

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：16301
研究種目：奨励研究
研究期間：2019
課題番号：19H00416
研究課題名：NLRP3 インフラマソーム機能を調節する新規分子の機能解析

研究代表者
金子 直恵 (KANEKO, Naoe)
愛媛大学・医学部・技術員

交付決定額（研究期間全体）（直接経費）：540,000 円

研究成果の概要：

NLRP3 インフラマソームは、遺伝性炎症疾患やメタボリックシンドロームなど、様々な疾患との関与が報告されている細胞内タンパク質複合体であるが、その調節機構については未だ不明な点が多い。そこで、これらの疾患に対する創薬ターゲットを見出し、より効果的に創薬を進めるために、ヒトの約 2 万種類のタンパク質アレイを用いて、NLRP3 と相互作用する新規タンパク質の網羅的探索を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NLRP3 遺伝子の恒常的活性化変異はクリオピリン関連周期熱症候群という自己炎症疾患の原因となる。しかしながら、クリオピリン関連周期熱症候群の臨床症状を示しながら、NLRP3 遺伝子に変異のみられない症例がある。本成果は、その原因として未知の相互作用分子の存在を示唆するものであり、NLRP3 インフラマソームに対する新規の分子標的薬の開発につながる可能性を秘めている。引き続き、解析を進めていきたい。

研究分野：免疫学

キーワード：インフラマソーム、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術、炎症

1. 研究の目的

インフラマソームとは、病原微生物や代謝産物などの分子パターンを認識して活性化する細胞質内タンパク質複合体の総称であり、炎症性サイトカインである IL-1 β や IL-18 の産生を誘導することで、炎症反応を惹起する。インフラマソームは、リガンドを認識する Nod-like receptors (NLR)s、IL-1 β 前駆体を切断して活性化する酵素であるカスパーゼ 1、それらのアダプター分子として働く ASC により構成されている。多くの NLRs が、遺伝性炎症疾患やメタボリックシンドロームと関連していると報告されている。現在、NOD1、NOD2、AIM2、NLRP3、NLRC4 インフラマソーム構成タンパク質をコムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術により合成し、Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay (Alpha) で検出することにより、インフラマソームの試験管内再構成に成功している。以前より、NLRP3 インフラマソーム再構成系を用いて、遺伝性炎症疾患に対する分子標的薬の開発を目指し、低分子化合物のスクリーニングを行っているが、評価の過程で NLRP3 インフラマソームの作用を増強する分子の存在を予測する新たな結果を得た。そこで本年度は、新たな創薬ターゲットを見出すことで、遺伝性炎症疾患に対する分子標的薬の開発をより効果的に進めるために、NLRP3 と相互作用する新規タンパク質を網羅的に探索し、その存在を明らかにすることを目指した。

2. 研究成果

当研究室が所属しているプロテオサイエンスセンターでは、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成技術を用いてヒトの約 2 万種類の遺伝子を鋳型に組換えタンパク質として合成し、アレイ化した 20K-Human Protein Array (20K-HUPA) が供用されており、Alpha と組み合わせることで、標的タンパク質とヒトで発現しているほぼすべてのタンパク質との相互作用を網羅的に探索することが可能となっている。本年度は、20K-HUPA を用いて NLRP3 と相互作用する新規タンパク質を網羅的に探索した。得られた候補については、HEK293T 細胞内に再構成した NLRP3 インフラマソームの活性化に与える影響を評価し、4 つのタンパク質に絞りこむことができた。個々

のタンパク質の制御機構について、引き続き解析を行う。

3. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kaneko N, Kurata M, Yamamoto T, Morikawa S, Masumoto J.
The role of interleukin-1 in general pathology.
Inflammation and Regeneration. 2019;39:12. doi:10.1186/s41232-019-0101-5 (査読有)

〔学会発表〕(計 3 件)

(1) 金子直恵、重村倫成、上松一永、倉田美恵、竹田浩之、澤崎達也、増本純也
無細胞 NLRP3 インフラマソーム再構成系を用いた自己炎症疾患の分子標的薬の開発
第 42 回日本分子生物学会年会 2019 年 12 月 5 日

(2) 金子直恵、竹田浩之、澤崎達也、増本純也
無細胞インフラマソーム再構成系による創薬スクリーニング
第 92 回 日本生化学会大会 2019 年 9 月 20 日

(3) 増本純也、金子直恵、周薇、竹田浩之、澤崎達也、山本敏弘、森川紳之祐、倉田美恵
NLRP3 インフラマソームを活性化する未知分子の同定
第 40 回日本炎症・再生医学会 2019 年 7 月 17 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：マックル・ウェルズ症候群の治療用医薬組成物

発明者：増本 純也、金子 直恵、澤崎 達也、竹田 浩之

権利者：同上

種類：特許

番号：特願 2019-238430

出願年：2019

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pros.ehime-u.ac.jp/section/09.html>

4. 研究組織

研究協力者

研究協力者氏名：増本 純也、竹田 浩之、澤崎 達也

※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、研究者個人に帰属されます。