慢性アレルギー性炎症におけるペリオスチンの役割 アトピー性皮膚炎の新しい治療薬としての期待

ペリオスチンは、はじめ骨芽細胞で強く発現しているタンパク質として同定され、osteoblast specific factor-2 (OSF-2) と名づけられた。その後、骨膜 (periosteum) や歯根膜靱帯 (periodontal ligament) に高発現していることから、ペリオスチン (periostin) と改名された。最近、われわれは、ペリオスチンがアトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis; AD) の慢性化に重要な役割を果たしていることを明らかにしたので、それを中心に解説する。

ペリオスチンには2つの特徴があることが知られている。一つは通常の細胞外マトリックスタンパク質としての作用である。ペリオスチンはコラーゲン I やフィブロネクチン、テネイシン C などほかの細胞外マトリックスタンパク質と結合し、組織の構造維持、あるいは病的状態における線維化に関与する。

さらに、ペリオスチンは、マトリセルラータンパク質の一つとして機能することが明らかとなってきた。マトリセルラータンパク質は、細胞と基質間の相互作用を仲介することにより細胞の機能に影響をもたらす特徴をもっている。ペリオスチンは、細胞表面の受容体であるインテグリンと結合し、細胞内にシグナルを伝達する。これまでに、ペリオスチンがマトリセルラータンパク質として機能することにより、心筋梗塞後の創傷治癒に関連していることや、さまざまな腫瘍においてがん細胞の遊走・浸潤・生存にかかわっていることなどが報告されている。

われわれの研究室では、これまでに喘息などのアレルギー疾患をはじめ、さまざまな領域の炎症性疾患の線維化にペリオスチンが関与していることを見いだした^(1,2)。そして、われわれは独自にペリオスチンを測定するELISAシステムを構築し、特発性間質性肺炎、AD、糖尿病性網膜症、全身性強皮症で、血清ペリオスチン値が上昇することを明らかとした^(3,4)。また、ペリオスチンは喘息におけるバイオマーカーとしての有用性も注目されている。抗IL-13抗体は抗喘息薬として開発が進められており、ロシググループは、喘息患者において血清ペリオスチンが高値を示すことは、生体内でのIL-13産生が高いことを反映しており、抗IL-13抗体の効

果が期待できることを示している⁽⁵⁾。

ADの病態はバリア機能の異常と、2型免疫反応を主体とする慢性炎症が組み合わさって形成され则认为られている。2型免疫反応とは、IL-4、IL-5、IL-13などの2型サイトカインによって引き起こされる免疫反応を指す。ADにおける炎症の慢性化は、これまでアレルゲンなどの持続的な曝露による外的要因によると説明されてきた。しかし、ADはいったん発症すると、アレルゲンの侵入がなくても慢性的に炎症が続いてしまうことが知られており、必ずしも外的要因の持続化だけでは説明がつかなかった。最近、われわれはペリオスチンがADの慢性化に重要な役割を果たしていることを明らかにした⁽⁶⁾。これは、ペリオスチンのマトリセルラータンパク質としての作用を、アレルギー性炎症において示した最初の報告となった。

AD患者の皮膚組織では、ペリオスチンは真皮部分に強く沈着し、沈着の程度は臨床的な皮膚炎の重症度と相関が見られた。さらに、血清中のペリオスチン値は健康人に比べAD患者で上昇していた。

次に、人工的に耳の皮膚バリアを破壊して、ヒトADとよく関連していると考えられる House Dust Mite の抽出液 (HDM) を経皮的に繰り返し塗布することで、患者の病態に近似したADモデルマウスを作製した。このモデルマウスでは、耳に湿疹病変と腫脹を認め、表皮の肥厚や真皮への炎症細胞浸潤、2型免疫反応などADに特徴的な所見が見られた。一方、ペリオスチン欠損マウスでは、HDMを塗布してもこれらの所見が見られず、皮膚炎を発症しなかった。このことから、ペリオスチンはADの発症に必須な分子であることが明らかとなった。

さらに、ペリオスチンがADを引き起こす分子機序を明らかにするために、ケラチノサイトと線維芽細胞の3次元共培養による *in vitro* の再構成の系を構築した (図1)。この系では、線維芽細胞を混ぜたコラーゲンゲル上でケラチノサイトを培養する。上部側は空気に接触し、基底側は培養液中や線維芽細胞より産生された液性成分がケラチノサイトに作用する。この系では、ケラチノサイトを生理的環境で培養することができ、免疫細胞など

図1 ■ 3次元共培養系を用いたペリオスチンの作用の解析

線維芽細胞を混ぜたコラーゲンゲル上でケラチノサイトを培養し、*in vitro*で皮膚を再構成した。皮膚炎を模倣するためにIL-13を加えると、野生型マウス由来線維芽細胞より産生されたペリオスチンは、インテグリン αv を介してケラチノサイトに作用し、ケラチノサイトの増殖およびTSLPなどの炎症性サイトカイン産生を誘導した(左)。一方、ペリオスチン欠損マウス由来の線維芽細胞では、それらを認めなかった(右)。

の関与なしに、ケラチノサイトと線維芽細胞間の相互作用を解析することが可能である。この系を用いた実験の結果、IL-13刺激にて線維芽細胞より産生されたペリオスチンは、インテグリン αv を介してケラチノサイトに作用し、ケラチノサイトの増殖およびTSLP (thymic stromal lymphopoetin)などの炎症性サイトカイン産生を誘導することを明らかにした。

以上の結果から、図2に示すようにADの増悪と慢性化において、ペリオスチンは重要な役割を担っていることを明らかにした。アレルゲンが侵入すると樹状細胞が認識し、ナイーブT細胞に抗原提示する。ナイーブT細胞はTh2細胞に分化し、IL-4やIL-13を産生する。その刺激により線維芽細胞からペリオスチンが大量に産生され、真皮に沈着する。ペリオスチンはインテグリンを介してケラチノサイトを刺激し、TSLPなどの炎症性サイトカインの産生を誘導する。これが免疫細胞に作用してさらに2型免疫反応を増幅させる。このように、IL-4/IL-13、ペリオスチン、TSLPなどの炎症性サイトカインの悪性サイクルを形成し、ADの慢性化、遷延化につながっていると考えられる。

われわれの実験の結果より、ケラチノサイトにはインテグリン $\alpha v\beta 3$ が発現しており、ペリオスチンとインテグリンの結合を阻害する物質は、ADに対する新規の治療薬になりうると考えられた。

ペリオスチンとインテグリンの結合を阻害するために、インテグリン αv に対する中和抗体を加える実験を行った。この解析には予防モデルと治療モデルの2つのモデルを用いた。予防モデルでは、HDM塗布開始当初からインテグリン αv 中和抗体の皮下投与を連続的に

図2 ■ ペリオスチンによる増悪のサイクル

アレルゲンが侵入すると樹状細胞が認識し、ナイーブT細胞に抗原提示する。するとT細胞はTh2細胞に分化し、IL-4やIL-13が産生される。その刺激により線維芽細胞からペリオスチンが大量に産生され、真皮に沈着する。ペリオスチンはインテグリンを介してケラチノサイトを刺激し、別の炎症性サイトカインの産生を誘導する。これが免疫細胞に作用してさらに2型免疫反応を増幅させる。

うと、ADに特徴的な所見がペリオスチン欠損マウスと同様にすべて抑制された。次に、治療モデルでは、皮膚炎の形成が完成してから、インテグリン αv 中和抗体の皮下投与を開始した。すると、いったん発症した皮膚炎が、中和抗体の投与により徐々に軽減した。このように、いったん皮膚炎を発症した後に、インテグリンに対する中和抗体を投与しても皮膚炎が改善することから、ペリオスチンとインテグリンの結合を阻害する物質は、

AD患者に対して有効性を示す可能性があり、副作用の少ない画期的な分子標的治療薬となると期待される。

- 1) G. Takayama, K. Arima, T. Kanaji *et al.* : *J. Allergy Clin. Immunol.*, **118**, 98 (2006).
- 2) M. Uchida, H. Shiraishi, S. Ohta *et al.* : *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **46**, 677 (2012).
- 3) M. Okamoto, T. Hoshino, Y. Kitasato *et al.* : *Eur. Respir. J.*, **37**, 1119 (2011).
- 4) Y. Yamaguchi, J. Ono, M. Masuoka *et al.* : *Br. J. Dermatol.*, (2012), doi : 10.1111/bjd.12117.
- 5) J. Corren, R. F. Lemanske, N. A. Hanania *et al.* : *N. Engl. J. Med.*, **365**, 1088 (2011).
- 6) M. Masuoka, H. Shiraishi, S. Ohta *et al.* : *J. Clin. Invest.*, **122**, 2590 (2012).

(増岡美穂^{*1,2}, 出原賢治^{*2}, ^{*1}佐賀大学医学部附属病院内科学皮膚科, ^{*2}佐賀大学医学部分子生命科学講座)

プロフィール

増岡 美穂 (Miho MASUOKA)

＜略歴＞2002年佐賀医科大学医学部医学科卒業／同年佐賀大学医学部内科学皮膚科に入局し、皮膚科医として勤務／2007年同分子生命科学講座分子医化学分野にて大学院生として研究を行う／2010年佐賀大学医学部附属病院内科学皮膚科助教／2013年2月佐賀大学医学部分子生命科学講座分子医化学分野博士研究員＜研究テーマと抱負＞現在は、ペリオスチンが関与する炎症性皮膚疾患の解析、ペリオスチンを標的とした治療の開発を行っています＜趣味＞スキューバダイビング

出原 賢治 (Kenji IZUHARA)

＜略歴＞1984年九州大学医学部医学科卒業／医学部卒業後、内科医を経て1991年から1994年まで米国DNAX分子生物学研究所に留学。帰国後、国立遺伝学研究所、九州大学を経て2000年より現職＜研究テーマと抱負＞アレルギー性炎症の分子機序を明らかにして、その知見を元に治療薬、診断薬の開発を進める。特に上皮細胞や線維芽細胞などこれまであまり注目されていなかった細胞の炎症発症機序への関与に関心をもっている＜趣味＞週末だけのテニス