

医研283


(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Suppression of the bacterial antigen-specific T cell response and the dendritic cell migration to the lymph nodes by osteopontin.

(オステオポンチンによる細菌抗原特異的T細胞応答と樹状細胞のリンパ節への遊走の抑制)

氏名 ベガム モサメド ティラー 

【目的】オステオポンチン(OPN)は、IL-12の発現誘導とIL-10の発現抑制により Interferon (IFN)- γ 産生 Th1型免疫応答を増強することが知られている細胞外マトリックス様分子である。我々は、細菌抗原ワクチン接種による Th1型免疫応答の誘導を OPNが増強するものと予想し、その検証を試みた。また、OPNの樹状細胞(DC)に対する影響についても、検討を加えた。

【方法】C57BL/6マウスの足蹠にリステリア死菌体(HKLM)を皮下接種免疫する際に、OPNを同時に接種した。1週間後の所属リンパ節細胞を試験管内でリステリア抗原刺激した後のIFN- γ 産生をELISA法で、増殖反応をトリチウムサイミジン取込みで検討した。樹状細胞(DC)としては、C57BL/6マウス骨髓細胞をGM-CSFおよびIL-4とともに培養して誘導した未分化DC、及びC57BL/6マウスより樹立したJAWSII未分化DC株を用いた。これらのDCをHKLMでin

vitro 刺激した後、細胞表面マーカーをフローサイトメトリーで、遺伝子発現を RT-PCR 法で解析した。また、これらの DC を B6-Ly5.1 マウスに HKLM 及び OPN とともに皮下移入し、その後リンパ節へ遊走した細胞を Ly5.2+CD11c+細胞として検出した。

【結果】 OPN を HKLM ワクチンと同時にマウスに投与すると、予想に反して所属リンパ節の CD4 陽性 T 細胞の IFN- γ 産生と増殖反応が低下した。この結果から、OPN が T 細胞免疫応答誘導を抑制したものと推定された。DC が T 細胞免疫応答誘導を中心的に制御する抗原提示細胞であることから、次に OPN の DC に対する影響を検討した。OPN を DC の培養に加えた場合、未刺激あるいは HKLM 刺激した DC いずれにおいても、抗原提示に重要な細胞表面分子、MHC class II、CD80 および CD86 分子の発現には影響はなかった。これに一致して、OPN で処理した DC は リステリア菌抗原特異的 Th1 型 T 細胞

に対して正常な抗原提示能を示した。しかしながら、DCをHKLMとともに皮下に移入した際に認められるDCの所属リンパ節への遊走は、OPNをとともに投与することにより顕著に抑制された。細菌成分で活性化されたDCがケモカインレセプターCCR7発現を獲得し、このCCR7によりリンパ節へ遊走することがT細胞免疫応答誘導初期に重要であることが知られているが、OPNはHKLM刺激によるDCのCCR7発現誘導を特異的に抑制することが判明した。以上の結果から、OPNはDCのCCR7発現抑制を介して、そのリンパ節への遊走とT細胞免疫応答の誘導を抑制することが示唆された。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	* <u>課程博</u> 論文博	第 号	氏名	Mst. Dilara Begum
論文審査委員	平成18年12月26日			
	主査教授	田中勇悦	田中勇悦	(田中)
	副査教授	佐藤良也	佐藤良也	(佐藤)
	副査教授	藤田次郎	藤田次郎	(藤田)
<p>(論文題目) Suppression of the bacterial antigen-specific T cell response and the dendritic cell migration to the lymph nodes by osteopontin.</p>				
<p>(論文審査結果の要旨)</p>				
<p>1. 研究の背景と目的: オステオポンチン (OPN) は、活性化T細胞等から産生される細胞外マトリックス様分子であり、interleukin (IL)-12 産生の増強及びIL-10 産生の抑制を介して interferon (IFN)-gamma 産生を増強することが報告されている。そこで、細胞内寄生性細菌 <i>Listeria monocytogenes</i> (LM) に対して感染防御能を有するIFN-gamma産生Th1型T細胞の誘導におけるOPNのアジュバント効果を検討した。</p>				
<p>2. 研究内容: C57BL/6 マウスをLM加熱死菌 (HKLM) で免疫すると、弱いながらLM特異的IFN-gamma産生CD4⁺T細胞が誘導されるが、HKLMとOPNを同時投与すると、予想に反してIFN-gamma産生は抑制された。また、この抑制はTh2型免疫応答への偏向によるものでなく、T細胞応答誘導の抑制によることが明らかとなった。そこで、次に、T細胞応答誘導の中心的役割を担う抗原提示細胞である樹状細胞 (DC) の機能に対するOPNの作用を検討した。未熟DCは細菌刺激により成熟して、抗原提示に必要なMHC class II分子と共刺激分子 (CD80, CD86) の発現が増強し、抗原提示能も増強する。未熟DCのHKLM刺激によってもDC成熟とMHC class II・共刺激分子の誘導と抗原提示が誘導されるが、これに対してOPNは影響しなかった。一方、成熟DCは炎症部位から所属リンパ節への遊走能を獲得して、リンパ節において抗原提示を行なうことによりT細胞応答が成立するが、この過程はOPNにより抑制された。この遊走には活性化によってDCに誘導されるケモカインレセプターCCR7が重要な役割を果たすが、その発現がOPNによりブロックされることが判明した。以上の結果から、OPNがDC遊走を制御することによりT細胞免疫応答を抑制するネガティブフィードバック機構が存在することが示唆された。</p>				
<p>3. 研究の成果の意義と学術的水準: 本研究は、OPNのTh1反応促進を利用して、OPNを細胞内寄生体であるLMの死菌ワクチンのアジュバントとしての効果を期待して始められた。しかし、正確な実験操作のもとで行われた実験のデータは、当初の予想に反し、OPNの免疫抑制作用を示す</p>				

ものであった。そこで筆者らは、その免疫学的なメカニズムを調べ、(1) OPN 投与が LM 特異的 CD4+T 細胞免疫を誘導する DC のリンパ節への移動を強く抑制すること、(2) そのメカニズムの一つとして DC のリンパ節移動を司るケモカイン受容体 CCR7 の発現抑制であることを実験的に証明した。

本実験での成果とこれまでの発表論文のデータから、OPN の免疫調節効果は、投与する OPN 量、接種場所、併用する抗原の種類や量、あるいは宿主の遺伝的背景により様々に変化することが明らかとなった。今後の課題として OPN をどのように利用すべきか、量、接種条件、宿主、病原体等、様々な条件での研究が待たれる。さらに、従来 of OPN の概念である Th1 型免疫応答誘導とは逆の発想、つまり OPN による免疫抑制の可能性も視野にいたれた研究の継続が切望される。

本研究は OPN の新たな生物活性を明らかにし、今後のワクチン開発への展望を示したものであり、学術的に優れていると評価できる。

- 備考
- 1 用紙の規格は A4 とし縦にして左横書きとすること。
 - 2 要旨は 800~1200 字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。