

[要約]

**Induction of bronchus-associated lymphoid tissue is an early life adaptation
for promoting human B cell immunity**

(幼少期における気管支随伴リンパ組織の導入は、液性免疫促進のための適応機構である)

千葉大学大学院医学薬学府
先端医学薬学専攻
(主任：大塚将之教授)
松本玲

【背景】

幼少期では、多くの呼吸器病原体に対する T 細胞や B 細胞の免疫記憶がまだ形成されていない。これらの免疫記憶は、繰り返される病原体からの暴露によって形成されていくものである。しかし、多くの小児は、全容が解明されていない機序によって、新しく出会う病原体からの感染を乗り越えることができる。マウスでは、呼吸器病原体に感染すると、肺リンパ節にて抗原特異的な T 細胞や B 細胞が活性化され、肺リンパ節の胚中心にて形質細胞やメモリー細胞が形成される、といった呼吸器における獲得免疫の機序が報告されている。一方で、人間、特に幼少期の臓器における免疫機序は、サンプルの入手が困難である事もあり、解明が進んでいない。今回のプロジェクトでは、全米の臓器移植ネットワークとのコラボレーションによって、健康な状態に限りなく近い、小児の臓器を研究に用いることに成功した。0—13 歳の小児脳死ドナーの肺や肺リンパ節を用いて、呼吸器免疫の導入と発達を検討した。

【方法】

46 例の脳死小児ドナーからの肺や肺リンパ節を用いた。肺や肺リンパ節は、臓器採取術の大動脈遮断時より 24 時間以内に細胞単位にプロセッシングや、イメージング用にスライスされた。スライスされた切片は、4%PFH で固定・凍結し、免疫組織化学染色を行い、コンフォーカル顕微鏡にて解析した。プロセッシングした肺や肺リンパ節の細胞は、24 色の蛍光標識抗体を用いて Cytek Aurora にて細胞表面マーカーの解析を行った。また、プロセッシングした細胞より B 細胞の DNA を抽出し、B 細胞受容体の DNA シークエンスを行った。

【結果】

免疫染色の結果、生後数週間の肺にはほとんどT細胞やB細胞を認めないことが判明した。また、早くて、生後5ヶ月の肺より、気管支の周囲に多くのリンパ濾胞を認めた。このリンパ濾胞は、気管支随伴リンパ組織（BALT）であり、B細胞と周囲を囲むCD4メモリーT細胞から形成され、気管支と動脈の間に位置していた。BALTは年齢とともに徐々に大きくなり、1歳から3歳の間でピークを迎えた。その後は、濾胞構造が崩れていき、消退傾向となり、10歳前後では、CD4T細胞が気管支周囲を占拠する様になった。さらに、これらのBALTは胚中心も持つことが判明した。胚中心内には、B細胞の分化に不可欠な、activation-induced cytidine deaminase（AID）や、抗原提示細胞の樹状細胞の存在も確認された。

B細胞受容体のDNAシーケンスからは、肺や肺リンパ節には生後1年間で変異レベルの低い、生殖細胞系の若いB細胞が流入していることが判明した。これらのB細胞はその後急速に体細胞変異を蓄積していき、6歳で大人のレベルにまで到達していた。

フローサイトメトリーの解析の結果、肺と肺リンパ節では明確なB細胞サブセットの住み分けがあることが明らかになった。肺では、移行B細胞や胚中心B細胞、活性化したメモリーB細胞や組織常在性メモリーB細胞の割合が有意に高かった。移行B細胞は特に乳児の肺に多くの割合を認め、その後年齢とともに急速に減少した。また、IgG/IgAメモリーB細胞は肺と肺リンパ節にて年齢とともに蓄積していった。感染症で死亡したドナーのB細胞サブセットを解析したところ、感染したドナーの肺で、年齢をマッチングさせたコントロールのドナーの肺よりも、胚中心B細胞、濾胞性B細胞、活性化メモリーB細胞の割合が有意に増加していた。

【考察】

以上の結果より、幼少期の肺には、B細胞の体細胞変異やクラススイッチの場となるような機能的なリンパ濾胞、BALTが存在していることが明らかになった。マウスでは、肺に炎症反応を誘発することによって、病原体の駆逐や免疫記憶の産生が可能なBALTの形成を誘導した報告を認める。人間でもBALTは、幼少期に暴露される多種多様な抗原によって誘発され、肺局所における呼吸器病原体に対する防御機構の役割を担っているのではないかと考えられる。

BALTは年齢とともに消退していくが、それと同時に、クラススイッチしたメモリーB細胞が肺と肺リンパ節に急速に蓄積されていき、6歳ころより主な免疫の場は胚中心の形成が一定した割合で認められるリンパ節に移行していくことが判明した。また、フローサイトメトリーとB細胞受容体のDNAシーケンスの結果より、生後1年間で移行B細胞の様な未熟なB細胞が肺に流入して、BALTの前駆体を形成している可能性が示された。

今回の発見は、BALT形成がピークを迎える年齢での経鼻ワクチンの導入や、BALTを誘導することによってより効率的に病原体を駆逐することができる様なワクチンの開発につながると考えられる。

【結論】

生後1-3年間、肺では、B細胞の分化やクラススイッチの場となる様な、機能的なリンパ濾胞、BALTが形成される。特に免疫記憶が形成されていない生後数年間において、BALTは、重大な、肺における呼吸器病原体に対する防御機構の役割を担っている可能性が示された。