

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 17 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2011～2012

課題番号：23591465

研究課題名（和文）マトリックスタンパク質による新規のアレルギー性炎症機序の解明

研究課題名（英文）Clarification of the functional roles of matrix proteins in the pathogenesis of allergic inflammation

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

研究成果の概要（和文）：

2 型免疫反応がアレルギー性炎症の主体であることはよく知られている。2 型サイトカインである IL-4 や IL-13 によるアレルギー性炎症の形成機序を明らかにするために、IL-4 や IL-13 の誘導産物の一つである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た。その結果、ペリオスチンがアトピー性皮膚炎の慢性化機序において必須な役割を果たしていることを見出した。IL-4 や IL-13 は線維芽細胞に作用してペリオスチンを産生する。ペリオスチンはケラチノサイト上のインテグリンに結合し TSLP 産生を誘導する。TSLP は Th2 細胞分化を誘導する。つまり、アトピー性皮膚炎の病態形成において IL-4/IL-13-ペリオスチン-インテグリン-TSLP より成る悪性回路が存在し、それがアトピー性皮膚炎の慢性化を起していることを明らかにした。また、抗 α インテグリン中和抗体はモデルマウスにおけるアトピー性皮膚炎の出現を阻害することから、ペリオスチンがアトピー性皮膚炎の治療標的となりうることを示した。さらに、アトピー性皮膚炎以外に数多くの炎症疾患（特発性間質性肺炎、薬剤性間質性肺炎、強皮症、胆管細胞癌、IgG4 関連性硬化性唾液腺炎、好酸球性中耳炎、アレルギー性鼻炎/慢性副鼻腔炎、増殖糖尿病網膜症）にペリオスチンが関連することを示し、ペリオスチンはアトピー性皮膚炎を始めとするさまざまな炎症疾患に関与しているエフェクター分子であることを明らかにした。一方、ペリオスチンは、創傷治癒機序に重要な役割を果たしており、これがペリオスチンの生理的作用の一つとなっていることを見出した。ペリオスチンによる慢性化機序は生体側の反応によるアレルギー性炎症の慢性化機序を示した世界で初めての例だと言える。また、ペリオスチンを標的としたアレルギー疾患治療薬の開発は、細胞外マトリックスタンパク質を標的とした全く新規の作用機序を持つ治療薬の開発につながると期待される。

研究成果の概要（英文）：

It is well known that type 2 immunity is important for allergic inflammation. To examine how IL-4 or IL-13, signature type 2 cytokines, contributes to the pathogenesis of allergic inflammation, we in this study analyzed functions of periostin, an extracellular matrix protein induced by IL-4 or IL-13. We found that periostin plays an important role for the chronicity of allergic inflammation in atopic dermatitis. IL-4 or IL-13 induces periostin production in fibroblasts. Periostin induces TSLP production in keratinocytes by binding to integrin molecules on their cell surface. Then TSLP induces Th2 differentiation in naïve T cells. Thus, the vicious cycle composed of IL-4/IL-13, periostin, integrin, and TSLP is important for the pathogenesis of atopic dermatitis. The finding that the neutralizing antibodies against α v integrin inhibited dermatitis suggests that periostin can be a therapeutic target against atopic dermatitis. We also found that periostin is involved in the pathogenesis of various inflammatory diseases such as pulmonary fibrosis, scleroderma, gallbladder carcinoma, IgG4-related sclerosing sialadenitis, eosinophilic otitis media, allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis, and proliferative diabetic retinopathy. Furthermore, we found that periostin plays an important role in wound repair, which is a physiological function of periostin. The

underlying mechanism of the chronicity of allergic inflammation by periostin is the first example showing some host factor is involved in it. It is hoped that development of inhibitors targeting periostin will lead to development of therapeutic agents against atopic dermatitis having a novel mechanism.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：アレルギー・ぜんそく、トランスレーショナルリサーチ、免疫学、生体分子

1. 研究開始当初の背景

2型免疫反応がアレルギー性炎症の主体であることはよく知られている。しかし、2型サイトカインであるIL-4やIL-13が、どのようなエフェクター分子を誘導してアレルギー炎症を形成するのかについては必ずしも充分明らかではなかった。この点を明らかにするために、我々はDNAマイクロアレイを用いて網羅的に気道上皮細胞におけるIL-4やIL-13の誘導遺伝子を同定した(Yuyama, Cytokine, 2002)。そして、同定した誘導遺伝子の一つである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た。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ペリオスチンを中心とした炎症増幅・遷延化サイクルの分子的機序を明らかにすること、ペリオスチンが関与する炎症性疾患を解析することであった。

3. 研究の方法

炎症増幅・遷延化サイクルの分子的機序の解明においては、3次元細胞培養法や遺伝子改変マウス由来を用いて、ペリオスチン依存性に線維芽細胞とケラチノサイトから産生され、炎症惹起に重要なメディエーターの同定を行った。ペリオスチンが関与する炎症性疾患の解析については、特発性間質性肺炎、薬剤性間質性肺炎、強皮症、胆管細胞癌、IgG4関連性硬化性唾液腺炎、好酸球性中耳炎、アレルギー性鼻炎/慢性副鼻腔炎、増殖糖尿病網膜症を対象として疾患モデルと患者サンプルを用いて解析を行った。

4. 研究成果

まず、ペリオスチンがアトピー性皮膚炎の慢性化機序において必須な役割を果たしていることを見出した(Masuoka, J Clin Invest, 2012)。ダニ抗原塗布によるアトピー性皮膚炎モデルマウスを作製した。ペリオスチン欠

損マウスでは、皮膚炎症状が消失した。3次元細胞培養法を用いてペリオスチンの作用を解析したところ、IL-4やIL-13で線維芽細胞を刺激すると、ペリオスチンが産生されるとともに、ペリオスチンはケラチノサイト上のインテグリンに結合して、ケラチノサイトからのTSLP産生を誘導することを明らかにした。ケラチノサイトから産生されるTSLPはTh2細胞分化を誘導した。つまり、アトピー性皮膚炎の病態形成においてIL-4/IL-13-ペリオスチン-インテグリン-TSLPより成る悪性回路が存在し、それがアトピー性皮膚炎の慢性化を起こしていることを明らかにした。これを裏付けるように、ダニ抗原塗布モデルマウスに抗 α vインテグリン中和抗体を投与したところ、アトピー性皮膚炎の出現をほぼ完全に阻害した。特筆すべきことに、いったんアトピー性皮膚炎が出現した後に抗 α vインテグリン中和抗体を投与しても、アトピー性皮膚炎の改善が見られた。以上より、ペリオスチンはアトピー性皮膚炎に対する治療薬開発のための有望な標的であることが明らかとなった。

次に、アトピー性皮膚炎以外にペリオスチンが関連する疾患の探索を行った結果、次に示す疾患との関連性を示した。つまり、ペリオスチンはアトピー性皮膚炎を始めとするさまざまな炎症疾患に関与しているエフェクター分子であることを明らかにした。

- ・呼吸器疾患：特発性間質性肺炎 (Okamoto, Eur Respir J, 2011), 薬剤性間質性肺炎 (Uchida, Am J Respir Cell Mol Biol, 2012)
- ・皮膚疾患：強皮症 (Yamaguchi, Br J dermatol, 2013)
- ・消化器疾患：胆管細胞癌 (Fujimoto, Oncol Rep, 2011)
- ・耳鼻科疾患：IgG4関連性硬化性唾液腺炎 (Ohta, Laryngoscope, 2012), 好酸球性中耳炎 (Nishizawa, Acata Oto-Laryngologica, 2012), アレルギー性鼻炎/慢性副鼻腔炎 (Ishida, Allergology Int, 2013)
- ・眼科疾患：増殖糖尿病網膜症 (Yoshida,

Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011)

この中で、アトピー性皮膚炎、特発性間質性肺炎、強皮症、胆管細胞癌、増殖糖尿病網膜症においては、血清ペリオスチンレベルが上昇することから、ペリオスチンはこれらの疾患のバイオマーカーとなることが明らかとなった。

さらに、皮膚創傷治癒マウスを作製してペリオスチンの役割を解析した。その結果、創傷治癒部位ではペリオスチンの発現が増強するとともに、ペリオスチン欠損マウスでは創傷治癒が遅延した。以上より、ペリオスチンは、創傷治癒機序に重要な役割を果たしており、これがペリオスチンの生理的作用の一つとなっていることも見出した。

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 16 件) すべて査読有

(1) Tajiri T, Matsumoto H, Hiraumi H, Ikeda H, Morita K, Izuhara K, Ono J, Ohta S, Ito I, Oguma T, Nakaji H, Inoue H, Iwata T, Nagasaki T, Kanemitsu Y, Ito J, Niimi A, Mishima M, Efficacy of omalizumab in eosinophilic chronic rhinosinusitis patients with asthma, *Ann Allerg Asthma Im*, in press

(2) Ohta N, Watanabe T, Ito T, Kubota T, Suzuki Y, Ishida A, Kakehata S, Aoyagi M, Matsubara A, Izuhara K, Clinical and pathological characteristics of organized hematoma, *Int J Otolaryngol*, in press

(3) Yamaguchi Y, Izuhara K, Ono J, Ohta S, Masuoka M, Ikezawa Z, Aihara M, Takahashi K, Serum periostin levels correlate with the progressive skin sclerosis in patients with systemic sclerosis, *Br J Dermatol*, vol. 168, 2013, pp. 717-725

DOI: 10.1111/bid.12117

(4) Ohta S, Shibata R, Nakao Y, Azuma Y, Taniguchi K, Arima K, Suzuki S, Shiraishi H, Iwasaka T, Izuhara K, The usefulness of combined measurements of squamous cell carcinoma antigens 1 and 2 in diagnosing atopic dermatitis, *Ann Clin Biochem*, vol. 49, 2012, pp. 277-284

DOI: 10.1258/acb.2011.011065

(5) Uchida M, Shiraishi H, Ohta S, Arima K, Taniguchi K, Suzuki S, Okamoto M, Ahlfeld SK, Ohshima K, Kato S, Toda S, Sagara H,

Aizawa H, Hoshino T, Conway SJ, Hayashi S, Izuhara K, Periostin, a matricellular protein, plays a role in the induction of chemokines in pulmonary fibrosis, *Am J Respir Cell Mol Biol*, vol. 46, 2012, pp. 677-686

DOI: 10.1165/rcmb.2011-01150C

(6) Ohtsuka K, Kotobuki Y, Shiraishi H, Serada S, Ohta S, Tanemura A, Yang L, Fujimoto M, Arima K, Suzuki S, Murota H, Toda S, Kudo A, Conway SJ, Narisawa Y, Katayama I, Izuhara K, Naka T, Periostin, a matricellular protein, accelerates cutaneous wound repair by activating dermal fibroblasts, *Exp Dermatol*, vol. 21, 2012, pp. 331-336

DOI: 10.1111/j.1600-0625.2012.01454.x

(7) Ohta N, Kurakami K, Ishida A, Furukawa T, Saito F, Kakehata S, Izuhara K, Clinical and pathological characteristics of IgG4-related sclerosing sialadenitis, *The Laryngoscope*, vol. 122, 2012, pp. 572-577

DOI: 10.1002/lary.22449

(8) Masuoka M, Shiraishi H, Ohta S, Suzuki S, Arima K, Aoki S, Toda S, Inagaki N, Kurihara Y, Hayashida S, Takeuchi S, Koike K, Ono J, Noshiro H, Furue M, Conway SJ, Narisawa Y, Izuhara K, Periostin promotes chronic allergic inflammation in response to Th2 cytokines, *J Clin Invest*, vol. 122, 2012, pp. 2590-2600

DOI: 10.1172/JCI58978

(9) Nishizawa H, Matsubara A, Nakagawa T, Ohta N, Izuhara K, Shinkawa H, The role of periostin in eosinophilic otitis media, *Acata Oto-Laryngologica*, vol. 132, 2012, pp. 838-844

DOI: 10.3109/00016489.2012.668708

(10) Shiraishi H, Masuoka M, Ohta S, Suzuki S, Arima K, Taniguchi K, Aoki S, Toda S, Yoshimoto T, Inagaki N, Conway SJ, Narisawa Y, Izuhara K, Periostin contributes to the pathogenesis of atopic dermatitis by inducing TSLP production from keratinocytes, *Allergology Int*, vol. 61, 2012, pp. 563-572

DOI: 10.2332/allergolint.10-0A-0297

(11) Ishida I, Ohra N, Suzuki Y, Kakehata S, Okubo K, Ikeda H, Shiraishi H, Izuhara K, Expression of pendrin and periostin in allergic rhinitis and chronic

rhinosinusitis, *Allergology Int*, vol. 61, 2012, pp. 589-595
DOI: 10.2332/allergolint.11-0A-0370

(12) Fujimoto K, Kawaguchi T, Nakashima O, Ono J, Ohta S, Kawaguchi A, Tonan T, Ohshima K, Yano H, Hayabuchi N, Izuhara K, Sata M, Periostin, a matrix protein, has potential as a novel serodiagnostic marker for cholangiocarcinoma, *Oncol Rep*, vol. 25, 2011, pp. 1211-1216
DOI: 10.3892/or.2011.1194

(13) Okamoto M, Hoshino T, Kitasato Y, Sakazaki Y, Kawayama T, Fujimoto K, Ohshima K, Shiraishi H, Uchida M, Ono J, Ohta S, Kato S, Izuhara K, Aizawa H, Periostin, a matrix protein, is a novel biomarker for idiopathic interstitial pneumonias, *Eur Respir J*, vol. 37, 2011: pp. 1119-1127
DOI: 10.1183/09031936.00059810

(14) Yoshida S, Ishikawa K, Asato R, Arima M, Sassa Y, Yoshida A, Yoshikawa H, Narukawa K, Obika S, Ono J, Ohta S, Izuhara K, Kono T, Ishibashi T, Increased expression of periostin in vitreous and fibrovascular membranes obtained from patients with proliferative diabetic retinopathy, *Invest Ophthalmol Vis Sci*, vol. 52, 2011: pp. 5670-5678
DOI: 10.1167/iovs.10-6625

(15) Taniguchi K, Yamamoto S, Aoki S, Izuhara K, Hamasaki Y, Epigen is induced during the interleukin-13-stimulated cell proliferation in murine primary airway epithelial cells, *Exp Lung Res*, vol. 37, 2011, pp. 461-470
DOI: 10.3109/01902148.2011.596894

(16) Nofziger C, Dossena S, Suzuki S, Izuhara K, Paulmichl M, Pendrin function in airway epithelia, *Cell Physiology and Biochemistry*, vol. 28, 2011, pp. 571-578

[学会発表] (計 27 件)

(1) 出原賢治, 基礎研究の炎症疾患診断薬・治療薬開発への応用, 第 52 回日本臨床検査医学会東海・北陸支部総会・第 326 回日本臨床化学会東海・北陸支部例会連合大会 (招待講演), 2013 年 3 月 10 日, 三重県津市

(2) Izuhara K, Periostin, a matricellular protein, promotes chronicity of allergic

skin inflammation, 第 41 回日本免疫学会学術集会 (招待講演), 2012 年 12 月 5 日~2012 年 12 月 7 日, 兵庫県神戸市

(3) 金光禎寛, 吸入ステロイド治療下喘息患者における呼吸機能低下に関与する因子の検討, 第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2012 年 11 月 29 日~2012 年 12 月 01 日, 大阪府大阪市

(4) 出原賢治, アレルギー疾患の診断・治療における特異的 IgE 抗体の微量および高値測定の意義-基礎的性能評価-, 第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (招待講演), 2012 年 11 月 29 日~2012 年 12 月 01 日, 大阪府大阪市

(5) 出原賢治, アレルギー性炎症における IL-4/IL-13-ペリオスチン経路の重要性, 第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (招待講演), 2012 年 11 月 29 日~2012 年 12 月 01 日, 大阪府大阪市

(6) 太田伸男, IgG4 関連硬化性疾患におけるペリオスチンおよび TGF-beta の発現, 第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2012 年 11 月 29 日~2012 年 12 月 1 日, 大阪府大阪市

(7) Kenji Izuhara, Pharmacogenetics, IFCC C-CMBC Committee Activity in Malaysia "MOLECULAR DIAGNOSTICS FOR BEGINNERS" (招待講演), 2012 年 11 月 10 日~2012 年 11 月 15 日, マレーシアクアラルンプール

(8) Izuhara K, Serum periostin levels are correlated with decline of pulmonary function in asthma patients, 29th Collegium Internationale Allergologicum, 2012 年 10 月 14 日~2012 年 10 月 19 日, 韓国チェジュ島

(9) Taniguchi K, The IL-1 α /periostin/IL-6 axis contributes to the keratinocyte proliferation and differentiation in atopic dermatitis, 29th Collegium Internationale Allergologicum, 2012 年 10 月 14 日~2012 年 10 月 19 日, 韓国チェジュ島

(10) 出原賢治, 間質性肺炎の新規バイオマーカー: ペリオスチン, 第 52 回日本臨床化学会年次学術集会 (招待講演), 2012 年 9 月

6日～2012年9月8日, 岩手県盛岡市

(11) Kenji Izuhara, Importance of the interaction between immune and non-immune cells in the pathogenesis of allergic Diseases, 2012 KAAACI (The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology) Annual International Congress (招待講演), 2012年5月25日～2012年5月26日, 韓国ソウル

(12) 赤坂圭一, びまん性肺疾患における血清ペリオスチン値の検討, 第52回日本呼吸器学会学術講演会, 2012年4月20日～2012年4月21日, 東京都

(13) Kotobuki Y, Periostin, a matricellular protein, accelerates wound repair by activating dermal fibroblasts, Keystone symposia Conferences 2012 meetings (D1), 2012年4月1日～2012年4月4日, USA, Big Sky

(14) 岡元 昌樹, 特発性間質性肺炎 (IIPs) における細胞外マトリクス蛋白ペリオスチン発現の解析, 第14回間質性肺炎分子病態研究会, 2012年1月8日

(15) Izuhara K, Elucidation of the molecular mechanism underlying the pathogenesis of allergic diseases, Keynote Lecture at the Mexican Society of Immunology (招待講演), 2011年12月8日, Mexico city, Mexico

(16) 御塚加奈子, 細胞外マトリクスタンパク質「ペリオスチン」は、皮膚線維芽細胞の活性化を介して創傷治癒を促進する, 第15回九州基礎皮膚科研究会, 2011年12月3日

(17) Taniguchi K, ペリオスチンはインターロイキン6産生を介して表皮角化細胞の増殖・分化に関与する, 第40回日本免疫学会学術集会, 2011年11月27-29日

(18) 松原 篤, 好酸球性中耳炎における Periostin, 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2011年11月10-12日, 東京都

(19) 續 啓史, 好酸球前駆細胞特異的な IL-25 受容体発現の意義の解明, 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2011年11月10-12日, 東京都

(20) 有馬和彦, 細胞外マトリクスを介したアトピー性皮膚炎の病態形成, 第61回日本アレルギー学会秋季学術大会 (招待講演), 2011年11月11日, 東京都

(21) 出原賢治, Bacteriologyの核酸検査の現状と今後の方向性, 第6回九州遺伝子診断研究会 (招待講演), 2011年9月10日, 長崎市

(22) 太田昭一郎, アレルギー疾患の新規バイオマーカーとしての SCCA —アレルギー疾患におけるこの医療の実現に向けて—, 第51回日本臨床化学学会年次学術集会 (招待講演), 2011年8月27日, 札幌市

(23) 岡元 昌樹, 細胞外マトリクス蛋白ペリオスチンは、特発性間質性肺炎 (IIPs) の新たなバイオマーカーとなり得る, びまん性肺疾患バイオマーカー研究会, 2011年8月19日, 福岡市

(24) Ohta S, Development of combined measurement of squamous cell carcinoma antigens 1 and 2 as a potential companion diagnostic for anti-IL-4/IL-13 therapies in allergic diseases, 21st International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2011年5月15-19日, Germany, Berlin

(25) Uchida M, Periostin is a critical mediator for acute lung injury induced by chemotherapeutic agents, 2011 American Thoracic Society International Conference, 2011年5月13-18日, USA, Denver

(26) 出原賢治, ペンドリンと気道炎症, 第84回日本内分泌学会 (招待講演), 2011年4月22日, 神戸市

(27) Izuhara K, Pendrin and Airway Inflammation, ESF Exploratory Workshop on the Proteomics, Epigenetics, and Pharmacogenetics of Pendrin 2011 (招待講演), 2011年4月9日, Austria, Leogang

[図書] (計7件)

(1) Izuhara K, et al., InTech, Atopic Dermatitis - Disease Etiology and Clinical Management, 2012, p404

(2) 出原賢治, 他、科学評論社、サイトカインのすべて、2012、p861

(3) Izuhara K, et al., Pacini Editore Medicina, Translational Science: from Basic to Clinical Immunology and Allergy, 2012, p390

(4) 出原賢治, 他、Life Science Publishing、2010 年における気管支喘息のすべて、2011、p194

(5) 出原賢治, 他、LIFE-SCIENCE INFORMATION CENTER、疾患モデルの作製と利用 免疫疾患、2011、p580

(6) 出原賢治, 他、LIFE-SCIENCE INFORMATION CENTER、疾患モデルの作製と利用 免疫疾患、2011、p580

(7) Izuhara K, et al., Wiley-Blackwell, Inflammation and allergy drug design, 2011, p330

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 4 件)

名称：ペリオスチンの特定領域に結合する抗体、この抗体を用いるペリオスチンの測定方法、測定試薬及び正確性の改善方法、並びに疾患の検査方法

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：特願 2012-077774

出願年月日：平成 24 年 3 月 29 日

国内外の別：国内

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：特願 2012-011838、PCT/JP2013/051120

出願年月日：平成 24 年 1 月 24 日

国内外の別：国内

名称：慢性副鼻腔炎の検査方法

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：特願 2011-238913、PCT/JP2012/78008

出願年月日：平成 23 年 10 月 31 日

国内外の別：国内外

名称：ペリオスチンの特定領域に結合する抗体、並びにこの抗体を用いるペリオスチンの測定方法、測定試薬及び正確性の改善方法

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：特願 2011-194323

出願年月日：平成 23 年 9 月 6 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：00270463

(2) 研究分担者

有馬 和彦 (ARIMA KAZUHIKO)

佐賀大学・医学部・講師

研究者番号：60336112

鈴木 章一 (SUZUKI SHOICHI)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：40253695

白石 裕士 (SHIRAIISHI HIROSHI)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：80452837

太田 昭一郎 (OHTA SHOICHIRO)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：20346886

(3) 連携研究者

なし