

平成 30 年 6 月 9 日現在

機関番号：17201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15372

研究課題名(和文)次世代ペリオスチン測定キットの開発

研究課題名(英文)Development of a periostin detection kit of next generation

研究代表者

出原 賢治 (Izuhara, Kenji)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：00270463

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：ペリオスチンは多くの疾患におけるバイオマーカーとして有用だが、疾患特異性に問題が存在する。本研究では、疾患特異的なペリオスチン測定キットの構築を目的とした。我々は、まず血清ペリオスチンは多量体と単量体とで存在し、SS19DとSS19Aの二つの抗ペリオスチンモノクローナル抗体が単量体ペリオスチンのみを認識することを見出した。さらに、単量体ペリオスチンは、特発性肺線維症(IPF)の診断能力や呼吸機能悪化の予後予測能力において、従来のバイオマーカーに比べて優れていることを明らかにした。以上より、単量体ペリオスチンの測定は、IPF患者の診断・管理において有用であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Although it is known that periostin is useful as a biomarker for various diseases, it has a problem in the specificity for diseases. This study aimed at constructing a disease-specific periostin detection kit. We first found that periostin exists as both oligomers and monomers in serum. We next found that two monoclonal anti-periostin antibodies, SS19D and SS19A, recognize only monomeric periostin. We, furthermore, found that monomeric periostin is superior in the abilities to diagnose idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) and to predict its poor prognosis of lung functions compared to its conventional biomarkers. These results suggest that measurement of monomeric periostin is useful for diagnosis and treatment of IPF patients.

研究分野：アレルギー学

キーワード：アトピー性皮膚炎 喘息

1. 研究開始当初の背景

ペリオスチンは気管支喘息における新規のバイオマーカーとして注目されている。我々は、ペリオスチンが 2 型サイトカインである IL-4/IL-13 刺激によって線維芽細胞から産生され、喘息における肥厚した基底膜の構成成分であることを明らかにした (Takayama, JACI, 2006, Hayashi, PNAS, 2007)。これはペリオスチンと喘息との関連を示した最初の報告となった。その後、ペリオスチンは Th2 型喘息のバイオマーカーであることから、血清ペリオスチンが抗 IL-13 抗体や抗 IgE 抗体などの 2 型免疫反応阻害薬の効果を予測できることが示された (Corren, NEJM, 2011, Hanania, AJRCCM, 2013)。一方、我々は、ペリオスチンは組織リモデリングを反映するバイオマーカーであることから、血清ペリオスチンが吸入ステロイド剤への低反応性を示すことを明らかにした (Kanemitsu, JACI, 2013, Nagasaki, JACI, 2014, Kanemitsu, AJRCCM, 2014)。このように、気管支喘息診療における血清ペリオスチン測定の有用性は、ほぼ確立されたと言って過言ではない。しかし、現在のペリオスチン測定キットには、疾患特異性の課題が存在する。我々は、これまでに、喘息以外で間質性肺炎、アトピー性皮膚炎、強皮症などでも血清ペリオスチンが上昇することを見出している (Okamoto, ERJ, 2011, Masuoka, JCI, 2012, Yamaguchi, BJD, 2013, Kou, BJD, 2014)。また、健常者との比較で、カットオフ値を 95 ng/ml に設定した場合、特異度は 0.99 と高いものの、感度は 0.38 と必ずしも充分ではない。このため、気管支喘息特異的なペリオスチンを検出することを可能とする次世代ペリオスチン測定キットの開発が待ち望まれている。

2. 研究の目的

ペリオスチンには、C 末部分において 8 種類のスプライシングフォームが存在する。また、我々は、血清中にはジスルフィド結合による多量体と単量体が存在することを明らかにしている。本研究においては、まず、血清ペリオスチンでのジスルフィド結合以外のペリオスチン翻訳後修飾を同定する。次に、アイソフォーム、ジスルフィド結合を含んだ翻訳後修飾を特異的に認識する抗ペリオスチン抗体を作製する。そして、これらの中から喘息特異性の点で優れた抗体を選び出す。これにより、気管支喘息特異的なペリオスチンを検出することを可能とする次世代ペリオスチン測定キットを開発する。

3. 研究の方法

まず血清ペリオスチンは多量体と単量体とで存在することを明らかにし、この両者を区別することのできる抗体を探索した。単量体を認識する抗体を用いて各種疾患における単量体測定の臨床的意義について検討

した。

4. 研究成果

SS19D と SS19A の二つの抗ペリオスチンモノクローナル抗体が単量体ペリオスチンのみを認識することを見出した。この両者を組み合わせて ELISA システムを構築して 60 名の特発性肺線維症 (IPF) 患者を対象として解析を行った結果、(1) 単量体ペリオスチンは KL-6, SP-D, LDH, 総ペリオスチン (多量体ペリオスチン+単量体ペリオスチン) に比べて IPF の診断能力が優れている、(2) 単量体ペリオスチンと総ペリオスチンは KL-6, SP-D, LDH に比べて呼吸機能悪化の予後予測能力において優れている、(3) 単量体ペリオスチン/総ペリオスチン比は IPF において喘息、アトピー性皮膚炎、強皮症に比べて高いことを明らかにした。以上より、単量体ペリオスチンの測定は、IPF 患者の診断・管理において有用であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 30 件)

1. Agache I, Strasser DS, Pierlot GM, Farine H, Izuhara K, Akdis CA
Monitoring inflammatory heterogeneity with multiple biomarkers for multidimensional endotyping of asthma
Journal of Allergy and Clinical Immunology, 141, 2018, 442-445

2. Okawa T, Yamaguchi Y, Kou K, Ono J, Azuma Y, Komitsu N, Inoue Y, Kohno M, Matsukura S, Kambara T, Ohta S, Izuhara K, Aihara M
Serum levels of squamous cell carcinoma antigens 1 and 2 reflect disease severity and clinical type of atopic dermatitis in adult patients
Allergology International, 67, 2018, 124-130

3. Matsusaka M, Kabata H, Fukunaga K, Izuhara K, Asano K, Betsuyaku T
Subphenotypes of type 2 severe asthma in adults
The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 6, 2018, 274-276

4. Kimura H, Konno S, Nakamaru Y, Makita H, Taniguchi N, Shimizu K, Suzuki M, Ono J, Izuhara K, Nishimura M
Sinus computed tomographic findings in adult smokers and nonsmokers with asthma. Analysis of clinical indices and biomarkers
Annals of the American Thoracic Society, 14, 2017, 332-341

5. Komiya K, Ohta S, Arima K, Ogawa M, Suzuki S, Mitamura Y, Nunomura S, Nanri Y, Yoshihara T, Kagwaguchi A, Kadota J, Bruce K. Rubin, Izuhara K, Clarithromycin attenuates IL-13-induced periostin production in human lung fibroblasts
Respiratory Research, 18, 2017, 37
6. Ohta S, Okamoto M, Fujimoto K, Sakamoto N, Takahashi K, Yamamoto H, Kushima H, Ishii H, Akasaka K, Ono J, Kamei A, Azuma Y, Matsumoto H, Yamaguchi Y, Aihara M, Johkoh T, Kawaguchi A, Ichiki M, Sagara H, Kadota J, Hanaoka M, Hayashi S, Kohno S, Hoshino T, Izuhara K
The usefulness of monomeric periostin as a biomarker for idiopathic pulmonary fibrosis
PLOS ONE, 12, 2017, e0174547
7. Asano T, Kanemitsu Y, Takemura M, Yokota M, Fukumitsu K, Takeda N, Ichikawa H, Uemura T, Takakuwa O, Ohkubo H, Maeno K, Ito Y, Oguri T, Maki Y, Ono J, Ohta S, Nakamura Y, Izuhara K, Suzuki M, Niimi A
Serum periostin as a biomarker for comorbid chronic rhinosinusitis in patients with asthma
Annals of the American Thoracic Society, 14, 2017, 667-675
8. Sunadome H, Matsumoto H, Petrova G, Kanemitsu Y, Tohda Y, Horiguchi T, Kita H, Kuwabara K, Tomii K, Otsuka K, Fujimura M, Ohkura N, Tomita K, Yokoyama A, Ohnishi H, Nakano Y, Oguma T, Hozawa S, Nagasaki T, Ito Isao, Oguma T, Inoue H, Tajiri T, Iwata T, Izuhara Y, Ono J, Ohta S, Hirota T, Tamari M, Yokoyama T, Niimi A, Izuhara K, Mishima M
IL4R and ADAM33 as genetic markers in asthma exacerbations and type-2 inflammatory endotype
Clinical & Experimental Allergy, 47, 2017, 998-1006
9. James A, Janson C, Malinovschi A, Holweg C, Alving K, Ono J, Ohta S, Ek A, Middelveld R, Dahlén B, Forsberg B, Izuhara K, Dahlén S-E
Serum periostin relates to type-2 inflammation and lung function in asthma; data from the large population-based cohort Swedish GA(2)LEN
Allergy, 72, 2017, 1753-1750
10. Izuhara K, Nunomura S, Nanri Y, Ogawa M, Ono J, Mitamura Y, Yoshihara T
Periostin in inflammation and allergy
Cellular and Molecular Life Sciences, 74, 2017, 4293-4303
11. Izuhara K, Suzuki S, Ogawa M, Nunomura S, Nanri Y, Mitamura Y, Yoshihara T
The significance of hypothyocyanite production via the pendrin/DUOX/peroxidase pathway in the pathogenesis of asthma
Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, Article ID 1054801
12. James AJ, Reinius LE, Verhoek M, Gomes A, Kupczyk M, Hammar U, Ono J, Ohta S, Izuhara K, Bel E, Kere J, Söderhäll C, Dahlén B, Boot RG, Dahlén S
Increased YKL-40 and chitotriosidase in asthma and chronic obstructive pulmonary disease
American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 193, 2016, 131-142
13. Izuhara K, Conway SJ, Moore BB, Matsumoto H, Holweg CTJ, Matthews JG, Arron JR
Roles of periostin in respiratory disorders
American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 193, 2016, 949-956
14. Watanabe Y, Yamaguchi Y, Komitsu N, Ohta S, Azuma Y, Izuhara K, Aihara M
Elevation of serum squamous cell carcinoma antigen 2 in patients with psoriasis: associations with disease severity and response to the treatment
British Journal of Dermatology, 174, 2016, 1327-1336
15. Hinks T, Brown T, Lau LCK, Rupani H, Barber C, Elliott S, Ward JA, Ono J, Ohta S, Izuhara K, Djukanović R, Kurukulaaratchy R, Chauhan A, Howarth PH
Multidimensional endotyping in patients with severe asthma reveals inflammatory heterogeneity in matrix metalloproteinases and chitinase 3-like protein 1
Journal of Allergy and Clinical Immunology, 138, 2016, 61-75
16. Fujishima H, Okada N, Matsumoto K, Fukagawa K, Igarashi A, Matsuda A, Ono J, Ohta S, Mukai H, Yoshikawa M, Izuhara K
The usefulness of measuring tear periostin for the diagnosis and management of ocular allergic diseases
Journal of Allergy and Clinical Immunology, 138, 2016, 459-467

17. Izuhara K, Ohta S, Ono S
Using periostin as a biomarker in the treatment of asthma
Allergy, Asthma and Immunology Research, 8, 2016, 491-498
18. Tajiri T, Matsumoto H, Gon Y, Ito R, Hashimoto S, Izuhara K, Suzukawa M, Ohta K, Ono J, Ito I, Oguma T, Inoue H, Iwata T, Nagasaki T, Kanemitsu T, Niimi A, Mishima M
Utility of serum periostin and free IgE levels in evaluating responsiveness to omalizumab in patients with severe asthma
Allergy, 71, 2016, 1472-1479
19. Kim M, Yoon MK, Lee Y-S, Izuhara K, Ohta S, Ono J, Kim J-H, Ban GY, Ye Y-M, Park H-S
Clinical implication of the serum periostin level for differentiating phenotypes of NSAID hypersensitivity
Allergology International, 65, 2016, 492-494,
20. Suzuki S, Ogawa M, Ohta S, Arima K, Nunomura S, Nanri Y, Mitamura Y, Yoshihara T, Nakamura Y, Yamauchi K, Chibana K, Ishii Y, Lee JJ, Aratani Y, Kakuta S, Kubo S, Iwakura Y, Yoshida H, Izuhara K
The potential for repositioning anti-thyroid agents as anti-asthma drugs
Journal of Allergy and Clinical Immunology, 138, 2016, 1458-1461
21. Sugiyama A, Kanno K, Nishimichi N, Ohta S, Ono J, Conway SJ, Izuhara K, Yokosaki Y, Tazuma S
Periostin promotes hepatic fibrosis in mice by modulating hepatic stellate cell activation via $\alpha_5\beta_1$ integrin interaction
Journal of Gastroenterology, 51, 2016, 1161-1174
22. Suzuki S, Ogawa M, Ohta S, Nunomura S, Nanri Y, Shiraishi H, Mitamura Y, Yoshihara T, James J. Lee, Izuhara K
Induction of airway allergic inflammation by hypothyroidism via epithelial cells
Journal of Biological Chemistry, 291, 2016, 27219-27227
23. Arima K, Ohta S, Takagi A, Shiraishi H, Masuoka M, Ontsuka K, Suto H, Suzuki S, Yamamoto K, Ogawa M, Simmons O, Yamaguchi Y, Toda S, Aihara M, Conway SJ, Ikeda S, Izuhara K
Periostin contributes to epidermal hyperplasia in psoriasis common to atopic dermatitis
Allergology International, 64, 2015, 41-48
24. Kobayashi Y, Yoshida S, Nakama T, Zhou Y, Ishikawa K, Arita R, Nakao S, Miyazaki M, Sassa Y, Oshima Y, Izuhara K, Kono T, Ishibashi T
Overexpression of CD163 in vitreous and fibrovascular membranes of patients with proliferative diabetic retinopathy: possible involvement of periostin
British Journal of Ophthalmology, 99, 2015, 451-456
25. Nakamura Y, Nagashima H, Ohta S, Ono J, Yamauchi K, Izuhara K
Periostin in the bronchial lavage fluid of asthma patients
Allergology International, 64, 2015, 209-210
26. Fukuda K, Sugihara E, Ohta S, Izuhara K, Funakoshi T, Amagai M, Saya H
Periostin is a key niche component for wound metastasis of melanoma
PLOS One, 10, 2015, e0129704
27. Song JS, You JS, Jeong SI, Yang S, Hwang IT, Im YG, Baek HS, Kim HY, Izuhara K
Serum periostin levels correlate with airway hyper-responsiveness to methacholine and mannitol in children with asthma
Allergy, 70, 2015, 674-681
28. Izuhara K, Matsumoto H, Ohta S, Ono J, Arima K, Ogawa M
Recent developments regarding periostin in bronchial asthma
Allergology International, 64, 2015, S3-S10
29. Chen C-Y, Lee J-B, Liu B, Ohta S, Wang P-Y, Kartashov A, Mugge L, Abonia JP, Barski A, Izuhara K, Rothenberg ME, Finkelman FD, Hogan SP, Wang Y-S
Induction of interleukin-9-producing mucosal mast cells promotes susceptibility to IgE-mediated experimental food allergy
Immunity, 43, 2015, 788-802
30. Yoshida S, Kobayashi Y, Nakama T, Zhou Y, Ishikawa K, Arita R, Nakao S, Miyazaki M, Sassa Y, Oshima Y, Izuhara K, Kono T, Ishibashi T
Increased expression of M-CSF and IL-13 in vitreous of patients with proliferative

diabetic retinopathy: Implications for M2 macrophage-involving fibrovascular membrane formation
British Journal of Ophthalmology, 99, 2015, 629-634

〔学会発表〕(計 17 件)

1. 出原賢治
アレルギー疾患の治療薬最前線-2 型サイトカインの標的薬
第 4 回総合アレルギー講習会 (2017, 12, 16-17)
2. Izuhara K
Clarification of the pathogenesis of allergic diseases and application of the findings to clinical medicine
5th International Symposium & Exhibition on Aqua Science and Water Resources (ISASWR'17) (2017, 8, 11)
3. 出原賢治
アトピー性皮膚炎の新規バイオマーカー第 80 回日本皮膚科学会 東京支部学術大会 (2017, 2, 11-12)
4. 出原賢治
アレルギー疾患治療薬開発の現状「新規治療薬のコンパニオン診断」
第 3 回総合アレルギー講習会 (2016, 12, 17-18)
5. 出原賢治
アレルギー疾患とペリオスチン
第 65 回日本アレルギー学会学術大会 (2016, 6, 17-19)
6. Izuhara K, Suzuki S, Ogawa M, Ohta S, Nanri Y
The potential for repositioning anti-thyroid agents as anti-asthma drugs
31st Allergologicum Internationale Collegium (CIA) (2016, 4, 3-8)
7. 出原賢治
アレルギー性炎症の慢性化機序
第 34 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 (2016, 2, 4-6)
8. 出原賢治
免疫・アレルギー疾患の分子標的
日本アレルギー学会第 2 回総合アレルギー講習会 (2015, 12, 12-13)
9. 出原賢治
気管支喘息治療における新時代の幕開け第 53 回近畿支部生涯教育講演会 (2015, 11, 28)
10. 出原賢治

マトリセルラータンパク質であるペリオスチンによる炎症惹起機序とその臨床応用
第 19 回日本内分泌病理学会学術総会(2015, 10, 24-25)

11. Izuhara K
Potential protein markers for asthma
XXIV World Allergy Congress (WAC 2015) (2015, 10, 14-17)
 12. Izuhara K, Ohta S, Okamoto M, Sakamoto N, Takahashi K, Yamamoto H, Kushima H, Akasaka K, Fujimoto K, Ono J
A multicenter evaluation of a new Periostin detection kit for idiopathic pulmonary fibrosis
ERS International Congress 2015 (2015, 9, 26-30)
 13. Izuhara K
Recent progress in the basic research of periostin in bronchial asthma
The 25th Congress of Interasma Japan/North Asia (2015, 9, 3-4)
 14. 出原賢治, 松本久子
喘息におけるバイオマーカー
第 64 回日本アレルギー学会学術大会(2015, 5, 26-28)
 15. Izuhara K, Ohta S, Okamoto M, Sakamoto N, Takahashi K, Yamamoto H, Kushima H, Akasaka K, Fujimoto K, Ono J
A multicenter evaluation of a new periostin detection kit for idiopathic pulmonary fibrosis
American Thoracic Society 2015 International Conference (ATS 2015) (2015, 5, 15-20)
 16. 出原賢治
間質性肺炎特異的ペリオスチン測定キットの開発
第 55 回日本呼吸器学会学術講演会(2015, 4, 17-19)
 17. 出原賢治, 有馬和彦, 太田昭一郎, 小川雅弘
マトリセルラータンパク質ペリオスチンを標的としたアトピー性皮膚炎の治療戦略
第 88 回日本薬理学会年会 (2015, 3, 18-20)
- 〔図書〕(計 5 件)
1. Izuhara K, Nunomura S, Ohta S, Ogawa M, Nanri Y Springer Cytokine Network (Evolution of Atopic Dermatitis in the 21st Century) 2018, 97-112
 2. Izuhara K, Suzuki S, Nofziger C, Ogawa M, Ohta S, Nanri Y, Mitamura Y, Yoshihara

T, Pedemonte N, Galiotta LJV, Paulmichl M Springer The role of pendrin in the airways: Links with asthma and COPD (The Role of Pendrin in Health and Disease) 2017, 141-154

3. 出原賢治 朝倉書店 アレルギーに関する細胞・分子 (内科学 第 11 版) 2017, 1304-1307

4. Izuhara K, Matsumoto H, Nagasaki T, Ohta S, Ono J, Kinki Hokuriku Airway Disease Conference Pacini Editore Medicina Serum periostin is a biomarker reflecting tissue remodeling in bronchial asthma (Allergies: Current challenges and solutions), 2016, 133-136

5. 出原賢治、有馬和彦、太田昭一郎 中外医学社 ペリオスチンと呼吸器疾患 (Annual Review 2015 呼吸器) 2015, 24-30

〔産業財産権〕

取得状況 (計 7 件)

1. 名称:ペリオスチンの特定領域に結合する抗体及びこれを用いたペリオスチンの測定方法

発明者: 出原賢治 他

権利者: 株式会社シノテスト、国立大学法人佐賀大学、学校法人久留米大学

種類: 特許

番号: 特許第 6183809 号

取得年月日: 平成 29 年 8 月 4 日

国内外の別: 国内

2. 名称:気管支喘息の予防又は治療薬及びそのスクリーニング方法

発明者: 出原賢治 他

権利者: 国立大学法人佐賀大学他

種類: 特許

番号: 特許第 6143363 号

取得年月日: 平成 29 年 5 月 19 日

国内外の別: 国内

3. 名称:胆管細胞癌の検出方法および予防・治療剤のスクリーニング方法

発明者: 出原賢治 他

権利者: 国立大学法人佐賀大学他

種類: 特許

番号: 特許第 5885243 号

取得年月日: 平成 28 年 2 月 19 日

国内外の別: 国内

4. 名称:慢性副鼻腔炎の検出方法

発明者: 出原賢治 他

権利者: 国立大学法人佐賀大学他

種類: 特許

番号: 特許第 5871228 号

取得年月日: 平成 28 年 1 月 22 日

国内外の別: 国内

5. 名称:アレルギー疾患の検査方法

発明者: 出原賢治 他

権利者: 株式会社シノテスト

種類: 特許

番号: 特許第 5750645 号

取得年月日: 平成 27 年 5 月 29 日

国内外の別: 国内

6. 名称:SCCA2 濃度測定によるアレルギー疾患の検査方法

発明者: 出原賢治 他

権利者: 株式会社シノテスト

種類: 特許

番号: 特許第 5750646 号

取得年月日: 平成 27 年 5 月 29 日

国内外の別: 国内

7. 名称:特発性間質性肺炎の検出方法

発明者: 出原賢治 他

権利者: 国立大学法人佐賀大学、大学法人久留米大学

種類: 特許

番号: 特許第 5717178 号

取得年月日: 平成 27 年 3 月 27 日

国内外の別: 国内

〔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)研究代表者

出原 賢治 (IZUHARA, Kenji)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号: 0 0 2 7 0 4 6 3

(2)研究分担者

太田 昭一郎 (OHTA, Shoichiro)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号: 2 0 3 4 6 8 8 6

有馬 和彦 (ARIMA, Kazuhiko)

佐賀大学・医学部・准教授

研究者番号: 6 0 3 3 6 1 1 2

小川 雅弘 (OGAWA, Masahiro)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号: 9 0 5 9 9 3 1 7

南里 康弘 (NANRI, Yasuhiro)

佐賀大学・医学部・特別研究員

研究者番号: 0 0 3 8 2 2 1 8

布村 聡 (NUNOMURA, Satoshi)

佐賀大学・医学部・准教授

研究者番号: 7 0 4 2 4 7 2 8