

2019年ポスター発表

P1.アカデミア発創薬の可能性最大化にむけて ～DISCユニットの活動紹介～

升村 誠(第一三共 RD ノバーレ株式会社)

DISC (産学協働スクリーニングコンソーシアム) は、アカデミア発創薬の実用化を目指した AMED 創薬戦略部創薬企画・評価課 (iD3) 創薬ブースターにおける創薬推進・橋渡しの仕組みの一つであり、創薬ブースターの支援を受けるアカデミア発創薬標的に対して、国内製薬会員企業 22 社から提供された、約 30 万化合物ライブラリーを用いた HTS を実施し、ヒット化合物の会員企業への導出までを、AMED iD3 が支援する取組みである。第一三共 RD ノバーレ株式会社は、化合物ライブラリーの保管・管理、HTS 実施とそのための HTS 技術に関する全面的なコンサルティングを一貫して支援する DISC ユニット代表機関である。本発表では、DISC ユニットの機能として、最新の設備による化合物ライブラリーの維持・管理、独自の超微量化技術、先進的なアカデミア発創薬標的に対応できる多様な最新鋭の HTS 検出技術等について紹介したい。

P2. AMED の創薬ブースター事業

藤江 昭彦(国立研究開発法人日本医療研究開発機構)

創薬総合支援事業 (創薬ブースター) では、創薬戦略部が策定した知財戦略、研究戦略に基づき、理化学研究所、医薬基盤・健康・栄養研究所、産業技術総合研究所等の創薬支援ネットワーク構成機関が保有する創薬技術や設備等を活用し、HTS*、構造最適化、非臨床試験等を切れ目なく支援します。また、創薬総合支援事業 (創薬ブースター) によって得られた成果については、確実に医薬品としての実用化につなげるため、創薬戦略部が製薬企業等への導出等に係る支援を行います。支援内容は以下の通りです。

- ・知財戦略及び研究戦略の策定
- ・プロジェクトマネジメント
- ・標的機能分子のプロファイリング及びバリデーションの実施
- ・HTS*用スクリーニング系の確立及びHTS*の実施
- ・構造最適化 (構造デザイン、有機化学合成等) の実施
- ・非臨床試験 (薬効薬理試験、安全性評価試験、代謝薬物動態試験、CMC*等) の実施
- ・各種バイオマーカーの探索及びプロファイリングの実施

・支援によって得られた成果の実用化に必要な企業導出及び医師主導治験への橋渡しに係る支援

以上の支援の実施に必要な経費は、民間研究開発受託機関等への委託試験経費も含め、原則として、創薬戦略部若しくは技術支援を実施する創薬支援ネットワーク構成機関が負担します。ただし、競争的資金の助成を受けて研究を実施している場合には、創薬戦略部及び創薬支援ネットワーク構成機関による、技術支援や経費負担ができない場合があります。

P3.アカデミア向け製薬企業化合物ライブラリーの紹介

布村 一人(大阪大学大学院薬学研究科 附属化合物ライブラリー・スクリーニングセンター)

大阪大学薬学研究科創薬サイエンス研究支援拠点は、AMEDの「創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム (BINDS)」と連携して、アカデミアの創薬研究支援を行っている。その一環として、複数の製薬企業から無償で提供されたオリジナル化合物(約6万7千種、企業からの提供時に構造は非開示)で構成されている「企業化合物ライブラリー」を、利用希望者に幅広く提供する産学連携プロジェクトを進めている。本プロジェクトは、アカデミア独自の化合物共同管理・共同利用システムであり、アカデミアは企業と接点がある本ライブラリーを用いたスクリーニングを行うことにより、企業との共同研究や導出に結び付きやすい化合物の取得が可能となる。提供企業は、初期段階のアカデミアシーズを自社化合物で評価してもらい、有望な化合物が得られた場合はその後の開発を進めることが可能となる。今回、本プロジェクトの仕組みについて説明したい。

P4.ヒトタンパク質に対する抗体検証をコムギ無細胞タンパク質アレイで行う： CF-PA2Vtech

森下 了(株式会社セルフリーサイエンス)

抗体の特異性は最も重要な特徴の一つであるが、検証することは非常に難しい。我々はコムギ無細胞システムで調製した19,712種類の組換えヒトタンパク質からなるタンパク質アレイを作製し、抗体検証のための新しい技術(CF-PA2Vtech)を開発した。N末端にFLAG-GSTを融合した全長ヒトタンパク質を約10から14種類混合し磁気ビーズで捕捉した後、384または1536ウェルマグネットプレートに固定した。このタンパク質アレイを使用して、市販の抗HAまたは抗PD-1抗体を検証すると、それぞれ13または3つのタンパク質に反応し、この交差反応性は免疫ブロット法によっても確認できた。これらタンパク質群には類似のエピトープ配列があり、配列をアラニンで変異すると交差反応は消失した。以上の結果は、CF-PA2Vtechがヒトタンパク質に対する抗体の検証に非常に有用であることを示している。

P5. 新規脂肪滴検出蛍光色素の開発と応用

北村 怜奈(株式会社同仁化学研究所)

脂肪滴は、トリアシルグリセロールやコレステロールエステルなどの中性脂肪が、単分層のリン脂質一重膜で取り囲まれた構造をしたオルガネラである。近年、脂肪滴の新たな生理的役割の解明や脂肪滴とオートファジー・細胞老化との関連性が示唆されており、脂肪滴の形成・成長・融合・分解といった詳細なメカニズムの解明が望まれている。生細胞や個体内の脂肪滴動態を観察するために、Nile RedおよびBODIPY 493/503といった蛍光色素によるイメージング法が用いられてきたが、いずれの色素も細胞内で脂肪滴以外のバッ

クグラウンド蛍光を発するといった課題があった。そこで、我々はこれらの課題を克服した新規脂肪滴検出蛍光色素を開発した。今回は、本色素を用いた脂肪滴動態の観察やフローサイトメトリーやプレートリーダーによる脂肪滴量の数値化について紹介する。また、併せて新規細胞膜染色蛍光色素についても紹介する。

P6. NanoBRET™テクノロジーを用いて細胞内でキナーゼ阻害剤の標的キナーゼへの結合を評価する

井上 剛臣(カルナバイオサイエンス株式会社)

キナーゼ阻害剤の標的キナーゼへの結合を生細胞内で評価することは、単離キナーゼを用いて生化学的に評価することに加えて極めて重要です。Promegaが開発した NanoBRET™ Target Engagement テクノロジーは、生細胞内にルシフェラーゼ融合キナーゼを発現させ、トレーサー分子が標的キナーゼに結合することにより生じる BRET を利用し、試験化合物の標的キナーゼへの親和性の評価に利用できます。さらに、平衡条件下での化合物の親和性評価のみならず、非平衡条件下で化合物の解離特性の評価も可能です。本発表では、NanoBRET™を利用した各種キナーゼに対する阻害剤の親和性および解離特性を示すのみならず、PIKFYVE キナーゼについて、単離酵素活性阻害 (ADP-Glo®)、細胞内酵素結合 (NanoBRET™) および細胞のフェノタイプ(細胞質の空胞化)への影響を比較し、阻害剤の効果を検証します。

P7.ヒト肝細胞キメラマウス (PXB マウス®) 由来新鮮ヒト肝細胞 PXB-cells®を用いた in vitro 薬物代謝酵素誘導試験系の検討

松見 達也(株式会社フェニックスバイオ)

我々はこれまでに、免疫不全肝障害 (cDNA-uPA/SCID) マウスを宿主として作製したヒト肝細胞キメラマウス (PXB マウス®) から、高い肝機能を長期間維持する新鮮ヒト肝細胞 (PXB-cells®) を分離する方法を確立し、本細胞を用いた in vitro CYP 誘導評価試験系の確立を目指して検討を行ってきた。これまでに、誘導剤暴露時の培地 (誘導培地) に含まれるジメチルスルホキシド (DMSO) の添加濃度により、肝細胞の CYP 基礎発現量および対象薬剤による CYP 誘導倍率が変化することを示した。今回は CYP3A4 誘導能を持つことが知られているデキサメタゾン (Dex) の本試験系における CYP 基礎発現量および対象薬剤による誘導倍率に対する影響を確認するため、各種濃度の Dex 存在下で対象薬剤 (リファンピシン, Rif) の誘導評価を実施した。その結果、培地中への添加濃度が 50~1000 nM の場合、PXB-cells における CYP3A4 の基礎発現およびリファンピシンによる発現誘導倍率に対する Dex の影響は小さいことが確認された。また、本評価系における肝細胞のドナー間のバリデーションを目的として、2種類の異なるドナー由来 PXB-cells を用いて、Rif および β ナフトフラボンの各標的 CYP に対する誘導能を評価したところ、いずれのドナー由来の PXB-cells においても、各誘導剤による CYP 誘導を確認できた。さらに、本評価系

においてフェノバルビタール(PB)による CYP2B6 の誘導についても評価した。その結果、PB により、CYP2B6 および CYP3A4 の発現誘導が確認された。以上の結果から、PXB-cells を用いることにより、CYP1A2, 2B6, 3A4 の発現に対する候補化合物の誘導能が評価可能であることが示唆された。

P8.脳組織のハイコンテンツ・イメージングシステム構築にむけた取り組み

松原 孝宜(株式会社パーキンエルマージャパン インフォマティクス事業部)

組織の透明化は、組織切片作製における透徹としてルーチンに用いられてきた技術で、深部観察が可能な顕微鏡の登場によって、この有用性が再発見された。近年、様々な透明化プロトコルが提案されており、研究の目的に合わせて最適な方法を選択することができるが、透明化組織標本をすみずみまで解析しようとする、撮影回数、画像データ量、画像取得にかかる時間は膨大となり、解析に困難をきたすことが少なくない。ここでは、我々が開発した透明化プロトコル RAP により透明化した標本に対して、共焦点レーザー顕微鏡レベルの解像度でウエルプレート全域にわたる高速 3 次元自動撮影が可能である Cell Voyager 7000 (CV7000, YOKOGAWA)を改良し、広範囲深部撮影、画像処理ならびにハイスループット定量解析を行った例を紹介する。また、本システムを用いたヒト脳の網羅的組織解析の可能性についても議論したい。

P9. 3D細胞解析プラットフォームを用いた薬剤評価系の開発

杉山 崇(オリンパス株式会社)

腫瘍組織の微小環境は、腫瘍の成長、転移および薬剤耐性獲得のプロセスにおいて重要な役割を果たしており、その微小環境を *in vitro* で再現する 3D 腫瘍組織モデルは、薬剤の効果をもより生体に近い状態で評価できるモデルとして注目されている。また、3D 腫瘍組織モデルの微細構造を画像化するためのツールである顕微鏡イメージング技術が開発されてきており、腫瘍組織内部における細胞の挙動を詳細に捉えることが可能となってきた。本研究では上記の技術に加えて、オリンパスが開発した 3D 細胞解析技術を搭載するソフトウェア「Novisight」を用い、共焦点レーザー走査顕微鏡により得られた複数枚の高解像度断層画像に基づいて細胞の挙動を解析し、腫瘍組織モデルにおける薬効を様々な角度から定量評価できることを明らかにした。この解析プラットフォームは、創薬ステップにおける薬剤の薬理学的作用の評価系として有用であると期待される。

P10. CellProfiler & KNIME & Spotfire を活用した High Content Analysis

下田 嵩央(旭化成ファーマ株式会社 医薬研究センター)

High Content Analysis (HCA) は顕微鏡と画像解析を組み合わせた技術であり、測定から得られた膨大な画像データを基に、細胞内の様々な生理変化を定量的に評価することが可能となっている。HCA は創薬において非常に有用なツールだが、HCA の解析は大量のデ

ータを扱うため、測定したデータの解析・可視化の手法が問題となっている。本ポスターでは、画像データから特徴量抽出を行うことができる「CellProfiler」を活用した画像解析と、ワークフロー型データ分析プラットフォームである「KNIME」を活用した解析ワークフローを紹介する。どちらもオープンソースソフトウェアであり、直感的に理解しやすいGUIの操作で、様々な解析・処理を行うことができる。CellProfilerやKNIMEによる画像解析の実例と、Spotfireを活用したデータの可視化を紹介し、創薬研究におけるHCA解析について本研究会で皆さんと議論していきたい。

P11. 「細胞の見える化」技術による細胞毒性のタイムラプス解析

水上 民夫(長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部)

創薬スクリーニングに用いる細胞ベースのアッセイ系では、細胞の性状を示すマーカーから生成する蛍光量を薬剤活性の指標とする場合が多い。通常この蛍光は、蛍光顕微鏡などで測定されるが、煩雑な蛍光標識や励起光照射により細胞は侵襲を受け、継続的なライブ観察ができないという問題がある。この問題を解決するために、我々はディープラーニングを利用し、「細胞の見える化」技術を開発した。本技術により、通常顕微鏡の透過光観察画像から95%以上の正解性で細胞の性状を表す疑似的な蛍光画像を生成でき、細胞数の定量的計測が可能となる。さらに、通常顕微鏡の透過光観察画像をリアルタイムに蛍光画像に変換する「細胞の見える化顕微鏡」の開発に成功している。本報告では、「細胞の見える化」技術の応用例として、薬剤に暴露した肝由来細胞を継続的に位相差撮像し、それより生成される蛍光画像のタイムラプス解析により毒性評価を行った結果を報告する。

P12. 「細胞の見える化」技術による3次元培養がん細胞スフェロイドの生細胞量評価法の開発

宮木 明朗(長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部)

「細胞の見える化」技術はこれまで、2次元培養した細胞を対象にして開発が行われてきたが、本報告では3次元培養したがん細胞スフェロイドに対しての適用の可能性を検討した。EGFP発現MCF7細胞スフェロイドの透過光観察画像とEGFP蛍光画像の関係性を学習したモデルを構築した。本モデルへのテストの透過光観察画像の入力で生成した疑似蛍光画像のスフェロイドのEGFP強度は、正解のEGFP強度に加え、ATPアッセイ値とも高い相関を示した。本知見は、「細胞の見える化」技術が3次元培養したスフェロイドを対象にできるというだけでなく、スフェロイドの生細胞量の定量にも応用可能であることを示している。今回開発した評価法は、スフェロイドの増殖・生存を継続的に観察可能であり、また生細胞量を透過光観察画像のみから煩雑な作用なしに定量できるという長所を持つ。今後の創薬スクリーニング、薬理・毒性評価への利用が期待される。

P13. 「細胞の見える化」技術による幹細胞の未分化・分化識別法の開発

小野 公輔(長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部)

「細胞の見える化」技術とは、細胞の生死等の細胞の性状を透過光観察画像から蛍光標識作業なしに見える化し、細胞の計数も可能にする新規技術である。本研究では、「細胞の見える化」技術を応用し、幹細胞の未分化・分化状態を識別可能な技術の開発を行った。未分化・分化状態の見える化を可能にする学習モデルの構築のために、未分化マーカーである Nanog 遺伝子の転写制御下 EGFP を発現するマウス ES 細胞を利用した。本細胞は未分化状態では緑色蛍光を発色するが、分化誘導状態では無色化する。未分化及び分化誘導状態の本細胞に対して、明視野及び蛍光画像のセットを取得し、両者の関係性を学習させたモデルを構築した。本モデルへのテストの未分化及び分化誘導状態の明視野細胞画像の入力により、各々緑色蛍光細胞画像と緑色蛍光の消えた細胞画像が生成され、本モデルが未分化・分化状態の細胞を識別できることが分かった。

P14. 「細胞の見える化」技術による胚様体の未分化率定量法の開発

細井 美穂(長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部)

「細胞の見える化」技術はこれまで 2 次元培養した細胞を対象にして開発が行われてきたが、本報告では 3 次元培養した胚様体 (Embryoid Body: EB) に対しての適用の可能性を検討した。学習モデル構築のために、未分化マーカー Nanog-EGFP 発現マウス ES 細胞を低接着 96 ウェル U 底プレートに播種し、3~6 日間、3 次元培養して EB を形成させた。なお本 EB は未分化状態では緑色蛍光を発色するが、分化誘導状態では無色化する。これらの培養期間の異なる EB の透過光観察画像と EGFP 蛍光画像の関係性を学習したモデルを構築した。本モデルへのテストの EB の透過光観察画像の入力で、正解画像と良く類似した EGFP 蛍光細胞画像が生成された。また培養の進行に伴い EB のサイズは大きくなったが蛍光量は減少した。今回開発した評価法は、EB の未分化・分化状態の継続的な観察と EB の未分化率の計測に利用可能と期待される。

P15. 「細胞の見える化」技術によるミトコンドリアの定量化技術の開発

後藤 祥太(長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部)

「細胞の見える化」技術とは、細胞の生死、幹細胞の未分化・分化識別等の細胞の性状を通常顕微鏡の透過光観察画像から見える化し、細胞計数も可能にする新規技術である。これまでに本技術により 95%以上の正解性をもって細胞の生死を識別できること、さらに薬剤毒性試験への応用として、抗がん剤投与した肝がん細胞株に対して本技術で計数した生存細胞数と ATP 値による細胞生存率が高い相関を示すことが明らかにされている。本研究では、創薬アッセイ系への応用を目的として、「細胞の見える化」技術によるミトコンドリアの存在量の定量化技術の開発を試みた。ミトコンドリア染色物質の MitoTrackerGreenFM を用いて撮像した蛍光画像と透過光観察画像の関係性を学習させた

モデルを構築し、テストの透過光観察画像の入力により、ミトコンドリアの蛍光強度と細胞内存在パターンが概ね反映されている画像が生成されることがわかった。

P16.ヒト iPS 細胞由来神経細胞とラット初代培養神経細胞からの Ca²⁺オシレーションの検出とスクリーニングへの試み③-3D 状態と 2D 状態からの反応の違い-

久田 素(浜松ホトニクス株式会社)

P17.ヒト iPSC 由来心筋細胞 iCell® Cardiomyocytes を用いた BNP 発現を指標としたアノテーションライブラリーのスクリーニング

中垣内 弓子(アクセリードドラッグディスカバリーパートナーズ株式会社)

全身の血液循環を担うポンプとしての心臓は、高血圧等の負荷を受けると、その機能を維持するために代償的に肥大することが知られている。一方で、負荷が持続した場合には、病的肥大を誘発し、心機能低下による心不全を招くとされる。心肥大、心不全発症のシグナル伝達経路については、これまでに古典的 MAP kinase や、JAK-STAT 系、PKC の寄与が示されてきた。そこで、本研究は、これらシグナルのヒト心筋細胞における心肥大への関与を確認するとともに、新規作用機序の解明やドラッグリポジショニングを目的とした。エンドセリン負荷したヒト iPSC 由来心筋細胞を心肥大モデルとして用い、作用機序情報を有する低分子化合物から構成されるアノテーションライブラリーによる BNP 発現を指標としたスクリーニングを実施した。BNP の発現変動を誘導した化合物のアノテーション情報を基に、心肥大に寄与するシグナル機構について考察する。

P18.薬剤感受性試験における患者由来オルガノイドモデルの比較

檜山 源(福島県立医科大学 医療-産業 TR センター)

近年のがん研究において、患者由来オルガノイド (PDO: patient-derived organoids) は既存のがん細胞株よりも臨床状態をよく反映したモデルとして注目されている。当福島医薬品関連産業支援拠点化事業では、患者由来のがん組織を生体に近い状態を維持したまま長期間培養が可能ながん組織由来培養細胞塊 (F-PDO) を樹立してきた。現在までに肺がん、卵巣がん、子宮体がんを中心に様々ながん種から 82 種類の F-PDO を樹立し、ハイスループットスクリーニングによる薬剤感受性の評価系を確立してきた。本研究では、F-PDO と Human Cancer Models Initiative で樹立されたがんオルガノイドモデルの培養・評価の手技的な比較、更に両モデルおよびがん細胞株の薬剤感受性を比較したところ、それぞれの感受性に差が認められたため、その結果を報告する。

P19.タンパク質マイクロアレイを用いた抗体評価

星 裕孝(福島県立医科大学 医療-産業 TR センター)

福島医薬品関連産業支援拠点化事業で独自開発したタンパク質マイクロアレイ技術は、

16,000 種類以上のヒトタンパク質に対する抗原抗体反応を一度に検出することが可能な技術である。本技術は抗体の特異性、交差性、結合力を網羅的に評価することが可能であるため、抗体医薬品等の開発における強力な評価ツールとなる。さらに、タンパク質相互作用、レセプターとリガンド、核酸とタンパク質の相互作用の評価に活用可能なデータも取得している。また、微生物やアレルゲン物質等の外来タンパク質抗原を搭載したマイクロアレイも作製しており、血中抗体の自己抗原や外来抗原に対する反応をプロファイリングすることで、自己免疫疾患、感染症、アレルギー疾患等の創薬標的や疾患マーカーの探索に活用可能である。本発表では、独自開発したタンパク質マイクロアレイによる抗体評価技術を中心に創薬研究への活用事例を紹介する。

P20.がん組織由来培養細胞塊 F-PDO を用いた抗がん剤のスクリーニングのための 3次元解析

高橋 信彦(福島県立医科大学)

福島医薬品関連産業支援拠点化事業では、患者由来のがん組織を生体に近い状態を維持したまま長期間培養が可能ながん組織由来培養細胞塊 (F-PDO) を樹立してきた。現在までに肺がん、卵巣がん、子宮体がんを中心に様々ながん種から 82 種類の F-PDO を樹立している。F-PDO は、がん組織様形態 (細胞塊) を維持しながら、浮遊培養が可能である特長があり、がん細胞株とは違う抗がん剤の感受性プロファイリングを示すことが判明している。F-PDO を抗がん剤のスクリーニングに活用するためには、細胞塊の構造的変化を、イメージング技術を用いて定量的解析を行うことが望まれる。そこで、本発表では、オリンパス社の 3次元解析ソフト NoviSight を用いて、肺がん由来 F-PDO を構造的特徴に捉え、病理マーカー、細胞の増殖、抗がん剤等の標的となる EGFR、HER2 の発現を定量的に解析したデータおよび、分子標的薬の評価データを紹介する。

P21. Whole transcriptome-based screening による創薬の加速

二階堂 愛(理化学研究所 生命機能科学研究センター)

P22.ヒト iPS 細胞由来ニューロンのMEA 計測による食品毒性評価法の検討

高橋 さゆり(東北工業大学大学院)

平面微小電極アレイ(MEA) は、神経ネットワークの電気活動を指標とした医薬品の神経毒性評価に有効である。一方で近年、食品成分の過剰摂取によるけいれん等の神経興奮毒性が問題視され、神経系に及ぼす食品毒性評価法の構築が期待されている。そこで本研究では、ヒト iPS 細胞由来ニューロンを用いて、神経毒性が報告されている食品成分が MEA 技術によって評価可能かどうかを検証した。MEA プローブ上に培養したヒト iPS 細胞由来感覚ニューロンおよび皮質ニューロンに対し、過剰摂取により神経毒性を有する食品成分を添加し、神経活動に与える変化を MEA で記録した。解析の結果、各成分間で発火パター

ンに違いがあることや、用量依存的な応答の変化が検出された。これらの結果よりヒト iPS 細胞由来ニューロンを用いた本評価系は食品成分が及ぼす神経機能の MoA 解析および食品毒性・安全性評価の検出手法として有効であることが示唆された。

P23.ヒト iPSC 由来感覚ニューロンを用いた TRP チャネルの応答評価

小田原 あおい(東北工業大学)

ヒト iPSC 由来ニューロンを用いた化学物質評価は動物実験廃止の流れとヒトへの評価が可能であることから期待されている。本研究では、TRP チャネルに対する化合物の応答検出をヒト iPSC 由来感覚ニューロンを用いた MEA 計測法にて試みた。初めに、VRPV1, TRPM8, TRPA1 チャネルの代表的アゴニストである CAP、MEM、AITC をそれぞれ投与したところ、用量依存的な誘発応答が検出された。阻害剤存在下で誘発応答が消失したことから、各 TRP チャネル依存的な応答であることが確かめられた。次に、TRPA1 チャネルを介して、冷感受作用が増大することが知られている抗がん剤オキサリプラチンを投与したところ、オキサリプラチン存在下で AITC に対する誘発応答が有意に増大した。ヒト iPSC 由来感覚ニューロンを用いた MEA 計測法は TRP チャネルを介した痛み関連物質の評価法として有効であることが示唆された。

P24.ヒト iPS 細胞由来ニューロンの電気活動を指標とした痙攣毒性および作用機序の AI 予測

松田 直毅(東北工業大学)

我々は中枢神経系の主な毒性である痙攣様発火に着目し、ヒト iPS 細胞由来ニューロンを用いた医薬品の痙攣誘発予測法の開発を行っている。具体的には、微小電極アレイ(MEA)法で取得した、ヒト iPS 細胞由来ニューロンの電気活動を指標とした予測法である。これまで、多くの痙攣陽性化合物のデータを取得してきたが、作用機序が異なる薬剤の応答を単一パラメータで検出することが課題となっていた。本研究では、画像認識力が高い、人工知能 (AI) を用いて、多電極で取得した電気活動画像から作用機序を推定する解析法を試みた。各薬剤データのラスタープロット画像の 4096 次元の特徴量を AI に学習させた。次に、画像の特徴量を学習した AI に、HESI12 薬剤のラスタープロット画像を与え、どの薬剤のデータであるかを予測させたところ、予測精度は 90%以上を示した。電気活動画像を用いた AI による予測法は、薬剤応答の優れた識別能力を有し、毒性予測法および作用機序予測法として有効性が示唆された。

P25. MEA システムを用いたヒト iPS 細胞由来神経ネットワークにおける薬剤性痙攣毒性の検出および作用機序推定を目指した多変量解析

石橋 勇人(東北工業大学)

我々は神経ネットワークの機能（電気活動）を評価できる平面微小電極アレイ (MEA) を

用いた細胞外記録法によって、中枢神経系の重篤な毒性の指標となり得る痙攣様発火を指標とした医薬品の毒性評価系の構築を行っている。これまで、作用機序の異なる既知の痙攣誘発薬剤を用いて、痙攣様発火の検出に成功してきたが、毒性予測および、作用機序推定を可能とする評価パラメータの同定には至っていない。本研究では主成分分析を用いることで既知の痙攣誘発薬剤と陰性対照薬剤の分離、および、薬剤の作用機序の推定を可能とする解析パラメータの導出と解析法の構築を目指した。また、導出されたパラメータセットを用いて PTZ、および Linopirdine を未知薬剤と見立てた作用機序推定を行った結果、それぞれ作用機序の推定に成功した。本研究で行った主成分分析を用いた解析法の有効性が示唆されると共に、未知薬剤への応用が期待される。

P26. ヒト iPSC 由来神経の MEA 計測による抗てんかん薬の作用機序分類

横井 れみ(東北工業大学)

抗てんかん薬(AED)は開発された世代により異なる作用機序を持つ。旧世代の AED は Na⁺ チャネルの阻害薬や GABA 受容体の作動薬が中心であった。一方で、新世代の AED は、AMPA 受容体に作用するものや、複数のチャネルや受容体に作用機序を持つ薬剤となっている。我々は、ヒト iPSC 細胞由来神経ネットワークを MEA 上に培養し、様々な作用機序の痙攣陽性化合物を用いた毒性検出及び解析法の構築を行ってきた。本研究では、ヒト iPSC 細胞由来ニューロンの MEA 計測により、抗てんかん薬の応答を作用機序別に分類できるかを調べた。4-AP、Bicuculline、Kainic acid により痙攣状態を惹起させた神経ネットワークに 6 種の AED を投与した。旧世代の AED は 4-AP による痙攣惹起のみ有効な変化を示した。一方で新世代の AED は Bicucullin や Kainic acid による痙攣惹起にも有効な変化を示すと共に、各薬剤の特徴的な変化が抽出された。本結果から、MEA を用いたヒト iPSC 細胞由来神経ネットワークの MEA 計測は、抗てんかん薬の作用機序分類を可能とし、スクリーニング法として有効であることが示唆された。

P27. MALDI-TOF MS を用いた HTS

池野 雄高(第一三共 RD ノバーレ株式会社)

質量分析 (MS) は高感度かつ高精度の測定が可能であるがスループットには劣る、というのがこれまでの一般的な状況であった。しかし近年、質量分析装置の高速化によって、スループットの問題は解決されてきており、理想的なラベルフリーアッセイとして台頭してきている。本発表では、MALDI-TOF MS (rapifleX) を用いた HTS について実例を交えて紹介する。また、MALDI-TOF MS を用いた HTS の有用性と問題点について議論する。

P28.

P29. B型肝炎ウイルスを抑制する低分子化合物 CDM の開発

古谷 裕(理化学研究所 開拓研究本部)

B型肝炎の治療薬として核酸アナログ製剤とインターフェロン(IFN)製剤が用いられている。核酸アナログ製剤は B型肝炎ウイルス(HBV)の増殖を効果的に抑制できるが、cccDNA を排除できず再活性化する可能性がある。IFN α は APOBEC3 のシチジンデアミナーゼ活性を介して cccDNA を分解できると報告されており、HBV を排除できる可能性が有る。IFN 様の活性を持ち cccDNA modulator(CDM)と名付けた低分子化合物を HBV 感染初代培養ヒト肝細胞に処理すると、HBV DNA、cccDNA、HBsAg、HBeAg 量を抑制した。また、マウスに CDM を経口投与すると、6 時間後に肝臓での ISG15 mRNA の発現量が増加した。CDM は IFNAR2 のみに作用し抗 HBV 活性を発揮することから副作用の低減と経口投与により核酸アナログ製剤との併用療法の実施に期待できる。

P30.インテグリン関連疾患治療薬開発に向けた薬剤スクリーニング法の開発

池田 幸樹(関西医科大学 生命医学研究所)

インテグリンは細胞接着に関わる分子として知られている一方で、近年、がんや自己免疫疾患、炎症性疾患などの病態との関連や病態特異的作用機序の知見が積み重なってきた。しかし、インテグリンを標的とした治療薬の開発は遅れている。私たちは 5 大学 2 機関からなるインテグリン創薬コンソーシアム事業を 2018 年よりスタートし、インテグリン関連疾患に向けたアカデミア創薬へ取り組んでいる。本事業においてインテグリン創薬に向けた”3本の矢”となる新規スクリーニング法として、1)インテグリン及び薬剤の 3次元構造モデルを使った *in silico* ヴァーチャル薬剤スクリーニング法、2)簡便な Phenotypic 細胞接着性スクリーニング法及び 3)AlphaScreen を用いたインテグリン相互作用分子阻害剤スクリーニング法を確立した。本学会ではこれらの 3者について紹介し、さらに現在開発中のマウス薬剤評価系について議論したい。

P31.ムコリピンを標的としたがん予防薬の開発

林 美樹夫(関西医科大学)

膠芽腫は生存期間が 15 か月であり、根治療法はない。膠芽腫に対する唯一の既存薬である テモゾロミドにかわる、新たな化学療法剤の開発が望まれている。がんの発生かつ治療抵抗性の根源として、がん幹細胞の存在が提唱されている。我々は、手術で切除された膠芽腫(悪性グリオーマ)、肺癌、および肺癌脳転移巣から、がん幹細胞を樹立した。それらのがん幹細胞の細胞膜において、特異的に一過性受容体電位型チャネル(ムコリピン)が発現していることを見出した。ムコリピンの遮断薬から、がん幹細胞を死滅させることができる 13 種類の薬剤を決定した(膠芽腫 4 患者、肺癌 1 患者、転移性脳腫瘍 2 患者)。その内から、ヒト神経幹細胞への影響が低かった 3 種類の薬剤を決定した。これらの成果を踏まえて本研究は、ムコリピンに選択性の高い薬物を創出する。そして、新しい作用機序を

もつ、がんの再発および転移の予防薬の開発を最終目標とする。

P32.次世代型 GPCR シグナル制御薬の開発研究

寺島 裕也(東京理科大学 生命医科学研究所)

GPCR (G タンパク共役受容体) 制御薬はこれまでの大きな割合を占めるものの、現在はこれに陰りが見られ新たな標的が求められている。我々は GPCR に結合する新たな細胞内シグナル制御分子群を発見し、その制御薬の開発基盤「次世代型 GPCR シグナル制御技術」の構築に成功した。ケモカイン受容体 CCR2 および CCR5 の細胞内に結合しマクロファージの集積/活性化を促進する新規分子フロント (FROUNT, Nature Immunology.2005) を同定し、創薬機構の化合物ライブラリーの創薬スクリーニングを通して「フロント阻害 (次世代型 GPCR 制御) 薬」を同定した(投稿中)。これは疾患の原因となる GPCR の異常シグナル分子を標的とする他に類をみないものであり、有害事象を抑えて、これまででない強力な薬効を引き出すことを明らかとして、がん患者を対象とした臨床研究を国立がんセンターにて本年開始した。

P33.腫瘍細胞に高発現する PRDM14 の物理化学解析と制御剤探索

大西 亮輔(東京大学大学院 工学系研究科)

PRDM14 は着床前胚等に時期特異的な発現がみられる転写調節因子であり、分化や多能性において重要な役割を担っている。一方で様々な腫瘍細胞にて高発現していることも報告されており、癌との関係についても近年注目され始めている。これらの機能は PRC2 複合体のサブユニット EED との相互作用が関与している可能性があるが、PRDM14 自身の物性や構造情報はほとんど得られていない。そこで本研究では、PRDM14 の機能の特異的に制御するための PRDM14-EED 間相互作用解析および阻害剤開発を目指した。SPR,ITC 等物理化学的手法を用いた相互作用解析と機能解析から、PRDM14 の天然変性領域が EED の機能に大きく関与していることが明らかとなった。また、阻害剤スクリーニングによって得られたヒット化合物を SPR,MST 等から多角的に評価することで有望な化合物の取得に成功した。以上の詳細な結果および今後の戦略について発表する。

P34.蛍光分子プローブを用いたセリン代謝酵素の低分子阻害剤の探索と展開

太田 智樹(東京大学大学院 工学系研究科)

解糖系から分岐した一炭素代謝系では、葉酸・メチオニンを仲介物質として一炭素単位を転移させながら核酸塩基を合成している。一炭素代謝系の起点を担うセリン代謝酵素「セリンヒドロキシメチル基転移酵素(SHMT)」は、その発現量がマラリア・がんの悪性度と強く相関することが近年報告されており、SHMT の阻害剤は分子標的薬としての応用が期待される。本研究ではスクリーニングによる新規 SHMT 阻害剤の取得を目指した。我々は、基質認識機構を精査することにより、SHMT との反応に伴って蛍光波長が大きく変化する

分子プローブを開発した。この分子プローブを用いて低分子スクリーニング系を独自に確立し、東大創薬機構の約 20 万化合物ライブラリーから 2 種類の新規 SHMT 阻害剤候補を取得した。その後、X 線共結晶構造解析を基盤に、物理化学的解析や構造展開を実施することで、得られた阻害剤が示すユニークな阻害機構を特定した。本発表ではこの一連の研究成果を報告する。

P35.ゼブラフィッシュ表現型を利用したケミカルサプレッサー探索系

西谷 直之(岩手医科大学 薬学部)

P36.変異 β -catenin 依存的細胞死誘導化合物の探索

池田 拓慧(慶應義塾大学 理工学部)

細胞増殖の制御に関わる β -catenin は、大腸がんの約 10%を含め様々ながん種で活性型の変異が認められる。しかしながら、 β -catenin 変異がんに対する有効な治療薬は未だ開発されていない。そこで、変異 β -catenin 依存的に細胞死を誘導する化合物を探索した。 β -catenin 変異型 HCT116 細胞選択的に細胞死を誘導する化合物を約 25,000 化合物から探索し、第一三共株式会社より供与された DS37262926 (Miclxin)に目的の活性を見出した。Miclxin はミトコンドリア内膜複合体構成因子である MIC60 を阻害しミトコンドリアストレスを誘導することを明らかにした。また β -catenin をノックダウンすると Miclxin によるミトコンドリアストレスは阻害されアポトーシスが抑制された。このことから、Miclxin は β -catenin 依存的にアポトーシスを誘導する新規治療薬シードとなり得ることを示唆した。

P37.結腸がん幹細胞を標的とした制がん剤シード化合物の探索

船山 佳世(慶應義塾大学 理工学部)

がん幹細胞(Cancer Stem Cell, CSC)は、既存の化学療法や放射線療法に対して抵抗性を持つため、CSC を標的とした治療薬の開発が求められている。そこで本研究では CSC を標的とした新しい制がん剤シード化合物を取得することを目的とした。まず、ヒト結腸がん細胞をがん幹細胞用培地を用いて 3 次元培養し、CSC に特徴的な”スフェア”を形成させた。取得したスフェアは通常の 3 次元培養細胞と比較して結腸がんの幹細胞マーカーとして知られる Lgr5 の発現量が著しく増加しており、幹細胞性が高いことが示唆された。そこでこの CSC を標的としたスクリーニング系を構築し、本研究室が所有する放線菌培養液ライブラリーから CSC 選択的にスフェア形成を阻害するサンプルを探索した。その結果、放線菌 K240 株培養液に通常の 3 次元培養細胞には影響を与えず、CSC 選択的にスフェア形成阻害を促す活性を見出した。現在は本株中の活性物質の単離精製を進めている。

P38.変異 KRAS を標的とした制がん剤シード化合物の探索

林 愛菜(慶應義塾大学 理工学部)

細胞増殖や生存に関与する KRAS の変異は、膵管腺など多くのがんで認められている。そのためこれまでに KRAS の下流シグナルを標的とした研究が行われてきた。しかしながらあるシグナル伝達経路を阻害しても他の経路が活性化してしまうことにより、その増殖を完全に抑えることはできず、未だに KRAS 変異がんの有効な分子標的治療薬は開発されていない。本研究では KRAS ヘテロ変異 HCT116(+/G13D) 細胞の野生型アレルを欠損した HCT116(G13D/-)細胞と変異型アレルを欠損した HCT116(+/-)細胞を用いて 3 次元培養したところ、両細胞共にスフェアを形成した。次に当研究室が保有する放線菌培養液ライブラリーから HCT116(G13D/-)細胞選択的にスフェアの形成を阻害する化合物を探索したところ、K240 株中に HCT116(+/-)では影響を与えずに HCT116(G13D/-)細胞選択的に細胞死を誘導する物質が含まれることが判明した。したがって現在は本株中の活性物質の単離精製を進めている。

P39.ヒト細胞内及びカイク感染モデルを用いた非結核性抗酸菌に対するスクリーニング系の構築

細田 莞爾(北里大学薬学部)

抗菌薬のスクリーニングにおいて、*in vitro* で活性を示したものが *in vivo* で活性を示さないことは少なくない。そこで我々は、より生体内での感染状態に近い細胞内感染モデルと、簡易 *in vivo* 評価系であるカイク感染モデルを用いることで、早い段階で *in vivo* での活性を評価することを可能とした。本発表では、非結核性抗酸菌を用いたこれらのスクリーニングについて発表する。