

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791985

研究課題名（和文）角膜内皮は抗原提示細胞として免疫応答を制御するか？

研究課題名（英文）Immune regulatory role of corneal endothelial cells as antigen presenting cells

研究代表者

小松直樹（KOMATSU NAOKI）

鳥取大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：50599925

研究成果の概要（和文）：

眼球は、免疫特権をもった代表的な器官の一つである。そのメカニズムとして前房関連性免疫偏位(ACAID)が知られている。本研究においては、内皮細胞の免疫特権への寄与を免疫調節面から検討した。角膜内皮における主たる病原体感染として、単純ヘルペス (HSV) がよく知られており、その transcriptome を network 解析を用いて検討した結果、全ゲノムにおける Indoleamine 2,3-deoxygenase 1 (IDO1) の高度の発現とそれに関連づけられる抗原提示機能が明らかとなった。IDO1 の抗原提示機能への関連性から、内皮の抗原提示機能を検証した結果、HSV 感染のみならず、卵白アルブミンを含めたモデル抗原を CD4 細胞に提示でき、Th1 型反応を誘導できることが判明した。とくに IDO1 が誘導される場合、抗原特異的に IDO1 は、クラス II 経路依存性に調節性 T 細胞を誘導することが判明した。

研究成果の概要（英文）：The anterior chamber of the eye is a canonical immune privileged site. Corneal endothelial cells line the inner walls of the anterior chamber, and contribute to establishment of ACAID. We analyzed how corneal endothelial cells may exert immune regulatory roles. Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is one of the leading corneal pathogens and cause of blinding endothelial dysfunction. Therefore, we first determined whether HSV-1 can modulate the host immune responses. We examined the transcriptional responses of human corneal endothelial cells (HCEn). Network analysis showed that Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) was induced and positioned in the primary network with antigen presenting function. When HCEn cells were examined for antigen presentation, HSV-primed HCEn cells stimulated the proliferation of allogeneic CD4⁺ T cells as a recall response, which was manifested by IL-10 secretion. Co-cultures of CD4⁺ T cells with HSV-primed HCEn cells led to the differentiation of CD4⁺ T cells into regulatory T cells (Tregs) as shown by inhibition of the recall response of CD4⁺. The role of IDO1 was examined by determining whether it functionally modulated the immune response by inducing Treg. When IDO1 was over-expressed in HCEn cells, diversion to Treg was promoted by HCEn cells, and IDO1 inhibition of HCEn cells by siRNA reduced the HCEn-mediated Treg diversion. Corneal endothelial cells were shown to exert immune regulatory role in MHC

class II restricted manner via induction of ID01 upon viral infection.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：角膜内皮、抗原提示、ID01、TLR3、TLR9

1. 研究開始当初の背景

眼球は、免疫特権をもった代表的な器官の一つである。そのメカニズムとして前房関連性免疫偏位(ACAID)が知られている。ACAIDは、末梢性免疫寛容機構のひとつであり、これまで多くの重要な研究がなされてきた。中でも角膜内皮は、抑制性サイトカインの分泌を介してACAIDの成立に関与することが、明らかになってきている。一方、近年、角膜内皮機能不全をきたす多くの病態が知られるようになったが、その発症メカニズムは明らかではない。つまり、角膜内皮は角膜の透明性を維持する機能を割り当てられながらも同時に免疫を制御する機構をもっていることになる。

一方、特発性角膜内皮炎の原因の一つとして単純ヘルペスウイルスはよく知られているが、その内皮障害の免疫学的プロセスはあまり知られていない。また、内皮が抗原特異的な免疫調節機能を発揮しえる病態についても詳細が明らかではない。

2. 研究の目的

ウイルス感染、炎症性疾患、加齢ストレス環境下において、角膜内皮がいかに免疫応答を制御するかを解析し、内皮機能不全にいたる過程を検証する。とくに内皮機能不全の発症機構、治療への反応性、さらに予後と関連する因子を明らかにし、これらを標的とした分子医療の可能性をさぐることを目的とする。

3. 研究の方法

獲得免疫機能の賦活化の機能に着眼し、角膜内皮の抗原提示機能の詳細を、調節系との相互作用の面から明らかにする。とくに、いかにして自身を免疫の標的から防御しているのかに着目し、いったいいかなる病態においてその機序が破綻しうるかを解析する。このような抗原刺激としてウイルス感染や、加齢刺激や非酵素的糖付加産物、TLR刺激などが推察される。そこで、内皮が日常的に暴露されるストレスに対する角膜内皮の刺激応答を抗原提示面から探索する。

4. 研究成果

角膜内皮の転写応答を単純ヘルペス感染に対する反応面からネットワーク解析を行い、抗原提示機能との関連性を明らかにした。図にはそのプライマリーネットワークを示した。

モデル抗原として卵白アルブミンに対する transgenic T細胞レセプターをもつ、OT2 マウスを用いてその抗原提示経路の解析を行った。その結果、OVAは、MHC class II 経路により抗原提示されることが判明した。HSV の glycoprotein Dを用いた場合も同様に MHC class II 経路により抗原提示された。以上より、角膜内皮が実際に抗原提示機能を発揮し、CD4 T細胞を活性化できることが判明した。つぎに次に、抗原提示ネットワークの主要調節候補因子として IDO1 の機能解析をおこなった。IDO1 の抗ウイルス作用を real time PCR で検討した結果、抗ウイルス作用は認めなかった。さらに 免疫調節機能の有無を検討した。角膜内皮に IDO を強制発現、あるいは IDO1 を siRNA でノックダウン、あるいは IDO1 の阻害剤を用いて検討した結果、角膜内皮に誘導される IDO1 は、IL-10 産生性の調節性 T細胞を誘導することが判明した。IDO1 の誘導因子を検索した結果、病原体の認識にかかわる Pattern recognition receptor、中でも Toll like receptor (TLR)3 や TLR9 が重要であることが判明した。角膜内皮炎の原因病原体としてはサイトメガロウイルスも重要であることが判明しつつあるが、角膜における IDO1 の役割は HSV 感染にとどまらず、CMV 感染でも同様な機序がおこっていること

が想定される知見をえつつある。(改変後、再投稿予定)

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1件)

1. Herpes simplex virus type 1-induced transcriptional networks of corneal endothelial cells indicate antigen presentation function.

Miyazaki D, Haruki T, Takeda S, Sasaki S, Yakura K, Terasaka Y, Komatsu N, Yamagami S, Touge H, Touge C, Inoue Y.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011 Jun 16;52(7):4282-93. doi: 10.1167/iovs.10-6911.

[学会発表] (計1件)

1. 神鳥美智子, 宮崎大, 矢倉慶子, 小松直樹, 唐下千寿, 石倉涼子, 井上幸次 前眼部炎症疾患における前房内サイトメガロウイルスDNAのロジスティック解析 京都 2012/10/25

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等なし

6. 研究組織

- (1) 研究代表者 小松 直樹 (KOMATSU NAOKI)
鳥取大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：50599925

- (2) 研究分担者
()

研究者番号：

- (3) 連携研究者
()

研究者番号：

- (4) 研究協力者 宮崎 大 (MIYAZAKI DAI)
鳥取大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30346358

神鳥美智子 (KANDORI MICHIKO)
鳥取大学・医学部附属病院・医員