

令和 4 年 6 月 4 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08249

研究課題名（和文）IL-18ペプチド阻害分子の薬効増強・安定化へむけた立体構造・機能解析

研究課題名（英文）Structural analysis of IL-18 inhibitor to enhance the activity

研究代表者

加藤 善一郎（KATO, ZENICHIRO）

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90303502

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：オリジナル分子から派生した分子における結合可能性について検討を進め、各種原子間相互作用を保持しつつ置換を検討し、候補分子群を探索できるシステムを確立した。その後、水溶液中での安定構造について解析を進め、安定構造から分子を設計するとともに、結合状態への変化を解析する系を確立することを目指し、特に水溶液中での安定構造について解析を行うことができた。この安定構造をもとに各種変異体設計を行うことが可能となったこと、それを用いたin vivoでの効果発現研究を進めることができる基盤を確立したことが本研究の主な成果の一つであると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この安定構造をもとに各種変異体設計を行うことが可能となった。それを用いたin vivoでの効果発現研究を進めることができる基盤を確立したことで、in silicoタンパク複合体構造解析設計システム等を有機的に複合することにより、新規に発見されたペプチド分子の薬効増強など応用開発が可能と考えられ、今後の難治性疾患の治療に寄与できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We studied the derivative peptide molecules designed by using the original peptide, which can inhibit IL-18 function. The design of the derivatives was done by using information about the intermolecular interactions between the peptides and IL-18 ligand molecule. Finally, we could establish the system that can search possible stable structures in the water.

研究分野：構造医学

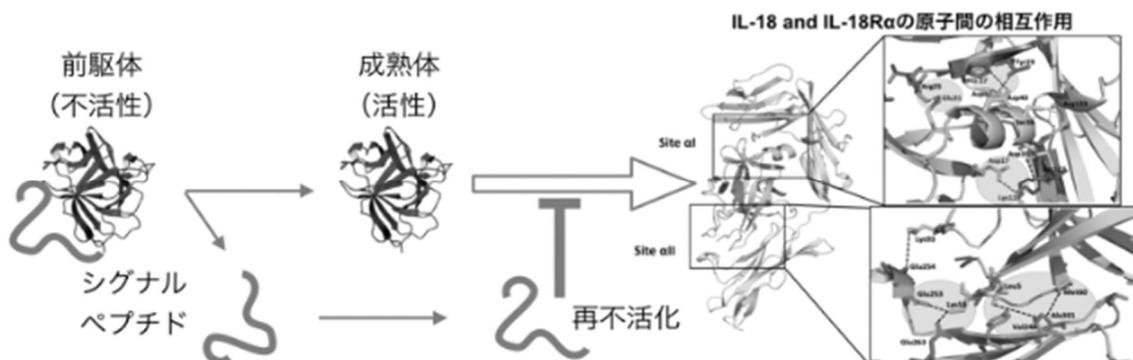
キーワード：IL-18

## 1. 研究開始当初の背景

<分子病態> 1996年のIGIF(IL-18)の発見当初から、これまでにIL-18が多くの疾患に関連していることが判明してきており、最近では自己炎症疾患の病状に深く関わっており、IL-18の阻害により病態の改善が行えることが判明してきたことなど、難治性疾患の治療に大きく寄与する可能性が明らかとなってきた。

<薬剤開発> 上記の状況を踏まえ、国外においても受容体タンパクなどを使用した阻害剤開発が進められていたが完成していない。新たな開発を進める必要があり、類似するサイトカイン群における阻害剤開発も進められているが、同様のシグナルペプチドを持つものは多く、今後、本研究の幅広い応用が期待されていた。

これまでの我々の一連の研究にて確立した生化学的・生物学的アッセイ法・開発した阻害剤を含む新規機能分子群、そして、我々が確立した、*in silico*タンパク複合体構造解析設計システム等を有機的に複合することにより、新規に発見されたペプチド分子の薬効増強など応用開発が可能と考えられた。



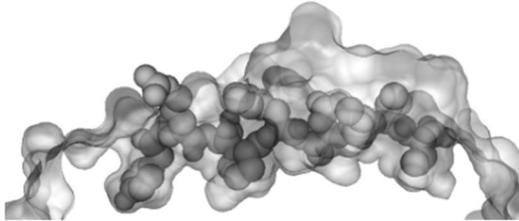
## 2. 研究の目的

すでに、IL-18 リガンドの mature form への変換の際に切り出されるシグナルペプチドの阻害効果を発見し、その立体構造的な特徴と結合様式の解明・GVHD モデルマウス生体内における薬効解析等について終了している。すでに特許申請・薬剤開発を進めており、今後の進展が期待されている。しかし、さらなる薬効増強・実用化へ向けた安定化構造を決定するために、これまでの研究により、原子解像度の立体構造情報をもとにした安定立体構造解析を終了した。この安定構造に基づき構造改変・立体構造スクリーニング(改変ペプチド、構造類似合成ポリマー、低分子薬剤等)による新規分子開発を進めることが本研究の概要となる。特に、ペプチド安定構造内の核となる必須コア化学構造と IL-18 タンパク分子との分子間相互作用解析を行うことを目的とした。

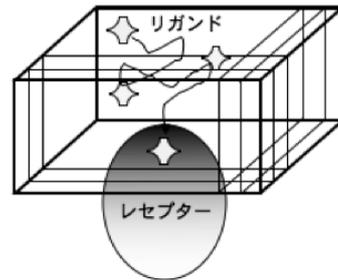
### 3. 研究の方法

本研究は、サイトカインの分子認識における原子間相互作用を制御する分子標的薬としての低分子～中分子化合物の開発へつなげることを目的としている。

#### タンパク分子キャニオン構造とペプチド複合体構造



*in silico*のグリッド設定とエネルギー計算



現在までに N 末端 8 残基は結合に必須でないことが実験にて検証されており、今後、さらなるコア配列の解明と結合様式の解析が重要となっている。さらに、IL-18 系にて確立したシステムを応用して、他のサイトカイン（特に同じ立体構造をもつ、 $\alpha$ -trefoil 型サイトカインである、IL-33, IL-37 等）における同様のメカニズムによる分子標的阻害剤の発見・開発へつなげるために、1) IL-18 阻害ペプチド結合解析に必要な特異的手法の確立、2) 阻害ペプチドの核となる化学構造の決定を行った。

### 4. 研究成果

構造解析において、ペプチドとしての設計については、従来の構造解析手法を適用して設計を進めた。一方、人工合成分子による置換及び生体内に存在しない原子・低分子での置換設計については、分子力動計算を応用して誘導体の設計を行う方法を進めた。これらの手法については、すでに完備している設備・ソフトウェア及び、すでに確立した手法を利用可能であり、効率的な解析が可能であった。

オリジナル分子から派生した分子における結合可能性について検討を進めることができたが、改変・分子置換設計について、阻害剤・リガンド複合体間の立体構造結合様式の詳細について分子表面における立体障害の計算、及び、分子表面における電荷及び水素結合の可能性をもつ原子を同定したのち、各種原子間相互作用を保持しつつ置換を検討し、候補分子群を探索できるシステムを確立した。

その後、水溶液中での安定構造について解析を進め、安定構造から分子を設計するとともに、結合状態への変化を解析する系を確立することを目指し、特に水溶液中での安定構造について解析を行うことができた。この安定構造をもとに各種変異体設計を行うことが可能となったこと、それをを用いた *in vivo* での効果発現研究を進めることができる基盤を確立したことが本研究の主な成果の一つであると考えられた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Qin Tao, Jia Yanjun, Liu Yuhang, Dai Rongxin, Zhou Lina, Okada Satoshi, Tsumura Miyuki, Ohnishi Hidenori, Kato Zenichiro, Kanegane Hirokazu, Sun Xiulian, Zhao Xiaodong	4. 巻 11
2. 論文標題 A Novel Homozygous Mutation Destabilizes IKK and Leads to Human Combined Immunodeficiency	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 517544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.517544	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 Tanita K, Sakura F, Nambu R, Tsumura M, Imanaka Y, Ohnishi H, Kato Z, Pan J, Hoshino A, Suzuki K, Yasutomi M, Umetsu S, Okada C, Takagi M, Imai K, Ohara O, Muise AM, Okada S, Morio T, Kanegane H.	4. 巻 41
2. 論文標題 Clinical and Immunological Heterogeneity in Japanese Patients with Gain-of-Function Variants in STAT3.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 780-790
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10875-021-00975-y	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 Nishimura S, Kobayashi Y, Ohnishi H, Moriya K, Tsumura M, Sakata S, Mizoguchi Y, Takada H, Kato Z, Sancho-Shimizu V, Picard C, Irani SR, Ohara O, Casanova JL, Puel A, Ishikawa N, Okada S, Kobayashi M.	4. 巻 41
2. 論文標題 IRAK4 Deficiency Presenting with Anti-NMDAR Encephalitis and HHV6 Reactivation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 125-135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10875-020-00885-5	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 Tsutsumi N., Yokota A., Kimura T., Kato Z., Fukao T., Shirakawa M., Ohnishi H., Tochio H.	4. 巻 9
2. 論文標題 An innate interaction between IL-18 and the propeptide that inactivates its precursor form.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 6160
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-42661-5	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 Kawamoto N., Kaneko H., Kawamoto M., Ohnishi H., Matsui E., Teramoto T., Kato Z., Fukao T., Ueno H. M., Nakano T., Kondo N	4. 巻 75
2. 論文標題 Oral immunotherapy with antigenicity-modified casein induces desensitization in cow's milk allergy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Allergy	6. 最初と最後の頁 197-200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/all.13965	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 Ibusuki A., Nishikawa T., Hiraki T., Okano T., Imai K., Kanegane H., Ohnishi H., Kato Z., Fujii K., Tanimoto A., Kawano Y., Kanekura T.	4. 巻 46
2. 論文標題 Prominent dermal Langerhans cells in an Omenn syndrome patient with a novel mutation in the IL2RG gene	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Dermatol.	6. 最初と最後の頁 1019-1023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15054	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 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
---------------------------	-----------------------	----

#### 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
---------	---------