

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 16 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790449

研究課題名（和文）免疫記憶 CD8T 細胞の形成および維持機構におけるオステオポンチンの機能解析

研究課題名（英文）The role of osteopontin in the generation of memory CD8 T cells during influenza 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）：免疫記憶は長寿命の免疫細胞（T 細胞および B 細胞）により担われており、特にメモリーCD8T 細胞は、生体がウイルス等の再感染を受けた際の迅速な生態防御において重要な役割を担っている。その為メモリーCD8T 細胞の形成とその維持メカニズムを解明することは、効果的なワクチン開発につながる事が期待される。Effector CD8T 細胞は細胞表面分子の発現の違いから将来メモリーCD8T 細胞になることが運命づけられているメモリープレカーサーCD8T 細胞(MPEC)と effector 機能を発揮した後、アポトーシスにより死滅する terminal effector CD8T 細胞(SLEC)に大別される。我々は Opn 欠損マウスで形成されるウイルス抗原特異的 effector CD8T 細胞において MPEC が野生型マウスと比較して有意に増加していることを明らかにした。Opn 欠損マウスの骨髄細胞より分化させた樹状細胞(DC)を不活化インフルエンザウイルスで刺激すると、野生型マウスと比較して IL-12 の産生が減少していること、さらには Opn 欠損マウス内で形成された effector CD8T 細胞は転写因子である T-bet の発現が減少していることを明らかにした。このことは IL-12 が CD8T 細胞内の T-bet の発現を誘導し、その結果 SLEC への分化を促すという過去の報告と一致する。我々はさらに Opn 欠損状態で形成されたメモリーCD8T 細胞のインフルエンザウイルス二次感染に対する反応性を検討したところ、Opn 欠損マウスでは二次感染後早期に肺からウイルスを排除できることが明らかとなった。以上の結果よりインフルエンザウイルス感染後早期にリンパ節内で発現誘導される Opn はナイーブ CD8T 細胞から SLEC への分化誘導に関与していることが明らかとなり、効果的なワクチン開発において Opn が標的分子となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The adaptive immune system generates memory cells, which induce a rapid and robust immune response following secondary antigen encounter. Memory CD8⁺ T cells are a critical component of protective immunity against infections and cancers. Therefore, understanding the mechanism whereby memory CD8⁺ T cells are generated and maintained is important for inducing effective memory CD8⁺ T cell response. Recent studies have demonstrated that the inflammatory cytokine IL-12 favors the generation of terminal effector CD8⁺ T cells rather than memory precursor effector CD8⁺ T cells by regulating the expression of the transcription factor T-bet. In this study, we report that the inflammatory cytokine osteopontin (Opn) modulates memory CD8⁺ T cell generation during influenza virus infection. Although Opn-wild-type (Opn WT) and Opn-knockout (Opn KO) mice had similar numbers of virus-specific effector CD8⁺ T cells, virus-specific effector CD8⁺ T cells generated in Opn KO mice showed low levels of T-bet expression and an increased memory precursor cell population compared with cells generated in Opn WT mice. This resulted in the persistently increased number of memory CD8⁺ T cells in Opn KO mice. Studies with bone marrow-derived dendritic cells (BMDCs) demonstrated that Opn-deficiency in BMDCs results in low levels of IL-12 production in response to the stimulation with influenza virus. Thus, we hypothesize that Opn modulates the generation of memory precursor effector CD8⁺ T cells by regulating cytokine milieu during the acute phase of virus infection. This finding may provide new insight into the role of Opn in adaptive immune response.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：免疫記憶、ウイルス感染

1. 研究開始当初の背景

ワクチン療法は病原体を接種することにより生体に抗原特異的免疫記憶を獲得させ、感染症を未然に予防するものである。そのため感染症に対するワクチン療法の成否は免疫記憶の成立に依存しているといっても過言ではない。免疫記憶（メモリー）は長寿命のリンパ球により担われており、特にメモリーCD8T細胞は生体がウイルスや細菌等の再感染を受けた際の迅速な生態防御反応において重要な役割を担っている。そのためメモリーCD8T細胞の形成およびその維持メカニズムの解明は効果的なワクチン開発につながる事が期待されている。

2. 研究の目的

申請者は免疫細胞から産生される炎症性サイトカインであるオステオポンチン(Opn)に着目した。申請者はマウスモデルを用いてインフルエンザウイルス感染後に Opn の発現が誘導されることをみいだした。よって本研究ではインフルエンザウイルス感染症におけるメモリーCD8T細胞形成および維持において 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ことを目的とした。

3. 研究の方法

野生型マウスおよび Opn 欠損マウスに一次感染としてインフルエンザ A ウイルス(HKx31;H3N2)を用いて経鼻感染を行った。さらに二次感染としてインフルエンザ A ウイルス(PR8;H1N1)による経鼻感染を行った。

一次感染および 二次感染後、肺、所属リンパ節および脾臓におけるウイルス抗原特異的エフェクターCD8T細胞およびメモリーCD8T細胞の数を解析した。さらにそれらのエフェクター機能を *in vivo* および *in vitro* で解析を行った。

4. 研究成果

①インフルエンザウイルスの一次感染では、野生型(WT)マウスおよび Opn 欠損 (Opn^{-/-})マウスにおいて、ウイルス抗原特異的 CD8T細胞の形成に差は認められなかった(感染後9日目)。さらにウイルス感染による体重減少、肺における炎症性細胞の浸潤程度も両群で差は認められなかった。②しかしながら一次感染から 60 日後のウイルス抗原特異的メモリーCD8T細胞の数は Opn^{-/-}マウスで WT マウスと比較して有意に増加していることが明らかとなった。さらに Opn^{-/-}マウスにおいて誘導されたエフェクターおよびメモリーCD8T細胞は両者とも機能的であった。③Opn^{-/-}マウスでは一次感染後のリンパ組織における IL-12 の産生が WT マウスと比較すると有意に低下しており、エフェクターCD8T細胞における T-bet の発現が低下していることが明らかとなった。さらに Opn^{-/-}マウスではメモリープレカーサーCD8T細胞の数が WT マウスと比較すると有意に増加していることも明らかとなった。④Opn^{-/-}マウスは二次感染後、WT マウスと比較すると早期にウイルスを排除することが明らかとなった。これは Opn^{-/-}マウスでメモリーCD8T細胞の数が増加しているためだと示唆された。

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)

1. **Morimoto J**, Sato K, Nakayama Y, Kimura C, Kajino K, Matsui Y, Miyazaki T, and Uede T. Osteopontin modulates the generation of memory CD8⁺ T cells during influenza virus infection. *J Immunol*. 2011 Dec 1; 187(11): 5671-5683.
2. Kanayama M, **Morimoto J**, Matsui Y, Ikesue M, Danzaki K, Kurotaki D, Ito K, Yoshida T, and Uede T. Alpha9beta1 integrin-mediated signaling serves as an intrinsic regulator of pathogenic Th17 cell generation. *J Immunol*. 2011 Dec 1; 187(11):5851-5864.
3. Matsui Y, Ikesue M, Danzaki K, **Morimoto J**, Sato M, Tanaka S, Kojima T, Tsutsui H, and Uede T. Syndecan-4 prevents cardiac rupture and dysfunction after myocardial infarction. *Circ Res*. 2011 May 27;108(11):1328-1339.
4. Ikesue M., Matsui Y., Ohta D., Danzaki K., Ito K., Kanayama M., Kutotaki D., **Morimoto J**, Kojima T., Tsutsui H., Uede T. Syndecan-4 Deficiency Limits Neointimal Formation After Vascular Injury by Regulating Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation and Vascular Progenitor Cell Mobilization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011
5. Kurotaki D., Kon S., Bae K., Ito K., Matsui Y., Nakayama Y., Kanayama M., Kimura C., Narita Y., Nishimura T., Iwabuchi K., Mack M., Van Rooijen N., Sakaguchi S., Uede T., **Morimoto J**. CSF-1-dependent red pulp macrophages regulate CD4 T cell responses. *J Immunol*. 2011, 186(4) 2229-2237.
6. Nakayama Y, Kon S, Kurotaki D, **Morimoto J**, Matsui Y, and Uede T. Blockade of interaction of alpha9 integrin with its ligands hinders the formation of granulation in cutaneous wound healing. *Lab invest*. 2010 Jun;90(6):881-894.
7. Iwata D, Kitamura M, Kitaichi N, Saito Y, Kon S, Namba K, **Morimoto J**, Ebihara A, Kitamei H, Yoshida K, Ishida S, Ohno S, Uede T, Onoe K, and Iwabuchi K. Prevention of experimental autoimmune uveoretinitis by blockade of osteopontin with small interfering RNA. *Exp Eye Res*. 2010 Jan;90(1): 41-48.

[学会発表] (計 6 件)

1. Tsutomu Endo, Masashi Kanayama, Koyu Ito, **Junko Morimoto**, Norimasa Iwasaki, Akio

Minami, Toshimitsu Uede: The role of Syndecan-4 in the development of Rheumatoid Arthritis. 第 40 回日本免疫学会学術集会 (千葉、幕張メッセ) 11 月 27-29, 2011.

2. Keiko Danzaki, Yutaka Matsui, **Junko Morimoto**, Yoichiro Iwakura, Toshimitsu Uede: Interleukin-17A deficiency accelerates unstable atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E-deficient mice. 第 40 回日本免疫学会学術集会 (千葉、幕張メッセ) 11 月 27-29, 2011.
 3. **Junko Morimoto**, Kayoko Sato, Yosuke Nakayama, Chiemi Kimura, Kiichi Kajino, Tadaaki Miyazaki, Uede Toshimitsu: Osteopontin modulates the generation of memory CD8⁺ T cells during influenza virus infection. 第 40 回日本免疫学会学術集会 (千葉、幕張メッセ) 11 月 27-29, 2011.
 4. Masashi Kanayama, **Junko Morimoto**, Yutaka Matsui, Toshimichi Yoshida and Toshimitsu Uede: Alpha9beta1 Integrin-Mediated Signaling Serves as an Intrinsic Regulator of Pathogenic Th17 Cell Generation. 98th Annual meeting the American Association of Immunologists (San Francisco) 5 月 13-17, 2011
 5. Masashi Kanayama, **Junko Morimoto**, Toshimitsu Uede: Abrogation of integrin $\alpha 9 \beta 1$ -mediated signaling skews the generation of functional Th17 cells in regional lymph nodes of arthritic mice. 97th Annual Meeting the American Association of Immunologists (ボルチモア) 5 月 7 日 -11 日, 2010.
 6. **Junko Morimoto**, Kayoko Sato, Yosuke Nakayama, Hiroshi Kida, Tadaaki Miyazaki, Toshimitsu Uede: The role of osteopontin in the generation of virus-specific memory CD8T cells. Cell Symposia, Influenza translating basic insights(米・ワシントン)12月2-4日, 2010.
- [図書] (計 3 件)
1. **森本純子**, 黒滝大翼、上出利光: 赤脾髄マクロファージによるT細胞の抑制とその機序。臨床免疫・アレルギー科、第57巻、第1号 (in press)
 2. **Morimoto J**, Kon S, Matsui Y, Uede T. Osteopontin; as a target molecule for the treatment of inflammatory diseases. *Curr Drug Targets*. 2010 Apr;11(4):494-505. Review.
 3. Matsui Y, **Morimoto J**, Uede T. Role of

matricellular proteins in cardiac tissue remodeling after myocardial infarction. *World J Biol Chem.* 2010 May 26;1(5):69-80. Review.

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：