

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461588

研究課題名(和文)新規IL18阻害剤臨床応用研究及び  $\beta$ -trefoil型サイトカイン分子標的薬探索

研究課題名(英文) Study of new IL-18 inhibitors and molecular targeting molecules for beta-trefoil cytokines

研究代表者

加藤 善一郎 (Kato, Zenichiro)

岐阜大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90303502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)： $\beta$ -trefoil型サイトカインにおけるレセプタータンパク発現精製系の確立と構造情報の収集を行い、リガンドレセプター複合体の構造解析に成功した。NMRを用いたchemical shift perturbation法や表面プラズモン現象を応用した結合実験を行い、結合様式の詳細を解明した。実験的に決定したタンパク原子座標をもとに、新たな阻害剤候補が得られた。得られた分子は、新規の結合様式及び阻害様式をもち、今後、薬剤開発、特に、IL1, IL18, IL33等を含む  $\beta$ -trefoil型サイトカインの薬剤開発に寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The binding mode of IL-18 was determined at atomic resolution to investigate the complex structure of IL-18 ligand, IL-18 receptor alpha, and IL-18 receptor beta. The candidate drugs were obtained through the structural information. The candidates have different mode of inhibition from those we obtained before this study. The new molecular mechanism of the future drugs will open up a new avenue for drug development, especially for the beta-trefoil cytokines including IL-1, IL-18 and IL33.

研究分野：小児科学

キーワード：IL-18

## 1. 研究開始当初の背景

- ・現在まで、アレルギー疾患などに対する新規機能分子開発は、ランダムスクリーニングに頼る部分が大きく論理的な設計に基づく開発は非常に困難であった。しかし、他の病態における新規機能分子開発においてもタンパク質立体構造ベース設計の多大な貢献が見られる。
- ・一方、最近の「NMRによる構造決定法」及び「分子シミュレーション」に対するノーベル賞授与にもみられるように、構造学領域における研究・努力により構造決定のルーチン化及び自動化、理論的技術的革新が目覚ましい。
- ・タンパク質立体構造解析に基づいた創薬探索から実際の小児免疫アレルギー疾患の臨床応用実施に至るシステムを確立してきている。
- ・これまでの我々の一連の研究、特に、生物学的アッセイ法、及び、開発した阻害剤を含む新規機能分子群 (Nature SB 2003等)、そして、最近、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 (PNAS 2008等) を、有機的に複合することにより、アレルギー及び自己免疫疾患の新規薬剤開発が可能と考えた。

## 2. 研究の目的

IL-18 関連分子群のアゴニスト・アンタゴニストとしての機能解析をふまえ、薬剤としてのポテンシャルの違いを、生物機能、タンパク質安定性、タンパク質構造学的に検討する。特に、アレルギー、自己免疫疾患での炎症性変化の進展を抑制するための新たな手段としてのサイトカイン制御の認識機構を制御する分子標的薬の発見・開発・解析を行う。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、*-trefoil* 型サイトカインである、IL-1, IL-33, IL-37 等) における分子標的阻害剤を発見・開発する。

## 3. 研究の方法

ヒト由来細胞株を用いたサイトカイン抑制・阻害効果の確認を行い、さらにより詳細な作用メカニズム解析と用量設定を行う。また、より一般的薬剤としての開発を、他の疾患モデル (喘息モデル、アトピーモデル、関節リウマチモデル等) にて検証する。これまでに、確立した阻害タンパク IL-18BP 及び、ヒト型 IL18 阻害抗体との阻害効果等の比較を行う。

## 4. 研究成果

最終的に、阻害活性をもつ分子を特定し、IL-18 との相互作用解析にて、新規の結合様式を持つ阻害分子を特定することができた。それを踏まえて、特許申請、臨床応用への解析を進めることができるようになった。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

1. Established stem cell model of spinal muscular atrophy is applicable in the evaluation of the efficacy of thyrotropin-releasing hormone analog. Ouchi K, Funato M, Kato Z, Seki J, Kawase C, Ono O, Nagahara Y, Noda Y, Kameyama T, Ando S, Tsuruma K, Shimazawa M, Hara H, Kaneko H. STEM CELLS Transl Med, 2016;5:152-63. (査読有り)
2. 加藤善一郎 患者によりそうサイエンス 先端科学と臨床現場をつなぐもの

- 構造医学からのアプローチ 日本小児アレルギー学会誌 2015;29:23-33(査読なし)
3. Tsutsumi N, Kimura T, Arita K, Ariyoshi M, Ohnishi H, Yamamoto T, Zuo X, Maenaka K, Park EY, Kondo N, Shirakawa M, Tochio H, Kato Z. The structural basis for receptor recognition of human interleukin-18. Nature Commun 5:5340 2014. (査読有り)
  4. Yamamoto T, Tsutsumi N, Tochio H, Ohnishi H, Kubota K, Kato Z, Shirakawa M, Kondo N. Functional assessment of the mutational effects of human IRAK4 and MyD88 genes. Mol Immunol 58:166-76 2014. (査読有り)
  5. Kimura T, Tsutsumi N, Arita K, Ariyoshi M, Ohnishi H, Kondo N, Shirakawa M, Kato Z, Tochio H. Purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of human IL-18 and its extracellular complexes. Acta Crystallogr F Struct Biol Commun 70:Pt 10 1351-1356 2014. (査読有り)
  6. Kubota K, Ohnishi H, Teramoto T, Matsui E, Murase K, Kanoh H, Kato Z, Kaneko H, Seishima M, Kondo N. In vitro analysis of the functional effects of an NLRP3 G809S variant with the co-existence of MEFV haplotype variants in atypical autoinflammatory syndrome. J Clin Immunol 33:2 325-334 2013. (査読有り)
  7. 加藤善一郎 アレルギー性疾患の病態解析のための構造医学の応用 アレルギーの臨床 33,656-659 2013 (査読なし)

〔学会発表〕(計4件)

1. Zenichiro Kato, Naoki Matsumaru For pediatric drug development - we can do 3D motion capture analysis - 3<sup>rd</sup> Gifu Innovation Lecture (Invited Lecture, International Symposium) 2015.10.8, Gifu, Japan
2. Thyrotropine releasing hormone therapy on spinal muscular atrophy with a new 3D-motion-capture analysis as a better outcome-measure method、Zenichiro Kato, Naoki Matsumaru, Ryo Hattori, Norihito Shimizu, Yasutaka Shii, Hidenori Ohnishi, Norio Kawamoto, Toshiyuki Fukao, Tadayuki Kato, Takaaki Aoki, Kei Miyamoto, Haruhiko Akiyama, Michinori Funato  
The 13th Asian and Oceania Congress of Child Neurology Taipei, Taiwan 2015.5.15
3. Quantitative Evaluation of Motor Functions using Motion Capture System Naoki Matsumaru and Zenichiro Kato  
The 13th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology Taipei, Taiwan 2015.5.15
4. (小児医学財団受賞発表) 加藤善一郎 IL-18 複合体立体構造を基盤とした病態解明・新規分子標的薬剤探索 第118回日本小児科学会総会 2015.4.18 大阪国際会議場(大阪府大阪市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: インターロイキン - 18 活性阻害剤  
発明者: 朽尾豪人、堤尚孝、横田歩、大西秀典、木村豪、加藤善一郎

権利者：国立大学法人京都大学、国立大学法人 岐阜大学

種類：特許

番号：2015-242091

出願年月日：2015年12月11日

国内外の別：国内

取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 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

### (2) 研究分担者

該当なし

### (3) 連携研究者

該当なし