

令和元年9月2日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05343

研究課題名(和文) アレルギー性炎症の慢性化における分子的機序の解明とそれに対する治療戦略の確立

研究課題名(英文) Clarification of the mechanism of the chronicity of allergic diseases and establishment of the therapeutic strategy against it

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) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：アレルギー性炎症の慢性化は、アレルギー疾患の難治性の一因である。我々は、2型サイトカインであるIL-4/IL-13の誘導遺伝子の一つであるペリオスチンが、アレルギー性炎症の慢性化において重要であることを以前明らかにした。本研究では、ペリオスチンの発現調節機構と誘導産物の同定によりアレルギー性炎症の慢性化機序の解明を目指した。まず、転写因子であるSOX11がSTAT6の下流においてトランスに働き、ペリオスチン遺伝子発現を誘導することを示した。さらに、IL-24がIL-13/ペリオスチン経路の下流において産生され、アトピー性皮膚炎患者の表皮バリア破壊に重要であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレルギー性炎症の慢性化は、アレルギー疾患の難治性、遷延性の一因となる大きな問題であるが、その分子的機序は明らかでなく、治療戦略も定まっていない。これまでの研究成果により、細胞外マトリックスタンパク質であるペリオスチンが、アレルギー性炎症の慢性化において重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。本研究により、アレルギー性炎症の慢性化に関する新たな分子的機序が明らかになるとともに、新たに同定されたペリオスチン関連分子を標的として、アレルギー疾患に対する新たな治療戦略を構築することが可能となった。

研究成果の概要(英文)：Chronicity of allergic inflammation leads to treatment-resistance of allergic diseases. We previously found that periostin, one of the IL-4/IL-13-inducible products, plays an important role for chronicity of allergic inflammation. In this study, we aimed to clarify the molecular mechanism of chronicity of allergic inflammation by examining the expression mechanism of periostin and by identifying periostin-inducible products. We found that SOX11, a transcriptional factor, acts as a trans-system downstream of STAT6 inducing expression of the periostin gene. We, moreover, found that the IL-13/periostin pathway induces production of IL-24, which plays an important role for causing the barrier dysfunction in atopic dermatitis patients.

研究分野：アレルギー学

キーワード：アレルギー性炎症 慢性化 IL-4 IL-13 ペリオスチン SOX11 STAT6 IL-24

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

1. 研究開始当初の背景

アレルギー性炎症の慢性化は、アレルギー疾患の難治性、遷延性の一因となる大きな問題であるが、その分子的機序は明らかでなく、治療戦略も定まっていない。一方、2型免疫反応はアレルギー性炎症の主体である。我々は、アレルギー性炎症の成立機序を明らかにする目的で、DNAマイクロアレイを用いて2型サイトカインであるIL-4/IL-13の誘導遺伝子を網羅的に同定し、同定した誘導遺伝子の一つであり、細胞外マトリックスタンパク質であるペリオスチンに着目して、その機能解析や疾患との関連性について解析を進めてきた。その結果、アトピー性皮膚炎をモデルとして、ペリオスチンがアレルギー性炎症の慢性化において重要な役割を果たしていることをこれまでに明らかにした。

我々は、さらにペリオスチンを介した炎症機序の解析を進めた。その結果、線維芽細胞から産生されたペリオスチンは、表皮細胞や線維芽細胞自身に作用して炎症惹起のためのマスター分子であるNF- κ Bを活性化することを明らかにした。一部の細胞外マトリックスタンパク質は、細胞表面上の受容体に結合して細胞内にシグナルを伝達することからマトリセルラータンパク質と呼ばれており、ペリオスチンもその一つであるが、炎症惹起におけるマトリセルラータンパク質としての機能の重要性を、我々が初めて示した。また、数多くの臨床グループとの共同研究により、我々は、ペリオスチンがアレルギー疾患を始めさまざまな炎症疾患に関与している一方で、生理的には皮膚の創傷治癒に関与していることを明らかにした。

2. 研究の目的

本研究では、ペリオスチンの発現調節機構、誘導産物の同定を通してアレルギー性炎症の慢性化の分子的機序を明らかにすることを目指した。ペリオスチンの発現調節機構の解明では、ペリオスチン遺伝子上でのIL-13反応性によるペリオスチン発現機構について解析を行った。これにより、ペリオスチン発現に重要な転写因子、ならびにその転写因子の結合部位の同定を行った。ペリオスチンの誘導産物の同定では、DNAマイクロアレイを用いて同定したペリオスチン誘導産物の発現解析、機能解析を介して、ペリオスチンのアレルギー疾患における重要性、ならびに生物学的意義についての理解を深めた。これにより、本研究を介して新たに同定されたペリオスチン関連分子を標的として、アレルギー疾患に対する新たな治療戦略を構築することを目指した。

3. 研究の方法

本研究は、ペリオスチンの発現調節機構の解明、ペリオスチンの誘導産物の同定とその機能解析の2つの研究項目より構成した。これにより、アレルギー性炎症の慢性化の分子的機序の解明と、ペリオスチンを標的としたアレルギー疾患に対する新たな治療戦略の構築を目指した。

ペリオスチンの発現調節機構の解明

肺線維芽細胞をIL-13で刺激した際に誘導される遺伝子をDNAマイクロアレイで網羅的に同定し、その中に含まれる転写因子に着目した。それら転写因子の発現をノックダウン、あるいは強制発現することが、IL-13によるペリオスチン発現へどのような影響を与えるかについて解析した。

ペリオスチンの誘導産物の同定とその機能解析

DNAマイクロアレイを用いて、ペリオスチン依存的に誘導されるエフェクター分子の探索を行った。エフェクター候補分子について、その産生細胞を同定するとともに、アレルギー病態形成への作用について検討した。また、野生型ダニ塗布皮膚炎モデルマウスを用いて候補分子の発現を検討するとともに、STAT6およびペリオスチン欠損マウスを用いて同様の解析を行って、候補分子とSTAT6、ペリオスチンとの関連を解析した。さらに、アトピー性皮膚炎患者の検体を用いて候補分子の発現を解析した。

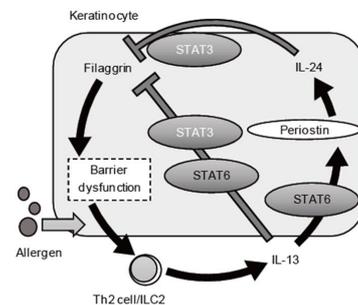
4. 研究成果

ペリオスチンの発現調節機構の解明

肺線維芽細胞を IL-13 で刺激した際に誘導される遺伝子を DNA マイクロアレイで網羅的に同定し、その中に転写因子である SOX11 が含まれていた。SOX11 の発現をノックダウンするとペリオスチン発現が抑制される一方で、SOX11 を強制発現すると IL-13 によるペリオスチン発現が上昇した。さらに、IL-13 刺激と SOX11 ノックダウンを組み合わせると DNA マイクロアレイ解析を行った結果、IL-13 誘導遺伝子の中に SOX11 依存性と非依存性の遺伝子が存在することを明らかにした。SOX11 依存性遺伝子の中にはペリオスチン以外にも炎症や線維化に関連する遺伝子が含まれていた。以上の結果より、SOX11 は STAT6 の下流においてトランスに働く転写因子であるとともに、肺線維芽細胞における IL-13 シグナルは SOX11 と STAT6 による階層的な転写調節機構により引き起こされ、ペリオスチンもその中に含まれることを明らかにした。

ペリオスチンの誘導産物の同定とその機能解析

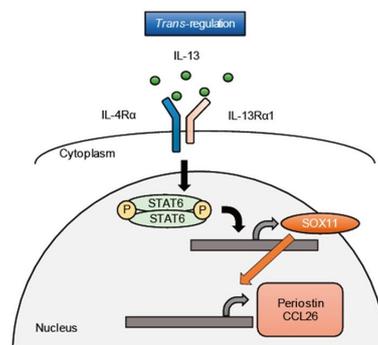
DNA マイクロアレイを用いて、ペリオスチン依存的に誘導されるエフェクター分子の探索を行った。その結果、IL-24 がペリオスチン依存的に IL-13 により誘導されることを明らかにした。次に、ケラチノサイトがペリオスチン依存的に IL-13 により STAT6 を介して IL-24 を誘導する主な組織構成細胞であることを見出した。IL-24 は、IL-13/ペリオスチン経路の下流で STAT3 を介してフィラグリンの発現を低下させ、バリア破壊に関与していた。また、野生型ダニ塗布皮膚炎モデルマウスでは、STAT3 のリン酸化やフィラグリン低下とともに IL-24 の産生が亢進していることを見出した。IL-24 産生亢進、STAT3 のリン酸化、フィラグリン低下は、STAT6 およびペリオスチン欠損マウスで消失したため、これらの特徴は、STAT6 とペリオスチンの下流で生じていることを示した。さらに、アトピー性皮膚炎患者の表皮では IL-24 の産生が増加していることを見出した。以上より、IL-24 は、IL-13/ペリオスチン経路の下流でケラチノサイトにより誘導され、アトピー性皮膚炎患者の表皮バリア破壊に重要であることを明らかにした。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計53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, 442-445, 2018
doi: 10.1016/j.jaci.2017.08.027 査読有り
- 2 Matsusaka M, Kabata H, Fukunaga K, Izuhara K, Asano K, Betsuyaku T
Subphenotypes of type 2 severe asthma in adults
Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 6,
274-276, 2018
doi: 10.1016/j.jaip.2017.06.015



査読有り

- 3 Nagao M, Inagaki S, Kawano T, Azuma Y, Nomura N, Noguchi Y, Ohta S, Kawaguchi A, Odajima H, Ohya Y, Fujisawa T, Izuhara K
SCCA2 is a reliable biomarker for evaluating pediatric atopic dermatitis
Journal of Allergy and Clinical Immunology, 141, 1934-1936, 2018
doi: 10.1016/j.jaci.2018.01.021 査読有り
- 4 Mitamura Y, Nunomura S, Nanri Y, Ogawa M, Yoshihara T, Masuoka M, Tsuji G, Nakahara T, Hashimoto-HA, Conway SJ, Furue M, Izuhara K
The IL-13/periostin/IL-24 pathway causes epidermal barrier dysfunction in allergic skin inflammation
Allergy, 73, 1881-1891, 2018
doi: 10.1111/all.13437 査読有り
- 5 Mitamura Y, Nunomura S, Nanri Y, Arima K, Yoshihara T, Komiya K, Fukuda S, Takatori H, Nakajima H, Furue M, Izuhara K
Hierarchical control of IL-13 signals in lung fibroblasts by STAT6 and SOX11
Journal of Biological Chemistry, 293, 14646-14658, 2018
doi: 10.1074/jbc.RA117.001364 査読有り
- 6 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, 131-142, 2016
doi: 10.1111/aos.12752 査読有り
- 7 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, 949-956, 2016
doi: 10.1164/rccm.201510-2032PP 査読有り
- 8 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, 61-75, 2016
doi: 10.1016/j.jaci.2015.11.020 査読有り
- 9 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, 459-467, 2016

doi: 10.1016/j.jaci.2015.11.039 査読有り

- 10 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, 1458-1461, 2016

doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.04.047> 査読有り

〔学会発表〕（計118件）

〔図書〕（計5件）

〔産業財産権（特許権、実用新案権、意匠権）〕

出願状況（計4件）

取得状況（計7件）

〔その他〕報道関連情報（計7件）

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：布村 聡

ローマ字氏名：Satoshi Nunomura

所属研究機関名：佐賀大学

部局名：医学部

職名：助教・准教授

研究者番号（8桁）：70424728

研究分担者氏名：南里 康弘

ローマ字氏名：Yasuhiro Nanri

所属研究機関名：佐賀大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：00382218

研究分担者氏名：太田 昭一郎

ローマ字氏名：Shoichiro Ohta

所属研究機関名：佐賀大学

部局名：医学部

職名：研究講師

研究者番号（8桁）：20346886

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

研究者番号 (8 桁) : 90599317

(2)研究協力者

なし