

成年贵州小型猪淋巴结组织形态学观察及免疫组化研究

王平¹, 田维毅^{1*}, 王文佳¹, 巫霞², 刘霞³

(1. 贵阳中医学院病原生物与免疫学教研室 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院形态实验室 贵阳 550002;
3. 贵阳中医学院组织胚胎学教研室 贵阳 550002)

摘要: 目的 对成年贵州小型猪淋巴结进行形态学观察及免疫组化研究,为其用于建立人类免疫相关疾病模型提供参考。方法 分别取 24 只成年贵州小型猪淋巴结组织进行固定、切片、HE 染色,光镜下观察组织形态,免疫组化 SP 法检测 CD3、CD4、CD8 及 CD20 阳性细胞的比例和分布。结果 成年贵州小型猪淋巴结皮质、髓质分布不规则,皮质、髓质并非完全倒置。皮质由淋巴小结和弥散性淋巴组织构成,髓质内可见髓索和髓窦。CD3、CD4、CD8 阳性细胞主要分布在副皮质区,CD20 阳性细胞主要分布在淋巴小结和髓质内。结论 成年贵州小型猪淋巴结组织结构与其他哺乳动物有所不同,淋巴结内可见皮质、髓质倒置分布,但并非完全倒置。淋巴结中 T、B 细胞分布与人和其它哺乳动物之间没有明显的差异。

关键词: 贵州小型猪; 淋巴结; 免疫组化

中图分类号: Q959.8; Q954.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-7083(2013)03-0426-03

Morphological Observation and Immunohistochemical Study of Lymph Nodes Tissues in Adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu.

WANG Ping¹, TIAN Weiyi^{1*}, WANG Wenjia¹, WU Xia², LIU Xia³

(1. Department of Microbiology, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;
2. Morphology Laboratory, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China; 3. Department of Histology and Embryology, Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

Abstract: Objective To observe the morphological and immunochemical features of the lymph nodes of adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. and provide reference for the establishment of the human immune-related disease model. **Methods** Lymph nodes of twenty-four adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. were fixed and sliced, and then the morphologic characteristics were observed using light microscopy after hematoxylin and eosin (HE) staining. The expression levels of CD3, CD4, CD8, CD20 in the lymph nodes were detected using immunohistochemical SP method. **Results** The results showed the distribution of cortex and medulla was irregular and not always reversed. The cortex was composed of lymph nodules and difused lymphatic tissue. The medulla was composed of lymph cords and sinuses situate. The CD3, CD4, CD8-positive cells were mainly distributed in the paracortical zone. The CD20-positive cells were mainly distributed in the lymphoid nodule and medulla. **Conclusion** There are no significant difference between the distribution regions of T cells and B cells in lymph nodes of adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. and other mammalian animals.

Key words: *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu.; lymph nodes; immunohistochemistry

实验用小型猪是一种具有良好应用前景的中型实验动物,在解剖、组织、生理、营养及代谢等方面均与人类极其相似,因此在生命科学研究领域中具有重要的实际应用价值(袁进,顾有望,2011)。CD3、CD4、CD8、CD20 是淋巴细胞表面重要的膜分子,对于 T 细胞、B 细胞的识别、粘附、分化具有重要作用。

CD3、CD4、CD8、CD20 细胞阳性率是基础免疫学和临床免疫学研究的重要指标(金伯泉,2001)。贵州小型猪 *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. 是贵阳中医学院培育的实验用小型猪,体型微小、成熟早、耐受性强、品种特征稳定,是国内最重要的几种实验用小型猪种群之一,其实验动物化研究

收稿日期: 2012-11-06 接受日期: 2013-01-23 基金项目: 贵州省科技基础条件平台项目(黔科平台[2009]4008)

作者简介: 王平(1977~),女,医学硕士,副教授,主要从事实验动物微生物及免疫学研究

* 通讯作者 Corresponding author, 医学硕士,教授,主要从事实验动物微生物及免疫学研究, E-mail: tianweiyi1972@sina.com

已有 30 余年历史,在基础研究和动物模型应用方面,积累了大量的研究成果,但有关贵州小型猪免疫器官的研究报道很少。为了加快贵州小型猪的开发应用,试验对成年贵州小型猪重要的外周免疫器官——淋巴结进行了形态学和免疫组化研究,测定 CD3、CD4、CD8、CD20 细胞阳性率,为其用于建立人类免疫相关疾病模型提供基础形态学资料。

1 材料

1.1 动物

本实验选用成年贵州小型猪(12~18 月龄)共 24 头,雌雄错配,随机分成 2 组,平均体重为 $30.6 \text{ kg} \pm 0.25 \text{ kg}$,由贵阳中医学院动物所提供。

1.2 试剂和仪器

兔抗猪 CD3、CD4、CD8、CD20 单克隆抗体及相应 SP 免疫组化试剂盒购自上海晶天生物科技有限公司;BX51T-PHD-J11 光学显微镜(日本奥林巴斯);Image-Pro Plus 多功能真彩色细胞图像分析管理系统(美国 Media Cybernetics 公司);RM2015 切片机(德国莱卡);LDZ5-2 型低速自动平衡离心机(北京离心机厂);MIR-153 型干燥箱(日本三洋);MDF-382E 型低温冰箱(日本三洋);DSHZ-300 型恒温水浴箱(江苏太仓医用仪器厂);YWY781B 型医用微波炉(浙江临安爱迪仪器厂)。

2 方法

2.1 取材与固定

动物称重后速眠新麻醉,腹主动脉放血致死,取皮下淋巴结、肠系膜淋巴结、大网膜淋巴结、腹股沟淋巴结、腋窝淋巴结、颈部淋巴结、肝门区淋巴结、胰周淋巴结等,用新鲜配制的 4% 多聚甲醛固定 24 h。

2.2 常规石蜡切片制备

经乙醇梯度脱水,透明,石蜡包埋,制作石蜡切片,常规 HE 染色,显示淋巴结的组织结构,显微镜观察,拍照。

2.3 免疫组化 SP 法

石蜡切片脱蜡至水后,微波修复抗原,正常山羊血清封闭,滴加一抗(1:100)4℃ 过夜,0.1 M PBS 洗 3 次 $\times 5 \text{ min}$;滴加生物素化二抗(IgG),37℃ 20 min,0.1 M PBS 洗 3 次 $\times 5 \text{ min}$;滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液(S-A/HRP),37℃ 20 min,0.1 M PBS 洗 3 次 $\times 5 \text{ min}$;DAB 显色;苏木素复染细胞核,中性树脂封片;阴性对照:用 PBS 缓冲液代替一抗,

其余步骤同前。每个标本每个指标随机取切片 1 张,在 40 倍物镜下,随机选取不重叠的 5 个视野,应用图像分析系统测定每个视野内 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD20⁺ 细胞阳性率。

2.4 免疫组化评分标准

采用 IHS 评分标准(Soslow *et al.*, 2000),评分方法如下:(1) 阳性细胞数分级以阳性细胞数百分率判定(记为 A):0~1% = 0、1%~10% = 1、10%~50% = 2、50%~80% = 3、80%~100% = 4;(2) 阳性细胞显色强度分级(记为 B):0(阴性)、1(弱阳性)、2(阳性)、3(强阳性);(3) IHS = A \times B:0 分为 -, 1~4 分为 +, 5~8 分为 ++, 9~12 分为 +++。

3 结果

3.1 一般组织结构

猪淋巴结遍布全身,包括皮下、血管干附近、内脏淋巴结等,淋巴结大小不一,小的直径仅 1 mm,以皮下淋巴结多见,大的可达 1~2 cm,如颈部淋巴结、腹股沟淋巴结等。淋巴结多呈黄白色,有球形、椭圆形、肾形,质地软。淋巴结表面为薄层致密结缔组织构成的被膜,被膜光滑,包绕淋巴结并伸入淋巴结实质内形成小梁结构(图版 1)。被膜下窦清晰可见,内含网状内皮细胞和少量胶原纤维。贵州小型猪淋巴结皮质和髓质的分布不规则,皮质既可以出现在外周区域,位于被膜和髓质之间(图版 1),也可以分布在中央区域,位于髓质内侧,与髓质倒置分布(图版 2)。即使在同一张淋巴结切片中,皮质和髓质的分布也存在上述差异,总的趋势是皮质沿小梁分布。皮质内细胞排列紧密,着色较深,可分为浅层皮质和深层皮质(副皮质),两者之间无明显界限。浅层皮质厚薄不一,可分为淋巴小结和弥散性淋巴组织两部分。淋巴小结成椭圆形或长圆形,大小不一,可分布于浅层皮质,毗邻被膜,也可嵌入副皮质区(图版 1),或沿小梁分布(图版 2)。淋巴小结内可见着色较浅的球形生发中心,生发中心可分为明区和暗区,在被膜下窦一侧的生发中心周围有一层密集的小淋巴细胞排列成新月形的小结帽(图版 1)。淋巴小结的数量在不同淋巴结之间存在差异,在肠系膜淋巴结的一个切面上常可见十几个淋巴小结,在腋窝淋巴结的切面上常只有几个淋巴小结。副皮质区位于皮质深部,为无明显界限的弥散淋巴组织,由密集的淋巴细胞构成,其内有分布广泛

的高内皮微静脉(图版 3),微静脉内有淋巴细胞穿越。髓质内可见髓索和髓窦(图版 9),但不如其他哺乳动物明显。

3.2 免疫组化观察

3.2.1 淋巴结中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 细胞的表达
CD3、CD4、CD8 分子表达于 T 淋巴细胞表面,细胞膜和细胞质呈浅黄到棕褐色着色为阳性。淋巴结中 CD3⁺ 细胞主要分布在副皮质区弥散淋巴组织内(图版 4),肠系膜淋巴结和腹股沟淋巴结中 CD3 细胞阳性率较高,腋窝淋巴结中较低。CD4⁺ 细胞既可在副皮质区出现(图版 5),也可分布于淋巴小结内,淋巴小结内 CD4⁺ 细胞散在分布于小结中心区(图版 6)。CD4 细胞阳性率以腹股沟淋巴结中最高,肝

门区淋巴结次之,腋窝淋巴结最低。CD8⁺ 细胞主要分布于副皮质区(图版 7),CD8 细胞阳性率较 CD4 细胞低。CD3⁺、CD4⁺ 细胞阳性率及免疫组化评分见表 1,CD8⁺ 细胞阳性率及免疫组化评分见表 2。

3.2.2 淋巴结中 CD20⁺ 细胞的表达
CD20 分子表达于 B 淋巴细胞表面,是 B 细胞表面特有的抗原结构,免疫组化结果显示 CD20⁺ 细胞主要分布于淋巴小结中(图版 8),为构成淋巴小结的主要细胞,也可见于髓质内,在髓质内聚集成群或散在分布,髓索主要由 CD20⁺ 细胞组成(图版 9)。副皮质区也含有少量 CD20⁺ 细胞。CD20⁺ 细胞阳性率及免疫组化评分见表 2。

表 1 CD3⁺、CD4⁺ 细胞阳性率及免疫组化评分($\bar{x} \pm s$ n=24)
Table 1 CD3⁺、CD4⁺ -positive cells percentage and IHC score ($\bar{x} \pm s$ n=24)

淋巴结	CD3 ⁺			CD4 ⁺		
	A(%)	B	IHS	A(%)	B	IHS
肠系膜淋巴结	75.17 ± 6.89	2.04 ± 0.46	5.13 ± 1.22	42.08 ± 5.43	2.54 ± 0.50	5.08 ± 0.50
大网膜淋巴结	64.83 ± 9.18	2.63 ± 0.49	6.63 ± 1.40	39.38 ± 3.74	2.00 ± 0.41	4.00 ± 0.83
腹股沟淋巴结	71.54 ± 8.43	1.42 ± 0.65	5.08 ± 1.90	45.13 ± 4.44	2.42 ± 0.77	5.54 ± 1.64
肝门区淋巴结	66.25 ± 8.51	2.79 ± 0.41	7.75 ± 1.89	43.25 ± 7.52	2.63 ± 0.49	4.83 ± 1.55
腋窝淋巴结	58.46 ± 9.06	1.25 ± 0.44	3.29 ± 0.85	30.25 ± 4.09	1.25 ± 0.67	2.50 ± 1.35
胰周淋巴结	69.71 ± 5.93	2.54 ± 0.51	8.38 ± 1.76	41.17 ± 5.62	2.08 ± 0.65	4.19 ± 1.40
颈部淋巴结	62.33 ± 9.59	2.08 ± 0.40	5.67 ± 1.78	38.83 ± 4.15	1.79 ± 0.58	3.81 ± 1.07

表 2 CD8⁺、CD20⁺ 细胞阳性率及免疫组化评分($\bar{x} \pm s$ n=24)
Table 2 CD8⁺、CD20⁺ -positive cells percentage and IHC score($\bar{x} \pm s$ n=24)

淋巴结	CD8 ⁺			CD20 ⁺		
	A(%)	B	IHS	A(%)	B	IHS
肠系膜淋巴结	37.79 ± 4.65	2.13 ± 0.52	4.25 ± 1.06	25.92 ± 4.24	2.38 ± 0.64	4.75 ± 1.29
大网膜淋巴结	33.17 ± 6.92	1.88 ± 0.53	3.75 ± 1.07	30.63 ± 4.28	1.83 ± 0.48	3.67 ± 0.96
腹股沟淋巴结	34.29 ± 4.73	1.75 ± 0.61	3.50 ± 1.22	26.04 ± 4.01	1.75 ± 0.53	3.50 ± 1.06
肝门区淋巴结	27.50 ± 3.21	2.42 ± 0.58	4.83 ± 1.16	27.25 ± 4.19	2.29 ± 0.55	4.58 ± 1.10
腋窝淋巴结	25.88 ± 3.65	1.63 ± 0.49	3.25 ± 0.98	24.13 ± 5.04	1.21 ± 0.41	2.42 ± 0.83
胰周淋巴结	30.29 ± 6.66	2.04 ± 4.26	4.08 ± 0.71	20.46 ± 3.71	1.67 ± 0.48	3.33 ± 0.96
颈部淋巴结	29.71 ± 6.39	1.88 ± 0.53	3.75 ± 1.07	25.96 ± 3.50	1.63 ± 0.57	3.25 ± 1.15

4 讨论

免疫器官正常的形态学是其发挥免疫防御功能的基础(靳二辉等,2008),研究动物免疫器官正常组织形态学特点对于弄清免疫相关性疾病发生的机理及建立其诊断与治疗的动物模型具有重要的意义。淋巴结为主要的周围淋巴器官,是免疫活性细胞受到抗原刺激发生免疫效应的场所。本实验研究发现成年贵州小型猪淋巴结皮质和髓质分布不规则,甘世祥等(2001)在研究中发现小型猪皮质和髓质倒置分布,髓质分布在外周,皮质分布在中央。本

实验发现成年贵州小型猪皮质、髓质并非完全倒置,在肠系膜淋巴结、腹股沟淋巴结、肝门区淋巴结等多个淋巴结中,皮质除分布在中央区域外,在外周区域也明显可见。皮质内淋巴小结的帽状区常指向被膜下窦,这一朝向与其他哺乳动物淋巴结的淋巴小结相似(郁晓梅,聂其灼,1993)。贵州小型猪淋巴结内 T 细胞主要分布于副皮质区,CD4 细胞阳性率较 CD8 细胞高。还有少量 CD4⁺ T 细胞散在分布于淋巴小结中,B 细胞主要分布于淋巴小结和髓质内,也有少量 B 淋巴细胞分布于副皮质区。由此可见,小
(下转第 433 页)

抗氧化功能损害的机制之一。

4 参考文献

- 方允中, 郑荣梁, 沈文梅. 1998. 自由基生命科学进展(第3集)[M]. 北京: 原子能出版社: 71~119.
- 黄钢, 王一兵, 麦才铿. 2003. 铅接触工人视野视网膜光敏感度损害的研究[J]. 眼外伤职业眼病杂志, 25(8): 546~548.
- 季崇敏, 吴国球, 沈子龙. 2003. 橄榄叶提取物对正常及糖尿病小鼠血糖和血脂水平的影响[J]. 东南大学学报(医学版), 22(4): 236~238.
- 李安娜, 张迎梅, 李媛伶, 等. 2008. 十二烷基硫酸钠对斑马鱼抗氧化能力的影响[J]. 四川动物, 27(6): 993~996.
- 李蕴秀, 于纯智, 许志超, 等. 1994. 铅对视网膜脂肪酸组成及含量影响的实验研究[J]. 眼科研究, 12(3): 161~163.
- 邵玉红. 2007. 低水平铅暴露对发育期大鼠视网膜、视神经的影响[D]. 浙江大学博士学位论文: 52~79.
- 王昱. 2012a. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠海马组织抗氧化酶及 NO 与 NOS 的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 47(2): 21~24.
- 王昱. 2012b. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠脑中单胺氧化酶活性的影响[J]. 绵阳师范学院学报, 32(2): 67~69.
- 王昱. 2012c. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠脾脏抗氧化酶及 NO 的影响[J]. 东北农业大学学报, 43(9): 86~89.
- 王昱. 2012d. 油橄榄叶提取物对铅中毒小鼠血液生化指标的影响[J]. 宁夏大学学报(自然科学版), 33(3): 279~282.
- 尹华, 包其富. 1999. 大蒜提取物排铅效果的研究[J]. 中国安全科学学报, 9(4): 27~31.
- 张梅, 唐慧, 刘梅, 等. 2008. 番茄纤维对铅中毒小鼠(脑、心脏、血液)促排铅的作用[J]. 毒理学杂志, 22(6): 464~466.
- 张文华, 黄雪桃, 唐仁泓. 2010. 小鼠视网膜紫外线光损伤中 MDA 与 SOD 的作用[J]. 国际眼科杂志, 10(8): 1490~1492.

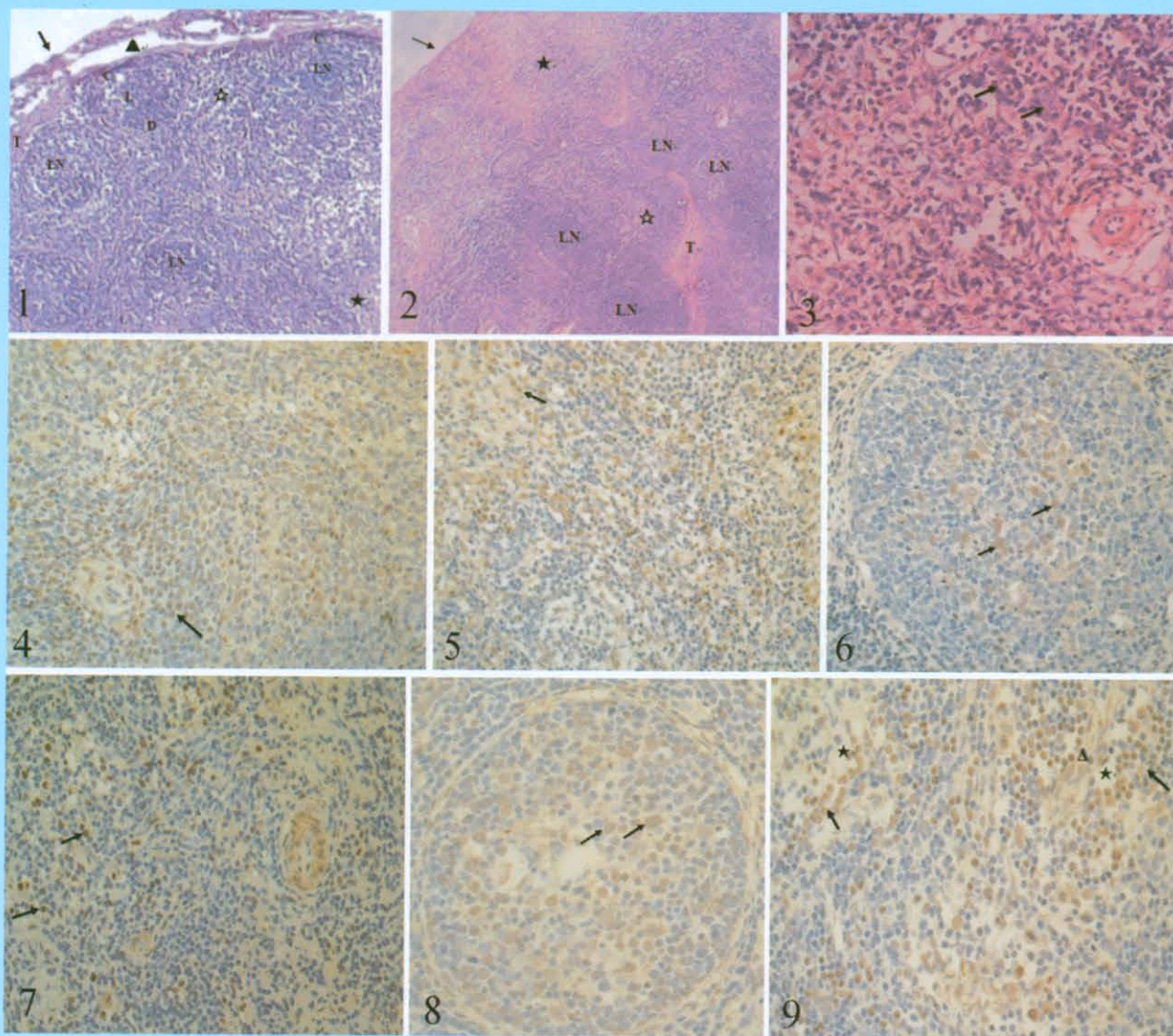
- 赵琳, 王峰. 2008. 人眼组织中重金属的浓度[J]. 国外医学(医学地理分册), 29(1): 35~38.
- Benavente-García O, Castillo J, Lorente J, et al. 2000. Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves[J]. Food Chemistry, 68(4): 457~462.
- Briante R, La Cara F, Febbraio F, et al. 2002a. Bioactive derivatives from oleuropein by a biotransformation on *Olea europaea* leaf extracts[J]. J Biotechnol, 93(2): 109~119.
- Briante R, Patumi M, Terenziani S, et al. 2002b. *Olea europaea* L. leaf extract and derivatives: antioxidant properties[J]. J Agric Food Chem, 50(17): 4934~4940.
- Chen Y, Zhou M. 1991. Free Radical Medicine[M]. Beijing: People's Military Medical Press: 42~371.
- Fox DA, Campbell ML, Blocker YS. 1997. Functional alterations and apoptotic cell death in the retina following developmental or adult lead exposure[J]. Neurotoxicology, 18: 645~664.
- Goulas V, Papoti VT, Exarchou V, et al. 2010. Contribution of flavonoids to the overall radical scavenging activity of olive (*Olea europaea* L.) leaf polar extracts[J]. J Agric Food Chem, 58(6): 3303~3308.
- Jemai H, Feki AE, Sayadi S. 2009. Antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats[J]. J Agric Food Chem, 57(19): 8798~8804.
- Papoti VT, Tsimidou MZ. 2009. Impact of sampling parameters on the radical scavenging potential of olive (*Olea europaea* L.) Leaves[J]. J Agric Food Chem, 57(9): 3470~3477.
- Silvestra F, Dierick JF, Dumont V, et al. 2006. Differential prote expression profiles in anterior gills of *Eriocheir sinensis* during acclimation to cadmium[J]. Aquat Toxicol, 79: 46~58.

(上接第 428 页)

型猪淋巴结内 T、B 细胞的分布位置与一般哺乳动物相似, B 细胞与 T 细胞在淋巴结内混合分布, B 细胞可能是淋巴小结内最活跃的抗原呈递细胞并与 CD4⁺T 细胞相互激活而发挥免疫作用。本实验进一步加深了对贵州小型猪外周免疫器官组织学基础的认识, 为成年贵州小型猪正常免疫系统基本数据库的建立提供数据支持, 为以贵州小型猪作为试验动物的免疫学相关研究提供参考依据。基于此实验基础, 我们可以对贵州小型猪不同生长发育阶段免疫细胞及其亚群在淋巴结中的发育过程作进一步研究, 不断充实和完善贵州小型猪各年龄阶段的免疫学相关资料。

5 参考文献

- 甘世祥, 钱宁, 冯济凤, 等. 2001. 贵州小型猪组织学图谱[M]. 贵州: 贵州科技出版社.
- 金伯泉. 2001. 细胞和分子免疫学(第2版)[M]. 北京: 科学出版社.
- 靳二辉, 李奎, 冯书堂, 等. 2008. 不同月龄近交系五指山小型猪免疫器官的组织形态学[J]. 中国比较医学杂志, 18(12): 1~4.
- 郁晓梅, 聂其灼. 1993. 猪淋巴结组织学研究[J]. 南京农业大学学报, 16(4): 79~84.
- 袁进, 顾有望. 2011. 小型猪作为人类疾病动物模型在生物医学研究中的应用[J]. 动物医学进展, 32(2): 108~111.
- Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, et al. 2000. Cox-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors[J]. Cancer, 89: 2637~2645.



图版 1.成年贵州小型猪肠系膜淋巴结HE染色($\times 100$), \uparrow 被膜, \star 皮质, \blacktriangle 被膜下窦, T小梁, LN淋巴小结, C小结帽, L明区, D暗区; 2.成年贵州小型猪腹股沟淋巴结HE染色($\times 100$), \uparrow 被膜, \star 皮质, \blacktriangle 被膜下窦, T小梁, LN淋巴小结, T小梁; 3.成年贵州小型猪肠系膜淋巴结副皮质区HE染色($\times 400$), \uparrow 高内皮微静脉(HEV); 4.成年贵州小型猪肠系膜淋巴结副皮质区CD3阳性细胞表达(SP法, $\times 400$), \uparrow CD3阳性细胞; 5.成年贵州小型猪腹股沟淋巴结副皮质区CD4阳性细胞表达(SP法, $\times 400$), \uparrow CD4阳性细胞; 6.成年贵州小型猪腹股沟淋巴结淋巴小结中CD4阳性细胞表达(SP法, $\times 400$), \uparrow CD4阳性细胞; 7.成年贵州小型猪肝门区淋巴结副皮质区CD8阳性细胞表达(SP法, $\times 400$), \uparrow CD8阳性细胞; 8.成年贵州小型猪大网膜淋巴结淋巴小结中CD20阳性细胞表达(SP法, $\times 400$), \uparrow CD20阳性细胞; 9.成年贵州小型猪腹股沟淋巴结髓质区CD20阳性细胞表达(SP法, $\times 400$), \uparrow 髓索, \star 髓窦, \triangle 小梁

Plate 1. The mesenteric lymph node of an adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. (HE stained, $\times 100$) \uparrow capsule, \star cortex, \blacktriangle subcapsular, T. Trabeculum, LN. lymphoid nodule, C. nodule cap, L. Lightzone, D. darkzone; 2. The inguinal lymph node of an adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. (HE stained, $\times 100$) \uparrow capsule, \star cortex, \blacktriangle medulla, LN. lymphoid nodule, T. trabeculum; 3. The paracortical zone of a mesenteric lymph node of an adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. (HE stained, $\times 400$) \uparrow high endothelial venule(HEV); 4. CD3 positive cells in the paracortical zone of a mesenteric lymph node of an adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. (SP method, $\times 400$), \uparrow CD3 positive cells; 5. CD4 positive cells in the paracortical zone of an inguinal lymph node of an adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. (SP method, $\times 400$), \uparrow CD4 positive cells; 6. CD4 positive cells in the lymphoid nodule of an inguinal lymph node of an adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. (SP method, $\times 400$), \uparrow CD4 positive cells; 7. CD8 positive cells in the paracortical zone of a hepatic lymph node of an adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. (SP method, $\times 400$), \uparrow CD8 positive cells; 8. CD20 positive cells in the lymphoid nodule of an omental lymph node of an adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. (SP method, $\times 400$), \uparrow CD20 positive cells; 9. CD20 positive cells in the medulla of an inguinal lymph node of an adult *Sus scrofa domestica* var. *mino guizhounensis* Yu. (SP method, $\times 400$), \uparrow splenic cord, \star splenic sinus, \triangle trabeculum