

The Immunological Position of Fibroblastic Reticular Cells Derived From Lymph Node Stroma

Jong-Hwan Lee^{1,2*}

¹Department of Biomedical engineering, College of Engineering, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

²Department of Smart Bio-Health, Dong-eui University, Busan 47340, Korea

Received April 22, 2024 / Accepted May 8, 2024

Lymph nodes (LNs) are crucial sites where immune responses are initiated to combat invading pathogens in the body. LNs are organized into distinctive compartments by stromal cells. Stromal cell subsets constitute special niches supporting the trafficking, activation, differentiation, and crosstalk of immune cells in LNs. Fibroblastic reticular cells (FRC) are a type of stromal cell that form the three-dimensional structure networks of the T cell-rich zones in LNs, providing guidance paths for immigrating T lymphocytes. FRCs imprint immune responses by supporting LN architecture, recruiting immune cells, coordinating immune cell crosstalk, and presenting antigens. During inflammation, FRCs exert both spatial and molecular regulation on immune cells through their topological and secretory responses, thereby steering immune responses. Here, we propose a model in which FRCs regulate immune responses through a three-part scheme: setting up, supporting, or suppressing immune responses. FRCs engage in bidirectional interactions that enhance T cell biological efficiency. In addition, FRCs have profound effects on the innate immune response through phagocytosis. Thus, FRCs in LNs act as gatekeepers of immune responses. Overall, this study aims to highlight the emerging roles of FRCs in controlling both innate and adaptive immunity. This collaborative feedback loop mediated by FRCs may help maintain tissue function during inflammatory responses.

Key words : Fibroblastic reticular cells (FRC), gate keeper, setup, support, suppress

서 론

생체는 다양한 기관과 조직으로 구성되며 이들의 최종 단위는 세포이다. 각 기관을 구성하고 있는 세포들도 여러 종류의 세포가 혼재되어 기능을 수행하도록 되어있다. 현미경이 만들어지고 DNA 이중 구조가 밝혀진 이후 분자 세포생물학적 기법의 눈부신 발전과 성능이 향상된 각종 현미경이 개발되어 왔지만 아직까지 생체의 각 기관을 구성하고 있는 세포들의 종류와 기능에 대한 이해가 더디게 진행되고 있다. 이런 진행에는 여러 이유가 있을 수 있는데 조직으로부터 떼어내어 확보한 일차 세포(primary cell)의 배양법이 아직 확립되지 않아 연구가 더딘 것이 한 원인일 수도 있다. 스트로마(stroma)는 동식물의 내부 조직에서 미세포성 혹은 결합 조직성 세포군이나 이것이 만들어낸 기질의 총칭을 말하거나 그 기관 고유의 기능을

영위하거나 지탱 지지하는 세포군을 말한다. 스트로마세포는 단지 기관의 모양을 형성하고 지지하는 세포의 특성만을 보이는 것은 아니며 조직액으로 용해성 인자 분비, 세포외기질(extra cellular matrix, ECM) 생산, 부착 분자 발현, 세포 분화 촉진, 생화학 반응 참여, 그리고 세포자살 등을 유도한다[45]. 생체는 외부의 감염원에 대항할 방어 시스템을 구축하고 있다. 이런 방어시스템 중 가장 보편화된 것이 면역계이다. 면역계 진화 과정을 보면 해양생물인 성게, 갑각류 등과 같은 하등동물에서는 선천성면역(innate immunity)을 통하여 주로 방어면역을 제공하고 있다. 면역계는 경골어류 등에서도 적응면역이 발견되기는 한다. 하지만 조류 이상의 상등 동물군에서 세련되고 특이적 방어 면역을 할 수 있는 선천성 면역(innate immunity)과 적응면역(adaptive immunity)을 모두 포함하고 있다. 인간과 마우스에서 면역계는 면역기관, 면역세포 및 면역조절물질로 면역계를 구성하고 있다. 면역기관은 골수나 흉선과 같은 면역세포의 생성과 성숙이 일어나는 일차성 면역기관과 림프절, 비장, 페이퍼스 패치등과 같이 성숙된 면역세포들이 면역반응을 일으키는 이차성 면역기관(secondary lymphoid organs, SLO)으로 구성된다. SLO 중 림프절은 몸의 여러 부분에 존재하며 cortical region, paracortical area, medullary area로 구획화되어 있다

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-2280, Fax : +82-505-182-6897

E-mail : jonghwanlee@deu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

[35]. Cortical region은 B 세포가 주로 존재하는 곳으로 B zone 이라고도 한다[35]. 이곳에는 B 세포가 형질세포로 분화가 일어나는 활성화 구역인 follicle이 생성되는 곳이기도 하다. Paracortical area는 T 세포들이 있는 곳으로 T zone 이라 하기도 한다[35, 37]. 림프절은 몸으로 침입한 감염원의 정보를 가진 면역세포들이 만나는 장소로 활용된다[20, 31]. 림프절에서 발견되는 세포로는 조혈작용을 통해 생성된 면역세포와 비조혈성 스트로마세포이다. 림프절을 구성하는 스트로마세포는 세포형에 따라 크게 세 가지로 구분할 수 있는데 lymphatic endothelial lymphoid tissue organizer (LTo) cells (LEC), blood endothelial LTo cells (BEC), 그리고 mesenchymal LTo cells (MC)로 나눌 수 있다[29, 37]. LEC는 림프관을 형성과 관련된 주 기능을 하며 림프관이 림프절과 만나는 지점에서 스트로마세포의 기능을 수행한다[29, 37]. 주된 기능을 보면 LEC는 림프절 parenchyma 지역과 림프액과의 경계지점에서 물리적 장벽을 형성하거나 림프액 기원의 물질과 상호작용한다. 림프절로 유입되는 림프관과 림프절 경계지점 부근에 floor LEC (fLEC)와 ceiling LEC (cLEC)등이 있어 피막하동(subcapsular sinus, SCS)을 형성한다[29, 37]. SCS에서 fLEC와 cLEC는 림프액에 포함된 항원을 샘플링하고 SCS 대식세포에 항원의 전달을 지지하는 기능도 가지고 있다. 이처럼 LEC는 기관의 유지 기능 외에 면역반응에도 참여하고 있다.

BEC는 림프절에 존재한다. BEC는 림프절을 관통하는 혈관의 유지보수에 주된 기능을 하는 스트로마세포이다. BEC에는 두 부류의 세포가 알려져 있다. 먼저, 림프절 혈관을 만드는 high endothelial cells (HEC)이라는 세포가 있다. 림프절 외 지역에서 혈관을 만드는 혈관내피세포(endothelial cell)와는 다른 특성을 보이는 스트로마세포이다. 즉, HEC는 peripheral node addressin (PNAd), CCL21, 그리고 glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 (GLYCAM1)의 발현을 통해 naive lymphocyte나 수지상세포(dendritic cell, DC)의 림프절 유입을 촉진하는 기능을 가지고 있다[29, 39]. 외에 다른 하나는 venous EC라는 세포이다. 이 세포는 E-selectin, P-selectin, ICAM1, 그리고 VCAM1의 발현으로 골수계 세포의 유입을 촉진한다[29, 37]. 위의 두 부류의 스트로마세포는 주된 기능인 혈관 생성 외에 부가적으로 면역관련 기능을 수행하고 있다.

림프절에는 면역기능에 더욱 특화되고 전문화된 계열에 속하는 스트로마세포가 있다. 이들은 reticular cell 계열이다. 림프절 reticular cell은 림프절에서 상호작용하는 면역세포 종류와 기관에서 위치에 따라 B cell-interacting cell (BRCs), T cell zone reticular cell (TRCs), medullary reticular cells (MedRCs), 그리고 perivascular cell reticular cells (PRC)로 구분할 수 있다(Table 1). BRS는 LZ-FDC와 DZ-FDC로 구성되어 있다(Table 1). BRC는 주로 B zone의 fol-

licle을 구성하거나 그 주변에서 항원 제공, 케모카인 분비 등을 통해 B 세포의 생존과 분화에 영향을 미치는 스트로마세포이다(Table 1). T zone에 있는 TRC는 림프절의 paracortical region에 분포하고 사이토카인 CCL19, CCL21, IL-7과 같은 생존 인자들을 분비하여 T 세포 생물학적 기능에 영향을 미치고 있다(Table 1). 기존에는 TRC가 한 종류의 세포로 인식되어 왔지만 단일 세포 전자체 분석 결과를 보면 적어도 세 종류의 TRC sets가 존재하고 있다는 것을 알 수 있다[44]. TRC 중 IFRC는 선천성 면역세포의 활성화에 주된 기능을 하고 있고 TBRC는 B 세포의 형질세포로 분화를 유도하기 위해 필요한 T 세포를 축적시키는 주된 기능을 가지고 있다(Table 1). TRC 계열 중 FRC는 fibronectin, laminin, collagen, 그리고 ER-TR7 등의 ECM을 만들어 림프절의 reticular network 형성을 통하여 기관의 frame을 만드는 역할에 중추적 기능을 담당하고 있다(Table 1) [21]. 하지만, FRC는 조혈작용을 통해 생성된 면역세포는 아니지만 림프절의 T zone에 존재하여 적응면역반응의 핵심적 역할을 하는 T 세포와 상호작용하여 T 세포의 생존, 증식, 분화와 같은 T 세포 생리학적 기능에 기여를 하고 있고 선천성 면역인 DC와도 상호작용하는 것으로 알려져 있다(Table 1).

면역은 선천성 면역(innate immunity)과 적응면역(adaptive immunity)으로 나눌 수 있다. 선천성 면역은 pathogen-associated molecular pattern (PAMP)을 인식하는 수용체에 의해 수행되는 면역반응이다. 주로 대식세포, 수지상세포, 호중구, 보체, 항생 펩타이드 등에 의해 이루어진다. B, T 세포에 의해 수행되는 면역반응을 적응면역반응이라 한다. 지금까지 면역반응은 면역세포, 면역조절 물질들 중심으로 설명이 되어왔다. 즉, 적응면역세포인 T 세포가 활성화되기 위해서는 항원제시세포인 DC의 MHC I, II 분자를 통해 항원을 제공받은 후 활성화 과정이 일어나는 것으로 설명되어 왔으며 이 반응은 림프절, 비장과 같은 SLO에서 일어난다. 단지, DC와 T 세포 간 면역작용을 통해서 발생한다면 굳이 SLO에서 면역 작용이 수행되어야 할 이유가 없다. 하지만, 선천성면역세포는 적응면역세포와 반응을 하기 위해 반드시 SLO를 필요로 한다. 이는 SLO가 면역 작용에 어떤 역할을 한다고 믿어진다. 따라서, SLO의 구성원인 스트로마세포가 선천성면역과 적응면역반응 사이에서 관련된 기능을 할 것으로 사료된다. 이런 점에서 FRC의 주된 기능인 스트로마 기능 외에 지금까지 연구결과와 본 저자들의 연구 일부를 바탕으로 FRC가 선천성면역과 적응면역과의 관계에 기여하는 역할을 중심으로 설명하고자 한다. 적응면역반응의 활성화는 항원제시세포(DC, macrophage)가 naive T 세포에 항원을 제시함으로써 유도된다. 이 과정에서 대식세포가 T 세포에 항원을 제시할 수 있지만 보다 전문화된 세포는 DC이다. 림프절에서 적응면역세포인 T 세포가 활성화되기

Table 1. Diverse RC subsets enrich and support different lymph node regions in mice

Subset	Cell	Features	Localization	Reference
B cell-interacting reticular cell (BRC)	Light zone follicular dendrite cell (LZ-FDC)	Expression of complement and Fc-receptors CXCL12 – CXCL13 + CD21/CD35 hi, Orchestrate B cell clustering and follicle formation by CXCL13, Present antigen via CD16 and CD32, Support B cell survival via BAFF	B zone follicle	40, 43
	Dark zone follicular dendrite cell (DZ-FDC)	CXCL12+ CXCL13– CD21/CD35 low Expression of lower levels of complement and Fc-receptors compared with LZ-FDCs, Expression of dendrite morphology, Drive B cells to GC DZ via CXCL12, Form a meshwork in GC DZ	B zone, Follicle	40, 43
T cell zone reticular cell (TRC)	Interfollicular reticular cell (IFRC)	CCL19 _{low} –CXCL9 ₊₊ , activation of antiviral-sensing programs in myeloid cell–interacting IFRC, Form a niche where the conduits extend from , transporting DCs and lymph-borne materials to the inner region of associated HEVs	Interfollicular region	20, 40
	Fibroblastic reticular cell (FRC)	ER-TR7 ₊₊ , CXCL12 ₊₊ , CCL21 ₊₊ , CCL19 ₊ , Drive T and B cell and DC migration, Support T cells, lymphoid tissue inducer (LTi) cells, DCs, ILCs by secreting IL-7, IL-15, IL-33. Form a dense irregular network in the cortical region by highly expressing desmin, ER-TR7	Paracortical region, T zone	14, 43,
	T/B border reticular cell (TBRC)	CCL19 ₊ , accumulation of B and T cell, accumulation of the plasma cell via a proliferation-inducing ligand, CXCL12 ₊ , and IL-6 ₊ , CCL21 ₊	T zone –B zone border	40
	Medullary reticular cell (MedRC)	MedRCs express high levels of the leptin receptor and interact with Ab-secreting cells, NK cells, and macrophages	Deep cortex periphery and medullary sinuses	14
	Perivascular reticular cell (PRC)	CD34 ₊ Madcam ₊ Integrin α 7 ₊ , HEV formation, lymphocyte homing	T zone, HEV	38, 41
Subcapsular sinus (SCS) reticular cell	Marginal reticular cell (MRC)	Madcam ₊ BP3 ₊ RANKL ₊ CXCL13 _{hi} CD21/CD35, antigen-transport to lymphocyte, localization and migration of immune cells, maintenance of LN marginal structure	Margin of LN located in the outer edge of follicles, SCS	9, 40

위해서는 먼저, DC와 만나야 하고 이를 통해 항원 제시 과정, 증식/분화 과정, 그리고 활성화 억제 과정 등이 필요하다. 이런 면역반응 과정을 시간적 개념을 적용하여 setup, support, suppression으로 구분하면서 각 단계에서 FRC가 어떤 기능을 하는지 설명하면서 면역반응에서 가지고 있는 위치에 대한 이야기를 하고자 한다.

본 론

FRC setup a niche for immune cells

FRC는 세포외기질로 3차원 infrastructure인 conduit 형성을 통한 setup 면역반응에 기여

FRC는 T 지역에 존재하며 선천성면역과 적응면역 반

응이 일어나기 위한 setup 과정에 필요한 다양한 환경을 제공해준다. Setup과정에서 이야기할 FRC의 기능으로는 T zone에 ECM을 이용하여 infra-network를 형성한다. FRC는 T 세포가 분비하는 사이토카인(TNF α , LT α 등) 자극에 의해 ECM의 분비가 증가하는데 이는 림프절 T 지역에서 3차원 ECM network을 구성하도록 한다[21]. Katakai 등은 FRC가 *in vitro*에서 LT β R 신호전달 과정이 ECM matrix meshwork에 기여를 한다고 하였다[21]. 그리고 *in vivo*에서도 반월형 사구체신염(crescentic glomerulonephritis)에 걸린 마우스의 림프절의 관찰에서 ECM 생산이 증가되는 것을 확인하였다[19]. ECM에 의해 형성된 infra-network는 T zone에 3차원적 통행로를 만들어 DC 또는 T 세포가 효과적으로 이동할 수 있도록 한다[13]. 림프절 cortical re-

gion에는 면역세포들이 기관 내부를 잘 다닐 수 있도록 특별한 통행로가 있고 이들은 면역반응 환경에 따라 재건설되거나 재조립될 수 있는 가소성을 가지고 있다. 이런 통행로를 conduit라고 한다. Conduit의 재료는 FRC가 분비하는 ER-TR7, laminin, 그리고 collagen과 같은 ECM에 의해 재건된다(Fig. 1) [46]. Conduit에는 케모카인이나 사이토카인을 포함하고 있다[7, 47]. DC는 conduit로부터 케모카인과 사이토카인을 획득한다. DC는 FRC가 만들어 놓은 conduit를 이용하여 T zone 내부로 이동하며 T 세포와 접촉 확률을 높여 적응면역반응이 유도되도록 한다[42].

FRC는 DC와 T 세포를 T zone으로 안내할 케모카인의 발현과 분비를 통해 setup 면역반응에 기여

Naïve T 세포가 활성화되기 위해 항원이 필요하다. 항

원은 DC에 의해 포식된 후 항원 섭취 DC는 림프관을 이용하여 림프절로 이동을 시작한다. 림프절로 이동을 한 DC는 림프절 유입 지점인 림프절 parenchyma에 있는 SCS로 들어오고 이곳에서 마침내 림프절 안으로 배달된다. 림프절의 T zone을 관통하는 혈관의 일부를 high endothelial venule (HEV)라 한다. HEV는 T zone을 통과하기 때문에 림프절 내부로 들어오는 naïve T 세포에 대하여 출입구 역할을 한다. FRC는 림프절의 T zone에서 발견되는 스트로마세포이다. 림프절의 각 지점에 들어온 DC와 naïve T 세포가 림프절의 T zone으로 이동을 해야 하는데 이때 CCL19와 CCL21 케모카인을 이용한다[5, 33]. FRC는 DC와 T 세포의 이동을 촉발시키는 CCL19와 CCL21을 분비하며 세포 수용체인 CCR7을 가지고 있다. FRC는 SCS까지 CCL19와 CCL21을 분비하여 DC가 만날 수 있도록 하

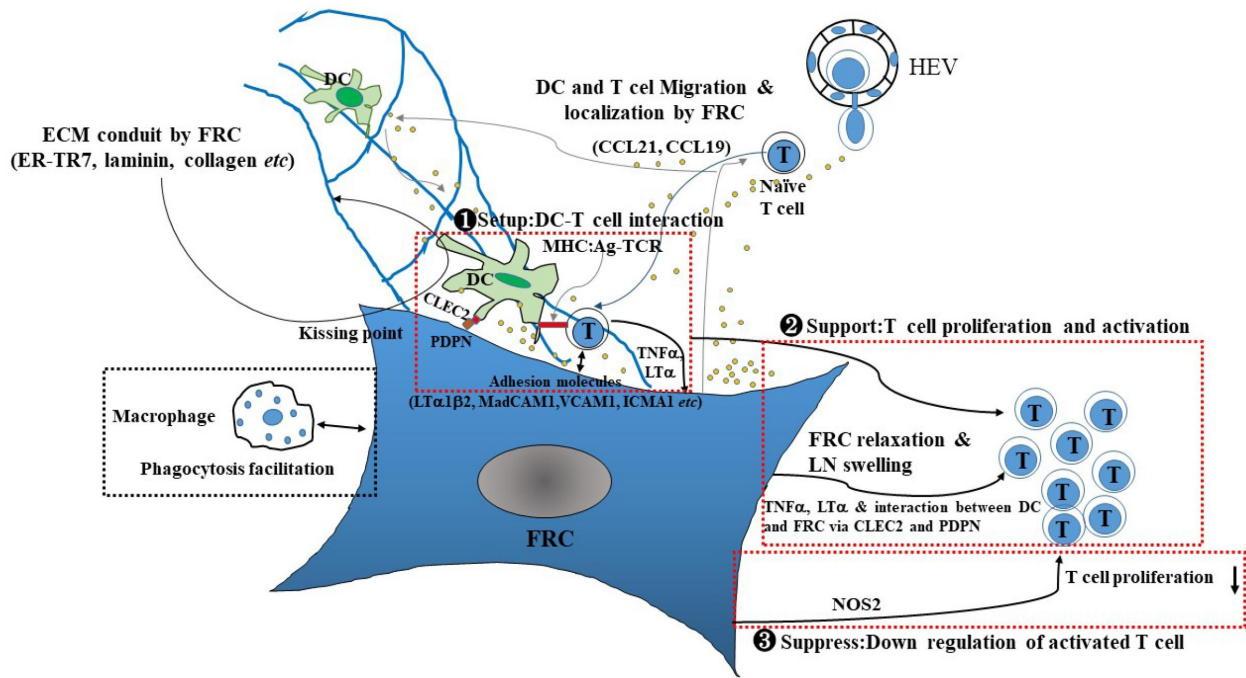


Fig. 1. FRC control of immunity. Schematic representation of how LN FRC setup, support or suppress immunity. Examples of how lymphoid tissues engage in Support, Sustain and Suppress framework. Here, we show examples that contrast control of immunity by FRC in LN. FRC secrete ECM proteins and form a three-dimensional network that serves as a scaffold for DC migration and T cell migration throughout the T zone of LN. FRC in LN can setup immune responses through the secretion of CCL19 and CCL21, which allow naïve T cells and antigen-loaded DC to rendezvous and initiate an immune response. Several reports and microarray data suggest that FRC express adhesion molecules, which functions in interaction with both FRC and T cell. FRC assist in supporting an ongoing immune response by diminishing their contractility upon CLEC2 on DC binding to PDPN, which increases space for antigen-specific T cell clonal proliferation. And FRC constitutively produce IL-7 that promotes T cell survival and T cell homeostasis. FRC suppress activated T cell proliferation to maintain LN structural microanatomy by limiting T cell proliferation by the release of NOS2. In addition, FRC facilitates phagocytosis of macrophage. Not only is there crosstalk between FRC and T cells for the adaptive immune reaction, but also the function of innate immunity of FRC leading to a much effective immune response. Collectively, it is clear that FRC play influential roles in adaptive immune reactions, predominantly via regulation of survival, localization and function of T cells and DC and organization of lymphoid tissue architecture. As outlined in figure 1, fibroblasts in LN can setup, support and suppress immune responses.

Table 2. Adhesion molecules and chemokines derived from FRC by TNF α exposure

Molecules	Systematic ID	GeneSymbol	Normalization [†]	Description	Genebank_ACC	Reference
Adhesion molecule	A_55_P2020326	Madcam1	38.157276	adhesive interactions with α 4 β 7 integrin T cell	NM_013591	17
	A_51_P210956	Vcam1	4.5500627	CD4 T cell activation, T cell migration	NM_011693	15
Chemokine	A_52_P638459	Ccl5	28.396307	monocyte, T cell, DC attraction, T cell activation	NM_013653	27
	A_51_P363187	Cxcl1	24.750534	naïve T cell attraction	NM_008176	16
	A_55_P2016462	Cxcl10	8.553003	resting T cell, monocyte attraction	NM_021274	18
	A_51_P286737	Ccl2	2.0796976	macrophage activation, monocyte, DC, T cell attraction	NM_011333	24

[†]Normalization was the ratio between TNF α treated sample value vs control value

고 naïve T 세포는 HEV를 관통하여 paracortical zone으로 들어오면 HEV 근처에서 CCL19와 CCL21을 만날 수 있도록 분비한다(Fig. 1). CCR7에 ligand 결합은 DC 세포를 T 세포 지역으로 이동을 촉발하고 DC와 T 세포 간 상호 접촉 기회를 높여 보다 쉽게 DC:T 결합이 유도되게 하여 적응면역반응이 시작되도록 한다[7, 26]. 더불어, FRC는 CXCL12을 발현하여 T 세포와 DC를 리쿠르트 할 수 있다 [6]. 본 저자도 FRC에 염증성 사이토카인인 TNF α 를 처리하여 RNA를 획득하였고 이를 DNA 마이크로어레이 분석으로 추가적으로 발현 조절되는 케모카인 유전자를 탐색하였다. 우리의 결과는 FRC에 TNF α 를 처리하였을 경우 CCL5, CXCL1, CXCL10, 그리고 CCL2가 대조군과 비교하여 2배 이상 발현되는 것으로 나타났다(Table 2). 이런 결과는 FRC가 다수의 케모카인을 발현 분비하여 T 세포의 면역학적 특성이 나타나도록 기여를 하고 있는 것으로 보인다.

FRC는 PDPN과 부착분자 발현으로 DC와 T 세포 간 상호 작용을 촉진할 미세환경을 조성하여 setup 면역반응에 기여
림프절에서 FRC의 활성화는 적응면역반응 활성화를 위해 필요하다. FRC의 활성화에는 선천성면역과 적응면역이 기여를 하는 것으로 사료된다. FRC는 DC 상호작용하며 또한, 적응면역인 T 세포와도 상호작용 한다. FRC가 DC와 T 세포와의 상호작용을 위해서 필요한 인자들이 있다. DC와 상호작용에는 podoplanin (PDPN, gp38)과 C-type lectin receptor 2 (CLEC2)가 필요하다(Fig. 1) [22, 32]. PDPN은 태아 발달기 혈액과 림프의 분리를 위해 결정적 역할을 하는 것으로 알려져 있다[2]. FRC는 막단백질인 PDPN을 발현한다[41]. 림프절에서는 이동해온 DC는 CELC2를 발현한다[1]. CLEC2 신호전달 과정은 활성화된 DC가

림프절 내로 이동에 필요한 신호전달자로 기능을 한다[1]. 항원을 섭취한 DC는 림프절로 이동한 후 FRC의 PDPN과 CLEC2와 상호작용으로 FRC 표면에 접촉한다. 따라서, PDPN은 DC에서 발현되는 CLEC2의 ligand이다[8].

Naïve T 세포는 HEV를 빠져나온 후 CCL19와 CCL21을 이용해 FRC 부근으로 이동을 한다. 이후, naïve T 세포는 FRC의 부착분자들을 이용하여 FRC 표면에 부착한다. T 세포막에 발현되는 lymphotoxin- β receptor (LT β R)의 활성화는 이 과정에 중심적 역할을 한다(Fig. 1) [21, 23]. 본 저자도 FRC에 염증성 사이토카인인 TNF α 를 처리하여 RNA를 획득하였고 이를 DNA 마이크로어레이 분석으로 발현 조절되는 부착분자 유전자를 탐색하였다. 우리의 결과는 FRC에 TNF α 를 처리 하였을 경우 Madcam1과 Vcam1이 대조군과 비교하여 2배 이상 발현($p < 0.05$)이 되는 것으로 나타났다(Table 2). 이런 부착분자들을 부가적으로 활용하여 FRC 표면에 부착하는 것으로 사료된다. 이러한 부착으로 FRC 표면에는 DC와 T 세포가 만날 수 있는 확률을 높여 DC의 MHC:Ag를 T 세포의 T cell receptor (TCR)에 보다 쉽게 제공할 수 있는 환경이 마련되어 적응면역반응을 촉발할 수 있게 하는 것으로 사료된다.

FRC can support the onset and perpetuation of immune responses

FRC 림프절 확장을 통하여 support 면역반응에 기여

DC와 T 세포 간 면역반응은 림프절의 확장을 야기한다. 림프절 확장은 FRC 간 연결을 통해 마련된 스트로마 벽에 균열이 생기기 시작하면 시작되는데 이는 FRC의 형태 변화에 따른 것으로 FRC 간 접촉면이 사라지면서 공간이 형성된다[25]. 이러한 림프절의 가소성은 FRC의 PDPN과 CLEC2에 의해 조절된다(Fig. 1). 즉, CLEC2와 PDPN의

결함으로 FRC 내부로 RhoA/C와 Rho-kinase의 신호전달 야기를 통해서 결국에는 세포골격인 actomyosin cytoskeleton의 느슨함을 유도한다[3]. 이런 현상은 FRC stretching을 촉발하며 FRC의 형태 변화가 일어나도록 한다. FRC의 형태 변화는 T 세포가 림프절 내로 보다 쉽게 유입되도록 하고 FRC의 부착분자를 이용하여 부착 후 DC로부터 항원을 제공받도록 한다. 부착분자 중 하나인 LTβR 신호의존적으로 FRC는 증식되며 림프절이 더욱 확장되게 한다(Fig. 1) [4]. 확장으로 형성된 공간 사이로 다른 림프구나 DC의 유입이 보다 쉽게 될 수 있으며 조성된 공간적 환경은 DC세포와 T 세포 간 접촉이 보다 수월하게 이루어질 수 있도록 한다[30].

FRC는 사이토카인 IL-7을 생성하여 T 세포 생존과 항상성 유지에 관여하여 support 면역반응에 기여

FRC는 림프절에서 IL-7 발현의 주요한 원천으로 IL-7은 naive T 세포의 생존과 항상성 유지에 필수적이다(Fig 1) [30, 36]. IL-7은 TCR 의존적 반응을 통한 T 세포 증식과 분화에는 거의 영향을 미치지 않는다. 하지만, 면역반응 동안 FRC에 의한 IL-7 분비는 DC로부터 항원을 제공받은 naive T 세포는 곧이어 증식과 분화를 일으킨다(Fig. 1). 이때 분비된 IL-7이 반응을 통해 증식되고 있는 T 세포의 생존을 유지시킨다. 더불어 IL-7 존재 하에 DC세포 생존력이 증강되는 것으로 나타났다[36]. 더불어, FRC는 IL-15도 생산과 분비하여 IL-7과 함께 증진된 T 세포의 생존에 기여한다[36]. 그리고 IL-7과 IL-15는 기억 T 세포 형성과 생존에도 기여한다[36].

FRC can suppress immune responses

FRC는 증식으로 확장된 T 세포에 억제기능을 통해 suppress 면역반응에 기여

FRC는 T 세포에 생존 신호전달을 통하여 T 세포 생존에 관여하고 있다는 것은 위에서 언급을 하였다. 하지만, FRC는 면역세포의 기능을 억제할 수 있다. 이런 경향은 위에서 이야기한 것에 대한 역설일 수 있다. 하지만, 이차성 기관의 면역병리학적 상태를 막고 국부적 미세환경의 보존을 위해 과도한 면역반응을 제한할 수 있다[6]. FRC는 다양한 병원체에 감염이 될 수 있고 바이러스 감염과 연관된 염증반응은 FRC conduit network을 파괴한다[6]. 이런 과도한 면역반응 막기 위해 FRC는 활성화 T 세포의 증식을 정지시킬 수 있다.

Nitro oxide (NO)는 세포막을 통과할 수 있고 조직과 세포에 다양한 효과를 나타낼 수 있는 불안정한 기체이다. NO는 혈관 투과성 증대, 신경전달물질과 면역반응에 관여할 수 있는 다양한 생리학적 인자이다. T 세포는 자체적으로 nitric oxide synthase 2 (NOS2)와 NO를 생성하여

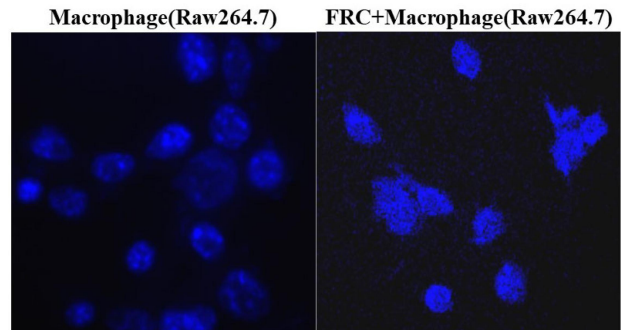


Fig. 2. FRCs potentiate Raw264.7 macrophage phagocytosis at 24 h. Representative images illustrate phagocytosis of fluorescent blue latex microbeads (Sigma-0280, Saint Louis, MO, USA) in Raw264.7 macrophage cells (control) and co-cultured cells with FRC.

과도한 T 세포 증식을 억제한다(Fig. 1) [10]. 이러한 NO는 FRC에서도 생성된다[28, 34, 47]. 즉, 활성화된 T 세포는 IFNγ를 분비하는데 이것이 FRC에 작용하여 NOS2를 발현하도록 하고 연속하여 NO 방출을 촉진하여 T 세포 증식을 제한한다(Fig. 1) [6]. FRC-NOS2 축은 마우스 모델에서 폐혈증의 효과를 개선하였다[6]. 더욱이, FRC는 DC에 작용하여 면역 자극 효과를 약하게 조절할 수도 있다[6]. 이런 결과는 FRC와 T 세포와의 상호작용에서 과도한 T 세포 증식을 억제하기 위한 negative feedback loop의 작용으로 보여진다.

FRC의 선천성 면역반응에 대한 기여

비록 적응면역반응의 활성화에 FRC가 주로 기여를 하고 있는 것이 앞의 결과에서 볼 수 있었지만, 많은 보고들이 선천성면역반응도 FRC에 의해 활성화 되고 있다[38]. FRC는 세포 내부의 endosome 세포막에 위치하고 있고 세포 내 바이러스 RNA와 결합할 수 있는 TLR7의 발현을 통해 바이러스의 존재를 알아낼 수 있다. 다양한 신호전달자를 활성화하여 결국에는 염증성 사이토카인인 제1형 인터페론, TNFα, 그리고 IL-6의 발현을 유도한다[11, 12]. 본 저자도 FRC를 이용하여 선천성면역작용을 나타내는 FRC의 다른 기능을 탐색하였다. 즉, FRC가 대식세포의 식작용에 미치는 관련성을 알아보았다. FRC와 대식세포의 공배양과 청색 형광을 띄는 latex beads를 이용하여 식작용에 대한 실험을 진행하였다. FRC에 대식세포가 공배양된 경우가 대식세포 단독 배양의 경우보다 대식세포의 세포질에 beads가 점처럼 많이 함유된 것을 볼 수 있었다(Fig. 2). 이것은 FRC가 대식세포의 식작용 기능에 영향을 미친다는 것을 의미한다. 앞선 서술에서 FRC의 면역기능에서 setup부분에 해당하는 것으로 FRC는 선천성면역작용을 촉진하여 이후 support 및 suppress로 이어지는 것의 시작점인 setup을 더욱 활성화하는데 다양한 선천성면역

을 이용하는 것으로 사료된다.

결론

림프절의 3차원 구조는 귀속하는(homing) 림프구에 효과적인 항원수집, 항원제시를 신속하게 하며 동계화된 B, T 세포의 활성화를 통한 클론 선택과 클론 확장을 위해 최적화 되어있다. 본 연구는 림프절 T 지역에 있는 스트로마세포인 FRC의 세포생물학적 기능을 설명하였다. FRC는 ER-TR7등과 같은 ECM를 통한 3차원 network 형성으로 구축된 conduit를 이용한 항원전달, 케모카인 CCL19와 CCL21의 생성 분비, PDPN-CLEC2를 이용한 DC 이동과 부착, T 세포 이동 및 부착분자 발현을 통한 부착할 수 있는 platform 역할로 귀결되는 setup 면역반응에 기여한다. 또한, T 세포 항상성 유지에 필요한 사이토카인 IL-7 생성분비, 림프절 확장을 통한 T 세포 증식 촉진과 관련된 support 면역반응에도 기여한다. 그리고 NO 생성을 통한 항원 특이적 T 세포 증식억제에 관여하는 suppress 면역반응에도 기여를 하고 있다. 더불어 대식세포의 항원 섭취 기능을 향상시키는 선천성 면역촉진 작용에 관여하고 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과들은 FRC가 T 세포의 면역작용을 촉진시키는데 특화된 세포로 인식된다. 지금까지 설명하였듯이 FRC는 면역반응에서 setup, support 그리고 suppress를 통하여 적응면역반응인 T 세포의 활성화 과정에 역할을 하며 더불어 선천성면역반응의 적극적 활용을 통해 면역반응 setup에 사용하여 궁극에는 T 세포의 활성화를 위해 전력을 다하고 있는 것으로 사료된다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Acton, S. E., Astarita, J. L., Malhotra, D., Lukacs-Kornek, V., Franz, B., Hess, P. R., Jakus, Z., Kuligowski, M., Fletcher, A. L., Elpek, K. G., Bellemare-Pelletier, A., Sceats, L., Reynoso, E. D., Gonzalez, S. F., Graham, D. B., Chang, J., Peters, A., Woodruff, M., Kim, Y. A., Swat, W., Morita, T., Kuchroo, V., Carroll, M. C., Kahn, M. L., Wucherpfennig, K. W. and Turley, S. J. 2012. Podoplanin-rich stromal networks induce dendritic cell motility via activation of the C-type lectin receptor CLEC-2. *Immunity* **37**, 276-289.
- Astarita, J. L., Acton, S. E., and Turley, S. J. 2012. Podoplanin: emerging functions in development, the immune system, and cancer. *Front. Immunol.* **3**, 283.
- Astarita, J. L., Cremasco, V., Fu, J., Darnell, M. C., Peck, J. R., Nieves-Bonilla, J. M., Song, K., Kondo, Y., Woodruff, M. C., Gogineni, A., Onder, L., Ludewig, B., Weimer, R. M., Carroll, M. C., Mooney, D. J., Xia, L. and Turley, S. J. 2015. The CLEC-2-podoplanin axis controls fibroblastic reticular cell contractility and lymph node microarchitecture. *Nat. Immunol.* **16**, 75-84.
- Bénézech, C., Mader, E., Desanti, G., Khan, M., Nakamura, K., White, A., Ware, C. F., Anderson, G. and Caamaño, J. H. 2012. Lymphotoxin-beta receptor signaling through NF-kappaB2-RelB pathway reprograms adipocyte precursors as lymph node stromal cells. *Immunity* **37**, 721-734.
- Brown, F. D. and Turley, S. J. 2015. Fibroblastic reticular cells: organization and regulation of the T lymphocyte life cycle. *J. Immunol.* **194**, 1389-1394.
- Buechler, M. B. and Turley, S. J. 2018. A short field guide to fibroblast function in immunity. *Semin. Immunol.* **35**, 48-58.
- Chai, Q., Onder, L., Scandella, E., Gil-Cruz, C., Perez-Shibayama, C., Cupovic, J., Danuser, R., Sparwasser, T., Luther, S. A., Thiel, V., Rüllicke, T., Stein, J. V., Hehlhans, T. and Ludewig, B. 2013. Maturation of lymph node fibroblastic reticular cells from myofibroblastic precursors is critical for antiviral immunity. *Immunity* **38**, 1013-1024.
- Christou, C. M., Pearce, A. C., Watson, A. A., Mistry, A. R., Pollitt, A. Y., Fenton-May, A. E., Johnson, L. A., Jackson, D. G., Watson, S. P. and O'Callaghan, C. A. 2008. Renal cells activate the platelet receptor CLEC-2 through podoplanin. *Biochem. J.* **411**, 133-140.
- Cosgrove, J., Novkovic, M., Albrecht, S., Pikor, N. B., Zhou, Z., Onder, L., Mörbe, U., Cupovic, J., Miller, H., Alden, K., Thuery, A., O'Toole, P., Pinter, R., Jarrett, S., Taylor, E., Venetz, D., Heller, M., Uguccioni, M., Legler, D. F., Lacey, C. J., Coatesworth, A., Polak, W. G., Cupedo, T., Manoury, B., Thelen, M., Stein, J. V., Wolf, M., Leake, M. C., Timmis, J., Ludewig, B. and Coles, M. C. 2020. B cell zone reticular cell microenvironments shape CXCL13 gradient formation. *Nat. Commun.* **11**, 3677.
- Cunha, P. P., Bargiela, D., Minogue, E., Krause, L. C. M., Barbieri, L., Brombach, C., Gojkovic, M., Marklund, E., Pietsch, S., Foskolou, I., Branco, C. M., Veliça, P., and Johnson, R. S. 2023. Infiltration of Tumors Is Regulated by T cell-Intrinsic Nitric Oxide Synthesis. *Cancer Immunol. Res.* **11**, 351-363.
- Gil-Cruz, C., Perez-Shibayama, C., Onder, L., Chai, Q., Cupovic, J., Cheng, H. W., Novkovic, M., Lang, P. A., Geuking, M. B., McCoy, K. D., Abe, S., Cui, G., Ikuta, K., Scandella, E. and Ludewig, B. 2016. Fibroblastic reticular cells regulate intestinal inflammation via IL-15-mediated control of group 1 ILCs. *Nature immunology* **17**, 1388-1396.
- Gregory, J. L., Walter, A., Alexandre, Y. O., Hor, J. L., Liu, R., Ma, J. Z., Devi, S., Tokuda, N., Owada, Y., Mackay, L. K., Smyth, G. K., Heath, W. R. and Mueller, S. N. 2017. Infection Programs Sustained Lymphoid Stromal Cell Responses and Shapes Lymph Node Remodeling upon Secondary Challenge. *Cell Rep.* **18**, 406-418.

13. Gretz, J. E., Norbury, C. C., Anderson, A. O., Proudfoot, A. E. and Shaw, S. 2000. Lymph-borne chemokines and other low molecular weight molecules reach high endothelial venules via specialized conduits while a functional barrier limits access to the lymphocyte microenvironments in lymph node cortex. *J. Exp. Med.* **192**, 1425-1440.
14. Huang, H. Y., Rivas-Cacedo, A., Renevey, F., Cannelle, H., Peranzoni, E., Scarpellino, L., Hardie, D. L., Pommier, A., Schaeuble, K., Favre, S., Vogt, T. K., Arenzana-Seisdedos, F., Schneider, P., Buckley, C. D., Donnadieu, E. and Luther, S. A. 2018. Identification of a new subset of lymph node stromal cells involved in regulating plasma cell homeostasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **115**, E6826-E6835.
15. Hyun, Y. M., Chung, H. L., McGrath, J. L., Waugh, R. E. and Kim, M. 2009. Activated integrin VLA-4 localizes to the lamellipodia and mediates T cell migration on VCAM-1. *J. Immunol.* **183**, 359-369.
16. Jin, L., Batra, S., Douda, D. N., Palaniyar, N. and Jeyaseelan, S. 2014. CXCL1 contributes to host defense in polymicrobial sepsis via modulating T cell and neutrophil functions. *J. Immunol.* **193**, 3549-3558.
17. Kamioka, Y., Ueda, Y., Kondo, N., Tokuhira, K., Ikeda, Y., Bergmeier, W. and Kinashi, T. 2023. Distinct bidirectional regulation of LFA1 and $\alpha 4\beta 7$ by Rap1 and integrin adaptors in T cells under shear flow. *Cell Rep.* **42**, 112580.
18. Karin, N., Wildbaum, G., and Thelen, M. J. 2016. Biased signaling pathways via CXCR3 control the development and function of CD4⁺ T cell subsets. *Leukoc. Biol.* **99**, 857-862.
19. Kasinath, V., Yilmam, O. A., Uehara, M., Jiang, L., Ordikhani, F., Li, X., Salant, D. J. and Abdi, R. 2019. Activation of fibroblastic reticular cells in kidney lymph node during crescentic glomerulonephritis. *Kidney Int.* **95**, 310-320.
20. Katakai, T., Hara, T., Lee, J. H., Gonda, H., Sugai, M. and Shimizu, A. 2004. A novel reticular stromal structure in lymph node cortex: an immuno-platform for interactions among dendritic cells, T cells and B cells. *Int Immunol* **16**, 1133-1142.
21. Katakai, T., Hara, T., Sugai, M., Gonda, H. and Shimizu, A. 2004. Lymph node fibroblastic reticular cells construct the stromal reticulum via contact with lymphocytes. *J. Exp. Med.* **200**, 783-795.
22. Kumar, V., Dasoveanu, D. C., Chyou, S., Tzeng, T. C., Roza, C., Liang, Y., Stohl, W., Fu, Y. X., Ruddle, N. H. and Lu, T. T. 2015. A dendritic-cell-stromal axis maintains immune responses in lymph nodes. *Immunity* **42**, 719-730.
23. Li, L., Wu, J., Abdi, R., Jewell, C. M. and Bromberg, J. S. 2021. Lymph node fibroblastic reticular cells steer immune responses. *Trends Immunol.* **42**, 723-734.
24. Li, H., Harrison, E. B., Li, H., Hirabayashi, K., Chen, J., Li, Q. X., Gunn, J., Weiss, J., Savoldo, B., Parker, J. S., Pecot, C. V., Dotti, G. and Du, H. 2022. Targeting brain lesions of non-small cell lung cancer by enhancing CCL2-mediated CAR-T cell migration. *Nat. Commun.* **13**, 2154.
25. Li, L., Wu, J., Abdi, R., Jewell, C. M. and Bromberg, J. S. 2021. Lymph node fibroblastic reticular cells steer immune responses. *Trends Immunol.* **42**, 723-734.
26. Link, A., Vogt, T. K., Favre, S., Britschgi, M. R., Acha-Orbea, H., Hinz, B., Cyster, J. G. and Luther, S. A. 2007. Fibroblastic reticular cells in lymph nodes regulate the homeostasis of naive T cells. *Nat. Immunol.* **8**, 1255-1265.
27. Lu, X., Zhang, J., Wen, Y., Ren, J., Griffiths, R., Rudemiller, N. P., Ide, S., Souma, T. and Crowley, S. D. 2022. Type 1 Angiotensin Receptors on CD11c-Expressing Cells Protect Against Hypertension by Regulating Dendritic Cell-Mediated T Cell Activation. *Hypertension* **79**, 1227-1236.
28. Lukacs-Kornek, V., Malhotra, D., Fletcher, A. L., Acton, S. E., Elpek, K. G., Tayalia, P., Collier, A. and Turley, S. J. 2011. Regulated release of nitric oxide by non-hematopoietic stroma controls expansion of the activated T cell pool in lymph nodes. *Nat. Immunol.* **12**, 1096-1104.
29. Lütge, M., Pikor, N. B. and Ludewig, B. 2021. Differentiation and activation of fibroblastic reticular cells. *Immunol. Rev.* **302**, 32-46.
30. Lu, T. T. and Browning, J. L. 2014. Role of the Lymphotoxin/LIGHT System in the Development and Maintenance of Reticular Networks and Vasculature in Lymphoid Tissues. *Front. Immunol.* **5**, 47.
31. Malhotra, D., Fletcher, A. L. and Turley, S. J. 2013. Stromal and hematopoietic cells in secondary lymphoid organs: partners in immunity. *Immunol. Rev.* **251**, 160-176.
32. Martinez, V. G., Pankova, V., Krasny, L., Singh, T., Makris, S., White, I. J., Benjamin, A. C., Dertschnig, S., Horsnell, H. L., Kriston-Vizi, J., Burden, J. J., Huang, P. H., Tape, C. J. and Acton, S. E. 2019. Fibroblastic reticular cells control conduit matrix deposition during lymph node expansion. *Cell Rep.* **29**, 2810-2822.
33. Nakayama, Y. and Bromberg, J. S. 2012. Lymphotoxin-beta receptor blockade induces inflammation and fibrosis in tolerized cardiac allografts. *Am. J. Transplant* **12**, 2322-2334.
34. Niedbala, W., Cai, B., Liu, H., Pitman, N., Chang, L. and Liew, F. Y. 2007. Nitric oxide induces CD4⁺CD25⁺ Foxp3 regulatory T cells from CD4⁺CD25⁺ T cells via p53, IL-2, and OX40. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 15478-15483.
35. Novkovic, M., Onder, L., Bocharov, G. and Ludewig, B. 2020. Topological Structure and Robustness of the Lymph Node Conduit System. *Cell Rep.* **30**, 893-904.
36. Onder, L., Cheng, H. W. and Ludewig, B. 2022. Visualization and functional characterization of lymphoid organ fibroblasts. *Immunol. Rev.* **306**, 108-122.
37. Ozulumba, T., Montalbina, A. N., Ortiz-Cárdenas, J. E. and Pompano, R. R. 2023. New tools for immunologists: models of lymph node function from cells to tissues. *Front Immunol.* doi: 10.3389/fimmu.2023.1183286.
38. Perez-Shibayama, C., Gil-Cruz, C. and Ludewig, B. 2019. Fibroblastic reticular cells at the nexus of innate and adaptive immune responses. *Immunol. Rev.* **289**, 31-41.

39. Pikor, N. B., Cheng, H. W., Onder, L. and Ludewig, B. 2012. Development and Immunological Function of Lymph Node Stromal Cells. *J. Immunol.* **206**, 257-263.
40. Pikor, N. B., Mörbe, U., Lütge, M., Gil-Cruz, C., Perez-Shibayama, C., Novkovic, M., Cheng, H. W., Nombela-Arrieta, C., Nagasawa, T., Linterman, M. A., Onder, L. and Ludewig B. 2020. Remodeling of light and dark zone follicular dendritic cells governs germinal center responses. *Nat. Immunol.* **21**, 649-659.
41. Pikor, N. B., Cheng, H. W., Onder, L. and Ludewig, B. 2021. Development and immunological function of lymph node stromal cells. *J. Immunol.* **206**, 257-263.
42. Reynoso, G. V., Weisberg, A. S., Shannon, J. P., McManus, D. T., Shores, L., Americo, J. L., Stan, R. V., Yewdell, J. W. and Hickman, H. D. 2019. Lymph node conduits transport virions for rapid T cell activation. *Nat. Immunol.* **20**, 602-612.
43. Rodda, L. B., Bannard, O., Ludewig, B., Nagasawa, T. and Cyster, J. G. 2015. Phenotypic and morphological properties of germinal center dark zone Cxcl12-expressing reticular cells. *J. Immunol.* **195**, 4781-4791.
44. Rodda, L. B., Lu, E., Bennett, M. L., Sokol, C. L., Wang, X., Luther, S. A., Barres, B. A., Luster, A. D., Ye, C. J. and Cyster, J. G. 2018. Single-Cell RNA Sequencing of Lymph Node Stromal Cells Reveals Niche-Associated Heterogeneity. *Immunity* **48**, 1014-1028.
45. Rohira, A. D., Lonard, D. M. and O'Malley, B. W. J. 2021. Emerging roles of steroid receptor coactivators in stromal cell responses. *Endocrinol.* **248**, R41-R50.
46. Saxena, V., Li, L., Paluskievicz, C., Kasinath, V., Bean, A., Abdi, R., Jewell, C. M. and Bromberg, J. S. 2019. Role of Lymph Node Stroma and Microenvironment in T Cell Tolerance. *Immunol. Rev.* **292**, 9-23.
47. Siegert, S., Huang, H. Y., Yang, C. Y., Scarpellino, L., Carrie, L., Essex, S., Nelson, P. J., Heikenwalder, M., Acha-Orbea, H., Buckley, C. D., Marsland, B. J., Zehn, D. and Luther, S. A. 2011. Fibroblastic reticular cells from lymph nodes attenuate T cell expansion by producing nitric oxide. *PLoS One* **6**, e27618.

초록 : 림프절 스트로마 유래 Fibroblastic Reticular Cell의 면역학적 위치

이종환^{1,2*}

(¹동의대학교 공과대학 의생명공학과, ²동의대학교 스마트바이오헬스학과)

림프절은 인체에 침입한 감염원에 대하여 면역반응을 일으키는 곳이다. 림프절은 스트로마세포에 의해 뚜렷하게 구획화되어 있다. 스트로마세포들은 면역세포의 이동, 활성화, 분화를 야기하기 위해 상호작용을 위해 미세환경을 제공한다. FRC는 림프절의 T zone에서 3차원 구조물을 형성하여 면역세포의 통로를 제공한다. FRC는 림프절 구조, 면역세포 리쿠르트, 면역세포와의 상호작용, 항원제시 등을 촉진시키는 역할을 한다. 염증반응 동안, FRC는 면역세포들의 면역반응을 조절하기 위해 국부적이며 분비성 물질을 통해 면역반응을 조절하고 있다. 본문 면역반응 조절을 위해 FRC가 면역반응의 setup, support 그리고 suppress 단계로 3부분에 관여하여 면역반응을 조절하고 있는 것으로 나누어 설명하였다. 전체적으로 FRC는 T 세포 생물학적 효율성 증대를 위해 기능을 하는 것으로 보인다. 더불어, FRC는 식작용을 통해 선천성 면역반응에 영향을 미치고 있는 것으로 나타났다. 따라서 FRC는 림프절에서 면역반응의 immune gate-keepers로써 위치적 역할을 하는 것으로 사료된다. 전체적으로 FRC는 선천성면역과 적응면역의 조절기능에 대한 내용으로 설명하다. 이러한 협력적 피드백 루프는 염증반응 동안 림프절의 기능을 유지하는데 기여를 할 것으로 사료된다.