

令和 3 年 5 月 11 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08144

研究課題名(和文)ペリオスチンを基軸とした新規の肺線維化機序の解明とその制御

研究課題名(英文)Cross-Talk between Transforming Growth Factor-beta and Periostin Can Be Targeted for Pulmonary Fibrosis

研究代表者

南里 康弘(宮内康弘)(NANRI, YASUHIRO)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：00382218

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：IPFは肺組織における不可逆的な線維化を特徴とする疾患であり、既存治療薬の効果は充分でなく、新しい治療薬の開発が急務である。我々は、ペリオスチンが線維化に重要なサイトカイン TGF- β により誘導されると共に、ペリオスチンとTGF- β シグナル間にクロストークが存在し、肺線維化機序において重要な役割を持つと考えに至った。本研究では、クロストークを阻害するインテグリン阻害剤(CP4715)を同定し、間質性肺炎モデルマウスへ投与した結果、クロストークシグナルを阻害し、肺線維化に対して軽減効果を示した。これらから、ペリオスチン/TGF- β のクロストークの阻害がIPFの新たな治療戦略として期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質性肺炎の発症機序においてTGF- β の重要性が知られている。TGF- β は、静止期の線維芽細胞を筋線維芽細胞へ変換させるとともに、線維芽細胞に作用してコラーゲンなどの細胞外マトリックスタンパク質の産生を誘導し、肺線維化の形成に寄与している。しかし、生体内におけるTGF- β の活性化調節機構について未だ多くの点が不明である。また、抗TGF- β 抗体のIPFに対する治療薬の治験は、副作用の問題のため中断されている。今回、我々の同定したペリオスチン/TGF- β のクロストークの阻害はTGF- β シグナルを全てを抑えるのではなく、特定の線維化シグナルを阻害するので、IPFの新たな治療戦略として期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we sought to learn whether the cross-talk between TGF- β and periostin leads to generation of pulmonary fibrosis and whether inhibitors for integrin α v β 3, a periostin receptor, can block pulmonary fibrosis in model mice and the TGF- β signals in fibroblasts from patients with IPF. We found that cross-talk exists between TGF- β and periostin signals via α v β 3/ β 5 converging into Smad3. This cross-talk is necessary for the expression of TGF- β downstream effector molecules important for pulmonary fibrosis. Moreover, we identified several integrin inhibitors capable of blocking cross-talk with TGF- β signaling. One of the compounds, CP4715, attenuated bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice and the TGF- β signals in fibroblasts from patients with IPF. These results suggest that the cross-talk between TGF- β and periostin can be targeted for pulmonary fibrosis and that CP4715 can be a potential therapeutic agent to block this cross-talk.

研究分野：組織線維化疾患

キーワード：ペリオスチン 間質性肺炎 線維化

1. 研究開始当初の背景

間質性肺炎は肺組織における不可逆的な線維化を特徴とする疾患であり、原因不明な特発性肺線維症 (IPF) の場合、診断からの平均生存期間は約 5 年と非常に予後が悪い。また、既存の治療薬の効果は充分でなく、新しい治療薬の開発が求められている。

間質性肺炎の発症機序において TGF- β の重要性が知られている。TGF- β は、静止期の線維芽細胞を筋線維芽細胞へ変換させるとともに、線維芽細胞に作用してコラーゲンなどの細胞外マトリックスタンパク質の産生を誘導することにより、肺線維化の形成に寄与している。しかし、生体内における TGF- β の活性化調節機構について未だ多くの点が不明である。また、抗 TGF- β 抗体の IPF に対する治療薬の治験は、副作用の問題のため中断されている。線維化の構成成分である細胞外マトリックスタンパク質の一部は、細胞表面上受容体に結合し細胞機能を調節する、マトリセルラータンパク質と呼ばれている。我々は、マトリセルラータンパク質の一つであるペリオスチンが間質性肺炎における肺線維化の形成に重要な役割を果たしていることを世界に先駆けて明らかにしてきた。しかし、ペリオスチンを介した肺線維化の機序は未だ不明である。

2. 研究の目的

我々は、ペリオスチンが TGF- β により誘導されるとともに、肺線維症モデルマウスや肺線維症患者の解析により、ペリオスチンと TGF- β シグナル間にクロストークが存在し、肺線維化機序において重要な役割を果たしていると考えに至った。本研究では、ペリオスチンと TGF- β のクロストークによる新規の肺線維化機序を解明し、間質性肺炎に対する新たな治療戦略を構築することを目的とし解析を進めた。

3. 研究の方法

1. ペリオスチンと TGF- β シグナル経路のクロストークに関する解析

我々は予備的実験において、正常肺線維芽細胞に対する TGF- β 刺激とペリオスチン発現抑制の効果の組み合わせを DNA マイクロアレイで解析することにより、ペリオスチン依存的に TGF- β により誘導される遺伝子群(ペリオスチン依存的線維化促進因子)の存在を検索した。また、TGF- β による SMAD2/3 のリン酸化がペリオスチン依存性であることも示している。以下の項目により、これらの遺伝子群の中から、モデルマウス、IPF 患者サンプルを用いた解析により肺線維化に重要な遺伝子を同定し、肺線維化におけるペリオスチンと TGF- β のクロストークの重要性を確立した。

- (1) 肺線維化モデルマウスにおけるペリオスチン依存的線維化促進因子の発現解析
- (2) 同遺伝子群の欠損マウスを用いたブレイマイシンによる肺線維化形成の検討
- (3) IPF 患者サンプルにおける同遺伝子群の発現解析

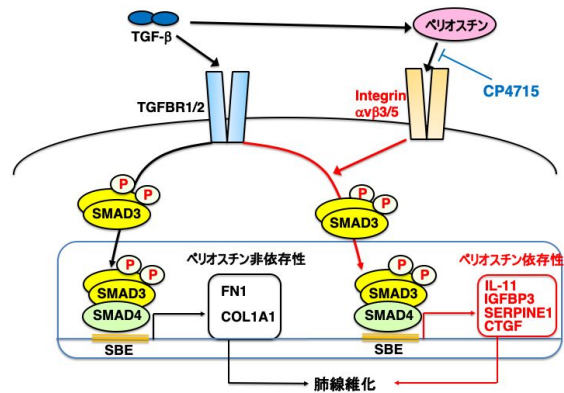
2. ペリオスチンによって誘導される細胞内シグナル伝達経路の同定

TGF- β により誘導される遺伝子群において図 2 で示したペリオスチン依存的と非依存的な線維化促進因子が存在することから、ペリオスチンがマトリセルラータンパク質として働き細胞内に誘導するシグナル経路の存在が想定される。そこで、以下の項目を実施する。

- (1) 各種インテグリンの発現抑制を行い、ペリオスチン依存的線維化因子の発現変動を指標にしてこの系におけるペリオスチン受容体を同定する。
- (2) 各種シグナル経路に対する阻害剤を用いて TGF- β とクロストークする経路を明らかにする。

4. 研究成果

ペリオスチンを発現抑制した正常肺線維芽細胞を用いたマイクロアレイ解析により、TGF- β 刺激によって誘導される遺伝子群の中でペリオスチン依存的に発現誘導される遺伝子を同定した。同定した遺伝子の間質性肺炎モデルマウス及び IPF 患者肺組織での発現を解析した結果、モデルマウス及び IPF 患者肺組織において高発現していた。また、肺線維芽細胞を用いたクロストークシグナルの解析から、TGF- β とペリオスチンのクロストークはインテグリン $\alpha_v\beta_3/5$ と SMAD3 を介して線維化因子を誘導していた。最後にクロストークシグナルを阻害するインテグリン阻害剤 (CP4715) を同定し、間質性肺炎モデルマウスへ投与しその効果を解析した。その結果、CP4715 はクロストークシグナルを阻害し、肺線維化に対して軽減効果を示した。これらの結果から、ペリオスチン/TGF- β のクロストークの阻害が IPF の新たな治療戦略として期待される。



Graphical abstract. TGF- β シグナルとペリオスチンのクロストーク Nanari, AJRCMB, 2020

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Yasuhiro Nanri ¹ , Satoshi Nunomura ¹ , Yasuhiro Terasaki ² , Tomohito Yoshihara ¹ , Yusuke Hirano ¹ , Yasuyuki Yokosaki ³ , Yukie Yamaguchi ⁴ , Carol Feghali-Bostwick ⁵ , Keiichi Ajito ⁶ , Shoichi Murakami ⁶ , Simon J. Conway ⁷ , and Kenji Izuhara ¹ | 4. 巻 62 |
| 2. 論文標題 Cross-Talk between Transforming Growth Factor- β and Periostin Can Be Targeted for Pulmonary Fibrosis | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology | 6. 最初と最後の頁 204-216 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1165/rcmb.2019-02450C | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Nanri Y, Nunomura S, Terasaki Y, Yoshihara T, Hirano Y, Yokozaki Y, Ajito K, Murakami S, Conway SJ, Izuhara K |
| 2. 発表標題 The cross-talk between TGF- β ; and periostin can be targeted for pulmonary fibrosis |
| 3. 学会等名 European Respiratory Society (ERS) International Congress 2019 (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年～2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 吉原智仁、南里康弘、三田村康貴、小川雅弘、布村聡、出原賢治 |
| 2. 発表標題 ペリオスチンによる肺線維芽細胞における細胞周期の制御 |
| 3. 学会等名 第67回日本アレルギー学会学術大会 |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

佐賀大学医学部分子生命科学講座分子医化学分野ホームページ
<http://www.biomol.med.saga-u.ac.jp/medbiochem/index.php>

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------------------|--|--------------------------------|----|
| 研究 分 担 者 | 出原 賢治 (Izuhara Kenji) (00270463) | 佐賀大学・医学部・教授 (17201) | |

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-----------------------|--|-----------------------------------|----|
| 連 携 研 究 者 | 寺崎 泰弘 (Terasaki Yasuhiro) (50332870) | 日本医科大学・医学部・准教授 (32666) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
| | |