

令和 6 年 4 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：2021～2023

課題番号：21K08182

研究課題名(和文) ペリオスチンを基軸とした新規肺線維化機序の解明と間質性肺炎の新たな治療戦略の構築

研究課題名(英文) Elucidation of a novel pulmonary fibrosis mechanism based on periostin and construction of a new therapeutic strategy for interstitial pneumonia

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：転写因子SOX11による線維化機序については全く知られていない。SOX11による新規線維化機序の解明を目的とし、SOX11の解析を行った。コンディショナルSOX11欠損マウスではプレオマイシンによる肺線維化形成の検討し、線維化形成が抑制されていた。これよりSOX11が線維化因子を誘導し線維化を増悪している可能性が示唆された。皮膚線維化モデルマウスにおいてもSOX11が重要であることを証明した。2. TGF- β シグナル経路におけるSOX11依存的線維化因子の探索・解析することにより、SOX11依存的にTGF- β により誘導される遺伝子群の存在を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質性肺炎は肺組織での不可逆的な線維化を伴い予後も極めて悪く、新しい治療薬の開発が求められている。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、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。また、最近、転写因子の一つであるSOX11がペリオスチンの発現を誘導し、肺や皮膚線維化に関与していることを証明した。今回、我々の同定したSOX11/ペリオスチンのフィードバックループを阻害することが出来れば、特定の線維化シグナルを阻害するので、IPF、SSc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)：Periostin is a matricellular protein playing a key role in the generation of fibrosis by amplifying the TGF- β signals. SOX11 is a transcription factor playing several important roles in organ development in embryos. We have shown that SOX11 induces periostin expression. However, the roles of the interactions among the TGF- β signals, periostin, and SOX11 remain unknown in the pathogenesis of SSc. In this study, we found that dermal fibroblasts derived from SSc patients showed constitutive, high expression of SOX11, which is significantly induced by TGF- β . SOX11 forms a positive loop with periostin to activate the TGF- β signals in SSc dermal fibroblasts. Genetic deletion of Sox11 in fibroblasts impairs dermal fibrosis. Moreover, using the DNA microarray, we identified several fibrotic factors dependent on the TGF- β /SOX11/periostin pathway. Our findings show that a positive loop formed by SOX11 and periostin in fibroblasts upregulates the TGF- β signals, leading to skin fibrosis.

研究分野：線維化疾患

キーワード：ペリオスチン SOX11 強皮症 間質性肺炎

1. 研究開始当初の背景

間質性肺炎の線維化機序において TGF- β が重要な働きを持つことが知られている。TGF- β は、線維芽細胞に作用し下流の SMAD3/4 を活性化することで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とともに、 α -SMA を誘導し線維芽細胞を筋線維芽細胞へ分化させることにより、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 -シグナルは多面的な作用を持つことから創薬の標的としては相応しくなく、実際、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、細胞表面上受容体を介して細胞内にシグナルを伝達して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、肺線維化の形成に必須な分子であることを、以下の成果より明らかにし世界をリードしてきた。: (1) ペリオスチン欠損マウスでは、肺線維症における炎症・線維化が軽減する (Uchida, *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2012)。 (2) 肺線維症の患者の血液や体液では、炎症の重症度と相関してペリオスチン濃度が上昇する (Okamoto, *Eur Respir J*, 2011, Ohta, *PLOS ONE*, 2017)。 (3) さらに最近、申請者はペリオスチンが TGF- β により誘導されるとともに、細胞上のインテグリンに結合し、TGF- β シグナルとクロストークすることで、線維化促進因子の産生を誘導して肺線維化を増悪することを明らかにした (図 1, Nanri, *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2020)。また、我々は肺での 2 型免疫応答において IL-13 シグナルが STAT6 と SOX11 の trans-regulation 機構により階層的に制御されており、その下流でペリオスチン遺伝子が発現されていることを示した (図 2, Mitamura, *J Biol Chem*, 2018)。さらに、*in silico* の解析により、SOX11 遺伝子発現が IPF 患者において上昇していることを見出した。以上より、肺線維化における TGF- β によるペリオスチン発現誘導に SMAD3 の下流で SOX11 が関与し、肺線維化機序において重要な役割を果たしている可能性が強く示唆された

2. 研究の目的

本研究の目的は、**SOX11 による新規の肺線維化機序を明らかにするとともに、ペリオスチンを基軸とした間質性肺炎に対する新たな治療戦略を構築すること**である。

SOX11 は DNA 結合ドメイン HMG box を有する転写因子群の一つであり、胚発生の調節や神経形成への関与が知られている。しかし、これまでに SOX11 が肺線維化機序に関与する報告はない。我々が独自に着目した SOX11 転写機構を介したペリオスチン発現誘導を基軸とした線維化機序に焦点を絞り研究を進めることで、SOX11 による新規の肺線維化機序が世界で初めて明らかになると予想される。また、ペリオスチン以外の肺線維化関連因子の発現誘導にも関与する可能性も考えられ、SOX11 を介した肺線維化機序の解明により新たな間質性肺炎の治療戦略に繋がると期待される。

3. 研究の方法

まず、間質性肺炎における SOX11 による新規の肺線維化機序の解明を目的として、肺線維化における SOX11 転写機構に関する解析を以下 1. 2. により行う。

1. SOX11 による転写機構を介した間質性肺炎の発症機序の解析

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 SOX11 発現抑制の効果の組み合わせにより、ペリオスチンの発現誘導が低下する結果を得ている (図 3A)。以下の項目により、肺線維化における SOX11 の重要性について解析する。

- (1) コンディショナル SOX11 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
- (2) Tet-on 誘導型 SOX11 transgenic 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、肺線維化モデルマウスにおける SOX11 の発現解析

2. TGF- β シグナル経路における SOX11 依存的線維化因子の探索・解析

さらに、正常肺線維芽細胞に対する TGF- β 刺激と SOX11 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、SOX11 依存的に TGF- β により誘導される遺伝子群 (SOX11 依存的線維化促進因子) の存在を明らかにしている (図 3B, C)。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 SOX11 による転写機構の重要性を確立する。

- (1) 肺線維化モデルマウスにおける SOX11 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

4. 研究成果

1. SOX11 による転写機構を介した間質性肺炎の発症機序の解析 予備的実験において、正常線維芽細胞に対する TGF- β 刺激と SOX11 発現抑制の効果の組み合わせにより、ペリオスチンの発

現誘導が低下する結果を得ている。以下の項目により、線維化における SOX11 の重要性について解析した。(1) コンディショナル SOX11 欠損マウスを用いたブレオマイシンによる肺線維化形成の検討 コンディショナル SOX11 欠損マウスにより線維化形成が抑制されていた。これより SOX11 が線維化因子を誘導し線維化を増悪している可能性が示唆された。(2) 皮膚線維化モデルマウスを用いた解析から、皮膚線維化においても SOX11 が重要であることを証明した。2. TGF- β シグナル経路における SOX11 依存的線維化因子の探索・解析 正常線維芽細胞に対する TGF- β 刺激と SOX11 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、SOX11 依存的に TGF- β により誘導される遺伝子群 (SOX11 依存的線維化促進因子) の存在を明らかにし、qPCR により証明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nanri Yasuhiro, Nunomura Satoshi, Honda Yuko, Takedomi Hironobu, Yamaguchi Yukie, Izuhara Kenji	4. 巻 -
2. 論文標題 A positive loop formed by SOX11 and periostin upregulates TGF- signals leading to skin fibrosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2022.12.008	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 -

1. 著者名 Nanri Y, Nunomura S, Watanabe T, Ohta S, Yamaguchi Y, Izuhara K.	4. 巻 104
2. 論文標題 Expression profile of periostin isoforms in systemic sclerosis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 210-212
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jderm.2021.10.005	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

https://www.biomol.med.saga-u.ac.jp/medbiochem/ 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 https://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)	

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
---------	---------