

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 22 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460171

研究課題名(和文)黄色ブドウ球菌毒素SSLの免疫かく乱作用に着目した感染予防・治療法の確立と創薬

研究課題名(英文) Application of Staphylococcal immune disturbing toxins, SSLs to development of newly drugs and treatments.

研究代表者

伊藤 佐生智 (Itoh, Saotomo)

名古屋市立大学・薬学研究科(研究院)・講師

研究者番号：70308013

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)：黄色ブドウ球菌の産生するSSLファミリーはSSL1～SSL14の14種からなる分泌毒素である。SSLはヒトや動物の免疫に関与する様々なタンパク質や細胞を標的として、この細菌の免疫回避に関与する。本研究ではSSLファミリーの標的分子阻害作用を創薬に応用することを目指し、SSLの標的分子阻害の作用機序を解析した。

研究成果の概要(英文)：Staphylococcal superantigen-like proteins(SSL) recognize and disturb various host immune molecules, and involved in immune evasion of the bacteria. In this study, we analyzed molecular mechanisms of binding SSLs to host target molecules.

研究分野：免疫学

キーワード：細菌毒素 免疫回避

1. 研究開始当初の背景

黄色ブドウ球菌は直接毒性を示す狭義の毒素のみならず、宿主の免疫機能をかく乱する免疫回避タンパク質を産生し、感染を成立させている。staphylococcal superantigen-like protein (SSL) はスーパー抗原と類似の立体構造を持ちながらスーパー抗原活性を示さない 14 種の SSL からなる分泌タンパク質ファミリーである。私たちは SSL10 が IgG に結合し補体活性化を抑制することおよびホスファチジルセリンに結合すること、SSL5 がマトリクスメタロプロテアーゼ 9 (MMP-9) に結合し、好中球の浸潤を抑制すること、SSL3 が Toll like receptor 2 (TLR2) に結合し、マクロファージの活性化を抑制することを見出していた。また海外のグループより SSL5 が接着分子 PSGL-1 と、SSL7 が IgA と C5 に結合することが報告されていた。SSL ファミリーは多彩な宿主免疫関連タンパク質・細胞を標的としその機能をかく乱する分泌毒素であることが明らかにされていた。

2. 研究の目的

これまでの私の研究成果を踏まえ、私は SSL ファミリーの機能を妨げることで、これまでとは全く異なる新しい黄色ブドウ球菌感染症の治療法の開発が可能であると考えた。また、SSL ファミリーの標的分子阻害作用を模倣した、創薬も可能であると考えた。そこで本研究は SSL と標的分子の相互作用の分子メカニズムを明らかにし、その知見をもとに新しい作用機序を持つ医薬品の開発を目指すことを目的としている。

3. 研究の方法

以下の方法で行った。

(1) 相互作用に關与する SSL と標的分子の最小領域を絞り込む。

(2) 標的分子側の最小結合領域をもとに SSL 阻害ペプチドを作成し、医薬品としての有用性を評価する。

(3) 絞り込んだ最小結合領域をもとに SSL 阻害ペプチドを作成し、黄色ブドウ球菌感染症治療薬としての有用性を評価する。

4. 研究成果

(1) SSL10 と血液凝固因子相互作用のメカニズムについて、血液凝固因子側の必要な構造を絞り込むことができた。SSL10 と血液凝固因子の結合にはカルボキシグルタミン酸修飾が不可欠であり、SSL10 は抗凝固薬ワルファリンとおなじ標的分子を異なったメカニズムで阻害すること、SSL10 は血液凝固に関わるプロテアーゼの活性そのものではなく、活性化のプロセスと抑制していることが明らかになった(論文 2)。また欠失変異体を利用した解析により SSL10 側の標的分子との相互作用に必要な構造を絞り込むことができた。

(2) 欠失変異体を利用した解析により SSL3

と TLR2 の相互作用に必要な、SSL3 の領域を絞り込むことができた。

(3) 欠失変異体を利用した解析により SSL5 との MMP-9 の相互作用に必要な MMP-9 側の構造、SSL5 側の構造を絞り込むことができた。これらの結果からこれまでの概念とは全く異なる抗凝固薬、抗炎症薬やがん治療薬の開発が可能であると考えられる。

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 5 件)

1) Keiichi Taniguchi, Yuuji Miyatake, Daisuke Hayashi, Atsuro Takami, Saotomo Itoh, Saburo Yamamoto, Shigeaki Hida, Kikuo Onozaki and Takemasa Takii

Early-shared Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Gurin sub-strains induce Th1 cytokine production in vivo. *Microbiology and Immunology* 59, 684-689, 2015

DOI:10.1111/1348-0421.12326

2) Saotomo Itoh, Kumi Kawano, Kana Takeshita, Yoshie Maitani, Tsutomu Tsuji.

Development of liposomal nanoconstructs targeting P-selectin (CD62P)-expressing cells by using a sulfated derivative of sialic acid.

Pharmaceutical Research 31, 2868-2875, 2014.

DOI: 10.1007/s11095-014-1383-6

3) Taniguchi K, Takii T, Yamamoto S, Maeyama J, Iho S, Maruyama M, Iizuka N, Ozeki Y, Matsumoto S, Hasegawa T, Miyatake Y, Itoh S, Onozaki K.

Reactivation of immune responses against Mycobacterium tuberculosis by boosting with the CpG oligomer in aged mice primarily vaccinated with Mycobacterium bovis BCG.

Immun Ageing. 10, p25 2013.

DOI : 10.1186/1742-4933-10-25.

4) Itoh S, Yokoyama R, Kamoshida G, Fujiwara T, Okada H, Takii T, Tsuji T, Fujii S, Hashizume H, Onozaki K.

Staphylococcal superantigen-like protein 10 (SSL10) inhibits blood coagulation by binding to prothrombin and factor Xa via their -carboxyglutamic acid (Gla) domain.

J Biol Chem. 288 21569-80, 2013

DOI: 10.1074/jbc.M113.451419

5) Adachi M, Okamoto S, Chujyo S, Arakawa

T, Yokoyama M, Yamada K, Hayashi A, Akita K, Takeno M, Itoh S, Takii T, Waguri-Nagaya Y, Otsuka T, Hayakawa K, Miyazawa K, Onozaki K.

Cigarette smoke condensate extracts induce IL-1-beta production from rheumatoid arthritis patient-derived synoviocytes, but not osteoarthritis patient-derived synoviocytes, through aryl hydrocarbon receptor-dependent NF-kappa-B activation and novel NF-kappa-B sites.

J Interferon Cytokine Res. 33 297-307, 2013.

DOI: 10.1089/jir.2012.0107

〔学会発表〕(計 16 件)

1) 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 03 月 26 日 ~ 2016 年 03 月 28 日, 横浜

2) 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 03 月 26 日 ~ 2016 年 03 月 28 日, 横浜

3) 富田陽香、小川翔大、山本龍二、花村菜月、宮田江里香、堀田康弘、伊藤佐生智、肥田重明、瀧井猛将

トリ型結核菌 *Mycobacterium avium* における酸耐性機構の解析

日本薬学会東海支部会合同学術集会

2015 年 11 月 01 日 ~ 2015 年 11 月 01 日, 名古屋

4) 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 の血液凝固抑制メカニズムの解析

第 27 回微生物シンポジウム

2015 年 09 月 04 日 ~ 2015 年 09 月 05 日, 岡山

5) 富田陽香、小川翔大、花村菜月、宮田江里香、伊藤佐生智、肥田重明、小野寄菊夫、瀧井猛将

酸性環境下での *Mycobacterium avium* のアミノ酸代謝とアンモニア産生との関係

第 27 回微生物シンポジウム

2015 年 09 月 04 日 ~ 2015 年 09 月 05 日, 岡山

6) 徳田美季、長谷川倫宏、寺本真由美、伊藤佐生智、肥田重明、小野寄菊夫、

瀧井猛将 抗結核作用を有するジチオカルバメート糖誘導体 (OCT313) の作用機序の解析

第 27 回微生物シンポジウム

2015 年 09 月 04 日 ~ 2015 年 09 月 05 日, 岡山

7) 栗坂知里、奥 輝明、伊藤佐生智、辻 勉 Staphylococcal superantigen-like protein 5 と Matrix metalloproteinase 9 の結合

第 16 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム

2015 年 06 月 13 日 ~ 2015 年 06 月 13 日, 東京

8) 伊藤佐生智

黄色ブドウ球菌毒素を認識する RNA アプタマーの創製

第 9 回長野ミーティング「生物資源の有効活用を目指して」

2015 年 01 月 25 日 ~ 2015 年 01 月 26 日, 長野

9) Saotomo Itoh, Ryosuke Yokoyama, Go Kamoshida, Toshinobu Fujiwara, Hiromi Okada, Takemasa Takii, Tsutomu Tsuji, Satoshi Fujii, Hideki Hashizume, and Kikuo Onozaki.

Staphylococcal superantigen-like protein 10 (SSL10) binds to vitamin K-dependent blood coagulation factors via their γ -carboxylglutamic acid (Gla) domain and inhibits blood coagulation.

EMBO EMBL Symposium: New Approaches and Concepts in Microbiology

2013 年 10 月 14 日 ~ 2013 年 10 月 16 日, Heidelberg, Germany

10) 横山領介, 伊藤佐生智, 鴨志田剛, 奥村拓也, 藤原俊伸, 瀧井猛将, 藤井聡, 辻勉, 小野寄菊夫

Staphylococcal superantigen like 3(SSL3) は toll like receptor 2 (TLR2) の細胞外ドメインに結合し, TLR2 リガンドによるマクロファージのサイトカイン産生を抑制する第 58 回日本ブドウ球菌研究会

2013 年 09 月 27 日 ~ 2013 年 09 月 28 日, 東京

11) 花井 朱璃, 伊藤 佐生智, 藤原 俊伸, 瀧井 猛将, 辻 勉, 小野寄 菊夫

Staphylococcal superantigen-like protein 5 (SSL5) とその宿主側標的分子 matrixmetalloproteinase (MMP)-9 の結合様式の解析

第 25 回微生物シンポジウム

2013 年 09 月 06 日 ~ 2013 年 09 月 07 日, 静岡

12) 横山領介, 伊藤 佐生智, 奥村拓也, 鴨志田 剛, 瀧井猛将, 藤井聡, 辻勉, 小野寄 菊夫, 藤原俊伸

Staphylococcal superantigen-like 3 は Toll-like receptor 2 に結合する

第 14 回 PharmacoHematology シンポジウム
2013 年 06 月 01 日 ~ 2013 年 06 月 01 日, 東京

13) 伊藤 佐生智
黄色ブドウ球菌毒素 SSL の標的分子の探索
第 15 回 Pharmaco-Hematology シンポジウム (招待講演)
2014 年 05 月 23 日 ~ 2014 年 05 月 24 日, 名古屋

14) 瀧井猛将、伊藤佐生智、大原直也、前山順一、林 大介、山本三郎
BCG Tokyo 172 Type I, Type II 間の酸化ストレス感受性とマクロファージ内生存能及びサイトカイン誘導能の比較研究
第 89 回日本結核病学会総会
2014 年 05 月 09 日 ~ 2014 年 05 月 10 日, 岐阜

15) 伊藤佐生智、小川賢二、八木哲也、瀧井猛将
マクロファージ感染 Mycobacterim avium に対するクラリスロマイシンとバフィロマイシンの相乗効果
第 89 回日本結核病学会総会
2014 年 05 月 09 日 ~ 2014 年 05 月 10 日, 岐阜

16) 伊藤 佐生智
Identification of host target proteins of staphylococcal superantigenlike exotoxins.
第 8 回「長野ミーティング：生物資源の有効利用を目指して」
2014 年 03 月 02 日 ~ 2014 年 03 月 04 日, 長野

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者
伊藤佐生智 (Itoh, Saotomo)
名古屋市立大学・薬学研究科 (研究院)・講師
研究者番号：70308013

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：