

平成 22 年 5 月 18 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2008 ～ 2009
 課題番号：20790365
 研究課題名（和文）ウイルス感染防御免疫応答におけるオステオポンチンおよび IL-17 の機能解析
 研究課題名（英文）The roles of osteopontin and IL-17 in the protective immune responses against virus infection
 研究代表者
 森本 純子 (MORIMOTO JUNKO)
 北海道大学・遺伝子病制御研究所・助教
 研究者番号：20451396

研究成果の概要（和文）：我々はインフルエンザ A ウイルス感染後、肺組織やリンパ組織でオステオポンチン(osteopontin;Opn)の産生が誘導されることを見いだした。ウイルス感染に対する一次免疫応答に関しては、Opn 遺伝子が欠損した Opn 欠損マウスおよび Opn 遺伝子を正常に発現する野生型マウス間で差は認められなかった。しかしながら、インフルエンザ A ウイルス抗原特異的メモリーCD8⁺T 細胞は Opn 欠損マウスで、野生型マウスと比較して有意に増加していた。現在のところ、ウイルス感染後に産生誘導されるオステオポンチンは樹状細胞からの IL-12 の産生を促進することで、記憶 CD8⁺T 細胞の形成と維持を制御していると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we found that Opn expression is induced both in the lung and lymphoid tissues such as spleen following influenza A virus infection. Although initial immune responses are comparable between Opn-deficient and Opn-intact mice, Opn-deficient mice maintained more virus-specific memory CD8⁺T cells at 60 days after infection. So far, we assume that osteopontin modulates the generation of memory CD8⁺T cells following influenza A virus infection through presumably regulating IL-12 production by antigen presenting cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：免疫学

キーワード：ウイルス、感染症、細胞・組織、記憶免疫細胞

1. 研究開始当初の背景
 インフルエンザ A ウイルスはヒトのみならず多種多様な動物に感染する人獣共通感染

症である。ヒトにおいてはここ 100 年間 H3N2 型が流行しているが、自然界では 16 の HA 型および 9 つの NA 型が存在している。

現行の不活化ワクチンはHAおよびNAに対する抗体を誘導することを目的としている為、頻繁にそのHAとNAを変異させるインフルエンザAウイルス感染症に対応することは極めて困難となっているのが現状である。その一方で感染したウイルスの排除に伴い、生体内でクローナルに増殖したウイルス抗原特異的CD8⁺T細胞の90~95%は死滅する。しかしながら5~10%のウイルス抗原特異的CD8⁺T細胞は記憶(メモリー)CD8⁺T細胞として長期間生体内で生存することができる。このメモリーCD8⁺T細胞は生体が同一病原体による再感染を受けた際に、爆発的に増殖し、細胞障害性機能を発揮することでウイルスを速やかに排除することができる。一方でオステオポンチン(osteopontin;Opn)は活性化T細胞などの免疫細胞より産生され、細胞性免疫応答(Th1型免疫応答)を促進するサイトカインである。これまでにOpnは活性化CD4⁺T細胞の生存を促進させる作用を有していることも報告されている。

2. 研究の目的

ウイルス感染に伴い生体内で誘導されるウイルス抗原特異的CD8⁺T細胞は、ウイルス亜型間でほとんど変異が認められないnucleoprotein(NP)を標的とすることが知られている。その為にインフルエンザAウイルス感染に伴い誘導されるメモリーCD8⁺T細胞の形成とその維持メカニズムを解明することはインフルエンザAウイルス感染のみならず他のウイルス感染症対策にとって重要である。我々はOpnがTh1型サイトカインとして機能すること、さらに活性化CD4⁺T細胞生存促進因子として作用する点に着目し、メモリーCD8⁺T細胞の形成とその維持におけるOpnの機能を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1)インフルエンザAウイルス感染に対する一次免疫応答におけるOpnの機能を解析するために、野生型マウスとOpn欠損マウスにHKx31(H1N1型)を経鼻感染させ、感染後8~10日目に肺組織、リンパ組織を用いて免疫学的解析を行った。

(2)インフルエンザAウイルス抗原特異的メモリーCD8⁺T細胞の形成においてOpnがどのような役割を果たしているのかを明らかにするために、野生型マウスおよびOpn欠損マウスにHKx31を経鼻感染させ、感染後60日目にリンパ組織を用いて免疫学的解析を行った。

(3)インフルエンザAウイルス感染に対する二次免疫応答を解析するために、野生型マウス

およびOpn欠損マウスをまずHKx31で感染させ、約60日後にPR8(H3N2型)で再感染を行った。再感染から約1週間後に肺組織、リンパ組織を用いて免疫学的解析を行った。

4. 研究成果

(1)Opnは正常状態においても様々な組織でその発現が認められるが、インフルエンザAウイルス(HKx31)感染後、野生型マウスの肺(図1)および血中においてOpnの著しい発現上昇が認められた。

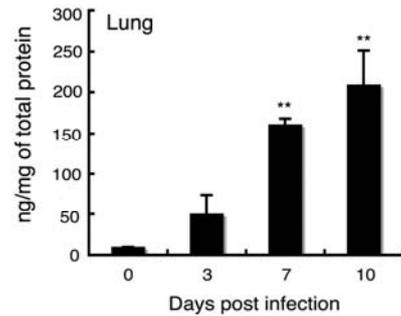


図1

(2)HKx31感染後の一次免疫応答(体重変化、抗体産生量、肺組織内でのサイトカインおよびケモカインの産生量、ウイルス抗原特異的細胞障害性CD8⁺T細胞の数)はOpn欠損マウスと野生型マウス間で差は認められなかった。図2は感染後の体重変化を示したグラフである。

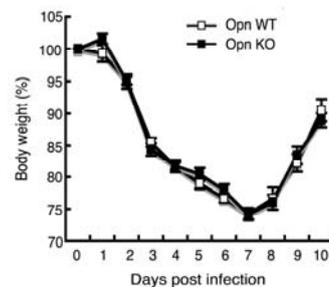


図2

(3)HKx31感染後60日目に脾臓およびリンパ節におけるウイルス抗原特異的メモリーCD8⁺T細胞の数を解析した結果、Opn欠損マウスで野生型マウスと比較して有意にその数は増加していた。

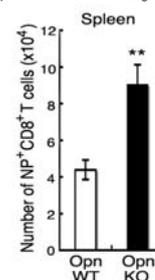


図3 感染後60日目の脾臓におけるウイルス抗原特異的CD8⁺T細胞の数

(4) Opn 欠損マウスおよび野生型マウスに HKx31 を感染させた。その約 60 日後に PR8 により再感染を行った。再感染後、肺組織およびリンパ組織におけるウイルス抗原特異的 CD8⁺T 細胞の数は野生型マウスと比較して Opn 欠損マウスで増加していた。

(5) HKx31 感染後の、脾臓中の IL-12 の産生量を測定した結果、Opn 欠損マウスでは野生型マウスと比較して有意に IL-12 の産生量は低下していた。

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 7 件) 全て査読有り

- ① Morimoto J, Kon S, Matsui Y, Uede T. Osteopontin: As a Target Molecule for the Treatment of Inflammatory Diseases. *Curr. Drug. Targets*. 2009 Nov.3.
- ② Kurokawa M, Konno S, Takahashi A, 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 DC-derived osteopontin in systemic allergen sensitization. *Eur. J. Immunol.* 2009 39(12): 3323-30.
- ③ Matsui Y, Iwasaki N, Kon S, Takahashi D, Morimoto J, Matsui Y, Denhardt DT, Rittling S, Minami A, Uede T. Accelerated development of aging-associated and instability-induced osteoarthritis in osteopontin-deficient mice. *Arthritis Rheum.* 2009 60(8):2362-71.
- ④ Kanayama M, Kurotaki D, Morimoto J, Asano T, Matsui Y, Nakayama Y, Saito Y, Ito K, Kimura C, Iwasaki N, Suzuki K, Harada T, Li HM, Uehara J, Miyazaki T, Minami A, Kon S, Uede T. Alpha9 integrin and its ligands constitute critical joint microenvironments for development of autoimmune arthritis. *J. Immunol.* 2009 182(12): 8015-25.

⑤ Ito K, Kon S, Nakayama Y, Kurotaki D, Saito Y, Kanayama M, Kimura C, Diao H, Morimoto J, Matsui Y, Uede T. The differential amino acid requirement within osteopontin in alpha 4 and alpha9 integrin-mediated cell binding and migration. *Matrix Biol.* 2009 28(1): 11-9.

⑥ Diao H, Iwabuchi K, Ki L, Onoe K, Van KL, Kon S, Saito Y, Morimoto J, Denhardt DT, Rittling S, Uede T. Osteopontin regulates development and function of invariant natural killer T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2008 105(41):15884-9.

⑦ Teague RM, Greengard PD, Fowler C, Huang MZ, Tan X, Morimoto J, Dossett ML, Huseby ES, Ohlen C. Peripheral CD8⁺ T cell tolerance to self-proteins is regulated proximally at the T cell receptor. *Immunity* 2008 28(5): 662-74.

[学会発表] (計 4 件)

① Morimoto J, Sato K, Kida H, Miyazaki T, Uede T: Osteopontin deficiency promotes secondary immune response to influenza A virus infection, possibly by regulating the maintenance of virus-specific memory CD8⁺ T cells.

第 39 回日本免疫学会学術集会 (大阪)、12 月 2-4 日、2009.

② 森本純子, 佐藤佳代子, 伊藤甲雄, 中山洋佑, 松井裕, 喜田宏, 宮崎忠昭, 上出利光: インフルエンザ A ウイルス感染防御免疫応答における Opn の機能解析。第 9 回オステオポンチン研究会 (札幌)、9 月 12-13 日、2009.

③ 森本純子, 松井裕, 上出利光: 感染防御免疫応答におけるオステオポンチンの機能。3 学会合同大会 (第 37 回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会、

第 19 回日本生体防御学会学術総会、第 45 回補体シンポジウム(札幌)、7 月 12-13 日、2008.

④ Morimoto J, Kanayama M, Kurotaki D, Asano T, Nakayama Y, Ito K, Saito Y, Kimura C, Harada T, Mei LH, Uehara J, Miyazaki T, Uede T, Kon S. The interaction of alpha9 integrin with its ligands regulates the development of rheumatoid arthritis. 2nd International Conference on Osteoimmunology (Rhodes, Greece), June 8-13, 2008.

[図書] (計 2 件)

① 森本純子、上出利光：オステオポンチン, 106-108 (炎症・再生医学事典, 朝倉書店) 2009

② 森本純子、上出利光：オステオポンチンと自己免疫疾患, 328-329 (Medical Science Digest) ,34(8), 2008.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森本 純子 (MORIMOTO JUNKO)
北海道大学・遺伝子病制御研究所・助教
研究者番号：20451396

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：