

令和 3 年 9 月 1 日現在

機関番号：16301  
研究種目：奨励研究  
研究期間：2020～2020  
課題番号：20H01085  
研究課題名 NLRP3インフラマソームの新規制御機構の解明

## 研究代表者

金子 直恵 (KANEKO, Naoe)

愛媛大学・医学部・技術専門職員

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000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、様々な疾患へ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。本年度は、得られた候補について細胞内でも同様の結果が得られるかどうか、検討を行った。

## 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。また、NLRP3インフラマソームは、メタボリックシンドロームなど様々な疾患への関与も報告されている。本成果は、NLRP3との未知の相互作用分子の存在を示唆するものであり、これらの疾患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。

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 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 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合成技術により合成し、Alpha(Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay)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。これによって、最適なインフラマソームを活性化する分子や、阻害分子を探索することが可能となった。これまでに、遺伝性炎症疾患に対する分子標的薬の開発を目指し、まずは NLRP3 インフラマソーム再構成系を用いて、低分子化合物のスクリーニングを実施してきた。その過程で、NLRP3 インフラマソーム活性化に関与する他の分子の存在を示唆するデータが得られたことから、ヒトの約 2 万種類のタンパク質をアレイ化した 20K-Human Protein Array(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。その結果、4 つの候補タンパク質を見出すことができた。そこで本年度は、候補タンパク質が NLRP3 をどのように制御しているのか細胞レベルで明らかにすることを旨とした。

## 2. 研究成果

20K-HUPA を用いて同定した候補タンパク質は、HEK293T 細胞内に再構成した NLRP3 インフラマソーム活性化に影響を与えることを確認済みであるが、これまでの評価系は人工的な系であった。そこで本年度は、より生理的に近い条件で検討を行うために、NLRP3 を発現している THP-1 細胞を用いて評価を行い、これまでと同様の結果を得た。今後はマウスモデルを用いて、個体レベルでの評価を行う予定である。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kaneko Naoe, Kurata Mie, Yamamoto Toshihiro, Shigemura Tomonari, Agematsu Kazunaga, Yamazaki Takashi, Takeda Hiroyuki, Sawasaki Tatsuya, Koga Tomohiro, Kawakami Atsushi, Yachie Akihiro, Migita Kiyoshi, Yoshiura Koh-ichiro, Urano Takeshi, Masumoto Junya	4. 巻 10
2. 論文標題 KN3014, a piperidine-containing small compound, inhibits auto-secretion of IL-1 from PBMCs in a patient with Muckle-Wells syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13562-13562
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-70513-0	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 増本純也、金子直恵、倉田美恵、山本敏弘、重村倫成、上松一永、山崎崇志、谷内江昭宏、浦野健、右田清志、吉浦 孝一郎、古賀智裕、川上純
2. 発表標題 無細胞インフラマソーム再構成系による自己炎症疾患に対する分子標的薬の開発
3. 学会等名 第4回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増本純也、金子直恵、倉田美恵、山本敏弘、森川紳之祐、竹田浩之、澤崎達也、重村倫成、上松一永
2. 発表標題 インフラマソーム病に対する特異的低分子阻害薬の探索と分子病理診断への応用
3. 学会等名 第109回日本病理学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

コムキ胚芽無細胞再構成系で稀少難病の治療薬候補を開発  
[https://www.ehime-u.ac.jp/data\\_release/data\\_release-129613/](https://www.ehime-u.ac.jp/data_release/data_release-129613/)

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
増本 純也	(MASUMOTO Junya)