

特集：免疫の場：リンパ器官の形成・連携・再構築

骨髄ニッチェによる免疫担当細胞数の維持機構

長澤 丘 司

骨髄では、免疫担当細胞を含むすべての血液細胞が造血幹細胞から産生され、免疫記憶に関与する記憶リンパ球が維持される。造血幹細胞・前駆細胞や記憶リンパ球は、ニッチェ (niche) と呼ばれる特別な微小環境により維持され、その細胞数が調節されていると推測されてきたがニッチェの実体は長年不明であった。造血幹細胞ニッチェの候補として骨芽細胞や血管内皮細胞が報告されているが証明には至っていない。一方、ケモカイン CXCL12 を高発現する細網細胞 (CAR 細胞) が脂肪細胞と骨芽細胞の前駆細胞であり、造血幹細胞の増殖と未分化性の維持, B リンパ球や赤血球の前駆細胞の増殖, 慢性炎症における骨髄から末梢への単球の供給に必須であることが示された。CAR 細胞は、生理的・病理的な免疫担当細胞産生の司令塔として働く造血ニッチェである可能性が示唆される。

はじめに～ニッチェとは～

生体の多くの細胞種は胎生期に形成され、成体で活発に産生されることはないと考えられているが、免疫担当細胞を含むすべての血液細胞は、その多くが短寿命で、機能を発揮すると死ぬことから、生涯にわたり造血幹細胞から活発に産生され続ける。造血幹細胞から成熟細胞に至るまでの中間段階の未分化な血液細胞は造血前駆細胞と呼ばれ、造血幹細胞・前駆細胞は、哺乳類の成体では骨の皮質骨に囲まれた空間である骨髄に局在し、増殖分化することで血液細胞を産生している。骨髄では、この他、抗体産生能が高い最終分化した B リンパ球である形質細胞を含む記憶リンパ球が長期間にわたり維持されており、これが免疫記憶の形成の一端を担っていると考えられている。造血幹細胞・前駆細胞や記憶リンパ球は、骨髄の中でニッチェ

(niche; ニッチとも表記される) と呼ばれる特別な微小環境が供給する特異的シグナル分子によって維持され、その増殖・分化、細胞数が精緻に調節されていると推測されている。ニッチェの語源は、住宅の壁にあけられた小物を置くためのくぼみをさすフランス語であり、生命科学においては、1978年に英国の Schofield が、造血幹細胞は、骨髄腔のどこにでも存在するのではなく、特別な微小環境により未分化な状態で維持されていると推測し、この微小環境をニッチェ (niche) と呼んだ¹⁾。その後、ニッチェという用語は、造血幹細胞以外の標的細胞に対しても用いられるようになったが、ニッチェと呼ぶためには (a) 細胞培養の培養液のような均質な体液環境ではない限局された微小環境であること、(b) 標的細胞 (造血幹細胞など) が局在すること、(c) 標的細胞の維持や機能に必須であるという条件を満たす必要があると考えられる。この場合、標的細胞から離れた遠隔部位の内分泌系細胞や神経系細胞などは、ニッチェを調節して間接的に標的細胞に必須であってもニッチェとは呼ばない。免疫担当細胞の産生や細胞数の調節機構を解明するためには、造血幹細胞・前駆細胞のニッチェを解析することが重要であるが、その実体は長年不明であった。本稿では造血ニッチェの同定に関する研究の進展を最近の報告を含めて概観し考察する。

京都大学再生医学研究所 生体システム制御学分野
(〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53)

Regulation of immune cell production by bone marrow niches

Takashi Nagasawa (Department of Immunobiology and Hematology, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, 53 Shogoin-Kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan)

造血ニッチ細胞の同定

1) ストローマ細胞

未分化な血液細胞を維持する細胞の候補として、1970年代に血球と接着する突起を持つ細網細胞 (reticular cells) が電子顕微鏡を用いた形態学的解析によって観察されていたが、その機能や細胞種は不明であった²⁾。一方、Dexterらは、試験管内で骨髓球系の血液細胞を3ヶ月間維持できる骨髓細胞培養法 (Dexter 培養) を1977年に報告し³⁾、その後 WitteらはBリンパ球やその前駆細胞を長期に維持できる培養法を報告した⁴⁾。これらの培養では、培養容器の底面を覆う付着性の細胞が造血を支持すると考えられ、ストローマ細胞と呼ばれた。ストローマ細胞は複数種類の細胞を含み、Dexter 培養でのストローマ細胞の大部分はマクロファージであることが報告され⁵⁾、他の細胞の一部は株化されたが、分化能や遺伝子発現で特異性が見出されず、細胞種や骨髓内での局在が特定されるには至っていない。

2) 骨芽細胞

哺乳類の骨髓ではじめて造血ニッチを構成する細胞として報告されたのは骨芽細胞であった。骨芽細胞は、骨表面に局在して骨基質を産生する骨形成に必須の細胞であるが、1994年に未分化な血液細胞が新生児の頭蓋由来の付着細胞との共培養によって維持されたことから造血を支持している可能性が示された⁶⁾。その後、骨芽細胞で発現が高いI型コラーゲンを発現する細胞を欠損させたマウスでBリンパ球と赤血球が著減したこと⁷⁾、副甲状腺ホルモン (PTH) の投与⁸⁾や、Ia型BMP受容体遺伝子の欠損マウス⁹⁾で骨表面の骨芽細胞の増加と造血幹細胞の増加が同時に認められたことから、骨芽細胞が造血や造血幹細胞の維持に重要であると報告された。2003年になり、米国のLiらは、10日間投与されたBrdUを70日間保持している細胞分裂の頻度が少ない細胞 (長期BrdU保持細胞) を造血幹細胞と考え、その多くが骨表面のN-カドヘリン (N-cadherin) を高発現する骨芽細胞の一種 (SNO細胞) に接着していたことからSNO細胞が造血幹細胞ニッチを構成すると報告した (骨内膜ニッチ; endosteal niche)⁹⁾。次いで新井、須田らは、未分化な血液細胞はAngiopoietin1の受容体であるTie2を発現すること、骨辺縁に局在するオステオカルシン (Osteocalcin) 陽性骨芽細胞と5FU投与後のTie2陽性細胞が接着していること、Angiopoietin-1は骨芽細胞より産生され造血幹細胞を静止期に維持していることを報告した¹⁰⁾。しかし、米国のKiel, Morrisonらは、Liらの手法で組織学的に観察したBrdU保持細胞の大部分が造血幹細胞ではないことを示した¹¹⁾。さらに、CD150⁺CD41⁻CD48⁻細胞分画の約47%が造血幹細胞であること¹²⁾、免疫染色で観察できるCD150⁺CD41⁻CD48⁻細胞は骨表面にはほとんど観察できないと報告した¹³⁾。また、骨

内膜ニッチ説の分子基盤のひとつであるN-カドヘリンに関しては、成体で遺伝子の欠損を誘導したマウスで造血幹細胞や造血に有意な異常がないことが報告された¹⁴⁾。これに対し、須田らは、ドミナントネガティブ変異体の強制発現によるカドヘリン分子の機能抑制により骨髓細胞の造血再構成能が低下することを報告し反論した¹⁵⁾。しかし、ドミナントネガティブ変異体の作用の特異性を考えるとN-カドヘリンによる造血幹細胞とニッチとの接着は定常状態の造血幹細胞の維持には必須でないようである。また、骨芽細胞特異的と想定されたI型コラーゲン、PTH受容体、Ia型BMP受容体は後で述べるCAR細胞などの骨芽細胞以外のニッチの候補細胞でも発現している¹⁶⁾。以上より、骨内膜ニッチ説の根拠は十分とは言えなくなっている。

3) 血管内皮細胞

骨髓腔の毛細血管は洞様毛細血管と呼ばれ、内皮細胞は骨髓特異的な特徴を持ち、ネットワークを形成している。血液細胞の一部が血管の骨髓腔側に接着していることから造血との関連が注目されていた。Kiel, Morrisonらは、CD150⁺CD41⁻CD48⁻造血幹細胞の約60%が骨髓腔内の洞様毛細血管に接着していたことから血管内皮細胞が造血幹細胞ニッチを構成すると報告した (血管ニッチ)¹²⁾。しかし、現在のところ、造血幹細胞の維持に必須で血管内皮細胞に特異的に発現する分子は同定されておらず、造血幹細胞ニッチとしての分子基盤は明らかではない。

4) CAR細胞

筆者らは、ケモカインCXCL12とその受容体CXCR4が、胎生期の造血幹細胞の骨髓へのホーミング (臓器への移動, 定着)、成体骨髓での造血幹細胞の維持やBリンパ球、形質細胞様樹状細胞 (pDC)、NK細胞の産生に必須であることを明らかにし^{17~22)}、CXCL12発現細胞を可視化できるCXCL12-GFPノックインマウス (CXCL12遺伝子座にGFP遺伝子を挿入) を用いて骨髓腔内にびまん性に分布するCXCL12を高発現する細網細胞の一種 (CXCL12-abundant reticular (CAR) 細胞) を見出した^{19,20)}。大部分の洞様毛細血管はCAR細胞に取り囲まれ、造血幹細胞分画の細胞、早期Bリンパ球前駆細胞、形質細胞、pDC、NK細胞の大部分がCAR細胞の突起に接着していたことから、CAR細胞は造血幹細胞と免疫担当細胞のニッチである可能性が示唆される (図1A)^{19~23)}。

4-1) CAR細胞の本態と恒常的造血における機能

筆者らは、CAR細胞の細胞種と機能を明らかにするため、ヒトのジフテリア毒素 (DT) 受容体遺伝子をCXCL12遺伝子座に挿入することによりDTを投与するとCAR細胞特異的細胞死を誘導できるマウスを作製した¹⁶⁾。CAR細胞の欠損による直接的な影響を観察するため、欠損誘導後短期間 (2日) のCAR細胞は著減するが骨芽細胞や血

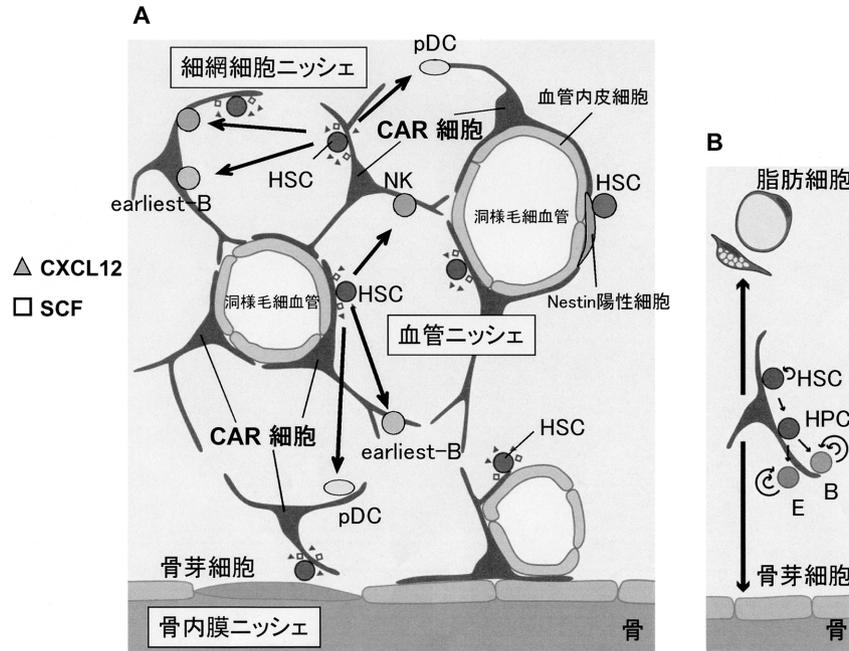


図1 骨髄の造血幹細胞・前駆細胞ニッチ

(A) 造血幹細胞の大部分は CAR 細胞の突起と接着し²⁰⁾、約 60% は血管内皮細胞とも接着すると報告されている¹²⁾。骨表面に局在する骨芽細胞やその一種である SNO 細胞に関しては、接着する造血幹細胞の頻度が著しく少ないという報告がある¹³⁾。Nestin 陽性細胞が造血幹細胞特異的ニッチであると報告されたが CAR 細胞との関係は不明である²⁸⁾。

(A, B) CAR 細胞は脂肪細胞や骨芽細胞の前駆細胞であり、造血幹細胞の増殖と未分化性の維持、赤血球や B リンパ球の前駆細胞の増殖に必須のニッチとして働くと考えられる¹⁶⁾。

(引用文献 23 より改変) HSC; 造血幹細胞, HPC; 多能性造血前駆細胞。

管内皮細胞は正常数存在するマウス（以下 CAR 細胞欠損マウス）の骨髄を解析した。その結果、造血幹細胞数の減少は軽度であったが、細胞の大きさが小さくなっていた¹⁶⁾。近年、造血幹細胞の多くは、血清飢餓の線維芽細胞株のような完全な静止期にあるのではなく、ゆっくりと細胞周期が進行していると考えられており^{24, 25)}、野生型マウスの造血幹細胞分画で発現する cyclin Ds や cyclin A2^{24, 25)} 等の造血幹細胞の維持に必須の細胞周期促進遺伝子の発現量が CAR 細胞欠損マウスでは低下していた。また、CAR 細胞欠損マウスの造血幹細胞分画では、骨髄球への分化を誘導する転写因子 PU. 1 や PU. 1 によって発現が誘導される M-CSF 受容体の mRNA 発現量が著明に増加していた。また、CAR 細胞欠損マウスでは、増殖している B リンパ球前駆細胞、赤血球前駆細胞の細胞数が著明に減少していた。以上より、CAR 細胞は、造血幹細胞の増殖と未分化性の維持、B リンパ球と赤血球の前駆細胞の増殖に必須であることが示された¹⁶⁾ (図 1B)。また、CAR 細胞は、造血幹細胞の増殖と赤血球産生に必須である SCF (stem cell factor) を他の骨髄非血球分画より高発現しており、CAR 細胞欠損マウスでは、骨髄の CXCL12 に加えて SCF のタンパク量が著明に減少していた。これより、CAR 細胞は造血に必須である CXCL12、SCF の骨髄での主たる産生細胞であることが示された¹⁶⁾。

一方、CAR 細胞の細胞表面には、血球マーカーである CD45、血管内皮細胞のマーカーである CD31 や Sca-1 が発現せず、PDGF 受容体 β (PDGFR β) が高発現している。また、個々の CAR 細胞の大部分が骨芽細胞、脂肪細胞の発生に必須の転写因子を両方高発現しており、分化誘導培養を行うとその大部分が骨芽細胞または脂肪細胞に分化した。また、CAR 細胞欠損マウスでは、試験管内骨髄細胞分化培養系で産生される骨芽細胞、脂肪細胞の細胞数が著明に減少していた。これらの知見より、CAR 細胞は骨芽細胞・脂肪細胞前駆細胞であることが示された¹⁶⁾ (図 1B)。また、CAR 細胞は、骨髄ニッチ説で骨芽細胞特異的に発現すると考えられた PTH 受容体と Ia 型 BMP 受容体の mRNA を高発現していた¹⁶⁾。

4-2) CAR 細胞の慢性炎症における役割

CAR 細胞は、恒常的造血のみならず慢性炎症の形成にも重要で、骨髄から末梢血中への単球の動員に必須であることが最近報告された²⁶⁾。Shi, Pamer らは、Listeria 感染や少量の LPS 静注により骨髄腔内で洞様毛細血管の血管内皮細胞に接着する単球と末梢血管内に湧出する単球が増加すること、その際、ケモカイン CCL2 (別名 MCP1) を高発現する細胞が骨髄に出現することを CCL2 遺伝子座に GFP 遺伝子を挿入した CCL2-GFP ノックインマウスを用いて明らかにした²⁶⁾。この CCL2 発現細胞の一部は血管内

皮細胞であるが、その他は、血管内皮細胞マーカーである CD31 や Sca-1 を発現せず PDGF 受容体 β (PDGFR β) を高発現すること、CXCL12 mRNA の発現が血管内皮細胞より著明に高いこと、多くが血管内皮細胞と接着することからおおよそ CAR 細胞と一致すると考えられた²⁶⁾。さらに、Nestin 陽性細胞と Nestin 陽性細胞由来の細胞で CCL2 を欠損させたところ、Listeria 感染や LPS の少量静注による CAR 細胞での CCL2 の発現は著減し、骨髄から末梢血への単球の動員と Listeria 感染に対する防御能が低下した²⁶⁾。以上より、慢性炎症局所から末梢血管を経て骨髄に至る可溶性分子によって CAR 細胞での CCL2 の発現が誘導され、CCL2 によって骨髄腔内の単球が洞様毛細血管の血管内皮細胞を取り囲む CAR 細胞に接着するに至り、末梢血管内に湧出し、炎症局所に供給されると考えられる。

4-3) CAR 細胞と記憶リンパ球

骨髄に局在する形質細胞の大部分は CXCL12 を高発現する CAR 細胞と接着している¹⁹⁾。さらに、B 細胞特異的に CXCR4 を欠損させたマウスでは野生型マウスと比較して、脾臓の形質細胞数は著差がないが骨髄の形質細胞数は著明に低下していたことから、CXCL12-CXCR4 シグナルは形質細胞の骨髄へのホーミングまたは骨髄での維持に必須であり、CAR 細胞は骨髄での形質細胞のニッチとして働くことが示唆される¹⁹⁾。骨髄の形質細胞は、増殖せず静止期で維持されていると推測され、CAR 細胞が細胞周期の遅い造血幹細胞と形質細胞両方のニッチであるとすると細胞周期を遅らせる共通の分子機構を備えている可能性がある。

5) Nestin 陽性細胞

最近、米国の Frenette らは、Nestin-GFP トランスジェニックマウス²⁷⁾を用いて骨髄腔の血管の一部と接着する少数の Nestin-GFP 陽性細胞を同定し、CD150⁺CD41⁻CD48⁻造血幹細胞の約 60% が Nestin-GFP 陽性細胞と接着すること、フローサイトメトリーで分離した Nestin 陽性細胞の 0.7% (二次元培養) または 6.9% (三次元培養) がコロニーを形成できる増殖能を持つことを示した²⁸⁾。また、誘導性 Nestin-Cre トランスジェニックマウスと、Cre によって DTR が発現するトランスジェニックマウスとを交配し、DT 投与により Nestin 陽性細胞を欠損させると約 14 日後の造血幹細胞数が骨髄で約半分に減少し、脾臓で増加することを報告した²⁸⁾。Nestin は中間径フィラメントの一種で神経幹細胞のマーカーとして知られるが²⁷⁾、Frenette らは、Nestin-GFP 陽性細胞が造血幹細胞特異的ニッチを形成する間葉系幹細胞であり、造血幹細胞の骨髄での保持に必須であると結論した (図 1A)²⁸⁾。しかし、間葉系幹細胞分画と呼ぶためには、その分画の細胞の大部分が何度でも細胞分裂して自己と同種の細胞を生み出せる自己複製能と、複数種類の間葉系細胞に分化できる多分化能を合わせ持つこ

とを示す必要がある。Frenette らの報告では、Nestin-GFP 陽性細胞の中で多分化能を持つ細胞の頻度が記載されておらず、Nestin-GFP 陽性細胞のうち増殖能が確認された細胞は多く見積もっても 7% であるため、Nestin-GFP 陽性細胞が間葉系幹細胞であるとはとても言えない。したがって、彼らが切片上で観察した造血幹細胞と接着している Nestin-GFP 陽性細胞が間葉系幹細胞である確率は 7% 以下である。また、Nestin 陽性細胞を欠損させると、造血幹細胞の調節に関与する神経系細胞²⁹⁾も欠損する可能性がある。他、間葉系幹細胞が Nestin 陽性であるならば、欠損後 14 日も経つと骨芽細胞を含むその子孫細胞も消失している可能性がある。以上より、Nestin 陽性の間葉系幹細胞が造血幹細胞特異的ニッチであるという説の根拠は十分とは言えない。また、Nestin-GFP 陽性細胞は CXCL12 を高発現するが CAR 細胞との相違は示されておらず、骨髄の間葉系幹細胞の候補細胞で発現すると報告されている Sca-1³⁰⁾ の発現についても示されていない。骨髄の Nestin 陽性細胞の実体については更なる検討が必要である。

おわりに

少数の細胞種特異的ニッチ細胞が存在し、標的細胞と接着できる細胞表面の面積が小さいと仮定すると、造血幹細胞・前駆細胞の細胞数の制御のしくみを説明できる。すなわち、接着面が空いているとそこで標的細胞は増殖し、接着面が占有されるとそれ以上増殖できないため、標的細胞の細胞数は一定に維持される。実際、ショウジョウバエの卵巣では、その先端の辺縁外側に少数の CAP 細胞というニッチ細胞が局在し、E-カドヘリン (E-cadherin) によって CAP 細胞と接着できる限られた数の細胞だけが CAP 細胞由来の dPP (TGF- β スーパーファミリーのうち BMP ファミリーサイトカインの BMP-2, BMP-4 に相同) と反応して未分化な生殖細胞幹細胞として存在し得ることが報告されている^{31,32)}。しかし、哺乳類の骨髄でも造血幹細胞や各種の造血前駆細胞に特異的ニッチが存在するか否かは明らかでない。骨内膜ニッチ説では、標的細胞が接着できる面が骨髄腔側に制限される骨表面の少数の SNO 細胞が特異的ニッチ細胞であることから、ニッチによる幹細胞の維持と細胞数の制御機構が動物種や臓器を越えて保存されることになり、広く受け入れられた。しかし、すでに述べたように、SNO 細胞や骨芽細胞の造血における機能と造血幹細胞との接着が証明されていない。また、血管と接着する成体骨髄の Nestin 陽性細胞が間葉系幹細胞であり造血幹細胞特異的ニッチであると報告されているが²⁸⁾、筆者らを含む複数のグループによる抗 Nestin 抗体を用いた免疫染色では、Nestin 陽性細胞が側脳室壁に認められたが成体骨髄では観察できなかった (私信)。

一方、CAR細胞と血管内皮細胞は造血幹細胞や各種の造血前駆細胞の細胞数より著明に多いため、これらの細胞がニッチである場合、現時点では造血幹細胞・前駆細胞の細胞数が一定に維持されている機構を説明できない。(a)標的細胞特異的な亜分画の存在、(b)一部の細胞による標的細胞特異的シグナル分子の発現の一過性の増強または減弱、(c)ニッチが複数の細胞から構成されており、相手の細胞種の種類により標的細胞の特異性が決まる、等の可能性が想定される。近年、骨髄の血管周囲の樹状細胞が成熟Bリンパ球のニッチであるという報告があり³³⁾、骨髄の大部分の血管はCAR細胞に取り囲まれていること、CXCL12-CXCR4シグナルは骨髄の成熟Bリンパ球の維持に必須であることを考えると、樹状細胞とCAR細胞の組み合わせで成熟Bリンパ球特異的ニッチが構成されている可能性がある。CAR細胞または血管内皮細胞による造血幹細胞・前駆細胞の細胞数の維持機構は今後の重要な問題である。

このように、最近になって骨髄の造血ニッチの候補細胞が同定され、その実体が見えつつあるが、免疫担当細胞の細胞数を健常時、感染症や炎症の際に必要な数維持または供給する機構は依然として不明である。この問題の解明のためには造血幹細胞と各種造血前駆細胞のニッチの同定とそれぞれの機能の解析が重要な基盤となる。一方、造血ニッチは、抗がん剤に耐性で白血病細胞を産生すると考えられる白血病幹細胞の維持にも重要であると想定されているが詳細は明らかでない。したがって、造血幹細胞・前駆細胞ニッチを理解することは、免疫学・血液学・幹細胞生物学に加えて、白血病の病態の解明と治療法の開発、造血幹細胞移植療法の改良を含めた臨床医学においても大変重要である。今後の研究の発展が期待される。

文 献

- Schofield, R. (1978) *Blood Cells*, 4, 7-25.
- Weiss, L. (1976) *Anat. Rec.*, 186(2), 161-184.
- Dexter, T.M., Allen, T.D., & Lajtha, L.G. (1977) *J. Cell Physiol.*, 91(3), 335-344.
- Whitlock, C.A. & Witte, O.N. (1982) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 79(11), 3608-3612.
- Katayama, Y. & Frenette, P.S. (2003) *Immunity*, 18(6), 789-800.
- Taichman, R.S. & Emerson, S.G. (1994) *J. Exp. Med.*, 179(5), 1677-1682.
- Visnjic, D., Kalajzic, A., Rowe, D.W., Katavic, V., Lorenzo, J., & Aguila, H.L. (2004) *Blood*, 103, 3258-3264.
- Calvi, L.M., Adams, G.B., Weibrecht, K.W., Weber, J.M., Olson, D.P., Knight, M.C., Martin, R.P., Schipani, E., Divieti, P., Bringhurst, F.R., Milner, L.A., Kronenberg, H.M., & Scadden, D.T. (2003) *Nature*, 425, 841-846.
- Zhang, J., Niu, C., Ye, L., Huang, H., He, X., Tong, W.G., Ross, J., Haug, J., Johnson, T., Feng, J.Q., Harris, S., Wiedemann, L.M., Mishina, Y., & Li, L. (2003) *Nature*, 425, 836-841.
- Arai, F., Hirao, A., Ohmura, M., Sato, H., Matsuoka, S., Takubo, K., Ito, K., Koh, G.Y., & Suda, T. (2004) *Cell*, 118, 149-161.
- Kiel, M.J., He, S., Ashkenazi, R., Gentry, S.N., Teta, M., Kushner, J.A., Jackson, T.L., & Morrison, S.J. (2007) *Nature*, 449(7159), 238-242.
- Kiel, M.J., Yilmaz, O.H., Iwashita, T., Yilmaz, O.H., Terhorst, C., & Morrison, S.J. (2005) *Cell*, 121, 1109-1121.
- Kiel, M.J., Radice, G.L., & Morrison, S.J. (2007) *Cell Stem Cell*, 1, 204-217.
- Kiel, M.J., Acar, M., Radice, G.L., & Morrison, S.J. (2009) *Cell Stem Cell*, 4, 170-179.
- Hosokawa, K., Arai, F., Yoshihara, H., Iwasaki, H., Nakamura, Y., Gomei, Y., & Suda, T. (2010) *Blood*, 116(4), 554-563.
- Omatsu, Y., Sugiyama, T., Kohara, H., Kondoh, G., Fujii, N., Kohno, K., & Nagasawa, T. (2010) *Immunity*, 33(3), 387-399.
- Nagasawa, T., Hirota, S., Tachibana, K., Takakura, N., Nishikawa, S., Kitamura, Y., Yoshida, N., Kikutani, H., & Kishimoto, T. (1996) *Nature*, 382, 635-638.
- Ara, T., Tokoyoda, K., Sugiyama, T., Egawa, T., Kawabata, K., & Nagasawa, T. (2003) *Immunity*, 19, 257-267.
- Tokoyoda, K., Egawa, T., Sugiyama, T., Choi, B.I., & Nagasawa, T. (2004) *Immunity*, 20, 707-718.
- Sugiyama, T., Kohara, H., Noda, M., & Nagasawa, T. (2006) *Immunity*, 25, 977-988.
- Kohara, H., Omatsu, Y., Sugiyama, T., Noda, M., Fujii, N., & Nagasawa, T. (2007) *Blood*, 110(13), 4153-4160.
- Noda, M., Omatsu, Y., Sugiyama, T., Oishi, S., Fujii, N., Nagasawa, T. (2011) *Blood*, 117(2), 451-458.
- Nagasawa, T., Omatsu, Y., & Sugiyama, T. (2011) *Trends Immunol.*, 32(7), 315-320.
- Kozar, K., Ciemerych, M.A., Rebel, V.I., Shigematsu, H., Zagazdzon, A., Sicinska, E., Geng, Y., Yu, Q., Bhattacharya, S., Bronson, R.T., Akashi, K., & Sicinski, P. (2004) *Cell*, 118, 477-491.
- Kalaszczynska, I., Geng, Y., Ino, T., Mizuno, S., Choi, Y., Kondratiuk, I., Silver, D.P., Wolgemuth, D.J., Akashi, K., & Sicinski, P. (2009) *Cell*, 138, 352-365.
- Shi, C., Jia, T., Mendez-Ferrer, S., Hohl, T.M., Serbina, N.V., Lipuma, L., Leiner, I., Li, M.O., Frenette, P.S., & Pamer, E.G. (2011) *Immunity*, 22, 590-601.
- Day, K., Shefer, G., Richardson, J.B., Enikolopov, G., & Yablonska-Reuveni, Z. (2007) *Dev. Biol.*, 304, 246-259.
- Mendez-Ferrer, S., Michurina, T.V., Ferraro, F., Mazloom, A. R., Macarthur, B.D., Lira, S.A., Scadden, D.T., Ma'ayan, A., Enikolopov, G.N., & Frenette, P.S. (2010) *Nature*, 466, 829-834.
- Katayama, Y., Battista, M., Kao, W.M., Hidalgo, A., Peired, A. J., Thomas, S.A., & Frenette, P.S. (2006) *Cell*, 124(2), 407-421.
- Morikawa, S., Mabuchi, Y., Kubota, Y., Nagai, Y., Niibe, K., Hiratsu, E., Suzuki, S., Miyauchi-Hara, C., Nagoshi, N., Sunabori, T., Shimmura, S., Miyawaki, A., Nakagawa, T., Suda, T., Okano, H., & Matsuzaki, Y. (2009) *J. Exp. Med.*, 206, 2483-2496.
- Xie, T. & Spradling, A.C. (2000) *Science*, 290(5490), 328-330.
- Song, X., Zhu, C.H., Doan, C., & Xie, T. (2002) *Science*, 296, 1855-1857.
- Sapozhnikov, A., Pewzner-Jung, Y., Kalchenko, V., Krauthgamer, R., Shachar, I., & Jung, S. (2008) *Nat. Immunol.*, 9, 388-395.