平高于幼龄<sup>[20]</sup>。此外,体外研究显示,老年人 T 细胞比年轻人的更易受到凋亡诱导活化,伴随增龄,诸如 *bax*、*p53* 以及 *Caspase-3* 等死亡基因的表达上升<sup>[21]</sup>。笔者的研究结果与此相似,各年龄组内 *Caspase-3* 阳性胸腺细胞数目极显著高于髓质( $P > 0.01$ ),说明皮质胸腺细胞对凋亡更易感;各年龄组胸腺皮质凋亡细胞数目伴随增龄上升,1 日龄牦牛凋亡细胞数量为  $5 \text{ 个} \cdot 0.148 \text{ mm}^{-2}$ ,5 月龄牦牛凋亡细胞数量为  $8 \text{ 个} \cdot 0.148 \text{ mm}^{-2}$ ,成年牦牛凋亡细胞数量为  $19 \text{ 个} \cdot 0.148 \text{ mm}^{-2}$ ,组间差异极显著( $P > 0.01$ )。据此推测胸腺增龄性的功能退化可能与皮质凋亡细胞数量显著上升相关,就其机制,有待于进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 董长生. 家畜解剖学[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2001:139-140.
- [2] 莫重存, 俞红贤, 朱安国, 等. 青海大通牦牛犊胸腺的形态学观测 [J]. 中国牛业科学, 2006, 32(6): 50-51.
- [3] VON GAUDECKER B. Functional histology of the human thymus [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 1991, 183(1): 1-15.
- [4] PLE ČAŠ-SOLAROVIĆ B, PEŠIĆ V, RADOJEVIĆ K, et al. Morphometrical characteristics of age-associated changes in thymus of old male wistar rats [J]. *Anat Histol Embryol*, 2006, 35(6): 380-386.
- [5] SARMA M, KALITA S N, SARMA K. Histology of thymus indigenous and crossbred piglets during postnatal development [J]. *Indian J Anim Sci*, 2004, 74(12): 1194-1196.
- [6] HALE L P, CLARK A G, LI J, et al. Age-related thymic atrophy in the guinea pig [J]. *Dev Comp Immunol*, 2001, 25(5): 509-518.
- [7] LUBIS I, LADDS P, REILLY L. Age associated morphological changes in the lymphoid system of tropical cattle [J]. *Res Vet Sci*, 1982, 32(3): 270.
- [8] SUGIMURA M, SUZUKI Y, ATOJI Y, et al. Morphological studies on the thymus of Japanese serows, *Capricornis crispus* [DB]. Research Bulletin of the Faculty of Agriculture, Gifu University, 1983, 48: 113-119.
- [9] VARAS A, SACEDON R, HERNANDEZ-LÓPEZ C, et al. Age-dependent changes in thymic macropha-

ges and dendritic cells [J]. *Microsc Res Tech*, 2003, 62(6): 501-507.

- [10] MOORE B W. A soluble protein characteristic of the nervous system [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1965, 19(6): 739-744.
- [11] AITA M, FRANZE A, GABRIELLI F. S-100 immunoreactive interdigitating cells in normal and in Down's syndrome human thymuses [J]. *Cell Biol Int Rep*, 1991, 15(8): 645-659.
- [12] RESENDES A, MAJO N, SEGALÉS J, et al. Apoptosis in normal lymphoid organs from healthy normal, conventional pigs at different ages detected by TUNEL and cleaved caspase-3 immunohistochemistry in paraffin-embedded tissues [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2004, 99(3): 203-213.
- [13] PEARSE G. Normal structure, function and histology of the thymus [J]. *Toxicol Pathol*, 2006, 34(5): 504-514.
- [14] HAYNES B F, SEMPOWSKI G D, WELLS A F, et al. The human thymus during aging [J]. *Immunol Res*, 2000, 22(2): 253-261.
- [15] TORROBA M, ZAPATA A G. Aging of the vertebrate immune system [J]. *Microsc Res Tech*, 2003, 62(6): 477-481.
- [16] RAICA M, ENCICĂ S, MOTOC A, et al. Structural heterogeneity and immunohistochemical profile of Hassall corpuscles in normal human thymus [J]. *Ann Anat*, 2006, 188(4): 345-352.
- [17] FARR A G, DOOLEY J L, ERICKSON M. Organization of thymic medullary epithelial heterogeneity: implications for mechanisms of epithelial differentiation [J]. *Immunol Rev*, 2002, 189(1): 20-27.
- [18] NISHIO H, MATSUI K, TSUJI H, et al. Immunolocalization of the mitogen-activated protein kinase signaling pathway in Hassall's corpuscles of the human thymus [J]. *Acta Histochemica*, 2001, 103(1): 89-98.
- [19] NAKAHAMA M, MOHRI N, MORI S, et al. Immunohistochemical and histometrical studies of the human thymus with special emphasis on age-related changes in medullary epithelial and dendritic cells [J]. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*, 1989, 58(1): 245-251.
- [20] SAINZ R M, MAYO J C, REITER R, et al. Apoptosis in primary lymphoid organs with aging [J]. *Microsc Res Tech*, 2003, 62(6): 524-539.
- [21] HERNDON F J, HSU H C, MOUNTZ J D. Increased apoptosis of CD45RO- T cells with aging [J]. *Mech Ageing Dev*, 1997, 94(1-3): 123-134.