

Shonan iPark

vol.7

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



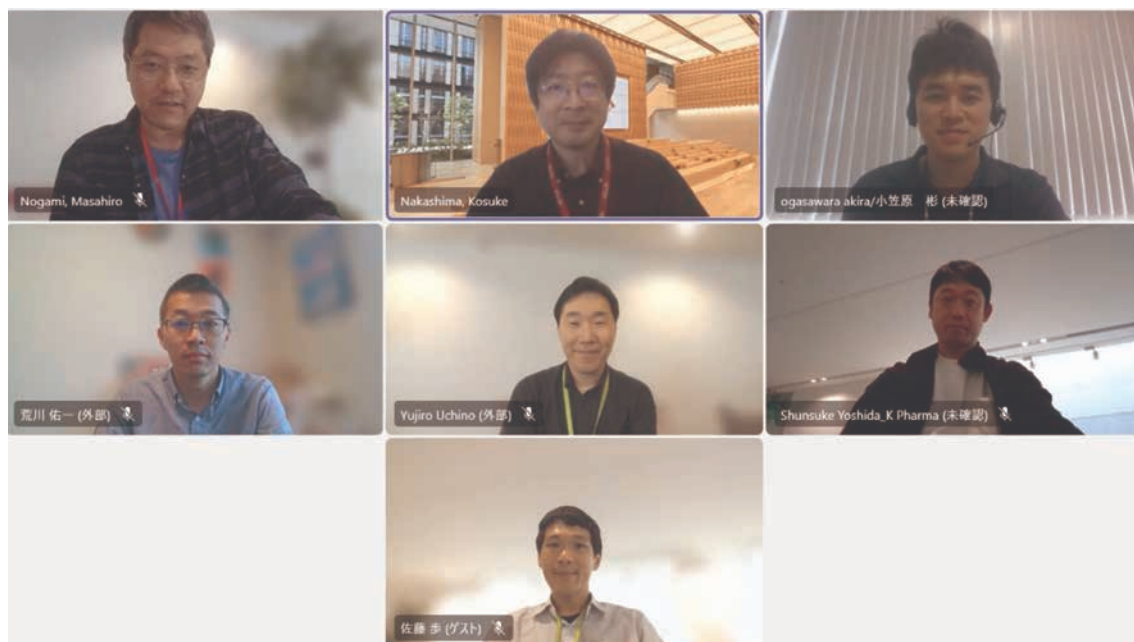
新幹事のご挨拶 ■■■■

2024年1月より、幹事としてお手伝いさせていただくことになりました、吉田と申します。バイオロジーを専門とし、これまで3社のベンチャー企業で研究経験を積んできました。現在は中枢疾患の創薬に携わっています。

サイエンスカフェとの関わりは、2018年にアイパークに勤務し始めた際、野上さんからお声がけいただいたことがきっかけでした。当初、自分の専門知識を深めると同時に、研究者としてのネットワークを広げることを目的に自己研鑽のために参加していました。サイエンスカフェでは、多様な専門分野を持つ経験豊かな企業研究者の目線で最新のトピックを紹介するという特徴があります。特定の分野に限定されないことがないので、新たな知見や理解につながり、日常の業務にも役立っています。2019年に初めて論文紹介の機会をいただいて以来、患者iPS細胞の創薬応用について計5回の発表を行ってきました。興味深い話が話す機会のない論文を紹介するので、自然とやる気が湧き、紹介の方法や内容の精査に夢中で取り組んできました。サイエンスカフェでの発表経験を通じてサイエンスの理解が着実に成長につながることを実感し、サイエンスカフェの活動への参加が日常生活における楽しみの一つとなりました。

湘南アイパークには多くのサイエンスを愛する研究者が集まっている中で、今後も論文紹介を通じて皆さんのサイエンスの話を伺える機会を楽しみたいと思います。一方で、興味深い論文があるにも関わらず、発表をためらっている方々をサポートできればと思いますので是非お声がけください。このサイエンスのコミュニティがアイパークの原動力となるように、微力ながら貢献していきたいと考えています。どうぞ宜しくお願い致します。

株式会社ケイファーマ・吉田 俊介



新幹事の吉田氏（中段右）とオンライン幹事会にて撮影。（2024.4.17）

目次

ご挨拶

新幹事のご挨拶

吉田 俊介(株式会社ケイファーマ)

スペシャルレビュー

宇宙実験の可能性

山崎 秀司(Space BD株式会社)

発表内容

1. 「微小重力環境におけるタンパク質結晶生成」
2. 「微小重力環境を活用した小動物飼育ミッション」
3. 「CD153とTCR/CD3とのcis相互作用は、老化関連T細胞の病原性活性化に極めて重要である」
4. 「iPS細胞由来ニューロン、アストロサイト、ミクログリアを用いたアルツハイマー病の病態再現及び自動培養プラットフォームの構築」
5. 「DNA-Encoded Library (DEL) スクリーニングを活用した、高選択的なBMPR2阻害剤の発見」
6. 「非AI専門家の研究におけるAIツールの活用に関して」
7. 「ミトコンドリア代謝が神経細胞発生の種特異的な速度を設定する」
8. 「ケモプロテオミクスによるNF- κ Bを標的とした共有結合型モレキュラーグルー分解剤の発見」
9. 「アシネトバクター・バウマニを標的とする抗生物質のディープラーニングによる発見」
10. 「軟骨毛髪低形成症におけるRMRP遺伝子変異はリボソーム生合成阻害によりT細胞障害を引き起こす」
11. 「概日時計はコンパートメント化された振動翻訳によって調節される」
12. 「創業における重水素化戦略: その進展とメリット、課題」
13. 「AIを活用したライフサイエンス画像解析の最前線」
14. 「A new anti-obesity approach controlled from the brain using nanomedicine!」
15. 「深層学習による脳年齢の予測モデルの構築と認知症との関連」
16. 「ASOによる急性神経毒性について」
17. 「 α 2マクログロブリンは細胞外の変性タンパク質の分解に寄与する」
18. 「TDP-43の単量体化は筋萎縮性側索硬化症の病態を引き起こす重要な決定因子である」
19. 「機械学習がRNA結合性低分子化合物のケミカルスペースを明らかにする」
20. 「肺がんにおけるミトコンドリアネットワークの空間的マッピングとエネルギー産生」
21. 「単一操作の酵素カスケード反応によるオリゴヌクレオチド医薬品の生産」
22. 「Xist リボヌクレオタンパク質は女性の性差による自己免疫を促進する」

2023年度の湘南アイパークサイエンスカフェの活動

宇宙実験の可能性

山崎 秀司 (Space BD株式会社)

✉ s.yamazaki@space-bd.com

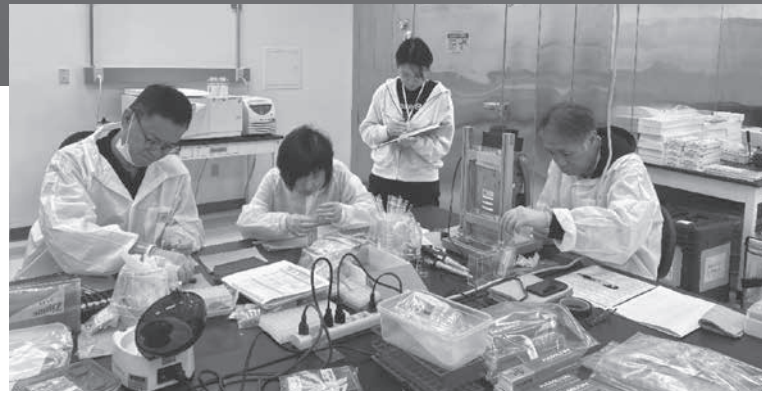


図: NASAケネディスペースセンターでのCRS-28搭載サンプルの充填作業
<https://uchubiz.com/article/new20472/>

はじめに

宇宙実験とは、言葉通り宇宙で実験を行うことを指す。宇宙では宇宙放射線、高真空、温度変化など、地球と環境が大きく異なるが、これまで数多く行われてきた国際宇宙ステーション (ISS) の船内で行われるバイオ実験に関しては、その最大の特徴は微小重力である。よく「無重力ではないですか?」と聞かれることが多いが、ISSでは厳密にはわずかに重力が存在するため、「微小重力」という言葉を使うことが一般的である。本稿では、その微小重力がライフサイエンスの実験にどのような影響をもたらすのかについて概説したい。また、本稿の最後には、より詳しく知りたい方へ、参考となる情報源を記載する。

宇宙実験の歴史と概略

現在、宇宙実験の中心舞台となっている国際宇宙ステーション (ISS) は、地球の周回軌道上に設置された宇宙研究施設である。1998年から建設が始まり、完成したのは2011年である。意外と最近だと感じる方もいるのではないだろうか。ISSは、複数の国々が協力して運用しており、アメリカ航空宇宙局 (NASA)、ロシアのロスコスモス、欧州宇宙機関 (ESA)、日本の宇宙航空研究開発機構 (JAXA) などが参加している。

地上から約400km上空を飛行するISSは、重力が地上の1万~100万分の1であり、特に船内に関しては、厳しい宇宙環境の影響を極力排除しながら、微小重力の影響を評価できる。この独特の環境は、地上では実現できない多くの実験を可能にしており、代表的な現象としては対流がない、モノが均一に混ざる、骨密度や筋力などの身体的変化、重力の感知応答機構の影響による変化などが挙げられる。具体的には、結晶成長、流体力学、燃焼科学、生物細胞の挙動などが研究の対象となっている¹。

ISSではこれまでに3000以上の科学実験が行われてきたが、そのうち約4割はライフサイエンスに関するものであり²、将来の有人探査のためだけでなく、地球上でも応用可能な成果を生み出している。次項からは地上でも応用可能な技術として注目度が高い結晶、細胞、老化研究の各分野について取り上げる。

結晶

宇宙での結晶化実験は、相対的に簡易的にできることもあり、これまで数多くのミッションが行われてきた。また、Merck社、Eli Lilly社などの大手製薬企業³が実験をすることでも知られる注目領域である。結晶化実験の目的としては大きく2つに大別され、一つは構造解析を目的とした品質の良い結晶を作ること、もう一つは原薬や製剤化を目的とした特性改善を行うことである。

前者の高品質な結晶生成については、微小重力環境を利用したタンパク質結晶生成実験(PCG: Protein Crystal Growth)としてJAXAが10年以上実施しており、これまで数千ものタンパク質を宇宙へ打上げてきた⁴。タンパク質の結晶化に影響を及ぼす因子はさまざまであるが、微小重力環境下では、地上では再現が難しい対流の抑制による効果を享受できる。タンパク質結晶の核生成が起こった際、結晶核周辺のタンパク質濃度は相対的に薄くなるため、密度差が生じる。このとき、微小重力環境下ではこの密度差による対流がほとんど発生せず、結晶成長がゆっくり進むことで、結晶性の高い高品質な結晶を得ることが可能である。そして、この結晶を用いて構造解析を行うことで、より高解像度のデータを取得できる。タンパク質の精密な三次元構造を明らかにすることで、その機能や、薬剤との相互作用の理解を深めることができる。そのほかにも結晶の空間群が変化したり、双晶が解消したりするなどの効果が確認されている⁵。これまでに公募を通じて国内の大学や研究機関のタンパク質研究に貢献しており、一例として宇宙実験の成果を活用した筋ジストロフィー治療薬が2023年11月に希少疾病用医薬品に指定された。また、JAXAのPCG実験は、2021年にSpace BDが有償サービスの利用権を獲得し、民間企業や海外での利用が進むことになった⁶。

後者の原薬や製剤化を目的とした特性改善のための実験としては、Merck社のペムプロリズマブ(Keytruda®)の例を紹介したい。同社はモノクローナル抗体治療薬の結晶化に取り組んでおり、均一な結晶性ペムプロリズマブ懸濁液を製造するための重要な変数を特定するため、微小重力実験を利用した。粒子サイズ分布が二極化した地上実験サンプルと比較して、宇宙実験では均一な粒径分布を持つ結晶が得られた。また、その結晶懸濁液は、地上品での結晶懸濁液よりも粘性が低く、より均一に沈降した。結果として、沈降速度と温度勾配が重要な変数として特定でき、これらの知見を基に、地球上での結晶懸濁液の生産法を改良した⁷。Eli Lilly社は薬剤の溶解性と凍結乾燥のプロセス開発を目的として複数回の実験を行っており⁸、他にもBristol Myers Squibb社、AstraZeneca社などが実験を行っている。日系製薬企業での実績はまだ多くないものの、研究機関や企業がこれまでに合成した多数の低分子化合物はライブラリとして蓄積されており、これらの化合物が宇宙実験を通じて新たな薬剤候補として再評価されることに大きな可能性を秘めている。

細胞

宇宙環境における細胞の振る舞いは、地球上のそれとは異なることが先行研究から明らかになっている。微小重力環境は細胞が凝集しやすい⁹、細胞外マトリクスや成長因子の産生が上昇する^{10,11}、間葉系幹細胞(MSC)の増殖能が高い¹²などの研究例が報告されている。これらの宇宙特有の反応を活用し、JAXAでは東京大学教授、横浜市立大学客員教授の谷口英樹氏とともに立体臓器創出技術の開発を行っている¹³。2020年12月に1回目の実験では、大血管周囲への肝芽の三次元凝集技術と大血管への付与技術が確認できた。間もなく、2回目の実験が実施予定であり、人工血管の中に培養液を流し続けることで、肝芽同士の間で毛細血管を作らせて自己組織化させることを目指している。また、米国では2023年9月にISS内の3D BioFabrication Facilityという装置を用いて、ヒトの膝半月板の3Dバイオプリントに成功している¹⁴。微小重力下でバイオプリンティングを行うことで、軟組織のような重力で崩れる可能性のあるものでも、足場なしで形状維持することができる。

産生物の分泌促進に関しては、肌の再生や若返りを助ける美容製品や、細胞間コミュニケーションに重要な役割を果たすエクソソームを利用した新しい治療法の開発につながる事が期待されている。また、地上において

は、クリノスタットという装置を用いて1000分の1の重力環境を作り出し、宇宙空間における細胞の挙動を模擬することが可能である。ISSでの微小重力には及ばないものの、この技術を用いて微小重力の効果を検証することで、実験にかかる時間やコストを大幅に削減しつつ、微小重力が細胞に与える影響を地上で研究することができる。

老化研究

宇宙での人体への変化として最も有名なものの一つが、重力から解放された身体の筋肉が衰える、あるいは骨がもろくなるといった現象だろう。数週間の短期間ミッションでは10～20%の筋肉の損失が観察されており、何も対策を講じなければ、長時間のミッションではその損失が最大50%に達する可能性がある¹⁵。また、骨への荷重負荷がかからないため、骨からカルシウムが放出され、骨粗鬆症患者の約10倍の速さで骨量が減少する¹⁶。それらの変化に加え、免疫機能低下など、地上の高齢者や寝たきりの状態に類似した変化がみられる。

このような環境下でマウスを使った実験などによって、加齢に伴う疾患の新たなバイオマーカーの発見や、予防薬・治療薬候補の効果検証を行う実験が進められている¹⁷。微小重力下での生体変化は、加速度的に進行するため、地球上での長期間にわたる研究を短期間で行うことが可能となる。JAXAでは、このようなマウス飼育ミッションで得られたサンプルの共有制度を実施している。また、宇宙実験で得られた各組織の遺伝子発現変化や血液代謝物変化のデータを搭載した宇宙生命科学統合バイオバンク (ibSLS: integrated biobank for Space Life Science) を公開しており、宇宙実験を実施していない研究者でも利用できる¹⁸。

米国のISS国立研究所では、生態組織チップを使用し、ヒトの生理学や疾患に関係する軌道上研究を実施している。本研究には生体組織チップのスタートアップ企業であるEmulate社が参画しており、宇宙滞在中に起こる筋肉の衰え、骨量の減少、心肺機能の低下、免疫不全など、加齢に似た現象の細胞および組織レベルでの器官の研究を行っている¹⁹。このようなチップ技術は、モデル生物を使った実験に伴う長期間の準備や、実験数の制限を改善できるとして期待されている。

おわりに

これまで、宇宙を利用できるプレイヤーは非常に限られており、特に開発の主体は国であった。しかし近年では、その役割の一部を官から民へ移行する動きが進んでおり、特に米国ではSpaceX社が宇宙への輸送価格を大幅に削減し、年間のロケット打上げ数をけん引している。2002年の設立からわずか20年で、世界の宇宙開発をリードする存在となった同社は、宇宙になじみのない方でも一度は耳にしたことがあるだろう。

ISSは2030年に運用終了が発表されているが、複数の米国企業がこれに代わる商用宇宙ステーションの開発に取り組んでいる²⁰。彼らは商用宇宙ステーションの重要な用途として、宇宙での科学研究や生産活動を掲げており、特にライフサイエンスに注目している。そして、この機会を活用するため、非宇宙産業との連携が世界中で活発化している。

もし、本稿を読んで、微小重力に少しでも興味を持たれた方がいれば、大変幸いである。研究開発の新たな可能性を目指し、微小重力環境を身近なプラットフォームとして活用していくために、今後も尽力していきたい。

参考となるURL

- ・日本実験棟「きぼう」の利用テーマ
<https://humans-in-space.jaxa.jp/kibouser/subject/>
- ・NASAの実験記事一覧(英語)
<https://www.issnationallab.org/upward/>
- ・NASAの研究者向けガイドブック集(英語)
<https://www.nasa.gov/international-space-station/space-station-research-and-technology/opportunities-information-for-researchers/iss-researchers-guide-series/>
- ・ISSでのミッション検索サイト(英語)
<https://www.nasa.gov/mission/station/research-explorer/>
- ・ISS National Lab関連の論文検索サイト(英語)
<https://www.issnationallab.org/publications/>
- ・宇宙医学の論文検索サイト(英語)
<https://spacebio.space/~spacebio/iss/index.py>

参考文献

- 1) https://humans-in-space.jaxa.jp/kibouser/information/space_environment.html
- 2) Nature, news, 03 November (2020)
- 3) <https://www.issnationallab.org/mmcg/>
- 4) <https://humans-in-space.jaxa.jp/protein/researchers/project/index.html>
- 5) <https://humans-in-space.jaxa.jp/protein/researchers/project/microgravity.html#ctop>
- 6) <https://humans-in-space.jaxa.jp/kibouser/pickout/72757.html>
- 7) Reichert et al., npj Microgravity, Vol. 5, Article number: 28 (2019)
- 8) <https://www1.grc.nasa.gov/space/iss-research/msg/eli-lilly-lyop/>
- 9) Hymer et al., J.Biotechnol.(1996)
- 10) Seitzer et al., Cell Tissue Res.(1995)
- 11) Huang et al., npj Microgravity, Vol. 6, Article number: 16 (2020)
- 12) Yuge et al., Stem Cells Dev.(2006)
- 13) <https://humans-in-space.jaxa.jp/kibouser/subject/life/70671.html>
- 14) <https://www.issnationallab.org/redwire-space-3d-prints-meniscus/>
- 15) https://www.esa.int/Enabling_Support/Preparing_for_the_Future/Space_for_Earth/Space_for_health/Musculo-skeletal_system_Bone_and_Muscle_loss
- 16) <https://humans-in-space.jaxa.jp/kibouser/subject/life/70550.html>
- 17) https://humans-in-space.jaxa.jp/kibouser/library/item/jaxa_mouse_2020ja.pdf
- 18) <https://humans-in-space.jaxa.jp/kibouser/provide/mhu/>
- 19) <https://emulatebio.com/press/emulate-brain-chip-sent-to-the-international-space-station/>
- 20) <https://www8.cao.go.jp/space/committee/27-kagaku/kagaku-dai58/siryoku5.pdf>

微小重力環境における タンパク質結晶生成

Protein crystal growth in microgravity
environment

キーワード

- タンパク質結晶
- 高分解能
- 成果占有利用

要旨

微小重力下では対流が抑制されることを活かし、高品質なタンパク質結晶を生成する実験であり、薬剤候補化合物の改良の効率化などに役立てることが可能

タンパク質試料を利用者から受け取り、「きぼう」日本実験棟の微小重力環境で1~2か月程度結晶成長させ、地上に回収

本利用サービスは成果公開または民間パートナーであるSpace BD株式会社を介して成果占有利用が可能

宇宙で実験する前に、地上実験により試料の性状確認、結晶化条件の最適化を行い宇宙実験で最大の効果を得られる

背景

これまでタンパク質構造情報を得るためにはタンパク質の結晶を作製し、エックス線結晶解析を行う必要がありました。貴重なリソースを投入して、なんとかタンパク質結晶を作ったとしても、その品質が低い場合、構造決定をすることは非常に困難でした。JAXAでは国際宇宙ステーションの長期的に安定した微小重力環境を生かし、高品質なタンパク質結晶を生成させるミッションを実施してきました。プロジェクト開始当初はアカデミアの専門家中心だったものが、しだいに民間企業支援、そしてタンパク質結晶化の経験のない非専門家支援とサービスを拡大し、現在ではタンパク質生産から構造解析までのサービスを提供するワンストップサービスとしてご利用できるようになっています。

微小重力環境を利用した高品質タンパク質結晶生成

タンパク質結晶の品質に影響を及ぼす要素はさまざまであるが、その中でも重力は地球上で実験をする以上避けることが不可能な因子であり、基本的に前提条件として研究技術が進歩してきた。しかし、1983年にスペースシャトルを利用した微小重力下でのタンパク質結晶化実験を皮切りにこれまでに全世界で数千種類のタンパク質の結晶化がなされてきた。微小重力下では対流が起らず、タンパク質の移動が非常に散漫になるため結晶成長がゆっくり進み結晶性の高い高品質な結晶を得ることが可能である。そのほかにも結晶の空間群が変化したり、双晶が解消したりするなど、タンパク質構造解析に有利な現象が起きる有用な場である。一方ですべてのタンパク質が利点享受できるのではなく、向き不向きがあり全体の3割程度が微小重力環境の利点享受できると判明している。

主な成果

これまでのところ、新規作用機序をもつ抗歯周病菌薬候補の開発、筋ジストロフィー治療薬候補開発、抗体ミミックペプチドの開発などに貢献し、医薬品候補化合物創出や特許成立に貢献をしてきています。

Space BD社による有償利用ワンストップサービス提供開始

宇宙産業における総合的なサービスを展開するSpace BD社は2021年からISS「きぼう」船内実験設備を活用し、微小重力空間の特性を活かしたJAXA高品質タンパク質結晶生成実験の有償利用サービスを提供する民間パートナーとして活躍されており、創薬標的タンパク質と化合物の複合体構造解析を支援し、これまでに30以上の有償利用サンプルを受託し、宇宙実験を実施してきました。ライフサイエンスサービス(創薬研究×宇宙)ご紹介動画：
<https://www.youtube.com/watch?v=ulQdVMDQNno&t=92s>

担当者 山田 貢 所属 国立研究開発法人宇宙航空研究開発機構有人宇宙技術部門きぼう利用センター

専門 創薬標的タンパク質の構造生物学

一言 昨今、CryoEMの劇的な進化やAIによる構造予測など創薬研究に使える選択肢が大幅に増え、相対的にタンパク質結晶の重要性が低下しておりますが、実験的かつ詳細な構造情報を得るには依然として結晶解析の有意性があります。もし詳細な構造情報を得たい、ちょっと結晶化とは違うけどこんな実験がしたい、新しい技術を作ってほしいと思い立った時にはきぼう利用プロモーション室(<https://humans-in-space.jaxa.jp/biz-lab/contact/kibouser/>)までご相談いただけますと幸いです。

微小重力環境を 活用した小動物飼育 ミッション

キーワード

- 小動物飼育ミッション
- 健康長寿研究支援プラットフォーム
- 有償利用
- サンプルシェア
- ヒト・マウス統合データベース「ibSLS」

要旨

民間企業による利用創出(有償利用)に取り組んでいる

<https://humans-in-space.jaxa.jp/kibouser/>

宇宙では地上で高齢者に見られる変化と類似した変化を早回しで見ることが可能

JAXA独自の個別飼育装置で質の良いミッションが可能

<https://humans-in-space.jaxa.jp/biz-lab/experiment/pm/mhu/>

サンプルシェアを実施中(成果公開型)

<https://humans-in-space.jaxa.jp/kibouser/subject/life/73390.html>

ヒト・マウス統合データベース「ibSLS」を無償公開中

<https://ibsls.megabank.tohoku.ac.jp/>

背景

超高齢社会である日本にとって健康長寿への取り組みは重要な施策の一つです。宇宙環境は、骨量減少、筋萎縮や免疫機能低下など、地上の高齢者や寝たきりの状態に類似した変化が加速的に生じます。これらの加速現象は、特殊な遺伝子組換えマウスなどのモデルを使用しなくとも、「野生型」マウスで観察できます。このような宇宙環境を利用した小動物飼育ミッションを中核とする健康長寿研究支援プラットフォームでは、公募テーマなどによる成果公開型の利用とともに、民間企業による利用創出を目指しています。

JAXA独自の飼育装置による宇宙ミッション

JAXAの装置は他国にない特徴を有しています。まず、微小重力環境と遠心機による人工重力環境の両方で飼育でき、軌道上で両群の比較が可能です。また、マウスは個別ケージによる飼育で、モニタによりマウスの状態や行動が観察できます。個別飼育のため、ファイティングの懸念もありません。宇宙ミッションは、NASAおよびJAXAの動物実験委員会で計画書が審査・承認されたうえで実施されています。ケージの仕様など詳細はJAXAホームページに記載のきぼう利用ハンドブックや発表論文^{※1}をご覧ください。これまでにこの飼育装置を利用して8回の宇宙ミッションを実施してきました。成果の一例としては、初回の第1回小動物飼育ミッション(MHU-1)では、マウス骨格筋の遺伝子発現解析により大Maf群転写因子の発現が顕著に上昇していることがわかり、そのノックアウトマウスの解析^{※2}から、大Maf群転写因子が筋肉の質を改善させる創薬ターゲットとして期待できる可能性があることがわかってきました。これまでJAXA小動物飼育ミッションでは大学の先生が研究代表となっていますが、米国では企業が主体となった宇宙ミッション、論文発表^{※3,4}も実施されており、JAXAでも民間企業による利用創出の推進を検討しています。

宇宙ミッションサンプル・データの有効活用

過去の宇宙ミッションで取得したマウス組織未解析サンプルを有効活用するため、サンプルシェアの公募を実施しています。サンプルシェアについては、大学などの研究機関ばかりではなく、企業からも応募があり、論文発表^{※5}もされています。現在は成果公開が原則ですが、今後成果独占型の有償利用サンプルシェアにも取り組む予定です。さらにデータの有効活用として、2020年から宇宙ミッションで得られた各臓器・組織の遺伝子発現変化や血液代謝物変化のデータを搭載した宇宙生命科学統合バイオバンク(ibSLS; integrated biobank for Space Life Science)を公開し、Cell誌でも紹介されました^{※6}。ibSLSはマウス飼育ミッションのデータをヒトの健康長寿につなげるため、日本最大規模のヒト生体試料とオミックス解析情報を併せ持つ東北大学東北メディカルメガバンクとの戦略パートナー協定を活用したヒト・マウス統合データベースとなっています。

参考文献

※1 Sci Rep. 7, 10837, 2017: ※2 Cell Rep. 42, 112289, 2023:
※3 SciRep. 9, 9397, 2019: ※4 PLoS ONE 15(4), e0230818,
2020: ※5 SciRep. 11, 21786, 2021.: ※6 Cell, 183(5), 1162, 2020

担当者 上村 大輔 所属 JAXA有人宇宙技術部門きぼう利用センター

専門 ユーザーインテグレーション、ライフサイエンス(免疫学:2019年度まで北海道大学などで基礎研究に従事)

一言 ヒト・マウス統合データベース「ibSLS」は興味のある遺伝子や代謝産物の発現レベルをフライト群、地上対照群別、そして臓器別にグラフ表示できる視覚的にも使いやすいデータベースです。無償公開中ですので、ぜひ一度使ってみてください。また、このようにしたら企業として利用しやすい、ミッション全体は無理だけどこの臓器・組織には興味があるなど、小動物飼育ミッションに関するご意見やご相談を募集中ですので、きぼう利用プロモーション室(<https://humans-in-space.jaxa.jp/biz-lab/contact/kibouser/>)までよろしくお願いします。

CD153とTCR/CD3との cis相互作用は、 老化関連T細胞の 病原性活性化に 極めて重要である

Cell Reports 40, 111373, Sep. 20, 2022,
DOI: 10.1016/j.celrep.2022.111373

キーワード

- CD153
- CD30
- SA-T: senescence associated T cells (老化関連T細胞)
- ABC: age associated B cells (加齢関連B細胞)
- Spt GC: Spontaneous Germinal Center (自発的胚中心)

要旨

加齢に伴い、T細胞受容体 (TCR) 刺激に反応しない老化関連 (SA) CD4⁺ T細胞が胚中心の発達と共に増加し、自己抗体産生も惹起されやすくなる。

CD153とその受容体CD30がそれぞれSA-TおよびABCに発現していた。

CD153またはCD30のいずれかを欠損させると両細胞の増加が損なわれた。

抗CD153抗体を投与すると、加齢に伴うSA-T細胞およびABCの増殖が抑制され、マウスのループス腎炎が改善された。

CD153とCD30の相互作用が、SA-TとABCの相互活性化において中心的な役割を果たしていることが強く示唆された。

抗原に対する免疫に影響しない選択的な自己免疫の制御の可能性を示唆している。

背景

哺乳類は、加齢と共に免疫が低下し、免疫老化現象が起こる。免疫老化は、感染リスクの増大を引き起こす一方で、自己免疫疾患の罹患率が増大する。一見相反する現象に見えるが、著者のグループは、2009年に、加齢と共に増加してくるT細胞の集団CD44^{high} PD-1⁺ memory T細胞を見つけ、老化関連T細胞を意味するSA-Tと名付けた。その後の解析で、SA-Tは、CD153を発現していることを見つけた。一方、自己反応性B細胞は、リンパ節の胚中心 (Germinal Center:GC) に局在し、CD30を発現しており、加齢と共に増加するため、ABCと名付けた。本論文は、これら2つの分子が免疫老化の二面性とう関係し、外来性抗原応答にどう影響しているのか、そのメカニズムと効果を抗体、ノックアウトマウス等様々な手法を用いて解析した、著者らの免疫老化研究の集大成である。

CD153は、加齢に伴うSA-T、ABC、 Spt-GC増加の責任分子である

加齢と共に、CD4 T細胞中のSA-TやCD153⁺SA-Tが増加する。CD153^{-/-}マウスでは、SA-TのみならずABCやSpt-GCの数もWTマウスに比べて減少した。一方、総B細胞数や外来性抗原に対する反応性は変化がなかった。また、CD30欠損マウスもCD153欠損マウスと同様の特徴を示し、CD30とCD153が相互に作用する可能性が示唆された。

SA-TにおけるTCR signalingは 抗CD153抗体により回復する

CD153⁺ SA-TはCD3/CD28刺激をしても殆ど増加しなかったが、抗CD153抗体を併せて暴露させると増殖能やサイトカイン産生が上昇した。その機構を解析した結果、抗体でCD153とCD30の結合をブロックする事で、CD153とTCRとの結合が起こり、TCR複合体の細胞内取り込みを妨ぐ事でTCRシグナル伝達を増強させる事が分かった。

抗CD153抗体は加齢に伴うSA-T細胞等の 増加を抑制し、マウスのループス腎炎を改善した

CD153とCD30の結合をブロックする抗体 (17D) を投与すると、*in vivo*でSA-TやGC B細胞の増殖が抑制された。この抗体17Dをループス性腎炎の素因を持つ (NZB×NZW) F1 (BWF1) マウスに28-40週令まで投与すると、蛋白尿が著明に抑制され、死亡率の抑制が認められた。その薬理作用の活性は、自己免疫疾患治療薬のMMFとほぼ同等であった。

担当者 渡邊 昭彦 所属 Headland Strategy Group (米国)、グローバルヒューマンサイエンスイノベーション

専門 免疫、創薬全般、DDS。研究以外では、マーケティング、事業開発/オープンイノベーション、ベンチャー支援

一言 私は、すでに研究の第一線を離れていますが、私のビジネスの基盤は、サイエンスです。Headland Strategy Groupのキャッチフレーズも、“Where strategy meets science”です。研究以外の趣味は、花散策・山登り、ワイン・日本酒です。趣味の合う方は、お声がけください。Web懇親会でもリアル飲み会でも大歓迎です。そろそろ仕事を減らして家内と旅行をもっと楽しみたいと考えています。

✉ aw@g-his.com

iPS細胞由来ニューロン、アストロサイト、ミクログリアを用いたアルツハイマー病の病態再現及び自動培養プラットフォームの構築

Bassil et al., Nature communications, 2021. DOI: 10.1038/s41467-021-25344-6

キーワード

- Alzheimer's disease (AD)
- iPSC modeling
- Cell culture automation
- iPSC neurons, astrocytes and microglia tri-culture
- AD progression modeling

要旨

iPS細胞から各細胞への分化誘導の進歩により、生理学的に適切な細胞を用いた疾患モデリングが可能になった。しかし、分化誘導と培養の一貫性など創薬に用いるためにまだまだ課題が多い。

今回の論文は、ヒトiPSCニューロン、アストロサイト、ミクログリアの自動化、一貫性及び長期培養可能なプラットフォームを構築した。

様々な刺激を加えることで、AD研究における標的探索、薬剤開発に使用可能なロバストなプラットフォームを構築できた。

背景

iPS細胞を用いた疾患のモデリングは標的の探索や薬の開発において、非常に強力なツールとなり、トランスレーショナルリサーチにおいても非常に重要である。これまで多くのAD研究においてiPS細胞モデルが用いられてきている。しかし、分化誘導や長期培養などにまだ一貫性及び培養の自動化などが欠けていた。

今回紹介する論文では、iPS細胞由来ニューロン、アストロサイト、ミクログリアの共培養を用いてiPS ADモデルを構築した。ハイスループット及びトリプル培養系では、可溶性A β 42の添加によってAD病態の特徴が再現されただけでなく、AD病態の進行モデルもin vitroで示した。

iPS細胞由来神経細胞における定量的特性評価を可能にするロバストなアッセイプラットフォーム

iPS細胞由来神経細胞を用いた疾患モデルはハイスループットな、自動化可能なプラットフォーム構築が必要とされた。このプラットフォームを実現するにあたって、まず正常な神経細胞のロバスト且つ均一な分化誘導が必要であり、その後自動化に向けて、各ステップの重要なポイント、検出リードアウトの選別と解析を検討している。iPS細胞由来神経細胞を用いた創薬スクリーニングにとって、大きな進歩とも言える。ただ自動化に関してはまだ断片的なものであり、今後は全自動のプラットフォームの検討が必要であると著者たちも記述している。

オリゴマーとフィブリルを含む可溶性A β 42の添加によるiPS細胞由来神経細胞を用いたAD病態の再現

論文の中で、iPS細胞由来神経細胞誘導方法及び可溶性A β の添加条件などを多方面で検討し、シナプスの消失、樹状突起の後退、軸索の断片化、リン酸化タウの誘導の多方面の病態リードアウトを示した。さらにADの病理学的特徴である神経細胞死も観察できた。このロバストで定量可能なプラットフォームは、創薬スクリーニングへの応用が期待される。

可溶性A β 42の添加下、トリプル培養下でiPS細胞由来ミクログリアが神経細胞のAD病態へのインパクトとそのメカニズム

iPS細胞由来ミクログリア、アストロサイトと神経細胞の共培養下、ミクログリアの活性化は添加したA β のプラーク形成を促進し、神経保護機能が低下したことを示した。そのメカニズムを解明するために、ミクログリアのA β プラークへの反応をタイムコースで染色データで示した。最後に、抗A β 抗体の作用機序を調べたところ、抗A β 抗体はこれらの病態からニューロンを保護し、pTau誘導前に最も効果的であることを示した。

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、神経変性疾患

一言 今回ではこれまでiPS細胞を用いた創薬研究で大きな課題であるハイスループットプラットフォームの構築及びアルツハイマー病におけるメカニズム研究、薬理的研究が可能であることを示した。このような取り組みは、将来的にiPS細胞を用いた創薬研究に大いに役立つことを期待している。

✉ lisahongmei.li@takeda.com

DNA-Encoded Library (DEL)スクリーニングを活用した、高選択的なBMPR2阻害剤の発見

Modukuri et al., J Med Chem., 2023,
DOI: 10.1021/acs.jmedchem.2c01886

キーワード

- DNA-encoded library (DEL)
- キナーゼ阻害剤
- キナーゼ選択性
- 構造活性相関(SAR)
- BMPR2

要旨

Bone morphogenetic protein receptor type 2 (BMPR2) 阻害剤は、いくつかの疾患の機序解明や治療薬になると期待されるが、現在のところ選択的な阻害剤は知られていない。

今回、4.17 billion規模の“unbiased”及び“kinase-biased”ELのスクリーニングにより、それぞれ一桁nMの活性を有する高選択的なBMPR2阻害剤を見出すことに成功した。

一方、Cell-based活性は期待よりも弱く、ターゲットエンゲージメントアッセイの構築や化合物の物性調整が今後必要となる。

背景

BMPR2は、膜貫通型セリンスレオニンキナーゼの骨形成タンパク質 (BMP) 受容体ファミリーメンバーであり、遺伝性肺動脈性肺高血圧症 (HPAH) 患者にて変異が見られることが知られている。BMPR2阻害剤は、そのような疾患の機序解明のためのツールや治療薬になると期待されるが、現在のところ選択的なBMPR2キナーゼ阻害剤は知られていない。DELは、ビルディングブロック (BB) とそれに紐づいたDNA-tagが複数連結されることにより形成される大規模化合物ライブラリーであり、標的タンパクに合わせてライブラリーを設計することが可能である。今回、53種、計4.17 billionからなる“unbiased”及び“kinase-biased” DELを用い、BMPR2 kinase domainに対してAffinity Selectionを実施し、選択的BMPR2阻害剤の取得を目指した。

DELスクリーニングにより、2種の選択的かつ高活性なBMPR2阻害化合物を取得

Unbiased DELからCDD-1115 ($IC_{50}=1.8nM$), kinase-biased DELからCDD-1431 ($IC_{50}=1.6nM$) の2種のヒット化合物の取得に成功した。CDD-1431は、ATP結合サイトを占有する化合物を選択的に取得すべく、CDD-1115添加条件における結合化合物を除去することで見出された。なおヒット化合物の選別手法としては、全化合物の出現頻度に対する特定化合物の出現頻度を示す指標となる“z-score”を用いた。2つのヒット化合物は403キナーゼからなるKINOMEScanの結果から、高い選択性を有していることが分かった。

小規模の構造展開により代謝安定性が大幅に改善

CDD-1115のメチルアミドを除去したCDD-1281 ($IC_{50}=1.2nM$)、CDD-1431のベンゼン環側鎖を除去しピペラジン骨格をピペラジノンへと変換したCDD-1653 ($IC_{50}=2.8nM$) は、代謝安定性が大幅に改善された。

ヒット化合物はBMP刺激による下流シグナル活性を抑制

CDD-1281、CDD-1653は、それぞれHEK293T BMP reporter (293T BRE-R) 細胞を用いたBMP2刺激によるルシフェラーゼ転写促進を弱しながら抑制した (それぞれ $6.19\mu M$ 、 $6.92\mu M$)。また、BMP2またはBMP9刺激による、SMAD1/5のリン酸化も抑制した。ただし、いずれも既知のpan-ALK阻害剤 (LDN-193189) と比べると著しく弱かった。原因として、①他のファミリーキナーゼがBMPの作用を補完している、②細胞膜透過性が悪い、ことが考えられる。今後、ターゲットエンゲージメントアッセイの構築や化合物の物性調整が必要となる。

担当者 杵渕 政彦 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 専門はメディシナルケミストリーですが、創薬に関連する様々な分野に興味があります。目標は、自身の専門性を高めつつ、他分野の方と連携して質の高い薬を作ること!!そして新たな技術にも目を向けて、良いものを見極められる目利き力、そしてそれを受け入れる柔軟な対応力を養っていけるよう日々精進して参ります。

✉ masahiko.kinebuchi@axcelead.com

非AI専門家の 研究におけるAIツールの 活用に関して

キーワード

- 生成AI
- ChatGPT
- 業務効率化
- 情報セキュリティ

要旨

ChatGPTは、先代のGPT2に比べて大幅に多いデータを学習したGPT3やGPT3.5の登場によって飛躍的に発展した大規模言語モデルである。

ChatGPTを使用することで、複雑な内容や英語のメール、申請書の草案作成などの非サイエンス的な業務を減らし、研究者が本来の業務に集中できるようになった。

ChatGPTは文書作成やデータ処理の分野で大きな効率化をもたらすなど、その応用範囲は今後も広がることが予想されるが、情報保護や最終確認の必要性など、その使用には注意も必要である。

背景

ChatGPTは、OpenAIによって開発された人工知能チャットボットであり、生成AIの一種である。2022年11月30日に公開されて以来、驚異的に使用者が増え、半年で登録者数1億人を突破し、MicrosoftやGoogleといった大企業もこれに類似した技術を発表している。ゴールドマン・サックスの報告によれば、生成AIは3分の2の職業に影響を及ぼし、25%~50%の仕事がAIに置き換わる可能性があるとされています。事務や管理支援職では、業務の約46%が自動化される見込みです。AIの導入により、世界の年間GDPが7%向上するとも予測されており、その影響は未知数である。これらのデータは、我々の仕事にも変革が迫っていることを示唆しています。今回、「非AI専門家の研究者は生成AIをどのように使っていけばよいのか」を議論がしたいと思い、発表致しました。

ChatGPTとは

ChatGPTは大規模言語モデル(LLM)の一種であるGPTをベースとしており、最近、飛躍的に発展したのは、先代のGPT2に比べてはるかに多いデータを学習したGPT3やGPT3.5が登場したため(15億個から1750億個)である。モデルの仕組み自体はGPT2と殆ど同じであるが、GPT3以降、複雑な指示や前提条件を加えた指示が可能になった。

ChatGPTの使用例(～私はこう使ってみた～)

ChatGPTの使用することで、以下の様な非サイエンス的な業務を減らし、研究者本来の業務により集中できた。

- ・複雑な内容や英語のメール、理由書や申請書の草案を作成する
- ・箇条書きの記録から、議事録・学会報告書の作成
- ・文章の校正や読み手に合わせたわかりやすい文への変更を行う
- ・HPの記載内容や論文を分析・要約する

ChatGPT使用時の注意

使用するには、個人情報や機密情報を入力しない、自分で最終確認ができないことを避けるという二点に注意が必要。これらの基本的な注意事項を守る事で、安全かつ効率的にChatGPTを利用可能になる。

まとめと展望

ChatGPTは、短期間で広範囲にわたる影響を与え、多岐にわたる応用が可能な生成AIの代表例として注目されている。特に文書作成やデータ処理の分野で大きな効率化をもたらしている。今後もその応用範囲は広がることが予想され、研究者が本来の研究活動に集中できるような支援ツールとしての発展が期待される。しかし、その使用には慎重さも求められ、情報の保護や最終的な確認が必須である。これからもChatGPT・生成AIの進化に注目し、その可能性を最大限に活用していくことが重要と考える。

担当者 内野 祐次郎 所属 Axcelead Drug Discovery Partners株式会社 専門 メドケム、中分子、核酸医薬

一言 私はプライベートでも、メール作成や挨拶文の作成、旅行先の情報収集や法律の相談などChatGPTを活用しております。

✉ yujiro.uchino@axcelead.com

ミトコンドリア代謝が 神経細胞発生の 種特異的な速度を 設定する

Iwata et al., Science, 2023 DOI:
10.1126/science.abn4705

キーワード

- 神経発生・分化
- 種特異的な発生速度
- ミトコンドリア代謝
- 進化
- 疾患モデリング

要旨

神経細胞発生の時間的スケールは種によって異なる。ヒト脳の発達は、げっ歯類などの他の種に比べて非常に遅い。

著者らは、ミトコンドリア代謝が脳皮質神経発生の特異的なタイミングに影響することを発見した。ヒト神経はマウスと比較してミトコンドリア代謝活性が低かった。

培養ヒト神経細胞のミトコンドリア代謝を促進させると、酸素消費速度の向上に伴い神経分化・成熟が加速した。

ヒト特有の認知機能の獲得に関与するとされる神経細胞の長期発達において、ミトコンドリアが重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

背景

神経細胞発生において、発生イベントの時間的順序は進化を通して保存されているが、その時間的スケールは種や細胞タイプによって大きく異なる (heterochrony)。例えばヒトの脳皮質は分化速度が非常に遅く、マウスではわずか数週間で成熟するのに対し、ヒトでは成熟に数ヶ月から数年かかる。このようなゆっくりとした神経成熟 (neoteny) が、ヒトの脳の優れた機能の背景にある可能性がある。一方、この神経発生速度の種による違いは、in vitroにおける幹細胞神経分化モデルにおいても保たれていることから、細胞内在性のメカニズムによって制御されていることが示唆されている。しかしながらどのようなメカニズムが関わっているのかは分かっていない。

ミトコンドリア代謝は脳皮質神経成熟の種特異的な速度に影響を及ぼす

幹細胞神経分化モデルにおいて、マウス皮質神経では約20日で神経突起の複雑化・シナプス形成が認められるが、ヒト皮質神経では1カ月以上培養しても20日培養したマウス神経の成熟レベルに至らない。興味深いことに、マウス神経では分化が進むに従い当初未熟なミトコンドリア形態が成熟していく一方、ヒト神経ではその成熟が著しく遅延していた。この観察と一致して、ミトコンドリア代謝 (酸素消費速度・TCAサイクル活性) がマウス神経では分化とともに著しく向上するのに対し、ヒト神経では滞っていた。原因として、ヒト神経では乳酸脱水素酵素 (LDH) の活性が高く、効率的なTCAサイクル活性が妨げられていることが判明した。

ヒト脳皮質神経の酸素消費速度とTCAサイクル活性を増加させると、神経細胞の発達速度が加速する

ヒト皮質神経でミトコンドリア代謝を強引に向上させるとどうなるのか？LDH阻害剤および脂肪酸ミミッカーでヒト皮質神経のTCAサイクル活性をブーストすると、酸素消費速度の向上に伴い、神経分化・成熟 (形態形成・興奮性・シナプス成熟) が加速した。逆にマウス神経にTCAサイクル活性を抑制する処理を加えると、神経分化・成熟が抑制された。

ミトコンドリア代謝はヒト神経細胞の長期発達において重要な役割を果たしている可能性がある

これらの結果から、皮質神経の種特異的なミトコンドリア代謝特性の違いが、脳の発生速度に影響を与える可能性が示された。ヒト神経細胞の長期発達はヒト特有の認知機能の獲得にプラスの役割を果たすと長い間提唱されてきた。ミトコンドリア代謝は「ヒトらしさ」の形成に重要な役割を担っているのかもしれない。一方、ヒト幹細胞神経分化モデルの成熟度の低さは、シナプス機能のような高次神経機能を評価するためのin vitroモデル作製の妨げになっている。ミトコンドリア賦活によりヒト神経成熟をin vitroで促進することは、神経疾患のPSC (多能性幹細胞) ベースの疾患モデリングに役立つと考えられる。

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を担当しています。Drug developmentフローの中で特にtarget identificationに興味があります。Scientificなブレークスルーを通じて新しい価値を見出すような創薬がしたいと思っています。

好きな言葉: 「Focus on out of focus」

✉ minoru.maruyama@takeda.com

ケモプロテオミクスによる NF- κ Bを標的とした 共有結合型モレキュラー グルー分解剤の発見

King et al., Cell Chem. Biol., 2023, DOI:
10.1016/j.chembiol.2023.02.008

キーワード

- MG (Molecular Glue)
- MGD (Molecular Glue Degradator)
- PROTAC (Proteolysis Targeting Chimera)
- TPD (Targeted Protein Degradation)
- Rational Hit Generation of MG

要旨

MGはPROTACと比較して、ドラッグライクネスや薬剤コストの点で強みがあるが、論理的な分子設計やヒット創出が難しいという研究開発上の課題がある。

近年、細胞生存率アッセイとオミクス解析を組み合わせたMGの合理的なヒット創出に関する研究が大きく進展している。

本報告では、共有結合型リガンドライブラリを用いた表現型スクリーニングとシステイン・ケモプロテオミクス解析を組み合わせることにより、共有結合型MGDを取得するための効率的、かつ、一般性の高いスクリーニング・フレームワークを提示している。

背景

アンドラッグアブルターゲットの標的化に注目が集まっている。治療介入のアプローチとして、「近接誘導剤によるタンパク質間相互作用の安定化を介した、イベント駆動型の薬理作用の発現」が期待されている。中でも、ユビキチン化を促進することで、標的タンパク質を選択的に分解誘導する化合物は、病理学的な観点からも重要であり、がん領域を中心に研究が加速している。PROTACに代表される Bivalent Degradatorは、その分子設計性の高さから当該分野を牽引している。しかし、薬物動態や薬剤コストの観点で課題があり、Monovalent DegradatorであるMGが注目されている。しかし、MGは合理的な分子設計が難しく、ヒット創出のための技術開拓が求められている。本報告では、共有結合型MGDを取得するための効率的で一般性の高いスクリーニング・フレームワークが提案されている。

共有結合型MGDを取得するスクリーニング・フレームワーク

①分子内にシステイン反応性部位(マイケルアクセプターなど)を持つ、共有結合リガンドのライブラリを構築する②がん細胞における抗増殖活性を評価する(細胞生存率アッセイ)③NEDD阻害剤やプロテアソーム阻害剤を共存させ、各々の依存性について評価する④iso-TOP-ABPPを用いて、リガンドが反応するシステイン残基、それを有する標的リガーゼを同定する⑤定量プロテオミクス解析により、分解標的とその分解選択性について明らかにする。上記プロセスにより、「共有結合型MGD/標的リガーゼ/分解標的(Cullin E3リガーゼ&プロテアソーム依存的)」がセットで同定される。

N450はHAP1白血病細胞に対して抗増殖活性を示す共有結合型MGDであり、UBE2DとNFKB1の三元複合体形成を安定化することで、NFKB1のユビキチン化を誘導、プロテアソームによる分解を促進する

750化合物の共有結合リガンドライブラリを用いて、HAP1白血病細胞を用いた細胞生存率アッセイを実施したところ、11化合物のヒットが得られた。90%以上の阻害を示した3化合物のうち、EN450を代表化合物とした。EN450は、MLN4924/ボルテゾミブの添加で抗増殖活性が低下したことから、Cullin E3リガーゼ/プロテアソーム依存的であることが確認された。次に、iso-TOP-ABPPを用いて、EN450と反応するシステインを探索した。その結果、81種類のシステインが同定され、E2リガーゼであるUBE2DのCys111が主要標的であることが分かった。UBE2DのKDにより、抗増殖活性が減弱することも確認されている。EN450で処理したHAP1細胞の定量プロテオミクス解析の結果、NFKB1が主要な分解標的であることが分かった。ブルダウンアッセイの結果、EN450はUBE2DとNFKB1の三元複合体を安定化し、NFKB1のユビキチン化を促進することが明らかになった。EN450はリガーゼのシステインに共有結合するNFKB1のMGDである。

担当者 山口 龍一 所属 ラクオリア創薬株式会社 専門 創薬化学、有機合成化学

一言 難病の治療薬創出、医薬品研究開発コストの削減、超高齢化社会への対応。直面する社会的ニーズに貢献するため、我々研究者には今、パラダイムの転換が求められているように思います。アンドラッグアブルターゲットの標的化、低分子創薬のパラダイム拡張、新規モダリティの開拓、AI/自動化といった潮流は、社会的要請に対する必然的な動きだと捉えています。難題を前に、緊張、焦り、不安すら感じるわけですが、大事なものは、寺田寅彦が『科学者とあたま』の中で書いたようなこと、そして、先人が積み上げてきた伝統を思い出すことかもしれません。

✉ ryuichi.yamaguchi@raqualia.com

アシネトバクター・ バウマニを標的とする 抗生物質のディープラー ニングによる発見

Liu et al., Nature Chemical Biology,
2023, DOI: 10.1038/s41589-023-01349-8

キーワード

- ディープラーニング・AI技術
- 新規抗生物質の探索
- 狭い抗菌スペクトルマウスモデルで効果

要旨

薬剤耐性をもつグラム陰性菌であるアシネトバクターは、院内感染を引き起こすため、問題となっているが、現在のスクリーニング技術で新たな抗生物質を見出すことは簡単ではない。

7,684個の分子の活性データを基にモデルを学習させ、そのモデルで別の化合物を評価して化合物を絞り込んだ。選抜された化合物を実際に評価することで、Abaucinを見出した。

ディープラーニングなどのAI技術が、薬剤耐性を持つ細菌に対して新しい薬剤を特定するための方法の一つとなりうることを示した。

背景

*Acinetobacter baumannii*は、グラム陰性桿菌である。自然環境中に広く生息しており、ヒトの皮膚にも常在。健康人に感染症を引き起こすことはまれだが、乾燥に強く、吸入装置、ベッドレールなどの表面上でも長期間生息できるため、易感染性患者に対して感染症を引き起こすことがある。様々な耐性メカニズムを集積する能力に長けており、臨床現場ではβ-ラクタム系、アミノグリコシド系、フルオロキノロン系抗菌薬などに耐性を獲得した菌株が出現。多剤耐性アシネトバクターと称し、感染症法に基づく5類定点把握疾患に指定されている。新しい抗生物質を発見することは、従来のスクリーニングアプローチでは困難であることが示されている。今回McMaster大学とMITの研究者たちは、教師化合物の増殖抑制活性を元にダイレクトメッセージパッシングニューラルネットワークを用いてモデルを作成し、機械学習でケミカルスペースを迅速に探索することで、新たな抗生物質を発見することを試みた。

新規抗生物質発見のための機械学習の利用

まず、教師データを取得するため、*A. baumannii*の増殖を阻害する化合物をin vitroでスクリーニングした。ダイバーシティに富んだ7,684個の化合物をATCC17978に対して行った。これらは、2,341個の特許切れの薬と、Broad Instituteで保管されているライブラリから構成されている。480化合物がアクティブ、7,204化合物がインアクティブと判明した。この教師データ化合物の増殖抑制活性を元に、ダイレクトメッセージパッシングニューラルネットワークを用いてモデルを作成した。続いて、Drug Repurposing Hubより6,680化合物を選出し、予測を行った。計算は数時間以内に完了した。スコア>0.2の化合物について、教師データに含まれる化合物および、教師データのヒット化合物と類似度が高いものを除き、240化合物とした。これらの化合物を実際に培地中の*A. baumannii*に作用させ、80%阻害抑制の基準で評価することで、9個の化合物を見出した。これらをさらに精査することで、*A. baumannii*に対して特異的に作用する Abaucinを発見した。

Abaucinはマウス創傷モデルにおいて感染を抑制する

Abaucinは狭い抗菌スペクトラムを有する抗生物質であることが判明した。作用機序をWhole genome sequencing、インシリコドッキング、転写データを利用して調べた結果、リポ蛋白質の膜からの遊離に関与するABCトランスポーター、LoiCDE複合体を構成するタンパク質LoiEが関与するメカニズムによってリポ蛋白質の輸送を阻害することで抗菌活性を示すことを示した。さらに、Abaucinがマウス背部創傷感染モデルにおいて効果を示すことを確認した。マウスに*A. baumannii* (~6.5×10⁶cfu)に感染させ、感染から1時間後、マウスにピークル(投与後25時間後)の創傷組織の細菌量を測定。治療後(感染後25時間)の傷口組織の細菌量を測定したところ、*A. baumannii*感染を抑制していた。本研究は、ディープラーニングなどのAI技術が、薬剤耐性を持つ細菌に対して新しい薬剤を特定するための方法の一つとなりうることを示した。

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 メドケムの世界でもAI、ディープラーニングが活躍する場面が徐々に増えてきているように感じます。最先端の技術を手に入れて、世界一の創薬ができるように、サイエンスカフェの皆様と切磋琢磨していきたいと思っています。引き続きサイエンスカフェをよろしくお願いいたします。

✉ ayumu.sato@axcelead.com

軟骨毛髪低形成症における*RMRP*遺伝子変異はリボソーム生合成阻害によりT細胞障害を引き起こす

Robertson et al., Nature Commun, 2022,
DOI: 10.1038/s41467-022-28295-8

キーワード

- リボソーム病
- Cartilage Hair Hypoplasia (CHH)
- T cell activation
- RNase MRP (Ribonuclease for mitochondrial RNA processing)
- rRNA processing

要旨

*RMRP*は、骨格異常とT細胞活性化障害を特徴とする軟骨毛髪低形成症(CHH)の原因遺伝子として知られている。

筆者らは*RMRP*変異によりT細胞の増殖が阻害されること、rRNA成熟不全が引き起こされることを見出した。

CHHでみられる変異が細胞質リボソームの形成異常に関わることを見出し、CHHがリボソーム病であることを示した。

背景

軟骨毛髪低形成症(CHH)は、骨格形成不全、異常毛髪、T細胞活性化障害を伴う免疫不全を呈する疾患です。疾患関連遺伝子として*RMRP*(Ribonuclease for mitochondrial RNA processing: RNase MRPを形成するlncRNA)の変異が知られていました。*RMRP*はpre-rRNAのプロセッシングに関わる遺伝子であることから、リボソームの形成異常が関連することが示唆されていましたが、詳しいメカニズムは解明されていませんでした。筆者らは、患者由来のヒト線維芽細胞やマウスモデルを用いて、*RMRP*変異が細胞に及ぼす影響とCHH発症メカニズムについて検証をしました。

リボソーム病とは

リボソームの構成因子(リボソームタンパク質やrRNA)の変異や、リボソーム生合成に関わる因子の異常により発症する疾患。代表例として、ダイヤモンド・ブラックファン貧血(DBA)という先天性の赤芽球形形成不全症が知られている。造血異常の他にも、角化不全、骨格異常、脾臓や肝臓の異常を示す疾患もリボソーム病として知られている。今回筆者らは、CHHの原因遺伝子*RMRP*がリボソームの生合成に及ぼす影響と、疾患発症機序について解析した。

マウスT細胞や患者由来線維芽細胞において

*RMRP*変異がT細胞増殖およびrRNA成熟を阻害した

マウス初代T細胞にCRISPRを用いてランダムに*RMRP*変異を導入した結果、変異導入48hr後のT細胞増殖数が、変異未導入細胞に比べ100倍程度少なかった。また、未成熟rRNAの量が増加していた。CHH患者由来の線維芽細胞は健常人と比較し生育や細胞周期に異常をきたすことが知られていたが、*RMRP*に変異を持つCHH患者由来線維芽細胞ではrRNAの成熟が阻害されており、細胞質リボソームの合成量が減少していることが示唆された。

*RMRP*の主要変異(70AG)を導入したK562細胞では、リボソームの生合成量が減少した

70AG細胞でも同様にrRNA成熟の遅延が観察された。SILAC法を用いた野生型/変異導入細胞におけるリボソームタンパク質の定量では、70AG細胞における発現量が有意に減少しており、細胞質リボソームの合成量が減少していることが明らかとなった。また、70AG変異はRNase MRP構成因子のPOP1タンパク質との相互作用を弱めることが明らかとなり、一連のrRNA成熟阻害の原因であることが示唆された。T細胞の増殖にはリボソームの生合成の活性化が求められることから、*RMRP*変異によるリボソーム生合成不全がT細胞の増殖異常を引き起こすと推察され、以上の結果から筆者らは、CHHをリボソーム病であると結論付けた。

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

一言 リボソームといえば全身の細胞の生存に不可欠な因子ですが、リボソームの形成に異常をきたす原因遺伝子の違いによってさまざまな症状に繋がるのが興味深いと思っています。最近ではがん発症との関連が示唆されており、まだまだ奥が深い領域と感じています。

✉ yasuko.matsuki@takeda.com

概日時計は コンパートメント化された 振動翻訳によって 調節される

Zhuang et al., Cell, 2023, DOI:
10.1016/j.cell.2023.05.045

キーワード

- ATXN2/ATXN2L
- ATXN2L
- 概日リズム (circadian rhythm)
- PER2
- 視交叉上核 (SCN)
- 液-液相分離 (LLPS)
- 膜なしオルガネラ (MLO)

要旨

ATXN2とATXN2Lは概日リズム依存的に発現振動した。

ATXN2のLCD領域はLLPS形成するが、この凝集体はPER2 mRNAの3'UTRを選択的に取り込む。

ATXN2/ATXN2Lは視交叉上核に高発現して凝集体形成が振動し、PER2翻訳を制御した。

ATXN2とATXN2Lは共に哺乳類の概日時計を調節する。

背景

哺乳類では、概日リズムは中枢と末梢のペースメーカーの階層的ネットワークによって制御されており、中でも視床下部前部にある視交叉上核(SCN)は、脳の主要な概日時計として機能している。分子レベルでは、一群の「時計遺伝子」が概日リズムを制御しており、抑制因子であるPER2などが含まれる。真核細胞に存在する膜なしオルガネラ(MLO)は、液-液相分離(LLPS)した高分子の集合体であり、特定の生体分子を濃縮し、他の生体分子を排除することによって、細胞内プロセスの数々を媒介する役割を果たすことが知られている。本研究では、ATXN2とATXN2LがLLPSによりMLOを形成し、PER2 mRNAの3'UTRを介して制御することで、SCNにおける概日リズム翻訳を制御する様子が明らかとなった。

ATXN2とATXN2Lは概日リズム依存的に発現振動した

ヒトU2OS細胞株を用いて、デキサメタゾン誘導性の概日リズムに依存して翻訳されるたんぱく質を解析したところ、変動レベルの強いATXN2を見出した。ATXN2とそのアイソフォームのATXN2Lを同時にKOすると、概日リズムに依存したポリソーム翻訳が消失した。この結果からATXN2とATXN2Lが概日リズム翻訳を制御することが明らかとなった。

ATXN2のLCD領域はLLPS形成するが、この凝集体形成は概日リズムにより振動した

U2OS細胞株を用いてデキサメタゾン誘導性の概日リズムにわたってATXN2を観察したところ、ATXN2陽性の細胞質凝集体が観察され、その形成が振動していた。ATXN2のLCD領域はメチオニン残基(Met)を多数含み、cell free試験においてMet依存性のLLPS凝集体を形成した。

ATXN2/ATXN2LはSCNに高発現して凝集体形成が振動し、PER2翻訳を制御した

PER2 mRNAの3'UTRはAUリッチであり、ATXN2はAUリッチ配列を認識することが知られていた。そこでPER2がATXN2による翻訳制御を受けるか検討した。cell free試験においてATXN2 LCD凝集体はPER2-3'UTRを選択的に取り込んだ。また、ATXN2およびATXN2Lはマウス脳SCNに濃縮して発現し、概日リズム依存的にPer2 mRNAと共局在して翻訳を制御する様子が観察された。

ATXN2とATXN2Lは共に概日時計を調節する

Atxn2 KOマウスおよびATXN2L SCN特異的KOマウスの解析から、複合型ホモ接合体KOマウスでは、より深刻な概日リズム振幅の消失が観察された。KO細胞での観察結果と合わせて、ATXN2とATXN2Lが協力してリズム翻訳を制御していると考えられた。

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 本論文は、その後、Perlegos et al., Sci. Adv. 2024に引用されている。この報告ではショウジョウバエモデルを用いてヒトTDP-43発現による睡眠異常が解析されているが、Atx2のノックダウンによってこの睡眠異常がレスキューされること。今後、動物モデルを用いたさらなる検討により、睡眠異常と神経変性との関連におけるATXN2の役割の解明に期待したい。

✉ masahiro.nogami@takeda.com

創薬における 重水素化戦略： その進展とメリット、課題

Rita et al., Nat Rev Drug Discov., 2023,
DOI: 10.1038/s41573-023-00703-8

キーワード

- 重水素スイッチ
- 代謝安定性
- ラセミ化抑制
- 毒性代謝物
- 薬物相互作用

要旨

有機化合物を重水素化する研究は1960年代から報告されており、特に過去20年間で顕著な進展を遂げている。

水素原子をその重同位体である重水素で置き換えることにより、薬物の薬物動態学や毒性プロファイルが改善され、効果や安全性が向上する可能性がある。

先行薬を重水素化する「重水素化スイッチ」は廃れてきており、創薬初期から重水素化している報告が増えている。

重水素化のコストに見合った価値を提供する事が、重水素体での開発には重要である。

背景

Lead化合物の水素を重水素に置換する手法、いわゆる「重水素スイッチ」は、代謝安定性の向上だけでなく、安全性や有効性への影響も及ぼす重要な技術である。この技術の研究は1960年代に遡り、特に過去20年間で顕著な進展を遂げている。2017年には、FDAによって初めて重水素化医薬品Deutetrabenazineが承認され、その後2021年には中国とウズベキスタンで独自の重水素スイッチ薬が、2022年9月にはDeucravacitinibという、最初から重水素体として開発された薬剤がFDAに承認されるなど、報告が増えている。現在では、少なくとも15の重水素化合物が臨床試験にあり、重水素化医薬品はさらに増えると予想される。この文献では、2020～2022年にかけて報告された研究を中心に、重水素化がもたらすメリットとその理論的背景について紹介する。

医薬品の重水素化による利点

重水素は非放射性で安全性が確立されていることから、リード化合物の重水素化は医薬品の代謝を最適化するための理想的な手法とされている。特に、C-D結合がC-H結合に比べてより強固であることを利用し、薬物の代謝部位を重水素化する事で代謝をブロックする事、キラル中心を重水素化とする事でラセミ化速度を低下させる事が可能である。これらの現象を利用する事で、薬物の体内での持続性が向上し、疾患治療における効果の持続時間が延びる事や望ましくない代謝物の生成を抑制する事が期待できる。

重水素化された医薬品の例

重水素化された医薬品はFDAにて2品目、その他の国で2品目の合計4種類が承認されており、現在、少なくとも15品目が開発中である。

承認されたのは、Deutetrabenazine (FDAで2017年承認)、Deucravacitinib (FDAで2022年承認)、Donafenib (中国で2021年承認)、VV116 (ウズベキスタンで2019年承認)の4種類であり、いずれも代謝安定性の向上を志向していると考えられる。

重水素化のメリットと課題

メリット：ラセミ化の抑制や酸化的代謝の抑制。それによるPKの改善や毒性代謝物の抑制、薬物相互作用改善

課題：代謝部位に的確に重水素化する必要性。効果が期待できる部位か(ex.N-アルキル部位などは期待薄)。代謝スイッチによる毒性代謝物の増加。重水素の増加は脂溶性の低下とBBB透過能の低下、アルブミン結合の増加の恐れがある。

先行薬を重水素化する「重水素化スイッチ」は廃れてきており、創薬初期から重水素化している報告が増えている。重水素化だけでは特許の取得は困難であり、また、重水素化のコストに見合った価値を提供する事が、重水素体での開発には重要である。

担当者 内野 祐次郎 所属 Axcelead Drug Discovery Partners株式会社 専門 メドケム、中分子、核酸医薬

一言 論文を読む際はScienceCafeで発表できるくらい理解できたか?と常に考えるようにすると、鋭い質問への恐怖からなのか、より文献の内容が頭に入る気がしております。

✉ yujiro.uchino@axcelead.com

AIを活用した ライフサイエンス画像 解析の最前線

キーワード

- ディープラーニング・AI技術
- ライフサイエンス画像解析
- 細胞検出・分類
- 行動解析
- 定量解析

要旨

AI技術の急速な発展に伴い様々な分野でAIの産業への応用の動きが広まっている。

ChatGPTに代表される大規模言語モデルや、画像解析の基盤モデルであるSegment Anything Model (SAM) など最先端技術の登場を踏まえ、AI技術を正しく理解しビジネス課題の解決へつなげることが益々重要となっている。

本発表では、エルピクセルが創業以来取り組んできたライフサイエンス画像解析におけるAI技術およびその活用事例について紹介を行う。

背景

エルピクセルはライフサイエンスと画像解析AI技術の両方に強みをもち、製薬企業をはじめとするライフサイエンス企業の課題解決を支援しています。近年AI技術の産業応用が進む中で、AI技術を正しく理解しビジネス課題の解決へつなげることが益々重要となっています。本発表ではAI技術の身近な普及事例や技術の変遷について紹介を行った後、画像解析AI開発の基盤となる技術、特に近年のディープラーニング技術の発展について解説します。また、ChatGPTに代表される大規模言語モデル、画像解析の基盤モデルであるSegment Anything Model (SAM)、マルチモーダルAI等、最先端技術の概要をお伝えします。最後に、新薬候補化合物スクリーニング、毒性評価、マウス行動解析といったライフサイエンス領域における画像解析AIの活用事例をご紹介します。

AI技術の発展

AI技術は近年身近な技術となっており、eメール機能支援、自動翻訳といった古くから発展してきた技術のほか、ChatGPTに代表される対話型AI技術も登場している。画像解析の分野では画像診断支援やサイエンス画像解析のほか、自動運転や外観検査といった分野でAI技術が広く活用されている。AI技術は20世紀半ばから歴史を持ち、ディープラーニング技術の登場した2010年代から現在に至るまで第三次AIブームが訪れている。ディープラーニングを基盤としたAI技術の発展において、畳み込みニューラルネットワークおよびトランスフォーマーが重要な要素技術となっている。近年、ChatGPTに代表される対話型AIが自然言語処理の分野で台頭した他、画像解析の分野では汎用的な輪郭抽出が可能な画像解析の基盤モデルであるSegment Anything Model (SAM) が登場した。画像とテキスト、音声などを入出力に組み合わせるマルチモーダルAIも発展している。

ライフサイエンス領域における画像解析AI技術の活用

創薬プロセスにおける探索研究、前臨床試験、製造、臨床試験、市販後の各フェーズで画像解析AI技術の活用が進んでいる。本発表では、探索研究と前臨床試験にフォーカスし事例の紹介を行った。探索研究においては、細胞分類・検出技術を基盤とした広範な顕微鏡画像の解析の他、Cell Painting Assayによる細胞の表現型スクリーニングなどが事例として挙げられる。前臨床試験においては小核試験による遺伝毒性評価や動物病理画像を用いた組織異常評価、トラッキング技術を用いたマウス個体行動解析等が事例として挙げられる。画像解析AI技術は、創薬研究分野での画像解析支援や臨床分野での疾患早期発見において既に活用が進んでいるが、今後、製薬企業とのエコシステムを通じて医薬品と画像解析AI技術を組み合わせたデジタルバイオマーカーといった医療の質向上を目指した新技術の開発が期待される。

担当者 菅原 皓 所属 エルピクセル株式会社 専門 画像解析、細胞追跡、生物物理学

一言 サイエンスカフェ当日、および後日開催されたRemo会では皆さまから貴重なフィードバックをいただきましたこと感謝申し上げます。昨年からエルピクセルではnoteにて発信を行っております (<https://note.com/lpixel>)。私の記事も先日公開されました。ご興味ございましたら是非ご覧いただけますと幸いです。

✉ sugawara@lpixel.net

A new anti-obesity approach controlled from the brain using nanomedicine!

Nanomedicine targeting brain lipid metabolism as a feasible approach for controlling the energy balance

Garcia et al., *Biomaterials Science*, 2023,
DOI: 10.1039/D2BM01751B

Key words

- CPT1A inhibitor
- Metabolic disease
- Brain lipid metabolism
- Nanomedicine
- Obesity

Synopsis

Control of brain lipid metabolism, especially in the hypothalamus, by suppressing fatty acid oxidation *via* CPT1A inhibition leads to satiety, but it is challenging to achieve this outcome *in vivo* using conventional drugs. This challenge was tackled using a novel core-crosslinked polymeric micelle-type nanomedicine platform that stably encapsulates the CPT1A inhibitor C75-CoA for *in vivo* hypothalamic control of energy balance. Upon central administration, the polymeric nanomedicine loaded with C75-CoA rapidly decreased food intake, peripheral metabolism, and body weight in mice through regulation of appetite-related neuropeptides and neuronal activation of specific hypothalamic regions driving liver and adipose tissue changes. This report can potentially contribute to developing and validating a new generation of nanomedicine for metabolic disorders.

Background

A metabolic disorder such as obesity disrupts energy homeostasis by creating a mismatch between food intake and output. Despite significant advances in our understanding of the pathogenesis of these metabolic disorders, obesity, and type 2 diabetes continue to rise and remain unmet medical needs.

The central nervous system (CNS) tightly regulates the physiological control of energy balance, having the hypothalamus as the focal area. Evidence suggests hypothalamic lipid metabolism is a critical nutrient status signal influencing feeding behavior and peripheral metabolism. Remarkably, the accumulation of fatty acids (FAs) or their metabolites in hypothalamic neurons serves as a satiety signal and may reduce food intake and hepatic function.

Highlights

A mitochondrial enzyme, carnitine palmitoyl-transferase 1A (CPT1A), is crucial to brain lipid metabolism and regulating energy balance. As CPT1A is highly expressed in peripheral tissues and brain. Accordingly, CPT1A has two different interventions to regulate energy balance. The overexpression of CPT1A and induction of fatty acid oxidation (FAO) in peripheral tissues alleviate insulin resistance and prevent weight gain. On the other hand, CPT1A inhibition reduces food intake and body weight in the CNS. Hence, inhibiting CPT1A specifically in the hypothalamus but not in peripheral tissues is a potential treatment option for metabolic disorders.

A specially designed core-crosslinked polymeric micelle (PM)-type nanomedicine was developed to stably encapsulate a well-known CPT1A inhibitor ($\pm$)-C75-CoA. The crosslinked PM has demonstrated excellent biological activity upon delivery of the CPT1A inhibitor in brain cells, particularly to neurons, after intracerebroventricular (ICV) administration making the crosslinked PM valuable for *in vivo* applications.

The effective delivery and higher neuronal uptake of the drug was evidenced in the potent and rapid satiating effect and significant body weight loss induced by central administration of core-crosslinked PM loaded with ($\pm$)-C75-CoA in mice, as well as in the substantial regulation of appetite-related hypothalamic neuropeptides and neuronal activation of hypothalamic nuclei involved in feeding behavior, which were not observed in response to free ($\pm$)-C75-CoA treatment.

This work emphasizes the significance of nanotechnology beyond its current biological uses. It makes it easier to comprehend the early stages of energy balance (i.e., acute satiating actions), which is critical for the emergence of complex disorders like obesity and diabetes.

Author information

Sabina Quader, PhD. Innovation Center of NanoMedicine (iCONM), Kawasaki Institute of Industrial Promotion (KIIP), Kawasaki, Japan.

Acknowledgment

I want to express my sincere gratitude to the organizers of Shonan iPark Science Café for allowing me to present our recently published paper. The work presented in this paper was accomplished by our bilateral project between iCONM, Japan, and UIC-Barcelona, Spain. I also want to thank Akiko Yasaka-san and Hiroko Oriyama-san of the Cluster Management division of KIIP for their kind help in facilitating my presentation at Shonan iPark Science Café.

深層学習による脳年齢の 予測モデルの構築と 認知症との関連

Lee et al, Nat. Aging., 2022,
DOI: 10.1038/s43587-022-00219-7

キーワード

- AI・機械学習
- 医用画像
- 年齢予測
- 認知症

要旨

近年、AIを用いて画像データから疾患の診断をサポート、予測するような研究が盛んに行われているが、加齢がリスクになると考えられる疾患に対しては、画像データから年齢を予測させるモデルを構築し、疾患リスクを見積もる研究が行われている。

健常人約1,800人の脳画像データ (FDG-PET、MRI) から年齢予測モデルを構築し、認知症患者で実年齢と予測年齢の差が大きいことを示唆した。

サリエンシーマップを用いることで、年齢予測にどの脳領域が関連しているかを可視化できることを示した。

背景

加齢は多くの疾患のリスク因子になることが古くから提唱されている。脳領域においては加齢によって、萎縮のような構造的変化、酸素・グルコース消費の低下のような機能的な変化が起こることが示唆されている。このような脳の構造的、機能的な変化を観察するために用いる手段として、MRIやPETといった医用画像の役割は大きい。

近年の機械学習の発展は、画像認識、音声認識、自然言語処理といった分野で、スマートスピーカーや自動運転などの実用化に貢献しており、医療分野においても疾患の診断などへの応用が期待される。

著者らは脳の医用画像から年齢を予測するモデルを構築し、実年齢との差が認知症と関連するかどうかを検証した。

脳年齢予測モデルの構築

健常人約1,800人のMRI、FDG-PETの画像データを用いて実年齢を予測させる脳年齢予測モデルを機械学習 (3D-DenseNet) により構築した。データセットに用いた医療施設内外の別データの予測についても、一定の精度で予測可能なモデルであった。

脳年齢予測に重要な脳領域を可視化

Occlusion sensitivity analysisを用いて、構築したモデルが脳年齢を予測する際に着目している領域を可視化した。

脳年齢予測モデルは、既に報告のある医用画像上でのいくつかの変化を検出することができており、モデルとしての一定の妥当性を有することが示唆された。

予測年齢差と疾患の関連

予測された脳年齢と実年齢の差 (予測年齢差) は、脳の老化度合いを意味していると考えられる。認知症の各病型 (軽度認知障害、アルツハイマー型認知症、前頭側頭型認知症、レビー小体型認知症) の予測年齢差は健常人の予測年齢差と比較し優位に大きく、予測年齢差が認知症の発症を検出できることが示唆された。

また、アルツハイマー型認知症患者においてTau-PETの集積を示す値 (SUVR) と予測年齢差が優位に相関していることが明らかとなった。(Amyloid-PETの集積と予測年齢差には優位な相関がみられない)

保険適用可能で安価な脳MRI評価により疾患リスクが予測できれば、患者負担の面からも有用な方法になると感じた。

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 発表の冒頭でも紹介させていただきましたが、医療分野での機械学習応用の報告・ニュースを多く目にするようになってきました。私自身の勉強も兼ねて、今回は機械学習と認知症についての論文を紹介させていただきました。

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

ASOによる急性神経毒性について

Chunyan et al., Mol. Ther., 2023, DOI:
https://doi.org/10.1016/j.omtn.2022.12.010

キーワード

- Antisense oligonucleotide (ASO)
- AMPAR
- Calcium

要旨

ASO急性神経毒性を評価するin vitroおよびin vivoの系を構築した。

ASOの毒性はAMPA機能を阻害することで生じていることが示唆された。

ASOの神経毒性は臨床応用における重大な制約なひとつであるため、今回の発見はその制限を克服し、治療の幅を広げるための新たな発見である。

背景

Antisense oligonucleotide (ASO)をはじめとする核酸医薬は、化学的に安価に合成できることから患者ごとに合わせたオーダーメイド医療薬として期待されている。とりわけ、重篤な希少疾患において注目されており、世界初のN of 1医薬としてミラセンが開発されている。しかし、ASOによる急性の神経毒性が発生するケースも報告されている。そのため、ASOの神経毒性を予測することは初期開発において重要であり、その予測ができれば、治療応用が広がるものと考えられている。

これまで、ASOの神経毒性を予測するためにhuman iPSや初代神経培養細胞を用いる手法や動物への投薬が試みられている。本論文においては、神経活動に重要なカルシウムに着目し、先行研究で毒性が確認されているASOを用いて、in vivo/in vitroにて解析を行った。

行動試験による急性毒性評価

マウス脳室内にASOを投与し、その後の毒性をopen field行動評価にてスコアリングした。既に神経毒性が報告されているASOを投与した場合、活動量の低下が認められ、意識および運動機能の低下に異常が認められることが明らかとなった。また、それらの毒性は用量依存的に増悪したものの、投与後1日以内に回復する一過性であることが確認された。

細胞内カルシウムイオン濃度と神経毒性

ラット初代神経細胞に毒性ASOを処置したところ、用量依存的に細胞内カルシウムイオン濃度が低下した。さらに毒性ASOをscrambleにしたところ毒性が同様に生じたため、ASOの神経毒性は配列に依存しない点が示唆された。また、3'末端からのGの距離が毒性に影響している報告があったことからscramble配列で検討したところ、Gが3'末端に近いもので毒性が強くなる傾向が認められた。また、ASOに用いる化学修飾の影響を検討したところ、LNA、MOE、2'Omeで比較したところ、配列によって修飾の違いで毒性への影響が変化したが3種検討のうち2種でMOEが毒性改善した。次いで、バックボーンである糖鎖について着目したところ、PSからPOに変換することで3種すべてにおいて毒性を改善することができた。

AMPAアゴニストによる細胞内カルシウムイオン濃度上昇と急性神経毒性の軽減

AMPAアゴニストによって初代神経細胞で細胞内カルシウムイオン濃度の増加が認められ、さらにASOと同時にマウス脳室内へ投与すると急性毒性が軽減された。一方で、NMDARへの影響を検討したところ、NMDAR競合アゴニストおよび非競合アンタゴニストを投与しても急性神経毒性にほとんど影響が認められなかった。以上から、ASOの神経急性毒性はAMPAを介する毒性であることが示唆された。

担当者 松井 秋倫 所属 アステラス製薬株式会社 専門 核酸医薬、遺伝子治療、希少疾患、眼科疾患

一言 ASOの急性神経毒性は臨床開発において課題である。これまで、配列に依存しない毒性のケースが報告されており、開発初期にcandidateの毒性を検討することは重要であり、N of 1医薬実現においては必要である。一方で、神経毒性評価は各社判断それぞれであり、最初からin vivoで評価するケース、human iPSで評価するケースなど毒性評価のコンセンサスが得られていないと感じる。本論文は細胞内のカルシウムイオン濃度に注目して議論しており、ASO自身がAMPAに影響を与えることを示唆しており、急性神経毒性評価における基盤を構築したものとする。今後の知識の蓄積により希少疾患に対して多くの医薬品開発が進むことを期待する。

✉ akitsugu.matsui@astellas.com

α 2マクログロブリンは細胞外の変性タンパク質の分解に寄与する

Tomihari et al., Sci Rep., 2023,
DOI: 10.1038/s41598-023-31104-x

キーワード

- タンパク分解
- リソソーム
- 分子シャペロン
- CRED (Chaperone and Receptor-mediated Extracellular protein Degradation)

要旨

細胞外の変性タンパクを認識し、リソソーム経路で分解誘導する経路としてクラステリンが関与するCREDが報告されている。

α 2Mは、クラステリンと同様、細胞外の変性タンパクを基質として、リソソーム経路により分解誘導に寄与している。

α 2Mが認識する変性タンパクは、クラステリンとは指向性が異なり、凝集しやすいタンパクを標的としている。

α 2Mによる変性タンパクの分解に関わる細胞表面受容体は未解明である。

背景

細胞内における異常タンパク質の分解には、ユビキチン-プロテアソーム系やオートファジー・リソソーム系などが知られており、解明が進んでいます。一方、細胞外においても、多くのタンパク質は存在しており、熱や酸化、pH変化など各種ストレスにさらされるため、異常タンパクを除去するメカニズムが存在すると考えられ、細胞外シャペロンの関与が示唆されていました。最近、クラステリンが細胞外変性タンパクの高疎水性領域と相互作用し、ヘパラン硫酸基を有するプロテオグリカンを細胞表面受容体として、細胞内に取り込まれリソソームで分解されるCREDというメカニズムが報告されています。今回、クラステリン以外に異常タンパクを認識するタンパクとして、 α 2マクログロブリン(α 2M)が見いだされました。

α 2Mは、細胞外の変性タンパクを認識し、リソソーム経路により分解誘導する

緑色蛍光タンパク質(GFP)と赤色蛍光タンパク質(RFP)を付加した α 2Mを用い、赤血球Lysateをモデル基質として細胞内に取り込み及びリソソームでの分解を評価しました。GFPはリソソームで分解される一方で、RFPは分解されず蛍光検出可能なため、GFPとRFPの蛍光量を比較することで分解程度を評価しています。熱負荷したモデル基質をHeLa細胞に添加後、培養した結果、GFPに比べRFPの蛍光量が有意に増加するのに対し、リソソーム阻害剤処理で変動が消失しました。そのため、 α 2Mは、変性タンパク質と複合体形成後、細胞内に取り込まれ、変性タンパクと共にリソソームで分解されることを発見しました。また、 α 2Mが認識する基質候補として142種を同定し、その内3種(PSMD5、ALDH1A1、ESD)については、実際に熱負荷により細胞内で α 2Mと共に分解されることを確認しました。また、本システムは、様々な組織由来の癌細胞株でも同様に認められており、普遍的なシステムである可能性が示唆されています。更に、 α 2Mの基質タンパクは凝集しやすい性質を有しているのに対し、クラステリンは広範な変性特性を持つ基質を標的としているため、認識する変性タンパクには指向性が異なる可能性が示唆されています。

現状では、変性タンパクと結合した α 2Mを認識する細胞表面の受容体は未同定である

α 2Mの細胞表面受容体としてエンドサイトーシス時の複合体形成に関与するLRP1 (LDL-receptor related protein)が本システムにも関与しているか検証するため、LRP1をKOしたHeLa細胞で同様の検討を行いました。ALDH1A1及びESDの分解には影響しませんでした。また、クラステリンの場合の細胞表面受容体であるヘパラン硫酸の可能性も考慮し、その合成酵素(EXT1)をKOした細胞でも評価しましたが、 α 2Mによる分解への影響は少なく、それ以外の可能性が示唆されました。なお、本論文内では、その細胞表面受容体の候補は、現状明らかにはなっていません。

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、ユビキチン-プロテアソーム系を利用した創薬研究(例えばPROTACs)に興味があり、検討を行っていましたが、細胞外の変性タンパクを対象とした分解制御機構(CRED)の存在については本論文を通じて初めて知りました。細胞外タンパク質の恒常性維持に、クラステリンや α 2Mのような分子の重要性を認識すると共に、変性タンパクの認識の特異性や分解効率など多くの課題が推察されますが、新たな薬剤標的としての可能性も感じています。今後も本領域の研究には注視していきたいと思えます。

✉ korenaga-s@aska-pharma.co.jp

TDP-43の単量体化は 筋萎縮性側索硬化症の 病態を引き起こす重要な 決定因子である

Oiwa et al., Sci Adv., 2023,
DOI: 10.1126/sciadv.adf6895

キーワード

- TAR DNA binding protein-43 (TDP-43)
- amyotrophic lateral sclerosis (ALS)
- Monomerization
- TDP-DiLuc

要旨

TDP-43の細胞質凝集は、筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病理学的特徴である。

孤発性ALS患者の死後脳と脊髄においてTDP-43の二量体化/多量体化が障害されていた。

N末端二量体化が欠損したTDP-43はALS運動ニューロンにおいて病的な封入体を構成し、TDP-43の病態を再現した。

TDP-DiLucを用いた検討から、転写阻害によって引き起こされるTDP-43の病理学的変化の前に、TDP-43のN末端二量体化の低下を検出することができた。

背景

ALSは世界的に発生し、発症率は10万人年あたり約2人、有病率は10万人あたり6~9人、生涯リスクは350人に1人である。神経筋系の障害が進行すると、上肢、下肢の筋力低下、口輪筋、呼吸筋の筋力低下が進行し、発病後の平均余命は短い。ほとんどのALS患者(~97%)において、TDP-43の核からの消失と細胞質での凝集を示す。しかし、TDP-43の細胞質への局在変化とそれに続く凝集のメカニズムは不明な点が多い。

孤発性ALS患者の死後脳と脊髄において TDP-43の二量体化/多量体化が障害されていた

ヒト死後中枢神経系サンプルにおけるTDP-43の多量体化状態をDSG架橋法で確認した。その結果、ALS患者の患部脳組織では、TDP-43の二量体/単量体の比が減少していた。一方、小脳ではTDP-43の二量体/単量体の比は比較的保たれており、ALS病態の部位特異性と一致していた。

N末端で二量体化していないTDP-43はALS運動 ニューロンにおいて病的な封入体を構成し、 TDP-43の病態を再現した

TDP-43のN末端領域の二量体界面に位置するLeu41を含むエピトープを認識するE2G6G抗体がTDP-43単量体を認識することを見出した。DSG架橋法で二量体化/多量体化能が最も低かったN末端領域に6つのミスセンス変異(E14/17/21A、Q34A、R52/55A)を持つTDP-43^{6M}変異体を用いて、E2G6Gの検証も実施した。この抗体を用いて、死後脊髄切片を染色したところ、コントロール(正常)の運動ニューロンでは核内のTDP-43を認識しなかったが、ALS患者の運動ニューロンでは、リン酸化TDP-43を含む凝集体を強く染色した。

TDP-DiLucを用いた検討から、転写阻害によって引き 起こされるTDP-43の病理学的変化の前に、TDP-43 のN末端二量体化の低下を検出することができた

TDP-43の二量体化/多量体化を生細胞で評価するため、NanoBiTシステムを基盤としたTDP-DiLucを開発した。TDP-43のN末端にLgBiTとSmBiTが融合されており、TDP-43が二量体化したときにルシフェラーゼ活性を示す。Actinomycin D処理細胞におけるTDP-DiLucの経時変化解析から、TDP-43の単量体化は、TDP-43の細胞質への局在変化や、溶解性の低下、リン酸化などのTDP-43の病理学的変化に先行して起きていることが明らかになった。これらの結果は、RNA代謝異常がスプライソソーム不良を引き起こし、TDP-43の単量体化を促進し、ALSに関連したTDP-43病態を誘導することを示唆している。

担当者 平野 満 所属 Axcelead Drug Discovery Partners株式会社 専門 Screening, ion channel, Neuronal physiology

一言 サイエンスカフェで紹介する論文は、自身の専門性のみでなく、面白かったので誰かに伝えたい!というものを選択するように心掛けています。同じように面白いと感じてくれた人がいましたら嬉しいです。よろしくお願いいたします。

機械学習がRNA結合性低分子化合物のケミカルスペースを明らかにする

Yazdani et al., Angew. Chem. Int. Ed., 2023, DOI: 10.1002/anie.202211358

キーワード

- RNA結合性低分子
- 低分子マイクロアレイ
- 機械学習
- ケモインフォマティクス
- ケミカルスペース

要旨

RNA結合性低分子化合物の化学的性質に関する研究は多くなく、構造的に多様な核酸構造群に対するスクリーニング結果と全ライブラリ構成を公表している事例はこれまでに存在しなかった。

核酸構造と低分子の網羅的なスクリーニングから、ROBIN (Repository of Binders to Nucleic Acids) RNA bindersが得られた。

ROBIN RNA bindersの化学的特徴がFDA承認薬およびBinding DB収載化合物との比較から明らかにされた。

背景

蛋白質結合性低分子化合物の特性について、これまで多くの研究が明らかにしており、化合物ライブラリの合理的設計に貢献してきた。一方、RNA結合性低分子化合物の化学的性質に関する研究は多くなく、特に、構造的に多様な核酸構造群に対するスクリーニング結果と全ライブラリ構成を公表している事例はこれまでに存在しなかった。著者らは、低分子マイクロアレイ技術を用いた網羅的スクリーニングデータに対する機械学習によりRNA結合性低分子ケミカルスペースを明らかにする優れたアルゴリズムを開発すること、そして、全スクリーニングデータと化合物構造を明らかにすることで化合物ライブラリの設計などへの応用がなされることを期待し、36種の核酸標的に対する低分子マイクロアレイスクリーニングとケモインフォマティクス解析を行った。

構造的に多様な核酸標的と低分子の網羅的なスクリーニングから、ROBIN RNA bindersが得られた

構造的に多様なDNAまたはRNA合計36種を合成し、末端を蛍光標識することによりプローブ化を行った。一方、構造多様性、入手性、固定化に必要な官能基の有無、そしてPAINSフィルターをクリアした合計22,979化合物をチップ上に固定化することで、低分子マイクロアレイの調製を行った。全プローブと低分子マイクロアレイの結合データからRNAとの結合が確認された化合物をROBIN RNA bindersと呼称し、以降の解析に用いた。

ROBIN RNA bindersの化学的特徴がFDA承認薬およびBinding DB収載化合物との比較から明らかにされた

FDA承認薬とROBIN RNA bindersの違いを説明する二値分類モデルを1,827種の化学記述子を説明変数としたLASSO回帰により構築した。その結果、化合物の窒素含量と芳香族性が増大するほどROBIN RNA bindersらしさが増大し、酸素含量と酸性度が増大するほどFDA承認薬らしさが増大するという、公知情報と矛盾しない結果が得られた。

続いて、蛋白質結合性低分子としてBinding DBよりランダム選定された化合物をROBIN RNA bindersのデータセットに追加し、ECFP4を記述子としてTMAPによる可視化を実施したところ、前者と後者は異なる骨格構造に分布し、化学的に異なるグループに分類されることが明らかとなった。

選択的なROBIN RNA bindersには出現頻度の高い骨格が存在する

ROBIN RNA bindersの中でも結合選択性の高い化合物群には頻出骨格が存在し、特に含窒素/硫黄複素環が多く含まれることが確認された。

担当者 服部 治彦 所属 東レ株式会社 専門 有機合成化学、複素環化学、天然物化学、創薬化学

一言 Merckの研究者らが、天然リガンドと構造の異なる低分子Ribocilでリボスイッチを制御可能であることを見出し、その結合様式をX線結晶構造解析により解明しました。私もRibocilのような、自然に学び、天然リガンドを超える特性をもつ化合物を自分の手で見出し、その結合様式を明らかにしてみたいと、わくわくしながら研究に向かっています。

✉ haruhiko.hattori.e3@mail.toray

肺がんにおける ミトコンドリアネットワーク の空間的マッピングと エネルギー産生

Han et al., Nature, 2023,
DOI: 10.1038/s41586-023-05793-3

キーワード

- ミトコンドリア
- エネルギー産生
- 細胞内イメージング
- 非小細胞肺がん

要旨

非小細胞肺がんは腺がんと扁平上皮がんに分類され、腺がんではミトコンドリア呼吸活性が亢進していた。

PETイメージングと電子顕微鏡観察の統合的な画像解析によって、ミトコンドリアの3次元配置と構造を解析し、腺がんと扁平上皮がんのミトコンドリアの空間的配置や形態、構造の違いが明らかになった。

腺がん細胞では多様なクリステ構造を持ったミトコンドリアが脂質滴を取り囲むように存在しており、エネルギー産生のミトコンドリア依存性が空間的な配置で説明できることが示唆された。

背景

非小細胞肺がんは組織型によって腺がんと扁平上皮がんに分類される。これまでにin vivoにおけるミトコンドリアの形態や配置とエネルギー産生の関係について統合的な解析を行った研究はなく、限られた知見しかなかった。今回、著者らはPETイメージングと三次元走査ブロック面電子顕微鏡の手法を用いて細胞内の空間的な配置、構造を解析し、呼吸活性測定によるエネルギー産生能を統合的に解析することで、ミトコンドリアの細胞内での空間的マッピングを行い、エネルギー産生の依存性との関連を調べた。その結果、肺がんの組織型の違いによってエネルギー産生能のミトコンドリア依存性が異なっており、ミトコンドリアネットワーク構造の空間的配置の違いによってエネルギー産生の依存性が説明できることを明らかにした。

腺がんと扁平上皮がんではエネルギー産生依存性とミトコンドリアの空間配置が異なる

KRASとp53、LKB1に変異を有する肺がん発症モデルマウスを用いて腺がんと扁平上皮がんのエネルギー産生依存性を(¹⁸F)FBnTPと(¹⁸F)FDGを用いたPETイメージングにより検出したところ、腺がんではFBnTPが、扁平上皮がんではFDGが優位に取り込まれており、それぞれミトコンドリア呼吸活性と解糖系が亢進している様子をPET probeによって検出できることが示唆された。また、ミトコンドリア呼吸活性は腺がんでは亢進しており、PETプローブの取り込みと相関した。また、ヒトがん細胞株を用いたXenograftモデルでも肺がん発症モデルと同様の傾向が確認された。

腺がんと扁平上皮がんでは細胞内のミトコンドリアの空間的な配置やミトコンドリア内部構造が異なる

三次元走査ブロック面電子顕微鏡の手法を用いて細胞内の空間的な配置や構造を解析したところ、ミトコンドリア呼吸活性が亢進している腺がんでは、ミトコンドリアが長いネットワーク構造を形成し、クリステ構造も多様な形態のミトコンドリアが存在しているヘテロな状態であった。一方で、扁平上皮がんでは、断片化したミトコンドリアの割合がほとんどを占めていた。

腺がんでは脂肪滴を囲むようにミトコンドリアが存在している

著者らは、さらに細胞内の脂質とミトコンドリアの解析したところ、腺がんでは脂質滴を多く蓄積しており、ミトコンドリアが脂質滴を取り囲むように、ネットワーク構造を形成して広がっていた。また、脂質の欠乏によってミトコンドリア呼吸活性や細胞増殖が影響を受け、脂質代謝の経路への依存が示唆された。この結果は細胞内でのミトコンドリアの空間的な配置と一致しており、エネルギー産生のミトコンドリア依存がその空間的な配置で説明でき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 今回紹介した文献の内容はこれまでの研究で現象が推測されていたことが実際に目で見て理解できる形で証明できた良い例であると思います。ミトコンドリアの空間的な配置や形態の解析は技術の進歩によってより詳細に観察できるようになっており、生化学的な解析と組み合わせることで、代謝やエネルギー産生の依存性を目に見えて専門家以外にも理解しやすい説明ができるようになっていと感じられこの文献に興味を持ちました。

✉ yasukawa.kai@mk.mt-pharma.co.jp

単一操作の 酵素カスケード反応に よるオリゴヌクレオチド 医薬品の生産

Moody et al., *Science*, 2023,
DOI: 10.1126/science.add5892

キーワード

- 核酸医薬品
- 核酸化学
- スケールアップ

要旨

オリゴヌクレオチドの酵素カスケードによる新たな合成法が開発された。

従来のホスホロアミダイト法の抱える、固相合成ゆえのスケールアップ性の課題を解決し得る。

水系の液液反応かつ、原料を仕込んでまぜるだけであり、操作も簡便である。

人工核酸にも適用可能であり、実際に上市されているオリゴヌクレオチドのフラグメントを合成することに成功した。

背景

従来、核酸医薬品は主に希少疾患を適応とする医薬品であった。しかしながら、昨今開発されたインクリシランは脂質異常症を適応とし、その患者数はアメリカのみで3000万人ほどと言われている。核酸医薬品の大量供給の需要拡大に反し、オリゴヌクレオチドの大量合成法は課題を抱えている。従来のオリゴヌクレオチドの合成法は「ホスホロアミダイト法」と呼ばれる、固相合成法である。固液反応ゆえにスケールアップ性には限界があり、1バッチあたり10kgの製造が限度であると言われている。また、不純物を抑制することが難しく、クロマト精製が必須である。さらに、合成段階、精製段階で大量のアセトニトリルを用いるため、環境調和性にも難がある。そこで著者らは、これらの課題を解決しうる、酵素カスケードによるオリゴヌクレオチド合成法を開発した。

ヌクレオチドを原料とし、自己プライミングなヘアピンテンプレート、ポリメラーゼ、エンドヌクレアーゼによって合成される

著者らが開発した方法では、自己プライミングなヘアピンテンプレートを用い、ポリメラーゼによる伸長反応、続くエンドヌクレアーゼによる伸長鎖の切断反応・ヘアピンテンプレートの再生といった反応の繰り返しによって所望のオリゴヌクレオチドを合成している。この手法では、原料を初めに混ぜ、反応が終わり次第、濾過などの精製によって酵素、未反応のヌクレオチドを除去している。この手法で取得した生成物は、クロマト精製をすることなく、LCで9割弱の純度となっており、従来法に比べて、精製工程などで操作の簡略化が可能であると考えられる。

人工核酸にも適用し得る手法であることを確認した

現在の核酸医薬品では、配列中に様々な人工核酸を用いている。そのような人工核酸にも本手法が適用出来るかを、天然核酸、ホスホロチオエート修飾、2'-F修飾、2'-OMe修飾、架橋核酸と、種々のポリメラーゼやエンドヌクレアーゼを用いて検証した。結果として、ほとんどの人工核酸にそれぞれ活性のある酵素を見つけることが出来た。また、ホスホロチオエート核酸に関しては、従来法では難易度の高い、立体選択的なオリゴヌクレオチドの合成に成功しており、立体選択的なオリゴヌクレオチドの活性次第では、有用な手段になると考えられる。

酵素カスケード法の抱える課題と展望

現在はまだ酵素カスケード法にも課題が多い。人工核酸によっては、活性の高い酵素の開発が必須であり、また、同一の塩基を持つ別種の人工核酸を含む配列は、原理的に合成不可能である。著者らは、前者の課題は人工酵素の開発によって、後者の課題はフラグメント配列のライゲーシオン技術によって、それぞれ解決できるのではないかと期待している。

担当者 長田悠佑 所属 十全化学株式会社 専門 有機合成、プロセス化学、核酸化学

一言 オリゴヌクレオチドの新たな合成法について紹介させていただきました。最近注目されている核酸医薬品について、その合成法がアップデートされつつあるのではないかと感じています。普段、合成分野だけで話してはできないようなディスカッションができ、良い刺激となりました。

✉ y.nagata@juzen-chem.co.jp

Xistリボヌクレオタンパク質は女性の性差による自己免疫を促進する

Dou et al., Cell, 2024,
DOI: 10.1016/j.cell.2023.12.037

キーワード

- Xist RNP (リボヌクレオタンパク質)
- XCI (X chromosome inactivation)
- 自己免疫疾患
- 全身性エリテマトーデス (SLE)
- 自己抗体
- プリスタン投与SLEモデル

要旨

メス特異的発現を示すXist longnoncoding RNAを、オスで発現誘導可能なトランスジェニックマウスを作製した。

オスでのXist発現により、自己抗体産生と自己免疫病理が認められた。

オスに発現させたXistはT細胞とB細胞集団をメスのようなパターンに再プログラムした。

抗Xist RNP自己抗体は、女性の自己免疫疾患患者の特徴であった。

背景

女性にはX染色体がペアで存在しますが、一方はXCI (X chromosome inactivation) によりサイレンシングされ、女性でのX染色体遺伝子発現が男性と比較して2倍量にならないようになっています。このXCIでは、女性で特異的発現するXist long noncoding RNA (Xist) が必要で、一方のX染色体からXistが転写されるとcisに染色体へ作用してXCIが成立します。Xistは81種類のタンパク質と相互作用してXistリボヌクレオタンパク質 (RNP) 複合体を形成しますが、そのうち30種類はヒト疾患 (リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症など) において自己抗体抗原として知られていました。そこで、Xist RNPが女性の自己免疫疾患を促進しているかもしれない、と仮説が立てられました。

Xistをオスで発現誘導可能なトランスジェニックマウスを作製した

Xistをオスで発現させるために、染色体サイレンシングに必須なA-repeat (RepA) 領域の欠失体 Δ RepA を利用した。Xist Δ RepA は、78種類のタンパク質と相互作用し、Xist RNP複合体を形成でき、X染色体coating活性を有す。11番染色体ヘドキシサイクリン (dox) による発現誘導が可能なユニットとしてXist Δ Repをインサートしたが、11番染色体遺伝子の発現低下などは観察されなかった。作出したXist Δ RepオスTgマウスを2週間dox処理して各臓器中のXist発現を解析すると、Xist発現が強く誘導され、臓器ごとに多少異なっていたものの、メスと遜色のないレベルであった。

オスでのXist発現により、自己抗体産生と自己免疫病理が認められ、T細胞、B細胞集団がメスのようなパターンに再プログラムされた

プリスタン投与SLEマウスモデルで評価を実施した。まず、SLE症状を呈さないC57BL/6J系統マウスのXist発現誘導オスマウスでは、プリスタン投与によりSLE症状は示さなかったものの、T細胞のクロマチン構造がメス化したことがATAC-seq解析により明らかとなった。SLE症状を呈するSJL/J系統マウスのXist発現誘導オスマウス (SJL/J) では、プリスタン投与メスマウスと同様に腎、肝、肺など各臓器で病態が観察された。B細胞クラスターにおいては、SLE患者で特徴的な非定型B細胞が存在した。

抗Xist RNP自己抗体は、女性の自己免疫疾患患者の特徴であった

プリスタン投与メスマウス (SJL/J) で観察されたXist RNP自己抗体は、数十種類確認され、ヒトSLE患者のXIST RNPに対する自己抗体と、有意に一致した ($p=0.001$)。プリスタン投与Xist発現誘導オスマウス (SJL/J) でも同じ抗体の多くが検出され、プリスタン投与WTオスマウス (SJL/J) よりも高レベルであった (12、16週それぞれ $p=6e-11$ と $p=1e-29$)。

担当者 野上 真宏 所属 武田薬品工業株式会社 専門 RNA標的創薬、RNA生物学、神経系疾患

一言 今回紹介した論文は、さまざまなlong noncoding RNAを長らく研究してきたスタンフォード大のChang教授らの報告です。XCIメカニズム研究では、RNA-binding proteinやXistが協調してどのようにサイレンシングや局在化されるのか、研究されてきました。XIST RNPがfemale-biased自己免疫との関係性にまでたどりついた基礎研究の積み重ねに感銘を受けました。

✉ masahiro.nogami@takeda.com

Memo

2023年度の湘南アイパークサイエンスカフェの活動 ■■■■

2023年度、湘南アイパークサイエンスカフェはiParkから飛び出し、地元地域、殿町、さらには宇宙へとサイエンスを通して繋がりを増やせた一年となりました。2024年度も引き続きサイエンスを通して、新しい繋がりを増やせたらと考えております。

- 2023年 5月 iPark 5周年イベントにてポスター発表(5/26)
- 2023年 6月 Shonan iPark Science Journal Vol.6発刊(6/5)
湘南アイパークサイエンスカフェ 開催150回(6/22)
- 2023年 8月 しごとてん 2023 in 鎌倉(鎌倉エフエム主催)に「紫キャベツ液を用いた科学実験」を題材に参加(8/26)
- 2023年 9月 鎌倉エフエムの番組「Good Morning Station」において、湘南アイパークサイエンスカフェ幹事が出演(9/9)
湘南アイパークサイエンスカフェ特別編:Sabina Quader 先生(公益財団法人川崎市産業振興財団、ナノ医療イノベーションセンター)を殿町キングスカイフロントから湘南アイパークに御招きして開催(9/21)
- 2023年 11月 湘南アイパークサイエンスカフェ特別編:「Tonomachi Outreach Communication Vol.3、湘南アイパークサイエンスカフェ コラボレーションセミナー」を殿町キングスカイフロントにて開催(11/17)
- 2023年 12月 湘南アイパークサイエンスカフェ特別編:スマートシティインスティテュート南雲様ご講演(12/7)
Wakuwaku Science Award受賞(12/14)
湘南アイパークサイエンスカフェの取り組みが日経産業新聞にて掲載(12/20)
- 2024年 1月 AMED-iParkコラボ企画(全4回)
～3月 JAXAコラボ企画(全3回)





この度ChatGPTを用いまして、湘南アイパークサイエンスカフェのロゴを新たに作成いたしました。新しいロゴには、化学、生物、インフォマティクスなど様々な分野のサイエンスが Science Cafe(コーヒーカップ)の中で混ざり合い、やがて新しいイノベーションが萌芽するという湘南アイパークサイエンスカフェの理想像を表現させていただきました。

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

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

発行元: 湘南アイパークサイエンス・プレス

2024.07-E7