

41. 交感神経によるリンパ球動態制御の生理的意義

鈴木 一博

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 免疫応答ダイナミクス研究室

Key words : リンパ球動態, 交感神経, 免疫応答, 日内変動

緒言

神経系による免疫系の制御機構が存在することは古くから指摘されてきたが、そのメカニズムは現在でもなお十分に理解されていない。そこで我々は、これまで神経系による免疫制御の細胞・分子基盤の解明に取り組んできた。その過程で、リンパ節に投射する交感神経から分泌されるノルアドレナリンが、リンパ球に発現する β_2 アドレナリン受容体を介してケモカイン受容体 CCR7 および CXCR4 の反応性を高めることによって、リンパ球のリンパ節からの脱出を抑制することを見出した¹⁾。しかし、この仕組みが免疫応答においてどのような役割を果たしているのか、その生理的意義は不明であった。

交感神経の活動性は、一般的に身体の活動性に合わせて変動し、ヒトの場合には昼間に、マウスのような夜行性の動物の場合には夜間にピークに達する。そこで本研究では、交感神経活動の日内変動に注目し、我々が見出した交感神経によるリンパ球動態の制御機構の生理的意義を明らかにすることを目的とした。

方法および結果

1. 循環体液中およびリンパ節におけるリンパ球数の日内変動

交感神経活動の日内変動とリンパ球動態の関連性を検討するにあたって、我々は 12 時間の明暗サイクル (8 時点灯、20 時消灯) のもとに管理されているマウス飼育施設で実験を行い、時間の単位として zeitgeber time (ZT) を用いた。ZT は、動物が 1 日のうちで初めて光にさらされる時間を ZT0 と定義する。まず野生型マウスの血液、リンパ液およびリンパ節におけるリンパ球数を一日を通して測定したところ、リンパ球数は血液とリンパ液においては点灯から 5 時間後 (ZT5) にピークに達する一方 (図 1A および B)、リンパ節においては夜間 (ZT13 から ZT17) にピークを迎えることがわかった (図 1C) ²⁾。野生型マウスのリンパ節におけるノルアドレナリンの含有量を測定したところ、ZT17 をピークとする日内変動が認められたことから (図 1D)、交感神経活動の日内変動がリンパ節においても検出されることがわかった²⁾。さらに、6-hydroxydopamine (6-OHDA) を用いて交感神経を除去したマウス、あるいは β_2 アドレナリン受容体の遺伝子欠損マウスでは、血液、リンパ液およびリンパ節におけるリンパ球数の日内変動が消失したことから、リンパ球数の日内変動が交感神経の活動性に依存することが確認された。

リンパ球はリンパ液中に脱出し、リンパ液が血液に合流するのにもなって血流に乗り、血液を介して再びリンパ節に戻るといふかたちで全身を巡っている。我々が得た結果は、交感神経の活動性が高まる時間帯にリンパ球のリンパ節からの脱出が抑制されることを示唆するものであり、我々が明らかにしたモデルともよく一致する¹⁾。

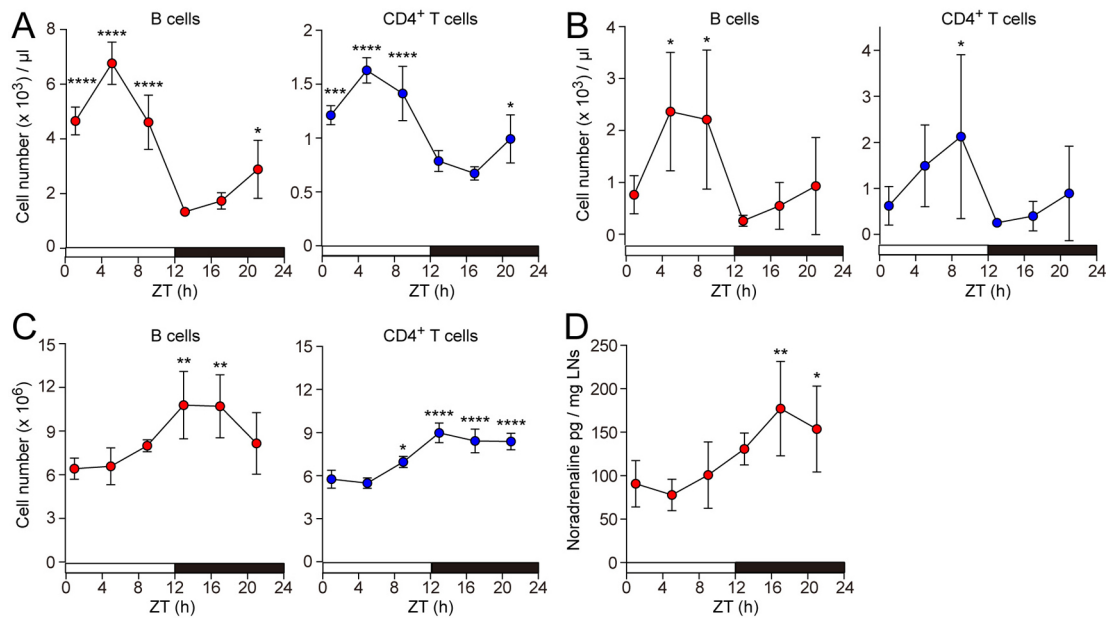


図 1. 循環体液中とリンパ節におけるリンパ球数の日内変動

(A-C) 野生型マウスの血液 (A)、リンパ液 (B) およびリンパ節 (C) における B 細胞および CD4⁺ T 細胞の数。(D) 野生型マウスのリンパ節におけるノルアドレナリンの含有量。データは 4 匹の平均値 ± 標準偏差。*, P < 0.05; **, P < 0.01; ***, P < 0.001; ****, P < 0.0001 (one-way ANOVA)。

2. リンパ球のリンパ節からの脱出における日内変動

そこで我々は、リンパ球のリンパ節からの脱出における日内変動について検討した。リンパ球のリンパ節からの脱出を評価するにあたっては、リンパ球のリンパ節への進入に必須の $\alpha 4$ および αL インテグリンの中和抗体をマウスに投与することでリンパ球のリンパ節への進入を遮断し、その 12 時間後にリンパ節に残存するリンパ球の数を測定する方法を用いた (図 2A) ³⁾。その結果、ZT13 にリンパ球のリンパ節への進入を遮断した方が、ZT1 に遮断した場合に比べてリンパ節に残存するリンパ球数が多かったことから (図 2B)、交感神経の活動性が高まる夜間にリンパ球のリンパ節からの脱出が昼間に比べて抑制されることがわかった²⁾。さらに、交感神経をマウスの体内から除去する、あるいはリンパ球で β_2 アドレナリン受容体を欠損させることによって、リンパ球のリンパ節からの脱出における日内変動が消失したことから (図 2C および D)、リンパ球のリンパ節からの脱出における日内変動がリンパ球に発現する β_2 アドレナリン受容体を介する交感神経入力に依存することが確認された²⁾。

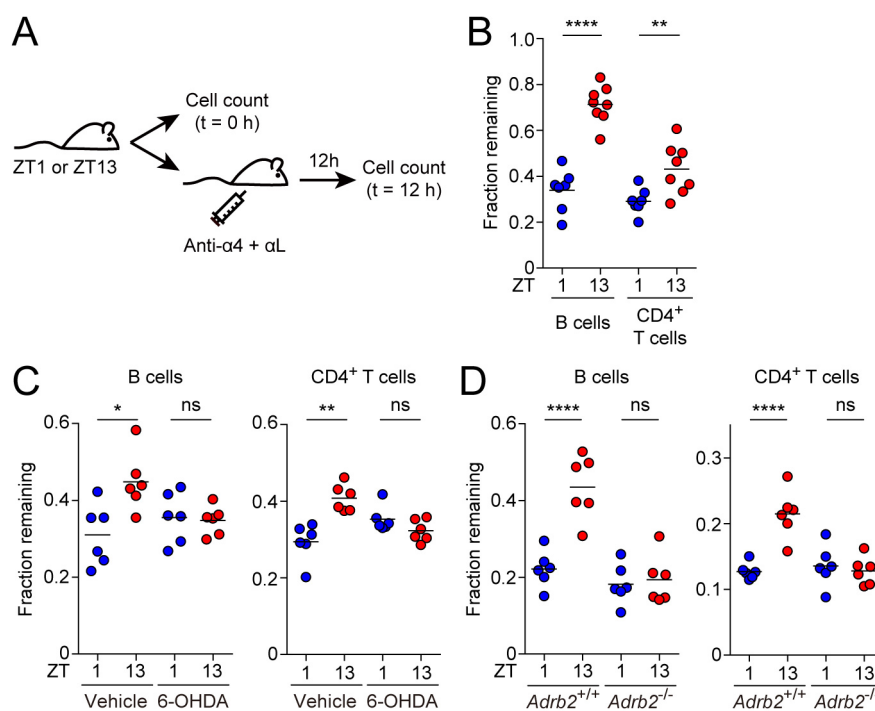


図 2. リンパ球のリンパ節からの脱出における日内変動

(A) ZT1あるいはZT13に $\alpha 4$ および αL インテグリンの中和抗体をマウスに投与することでリンパ球のリンパ節への進入を遮断し、その12時間後にリンパ節に残存するリンパ球の数を測定した ($t = 12h$)。その値と抗体投与前のマウスのリンパ節におけるリンパ球数 ($t = 0h$) との比 (fraction remaining) を算出し、リンパ球のリンパ節からの脱出を評価した。(B) 野生型マウスにおけるB細胞およびCD4⁺ T細胞のリンパ節からの脱出。(C) 6-OHDAを用いて交感神経を除去したマウスにおけるB細胞およびCD4⁺ T細胞のリンパ節からの脱出。(D) β_2 アドレナリン受容体の遺伝子欠損マウス ($Adrb2^{-/-}$) から採取したB細胞あるいはCD4⁺ T細胞を野生型マウスに移入し、それらのリンパ節からの脱出を測定した。各点は1匹のマウスを表す。*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ****, $P < 0.0001$; ns, not significant (unpaired Student's t-test (B), two-way ANOVA (C, D)) .

3. 免疫応答の日内変動

ある任意の抗原を特異的に認識するリンパ球の数は、1個のリンパ節あたり10個程度と見積られる。しかし、このように小さな細胞集団であっても、その規模がリンパ節で誘導される免疫応答の強度に反映される⁴⁾。このことから、我々はマウスのリンパ節においてリンパ球数がピークに達する夜間に免疫を施せば、昼間に比べて強い免疫応答が誘導されるのではないかと考えた。そこで、昼間 (ZT5) あるいは夜間 (ZT17) にモデル抗原をマウスの耳に免疫し、血清中の抗体価およびリンパ節における胚中心B細胞の生成を指標に免疫応答の強度を比較した。その結果、夜間の方が昼間に免疫した場合に比べて血清抗体価の上昇と胚中心B細胞の生成が顕著であった (図3A)²⁾。この免疫応答の日内変動は、交感神経除去マウスあるいは β_2 アドレナリン受容体欠損マウスで消失したのに加えて (図3BおよびC)、リンパ球のリンパ節における出入りを遮断することによっても消失した (図3D)²⁾。したがって、免疫応答の日内変動が、交感神経の活動性とリンパ球のリンパ節を介する体内循環に依存することが確認された。これらの結果から、我々が見出した交感神経によるリンパ球動態の制御機構が、リンパ節における免疫応答の日内変動に寄与することが明らかになった (図4)。

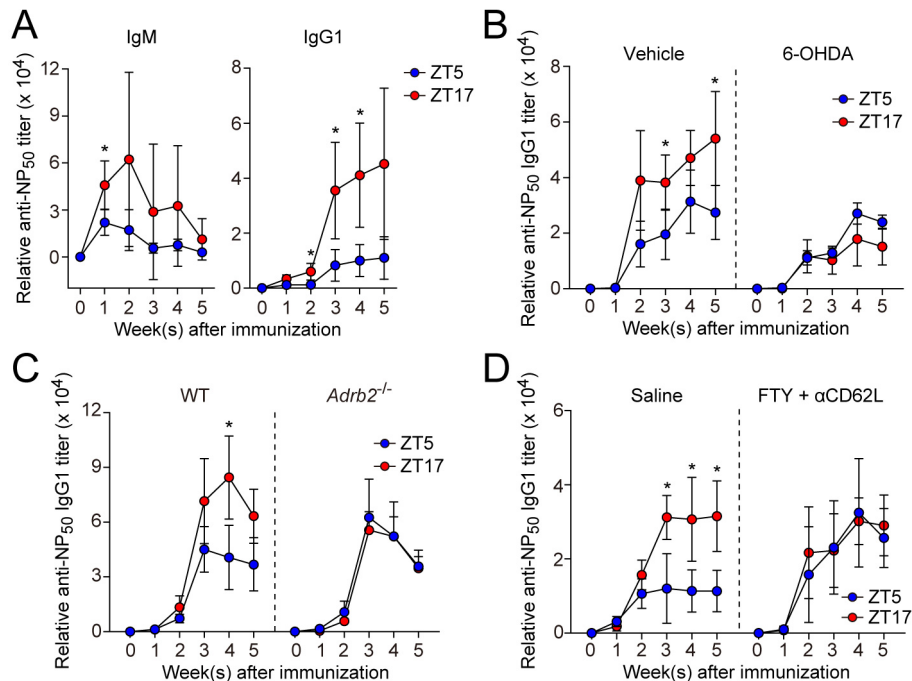


図3. 免疫応答の日内変動

(A) ZT5あるいはZT17にモデル抗原としてnitrophenyl (NP)を付加したニワトリの γ グロブリンを野生型マウスの耳の皮内に免疫し、IgMおよびIgG1型のNP特異的な血清抗体価を測定した。(B, C) 6-OHDAを用いて交感神経を除去したマウス(B)あるいは*Adrb2*^{-/-}マウス(C)を免疫し、NP特異的な血清抗体価を測定した(IgG1型のみを示した)。(D) リンパ球のリンパ節からの脱出に必須のスフィンゴシン1リン酸受容体1型の阻害剤であるFTY720 (FTY)、およびリンパ球のリンパ節への進入を媒介する接着分子CD62Lの中和抗体を野生型マウスに投与し、リンパ球のリンパ節における出入りを遮断した。そのうえでマウスを免疫し、NP特異的な血清抗体価を測定した(IgG型のみを示した)。データは4匹のマウスの平均 \pm 標準偏差。*, $P < 0.05$; ns, not significant (unpaired Student's t-test)。

考 察

交感神経の活動性が高まる時間帯は、身体の活動性の高まりとともに病原体に遭遇するリスクも高まる時間帯である。このような時間帯に、リンパ節においてより強い免疫応答を惹起する準備ができているということは、感染防御の観点から非常に理にかなっており、ここに交感神経によってリンパ球の体内動態が制御されることの生理的な意義があると考えられる。

我々の得た結果は、交感神経の活動性が高く、リンパ節においてより強い免疫応答が惹起される時間帯を選んで感染症ワクチンを接種すれば、より高い予防効果が得られる可能性を示唆している。事実、ヒトの交感神経の活動性が高まる午前インフルエンザワクチンを接種すると、午後ワクチンを接種した場合に比べて血清中の抗体価の上昇が顕著であることが最近報告されている⁵⁾。したがって、我々の研究成果は、免疫応答の日内変動を利用した効果的なワクチン接種法に科学的根拠を与えるものである。

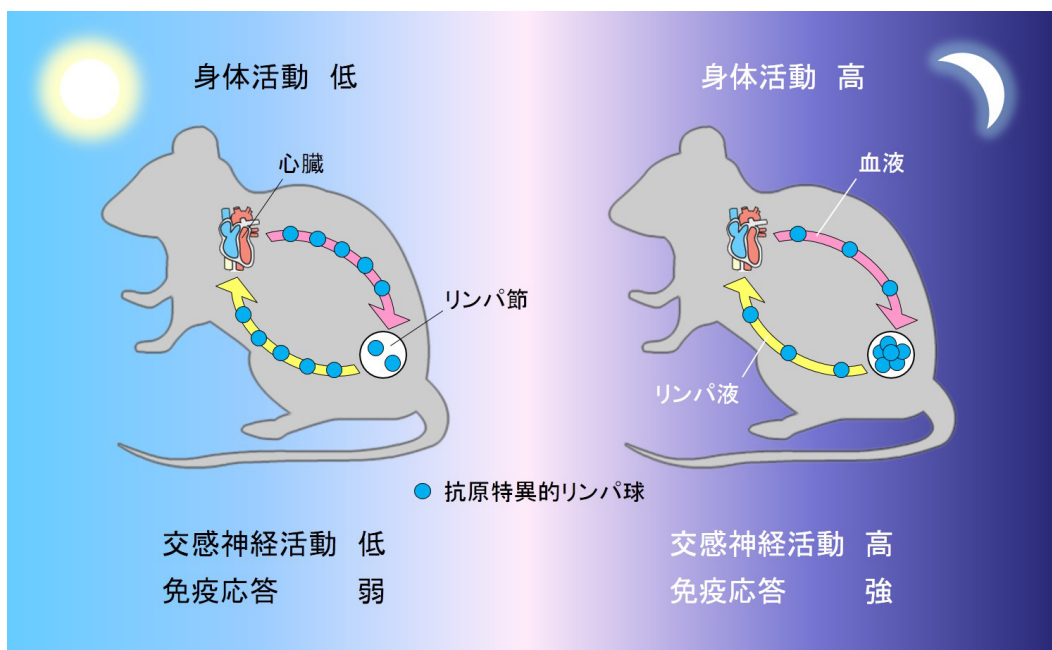


図 4. 交感神経による免疫応答の日内変動の仕組み

1日のうちで交感神経の活動性が高まる時間帯（マウスでは夜間）には、リンパ球のリンパ節からの脱出が抑制され、リンパ球がリンパ節に蓄積する。この時間帯に免疫を施すと、リンパ節におけるリンパ球数の増加を反映して、交感神経の活動性が低い時間帯に比べてより強い免疫応答が起こる。

共同研究者

本研究の共同研究者は、大阪大学免疫学フロンティア研究センターの中井晶子、早野祐紀、古田書郁、横浜市立みなと赤十字病院の野田政樹である。本研究にご支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Nakai A, Hayano Y, Furuta F, Noda M, Suzuki, K. Control of lymphocyte egress from lymph nodes through β 2-adrenergic receptors. *J. Exp. Med.* 2014;211(13):2583-98. doi:10.1084/jem.20141132. PubMed PMID: 25422496.
- 2) Suzuki K, Hayano Y, Nakai A, Furuta F, Noda, M. Adrenergic control of the adaptive immune response by diurnal lymphocyte recirculation through lymph nodes. *J. Exp. Med.* 2016;213(12):2567-74. doi: 10.1084/jem.20160723. PubMed PMID: 27799619.
- 3) Lo CG, Xu Y, Proia RL, Cyster JG. Cyclical modulation of sphingosine-1-phosphate receptor 1 surface expression during lymphocyte recirculation and relationship to lymphoid organ transit. *J. Exp. Med.* 2005;201(2):291-301. doi:10.1084/jem.20041509. PubMed PMID: 15657295.
- 4) Moon JJ, Chu HH, Pepper M, McSorley SJ, Jameson SC, Kedl RM, Jenkins MK. Naive CD4(+) T cell frequency varies for different epitopes and predicts repertoire diversity and response magnitude. *Immunity* 2007;27(2):203-13. doi:10.1016/j.immuni.2007.07.007. PubMed PMID: 17707129.
- 5) Long JE, Drayson MT, Taylor AE, Toellner KM, Lord JM, Phillips AC. Morning vaccination enhances antibody response over afternoon vaccination: A cluster-randomised trial. *Vaccine* 2016;34(24):2679-85. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.04.032. PubMed PMID: 27129425.