

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08136

研究課題名(和文)メタボローム解析を応用した肺線維症の病態解明と新規治療開発

研究課題名(英文)Elucidation of the pathophysiology of pulmonary fibrosis and development of new treatments by applying metabolome analysis

研究代表者

大河内 眞也 (Ohkouchi, Shinya)

東北大学・事業支援機構・講師

研究者番号：40375035

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)：間葉系幹細胞由来液性因子STC1の代謝への影響を、ブレオマイシン肺障害動物に対するSTC1経気道投与モデル等を用いて解析した。STC1はTCA、酸化、メチオニン、グルタチオン代謝に影響を与えた。これはSTC1の翻訳後修飾への影響を示唆した。ヒストン、SOCS1、SMAD7へのSTC1の翻訳後修飾への影響を検討したところ、SOCS1・SMAD7脱メチル化、ヒストン・SMAD7アセチル化を誘導した。さらにSOCS1によるJAK/STAT経路抑制、SMAD7によるTGF β /SMAD経路抑制を明らかにした。以上より、STC1がCOVID19、自己免疫疾患、線維性疾患の治療に使用できる可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

STC1によるの難病治療への可能性を示したことが本研究成果の意義である。STC1経気道投与の特徴は、細胞代謝と翻訳後修飾の相互関連に着目した新規作用機序、生体物質であり、経気道投与が可能であることにより得られる高い安全性、HEK293細胞を利用したリコンビナントタンパクとして、安価、簡便に得ることが可能であること、等である。用途として、新型コロナウイルス感染症の感染予防薬・重症化予防及び治療、JAK/STATが関連する関節リウマチ等の自己免疫疾患に対する治療、TGF β /SMADが関連する特発性肺線維症等の線維性疾患に対する治療などが考えられる。本研究に関して特許を出願中である。

研究成果の概要(英文)：Since the mesenchymal stem cell (MSC) -derived humoral factor Stanniocalcin-1 (STC1) regulates mitochondrial membrane potential, the effect of the addition or inhalation of STC1 on the central metabolic pathway were evaluated in cells and bleomycin inhalation mice model using comprehensive metabolomics analyses and specific measurements against each substance. We revealed STC1 affects the TCA, α -oxidation, methionine and glutathione pathway. These results explained the antioxidant effect of STC1 and suggested a relationship with post-translational modification (epigenetics). From additional experiments, we revealed that STC1 induced SOCS1 / SMAD7 demethylation and histone / SMAD7 acetylation. Furthermore, SOCS1 suppressed the JAK / STAT pathway and SMAD7 suppressed the TGF β / SMAD pathway in cells and animal model. From the above, it was shown that STC1 may be used for the treatment of COVID19, autoimmune diseases, and fibrotic diseases.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：間葉系幹細胞 Stanniocalcin-1 抗酸化作用 抗線維化作用 抗炎症作用 翻訳後修飾 SOCS1 SMAD7

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、ミトコンドリアが関わる TCA 回路、酸化(中心代謝経路)とその周辺の代謝回路が、翻訳後修飾や免疫と相互に関連(クロストーク)することが注目されている。我々は、間葉系幹細胞(MSCs)由来液性因子 STC1(Stanniocalcin-1)が、ミトコンドリアの機能に影響を与えることから、STC1 による肺線維化抑制作用の一部は、代謝を介した翻訳後修飾や免疫抑制ではないかと考えた。

2. 研究の目的

STC1 の肺線維症に対する効果について、その機序について解析し、難治性呼吸器疾患治療への応用可能性について検証することである。

3. 研究の方法

間葉系幹細胞由来液性因子 Stanniocalcin-1 (STC1) はミトコンドリア膜電位を調整することから、STC1 の中心代謝経路への影響を、肺胞上皮・肺線維芽細胞、プレオマイシン肺障害動物に対する STC1 経気道投与モデルを用いて解析した。STC1 代謝経路への影響はメタボローム解析、個別の物質への特異的測定方法を用いた。翻訳後修飾に関しては、メチル化特異的 PCR 法、in situ proximal ligation assay、免疫沈降法、ウエスタンブロッティング法、免疫染色法などで評価した。

4. 研究成果

STC1 は TCA 回路、酸化、メチオニン代謝、グルタチオン回路に影響を与えた。この結果は STC1 の抗酸化作用を説明するとともに、翻訳後修飾との関係を示唆した。ヒストン、抗炎症因子 SOCS1、抗線維化因子 SMAD7 の翻訳後修飾を検討したところ、STC1 は SOCS1・SMAD7 脱メチル化、ヒストン・SMAD7 アセチル化を誘導した。さらに SOCS1 による JAK/STAT 経路抑制、SMAD7 による TGF β /SMAD 経路抑制を明らかにした(図 1-4)。

図 1. STC1のSOCS1翻訳後修飾作用と抗炎症作用 (THP1マクロファージ細胞)

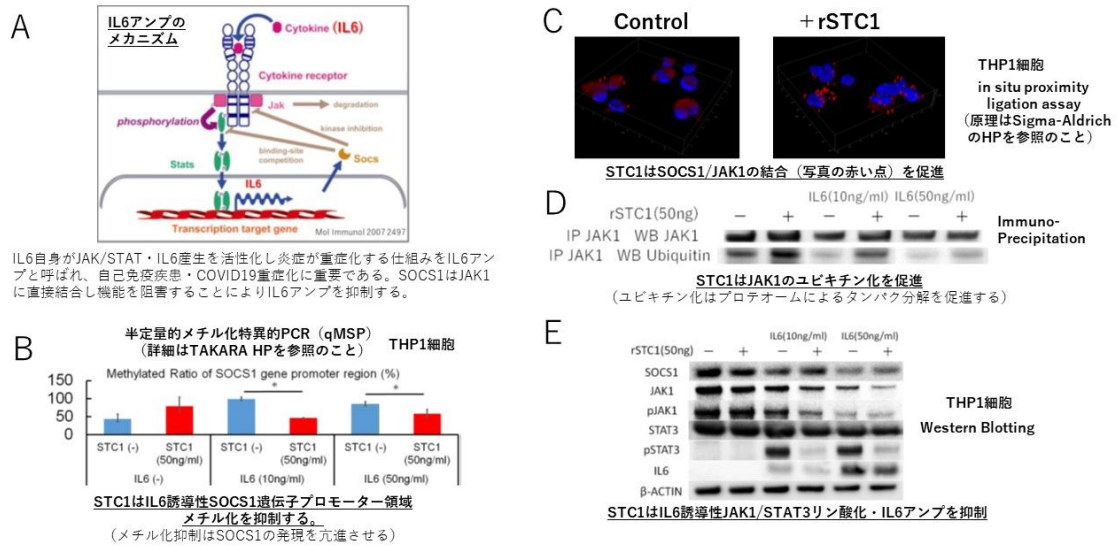


図 2. STC1のSOCS1誘導能はUCP2依存性である。STC1のACE2, TMPRSS2抑制能はSOCS1依存性である。

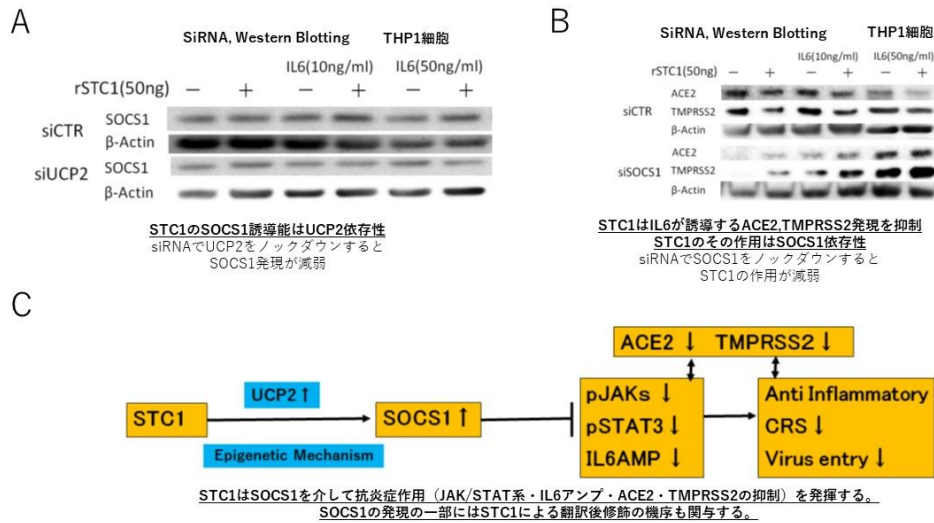


図 3. STC1はSMAD7の脱メチル化・アセチル化を促進する（肺胞上皮・線維芽細胞）
(A549,H1299,MRC5,HFL1)

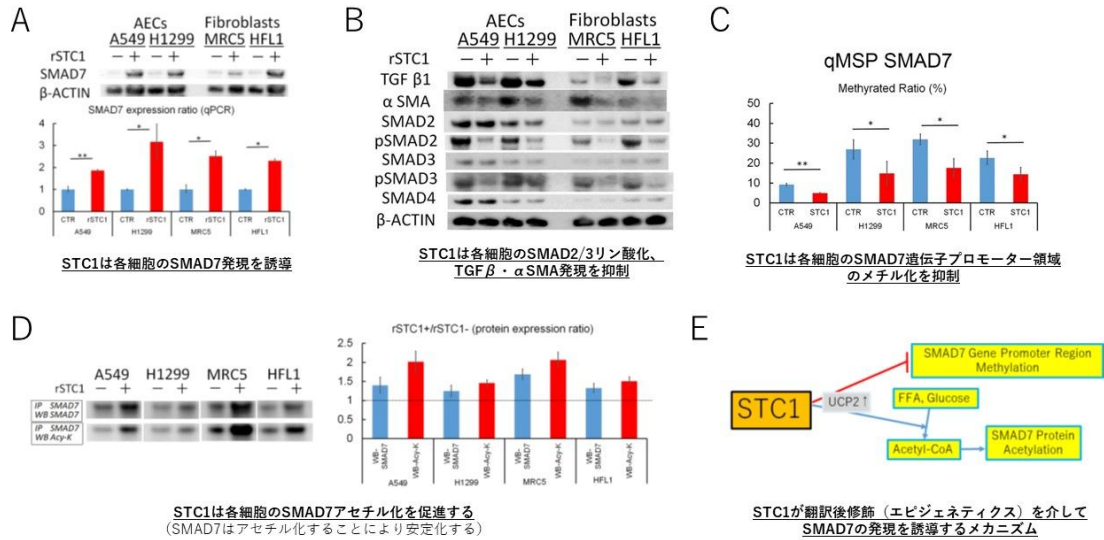
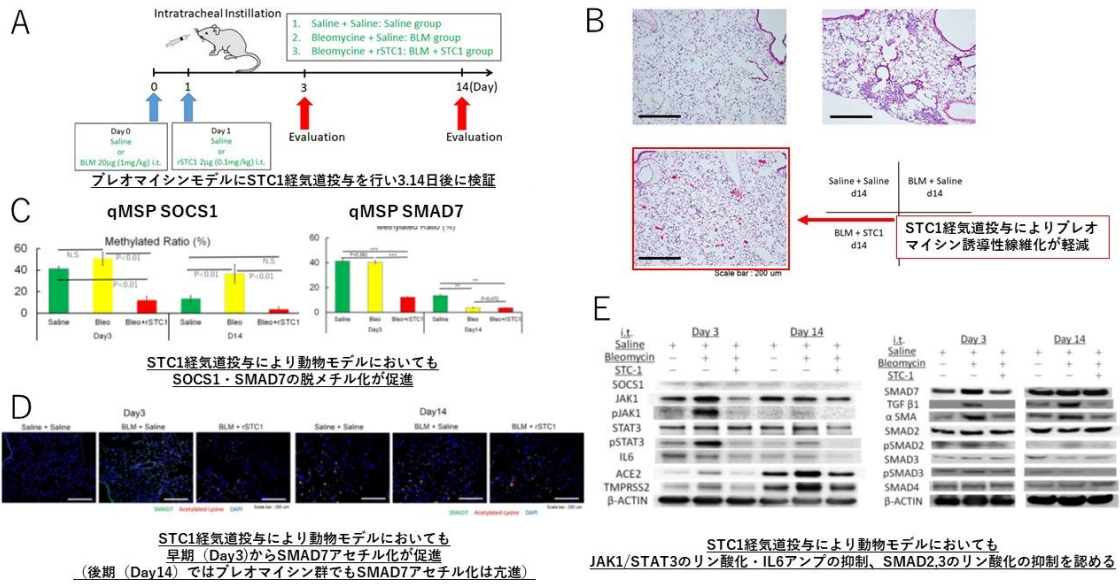


図 4. プレオマイシンデルにおけるSTC1経気道投与とSOCS1・SMAD7に対する影響



以上より、STC1は、抗炎症因子SOCS1・抗線維化因子SMAD7の翻訳後修飾に関与して、抗炎症作用、抗線維化作用を増強することが明らかになった。この結果は、STC1がCOVID19、自己免疫疾患、線維性疾患の治療に使用できる可能性を示すと考える。上記については、特許を出願中であり、論文投稿を準備しているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Nakata Koh, Tazawa Ryushi, Ohkouchi Shinya, Hirano Taizou, Kitamura Nobutaka	4. 巻 6
2. 論文標題 Validation of a new serum granulocyte?macrophage colony-stimulating factor autoantibody testing kit	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ERJ Open Research	6. 最初と最後の頁 00259 ~ 2019
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/23120541.00259-2019	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 Kobayashi Kazuma, Ohkouchi Shinya, Sasahara Yoji, Ebina Masahito, Nakata Koh, Saito Ryoko, Akiba Miki, Sado Tetsu, Oishi Hisashi, Watanabe Tatsuaki, Kurosawa Hajime, Okada Yoshinori	4. 巻 24
2. 論文標題 Improvement of native pulmonary alveolar proteinosis after contralateral single living donor lobar lung transplantation: A case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatric Transplantation	6. 最初と最後の頁 EPUB
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/petr.13659	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Tazawa Ryushi, Ohkouchi Shinya, Nakata Koh et al.,	4. 巻 381
2. 論文標題 Inhaled GM-CSF for Pulmonary Alveolar Proteinosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New England Journal of Medicine	6. 最初と最後の頁 923 ~ 932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1056/NEJMoa1816216	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kitamura Nobutaka, Ohkouchi Shinya, Tazawa Ryushi, Ishii Haruyuki, Takada Toshinori, Sakagami Takuro, Tanaka Takahiro, Nakata Koh	4. 巻 5
2. 論文標題 Incidence of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis estimated using Poisson distribution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ERJ Open Research	6. 最初と最後の頁 00190 ~ 2018
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/23120541.00190-2018	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 Miura Emiri, Tsuchiya Naho, Igarashi Yu, Arakawa Ritsuko, Nikkuni Etsuhiro, Tamai Tokiwa, Tabata Masao, Ohkouchi Shinya, Irokawa Toshiya, Ogawa Hiromasa, Takai-Igarashi Takako, Suzuki Yoichi, Kuriyama Shinichi, Tamiya Gen, Hozawa Atsushi, Yamamoto Masayuki, Kurosawa Hajime	4. 巻 57
2. 論文標題 Respiratory resistance among adults in a population-based cohort study in Northern Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Respiratory Investigation	6. 最初と最後の頁 274 ~ 281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resinv.2018.12.008	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 Kitamura Nobutaka, Ohkouchi Shinya, Tazawa Ryushi, Ishii Haruyuki, Takada Toshinori, Sakagami Takuro, Tanaka Takahiro, Nakata Koh	4. 巻 5
2. 論文標題 Incidence of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis estimated using Poisson distribution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ERJ Open Research	6. 最初と最後の頁 00190 ~ 2018
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/23120541.00190-2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miura Emiri, Tsuchiya Naho, Igarashi Yu, Arakawa Ritsuko, Nikkuni Etsuhiro, Tamai Tokiwa, Tabata Masao, Ohkouchi Shinya, Irokawa Toshiya, Ogawa Hiromasa, Takai-Igarashi Takako, Suzuki Yoichi, Kuriyama Shinichi, Tamiya Gen, Hozawa Atsushi, Yamamoto Masayuki, Kurosawa Hajime	4. 巻 18
2. 論文標題 Respiratory resistance among adults in a population-based cohort study in Northern Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Respiratory Investigation	6. 最初と最後の頁 2212
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resinv.2018.12.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hirano Taizou, Ohkouchi Shinya, Tode Naoki, Kobayashi Makoto, Ono Manabu, Satoh Teruyuki, Mitsuishi Yoichiro, Watanabe Akira, Tabata Masao, Irokawa Toshiya, Ogawa Hiromasa, Sugiura Hisatoshi, Kikuchi Toshiaki, Akasaka Keiichi, Tazawa Ryushi, Inoue Yoshikazu, Nakata Koh, Kurosawa Hajime, Ichinose Masakazu	4. 巻 4
2. 論文標題 Peripheral alveolar nitric oxide concentration reflects alveolar inflammation in autoimmune pulmonary alveolar proteinosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 ERJ Open Research	6. 最初と最後の頁 00071 ~ 2017
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/23120541.00071-2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishibashi Naoya, Watanabe Tatsuaki, Kanehira Masahiko, Watanabe Yui, Hoshikawa Yasushi, Notsuda Hirotsugu, Noda Masafumi, Sakurada Akira, Ohkouchi Shinya, Kondo Takashi, Okada Yoshinori	4. 巻 48
2. 論文標題 Bone marrow mesenchymal stromal cells protect allograft lung transplants from acute rejection via the PD-L1/IL-17A axis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Surgery Today	6. 最初と最後の頁 726 ~ 734
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-018-1643-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saori Sakaue, Etsuro Yamaguchi, Shinya Ohkouchi, Yukinori Okada	4. 巻 12
2. 論文標題 Genetic determinants of risk in autoimmune pulmonary proteinosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1032 ~ 1037
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Shinya Ohkouchi
2. 発表標題 Stanniocalcin-1 (STC1) Affects SMAD7 Epigenetics, Increases Glutathione Synthesis And Ameliorate Bleomycin Fibrosis Through Regulating Integrated Metabolic Pathways
3. 学会等名 米国胸部学会 (ATS) 年次総会 2020 フィラデルフィア (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shinya Ohkouchi
2. 発表標題 Comprehensive metabolome analysis reveals new mechanism of anti-fibrotic factor Stanniocalcin-1 (STC1) which modulate epigenetic regulation and oxidative stress
3. 学会等名 アジア太平洋呼吸器学会 (APSR) 年次総会 2019 ハノイ (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shinya Ohkouchi
2. 発表標題 New Insights of the Pathology of Pulmonary Fibrosis Revealed by Metabolome Analysis
3. 学会等名 米国胸部臨床学会 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinya Ohkouchi
2. 発表標題 New Insights of the Pathology of Pulmonary Fibrosis Revealed by Metabolome Analysis
3. 学会等名 太平洋アジア呼吸器学会 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinya Ohkouchi
2. 発表標題 Anti-fibrotic Factor Stanniocalcin1 (STC1) and Systemic Damage Response
3. 学会等名 日本呼吸器学会 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinya Ohkouchi
2. 発表標題 Comprehensive metabolome analysis reveals new mechanism of anti-fibrotic factor Stanniocalcin-1 (STC1) which modulate epigenetic regulation and oxidative stress
3. 学会等名 米国胸部臨床学会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Ohkouchi Shinya, Yamauchi Kohei, Yamanda Shunsuke, Fujimoto Eisaku	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 178
3. 書名 Disaster and Respiratory Diseases	

1. 著者名 Shinya Ohkouchi, Shinsuke Yamanda, Shu Hisata, Masao Tabata, Toshiya Irokawa, Hiromasa Ogawa, Hajime Kurosawa, Kohei Yamauchi, Keisaku Fujimoto	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 178
3. 書名 Disaster and Respiratory Disease	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 コロナウイルス感染症の予防または治療剤	発明者 大河内眞也	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/ 7780	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

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	黒澤 一 (Kurosawa Hajime) (60333788)	東北大学・事業支援機構・教授 (11301)	
研究分担者	岡田 克典 (Okada Katsunori) (90323104)	東北大学・加齢医学研究所・教授 (11301)	

6. 研究組織（つづき）

	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	兼平 雅彦 (Kanehira Masahiko) (90374941)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	

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