

Shonan iPark

vol.5

# Science SJ Journal

湘南アイパーク  
サイエンス・ジャーナル



湘南アイパークサイエンスカフェ (iPark Science Café) では、湘南アイパークテナント・メンバーシップ団体のボランティア研究者によって、2019年7月から今日に至るまで、最新サイエンティフィックプレゼンテーションが実施されてきました。

本冊子は、iPark Science Caféにて提供された話題・発表内容をそれぞれ1ページにまとめたもので、iPark Science Caféの活動記録として発行し、湘南アイパーク内外へ配布します。本冊子を通じ、湘南アイパークのサイエンスの深化やネットワーキング、新たなイノベーションの創成にさらに貢献することが私たちの願いです。



Shonan iPark  
Science Café  
Website QR code



## ご挨拶

サイエンスカフェ代表の野上さんにお声がけ頂き、運営をお手伝いさせて頂いております。

サイエンスカフェは発足から3年が経ち、コロナ禍においてもオンラインで活動を着実に継続して論文紹介回数は120回を超え、サイエンスジャーナルは本誌をもって第5号までの発刊を数えました。さらに登録者数は300人を超えて湘南アイパークの大きなサイエンスコミュニティになっています。サイエンスカフェの特徴であり貴重な点として、湘南アイパークに所属する様々な企業・団体の有志のボランティア研究者によって成り立っている事が挙げられます。また湘南アイパークの様々なバックグラウンド・専門性を持つ研究者のネットワーキングの場となっている事も貴重と思います。これまで野上さんはじめ幹事の皆様とメンバーの皆様によって築かれてきたサイエンスカフェの貴重な枠組みを守り活かし、会の更なる発展のために少しでも貢献できればと考えております。

---

Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社・荒川 佑一



# 目次

## ご挨拶

新幹事のご挨拶

荒川 佑一 (Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社)

## スペシャルレビュー

AIのバイオテクノロジー分野への応用

岩井 祥子 (AI Dynamics Inc.)

## 発表内容

1. 「In vivo でアストロサイトから神経をリプログラム(再生)する技術」
2. 「PwP (people living with Parkinson's) が設立した研究所 Cure Parkinson's が取り組む Drug Repurposing」
3. 「微生物叢 ssRNA は腸Piezo1 を介して骨形成を制御する」
4. 「ターゲットRNA 編集: 転写後調節を研究するための新しいツール」
5. 「Nascent Ribo-Seq measures ribosomal loading time and reveals kinetic impact on ribosome density」
6. 「AIM はDAMPs の除去を促進し、脳梗塞の予後を改善する」
7. 「ヒトALS/FTD 脳オルガノイドスライス培養は明確な初期のアストロサイトと標的可能な神経の病理を示す」
8. 「Jpx RNA によるCTCF アンカーサイトの選択と染色体ループの形成調節」
9. 「変異型ハンチンチンはミトコンドリアRNA遊離と神経性自然免疫活性化を引き起こす」
10. 「運動によって生じる長鎖ノンコーディングRNA *CYTOR* は、加齢における速筋形成を促進する」
11. 「SARS-CoV-2 M<sup>pro</sup> 阻害薬ニルマトレルビルの創製」
12. 「CRISPR-Cas9 プラスミドDNA のnanoparticle デリバリーによる血管内皮におけるゲノム編集」
13. 「トロイの馬」大作戦による難治性グリオーマ・神経変性疾患の制御」
14. 「マルチブロックメタボロミクス: マルチブロックPCA を使ったメタボロミクス解析」
15. 「外部から投与された運動血漿は、クラスチリンを介して、記憶を活性化し、脳内で炎症を鎮める」
16. 「腸内細菌叢: 腸と皮膚の新たなクロストーク」
17. 「血管脳関門(BBB)の生物学とin vitro モデルについて」
18. 「受容体ごとに独立したcAMP ナドメインがGPCR シグナルの空間時間的特異性に関連する」
19. 「長鎖ノンコーディングRNA のSNHG12 はDNA-PK が仲介するDNA 損傷応答と血管老化を統合する」
20. 「新規の合成二環式ペプチド-腫瘍標的免疫細胞刺激薬であるBT7480 は腫瘍局所的CD137 アゴニスト活性を示す」
21. 「1分子FRET技術を活用したGPCR及びβ-アレスチンの活性化機構の解析」
22. 「AI創薬: 低分子創薬における近年の進展の外観」

## サイエンスカフェ100回記念アンケート結果

## AIのバイオテクノロジー分野への応用

岩井祥子 (AI Dynamics)

✉ shoko@aidynamics.com

### はじめに

近年のAI(人工知能)技術の発達とコンピューター処理能力の向上により、様々な分野にてAIの活用が検討されている。創薬、製薬のプロセスにおいても、これまでに蓄積されてきたデータをAI技術により分析することで、医薬品開発の効率化、期間の短縮化が期待されている。実際、2020年1月には大日本住友製薬に蓄積のあったデータをExsciencia社(イギリス)のAI技術にて解析、初のAIによる強迫性障害治療薬DSP-1181のフェーズ1臨床試験開始が発表された。この探索研究期間はわずか12か月間と非常に短期間であった。本稿では、AI技術を手軽に利用できるソフトウェア、NeoPulse®の紹介と、NeoPulse®を用いたバイオテクノロジー分野へのAI技術の応用例を紹介したい。

### AI技術のバイオテクノロジー分野における可能性

AI技術は、大量の複雑なデータのパターンを認識することに優れている。バイオテクノロジー分野においても、多種多様なオミックスデータ解析、膨大なゲノムデータからの遺伝子探索、化合物の物性や構造の予測、画像の解析、アッセイ条件の最適化など様々なAIモデルの構築が可能である。これらのAIモデルを組み合わせることで、医薬品の標的分子探索、リード化合物の同定、薬物動態予測、バイオマーカーの探索、病理画像解析による薬効や安全性の評価など様々な応用が考えられる。また、自然言語解析アルゴリズムを用いれば、大量の文献情報や特許情報などの解析も可能である。

### NeoPulse® - AIモデル作成ソフトウェア

NeoPulse® はAI技術を誰にでも気軽に利用できるものにする「AIの民主化」のビジョンのもと、AIアルゴリズムやプログラミングの知識がなくてもある程度の精度のAIモデルを作ることのできるソフトウェアとして開発が行われている。図1にNeoPulse® を用いたAIモデリングの流れを示した。NeoPulse® Managerはウェブブラウザ上で機能するグラフィックインターフェースであり、ドラッグアンドドロップで全てのプロセスを行うことができる。まず、ユーザーはデータとそのインデックス(メタデータ、ラベルなど)を圧縮ファイルとして用意し、NeoPulse® Managerにアップロードする。データの前処理(標準化、外れ値の削除、特徴量エンジニアリングなど)を行った後、データを教師データとテストデータに分ける。次に、どのようなアルゴリズムを組み合わせるかというモデルのアーキテクチャデザインを行う。Autoの機能を用いれば、データタイプに適したアルゴリズムを自動で選ぶこともできる。教師データを用いてデザインしたモデルアーキテクチャを用いて学習、モデルの構築を行う。そして、作成モデルの精度はテストデータを用いてA/Bテストにより評価する。この一連の流れをパラメータを変えながら反復し、精度の良いモデルを選び、AIモデルをPIM (Portable Inference Model)形式で保存、展開する。

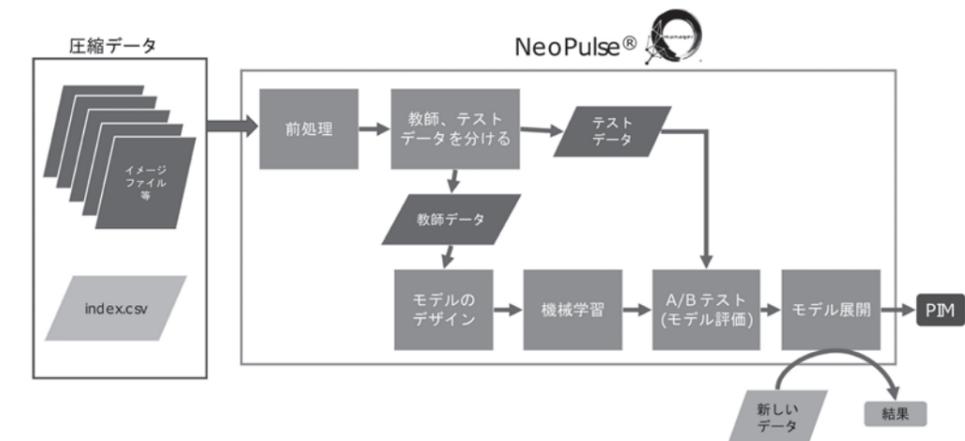


図1:NeoPulse®を使用したAIモデル作成の流れ

### 事例1 :PET/CT画像診断AIモデル

脳腫瘍または前立腺がんにおいて、Positron emission tomography (PET、陽電子放出断層撮影)画像が正常であるかどうかを分類するモデルの構築を行った。脳腫瘍モデルでは、200スキャン画像を教師データとして用い、3種類の標準化取り込み値の閾値(SUV)と3種類の断面を組み合わせ、9種類のデータに拡張した。このデータごとの9モデル、SUVまたは断面方向にて組み合わせた6アンサンブルモデル、すべてのデータを用いた1アンサンブルモデルの合計16種のモデルを作成したところ、すべての拡張データを用いたアンサンブルモデルが最も好成績であった。そして、異なるSUVウインドウ、断面を用いたモデルをアンサンブルモデルとして組み合わせることで、更に精度の良いモデルの構築に成功した(Nobashiら、2020)。前立腺がんモデルでは、251のスキャンされたDICOM形式の立体画像そのものから2D-CNNおよび3D-CNNモデルを、さらに同スキャン画像を7,870のスライス画像にしたものから2D-CNNモデルを構築し比較した。その結果、スライス画像データを用いることでモデルの精度を上げることができることが分かった(Leeら、2020)。

### 事例2 :siRNAサイレンシング効率を予測するAIモデル

19-merのsiRNA配列からそのサイレンシング効率を予測するモデルの構築を行った。約4,000件の公開データを用い、siRNA配列の特徴埋め込みを行うことで双方向性長短期記憶ネットワークモデルを作成した。90%を教師データ、10%をテストデータとする10倍の交差検証を行ったところ、決定係数 $R^2=0.72$ 、AUC (Area Under Curve)=0.93という非常に高精度のモデルの作成に成功した。この成果はこれまでの報告( $R^2=0.44$  Hueskenら、2005;  $R^2=0.49$ , AUC=0.83, Mysaraら、2012;  $R^2=0.52$ , Darら、2016)を上回るものであった。今後実験データを追加するなどしてさらにモデルの精度を高めることが可能であり、siRNAの選択と評価への貢献が期待される。

### 事例3: AIモデルの説明による扁平上皮癌の新規標的分子探索

扁平上皮癌患者層別の標的分子探索を目的に、遺伝子発現データから患者層を分類するモデルを作成し、そのモデルを特徴付ける遺伝子の同定を行った。TCGAデータベースより約600件の扁平上皮癌患者の遺伝子発現データを取得し、k-means法により患者層別化を行った。続いて、得られた患者層を分類する多層パーセプトロンモデルを構築した。このモデルをLRP(layer-wise relevance propagation)法(Bachら、2015)を用いて「説明」することにより、各患者層を特徴付ける遺伝子群を同定した。Campbellら(2018)の示した従来法により得られた各患者層を特徴付ける遺伝子の中には高いLRPスコアを示すものが存在し、LRP法は既存の知見を捉えることができることが示された(図2右側の「報告のある特徴遺伝子」の中に赤、黄色の高いLRPスコアをしめすものがある)。さらに、従来法では同定されなかった遺伝子もLRP法にて得られた(図2左側、特に四角内の遺伝子はこれまでに報告がないが、クラスター1を特徴付けている)。今後、遺伝子改変株を用いた試験等で確認をする必要はあるが、本手法により各患者層に対する新規の標的分子を同定できる可能性が示唆された。

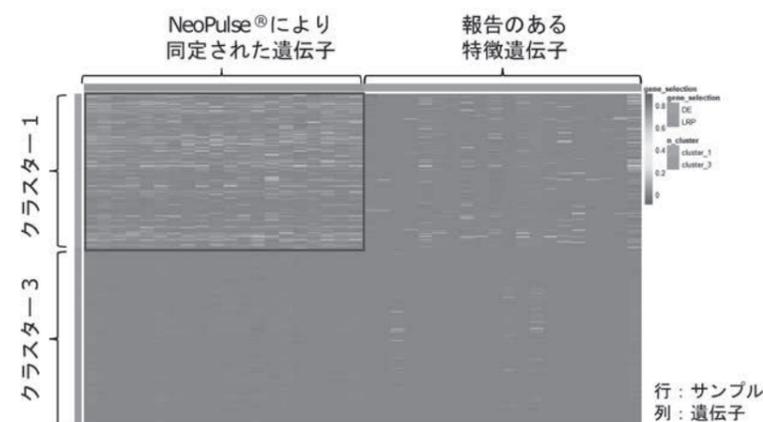


図2: LRP法を用いた患者層を特徴付ける遺伝子の探索

### 事例4: 言語解析モデルによるカルテの保険コード化

自然言語解析アルゴリズムを用いて、患者カルテ情報より保険コードを予測するモデルの構築を行った。自然言語解析は自由形式で記述された文章を、AI技術を用いて解析する手法である。何千とある保険コードのうち、主要なものについて、その組み合わせも含めカルテ中の文章から予測するAIモデルを作成した。この際、予測の信頼度も結果として出力することで、信頼度の低いものについては手作業にて確認し、再トレーニングデータとして利用することでさらにモデルの精度を高めるシステムを構築した(図3)。このように、随時モデルをアップデートしていくシステムとすることで、継続的に精度を高めることが可能であり、AI技術活用への移行を加速することができる。

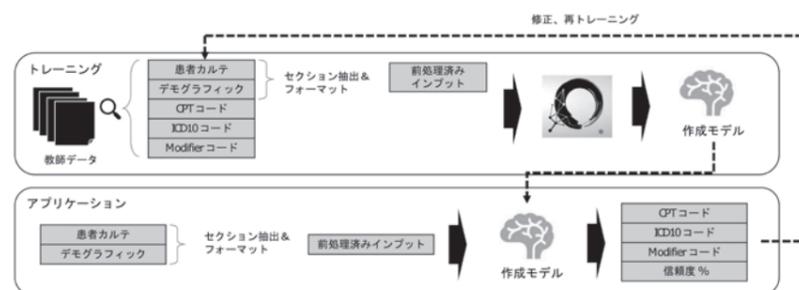


図3: 自然言語解析によるカルテの保険コード変換システム

### 課題と今後の展望

バイオテクノロジー分野においては、教師データの数が少ないことが一番の課題と言える。特に創薬においてはポジティブデータが少ない(創薬として成功する例は全体のごく一部)こと、またネガティブデータも少ない(失敗した結果はデータとして残ることが少ない)ことが多い。今後データに基づく判断を行っていくためには、様々な知見や得られたデータを整理してデータベース化していくことが必要であると考えられる。

これまで研究者が知識と経験を基に仮説を立て、試行錯誤を繰り返しながら解を探してきた過程にAI技術を導入することで、大量の複雑なデータからより効率的に最適解を導くことができるようになっていくと考えられる。研究者の役割は、どのようにAIに学習させるか、出てきたデータをどう確認し、応用に繋げていくかということとなってくる。今後は、従来のプロセスの一つ一つをAIに置き換えるのではなく、研究者がAIをどう使いこなせば最終的なゴールに効率よくたどり着けるかを考慮した新たなプロセスが構築されていくと考えられる。

また、AIは学習し続けるツールである。最初のモデルの成績が悪くとも、異なる角度から得られたデータを追加したり、間違えを正して再学習させたりすることで、精度はどんどん高まっていく。地道に付き合うことで、これまで人の能力で把握しきれなかった複雑な情報を整理し、新たな知見を導くことが可能になると考えられる。

### 参考文献

- 1) Alber M et al. (2019) iNNvestigate neural networks! J Machine Learning Res. 20.
- 2) Bach S et al. (2015) On pixel-wise explanations for non-linear classifier decisions by layer-wise relevance propagation. PLoS ONE. 10(7):e0130140.
- 3) Campbell JD et al., (2018) Genomic, pathway network, and immunologic features distinguishing squamous carcinomas. Cell Rep. 23(1):194-212.e6. Dar 2016
- 4) Huesken et al. (2005) Design of a genome-wide siRNA library using an artificial neural network. Nat Biotechnol. 23(8):995-1001.
- 5) Lee et al. (2020) Deep learning detection of prostate cancer recurrence with 18F-FACBC (fluciclovine, Axumin®) positron emission tomography. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 47(13):2992-2997.
- 6) Mysara et al. (2012) MysiRNA: Improving siRNA efficacy prediction using a machine-learning model combining multi-tools and whole stacking energy ( $\Delta G$ ). J Biomed Inform. 45(3):528-34.
- 7) Nobashi et al. (2020) Performance comparison of individual and ensemble CNN models for the classification of brain 18F-FDG-PET scans. J Digit Imaging. 33(2):447-455.
- 8) Yu G and He QY (2016) ReactomePA: an R/Bioconductor package for reactome pathway analysis and visualization. Mol Biosyst. 12(2):477-479.

## In vivoでアストロサイトから神経をリプログラム(再生)する技術

1 : Chen YC et al., Mol Ther. 2020 28 217-234.  
 2 : Wang LL et al., Cell. 2021 S0092-8674 01052-7.  
 3 : Chen G et al., bioRxiv 2021  
 4 : Maimon R et al., Nat Neurosci. 2021 24. 1089-1099.

### キーワード

- Astrocyte to neuron (AtN)
- conversion
- NeuroD1
- PTB1

### 要旨

アデノウイルスベクター (AAV) による NeuroD1 発現で AtN に成功したグループ<sup>1,3</sup> と再現できなかったグループ<sup>2</sup>がある。

PTB1 ノックダウンによる AtN に成功したグループ<sup>4</sup>と再現できなかったグループ<sup>2</sup>がある。

観察期間、AAV濃度、モダリティの違いの点が双方で議論されている。

### 背景

アストロサイトを神経細胞に in vivo で転換する技術 (AtN) を成功させてきた NeuExcell 社/Jinan University/Chen 先生らは、Roche グループの Spark 社と提携し、臨床開発が始まろうとしている (milestone >\$190 M)。一方で、AtN に慎重になるよう述べたグループがある。Texas University/Zhang 先生のグループは AtN で観察されている結果は、アストロサイト特異的プロモーターでも神経に発現がリークしており、ミスリードしている可能性を Cell 誌<sup>2</sup>に報告した。今回のサイエンスカフェでは、成功派<sup>1,3,4</sup>と慎重派<sup>2</sup>による双方の論文を紹介した。また、互いの議論が公開されており、共有した。

### 成功派 NeuExcell 社/Chen 先生<sup>1,3</sup>

GFAP プロモーター下で NeuroD1 が発現するアデノウイルスベクター (AAV) をマウス脳に導入したところ、135日目時点でアストロサイトが、主に興奮性神経に転換し、脳梗塞後の脳萎縮も改善すると示した。さらに、ポストシナプスで興奮性と抑制性シナプス後電流が観測された。最後に、脳梗塞に伴う運動機能が劇的に改善すると示した<sup>1</sup>。

### 慎重派 Texas University/Zhang 先生<sup>2</sup>

成功派 Chen ラボで用いられている AAV 濃度域、さらに 10 倍程度濃い条件で追試したが、神経細胞の数を表す NeuN の数は 90 日目では変わらなかった<sup>2</sup>(Chen ラボは 135 日目<sup>3</sup>)。また、GFAP プロモーター制御したはずの NeuroD1 が、内在性神経細胞の 20% 以上でリークしていた。アストロサイトの運命であった細胞の大部分が、神経に移行する再現は得られなかったと結論付けた。このことから、大部分はプロモーターの発現リークを観察しており、AtN をミスリードしている可能性を指摘した。この結果を受けた Chen ラボは観察期間を 135 日まで延ばす事と AAV 濃度をさらに減らして欲しい要望をしたとの事<sup>3</sup>。現在精査中との事である。

### IONIS 社が成功させた PTB1 ノックダウンによる AtN に対しても、Texas University/Zhang 先生は慎重派

IONIS 社は PTB1 を Gapmer でノックダウンすると、アストロサイトの 5% 程度が神経細胞に転換されると報告してきた<sup>4</sup>。さらに PTB1 Gapmer が加齢に伴う新規物体認知障害を改善するとも示した。一方で、慎重派の Zhang 先生は、PTB1 shRNA の AAV では PTB1 ノックダウンが 80% 以上生じるものの、神経細胞が一切増えないと示した<sup>4</sup>。

## PwP (people living with Parkinson's) が設立した研究所 Cure Parkinson's が取り組む Drug Repurposing

Narita, et al., Ann Clin Transl Neurol, 2016, 3, 200-215  
 Mullin, et al., JAMA Neurol, 2020, 77, 427-434  
 Inherit Metab Dis (2014) 37:643-648  
 Neuropharmacology 49(8) 2005 1220-1227<sup>(4)</sup>

### キーワード

- Parkinson's disease
- Tom Isaacs
- Cure Parkinson's
- Drug Repurposing
- iLCT
- Ambroxol
- GCase
- GBA1

### 要旨

PwP であり、49 歳で亡くなった Tom Isaacs が設立した研究所が Cure Parkinson's 財団 (以下 Cure Parkinson's) である。

Cure Parkinson's は、患者視点の治療法開発研究を主な事業としている。その中に、Drug Repurposing がある。

Cure Parkinson's は、Drug Repurposing の国際共同治験を進めている。

Ambroxol は、Cure Parkinson's の開発パイプラインの一つであり、脳脊髄液中の GCase 蛋白量並びに活性を増加させる作用がある。この薬剤は、ゴーシェ病とパーキンソン病の有望な候補治療薬である。

### 背景

Tom Isaacs (1968 年 4 月 2 日 - 2017 年 5 月 31 日) はイギリスの慈善募金家であり、The Cure Parkinson's Trust の設立者、代表である。20 代半ばにパーキンソン病と診断され、財団を設立し、医学研究のために総額約 35 万ポンドを集めた。Isaacs は、2012 年から 2017 年にかけて行われた GDNF 治験の参加者の一人であり、41 人のパーキンソン病患者が、パーキンソン病の原因となる細胞を修復することを期待して、薬物を脳細胞に直接送り込むことを可能にするインプラントを導入する手術を受けた。Isaacs は試験終了後、心不全で急死した。彼の死後、パーキンソン病の研究者を称えるために Tom Isaacs (トム・アイザック) 記念賞が設立された。

### Drug Repurposing とは?

一般的に、ある病気や症状の治療のために既に承認されている医薬品が、別の病気や症状の治療に安全かつ有効であるかどうかを調べることを指す。安全性の情報が蓄積されているため、前臨床や臨床試験の phase 1 を省略できることもあるため、医薬品の開発スピードを画的に短縮できると期待されている。

### Cure Parkinson's の事業

パーキンソン病の疾患修飾薬などの治療法を提供する可能性のある前臨床科学と臨床試験を提供することを目的に活動している。主要な国際共同治験 (iLCT) プログラムを通じて、新しい治療法をできるだけ早く PwP で臨床試験するために、治療法のスクリーニングと優先順位付けを行っている。薬剤が選定されると、国際的な病院ネットワークと連携し、臨床試験を立ち上げ、実施する。

### Ambroxol

Ambroxol はリソソーム酵素である GCase の分子シャペロンとして機能している (Maegawa ら、2009 年)。GCase 遺伝子 (GBA1) の機能低下は、パーキンソン病やレビー小体型認知症 (DLB) の主要な遺伝的危険因子である。GCase 活性と  $\alpha$ -シヌクレインには関連性があり、GCase の欠損は、病理学的に  $\alpha$ -シヌクレインの蓄積を引き起こすが (Cullen ら、2011 年)、GCase を脳内で過剰発現させると、Synucleinopathy のマウスモデルにおいて病理学的症状や記憶障害が軽減される (Sardi ら、2011 年)。GBA1 変異のない特発性 PD および DLB の症例でも、GCase 活性が低下しており、GCase の低下は、疾患発症の早期化および認知・非運動症状の悪化と相関している (Gegg ら、2012 年、Chiaasserini ら、2015 年)。GBA1 変異はもともと、スフィンゴ脂質の蓄積を特徴とするライソソーム貯蔵障害であるゴーシェ病のパーキンソニズムの原因として同定され、一部の症例では  $\alpha$ -シヌクレインの病理も認められている (Lwin et al, 2004; Mazzulli et al.)。国際共同臨床試験 (iLCT) 委員会は、パーキンソン病患者を対象に Ambroxol の臨床試験を優先的に実施している。Ambroxol やこのクラスの GCase 増強剤と呼ばれる薬剤は、パーキンソン病の進行を食い止めるための有望な研究対象であることが示唆されている。iLCT 委員会は、この事実とその他の証拠に基づき、Ambroxol を優先的にパーキンソン病患者を対象とした臨床試験で検証する事になり、Cure Parkinson's が共同出資する英国ベースの臨床試験が行われた。この試験の結果やその他の世界的な研究により、Ambroxol やその他の GCase 増強剤は、パーキンソン病の有望な潜在的治療法であることがさらに裏付けられている。

担当者 鈴木 俊也 所属 大塚製薬株式会社 専門 神経疾患

一言 AtN の観察期間、AAV 濃度、モダリティの違いがあり、現状は、自ら精査・確認が必要な技術であると私は感じた。現状は、AtN の割合が低く、ミスリードしやすいため、今後さらに強力な誘導因子を組み合わせ、カイゼンされる可能性がある。神経疾患を根治出来る技術であり、引き続き着目していればと考えております。

✉ Suzuki.Shunya@otsuka.jp

担当者 鈴木 桂 所属 あすか製薬 専門 薬理学、内分泌学、産科婦人科学、神経学、データサイエンス、医療政策学、医療経済学、生命倫理学、動物実験倫理、Patient Engagement、Patient Advocacy、メディカルアフェア

一言 進行期の神経難病患者としての視点で動いていることが多いです。

✉ suzuki-k@aska-pharma.co.jp

## 微生物叢ssRNAは腸Piezo1を介して骨形成を制御する

Sugisawa et al., 2020, Cell, 182, P609-624. e21.

### キーワード

- Piezo1
- 微生物叢
- 5-HT
- 骨形成
- 加齢

### 要旨

腸上皮Piezo1は腸と骨の恒常性を維持。

ssRNAはPiezo1の天然リガンド。

RNase Aの結腸注入は腸の運動性を抑制し、骨量を増加。

腸のssRNA-Piezo1軸は、5-HT合成を制御。

### 背景

平均寿命の延長とともに、加齢に伴う生理機能低下に起因する疾患に罹患する人口が世界的に増加しています。加齢に伴うエストロゲン分泌の低下は、骨粗しょう症の一因です。骨をつくる骨芽細胞と骨を壊す破骨細胞の数や機能は、エストロゲン以外にも様々なファクターにより制御されていることが知られています。例えば、腸上皮から分泌されて腸の蠕動運動に関わる5-HTは、骨芽細胞機能を抑制、骨量低下させます。今回の報告では、腸内微生物叢由来ssRNAがPiezo1を活性化することにより下流で5-HT分泌が盛んになり、骨量低下に至ることが明らかとなりました。

### 腸上皮Piezo1は5-HTを介して骨形成を制御

腸上皮特異的Piezo1KOマウスでは、腸における5-HT合成の律速酵素であるThp1発現量減少、腸由来5-HT分泌減少、骨芽細胞活性亢進によって骨量増加していました。このマウスの解析により、Piezo1は「腸の蠕動運動」「骨量調節」に関与することが明らかとなりました。

### 糞便中RNA、ssRNAはPiezo1の天然リガンド

Piezo1は細胞膜の張力変化に応じて活性化される受容体として知られています。しかし、腸上皮細胞のPiezo1は機械刺激によって活性化されなかったことから、Piezo1を活性化する天然リガンドの存在が示唆されました。糞便抽出物を用いたカルシウムイメージングの結果、Piezo1のリガンドは糞便より抽出したタンパク質、DNAや二本鎖(ds)RNAではなく、一本鎖(ss)RNAであることがわかりました。さらに初代培養腸上皮を用いた試験の実施により、ssRNAが腸上皮細胞のPiezo1を活性化し、5-HT産生を促すことが明らかとなりました。

### 加齢による骨量低下は微生物叢RNAの増加による

加齢により骨形成が低下し、骨密度が低下することが知られています。老齢マウスでは、糞便中RNAの増加、RNase A発現低下、血清中5-HT増加がみられました。加齢によるssRNAを介した5-HT産生亢進の可能性を検証したところ、RNase Aの毎日の結腸注入により、腸内ssRNAを除去すると、骨量と骨形成マーカーの有意な増加がみられました。腸におけるssRNA量の制御は、加齢に伴う骨密度低下に対する有望な治療戦略となるかもしれません。

担当者 兼子 佳子 所属 レナセラピューティクス株式会社 専門 骨生物学、細胞生物学、核酸医薬

一言 40代以上の5人に4人がロコモティブシンドローム(ロコモ)またはその予備軍と考えられています。COVID19の流行で家にこもりがちになり、ロコモ予備軍はさらに増えるかもしれません。私はロコモ予防の一環として、ウインドサーフィンを始めました。普段使わない筋肉にカツを入れ、風を読み、セイルとボードを操る。海面を滑る、爽快感はヤミツキになります。

✉ k.kaneko@renatherapeutics.com

## ターゲットRNA編集：転写後調節を研究するための新しいツール

Mol Cell. 2022 Jan 20;82(2):389-403.  
Science. 2017 Nov 24;358(6366):1019-1027.  
Science. 2019 Jul 26;365(6451):382-386.  
Cell Commun Signal. 2021 Aug 11;19(1):84.  
Clin Immunol. 2021 May; 226: 108699.

### キーワード

- RNA editing
- ADAR
- Cas13
- REPAIR
- RESCUE
- eRESCUE
- Covid-19

### 要旨

ヒト内因性に存在するADARによるRNA編集活性が利用されたRNA編集技術が注目を集めている。

RNAを標的とするCas13システムとADARによるRNA編集活性が組み合わせられ、ターゲットRNA編集によるアミノ酸置換に応用されている。

COVID-19のRNAゲノム編集にもADARなど宿主RNA編集酵素が関与し、感染力の向上に関与しているかもしれない。

### 背景

“Step aside CRISPR, RNA editing is taking off.” Reardon S. Nature 2020のタイトルである。2012年に Univ. of Tübingenの T. Stafforstらによって、ADARとguide RNAを融合することでRNA上での点変異編集が可能であることを示す論文が発表された。しかし、同年のCRISPR-Cas9によるヒトDNA編集の発表が熱狂を巻き起こす中、注目されなかった。しかし、Cas9がヒトの免疫応答を起こし、オフターゲットDNA編集によるリスクが臨床展開における課題と考えられつつあり、ここ数年間、RNA編集はDNAを改変することなく特定の器官や組織において発現するタンパク質を一時的に改変することが可能という利点から“CRISPRと並んで”注目を集めている。

### ADAR(Adenosine Deaminase Acting on RNA)

RNA編集で最も利用されている酵素が自然界に元々あったADAR[AからI(A>I)変換し、細胞内で更にI>Gに代謝する]であり、Xenopus oocyte核抽出ADARを用いた研究は古くから実施されていた。ADAR1と2は全身に発現し、特にADAR2は神経細胞に強く発現している。ADARはバクテリア由来のCas9と異なりヒトタンパク質であることから、免疫応答のリスクを伴わない利点があるが、塩基編集の効率と多様性についてはCas9およびその応用技術に劣る。

### Cas13のRNA編集の応用例

RNAを標的とするCasの代表であるCas13の発見以降、数多くのCRISPRベースのRNA編集が考案されてきた。最初に作られたものがREPAIRであり、Prevotella sp由来Cas13のinactivated form(dCas13)にADAR2cd(触媒ドメイン)をfusionしたものである。ADAR2cdに点変異を入れてアデノシンデアミナーゼ活性(A>I変換)にシトシンデアミナーゼ活性(C>U変換)を追加したものをRiemerella anatipestifer由来dCas13に繋いだものがRESCUEであるが、RNA編集効率は低かった。そこで、RESCUEにnuclear export sequence (NES)をfusionすることによって編集効率の改善したものがeRESCUEである。Cell Commun Signal.の報告では、293T細胞の内因性mRNAにおいて、A>Iでは最大75%、C>Uでも最大45%の変換効率が示された。また、IKKのSer177コドン>AGU>GGU変換し、Ser>Gly置換によってアミノ酸リン酸化が不可能となり、下流シグナルの低下が示され、免疫抑制薬の可能性が示された。

### SARS-CoV-2上のRNA編集

新型コロナウイルスSARS-CoV-2のゲノム(ssRNA)で繰り返される変異の大部分はADARを介したA>G、及びAPOBECを介したC>U置換であると考えられるが、そのゲノム上にRNA編集酵素はコードされておらず、ヒトゲノム上のRNA編集酵素を介したものである。デルタ株における変異の一つ(D614G)は、スパイクタンパクのRNA上のA>Gを原因とし、これによって感染力が10倍以上向上したと言われている。

担当者 中島 康祐 所属 武田薬品工業株式会社 専門 神経筋疾患、ターゲットディスカバリー、細胞生物学

一言 今回は、転写後調節を研究するための比較的新しいツールとしてターゲットRNA編集の最近の報告について調査したので報告いたしました。未だに猛威を振るう新型コロナウイルスではありますが、RNAワクチン関連技術と同様に、RNA編集技術の研究の加速につながる事が予想されます。

✉ kosuke.nakashima@takeda.com

## Nascent Ribo-SeqはリボソームのmRNAへのローディングにかかる時間を測定可能にし、翻訳効率に与える影響を明らかにする。

Schott et al., 2021, Nature Methods, volume 18, pages1068-1074  
PMID : 34480152

### キーワード

- 遺伝子発現
- mRNA
- Ribosome
- 翻訳効率
- Nascent Ribo-seq

### 要旨

従来のmRNAの翻訳効率を測定する手法では、“細胞質のmRNA量の変化が、翻訳の変化に即時反映される”ことが前提とされていた。

筆者らは、内在性mRNAのリボソームへのロードまでのラグを解析する手法を初めて確立した。

細胞質mRNAの量の変化に対して、翻訳の変化は約20-22min遅れてくることが明らかになった。

遺伝子や細胞の環境によっては、上記のラグが生じやすいため解析に注意が必要である。

### 背景

遺伝子発現は、種々のリガンドへの応答や、環境の変化に対応して迅速に変化します。特定の遺伝子における翻訳のコントロールは、遺伝子発現に重要な役割を果たすことが示され、翻訳を制御する数々のメカニズムが研究され、翻訳効率を解析する方法も数多く樹立されてきました。

一方で、もし新たに転写されたmRNAが細胞質に出てから翻訳されるまでに時間がかかっているとすると、細胞質mRNA量の変化と翻訳量の変化にはラグがあることになり、従来の解析方法ではデータの解釈に影響を与える可能性が示唆されていました。

筆者らは、mRNA発現からリボソームへのロードまでのラグを解析する手法を世界で初めて確立し、mRNAの発現と翻訳の関係をより精密に示しました。

### Nascent Ribo-Seq (nRibo-seq)

従来の方法では、total RNA seqとリボソームにカバーされたmRNA断片のsequencing(Ribo seq)によって、全mRNA中の翻訳効率を解析していた。この手法では、mRNA転写量の変化の翻訳の変化への即時反映が前提となっていた。筆者らは、新たに転写されたmRNA(nascent mRNA)のチオウリジン標識を従来の方法に加えることでnascent mRNA断片のsequencing(nRibo seq)を行い、リボソームへのloading timeを解析する方法を構築した。

### mRNAのリボソームへのloading timeの検出

RAW264.7 macrophagesにおけるnRibo-seqの結果、total mRNAで見た場合に、転写から翻訳までに20-22minのloading time(ラグ)が生じていることが分かった。また、遺伝子のカテゴリごとの解析により、細胞周期に関わる遺伝子群はラグがほぼなかったこと、mRNAの翻訳効率が高いmRNAほどラグが小さいことを明らかにした。この傾向はほかの細胞種でも同様に観察され、遺伝子の機能や特徴によって、mRNAが転写されてからどれだけ即時に翻訳されるかが制御されていることが示唆された。

### nRibo-seqはより正しい翻訳効率の変化を反映しうる

次に筆者らは、従来のRibo-seqとnRibo-seqでLPS刺激後の翻訳効率の変化を解析し、その違いを考察した。従来の方法では、細胞刺激後に翻訳効率が上昇していたと判断される遺伝子でも、nRibo-seqによる解析では真逆の結果を示す場合があることが明らかとなった。

本研究により、mRNAの転写から翻訳が変化するまでにはラグが存在し、しかも遺伝子ごとに異なる場合もあるため、従来の方法では局所的な翻訳効率の変化をとらえきれない可能性がデータのみに明らかとなった。

担当者 松木 泰子 所属 武田薬品工業株式会社 専門 バイオマーカー、RNA生物学、神経系疾患

一言 これまで私自身も、細胞刺激10、20、30分後…などのサンプリングで遺伝子発現とタンパク質発現解析から相対的な翻訳効率を算出したこともありましたが、そのようなデータが本当に時間的に局所的な変化を反映しているかどうか、改めて考えさせられる文献でした。

✉ yasuko.matsuki@takeda.com

## AIMはDAMPsの除去を促進し、脳梗塞の予後を改善する

Maehara et al., 2021, Cell Rep., Volume 36, Issue 11

### キーワード

- AIM / CD5L
- 脳梗塞
- DAMPs
- スカベンジャーレセプター
- 貪食

### 要旨

健常時にはほとんど脳内に存在しないAIMが脳梗塞発症により急激に発現上昇する。

AIMはマウス脳内の梗塞巣において、死細胞やそこから放出されたDAMPsにジスルフィド結合を介して結合する。

AIMが付着することによってDAMPsなどの除去・不活化が促進され、結果として脳梗塞発症後の生存率や神経症状が改善される。

マウスにおいて、脳梗塞発症後に組換えAIMを投与すると予後の改善が見られた。AIMが脳梗塞に対する新たな治療法となることが期待される。

### 背景

AIM(Apoptosis inhibitor of macrophage)は、組織マクロファージによって産生される血中タンパク質です。AIMは通常血中でIgM五量体と結合してその機能が不活性化されていて、疾患発症時にIgM五量体から解離して活性型になるというユニークなタンパク質です。AIMは死細胞に付着することでマクロファージによる貪食を促進するという性質を持ち、脂肪肝、肝臓癌、肥満、真菌性腹膜炎、多発性硬化症など様々な疾患に対し抑制的な効果を示すことが明らかになっています。最近では、猫の腎臓病を予防・治療することができる可能性を持つ分子ということでメディアに取り上げられるなど大きな注目を集めました。このように、AIMが様々な疾患に対し治療効果を持つ可能性があることから、今回、東京大学 分子病態医科学部門の宮崎教授のグループは、脳梗塞に対するAIMの効果を検証しました。

### 脳梗塞発症時に脳内でAIMの産生が増加する

健常時には脳内におけるAIMの産生はほぼなく、血中に存在するAIMも血液脳関門(BBB)を通過しないため、脳にはAIMは存在しない。しかし、脳梗塞を発症すると、脳内のミクログリアや梗塞巣に浸潤したマクロファージによってAIMが産生され、脳内におけるAIM量が顕著に増加していることが判明した。

### AIMは死細胞やDAMPsに結合し、そのマクロファージによる貪食除去を促進する

脳内で産生されたAIMは壊死した神経細胞に結合することでマクロファージによる貪食を促進していることが明らかとなった。このような現象はヒトの脳梗塞患者でも確認された。さらに、AIMはDAMPsに対しても結合し、その除去を促進することが判明した。AIM欠損マウスでは、脳梗塞発症後の脳内DAMPs量が野生型と比較して有意に多く、その結果脳内の炎症も重度であった。DAMPsはTLRやRAGEなどに結合して炎症性サイトカインの発現を誘発するが、AIMは一部のDAMPsの受容体への結合を阻害することも分かった。AIMが死細胞やDAMPs除去を促進し、二次的に引き起こされる炎症反応を抑制する結果、AIM野生型マウスではAIM欠損マウスと比較して脳梗塞後の生存率が有意に高く、神経症状もマイルドであった。

### AIMは脳梗塞に対して治療効果を持つ

脳梗塞発症後の一定時間はBBBが障害を受けているため、タンパク質の移動が可能になることが報告されている。脳梗塞発症後に組換え体AIMを経静脈的に投与すると、投与したAIMは脳に到達していた。さらにAIMの投与によって脳梗塞発症7日後における生存率と神経症状が有意に改善することが明らかとなった。AIMによって死細胞やDAMPsの除去・不活化を促進することによって炎症を抑制することが、脳梗塞の新たな治療法となる可能性が示された。

担当者 平本 絵美莉 所属 キリンホールディングス株式会社 専門 腎疾患、タンパク-タンパク間相互作用

一言 AIMは「死細胞や老化細胞など体の中の不要物を除去することで病気を予防・治療する」という教授の研究方針に感銘を受けて、私が学生時代を注いだ思い入れの強いタンパク質です。予防医療がより広がっていくように、食を通じた研究を行っていきたいです(と思いながら自分自身食生活をあまりは正できていないのですが…)。

✉ Emiri\_Hiramoto@kirin.co.jp

## ヒトALS/FTD脳オルガノイドスライス培養は明確な初期のアストロサイトと標的可能な神経の病理を示す

Szebényi, et al., 2021, Nat Neurosci, 24, 1542-1554

### キーワード

- 大脳皮質オルガノイドスライスモデル
- ALS/FTD
- C9ORF72
- 患者iPS細胞
- 小胞体ストレス応答

### 要旨

前頭側頭型認知症(FTD)を合併する筋萎縮性側索硬化症(ALS)は、認知機能の低下と麻痺を特徴とする致死的で治療法がない病気である。

患者から検体を得るのは不可能だが、患者iPS細胞由来の脳オルガノイドモデルをスライス培養することで初期の病理の解析が可能であることを示唆した。

アストロサイトでオートファジーの異常、神経細胞でジペプチドの異常な蓄積、DNA損傷、核萎縮による細胞死が再現された。

各疾患フェノタイプが、小胞体ストレスを緩和する薬剤で改善することを示唆した。

### 背景

神経変性疾患のような中枢神経系疾患では、患者の検体で病気の発症タイミングや細胞種特異的な分子レベルの解析ができないため、治療薬の開発につながっていない。しかし、近年の患者iPS細胞を用いた脳オルガノイドモデルは、細胞種特異的な病理を解析できる可能性を示し始めている。著者らは脳オルガノイドをスライス培養することで長期間の細胞生存と成熟化が可能であることを世界で初めて報告している(Nat Neurosci, 2019)。今回、筆者らはC9ORF72遺伝子変異をもつ前頭側頭型認知症を合併した筋萎縮性側索硬化症の患者iPS細胞から得られた大脳皮質脳オルガノイドスライスを解析した。そして、本評価系が治療標的になりうる細胞種特異的な初期の病態を示すことを報告した。

### 大脳皮質オルガノイドからスライス培養による成熟化

C9ORF72遺伝子変異はALSとFTDで共通することが知られている。そのイントロン1のヘキサヌクレオチドリピート(GGGGCC)数の増加が、本来の機能損失、RNA毒性、ジペプチド毒性につながるとされる。著者らが健康株とC9ORF72変異患者株のiPS細胞からオルガノイドモデルを作製して、50日目までスライス培養をして150日目まで細胞構成比を比較した所、両株とも類似したポピュレーションであった。成熟度を胎児脳と比較すると、両株共に161-182日目の段階と類似していた。機能面をシナプス数と自発発火数を調べた所、どちらも健康株と疾患株で同レベルであった。

### 疾患株では細胞内の恒常性が不安定になってくる

ScRNA-seqによる発現変動解析の中で、CTIP2陽性のDeep layer neuron(DLN)とアストログリアが、それぞれ316、179個と変動遺伝子数が最も多かった。転写因子のネットワーク解析から、小胞体ストレス、酸化ストレス、小胞体ストレス応答、DNA損傷が疾患に特徴的であることが示唆された。これらをもとにタンパク質レベルでの解析により、疾患株でジペプチドであるpolyGAの蓄積、リン酸化eIF2 $\alpha$ ・PABP1・p62増加が確認できたことから、小胞体ストレス応答とオートファジーの異常が示唆された。さらにアストロサイト特異的にp62の数とサイズの増加が確認され、DLN特異的にDNA損傷のマーカー( $\gamma$ H2AX)の増加が確認された。

### 小胞体ストレス応答の抑制が疾患フェノタイプを改善する

ジペプチド(polyGA)の蓄積が小胞体ストレス応答につながっていることから、著者らはeIF2 $\alpha$ の活性化に関わるリン酸化酵素PERKの阻害剤が疾患フェノタイプを改善するか検証した。その結果、PERK阻害剤はDLN特異的なジペプチド蓄積レベルの減少、DNA損傷増加の抑制、細胞死の一つである核萎縮pyknosisの増加を抑制した。これらの結果から本評価系を用いる事で、疾患での細胞種特異的な初期の病理に着目した解析の可能性が示唆された。

担当者 吉田 俊介 所属 株式会社ケイファーマ 専門 細胞生物学、発生・分化、中枢神経疾患

一言 iPS細胞の技術が活きる分野として創薬が挙げられます。患者iPS細胞を用いた研究は病気の原因だけでなく治療薬開発に活かされています。ALS患者由来iPS細胞の研究で見出されたドラッグリポジショニング薬は、医師主導治験に進み成果が出始めました。今後、患者iPS細胞で創薬の加速が期待されますが、神経変性疾患以外にも精神疾患のように中枢神経疾患には複雑な病態を再現できず、創薬に至らない希少疾患もあります。このような中枢神経疾患に対して、患者iPS細胞による創薬に興味があり、今後もこのような研究が進むことを期待しています。

✉ shunsuke.yoshida@kpharma.co.jp

## Jpx RNAによるCTCFアンカーサイトの選択と染色体ループの形成調節

Oh et al., 2021, Cell 184, 6157-6173

### 背景

染色体構造は、発生、恒常性の維持、疾患の過程で動的に変化します。CCCTC結合因子(CTCF)は染色体のループを固定して3次元ゲノムを構築することが知られていますが、アンカー部位の選択様式に未解明な部分が残っています。本論文でlong noncoding RNA(lncRNA)のJpx RNAがアンカーの選択に寄与することが明らかになりました。Jpxの枯渇でCTCFが異常に結合し、大規模に染色体ループが変化し、700個以上の遺伝子が抑制されます。Jpxは低親和性のCTCFモチーフを狙い、競合的阻害によってCTCFタンパク質を除いていました。このことから、JpxはCTCFの放出因子として働き、アンカーサイトを制御することで3次元ゲノムを調節することがわかりました。lncRNAが染色体の構造を制御し、遺伝子の発現まで調節するという数少ない例を示した論文です。

### キーワード

- lncRNA
- 染色体構造
- クロマチンループ
- 遺伝子発現調節

### 要旨

Jpx RNAはマウスゲノムの数百種類の遺伝子に結合し、活性化させる。

Jpx RNAは低親和性で発生に重要な部位に結合したCTCFを選択的に除去させる。

Jpx RNAの抑制により、CTCFの結合とクロマチンループがグローバルにシフトする。

JpxはCTCFの放出因子として機能し、アンカーサイトの利用を決定する。

### Jpx RNAはゲノムの数千箇所に結合し、遺伝子の発現上昇を調節している

Jpx RNAがプロモーター領域からCTCFを引き離すことでX染色体の発現制御することが知られていた。Jpxのゲノムワイドな作用を想定し、目的のRNAが結合するゲノム箇所を特定するための手法であるCHART-seqを用いて、分化段階のマウスES細胞におけるJpxの結合局在を確認した。Jpxはアクティブなプロモーターによく結合し、標的遺伝子の発現上昇を担っていた。

### Jpx RNAは低親和性のCTCFのゲノム結合と競合する

Jpxが結合したゲノムのサイトから頻度の高いモチーフを計算したところ、CTCFのモチーフに近いことがわかった。実際にJpxをノックダウンするとCTCFの結合箇所が増加し、標的遺伝子の発現が低下することが明らかとなった。特にJpxノックダウンにより新たに発生したCTCFの結合ピークのモチーフは低親和性を示すことが知られるモチーフであったことから、Jpxが選択的にCTCFの低アフィニティーの結合サイトで競合することがわかった。

### Jpx RNAはゲノム規模で染色体ループを制御する

JpxがCTCFの結合パターンを変えることで染色体ループの再編成の可能性が推定される。その可能性を検証するために、in situ Hi-Cを行い染色体ループの網羅的な探索を行った。JpxのノックダウンによりCTCFの結合が増加し、その結果新たなクロマチンループが形成されていた。さらに低アフィニティーモチーフのサイトにコヒーシサブユニットであるRAD21のピークが増加することも明らかになった。このことからJpxは軽微な結合のCTCFを取り除き、クロマチンの再編成を規定することがわかった。

このような機能をもつlncRNAがJpxのほかにも存在するかもしれない。また反対にJpxと競合する因子はCTCF以外にも存在すると考えられる。

担当者 市島 ホセ 所属 武田薬品工業株式会社 専門 RNA生物学、神経系疾患、iPS細胞

一言 どうしても自分の担当している業務の関連論文や知見ばかりに目が行きがちで、研究的な視野が狭くなり、いつの間にか業界の主流トレンドに近いアプローチをとってしまうことを痛感します。サイエンスカフェではあらゆる分野から専門家が幅広く発表してください。自分の力だけでは理解することができなかった話を分かりやすく説明してくださいますので、貴重な場として大変助かります。自分の発表も誰かの研究に違った視点のきっかけを与えられたらいいと思います。

✉ jose.ichishima@takeda.com

## 変異型ハンチンチンはミトコンドリアRNA遊離と神経性自然免疫活性化を引き起こす

Lee et al., 2020, Neuron, 107(5): 891-908

### キーワード

- ハンチントン舞踏病 (HD)
- TRAP解析
- シングル核遺伝子発現解析
- ミトコンドリアRNA (mtRNA)
- 自然免疫活性化

### 要旨

HDにおいて変異型ハンチンチンが細胞死を引き起こす機構はこれまで十分に解明されていない。

TRAP解析とシングル核遺伝子発現解析により、HDモデルマウスとHD患者の有棘投射神経細胞においてmtRNAの発現増加が見られた。これらの結果はmtRNA (: 自然免疫応答のトリガー) が細胞質に放出された事を示唆する。

HDモデルマウスにおいて自然免疫シグナルの亢進が見られ、さらに放出されたmtRNAが自然免疫センサーPKRに直接的に結合し得る事が示された。

担当者 荒川 佑一 所属 Axcelead Drug Discovery Partners Inc. 専門 中枢性疾患創薬

一言 これまでサイエンスカフェにおいてシングル核遺伝子発現解析に注目して論文紹介を行ってきました。通常、シングル核遺伝子発現解析はpre-mRNAの挙動を中心に見ていきますが、本論文ではミトコンドリアDNAから転写されるミトコンドリアRNAの動きに着目しています。筆者の着目点に興味を持ったので、今回紹介させて頂きました。

✉ yuuichi.arakawa@axcelead.com

### 背景

HDはハンチンチン遺伝子 (*HTT*) のエクソン1のCAGリピートの異常伸長が原因の神経変性疾患である。その変異型ハンチンチン遺伝子 (*mHTT*) がHDにおいて細胞死を引き起こす機構は十分に解明されていない。またHD患者の線条体の間接路有棘投射神経細胞 (iSPN: “indirect pathway” spiny projection neurons) での脆弱性が高い事は知られているが、この細胞種の特異的な遺伝子発現は十分に解析されていない。そこで、TRAP (Translating ribosome affinity purification) 解析とシングル核遺伝子発現解析 (シングル核解析) により、HDモデルマウス [CAGリピートの異常伸長を持つヒト型 *mHTT* のノックインマウス (R6/2、zQ175) など] の脳組織とHD患者 (grade2-4) の死後脳組織を用いて細胞種特異的な遺伝子発現解析を行った。

### 線条体の有棘投射神経細胞でのmtRNAの発現増加

HD患者のシングル核解析、およびHDモデルマウス (R6/2、zQ175) のTRAP解析において、線条体の直接路の有棘投射神経細胞 (dSPN) とiSPNで多くのmtRNA (mtDNAから転写) の発現増加が見られた (iSPNでより高いmtRNAの発現増加)。シングル核解析結果は、複数の細胞種の内、dSPNとiSPNでの特徴的な変化のため、核抽出液への非特異的なmtRNAのコンタミによるものではない。TRAP解析結果はリボソームで翻訳中のRNAを回収するため、リボソーム中にmtRNAが存在する事、即ち、ミトコンドリアから細胞質にmtRNAが放出された事を示唆する。

### mtRNA放出に付随するミトコンドリア機能不全

mtRNAの細胞質への放出はミトコンドリア機能不全の結果として起こる事が報告されている。mtRNA放出に関連する遺伝子発現変化として、HDモデルマウス (R6/2、zQ175) とHD患者のSPNにおいて、核DNAから転写されるミトコンドリア酸化リン酸化 (OXPHOS) 関連遺伝子の発現低下が見られた。さらに、HDモデルマウス (R6/2) の線条体においてOXPHOSの機能的な活性 (指標: OXPHOS複合体 I 活性) の低下が見られた。

### 自然免疫シグナルの亢進とmtRNAの自然免疫センサーPKRに対する結合

mtRNAの細胞質への放出は自然免疫応答のトリガーとなる事が報告されている。実際、HDモデルマウス (R6/2、zQ175) のiSPNにおいて、インターフェロン応答遺伝子の発現増加が見られた。また、自然免疫センサーPKR (Protein kinase R) は細胞内に放出されたmtRNAのセンサーである事が報告されている。実際、免疫沈降法により、HDモデル (R6/2) の線条体においてmtRNAとPKRの結合増加が見られ、放出されたmtRNAがPKRに直接的に結合し得る事が示された。

## 運動によって生じる長鎖ノンコーディングRNA *CYTOR* は、加齢における速筋形成を促進する

Wohlwend et al., Sci. Transl. Med. 13, eabc7367 (2021)

### キーワード

- サルコペニア
- 運動
- 速筋形成
- Long noncoding RNA *CYTOR*
- Tead1

### 要旨

サルコペニアの予防に運動が推奨されているがメカニズムは不明。

既存のヒト骨格筋データセットを解析することで運動後に発現するlncRNA *CYTOR* を抽出。

幼弱マウス *Cytor* ノックダウンによる運動機能低下と加齢マウス *Cytor* 過剰発現による運動機能向上を確認。

メカニズムはlncRNA *CYTOR* によるTead1結合モチーフのクロマチンアクセシビリティ低下。

担当者 守 芳樹 所属 田辺三菱製薬株式会社 専門 有機合成化学、メディシナルケミストリー、DDS

一言 2021年11月に発表のお話をいただいた時は、どのような論文であれば皆さんに興味をもっていただけるか非常に悩みました。以前のサイエンスカフェで加齢に関する演題が盛り上がっていた事を思い出し、検索対象を絞ることで約2ヶ月かけて紹介した文献にたどり着きました。文献では公共のデータベースをうまく活用しており、研究者に求められる資質が時代と共に変わってきているとの印象を受けました。

✉ mori.yoshiki@mh.mt-pharma.co.jp

### 背景

サルコペニアはギリシャ語で筋肉を意味する“sarx”と喪失を意味する“penia”から作られた造語であり、高齢期にみられる骨格筋量の減少と筋量もしくは身体機能の低下がその定義となります。介護予防の観点で注目されている疾患でありながら、承認された治療薬はありません。運動療法が推奨されていますが、運動が筋量の減少を防ぐメカニズムについてはこれまでほとんど解明されていませんでした。筆者らは既報において筋成熟に多くのlncRNAsが影響を与えることに着目し、既存のヒト骨格筋データセット (GSE71972) よりsingle-leg knee-extension exercise後に発現するlncRNAを抽出することから研究を開始しています。Volcano Plotにより*CYTOR*に着目し、さらに別の公共データベースMetamixで運動後の発現を確認することで研究対象として確定しています。

### 運動によってlncRNA *Cytor*が発現し、速筋形成を促進することで運動機能を向上させる

マウスに強制運動をさせることでlncRNA *Cytor* の発現が増加した。マウスは加齢によって *Cytor* の発現とType II筋線維マーカーが減少する。3ヶ月齢幼若マウスの後脚腓腹筋にGapmerを注入することで *Cytor* をノックダウンすると運動機能 (Uphill running distanceとGrip strength) が低下した。また24ヶ月齢加齢マウスにAAV9を用い、筋特異的に *Cytor* を過剰発現すると運動機能が向上した。

### lncRNA *CYTOR* の発現に影響を与えるSNPがヒトの運動機能と関連性がある

GTEXデータベースの筋バイオプシーデータからstrongest *CYTOR* cis-eQTLs rs7436024を特定した。rs7436024はChIP-qPCR解析によって *CYTOR* promoter領域との近接が確認された。

また21人の健常人より採取したmyoblastにおいてrs74360724がAアレルの場合に *CYTOR* が高発現していた。the Helsinki Birth Cohort Studyの解析ではrs74360724がAアレルの場合に6分間歩行距離が優位に長いことが示された。

### lncRNA *Cytor* の発現はTead1結合モチーフのクロマチンアクセシビリティを低下

CRISPR activationによって *Cytor* を過剰発現したマウス横紋筋由来筋芽細胞株C2C12を用いてATAC-seq HOMER analysisを実施したところ、Tead1結合モチーフのクロマチンアクセシビリティが低下していた。 *Cytor* 過剰発現によってII型筋線維形成が亢進するが、この作用はTead1過剰発現でキャンセルされた。また細胞へのTead1 siRNAの添加は *Cytor* 過剰発現と同じ表現系を示すことが明らかとなった。

## SARS-CoV-2 M<sup>pro</sup>阻害薬 ニルマトレルビルの 創製

Owen et al., Science, 2021, 374, 1586-1593.

### キーワード

- コロナウイルス
- SARS-CoV-2 M<sup>pro</sup>
- PF-07321332

### 要旨

重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2型(SARS-CoV-2)によるCOVID-19は、世界的なパンデミックとなった。対策としてワクチンと並び抗ウイルス剤の開発が重要である。

PF-07321332は、in vitroで抗ヒトコロナウイルス活性を有し、in vivoで優れた選択性と安全性を有する経口投与可能なSARS-CoV-2 M<sup>pro</sup>阻害剤である。

PF-07321332は、マウスSARS-CoV-2モデルにおいて感染から保護する作用を示した。健康人を対象とした第1相臨床試験では、in vitroの抗ウイルス効果を示す薬効濃度を超える血中濃度を達成した。

### 背景

ヒトのコロナウイルス感染症は風邪の病原体として一般的であるが、SARS-CoV-1、MERS-CoV、SARS-CoV-2は重篤な症状を示す。SARS-CoV-2は、2021年12月時点で、世界で520万人以上の死亡および2億3500万件の発症が報告されている。ワクチンも開発されているが保管等に関する課題もあり、治療法は限られるため、経口治療薬が必要とされている。SARS-CoV-2ゲノムは、ポリプロテインpp1aおよびpp1abと、4つの構造タンパク質をコードしている。ポリプロテインは、SARS-CoV-2のメインプロテアーゼ(M<sup>pro</sup>)によって11の異なる部位で切断され、ウイルス複製に不可欠な非構造タンパク質となる。M<sup>pro</sup>の基質は、P1部位にGln残基が存在するが、ヒトのプロテアーゼでGlnの後で切断されるものではなく、選択性が得られる可能性がある。プロテアーゼは、HIVやHCVの治療薬のターゲットでもあり、SARS-CoV-2感染トランスジェニックマウスモデルでM<sup>pro</sup>阻害剤の抗ウイルス作用が示されている。これらの事よりSARS-CoV-2のM<sup>pro</sup>阻害は、COVID-19の治療に有効であると考えられた。

### ドナー除去、リンカー部環化による 経口吸収性の改善

リード化合物PF-00835231の共有結合部位であるヒドロキシケトン基をニトリル基へ変換すると、若干の活性低下にとどまる一方、吸収性が改善した。また、ヒドロキシケトン基をベンゾチアゾールへ変換し、さらに中央部アミノ酸部を環化した化合物では活性が残った。これらの結果より、共有結合部位としてはニトリルあるいはベンゾチアゾールユニット、中心部は環化体とすることで、ドナー数を減らし、薬物動態改善を行うこととした。活性向上のため、メトキシインドールユニットを変換した化合物をデザインしたところ、メタンスルホンアミドやトリフルオロアセトアミド基の導入により新たな相互作用を獲得し、活性向上が見られた。PF-07321332のSARS-CoV2 M<sup>pro</sup> Ki値は12 nMと高活性であり、薬物動態も良好であった。本化合物は大量合成にも適しており、開発化合物として進めることとした。

### PF-07321332はin vitro試験、モデル動物で有効

PF-07321332を希釈するとM<sup>pro</sup>活性が回復したため、可逆的な阻害剤である事が分かった。MERS等、コロナウイルス全般への活性を示すと共に、マウスSARS-CoV-2モデルにおいても肺組織の保護効果等を示した。GPCR、キナーゼ、トランスポーター、ホスホジエステラーゼなどの選択性も良好であり、in vivoラット小核試験もクリアした。また、健康人を対象とした第1相臨床試験では、in vitroの抗ウイルス効果を示す薬効濃度を超える血中濃度を達成した。

担当者 佐藤 歩 所属 Axcelead Drug Discovery Partners株式会社 専門 創薬化学

一言 コロナ治療薬を1年という短期間でファイザーが開発できた理由として、1. 過去の研究由来のリード化合物の存在、2. 上司、会社からの適切なサポート、3. メディシナルケミスト、薬理、動態学、毒性学者の適切な論議構築、があった。ファイザーは全社でEnhanced data driven decision makingを用いて開発力を高めている。すなわち、1. 科学に重点を置いている外部パートナーを選択し迅速かつ非官能的な意思決定を行う、2. 「One team」でテーマ運営し、開発プロセスをスピードアップする意思決定組織形態を作ったこと、3. 多額のリスク投資を行うことである。Achieving end-to-end success in the clinic: Pfizer's learnings on R&D productivity (Drug Discovery Today, 2022, 27, 697-704.)も合わせて読みたい。

ayumu.sato@axcelead.com

## CRISPR-Cas9プラスミドDNAのnanoparticle デリバリーによる、血管 内皮におけるゲノム編集

Zhang et al., 2022, Cell Reports, 38, 110196

### キーワード

- PEG-b-PLGA co-polymer (PP)
- Polyethyleneimine (PEI)
- CRISPR-Cas9
- Endothelial Cells
- Multiple Gene Editing

### 要旨

AAVベクターを用いてCRISPR-Cas9 pDNAを送達する場合、「ゲノム編集効率が比較的低い」「パッケージングサイズに制限がある」等の問題がしばしば論じられてきた。

本研究では、Polyethyleneimineを配合したPEG-b-PLGA nanoparticle (PPP)を用いた、新たなCRISPR-Cas9 pDNA デリバリーシステムが開発された。

PPPによりほぼ全ての臓器にpDNAを送達できること、パッケージングサイズにほぼ制限が無いことが示された。

マウスにおいて、血管内皮特異的に複数の遺伝子を同時にノックアウトすることに成功した。

### 背景

血管内皮細胞は、血管の恒常性や細胞外液のバランス維持等において重要な役割を果たしている。動脈硬化症や様々な心血管疾患、敗血症、ARDS等の多くの疾患において、血管内皮の不全が重要な病因として挙げられている。ゲノム編集によりその不全の一部に対応できる可能性があるが、血管内皮特異的なCRISPR-Cas9デリバリーシステムはこれまでに実現していなかった。Cas9及びgRNAを発現するプラスミドDNA (pDNA) のキャリアとしてはAAVベクターが用いられることが多いが、ゲノム編集効率の悪さや、pDNAのパッケージングサイズが問題としてしばしば論じられてきた。本研究において、これらの問題を解決し得るポリマーナノパーティクルを用いたデリバリーシステムが開発された。

### PEG-b-PLGA (PP)/Polyethyleneimine (PEI) を用いたナノパーティクルにより、 主要な全ての臓器にpDNAが送達された

筆者らは、PPをナノ粒子化した後にPEIとのインキュベーションを行うことにより、PP/PEIナノパーティクルを調製した。このナノパーティクルとpDNAの複合体をマウスに単回で静脈内投与すると、主要な全ての臓器にpDNAが送達されることが示された。投与から48時間後に、8時間後の状態と比べて約50%以上のpDNAが肝臓及び胸腺以外の全ての臓器に残存していた。

### 血管内皮細胞に特異的なゲノム編集の実現

CRISPR pDNAにおいて、Cas9のプロモーターとして内皮細胞特異的なhCDH5 promoterを採用することで、血管内皮に特異的なゲノム編集が実現された。内皮細胞では標的遺伝子(p110γPI3K)の発現がタンパク質レベルで約80%ノックダウンされた。このゲノム編集によりPik3cg KOマウスと同様の表現型が再現された。またVegfr2をターゲットとするゲノム編集を行なったところ、肺の血管内皮において肺気腫様の表現型を再現することに成功した。

### 複数の遺伝子を同時に編集することに成功した

PEIは非常にカチオン密度の高いポリマーである。従ってDNAのマイナスチャージを打ち消し高密度に濃縮することが可能であるため、PEIが調合されたナノパーティクルではpDNAのパッケージングサイズにほぼ制限が無いことが期待される。筆者らは、それぞれPik3cg及びVegfr2を標的とする二つのgRNAが挿入されたCRISPR pDNAを作成した。このpDNAとPP/PEIナノパーティクルの複合体をマウスに単回で静脈内投与したところ、単一の遺伝子を標的とした場合とほぼ同じ効率で、二つの遺伝子を同時にゲノム編集することに成功した。

担当者 柳瀬 雄太 所属 武田薬品工業株式会社(派遣社員) 専門 分子生物学、核酸医薬

一言 新たな医薬品や治療法が開発されたとして、その革新性と同じくらい、患者さんがそれにアクセスしやすいかどうか重要であると最近強く感じています。特に、治療にかかる費用は患者さんにとっての大きな関心事ではないでしょうか。本発表で紹介した論文のなかで「plasmid DNAを用いることの利点の一つは、その調製が簡便かつ安価なことである」と言及されていたことが心に残っています。革新的な新薬・治療法が、全ての患者さんにとって馴染みのある、手の届きやすいものであったら本当に素晴らしいと思います。そのような視点を忘れずに、私もライフサイエンスに関わる仕事を行っていきたくと思っています。

yuta.yanase@takeda.com

## 「トロイの馬」大作戦による難治性グリオーマ・神経変性疾患の制御

Zhang et al., 2021, Adv Sci, 8: 2004555.  
Uno et al., 2021, J Control Release, 338: 792-803.  
Muraoka et al., 2019, J Clin Invest, 129: 1278-1294.  
Ma et al., 2022, Chem Soc Rev, 51: 5136-5174.

### キーワード

- トロイの馬
- DDS
- ミクログリア
- レクチン

### 要旨

血液脳関門(BBB)で門番として働くトランスポーターや受容体を欺いて脳内に薬剤を送達させるトロイの馬のような技術がいくつも知られている。

脳内や腫瘍内で重要な役割を担っているマクロファージ(Mac)やミクログリア(MG)にも様々な送達機構が存在する。

BBB通過技術にもMac/MG送達技術にもグルコース認識機構を利用したものがある。今回は、それらを紹介し、難治性グリオーマや神経変性疾患への応用の可能性を展望する。

### 背景

BBBを構成する血管内皮細胞には、ペプチド受容体、低密度リポタンパク受容体、ニコチン受容体、トランスフェリン受容体、グルタチオン結合受容体、インシュリン受容体、グルコーストランスポーターなど様々な受容体(=門番)が発現している。これらを欺いて脳内に薬剤を送達させるトロイの馬のような技術がいくつも知られている。一方、脳内には、造血幹細胞に由来するMacとよく似たMGが、様々な神経変性疾患やグリオーマの免疫抑制環境の形成に関与している。MacとMGにはToll-like Receptorやレクチンなどの種々のパターン認識受容体が知られており、それらを活用して薬剤を送達可能である。特に、レクチンファミリーの中には、リガンドが結合してもシグナルを流さない、もしくは殆どシグナルを流さない分子もあり、薬剤送達の受容体として適している。

### BBB通過技術の応用例

BBBのアセチルコリン受容体を通過できるウイルス由来ペプチドRVG29をnanoparticle(NP)上に結合してトロイの馬とし、NP内にnatural オートファジー誘導剤4,4'-dimethoxy chalcone(nDMC)を搭載した。RVG-nDMC(i.v.)は、パーキンソン病マウスモデルにおいて神経保護作用を発揮した。

### Mac/MG送達技術の応用例

レクチン一種のDectin-1を標的にし、そのリガンドであるシゾフィラン(SPG)にCD40 siRNAを共有結合させたsiCD40-SPG複合体は、in vitroでhPBMCのCD40 mRNA発現を著明に低下させた。サルでは同複合体の投与後に採取したPBMCにおいて、切断されたCD40断片が確認された。同じく、レクチンのDC-SIGNを標的にし、そのリガンドであるブルランにがん抗原を内包して腫瘍移植マウスにs.c.投与すると、リンパ節内のMacに選択的に取り込まれ、腫瘍へのCD8 T細胞浸潤が著明に増加し、TCR-Tのみでは有意な抑制作用が認められなかった治療抵抗性腫瘍をTCR-T併用でほぼ完全に縮小させた。これらレクチンは、MGにも存在することが知られており、グリオーマ治療のためにMGへの薬剤送達にも活用できる可能性が考えられる。

### 今後の展望

興味深い事に、グルコースからなる糖鎖を活用したDDSはMACやMGに親和性がある事が報告されている。今後の研究の進展により、Mac/MG送達技術とBBB通過技術の両方を併せ持った技術が開発されて、難治性グリオーマや神経変性疾患の制御の可能性が期待される。

担当者 渡邊 昭彦 所属 Headland Strategy Group, Inc. 専門 免疫, DDS, 核酸医薬

一言 60半ばに近づきつつあるこの頃、いかに仕事を減らして趣味の植物観察・撮影、家内との旅行に時間を割くかを思案しています。最近、YouTubeを見れば、専門分野の詳細な解説もあり、驚きですね。

✉ aw@headlandstrategy.com, aw@g-hsi.com

## 「マルチブロックメタボロミクス：マルチブロックPCAを使ったメタボロミクス解析

Tanabe et al., 2021, Comput Struct Biotechnol J. 19:1956-1965

### キーワード

- メタボロミクス
- 主成分分析
- 糖尿病
- マルチブロックPCA
- 質量分析

### 要旨

メタボロミクスは内因性代謝物を網羅的に分析する方法である。

メタボロミクスにより得られるデータは主成分分析により、簡素化、視覚化されることが多い。

しかしデータ構造が複雑(たとえば、タイムコースをとったり、複数臓器を比較したり)になると、従来の主成分分析では対応に限界があった。

本論文では化学(ケモメトリクス)において発展した「マルチブロックPCA」をメタボロミクスに応用し、2型糖尿病モデル動物の解析を試みた。

### 背景

質量分析装置や次世代シーケンサーの発展に伴い、限られた時間内に非常に多くのバイオマーカーを同時測定することが可能となった。これらは“オミクス”と呼ばれ、従来の仮説検証型(演繹法的)研究とは異なる、帰納法的な新しいアプローチを生み出した。しかしながら、オミクスから得られる膨大なデータに含まれる潜在要因を抽出し、さらにはそれらをわかりやすく視覚化する解析技術が多数登場したものの、オミクスデータが複雑化するにつれ、これらの解析手法でもユーザーの求める高いレベルの解析に対応することが難しくなっている。今回はメタボロミクスを題材に、「マルチブロックPCA」を使い、複数臓器で起こる代謝変化を視覚的に示した例を紹介する。

### 従来の統計解析技術「ヒートマップ」、 「ボルケーノプロット」では潜在要因を十分に抽出することができない。

これまでのオミクスは「ヒートマップ」、「ボルケーノプロット」による解析が用いられてきた。しかしヒートマップは全体を俯瞰する手法として便利であるが、個々のマーカーの連動性や生物学的意義を問うには力不足である。ボルケーノプロットはある非常に多数のマーカーの中から、ある特定の事象に反応するマーカーを抽出することに優れるが、生物現象メカニズムの解明に使われる手法ではない。

### 「マルチブロックPCA」は化学プロセス解析として発達した。

「ケモメトリクス」の一技術である「マルチブロックPCA」は、複数の工程を一括管理する手法として化学工学分野にて発展してきた。化学合成工程は複数の工程に分割され、さらにそれらが有機的に「連動」するため、ある工程の「ゆらぎ」がすぐさま他の工程に伝搬する。その「ゆらぎ」の伝搬を解析する上で「マルチブロックPCA」は特に有用であった。これまで個々の工程について別々に行ってきた主成分分析を「連動」して行うことにより、解析力が飛躍的に増した。

### 糖尿病モデルラット「ZDF」の肝臓、心臓、 腎臓を解析した結果、臓器間の違いを視覚的に表すことに成功した。

本論文ではマルチブロックPCAをメタボロミクスに導入し、複数臓器間の代謝変化を視覚的に表した点に特徴がある。マルチブロックPCAは各臓器の主成分軸方向がほぼ同じ向きにそろえるため、各臓器の主成分分析スコア、またはローディングを横並びに解析できた。本手法を用いて、肝臓、腎臓および心臓の代謝を解析した結果、特に心臓において異常な脂質代謝が行われていることを明確に示した。

担当者 田辺 和弘 所属 株式会社LSIメディエンス 専門 メタボロミクス、リビドミクス、グライコミクス、質量分析

一言 私は学生時代以来30年以上質量分析に関わってきました。特に20年前からは質量分析を使った網羅分析(メタボロミクス、リビドミクス、グライコミクス)に取りくむようになりました。これら網羅分析は長い月日をかけて着実に生命科学に貢献しており、今後ますます活躍が期待されています。しかし一方で網羅分析はビッグデータの中から重要な情報を発掘する(Data mining)作業を伴い、これはよく海に落とした針を探す作業に例えられます。よって網羅分析には分析技術(質量分析技術)以上に高いレベルの統計解析技術が求められ、私たちは双方の技術を高めながら総合的にオミクス技術を発展させることを目標にしております。

✉ tanabe.kazuhiro@mp.medience.co.jp

## 「外部から投与された運動血漿は、クラステリンを介して、記憶を活性化し、脳内で炎症を鎮める

De Miguel et al., 2021, Nature, Dec;600(7889):494-499

### キーワード

- 運動
- 血漿
- クラステリン
- 神経炎症
- 認知機能

### 要旨

28日間運動したマウスでは、歯状回の新生ニューロン増加等、海馬が活性化した。

運動マウスの血漿を運動不足マウスに投与すると、投与されたマウスの海馬が活性化するとともに、認知機能が亢進した。

「運動血漿」の投与は、海馬の遺伝子発現変動において、LPS投与による神経炎症を抑制したが、クラステリン不含の血漿ではその作用は認められなかった。

マウスとヒトの運動血漿中で、クラステリンを含む補体系・血液凝固系のタンパク質の発現が、系抑制の方向に変動していた

### 背景

身体運動は一般に人間と動物の健康の全ての側面で有益であり、認知老化と神経変性を遅らせる。身体運動の認知的利点は、海馬内の可塑性の増加と炎症の減少に関連している。ただこれらの効果を仲介する因子とメカニズムについてはほとんど知られていない。この論文では、自発走行マウスから採取された「運動血漿」を、座りがち（運動不足）なマウスに注入し、神経炎症性遺伝子発現と脳炎症を測定した。またプロテオミクス解析により、運動血漿中の発現変動タンパク質からクラステリン（CLU）を見出し、CLUを急性脳炎症マウスおよびアルツハイマー病（AD）マウスの静脈投与し、CLUの動態や神経炎症性遺伝子発現を測定した。認知障害のある患者では、6か月間の運動により、CLUの血漿レベルが上昇した。これらの発見は、伝達可能な抗炎症性運動因子の存在を示している。

### 運動血漿は神経可塑性を誘導し、認知を改善し、炎症を減少した

運動マウスの血漿を運動不足マウスに28日間静脈投与したところ、対照血漿投与マウスと比べて、海馬歯状回において、Neuroblastや Neural stem and progenitor cellが増加、つまり神経新生が増大し、急性炎症反応関連遺伝子の発現が低下した。また運動血漿を投与したマウスは、恐怖条件付け試験やモリス水迷路試験において、認知機能が亢進した。

### 運動血漿はLPS投与により誘起された神経炎症を抑制したが、クラステリン不含血漿にはその作用は無かった

マウスにLPSを全身的に投与すると、海馬においてTLRシグナルやインターフェロン系路、アストロサイト活性化等に関連する遺伝子群の発現が亢進し、運動血漿を投与するとLPSの作用が抑制された。しかし抗体によってCLUを取り除いた血漿では、この作用は認められなかった。そこで、LPSによる炎症誘発マウス及びAPP（アミロイド前駆タンパク質）発現マウス（ADマウス）に組み換えCLUを投与したところ、海馬のBEC（内皮細胞）の遺伝子発現プロファイルに関して、運動血漿と同様の作用を示した。この結果から、運動血漿の抗炎症作用にはCLUが関与していることが示唆された。

### ヒトとマウスの運動血漿中で、クラステリンを含む補体系・血液凝固系のタンパク質発現が、系抑制の方向に変動した

ヒトとマウスの運動血漿の成分を、アプタマーを用いた質量分析（SOMAscan）によって解析すると、対照の血漿に比べ、補体系・血液凝固系の活性化因子（C3、FX、FII等）の発現量が低く、抑制性因子（Factor H、CLU）の発現量が高いことがわかった。特にFXとCLUはヒトとマウスで同様の傾向が認められた。最近、ADへの補体の関与が多数報告されており、今後、ヒトにおけるCLUの機能解析が期待される。

担当者 松尾 毅 所属 武田薬品工業株式会社 専門 細胞生物学、細胞内情報伝達、神経変性疾患

一言 前回、生活習慣（飲酒）と神経抑制だったので、今回もその流れを受け継ぎ、生活習慣（運動）と認知機能についての報告を選んでみました。運動が中枢機能に対して有益であるとは、皆さん何となく感じていたかもしれませんが、最近数多くの論文が出ています。運動するのは結構面倒なものです、こういう知見を蓄積することで、運動へのmotivationを上げたいと思っています。

✉ tsuyoshi.matsuo@takeda.com

### 背景

近年、腸内細菌叢の異常が健康状態の悪化や疾患発症に影響を及ぼすことが注目されており、菌自体の作用、細菌叢から産出される代謝物などが要因として考えられています。一方で、その腸内細菌叢を制御するメカニズムについては宿主の腸管免疫や抗菌活性を持つペプチドなどが関わっていることが報告されていますが、内容は十分に解明されていません。今回紹介する文献の筆者らは、腸管内腔に分泌されるリン脂質分解酵素の一つであるIIA型分泌性ホスホリパーゼA2（sPLA2-IIA）が、腸内細菌叢のバランスを変えることによって、皮膚がんや乾癬などの皮膚疾患に影響を及ぼすメカニズムを見出しました。腸内細菌叢の調節を介して、発現部位の腸管だけではなく皮膚といった遠隔臓器にも作用が及ぶことがわかりました。本研究で得られた知見は、皮膚疾患の新たな予防・治療法の標的に繋がりが得るかもしれません。

### sPLA2-IIA欠損マウスでは、皮膚癌の発症が抑制され、乾癬発症が誘発される

分泌型ホスホリパーゼA2（sPLA2）ファミリーは細胞外脂質分解酵素であり、sPLA2-IIAは腸、特に抗菌ペプチドなどを分泌するパネート細胞に局限した発現を示す。微小環境での脂質代謝に関与しているファミリーであるが、詳細な生理機能はよくわかっていない。本研究でKOマウスを作製し検討したところ、sPLA2-IIAの欠損は皮膚癌の発症を抑制する一方で、乾癬の発症を誘発することがわかった。

### sPLA2-IIA欠損マウスで免疫応答が変化している

sPLA2-IIA欠損マウスの検討から、M1およびM2マクロファージに加え、細胞障害性T細胞やTreg細胞、DC細胞の数が減少しており、各種炎症性サイトカインなどが減弱していることが分かった。

### sPLA2-IIA欠損マウスでは腸内細菌叢が変化している

抗生剤投与や無菌マウスでsPLA2-IIA分子の発現が低下していることが分かった。また、sPLA2-IIA欠損マウスでは腸内細菌叢が大きく変化しており、炎症・免疫と関連が報告されている *Ruminococcaceae*、*Lachnospiraceae*、*Helicobacteraceae* などの科の菌が変動していた。

### sPLA2-IIAは腸内細菌叢を制御し、遠隔臓器である皮膚の疾患発症に関わる

筆者らは、野生型マウスとsPLA2-IIA欠損マウスを共飼育することで、野生型マウスの腸内細菌叢をsPLA2-IIA欠損マウス様にする検討を行ったところ、野生型マウスでも皮膚癌発症が低下することを見出した。

このことから、sPLA2-IIAと腸内細菌叢はお互いに調節し合っていることがわかり、宿主側の免疫応答を制御を介して皮膚癌や乾癬発症に影響していることが示唆された。

## 「腸内細菌叢：腸と皮膚の新たなクロストーク」グループIIA分泌ホスホリパーゼA2は腸微生物叢を制御することにより皮膚の発癌と乾癬を制御する

Miki et al., 2022, JCI Insight 2022, 7, doi: 10.1172/jci.insight.152611.

### キーワード

- 腸内細菌叢（マイクロバイーム）
- 乾癬、皮膚癌
- sPLA2-IIA
- 代謝物

### 要旨

細胞外脂質分解酵素である分泌型ホスホリパーゼA2（sPLA2-IIA）欠損マウスで皮膚癌発症は抑制され、乾癬発症は誘発される。

sPLA2-IIAは腸に局限した発現を示すが、欠損マウスではマクロファージ、サイトカイン、Treg細胞などの各種免疫応答が変化する。

sPLA2-IIAにより腸内細菌叢や腸管中の代謝物に変化する。

sPLA2-IIAが腸内細菌叢のコントロールを介して免疫応答を制御し、皮膚癌や乾癬などの発症や進展に関わったと考えられる。

担当者 平田 拓 所属 田辺三菱製薬 専門 膜イオントランスポーター、マイクロバイーム、代謝性疾患

一言 マイクロバイームと免疫疾患との関連性は非常に研究が盛んなところですが、腸内細菌叢をコントロールする新たなプレイヤーの登場やこの腸内細菌叢のコントロールを通じてこの分子が発現する腸からは遠隔臓器となる皮膚の疾患発症をコントロールする、そのメカニズムの一端を解明しているという点で見どころの論文です。マイクロバイームへの介入として生菌剤やプレバイオティクスが主流ですが、ホスト側の分子を標的にした創薬や皮膚疾患の新たなバイオマーカーとなる可能性もあります。今後の研究が楽しみな領域です。

✉ hirata.taku@ma.mt-pharma.co.jp

## 血液脳関門(BBB)の生物学とin vitroモデルについて

レビュー論文  
Hajal C. et al., Annu. Rev. Biomed. Eng. 2021. 23:359-84  
プロトコル論文  
Hajal C. et al., Nature Protocols, 2022. 17, 95-128

### キーワード

- 血液脳関門
- Blood-Brain Barrier (BBB)
- Organ-on-a-chip
- Microfluidic device
- Tissue engineering
- Drug delivery in CNS

### 要旨

血液脳関門(BBB)モデルはヒト血液脳関門における薬物および内因性物質の輸送機能を解明するのに重要である。

BBBモデルおよびBBBに使用されている細胞について。

BBB microvascular networks (MVNs) モデルの構築方法。

BBB microvascular networks (MVNs) モデルの機能評価および応用。

### 背景

血液脳関門(BBB)は脳の恒常性保持に重要な役割を果たしている一方、薬剤開発の観点からは、BBBは最も選択的な内皮関門の一つであるため、治療薬剤の通過を阻むこととなり、中枢神経疾患治療薬開発の大きな障壁となっている。

その細胞的、形態的、生物学的特性を理解することは、血液から脳へ移行する治療薬を開発するために必要である。今回紹介する論文では、BBBの主な特徴について概説し、BBBと関連する神経学的病態を再現するために設計された様々なモデルについて説明するレビューとプロトコル論文である。その中からin vitro BBBモデルに注目して以下のポイントを抽出して紹介した。

### BBBモデルおよびBBBに使用されている細胞について

細胞ソースの選択は、in vitro BBBモデルの開発において重要である。レビュー論文で特に注目しているのは内皮細胞である。BBB内皮細胞は、他の組織で見られる毛細血管と比較しても、形態的・機能的に大きな違いがある。細胞間結合が密で、極性が高く、一般に透過性が低く、TEER値が高い。様々な細胞を用いたBBBについてメリット・デメリットがまとめられており、本論文ではヒト初代培養細胞とiPS細胞由来細胞に着目している。iPS細胞由来細胞では課題があるものの、疾患モデルに期待されると強調されていた。

### BBB microvascular networks (MVNs) モデルの構築方法

このプロトコルは、幹細胞(iPS細胞を含む)由来または初代脳内皮細胞、初代脳周皮細胞およびアストロサイトからマイクロ流体デバイス内で自己組織化したヒトBBBのin vitroモデルについて説明するものである。ヒトのBBBをin vitroで再現する必要性と、現在の2D/3Dシステムの問題点が概説され、血管を覆う内皮細胞(EC)、ECに密着している周皮細胞(PC)、そして血管の内側に末端を伸ばしているアストロサイト(AC)3種類の細胞からなる灌流可能な微小血管網(microvascular networks, MVNs)を構築したプロトコルの詳細が示された。

### BBB microvascular networks (MVNs) モデルの機能評価および応用

このBBB MVNは、モデル分子や治療薬の血管透過性を研究するために使用できることが示され、その透過性は動物モデルで測定されたものと同程度であることがわかった。さらに、このモデルでは、遺伝子・タンパク質解析のための細胞採取が可能であり、透過性の結果の比較やプラットフォームとしてBBBの特徴を検証可能なことも示された。

担当者 李 紅梅(リサ) 所属 武田薬品工業株式会社 専門 ゲノム編集、疾患モデル、遺伝子治療

一言 今回は、レビュー論文とNature protocols論文をベースに血液脳関門(BBB)に関して紹介した。BBBにおける細胞的、形態的、生物学的特性を理解することは治療薬を開発するためには必須となります。将来的にiPS細胞由来の疾患BBBモデルが創薬に大いに役立つことを期待している。

✉ lisahongmei.li@takeda.com

## 受容体ごとに独立したcAMPナノドメインがGPCRシグナルの空間時間的特異性に関連する

Anton et al., 2022, Cell, 185, 1130

### キーワード

- G-protein coupled receptor (GPCR)
- cAMP nanodomain
- RAIN
- Protein kinase A (PKA)
- Phosphodiesterase (PDE)

### 要旨

単一細胞には100種以上のGPCRが発現し、それぞれが同時機能調節に関与し得るが、メカニズムの詳細は不明だった。

単一GPCR由来のcAMPは活性化したGPCRの近辺に局限し(RAIN)、低刺激下では他のGPCRのRAINからプロテクトされることが明らかとなった。すなわち、cAMPシグナリングは単なるon/offスイッチでなく、個々のRAINを介した局所シグナリングにより同時機能調節を担い得る。

cAMPの空間的制約の破綻は様々な疾患と関連することから、RAINシグナリングの調節は治療ターゲットになるかもしれない。

### 背景

G蛋白質共役型受容体(GPCR)は哺乳類において嗅覚受容体を除いて約400種類存在する。単一の細胞は多い場合には100種類以上のGPCRを発現することが報告されており、その半分以上はcAMPを2ndメッセンジャーシグナルとして使用している。興味深いことに、異なるG $\alpha$ s共役型GPCRが同じcAMPシグナルを使用するにも関わらず異なる出力をする例がこれまでに多く報告されている。しかしながら、細胞質内に拡散可能なcAMPシグナルがどのように異なるGPCRからの刺激を区別し、複雑な機能調節を行っているのかはよく分かっていない。本報告では、解像度の高いFRETベースのcAMPセンサーを利用し、cAMPを空間的に制約するメカニズムの解明を試みた。

### 弱い刺激下ではcAMPの拡散は刺激されたGPCRの近辺に局限し、他GPCR由来のcAMPから保護される

低濃度アゴニスト刺激下での個々のGPCR周辺のcAMP勾配をマッピングすることで、cAMPの拡散は活性化したGPCRから約60nmの範囲に局限することが同定された(Receptor-associated independent cAMP nanodomains: RAINs)。興味深いことに弱い刺激下ではひとつの活性化GPCRで産生されたcAMPは他のGPCRのRAINに到達できない。高濃度リガンドでGPCRが強く刺激された場合、RAINが融合し、バルクcAMPが増加し得る。

### RAINの形成にはPDEが中心的役割を果たし、さらにPKAがドメインシグナル特異性の維持に関与する

cAMP分解酵素であるPDEを抑制するとRAINが消失することから、RAINの形成にPDE活性が重要な役割を担うと考えられた。また、低濃度アゴニスト刺激下ではcAMPエフェクターであるPKAの活性化もRAIN内に局限されていた。すなわち、RAINはcAMPの生成からエフェクター活性化までを含む自給自足の独立したシグナル伝達ユニットである。RAIN維持にはPKAの部位局在化サブユニットが必要だったことから、PKAもそのcAMP緩衝作用を通じてRAINの形成に関与する可能性がある。

### cAMPシグナリングは単なるon/offスイッチでなく、個々のRAINを介して同時機能調節を担い得る

単純計算から単一細胞には数千のRAINが存在することが示唆される。すなわち、細胞外GPCR刺激による下流シグナルをRAINにまとめることで、GPCRは高い空間/時間精度で入力を受容体特異的な細胞機能へとリレーすることができる。興味深いことに局所的cAMPシグナルの破綻は様々な疾患と関連することが報告されている。RAINシグナリングを調節することで疾患を治療することも可能かもしれない。

担当者 丸山 穰 所属 武田薬品工業株式会社 専門 神経科学、ミトコンドリア創薬、GPCR創薬

一言 入社以来15年以上GPCR創薬(オーファンGPCR研究)に携わり、現在はミトコンドリアバイオロジー関連創薬、iPS由来細胞を用いた機能解析プラットフォーム開発などを担当しています。サイエンスの理解、新たな発見を通じ、これまでに存在しない新たな価値を見出す、「ファーストベンギン」になりたいと思っています。  
好きな言葉:「Focus on out of focus」

✉ minoru.maruyama@takeda.com

## 長鎖ノンコーディングRNAのSNHG12はDNA-PKが仲介するDNA損傷応答と血管老化を統合する

Haemmig et al., 2020, Sci. Transl. Med.

### キーワード

- Long noncoding RNA (lncRNA)
- Small nucleolar host gene-12 (SNHG12)
- DNA損傷応答
- 血管内皮細胞 (endothelial cells)

### 要旨

SNHG12遺伝子はエクソン-イントロン構造を有すlncRNAをコードし、そのイントロンにはsnoRNAがコードされている。

SNHG12は血管内皮細胞で高発現するが、動脈硬化病変部では発現低下する。

SNHG12をノックダウンすると血管内皮のDNA損傷と老化が促進される一方で、SNHG12投与によって動脈硬化病変部のDNA損傷が抑制された。

SNHG12はDNA損傷修復のキー分子として知られるDNA-PKと複合体を形成し、DNA損傷保護因子として機能する。

### 背景

タンパク質をコードしない、数多くのlong noncoding RNA (lncRNA) 遺伝子が多数見出されています。また機能解析も進められており、lncRNAによる転写や翻訳、細胞内オルガネラの制御、細胞核内構造体としての役割などが明らかにされています。今回紹介するSNHG12はlncRNA遺伝子の1つで、そのpre-mRNAはエクソン-イントロン構造を有し、イントロン中にsmall nucleolar RNA (snoRNA) がコードされることから、small nucleolar host gene-12と命名されています。

Ribosomal RNAなどの標的RNAを特異的に認識して2'-O-methyl化やpseudouridine化するため、ガイド鎖として機能するsnoRNAをイントロンに複数コードしますので、SNHG12自体は「抜け殻」遺伝子のように思われがちですが、今回、動脈硬化におけるDNA損傷応答への関与が判明しました。

### SNHG12は血管内皮細胞で高発現し、動脈硬化病変部では発現低下する

動脈硬化モデルマウス (LDL受容体欠損+高コレステロール食) から血管病変部を回収し、発現変化するlncRNAを探索したところ、病変部にて優位に発現低下するSNHG12を見出した。また、通常食に戻すとSNHG12の発現が回復した。SNHG12やsnoRNAはマウス、豚、ヒトにて、同様のゲノム上の位置関係を有していた。

### 動脈硬化モデルマウスへのSNHG12 antisense oligoおよびSNHG12 RNAの投与

動脈硬化モデルマウス (LDL受容体欠損+高コレステロール食) に、SNHG12 antisense oligo (gapmer) をiv投与したところ、血管内膜のSNHG12発現が低下し、病変の増悪化が認められた。また、別の動脈硬化モデルマウス (ApoE欠損+高コレステロール食) に SNHG12 RNAをiv投与したところ、内膜のSNHG12発現量が増加し、内膜病変の改善が認められた。

### SNHG12は、DNA損傷修復のキー分子・DNA-PKと複合体を形成し、DNA損傷応答を仲介する

SNHG12 RNAと相互作用するタンパク質を探索したところ、DNA-PKが見出された。DNA損傷ストレスを負荷するとSNHG12は発現低下し、SNHG12を過剰発現させるとDNA損傷の蓄積が抑制された。さらにSNHG12をノックダウンするとDNA損傷蓄積が促進されたことから、DNA損傷保護因子としてのSNHG12の機能が明らかとなった。実際、ヒトや豚病態モデルのアテローム性動脈硬化病変でもSNHG12発現低下が認められ、DNA損傷や老化マーカーの発現レベルとの逆相関が観察された。

担当者 野上 真宏 所属 武田薬品工業株式会社 専門 核酸医薬、RNA生物学、神経系疾患

一言 これまでのサイエンスカフェでの私の発表では、疾患と関連した最新RNA生物学にフォーカスし、レトロトランスポジション、liquid-liquid phase separation、mRNA-3' UTR、small viral RNA、circular RNA、Iron-responsive elementと紹介してきました。これからも、ぞくぞくと明らかにされつつある疾患RNA生物学を紹介することで、注目されているRNA標的創薬の普及に貢献します。

✉ masahiro.nogami@takeda.com

## 新規の合成二環式ペプチド-腫瘍標的免疫細胞刺激薬であるBT7480は腫瘍局所的CD137アゴニスト活性を示す

HUROV, et al., 2021, Journal for immunotherapy of cancer, jitc-2021-002883

### キーワード

- CD137
- Nectin-4
- ペプチド
- 二重特異性
- がん免疫

### 要旨

CD137はT細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞およびその他の免疫細胞の活性化に関与しており、がん免疫療法の標的分子として有望視されている。

一方で、CD137に対するアゴニスト抗体は臨床で有望な結果を出せていない。

CD137と腫瘍抗原に対する二重特異性抗体アプローチは、近年、初期臨床試験において有望な結果を示唆している。

CD137に対するアゴニストペプチドとNectin-4結合ペプチドからなる二重特異性ペプチドBT7480は免疫を活性化し、マウス癌モデルにおいて有効性を示した。

### 背景

CD137 (4-1BB/TNFRSF9) は、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーに属し、T細胞、ナチュラルキラー細胞などの免疫細胞の活性化に関与し、癌免疫療法の標的分子として有望視されている。しかし、CD137に対するアゴニスト抗体であるurelumabやutomilumabの臨床試験では、肝毒性や限定的な効果を示すのみで終了している。より最近の創薬戦略では、全身や肝臓の毒性を抑えるため、腫瘍標的を介したCD137の局所活性化を指向した二重特異性抗体によるアプローチに焦点が当てられており、初期臨床データは、そのアプローチの有益性を示唆している。今回、筆者らはCD137に対する二重特異性抗体の代わりに、二重特異性ペプチドBT7480の非臨床試験における有望な結果を報告している。

### BT7480はin vitroで強力なNectin-4依存性CD137アゴニスト活性を発揮する

BT7480はNectin-4 (腫瘍抗原) を発現する細胞が存在しない場合、レポーターアッセイにて、CD137アゴニスト活性は示さないものの、Nectin-4発現細胞が存在する場合 (共培養) は、CD137アゴニスト活性を示した。一方で、CD137に対するアゴニスト抗体は、Nectin-4非依存的にCD137アゴニスト活性を誘導した。従って、抗体とは異なり、BT7480はNectin-4が発現している部位でのみ免疫を活性化することが示唆された。

### BT7480はin vivoにてMC38-Nectin-4腫瘍を完全退縮させる

MC38-Nectin-4腫瘍を皮下に有するhuCD137 C57Bl/6 miceに対して、BT7480を週2回静脈内投与 (5mg/kg) することで、14日目までに4/6例の完全退縮 (CR) を示した。BT7480の血漿中半減期は2.3時間であったことから1週間のうち投与日当日の2回のみ標的にBT7480が結合することで効果を発揮したと考えられた。

### BT7480の腫瘍退縮効果は持続し、その効果はCD8陽性T細胞に依存する

CRになったマウスに対して治療開始から59日後に、再度同じ腫瘍を移植したところ、全て腫瘍の再移植に抵抗性を示した。一方、CD8陽性T細胞を枯渇させた場合は、殆どの個体にて腫瘍の発生が確認されたことから、腫瘍の再移植抵抗性がCD8陽性T細胞に依存していると考えられた。

また、BT7480はラットおよびNHPで良好な忍容性を示し、これらは臨床における有望な結果を期待するものである。

担当者 内野 祐次郎 所属 Axcelead Drug Discovery Partners株式会社 専門 メディシナルケミストリー、核酸医薬

一言 低分子や核酸、ペプチド、抗体といった様々なモダリティが近年活躍しておりますが、医薬品の開発には疾患の本質をとらえ、それに対して最適なモダリティを選択する事が大事だと考えおります。従って論文を探すときも、ジャーナルを問わずに“新しいアプローチで疾患の本質を捉え、治療した”という事に重きを置いております。

✉ yujiro.uchino@axcelead.com

## 1分子FRET技術を活用したGPCR及びβ-アレスチンの活性化機構の解析

Asher WB, et al., Cell. 2022 12;185(10):1661-1675.e16.

### キーワード

- GPCR
- β-アレスチン
- GPCR C末端リン酸化
- 1分子FRET

### 要旨

β-アレスチンのC末端tailは、不活性化状態では、自身表面と相互作用している。

C末端tailの遊離は、GPCRのC末端リン酸化ペプチドとの共存により促進される。

C末端tailの遊離は、C末端リン酸化型のGPCRとの共存では認められず、agonistが必要。更に、PAMとの併用により遊離が促進される。

β-アレスチン2の細胞膜へのリクルートは、wt GPCRより、C末端を一部欠失したGPCRの方が促進される。

GPCRのC末端はβ-アレスチンとの結合に阻害的に作用しているのかもしれない。

### 背景

GPCRは、数百種類からなる細胞表面受容体の最大のファミリーであり、様々な生理活性や疾患に関与するため代表的な薬剤標的となっています。AgonistによるGPCRの活性化にはG蛋白質及びβ-アレスチンの両経路が知られており、副作用軽減を目的に片側のみ活性化するバイアスドリガンドの研究も盛んです。Agonistにより、GPCRのC末端はGPCRキナーゼ (GRK) によりリン酸化され、β-アレスチンが結合可能となり、その後、クラスリンやアダプチンといったGPCR内在化に関与する因子と結合することが知られています。今回の報告では、1分子FRET法を用いて、GPCRの活性化 (C末端リン酸化) に伴うβ-アレスチンC末端の分子動態について詳細に解析しました。

### β-アレスチンのC末端tailは、GPCRのC末リン酸化ペプチドによりβ-アレスチン分子表面から遊離する

分子内に2箇所蛍光標識したウシβ-アレスチン1(βarr1:176残基とC末端tail内の397残基を標識)を用いて、標識アミノ酸間の距離を評価した。βarr1単独の不活性化状態ではFRET値は高く、両アミノ酸が近位にあり、分子シミュレーション解析からC末端tailはβarr1分子表面に結合していることが予測された。この系に、バソプレシン受容体 (V2R) のC末端リン酸化ペプチドを添加すると、濃度依存的にFRET値が低下し、βarr1C末端tailの遊離が認められた。なお、非リン酸化ペプチドや部分リン酸化ペプチドではFRET値の低下は認められず、GPCRのC末端リン酸化の重要性が示唆された。

### β-アレスチンのC末端tailの遊離には、GPCRのC末端リン酸化に加えagonistが必要

GPCR共存下でのβarr1C末端tailの動態を検討するため、リン酸化ペプチドの代わりにβ2ARのC末端領域をV2Rのリン酸化配列に置換したキメラ受容体 (β2V2R) を用いたが、C末端tailの遊離は認められなかった。しかし、agonist (エピネフリン) による濃度依存的な遊離、更にPAM (positive allosteric modulators) 併用下で遊離が促進された。

### GPCRのC末端はβ-アレスチンとの結合に阻害的に作用する可能性がある

細胞内での応答を検討するため、GRKを欠失した293細胞にβ2AR (wt或いはC末端部分欠失体) を発現させ、β-アレスチン2の細胞膜へのリクルートを評価した。wtではagonistによる膜へのリクルートは認められなかったが、C末端部分欠失体ではagonistによる濃度依存的なリクルートが認められ、且つGRK2のレスキューにより増強された。以上より、GPCRのC末端はβ-アレスチンとの結合に阻害的に働く可能性が示唆された。

担当者 是永 滋 所属 あすか製薬株式会社 専門 タンパク分解、核内受容体転写制御(性ステロイド)

一言 私自身これまで、GPCRに対する創薬開発の経験が乏しく、活性化機構やシグナル伝達に関する知識が不足しておりました。一方で、GPCRは創薬開発上非常に魅力的な標的であることから、研究活動が大変活発であり、ほぼ解明されているのだろうと想像していました。しかしながら、本論文の様に、GPCR活性化機構の中でもβアレスチンのC末端tailの挙動という非常に微細な点については、まだまだ未解明な部分があることがわかりました。このように、GPCR活性化に関わる分子の挙動を一つずつ詳細に解明することで、副作用の少ない理想的な薬剤開発に結びつくだと改めて実感した次第です。

✉ korenaga-s@aska-pharma.co.jp

## AI創薬:低分子創薬における近年の進展の外観

Ren et al., 2022, arXiv:2201.09647  
Gomez-Bombarelli et al., 2018, ACS Cent Sci, 4:268-276  
Segler et al., 2018, Nature, 555:604-610  
Smith et al., 2017, Chem Sci, 8:3192-3202

### 背景

AI・機械学習の手法は、(教師あり・教師なし・強化)学習×(回帰・分類・最適化)の9つに分類される。これら手法を組み合わせることで、創薬への応用がなされている(特に低分子創薬で活発)。創薬応用の場面として、1)創薬ターゲット(タンパク質の三次元構造予測)、2)スクリーニング(バインディングサイト予測やバーチャルスクリーニング)、3)物性予測(量子力学的な物性値予測やアフィニティ予測)、4)リード最適化(Scaffold hopping)、5)化合物合成(逆合成解析)、6)第一原理計算(密度汎関数法の高速化)などがある。手法の組み合わせとして、大部分は教師あり学習×回帰・最適化であり、リード最適化では強化学習×最適化で実施されている。以下、創薬における代表的な事例およびAI・機械学習上の特徴を紹介する。

### キーワード

- AI創薬
- 機械学習
- 構造予測
- リード最適化
- 物性予測

### 要旨

この10年のAI・機械学習の進歩に伴って、様々な産業分野で応用が試みられている。創薬においては、特に低分子創薬に関わるタスクにおいて活発に研究が進められている。今回、一般的なAI・機械学習の技術の概要を説明した後、創薬におけるAIや機械学習を活用した代表的な事例およびその特徴を紹介する。

### 創薬におけるAIや機械学習を活用した事例

1)創薬ターゲットでの事例: Alphafold2に代表されるタンパク質の三次元構造の予測が可能になっている。AlphaFold2を用いたタンパク質構造予測から効率的なヒット化合物(CDK20阻害薬)の取得が報告された。

2)スクリーニングでの事例: DeepPocketなどのバインディングサイト予測ツールが利用可能であり、アクティブラーニングによるバーチャルスクリーニングが行われている。特定したサイトでのスクリーニングの効率化が期待されている。

3)物性予測での事例: 量子力学的な物性値やアフィニティの予測が行われている。実際に活用するには、化合物やタンパク質のデータだけでなく、それに付随した実験データを教師データとして学習させる必要がある。そのため大量のデータを集められる環境が必要であり、量子力学的物性などはシミュレーションで得られるため、活発に行われている。

4)リード最適化での事例: AIを活用してリード最適化の効率化が行われている。例えば、化合物空間を埋め込み、埋め込んだ空間を化合物の条件に合わせて探索することにより、Scaffold hoppingなどが検討されている。

5)化合物合成での事例: 逆合成解析の高精度化が進んでいる。例えば、自動逆合成解析ツールAiZynthFinderを用いたLedipasvirの逆合成解析の結果は実際の製造工程と一致が見られるようである。

6)第一原理計算での事例: シミュレーションデータを学習データとして、密度汎関数法(DFT)などの高速化が実現している。即ち、DFTの結果を学習した機械学習を用いることで、精度と計算量の両面で解決が図られている。

担当者 高木 悠造 所属 iSiP株式会社 専門 AI・機械学習・コンピュータサイエンス

一言 サイエンスカフェを通じて業界全体を盛り上げられたら嬉しいです。微力ながら貢献させていただいております。

✉ yuzo.takagi@i-sip.jp

# 100回記念アンケート結果

湘南アイパークサイエンスカフェは、皆さまのご協力により100回を迎えることが出来ました。更なる発展に向け、参加者の方々にアンケートを実施しました。その結果の一部を紹介させていただきます。(約40名回答)

## Q1. iParkに勤務・在籍されていますか？

・はい 82% ・いいえ 18%

## Q2. サイエンスカフェで発表されましたか？

・はい 36% ・いいえ 64%

## Q3. 他のメンバーと交流を深めたいですか？

・ぜひしてみたい 46%  
 ・どちらかといえばしてみたい 49%  
 ・あまりしたくない 5%  
 ・全くしたくない 0%

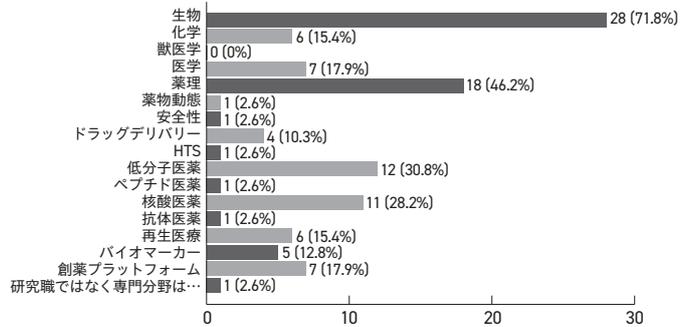
## Q4. 交流会を実施する場、時間帯はどこが良いですか？

・お昼休み(平日のいずれか) 57%  
 ・夜(平日のいずれか) 38%  
 ・特に必要ない 5%

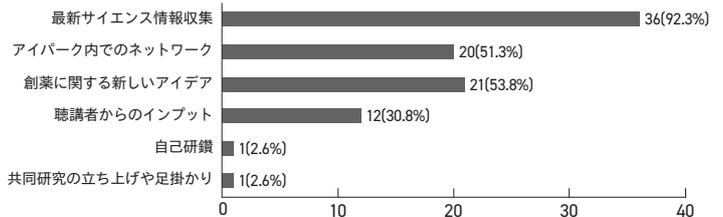
## Q5. サイエンスカフェ内で取り組んだ方が良いと思うことはありますか？(自由記述)

- 横のネットワークの強化、可能であればオンライン時に顔出しの呼びかけ
- ディスカッションの時間が少ないのでそれに特化した回も欲しいです。これまでの皆さんからの発表を深掘りしてみる回もあると、深く理解することができると思います。
- 合成出身者や薬物動態出身者の取り組み
- いつもありがとうございます。毎回楽しみにしていますが、Q&Aセッションの時間は短く感じています。質問・コメントをしたくても時間を気にして言わない方も結構おられるのではないかと推察します。テストケースで18時とか19時開始でもやってみたらどうでしょう。その後に交流会もあれば、より関連な議論に発展することも期待できるかと思えます。
- 標的探索から臨床までの薬の開発経緯を知る
- F2Fが難しい状況ですが、お互いに名前、所属、どんなことをされているかをより知り合えると良いですね。
- 新規モダリティの紹介、予防医療に関する取り組み
- 会社間の「窓口」を介したつながりに加えて、現場レベルのメンバーがお互いを知り合い、会社の垣根を越えて切磋琢磨していける関係性やそういった風土を湘南アイパーク内に築いていく助けとなればと思っています。グローバルな視点から、英語での開催も今後の課題だと思っています。
- 一般的な創業技術・ノウハウの共有や外部委託先のおすすめなどの共有。学生時代のようにもっとフランクに実験やアッセイ系のノウハウを共有したい。
- 体内動態制御の方法
- 分科会をつくって、より専門的なディスカッションを行う。
- みなさんの実務(共同研究や研究支援など)に紐づくアクティビティに発展するとよいと思います(すいません私が知らないだけかもです。すでに実務レベルで協奏なされている??)
- 将来的にはハイブリッド開催ができると良いと思います。iPark以外に勤務する方との交流を深める方法を考えたいです。
- 発表者の自己紹介がice break的にあると良い(発表時間が短くなるので、難しいかもしれませんが、1分程度でも！)
- オンラインであったり、昼食休憩中のため仕方ない部分もありますが、議論が深まる前に終わってしまう感は否めないです。
- 分析会社でするので、分析に関するご要望や期待などお伺いできる機会があるとありがたいです。
- メンバーが多くなり、紹介する論文も様々な分野になってきました。カテゴリ的なものを設けたらどうかと思いました！

## Q6. 専門分野を教えてください。(複数選択あり)



## Q7. サイエンスカフェでの聴講や発表を通じて実現したいことは何ですか？(複数選択あり)



その他、頂いた意見から、発表者の自己紹介、オンライン交流会、分科会などの新たな取り組みも始まっています。

サイエンスカフェは湘南アイパーク内での科学コミュニケーションの場として積極的に活用して頂けるよう、これからも取り組んで参ります。引き続き、皆様どうぞよろしくお願い致します。

## iPark Science Journal 編集委員・iPark Science Café 幹事

- 野上 真宏(武田薬品工業株式会社)、代表
- 小笠原 彬(田辺三菱製薬株式会社)、副代表
- 西村 徹(あすか製薬株式会社)、幹事
- 中島 康祐(武田薬品工業株式会社)、幹事
- 荒川 佑一(Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社)、幹事

### 編集後記

---

●今年は例年のない早さで梅雨が明けてしまい、夏が長いだけでなく、暑さも並々ならぬものがありますね。暑さに負けず力強く咲く夏のひまわりをモチーフにした表紙の5号ですが、表紙に負けにくいサイエンスに対するワクワクも感じてもらえたでしょうか、いかがですか？ボランティアでこんなに素晴らしい発表を、激務の中であっても快くお引き受けくださった著者のみなさまに、そして編集委員のみなさまに心より御礼申し上げます。(野上)

●お忙しい中、素晴らしいレビューを御寄稿頂いた岩井祥子さん並びに1枚物を御執筆頂いた全ての皆様に御礼申し上げます。この度、荒川さんが新たに幹事メンバーとして御参画下さる事になりました。荒川さん主導の「Remo交流会」や、最近動き出した「殿町キングスカイフロントとのコラボレーション」など、サイエンスカフェの活動の輪は日に日に大きくなっていると感じております。一層の進化を遂げるサイエンスカフェの発展に少しでも貢献できるよう、私も精進していきたいと思っております。(小笠原)

●湘南アイパークサイエンスカフェがオンラインになって久しいですが、5号も無事に発刊となりました。サイエンスジャーナルの号を重ねるにつれ、表紙の何色にするのか、これまでの号とのバランスや発刊時期などを考慮して考えるのが一つの楽しみとなっています。最近では文献紹介だけでなく、少し違った角度からのサイエンスカフェも実施しておりますが、今後も色々な企画ができればと考えております。引き続き、皆様どうぞよろしくお願い致します。(西村)

●今度こそコロナ禍が終息するかと思えば再び波が来るということが何度も繰り返され、完全オンライン状態が余儀なくされてin personの交流が叶わない状態が2年以上続いておりますが、多くの方にご発表やRemo交流会にご参加いただき感謝いたします。企業を超え、業種を超えた交流による新たな視点でこれまで以上の価値が得られると考えております。今後、状況に応じてオンサイトを含めた機会も企画したいと考えております。今後ともどうぞよろしく願いいたします。(中島)

●日々の業務でお忙しい中、第5号のジャーナルに御執筆頂いた全ての皆様に感謝申し上げます。幹事に加わり、交流会向けのオンラインツール(Remo)を使ったRemo交流会を担当させて頂きました。今後もアイパーク内外でサイエンスコミュニティがさらに発展していくように企画を考えて参ります。是非今後ともRemo交流会を含めてサイエンスカフェにご参加いただけますと幸いです。(荒川)

## 湘南アイパークの森の植物と和歌 ② たけのこ



湘南アイパークの森には、桜の時期が過ぎる頃、孟宗竹という日本最大の竹類の筍が、立派な姿を見せてくれます。この孟宗竹という名は、中国の故事にある、冬に母のために寒中筍を掘り採ったという、三国時代の呉の人物、孟宗に由来するのだそうです。今回紹介する歌は、一条天皇中宮彰子（藤原道長の長女）に、紫式部や和泉式部と並び仕えた赤染衛門とその夫とのやり取りになります。

筍を幼き人に遣せて（訳：筍を幼い子に寄こして）

「親のため昔の人は抜きけるを たけのこにより見るもめづらし」

（訳：昔の人は親のために抜いたという筍ですが 子のために抜いたのを見るのは珍しいですね）

返し（返歌）

「霜をわけて抜くこそ親のためならめ こは盛りなるためとこそ聞け」

（訳：霜の中から筍を抜くのは親のためなのでしょう  
これはこの子が盛んに伸びてゆくために抜くと聞いています）

孟宗の故事を引用しつつ、子どもの成長を願って筍を遣り取りした様子が、赤染衛門集に残されています。このように平安中期に語られておりますが、幼い子や親のためにと抜かぬよう、湘南アイパークの益々の発展を願って見物するだけにしておきましょう。

「分け入りて森で、すーっと背伸びして 盛りを願うたけのこの末」

Shonan Health Innovation Park

湘南ヘルスイノベーションパーク

〒251-8555 神奈川県藤沢市村岡東二丁目26番地1

E-mail: shonan-health-innovation-park@takeda.com

Website: <https://www.shonan-health-innovation-park.com/>

発行元：湘南アイパークサイエンス・プレス

2022.08-E5