

平成 31 年 4 月 12 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08345

研究課題名(和文)黄色ブドウ球菌毒素SSLファミリーの病原性における役割の解明と創薬への応用

研究課題名(英文) The role of Staphylococcal superantigen like in the virulence of *S. aureus* and application for drug discovery

研究代表者

伊藤 佐生智 (Itoh, Saotomo)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・准教授

研究者番号：70308013

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：黄色ブドウ球菌毒素Staphylococcal superantigen like(SSL)は宿主の免疫関連因子を標的とし免疫回避に関与すると考えられているが、14種のSSLのうち一部しか機能が明らかにされていない。本研究ではSSL12が単独でマスト細胞の脱顆粒、サイトカイン産生を誘導し、in vivoにおいて血管透過性の亢進を引き起こすことを見出した。またプロトロンビンに結合し、血液凝固を抑制するSSL10のプロトロンビン結合部位、IgGに結合し、補体活性化を阻害するSSL10のIgG結合部位、MMP-9に結合しプロテアーゼ活性を阻害するSSL5の酵素活性阻害に関わる領域を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は黄色ブドウ球菌の毒素を介したアレルギー疾患の発症メカニズムの解明に寄与すると考えられる。今回同定したSSLの最小機能領域はSSLの機能阻害を作用点とした医薬品開発、SSLの標的分子阻害作用を応用した創薬に寄与すると考えられる。公衆衛生上の脅威である黄色ブドウ球菌の毒素を介した新たな疾患への寄与、毒素を標的とした創薬の可能性を提示することができた。

研究成果の概要(英文)：Staphylococcal superantigen like is a family of exoproteins, that consist of 14 SSLs and contributes to immune evasion of *S. aureus*. We attempted to identify their unknown host target molecules, and specify responsible region for the binding to the target molecules. In this study, we have identified the responsible regions for the binding of SSL10 to prothrombin, that of SSL10 binding to IgG, and that of SSL5 interfere for the proteolytic activity of MMP-9. We have revealed that SSL12 activates mast cells. SSL12 induces the degranulation of mast cells and cytokine production. SSL12 increased vascular permeability when it applied intradermally.

研究分野：免疫学・微生物学

キーワード：細菌毒素 黄色ブドウ球菌 アレルギー

様式 C - 19, F - 19 - 1, Z - 19, CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

黄色ブドウ球菌毒素 SSL ファミリーは宿主の免疫関連因子を標的とし免疫回避に関与すると考えられているが、14種のSSLのうち一部しか機能が明らかにされていなかった。SSLの生理機能を明らかにすることは黄色ブドウ球菌の定着・病原性の理解につながると考えられ、またこれを標的とした新たな感染症治療法の開発につながると考えられた。

2. 研究の目的

本研究では未同定のSSLの標的分子を同定し、SSLファミリーの役割を解明することを目指す。これまで明らかにしたSSLの宿主側標的分子はがん、炎症、血栓症などの病態形成にかかわる分子でもあった。そこで標的分子とSSLの結合メカニズムを明らかにし、創薬への応用を目指す。

3. 研究の方法

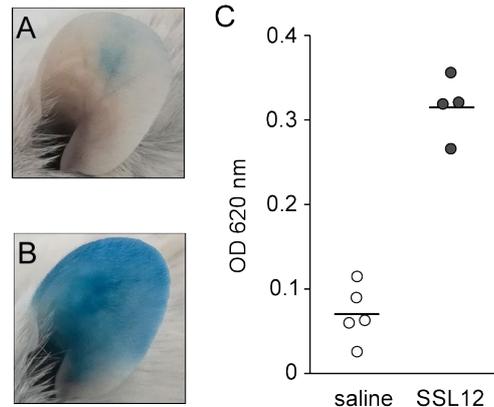
組換えSSLを調製し、SSLの免疫細胞の各種免疫応答への影響を解析し、特定の免疫反応に影響するSSLを見出す。その後、受容体の探索、活性化/阻害されるシグナル伝達経路や免疫応答を明らかにする。またSSLの各種変異体を作成し、標的分子との結合に必要なSSLの最小機能領域を決定する。

4. 研究成果

2016年度：血液凝固因子に結合し、抗凝固作用を示す、SSL10の血液凝固因子相互作用に関わる最小機能領域の特定を行い、分子内の二か所に存在する、30アミノ酸程度の配列が標的分子との結合に関与することを示した。

2017年度：がんの悪性挙動や白血球の体内交通に関わるマトリクスメタロプロテアーゼ-9(MMP-9)に結合し、酵素活性を阻害するSSL5の最小機能領域の同定した。SSL5はC末端にシアリルラクタサミン糖鎖結合に関わる領域をもち、これを介してMMP-9に結合するが、シアリダーゼ処理MMP-9とSSL5の結合糖鎖結合部位に変異を導入したSSL5とMMP-9との結合より、この糖鎖依存的結合はSSL5による酵素活性阻害にはかかわっていないことを示した。SSL5には2か所のMMP-9結合領域が存在し、そのうちN末端側半分が存在する約30アミノ酸がSSL5によるMMP-9のプロテアーゼ活性の阻害にもかかわっていることを示した。

2018年度：IgGに結合し、補体活性化を抑制するSSL10のIgG結合領域の特定を行った。その結果SSL10は2か所の領域でIgGと結合することを示した。この領域は2016年度に明らかにしたSSL10とプロトロンビンとの結合に関与する領域と同一であった。また2018年度はSSLファミリー及び他の黄色ブドウ球菌毒素より免疫細胞の活性化や免疫応答の増強を引き起こす毒素の探索を行い、本菌の代表的な溶血毒素であるヘモリジンが単独ではマスト細胞に対し毒性を示さず、マスト細胞の活性化を引き起こさないが、イオノフォアやFc受容体クロスリンクによる脱顆粒を増強することを見出した。またSSLの一つSSL12が単独でマスト細胞の脱顆粒、サイトカイン産生を誘導すること、SSL12をマウスに投与することで血管透過性の亢進を引き起こすことを見出した(図)。



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

1. Saotomo Itoh, Takemasa Takii, Kikuo Onozaki, Tsutomu Tsuji, Shigeaki Hida
Identification of the blood coagulation factor interacting sequences in staphylococcal superantigen-like protein 10
Biochemical and Biophysical Research Communications, **485**, 201-208 (2017).
2. 伊藤 佐生智
黄色ブドウ球菌の産生する免疫かく乱毒素ファミリー-staphylococcal superantigen-like proteins
生化学, **89**, 861-865 (2017)
3. Masafumi Takeno, Shinya Kitagawa, Junpei Yamanaka, Mayumi Teramoto, Haruka Tomita, Naohiro Shirai, Saotomo Itoh, Shigeaki Hida, Kazuichi Hayakawa, Kikuo Onozaki, Takemasa Takii, Takemasa Takii

様式 C - 19 , F - 19 - 1 , Z - 19 , CK - 19 (共通)

5-Hydroxy-2-methylpyridine isolated from cigarette smoke condensate aggravates collagen-induced arthritis in Mice
Biological and Pharmaceutical Bulletin **41**, 877-884. (2018)

4. Katsuhiro Kohno, Saotomo Itoh, Akari Hanai, Takemasa Takii, Toshinobu Fujiwara, Kikuo Onozaki, Tsutomu Tsuji, Shigeaki Hida
Identification of matrix metalloproteinase 9-interacting sequences in staphylococcal superantigen-like protein 5
Biochemical and Biophysical Research Communications. **497**, 713-718. (2018)
5. Chisato Kurisaka, Teruaki Oku, Saotomo Itoh, Tsutomu Tsuji
Role of sialic acid-containing glycans of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in the interaction between MMP-9 and staphylococcal superantigen-like protein 5
Microbiology and Immunology: **62**, 168-175. (2018)
6. Taichi Nishimura, Saotomo Itoh, Kikuo Onozaki, Tsutomu Tsuji, Shigeaki Hida
Identification of the Regions Responsible for Binding to Human Immunoglobulin G in Staphylococcal Superantigen-Like Protein 10
BPB reports **1**, 35-39. (2018)
7. Kazuhito Hayashi, Saotomo Itoh, Arisa Morikawa, Kikuo Onozaki, Shinsuke Taki, Tsutomu Tsuji T, Shigeaki Hida.
Staphylococcal α -hemolysin does not induce cell damage in murine mast cells but it augments the degranulation induced by Fc ϵ RI cross-linking and ionomycin.
Biochemical and Biophysical Research Communications. 508, 263-269. (2019)
8. Masato Kobayashi, Takuma Kitano, Saishi Nishiyama, Hideki Sanjo, Kikuo Onozaki, Shinsuke Taki, Saotomo Itoh, Shigeaki Hida.
Staphylococcal superantigen-like 12 activates murine bone marrow derived mast cells.
Biochemical and Biophysical Research Communications. 511, 350-355. (2019)

[学会発表] (計 25 件)

1. 小川翔大, 山本龍二, 伊藤佐生智, 堀田康弘, 大原直也, 小川賢二, 八木哲也, 前田伸司, 藤原永年, 山崎利雄, 西森 敬, 後藤義孝, 肥田重明, 小野寄菊夫, 瀧井猛将
Mycobacterium avium の酸性環境下で誘導されるアルギニンデイミナーゼの解析
第 89 回日本細菌学会 2016 年 3 月 23-25 日 (大阪)
2. 小川翔大, 高見篤郎, 富田陽香, 徳田美季, 伊藤佐生智, 林大介, 山本三郎, 肥田重明, 小野寄菊夫, 瀧井猛将
結核ワクチン BCG Tokyo172 サブタイプ間のレドックス関連遺伝子の発現誘導の解析
日本薬学会 第 136 年会 2016 年 3 月 26-28 日 (横浜)
3. 伊藤佐生智, 村瀬千鶴子, 瀧井猛将, 小野寄菊夫, 肥田重明
黄色ブドウ球菌スーパー抗原様タンパク質 SSL10 の血液凝固抑制の作用機序の解析及びその責任領域の同定
日本薬学会 第 136 年会 2016 年 3 月 26-28 日 (横浜)
4. 瀧井猛将, 小川翔大, 山本龍二, 伊藤佐生智, 堀田康弘, 大原直也, 小川賢二, 八木哲也, 前田伸司, 藤原永年, 山崎利雄, 西森敬, 後藤義孝, 肥田重明, 小野寄菊夫
Mycobacterium avium の酸性環境下で誘導されるアルギニンデイミナーゼの解析
第 89 回 日本細菌学会総会 2016 年 3 月 23-25 日 (大阪)
5. 小林正都, 伊藤佐生智, 肥田重明
黄色ブドウ球菌スーパー抗原様タンパク質 (SSL) のリンパ球活性化に対する影響
第 28 回微生物シンポジウム 2016 年 9 月 2, 3 日 (名古屋)
6. 栗坂知里, 奥輝明, 伊藤佐生智, 辻勉
好中球 MMP-9 を阻害する細菌由来 SSL5 タンパク質の結合性
第 17 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム 2016 年 9 月 3, 4 日 (東京)
7. 伊藤佐生智, 肥田重明

様式 C - 19 , F - 19 - 1 , Z - 19 , CK - 19 (共通)

黄色ブドウ球菌スーパー抗原様タンパク質 SSL10 の血液凝固因子との相互作用の解析
フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー 2016 年 9 月 10, 11 日 (東京)

8. Saotomo Itoh, Shigeaki Hida Staphylococcal superantigen-like 3 binds to and inhibits TLR2
第 7 回名古屋・南京・瀋陽 薬学学術シンポジウム 2016 年 9 月 24, 25 日 (名古屋)
9. 伊藤佐生智, 辻勉, 肥田重明
黄色ブドウ球菌スーパー抗原様タンパク質 SSL3 は toll like receptor 2 のアンタゴニストである
第 38 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 2016 年 11 月 17-18 日 (名古屋)
10. 伊藤 佐生智, 肥田 重明
黄色ブドウ球菌毒素 Staphylococcal superantigen-like 10 (SSL10) の血液凝固因子との相互作用に関わる
最小機能領域の同定
日本薬学会第 137 年会 2017 年 3 月 24 ~ 27 日 (仙台)
11. 河野克洋, 伊藤佐生智, 辻勉, 肥田重明
Staphylococcal superantigen-like protein 5 の MMP-9 プロテアーゼ活性阻害領域の同定
第 29 回微生物シンポジウム 2017 年 8 月 29, 30 日 (広島)
12. 北野 拓真, 柴田 将成, 蓮池 浩太, 瀧 伸介, 伊藤 佐生智, 肥田 重明
環境因子による好塩基球やマスト細胞の活性化制御機構
フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー 2017 年 9 月 1, 2 日 (仙台)
13. Arisa Morikawa, Saotomo Itoh, Hideki Sanjo, Shinsuke Taki, Shigeaki Hida
Innate immune cells sense Staphylococcus aureus-derived cysteine protease via their cell surface molecule(s)
to produce proinflammatory cytokine
第 46 回日本免疫学会学術集会 2017 年 12 月 12 ~ 14 日 (仙台)
14. 河野 克洋, 伊藤 佐生智, 辻 勉, 肥田 重明
Staphylococcal superantigen-like protein 5 の MMP-9 に対する結合 / 阻害に関わる最小機能領域の同定
日本薬学会第 138 年会 2018 年 3 月 25 ~ 28 日 (水) 金沢
15. Yasuhiro Horita, Saotomo Itoh, Naoya Ohara, Tetsuya Yagi, Kenji Ogawa, Shinji Maeda, Kei Nishimori,
Nagatoshi Fujiwara, Yasutaka Goto, Toshio Yamazaki, Shigeaki Hida, Kikuo Onozaki, Takemasa Takii
Contribution of arginine deiminase pathway to the acid tolerance response
in Mycobacterium avium substrains avium and hominissuis
ASM microbe 2018 2018 年 6 月 7 ~ 11 日 Atlanta
16. 北野拓真, 元木優也, 山条秀樹, 瀧伸介, 伊藤佐生智, 肥田重明
IL-3 が炎症時の好塩基球の IgE 反応性と体内局在を制御する
第 64 回 (平成 30 年度) 日本薬学会東海支部総会・大会 2018 年 6 月 30 日, (名古屋)
17. 林 知仁, 伊藤 佐生智, 森川 ありさ, 辻 勉, 肥田 重明
黄色ブドウ球菌 毒素のマウスマスト細胞脱顆粒増強作用
第 19 回 Pharmaco-Hematology Symposium 2018 年 8 月 10 ~ 11 日, (東京)
18. 林知仁, 伊藤佐生智, 森川ありさ, 辻勉, 肥田重明
黄色ブドウ球菌 毒素は Fc RI クロスリンク, イオノフォア, 毒素によるマウスマスト細胞からの脱顆粒を
促進する
第 30 回 微生物シンポジウム 2018 年 8 月 27 ~ 28 日, (東京)
19. 藤岡 直人, 林 和仁, 河野 克洋, 佐々木 駿吾, 伊藤 佐生智, 肥田 重明
微生物由来分子による免疫制御機構
フォーラム 2018 衛生薬学・環境トキシコロジー 2018 年 9 月 10~11 日, (長崎)
20. Takuma Kitano, Saotomo Itoh, Shinsuke Taki, Shigeaki Hida
IL-3 changes activation-dependent intracellular signaling pathways for IL-4 production in and tissue
localization of murine basophils
日本免疫学会学術集会 2018 年 12 月 10 ~ 12 日, (福岡)
21. 林知仁, 井上ひかる, 伊藤佐生智, 森川ありさ, 辻勉, 肥田重明

様式 C - 19 , F - 19 - 1 , Z - 19 , CK - 19 (共通)

黄色ブドウ球菌溶血毒素 ヘモリジンのマスト細胞脱顆粒増強作用

日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部 合同学術大会 2018 年 11 月 4 日 , (静岡)

22. Takuma Kitano, Yuya Motoki, Keitaro Kishida, Saotomo Itoh, Shigeaki Hida
IL-3 regulates intracellular signaling pathways for cytokine production in and tissue localization of murine basophils
Nagoya Immunology Network in NCU The first international symposium March 11th, 2019 (名古屋)
23. Kazuhito Hayashi, Arisa Morikawa, Shigeaki Hida, Saotomo Itoh
Staphylococcal α -hemolysin augments the degranulation of mouse bone-marrow derived mast cells
Nagoya Immunology Network in NCU The first international symposium March 11th, 2019 (名古屋)
24. 宮竹 佑治, 谷口 恵一, 伊藤 佐生智, 大原 直也, 前山 順一, 林 大介, 山本 三郎, 肥田 重明, 小野 菊夫, 瀧井 猛将
Mycobacterium bovis BCG Tokyo 172 type 間での酸化ストレス応答の差違の解析
日本薬学会第 139 年会 2019 年 3 月 20~23 日 (千葉)
25. Shouta Ogawa, Ryoji Yamamoto, Yasuhiro Horita, Saotomo Itoh, Naoya Ohara, Tetsuya Yagi, Kenji Ogawa, Shinji Maeda, Kei Nishimori, Nagatoshi Fujiwara, Yoshitaka Goto, Toshio Yamazaki, Shigeaki Hida, Kikuo Onozaki, Takemasa Takii
ANALYSIS OF THE ADAPTATION MECHANISM OF MYCOBACTERIUM AVIUM UNDER THE ACID ENVIRONMENT
U.S.-Japan Cooperative Medical Sciences Program (USJCMSP) 21st International Conference on Emerging Infectious Diseases in the Pacific Rim 2 月 26 - 3 月 1 日 Hanoi

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名 :

ローマ字氏名 :

所属研究機関名 :

部局名 :

職名 :

研究者番号 (8 桁) :

(2) 研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

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。