

令和元年6月20日現在

機関番号：32206

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09553

研究課題名(和文) ペリオスチンのシグナル伝達機構の解明によるアレルギー性炎症に対する治療基盤の構築

研究課題名(英文) Development of therapeutic foundation for allergic inflammation by elucidation of the periostin signaling pathway

研究代表者

太田 昭一郎(Ohta, Shoichiro)

国際医療福祉大学・福岡保健医療学部・教授

研究者番号：20346886

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：マトリセルラータンパク質であるペリオスチンの機能を明らかにするため、ペリオスチンの結合分子の同定解析を試みた。その結果、インテグリン V α 3を発現する細胞が固相化ペリオスチンに接着することを示し、インテグリン V α 3を結合分子の一つとして同定した。次に接着におけるペリオスチンシグナルはNF- κ B経路を介していることを明らかにした。さらに、細胞の接着を阻害する抗ペリオスチン抗体を樹立した。一方、ある条件下ではペリオスチンは細胞の接着を阻害することを見出し、細胞接着において促進と阻害の二面性を持つことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ペリオスチンは喘息やアトピー性皮膚炎といったアレルギー性炎症を含め、間質性肺炎や胆管細胞癌といった種々の炎症・線維化疾患でその発現が上昇する。われわれは、ペリオスチンがそれらの疾患の病態形成に関与すると同時に、病勢や予後を反映するバイオマーカーの一つとなることを明らかにしてきた。本課題にてペリオスチンの結合分子と細胞内シグナル経路が明らかにされたことで、さらにそれら疾患の病態理解が進み、かつ、分子標的薬のコンパニオン診断薬として貢献できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the function of periostin, we attempted to identify and analyze periostin-binding proteins. As a result, we showed integrin V α 3-expressing cells adhere the periostin-coated surface, indicating that integrin V α 3 was one of periostin-binding proteins. Then we showed the periostin signaling in cell adhesion was mediated by NF- κ B pathway. We also established anti-periostin antibodies that inhibited cell adhesion. On the other hand, we found that periostin inhibited cell adhesion in a certain condition, suggesting that periostin both facilitate and inhibit cell adhesion.

研究分野：免疫学

キーワード：ペリオスチン マトリセルラータンパク質

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マトリセルラータンパク質は、組織の形成や修復の際に産生され、細胞の分化増殖や遊走のシグナルを誘導して細胞機能を調節する、一種の細胞外マトリックスタンパク質である。ペリオスチンもマトリセルラータンパク質の一つであり、心筋細胞の再生や、癌細胞の発育・転移に関与するが、アレルギー性炎症とペリオスチンとの関連はまったく知られていなかった。われわれはペリオスチンが喘息における組織の線維化に関与していることを突き止め、ペリオスチンのアレルギー性炎症における重要性を初めて示した。また、線維芽細胞から産生されるペリオスチンが、ケラチノサイト上のインテグリンを受容体としてシグナルを誘起し、TSLP などの炎症性サイトカインの産生を促すことを見出した。しかし、ペリオスチンがインテグリンに直接結合しているかどうかは不明であり、他の分子を介して結合している可能性もある。さらに、インテグリン以外のペリオスチン受容体の存在も考えられる。

2. 研究の目的

ペリオスチンのマトリセルラータンパク質としての機能を明らかにするため、ペリオスチンの結合分子、細胞表面受容体、および細胞内シグナル伝達経路を同定し、ペリオスチンによるシグナル誘導の流れを解明するとともに、ペリオスチンを阻害することによるアレルギー性炎症の治療基盤を構築することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ペリオスチンの細胞表面受容体あるいは結合分子を同定する。

ペリオスチンの細胞表面受容体あるいは結合分子の同定を行うためにインテグリン $\alpha_v\beta_3$ を強制発現させた SW480 細胞を、ペリオスチンを固相化したプレートに播種し、接着した細胞数を定量するシステムを用い、ペリオスチンに SW480 細胞が接着するかどうか確認した。

(2) ペリオスチンにより誘導される細胞内シグナル伝達経路を同定する。

代表的なシグナル経路のレポーター細胞にペリオスチンを加えて、どのシグナル伝達経路が関与しているか調べた。

(3) ペリオスチンの阻害抗体を作製する。

ペリオスチンに対する細胞接着を阻害するモノクローナル抗ペリオスチン抗体を作製し、ペリオスチンを中和することで細胞接着が阻害されることを確認した。

(4) ペリオスチンの細胞接着に及ぼす影響を検討する。

ペリオスチン固相化プレートに種々の細胞株を加え、接着の程度を観察した。

4. 研究成果

(1) インテグリン $\alpha_v\beta_3$ を強制発現させた SW480 細胞は、ペリオスチンに接着することが確認された。この接着はインテグリン $\alpha_v\beta_3$ の中和抗体で阻害されることによりインテグリン $\alpha_v\beta_3$ を介していることが明らかになった。

また、血漿タンパク質を抗ペリオスチン抗体で免疫沈降すると、IgA が共沈し、ペリオスチンと IgA が結合していることがわかった。

(2) ペリオスチンは NF- κ B レポーター細胞でレポーター活性を上昇させた。この細胞のインテグリン $\alpha_v\beta_3$ をノックダウンするとレポーター活性は低下し、ペリオスチンがインテグリン $\alpha_v\beta_3$ を介して NF- κ B 経路を介していることがわかった。

(3) ペリオスチンの阻害抗体を細胞接着定量の系に加え、インテグリン $\alpha_v\beta_3$ を強制発現させた SW480 細胞のペリオスチン固相化プレートへの接着が阻害されることを確認した。

(4) ある種の細胞株では、ペリオスチン存在下でその接着が阻害されることを見出し、ペリオスチンは細胞接着の促進と阻害の二面性を持つことがわかった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] すべて査読有 (計 35 件)

1. Kosaku Komiya, Shoichiro Ohta, Kazuhiko Arima, et al. Clarithromycin attenuates IL-13-induced periostin production in human lung fibroblasts. *Respiratory Research* **18**(1): 37 (2017) doi: 10.1186/s12931-017-0519-8
2. Shoichiro Ohta, Masaki Okamoto, Kiminori Fujimoto, et al. The usefulness of monomeric periostin as a biomarker for idiopathic pulmonary fibrosis. *PLoS One* **12**(3): e0174547 (2017) doi: 10.1371/journal.pone.0174547
3. Youin Bae, Kenji Izuhara, Shoichiro Ohta, Junya Ono, et al. Periostin and Interleukin-13 Are Independently Related to Chronic Spontaneous Urticaria. *Allergy, Asthma & Immunology Research* **8**(5): 457-460 (2016) doi: 10.4168/air.2016.8.5.457
4. Kenji Izuhara, Shoichiro Ohta, and Junya Ono Using periostin as a biomarker in the treatment of asthma. *Allergy, Asthma & Immunology Research* **8**(6): 491-498 (2016) doi: 10.4168/air.2016.8.6.491

5. Kazuhiko Arima, Shoichiro Ohta, Atsushi Takagi, et al. Periostin contributes to epidermal hyperplasia in psoriasis common to atopic dermatitis. *Allergology International* **64**: 41-8 (2015) doi: 10.1016/j.alit.2014.06.001.
6. Yutaka Nakamura, Hiromi Nagashima, Shoichiro Ohta, et al. Periostin in the bronchial lavage fluid of asthma patients. *Allergology International* **64**: 209-210 (2015) doi: 10.1016/j.alit.2015.01.001
7. Yuzaburo Inoue, Kenji Izuhara, Shoichiro Ohta, et al. No increase in the serum periostin level is detected in elementary school-age children with allergic diseases. *Allergology International* **64**: 289-290 (2015) doi:10.1016/j.alit.2015.04.001
8. Keitaro Fukuda, Eiji Sugihara, Shoichiro Ohta, et al. Periostin Is a Key Niche Component for Wound Metastasis of Melanoma PLOS One **10**(6): e0129704 (2015) doi: 10.1371/journal.pone.0129704

〔学会発表〕(計 43 件)

1. Masahiro Ogawa, Shoichi Suzuki, Shoichiro Ohta, et al. Activation of peroxidases causes airway inflammation via production of hypothiocyanite. *31st Symposium of the Collegium Internationale Allergologicum* (2016)
2. Kenji Izuhara, Shoichiro Ohta, Masaki Okamoto, et al. A multicenter evaluation of a new periostin detection kit for idiopathic pulmonary fibrosis. *2015 American Thoracic Society International Conference* (2015)
3. Kenji Izuhara, Shoichiro Ohta, Masaki Okamoto, et al. Usefulness of periostin as a biomarker of pediatric asthma. *European Respiratory Society International Congress 2015* (2015)
4. Yuzaburo Inoue, Kenji Izuhara, Shoichiro Ohta, et al. No increase in the serum periostin level is detected in elementary school-age children with allergic diseases. *XXIV World Allergy Congress* (2015)

〔図書〕(計 3 件)

1. Kenji Izuhara, Satoshi Nunomura, Shoichiro Ohta, et al. Cytokine Network, in Evolution of Atopic Dermatitis in the 21st Century 97-112 Springer International Publishing, Gewerbestrasse, Switzerland (2018)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 2 件)

名称：試料に含まれるペリオスチンの測定試薬、ペリオスチン測定用前処理剤、ペリオスチン測定方法及びペリオスチン測定感度の改善方法

発明者：太田昭一郎 他

権利者：佐賀大学

種類：特許

番号：2016-157666

出願年：2016

国内外の別： 国内

名称：試料中のペリオスチンの測定試薬、ペリオスチン測定用前処理剤、ペリオスチン測定方法及びペリオスチン測定感度の改善方法

発明者：太田昭一郎 他

権利者：佐賀大学

種類：特許

番号：2016-157686

出願年：2016

国内外の別： 国内

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

<http://www.biomol.med.saga-u.ac.jp/medbiochem/index.php>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：出原 賢治
ローマ字氏名：Kenji Izuhara
所属研究機関名：佐賀大学
部局名：医学部
職名：教授
研究者番号（8桁）：00270463

研究分担者氏名：小川 雅弘
ローマ字氏名：Masahiro Ogawa
所属研究機関名：佐賀大学
部局名：医学部
職名：助教 90599317
研究者番号（8桁）：00270463

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。