

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590891

研究課題名（和文） 気道リモデリング、肺気腫形成におけるオステオポンチンの関与

研究課題名（英文） Role of osteopontin in airway remodeling and emphysema

研究代表者

今野 哲 (KONNO SATOSHI)

北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号：20399835

研究成果の概要（和文）：マウスモデルにおいて、オステオポンチンの作用を阻害する中和抗体及び OPN 欠損マウスを用い、OPN が好酸球性気道炎症、アレルギー感作、気道リモデリング、肺気腫形成に及ぼす影響を検討した。オステオポンチンは好酸球の走化作用を有し、好酸球性気道炎症に関与すること、いっぽうで、特異的 IgE 抗体の産生を抑制し、アレルギー感作には抑制的に作用することを見出した。しかし、肺気腫形成との関与は見いだせなかった。

研究成果の概要（英文）：Using animal models, we evaluated the role of OPN in eosinophilic airway inflammation, allergen sensitization, airway remodeling and emphysema. We have demonstrated that OPN is a novel chemoattractant of eosinophils and is involved in the eosinophilic airway inflammation in asthma. Whereas, OPN inhibited systemic allergen sensitization. The effect of OPN on airway remodeling and emphysema was not observed.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 呼吸器内科学

キーワード：オステオポンチン、気道リモデリング、肺気腫

## 1. 研究開始当初の背景

オステオポンチン(osteopontin:OPN)は分子量約 6 万のリン酸化糖蛋白質であり、近年種々の免疫反応への関与が報告されている。その多くは多発性硬化症、結核、サルコイ

ドーンズなどの Th1 関連疾患における報告がほとんどであり、気管支喘息などの Th2 関連疾患に対する報告は少ない。また、喘息と並び重要かつ頻度の高い気道疾患である慢性閉塞性肺疾患(COPD)に関する報告

も数少ない。

## 2. 研究の目的

本研究は、OPN と気管支喘息を構成する種々の要素（アレルゲン感作、好酸球性気道炎症、粘液産生、気道リモデリングなど）、並びに COPD との関連を明らかにすることを目的とする。喘息の構成要素としては、特に、アレルゲン感作、好酸球性気道炎症、気道リモデリングに着目し、それぞれにおける OPN の意義を検討する。

## 3. 研究の方法

喘息においては、卵白アルブミンを用いた、急性、慢性気道炎症モデルを用い、COPD においては、マウス喫煙暴露モデルを用いた肺気腫モデルを用いた。これらのマウスモデルにおいて、OPN 中和抗体を投与し、疾患病態に及ぼす影響を検討した。また、OPN 欠損マウスを用い、喘息、肺気腫形成に及ぼす OPN の効果を検討した。in vitro の系においては、リコンビナント OPN 蛋白が、好酸球の遊走に及ぼす影響を検討した。

## 4. 研究成果

### (1) 好酸球性気道炎症における OPN の作用

気管支喘息においては、OPNは、主に樹状細胞や好酸球などの炎症細胞に高発現することを見出し、この発現はステロイドの投与により抑制されることを報告した(Int Arch Allergy Immunol 2009)。喀痰中のOPN濃度は、好酸球割合と正の相関を認めた (Clin Exp Allergy 2009)。OPNのインテグリン結合部位を阻害する中和抗体が好酸球性気道炎症を抑制し (図1)、また、リコンビナントOPNは、ヒト好酸球の遊走能を有することを見出した (図2) (Clin Exp Allergy 2009)。以上より、OPNは好酸球の走化因子として、好酸球性気道炎症を惹起させる作用があることが示された。

図1 OPNの作用を中和する抗体の投与により、マウス喘息モデルにおいて、気管支肺胞洗浄液 (BALF中) の好酸球割合が減少した。\* $p < 0.05$

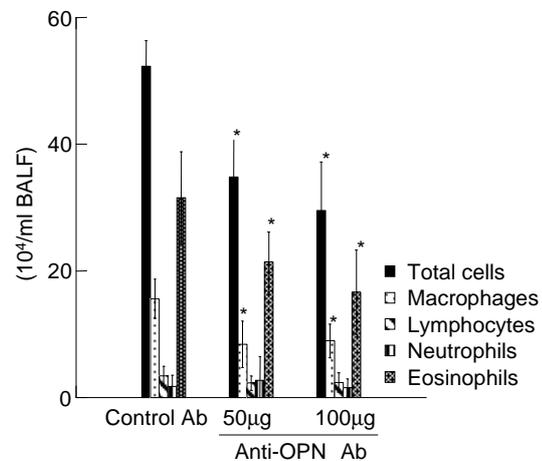
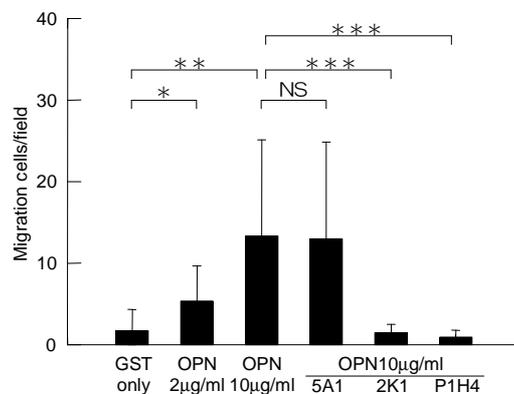


図2 リコンビナントOPN蛋白は、ヒト好酸球の走化作用を有し、その効果は、OPN抗体(2K1)によって抑制された。\*\*\* $p < 0.001$  \*\* $p < 0.01$  \* $p < 0.05$



### (2) アレルゲン感作における OPN の作用

特異的IgE抗体の産生を特徴とするアレルゲン感作においては、OPN欠損マウスにおいて、血清中のアレルゲン特異的IgEの産生が上昇することを示した(図3)。また、リコンビナントOPNの投与により、アレルゲン感作が抑制することを見出し報告した(図4)(Eur J Immunol 2009)。以上より、OPNはアレルゲン感作においては、抑制的に作用することが示された。

図3 OPN欠損マウスは、野生型マウスと比較し、OVA特異的IgE抗体の産生が亢進している。\*P<0.05

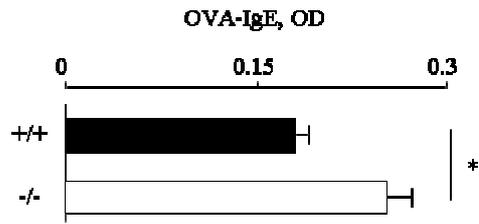
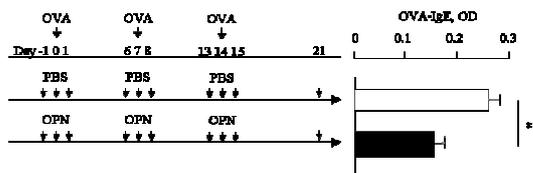


図4 リコンビナントOPN蛋白の投与により、OVA特異的IgE抗体の産生が抑制された。\*P<0.05



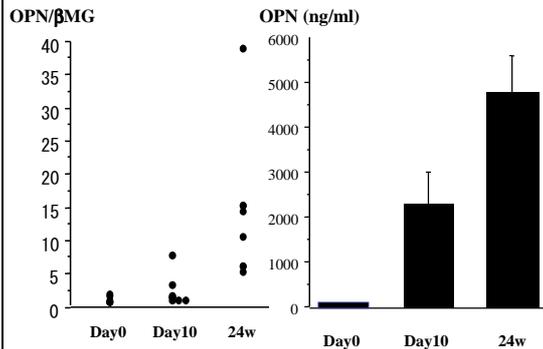
### (3) 気道リモデリングにおけるOPNの作用

喘息急性期モデルと比較し、慢性喘息モデルにおいては、肺組織中の更なるOPNの高発現を確認した。以上より、気道リモデリング等の慢性喘息病態とOPNとの関与が示唆された。当初OPN欠損マウスを用いた、気道リモデリングの評価を検討していたが、既に、欧米より同様の趣旨の論文が2つ発表され、本研究は中途にて断念することとした。

### (4) 肺気腫形成に及ぼすOPNの関与

マウス喫煙短期暴露（10週間）、長期暴露（4か月）により、血清中及び気管支肺胞洗浄液中のオステオポンチン濃度が著明に上昇することを確認した（図5）。以上よりOPNと喫煙関連疾患との関連が示唆された。しかし、OPN欠損マウスを用いた検討では、野生型マウスと比較し、OPN欠損マウスにおいては、肺気腫形成に差を認めなかった。OPNが肺気腫形成に及ぼす効果は、今回は示されなかった。

図5 マウス喫煙曝露モデルにおいて、肺組織中のOPNの発現が亢進し、BALF中のOPN蛋白濃度が上昇する。



### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

1. Konno S, Kurokawa M, Uede T, Nishimura M, Huang SK. : “Role of osteopontin, a multifunctional protein, in allergy and asthma”, *Clin Exp Allergy*, in press (2011)(査読あり)

2. Takahashi A, Kurokawa M, Konno S, Ito K, Kon S, Ashino S, Nishimura T, Uede T, Hizawa N, Huang SK, Nishimura M. : “Osteopontin is involved in migration of eosinophils in asthma”, *Clin Exp Allergy*, 39 : 1152-1159(2009)(査読あり)

3. Kurokawa M, Konno S, Takahashi S, Plunkett B, Rittling SR, Matsui Y, Kon S, Morimoto J, Uede T, Matsukura S, Kokubu F, Adachi M, Nishimura M, Huang SK. : “Regulatory role of DG-derived osteopontin in systemic allergen sensitization”, *Eur J Immunol*, 39 : 1-8(2009) (査読あり)

4. Kurokawa M, Konno S, Matsukura S, Kawaguchi M, Ieki K, Suzuki S, Odaka M, Watanabe S, Homma T, Sato M, Takeuchi H, Hirose T, Huang SK, Adachi M. : “Effects of corticosteroids on osteopontin expression in a murine model of allergic asthma”, *Int Arch Allergy Immunol*, 149 : 7-13(2009)(査読あり)

〔学会発表〕（計2件）

1 高橋 歩 好酸球性気道炎症における  
オステオポンチンの関与 日本アレルギー学会 秋季学術講演会 2008年  
11月29日 東京

2 Takahashi A Osteopontin is involved in  
migration of eosinophils in asthma. American  
Thoracic Society annual meeting May 18  
2008 Toronto

〔図書〕（計1件）

黒川正嗣 今野 哲 臨床免疫・アレルギー科  
オステオポンチンとアレルギー  
科学評論社 2008 5ページ

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

今野 哲 (KONNO SATOSHI)

北海道大学・北海道大学病院・助教

研究者番号：20399835

##### (2)研究分担者

別役 智子 (BETSUYAKU TOMOKO)

北海道大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：60333605

##### (3)連携研究者

なし