濾胞内樹状細胞(FDC)の抗原捕捉・保持機能の病理

増田 昭博, 笠島 武

東京女子医科大学第二病理

はじめに

Follicular dendritic cell (FDC)は、リンパ濾胞に存在して、抗原を抗原抗体複合体の形で長期に渡って保持する。リンパ濾胞胚中心の機能は近年に至ってその詳細が解明されてきたが、これとともにFDCの捕捉、保持する抗原が胚中心の機能において重要な役割を果たしていることが明らかになってきている。胚中心内では、より affinity の高い抗体を産生する細胞を選択する際、FDC表面の抗原との結合を基準としてB細胞が選択されると考えられている¹⁾。その結果、胚中心は記憶細胞並びに抗体産生細胞を産生するのであるが、B及びTの夫々の記憶細胞がどのように維持されるか、ということに関する種々の報告は、免疫学的記憶の維持が長期に渡って生存する記憶細胞の機能によるものというよりは、むしろ持続する抗原の刺激による機能であるという事を支持している²⁾。この持続する抗原保持の唯一の場所はFDCの表面にほかならない。また血中の抗体価に関してもFDCの保持する抗原が、その維持のために重要である^{3,4)}。免疫系の維持におけるその重要性から考えれば、FDC機能の異常が種々の免疫学的異常をもたらすであろうということは容易に推測しうる。そのような例としては老化マウスの免疫異常とFDCの機能異常の関係が既に指摘されている^{5,6)}。HIV感染の実験モデルとして、LP-BM5 マウス白血病ウイルスの感染によるMAIDS (MurineAIDS)が知られており、免疫学的異常の点でHIV感染との類似点が多い^{7,8)}。またMRLマウスは自己免疫疾患のモデル動物として知られており⁹⁾、Lupus様の症状を示し、MAIDS類似の免疫系の異常を呈する¹⁰⁾。これらの免疫異常を示す疾患モ

デルにおけるFDCの機能的な変化を見ることは、FDC機能の解析に有用であると考えられる。

FDCの抗原捕捉・保持機能の定量的解析

in vivoにおける、このFDC機能の解析の方法は、放射性同位元素を標識した抗原によるもので、これによって抗原の捕捉量の定量的な解析が可能である¹¹⁾。2次反応における変化を見る為に、抗原の投与による免疫と、特異抗体の腹腔内注射による受動免疫の両者を用いる。免疫したマウスのfoot padに¹²⁵Iを標識した抗原を注射して、6日後に屠殺しdraining lymph nodeと脾臓を取り出してγカウンタで計測して、捕捉された抗原量を定量する。このときオートラジオグラフィーを行うと、¹²⁵Iを標識した抗原を投与して数日後には濾胞内のみに抗原が観察される¹¹⁾。

MAIDSにおけるFDCの機能と形態

MAIDSにおけるFDCとリンパ濾胞の形態的な変化について、FDCに特異的なモノクロナル抗体であるFDCM1¹²⁾を用いて免疫組織化学的に観察すると、ウイルスの投与後28日目、リンパ節では、FDCのネットワークが疎になるとともに、リンパ濾胞の形態に崩れが見られるようになる。ウイルスの投与後28日目の脾臓では、FDCのネットワークは認められない。4ヶ月目のリンパ節ではFDCのネットワークは見られず、濾胞としての構造は殆ど見られない(Masuda A, Burton GF, Szakal AK, Tew JG, 投稿中)。

機能に与える影響として、感染前に捕捉保持されていた抗原が、感染によってどのような影響を受けるかを見るために、ヒトアルブミン(HSA)で

表1 LP-BM5 によっておこる MAIDS (Murine AIDS) の脾臓の FDC の形態の変化と、リンパ濾胞内の T cell subset の分布の関係

感染後日数		未処置	BM5 ¹⁾	抗CD8+BM5 ²⁾
day14	dest. ³⁾	—	+	
	CD4 ⁴⁾	+	++	
	Thy1 ⁵⁾	+	+	
	CD8 ⁶⁾	+	+	
day21	dest.	—	++	++
	CD4	+	+++	+++
	Thy1	+	+	+
	CD8	+	+	—
day28	dest.	—	+++	
	CD4	+	++++	
	Thy1	+	+	
	CD8	+	+	

- 1) BM5：LP-BM5 感染群
2) aCD8+BM5：抗 CD8i.p.により CD8 陽性細胞を枯渇させた後 LP-BM5 を感染させた群
3) dest.：FDC 並びにリンパ濾胞の形態の破壊の程度（—：認められない～++++：著明）
4) CD4, 5) Thy1, 6) CD8：それぞれリンパ濾胞内に分布する細胞の数を示す（—：認められない～++++：極めて多数, *：CD8 陽性細胞は極く少数のみ）

active に免疫したマウスに、¹²⁵I 標識の H S A を注射し、その後ウイルスを感染させて、経時的にリンパ節に保持されている抗原量を計測し、同時に血清中の特異抗体価の変化を見た¹³⁾。21日目からコントロール（非感染群）と比較して保持されている抗原量の低下が認められ、44日までにはコントロールの20%まで減少する。ややおくれで特異抗体価も著減していく。また感染後にあらたな免疫複合体が入ってきたときにこれを捕捉する能力はどうなるかについて検討するため、ウイルスを投与した後、受動免疫を行って、その翌日に¹²⁵I ラベルの H S A を注射、一週間後に捕捉された抗原量をみるという実験を、感染していないマウスをコントロールとして、経時的に行った¹³⁾。リンパ節の抗原捕捉は4週間に至ってコントロールの20%までに減少している。同様に脾臓でも4週間までには殆ど抗原捕捉の能力を失う。MAIDS に於いても F D C とリンパ濾胞の形

態的な破壊を認め、これに先立って機能の低下が出現するのが観察された。

MAIDS の F D C の形態と機能変化と T 細胞

F D C の破壊を来たす原因に関しては不明であるが、H I V 感染では CD8 陽性細胞が、破壊の進行しつつある胚中心に多数認められることが報告されている¹⁴⁾。そこで MAIDS でリンパ濾胞における T 細胞サブセットの分布の変化を免疫組織化学的に観察してみると(表1)、破壊の兆候が出てきた胚中心においても、CD8 陽性細胞の集積はみられない。抗 CD8 抗体の投与によって、CD8 陽性細胞を枯渇させた後にウイルスを打っても MAIDS は発症し、リンパ濾胞と F D C の形態的な破壊を見る。しかし、CD4 陽性細胞が胚中心内に増加してくるのを観察することができる。MAIDS では病期が進むに従って、CD4 陽性、Thy1 陰性という特異な形質をもつ T 細胞が

増加してくることが既に報告されている¹⁵⁾。リンパ濾胞で増加してくるT細胞もこの形質を示しており、このT細胞が、FDCとリンパ濾胞の形態の変化になんらかの役割を果たしている可能性が考えられる。

ウイルス蛋白の局在と MAIDS

AIDSのウイルスのgag proteinのp12及びp30に対する抗体を用いて、ウイルス蛋白の胚中心における局在を免疫組織化学的に観察すると、脾臓において感染後第1日と3日目に胚中心内の網状の陽性像があり、FDCに陽性所見と考えられる。その後は、網状陽性像は認められなくなる。ウイルスを投与しても発症しない系統のマウスであるA/Jでは主として14日目に降から陽性となる(表2)。これらのことから初期における脾臓胚中心FDCのウイルスの捕捉がMAIDSの発症に何らかの役割を果たしていることが推測される。HIV感染ではFDC表面にウイルスが認められており、ウイルスのreservoirとしての機能が注目されているが¹⁴⁾、MAIDSはこのようなFDCの機能の解析についても有用なモデルであると思われる。

MRLマウスの抗原捕捉機能と形態について

MRLマウスのFDCの機能を見るため、MRL/Mp-lpr/lprに受動免疫を行って、その翌日に¹²⁵I標識の抗原を注射、一週間後に、捕捉された抗原量を定量するという実験を経時的に行った。コントロールとしてMRL/Mp-+/+を用いた。6週齢のリンパ節においてすでに捕捉機能の低下が認められる(表3)。免疫組織化学では、12週に於いて既にFDCのネットワークは認めがたくなっており、更に16週齢においては脾臓、リンパ節の両者において、オートラジオグラフィーで、grainの局在はみられない。このようにMRLマウスでもFDCの機能と形態の異常が認められることがわかった。

おわりに

種々の免疫異常を示す疾患モデルである、MAIDSやMRLマウスでも、FDCの機能異常が見られることがわかった。これらのモデルは、FDC機能異常と免疫異常の関係を探るうえで有用なものと考えられる。FDCが障害される機序は不明であり、この点に関しても、今後の検討が必要である。

表2 LP-BM5 感染後の脾臓胚中心内の viral protein (gag protein: p12, p30)の分布の変化: susceptible strain (C57BL/6)と resistant strain(A/J)の比較

C57B6	Days after inoculation						
		1	3	7	14	21	28
mouse 1	p12	+	-	+	\$	\$	\$
	p30	+	-	未検	-	\$	\$
mouse 2	p12	+	+	+	\$	\$	\$
	p30	++	-	未検	-	\$	\$

A/J	Days after inoculation						
		1	3	7	14	21	28
mouse 1	p12	+	-	-	+	-	+
	p30	-	-	-	-	+	+
mouse 2	p12	-	-	-	+	+	-
	p30	-	-	-	-	+	-

p12とp30に対する抗体を用いた酵素抗体間接法で観察。

\$: 多数のリンパ球に陽性(FDCは陰性)

+: 胚中心に網状陽性像をみる

+*: 胚中心内に弱い網状陽性像

-: 胚中心内に陰性

表3 MRLマウスリンパ節の抗原捕捉・保持機能の定量

週齢	lpr/lpr		+/+	
	trap	ARG	trap	ARG
6 wk	12700±2700	+	17400±1000	+
11 wk	13500±2400	未検	26900±3200	未検
16 wk	3300±700	-	9400±500	+

MRL/Mp-lpr/lpr (lpr/lpr)に受動免疫を行って、その翌日に¹²⁵I標識の抗原を注射、一週間後に、捕捉された抗原量を定量。コントロールとしてMRL/Mp-+/+ (+/+)を用いた。

trap: 数値はcpmで表示 (HSA量に換算せず。)

ARG: オートラジオグラフィーで、胚中心にgrainの局在を見るものを+とし、見ないものを-とした。

文 献

- 1) MacLennan ICM: Germinal center. *Annu Rev Immunol* 12:117-139 1994
- 2) Gray D: Immunological memory. *Annu Rev Immunol* 11:49-77 1993
- 3) Tew JG, Phipps RP and Mandel TE: The maintenance and regulation of the humoral immune response: persisting antigen and the role of follicular antigen-binding dendritic cells as accessory cells. *Immunol Rev* 53:175-201 1980
- 4) Donaldson SL, Kosco MH, Szakal AK and Tew JG: Localization of antibody-forming cells in draining lymphoid organs during long-term maintenance of the antibody response. *J Leukoc Biol* 40:147-157 1986
- 5) Burton GF, Kosco MH, Szakal AK and Tew JG: Iccosome and the secondary antibody response. *Immunology* 73:271-275 1991
- 6) Szakal AK, Kosco MH and Tew JG: Microanatomy of lymphoid tissue during humoral immune responses: structure function relationships. *Annu Rev Immunol* 7:91-109 1988
- 7) Hartley JW, Fredrickson TN, Yetter RA, Makino M and Morse HC III: Retrovirus-induced murine acquired immunodeficiency syndrome: Natural history of infection and differing susceptibility of inbred mouse strains. *J Virol* 63:1223-1231 1989
- 8) Mosier DE: Animal model for retrovirus-induced immunodeficiency disease. *Immunol Invest* 15:233-261 1986
- 9) Theofilopoulos AN and Dixon FJ: Murine models of SLE. *Adv Immunol* 37:269-390 1985
- 10) Via CS, Morse HCI and Shearer GM: Altered immunoregulation and autoimmune aspects of HIV infection: relevant murine model. *Immunol Today* 11:250-255 1990
- 11) Mandel TE, Phipps RP, Abbot A and Tew JG: The follicular dendritic cell: long term antigen retention during immunity. *Immunol Rev* 53:3-28, 1980
- 12) Kosco MH, Pflugfelder E and Gray D: Follicular dendritic cell-dependent adhesion and proliferation of B cells in vitro. *J Immunol* 148:2331-2339 1992
- 13) Masuda A, Burton GF, Fuchs BA, Bhogal B, Rupper R, Szakal AK and Tew JG: Follicular dendritic cell function and murine AIDS(MAIDS). *Immunology* 81:41-46 1994
- 14) Piris MA, Rivas C, Morente M, Rubio C, Martin C and Olivia H: Persistent and generalized lymphadenopathy: a lesion of follicular dendritic cells? An immunohistologic and ultrastructural study. *Am J Clin Pathol* 87:716-724 1987
- 15) Holmes KL, Morse HC3, Makino M, Hardy RR and Hayakawa K: A Unique subset of normal murine CD4+ T cells lacking Thy-1 is expanded in a murine retrovirus-induced immunodeficiency syndrome, MAIDS. *Eur J Immunol* 20:2783-2787 1990