

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：34204

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05853

研究課題名(和文)ミトコンドリア傷害関連分子パターンを構成する活性因子の化学的同定と生体機能解析

研究課題名(英文)Chemical identification of activation factors in mitochondrial DAMPs and their regulatory mechanisms in innate immunity

研究代表者

向井 秀仁 (Mukai, Hidehito)

長浜バイオ大学・バイオサイエンス学部・教授

研究者番号：20251027

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、我々が世界に先駆けて同定した、ミトコンドリアタンパク質由来する一群の好中球活性化ペプチド、マイトクリプタイド(MCTs)と、自然免疫応答を誘導する因子群として知られているミトコンドリア傷害関連分子パターン(mtDAMPs)の関係を明らかにし、MCTsの様々な炎症性疾患における病態生理学的役割を解明することを目的としている。本研究により、マイトクリプタイド-2(MCT-2)およびマイトクリプタイド-3(MCT-3)に対する受容体を明らかにするとともに、MCT-2およびMCT-3とも、mtDAMPs中に存在すること、それらは実際に自然免疫応答の誘導に関わる可能性が高いことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、我々が世界に先駆けて発見した、ミトコンドリアタンパク質由来の一群の新規好中球活性化ペプチド、「マイトクリプタイド」(MCTs)の生体における役割を解明するため、まずMCTsとmtDAMPsとの関連を検討した。その結果、実際にmtDAMPs中にMCT-2およびMCT-3が存在していることが明らかになった。また、LPSにより実験的に誘導した肝傷害モデルにおいて、MCT-2がその増悪および再生、両者に関わる可能性を世界で初めて示すことに成功した。この研究成果は、多臓器不全や虚血傷害といった未だ有効な治療法が確立されていない炎症性疾患の治療に道を開く画期的成果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Mitocryptides (MCTs) including mitocryptide-1 (MCT-1), mitocryptide-2 (MCT-2) and mitocryptide-3 (MCT-3) are a family of novel neutrophil-activating peptides derived from various mitochondrial proteins. Here we suggested the novel mechanisms that initiate innate immune responses. Indeed, the receptor molecule for MCT-2 was shifted from formyl-peptide receptor-2 to formyl-peptide receptor-1 depending on the truncation of MCT-2 from C-terminus. It was also suggested that MCT-3 as well as MCT-1 directly activated G<sub>i2</sub> protein that was located at the surface of neutrophilic plasma membrane. We also demonstrated that intravenous pre-injection of neutralizing antibodies against MCT-2 suppressed neutrophil infiltration and promoted recovery of the tissue in the mouse hepatic injury model caused by lipopolysaccharide (LPS), indicating that MCT-2 involves not only in the tissue damage mechanisms induced by LPS but also in recovery from the damage.

研究分野：ペプチド科学・ペプチド創薬

キーワード：クリプタイド 生体機能物質 自然免疫機構 好中球 肝傷害モデル エンドトキシン 炎症 活性発現の分子機構

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、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

現在から遡ること40年前、ニューヨーク州立大学の H. Carp は、ミトコンドリア破砕物に初期自然免疫反応において中心的役割を果たしている好中球の遊走および活性化を惹起する物質が存在していることを発見し、ミトコンドリアと自然免疫機構の関わりを初めて示した [J. Exp. Med., 155, 264, (1982)]。そして Carp はその報告の中で、細菌由来のアミノ末端がホルミル化されたタンパク質が強い自然免疫応答を誘導することから、ミトコンドリア破砕物中に存在する好中球活性化物質が、哺乳動物においてミトコンドリアのみに存在する、やはりアミノ末端がホルミル化されたタンパク質である可能性をあげている。しかし、その後具体的な活性化物質の同定ならびに化学構造決定は行われず、永く不明のままであった。

一方最近になって、ミトコンドリアと自然免疫機構との関わりを検討する多くの研究が行われるようになった。そして、外傷や虚血傷害など、感染を伴わない炎症性疾患において、その病態初期にミトコンドリア由来の分子群が深く関わっていることが示され、これら分子群はミトコンドリア由来傷害関連分子パターン (mitochondrial damage-associated molecular patterns, mtDAMPs) と呼ばれるようになった。さらに、ようやく2010年になって、mtDAMPsの構成成分がミトコンドリア DNA (mtDNA) と内因性ホルミルペプチドであることが報告され、mtDAMPs が関与する自然免疫応答の研究が飛躍的に進展することが期待されるようになった [Nature, 464, 104, (2010)]。しかしごく最近になって、高度に精製された mtDNA は好中球を活性化しないことが明らかとなり、自然免疫応答を惹起する mtDAMPs を構成する分子としての mtDNA に対し相次いで疑問が提起されている [Biochem. Mosc., 80, 629, (2015); Injury, 46, 975, (2015)]。そのため、mtDAMPs の構成成分として内因性のホルミルペプチドが注目されるようになったが、この可能性は、好中球に存在するホルミルペプチド受容体 FPR1 および FPR2 に対する阻害薬の効果から示されたもので、これら内因性ホルミルペプチドの化学構造は未だ決定されていない。

これに対して我々の研究グループは、mtDAMPs の研究とは全く独立して、新規内因性好中球活性化物質の同定を試みてきた。すなわち、虚血性疾患などにおける好中球の組織浸潤ならびに活性化は極めて迅速であることから、これらの生体反応を誘導する物質は、正常な組織に存在するのではないかと考え、正常組織からそれらの単離・精製を試みてきた。その結果、好中球を活性化する3種類の新しい生理活性ペプチド、マイトクリプタイド-1 (MCT-1)、マイトクリプタイド-2 (MCT-2)

ならびにマイトクリプタイド-CYC を精製・同定するとともに、それらはミトコンドリアタンパク質が成熟化、さらにその機能を果たした後、分解・代謝される過程で生成される断片ペプチドであることを明らかにした (図1) [J. Biol. Chem., 283, 30596, (2008); J. Immunol., 182, 5072, (2009); Prot. Pept. Lett., 19, 680, (2012)]。また、これらペプチドの精製の過程で、単離・同定したペプチド以外にも、多数のミトコンドリアタンパク質に由来する好中球活性化ペプチドが存在していることが明らかとなった。そこで、これらミトコンドリアタンパク質由来の好中球活性化断片ペプチドを網羅的に見つけ出すために、タンパク質データベースである Swiss-Prot の配列情報に基づき *in silico* での活性ペプチド探索を行い、現在までに50種類以上を同定している [Biopolymers, 88, 190, (2007)]。このように我々は、ミトコンドリアタンパク質由来の多くの断片ペプチドが好中球の活性化を伴う新たな生体防御機構を形成している可能性を示し、これらタンパク質配列に隠された新しい生理活性ペプチドを総称して「クリプタイド」と、その中でもミトコンドリアタンパク質に由来するクリプタイドを「マイトクリプタイド (MCTs)」と命名した [Biopolymers, 88, 190, (2007); 生化学, 82, 524, (2010)]。

このように、mtDAMPs に関する最近の研究と我々の研究の結果を総合すると、未だ明らかでない mtDAMPs 中の自然免疫応答誘導因子群の多くは、我々が同定した一群の新規好中球活性化ペプチド、MCTs である可能性が高いと考えられるようになった [Biopolymers, 106, 580, (2016)]。そこでその可能性を検討するため、先行研究で同定した MCTs に対して特異的に結合し、その活性を阻害する中和モノクローナル抗体の取得を試み、現在までに MCT-1 や MCT-2 をはじめとした5種類の MCTs に対する特異的中和モノクローナル抗体の取得に成功している [Biochem. Biophys. Res. Commun., 463, 54, (2015); J. Pept. Sci., 23, 610, (2017)]。さらに最近、感染を伴わない実験的肝傷害による炎症反応が、MCTs に対する中和抗体の前投与により顕著に抑制されることを見いだした。しかし、未だ我々が発見した一群の新規好中球活性化ペプチド、

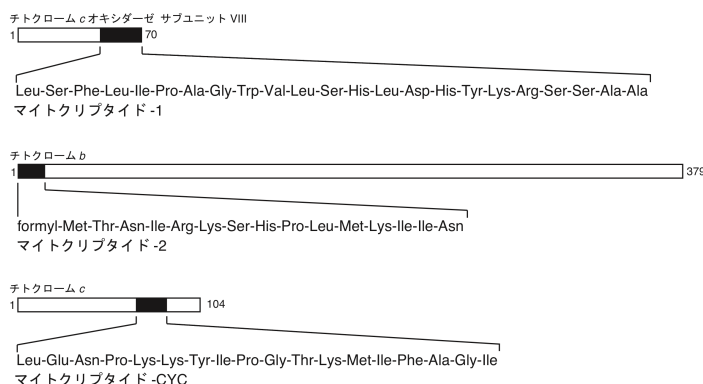


図1. 単離・精製した3種のマイトクリプタイドのアミノ酸配列とそれらの親タンパク質における存在位置

MCTs が mtDAMPs を構成する自然免疫応答誘導因子であることは証明されていない。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、mtDAMPs を構成する自然免疫応答誘導因子と MCTs の関わりを解析するとともに、それらの詳細な化学構造を分析・決定し、自然免疫応答における役割を解明することを目的とする。我々は、mtDAMPs 由来自然免疫活性化因子の最有力候補である、好中球を活性化する一群の MCTs を発見するという独創的な成果をあげており、mtDAMPs 構成因子同定における熾烈な競争において世界に一步先んじている。さらに我々は、一群の MCTs を同定したばかりでなく、その病態における役割を世界で初めて明らかにするとともに、それらに対する拮抗阻害薬や中和抗体も順次取得に成功し、治療薬開発に道を開いている。以上のことから、本研究がより広く虚血性疾患やリウマチなど、好中球の組織浸潤をとまなう疾病の発症原因解明に大きく寄与するばかりでなく、治療薬リード化合物を提供することにつながる事が期待される。

## 3. 研究の方法

先行研究において我々は、すでに MCT-1 および MCT-2 をはじめとした 5 種類の MCTs の生物活性を特異的に中和するモノクローナル抗体の取得に成功するとともに、それらペプチドに対する拮抗阻害作用を持つペプチドを創製している。そして、すでに取得しているそれら中和抗体や拮抗阻害薬を用いることで、MCT-1 や MCT-2 をはじめとする一群の MCTs が mtDAMPs を構成する自然免疫活性化因子である可能性が高いことを示している [Biopolymers: Peptide Science, 106, 580, (2016)]。しかし、未だその可能性を証明するには至っていない。またごく最近になって、MCTs はそのペプチド鎖の鎖長が変化することにより、好中球における情報伝達機構がスイッチし、別の役割を担う可能性があることを見だし [J. Immunol., 200, 3269, (2018)]、自然免疫機構におけるミトコンドリアの役割を解明するためには、mtDAMPs 中に存在する自然免疫応答誘導因子の生化学的同定とその化学構造の正確な決定が必須であることを示している。そこで本研究では、(1) 獲得した MCTs に対する特異的結合中和抗体を用いることで、一群の MCTs、特に MCT-1 および MCT-2 ならびに *in silico* 探索により同定された、生体における存在が未だ検討されていない MCTs が実際 mtDAMPs 中に存在するのかを明らかにすること、また存在した場合、その化学構造を決定すること、(2) 未だ同定されていない MCT-2 以外の MCTs に対する受容体を同定し、情報伝達機構を解明すること、(3) MCTs がどのように炎症性疾患の発症に関わっているか、特に mtDAMPs を構成する分子群との関連を、創製した阻害剤や獲得した中和抗体を用いることで明らかにすること、を行う。すなわち、まず MCTs に対する免疫活性を指標にして様々な液体クロマトグラフィーを用いて mtDAMPs を分画・精製し、免疫活性を持つ物質の正確な化学構造を解析・決定する。また決定した活性物質については、直ちにこれを化学合成し、好中球における活性を細胞レベルで確認した後、受容体を含めた情報伝達機構を明らかにする。さらに、それらをマウスに投与することにより個体レベルでの機能を解析するとともに、獲得したそれら活性ペプチドに対する中和抗体や開発した阻害剤を用いることで、虚血性疾患や多臓器不全、リウマチ、アルツハイマー病などをはじめとした様々な炎症性疾患における役割を解明する。

## 4. 研究成果

本研究は、ミトコンドリア傷害関連分子パターン (mtDAMPs) を構成する未だ同定されていない自然免疫調節分子群の化学構造を決定し、様々な炎症性疾患における病態生理学的役割を解明することを目的としている。以下に 3 年間実施された本研究による主な研究成果の概略を記載する。

### 1) mtDAMPs を構成する MCTs の同定：

mtDAMPs を構成する未だ同定されていない自然免疫調節分子群を明らかにするため、まずすでに同定している MCTs の mtDAMPs における存在およびその分子形態を検討した。その結果、それぞれの MCTs に対する特異的抗体を用いたイムノプロットによる解析により、mtDAMPs 中に MCT-2 およびマイトクリプタイド-3 (MCT-3) が存在していることが示された。さらに MCT-3 については微量逆相高速液体クロマトグラフィーと特異的抗体を用いた検討により、mtDAMPs 中には 23 残基からなる MCT-3 に加えて複数種の誘導体ペプチドが存在していることが示された。

### 2) MCT-1 および MCT-3 受容体の同定と情報伝達機構の解析：

MCT-2 に対する受容体が、好中球細胞膜に発現している 2 種のホルミルペプチド受容体、FPR1 ならびに FPR2 であることは、我々の先行研究により明らかになっているが、MCT-1 および MCT-3 についてはその受容体および情報伝達機構については不明である。そこでまず、高い活性を持つ MCT-3 について、その受容体と架橋するためのプローブペプチドをデザインし、それを用いて受容体および情報伝達機構の解析を行なった。その結果、MCT-3 の情報伝達に三量体 G タンパク質である G<sub>12</sub> タンパク質が関与していること、MCT-3 は G<sub>12</sub> タンパク質  $\alpha$  サブユニット (G $\alpha_{12}$ ) や heat shock protein 70 isoform 8 (HSC70) をはじめとした複数のタンパク質と

結合すること、その中で MCT-3 は  $G_{\alpha_{12}}$  に直接結合していること、さらに好中球様に分化した HL-60 細胞には 2 つの分子種の  $G_{\alpha_{12}}$  が存在していること、MCT-3 はそのうち低分子量型の  $G_{\alpha_{12}}$  と特異的に結合し、細胞の活性化を誘導していることが示された。加えて、その低分子量型の  $G_{\alpha_{12}}$  は、細胞膜外側に分布している可能性が高いことも示された。以上の結果より、MCT-3 の受容体は  $G_{\alpha_{12}}$  をはじめとした複数のタンパク質により構成されており、MCT-3 は細胞膜外側に存在する  $G_{\alpha_{12}}$  に直接結合・活性化することにより好中球細胞を活性化している可能性が考えられるようになった。加えて、MCT-1 は MCT-3 プロペプチドと  $G_{\alpha_{12}}$  との架橋反応を阻害することが示されたことから、MCT-1 も MCT-3 と同じ  $G_{\alpha_{12}}$  に結合することにより、細胞を活性化していることが示唆された。

### 3) MCT-1 の個体レベルにおける機能を解析：

マウスにおいてアセトアミノフェンを腹腔内に投与することにより、実験的劇症肝炎を誘発し、それにより惹起される肝臓への好中球の浸潤に対する MCT-1 中和抗体の効果を検討した。その結果、MCT-1 中和抗体の静脈投与により、肝臓への好中球の浸潤がほぼ完全に阻害されることが示され、有意な延命効果は認められなかった。このように実験的劇症肝炎の発症・拡大に MCT-1 が関与していることが示唆された。

### 4) MCT-2 の血清中での分子形態変化の検討：

まず、すでに我々の研究グループが同定している MCT-2 について、血清中での経時的な分子形態変化および炎症モデルにおける病態との関わりについて検討した。その結果、血清中のインキュベーションの時間経過とともに MCT-2 の存在量が減少し、4 時間後には消失すること、またそれに伴って MCT-2(1-11)および MCT-2(1-10)の存在が確認されるようになるものの、それらも 4 時間後には消失すること、さらに、1 時間後には MCT-2(1-4)の存在が認められるようになるが、その存在は 48 時間後においても確認されること、が示された。また血清中で確認された MCT-2 誘導体によるホルミルペプチド受容体選択性を検討した結果、MCT-2 および MCT-2(1-11)ならびに MCT-2(1-10)は FPR2 を活性化するものの、FPR1 は活性化しないこと、逆に MCT-2(1-4)は、FPR1 を活性化するものの、FPR2 は活性化しないこと、が示された。

### 5) MCT-2 およびその誘導体のホルミルペプチド受容体選択性の検討：

MCT-2 およびその誘導体について、好中球様に分化した HL-60 細胞（分化 HL-60 細胞）における受容体活性化の選択性を検討した。その結果、MCT-2 の 7 残基以上のアミノ末端誘導体は、分化 HL-60 細胞が発現する 2 種類のホルミルペプチド受容体である FPR1 ならびに FPR2 のうち、FPR2 を特異的に活性化するが FPR1 は活性化しないこと、それに対し アミノ末端 4 残基誘導体 MCT-2(1-4)は、FPR1 を特異的に活性化するが FPR2 を活性化しないこと、さらにアミノ末端 5 残基および 6 残基誘導体 MCT-2(1-5)および MCT-2(1-6)は、FPR1、FPR2 両者を活性化することが示された。上述したように、MCT-2 は血液中で経時的に代謝・分解されることにより、MCT-2(1-11)、MCT-2(1-10)ならびに MCT-2(1-4)が生じることが明らかとなっていることから、傷害組織から放出された MCT-2 は、まず FPR2 を活性化することにより自然免疫応答を惹起した後、分解されることにより MCT-2(1-4)となることで、今度は FPR1 を活性化することにより、異なる機能を示す可能性が示された。

### 6) リポポリサッカライド誘導多臓器不全モデルにおける MCT-2 の役割の検討：

微生物感染時にエンドトキシンショックを誘導し、多臓器不全などの重篤な病態を惹起する因子であることが知られているリポポリサッカライド (lipopolysaccharide, LPS) により誘導される病態において、MCT-2 およびその誘導体が果たしている役割について、MCT-2 に対する特異的中和抗体 NmM2A1 を用いて検討した。その結果、LPS を腹腔投与したマウスでは、12 時間後には肝臓をはじめとした様々な臓器への大量の好中球浸潤が認められるとともに、24 時間後から順次エンドポイントを迎え、60 時間後にはすべて死亡したのに対し、MCT-2 に対する特異的中和抗体 NmM2A1 を静脈に前投与したマウスでは、様々な臓器に浸潤した好中球数が顕著に減少するとともに、LPS 投与により惹起された病態が改善し、5 日後にはすべてのマウスがほぼ完全に回復した。さらに MCT-2 の誘導体である MCT-2(1-4)を NmM2A1 のかわりに前投与した場合にも、活性は弱いものの NmM2A1 と同様の効果を示すことが明らかとなり、MCT-2 およびその誘導体は、自然免疫応答の誘導ばかりでなく、回復・再生過程にも関与している可能性があることが示唆された。

### < 引用文献 >

Seki, T., Fukamizu, A., Kiso, Y., and Mukai, H.: Mitocryptide-2, a neutrophil-activating cryptide, is a specific endogenous agonist for fromyl-peptide receptor-like 1, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **404**, 482–487, (2011).

Marutani, T., Nishino, K., Miyaji, T., Kamada, K., Ohura, K., Kiso, Y., Mukai, H.: Mitocryptide-2: identification of its minimum structure for specific activation of FPR2—possible receptor switching from FPR2 to FPR1 by its physiological C-terminal cleavages, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 4084, (2021).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Takayuki Marutani, Kodai Nishino, Tomoyuki Miyaji, Keisuke Kamada, Koji Ohura, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 22
2. 論文標題 Mitocryptide-2: identification of its minimum structure for specific activation of FPR2 - possible receptor switching from FPR2 to FPR1 by its physiological C-terminal cleavages	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 4084
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22084084	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yoshinori Sugimoto, Hiroki Morikawa, Takayuki Marutani, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2021
2. 論文標題 Physiological roles of mitocryptide-3 and its derivatives in mitochondrial damage associated molecular patterns	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 49-50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Koji Ohura, Takayuki Marutani, Ryota Tanemura, Takumi Sasaki, Shinichiro Tamura, Kenta Nakashima, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2021
2. 論文標題 Signaling mechanisms for mitocryptides derived from mitochondrial transit sequences in neutrophilic cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 59-60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hiroki Hirai, Takayuki Marutani, Kodai Nishino, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2021
2. 論文標題 Interaction of mitocryptide-2 and its derivatives with formyl peptide receptor-2 for neutrophilic activation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 61-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomoyuki Miyaji, Takayuki Marutani, Kodai Nishino, Yoshito Takamuro, Takenori Yamada, Hiroki Morikawa, Tatsuya Hattori, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2021
2. 論文標題 Physiological significance of different receptor selectivities between FPR2 and FPR1 for mitocryptide-2 and its derivatives depending on their molecular forms	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 71-72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ryota Tanemura, Takayuki Marutani, Koji Ohura, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2021
2. 論文標題 Activation mechanisms of neutrophils stimulated by mitochondrial transit signal sequences including mitocryptide-3	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 73-74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 向井秀仁、木曾良明	4. 巻 39
2. 論文標題 一群の自然免疫イニシエーションファクター、ミトクリプタイド - 効率的中和抗体獲得法の開発と炎症性疾患治療を目指したアプローチ -	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 月刊BIOINDUSTRY	6. 最初と最後の頁 2-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 向井秀仁	4. 巻 37
2. 論文標題 ミトクリプタイド：一群の新しい自然免疫応答誘導因子の発見とそれらの生理的ならびに病態的機能	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 比較生理生化学	6. 最初と最後の頁 189-196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3330/hikakuseiriseika.37.189	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshinori Sugimoto, Hiroki Morikawa, Tatsuya Ojima, Takayuki Marutani, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2020
2. 論文標題 Mitocryptides: presence and molecular forms in mitochondrial damage associated molecular patterns	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 39-40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Keisuke Kamada, Takayuki Marutani, Kodai Nishino, Koji Ohura, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2020
2. 論文標題 Recognition mechanisms of mitocryptide-2 by formyl-peptide receptor 2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 75-76
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomoyuki Miyaji, Yoshito Takamuro, Takenori Yamada, Hiroki Morikawa, Kodai Nishino, Tatsuya Hattori, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2020
2. 論文標題 Mitocryptide-2: alteration of its molecular forms in serum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 97-98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koji Ohura, Takayuki Marutani, Shinichiro Tamura, Kenta Nakashima, Hiroki Morikawa, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2020
2. 論文標題 An interacting mechanism between mitocryptide-3 and its receptor molecule	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 99-100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ryota Tanemura, Takayuki Marutani, Kohei Sakuma, Koji Ohura, Shinichiro Tamura, Kenta Nakashima, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2020
2. 論文標題 Cellular functions of mitocryptide-3-binding proteins in neutrophilic cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 105-106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Simon Lind, Michael Gabl, Andre Holdfeldt, Jonas Martensson, Martina Sundqvist, Kodai Nishino, Claes Dahlgren, Hidehito Mukai and Huamei Forsman	4. 巻 202
2. 論文標題 Identification of residues critical for FPR2 activation by the cryptic peptide mitocryptide-2 originating from the mitochondrial DNA-encoded cytochrome b	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 2710-2719
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1900060	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshito Takamuro, Takenori Yamada, Hiroki Morikawa, Naoyuki Tamura, Tatsuya Hattori, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2019
2. 論文標題 Mitocryptide-2: investigation of its pathophysiological roles utilizing a specific neutralizing monoclonal antibody	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 95-96
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takayuki Marutani, Koji Ohura, Shinichiro Tamura, Kenta Nakashima, Hiroki Morikawa, Tatsuya Hattori, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai	4. 巻 2019
2. 論文標題 Mitocryptides: investigation of signaling mechanisms induced by novel neutrophil-activating peptides derived from mitochondrial transit signal sequences	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Peptide Science	6. 最初と最後の頁 147-148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



〔学会発表〕 計29件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 種村亮太、丸谷飛之、大浦紘嗣、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 Mitocryptide-3をはじめとしたミトコンドリア移行シグナル配列由来のmitocryptidesによる好中球活性化機序
3. 学会等名 第58回ペプチド討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮地智之、丸谷飛之、西野弘大、高室義人、山田武慶、森川広樹、服部竜弥、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 マイトクリプタイド-2およびその誘導体における分子形態の相違による受容体選択性変化の生理的意義
3. 学会等名 第58回ペプチド討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平井大貴、丸谷飛之、西野弘大、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 好中球様細胞活性化におけるmitocryptide-2およびその誘導体とformyl peptide receptor 2との相互作用の解析
3. 学会等名 第58回ペプチド討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本佳宣、森川広樹、丸谷飛之、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 ミトコンドリア傷害関連分子パターンに存在するmitocryptide-3およびその誘導体の生理的役割の解析
3. 学会等名 第58回ペプチド討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大浦紘嗣、丸谷飛之、種村亮太、鷗鷗匠、中島健太、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 好中球様細胞におけるミトコンドリア移行配列に由来するmitocryptidesの情報伝達機構の解析
3. 学会等名 第58回ペプチド討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 向井秀仁
2. 発表標題 マイトクリプタイド：新しい自然免疫調節因子と炎症性疾患
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会 シンポジウム2S09a 「生理活性ペプチドと中分子創薬～新たな創薬ブレイクスルーを目指して」(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 種村亮太、丸谷飛之、大浦紘嗣、佐久間康平、田村慎一郎、中島健太、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 Mitocryptide-3による好中球様細胞活性化におけるGi2タンパク質の役割
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大浦紘嗣、丸谷飛之、種村亮太、田村慎一郎、中島健太、森川広樹、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 マイトクリプタイド-3とGi2タンパク質との相互作用機構の解明
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮地智之、丸谷飛之、西野弘大、鎌田恵輔、大浦紘嗣、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 マイトクリプタイド-2およびその誘導体によるホルミルペプチド受容体選択多様性の生理的意義の検討
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉本佳宣、森川広樹、丸谷飛之、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 ミトコンドリアDAMPsにおけるマイトクリプタイド-3関連ペプチドの存在および分子形態の解析
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大浦紘嗣、丸谷飛之、田村慎一郎、中島健太、森川広樹、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 Mitocryptide-3に対する受容体におけるリガンド結合部位の解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鎌田恵輔、丸谷飛之、西野弘大、大浦紘嗣、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 好中球様細胞活性化におけるマイトクリプタイド-2およびその誘導体のホルミルペプチド受容体選択性の検討
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮地智之、高室義人、山田武慶、森川広樹、田村直之、服部竜弥、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 リポポリサッカライド誘導エンドトキシンショックモデルにおけるミトクリプタイド-2の病態的機能の検討
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 種村亮太、丸谷飛之、佐久間康平、大浦紘嗣、田村慎一朗、中島健太、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 好中球におけるミトクリプタイド-3結合タンパク質の役割
3. 学会等名 第57回ペプチド討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉本佳宣、森川広樹、小島達也、丸谷飛之、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 Mitochondrial damage-associated molecular patternsにおけるミトクリプタイドの存在および分子形態の解析
3. 学会等名 第57回ペプチド討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮地智之、高室義人、山田武慶、森川広樹、西野弘大、服部竜弥、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 ミトクリプタイド-2：リポポリサッカライド誘導性炎症における病態生理学的メカニズムの検討
3. 学会等名 第57回ペプチド討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大浦紘嗣、丸谷飛之、田村慎一郎、中島健太、森川広樹、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 ミトクリプタイトド-3とその受容体分子との相互作用機構の解明
3. 学会等名 第57回ペプチド討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鎌田恵輔、丸谷飛之、西野弘大、大浦紘嗣、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 Formyl peptide receptor 2によるmitocryptide-2の認識機構
3. 学会等名 第57回ペプチド討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshito Takamuro, Takayuki Marutani, Hiroki Morikawa, Tatsuya Ojima, Tatsuya Hattori, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai
2. 発表標題 Mitocryptides: physiological and pathophysiological roles in innate immune systems
3. 学会等名 18th Japanese-German Symposium on Peptide Science (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高室義人、山田武慶、服部竜弥、森川広樹、田村直之、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 新規好中球活性化ペプチド、mitocryptide-2の病態生理学的役割の解析
3. 学会等名 第51回若手ペプチド夏の勉強会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大浦紘嗣、丸谷飛之、田村慎一郎、中島健太、西野弘大、森川広樹、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 ミトコンドリア移行配列由来のmitocryptidesによる好中球活性化機序の解析
3. 学会等名 第51回若手ペプチド夏の勉強会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杉本佳宣、小島達也、森川広樹、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 Mitocryptide-3: mitochondrial damage associated molecular patternsにおける存在ならびに分子形態の解析
3. 学会等名 第51回若手ペプチド夏の勉強会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高室義人、山田武慶、服部竜弥、森川広樹、田村直之、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 ミトコンドリアチトクロームb由来の新規好中球活性化ペプチド、マイトクリプタイド-2の病態生理学的機能解析
3. 学会等名 第92回日本生化学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高室義人、山田武慶、森川広樹、田村直之、服部竜弥、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 マイトクリプタイド-2: 特異的中和モノクローナル抗体を用いた病態生理学的役割の検討
3. 学会等名 第56回ペプチド討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸谷飛之、大浦紘嗣、田村慎一郎、中島健太、森川弘樹、服部竜弥、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 マイトクリプタイトド：ミトコンドリア移行配列に由来する新規好中球活性化ペプチドによる情報伝達機構の検討
3. 学会等名 第56回ペプチド討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hidehito Mukai, Yoshito Takamuro, Takayuki Marutani, Hiroki Morikawa, Tatsuya Ojima, Tatsuya Hattori, and Yoshiaki Kiso
2. 発表標題 Mitocryptides and inflammatory diseases: mitocryptides as a novel family of activating factors in innate immune systems
3. 学会等名 9th International DAMPs and Alarmins Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshito Takamuro, Takenori Yamada, Hiroki Morikawa, Naoyuki Tamura, Tatsuya Hattori, Yoshiaki Kiso, and Hidehito Mukai
2. 発表標題 Pathophysiological functions of mitocryptide-2 in the inflammation induced by lipopolysaccharide
3. 学会等名 9th International DAMPs and Alarmins Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高室義人、山田武慶、森川広樹、田村直之、服部竜弥、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 リポポリサッカライド誘導エンドトキシンショックモデルにおけるマイトクリプタイトド-2の病態生理学的機能解析
3. 学会等名 第36回関西地区ペプチドセミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鎌田恵輔、西野弘大、大浦紘嗣、丸谷飛之、木曾良明、向井秀仁
2. 発表標題 ホルミルペプチド受容体FPR1およびFPR2に対する阻害剤を用いたミトクリプタイド-2ならびにその誘導体の受容体選択性の解析
3. 学会等名 第36回関西地区ペプチドセミナー
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 丸谷飛之、木曾良明、向井秀仁	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 265
3. 書名 ペプチド創薬の最前線	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>長浜バイオ大学ペプチド科学研究室  <a href="http://b-lab.nagahama-i-bio.ac.jp/~h_mukai/">http://b-lab.nagahama-i-bio.ac.jp/~h_mukai/</a>          長浜バイオ大学教員紹介  <a href="https://www.nagahama-i-bio.ac.jp/research/%e6%95%99%e5%93%a1%e3%81%ae%e7%b4%b9%e4%bb%8b%ef%bc%88%e5%90%91%e4%ba%95-%e7%a7%80%e4%bb%81%ef%bc%89/">https://www.nagahama-i-bio.ac.jp/research/%e6%95%99%e5%93%a1%e3%81%ae%e7%b4%b9%e4%bb%8b%ef%bc%88%e5%90%91%e4%ba%95-%e7%a7%80%e4%bb%81%ef%bc%89/</a>          長浜バイオ大学ペプチド科学研究室・研究紹介動画  <a href="https://www.youtube.com/watch?v=Z0cEJi3TPfE">https://www.youtube.com/watch?v=Z0cEJi3TPfE</a>          第50回若手ペプチド夏の勉強会  <a href="https://wpp.shizuoka.ac.jp/peptide-summer50/2018/07/24/">https://wpp.shizuoka.ac.jp/peptide-summer50/2018/07/24/</a>          長浜バイオ大学ペプチド科学研究室  <a href="http://b-lab.nagahama-i-bio.ac.jp/~h_mukai/">http://b-lab.nagahama-i-bio.ac.jp/~h_mukai/</a>          長浜バイオ大学教員紹介  <a href="http://www.nagahama-i-bio.ac.jp/research/">http://www.nagahama-i-bio.ac.jp/research/</a>          長浜バイオ大学ペプチド科学研究室・研究紹介動画  <a href="https://www.youtube.com/watch?v=Z0cEJi3TPfE">https://www.youtube.com/watch?v=Z0cEJi3TPfE</a>          第50回若手ペプチド夏の勉強会  <a href="https://wpp.shizuoka.ac.jp/peptide-summer50/2018/07/24/">https://wpp.shizuoka.ac.jp/peptide-summer50/2018/07/24/</a>          月刊BIOINDUSTRY  <a href="https://www.cmcbooks.co.jp/products/detail.php?product_id=8554">https://www.cmcbooks.co.jp/products/detail.php?product_id=8554</a></p>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	丸谷 飛之  (Marutani Takayuki)	長浜バイオ大学・大学院・ペプチド科学研究室・日本学術振興会特別研究員      (34204)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件



## 8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
スウェーデン	University of Gothenburg			
米国	Harvard University			