

Shonan iPark

# Science SJ Journal

湘南アイパーク  
サイエンス・ジャーナル

vol.6

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



## 湘南アイパーク サイエンス・ジャーナル第6号の発行に寄せて ■■■■

「アイパークの研究者たちが会社を超えて抄読会をやるから支援したい。」

スタッフから提案をうけたのがもう4年ほど前でしょうか。毎週木曜日のお昼に、多くの研究者がブロードウェイに椅子を並べて論じている姿がなにか微笑ましく、横目で見ながらその後ろを通りすぎるのが楽しみになっていました。残念ながらコロナ禍でしばらく姿をみていませんが、またオンサイトで復活されることを期待しています。

湘南アイパークは開所から早5年が過ぎ、この4月には経営を武田薬品から独立させて、アイパークインスティテュート株式会社として出発することになりました。経営の目的や理念は開所時から変わることはありませんが、より中立的な母体となることで多様なサービスを提供しエコシステムを拡大していけるものと考えています。開所当時は絵空事でしかなかったエコシステムという言葉が、いまこの湘南で現実になろうとしています。それは会社を超え、産官学のセクターを超えて研究者や事業者が交流し、アイデアがつながり、あたらしいものが生まれる場の形成です。多様なアイデアや技術を持つ方がひとつの場を共有することで、言葉が共有され、目線が合わさり、それぞれの視点が広がり、研究や事業を行う幅が大きく広がります。さまざま言葉と文脈を包含するコミュニティは、研究者の自由な発想と結びつきを支える強力な支援者となっていきます。

「昔は自由に研究させてくれる余裕が企業にあった。」と昔を懐かしむ研究者の声をよくお聞きします。今ほどの業界でも企業の戦略を先鋭化しており、長期的な創造的破壊に自由に取り組む余裕が乏しくなっているようです。ただし研究者が研究者であるかぎり、発想と思考の自由が失われることはありません。思考の舞台をエコシステムに移すことで、会社を超えてより豊かな広がりを生んでいくことになればと思っています。

「将来的にはこのサイエンスジャーナルをpeer reviewのある一流紙にしましょう。」こう言われたみなさんの意気込みを頼もしく思います。スイスとメッカ、つまり多くのかたが自由に集える中立的な場と、多くの研究者があこがれるサイエンスの中心になることが、開所以来、アイパークの目指してきたことなのですから。

アイパークインスティテュート株式会社 代表取締役社長・藤本利夫



左から、中島、荒川、佐藤、日比野、小笠原、藤本、野上、内野(敬称略)

## 新幹事のご挨拶 ■■■■

幹事を拝命いたしました、佐藤と申します。メディシナルケミストリーが専門で、広く創業に関わる技術、ライフサイエンス全般に興味を持っています。サイエンスカフェを通じさまざまな分野の先端に触れ、サイエンスを皆様と一緒に楽しむことができた良いと思っております。毎週の文献紹介、サイエンスジャーナルはもちろんのこと、Remo会、オフ会、その他イベントで皆様とともに楽しみたく思います。

創業に貢献したいという思いも強く持っていますので、一緒に仕事をする機会があれば是非よろしくお願ひします。休日は朝活で毎週走っており、フルマラソン3時間半を目標に頑張っています。ディーブラーニングG検定も取得し、創業へのAI活用もどんどん進めたいと思っています。

さらに素晴らしいクラブへと発展させられるよう尽力いたしますので、どうぞよろしくお願ひいたします。

Axcelead Drug Discovery Partners株式会社・佐藤 歩

今回新たに湘南アイパークサイエンスカフェの幹事として参加させていただくことになりました、内野と申します。私はメディシナルケミストリーの研究を専門としており、業務としては核酸などの中分子研究にも関わっております。また、以前は心不全学会や腎臓学会などの異分野の学術集会に参加したこともあり、循環器疾患やイオンチャネル、AI、データサイエンスなど創業に関係する幅広い分野に興味を持っています。化学と生物、臨床の全てに興味がある研究者はなかなかいないと思いますので、同じ様な考えの方がいらっしゃれば是非お声がけください。

これまでサイエンスカフェに参加することで幅広い知識や視点を学ぶことができ、研究者同士の交流の機会も頂いており、このような素晴らしい場を提供してくださる運営のお手伝いをしたいと考えていたところ、今回、幹事として参加させていただく事となりました。この会をもっと発展させ、「サイエンスカフェがあるからアイパークに入居したい」と言われるような会にしたいと考えております。どうぞよろしくお願ひいたします。

Axcelead Drug Discovery Partners株式会社・内野 祐次郎



## 目次

## ご挨拶

湘南アイパーク サイエンス・ジャーナル第6号の発行に寄せて

藤本利夫(アイパークインスティテュート株式会社・代表取締役社長)

新幹事のご挨拶

佐藤 歩(Axcelead Drug Discovery Partner株式会社)

内野 裕次郎(Axcelead Drug Discovery Partner株式会社)

## スペシャルレビュー

mRNA医薬: 病気と闘うための強力で多様なツール

松井 秋倫(iPark入居企業研究員)

共有結合型KRAS阻害薬の現状と今後の展望

守 芳樹(田辺三菱製薬株式会社)

## 発表内容

- 「Clearing-assisted tissue click chemistry (CATCH)により、ターゲットに共有結合した薬物分子のin vivoでの視覚化を可能にする」
- 「タンパク質のオンチップ個別機能評価スクリーニング技術」
- 「C.elegansにおいてmRNAプライミングがアルゴノートのサイレンシングを阻害する」
- 「薬理毒性試験のDX: 動画を用いた動物行動解析システムの開発と応用」
- 「加齢骨格筋における細胞老化の特性評価」
- 「ペプチド医薬の経口化ナノ粒子製剤から新規モダリティの経口化を考える」
- 「ヘルペスウイルスmiRNAによる宿主内miRNAプロセシングの選択的阻害」
- 「Young CSFによるFgf17を介した老化マウスのオリゴデンドロサイト成熟と記憶機能の改善」
- 「CRISPR-Cas9 in vivoゲノム編集を用いたトランスサイレチン型アミロイドーシス治療」
- 「天然変性タンパク質に対する創薬」(Drug discovery for intrinsically disordered protein)
- 「移植されたヒト大脳皮質オルガノイドの成熟化と回路統合」
- 「A-to-I RNA編集するオリゴヌクレオチド」
- 「フローマイクロリアクター技術を用いたADC製造法」
- 「LC3BはRNA結合タンパク質で、オートファジーにおいてmRNAの迅速な分解を誘発する」
- 「細菌叢依存的な腸-脳経路が運動のモチベーションを制御する」
- 「哺乳類の老化の要因としてのエピジェネティック情報の喪失」
- 「アデノ随伴ウイルスで細胞特異的な遺伝子治療」
- 「非共有結合型経口SARS-CoV-2 3CLプロテアーゼ阻害剤エンシトレルビル(S-217622)の創製」
- 「肺腫瘍の免疫微小環境におけるシングルセル空間解析」

## 編集後記

## mRNA医薬: 病気と闘うための強力で多様なツール

松井 秋倫 (iPark入居企業研究員)

✉ akitsugu.matsui@icloud.com

## はじめに

まず、初めに本稿は研究員個人としての総論であり、所属する企業や関連団体との関連がないことをご留意いただきたい。

メッセンジャーRNA(mRNA)医薬は、COVID-19の猛威を受け、新しいモダリティとして台頭してきた。本稿ではmRNA医薬の基本原則を解説するとともに今後の治療応用に関して議論していく。

## mRNA医薬の基本原則

mRNA医薬はmRNAにコードされた治療用タンパク質を生体内の標的細胞に発現させることによって治療を行う医薬品である。また、mRNAの配列を変更することにより様々なタンパク質を発現することができるためプラットフォームとして利用できることが特長である。これまでDNAを用いた医薬品開発も進んでいるが、DNAからの遺伝子発現には、DNAからmRNAへの転写が必要となることから細胞核内へのDNAの送達が必要である。そのため、DNAの場合は細胞核を覆う核膜が消失している分裂細胞への発現効率は高いが、核膜のある非分裂細胞への発現効率は低い課題がある。一方、mRNAの場合は、転写の過程は不要であるため、その発現に細胞核内への送達が不要である。細胞内に送達されたmRNAは、細胞質中のリボソームと結合することでタンパク質翻訳が開始されるため、DNAと比較して、発現のオンセットが早い。さらに、mRNAはDNAと異なり直接的な宿主ゲノムへの挿入変異リスクもないためDNAと比べて安全性に優れている。しかしながら、mRNAがCOVID-19まで注目されていなかった理由として、mRNAは生体内で不安定であること、免疫原性があるといった課題を抱えていたためである。

## mRNA医薬の課題

mRNAが生体内で分解されやすく、免疫原性が高い要因のひとつとして、外来性のRNAはウイルスと同義と生体に認識されるためである。ウイルスへの防御機構として働くRNA分解酵素は環境中に多く存在し、RNA分解酵素の影響のためmRNAは分解されやすく不安定である。

細胞外から導入された外来mRNAはエンドソーム上のToll様受容体(TLR)に認識されることによって炎症経路が惹起され、外来mRNAの翻訳が阻害される。また、トリリン酸末端をもつRNAを認識するRetinoic acid inducible gene I (RIG-I)によって炎症経路が惹起され、非自己と認識されたRNAは分解される<sup>1)</sup>。

その課題を解決し、mRNAを効率的に標的細胞に送達するためには、mRNAそのものを安定性が高く、免疫原性を抑えるように設計すること、mRNAをドラッグデリバリーキャリアに内包することが考えられている。

## mRNAの設計

mRNAの設計に関して、1)mRNAを構成している塩基を化学修飾された塩基に置換する手法や2)mRNA構造を改変する手法が試みられている。

1)に関して、代表的な修飾塩基としては5mC,5mU,ΨU,N1mΨUなどが挙げられる。これらの修飾塩基はTLR7による認識を回避し免疫原性を抑制することで知られている。ΨUは天然に生体内に存在している修飾塩基としてtRNAから発見され、mRNAを構成するUをΨUに置換することで免疫原性を抑え、翻訳効率を向上させることをKariko博士らは見出している<sup>2</sup>。

2)に関して、mRNAの構造は複数のパーツ、すなわち(1)5' キャップ構造(2)5' UTR, 3' UTR(3)コーディング領域(4)ポリAテールで大きく構成されている。このような構造をもつmRNA医薬はDNAを鋳型としたRNAポリメラーゼによるIVT法(in vitro transcription)により合成され、5' キャップ構造はARCA法(anti-reverse cap analogue)を用いた共転写法が用いられている。

(1)の5' キャップ構造は真核生物mRNAに特徴的な化学構造であり、mRNAの5' 末端に5' -5' トリリン酸構造を介してm7Gが結合した構造である。この5' キャップ構造が翻訳開始因子と結合することで翻訳が開始される。生体内においては5' キャップ構造を分解するデキャッピング酵素が存在し、mRNAの寿命を調節している。そのため、デキャッピング酵素に対する分解耐性を向上させる化学修飾が検討されている。mRNA医薬において、mRNAはARCA法にて合成されるが、ARCA法ではcapの付加反応率が70%程度と低いことから、より効率的な付加反応を示すcap構造の開発が進められている。

(2)のUTRに関してmRNAの安定性や翻訳効率に寄与することが知られている。一例として、24時間以上の半減期をもつβグロビンmRNAのUTR領域に置換することで、レポーター遺伝子の発現が向上することが報告されている<sup>3</sup>。

(3)に関して、コドン最適化が試みられている。タンパク質を構成するアミノ酸に対応する3塩基の塩基配列をコドンと呼び、コドンに対応したアンチコドンをもつtRNAによってアミノ酸が運ばれ翻訳が進む。コドン最適化とは、コドン表に対応したアミノ酸を変化させないように塩基を他の塩基に置換することである。コドン最適化として、生体内にあるtRNA存在量比に従って最適化する手法が多く用いられている。近年、コドンの3番目の塩基がGCの場合はmRNAの半減期が長く、AUの場合はmRNAの半減期が短いといった報告がなされており<sup>4</sup>、さらなるコドン最適化が進められている。

(4)のポリAテールはmRNAの安定性に寄与すると考えられている。mRNAは、ポリAテールの末端からデアデニレーションが進んで分解される。そのためポリAテールの長さが短い場合はmRNA安定性が低いことが知られている。ポリAテールを長くすることは製造の面から課題があり、現在、上市されているコミナティ(ファイザー社)では110塩基、モデルナワクチン(モデルナ社)では公表されていないが70-100塩基と考えられている。

## ドラッグデリバリーシステム(DDS)

mRNAをドラッグデリバリーシステム(DDS)キャリアに内包することによってmRNAのもつ課題解決が試みられている。代表的なDDSキャリアとしては、脂質を基にしたLNP(リピッドナノパーティクル)やポリマーを基にしたナノミセルが挙げられる。DDSキャリアに内包することによってmRNAの安定性を向上させ、エンドソームにおけるTLRの認識を回避することが報告されている。一方でmRNAが機能するためにはDDSキャリアから目的とする標的細胞内で放出される必要がある。DDSキャリアはエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれるが、pHに応答したエンドソーム脱出能力が求められる。LNPにおいては構成する脂質を高い構造とすることでエンドソーム膜の相転移を引き起こし、効率的なエンドソーム脱出を行うことができる。ナノミセルにおいては構成するポリマーにpH応答性ポリマーを導入することで効率的なエンドソーム脱出が可能となる。

mRNAの設計およびDDSキャリアへの内包によってmRNAの課題を解決し、mRNA医薬として上市することが可能となった。

## mRNA医薬の実例

mRNAワクチンの製造を一例として、mRNA医薬の製造は、配列デザイン、IVT、精製、mRNA品質チェック、脂質との混和(DDSキャリアへの内封)、フィルトレーション、充填の段階がある。配列デザインに関して、数時間で完了するという報告<sup>5</sup>もあり、迅速に製造に移ることができる。

モデルナ社は僅か7カ月でCOVID-19のmRNAワクチンを第III相臨床試験に進めることができたが、その理由としては10年以上前から基礎研究を積み重ね、既に別のmRNA医薬で臨床試験を進めていたことが挙げられる。COVID-19用のmRNAは配列以外の工程は先行する臨床試験と共通であったことから、迅速に開発を進めることが実際にできたものと推察される。このようにmRNA医薬はプラットフォームとして強力であることが伺える。

## 今後の展望

COVID-19の猛威によりmRNA医薬としてmRNAワクチンが上市されたが、mRNAワクチンは液性免疫だけでなく細胞性免疫も活性化する特長がある。そのため、感染症ワクチンだけでなく、がんワクチンへの応用が期待されている。がん由来の腫瘍関連抗原を用いたmRNAワクチンの開発が進められており、進行性悪性黒色腫に対して臨床試験が進んでいる。がんワクチンにさらにチェックポイント阻害剤を併用することによって持続的な腫瘍増殖抑制効果と転移の抑制が報告されている<sup>6</sup>。しかしながら、腫瘍関連抗原は正常細胞にも発現している自己由来抗原であるため正常組織への攻撃や免疫寛容が生じる懸念点がある。近年、がん特異的な抗原として注目されているネオ抗原がmRNAワクチンの応用として期待されている。悪性黒色腫に対するネオ抗原mRNAワクチン接種により転移抑制効果が示唆される結果が臨床試験で報告されてきている<sup>7</sup>。患者検体から次世代シーケンサーを用いて患者ごとにがんの遺伝子変異を特定し、患者に即したネオ抗原mRNAワクチンを設計すること

ができれば究極の個別化医療であり、mRNA医薬のプラットフォームの特長を生かしたアプローチである。

mRNAは、ASOやsiRNAと比較して、修飾塩基による薬効・毒性の相関が理解しやすい。そのため、中身のmRNAの配列を変更したとしても医薬品を構成する内容物が変わらないのであれば、ASOやsiRNAと比較して、迅速に他のmRNA配列に適応できるという強みもプラットフォームとしての特長である。

mRNA医薬はコーディングされている配列を変更することで原理上、すべてのタンパク質に応用できることから、ワクチン以外への適応も進んでいる。mRNAを用いれば一過的な発現が得られるため、持続的な発現は好ましくないタンパク質にも適応される。その一例としてはゲノム編集の適応が挙げられ、持続的な発現をした場合ではオフターゲットリスクのためがん化の懸念があるが、mRNA医薬によるオフターゲットを低減したゲノム編集治療が期待される。mRNA医薬によるゲノム編集治療として、トランスサイレチンアミロイドーシス治療は第I相試験にて良好な結果<sup>8</sup>が得られている。またmRNAはDNAと比較して核内移行が不要なことにより発現のオンセットが早い。そのため再生治療応用として急性心筋梗塞後にVEGF mRNAを投与する臨床試験が進んでいる<sup>9</sup>。

mRNA医薬品として活用するDDSはLNPが多く利用されているが、LNPによるターゲティングの問題として肝臓や脾臓への集積が挙げられるため、mRNA医薬の全身投与による治療にはDDSの進化がまだまだ必要であるものと考えられる。

## おわりに

mRNA医薬はプラットフォームとして強みがある一方で、様々な技術の集合であるため、単独で研究を開始するには参入障壁を高く感じる人が多い。しかしながら、特定の技術に強みをもつベンチャー企業やアカデミアとの協業により、その問題を解決できると思われる。様々な技術が必要であるがゆえに多くの企業・アカデミアの参入も期待でき、mRNA医薬の研究は異分野技術との融合によりさらに加速していくものと思われる。

## 参考文献

- 1) Nat. Biotech., 2011, 29, 154-157
- 2) Mol. Ther., 2008, 16(11), 1833-1840
- 3) Blood, 2006, 108(13), 4009-4017
- 4) EMBO reports, 2019, 20, e48220
- 5) Nat. Rev. Drug Discov., 2021, 10.1038, s41573-021-00283-5
- 6) Nature, 2020, 585, 107-112
- 7) Nature, 2017, 547, 217-221
- 8) N. Engl. J. Med., 2021, 385, 493-502
- 9) Mol. Ther. Methods Clin. Dev., 2020, 18, 464-472

## 共有結合型KRAS阻害薬の現状と今後の展望

守 芳樹(田辺三菱製薬株式会社)

✉ mori.yoshiki@mh.mt-pharma.co.jp

### はじめに

KRASはがんドライバー遺伝子で、2020年にアメリカでがんと診断された患者の11.6%が変異を有していることが報告されている<sup>1</sup>。変異によって恒常活性化(GTP結合状態)し、RAF,PI3K,RalGDSなど20種類に及ぶエフェクタータンパクと結合することで下流にシグナルを伝達する<sup>2</sup>。長きにわたりundruggable targetと認識されてきたが2021年のKRASG12C共有結合型阻害薬ソトラシブ(AMG 510)承認によって状況は一変し、2023年には同薬効のアダグラシブ(MRTX849)が承認された<sup>3</sup>。現在はG12C以外のKRAS変異陽性がんに対して、環状ペプチドやPROTACなどの新しいモダリティを駆使した取り組みが行われている。今回は共有結合型KRAS阻害薬の現状と今後の展望についてメディシナルケミストの視点で解説したい。

### KRAS<sup>G12C</sup>阻害薬

不活性型であるGDP結合状態でのみ露出するポケット<sup>4</sup>を活用するというKevan Shokatらのアイデアに端を発する。彼らはCys12との共有結合を形成する目的で、分子内にS-S結合を有するtethering library<sup>5</sup>を評価することで端緒となる化合物6を取得している<sup>5</sup>。さらにS-S結合を求電子構造へ変換したことがARS-1620の創製へと結びついた<sup>6</sup>。Amgen社はこのコンセプトをさらに推し進め、独自のリードがHis95のコンフォメーション変化によってこれまで利用されていない隠れた薬剤結合ポケット(cryptic pocket)を占有することを見出し活性の向上に成功した<sup>7</sup>。(R)-18は軸不斉に起因するエピメリ化の課題を有していたが、芳香環オルト位に嵩高い置換基を導入することでエピメリ化反応における半減期が長いAMG 510を見出している<sup>7</sup>。

ソトラシブはKRASG12C変異を有する肺癌患者を対象としたphase 3臨床試験において、全生存期間では既存の化学療法に対して優位性を示せなかったもののQOLに関する指標での優位性が認められた<sup>8</sup>。

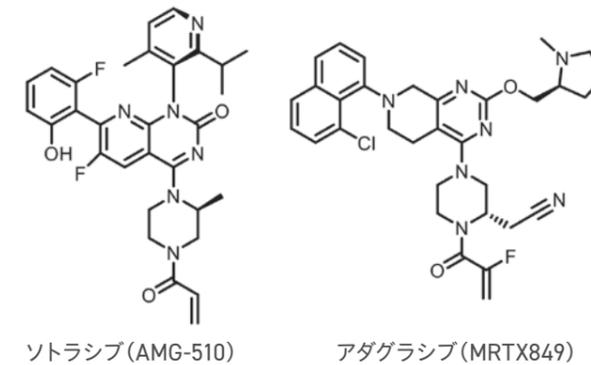
一方でKRAS<sup>G12C</sup>変異を有する患者の中に2<sup>nd</sup> mutationとしてY96D変異があるケースが報告されている<sup>9</sup>。Tyr96はHis95,Gln99と共にcryptic pocketを形成することから、KRAS<sup>G12C/Y96D</sup>細胞評価系においてはソトラシブ、アダグラシブ共に増殖抑制作用を示さない<sup>9</sup>。

※ジスルフィドテザーを介してタンパク質の標的部位に結合する低分子量リガンドを発見するための化合物ライブラリ。分子内のS-S結合が標的蛋白のCys残基と不均化反応を起こすことでジスルフィドテザーが形成される<sup>10</sup>。

## KRAS<sup>G12D</sup>阻害薬

Mirati社はMRTX849を起点とし、Cys12と反応するアクリルアミド部位をAsp12と相互作用するピペラジンへと変換することで端緒となる化合物1を取得した<sup>11</sup>。ピペラジン環を渡環することで活性の大幅な向上に成功し、現在MRTX1133の臨床試験が計画されている (IND-Enabling)。

一方でアステラス製薬は上記に先駆けてPROTACの創製に成功し、2022年6月にASP3082の臨床試験 (NCT05382559) を開始している。ASP3082はKRAS<sup>G12D</sup>変異を有するヒト膵臓がん細胞異種移植マウスモデルにおいて週2回静脈内投与で他社の阻害薬を上回る効果を示すことが報告されている<sup>12</sup>。また、アステラス製薬からはKRAS<sup>G12D</sup>に対する特許が報告されており<sup>13</sup>、開示されている特許記載の構造と、MRT1133では、RAS結合部位に渡環ピペラジン環を有するなど類似点も多い。



## KRAS<sup>MULTI</sup>阻害薬

環状ペプチドやmolecular glueなど様々なモダリティを活用した研究開発が行われている<sup>14,15</sup>。先陣を切ったのは中外製薬の環状ペプチドLUNA18で2021年10月に臨床試験 (NCT05012618) がスタートしている。LUNA18はG12C,G12DのみならずG12V,G12S、さらにはNRAS変異を有する細胞株に対しても増殖抑制作用を示すことが報告されている<sup>16,17</sup>。一方で、LUNA18は代表的な環状ペプチドであるシクロスポリンと同じ11アミノ酸からなり、水素結合ドナー (HBD) を3つまで減らしている。シクロスポリンは高い膜透過性を有しているが、膜透過時には5つのHBDの一部が分子内水素結合でマスクされるなどHBDの実質的な数が重要であることが報告されている<sup>18</sup>。

一方Revolutions Medicines社はcyclophilin AとKRASのmolecular glueであるRMC-6236がKRAS MULTI阻害を有することを見出し、2022年5月に臨床試験 (NCT05379985) を開始した<sup>19</sup>。

## おわりに

KRAS<sup>G12C</sup>阻害薬は上市品も含めて14品目の臨床試験が確認できるなど非常に激しい開発競争が繰り広げられている。またKRAS<sup>MULTI</sup>阻害薬においてはAUTOTAC (AUTOTAC Bio)<sup>20</sup>やPROTAC (アステラス製薬)<sup>12</sup>といった新しいモダリティの臨床試験も予定されている。

KRAS変異は多くのがんの原因となるにも関わらず、長きにわたり分子標的薬が存在しなかった。多くの研究者の努力によってこの状況は変わりつつあり、今後、新しいモダリティの活用などさらなる科学の進歩を通じてより多くの患者の治療に貢献することが期待される。

## 参考文献

- 1) Cancer Discov. 2022 Apr 1;12(4):924-937.
- 2) 肺癌. 2022;62:188-199
- 3) RSC Med Chem. 2020 Jun 1;11(7):760-770
- 4) Biol Chem. 2019 Dec 18;401(1):143-163.
- 5) Nature. 2013 Nov 28;503(7477):548-51.
- 6) Cell. 2018 Jan 25;172(3):578-589.e17.
- 7) J Med Chem. 2020 Jan 9;63(1):52-65.
- 8) Lancet. 2023 Mar 4;401(10378):733-746.
- 9) Cancer Discov. 2021 Aug;11(8):1913-1922.
- 10) Proc Natl Acad Sci U S A. 2000 Aug 15;97(17):9367-72.
- 11) J Med Chem. 2022 Feb 24;65(4):3123-3133.
- 12) [https://www.astellas.com/en/system/files/rdmeeting221209\\_pre\\_jp\\_3.pdf](https://www.astellas.com/en/system/files/rdmeeting221209_pre_jp_3.pdf)
- 13) WO2022173032A1
- 14) <https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/report/16/082400016/080400174/>
- 15) Mol Cancer. 2022 Aug 4;21(1):159.
- 16) WO2022234852
- 17) J Med Chem. 2022 Oct 13;65(19):13401-13412.
- 18) Chem Sci. 2022 Dec 6;14(2):345-349.
- 19) <https://www.revmed.com/pipeline/rason-inhibitors>
- 20) <http://autotacbio.com/m13.php>

# Clearing-assisted tissue click chemistry (CATCH)により、ターゲットに共有結合した薬物分子のin vivoでの視覚化を可能にする

Pang et al., 2022, Cell, 185, 1793-1805

## キーワード

- 組織透明化
- イメージング
- クリックケミストリー
- 薬物ターゲット

## 要旨

CATCHは、脳内での薬物とターゲットの相互作用のin situイメージングを可能にした。

CATCHは、薬物とターゲットとの相互作用を細胞レベルで視覚化することに成功した。

CATCHは、薬物の新たなターゲットを見出せる可能性がある。

CATCHは、濃度依存的な薬物とターゲットの相互作用の検出に成功した。

## 背景

低分子化合物のターゲットの同定および検証は、創薬における長年の課題である。薬物とターゲットの相互作用を探索する従来の方法では、ホモジナイズされた臓器における薬物濃度や薬物とターゲットの相互作用を評価することが多く、in vivoでの薬物とターゲットの相互作用を理解するために不可欠な空間分解能の情報が排除されていた。一方、ポジトロン断層撮影法(PET)などのイメージングに基づく方法は、生体内での低分子化合物の分布を把握する方法として広く用いられるが、細胞レベルで薬物とターゲットの相互作用を特定するには十分な解像度がない。今回筆者らは、in vivoの組織において、細胞レベルで、(共有結合による)薬物とターゲットの相互作用を可視化する方法を開発した。これは、細胞の種類や空間構成が不均一な、中枢神経系の薬剤にとって特に重要と考えられる。

## Clearing-assisted tissue click chemistry (CATCH)の確立

Clearing-assisted tissue click chemistry (CATCH)とは、アルキン化した薬物をマウスに投与し、薬物がターゲットに到達した後、組織透明化 (CLARITY) を行い、アジド化した蛍光タグをクリック反応により組み込むことで、薬物を標識する方法である。CATCHを用いて、カンナビノイド受容体の内因性アゴニストの代謝酵素FAAHと共有結合を形成して酵素活性を不可逆的に阻害するPF7845の、脳内における特異的イメージングに成功した。

## CATCHは薬物とターゲットの相互作用を細胞レベルで明らかにする

次に、CATCHを用いて、PF7845、またPF7845と同様に、FAAHと共有結合を形成して酵素活性を不可逆的に阻害するBIA-10-2474、モノアミンオキシダーゼ (MAO) と共有結合を形成して酵素活性を不可逆的に阻害するPargylineにおいて、脳内でターゲットと相互作用する領域およびその細胞を可視化することに成功した。また、BIA-10-2474についてCATCHを用いて評価すると、FAAH非依存に中脳水道周囲灰白質や橋被蓋網様核に結合していることが明らかとなり、これまで明らかとなっていないターゲットを見出せる可能性を示すことに成功した。

## CATCHは用量依存的な薬物とターゲットの相互作用を検出する

最後に、CATCHを用いて、PF7845が濃度依存的に海馬CA1領域へ結合することが明らかとなった。さらにその結合は、血管周囲の細胞から起こることも明らかとなり、CATCHは高い解像度でのイメージングが可能であることが示された。

担当者 野田 友人 所属 株式会社LTT バイオファーマ 専門 ドラッグリポジショニング

一言 CATCHはin vivoの組織において、細胞レベルで、薬物とターゲットの相互作用を可視化し、薬物のオフターゲットの探索にも応用できる可能性がある一方、調べたい薬物のアルキンプローブの入手が必要で、アルキンプローブの組織分布や結合力が、元の化合物と類似している必要があるなどの条件もあります。さらに薬物とターゲットの非共有結合は検出できないなど課題も多くありますが、こういったイメージング技術は目覚ましく進歩しており、創薬研究において、薬効評価の可能性が広がっていくのが楽しみです。

✉ y.noda@ltd.co.jp

# タンパク質のオンチップ個別機能評価スクリーニング技術

## 背景

6月30日に、湘南アイパークサイエンスカフェと殿町キングスカイフロントクラスター事業部様との共催イベントの第1回目として、川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター (iCONM) の上野真吾先生に「タンパク質シース創出を目的とした、機能評価に基づいたオンチップ分子進化スクリーニングシステムの提案」という題目で研究開発内容をご紹介頂きました。通常とは異なる形式で開催されたサイエンスカフェでしたが、発表後には活発な質疑応答が行われました。

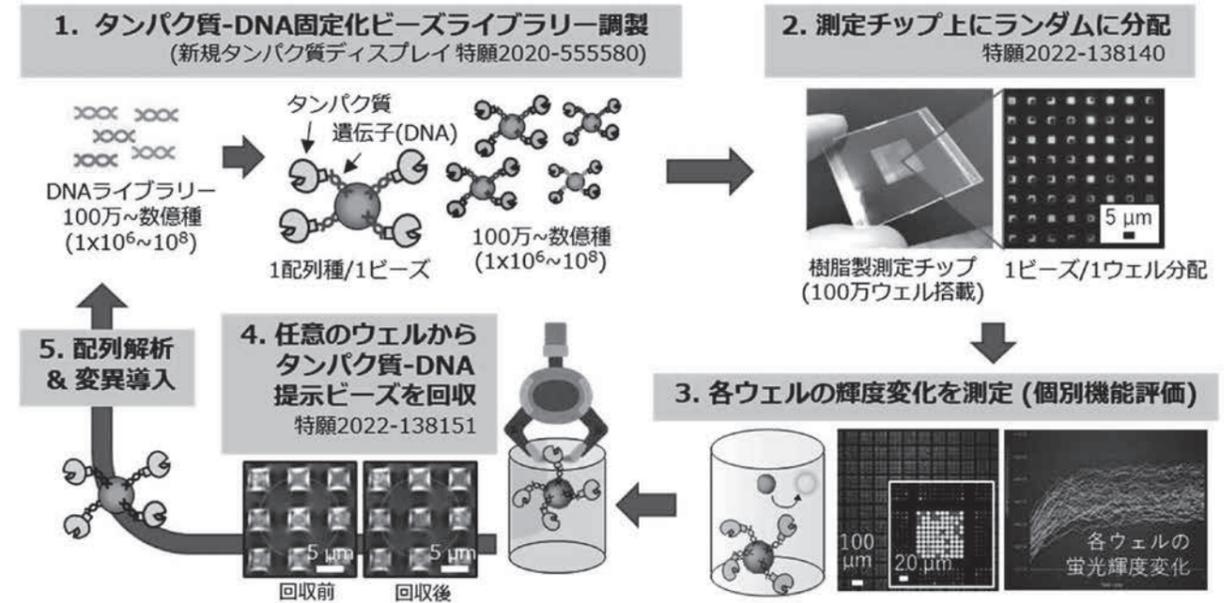
## 研究要旨

抗体やペプチドの探索技術として、ファージディスプレイに代表される結合能評価に基づいた進化分子工学技術の利用が進んでいるが、本来評価したいのは結合そのものではなく、結合に伴う生化学的変化のほうである。生化学反応測定には96/384ウェルプレートが用いられているがスループットの低さから進化分子工学的スクリーニングには向いていない。そこで、大規模ライブラリーを扱える分子ディスプレイ技術と、生化学反応を測定できるウェルアレイチップ技術を組み合わせた、オンチップ分子進化スクリーニング技術の開発を進めている。本技術は、100万種以上の多様性を持つタンパク質ライブラリーによる、生化学的機能に基づいた機能評価スクリーニングを可能にする。

## キーワード

- ultra-HTS
- タンパク質ディスプレイ
- 無細胞合成
- マイクロウェルアレイチップ
- 進化分子工学

## タンパク質のオンチップ個別機能評価スクリーニングシステム



担当者 上野 真吾 所属 川崎市産業振興財団ナノ医療イノベーションセンター (iCONM) 専門 進化分子工学

一言 この度は貴重な機会を頂きありがとうございました。現在、アカデミアのエンジニアリングの立場で研究開発を進めていますが、やはり社会の役に立ててこそ工学だと思います。今回、創薬の現場の方々と議論を通して、現場のニーズを確認するとともに、新たな研究構想に繋がる気づきも得られました。今後とも宜しくお願い致します。

✉ ueno-s@kawasaki-net.ne.jp

## C.elegansにおいて mRNAスプライシングが アルゴノートのサイレンシングを阻害する

Makeyeva et al., 2021, Dev Cell. 2021 v.56, p.2636-2648

### キーワード

- サイレncing
- スプライシング
- イントロン
- アルゴノート

### 要旨

C.elegansの生殖巣ではスプライシングの欠除がサイレンシングを引き起こす。

イントロンのない遺伝子はsmall RNA依存性的および非依存性的仕組みの両方でサイレンシングされる。

スプライシングされたmRNAは、transなsmall RNAサイレンシングを阻害する。

### 背景

1998年にRNAiが発見されて以来、技術としてだけでなくその生物学的な重要性も明らかにされてきました。例えば、small RNAやpiRNAを介した遺伝子サイレンシングは、ウィルスやトランスポゾンに対する対抗手段としても用いられています。また、C.elegansでは精子や卵子を介して22G-RNAsが次世代に受け継がれることや、世代を超えた遺伝子サイレンシングの継承にsmall RNAが関与することも知られています。一方でmRNAのスプライシングはその後の遺伝子発現に必要な、輸送や翻訳にも関係することが知られています。スプライシングとRNAiの関係としては、C.elegansにおいて、アルゴノート依存的な遺伝子サイレンシングにスプライシング機構の構成因子が関与することが遺伝学的に示されていました。しかし、これからがどの様に働くかはよくわかっていませんでした。

### C.elegansの生殖巣ではスプライシングの欠除がサイレンシングを引き起こす。

C.elegansのゲノムにcdk-1::gfp融合遺伝子を挿入した場合、その融合遺伝子にイントロンが含まれていれば生殖細胞と体細胞の双方で発現したが、イントロンがない場合は生殖巣でサイレンシングが見られた。サイレンシングは10世代にわたり維持されていた。

### イントロンのない遺伝子はsmall RNA依存性的および非依存性的仕組みの両方でサイレンシングされる。

サイレンシングと関係して、cdk-1::gfp融合遺伝子のうちgfp遺伝子に対応するアンチセンスsmall RNAの産生が見られた。さらに、small RNA依存的に他のgfp融合遺伝子の遺伝子座へのtrans silencingも見られた。一方、cis-silencingはsmall RNA非依存性的であった。

### スプライシングされたmRNAは、transなsmall RNAサイレンシングを阻害する

ゲノム上のヒストン遺伝子はイントロンがないにも関わらず、生殖細胞でも発現する。ヒストンhis-69遺伝子座にイントロンを含まないgfp遺伝子を挿入した場合、small RNA依存的なサイレンシングは起こるものの、cis-silencingは起こらなかった。イントロンを含まないoma-1::3xflag融合遺伝子をゲノムに挿入した場合には、endogenousなoma-1遺伝子のサイレンシングが見られた。さらに興味深いことに、イントロンを含まないoma-1::gfp融合遺伝子をゲノムに導入した場合に、oma-1遺伝子に対するsmall RNAの産生はendogenousなoma-1遺伝子のスプライシングによって抑制されていた。

担当者 柴田 幸政 所属 関西学院大学 専門 発生、エピジェネ、C.elegans

一言 この論文を読んで、このような重要な問題がほとんど手付かずであることに驚き、物事を広い視野で考えることの重要性を再確認しました。単純な発想と、順序だった考え、そして必要な場合には力技も出てくる様な、読んでいて楽しめる論文でもありました。サイエンスカフェでは、色々な意味で非常に気づきの多い場であると感じています。今後とも、楽しく参加させていただきたいと思ひます。

✉ fww70876@kwansei.ac.jp

## 薬理毒性試験のDX： 動画を用いた動物行動解析システムの開発と応用

Sakamoto N et al. Front Behav Neurosci. 2023.36688129  
Sakamoto N et al. Front Physiol. 2023.35936901  
Miyazaki et al. J Pharmacol Sci. 2022. 35512854  
Sakamoto N et al. Front Behav Neurosci. 2022.35185488  
Kobayashi et al. Sci Rep. 2021. 33436724  
Kobayashi et al. J Pharmacol Sci. 2020.32178942

### キーワード

- 行動解析
- 実験動物
- 動画
- 機械学習

### 要旨

薬理・毒性評価で行われている実験の行動評価には、再現性・客観性・外挿性・スループット性という点で課題がある。

上記課題を解決するべく、当研究室では撮影動画と機械学習法を用いた実験動物の行動解析システムを開発している。

昼夜に渡り24時間動物の自発運動量や移動速度、ケージ内での局在を評価できるシステムを作製した。

引っ掻き行動やグルーミングを自動検出するシステムを作製した。

同一ケージ内の複数個体の動物を識別できるシステムを作製した。

担当者 村田 幸久、小林 幸司、坂本 直観、宮崎 優介 所属 東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医薬理学研究室/

専門 動物行動解析・免疫学・脂質生化学 放射線動物科学研究室/食と動物のシステム科学

一言 上記技術は基礎研究応用のみならず、iParkの皆さんにも使っていただけるよう、汎用化を進めています。薬理・毒性研究者、そして獣医師としての立場から、再現性・客観性・スループット性の高いマニアックな製品ラインナップをそろえるべく日々開発を進めています。これらの開発が皆さんの創薬効率を上げ、結果として人と動物の命が少しでも救えたら幸いです。

✉ amurata@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

### 背景

動物の行動は、環境の変化やストレス、薬剤投与など、様々な要因を反映して変化するため、その解析と意義付けは薬理・毒性学研究の強力なツールになりうる。これまでに、動物行動を評価し、実験動物の精神状態や身体的状態を把握するための様々な方法が提案されてきた。こうした行動観察の多くは人の観察により行われてきたが、客観性や再現性、外挿性に課題がある。また、長時間の観察は事実上困難であった。しかし近年、深層学習をはじめとした人工知能技術の急速な発展に伴い、これらの課題を克服した自動解析手法が開発、報告されてきている。我々の研究室でも機械学習を用いた自動解析手法を開発し、薬理・毒性研究に応用しているの以下で紹介する。

### 撮影環境の整備

撮影環境の整備はそう簡単ではない。異物、反射、影が画像解析の邪魔になる。明るいと解析しやすい綺麗な動画がとれるが、明るさは夜行性の彼らの行動に大きく影響する。蓋がない状態では、マウスやラットが逃亡することがある。げっ歯類というだけあり、ケージ内の噛める部分は噛み始める。また長時間の動画ファイルのサイズは非常に大きい。当研究室ではマウスやラットを自然な環境下で、多個体(現在は1台のカメラでマウス12匹を同時撮影している)を昼夜にわたり撮影し、ファイルを転送できる環境を整えている。

### 自発運動量の評価

撮影した動画を用いて、ケージ内におけるマウスやラットの移動距離、速度、歩容、ケージ内局在、飲水・食餌などを、24時間にわたって評価できるようにした。動物種差や週齢、性差などの基礎データをそろえ、病態モデルの評価を進めている。馴化が適切に行われると、動物は一定のリズムをもって規則正しく生活しているのがよくわかる。また、活動量の多い夜間には、病状や薬効が行動の差として観察されやすい。

### 一般行動の識別

引っ掻き行動やグルーミングといった一連の行動を、機械学習を用いて自動で検出できるシステムを作製した。これらの行動は非常に速く、人の観察では正確な定量ができない。しかし構築したシステムを使えば、感度・特異度ともに高く、長時間にわたる評価が行える。また、観察による評価と違い、掻いた長さのみならず、タイミングなど、多項目の評価が可能である。

### 個体識別

複数個体で飼育している自然な環境下で、個々の行動や社会性を評価することができると、行動解析の応用範囲は大きく広がる。また動物福祉の観点からも利点がある。今回、機械学習を用いることで、個々の動物の体型の特徴を用いて個体を識別できる技術を開発した。人では見分けのつかない、複数匹、同腹仔のマウスの個体識別に成功している。

## 加齢骨格筋における細胞老化の特性評価

Xu Zhang et al. Nature Aging. 2022 2, pages601-615

### キーワード

- 細胞老化
- 骨格筋の老化
- p16,p21
- 老化細胞除去

### 要旨

マウスの骨格筋では老化に伴って線維/脂肪生成前駆細胞と筋線維の一部の集団でp16あるいはp21の発現増加やその他の老化に関する表現型が観察された。

老化細胞を除去する薬剤を高年齢マウスに投与することで老化の表現型が部分的に改善した。

ヒトの骨格筋でもp16あるいはp21の発現増加やその他の老化に関連する表現型が確認された。

### 背景

加齢に伴う骨格筋量、筋力、機能の低下は、サルコペニアと呼ばれ、ほぼすべての種で認められる。ヒトでは、サルコペニアは自立(自分で自分のことをする)や生活の質に対する大きな脅威であり、高齢化が進む中でメカニズムのより深い理解や治療法の開発が求められている。老化した細胞は、様々な特徴的な表現型を示すことが報告されている。また、老化細胞を遺伝的・薬理的に除去することで、老化や加齢に関連した疾患に関するマウスモデルのいくつかの病態が緩和されることも良く知られている。これまでの骨格筋老化の研究は、バルク組織の解析が主であり、加齢に伴って老化する細胞集団の一細胞レベルの解析はこれまで報告が無い。そこで著者らは若齢と老齢マウスの骨格筋におけるシングルセル解析を含めた包括的な解析を実施した。加えて、老齢マウスに老化細胞除去薬を投与した際の効果や、ヒト骨格筋生検で得た結果とマウスの結果を比較して骨格筋老化メカニズムが保存されているかについても検討した。

### 老齢マウス骨格筋の亜集団でのp16・p21陽性細胞の増加

若齢(6カ月)に対し、老齢(24カ月)マウスの骨格筋でサイクリン依存性キナーゼ阻害因子p16とp21陽性の老化細胞が増加する細胞種を探索した。筋組織から単核細胞を精製して実施したscRNA-seqでは、線維/脂肪生成前駆細胞のサブ集団の1つでp16陽性細胞の増加を認めた。p21は増加が認められなかったため、次に筋線維のp21発現をqPCRで検討したところ、老齢マウスの一部の筋線維で著しいp21高発現が認められた。これらp16、p21陽性細胞は老化細胞の他の表現型も観察された。

### 老化細胞除去薬の骨格筋老化に対する部分的拮抗作用

老化細胞を除去するダサチニブとケルセチンのカクテル(DQ)あるいはVehicleを20カ月齢のマウスに4カ月間投与し、骨格筋の老化が改善するかを検討した。DQ投与でp16,p21に関して有意に発現が抑制されたのはp21 variant 2のみであったが、多くの老化に関連する遺伝子の発現が抑制された。また、DQは加齢に伴う骨格筋の重量減少や萎縮を減弱させなかったが、握力を有意に改善することが明らかとなった。このように、DQは骨格筋の老化に対して部分的な拮抗作用を示した。

### ヒト骨格筋における加齢に伴う老化マーカーの増加

ヒトでの知見を得るため、若年者と高齢者の男女の骨格筋生検を解析した。qPCRでp16を評価し、高齢者由来の組織で発現増加が確認された。また、RNA-seqでは加齢に伴うp21の発現増加も観察された。高齢者の骨格筋断片では、DNA損傷マーカーの $\gamma$ H2A.Xがテロメア領域に局在するなどの老化の表現型も確認された。これらのデータから、骨格筋の細胞老化はマウスとヒトの間で保存されており、サルコペニアの一因である可能性が示唆された。

担当者 西村 徹 所属 あすか製薬株式会社 専門 分子生物学、婦人科系疾患

一言 老化の克服は近年非常に盛んに行われていますが、個人的には骨格筋の老化とその克服に強い興味を持っており、シングルセル解析の知見が報告されたため今回発表させて頂きました。加齢に伴う筋量低下を抑制する薬剤の登場は、平均健康寿命の延長が期待され、個人のQOL向上に加えて医療費抑制などの社会的なインパクトも大きい、画期的なものとなることが想像されます。今後もこの領域の最新情報をウォッチしていきたいと思っております。

## ペプチド医薬の経口化 ナノ粒子製剤から 新規モダリティの経口化 を考える

Yan Li et al., Bioact Mater, 2022, 15, 392-408  
Yan Li et al., Theranostics, 2021, 11, 9

### キーワード

- ペプチド医薬
- 経口投与
- ナノ粒子
- インスリン

### 要旨

ペプチド医薬をはじめ新規モダリティの経口吸収性は低い傾向にあり、投与ルートなど医薬品開発に大きな制限が存在する。

ペプチド医薬の経口吸収性を向上させるアプローチとして添加剤などの製剤工夫が実用化されつつある。

今回はpH応答性ポリマーを用いてインスリンを内包することで、経口吸収性を最大27%まで向上することができた。

ポリマーはCaco-2細胞のCLDN4タンパク発現を一過的に減少させることでTJs(tight junctions)機能を低下させ吸収を促進していると考えられる。

### 背景

ペプチド医薬をはじめ新規モダリティは、その分子量の大きさから低分子医薬と比較して経口吸収性が低く、投与ルートなど大きな制限を受ける。そのため新規モダリティに適応可能な経口DDSの開発が求められている。2019年にインスリンの経口製剤Rybelsus<sup>®</sup>がFDAによって承認され、製剤工夫による新規モダリティの経口化が実現した。しかしRybelsusにおいてもバイオアベイラビリティは0.4~1%程度であり、食事の影響を受けるなど改善すべき点は多く残されている。ナノ粒子を用いた製剤工夫によるペプチド医薬の経口化の総説や、pH応答性ポリマーを用いたインスリン経口製剤の論文をもとに、新規モダリティ全般に対しどのような経口製剤が開発されていくかを考えたい。

### ポリカルボキシルベタインPCBを用いたペプチド医薬の経口化製剤

著者らはpH変化によってインスリン放出をコントロールするために、ポリマー構造にカルボキシベタイン構造を有するPCBを設計した。PCBを用いたインスリン内包ナノ粒子(PCB/INS)は、in vitroにおいて弱塩基性でインスリンを放出し、インスリンのCaco-2透過性を向上させることが確認された。糖尿病モデル動物に、腸溶性カプセルに封入したPCB/INSを経口投与したところ、27%のバイオアベイラビリティを示し、強い血糖値低下作用を示した。

### PCB/INSは一時的にCLDN4の発現を低下させることでTJs機能を低下させる

Caco-2透過性評価において、PCB/INSはTJs機能を低下させて膜透過性を向上させていることが示唆された。膜透過向上のメカニズムを解析したところ、PCB/INS処置によって、TJs機能に重要な役割を持つCLDN4の発現が低下していることを確認した。PCB/INSはCaco-2細胞にマクロピノサイトーシスを誘起することで、CLDN4を分解系に移行させ、膜透過を促進していることが示唆された。

### ナノ粒子を用いた経口化製剤の課題

医薬品を開発するうえで、動物評価に基づくヒトへの外挿は重要なアプローチであるが、齧歯類の経口吸収性はヒト外挿性が低く、大きな課題である。また多くの経口製剤においても食事の影響を強く受けることから、食事の影響が少ない製剤工夫の開発が求められる。さらに製剤工夫における多機能修飾は、製造のコスト増加や頑健性の低下につながることから、いかにシンプルな構造で課題解決ができるかが重要だと感じた。

担当者 村上 量弘 所属 田辺三菱製薬株式会社 専門 核酸医薬、ドラッグデリバリーシステム、神経系疾患

一言 昨今様々なモダリティが登場し、今までできなかったことができるようになる中、それでも神経系の疾患への適応には課題が残ります。その課題の一つのDDSに対し、私は化学の目線からその解決を目指しています。ただDDSは様々な学問の複合領域なので、社内外の多くの分野の方と共に研究ができればいいと考えています。

✉ murakami.kazuhiro@ma.mt-pharma.co.jp

## ヘルペスウイルス miRNA による宿主内 miRNA プロセシングの 選択的阻害

Henning et al., 2022, Nature, 605, 539-544

### キーワード

- ウイルス感染
- ミトコンドリア
- microRNA(miRNA)
- miRNAプロセシング

### 要旨

ヒトヘルペスウイルス6A(HHV-6A)の感染や再活性化によりミトコンドリアの断片化が誘導される。

HHV-6A由来miRNAであるmiR-aU14によって細胞内のpri/pre-miR-30 familyのプロセシングが阻害されることで成熟miR-30の発現が抑制され、ミトコンドリア形態異常が起こる。

miR-aU14によってHHV-6Aの感染や再活性化時のインターフェロン産生等の抗ウイルス応答が抑制されることから、潜伏感染から再活性化に移行することが示唆された。

### 背景

ヒトヘルペスウイルス6(HHV-6)は小児期の疾患である突発性発疹の原因ウイルスで、90%以上の成人の体内に潜伏感染している。そして、宿主細胞で、免疫回避機能を獲得することで、潜伏感染や再活性化を繰り返している。これまでに、潜伏感染と再活性化のスイッチとウイルス由来のnon-coding RNAの関係は示唆されていたが、詳細は明らかになっていなかった。著者らは、HHV-6Aが持つウイルス由来miRNAであるmiR-aU14が宿主細胞のmiRNAプロセシング過程を阻害し、その影響で宿主細胞のミトコンドリアの形態が断片化することを見出した。HHV-6Aは宿主細胞内で、miR-aU14を使って抗ウイルス応答に関与するミトコンドリアの形態を変化させることで、インターフェロン産生等の抗ウイルス反応を抑制し、潜伏感染から再活性化に移行していることが示唆された。

### HHV-6A由来のmiR-aU14によって感染や再活性化時に宿主細胞のミトコンドリアの断片化が誘導される

HUVEC細胞にHHV-6Aを感染させると断片化したミトコンドリアが観察された。これは、ミトコンドリアの分裂に関与するDrp1の転写を担っているp53の発現量が増加しているために起こっていることが示唆された。同様の現象は、HHV-6Aゲノムを導入したU2OS細胞(ウイルス再活性化モデル)でも示された。さらに、これらの細胞内ではDrp1の発現抑制に関与しているmiR-30 familyの発現量が低下していることが分かった。原因究明のために、HHV-6A感染した細胞でAGO免疫沈降法によってAGOに結合しているmiRNAを解析したところ、HHV-6A由来のmiR-aU14が多く結合していることを見出した。miR-30 familyの配列解析を行ったところ、Pre-miR-30a,c,dはヘアピン構造部分にmiR-aU14の結合が予測される配列を有することが分かった。実際に、miRNAプロセシングアッセイを実施すると、priやpre体から成熟miRNAへのプロセシングが抑制された。

### miR-aU14によって抗ウイルス応答が抑制される

miR-aU14を導入したHEK293細胞では、ウイルスRNAを模した5' triphosphate hairpin RNAで誘導されるインターフェロン $\beta$ 産生が阻害され、miR-aU14により抗ウイルス応答が抑制されていることが示唆された。

### miRNAによるプロセシング調節は細胞内miRNAによっても引き起こされる可能性がある

著者らは、ヒトのmiRNAの配列解析を行ったところ、miR-155がmiR-148bのステム構造部分に結合する可能性があることを見出し、miR-aU14と同様にプロセシング阻害が起こることを明らかにした。このことから、生体内のmiRNA同士でも同様のプロセシング調節機構によってmiRNAの発現量を調節していることが示唆された。

担当者 安川 開 所属 田辺三菱製薬株式会社 専門 核酸医薬、分子生物学、がん

一言 最近、創薬標的にもなっている細胞内のmiRNAですが、外来のウイルス由来miRNAが宿主細胞のミトコンドリア機能を制御している内容でしたので、興味を持ち今回のサイエンスカフェで紹介させていただきました。コロナウイルスは変異を繰り返すことで上手くヒトの免疫反応をかいくぐって、パンデミックを長引かせてきましたが、ウイルスは自身のmiRNAを使って宿主細胞での免疫回避をしているということで、ウイルスは本当にいろいろな戦略をとって宿主との共存や自己の増幅を行っているものだなと改めて感じました。

✉ yasukawa.kai@mk.mt-pharma.co.jp

## Young CSFによる Fgf17を介した老化マウスの オリゴデンドロサイト成熟と 記憶機能の改善

Iram et al., 2022, Nature, 605, 509-515

### 背景

Parabiosisは、2匹の生きた動物を手術的に結合し、循環系を共有させた状態を指す。Parabiosisを用いた実験は、ホルモンなど血液中の循環因子に関する研究の発展に用いられてきた。1970年頃をピークに実施される機会が減ってきたものの、老齢マウスと若齢マウスを結合させる事で血中の液性因子が加齢に伴う機能低下改善に関わる事等が報告されて以降、老化研究において近年再びParabiosisが注目を集めている。CCL11(Nature,2011,477,90-94)や $\beta$ 2-microglobulin(Nat Med,2015,21,932-937)など老化に関わる血中因子が複数報告されてきているが、CSFに同様の液性因子が存在するかはこれまで分かっていなかった。そこで筆者らは「若齢マウスCSF/若年ヒトCSF(Young CSF)中に老齢マウスの記憶を改善させる因子があるのでは」という仮説を立て、今回検討を行った。

### キーワード

- 老化
- CSF(cerebrospinal fluid)
- Fgf17
- オリゴデンドロサイト
- 記憶

### 要旨

Young CSFが、オリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC:oligodendrocyte precursor cell)の増殖や海馬における髄鞘の形成を促し、老齢マウスの記憶能を改善させた。

Young CSFは、血清応答因子(SRF:serum response factor)を介してOPCの増殖を促した。

Young CSFに含まれるタンパクからSRFを活性化させる因子を探索した結果、Fgf17がOPCの増殖や記憶能の改善における重要なmediatorである事を見出した。

### Young CSFは、老齢マウスの記憶能と共にOPC増殖や海馬の髄鞘形成を増加させる

老齢マウス(20カ月齢)にYoung CSFを脳室内投与し、恐怖条件付け記憶試験を行った。その結果、陰性対照のaCSF(artificial CSF)投与群に比べ、遠隔恐怖記憶の保持の増強が示された。記憶に関わる海馬のbulk RNA-seqを実施した結果、Young CSFにより、オリゴデンドロサイトに関わる遺伝子群の発現が顕著に変動する事が分かった。実際、Young CSFはOPCの増殖能や有髄軸索数の増加を促しており、oligodendrogenesisに寄与している事が明らかとなった。

### Young CSFはSRF活性化を介してOPC増殖を促す

4-チオウリジンで新生RNAに取り込ませ、新生RNAを評価するSLAMseqにより、Young CSFがアクチン細胞骨格系の転写因子であるSRF及びその下流遺伝子の転写を活性化させる事が分かった。SRFをノックアウトしたOPCではYoung CSFによる増殖作用が低下した事から、Young CSFはSRFシグナル伝達を介してOPCを増殖させる事が示唆された。

### Young CSFに含まれるFgf17がOPCの増殖や記憶能の改善に中心的な役割を果たす

SRF標的遺伝子がSRFの上流誘導因子として働く事がある事に注目し、CSFのプロテオミクスデータとSRFの標的候補因子から、CSF中でSRFの転写活性化に寄与する上流因子候補を35個選抜した。その中からFgf17が老齢マウスのOPC増殖を促す事及び遠隔恐怖への記憶力を高める事を見出した。また、若齢マウスに抗Fgf17抗体をICV投与すると、認知テスト(Y迷路&恐怖条件付け)の成績が低下した。この事からFgf17がYoung CSFにおいて認知機能に関わる重要な因子と結論付けた。

担当者 小笠原 彬 所属 田辺三菱製薬株式会社 専門 核酸医薬、HTS、分子生物学

一言 Tony Wyss-Coray先生は以前から血中の老化関連因子を一流紙に複数報告しており、個人的に「面白い研究をしているな」と感じる先生の1人です(私が最初にサイエンスカフェで発表したのもこの先生のラボからの報告でした)。おそらく今後、CSFからも複数の老化関連因子の報告が出てくるのではないかと予想しています。自分の専門分野とは毛色が異なりますが、引き続き折に触れて研究の進展を見届けたいなと思っております。

✉ ogasawara.akira@ma.mt-pharma.co.jp

## CRISPR-Cas9 in vivo ゲノム編集を用いた トランスサイレチン型 アミロイドーシス治療

Gillmore et al., N Engl J Med, 2021, 385 (6), 493-502

### キーワード

- トランスサイレチン (TTR) 型アミロイドーシスミスフォールドしたTTR蛋白
- CRISPR-Cas9システム
- NTLA-2001
- 第I相臨床試験

### 要旨

NTLA-2001はTTR遺伝子を標的にしたシングルガイド (sg) RNAとCas9蛋白のmRNAを封入するLNPで構成される。

前臨床試験 (サル)、NTLA-2001単回投与後 (i.v.)、12カ月に渡る持続的な血清中TTR蛋白の減少。

第I相臨床試験、ポリニューロパチーを伴う遺伝性TTR型アミロイドーシス患者 (N=6) に対するi.v.投与後28日間での安全性評価において軽度な副作用のみ。

血清中TTR蛋白の減少は、投与28日目において、0.1mg/kg群で52%、0.3mg/kg群で87%。

### 背景

TTR型アミロイドーシスはミスフォールドしたTTR蛋白が組織 (主に神経と神経) に蓄積して生命を脅かす疾患である。既存薬には、低分子医薬品 (Diflunisal, Tafamidis) と核酸医薬品 (Inotersen, Patisiran) がある。後者は症状改善や生存期間の延長を認めるが、TTRノックダウン (KD) を維持するために長期間投与が必要な制限がある。その代替としてCRISPR-Cas9システムを用いたin vivoゲノム編集があり、単一遺伝性疾患のTTR型アミロイドーシスはその応用に適する。またTTRは特異的な機能 (チロキシンとビタミンAの運搬) を持つため、遺伝子KDの影響が限定的である。さらに血中TTRのほぼすべて (>99%) が肝臓で産生されるため、lipid nanoparticle (LNP) などのターゲティングシステムが応用可能である。

### NTLA-2001のMechanism of Action (MOA)

NTLA-2001はヒトTTR遺伝子を標的とするsgRNAとヒト型に最適化された連鎖球菌のCas9蛋白のmRNAを封入するLNPから構成される。NTLA-2001のMOAは以下の通り。最初にi.v.投与後に血中でLNPはApoEのオプソニン化を受ける。次に肝細胞においてLNPはApoE-LDL受容体を介してエンドサイトーシスで細胞内に取り込まれ、エンドソームからsgRNAとCas9 mRNAが放出される。その後Cas9 mRNAは翻訳され、Cas9-sgRNAリボヌクレオタンパク質が核内に入る。核内でCas9-sgRNAは標的TTRのDNAに結合してDNA切断を誘導し、内性DNA修復機構はTTR遺伝子にindelsを引き起こす。この結果、frameshift変異が導かれ機能的なTTR蛋白の産生が抑制される。

### 前臨床試験 (サル) におけるTTR蛋白の減少

初代ヒト肝細胞において、NTLA-2001はTTRの高いゲノム編集活性 (EC90:0.17-0.67nmol/L) を示し、ゲノム編集活性は $\geq 93.7\%$ で飽和レベルとなり、その際、TTR遺伝子発現の減少 ( $\geq 91\%$ ) とTTR蛋白産生の減少 ( $\geq 95\%$ ) を引き起こした。サルにおける試験では、NTLA-2001 (サル用サロゲート) 3,6mg/kgの単回投与 (i.v.) により、12カ月間に渡る持続的な血清中TTR蛋白の減少 (>94%) を示した。

### 第I相臨床試験における安全性評価とTTR蛋白の減少

第I相臨床試験、ポリニューロパチーを伴う遺伝性TTR型アミロイドーシス患者へのi.v.投与後28日間での安全性評価において軽度な副作用のみが認められた。具体的には、投与中・投与後の副作用であり、その全てがgrade1と軽度であった (6人中3人)。一方、血清中TTR蛋白減少に関しては、投与28日目において、用量依存的に0.1mg/kg群 (N=3) で52%、0.3mg/kg群 (N=3) で87%の減少が見られた。

担当者 荒川 佑一 所属 ラクオリア創薬株式会社 専門 中枢性疾患創薬

一言 今回、ゲノム編集技術で初の全身投与 (i.v.) となる臨床試験の報告を紹介させて頂きました。本臨床試験の今後の更なる結果、および、その他のゲノム編集技術を用いた研究開発動向にも注目していきたいと思っております。

✉ yuichi.arakawa@raqalia.com

## 天然変性タンパク質に 対する創薬 Drug discovery for intrinsically disordered protein

P. Chakrabarti, et al., 2022, Biophys Chem. Apr;283:106769.

P. Robustelli, et al., 2022, J Am Chem Soc. Feb 16;144(6):2501-2510.

### 背景

天然変性タンパク質 (Intrinsically Disordered Protein; IDP)、及び天然変性領域 (Intrinsically Disordered Region; IDR) は、単独では一定の構造を保たないという変性状態であるが、ターゲット分子と相互作用することで特定の立体構造を呈して複合体を形成する。このような分子認識機構は、「lock-and-keyモデル」や「誘導適合モデル」の概念に収まらないものであるが、このIDP/IDRは原核生物より真核生物に圧倒的に多く見られ (ヒトゲノム上タンパクの40%)、細胞内の様々なタンパク質間ネットワーク (PPI) のハブタンパク質として高度に洗練された機能を発揮するものとして注目されている。また、IDP/IDRは創薬ターゲットとしては難易度が高いと考えられていたが、最近このような領域に結合する数々の低分子が報告され、創薬ターゲットとしても注目されている。

### キーワード

- Intrinsically Disordered Protein (IDP)
- Intrinsically Disordered Region (IDR)
- Hub protein
- Fasudil
- $\alpha$ -synuclein

### 要旨

IDP/IDRは、真核生物の多くのタンパク質、タンパク質複合体の構造多様性に関与している。

IDP/IDRの構造変化は、異なるbinding partnerタンパク質に相互作用するhub proteinとしての機能や、自身のタンパク質の機能を調整する役割をもつ。

Fasudilは $\alpha$ -synのIDRに結合して凝集抑制していることが示され、新たな低分子化合物の創薬研究のヒントとなり得る。

### IDP/IDRにおける構造多様性

X線構造解析の発展によってタンパク質の振る舞いが解明されてきたが、NMR、Cryo-EMとSequencing技術が進み、多くのタンパク質はダイナミックに構造変化し、特に真核生物ゲノム上タンパク質の多くはその一部、または全体が一定の立体構造を取っていない領域 (IDR) であり、特に核内受容体や転写因子など、核内タンパク質に最も多いということが判ってきた。構造がよく知られたタンパク質もIDRとなるポリペプチド部分を持つことが判ってきており、かつてはDomainとDomainを繋げるLinkerと考えられていたが、様々な重要な機能を持つ領域であることが示されつつある。

### IDRは構造変化に伴って様々な機能を持つ

P53のN-terminal transactivation domain (TAD) はIDRであり、構造変化しながら、それぞれの状態において5種類のパートナータンパク質と相互作用し、Hub proteinとしてシグナル制御に役立っている。このようなHub proteinは、IDRを介して10~1000種類のタンパク質に相互作用することが知られている。また、転写因子であるNdt80は、IDR領域がDNAに結合することで構造変化しプロテアーゼ耐性となることが知られている。また、Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP) はIDPであり、Cdc42と結合することでアロステリック構造変化し、Active formへと平衡がシフトし、Actin polymerizationが進む。

### $\alpha$ -シヌクレインの凝集を抑制するfasudilはIDRに結合

IDPである $\alpha$ -シヌクレイン ( $\alpha$ -syn) のオリゴマーやアミロイド線維への凝集は、パーキンソン病の病因に重要な役割を果たすと考えられている。最近、低分子化合物fasudilが単量体の $\alpha$ -synと相互作用し、その凝集を遅延させることが示された。NMR実験により、この相互作用は主にC末端のタンパク質残基のIDR領域の特定のクラスターに局在することが示された。分子力学のポテンシャルエネルギーの計算手法が改良され、この相互作用は、主に芳香族スタッキングと電荷-電荷相互作用の組み合わせによって駆動されていることが、高精度に示された。

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、臨床試験に入った化合物を含めて幾つかの化合物が相互作用しているとして注目されているIDP/IDRについて調べたので紹介しました。RNAバインダーやPROTAC等、低分子における新たなモダリティが注目される中、IDP/IDRを狙った低分子創薬の発展も期待されます。

✉ kosuke.nakashima@takeda.com

## 移植されたヒト大脳皮質 オルガノイドの成熟化と 回路統合

Revah O et al., Nature, 2022, 610, 319-326.

### キーワード

- ヒト大脳皮質オルガノイド (hCO)
- 成熟化
- 神経回路
- オプトジェネクス
- Timothy症候群 (TS)

### 要旨

多能性幹細胞由来の脳オルガノイドモデルは in vivoで本来ある神経回路接続がないので成熟度も限定されている。

新生児ラットの体制感覚野に脳オルガノイドを移植すると、生着して増殖・成熟化が起きた。

TS患者由来の脳オルガノイドを移植すると神経細胞の樹状突起の分岐鎖異常という疾患フェノタイプを新たに見出した。

移植したhChR2発現脳オルガノイドは、宿主の感覚刺激に応じた同期的電気活動を示し、宿主の行動も促した。

### 背景

脳の発生や病態を理解するために、脳組織を直接取得できないことが課題となっている。近年、ヒト多能性幹細胞から脳オルガノイドの生成法が複数報告されたが、in vitro培養条件下の脳オルガノイドは、in vivoで本来ある感覚入力や神経回路形成を欠いている。その上、行動に影響がでる精神疾患用のモデルには、脳オルガノイドモデルが行動を制御できるかの検証も必要となる。既報において、齧歯類への脳オルガノイドの移植は試みられているが、既に神経回路が形成された大人のマウスに移植されていたことから、著者らは移植した脳オルガノイドと宿主のシナプス接続や回路統合が不十分と考えている。本論文では新生児ラット（免疫不全）に脳オルガノイドを移植して、宿主との回路形成や行動制御に効果があるか検討した。

### ヒト大脳皮質オルガノイドが 新生児ラット脳内に生着して、 in vitro培養条件下よりも成熟化が促されている

ヒト大脳皮質オルガノイド (hCO) を新生児ラットに移植すると、移植2カ月後のMRIから81%の生着率 (iPS細胞10株平均) と増殖・分化を確認した。移植したhCO (t-hCO) がIn vitro培養下のhCOと異なる点は、オリゴデンドロサイトの発生、GABA作動性神経細胞が少ないという事であった。また、樹状突起のスパイン密度の増加や静止膜電位がin vitro培養条件下よりも-20mV過分極して成熟化も進んでいた。

### TS患者由来t-hCOの神経はin vitro培養条件で 確認できなかった異常な樹状突起形態を示す

TSではL型カルシウムチャンネルのCav1.2変異 (G406R) が疾患関連SNPとして同定されている。平均年齢は2.5歳であり、生存しても認知・発育障害・自閉症症状がでるが、治療薬はない。患者由来t-hCOは、健常株と比較して短い樹状突起で数が多いという特徴以外にも樹状突起の分岐鎖異常を示していた。

### t-hCOの神経は宿主の神経とシナプス接続する

t-hCOが移植された1次体制感覚野は、視床や2次体制感覚野との接続が知られている。カルシウムセンサーであるGCaMP6sあるいは光感受性カチオンチャンネルであるhChR2を発現させる事で、宿主の感覚刺激に対して、t-hCOの電気的活動が同期していることが確認できた。

### t-hCOの神経は宿主の電気的活動や行動も制御する

給水口から水を飲むときにレーザー照射でhChR2発現t-hCOを刺激するトレーニングをしたラットは、レーザー照射下で給水口をなめる動作頻度が上がるという報酬探索行動を示した。活性化した神経細胞の指標となるFOS陽性細胞が移植部位以外の脳領域でも多くなることを示した。

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 患者iPS細胞を中枢神経疾患の創薬にどのように活かすかに興味をもっています。最近では、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による臨床試験結果が報告されています。このような中枢神経疾患に対して、患者iPS細胞の可能性を活かした論文が今後も発表されることを期待しています。

✉ shunsuke.yoshida@kpharma.co.jp

## A-to-I RNA編集する オリゴヌクレオチド

Monian et al., 2022, Nat biotechnol, 40, 1093-1102.

### 背景

CRISPR-Cas9で注目されたゲノム編集技術は、DNA情報を永続的に改変することから、ヒトを対象とした医療応用には懸念が残る。そこで近年、注目されているのがRNA編集である。ヒトの生体において、最も高頻度に行われているA-to-I RNA編集は、RNA編集酵素である2本鎖RNA特異的アデノシンデアミナーゼ (ADAR) により、RNA上のアデノシン (A) を脱アミノ化して、イノシン (I) に置換する。タンパク質へ翻訳される際、mRNA上のイノシン (I) は化学構造が類似するグアノシン (G) として認識されるため、A-to-I RNA編集はA-to-Gゲノム編集と同じ意味を持つ。

### キーワード

- RNA編集
- ADAR
- アンチセンス
- キラル制御

### 要旨

30-mersの合成オリゴヌクレオチドを用いてRNA編集可能である。

キラリティ制御、PN結合により、編集効率を向上可能である。

サルへの投与試験では、バイスタンダー編集せずに最大50%まで標的RNAを編集し、1カ月以上効果が持続した。

### キラリティ制御によるRNA編集効率の向上

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、血中での安定性向上のため、ヌクレオチド間架橋であるチオリン酸化修飾 (ホスホロチオアート、PS結合) が施されている。PS結合含有オリゴヌクレオチドはRp型ジステレオマーとSp型ジステレオマーの混合物 (ステレオランダム) であり、異なるジステレオマーで標的に対する親和性、作用に関わる酵素との親和性が異なる。著者らは、作用に関わる酵素ADAR1との親和性を最適化したオリゴヌクレオチド (ステレオピュア) の使用がRNA編集活性を向上させることを明らかにした。7種類の内在性mRNAを標的としたオリゴヌクレオチドを用いた試験により、RNA編集に最適なオリゴデザインがあることを見出した。

### PN結合含有オリゴによるRNA編集効率の向上

PS結合は多くのアンチセンス医薬で採用されているヌクレオチド間架橋であるが、生体内でのタンパク質に対するアフィニティが強く、活性に影響する。オリゴヌクレオチドへのPN結合の導入は、標的配列に対する親和性、作用に関わる酵素ADAR1との結合特性が変化し、RNA編集効率を向上させた。

### 特異的にRNA編集

短いオリゴヌクレオチドにより、特定の標的遺伝子において、A-to-I RNA編集できることが明らかとなった。しかし、標的遺伝子以外に作用する、想定外のA-to-I RNA編集、つまりバイスタンダー編集の懸念が残されていた。著者らのオリゴヌクレオチドは、マウス、サルへの投与試験において、バイスタンダー編集することはなかった。サルへの1回投与で、最大50%の効果が示され、その効果は1カ月以上持続した。

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 核酸医薬、細胞生物学、骨生物学

一言 CRISPR-Cas9の注目の影でひっそりと研究されてきたRNA編集が注目されています。がん患者さんの腫瘍生検における遺伝子変異プロファイリングを行い、RNA編集薬をアプリでオーダーメイドなんて未来がすぐそこまで来ているのかもしれませんが。RNA編集するアンチセンスオリゴの革新的な研究成果は、核酸医薬で対応できる疾患の幅を広げています。

✉ k.kaneko@renatherapeutics.com

## フローマイクロリアクター 技術を用いたADC製造法

Nakahara et al., Org. Process Res. Dev., 2022,  
26, 9, 2766-2770

### キーワード

- ADC
- フローマイクロリアクター
- 連続フロー合成

### 要旨

フローマイクロリアクターを用いた抗体とドラッグリンカーの複合化は初めての事例である。

わずか4.5分の反応時間で複合化することに成功し、3種類の抗体×3種類の薬剤の組み合わせにおいて適用可能である。

スケールアップ時における反応条件の最適化を短縮・効率化できる手法である。

グラムスケール、GxP製造への適用も検討中である。

### 背景

フローマイクロリアクターの研究は化学合成の製造プロセス研究においては広がっているが、その主たるは低分子医薬品の領域である。一方、ADC (Antibody Drug Conjugate) は抗体と低分子医薬を適切なリンカーを介して結合した医薬品群であり、抗がん剤治療として注目されている。そのADCは従来、バッチ式プロセスにて製造されていた。低分子化合物の製造において、フロー合成は一般的にバッチ式製造よりスケールアップし易いと言われている。また、最近ではDoE (Design of Experiments) による条件最適化の手法も広まっており、フロー合成はその手法にも適している等の利点が挙げられる。さらには、低分子以外でペプチド等の中分子においても、フロー合成の研究は進められているが、著者達は今回初めて、フローマイクロリアクターを用いてADCを合成することに成功した。

### フローマイクロリアクターを用いることで 抗体とドラッグリンカーの複合化反応時間を 4.5分に短縮できる

従来、ADCはバッチ式にて製造を行っているが、複合化反応は1時間程度の時間を要している。また、著者達は3種類 (T型、V型、vortex型) のミキサーにおいて、V型が最も素早い混合効率である知見を見出していた。その高い混合性のフローマイクロリアクターを用いることで、抗体の還元からドラッグリンカーとの複合化までを連続反応させることに成功するとともに、その反応はわずか4.5分と短時間で完結することを見出された。また、連続フロー合成であるため、送液時間をコントロールすることで、サンプルの合成量をフレキシブルに調整することも可能である。さらには、合成したADCのDAR (drug-antibody ratio) は3程度に管理することができる反応条件も見出された。

### 3種類の抗体及び薬剤における 基質適用性範囲も確認できた

3種類の抗体 (Trastuzumab, Rituximab, Infliximab) × 3種類の薬剤 (MC-VC-PAB-MMAE, MCC-maytansinoid, MC-MMAF) の9通りの組み合わせにおいても、DAR=3のADCの合成に成功した。この事から基質適用範囲も広げられる、つまりは創薬領域の研究にも適用できる可能性が示された。

### グラムスケール、GxP製造へ発展が期待される

現在は、グラムスケール、GxP製造へのスケールアップ適用も検討中である。一方、本製造法が確立されることで、短時間で反応完結できるため、反応条件の最適化に要する時間の短縮などを通じて、研究の効率化が期待できる。ADCの新たなバッチ式以外の製造法として、注目の技術である。

担当者 後藤 諒太 所属 十全化学株式会社 専門 有機合成、プロセス化学

一言 今回、医薬品の製造法について紹介させていただきました。普段の薬理等の文献とは毛色が異なりましたが、多くのご意見をいただけて、私自身も勉強になりました。連続フロー合成は低分子での研究から、最近ではペプチド等の中分子合成も研究が進んでいます。今回取り上げたADC合成への適用は初めての報告例ですが、新規モダリティ合成にも連続フロー反応を活かせることは、製造方法の幅を広げられる有用な技術開発と感じています。

✉ goto@juzen-chem.co.jp

## LC3Bは RNA結合タンパク質で、 オートファジーにおいて mRNAの迅速な分解を 誘発する

Hwang et al., 2022, Nat. Commun., 13, 1436

### キーワード

- オートファジー
- LC3B
- RNA結合タンパク質
- ポリアデニル化シグナル
- PRMT1

### 要旨

オートファゴソーム形成を制御するLC3Bタンパク質は、オートファジーマーカーとして有名だが、RNA結合タンパク質であることが今回明らかとなった。

LC3Bたんぱく質は、ポリアデニル化シグナルとして知られるAAUAAAモチーフに直接結合する。

LC3B-mediated mRNA decay (LMD) により、CCR4-NOT複合体依存的な標的mRNA分解が惹起される。

LMDによるPRMT1 mRNA分解が、オートファジーを推進している。

### 背景

オートファジーは、細胞内物質を除去する自食型の細胞内分解経路で、通常の状態ではほとんど活性化されず、栄養不足などのさまざまな細胞ストレスによって動的に活性化され、結果として自己栄養や細胞の恒常性維持を司っている。今では、がんや神経変性疾患など、さまざまな疾患と関連することが知られている。オートファジーでは、細胞質の物質を脂質2重層のオートファゴソームで閉じ込め、リソソームと融合してオートリソソームを形成する。閉じ込められた物質は、最終的にオートリソソーム内で分解され、アミノ酸などの供給源となる。オートファゴソーム形成は、LC3Bがホスファチジルエタノールアミンに共有結合してオートファゴソーム膜に局在化するステップが大事である。今回、このLC3BがRNA結合たんぱく質で、PRMT1 mRNA分解を仲介することでオートファジーを進行させることが分かった。

### LC3BはRNA結合タンパク質で、ポリアデニル化シグナルとして知られるAAUAAAモチーフに直接結合する

これまでの研究から、LC3BがRNA結合タンパク質である可能性が推察された。そこで、LC3Bを用いたHITS-CLIP (high-throughput sequencing of RNA isolated by crosslinking immunoprecipitation) 解析を実施したところ、LC3Bが、mRNAのポリアデニル化シグナルモチーフAAUAAAに直接結合することを見出した。

### LC3B-mediated mRNA decay (LMD) により、 CCR4-NOT複合体依存的なmRNA分解が惹起される

次に、オートファジーを活性化すると、LC3B結合性のmRNAが優位に不安定することを見出した。また、LC3Bに対するsiRNAによりそれら標的mRNA群が安定化したことから、LC3Bは、オートファジー時にmRNA分解を仲介することが明らかとなった。mRNA分解機構のうち、脱ポリアデニル化反応に重要なCCR4-NOT複合体の構成因子CNOT1およびCNOT7に対するsiRNAの処理より分解抑制されたことから、CCR4-NOT経路が重要なことが明らかとなった。オートファジーにカップルしたこの現象を、LC3B-mediated mRNA decay (LMD) と命名した。

### LMDによるPRMT1 mRNA分解が、 オートファジーを推進している。

今回、LMDによりPRMT1 mRNAが効率的に分解されることを発見した。一方、これまでの研究から、マウス *Prmt1* 発現抑制によりオートファジーが活性化されることが分かっていた。そこでLMDによるPRMT1 mRNA分解とオートファジー進行の関係を検査したところ、LMDによるPRMT1 mRNA分解がオートファジーを推進させていたことが判明した。

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 RNA結合たんぱく質は、2014年のレビューにおいてはヒトには1542種類あるとされましたが、2021年のレビューでは3470種類あるとされています。RNAiのAGO2タンパク質やCRISPR/Cas9システムもRNA結合タンパク質なので、画期的技術がまだまだこのカテゴリーから見出されるに違いありません。LMDシステムの発見も、大変、感動的なものでした。

✉ masahiro.nogami@takeda.com

## 細菌叢依存的な腸-脳経路が運動のモチベーションを制御する

Nature. 2022 Dec;612(7941):739-747.

### キーワード

- 腸内細菌
- モチベーション
- ドーパミン
- TRPV1神経
- 脂肪酸アミド

### 要旨

マウスの運動能力は腸内細菌叢と強く相関している。

Eubacterium rectaleとCoprococcus eutactusが運動モチベーションに重要である。

細菌叢からTRPV1陽性感覚神経を介してシグナルが線条体に伝わり、ドーパミン分解酵素のレベルを下げ、運動時のドーパミンレベルが保たれる。

TRPV1神経が発現しているCB1受容体に細菌叢から分泌される脂肪酸アミドが結合し、TRPV1を刺激している。

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 私自身も運動は健康に良いとわかっていても怠けてしまっ続けられないタイプです。最近ランニングをする機会があったのですが、1kmで精いっぱいでもまた走りたいとも思いませんでした…。健康習慣は続けづらいものですが、それがこのようなサイエンス的な解明によって少しずつ変わっていくと面白いですね。(いつか無意識に運動欲が湧く夢のようなシステムができれば私でも続けられるかもしれないという希望を抱いています)

✉ Emiri\_Hiramoto@kirin.co.jp

### 背景

運動はさまざまな疾患から身を守るための最も重要かつ身近な生活習慣の要素です。しかし、運動が健康に良いことはわかっているにもかかわらず、現代社会の座りっぱなしのライフスタイルやモチベーションが上がらず、なかなか運動の継続できないという問題が多くの人に存在し、対策が急務となっています。

本研究では、遺伝的に多様なマウスを用いて運動能力を検証し、運動意欲が腸内細菌叢に強く影響されていることを発見しました。さらに腸内細菌叢由来の代謝物によって、報酬と動機づけに重要な役割を持つ脳の線条体ヘシグナルが伝達される経路を特定しました。

### 運動意欲は腸内細菌と相関している

筆者らはまず、遺伝的背景の異なる約200匹のマウスの自発的・強制的運動能力を調べた。その結果、自発的・強制的運動ともにその量に大きな個体差が確認された。次に、運動量と相関する要因を調べると、驚くべきことに遺伝的要因の相関はほぼ認められず、腸内細菌叢との相関が強く認められた。実際、抗生物質をマウスに投与して腸内細菌叢を除去すると、運動量の差はほとんど消失した。そこで、運動意欲と相関する菌をネオマイシン耐性・ペニシリン感受性であることを基準に絞り込み、Eubacterium rectaleとCoprococcus eutactusが運動モチベーションに重要であることを明らかにした。

### TRPV1陽性感覚神経を介したシグナルにより運動時に線条体のドーパミンレベルが上昇する

運動量の差の原因を脳の細胞のsingle cell RNA-seqによって探索した結果、運動時の線条体におけるドーパミン量の維持が非常に重要であることが判明した。さらに、細菌叢によってTRPV1陽性の感覚神経を介して線条体ヘシグナルが伝わり、ドーパミン分解酵素(MAO)の発現が調節されることでドーパミン量が制御されていることが判明した。

### 腸内細菌の代謝物である脂肪酸アミドがTRPV1陽性感覚神経を刺激する

マウスの糞便のメタボローム解析を行い、運動量と相関する代謝物を探索した結果、N-oleoylethanolamide(OEA)のような脂肪酸アミドが重要であることが判明した。また、この脂肪酸アミドがTRPV1陽性の神経に発現しているCB1受容体に結合することでシグナルが伝達していることが明らかとなった。

## 哺乳類の老化の要因としてのエピジェネティック情報の喪失

Yang et al., 2023, Cell, Jan 9;S0092-8674(22)01570-7.

### キーワード

- エピジェネティクス
- 老化
- リプログラミング
- クロマチン修飾

### 要旨

二本鎖DNA切断に対する細胞応答ではエピジェネティック情報が変化する。

エピジェネティックな情報の喪失が老化の特徴を加速させる要因である。

エピジェネティック変化は、山中因子によるリプログラミングで復元することができる。

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

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いただきますので、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

### 背景

老化の重要な原因は、DNA損傷による突然変異で遺伝情報が喪失することにあるとされてきた。しかし、老化細胞の中に遺伝子変異数が蓄積されないケースがあることや変異率の高いマウス系統で早老症の兆候がほとんど見られないこともある。

発生過程において細胞のアイデンティティは転写プロファイルやクロマチン構造によって決まり、そのアイデンティティを保持することが細胞の最適な機能を維持するのに必要である。

ヒストンの過剰発現で酵母が長生きするという報告があることから、エピジェネティックな変化が老化の要因になる可能性が示唆されていた。紹介論文は、老化がDNA損傷応答を起点に、時間とともに転写ネットワークやエピジェネティック情報の喪失に起因するかもしれないという仮説を基に進められた。

### エピジェネティックな老化を誘導するシステムの構築

変異を誘発しないDNA損傷を効率よく起こすために特定配列のDNA(マウスゲノム20カ所)を切断する制限酵素I-PpoIを用いた。培養細胞にIPpoIを短期間発現させることで、CpGサイトに変化が現れ、エピジェネティックな変化が増加していた。その際、DNA損傷応答は起こるが、遺伝子変異が生じないことを全ゲノムシーケンスにより確認している。このようにDNA損傷応答由来のエピジェネティックな変化を誘導できるこのモデルをICEシステムと名付け、in vivo評価に進んだ。

### ICEシステムマウスは正常な老化を再現する

ICEシステムを3週間のみ発現したマウス(ICEマウス)は、老齢マウスで見られるような脱毛、色素の脱落、体重や脂肪量の減少が観察された。中枢神経機能についてICEマウスは運動低下、長期記憶の低下といった老化の特徴を再現していた。筋肉にも老化の促進が見られ、筋肉量、持久力が減少していた。骨格筋で発現プロファイルを確認したところ、ICEマウスで発現上昇している遺伝子は、老化で発現が増加する遺伝子と共通していた。ヒストン修飾を解析したところ、ICEマウスの細胞では複数のヒストン修飾の局在は変動し、染色体の3D構造も変わりエンハンサープロモーター間の位置関係が異なるパターンを示していることもわかった。

### エピジェネティックな老化は初期化によって復元可能

DNA損傷応答によって生じるエピジェネティックな変化が老化を促進していることを受けて、山中因子Oct4, Sox2, Klf4(OSK)を用いてリプログラミングすることでエピジェネティックな変化を復元できることを確認した。

OSKを発現させることで、ICEマウスの線維芽細胞で発現が変化していた遺伝子は元の転写プロファイルに近くなっていた。またエピジェネティックな指標が最大で57%程度戻っていた。またOSK発現によって老齢マウスの網膜神経節で増加していた異所的な発現パターンは若齢マウスのパターンに戻せることも明らかになった。

## アデノ随伴ウィルスで 細胞特異的な遺伝子治療

Tanenhaus A et al., Hum Gene Ther, 2022, 579-597

### キーワード

- 肝毒性回避
- 抑制性神経(IN)
- 興奮性神経(EX)
- アデノ随伴ウィルス(AAV)
- ドラベ症候群

### 要旨

抑制性神経(IN)選択的に目的の遺伝子を補充できる技術が開発された。

(6kbp以上と)長い遺伝子であるSCN1AがAAVに物理的に入らない問題を解決した。

脳室内投与での肝臓への発現リークは僅かであり、忍容性があった。

既にドラベ症候群の患者さんへ本テクノロジー搭載AAV9が投与されている。

本手法は単回で疾患修飾できるメリットがある一方で、他社アンチセンス核酸(Ph2/STK-001)は一生涯、髄腔内投与のデメリットがあると著者は考察。

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 バイオロジクスに一般的技術を組み合わせる事で、従来の創薬よりも分解能が、ますます増加できると理解した。今後、毒性を回避した根本療法が登場するのだろうと認識した。単回で根治出来る点も患者さんにとっては魅力的である。

✉ Suzuki.Shunya@otsuka.jp

### 背景

AAV9の静脈内投与で神経細胞に遺伝子を補充する薬が既に承認されているものの、肝毒性による事故が報告され始めた。このことから、肝臓への遺伝子導入を回避/抑制する取り組みが始まっている。著者らはAAVの脳室内投与によって肝臓への伝達を抑制する事を試みた。ドラベ症候群は抑制性神経(IN)における電位依存性ナトリウムチャンネルSCN1Aのハプロ不全が原因であるため、興奮性神経(EX)では無く、INのみにSCN1A遺伝子補充をするのが適当である。

以上から、今回紹介する文献では、2つの発現テクノロジーと脳室内投与を組み合わせる事で、肝毒性を低下させて、狙い通りに治療できる事をマウス、カニクイザルレベルで実証した。

### ①RE<sup>GABA</sup>テクノロジー(=GABAergic cell selectiveregulatory element)

本技術は、INへ特異的に目的の遺伝子を届ける発現制御テクノロジーである。具体的には、AAV9に搭載する遺伝子に、GAD1(Glutamate Decarboxylase 1)のエンハンサーとGAD1のプロモーターの下に、EGFPを融合させた。次に、その下流3'-UTRにEXで高発現するmiRNA結合サイト(miR-128とmiR-221標的配列)を加えた。つまり、EXにEGFPがもしリークした場合に、EX自身の持つmiRNAで分解される工夫を組み込んでいる。本技術によりINの一つの集団であるPVや同じくINの集団の一つのSST陽性神経に目的の遺伝子を発現できる事を示した。一方で、CAMK2a陽性のEXではEGFPが発現せず、本技術の特異性を確認した。

### ②eTF<sup>SCN1A</sup>(engineered transcription factor targeted to the SCN1A gene)

本技術は、目的の遺伝子の内在性の転写を誘導するものである。SCN1Aは6kbsと長いORFのため、AAV9に直接搭載できない。そこで、内在性SCN1A遺伝子プロモーター近傍に転写活性化因子のVP64をリクルートさせる事で内在性のSCN1A転写を活性化できると考えた。SCN1A遺伝子プロモーター近傍にリクルートできるように設計したZFN(DNA結合タンパク質)にVP64を融合させた遺伝子をAAVに組み込んだところ、SCN1Aの発現を誘導できる事を示した。

### ①+②と脳室内投与による肝毒性低下

2つの技術を同時に組み合わせ、AAV9に搭載した開発品(ETX-101)を創出した。肝臓曝露を抑制する為、ETX-101を脳室内投与でドラベ症候群モデルマウスに処置したところ、IN選択的にSCN1Aが発現増加し、生存期間が劇的に延長した。脳室内投与のETX-101のカニクイザル肝臓でSCN1Aのリークは低く、肝毒性指標の逸脱酵素増加は15日目まで改善した。なお28日後の病理異常は無い。2022年から患者さんに投与されて初めている。

## 非共有結合型経口 SARS-CoV-2 3CL プロテアーゼ阻害剤 エンシトレルビル (S-217622)の創製

Unoh et al., J. Med. Chem., 2022, 65, 6499-6512

### キーワード

- COVID-19
- SARS-CoV-2
- プロテアーゼ阻害
- パーチャルスクリーニング
- SBDD

### 要旨

社内化合物をパーチャルスクリーニングにより絞り込み、ヒット化合物を発見。

S1' サイト、S1サイト置換基を、SBDDを活用した変換により最適化することで活性が600倍向上、経口投与可能なS-217622を見出した。

in vitroで種々の変異株に効果、in vivoモデルでも有効。

先行品との差別化点は、非共有結合性である点、単剤で投与可能な点。

担当者 佐藤 歩 所属 Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社 専門 メディシナルケミストリー

一言 2020年から世界的に広まったCOVID-19ですが、ついに日本発の薬剤が創出されました。世界的に薬が求められている疾患で薬を創出することは、社会的にインパクトも大きく素晴らしいことだと思います。私もこの冊子を読んでいる皆様とともに創薬に貢献したいと思っています。コロナワクチンについては、「mRNAワクチンの衝撃」等の書籍が詳しいです。

✉ ayumu.sato@axcelead.com

### 背景

2020年2月より、コロナウイルス感染症(COVID-19)は世界的に猛威を振るい、公衆衛生上の脅威となった。2022年3月の段階で、4億4千万人以上が感染し、600万人以上が亡くなっているとされる。ワクチンが普及してきたものの、経口投与可能な薬が求められていた。コロナウイルスは細胞に感染後、3CLプロテアーゼにより切断され、機能発現および複製が進行する。C型肝炎ウイルス治療薬でプロテアーゼ阻害剤が上市されていること、SARS-CoVやMERSの研究において3CLプロテアーゼ阻害剤が創薬標的になるという報告があったことから、プロテアーゼ阻害剤を創出するべく研究を開始した。Pfizer社が共有結合性の3CL阻害剤を研究しており、ニルマトレルビルとして上市されている。

### パーチャルスクリーニングによるヒット化合物の創出

3CLproは活性部位にCys145-His41の触媒2残基を有するシステインプロテアーゼであり、P1 GlnとP2 Leu/Met/Phe/Valを基質として認識する。ファーマコフォアは、アクセプターサイトにあるS1ポケットのHis163の側鎖NH、脂溶性相互作用を有するアクセプターサイトと、S2ポケットにあるGlu166主鎖NHからなる既知の阻害剤より想定された。そこで、2.1Åと高い分解能を有する阻害剤ML188様の構造を有する結晶構造(PDB:6W63)を用い、社内化合物のパーチャルスクリーニングを行った。高スコアの300化合物を細胞系で評価し、非共有結合性のヒット化合物を見出した。ヒット化合物はIC<sub>50</sub>=8.6μMであったが、代謝安定性が良好であり、ラット薬物動態も良好であったため、最適化研究を行うこととした。

### SBDDを用いた最適化研究による活性向上

ヒット化合物のX線構造は、ドッキングで得られたものと同様であった。S1ポケットにメチルアミド部位が、S2ポケットに3,4,5-トリフルオロベンゼン部位、S1' ポケットに4-ジフルオロメトキシ-2-メチルベンゼン部位が配置されていた。まず、S1' ポケットでThr26との相互作用を保ったまま脂溶性相互作用を獲得するために、環化を試み、IC<sub>50</sub>=0.096μMまで向上した化合物を見出した。さらにP1メチルアミド部位を種々の複素環化合物へと変換し、S-217622を見出した。S-217622は、プロテアーゼに対しIC<sub>50</sub>=0.013μM、細胞系アッセイでもEC<sub>50</sub>=0.37μMで活性を示した。本化合物は高い代謝安定性およびラット、サルおよびイヌで高い経口吸収性を示した。また、hERGおよび遺伝毒性試験、光毒性試験で良好な結果を示した。

### in vitroおよびin vivoでのウイルス阻害作用

S-217622の抗ウイルス活性をSARS-CoV-2に感染した細胞で評価したところ、Omicron株を含む全ての変異株に対し活性を示した。SARSCoV-2感染マウスモデルでも肺内ウイルス力価が低下した。良好な前臨床プロファイルを有することから、S-217622を臨床段階に進めることとした。

## 肺腫瘍の免疫微小環境におけるシングルセル空間解析

Sorin et al., 2023, Nature, 614, 548–554

### キーワード

- Imaging Mass Cytometry (IMC)
- Lung Adenocarcinoma (LUAD)
- Single Cell Analysis
- Cellular Neighborhood (CN)
- Deep Learning

### 要旨

浸潤性の肺腺がん腫瘍は一般的に5つのサブタイプに分けられるが、それぞれの微小環境におけるシングルセルレベルでの全体像について、あまり理解されていない。

今回、IMCにより416例の肺腺がん患者の腫瘍組織を空間的に解析した。

組織パターン毎に、各細胞種の存在割合や細胞間相互作用が異なることが明らかとなり、それらと臨床データとの相関についても解析された。

IMC画像データをインプットとして深層学習を行うことで、臨床データ、特に予後の予測に成功した。

### 背景

腫瘍の免疫微小環境 (Tumor Immune Microenvironment, TIME) は肺腺がんの不均質性の主要な原因であり、疾患の進行と、治療に対する反応に影響を与える。各免疫細胞は、その腫瘍内の位置により機能が決定されることが知られている。したがって、肺腺がんのTIMEにおける空間的全体像を明らかにすることは、疾患進行のメカニズムについて洞察を得たり、治療に対する応答のバイオマーカーを明らかにしたりすること等に繋がる。本研究では、イメージングマスマイトメトリー (Imaging Mass Cytometry, IMC) を用いて肺腺がん (Lung Adenocarcinoma, LUAD) 患者のTIMEの空間的な特徴についてシングルセルレベルで解析し、深層学習により画像データから予後予測を行うモデルを作成した。

### IMCにより35種類のマーカーを同時に検出した

416例の肺腺がん患者の腫瘍組織について、IMCにより35種類のマーカーを用いて染色し、 $1\mu\text{m}^2$ 解像度での画像を取得した。各マーカーの発現パターンからがん細胞や内皮細胞、14種類の免疫細胞が識別され、それらのフェノタイプについても解析された。それぞれの画像における各細胞種の存在割合を解析したところ、腫瘍の悪性度が高くなるほど免疫細胞の存在割合が大きくなり、特に単球にはその傾向が強く見られた。また、各種細胞の存在割合と臨床データとの相関についても解析された。特に、B細胞の存在割合が高いOverall Survival (OS) と強く正に相関していることが示唆された。

### 細胞間の相互作用に関する解析

各細胞に最も隣接する複数個の細胞集団をCellular Neighborhood (CN) として定義し、CNに含まれる細胞数を10個、CNの総数を30個と設定して、各CNに含まれる細胞種の頻度を解析した。B細胞の存在割合が高いCNは4種類あり、総じて高いOSと正の相関があった。これらのCNにおける他細胞種の割合を、高いOSのp値との関係と比較することにより、B細胞とヘルパーT細胞の相互作用が高いOSに寄与していること、B細胞のOSに対するアドバンテージを制御性T細胞が阻害していること等が示唆された。

### ディープラーニングによる予後予測モデルの作成

各種細胞の存在割合や臨床情報をもとにディープラーニングを行い、ステージ1A~1Bのがん患者の予後を予測するモデルの作成を試みたが、十分な正確性をもって予測することが出来なかった。しかし、各種細胞がマーカーにより識別されているIMC画像 (つまり、細胞の位置情報) を入力に加えることで、有意に予測精度が高くなった。上記のモデルを60例の別個のコホートを用いて検証したところ、94.3%の正確性が示された。今後は、本システムを臨床現場で実行可能なレベルに落とし込むことが主な課題となるだろう。

担当者 柳瀬 雄太 所属 株式会社ナレッジパレット 専門 分子生物学、トランスクリプトーム解析

一言 私は現在トランスクリプトーム解析に関する研究に携わっていますが、他のオミクスについても興味があり、今回はシングルセル空間解析に関する研究をご紹介させていただきました。ご紹介したような研究により、医療の個別化が促進されるだけでなく、医師の「眼」に頼らざるを得なかった部分を、確かな精度をもって自動化できるようになる可能性もあるでしょう。様々なオミクス解析の掛け合わせによりまた新たな知見が得られることを期待しています。

✉ yuta.yanase@knowledge-palette.com

### 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
- 中島 康祐 (武田薬品工業株式会社)、幹事
- 荒川 佑一 (ラクオリア創薬株式会社)、幹事
- 佐藤 歩 (Axcelead Drug Discovery Partners株式会社)、幹事
- 内野 祐次郎 (Axcelead Drug Discovery Partners株式会社)、幹事

### 編集後記

●宇宙飛行士候補になった2人の最終選考過程をTVで視聴し、印象的だった言葉。「どこかでやった決断とか選択して、悩んで正しかったかなってみんな思うけど、あっちが正しかったかな、こっちが正しかったかなじゃなくて、自分が歩んだ道を正しい道にする努力をいささい」。これからも「響き合え、科学。」に貢献していきたい (野上)

●今回から佐藤さん・内野さんが新しく幹事になって下さる事になりました！これまでの幹事メンバーはバイオリジーが中心でしたが、今回化学やAIの視点が新たに加わる事となり、大変心強いです。湘南アイパークサイエンスカフェの発表も、以前より多岐に渡る分野の紹介が増えてきており、この多様性を今後も大切にしていきたいなと思います (小笠原)

●今春、ついに湘南アイパークが開所から5周年を迎えました。スタート当初から考えると信じられないくらい大きく拡大し、Science Caféにも多くの企業から多くの方にご参加頂いて感謝しております。本Journalにおいて、大変お忙しい中ご挨拶をご寄稿頂いた藤本さん、Reviewをご寄稿頂いた松井さん、守さん、ご発表をOnePagerに纏めて頂いた皆様にも深く感謝いたします (中島)

●私事ですが、アイパーク内で転職をしました。実現させた要因の一つとして、サイエンスカフェが考えられます。ボランティア活動ですが、その願いである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貢献する事は、創薬に関わる事と改めて感じました。これからも「響き合え、科学。」に貢献していきたいです (荒川)

●今回から幹事として編集にも参加させて頂きましたが、ボランティアにもかかわらず、このJournalの編集や校閲のスピード・丁寧さに圧倒されております。そして、参加して下さった演者の皆様がとても協力的でこのJournalとサイエンスカフェの素晴らしさを実感しております。このJournalと共に自分自身も成長していきたいと思っております (内野)

●3月のWBCでは各国の選手たちの活躍が伝えられ、ワクワクしておりました。大谷選手の活躍も記憶に新しいですね。9月からはラグビーW杯もあり楽しみです。iParkでも各社サイエンティストが集まっています。日本を代表するサイエンスパークであるiParkの一員として世界を目指し切磋琢磨していきましょう (佐藤)



## 湘南アイパークの森の植物と和歌 ③ 藤



湘南アイパーク南面道路の藤棚

藤沢市の市の花は「藤」で、市内には多くの藤棚があります。湘南アイパーク敷地の南面道路でも、この季節には美しい藤が日陰を作って、私たちに憩いの場を提供してくれています。

今回は、藤にまつわる和歌を紹介いたしましょう。

源氏物語の第八帖「花宴」では、右大臣邸での藤の宴が描かれています。そこで右大臣は、源氏の君へ以下の歌を送っています。

「わが宿の花しなべての色ならば 何かはさらに君を待たまし」

(訳) 我が邸の藤の花が、もし、世間並みの美しさならば、どうしていつまでもあなたのお越しをお待ちするでしょうか。是非ともお越しください。

道長が藤原氏の栄華も歌に読み込まれているようですが、湘南アイパークが新たなステージへと歩み始めたこの2023年4月、未来もこの藤の花のようにあればと願わずにはおれません。科学者のみなさん、湘南アイパークへ是非ともお越しください。そしてScience Cafeへのご参加もお待ちしております。

### 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@shonan-ipark.com](mailto:Shonan-Health-Innovation-Park@shonan-ipark.com)

Website: <https://www.shonan-ipark.com/>