

特集：免疫の場：リンパ器官の形成・連携・再構築

光変換蛍光タンパク質「カエデ」発現マウスを用いた免疫細胞の全身性動態の可視化

戸村 道夫

免疫系は多種多様の細胞が全身レベルで時間・空間・数量的に緻密に制御され、動的平衡状態を保っている一つの統合されたシステムである。そこで私は、「免疫応答を *in vivo* で見る」ことを基本とし、全身の免疫細胞の時間・空間・数量的な動的情報を、既存の評価システムに加えることで免疫システムの理解を目指している。我々は、紫色の光を照射すると緑色から赤色に変色する光変換蛍光タンパク質「カエデ」を発現しているマウスを使った全身細胞動態評価系を確立し、この評価系を中心に用いた研究を推進している。本稿では、カエデマウスを用いた免疫細胞の全身レベルの細胞動態評価系と、評価系を用いて見出した新知見と今後の可能性について紹介する。

序

生物理解のためのアプローチは細分化の歴史であり、マウスなど生物個体レベルから細胞、タンパク質、RNA、そして、ゲノムレベルに到達した。そして、細胞レベルの解析データは蓄積され続けているが、その蓄積のみでは生物個体の理解に繋がるとは考えられず、「細胞レベルから、どのように生物個体レベルまで戻るか」が、現代の生物学が直面している課題である。免疫系も同様、細胞機能の分子メカニズム解明の急速な進展に対し、個体レベルで免疫システムが制御されているメカニズムは不明なままであり、このことが免疫疾患克服を困難にしている要因の一つである。

免疫系は個体全体に展開する高次複雑系であり、 10^{11} 個もの細胞が時間・空間・数量的に緻密に制御され、多種多様の免疫細胞が各々、的確な場所でその分化、増殖、機能

発現に必要なシグナルを供給され、さらに全身を駆け巡ることで成立している。そこで私は、*in vivo* 解析によって得た複数の免疫細胞サブセットが生体内で織りなす時間・空間・細胞数の動態情報を、従来の *in vitro* 細胞レベルの解析に加えて免疫応答を考察できれば、新しい概念の提唱を通じて、免疫システムを動的平衡を保つ一つの統合システムとして理解できると考えた。そして、蛍光タンパク質プローブを中心に用い、「*in vivo* で免疫応答を見る」ことを基本として、正常および免疫応答下の任意のタイミングで、どのような免疫細胞が、どの臓器で増殖し、いつ、どの臓器に何個移動して機能発現し細胞死に至るかを把握できる評価システムを確立し研究を行っている。本稿では、中心として用いている我々の確立したカエデマウスを用いた全身レベルの細胞動態評価系と、評価系を用いて見出した新知見と今後の可能性について紹介する。

1. 免疫細胞動態研究の歴史的背景

試験管内でラベルしたリンパ球を宿主に移入して一定時間後に、組織や採取したリンパ液に含まれるラベルされた細胞を解析するという古典的な方法¹⁾により、リンパ球は血流とリンパシステム間を持続的に再循環していること等が明らかになった²⁾。現在でもこの方法は広範に用いられているが、この方法では少ない細胞画分の解析は困難であ

京都大学医学研究科 次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点 (〒606-8501 京都市左京区吉田近衛町)
Visualization of cellular dynamics in the entire body using photoconvertible protein “Kaede”—transgenic mice
Michio Tomura (Center for Innovation in Immunoregulatory Technology and Therapeutics, Kyoto University Graduate School of Medicine, Yoshidakonoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto-city 606-8501, Japan)

表1 カエデマウスを用いた細胞動態評価系と既存法の比較

	カエデマウス	FITC 塗布	ラベルした細胞の移入
細胞の移入	不要	不要	要
少ない細胞画分への適用	可能	可能	困難
マーキングのタイミング	随時	FITC 塗布時のみ	—
自己タンパクの修飾	無	有	有・無*
有機溶媒の使用	無	有	有
定常状態での解析	可能	?	?
ラベルした細胞の位置情報	有	有	無
臓器間の細胞移動情報	有	有	無
生理的条件下での組織間の細胞移動情報	可能	?	困難

*: 蛍光分子などで標識する場合は、タンパク修飾有り。蛍光タンパク質発現マウスやコンジュニクマウスから分離した細胞を移入する場合にはタンパク修飾無し。

り、細胞分離によるメカニカルストレスやラベル過程での培養により活性化してしまう細胞には適用できない。さらに本質的な問題は、この方法で得られる情報の基本は、移入した細胞の組織へのホーミング能であり、細胞が生体内のどこからどこに動いたという情報は得られない。これらの問題を解決するため、FITCなどの低分子蛍光標識化合物の生きたマウスの組織内への直接投与や皮膚への塗布などの *in situ* 細胞ラベリングが用いられている。しかしこの方法は、有機溶媒の使用や内在性タンパク質の修飾を伴うため、生理的条件下での細胞動態を解析できているか不明である。そこで我々は、より生理的条件下で全身の細胞動態を解析できるカエデマウスを用いた細胞移動評価系を確立した。カエデマウスを用いた細胞動態評価系の特徴を既存の方法と比較して表1に示す。

2. 光変換蛍光タンパク質「カエデ」発現マウス

「カエデ」は岩珊瑚から見出された光変換蛍光タンパク質で、細胞に発現させた時には緑色だが、UVあるいは紫色の光の照射で赤色に変わる(図1)^{3,4)}。変色は分子内の共有結合の切断と再結合であり不可逆的である。細胞が分裂すると光変換したカエデタンパク質は希釈されるが、光変換したカエデは細胞内で安定であり、神経細胞では2週間以上³⁾、生きたマウスの中でも、ほとんど分裂していない免疫細胞では1週間以上マークした細胞を検出できる⁴⁾。CAGプロモーターの下流で「カエデ」を発現させたカエデマウスは、全身の細胞で「カエデ」を発現しており、調べた限りすべての免疫細胞で「カエデ」を発現している。光変換の効率は、短波長であるUVを用いた方が紫光よりも効率的であるが、光による細胞毒性をできるだけ抑えるために紫光を用いている点は重要である。用いている光照射条件では、T細胞およびB細胞の増殖誘導因子による増殖応答、さらに皮膚にUVBを照射したとき産生誘導が認められる皮膚組織でのIL- β およびTNF- α 産生は認められておらず、現在までに有意な光毒性は検出されていない^{4,5)}。

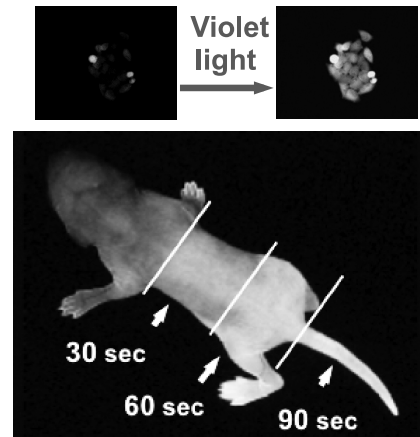


図1 Kaede タンパク質発現細胞と Kaede-Tg マウスの光変換 (上)「Kaede」は光により色が変わる蛍光タンパク質で、細胞に発現させた時は緑色だが、紫色の光を照射すると赤色に変わる。(下) Kaede-Tg マウスの下半身に光照射(数字は照射時間)。赤色のシグナルを白色で表示。

3. カエデマウスを用いた定常状態下でのリンパ球細胞動態の解析

リンパ球の生体内の移動経路は大きく二つに分けられる(図2)。生体内は血管およびリンパ管が全身に広がっており、リンパ管の各所にはリンパ節がある。一つ目の経路は体液と同様の経路であり、血管から組織に移行した後、組織から輸入リンパ管を通してその組織の所属リンパ節に移行する。そして、所属リンパ節を移出し輸出リンパ管に入った後、直接あるいは、いくつかのリンパ節を経由して最終的に鎖骨下にある胸管から血管に戻る。もう一つの経路は、血液中のリンパ球が直接リンパ節に入り、その後、リンパ管に移行して胸管から血液に戻る。

最初に、この2番目の、「血流→リンパ節→リンパ流→血流」の経路をカエデマウスを用いて解析した結果を示しながら、当評価系を紹介する。

カエデマウスから分離したリンパ球をフローサイトリーで解析すると、緑色のシグナルが検出されるが、1個のリン

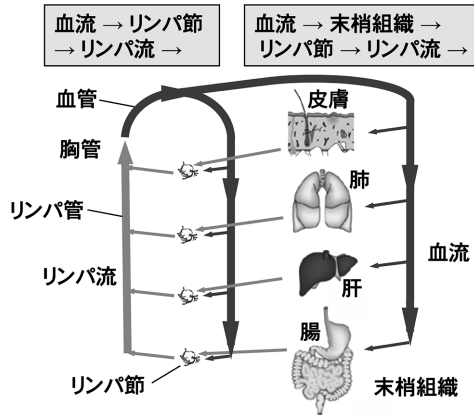


図2 リンパ球の生体内動態

リンパ球の生体内の移動経路は大きく二つに分けられる。

リンパ節を光照射した後に解析すると、すべての細胞で光変換した「カエデ」による赤のシグナルが検出される。これはすなわち、光照射によりリンパ節内のすべての細胞をマーキングできたことを意味している (図3)。そこで、鼠径リンパ節を光照射してマウスを24時間生かしておいた後に解析した。すると、光照射した鼠径リンパ節ではマークされた細胞が24%、同側の腋窩リンパ節ではマークした細胞が高い頻度(9.6%)で、他のリンパ節ではマークした細胞が1.4%検出された。この結果は24時間の間に、光照射した鼠径リンパ節の細胞の24%(光変換によりマークされた細胞)が残っており、76%の細胞(マークされていない細胞)が入れ替わったことを示している。鼠径リンパ節と同側の腋窩リンパ節はリンパ管で直接繋がっている。そのため、照射した鼠径リンパ節から移出した細胞は、リンパ管内を移動し直接、下流のリンパ節である同側の腋窩リンパ節に移行し、さらにリンパ管の終末である胸管から血管に戻り、血流に乗り他のリンパ節に移行する。このように、リンパ球は非常に速い速度で生体内を再循環している。以上の結果が示すように、カエデマウスを用いると、目的部位の免疫細胞を紫色光の照射でマークした後、マウスをそのまま生かしておき一定時間後に解析することによって、マークした部位における免疫細胞の入れ替わりと、全身への細胞移動を追跡できる^{4,6)}。

4. CD4⁺, CD8⁺ T および B 細胞の生体内細胞動態

リンパ球は大きく、T細胞と抗体産生を担うB細胞に分けられ、T細胞はさらに免疫系をヘルプするCD4⁺T細胞と細胞傷害性のCD8⁺T細胞に分けられる。そこで各リンパ球サブセットの定常状態下での生体内動態を明らかにするために、前述の方法同様、鼠径リンパ節を照射後、鼠径リンパ節での入れ替わり、リンパ管を介した直下の腋窩リンパ節への移行、さらに血流を介した他のリンパ節への移行の時間経過を調べた。すると、照射時にはマークした

細胞の頻度は100%であったが時間経過と共に減少した。CD4⁺T, CD8⁺TおよびB細胞に分けて解析すると、光照射した鼠径リンパ節のCD4⁺T細胞は照射後6時間で既に50%弱の細胞が入れ替わっており、CD8⁺T細胞のそれは若干遅く、B細胞の入れ替わりはT細胞に比べ明らかに遅かった(図3c)。照射した鼠径リンパ節から腋窩リンパ節に移入してきた細胞を調べると、マークされたCD4⁺T細胞の頻度は照射6時間後をピークに低下した。これは、マークされていない細胞の移入が優勢になり、マークされたCD4⁺T細胞が腋窩リンパ節から移出し始めていることを示している。また、血流を介した他のリンパ節への移行は遅く、24時間後でもすべてのサブセットの頻度は上昇していた(図3)。以上のように、各リンパ球サブセットは各々固有の速度を持ち、異なる速度で移動しており、その速度は、CD4⁺T細胞>CD8⁺T細胞>B細胞であることが分かった^{4,6)}。

5. リンパ球が生体内を再循環する意義について

従来、T細胞の全身再循環は、外来抗原を提示する抗原提示細胞が存在するリンパ節に抗原特異的T細胞が集積するための受動的な過程を考えられてきた。しかし我々は、「リンパ球は何故循環する必要があるのか?循環のスピードを決めている要因は何であろうか?」という疑問のもと、カエデマウスを用いて、CD4⁺T細胞に着目し解析した。その結果、「T細胞の全身循環は、生存と機能維持のために、リンパ節の中に存在するlimited niche(限られた微少環境)を探し出し反応するための能動的な過程」であることを見出した。

生体内では、感染時には感染源由来の外来抗原が抗原提示細胞により提示され抗原特異的T細胞の活性化が誘導されるが、実は健康な状態においても生体内に存在する内在性の抗原を抗原提示細胞はT細胞に提示しており、この提示は免疫系の維持に重要であると考えられている。CD69分子は、T細胞の活性化時に一過性に発現する活性化マーカーであると共に、メモリーT細胞のマーカーとしてもしばしば用いられる⁷⁾。さらに、I型インターフェロンのシグナルはCD69の発現誘導を介してスフィンゴシン1リン酸受容体(S1P1)をdown regulationすることでリンパ器官からのT細胞移出を抑制することが報告されている⁸⁾。それでは、非刺激の正常マウスにおいて、CD4⁺T細胞のCD69発現はどのように制御されているのだろうか。まず、CD4⁺T細胞中のCD69陽性細胞の頻度を調べてみると、脾臓およびリンパ節では10-15%であったのに対し、血液中およびリンパ液中のCD4⁺T細胞はCD69をほとんど発現していなかった。CD4⁺T細胞は、内在性抗原との応答性が低いと考えられるナイーブT細胞、内在抗原との反応性が高いと考えられるメモリーフェノタイプ

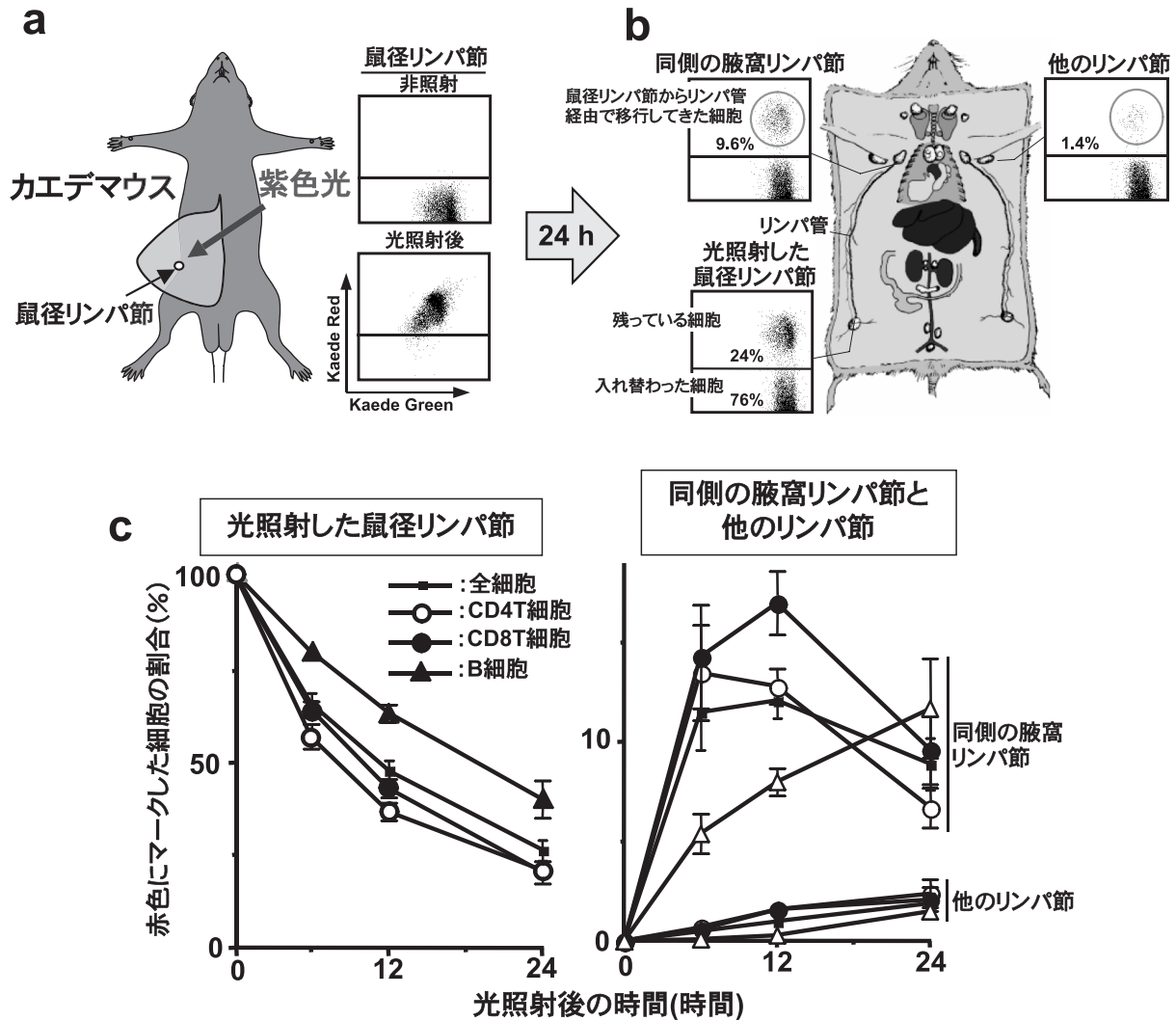


図3 カエデマウスを用いた免疫細胞の全身動態解析

a) 鼠径リンパ節に紫光を照射後、リンパ節を摘出してフローサイトメトリーで解析した。非照射では Kaede Red のシグナルは検出されないが、照射後では全ての細胞で Kaede Red のシグナルが検出された。b) 鼠径リンパ節を照射してマウスを24時間生かしておいた後に解析した。照射した鼠径リンパ節には24% (光変換によりマークされた細胞) が残っており、76%の細胞 (マークされていない細胞) が入れ替わっていた。同側の腋窩リンパ節ではマークした細胞が9.6%、他のリンパ節では1.4%検出された。c) 鼠径リンパ節に紫光を照射して図に示す時間後に、リンパ節を摘出した後、各細胞サブセットの細胞表面マーカーにより標識後、フローサイトメトリーで解析した。グラフには各リンパ球サブセットに分画後のマークした細胞の頻度を示す。

(MP) T細胞、そして同じく内在性抗原との反応性が高いと考えられ免疫応答の抑制に働いている制御性T細胞に大きく分けられる。それぞれのCD69の発現は、制御性T細胞(CD25⁺)およびMP細胞(CD62L^{low}CD44^{high})では40%程度、ナイーブT細胞(CD25⁻CD62L^{high}CD44^{low})も10%弱と、内在性抗原との反応性の高さと相関していた。我々はさらに、生体内のT細胞のCD69の発現は内在性抗原と反応していることの一つの指標として用いることができること、並びにCD4⁺T細胞のCD69発現は可逆的であることを明らかにした。そこで、これらの知見を元に、「CD69発現を指標にした内在性抗原との反応とT細胞動態の関

連性」を、カエデマウスを用いて解析した。

データは割愛するが、以下、制御性T細胞の動態および各画分のCD69発現頻度は、MP細胞のそれとほぼ同様であった。図3同様、鼠径リンパ節を照射して細胞をマークし24時間後に、照射したリンパ節の細胞を調べた。その結果、マークした細胞がMP細胞は49%残っていたのに対し、ナイーブT細胞では16%しか残っていなかった。そして、CD69発現はリンパ節に留まっている細胞で高く、入れ替わった細胞では低く、この傾向は、ナイーブおよびMP細胞で同様であった。この結果は、CD69発現が高い細胞はリンパ節に留まりやすいことを示している

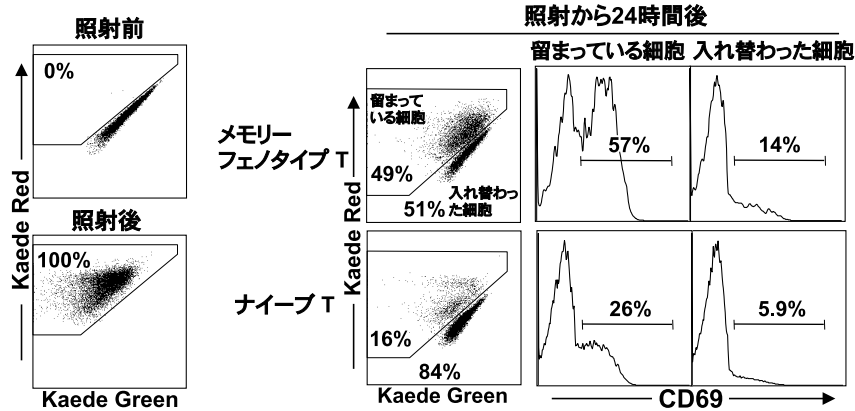


図4 CD69を発現しているCD4 T細胞はリンパ節に留まりやすい。
 図3同様、鼠径リンパ節を光照射した。光照射によりリンパ節中の全ての細胞がマークされた(左)。照射して24時間後の照射したリンパ節のCD4⁺メモリーフェノタイプおよびナイーブT細胞のKaede signalおよび照射時から照射したリンパ節に留まっている細胞と入れ替わった細胞それぞれの、CD69発現を示す(右)。

(図4)。そこで次に図3同様、鼠径リンパ節を光照射して細胞をマークした後、経時変化を調べた。すると、マークしたリンパ節で50%の細胞が入れ替わるのに要する時間は、MP細胞は24時間であるのに対し、ナイーブT細胞は6時間と大きな差があった(図5a)⁹⁾。マークしたリンパ節から下流のリンパ節に移行したマークした細胞の頻度の時間経過は、入れ替わりの速度と相関しており、入れ替わりの早いナイーブT細胞のピークの方が、MP細胞のそれより早かった(図5a)。

光照射したリンパ節から下流のリンパ節に移行した細胞のCD69発現は時間経過と共に増加した。このCD69発現細胞の頻度上昇が、CD69陽性細胞が徐々に移行していったためか、あるいは、CD69陰性細胞がリンパ節に移行後にCD69を発現したのかを、S1P1アゴニストであるFTY-720を投与しリンパ球移行を停止させて解析した。その結果、リンパ節からCD69陰性細胞が移出し、次のリンパ節に移行後にCD69の発現が誘導されることが明らかになった。

次にCD69を発現している細胞としていない細胞の機能の違いを調べるために、ナイーブT細胞をCD69陽性とCD69陰性細胞画分に分離し、固相化抗CD3抗体で刺激したところ、CD69陽性細胞はCD69陰性細胞よりも、早期にかつ大量のIL-2およびTNF-αを産生した。この結果は、CD69陽性細胞は、応答に必要な刺激の閾値が低いこと、およびより早い機能発現が可能であることを示している。

一般的にCD4⁺T細胞は、抗原提示細胞上に発現する主要組織適合性抗原(MHC)クラスII分子+ペプチドを認識することで刺激される。そこで最後に、リンパ節の中に存在する定常時にCD4⁺T細胞に刺激を与えている limited niche (限られた微少環境)について検討した。カエデマ

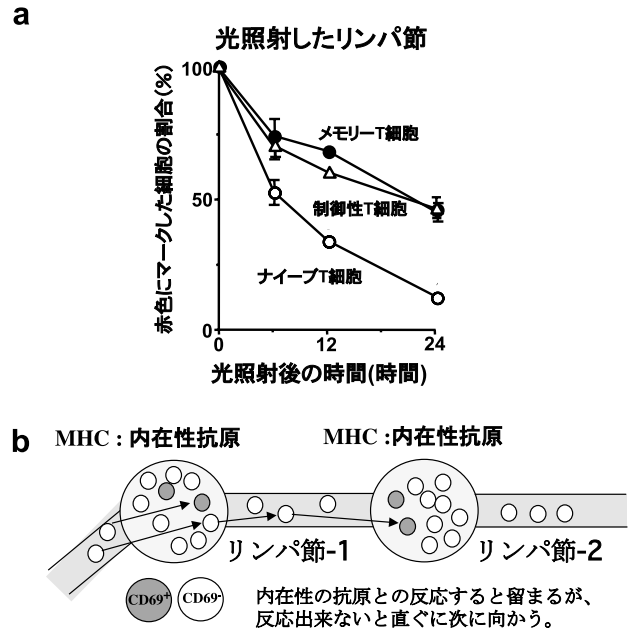


図5 リンパ球各サブセットの一つのリンパ節における入れ替わりと入れ替わり速度を決定している一つのメカニズム
 a) 図3同様、鼠径リンパ節に紫光を照射して図に示す時間後に、リンパ節を摘出した後、各細胞サブセットの細胞表面マーカーにより標識後、フローサイトメトリーで解析した。b) リンパ管や血管からリンパ節に移行したT細胞は、MHC+内在性抗原と反応できると、CD69を発現してそのリンパ節に留まるが、反応できなかった場合には直ぐにそのリンパ節を移出し、次のリンパ節に向かう。このMHC+内在性抗原との反応性の違いがナイーブ、メモリー、制御性T細胞の全身循環速度を決定している一つの要因であると考えられる。

ウス由来CD4⁺T細胞をMHCクラスII欠損マウスおよび野生型マウスに移入し、3日後に鼠径リンパ節に光照射し12時間後にナイーブT細胞を解析した。その結果、MHCクラスII分子を介したシグナルは、CD4⁺T細胞のCD69発現とリンパ節でのretentionに必要十分であることが示

された。

以上の結果をまとめると、CD69 陰性細胞が体液中からリンパ節に移入し、リンパ節内で生体内抗原と反応できた細胞は生存と機能維持のシグナルを受けるとともに CD69 を発現し、そのリンパ節に一定時間留まる。そして、CD69 陰性になると、そのリンパ節から移出し次のリンパ節に向かう。このように、T 細胞の全身循環は、T 細胞が生存と機能維持のために、リンパ節の中に存在する limited niche である MHC クラス II 分子+内在性抗原ペプチド複合体を探し出し反応するための能動的な過程であることを明らかにした (図 5b)。以上のように内在性抗原との相互作用の程度とリンパ節での入れ替わり速度は密接に相関している。その結果、内在性抗原と反応し難いナイーブ T 細胞の生体内再循環速度は速く、内在性抗原と反応し易いメモリーフェノタイプ T 細胞および制御性 CD4⁺ T 細胞は相対的に遅い速度で全身を循環していることを明らかにした。

6. 皮膚から所属リンパ節に移行する制御性 T 細胞

正常時において、皮膚には外界からの抗原をリンパ節に運搬する樹状細胞だけでなく、免疫反応を抑制し免疫恒常性を保つのに重要な制御性 T 細胞が存在している。皮膚からリンパ系に移動する細胞の解析は、大動物であるヒツジなどでしか行えず、さらにこれら大動物の細胞を詳細に解析するための試薬などが整っていないために、ほとんど進んでいない¹⁰⁾。そのため、正常時、あるいは炎症時に皮膚からリンパ系に制御性 T 細胞は移動しているのか否か、

移動しているとすればどれ位の数の細胞が移動しているのか、そして、皮膚からリンパ系に移動する制御性 T 細胞の免疫応答制御における役割は、全くと言っていいほど分かっていない。皮膚からリンパ系に移動する細胞を追跡するために、カエデマウスの腹部の毛を剃った後、紫色の光を当て、皮膚組織および皮膚に存在している免疫細胞を赤色にマークした (図 6)。そして、24 時間後に光を当てた皮膚の範囲から免疫細胞が移動してくる所属リンパ節である腋窩リンパ節を解析した。すると、皮膚からリンパ節に移動する細胞は、樹状細胞と CD4⁺ T 細胞が約半数ずつを占めていた。さらに検討し、皮膚から移動してくる CD4⁺ T 細胞の約 1/5 は、Foxp3⁺ 制御性 T 細胞であることを初めて見出した。

そこで次に、正常状態から皮膚炎症時になると、皮膚から移動してくる細胞がどのように変化するのかを調べるために、接触性皮膚炎モデルを使って皮膚炎症部位からリンパ節に移動してくる細胞を解析した。背部に dinitrofluorobenzene (DNFB) を感作して 5 日後に、腹部に DNFB を塗布し接触性皮膚炎を惹起した。そして、惹起 2 日目に接触性皮膚炎部位の細胞を光照射によりマークし、24 時間後に所属リンパ節の細胞を解析した。その結果、正常時に比べ、皮膚からリンパ節に移動してくる Foxp3⁺ CD4⁺ T 細胞は約 5 倍に増えていたが、制御性 T 細胞は約 20 倍にまで増加していた。その結果、皮膚から移動する T 細胞の約半分を Foxp3⁺ 制御性 T 細胞が占めるまで増加した⁵⁾。

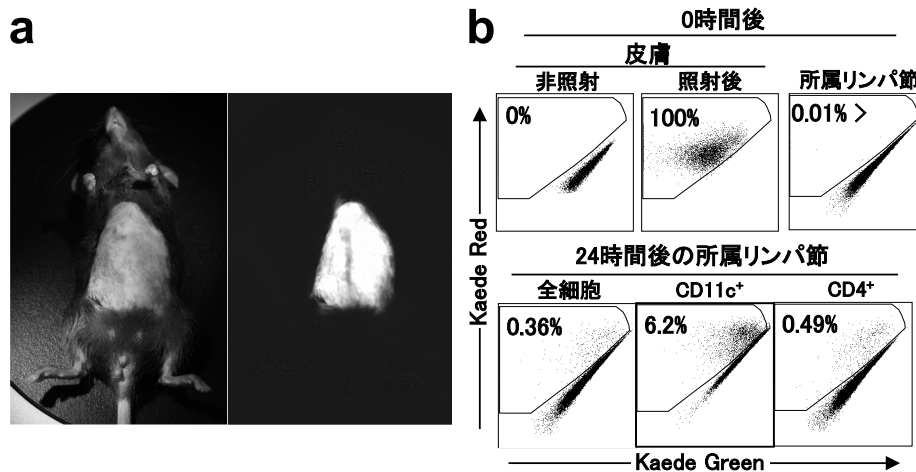


図 6 カエデマウス腹部皮膚組織および皮膚リンパ球の光照射によるマーキングと皮膚からの所属リンパ節に移行する免疫細胞移動の検出

a) (左) 光照射したい部位を剃毛。(右) 剃毛した腹部を照射。光照射部位が赤色にマークされている。赤色のシグナルを白色で示す。

b) 非照射および光照射した皮膚に存在する免疫細胞、および所属リンパ節の免疫細胞を解析した。光照射により、照射部位の全ての細胞はマーキングされる。マーキングして 24 時間後に所属リンパ節の全細胞、CD11c⁺および CD4⁺画分に gating してマーキングした細胞を検出した。

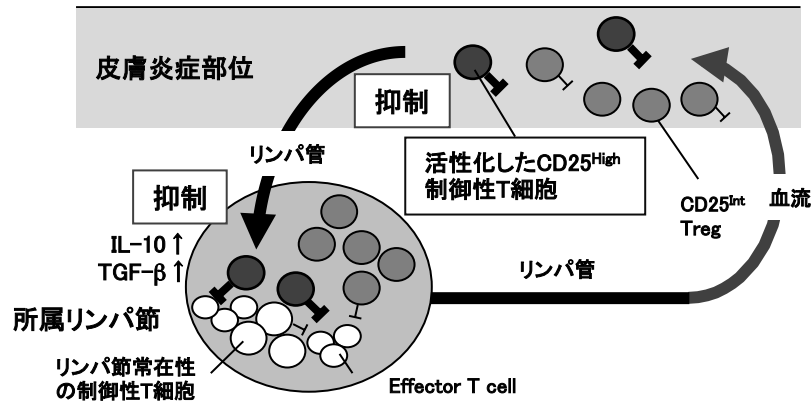


図7 接触性皮膚炎終息における活性化した制御性T細胞の機能と動態
皮膚炎症時には活性化された強い抑制活性を有するTregが皮膚において生成し、皮膚炎症部位—リンパ節—皮膚炎症部位と再移行しながら、リンパ節と皮膚炎症部位の両方でIL-10などの抑制性サイトカイン産生と強い増殖抑制活性により、接触性皮膚炎の終息に貢献していると考えられる。

7. 炎症部位からリンパ節に移動する強い抑制作用を持つ制御性T細胞が、免疫炎症の終息に重要

そこで、皮膚炎症の終息における、制御性T細胞の役割を調べた。この接触性皮膚炎モデルでは、炎症は時間が経過すると収まるが、制御性T細胞を1/4に減らしたマウスを使って皮膚炎を起こすと、皮膚炎は時間を経過しても全く終わらず継続した。この結果から、炎症の終息に制御性T細胞は必須の働きをしていることが分かった。

上記の、皮膚炎症部位から移動するCD4⁺T細胞の半分を制御性T細胞が占めるまで増加するという結果と、皮膚炎終息に制御性T細胞が重要であるという結果から我々は、皮膚炎症部位から移動してくる制御性T細胞についてさらに解析した。その結果、皮膚炎症部位からリンパ節に移動してきた制御性T細胞は、リンパ節に存在する制御性T細胞に比べ、*in vitro*での抗原特異的T細胞増殖反応を約10倍強く抑制した。さらに、分離した制御性T細胞を直接、皮膚炎症部位に注射したところ、やはり、皮膚炎症部位からリンパ節に移動した制御性T細胞を投与した方が強く接触性皮膚炎を抑制した。これらの結果から、皮膚炎症部位からリンパ節に移動した制御性T細胞は強い免疫抑制活性を持ち、所属リンパ節および炎症が起こっている皮膚の両方で炎症の抑制に働いていると考えられた⁵⁾。

解析をさらに進めると、皮膚炎症部位から移動する制御性T細胞には活性化した細胞が含まれており、この活性化した制御性T細胞は、IL-10、TGF-βなどの免疫抑制性物質を産生していることが分かった。さらに、この活性化した制御性T細胞は、炎症惹起後、一過性に皮膚炎症部位から移動してくること、そして、所属リンパ節から皮膚炎症部位に移行していることが分かった。

以上のように、皮膚炎症部位からは、強い免疫抑制活性を持つ活性化した制御性T細胞がリンパ節に大量に移動し、さらに炎症部位へと循環しながら免疫応答を抑制し、皮膚炎の終息に貢献していると考えられた(図7)^{5,11)}。免疫応答部位から所属リンパ節に移行する細胞は、上記のように強い活性を有している。従って、これらの知見をさらに発展させると、病変部位から所属リンパ節を含む全身に移行する免疫細胞が、免疫応答が終息、あるいは悪化し慢性化するか、Th1応答あるいはTh2応答優位になるかなど臨床症状の質の決定に重要な役割を果たしている可能性、という病態形成を考察する上で重要な視点を得ることができる。

結 語

以上紹介したように、カエデマウスを用い免疫細胞の生体内動態、および生体内で何処から移動してきたのか、という位置情報を加えた免疫応答解析は、新しい概念の提唱に繋がる。カエデマウスは*in vivo*での細胞移動を理解する強力なツールであり、我々は生体内の細胞動態を当に目で見ているように理解できる方法を手にしたと考えている。現在我々は、当評価系の特徴を生かし、定常状態における皮膚および腸管樹状細胞の時空間的制御、免疫応答初期における末梢組織から所属リンパ節への抗原提示細胞の移動とT細胞活性化、さらにウイルス感染時のメモリー形成・維持過程、そして、末梢免疫系と腸管免疫系間の相互作用を細胞動態の観点から解析を進めている。免疫細胞の全身レベルでの時間空間的な制御という視点に立った免疫系の理解は、免疫学に留まらず、生命現象理解のための新たな視点を加えることができると考えている。

文 献

- 1) Gowans, J.L. (1959) *J. Physiol.*, **146**, 54-69.
 - 2) Stekel, D.J., Parker, C.E., & Nowak, M.A. (1997) *Immunol. Today*, **18**, 216-221.
 - 3) Ando, R., Hama, H., Yamamoto-Hino, M., Mizuno, H., & Miyawaki, A. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **99**, 12651-12656.
 - 4) Tomura, M. *et al.* (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **105**, 10871-10876.
 - 5) Tomura, M. *et al.* (2010) *J. Clin. Invest.*, **120**, 883-893.
 - 6) 戸村道夫 (2008) 感染・炎症・免疫, **38**, 308-316.
 - 7) Testi, R., D'Ambrosio, D., De Maria, R., & Santoni, A. (1994) *Immunol. Today*, **15**, 479-483.
 - 8) Shiow, L.R. *et al.* (2006) *Nature*, **440**, 540-544.
 - 9) Tomura, M., Itoh, K., & Kanagawa, O. (2010) *J. Immunol.*, **184**, 4646-4653.
 - 10) Mackay, C.R., Kimpton, W.G., Brandon, M.R., & Cahill, R.N. (1988) *J. Exp. Med.*, **167**, 1755-1765.
 - 11) Matsushima, H. & Takashima, A. (2010) *J. Clin. Invest.*, **120**, 653-656.
-