

特集：免疫の場：リンパ器官の形成・連携・再構築

リンパ節ストローマ細胞の機能と組織構築

片貝智哉

リンパ節は免疫器官の一種で、リンパ管と連結することにより末梢組織における病原体感染などを免疫系がいち早く察知し、免疫応答を効率良く誘導するための巧みな装置である。リンパ節内には特徴的な組織構造がみられ、リンパ球をはじめとするさまざまな免疫細胞が活動するための「場」が整備されている。こうした組織環境を構築・維持しているのはストローマ細胞と呼ばれる間質細胞がつくるネットワークで、リンパ節の領域ごとに機能の異なるストローマ細胞群が分布している。ストローマ細胞は細胞外マトリクスを産生して組織構造を支えるほか、ケモカインやサイトカインなどさまざまな因子を分泌して免疫細胞の移動や分布、機能、恒常性などに深く関わっており、リンパ節内における免疫系の時空間的な挙動を理解するうえで不可欠な存在である。

はじめに

全身に張り巡らされた「第三の脈管系」であるリンパ管網は、血管から出た体液成分や組織の老廃物をリンパ液として回収し再循環させるシステムとして機能する一方、組織に進入した外来の異物やそれらを取込んだ免疫細胞もリンパ液に入り込んで輸送される。このリンパ管網の要所に配置されたリンパ節はリンパ液を濾過するとともに、外来異物（抗原）を免疫系が効率よく感知して適切な応答を誘導するための巧妙な装置である。リンパ節には大量のリンパ球が集積しているが、ある抗原に対して特異的に反応することができる細胞はごくわずかしか存在しないため、それらは組織の中で抗原を効果的に探し出す必要がある。リンパ球は非常に活動的な細胞で、血流に乗って全身を巡りながら頻りにリンパ節に立ち寄っては再び血流に戻るということをくり返すが、特にリンパ節では組織内を活発に動きまわって抗原を探索していることが明らかにされている。一方、リンパ節には特徴的な組織構造がみられ、リン

パ球が活動しやすい環境が整えられている。こうした構造を支えているのはストローマ細胞と呼ばれる間質細胞で、細胞どうしが互いに連結して緻密なネットワークを形成している。近年、ストローマ細胞が免疫機能の制御や恒常性を維持する重要な細胞群であることが明らかになりつつある。また、胎生期のリンパ節の発生過程においてもストローマ細胞が極めて重要な役割を担い、さらに成体では組織の区画ごとに異なる種類のストローマ細胞が分布して独自の機能を発揮することが知られている。本稿では、最近の新たな知見により一層注目されつつあるリンパ節のストローマ細胞について、組織構造や免疫機能との関連を含めて概説する。

リンパ節器官発生とストローマ細胞

リンパ節は全身各所の概ね決まった位置に分布するが、胎仔期においてこれらの部位には血管やリンパ管に付随した間葉系細胞集塊からなる器官原基が出現し、そこから段階を経てリンパ節が発達してくることが知られている。おもにマウスを用いた解析から、リンパ節の発生過程に関わる特定の細胞集団や分子群に関する知見が得られている¹⁾。成熟リンパ球がほとんど存在しない胎生期において、原基領域に CD45⁺CD4⁺CD3⁻ という特徴的な細胞表面マーカーを示す血球系細胞（リンパ組織誘導細胞, lymphoid tissue inducer: LTi）が集積し、ストローマ細胞（lymphoid tissue

関西医科大学附属生命医学研究所分子遺伝学部門
(〒570-8506 大阪府守口市文園町 10-15)

Lymph node stromal cells: tissue architecture and functions
Tomoya Katakai (Department of Molecular Genetics, Institute of Biomedical Science, Kansai Medical University, 10-15 Fumizono-cho, Moriguchi, Osaka 570-8506, Japan)

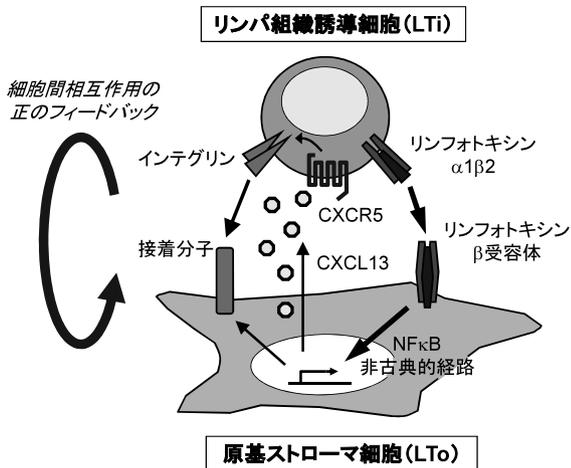


図1 リンパ節発生過程における細胞間相互作用

リンパ節の器官原基においてリンパ組織誘導細胞 (LTi) が産生するリンフォトキシン $\alpha 1\beta 2$ は、リンフォトキシン β 受容体を介して原基ストローマ細胞 (LTo) にシグナルを伝える。これにより、転写因子 NF κ B の非古典的経路が活性化され、ケモカイン CXCL13 や接着分子などの発現が誘導される。CXCL13 はその受容体である CXCR5 を介して LTi 細胞をさらに誘引し、リンフォトキシンを介したストローマ細胞の活性化をより増強する。この正のフィードバックにより、組織構築が進行すると考えられている。

organizer: LTo) と直接接触による相互作用を行なうことが原基形成と発達に必須であると考えられている (図 1)。具体的には、LTi 細胞が腫瘍壊死因子 (TNF) ファミリーのサイトカインである膜型リンフォトキシン $\alpha 1\beta 2$ を産生し、LTo 細胞側に発現するリンフォトキシン β 受容体 (LT β R) を介してシグナルを伝える。これにより LTo 細胞において転写因子 NF κ B の非古典的経路が活性化され、VCAM-1, ICAM-1, MADCAM-1 などの接着分子や、細胞遊走因子である CXCL13, CCL19, CCL21 などのケモカインの発現が誘導される。特に CXCL13 は、その受容体である CXCR5 を介して LTi 細胞を引き寄せ、それらが産生するリンフォトキシンによりストローマ細胞の活性化がさらに増強されるという正のフィードバックにより組織形成が進行すると推測されている。生後、成熟リンパ球がリンパ節原基に集積をはじめると、組織はしだいに拡大するとともに明確に構造の異なるいくつかの組織区画が形成される。それにしたがって区画ごとに異なるタイプのストローマ細胞が出現し、それぞれの領域を規定するネットワークが構築される。ただし、器官原基の LTo 細胞と成体リンパ節のストローマ細胞サブセットとの関連は未だ明らかにされていない。

リンパ節の組織構造

全身に分布するリンパ節はその大きさやかたち、あるいはリンパ管・血管の進入位置などさまざまであるが、いく

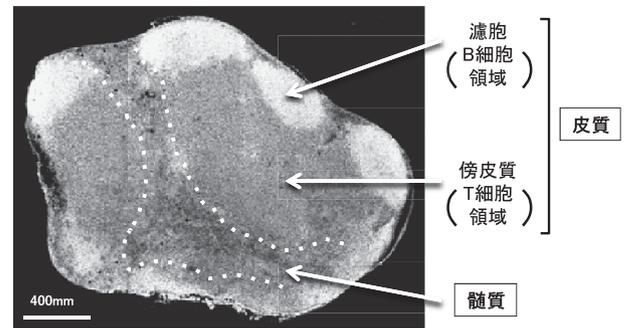


図2 リンパ節の基本構造

リンパ節 (マウス) 組織切片の免疫蛍光染色像。濾泡 (B 細胞領域): 抗 B220 抗体染色, 傍皮質 (T 細胞領域): 抗 CD3 抗体。皮質領域においてリンパ球のサブセットが明瞭に区画化されている。

つかの共通した組織構造がみられる (図 2)。まず、大まかに皮質と髄質という二つの領域からなる。皮質はリンパ球が大量かつ高密度に集積している領域で、獲得免疫応答が誘導される場として重要である。一方、髄質はリンパ管や血管が枝分かれして複雑に入り組んだ領域で、リンパ球は少ないがマクロファージなどの貪食細胞が非常に多く存在していることから、リンパ節のフィルター機能を担う部位といえる。興味深いことに、リンパ球の二大サブセットである B 細胞と T 細胞は皮質領域において明瞭に分離局在している。B 細胞は被膜に近いリンパ節外縁部に集中し、濾泡と呼ばれる特徴的な楕円形の集塊をいくつも形成する (B 細胞領域)。免疫応答時には濾泡内で活性化した B 細胞の一群が大規模な球状集団 (胚中心) を形成し、高親和性抗体の産生細胞へ分化するための場となる。一方、T 細胞は濾泡より内側の傍皮質領域に集積する (T 細胞領域)。この領域には樹状細胞も数多く分布し、抗原情報を提示する現場であるといえる。輸入リンパ管を介してリンパ液が最初に流れ込むのは被膜直下に広がる辺縁洞 (被膜下洞) と呼ばれる特殊なリンパ管腔構造である。辺縁洞はリンパ節における免疫監視システムの最前線であるため、機能的にも極めて重要な場であるといえる。辺縁洞には特殊なマクロファージの一種が密に配置されており、リンパ液によって流れてきた抗原を捕捉し皮質へ輸送する働きを担っている。末梢組織において抗原を取込んだ樹状細胞はリンパ管を通じてリンパ節に到達した後、辺縁洞のリンパ管内皮および基底膜層のバリアーを通り抜けて傍皮質内へ進入する。

ストローマ細胞亜集団

以上のようなリンパ節の各構造にはそれぞれ性質の異なるストローマ細胞亜集団が存在し、組織を支えている²⁾ (図 3)。濾泡に分布する濾泡樹状細胞 (follicular dendritic cell: FDC) は最も良く知られたストローマ細胞で、B 細胞

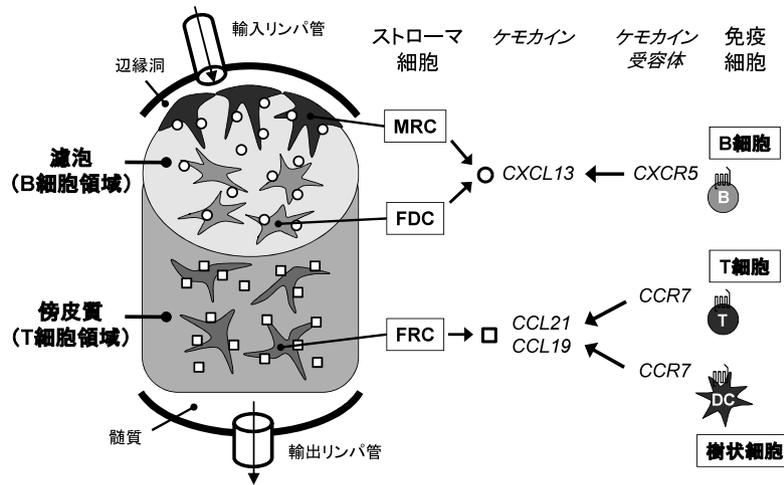


図3 リンパ節における免疫細胞局在とストローマ細胞/ケモカインの関係
濾泡領域では濾泡樹状細胞 (FDC) および辺縁細胞網細胞 (MRC) が CXCL13 を産生し、その受容体 CXCR5 を発現する B 細胞が集積する。一方、T 細胞領域では細網線維芽細胞 (FRC) が CCL19, CCL21 を産生し、それらの受容体 CCR7 を発現する T 細胞や樹状細胞を引き寄せる。このストローマ細胞と免疫細胞の間でみられるケモカインと受容体の対応関係が組織区画形成の要因のひとつになっていると考えられる。

の抗体産生能と密接に関連するため古くから注目されてきた。一方、傍皮質では細網線維芽細胞 (fibroblastic reticular cell: FRC) の一種が組織の支持基盤を担っており^{3,4)}、近年その重要性が認識されつつある。これらに加えて最近筆者らは、濾泡の最外層領域に辺縁洞を裏打ちする特殊なストローマ細胞の一群を発見し、辺縁細胞網細胞 (marginal reticular cell: MRC) と名付けた⁵⁾。前述のとおり、この領域は免疫学的にも重要な場所であることに加え、MRC がリンパ節原基のストローマ細胞に良く似た特徴を持っているため、器官発生の観点からも注目される。髄質領域には脈管網を形成する血管・リンパ管内皮細胞とともに、他の部位とは異なる性状の細網細胞様ストローマ細胞が多数存在している。マクロファージの機能やリンパ球の組織移出過程との関連が想定されるが、現時点で詳しいことは明らかにされていない。このように、リンパ節には少なくとも4種類の間質系ストローマ細胞亜集団が知られているが、リンパ節の複雑な組織体制を考慮すると、今後さらに機能的に細分化あるいは新たな集団が同定される可能性が高い。

それぞれの組織区画に局在する免疫細胞は各ストローマ細胞亜集団の分布と非常に良く一致しており、その相互関係は注目すべき点である。一般的に免疫細胞の移動は多くのケモカインに制御されているが、ストローマ細胞が産生するいくつかのケモカインとその領域に分布している免疫細胞が発現する受容体の間には対応関係がある^{1,6)} (図3)。すなわち、FDC や MRC は CXCL13 を産生し、その受容体 CXCR5 を発現する B 細胞を集め、T 細胞領域の FRC は CCL19 および CCL21 を産生することにより、それらの

共通の受容体 CCR7 を発現する T 細胞や樹状細胞を誘引する。ケモカインのみで全てを説明できる訳ではないが、それぞれのストローマ細胞が産生する複数の因子が免疫細胞の組織内分布を決定していると考えられる。

ストローマ細胞のネットワーク構造

さて、免疫応答の主役はあくまでリンパ球をはじめとする免疫細胞であるが、ストローマ細胞は常にそれらと直接接触しながら機能的な補助や活動の場を提供している。リンパ節内において免疫細胞は高密度に集積しながらも非常に活発に移動しているため、ストローマ細胞は組織の骨組みとしての役割を担うと同時に免疫細胞移動のための足場として働き、なおかつそれらが活動する空間をつくり出さなければならない。ストローマ細胞の精緻なネットワーク構造はまさにこうした要求を満たすものである。これは他の組織で見られる線維芽細胞など多くの間質細胞が細胞外マトリクス (extracellular matrix: ECM) に埋没した状態で存在するのは大きく異なる特殊な性状であるといえる。免疫細胞との恒常的な相互作用がこのような状態を生み出していると考えられる。傍皮質領域では FRC がネットワークを形成しており (図4)、その基本構造は FRC が自ら産生したコラーゲン線維および基底膜成分を主体とする ECM 繊維の束を細胞体が包み込んでケーブル状構造となり、それらが複雑に連結したものである (図5)。ケーブル状構造はコンジット (conduit) と呼ばれ、内部を組織液が通過できる「導管」として機能する^{6,7)}。およそ 70 kD 以下の低分子はコンジットを通じて組織深部に素早く拡散で

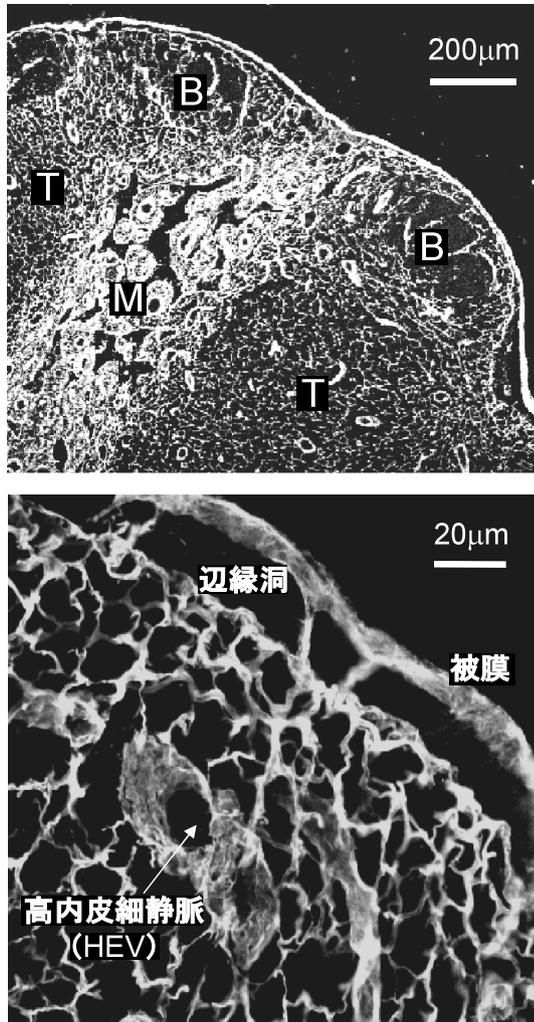


図4 ストロマ細胞のネットワーク (細網構造)
 (上段) モノクローナル抗体 ER-TR7 により染色されたマウスリンパ節の細網構造。B: 濾泡 (B 細胞領域), T: 傍皮質 (T 細胞領域), M: 髄質。傍皮質では非常に精緻なネットワークが見られる。髄質は血管網やリンパ洞が複雑に入り組んだ構造で、細網成分も密に存在する。
 (下段) リンパ節外縁部 (濾泡間領域) の拡大像。被膜および辺縁洞の直下から細網が発達している。高内皮細静脈 (HEV) を包む細網構造も認められる。

きることから、末梢組織からリンパ管を介して流れ込んださまざまな生理活性物質や可溶性抗原などの高速輸送路として、免疫応答の時空間的な制御に関わる。血中のリンパ球はおもに傍皮質に分布する高内皮細静脈 (HEV) という特殊な血管構造からリンパ節内へ進入するが、リンパ由来のケモカインがコンジットを通じてこの血管内腔にまで運ばれ、リンパ球の組織移行を調節していることが知られている^{6,8)}。また、傍皮質の常在性樹状細胞の一部はコンジットに直接接触しており、可溶性抗原を素早く取込んで抗原提示を行なうことが示唆されている⁹⁾。

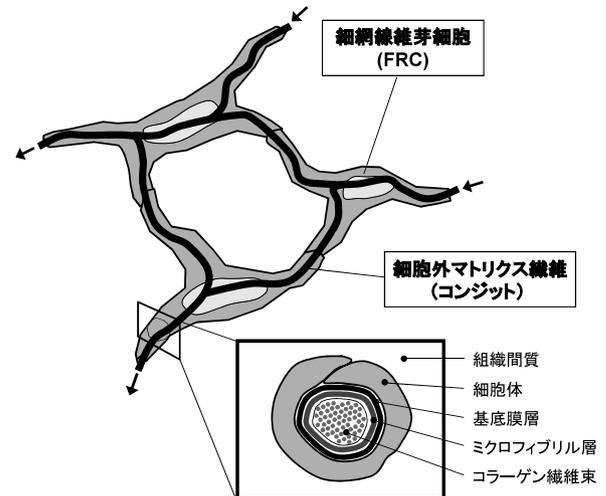


図5 細網線維芽細胞ネットワークとコンジット構造
 細網線維芽細胞 (FRC) は自ら産生する細胞外マトリクス繊維を包み込むことによりケーブル状構造 (コンジット) をつくり、複雑に連結してネットワークを形成する。コンジット内部は基底膜層、マイクロフィブリル層、コラーゲン繊維束の三層からなり (囲み部分)、およそ 70 kD 以下の低分子量物質が通過できる。リンパ球は基本的にコンジットに接触することはなく、FRC 細胞体の外表面と接している。一方、樹状細胞の一部は触手をコンジット内に延ばして直接接触することにより、内容物 (可溶性抗原など) を取り込む場合がある。

リンパ球の組織間質遊走とストローマ細胞ネットワーク

近年、2 光励起レーザー顕微鏡の発展により組織内部に存在する蛍光標識細胞を生きたまま観察することが可能になっている。この手法を用いてマウスのリンパ節内部におけるリンパ球の挙動がリアルタイムで観察された結果、予想外に激しく移動する実態が明らかになった¹⁰⁾。B 細胞と T 細胞はともに活発に移動しているが、その平均移動速度は B 細胞が毎分約 6 μm 、T 細胞は毎分約 11 μm と異なっている。興味深いことに、これらリンパ球の運動様式は方向性がなく、一見してランダムである。それまでリンパ球遊走はおもにケモカインなどに制御された方向性をもった動き、すなわちケモタキシスで説明されていたことから、このランダムな運動は想像と大きく異なるものであった。しかしながら、リンパ球が組織内において抗原に出会うチャンスを高める必要があることを考えれば理にかなった現象であるといえる。

このようにリンパ球が組織内を高速移動するときの足場となっているのがストローマ細胞ネットワークであると考えられる。Bajénoff らは非血球系細胞を GFP により可視化した状態で 2 光子顕微鏡によりリンパ球の動態を観察し、ほとんどのリンパ球はストローマ細胞のネットワークに沿って移動していることを明確に示した¹¹⁾ (図 6)。この観察により、ストローマ細胞がリンパ球遊走の足場として重要な役割を担っているということが改めて認識された。

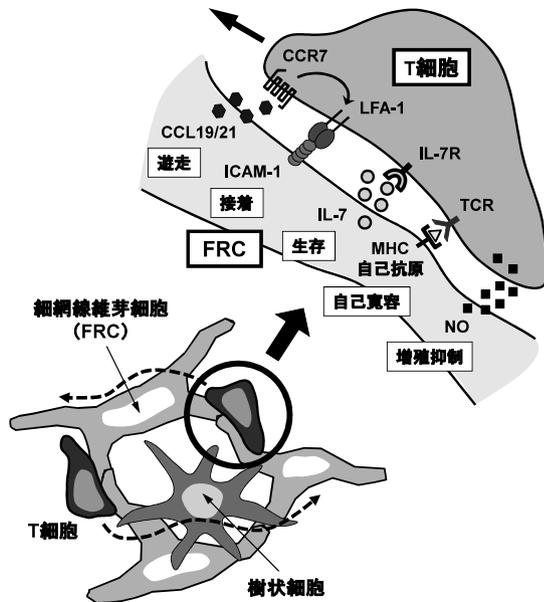


図6 細網線維芽細胞の機能

細網線維芽細胞 (FRC) のネットワークはT細胞の高速移動や樹状細胞係留の足場として働くとともに、それらが活動するための空間を提供する。FRCが産生するさまざまな因子は免疫細胞の移動や分布、生存、恒常性維持に深く関わっている。

また、ランダムな移動様式に関しては、複雑に枝分かれしたネットワークの上を個々のリンパ球が頻りに方向転換しながら異なった方向に進んでいるためであると推測される。ところで、リンパ球がストローマ細胞を足場にして移動しているとすれば、その際に何らかの接着機構が存在する可能性が想定される。リンパ球の接着過程はLFA-1などのインテグリンが重要な役割を担っていることが良く知られていたが、リンパ節内の遊走過程において当初これらの接着の関与は否定的とされていた¹²⁾。そして、細胞が密集した三次元的な組織環境内においては、アクチン-ミオシンによる収縮機構に依存したアメーバ状の細胞運動によって接着非依存的に移動するとの考察がなされている。確かに、強すぎる接着は細胞遊走にマイナスに働くことが容易に想像されるが、T細胞が示すような高速移動の推進力が接着に依存せずに行われるのかに関しては大きな疑問が残った。筆者らは最近、2光子顕微鏡観察を主体としたさまざまな角度からの検証を行ない、T細胞の組織内遊走においてLFA-1は部分的ではあるが確実に関与しており、特に高速移動には必須であるという結果を得ている(論文投稿中)。したがって、インテグリンを介した接着依存的および非依存的な過程の協調により、極めて活発な組織内遊走を可能にしていると考えられる。ストローマ細胞はケモカインを含むさまざまな遊走因子を産生するとともに、LFA-1のリガンドであるICAM-1を高発現することで接着基質として機能し、リンパ球動態を制御しているのだろう。

免疫細胞の恒常性とストローマ細胞

ストローマ細胞は多様な因子を産生し、リンパ球や樹状細胞と直接接触することで、その機能の制御や恒常性維持にも関与している(図6)。インターロイキン-7(IL-7)はリンパ球の生存維持に関わる重要なサイトカインであるが、リンパ節ではおもに傍皮質FRCがIL-7を産生しT細胞の生存を支持している¹³⁾。また、傍皮質には常在性の樹状細胞が多数存在し、これらはFRCのネットワークに係留されていることから、ストローマ細胞が樹状細胞の分化や生存と密接に関連する可能性がある。一方、濾胞においてはFDCやMRCがいくつかの因子を介してB細胞の増殖と生存を支持している可能性があるが、詳細は明らかになっていない。

ところで、最近リンパ節のストローマ細胞が本来ほかの臓器で限局して発現する自己抗原を発現し、自己反応性T細胞の排除や自己に対する寛容誘導に関わっているという報告がなされた¹⁴⁾。通常、胸腺内のT細胞分化の過程において自己反応性細胞は胸腺上皮細胞や樹状細胞が提示する自己抗原により排除されるが、それだけでは自己寛容成立に不十分であることが以前から知られていた。末梢組織における免疫寛容はさまざまな機構により維持されていると考えられるが、リンパ節のストローマ細胞がその一端を担っているという点で大変興味深い事実である。さらに、活性化T細胞との接触あるいはインターフェロン- γ (IFN- γ)やTNFなどのサイトカインの作用によりストローマ細胞が一酸化窒素(NO)を産生し、T細胞増殖を抑制する機構の存在も示唆されている¹⁵⁾。このようにストローマ細胞がさまざまな局面において多様な免疫制御能を発揮する実態が明らかになりつつあり、今後の展開がさらに注目される。

おわりに

本稿ではリンパ節に焦点を絞り、おもにその組織構造や機能に欠かせない要素であるストローマ細胞群について述べた。しかし、獲得免疫応答誘導を担う二次リンパ器官と呼ばれる免疫系臓器はリンパ節のほかにも脾臓や扁桃、パイル板などさまざまなタイプが含まれる。これらの臓器には共通する組織構造とそれを支えるストローマ細胞群がみられる一方で、各臓器に特有の構造とストローマ細胞の存在も知られている。免疫系はさまざまなルートで体内に侵入してくる病原体に対抗して発達してきたと考えられることから、それぞれの免疫器官の配置や構造は合目的的にデザインされているはずである。これらの生体構造と免疫機能との関連は今後さらに検討していく必要がある。一方、慢性炎症組織では浸潤した多数のリンパ球が集積し二次リンパ器官に類似した組織構造が異所性に形成されるこ

とがある。これらは三次リンパ組織とも呼ばれ、二次リンパ器官と同様のストローマ細胞群が出現する。しかし、その意義や機能的な詳細に関しては不明な点が多い。リンパ節のように高度に組織化された免疫器官は哺乳類に特有で、それ以外には未発達の類似組織構造が鳥類などのごく一部の脊椎動物で見られるのみである。動物系統ごとの免疫器官の発達とストローマ細胞との関連は未開拓の分野である。

ストローマ細胞のネットワークはリンパ球が産生される骨髄や脾臓などの一次リンパ器官においても極めて重要な役割を担う。また、がん組織に付随した炎症と周辺組織の支持細胞（がんストローマ細胞）の働きが最近大きな注目を集めている。今後、こうしたさまざまな観点から免疫器官の組織構造とストローマ細胞機能あるいは免疫応答におけるそれらの役割を解明し、免疫現象に関する包括的な理解を深めていく必要がある。

文 献

- 1) Mebius, R.E. (2003) *Nat. Rev. Immunol.*, **3**, 292–303.
- 2) Mueller, S.N. & Germain, R.N. (2009) *Nat. Rev. Immunol.*, **9**, 618–629.
- 3) Katakai, T., Hara, T., Lee, J.H., Gonda, H., Sugai, M., & Shimizu, A. (2004) *Int. Immunol.*, **16**, 1133–1142.
- 4) Katakai, T., Hara, T., Sugai, M., Gonda, H., & Shimizu, A. (2004) *J. Exp. Med.*, **200**, 783–795.
- 5) Katakai, T., Suto, H., Sugai, M., Gonda, H., Togawa, A., Sue-matsu, S., Ebisuno, Y., Katagiri, K., Kinashi, T., & Shimizu, A. (2008) *J. Immunol.*, **181**, 6189–6200.
- 6) von Andrian, U.H. & Mempel, T.R. (2003) *Nat. Rev. Immunol.*, **3**, 867–878.
- 7) Gretz, J.E., Norbury, C.C., Anderson, A.O., Proudfoot, A.E., & Shaw, S. (2000) *J. Exp. Med.*, **192**, 1425–1440.
- 8) Palframan, R.T., Jung, S., Cheng, G., Weninger, W., Luo, Y., Dorf, M., Littman, D.R., Rollins, B.J., Zweerink, H., Rot, A., & von Andrian, U.H. (2001) *J. Exp. Med.*, **194**, 1361–1373.
- 9) Sixt, M., Kanazawa, N., Selg, M., Samson, T., Roos, G., Reinhardt, P.D., Pabst, R., Lutz, M.B., & Sorokin, L. (2005) *Immunity*, **22**, 19–29.
- 10) Miller, M.J., Wei, S.H., Parker, I., & Cahalan, M.D. (2002) *Science*, **296**, 1869–1873.
- 11) Bajénoff, M., Egen, J.G., Koo, L.Y., Laugier, J.P., Brau, F., Glaichenhaus, N., & Germain, R.N. (2006) *Immunity*, **25**, 989–1001.
- 12) Woolf, E., Grigorova, I., Sagiv, A., Grabovsky, V., Feigelson, S.W., Shulman, Z., Hartmann, T., Sixt, M., Cyster, J.G., & Alon, R. (2007) *Nat. Immunol.*, **8**, 1076–1085.
- 13) Link, A., Vogt, T.K., Favre, S., Britschgi, M.R., Acha-Orbea, H., Hinz, B., Cyster, J.G., & Luther, S.A. (2007) *Nat. Immunol.*, **8**, 1255–1265.
- 14) Turley, S.J., Fletcher, A.L., & Elpek, K.G. (2010) *Nat. Rev. Immunol.*, **10**, 813–825.
- 15) Lukacs-Kornek, V., Malhotra, D., Fletcher, A.L., Acton, S.E., Elpek, K.G., Tayalia, P., Collier, A.R., & Turley, S.J. (2011) *Nat. Immunol.*, **12**, 1096–1104.