

2022年 ポスター発表

P01. 胚の着床率向上に寄与する薬剤の選別

松浦 徹、池田 幸樹、吉田 真子（関西医科大学）

P02. 関西医科大学（KMU）オルガノイドバンクの取り組み

那須 厚則、松浦 徹、朝倉 力、池田 幸樹、奥山 哲矢、中竹 利知、吉田 真子、
厚海 奈穂、蔦 幸治（関西医科大学）

関西医科大学は特定機能病院である附属病院、地域中核病院である総合医療センターと香里病院を含めた4病院と1クリニックを擁し、大阪府北河内地区において医療の提供を行っている。我々はこれら関連病院の患者検体より、オルガノイドを培養・保存するKMUオルガノイドバンクを構築している。これまでに子宮内膜上皮、大腸癌、正常直腸、十二指腸癌、副腎腫瘍、正常副腎皮質、前立腺癌、正常前立腺、胆管癌、正常胆管、胆嚢癌、大腸癌肝転移、正常肝臓、正常腎臓、腎癌、膀胱癌、腎盂癌肝転移の20種類・30件以上の患者由来オルガノイドを確立した。今後は口腔癌・小児癌など、更に種類・検体数を増やしていく予定である。

P03. がん幹細胞に特異的なイオンチャネルを標的とした抗癌剤の開発

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、新しい標的分子となり得るイオンチャネルを見いだした。その作動薬とイオンチャネルとのドッキングを機械学習させたインシリコ・スクリーニングにより、がん幹細胞に有効なヒット化合物を創り出した。これらの成果を踏まえて本研究は、ヒット化合物を最適化し、がん幹細胞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。

P04. インテグリンミニチュア化設計による新規抗ウイルス薬の創出

池田 幸樹（関西医科大学）

インテグリンはaとbサブユニットからなる1回膜貫通型ヘテロ二量体タンパク質であり、リガンドと結合することで細胞接着・浸潤・増殖といった多様な制御機構に関与していることが知られている。近年、インテグリンはウイルスレセプターとしても働くことが複数の研究から示唆されている。そのため抗インテグリン抗体やリガンド模倣薬が抗ウイルス活性を持つことが示唆されているものの、両者は免疫細胞等の働きに強く影響を与えることから、感染防御や感染時免疫反応への悪影響が懸念される。

我々はこれらの問題点をクリアする新しい抗ウイルス薬として、ウイルス結合領域を維持したインテグリンミニチュアタンパク質について着想した。設計した人工タンパク質は分子量約 13 kDa かつ長径 50Å であり、この人工タンパク質とウイルスタンパク質の分子動力学計算から、両者の結合は非常に安定的であることが示唆された。この人工タンパク質とウイルスタンパク質の結合についての相互作用アッセイ系の構築を進めており、これらの結果について議論したい。

P05. ヒトプロテインアレイを用いたアレルギー治療薬候補化合物の標的探索

竹田 浩之、瀬川 良佑、山越 博幸、岩渕 好治、平澤 典保 (愛媛大学)

我々は最大 28,000 種の無細胞合成ヒトタンパク質を搭載したプロテインアレイと AlphaScreen を用いた網羅的相互作用解析技術を開発し、創薬ターゲット探索、疾患メカニズムの解明、バイオマーカー探索、低分子薬剤の標的探索などを実施している。本研究で我々はプロテインアレイを用いて新規抗アレルギー薬候補 16D10 の標的探索を試みた。16D10 はアレルギー疾患において上皮細胞から産生される炎症性サイトカイン TSLP の産生を阻害する活性を持つが、その作用機序は未解明であった。我々はビオチンを付加した 16D10 誘導体をプローブとして 24,000 種のヒトプロテインアレイをスクリーニングし、BRD4 などの BET ファミリータンパク質を標的分子として同定した。ITC および X 線結晶構造解析により、16D10 が BET ファミリーのブロモドメインに結合することで、TSLP 発現誘導を抑制していることを明らかにした。

P06. 高時空間分解能を有する電気イメージングによる化合物の神経応答

松田 直毅、韓 笑波、柴田 実可子、永福 菜美、石橋 勇人、鈴木 郁郎 (東北工業大学)

本研究では、単一細胞レベルの高い時空間分解能を持つ CMOSMEA を用いて、ラット脳スライス、ヒト iPS 細胞由来皮質ネットワーク、ラット DRG ニューロン、ヒト脳オルガノイドの大面积の非侵襲細胞外電位計測を行った。脳スライスでは、海馬・嗅内皮質・嗅周囲皮質領域における詳細な伝搬経路や伝搬波形の周波数特性を検出した。ヒト iPSC 由来皮質ニューロンでは、厳密な単一細胞のスパイク検出と時系列パターン解析によって PTX およ

び 4-AP のシナプス結合強度の影響の違いを検出した。DRG ニューロンでは、軸索伝導距離と伝導速度を指標として、Vincristin による末梢神経への影響を検出した。脳オルガノイドでは、各ニューロンの電氣的活動を検出することで、オルガノイド内部の伝播パターンを捉えることに成功し、4-AP による活動頻度の上昇を検出した。CMOS-MEA を使用した単一細胞レベルでの神経活動分析は次世代の化合物スクリーニング、および毒性評価法への展開が期待される。

P07. ヒト iPS 細胞由来ニューロンの電気活動を指標とした化合物の毒性リスク評価法の検討

石橋 勇人、永福 菜美、鈴木 郁郎（東北工業大学）

医薬品開発において、安全性の高い医薬品候補化合物を効率よくスクリーニングするために、中枢神経をターゲットとしたハイスループットかつ正確な化合物評価法として *in vitro* 神経ネットワークの機能を指標とした評価系の構築が期待されている。とくに、種差の観点から動物実験を代替可能なヒト由来の神経ネットワークを用いた評価系が望まれる。*in vitro* 神経活動を計測可能な評価系の中でも注目されているのが MEA であるが、化合物の評価基準の議論が不十分である。本研究では、ヒト iPS 細胞由来ニューロンとアストロサイトの共培養サンプルの神経活動データを MEA 計測で取得した。MEA 計測によって得られた神経活動データから溶媒の影響を除外可能なパラメータを導出することで、より正確な化合物評価を可能とした。また、主成分分析において、溶媒の標準偏差を指標とした痙攣リスクの基準を設定することで、MEA 計測における化合物の評価基準の課題を解決した。

P08. 標的タンパク質の準安定状態に結合する阻害剤は解離が遅い

鈴木 空、喜井 勲（信州大学農学部）

我々は標的タンパク質からの解離が遅い阻害剤を同定するための創薬コンセプトを紹介する。本コンセプトでは、標的タンパク質が部分的に変性した準安定状態に結合する阻害剤を探索する。この準安定状態では、天然状態よりもタンパク質のもつ自由エネルギーが大きくなる。準安定状態選択的に阻害剤が結合した場合、天然状態への結合よりも、自由エネルギーが大きく低下する。複合体から阻害剤が解離するためには、この大きな自由エネルギー差を乗り越える必要があるため、必然的に解離が遅くなる。つまり、タンパク質の準安定状態を標的とすることで、解離の遅い阻害剤を同定できる。本コンセプトの具体例として、我々は神経疾患関連リン酸化酵素 DYRK1A の部分的変性状態であるフォールディング中間体を標的とする阻害剤を同定した。本発表では、上記コンセプトをハイスループットスクリーニングに適用するための技術「温度ジャンプ (特許番号: WO2022/118941)」についても紹介する。

P09. オルガノイド由来小腸上皮細胞は、Caco-2 細胞と異なり正常な小腸上皮機能を示す

井上 優、高橋 裕（東京大学大学院 農学生命科学研究科）

Caco-2 細胞は代表的なヒト小腸上皮モデルとして薬剤の透過・吸収など様々な研究分野で活用されてきた。しかし、小腸で重要な役割を果たす機能遺伝子の発現が低いなど、がん細胞由来であるために正常な組織と異なる性質を示す例が複数報告されている。そこで本研究では、従来の細胞株よりも生理的な三次元培養モデルとして見なされているヒト小腸オルガノイドから樹立した単層上皮細胞の性質や機能を Caco-2 細胞と比較した。オルガノイド由来単層上皮細胞は Caco-2 細胞よりも小腸組織に近い遺伝子発現パターンを示し、薬物代謝酵素の誘導、糖取り込み、リポタンパク質分泌といった Caco-2 細胞では評価が困難な腸上皮機能を示した。既存薬および既知薬理活性ライブラリから化合物スクリーニングを行った結果、Caco-2 細胞選択的に細胞毒性を示す化合物として様々な抗がん剤が見出された。以上の結果より、オルガノイド由来小腸上皮細胞は Caco-2 細胞よりも生理的な、正常なヒト小腸上皮としての性質を示すことが明らかとなった。

P10. ポリメラーゼ阻害剤探索のための EchoMS シグナル改善

長谷川司、今村理世、岡部隆義、小島宏建（東京大学大学院薬学系研究科附属創薬機構）

EchoMS とは、nL 単位の極微量サンプルを超音波で非接触に質量分析計へ打ち込むことで高速化を図った装置である。クロマト分離や固相抽出などの前処理不要で、一般的なプレートリーダーと同様のミックス&リード測定が可能である。一方、前処理をしないために夾雑物による MS 検出感度への影響や、この装置特有のモバイルフェーズとよばれるキャリア溶媒の影響があるが、知見が積みまれないため試行錯誤を要するのが課題点である。

われわれは、ポリメラーゼ阻害剤探索のため、ピロリン酸の生成量を EchoMS で測定するアッセイ系の構築を目指したが、ポリメラーゼ反応で生成するピロリン酸は、質量分析計内部の金属との相互作用の影響でシグナルが減弱され、測定しづらいことが知られている。今回、酵素反応停止液に EDTA のアンモニウム塩を添加することでシグナルが改善した例をモバイルフェーズへの添加剤や流速によるピーク形状の変化などと合わせて紹介する。

P11. 細胞内プロテアーゼ活性の新規評価系 "Protease Sensor" の開発

小川 健司（日本大学・生物資源科学部）、市川 保恵、吉田 稔（理化学研究所・創薬シード化合物探索基盤ユニット）

P12. Thiosulfate sulfurtransferase (TST) 選択的な阻害剤の開発

川手 琢冬、佐々木 栄太、花岡 健二郎、魏 范研（慶應義塾大学薬学部）

硫化水素(H₂S)は一酸化窒素や一酸化炭素に続く第三のガス性シグナル伝達物質として注目されている。ヒト生体内での H₂S 産生酵素としては、cystathionine β-synthase (CBS), cystathionine γ-lyase (CSE), 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3MST), thiosulfate sulfurtransferase (TST) などがあるが、TST 選択的な阻害剤は未だ見つかっていない。我々はこれまでに、H₂S 選択的蛍光プローブ HSip-1 を開発し、これを利用した独自の High-throughput screening (HTS) 系を用いることで、3MST の選択的阻害剤の開発に成功した。そこで本研究では、TST 活性検出系に適した新たな HTS 系を確立し、TST 選択的な阻害活性を有する化合物を探索することを目的とした。H₂S 検出蛍光プローブである HSip-1, AzMC, または H₂S 検出比色試薬 Pb(OAc)₂を用いた TST 活性検出法の検討を行った。それぞれの検出法を比較検討した結果、TST の活性を感度良く検出することのできる AzMC を用いた蛍光検出法が最も有力である。今後は 15 万種類以上の大規模な化合物ライブラリーを HTS を行うことによって、TST の選択的阻害剤を探索する予定である。

P13. 細胞内寄生抗酸菌をターゲットとする抗菌薬スクリーニング手法開発研究

深野 華子 (国立感染症研究所)

近年、世界的に肺非結核性抗酸菌 (NTM) 症の患者数が増加傾向にあり、本邦においても国内の罹患率は人口 10 万人あたり 14.7 人 (2014) と結核の罹患率 12.3 人 (2018) を既に大きく上回っており今後も患者数の増加が見込まれる新興感染症である。世界的な感染者数の増加が見られるにも関わらず、NTM 症は決定的な治療レジメンが定まっていないため、根治が困難な感染症である。

NTM に対する抗菌薬治療開発が求められる一方、抗酸菌に対する抗菌薬治療は、6 ヶ月から数年に渡るため長期的投薬が可能で、細胞障害性が低く、細胞内寄生細菌である抗酸菌にアプローチするため高い細胞透過性が必要であることから、開発におけるハードルは決して低くない。今回我々は、細胞内寄生状態の *Mycobacterium abscessus* をターゲットとし、更には host-directed therapy を狙う新たな抗菌薬スクリーニング手法を開発した。

P14. ゼラチン繊維基材上とヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた抗がん剤誘発心筋毒性のマルチパラメーター評価

早乙女 俊樹 (日本毛織株式会社)

P15. ゼラチン繊維基材を用いたヒト iPS 細胞由来神経細胞の薬物誘発毒性評価

早乙女 俊樹 (日本毛織株式会社)

P16. シクロオレフィンポリマー製マイクロプレートを用いた高精度な心毒性評価方法

足達 慧（日本ゼオン株式会社）、 関野 祐子（東京大学）

シクロオレフィンポリマー(COP)製マイクロプレートは低自家蛍光特性を有し、ウェル底面の平坦性に優れることから培養細胞を高スループットで光学的に評価・分析するイメージング測定に好適である。

今回、COP 製マイクロプレートを用いて培養されたヒト iPS 細胞由来の心筋細胞に対してカルシウムイメージング評価を実施することで、ヒトの動態を再現できる薬剤の高スループット心毒性評価方法を開発した。カルシウムイメージング手法により薬剤添加による波形変化(QT 延長率)を算出し、薬剤の毒性指標を濃度依存的に再現性高く得ることができた。カルシウム、カリウムやナトリウムチャンネルを阻害する作用機序の異なる各種薬剤を用いた場合も QT 延長率が綺麗に観測され、COP 製マイクロプレートを用いて得られたアッセイ結果は、過去に報告されたマルチ電極アレイ法により取得された結果とよく相関することが見出された。

P17. イオンチャンネル Nav1.7 の阻害活性を有するジスルフィドリッチペプチドの PERISS 法による迅速なスクリーニング

平良 光（Veneno Technologies 株式会社）

ジスルフィドリッチペプチド (DRP) は、イオンチャンネルや GPCR などの膜タンパク質に対して高い活性と選択性で作用するペプチド群である。消化酵素に対する耐性も高く、ペプチド医薬品の基本骨格として活用できる。PERISS (intra periplasm secretion and selection) は、進化的分子工学に基づくペプチド選択法で、膜タンパク質に結合する DRP を迅速にスクリーニングできる。本研究では、鎮痛剤開発の標的であるヒト電位依存性ナトリウムチャンネル Nav1.7 を阻害する新規 DRP を探索した。タランチュラ毒由来の DRP である GTx1-15 にランダム配列を導入した遺伝子ライブラリを構築し、PERISS を実施した。そして、PERISS により同定したヒット DRP の活性を電気生理学的に評価し、ヒト Nav1.7 の活性を阻害する DRP を新規に見出した。

P18. 発光イメージングを用いた細胞内の局所的なタンパク質間相互作用の可視化

林 太朗（株式会社エビデント）、安江 優介、桃井 道子、酒井 厚（プロメガ株式会社）、杉山 崇（株式会社エビデント）

細胞内におけるタンパク質間相互作用(PPI)は創薬スクリーニングやシグナル伝達系の解析において重要なターゲットである。PPI の検出にはプロメガ社の NanoBiT®をルミノメーターで測定する方法などが使用されるが、スループット性に優れる反面、細胞集団の発光量の総和を検出するため、個々の細胞レベルでの反応、局所的に起こる反応の検出はできな

い。本研究では、発光イメージングシステム IXplore Live for Luminescence (エビデント) を用いて、FKBP/FRB の局所的な相互作用の動態を可視化することに成功した。これらの結果から、イメージングを併用した NanoBiT® PPI 検出の新規創薬スクリーニングワークフローを提案する。

P19. Information-rich なハイスループットスクリーニングに向けたマルチプレックス表面プラズモン共鳴 (SPR) 測定

大城 理志 (ブルカージャパン株式会社)、Cyrill Brunner (Bruker Switzerland AG)、Sven Malik (Bruker Daltonics SPR)、Paul Ritter (Bruker Daltonics SPR)、Christopher Pelczar (Bruker Daltonics SPR)、Meike Hamester (Bruker Daltonics GmbH & Co KG)

我々は、1 アナライトに対し最大 24 ターゲット、または 8 アナライトに対し最大 3 ターゲットの測定を行うマルチプレックス SPR 装置を開発した。SPR アッセイのモデルケースとして、化合物と Carbonic anhydrase (CA) アイソザイムの選択性評価アッセイと、化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを実施した。選択性評価アッセイでは、3 回の Kinetics 測定により drug-like 化合物 12 種類に対する 6 種類の CA の選択性を同時に評価することができた。また、化合物スクリーニングでは、CA II, IV, XII について 1280 化合物の同時スクリーニングを実施することで、スルホンアミド構造 (CA に結合する典型構造) が含まれない化合物との相互作用も確認された。以上より、マルチプレックス SPR のスループットを活かし、複数ターゲットへの選択性評価データを加味することで、SPR によるヒット化合物の選定においてより多くの情報を得ることが可能となる。

P20. TREM2 knockout iCell® Microglia を用いた Phenotypic screening

中垣内 弓子、平野 満、横川 寛、尾野 晃人 (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)

ミクログリアに発現する膜貫通型タンパク質 Triggering receptor expressed on myeloid cells 2 (TREM2) は DAP と結合して Syk 経路を活性化し、生存、増殖、食作用のシグナルを増大させることが知られている。近年、GWAS 研究により TREM2 がアルツハイマー病 (AD) のリスクファクターと同定され、そのリガンドとして amyloid- β peptide (Abeta) が報告されたこと、さらに AD マウスモデルで TREM2 の発現亢進が Abeta のクリアランスを促進し、認知機能を改善すると報告されたことより、TREM2 の機能調節が AD 病態改善の有望な創薬ターゲットとして注目されるようになってきている。我々はミクログリアの phagocytosis 機能を亢進する低分子化合物を探索するため、iCell® TREM2 ホモ変異型 Microglia (FCDI) を使用し、アノテーションライブラリー (約 4000 化合物) を用いた画像解析によるハイスループットスクリーニングを実施した。その結果、phagocytosis を亢進

する複数のヒット化合物を同定したので、それらの MOA についての考察を含む結果を報告する。

P21. 探索研究における細胞培養実験ロボットシステムの開発とその実際

松本 佳子 (エーザイ株式会社 筑波研究所)

近年の人工知能 (AI) の進化による創薬手法のデジタルトランスフォーメーションは、研究現場にも大きな影響を及ぼしている。探索研究においては、高質で大量の独自データを取得して、AI 解析と組み合わせることで、ノンバイアスな仮説構築とその実検証による独自の創薬を推進することが期待される。しかし従来の探索研究は、最先端のサイエンスを扱い、非定型業務も多いことからデジタル化に遅れをとってきた。そのため、匠のような高い技術を持った研究者、もしくは長時間実験の気力と体力を備えた研究者に支えられてきた属人的でアナログなデータ取得から、ベンチサイドの多様な実験に適応した実験ロボットによる高質で大量のデータ取得へのデジタル転換を図り、堅牢なデータ取得環境を構築する必要がある。本発表では、当社の探索研究への実験ロボット導入の先駆けとして取り組んだ細胞培養実験自動化システムの開発とその実際、課題について紹介する。

P22. Screener を利用したルーチンアッセイにおけるデータフロー自動化システムの構築

秋田 みゆき (第一三共 RD ノバーレ株式会社)

第一三共 RD ノバーレ株式会社では、2008 年に時系列データの解析システムとして Genedata Screener®を導入し、以降 HTS データ全般の解析を本システムで行っている。本発表では、HCS (High-content screening) の画像データ取得から AI モデルによる細胞形態分類、解析結果の通知・共有までの全行程を自動化した取り組みのうち、Screener®への分類結果の取り込み以降のフローに焦点を当てて紹介する。

構築したデータフロー自動化システムにより、アッセイに関わるすべての担当者が、リアルタイムで解析結果にアクセスすることが可能となった。また、全行程を自動化したことにより、マスク処理やデータ転記等で生じるヒューマンエラーが防止され、さらに、週に 250 分程度かかっていたデータ解析関連の工数を 1/10 以下に削減した。

P23. バイオ医薬品の処方開発における High Throughput Screening システムの構築

三谷 麻綺 (協和キリン株式会社)

バイオ医薬品の有効成分であるタンパク質は保存や流通の過程で受ける熱や振動などのストレスに敏感であり、品質を担保するためには最適な処方 (バッファー組成) を開発する必要がある。最適処方開発のためには広範囲な処方スクリーニングが有用だが、検体調製や分

析に時間がかかること、貴重なタンパク質を十分量確保することに課題があった。そこで我々は少量及び短時間で多検体を調製及び分析可能なシステムとして”SCNAVI (スクナビ)”を構築した。SCNAVI はリキッドハンドリングシステム、自動処方化装置、ハイスループット分析装置、データベース、可視化ソフトウェアなどから構成される、拡張性を持った半自動化システムである。本発表では SCNAVI のワークフローとその結果を紹介する。SCNAVI を使用することでマニュアルによる従来の方法よりタンパク質量及び研究員の拘束時間をそれぞれ当社比 90%以上、80%以上削減することに成功した。