
新規分子標的治療薬創薬に向けた 大学発ベンチャー基盤の確立

平成 27 年度～令和元年度
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
研究成果報告書

令和2年4月

学校法人名 京都薬科大学

大学名 京都薬科大学

研究組織名 分子標的治療薬創製チーム

研究代表者 芦原 英司

(京都薬科大学薬学部)

目次

(1) はしがき	1
(2) 研究成果の概要	3
(3) 研究報告書	63
Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製	65
クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製	79
アセトゲニン類の構造変換によるがん幹細胞に対する新規分子標的治療薬 の創製	90
高親和性配列に基づく BACE1 阻害剤の開発	96
エクソソームの分泌元細胞への効率的移行を利用した薬物送達技術の開発	107
DJ-1 による膠芽腫幹細胞の自己複製制御	108
膠芽腫幹細胞を標的する新規治療標的の探索と GGCT 阻害剤の創製	109
アザ-デカリン骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の創製	111
N-アミノピペリジン骨格を基盤とする BACE1 阻害剤の開発研究	113
天然薬物を素材とした含硫黄、含窒素機能性化合物の開発研究	115
スルホンアミド結合により複素環を連結した新規アセトゲニン誘導体の 合成と抗腫瘍活性評価	117
リガンド誘導体を用いた肺がん病理切片上の標的受容体発現解析	119
Src の活性化によってパクリタキセル耐性が生じる仕組みの解明	121
マウス前骨芽細胞の細胞増殖における中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネル $\text{K}_{\text{Ca}3.1}$ の寄与解明	122
遺伝毒性物質 PhIP に対するアセトゲニン誘導体の抗遺伝毒性	123
(4) 本事業を振り返って	124
(5) 外部評価員評価	127
(6) 主要論文	139
(7) 活動記録	607

はしがき

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業（以下、戦略基盤支援事業）は、私立大学が各大学の経営戦略に基づいて行う研究基盤を形成し、研究プロジェクトに対して重点的かつ総合的に補助を行い、その成果をもってわが国の科学技術の進展に寄与するための支援事業です。京都薬科大学における戦略基盤支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」は、本学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させることにより、超高齢者社会における健康長寿生活の実現に貢献できる“大学発創薬ベンチャー”基盤を確立することを目的とし、平成 27（2015）年度にスタートし令和元（2019）年度に終了いたしました。5 年間にわたる研究活動報告書を公表いたします。

本プロジェクトは、悪性腫瘍と認知症に焦点を絞り、アカデミアの学術基盤を有効利用することによって新たな創薬・予防薬シーズを発掘し、得られたシーズの学術的評価に臨床評価を加味することでシーズのライセンスアウトを目指した産学連携プラットフォームを構築することを目指し行ってまいりました。プロジェクト参画メンバーは、助教・助手の若手教員および PD・RA といった若手研究者が中心であり、彼らの独創的な発想の元に研究を展開することにより、創薬開発研究を通じて新たな“知の創造”をめざし、わが国の将来の薬学研究を牽引する次世代の基礎ならびに臨床薬学研究者の育成も目指し進めてきました。

プロジェクト開始当初は、①シーズ発掘・バリデーショングループと②合成・相互作用解析グループの 2 つのグループに分け、年 2 回の進捗会議および Annual Meeting においてそれぞれが所有するシーズを議論し、3 年目からは各メンバーがもつ英知・技術を、①Wnt/ β -catenin 阻害薬の創製、②がん転移抑制薬の創製、③アセトゲニン誘導体がん治療薬の創製、④A β 産生抑制および凝集阻害薬の創製、の 4 つの共同研究プロジェクトに集約し、研究を遂行してまいりました。いずれのグループも多く新しい知見を発見し、国内外学会に報告するとともに学術論文に発表してきました。

この 5 年間の研究活動により、中堅・若手研究者の研究成果がまとまり、多く

の新しい知見を得るとともに、2件の特許を出願でき、さらに4件の特許出願を控え、「本学発の分子標的治療薬の創製」研究は着実に進んでおります。しかし、残念ながらベンチャー設立のための特許保有には未だ至っておりません。今後はさらに検討を続け、特許を取得し、本学における大学ベンチャーの設立を目指します。

本事業で得られた成果として、確固とした学内共同研究体制ができたことも大きな収穫といえます。このことは「バイオロジストとケミストが協力して事業を行っていることから、着実に候補化合物を見出しつつある」、「何よりも目をひいたのは、本事業に参画する若手教員が研究領域の垣根を越えて親密に情報交換をしていること」と、外部評価員の先生方から本プロジェクトの共同研究体制に対して高い評価をいただいております。若手教員たちが、壁なく研究室に出入りし議論する姿は大変頼もしいものです。今年度で戦略基盤支援事業は終了いたしますが、本プロジェクトでは今後もこの風土を維持し共同研究を継続いたします。特許を取得しベンチャーを設立するとともに、教科書を書き換えるような「知」を創造するよう、一丸となって研究・教育に邁進いたします。

最後に、本プロジェクトの立ち上げ、遂行に際しまして、ご尽力賜りました全ての皆さまに、心より御礼申し上げますとともに、京都薬科大学のさらなる発展のため、引き続きご指導をいただきますよう、お願い申し上げます。

2020年3月末日

研究代表者

京都薬科大学 薬学部

生命薬科学系 病態生理学分野

芦原 英司

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

**平成 27 年度～令和元年度「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
研究成果報告書概要**

- 1 学校法人名 京都薬科大学 2 大学名 京都薬科大学
- 3 研究組織名 分子標的治療薬創製チーム(シーズ発掘・バリレーショングループ)
- 4 プロジェクト所在地 京都市山科区御陵中内町 5
- 5 研究プロジェクト名 新規分子標的治療薬創製に向けた大学発ベンチャー基盤の確立
- 6 研究観点 研究拠点を形成する研究

7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
芦原英司	病態生理学分野	教授

- 8 プロジェクト参加研究者数 13 名

- 9 該当審査区分 理工・情報 生物・医歯 人文・社会

10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
中田晋	臨床腫瘍学分野・准教授	がん幹細胞を駆逐する標的分子の探索	がん幹細胞維持機構の解明および細胞増殖阻害化合物の同定
戸田侑紀	病態生理学分野・助教	がん細胞の悪性化機構の解析と阻害剤のスクリーニング	がん幹細胞維持機構の解明および細胞増殖阻害化合物の同定
赤路健一	薬品化学分野・教授	がん関連標的蛋白質の機能調節分子の創出	がん分子標的治療薬のデザイン・合成
服部恭尚	共同利用機器センター・講師	神経変性疾患関連蛋白質の機能調節分子の創出	アミロイド凝集阻害薬の創製
小林数也	薬品化学分野・准教授	アミロイド産生調節蛋白質の機能調節分子の創出	アミロイド産生阻害薬の創製
中村誠宏	生薬学分野・准教授	天然資源からの抗がんシーズの探索とリード化合物の創製	天然由来シーズの探索、リード化合物創製のための構造活性相関研究

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

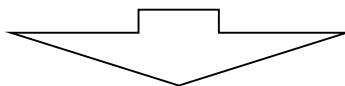
小島直人	薬品製造学分野・准教授	アセトゲニン誘導体による抗がんシーズの探索とリード化合物の創製	アセトゲニン誘導体を用いたリード化合物創製のための構造活性相関研究
長谷川功紀	共同利用機器センター・准教授	がん関連標的蛋白質の機能調節分子の創出	高感度視覚化に基づく新規がん細胞検出法の探索
野口正弘	京都薬科大学・客員教授	知的財産の特許申請を担当	発掘されたシーズの特許申請
芦原英司	病態生理学分野・教授	がん細胞の悪性化機構の解析と阻害剤のスクリーニング	がん幹細胞維持機構・がん細胞の転移機構の解明と治療標的分子の同定
(共同研究機関等) (佐賀大学) 木村晋也	医学部・教授	臨床検体を用いた新規化合物の POC の証明と臨床試験の立案	新規分子標的薬の臨床応用
(近畿大学) 藤田貢	医学部・准教授	Sleeping Beautyトランスポゾンを用いた自然発症型悪性腫瘍モデルマウスの作製	ヒトのがん病態に酷似した正所性担がんモデルマウスの作製
(摂南大学) 久家貴寿	薬学部・助教	がん細胞における細胞分裂制御の解析	がん細胞増殖機構の解明と治療標的分子の同定に関する助言

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
がん幹細胞維持機構の解析	細胞生物学分野・助教	賀川裕貴	がん幹細胞維持機構の解明および細胞増殖阻害化合物の同定

(変更の時期:平成 28 年 4 月 1 日)



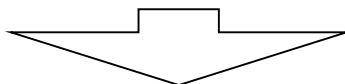
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
なし(大学院生)	病態生理学分野・助教	戸田侑紀	がん幹細胞維持機構の解明および細胞増殖阻害化合物の同定

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割

(変更の時期:平成 28 年 4 月 1 日)



法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

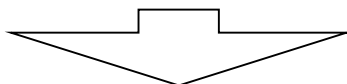
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
熊本大学・助教	共同利用機器センター・准教授	長谷川功紀	高感度視覚化に基づく新規がん細胞検出法の探索

旧

プロジェクト外での研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
がん細胞における細胞分裂制御の解析	生化学分野・助教	久家貴寿	がん細胞増殖機構の解明と治療標的分子の同定

(変更の時期:平成 29 年 4 月 1 日)



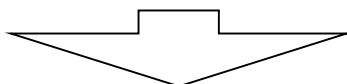
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
京都薬科大学 生化学分野・助教	摂南大学 薬学部・助教	久家貴寿	がん細胞増殖機構の解明と治療標的分子の同定に関する助言

旧

プロジェクト外での研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
Ca ²⁺ シグナルによるがん化の解明および治療標的分子の同定	薬理学分野・助教	鬼頭宏明	がん化に伴うイオンチャネルの活性変化と細胞内 Ca ²⁺ シグナル異常の解析

(変更の時期:平成 29 年 12 月 31 日)



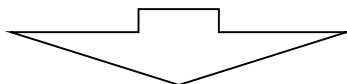
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
京都薬科大学 薬理学分野・助教	名古屋市立大学・助教	鬼頭宏明	プロジェクトに参画しない

旧

プロジェクト外での研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
がん幹細胞を標的とする再発予防シーズの探索	公衆衛生学分野・講師	長谷井友尋	がん幹細胞繊維機構の解明および再発予防化合物の同定

(変更の時期:平成 30 年 3 月 31 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
京都薬科大学 公衆衛生学分野・講師	大阪薬科大学・准教授	長谷井友尋	プロジェクトに参画しない

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

【研究プロジェクトの目的・意義】

京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させ、充実した健康長寿生活の実現に貢献できる大学発創薬ベンチャー基盤の確立を目的とする。悪性腫瘍と認知症に焦点を絞り、アカデミアの学術基盤を用い新たな創薬・予防薬シーズを発掘する。得られたシーズの学術的評価に臨床評価を加味し、シーズのライセンスアウトを目指した産学連携プラットフォームを構築する。アカデミア視点の治療薬・予防薬の創出を目指す。さらに、若手研究者を主体とした将来につながる大学発創薬ベンチャー基盤の確立を目指す。これら一連の研究活動は、私立大学の特徴を生かした機動性の高い創薬ベンチャー基盤の確立とともに、将来を担う若手薬学研究者の育成にも大いに寄与する。

(2) 研究組織

本学の当該内容の研究者を①シーズ発掘・バリデーショングループ(Gr-I)と②合成・相互作用解析グループ(Gr-II)の2つのグループに分け、各グループの先進的創薬研究を有機的に融合した研究拠点形成を行った。進捗会議を通じ各研究者の所有するシーズを洗い出し、その中から共同で遂行する創薬シーズを選定し、分子標的治療薬・予防薬を創製するプラットフォームを築き、研究を遂行した。さらに臨床試験の立案経験を有する学外臨床医学研究者と協力し、トランスレーショナルリサーチ体制を築いた。シーズのライセンスアウトに向けては、学内の知的財産・産学官連携センターと連携し、特許取得のためのサポート体制を築き、2つの特許を出願した。現在さらに、4つの特許出願に向けて研究を遂行中であり、大学発ベンチャーの設立およびトランスレーショナルリサーチ開始に向け、準備中である。

(3) 研究施設・設備等

【施設】

1. 愛学館:面積(1,455 m²)、研究室等数(35)、プロジェクトに関係する使用者数(119人)
2. 躬行館:面積(1,176 m²)、研究室等数(24)、プロジェクトに関係する使用者数(58人)
3. S棟:面積(1,007 m²)、研究室等数(33)、プロジェクトに関係する使用者数(20人)
4. 創薬科学フロンティア研究センター:面積(2,312 m²)、研究室等数(27)、プロジェクトに関係する使用者数(171人)
5. バイオサイエンス研究センター:面積(781 m²)、研究室等数(15)、プロジェクトに関係する使用者数(106人)

【主な装置、設備】

1. *In vivo* imaging system Lumina III XR:使用時間(1081時間)
2. X線照射装置 MultiRad160:使用時間(153時間)
3. 共焦点レーザー顕微鏡システム LSM510META:使用時間(2233時間)(平成27-28年度)
4. 共焦点レーザー顕微鏡システム LSM800:使用時間(5376時間)
5. FACS Calibur:使用時間(1832時間)
6. LSRFortessa:使用時間(2988時間)(平成28年度に導入)
7. FACSJazz:使用時間(1379時間)
8. 細胞イメージングシステム Operetta:使用時間(2069時間)
9. GloMax Discovry System:使用時間(1526時間)
10. 核磁気共鳴装置 JEOL ECS400:使用時間(7879時間)
11. 核磁気共鳴装置 JEOL LA500:使用時間(20676時間)
12. 核磁気共鳴装置 JEOL ECA600:使用時間(35168時間)
13. 核磁気共鳴装置 Bruker AVANCE III HD:使用時間(7415時間)
14. 核磁気共鳴装置 Bruker ASCEND500:使用時間(1510時間)(令和元年度に導入)
15. MALDI-TOF型質量分析計 Bruker microflex:使用時間(820時間)
16. 大気中イオン化質量分析機 島津 LCMS-IT-TOF:使用時間(1112時間)
17. ハイブリッド型質量分析装置 JEOL SX-102A QQ:使用時間(484時間)

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

18. ガスクロマトグラフ質量分析計 JEOL JMS-GCmate II:使用時間(503 時間)
 19. フーリエ変換赤外分光光度計 日本分光 FT/IR-4600:使用時間(351 時間)
 20. 円二色性分散計 J-1500-450STG:使用時間(802 時間)
 21. シングル四重極 LCMS Agilent LC/MS 6130B:使用時間(2423 時間)

(4)研究成果の概要 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び*を付すこと。

5 年の研究期間をシーズ発掘・バリデーショングループ(Gr-I)と合成・相互作用解析グループ(Gr-II)、それぞれの研究シーズの発掘の時期(平成 27-29 年度)と、それらの研究シーズを集約し設立した 4 つの新たなプロジェクト研究を遂行した時期(平成 29-令和元年度)に分け、本プロジェクトを運営した。

《平成 27-29 年度前半》

I. シーズ発掘・バリデーショングループ(Gr-I)

1. β -catenin/TCF レポーターアッセイ法を用いて、新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害剤を発掘し、これらは多種のがん細胞株の増殖を抑制することを見出した。
2. がん細胞の遊走能・浸潤能双方を抑えるクマリン系化合物 daphnetin をヒット化合物として構造活性相関研究を行い、遊走能および浸潤能抑制新規化合物を同定した。
3. がん幹細胞が生存する骨髄ニッチの低酸素環境を模倣した低酸素状態で長期培養可能となった低酸素環境適応骨髄腫細胞株が、幹細胞性を有することを見出した。
4. 新規プロモドメイン阻害剤が、多発性骨髄腫の増殖を抑制することを見出した。
5. 神経膠芽腫の根治を目指すため、神経膠芽腫幹細胞の性状解析を行い、乳酸輸送に関わる輸送体が高発現していることを見出し、その輸送体の阻害剤により増殖が抑制されることを見出した。
6. 高転移性マウス骨肉腫細胞株の遊走/浸潤能を抑えるネムロコウホネ由来化合物を同定した。
7. がん細胞指向性を有する神経膠芽腫が分泌するエクソソーム由来の脂質成分で再構成したリポソームがエクソソームの指向性を再現することを見出した。
8. がん細胞中のアミノ酸代謝酵素 γ -グルタニルシクロトランフェラーゼ(GGCT)発現を抑制することで、がん細胞増殖が抑制されることを見出した。
9. 新規アセトゲニン誘導体が膠芽腫幹細胞の増殖を顕著に抑制し、AMPK 経路の活性化、細胞周期停止およびアポトーシス細胞死を誘導することを見出した。
10. 細胞分裂イメージングによるがん細胞の細胞分裂を標的とする抗がん剤化合物のスクリーニング法を確立し、約 30 種の化合物を細胞分裂標的薬候補として同定した。
11. ゼブラフィッシュによるソニックヘッジホッグ(Shh)シグナル活性評価系と KSHV 感染原発性体腔液性リンパ腫(PEL)モデルマウスによる抗腫瘍化合物評価系を作製した。
12. 骨芽細胞増殖には Ca 活性化 K チャネル KCa3.1 が関与し、細胞分化には内向き整流性 K チャネル Kir2.1 が関与することを明らかにした。

II. 合成・相互作用解析グループ(Gr-II)

1. Gr-I による β -catenin/TCF レポーターアッセイ法を指標に活性化合物を見出した。見出した活性化合物は合成困難であり、新規候補化合物の設計と合成を継続中である。
2. がん細胞の転移を抑制する新規クマリン系化合物の作用標的探索研究を行い、化合物の自家蛍光を利用し、細胞内核周辺に集積することを見出した。
3. 葱白、ネムロコウホネ根茎、クロタネソウ種子を素材とし悪性腫瘍に対する予防・治療成分の探索を進めている。これまでに、約 90 種類の化合物を単離した。
4. 金針花およびアカネ根部から得られた成分を用いたラット副腎髄質褐色細胞腫由来細胞(PC12 細胞)における神経分化促進作用および β 凝集抑制作用の検討を進めている。これまでに、約 20 種類の化合物を単離し活性を評価した。
5. アセトゲニンチオフェンアナログの水溶性化を指向した構造活性相関研究を展開し、アルキル鎖部位にエチレングリコール単位を導入した新規誘導体の合成を行った結果、

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

左側鎖部位への導入により、ヒトがん細胞増殖抑制活性を維持したまま水溶性を付与できることを見出した。

- ペプチド性 BACE1 阻害剤にアルケン架橋構造を導入した大環状阻害剤の合成と P1' サイトにおける構造活性相関研究を行い、最適な置換構造に関する知見を得た。また、新規低分子型 BACE1 阻害剤として *N*-アミジノ含窒素環状骨格をデザインし^{*1}、*N*-アミジノピロリジン骨格において、弱いながらも BACE1 阻害活性を有する誘導体を見出した。
- リガンドを用いた受容体検出法の開発を行い、神経内分泌腫瘍切片のソマトスタチン受容体を検出に成功した。次にエストロゲンを用いて受容体検出法を開発している。

《平成 29 後半-令和元年度》

各グループ間の議論ならびに年 2 回の進捗会議、年 1 回の成果発表会を通して、平成 29 年度の後半には以下の 4 グループに集約し、各メンバーが協力して分子標的治療薬の創製研究を行ってきた。また、今後のシーズ発掘のため、Gr-I、Gr-II としてのそれぞれの研究も継続した。

A. 4 グループの進捗

① Wnt/ β -catenin 阻害薬の創製

- 約 60 種類の新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物を創製し、 β -catenin/TCF 活性低下を、Luc レポーターアッセイを用いて確認した。
- β -catenin/TCF 活性をより強く低下させた化合物群を用いて、多くのがん種に対して増殖抑制およびアポトーシス誘導をもたらすことを明らかにした。
- このことを基に、特許を出願した(特願 2018-237943、特願 2019-2015)。

② がん転移抑制薬の創製

- Daphnetin をヒット化合物として 57 種類の化合物を創製し、高転移性 LM-8 マウス骨肉腫細胞の浸潤および遊走抑制効果を検討し、より強力にがん細胞の浸潤および遊走を抑制する化合物を発掘した。
- 新規クマリン系浸潤および遊走抑制化合物群は、ヒト骨肉腫細胞株、ヒト乳がん細胞株の浸潤および遊走も抑制することがわかった。
- 上記を基にして、特許出願を行った(特願 2018-237944)。
- 遊走および浸潤抑制の評価のために、機械学習法に基づいた自動細胞計測システムを開発した。

③ アセトゲニン誘導体がん治療薬の創製

- 膠芽腫は極めて難治性の悪性脳腫瘍であり、新規治療戦略の策定が必要である。膠芽腫組織中に存在する膠芽腫幹細胞は、他の細胞とは異なる代謝リプログラミングを示すことが示唆されており、特に抗がん剤の耐性機序の克服にミトコンドリア代謝による ATP 産生が寄与することが示唆されている。
- 抗腫瘍効果を発揮する新規アセトゲニン誘導体を合成展開させ、膠芽腫の増殖を抑制するミトコンドリア複合体 I 阻害作用を有する新規化合物の探索とその作用機序解明を行った。
- 脳腫瘍モデルとしては、マウス発がんモデル、ヒト膠芽腫培養細胞モデルを用いた。さらに、他のがん種に対する効果も検証すべく、ヒト大腸癌培養細胞およびマウス移植モデルを用いて、抗腫瘍効果の検証を行った。

④ A β 産生抑制および凝集阻害薬の創製

- アルツハイマー病に対する予防・治療薬開発を目標に、BACE1 を標的とした A β 産生抑制剤の創製に取り組んできた。ペプチド性 BACE1 阻害剤については、架橋部での疎水性相互作用の重要性を明らかにし、ベンゼン環を利用した新たな架橋構造の有効性を見出した。
- P1' 位の置換基については、パラ位・メタ位のそれぞれについて構造活性相関研究を行い、最適な置換構造に関する情報を得ることができた。

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

3. 低分子型 BACE1 阻害剤については、新規骨格として *N*-アミジノピロリジンを考案し、構造活性相関研究の結果、弱いながらも明らかな BACE1 阻害活性を示す誘導体を見出すことができた。

B. 個々の研究者の研究

I. シーズ発掘・バリデーショングループ (Gr-I)

1. コウホネ由来化合物が高転移性マウス骨肉腫 LM-8 細胞株の遊走能および浸潤能抑制作用の機序を解明した。
2. 開発中の新規 BRD 阻害剤が、多種のがん細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導することを明らかにした。
3. 開発中の新規 BRD/CBP/P-300 マルチプロモドメイン阻害薬が、MLL 遺伝子関連白血病の増殖を抑制することを明らかにした。
4. BRD 阻害薬に耐性を示す MLL 遺伝子関連急性骨髄性白血病株を樹立し、その機序を発見した。
5. エクソソームに対する抗体に、アルギニンペプチド(直鎖型および分岐鎖型)をリンカーとして siRNA を結合させた新規の drug delivery system (DDS) を開発した。
6. 悪液質誘発担がんモデルマウスの作製に成功した。
7. 1%O₂ の低酸素環境に適応したがん幹細胞様の多発性骨髄腫細胞の増殖に関わるシグナルを明らかにした。
8. 酸化ストレスセンサーである DJ-1 が、がん幹細胞維持に重要であることを発見した。
9. エクソソームの脂質成分をもとに作製した新規リポソームが DDS として有効であることを発見した。
10. 1%O₂ の低酸素環境に適応したがん幹細胞様の多発性骨髄腫細胞から分泌されるエクソソームの性状が、通常酸素下で培養された骨髄腫細胞から分泌されるエクソソームの性状と異なることを発見した。
11. Src 型チロシンキナーゼの活性化によって、がん細胞が、パクリタキセル等の細胞分裂期標的抗がん剤に対し、耐性化する仕組みを解明した。
12. 細胞分裂期標的抗がん剤の探索に有効な微小管の新規染色法を開発した。
13. マウス前骨芽細胞に KCa3.1 が機能発現することを明らかにした。

II. 合成・相互作用解析グループ (Gr-II)

1. 21 世紀初の新興感染症である SARS の原因ウイルス増殖に必須の SARS 3CL プロテアーゼを阻害する新規低分子型阻害剤の設計と合成、阻害活性評価を行った。
2. *N*-アミジノピロリジン骨格を有する誘導体の合成法を確立し、BACE1 阻害活性物質を見出した。
3. アリウム属(ネギ属)植物を素材とし含有成分の探索を継続して進め、得られた成分および誘導体の抗がん、抗単純ヘルペスウイルス活性評価を行った。
4. リガンド誘導体を用いて受容体を検出・可視化する Western ligand blot (WLB)法とリガンド誘導体染色 (LDS)法を開発した。
5. アセトゲニンチオフェンアナログの THF 環部分 17-18 位の相対配置が *threo* であることが活性の発現に重要であることを見出した。
6. 蛍光標識化プローブの合成を行い、本化合物はミトコンドリアへの局在が見られること、複合体 I 選択的阻害活性を示すことを明らかにした。

<優れた成果が上がった点>

《平成 27-29 年度前半》

I. シーズ発掘・バリデーショングループ (Gr-I)

1. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物が、がん細胞株^{*2-3}、がん幹細胞^{*4} にアポトーシス

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- を誘導することを見出した。転移関連遺伝子の発現を抑制し、細胞遊走を抑制することを見出した^{*5}。
- クマリン系化合物 daphnetin^{*6} および新規クマリン系化合物^{*7} が、低分子 G タンパク質の発現を抑制することでアクチン重合を抑え、細胞遊走/浸潤を抑制することを見出した。
 - 低酸素環境適応骨髄腫細胞株の幹細胞性維持に TGF- β /Smad 経路が重要であることを見出した^{*8}。
 - 新規プロモドメイン阻害剤が正所性骨髄腫モデルマウスの生存期間を延長し^{*9}、分子標的治療薬と相乗的に骨髄腫細胞株の増殖を抑制することを見出した^{*10}。
 - 乳酸輸送体(MCT1)が神経膠芽腫幹細胞の治療標的分子であることを見出した^{*11}。
 - コウホネ由来化合物が高転移性マウス骨肉腫細胞株の遊走能および浸潤能抑制を有することを見出した。
 - 神経膠芽腫細胞由来エクソソームの膜表面タンパク質が自身のがん細胞指向性に寄与しないことを明らかにした^{*12}。本エクソソームの脂質成分で再構成したリボソームが、がん細胞指向性の一部を再現した^{*13}。
 - 乳がんや膠芽腫等のがん細胞の増殖が GGCT に依存し、その欠乏が p21/p16 誘導を介した細胞周期停止および細胞老化を惹起することを見出した^{*14}。GGCT の新規結合分子として転写抑制性制御因子 Prohibitin-2 を見出した^{*15}。新規 GGCT 酵素活性阻害剤プロドラッグを創製し、前立腺癌担がんモデルの進展を抑制することを見出した^{*16}。
 - Src の異常な活性化は、がん細胞に DNA 損傷を与えることで染色体異常を誘導することを見出した^{*17-18}。微小管標的抗がん薬の評価に有用な新規微小管免疫染色法を開発した^{*19}。がん治療の標的分子候補 FAM83H が、がん細胞間の接着性を低下(運動性は増加)させる仕組み等を解明した^{*20-21}。
 - KSHV 感染原発性体腔液性リンパ腫(PEL)を免疫不全マウスへ移植した抗腫瘍化合物評価モデルを用い、天然物由来化合物の Shh シグナル抑制と抗腫瘍活性を評価した結果、複数個の化合物がそれらの活性を有していることを見出した^{*22}。
 - マウス前骨芽細胞に KCa3.1 が機能発現することを初めて明らかにした。
- II. 合成・相互作用解析グループ(Gr-II)**
- 活性のある複数の Wnt/ β -カテンイン阻害剤を見出し、活性発現に重要な部分構造を明らかにした。新規候補化合物が、標的蛋白質探索のリガンドとなり得ることを見出した。
 - 転移抑制性クマリン化合物が細胞膜を透過し、核周辺に集積することを見出した。
 - 葱白やネムロコウホネなどから単離した稀有な環状硫黄化合物や含硫黄セスキテルペンアルカロイド二量体が、悪性腫瘍に対する医薬品シーズとして有用である可能性を示した^{*23-26}。
 - 金針花およびアカネ根部から得られた成分が有意な PC12 細胞における神経分化促進様作用あるいは A β 凝集抑制作用を示すことを見出した^{*27}。
 - アセトゲニンチオフェンアナログの THF 環部分 17-18 位の相対配置が *threo* であることが活性の発現に重要であることを見出した^{*28}。蛍光標識化プローブの合成を行い、本化合物はミトコンドリアへの局在が見られること^{*29}、複合体 I 選択的阻害活性を示すことを明らかにした^{*30}。
 - 側鎖に末端アルケンを有するヒドロキシエチルアミンユニットの合成法を確立し^{*31}、大環状阻害剤の合成を達成した^{*32}。エポキシ体を鍵中間体とした効率的な P1' 誘導体の合成法を確立し^{*33}、構造活性相関研究から、P1' 芳香環上の置換基に関する新たな知見を得た^{*34}。BACE1 阻害活性を有する新規骨格として、N-アミノピロリジンを見出した^{*35}。
 - リガンドを用いた受容体検出法の開発において、神経内分泌腫瘍切片のソマトスタチン受容体を検出することに成功した。免疫組織化学染色法に比べより高い検出率であることを見出した^{*36}。

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

《平成 29 年度後半-令和元年度》

A. 4 グループの進捗

① Wnt/ β -catenin 阻害薬の創製

1. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物群が大腸がん^{*37}、膵がん、急性骨髄性白血病^{*38}、急性リンパ芽球性白血病、多発性骨髄腫、悪性リンパ腫、神経膠芽腫、乳がん、等の細胞株の増殖を、有意に抑制することを示した。
2. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物群は β -catenin の mRNA 発現には影響を与えず、タンパク質の発現を減少させることがわかった。
3. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物群は Wnt 経路下流の c-Myc、Cyclin D1、Survivin、等の mRNA およびタンパク質発現を減少させることがわかった。
4. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物群は細胞周期を G1 期で停止させ、かつアポトーシスを誘導することがわかった。
5. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物群は cancer sphere 法および 1%O₂ の低酸素培養法を用いたがん幹細胞に対して、増殖抑制効果を有することがわかった。
6. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物群の細胞死には、一部 ROS 産生を介することがわかった。
7. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物を磁性ビーズ上に固定化する最適条件を見出し、分子プローブ作製に成功した。^{*37}
8. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物を分子プローブ化し、細胞破碎液と反応させ、電気泳動を行うことでタンパク質分離に成功した。^{*37}
9. 新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物と低活性化合物を分子プローブ化し、標的分子の候補となるバンドを絞り込み、プロテオミクス解析により候補タンパク質の同定に成功した。

② がん転移抑制薬の創製

1. 新規クマリン系浸潤および遊走抑制化合物群もリード化合物 daphnetin 同様、Rac1 等のアクチン重合/脱重合に関わる低分子量 G タンパク質の mRNA 発現に影響を与えず、タンパク質の発現を減少させることがわかった。^{*39}
2. 新規クマリン系浸潤および遊走抑制化合物群は、細胞質内のストレスファイバーの形成を抑制することがわかった。^{*39}
3. 細胞内ストレスファイバーの形成に関わる低分子 G タンパク質の発現を抑制することで、新規クマリン系化合物はがん細胞浸潤/遊走を抑制することがわかった。^{*39}
4. また低分子 G タンパク質の mRNA 発現量には影響を与えないことがわかった。^{*39}
5. 三次元培養法を用いて、新規クマリン系浸潤および遊走抑制化合物群が LM-8 細胞の集団遊走 (collective migration) も抑制することがわかった。
6. IVIS Lumina III XR を用いた自発肺転移モデルを完成させた。
7. 遊走および浸潤抑制の評価のために、機械学習法に基づいた自動細胞計測システムを開発し^{*40}、そのシステムを用いることで目視によるカウント法に比べ、計測時間が短縮された。
8. がん転移抑制薬の標的タンパク質をビーズ法により濃縮し、SDS-PSGE で分離・検出することに成功した。

③ アセトゲニン誘導体がん治療薬の創製

1. 膠芽腫幹細胞の増殖を抑制する新規アセトゲニン誘導体を合成した。
2. 新規アセトゲニン誘導体はミトコンドリア代謝を阻害し、ミトコンドリア膜電位の低下、酸素消費量の抑制、NAD⁺/NADH 比の低下をきたし、結果的に細胞内 AMP/ATP 比を増大させて、AMPK 経路の活性化および NFAT 転写因子の発現を低下させること

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

によって膠芽腫幹細胞の増殖を抑制することを見出した。

3. 新規アセトゲニン誘導体は既存の抗がん剤テモゾロミドの効果を増強することを見出した。
4. テモゾロミド耐性を惹起するオートファジー依存性 ATP サージを新規アセトゲニン誘導体が阻害させることを見出した。
5. 新規アセトゲニン誘導体は大腸癌細胞に対しても増殖抑制効果を示し、生体内腫瘍に対しても抗腫瘍効果を示した。

④ Aβ産生抑制および凝集阻害薬の創製

1. ペプチド性架橋型阻害剤と低分子型阻害剤のいずれにおいても、いまだ十分な高活性誘導体を得られてはいないものの、今後の構造展開を行う上で重要な知見を得ることができた。特に、阻害剤の疎水性を向上させることで脳内移行性の向上が見込める環状阻害剤の設計において、芳香環の導入と環サイズの影響を見極めることができたことは大きな進捗として挙げられる。^{*41}
2. P1' 誘導体において、パラ位置換基を精査した結果、親化合物よりも約 10 倍高活性な誘導体を見出すことができた。その阻害活性は当初目標であったサブ μM オーダーの値 ($\text{IC}_{50} = 0.58 \mu\text{M}$) であった。

B. 個々の研究者の研究

I. シーズ発掘・バリデーショングループ(Gr-I)

1. コウホネ由来化合物が高転移性マウス骨肉腫 LM-8 細胞株の遊走能および浸潤能抑制作用は、LIM domain kinase 1 の発現を抑制することでもたらされることを発見した。^{*40}
2. 開発中の新規 BRD 阻害剤が、多発性骨髄腫、急性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、悪性リンパ腫の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導することを明らかにした。
3. 新規 BRD 阻害剤が、胆管がんおよび乳がん細胞の増殖を抑制し、放射線療法との併用で相乗的に増殖抑制作用を持つことを明らかにした。
4. 新規 BRD 阻害剤が、ブルトンキナーゼ阻害薬との併用で悪性リンパ腫細胞の増殖を相乗的に抑制することを明らかにした。
5. 新規 BRD 阻害剤が、MLL 遺伝子関連急性骨髄性白血病に対して、CDK4/6 阻害薬との併用で相乗的増殖抑制作用を示すことを明らかにした。^{*42}
6. 新規 BRD 阻害剤が、MLL 遺伝子関連急性リンパ芽球性白血病に対して、Bcl-2 阻害薬との併用で相乗的増殖抑制作用を示すことを明らかにした。
7. 新規 BRD 阻害剤が、オートファジー阻害剤との併用で、神経膠芽腫細胞の増殖を相乗的に抑制することを明らかにした。
8. BRD 阻害薬に耐性を示す MLL 遺伝子関連急性骨髄性白血病株を樹立し、CDK 活性非依存的な CDK4/6 の機能が関わる可能性を示し、CDK4/6 阻害剤が BRD 阻害剤耐性白血病細胞の増殖を抑制することを発見した。^{*43}
9. BRD 阻害薬に耐性を示す MLL 遺伝子関連急性骨髄性白血病株を樹立し、Bcl-2 の子発現亢進が関与しており、Bcl-2 阻害剤が有効に BRD 阻害剤耐性白血病細胞の増殖を抑制することを発見した。^{*44}
10. 開発中の新規 BRD/CBP/P-300 マルチプロモドメイン阻害薬が、MLL 遺伝子関連白血病の増殖を抑制し、アポトーシスを誘導することを明らかにし、正所性急性リンパ芽球性白血病モデルマウスの生存を有意に延長することを明らかにした。
11. エクソソームに対する抗体に、アルギニンペプチド(直鎖型および分岐鎖型)をリンカーとして siRNA を結合させた新規の DDS を開発した。多発性骨髄腫細胞由来のエクソソームに DDS が結合しエクソソームが多発性骨髄腫細胞内に取り込まれ、その結果 siRNA が細胞内に導入され、標的分子の mRNA 発現を減少させることに成功した。^{*45}
12. ゾレドロン酸にて体外増幅・刺激したヒト $\gamma\delta\text{T}$ 細胞が、低用量のゲムシタビンとの併用で

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

単独投与よりも有意に高く細胞死を誘導し、さらに正所性膀胱がんモデルマウスの生存期間を延長することを示した。^{*46}

13. ゾレドロン酸にて体外増幅・刺激したヒト $\gamma\delta$ T 細胞は、腫瘍細胞の PD-L1 発現に関係なく、抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。^{*47}
14. 新規モノピロリン酸化合物が、ゾレドロン酸よりも有意に多くのヒト $\gamma\delta$ T 細胞を増幅することを示し、かつ抗腫瘍効果も有意に高いことを示した。^{*48}
15. 1%O₂ の低酸素環境に適応したがん幹細胞様の多発性骨髄腫細胞には、ゾレドロン酸にて体外増幅・刺激したヒト $\gamma\delta$ T 細胞は通常酸素濃度(20%O₂)で培養した多発性骨髄腫細胞に対するほど、抗腫瘍効果を示さないことを発見した。^{*49}
16. 1%O₂ の低酸素環境に適応したがん幹細胞様の多発性骨髄腫細胞の増殖は、一部 TGF- β /Smad 経路に依存することを発見した。^{*8}
17. 酸化ストレスセンサーである DJ-1 をノックダウンした神経膠芽腫細胞をマウスに移植した場合、対照群と比べて有意にマウス生存期間が延長し、DJ-1 が膠芽腫幹細胞の自己複製における新規制御因子であることを発見した。^{*50}
18. 腫瘍細胞由来のエクソソームの脂質成分で合成したがん細胞標的型リポソームにドキソルビシンを内包し、標的細胞の増殖抑制に成功した。^{*51}
19. siRNA の導入が困難な白血病細胞に対して、マクロピノサイトーシス活性化剤を前処置することで、エクソソームに内包した siRNA の細胞内導入が向上することを発見した。
20. 1%O₂ の低酸素環境に適応したがん幹細胞様の多発性骨髄腫細胞が分泌するエクソソームは、骨髄腫細胞の代謝リプログラミングをもたらし、低酸素での生存に関わりことを発見した。^{*52}
21. がんの浸潤部で、がん関連タンパク質 FAM83H が高発現し、細胞骨格、スプライシング等の制御に影響を与えている可能性を見出した。
22. KCa3.1 は前骨芽細胞の細胞膜電位を過分極させることで細胞外からの Ca²⁺流入を増加させ、特に細胞周期 G1 期から S 期への移行を促進することにより、細胞増殖を正に制御する役割を持つことが示された。

II. 合成・相互作用解析グループ(Gr-II)

1. アザ-デカリン骨格に新規相互作用部位を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成に成功した。^{*53}
2. 合成した新規アザ-デカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤は若干、阻害活性が向上した。また、酵素活性中心と相互作用する置換基の検討によりジチオアセタールが有効であることを見出した。
3. N-アミジノピペリジン骨格を有する BACE1 阻害剤の部分構造であるビフェニル環上に存在する置換基の種類と位置が活性発現に重要であることを見出した。^{*54}
4. アリウム属(ネギ属)植物ニンニクから得られるアリシンを用い、多様な鎖状および環状含硫黄化合物の合成を達成した。^{*55}
5. トウダイグサ科植物ヤマアイから、稀有な非対称のジピロール誘導体を見出すとともに、その合成を達成した。
6. キンポウゲ科植物クロタネソウから、抗単純ヘルペスウイルス活性を有するドラベラン型ジテルペンアルカロイド等を見出した。^{*56}
7. タモキシフェン誘導体を用い、G タンパク質共役型エストロゲン受容体 (GPER)の検出に成功した。そして、非小細胞肺癌病理検体を用いて GPER 陽性率を明らかにすることができた。^{*57}
8. 水溶性化を指向した構造活性相関研究を展開し、アルキル鎖部位にエチレングリコール単位を導入した新規誘導体の合成を行った結果、左側鎖部位への導入により、ヒトがん細胞増殖抑制活性を維持したまま水溶性を付与できることを見出した。^{*58}

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

9. スルホンアミド結合の導入が毒性軽減に有用であることを見出し、xenograft モデルにおいて抗腫瘍活性を示す新規誘導体の創製に成功した。^{*59}

<課題となった点>

がん分子標的化合物について、特許申請後、導出時の臨床試験の計画を立てるにあたり、どういった疾患でどういう試験を組むのかを考えておく必要がある。特にクマリン系転移抑制化合物については、転移の出現の有無で評価するとすると、数年以上のかなり長期間の臨床試験になる。簡易なバイオマーカーを探索しておく必要がある。現在、その一つとして、末梢血液中の circulating tumor cells の評価法の確立を手掛けている。

他のがん分子標的化合物においても、それぞれ単剤での臨床試験にするのか、それとも標準的治療薬との併用試験にするのかを考える必要がある。アセトゲニン誘導体ががん治療薬は、大腸癌移植モデルでは顕著な抗腫瘍効果を示した。しかしながら、移植モデルを用いた膠芽腫モデルでは早期には抗腫瘍効果を示したが長期予後は満足できるものではなく、顕著な延命効果を示さなかった。神経膠芽腫がん幹細胞を標的とするため、現在治療として用いられているテモゾロミドとの併用療法を考えた。試験管内の実験では、既存の抗がん剤テモゾロミドと新規アセトゲニン誘導体の併用は相乗的効果増強を示したが、生体内腫瘍に対する併用効果を実証することが今後の課題である。今後の研究活動において、これらの課題点を解決していく。

ペプチド性架橋型阻害剤と低分子型阻害剤については、十分な阻害活性を有する化合物を見出すことができなかった点が課題として挙げられる。また、全ての阻害剤において、脳内移行性を含む物性の検討を行う段階まで研究を進めることができなかった点も課題として残っている。今後は、物性を加味した構造活性相関研究を展開することで、ペプチド性阻害剤と低分子型阻害剤の双方において、創薬シーズとなりうる新規化合物の創出を進めていく。

また今後の開発戦略を具体的に進めるために、上記の成果を踏まえ信頼しうる企業と早い時期に相談し、出口戦略をよりはっきりさせる必要がある。

<自己評価の実施結果と対応状況>

研究の進捗確認は、常時グループ内で行うとともに、年 2 回 small meeting と称し、全体が集まり発表とともに、質疑応答および議論を行い、プロジェクト全体で個々の研究の評価を行ってきた。全体の統括は研究代表者の芦原が行ってきた。

各年度の進捗および成果については、毎年 annual meeting を開催し、学内全体に進捗を報告し、学内の教員、研究者からの評価を受けてきた。また本学主催の KPU シンポジウムでも研究成果の発表を行ってきた。成果がみられた時点で、学会発表および論文発表を行うとともに、各年度の研究業績を本戦略的研究基盤形成支援事業のホームページ (<http://labo.kyoto-phu.ac.jp/bunshi/index.html>) にて公開してきた。さらに、学長、副学長、研究科長、各部長職の教授により構成される本学幹事会からも、コメントおよびご意見を評価として受け、成果が優れている研究者に対しては学内の競争的研究資金から別途、研究費の配分を受け、本学における研究活動の向上に貢献してきた。

<外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

研究進捗を客観的に判断いただくため、2 名の学外有識者(京都府立医科大学大学院 医学研究科 酒井敏行教授(現:創薬センター長)、京都大学大学院 薬学研究科 高須清誠教授)に外部評価者を依頼し、中間報告書のご評価とともに毎年の成果発表会のご講評をいただいた。最終年度の成果報告会は、新型コロナウイルス感染の拡大防止のため中止し、開催時予定していた発表内容の抄録集で成果報告とした。毎年、良好なご評価をいただいております。総合所見としては、「学内のバイオリジストとケミストが協力して事業を行い、着実に進

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

捗が認められる。今後は知財の導出のタイミングと導出後の研究開発を熟慮する必要がある。早い時期にベンチャー立ち上げの基盤を形成する必要がある。」というものであった。ご指摘いただいた内容については、継続する共同研究活動中に実現する。なお、中間報告書の評価票、最終年度成果報告会抄録集ならびに本最終成果報告書概要に対する評価票を合わせて、参考資料として提出した。

<研究期間終了後の展望>

1. Wnt 経路阻害薬創製については、ビーズ法により標的分子候補が見つかっており、それらの中から真の標的分子を同定する。おそらく 2020 年中には同定できる。その分子と化合物との X 線結晶構造解析を行い、さらに有効性の高い化合物を誘導し、特許申請および導出の準備に入る。その段階でベンチャー立ち上げの準備とともに、パートナーとなる製薬企業を探す。
2. クマリン系転移抑制化合物については、現在標的分子同定のプロセスに入っている。Wnt 経路阻害薬創製と同様に進める。
3. アセトゲニン誘導体がん治療薬については、今年中に特許を出願するとともに、標的分子を同定し、Wnt 経路阻害薬創製と同様に進める。
4. A β 産生抑制および凝集阻害薬については、良好な活性を有する BACE1 阻害剤を見出しており、本阻害剤について脳内移行性を含む各種物性の評価を行う。また、BACE1 と阻害剤との X 線結晶構造解析を行い、物性と活性のバランスを取りながらより有効性の高い化合物の創出を展開し、Wnt 経路阻害薬創製と同様に進める。
5. Gr-I および Gr-II で行っている個々の研究においても、新たなシーズが発掘されつつある。今後も進捗報告会を続け、新たな共同研究体制を構築するとともに、さらに知財の取得を目指しベンチャー立ち上げのためのシーズを蓄積していく。

<研究成果の副次的効果>

1. 今回開発してきた新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物群を、以下の特許として出願した。「特願 2018-237943、2019-2015 名称:Wnt シグナル伝達経路阻害剤 発明者: 芦原英司、服部恭尚、赤路健一」
2. 今回開発してきた新規クマリン系転移抑制化合物群を、以下の特許として出願した。「特願 2018-237944 名称: 癌転移抑制剤 発明者: 芦原英司、中村誠宏、山下正行」
3. 今回明らかにした BRD 阻害薬の耐性機序は、CDK4/6 の細胞周期制御非依存的な作用によるもので、さらに現在汎用されてきている CDK4/6 阻害剤が有用であることを明らかにしている。今後臨床で使用されるであろう BRD 阻害薬に耐性が生じた症例への応用が期待される。
4. 今回開発してきた新規 BRD/CBP/P-300 マルチプロモドメイン阻害薬は、現在臨床試験中の BRD 阻害薬より MLL 白血病モデルマウスに対する副作用が少ないことがわかった。将来、本薬剤が上市された場合、新たな有効な分子標的治療薬となり得、さらには現在有効な治療薬のない MLL 白血病に対する有効な治療薬となる可能性がある。
5. ゴレドロン酸にて体外増幅・刺激したヒト $\gamma\delta$ T 細胞が、腫瘍細胞の PD-L1 発現に関係なく抗腫瘍効果を発揮することは、医療費の高騰をもたらした PD-1 抗体に頼る必要がなく、また PD-1 抗体/PD-L1 抗体に不応性の悪性腫瘍患者にも有効であることが期待される。現在、体外増幅した $\gamma\delta$ T 細胞による臨床研究を考案中であり、今回発見した事象を確認できれば、医療費の高騰を阻止できる可能性を秘めている。

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- (1) 分子標的治療薬 (2) 悪性腫瘍 (3) Wnt/ β -カテニン経路
 (4) 転移 (5) クマリン系化合物 (6) アセトゲニン
 (7) アルツハイマー病 (8) β -セクレターゼ

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには*を付すこと。

<雑誌論文>

①シーズ発掘・バリデーショングループ

1. Eriko Kuroda, Kazuyuki Takata, Kaneyasu Nishimura, Hikaru Oka, Mari Sueyoshi, Mayu Aitani, Atsushi Kouda, Shiho Satake, Chiaki Shima, Yuki Toda, Susumu Nakata, Yoshihisa Kitamura, Eishi Ashihara: Peripheral blood-derived microglia-like cells decrease A β burden and ameliorate cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, 73, 413-429 (2020). (査読有)
2. Masato Yoshizawa, Seikou Nakamura, Yuki Sugiyama, Shiori Tamai, Yukiko Ishida, Mari Sueyoshi, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Yoshitaka Yano, Eishi Ashihara: 6-Hydroxythiobinupharidine inhibits migration of LM8 osteosarcoma cells by decreasing expression of LIM domain kinase 1. *Anticancer Res.*, 39, 6507-6513 (2019). (査読有)
3. Yuki Toda, Ryosuke Yoshimura, Masao Itahara, Yuri Imai, Kanae Yamada, Tomoko Uno, Susumu Nakata, Shigekuni Hosogi, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: DJ-1 contributes to self-renewal of stem cells in the U87-MG glioblastoma cell line. *Anticancer Res.*, 39, 5983-5990 (2019). (査読有)
4. Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Atsuko Fujiwara, Fumiya Hongo, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Preclinical orthotopic xenograft model of renal pelvis cancer in which cancer growth could be traced by in vivo imaging system. *Int. J. Urol.*, 26, 138-139 (2019). (査読有)
5. Susumu Nakata, Mitsugu Fujita, and Hayao Nakanishi: Efficacy of afatinib and lapatinib against HER2 gene-amplified trastuzumab-sensitive and -resistant human gastric cancer cells. *Anticancer Research*, 39, 5927-5932 (2019). (査読有)
6. Hiroko Takagi, Hiromi Ii, Susumu Kageyama, Eiki Hanada, Keiko Taniguchi, Taku Yoshiya, Tokuhiko Chano, Akihiro Kawauchi, Susumu Nakata: Blockade of γ -glutamylcyclotransferase enhances docetaxel growth inhibition of prostate cancer cells. *Anticancer Res.*, 39, 4811-4816 (2019). (査読有)
7. Keiko Taniguchi, Hiromi Ii, Susumu Kageyama, Hiroko Takagi, Tokuhiko Chano, Akihiro Kawauchi, Susumu Nakata: Depletion of gamma-glutamylcyclotransferase inhibits cancer cell growth by activating the AMPK-FOXO3a-p21 axis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 517, 238-243 (2019). (査読有)
8. Eiki Hanada, Susumu Kageyama, Ryosuke Murai, Shigehisa Kubota, Hiromi Ii, Susumu Nakata, Hiroko Kita, Akihiro Kawauchi, Tokuhiko Chano: Pro-GA, a novel inhibitor of γ -glutamylcyclotransferase, suppresses human bladder cancer cell growth. *Anticancer Res.*, 39, 1893-1898 (2019). (査読有)
9. Ryuzaburo Yuki, Takashi Tatewaki, Noritaka Yamaguchi, Kazumasa Aoyama, Takuya Honda, Sho Kubota, Mariko Morii, Ichiro Manabe, Takahisa Kuga, Takeshi Tomonaga, Naoto Yamaguchi: Desuppression of TGF- β signaling via nuclear c-Abl-mediated

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- phosphorylation of TIF1 γ /TRIM33 at Tyr-524, -610, and -1048. *Oncogene*, 38, 637-655 (2019). (査読有)
10. Keiko Taniguchi, Kengo Matsumura, Hiromi Ii, Susumu Kageyama, Eishi Ashihara, Tokuhiro Chano, Akihiro Kawauchi, Tatsuhiro Yoshiki, and Susumu Nakata: Depletion of gamma-glutamylcyclotransferase in cancer cells induces autophagy followed by cellular senescence. *Am. J. Cancer Res.*, 8, 650-661 (2018). (査読有)
 11. Shohei Kawanishi, Kazuyuki Takata, Shouma Itezono, Hiroko Nagayama, Sayaka Konoya, Yugo Chisaki, Yuki Toda, Susumu Nakata, Yoshitaka Yano, Yoshihisa Kitamura, and Eishi Ashihara: Bone-marrow-derived microglia-like cells ameliorate brain amyloid pathology and cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, 64, 563-585 (2018). (査読有)
 12. Yoko Nakagawa, Eishi Ashihara, Hisayuki Yao, Asumi Yokota, Yuki Toda, Yasuo Miura, Susumu Nakata, Hideyo Hirai, Taira Maekawa: Multiple myeloma cells adapted to long-exposure of hypoxia exhibit stem cell characters with TGF- β /Smad pathway activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 496, 490-496 (2018). (査読有)*⁸
 13. Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Masatsugu Miyashita, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Low dose gemcitabine increases the cytotoxicity of human $\gamma\delta$ T cells in bladder cancer cells in vitro and in an orthotopic xenograft model. *OncoImmunology*, e1424671 (2018). (査読有)
 14. Toshimasa Nakao, Koji Masuda, Takehisa Matsuyama, Tsukasa Nakamura, Eishi Ashihara, Hidetaka Ushigome, Norio Yoshimura: Dexamethasone prolongs cardiac allograft survival in a mouse model through myeloid-derived suppressor cells. *Transplant. Proc.*, 50, 299-304 (2018). (査読有)
 15. Akihiro Ito, Mitsuhiro Ohta, Yukinari Kato, Shunko Inada, Toshio Kato, Susumu Nakata, Yasushi Yatabe, Mitsuo Goto, Norio Kaneda, Kenichi Kurita, Hayao Nakanishi, and Kenji Yoshida: A real time near-infrared imaging method for the detection of oral cancers in mice using an indocyanine green-labeled podoplanin antibody. *Technol. Cancer Res. Treat.*, 17, 1-11 (2018). (査読有)
 16. Hiromi Ii, Taku Yoshiya, Susumu Nakata, Keiko Taniguchi, Koushi Hidaka, Shugo Tsuda, Masayoshi Mochizuki, Yuji Nishiuchi, Yuko Tsuda, Kosei Ito, Susumu Kageyama, Tatsuhiro Yoshiki: A novel prodrug of a γ -glutamylcyclotransferase inhibitor suppresses cancer cell proliferation in vitro and inhibits tumor growth in a xenograft mouse model of prostate cancer. *ChemMedChem*, 13, 155-163 (2018). (査読有)*¹⁶
 17. Keiko Taniguchi, Kengo Matsumura, Susumu Kageyama, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Tokuhiro Chano, Akihiro Kawauchi, Tatsuhiro Yoshiki, Susumu Nakata: Prohibitin-2 is a novel regulator of p21WAF1/CIP1 induced by depletion of γ -glutamylcyclotransferase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 496, 218-224 (2018). (査読有)*¹⁵
 18. Anowara Khatun, Motoki Shimozawa, Hiroaki Kito, Mayu Kawaguchi, Mayu Fujimoto, Moe Li, Junko Kajikuri, Satomi Niwa, Masanori Fujii, Susumu Ohya: Transcriptional repression and protein degradation of the Ca²⁺-activated K⁺ channel K_{Ca}1.1 by androgen receptor inhibition in human breast cancer cells. *Front. Physiol.*, 41, 1158-1163 (2018). (査読有)
 19. Aya Ifuji, Takahisa Kuga, Yuji Nakayama: Air-drying of cells enables visualization of antiparallel microtubule overlaps in the spindle midzone. *MethodsX*, 5, 431-437 (2018). (査読有)
 20. Mohammad Shahriar Khan, Souleymane Coulibaly, Maho Abe, Nami Furukawa, Yuuki Kubo, Yusuke Nakaoji, Yumi Kawase, Takahiro Matsumoto, Tomohiro Hasei, Yuya Deguchi,

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- Hiroaki Nagaoka, Nobuyuki Yamagishi, Masanari Watanabe, Naoko Honda, Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe: Seasonal fluctuation of endotoxin and protein concentrations in outdoor air in Sasebo, Japan. *Bio. Pharm. Bull.*, 41, 115–122 (2018). (査読有)
21. Daisuke Imahori, Takahiro Matsumoto, Naoto Kojima, Tomohiro Hasei, Megumi Sumii, Taishi Sumida, Masayuki Yamashita, Tetsushi Watanabe: Chemical structures of novel maillard reaction products under hyperglycemic conditions. *Chem. Pharm. Bull.*, 66, 363–367 (2018). (査読有)
22. Kazutaka Koto, Hiroaki Murata, Yasushi Sawai, Eishi Ashihara, Motoyuki Horii, Toshikazu Kubo: Cytotoxic effects of zoledronic acid-loaded hydroxyapatite and bone cement in malignant tumors. *Oncol. Lett.*, 14, 1648–1656 (2017). (査読有)
23. Natsuki Imayoshi, Makoto Yoshioka, Jay Chauhan, Susumu Nakata, Yuki Toda, Steven Fletcher, Jeffrey Strovel, Kazuyuki Takata, and Eishi Ashihara: CG13250, a novel bromodomain inhibitor, suppresses proliferation of multiple myeloma cells in an orthotopic mouse model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 484, 262–268 (2017). (査読有)*9
24. Hiroki Mikami, Youhei Saito, Namiko Okamoto, Ayana Kakihana, Takahisa Kuga, Yuji Nakayama: Requirement of Hsp105 in CoCl₂-induced HIF-1 α accumulation and transcriptional activation. *Exp. Cell. Res.*, 352, 225–233 (2017). (査読有)
25. Aya Ifuji, Takehisa Kuga, Yuichiro Kaibori, Youhei Saito, Yuji Nakayama: A novel immunofluorescence method to visualize microtubules in the antiparallel overlaps of microtubule-plus ends in the anaphase and telophase midzone. *Exp. Cell Res.*, 360, 247–257 (2017). (査読有)*19
26. Mariko Morii, Sho Kubota, Takuya Honda, Ryuzaburo Yuki, Takao Morinaga, Takahisa Kuga, Takeshi Tomonaga, Noritaka Yamaguchi, Naoto Yamaguchi: Src acts as an effector for Ku70-dependent suppression of apoptosis through phosphorylation of Ku70 at Tyr-530. *J. Biol. Chem.*, 292, 1648–1665 (2017). (査読有)
27. Keiko Kakae, Masayoshi Ikeuchi, Takahisa Kuga, Youhei Saito, Naoto Yamaguchi, Yuji Nakayama: v-Src-induced nuclear localization of YAP is involved in multipolar spindle formation in tetraploid cells. *Cell. Signal.*, 30, 19–29 (2017). (査読有)*18
28. Mayu Fujimoto, Takahiro Inoue, Hiroaki Kito, Satomi Niwa, Takayoshi Suzuki, Katsuhiko Muraki, Susumu Ohya: Transcriptional repression of HER2 by ANO1 Cl⁻ channel inhibition in human breast cancer cells with resistance to trastuzumab. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 482, 188–194 (2017). (査読有)
29. Takeshi Okuda, Takayuki Tasaki, Susumu Nakata, Kimihiro Yamashita, Hiromasa Yoshioka, Shuichi Izumoto, Amami Kato, Mitsugu Fujita: Efficacy of combination therapy with MET and VEGF inhibitors for MET-overexpressing glioblastoma. *Anticancer Res.*, 37, 3871–3876 (2017). (査読有)
30. Mitsugu Fujita, Susumu Nakata: The immunological significance of chemokines and integrins in central nervous system tumors. *J. Adv. Oncol.*, 1, 1005–1009 (2017). (査読有)
31. Takahiro Matsumoto, Taisuke Nishikawa, Ayano Furukawa, Saki Itano, Yuka Tamura, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe: Antimutagenic effects of polymethoxy flavonoids of *Citrus unshiu*. *Nat. Prod. Commun.*, 12, 23–26 (2017). (査読有)
32. Takahiro Matsumoto, Kazuki Takahashi, Sumire Kanayama, Yuka Nakano, Hiromi Imai, Masumi Kibi, Daisuke Imahori, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe: Structure of

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- antimutagenic constituents in the peels of *Citrus limon*. *J. Nat. Med.*, 71, 735–744 (2017). (査読有)
33. Zenpei Shigemi, Kazuki Manabe, Naoko Hara, Yusuke Baba, Hiroki Kagawa, Tadashi Watanabe, Masahiro Fujimuro: Methylseleninic acid and sodium selenite induce severe ER stress and subsequent apoptosis through UPR activation in PEL cells. *Chem. Biol. Interact.*, 266, 28–37, (2017). (査読有)*22
34. Aya Ifuji, Takahisa Kuga, Yuichiro Kaibori, Youhei Saito, Yuji Nakayama: A novel immunofluorescence method to visualize microtubules in the antiparallel overlaps of microtubule-plus ends in the anaphase and telophase midzone. *Exp. Cell Res.*, 360, 347–357 (2017). (査読有)
35. Yuichiro Abe, Maiko Nagano, Takahisa Kuga, Asa Tada, Junko Isoyama, Jun Adachi, Takeshi Tomonaga: Deep phospho- and phosphotyrosine proteomics identified active kinases and phosphorylation networks in colorectal cancer cell lines resistant to cetuximab. *Sci. Rep.*, 7, 10463 (2017). (査読有)
36. Kazumasa Kuki, Noritaka Yamaguchi, Shuto Iwasawa, Yuki Takakura, Kazumasa Aoyama, Ryuzaburo Yuki, Yuji Nakayama, Takahisa Kuga, Yuuki Hashimoto, Takeshi Tomonaga, Naoto Yamaguchi: Enhancement of TGF- β -induced Smad3 activity by c-Abl-mediated tyrosine phosphorylation of its coactivator SKI-interacting protein (SKIP). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 490, 1045–1051 (2017). (査読有)
37. Noritaka Yamaguchi, Misato Shibasaki, Chiaki Yamada, Erina Anzai, Mariko Morii, Yuji Nakayama, Takahisa Kuga, Yuuki Hashimoto, Takeshi Tomonaga, Naoto Yamaguchi: Tyrosine phosphorylation of the pioneer transcription factor FoxA1 promotes activation of estrogen signaling. *J. Cell. Biochem.*, 118, 1453–1461 (2017). (査読有)
38. Kengo Matsumura, Susumu Nakata, Keiko Taniguchi, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Susumu Kageyama, Akihiro Kawauchi, Tatsuhiro Yoshiki: Depletion of γ -glutamylcyclotransferase inhibits breast cancer cell growth via cellular senescence induction mediated by CDK inhibitor upregulation. *BMC Cancer*, 16, 748, (2016). (査読有)*14
39. Tsukasa Nakamura, Toshimasa Nakao, Eishi Ashihara, Norio Yoshimura: Myeloid-derived suppressor cells recruit CD4⁺/Foxp3⁺ regulatory T cells in a murine cardiac allograft. *Transplant. Proc.*, 48, 1275–1278 (2016). (査読有)
40. Takayuki Tasaki, Mitsugu Fujita, Takeshi Okuda, Azusa Yoneshige, Susumu Nakata, Kimihiro Yamashita, Hiromasa Yoshioka, Shuichi Izumoto, Amami Kato: MET expressed in glioma stem cells is a potent therapeutic target for glioblastoma multiforme. *Anticancer Res.*, 36, 3571–7 (2016). (査読有)
41. Takahisa Kuga, Mitsuho Sasaki, Toshinari Mikami, Yasuo Miake, Jun Adachi, Maiko Shimizu, Youhei Saito, Minako Koura, Yasunori Takeda, Junichiro Matsuda, Takeshi Tomonaga, Yuji Nakayama: FAM83H and casein kinase I regulate the organization of the keratin cytoskeleton and formation of desmosomes. *Sci. Rep.*, 6, 26557 (2016). (査読有)
42. Takahisa Kuga, Hideaki Kume, Jun Adachi, Naoko Kawasaki, Maiko Shimizu, Isamu Hoshino, Hisahiro Matsubara, Youhei Saito, Yuji Nakayama, Takeshi Tomonaga: Casein kinase 1 is recruited to nuclear speckles by FAM83H and SON. *Sci. Rep.*, 6, 34472 (2016). (査読有)*21
43. Youhei Saito, Takanobu Nakagawa, Ayana Kakihana, Yoshia Nakamura, Tomomi Nabika, Michihiro Kasai, Mai Takamori, Nobuyuki Yamagishi, Takahisa Kuga, Takumi Hatayama, Yuji Nakayama: Yeast two-hybrid and one-hybrid screenings identify regulators of hsp70

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- gene expression. *J. Cell. Biochem.*, 117, 2109–2117 (2016). (査読有)
44. Wataru Kikuchi, Motoi Nishimura, Takahisa Kuga, Sachio Tsuchida, Tatsuya Saito, Mamoru Satoh, Kenta Noda, Yoshio Kodera, Takeshi Tomonaga, Fumio Nomura: Fibrinogen alpha C chain 5.9 kDa fragment (FIC5.9), a biomarker for various pathological conditions, is produced in post-blood collection by fibrinolysis and coagulation factors. *Clin. Proteomics*, 3, 27 (2016). (査読有)
45. Ronell Bologna-Molina, Yasunori Takeda, Takahisa Kuga, Naoyuki Chosa, Masae Kitagawa, Takashi Takata, Akira Ishisaki, Toshinari Mikami: Expression of Wilms' tumor 1 (WT1) in ameloblastomas. *J. Oral Sci.*, 58, 407–413 (2016). (査読有)
46. Masayoshi Ikeuchi, Yasunori Fukumoto, Takuya Honda, Takahisa Kuga, Youhei Saito, Naoto Yamaguchi, Yuji Nakayama: v-Src causes chromosome bridges in a caffeine-sensitive manner by generating DNA damage. *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 871 (2016). (査読有)^{*17}
47. Erika Iwamoto, Natsumi Ueta, Yuki Matsui, Keiju Kamijyo, Takahisa Kuga, Youhei Saito, Naoto Yamaguchi, Yuji Nakayama: ERK plays a role in chromosome alignment and participates in M-phase progression. *J. Cell. Biochem.*, 117, 1340–1351 (2016). (査読有)
48. Kazutaka Tagishi, Ayaka Shimizu, Kyoko Endo, Hiroaki Kito, Satomi Niwa, Masanori Fujii, Susumu Ohya: Defective splicing of the background K⁺ channel K2P5.1 by the pre-mRNA splicing inhibitor, pladienolide B in lectin-activated mouse splenic CD4⁺ T cells. *J. Pharmacol. Sci.*, 132, 205–209 (2016). (査読有)
49. Anowara Khatun, Mayu Fujimoto, Hiroaki Kito, Satomi Niwa, Takayoshi Suzuki, Susumu Ohya: Down-regulation of Ca²⁺-activated K⁺ channel KCa1.1 in human breast cancer MDA-MB-453 cells treated with vitamin D receptor agonists. *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 2083 (2016). (査読有)
50. Hidemasa Katsumi, Takunori Mozume, Shin-ichiro Yanagi, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe, Toshiyasu Sakane, Akira Yamamoto: Pharmacokinetic and therapeutic efficacy of intrapulmonary administration of zoledronate for the prevention of bone destruction in rheumatoid arthritis. *J. Drug Target.*, 24, 530–536 (2016). (査読有)
51. Souleymane Coulibaly, Hiroki Minami, Maho Abe, Nami Furukawa, Ryo Ono, Tomohiro Hasei, Akira Toriba, Ning Tang, Kazuichi Hayakawa, Kunihiro Funasaka, Daichi Asakawa, Fumikazu Ikemori, Masanari Watanabe, Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe: Comparison of air pollution in metropolises in China (Beijing) and Japan (Osaka and Nagoya) on the basis of the levels of contaminants and mutagenicity. *Biol. Pharm. Bull.*, 39, 415–422 (2016). (査読有)
52. Kunihiro Funasaka, Daichi Asakawa, Yuichiro Oku, Naoya Kishikawa, Yuya Deguchi, Nobuyuki Sera, Tetsurou Seiyama, Kazunori Horasaki, Keiichi Arashidani, Akira Toriba, Kazuichi Hayakawa, Masanari Watanabe, Hiroyuki Kataoka, Takako Yamaguchi, Fumikazu Ikemori, Yohei Inaba, Kenichi Tonokura, Masayuki Akiyama, Osamu Kokunai, Souleymane Coulibaly, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe: Spatial correlativity of atmospheric particulate components simultaneously collected in Japan. *Environ. Monit. Assess.*, 188, 85 (2016). (査読有)
53. Hiroki Fukuda, Seikou Nakamura, Yugo Chisaki, Tetsuya Takada, Yuki Toda, Hiroaki Murata, Kazuyuki Itoh, Yoshitaka Yano, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: Daphnetin inhibits invasion and migration of LM8 murine osteosarcoma cells by decreasing RhoA and Cdc42 expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 471, 63–67, (2016). (査読有)^{*6}
54. Tetsuya Takada, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: Inhibition of monocarboxylate

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- transporter 1 suppresses the proliferation of glioblastoma stem cells. *J. Physiol. Sci.*, 66, 387–396, (2016). (査読有)*11
55. Susumu Ohya, Saki Kanatsuka, Noriyuki Hatano, Hiroaki Kito, Azusa Matsui, Mayu Fujimoto, Sayo Matsuba, Satomi Niwa, Peng Zhan, Takayoshi Suzuki, Katsuhiko Muraki: Downregulation of the Ca²⁺-activated K⁺ channel KCa3.1 by histone deacetylase inhibition in human breast cancer cells. *Pharmacol. Res. Perspect.*, 4, e00228 (2016). (査読有)
56. Eishi Ashihara, Tatsuya Munaka, Shinya Kimura, Saori Nakagawa, Yoko Nakagawa, Masaki Kanai, Hideyo Hirai, Hirohisa Abe, Takashi Miida, Susumu Yamato, Shuichi Shoji, Taira Maekawa: Isopentenyl pyrophosphate secreted from zoledronate-stimulated myeloma cells, activates the chemotaxis of $\gamma\delta$ T cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 463, 660–665 (2015). (査読有)
57. Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Yuko Nakagawa, Hikaru Kawakami, Shusuke Fujioka, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Yoshihisa Kitamura, Kenichi Akaji, Eishi Ashihara: Effective internalization of U251-MG-secreted exosomes into cancer cells and characterization of their lipid components. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 456, 768–773 (2015). (査読有)
58. Mitsugu Fujita, Kazunari Shintai, Susumu Nakata, Nagako Maeda, Norikazu Hatano, Yuriko Seki: Intimo-Intimal intussusception: A rare form of common carotid artery dissection. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 26, 1414–1416 (2015). (査読有)
59. Noritaka Yamaguchi, Ryuzaburo Yuki, Sho Kubota, Kazumasa Aoyama, Takahisa Kuga, Yuuki Hashimoto, Takeshi Tomonaga, Naoto Yamaguchi: c-Abl-mediated tyrosine phosphorylation of JunB is required for adriamycin-induced expression of p21. *Biochem. J.*, 471, 67–77 (2015). (査読有)
60. Sho Kubota, Mariko Morii, Ryuzaburo Yuki, Noritaka Yamaguchi, Hiromi Yamaguchi, Kazumasa Aoyama, Takahisa Kuga, Takeshi Tomonaga, Naoto Yamaguchi: Role for tyrosine phosphorylation of A-kinase anchoring protein 8 (AKAP8) in its dissociation from chromatin and the nuclear matrix. *J. Biol. Chem.*, 290, 10891–10904 (2015). (査読有)
61. Kazumasa Aoyama, Noritaka Yamaguchi, Ryuzaburo Yuki, Mariko Morii, Sho Kubota, Kensuke Hirata, Kohei Abe, Takuya Honda, Takahisa Kuga, Yuuki Hashimoto, Takeshi Tomonaga, Naoto Yamaguchi: c-Abl induces stabilization of histone deacetylase 1 (HDAC1) in a kinase activity-dependent manner. *Cell Biol. Int.*, 39, 446–456 (2015). (査読有)
62. Takahiro Kazami, Hua Nie, Mamoru Satoh, Takahisa Kuga, Kazuyuki Matsushita, Naoko Kawasaki, Takeshi Tomonaga, Fumio Nomura: Nuclear accumulation of annexin A2 contributes to chromosomal instability by coilin-mediated centromere damage. *Oncogene*, 34, 4177–4189 (2015). (査読有)
63. Hiroaki Kito, Hisao Yamamura, Yoshiaki Suzuki, Hideto Yamamura, Susumu Ohya, Kiyofumi Asai, Yuji Imaizumi: Regulation of store-operated Ca²⁺ entry activity by cell cycle dependent up-regulation of Orai2 in brain capillary endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 459, 457–462 (2015). (査読有)
64. Sawa Nakakura, Miki Matsui, Aya Sato, Mizuki Ishii, Kyoko Endo, Sayaka Muragishi, Miki Murase, Hiroaki Kito, Hiroki Niguma, Natsumi Kurokawa, Masanori Fujii, Masatake Araki, Kimi Araki, Susumu Ohya: Pathophysiological significance of the two-pore domain K⁺ channel K2P5.1 in splenic CD4⁺CD25⁻ T cell subset from a chemically-induced murine

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

inflammatory bowel disease model. *Front. Physiol.*, 6, 299 (2015). (査読有)

65. Kyoko Endo, Natsumi Kurokawa, Hiroaki Kito, Sawa Nakakura, Masanori Fuji, Susumu Ohya: Identification of the dominant-negative, splicing isoform of the two-pore domain K⁺ channel K2P5.1 in lymphoid cells and enhancement of their expression by splicing inhibition. *Biochem. Pharmacol.*, 98, 440-452 (2015). (査読有)
66. Souleymane Coulibaly, Hiroki Minami, Maho Abe, Tomohiro Haseji, Nobuyuki Sera, Shigekazu Yamamoto, Kunihiro Funasaka, Daichi Asakawa, Masanari Watanabe, Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe: Seasonal fluctuations in air pollution in Dazaifu, Japan, and effect of long-range transport from mainland east Asia. *Biol. Pharm. Bull.*, 38, 1395-1403 (2015). (査読有)

②合成・相互作用解析グループ

67. Takashi Ohgita, Yuki Takechi-Haraya, Ryo Nadai, Mana Kotani, Yuki Tamura, Karin Nishikiori, Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Koki Hasegawa, Kumiko Sakai-Kato, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito: A novel amphipathic cell-penetrating peptide based on the N-terminal glycosaminoglycan binding region of human apolipoprotein E. *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr.*, 1861, 541-549 (2019). (査読有)
68. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Yoshika Kyoku, Souichi Nakashima, Taichi Yoneda, Hisashi Matsuda: Cyclic sulfur metabolites from *Allium schoenoprasum* var. *foliosum*. *Phytochemistry Lett.*, 29, 125-128 (2019). (査読有)
69. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Ryota Nakagawa, Manami Kinka, Souichi Nakashima, Hisashi Matsuda: Cyclic sulfur-containing compounds from *Allium fistulosum* 'Kujou'. *J. Nat. Med.*, 73, 397-403 (2019). (査読有)^{*55}
70. Weicheng Wang, Yi Zhang, Souichi Nakashima, Seikou Nakamura, Tao Wang, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Inhibition of melanin production by anthracenone dimer glycosides isolated from *Cassia auriculata* seeds. *J. Nat. Med.*, 73, 439-449 (2019). (査読有)
71. Weicheng Wang, Souichi Nakashima, Seikou Nakamura, Yoshimi Oda, Hisashi Matsuda: Anti-proliferative effect of auriculataoside A on B16 melanoma 4A5 cells by suppression of Cdc42-Rac1-RhoA signaling protein levels. *J. Nat. Med.*, 73, 450-455 (2019). (査読有)
72. Yuki Miyazawa, Yasunao Hattori, Hidefumi Makabe: Synthesis of (+)-altholactone, (+)-7-epi-altholactone, (-)-etharvensin, and (+)-alumheptolide-A using Pd-catalyzed carbonylation. *Tetrahedron Lett.*, 59, 4024-4027 (2018). (査読有)
73. Mikihiro Ichikawa, Shinya Yamamoto, Chisato Ishihara, Shuhei Nonobe, Yasunao Hattori, Koji Umezawa, Hiroshi Fujii, Hidefumi Makabe: Synthesis of epigallocatechin trimer, (epigallocatechin)₂-epicatechin, and (epigallocatechin)₂-catechin via a Lewis acid mediated one-pot condensation and their antitumor activities in prostate cancer cells. *Tetrahedron*, 74, 3534-3542 (2018). (査読有)
74. Haruka Sekiguchi, Tomoko Kuroyanagi, David Rhinds, Kazuya Kobayashi, Yuka Kobayashi, Hiroaki Ohno, Nikolaus Heveker, Kenichi Akaji, Nobutaka Fujii, Shinya Oishi: Structure-activity relationship study of cyclic pentapeptide ligands for atypical chemokine receptor 3 (ACKR3). *J. Med. Chem.*, 61, 3745-3751 (2018). (査読有)
75. Yuka Kobayashi, Masaru Hoshino, Tomoshi Kameda, Kazuya Kobayashi, Kenichi Akaji, Shinsuke Inuki, Hiroaki Ohno, Shinya Oishi: Use of a compact tripodal tris(bipyridine) ligand to stabilize a single-metal-centered chirality: Stereoselective coordination of

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- iron(II) and ruthenium(II) on a semirigid hexapeptide macrocycle. *Inorg. Chem.*, 57, 5475–5485 (2018). (査読有)
76. Kouji Ohnishi, Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, Kenichi Akaji: Evaluation of a non-prime site substituent and warheads combined with a decahydroisoquinolin scaffold as a SARS 3CL protease inhibitor. *Bioorg. Med. Chem.*, 27, 425–435 (2019). (査読有)^{*53}
77. Risako Kameda, Takuto Sohma, Kazuya Kobayashi, Ryosuke Uchiyama, Kazuto Nosaka, Hiroyuki Konno, Kenichi Akaji, Yasunao Hattori: Convergent synthesis of trans-2,6-disubstituted piperidine alkaloid, (–)-iso-6-spectaline by palladium-catalyzed cyclization. *Chem. Pharm. Bull.*, 67, 253–257 (2019). (査読有)
78. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Ryota Nakagawa, Souichi Nakashima, Masayuki Yamashita, Hisashi Matsuda: Rare sulfur-containing compounds, Kujounins A₁ and A₂ and allium sulfoxide A₁, from *Allium fistulosum* 'Kujou'. *Org. Lett.*, 20, 28–31 (2018). (査読有)
^{*55}
79. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Mohamed Elamir F.Hegazy, Yoshikazu Sugimoto, Noriko Hayashi, Souichi Nakashima, Masayuki Yoshikawa, Thomas Efferth, Hisashi Matsuda: Cytotoxicity of sesquiterpene alkaloids from *Nuphar* plants toward sensitive and drug-resistant cell lines. *Food Func.*, 9, 6279–6286 (2018). (査読有)
80. Keiko Ogawa, Seikou Nakamura, Kohei Hosokawa, Hanako Ishimaru, Natsuki Saito, Kaori Ryu, Masahiro Fujimuro, Souichi Nakashima, Hisashi Matsuda: New diterpenes from *Nigella damascena* seeds and their antiviral activities against herpes simplex virus type-1. *J. Nat. Med.*, 72, 439–447 (2018). (査読有)^{*56}
81. Saori Ohtani, Satoshi Fujita, Koki Hasegawa, Hiromasa Tsudae, Morio Tonogi, Masayuki Kobayashi: Relationship between the fluorescence intensity of rhodamine-labeled orexin A and the calcium responses in cortical neurons: An in vivo two-photon calcium imaging study. *J. Pharmacol. Sci.*, 138, 76–82 (2018). (査読有)
82. Younosuke Sato, Akira Matsuo, Shinji Kudoh, Liu Fang, Koki Hasegawa, Yohei Shinmyo, Takaaki Ito: Expression of draxin in lung carcinomas. *Acta Histochem. Cytochem.*, 51, 53–62, (2018). (査読有)
83. Masaki Asai, Yukiko Takemoto, Ayaka Deguchi, Yasunao Hattori, Hidefumi Makabe: An asymmetric synthesis of (+)-monomorphine I. *Tetrahedron: Asymmetry*, 28, 1582–1586 (2017). (査読有)
84. Kohki Takanashi, Manato Suda, Kiriko Matsumoto, Chisato Ishihara, Kazuya Toda, Koichiro Kawaguchi, Shogo Senga, Narumi Kobayashi, Mikihiro Ichikawa, Miyuki Katoh, Yasunao Hattori, Sei-ichi Kawahara, Koji Umezawa, Hiroshi Fujii, Hidefumi Makabe: Epicatechin oligomers longer than trimers have anti-cancer activities, but not the catechin counterparts. *Sci. Rep.*, 7, 1542–1553 (2017). (査読有)
85. Masaki Asai, Yasunao Hattori, and Hidefumi Makabe: Synthesis of isocoumarin compounds, 8-hydroxy-6-methoxy-3-pentyl-1*H*-isochromen-1-one and fusariumin analog using palladium-catalyzed carbonylation trapping with *O*-enolate. *Heterocycles*, 94, 1542–1553 (2017). (査読有)
86. Yukiko Takemoto, Yasunao Hattori, and Hidefumi Makabe: Synthesis of (–)-isosolenopsin using diastereoselective aminopalladation. *Heterocycles*, 94, 286–296 (2017). (査読有)
87. Koki Hasegawa, Shinji Kudoh, Takaaki Ito: Somatostatin receptor staining in FFPE sections using a ligand derivative dye as an alternative to immunostaining. *PLoS ONE*, 12, e0172030 (2017). (査読有)^{*36}
88. Koki Hasegawa, Emi Kawachi, Yoshinari Uehara, Tsuyoshi Yoshida, Satoshi Imaizumi,

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- Masahiro Ogawa, Shin-Ichiro Miura, Keijiro Saku: Improved ⁶⁸Ga-labeling method using ethanol addition; application to the alpha-helical peptide DOTA-FAMP. *J. Labelled Comp. Radiopharm.* 60, 55–61 (2017). (査読有)
89. Shinji Kobuchi, Megumi Matsuno, Momoko Kawamoto, Naoto Kojima, Yukako Ito, Masayuki Yamashita, Toshiyuki Sakaeda: A simple and rapid LC-MS/MS method for quantitation of luseogliflozin in rat plasma and its application to a PK study. *Bioanalysis*, 9, 163–171 (2017). (査読有)
90. Minoru Ozeki, Honoka Egawa, Toshiki Takano, Hideki Mizutani, Narumi Yasuda, Kenji Arimitsu, Tetsuya Kajimoto, Shinzo Hosoi, Hiroki Iwasaki, Naoto Kojima, Manabu Node, Masayuki Yamashita: Novel and practical asymmetric synthesis of β 2,3-amino esters using asymmetric Michael addition of chiral amine. *Tetrahedron*, 73, 2014–2021 (2017). (査読有)
91. Takuya Matsumoto, Naoto Kojima, Akinobu Akatsuka, Takao Yamori, Shingo Dan, Hiroki Iwasaki, Masayuki Yamashita: Convergent synthesis of stereoisomers of THF ring moiety of acetogenin thiophene analogue and their antiproliferative activities against human cancer cell lines. *Tetrahedron*, 73, 2359–2366 (2017). (査読有)^{*28}
92. Shiho Mikawa, Chiharu Mizuguchi, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Teruhiko Baba, Akira Shigenaga, Toshinori Shimanouchi, Norihiro Kobayashi, Akira Otaka, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito: Effect of heparin on amyloid fibril formation of ApoA-I fragment peptides. *Peptide Science*. 2016, 149–150 (2017). (査読有)
93. Kaori Ryu, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Masaaki Aihara, Masashi Fukaya, Junko Iwami, Yasunobu Asao, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Triterpenes with anti-invasive activity from sclerotia of *Inonotus obliquus*. *Nat. Prod. Commun.*, 12, 225–228 (2017). (査読有)^{*24}
94. Keiko Ogawa, Seikou Nakamura, Yumiko Asada, Masayuki Yamashita, Hisashi Matsuda: Oxazonigelladine and dolabellane-type diterpene constituents from *Nigella damascena* seeds. *Tetrahedron*, 73, 7054–7060 (2017). (査読有)^{*25}
95. Kazuya Kobayashi, Takaaki Mizuguchi, Yasunao Hattori, Naho Ohara, Ryunosuke Ninomiya, Mika Iida, Honami Ooe, Yukako Yamazaki, Minami Takata, Hirokazu Tamamura, Kenichi Akaji: Effects of replacement and addition of an amino acid contained in a cyclic peptide corresponding to a β -hairpin loop sequence of human EGF receptor. *J. Pept. Sci.*, 23, 581–586 (2017). (査読有)
96. Hiroyuki Konno, Takumi Onuma, Ikumi Nitani, Masaki Wakabayashi, Shigekazu Yano, Kenta Teruya, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of phenylisoserine derivatives for the SARS-CoV 3CL protease inhibitor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 27, 2746–2751 (2017). (査読有)
97. Hitoshi Kimura, Shiho Mikawa, Chiharu Mizuguchi, Yuki Horie, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Takashi Ohgita, Kazuchika Nishitsuji, Atsuko Takeuchi, Sissel Lund-Katz, Kenichi Akaji, Norihiro Kobayashi, Hiroyuki Saito: Immunochemical approach for monitoring of structural transition of ApoA-I upon HDL formation using novel monoclonal antibodies. *Sci. Rep.*, 7, 2988 (2017). (査読有)
98. Masataka Mori, Kiriko Matsumoto, Chisato Ishihara, Koichiro Kawaguchi, Sei-ichi Kawahara, Yasunao Hattori, Hiroshi Fujii, Hidefumi Makabe: Synthesis of prodelphinidin trimer isolated from *Cistus albidus* and its antitumor activity against human prostate cancer cell lines. *Heterocycles*, 92, 1822–1831, (2016). (査読有)
99. Masaki Asai, Yasunao Hattori, Hidefumi Makabe: Synthesis of legioliulin, a fluorescent

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- isocoumarin compound, isolated from *Legionella dumoffii* using cyclic acylpalladation and Heck reaction. *Tetrahedron Lett.*, 57, 3942–3944, (2016). (査読有)
100. Hiroyuki Kawashima, Mei Katayama, Ryota Yoshida, Kenichi Akaji, Akiko Asano, Mitsunobu Doi: A dimer model of human calcitonin 13–32 forms an α -helical structure and robustly aggregates in 50% aqueous 2,2,2-trifluoroethanol solution. *J. Pept. Sci.*, 22, 480–484 (2016). (査読有)
101. Shiho Mikawa, Chiharu Mizuguchi, Kazuchika Nishitsuji, Teruhiko Baba, Akira Shigenaga, Toshinori Shimanouchi, Naomi Sakashita, Akira Otaka, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito: Heparin promotes fibril formation by the N-terminal fragment of amyloidogenic apolipoprotein A-I. *FEBS Lett.*, 590, 3492–3500 (2016). (査読有)
102. Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Tomoe Ohta, Mamiko Yano, Junichiro Tsujihata, Junko Tsukioka, Keiko Ogawa, Masashi Fukaya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: γ -Lactam alkaloids from the flower buds of daylily. *J. Nat. Med.*, 70, 376–383, (2016). (査読有)^{*27}
103. Yoshimi Oda, Souichi Nakashima, Seikou Nakamura, Mamiko Yano, Masanori Akiyama, Kayo Imai, Tomohito Kimura, Akiko Nakata, Miyuki Tani, Hisashi Matsuda: New potent accelerator of neurite outgrowth from *Lawsonia inermis* flower under non-fasting condition. *J. Nat. Med.*, 70, 384–390, (2016). (査読有)
104. Tomoe Ohta, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Takahiro Matsumoto, Masashi Fukaya, Mamiko Yano, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Chemical structures of constituents from the whole plant of *Bacopa monniera*. *J. Nat. Med.*, 70, 404–411, (2016). (査読有)
105. Seikou Nakamura, Yi Zhang, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Tao Wang, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Structures of aromatic glycosides from the seeds of *Cassia auriculata*. *Chem. Pharm. Bull.*, 64, 970–974, (2016). (査読有)
106. Seikou Nakamura, Jiang Liu, Souichi Nakashima, Keiko Ogawa, Takashi Ueda, Eri Onishi, Kiwako Kurooka, Yuko Moriwaki, Kaori Ryu, Bin Xu, Takahiro Matsumoto, Tomoe Ohta, Masashi Fukaya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Structure of a coumaric acid analogue with a monoterpene moiety from the flowers of *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus* and evaluation of cinnamic acid analogues as Nitric Oxide production and degranulation inhibitors. *Nat. Prod. Commun.*, 11, 1123–1128, (2016). (査読有)
107. Souichi Nakashima, Tomoe Ohta, Seikou Nakamura, Yoshimi Oda, Mari Koumoto, Eri Kashiwazaki, Maiko Kado, Atsumi Shimada, Ryogo Akita, Hisashi Matsuda: Caffeic acid Derivatives from *Bacopa monniera* plants as inhibitors of pancreatic lipase activity and their structural requirements. *Nat. Prod. Commun.*, 11, 1855–1858 (2016). (査読有)
108. Akinobu Akatsuka, Naoto Kojima, Mutsumi Okamura, Shingo Dan, Takao Yamori: A novel thiophene-3-carboxamide analog of annonaceous acetogenin exhibits antitumor activity via inhibition of mitochondrial complex I. *Pharma. Res. Per.*, 4, e00246 (2016). (査読有)
109. Toru Tanaka, Masaki Nagahama, Navnath Dnyanoba Yadav, Hiroyuki Iwasaki, Minoru Ozeki, Naoto Kojima, Masayuki Yamashita: Reaction of 2a,8b-dihydrobenzo[b]cyclobute[d]pyran-3-ones with dimethylsulfoxonium methylide. *Chem. Pharm. Bull.*, 64, 1056–1061 (2016). (査読有)
110. Minoru Ozeki, Noboru Hayama, Shintaro Fukutome, Honoka Egawa, Kenji Arimitsu, Tetsuya Kajimoto, Shinzo Hosoi, Hiroki Iwasaki, Naoto Kojima, Manabu Node, Masayuki Yamashita: Construction of seven contiguous chiral centers by two methods: quadruple Michael addition vs stepwise double-double Michael addition controlled by adding speed

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- of Michael acceptor. *ChemistrySelect*, 1, 2565–2569 (2016). (査読有)
111. Noriyasu Kamei, Tomotaka Shingaki, Yousuke Kanayama, Misa Tanaka, Riyo Zochi, Koki Hasegawa, Yasuyoshi Watanabe, Mariko Takeda–Morishita: Visualization and quantitative assessment of the brain distribution of insulin through nose–to–brain delivery based on the cell–penetrating peptide noncovalent strategy. *Mol. Pharmaceutics*, 13, 1004–1011 (2016). (査読有)
112. Masako Shimamoto, Kumiko Gotoh, Koki Hasegawa, Akihiro Kojima: Hybrid light imaging using Cerenkov luminescence and liquid scintillation for preclinical optical imaging in vivo. *Mol. Imaging Biol.*, 18, 500–509 (2016). (査読有)
113. Akihiro Kojima, Kumiko Gotoh, Masako Shimamoto, Koki Hasegawa, Seiji Okada: Iodine–131 imaging using 284 keV photons with a small animal CZT–SPECT system dedicated to low–medium–energy photon detection. *Ann. Nucl. Med.*, 30, 169–175 (2016). (査読有)
114. Wael Abdo Hassan, Ryoji Yoshida, Shinji Kudoh, Hiroki Kameyama, Koki Hasegawa, Kanako Niimori–Kita, Takaaki Ito: Notch1 controls cell chemoresistance in small cell lung carcinoma cells. *Thoracic Cancer*, 7, 123–128 (2016). (査読有)
115. Kenta Teruya, Yasunao Hattori, Yasuhiro Shimamoto, Kazuya Kobayashi, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Structural basis for the development of SARS 3CL protease inhibitors from a peptide mimic to an aza–decaline scaffold. *Biopolymers*, 106, 391–403 (2016). (査読有)
116. Hiroyuki Nakajima, Kazuchika Nishitsuji, Hiroyuki Kawashima, Kaori Kuwabara, Shiho Mikawa, Kenji Uchimura, Kenichi Akaji, Yoshiki Kashiwada, Norihiro Kobayashi, Hiroyuki Saito, Naomi Sakashita: The polyphenol (–)–epigallocatechin–3–gallate prevents apoA–IIowa amyloidosis in vitro and protects human embryonic kidney 293 cells against amyloid cytotoxicity. *Amyloid*, 23, 17–25 (2016). (査読有)
117. Hiroyuki Konno, Masaki Wakabayashi, Daiki Takanuma, Yota Saito, Kenichi Akaji: Design and synthesis of a series of serine derivatives as small molecule inhibitors of the SARS coronavirus 3CL protease. *Bioorg. Med. Chem.*, 24, 1241–1254 (2016). (査読有)
118. Yuji Kurogome, Yasunao Hattori, Hidefumi Makabe: Synthesis of decytospolide A, B and their C–3 epimers using stereoselective oxypalladation, *Synthesis*, 48, 765–771 (2016). (査読有)
119. Mikihiro Ichikawa, Kohki Takanashi, Manato Suda, Yasunao Hattori, Sei–ichi Kawahara, Hiroshi Fujii, Hidefumi Makabe: Concise synthesis of cinnamtannin A2 from dimeric epicatechin electrophile and nucleophile prepared by Zn(OTf)₂–mediated self–condensation. *Synthesis*, 48, 1525–1532 (2016). (査読有)
120. Chiyuki Awahara, Tadashi Tatsumi, Saki Furuta, Gen Shinjoh, Hiroyuki Konno, Kazuto Nosaka, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of retro–inverso–modified HTLV–1 protease inhibitor. *Peptide Science*, 2015, 33–34 (2016). (査読有)
121. Masaki Wakabayashi, Daiki Takanuma, Yota Saito, Kenichi Akaji, Hiroyuki Konno: Synthesis and evaluation of serine and isoserine derivatives toward the SARS 3CL protease inhibitor. *Peptide Science*, 2015, 35–36 (2016). (査読有)
122. Kenta Teruya, Yasunao Hattori, Yasuhiro Shimamoto, Kazuya Kobayashi, Akira Sanjoh, Eiki Yamashita, Atsushi Nakagawa, Kenichi Akaji: A chemometrical analysis of structures of SARS 3CL protease complexed with inhibitor. *Peptide Science*, 2015, 91–92 (2016). (査読有)

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

123. Shushi Nagamori, Pattama Wiriyasermkul, Suguru Okuda, Naoto Kojima, Yoshiyuki Hari, Shigeki Kiyonaka, Yasuo Mori, Hideyuki Tominaga, Ryuichi Ohgaki, and Yoshikatsu Kanai: Structure-activity relations of leucine derivatives reveal critical moieties for cellular uptake and activation of mTORC1-mediated signaling. *Amino Acids*, 48, 1045-1058 (2016). (査読有)
124. Galyna Gorbenko, Valeriya Trusova, Mykhailo Girysh, Emi Adachi, Chiharu Mizuguchi, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito: FRET evidence for untwisting of amyloid fibrils on the surface of model membranes. *Soft Matter*, 11, 6223-6234 (2015). (査読有)
125. Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, Ayaka Deguchi, Yukie Nohara, Tomomi Akiyama, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Evaluation of transition-state mimics in a superior BACE1 cleavage sequence as peptide-mimetic BACE1 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.*, 23, 5626-5640 (2015). (査読有)
126. Hiroyuki Konno, Taki Sato, Yugo Saito, Iori Sakamoto, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of aminopyridine derivatives as potential BACE1 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 25, 5127-5132 (2015). (査読有)
127. Toshio Morikawa, Kiyofumi Ninomiya, Junji Akaki, Namiko Kakihara, Hiroyuki Kuramoto, Yurie Matsumoto, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka, Li-Bo Wang, Li-Jun Wu, Seikou Nakamura, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity of dimeric dihydrochalcone glycosides from flowers of *Helichrysum arenarium*. *J. Nat. Med.*, 69, 494-506, (2015). (査読有)
128. Mohamed-Elamir F. Hegazy, Ahmed R. Hamed, Tarik A. Mohamed, Abdessamad Debbab, Seikou Nakamura, Hisashi Matsuda, Paul W. Pare: Anti-inflammatory sesquiterpenes from the medicinal herb *Tanacetum sinaicum*. *RSC Advances*, 5, 44895-44901, (2015). (査読有)
129. Toshio Morikawa, Kiyofumi Ninomiya, Yasunobu Takamori, Eriko Nishida, Misato Yasue, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka, Xuezheng Li, Seikou Nakamura, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Oleanane-type triterpene saponins with collagen synthesis-promoting activity from the flowers of *Bellis perennis*. *Phytochemistry*, 116, 203-212, (2015). (査読有)
130. Yi Zhang, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Tao Wang, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Chemical structures of constituents from the seeds of *Cassia auriculata*. *Tetrahedron*, 71, 6727-6732, (2015). (査読有)
131. Naoto Kojima, Yuki Suga, Takuya Matsumoto, Tetsuaki Tanaka, Akinobu Akatsuka, Takao Yamori, Shingo Dan, Hiroki Iwasaki, Masayuki Yamashita: Synthesis of dansyl-labeled probe of thiophene analogue of annonaceous acetogenins for visualization of cell distribution and growth inhibitory activity toward human cancer cell lines. *Bioorg. Med. Chem.*, 23, 1276-1283 (2015). (査読有)*29
132. Shinzo Hosoi, Minoru Ozeki, Masashi Nakano, Kenji Arimitsu, Tetsuya Kajimoto, Naoto Kojima, Hiroki Iwasaki, Takuya Miura, Hiroyuki Kimura, Manabu Node, Masayuki Yamashita: Mechanistic aspects of asymmetric intramolecular Heck reaction involving dynamic kinetic resolution: flexible conformation of the cyclohexenylidene-benzene system. *Tetrahedron*, 71, 2317-2326 (2015). (査読有)
133. Kenji Suzuki, Hiroki Iwasaki, Reika Domasu, Naho Hitotsuyanagi, Yuka Wakizaka, Mao Tominaga, Naoto Kojima, Minoru Ozeki, Masayuki Yamashita: Construction of pyrrolophenanthridinone scaffolds mediated by samarium (II) diiodide and access to natural product synthesis. *Tetrahedron*, 71, 5513-5519 (2015). (査読有)

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

134. Kenji Suzuki, Hiroki Iwasaki, Fumihito Ichiyoshi, Mao Tominaga, Naoto Kojima, Minoru Ozeki, Masayuki Yamashita: Synthesis of 3-ethenylindoles via intramolecular cyclization of aryl radical with allene generated by samarium (II) diiodide. *Heterocycles*, 91, 1244–1255 (2015). (査読有)
135. Minoru Ozeki, Honoka Egawa, Akiko Kuse, Toshiki Takano, Narumi Yasuda, Hideki Mizutani, Sumire Izumiya, Daichi Nakashima, Kenji Arimitsu, Takuya Miura, Tetsuya Kajimoto, Shinzo Hosoi, Hiroki Iwasaki, Naoto Kojima, Manabu Node, Masayuki Yamashita: Practical and highly stereoselective synthesis of trisubstituted (E)- α,β -unsaturated esters. *Synthesis*, 47, 3392–3402 (2015). (査読有)
136. Toru Tanaka, Takuya Miura, Shoki Inoue, Hiroki Iwasaki, Minoru Ozeki, Naoto Kojima, Masayuki Yamashita: Skeletal transformation of α -pyrones having electron-withdrawing groups at 3,5-positions into ring-fused dihydrofurans. *Tetrahedron Lett.*, 56, 6327–6331 (2015). (査読有)

<図書>

①シーズ発掘・バリデーショングループ

1. 芦原英司: 第6章. 消化器系 パートナー 機能形態学 改訂第3版 岩崎克典, 原英彰, 三島健一 編. 南江堂, 東京: pp. 129–154, (2019).
2. 芦原英司: 1.血液・造血器疾患, 4 多発性骨髄腫(MM), ナーシング・グラフィカ 健康の回復と看護⑦ 疾病と治療 林正健二, 山内豊明 編. メディカ出版, 大阪: pp. 23–27, (2019).
3. 芦原英司: 4 多発性骨髄腫, ナーシング・グラフィカ 健康の回復と看護⑦ 疾病と治療, 林正健二, 山内豊明編, pp.23–27, メディカ出版 (2017).
4. 芦原英司: ここに注目! Bromodomain およびその阻害薬, 多発性骨髄腫 Updating 第10巻 骨髄腫治療を理解するための Myeloma Biology, 清水一之、安倍正博、島崎千尋、鈴木憲史、張 高明編, pp.70–76, 医療ジャーナル社 (2017).
5. 芦原英司: Wnt シグナル経路を標的とした骨髄腫治療薬開発, 日本臨床増刊号 多発性骨髄腫学—最新の診療と基礎研究—, 谷脇雅史編, pp.173–179, 日本臨床社 (2016).
6. Susumu Nakata, Emma Phillips, Violaine Goidts: LGR5 as a marker of in brain cancer, *Biomarkers in Disease: Methods. Discoveries and Applications*, Preedy VR, Patel VB, editors, Springer Netherlands: pp. 361–378 (2015).

②合成・相互作用解析グループ

7. Yusuke Yagi, Hidekazu Kawashima, Kenji Arimitsu, Koki Hasegawa, Hiroyuki Kimura: Chapter 6. Single-Photon Emission Computed Tomographic Imaging in Live Animals., *Handbook of In Vivo Chemistry in Mice from Lab to Living System.*, Katsunori Tanaka, Kenward Vong (Editor), pp.151–184, Wiley-VCH (2020).
8. Koki Hasegawa, Hidekazu Kawashima, Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura: Chapter 7. Radiotherapeutic Applications., *Handbook of In Vivo Chemistry in Mice from Lab to Living System.*, Katsunori Tanaka, Kenward Vong (Editor), pp.185–208, Wiley-VCH (2020).
9. Yaunao Hattori, Hidefumi Makabe: Chapter 5 The biological activities and synthesis of 2,6-disubstituted piperidinols. *Frontiers in Natural Product Chemistry*, 3: 196–220 (2017).
10. 長谷川功紀: 第3章 放射性標識ペプチドを用いた分子病理診断・内用放射線治療薬剤の開発. 医療・診断をささえるペプチド科学 —再生医療・DDS・診断への応用—, 平野義明監修, pp.289–297, シーエムシー出版 (2017).

<学会発表>

①シーズ発掘・バリデーショングループ

1. Ryosuke Wakabayashi, Yasunao Hattori, Yusuke Sano, Yuki Sugiyama, Natsuki Imayoshi,

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- Makou Tomogane, Keigo Amari, Yuki Toda, Kazuya Kobayashi, Shigekuni Hosogi, Kenichi Akaji, Eishi Ashihara. Anti-tumor effects of a novel Wnt/ β -catenin pathway inhibitor against acute myelogenous leukemia. The 3rd International Cancer Research Symposium of Training Plan for Oncology Professionals (Osaka, Japan), 2020.2.*38
- Keigo Amari, Natsuki Imayoshi, Yusuke Sano, Yuki Sugiyama, Makou Tomogane, Ryosuke Wakabayashi, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Toshihiko Imamura, Eishi Ashihara. Leukemic cells with MLL-AF5q31 fusion acquire BET inhibitor resistance by upregulation of Bcl-2 expression. The 3rd International Cancer Research Symposium of Training Plan for Oncology Professionals (Osaka, Japan), 2020.2.*44
 - 甘利圭悟、今吉菜月、佐野友亮、杉山雄輝、友金眞光、若林亮介、戸田侑紀、細木誠之、今村俊彦、芦原英司: BET 阻害剤耐性 MLL 白血病細胞株の性状解析および耐性克服を目指した CDK4/6 阻害剤 Abemaciclib の有用性の評価. 第 24 回造血器腫瘍研究会. (神戸) 2020.1.*43
 - Emi Soma, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Asako Yamayoshi, Eishi Ashihara: Development of exosome-capturing antibody-conjugated nucleic acid medicines targeting multiple myeloma cells. The 61st Annual Meeting of the American Society of Hematology (Orlando, FL, USA), 2019.12.*45 (ASH Abstract Achievement Award 受賞)
 - 戸田侑紀: Imaging of intercellular transport of exosomes toward development of novel cancer therapy 神戸大学大学院医学研究科 先端医学シリーズ, (神戸), 2019.10.
 - 茂山千愛美、藤田貢、安藤翔太、谷口恵香、飯居宏美、中田晋: Stat5b 阻害は発がんマウスモデル由来膠芽腫幹細胞の増殖を阻害する. 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
 - 谷口恵香、飯居宏美、影山進、高木寛子、安藤翔太、茂山千愛美、芦原英司、中田晋: GGCT 発現低下でがん細胞に誘導されるオートファジーは AMPK を介して調節される。—GGCT 阻害による抗がん効果のメカニズム解明— 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
 - 高木寛子、飯居宏美、影山進、谷口恵香、吉矢拓、中田晋: GGCT 阻害とドセタキセルの併用は前立腺がん細胞に対する増殖抑制を増強する. 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
 - 大西崇広、金谷賢吾、飯居宏美、菅原櫻希子、小川遥香、高木寛子、谷口恵香、吉矢拓、影山進、中田晋: Pro-GA の抗腫瘍効果のメカニズムには細胞周期停止と細胞老化の誘導が関与する. 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
 - 安藤翔太、小島直人、茂山千愛美、藤田貢、谷口恵香、飯居宏美、中田晋: アセトゲニン誘導体 JCI-20679 は膠芽腫細胞の増殖を抑制し NFAT 発現を抑制する。—抗腫瘍性アセトゲニン誘導体化合物の作用機序の解析— 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
 - 遠藤百華、安藤孝太、松田凌平、谷口恵香、飯居宏美、影山進、高木寛子、茂山千愛美、安藤翔太、中田晋: GGCT 発現低下は AMPK-FOXO3a-p21 経路を介して膠芽腫細胞株の増殖を抑制する。—GGCT 阻害による抗がん効果のメカニズム解明— 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
 - 佐野友亮、友金眞光、大村真穂、清水大器、宮下雅亜、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司. 低酸素環境に適応した多発性骨髄腫に対する $\gamma\delta$ T 細胞の抗腫瘍効果. 第 13 回 次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム (岐阜), 2019.10.*49
 - Takuya Matsumoto, Akinobu Akatsuka, Shingo Dan, Takao Yamori, Hiroki Iwasaki,

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- Masayuki Yamashita, Naoto Kojima: Convergent synthesis and growth inhibitory activity evaluation of stereoisomers around THF ring of acetogenin thiophene analogues. 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress, Kyoto, Japan, 2019.9.
14. 飯居宏美、谷口恵香、高木寛子、茂山千愛美、影山進、中田晋: GGCT 阻害により誘導される MCF7 がん細胞増殖抑制は、N-アセチルシステイン添加により回復する. 第 78 回日本癌学会学術総会 (京都), 2019.9.
 15. 谷口恵香、飯居宏美、影山進、高木寛子、茂山千愛美、安藤翔太、芦原英司、茶野徳宏、河内明宏、中田晋: GGCT の発現低下は AMPK-FOXO3a-p21 経路を介してがん細胞の増殖を抑制する. 第 78 回日本癌学会学術総会 (京都), 2019.9.
 16. 中島里奈、早川詩乃、飯居宏美、高木寛子、谷口恵香、吉矢拓、影山進、中田晋: 新規 GGCT 阻害剤 pro-GA による MCF7 乳がん細胞の CDK 阻害因子 p21 誘導と増殖抑制は N-アセチルシステイン添加により解除される. 第 24 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会 (岐阜), 2019.8.
 17. 戸田侑紀、中山紗矢香、細木誠之、芦原英司. 低酸素環境適応における多発性骨髄腫細胞が分泌するエクソソームの役割. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.
 18. 清水大器、友金眞光、宮下雅亜、清水輝記、佐野友亮、戸田侑紀、細木誠之、田中義正、芦原英司. プロドラッグ化ビスホスホネート PTA が γ δ T 細胞の増幅を促進し、非小細胞肺癌細胞に対する抗腫瘍効果を増強する. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.^{*48}
 19. 上南静佳、今吉菜月、甘利圭悟、戸田侑紀、細木誠之、今村俊彦、芦原英司. MLL 関連白血病に対する新規 BET 阻害剤 CG14223 の抗腫瘍効果と新規併用療法の探索. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.^{*42}
 20. 松井透磨、戸田侑紀、沢田瑛子、浅山菜々子、板原多勇、中井亮太、横川 碧、細木誠之、芦原英司. 前転移ニッチにおける骨髄系細胞の動員は乳酸アシドーシスを引き起こす. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.
 21. 杉山雄輝、山下正行、中村誠宏、長谷川功紀、西口大生、笠原愛実、吉澤正人、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司: Coumarin-based compounds inhibit migration and invasion of murine osteosarcoma LM-8 cells. 第 28 回日本がん転移学会学術集会・総会 (鹿児島), 2019.7.^{*39}
 22. 杉山雄輝、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司. クマリン化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製. 第 23 回日本がん分子標的治療学会学術集会 (大阪), 2019.6.^{*39}
 23. Mako Tomogane, Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Eishi Ashihara: The relationship between anti-tumor activity of γ δ T cells and PD-1/PD-L1 axis for γ δ T cell immunotherapy. WIN 2019 Symposium (Paris), 2019.6.^{*47}
 24. Yuki Toda, Sayaka Nakayama, Shigekuni Hosogi, Eishi Ashihara: Increased exosome secretion is a way of hypoxic adaptation in multiple myeloma cells.^{*52} The 44th Annual Meeting of the Japanese Society of Myeloma (Nagoya), 2019.5.(優秀ポスター受賞)
 25. Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Atsuko Fujihara, Fumiya Hongo, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Standard anticancer agents increase the cytotoxicity of human V γ 9V δ 2T cell via upregulation of NKG2D ligands in bladder cancer cells. American Urological Association (AUA) Annual Meeting (Chicago), 2019.5.^{*46}
 26. Sayaka Nakayama, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Eishi Ashihara: Increased exosome secretion is essential for myeloma stem cells to survive in hypoxic condition.^{*52} The 8th

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- Congress of the International Society for Extracellular Vesicles (Kyoto), 2019.4.
27. Yuki Toda, Saeka Ukai, Akari Kobayashi, Shin-ya Morita, Eishi Ashihara: Exosomal lipids applicable to cancer targeting. ^{*51} The 8th Congress of the International Society for Extracellular Vesicles (Kyoto), 2019.4.
 28. 戸田侑紀: DJ-1 により制御される膠芽腫の幹細胞性. KYOTO BASIC SCIENCE FORUM (京都), 2019.4. ^{*50}
 29. Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Atsuko Fujihara, Fumiya Hongo, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Low dose gemcitabine increases the sensitivity of human Vgamma9Vdelta2T cell mediated cytotoxicity through NKG2D-NKG2D ligands axis in bladder cancer cells. American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting 2019 (Atlanta), 2019.3. ^{*46}
 30. 延原真之、坂本唯、飯居宏美、谷口恵香、高木寛子、吉矢拓、津田修吾、望月雅允、影山進、中田晋: 新規阻害剤による GGCT 酵素活性阻害効率の評価と PC3 ヒト前立腺がん細胞に対する抗腫瘍効果の解析. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019.3.
 31. 金谷賢吾、早川詩乃、飯居宏美、高木寛子、谷口恵香、吉矢拓、津田修吾、望月雅允、影山進、中田晋: 新規 GGCT 阻害剤は細胞周期停止および細胞老化を誘導し MCF7 乳がん細胞の増殖を抑制する. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019.3.
 32. 茂山千愛美、藤田貢、東馬智未、安藤翔太、河野雪那、谷口恵香、飯居宏美、中田晋: Stat5b 阻害は発がんマウスモデル由来膠芽腫幹細胞にアポトーシスを誘導する. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019.3.
 33. 河野雪那、小島直人、茂山千愛美、東馬智未、藤田貢、安藤翔太、谷口恵香、飯居宏美、中田晋: アセトゲニン誘導體 JCI-20679 は膠芽腫細胞に対するテモゾロミドの効果を増強する. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019.3.
 34. 谷口恵香、影山進、高木寛子、飯居宏美、芦原英司、茶野徳宏、河内明宏、中田晋: Gamma-glutamylcyclotransferase (GGCT) 欠乏で誘導される p21 発現上昇は乳癌細胞において Prohibitin-2 を介して調節される. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019.3.
 35. Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Atsuko Fujihara, Fumiya Hongo, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Standard anticancer agents increase the sensitivity of human V γ 9V δ 2T cell mediated cytotoxicity through NKG2D ligands in urinary bladder cancer. 34th European Association of Urology (EAU) Congress (Barcelona), 2019.3. ^{*46}
 36. 羽立祐貴、若林亮介、服部恭尚、戸田侑紀、細木誠之、赤路健一、芦原英司: Wnt/ β -catenin 経路阻害による新規がん分子標的治療薬シーズの創製. 平成 30 年度第 4 回 The Cutting Edge『けいはんな研究シーズ発表会』(京都), 2019.2. ^{*37}
 37. Mako Tomogane, Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Yuki Toda, Eishi Ashihara: The relationship between anti-tumor activity of γ δ T cells and PD-1/PD-L1 axis for γ δ T cell immunotherapy. 第 2 回国際がん研究シンポジウム. (大阪), 2019.2. ^{*47}
 38. 河野雪那、小島直人、茂山千愛美、藤田貢、安藤翔太、谷口恵香、高木寛子、飯居宏美、中田晋: 脳腫瘍幹細胞マウスモデルを用いたアセトゲニン誘導體新規がん治療薬開発. 平成 30 年度 4 大学連携研究フォーラム (京都), 2018.11.
 39. 甘利圭悟、久米伶奈、若林亮介、友金眞光、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: 骨髄破壊的な前処置は間葉系幹細胞において造血関連分子の発現を増加させる. 第 80 回日本血液学会学術集会 (大阪), 2018.10.
 40. 戸田侑紀: The role of DJ-1 in cancer stem cells. 京都 Cancer Biology セミナー (京都), 2018.10.

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

41. Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Masatsugu Miyasita, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara. Development of $V\gamma 9V\delta 2T$ cell based chemo-immunotherapy in bladder cancer. The 77th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka, Japan, 2018.9.
42. Keiko Taniguchi, Kengo Matsumura, Susumu Kageyama, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Tokuhiko Chano, Akihiro Kawauchi, Tatsuhiro Yoshiki, Susumu Nakata: Prohibitin-2 regulates p21 expression induced by depleting gamma-glutamylcyclotransferase in breast cancer cells. The 77th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka, Japan, 2018.9.
43. Yuki Toda, Msao Itahara, Eishi Ashihara: DJ-1 regulates stem cell function in glioblastoma. The 77th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka, Japan, 2018.9.
44. 飯居宏美、中田晋、谷口恵香、高木寛子、茂山千愛美、影山進、吉貴達寛: γ -グルタミンシクロトランスフェラーゼを標的とした新規抗がん剤開発. 第 77 回 日本癌学会学術総会 (大阪), 2018.9.
45. 清水輝記、友金眞光、宮下雅亜、浮村理、芦原英司: Development of intravesical human $\gamma\delta T$ cell based chemo-immunotherapy against urinary bladder cancer in vitro and in vivo. 第 22 回日本がん免疫学会総会 (岡山), 2018.8.
46. 戸田侑紀、吉村亮介、板原多勇、宇野智子、中田晋、山田佳菜枝、今井悠莉、高田和幸、芦原英司: 神経膠芽種幹細胞における DJ-1 の機能. 生体機能と創薬シンポジウム 2018 (福岡), 2018.8.
47. Hiromi Ii, Taku Yoshiya, Susumu Nakata, Keiko Taniguchi, Koushi Hidaka, Shugo Tsuda, Masayoshi Mochizuki, Yuji Nishiuchi, Yuko Tsuda, Kosei Ito, Susumu Kageyama, Tatsuhiro Yoshiki: A novel prodrug of γ -glutamylcyclotransferase inhibitor has anti-proliferative activity in vitro and anti-cancer activity in vivo. 20th international conference on medicinal chemistry & rational drugs, (Vancouver, Canada), 2018.7.
48. Yuki Sugiyama, Seikou Nakamura, Hiroki Fukuda, Masato Yoshizawa, Shiori Tamai, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara, A novel coumarin-based compound inhibits invasion and migration of murine osteosarcoma cells in vitro. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto), 2018.7.
49. Mako Tomogane, Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Keigo Amari, Ryosuke Wakabayashi, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: The expression levels of PD-L1 in cancer cells affect $\gamma\delta T$ cell cytotoxicity. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology. (Kyoto, Japan), 2018.7.^{*47}
50. Keigo Amari, Rina Kume, Mako Tomogane, Ryosuke Wakabayashi, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: Irradiation increased mRNA transcripts of hematopoiesis-related molecules in bone marrow-derived mesenchymal stem cells. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, (Kyoto, Japan), 2018.7.
51. Eiko Kuroda, Kazuyuki Takata, Sohei Kawanishi, Yuki Toda, Eishi Ashihara: Differentiation of microglia-like cells from mice hematopoietic stem cells in peripheral blood for therapeutic strategy against Alzheimer's disease. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto), 2018.7.
52. Kazuyuki Takata, Shohei Kawanishi, Eiko Kuroda, Shigehiko Takegami, Tatsuya Kitade, Yuki Toda, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, Eishi Ashihara: Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-specific stimulation ameliorates cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease via suppression of neuronal γ -secretase activity and

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- promotion of microglial amyloid- β phagocytosis The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto), 2018.7.
53. Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Masatsugu Miyashita, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Development of intravesical human $\gamma\delta$ T cell based chemo-immunotherapy against urinary bladder cancer cells in an orthotopic xenograft model. 121th American Urological Association (AUA) Annual Meeting (San Francisco, USA), 2018.5. ^{*46}
54. Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Masatsugu Miyashita, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Combined use of standard anticancer agents increases the cytotoxicity of human $\gamma\delta$ T cell in in vitro and in vivo in bladder cancer. 第 106 回日本泌尿器科学会総会 (京都), 2018.4.
55. Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Makou Tomogane, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Low dose gemcitabine increases the cytotoxicity of human $\gamma\delta$ T cell in in vitro and in an orthotopic xenograft model in bladder cancer. 33rd European Association of Urology Congress (Copenhagen, Denmark), 2018.3. ^{*46}
56. 清水輝記、友金眞光、宮下雅亜、佐野友亮、清水大器、浮村理、芦原英司, 膀胱癌における $V\gamma 9V\delta 2T$ 細胞複合免疫療法の開発. 第 77 回日本癌学会学術総会, 大阪市, 2018.9. ^{*46}
57. 戸田侑紀、吉村亮介、板原多勇、宇野智子、中田晋、山田佳菜枝、今井悠莉、高田和幸、芦原英司: DJ-1 は神経膠芽種幹細胞の維持に寄与する. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2018(福岡), 2018.8. ^{*50}
58. 戸田侑紀: 生体内の情報伝達顆粒を利用した腫瘍標的化技術の開発. KYOTO BASIC SCIENCE FORUM (京都), 2018.4. ^{*51}
59. 飯居宏美、中田晋、谷口恵香、吉矢拓、津田修吾、望月雅允、影山進、吉貴達寛: 新規 γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ阻害剤の抗腫瘍効果の検討. 日本薬学会第 138 年会(金沢), 2018.3.
60. 谷口恵香、松村健吾、飯居宏美、影山進、芦原英司、河内明宏、吉貴達寛、中田晋: Gamma-glutamylcyclotransferase (GGCT) の発現低下はがん細胞にオートファジーを介して細胞老化を誘導する. 日本薬学会第 138 年会(金沢), 2018.3.
61. 茂山千愛美、東馬智未、藤田貢、安藤翔太、岩崎仁志、谷口恵香、飯居宏美、吉貴達寛、中田晋: 発がんマウスモデル由来膠芽腫幹細胞の増殖に対する Stat5b の寄与. 日本薬学会第 138 年会(金沢), 2018.3.
62. 東馬智未、茂山千愛美、小島直人、岩崎仁志、安藤翔太、藤田貢、谷口恵香、飯居宏美、吉貴達寛、中田晋: 脳腫瘍幹細胞マウスモデルを用いたアセトゲニン誘導体新規がん治療薬開発. 日本薬学会第 138 年会(金沢), 2018.3.
63. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、藤井正徳、大矢進: マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルの活性抑制. 日本薬学会 138 年会(金沢)2018.3.
64. Yuki Toda, Hikaru Kawakami, Saeka Ukai, Shin-ya Morita, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: Cancer targeting using exosomal lipids toward detection enhancement of microlesion. 3rd AACR-SNMMI Joint Conference on State-of-the-Art Molecular Imaging in Cancer Biology and Therapy (San Diego, USA), 2018.2. ^{*51}
65. Yoko Kado, Fumiaki Kitazawa, Masayuki Tsujimoto, Shin-ichi Fuchida, Akira Okano, Mayumi Hatsuse, Satoshi Murakami, Kumi Ueda, Takatoshi Kokufu, Ryosuke Irie, Tohko Sakashita, Mizuki Yamamoto, Tetsuya Minegaki, Kohshi Nishiguchi, Eishi Ashihara, Chihiro Shimazaki: Prediction of toxicity and efficacy based on therapeutic drug monitoring of the lenalidomide in multiple myeloma patients. The 5th International Symposium of Training

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

Plan for Oncology Professionals (Osaka, Japan), 2017.3.

66. 芦原英司: アカデミアにおける創薬研究—がん分子標的治療薬開発—. 平成 29 年度第 1 回京都市ライフイノベーション創出支援センターシンポジウム 希少・難治性疾患やがんの克服に挑む ～新しい治療法の開発に向けて～ (京都), 2017.11.

67. 清水輝記、友金眞光、宮下雅亜、佐野友亮、清水大器、戸田侑紀、藤原敦子、高田和幸、浮村理、芦原英司: 難治性膀胱癌に対する $\gamma\delta T$ 細胞を用いた新規膀胱注入療法の開発. 第 7 回 4 大学連携研究フォーラム (京都), 2017.11.^{*46}

68. 芦原英司: がん分子標的治療薬の創製—京都薬科大学の挑戦—. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム (京都), 2017.10.^{*2-4}

69. 戸田侑紀、川上光、鶴飼幸永佳、森田真也、高田和幸、芦原英司: 細胞指向性を制御するエクソソームの脂質と薬物送達への応用.^{*51} 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2017 (京都), 2017.10.^{*12-13}

70. 友金眞光、清水輝記、宮下雅亜、佐野友亮、清水大器、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: がん細胞における PD-L1 の発現レベルが $\gamma\delta T$ 細胞の細胞障害性に影響を及ぼす. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2017 (京都), 2017.10.^{*47}

71. 甘利圭悟、久米伶奈、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: 骨髄由来間葉系幹細胞における放射線照射は造血関連分子の発現を亢進させる. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2017 (京都), 2017.10.

72. 杉山雄輝、中村誠宏、長谷川功紀、福田浩紀、吉澤正人、玉井志保里、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2017 (京都), 2017.10.^{*7}

73. 高木寛子、飯居宏美、中田晋、吉貴達寛: γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ(GGCT)阻害剤のがん細胞増殖抑制機構の解析に基づくドキシソルビシン併用効果に関する研究. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017.10.

74. 松本崇宏、中村誠宏、小島直人、長谷井友尋、山下正行、松田久司、渡辺徹志: テルペノイドに着目した抗変異原性成分の探索研究. 日本環境変異原学会第 46 回大会 (東京), 2017.11.

75. 松本崇宏、中村誠宏、小島直人、長谷井友尋、山下正行、松田久司、渡辺徹志: テルペノイドに着目した抗遺伝毒性成分の探索研究. 第 7 回食品薬学シンポジウム (京都), 2017.10.

76. 阿知波香月、松本崇宏、今堀大輔、住居潤美、住田大志、村井準、長谷井友尋、渡辺徹志: 生理学的条件下でのメイラード反応生成物の変異原性評価. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017.10.

77. 松崎温士、長谷井友尋、川本明佳、彦坂好美、松本崇宏、岩本憲人、渡辺徹志: 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene の *in vivo* における DNA 付加体形成. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017.10.

78. 石田朋子、植島由希子、児玉歩奈美、河瀬裕美、モハメドシャリアカーン、山村由貴、世良暢之、後藤貴央、平川雅章、松本崇宏、長谷井友尋、渡辺徹志: 九州北部における大気中のタンパク、エンドトキシン等と喘息発作との関連性. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017.10.

79. 村 準、松本崇宏、小島直人、今堀大輔、住居潤美、住田大志、阿知波香月、長谷井友尋、山下正行、渡辺徹志: 生理学的条件下でのメイラード反応生成物の単離および構造解析. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017.10.

80. 北川翔大、松本崇宏、金山堇玲、中野結華、吉備万純、今井宏美、長谷井友尋、渡辺徹志: レモン (*Citrus limon*) 果皮中の抗変異原性成分の化学構造. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017.10.

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

81. 児玉歩奈美、植島由希子、石田朋子、河瀬裕美、モハメドシャリアカーン、三浦誠、長坂行雄、松本崇宏、長谷井友尋、渡辺徹志: 京都市における大気中のタンパク、エンドトキシン等と喘息発作の関連性. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017.10.
82. 植島由希子、石田朋子、児玉歩奈美、河瀬裕美、モハメドシャリアカーン、出口雄也、長岡寛明、松本崇宏、長谷井友尋、渡辺徹志: 佐世保市における大気中の LPS、タンパク質、イオン濃度の季節変動. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017.10.
83. 茂山千愛美、藤田貢、飯居宏美、谷口恵香、吉貴達寛、中田晋: Stat5b は発がんマウスモデル由来膠芽腫幹様細胞の増殖促進に寄与している. 第 76 回 日本癌学会学術総会 (横浜), 2017.9.
84. 谷口恵香、中田晋、松村健吾、飯居宏美、影山進、河内明宏、吉貴達寛: γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ(GGCT)の発現低下はオートファジーを介して細胞老化を誘導する. 第 76 回 日本癌学会学術総会(横浜), 2017.9.
85. 飯居宏美、中田晋、谷口恵香、影山進、吉貴達寛: 担癌マウスにおける γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ阻害剤の抗腫瘍効果. 第 76 回 日本癌学会学術総会(横浜), 2017.9.
86. 渡辺徹志、Khan Mohammad Shahriar、古川奈美、久保裕希、中大路友亮、河瀬裕美、長谷井友尋、松本崇宏、出口雄也、長岡寛明、山岸伸行: 西日本における大気中のタンパク質、エンドトキシン、イオン類の濃度の季節的変動と長距離輸送の影響. 第 58 回大気環境学会 (神戸), 2017.9.
87. Mohammad Shahriar Khan, Nami Furukawa, Yuuki Kubo, Yusuke Nakaoji, Yumi Kawase, Tomohiro Hasei, Takahiro Matsumoto, Yoshitaka Yano, Yuya Deguchi, Hiroaki Nagaoka, Makoto Miura, Yukio Nagasaka, Nobuyuki Yamagishi, Tetsushi Watanabe: Seasonal fluctuation of the concentrations of endotoxin, protein and ionic substances in outdoor air and their effect on asthmatic patients. フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー (仙台), 2017.9.
88. 今堀大輔、松本崇宏、小島直人、住居潤美、住田大志、長谷井友尋、山下正行、渡辺徹志: 高血糖状態における新規メイラード反応生成物の化学構造. フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー (仙台), 2017.9.
89. 松本崇宏、高橋一輝、中野結華、金山堇玲、吉備万純、井上枝里子、長谷井友尋、渡辺徹志: レモン (*Citrus limon*) 果皮からの抗変異原性成分の探索研究. フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー (仙台), 2017.9.
90. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャネル KCa3.1 の活性制御. 生体機能と創薬シンポジウム 2017(京都), 2017.8.
91. 森広晴香、鬼頭宏彰、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャネル KCa3.1 の活性制御. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017(京都), 2017.8.
92. 藤田貢、田崎貴之、奥田武司、米重あづさ、中田晋: グリオーマ幹細胞における薬剤排出分子 ABCG2 の役割. 第 27 回日本サイトメトリー学会学術集会 (神戸), 2017.6.
93. 芦原英司、今吉菜月、Makoto Yoshioka、中田晋、Jay Chauhan、戸田侑紀、Steven Fletcher、Jeffrey Strovel、高田和幸: 新規プロモドメイン阻害剤 CG13250 の多発性骨髄腫に対する抗腫瘍効果. 第 42 回日本骨髄腫学会学術集会 (東京), 2017.5.*9
94. Teruki Shimizu, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Development of intravesical human $\gamma \delta$ T cell therapy against refractory urinary bladder cancer and human $\gamma \delta$ T cell therapy based chemoimmunotherapy. 第 105 回日本泌尿器科学会総会 (鹿児島), 2017.4.
95. 戸田侑紀、芦原英司: 細胞外小胞の脂質組成から見出した新規がん標的型 DDS.*51

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 第 21 回日本がん分子標的治療学会学術集会 (福岡), 2017.6.*¹³
96. 吉留利香、山下直人、山吉麻子、戸田侑紀、高田和幸、小堀哲生、村上 章、芦原英司: Development of antibody-conjugated siRNAs for cancer treatment (抗体結合型 siRNA を用いた新規悪性腫瘍特異的送達法の開発). 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017 (京都), 2017.8.
 97. 篠村恵理子、上野美都穂、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: 多発性骨髄腫に対する新規プロモドメイン阻害剤 CG14262 と既存の分子標的治療薬との併用による抗腫瘍効果の検証. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017 (京都), 2017.8.*¹⁰
 98. 磯村拳一、若林亮介、服部恭尚、嶋本康広、小林数也、戸田侑紀、高田和幸、赤路健一、芦原英司: 新規 Wnt/ β -カテニン経路阻害剤は TGF- β 刺激による A549 ヒト非小細胞肺癌細胞株の遊走を抑制する. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017 (京都), 2017.8.*⁵
 99. 辰巳宥衣、戸田侑紀、大東萌絵、高田和幸、芦原英司: 間葉系幹細胞由来エクソソームの造血制御に関する解析. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017 (京都), 2017.8.
 100. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル $KCa3.1$ の活性制御. 第 131 回日本薬理学会近畿部会 (名古屋) 2017.6.
 101. Kengo Matsumura, Susumu Nakata, Keiko Taniguchi, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Susumu Kageyama, Akihiro Kawauchi, Tatsuhiro Yoshiki: The depletion of γ -glutamylcyclotransferase induces cellular senescence and cell death via CDKIs upregulation. The 5th International Symposium of Training Plan for Oncology Professionals (Osaka, Japan), 2017.3.
 102. 谷口恵香、中田晋、松村健吾、飯居宏美、影山進、河内明宏、吉貴達寛: Gamma-glutamylcyclotransferase (GGCT) の発現低下は乳癌細胞にオートファジーを誘導する. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
 103. 黒田絵莉子、高田和幸、河西翔平、戸田侑紀、芦原英司: マウス末梢血由来造血幹細胞からマイクログリア様細胞への分化誘導とその機能解析. 日本薬学会 第 137 年会 (仙台), 2017.3.
 104. 甘利圭悟、久米伶奈、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: 骨髄間葉系幹細胞に対する放射線照射の影響. 日本薬学会 第 137 年会 (仙台), 2017.3.
 105. 鵜飼幸永佳、戸田侑紀、川上光、高田和幸、芦原英司: エクソソーム膜脂質より再構成したリポソームのがん細胞移行性評価.*⁵¹ 日本薬学会 第 137 年会 (仙台), 2017.3.
 106. 久家貴寿、齊藤洋平、朝長毅、中山祐治: FAM83H は新規のがん浸潤関連タンパク質である. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
 107. 手島皓子、岡本菜美子、柿花采那、齊藤洋平、久家貴寿、中山祐治: Hsp105/110 ファミリータンパク質の細胞分裂の進行への関与. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
 108. 堀内麻利安、久家貴寿、齊藤洋平、朝長毅、中山祐治: Src の異常な活性化が細胞分裂異常を誘導する新規機構の解明. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
 109. 海堀祐一郎、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治: 受容体型チロシンキナーゼによる細胞分裂制御機構の解析. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
 110. 三上大貴、齊藤洋平、岡本菜美子、久家貴寿、中山祐治: HIF-1 の蓄積および転写活性化には Hsp105 が必要である. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
 111. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: 骨芽細胞の細胞増殖に対する Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル $KCa3.1$ の寄与. 第 90 回日本薬理学会年会 (長崎), 2017.3.
 112. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: 前骨芽細胞の細胞増殖における

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 中コンダクタンズ Ca²⁺活性化 K⁺チャネル KCa3.1 の役割. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
113. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: 骨芽細胞の細胞周期進行に対する Ca²⁺活性化 K⁺チャネル KCa3.1 の寄与. 第 94 回日本生理学会大会 (浜松), 2017.3.
114. 彦坂好美、長谷井友尋、川本明佳、松崎温士、松本崇宏、岩本憲人、渡辺徹志: 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene の *in vivo* における DNA 付加体形成. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3
115. 中野結華、松本崇宏、高橋一輝、金山董玲、吉備万純、井上枝里子、長谷井友尋、渡辺徹志: レモン (*Citrus limon*) 果皮からの抗変異原性成分の探索研究. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
116. Natsuki Imayoshi, Makoto Yoshioka, Susumu Nakata, Jay Chauhan, Yoko Kado, Yuki Toda, Steven Fletcher, Jeffrey Strovel, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: A novel BRD4 inhibitor CA2 suppresses MM cell proliferation in an orthotopic myeloma mouse model. The 58th Annual Meeting of American Society of Hematology (San Diego, USA), 2016.12.*⁹
117. 芦原英司: 造血器悪性腫瘍に対する Wnt/ β -catenin シグナルを標的とした創薬研究. 第 39 回日本分子生物学会年会. シンポジウム「ダウン症遺伝子を科学する。～精神発達遅滞、固形がん、白血病の病態メカニズムを解明する～」(横浜), 2016.12.
118. 抱恵子、池内正剛、本田拓也、久家貴寿、齊藤洋平、山口直人、中山祐治: v-Src による多極紡錘体の形成. 第 39 回日本分子生物学会年会 (横浜), 2016.12.
119. 柿花采那、大東優衣、齊藤洋平、久家貴寿、中山祐治: 熱ショックタンパク質 Hsp105 の分裂期チェックポイントへの関与. 第 39 回日本分子生物学会年会 (横浜), 2016.12.
120. 齊藤洋平、山根鉄平、島田雅史、加藤圭穂、久家貴寿、中山祐治: 熱ショックタンパク質 Hsp105 α の核局在化と抗がん剤抵抗性への寄与. 第 39 回日本分子生物学会年会 (横浜), 2016.12.
121. 川岸怜子、鬼頭宏彰、森広晴香、大矢進: マウス前骨芽細胞の中コンダクタンズ Ca²⁺活性化 K⁺チャネル阻害による細胞周期制御. 第 130 回日本薬理学会近畿部会 (京都), 2016.11.
122. 渡辺徹志、尾竹茉莉奈、蟹江静、松本崇宏、長谷井友尋、鹿内正孝、小林博、岡田太: 発酵玄米 (FBRA) の *in vitro* 及び *in vivo* における抗変異原性. 日本環境変異原学会 45 回大会 (つくば), 2016.11.
123. 長谷井友尋、川本明佳、彦坂好美、松本崇宏、岩本憲人、渡辺徹志: 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene による *in vivo* DNA 付加体形成. 日本環境変異原学会 45 回大会 (つくば), 2016.11.
124. 長野悠佑、齊藤洋平、久家貴寿、山岸伸行、中山祐治: Src によるがん転移誘導と染色体異常との関連性解明を目指した v-Src 誘導発現株の樹立. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
125. 北郷真由絵、岡田美咲、海堀祐一郎、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治: 細胞分裂後期特異的なタンパク質のチロシンリン酸化. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
126. 三上大貴、齊藤洋平、久家貴寿、中山祐治: 低酸素誘導因子 HIF-1 の発現および転写活性化における熱ショックタンパク質 Hsp105 の関与. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
127. 岡本菜美子、手島皓子、柿花采那、齊藤洋平、久家貴寿、中山祐治: Hsp105 ファミリータンパク質 Hsp105 および Apg の細胞分裂における機能. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
128. 柿花采那、大東優衣、齊藤洋平、久家貴寿、中山祐治: 分裂制御における分子シャペロ

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- ンの機能解析. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
129. 下澤基、升野祐里、中園裕利華、鬼頭宏彰、Anowara Khatun、丹羽里実、大矢進: アンドロゲン受容体陽性ヒト乳癌細胞における抗アンドロゲン剤によるカルシウム活性化カリウムチャンネル KCa1.1 転写抑制. 第 66 回日本薬学会近畿支部大会 (大阪), 2016.10.
130. 川本明佳、長谷井友尋、彦坂好美、松本崇宏、岩本憲人、渡辺徹志: 3,6-Dinitro[e]pyrene の in vivo における DNA 付加体形成. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
131. 金山董玲、松本崇宏、中野結華、高橋一輝、井上枝里子、吉備万純、長谷井友尋、渡辺徹志: 和歌山県産レモン (*Citrus limon*) 果皮からの生体機能性成分の探索. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
132. 井上枝里子、松本崇宏、金山董玲、中野結華、吉備万純、高橋一輝、長谷井友尋、渡辺徹志: 和歌山県産レモン (*Citrus limon*) 果皮抽出エキスおよび含有成分の抗変異原性. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
133. 住田大志、間瀬裕子、今堀大輔、住居潤美、長谷井友尋、松本崇宏、渡辺徹志: Glucose と tryptophan の生体内モデルメイラード反応により生成する新規変異原性物質の分離・精製. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
134. 吉村亜季、高橋明日香、大西結衣、長谷井友尋、松本崇宏、Staffan Lundstedt、渡辺徹志: 産業廃棄物処理場の土壌中に含まれる変異原性物質の検索. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
135. 河瀬裕美、モハメド シャリヤー カーン、阿部真帆、北村重晴、久保祐希、古川奈美、中大路友亮、松本崇宏、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志: 佐世保市・京都市における大気粉塵中の LPS、タンパク質、イオンの定量及び季節変動. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
136. 中大路友亮、モハメド シャリヤー カーン、阿部真帆、北村重晴、久保祐希、古川奈美、河瀬裕美、松本崇宏、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志: 黄砂期間中における佐世保市・京都市の総浮遊粒子状物質中の LPS、タンパク質およびイオン濃度の比較. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
137. 長谷井友尋、川本明佳、彦坂好美、松本崇宏、岩本憲人、渡辺徹志: 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene の in vivo DNA 付加体形成. フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー (東京), 2016.9.
138. Mohammad Shariar Khan, Maho Abe, Nami Furukawa, Yuuki Kubo, Shigeharu Kitamura, Yusuke Nakaoji, Kawase Yumi, Tomohiro Hasei, Takahiro Matsumoto, Yuya Deguchi, Nobuyuki Yamagishi, Tetsushi Watanabe: Seasonal fluctuation of lipopolysaccharide on airborne particles and relation with Asian dust. フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー (東京), 2016.9.
139. Kengo Matsumura, Susumu Nakata, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Susumu Kageyama, Akihiro Kawauchi, Tatsuhiro Yoshiki: Depletion of γ -glutamylcyclotransferase inhibits cancer cell growth via cellular senescence caused by CDK inhibitor induction. 24th Biennial Congress of the European Association for Cancer Research (Manchester, UK), 2016.7.
140. Kengo Matsumura, Susumu Nakata, Keiko Taniguchi, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Susumu Kageyama, Akihiro Kawauchi, and Tatsuhiro Yoshiki: Depletion of γ -glutamylcyclotransferase inhibits cancer cell growth through cellular senescence induction. 2016 American Society of Cell Biology (ASCB) Annual Meeting (San Francisco, USA), 2016.12.
141. Hiromi Ii, Taku Yoshiya, Yuji Nishiuchi, Susumu Kageyama, Susumu Nakata, Tatsuhiro Yoshiki: A potent γ -glutamylcyclotransferase (GGCT) inhibitor has antiproliferative

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- activity in malignant tumor cells but not in normal cells. The 8th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences Biomolecule-Based Medicinal Science: Featuring Mid-Size Drugs. (Osaka, Japan), 2016.1.
142. 森広晴香、鬼頭宏彰、榊原侑香、川岸怜子、大矢進: 前骨芽細胞における中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネルを介した細胞増殖制御機構の解明. 第 129 回日本薬理学会近畿部会 (広島), 2016.6.
 143. 榊原侑香、鬼頭宏彰、大矢進: マウス前骨芽細胞における内向き整流性 K^+ チャンネルを介した細胞分化制御. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2016 (仙台), 2016.8.
 144. 上田菜津美、岩本絵里香、奥村大喜、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治: 分裂期微小管の動態を指標とした新規細胞分裂関連タンパク質の探索. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 145. 岡田美咲、久家貴寿、齊藤洋平、足立淳、朝長毅、中山祐治: 細胞分裂後期特異的なリン酸化タンパク質の探索. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 146. 居藤亜弥、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治: 新規チューブリン免疫染色法による微小管構造制御に関連する分子の探索. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 147. 岩本絵里香、上田菜津美、松井優紀、久家貴寿、齊藤洋平、山口直人、中山祐治: ERK による染色体整列の制御. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 148. 柿花采那、大東優衣、齊藤洋平、久家貴寿、中山祐治: Hsp105 による染色体分配制御機構. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 149. 齊藤洋平、的崎雅史、湯川明久、多田円香、久家貴寿、中山祐治: Hsp70 誘導および温熱感受性におけるサイトカインシグナル伝達系転写因子 Stat3 の関与. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 150. 河内麻由美、長谷井友尋、川久保慶一、北野祐香、廣本麻里、新井千佳、渡辺徹志: 食品中の新規変異原性物質 ABAQ の分析. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 151. 古川奈美、クウリパリスレイマン、阿部真帆、北村重晴、久保裕希、河瀬裕美、中大路友亮、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志: 黄砂飛散と大気中のタンパク及びエンドトキシン濃度の関係. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 152. 高橋明日香、吉村亜季、繁多敬久、大西結衣、関奈緒子、野村春菜、長谷井友尋、ルンドステットステファン、渡辺徹志: スウェーデン産業廃棄物処理場の表層土壌の変異原性物質の検索. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 153. 草野穂、高橋一輝、西川太介、古川綾乃、長谷井友尋、中村誠宏、松田久司、渡辺徹志: 陳皮中に含まれる抗変異原性物質の探索. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 154. 中田有美、長谷井友尋、阪口真臣、和田光弘、米田眞希、白石祥一、池盛文数、渡辺徹志: 表層土壌中の強変異・がん原性物質 3,9-dinitrofluoranthene 及び 1,3-, 1,6-, 1,8-dinitropyrene 異性体、1,3,6-trinitropyrene の分析. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 155. 住居潤美、久野翔平、間瀬裕子、今堀大輔、住田大志、横川玲奈、長谷井友尋、渡辺徹志: Glucose と L-tryptophan のメイラード反応により生成する新規変異原性物質の分離および同定. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 156. 川添智子、新開史崇、河合佑季、小池真生子、長谷井友尋、渡辺徹志: 茶中の 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene の定量分析及び茶の抗変異原性の評価. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
 157. 鬼頭宏彰、榊原侑香、森広晴香、大矢進: 骨芽細胞の細胞増殖に対する中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネル (KCa3.1) の寄与の解明. 第 89 回日本薬理学会年会 (横浜), 2016.3.
 158. 鬼頭宏彰、榊原侑香、森広晴香、大矢進: 中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネルの

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- Ca²⁺シグナル制御を介した骨芽細胞増殖への関与. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
159. Mizuki Miyake, Megumi Tsukamoto, Kazuhiro Satake, Susumu Nakata, Tomohisa Ishikawa, Hiroshi Nakagawa: The human ABCG4 transporter confers taxol resistance to cells. The 6th Special Meeting on ABC Proteins – ABC2016: From Multidrug Resistance to Genetic Diseases. (Innsbruck, Austria), 2016.3.
160. Yuki Toda, Kenichi Akaji, Eishi Ashihara: The challenge to cancer-targeting using exosomes. The 4th International Symposium of Training Plan for Oncology Professionals. (Osaka, Japan), 2016.2.*12
161. Testuya Takada, Eishi Ashihara: Ion transport-associated molecules play an important role in maintenance of glioblastoma stem cells. The 4th International Symposium of Training Plan for Oncology Professionals. (Osaka, Japan), 2016.2.*11
162. Eishi Ashihara, Ryoko Oki, Natsuki Imayoshi, Makoto Yoshioka, Jeffrey W. Strovel, Ayako Honjo, Yumi Sakai, Tetsuya Takada, Jay Chauhan, Mithun Raje, Steven Fletcher, Kazuyuki Takata: Novel bromodomain inhibitors suppress proliferation of multiple myeloma cells. The 57th Annual Meeting of American Society of Hematology. (Orlando, USA), 2015.12.
163. Yoko Kado, Fumiaki Kitazawa, Masayuki Tsujimoto, Sin-ichi Fuchida, Akira Okano, Mayumi Hatsuse, Satoshi Murakami, Kumi Ueda, Takatoshi Kokufu, Shoichi Ozawa, Katsuko Ito, Satoe Morishita, Tetsuya Takada, Tetsuya Minegishi, Kohshi Nishiguchi, Eishi Ashihara, Chihiro Shimazaki: Prediction of the lenalidomide toxicity and its therapeutic efficacy in Japanese multiple myeloma patients by measuring its plasma concentration. The 57th Annual Meeting of American Society of Hematology. (Orlando, USA), 2015.12.
164. 岸本祐典、田村理恵、村松千愛、小堀哲生、芦原英司、村上章、山吉麻子: カチオン化抗体キャリアを用いた新規 RNA 干渉療法の開発. 日本核酸医薬学会第一回年会 (京都) 2015.12.
165. 田崎貴之、藤田貢、奥田武司、中田晋、吉岡宏真、加藤天美: 悪性神経膠腫における MET 遺伝子発現の臨床的意義. 第 19 回 バイオ治療法研究会学術集会 (東京), 2015.12.
166. Mitsuki Miyake, Megumi Tsukamoto, Kazuhiro Satake, Susumu Nakata, Tomohisa Ishikawa, Hajime Nakagawa: Human ABC transporter ABCG4 is a novel type of drug transporter. TOIN International Symposium on Biomedical Engineering, (Yokohama, Japan), 2015.11.
167. Mitsugu Fujita, Hiromasa Yoshioka, Takeshi Okuda, Susumu Nakata, Shin-ichi Miyatake, Amami Kato, Osamu Yoshie: Inhibition of ABCG2 enhances chemo-sensitivity of murine glioma stem cell-like cells and reduces chemokine-mediated tumorigenicity. 第 44 回 日本免疫学会学術集会 (札幌), 2015.11.
168. 岸本祐典、田村理恵、村松千愛、芦原英司、小堀哲生、村上章、山吉麻子: 抗原抗体反応を利用した新規薬物送達法開発. 第 5 回 4 大学連携研究フォーラム (京都、京都工芸繊維大学) 2015.11.
169. 柿花采那、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治: 染色体分配制御機構における Hsp105 の機能解析. 第 5 回 4 大学連携研究フォーラム (京都), 2015.11.
170. 齊藤洋平、的崎雅史、久家貴寿、中山祐治: 温かな熱ショックによるサイトカインシグナル伝達系転写因子 Stat3 の活性化. 第 5 回 4 大学連携研究フォーラム (京都), 2015.11.
171. 柿花采那、大東優衣、齊藤洋平、久家貴寿、中山祐治: Hsp105 の spindle assembly checkpoint における機能. 第 65 回 日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 172.高田哲也、芦原英司: 神経膠芽腫幹細胞に対するイオン輸送関連分子の治療標的としての可能性. 第 74 回日本癌学会学術総会 (名古屋), 2015.10.
- 173.飯居宏美、谷口恵香、中田晋、吉貴達寛: 新規 γ -glutamylcyclotransferase (GGCT)阻害剤の探索とその膜透過型プロドラッグ開発. 第 74 回日本癌学会学術総会 (名古屋), 2015.10.
- 174.三宅美月、塚本めぐみ、佐竹一紘、中田晋、石川智久、中川大: ヒトABCG4は、新しいタイプの薬物輸送体である. 第 74 回日本癌学会学術総会 (名古屋), 2015.10.
- 175.藤田貢、奥田武司、中田晋、菰原義弘、加藤天美、義江修: 腫瘍内 M2 マクロファージにおける B7-H3 および B7-H5 発現量は肺癌原発転移性脳腫瘍の発症と相関する. 第 74 回日本癌学会学術総会 (名古屋), 2015.10.
- 176.佐原真美、澤野友紀、飯居宏美、中田晋、吉貴達寛: γ -Glutamyl cyclotransferase 阻害によるアポトーシス非依存的細胞増殖抑制. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
- 177.塩見紗英子、飯居宏美、中田晋、吉貴達寛: 乳がん細胞株 MCF-7 細胞における γ -glutamyl cyclotransferase 阻害によるオートファジー誘導の検討. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
- 178.清水彩夏、遠藤京子、舵和隆、大和優介、黒川なつ美、鬼頭宏彰、藤井正徳、大矢進: K562 細胞におけるスプライシング阻害剤による two-pore 型 K^+ チャネル K2P5.1 発現・活性調節. 第 65 回日本薬学会近畿支部大会 (大阪), 2015.10.
- 179.渡辺絢音、仁熊宏樹、松井未来、山田隆弘、鬼頭宏彰、藤井正徳、大矢進: マウス制御性 T リンパ球における Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル KCa3.1 阻害剤 in vivo 投与による IL-10 転写促進. 第 65 回日本薬学会近畿支部大会 (大阪), 2015.10.
- 180.松井梓、金塚早希、波多野紀行、Anowara Khatun、松葉紗代、丹羽里実、鬼頭宏彰、藤井正徳、村木克彦、鈴木孝禎、大矢進: ヒト乳癌細胞株 YMB-1 における HDAC 阻害剤及び活性化ビタミン D3 によるイオンチャネル転写制御. 第 65 回日本薬学会近畿支部大会 (大阪), 2015.10.
- 181.金塚早希、波多野紀行、松井梓、松葉紗代、Anowara Khatun、足野晋平、鬼頭宏彰、丹羽里実、藤井正徳、鈴木孝禎、村木克彦、大矢進: 乳がん細胞におけるヒストン脱アセチル化酵素によるカルシウム活性化カリウムチャネル転写制御. 第 128 回日本薬理学会近畿部会 (大阪), 2015.11.
- 182.河合佑季、長谷井友尋、渡辺徹志: 茶中の 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene の定量及び茶の抗変異原性. 第 5 回 4 大学連携フォーラム (京都), 2015.11.
- 183.繁多敬久、三宅佑美、金高こころ、米田眞希、和田光弘、関奈緒子、野村春菜、長谷井友尋、池盛文数、鳥羽陽、早川和一、大呂忠司、渡辺徹志: 都市圏及び非都市圏における表層土壌及び大気粉塵の変異原性物質による汚染. 日本環境変異原学会第 44 回大会 (福岡), 2015.11.
- 184.河合佑季、藤橋愛、新開史崇、小池真生子、長谷井友尋、渡辺徹志: 茶中の 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene の定量及び茶の抗変異原性. 日本環境変異原学会第 44 回大会 (福岡), 2015.11.
- 185.長谷井友尋、北野祐香、廣本麻里、川久保慶一、河内麻由美、渡辺徹志: 食品中の新規ヘテロサイクリックアミン ABAQ の分析. 日本環境変異原学会第 44 回大会 (福岡), 2015.11.
- 186.小池真生子、新開史崇、河合佑季、長谷井友尋、渡辺徹志: 茶中の 3,6-dinitrobenzo[e]pyrene の変異原性に対するカテキン類の抑制作用. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (富田林), 2015.10.
- 187.北村重晴、久保裕希、クウリバリスレイマン、阿部真帆、古川奈美、長谷井友尋、出口雄

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 也、渡辺徹志: 佐世保市・京都市における大気粉塵中のエンドトキシン・タンパク質の定量及び季節変動. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (富田林), 2015.10.
188. 久保裕希、クウリバリスレイマン、山田真裕、阿部真帆、北村重晴、古川奈美、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志: 佐世保市・京都市における大気粉塵中のイオンの定量及び季節変動. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (富田林), 2015.10.
189. 今堀大輔、久野翔平、間瀬裕子、住居潤美、長谷井友尋、渡辺徹志: Glucose と L-tryptophan の生体内モデルメイラード反応により生成する新規変異原性物質の検索. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (富田林), 2015.10.
190. 高橋一輝、西川太介、草野穂、中村誠宏、長谷井友尋、松田久司、渡辺徹志: 陳皮に含まれる抗変異原性物質の探索. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (富田林), 2015.10.
191. 尾竹茉莉奈、蟹江静、村上結香、長谷井友尋、鹿内正孝、小林博、岡田太、渡辺徹志: 発酵玄米 (FBRA) の in vitro および in vivo での抗遺伝毒性効果. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (富田林), 2015.10.
192. クウリバリスレイマン、長谷井友尋、鳥羽陽、早川和一、世良暢之、山本重一、大呂忠司、渡辺徹志: 日本海沿岸地域における大気汚染に対する東アジア大陸からの越境輸送の影響. フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー (神戸), 2015.9.
193. 渡辺徹志、クウリバリスレイマン、北村重晴、久保裕希、古川奈美、阿部真帆、山田真裕、出口雄也、長谷井友尋: 黄砂及び微小粒子状物質中のタンパク質及び LPS の解析. フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー (神戸), 2015.9.
194. 鬼頭宏彰、榊原侑香、森広晴香、大矢進: 骨芽細胞分化における中コンダクタンズ Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルの寄与の解明. 2015 年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業キックオフシンポジウム (京都), 2015.9.
195. 長谷井友尋、渡辺徹志: 大気粉塵の重金属汚染並びに東アジア地域における越境輸送の実態. メタルバイオサイエンス研究会 2015 (名古屋), 2015.8.
196. 遠藤京子、黒川なつ美、鬼頭宏彰、藤井正徳、大矢進: pre-mRNA スプライシング阻害による Tリンパ球 two-pore 型 K^+ チャネル K2P5.1 活性制御. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2015 (東京), 2015.8.
197. 三宅美月、塚本めぐみ、佐竹一紘、中田晋、石川智久、中川大: ヒト ABCG4 はヒト ABCG2 とは異なるタイプの薬物輸送体である. 第 28 回日本動物細胞工学会 2015 年度大会 (JAACT2015) (仙台), 2015.7.
198. 村岸沙也加、中倉佐和、佐藤綾、石井瑞紀、村瀬実希、田中涼、遠藤京子、黒川なつ美、鬼頭宏彰、藤井正徳、大矢進: pH 感受性 K^+ チャネル K2P5.1 発現阻害によるデキストラン硫酸ナトリウム誘発性炎症性腸疾患症状の改善. 第 127 回日本薬理学会近畿部会 (岐阜), 2015.6.
199. 三宅美月、塚本めぐみ、佐竹一紘、中田晋、石川智久、中川大: 細胞の薬剤感受性を起点にしたヒト ABCG4 の機能解析—ヒト ABCB1 およびヒト ABCG2 との比較—. 第 10 回トランスポーター研究会年会 (東京), 2015.6.
200. 高田哲也、芦原英司: 神経膠芽腫幹細胞に発現するイオン輸送体を標的とした新規治療ターゲットの探索. 第 19 回日本がん分子標的治療学会学術集会 (松山), 2015.6.*11

②合成・相互作用解析グループ

201. 宮村美佳、許千春、小林数也、服部恭尚、赤路健一: ヘテロ原子含有アミド置換基を有するデカヒドロイソキノリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成と評価. 第 69 回日本薬学会関西支部総会・大会 (兵庫), 2019.10.
202. 木村明穂、大谷拓也、菊池真理、小林数也、服部恭尚、赤路健一: P1-P3 側鎖間に疎水

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 性架橋構造を導入したペプチド性 BACE1 阻害剤の合成研究. 第 69 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2019.10.^{*41}
203. 森川夏穂、森岡佑介、安東友繁、小林数也、服部恭尚、赤路健一: EGF レセプターの二量化アーム配列に光官能基を導入した環状ペプチドの評価. 第 69 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2019.10.
204. Takuya Otani, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Evaluation of the ring size of macrocyclic inhibitors for BACE1. 第 56 回ペプチド討論会 (東京), 2019.10.^{*41}
205. 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、山本侑人、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の立体選択的合成と阻害活性評価. 第 45 回反応と合成の進歩シンポジウム (岡山), 2019.10.
206. 小林数也、森川夏穂、米田沙也夏、大江保奈美、森岡佑介、細見柁彦、安東友繁、服部恭尚、赤路健一: EGF レセプターの二量化阻害を指向した光反応基含有環状ペプチドの合成と評価. 第 37 回メディシナルケミストリーシンポジウム (東京), 2019.11.
207. 中嶋聡一、岸本真理子、尾田好美、宇野京、田中大輝、里崎久恵、山手直智、中村誠宏、松田久司: 指甲花枝部のがん細胞転移抑制作用と作用ターゲットタンパク質. 第 36 回和漢医薬学会学術大会 (富山), 2019.8.
208. 矢野真実子、中嶋聡一、尾田好美、平尾みなみ、中村誠宏、松田久司: ハス花部含有成分の神経様突起伸長促進作用. 第 36 回和漢医薬学会学術大会 (富山), 2019. 8.
209. 森川葵、呉剣波、中嶋聡一、執行真莉奈、川本直子、武上茂彦、中村誠宏、小西敦子、北出達也、松田久司: 三黄瀉心湯の血管弛緩作用における berberine および baicalin の寄与と作用様式の検討. 第 36 回和漢医薬学会学術大会 (富山), 2019.8.
210. 下岡美咲、中嶋聡一、宇野京、岸本真理子、中村誠宏、松本崇宏、田中大輝、里崎久恵、山手直智、松田久司: ヒキオコシ成分のがん細胞浸潤抑制作用. 第 36 回和漢医薬学会学術大会 (富山), 2019.8.
211. 中村誠宏、小川慶子、藤室雅弘、中嶋聡一、松田久司: *Nigella* 属植物クロタネソウに含まれるアルカロイド成分の探索とそれらの抗 HSV-1 活性. 第 61 回 天然有機化合物討論会 (広島), 2019.9.^{*56}
212. 中嶋聡一、森田萌子、尾田好美、太田綾子、中村誠宏、松田久司: *Bryonia cretica* に含まれる、アクチン脱重合制御タンパク質 cofilin 結合性成分の解析と作用. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
213. 矢野真実子、中嶋聡一、尾田好美、中村誠宏、笠詩織、松田久司: カルバゾール誘導体の神経様突起伸長促進作用. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
214. 笠香織、中村誠宏、角岡常成、濱本桜子、宮川晃也、中嶋聡一、松田久司: アブラナ科植物ホソバタイセイ (*Isatis tinctoria*) 含有成分 neoglucobrassicin を用いた低分子化合物の構築. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
215. 米田太一、中村誠宏、岡崎彩香、奥井翔吾、笠香織、中嶋聡一、松田久司: *Allium* 属植物を用いた含窒素芳香環化合物の合成. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.^{*55}
216. 林田仁志、中村誠宏、深谷匡、野口大輔、中嶋聡一、松田久司: ニンニク (*Allium sativum*) 葉部を素材としたテトラヒドロジフロフラン骨格を有する含硫黄化合物の探索. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.^{*55}
217. 細田依里、矢野真実子、中嶋聡一、尾田好美、中村誠宏、松田久司: 血液脳関門透過性ハス特徴成分の神経突起伸長促進作用. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
218. 米山真穂、中嶋聡一、王巍程、鈴木諒子、尾田好美、中村誠宏、松田久司: *Cassia auriculata* 種子含有アントラセノン二量体のメラノーマ細胞増殖抑制作用と β -catenin 経路タンパク質発現抑制作用. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
219. 大田海斗、松本卓也、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人:

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 末端脂肪族側鎖を短縮したアセトゲニンチオフェン 誘導体の合成とヒトがん細胞増殖抑制活性の評価. 第 39 回有機合成若手セミナー (大阪), 2019.8.
- 220.三須健太郎、岩崎宏樹、小島直人、山下正行: SED を用いた 3-ヒドロキシメチルインドール誘導体合成法の開発. 第 39 回有機合成若手セミナー (大阪), 2019.8.
- 221.松本卓也、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 抗腫瘍活性を有するアセトゲニンチオフェン誘導体への電子求引性基の導入とヒトがん細胞増殖抑制活性評価. 第 69 回日本薬学会近畿支部大会 (神戸), 2019.10.
- 222.大田海斗、松本卓也、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 末端脂肪族側鎖を減炭したアセトゲニンチオフェン誘導体の合成と生物活性評価. 第 69 回日本薬学会近畿支部大会 (神戸), 2019.10.
- 223.謝昶翰、平田優里、山西涼菜、阪口鈴菜、阪口尚子、田中雄一朗、岩崎宏樹、小島直人、山下正行: α -ピロン体から合成されるシクロブタン体と硫黄イリドとの反応. 第 69 回日本薬学会近畿支部大会 (神戸), 2019.10.
- 224.植村祐美子、岩崎宏樹、辻谷優菜、竹見里穂、篠崎莉穂、小島直人、山下正行: 酸化剤を用いない isoquinoline *N*-oxide 合成反応における置換基効果の検討. 第 45 回反応と合成の進歩シンポジウム (岡山), 2019.10.
- 225.松本卓也、岡村睦美、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 複素環連結部位にスルホンアミドを導入したアセトゲニン誘導体の合成と活性評価. 京都 4 大学連携研究事業「第 9 回 4 大学連携研究フォーラム」(京都), 2019.11. ^{*59}
- 226.田村悠樹、小谷真菜、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、齋藤博幸: ApoE 由来アルギニンペプチドの細胞膜透過における糖鎖依存性の評価. 日本膜学会第 41 年会 (東京), 2019.5.
- 227.長谷川功紀、井上康輝、工藤信次、伊藤隆明: タモキシフェン誘導体を用いた肺がんのリガンド誘導体染色. 第 60 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (兵庫), 2019.9. ^{*57}
- 228.小谷真菜、田村悠樹、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、齋藤博幸: ApoE 糖鎖結合ドメイン改変型両親媒性アルギニンペプチドの細胞膜透過機構. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 229.錦織花梨、長谷川功紀、原矢佑樹、扇田隆司、加藤くみ子、赤路健一、齋藤博幸: 両親媒性環状ペプチドの細胞膜透過機構解明に向けたペプチドの合成. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 230.長谷川功紀、工藤信次、伊藤隆明: 病理組織切片上の GPER 検出薬剤の開発. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 231.大谷拓也、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 最適架橋構造の同定を目指した大環状 BACE1 阻害剤の開発研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3. ^{*41}
- 232.吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、山本侑人、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成、阻害活性評価ならびに立体化学. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 233.亀田里紗子、相馬琢人、古田善宏、葛山昌伴、小林数也、服部恭尚、赤路健一: パラジウム触媒による立体選択的環化反応を用いた ent-iso-6-spectaline の合成. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 234.木村蘭希、田中美咲、小紫香穂、谷口智奈美、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 疎水性官能基に基づく *N*-アミジノピロリジン型 BACE1 阻害剤の設計と構造活性相関研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 235.島恭平、岸本翔、大西康司、吉澤慎一郎、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 1 位置換基を有するデカヒドロイソキノリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成剤の開発

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 236.藤原采耶花、大西康司、吉澤慎一郎、濱本凧彩、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 新規相互作用部位を有するオクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 237.大西康司、三谷勇人、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 新規相互作用部位を有するアザ-デカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤および誘導体の合成と阻害活性評価. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 238.服部恭尚: Pd(II)触媒による立体選択的環化反応を用いた含窒素複素環化合物の効率的合成. 第5回 関西薬学シンポジウム: 化学系の若い力(招待講演) (京都), 2019.7.
- 239.野口大輔、中村誠宏、小川慶子、林田仁志、中嶋聡一、松田久司: クロタネソウ(*Nigella damascena*) 種子から得られた dolabellane 型ジテルペン damasterpene 類の化学構造. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 240.笠香織、中村誠宏、小川慶子、角岡常成、濱本桜子、宮川晃也、中嶋聡一、松田久司: アブラナ科植物ホソバタイセイ (*Isatis tinctoria*) の含有成分を用いた機能性低分子化合物の開発研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 241.曲佳歌、中村誠宏、深谷匡、中嶋聡一、米田太一、松田久司: 山形県産あさつき (*Allium schoenoprasum* var. *foliosum*) から得られた新規環状含硫黄化合物の探索. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 242.中塔早紀、中村誠宏、深谷匡、中嶋聡一、米田太一、松田久司: 高知県産ニラ (*Allium tuberosum*) の含硫黄化合物の探索およびネギ (*A. fistulosum*) との成分比較研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 243.米田太一、中村誠宏、笠香織、深谷匡、中嶋聡一、松田久司: *Allium* 属植物を素材とした擬天然型化合物の構築. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.^{*55}
- 244.内田量、岩崎宏樹、井上暁斗、小畑久美、池田惇、蒲田歩美、小島直人、山下正行: 2-trifluoromethyl indoline 骨格形成反応における置換基効果の検討. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 245.竹見里穂、岩崎宏樹、篠崎莉穂、辻谷優菜、小島直人、山下正行: 酸化剤を用いない isoquinoline *N*-oxide 合成反応における置換基効果の検討. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 246.松村優太、高嶋紗希、原田真規、田村雄太、利光博至、田中結衣、山崎莉葉、今井麻友香、竹下怜汰、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 不斉アルキニル化反応を経由する光学活性オキサゾリジノン誘導体のワンポット合成法の開発とその絶対配置の決定. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 247.大田海斗、松本卓也、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 末端アルキル鎖を減炭したアセトゲニンチオフエン誘導体の合成とヒトがん細胞増殖抑制活性の評価. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 248.小林奈津子、小関稔、仁木亜弥、繁田堯、八野愛結美、岩崎宏樹、小島直人、山下正行、川崎郁勇: Tandem 反応を用いた三置換 $-(E)-\alpha, \beta$ -不飽和エステル類の立体選択的合成とその開発. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 249.松本卓也、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 電子求引性基を導入したアセトゲニンチオフエン誘導体の合成とヒトがん細胞増殖抑制活性評価. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
- 250.Kazuya Kobayashi, Minami Takata, Yusuke Morioka, Mika Miyazaki, Masahiko Hosomi, Kaho Morikawa, Sayaka Yoneda, Honami Ooe, Yukako Yamazaki, Takaaki Mizuguchi,

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of EGF receptor dimerization inhibitors containing a N-methylated amino acid or a photoreactive group. 10th International Peptide Symposium, Kyoto, Japan, 2018.12.
251. Takuya Otani, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Design and synthesis of peptide-based macrocyclic BACE1 inhibitors with optimal cross-linking structure for hydrophobic interaction. 10th International Peptide Symposium, Kyoto, Japan, 2018.12.
252. Takuya Matsumoto, Akinobu Akatsuka, Mutsumi Okamura, Shingo Dan, Takao Yamori Hiroki Iwasaki, Masayuki Yamashita, Naoto Kojima: Synthesis and Antitumor Activity of Acetogenin Derivative with N-Methylpyrazole Connected by Sulfonamide. IKCOC-14, Kyoto, Japan, 2018.11.
253. 大西康司、三谷勇人、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 新規相互作用部位を有するアザ-デカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成、阻害活性評価。第 44 回反応と合成の進歩シンポジウム (熊本), 2018.11.
254. 松本卓也、岡村睦美、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 複素環連結部位にスルホンアミドを導入したアセトゲニン誘導体の合成と活性評価。京都 4 大学連携研究事業「第 8 回 4 大学連携研究フォーラム」(京都), 2018.11.^{*59}
255. 小林数也、大谷拓也、石沢克康、井関梨紗、北嶋太志、進藤尚加、大川晃汰、井尻咲、服部恭尚、赤路健一: ペプチド型 BACE1 阻害剤を基盤とした構造最適化研究。第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2018.10.
256. 田中美咲、木村蘭希、小紫香穂、谷口智奈美、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 疎水性官能基に着目した N-アミノピロリジン型 BACE1 阻害剤の開発研究。第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2018.10.
257. 塩見典大、松本卓也、藤井真人、崔秀リ、森山将吾、赤塚明宣、岡村睦美、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: アセトゲニンチオフエン誘導体へのエチレンジリコール単位導入によるヒトがん細胞増殖抑制活性への影響。第 68 回日本薬学会近畿支部大会 (姫路), 2018.10.^{*58}
258. 今井麻友香、高嶋紗希、原田真規、田村雄太、利光博至、田中結衣、松村優太、山崎莉葉、竹下怜汰、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 不斉アルキニル化反応を鍵反応とするオキサゾリジノン誘導体のワンポット合成とその絶対配置の決定。第 68 回日本薬学会近畿支部大会 (姫路), 2018.10.
259. 米田太一、中村誠宏、松本朋子、田中 葵、松村桐子、村上穂波、中嶋聡一、松田久司: 3 位に着目したトリテルペンの誘導体合成および活性比較研究。日本生薬学会第 65 回年会 (広島), 2018.9.
260. 山本慎也、市川幹広、石原知里、野々部修平、服部恭尚、梅澤公二、藤井博、真壁秀文: エピガロカテキン重合体の合成研究。第 60 回天然有機化合物討論会 (福岡), 2018.9.
261. 小島直人: フルーツと殺虫剤から抗がん剤を創る?。第 4 回 近畿薬学シンポジウム: 化学系の若い力 (招待講演) (神戸), 2018.9.
262. Kazuya Kobayashi, Daiki Joho, Chinami Taniguchi, Misaki Tanaka, Rani Kimura, Kaho Komurasaki, Yuki Kawasaki, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of novel BACE1 inhibitors based on the N-amidino nitrogen-containing ring structure. 256th ACS National Meeting, Boston, USA, 2018.8.^{*54}
263. 長谷川功紀、工藤信次、伊藤隆明: 低分子リガンドを用いたエストロゲン受容体検出法の開発。第 59 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (宮崎), 2018.9.

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 264.佐藤陽之輔、松尾顕、工藤信次、長谷川功紀、伊藤隆明. 肺癌における新しいガイドン
ス分子であるドラキシンについて. 第 108 回日本病理学会総会 (東京), 2018.5.
- 265.中村誠宏: 天然薬物を素材とした含硫黄、含窒素機能性成分の探索. 第 12 回関西バイ
オ創薬研究会 最先端アカデミア研究と今後の課題 (大阪), 2018.4.
- 266.大西康司、三谷勇人、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、照屋健太、赤路健一: 新規相互
作用部位を導入したデカヒドロイソキノリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合
成. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3.
- 267.吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタ
ヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と評価. 日本薬学会第 138 年
会 (金沢), 2018.3.
- 268.大谷拓也、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 大環状 BACE1 阻害剤の合成と活性評価.
日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3.*32
- 269.藤原采耶花、大西康司、吉澤慎一郎、濱本凜彩、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 新規
相互作用部位を導入したオクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設
計と合成. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3.
- 270.松本卓也、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 水溶性の向
上を指向しエチレングリコール単位を導入したアセトゲニン誘導体の合成と生物活性評
価. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.*58
- 271.謝昀翰、山西涼菜、武知理菜子、田中徹、田邊佑季、岩井佑未南、岩崎宏樹、小島直
人、山下正行: スルホキソニウムメチリドを用いる
3-oxa-2-oxobicyclo[4.2.0]oct-4-ene-1-carboxylate 体の骨格変換反応. 日本薬
学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.
- 272.仁木亜弥、小関稔、繁田堯、八野愛結美、岩崎宏樹、小島直人、中村亮博、堀江文乃、
山下正行、川崎郁勇: 三置換(E)- α,β -不飽和エステルの簡便で立体選択的な合成法の
開発. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.
- 273.小畑久美、井上暁斗、岩崎宏樹、小島直人、山下正行: アルキンをラジカル受容体とし
た新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発. 日本薬学会 第 138 年会
(金沢), 2018.3.
- 274.篠崎莉穂、岩崎宏樹、夏目若菜、山中三佳、小島直人、山下正行: 酸化剤を必要としない
isoquinoline *N*-oxide 誘導体の合成. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.
- 275.上田拓、松本卓也、赤塚明宣、岡村睦美、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小
島直人: *N*-メチルピラゾール環をスルホンアミドで連結したアセトゲニン誘導体の合成と
抗腫瘍活性評価. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.
- 276.松本卓也、赤塚明宣、岡村睦美、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人:
N-メチルピラゾール環をスルホンアミドで連結したアセトゲニン類の合成と抗腫瘍活性評
価. 日本化学会 第 98 春季年会 (東京), 2018.3.*59
- 277.Kazuya Kobayashi, Takuya Otani, Saki Ijiri, Katsuyasu Ishizawa, Risa Izeki, Taishi
Kitazima, Naoka Shindo, Kota Okawa, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Structure
optimization of a peptide-based hydroxyethylamine-type BACE1 inhibitor. 第 54 回ペプ
チド討論会 (大阪), 2017.11.*32-34
- 278.小林数也、城寶大輝、谷口智奈美、田中美咲、木村蘭希、川崎友紀、服部恭尚、赤路健
一: *N*-アミジノ含窒素環状骨格を基盤とする BACE1 阻害剤の探索研究. 第 43 回反応と
合成の進歩シンポジウム (富山), 2017.11.*35
- 279.井上暁斗、岩崎宏樹、小畑久美、内田量、小島直人、山下正行: アルキンをラジカル受
容体とした新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発. 第 43 回反応と合

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 成の進歩シンポジウム (富山), 2017.11.
280. 越野裕貴、吉澤慎一郎、足尾真美、山中優季、山本侑人、小林数也、服部恭尚、赤路健二: オクタヒドロイソクロメン骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成研究. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2017.10.
281. 原口知子、小林数也、赤路健一、安井裕之: コラーゲン分子の光酸化的クロスリンクに対するイミダゾールジペプチドの抑制効果. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2017.10.
282. 関口遼、黒柳友子、小林由佳、小林数也、赤路健一、藤井信孝、大野浩章、大石真也: CXCR7 受容体選択的リガンドの構造活性相関研究. 第 35 回メディシナルケミストリーシンポジウム (名古屋), 2017.10.
283. 深谷匡、中村誠宏、松本朋子、林雅子、中川涼太、中嶋聡一、松田久司: 伝承薬物を素材とした硫黄原子を含む生体機能性成分の探索. 第 7 回食品薬学シンポジウム (京都), 2017.10.*26
284. 小川慶子、中村誠宏、齋藤菜月、野口大輔、林田仁志、中嶋聡一、松田久司: キンポウゲ科植物クロナネソウ及びニオイクロタネソウの含有成分探索とその比較研究. 第 7 回食品薬学シンポジウム (京都), 2017.10.
285. 灘井亮、田村悠樹、錦織花梨、岡田圭祐、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、加藤くみ子、長谷川功紀、赤路健一、坂下直実、齋藤博幸: アポE 糖鎖結合ドメインに基づく両親媒性膜透過ペプチドの設計. 膜シンポジウム (富山), 2017.10.
286. 工藤信次、長谷川功紀、中峰ともみ、伊藤隆明: リガンド誘導体染色によるソマトスタチン受容体の検出法. 第 56 回日本臨床細胞学会 (福岡), 2017.10.
287. 松本卓也、小島直人、赤塚明宣、岡村睦美、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行: *N*-メチルピラゾール環をスルホンアミドで連結させたアセトゲニン誘導体の合成と活性評価. 第 67 回日本薬学会近畿支部大会 (兵庫), 2017.10.*59
288. 夏目若菜、岩崎宏樹、山中三佳、小島直人、山下正行: 酸化剤を用いない新規 isoquinoline *N*-oxide 合成法の開発. 第 67 回日本薬学会近畿支部 (兵庫), 2017.10.
289. 八野愛結美、中村亮博、堀江文及、小関稔、繁田堯、仁木亜弥、岩崎宏樹、小島直人、山下正行、川崎郁勇: 多置換 α, β -不飽和エステルの立体選択的合成法の開発. 第 67 回日本薬学会近畿支部 (兵庫), 2017.10.
290. 松本卓也、小島直人、赤塚明宣、岡村睦美、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行: *N*-メチルピラゾールをスルホンアミドで結合したアセトゲニン誘導体の合成と生物活性評価. 第 47 回複素環化学討論会 (高知), 2017.10.*59
291. 深谷匡、中村誠宏、中川涼太、中嶋聡一、松田久司: 九条ネギ (*Allium fistulosum* cv. *Kujou*) からの新規含硫黄化合物の探索. 日本生薬学会 第 64 回年会千葉 2017 (千葉), 2017.9.
292. 小川慶子、中村誠宏、齋藤菜月、石丸華子、藤室雅弘、中嶋聡一、松田久司: クロナネソウ *Nigella damascena* 種子を素材とした抗ウイルス作用成分の探索研究. 日本生薬学会 第 64 回年会千葉 2017 (千葉), 2017.9.*56
293. 浅井将貴、武本夕貴子、服部恭尚、真壁秀文: パラジウム触媒を用いた環化反応によるピペリジナルカロイドとイソクマリン化合物の合成研究. 第 59 回天然有機化合物討論会 (札幌), 2017.9.
294. 三澤雅樹、大西健、坂本裕貴、岡田圭祐、松本孔貴、長谷川功紀、岡田朋子: 抗体リボソームによる選択的 BPA 取込み増強のためアミノ酸トランスポーター-LAT1 遺伝子導入技術の開発. 第 14 回日本中性子補足療法学会学術大会 (福島), 2017.9.
295. 前泊里佳、長谷川功紀、伊藤隆明: リガンド誘導体染色法を用いた Kisspeptin

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- Receptor(KISS1R)の検出検討. 第 58 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (東温), 2017.9.
296. 小島直人: バンレイシ科アセトゲニン類をモチーフとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究. 第 6 回関西バイオ創薬研究会 (大阪), 2017.4.*30
297. 平田優里、田中徹、栗林英理、武知理菜子、安達未稀、北井佳奈子、岩井佑未南、山田裕平、山西涼菜、小島直人、岩崎宏樹、山下正行: 2-oxo-2H-pyran-3-carboxylate 体とアルケンの [2+2] 光環化付加反応による 2-oxo-3-oxabicyclo[4.2.0]oct-4-ene-1-carboxylate 体の合成. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
298. 井上暁斗、岩崎宏樹、畑中彩花、謝一成、小畑久美、小関稔、小島直人、山下正行: アルキンをラジカル受容体とした新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導體合成法の開発. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
299. 山西光咲、小森沙織、箆由布子、国立悠里、馬場ゆうみ、河野大貴、倉橋卓秀、本光由佳梨、山下正行、小島直人、岩崎宏樹、細井信造: ビナフチル型 CD 発色試薬による decahydro-4a-methyl-2-naphthalenol 類の誘導體化およびそれらの CD スペクトルの挙動について. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
300. 小島直人、崔秀り、松本卓也、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導體の水溶性アナログの合成研究. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.*58
301. 松本卓也、小島直人、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニン誘導體の複素環連結部位にメチレンアミンを導入することによる生物活性への影響. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
302. 武本夕貴子、服部恭尚、真壁秀文: 立体選択的なアミノパラデーションを用いた (-)-isosolenpsin と (+)-monomorine の合成研究. 日本農芸化学会大会 (京都) 2017.3.
303. 笠 香織、中村誠宏、中嶋聡一、中田葵、山添晶子、松本朋子、太田智絵、小川慶子、深谷 匡、吉川雅之、松田久司: 伝承薬物カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) 菌核成分およびその誘導體の生体機能. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
304. 小川慶子、中村誠宏、中嶋聡一、浅田裕美子、齋藤菜月、太田智絵、深谷匡、松田久司: クロタネソウ (*Nigella damascena*) 種子の機能性成分 oxazonigelladine 及び damasterpene I, II の構造決定について. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.*56
305. 深谷匡、中村誠宏、中嶋聡一、松本朋子、林雅子、太田智絵、小川慶子、松田久司: コウホネ (*Nuphar japonicum*, 根茎) およびネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*, 根茎) 含有アルカロイドの生体機能性. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
306. 矢野真実子、中嶋聡一、谷美有紀、川端諒、中村誠宏、松田久司: カルバゾール型アルカロイドの PC12 細胞分化促進作用. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
307. 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン骨格を基盤とする縮環型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
308. 大西康司、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、照屋健太、赤路健一: デカヒドロイソキノリン骨格を基盤とする新規縮環型 SARS 3CLprotease 阻害剤の設計と合成. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.
309. 城寶大輝、小林数也、服部恭尚、赤路健一: N-アミジノピペリジン型 BACE1 阻害剤の合成. 日本薬学会第 137 年会 (仙台), 2017.3.*1
310. 小島直人: バンレイシ科アセトゲニン類をシードとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究. 大阪大学大学院薬学研究科天然物化学分野セミナー (大阪), 2017. 1.
311. 長谷川功紀、前泊里佳、後藤久美子、古嶋昭博、伊藤隆明: Kiss1 受容体発現腫瘍スクリーニングと ⁶⁷Ga-DOTA-Kisspeptin10 を用いた SPECT イメージング. 第 56 回日本核

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- 医学会学術総会 (名古屋), 2016.11.
- 312.松本卓也、小島直人、伏見哲也、岩崎宏樹、山下正行: ピリミジン環を連結したアセトゲニン誘導体の複素環連結部位に関する構造活性相関研究. 第 34 回メディシナルケミストリーシンポジウム (つくば), 2016.11.
- 313.吉澤慎一郎、服部恭尚、小林数也、大西康司、足尾真美、越野裕貴、山中優季、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン骨格構築を基盤とする縮環型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成. 第 42 回反応と合成の進歩シンポジウム (静岡), 2016.11.
- 314.Koki Hasegawa, Rika Maedomari, Shinji Kudoh, Takaaki Ito: Detection of cholecystokinin receptor in formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections using CCK8 derivative. 第 53 回ペプチド討論会 (京都), 2016.10.
- 315.小林数也、出口綾香、菊池真理、井尻咲、服部恭尚、赤路健一: HEA 型 BACE1 阻害剤の構造最適化を目指した合成法の開拓. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.*31
- 316.川島浩之、片山萌衣、吉田凌太、赤路健一、浅野晶子、土井光暢: ヒトカルシトニンの 13 位-32 位のアミノ酸配列に着目した二量体モデルの合成と凝集性の評価. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
- 317.松本卓也、小島直人、伏見哲也、岩崎宏樹、山下正行: ピリミジン環を有するアセトゲニン誘導体の複素環連結部位の生物活性への影響. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
- 318.岩崎宏樹、井上暁斗、小畑久美、小関稔、小島直人、山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発検討. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
- 319.中嶋聡一、中村誠宏、松田久司: 老化によるアルツハイマー病治療を目指した神経細胞分化促進作用物質の探索. 第 21 回天然薬物の開発と応用シンポジウム (千葉), 2016.10.
- 320.中嶋聡一、増本優介、中村誠宏、太田智絵、谷美友紀、矢野真実子、平井大策、山岡加奈、米田太一、笠詩織、松田久司: ワサビノキ葉部の神経細胞様分化促進作用. 日本生薬学会 第 63 回年会富山 2016 (富山), 2016.9.
- 321.河原誠一、高畑光希、須田真人、戸田一弥、松本桐子、加藤幸、服部恭尚、梅澤公二、真壁秀文、藤井博: ブドウ梗から単離された抗腫瘍活性成分の構造と flavan-3-ol 重合体の合成研究. 第 58 回天然有機化合物討論会 (仙台), 2016.9.
- 322.長谷川功紀、前泊里佳、伊藤隆明: リガンド誘導体染色法を用いたコレシストキニン受容体の検出. 第 57 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (東京), 2016.9.
- 323.前泊里佳、長谷川功紀、伊藤隆明: 肺癌における kisspeptin receptor(GPR54)の発現. 第 57 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (東京), 2016.9.
- 324.岩崎宏樹、澤村隆志、井上暁斗、小畑久美、小関稔、小島直人、山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発. 第 46 回複素環化学討論会 (金沢), 2016.9.
- 325.松本卓也、小島直人、伏見哲也、岩崎宏樹、山下正行: ピリミジン環をメチレンアミンで連結したアセトゲニン誘導体の合成と生物活性評価. 第 36 回有機合成若手セミナー 明日の有機合成を担う人のために (京都), 2016.8.
- 326.井上暁斗、岩崎宏樹、小畑久美、小関稔、小島直人、山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体の合成研究. 第 36 回有機合成若手セミナー 明日の有機合成を担う人のために (京都), 2016.8.
- 327.Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Structure activity relationship study for P1-P1' site of

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

- transition state mimic inhibitors for BACE1. 34th European Peptide Symposium/8th International Peptide Symposium (Leipzig, Germany), 2016.9.*33
328. 足尾真実、越野裕貴、吉澤慎一郎、岸一俊、照屋健太、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オキサードカリン型骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の立体選択的合成. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
329. 川島浩之、片山萌衣、吉田凌太、赤路健一、浅野晶子、土井光暢: ヒトカルシトニン二量体モデルにおける凝集性及び繊維形態の評価. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
330. 森本幸太、小島直人、堀内正子、岩崎宏樹、山下正行: デュアルコア型アセトゲニン誘導体の合成とヒトがん細胞増殖抑制活性の評価. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
331. 松本卓也、小島直人、大槻一文、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導体の収束的合成法の開発と THF 環部位の立体異性体の活性評価. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
332. 長谷川功紀、伊藤隆明: リガンド誘導体を用いた受容体染色剤の開発. 日本薬学会年会第 136 年会(横浜), 2016.3.
333. 奥田若奈、松本崇宏、中村誠宏、中嶋聡一、吉川雅之、松田久司: メディシナルフラワー研究: 中国産金針花含有アルカロイドの生体機能性. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
334. 深谷匡、中村誠宏、中嶋聡一、小川慶子、松本崇宏、太田智絵、劉江、松田久司: メディシナルフラワー研究: キンモクセイ (*Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus*) 花部を素材とした新規生体機能性を有する含有成分及びその誘導体の探索研究. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
335. Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Ayaka Deguchi, Yukie Nohara, Tomomi Akiyama, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Evaluation of hydroxymethylcarbonyl and hydroxyethylamine isosteres in a superior BACE1 cleavage sequence for BACE1 inhibitors. 7th International Peptide Symposium, Singapore, 2015.12.
336. Chiyuki Awahara, Tadashi Tatsumi, Saki Furuta, Gen Shinjoh, Hiroyuki Konno, Kazuto Nosaka, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of retro-inverso-modified HTLV-1 protease inhibitor. 第 52 回ペプチド討論会 (平塚), 2015.11.
337. Masaki Wakabayashi, Daiki Takanuma, Yota Saito, Kenichi Akaji, Hiroyuki Konno: Synthesis and evaluation of serine and isoserine derivatives toward the SARS 3CL protease inhibitor. 第 52 回ペプチド討論会 (平塚), 2015.11.
338. Kenta Teruya, Yasunao Hattori, Yasuhiro Shimamoto, Kazuya Kobayashi, Akira Sanjoh, Eiki Yamashita, Atsushi Nakagawa, Kenichi Akaji: A chemometrical analysis of structures of SARS 3CL protease complexed with inhibitor. 第 52 回ペプチド討論会 (平塚), 2015.11.
339. 松本卓也、小島直人、大槻一文、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導体の THF 環部位の立体異性体の合成と活性評価. 第 33 回 メディシナルケミストリーシンポジウム (千葉), 2015.11.*28
340. Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Structure of constituents isolated from the flower buds of *Cananga odorata* and their bioactivities. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference, TAIWAN, 2015.10.

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

341. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Alkaloids with melanogenesis inhibitory effects from the leaves of *Murraya koenigii*. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference, TAIWAN, 2015.10.
342. Tomoe Ohta, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Research of biofunctional constituents from *Assam* tea flower. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference, TAIWAN, 2015.10.
343. 松本卓也、小島直人、大槻一文、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導体のTHF環部分の立体化学に関する構造活性相関研究. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.*28
344. 吉澤慎一郎、越野裕貴、足尾真実、岸一俊、照屋健太、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オキサードカリン型骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
345. 高田美波、山崎由香子、大江保奈美、八倉千夏、水口貴章、服部恭尚、小林数也、赤路健一: EGF レセプター細胞外領域の二量化阻害に着目した環状ペプチドの構造活性相関研究. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
346. 櫻井春華、大西康司、小松侑加、照屋健太、真壁秀文、小林数也、赤路健一、服部恭尚: mono-THF 型バンレイシ科アセトゲニン、*cis*-solamin A のピロリジンアナログの合成. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
347. 服部恭尚、嶋本康広、小林数也、照屋健太、三城明、中川敦史、山下栄樹、赤路健一: 基質ペプチド配列に基づくアザードカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成と阻害活性評価. 2015 年度 日本農芸化学会中部・関西支部合同大会 (富山), 2015.9.
348. 松本崇宏、中村誠宏、中嶋聡一、辻畑潤一郎、矢野真実子、伊藤謙、吉川雅之、松田久司: 中国産金針花から得られた成分の構造と神経分化促進様作用. 日本生薬学会第 62 回年会岐阜 (岐阜), 2015.9.
349. 深谷匡、中村誠宏、上田昂、中嶋聡一、黒岡希和子、平松慶子、笠香織、小川慶子、劉江、伊藤謙、吉川雅之、松田久司: 桂皮酸誘導体の一酸化窒素産生抑制作用. 日本生薬学会第 62 回年会岐阜 (岐阜), 2015.9.
350. 石橋道男、長尾静子、吉原大輔、千原良友、小島直人、藤本清秀、東原英二: PCK 多発性嚢胞腎ラットにおける乳頭部の傍集合管毛細血管の変化. 第23回嚢胞性腎疾患研究会 (川崎), 2015.9.
351. 森本幸太、小島直人、堀内正子、岩崎宏樹、山下正行: デュアルコア型アセトゲニン誘導体の合成研究. 第35回有機合成若手セミナー 明日の有機合成を担う人のために (京都), 2015.8.
352. 松本卓也、小島直人、大槻一文、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導体のTHF環部分の立体化学に関する構造活性相関研究. 第35回有機合成若手セミナー 明日の有機合成を担う人のために (京都), 2015.8.
353. Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Nami Yokota, Takahiro Matsumoto, Tomoe Ohta, Keiko Ogawa, Masashi Fukaya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Carbazole alkaloids from the leaves of *Murraya koenigii* and their inhibitory effects on melanogenesis. INAUGURAL SYMPOSIUM OF THE PHYTOCHEMICAL SOCIETY OF ASIA, Tokushima, 2015.8.

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

<研究成果の公開状況>(上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等

<既に実施しているもの>

1. 本プロジェクトのホームページを以下の URL で公開し、研究概要、活動報告、受賞等を掲載している。(http://labo.kyoto-phu.ac.jp/bunshi/index.html)
2. 本プロジェクトのキックオフシンポジウムを、2015年9月25日に開催した。報告書を大学のホームページに掲載している(https://www.kyoto-phu.ac.jp/education_research/project2/pdf/2017venture_report.pdf)。
3. 2016年度のAnnual Meetingを2016年9月28日に行い、報告書を大学のホームページに掲載している(https://www.kyoto-phu.ac.jp/education_research/project2/pdf/2016venture_report.pdf)。
4. 2017年度のAnnual Meetingを2017年9月1日に行い、報告書を大学のホームページに掲載している(https://www.kyoto-phu.ac.jp/education_research/project2/pdf/2017venture_report.pdf)。
5. 2018年度Annual Meetingを2018年9月13日に行い、報告書を大学のホームページに掲載している(https://www.kyoto-phu.ac.jp/education_research/project2/pdf/2018venture_report.pdf)。
6. 2019年度Annual Meetingを2020年3月13日に開催予定であったが、新型コロナウイルス感染の拡大防止のため中止し、報告書を大学のホームページに掲載している(https://www.kyoto-phu.ac.jp/education_research/project2/pdf/2019/venture_report.pdf)。

14 その他の研究成果等

総説

①シーズ発掘・バリデーショングループ

1. Susumu Kageyama, Hiromi Ii, Keiko Taniguchi, Shigehisa Kubota, Tetsuya Yoshida, Takahiro Isono, Tokuhiko Chano, Taku Yoshiya, Kosei Ito, Tatsuhiro Yoshiki, Akihiro Kawauchi, Susumu Nakata: Mechanisms of tumor growth inhibition by depletion of γ -glutamylcyclotransferase (GGCT): A novel molecular target for anticancer therapy. *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 2054 (2018).
2. Susumu Ohya, Hiroaki Kito: Ca^{2+} -activated K^+ channel KCa3.1 as a therapeutic target for immune disorders. *Biol. Pharm. Bull.*, 41, 1158-1163 (2018).
3. Susumu Ohya, Hiroaki Kito, Noriyuki Hatano, and Katsuhiko Muraki: Recent advances in therapeutic strategies that focus on the regulation of ion channel expression. *Pharmacol. Ther.*, 160, 11-43 (2016).
4. Eishi Ashihara, Tetsuya Takada, Taira Maekawa: Targeting the canonical Wnt/ β -catenin pathway in hematological malignancies. *Cancer Sci.*, 106: 665-671 (2015).

②合成・相互作用解析グループ

5. 矢野恒夫、長谷川功紀、角永悠一郎、樺山一哉、小田敬、上野悟史、蜂須賀暁子、平林容子、深瀬浩一: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その3). 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 50(12), 749-763 (2019).
6. 矢野恒夫、長谷川功紀、佐藤達彦、蜂須賀暁子、深瀬浩一、平林容子: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その2). 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス.

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

50(3), 122-134 (2019).

7. Kenichi Akaji: Advances in the design of ligands interacting with 3CL protease of novel coronaviruses causing infectious respiratory syndrome, *Amino Acids, Pept. Proteins*, 42, 228-279 (2018).
8. 赤路健一: ペプチド化学を基盤とするプロテアーゼ阻害剤の設計 酵素作用の阻害を利用した薬の設計. *化学と生物*, 56, 686-691 (2018).
9. 矢野恒夫, 長谷川功紀, 蜂須賀暁子, 深瀬浩一, 平林容子: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その 1). *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*. 49(10), 676-684 (2018).

本プロジェクトに参画する教員・大学院生・学部生が、各学会等において受賞している。

1. **The 61st Annual Meeting of the American Society of Hematology ASH Abstract Achievement Award**
Emi Soma, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Asako Yamayoshi, Eishi Ashihara. "Development of exosome-capturing antibody-conjugated nucleic acid medicines targeting multiple myeloma cells."*45
2. **次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 優秀ポスター賞**
清水大器, 友金眞光, 宮下雅亜, 清水輝記, 佐野友亮, 戸田侑紀, 細木誠之, 田中義正, 芦原英司. プロドラッグ化ビスホスホネート PTA が $\gamma\delta$ T 細胞の増幅を促進し、非小細胞肺癌細胞に対する抗腫瘍効果を増強する.*48
3. **第 44 回日本骨髄腫学会学術集会 優秀ポスター賞**
Yuki Toda, Sayaka Nakayama, Shigekuni Hosogi, and Eishi Ashihara. "Increased exosome secretion is a way of hypoxic adaptation in multiple myeloma cells."*52
4. **The 10th KSP-JSP-CSP joint symposium (Korea) Best Poster Award**
Mamiko Yano, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Seikou Nakamura, Hisashi Matsuda. "Accelerative Effect on Neurite Outgrowth of Aporphine type Alkaloids from *Nelumbo nucifera* and their Blood Brain Barrier Permeability."
5. **第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 優秀ポスター賞**
今井麻友香, 高嶋紗希, 原田真規, 田村雄太, 利光博至, 田中結衣, 松村優太, 山崎莉葉, 竹下怜汰, 岩崎宏樹, 山下正行, 小島直人. 不斉アルキニル化反応を鍵反応とするオキサゾリジノン誘導体のワンポット合成とその絶対配置の決定.
6. **第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 優秀ポスター賞**
矢野真実子, 中嶋聡一, 尾田好美, 中村誠宏, 松田久司. 指甲花花部および枝部の特徴成分含量の比較と神経様細胞分化促進作用.
7. **第 22 回天然薬物の開発と応用シンポジウム 優秀発表賞**
笠香織, 中村誠宏, 中田葵, 松本朋子, 中嶋聡一, 小川慶子, 深谷匡, 月岡淳子, 松田久司. ショウガ主要成分 [6]-gingerol の絶対立体構造の違いによる一酸化窒素産生抑制作用の検討.
8. **日本ペプチド学会 平成 29 年度「学会賞」**
赤路健一. ペプチド化学に基づく蛋白質機能調節分子の創製.
9. **第 7 回食品薬学シンポジウム 優秀発表賞**
尾田好美, 中嶋聡一, 中村誠宏, 矢野真実子, 太田智絵, 松田久司. モリンガの機能性開拓研究ーアシル化グレリンの分泌調節作用および神経細胞様分化促進作用ー.
10. **次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017 優秀ポスター発表賞**
磯村拳一, 若林亮介, 服部恭尚, 嶋本康広, 小林数也, 戸田侑紀, 高田和幸, 赤路健一, 芦原英司. 新規 Wnt/ β -カテニン経路阻害剤は TGF- β 刺激による A549 ヒト非小

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

細胞肺がん細胞株の遊走を抑制する。^{*5}

11. The 58th Annual Meeting of American Society of Hematology ASH Abstract Achievement Award

Natsuki Imayoshi, Makoto Yoshioka, Susumu Nakata, Jay Chauhan, Yoko Kado, Yuki Toda, Steven Fletcher, Jeffrey Strovel, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara. "A novel BRD4 inhibitor CA2 suppresses MM cell proliferation in an orthotopic myeloma mouse model."^{*9}

12. The 4th International Symposium of Training Plan for Oncology Professionals MERIT AWARD

Yuki Toda, Kenichi Akaji, Eishi Ashihara. "The Challenge to Cancer-Targeting using Exosomes."^{*12}

13. 第 65 回日本薬学会近畿支部大会 優秀ポスター賞

松本卓也、小島直人、大槻一文、岩崎宏樹、山下正行. アセトゲニンチオフェン誘導体の THF 環部分の立体化学に関する構造活性相関研究。^{*28}

14. 第 7 回食品薬学シンポジウム 優秀発表賞

深谷匡、中村誠宏、松本朋子、林雅子、中川涼太、中嶋聡一、松田久司. 伝承薬物を素材とした硫黄原子を含む生体機能性成分の探索。^{*26}

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

15 「選定時」及び「中間評価時」に付された留意事項及び対応

<「選定時」に付された留意事項>

- 大学発創薬ベンチャーの先駆けとなってほしい。

<「選定時」に付された留意事項への対応>

1年目から2年目にかけて、各研究者が所有するシーズを洗い出し、2年目より創薬開発に向けて化合物シーズと評価系シーズの統合を図り、5年間精力的に検討を続けてきたが、5年間でベンチャー立ち上げに至ることはなかった。しかし、特許出願が2件あり、また2件の研究シーズで特許出願を今年中に行える状況である。さらに、特許出願を行った2つの化合物群のうち、1つは標的候補分子が定まっており、もう1つも探索中であり、これらの標的が分かれば、さらに有効な化合物の合成に進められる。これらで特許申請を行う予定である。その間に創薬ベンチャー設立のための準備に入る。今後3年以内にベンチャー設立を目指す。

<「中間評価時」に付された留意事項>

- 現時点で基盤となる特許の申請が未達である。出来る限り早い時期に特許申請のめどを立て、それを基盤として周辺特許を取得するためのロードマップを作成し、大学発ベンチャーの基盤作りができることを期待する。
- 特許に関しては3件の申請可能なデータが得られていることは評価に値する。ただ特許を出すタイミング等に関しては、今後の導出を目指す企業にとって都合の良いものである必要があるので、信頼できる企業に、出す時期や内容に関して相談されることが望ましい。

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

ご指摘をいただいてから2年が経過するも、特許出願が2件のみである。これら以外の化合物群の作用や新規性は、多くのデータを確保できているが、特許申請には至っていない。今後さらに継続し、特許を取得する所存である。シーズとしては5件あり、さらに個々人の研究成果も上がっており、これらからも特許取得を目指せるシーズを一丸となって検討する。これらすべてのシーズを用いて、ベンチャー設立が望ましいものと企業導出が望ましいものを熟考し進める。3年以内にはベンチャー設立および企業導出を実現する。

法人番号	261006
プロジェクト番号	S1511024L

16

(千円)

年度・区分	支出額	内 訳						備考
		法人負担	私学助成	共同研究機関負担	受託研究等	寄付金	その他()	
平成27年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	5,346	1,782	3,564				
	研究費	41,181	21,539	19,642				
平成28年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	37,199	21,214	15,985				
平成29年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	30,781	17,132	13,649				
平成30年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	32,260	18,385	13,875				
平成31年度	施設	0						
	装置	0						
	設備	0						
	研究費	20,787	10,998	9,789				
総額	施設	0	0	0	0	0	0	0
	装置	0	0	0	0	0	0	0
	設備	5,346	1,782	3,564	0	0	0	0
	研究費	162,208	89,268	72,940	0	0	0	0
総計	167,554	91,050	76,504	0	0	0	0	

法人番号	261006
------	--------

17

《施設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。)(千円)

施設の名	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
愛学館	平成16年度	1,455㎡	35	119	217,309	108,654	私学助成
躬行館	平成21年度	1,176㎡	24	58	—	—	
S棟	昭和63年度	1,007㎡	33	20	—	—	
創業科学フロンティア研究センター	平成11年度	2,312㎡	27	171			
バイオサイエンス研究センター	平成25年度	781㎡	15	106			

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積

0 ㎡

《装置・設備》(私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。)(千円)

装置・設備の名称	整備年度	型番	台数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)							
IVIS Lumina XRⅢシステム	平成25年度	Lumina XRⅢ	1	1081 h	34,205	17,102	私学助成
X線照射装置	平成25年度	MultiRad 160型	1	153 h	15,831	7,915	私学助成
共焦点レーザー顕微鏡システム	平成28年度	LSM800	1	5,376 h	30,314	15,000	私学助成
LSRFortessa	平成27年度	LSRFortessa X-20	1	2,988 h	27,977	13,988	私学助成
細胞イメージングシステム	平成25年度	Operetta	1	2,069 h	41,902	19,950	私学助成
FT-NMR装置	平成25年度	JNM-ECS400	1	7,879 h	23,514	11,757	私学助成
500MHzNMR分子構造設計システム	平成6年度	JNM-LA500	1	20,676 h			私学助成
大気中イオン化/IT-TOF型質量分析装置	平成26年度	LCMS-IT-TOF	1	1,112 h	48,006	21,165	私学助成
生理活性化合物質量解析システム	平成5年度	JMS-SX102A	1	484 h			私学助成
シングル四重極LC/MSシステム	平成27年度	LC/MS6130B	1	2,423 h	10,147	5,074	私学助成
プロテオミクス分子リガンド質量分子構造解析システム	平成17年度	JNM-ECA600K型	1	35,168 h	92,400	46,200	私学助成
ガスクロマトグラフ質量分析計	平成25年度	JMS-Gcmate II	1	503 h	25,000	16,666	私学助成
(研究設備)							
GloMaxDiscoverySystem	平成27年度	GM3000	1	1526 h	5,346	3,564	私学助成
共焦点レーザー顕微鏡システム	平成18年度	LSM510META	1	2,233 h	39,999	26,666	私学助成
FACS Calibur	平成13年度	FACS Calibur HG	1	1,832 h			私学助成
BD FACS Jazz	平成24年度	BD FACS Jazz	1	1,379 h	22,419	22,419	私学助成
超伝導デジタルNMR装置	平成26年度	AVANCE IIIHD	1	7,415 h	19,711	0	
核磁気共鳴装置	平成30年度	AVAVCE NEO500	1	1,510 h	56,160	26,841	私学助成
高感度MALDI TOF/MSシステム	平成24年度	Bruker microflex	1	820 h	25,200	25,200	私学助成
フーリエ変換赤外線分光光度計	平成28年度	FT/IR4600	1	351 h	2,235	0	
円二色性分散計	平成26年度	J-1500-450STG	1	802 h	17,434	0	
(情報処理関係設備)							
				h			
				h			
				h			
				h			

18 研究費の支出状況 テーマ1

(千円)

年度	平成	27	年度	積算内訳	
小科目	支出額		主な用途	金額	主な内容
教育研究経費支出					
消耗品費	---	---	---	---	---
光熱水費	---	---	---	---	---
通信運搬費	---	---	---	---	---
印刷製本費	---	---	---	---	---
旅費交通費	---	253	学会及び研究会参加	253	第89回日本薬理学会年会等
報酬・委託料	---	---	---	---	---
(研究費)	13,825	---	---	13,825	実験用具(8,071) 試薬(4,336) その他(1,417)
計	14,078	---	---	14,078	---
アルバイト関係支出					
人件費支出 (兼務職員)	---	---	---	---	---
教育研究経費支出	---	---	---	---	---
計	0	---	---	---	---
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)					
教育研究用機器備品	8,337	---	---	8,337	マイクロチューブ用サーモシエーカー他
図書	---	0	---	---	---
計	8,337	---	---	8,337	---
研究スタッフ関係支出					
リサーチ・アシスタント	---	---	---	---	---
ポスト・ドクター	---	---	---	---	---
研究支援推進経費	---	---	---	---	---
計	0	---	---	---	---

法人番号	261006
------	--------

研究費の支出状況 テーマ2 (千円)

年度	平成 27 年度			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な用途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	-----	-----	-----	-----
光熱水費	-----	-----	-----	-----
通信運搬費	-----	-----	-----	-----
印刷製本費	-----	-----	-----	-----
旅費交通費	190	学会及び研究会参加	190	第65回日本薬学会近畿支部総会・大会等
報酬・委託料 (研究費)	12,681	-----	12,681	実験用具(4,240) 試薬(5,583) その他(2,857)
計	12,871	-----	12,871	-----
アルバイト関係支出				
人件費支出 (兼務職員)	-----	-----	-----	-----
教育研究経費支出 計	0	-----	-----	-----
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	5,891	-----	5,891	ロータリーエバポレーター他
図書	0	-----	-----	-----
計	5,891	-----	5,891	-----
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント	-----	-----	-----	-----
ポスト・ドクター	-----	-----	-----	-----
研究支援推進経費	-----	-----	-----	-----
計	0	-----	-----	-----

研究費の支出状況 テーマ1 (千円)

年度	平成 28 年度			
小科目	支出額	積算内訳		
		主な用途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	-----	-----	-----	-----
光熱水費	-----	-----	-----	-----
通信運搬費	-----	-----	-----	-----
印刷製本費	-----	-----	-----	-----
旅費交通費	191	学会及び研究会参加	191	第39回日本分子生物学会年会等
報酬・委託料 (研究費)	15,840	-----	15,840	実験用具(9,491) 試薬(4,649) その他(1,699)
計	16,031	-----	16,031	-----
アルバイト関係支出				
人件費支出 (兼務職員)	-----	-----	-----	-----
教育研究経費支出 計	0	-----	-----	-----
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	3,587	-----	3,587	卓上型パーソナルユース細胞培養装置他
図書	0	-----	-----	-----
計	3,587	-----	3,587	-----
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント	-----	-----	-----	-----
ポスト・ドクター	-----	-----	-----	-----
研究支援推進経費	-----	-----	-----	-----
計	0	-----	-----	-----

法人番号	261006
------	--------

研究費の支出状況 テーマ2 (千円)

年度	平成 28 年度		積算内訳	
小科目	支出額	主な用途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	-----	-----	-----	-----
光熱水費	-----	-----	-----	-----
通信運搬費	-----	-----	-----	-----
印刷製本費	-----	-----	-----	-----
旅費交通費	277	学会及び研究会参加	277	第20回日本がん分子標的治療学会学術集会等
報酬・委託料 (研究費)	13,127	-----	13,127	実験用具(3,912) 試薬(4,790) その他(4,424)
計	13,404	-----	13,404	-----
アルバイト関係支出				
人件費支出 (兼務職員)	-----	-----	-----	-----
教育研究経費支出 計	0	-----	-----	-----
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	4,173	-----	4,173	ウエスタンブロットイメージングシステム他
図書	0	-----	-----	-----
計	4,173	-----	4,173	-----
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント	-----	-----	-----	-----
ポスト・ドクター	-----	-----	-----	-----
研究支援推進経費	-----	-----	-----	-----
計	0	-----	-----	-----

研究費の支出状況 テーマ1 (千円)

年度	平成 29 年度		積算内訳	
小科目	支出額	主な用途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	-----	-----	-----	-----
光熱水費	-----	-----	-----	-----
通信運搬費	-----	-----	-----	-----
印刷製本費	-----	-----	-----	-----
旅費交通費	153	学会及び研究会参加	153	第21回がん分子標的治療学会学術集会等
報酬・委託料 (研究費)	11,070	-----	11,070	実験用具(7,010) 試薬(2,507) その他(1,553)
計	11,223	-----	11,223	-----
アルバイト関係支出				
人件費支出 (兼務職員)	-----	-----	-----	-----
教育研究経費支出 計	0	-----	-----	-----
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	2,342	-----	2,342	リアルタイムPCR装置他
図書	0	-----	-----	-----
計	2,342	-----	2,342	-----
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント	-----	-----	-----	-----
ポスト・ドクター	-----	-----	-----	-----
研究支援推進経費	-----	-----	-----	-----
計	0	-----	-----	-----

法人番号	261006
------	--------

研究費の支出状況 テーマ2 (千円)

年度	平成 29 年度		積算内訳	
小科目	支出額	主な用途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費				
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	124	学会及び研究会参加	124	第67回日本薬学会近畿支部総会等
報酬・委託料				
(研究費)	14,040		14,040	実験用具(5,746) 試薬(6,389) その他(1,904)
計	14,164		14,164	
アルバイト関係支出				
人件費支出 (兼務職員)				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	3,048		3,048	チューブミキサー他
図書	0			
計	3,048		3,048	
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

研究費の支出状況 テーマ1 (千円)

年度	平成 30 年度		積算内訳	
小科目	支出額	主な用途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費				
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費				
報酬・委託料				
(研究費)	5,474		5,474	実験用具(1,779) 試薬(2,699) その他(996)
計	5,474		5,474	
アルバイト関係支出				
人件費支出 (兼務職員)				
教育研究経費支出				
計	0			
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	6,092		6,092	蒸留高純粋製造装置他
図書				
計	6,092		6,092	
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	261006
------	--------

研究費の支出状況 テーマ2 (千円)

年度	平成 30 年度		積算内訳	
小科目	支出額	主な用途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費				
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	87		87	第68回日本薬学会近畿支部総会等
報酬・委託料				
(研究費)	17,195		17,195	実験用具(5,886) 試薬(8,652) その他(2,657)
計	17,282		17,282	
ア ル パ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	3,411		3,411	多本架冷却遠心機他
図書				
計	3,411		3,411	
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

研究費の支出状況 テーマ1 (千円)

年度	平成 31 年度		積算内訳	
小科目	支出額	主な用途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費				
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	42		42	第78回日本癌学会学術総会 第44回日本骨髄腫学会学術集会
報酬・委託料				
(研究費)	8,283		8,283	実験用具(4842) 試薬(2497) その他(943)
計	8,325		8,325	
ア ル パ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	0		0	
図書				
計	0		0	
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

研究費の支出状況 テーマ2 (千円)

年度	平成 31 年度		積算内訳	
小科目	支出額	主な用途	金額	主な内容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消耗品費				
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費				
旅費交通費	0		0	
報酬・委託料				
(研究費)	11,646		11,646	実験用具(5126) 試薬(5277) その他(1242)
計	11,646		11,646	
ア ル パ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)				
教育研究経費支出				
計	0			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備品	815		815	薬品冷蔵ショーケース他
図書				
計	815		815	
研 究 ス タ ッ プ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

研究報告書

Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製

病態生理学分野 芦原英司
共同利用機器センター 服部恭尚
薬品化学分野 赤路健一

【はじめに】

医学・薬学の進歩により、多くの抗がん薬やがん分子標的治療薬が創製されてはいるものの、がんは 1970 年代後半より本邦における死因の第一位のままであり、十分な治療対策が取られているとは言い難く、新たな有効ながん分子標的治療薬の開発は、がんの根治を目指す上で喫緊の課題である。

Wnt/ β -catenin 経路は線虫、ショウジョウバエ、マウスおよびヒトに至るまで、進化上様々な動物種で保存されているシグナル経路で、初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などのいくつもの生命現象に重要な働きをしている。リガンドとなる Wnt タンパク質が Frizzled 受容体と low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) と LRP6 からなる共受容体に結合することでシグナル伝達を開始される。本経路のシグナル伝達に主要な分子である β -catenin が核内移行し、T cell factor/lymphoid enhancer factor (TCF/LEF) ファミリー転写因子と結合し、その結果 MYC(c-Myc)、CCND1 (Cyclin D1)、SURVIVIN (Survivin) 等の標的遺伝子の転写が生じ、タンパク質に翻訳され、種々の細胞機能が発揮される。また本経路は、がん細胞の増殖にも関わり、近年多くのがん幹細胞の増殖・維持にも関与することが明らかとなり、がん治療のターゲットとして注目されている。

そこで本プロジェクトチームでは、ルシフェラーゼ (Luc) レポーターアッセイによる TCF 活性評価系を用い、本学が所有する化合物ライブラリーの中から Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物のスクリーニングを開始した。その結果発掘したヒット化合物を基に構造活性相関解析を行うとともに、これらの化合物の各種ヒトがん細胞株に対する抗腫瘍効果を検討した。

【方法と結果】

本学所有の化合物ライブラリーからの候補化合物選定にあたっては、米国で Wnt/ β -catenin 経路阻害剤として治験進行中の ICG-001 と既に報告されている SARS (重症急性呼吸器症候群) 3CL (キモトリプシン様) プロテアーゼ阻害剤との構造類似性に着目した (図 1)。すなわち、中心骨格に相当する A part (実線枠) と B part (破線枠)、C part (点線枠)、D part (長破線枠) の位置関係が良い一致を示している点である。

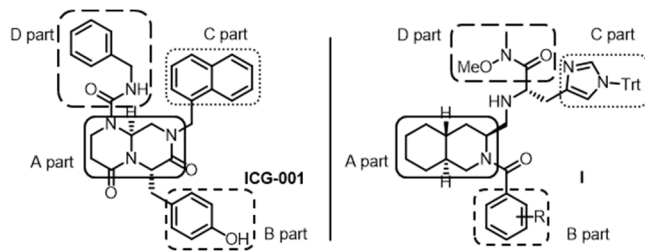
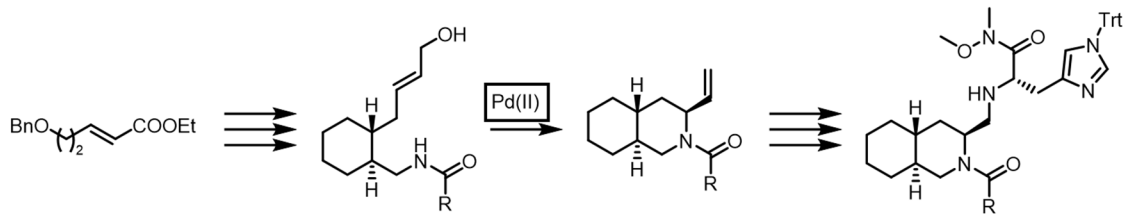


図 1: ファーストスクリーニング化合物群 I

そこで、下に示した合成経路によって得られる SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤合成中間体を一つの化合物群として(スキーム 1)、Luc レポーターアッセイを指標にスクリーニングに供した。



スキーム 1: 化合物群 I の合成経路概略

初めにスクリーニングに供した化合物群 I-1 の構造を図 2 に示した。

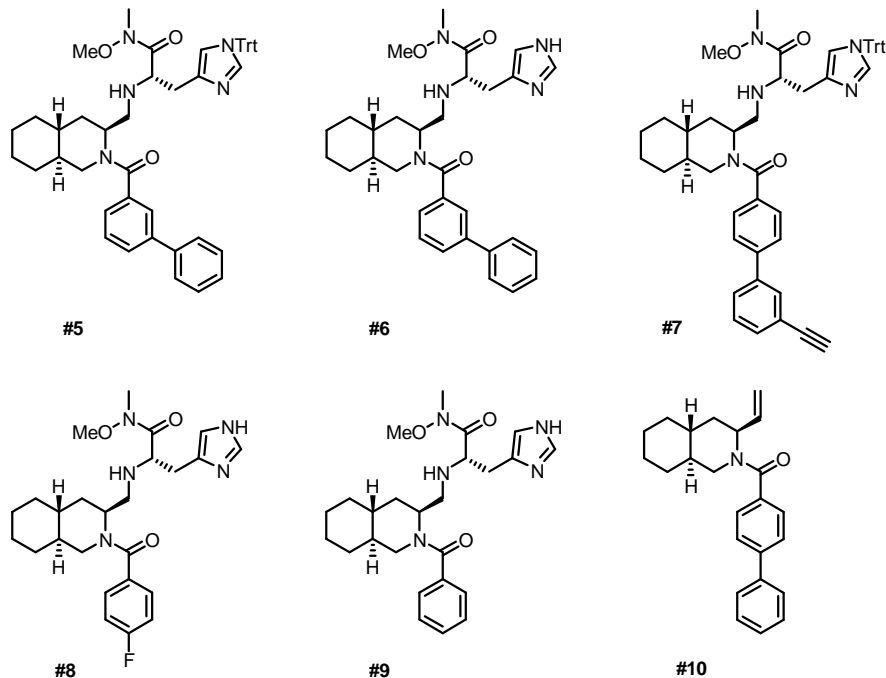


図 2: 化合物群 I-1 の構造

化合物群 I-1 の Wnt 経路阻害を評価するため、まず TCF 活性により Luc 発光量が変化

する HEK293 細胞 (TOP 細胞) を作製した。M50 Super 8x TOPFlash ベクターに Hygromycin 耐性遺伝子の塩基配列部分を挿入し、これを HEK293 細胞に FuGENE® HD Transfection Reagent を用いて導入した後、Hygromycin 入りの D-MEM Low-Glucose (L-グルタミン、フェノールレッド含有) で選択培養を行い、クローン化した TOP 細胞を作製した。

Wnt3A 細胞が分泌する Wnt3A タンパク質を含む Wnt 上清を TOP 細胞に添加し、活性化した TOP 細胞に化合物を加え 96 穴プレートで 24 時間培養後、Luc 活性の変化にて、TCF 活性変化を評価した。なお、既存で臨床試験が行われている Wnt 阻害化合物である ICG-001 (PRI-724) を対照とした。まず、化合物群 I-1 (#5~#10) について活性評価を行った。その結果、化合物#5 に Wnt/ β -catenin 経路阻害活性を認めた (図 3)。

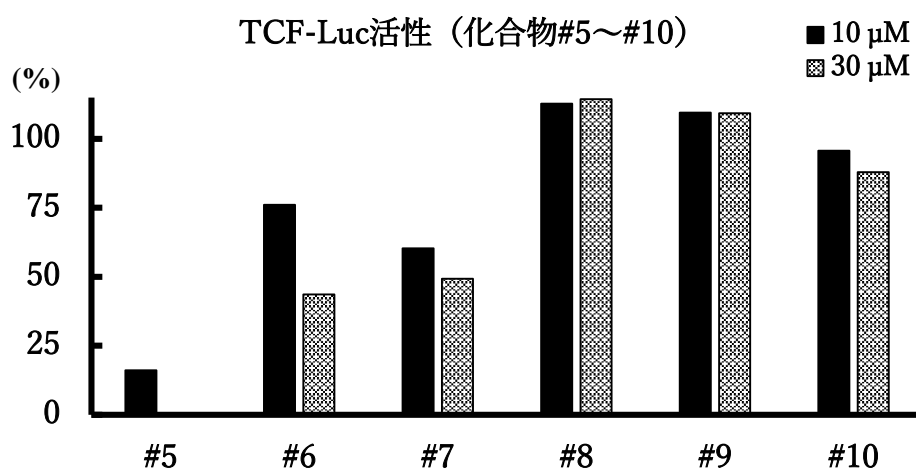


図 3: 化合物群 I-1 による TCF 活性変化

(注) 化合物無処置での TOP 細胞の Luc 発光量を 100% とし、それぞれの化合物添加時の Luc 発光量の % 表示を示す。

そこで、Wnt/ β -catenin 経路阻害活性を認めた化合物#5 が、腫瘍細胞に対して抗腫瘍効果を有するか、を検証するため、多発性骨髄腫 (MM) 細胞株に対する抗腫瘍効果を検討した。化合物#5 は容量依存性に MM 細胞の増殖を抑制した (図 4A)。IC₅₀ 値は ICG-001 の IC₅₀ 値より小さく、より強力に増殖を抑制することがわかった。次に、Wnt/ β -catenin 経路の中間分子である CTNNB1 (β -catenin) の mRNA およびタンパク質発現変化を検討したところ、タンパク質発現は減少させた (図 4B) が、mRNA 発現には変化を認めなかった。また下流遺伝子である MYC、CCND1、SURVIVIN の mRNA 発現は、化合物#5 により減少した。さらに、化合物#5 は細胞周期を G1 期で停止させ、FCM 法により早期および晩期アポトーシスの細胞集団 (それぞれ Annexin V 陽性/PI 陽性分画、Annexin V 陽性/PI 陰性分画) の増加を認めた (図 4C)。以上のことから、Wnt/ β -catenin 経路阻害活性を有する化合物#5 は β -catenin タンパク質発現を減少させ、その結果 Wnt/ β -catenin 経路下流分子の転写を抑制し、細胞周

期を G1 期で停止させ、アポトーシスを誘導することで、MM 細胞の増殖を抑制することが示された。

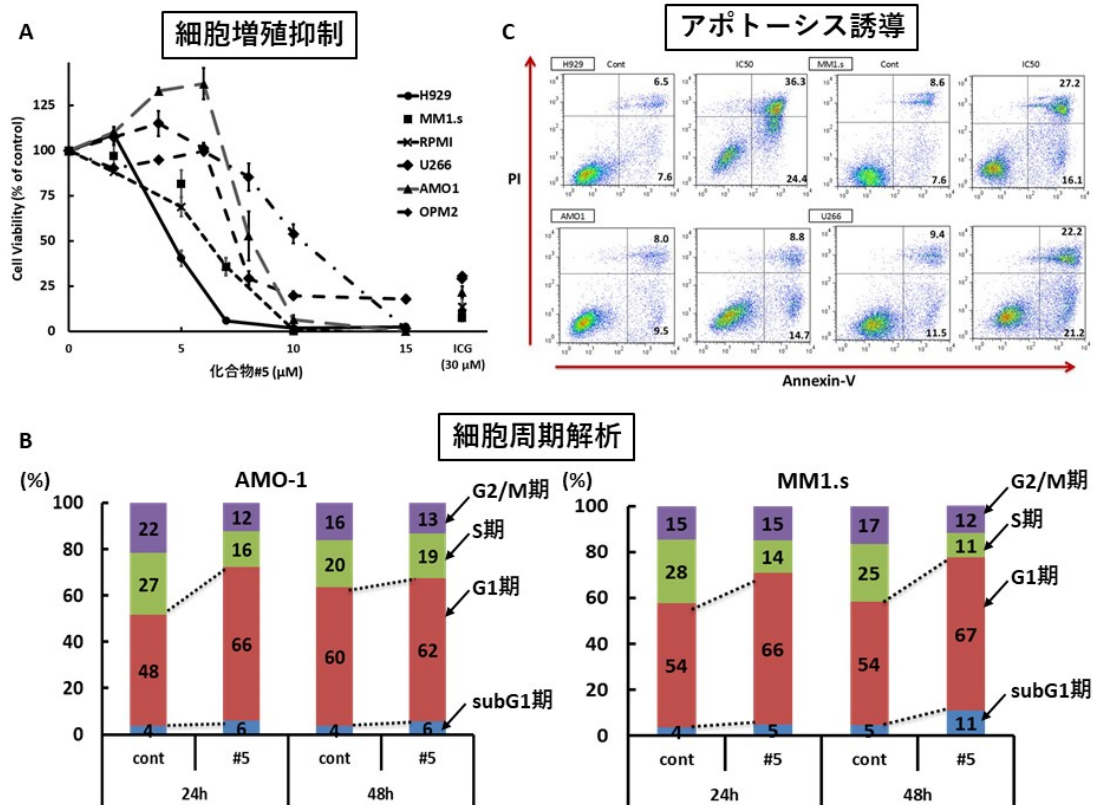


図 4: 化合物#5 による多発性骨髄腫細胞に対する増殖抑制効果

以上の結果から、SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤合成中間体の様々な構造を有する化合物をスクリーニングに供することとした(図 5)。

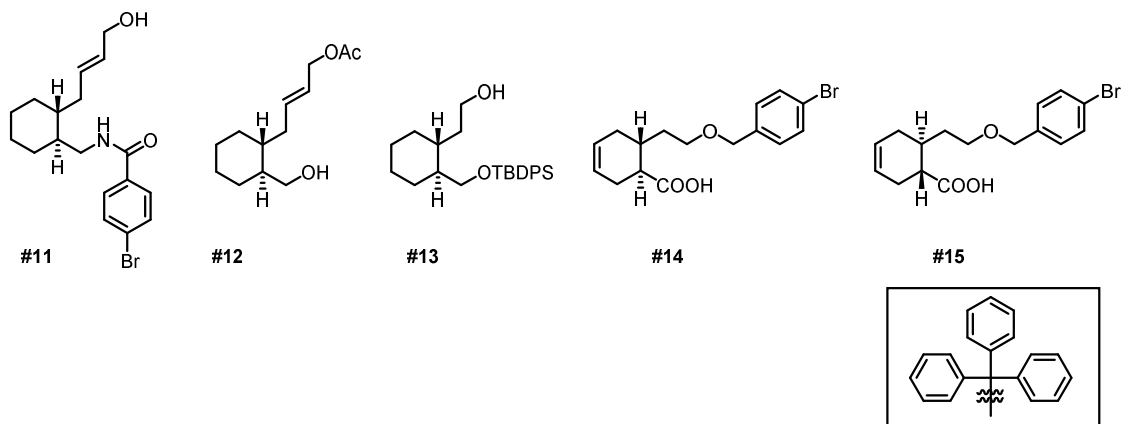


図 5: 化合物群 I-2 の構造

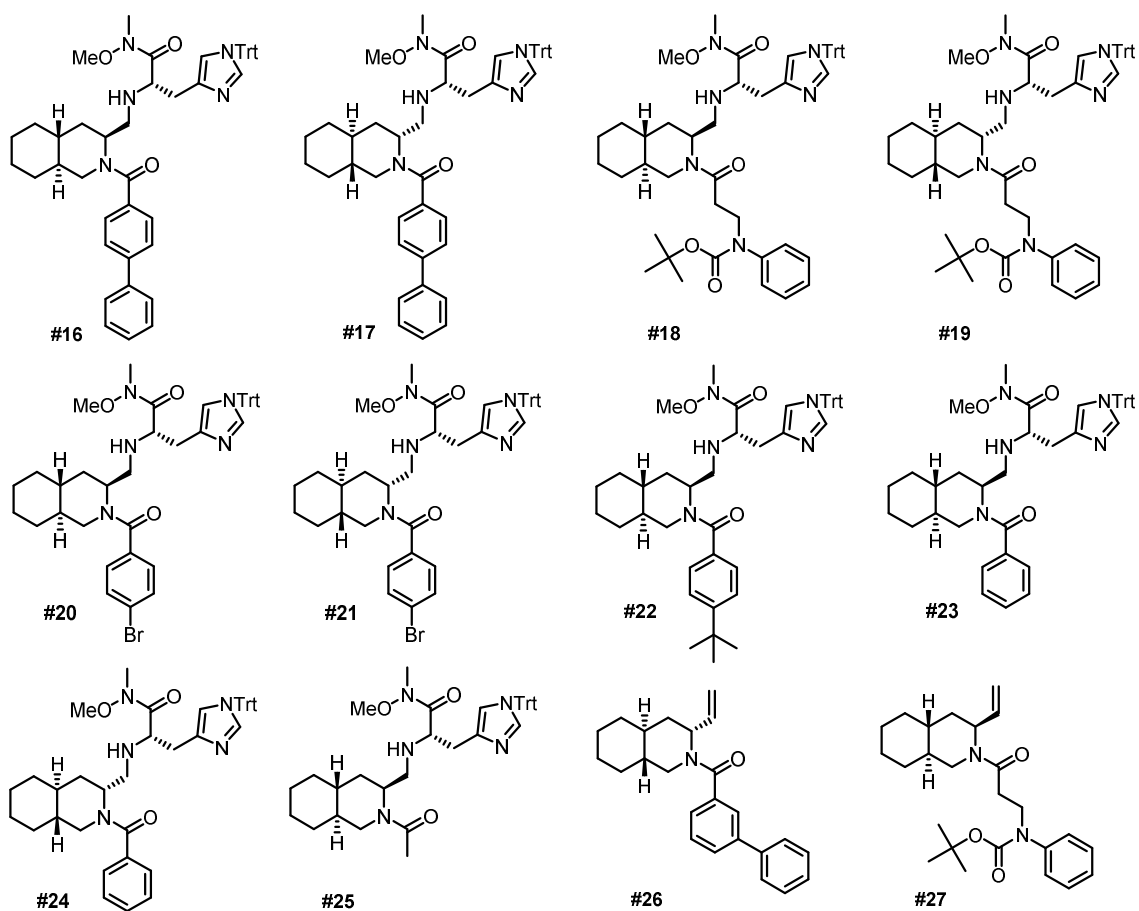
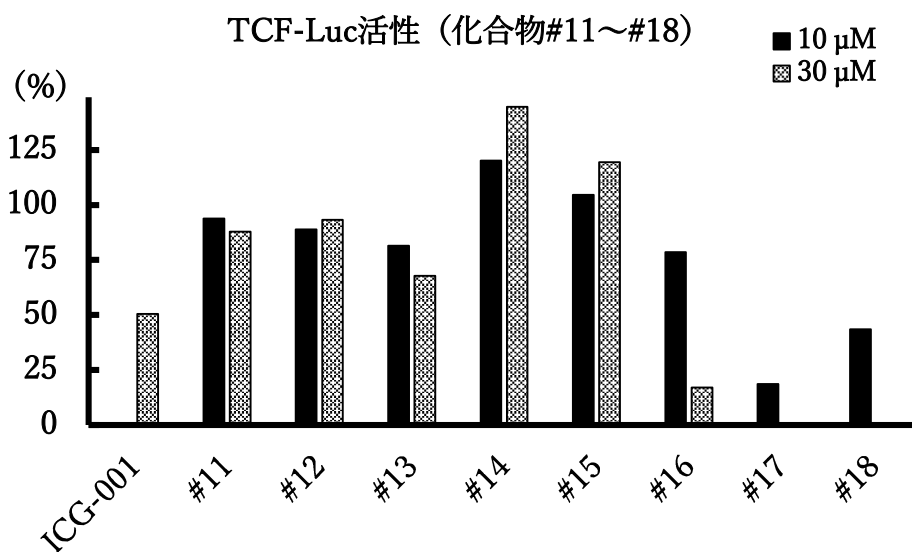


図 5: 化合物群 I-2 の構造 (続き)

同系統の化合物群 I-2(#11~#27)の活性評価を行ったところ、化合物#16~#25 が ICG-001 よりも強い活性を示した(図 6)。



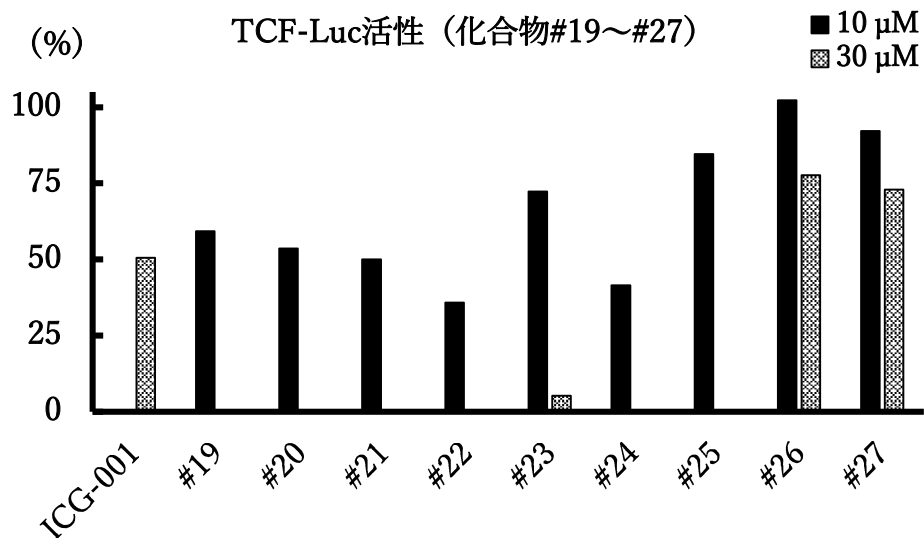


図 6: 化合物群 I-2 による TCF 活性変化

(注) 化合物無処置での TOP 細胞の Luc 発光量を 100%とし、それぞれの化合物添加時の Luc 発光量の%表示を示す。

この結果から、以下のことが判明した。

1. Trt 基は活性発現に必要 (#5 vs #6)。
2. ヒスチジン由来部分も活性発現に必要 (#5 vs #26)。
3. アミド置換基はベンゼン環 2 つまでは許容されるが、更に置換基を導入すると活性がなくなる (#7 vs #16)。また、*t*-Bu 基のような立体的に嵩高い置換基の導入は許容される (#16 vs #18、#22)。
4. 中心骨格上の立体化学は活性発現に影響を与えない (#16 vs #17)。

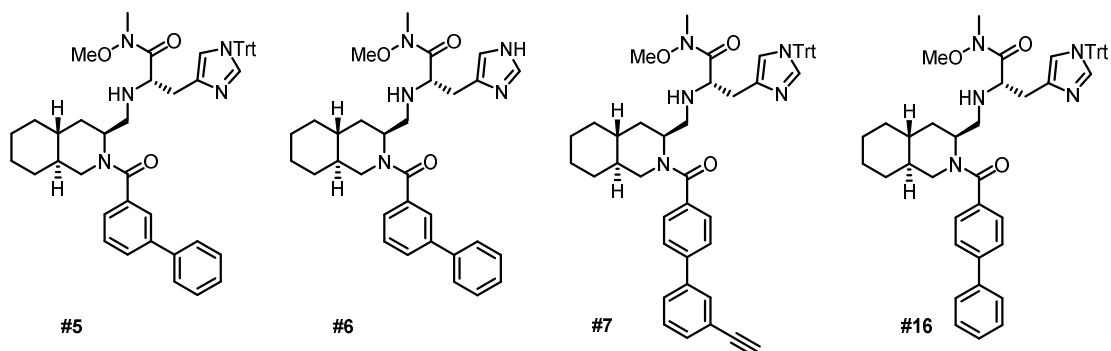


図 7: 化合物 I 群の構造(抜粋)

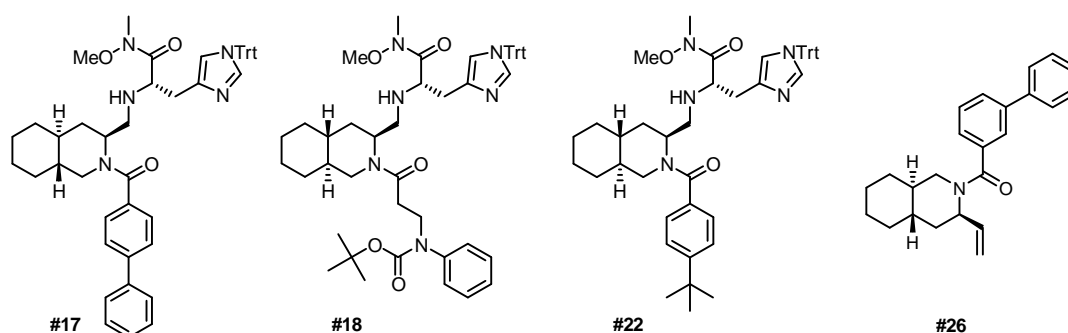


図 7: 化合物 I 群の構造(抜粋、続き)

活性を示した化合物(#5、#16~#25)はその合成に多段階(22 段階、P2 スキーム 1)を要し合成困難であることから、上記の構造活性相関結果をもとに合成容易な化合物群 II の設計を行うこととした。すなわち、構築が困難なデカヒドロイソキノリン部分(図 1、A part)を試薬として入手可能な種々のアミノ酸(テトラヒドイソキノリンやピペリジン、ピロリジンなどの縮環系または単環系)とすることで合成工程数の大幅な短縮を試みた(図 8 および化合物群 II-1、化合物#28、#31~#42、#55、#56、図 9A)。これらの化合物の合成を行い、Luc レポーターアッセイに供することとした(図 10)。

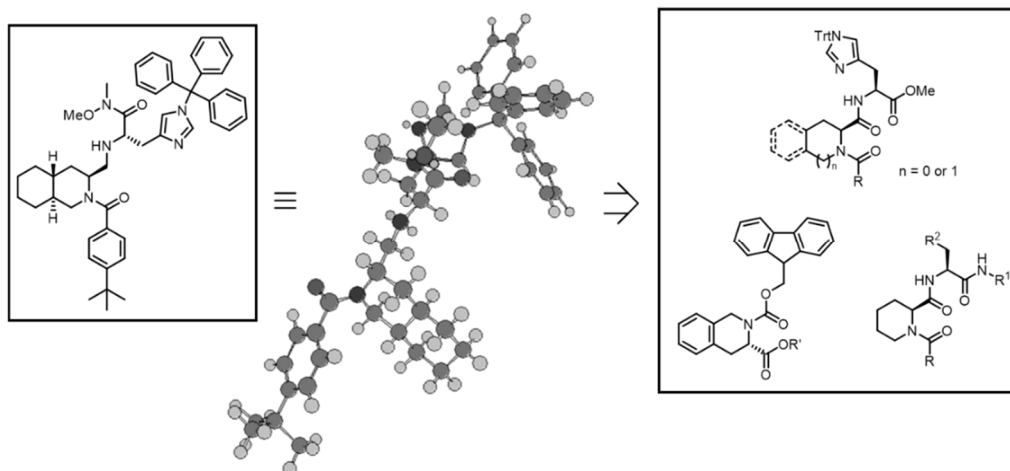
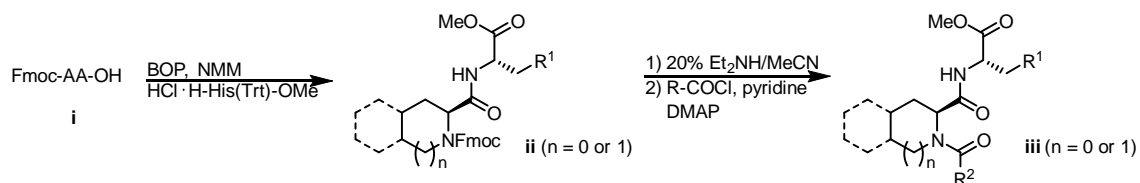


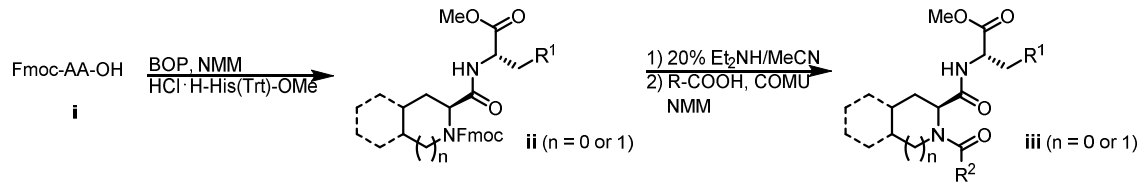
図 8: 化合物群 II の設計

化合物群 II-1 については、以下のいずれかの合成経路によって合成を行った(スキーム 2)。

Method A



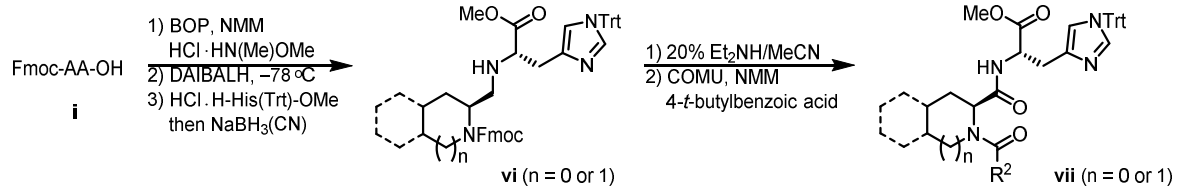
Method B



Method C



Method D



スキーム 2: 化合物群 II の合成経路

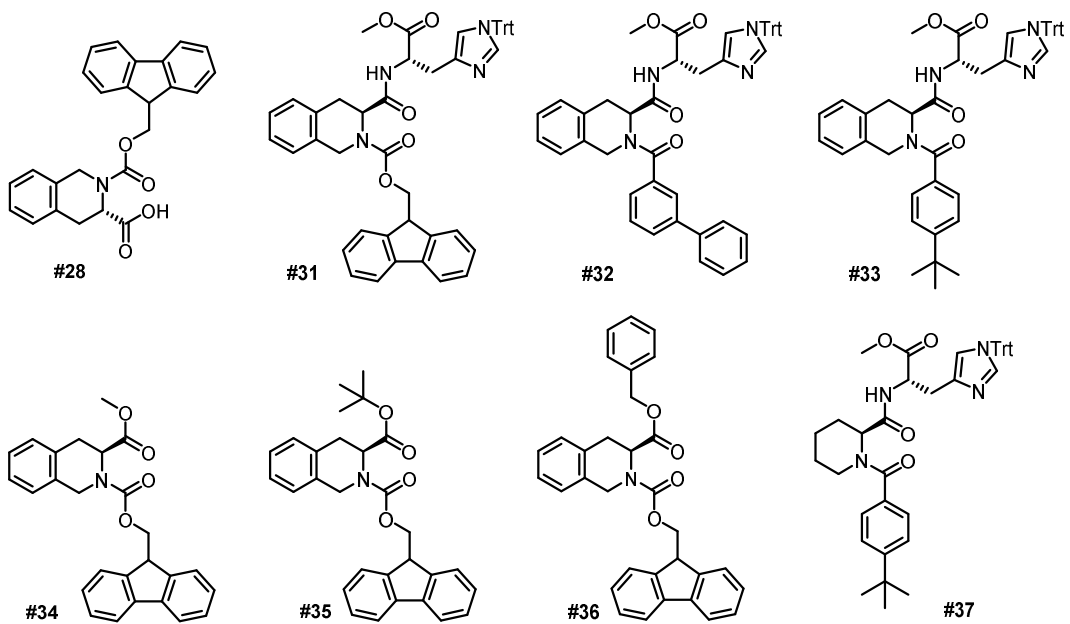


図 9A: 化合物群 II-1 の構造

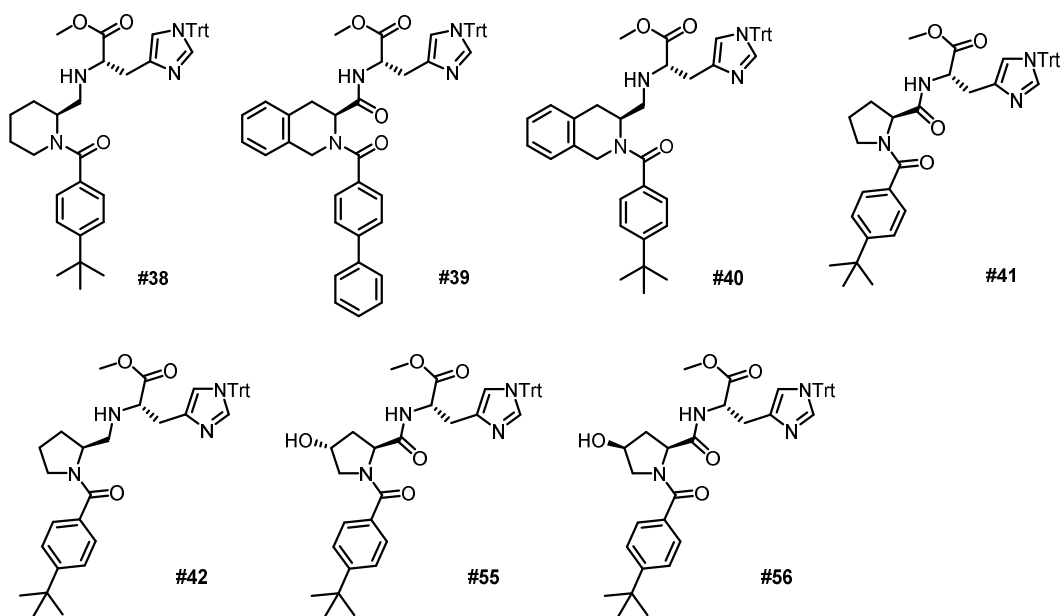


図 9A: 化合物群 II-1 の構造 (続き)

さらに、ヒスチジン部分(図 1、C および D part)を他のアミノ酸誘導体に置換した際に阻害活性に及ぼす影響を調べることを目的に化合物群 II の次シリーズの設計も行うこととした。C part については、Trt 基が活性発現に重要であったことから、芳香環の数と種類を変えることとした。また、D part についても芳香環を導入することで活性の向上を期待した。これらの化合物も合成を行い、Luc レポーターアッセイに供することとした(化合物群 II-2、化合物#46~#54、図 9B)。

化合物群 II-2 については、スキーム 2 の Method A または Method B を用いて合成を行った。

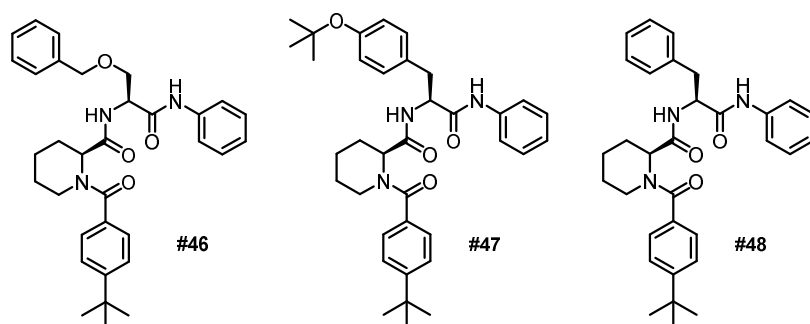


図 9B: 化合物群 II-2 の構造

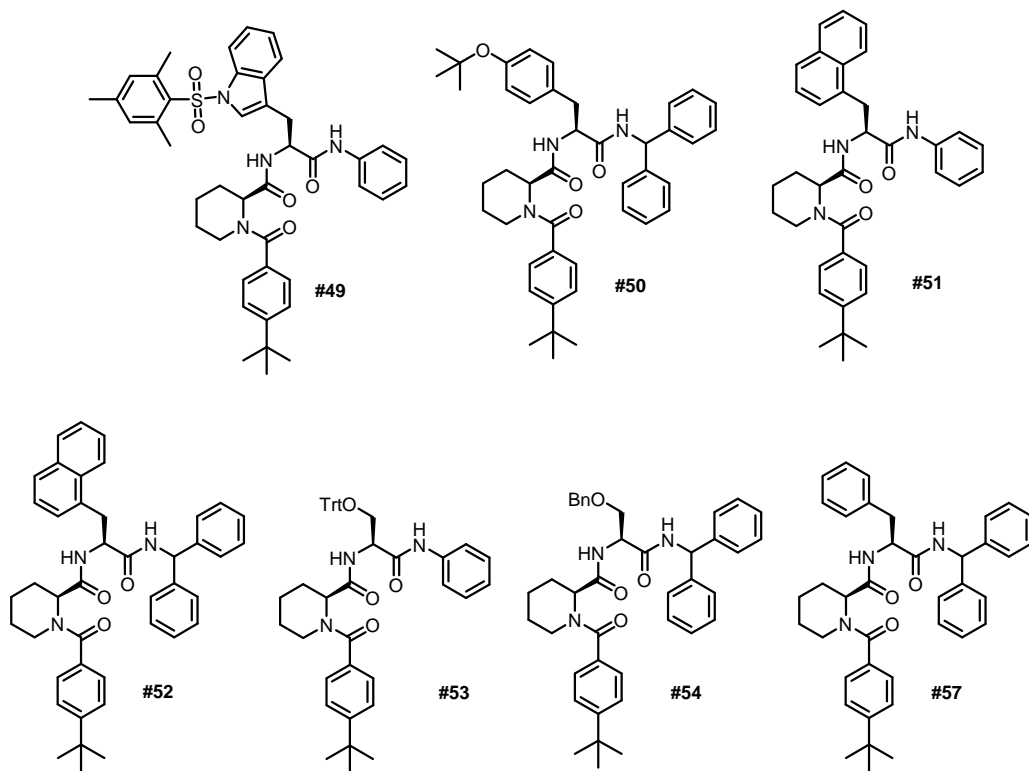
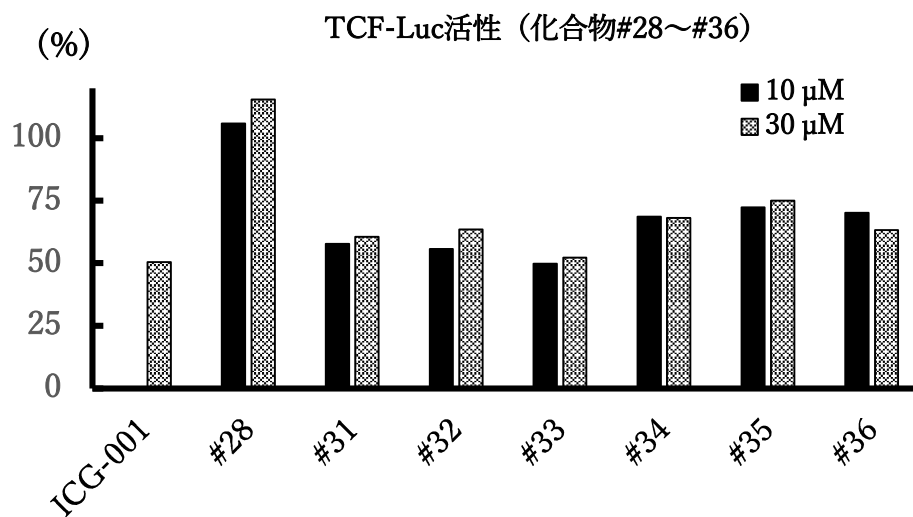


図 9B: 化合物群 II-2 の構造 (続き)

これらの化合物 II-1 群、II-2 群について Luc レポーターアッセイを行った。その結果を図 10 に示した。



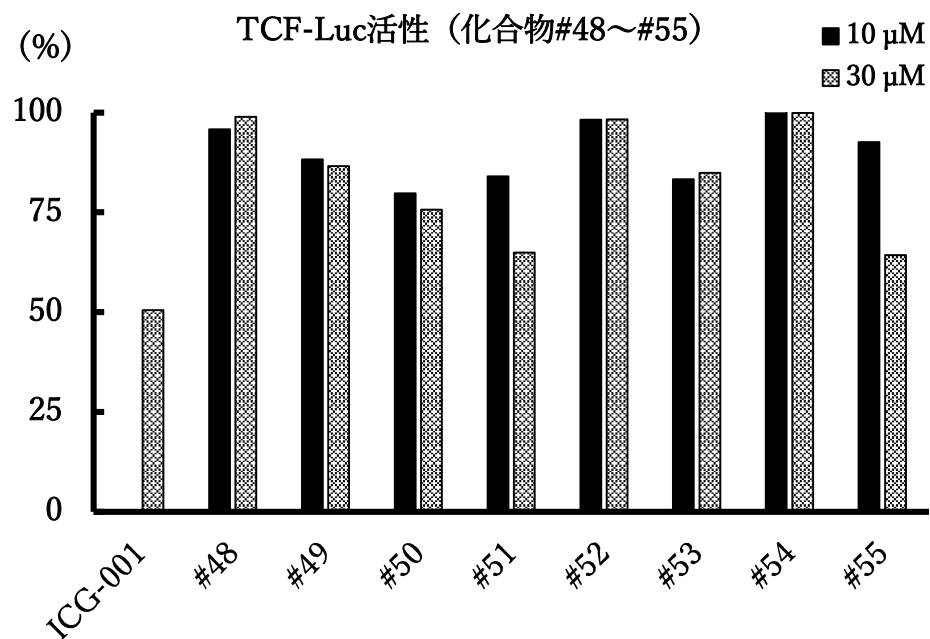
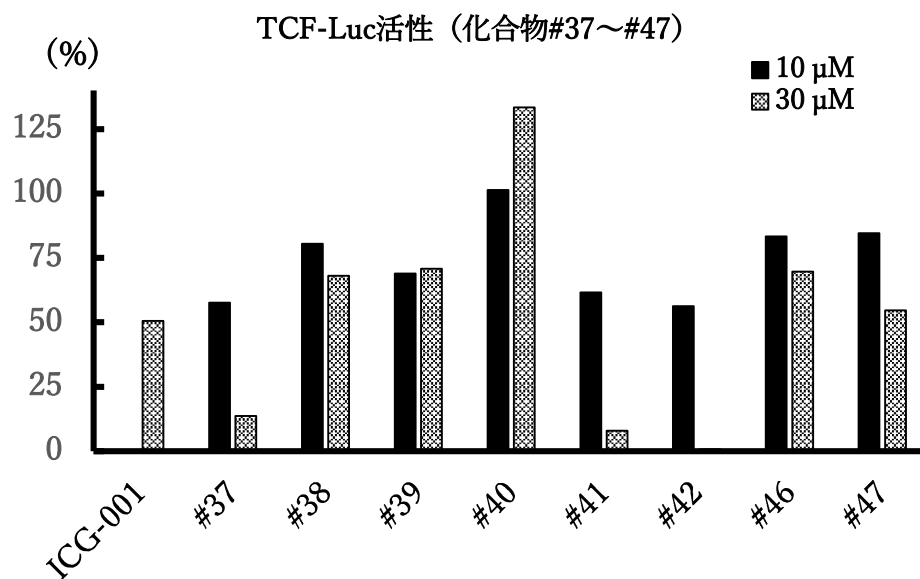


図 10: 化合物 II-1 群および II-2 群による TCF 活性変化

(注) 化合物無処置での TOP 細胞の Luc 発光量を 100%とし、それぞれの化合物添加時の Luc 発光量の%表示を示す。

その結果、以下のことが判明した。

1. エステル部の置換基は活性に影響を与えない(#31 vs #34 vs #35)。

2. 中心骨格は2環性のテトラヒドイソキノリンよりも単環系のピペリジン環やピロリジン環の方が適している(#33 vs #37、#41)。
3. アミノ酸の連結にはアミド結合の方が良い傾向がある(#33、#37 vs #38、#40)。
4. ヒスチジン部分を他のアミノ酸に置換すると活性は大幅に減弱する(II-1 vs II-2)。
5. ピロリジン環上に水酸基を追加すると活性は減弱する(#41 vs #55、#56)

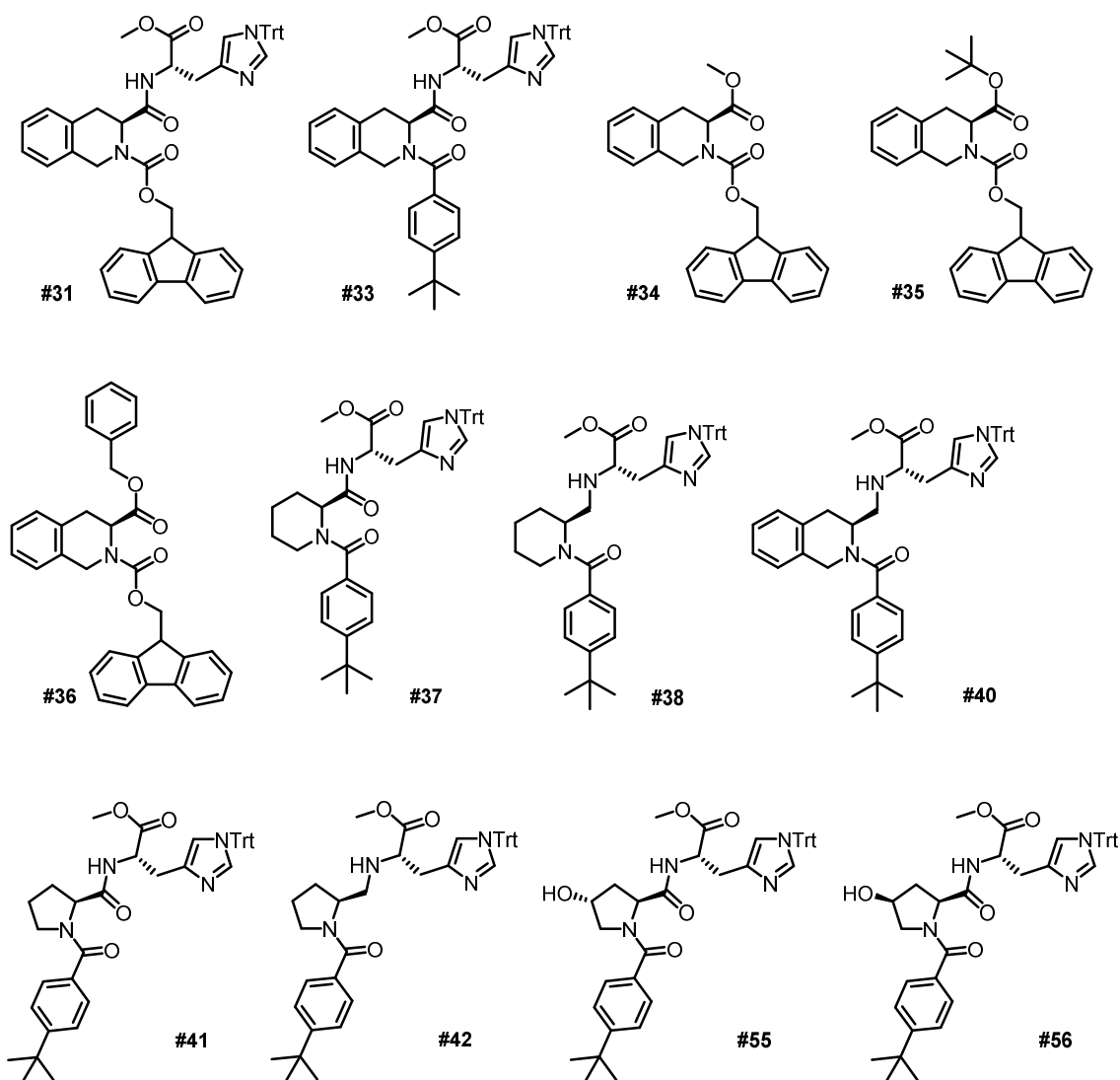


図 11: 化合物 II 群の構造 (抜粋)

最後に、これらの化合物のうち、化合物#37 の多様な腫瘍細胞に対する抗腫瘍効果を検討した。化合物#37 は、急性骨髄性白血病(AML: HL-60、THP-1、KG1a、U937)、急性リンパ芽球性白血病(ALL: Nalm6、Jurkat、Raji、RS4;11)、慢性骨髄性白血病(KBM-5、イマチニブ耐性 KBM-5/STIR)、悪性リンパ腫(Daudi、HBL-1、Granta519)、大腸がん(SW480、HT-29)、膵がん(AsPC-2)、神経膠芽腫(U251-MG)、乳がん(MDA-MB-231)、各種がん細

胞株の細胞増殖を容量依存性に抑制した。またいずれの細胞株においても、化合物#37 処置にてβ-catenin タンパク質発現の減少、Wnt/β-catenin 経路下流分子の MYC、CCND1、SURVIVIN の mRNA およびタンパク質発現の減少を認めた(図 12 上段)。また AML および ALL 細胞に対して化合物#37 がアポトーシスを誘導することも明らかにした(図 12 下段)。

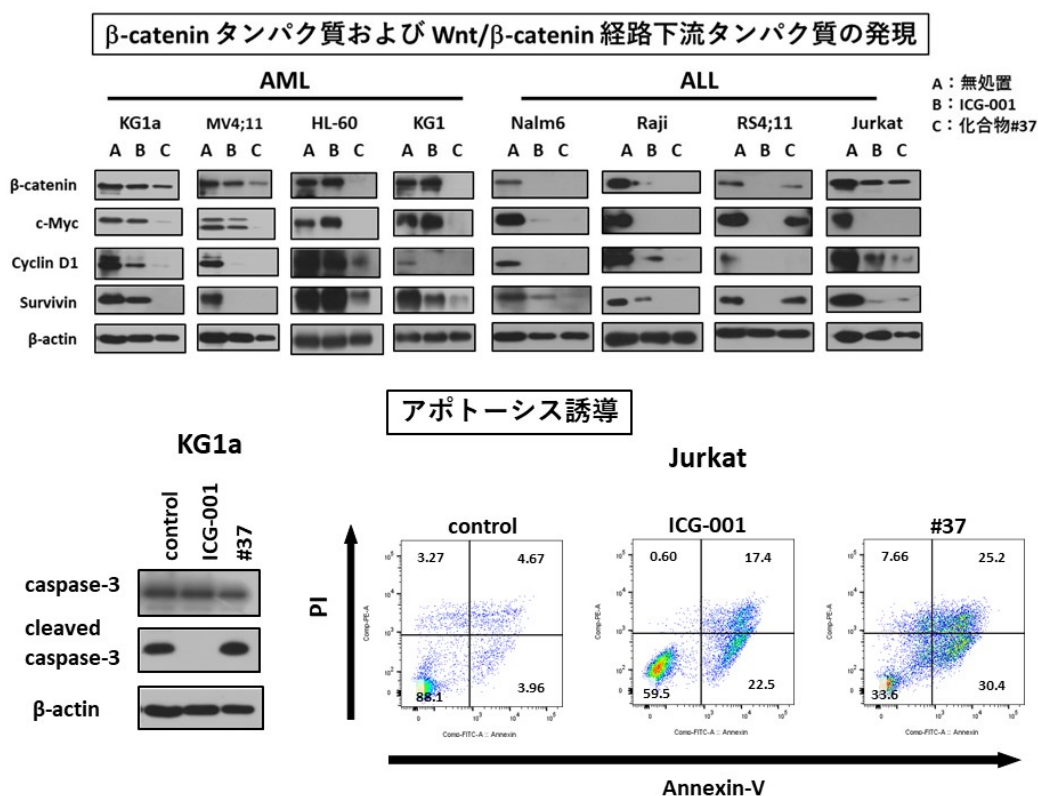


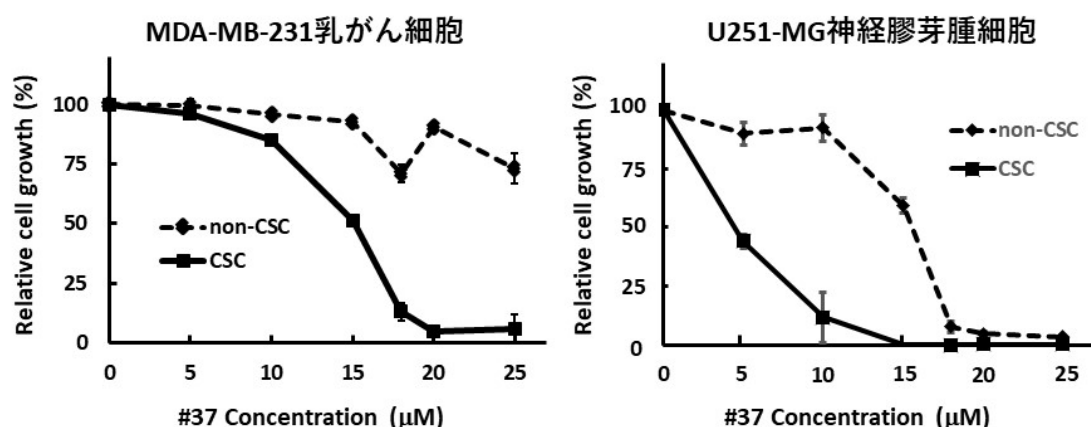
図 12: 化合物#37 による急性骨髄性白血病および急性リンパ芽球性白血病に対する抗腫瘍効果

膵がんは元来、腫瘍血管が少ない乏血管性(hypovascularity)の腫瘍であるため、膵がん細胞は低酸素環境下に存在し、通常抗がん剤にはほとんど感受性を認めない。そこで、1%O₂の低酸素環境下で生存可能な hypoxia-adapted ASsPC-1 (HA-AsPC-1)細胞を作製し、HA-AsPC-1 細胞に対する化合物#37 の抗腫瘍効果を検討した。膵がん治療で通常用いられている抗がん薬ゲムシタビンは HA-AsPC-1 細胞の増殖を抑制しなかったが、化合物#37 は容量依存的に HA-AsPC-1 細胞増殖を抑制し、さらに c-Myc および Survivin タンパク質発現を減少させた。

Wnt/β-catenin 経路は正常幹細胞とともに、がん幹細胞(CSC)維持にも関与することが多くの研究により示されている。そこでヒト乳がん細胞株 MDA-MB-231 細胞およびヒト神経膠芽腫細胞株 U-251-MB 細胞を用いて、CSC に対する化合物#37 の抗腫瘍効果を検討した。低吸着性細胞培養プレートを用い、MDA-MB-231 細胞および U251-MB 細胞を無血清下で

培養し、CSC アッセイを行い cancer sphere を誘導した。誘導された sphere は SOX2 や NANOG といった幹細胞マーカーを高発現しており、CSC が誘導されたことを確認した。これらの CSC では β -catenin タンパク質および mRNA が高発現しており、Wnt/ β -catenin 経路が活性化していることがわかった。化合物#37 は MDA-MB-231 および U251-MG 細胞から誘導された CSC の増殖を、容量依存的に抑制し、非がん幹細胞性がん細胞に比して、より低濃度で増殖を抑制した(図 13)。以上より、化合物#37 は CSC に対しても有効な化合物であ

がん幹細胞に対する抗腫瘍効果



ることが示唆された。

図 13: 化合物#37 による乳がんおよび神経膠芽腫がん幹細胞に対する増殖抑制効果

【総括】

我々は本学の所有する化合物ライブラリーから Wnt/ β -catenin 経路を阻害する化合物を発掘し、その化合物を基にして構造活性相関解析を行った。その結果、Wnt/ β -catenin 経路を標的経路としたがん分子標的治療薬のリード化合物を創製することに成功した(特願 2018-237943、特願 2019-2015)。

今までの構造活性相関研究から、本リード化合物について 1) ヒスチジン部分の Trt 基は活性発現に必要、2) アミド置換基はある程度のサイズの置換基は許容される、3) C 末端をエステルとしたときの置換基は活性に影響を与えない、ことなどを明らかにしている。現在、さらに構造活性相関解析を続け、より高活性でドラッグライクな化合物の探索を行うとともに、作用発現の核となる標的分子の探索を行っている。この結果を基にして候補化合物と標的生体分子との複合体結晶構造解析を行い、化合物構造をより最適化したライセンスアウト可能な候補化合物創製を目指す。

クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製

病態生理学分野 芦原英司

病態生理学分野 戸田侑紀

共同利用機器センター 長谷川功紀

生薬学分野 中村誠宏

薬品製造学分野 山下正行

【はじめに】

わが国の死亡原因の第 1 位であるがんの根治を目指すために解決すべき問題の 1 つはがんの転移抑制である。しかしながら、多くの転移抑制剤が臨床現場で投与されているにも関わらず、未だその制御は不十分であると言わざるを得ない。新規転移抑制剤の創製は、わが国が目指す超高齢者が健康に生き抜くための健康長寿社会実現のためのイノベーションの 1 つとして重要な研究課題である。

がん細胞の遠隔転移のためのプロセスは、①形成された原発腫瘍塊(または腫瘍巣)からの遊走、②血管基底膜を破り血管内腔への侵入、③血流に従った標的臓器への移行、④血管への接着、⑤血管基底膜を破り血管外への侵出、⑥転移部位への遊走と定着、⑦がん細胞の増殖による転移巣の形成からなる。我々はこれらのステップのうち、がん細胞遊走(①、⑥)および浸潤(②、⑤)を阻害することでがん細胞の転移を抑制する化合物の探索を計画し、本学の所有する化合物ライブラリーから転移抑制化合物のスクリーニングを行った。

【方法と結果】

1. 化合物合成

本学所有の化合物ライブラリーからの転移抑制を示す化合物の探索を進めた。その結果、日本各地で栽培されているアジサイ属植物アマチャ(*Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii*) に含有するクマリン配糖体 7-methoxycoumarin 8-O- β -D-glucopyranoside に、がん細胞に対する浸潤抑制活性が認められた。そこで、7,8-dihydroxycoumarin (compound #5, daphnetin) をもとに、coumarin 骨格の 4 位あるいは 5 位の水酸基を、水素化ナトリウムおよびヨウ化メチルを用いメキシ基へと変換し、得られた 7-methoxycoumarin 8-O- β -D-glucopyranoside のアグリコン compound #2 や compound #5 (daphnetin) の活性評価を行ったところ、compound #5 が強力な浸潤抑制効果を示すことを見出した (表 1)。さらに、coumarin 骨格の 3 位にフェニル基を有する種々の 3-phenylcoumarin 誘導体がより強い活性を示したことから、3-phenylcoumarin をベースとして 1) 3-phenylcoumarin 骨格の 5-8 位あるいは 2'-6' 位に 1~4 つの水酸基、メキシ基あるいはハロゲン等を導入した 3-phenylcoumarin 誘導体合成を進めるとともに、活性比較のため 2) 3-benzoyl-7,8-

hydroxycoumarin 誘導体および 3) 3-phenylcarbamoyl-7,8-hydroxycoumarin 誘導体合成を行った。

1) 3-Phenylcoumarin 誘導体の合成

Salicylaldehyde およびその誘導体を出発原料に用い、phenylacetic acid 誘導体との縮合反応により compound **##1**、**##5**、**##7**、**##10**、**##21-24**、**##26-30**、**##35-38** へと導いた。次に、メキシ誘導体の脱メチル化反応を経て compound **##25**、**##31-34**、**##40-49** へと変換した (図 1)。

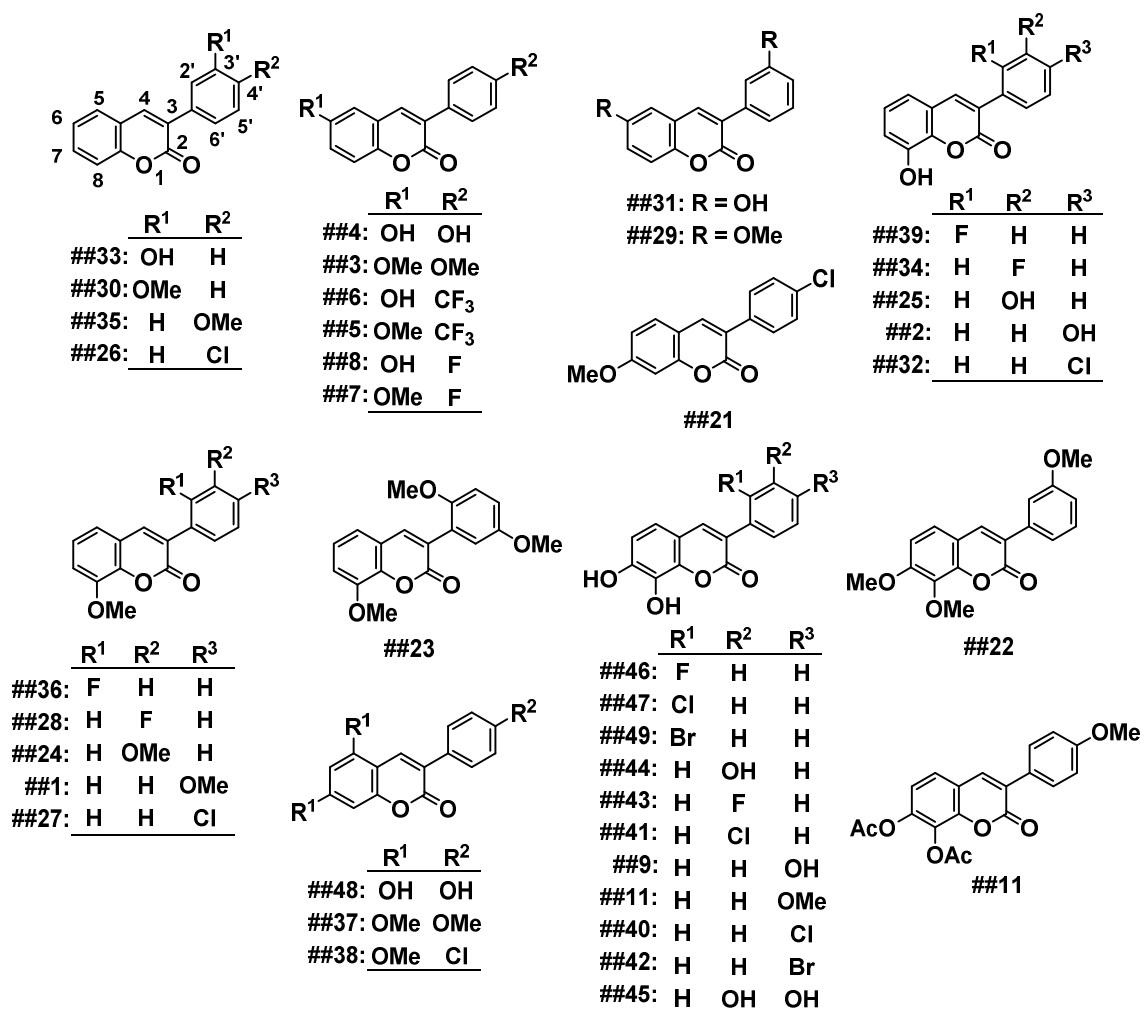


図 1: 3-phenylcoumarin 誘導体の化学構造

Compound **##9-11** 以外の 3-phenylcoumarin 誘導体の一般的な合成法を図 2 に示す。すなわち、salicylaldehyde 誘導体に縮合剤 dicyclohexylcarbodiimide (DCC)、*N,N*-

dimethylaminopyridine (DMAP) および phenylacetic acid 誘導体を加え、室温にて 21-26 時間反応を行い目的化合物へと導いた [Method A]。一方で、salicylaldehyde 誘導体に、縮合剤 EDCI 存在下、phenylacetic acid 誘導体を反応させ、110°C にて 20 時間加熱し目的化合物へと導いた [Method B]。次に、 BBr_3 あるいは hydriodic acid (HI) により脱メチル化を行い、目的化合物を得た (図 2)。

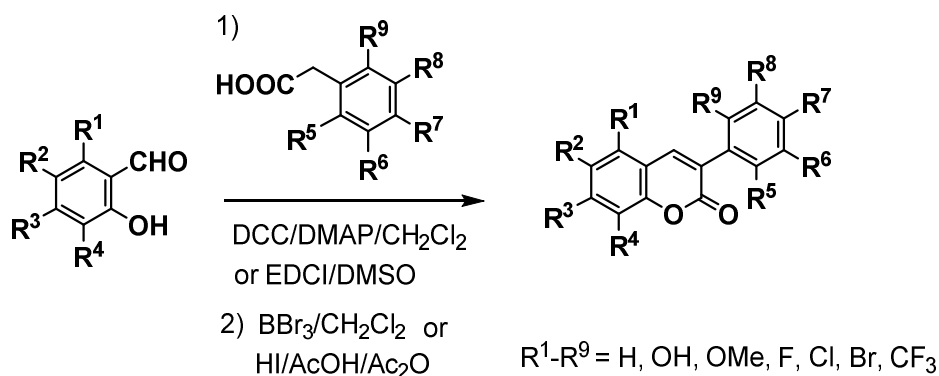


図 2: 一般的な 3-phenylcoumarin 誘導体の合成

Compound **##9-11** の合成法を図 3 に示す。すなわち、2,3,4-trihydroxybenzaldehyde の Ac_2O 溶液に *p*-methoxyphenylacetic acid および sodium acetate を加え、140°C で 4 時間還流を行った。続いて、得られた compound **##10** を上述した HI を用いる方法にて脱保護を行い、compound **##9** を得た。一方、compound **##10** の塩酸 (3 M HCl) 水溶液と MeOH の混合溶液を、65°C で 2 時間還流し compound **##11** を得た (図 3)。

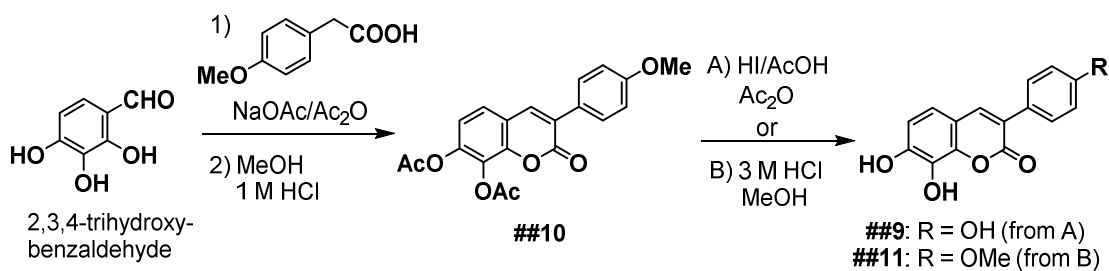


図 3: 7,8-dihydroxy-3-phenylcoumarin 誘導体 (**##9、11**) の合成

2) 3-Benzoyl-7,8-hydroxycoumarin 誘導体の合成

3,4-Dimethoxysalicylaldehyde を出発原料に用い、benzoylacetate 誘導体との縮合および閉環反応により compound **##12、##14、##17、##19** を得た。続く脱メチル化反応を経て

compound **##13**, **##15**, **##16**, **##18**, **##20** へと導いた。3-benzoyl-7,8-hydroxycoumarin 誘導体の一般的な合成法を図 4 示す。すなわち、salicylaldehyde 誘導体に、ethyl benzoylacetate および piperidine を加え、acetic acid を触媒量加えた後、20 時間還流を行い 3-benzoyl-7,8-dimethoxycoumarin 誘導体を得た。次に、boron tribromide (BBr₃) を用い 3-benzoyl-7,8-dimethoxycoumarin 誘導体の脱メチル化を行い、目的化合物 3-benzoyl-7,8-hydroxycoumarin 誘導体へと導いた。

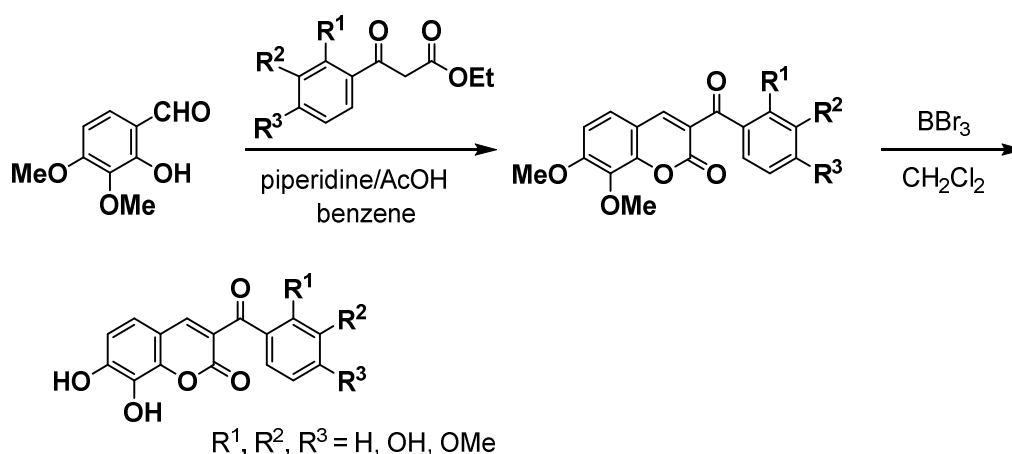


図 4: 一般的な 3-benzoyl-7,8-hydroxycoumarin 誘導体の合成

3) 3-Phenylcarbamoyl-7,8-hydroxycoumarin 誘導体の合成

3,4-Dimethoxysalicylaldehyde を出発原料に用い、di-*tert*-butyl malonate との縮合・閉環反応、脱保護、アミンと縮合反応、続く脱メチル化反応を経て compound **##50**, **##51** へと導いた。一般的な合成法を図 4 に示す。すなわち piperidine および AcOH を存在下、3,4-dimethoxysalicylaldehyde と di-*tert*-butyl malonate を縮合させ、*tert*-butyl 7,8-methoxycoumarin-3-carboxylate へと導いた。得られた *tert*-butyl 7,8-methoxycoumarin-3-carboxylate に trifluoroacetic acid (TFA) を作用させ、脱保護を行い 3-carboxy-7,8-methoxycoumarin へと変換した。次に、3-carboxy-7,8-methoxycoumarin に縮合剤 EDCI および DMAP 存在下、aniline を反応させ 3-(phenylcarbamoyl)-7,8-methoxycoumarin へ

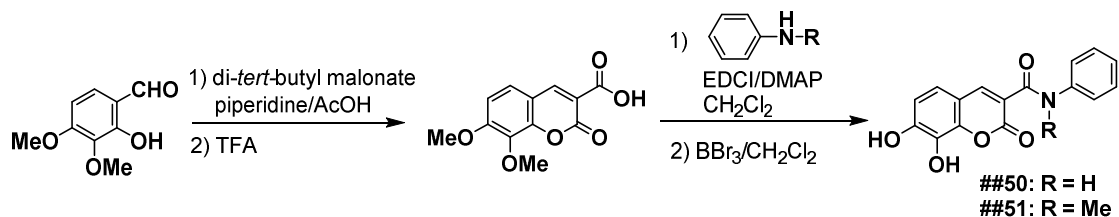


図 5: 一般的な 3-(phenylcarbamoyl)-7,8-hydroxycoumarin 誘導体の合成

と導いた。最終的に、 BBr_3 を用いた上述の方法により脱メチル化を行い、目的化合物 3-(phenylcarbamoyl)-7,8-hydroxycoumarin を得た (図 5)。

2. 細胞生存率の評価

本プロジェクトでは、細胞死をもたらすことなく真に細胞の遊走/浸潤を抑制する化合物を発掘することを目的とするため、まず WST-8 アッセイにて細胞増殖抑制が生じない濃度を決定した。96 穴プレートにマウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞を播種後、化合物を添加し、72 時間培養し生細胞数測定試薬 Cell Counting Kit-8 を添加し、GloMax Discover System (Promega, Madison, WI, U.S.A) を用いて、450 nm の極大吸収波長での吸光度を測定した。化合物非処置群の細胞生存率と比して、90%以上の生存率を認める濃度以下で、以下の遊走/浸潤アッセイを行った。

3. がん細胞の遊走能および浸潤能の検討

LM-8 細胞の遊走能は、24 穴コンパニオンプレートとセルカルチャーインサート(径 8 μm pore)を用いて行った。インサートの上層には fetal bovine serum (FBS) 不含の培地 High Glucose DMEM で調整した細胞溶液と化合物を添加した。下層のコンパニオンプレート中には、化学誘引因子として 1%FBS 含有 High Glucose DMEM を用いた。24 時間培養後、インサートの底の内側の細胞を取り除き、インサートの底の外側に浸潤および遊走した細胞を十分に冷やしたメタノールで固定した。細胞に Giemsa 染色を施し、生物顕微鏡にて観察(倍率 40 倍)し、インサートの底の外側の中でも最も多いと見られる 3 視野を顕微鏡用デジタルカメラにて撮像し、遊走した細胞数を算出した。細胞数の算出はマニュアルカウントで得られた 12 視野の値 (4 inserts \times 3 fields) に最大値と最小値を削除し、10 視野の細胞数を平均した (Fig. 1)。

LM-8 細胞の浸潤能は、基底膜マトリックス(マトリゲル)を 228.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるようにコーティング緩衝液[0.01M Tris (pH 8.0), 0.7% NaCl]で希釈し、上面にコーティングしたセルカルチャーインサートを用いた。LM-8 細胞の移動は、上記と同じ方法にて検討した。

4. 浸潤および遊走抑制機序の検討

細胞骨格タンパク質であるアクチン、アクチンの重合・脱重合を制御し細胞運動に関わる低分子量 GTP タンパク質、matrix metalloproteinase の発現変化を、ウエスタンブロッティング法および RT-PCR 法にて検討した。

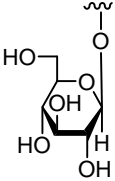
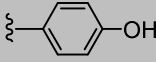
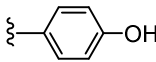
【研究成果と考察】

1. がん細胞の遊走能および浸潤能の検討

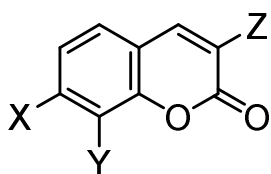
本学が所有するライブラリー中、甘茶から抽出されたクマリン配糖体 (8-hydroxy-7-methoxycoumarin 8-O- β -D-glucopyranoside) に、LM-8 細胞の増殖抑制を認めることなく、

遊走および浸潤抑制作用を見つけたため、グルコースを外したクマリン系化合物群を合成しスクリーニングを行った。その結果、compound #5(daphnetin)に強力な浸潤および遊走抑制効果を認めた(表 1)。

表 1

Compounds	置換基			各薬物濃度での浸潤細胞率 (%)		
	X	Y	Z	3 μ M	10 μ M	30 μ M
Compound #1	-OCH ₃		-H	79%	66%	58%
Compound #2	-OCH ₃	-OH	-H		83%	85%
Compound #3	-OCH ₃	-OCH ₃	-H		101%	93%
Compound #4	-OH	-OCH ₃	-H		100%	89%
Compound #5	-OH	-OH	-H	76%	52%	37%
Compound #6	-OH	-OH		76%		13%
Compound #7	-H	-OH			70%	30%

基本骨格:



(注)化合物無処置群の ML-8 細胞の浸潤および遊走した細胞数を 100%ととして化合物処置群における LM-8 細胞の浸潤および遊走細胞数を算出し%表示した。

3-Phenylcoumarin を基に合成した化合物群の浸潤抑制作用を表 2 に示す。

表 2: LM-8 細胞に対するクマリン系化合物の浸潤/遊走抑制作用

クマリン系 化合物 (Compounds)	浸潤/遊走 (μ M)	浸潤 (μ M)		遊走 (μ M)	
	0	3	30	3	30
Compound ##1	100			n.d	n.d

Compound ##2	100	69.9	37.3	n.d	n.d
Compound ##3	100	89.3	16.6	n.d	n.d
Compound ##4	100	47.4	11.6	n.d	n.d
Compound ##5	100	85.1	75.4	n.d	n.d
Compound ##6	100	82.7	9.1	n.d	n.d
Compound ##7	100	81.2	79.4	n.d	n.d
Compound ##8	100	63.4	24.1	n.d	n.d
Compound ##9	100	68.0	16.9	67.2	28.2
Compound ##10	100			n.d	n.d
Compound ##11	100			n.d	n.d
Compound ##12	100	108.4	102.1	86.9	62.3
Compound ##13	100	101.7	59.2 [¶]	n.d	n.d
Compound ##14	100	70.3	60.5 [¶]	n.d	n.d
Compound ##15	100	95.6	107.2 [¶]	n.d	n.d
Compound ##16	100	113.5 [*]	82.9 [¶]	89.2 [*]	81.9 [¶]
Compound ##17	100	70.3	104.5 [¶]	n.d	n.d
Compound ##18	100	95.6	96.7 [¶]	n.d	n.d
Compound ##19	100	113.5 [*]	106.6 ^{***}	n.d	n.d
Compound ##20	100	84.3	61.3	85.5	53.0
Compound ##21	100	108.6	108.3	n.d	n.d
Compound ##22	100	89.9	77.1	n.d	n.d
Compound ##23	100	44.5	48.8	n.d	n.d
Compound ##24	100	79.2	71.8	n.d	n.d
Compound ##25	100	59.7	42.1	n.d	n.d
Compound ##26	100	95.8	67.6	n.d	n.d
Compound ##27	100	162.3 ^{***}	124 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##28	100	89.7 ^{***}	101.7 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##29	100	64.1 ^{***}	65.4 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##30	100	106.1 ^{***}	85.5 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##31	100	97.6 ^{***}	87.8 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##32	100	115.0 ^{***}	78.5 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##33	100	51.7 ^{***}	38.1 [¶]	n.d	n.d
Compound ##34	100	81.1 ^{***}	64.4 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##35	100	90.1 ^{***}	75.3 ^{¶¶}	n.d	n.d

Compound ##36	100	86.5 ^{***}	75.7 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##37	100	100.1 ^{**}	93.1 [¶]	n.d	n.d
Compound ##38	100	92.5 ^{***}	38.9 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##39	100	198.5 ^{***}	126.6 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##40	100	40.4	10.3	n.d	n.d
Compound ##41	100	45.7	17.9	n.d	n.d
Compound ##42	100	47.2	14.0	n.d	n.d
Compound ##43	100	73.4	70.5	n.d	n.d
Compound ##44	100	48.2 ^{***}	n.d	n.d	n.d
Compound ##45	100	66.1 ^{***}	8.0 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##46	100	36.3 ^{***}	20.5 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##47	100	74.2 ^{***}	40.6 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##48	100	50.3 ^{***}	31.2 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##49	100	69.8	40.4 ^{***}	n.d	n.d
Compound ##50	100	106.7	101.2 ^{***}	n.d	n.d
Compound ##51	100	85.1	45.3 ^{***}	n.d	n.d
Compound ##52	100	93.1	85.9 [¶]	n.d	n.d
Compound ##53	100	42.2 ^{***}	0 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##54	100	77.7 ^{***}	41.5 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##55	100	131.2 ^{***}	92.6 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##56	100	60.8 ^{**}	37.0 ^{¶¶}	n.d	n.d
Compound ##57	100	78.2 ^{***}	50.9 ^{¶¶}	n.d	n.d

(注1) 化合物無処置群の ML-8 細胞の浸潤および遊走した細胞数を 100%ととして化合物処置群における LM-8 細胞の浸潤および遊走細胞数を算出し%表示した。

(注2) n.d: not done, *@1 μ M, **@2.5 μ M, ***@3 μ M, ¶@10 μ M, ¶¶@30 μ M

2. クマリン系化合物の浸潤能および遊走能に対する効果

これらのうち、compound #5 (daphnetin) および compound ##9 (7,8-dihydroxy-3-(4'-hydroxyphenyl)coumarin) について、LM-8 細胞の細胞骨格タンパク質であるアクチン、アクチンの重合・脱重合を制御し細胞運動に関わる低分子量 GTP タンパク質、matrix metalloproteinase の発現変化を、ウエスタンブロッティング法および RT-PCR 法にて検討した。Compound #5 は濃度依存的に LM-8 細胞の浸潤および遊走を抑制することがわかった (図 8A)。さらに浸潤および遊走後の細胞の形態を確認したところ、compound #5 の濃度依存的に丸みを帯びていることが観察された (図 8B)。このことを定量化し検討するため、遊走後の細胞の形態について円形度 (circularity) 解析を行った。Compound #5 無処置群、3 μ M

処置群、30 μM 処置群の 3 群で多群間比較を行い、二標本コルモゴロフ・スミルノフ検定を用いて解析したところ、濃度依存的に円形度が增加することが示された(図 8C)。

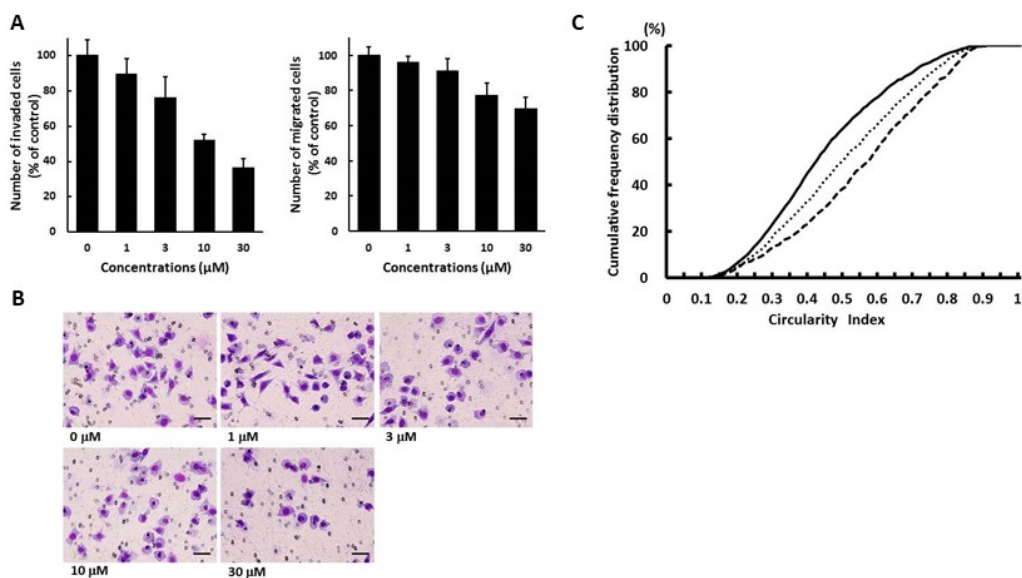


図 8: Compound#5 (daphnetin) による LM-8 細胞の浸潤および遊走抑制

これらの解析結果を踏まえ、「compound #5 処置により、LM-8 細胞の形態・遊走に関わるタンパク質の機能または発現を抑制し、がん細胞の形態を変化させ、遊走をも阻害している」という仮説を立てた。この仮説を明らかにするために、焦点レーザー顕微鏡を用いて、

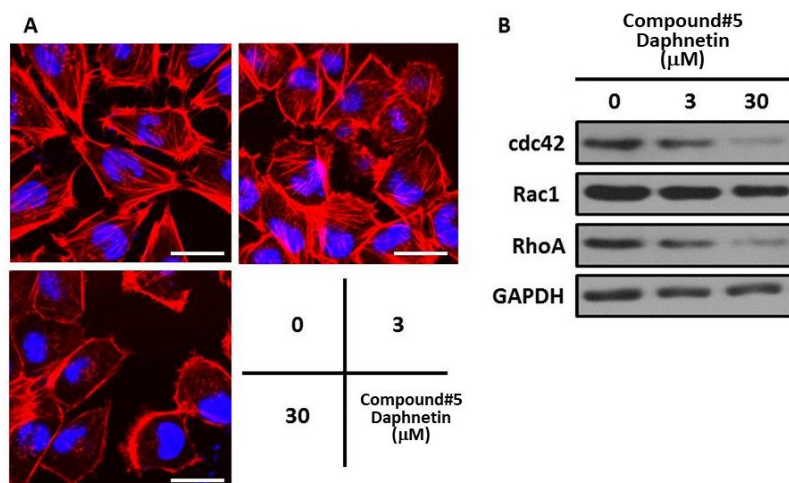


図 9: Compound#5 (daphnetin) による LM-8 細胞のストレスファイバーの形成変化と Cdc42、Rac1、RhoA の低分子量 G タンパク質のタンパク発現量変化

観察したところ、compound #5 処置により細胞内のストレスファイバーの消失を認めた(図 9A)。次にがん細胞の遊走に関わる Cdc42、Rac1、RhoA の低分子重量 G タンパク質のタンパク質発現量変化をウエスタンブロットティング(WB)法を用いて検討した。Cdc42、RhoA タンパク質発現量は compound #5 の濃度依存的に減少したが、Rac1 は変化が見られなかった(図 9B)。また以上より、compound #5 は LM-8 細胞質内の Cdc42、Rac1、RhoA の低分子重量 G タンパク質の発現を減少させ、その結果ストレスファイバーの形成を抑制することで細胞の変形能を落とし、浸潤および遊走能を抑制したと考えた。

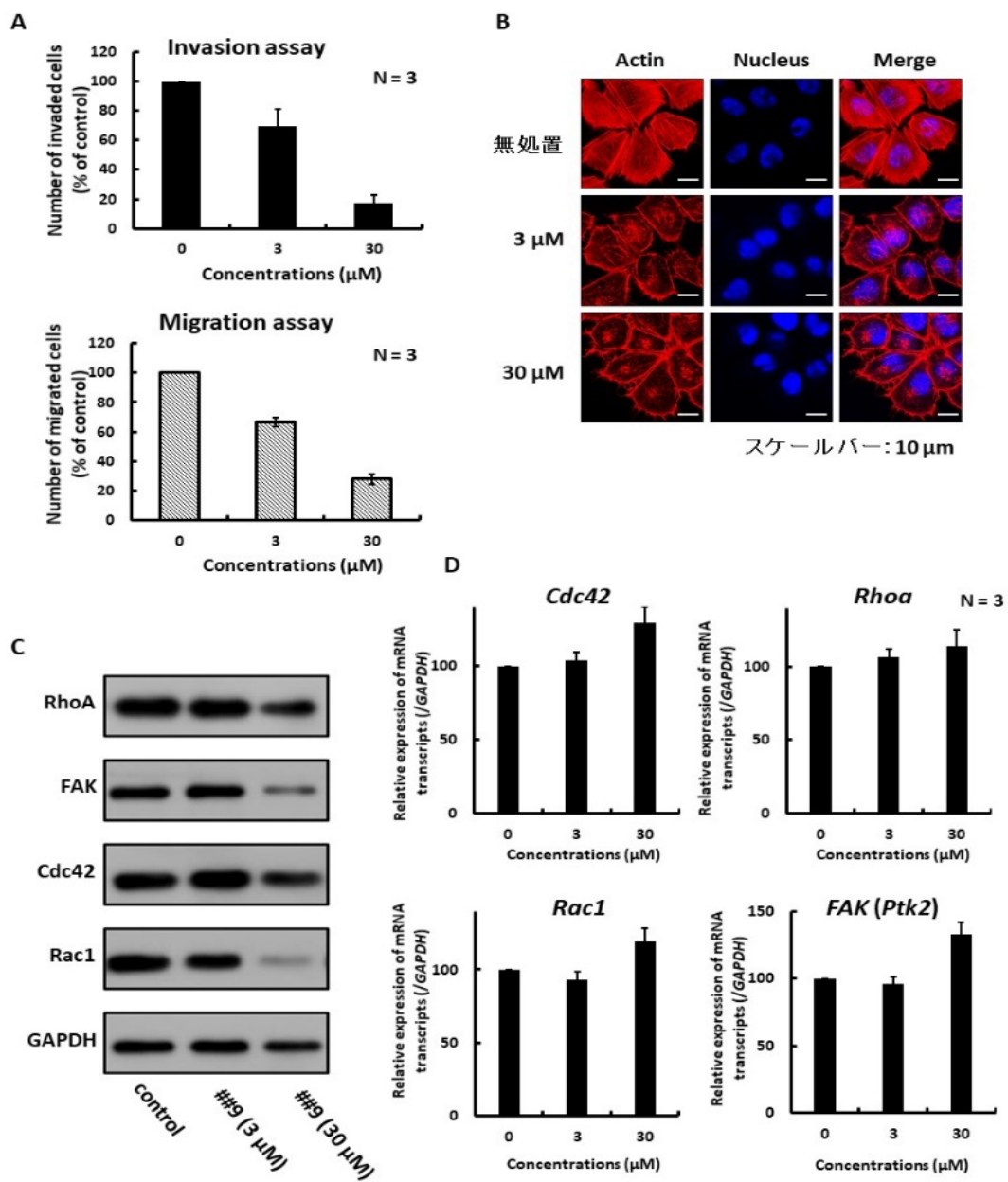


図 10: 化合物##9 による LM-8 細胞の遊走および浸潤抑制効果

次に、compound #5 から合成した compound ##9 においても同様に検討した。Compound ##9 も LM-8 細胞の浸潤および遊走を濃度依存的に抑制し(図 10A)、共焦点レーザー顕微鏡を用いた観察では、ストレスファイバーの消失を認めた(図 10B)。低分子量 G タンパク質のタンパク質発現を、WB 法にて解析したところ、Rac1 のタンパク質発現の低下を認めたが、Cdc42 および RhoA タンパク質発現は減しなかった(図 10C)。またそれぞれの低分子量 G タンパク質の mRNA 発現を RT-PCR 法で検討したが、いずれも compound ##9 処置で変化を認めなかった(図 10D)。

【総括】

我々が本学の化合物ライブラリーから発掘し、さらに構造活性相関解析により合成したクマリン系化合物は、LM-8 マウス骨肉腫細胞の浸潤および遊走を抑制した。その機序として、アクチンタンパク質の重合・脱重合に関わる低分子量 G タンパク質のタンパク質発現を減少させ、その結果細胞質内のストレスファイバーを減少させることで、細胞の変形能を抑制し、浸潤および遊走抑制作用を発揮することを明らかにした(特許出願 2018-237944)。このことは現在、ヒト骨肉腫細胞株、ヒトおよびマウス乳がん細胞株にても観察されており、また compound##53 はヒト乳がん細胞株に対して、より強力に浸潤および遊走を抑制することも観察されている。しかし、compound#5 と compound##9 では発現減少が認められた低分子量 G タンパク質が異なること、また真の標的分子は未だ明らかにされておらず、今後、これらの点について、さらに解明を続ける。標的分子を発見した後は、X線結晶構造解析を行い、より有効な化合物を合成し、ライセンスアウトを目指す。

アセトゲニン類の構造変換によるがん幹細胞に対する 新規分子標的治療薬の創製

臨床腫瘍学分野 中田晋
薬品製造学分野 小島直人

悪性脳腫瘍の一種である膠芽腫の予後は極めて不良である。膠芽腫に対しては、外科的切除、放射線療法、薬物療法を組み合わせた集学的治療が行われるが、膠芽腫細胞はこれらの既存の治療に対して高い抵抗性を示し、あらゆる悪性腫瘍の中でも最も予後が不良な疾患の一つである。近年、膠芽腫の組織中には発癌過程や再発の起点となる、いわゆる膠芽腫幹細胞が存在することが示されている。特に、膠芽腫幹細胞は、テモゾロミドなどの既存の抗がん剤に対する高い抵抗性を有することが示されており、このテモゾロミド耐性の克服は重要な課題である。これまでに我々は、幹細胞マーカー遺伝子 LGR5 がヒト臨床検体由来膠芽腫幹細胞に高発現し、その増殖・生存に必須であること、その高発現が不良な予後に関連することを報告してきた。これらの知見は、細胞幼若性に関連する遺伝子発現パターンが、不良な予後と関連するという臨床医学的な研究の知見と合致するものと考えられる。そこで我々は、近畿大学 藤田貢博士と共同で、sh-p53、EGFRvIII、NRasG12V の Sleeping Beauty トランスポゾンシステムを用いた in vivo 導入による自発発症型マウスモデルの生体腫瘍組織から分離した膠芽腫幹細胞を樹立し、その特性解析を進めている。これまでにこれらの細胞が Prom-1/Sox2/Msi1 および Lgr5 等の幹細胞マーカー遺伝子を発現し、100 細胞から 1,000 細胞の同所性移植により腫瘍形成することを確認した。本モデル脳腫瘍組織由来の膠芽腫幹細胞分画において、 β -Catenin もしくは LGR5 のノックダウンによって Wnt パスウェイを遮断すると、アポトーシス細胞死が誘導されることを見いだしている。これらの知見は、p53 失活/EGFR 変異体/Ras 変異体によりドライブされる脳腫瘍幹細胞の増殖において幹細胞制御シグナル Wnt 経路の亢進が重要な役割を果たしており、膠芽腫幹細胞を攻撃する治療薬剤の活性評価のために有用なモデルであることを示している。

一方、本学薬品製造学分野 小島直人らのグループは、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるポリケチドであるアセトゲニン類をリードとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究を展開してきた。アセトゲニン類は長鎖アルキル鎖の中央付近に 2,5-二置換のテトラヒドロフラン (THF) 環、末端に γ -ラクトン環を持つ構造的特徴を有しており、強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことが知られている。そこで、バンレイシ科アセトゲニンの一つである solamin の γ -ラクトン環部分を改変した種々の誘導体合成を展開した結果、*N*-メチルピラゾール環を炭素-炭素結合で結合させた誘導体 **1** はヒト肺がん細胞 NCI-H23 に対して、天然物 solamin の約 80 倍もの強い増殖抑制活性を示すことを見いだした。また、複素環連結部位の結合様式は活性に大きく影響し、アミド結合で連結した誘導体 **2** は更に 18 倍の非常に強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことを見いだした。しかしながら、誘導体 **2** の in

vivo 試験を実施した結果、マウスに対する毒性が非常に強く、10 mg/kg 以上の投与では毒性死が観察され、5 mg/kg の投与では有意な抗腫瘍活性を認めなかった。そこで、活性発現に顕著な影響を及ぼしていると考えられる複素環結合部位に関する構造活性相関研究を展開した結果、エステル結合や *N*-メチル化アミド結合で連結した誘導体の活性はやや減弱は見られるものの、逆アミド結合で連結した誘導体では全く活性を見られないことが明らかになった。一方、*N*-メチルピラゾール環の代わりにチオフェン環をアミド結合を介して連結させた誘導体 JCI-20679 は強力ながん細胞増殖抑制活性を示すことを明らかにした。JCI-20679 は、*in vivo* 試験において 100 mg/kg の投与でも毒性を示さず、ヒト肺がん細胞 NCI-H23 を移植した xenograft マウスを用いた抗腫瘍活性評価を実施したところ、本化合物は 100 mg/kg の投与において、投与直後に若干の体重減少は見られるもののすぐに回復し、誘導体 2 と比較して毒性の大幅な軽減が見られた。一方、本用量において腫瘍の増殖は完全に抑制されており、強い抗腫瘍活性を示すことが明らかになった。

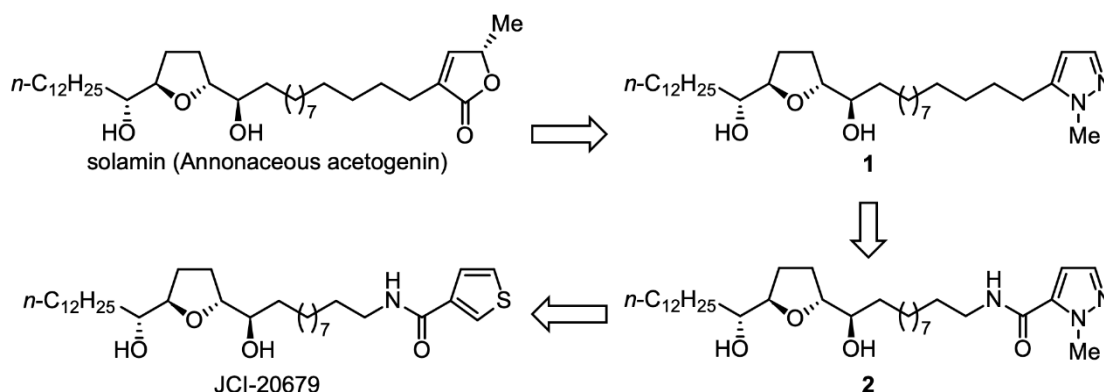


図 1: バンレイシ科アセトゲニン solamin の構造改変による JCI-20679 の創製

そこで、本研究ではまず、JCI-20679 の膠芽腫幹細胞に対する増殖抑制効果について解析を行った。その結果、JCI-20679 は 50~100 nM 前後の濃度で本膠芽腫幹細胞の増殖を顕著に抑制することをみいだした。同一マウスの自発症型膠芽腫モデルから同時に樹立した膠芽腫幹細胞と、接着系培養システムで培養した分化型膠芽腫細胞株を用いた比較検討では、JCI-20679 はより低濃度で膠芽腫幹細胞の増殖を効率よく抑制することが明らかとなった。この際の IC₅₀ は、膠芽腫幹細胞で 47.3 nM、接着系分化細胞で、421.7 nM であった。この低濃度における増殖抑制効果には、BrdU 取り込み細胞率の顕著な低下を伴っており、細胞周期の S 期への進行の抑制が主な機序と考えられた。一方、500 nM 以上の高濃度処理においてはアポトーシス細胞死が誘導され、アポトーシス促進因子 Bim の発現誘導がみられた。これらの知見は、JCI-20679 が膠芽腫幹細胞を標的とした治療戦略として有用である可能性を示唆している。

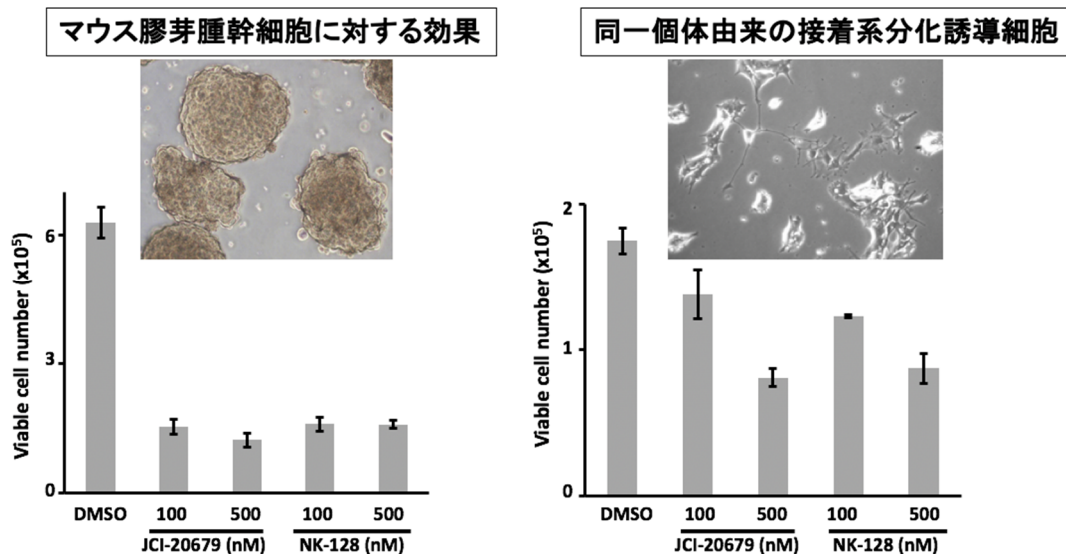


図 2: 胚芽腫幹細胞と分化胚芽腫細胞に対する JCI-20679 の増殖抑制効果

一方、これまでの知見により、がん細胞パネルを用いた検討において JCI-20679 はピグアナイド系化合物と類似した増殖抑制スペクトラムを示し、生化学的 *in vitro* 解析においてもミトコンドリア複合体 I の阻害作用を有することが示唆されていた。近年、がん細胞のみならず、正常幹細胞の生物学においても、各種の幹細胞がミトコンドリアの機能的もしくは形態的にそれぞれの特徴を有し、エネルギー代謝における酸化的リン酸化と解糖系との間のバランスが異なることが報告されており、幹細胞生物学的にも注目されている。また、がん研究においても、抗がん剤に対する耐性が生じた際にもミトコンドリア機能が変容することや、分子標的治療薬に耐性となった腫瘍細胞がミトコンドリア阻害剤に対する感受性を有しているという報告もされているため、本研究では、胚芽腫細胞のテモゾロミド耐性克服に向けたアセトゲニン誘導体の有用性についてミトコンドリア代謝関連因子について解析を行った。その結果、JCI-20679 処理によって、エネルギー代謝ストレスのセンサー分子である AMPK 蛋白質のリン酸化体の発現量が濃度依存的に増加することを明らかにした。この現象には、細胞内 AMP の増加と細胞内 ATP の減少、それに伴う細胞内 AMP/ATP 比の増大が伴っていることが確認された。また、AMPK 阻害剤 Compound-C および Inosine の同時添加によって、JCI-20679 処理による増殖抑制効果の部分的減弱を認め、AMPK 経路活性化が JCI-20679 による増殖抑制効果に対して少なくとも一部分は関与することが明らかとなった。さらに、JCI-20679 がミトコンドリアにおけるスーパーオキシドを増加させることを確認し、ミトコンドリア酸化的リン酸化における電子伝達系の阻害が起こっていることが示唆された。これらの結果は、JCI-20679 が本胚芽腫幹細胞の増殖を抑制する際においても、ミトコンドリア複合体 I の阻害効果を発揮していることを示している。

さらに、AMPK 経路に関連する因子の変動を探索した結果、膠芽腫の浸潤能とその進展を促進することが報告されている転写因子 NFAT が JCI-20679 処理によって顕著に減少することをみいだした。NFAT は細胞質内のみならず、核内蛋白質分画においても顕著に減少し、この NFAT 減少にはカルシニューリンの脱リン酸化酵素活性の低下、およびリン酸化 CAMKII の減少を伴っていた。すなわち、細胞内カルシウムシグナルを介したシグナル伝達系が JCI-20679 処理によって阻害されている可能性が示唆された。そこで、NFAT の減少の生物学的意義を検証する目的で、自発発症型膠芽腫モデルから同時に樹立した膠芽腫幹細胞を用いて安定的な NFAT 強制発現細胞を樹立し、JCI-20679 の効果を解析したところ、有意な回復効果がみられることを明らかにした。これらの結果は、JCI-20679 の作用機序の一部に NFAT 減少が寄与していることを示している。

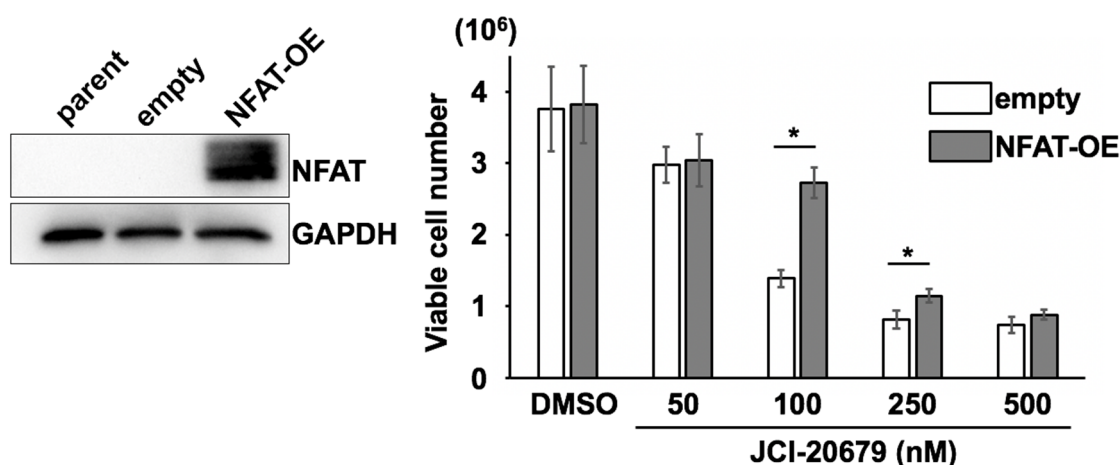


図 3: NFAT 強制発現による JCI-20679 の増殖抑制作用の回復効果

また、JCI-20679 のテモゾロミドの効果増強を評価するために、マウス膠芽腫組織由来の培養株およびヒト膠芽腫培養細胞株を用いて検討を行った。まず、テモゾロミド単剤では有意な増殖抑制効果を示さない低濃度の条件を検討した。次に、各種の JCI-20679 の濃度と同時併用にて増殖抑制効果を検討したところ、テモゾロミドと JCI-20679 の併用処理が、その増殖抑制効果を増強することをみいだした。マウス膠芽腫組織由来のニューロスフェア法で維持した幹細胞分画と比較して、通常の血清添加接着系培養で維持した分化細胞では、JCI-20679 に対する感受性がやや低い傾向を示したが、テモゾロミドとの併用による効果増強がみられた。ヒト膠芽腫培養細胞株では、特に T98MG 細胞は高度にテモゾロミド耐性であることが知られているが、T98MG を含め、A172、U251MG 細胞においても同様の効果増強がみられた。ヒト膠芽腫培養細胞株 U251 細胞およびマウス膠芽腫組織由来の培養株を用いた検討では、Isobologram および Combination Index 法を用いて統計学的に有意なテモゾロミドと JCI-20679 の相乗的効果増強作用が検出された。さらに、テモゾロミドと JCI-20679 との併用によって、MAP キナーゼの一種である p38 のリン酸化体が減少することをみいだした。

重要ながんの治療標的分子の一つであり現在その阻害剤が臨床治験中である p38MAP キナーゼ活性の抑制が、JCI-20679 によるテモゾロミドの抗腫瘍効果増強に参与している可能性が考えられた。

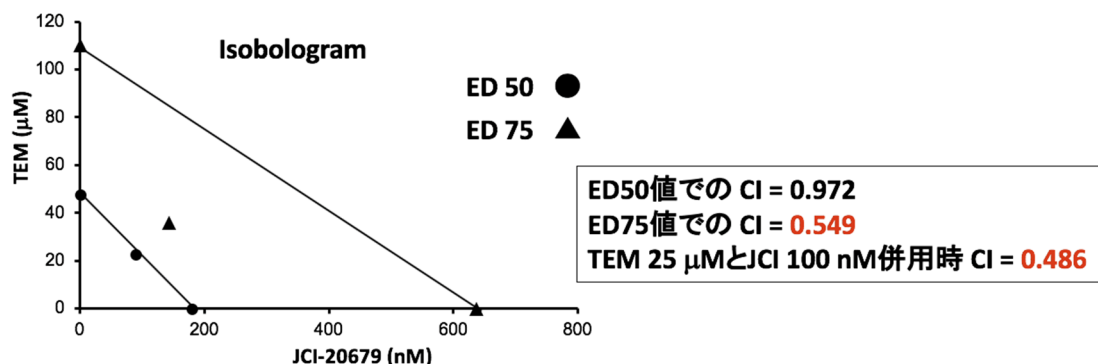


図 4: JCI-20679 によるテモゾロミドの効果の相乗的な増強作用

これまでの報告で、膠芽腫細胞のテモゾロミド耐性機構に、オートファジー誘導による ATP 産生増加が重要な役割を果たすことが、文献上報告されている。前述の通り、JCI-20679 処理によって細胞内 ATP 量が減少することから、これらのメカニズムがテモゾロミドと JCI-20679 との併用による相乗的効果増強作用に参与する可能性について仮説を立て、これを検証した。その結果、テモゾロミド単剤処理によって、オートファジーが誘導されており、それに伴った ATP 増加が検出された。テモゾロミドと JCI-20679 との併用によって、この ATP 増加作用は完全にキャンセルされ、オートファジー誘導も抑制されていることが明らかとなった。この、JCI-20679 によるオートファジーを介した ATP サージの抑制が、テモゾロミドの増殖抑制効果の増強に参与している可能性が示唆された。これらの知見は、JCI-20679 が難治性悪性腫瘍である膠芽腫の、テモゾロミド耐性を克服するために、有用な化合物であることを示唆している。

一方、JCI-20679 の合成は総行程 23 ステップを要するため総収率が低く、生体に投与することを想定した場合、大量合成が容易でないという欠点があった。JCI-20679 の合成が多工程となるのは、THF 環部分に4つの不斉炭素が存在し、理論上16種類の光学異性体のうちの一つを選択的に合成する必要があるからである。そこで本研究では、JCI-20679をリード化合物として構造を簡略化し、高い効率で合成が可能となった新規誘導体 NK-119~NK-129 を合成し、その活性を評価した。その結果、JCI-20679 よりも活性が高い、新規化合物 NK128 を同定した。NK128 は、JCI-20679 と同様にリン酸型 AMPK を誘導することを確認した。さらに、マウスモデル由来膠芽腫幹細胞の同所性移植脳腫瘍モデルを用い、生体内脳腫瘍に対する NK-128 の抗腫瘍効果とその安全性の評価を行った。まず、移植腫瘍作成の条件検討を行ったところ、1,000 個の膠芽腫幹細胞の同所性移植により、100%の確率で致

死性移植腫瘍の生着が確認された。そこで移植直後からの週3回の新規化合物NK-128の10 mg/kgの腹腔内投与治療により、有意に移植膠芽腫の成長を抑制することを確認した。

また、新規化合物NK-128の、テモゾロミド効果増強作用について解析を行った。ヒト膠芽腫培養細胞株U251細胞を用いた検討では、IsobologramおよびCombination Index法を用いて統計学的に有意なテモゾロミドとNK-128の相乗的効果増強作用が検出され、その相乗効果は、JCI-20679と比較してより明瞭であった。

次に、新規誘導体NK-119～NK-129の活性を、ヒト大腸癌SW-48細胞を用いて評価を行った。その結果、膠芽腫細胞を用いた検討と合致し、NK-128が高い抗増殖活性を発揮することを見いだした。ヒト大腸癌SW-48細胞のBrdU取り込みで評価した結果、NK-128は細胞周期進行を阻害していることを確認した。さらに、細胞内ATP量の減少と、細胞内AMP量の増加、および、細胞内AMP/ATP比の増加を惹起し、AMPKの活性化型リン酸化体が増加することを確認した。特に大腸癌では、抗がん剤に対する耐性獲得に細胞内ATP量が重要な因子であることが報告されており、これらの知見は、本化合物の大腸がん治療耐性克服に向けて有用である可能性を示唆している。またNK-128は、細胞内NAD⁺/NADH比を低下させることを見いだした。これらの結果は、NK-128がJCI-20679と同様に、ミトコンドリア酸化的リン酸化、特に複合体Iを阻害していることと合致する知見である。また、テモゾロミド感受性はメチル化グアニンを修復するMGMT活性によって低下することが知られているが、この修復反応にはNAD⁺が必要であることが知られている。従って、このJCI-20679によるNAD⁺/NADH比の低下作用は、テモゾロミドの効果増強のメカニズムの一部である可能性が考えられた。

次にNK-128の生体内における抗腫瘍活性を評価する目的で、ヒト大腸癌SW-48細胞の皮下移植担癌マウスモデルを作成し、新規化合物NK-128の腹腔内投与による抗腫瘍効果について検討を行った。まず、NK-128の至適溶解条件の再検討を行った後、ヒト大腸癌SW-48細胞皮下腫瘍の体積および重量で評価したところ、NK-128の20 mg/kg連日投与により、統計学的に有意な生体内における抗腫瘍効果が明らかとなった。また、JCI-20679と類似して統計学的な有意差を伴わない軽度の体重減少傾向を認めしたが、その他明らかな副作用は認めず、NK-128は安全にマウスへの投与が可能であることを確認した。現在、当該化合物の特許出願の準備中である。

高親和性配列に基づく BACE1 阻害剤の開発

薬品化学分野 赤路健一

薬品化学分野 小林数也

BACE1 (β -site APP cleaving enzyme) は、アミロイド β 前駆体タンパク質 (APP: amyloid-beta precursor protein) を切断する酵素であり、 γ セクレターゼとともに APP を切断することで、アルツハイマー病の発症原因と考えられているアミロイド β ($A\beta$: amyloid-beta) を産生することが知られている。そのため、BACE1 はアルツハイマー病治療薬開発における重要な創薬標的の一つとして精力的に研究がなされている。我々は BACE1 をターゲットとして、①ペプチド性阻害剤、及び②低分子型阻害剤の開発研究を行った。

①ペプチド性 BACE1 阻害剤の開発研究

近年、我々は基質切断部位の周辺配列 (P4~P1') を非天然アミノ酸に置換したドデカペプチドが、天然型や変異型の配列を持つペプチドよりも BACE1 による認識・切断を受けやすくなることを報告している。そこで我々は、この基質認識を受けやすい配列とヒドロキシエチルアミン (HEA) 型イソスターを組み合わせることで、より高活性な BACE1 阻害剤の開発が可能になると考え、HEA 型 BACE1 阻害剤をデザインし、その合成と活性評価を行ってきた。本検討の過程において、化合物 1 と BACE1 との複合体の X 線結晶構造解析から、阻害剤の P1-P3 間に大きな疎水性空間が存在すること、P1' 位と BACE1 との間に空間的な余裕があることが見出された (図 1)。

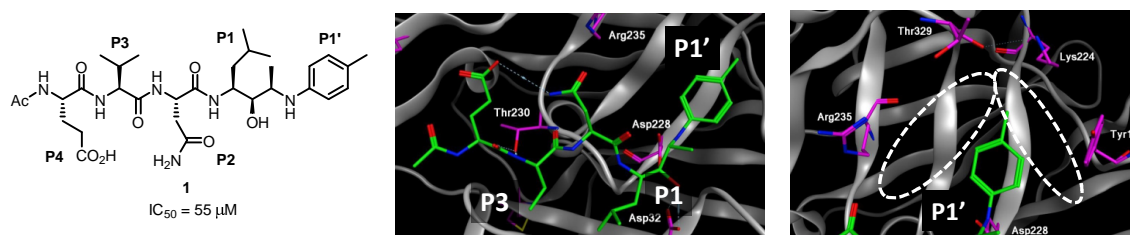


図 1: HEA 型 BACE1 阻害剤 1 の構造と BACE1 との複合体の X 線結晶構造解析

そこで我々は、新たに 2 通りの構造活性相関研究戦略を考案した (図 2)。1 つ目は、P1-P3 側鎖間に架橋構造を導入し、疎水性空間を埋めると同時に、化合物全体の構造を固定化することで活性向上を図る戦略 (化合物 3) であり、2 つ目は、P1' 位に適切な置換基を導入することで、BACE1 との新たな相互作用を形成させ、活性向上を図る戦略 (化合物 5) である。我々は、これら 2 つの戦略に基づき、高活性誘導体 2 及び 4 をベースに、新規阻害剤の合成と活性評価を行った。

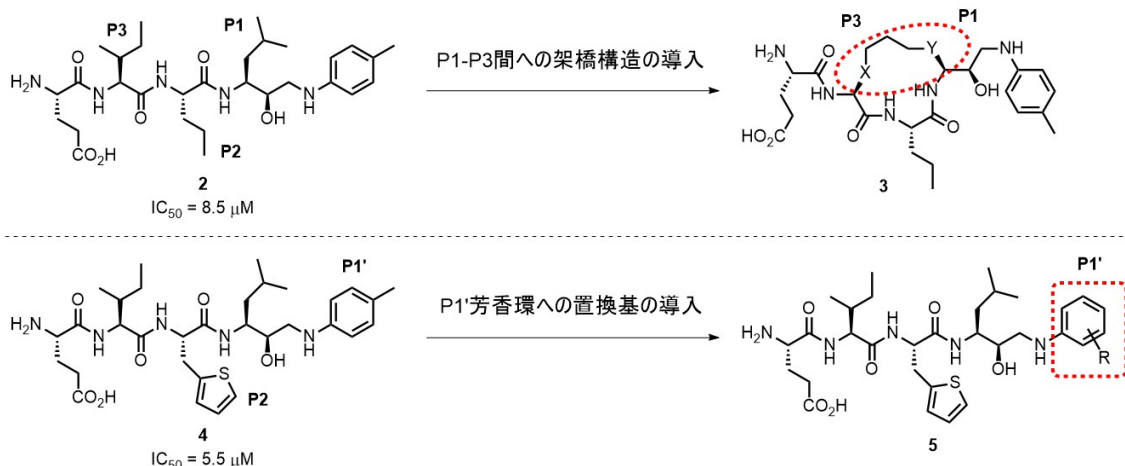


図 2: 構造最適化戦略の概要

・P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入

我々は、P2 位にノルバリンを有する阻害剤 **2** を親化合物として、直鎖構造で架橋した 12～15 員環の環状阻害剤 **3** を合成することとした(図 2)。架橋部はオレフィンメタセシス反応を用いることとし、環化前駆体の合成に必要な側鎖に末端アルケンを有する P1 ユニット及び P3 ユニットの合成を行った。P1 ユニット **14** は、グルタミン酸誘導体を出発原料として、側鎖カルボン酸をアルコールへと還元後、HEA 構造を構築し、アルコール部分をアルケンへと変換することで、保護体として 14 工程で立体選択的に合成することに成功した(図 3)。

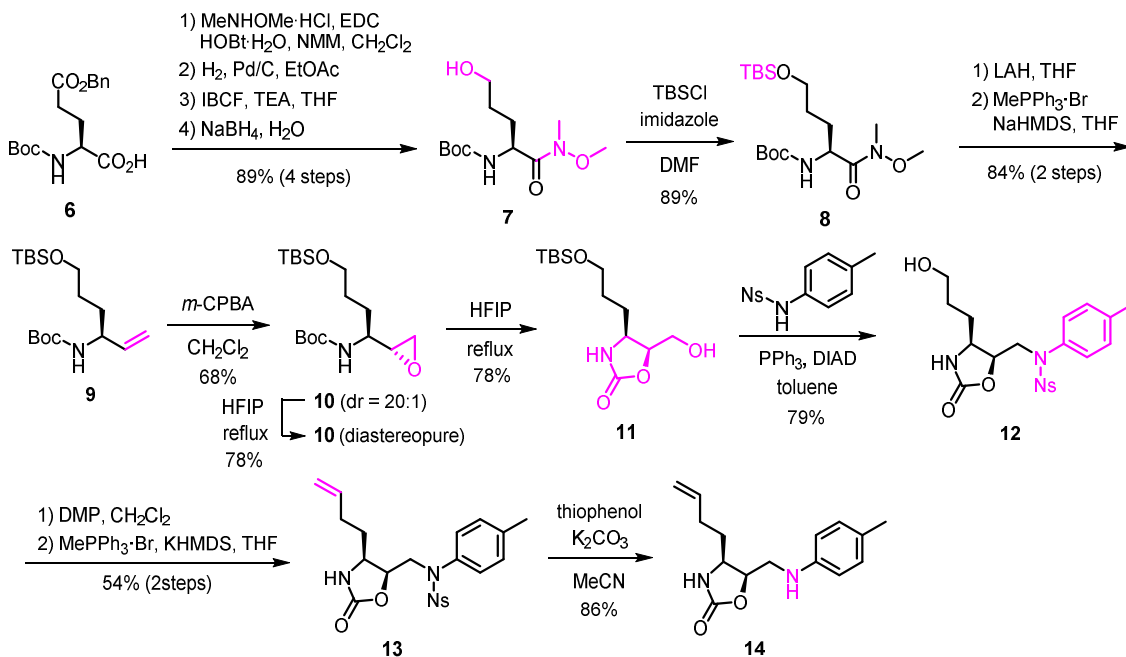


図 3: P1 ユニットの保護体 **14** の合成

また、P1 ユニット **22** は、アスパラギン酸誘導体を出発原料として、同様の構造変換を行った後、アルコール部分をアリル化することで、12 工程で合成することに成功した(図 4)。

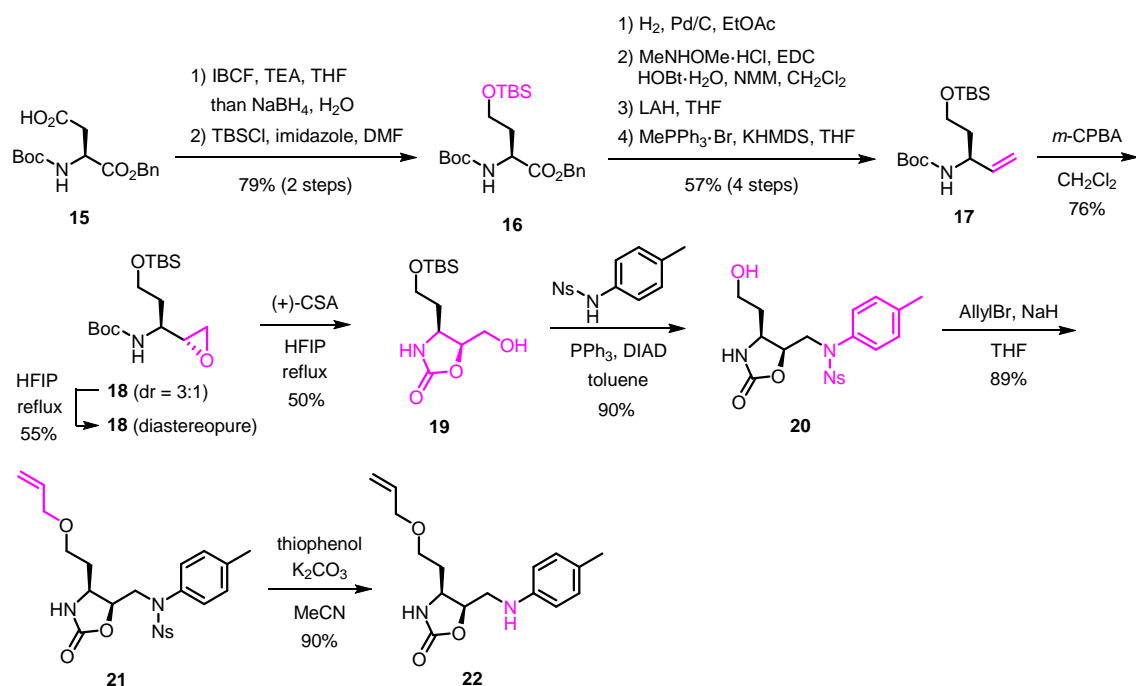


図 4: 保護体の P1 ユニット **22** の合成

続いて我々は、既知法に従い合成した 3 種類の P3 ユニット **23**, **24**, **25** と先に合成した 2 種類の P1 ユニット **14**, **22** を組み合わせることで 12~15 員環の環状阻害剤 **26-29** の合成を行った(図 5)。

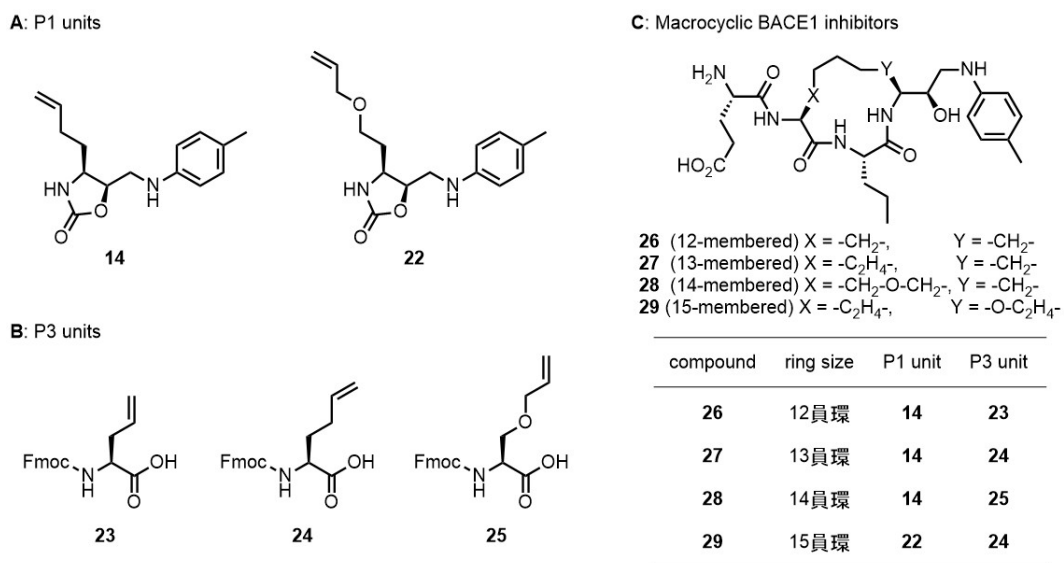


図 5: P1 ユニットと P3 ユニット **23-25** の構造、及び架橋型阻害剤 **26-29** の構造

架橋型阻害剤の合成の一例を示す(図6)。P1ユニットの保護体 **14** から、脱保護後、P3ユニット **23** を含むアミノ酸ユニットを順次縮合し、環化前駆体 **30** を得た。続いて、第2世代 Hoveyda-Grubbs 触媒を用いた閉環オレフィンメタセシス反応と脱保護によりアルケン体 **31** を合成し、接触還元を行うことで12員環架橋を有する目的化合物 **26** を得た。また、架橋構造による活性の違いを比較するため、合成中間体であるアルケン体 **31** について、*E* 体及び *Z* 体をそれぞれ単離し、阻害活性評価を行った。

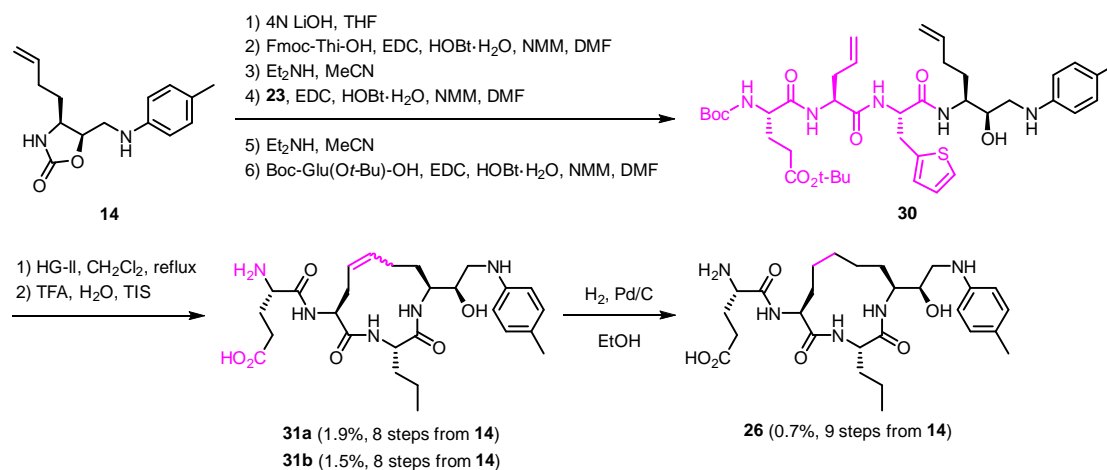


図6: 12員環架橋型阻害剤 **26** の合成

合成した誘導体の BACE1 阻害活性評価の結果を表1に示す。12員環誘導体では還元体 **26** とアルケン体 **31** のいずれにおいても阻害活性はほとんど示さなかったが13員環誘導体では、アルケン体の片方の異性体 **32a** が弱いながらも明らかな活性を示し、その活性値はもう一方の異性体 **32b** と比べて4倍近い差が認められた。また、還元体 **27** ではその中間程度の活性を示した。一方、14、15員環誘導体ではいずれも阻害活性を示さず、またアルケンの幾何異性及び還元による活性の差も見られなかった。

表1: 架橋型阻害剤の BACE1 阻害活性評価

ring size	compound		IC ₅₀ (μM)	ring size	compound		IC ₅₀ (μM)
control	linear	2	8.5	control	linear	2	8.5
12	reduced	26	2000	14	reduced	28	>2000 ^a
	E or Z	31a	>2000 ^a		E or Z	33a	>2000 ^a
	E or Z	31b	1500		E or Z	33b	>2000 ^a
13	reduced	27	1100	15	reduced	29	N.D. ^b
	E or Z	32a	540		E or Z	34a	N.D. ^b
	E or Z	32b	2000		E or Z	34b	N.D. ^b

^a ≈ 20~40% inhibition at 2000 μM, ^b N.D.: not detected

合成した誘導体の阻害活性は、残念ながら親化合物から大きく低下してしまったが、これら

の結果から、単純な直鎖構造による架橋では P1-P3 間の疎水性ポケットを適切に占有できないことが示唆された。そこで、よりかさ高い疎水性基としてベンゼン環を含んだ新規アリアル架橋型 BACE1 阻害剤の合成を行うこととした(図 7)。

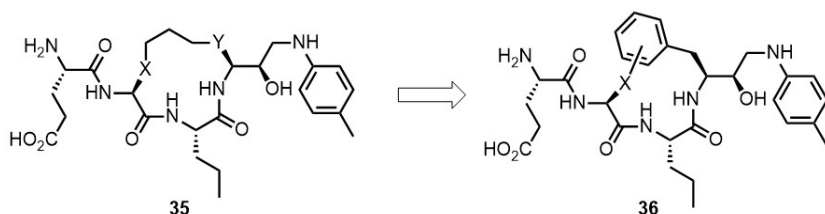


図 7: アリアル架橋型 BACE1 阻害剤への構造転換

架橋部の構築には Heck 反応を用いることとし、本反応に必要な *m*-ヨードフェニルアラニン誘導体である P1 ユニット **44** の合成を行った(図 8)。既報に従い、**37** から立体選択的に *m*-ヨードフェニルアラニン保護体 **39** を合成し、ワインレブアミドへと変換後、先と同様の方法で HEA 構造を構築し、P1 ユニット **44** を 12 工程で得た。

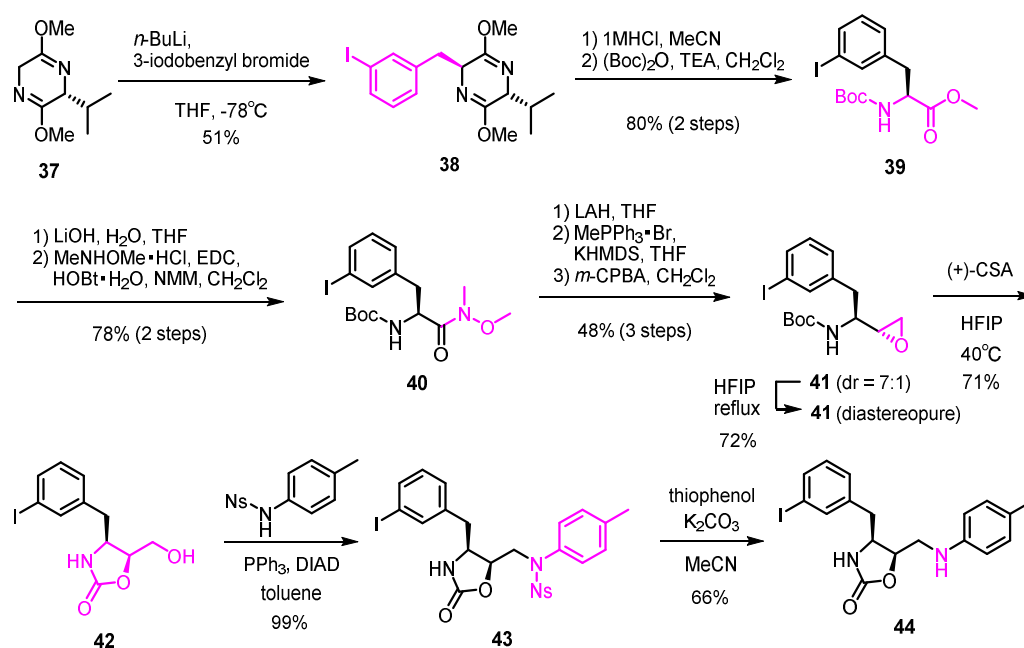


図 8: P1 ユニット **44** の合成

合成した **44** を環化前駆体 **45** へと誘導後、Heck 反応・脱保護・還元を行い、目的化合物と同一質量を有する化合物 **47** を得ることができた(図 9)。アリアル架橋型阻害剤 **47** の阻害活性を評価したところ、これまでに合成した架橋型阻害剤の中で最も高い活性を示し($IC_{50} = 215 \mu M$)、架橋構造への疎水性官能基の導入が活性向上に有効であることが示された。

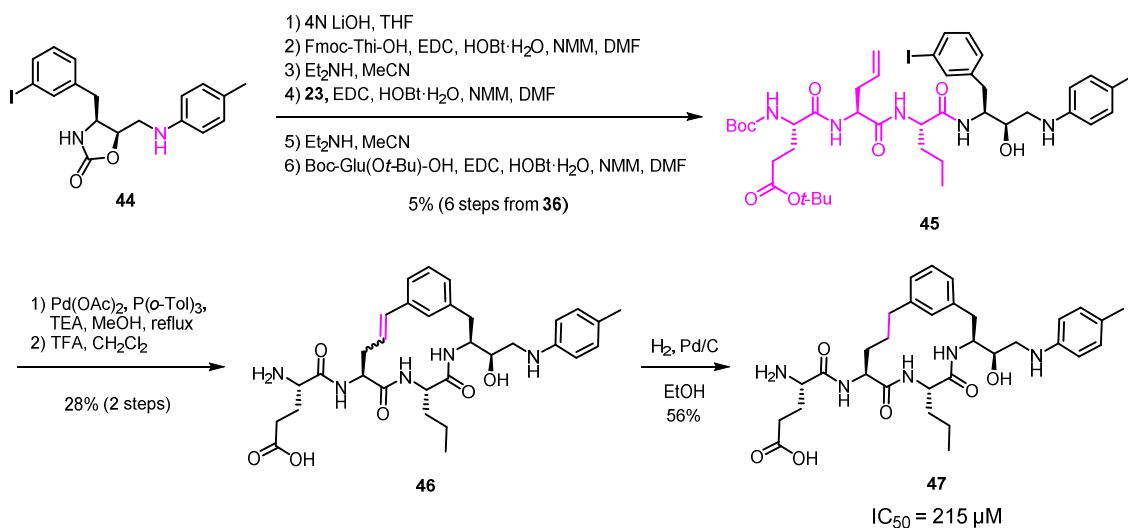


図 9: アリール架橋型阻害剤 **47** の合成

今後は、得られた中程度の活性を有する架橋型阻害剤 **47** を基盤に、芳香環の置換位置及び大きさの検討と、架橋構造への更なる疎水性置換基の導入を行うことで、より P1-P3 ポケットに適した架橋構造の探索を進め、強力なペプチド性 BACE1 阻害剤の開発を目指す。

・P1'位芳香環への官能基の導入

本項目では、P2 位にチエニルアラニンを含む阻害剤 **4** を親化合物として、P1'位の芳香環に種々置換基を導入した誘導体 **5** を合成することとした(図 2)。先に示した P1 ユニットの合成法では光延反応により芳香環を導入していたが、置換基の種類によって光延反応が進行しない場合があったことから、別ルートでの合成を検討した(図 10)。

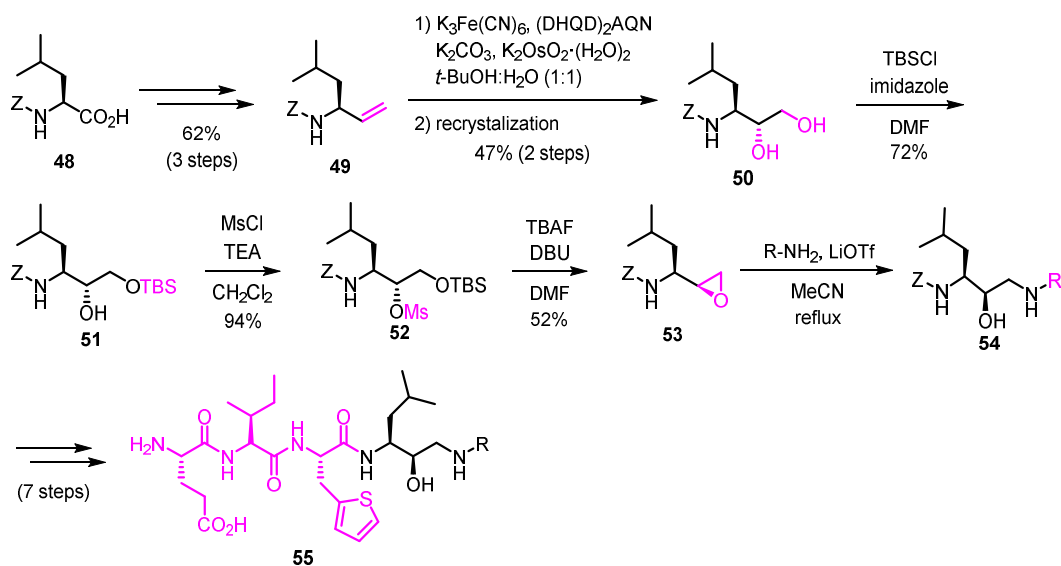


図 10: P1'置換型阻害剤 **55** の合成

Z 保護されたロイシンを出発原料として、3 工程でアルケン体 **49** を合成し、Sharpless 不斉ジヒ

ドロキシ化反応の後、保護基を付け替えることで、望みの立体を有するエポキシ体 **53** を得た。**53** に対して所望の置換基を有するアニリン誘導体を用いることで、種々置換基を有する P1 ユニット **54** を合成することができた。得られた P1 ユニットは、脱保護後、アミノ酸を順次縮合することで P1'置換型阻害剤 **55** へと誘導した。

表 2.: P1'誘導体の BACE1 阻害活性評価

entry	R	IC ₅₀ (μM)	entry	R	IC ₅₀ (μM)	entry	R	IC ₅₀ (μM)
1		12	8		45	15		6.5
2		5.5	9		0.58	16		18
3		6.8	10		19	17		19
4		8.6	11		7.5	18		10
5		3.2	12		4.4	19		6.0
6		235	13		72	20		12.5
7		105	14		190	21		13.5

本合成法に基づいて種々置換基の異なる P1'誘導体の合成と BACE1 阻害活性評価を行った (表 2)。ベンゼン環の para 位に置換基を導入した誘導体では、アルキル基を導入した場合 (entry 2-5) に活性の向上が認められ、かさ高い *t*Bu 基を導入した entry 5 が最も高い活性を示した。一方、ハロゲンや親水性官能基 (スルホンアミド基、カルボン酸) を導入した entry 6-8 では、活性は大きく低下したが、カルボン酸とベンゼン環との間にメチレンを挿入した entry 9 は、合成した誘導体の中で最も高い阻害活性を示した (IC₅₀ = 0.58 μM)。これは、メチレンを導入したことにより、P1'ポケットを構成する Lys224 残基と相互作用可能な位置にカルボン酸を配置することができたためと推定している。

ベンゼン環の meta 位に置換基を導入した誘導体 (entry 10-14) では、メチル基の導入は活性の

わずかな低下を引き起こした(entry 10)が、カルボン酸及びその生物学的等価体であるテトラゾリル基を導入した entry 11, 12 では活性の向上が認められた。アミノ基(entry 13)及びスルホンアミド基(entry 14)では、活性の大きな低下が認められた。続いて、メタ位のカルボン酸を固定し二置換誘導体を合成したが、その阻害活性において相加的な影響は確認されなかった(entry 15, 16)。

環構造を追加した entry 17, 18 では、entry 1 に比べてほぼ同等又はわずかに低下した活性が認められた。ベンゼン環を、シクロアルケンに変換した誘導体では、6員環では活性の向上が認められたが環サイズが大きくなるにしたがって活性は低下した(entry 19-21)。

以上の結果より、①芳香環パラ位にはメチルカルボン酸が適しているが、ベンゼン環近傍には疎水性空間が広がっており *t*-Bu 基の大きさまで疎水性基が許容されること、②芳香環メタ位にはカルボキシル基及びテトラゾリル基が適していること、③P1'ポケットの入り口付近には大きな疎水性空間が広がっていること、が明らかとなった。今後は、得られた知見に基づいて更なる構造活性相関研究を行い、より強力な BACE1 阻害剤の開発を目指していく。

②低分子型 BACE1 阻害剤の開発研究

FBDD(Fragment Based Drug Design)による BACE1 阻害剤開発研究において、構造モチーフ **56** が有用なファーマコフォアとして注目されており、これまでに本骨格を有する低分子型阻害剤が数多く報告されている(図 11A)。我々は、本骨格から着想を得、環構造の外側にアミノ基を配置した *N*-アミノ含窒素環状骨格 **59** をデザインし、*N*-アミノピロリジン **60** について、種々置換基を有する誘導体の合成と活性評価を行った(図 11B)。

A: Kay pharmacophore **56** and related BACE1 inhibitors

B: Novel proposed pharmacophore **59** for BACE1 inhibitors

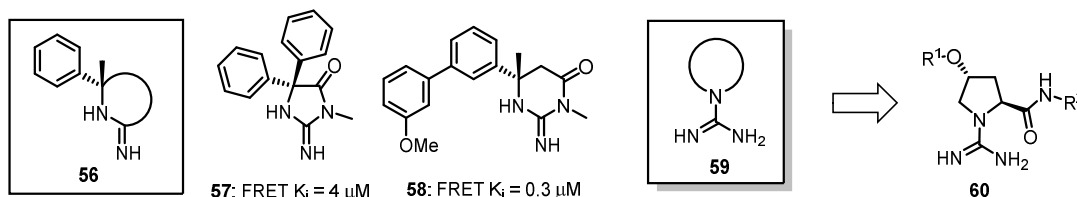


図 11: 低分子 BACE1 阻害剤の構造モチーフと *N*-アミノピロリジン骨格 **60**

2,4-二置換型 *N*-アミノピロリジン **60** は、ヒドロキシプロリンを出発原料として、(a) S_N2 反応を用いた水酸基への R^1 基の導入、(b) カルボン酸へのアミンの縮合による R^2 基の導入、(c) 環上窒素原子へのアミノ基の導入、の 3 段階の工程により容易に合成できることを見出した(図 12)。

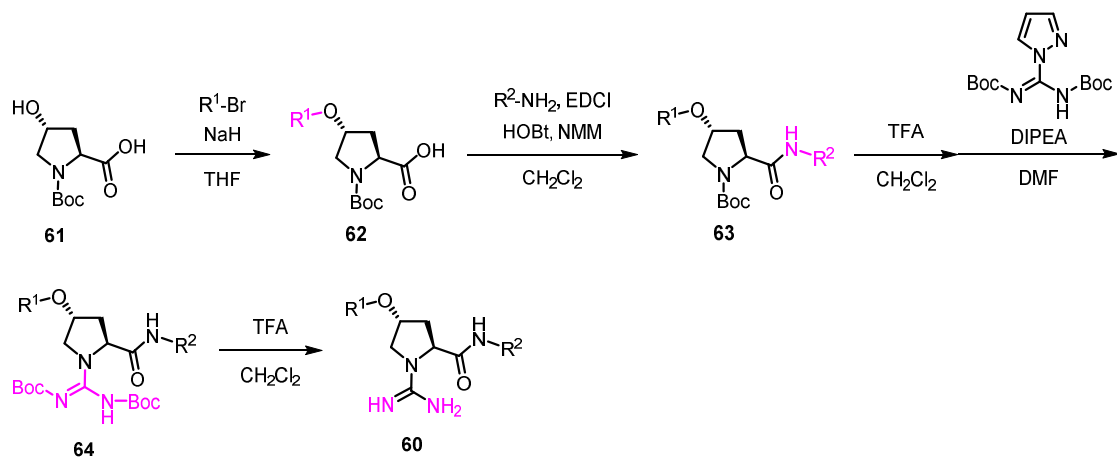


図 12: *N*-アミノピロリジン型阻害剤 60 の合成

誘導体合成の初期検討において、(1) R^1 、 R^2 基が *trans*-配置であること、(2) R^1 、 R^2 基がかさ高いこと、が活性発現に重要であることが示唆された。これらの知見に基づき更なる構造活性相関研究を行った。具体的には、 R^1 = ベンジル、2-ナフチルメチル、3-ビフェニルメチル、 R^2 = *p*-トリル、2-ビフェニル、3-ビフェニル、1-ナフチルに関して、これらを組み合わせた誘導体を合成し、活性評価を行った(図 13)。

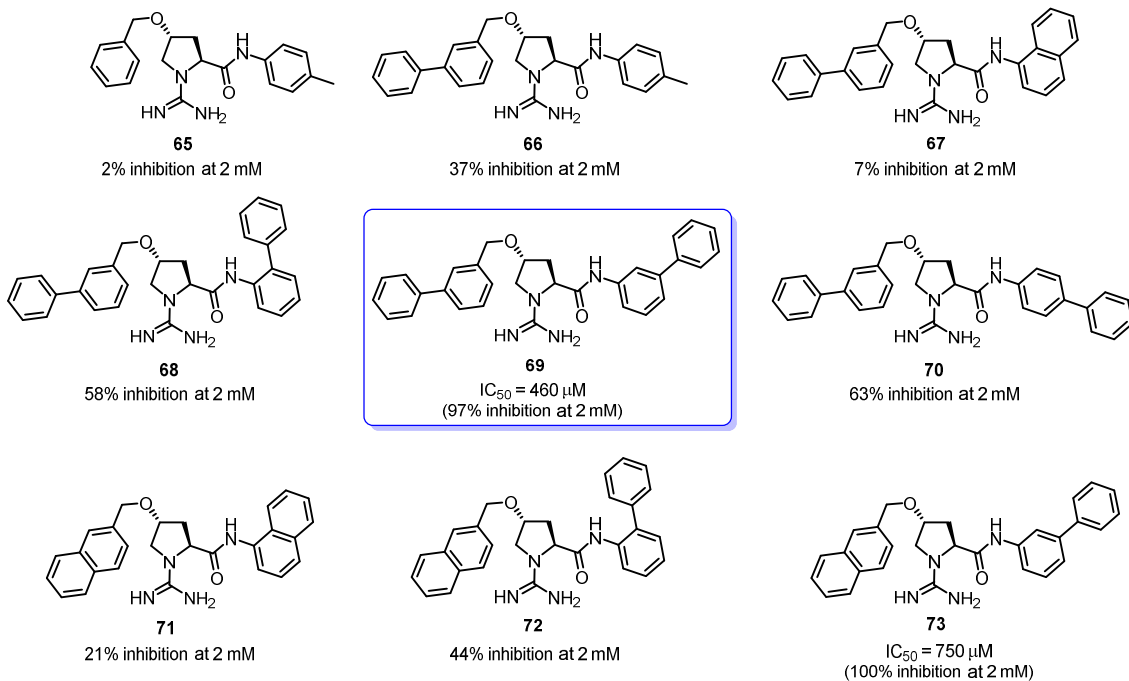


図 13: *N*-アミノピロリジン型阻害剤の活性評価

検討した3種類のR¹基の中では、最もかさ高い3-ピフェニルメチル基が比較的高い活性を有する傾向を示し、R²基は3-ピフェニル基の場合に最も高い活性を示した。本検討において、誘導体**69**が弱いながらも明らかな阻害活性(IC₅₀ = 460 μM)を示したことから、本化合物を基盤として更なる構造活性相関研究を行った。

まず、R¹のビフェニル基への置換基の導入を検討した(図14)。オルト、メタ、パラ位にそれぞれメチル基導入したところ、メタ位誘導体**75**において活性の向上が認められた。そこで、置換位置をメタ位に固定し、種々置換基の導入を行った。かさ高いイソブチル基(**77**)を導入した場合に活性が大きく低下したことから、メタ位方向のポケットのサイズは小さいと判断し、シアノ基(**78**)、ブロモ基(**79**)、フルオロ基(**80**)の導入を試みたが、いずれの場合も活性は低下してしまった。また、*m*, *m*-ジメチル体**81**では、その活性は**75**とほぼ同等であった。以上の検討から、メタ位の置換基はメチル基が最適であると結論付けた。

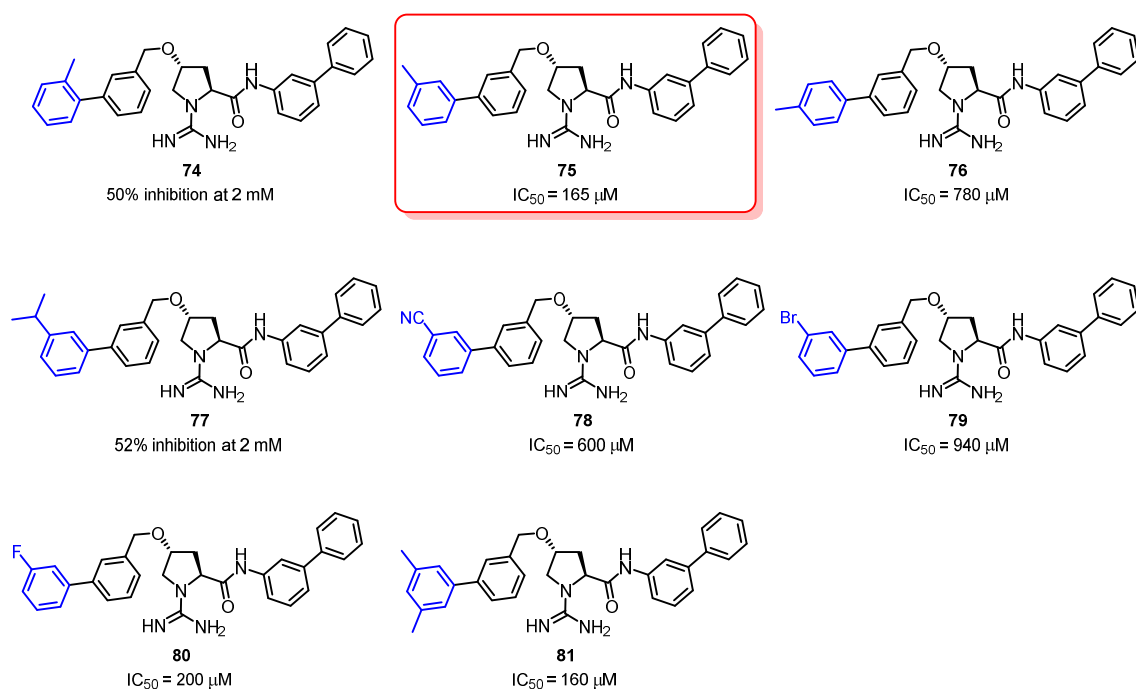


図14: R¹ビフェニル基への置換基の導入

続いて、R²のビフェニル基への置換基の導入を検討した(図15)。先と同様に、オルト、メタ、パラ位にそれぞれメチル基導入したところ、メタ位誘導体**83**では活性のわずかな低下が認められたものの、オルト位(**82**)およびパラ位誘導体(**84**)では、活性の向上が確認された。そこで最も活性が向上したパラ位に置換位置を固定し、よりかさ高いイソブチル基(**85**)の導入を試みたが、その阻害活性は大きく低下してしまった。これは、R¹基の時と同様にパラ位方向のポケットのサイズが小さいことが原因と考えられるため、今後はより立体的に小さい置換基の導入を検討し、最適構造の探索を進めていく予定である。

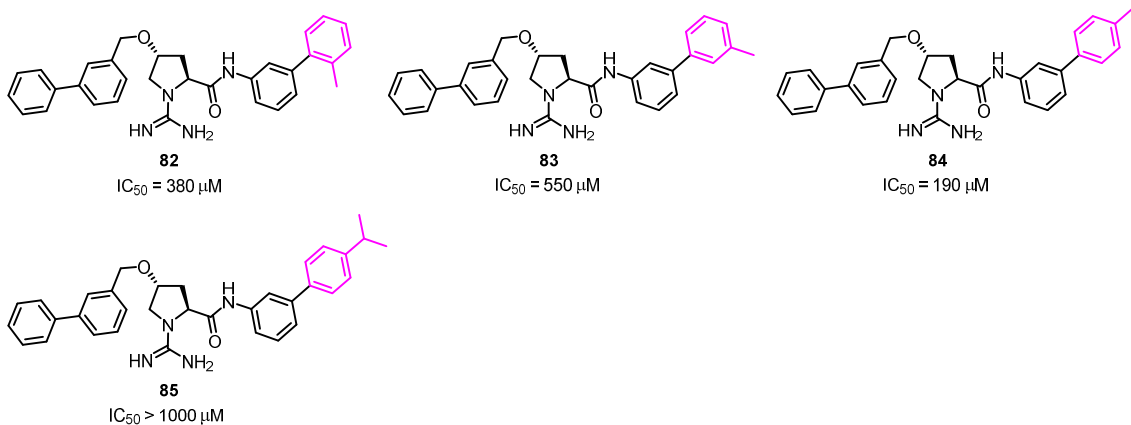


図 15: R²ビフェニル基への置換基の導入

以上のように我々は、アルツハイマー病治療薬開発を目標に、ペプチド性誘導体および低分子化合物の 2 つの構造から新規 BACE1 阻害剤の開発研究に取り組んできた。ペプチド性阻害剤開発研究では、高親和性配列と X 線結晶構造解析の結果を基に、架橋型阻害剤の合成と活性評価を行い、弱いながらも活性を有する新規架橋構造を見出すことに成功した。また、P1'構造について構造活性相関研究を行い、より強力な活性を示す部分構造を見出すことにも成功した。今後は、今後は架橋構造の最適化を進め、得られた骨格に P1'最適構造を組み合わせることで、強力なペプチド性阻害剤の開発を検討していく予定である。一方、低分子型阻害剤では、独自に考案した *N*-アミノピロリジン型骨格を基盤に構造活性相関研究を行い、弱いながらも確かな阻害活性を有する新規化合物を見出すことに成功した。今後は、更なる活性の向上を目指すと同時に膜透過性を含む物性の検討を行い、よりドラッグライクな誘導体の導出を目指していく予定である。

エクソソームの分泌元細胞への効率的移行を利用した薬物送達技術の開発

病態生理学分野 戸田侑紀

薬剤を標的部位へと特異的に送達できる DDS (drug delivery system) の利用は、薬物治療の有効性と安全性を高める一つの手段である。多くの細胞は、エクソソームという膜小胞体を細胞外へ分泌し、情報伝達を行なっている。著者は、特定の細胞へ作用するための潜在的に備わった指向性が生体内での複雑な情報伝達に必須であると考えている。これまでに、グリオブラストーマ由来エクソソーム (Exo-U251) が分泌元のがん細胞へ効率的に導入されること (がん細胞指向性) を見出した [Biochem. Biophys. Res. Commun., 456:768-773, 2015]。そこで、本特性を利用した薬物送達技術の開発を目指した。

Exo-U251 の膜表面のタンパク質は、がん細胞指向性にほとんど寄与しないことがわかっている。そこで、本エクソソームの脂質成分から再構成したリポソーム (Exolip-U251) のがん細胞内への取り込み量を解析し、脂質組成と本指向性の因果関係を検証した。その結果、蛍光標識した Exolip-U251 は、がん細胞および正常細胞双方に同程度取り込まれるコントロールリポソームとは異なり、がん細胞へ効率的に取り込まれた。次に、Exo-U251 を構成する各リン脂質クラスについて、定量解析した。Exo-U251 の脂質組成が指向性をもたない他のエクソソームとは大きく異なっていた。さらに、ドキシソルビシンを内包した Exolip-U251 は、分泌元細胞の増殖を有意に抑制した。本研究で開発した脂質成分のみで成る Exolip-U251 は、合成品として量産可能な DDS の有望な seed と考えられる。本基盤事業内で見出された有望な低分子化合物を本リポソームにて腫瘍部位へ効率的に送達し、有効性と安全性の高い新規治療法の実現に寄与することが期待される。

また、本現象を急性骨髄性白血病細胞株 (THP-1) に適用したところ、グリオブラストーマで見られたような分泌元細胞への効率的な取り込みはみられなかった。そこで、エクソソーム取り込み経路の一つであるマクロピノサイトーシスを活性化させ、再検証した。Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) / イオノマイシンによりマクロピノサイトーシスを活性化させた THP-1 細胞では、エクソソームに内包した蛍光標識 siRNA の取り込みが顕著に増加した。血液がん細胞などの浮遊系細胞に対する siRNA 導入技術の開発は途上であり、本成果はその現状打破に貢献することが期待される。一方で、PMA / イオノマイシンは発がん性があるため、標的細胞のエクソソーム取り込みを特異的に活性化させられる drug-like な化合物の探索も行なっていく必要があると考えられる。

DJ-1 による膠芽腫幹細胞の自己複製制御

病態生理学分野 戸田侑紀

治療抵抗性と高い腫瘍形成能を示すがん幹細胞 (CSCs) はがん再発の根源的存在であり、その根絶を目指した新規治療法の開発は急務である。本研究では、造血幹細胞の幹細胞性維持に寄与する DJ-1 に着目し、悪性度の高い神経膠芽腫 (GBM) における機能解明を行なった。

ヒト GBM 細胞株である U87-MG (U87; 野生型 p53 発現) および U251-MG (U251; 変異型 p53 発現) を低接着性プレート上にて無血清培地条件で培養し、GSCs を豊富に含む細胞集塊 (スフェア) を形成させた。DJ-1 のタンパク質発現量は、スフェア形成に伴って経時的に増加した。一方、DJ-1 に対する siRNA を前処置した U87 のスフェア形成効率は、対照群と比べて著しく低下するものの、U251 ではそのような変化はなかった。GSC 分画比に与える影響について、アルデヒド脱水素酵素活性から評価したところ、DJ-1 をノックダウンした U87 細胞では GSC 分画比が減少した。

DJ-1 は p53 の転写活性を制御している。DJ-1 ノックダウンがスフェア形成効率に与える影響については、p53 の機能が維持された U87 細胞のみでみられたことから、本現象に p53 が関与するのではないかと考えた。そこで、DJ-1 と p53 を同時にノックダウンしたところ、スフェア形成効率は低下しなかった。また、幹細胞制御因子の一つである c-MYC のタンパク質発現量が DJ-1 ノックダウンにより低下するが、p53/DJ-1 の同時ノックダウンではその低下がみられなかった。以上より、DJ-1 は p53 を介して c-Myc 発現を制御し、GSCs の幹細胞性を維持させている可能性が示唆される。

DJ-1 は酸化ストレスセンサーとして機能することが知られている。U87 細胞において DJ-1 をノックダウンすると、細胞内での酸化ストレス (ROS) レベルが上昇していた。しかし、抗酸化剤の添加した場合においても、DJ-1 ノックダウンによるスフェア形成効率の低下は抑制されなかった。よって、DJ-1 ノックダウンによる ROS 上昇はスフェア形成効率の低下に無関係であった。

DJ-1 をノックダウンした U87 細胞を Balb/c nu/nu マウス脳実質に移植し (一次移植)、生存期間をコントロール細胞移植群と比較評価した。人道的エンドポイントに達した一次移植マウス脳より腫瘍を摘出し、培養後増殖した細胞群の二次移植を別のマウスに行った。その結果、一次移植マウスでは大きな差はみられなかったが、二次移植マウスでは DJ-1 ノックダウン細胞移植群で生存期間が有意に延長した。

以上より、DJ-1 は U87 株の GSCs において自己複製能を制御しており、p53 変異を有しない GSCs に対する治療標的分子になり得ることが示唆された。

膠芽腫幹細胞を標的する新規治療標的の探索と GGCT 阻害剤の創製

臨床腫瘍学分野 中田晋

悪性脳腫瘍の一種である膠芽腫の予後は極めて不良である。近年、膠芽腫細胞の性質は均一ではなく、その組織中には膠芽腫幹細胞と呼ばれる細胞群が存在することが明らかにされてきた。我々はこれまでの研究で、ヒト膠芽腫幹細胞に Lgr5 遺伝子が高発現し、腫瘍組織における Lgr5 発現レベルは不良な予後と相関すること、ヒト膠芽腫幹細胞において Lgr5 をノックダウンするとアポトーシス細胞死が誘導され、Stat5b 遺伝子の発現が抑制されることを報告してきた。そこで本研究では、マウス膠芽腫組織由来幹細胞モデルを用い、Stat5b の機能解析と発現制御因子の探索、および Stat5b 阻害剤による抗腫瘍効果について解析を行った。

まず Stat5b をノックダウンすることにより、マウス由来膠芽腫幹細胞の増殖が抑制され、アポトーシス細胞死が誘導されることをみいだした。さらに、Stat5b に結合してその活性を阻害することが報告されている低分子化合物 IQDMA で処理することにより、リン酸化型 Stat5b を顕著に減少させて濃度依存性に膠芽腫幹細胞の増殖を抑制し、Caspase-3 および PARP の切断を伴うアポトーシス細胞死を誘導することを明らかにした。Stat5b の発現調節機構を明らかにするため、低酸素条件下で培養したところ、その発現量が増加し、また、低酸素応答シグナルに中心的な機能を果たす Hif2a をノックダウンすることにより、Stat5b 発現レベルの低下に成功した。また、マウス膠芽腫幹細胞においても Lgr5 ノックダウンによって Stat5b 発現は抑制され、Wnt 経路の重要な因子である β Catenin のノックダウンによっても、Stat5b の発現は有意に抑制された。これらの結果から、低酸素応答シグナルと Wnt 経路の双方が、Stat5b の発現を促進する因子であると考えられた。ヒト膠芽腫組織を用いた免疫組織化学による検討でも、Hif2a 陽性の低酸素領域において、Lgr5 と Stat5b の共局在が観察されており、これらの因子が複合して、実際の臨床例においても膠芽腫の進展に関与している可能性が示唆された。以上の成果により、Stat5b は低酸素応答シグナルおよび Wnt 経路によってその発現が制御される新規遺伝子であり、Stat5b は膠芽腫幹細胞の維持・増殖を促進する因子であるため、膠芽腫の新規の治療標的分子の候補として有望である可能性が考えられた。

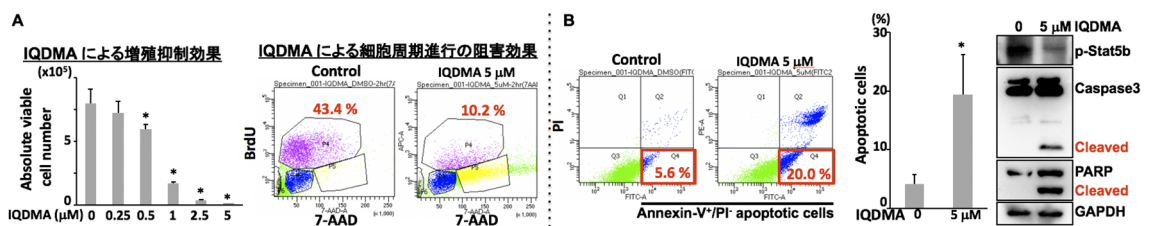


図 1: IQDMA による膠芽腫幹細胞に対する A 増殖抑制効果、B アポトーシス誘導

また本研究で我々は、グルタチオン代謝に関わる γ -グルタミル回路を構成する酵素の一つである γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ (GGCT) を標的とした治療薬開発を行った。これまでに mRNA レベルおよびタンパク質レベルともに、正常組織と比較してがん組織における明らかな高発現が報告されている。本研究で我々は、GGCT のノックダウンによって、MCF7 乳がん細胞に p21 および p16 の誘導に依存して顕著な細胞周期停止と細胞老化を誘導すること (Matsumura, et al, BMC Cancer, 2016)、この GGCT ノックダウンによる p21 の誘導には新規 GGCT 結合タンパク質 Prohibitin-2 が重要な役割を果たすことを報告した (Taniguchi, et al, BBRC, 2018)。また、MCF7 細胞および前立腺がん細胞株 PC3 において GGCT をノックダウンした場合に誘導される CDKI の発現上昇および細胞増殖抑制効果は、オートファジーの誘導を伴うことを示し (Taniguchi, et al, Am J Cancer Res, 2018)、GGCT ノックダウンは PC3 細胞および神経膠芽腫細胞株 A172 において腫瘍抑制転写因子 FOXO3a の発現上昇および AMPK を介したリン酸化による活性化を引き起こし、p21 の発現上昇をその上流で制御することを示した (Taniguchi, et al, BBRC, 2019)。さらに、GGCT を阻害する独自の化合物をデザインし、GGCT 阻害化合物 N-グルタリル-L-アラニン (GA) と、そのプロドラッグ pro-GA の創製に成功した。この pro-GA は細胞膜を透過し生細胞内に分布し、細胞内で GA に変換されることを確認し、すでにフナコシ株式会社より製品化されている。この pro-GA は、in vitro および in vivo とともに有意な抗腫瘍効果を認めている (li, et al, ChemMedChem, 2018)。また、マウスでの用量増加試験では強い毒性は認めていない。従って、GGCT 阻害剤は、副作用が軽微である可能性があると考えられる。さらに、膀胱がん細胞株に対するマイトマイシン C の効果を pro-GA が増強すること (Hanada, et al, Anticancer Res, 2019)、前立腺がん細胞に対するドセタキセルの効果を増強することを報告した (Takagi, et al, Anticancer Res, 2019)。

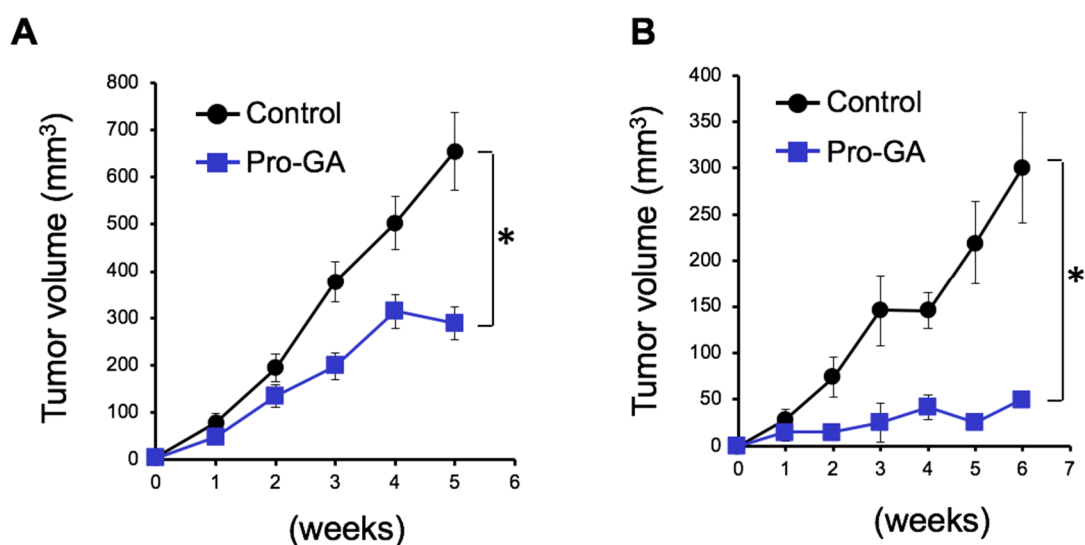


図 2: pro-GA による A 前立腺癌、B 乳癌のマウス移植モデルに対する抗腫瘍効果

アザ-デカリン骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の創製

共同利用機器センター 服部恭尚
薬品化学分野 赤路健一、小林数也

【目的】

重症急性呼吸器症候群(SARS)は 21 世紀初の新興感染症であり、その原因は新種のコロナウイルス(SARS CoV)であることが明らかにされている。最近、SARS CoV に関連するコロナウイルスを原因とする中東呼吸器症候群(MERS)の流行が確認され、直近でも中国武漢において新型コロナウイルスを原因とする呼吸器症候群が報道されている。しかし、SARS および関連疾患の治療薬はいまだに開発されていない。

SARS CoV の増殖にはシステインプロテアーゼである SARS 3CL プロテアーゼ(SARS 3CL^{pro})が必須であり、このプロテアーゼ阻害剤は有望な治療薬候補と考えられている。我々は、既に SARS 3CL^{pro} 基質配列に基づくペプチダルデヒド型阻害剤 **1** を報告し、阻害剤 **1** と SARS 3CL^{pro} との複合体 X 線結晶構造解析に成功している。^{a)} さらに、P2 位での疎水性相互作用が重要であることを明らかにするとともに、P2 位側鎖シクロヘキサン環と主鎖アミド窒素原子をメチレンリンカーで連結した新規アザ-デカリン縮環型阻害剤 **2** を設計した。合成した阻害剤 **2** は中程度の阻害活性を示したが、阻害活性は低下する結果となった。阻害剤 **2** と SARS 3CL^{pro} との複合体結晶構造解析から、新たに設計した縮環型骨格は想定通り P2 部位と疎水性相互作用を形成していたがプロテアーゼの S₄ ポケットでの相互作用が欠如しており、この相互作用欠損が活性低下の理由の一つであると考えられた。^{b)}

【方法と結果】

以上の先行研究結果をもとに、共結晶構造解析から最適と考えられた 4 位に新たなノンブライムサイト相互作用部位を導入した新規アザ-デカリン型阻害剤 **3** を設計し、阻害活性を評価することとした(Figure 1.)。

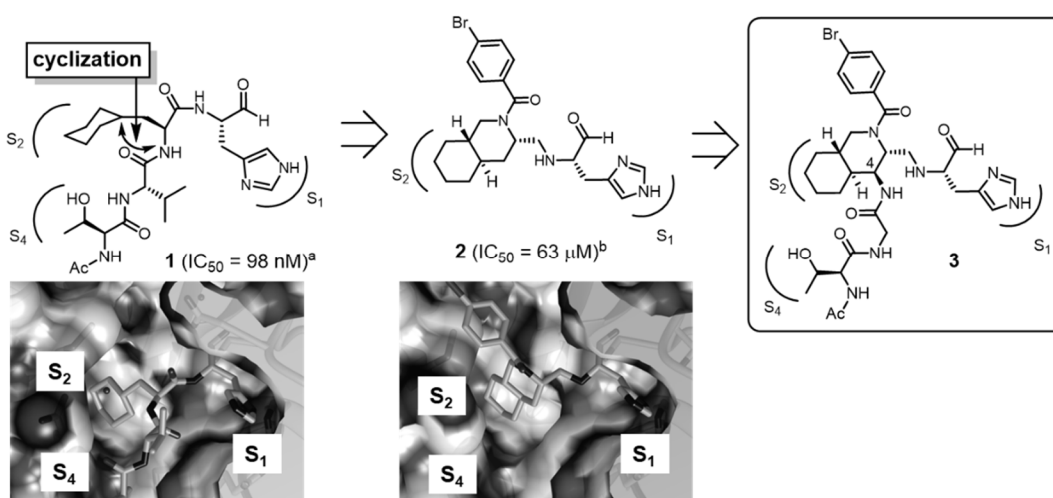
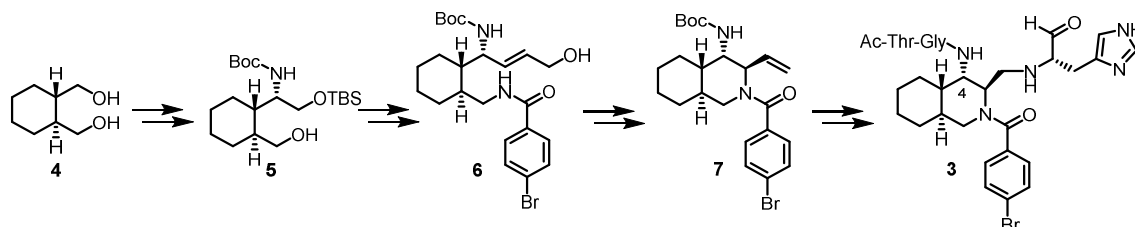


Figure 1: アザ-デカリン骨格を有する阻害剤 **3** の設計

まず、市販のジオール **4** を出発物質とし、Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応により新規相互作用部位を立体選択的に導入した。得られた環化前駆体 **6** に対し、2 価パラジウム触媒を用いたジアステレオ選択的な環化反応を応用することで目的の鍵中間体 **7** を高選択的に得ることができた。その後、ノンプライムサイトに相当する置換基および活性中心との相互作用部位を順次導入し、阻害剤 **3** の合成を達成した (Scheme 1)。^{C)}



Scheme 1: アザ-デカリン型阻害剤 **3** の合成

ついで、上記で確立した合成法を利用し、プロテアーゼ活性中心 Cys チオール基と反応しうる warhead の検討を行った。すなわち、warhead としてアルデヒド基と同様の反応性を示すと推測される Michael acceptor 型置換基やアセタール基について検討を行うこととした (Figure 2)。その結果、Michael acceptor 型や Weinreb アミド型官能基ではほとんど阻害活性がみられないが、ジチオアセタール warhead では阻害活性は低下するものの明らかな阻害活性が保持されることが明らかになった。このことから、チオアセタール基はプロテアーゼ活性中心チオール基と一定の相互作用を持つことが示唆された。^{C)}

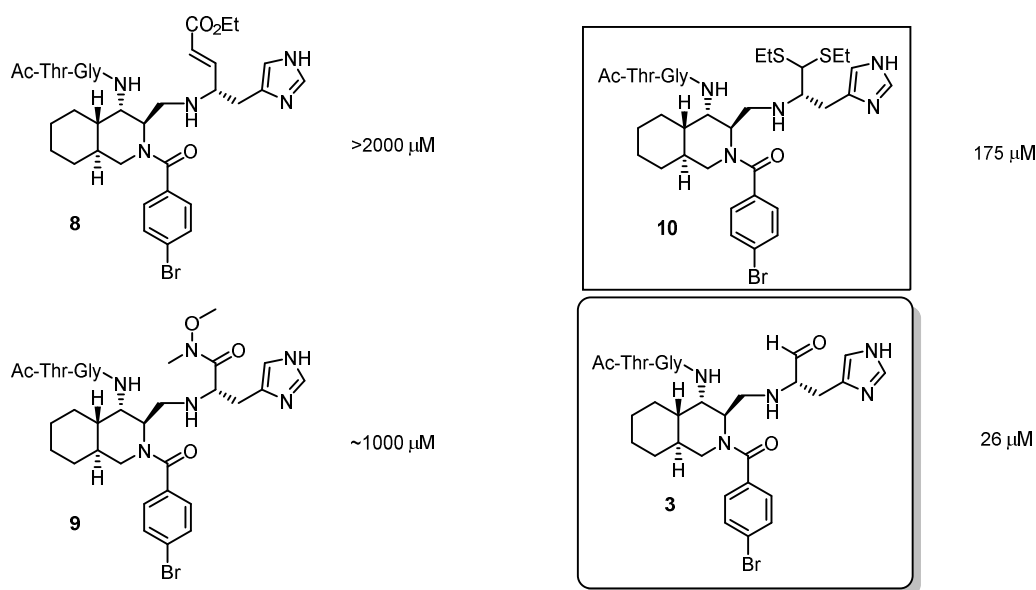


Figure 2. アザ-デカリン型阻害剤の **3**, **8-10** の阻害活性評価

<参考文献>

- Akaji, K.; Konno, H.; Teruya, K. *et al. J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 7962-7973.
- Shimamoto, Y.; Teruya, K.; Akaji, K. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 876-890.
- Ohnishi, K.; Hattori, Y.; Kobayashi, K.; Akaji, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 425-435.

N-アミノピペリジン骨格を基盤とする BACE1 阻害剤の開発研究

薬品化学分野 小林数也

アルツハイマー病の発症原因の一つと考えられているアミロイド β ($A\beta$: amyloid-beta) は、アミロイド β 前駆体タンパク質 (APP: amyloid precursor protein) が BACE1 (β -site APP cleaving enzyme) および γ セクレターゼによる切断を受けることで生成する。特に BACE1 は APP 切断の一段階目に関与していることから、BACE1 を標的としたアルツハイマー病治療薬開発研究が精力的に行われている。我々は BACE1 をターゲットとした低分子型阻害剤の開発研究を行った。

FBDD (Fragment Based Drug Design) に基づく低分子 BACE1 阻害剤開発研究において、平面性を持たない環状アミジン骨格 **1** を有する阻害剤が数多く報告されており、構造モチーフ **1** が有用なファーマコフォアとして着目されている (図 1A)。我々はこの環状アミジン骨格に着目し、環構造の外側にアミノ基を配置した N-アミノ含窒素環状骨格 **4** をデザインした。本研究では、N-アミノピペリジン **5** について、種々置換基を有する誘導体の合成と活性評価を行った (図 1B)。

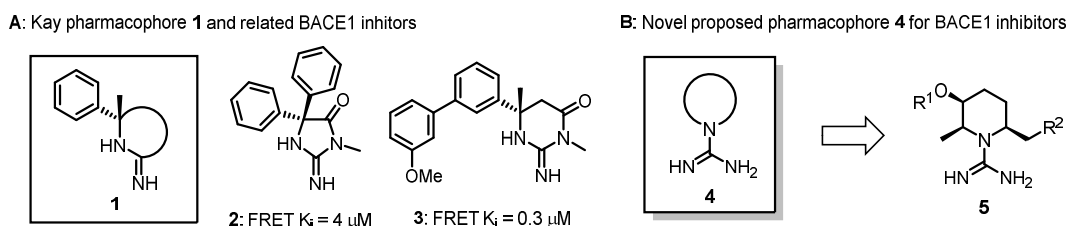


図 1: 低分子 BACE1 阻害剤の構造モチーフと N-アミノピペリジン骨格 **5**

アラニン誘導体を出発原料として 8 工程で合成した環化前駆体 **7** に対して、所属研究室で開発した Pd 触媒を用いたジアステレオ選択的環化反応を用いてピペリジン骨格の構築を行った (図 2)。

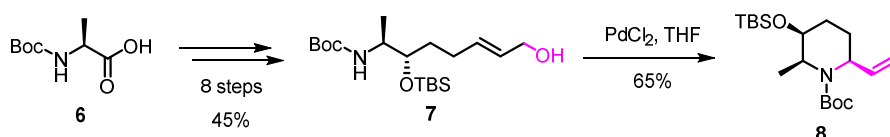


図 2: ピペリジン誘導体 **8** の合成

得られたピペリジン誘導体 **8** の水酸基及びアルケン部への置換基の導入と、環上窒素原子へのアミノ基の導入を行うことで、5 種類の 2,5-*cis*-二置換型アミノピペリジン誘導体を合成した (図 3)。続いて、得られた誘導体について BACE1 阻害活性評価を行い、構造活性相関を検討した (表 1)。片側にのみ置換基を導入した誘導体ではほとんど活性を示さなかった (entry 1-3) のに対して、両側に置換基を導入した場合わずかながら活性の向上が認められ (entry 4)、それぞれをかさ高い置換基へと変換することで更なる活性の向上が確認された

(entry 5)。以上の結果から、両サイドへのかさ高い置換基の導入が活性発現に有効であることが示唆されたが、合成した誘導体では十分な BACE1 阻害能を有する化合物は見出すことはできなかった。

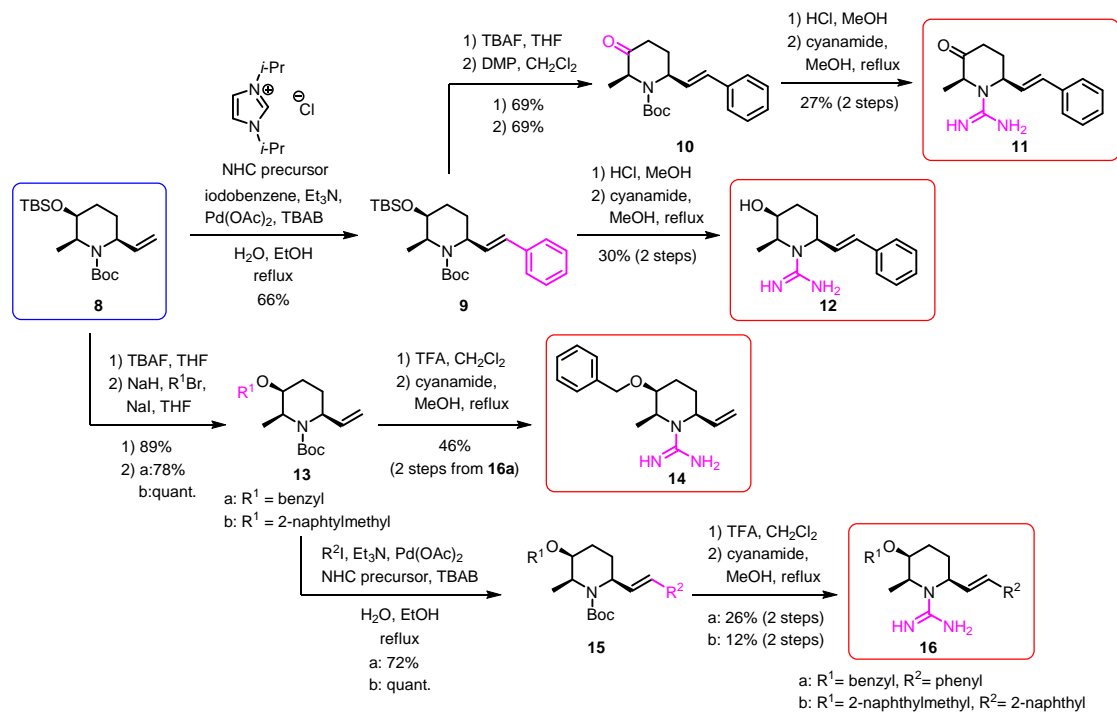


図 3: 2,5-*cis*-二置換型 *N*-アミノアミノピペリジン誘導体の合成

表 1: 2,5-*cis*-二置換型 *N*-アミノピロリジン誘導体の BACE1 阻害活性評価

entry	compound	%inhibition at 2 mM	entry	compound	%inhibition at 2 mM
1		0	4		24
2		15	5		35
3		3			

活性低下の原因は、2つの置換基の相対立体配置にあると考え、現在我々は 2,5-*trans*-二置換ピペリジン誘導体の合成を検討している。これまでに合成法は確立できており、得られた誘導体の BACE1 阻害活性評価を進めている段階にある。今後も本新規骨格に基づく構造活性相関研究を展開し、低分子 BACE1 阻害剤の開発を目指していく予定である。

天然薬物を素材とした含硫黄、含窒素機能性化合物の開発研究

生薬学分野 中村誠宏

我々は、和漢生薬を中心とした天然薬物を素材とし、特にがん転移抑制および神経変性疾患予防作用を有する含窒素、含硫黄含有機能性化合物の開発研究を進めてきた。本成果報告書において、我々が 2015 年以降行った薬用植物を素材とした機能性化合物の開発研究の結果について報告する。

1. アリウム属植物を素材とした機能性含硫黄化合物の開発

ニンニクに代表されるアリウム属植物は、古くから食品としてだけでなく疾病治療を目的として用いられてきた。アリウム属植物は、alliin や isoalliin などの含硫黄アミノ酸 [システインスルホキシド] を有しており、それらの成分は植物組織が破壊されると、別の細胞に貯蔵されていたアリイナーゼなどの分解酵素により allicin 類へと変換され、続く多段階の化学反応や酵素反応を介して ajoene などのスルフィド類へと誘導されることが報告されている。ajoene は、これまでに有意ながん細胞増殖抑制作用を有することが知られており、抗がん医薬品シーズとして注目されている化合物である。我々は、アリウム属植物葉部から稀有な含硫黄機能性化合物の探索を目的として、ネギ(九条ネギ、*Allium fistulosum* 'Kujou') 葉部 [葱白]、ニンニク (*A. sativum*) 葉部、アサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) 葉部およびニラ (*A. tuberosum*) 葉部に着目し、スルフェン酸類から誘導される含硫黄化合物の単離を行った。すなわち、京都府産九条ネギを素材として用い、抽出条件を詳細に検討したところ、kujounin 類と命名した稀有な含硫黄複素環化合物および allium sulfoxide と命名した単環状のテトラヒドロチオフェン骨格を有する含硫黄化合物を得た。また、*Allium* 属植物の種による成分比較を行うため、高知県産ニンニク葉部、福島県産アサツキ葉部および高知県産ニラ葉部を素材とし含硫黄化合物の単離を行った。その結果、ニンニク葉部からは、ネギと同様にテトラヒドロジフロフラン骨格を有する含硫黄化合物が中心に得られた。一方で、アサツキ葉部からはテトラヒドロチオフェン骨格を有する化合物が、ニラ葉部からは直鎖状の含硫黄化合物が中心に得られた。これらの結果から、種によって得られる主要な含硫黄化合物の基本骨格に違いがあることが明らかになった。次に、我々はニンニクから得られる allicin 類を用い含硫黄機能性化合物の開発を行った。すなわち、ニンニク (*A. sativum*) を素材として用い、得られる粗 allicin 分画に Danishefsky's diene や Rawal's diene などのシリルエノールエーテルを反応試薬として加え、Diels-Alder 反応および Mukaiyama aldol 反応を誘導し、含硫黄化合物の構築を試みた。その結果、系中で allicin から生成する thioacrolein や allylthiol と活性ジエンが反応し、多様な半天然型鎖状および環状含硫黄、含窒素化合物を合成することができた。

2. ヤマアイ地上部の単離成分の生成過程を模倣した含窒素複素環式化合物の合成

我々は染料の薬学的利用を指向し植物染料であるヤマアイ (*Mercurialis leiocarpa*) に着目した。すなわち、ヤマアイは、日本各地に自生しているトウダイグサ科の多年草であり、日本において古くから青色染料として利用されてきた。我々は、京都府産(京都薬科大学薬用植物園)ヤマアイの地上部を素材として用い、その含有成分の探索を進めたところ leiocarpanine A (5) と命名した非対称ジピロールおよびピロールジオン二量体 isochrysohermidine を見出した。化合物 5 は、抽出過程において hermidin の空気酸化により生じるラジカル中間体等を経由し、続くラジカル付加反応により生成すると考察された。そこでアルカロイド成分 5 の合成を、生成過程を考察することで進めた。その結果、4-methoxy-1-methylpyridine-2,6-dione (6) を出発原料としラジカル中間体を経由することにより 5 の合成に成功した。今回、分液操作のみで出発原料 2 から leiocarpanine A (5) を含有した分画を得ることで、カラムクロマトグラフィーによる精製過程は最終工程のみで非対称ジピロール誘導体 5 を簡便に合成することが可能となった。さらに、同合成方法を応用し数種の誘導体を合成することができた。

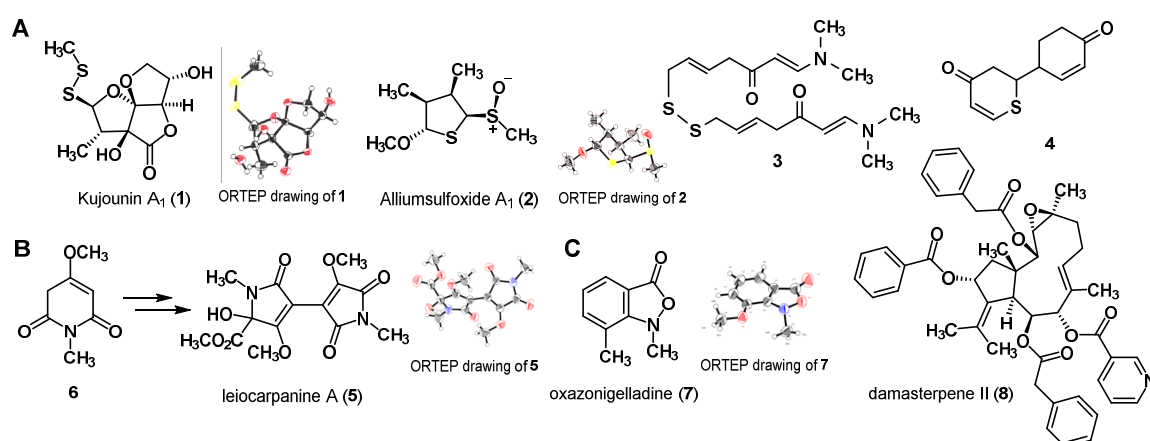


図 1: アリウム属植物葉部、ヤマアイ地上部およびクロタネソウ種子から得られた含硫黄、含窒素機能性化合物の化学構造

さらに、アリウム属植物葉部およびトウダイグサ科ヤマアイ地上部だけでなく、①キンポウゲ科クロタネソウ (*Nigella damascena*) 種子、②コウホネ科ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*) 根茎 [川骨] などから、oxazonigelladine (7) と命名したイソキサゾリジオンや damasterpene II (8) と命名したドラペラン型ジテルペンアルカロイド等、多様な含窒素、含硫黄化合物を得ることができた。その他、含硫黄、含窒素化合物以外にもタバコウロコタケ科カバノアナタケ、キク科アーティチョークなどからトリテルペン、セスキテルペン類を見出し、それらががん浸潤抑制作用や抗炎症作用を示すことを明らかにした。

スルホンアミド結合により複素環を連結した 新規アセトゲニン誘導体の合成と抗腫瘍活性評価

薬品製造学分野 小島直人

我々の研究グループでは、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるポリケチドであるアセトゲニン類をリードとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究を展開してきた。アセトゲニン類は長鎖アルキル鎖の中央付近に2,5-二置換のテトラヒドロフラン(THF)環、末端にγ-ラクトン環を持ち、強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことが知られている。一方、農薬分野において、ミトコンドリア呼吸鎖複合体Iを阻害することにより殺虫活性を示す化合物群が存在し、それらは脂肪族側鎖を有する含窒素複素環を共通構造として有している。我々はアセトゲニン類と呼吸鎖阻害系殺虫剤の構造類似性に着目し、それらのハイブリッド化合物、すなわち、アセトゲニン類のγ-ラクトン環を農薬由来の複素環に置換した化合物を合成すれば、新たな抗腫瘍活性物質の創製に繋がるのではないかと考えた。

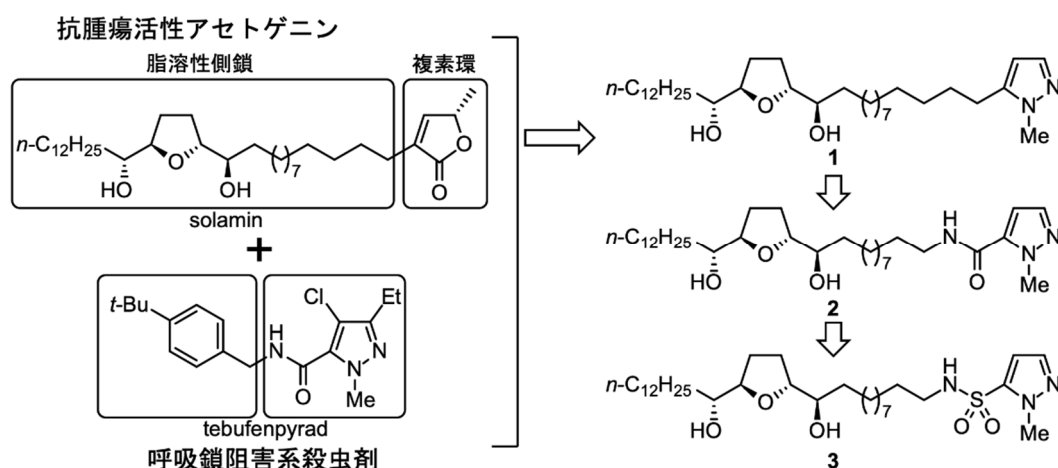


図1: バンレイシ科アセトゲニン類をリードとする構造活性相関研究

本仮説のもと、mono-THF アセトゲニンの一つである solamin のγ-ラクトン環の代わりに殺虫剤の母核であるN-メチルピラゾール環を炭素-炭素結合で結合させた誘導体1を合成したところ、ヒト肺がん細胞NCI-H23に対して、天然物 solamin の約80倍もの強い増殖抑制活性を示すことを見出した。また、殺虫剤と同じくアミド結合により複素環を連結させた誘導体2は更に18倍の非常に強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことを明らかにした。しかしながら、2の*in vivo*試験を実施した結果、マウスに対する毒性が非常に強く、10 mg/kg以上の投与では毒性死が観察され、5 mg/kgの投与では有意な抗腫瘍活性を認めなかった。

そこで今回、生物活性に大きな影響を与えることが明らかな複素環結合様式に着目した構造活性相関研究として、アミド結合の代わりにスルホンアミド結合で複素環を結合させた新規

誘導体 **3** の合成を計画した。誘導体 **3** は図 2 に示す合成経路により収率よく合成することに成功した。

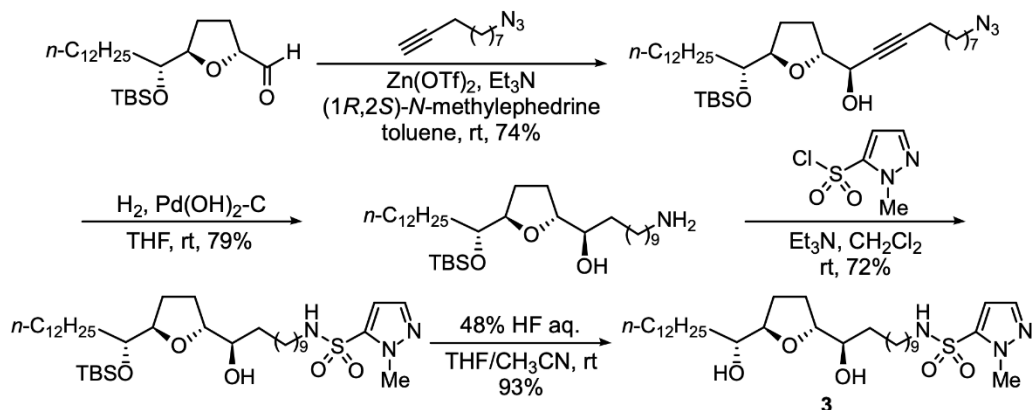


図2: スルホンアミド誘導体の合成

合成した誘導体 **3** のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性を評価したところ、評価した 39 種類のヒトがん細胞のほぼ全てに増殖抑制活性を示すことが明らかになった。これは、誘導体 **2** を同じ実験系で評価した時には、39 種類のうち数種の細胞種に対してのみ強力な活性を示したことと対照的な結果であった。

この興味深い活性プロファイルを示す新規誘導体 **3** の有用性を確認するために、*in vivo* 試験を実施することにした。まず、最大耐量の調査を行ったところ、本化合物 **3** は、強い毒性を示した前述の誘導体 **2** とは異なり、100 mg/kg の高用量の投与でも、マウスの毒性死は見られないことが明らかになった。そこで、ヒト肺がん細胞 NCI-H23 を移植した xenograft マウスに 100 mg/kg の 2 回投与を行った結果、投与直後に体重減少は見られるがすぐに回復し、誘導体 **2** と比べて大幅な毒性軽減が観察された。一方で、本用量の投与により腫瘍の増殖は完全に抑制されており、強い抗腫瘍活性を示すことが明らかになった。

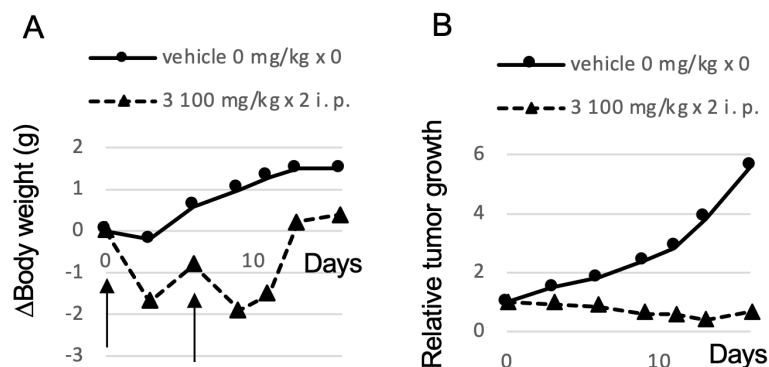


図 3 : 誘導体**3**の抗腫瘍活性評価。(A) 体重変化 (B) 腫瘍の相対体積の変化

今後、スルホンアミド結合の導入による効果の詳細について調査すると共に、他の結合様式を持つ誘導体の合成も行い、新規抗腫瘍活性物質の創製に繋がりたいと考えている。

リガンド誘導体を用いた肺がん病理切片上の標的受容体発現解析

共同利用機器センター 長谷川功紀

薬剤治療標的として着目する受容体分子の存在を細胞や組織中から検出・可視化することは薬剤の効果予測に重要な意義を有する。従来、抗体を利用して転写膜上の標的を検出する Western blot 法や、パラフィン包埋切片上の標的を染色する免疫組織化学染色法が臨床で多用されてきた。しかし、薬剤標的として多く存在する細胞膜受容体は疎水性が高く、単離が難しい。また細胞表面に露出する部位は限られ、複雑な複合体を形成しているため、その抗体作製は困難を極める。一方、膜受容体分子はホルマリン処理を経ても高次構造を維持していることが報告されている。そこで我々は、変性条件を経た受容体のリガンド結合能を検討した結果、結合活性が完全には失われていないことを見出した。そこでその性質を利用し、抗体に替わり低分子リガンド薬剤によって受容体を検出・可視化する Western ligand blot (WLB) 法とリガンド誘導体染色 (LDS) 法を展開してきた。

近年、非小細胞肺癌においてエストロゲン受容体の発現が報告され、その治療標的としての有用性が高まってきている。そこで我々は、エストロゲン受容体のリガンドであるエストラジオール誘導体、およびタモキシフェン誘導体を合成し、WLB 法および LDS 法への適用を検討してきた。エストラジオール誘導体はエチニルエストラジオールを出発原料にポリエチレングリコールリンカーをクリック反応により導入し、その後、タグとしてフルオレセインの修飾を行った。またタモキシフェン誘導体はエンドキシフェンを出発原料に直接タグとなるフルオレセイン修飾を行った(図 1)。

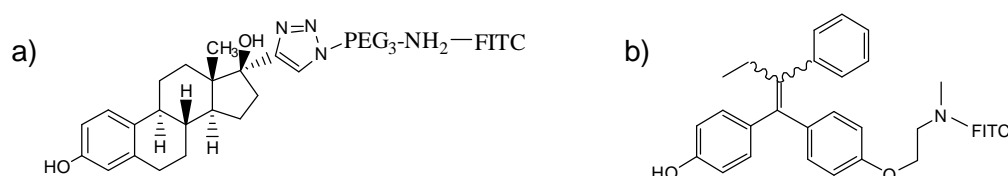


図 1 エストラジオール誘導体(a)およびタモキシフェン誘導体(b)の化学構造

得られた化合物を用い、細胞膜上に存在する G タンパク質共役型エストロゲン受容体 (GPER) を用いて化合物の受容体結合能評価を行った。まず recombinant GPER をポリスチレン上に固定し、そこに各種濃度のエストラジオール誘導体またはタモキシフェン誘導体を反応させ、抗フルオレセイン抗体により結合量を定量することで結合飽和アッセイを行い、親和性を評価した。その結果、結合親和性はエストラジオール誘導体が 536 nM、タモキシフェン誘導体が 11.4 nM であった(図 2)。このことから、GPER に対して強い結合能を有するリガンド誘導体としてタモキシフェン誘導体を見出すことに成功した。次に、タモキシフェン誘導体を用いて WLB の検討を行った。GPER 発現細胞として乳癌細胞株の MCF7 を用いた。

MCF7 の細胞溶解液を用いて SDS-PAGE を行い、分離したタンパク質を PVDF 膜へ転写した。その転写膜を用い、タモキシフェン誘導体により WLB を行った。対照として抗 GPER 抗体を用いた western blot を行い、検出バンド位置を比較した。その結果、タモキシフェン誘導体を用いて WLB で検出したバンド位置は、western blot の GPER のバンド位置と一致した(図 3)。以上、タモキシフェン誘導体により変性条件を経た GPER を検出できることを明らかにした。

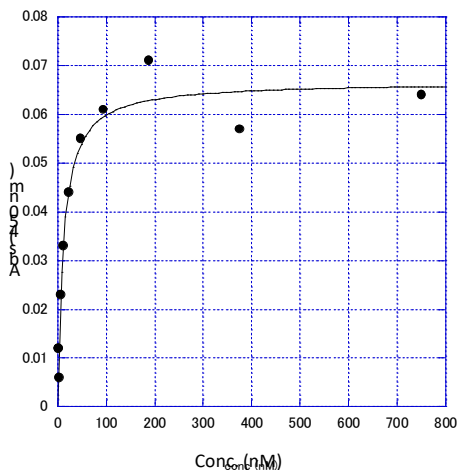


図 2 タモキシフェン誘導体の結合飽和アッセイ

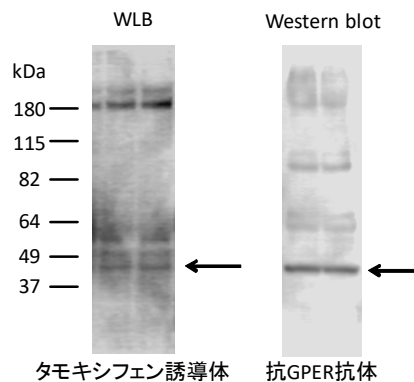


図 3 MCF7 細胞溶解液を用いた WLB と western blot の結果

次にタモキシフェン誘導体を用いて LDS の検討を行った。非小細胞肺癌である肺扁平上皮癌および肺腺癌の病理切片を用いて、その染色率を検討した。ホルマリン固定パラフィン包埋切片はそれぞれ 15 症例ずつを用いた。病理切片は、脱パラフィン、水和を経て、ブロッキング後にタモキシフェン誘導体と反応させた。その後、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) 標識抗フルオレセイン抗体を反応させ、続いてチラマイドを用いた増感反応を行った。再び HRP 標識抗フルオレセイン抗体を反応させ、ジアミノベンジジンを用いた発色を行い、可視化を行った。その結果、肺扁平上皮癌では 13/15 例(陽性率:87%)、肺腺癌では 10/15 例(陽性率:67%)で GPER を染色することができた(図 4)。

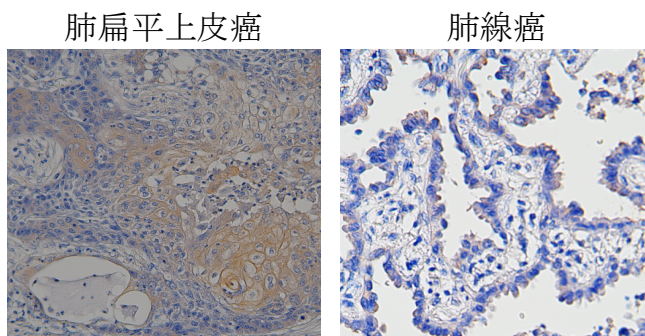


図 4 肺癌病理切片の LDS

以上、抗体に代わり化学合成したタモキシフェン誘導体を用いて転写膜上や病理切片中の GPER を検出することに成功した。本法を利用すれば、低分子化合物で標的を検出することが可能となる。

Src の活性化によってパクリタキセル耐性が生じる仕組みの解明

生化学分野 久家貴寿

(2017 年 4 月に摂南大学 薬学部 生体分子分析学に転籍)

Src は、がんの発生、転移に関わるチロシンキナーゼであり、がん治療における標的分子とされている。Src の機能は多様であり、細胞増殖、細胞運動などの他、細胞分裂の制御にも関与することが報告されている。Src の働きを阻害すると、細胞分裂異常が起こるとされているが、その詳細な仕組みは不明である。本研究では、Src による細胞分裂制御機構を解明するために、Src の基質となり得る細胞分裂制御タンパク質を探索した。探索結果に基づき、Src が細胞分裂期チェックポイントの制御に関わっている可能性と、Src の異常な活性化によってパクリタキセル等に対する耐性が生じる可能性を見出したので報告する (*Horiuchi et al., J. Biol. Chem., 293, 15524-15537, 2018*)。

Src の基質探索は、v-Src (恒常的活性型 Src) を誘導発現することのできる HeLa S3 細胞を用いて行った。v-Src を発現させた細胞を、細胞分裂期に細胞周期同調し、リン酸化プロテオーム解析を行った。v-Src を発現させていない細胞を対照とし、v-Src を発現させた細胞でのみ同定されたチロシンリン酸化タンパク質を v-Src の基質候補としたところ、数十種類の基質候補が同定された。基質候補の一つは、Cdk1 キナーゼであった。Cdk1 の酵素活性は、通常、15 番目のチロシン残基のリン酸化によって抑制されている。Tyr15 の脱リン酸化は、細胞分裂期に起こるため、Cdk1 は細胞分裂期に活性化する。v-Src を発現させると、Cdk1 Tyr15 のリン酸化が、細胞分裂期においても維持されていた。この結果は、Cdk1 の細胞分裂期における活性レベルが、v-Src によって抑制されることを示唆していた。細胞分裂期における Cdk1 の不活化は、細胞分裂期チェックポイントの機能不全に繋がる。細胞分裂期チェックポイントの機能不全は、パクリタキセルなどの細胞分裂標的抗がん剤の耐性化メカニズムの一つとされている。細胞分裂期チェックポイントの機能不全が起こると、パクリタキセルによる細胞分裂期細胞死シグナルの惹起が回避される。v-Src を発現させた細胞にパクリタキセルを処理し、生細胞イメージングを行った結果は、v-Src によって細胞分裂期チェックポイントが機能不全に陥ること、パクリタキセルによる細胞死誘導が回避されることを明らかにした。以上の事から、v-Src は、Cdk1 のリン酸化による細胞分裂期チェックポイントの機能不全を介して、パクリタキセル耐性を生じさせていることが示唆された。

現在、Src 阻害剤の併用で、パクリタキセル耐性を改善できるのかどうかについて検討している。一部のパクリタキセル耐性がん細胞に、ある Src 阻害剤を添加すると、細胞分裂期チェックポイントの機能不全が改善し、パクリタキセルによる細胞死誘導効果が高まることが示唆されている。今後、Src 阻害剤併用によるパクリタキセル耐性改善法の確立に向け、最適な Src 阻害剤の選択、バイオマーカー探索などを行う予定である。

マウス前骨芽細胞の細胞増殖における中コンダクタンс Ca²⁺活性化 K⁺チャネル K_{Ca}3.1 の寄与解明

薬理学分野 鬼頭宏彰

骨組織は骨形成と骨吸収の動的なバランスにより恒常性が維持されている。骨芽細胞は、間葉系幹細胞を起源とする細胞であり I 型コラーゲン及びオステオカルシン、オステオポンチンなどの非コラーゲン性タンパク質を産生・分泌することで骨基質を形成するとともに、骨基質の石灰化を介して骨形成において中心的な役割を果たしている。骨芽細胞の骨形成異常は、関節リウマチ、骨粗鬆症、骨硬化症など種々の骨疾患に関連することが知られていることから、骨芽細胞の分化・成熟及び骨形成能について検討することは骨疾患の病態生理を理解する上で重要な知見になると考えられる。

中コンダクタンс Ca²⁺活性化 K⁺チャネル(K_{Ca}3.1)は、細胞内 Ca²⁺濃度の上昇により活性化する K⁺チャネルであり、細胞の静止膜電位形成やストア作動性 Ca²⁺流入(SOCE)を介した細胞内 Ca²⁺シグナル制御に寄与する。細胞内 Ca²⁺濃度の変動は、様々な細胞において細胞増殖、分化、細胞死などに関与することが知られている。我々は、マウス前骨芽細胞 MC3T3-E1 において K_{Ca}3.1 が機能発現することを明らかにしている。そこで本研究では、前骨芽細胞増殖における細胞内 Ca²⁺シグナルの寄与を検討するために、K_{Ca}3.1 を介した前骨芽細胞機能制御について検討した。

前骨芽細胞における K_{Ca}3.1 の生理機能を検討するために、SOCE を介した Ca²⁺流入に対する K_{Ca}3.1 阻害の影響を検討したところ、K_{Ca}3.1 阻害薬 TRAM-34 (1 μM) 投与により SOCE を介した Ca²⁺流入が有意に抑制された。また、MC3T3-E1 の細胞増殖増に対する TRAM-34 の効果を検討したところ、培養後 72 時間において TRAM-34 (1, 10 μM) 投与により有意に細胞生存度が低下した。さらに、TRAM-34 処置細胞において細胞周期解析を行ったところ、G1 期から S 期への移行が有意に抑制されていた。そこで細胞周期依存的な K_{Ca}3.1 の生理機能をより詳細に検討するために、細胞周期同調培養を行ったところ、S/G2/M 期と比較して G0/G1 期において K_{Ca}3.1 mRNA の発現が亢進していた。また、G0/G1 期、S/G2/M 期の各細胞群における K_{Ca}3.1 活性を検討するために、K_{Ca}3.1 活性化薬 DCEBIO (10 μM) 投与による Ca²⁺濃度上昇を評価したところ G0/G1 期の細胞群において有意に Ca²⁺濃度上昇が大きいことから、G0/G1 期において K_{Ca}3.1 活性が亢進することが示された。

以上の結果より、K_{Ca}3.1 は G1 期において発現・活性が亢進することで G1 期から S 期への細胞周期進行を促進することにより前骨芽細胞増殖を制御することが示唆された。

遺伝毒性物質 PhIP に対するアセトゲニン誘導体の抗遺伝毒性

公衆衛生学分野 長谷井友尋

薬品製造学分野 小島直人

がんを始めとした多くの疾患では、遺伝子の変異が認められることが知られている。遺伝子の変異はこれらの疾患の発症に寄与していると考えられることから、遺伝子の変異を抑制することでこれらの疾患の発症を予防につながると考えられる。これまでの小島らの研究でアセトゲニン誘導体を合成し、そのヒトがん細胞増殖抑制活性を評価してきた。アセトゲニン誘導体は抗腫瘍活性以外にも種々の生物活性を有することが知られていることから、抗遺伝毒性作用を有する可能性がある。

本研究では、疾病の一次予防を目的として、加熱した肉などに含まれる遺伝毒性物質 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) の遺伝毒性に対するアセトゲニン誘導体の抑制効果について検討した。

遺伝毒性試験は *Salmonella* Typhimurium TA98 株を用いて、S9 mix 存在下で行った。アセトゲニン誘導体 21 種類の抗遺伝毒性を評価するため、最小寒天培地上に 600—1200 revertants/plate 程度の復帰変異コロニーを誘発するよう、PhIP (2 µg/plate) 共存下で試験した。また、殺菌性を評価するため、栄養寒天培地上に 1000 コロニー/plate 程度になるように菌液を希釈して培養し、被験物質の添加濃度によるコロニー数の減少を試験した。遺伝毒性抑制率及び殺菌率はそれぞれ以下の式を用いて算出し、いずれも 20%未満を陰性と判定した (Wall et al. 1988)。被験物質は 12.5、25、50 µg/plate の 3 濃度で試験し、適宜希釈して再試験して IC₅₀ を算出した。

$$\text{抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{被験物質存在下での最小寒天培地上のコロニー数}}{\text{被験物質非存在下での最小寒天培地上のコロニー数}}\right) \times 100$$

$$\text{殺菌率 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{被験物質存在下での栄養寒天培地上のコロニー数}}{\text{被験物質非存在下での栄養寒天培地上のコロニー数}}\right) \times 100$$

試験を行った 21 化合物のうち、12 化合物に 20%以上の遺伝毒性抑制率が認められ、IC₅₀ が 12.5 µg/plate 以下の強い抗遺伝毒性は YS-0001、0115、0116 及び 0118 に、YS-0013 及び 0123 はそれぞれ中程度の 29.5 及び 34.9 µg/plate、50 µg/plate 以上の弱い抗遺伝毒性は YS-0003、0011、0017、0018、0117 及び 0119 に認められた。強い抗遺伝毒性を示した YS-0001、0115、0116 及び 0118 について希釈再試験を行ったところ、IC₅₀ はそれぞれ 0.5、2.9、1.01、0.89 µg/plate で、いずれの濃度においても殺菌性は認められなかった。これらの結果からアセトゲニン誘導体 YS-0001、0115、0116 及び 0118 は遺伝毒性物質 PhIP の遺伝毒性を強く減弱させる作用があることが示唆された。

本事業を振り返って

本事業申請にあたっては、単なる研究室の寄せ集めでは達成できないような目的を意図的に掲げて申請書を作成しました。大学発ベンチャーの創生がいかに困難であるかを理解したうえで、なおかつそのような研究が可能な体制がこれからの本学には必要である、との考えのもとに申請書を作成させていただきました。何度かのチャレンジの後幸いにして採択していただくことができ、5年の研究期間を与えられ一応の事業終了に至ることができました。何とかここまで事業を継続できたのは、参加いただいた各研究者の奮闘の賜物です。参画研究者の皆様のご尽力に心から御礼申し上げます。本当にありがとうございました。

本事業採択時点での大きなアピールポイントは、本学が有する人的・物的資源を有機的に連携させ新たな創業の芽を育てることにありました。それまでの本学には、このような連携が機能する体制がほぼなかったといってもいい状態でした。このため、一定の連携体制のもとで本事業を推進させるためのいくつかのユニークな試みが工夫され実行されました、若手参画研究者が半年に一回程度の頻度で定期的に集まりそれぞれの研究の進展状況を報告・説明し、お互いに忌憚のない意見交換を行う場を設けたことはその一つの例です。このような気のおけないミーティングを続けて行くうちに、それぞれの研究に他の研究領域の研究者がどのようにコミットできるのか、といった視点からの議論が自然に起こるようになりました。十分成熟した議論までには至らなかった点も多くありましたが、少なくともこのような雰囲気を持ったミーティングを若手研究者が経験できたことは本事業の大きな収穫の一つであったと考えています。また実際に、このミーティングから本事業後半で注力すべき研究領域がある程度絞り込まれ以降の研究の展開につながりました。

このような日常的活動とともに、外部講師を加えた成果発表シンポジウムを各年度に開催し研究成果を紹介するニュースレターをあわせて発行しました。参画研究者にとっては大きな負担であったと思いますが、成果の検証と評価まで自ら行うことの意義を自覚していただけたのではないかと考えています。このような研究活動の積み重ねが、本事業成果書に記載されている多くの論文発

表といくつかの特許取得につながりました。本成果書を作成できたこと、その概要を多くの関係者の方々に見ていただけることは参画研究者にとって大きな喜びであります。

本事業は今年度で終了します。いくつかの特許には到達できましたが当初目的に比べるとまだまだ道半ばで、ようやく踏み込むべき道筋がぼんやり見えてきたような状態です。ただ、これまでにない新しい連携体制の構築ができるようになり、研究の進め方にも新しい道筋が見えてきました。本事業で形が見えてきたいくつかのテーマについては、同様の連携体制をもとに今後も継続的に研究を進展させる予定です。同時に、新しいメンバー・新しいテーマの開拓を進めることで、ステップアップした研究段階に進めたいと考えております。今後の研究進展に向け、本事業参画研究者のみならず多くの研究者のご参画を心からお待ちしております。引き続きご支援ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げますとともに、これまでのご支援に厚く御礼申し上げ、挨拶とさせていただきます。

2020年3月末日

合成・相互作用解析グループリーダー

京都薬科大学 薬学部

創薬科学系 薬品化学分野

赤路 健一

外部評価員評価

評価報告書

評価対象：

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」 平成 28年度 Annual Meeting


評価内容

平成 28 年 9 月 28 日に京都薬科大学で開催された表記事業の成果報告会では、6 件の口頭発表による成果報告（うち 2 件は異分野間共同研究の成果）、10 件のポスター発表での成果報告、2 件の特別講演があった。聴衆は学内の常勤研究者、学生をはじめ 138 名程度であった。口頭発表では本支援事業によって創出された最新の成果が報告されており、分子標的治療薬のヒット・リード化合物の探索、最適化ならびに新規アッセイ方法の開発について着実に成果があがりつつあることが示された。また、ポスター発表は短時間であったものの、たくさんの学生が成果報告について熱心に演者とディスカッションする光景が見られた。特別講演は AMED の中山博士による知財戦略に関する講演と、京都府医大の酒井教授による新アッセイ方法開発を軸とした画期的新薬の創製についての講演であった。両講演とも、本事業のアウトプットを見据えた内容を含んでおり、活発なディスカッションをふくめて会場の熱気は最高潮に達したと思う。取りまとめの芦原教授、赤路教授の総括でも本事業の成果が着実に上がりつつあることが述べられており、今後の発展が大いに期待できるものであることが理解できた。何より目をひいたのは、本事業に参画する若手教員が研究領域の垣根を越えて親密に情報交換をしていることであった。このようなよい雰囲気はプロジェクト全体の活気に波及すると思われる。

以上まとめると、今回の annual meeting は大成功であり、事業自体も順調に進捗していることが強く感じられた。

評価日： 平成 28 年 9 月 28 日

評価者： 高須 清誠

高須清誠 

評価報告書

評価対象：

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」 平成 29 年度 Annual Meeting

評価内容

抗がん剤の開発で特に遅れていた、がん転移抑制薬やがん幹細胞抑制薬、さらには Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索だけでなく、社会問題にもなっているアルツハイマー病の治療薬の開発も目指した、たいへん意欲的なプロジェクトである。

評価すべき点は、バイオリジストとケミストが協力して事業を行っていることから、着実に候補化合物を見いだしつつあることである。基本となる分子解析も順調に進行している点も評価に値する。今後は、それぞれの分子標的の同定を行い、特にがん分子標的薬の場合は、バイオマーカーを同定することにより、臨床開発に移行した時の成功率をあげることが重要であると考えられる。

今後は、より具体的な出口戦略を積極的に製薬会社にも相談し、製薬会社が導入したくなるような実験計画をたてていくことが極めて重要であると考えている。

評価日： 平成 29 年 9 月 2 日

評価者： 京都府立医科大学分子標的癌予防医学 酒井 敏行

酒井 敏行 

評価報告書

評価対象：

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」 平成 29年度 Annual Meeting

評価内容

Annual meeting では若手教員による 4 件の progress report と学生・若手教員を中心とした 28 件のポスター発表が行われ、昨年度からの長足の研究の進展が報告された。質疑応答も活発であり、京都薬科大学の研究力の強さと向上が認められた。昨年度までと異なる取組・成果として、これまで個々の領域で行っていたプロジェクトを、異領域の複数のプロジェクトで協同して行うよう再編して、いくつかのエンドポイントに向かうよう力を結集したことにある。医薬品の創製には物理化学・生物化学・有機化学・毒性学などの様々な領域がモザイク的に統合する必要があり、それをアカデミアで実現することは大変意義深いと評価できる。共同研究の成果はすでに上がっていることが報告されており、本支援事業の目的にしっかりと向かっていることが示された。

質疑でも指摘されていたように、進展しているプロジェクトについてはどのような患者を対象とするか明確にして、非臨床試験、臨床試験にステップアップできるようにロードマップを緻密に策定することが来年度に向けた課題といえよう。

本事業計画は目的に向かってしっかりと進んでおり、よい成果も出つつある。総合して、非常に満足のいく進捗だと評価できる。

評価日： 29年 9月 2日

評価者： 高須 清誠

高須 清誠 

評価報告書

評価対象：

平成 27 年度選定私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」 研究進捗状況報告書

評価内容

本研究は、がんとアルツハイマー病に対する新薬の開発を目的として、京都薬科大学の、シーズ発掘チームと、新薬合成チームの総力で進めてきた、極めて意欲的なプロジェクトである。

研究の進捗状況も順調で、既に多くの候補化合物が得られている。

今後の期待としては、研究進捗状況報告書に書かれているように、候補化合物が直接結合する分子を同定することにより、より詳細は阻害機構を明らかにすることが重要である。

また、特許に関しては 3 件の申請可能なデータが得られていることは評価に値する。ただ特許を出すタイミング等に関しては、今後の導出を目指す企業にとって都合の良いものである必要があるので、信頼できる企業に、出す時期や内容に関して相談されることが望ましい。

評価日： 平成 30 年 4 月 28 日

評価者： 京都府立医科大学分子標的癌予防医学 酒井 敏行

酒井敏行 

評価報告書

評価対象：

平成 27 年度選定私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」 研究進捗状況報告書

評価内容


本プロジェクトでは、京都薬科大学で独自に見出された研究シーズをもとに健康長寿社会の実現にむけて、悪性腫瘍と認知症に焦点を絞って大学発創薬を目指している。これまでの期間に、それらの疾病治療に有効なシード化合物を多く発掘するとともに、誘導体展開や相互作用解析を通して極めて有望な候補化合物やメカニズム等に関する重要な知見を見出すに至っている。本プロジェクトの最大の特長は、ユニークな研究組織の構築に基づく研究加速にある。プロジェクト開始時は、各専門領域に分かれて研究者が集中的に成果を挙げたうえで、風通しの良い状況で情報共有し新たな課題や問題点を進捗会議で洗い出しを行っていたが、29 年度から異なる研究領域の研究者を疾患プロジェクトごとに組み換え、学術的にシームレスな研究グループ体制を敷いたことにある。これにより目的に合致した研究成果が加速度的に挙げられており、さらなる発展が期待できる。研究者の流動性もよく柔軟な研究展開ができており、多くの学術論文や学会発表などの業績にその成果が表れている。

課題としては、現時点において基盤となる特許の申請が未達であることである。出来る限り早い時期に特許申請のめどを立て、それを基盤として周辺特許を取得するためのロードマップを作成し、大学発ベンチャーの基盤作りができることを期待する。

2 年間という短期間を鑑みると、十分な重要な成果が上がっていると評価できる。また、組織体制も大学ではユニークな各領域の専門家が融合したグループを構築していることも大いに評価できる。今後の発展が大いに期待できる状況と評価する。

評価日：2018年 4月 25日

評価者：高須 清誠

高須清誠 

評価報告書

評価対象：

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」 平成 30 年度 Annual Meeting

評価内容

本研究は、がんとアルツハイマー病に対する画期的新薬の開発を最終目的として、京都薬科大学の、生物系と化学系の研究者が協力しあい実施するものである。大きく 4 つの研究テーマに分けて薬剤探索を行ってきた結果、興味深い候補物質が着実に見いだされつつあり、かつその薬理効果も、前回よりもさらに詳細に明らかにされてきた点は高く評価すべきである。

最終的に製薬企業の協力を得るには、できうれば、より直接の標的をさらに明らかにしていくことが望ましい。この方法として、アフィニティビーズを用いたケミカルバイオロジーの手法や、がんの分子標的薬の場合であれば、*in vitro* で種々の細胞株に対する感受性のパターンから、標的分子を推定する方法などが考えられる。

今後の開発戦略を具現化するためにも、信頼しうる企業と早いめに相談され、出口戦略をよりはっきりさせることが重要であろう。

評価日： 平成 30 年 11 月 8 日

評価者： 酒井 敏行



評価報告書

評価対象：

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」 平成30年度 Annual Meeting

評価内容

京都薬科大学で独自に見出された研究シーズをもとに新規分子標的薬創製のための基盤形成を目指す本プログラムは、本年で5年計画の4年目となっている。これまでの期間に、悪性腫瘍ならびに認知症治療に有効なリード化合物を多く発掘するとともに、誘導体展開や相互作用解析を通して極めて有望な候補化合物やメカニズム等に関する重要な知見を見出すに至っている。特に、多様な研究者を疾患プロジェクトごとに組み換え、学術的にシームレスな研究グループ体制を敷いて目的研究を実施するといった大学ではユニークな組織を形成している点が特徴である。平成30年のannual meetingでは、口頭発表・ポスター発表を通して、この1年間の研究の進捗状況が報告された。合成系では、合成によるリード展開を実施しより活性の高い化合物の合成が達成され、探索・評価系では合成有効化合物の薬剤標的探索を目指して分子プローブを利用した研究が展開されている。また、合成化合物のvitro評価を行いヒット化合物の同定に成功している。ポスター発表では、主に学生が自身で行っている研究の最前線を発表し、他研究者と意見交換が活発にされており、さらに新しい研究の端緒が見出されていることも報告されていた。ただし、前年度までの成果を踏まえて最終年度の目的達成を考えた場合、研究の加速性には若干の課題が残る。今一度、各プロジェクト研究者が、ロードマップを見直すとともに修正し、目的達成のために必要な研究やテーマに対する研究資源（人材・労力・時間）の選択・集中することが必要ではないかと感じた。このあとは結果を残すことが強く求められるが、より効率的な目的型研究を実施することで大学発ベンチャーの基盤作りが完成することを期待する。

Annual meetingでは、生命科学インスティテュートの木曾誠一先生による講演が行われたが、そこでは特許取得は目的ではなく手段であると強く話されていた。本プロジェクトでは基盤特許の取得が一応の目的であると思われるが、その後のさらなる展開を見据えた骨太の研究を実施することが各研究者に必要であるということが再確認できて有意義であったと考える。

評価日： 2018年 9月 25日

評価者： 高須清誠

高須 清誠

評価報告書

評価対象：

平成 27 年度選定私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」 最終研究成果報告書

評価内容

本プロジェクトは悪性腫瘍と認知症に対する新規薬剤の開発を目的としていて、京都薬科大学の生物系実験グループと化学合成の実験グループが密に協力しあい、研究計画を遂行してきた。我が国のアカデミアにおいて、このような協力体制の基に創薬研究を実践できる機関は希少であり、関係者の努力により、学内共同研究が確立できたことは、特筆に値する。

本プロジェクトで、既に多くの候補化合物を発見しているだけでなく、特許出願も 2 件行い、さらに数件は出願準備中である。実際に市場に出すには、特許を提出するタイミングが重要なので、出願準備中の特許に関しては、協力企業と相談され、適切な時期に出願することが望ましい。

より具体的には、転移抑制薬やがん幹細胞に対する治療薬の開発は、特許の出願も含めて多くの成果があげられているが、企業の納得できる臨床試験の組み方が難しいので、特に早期に企業と話しあいながら進めていくことが肝要と思われる。

Wnt 経路阻害薬の創製に関しては、生物学的検討のグループと化学合成のグループとの共同研究により、有望な薬剤を見出すことに成功し、特許出願も行った。さらに、ピーズ法により標的分子候補が見出されているので、それらの中から真の標的分子を同定することが望まれる。その分子と化合物との X 線結晶構造解析を行い、さらに有効性の高い化合物を見出すことを期待する。

アルツハイマー病の治療を目的とした BACE1 阻害剤に関しては、ペプチド性 BACE1 阻害剤と低分子 BACE1 阻害剤の開発を行っている。より最適な阻害剤を得るべく実験を継続中であり、今後の展開に期待したい。

最後に強調したいのは、アイデアから画期的新薬を上市させるには 20 年程度は必要であり、継続することが何よりも重要で、今後も研究費の継続的支援が不可欠であると考え

評価日： 令和 2 年 3 月 23 日

評価者： 京都府立医科大学大学院医学研究科創薬医学 酒井 敏行

酒井 敏行 

評価報告書

評価対象：

平成 27 年度選定私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」 最終研究成果報告書

評価内容

京都薬科大学の独自研究シーズを基盤に新規分子標的薬の創出し「大学発創薬ベンチャー」の基盤形成を目指す本プログラムは、本年で5年計画が終了する。本事業の前期までに見出した研究成果から、平成29年に有望シーズを「含窒素複素環/Wnt/ β -catenin 経路阻害薬」「クマリン/がん転移抑制薬」「アセトゲニン/新規分子標的薬」「ペプチド/BASE1 阻害薬」の4課題に絞り込んだ。その時点で、若手を含めたバイオリジストとケミストの共同研究チームに改組し、その4課題を中心として高次の研究に展開してきた。その結果、基盤特許として2つの発明が出願されている（報告書からは、さらに4件の出願を計画中のこと）。また、事業期間中に136報の原著論文、350を超える学会発表と目覚ましい成果を挙げていることも大いに評価できる。特許の数こそ少なく見えるが、重要な発明の出願と推察する。2020年のannual meetingは、あいにく新型コロナウイルスの感染拡大を受け中止になったが、講演抄録集を見る限りさらに意欲的な成果がでていると見受けられた。一方で、大学発ベンチャー設立にむけては、非臨床試験などに基づく有効性・安全性データも必要となり当初の計画からは若干遅れているように思われる。今後は、出願した特許に基づきその周辺特許を確実に抑えていくことが望まれる。

5年間にわたる本事業の実施を通して、着実に創薬にむけた研究の深化・広がりが認められ、研究体制が活性化している。現状から考えれば、確実に当初の目的に近付いていると評価できる。支援事業は本年度で終了することになるが、本事業で見出した成果を基盤に「大学発の新薬」創製を目指し、継続して活発な研究を展開されることを期待している。

評価日：2020年 3月 13日

評価者：高須 清誠

高須 清誠



活動記録

新規分子標的治療薬創薬に向けた 大学発ベンチャー基盤の確立 キックオフシンポジウム

日時: 2015年9月25日(金) 13:30~17:30

会場: 京都薬科大学 愛学ホール(A31講義室)

参加方法: 直接会場にお越しください(入場無料)

13:30 ~ 13:35 開会挨拶

後藤 直正 (京都薬科大学・副学長)

13:35 ~ 13:45 プロジェクトの概要について

研究代表者: 芦原 英司 (シーズ発掘・バリデーショングループリーダー)

13:45 ~ 14:30 一般講演(1)「候補化合物のデザイン・合成と蛋白質相互作用解析」

小林 数也 (薬品化学分野・助教) 小島 直人 (薬品製造学分野・講師)
中村 誠宏 (生薬学分野・准教授)

**14:30 ~ 15:20 特別講演(1)「自発発生型脳腫瘍動物実験モデルが導く
トランスレーショナルリサーチの展望」**

藤田 貢 (近畿大学・医学部・准教授)

15:35 ~ 16:35 一般講演(2)「新規治療・予防標的分子の探索と病態解析」

久家 貴寿 (生化学分野・助教) 賀川 裕貴 (細胞生物学分野・助教)
鬼頭 宏彰 (薬理学分野・助教) 中田 晋 (臨床腫瘍学分野・准教授)

16:35 ~ 17:25 特別講演(2)「分子標的薬を創る・使う・止める」

木村 晋也 (佐賀大学・医学部・教授)

17:25 ~ 17:30 閉会挨拶

赤路 健一 (合成・相互作用解析グループリーダー)

本研究プロジェクトは、本学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させ、「大学発の創薬ベンチャー」基盤を確立することを目的としています。悪性腫瘍と認知症に焦点を絞り新たな創薬シーズを発掘し、シーズのライセンスアウトを目指します。さらに創薬研究を通して新たな「知の創造」も目指し、次世代の基礎ならびに臨床薬学研究者を育成するプロジェクトです。

☞ 学部生・大学院生・教職員どなたでもご自由に参加ください。

連絡先: 〒607-8414 京都市山科区御陵中内町5

京都薬科大学 病態生理学分野

芦原 英司 (研究代表者)

TEL: 075-595-4706 E-mail: bunshihyoteki@mb.kyoto-phu.ac.jp



薬学の未来をつくる

京都薬科大学

Kyoto Pharmaceutical University

2015 年度（平成 27 年度）
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた
大学発ベンチャー基盤の確立

キックオフ シンポジウム
講演抄録集

日時：2015 年 9 月 25 日(金) 13:30 ～ 17:30

場所：京都薬科大学 愛学館 3 階 愛学ホール (A31)



京都薬科大学

プログラム

日時：2015年9月25日（金） 13:30～17:30

13:30～13:35 開会挨拶 後藤直正 京都薬科大学 副学長

13:35～13:45 概要説明 芦原英司（研究代表者、シーズ発掘・バリデーションGr リーダー）

13:45～14:30 一般講演（1）

第一部 「候補化合物のデザイン・合成とタンパク質相互作用解析」

座長：赤路健一（薬品化学分野）

（口演：12分、質疑応答：3分）

13:45～14:00 「高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発」

小林数也（薬品化学分野）

14:00～14:15 「バンレイシ科アセトゲニン類の構造変換による新規抗がんリード化合物の創製研究」

小島直人（薬品製造学分野）

14:15～14:30 「天然伝承薬物を素材とした抗がん作用成分の探索研究」

中村誠宏（生薬学分野）

14:30～15:20 特別講演（1）

座長：中田 晋（臨床腫瘍学分野）

（口演：40分、質疑応答：10分）

「自発発生型脳腫瘍動物実験モデルが導くトランスレーショナルリサーチの展望」

藤田 貢（近畿大学大学院医学研究科 微生物学講座 准教授）

15:20～15:35 休憩

15:35~16:35 一般講演(2)

第二部 「新規治療・予防標的分子の探索と病態解析」

座長：芦原英司（病態生理学分野）

（口演：12分、質疑応答：3分）

15:35~15:50 「ハイスループット生細胞イメージングによる新規細胞分裂制御タンパク質の探索」

久家貴寿（生化学分野）

15:50~16:05 「ゼブラフィッシュを用いた sonic hedgehog シグナル解析系の構築」

賀川裕貴（細胞生物学分野）

16:05~16:20 「骨芽細胞分化における中コンダクタンズ Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルの寄与の解明」

鬼頭宏彰（薬理学分野）

16:20~16:35 「マウス脳腫瘍幹細胞の特性解析に基づいた新規分子標的治療薬の開発」

中田 晋（臨床腫瘍学分野）

16:35~17:25 特別講演(2)

座長：芦原英司（病態生理学分野）

（口演：40分、質疑応答：10分）

「分子標的薬を創る・使う・止める」

木村晋也（佐賀大学 医学部 血液・呼吸器・腫瘍内科 教授）

17:25~17:30 閉会挨拶 赤路健一（合成・相互作用解析 Gr リーダー）

はじめに ～プロジェクトの概要～

病態生理学分野 芦原英司（研究代表者）

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業は、「私立大学が、各大学の経営戦略に基づいて行う研究基盤の形成を支援するため、研究プロジェクトに対して重点的かつ総合的に補助を行う事業であり、もってわが国の科学技術の進展に寄与する」ための事業です。本年度、本学では新たに2つのプロジェクトが採択され、そのうちの1つが、この「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」です。

本プロジェクトでは、京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させることにより、超高齢者社会における健康長寿生活の実現に貢献できる“大学発創薬ベンチャー”基盤を確立することを目的としています。対象疾患として悪性腫瘍と認知症に焦点を絞り新たな創薬・予防薬シーズを発掘し、得られたシーズの学術的評価に臨床評価を加味することでシーズのライセンスアウトをめざした産学連携プラットフォームを構築し、“山科から世界に”新規分子標的治療薬の発信をめざします。また同時に、創薬開発研究を通じて新たな“知の創造”をめざし、わが国の将来の薬学研究を牽引する次世代の基礎ならびに臨床薬学研究者を育成します。

今回のキックオフシンポジウムでは、学内のプロジェクト参画者が所有する研究シーズを紹介し将来展望を語ります。さらに2名の学外のプロジェクト参画者、佐賀大学 木村晋也教授、近畿大学 藤田 貢准教授を特別講演演者としてお迎えし、木村先生には創薬から臨床研究に展開されたご自身の分子標的治療薬研究をお話いただきます。また藤田先生には自発発症型脳腫瘍モデルマウスを用いた免疫療法開発研究を中心としたトランスレーショナルリサーチについてご紹介いただきます。

学部生、大学院生、教職員の皆さま、多数のご参加をお待ちしております。活発に議論いただき、有意義な時間を共有いたしましょう。



・研究テーマ1「新規治療・予防標的分子の探索と病態解析」

(シーズ発掘・バリデーション Gr)

芦原 英司 (病態生理学分野 教授) [研究代表者、Gr リーダー]

中田 晋 (臨床腫瘍学分野 准教授)

久家 貴寿 (生化学分野 助教)

鬼頭 宏明 (薬理学分野 助教)

賀川 裕貴 (細胞生物学分野 助教)

長谷井友尋 (公衆衛生学分野 助教)

木村 晋也 (佐賀大学 医学部 血液・呼吸器・腫瘍内科 教授)

藤田 貢 (近畿大学大学院医学研究科 微生物学講座 准教授)

・研究テーマ2「候補化合物のデザイン・合成と蛋白質相互作用解析」

(合成・相互作用解析 Gr)

赤路 健一 (薬品化学分野 教授) [Gr リーダー]

服部 恭尚 (薬品化学分野 助教)

小林 数也 (薬品化学分野 助教)

中村 誠宏 (生薬学分野 准教授)

小島 直人 (薬品製造学分野 講師)

野口 正弘 (広域大学知的財産アドバイザー 客員教授)

～ *Memo*

高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発

薬品化学分野 小林数也

BACE1 (β -site APP cleaving enzyme) は、アミロイド β 前駆体タンパク質 (APP: amyloid precursor protein) を切断する酵素であり、 γ セクレターゼとともに APP を切断することで、アルツハイマー病の発症原因と考えられている A β を産生することが知られている。そのため、BACE1 はアルツハイマー病治療薬開発における重要な創薬標的の一つとして精力的に研究がなされている。

近年、我々は基質切断部位の周辺配列 (P4~P1') を非天然アミノ酸に置換したドデカペプチドが、天然型や変異型の配列を持つペプチドよりも BACE1 による認識・切断を受けやすくなることを報告している (Fig. 1a) ¹⁾。今回我々は、この基質認識を受けやすい配列とヒドロキシメチルカルボニル (HMC) 及びヒドロキシエチルアミン (HEA) 型イソスターを組み合わせることで、より高活性な BACE1 阻害剤の開発が可能になると考え、化合物 1 及び 2 をデザインし、その合成と活性評価を行った (Fig. 1b)。

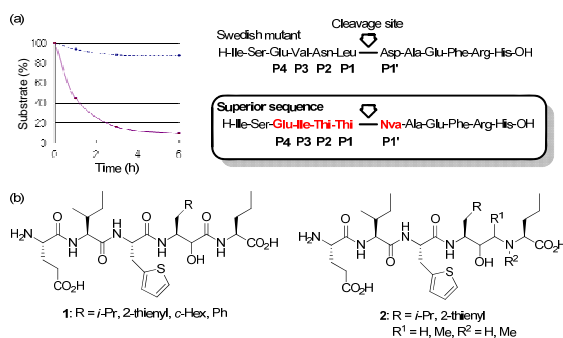


Fig. 1. (a) Superior BACE1 cleavage sequence. (b) Design of HMC- and HEA-type BACE1 inhibitors with the superior sequence.

一方、我々は HEA 型阻害剤に関する初期の検討において、中程度の活性を有する化合物 3 を見出している (Fig. 2a)。しかし本化合物は、ヒドロキシ基と隣接するメチル基に対応する 4 つのジアステレオマーの混合物として合成したため、いずれのジアステレオマーが活性体であるかを同定することができていなかった。そこで、先の高親和性配列に基づく化合物 3 誘導体の各ジアステレオマーを立体選択的に合成し、それらの活性評価を行うことで活性立体構造の同定を行った (Fig. 2b)。

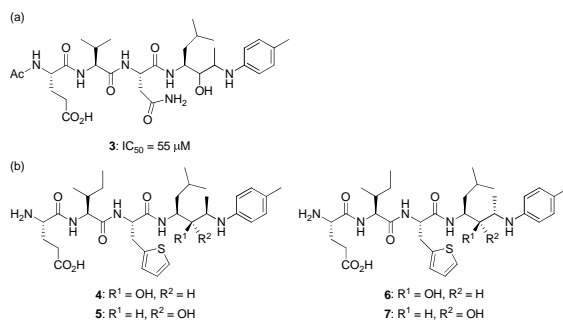


Fig. 2. (a) HEA-type BACE1 inhibitor. (b) Design of HEA-type BACE1 inhibitors with the superior sequence.

本発表では、各々の構造活性相関研究の結果を含め、これら 2 つの研究結果について報告する。

1) Kakizawa, T.; Sanjoh, A.; Kobayashi, A.; Hattori, Y.; Teruya, K.; Akaji, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2785.

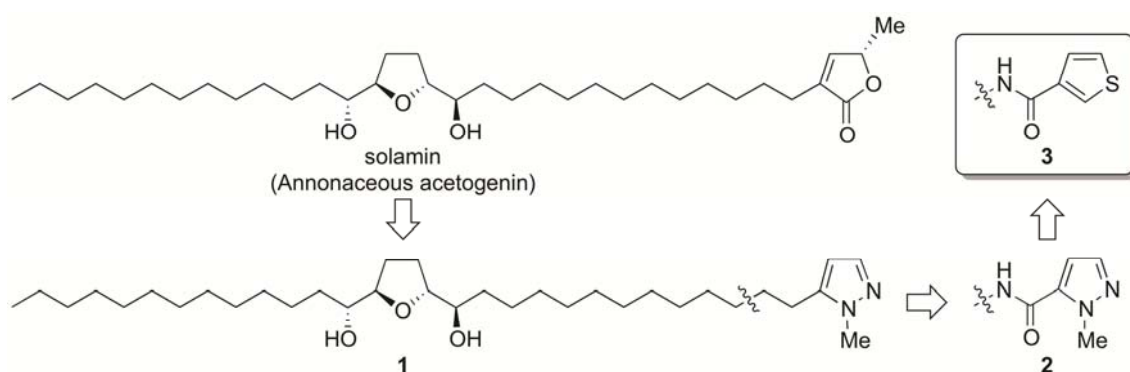
~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

バンレイシ科アセトゲニン類の構造変換による新規抗がんリード化合物の創製研究

薬品製造学分野 小島直人

熱帯・亜熱帯に見られるバンレイシ科植物は、その果実が古くからフルーツとして食されてきたが、1982年にその一つである *Uvaria accuminata* の根から uvaricin と命名されたポリケチドが単離されたことによって一気に注目を集めることになった。バンレイシ科アセトゲニン類と呼ばれるこれらのポリケチドは、これまでに約 500 種の類縁体が単離構造決定されており、長鎖アルキル鎖の中央付近に 2,5-二置換の THF 環、末端に γ -ラクトン環を持つことを構造的な特徴としている。また、強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことが知られている。¹⁾

我々の研究グループでは、この特異な化学構造と興味深い生物活性をもつ天然物をリードとして、有機合成化学的アプローチによる新規抗がんリード化合物の創製研究を展開してきた。その過程で、アセトゲニン類の共通構造の一つである γ -ラクトン環部分を呼吸鎖阻害系殺虫剤由来の含窒素複素環に置換した化合物 1 を合成したところ、ラクトン環を持たなくても、ヒトがん細胞に対する増殖阻害活性を示すことを見出した。²⁾ また、その活性発現には、複素環の連結部位の結合様式が重要であることを見出し、アミド結合で連結した 2 は天然物の最大 1 万倍近い活性を示すことを明らかにした。³⁾ さらに、チオフェン環に置換した 3 は、*in vivo*での抗腫瘍活性を示すことを明らかにした。⁴⁾ 現在、詳細な構造活性相関研究を展開中である。



参考文献 1) For a review of acetogenin analogues, see: Kojima N., Tanaka, T., *Molecules* **2009**, *14*, 3621; 2) Kojima N. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1637; 3) Kojima, N. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 833; 4) Kojima, N. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *86*, 684.

~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

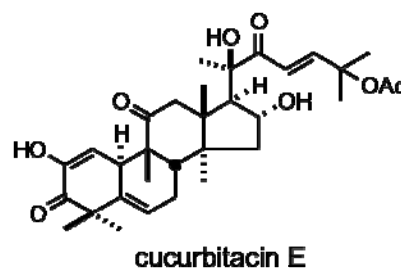
天然伝承薬物を素材とした抗がん作用成分の 探索研究

生薬学分野 中村誠宏

天然伝承薬物は、今日ある医薬の母体と位置づけられ、その多くは今もなお直接または間接に医薬素材として利用されており人類の貴重な財産といえる。著者らは、これまでに和漢生薬、北アフリカ、東南アジアおよび南米天然薬物など世界各地の天然伝承薬物について、化合物の単離、構造決定および化学修飾や化学変換などの化学的手法と種々の生物活性スクリーニングなど薬理学的手法の両手法を用いて生体機能性成分の探索を行ってきた。例えば、最近、アジア地域の伝承薬 [カレリーフ (*Murraya koenigii*, 葉部), ジャワナガコショウ (*Piper chaba*, 果実), 蓮葉・蓮花 (*Nelumbo nucifera*, 葉部, 花部), イランイラン (*Cananga odorata*, 花部), など] からアルカロイド類, テルペン類, フラボノイド類, ポリフェノール類などの多数の成分を明らかにするとともに、それらの成分が抗糖尿病, 抗老化関連作用などを示すことを見出し、活性発現の必要構造や作用メカニズムなど興味深い知見を得ている。一方、悪性新生物 (がん) は、現在高齢化社会にともない死の原因の一位を占め、社会的問題となっている。これまでに数多くの抗がん剤の開発が行われてきた。特に、植物に含有される多様性に富む化合物群は、vinblastin, etoposide や taxol などの例でも明らかのように抗がんシードあるいはリード化合物として“強力な抗がん医薬品”の創製に大きく貢献してきた。このような背景のもとに、著者らは様々な天然伝承薬物に着目し細胞増殖抑制活性成分の探索を行ったところ、コロシントウリ (*Citrullus colocynthis*, 果実) などから得られた数種のククルビタン型トリテルペンに強力な細胞増殖抑制活性を見出した。今回、ククルビタン型トリテルペンおよびその関連化合物の細胞増殖抑制活性と構造の相関などについて紹介する。

コロシントウリ成分およびその関連化合物の細胞増殖抑制作用

ウリ科植物 *C. colocynthis* は、アフリカ北部などの砂漠地帯に自生し中近東地域で瀉下作用などを期待して食用される。この *C. colocynthis* 果実 (コロシントウリ) から、2 種のククルビタン型トリテルペン配糖体 colocynthoside A および B を単離するとともに、その主要成分である cucurbitacin E および cucurbitacin B が強力な細胞増殖抑制活性を示すことを見出した。また、その標的分子の一つとして cofilin を明らかにした。Cucurbitacin B および E は cofilin/ADF 経路に関与した強力なアポトーシス誘導を可能とする抗がん剤の開発に有益なツールとなることが期待される。



~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

特別講演（1）

自発発生型脳腫瘍動物実験モデルが導く トランスレーショナルリサーチの展望

近畿大学大学院医学研究科 微生物学講座 藤田貢

グリオーマをはじめとする悪性腫瘍に対する創薬・新規治療法開発・予防法開発には、臨床像に即した発生機序を有する動物実験モデルが必要不可欠である。このような見地から、以前より我々は *Sleeping Beauty* トランスポゾンによる自発発生型マウス脳腫瘍モデルを用いた研究を行い、いくつかのトランスレーショナルリサーチをなし得てきたのでここに紹介したい。我々が用いる動物実験モデルでは、脳実質内に生理的に存在する神経幹細胞に非ウイルスベクター経由に各種がん遺伝子を導入し、グリオーマへの悪性転化・自然発生を促す [1]。本実験モデルを用いた最初期の研究では、I 型インターフェロンとグリオーマ発生との関連性を解析し、さらにグリオーマ患者の遺伝子型と予後とを比較検証した [2]。次にグリオーマ発症初期における COX-2 カスケードの免疫学的意義と、非ステロイド系抗炎症薬のグリオーマ発症予防効果を検証した [3]。これらの結果に基づき行った後続研究では、グリオーマ発症初期にみられる免疫抑制状態は、腫瘍由来 GM-CSF によって誘導されるマクロファージが惹起することを明らかにし、腫瘍関連マクロファージを標的とする治療法の可能性を示した [4]。これは近年注目される PD-1/PD-L1 標的治療法とも矛盾しない結果と言える。一方、本マウスモデルによりグリオーマ幹細胞の誘導にも成功し、この細胞に発現する薬剤排出分子 ABCG2 がグリオーマ標準治療薬テモゾロミド耐性に寄与することを明らかにした [5]。またヒトグリオーマ幹細胞にがん遺伝子 *c-Met* が高発現することが知られている [6]。それらの知見をもとに将来の知見実施を視野にいれつつ、現在は本マウスモデルに対する *c-Met* 阻害薬の前臨床研究を推進している（論文未発表）。本シンポジウムではこれらの知見を紹介しつつ、自発発生型脳腫瘍動物実験モデルが導きうる新規分子標的薬の開発に向けたトランスレーショナルリサーチの将来展望について議論したい。

1. Wiesner SM, *et al. Cancer Res.* 69:431 (2009)
2. Fujita M, *et al. Clin Cancer Res.* 16:3409 (2010)
3. Fujita M, *et al. Cancer Res.* 71:2664 (2011)
4. Kohanbash G, Fujita M, *et al. Cancer Res.* 73:6413 (2013)
5. Yoshioka H, Fujita M, *et al. Acta Med Kinki Univ.* 39:105 (2014)
6. Awad AJ, *et al. Neurosurg Focus.* 37:E10 (2014)

~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

ハイスループット生細胞イメージングによる 新規細胞分裂制御タンパク質の探索

生化学分野 久家貴寿、岩本絵里香、上田菜津美、齊藤洋平、中山祐治

我々は、がん細胞の細胞分裂制御機構の解明を目指した研究を行っており、ハイスループット生細胞イメージングを用いたスクリーニング技術を活用して、新規の細胞分裂制御タンパク質を探索している。我々の提供するシーズはこのスクリーニング技術であり、この技術は、新規細胞分裂標的薬の探索や、抗がん剤候補薬剤の作用メカニズム解明などに応用が可能である。本発表では、我々の研究内容とスクリーニング技術を紹介する。

がん細胞は、無秩序に細胞分裂を繰り返しており、その過程で、染色体の分配異常が高頻度で生じる。染色体の分配異常は、がんの進行や抗がん剤耐性化に関与すると言われている。したがって、がんを理解し、新たな治療法を開発するためには、がん細胞の細胞分裂制御機構を解明する必要がある。

細胞分裂の過程はダイナミックであり、核膜崩壊、紡錘体形成、染色体の凝縮と分配、細胞質分裂など、様々なイベントが起こる。細胞分裂の制御は非常に複雑であり、数多くのタンパク質によって制御されていることが分かっている。しかし、全貌はまだ明らかになっていないため、我々は、新規細胞分裂制御タンパク質の探索を行っている。

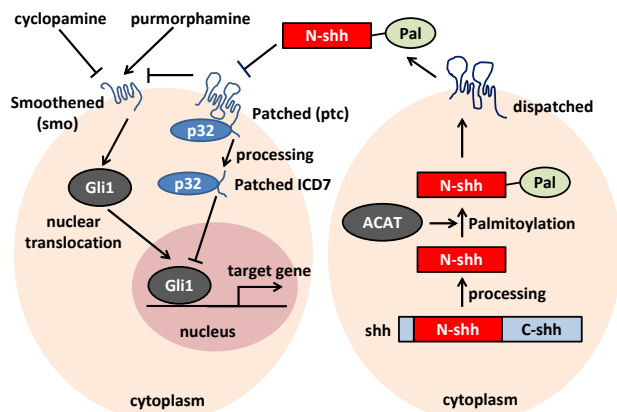
我々は、その探索において、ハイスループット生細胞イメージングと標的既知低分子化合物ライブラリーを活用している。標的既知の低分子化合物をがん細胞に添加し、細胞分裂が異常になるかどうかを評価する。細胞分裂異常の評価では、細胞分裂プロセスの視覚的解析が必要であるが、詳細な評価のためには、さらに時空間的な解析も必要である。細胞分裂の時空間的解析は、蛍光タンパク質融合チューブリンなどを用いた生細胞イメージングで行うことができるのだが、これまでは、生細胞イメージングをハイスループットに行うことが困難であった。しかし、平成25年度に、本学にハイコンテントイメージング装置（オペレッタ）が導入されることで、このハイスループット生細胞イメージングが可能になった。抗がん剤を含む79種類の標的既知阻害剤ライブラリーをスクリーニングしたところ、がん原タンパク質を含むいくつかのタンパク質が新規細胞分裂制御分子の候補として同定され、さらにはそれらの機能情報までを得ることに成功した。例えば、あるがん原タンパク質については、星状体形成後の二極紡錘体形成を制御している可能性が示唆された。今後、さらに多くの標的既知阻害剤ライブラリーをスクリーニングすることで、がん細胞の新たな細胞分裂制御機構を明らかできると期待している。

~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

ゼブラフィッシュを用いた sonic hedgehog シグナル解析系の構築

細胞生物学分野 賀川裕貴

sonic hedgehog (shh) シグナルは、生物の初期発生において器官形成や体軸決定、細胞の分化と増殖の調節に非常に重要なタンパク質として同定された。shh シグナルの異常は胚性致死を誘導するが、ヒト成人におけるその過剰な活性化は皮膚がんの一種である basal cell carcinoma や脳腫瘍の一種である medulloblastoma、さらには乳がんを誘導することが報告されており、これらの疾患治療に向けた分子標的として解析が進みつつある。しかし、shh 阻害作用を示す化合物は催奇形性が強く、医薬品として上市されている化合物は未だ報告されていないことから、安全かつ有効な治療薬の開発が焦眉の課題となっている。



導導することが報告されており、これらの疾患治療に向けた分子標的として解析が進みつつある。しかし、shh 阻害作用を示す化合物は催奇形性が強く、医薬品として上市されている化合物は未だ報告されていないことから、安全かつ有効な治療薬の開発が焦眉の課題となっている。

一方、ゼブラフィッシュは、発生生物学の分野で非常によく使用されているモデル動物であり、2013年に全ゲノムの解読が完了した。この結果、ゼブラフィッシュとヒトでは70%を超える遺伝子相同性を有しており、さらにはヒトの疾患と関連が明らかになっている遺伝子の約84%が保存されていることが明らかとなった。このことから近年、ゼブラフィッシュを用いた、前臨床試験である薬効スクリーニングや、毒性試験、催奇形試験の報告が数多く発表されており、最も注目されている薬学的解析のモデル動物の1つとなっている。

そこで我々は shh シグナルの解析系を、ゼブラフィッシュを用いて構築することによって、催奇形性試験を含めたシグナル阻害化合物のスクリーニング系を立ち上げることが可能である点に着目して研究を開始した。第一に shh シグナルの阻害剤として知られている cyclopamine および活性化剤として知られている purmorphamine を用いたカウンターアッセイを構築している。続いて、標的遺伝子をインジェクションしたゼブラフィッシュ表現型への薬物処理によるレスキュー能解析系を構築している。

本研究では、上述の実験系を構築し、shh シグナルを原性とする悪性腫瘍治療に向けたリード化合物の同定を目指す。

~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

骨芽細胞分化における中コンダクタンس Ca²⁺活性化 K⁺チャネルの寄与の解明

薬理学分野 鬼頭宏彰、榊原侑香、森広晴香、大矢進

骨量は、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収の恒常的なバランスにより維持される。骨芽細胞は、間葉系幹細胞を起源とする細胞であり I 型コラーゲン及びオステオカルシン、オステオポンチンなどの非コラーゲン性タンパク質を産生・分泌することで骨基質を形成するとともに、骨基質の石灰化を介して骨形成において中心的な役割を果たしている。骨芽細胞の骨形成異常は、関節リウマチ、骨粗鬆症、骨硬化症など種々の骨疾患に関連することが知られていることから、骨芽細胞の分化・成熟及び骨形成能について検討することは骨疾患の病態生理を理解する上で重要な知見になると考えられる。

中コンダクタンス Ca²⁺活性化 K⁺ (IK) チャネルは、細胞内 Ca²⁺濃度の上昇により活性化する K⁺チャネルであり、細胞の静止膜電位形成やストア作動性 Ca²⁺流入 (SOCE) を介した細胞内 Ca²⁺シグナル制御に寄与する。細胞内 Ca²⁺濃度の変動は、様々な細胞において細胞増殖、分化、細胞死などに関与することが知られている。そこで本研究では、骨芽細胞分化における細胞内 Ca²⁺シグナルの寄与を検討するために、IK チャネルを介した骨芽細胞機能制御について検討した。

骨芽細胞におけるIKチャネルの生理機能を検討するために、骨芽前駆細胞株MC3T3-E1 に対してSOCEを誘導し、SOCEを介したCa²⁺流入に対してIKチャネル阻害薬TRAM-34の効果を検討した。その結果、SOCEはTRAM-34により有意に抑制されたことからMC3T3-E1 においてIKチャネルの機能発現が示された。骨芽細胞の成熟過程において、骨芽前駆細胞は活発な細胞増殖を示すが、分化の進行に伴い細胞増殖能が低下する。正常な骨形成には骨芽前駆細胞の適切な細胞増殖が必要であることから、MC3T3-E1の細胞増殖に対してTRAM-34の効果を検討した。24時間毎に96時間まで細胞増殖を検討したが、TRAM-34投与による影響は観られなかった。また、分化促進培地 (50 µg/ml ascorbic acid、10 mM β-glycerophosphate含有培地) を使用してMC3T3-E1の細胞分化に対するIKチャネルの寄与を検討したところ、TRAM-34の投与により細胞外マトリックスにおける石灰化結節の形成 (アリザリンレッドによる染色) が抑制された。

以上の結果より、骨芽前駆細胞株MC3T3-E1において、IKチャネルは機能発現しており骨芽細胞の細胞分化・骨形成に対して促進的に機能することが示唆された。

~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

マウス脳腫瘍幹細胞の特性解析に基づいた新規分子標的治療薬の開発

臨床腫瘍学分野 中田晋

成人に最も頻度の高い脳腫瘍である膠芽腫は、既存の治療法に対して極めて難治性であり、新規治療戦略の開発が必要である。膠芽腫の組織中には発癌過程や治療後再発の起点となる、いわゆる膠芽腫幹細胞が存在することが示されている。これまでに発表者らは、組織幹細胞関連遺伝子 *LGR5* が膠芽腫幹細胞に高発現し、その増殖・生存に必須であること、腫瘍組織中の *LGR5* 蛋白の高発現が実際の患者の不良な生命予後に相関することを報告してきた [1]。これらの結果は、*LGR5* を含む様々な幹細胞制御に密接に関連する遺伝子の高発現が、予後不良と相関するという臨床研究の知見と合致すると考えられ、分化度の低い悪性腫瘍は予後不良であるという古くから知られる臨床的事実に新しい概念を吹き込んでいる [2,3]。近年、近畿大学 藤田貢博士と共同で、自発発症型マウスモデルの生体腫瘍組織からの膠芽腫幹細胞を分離する系を確立し、その特性解析を進めている。現在、① *LGR5* 欠如による細胞死に伴って発現が変動する遺伝子の網羅的解析 [1]、② shRNA ライブラリーによる膠芽腫幹細胞に必須なキナーゼの網羅的探索 [4]、③ *LGR5* 陽性細胞分画に濃縮される膠芽腫幹細胞に高発現する遺伝子の網羅的解析、などにより抽出した候補遺伝子群のうち、膠芽腫幹細胞が保持する高い腫瘍形成能にとって大きな影響を及ぼす治療標的分子の同定に取り組んでいる。

本プロジェクトにおいて、新規化合物の抗腫瘍効果の評価系として提供するこれらの膠芽腫幹細胞の特性解析技術には、周囲組織への浸潤能や低酸素領域形成に伴う血管増生などの、膠芽腫に特徴的な病理学的所見に与える影響を評価出来る点や、安定して樹立可能なスフェロイド培養系を用いることで Wnt や Shh 等の幹細胞制御シグナルの活性を分子生物学的に解析出来る点などの強みがある。これらを最大限有効活用し、膠芽腫細胞の幹細胞性を標的する新規化合物を同定し、脳腫瘍発癌モデルマウスの全生存期間を延長する新規薬剤の前臨床開発研究に繋げ、最終的な産学連携創薬基盤の形成に貢献したい。

1. Nakata S, *et al. Brain Pathology* 23:60 (2013)
2. Nakata S, *et al. Cancer Management and Research* 6:171 (2014)
3. Nakata S, *et al. Biomarkers in Cancer* pp361-378 (2015)
4. Goidts V, *et al. Oncogene* 31:3235 (2012)

~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

特別講演 (2)

分子標的薬を創る・使う・止める

佐賀大学 医学部 血液・呼吸器・腫瘍内科 木村晋也

慢性骨髄性白血病 (CML) は、*bcr-abl* キメラ遺伝子によって発症する。分子標的薬である ABL チロシンキナーゼ阻害剤 (TKI) メシル酸イマチニブは、CML に対して劇的な効果を示す。しかし、一部の症例では耐性を示し、またイマチニブのみで完治が期待できる症例は限られている。CML 完治のために、2つの方向 (併用薬の探索および新規薬剤の開発) で研究を進めてきた。イマチニブに有効な併用薬として、ビスホスホネート (Blood 2003)、*bcl-2* 阻害剤 (PNAS 2006)、クロロキン (Cell Death Diff 2008) を見出した。また日本新薬と共同でゲノム創薬を駆使し、ABL に対しイマチニブより約 55 倍親和性が高く、動物実験では、より副作用の少ない第二世代 ABL TKI であるバフェチニブの開発を行った (Blood 2005, Blood 2007)。そして欧米で、臨床第 I 相試験を行い、良好な結果を得た (Cancer 2010)。しかし、バフェチニブも他の ABL TKIs と同様に T315I クローンには無効なため、T315I に有効な薬剤として Aurora キナーゼ阻害剤 AT9283 を見出した (Blood 2010)。これら ABL 阻害剤の有効利用には、遺伝子検査が必須であるため、ARKRAY 社と共同で、quenching probe 法を応用した全自動遺伝子解析方法を開発した (Leuk Res 2008, Cancer Lett 2011)。これら基礎研究に加え、臨床では既に日本で承認されている第二世代 ABL TKI ダサチニブを中止する臨床試験 (DADI trial) を行ない、1 年以上 *bcr-abl* 遺伝子が検出されなかった患者の 48% が治療を中止しても 1 年以上再発が無いことを明らかにした (論文投稿中)。

また天然有機化合物のスクリーニングによって、新規抗がん剤 GUT-70 を発見した (Int J Cancer 2005, Brit J Cancer 2011)。そして GUT-70 をリードとして合成した化合物の中から、より強力な BNS-22 を見つけ出し (Chem Biol 2011)、GUT-70 および BNS-22 がこれまでに報告のないユビキリン-1 阻害作用を有することを明らかにした。さらに GUT-70 には抗腫瘍作用に加え、抗 HIV 作用もあることを報告した (Bioorgan Med Chem Lett 2013, BBRC 2015)。更に、GUT-70 および BNS-22 をシーズとし、化合物のブラッシュアップを行い、日本発の first in class 創薬を実現したい。

今後、これらの研究を統合し、薬剤だけで CML を完治させる治療法の確立を目指している。

~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業

「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」キックオフシンポジウム報告書

日時:平成 27 年 9 月 25 日(金)13:30~17:30

場所:京都薬科大学 愛学ホール

参加者数:143 名(職員 31 名、学部生・大学院生 112 名)

本キックオフシンポジウムは、今年度文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業に採択された「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」課題の遂行にあたり、参画する全ての研究者の意識の統一を図るとともに、各研究者の連携による新たな共同研究体制構築の契機とすることを目的として企画された。本プロジェクトでは、本学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させることにより、超高齢化社会における健康長寿生活の実現に貢献できる“大学発創薬ベンチャー”基盤を確立することを目指す。具体的には、対象疾患として悪性腫瘍と認知症に焦点を絞り新たな創薬・予防薬シーズを発掘し、得られたシーズの学術的評価に臨床評価を加味することでシーズのライセンスアウトをめざした産学連携プラットフォームを構築し、“山科から世界に”新規分子標的治療薬を発信する。また同時に、創薬開発研究を通じて新たな“知の創造”をめざし、わが国の将来の薬学研究を牽引する次世代の基礎ならびに臨床薬学研究者の育成をめざす。



開会に際して、後藤直正副学

長から本プロジェクトの意義や本

プロジェクトへの期待を開会の辞としてご挨拶いただいた。

引き続き、本プロジェクトの研究代表者である芦原が、本

プロジェクトのイントロダクションとして将来におけるアカ

デミアでの創薬研究のあり方ならびに「本プロジェクトで



めざすもの」について講演を行った。次に研究シーズの

紹介と今後の研究計画について、研究グループ(シーズ

発掘・バリデーショングループおよび合成・相互作用解析

グループ)研究参画者が講演を行い、それぞれが所有する興味深いシーズを確認し

た。さらに、本プロジェクト学外共同研究者として参画いただいている佐賀大学 木村晋也教授、近畿大学 藤田 貢准教授にご講演をいただいた。木村先生には創薬から臨床研究に展開されたご自身の分子標的治療薬研究をお話いただき、また藤田先生には自発発症型脳腫瘍モデルマウスを用いた免疫療法開発研究を中心としたトランスレーショナルリサーチについてご紹介いただいた。いずれの発表においても、学生、教員から多くの質問があり、活発な議論がなされた。最後に合成・相互作用解析グループリーダーの赤路が本プロジェクトの目指すべき方向性を確認し閉会の辞とした。

本シンポジウム終了後、小会議を持ちさらに議論を深めた。既に発掘されたヒット化合物を基に構造活性相関研究を開始している共同研究もあり、各グループ間で早期に共同研究体制が構築されることが期待された。最後に本プロジェクトの基本方針を再度確認し、小会議を終了した。今後も定期的に進捗会議をもち、分子標的治療薬候補化合物の創製を目指すとともに、新たな“知の創造”に向けた本プロジェクトを遂行していく。



文責：芦原英司（研究代表者）

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創業に向けた大学発ベンチャー基盤の確立

News Letter Vol.1

～プロジェクトの概要～



研究代表者 病態生理学分野 芦原英司

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業は、「私立大学が、各大学の経営戦略に基づいて行う研究基盤の形成を支援するため、研究プロジェクトに対して重点的かつ総合的に補助を行う事業であり、もってわが国の科学技術の進展に寄与する」ための事業です。「新規分子標的治療薬創業に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」は、2015年度から5年間の予定で採択されたプロジェクトで、京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させることにより、超高齢者社会における健康長寿生活の実現に貢献できる“大学発創薬ベンチャー”基盤を確立することを目的としています。

本プロジェクトは、学内 8 分野 1 センター、研究・産学連携推進室から 13 名（初年度は学内 9 分野と研究・産学連携推進室から 12 名）、学外協力者 2 名、計 15 名のメンバー

で構成されています。対象疾患として悪性腫瘍と神経変性疾患・認知症に焦点を絞り新たな創薬・予防薬シーズを発掘し、得られたシーズの学術的評価に、学外協力者の協力の元、臨床評価を加味することでシーズのライセンスアウトをめざしています。年 2 回の small meeting を行い互いの進捗を確認し、綿密な議論を通じて共同研究を展開していきます。現在 4 つの共同研究が進行中です。Annual Meeting では、研究参加者および共同研究の進捗を報告するとともに、学外から著名な研究者の特別講演を予定しています。

本プロジェクトではメンバー丸となって産学連携プラットフォームの構築（図）を進め、“山科から世界に”新規分子標的治療薬の発信をめざします。また同時に、創薬開発研究を通じて新たな“知の創造”をめざし、わが国の将来の薬学研究を牽引する次世代の基礎ならびに臨床薬学研究者を育成に努めています。



～各シーズ紹介～

マウス脳腫瘍幹細胞の特性解析に基づいた新規分子標的治療薬の開発



臨床腫瘍学分野 中田晋

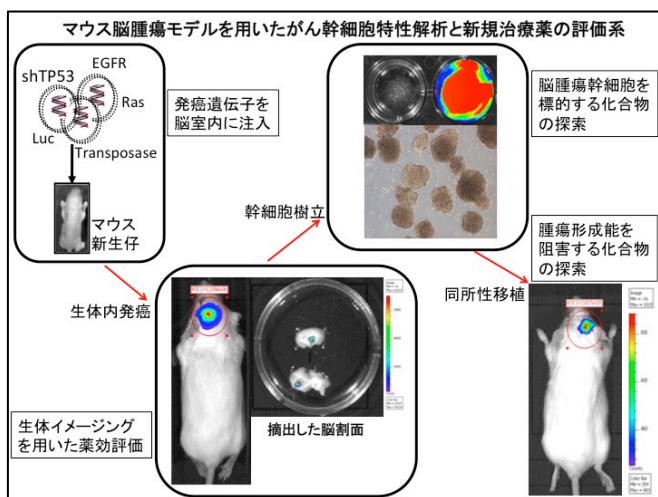
成人に最も頻度の高い脳腫瘍である膠芽腫は、既存の治療法に対して極めて難治性であり、新規治療戦略の開発が必要である。膠芽腫の組織中には発癌過程や治療後再発の起点となる、いわゆる膠芽腫幹細胞が存在することが示されている。これまでに発表者らは、組織幹細胞関連遺伝子 *LGR5* が膠芽腫幹細胞に高発現し、その増殖・生存に必須であること、腫瘍組織中の *LGR5* 蛋白の高発現が実際の患者の不良な生命予後に相関することを報告してきた。これらの結果は、*LGR5* を含む様々な幹細胞制御に密接に関連する遺伝子の高発現が、予後不良と相関するという臨床研究の知見と合致すると考えられ、分化度の低い悪性腫瘍は予後不良であるという古くから知られる臨床的事実に新しい概念を吹き込んでいる。近年、近畿大学 藤田貢博士と共同で、自発発症型マウスモデルの生体腫瘍組織からの膠芽腫幹細胞を分離する系を確立し、その特性解析を進めている。現在、① *LGR5* 欠如による細胞死に伴って発現が変動する遺伝子の網羅的解析、② shRNA ライブラリーによる膠芽腫幹細胞に必須なキナーゼの網羅的探索、③ *LGR5* 陽性細胞分画に

濃縮される膠芽腫幹細胞に高発現する遺伝子の網羅的解析、などにより抽出した候補遺伝子群のうち、膠芽腫幹細胞が保持する高い腫瘍形成能にとって大きな影響を及ぼす治療標的分子の同定に取り組んでいる。

本プロジェクトにおいて、新規化合物の抗腫瘍効果の評価系として提供するこれらの膠芽腫幹細胞の特性解析技術には、周囲組織への浸潤能や低酸素領域形成に伴う血管増生などの、膠芽腫に特徴的な病理学的所見に与える影響を評価出来る点や、安定して樹立可能なスフェロイド培養系を用いることで Wnt や Shh 等の幹細胞制御シグナルの活性を分子生物学的に解析出来る点などの強みがある。さらに、この幹細胞培養系において活性化を確認している、Hif2a を起点とする低酸素応答シグナルが、別の幹細胞制御シグナルに与える影響を解析することにも取り組んでいる。また、膠芽腫幹細胞の維持や腫瘍形成過程においては、これらのパスウェイが相互に影響を与え合い、ポジティブなフィードバックループを形成するように増殖している可能性が考えられる。この膠芽腫細胞の幹細胞性の本態ともいえる、発生学的シグナル経路互助システムの遮断を可能とする新規化合物を同定し、脳腫瘍発癌モデルマウスの全生存期間を延長する新規薬剤の前臨床開発研究に繋げ、最終的な産学連携創薬基盤の形成に貢献したい。

この膠芽腫細胞の幹細胞性の本態ともいえる、発生学的シグナル経路互助システムの遮断を可能とする新規化合物を同定し、脳腫瘍発癌モデルマウスの全生存期間を延長する新規薬剤の前臨床開発研究に繋げ、最終的な産学連携創薬基盤の形成に貢献したい。

ハイスループット生細胞イメージングによる新規細胞分裂制御タンパク質の探索

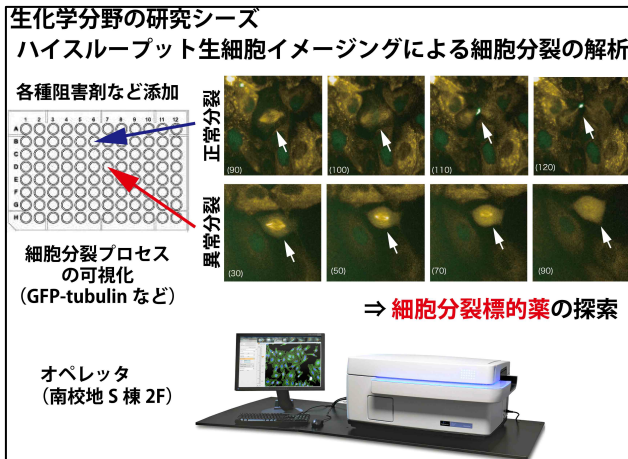


生化学分野 久家貴寿

がん細胞は、無秩序に細胞分裂を繰り返し、増殖していく。したがって、がん細胞の細胞分裂を阻害する薬剤が、古くから抗がん剤として使用されている。

古典的な細胞分裂阻害剤は、微小管の重合もしくは脱重合を阻害する薬剤であるが、正常細胞の微小管にも影響を与えてしまうため、神経障害や造血抑制の副作用が生じる。本研究では、がん細胞

の細胞分裂を阻害する薬剤をハイスループット生細胞イメージング手法でスクリーニングする。その後、ヒットした薬剤の阻害標的を明らかにし、その標的ががんを高発現しているのかどうかを調べ、新規の抗がん剤標的分子候補を決定する。以下、平成27年度に行った、研究結果を報告する。



まずは、薬剤が細胞分裂を阻害したかどうかを評価するための、ハイスループット生細胞イメージングの技術確立を行った。細胞分裂はダイナミックな現象なので、細胞分裂を詳細に解析するためには、細胞分裂のプロセスを、時間を追って可視化していく必要がある。そのために、我々は、蛍光タンパク質融合チューブリンなどを発現する細胞株の生細胞観察を行うことにした。チューブリンは細胞分裂期に紡錘体を形成し、分裂期が進むに従って、ミッドゾーンやミッドボディと呼ばれる構造体を構築する。そのため、チューブリンの生細胞イメージングを行えば、分裂期の異常を検出することができる。ハイスループットに生細胞イメージングを行うためには、ハイコンテントイメージング装置（オペレッタ）を使用した。オペレッタは、平成25年度に本学に導入された機器であり、マルチウェルで同時に生細胞イメージング解析を行うことのできる機器である。

現在までに、このハイスループット生細胞イメージングにより、抗がん剤を含む79種類の標的既知阻害剤ライブラリーと、受容体型タンパク質阻害剤などを含む80種類の別の標的既知阻害剤ライブラリーのスクリーニングを行った。その結果、一つ目のライブラリーからは、11種類の薬剤が細胞分裂阻害剤として同定され、二つ目の

ライブラリーからは、18種類の薬剤が細胞分裂阻害剤候補としてヒットしてきている。

現在、同定された細胞分裂阻害剤について、その既知の標的タンパク質が細胞分裂を制御しているのかどうかを、ノックダウン法などで検証しているところである。この検証で、新規の細胞分裂制御タンパク質とされたものについて、がん組織と正常組織における発現を調べ、新規の抗がん剤標的になるのかどうかを検討する予定である。また、同定された細胞分裂阻害剤の細胞分裂阻害効果が、既知の標的タンパク質の阻害で説明できなかった場合、本戦略基盤研究の合成グループと協力して、真の標的を探索し、それが、新規の抗がん剤標的になるのかどうかを同様に検討していく予定である。

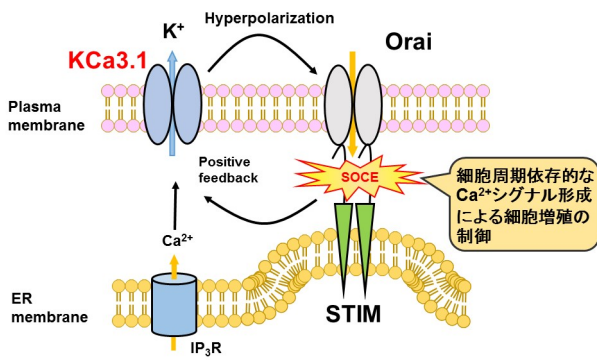
骨芽細胞分化における中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネルの寄与の解明



薬理学分野 鬼頭宏彰

骨量は、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収の恒常的なバランスにより維持される。骨芽細胞は、間葉系幹細胞を起源とする細胞でありI型コラーゲン及びオステオカルシン、オステオポンチンなどの非コラーゲン性タンパク質を産生・分泌することで骨基質を形成するとともに、骨基質の石灰化を介して骨形成において中心的な役割を果たしている。骨芽細胞の骨形成異常は、関節リウマチ、骨粗鬆症、骨硬化症など種々の骨疾患に関連することが知られていることから、前骨芽細胞の細胞増殖や骨芽細胞への細胞分化、骨芽細胞の成熟及び骨形成能について検討することは骨疾患の病態生理を理解する上で重要な知見になると考えられる。

中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル (KCa3.1) は、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇により活性化する K^+ チャネルであり、細胞の静止膜電位形成やストア作動性 Ca^{2+} 流入 (SOCE) を介した細胞内 Ca^{2+} シグナル制御に寄与する。細胞内 Ca^{2+}



濃度の変動は、様々な細胞において細胞増殖、分化、細胞死などの細胞生理機能制御に関与することが知られている。そこで本研究では、前骨芽細胞増殖における細胞内 Ca^{2+} シグナルの寄与を検討するために、KCa3.1 チャンネルを介した骨芽細胞機能制御について検討した。

前骨芽細胞におけるKCa3.1チャンネルの生理機能を検討するために、骨芽前駆細胞株MC3T3-E1に対してSOCEを誘導し、SOCEを介した Ca^{2+} 流入に対してKCa3.1チャンネル阻害薬TRAM-34の効果を検討した。その結果、SOCEはTRAM-34により有意に抑制されたことからMC3T3-E1においてKCa3.1チャンネルの機能発現が示された。骨芽細胞の成熟過程において、前骨芽細胞は活発な細胞増殖能を示し、正常な骨形成には前骨芽細胞の適切な細胞増殖が必須であると考えられている。そこで、MC3T3-E1の細胞増殖能に対するTRAM-34の効果を検討したところ、培養後72時間においてTRAM-34 (1, 10 μ M) 投与により有意に細胞生存能が低下した。さらに、TRAM-34 処置細胞において細胞周期解析を行ったところ、G1期からS期への移行が有意に抑制されていた。KCa3.1の生理機能をより詳細に検討するために、KCa3.1 siRNAを用いて各検討を行ったところ、TRAM-34投与によるSOCE活性及び細胞増殖の抑制作用が有意に減弱し、細胞周期解析において対照群と比較してG0/G1期の細胞群が有意に増加していた。以上の結果より、前骨芽細胞株MC3T3-E1において、KCa3.1チャンネルは機能発現しており、細胞内 Ca^{2+} シグナルを制御することでG1期からS期への細胞周期進行に寄与することで前骨芽細胞の細胞増殖を制御する可能性が示唆された。

新薬の開発と遺伝毒性試験

公衆衛生学分野 長谷井友尋



医薬品の開発において、医薬品候補の有効性が着目されることが多いが、有効である以上に安全であることも重要である。遺伝毒性試験は、医薬品候補の化合物がDNAや染色体などの

遺伝子に損傷を与え、突然変異や染色体異常を引き起こすかどうかを評価する安全性試験である。突然変異や染色体異常は、後世代への遺伝的影響とともに発がんなどにも関係していると考えられており、医薬品の開発・申請において、ヒトに対するリスクの予測に必須の試験である。

日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; ICH) は、日本・米国・EU による新薬承認審査の基準を国際的に統一し、各種試験の不必要な繰り返しを防いで医薬品開発・承認申請の非効率を減らすことを目的に作られた。日本でも ICH での決定に基づいたガイドラインに沿って、遺伝毒性試験を含む各種試験を実施するようガイダンスが定められている。ICH の遺伝毒性試験に関する最新のガイダンスでは、遺伝毒性試験の組合せに以下の2種類のオプションが提示されている。オプション1

日米EU医薬品規制調和国際会議(ICH)の ガイダンスで提示されたオプション (安全性:遺伝毒性試験)

オプション1

- i. 細菌を用いる復帰突然変異試験
- ii. 染色体傷害を検出するための細胞遺伝学的試験
(*in vitro*染色体異常試験又は*in vitro*小核試験)
又はマウスリンフォーマTK試験
- iii. *In vivo*遺伝毒性試験(一般的には、げっ歯類造血系細胞を用いる小核試験または染色体異常試験)

オプション2

- i. 細菌を用いる復帰突然変異試験
- ii. 2種類の異なる組織における*in vivo*遺伝毒性試験
ii-1: 一般的には、げっ歯類造血系細胞を用いる小核試験
ii-2: 一般的には、肝臓のDNA鎖切断を検出する試験

では I) 細菌を用いる復帰突然変異試験、II) 染色体傷害を検出するための細胞遺伝学的試験又はマウスリンフォーマ *Tk* 試験及び III) *in vivo* 遺伝毒性試験の組合せが、オプション 2 では I) 細菌を用いる復帰突然変異試験及び II) 2 種類の *in vivo* 遺伝毒性試験の組合せが提示されており、どちらか一方の組合せで医薬品の候補となる化学物質を試験する必要がある。著者の所属する研究室では、疾病予防を目的として、遺伝毒性物質についての研究を行っており、ICH ガイダンスで提示された各種遺伝毒性試験を実施している。著者の提供するシーズは遺伝毒性試験法である。

今回はその一例として、*in vivo* 小核試験を用いた新規芳香族アミン 5-amino-6-hydroxy-8*H*-benzo[6,7]-azepino[5,4,3-*de*]quinoline-7-one (ABAQ) の遺伝毒性試験について紹介する。*In vivo* 小核試験は *in vivo* 遺伝毒性試験に該当する試験法で、被験物質が染色体に損傷を与えた際に発生する小核を観察することで遺伝毒性を評価する。ABAQ を 12.5、25 及び 50 mg/kg 体重で ICR マウスに投与し、投与 24、48 及び 72 時間後に末梢血中の小核発生頻度を試験した。対照の小核誘発率が 0.14%~0.24%であったのに対し、ABAQ を 12.5 mg/kg 体重で投与した際は投与 24 時間では有意な増加が見られなかったが、48 時間後には小核発生頻度が 0.56% と有意な増加が見られた。一方、投与 72 時間後には小核発生頻度は 24 時間後と同程度まで減少した。また、25 及び 50 mg/kg 体重で投与した際、投与 48 時間後まで、小核発生頻度は経時的に有意に増加し、それぞれ 0.8% 及び 1.08% に達したが、投与 72 時間後では、投与 24 時間後と同程度にまで減少していた。また、試験を行ったいずれの採血時間でも ABAQ は用量依存的に小核を誘発した。

上記のような遺伝毒性試験を用い、本プロジェクトにおいて開発された分子標的がん治療薬の遺伝毒性試験を担うことで本プロジェクトの遂行に貢献していきたい。

アミノ酸を素材とした含窒素複素環を有するシード化合物の探索



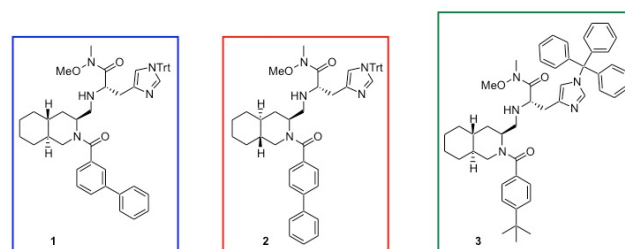
薬品化学分野 服部 恭尚

1. Wnt シグナル阻害剤の開発

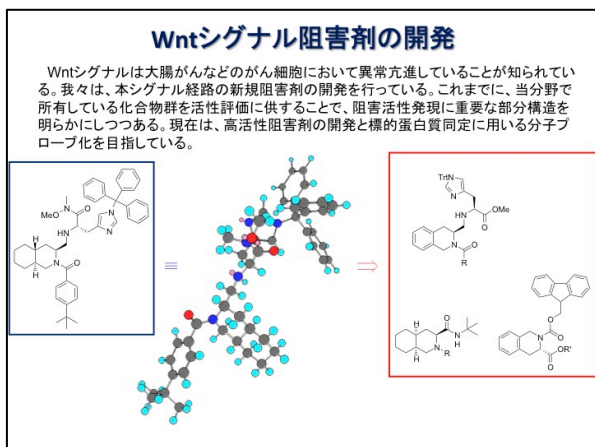
Wnt シグナル経路は大腸がんや胃がん、肝がんなどにおいて本経路を構成するリガンドや受容体、細胞内タンパク質などの遺伝子変異や発現異常が認められている。従って、Wnt シグナルを阻害する新たな低分子化合物が開発できれば、新たながん治療薬の創製が期待できる。

これまでに合成した環状化合物を対象として Wnt シグナルを標的としたスクリーニングを共同研究先である病態生理学分野にて実施していただいた。スクリーニング試験は、培養細胞を用いたルシフェラーゼアッセイシステムを用いて評価している。これまでにマイクロモルレベルのルシフェラーゼ阻害活性を示す化合物を見出しており、活性発現の上で以下のことが分かっている。

図 1 : マイクロモルレベルの阻害活性を示した化合物の構造式



- 構造式中赤で示したトリチル (Trt) 基は活性発現に必要。
- 構造式中青で示したヒスチジン由来部分も活性発現に必要。
- 構造式中紫で示したアミド置換基はベンゼン環 2 つまでは許容されるが、更に置換基を導入すると活性がなくなる。また、ベンゼン環 1 つに *t*-Bu 基のような立体的に嵩高い置換基の導入は許容される。

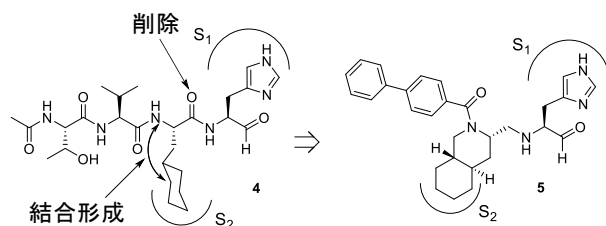


今後、上記化合物の構造最適化を行い、標的分子探索のためのリガンド開発につなげたい。

2. SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の開発

重症呼吸器症候群（Severe Acute Respiratory Syndrome: SARS）は2002年に発生したSARSコロナウィルスを発症の原因とする致死率約10%の新興感染症である。いったん沈静化したのが、ごく最近になって中国で新たな変異型SARSウィルス種や中東でのSARS様ウィルスを原因とする感染症（Middle East Respiratory Syndrome: MERS）が報告されている。SARS原因ウィルスの増殖に必須の蛋白質であるSARS 3CLプロテアーゼの阻害剤開発を行っている。これまでに、報告したペプチドアルデヒド型阻害剤4に基づき、マイクロモルレベルの阻害活性を示す小分子型阻害剤5の開発に成功している。

図2：SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤

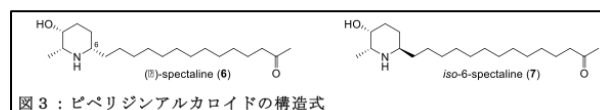


今後、上記化合物5の高活性化を行い、SARS 或いはMERS治療薬へ展開したい。

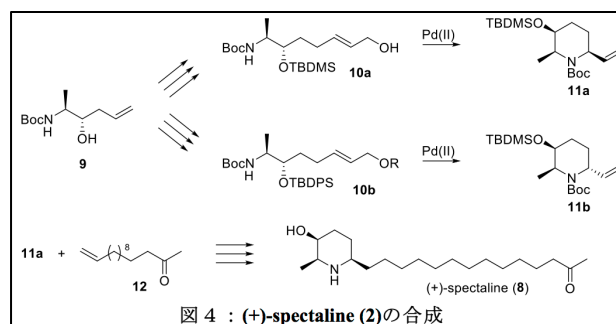
3. ピペリジナルカロイドの立体選択的合成

ピペリジナルカロイドの一種である(-)-spectaline (6) と iso-6-spectaline (7) は共にマメ科植物から単離・構造決定された。これらの

化合物は中心骨格となるピペリジン環上1箇所の立体化学が異なるのみで、その他の構造は全く同じである。しかしながら、報告されている生物活性試験では(-)-spectaline (6) が活性を示す一方で、iso-6-spectaline (7) は不活性であることが明らかになっている。そこで、環化反応における立体選択性を制御することにより両化合物を分岐的に合成する新規合成法の開発を行うこととした。

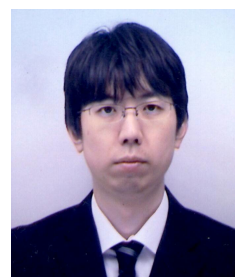


原料入手の容易さから、標的化合物には上記化合物のエナンチオマーである(+)-spectaline (8) と ent-iso-6-spectaline を選択した。既知の出発物質9から構造変換を行い環化前駆体10とし、パラジウム触媒による立体選択的環化反応を用いることで両化合物の中心骨格となるピペリジン環11aと11bの構築に成功した。その後3工程で(+)-spectaline (8) の合成を達成した。



現在、化合物8の構造と活性の相関を明らかにするための研究を行っている。

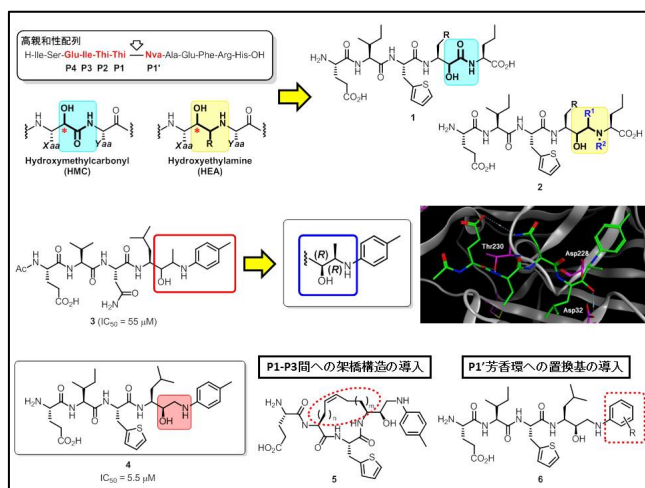
高親和性基質配列に基づくBACE1阻害剤の開発



薬品化学分野 小林 数也

BACE1 (β-site APP cleaving enzyme) は、アミロイドβ前駆体タンパク質 (APP: amyloid precursor protein) を切断する酵素で

あり、 γ セクレターゼとともに APP を切断することで、アルツハイマー病の発症原因と考えられている AB を産生することが知られている。そのため、BACE1 はアルツハイマー病治療薬開発における重要な創薬標的の一つとして精力的に研究がなされている。



近年、我々は基質切断部位の周辺配列 (P4~P1') を非天然アミノ酸に置換したドデカペプチドが、天然型や変異型の配列を持つペプチドよりも BACE1 による認識・切断を受けやすくなることを報告している。そこで我々は、この基質認識を受けやすい配列とヒドロキシメチルカルボニル (HMC) 及びヒドロキシエチルアミン (HEA) 型イソスターを組み合わせることで、より高活性な BACE1 阻害剤の開発が可能になると考え、化合物 **1** 及び **2** をデザインし、その合成と活性評価を行った。その結果、水酸基の立体が P1 側鎖に対して、HMC 型阻害剤では *anti* 配置、HEA 型阻害剤では *syn* 配置の誘導体で高い阻害活性が認められた。また、P1 側鎖の置換基はチエニル基が適していることが明らかとなった。

一方我々は、HEA 型阻害剤に関する初期の検討において、中程度の活性を有する化合物 **3** を見出している。しかし本化合物は、ヒドロキシ基と隣接するメチル基に対応する 4 つのジアステレオマーの混合物として合成したため、いずれのジアステレオマーが活性体であるかを同定することができていなかった。そこで、先の高親和性配列に基づき設計した化合物 **3** 誘導体の各ジアステレオマーを立体選択的に合成し、それらの活性評価を行うことで活性立体構造の同定を行った。その

結果、水酸基と隣接するメチル基の両方が *R* 配置の誘導体が化合物 **3** の活性体であることが分かった。また、同時に行った誘導体合成において、これまでで最も活性の高い誘導体 **4** を見出すことに成功した。

上記検討の過程において、化合物 **3** と BACE1 との複合体の X 線結晶構造解析から、阻害剤の P1-P3 間に大きな疎水性空間が存在すること、そして P1'位と BACE1 との間に空間的な余裕があることが見出されたことから、我々は新たに 2 通りの構造活性相関研究戦略を考案した。1 つ目は、P1-P3 側鎖間に架橋構造を導入し、疎水性空間を埋めると同時に、化合物全体の構造を固定化することで活性向上を図る戦略 (化合物 **5**) であり、2 つ目は、P1'位に適切な置換基を導入することで、BACE1 との新たな相互作用を形成させ、活性向上を図る戦略 (化合物 **6**) である。現在我々は、これら 2 つの戦略に基づき、高活性誘導体 **4** をベースに、新規阻害剤の合成と活性評価を進めている。

我々のグループでは上記 BACE1 阻害剤の誘導体及びその中間体をシーズ化合物として保有している。これらを、アルツハイマー病治療薬開発へと展開するだけでなく、シーズ発掘・バリデーショングループが有する各種アッセイ系に応用することで、新たな創薬標的を対象とするシーズ化合物の探索も併せて進めていきたいと考えている。

天然伝承薬物を素材とした悪性腫瘍および神経変性疾患に対する予防・治療成分の探索研究



生薬学分野 中村誠宏

天然伝承薬物は、今日ある医薬の母体と位置づけられ、その多くは今もなお直接または間接に医薬素材として利用されており人類の貴重な財産といえることができる。著者らは、これまでに和漢生薬、北アフリカ、東南アジアおよび南米天然薬物など世界各地の天然伝承薬物について、化合物の単離、構造決定および化


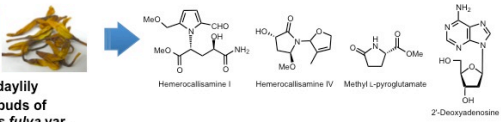
学修飾や化学変換などの化学的手法と種々の生物活性スクリーニングなど薬理学的手法の両手法を用いて生体機能性成分の探索を行ってきた。例えば、最近、アジア・アフリカ地域の伝承薬 [カレーリーフ (*Murraya koenigii*, 葉部), ジャワナガコショウ (*Piper chaba*, 果実), 蓮葉・蓮花 (*Nelumbo nucifera*, 葉部, 花部), イランイラン (*Cananga odorata*, 花部), など] からアルカロイド類, テルペン類, フラボノイド類, ポリフェノール類などの多数の成分を明らかにするとともに, それらの成分が抗糖尿病, 抗老化関連作用などを示すことを見出し, 活性発現の必要構造や作用メカニズムなど興味深い知見を得ている。

天然伝承薬成分の提供と天然薬物を素材とした悪性腫瘍および神経変性疾患に対する予防・治療成分の探索研究
生薬学分野

1. 悪性腫瘍に対する予防・治療成分の探索研究
天然薬物由来クマリン成分および誘導体を用いたがん浸潤抑制作用の検討 (病態生理学分野 戸原教授との共同研究)

2. 神経変性疾患に対する予防・治療成分の探索研究

- 1) 金針花 (the flower buds of *Hemerocallis fulva* var. *kwanso*, *H. flava*, *H. minor*) 成分の単離とその主要成分のラット副腎褐色細胞腫 PC12細胞突起伸長促進様作用 (神経分化促進様作用) および Aβ 凝集抑制作用の検討
- 2) 茜 (*Rubia argyi*) 根部およびアッサム種茶花 (*Camellia sinensis* var. *assamica*) 成分の Aβ 凝集抑制作用の検討

金針花 daylily (the flower buds of *Hemerocallis fulva* var. *kwanso*, *H. flava*, *H. minor*)

一方, 悪性新生物 (がん) は, 現在高齢化社会にとともない死の原因の一位を占め, 社会的問題となっている。これまでに数多くの抗がん剤の開発が行われてきた。特に, 植物に含有される多様性に富む化合物群は, vinblastin, etoposide や taxol などの例でも明らかのように抗がんシードあるいはリード化合物として“抗がん医薬品”の創製に大きく貢献してきた。このような背景のもとに, 著者らは様々な天然伝承薬物を素材として用い, 細胞増殖抑制活性成分およびがん細胞の転移抑制成分の探索を行った。これまでに, コロシントウリ (*Citrullus colocynthis*, 果実) などから得られた数種のククルビタン型トリテルペンに強力な細胞増殖抑制活性を見出した。すなわち, ウリ科植物 *C. colocynthis* は, アフリカ北部などの砂漠地帯に自生し中近東地域で瀉下作用などを期待して食用される。この *C. colocynthis* 果実から, 2種のククルビタン型トリテルペン配糖体 colocynthoside A および B を単離するとともに,

その主要成分である cucurbitacin E 2-O-β-D-glucopyranoside の脱配糖体化合物 cucurbitacin E および cucurbitacin B が強力な細胞増殖抑制活性を示すことを見出した。また, その標的分子の一つとして cofilin を明らかにした。Cucurbitacin B および E は cofilin/ADF 経路に関与した強力なアポトーシス誘導を可能とする抗がん剤の開発に有益なツールとなることが期待される。

さらに, 種々の天然伝承薬物由来成分およびその誘導体を用い, アルツハイマー病予防・治療に有用であると考えられるアミロイドベータペプチド (Aβ) 凝集抑制作用およびラット副腎褐色細胞腫 PC12 細胞における神経分化促進様作用の検討を行ったところ, 種々の γ-ラクタム環を有するアルカロイド類やトリテルペン類が Aβ 凝集抑制作用を, ヌクレオシド類やフラボノイド類が PC12 細胞分化促進作用を有することを見出した。現在引き続き, 天然伝承薬物を素材とし悪性腫瘍および神経変性疾患に対する予防・治療薬シーズの探索を行っている。

バンレイシ科アセトゲニン類の構造変換による新規抗がんリード化合物の創製研究

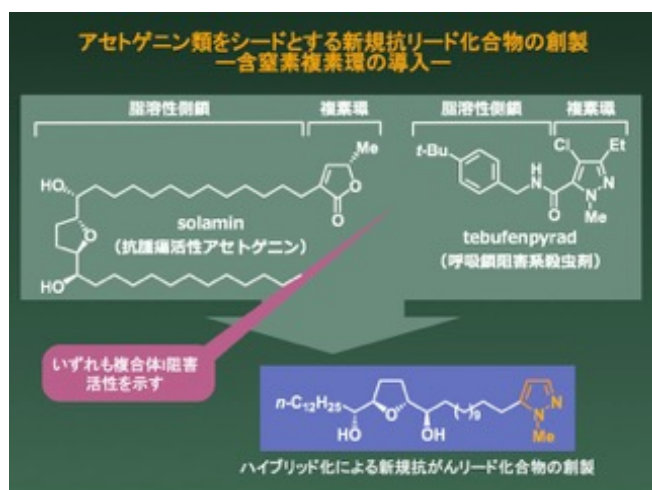


薬品製造学分野 小島直人

熱帯・亜熱帯に見られるバンレイシ科植物は, 古くからその果実がフルーツとして食されてきたが, 1982年にその一つである

Uvaria accuminata の根から uvaricin と命名されたポリケチドが単離されたことによって一気に注目を集めることになった。バンレイシ科アセトゲニン類と呼ばれるこれらのポリケチドは, これまでに約 500 種の類縁体が単離構造決定されており, 長鎖アルキル鎖の中央付近に 1 から 3 個の連続した 2,5-二置換のテトラヒドロフラン (THF) 環, 末端に γ-ラクトン環を持つことを構造的特徴としている。また, 強力なヒトがん細胞増殖抑

制活性を有し、アドリアマイシン耐性のがん細胞に効果を示すことが明らかにされている。アセトゲニン類はミトコンドリアの呼吸鎖電子伝達の複合体 I を強力に阻害することから、エネルギー代謝の激しいがん細胞を ATP 欠乏に陥らせアポトーシスに導くものと考えられている。



我々の研究グループでは、この特異な化学構造と興味深い生物活性をもつ天然物をシードとして、有機合成化学的アプローチによる新規抗がんリード化合物の創製研究を展開してきた。特にγ-ラクトン環に着目して誘導体合成を行ってきたが、その一つとして、アセトゲニン類と呼吸鎖阻害系殺虫剤の構造と作用機序の類似性に着目し、アセトゲニン類の共通構造の一つであるγ-ラクトン環部分を呼吸鎖阻害系殺虫剤由来の含窒素複素環に置換した誘導体を設計した。各種誘導体を合成しその生物活性を評価した結果、ラクトン環を持たなくてもヒトがん細胞に対して増殖阻害活性を示すことを見出した。中でも、*N*-メチルピラゾール環を導入した誘導体は、最大 80 倍もの活性向上が見られることが明らかになった。また、その活性発現には、複素環と THF 環に繋がるアルキル鎖との連結部位の結合様式が重要であることを見出し、アミド結合で *N*-メチルピラゾール環を連結した誘導体は天然物の最大 1 万倍近い活性を示すことを明らかにした。しかしながら、その化合物は *in vivo* 試験において強い毒性を示した。そこで、更なる構造活性相関研究を展開した結果、窒素を含まない複素環、すなわち、フラン環やチオフェン環を導入した誘導体も強いヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことを見出した。

その中の一つであるチオフェン環をアミド結合で連結させた誘導体はマウスの xenograft モデルにおいて、急性毒性を示すことなく強い抗腫瘍活性を示すことを明らかにした。現在、更なる構造活性相関研究を展開すると共に作用機序の解明研究を実施中である。

～おわりに～



薬品化学分野 赤路健一
(合成・相互作用解析グループ)

年次ニュースレターの最後に一言ご挨拶を兼ねた抱負を書かせていただきます。本プロジェクト「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」は、平成 27 年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業の研究拠点形成研究として採択されました。京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させることにより、充実した健康長寿生活の実現に貢献できる大学発創薬ベンチャー基盤を確立することが目的です。具体的には、“悪性腫瘍と認知症に焦点を絞り、アカデミアの学術基盤を有効利用することによって新たな創薬・予防薬シーズを発掘する”と謳っています。

本プロジェクトでは、参加研究室を①シーズ発掘・バリデーショングループと②合成・相互作用解析グループの 2 つのグループに大きく分け、各グループ間の密接な連携によって企業研究では産み出しにくい新しい化合物の発掘を目指します。言うは易く行うはきわめて難しい内容です。しかし、お互いの研究を知りそれぞれの研究人財を少しずつ融通しあうことで新しいテーマにつながる連携を構築していけば、少しでもこの目的に近づけるのではないかと期待しています。

本学には活発に研究活動を継続しているさまざまな学問領域の研究室が多くあります。もちろん、それぞれの研究領域における新しい発見を目指した研究活動を行うことが基盤ですが、これら

の研究を有機的に連携させることによってはじめて可能になる成果を生み出すことはそれぞれの研究室のみならず大学全体にとっても大きな成果となります。また、このような成果は大学の魅力を高め、優秀な学生（と一桁も二桁も大きな資金）を引き付ける大きな要因となります。さらに、学部生の大学院へのモチベーションを大きく高めることにもつながります。

始まったばかりではありますが、5年間はあっという間に過ぎてしまいます。出来る限り参加研究者間の情報交換を密にすることで、今までとは一味違った研究成果と研究体制を作るきっかけになればと考えています。「山科から世界へ」を目指して、地道な研究を継続したいと思います。

～2015 年度業績～

著書

1. Susumu Nakata, Emma Phillips, and Violaine Goidts: LGR5 as a marker of in brain cancer, *Biomarkers in Disease: Methods, Discoveries and Applications*, Preedy VR, Patel VB, editors, Springer Netherlands: pp. 361-378 (2015).

英文総説

1. Eishi Ashihara, Tetsuya Takada, and Taira Maekawa: Targeting the canonical Wnt/ β -catenin pathway in hematological malignancies. *Cancer Sci.*, 106: 665-671 (2015).
2. Susumu Ohya, Hiroaki Kito, Noriyuki Hatano, and Katsuhiko Muraki: Recent advances in therapeutic strategies that focus on the regulation of ion channel expression. *Pharmacol. Ther.*, 160, 11-43 (2016).

英文原著

1. Hiroki Fukuda, Seikou Nakamura, Yugo Chisaki, Tetsuya Takada, Yuki Toda,

Hiroaki Murata, Kazuyuki Itoh, Yoshitaka Yano, Kazuyuki Takata, and Eishi Ashihara: Daphnetin inhibits invasion and migration of LM8 murine osteosarcoma cells by decreasing RhoA and Cdc42 expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 471, 63-67, (2016).

2. Tetsuya Takada, Kazuyuki Takata, and Eishi Ashihara: Inhibition of monocarboxylate transporter 1 suppresses the proliferation of glioblastoma stem cells. *J. Physiol. Sci.*, 66, 387-396, (2016).
3. Eishi Ashihara, Tatsuya Munaka, Shinya Kimura, Saori Nakagawa, Yoko Nakagawa, Masaki Kanai, Hideyo Hirai, Hirohisa Abe, Takashi Miida, Susumu Yamato, Shuichi Shoji, and Taira Maekawa: Isopentenyl Pyrophosphate Secreted from Zoledronate-Stimulated Myeloma Cells, Activates the Chemotaxis of $\gamma\delta$ T Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 463, 660-665 (2015).
4. Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Yuko Nakagawa, Hikaru Kawakami, Shusuke Fujioka, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Yoshihisa Kitamura, Kenichi Akaji, and Eishi Ashihara: Effective internalization of U251-MG-secreted exosomes into cancer cells and characterization of their lipid components. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 456, 768-773 (2015).
5. Mitsugu Fujita, Kazunari Shintai, Susumu Nakata, Nagako Maeda, Norikazu Hatano, and Yuriko Seki: Intimo-Intimal Intussusception: A Rare Form of Common Carotid Artery Dissection, *J. Vasc. Interv. Radiol.*, **26**, 1414-1416 (2015).
6. Noritaka Yamaguchi, Ryuzaburo Yuki, Sho Kubota, Kazumasa Aoyama, Takahisa Kuga, Yuuki Hashimoto, Takeshi Tomonaga, and Naoto Yamaguchi: c-Abl-mediated tyrosine phosphorylation of JunB is required for Adriamycin-induced

- expression of p21. *Biochem. J.*, **471**, 67-77 (2015).
7. Sho Kubota, Mariko Morii, Ryuzaburo Yuki, Noritaka Yamaguchi, Hiromi Yamaguchi, Kazumasa Aoyama, Takahisa Kuga, Takeshi Tomonaga, and Naoto Yamaguchi: Role for tyrosine phosphorylation of A-kinase anchoring protein 8 (AKAP8) in its dissociation from chromatin and the nuclear matrix. *J. Biol. Chem.*, **290**, 10891-10904 (2015).
 8. Kazumasa Aoyama, Noritaka Yamaguchi, Ryuzaburo Yuki, Mariko Morii, Sho Kubota, Kensuke Hirata, Kohei Abe, Takuya Honda, Takahisa Kuga, Yuuki Hashimoto, Takeshi Tomonaga, and Naoto Yamaguchi: c-Abl induces stabilization of histone deacetylase 1 (HDAC1) in a kinase activity-dependent manner. *Cell Biol. Int.*, **39**, 446-456 (2015).
 9. Takahiro Kazami, Hua Nie, Mamoru Satoh, Takahisa Kuga, Kazuyuki Matsushita, Naoko Kawasaki, Takeshi Tomonaga, and Fumio Nomura: Nuclear accumulation of annexin A2 contributes to chromosomal instability by coilin-mediated centromere damage. *Oncogene*, **34**, 4177-4189 (2015).
 10. Hiroaki Kito, Hisao Yamamura, Yoshiaki Suzuki, Hideto Yamamura, Susumu Ohya, Kiyofumi Asai, and Yuji Imaizumi: Regulation of store-operated Ca²⁺ entry activity by cell cycle dependent up-regulation of Orai2 in brain capillary endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **459**, 457-462 (2015).
 11. Sawa Nakakura, Miki Matsui, Aya Sato, Mizuki Ishii, Kyoko Endo, Sayaka Muragishi, Miki Murase, Hiroaki Kito, Hiroki Niguma, Natsumi Kurokawa, Masanori Fujii, Masatake Araki, Kimi Araki, and Susumu Ohya: Pathophysiological significance of the two-pore domain K⁺ channel K_{2P5.1} in splenic CD4⁺CD25⁻ T cell subset from a chemically-induced murine inflammatory bowel disease model. *Front. Physiol.*, **6**, 299 (2015).
 12. Kyoko Endo, Natsumi Kurokawa, Hiroaki Kito, Sawa Nakakura, Masanori Fuji, and Susumu Ohya: Identification of the dominant-negative, splicing isoform of the two-pore domain K⁺ channel K_{2P5.1} in lymphoid cells and enhancement of their expression by splicing inhibition. *Biochem. Pharmacol.*, **98**, 440-452 (2015).
 13. Susumu Ohya, Saki Kanatsuka, Noriyuki Hatano, Hiroaki Kito, Azusa Matsui, Mayu Fujimoto, Sayo Matsuba, Satomi Niwa, Peng Zhan, Takayoshi Suzuki, and Katsuhiko Muraki: Downregulation of the Ca²⁺-activated K⁺ channel KCa3.1 by histone deacetylase inhibition in human breast cancer cells. *Pharmacol. Res. Perspect.*, **4**(2), e00228 (2016).
 14. Souleymane Coulibaly, Hiroki Minami, Maho Abe, Tomohiro Hasei, Nobuyuki Sera, Shigekazu Yamamoto, Kunihiro Funasaka, Daichi Asakawa, Masanari Watanabe, Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, and Tetsushi Watanabe: Seasonal Fluctuations in Air Pollution in Dazaifu, Japan, and Effect of Long-Range Transport from Mainland East Asia, *Biol. Pharm. Bull.*, **38**(9), 1395-1403 (2015).
 15. Kunihiro Funasaka, Daichi Asakawa, Yuichiro Oku, Naoya Kishikawa, Yuya Deguchi, Nobuyuki Sera, Tetsurou Seiyama, Kazunori Horasaki, Keiichi Arashidani, Akira Toriba, Kazuichi Hayakawa, Masanari Watanabe, Hiroyuki Kataoka, Takako Yamaguchi, Fumikazu Ikemori, Yohei Inaba, Kenichi Tonokura, Masayuki Akiyama, Osamu Kokunai, Souleymane Coulibaly, Tomohiro Hasei, and Tetsushi Watanabe: Spatial correlativity of atmospheric particulate

- components simultaneously collected in Japan, *Environ. Monit. Assess.* **188**, 85(2016).
16. Galyna Gorbenko, Valeriya Trusova, Mykhailo Girysh, Emi Adachi, Chiharu Mizuguchi, Kenichi Akaji, and Hiroyuki Saito: FRET evidence for untwisting of amyloid fibrils on the surface of model membranes, *Soft Matter*, **11**, 6223-6234 (2015).
 17. Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, Ayaka Deguchi, Yukie Nohara, Tomomi Akiyama, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, and Kenichi Akaji: Evaluation of transition-state mimics in a superior BACE1 cleavage sequence as peptide-mimetic BACE1 inhibitors, *Bioorg. Med. Chem.* **23**, 5626-5640 (2015).
 18. Hiroyuki Konno, Taki Sato, Yugo Saito, Iori Sakamoto, and Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of aminopyridine derivatives as potential BACE1 inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **25**, 5127-5132 (2015).
 19. Kenta Teruya, Yasunao Hattori, Yasuhiro Shimamoto, Kazuya Kobayashi, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, and Kenichi Akaji: Structural basis for the development of SARS 3CL protease inhibitors from a peptide mimic to an *aza*-decaline scaffold, *Biopolymers*, **106**, 391-403 (2016).
 20. Hiroyuki Nakajima, Kazuchika Nishitsuji, Hiroyuki Kawashima, Kaori Kuwabara, Shiho Mikawa, Kenji Uchimura, Kenichi Akaji, Yoshiki Kashiwada, Norihiro Kobayashi, Hiroyuki Saito, and Naomi Sakashita: The polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate prevents apoA-I_{lowa} amyloidosis *in vitro* and protects human embryonic kidney 293 cells against amyloid cytotoxicity, *Amyloid*, **23**, 17-25 (2016).
 21. Hiroyuki Konno, Masaki Wakabayashi, Daiki Takanuma, Yota Saito, and Kenichi Akaji: Design and synthesis of a series of serine derivatives as small molecule inhibitors of the SARS coronavirus 3CL protease, *Bioorg. Med. Chem.*, **24**, 1241-1254 (2016).
 22. Yuji Kurogome, Yasunao Hattori, and Hidefumi Makabe: Synthesis of Decytopolide A, B and their C-3 epimers using stereoselective oxypalladation, *Synthesis*, **48**, 765-771 (2016).
 23. Mikihiro Ichikawa, Kohki Takanashi, Manato Suda, Yasunao Hattori, Sei-ichi Kawahara, Hiroshi Fujii, and Hidefumi Makabe: Concise synthesis of cinnamtannin A2 from dimeric epicatechin electrophile and nucleophile prepared by Zn(OTf)₂-mediated self-condensation, *Synthesis*, **48**, 1525-1532 (2016).
 24. Chiyuki Awahara, Tadashi Tatsumi, Saki Furuta, Gen Shinjoh, Hiroyuki Konno, Kazuto Nosaka, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, and Kenichi Akaji: Synthesis and Evaluation of Retro-inverso-modified HTLV-1 Protease Inhibitor, *Peptide Science 2015*, 33-34 (2016).
 25. Masaki Wakabayashi, Daiki Takanuma, Yota Saito, Kenichi Akaji, and Hiroyuki Konno: Synthesis and Evaluation of Serine and Isoleucine Derivatives toward the SARS 3CL Protease Inhibitor, *Peptide Science 2015*, 35-36 (2016).
 26. Kenta Teruya, Yasunao Hattori, Yasuhiro Shimamoto, Kazuya Kobayashi, Akira Sanjoh, Eiki Yamashita, Atsushi Nakagawa, and Kenichi Akaji: A Chemometrical Analysis of Structures of SARS 3CL Protease Complexed with Inhibitor, *Peptide Science 2015*, 91-92 (2016).
 27. Toshio Morikawa, Kiyofumi Ninomiya, Junji Akaki, Namiko Kakihara, Hiroyuki

- Kuramoto, Yurie; Matsumoto, Takao; Hayakawa, Osamu; Muraoka, Li-Bo; Wang, Li-Jun; Wu, Seikou Nakamura, Masayuki; Yoshikawa, and Hisashi; Matsuda. Dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity of dimeric dihydrochalcone glycosides from flowers of *Helichrysum arenarium*. *J. Nat. Med.*, 69:494-506, (2015).
28. Mohamed-Elamir F.Hegazy, Ahmed R.Hamed, Tarik A. Mohamed, Abdessamad Debbab, Seikou Nakamura, Hisashi Matsuda, and Paul W. Pare. Anti-inflammatory sesquiterpenes from the medicinal herb *Tanacetum sinaicum*. *RSC Advances*, 5:44895-44901, (2015).
29. Toshio Morikawa, Kiyofumi Ninomiya, Yasunobu Takamori, Eriko Nishida, Misato Yasue, Takao Hayakawa, Osamu Muraoka, Xuezheng Li, Seikou Nakamura, Masayuki Yoshikawa, and Hisashi Matsuda. Oleanane-type triterpene saponins with collagen synthesis-promoting activity from the flowers of *Bellis perennis*. *Phytochemistry*, 116:203-212, (2015).
30. Yi Zhang, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Tao Wang, Masayuki Yoshikawa, and Hisashi Matsuda. Chemical structures of constituents from the seeds of *Cassia auriculata*. *Tetrahedron*, 71:6727-6732, (2015).
31. Shushi Nagamori, Pattama Wiriyasermkul, Suguru Okuda, Naoto Kojima, Yoshiyuki Hari, Shigeki Kiyonaka, Yasuo Mori, Hideyuki Tominaga, Ryuichi Ohgaki, and Yoshikatsu Kanai: Structure-activity relations of leucine derivatives reveal critical moieties for cellular uptake and activation of mTORC1-mediated signaling. *Amino Acids*, 48, 1045-1058 (2016).
32. Naoto Kojima, Yuki Suga, Takuya Matsumoto, Tetsuaki Tanaka, Akinobu Akatsuka, Takao Yamori, Shingo Dan, Hiroki Iwasaki, and Masayuki Yamashita: Synthesis of dansyl-labeled probe of thiophene analogue of annonaceous acetogenins for visualization of cell distribution and growth inhibitory activity toward human cancer cell lines. *Bioorg. Med. Chem.*, 23, 1276-1283 (2015).
33. Shinzo Hosoi, Minoru Ozeki, Masashi Nakano, Kenji Arimitsu, Tetsuya Kajimoto, Naoto Kojima, Hiroki Iwasaki, Takuya Miura, Hiroyuki Kimura, Manabu Node, and Masayuki Yamashita: Mechanistic aspects of asymmetric intramolecular Heck reaction involving dynamic kinetic resolution: flexible conformation of the cyclohexenylidene-benzene system. *Tetrahedron*, 71, 2317-2326 (2015).
34. Kenji Suzuki, Hiroki Iwasaki, Reika Domasu, Naho Hitotsuyanagi, Yuka Wakizaka, Mao Tominaga, Naoto Kojima, Minoru Ozeki, and Masayuki Yamashita: Construction of pyrrolophenanthridinone scaffolds mediated by samarium (II) diiodide and access to natural product synthesis. *Tetrahedron*, 71, 5513-5519 (2015).
35. Kenji Suzuki, Hiroki Iwasaki, Fumihito Ichiyoshi, Mao Tominaga, Naoto Kojima, Minoru Ozeki, and Masayuki Yamashita: Synthesis of 3-ethenylindoles via intramolecular cyclization of aryl radical with allene generated by samarium (II) diiodide. *Heterocycles*, 91, 1244-1255 (2015).
36. Minoru Ozeki, Honoka Egawa, Akiko Kuse, Toshiki Takano, Narumi Yasuda, Hideki Mizutani, Sumire Izumiya, Daichi Nakashima, Kenji Arimitsu, Takuya Miura, Tetsuya Kajimoto, Shinzo Hosoi, Hiroki Iwasaki, Naoto Kojima, Manabu Node, and Masayuki Yamashita: Practical and highly stereoselective synthesis of

trisubstituted (*E*)- α, β -unsaturated esters. *Synthesis*, **47**, 3392-3402 (2015).

37. Toru Tanaka, Takuya Miura, Shoki Inoue, Hiroki Iwasaki, Minoru Ozeki, Naoto Kojima, and Masayuki Yamashita: Skeletal transformation of α -pyrones having electron-withdrawing groups at 3,5-positions into ring-fused dihydrofurans. *Tetrahedron Lett.*, **56**, 6327–6331 (2015).

学会

国際学会

1. Eishi Ashihara, Ryoko Oki, Natsuki Imayoshi, Makoto Yoshioka, Jeffrey W. Strovel, Ayako Honjo, Yumi Sakai, Tetsuya Takada, Jay Chauhan, Mithun Raje, Steven Fletcher, and Kazuyuki Takata: Novel bromodomain inhibitors suppress proliferation of multiple myeloma cells. The 57th Annual Meeting of American Society of Hematology. Orlando, USA, 2015.12.
2. Yoko Kado, Fumiaki Kitazawa, Masayuki Tsujimoto, Sin-ichi Fuchida, Akira Okano, Mayumi Hatsuse, Satoshi Murakami, Kumi Ueda, Takatoshi Kokufu, Shoichi Ozawa, Katsuko Ito, Satoe Morishita, Tetsuya Takada, Tetsuya Minegishi, Kohshi Nishiguchi, Eishi Ashihara, and Chihiro Shimazaki: Prediction of the lenalidomide toxicity and its therapeutic efficacy in Japanese multiple myeloma patients by measuring its plasma concentration. The 57th Annual Meeting of American Society of Hematology. Orlando, USA, 2015.12.
3. Tetsuya Takada, Kazuyuki Takata, and Eishi Ashihara: Ion transport-associated molecules as therapeutic targets against glioblastoma stem cells. The 44th ISEH Annual Scientific Meeting. Kyoto, Japan, 2015.9.
4. Yuki Toda, Kenichi Akaji and Eishi Ashihara: The Challenge to Cancer-Targeting using Exosomes. The 4th International Symposium of Training Plan for Oncology Professionals. Osaka, Japan, 2016.2. (Merit Award)
5. Tetsuya Takada and Eishi Ashihara: Ion transport-associated molecules play an important role in maintenance of glioblastoma stem cells. The 4th International Symposium of Training Plan for Oncology Professionals. Osaka, Japan, 2016.2.
6. Mitsugu Fujita, Takeshi Okuda, Susumu Nakata, Yoshihiro Komohara, Amami Kato, and Osamu Yoshie: B7-H3 and B7-H5 in tumor-associated M2 macrophages correlate with brain metastasis formation of lung cancer. International Conference of Cancer Immunotherapy and Macrophages. Tokyo, Japan, 2015.7.
7. Mitsuki Miyake, Megumi Tsukamoto, Kazuhiro Satake, Susumu Nakata, Tomohisa Ishikawa, and Hajime Nakagawa: Human ABC transporter ABCG4 is a novel type of drug transporter. TOIN International Symposium on Biomedical Engineering, Yokohama, 2015.11.
8. Mitsuki Miyake, Megumi Tsukamoto, Kazuhiro Satake, Susumu Nakata, Tomohisa Ishikawa, and Hiroshi Nakagawa: The human ABCG4 transporter confers taxol resistance to cells. The 6th Special Meeting on ABC Proteins - ABC2016: From Multidrug Resistance to Genetic Diseases, Innsbruck, 2016.3.
9. Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Ayaka Deguchi, Yukie Nohara, Tomomi Akiyama, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, and Kenichi Akaji: Evaluation of Hydroxymethylcarbonyl and Hydroxyethylamine Isosteres in a Superior BACE1 Cleavage Sequence for BACE1 Inhibitors. 7th International Peptide

Symposium, Singapore, 2015.12.

10. Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Nami Yokota, Takahiro Matsumoto, Tomoe Ohta, Keiko Ogawa, Masashi Fukaya, Masayuki Yoshikawa, and Hisashi Matsuda: Carbazole Alkaloids from the Leaves of *Murraya koenigii* and their inhibitory effects on melanogenesis. INAUGURAL SYMPOSIUM OF THE PHYTOCHEMICAL SOCIETY OF ASIA, Tokushima, 2015.8.
 11. Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Masayuki Yoshikawa, and Hisashi Matsuda: STRUCTURE OF CONSTITUENTS ISOLATED FROM THE FLOWER BUDS OF *CANANGA ODORATA* AND THEIR BIOACTIVITIES. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference, TAIWAN, 2015.10.
 12. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Masayuki Yoshikawa, and Hisashi Matsuda: ALKALOIDS WITH MELANOGENESIS INHIBITORY EFFECTS FROM THE LEAVES OF *MURRAYA KOENIGII*. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference, TAIWAN, 2015.10.
 13. Tomoe Ohta, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Masayuki Yoshikawa, and Hisashi Matsuda: RESEARCH OF BIOFUNCTIONAL CONSTITUENTS FROM ASSAM TEA FLOWER. 7th Asian Association of Schools of Pharmacy (AASP) Conference, TAIWAN, 2015.10.
- 国内学会
1. 岸本祐典、田村理恵、村松千愛、小堀哲生、芦原英司、村上章、山吉麻子: カチオン化抗体キャリアを用いた新規 RNA 干渉療法の開発. 日本核酸医薬学会第一回年会 (京都) 2015.12.
 2. 岸本祐典、田村理恵、村松千愛、芦原英司、小堀哲生、村上章、山吉麻子: 抗原抗体反応を利用した新規薬物送達法開発. 第5回4大学連携研究フォーラム (京都、京都工芸繊維大学) 2015.11.
 3. 高田哲也、芦原英司: 神経膠芽腫幹細胞に対するイオン輸送関連分子の治療標的としての可能性. 第74回日本癌学会学術総会 (名古屋) 2015.10.
 4. 高田哲也、芦原英司: 神経膠芽腫幹細胞に発現するイオン輸送体を標的とした新規治療ターゲットの探索. 第19回日本がん分子標的治療学会学術集会 (松山), 2015.6.
 5. 三宅美月、塚本めぐみ、佐竹一紘、中田晋、石川智久、中川大: 細胞の薬剤感受性を起点にしたヒト ABCG4 の機能解析—ヒト ABCB1 およびヒト ABCG2 との比較—. 第10回トランスポーター研究会年会 (東京), 2015.6.
 6. 三宅美月、塚本めぐみ、佐竹一紘、中田晋、石川智久、中川大: ヒト ABCG4 はヒト ABCG2 とは異なるタイプの薬物輸送体である. 第28回日本動物細胞工学会2015年度大会 (JAACT2015) (仙台), 2015.7.
 7. 飯居宏美、谷口恵香、中田晋、吉貴達寛: 新規 γ -glutamylcyclotransferase (GGCT)阻害剤の探索とその膜透過型プロドラッグ開発. 第74回日本癌学会学術総会 (名古屋), 2015.10.
 8. 三宅美月、塚本めぐみ、佐竹一紘、中田晋、石川智久、中川大: ヒト ABCG4 は、新しいタイプの薬物輸送体である. 第74回日本癌学会学術総会 (名古屋), 2015.10.
 9. 藤田貢、奥田武司、中田晋、菰原義弘、加藤天美、義江修: 腫瘍内 M2 マクロファージにおける B7-H3 および B7-H5 発現量は肺癌原発転移性脳腫瘍の発症と相関する. 第74回日本癌学会学術総会 (名古屋), 2015.10.
 10. 佐原真美、澤野友紀、飯居宏美、中田晋、吉貴達寛: γ -Glutamyl cyclotransferase 阻害によるアポトーシス非依存的細胞増殖抑制. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大

- 版), 2015.10.
11. 塩見紗英子、飯居宏美、中田晋、吉貴達寛: 乳がん細胞株 MCF-7 細胞における γ -glutamyl cyclotransferase 阻害によるオートファジー誘導の検討. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
 12. Mitsugu Fujita, Hiromasa Yoshioka, Takeshi Okuda, Susumu Nakata, Shin-ichi Miyatake, Amami Kato, and Osamu Yoshie: Inhibition of ABCG2 enhances chemo-sensitivity of murine glioma stem cell-like cells and reduces chemokine-mediated tumorigenicity. 第 44 回日本免疫学会学術集会 (札幌), 2015.11.
 13. 田崎貴之、藤田貢、奥田武司、中田晋、吉岡宏真、加藤天美: 悪性神経膠腫における MET 遺伝子発現の臨床的意義. 第 19 回バイオ治療研究会学術集会 (東京), 2015.12.
 14. 村岸沙也加、中倉佐和、佐藤綾、石井瑞紀、村瀬実希、田中涼、遠藤京子、黒川なつ美、鬼頭宏彰、藤井正徳、大矢進: pH感受性K⁺チャンネルK_{2p}5.1発現阻害によるデキストラ硫酸ナトリウム誘発性炎症性腸疾患症状の改善. 第127回日本薬理学会近畿部会 (岐阜), 2015.6.
 15. 遠藤京子、黒川なつ美、鬼頭宏彰、藤井正徳、大矢進: pre-mRNAスプライシング阻害によるTリンパ球two-pore型K⁺チャンネルK_{2p}5.1活性制御. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム2015 (東京), 2015.8.
 16. 鬼頭宏彰、榊原侑香、森広晴香、大矢進: 骨芽細胞分化における中コンダクタンスCa²⁺活性化K⁺チャンネルの寄与の解明. 2015年度私立大学戦略的研究基盤形成支援事業キックオフシンポジウム (京都), 2015.9.
 17. 清水彩夏、遠藤京子、艇和隆、大和優介、黒川なつ美、鬼頭宏彰、藤井正徳、大矢進: K562細胞におけるスプライシング阻害剤によるtwo-pore型K⁺チャンネルK_{2p}5.1発現・活性調節. 第 65 回日本薬学会近畿支部大会 (大阪), 2015.10.
 18. 渡辺絢音、仁熊宏樹、松井未来、山田隆弘、鬼頭宏彰、藤井正徳、大矢進: マウス制御性Tリンパ球におけるCa²⁺活性化K⁺チャンネルK_{Ca}3.1阻害剤in vivo投与によるIL-10転写促進. 第 65 回日本薬学会近畿支部大会 (大阪), 2015.10.
 19. 松井梓、金塚早希、波多野紀行、Anowara Khatun、松葉紗代、丹羽里実、鬼頭宏彰、藤井正徳、村木克彦、鈴木孝禎、大矢進: ヒト乳癌細胞株YMB-1におけるHDAC阻害剤及び活性化ビタミンD₃によるイオンチャンネル転写制御. 第65回日本薬学会近畿支部大会 (大阪), 2015.10.
 20. 金塚早希、波多野紀行、松井梓、松葉紗代、Anowara Khatun、足野晋平、鬼頭宏彰、丹羽里実、藤井正徳、鈴木孝禎、村木克彦、大矢進: 乳がん細胞におけるヒストン脱アセチル化酵素によるカルシウム活性化カリウムチャンネル転写制御. 第128回日本薬理学会近畿部会 (大阪), 2015.11.
 21. 鬼頭宏彰、榊原侑香、森広晴香、大矢進: 骨芽細胞の細胞増殖に対する中コンダクタンスCa²⁺活性化K⁺チャンネル(K_{Ca}3.1)の寄与の解明. 第89回日本薬理学会年会 (横浜), 2016.3.
 22. 鬼頭宏彰、榊原侑香、森広晴香、大矢進: 中コンダクタンスCa²⁺活性化K⁺チャンネルのCa²⁺シグナル制御を介した骨芽細胞増殖への関与. 日本薬学会第136年会 (横浜), 2016.3.
 23. 長谷井友尋、渡辺徹志: 大気粉塵の重金属汚染並びに東アジア地域における越境輸送の実態. メタルバイオサイエンス研究会 2015 (名古屋), 2015.8.
 24. クウリバリ・スレイマン、長谷井友尋、鳥羽陽、早川和一、世良暢之、山本重一、大呂忠司、渡辺徹志: 日本海沿岸地域における大気汚染に対する東アジア大陸からの越境輸送の影響. フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー (神戸), 2015.9.
 25. 渡辺徹志、クウリバリ・スレイマン、北村重晴、久保裕希、古川奈美、阿部真帆、山田真裕、出口雄也、長谷井友尋: 黄砂及び微小粒子状物質中のタンパク質及びLPSの解析. フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー (神戸), 2015.9.
 26. 小池真生子、新開史崇、河合佑季、長谷井友

- 尋、渡辺徹志：茶中の3,6-dinitrobenzo[e]pyreneの変異原性に対するカテキン類の抑制作用. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会(富田林), 2015.10.
27. 北村重晴、久保裕希、クウリバリ・スレイマン、阿部真帆、古川奈美、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志：佐世保市・京都市における大気粉塵中のエンドトキシン・タンパク質の定量及び季節変動. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会(富田林), 2015.10.
28. 久保裕希、クウリバリ・スレイマン、山田真裕、阿部真帆、北村重晴、古川奈美、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志：佐世保市・京都市における大気粉塵中のイオンの定量及び季節変動. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会(富田林), 2015.10.
29. 今堀大輔、久野翔平、間瀬裕子、住居潤美、長谷井友尋、渡辺徹志：GlucoseとL-tryptophanの生体内モデルメイラード反応により生成する新規変異原性物質の検索. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会(富田林), 2015.10.
30. 高橋一輝、西川太介、草野穂、中村誠宏、長谷井友尋、松田久司、渡辺徹志：陳皮に含まれる抗変異原性物質の探索. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会(富田林), 2015.10.
31. 尾竹茉莉奈、蟹江静、村上結香、長谷井友尋、鹿内正孝、小林博、岡田太、渡辺徹志：発酵玄米(FBRA)のin vitroおよびin vivoでの抗遺伝毒性効果. 第65回日本薬学会近畿支部総会・大会(富田林), 2015.10.
32. 河合佑季、長谷井友尋、渡辺徹志：茶中の3,6-Dinitrobenzo[e]pyreneの定量及び茶の抗変異原性. 第5回4大学連携フォーラム(京都), 2015.11.
33. 繁多敬久、三宅佑美、金高ころ、米田真希、和田光弘、関奈緒子、野村春菜、長谷井友尋、池盛文数、鳥羽陽、早川和一、大呂忠司、渡辺徹志：都市圏及び非都市圏における表層土壌及び大気粉塵の変異原性物質による汚染. 日本環境変異原学会第44回大会(福岡), 2015.11.
34. 河合佑季、藤橋愛、新開史崇、小池真生子、長谷井友尋、渡辺徹志：茶中の3,6-Dinitrobenzo[e]pyreneの定量及び茶の抗変異原性. 日本環境変異原学会第44回大会(福岡), 2015.11.
35. 長谷井友尋、北野祐香、廣本麻里、川久保慶一、河内麻由美、渡辺徹志：食品中の新規ヘテロサイクリックアミンABAQの分析. 日本環境変異原学会第44回大会(福岡), 2015.11.
36. 古川奈美、クウリバリ・スレイマン、阿部真帆、北村重晴、久保裕希、河瀬裕美、中大路友亮、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志：黄砂飛散と大気中のタンパク及びエンドトキシン濃度の関係. 日本薬学会第136年会(横浜), 2016.3.
37. 高橋明日香、吉村亜季、繁多敬久、大西結衣、関奈緒子、野村春菜、長谷井友尋、ルンドステット・ステファン、渡辺徹志：スウェーデン産業廃棄物処理場の表層土壌の変異原性物質の検索. 日本薬学会第136年会(横浜), 2016.3.
38. 中田有美、長谷井友尋、阪口真臣、和田光弘、米田真希、白石祥一、池盛文数、渡辺徹志：表層土壌中の強変異・がん原性物質3,9-dinitrofluoranthene及び1,3-, 1,6-, 1,8-dinitropyrene異性体、1,3,6-trinitropyreneの分析. 日本薬学会第136年会(横浜), 2016.3.
39. 河内麻由美、長谷井友尋、川久保慶一、北野祐香、廣本麻里、新井千佳、渡辺徹志：食品中の新規変異原性物質ABAQの分析. 日本薬学会第136年会(横浜), 2016.3.
40. 川添智子、新開史崇、河合佑季、小池真生子、長谷井友尋、渡辺徹志：茶中の3,6-Dinitrobenzo[e]pyreneの定量分析及び茶の抗変異原性の評価. 日本薬学会第136年会(横浜), 2016.3.
41. 住居潤美、久野翔平、間瀬裕子、今堀大輔、住田大志、横川玲奈、長谷井友尋、渡辺徹志：GlucoseとL-tryptophanのメイラード反応により生成する新規変異原性物質の分離および同定. 日本薬学会第136年会(横浜), 2016.3.

42. 草野穂、高橋一輝、西川太介、古川綾乃、長谷井友尋、中村誠宏、松田久司、渡辺徹志: 陳皮中に含まれる抗変異原性物質の探索. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
43. 小林数也: 基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発研究. 第 1 回近畿薬学シンポジウム: 化学系の若い力 (京都), 2015.6.
44. 服部恭尚、嶋本康広、小林数也、照屋健太、三城明、中川敦史、山下栄樹、赤路健一: 基質ペプチド配列に基づくアザ-デカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成と阻害活性評価. 2015 年度 日本農芸化学会中部・関西支部合同大会 (富山), 2015.9.
45. 吉澤慎一郎、越野裕貴、足尾真実、岸一俊、照屋健太、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オキサ-デカリン型骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
46. 高田美波、山崎由香子、大江保奈美、八倉千夏、水口貴章、服部恭尚、小林数也、赤路健一: EGF レセプター細胞外領域の二量化阻害に着目した環状ペプチドの構造活性相関研究. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
47. 櫻井春華、大西康司、小松侑加、照屋健太、真壁秀文、小林数也、赤路健一、服部恭尚: mono-THF 型バンレイシ科アセトゲニン、cis-Solamin A のピロリジンアナログの合成. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
48. Chiyuki Awahara, Tadashi Tatsumi, Saki Furuta, Gen Shinjoh, Hiroyuki Konno, Kazuto Nosaka, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, and Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of retro-inverso-modified HTLV-1 protease inhibitor. 第 52 回ペプチド討論会 (平塚), 2015.11.
49. Masaki Wakabayashi, Daiki Takanuma, Yota Saito, Kenichi Akaji, and Hiroyuki Konno: Synthesis and evaluation of serine and isoserine derivatives toward the SARS 3CL protease inhibitor. 第 52 回ペプチド討論会 (平塚), 2015.11.
50. Kenta Teruya, Yasunao Hattori, Yasuhiro Shimamoto, Kazuya Kobayashi, Akira Sanjoh, Eiki Yamashita, Atsushi Nakagawa, and Kenichi Akaji: A chemometrical analysis of structures of SARS 3CL protease complexed with inhibitor. 第 52 回ペプチド討論会 (平塚), 2015.11.
51. 足尾真実、越野裕貴、吉澤慎一郎、岸一俊、照屋健太、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オキサ-デカリン型骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の立体選択的合成. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
52. 川島浩之、片山萌衣、吉田凌太、赤路健一、浅野晶子、土井光暢: ヒトカルシトニン二量体モデルにおける凝集性及び繊維形態の評価. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
53. 松本崇宏、中村誠宏、中嶋聡一、辻畑潤一郎、矢野真実子、伊藤謙、吉川雅之、松田久司: 中国産金針花から得られた成分の構造と神経分化促進様作用. 日本生薬学会第 62 回年会岐阜 (岐阜), 2015.9.
54. 深谷匡、中村誠宏、上田昂、中嶋聡一、黒岡希和子、平松慶子、笠香織、小川慶子、劉江、伊藤謙、吉川雅之、松田久司: 桂皮酸誘導体の一酸化窒素産生抑制作用. 日本生薬学会第 62 回年会岐阜 (岐阜), 2015.9.
55. 奥田若奈、松本崇宏、中村誠宏、中嶋聡一、吉川雅之、松田久司: メディシナルフラワー研究: 中国産金針花含有アルカロイドの生体機能性. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
56. 深谷匡、中村誠宏、中嶋聡一、小川慶子、松本崇宏、太田智絵、劉江、松田久司: メディシナルフラワー研究: キンモクセイ (*Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus*) 花部を素材とした新規生体機能性を有する含有成分及びその誘導体の探索研究. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
57. 上田菜津美、岩本絵里香、奥村大喜、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治: 分裂期微小管の動態を指標とした、新規細胞分裂関連タンパク質の探索. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.

58. 岡田美咲、久家貴寿、齊藤洋平、足立淳、朝長毅、中山祐治: 細胞分裂後期特異的なリン酸化タンパク質の探索. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
59. 居藤亜弥、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治: 新規チューブリン免疫染色法による微小管構造制御に関連する分子の探索. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
60. 岩本絵里香、上田菜津美、松井優紀、久家貴寿、齊藤洋平、山口直人、中山祐治: ERK による染色体整列の制御. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
61. 柿花采那、大東優衣、齊藤洋平、久家貴寿、中山祐治: Hsp105 による染色体分配制御機構. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
62. 齊藤洋平、的崎雅史、湯川明久、多田円香、久家貴寿、中山祐治: Hsp70 誘導および温熱感受性におけるサイトカインシグナル伝達系転写因子 Stat3 の関与. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
63. 柿花采那、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治: 染色体分配制御機構における Hsp105 の機能解析. 第 5 回 4 大学連携研究フォーラム (京都), 2015.11.
64. 齊藤洋平、的崎雅史、久家貴寿、中山祐治: 温和な熱ショックによるサイトカインシグナル伝達系転写因子 Stat3 の活性化. 第 5 回 4 大学連携研究フォーラム (京都), 2015.11.
65. 柿花采那、大東優衣、齊藤洋平、久家貴寿、中山祐治: Hsp105 の spindle assembly checkpoint における機能. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
66. 森本幸太、小島直人、堀内正子、岩崎宏樹、山下正行: デュアルコア型アセトゲニン誘導体の合成研究. 第 35 回有機合成若手セミナー 明日の有機合成を担う人のために (京都), 2015.8.
67. 松本卓也、小島直人、大槻一文、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導体の THF 環部分の立体化学に関する構造活性相関研究. 第 35 回有機合成若手セミナー 明日の有機合成を担う人のために (京都), 2015.8.
68. 石橋道男、長尾静子、吉原大輔、千原良友、小島直人、藤本清秀、東原英二: PCK 多発性嚢胞腎ラットにおける乳頭部の傍集合管毛細血管の変化. 第 23 回嚢胞性腎疾患研究会 (川崎), 2015.9.
69. 松本卓也、小島直人、大槻一文、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導体の THF 環部分の立体化学に関する構造活性相関研究. 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2015.10.
70. 松本卓也、小島直人、大槻一文、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導体の THF 環部位の立体異性体の合成と活性評価. 第 33 回 メディシナルケミストリーシンポジウム (千葉), 2015.11.
71. 森本幸太、小島直人、堀内正子、岩崎宏樹、山下正行: デュアルコア型アセトゲニン誘導体の合成とヒトがん細胞増殖抑制活性の評価. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.
72. 松本卓也、小島直人、大槻一文、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導体の収束的合成法の開発と THF 環部位の立体異性体の活性評価. 日本薬学会第 136 年会 (横浜), 2016.3.

News Letter Volume 1

2017 年 1 月 編集・発行

文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業
「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」

News Letter 編集委員

〒607-8414 京都市山科区御陵中内町 5

Tel: 075-595-4706

FAX: 075-595-4796

文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた 大学発ベンチャー基盤の確立 2016年度 Annual Meeting

日時: 2016年9月28日 (水) 13:30 ~ 18:00

場所: 京都薬科大学・愛学ホール (A31講義室) + A32講義室前 (ポスター会場)

参加登録方法: 直接会場までお越し下さい (入場無料)。

学部生・大学院生・教職員どなたでもご自由に参加ください。

プログラム

- 13:30 開会挨拶 後藤 直正 (京都薬科大学・学長)
- 13:35 概要説明 研究代表者: 芦原 英司 (シーズ発掘・バリデーションGrリーダー)
- 13:40 □頭発表 (1) 「共同研究の進捗報告」
芦原 英司・服部 恭尚、中田 晋・鬼頭 宏彰
- 14:10 □頭発表 (2) 「各研究参画者の進捗報告」
小林 数也、中村 誠宏、長谷井 友尋、長谷川 功紀
- 15:10 Poster Viewing
- 15:30 特別講演 (1)
「アカデミア発研究成果を医薬品に結びつけるための知的財産戦略」
中山 敦 (AMED創薬支援戦略部 創薬コーディネーター)
- 16:30 特別講演 (2)
「RB再活性化スクリーニングを用いた
MEK阻害剤 trametinib (商品名 Mekinist) の発見」
酒井 敏行 (京都府立医科大学大学院 医学研究科 分子標的癌予防医学 教授)
- 17:25 総評
外部評価員 高須 清誠 (京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 教授)
- 17:30 閉会挨拶 赤路 健一 (合成・相互作用解析Grリーダー)

本プロジェクトは、京都薬科大学独自の薬効評価系と創薬化学研究基盤を有機的に融合させ、シーズの発掘・ライセンスアウトすることを目指しています。本シンポジウムでは、採択後1年間の成果を報告します。

連絡先: 〒607-8414 京都市山科区御陵中内町5

京都薬科大学 病態生理学分野

芦原 英司 (研究代表者)

TEL: 075-595-4706

E-mail: bunshihyoteki@mb.kyoto-phu.ac.jp

薬学の未来をつくる



京都薬科大学

2016 年度（平成 28 年度）
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた
大学発ベンチャー基盤の確立

Annual Meeting

講演抄録集

日時：2016 年 9 月 28 日(水) 13:30 ~ 18:00

場所：京都薬科大学 愛学館 3 階 愛学ホール (A31)



京都薬科大学

プログラム

日時：2016年9月28日（水） 13:30～18:00

13:30～13:35 開会挨拶 後藤直正（京都薬科大学 学長）

13:35～13:40 概要説明 芦原英司（研究代表者、
シーズ発掘・バリデーション Gr リーダー）

13:40～15:10 一般口頭発表

第一部 「共同研究の進捗報告」

座長：中村誠宏（生薬学）
（口演：12分、質疑応答：3分）

13:40～13:55 ①「Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索」
芦原英司（病態生理学）、服部恭尚（共同利用機器センター）、
小林数也、赤路健一（薬品化学）

13:55～14:10 ②「マウス脳腫瘍幹細胞の特性解析に基づいた新規分子標的治療薬の開発」
中田 晋（臨床腫瘍学）、鬼頭宏彰（薬理学）

第二部 「各研究参加者の進捗報告」

座長：中田 晋（臨床腫瘍学）
（口演：12分、質疑応答：3分）

14:10～14:25 ③「高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の
構造最適化を目指した合成法の探索」
小林数也（薬品化学）

14:25～14:40 ④「天然伝承薬物を基盤とした神経変性疾患予防・治療成分の探索」
中村誠宏、太田智絵、中嶋聡一、矢野真実子、松田久司（生薬学）、
松本崇宏、渡辺徹志（公衆衛生学）、月岡淳子（薬用植物園）

14:40~14:55 ⑤「新薬の開発と遺伝毒性試験」
長谷井友尋、尾竹茉莉奈、松本崇宏、渡辺徹志（公衆衛生学）

14:55~15:10 ⑥「Kisspeptin 誘導体を用いた Kiss1 受容体染色法の開発」
長谷川功紀（共同利用機器センター）

15:10~15:30 ポスター発表 ①~⑩ 閲覧

15:30~16:25 特別講演（1） 座長：赤路健一（薬品化学）
（口演：45分、質疑応答：10分）

「アカデミア発研究成果を医薬品に結びつけるための知的財産戦略」
中山 敦（AMED 創薬支援戦略部 創薬コーディネーター）

16:25~16:30 休憩

16:30~17:25 特別講演（2） 座長：芦原英司（病態生理学）
（口演：45分、質疑応答：10分）

「RB 再活性化スクリーニングを用いた

MEK 阻害剤 trametinib（商品名 Mekinist）の発見」

酒井敏行（京都府立医科大学 大学院医学研究科 分子標的癌予防医学 教授）

17:25~17:30 総評 外部評価員 高須清誠
（京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 教授）

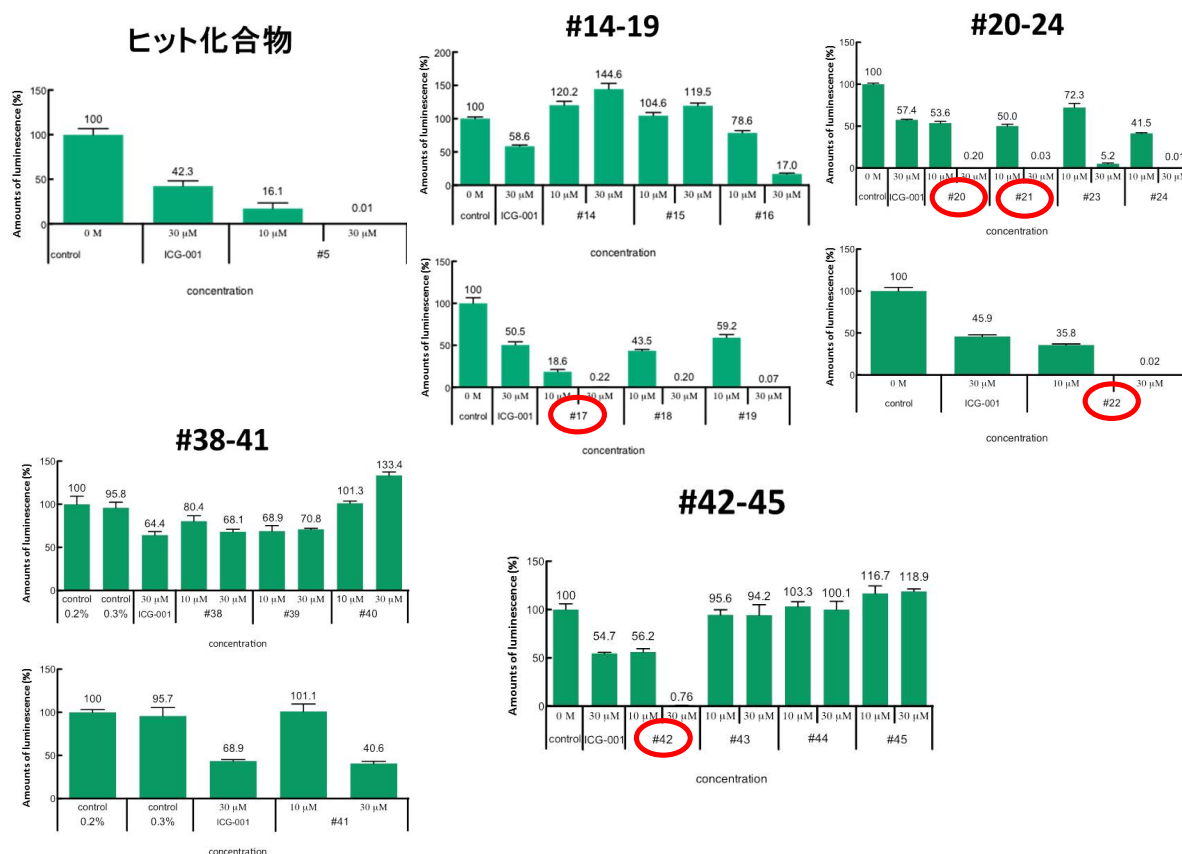
17:30~17:35 おわりに 赤路健一（合成・相互作用解析 Gr リーダー）

口頭発表①

Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索

病態生理学分野 芦原英司
共同利用機器センター 服部恭尚
薬品化学分野 小林数也、赤路健一

Wnt/ β -catenin 経路は、初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などのいくつかの生命現象に重要な働きを持つとともに、がん細胞の増殖やがん幹細胞の増殖・維持にも関与している。近年がん治療のターゲットとして注目を浴びており、我々も本経路の阻害が造血器腫瘍治療において有効であることを明らかにしてきた (*Cancer Sci*, 2015, *Cancer Lett*, 2011, *Blood Cancer J*, 2011, *Clin Cancer Res*, 2009)。我々は HEK293 細胞に 8xTOP-flush プラスミドを導入し、クローニング後樹立した TOP 細胞を用い、本学所有の化合物ライブラリーの中から本経路阻害化合物の探索を行ってきた。その結果、既存の Wnt/ β -catenin 経路阻害剤 ICG-001 より強力に本経路を阻害するヒット化合物を発掘した。現在、構造活性相関解析を行い、いくつかのがん種に対してその増殖抑制効果を確認している。今後、構造の最適化を進めるとともに、Wnt/ β -catenin 経路の標的分子の同定を行うための分子プローブ化を行う。



口頭発表②

マウス脳腫瘍幹細胞の特性解析に基づいた 新規分子標的治療薬の開発

臨床腫瘍学分野 中田 晋
薬理学分野 鬼頭宏彰

成人発症の脳腫瘍において最も頻度の高い膠芽腫は、既存の治療法に対して極めて難治性であり、新規治療戦略の開発が必要である。膠芽腫の組織中には発癌の過程や治療後の再発の起点となる、いわゆる膠芽腫幹細胞が存在することが示されている。これまでに発表者らは、組織幹細胞関連遺伝子 *LGR5* が膠芽腫幹細胞に高発現し、その増殖・生存に必須であること、腫瘍組織中の *LGR5* 蛋白の高発現が実際の患者の不良な生命予後に関連することを報告してきた。また、これまでに行ってきた ① *LGR5* 欠乏による細胞死に伴って発現が変動する遺伝子の網羅的解析、② shRNA ライブラリーによる膠芽腫幹細胞に必須なキナーゼの網羅的探索、③ *LGR5* 陽性細胞分画に濃縮される膠芽腫幹細胞に高発現する遺伝子の網羅的解析、などにより抽出した候補遺伝子群のうち、特に Wnt パスウェイ、Shh パスウェイ、低酸素応答シグナル、Stat シグナル等に注目して、膠芽腫幹細胞にとって必要不可欠な因子の同定を進めている。この目的のため、近年、近畿大学 藤田貢博士と共同で、自発発症型マウスモデルの生体腫瘍組織からの膠芽腫幹細胞を分離する系を確立した。このモデルは、p53 の失活、EGFR の変異体、Ras の変異体によりドライブされる脳腫瘍モデルマウスである。本モデル脳腫瘍組織由来の膠芽腫幹細胞分画においてβ-Catenin もしくは *LGR5* 等のノックダウンによって Wnt パスウェイを遮断すると、高効率にアポトーシス細胞死が誘導されること、それに伴い Stat5b 等の本腫瘍細胞の増殖に重要な機能を果たす別個の因子の発現が低下することを見いだしている。これらの結果は、p53/EGFR/Ras によりドライブされる脳腫瘍幹細胞にとって、Wnt パスウェイの亢進が重要な役割を果たし、標的因子として有望であることを示唆している。一方、Wnt パスウェイの神経系細胞に対する機能には多面性があり、未分化性維持に寄与する場合と、分化の促進に寄与する場合の両方が知られている。また、Wnt シグナルには古典的経路と細胞内カルシウムイオンの動員を介した非古典的経路があることが知られている。そこで、本学薬理学分野鬼頭宏彰助教と共同で、カルシウムシグナルの調節に関わると考えられる各種イオンチャネルの阻害剤および作動薬を用い、本脳腫瘍幹細胞の未分化性維持に影響を与える化合物のスクリーニングを開始している。特に、これらの化合物のうち本脳腫瘍モデル由来幹細胞に対して分化促進作用を示す化合物を見いだすことで、脳腫瘍幹細胞において未分化性が維持される機構の解明と、分化誘導療法開発をめざしている。

口頭発表③

高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の構造最適化を目指した合成法の探索

薬品化学分野 小林数也

BACE1 (β -site APP cleaving enzyme) は、 γ セクレターゼとともにアミロイド β 前駆体タンパク質 (APP: amyloid precursor protein) を切断することで、アルツハイマー病の発症原因と考えられているアミロイド β ペプチドの産生に関与していることが知られている。そのため、BACE1 はアルツハイマー病治療薬開発における重要な創薬標的の一つとして積極的に研究がなされている。

我々は基質切断部位の周辺配列 (P4~P1') を非天然アミノ酸に置換したドデカペプチドが、天然型や変異型の配列を持つペプチドよりも BACE1 による認識・切断を受けやすくなることを報告しており¹⁾、昨年のキックオフシンポジウムにて、本配列とヒドロキシメチルカルボニル (HMC) 型、及びヒドロキシエチルアミン (HEA) 型イソスターを組み合わせた新規 BACE1 阻害剤の合成と活性評価について発表した (Fig. 1)。

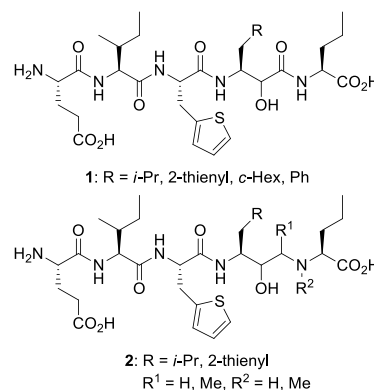


Fig. 1. HMC- and HEA-type BACE1 inhibitors.

今回我々は、HEA 型 BACE1 阻害剤 **3** と BACE1 との共結晶の結晶構造解析の情報に基づき、(1) P1'位芳香環への官能基の導入と、(2) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入、という 2 つのアプローチから最適構造の探索を行うこととした (Fig. 2)。

本発表では、これら 2 つのアプローチに基づく各種誘導体を効率的に合成するための新たな HEA ユニットの合成法を検討したので、それらの詳細について報告する。

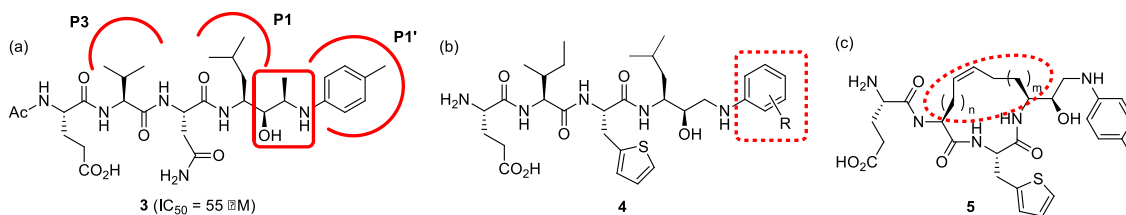


Fig. 2. (a) HEA-type BACE1 inhibitor. (b) Introduction of substituted aromatic ring to P1' site, (c) Bridge formation between P1 and P3.

<参考文献>

- 1) Kakizawa, T.; Sanjoh, A.; Kobayashi, A.; Hattori, Y.; Teruya, K.; Akaji, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2785.

口頭発表④

天然伝承薬物を基盤とした神経変性疾患予防・治療成分の探索

生薬学分野 中村誠宏、太田智絵、中嶋聡一、矢野真実子、松田久司
公衆衛生学分野 松本崇宏、渡辺徹志
薬用植物園 月岡淳子

著者らは、これまでに和漢生薬、北アフリカ、東南アジアおよび南米天然薬物など世界各地の天然伝承薬物について、化合物の単離、構造決定および化学修飾や化学変換などの化学的手法と種々の生物活性スクリーニングなど薬理学的手法の両手法を用いて生体機能性成分の探索を行ってきた。一方、日本は急速な高齢化社会を迎え、神経変性疾患、特にアルツハイマー病患者数が増加の一途をたどっている。それゆえ、アルツハイマー病の予防・治療薬の開発は喫緊の課題であると言える。著者らは、天然伝承薬物を素材とし、アルツハイマー病の予防・治療薬成分の探索を目的とし、神経再生の観点からラット副腎髄質褐色細胞腫由来細胞(PC12細胞)における神経分化促進作用をもつ成分の探索を行った。また、アルツハイマー病は中枢神経内部にアミロイドβ-タンパク質やリン酸化タウタンパク質などの異常タンパク質が凝集・蓄積することが原因の一つとされていることから、天然伝承薬物を素材とし、Aβ凝集抑制作用成分の探索を行った。

その結果、中国や沖縄などでは食用に用いられており、沖縄では睡眠を改善する作用があると伝承されているススキノキ科植物ワスレグサ花部(金針花, *Hemerocallis fulva* var. *kwanso*, *H. flava*, *H. minor*)から有効成分を明らかにすることができた。すなわち、中国産金針花のメタノール抽出エキスを酢酸エチル、1-ブタノールおよび水にて溶媒分配し、1-ブタノール移行部を各種カラムクロマトグラフィーおよびHPLCを用いて繰り返し分離精製したところ、8種の新規アルカロイドを単離構造決定することができた。また、ヌクレオシド4種を含む、6種の既知化合物を単離、同定した。新規成分の化学構造はNMRなどの各種物理学データの解析および改良モッシャー法、化学反応後のHPLC分析等の結果から決定した。得られた成分について活性評価を行ったところ、ヌクレオシド成分が有意なPC12細胞における神経分化促進様作用を、γ-ラクタム構造を有するアルカロイド類がAβ凝集抑制作用を示すことが明らかになった。また、アカネ科アカネ *Rubia argyi* から5種のアントラキノン成分を単離・同定するとともに、得られた成分のAβ凝集抑制作用の検討を行った。その結果、アントラキノン成分が有意な活性を示し、その効果はリフェレンス化合物のmorinよりも強い作用を示すことが明らかになった。

口頭発表⑤

新薬の開発と遺伝毒性試験

公衆衛生学分野 長谷井友尋、尾竹茉莉奈、松本崇宏、渡辺徹志

医薬品の開発において、医薬品候補の有効性に注目されることが多いが、有効であることと同様に安全であることも重要である。遺伝毒性試験は、医薬品候補の化合物が DNA や染色体などの遺伝子に損傷を与え、突然変異や染色体異常を引き起こすかどうかを評価する安全性試験である。突然変異や染色体異常は、後世代への遺伝的影響とともに発がんなどにも関係していると考えられており、医薬品の開発・申請において、ヒトに対するリスクの予測に必須の試験である。

日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; ICH) は、日本・米国・EU による新薬承認審査の基準を国際的に統一し、各種試験の不必要な繰り返しを防いで医薬品開発・承認申請の非効率を減らすことを目的に作られた。日本でも ICH での決定に基づいたガイドラインにより各種試験が実施されている。ICH の遺伝毒性試験に関する最新のガイダンスでは、遺伝毒性試験の組合せに以下の 2 種類のオプションが提示されている。オプション 1 では I) 細菌を用いる復帰突然変異試験、II) 染色体傷害を検出するための細胞遺伝学的試験又はマウスリンフォーマ *Tk* 試験及び III) *in vivo* 遺伝毒性試験の組合せが、オプション 2 では I) 細菌を用いる復帰突然変異試験及び II) 2 種類の *in vivo* 遺伝毒性試験の組合せが提示されており、どちらか一方の組合せで医薬品の候補となる化学物質を試験する必要がある。

著者の所属する研究室では、疾病予防を目的として、遺伝毒性物質についての研究を行っており、ICH ガイドラインで提示された各種遺伝毒性試験を実施している。本演題ではその一例として、*in vivo* 小核試験を用いた抗がん剤 mitomycin C、doxorubicin 及び busulfan の遺伝毒性試験及び細菌を用いる遺伝毒性試験による既知分子標的薬 imatinib の遺伝毒性について紹介する。

上記のような遺伝毒性試験を用い、本プロジェクトにおいて開発された分子標的がん治療薬の遺伝毒性試験を担うことで本プロジェクトの遂行に貢献していきたい。

日米EU医薬品規制調和国際会議(ICH)の ガイドラインで提示されたオプション (安全性:遺伝毒性試験)

オプション1

- i. 細菌を用いる復帰突然変異試験
- ii. 染色体傷害を検出するための細胞遺伝学的試験
(*in vitro*染色体異常試験又は*in vitro*小核試験)
又はマウスリンフォーマ*Tk*試験
- iii. *In vivo*遺伝毒性試験(一般的には、げっ歯類造血系細胞を用いる小核試験または染色体異常試験)

オプション2

- i. 細菌を用いる復帰突然変異試験
- ii. 2種類の異なる組織における*in vivo*遺伝毒性試験
ii-1: 一般的には、げっ歯類造血系細胞を用いる小核試験
ii-2: 一般的には、肝臓のDNA鎖切断を検出する試験

口頭発表⑥

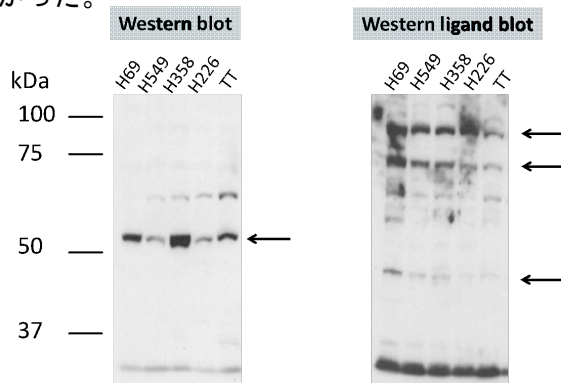
Kisspeptin 誘導体を用いた Kiss1 受容体染色法の開発

共同利用機器センター 長谷川功紀

Kiss1 受容体は生殖機能調節に関連する受容体として発見され、その後、リガンドである Kisspeptin が受容体を介して悪性黒色腫の転移を抑制することが報告された。様々な腫瘍で Kiss1 受容体発現が確認されており、特に、卵巣明細胞腺癌では Kiss1 受容体発現量と予後に相関があることも報告されている。これらのことから腫瘍組織における Kiss1 受容体の局在や発現量を評価することは、予後予測や治療方針決定に寄与すると期待される。一方で、膜タンパク質である Kiss1 受容体の抗体作製は難しく免疫染色や Western blot を効果的に行える抗体の普及は不十分である。我々は、抗体の代わりにリガンド誘導体を用いた受容体染色 (ligand derivative staining: LDS) 法を開発しており、本法を用いて Kiss1 受容体染色法の開発を試みた。

リガンドとしては Kisspeptin-14 を選び、その N 末端にリンカーを介して FITC 修飾して染色剤となる FITC-Kisspeptin-14 を調製した。この染色剤を用いて、肺小細胞癌 H69、肺腺癌 H549、非肺小細胞癌 H358、肺扁平上皮癌 H226、甲状腺髄様癌 TT のライセートを Western ligand blot した結果、すべての細胞株において Kiss1 受容体が発現することを確認した。また、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 小細胞肺癌および甲状腺髄様癌の病理組織切片を FITC-Kisspeptin-14 を用いて染色した結果、腫瘍組織を染色することができた。

本研究において、我々は多くの腫瘍細胞株で Kiss1 受容体が発現していることを見出した。また小細胞肺癌および甲状腺髄様癌の病理検体においても実際に Kiss1 受容体が発現していることを見出した。また、LDS 法によりそれらの FFPE 切片の腫瘍組織を染色することに成功した。以上より、抗体の作製が困難な受容体タンパク質の検出法としては、LDS 法が有用であることが分かった。



癌細胞株ライセートを用いた Kiss1 受容体の Western blot と Western ligand blot の比較

特別講演（1）

アカデミア発研究成果を医薬品に結びつけるための知的財産戦略

国立研究開発法人日本医療研究開発機構

創薬支援戦略部 東日本統括部 創薬コーディネーター

中山 敦

医療ニーズの急激な変化，新薬開発の国際競争激化，外国製医薬品の輸入超過など，我が国の健康・医療を取り巻く環境は厳しく，基礎研究の成果が革新的医薬品の創出に結びついていない現状，すなわちアカデミア発創薬の停滞による「創薬力」の伸び悩みがその一因として指摘されている。一方，日本のアカデミアの基礎研究力は世界の上位水準を維持しており，日本発の革新的医薬品の創製のために，大学などのアカデミアの基礎研究で見出された新たな創薬シーズを，開発研究を得意とする製薬企業に円滑に橋渡しして行くことの必要性和重要性が認知され，日本の健康医療戦略の最重要課題としてオールジャパン体制での医薬品・医療機器開発支援整備の取り組みが開始された。日本初の公的支援組織として昨年4月に発足した日本医療研究開発機構（AMED）および演者の所属する創薬支援戦略室（Department of Innovative Drug Discovery and Development: iD3）の事業を簡単に紹介するとともに，iD3で展開する創薬支援事業「創薬ブースター」における実用化のための特許戦略と知財関連事例紹介，AMED知的財産部の相談窓口「Medical IP Desk」が提供している知的財産の保護・活用，研究成果の実用化のアドバイスなど，貴学の“大学発創薬ベンチャー”プロジェクトでも活用可能なこれら仕組みについて簡単に紹介したい。

医薬ビジネスの基本であるが，医薬品特許の特殊性として2つの点が挙げられる。1つは，機械や電気産業などと異なり，1つの基本特許物質特許で薬剤の独占的な保護が可能となる点がある点，2つ目は，1つの医薬品の研究開発には，数百億円の先行投資と15年以上の長い研究開発期間を要し，それでも成功確率が極めて低い点を挙げられる。医薬品に直結する特許では，その出願の重さ（重要性）が極めて増大する一方，研究成果が実用化されて大学に利益還元されるまでに長い年月を要する。1つの強い特許，研究開発の時間的デメリットを補うような特許戦略（パテントポートフォリオ）に関しても言及する。

医療現場ではアンメット・メディカル・ニーズに応える新薬の創製が熱望されている。産官学が一体となった創薬サイクルをまわしていくため，我々公的支援組織（官）が企業導出において採用すべき特許戦略について考察したい。

特別講演（2）

RB 再活性化スクリーニングを用いた MEK 阻害剤 trametinib（商品名 Mekinist）の発見

京都府立医科大学 大学院医学研究科 分子標的癌予防医学 教授

酒井敏行

多くのがん遺伝子の活性化や、がん抑制遺伝子の失活の結果、がん抑制遺伝子 RB はタンパク質レベルで失活することが知られている。したがって、活性化されたがん遺伝子を失活させる分子標的薬や、失活したがん抑制遺伝子の機能を代償しうる分子標的薬は、最終的に RB タンパク質を再活性化させる可能性を考えた。そこで、RB を活性化型にする CDK 阻害因子である、p15、p27、p21 の発現を誘導する薬剤のスクリーニングを複数の企業と行った。その結果、JT 医薬総合研究所との共同研究により p15 誘導物質として MEK 阻害剤 trametinib を、中外製薬との共同研究により p27 誘導物質として RAF/MEK 阻害剤 CH5126766 を、さらにアステラス製薬とは p21 誘導物質として HDAC 阻害剤 YM753/OBP-801/spiruchostatin A を見だし、臨床試験を行った。これらの中で、trametinib は、進行性 BRAF 変異メラノーマを対象疾患として、2013 年に米国 FDA から first-in-class の MEK 阻害剤として、Mekinist という商品名で承認され、British Pharmacological Society から Drug Discovery of the Year に選ばれた。その後、BRAF 阻害剤 dabrafenib との併用により、効果が増強し、それぞれの副作用が減少したことから、その併用も、米国や欧州、そして、今年日本でも承認された。その結果、進行性 BRAF 変異メラノーマ患者に対する旧来の抗がん剤の奏効率が約 5%であったのに対し、BRAF 阻害剤 dabrafenib と MEK 阻害剤 trametinib を併用すれば、奏効率約 70%（完全奏効率約 15%）にまで劇的に改善された。さらに、進行性 BRAF 変異肺癌に対して、BRAF 阻害剤 dabrafenib と MEK 阻害剤 trametinib の併用で、奏効率 63%という驚異的な奏効率が認められたため、FDA から Breakthrough therapy に選ばれた。

当日は、trametinib や RAF/MEK 阻害剤 CH5126766 の最新情報も含めてお話しさせていただくこととする。

ポスター発表①

がん幹細胞の誘導

—がん幹細胞を駆逐する Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索に向けて—

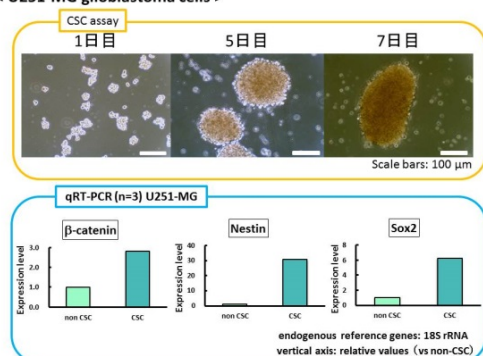
公衆衛生学分野 榎本美久*、瀧本千穂*、長谷井友尋、渡辺徹志

病態生理学分野 芦原英司

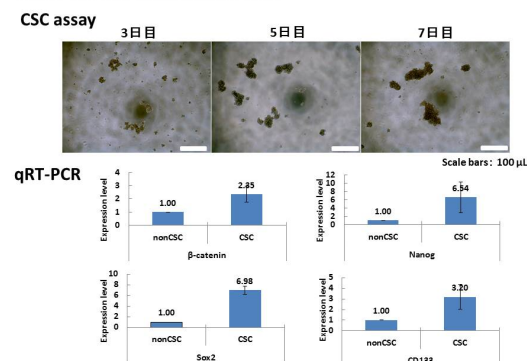
(* : equal contribution to first author)

近年、がん組織を形成・維持できる少数の幹細胞様のがん細胞（がん幹細胞；CSC）と、幹細胞様の性質を持たない非がん幹細胞がん細胞（non-CSC）によりがん組織は形成され、CSC ががん治療後の再発や遠隔転移に関与していることが明らかとなり、CSC の性状解析および CSC をターゲットとした治療開発は、がん克服のための最重要課題である。Wnt/ β -catenin 経路は胚発生における幹細胞の維持・増殖に重要なシグナルで、CSC の維持にも関与していることが明らかにされてきた。そこで我々は治療後の再発予防（三次予防）のために CSC を駆逐する分子標的治療薬の開発をめざし、Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索を行うことを計画した。その第一歩として CSC を誘導し、CSC における Wnt/ β -catenin 経路の意義を検討することとした。ヒト乳がん細胞株 MDA-MB-231 細胞およびヒト神経膠芽腫細胞株 U251-MG 細胞を用いて、Cancer sphere 形成を試みた。培養後、10-14 日で Cancer sphere が形成され、sphere を形成する細胞は、Nanog や CD133、Nestin といった幹細胞マーカーを、non-CSC と比して高発現していた。また、 β -catenin の核内移行および核内での β -catenin の発現亢進を認めた。以上のことから、MDA-MB-231 細胞および U251-MG 細胞から誘導した Cancer sphere は CSC としての性状を有し、Wnt/ β -catenin 経路が活性化していることが示唆された。今後これらの細胞の、CSC として性状解析を続けるとともに、創薬系分野と共同開発を進めている化合物の CSC への抗腫瘍効果を確認する。

< U251-MG glioblastoma cells >



< MDA-MB-231 breast cancer cells >



ポスター発表②

Wnt シグナル伝達経路阻害剤の探索と合成

共同利用機器センター 服部恭尚
薬品化学分野 小林数也、赤路健一
病態生理学分野 芦原英司

Wnt シグナルは初期発生や組織・器官形成などの生命現象との関連が知られており、大腸がんなどにおいて異常亢進していることが報告されている。従って、Wnt シグナルを調節可能な低分子有機化合物は生命現象を研究するうえでの分子プローブや医薬品リード化合物となりうる。本共同研究では、新たな分子標的抗がん薬探索をめざし本シグナル経路の新規阻害剤探索を進めている。

発表者が研究を進めていた SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤 2 は、既知の Wnt シグナル阻害剤 1 と構造が類似しており、実際に 2 の関連化合物は弱～中程度の Wnt シグナル阻害活性を示した。¹ しかし、化合物 2 や関連化合物の合成には多段階を要し、多様な類縁体合成を必要とする構造最適化シーズ化合物には適さない。この課題を解決するために、中心骨格に市販の天然および非天然アミノ酸を用いた新規阻害剤候補化合物の設計と合成を行った (Figure 1)。

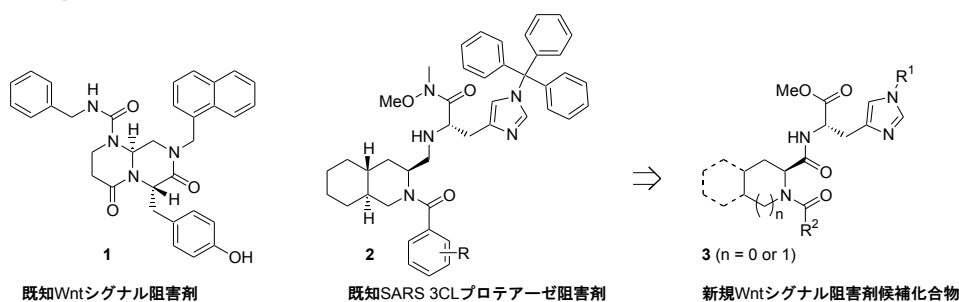
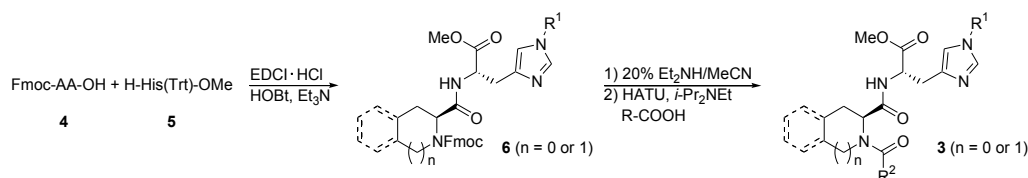


Figure 1. 阻害剤 3 の設計

市販の保護アミノ酸 4 を出発物質にヒスチジン誘導体 5 との縮合により 6 を得た。次いで、Fmoc 基の脱保護と側鎖の導入を行うことで 3 の合成を行った (Scheme 1)。



Scheme 1. 阻害剤 3 の合成

引用文献

- 1) Shimamoto, Y.; Akaji, K. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 876–890.

ポスター発表③

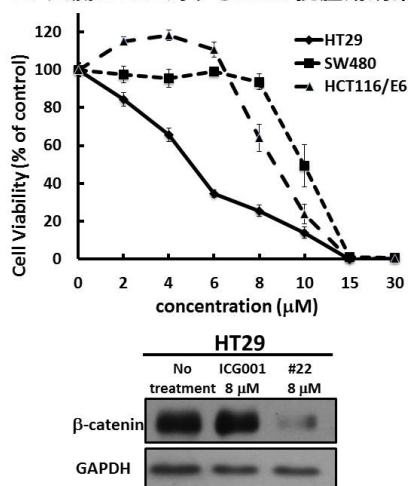
新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の消化器悪性腫瘍に対する抗腫瘍効果

病態生理学分野 若林亮介、三好美早紀、田村優衣、磯村拳一、奥野亜弓、川幡尚平、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司
共同利用機器センター 服部恭尚
薬品化学分野 小林数也、赤路健一

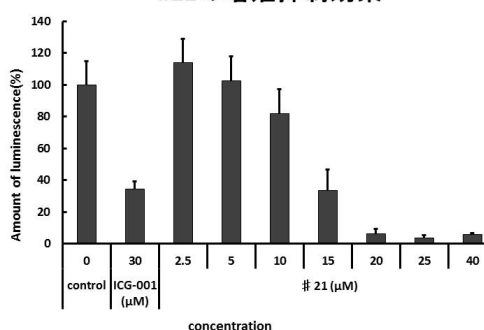
Wnt/ β -catenin 経路は、初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などに関与している。その中で、特に内胚葉性臓器の形成に重要な本シグナル経路は、消化器悪性腫瘍の標的として注目されている。我々は、これまでに本学所有の化合物ライブラリーの中から Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物の探索を行い、本経路を阻害する有望な創薬シーズを数多く発掘してきた。本研究では、これら Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物の大腸がんおよび膵がん細胞株に対する抗腫瘍効果を検討した。

ヒト大腸がん細胞株として SW480、HT29、HCT116/E6 細胞、ヒト膵がん細胞株として ASPC-1 細胞を用い、それぞれ化合物#22 および#21、42 の抗腫瘍効果を検討した。化合物#22 はいずれの大腸がん細胞株の増殖を用量依存的に抑制し、 β -catenin タンパク質の発現を減少させた。また化合物#21 も ASPC-1 細胞の増殖を用量依存的に抑制した。以上のことから、化合物#22 および#21 は消化器悪性腫瘍の増殖を抑制する新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害剤であることが示唆された。今後、標的分子の探索を行うとともに、作用機序を解明していく。

ヒト大腸がんに対する#22の抗腫瘍効果



ヒト膵がん細胞株ASPC-1細胞に対する#21の増殖抑制効果



ポスター発表④

マウス前骨芽細胞における内向き整流性 K⁺チャネル Kir2.1 を介した細胞分化制御

薬理学分野 鬼頭宏彰、榊原侑香、大矢 進

骨量は、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収の恒常的なバランスにより維持される。骨芽細胞は、間葉系幹細胞を起源とする細胞であり I 型コラーゲン及びオステオカルシン、オステオポンチンなどの非コラーゲン性タンパク質を産生・分泌することで骨基質を形成するとともに、骨基質の石灰化を介して骨形成において中心的な役割を果たしている。骨芽細胞の骨形成異常は、関節リウマチ、骨粗鬆症、骨硬化症など種々の骨疾患に関連することが知られていることから、骨芽細胞の分化・成熟及び骨形成能について検討することは骨疾患の病態生理を理解する上で重要な知見になると考えられる。

最近、ストア作動性 Ca²⁺流入 (SOCE) が骨芽細胞分化を制御することが明らかにされ、骨形成における Ca²⁺シグナルの重要性が明らかになりつつある。内向き整流性 K⁺チャネル (Kir) は、静止膜電位形成に寄与することで SOCE 等の Ca²⁺シグナルの制御に関与すると考えられる。また、Kir2.1 チャネルの機能欠損に由来する遺伝子疾患であるアンダーセン症候群の患者には、小人症、歯牙異常、外表小奇形などの骨恒常性異常を示唆する身体的所見が挙げられることから、Kir2.1 チャネルが骨の形成において重要な役割を担う可能性が考えられる。しかしながら、これまでに骨関連細胞における Kir2.1 の機能的役割について詳細な検討は行われていない。そこで本研究では前骨芽細胞の骨芽細胞分化に関わる Ca²⁺シグナルの調節因子として Kir2.1 に着目し、骨芽細胞分化に対する役割について検討した。

マウス前骨芽細胞株 MC3T3-E1 に対して、骨芽細胞分化誘導培地により分化誘導を行ったところ、内向き整流性 K⁺チャネルのうち、Kir2.1 mRNA 発現が顕著に増大した。また、分化誘導時に Kir チャネル阻害薬の Ba²⁺ を添加することにより骨芽細胞分化マーカーであるアルカリフォスファターゼ (ALP) 及び骨シアロプロテインの発現が分化誘導細胞に比較して有意に低下した。Ca²⁺シグナルに対する Kir チャネルの寄与を明らかにするために、細胞内 Ca²⁺濃度に対する Kir チャネル阻害薬の影響を検討したところ、静止状態の細胞内 Ca²⁺濃度は 300 μ M Ba²⁺ 及び 10 μ M ML133 (選択的 Kir2 チャネル阻害薬) の適用により、分化誘導を行っていない細胞に比較して有意に低下した。さらに、分化誘導 MC3T3-E1 における ALP 活性は、Ba²⁺ 及び ML133 適用により有意に低下した。

以上の結果より、Kir チャネル (特に Kir2.1) は骨芽細胞分化において細胞内 Ca²⁺濃度調節に関与することで骨芽細胞分化の制御に少なくとも一部寄与する可能性が明らかとなった。

ポスター発表⑤

ケミカルジェネティクスと生細胞イメージングを活用した新規細胞分裂制御タンパク質の探索

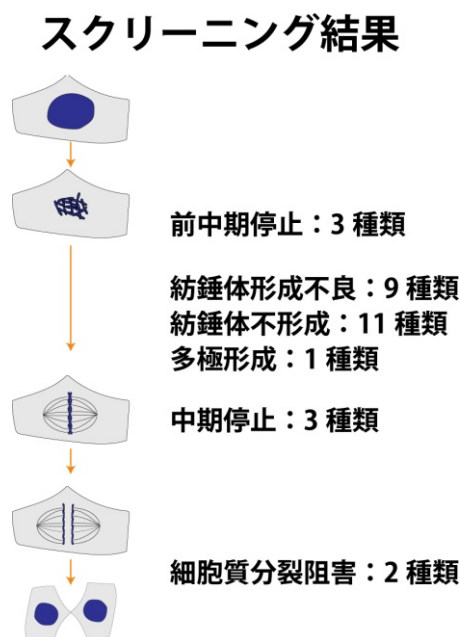
生化学分野 上田菜津美、奥村大喜、岩本絵里香、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治

細胞分裂は、複製した DNA を 2 つの娘細胞に正確に分配する過程であり、細胞分裂の失敗は染色体の不均等な分配を引き起こす。染色体の不均等分配は、細胞に致命的な障害を与える原因になるだけでなく、細胞のがん化やがん細胞が新たな形質を獲得する原因にもなる。本研究では、細胞分裂制御機構を詳細に解明することを目的として、新たな細胞分裂制御タンパク質の探索を行っている。

新規細胞分裂制御タンパク質の探索には、ケミカルジェネティクス手法を用いている。標的が分かっている種々の阻害剤で細胞を処理し、細胞分裂に影響を与える阻害剤をスクリーニングする。ヒットした阻害剤の標的タンパク質が、細胞分裂制御タンパク質の候補となる。細胞分裂に影響が出たかどうかの評価には、蛍光タンパク質融合 tubulin などを安定発現する細胞を使った、生細胞イメージング法を用いている。96 穴プレートに細胞を撒き、阻害剤で処理し、細胞分裂の前期、中期、後期の進行過程を詳細に観察する。tubulin の挙動から紡錘体形成を評価することができ、観察時にヘキストを添加することで、染色体の挙動も評価することができる。

これまでに 159 種類の阻害剤を試験し、29 種類が細胞分裂標的薬としてヒットしている。いくつかのヒットした阻害剤の標的は、細胞分裂期における役割が不明であり、これらの標的タンパク質が、新規細胞分裂制御タンパク質候補であると考えられた。

細胞分裂標的薬はがんの治療薬と成り得る。本研究で今後見出される新規細胞分裂制御タンパク質の中から、がんで特異的に高発現するものを、新たながんの分子標的薬候補として選択したいと考えている。

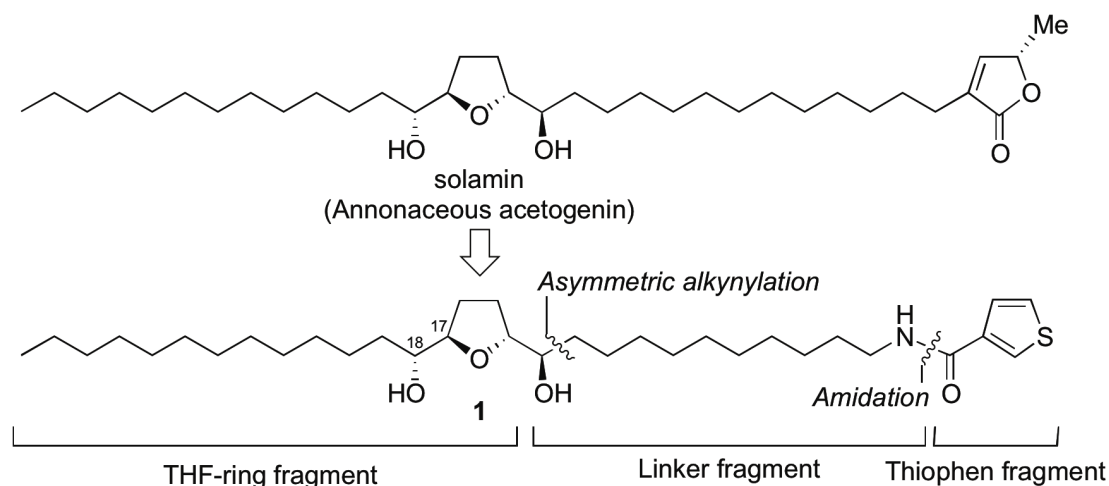


ポスター発表⑥

誘導体の THF 環部分の立体化学に関する 構造活性相関研究

薬品製造学分野 小島直人、松本卓也、岩崎宏樹、山下正行

我々の研究グループでは、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるポリケチドであるアセトゲニン類をシードとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究を展開している。アセトゲニン類は長鎖アルキル鎖の中央付近に 2,5-二置換の THF 環、末端に γ -ラクトン環を持つことが構造的特徴であり、強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことが知られている。我々は、 γ -ラクトン環部分を改変した種々の誘導体合成を展開した結果、¹⁻²⁾チオフェン環をアミド結合で連結させた誘導体 1 が、ヒト肺がん細胞 NCI-H23 を移植したマウスを用いた *in vivo* 試験において、強力な抗腫瘍活性を示すことを見出している。³⁾



今回我々は、誘導体 1 の THF 環部分の立体化学に関する構造活性相関研究を計画した。天然アセトゲニン類はこの部位の立体化学の相違により生物活性が異なることが報告されており、我々の誘導体においてはどのような影響をもたらすかに興味があったためである。まず、これまでの合成法に比べてより収束的な合成法の開発を行い、それを用いて 8 種の立体異性体の合成に成功した。合成した立体異性体のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性を評価した結果、17-18 位の相対配置が活性発現に重要であることが判明した。

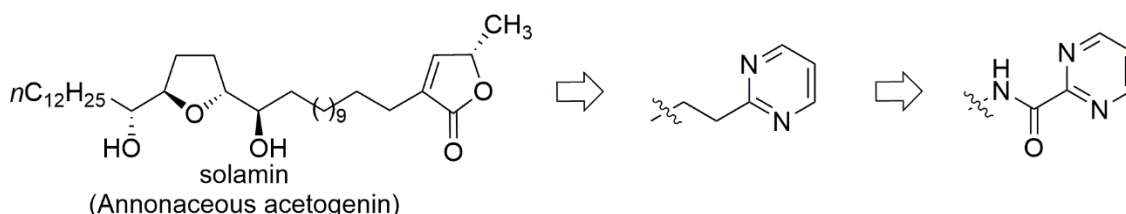
参考文献 1) Kojima N. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1637; 2) Kojima, N. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 833; 3) Kojima, N. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *86*, 684.

複素環連結部位をメチレンアミンに置換したアセトゲニン誘導体の合成と活性評価

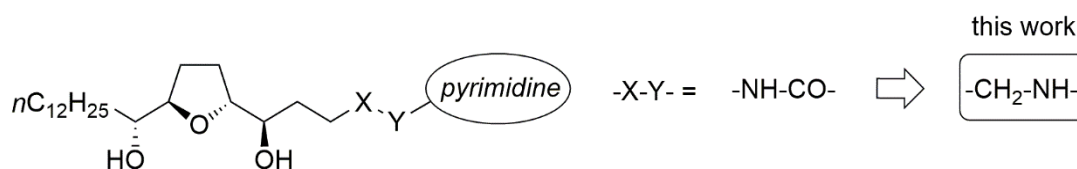
薬品製造学分野 松本卓也、小島直人、岩崎宏樹、山下正行

バンレイシ科アセトゲニン類はバンレイシ科植物から単離され、分子中央に 1 から 3 個のテトラヒドロフラン環、分子末端に γ -ラクトン環を有する特異な構造を持つポリケチドである。ミトコンドリア電子伝達系複合体 I を阻害することにより抗腫瘍活性を示すことが知られており、天然物だけでなく誘導体の合成研究¹⁾も展開されている。

我々は、tebufenpyrad をはじめとする呼吸鎖阻害系殺虫剤が、脂溶性側鎖と複素環を有するという点でバンレイシ科アセトゲニン類と類似していることに着目し、天然アセトゲニンである solamin の γ -ラクトン環部分を農薬由来の含窒素複素環に置換した誘導体の合成を展開してきた。その結果、含窒素複素環の導入によりヒトがん細胞に対する増殖抑制活性が向上することが判明した。また、複素環連結部位をアミド結合に置換した誘導体はさらに高い活性を示すことを見出した。^{2,3)}



ところで、ピリミジン環を有する呼吸鎖阻害系殺虫剤である pyrimidifen や flufenerim といった化合物は複素環と脂溶性側鎖がメチレンアミンで連結されている。そこでピリミジン環をメチレンアミンで連結したアセトゲニン誘導体の合成を行い、生物活性評価を行うことにした。



合成した誘導体のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性を評価した結果、それらは複素環と脂溶性側鎖をアミド結合で連結した誘導体とほぼ同等の活性を有することが判明した。

参考文献 1) For a review of acetogenin analogues, see: Kojima N., Tanaka, T., *Molecules* **2009**, *14*, 3621; 2) Kojima N. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1637; 3) Kojima, N. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 833.

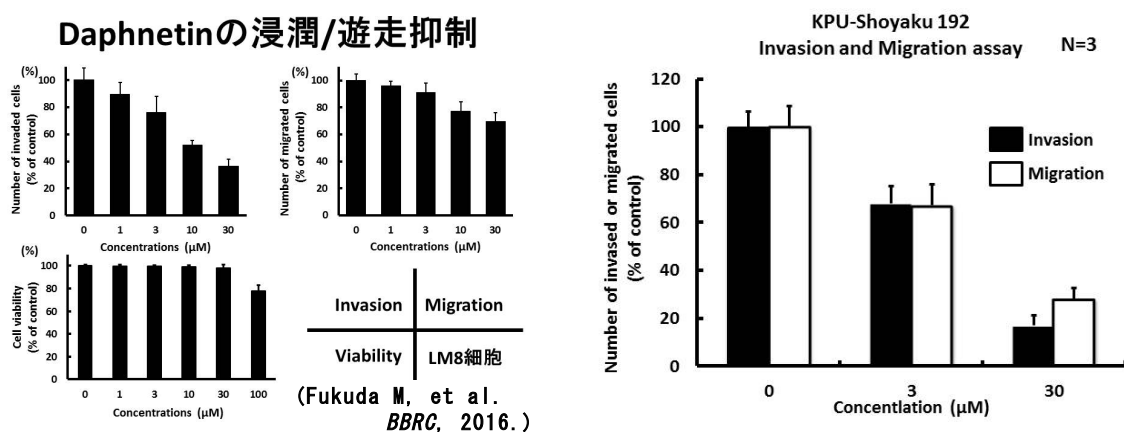
ポスター発表⑧

クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製

病態生理学分野 杉山雄輝、福田浩紀、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司
生薬学分野 中村誠宏

薬学・医学の進歩により、多くの抗がん剤、分子標的治療薬が輩出されているが、悪性腫瘍の転移抑制薬として十分な効果を有するものはほとんどなく、より有効な転移抑制薬の創製は最重要課題の一つである。我々は生薬学分野の所有する化合物ライブラリーから、転移抑制化合物のスクリーニングを行い、その結果クマリン系化合物 daphnetin が、マウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞の浸潤および遊走を抑制することを世界で初めて明らかにした。Daphnetin は用量依存的に LM-8 細胞の浸潤・遊走を抑制し、細胞骨格タンパク質であるアクチンの重合に関わる RhoA、Rac1、Cdc42 のタンパク質発現を減少させた (Fukuda M, et al., *BBRC*, 2016)。

次に、daphnetin をリード化合物として構造活性相関解析を行った結果、daphnetin よりも強力に LM-8 細胞の浸潤・遊走を抑制する新規クマリン系化合物を同定した。今後さらに構造活性相関解析を続け、がん転移抑制薬の創製をめざす。



ポスター発表⑨

クロタネソウ (*Nigella damascena*, 種子)

含有成分の探索研究

生薬学分野 小川慶子、中村誠宏、松田久司

Nigella damascena (クロタネソウ) は南ヨーロッパを原産とし地中海沿岸～西アジアにかけて広く分布しているキンポウゲ科の 1 年草であり、日本では園芸品種として親しまれている。しかし、その天然物化学的研究はほとんど行われておらず、含有成分や薬理活性は明らかにされていない。

一方、*N. damascena* の類縁種である *Nigella sativa* (ニオイクロタネソウ, black cumin) は薬用種として知られており、抗糖尿病作用や鎮痛作用、抗炎症作用、気管支拡張作用など数多くの活性が報告されている。加えて、我々の研究室では過去に *N. sativa* の成分探索研究を行い構造中にニコチン酸を有するジテルペンアルカロイドを単離、構造決定した。

そこで今回、*N. damascena* にも同様に活性成分及び珍しい構造を有する化合物が含有されているのではないかと期待し、活性成分と新規成分の探索を目的に研究を開始した。その結果、*N. damascena* 種子より 1 種の珍しい isoxazolidinone 構造を有するアルカロイドを単離・構造決定し、既知化合物と共に活性の検討を行った。

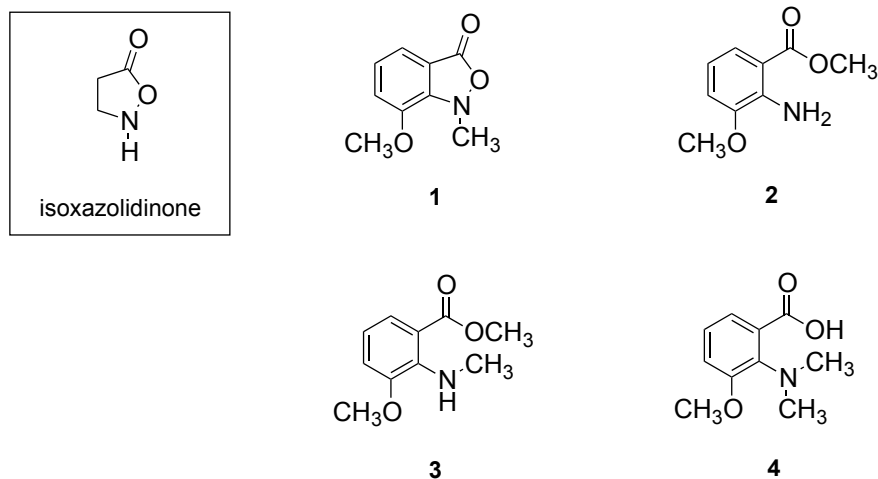
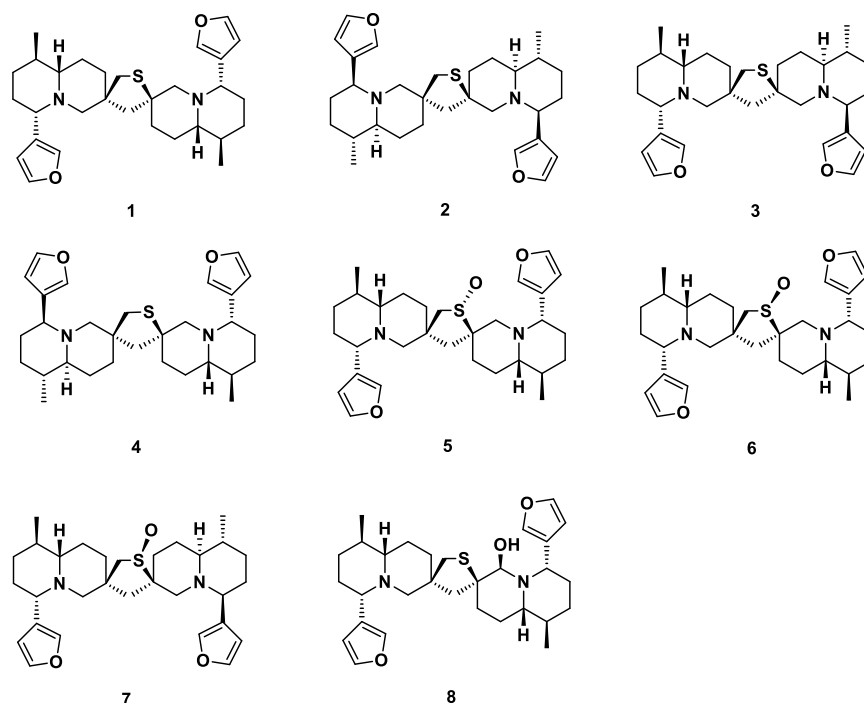


図 *N. damascena* 種子の含有成分

ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*, 根茎) における生体機能性成分の探索

生薬学分野 深谷 匡、中村誠宏、松田久司

ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*) は、スイレン科コウホネ属の多年生水草であり、池や沼に生育、7~9月に径約3センチメートルの黄色花を水面上に開く。日本では北海道や東北地方に分布しており、そのほか中国やロシアなど広く分布している。中国では、萍蓬草根 (Ping peng cao gen) と呼ばれ、強壯剤・利尿剤・生理不順及びうつ血症状の改善目的で用いられている。我々の研究室ではチオヘミアミナル型アルカロイドを単離・同定し、含有成分の一つである 6-hydroxythiobinupharidine など水酸基を有するものに超短時間でアポトーシスを誘導するという知見を見出した。¹⁾ 今回、ネムロコウホネ (*N. pumilum*) 根茎を素材とし、アポトーシス誘導成分の探索およびその作用機序の解明を目的とし含有成分の探索を行った。すなわち、ネムロコウホネのメタノール抽出エキスから得られたアルカリ分画を順相シリカゲル、逆相 ODS カラムクロマトグラフィーおよび HPLC を用いて繰り返し分離精製した。その結果、数種のチオヘミアミナル型アルカロイドを得た。



1) H. Matsuda, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 4445-4449, 2003.

~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業
「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」
Annual Meeting-2016 報告書

日時:2016年9月28日(水)13:30~18:00

場所:京都薬科大学 愛学ホール

参加者数:138名(職員 28名、学部生・大学院生 110名)

本私立大学戦略的基盤研究形成支援事業プロジェクト「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」では、9分野1センターから12名、広域大学知的財産アドバイザー1名と学外の2施設から2名、計15名が参画している。2016年9月28日に開催されたAnnual Meeting-2016では、昨年度から一年間の進捗報告会(口頭発表、ポスター発表)と2つの特別講演を行い、本学学部生、大学院生、教職員および他学教員を併せて138名が参加した。

開会に際して、後藤直正学長から本プロジェクトは、学内共同研究推進の使命だけではなく、教学的意義も有することの説明があり、本プロジェクトへの期待を開会の辞としてご挨拶いただいた。引き続き、本プロジェクトの研究代表者である芦原が、本プロジェクトの概要を説明した。

次に、第一部「共同研究の進捗報告」として2題口頭発表、第二部として「各研究参画者の進捗報告」が参画研究者から4演題の発表がなされた。どの口頭発表においても活発な議論がなされた。引き続き愛学館A32講義室前で、ポスター発表(10演題)を行った。ポスター発表においても、学部学生・大学院生を交えて活発な質疑応答がなされた。



次に、AMED 創薬支援戦略部 創薬コーディネーター 中山 敦先生から、特別講演(1)「アカデミア発研究成果を医薬品に結びつけるための知的財産戦略」を、京都府立医科大学 大学院医学研究科 分子標的癌予防医学の酒井敏行教授から、特

別講演(2)「BR 再活性化スクリーニングを用いた MEK 阻害剤 trametinib(商品名 Mekinist)の発見」をいただいた。いずれの講演にも活発な質疑応答がなされた。



清



外部評価員である京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 高須清誠教授に、本 Annual Meeting のご講評をいただいた。

「口頭発表では分子標的治療薬のヒット・リード化合物の探索、最適化ならびに新規アッセイ方法の開発について着実に成果があがりつつあること、またポスター発表ではたくさんの学生が成果報告について熱心に演者とディスカッションする様子が見え、今後の発展が大いに期待できる。さらに本事業に参画する若手教員が研究領域の垣根を越えて親密に情報交換をしていることが目を引き、このようなよい雰囲気はプロジェクト全体の活気に波及する。今回の Annual Meeting は大成功であり、事業自体も順調に進捗していることが強く感じられた」と、極めて高い評価をいただいた。



最後に、合成・相互作用解析グループリーダー 薬品化学分野 赤路教授から、本プロジェクトのさらなる進捗を誓う言葉があり、盛会の元、本 Annual Meeting は終了した。今後も定期的に進捗会議をもち、分子標的治療薬候補化合物の創製を目指すとともに、新たな“知の創造”に向け、本プロジェクトを遂行していく。



文責：芦原英司(研究代表者)

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立

News Letter Vol.2

～はじめに～



研究代表者
病態生理学分野
芦原英司

今年度の News Letter では、2015 年度に採択いただきました私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学

発ベンチャー基盤の確立」の 2 年目の研究成果を報告いたします。本プロジェクトは、京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させ、悪性腫瘍と神経変性疾患・認知症に焦点を絞り、アカデミアの学術基盤を有効利用することによって新たな創薬・予防薬シーズを発掘することを目的としております。得られたシーズの学術的評価に臨床評価を加味することでシーズのライセンスアウトを目指した産学連携プラットフォームを構築し、充実した健康長寿生活の実現に貢献できる大学発創薬ベンチャー基盤の確立を目指しております。

本プロジェクトは助教・助手の若手教員および PD・RA といった若手研究者が中心メンバーであり、彼らの独創的な発想の元に研究を展開しています。人事異動に伴い、スタート当時の研究者に加え新たに 2 名（シーズ発掘・バリデーショングループ、合成・相互作用解析グループ各 1 名）が加入しており、研究テーマの幅をさらに広げました。各研究者、社会に還元できるより多くのシーズの

発掘をめざし、本プロジェクトの学術研究による新たな標的タンパク質探索が新規化合物の preclinical POC (Proof of Concept) につながり、トランスレーショナルリサーチの基盤を形成できるよう、下記の研究を鋭意遂行しております。3 年度目から個々の力を集結し、いくつかの統合したプロジェクトとして展開し創薬シーズを創製いたします。

【本プロジェクトで進行中の研究シーズ】

- Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製
- クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製
- マウス脳腫瘍幹細胞の特性解析に基づいた新規分子標的治療薬の開発
- 脳腫瘍幹細胞を標的とした分化誘導治療薬の開発
- ハイスループット性細胞イメージングによる新規細胞分裂制御タンパク質の探索
- 天然伝承薬物を素材とした抗がん作用成分の探索
- アセトゲニン類の構造変換による新規抗がんリード化合物の創製
- 高感度視覚化に基づく新規がん細胞検出法の探索
- 分子標的治療薬の遺伝毒性評価
- 高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発
- 天然伝承薬物を基盤とした神経変性疾患予防・治療成分の探索

～各研究紹介～

Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索

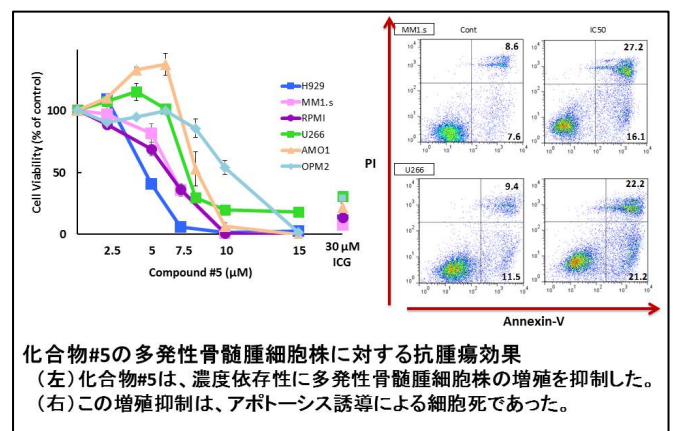
病態生理学分野 芦原英司

Wnt シグナル経路は、線虫、ショウジョウバエ、マウスおよびヒトに至るまで、進化上様々な動物種で保存されているシグナル経路で、初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などのいくつかの生命現象に重要な働きをしている。リガンドとなる Wnt タンパク質は分子量約 39~45 kDa の脂質修飾を受けた分泌糖タンパク質で、この Wnt タンパク質が Frizzled 受容体と low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) と LRP6 (LRP5/6) 共受容体からなる受容体に結合することにより細胞内にシグナルを伝え機能を発揮するが、Wnt/ β -catenin シグナル経路、平面内細胞極性経路と Wnt/ Ca^{2+} 経路の3種類の細胞内シグナル伝達経路が存在する。

Wnt/ β -catenin 経路は初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などのいくつかの生命現象に重要な働きを持つとともに、がん細胞の増殖やがん幹細胞の増殖・維持にも関与している。近年がん治療のターゲットとして注目を浴びており、我々も本経路の阻害が造血器腫瘍治療において有効であることを明らかにしてきた (Eishi Ashihara, et al. *Cancer Sci.*, **100**, 665-671 (2015); Rina Nagao, Eishi Ashihara, et al. *Cancer Lett.*, **312**, 91-100 (2011); Hisayuki Yao, Eishi Ashihara, et al. *Blood Cancer J*, **1**, e43 (2011); Eishi Ashihara, et al. *Clin. Cancer Res.*, **15**, 2731-2738 (2009))。我々は HEK293 細胞に 8xTOP-flush プラスミドを導入しクローニング後樹立した TOP 細胞を用い、本学所有の化合物ライブラリーの中から本経路阻害化合物の探索を行った。なお、既存の Wnt/ β -catenin 経路阻害剤 ICG-001 を対照として用いた。

結果、ICG-001 より強力に本経路を阻害するヒット化合物を発掘した。構造活性相関解析を行い化合物の最適化を進めるとともに、いくつかの化

合物において各種がん細胞株に対する抗腫瘍効果を検討し、今回のシリーズ化合物は検討した多発性骨髄腫、大腸がん、すい臓がん細胞株に対して用量依存性に増殖を抑制し、 β -catenin タンパク質発現量を減少させることがあきらかとなった (図)。今後、さらに構造の最適化を進め、より多くのがん種に対する効果およびがん幹細胞に対する効果を検証するとともに、Wnt/ β -catenin 経路の標的分子の同定を行うための分子プローブ化を行う。(薬品化学 赤路健一博士、小林数也博士、共同利用機器センター 服部恭尚博士との共同研究)

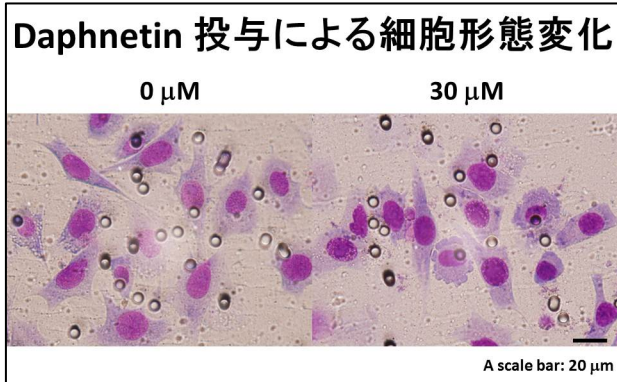


クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製

病態生理学分野 芦原英司

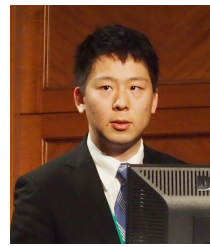
薬学・医学の進歩により、多くの抗がん剤、分子標的治療薬が輩出されているが、わが国の死亡原因の第一位であるがんの根治を目指すために解決すべき問題の一つはがんの転移抑制で、より有効な転移抑制薬の創製は最重要課題の一つである。がん細胞の転移のプロセスは、①原発巣からの「脱出」、②細胞外マトリックスの分解、③血管内侵入、④転移巣組織への血管外脱出、⑤遊走、⑥増殖の6つのステップからなり、それぞれのステップに対していくつかの種類の転移抑制薬の開発が進められている。我々は生薬学分野の所有する化合物ライブラリーから、転移プロセスの②と⑤のステップの阻害を介した転移抑制化合物

のスクリーニングを行い、その結果クマリン系化合物 daphnetin が、マウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞の浸潤および遊走を抑制することを世界で初めて明らかにした。



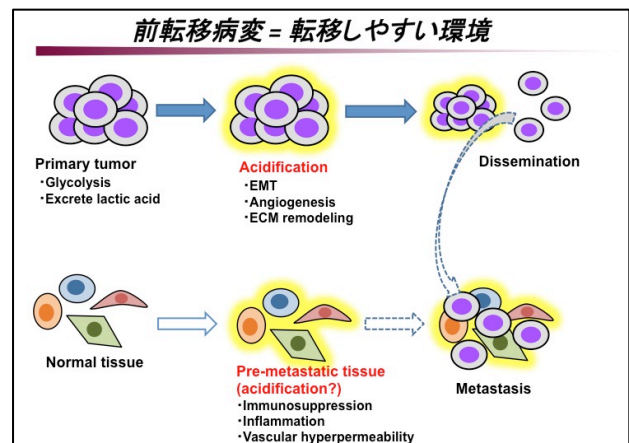
Daphnetin (7,8-dihydroxycoumarin) は *D. marginatai* の主な抽出物で、多様な生理活性を有し、古くから伝承薬として活用されていた。Daphnetin はマウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞の浸潤・遊走を用量依存的に抑制した。また浸潤・遊走抑制効果をもたらす濃度では、細胞死を誘導することはなかった。さらに興味深いことに、Daphnetin は LM8 細胞の形態を star-shaped から round-shaped に変化させた (図)。これらの知見から、細胞骨格タンパク質発現に注目し調べたところ、daphnetin はストレスファイバーおよび糸状偽足の形成が低下させることがわかった。さらにアクチンの重合に関わる分子の発現を検討したところ、RhoA および cdc42 タンパク質発現を減少させることが明らかとなった。なお、この daphnetin の作用をもたらす濃度では、LM8 細胞の細胞死を誘導することはなく daphnetin は浸潤・遊走能を抑制しており、大変興味深い知見である (Hiroki Fukuda, Seikou Nakamura, Esihi Ashihara, et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **471**, 63-67 (2016))。現在我々は、daphnetin をリード化合物として構造活性相関解析を進め、daphnetin よりも強力に LM-8 細胞の浸潤・遊走を抑制する新規クマリン系化合物を同定している。今後さらに構造活性相関解析を続け、がん転移抑制薬の創製をめざしている。(生薬学分野 中村誠宏博士、薬品製造学分野 山下正行博士との共同研究)

転移予定臓器での組織酸性化の意義解明



病態生理学分野 戸田侑紀

がん細胞は解糖系に偏ったエネルギー代謝を行う結果、細胞内に過剰産生される乳酸を細胞外へ排出し周辺環境を酸性化する。この低 pH 環境はがん細胞が転移に必要な表現型 (血管新生能、浸潤・遊走能など) の獲得に寄与する。このように原発部位にて転移に必要な力を蓄えるがん細胞が一方で、自身の分泌する因子を全身循環により散布し、特定の正常臓器の組織環境の一部を転移しやすい土壌 (前転移ニッチ) に変化させる。我々は、前転移ニッチを構成する一つのファクターとして組織 pH に着目した。すなわち、原発腫瘍周辺でみられる低 pH 環境が転移予定臓器においても形成され、がんの臓器特異的な転移に繋がると予想した。



がん細胞はサイトカインの他にエクソソームというナノサイズの粒子を分泌している。miRNA やタンパク質といった多様な生理活性分子が内包されたエクソソームは周辺細胞へ作用しがん微小環境の形成に大きく関与している。そこで、肺組織へ高効率に転移する乳がん細胞株 (4T1.2) より産生・分泌されるエクソソームを同系マウスに長期間投与し、各臓器の組織酸性化度を pH-low insertion peptide (pHLIP® peptide) の体内分布から評価した。pHLIP® peptide は低 pH 下において膜親和性の高い α -helix 構造をとることによって酸性化組織に蓄積されるため、そ

の N 末端側に近赤外線領域に蛍光波長を有する AlexaFluoro750 基を結合させたプローブを投与したマウスの各臓器を in vivo imaging system (IVIS) で解析した。

その結果、エクソソームを 21 日間投与したマウスの肺組織で pHILIP® peptide 由来蛍光が強く検出され、PBS 投与群と比べて有意であることが明らかになった。現在、本現象が前転移ニッチを示す所見の一つであるかについて検証するために、酸性化組織を形成させたマウスに移植したがん細胞の転移効率について解析を進めている。

現在研究開発が進められている転移予防薬の多くは、血管新生や浸潤などの転移の大元（種）を標的にしたものである。本研究により転移先の pH の重要性が明らかになれば、本基盤事業に参画する合成系グループの化合物ライブラリーを用いて転移予定臓器でのがん細胞の生着・生存（芽吹き）を予防するこれまでにない新たな医薬品開発に繋げたい。

マウス脳腫瘍幹細胞の特性解析に基づいた新規分子標的治療薬の開発

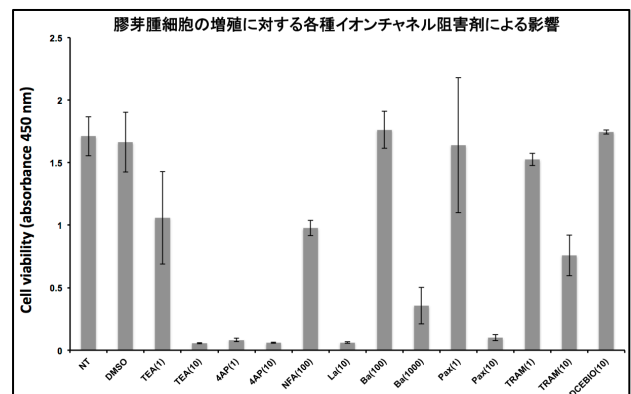
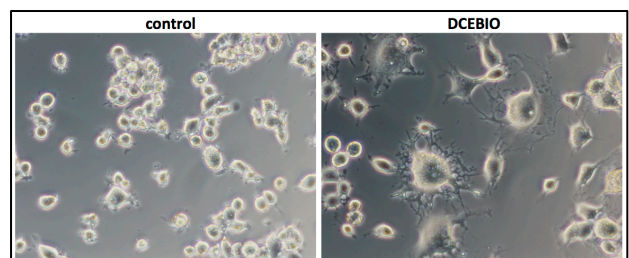


臨床腫瘍学分野 中田晋
薬理学分野 鬼頭宏彰

脳腫瘍の一種である膠芽腫は、既存の治療法に対して極めて難治性であり、あらゆる悪性腫瘍の中でも最も

予後が不良な疾患の一つである。近年、膠芽腫の組織中には発癌過程や再発の起点となる、いわゆる膠芽腫幹細胞が存在することが示されている。これまでに我々は、幹細胞マーカー遺伝子 *LGR5* がヒト臨床検体由来膠芽腫幹細胞に高発現し、その増殖・生存に必須であること、その高発現が不良な予後に相関することを報告してきた。これらの知見は、細胞幼若性に伴う遺伝子発現が、不良な予後と相関するという臨床的知見と合致すると考えられる。近年、近畿大学 藤田貢博士と共同で、sh-p53、EGFRvIII、NRasG12V の in vivo 導入による自発症型マウスモデルの生体腫瘍組織から分離した膠芽腫幹細胞を樹立し、その特

性解析を進めている。これまでにこれらの細胞が Prom-1/Sox2/Msi1 および Lgr5 等の幹細胞マーカー遺伝子を発現し、100 細胞から 1,000 細胞の同所性移植により腫瘍形成することを確認した。本モデル脳腫瘍組織由来の膠芽腫幹細胞分画において、 β -Catenin もしくは LGR5 のノックダウンによって Wnt パスウェイを遮断すると、アポトーシス細胞死が誘導されることを見いだしている。これらの結果は、p53 失活/EGFR 変異体/Ras 変異体によりドライブされる脳腫瘍幹細胞に Wnt 経路の亢進が重要な役割を果たし、標的分子として有望であることを示唆している。一方、Wnt 経路の神経系細胞に対する機能には多面性があり、未分化性維持に寄与する場合と、分化の促進に寄与する場合の両方が知られている。また、Wnt シグナルには古典的経路と細胞内カルシウムイオンの動員を介した非古典的経路があることが知られている。そこで、本学薬理学分野 鬼頭宏彰助教と共同で、カルシウムシグナルの調節に関わると考えられる各種イオンチャネルの阻害剤および作動薬に着目し、本脳腫瘍幹細胞の増殖や生存、さらに未分化性維持に影響を与える化合物のスクリーニングを開始し、中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル ($K_{Ca3.1}$) に影響を与える薬剤が増殖を抑制し、細胞老化を惹起することを見いだした。今後、この詳細なメカニズムを解明し、脳腫瘍幹細胞の未分化性維持機構を標的とした分化誘導療法開発を目指したいと考えている。



細胞分裂標的抗がん剤の感受性改善法の開発に向けた新たな発見



生化学分野 久家貴寿

がん細胞は無秩序に細胞分裂を繰り返す性質を持つため、細胞分裂阻害剤を使うことで、がん細胞を死滅させることができる。細胞分裂標的抗がん剤として、タキサン系製剤やプラチナ製剤が臨床で

用いられており、一定の治療効果を上げている。これら薬剤を用いた治療の問題点としては、副作用の他、がんの再発と耐性化があり、多くの患者がこれらの問題に苦しんでいる。我々、生化学分野では、戦略基盤研究事業を通じて、細胞分裂標的抗がん剤の感受性改善法の開発に繋がる研究成果を得たので、ここで簡単に紹介する。

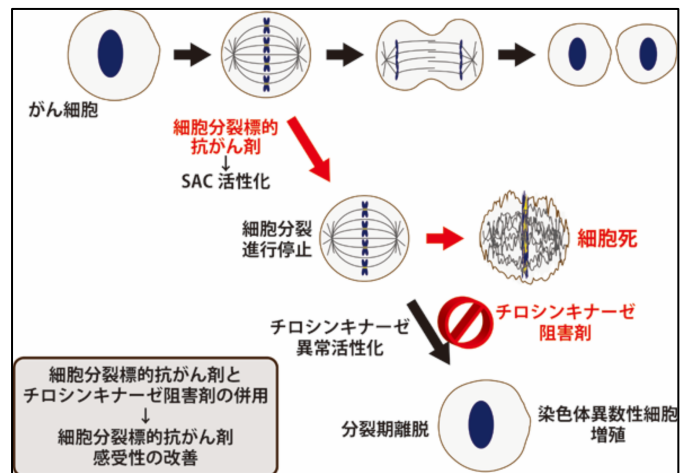
我々は、低分子タンパク質阻害剤ライブラリーを用いた、新規細胞分裂制御タンパク質の探索研究を行っている。細胞分裂に影響を与える阻害剤を同定し、その標的タンパク質を細胞分裂制御タンパク質候補とする。これまでに、159種類の阻害剤を、細胞分裂イメージング手法やフローサイトメーターを用いた細胞周期解析手法でスクリーニングし、約30種を、細胞分裂に影響を与えるものとして同定している。

上述のスクリーニング結果で、我々が特に注目しているのは、同定された約30種の阻害剤の中に、チロシンキナーゼ阻害剤が5種類含まれていたことである。チロシンキナーゼの異常ががんの原因になることはよく知られており、がん細胞で染色体分配異常が高頻度で起こること（染色体不安定性）もよく知られている。これらのことを踏まえ、我々は、チロシンキナーゼの異常によって、細胞分裂（染色体分配）に失敗することが、がんの染色体不安定性の一因なのではないかと考えている。

現在、いくつかのがん原チロシンキナーゼと細胞分裂との関係性を検証している。あるがん原チロシンキナーゼについては、異常に活性化することで、紡錘体形成チェックポイント（Spindle

assembly checkpoint、SAC）を不活化することを見出している。SACの不活化は、細胞分裂標的抗がん剤の感受性低下に繋がることが知られている。がん細胞を細胞分裂標的抗がん剤で処理すると、SACが活性化することで細胞分裂の進行が長時間停止し、その結果、細胞死が誘導される。しかし、あるチロシンキナーゼが異常に活性化した条件下では、SACが不活化するため、細胞分裂の進行停止が続かず、細胞死も抑制された。ここで、細胞死を免れたがん細胞は、染色体異数性細胞として、その後、増殖を続けた。

これらの結果に基づき、我々は、チロシンキナーゼ阻害剤が、細胞分裂標的抗がん剤の感受性改善に有効なのではないかと考えている。現在、既に、細胞分裂標的抗がん剤とチロシンキナーゼ阻害剤の併用療法の臨床試験が行われているが、併用薬剤の選択は論理的に選ばれたものではない。SACの活性化を指標にすれば、細胞分裂標的抗がん剤の併用薬としてより有効なチロシンキナーゼ阻害剤を選択できるのではないかと考えている。



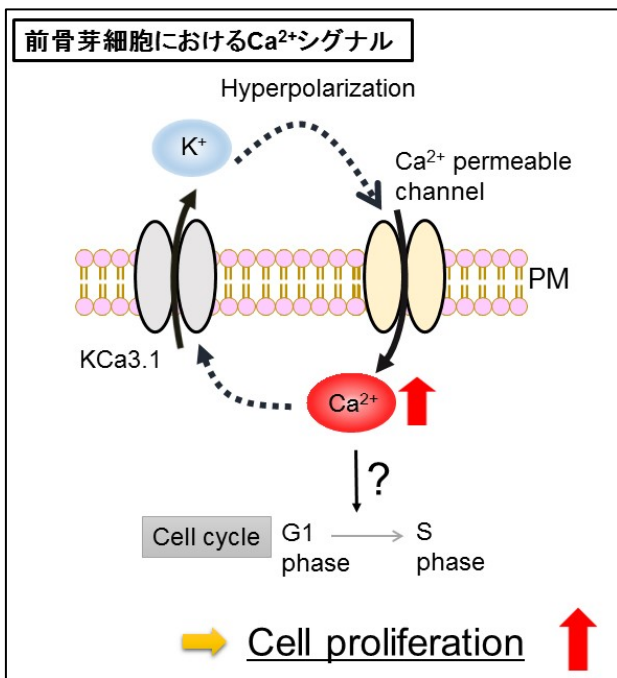
前骨芽細胞の細胞増殖における中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル $K_{Ca3.1}$ の役割



薬理学分野 鬼頭宏彰

骨組織は骨形成と骨吸収の動的なバランスにより恒常性が維持されている。骨芽細胞は、間葉系幹細胞を起源とする細胞であり I 型

コラーゲン及びオステオカルシン、オステオポンチンなどの非コラーゲン性タンパク質を産生・分泌することで骨基質を形成するとともに、骨基質の石灰化を介して骨形成において中心的な役割を果たしている。骨芽細胞の骨形成異常は、関節リウマチ、骨粗鬆症、骨硬化症など種々の骨疾患に関連することが知られていることから、骨芽細胞の分化・成熟及び骨形成能について検討することは骨疾患の病態生理を理解する上で重要な知見になると考えられる。



中コンダクタンス Ca²⁺活性化 K⁺チャネル (K_{Ca}3.1)は、細胞内 Ca²⁺濃度の上昇により活性化する K⁺チャネルであり、細胞の静止膜電位形成やストア作動性 Ca²⁺流入 (SOCE) を介した細胞内 Ca²⁺シグナル制御に寄与する。細胞内 Ca²⁺濃度の変動は、様々な細胞において細胞増殖、分化、細胞死などに関与することが知られている。我々は、マウス前骨芽細胞 MC3T3-E1 において K_{Ca}3.1 が機能発現することを明らかにしている。そこで本研究では、前骨芽細胞増殖における細胞内 Ca²⁺シグナルの寄与を検討するために、K_{Ca}3.1 を介した前骨芽細胞機能制御について検討した。

前骨芽細胞における K_{Ca}3.1 の生理機能を検討するために、SOCE を介した Ca²⁺流入に対する K_{Ca}3.1 阻害の影響を検討したところ、K_{Ca}3.1 阻害薬 TRAM-34 (1 μM) 投与により SOCE を介した Ca²⁺流入

が有意に抑制された。また、MC3T3-E1 の細胞増殖増に対する TRAM-34 の効果を検討したところ、培養後 72 時間において TRAM-34 (1, 10 μM) 投与により有意に細胞生存度が低下した。さらに、TRAM-34 処置細胞において細胞周期解析を行ったところ、G1 期から S 期への移行が有意に抑制されていた。そこで細胞周期依存的な K_{Ca}3.1 の生理機能をより詳細に検討するために、細胞周期同調培養を行ったところ、S/G2/M 期と比較して G0/G1 期において K_{Ca}3.1 mRNA の発現が亢進していた。また、G0/G1 期、S/G2/M 期の各細胞群における K_{Ca}3.1 活性を検討するために、K_{Ca}3.1 活性化薬 DCEB10 (10 μM) 投与による Ca²⁺濃度上昇を評価したところ G0/G1 期の細胞群において有意に Ca²⁺濃度上昇が大きいことから、G0/G1 期において K_{Ca}3.1 活性が亢進することが示された。

以上の結果より、KCa3.1 は G1 期において発現・活性が亢進することで G1 期から S 期への細胞周期進行を促進することにより前骨芽細胞増殖を制御することが示唆された。

がん幹細胞の誘導

—がん幹細胞を駆逐する Wnt/β-catenin 経路阻害剤の探索に向けて—

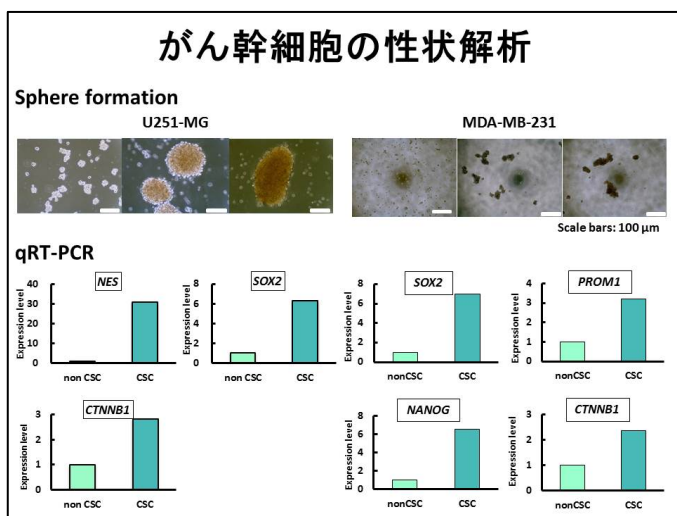


公衆衛生学分野
長谷井友尋
病態生理学分野
芦原英司

近年、がん組織を形成・維持できる少数の幹細胞様のがん細胞 (がん幹細胞; CSC)

と、幹細胞様の性質を持たない非がん幹細胞がん細胞 (non-CSC) によりがん組織は形成され、CSC ががん治療後の再発や遠隔転移に関与していることが明らかとなり、CSC の性状解析および CSC をターゲットとした治療開発は、がん克服のための最重要課題である。Wnt/β-catenin 経路は胚発生における幹細胞の維持・増殖に重要なシグナルで、CSC の維持にも関与していることが明らかにされてきた。そこで我々は治療後の再発予防 (三次予防) のために CSC を駆逐する分子標的治療薬

の開発をめざし、Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索を行うことを計画した。その第一歩として CSC を誘導し、CSC における Wnt/ β -catenin 経路の意義を検討した。ヒト乳がん細胞株 MDA-MB-231 細胞およびヒト神経膠芽腫細胞株 U251-MG 細胞を用いて、Cancer sphere 形成を試みた。既報 (Tetsuya Takada, Kazuyuki Takata, and Eishi Ashihara. *J. Physiol. Sci.*, **66**, 387-396 (2016)) に従い sphere 形成培養後、10-14 日で Cancer sphere は形成された。Sphere を形成する細胞は、*NANOG*、*PROM1* (CD133)、*NES* (nestin) といった幹細胞マーカーの mRNA および *CTNNB1* mRNA を、non-CSC と比して高発現していた (図)。また、 β -catenin タンパク質の核内移行および核内での発現亢進を認めた。以上のことから、MDA-MB-231 細胞および U251-MG 細胞から誘導した Cancer sphere は CSC としての性状を有し、かつ Wnt/ β -catenin 経路が活性化していることが示唆された。今後これらの細胞の、CSC として性状解析を続けるとともに、創薬系分野と共同開発を進めている化合物の CSC への抗腫瘍効果を確認する。



既存抗がん剤の *in vitro* および *in vivo* 遺伝毒性

公衆衛生学分野 長谷井友尋

日米 EU 医薬品規制調和国際会議
(International Conference on Harmonization

of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; ICH) は、日本・米国・EU による新薬承認審査の基準を国際的に統一し、各種試験の不必要な繰り返しを防いで医薬品開発・承認申請の非効率を減らすことを目的に作られた。ICH のガイドラインには大きく分けて品質、安全性および有効性の 3 つに分類され、安全性の中には遺伝毒性が分類されている。このため、新薬の開発には遺伝毒性の評価が必須であり、本プロジェクトにおいて開発された分子標的がん治療薬についても遺伝毒性を評価する必要がある。

その第一歩として、著者らは既存の抗がん剤について、細菌を用いる遺伝毒性試験である Ames 試験並びに *in vivo* 小核試験を実施し、その遺伝毒性を評価した。

初めに、代表的な抗がん剤である doxorubicin および busulfan について、Ames 試験を行った。Doxorubicin について *Salmonella* Typhimurium TA98 株を用いて、S9 mix 存在下で遺伝毒性試験を行ったところ、6,540,000 revertants/mg の遺伝毒性が認められた。また、busulfan について TA100 株を用いて、S9 mix 存在下および非存在下で遺伝毒性試験を行ったところ、それぞれ 744 および 986 revertants/mg の遺伝毒性が認められた。これらの結果から、doxorubicin および busulfan は細菌を用いる遺伝毒性試験において、遺伝毒性を示すことが示唆された。

次に、busulfan 10 mg/kg、cyclophosphamide 40 mg/kg、doxorubicin 5 mg/kg、mitomycin C 1 mg/kg および bleomycin 5 mg/kg について、*in vivo* 小核試験を実施した。抗がん剤を個別にマウスに腹腔内投与し、投与から 24、48 および 72 時間後に末梢血を採血した。末梢血をアクリジンオレンジで染色後、蛍光顕微鏡で小核を観察した。いずれの抗がん剤も、投与 48 時間後に最も高い小核誘発率を示し、それぞれ 1.08%、2.08%、3.64%、2.84% および 0.70% であった (図)。これらの結果から、busulfan、cyclophosphamide、doxorubicin、mitomycin C および bleomycin はげっ歯類末梢血を用いる *in vivo* 遺伝毒性試験において、遺伝毒性を示すことが示唆された。

これらの結果から、今回試験を行った抗がん剤は遺伝毒性を示すことが示唆された。今後は、上記の遺伝毒性試験を用いて、本プロジェクトによって見出された分子標的化合物の安全性を評価していきたい。

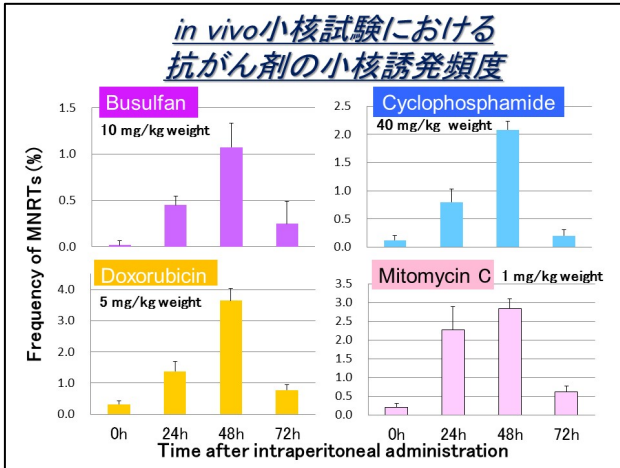
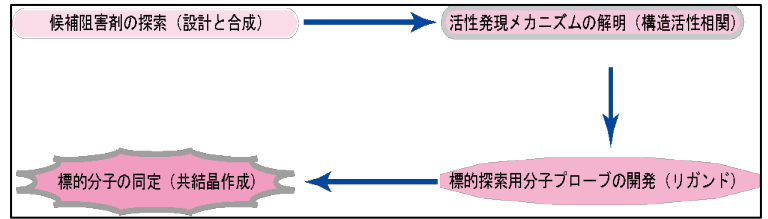


図 1：本研究テーマの概略図

今後、上記化合物の分子プローブ化を行い、標的分子探索のためのリガンド開発を進める予定である。

2. SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の開発

重症呼吸器症候群 (Severe Acute Respiratory Syndrome: SARS) は中国広東省にて発生し、2002 年 11 月～2003 年 8 月の間に世界 30 カ国以上で 8,000 程度の症例を出した致死率 10%程度の呼吸器疾患である。発症の原因は新型のウイルス、SARS コロナウイルス (SARS CoV) と特定されているが、SARS CoV に対して有効な根治的治療法や実用化されているワクチンは未だ存在しない。これまでに、SARS CoV の増殖に必須の蛋白質である SARS 3CL プロテアーゼの阻害剤開発を行っている。報告したペプチドアルデヒド型阻害剤 1 に基づき開発したアザーデカリン型阻害剤 2 の活性改善を目的に新規小分子型阻害剤 3 の開発を進めている (図 2)。

複素環構造を有する阻害剤候補化合物の設計と合成

薬品化学分野 服部 恭尚



1. 古典的 Wnt シグナル経路阻害剤の開発

大腸がんなどで異常亢進していることが知られている古典的 Wnt シグナル経路は β -catenin に依存し、 β -catenin/TCF (T-cell factor) を介して標的遺伝子の発現を調節する。従って、古典的 Wnt シグナル経路を阻害する小分子化合物は、新たながん治療薬のリード化合物となりうる。これまでに合成した含窒素複素環化合物を対象として古典的 Wnt シグナル経路を標的としたスクリーニングを共同研究先である病態生理学分野にて実施していただいた。これまでに中程度の阻害活性を示す化合物を見出している (図 1)。

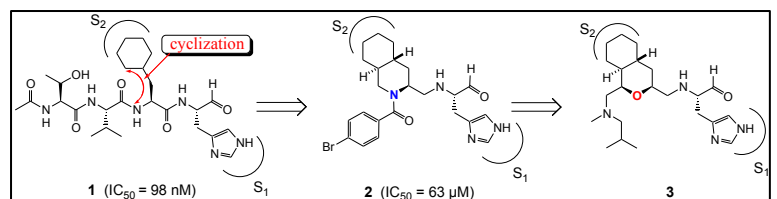


図 2：オキサーデカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤 3 の設計

今後、上記化合物 3 の合成と構造最適化を行い、SARS 治療薬へ展開したい。

高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の構造最適化を目指した合成法の探索



薬品化学分野 小林 数也

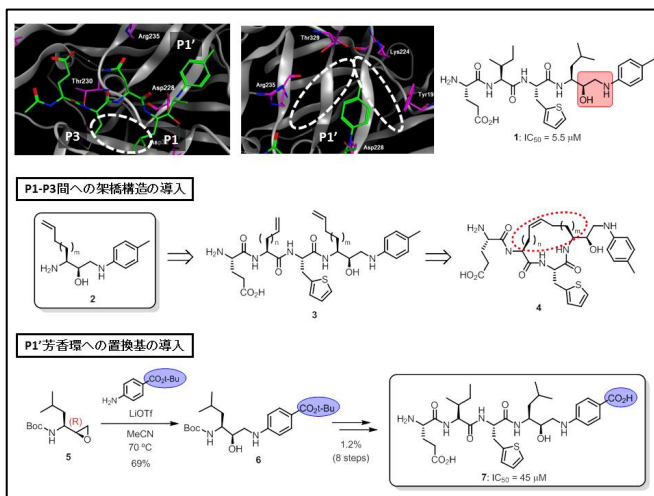
アルツハイマー病の発症原因と考えられているアミロイドβペプチドの産生に関与する BACE1 (β-site APP cleaving enzyme) は、アルツハイマー病治療薬開発における重要な創薬標的の一つであり、我々は BACE1 をターゲットとした阻害剤開発研究を行っている。

我々はこれまでに基質切断部位の周辺配列 (P4~P1') を非天然アミノ酸に置換したドデカペプチドが、天然型や変異型の配列を持つペプチドよりも BACE1 による認識・切断を受けやすくなることを見出し、本配列とヒドロキシエチルアミン (HEA) 型イソスターを組み合わせた新規 BACE1 阻害剤の合成と活性評価について報告している。本年度、我々は BACE1 との共結晶の結晶構造解析の情報に基づき、HEA 型 BACE1 阻害剤 1 を親化合物として、(1) P1' 位芳香環への官能基の導入と、(2) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入、という 2 つのアプローチから最適構造の探索を行うこととした。

(1) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入

我々は、末端にアルケンを有する種々側鎖の長が異なるアミノ酸誘導体を P1、P3 位に導入した環化前駆体 3 から、閉環メタセシス反応により架橋構造の構築を行うこととした。m = 0 の P1 位末端アルケン誘導体 2 は、アスパラギン酸を出発原料として側鎖官能基をアルコールへと変換後、これまでに確立している HEA ユニット合成法を応用し、最後にアルコール部分をアルケンへと変換することで合成した。得られた P1 位誘導体 2 (m = 0) から環化前駆体 3 (m = 0, n = 1) を合成し、閉環メタセシス反応を行ったところ、目的の分子量を有する化合物の生成が確認できた。現在、本環化反応及び目的物の精製について検討を行っている。また、これと並行して、鎖長の異なるアミノ酸ユニットの合成法の検討も行っており、今後は様々な鎖長の架橋型 BACE1 阻害剤を合成し、架橋

構造についての構造活性相関研究を進めていく予定である。



(2) P1' 位芳香環への官能基の導入

これまでの合成法では、p-位にカルボン酸を有するベンゼン環を導入することができなかったため、エポキシ体 5 に対して 4-アミノ安息香酸を用いて開環反応を行うルートでの合成に切り替えることとした。この合成法により、望みの HEA ユニット 6 を合成することが可能になり、6 に対してアミノ酸の縮合と脱保護を繰り返すことで、P1' 位誘導体 7 を合成することに成功した。合成した誘導体の BACE1 に対する IC₅₀ は 45 μM と親化合物 1 (IC₅₀ = 5.5 μM) よりも低下してしまっただが、P1' 位芳香環への置換基の導入が活性に影響を及ぼしていることが明らかとなった。現在、本合成法による P1' 位への様々な置換基の導入を検討中である。

今後は、それぞれの検討部位における最適構造を見出し、それらを組み合わせることでより強力な BACE1 阻害剤の開発を目指していく予定である。

天然伝承薬物を素材としたがん転移抑制物質及び神経変性疾患予防・治療物質の探索



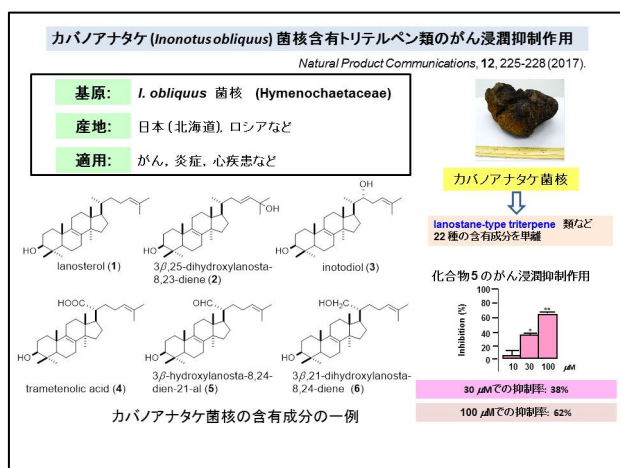
生薬学分野 中村 誠宏

我々は、和漢生薬を中心とした天然伝承薬物を素材とし、特にがん転移抑制物質および神経変性疾患予防・治療物質の探索を

進めている。今回、1) カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) 菌核、2) クロタネソウ (*Nigella damascena*) 種子および 3) ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*) 根茎からの含有成分の探索およびそれらの生物活性試験を進めた。

1. カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) 菌核含有トリテルペン類のがん浸潤抑制作用

タバコウロコタケ科カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) は、日本 (北海道)、ロシアなどの寒冷地の白樺やダケカンバ等のカバノキ類に自生するキノコである。その菌核は、ロシア等でがんや結核の治療などを目的に用いられてきた。一方、薬用菌類 (カバノアナタケ、霊芝、猪苓、茯苓、椎茸、アガリクス) の MeOH 抽出エキスをを用いヒト繊維肉腫 HT1080 細胞に対するがん細胞浸潤抑制活性評価を行ったところ、カバノアナタケ抽出エキスを最も強い浸潤抑制活性が認められた。そこで、カバノアナタケの菌核の含有成分の探索を行うとともに、得られた成分についてがん浸潤抑制作用を検討した。すなわち、カバノアナタケ菌核についてメタノール抽出エキスを作成し、酢酸エチル、*n*-ブタノール、水分画に分液した。次に、活性の集約していた酢酸エチル分画について順相シリカゲル、逆相 ODS クロマトグラフィー、HPLC を用いて繰り返し分離精製した結果、lanosterol (1)、 $3\beta, 25$ -dihydroxylanosta-8, 23-diene (2)、inotodiol (3)、trametenolic acid (4)、 3β -hydroxylanosta-8, 24-dien-21-al (5)、 $3\beta, 21$ -dihydroxylanosta-8, 24-diene (6) などの lanostane 型トリテルペン等を主要成分として単離することができた。得られた含有成分のうち、化合物

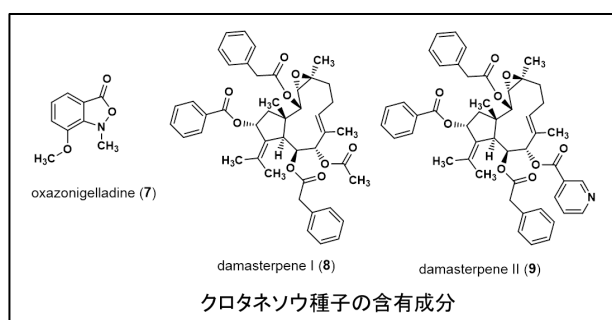


5 が HT1080 細胞に対する細胞毒性が弱いにも関わらず、有意な浸潤抑制作用を示すことが明らかになった。¹⁾

1) *Natural Product Communications*, 12, 225-228 (2017).

2. キンポウゲ科クロタネソウ (*Nigella damascena*) 種子のアルカロイド成分

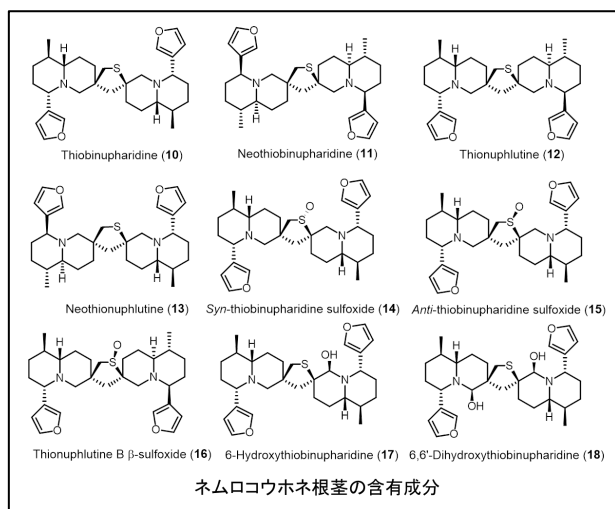
Nigella damascena (クロタネソウ) は南ヨーロッパを原産とするキンポウゲ科の1年草であり、日本では園芸品種として親しまれている。しかし、その天然物化学的研究はほとんど行われておらず、含有成分は明らかにされていなかった。今回、*N. damascena* の薬学的利用価値を明らかにする目的で成分探索研究を行った。すなわち、*N. damascena* の種子についてメタノール抽出エキスを作成し、酢酸エチル、*n*-ブタノール、水分画に分液した。得られた酢酸エチル分画について各種カラムクロマトグラフィーおよび HPLC を繰り返し用いて化合物の分離精製を行った。その結果、窒素原子と酸素原子が環状に結合した珍しい isoxazolidine 骨格を有する1種の新規化合物 oxazonigelladine (7) を単離するとともに、アシル化された2種の新規 dolabellane 型ジテルペン、damasterpene I (8)、II (9) を単離した。新規化合物については、NMR スペクトル、単結晶 X 線構造解析 (化合物 7、8)、励起子キラリティー法を用いた CD スペクトルの解析 (化合物 8、9) などの各種スペクトルデータの詳細な解析と化学的手法を適応した結果を考え合わせることで決定することができた。



3. スイレン科ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*) 根茎のアルカロイド成分

ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*) は、スイレ

ン科コウホネ属の多年生水草であり、日本（北海道、東北地方）、中国およびロシアなどに分布しており、強壯剤、利尿剤、生理不順及びうつ血症状の改善目的で用いられている。我々の研究室では以前、ネムロコウホネ根茎からチオヘミアミナル型アルカロイドを単離・同定し、含有成分の一つである 6-hydroxythiobinupharidine がアポトーシス誘導作用を示すことを見出した。今回、ネムロコウホネ (*N. pumilum*) 根茎を素材とした新たな機能性成分の探索を目的とし、その含有成分の探索を行った。すなわち、ネムロコウホネ根茎のメタノール抽出エキスを酸・塩基を用い分配抽出し、得られたアルカロイド分画について順相シリカゲル、HPLC を用いて繰り返し分離精製した結果、6-hydroxythiobinupharidine などの 9 種のチオヘミアミナル型アルカロイドを主要成分として単離することができた。得られた化合物は、NMR スペクトル、CD スペクトルなどの各種スペクトルデータの詳細な解析によりその構造を決定した。得られた化合物を用い、抗炎症作用の評価法の一つとしてマウス由来マクロファージ様細胞 RAW264.7 での一酸化窒素 (NO) 産生抑制活性を検討した。その結果、化合物 15 が 10 μ M の濃度において有意な NO 産生抑制作用を示した。



今後、得られた化合物およびその誘導体の生物活性評価を行うとともに、天然伝承薬物を素材としがんおよび神経変性疾患の治療・予防に有益な化合物の探索を継続して進めていく予定である。

アセトゲニンチオフェンアナログの THF 環部の立体化学に関する構造活性相関研究



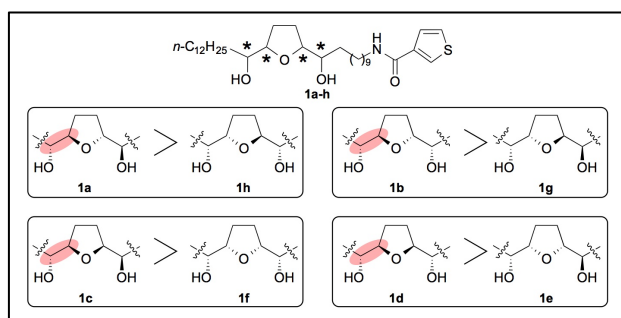
薬品製造学分野 小島直人

我々の研究グループでは、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるポリケチドであるアセトゲニン類をシードとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究を展開している。アセトゲニン類は長鎖アルキル鎖の中央付近に 2,5-二置換のテトラヒドロフラン (THF) 環、末端に γ -ラクトン環を持つことが構造的特徴であり、強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことが知られている。我々は、 γ -ラクトン環部分を改変した種々の誘導体合成を展開した結果、チオフェン環をアミド結合で連結させた誘導体 1a が、ヒト肺がん細胞 NCI-H23 を移植したマウスを用いた *in vivo* 試験において、強力な抗腫瘍活性を示すことを見出している。我々はこれまでに、1a を含めて 100 種類以上の誘導体の合成を行ってきたが、その THF 環部分の立体化学は天然物に最もよく見られる配置である、*threo/trans/threo* のもののみである。天然アセトゲニン類の構造活性相関研究の結果、THF 環部分の立体化学はその生物活性に顕著な影響を及ぼすことが知られているため、我々の誘導体における THF 環部分の立体化学の生物活性への影響を調べることは重要である。

様々な立体化学の THF 環部をもつ誘導体を合成するにあたり、これまでの合成経路を再検討した結果、チオフェン環を結合させたアルキンを直接結合させることにより、より収束的に合成できる経路の確立に成功した。本経路を、1a の THF 環部分の立体異性体の合成に応用した結果、THF 環部分の立体化学の異なる 8 種の立体異性体 1b-h を合成することに成功した。

合成した立体異性体 1a-h について、39 種類のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性の評価を行った。その結果、THF 環部分の立体化学に関わらず 8 種の誘導体は全てヒトがん細胞の増殖を抑制することが明らかになった。一方、その活性の強さはそれぞれ異なっていた。活性の強さと構造の

違いを精査した結果、C17-18位の相対配置が活性に影響していることを見出した。今回評価した39種全ての細胞に対する50%増殖阻害濃度の平均値を比較したところ、例えば、C17-18位が *threo/trans/threo* 配置の誘導体 **1a** は *erythro/trans/threo* の誘導体 **1b** より約10倍強い活性を示した。他の誘導体についてもその強弱に差はあるものの、C17-18位の相対配置が *threo* 配置である誘導体は、*erythro* 配置の誘導体に比べて50%増殖阻害濃度の平均値が低い傾向が見られた。個々の細胞種に対する阻害活性については、BSY-1やSF-295、SNB-75、KM-12、ACHN、MKN45細胞において顕著な活性の差が見られる一方で、DMS114やMKN7に対する活性は相対配置による影響をほとんど示さなかった。今後はこれらの結果をもとに新規誘導体を設計し、生物系分野との共同研究により、より高機能な誘導体の創出や作用機序の解明研究に展開したいと考えている。



リガンド誘導体による受容体検出法の開発



共同利用機器センター
長谷川 功紀

薬剤標的として着目する受容体分子の存在を癌細胞や組織中から検出・可視化することは薬剤開発における効果予測に重要な意義を有する。現在は検出に抗体を利用したWestern blot法や免疫染色法が多用されている。しかし、受容体分子は単離が難しく、その抗体作製には困難を伴うことが多い。そこで我々は受容体がもともと有するリガンド結合能を利用し、リガンド誘導体を用いて受容体を検出・可視化するWestern ligand blot (WLB)法とリガンド誘導体染色

(LDS)法を開発した。これらの方法を用い、kisspeptinを用いてその受容体となるKiss1受容体を検出・可視化したので紹介する。

Kiss1受容体は様々な腫瘍で発現が確認されており、特に、卵巣明細胞腺癌ではKiss1受容体発現量と予後に相関があることも報告されている。これらのことから腫瘍組織におけるKiss1受容体の局在や発現量を評価することは、予後予測や治療方針決定に寄与すると期待される。一方で、Kiss1受容体の抗体作製は難しく免疫染色やWestern blotを効果的に行える抗体の普及は不十分である。

我々はリガンドとしてはKisspeptin-14を選び、そのN末端にリンカーを介してFITC修飾して染色剤となるFITC-Kisspeptin-14を調製した。この染色剤を用いて、肺小細胞癌H69、肺腺癌H549、非肺小細胞癌H358、肺扁平上皮癌H226、甲状腺髄様癌TTのライセートをWestern ligand blotした結果、すべての細胞株においてKiss1受容体が発現することを確認した(図1)。また、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)された甲状腺髄様癌の病理組織切片をFITC-Kisspeptin-14を用い染色した結果、腫瘍組織を染色することができた(図2)。

本研究において、我々は多くの腫瘍細胞株でKiss1受容体が発現していることを見出した。また甲状腺髄様癌の病理検体においてKiss1受容体の局在を確認できた。以上より、抗体の作製が困難な受容体タンパク質の検出法としては、WLB法、LDS法が有用であることが分かった。今後、本手法をさらに発展させ、高感度視覚化に基づく新規がん細胞検出法の確立とそれを応用した創薬支援を行う予定である。

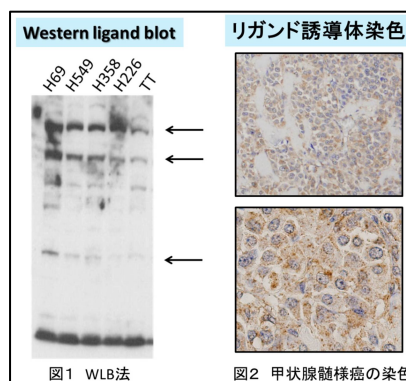


図1 WLB法

図2 甲状腺髄様癌の染色

～おわりに～



薬品化学分野
赤路健一
(合成・相互作用解析
グループ)

最後に、2016年度の本事業進捗概要に基づく抱負を書かせていただきます。本事業は、京都薬科大学の疾患モデル研究と創薬研究を有機的に連携させ、独自のアカデミア発創薬を目指すベンチャー基盤を確立することを目的としています。このため、①シーズ発掘・バリデーショングループと②合成・相互作用解析グループの二つの研究グループが事業活動を担っており、それぞれの学術基盤を戦略的に統合させた共同研究体制確立を目指しております。本ニュースレターでは、本事業に携わる研究者全員のこれまでの成果を紹介しております。2016年9月に開催されました annual meeting で発表された研究成果に、現在までに得られた新たな進展を加味した最新の研究成果に関する内容です。それぞれの研究の進展から、本事業初年度から注力してまいりましたそれぞれの研究者間での連携が機能しつつあると自負しております。特に、がんを標的とした Wnt/ β -catenin 経路阻害薬、がんの転移抑制を目指したクマリン系化合物による遊走能・浸潤能の抑制、アセトゲニン類をリード化合物とした新規抗がん剤開発、BACE1 阻害によるアルツハイマー病の予防戦略など、さらに発展的なテーマ設定・協力体制の構築に至りつつあるグループも固まって参りました。このような共同研究体制は、本事業後半における研究進展を支えるしっかりとした基盤となるものと期待しております。また、今年度から参画した新メンバーによる新たな研究展開も始まっており、その成果も大いに期待できるものと思っております。

2017年度は本事業5カ年計画の3年目にあたり、プロジェクト全体の折り返し点となります。各チームの中核を担う教員と大学院生・学部生の若い力をさらに結集し、新たな共同研究基盤のもと

「山科から世界へ」発信する創薬を目指したいと考えています。ご支援のほど何卒よろしくお願い申し上げます。

～2016 年度業績～

著書

1. 芦原英司：Wnt シグナル経路を標的とした骨髄腫治療薬開発，日本臨床増刊号 多発性骨髄腫学—最新の診療と基礎研究—，谷脇雅史編，pp.173-179，日本臨床社 (2016).

英文原著

1. Kengo Matsumura, Susumu Nakata, Keiko Taniguchi, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Susumu Kageyama, Akihiro Kawauchi, and Tatsuhiko Yoshiki. Depletion of γ -glutamylcyclotransferase inhibits breast cancer cell growth via cellular senescence induction mediated by CDK inhibitor upregulation. *BMC Cancer*, **16**, 748 (2016).
2. Natsuki Imayoshi, Makoto Yoshioka, Jay Chauhan, Susumu Nakata, Yuki Toda, Steven Fletcher, Jeffrey Strovel, Kazuyuki Takata, and Eishi Ashihara: CG13250, a novel bromodomain inhibitor, suppresses proliferation of multiple myeloma cells in an orthotopic mouse model. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **484**, 262-268 (2017).
3. Takayuki Tasaki, Mitsugu Fujita, Takeshi Okuda, Azusa Yoneshige, Susumu Nakata, Kimihiro Yamashita, Hiromasa Yoshioka, Shuichi Izumoto, Amami Kato. MET expressed in glioma stem cells is a potent therapeutic target for glioblastoma multiforme, *Anticancer Res.*, **36**, 3571-7 (2016).

4. Takahisa Kuga, Mitsuho Sasaki, Toshinari Mikami, Yasuo Miake, Jun Adachi, Maiko Shimizu, Youhei Saito, Minako Koura, Yasunori Takeda, Junichiro Matsuda, Takeshi Tomonaga, Yuji Nakayama. FAM83H and casein kinase I regulate the organization of the keratin cytoskeleton and formation of desmosomes. *Sci. Rep.*, **6**, 26557 (2016).
5. Takahisa Kuga, Hideaki Kume, Jun Adachi, Naoko Kawasaki, Maiko Shimizu, Isamu Hoshino, Hisahiro Matsubara, Youhei Saito, Yuji Nakayama, Takeshi Tomonaga. Casein kinase 1 is recruited to nuclear speckles by FAM83H and SON. *Sci. Rep.*, **6**, 34472 (2016).
6. Youhei Saito, Takanobu Nakagawa, Ayana Kakihana, Yoshia Nakamura, Tomomi Nabika, Michihiro Kasai, Mai Takamori, Nobuyuki Yamagishi, Takahisa Kuga, Takumi Hatayama, Yuji Nakayama. Yeast Two-Hybrid and One-Hybrid Screenings Identify Regulators of hsp70 Gene Expression. *J. Cell. Biochem.*, **117**, 2109-2117 (2016).
7. Hiroki Mikami, Youhei Saito, Namiko Okamoto, Ayana Kakihana, Takahisa Kuga, Yuji Nakayama. Requirement of Hsp105 in CoCl₂-induced HIF-1 α accumulation and transcriptional activation. *Exp. Cell. Res.*, **352**, 225-233 (2017).
8. Mariko Morii, Sho Kubota, Takuya Honda, Ryuzaburo Yuki, Takao Morinaga, Takahisa Kuga, Takeshi Tomonaga, Noritaka Yamaguchi, Naoto Yamaguchi. Src Acts as an Effector for Ku70-dependent Suppression of Apoptosis through Phosphorylation of Ku70 at Tyr-530. *J. Biol. Chem.*, **292**, 1648-1665 (2017).
9. Keiko Kakae, Masayoshi Ikeuchi, Takahisa Kuga, Youhei Saito, Naoto Yamaguchi, Yuji Nakayama. v-Src-induced nuclear localization of YAP is involved in multipolar spindle formation in tetraploid cells. *Cell. Signal.*, **30**, 19-29 (2017).
10. Wataru Kikuchi, Motoi Nishimura, Takahisa Kuga, Sachio Tsuchida, Tatsuya Saito, Mamoru Satoh, Kenta Noda, Yoshio Kodera, Takeshi Tomonaga, Fumio Nomura. Fibrinogen alpha C chain 5.9 kDa fragment (FIC5.9), a biomarker for various pathological conditions, is produced in post-blood collection by fibrinolysis and coagulation factors. *Clin. Proteomics*, **3**, 27 (2016).
11. Ronell Bologna-Molina, Yasunori Takeda, Takahisa Kuga, Naoyuki Chosa, Masae Kitagawa, Takashi Takata, Akira Ishisaki, Toshinari Mikami. Expression of Wilms' tumor 1 (WT1) in ameloblastomas. *J. Oral Sci.*, **58**, 407-413 (2016).
12. Masayoshi Ikeuchi, Yasunori Fukumoto, Takuya Honda, Takahisa Kuga, Youhei Saito, Naoto Yamaguchi, Yuji Nakayama. v-Src Causes Chromosome Bridges in a Caffeine-Sensitive Manner by Generating DNA Damage. *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 871 (2016).
13. Erika Iwamoto, Natsumi Ueta, Yuki Matsui, Keiju Kamijyo, Takahisa Kuga, Youhei Saito, Naoto Yamaguchi, Yuji Nakayama. ERK Plays a Role in Chromosome Alignment and Participates in M-Phase Progression. *J. Cell. Biochem.*, **117**, 1340-1351 (2016).
14. Kazutaka Tagishi, Ayaka Shimizu, Kyoko Endo, Hiroaki Kito, Satomi Niwa, Masanori Fujii, Susumu Ohya: Defective splicing of the background K⁺ channel K_{2P5.1} by the pre-mRNA splicing inhibitor, pladienolide B in lectin-activated mouse splenic CD4⁺ T cells. *J. Pharmacol. Sci.*, **132**, 205-209 (2016).
15. Anowara Khatun, Mayu Fujimoto, Hiroaki Kito, Satomi Niwa, Takayoshi Suzuki, Susumu Ohya: Down-Regulation of Ca²⁺-Activated K⁺ Channel K_{Ca1.1} in

- Human Breast Cancer MDA-MB-453 Cells Treated with Vitamin D Receptor Agonists. *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 2083 (2016).
16. Mayu Fujimoto, Takahiro Inoue, Hiroaki Kito, Satomi Niwa, Takayoshi Suzuki, Katsuhiko Muraki, Susumu Ohya: Transcriptional repression of HER2 by ANO1 Cl⁻ channel inhibition in human breast cancer cells with resistance to trastuzumab. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **482**, 188-194 (2017).
 17. Hidemasa Katsumi, Takunori Mozume, Shin-ichiro Yanagi, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe, Toshiyasu Sakane, Akira Yamamoto. Pharmacokinetic and therapeutic efficacy of intrapulmonary administration of zoledronate for the prevention of bone destruction in rheumatoid arthritis, *J. Drug Target.*, **24**(6), 530-536 (2016).
 18. Souleymane Coulibaly, Hiroki Minami, Maho Abe, Nami Furukawa, Ryo Ono, Tomohiro Hasei, Akira Toriba, Ning Tang, Kazuichi Hayakawa, Kunihiko Funasaka, Daichi Asakawa, Fumikazu Ikemori, Masanari Watanabe, Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe: Comparison of Air Pollution in Metropolises in China (Beijing) and Japan (Osaka and Nagoya) on the Basis of the Levels of Contaminants and Mutagenicity, *Biol. Pharm. Bull.*, **39**(3), 415-422 (2016).
 19. Yukiko Takemoto, Yasunao Hattori, and Hidefumi Makabe: Synthesis of (-)-isosolenopsin using diastereoselective aminopalladation. *Heterocycles*, **94**, 286-296 (2017).
 20. Masataka Mori, Kiriko Matsumoto, Chisato Ishihara, Koichiro Kawaguchi, Sei-ichi Kawahara, Yasunao Hattori, Hiroshi Fujii, and Hidefumi Makabe: Synthesis of prodelphinidin trimer isolated from *Cistus albidus* and its antitumor activity against human prostate cancer cell lines. *Heterocycles*, **92**, 1822-1831 (2016).
 21. Masaki Asai, Yasunao Hattori, and Hidefumi Makabe: Synthesis of legioliulin, a fluorescent isocoumarin compound, isolated from *Legionella dumoffii* using cyclic acylpalladation and Heck reaction. *Tetrahedron Lett.*, **57**, 3942-3944 (2016).
 22. Hiroyuki Kawashima, Mei Katayama, Ryota Yoshida, Kenichi Akaji, Akiko Asano, and Mitsunobu Doi: A dimer model of human calcitonin 13-32 forms an α -helical structure and robustly aggregates in 50% aqueous 2,2,2-trifluoroethanol solution. *J. Pept. Sci.*, **22**, 480-484 (2016).
 23. Shiho Mikawa, Chiharu Mizuguchi, Kazuchika Nishitsuji, Teruhiko Baba, Akira Shigenaga, Toshinori Shimanouchi, Naomi sakashita, Akira Otaka, Kenichi Akaji, and Hiroyuki Saito: Heparin promotes fibril formation by the N-terminal fragment of amyloidogenic apolipoprotein A-I. *FEBS Lett.*, **590**, 3492-3500 (2016).
 24. Shiho Mikawa, Chiharu Mizuguchi, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Teruhiko Baba, Akira Shigenaga, Toshinori Shimanouchi, Norihiro Kobayashi, Akira Otaka, Kenichi Akaji, and Hiroyuki Saito: Effect of Heparin on Amyloid Fibril Formation of ApoA-I Fragment Peptides. *Peptide Science 2016*, 149-150 (2017).
 25. Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Tomoe Ohta, Mamiko Yano, Junichiro Tsujihata, Junko Tsukioka, Keiko Ogawa, Masashi Fukaya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda. γ -Lactam alkaloids from the flower buds of daylily. *J. Nat. Med.*, **70**:376-383 (2016).
 26. Yoshimi Oda, Souichi Nakashima, Seikou Nakamura, Mamiko Yano, Masanori Akiyama, Kayo Imai, Tomohito Kimura, Akiko Nakata, Miyuki Tani, Hisashi Matsuda. New potent accelerator of

- neurite outgrowth from *Lawsonia inermis* flower under non-fasting condition. *J. Nat. Med.*, 70:384-390 (2016)
27. Tomoe Ohta, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Takahiro Matsumoto, Masashi Fukaya, Mamiko Yano, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Chemical structures of constituents from the whole plant of *Bacopa monniera*. *J. Nat. Med.*, 70:404-411 (2016)
28. Seikou Nakamura, Yi Zhang, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Tao Wang, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Structures of aromatic glycosides from the seeds of *Cassia auriculata*. *Chem. Pharm. Bull.*, 64:970-974 (2016).
29. Seikou Nakamura, Jiang Liu, Souichi Nakashima, Keiko Ogawa, Takashi Ueda, Eri Onishi, Kiwako Kurooka, Yuko Moriwaki, Kaori Ryu, Bin Xu, Takahiro Matsumoto, Tomoe Ohta, Masashi Fukaya, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Structure of a coumaric acid analogue with a monoterpene moiety from the flowers of *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus* and evaluation of cinnamic acid analogues as Nitric Oxide production and degranulation inhibitors. *Nat. Prod. Commun.*, 11:1123-1128 (2016).
30. Souichi Nakashima, Tomoe Ohta, Seikou Nakamura, Yoshimi Oda, Mari Koumoto, Eri Kashiwazaki, Maiko Kado, Atsumi Shimada, Ryogo Akita, Hisashi Matsuda: Caffeic acid Derivatives from *Bacopa monniera* plants as inhibitors of pancreatic lipase activity and their structural requirements. *Nat. Prod. Commun.*, 11:1855-1858 (2016).
31. Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Tomoe Ohta, Keiko Ogawa, Masashi Fukaya, Junko Tsukioka, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe, Hisashi Matsuda, Neolignan and megastigmane glucosides from the aerial parts of *Isodon japonicus* with cell protective effects on BaP-induced cytotoxicity. *Phytochemistry*, 137:101-108 (2017).
32. Shushi Nagamori, Pattama Wiriyasermkul, Suguru Okuda, Naoto Kojima, Yoshiyuki Hari, Shigeki Kiyonaka, Yasuo Mori, Hideyuki Tominaga, Ryuichi Ohgaki, Yoshikatsu Kanai: Structure-activity relations of leucine derivatives reveal critical moieties for cellular uptake and activation of mTORC1-mediated signaling. *Amino Acids*, 48, 1045–1058 (2016).
33. Akinobu Akatsuka, Naoto Kojima, Mutsumi Okamura, Shingo Dan, Takao Yamori: A novel thiophene-3-carboxamide analog of annonaceous acetogenin exhibits antitumor activity via inhibition of mitochondrial complex I. *Pharma. Res. Per.*, 4, e00246 (2016).
34. Toru Tanaka, Masaki Nagahama, Navnath Dnyanoba Yadav, Hiroyuki Iwasaki, Minoru Ozeki, Naoto Kojima, Masayuki Yamashita: Reaction of 2a,8b-dihydrobenzo[b]cyclobute[d]pyran-3-ones with dimethylsulfoxonium methylide. *Chem. Pharm. Bull.*, 64, 1056–1061(2016).
35. Minoru Ozeki, Noboru Hayama, Shintaro Fukutome, Honoka Egawa, Kenji Arimitsu, Tetsuya Kajimoto, Shinzo Hosoi, Hiroki Iwasaki, Naoto Kojima, Manabu Node, and Masayuki Yamashita: Construction of Seven Contiguous Chiral Centers by Two Methods: Quadruple Michael Addition vs Stepwise Double-Double Michael Addition Controlled by Adding Speed of Michael Acceptor. *ChemistrySelect*, 1, 2565–2569 (2016).
36. Shinji Kobuchi, Megumi Matsuno, Momoko Kawamoto, Naoto Kojima, Yukako Ito, Masayuki Yamashita, Toshiyuki Sakaeda: A simple and rapid LC-MS/MS method for quantitation of

- luseogliflozin in rat plasma and its application to a PK study. *Bioanalysis*, **9**, 163–171 (2017).
37. Minoru Ozeki, Honoka Egawa, Toshiki Takano, Hideki Mizutani, Narumi Yasuda, Kenji Arimitsu, Tetsuya Kajimoto, Shinzo Hosoi, Hiroki Iwasaki, Naoto Kojima, Manabu Node, Masayuki Yamashita: Novel and practical asymmetric synthesis of b2,3-amino esters using asymmetric Michael addition of chiral amine. *Tetrahedron*, **73**, 2014–2021 (2017).
 38. Takuya Matsumoto, Naoto Kojima, Akinobu Akatsuka, Takao Yamori, Shingo Dan, Hiroki Iwasaki, Masayuki Yamashita: Convergent synthesis of stereoisomers of THF ring moiety of acetogenin thiophene analogue and their antiproliferative activities against human cancer cell lines. *Tetrahedron*, **73**, 2359–2366 (2017).
 39. Koki Hasegawa, Shinji Kudoh, Takaaki Ito. Somatostatin receptor staining in FFPE sections using a ligand derivative dye as an alternative to immunostaining. *PLOS ONE*, **12**(2), e0172030 (2017).
 40. Koki Hasegawa, Emi Kawachi, Yoshinari Uehara, Tsuyoshi Yoshida, Satoshi Imaizumi, Masahiro Ogawa, Shin-Ichiro Miura, Keijiro Saku. Improved ⁶⁸Ga-labeling method using ethanol addition; application to the alpha-helical peptide DOTA-FAMP. *J. Labelled Comp. Radiopharm.* **60**(1), 55–61 (2017)
 41. Noriyasu Kamei, Tomotaka Shingaki, Yousuke Kanayama, Misa Tanaka, Riyo Zochi, Koki Hasegawa, Yasuyoshi Watanabe, Mariko Takeda-Morishita: Visualization and quantitative assessment of the brain distribution of insulin through nose-to-brain delivery based on the cell-penetrating peptide noncovalent strategy, *Mol. Pharmaceutics.*, **13**(3), 1004-1011, (2016).
 42. Masako Shimamoto, Kumiko Gotoh, Koki Hasegawa, Akihiro Kojima: Hybrid light imaging using Cerenkov luminescence and liquid scintillation for preclinical optical imaging in vivo. *Mol. Imaging Biol.*, **18**(4), 500-509 (2016).
 43. Akihiro Kojima, Kumiko Gotoh, Masako Shimamoto, Koki Hasegawa, Seiji Okada: Iodine-131 imaging using 284 keV photons with a small animal CZT-SPECT system dedicated to low-medium-energy photon detection. *Ann. Nucl. Med.*, **30**(2), 169-175 (2016).
 44. Wael Abdo Hassan, Ryoji Yoshida, Shinji Kudoh, Hiroki Kameyama, Koki Hasegawa, Kanako Niimori-Kita, Takaaki Ito: Notch1 controls cell chemoresistance in small cell lung carcinoma cells. *Thoracic Cancer*. **7**(1), 123-128 (2016).

学会発表
国際学会

1. Kengo Matsumura, Susumu Nakata, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Susumu Kageyama, Akihiro Kawauchi, and Tatsuhiro Yoshiki: Depletion of γ -glutamylcyclotransferase inhibits cancer cell growth via cellular senescence caused by CDK inhibitor induction. 24th Biennial Congress of the European Association for Cancer Research (Manchester, UK), 2016.7.
2. Natsuki Imaysohi, Makoto Yoshioka, Susumu Nakata, Jay Chauhan, Yoko Kado, Yuki Toda, Steven Fletcher, Jeffrey Strovel, Kazuyuki Takata, and Eishi Ashihara: A novel BRD4 inhibitor CA2 suppresses MM cell proliferation in an orthotopic myeloma mouse model. American Society of Hematology (ASH) 58th Annual Meeting

- (San Diego, USA), 2016. 12. (ASH Abstract Achievement Award 受賞)
3. Kengo Matsumura, Susumu Nakata, Keiko Taniguchi, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Susumu Kageyama, Akihiro Kawauchi, and Tatsuhiro Yoshiki: Depletion of γ -glutamylcyclotransferase inhibits cancer cell growth through cellular senescence induction. 2016 American Society of Cell Biology (ASCB) Annual Meeting (San Francisco, USA), 2016.12.
 4. Hiromi Ii, Taku Yoshiya, Yuji Nishiuchi, Susumu Kageyama, Susumu Nakata, Tatsuhiro Yoshiki: A potent γ -glutamylcyclotransferase (GGCT) inhibitor has antiproliferative activity in malignant tumor cells but not in normal cells. The 8th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences Biomolecule-Based Medicinal Science: Featuring Mid-Size Drugs. (Osaka, Japan), 2016.1.
 5. Mizuki Miyake, Megumi Tsukamoto, Kazuhiro Satake, Susumu Nakata, Tomohisa Ishikawa, Hiroshi Nakagawa: The human ABCG4 transporter confers taxol resistance to cells. The 6th Special Meeting on ABC Proteins - ABC2016: From Multidrug Resistance to Genetic Diseases. (Innsbruck, Austria), 2016.3.
 6. Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Ayaka Deguchi, Yukie Nohara, Tomomi Akiyama, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Synthesis and Evaluation of Substrate-based BACE1 Inhibitors. 20th Korean Peptide Protein Society Symposium, (Yangyang, Korea), 2016.6.
 7. Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenta Teruya, Akira Sanjoh, Atsushi Nakagawa, Eiki Yamashita, Kenichi Akaji: Structure Activity Relationship Study for P1-P1' Site of Transition State Mimic Inhibitors for BACE1. 34th European Peptide Symposium / 8th International Peptide Symposium, (Leipzig, Germany), 2016.9.
 8. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Yoshimi Oda, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Research on alkaloids with anti-melanogenesis effects from the leaves of *Murraya koenigii*. Proceedings of the 9th CSP-KSP-JSP Joint Symposium on Pharmacognosy & 2016 Annual Conference of Committee of Chinese Traditional and Natural Medicines, Chinese Pharmaceutical Association. (Shanghai, China), 2016. 5.
 9. Hisashi Matsuda, Seikou Nakamura, Itadaki Yamaguchi, Makoto Hamao, Masayuki Yoshikawa: Plasma concentrations of biofunctional amide constituents from long pepper in mice. 9th Joint Natural Products Conference 2016. (Copenhagen, Denmark), 2016. 7.
 10. Seikou Nakamura, Zhibin Wang, Souichi Nakashima, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda: Cyanogenetic Glycosides from the Leaves and Stems of *H. macrophylla* and the Flowers of *H. macrophylla* var. *thunbergii*. International Symposium on Natural Products for the Future 2016 Tokushima. (Tokushima, Japan), 2016. 9
 11. Kumiko Gotoh, Koki Hasegawa, Seiji Okada: Visualization of cancer metastasis with radiolabeled ligands of Kiss1 receptors by SPECT. 26th Federation of Asian Pharmaceutical Associations Congress (Bangkok, Thailand), 2016.11.

国内学会

1. 角 陽子、北澤文章、辻本雅之、淵田真一、岡野 晃、初瀬真弓、村頭 智、上田久美、国府孝敏、木村朱李、佐伯 崇、結城絵理子、峯垣哲也、西口工司、芦原英司、島崎千尋：多発性骨髄腫患者におけるレナリドミドの毒性および治療効果を予測するための至適血中濃度。第 41 回日本骨髄腫学会学術集会。

- (徳島), 2016.5.
2. 角 陽子、北澤文章、辻本雅之、淵田真一、岡野 晃、初瀬真弓、村頭 智、上田久美、国府孝敏、入江怜祐、坂下透子、山本瑞紀、峯垣哲也、西口工司、芦原英司、島崎千尋：レナリドミドの個別化投与設計に向けた血中濃度モニタリングの有用性. 第 26 回日本医療薬学会年会. (京都), 2016.9.
 3. Yoko Kado, Fumiaki Kitazawa, Masayuki Tsujimoto, Shin-ichi Fuchida, Akira Okano, Mayumi Hatsuse, Satoshi Murakami, Kumi Ueda, Takatoshi Kokufu, Ryosuke Irie, Tohko Sakashita, Mizuki Yamamoto, Tetsuya Minegaki, Kohshi Nishiguchi, Eishi Ashihara, and Chihiro Shimazaki : Monitoring of lenalidomide levels for prediction of its toxicity and efficacy in myeloma patients. 第 78 回日本血液学会学術集会. (横浜), 2016.10
 4. Kengo Matsumura, Susumu Nakata, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Susumu Kageyama, Akihiro Kawauchi, and Tatsuhiro Yoshiki: Depletion of γ -glutamylcyclotransferase induces cellular senescence by CDK inhibitors Induction. 第 75 回日本癌学会学術総会. (横浜), 2016.10.
 5. Teruki Shimizu, Makou Tomogane, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Chemotherapeutic agent pretreatment enhances the human T cell cytotoxicity against urinary bladder cancer cells. 第 75 回日本癌学会学術総会. (横浜), 2016.10.
 6. Makou Tomogane, Teruki Shimizu, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, and Eishi Ashihara: γ δ T cells exert cytotoxicity against cancer cells regardless of PD-L1 expression in cancer cells. 第 75 回日本癌学会学術総会. (横浜), 2016.10.
 7. Shusuke Fujioka, Yuki Toda, Anna Mosnikova, Oleg A. Andreev, Kazuyuki Takata, Yana K. Reshetnyak, and Eishi Ashihara: PRE-METASTATIC TISSUE ACIDIFICATION) IDENTIFIED BY PH-LOW INSERTION PROBE. 第 53 回ペプチド討論会. (京都), 2016.10.
 8. 芦原英司: 「造血器悪性腫瘍に対する Wnt/ β -catenin シグナルを標的とした創薬研究」第 39 回日本分子生物学会年会. シンポジウム 「ダウン症遺伝子を科学する。~精神発達遅滞、固形がん、白血病の病態メカニズムを解明する~」(横浜), 2016.12.
 9. 黒田絵莉子、高田和幸、河西翔平、戸田侑紀、芦原英司: マウス末梢血由来造血幹細胞からミクログリア様細胞への分化誘導とその機能解析. 日本薬学会 第 137 年会. (仙台), 2017.3.
 10. 甘利圭悟、久米伶奈、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: 骨髄間葉系幹細胞に対する放射線照射の影響. 日本薬学会 第 137 年会. (仙台), 2017.3.
 11. 鶴飼幸永佳、戸田侑紀、川上光、高田和幸、芦原英司: エクソソーム膜脂質より再構成したリポソームのがん細胞移行性評価. 日本薬学会 第 137 年会. (仙台), 2017.3.
 12. 青木沙織, 宇野加奈恵, 吉矢拓, 西内祐二, 飯居宏美, 中田晋, 吉貴達寛: γ -Glutamylcyclotransferase (GGCT) 強制発現細胞を用いた GGCT 阻害剤による細胞増殖抑制効果の検討. 日本薬学会第 136 年会. (横浜), 2016.3.
 13. 吉矢拓, 西内祐二, 飯居宏美, 中田晋, 吉貴達寛: γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼの蛍光基質 LISA-101 の開発とインヒビター探索. 創薬懇話会 2016. (茅野), 2016.6
 14. 三宅美月, 塚本めぐみ, 佐竹一紘, 中田晋, 石川智久, 中川大: ヒト ABCG4 は細胞に Taxol 耐性を与える. 第 11 回トランスポーター研究会年会. (京都), 2016.7.
 15. 藤田貢, 田崎貴之, 奥田武司, 米重あづさ, 中田晋, 山下公大, 加藤天美: MET の膠芽腫幹細胞関連抗原としての可能性. 第 20 回日本がん免疫学会総会. (大阪), 2016.7.
 16. 丹羽悠菜, 三宅美月, 塚本めぐみ, 佐竹一紘, 中田晋, 石川智久, 中川大: ヒト ABCG4 は細胞に Taxol 耐性を与える. 第 89 回 日本

- 生化学会大会. (仙台), 2016.9.
17. 中川大, 三宅美月, 塚本めぐみ, 佐竹一紘, 中田晋, 石川智久: ヒト ABCG4 は細胞に Taxol 耐性を与える. 第 75 回 日本癌学会学術総会. (横浜), 2016.10.
 18. 奥田武司, 藤田貢, 田崎貴之, 中田晋, 山下公大, 吉岡宏真, 泉本修一, 加藤天美: 膠芽腫における MET 発現とベバシズマブの関連性. 第 20 回 バイオ治療法研究会学術集会. (久留米), 2016.12
 19. 谷口恵香, 中田晋, 松村健吾, 飯居宏美, 影山進, 河内明宏, 吉貴達寛: Gamma-glutamylcyclotransferase (GGCT) の発現低下は乳癌細胞にオートファジーを誘導する. 日本薬学会 第 137 年会. (仙台), 2017.3
 20. 齊藤洋平, 山根鉄平, 島田雅史, 加藤圭穂, 久家貴寿, 中山祐治: 抗がん剤抵抗性に及ぼす Hsp105 α の核局在化の関与. 第 63 回 日本生化学会近畿支部例会. (神戸), 2016.5.
 21. 長野悠佑, 齊藤洋平, 久家貴寿, 山岸伸行, 中山祐治: Src によるがん転移誘導と染色体異常との関連性解明を目指した v-Src 誘導発現株の樹立. 第 66 回 日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
 22. 北郷真由絵, 岡田美咲, 海堀祐一郎, 久家貴寿, 齊藤洋平, 中山祐治: 細胞分裂後期特異的なタンパク質のチロシンリン酸化. 第 66 回 日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
 23. 三上大貴, 齊藤洋平, 久家貴寿, 中山祐治: 低酸素誘導因子 HIF-1 の発現および転写活性化における熱ショックタンパク質 Hsp105 の関与. 第 66 回 日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
 24. 岡本菜美子, 手島皓子, 柿花采那, 齊藤洋平, 久家貴寿, 中山祐治: Hsp105 ファミリータンパク質 Hsp105 および Apg の細胞分裂における機能. 第 66 回 日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
 25. 柿花采那, 大東優衣, 齊藤洋平, 久家貴寿, 中山祐治: 分裂制御における分子シャペロンの機能解析. 第 66 回 日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
 26. 抱恵子, 池内正剛, 本田拓也, 久家貴寿, 齊藤洋平, 山口直人, 中山祐治: v-Src による多極紡錘体の形成. 第 39 回 日本分子生物学会年会. (横浜), 2016.12.
 27. 柿花采那, 大東優衣, 齊藤洋平, 久家貴寿, 中山祐治: 熱ショックタンパク質 Hsp105 の分裂期チェックポイントへの関与. 第 39 回 日本分子生物学会年会. (横浜), 2016.12.
 28. 齊藤洋平, 山根鉄平, 島田雅史, 加藤圭穂, 久家貴寿, 中山祐治: 熱ショックタンパク質 Hsp105 α の核局在化と抗がん剤抵抗性への寄与. 第 39 回 日本分子生物学会年会. (横浜), 2016.12.
 29. 久家貴寿, 齊藤洋平, 朝長毅, 中山祐治: FAM83H は新規のがん浸潤関連タンパク質である. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
 30. 手島皓子, 岡本菜美子, 柿花采那, 齊藤洋平, 久家貴寿, 中山祐治: Hsp105/110 ファミリータンパク質の細胞分裂の進行への関与. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
 31. 堀内麻利安, 久家貴寿, 齊藤洋平, 朝長毅, 中山祐治: Src の異常な活性化が細胞分裂異常を誘導する新規機構の解明. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
 32. 海堀祐一郎, 久家貴寿, 齊藤洋平, 中山祐治: 受容体型チロシンキナーゼによる細胞分裂制御機構の解析. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
 33. 三上大貴, 齊藤洋平, 岡本菜美子, 久家貴寿, 中山祐治: HIF-1 の蓄積および転写活性化には Hsp105 が必要である. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
 34. 森広晴香, 鬼頭宏彰, 榊原侑香, 川岸怜子, 大矢進: 前骨芽細胞における中コンダクタンズ Ca²⁺ 活性化 K⁺ チャンネルを介した細胞増殖制御機構の解明. 第 129 回 日本薬理学会近畿部会. (広島), 2016.6.
 35. 榊原侑香, 鬼頭宏彰, 大矢進: マウス前骨芽細胞における内向き整流性 K⁺ チャンネルを介した細胞分化制御. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2016. (仙台), 2016.8.
 36. 下澤基, 升野祐里, 中園裕利華, 鬼頭宏彰, Anowara Khatun, 丹羽里実, 大矢進: アン

- ドロゲン受容体陽性ヒト乳癌細胞における抗アンドロゲン剤によるカルシウム活性化カリウムチャンネル $K_{Ca}1.1$ 転写抑制. 第 66 回日本薬学会近畿支部大会. (大阪), 2016.10.
37. 川岸怜子、鬼頭宏彰、森広晴香、大矢進: マウス前骨芽細胞の中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャンネル阻害による細胞周期制御. 第 130 回日本薬理学会近畿部会. (京都), 2016.11.
 38. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: 骨芽細胞の細胞増殖に対する Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャンネル $K_{Ca}3.1$ の寄与. 第 90 回日本薬理学会年会. (長崎), 2017.3.
 39. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: 前骨芽細胞の細胞増殖における中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャンネル $K_{Ca}3.1$ の役割. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
 40. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: 骨芽細胞の細胞周期進行に対する Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャンネル $K_{Ca}3.1$ の寄与. 第 94 回日本生理学会大会. (浜松), 2017.3.
 41. 河内麻由美、長谷井友尋、川久保慶一、北野祐香、廣本麻里、新井千佳、渡辺徹志: 食品中の新規変異原性物質 ABAQ の分析. 日本薬学会第 136 年会. (横浜), 2016.3.
 42. 古川奈美、クウリバリ スレイマン、阿部真帆、北村重晴、久保裕希、河瀬裕美、中大路友亮、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志: 黄砂飛散と大気中のタンパク及びエンドトキシン濃度の関係. 日本薬学会第 136 年会. (横浜), 2016.3.
 43. 高橋明日香、吉村亜季、繁多敬久、大西結衣、関奈緒子、野村春菜、長谷井友尋、ルンドステット ステファン、渡辺徹志: スウェーデン産業廃棄物処理場の表層土壌の変異原性物質の検索. 日本薬学会第 136 年会. (横浜), 2016.3.
 44. 草野穂、高橋一輝、西川太介、古川綾乃、長谷井友尋、中村誠宏、松田久司、渡辺徹志: 陳皮中に含まれる抗変異原性物質の探索. 日本薬学会第 136 年会. (横浜), 2016.3.
 45. 中田有美、長谷井友尋、阪口真臣、和田光弘、米田真希、白石祥一、池盛文数、渡辺徹志: 表層土壌中の強変異・がん原性物質 3,9-dinitrofluoranthene 及び 1,3-, 1,6-, 1,8-dinitropyrene 異性体、1,3,6-trinitropyrene の分析. 日本薬学会第 136 年会. (横浜), 2016.3.
 46. 住居潤美、久野翔平、間瀬裕子、今堀大輔、住田大志、横川玲奈、長谷井友尋、渡辺徹志: Glucose と L-tryptophan のメイラード反応により生成する新規変異原性物質の分離および同定. 日本薬学会第 136 年会. (横浜), 2016.3.
 47. 川添智子、新開史崇、河合佑季、小池真生子、長谷井友尋、渡辺徹志: 茶中の 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene の定量分析及び茶の抗変異原性の評価. 日本薬学会第 136 年会. (横浜), 2016.3.
 48. 松本崇宏、中村誠宏、斎藤菜月、川添智子、長谷井友尋、月岡淳子、渡辺徹志、松田久司: ヒキオコシ地上部からの抗変異原性成分探索研究. 日本生薬学会第 63 回年会富山 2016. (富山), 2016.9.
 49. 長谷井友尋、川本明佳、彦坂好美、松本崇宏、岩本憲人、渡辺徹志: 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene の *in vivo* DNA 付加体形成. フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー. (東京), 2016.9.
 50. Mohammad Shahriar Khan, Maho Abe, Nami Furukawa, Yuuki Kubo, Shigeharu Kitamura, Yusuke Nakaoji, Kawase Yumi, Tomohiro Hasei, Takahiro Matsumoto, Yuya Deguchi, Nobuyuki Yamagishi, Tetsushi Watanabe: Seasonal Fluctuation of Lipopolysaccharide on Airborne Particles and Relation with Asian Dust. フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー. (東京), 2016.9.
 51. 川本明佳、長谷井友尋、彦坂好美、松本崇宏、岩本憲人、渡辺徹志: 3,6-Dinitro[e]pyrene の *in vivo* における DNA 付加体形成. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
 52. 金山堇玲、松本崇宏、中野結華、高橋一輝、

- 井上枝里子、吉備万純、長谷井友尋、渡辺徹志：和歌山県産レモン (*Citrus limon*) 果皮からの生体機能性成分の探索. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
53. 井上枝里子、松本崇宏、金山堇玲、中野結華、吉備万純、高橋一輝、長谷井友尋、渡辺徹志：和歌山県産レモン (*Citrus limon*) 果皮抽出エキスおよび含有成分の抗変異原性. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
54. 住田大志、間瀬裕子、今堀大輔、住居潤美、長谷井友尋、松本崇宏、渡辺徹志：Glucose と tryptophan の生体内モデルメイラード反応により生成する新規変異原性物質の分離・精製. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
55. 吉村亜季、高橋明日香、大西結衣、長谷井友尋、松本崇宏、Staffan Lundstedt、渡辺徹志：産業廃棄物処理場の土壤中に含まれる変異原性物質の検索. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
56. 河瀬裕美、モハメド シャリアー カーン、阿部真帆、北村重晴、久保祐希、古川奈美、中大路友亮、松本崇宏、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志：佐世保市・京都市における大気粉塵中の LPS、タンパク質、イオンの定量及び季節変動. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
57. 中大路友亮、モハメド シャリアー カーン、阿部真帆、北村重晴、久保祐希、古川奈美、河瀬裕美、松本崇宏、長谷井友尋、出口雄也、渡辺徹志：黄砂期間中における佐世保市・京都市の総浮遊粒子状物質中の LPS、タンパク質およびイオン濃度の比較. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
58. 渡辺徹志、尾竹茉莉奈、蟹江静、松本崇宏、長谷井友尋、鹿内正孝、小林博、岡田太：発酵玄米 (FBRA) の *in vitro* 及び *in vivo* における抗変異原性. 日本環境変異原学会 45 回大会. (つくば), 2016.11.
59. 長谷井友尋、川本明佳、彦坂好美、松本崇宏、岩本憲人、渡辺徹志：3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene による *in vivo* DNA 付加体形成. 日本環境変異原学会 45 回大会. (つくば), 2016.11.
60. 武本夕貴子、服部恭尚、真壁秀文：立体選択的なアミノパラデーションを用いた (-)-isosolenpsin と (+)-monomorine の合成研究. 日本農芸化学会大会. (京都) 2017.3.
61. 河原誠一、高畑光希、須田真人、戸田一弥、松本桐子、加藤幸、服部恭尚、梅澤公二、真壁秀文、藤井博：ブドウ梗から単離された抗腫瘍活性成分の構造と flavan-3-ol 重合体の合成研究. 第 58 回天然有機化合物討論会. (仙台) 2016.9.
62. 大西康司、服部恭尚、小林数也、嶋本康広、照屋健太、三城明、赤路健一：デカヒドロイソキノリン骨格を基盤とする新規縮環型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計・合成と複合体解析. 第 46 回複素環化学討論会. (金沢), 2016.9.
63. 小林数也、出口綾香、菊池真理、井尻咲、服部恭尚、赤路健一：HEA 型 BACE1 阻害剤の構造最適化を目指した合成法の開拓. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (大阪), 2016.10.
64. 川島浩之、片山萌衣、吉田凌太、赤路健一、浅野晶子、土井光暢：ヒトカルシトニンの 13 位-32 位のアミノ酸配列に着目した二量体モデルの合成と凝集性の評価. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
65. Shiho Mikawa, Chiharu Mizuguchi, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Teruhiko Baba, Akira Shigenaga, Toshinori Shimanouchi, Norihiro Kobayashi, Akira Otaka, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito: Effect of heparin on amyloid fibril formation of apoA-I fragment peptides. 第 53 回ペプチド討論会. (京都), 2016.10.
66. 吉澤慎一郎、服部恭尚、小林数也、大西康司、足尾真美、越野裕貴、山中優季、赤路健一：オクタヒドロイソクロメン骨格構築を基盤とする縮環型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成. 第 42 回反応と合成の進歩シンポジウム. (静岡), 2016.11.
67. 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、小林数也、服部恭尚、赤路健一：オクタヒドロイソクロメン骨格を基盤とする縮環型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成. 日本薬学会第

- 137 年会. (仙台), 2017.3.
68. 大西康司、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、照屋健太、赤路健一: デカヒドロイソキノリン骨格を基盤とする新規縮環型 SARS 3CLprotease 阻害剤の設計と合成. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
69. 城竈大輝、小林数也、服部恭尚、赤路健一: N-アミジノペペリジン型 BACE1 阻害剤の合成. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
70. 中村誠宏、岸本真里子、中嶋聡一、松本崇宏、関家聡美、松田久司: ベンゾ [a] ピレン誘発細胞障害に対する保護物質の探索② —ヒキオコシ含有成分の保護作用—. 日本生薬学会第 63 回年会富山 2016. (富山), 2016.9.
71. 中嶋聡一、増本優介、中村誠宏、太田智絵、谷美友紀、矢野真実子、平井大策、山岡加奈、米田太一、笠 詩織、松田久司: ワサビノキ葉部の神経細胞様分化促進作用. 日本生薬学会第 63 回年会富山 2016. (富山), 2016.9.
72. 古川香矢、中嶋聡一、中村誠宏、松本崇宏、関家聡美、岸本真里子、松田久司: ベンゾ [a] ピレン誘発細胞障害に対するヒキオコシの保護作用物質. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
73. 中嶋聡一、中村誠宏、松田久司: 老化によるアルツハイマー病治療を目指した神経細胞分化促進作用物質の探索. 第 21 回天然薬物の開発と応用シンポジウム (千葉), 2016.10
74. 笠 香織、中村誠宏、中嶋聡一、中田 葵、山添晶子、松本朋子、太田智絵、小川慶子、深谷 匡、吉川雅之、松田久司: 伝承薬物カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) 菌核成分およびその誘導体の生体機能. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2016.3.
75. 小川慶子、中村誠宏、中嶋聡一、浅田裕美子、齋藤菜月、太田智絵、深谷匡、松田久司: クロタネソウ (*Nigella damascena*) 種子の機能性成分 oxazonigelladine 及び damasterpene I, II の構造決定について. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2016.3.
76. 深谷 匡、中村誠宏、中嶋聡一、松本朋子、林 雅子、太田智絵、小川慶子、松田久司: コウホネ (*Nuphar japonicum*, 根茎) およびネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*, 根茎) 含有アルカロイドの生体機能性. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2016.3.
77. 矢野真実子、中嶋聡一、谷 美有紀、川端 諒、中村誠宏、松田久司: カルバゾール型アルカロイドの PC12 細胞分化促進作用. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2016.3.
78. 松本卓也、小島直人、伏見哲也、岩崎宏樹、山下正行: ピリミジン環をメチレンアミンで連結したアセトゲニン誘導体の合成と生物活性評価. 第 36 回有機合成若手セミナー 明日の有機合成を担う人のために. (京都), 2016.8.
79. 井上暁斗、岩崎宏樹、小畑久美、小関 稔、小島直人、山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体の合成研究. 第 36 回有機合成若手セミナー 明日の有機合成を担う人のために. (京都), 2016.8.
80. 岩崎宏樹、澤村隆志、井上暁斗、小畑久美、小関 稔、小島直人、山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発. 第 46 回複素環化学討論会. (金沢), 2016.9.
81. 松本卓也、小島直人、伏見哲也、岩崎宏樹、山下正行: ピリミジン環を有するアセトゲニン誘導体の複素環連結部位の生物活性への影響. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
82. 岩崎宏樹、井上暁斗、小畑久美、小関 稔、小島直人、山下正行: ヨウ化サマリウムを用いた 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発検討. 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会. (大阪), 2016.10.
83. 松本卓也、小島直人、伏見哲也、岩崎宏樹、山下正行: ピリミジン環を連結したアセトゲニン誘導体の複素環連結部位に関する構造活性相関研究. 第 34 回メディシナルケミストリーシンポジウム. (つくば), 2016.11.
84. 小島直人: バンレイシ科アセトゲニン類をリードとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究. 大阪大学大学院薬学研究科天然物化学分野セミナー. (大阪), 2017.1.

85. 平田優里、田中 徹、栗林英理、武知理菜子、安達未稀、北井佳奈子、岩井佑未南、山田裕平、山西涼菜、小島直人、岩崎宏樹、山下正行: 2-oxo-2H-pyran-3-carboxylate 体とアルケンの [2+2] 光環化付加反応による 2-oxo-3-oxabicyclo[4.2.0]oct-4-ene-1-carboxylate 体の合成. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
86. 井上暁斗、岩崎宏樹、畑中彩花、謝 一成、小畑久美、小関 稔、小島直人、山下正行: アルキンをラジカル受容体とした新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
87. 山西光咲、小森沙織、籠 由布子、国立悠里、馬場ゆうみ、河野大貴、倉橋卓秀、本光由佳梨、山下正行、小島直人、岩崎宏樹、細井信造: ビナフチル型 CD 発色試薬による decahydro-4a-methyl-2-naphthalenol 類の誘導体化およびそれらの CD スペクトルの挙動について. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
88. 小島直人、崔 秀リ、松本卓也、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニンチオフェン誘導体の水溶性アナログの合成研究. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
89. 松本卓也、小島直人、岩崎宏樹、山下正行: アセトゲニン誘導体の複素環連結部位にメチレンアミンを導入することによる生物活性への影響. 日本薬学会第 137 年会. (仙台), 2017.3.
90. 長谷川功紀、伊藤隆明: リガンド誘導体を用いた受容体染色剤の開発. 日本薬学会年会第 136 年会. (横浜), 2016.3.
91. 長谷川功紀、前泊里佳、伊藤隆明: リガンド誘導体染色法を用いたコレシストキニン受容体の検出. 第 57 回日本組織細胞化学会総会・学術集会. (東京), 2016.9.
92. 前泊里佳、長谷川功紀、伊藤隆明: 肺癌における kisspeptin Receptor(GPR54)の発現. 第 57 回日本組織細胞化学会総会・学術集会. (東京), 2016.9.
93. Koki Hasegawa, Rika Maedomari, Shinji Kudoh, Takaaki Ito: Detection of cholecystokinin receptor in formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections using CCK8 derivative. 第 53 回ペプチド討論会. (京都), 2016.10.
94. 長谷川功紀、前泊里佳、後藤久美子、古嶋昭博、伊藤隆明: Kiss1 受容体発現腫瘍スクリーニングと ^{67}Ga -DOTA-Kisspeptin10 を用いた SPECT イメージング. 第 56 回日本核医学会学術総会. (名古屋), 2016.11.

以上

News Letter Volume 2

2017 年 8 月 編集・発行

文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業

「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」

News Letter 編集委員

〒607-8414 京都市山科区御陵中内町 5

Tel: 075-595-4706

FAX: 075-595-4796

文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 新規分子標的治療薬創薬に向けた 大学発ベンチャー基盤の確立

2017年度 Annual Meeting

日時: 2017年9月1日 (金) 13:50 ~ 17:30

場所: 京都薬科大学・A31講義室 (講演会会場) + A32講義室前 (ポスター会場)

参加登録方法: 直接会場までお越し下さい (入場無料)。

学部生・大学院生・教職員どなたでもご自由に参加ください。

プログラム

- 13:50 開会挨拶 後藤 直正 (京都薬科大学・学長)
- 13:55 概要説明 研究代表者: 芦原 英司 (シーズ発掘・バリデーションGrリーダー)
- 14:10 口頭発表 「共同研究の進捗報告」
①転移班、②アセトゲニン班
③Wnt/ β -catenin班、④BACE1班
- 15:30 Poster Viewing
- 16:15 特別講演
「HIF-1の生物学: 基礎研究から創薬研究への展開」
原田 浩 (京都大学大学院 生命科学研究科 がん細胞生物学 教授)
- 17:15 総評
酒井 敏行 先生 (京都府立医科大学大学院 医学研究科 分子標的癌予防医学 教授)
高須 清誠 先生 (京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 教授)
- 17:25 閉会挨拶 赤路 健一 (合成・相互作用解析Grリーダー)

本プロジェクトは、京都薬科大学独自の薬効評価系と創薬化学研究基盤を有機的に融合させ、シーズの発掘・ライセンスアウトを目指しています。本シンポジウムは、採択後2年間の中間成果報告を目的として開催します。

連絡先: 〒607-8414 京都市山科区御陵中内町5

京都薬科大学 病態生理学分野

芦原 英司 (研究代表者)

TEL: 075-595-4706

E-mail: bunshihyoteki@mb.kyoto-phu.ac.jp

薬学の未来をつくる



京都薬科大学

2017 年度（平成 29 年度）
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた
大学発ベンチャー基盤の確立

Annual Meeting

講演抄録集

日時：2017 年 9 月 1 日（金） 13:50 ～ 17:30

場所：京都薬科大学 愛学館 3 階

A31 講義室（愛学ホール） + A32 講義室前



京都薬科大学

プログラム

日時：2017年9月1日（金） 13:50～17:30

13:50～13:55 開会挨拶 後藤直正（京都薬科大学 学長）

13:55～14:10 概要説明 芦原英司（研究代表者、
シーズ発掘・バリデーション Gr リーダー）

14:10～15:30 口頭発表

第一部 「共同研究の進捗報告」

座長：服部恭尚（共同利用機器センター）
（口演：15分、質疑応答：5分）

14:10～14:30 ①「クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製」
病態生理学分野 杉山雄輝、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司
生薬学分野 中村誠宏
薬品製造学分野 山下正行
共同利用機器センター 長谷川功紀
公衆衛生学分野 長谷井友尋

14:30～14:50 ②「マウス脳腫瘍幹細胞を用いたアセトゲニン誘導体がん治療薬の開発」
臨床腫瘍学分野 中田 晋
薬品製造学分野 小島直人

座長：小島直人（薬品製造学分野）
（口演：15分、質疑応答：5分）

14:50～15:10 ③「Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索」
病態生理学分野 若林亮介、芦原英司
共同利用機器センター 服部恭尚
公衆衛生学分野 長谷井友尋
薬品化学分野 小林数也、赤路健一

15:10~15:30 ④「相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究」
薬品化学分野 小林数也

第二部 「Poster Viewing」

15:30~16:15 ポスター発表 (1)~(28) 閲覧

16:15~17:15 特別講演

座長：芦原英司（病態生理学分野）

「HIF-1 の生物学：基礎研究から創薬研究への展開」

原田 浩 教授（京都大学 大学院生命科学研究科 がん細胞生物学）

17:15~17:25 総評 外部評価員

酒井敏行 教授（京都府立医科大学大学院 医学研究科 分子標的癌予防医学）

高須清誠 教授（京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野）

17:25~17:30 閉会挨拶

赤路健一（合成・相互作用解析 Gr リーダー）

はじめに

病態生理学分野

芦原英司（研究代表者）

2015 年度に採択いただきました私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」は今年度で 3 年目を迎えました。本学教職員の皆様のご支援、ご指導のおかげをおもちまして、概ね順調に進んでいるように感じております。この場を借りまして御礼申し上げます。

本プロジェクトでは、京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させることにより、超高齢者社会における健康長寿生活の実現に貢献できる“大学発創薬ベンチャー”基盤を確立することを目的としております。対象疾患として悪性腫瘍と認知症に焦点を絞り、

- ① 新たな創薬・予防薬シーズを発掘し、ライセンスアウトをめざした産学連携プラットフォーム構築による、“山科から世界へ”の新規分子標的治療薬の発信
- ② 創薬開発研究を通じて新たな“知の創造”をめざし、わが国の将来の薬学研究を牽引する次世代の基礎ならびに臨床薬学研究者の育成

を目指してまいりました。プロジェクト参画研究者の研究進捗を確認する small meeting を年 2 回行うとともに、発掘されたそれぞれのシーズについて“シーズ発掘・バリデーショングループ”と“合成・相互作用解析グループ”間で密な議論を行うことで連携研究を進めてきました。その結果、今までの成果を基に 4 つのシーズに絞り込み、今後共同研究を推進していくことにいたしました。

今回の Annual Meeting は本プロジェクトの中間報告会と位置づけまして、絞り込みました 4 つの共同研究グループの報告を口頭発表で行います。また本プロジェクトに参画する各研究者の研究進捗につきましては、ポスター発表で報告させていただきます。

特別講演といたしましては、京都大学 放射線生物研究センター ゲノム動態研究部門 がん細胞生物学 教授 原田 浩先生にお越しいただき、原田先生のライフワークであります低酸素環境におけるがん細胞生物学に基づいた創薬研究についてご講演いただきます。

また外部評価員として、京都府立医科大学大学院医学研究科 分子標的癌予防医学 酒井敏行教授、ならびに京都大学大学院薬学研究科 薬品合成化学分野 高須清誠教授にお越しいただき、本報告会のご評価をいただきます。

学部生、大学院生、教職員の皆さま、多数のご参加をお待ちしております。活発なご議論をいただき、有意義な中間報告会といたしたく存じます。よろしく願い申し上げます。

口頭発表①

クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製

病態生理学分野	杉山雄輝、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司
生薬学分野	中村誠宏
薬品製造学分野	山下正行
共同利用機器センター	長谷川功紀
公衆衛生学分野	長谷井友尋

薬学・医学の進歩により、多くの抗がん剤、分子標的治療薬が輩出されているが、悪性腫瘍の転移抑制薬として十分な効果を有するものはほとんどなく、より有効な転移抑制薬の創製は最重要課題の一つである。我々は生薬学分野の所有する化合物ライブラリーから、転移抑制化合物のスクリーニングを行い、その結果クマリン系化合物 daphnetin が、マウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞の浸潤および遊走を抑制することを世界で初めて明らかにした (Fukuda M, et al, *BBRC*, 2016)。次に Daphnetin をもとに構造活性相関研究を行い、新規化合物 KPU-Shoyaku 192 が Daphnetin よりも強く用量依存性に LM-8 細胞の浸潤・遊走を抑制し (図 1)、細胞骨格タンパク質であるアクチンの重合に関わる RhoA、Rac1、FAK のタンパク質発現を減少させることを確認している (図 2)。

現在、引き続き KPU-Shoyaku 192 をヒット化合物として構造活性相関解析を行い、より強力に LM-8 細胞の浸潤・遊走を抑制する新規クマリン系化合物を探索中で、KPU-Shoyaku 192 の標的分子の探索、遺伝毒性の評価も開始しており、本クマリン系化合物の誘導体に基づくがん転移抑制薬の創製をめざしている。

図1 KPU-Shoyaku 192の浸潤/遊走抑制

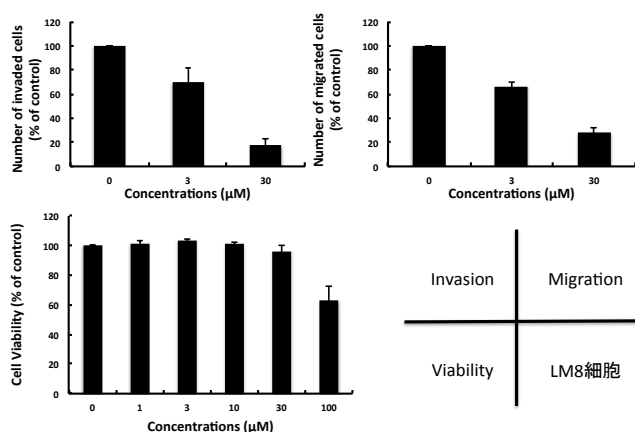
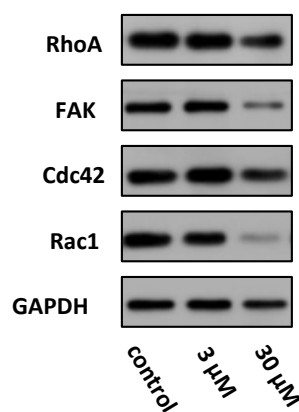


図2 KPU-Shoyaku 192 Western blotting



口頭発表②

マウス脳腫瘍幹細胞を用いたアセトゲニン誘導体がん治療薬の開発

臨床腫瘍学分野 中田 晋
薬品製造学分野 小島直人

脳腫瘍の一種である膠芽腫は成人において最も頻度が高く、臨床的には外科的手術、放射線治療、抗がん剤治療、また近年では分子標的治療を組合せた集学的治療が行われるが、膠芽腫の治療成績は、5年生存率 10% 未満と極めて予後不良である。従って、これまでにない膠芽腫に対する新規治療法を開発することが必要である。近年本学臨床腫瘍学分野では、近畿大学 藤田貢博士と共同で、自発症型マウスモデルの生体腫瘍組織から膠芽腫幹細胞を分離する系を確立している。このモデルは、Sleeping Beauty トランスポゾンを用いて p53 に対する shRNA、EGFR の変異体、Ras の変異体を生体内に導入して自発症させる脳腫瘍モデルマウスである。本モデルからニューロスフェア法を用いて、Prom-1/Sox2/Msi1 および Lgr5 等の幹細胞マーカー遺伝子を発現し、100 細胞から 1,000 細胞の同所性移植により腫瘍形成する培養株を複数樹立してきた。

一方、本学薬品製造学分野では、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるアセトゲニン類と呼ばれるポリケチドに着目し、抗癌剤開発を目指した構造活性相関研究を推進してきた。これまでに天然物アセトゲニン的一种である solamin の分子末端に存在する γ -ラクトン環をチオフェン環に変換し、アミド結合で連結した誘導体 JCI-20679 は、担癌マウスにおいて副作用を起さずに抗腫瘍活性を示すこと、癌細胞株パネルを用いて既存の薬剤の GI_{50} スペクトラムとの比較解析でビグアナイド系薬剤との有意な相関を示すこと、ミトコンドリア複合体 I の阻害活性を有することを見いだしている。

そこで本研究では、アセトゲニン誘導体 JCI-20679 のさらなる作用機序の解明と脳腫瘍幹細胞に対する効果を検証することを目的とした。JCI-20679 は 100nM 付近の濃度で脳腫瘍幹細胞の増殖を顕著に抑制し、BrdU 取り込み陽性細胞の減少と、AnnexinV 陽性早期アポトーシス細胞死の誘導がみられた。メトホルミン等のビグアナイド系薬剤が代謝ストレスのセンサー分子である AMPK のリン酸化を誘導することが知られているため検討したところ、JCI-20679 により AMP/ATP 比の上昇を伴うリン酸化型 AMPK の増加を認めた。しかしながら、AMPK のリン酸化調節サブユニットのノックダウンによってリン酸化型 AMPK の増加を阻害しても細胞増殖抑制効果の減弱が見られなかったことから、AMPK 非依存的な経路の存在が示唆された。そこで、現在、MAPK 経路を中心としたシグナル伝達系への影響と Bcl-2 関連蛋白等のアポトーシスシグナル系について解析中であり、進捗状況を報告する。

口頭発表③

Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索

病態生理学分野 若林亮介、芦原英司
共同利用機器センター 服部恭尚
公衆衛生学分野 長谷井友尋
薬品化学分野 小林数也、赤路健一

Wnt/ β -catenin 経路は、初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などのいくつかの生命現象に重要な働きを持つとともに、本経路の恒常的活性化は、種々の悪性腫瘍の病態に深く関わっており、Wnt/ β -catenin シグナル経路はさまざまながん種に対する治療標的として非常に有望な経路である [Yao H., Ashihara E., Maekawa T., *Expert Opin. Ther. Targets*, **15**, 873-887 (2011)]. 我々は HEK293 細胞に 8xTOP-flush プラスミドを導入し、クローニング後樹立した TOP 細胞を用い、本学所有の化合物ライブラリーの中から本経路阻害化合物の探索を行ってきた。その結果、既存の Wnt/ β -catenin 経路阻害剤 ICG-001 より強力に本経路を阻害するヒット化合物 (#37) を発掘した (図 1)。化合物 #37 は大腸がん (図 2)、乳がん、膵臓がん、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病の細胞株に対して *in vitro* の実験で抗腫瘍効果を示した。さらに *Salmonella Typhimurium* を用いて #37 の遺伝毒性試験を行ったが、遺伝毒性は認められなかった。今後、構造の最適化を進めるとともに、Wnt/ β -catenin 経路の標的分子の同定を行うための分子プローブ化を行う。

図 1 ヒット化合物 #37
ルシフェラーゼアッセイ

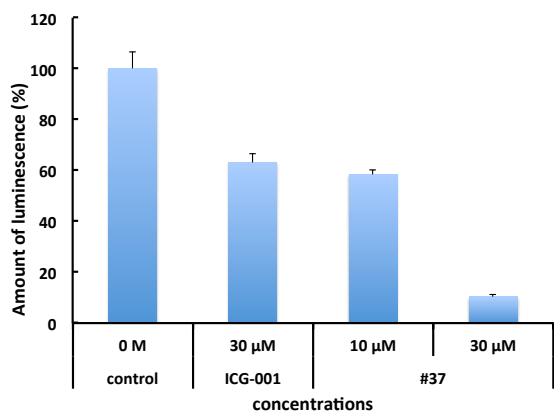
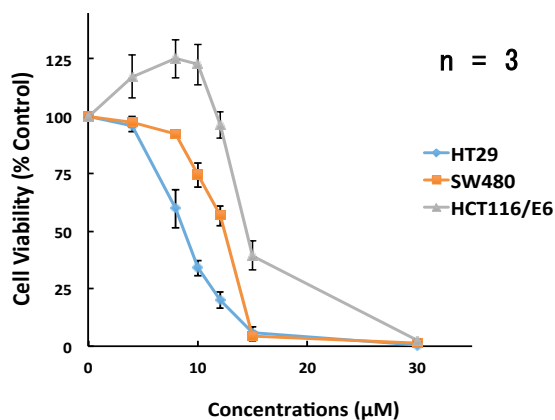


図 2 ヒト大腸がん細胞株 (#37)
抗腫瘍効果



口頭発表④

相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究

薬品化学分野 小林数也

アルツハイマー病の発症原因と考えられているアミロイド β ペプチドは、BACE1 (β -site APP cleaving enzyme) と γ セクレターゼによりアミロイド β 前駆体タンパク質 (APP: amyloid precursor protein) が切断されることで産生する。そのため、BACE1 はアルツハイマー病治療薬開発における重要な創薬標的の一つとして精力的に研究がなされている。

我々はこれまでに、独自に見出した高親和性基質配列とヒドロキシエチルアミン (HEA) 型イソスターを組み合わせた新規ペプチド性 BACE1 阻害剤の合成と活性評価を行っている。本研究では、誘導体 1 と BACE1 との共結晶の結晶構造解析の情報に基づき、(1) P1' 位芳香環への官能基の導入と、(2) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入、という 2 つのアプローチから更なる高活性誘導体の探索を行った (Fig. 1)。

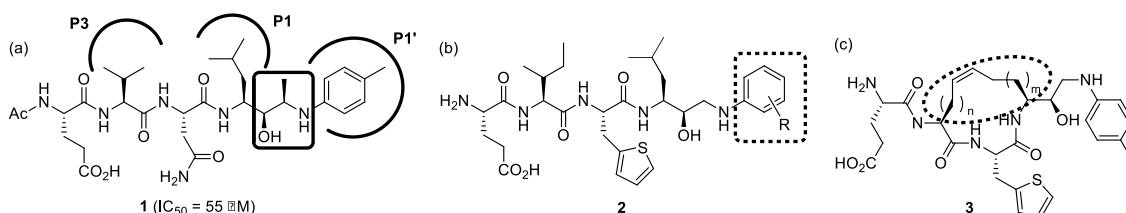


Fig. 1. (a) HEA 型 BACE1 阻害剤、(b) P1' 芳香環への官能基の導入、(c) P1-P3 間への架橋構造の導入

また我々は、上記ペプチド性阻害剤の開発研究と並行して、低分子 BACE1 阻害剤の開発研究を行っている。本研究では、低分子 BACE1 阻害剤のコア構造として近年数多く報告されている非平面性環状アミジン構造 4 に着目し、新規骨格として *N*-アミジノ含窒素環状骨格 5 を考案した。本骨格に基づき、*N*-アミジノピロリジン型阻害剤 6 と *N*-アミジノピペリジン型阻害剤 7 をデザインし、それぞれについて種々置換基を有する誘導体の合成と活性評価を行った (Fig. 2)。

本発表では、これら 2 つの BACE1 阻害剤開発研究の進捗について報告する。

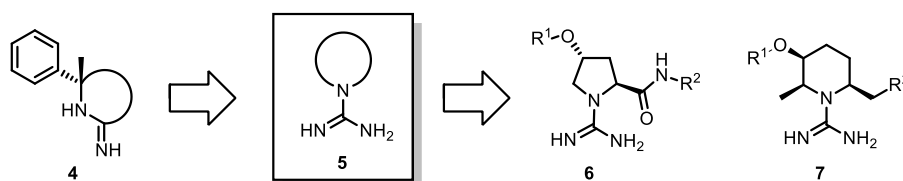


Fig. 2. 非平面性環状アミジン骨格と *N*-アミジノ含窒素環状骨格

機械学習を用いた細胞計測法の開発

病態生理学分野

吉澤正人、玉井志保里、杉山雄輝、戸田侑紀、高田和幸、
芦原英司

臨床薬学教育研究センター 矢野義孝

現在我々は、転移抑制化合物のスクリーニングにあたり、トランスウェルチャンバーを用いた Invasion & Migration assays を行い、インサートの底部に移動した細胞を染色後目視にて数えることによって、転移抑制効果を評価している。しかし、細胞を数えるという作業を成し遂げるには相当な根気と時間を要する。我々はこの作業の効率化を図るために、ImageJ の画像処理パッケージである Fiji およびそのプラグインである Trainable Weka Segmentation (TWS) を用いて、細胞の細胞核を機械学習させ、細胞を自動カウントするプログラムの作製に挑戦した。

川骨由来化合物のスクリーニング結果に対して機械学習による自動カウントを適用した。次に、自動カウントによって計測した細胞数と目視によるカウントによって計測した細胞数に対して、ピアソンの相関係数 (r) および決定係数 (R^2) を求めた (Fig. 1)。有意水準 5% において、 $r = 0.976$ および $R^2 = 0.952$ で相関ありと判定された。また、Slope = 0.931 より、自動カウントによって計測された細胞数は目視によるカウントによって計測された細胞数とほぼ等しいと考えられる。さらに、各薬物濃度群 (薬物濃度 0, 1, 10 μM) での自動カウントと目視によるカウントに対して有意水準 5% において t 検定を行ったところ、それぞれの濃度での群間で有意な差を示さなかった (Fig. 2)。以上のことから、作製した自動カウントは目視によるカウントの代替物となりうると考えられる。今後、自動測定法を実用化し、効率的に評価していく。

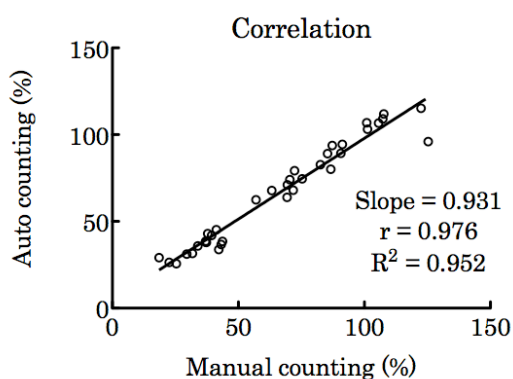
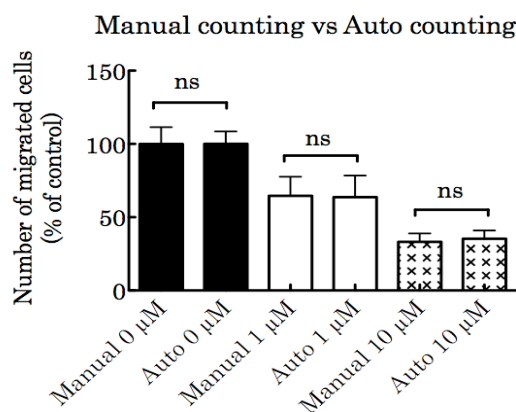


Fig. 1 : Correlation between the manual counting and the auto counting



KPU-Shoyaku 201
ns : not significant, Unpaired t - test, respectively
Fig. 2 : The manual counting vs the auto counting

ポスター発表 (2)

川骨由来化合物におけるがん転移抑制効果

病態生理学分野 吉澤正人、玉井志保里、杉山雄輝、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司
生薬学分野 中村誠宏

近年、多くの抗がん剤、分子標的治療薬が創製されている。しかしながら、がん患者における死の原因の1つである転移を抑制する医薬品として十分な効果を発揮するものはほとんど存在しない。よって、有効な転移抑制薬を創製することは重要な課題の1つである。我々はがんの転移プロセスである浸潤および遊走を抑制する化合物を見出すことが、有用な転移抑制薬の創製につながると考え、生薬学分野の所有する化合物ライブラリーから転移抑制化合物としての機能評価を行っている。今回我々は KPU-Shoyaku # 201 - 206 の機能を、トランスウェルチャンバーを用いた Invasion & Migration assays にて評価した。基底膜に見立てたマトリゲルを敷いたインサート (Invasion assay)、およびマトリゲルを敷かないインサート (Migration assay) 内に LM8 細胞を浮遊し、誘因物質として FCS (最終濃度 1%) を用い、各インサートに KPU-Shoyaku # 201 - 206 を添加した。24 時間後インサートの底部に移動した細胞をメタノールで固定し、ギムザ染色液で 15 分間染色した。染色した後、インサートの底部に移動した細胞を顕微鏡で撮影し、撮影した画像中の細胞を目視にてカウントし、浸潤および遊走した細胞として算出した。その結果、川骨由来化合物が用量依存性に LM8 細胞の浸潤・遊走を抑制することを確認した (Figure)。今後、さらに川骨由来化合物のスクリーニングを続け、標的分子の同定や構造活性相関の解明を行い、リード化合物の創製を目指す。

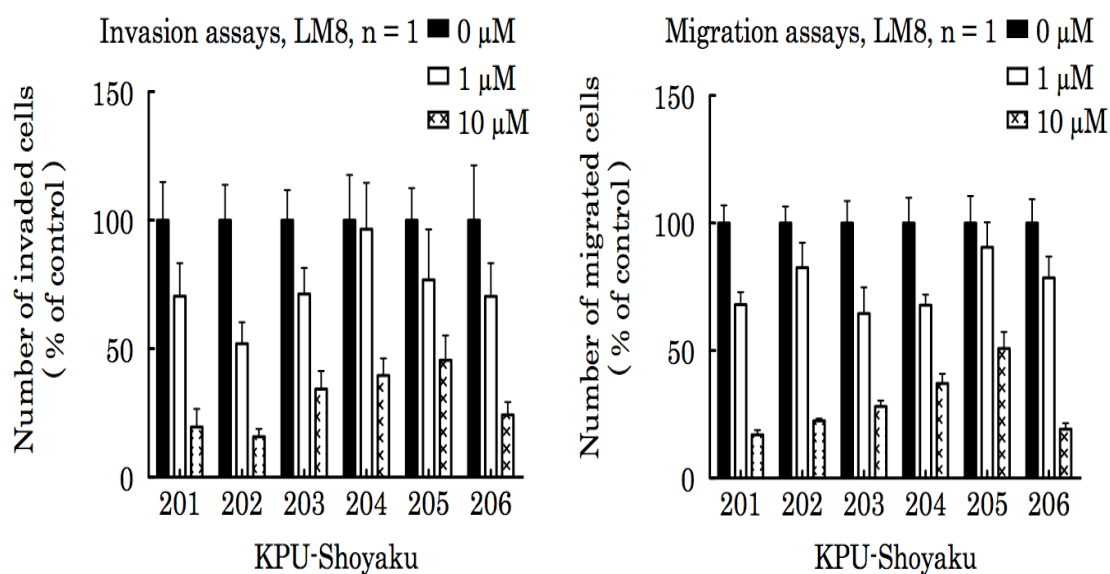


Figure : Invasion (left) & Migration assays (right)

ヒト膵がん細胞に対する新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の効果

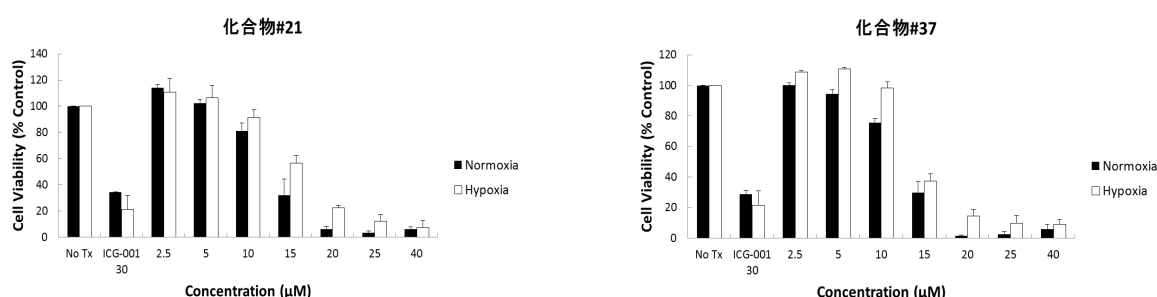
病態生理学分野 三好美早紀、若林亮介、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司
 共同利用機器センター 服部恭尚
 薬品化学分野 石地真邑、荻原瑠美、細谷早希、嶋本康広、小林数也、赤路健一

Wnt/ β -catenin 経路は、初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などに働きを持つ。特に内胚葉性臓器の形成に重要なシグナル経路で、消化器悪性腫瘍における腫瘍形成に関与している。我々は本学所有の化合物ライブラリーの中から Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物の探索を行い、本経路を阻害し創薬シーズとして有効な化合物を発掘してきた。本研究では、これら Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物の膵がん細胞株に対する抗腫瘍効果を検討した。

ヒト膵がん細胞株として AsPC-1 細胞を用い、化合物#21、37 の抗腫瘍効果を検討した。化合物#21、37 とともに AsPC-1 細胞の増殖を用量依存的に抑制した。さらに β -catenin タンパク質の発現、下流シグナルである SURVIVIN、c-MYC のタンパク質の発現を抑制した。以上より、我々が発掘した化合物#21 および#37 は膵がん細胞の増殖を抑制する新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害剤であることが示唆された。

膵がん組織の血管支配は乏しく低酸素環境下に生存している。悪性腫瘍における低酸素環境部位にはがん組織を形成・維持できるがん幹細胞が存在し、このことが一般抗がん剤に抵抗性を示す一因である。これらのことから我々は、1%O₂ 下にて4週間以上の長期生存可能な AsPC-1-HA 細胞株を樹立し、新規化合物#21 と#37 の抗腫瘍効果も検討した。その結果、AsPC-1-HA 細胞は現在膵がん治療の標準的治療薬である Gemcitabine に治療抵抗性を示したが、化合物#21、37 は 20%O₂ 環境下の AsPC-1 細胞に対する効果とほぼ同等に、用量依存的に増殖を抑制した (下図)。

以上のことから、新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物#21、37 は、膵がんに対する有効な分子標的治療薬となる可能性があることが示唆された。今後は、標的タンパク質を同定し、最適化した化合物の創製を目指す。



新規 Wnt/ β -カテニン経路阻害剤は TGF- β 刺激による A549 ヒト非小細胞肺癌細胞株の遊走を抑制する

病態生理学分野 磯村拳一、若林亮介、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司

共同利用機器センター 服部恭尚

薬品化学分野 嶋本康広、小林数也、赤路健一

近年、肺癌は日本人のがんによる死亡原因の 1 位を占め、転移を伴うステージ 3 以降の 5 年生存率は 20% 以下である。転移に対する有効な治療法は未だなく、その開発は治療成績改善の最重要課題である。これまで、Wnt/ β -カテニン経路が非小細胞肺癌において活性化されていることが報告されている (Stewart D.J., *J. Natl. Cancer Inst.*, 2014)。また、上皮性腫瘍の転移の重要なステップである上皮間葉転換 (EMT) は TGF- β /Smad 経路の活性化によって開始されるが、これに Wnt/ β -カテニン経路の関与が示唆されている (Jian X., et al., *Cell Research*, 2009)。

そこで本研究では、新規 Wnt/ β -カテニン経路阻害剤の探索を行い、ヒット化合物のヒト非小細胞肺癌細胞株 A549 細胞における EMT 誘導性細胞遊走阻害の有無を検討した。まず、 β -カテニン依存性シグナル伝達の評価を Luciferase reporter assay により行い、本学所有の化合物ライブラリーの中から Wnt/ β -カテニン経路阻害化合物として #16 を同定した。次に A549 細胞に対して、#16 の EMT 関連遺伝子の発現抑制効果と遊走阻害効果を qRT-PCR および Wound healing assay により評価した。#16 は TGF- β 刺激による EMT 関連遺伝子である *SNAL1* mRNA の発現亢進および細胞遊走を有意に抑制した (図 1, 2)。また、WST-8 assay により抗腫瘍効果を検討したところ、#16 は A549 細胞の増殖を用量依存的に抑制した。以上のことから、新規 Wnt/ β -カテニン経路阻害剤 #16 は非小細胞肺癌に対し転移阻害効果を示す新たな治療薬となりうることを示唆された。

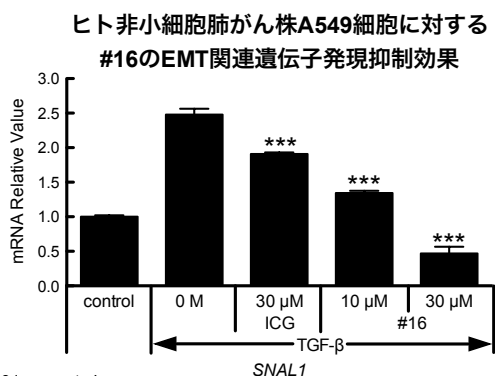


図 1

Bonferroni's Multiple Comparison Test

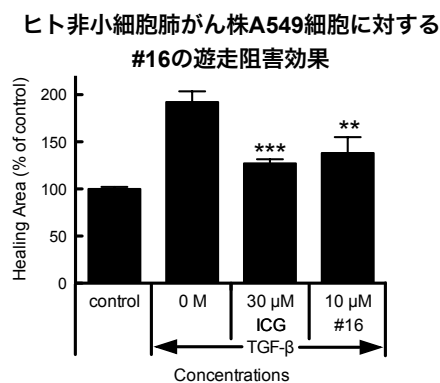


図 2

ポスター発表 (5)

がん幹細胞を特異的に駆逐する Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索

公衆衛生学分野 榎本美久*、瀧本千穂*、長谷井友尋、渡辺徹志

病態生理学分野 若林亮介、芦原英司

共同利用機器センター 服部恭尚

薬品化学分野 嶋本康広、小林数也、赤路健一

(*: equal contribution to first author)

近年がん組織を形成、維持出来る少数の幹細胞様のがん細胞（がん幹細胞；CSC）と、幹細胞様の性質を持たない非がん幹細胞がん細胞（non-CSC）によりがん組織は形成され、がん治療後の再発や遠隔転移に CSC が関与していることが明らかとなり、CSC の性状解析および CSC をターゲットにした治療開発は、がん克服のための最重要課題である。Wnt/ β -catenin 経路は胚発生における幹細胞の維持、増殖に重要なシグナルで、今までのがん幹細胞研究により、CSC の維持にも本経路が関与していることが明らかにされた。そこで我々は治療後の再発予防（三次予防）のために CSC を駆逐する分子標的治療薬の開発を目指し、Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索を行うことを計画し、その第一歩として誘導した CSC における新規 Wnt/ β -catenin 経路の意義を検討してきた。ヒト乳癌細胞株 MDA-MB-231 細胞およびヒト神経膠芽腫 U-251MG 細胞を用いて、Cancer sphere 形成を試みた。培養後 7 日間で Cancer sphere が形成され、sphere を形成する細胞は Nanog、CD133、Nestin といった幹細胞マーカーを non-CSC と比較して高発現していた。また、 β -catenin の核内移行および核内での β -catenin の発現亢進を認めた。以上のことから MDA-MB-231 細胞および U-251MG 細胞から誘導した Cancer sphere は CSC としての性状を有し、Wnt/ β -catenin 経路を活性化していることが示唆された。

次に、本学所有の化合物のスクリーニングにより、ヒット化合物#37 を発掘し、その Wnt/ β -catenin 経路阻害効果を検討した。通常培養の MDA-MB-231 細胞では 15 μ M 処置にて、細胞生存率 92.4 \pm 2.0% に対し、Cancer sphere では同じ 15 μ M 処置にて、51.4 \pm 9.4% と、抗腫瘍効果が見られた。以上のことから、新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害化合物#37 は、CSC 駆逐の有望なシーズであることが示唆された。今後 Cancer sphere のさらなる性状解析を続けるとともに、Cancer sphere に対する抗腫瘍効果のメカニズムを解明していく。ことが示唆された。今後、標的分子の探索を行うとともに、作用機序を解明していく。

新規プロモドメイン阻害剤 CG15202 の多発性骨髄腫に対する抗腫瘍効果

病態生理学分野 細川友理子*、熊野瑛巴*、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司

(*: equal contribution to first author)

要旨

DNA 塩基配列の変化を伴わずに遺伝子発現を制御するシステムはエピジェネティクスと呼ばれ、がん化にはこのエピジェネティクス機構の破綻が関与していることが報告されている。プロモドメイン (BRD) 阻害剤は、アセチル化ヒストンを認識し転写を促進する BRD タンパク質の機能を阻害する、エピゲノム創薬によって創られた分子標的治療薬である。我々は従来の BRD 阻害剤とは構造が異なる quinolinone 骨格を有する新規 BRD 阻害剤 CG13250 が、多発性骨髄腫 (MM) に対して抗腫瘍効果を有することを明らかにしてきた (Imayoshi N, et al. *BBRC*, 2017)。今回我々は、その第二世代化合物である CG15202 のヒト MM 細胞株に対する抗腫瘍効果を検討した。

まず初めに、ヒト MM 細胞株 *IgH* 遺伝子転座を有する OPM-2 (t(4;14)) と AMO-1 (t(8;14)) 細胞に対する CG15202 の増殖抑制効果を検討した。CG15202 は両細胞株に対して濃度依存的に細胞増殖を抑制した。またウエスタンブロッティング法により、CG15202 が c-MYC および CDK6、CCND1 タンパク質の発現を抑制することが示され、cleaved Caspase-3 の増加を認め、アポトーシスが誘導されていることが明らかとなった。

次に定量的 RT-PCR (qRT-PCR) 法により、*MYC* および *CDK6*、*CCND1* mRNA 発現の変化を検討した。CG15202 はこれらの mRNA 発現を時間依存的に減少させることが分かった。さらに免疫沈降法により、CG15202 は BRD4 タンパク質の *IgH* エンハンサー領域への結合を抑制していることが明らかとなった。以上のことから、CG15202 は OPM-2 および AMO-1 細胞株に対して BRD4 タンパク質の *IgH* エンハンサー領域への結合を阻害し、*MYC*、*CDK6*、*CCND1* の転写およびタンパク質への翻訳を抑制し、カスパーゼ依存的アポトーシスを誘導し細胞増殖を抑制していることが示された。

今後も引き続き、CG15202 の多発性骨髄腫株に対する抗腫瘍効果を評価していくと共に、さらなる作用メカニズムの解明を行っていく。

ポスター発表 (7)

エクソソームの脂質組成を基盤としたがん標的化技術の開発

病態生理学分野 戸田侑紀、川上光、鶴飼幸永佳、高田和幸、芦原英司
滋賀医科大学附属病院 森田真也

薬剤送達を標的部位へと特異的に行える DDS (drug delivery system) は抗がん剤による全身性の副作用を軽減する上で有効な手段である。エクソソームは機能分子を内包した膜小胞体として細胞外へ分泌され周辺細胞に作用する。ホルモンなどの単一な情報伝達分子と比較した場合、エクソソームは構成される複雑な分子組成に起因してより高い機能性をもつと考えられる。発表者は、特定の細胞へ作用するための潜在的に備わった指向性が生体内での複雑な情報伝達に必須であり、その指向性を人工的に再現することで新たな治療標的化技術の開発に繋がると予想した。本研究では、がん細胞に指向性を有するエクソソームを同定し、指向性メカニズムに基づく化学的模倣を通じた新規治療標的化技術の開発を目指した。

これまでに、glioblastoma 由来エクソソーム (Exo-U251) は分泌元細胞へ効率的に導入され、自身のタンパク質因子に依存しない新たな標的化技術に繋がりを示している [Biochem. Biophys. Res. Commun., 456:768-773, 2015]。そこで Exo-U251 の脂質成分から作製したリポソーム (Exolip-U251) のがん細胞指向性を解析し、脂質組成と本指向性の因果関係を検証した。

蛍光標識した Exolip-U251 はがん細胞へ効率的に取り込まれた。酵素蛍光法を用いた解析により、Exo-U251 の脂質組成が指向性をもたない他のエクソソームとは大きく異なっていた。以上より、自身の特有な脂質成分によってその行き先が制御されるエクソソームの存在が示唆された。本研究で開発した脂質成分のみで成る Exolip-U251 は合成品として量産可能な DDS の有望な seed と考えられる。

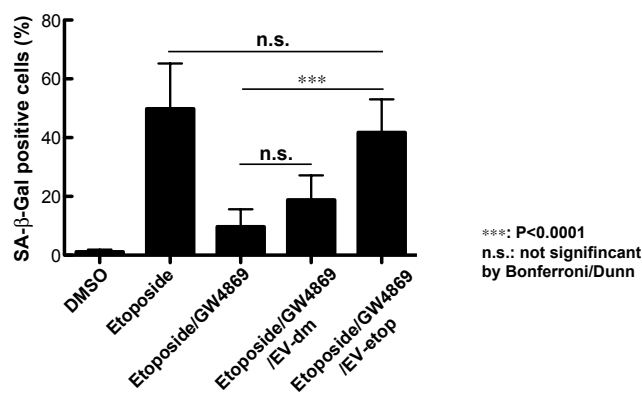
細胞老化プロセスにおけるエクソソームの関与

病態生理学分野 渡辺温子、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司

細胞老化 (cellular senescence) は不可逆的な細胞周期の停止および細胞の形態・機能の変化に特徴付けられる。老化細胞では p53 や p21 などのがん抑制遺伝子の発現が上昇することから、細胞老化は発がん抑制機構の一つと考えられている。エクソソームは、細胞間のコミュニケーションツールとして様々な細胞から放出される直径 100 nm の小胞である。発表者らは、DNA 障害を受けた細胞が自身の細胞老化を速やかに誘導させるためのエクソソームを分泌し、がん化を抑制しているのではないかと考えた。本研究では、低濃度 etoposide による細胞老化誘発モデル系内において、エクソソームの分泌を薬理学的手法により抑制し、老化誘導効率に変化が生じるかを検証した。

ヒト骨髄由来腺維芽細胞株 HS-5 に 1 mg/L etoposide を処置し、細胞周期 (フローサイトメトリー法) とその関連分子の発現 (ウェスタンブロットティング法) の解析、ならびに senescence-associated beta-galactosidase (sa-β-Gal) 染色による形態学的解析を行った。Etoposide を処置して 48 h 以内に p21 の発現上昇に伴う細胞周期の停止 (G1 arrest) が確認された。また 72 h 後には細胞は肥大化し、sa-β-Gal 染色にて陽性となった。

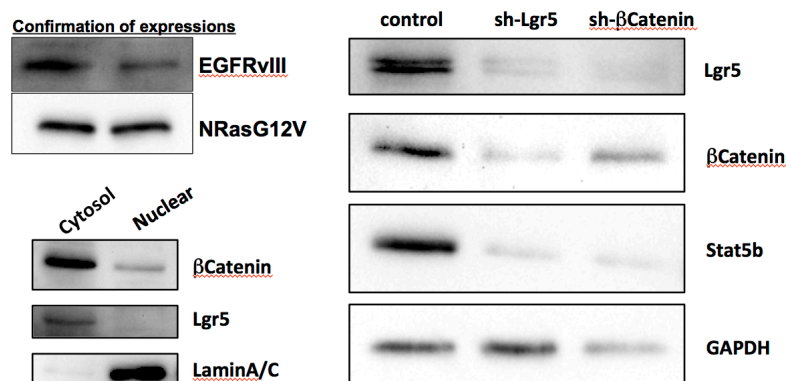
次にエクソソーム分泌阻害剤 (GW4869) 存在下において etoposide を 72 h 処置したところ、細胞増殖はみられないものの肥大化は起こらず sa-β-Gal 陽性率は有意に低下した。本老化抑制現象は etoposide 処置により DNA 障害が惹起された HS-5 が分泌するエクソソームを添加することで解除された (図)。以上より、DNA 障害が生じた細胞は細胞周期を停止させるが、自身の分泌するエクソソームによるオートクラインシグナルなしでは老化プロセスを完了できない可能性が示唆された。



マウスモデルから樹立した膠芽腫幹細胞における β -cateninの機能解析

臨床腫瘍学分野 茂山千愛美 中田 晋

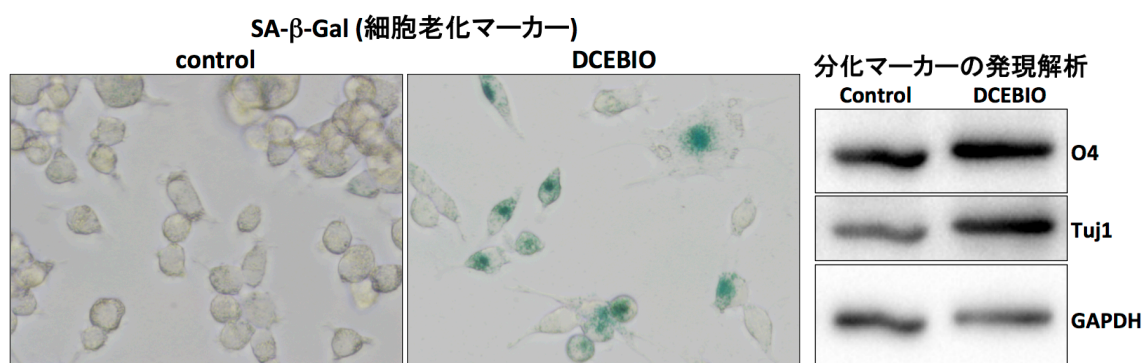
成人発症の脳腫瘍において最も頻度の高い膠芽腫は、既存の治療法に対して極めて難治性であり、新規治療戦略の開発が必要である。近年、膠芽腫の組織中には発癌の過程や治療後の再発の起点となる、いわゆる膠芽腫幹細胞が存在することが示されている。一方、幹細胞マーカー遺伝子 *Lgr5* は Wnt 経路の標的遺伝子かつ促進性調節因子であることが知られている。我々はこれまでの研究で、組織幹細胞関連遺伝子 *Lgr5* が膠芽腫幹細胞に高発現し、その増殖・生存に必須であること、ヒト膠芽腫組織中の *Lgr5* 蛋白の高発現が実際の患者の不良な生命予後に相関することを報告してきた。しかしながら、膠芽腫幹細胞における *Lgr5* 発現が Wnt/ β -Catenin による制御を受けているかについては不明であった。そこで、本研究では sh-p53/EGFRvIII/NRasG12V の in vivo 導入による自発発症型マウスモデルの生体腫瘍組織から分離した膠芽腫幹細胞を用いてこれらの因子の機能的解析を行った。その結果、本モデル脳腫瘍組織由来の膠芽腫幹細胞の核蛋白分画において β -Catenin は発現しており、そのノックダウンによって *Lgr5* 発現が抑制されることを明らかにした。また、 β -Catenin や *Lgr5* といった Wnt 経路関連因子をノックダウンすると、高効率にアポトーシス細胞死が誘導されること、それに伴い Stat5b 等の本腫瘍細胞の増殖に重要な機能を果たす因子の発現が減少することを見いだした。これらの結果は、本脳腫瘍マウスモデル由来幹細胞分画における Wnt/ β -Catenin 経路の重要性を示唆し、 β -Catenin の遮断による膠芽腫幹細胞を標的とした治療戦略の評価系として適している可能性が考えられた。



マウス膠芽腫由来幹細胞に対する分化誘導薬剤の探索

臨床腫瘍学分野 中田 晋
薬理学分野 鬼頭宏彰

成人発症の脳腫瘍において最も頻度の高い膠芽腫は、既存の治療法に対して極めて難治性であり、新規治療戦略の開発が必要である。近年、膠芽腫の組織中には発癌の過程や治療後の再発の起点となる、いわゆる膠芽腫幹細胞が存在することが示されている。これまでに発表者らは、組織幹細胞関連遺伝子 *LGR5* が膠芽腫幹細胞に高発現し、その増殖・生存に必須であること、腫瘍組織中の *LGR5* 蛋白の高発現が実際の患者の不良な生命予後に相関することを報告してきた。また、近畿大学 藤田貢博士と共同で、自発発症型マウスモデルの生体腫瘍組織からの膠芽腫幹細胞を分離する系を確立した。このモデルは、*p53* の失活、*EGFR* の変異体、*Ras* の変異体によりドライブされる脳腫瘍モデルマウスである。本モデル脳腫瘍組織由来の膠芽腫幹細胞分画において *Wnt* パスウェイの神経系細胞に対する機能には多面性があり、未分化性維持に寄与する場合と、分化の促進に寄与する場合の両方が知られている。また、*Wnt* シグナルには古典的経路と細胞内カルシウムイオンの動員を介した非古典的経路があることが知られている。そこで、本学薬理学分野鬼頭宏彰助教と共同で、カルシウムシグナルの調節に関わると考えられる各種イオンチャネルの阻害剤および作動薬を用い、本脳腫瘍幹細胞の未分化性維持に影響を与える化合物のスクリーニングを開始した。これまでのところ、*DCEB10* 等が本脳腫瘍モデル由来幹細胞に対して SA- β -Gal によって標識される細胞老化の誘導を惹起し、神経系および乏突起神経膠細胞の分化マーカー蛋白の発現を上昇させることを明らかにしている。今後、これらのメカニズムを明らかにし脳腫瘍幹細胞において未分化性が維持される機構の解明と、分化誘導療法開発に繋がる薬剤の開発を目指したい。



がん関連タンパク質 FAM83H は上皮系組織形成に必須のタンパク質である

摂南大学 薬学部 生体分子分析学 久家貴寿、山岸伸行

医薬基盤・健康・栄養研究所 疾患モデル小動物研究室 佐々木光穂、鈴木治、松田潤一郎

医薬基盤・健康・栄養研究所 プロテオームリサーチプロジェクト 朝長毅

京都薬科大学 生化学分野 中山祐治

【目的】FAM83H は歯の優性遺伝性低石灰化型エナメル質形成不全症の原因遺伝子である。我々はこれまでに、FAM83H が、大腸がん浸潤部で高発現していることや、ケラチン骨格構築を制御していることを明らかにしている。今回の発表では、FAM83H 遺伝子改変マウスを作成、解析した結果、FAM83H が正常な上皮系組織形成に必須の遺伝子であることが明らかになったので報告する。

【方法】FAM83H 遺伝子改変マウスは、CRISPR/Cas9 法で作成した。C57BL6/NCrSlc マウスの受精卵前核に、FAM83H 遺伝子 (NM_001168253) 標的配列を含む pX330-U6-Chimeric_BB-CBh-hSpCas9 ベクターを注入し、ヒトの患者と同様のヘテロ接合型 FAM83H 遺伝子変異を持つマウスを作成した。さらに、雌雄のヘテロ接合型の遺伝子改変マウスを掛け合わせて、ホモ接合型の遺伝子改変マウスを作成した。これらマウスを、免疫染色法や電子顕微鏡などを使って解析した。

【結果】ヘテロ接合型の遺伝子改変マウスを、野生型マウスと比べたところ、特に異常な所見は無かった。一方、ホモ接合型の遺伝子改変マウスでは、脱毛や毛並みの異常など、皮膚組織の明らかな異常が観察された。次に、FAM83H の発現を免疫染色法で調べた結果、FAM83H は上皮系細胞で発現しており、特に皮膚や食道の扁平上皮細胞で高発現していることが分かった。皮膚、食道、歯のエナメル芽細胞、大腸上皮細胞のケラチン骨格を免疫染色法で調べた結果、ホモ接合型の遺伝子改変マウスにおいて、調査した全ての上皮系組織で、異常に太いケラチン線維が観察された。このケラチン線維の異常は、皮膚と食道の電子顕微鏡解析の結果からも示唆された。電子顕微鏡解析などの結果は、ホモ接合型の遺伝子改変マウスにおいて、エナメル芽細胞の秩序だった細胞整列が破綻していること、皮膚と食道の基底細胞の細胞間隙が異常に拡大していることも示唆した。

【結論・考察】FAM83H が正常な上皮系組織構築に必須のタンパク質であることが示唆された。ケラチンタンパク質は上皮系組織構築に重要な役割を担っているため、FAM83H は正常なケラチン骨格構造を維持することで上皮系組織構築に寄与していることが考えられた。がん浸潤部における FAM83H の高発現は、ケラチン骨格を崩壊させ、強固な細胞間接着などの上皮細胞特性を失わせることで、浸潤を促進している可能性を考えている。

ケミカルジェネティクスによる新規細胞分裂制御機構の探索

生化学分野 山岸あかね、上田菜津美、奥村大喜、久家貴寿、齊藤洋平、中山祐治

多細胞生物の個体は、たった一つの受精卵が細胞分裂を繰り返すことで細胞数をふやし形作られており、成体になっても細胞分裂なしには生きられない。細胞分裂の失敗、すなわち染色体分配の失敗は主に細胞死を誘導するが、死なない細胞が生まれると細胞のがん化につながる。よって、細胞分裂において染色体の分配は完璧でなくてはならない。一方、細胞分裂の失敗が引き起こす細胞死は、細胞分裂を標的とする抗がん剤の代表的な作用機構でもある。本研究では、低分子化合物ライブラリーを用い、細胞分裂に対して影響を及ぼす化合物の探索を手掛かりに細胞分裂制御に関わるタンパク質を探索し、新たな細胞分裂制御機構の発見を目指す。さらに、抗がん剤の新たな標的を創成することを目的としている。

mCherry-tubulin および EGFP-MKLP1 を恒常的に発現しているブタ腎臓由来 LLC-PK1 細胞株を用い、タイムラプス解析により細胞分裂に対する化合物の影響を評価した。LLC-PK1 細胞は細胞分裂時に形態変化せず、タイムラプス解析において焦点がずれることなく観察できる。生細胞において蛍光タンパク質や染色体を可視化することで、固定した細胞の免疫染色法では見いだせない表現型が観察されることを期待した。さらに、フローサイトメトリーを用い細胞周期への影響をしらべた。

これまでに 159 種類の阻害剤を試験し、その内、29 種類が細胞分裂の進行や紡錘体形成異常を引き起こした。これらの中にはフローサイトメトリーにおいて DNA ヒストグラムを変化させるものも数多く観察された。特に興味深いのは、通常リガンドとの結合を介してシグナルを細胞内に伝える受容体型のタンパク質である。受容体へのリガンド結合が細胞分裂を制御するとは考えにくく、リガンド結合に依存しない機構が推定される。通常、化合物が標的とするタンパク質は複数存在する。したがって、スクリーニングの結果選択された阻害剤の“真の標的分子”を特定するため、siRNA により候補タンパク質をノックダウンし、標的分子の特定を行ってきた。その結果、細胞分裂制御に関与するタンパク質を幾つか特定することができた。これらのタンパク質の細胞分裂における役割は知られておらず、新たな細胞分裂制御機構の発見につながると期待している。

今後も引き続き siRNA により標的分子を特定し、それらが細胞分裂のどの過程に関与するのか調べていく。細胞分裂制御分子は抗がん剤の標的となる可能性を持つ。見出した制御タンパク質が抗がん剤の標的分子となり得るのか検討し、臨床への応用につなげたい。

マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体 を介した中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル $K_{Ca3.1}$ の活性制御

薬理学分野 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢 進

骨量は、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収の恒常的なバランスにより維持される。前骨芽細胞の細胞増殖・分化は骨芽細胞の成熟において重要な役割を果たしており、骨芽細胞機能障害は骨代謝性疾患の原因となると考えられている。ビタミンDは小腸上皮細胞からの Ca^{2+} 吸収を促進することにより骨量の維持に寄与しているが、マウス骨芽細胞へのビタミンD刺激は細胞増殖抑制作用を示すことが明らかとされている。中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャネル ($K_{Ca3.1}$) は、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇により活性化する K^+ チャネルであり、ストア作動性 Ca^{2+} 流入 (SOCE) を介した細胞内 Ca^{2+} シグナルを制御することで細胞増殖に関与すると考えられる。本研究では、ビタミンD刺激によるマウス前骨芽細胞の細胞増殖抑制における細胞内 Ca^{2+} シグナル変動とそれに対する $K_{Ca3.1}$ の寄与を明らかにすることを目的とした。

マウス前骨芽細胞MC3T3-E1における $K_{Ca3.1}$ の生理機能を検討するために、SOCEを介した Ca^{2+} 流入に対する $K_{Ca3.1}$ 阻害の影響を検討したところ、 $K_{Ca3.1}$ 阻害薬TRAM-34 (1 μ M) 投与によりSOCEを介した Ca^{2+} 流入が有意に抑制された。また、MC3T3-E1の細胞増殖能に対するTRAM-34の効果を検討したところ、培養後72時間においてTRAM-34 (1, 10 μ M) 投与により有意に細胞生存能が低下した。次に、ビタミンD刺激によるマウス前骨芽細胞への影響を検討した。活性型ビタミンD3 (Calcitriol) 処置による $K_{Ca3.1}$ 発現変化を検討したところ、Calcitriol (10, 100 nM) 48時間処置によって有意に $K_{Ca3.1}$ mRNA発現が低下した。Calcitriol 処置による $K_{Ca3.1}$ 活性変化を評価するためにDCEB10 ($K_{Ca3.1}$ 活性化薬) 誘発性 Ca^{2+} 濃度上昇を測定したところ、対照群と比較してCalcitriol処置群の前骨芽細胞において $K_{Ca3.1}$ 活性化を介した Ca^{2+} 濃度上昇が有意に抑制された。Calcitriol処置による $K_{Ca3.1}$ mRNA発現抑制の機序を明らかにするために、 $K_{Ca3.1}$ のエピジェネティック制御に関わると考えられるヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の発現変化を検討したところ、Calcitriol処置細胞においてHDAC2の有意な発現低下が認められた。さらに、pan HDAC阻害剤vorinostat (1, 10 μ M) の48時間処置により $K_{Ca3.1}$ mRNA発現が有意に低下した。

以上の結果より、ビタミンD刺激によるマウス前骨芽細胞の細胞増殖抑制作用には、エピジェネティック制御を介した $K_{Ca3.1}$ 発現・活性の低下が少なくとも一部関与しており、 Ca^{2+} シグナルの抑制を介して細胞増殖が抑制される可能性が示唆された。

マウス前骨芽細胞における内向き整流性 K⁺チャネル Kir2.1 を介した細胞分化制御

薬理学分野 宮川亮祐 鬼頭宏彰、榊原侑香、大矢 進

骨量は、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収の恒常的なバランスにより維持される。骨芽細胞は、間葉系幹細胞を起源とする細胞であり I 型コラーゲン及びオステオカルシン、オステオポンチンなどの非コラーゲン性タンパク質を産生・分泌することで骨基質を形成するとともに、骨基質の石灰化を介して骨形成において中心的な役割を果たしている。骨芽細胞の骨形成異常は、関節リウマチ、骨粗鬆症、骨硬化症など種々の骨疾患に関連することが知られていることから、骨芽細胞の分化・成熟及び骨形成能について検討することは骨疾患の病態生理を理解する上で重要な知見になると考えられる。

最近、ストア作動性 Ca²⁺流入 (SOCE) が骨芽細胞分化を制御することが明らかにされ、骨形成における Ca²⁺シグナルの重要性が明らかになりつつある。内向き整流性 K⁺チャネル (Kir) は、静止膜電位形成に寄与することで SOCE 等の Ca²⁺シグナルの制御に関与すると考えられる。また、Kir2.1 チャネルの機能欠損に由来する遺伝子疾患であるアンダーセン症候群の患者には、小人症、歯牙異常、外表小奇形などの骨恒常性異常を示唆する身体的所見が挙げられることから、Kir2.1 チャネルが骨の形成において重要な役割を担う可能性が考えられる。しかしながら、これまでに骨関連細胞における Kir2.1 の機能的役割について詳細な検討は行われていない。そこで本研究では前骨芽細胞の骨芽細胞分化に関わる Ca²⁺シグナルの調節因子として Kir2.1 に着目し、骨芽細胞分化に対する 役割について検討した。

マウス前骨芽細胞株 MC3T3-E1 に対して、骨芽細胞分化誘導培地により分化誘導を行ったところ、内向き整流性 K⁺チャネルのうち、Kir2.1 mRNA 発現が顕著に増大した。また、分化誘導時に Kirチャネル阻害薬の Ba²⁺ を添加することにより骨芽細胞分化マーカーであるアルカリフォスファターゼ (ALP) 及び骨シアロプロテインの発現が分化誘導細胞に比較して有意に低下した。Ca²⁺シグナルに対する Kirチャネルの寄与を明らかにするために、細胞内 Ca²⁺濃度に対する Kirチャネル阻害薬の影響を検討したところ、静止状態の細胞内 Ca²⁺濃度は 300 μM Ba²⁺ 及び 10 μM ML133 (選択的 Kir2 チャネル阻害薬) の適用により、分化誘導を行っていない細胞に比較して有意に低下した。さらに、分化誘導 MC3T3-E1 における ALP 活性は、Ba²⁺ 及び ML133 適用により有意に低下した。

以上の結果より、Kirチャネル (特に Kir2.1) は骨芽細胞分化において細胞内 Ca²⁺濃度調節に関与することで骨芽細胞分化の制御に少なくとも一部寄与する可能性が明らかとなった。

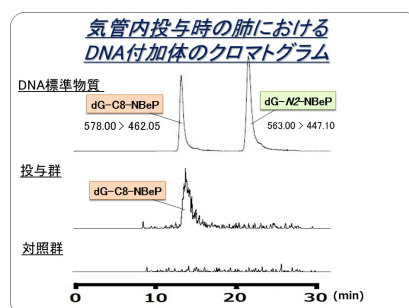
3, 6-Dinitrobenzo[e]pyrene の *in vivo* DNA 付加体形成

公衆衛生学分野 彦坂好美、長谷井友尋、川本明佳、松崎温士、松本崇宏、渡辺徹志
静岡県立大学 岩本憲人

遺伝毒性物質は生体に曝露後、代謝されて DNA に結合し、変異を誘発することから、DNA 付加体形成作用について明らかにすることは、化学物質の遺伝毒性の機序を明らかにする上で、重要である。これまでの研究で、強遺伝毒性物質 3, 6-dinitrobenzo[e]pyrene (DNBeP) を表層土壌中から検出し、三大都市圏における表層土壌中に主要な遺伝毒性物質として分布していることを明らかにした。DNBeP に類似した構造を有する dinitropyrene (DNP) 異性体や 3-nitrobenzanthrone は代謝され、それぞれグアニン塩基の C8 位及び N2 位に結合することが報告されていることから、DNBeP も同様の DNA 付加体を形成する可能性がある。本研究では DNBeP の DNA 付加体形成作用を明らかにすることを目的に、マウスに DNBeP を投与し、各臓器における N2-[6-nitrobenzo[e]pyren-3-yl]-2'-deoxyguanosine (dG-N2-NBeP) 及び 8-[6-nitrobenzo[e]pyren-3-ylamino]-2'-deoxyguanosine (dG-C8-NBeP) の生成を観察した。

付加体形成能を明らかにするため ICR マウス (7 週齢、雄) を用いた。被験動物は搬入後 3 日間馴致した後、実験に用いた。馴致及び実験の期間中に餌または飲水は自由に摂取させた。DNBeP をオリーブオイルに懸濁させ、マウスに腹腔内投与 (300 μ L) あるいは気管内投与 (20 μ L) した。投与から 24 時間後、肺、腎臓、脳、肝臓及び脾臓を摘出し、DNA を抽出した。抽出した DNA を DNA degradase plus を用いてヌクレオシドまで断片化し、液体クロマトグラフ—質量分析計 (LC-MS/MS) で分析を行った。固定相に Inertsustain C18 カラムを用い、移動相に methanol-0.1%ギ酸を用いた LC で分離し、エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) で検出した。

Inertsustain を用いた分離で、dG-C8-NBeP 及び dG-N2-NBeP は完全に分離し、それぞれ 578.00>462.05 及び 563.00>447.10 の MRM で検出された。腹腔内投与したマウスから摘出した肺及び腎臓からは dG-C8-NBeP がそれぞれ平均で 35.25 及び 11.67 pg/mg of DNA (n = 4 及び 3) の検出量で、分析を行った全ての検体から検出された。一方、dG-N2-NBeP は肺及び腎臓からは検出されなかった。また、気管内投与したマウスの肺から 12.3 pg/mg of DNA (n = 2) の dG-C8-NBeP を検出した。



Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の細菌に対する 遺伝毒性評価

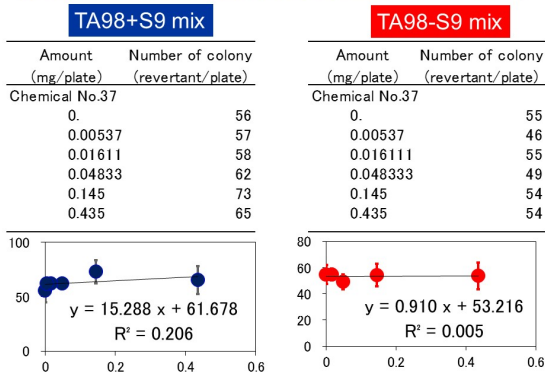
公衆衛生学分野 長谷井友尋、川添智子、草野穂、中嶋由貴、井上枝里子、吉備万純、池田理紗、森川季美子、松本崇宏、渡辺徹志
 共同利用機器センター 服部恭尚
 薬品化学分野 赤路健一
 病態生理学分野 芦原英司

医薬品の承認申請には日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) での合意に基づいた各種試験が必要で、実施するに当たりガイドラインが作成されている。本研究では、本プロジェクトにおいて合成された Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の遺伝毒性を明らかにすることを目的として、細菌を用いる復帰突然変異試験の ICH ガイドラインの試験条件に基づいて、Wnt/ β -catenin 経路阻害剤化合物 No. 37 の遺伝毒性評価を行った。

細菌を用いる復帰突然変異試験では *Salmonella* Typhimurium TA98 株及び TA100 株を用い、S9 mix 存在下及び非存在下で試験した。被験物質である化合物 No. 37 は 0.005、0.016、0.048、0.145 及び 0.435 mg/plate の濃度で試験した。

細菌を用いる復帰突然変異試験において、TA98 株 S9 mix 存在下及び非存在下で、陰性対照であるジメチルスルホキシド (DMSO) を試験した際、60 revertants/plate 程度の自然復帰コロニーが認められた。両条件下で化合物 No. 37 の遺伝毒性を試験した際、試験を行ったいずれの濃度においても DMSO と同様に 60 revertants/plate 程度の自然復帰コロニーしか認められなかったことから、化合物 No. 37 は TA98 株に対して遺伝毒性を示さないことが明らかになった。また、TA100 株に対しても同様の結果が得られた。化合物 No. 37 は 0.005、0.016、0.048、0.145 及び 0.435 mg/plate のいずれの濃度でも、最終試験液の段階で白濁による析出が認められた。ICH の遺伝毒性に関するガイドラインでは、析出が認められた場合、それ以上試験液の濃度を上げる必要はないとされていることから、化合物 No. 37 は TA98 株及び TA100 株のいずれに対しても遺伝毒性を示さないことが明らかになった。

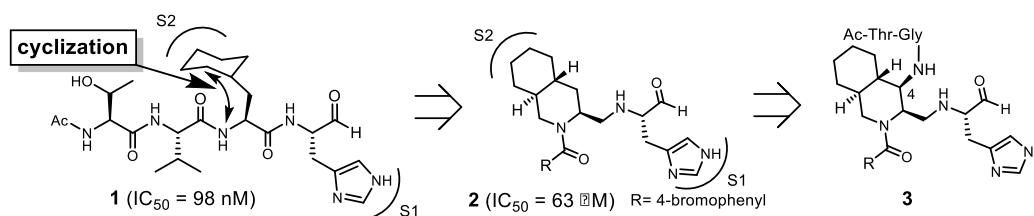
戦略基盤化合物No.37の遺伝毒性



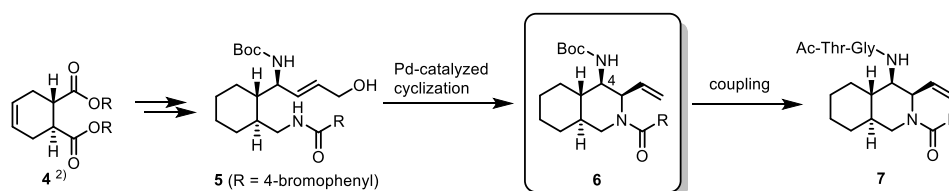
デカヒドロイソキノリン型 SARS 3CL protease 阻害剤の設計と合成

薬品化学分野 大西康司、三谷勇人、小林数也、赤路健一
 共同利用機器センター 服部恭尚

重症急性呼吸器症候群 (severe acute respiratory syndrome, SARS) は、中国広東省で発生し世界 30 カ国以上で 8,500 を超える症例と約 800 人の死者を出したウイルス疾患であり、いまだ有効な治療薬やワクチンは開発されていない。発表者の所属研究室では、SARS ウイルスの増殖過程に必須の SARS 3CL プロテアーゼに対する阻害剤開発を進めてきた。基質配列に基づいたペプチド型阻害剤 1 から新たにデザインした縮環構造を核とする低分子型阻害剤 2 の阻害活性は 1 と比較して大幅に低下した。阻害剤 1 および 2 と酵素とのそれぞれの X 線複合体解析の結果を比較したところ、S3 以降での相互作用が消失していることが明らかとなった。このことにより、阻害剤 2 へのさらなる相互作用部位の導入が活性の改善に繋がる可能性が示された。¹⁾ そこで阻害剤 2 の縮環構造上に相互作用部位を導入した化合物 3 を設計し合成に着手した。



文献既知の化合物 4 から数工程で後のデカヒドロイソキノリン 4 位に相当する位置に置換基を持つ環化前駆体 5 を合成し、2 価パラジウム触媒を用いた環化反応によりデカヒドロイソキノリン骨格を有する鍵中間体 6 を構築した。²⁾ さらに 4 位アミノ基の保護基を脱保護後、Ac-Thr-Gly-OH をカップリングし、環上に酵素との相互作用部位と成り得るペプチド側鎖を導入した 7 を得ることに成功した。



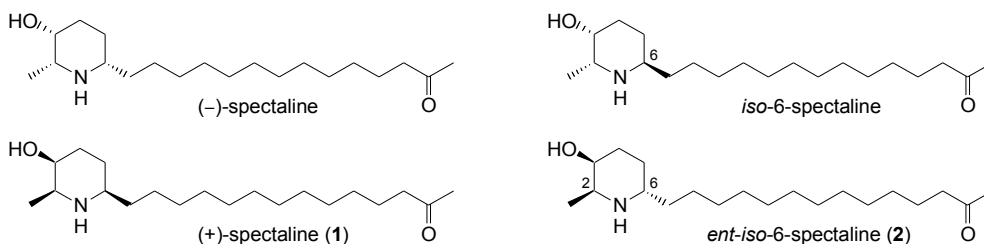
1) Shimamoto, Y.; Akaji, K. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 876.

2) Heathcock, C. H.; Davis, B. R.; Hadley, C. R. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 197.

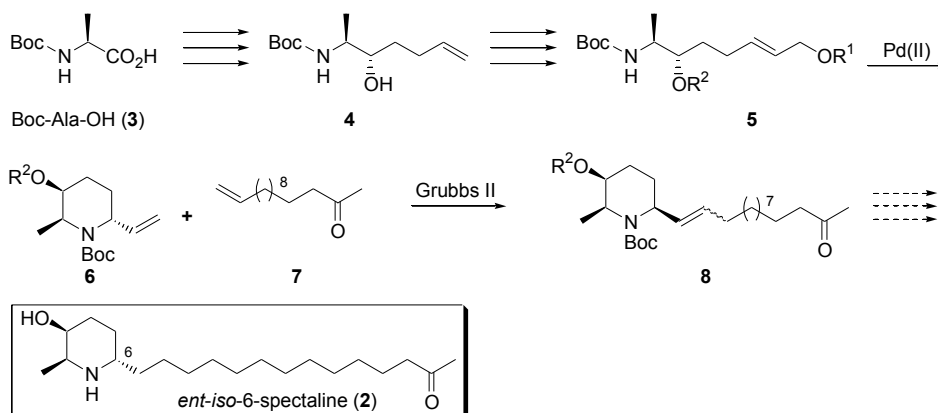
ent-iso-6-spectaline の合成研究

薬品化学分野 相馬琢人、亀田里紗子、小林数也、赤路健一
 共同利用機器センター 服部恭尚

【目的】ピペリジナルカロイドは天然に最も豊富に含まれているアルカロイドで、局所麻酔作用や抗アレルギー作用、抗菌作用など広範な活性が報告されている。ピペリジナルカロイドの一種である (-)-spectaline は酵母の DNA 損傷活性を示す一方で *iso-6-spectaline* は不活性であることが報告されている。¹ 我々は既に 2,6-*cis* の立体学を有する (+)-spectaline (1) の立体選択的合成に成功している。² 今回、構造活性相関研究への展開を目的として、より困難とされている 2,6-*trans* の立体化学を有する *ent-iso-6-spectaline* (2) の合成研究について報告する。



【方法と結果】Boc-Ala-OH (3) を出発物質に、アミド化とアルキル化、ジアステレオ選択的還元により 4 を得た。その後、数工程で環化前駆体 5 とし、Pd(II) 触媒を用いた環化反応に供したところ望む立体化学を有する 6 を低収率ながら高選択的に得ることに成功した。今後、ピペリジン環 6a と別途合成した側鎖部分 7 とのクロスメタセシス反応を行った後、3 工程で *ent-iso-6-spectaline* (2) の合成を行う予定である。



1) Viegas, C. Jr.; Bolzani, V. S. *et al.* *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 908-910.

2) Katsuyama, M.; Akaji, K.; Hattori, Y. *et al.* *Heterocycles* **2015**, *91*, 959-969.

N-アミジノ含窒素環状骨格に基づく低分子 BACE1 阻害剤の開発研究

薬品化学分野 小林数也、城竇大輝、谷口智奈美、田中美咲、木村蘭希
赤路健一
共同利用機器センター 服部恭尚

BACE1 (β -site APP cleaving enzyme) はアミロイド β ペプチド ($A\beta$) 産生の一段階目に関与するアスパラギン酸プロテアーゼである。 $A\beta$ の凝集・蓄積は、アルツハイマー病の発症原因と考えられていることから、 $A\beta$ 産生を抑制する BACE1 阻害剤は、アルツハイマー病治療薬としての応用が期待されており、その開発研究が精力的に行われている。

近年、FBDD (Fragment Based Drug Design) による BACE1 阻害剤開発研究において、平面性を持たない環状アミジン骨格 1 を有する阻害剤が数多く報告されており、構造モチーフ 1 が有用なファーマコフォアとして注目されている。我々は、本骨格から着想を得て、BACE1 阻害剤の新規骨格として N-アミジノ含窒素環状骨格 2 を考案した。本研究では、N-アミジノピロリジン型阻害剤 3 と N-アミジノピペリジン型阻害剤 4 をデザインし、それぞれについて種々置換基を有する誘導体の合成と活性評価を行った。

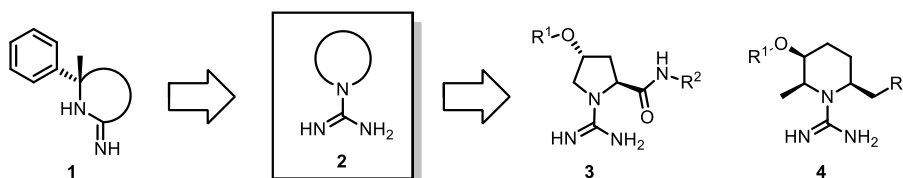


Fig. 1. 非平面性環状アミジン骨格と N-アミジノ含窒素環状骨格

N-アミジノピロリジン型阻害剤は、ヒドロキシプロリンを出発原料として 4~6 工程で合成を行った。合成した誘導体の BACE1 阻害活性を評価したところ、(a) 二つの置換基が *trans*-配置であること、(b) 二つの置換基がかさ高いこと、が活性発現に重要であることが示唆され、中程度の活性 ($IC_{50} = 460 \mu M$) を有する誘導体を見出すことに成功した。

一方、N-アミジノピペリジン型阻害剤は、Pd 触媒を用いたジアステレオ選択的環化反応を用いたピペリジン骨格構築法を応用して合成した。得られた 2,6-*cis*-二置換型アミジノピペリジン誘導体について BACE1 阻害活性評価を行ったところ、ピロリジン型と同様にかさ高い置換基が活性発現に有効であることが示唆されたが、得られた誘導体では十分な BACE1 阻害能を有する化合物は見出すことはできなかった。

本発表では、これら 2 種類の低分子 BACE1 阻害剤の開発研究についてその詳細を報告する。

P1-P3 間に架橋構造を有するペプチド性 BACE1 阻害剤の開発研究

薬品化学分野 大谷拓也、小林数也、赤路健一
 共同利用機器センター 服部恭尚

アミロイドβペプチド (Aβ) の凝集・蓄積がアルツハイマー病の発症原因の一つと考えられていることから、Aβ産生の一段階目に関する BACE1 (β-site APP cleaving enzyme) はアルツハイマー病治療薬開発における重要な創薬標的の一つと捉えられており、その阻害剤開発が精力的に行われている。

我々はこれまでに、独自に見出した高親和性基質配列¹⁾とヒドロキシエチルアミン (HEA) 型イソスターを組み合わせた新規ペプチド性 BACE1 阻害剤の合成と活性評価を行っている。合成した誘導体 1 と BACE1 との共結晶の X 線結晶構造解析を行ったところ、P1 側鎖と P3 側鎖の間に大きな疎水性空間が存在することが明らかとなった (Fig. 1a)。この疎水性空間を適切な官能基で埋めることが出来れば、更なる活性の向上が期待できることから、我々は P1-P3 間に架橋構造を導入した環状型 BACE1 阻害剤の合成に着手した。

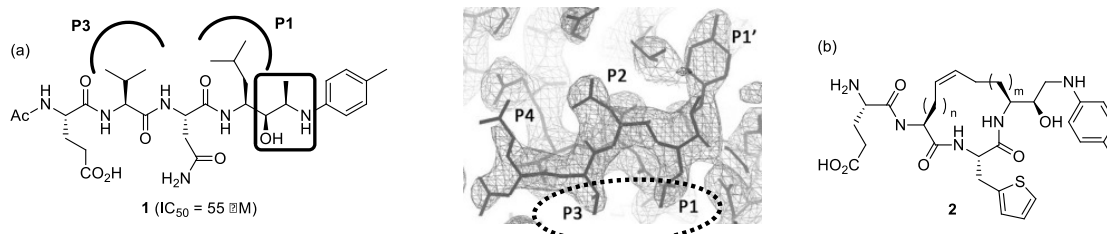


Fig. 1. (a) HEA 型 BACE1 阻害剤 1 の X 線結晶構造解析、(b) 架橋型 BACE1 阻害剤 2

まず適切な環サイズを検討するため、アルケン架橋型阻害剤 2 をデザインした (Fig. 1b)。架橋部分の構築は閉環メタセシス反応を利用することとし、架橋形成に必要な側鎖に末端アルケンを有する P1 および P3 フラグメントの合成を行った。出発原料を変更することで種々側鎖長の異なる P1、P3 フラグメントを合成し、それらを環化前駆体へと誘導後、閉環メタセシス反応を行ったところ、目的物と同一の質量数を有する化合物の生成を確認することができた。現在、精製した化合物の構造解析を行っている。

本発表では、各種フラグメントの合成と架橋構造の構築についてその詳細を報告する。

<参考文献>

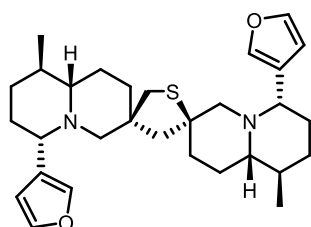
- 1) Kakizawa, T.; Sanjoh, A.; Kobayashi, A.; Hattori, Y.; Teruya, K.; Akaji, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 2785.

コウホネ (*Nuphar japonicum*、根茎) および ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*、根茎) 含有アルカロイドの生体機能性

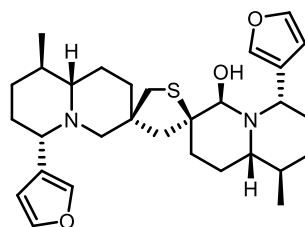
生薬学分野 深谷 匡、中村誠宏、松田久司

コウホネ (*Nuphar japonicum*) は、スイレン科コウホネ属の多年生水草で日本及び朝鮮半島に分布する。その根茎は川骨と呼ばれ、日本薬局方に記載され解熱・鎮痛を目的とした漢方方剤に配合されている。含有成分は nupharidine などのコウホネ特有のセスキテルペンアルカロイドが知られている。一方で、ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*) は、スイレン科コウホネ属の多年生水草であり、日本・中国・ロシアなど広く分布している。中国では、強壯剤・利尿剤・生理不順及びうつ血症状の改善目的で用いられている。含有成分としてはセスキテルペンアルカロイドの二量体であるチオヘミアミナル型アルカロイド thiobinupharidine (1) や 6-hydroxythiobinupharidine (2) などが報告されている。コウホネは抗炎症作用を期待して使用されてきたが、ネムロコウホネではそのような伝承薬効が知られていない。今回、抗炎症作用における構造活性相関研究を目的とし、これらの活性成分の探索研究を行った。

【結果および考察】コウホネ (根茎) 及び、ネムロコウホネ (根茎) のメタノール抽出エキスをコウホネは酢酸エチル、*n*-ブタノール及び水を、またネムロコウホネは、クロロホルム、酢酸エチル、*n*-ブタノール及び水で分液分画し、アルカロイド含有分画を順相シリカゲル、逆相 ODS カラムクロマトグラフィー及び HPLC を用いて繰り返し精製を行ったところ、1、2 を含む多数のアルカロイドを単離・同定した。得られた化合物において、抗炎症作用の評価法の一つとしてマウス由来マクロファージ様細胞 RAW264.7 での一酸化窒素産生抑制活性を検討した。



1

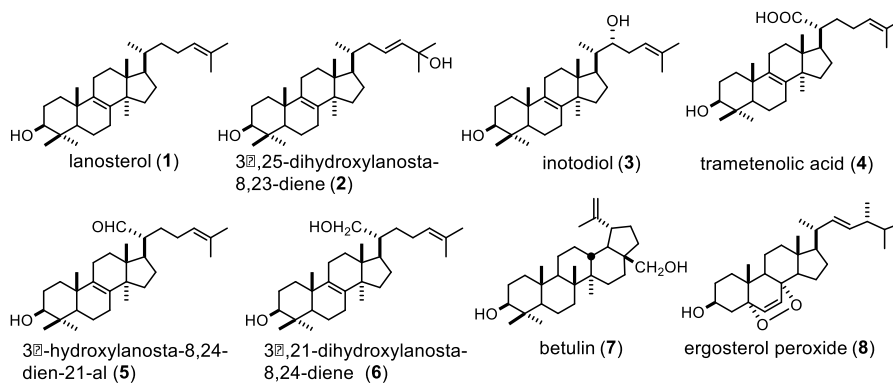


2

伝承薬物カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) 菌核含有トリテルペン類の機能

生薬学分野 笠 香織、中村誠宏、中嶋聡一、石見純子、浅尾恭伸、栗飯原正明、
松田久司

タバコウロコタケ科カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) は、日本 (北海道)、ロシアなどの寒冷地の白樺やダケカンバ等のカバノキ類に自生するキノコである。その菌核は、ロシア等でのがんの治療などを目的に用いられてきた。一方、薬用菌類 (カバノアナタケ、霊芝、猪苓、茯苓、椎茸、アガリクス) の MeOH 抽出エキスをを用いヒト繊維肉腫 HT1080 細胞に対するがん細胞浸潤抑制活性評価を行ったところ、カバノアナタケ抽出エキスに最も強い浸潤抑制活性が認められた。また、カバノアナタケ抽出エキスに、マウス腹腔マクロファージからのリポ多糖 (LPS) 刺激による一酸化窒素 (NO) の過剰産生に対する抑制作用が認められた。そこで、カバノアナタケの菌核の含有成分の探索を行うとともに、得られた成分についてがん浸潤抑制作用および NO 産生抑制作用を検討した。すなわち、カバノアナタケ菌核について MeOH 抽出抽出エキスを作成し、酢酸エチル、*n*-ブタノール、水分画に分液した。活性の集約していた酢酸エチル分画について順相シリカゲル、逆相 ODS クロマトグラフィー、HPLC を用いて繰り返し分離精製した結果、lanosterol (1)、3 β ,25-dihydroxylanosta-8,23-diene (2)、inotodiol (3)、trametenolic acid (4)、3 β -hydroxylanosta-8,24-dien-21-al (5)、3 β ,21-dihydroxylanosta-8,24-diene (6) などの lanostane 型トリテルペンや pentacyclic 型トリテルペン betulin (7) 等を主要成分として単離することができた。得られた含有成のうち、5 が HT1080 細胞に対する細胞毒性が弱いにも関わらず有意な浸潤抑制作用を示すことが明らかになった。¹⁾ また、1 および 7 が有意な NO 産生抑制活性を示したが、30 μ M の濃度において細胞毒性が認められた。さらに、構造活性相関を目的としベツリン誘導体の合成を行ったので合わせて報告する。



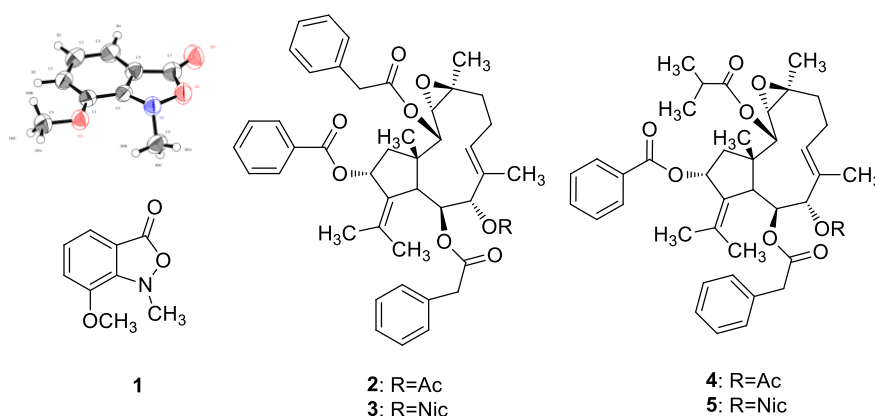
1) *Natural Product Communications*, **12**, 225-228 (2017).

クロタネソウ (*Nigella damascena*, 種子) を素材とした珍しい骨格を有する化合物の探索研究

生薬学分野 小川慶子、中村誠宏、松田久司

医薬品開発の現場では新たな骨格を有する化合物が求められている。天然物においては、有機化学的合成手法では作成することが難しい複雑な構造や立体配置を有する化合物多種見出されており、有用な医薬品リード化合物の資源であると考えられる。また、構造の一部が変化した類似化合物を多数含むことから、構造活性相関を検討するうえでも利用価値が高い。そこで我々は希少な骨格を有する素材として植物含有成分、今回は特にキンポウゲ科であるニゲラ属植物クロタネソウ *Nigella damascena* に焦点を絞り化合物の探索研究を行った。

京都産 *N. damascena* 種子のメタノール抽出エキスについて溶媒分画を行った。得られた酢酸エチル移行部をオープンカラムクロマトグラフィー及び HPLC を用いて繰り返し分離精製した。その結果、isoxazolidinone 骨格を有する 1 種の新規アルカロイド oxazonigelladine (1)、及び高度にアシル化された 4 種の新規ドラベラン型ジテルペン damasterpene I-IV (2)-(5) を単離、構造決定した。化合物の化学構造については、X 線単結晶構造解析法及び CD スペクトルを応用した励起子キラリティー法を用いて絶対立体配置を決定した。今回得られた高度アシル化ドラベラン型ジテルペンは、その類似化合物について全合成の報告はあるものの¹⁾多工程に渡り複雑な反応を進める必要があり、合成による作成は困難である。また、oxazonigelladine (1) は窒素と酸素が直接に結合をした不安定な構造をしており、得ることが難しい。これら天然物由来の化合物の生体機能性について今後評価していく予定である。



1) Jianwei Bian. *et. al. J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 7428-7429 (2006)

アセトゲニンチオフェン誘導体の ミトコンドリア複合体 I 阻害活性の評価

薬品製造学分野

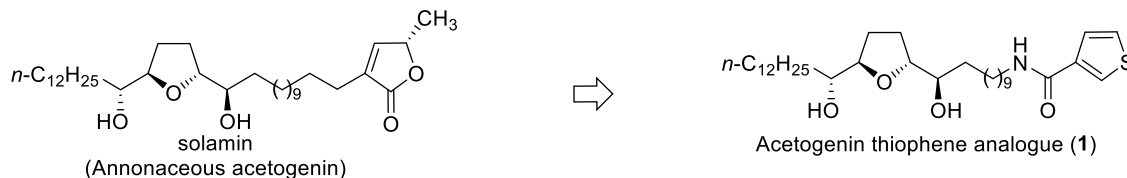
松本卓也、小島直人、岩崎宏樹、山下正行

がん研・がん化学療法セ

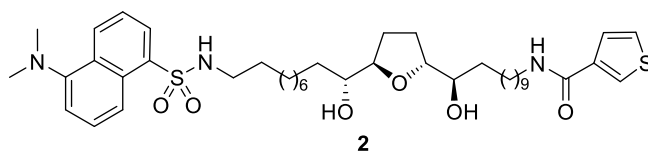
赤塚明宜、岡村睦美、旦 慎吾、矢守隆夫

バンレイシ科アセトゲニン類は熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるポリケチドであり、長い脂肪族側鎖の中央に1から3個のテトラヒドロフラン (THF) 環、末端に α 、 β -不飽和- γ -ラクトン環といった特徴的な構造を持つ化合物群である。殺虫活性、免疫抑制活性など様々な生物活性を有することが知られており、中でも最も興味深いのは抗腫瘍活性を有することである。ミトコンドリア電子伝達系複合体 I を阻害することによって細胞を ATP 欠乏状態に陥らせ、多様な生物活性を発現するとされているが、その詳細は未だ明らかになっていない。

私たちは天然物アセトゲニン的一种である solamin に関して、抗腫瘍活性に注目した構造活性相関研究を展開している。¹⁾ これまでに天然物 solamin の分子末端に存在する γ -ラクトン環をチオフェン環に変換し、アミド結合で連結した誘導体 1 は、*in vivo* 試験において毒性を示さずに高い抗腫瘍活性を有することを見出している。^{2,3)}



今回、アセトゲニンチオフェン誘導体 1 の作用機序解明を目指し検討を行った。まず、長鎖脂肪族側鎖上に蛍光標識基であるダンシル基を結合させたアセトゲニンチオフェン誘導体 2 を合成し、それを用いた細胞内動態実験によりミトコンドリアに集積することを確認した。そこでアセトゲニンチオフェン誘導体 1 の電子伝達系複合体 I 阻害活性を評価した結果、天然物と同様に強い阻害活性を示すことを明らかにした。また、他の複合体の阻害活性も評価したところ、1 は複合体 I を選択的に阻害していることが判明した。⁴⁾

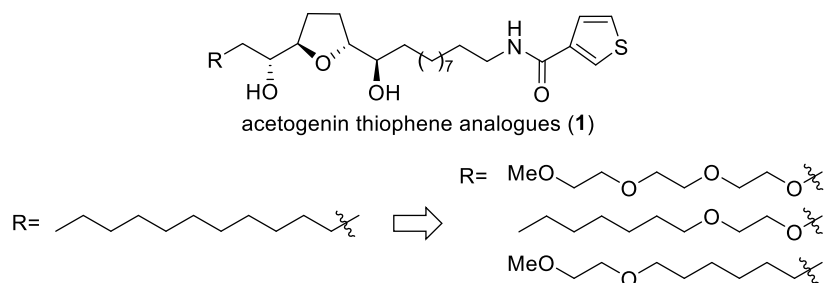


参考文献 1) For a review of acetogenin analogues, see: Kojima N., Tanaka, T., *Molecules* **2009**, *14*, 3621; 2) Kojima N. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1637; 3) Kojima, N. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 833; 4) Akatsuka, A. *et al.*, *Pharma. Res. Per. Chem.* **2016**, *4*, e00246.

エチレングリコール単位を導入した アセトゲニンチオフェン誘導体の合成と活性 評価

薬品製造学分野 小島直人、藤井真人、崔 秀り、松本卓也、岩崎宏樹、山下正行
がん研・がん化学療法セ 赤塚明宣、岡村睦美、旦 慎吾、矢守隆夫

我々の研究グループでは、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるバンレイシ科アセトゲニン類の構造活性相関研究に取り組んでおり、その共通構造である γ -ラクトン環の構造変換による新規抗がんリード化合物の創製研究を展開している。その結果、mono-THF アセトゲニンである solamin のラクトン環を種々の複素環に変換することにより、ヒトがん細胞に対する増殖抑制活性が大きく向上することを見出した。^{1,2)} 中でも、チオフェン環をアミド結合で連結した誘導体 **1** はヒト肺がん細胞 NCI-H23 を移植したマウスを用いた *in vivo* 試験にて強力な抗腫瘍活性を示した。^{3,4)} また、**1** はミトコンドリア複合体 I を阻害することにより抗腫瘍活性を発現していることを最近明らかにした。⁵⁾



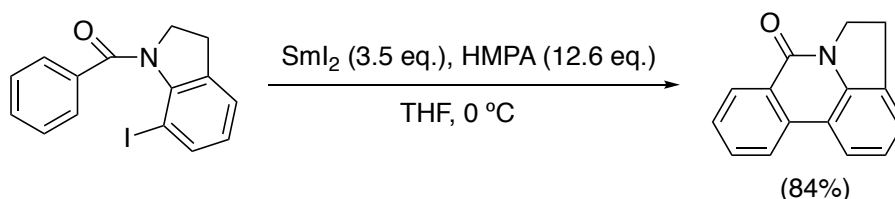
1 は抗がんリード化合物として興味深い活性を示すが、その構造中に含まれる長鎖アルキル鎖のため水溶性が極めて低いことが問題となっている。そこで今回、誘導体 **1** のアルキル側鎖部分にエチレングリコール単位を導入することによる水溶性の向上を計画した。本発表では、水溶性向上を指向した新規誘導体の収束的合成研究について報告する。また、合成した誘導体のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性を評価中であり、合わせて発表する予定である。

参考文献 1) Kojima, N. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 1637; 2) Kojima, N. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 833; 3) 小島直人ら, 特開 2013-147453; 4) Kojima, N. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *86*, 684; 5) Akatsuka, A. *et al.*, *Pharm. Res. Per.* **2016**, *4*, e00246

構造活性相関研究のためのヒガンバナアルカロイドをはじめとする天然物とその誘導体合成

薬品製造学分野 姫野恵利那、岩崎宏樹、田邊佑樹、小島直人、山下正行

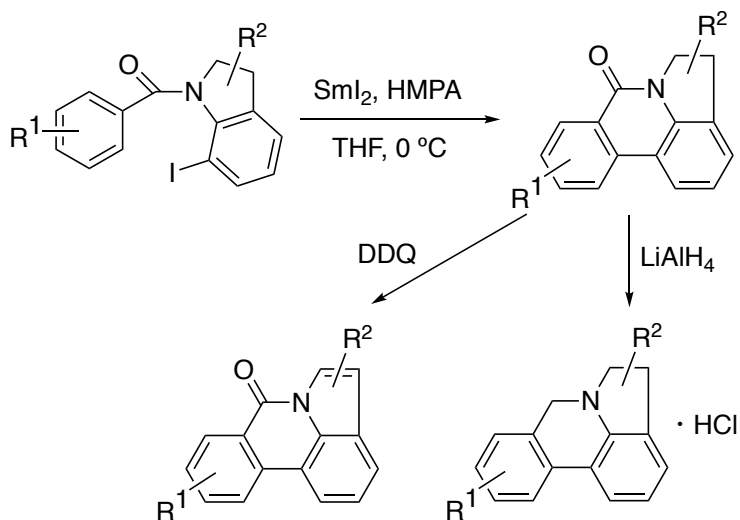
Pyrrolophenanthridinone 骨格は天然物、特にヒガンバナアルカロイドに含まれる構造であり、アセチルコリンエステラーゼ阻害作用、免疫刺激作用、抗腫瘍活性、抗ウイルス活性、抗マラリア活性など様々な活性を示すものが多い。しかしながら、それら天然物やその誘導体の合成には、高温、強酸、強塩基の使用、長い反応時間を必要とするものが多いため、官能基許容性に乏しい手法とも考えられる。一方、ヨウ化サマリウム (SmI_2) は、中性条件下室温以下の温度でも反応が速やかに進行する利点を有している。そこで SmI_2 を用いれば、四環性 pyrrolophenanthridinone 骨格を構築できると考え、新手法の開発に着手し、緩和な条件かつ短時間で pyrrolophenanthridinone 誘導体を良好な収率で得る手法を見出した (Scheme 1)。¹⁾



Scheme 1

今回我々は、本手法を用いて天然物である anhydrolycorinone, oxoassoanine および誘導体の合成を計画した。また得られた閉環体を用いて酸化反応または還元反応を行うことにより天然物である hippadine, pratosine および多様な誘導体の合成も計画した。その結果、良好な収率で目的の天然物および誘導体を得ることができた。また閉環体に対し、DDQ を用いた酸化反応または LiAlH_4 を用いた還元反応を行うことにより、目的の酸化体または還元体を得ることができた (Scheme 2)。

参考文献 1) Iwasaki H. *et al.*, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 5513.



Scheme 2

B 型肝炎ウイルス由来ウイルス様粒子 (VLP) の DDS への応用

細胞生物学分野 石田真紗子、杉本温子、賀川裕貴、渡部匡史、藤室雅弘
大阪大学医学部 ウイルス学 上田 啓次

現在の DDS (Drug Delivery System) における開発動向として、薬物を封入するリポソームやミセルなどの生体高分子の構成成分や粒子径の改変によって薬物送達率を向上させる試みが盛んに行われている。そこで私は、新たな DDS 製剤の開発のヒントとしてウイルスが臓器特異的に感染する能力に着目した。特に、B 型肝炎ウイルス (HBV) は肝臓に特異的に感染する性質を持つ。そこで、外被蛋白質のみで構成された HBV の中空粒子 (VLP) が目的臓器への DDS を可能にするキャリアとして利用できると推論し、HBV-VLP の調製とその細胞指向性について解析した。

HBV の外被蛋白質をコードする S 遺伝子由来の Large S (LS) 及び Small S (SS) を 293T 細胞にトランスフェクションした (Fig. 1)。二日間培養した後、培養上清を回収し、培養上清中に放出された VLP を PEG 沈殿により濃縮した。さらに、VLP を赤色蛍光色素である DiI により蛍光標識し、スクロース密度勾配遠心により DiI-VLP の精製を行った。精製過程における DiI-VLP の検出は Western blot 法により行った。調製した DiI-VLP を用いて、肝由来 HepG2 細胞、腎由来 293T 細胞、肺由来 A549 細胞に対する指向性について検討したところ、DiI-VLP は肝由来 HepG2 細胞に対して選択性をもつことが示唆された。また、DiI-VLP は経時的に肝細胞内に取り込まれることが明らかとなった。次に、アントラサクリン系抗がん剤のドキソルビシンを VLP に内封し、同様に肝細胞への取り込みを評価したところ、ドキソルビシン-VLP は経時的に肝細胞内に取り込まれた。

以上の結果より、HBV-VLP が肝細胞に対して指向性を持つことが明らかとなった。よって、肝臓への DDS 製剤として HBV-VLP の有用性が示唆された。

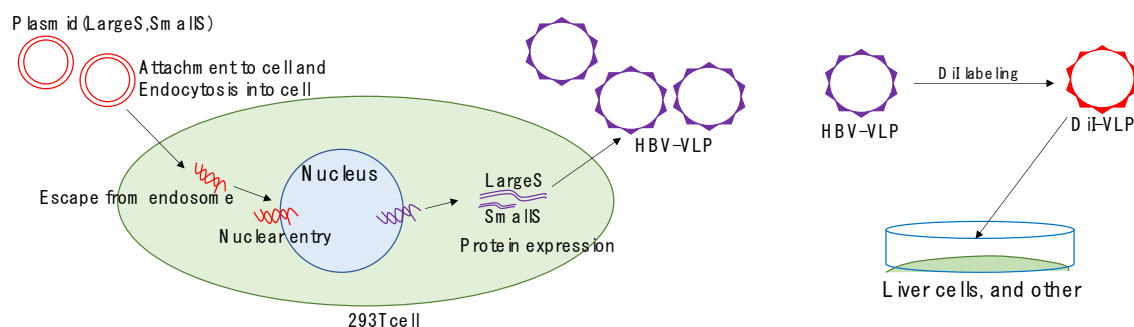


Figure 1. 研究方法の概略

がんウイルスによる GSK3 β 阻害による Snail の安定化

細胞生物学分野 寺尾友岐、松本遼太郎、賀川裕貴、渡部匡史、藤室雅弘

カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) 陽性の AIDS 発症者はカポジ肉腫 (KS) や原発性体腔液性リンパ腫 (PEL) を好発することから、KSHV は、KS や PEL の原因ウイルスと考えられている。KSHV は潜伏感染中に核内蛋白質 LANA を発現し、LANA は KSHV の DNA 維持と細胞のがん化に関与する。大腸がん発症や初期発生に関与する Wnt シグナルは β -カテニンの安定化で活性化し、 β -カテニンの不安定化で抑制される。 β -カテニンは GSK3 β によりリン酸化され、ユビキチン依存的な分解を受ける。我々は、LANA が核内で GSK3 β を拘束 (阻害) し、 β -カテニンの分解を抑制することで Wnt シグナルを活性化することを報告してきた。また、転写因子 Snail はがん細胞転移に関わる因子で、GSK3 β によりリン酸化を受け、ユビキチン依存的に分解される (Fig. 1)。そこで今回、我々は LANA が GSK3 β を介した Snail の不安定化にどのような影響を与えるか解析した。

HeLa 細胞に Snail、GSK3 β 、LANA プラスミドをトランスフェクションし、Snail の安定化を比較した。その結果、GSK3 β の共発現では Snail は不安定化し、この Snail の不安定化は完全長 LANA との共発現でキャンセルされた。また、GSK3 β 結合能を欠損した LANA は Snail を安定化しなかった。次に GSK3 β の不活性化に関わる Ser9 を Ala や Asp に置換した GSK3 β S9A (恒常的活性化体)、GSK3 β S9D (恒常的不活性化体) は、野生型 GSK3 β と比較し Snail の安定化に顕著な変化を示さなかった。

以上の結果より、LANA により Snail の分解系が破綻し安定化すること、さらに LANA による Snail の安定化には LANA の C 末端領域が重要であることが推察された。

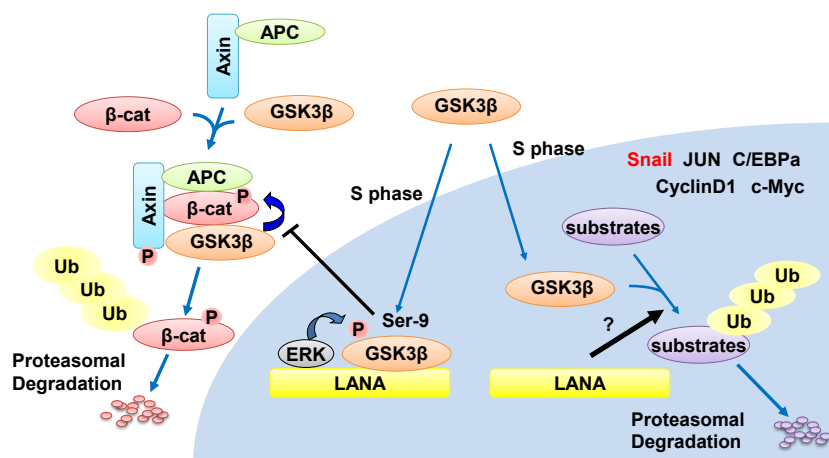


Figure 1. LANA による GSK3 β 阻害による Wnt 制御

特別講演

HIF-1 の生物学：基礎研究から創薬研究への展開

京都大学大学院 生命科学研究科 がん細胞生物学 教授 原田 浩

要旨

HIF-1 (hypoxia-inducible factor 1) は、がん細胞の糖代謝経路リプログラミング (グルコース代謝経路の最適化)、低酸素環境からの逃避 (転移・浸潤能の亢進)、酸素供給の改善 (血管新生の誘導) などで機能するマスター転写因子である。近年、我々は「HIF-1 活性化細胞の系譜解析実験」を通して、放射線治療後のがん局所再発において HIF-1 が重要な役割を果たすこと、および HIF-1 の阻害によって治療効果を向上させ得ることを報告してきた。また、「新規 HIF-1 活性化因子の遺伝学的スクリーニング」を通して、がんの悪性を担う新たな遺伝子経路を同定し、治療標的として活用する合理性を示してきた。本セミナーでは、HIF-1 を活用して悪性形質を獲得するがん細胞の緻密な戦略を紹介する。あわせて、HIF-1 を治療標的とする我々の試みも紹介したい。

~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業
「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」
Annual Meeting-2017 報告書

日時:2017年9月1日(金)13:50~17:40

場所:京都薬科大学 愛学ホール

参加者数:153名(教職員 33名、学部生・大学院生 119名、企業関係者 1名)

本私立大学戦略的基盤研究形成支援事業プロジェクト「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」では、9分野1センターから13名、広域大学知的財産アドバイザー1名と学外の3施設から3名、計17名が参画している。本プロジェクト発足後2年が経つが、この間進捗会議を年2回行い議論を重ね、新規分子標的治療薬創薬に向けた4つの共同研究プロジェクトを立ち上げた。2017年9月1日に開催されたAnnual Meeting-2017では、5年間のプロジェクトの中間報告会と位置づけ、4つのプロジェクトの進捗報告(口頭発表)、個々の参画研究者の研究発表(ポスター発表)と特別講演を行った。本学学部生、大学院生、教職員および他学教員、製薬企業関係者を併せて153名が参加した。

後藤 直正 学長

開会に際して、後藤直正学長から発足当初からの本プロジェクトの使命:①学内共同研究体制の確立、②若手研究者の育成、③研究成果を再確認するご挨拶をいただいた。引き続き、本プロジェクトの研究代表者である芦原から、今までの経過の概要が説明され4つの共同研究グループが発表された。

1. Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製
2. クマリン系がん転移抑制薬の創製
3. アセトゲニン誘導体がん治療薬の創製
4. A β 産生抑制および凝集阻害薬の創製



次に口頭発表として、「共同研究の進捗報告」として4演題の発表がなされた。どの口頭発表においてもそれぞれ活発な質疑応答、議論がなされた。Poster Viewingとして、各参画研究者の個々の研究発表が行われた。今年は28演題のエントリーがあり、ポスター会場とした愛学館3階フロアーに多くの学生が発表に参加し、新規分子標的治療薬創薬研究の質疑応答を行った。

原田 浩 教授

次に、京都大学 放射線生物研究センター ゲノム動態研究部門 がん細胞生物学分野 教授 原田 浩先生から



特別講演「HIF-1 の生物学:基礎研究から創薬研究への展開」をいただいた。講演では原田先生のライフワークのテーマである HIF-1 を活性化する、新たな分子を同定され、その分子に対する創薬研究開発をお話いただき、活発な質疑応答がなされた。

外部評価員である京都府立医科大学大学院 医学研究科 分子標的癌予防医学 酒井敏行教授、ならびに京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 高須清誠教授から本 Annual Meeting のご講評をいただいた。「バイオリジストとケミストが協力して事業を行っていることから、着実に候補化合物を見いだしつつあること、基本となる分子解析も順調に進行していることが評価に値する。今後は、それぞれの分子標的の同定を行い、特にがん分子標的薬の場合は、バイオマーカーを同定することにより、臨床開発に移行した時の成功率をあげることに、さらに、より具体的な出口戦略を積極的に製薬会社にも相談し、製薬会社が導入したくなるような実験計画をたてていくことが極めて重要とご評価いただいた。高須先生からも、「昨年度までと異なる取組・成果として、これまで個々の領域で行っていたプロジェクトを、異領域の複数のプロジェクトで協同して行うよう再編して、いくつかのエンドポイントに向かうよう力を結集したことにあり、昨年度からの長足の研究の進展が報告され、質疑応答も活発であり、京都薬科大学の研究力の強さと向上が認められた。進展しているプロジェクトについてはどのような患者を対象とするか明確にして、非臨床試験、臨床試験にステップアップできるようにロードマップを緻密に策定することが来年度に向けた課題である。」と、総評をいただいた。

外部評価委員

酒井 敏行 教授 (左)、高須 清誠 教授 (右)



最後に、合成・相互作用解析グループリーダー 薬品化学分野 赤路健一教授から、本プロジェクトのさらなる進捗を誓う言葉があり、盛会のうちに、本 Annual Meeting は終了した。

今後も定期的に進捗会議をもち、知財の獲得、上市を目指した分子標的治療薬候補化合物の創製を続け、さらに新たな“知の創造”も目指して本プロジェクトを遂行していく。

赤路健一 教授



文責: 芦原英司 (研究代表者)

① 転移班



② アセトゲンニン班



③ Wnt/ β -catenin班



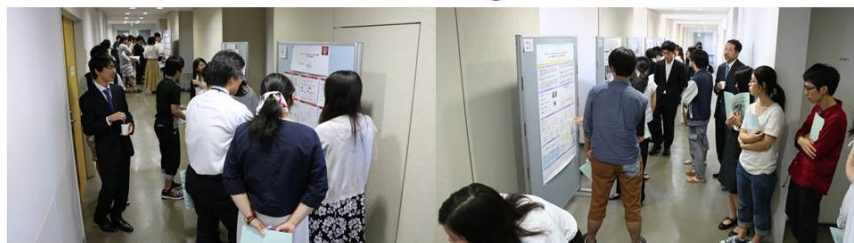
④ BACE1班



報告会の風景



Poster Viewingの風景



私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立

News Letter Vol.3

～はじめに～



研究代表者
病態生理学分野
芦原英司

2015 年度に採択いただきました私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」

も 3 年目を迎えました。本プロジェクトは、京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させ、悪性腫瘍と神経変性疾患・認知症に焦点を絞り、アカデミアの学術基盤を有効利用することによって新たな創薬・予防薬シーズを発掘することを目的とし、シーズのライセンスアウトを目指した産学連携プラットフォームを構築し、充実した健康長寿生

活の実現に貢献できる大学発創薬ベンチャー基盤の確立を目指しております。

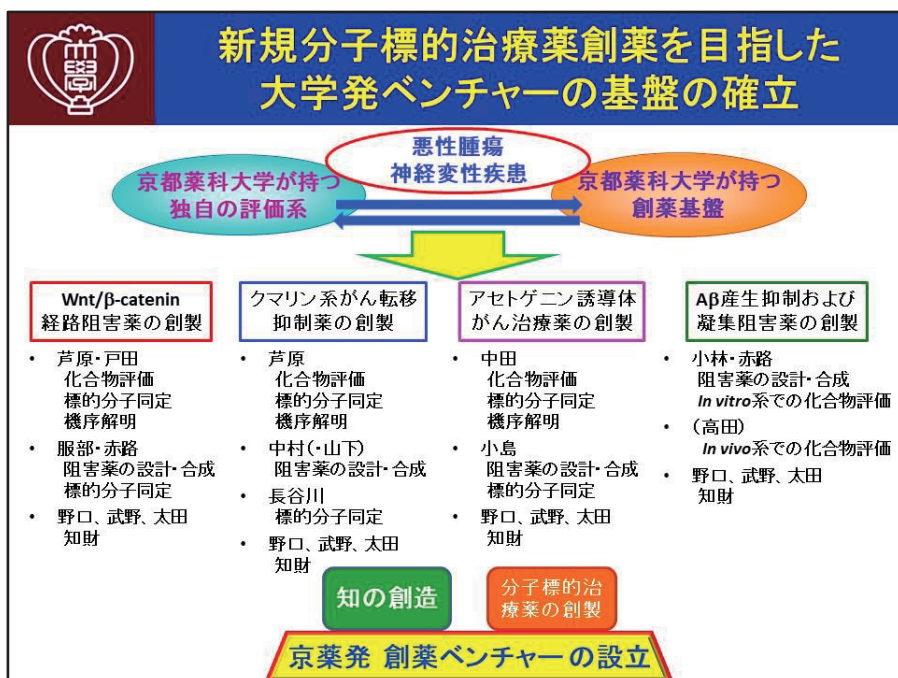
過去 2 年間は個々に行っておりました研究でありましたが、年 2 回の small meeting で議論に議論を重ね、大学として本プロジェクトで推進する、以下の 4 つの柱となる研究にメンバーの研究力を集結いたしました。

- ① Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製
- ② クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製
- ③ アセトゲニン類の構造変換によるがん幹細胞に対する新規分子標的治療薬の創製
- ④ 高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発

これらの柱となる研究を推し進め、得られたシーズの学術的評価に臨床評価を加味することで新規化合物の preclinical POC (Proof of

Concept) につなげ、トランスレーショナルリサーチの基盤を形成いたします。

本プロジェクトは助教・助手の若手教員および PD・RA といった若手研究者が中心メンバーで、彼らの自由で独創的な発想の元に研究を展開しています。個々の研究も並行して進め、薬学・医学という学問に、新たな「知の概念」の構築も目指します。

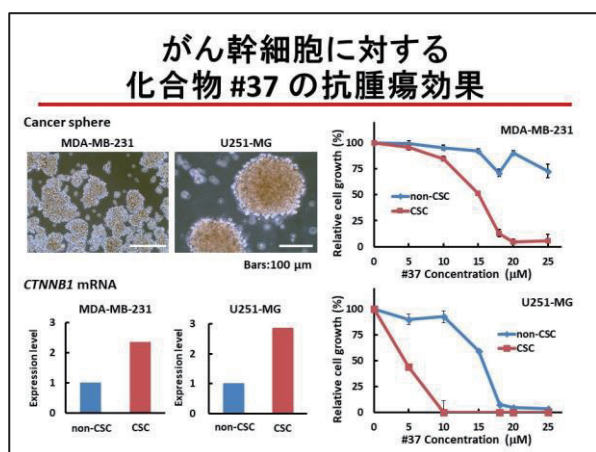


～各研究紹介～

Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索

病態生理学分野 芦原英司

我々は、初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などのいくつかの生命現象に重要な働きをしている古典的 Wnt/ β -catenin シグナル経路阻害による新規がん分子標的治療薬の開発を進めている。赤路健一博士、小林数也博士、共同利用機器センター 服部恭尚博士との共同研究にて構造活性相関研究を進め、基本骨格となる構造を突き詰めた。基本骨格を有する化合物は大腸がんをはじめ、膵がん、白血病細胞、多発性骨髄腫の増殖を抑制しアポトーシスを介した細胞死を誘導することを明らかにした。また治療抵抗性を示し、がん幹細胞集団が存在する低酸素環境に適応した膵がん細胞、および神経膠芽腫並びに乳がんの cancer sphere に対しても増殖抑制作用を有することを明らかにし、各種がん細胞のがん幹細胞集団にも有効性を示すことが期待される。現在、真の標的分子の同定に向け検討中である。



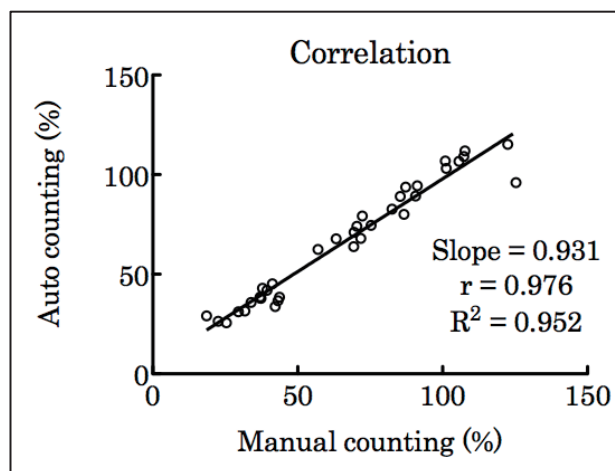
クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製

病態生理学分野 芦原英司

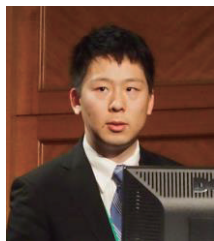
我々は生薬学分野の所有する化合物ライブラリーから、転移抑制化合物のスクリーニングを行い、その結果クマリン系化合物 daphnetin (7,8-dihydroxycoumarin) が、マウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞の浸潤および遊走を抑制することを世界で初めて明らかにした (Hiroki Fukuda, Seikou Nakamura, Esihi Ashihara, et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **471**, 63-67 (2016)). さらに本化合物はアクチンの重合に関わる分子の発現を検討したところ、RhoA および cdc42 タンパク質発現を減少させ、はストレスファイバーおよび糸状偽足の形成が低下させることで細胞遊走を抑制することを明らかにしている。

Daphnetin をヒット化合物として、構造活性相関研究を行い、本作用にキーとなる構造を推定しており、現在その部位の変換に伴う浸潤/遊走抑制作用を検討しており、現在、真の標的分子の同定に向け検討中である。(生薬学分野 中村誠宏博士、薬品製造学分野 山下正行教授との共同研究)

また本研究の派生研究として、機械学習を用いた細胞計測法を開発した。ImageJ の画像処理パッケージである Fiji およびそのプラグインである Trainable Weka Segmentation (TWS) を用いて、細胞の細胞核を機械学習させ、細胞を自動カウントするプログラムを作製した。このプログラムにより、効率的に細胞遊走の評価が可能となった(投稿準備中)。



エクソソームの脂質組成を基盤としたがん標的化技術の開発



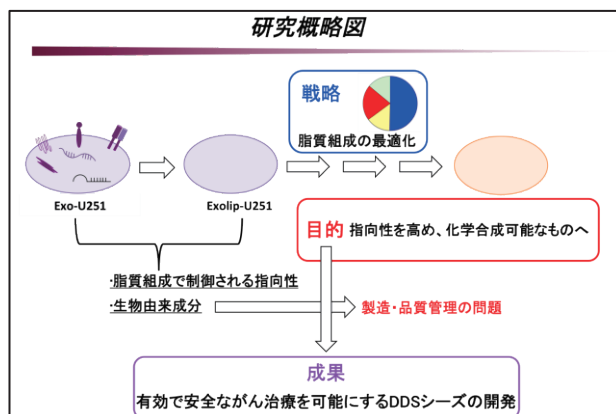
病態生理学分野 戸田侑紀

薬剤を標的部位へと特異的に送達できる DDS (drug delivery system) は抗がん剤による全身性の副作用を軽減する上で有効な手段である。エクソソームは機能分子を内包した膜小胞体として細胞外へ分泌され周辺細胞に作用する。ホルモンなどの単一な情報伝達分子と比較した場合、エクソソームは構成される複雑な分子組成に起因してより高い機能性をもつと考えられる。我々は、特定の細胞へ作用するための潜在的に備わった指向性が生体内での複雑な情報伝達に必須であり、その指向性を人工的に再現することで新たな治療標的化技術の開発に繋がると予想した。本研究では、がん細胞に指向性を有するエクソソームを同定し、指向性メカニズムに基づく化学的模倣を通じた新規治療標的化技術の開発を目指した。

これまでに、glioblastoma 由来エクソソーム (Exo-U251) は分泌元細胞へ効率的に導入され、自身のタンパク質因子に依存しない新たな標的化技術に繋がりを示している現象を見出している [Biochem. Biophys. Res. Commun., 456:768-773, 2015]。そこで Exo-U251 の脂質成分から再構成したリポソーム (Exolip-U251) のがん細胞内への取り込み量を解析し、脂質組成と本指向性の因果関係を検証した。

蛍光標識した Exolip-U251 はがん細胞および正常細胞双方に同程度取り込まれるコントロールリポソームとは異なり、がん細胞へ効率的に取り込まれた。酵素蛍光法を用いた各リン脂質クラス の個別定量解析により、Exo-U251 の脂質組成が指向性をもたない他のエクソソームとは大きく異なっていた。以上より、エクソソームの特有な脂質成分によって自身の動態が制御される可能性が示唆された。本研究で開発した脂質成分のみで成る Exolip-U251 は合成品として量産可能な DDS の有望な seed と考えられる。現在、本基盤事業内で見出された有望な低分子化合物を想定した

本リポソームの応用に向けて、モデル化合物であるドキソルビシンの Exolip-U251 への内包化に着手している。また、医薬品として汎用的に合成するために、単純な脂質組成への変換も試みている。



アセトゲニン誘導体 JCI-20679 のマウス膠芽腫幹細胞モデルに対する増殖抑制効果の解析



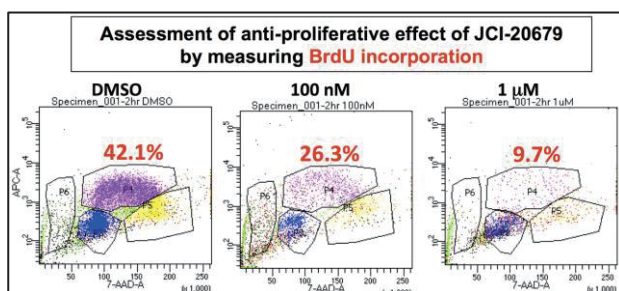
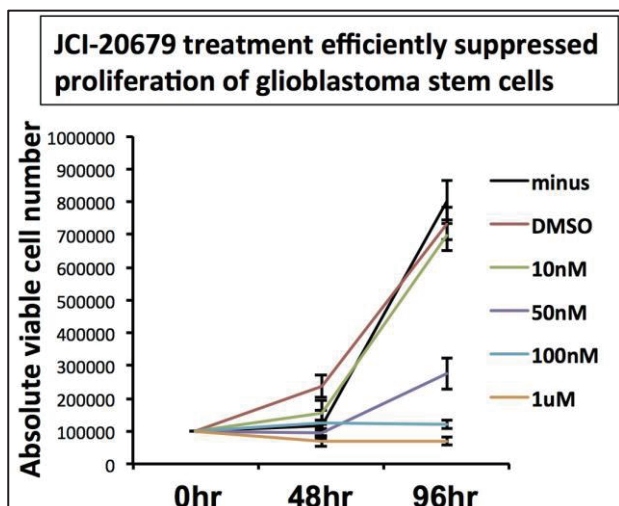
臨床腫瘍学分野 中田晋
薬品製造学分野 小島直人

脳腫瘍の一種である膠芽腫は、既存の治療法に対して極めて難治性であり、あらゆる悪性腫瘍の中でも最も予後が不良な疾患の一つである。膠芽腫に対する薬物療法としては、アルキル化剤テモゾロミドが 2006 年前後に登場して以来、10 年以上に渡り大きな進歩がみられず、膠芽腫の高いテモゾロミド治療耐性が大きな問題となっている。

近年、膠芽腫の組織中には発癌過程や再発の起点となる、いわゆる膠芽腫幹細胞が存在することが示されている。これまでに我々は、幹細胞マーカー遺伝子 *LGR5* がヒト臨床検体由来膠芽腫幹細胞に高発現し、その増殖・生存に必須であること、その高発現が不良な予後に相関することを報告してきた。これらの知見は、細胞幼若性に伴う遺伝子発現が、不良な予後と相関するという臨床的知見と合致すると考えられる。近年、近畿大学 藤田貢博士と共同で、sh-p53、EGFRvIII、NRasG12V

の *in vivo* 導入による自発症型マウスモデルの生体腫瘍組織から分離した膠芽腫幹細胞を樹立し、その特性解析を進めている。

そこで本研究では、本学薬品製造学分野小島直人博士らによって詳細な構造活性相関によって合成展開されたアセトゲニン誘導体 JCI-20679 の膠芽腫幹細胞に対する抗腫瘍活性について評価した。その結果、JCI-20679 を 96 時間作用させると、50~100 nM 前後の濃度で本膠芽腫幹細胞の増殖を顕著に抑制することをみいだした。この低濃度における増殖抑制効果には、BrdU 取り込み細胞率の顕著な低下を伴っており、細胞周期の S 期への進行の抑制が主な機序と考えられた。一方、500 nM 以上の高濃度処理においてはアポトーシス細胞死が誘導され、アポトーシス促進因子 Bim の発現誘導がみられた。

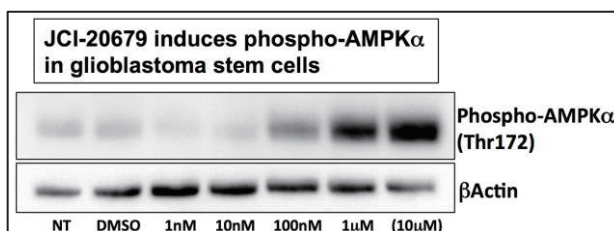


これまでの報告で、がん細胞パネルを用いた検討において JCI-20679 はピグアナイド系化合物と類似した増殖抑制スペクトラムを示し、生化学的解析においてもミトコンドリア複合体 I の阻害作用を有することが示されていたため、関連因子の解析を行った。

その結果、JCI-20679 処理によって、エネルギー

一代謝ストレスのセンサー分子である AMPK 蛋白質のリン酸化体の発現量が濃度依存的に増加し、この現象に細胞内 AMP/ATP 比の増大が伴っていることが確認された。これらの結果は、JCI-20679 が本膠芽腫幹細胞の増殖を抑制する際においても、ミトコンドリア複合体 I の阻害効果を発揮していることを示している。

一方、JCI-20679 の合成には、総行程 23 ステップを要し収率も低く、生体に投与することを想定した場合、大量合成が容易でないという欠点があった。そこで本研究では、JCI-20679 をリード化合物として構造の簡略化を達成し、高い効率で合成が可能となった新規誘導体 NK119~NK129 の活性を評価した。その結果、JCI-20679 よりも活性が高い、NK128 を同定した。NK128 は、JCI-20679 と同様にリン酸型 AMPK を誘導することを確認した。



近年、がん細胞のみならず、正常幹細胞の生物学においても、各種の幹細胞がミトコンドリアの機能的もしくは形態的にそれぞれの特徴を有し、エネルギー代謝における酸化リン酸化と解糖系との間のバランスが異なることが報告されており、幹細胞生物学的にも注目されている。また、がん研究においても、抗がん剤に対する耐性が生じた際にもミトコンドリア機能に変容することや、分子標的治療薬に耐性となった腫瘍細胞がミトコンドリア阻害剤に対する感受性を有しているという報告もされているため、今後、膠芽腫細胞のテモゾロミド耐性克服に向けたアセトゲニン誘導体の有用性について解析を進める方針である。

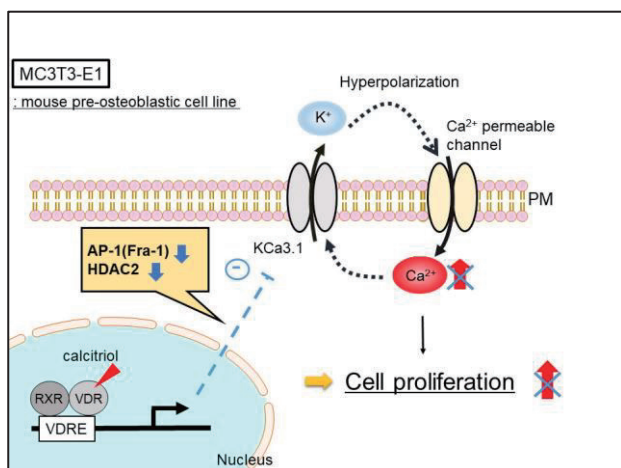
マウス前骨芽細胞におけるビタミンD受容体を介したKCa3.1機能制御機構の解明



薬理学分野 鬼頭宏彰

骨組織は骨形成と骨吸収による骨リモデリングにより恒常性を保っており、骨リモデリング破綻が骨免疫疾患の増悪に関与すると

考えられている。骨と免疫系はサイトカインなどのシグナル系を共有し密接に関係している。これまで免疫細胞に対して様々なイオンチャネル研究が進められてきたが、骨免疫疾患における骨関連細胞を標的としたイオンチャネル研究は十分には行われていない。イオンチャネルは膜電位制御を介して様々な細胞生理機能の制御に重要な役割を担うことが知られており、種々の病態におけるイオンチャネル機能について検討することは病態生理の理解と新規治療薬開発に対し有用な知見になると考えられる。



Ca²⁺は前骨芽細胞内で様々なシグナルを介し、最終的に NFATc1 の活性化に伴う核移行を経て、骨芽細胞への分化を促す。細胞内 Ca²⁺シグナルの形成には細胞外からの Ca²⁺流入が重要な役割を果たしており、骨芽細胞のような興奮性の低い細胞においては電位非依存的 Ca²⁺チャネルが主要な役割を果たしている。そのような電位非依存的 Ca²⁺チャネルにおいて、細胞膜の過分極は Ca²⁺

透過の電気化学的駆動力を増大させるため、過分極により細胞内 Ca²⁺濃度の上昇が生じる。K⁺チャネルは、活性化により細胞膜の過分極を生じさせるため電位非依存的 Ca²⁺チャネルを介した Ca²⁺流入を制御する重要な因子であり、特に細胞内 Ca²⁺濃度上昇により活性化される Ca²⁺活性化 K⁺チャネル (KCa) は、細胞内 Ca²⁺シグナルの形成に重要な役割を果たすと考えられる。非興奮性細胞における主要な Ca²⁺流入源の一つに、ストア作動性 Ca²⁺流入 (store-operated Ca²⁺ entry; SOCE) が挙げられる。ストア作動性 Ca²⁺流入 (SOCE) は多くの非興奮性細胞及び興奮性細胞における重要な Ca²⁺流入経路である。小胞体内 Ca²⁺濃度の減少は細胞膜上に存在するストア作動性 Ca²⁺チャネルを活性化し、様々な細胞機能調節に必要な持続的な細胞内 Ca²⁺濃度の上昇を引き起こす。

本検討では、骨芽細胞における SOCE 活性を SOCE 活性の制御因子としての K⁺チャネル (特に、KCaチャネル) に注目することで、骨芽細胞の機能制御におけるイオンチャネルの関与を明らかにすることを旨とした。

本研究により、我々はマウス前骨芽細胞に中コンダクタンス Ca²⁺活性化 K⁺チャネル KCa3.1 が機能発現することを電気生理学的に示し、KCa3.1 の活性化を介した細胞膜電位制御が Ca²⁺シグナルを活性化し前骨芽細胞の細胞増殖を促進することを明らかにした。また、骨粗鬆症の治療に用いられるビタミンDは動物個体レベルでは骨量を正に制御するものの、骨組織に限定した作用に注目すると骨量を負に制御する可能性がこれまでに報告されている。我々は、前骨芽細胞におけるビタミンD誘発性細胞増殖抑制作用に関して、KCa3.1 の関与を検討した。その結果、ビタミンD刺激により KCa3.1 の発現・活性が減弱することが細胞増殖の抑制作用に部分的に寄与することが明らかとなった。ビタミンD刺激による KCa3.1 の発現抑制メカニズムを検討したところ、KCa3.1 の転写促進因子である AP-1 の発現が減少することが関与することを明らかにした。

本研究による研究成果は、骨粗鬆症等における骨量増加を目指した薬物治療においてイオンチャネルによる骨芽細胞増殖という新たな可能性を提示するものである。

Wnt/ β -cat 阻害化合物 No. 37 の *in vitro* 遺伝毒性



公衆衛生学分野
長谷井友尋

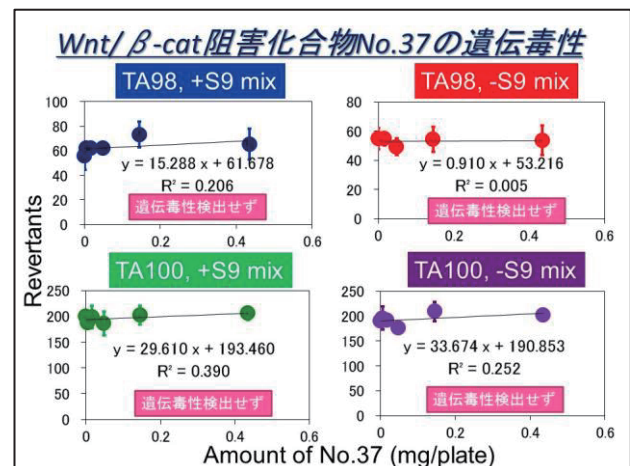
医薬品の開発・製造には種々の臨床・非臨床試験が必要になる。日米 EU 医薬品規制調和国際会議

(International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; ICH) は、日本・米国・EU による新薬承認審査の基準を国際的に統一し、各種試験の不必要な繰り返しを防いで医薬品開発・承認申請の非効率を減らすことを目的に設立された。ICH のガイドラインのうち、安全性のカテゴリーには、後世代への遺伝的影響の本質であるとともにがん化における多段階過程の一部を担っていると考えられている「遺伝毒性」が分類されている。新薬の開発には遺伝毒性の評価が必須であり、本プロジェクトにおいて開発された分子標的がん治療薬についても遺伝毒性を評価する必要がある。

今回、著者らは本プロジェクトで合成した Wnt/ β -cat 阻害化合物である化合物 No. 37 について、細菌を用いる遺伝毒性試験である Ames 試験を実施し、その *in vitro* 遺伝毒性を評価した。

当プロジェクトにおいて合成した分子標的がん治療薬の候補となる化合物 No. 37 について、*Salmonella* Typhimurium TA98 株及び TA100 株を用いて、S9 mix 存在下及び非存在下で Ames 試験を行った。ICH のガイドラインでは、試験に用いる最高濃度を 5 mg/mL と定めているが、純品として得られた量の関係から、0.0054、0.016、0.048、0.15 及び 0.44 mg/mL の 5 濃度で、予備的検討を実施した。TA98 株を用いた試験では、S9 mix 存在下及び非存在下のいずれにおいても、陰性対照に用いた DMSO による自然復帰変異コロニーが 60 個程度見られたが、化合物 No. 37 も同様に、試験を行ったいずれの濃度においても陰性対照と同程度のコロニー数のみが認められた。また、TA100

株を用いた試験でも、化合物 No. 37 は陰性対照と同程度の 200 個程度のコロニー数しか認められなかったことから、本予備的検討では TA98 株及び TA100 株のいずれを用いた遺伝毒性試験においても遺伝毒性は検出されなかった。また、本検討は試験濃度が ICH の定めた濃度に達しなかったことから、当初は予備的検討として実施したが、試験中の最終試験溶液において、いずれの濃度においても溶質の析出が認められた。ICH のガイドラインでは、「難溶解性の場合、最大濃度は沈殿が認められる最小の濃度まで」と定められている。このため、当初予備的検討として実施した本評価は、正規の評価として採用できることになった。これらの結果から、化合物 No. 37 は TA98 株及び TA100 株を用いた遺伝毒性試験において、遺伝毒性を示さないことが明らかになった。



今後は、他の菌株を用いた Ames 試験あるいは Ames 試験以外の他の遺伝毒性試験を用いて化合物 No. 37 を試験するとともに、本プロジェクトによって見出された他の化合物の安全性を評価していきたい。

複素環構造を有する阻害剤候補化合物の設計と合成



共同利用機器センター 服部 恭尚

1. Wnt/ β -カテニン経路阻害剤の開発

Wnt シグナルは様々な生物種に高度に保存されているシグナル伝達経路である。本経路は初期発生における体軸形成や細胞の分化、組織幹細胞の維持のみならず発がんの過程においても重要な役割を担っている。Wnt シグナルの一つである Wnt/ β -カテニン経路は β -catenin に依存し、大腸がんなどで異常亢進していることが知られている。従って、Wnt/ β -カテニン経路を阻害する小分子化合物は、新たながん治療薬のリード化合物となりうる。

これまで、既知の ICG-001 との構造類似性を指標に合成した含窒素複素環化合物を対象として Wnt/ β -カテニン経路を標的としたスクリーニングを共同研究先である病態生理学分野にて培養細胞を用いたルシフェラーゼアッセイシステムを用いて実施していただいた (図 1)。

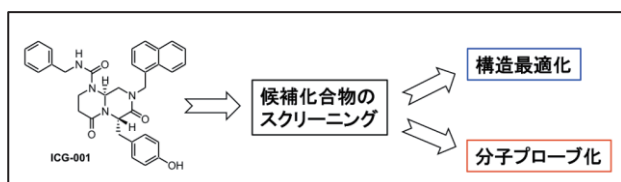


図 1 : 本研究テーマの概略図

現在までに中程度の阻害活性を示す阻害剤候補化合物を見出している。今後、これらの化合物の構造最適化を進め、高活性阻害剤の創製を目指す。併せて、分子プローブ化を行い、リガンド開発へと展開させ標的分子探索を進める予定である。(病態生理学分野 芦原英司博士、薬品化学分野 赤路健一博士、小林数也博士との共同研究)

2. SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の開発

重症呼吸器症候群 (Severe Acute Respiratory Syndrome: SARS) は 2002 年にエピデミックを起こした 21 世紀初の新興感染症である。現在のところ、有効な根治的治療法や実用化されているワクチンは未だ存在しない。SARS 原因ウイルスの増殖には SARS 3CL プロテアーゼが必須であり、その阻害剤は抗 SARS 薬となりうる。これまでに、報告したペプチドアルデヒド型阻害剤 1 に基づき、マイクロモルレベルの阻害活性を示す小分子型阻害剤 2 の開発に成功している。しかしながら、本阻害剤 2 は 1 よりも大幅に活性が減弱しており、その解決のために新規相互作用部位を導入した 3 の設計を行った (図 2)。

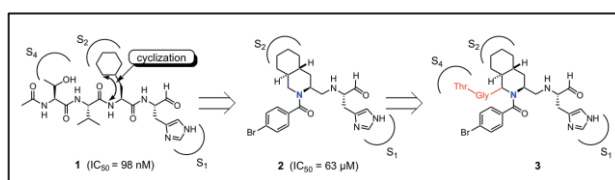


図 2 : SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計

今後、上記化合物 3 の合成と構造最適化を行い、SARS 治療薬へ展開したい。(薬品化学分野 赤路健一博士、小林数也博士との共同研究)

相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究



薬品化学分野 小林数也

アミロイド β ペプチドはアルツハイマー病の発症原因の一つと考えられており、その産生の一段階目に関与する BACE1 (β -site APP cleaving enzyme) は、

アルツハイマー病治療薬開発における重要な創薬標的の一つとなっている。我々は BACE1 をターゲットとしてペプチド性及び低分子型の阻害剤開発研究を行っている。

(1) ペプチド性 BACE1 阻害剤

我々はこれまでに、高親和性基質配列とヒドロ

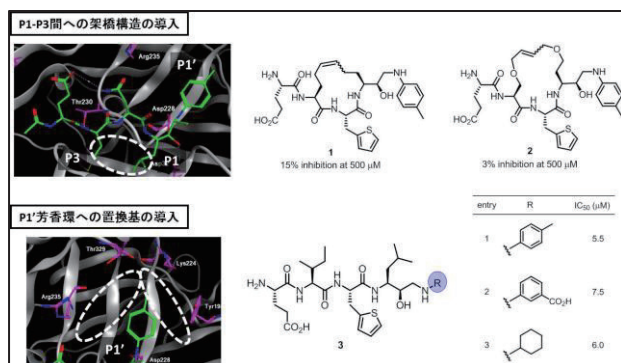
キシエチルアミン (HEA) 型イソスターを組み合わせた新規 BACE1 阻害剤の合成と活性評価について報告しており、BACE1 との共結晶の結晶構造解析の情報に基づき、HEA 型 BACE1 阻害剤 1 を親化合物として、(1) P1' 位芳香環への官能基の導入と、(2) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入、という 2 つのアプローチから最適構造の探索を行っている。

(1-1) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入

我々は、末端にアルケンを有するアミノ酸誘導体を P1、P3 位に導入した環化前駆体から、閉環メタセシス反応により架橋構造の構築を行うこととした。本年度は、昨年度合成した P1、P3 ユニットの用いることで、正確な構造決定には至っていないものの、13 員環及び 16 員環誘導体の合成を達成した。合成した誘導体の阻害活性は、残念ながら親化合物から大きく低下してしましたが、これらの結果から、それぞれの環サイズは小さすぎ、又は大きすぎたことが示唆された。現在は、14 員環及び 15 員環誘導体の合成を目標に、対応する P1、P3 ユニットの合成を行っている。

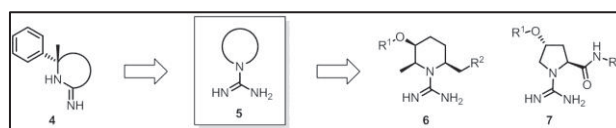
(1-2) P1' 位芳香環への官能基の導入

昨年度確立した合成法に基づいて、種々の P1' 誘導体の合成を行った。得られた誘導体の活性評価の結果、①芳香環パラ位には疎水性官能基が適していること、②芳香環メタ位にはカルボキシル基が適していること、③芳香環をシクロヘキシルに置換しても活性は維持されること、が明らかとなった。今後は、得られた知見に基づいて更なる構造活性相関研究を行い、最適構造を組み合わせることで、より強力な BACE1 阻害剤の開発を目指していく。



(2) 低分子 BACE1 阻害剤

近年、FBDD (Fragment Based Drug Design) による BACE1 阻害剤開発研究において、平面性を持たない環状アミジン骨格 4 を有する阻害剤が数多く報告されており、構造モチーフ 4 が有用なファーマコフォアとして着目されている。我々は、本骨格に着目し、新たに *N*-アミジノ含窒素環状骨格 5 をデザインし、*N*-アミジノピペリジン 6 と *N*-アミジノピロリジン 7 について、種々置換基を有する誘導体の合成と活性評価を行っている。



(2-1) *N*-アミジノピペリジン型阻害剤

アラニンを出発原料として誘導した環化前駆体に対して、既知の Pd 触媒を用いたジアステレオ選択的環化反応を用いてピペリジン骨格の構築を行い、種々置換基を導入することで、いくつかの 3,6-*cis*-2,3,6-三置換型 *N*-アミジノピペリジン誘導体を合成した。得られた誘導体の活性評価の結果、かさ高い疎水性置換基が活性発現に有効であることが示唆されたが、十分な BACE1 阻害能を有する化合物は見出すことはできなかった。この低活性の原因は、2 つの置換基の相対立体配置にあると考えており、現在 3,6-*trans*-三置換ピペリジン誘導体の合成を検討している。

(2-2) *N*-アミジノピロリジン型阻害剤

ヒドロキシプロリンを出発原料として、(a) S_N2 反応を用いた水酸基への R1 基の導入、(b) カルボン酸へのアミンの縮合による R2 基の導入、(c) 環上窒素原子へのアミジノ基の導入、の 3 段階の工程により R1、R2 が異なるいくつかの 2,4-二置換型 *N*-アミジノピロリジン誘導体を合成した。活性評価の結果、① *N*-アミジノピペリジンと同様に R1、R2 の置換基がかさ高いこと、② R1、R2 が *trans*-配置であること、が活性発現に重要であることが示唆された。今後は、これら活性評価の結果に基づき、更なる構造最適化を行う予定である。

天然伝承薬物を素材とした含硫黄、含窒素含有成分の探索



生薬学分野 中村誠宏

我々は、和漢生薬を中心とした天然伝承薬物を素材とし、特にがん転移抑制および神経変性疾患予防作用を有する含窒素、含硫黄含有成分の探索を進めている。これまでに、1) カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) 菌核、2) クロタネソウ (*Nigella damascena*) 種子 3) ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*) 根茎を用い含有成分の探索およびそれらの生物活性評価を進めてきた。その結果、カバノアナタケ菌核含有トリテルペン類 (3'-hydroxylanosta-8, 24-dien-21-al) が、細胞毒性が弱いにも関わらずヒト繊維肉腫 HT1080 細胞に対する有意な浸潤抑制作用を示すことを明らかにした。本年度は、引き続きこれらの天然薬物から生物活性成分の探索を進めるとともに、4) 葱白 (九条ねぎ、*Allium fistulosum* 'Kujou', 白い葉鞘部分) 等の含有成分の探索を行った。

1. 葱白 (*Allium fistulosum* 'Kujou') から新規含硫黄成分の探索

Allium 属植物はネギやタマネギをはじめとする野菜、ニンニクなどの香辛料など多くの種が存在し、主要成分として知られるアリシンには抗炎症作用や抗酸化作用を持つことが広く知られている。一方、アメリカ国立がん研究所で、発がん予防食品の調査研究を目標に、Designer Foods Project という名で研究計画が進められ、約 30 種類の推奨食品がクラス分けされた。この中には、*Allium* 属植物が多数選ばれている。このような背景のもと、我々は *Allium* 属植物から抗がん作用などを有する含硫黄新規生物活性成分の探索を目的とし、葱白 (九条ねぎ、*Allium fistulosum* 'Kujou') を用いその含有成分の探索を行った。すなわち、京都府産葱白のアセトン抽出エキスを酢酸エチル、1-ブタノールおよび水を用いて分液分画し、酢酸エチル分画を順相、逆相カラムクロ

マトグラフィーおよび HPLC を用いて繰り返し精製を行ったところ、kujounin A₁ (1) や alliumsulfoxide A₁ (4) を含む 1—5 の 5 種の新規環状硫黄化合物を得ることができた。これらの化学構造は、1 次元および 2 次元 NMR をはじめとする各種スペクトルデータの詳細な解析および化学的手法を用いて決定した。新規化合物 1—3 は、珍しい tetrahydro-2*H*-difuro[3, 2-*b*:2', 3'-*c*]furan-5(5*aH*)-one 構造を母核に有する点、*Allium* 属植物に特有の硫黄原子を有する点が特徴として挙げられた。この二つの特徴を満たす植物成分はこれまでに報告例がなく、本化合物は新たな医薬品シーズとして期待できる。¹⁾

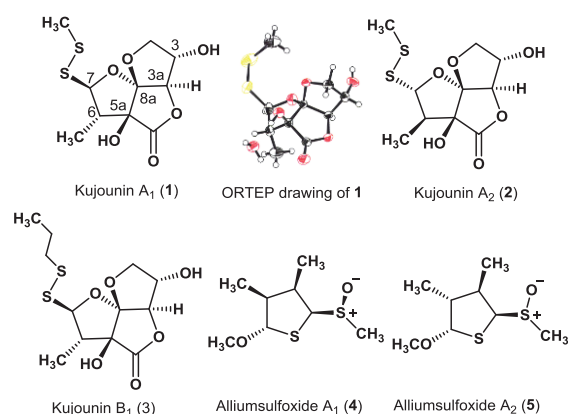


図 1

1) *Org. Lett.*, **20**, 28–31 (2018).

2. キンポウゲ科クロタネソウ (*Nigella damascena*) 種子のアルカロイド成分の探索

Nigella damascena (クロタネソウ) は南ヨーロッパを原産とするキンポウゲ科の 1 年草であり、日本では園芸品種として親しまれている。しかし、その天然物化学的研究はほとんど行われておらず、含有成分は明らかにされていなかった。昨年度に引き続き、*N. damascena* の薬学的利用価値を明らかにする目的で成分探索研究を行った。その結果、昨年度に報告した isoxanzolidine 骨格を有する化合物 oxazonigelladine (6) および damasterpene I (7)、II (8) 以外に 6 種の新規ドラベラン型ジテルペンおよびジテルペンアルカロイド damasterpene III (9)–VIII (14) を単離した。damasterpene 類は高度に酸素官能基を持つ特徴

的な構造を有しており、8~10 カ所の光学活性中心をもつ化合物であることが明らかになった。一方、キンポウゲ科植物 *M. sativa* 種子について *M. damascena* と比較のため成分探索研究を行った。その結果、4 種の主要既知ドラベラン型ジテルペンを単離同定した。得られた成分を比較すると環構造の二重結合位置の違いから両者は異なるコンフォメーションをとることが示唆された。また、ドラベラン型ジテルペンの誘導体を合成するとともに幾つかの化合物が有意な抗単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) 活性を示すことを見出した (図 2)。

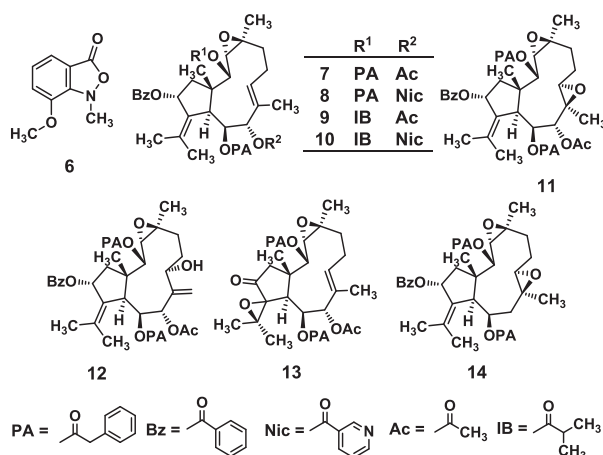


図 2

また、葱白、クロタネソウ以外に、カレーリーフ (*Murraya koenigii* 葉部)、コウホネ (*Nuphar japonicum*) 根茎などからも種々の成分を明らかにした。今後、得られて成分の生物活性評価を行うとともに、期待できる成分は天然物からの追加単離および成分の誘導体合成を検討する予定である。

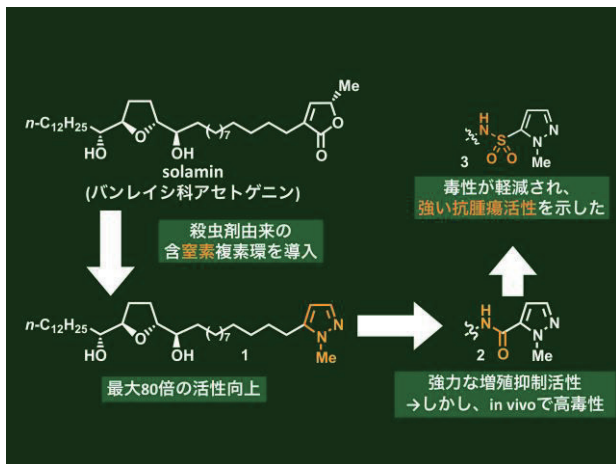
スルホンアミド結合でピラゾール環を結合させたアセトゲニン誘導体の合成と抗腫瘍活性評価



薬品製造学分野 小島直人

我々の研究グループでは、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるポリケチドであるアセトゲニン類をシードとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究を展開している。アセトゲニン類は長鎖アルキル鎖の中央付近に 2,5-二置換のテトラヒドロフラン (THF) 環、末端に γ -ラクトン環を持つ構造的特徴を有しており、強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことが知られている。我々は、 γ -ラクトン環部分を改変した種々の誘導体合成を展開した結果、それらが興味深い生物活性を示すことを明らかにしてきた。例えば、*N*-メチルピラゾール環を炭素-炭素結合で結合させた誘導体 1 はヒト肺がん細胞 NCI-H23 に対して、天然物 solamin の約 80 倍もの強い増殖抑制活性を示すことを見出している。また、複素環連結部位の結合様式は活性に大きく影響し、アミド結合で連結した誘導体 2 は更に 18 倍の非常に強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことを見出した。しかしながら、2 の *in vivo* 試験を実施した結果、マウスに対する毒性が非常に強く、10 mg/kg 以上の投与では毒性死が観察され、5 mg/kg の投与では有意な抗腫瘍活性を認めなかった。

そこで、活性発現に顕著な影響を及ぼしていると考えられる複素環結合部位に関する構造活性相関研究を展開した結果、エステル結合や *N*-メチル化アミド結合で連結した誘導体の活性はやや減弱は見られるものの、逆アミド結合で連結した誘導体では全く活性を見られないことが明らかになった。一方、アミド等価体の一つであるスルホンアミド結合でピラゾール環を結合させた誘導体 3 は強力ながん細胞増殖抑制活性を示すことが明らかになった。



しかしながら、誘導体 2 と 3 はいずれも強い活性を示すが、その活性プロファイルは大きく異なっていた。すなわち、誘導体 2 は今回の評価に用いた 39 種類のヒトがん細胞のうち、数種の細胞種に対してのみ非常に強い活性を示したのに対し、誘導体 3 は評価したほぼ全ての細胞種に対して強い活性を示したのである。今回用いている 39 種のヒトがん細胞からなる評価系は、共同研究者の矢守博士（(公財)がん研究会・がん化学療法センター）らが開発したものであり、本評価系で同様の活性プロファイルを持つ化合物は同じ作用機序を有する可能性が統計的に高いことが示されている。このことから、誘導体 2 と 3 は異なる作用機序で増殖抑制活性を示している可能性があり、マウスに対する毒性が軽減されている可能性が示唆された。そこで、これまでに我々が合成した約 100 種類の誘導体の活性プロファイルと誘導体 3 のものを比較したところ、以前に実施した *in vivo* 試験において 100 mg/kg の投与でも毒性を示さず、強力な抗腫瘍活性を示したチオフェン誘導体の活性プロファイルに類似していることが明らかになった。

そこで、誘導体 3 に関してヒト肺がん細胞 NCI-H23 を移植した xenograft マウスを用いた抗腫瘍活性評価を実施したところ、本化合物は 100 mg/kg の投与において、投与直後に若干の体重減少は見られるもののすぐに回復し、誘導体 2 と比較して毒性の大幅な軽減が見られた。一方、本用量において腫瘍の増殖は完全に抑制されており、強い抗腫瘍活性を示すことが明らかになった。今後、本化合物の生物活性の詳細を明らかにし、リード化合物の創出へと繋げていく予定である。

リガンド誘導体を用いた受容体検出法の開発

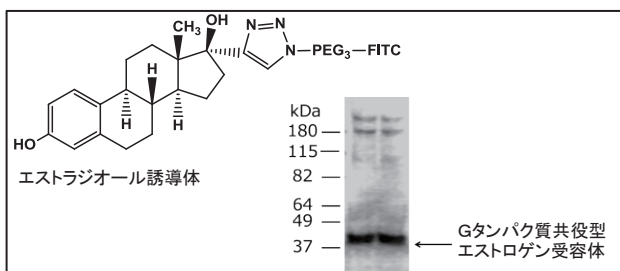


共同利用機器センター
長谷川功紀

薬剤標的として着目する受容体分子の存在を癌細胞や組織中から検出・可視化すること

は薬剤開発における効果予測に重要な意義を有する。従来から検出に抗体を利用する Western blot 法や免疫組織化学染色法が多用されてきた。しかし、受容体分子は単離が難しく、その抗体作製には困難を伴うことが多い。そこで我々は受容体がもともと有するリガンド結合能を利用し、リガンド誘導体を用いて受容体を検出・可視化する Western ligand blot (WLB) 法とリガンド誘導体染色 (LDS) 法を開発した。これらの方法を用い、現在までにペプチドリガンドをモデルにソマトスタチン受容体および Kiss1 受容体の検出法開発に成功した。

次に標的としてステロイドリガンドであるエストロジオール誘導体を用いてエストロゲン受容体の検出法開発を行っている。検出薬剤の出発物質としてエチニルエストラジオールを用いて、クリック反応を介して PEG リンカーを導入し、フルオレセイン修飾を行った。次にエストロゲン受容体を発現する乳がん細胞株 MCF7 を用い、そのエストロジオール誘導体の結合性を蛍光顕微鏡で評価したところ、細胞への結合を認めた。次に MCF7 細胞溶解液を用いて、WLB 法によりエストロゲン受容体の検出を試みた。その結果、G タンパク共役型エストロゲン受容体に相当する分子量にバンドを検出することができた。ただし、この研究から、検出には 6 μ M という高濃度の反応条件を要し、さらにエストロジオール誘導体の低溶解性により、これ以上の高濃度での検討は困難であることが明らかになった。今後、誘導体の設計を変更し、結合親和性と可溶性を向上させ、高感度の受容体検出剤を合成する予定である。



また、本年度から新規の研究として本戦略基盤研究プロジェクトで見出されたがん転移抑制能を有する新規化合物#192 の標的探索研究を開始した。#192 はクマリン骨格を有しており、自家蛍光を発する可能性が考えられた。そこで#192 によって転移抑制作用を示した LM8 細胞へ反応させ、蛍光顕微鏡により細胞内局在を観察した。その結果、#192 は細胞内に取り込まれ、核周辺に集積することを明らかにした。ただ#192 は蛍光強度が微弱なため詳細な細胞内構造を確認するのは困難であった。クマリンは蛍光強度を増強させた誘導体がすでに報告されている。そこで、それを参考に#192 の蛍光強度を強くする設計を行い、現在、数種類の誘導体を合成した。今後、それらの転移抑制作用評価、および蛍光顕微鏡による標的探索を行う予定である。

～おわりに～



薬品化学分野
赤路健一
(合成・相互作用解析グループ)

本事業も折り返し点を過ぎ、いよいよ研究成果を問われる時期を迎えつつあります。2015 年度に採択された本事業では、京都薬科大学の疾患モデル研究と創薬研究との有機的連携に基づく本学独自のベンチャー基盤形成を目的に掲げています。この目的達成に向け、①シーズ発掘・バリデーショングループと②合成・相互作用解析グループの二つの研究グループが事業活動を担っており、それぞれの研究基盤を戦略的に統合させた

共同研究体制確立を目指しています。本ニュースレターでは、本事業に携わる研究グループのこれまでの成果を紹介しております。当初の個別的研究を経て、ある程度まとまった研究グループによる研究進展が図られようとしています。がんを標的とした Wnt/ β -catenin 経路阻害薬、がんの転移抑制を目指したクマリン系化合物による遊走能・浸潤能の抑制、アセトゲニン類をリード化合物とした新規抗がん剤開発、BACE1 阻害によるアルツハイマー病の予防戦略、をテーマに掲げる研究グループによる研究が進められています。研究の芽が出つつあるとはいえ、確かな裏付けとなる具体的データの蓄積と成果実績が何より求められています。本事業後半では、それぞれのグループでの研究基盤をしっかりと固め、具体的な研究進展と実績につなげることが期待されています。

各研究グループでの活動が上滑りにならないよう意見交換を密にしつつ、各チームの中核を担う教員と大学院生・学部生の若い力をさらに結集し「山科から世界へ」発信する創薬を目指したいと考えています。ご支援のほど何卒よろしくお願い申し上げます。

～2017 年度業績～

著書

1. 芦原英司：4 多発性骨髄腫，ナーシング・グラフィカ 健康の回復と看護⑦疾病と治療。林正健二，山内豊明編，pp.23-27，メディカ出版（2017）。
2. 芦原英司：ここに注目！Bromodomain およびその阻害薬，多発性骨髄腫 Updating 第 10 巻骨髄腫治療を理解するための Myeloma Biology，清水一之，安倍正博，島崎千尋，鈴木憲史，張高明編，pp.70-76，医療ジャーナル社（2017）。
3. 長谷川功紀：第 3 章 放射性標識ペプチドを

用いた分子病理診断・内用放射線治療薬剤の開発. 医療・診断をささえるペプチド科学 — 再生医療・DDS・診断への応用—, 平野義明監修, pp289-297, シーエムシー出版 (2017)

英文総説

1. Yasunao Hattori, Hidefumi Makabe: Chapter 5 The biological activities and synthesis of 2,6-disubstituted piperidinols. *Frontiers in Natural Product Chemistry*, 3: 196-220 (2017).
2. Mitsugu Fujita, Susumu Nakata: The immunological significance of chemokines and integrins in central nervous system tumors, *Journal of Advances in Oncology*, 1, 1005-1009 (2017).
3. Susumu Ohya, Hiroaki Kito: Ca²⁺-activated K⁺ channel K_{Ca}3.1 as a therapeutic target for immune disorders. *Biol Pharm Bull*, in press.

和文総説

1. 芦原英司: 低酸素骨髄環境に潜む骨髄腫幹細胞. *BIO Clinica*, 32 (9), 82-87 (2017).

英文原著

1. Kazutaka Koto, Hiroaki Murata, Yasushi Sawai, Eishi Ashihara, Motoyuki Horii, and Toshikazu Kubo: Cytotoxic effects of zoledronic acid-loaded hydroxyapatite and bone cement in malignant tumors. *Oncol. Lett.*, 14, 1648-1656 (2017).
2. Keiko Taniguchi, Kengo Matsumura, Hiromi Ii, Susumu Kageyama, Eishi Ashihara, Akihiro Kawauchi, Tatsuhiro Yoshiki, Susumu Nakata: Prohibitin-2 is a novel regulator of p21Waf1/Cip1 induced by depletion of γ -glutamylcyclotransferase from MCF7 breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 496, 212-224 (2018).
3. Toshimasa Nakao, Koji Masuda, Takehisa Matsuyama, Tsukasa Nakamura, Eishi

Ashihara, Hidetaka Ushigome, and Norio Yoshimura: Dexamethasone prolongs cardiac allograft survival in a mouse model through myeloid-derived suppressor cells. *Transplant. Proc.*, 50, 299-304 (2018).

4. Yoko Nakagawa*, Eishi Ashihara*, Hisayuki Yao, Asumi Yokota, Yuki Toda, Yasuo Miura, Susumu Nakata, Hideyo Hirai, and Taira Maekawa: Multiple myeloma cells adapted to long-exposure of hypoxia exhibit stem cell characters with TGF- β /Smad pathway activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 496, 490-496 (2018). (*: equal contribution to the first author)
5. Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Masatsugu Miyashita, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Low dose gemcitabine increases the cytotoxicity of human $\gamma\delta$ T cells in bladder cancer cells in vitro and in an orthotopic xenograft model. *OncImmunity*, e1424671.
6. Hiromi Ii, Taku Yoshiya, Susumu Nakata, Keiko Taniguchi, Koushi Hidaka, Shugo Tsuda, Masayoshi Mochizuki, Yuji Nishiuchi, Yuko Tsuda, Kosei Ito, Susumu Kageyama, Tatsuhiro Yoshiki: A novel prodrug of a γ -glutamylcyclotransferase inhibitor suppresses cancer cell proliferation in vitro and inhibits tumor growth in a xenograft mouse model of prostate cancer, *ChemMedChem*, 13, 155-163 (2018).
7. Takeshi Okuda, Takayuki Tasaki, Susumu Nakata, Kimihiro Yamashita, Hiromasa Yoshioka, Shuichi Izumoto, Amami Kato, Mitsugu Fujita: Efficacy of Combination Therapy with MET and VEGF Inhibitors for MET-overexpressing Glioblastoma, *Anticancer Research*, 37, 3871-3876 (2017).
8. Anowara Khatun, Motoki Shimozaawa, Hiroaki Kito, Mayu Kawaguchi, Mayu Fujimoto, Moe Li, Junko Kajikuri, Satomi

- Niwa, Masanori Fujii, Susumu Ohya: Transcriptional repression and protein degradation of the Ca²⁺-activated K⁺ channel K_{Ca}1.1 by androgen receptor inhibition in human breast cancer cells. *Front physiol*, DOI: 10.3389/fphys.2018.00312.
9. Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Tomoe Ohta, Keiko Ogawa, Masashi Fukaya, Junko Tsukioka, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe, Hisashi Matsuda: Neolignan and megastigmane glucosides from the aerial parts of *Isodon japonicus* with the cell protective effects on BaP-induced cytotoxicity, *Phytochemistry*, 137, 101–108 (2017).
 10. Takahiro Matsumoto, Taisuke Nishikawa, Ayano Furukawa, Saki Itano, Yuka Tamura, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe: Antimutagenic effects of polymethoxy flavonoids of *Citrus unshiu*, *Nat. Prod. Commun.*, 12, 23–26 (2017).
 11. Takahiro Matsumoto, Seikou Nakamura, Naoto Kojima, Tomohiro Hasei, Masayuki Yamashita, Tetsushi Watanabe, Hisashi Matsuda: Antimutagenic activity of ent-kaurane diterpenoids from the aerial parts of *Isodon japonicus*, *Tetrahedron Lett.*, 58, 3574–3578 (2017).
 12. Takahiro Matsumoto, Kazuki Takahashi, Sumire Kanayama, Yuka Nakano, Hiromi Imai, Masumi Kibi, Daisuke Imahori, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe: Structure of antimutagenic constituents in the peels of *Citrus limon*, *J. Nat. Med.*, 71, 735–744 (2017).
 13. Younosuke Sato, Akira Matsuo, Shinji Kudoh, Koki Hasegawa, Liu Fang, Yohei Shinmyo, Takaaki Ito: Expression of draxin in lung carcinomas. *Acta. Histochem. Cytochem.*, 51, 53-62, (2018).
 14. Koki Hasegawa, Emi Kawachi, Yoshinari Uehara, Tsuyoshi Yoshida, Satoshi Imaizumi, Masahiro Ogawa, Shin-ichiro Miura, Keijiro Saku: Improved 68Ga-labeling method using ethanol addition: Application to the α -helical peptide DOTA-FAMP. *J. Label. Compd. Radiopharm.*, 60, 55-61, (2017).
 15. Koki Hasegawa, Shinji Kudoh, Takaaki Ito: Somatostatin receptor staining in FFPE sections using a ligand derivative dye as an alternative to immunostaining. *PLoS One*, 12, e0172030, (2017).
 16. Masaki Asai, Yukiko Takemoto, Ayaka Deguchi, Yasunao Hattori, Hidefumi Makabe: An asymmetric synthesis of (+)-monomorphine I. *Tetrahedron: Asymmetry*, 28, 1582-1586, (2017).
 17. Kohki Takanashi, Manato Suda, Kiriko Matsumoto, Chisato Ishihara, Kazuya Toda, Koichiro Kawaguchi, Shogo Senga, Narumi Kobayashi, Mikihiro Ichikawa, Miyuki Katoh, Yasunao Hattori, Sei-ichi Kawahara, Koji Umezawa, Hiroshi Fujii, Hidefumi Makabe: Epicatechin oligomers longer than trimers have anti-cancer activities, but not the catechin counterparts. *Scientific Reports*, 7, 1542-1553, (2017).
 18. Masaki Asai, Yasunao Hattori, and Hidefumi Makabe: Synthesis of isocoumarin compounds, 8-hydroxy-6-methoxy-3-pentyl-1H-isochromen-1-one and fusariumin analog using palladium-catalyzed carbonylation trapping with O-Enolate. *Heterocycles*, 94, 1542-1553, (2017).
 19. Kazuya Kobayashi, Takaaki Mizuguchi, Yasunao Hattori, Naho Ohara, Ryunosuke Ninomiya, Mika Iida, Honami Ooe, Yukako Yamazaki, Minami Takata, Hirokazu Tamamura, Kenichi Akaji: Effects of Replacement and Addition of an Amino Acid Contained in a Cyclic Peptide

Corresponding to a β -hairpin Loop Sequence of Human EGF Receptor, *J. Pept. Sci.* 23, 581-586 (2017).

20. Hiroyuki Konno, Takumi Onuma, Ikumi Nitani, Masaki Wakabayashi, Shigekazu Yano, Kenta Teruya, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of phenylisoserine derivatives for the SARS-CoV 3CL protease inhibitor, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 27, 2746-2751 (2017).
21. Hitoshi Kimura, Shiho Mikawa, Chiharu Mizuguchi, Yuki Horie, Izumi Morita, Hiroyuki Oyama, Takashi Ohgita, Kazuchika Nishitsuji, Atsuko Takeuchi, Sissel Lund-Katz, Kenichi Akaji, Norihiro Kobayashi, Hiroyuki Saito: Immunochemical Approach for Monitoring of Structural Transition of ApoA-I upon HDL Formation Using Novel Monoclonal Antibodies, *Sci. Rep.* 7, 2988 (2017).
22. Kaori Ryu, Seikou Nakamura, Souichi Nakashima, Masaaki Aihara, Masashi Fukaya, Junko Iwami, Yasunobu Asao, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda. Triterpenes with anti-invasive activity from sclerotia of *Inonotus obliquus*. *Nat. Prod. Commun.*, 12:225-228, (2017).
23. Keiko Ogawa, Seikou Nakamura, Yumiko Asada, Masayuki Yamashita, Hisashi Matsuda. Oxazonigelladine and dolabellane-type diterpene constituents from *Nigella damascena* seeds. *Tetrahedron*, 73:7054-7060, (2017).
24. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Ryota Nakagawa, Souichi Nakashima, Masayuki Yamashita, Hisashi Matsuda. Rare Sulfur-Containing Compounds, Kujounins A1 and A2 and Allium Sulfoxide A1, from *Allium fistulosum* 'Kujou'. *Org. Lett.*, 20:28-31, (2018).

1. Yuki Toda, Hikaru Kawakami, Saeka Ukai, Shin-ya Morita, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: Cancer targeting using exosomal lipids toward detection enhancement of microlesion. 3rd AACR-SNMMI Joint Conference on State-of-the-Art Molecular Imaging in Cancer Biology and Therapy (San Diego, USA), 2018.2.
2. Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Makou Tomogane, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Low dose gemcitabine increases the cytotoxicity of human $\gamma\delta$ T cell in vitro and in an orthotopic xenograft model in bladder cancer. 33rd European Association of Urology Congress (Copenhagen, Denmark), 2018.3.
3. Koki Hasegawa, Rika Maedomari, Kumiko Gotoh, Shinji Kudoh, Akihiro Kojima, Takaaki Ito: Synthesis of ^{67}Ga -labeled Kisspeptin10 and in vivo evaluation for medullary thyroid carcinoma imaging. 22nd International Symposium on Radiopharmaceutical Sciences. Dresden, Germany, 2017.5.

国内学会

1. Teruki Shimizu, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Development of intravesical human $\gamma\delta$ T cell therapy against refractory urinary bladder cancer and human $\gamma\delta$ T cell therapy based chemoimmunotherapy. 第105回日本泌尿器科学会総会（鹿児島）, 2017.4.
2. 戸田侑紀、芦原英司：細胞外小胞の脂質組成から見出した新規がん標的型 DDS. 第21回日本がん分子標的治療学会学術集会（福岡）, 2017.6.
3. 吉留利香、山下直人、山吉麻子、戸田侑紀、高田和幸、小堀哲生、村上章、芦原英司：Development of antibody-conjugated siRNAs for cancer treatment（抗体結合型 siRNA を用いた新規悪性腫瘍特異的送達法の開発）. 次世代を担う創薬・医療薬理シン

学会発表
国際学会

- ポジウム 2017 (京都), 2017.8.
4. 篠村恵理子、上野美都穂、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: 多発性骨髄腫に対する新規プロモドメイン阻害剤 CG14262 と既存の分子標的治療薬との併用による抗腫瘍効果の検証. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017 (京都), 2017.8.
 5. 磯村拳一、若林亮介、服部恭尚、嶋本康広、小林数也、戸田侑紀、高田和幸、赤路健一、芦原英司: 新規 Wnt/ β -カテニン経路阻害剤は TGF- β 刺激による A549 ヒト非小細胞肺癌細胞株の遊走を抑制する. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017 (京都), 2017.8.
 6. 辰巳宥衣、戸田侑紀、大東萌絵、高田和幸、芦原英司: 間葉系幹細胞由来エクソソームの造血制御に関する解析. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017 (京都), 2017.8.
 7. 清水輝記、友金眞光、宮下雅亜、浮村 理、芦原英司: 難治性膀胱癌に対する $\gamma\delta$ T 細胞を用いた複合免疫療法の開発、gemcitabine(GEM)併用による相乗効果の検討. 第 47 回京阪泌尿器腫瘍セミナー (大阪), 2017.9.
 8. 戸田侑紀、川上 光、鶴飼幸永佳、森田真也、高田和幸、芦原英司: 細胞指向性を制御するエクソソームの脂質と薬物送達への応用. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2017 (京都), 2017.10.
 9. 友金眞光、清水輝記、宮下雅亜、佐野友亮、清水大器、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: がん細胞における PD-L1 の発現レベルが $\gamma\delta$ T 細胞の細胞障害性に影響を及ぼす. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2017 (京都), 2017.10.
 10. 甘利圭悟、久米伶奈、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: 骨髄由来間葉系幹細胞における放射線照射は造血関連分子の発現を亢進させる. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2017 (京都), 2017.10.
 11. 杉山雄輝、中村誠宏、長谷川功紀、福田浩紀、吉澤正人、玉井志保里、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製. 第 11 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム 2017 (京都), 2017.10.
 12. 清水輝記、友金眞光、宮下雅亜、佐野友亮、清水大器、戸田侑紀、藤原敦子、高田和幸、浮村理、芦原英司: 難治性膀胱癌に対する $\gamma\delta$ T 細胞を用いた新規膀胱注入療法の開発. 第 7 回 4 大学連携研究フォーラム (京都), 2017.11.
 13. 藤田貢、田崎貴之、奥田武司、米重あづさ、中田晋: グリオーマ幹細胞における薬剤排出分子 ABCG2 の役割. 第 27 回日本サイトメトリ学会学術集会 (神戸), 2017.6.
 14. 飯居宏美、中田晋、谷口恵香、影山進、吉貴達寛: 担癌マウスにおける γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ阻害剤の抗腫瘍効果. 第 76 回 日本癌学会学術総会 (横浜), 2017.9.
 15. 谷口恵香、中田晋、松村健吾、飯居宏美、影山進、河内明宏、吉貴達寛: γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ(GGCT)の発現低下はオートファジーを介して細胞老化を誘導する. 第 76 回 日本癌学会学術総会 (横浜), 2017.9.
 16. 茂山千愛美、藤田貢、飯居宏美、谷口恵香、吉貴達寛、中田晋: Stat5b は発がんマウスモデル由来膠芽腫幹様細胞の増殖促進に寄与している. 第 76 回 日本癌学会学術総会 (横浜), 2017.9.
 17. 高木寛子、飯居宏美、中田晋、吉貴達寛: γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ(GGCT)阻害剤のがん細胞増殖抑制機構の解析に基づくドキシソルピシン併用効果に関する研究. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017.10.
 18. 飯居宏美、中田晋、谷口恵香、吉矢拓、津田修吾、望月雅允、影山進、吉貴達寛: 新規 γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ阻害剤の抗腫瘍効果の検討. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3
 19. 高木寛子、飯居宏美、中田晋、谷口恵香、吉矢拓、津田修吾、望月雅允、影山進、吉貴達寛: γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ

- 阻害剤の細胞老化を介した細胞増殖抑制効果と抗がん剤併用によるその効果の増強. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3
20. 谷口恵香、松村健吾、飯居宏美、影山進、芦原英司、河内明宏、吉貴達寛、中田晋: Gamma-glutamylcyclotransferase (GGCT) の発現低下はがん細胞にオートファジーを介して細胞老化を誘導する. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3
 21. 茂山千愛美、東馬智未、藤田貢、安藤翔太、岩崎仁志、谷口恵香、飯居宏美、吉貴達寛、中田晋: 発がんマウスモデル由来膠芽腫幹細胞の増殖に対する Stat5b の寄与. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3
 22. 東馬智未、茂山千愛美、小島直人、岩崎仁志、安藤翔太、藤田貢、谷口恵香、飯居宏美、吉貴達寛、中田晋: 脳腫瘍幹細胞マウスモデルを用いたアセトゲニン誘導体新規がん治療薬開発. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3.
 23. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャネル KCa3.1 の活性制御. 第 131 回日本薬理学会近畿部会 (名古屋), 2017.6.
 24. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャネル KCa3.1 の活性制御. 生体機能と創薬シンポジウム 2017 (京都), 2017.8.
 25. 森広晴香、鬼頭宏彰、川岸怜子、榊原侑香、大矢進: マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャネル KCa3.1 の活性制御. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2017 (京都), 2017.8.
 26. 鬼頭宏彰、森広晴香、川岸怜子、榊原侑香、藤井正徳、大矢進: マウス前骨芽細胞におけるビタミン D 受容体を介した中コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^{+} チャネルの活性抑制. 日本薬学会 138 年会 (金沢), 2018.3.
 27. 松本崇宏、高橋一輝、中野結華、金山董玲、吉備万純、井上枝里子、長谷井友尋、渡辺徹志: レモン (*Citrus limon*) 果皮からの抗変異原性成分の探索研究. フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー (仙台), 2017.9.
 28. 今堀大輔、松本崇宏、小島直人、住居潤美、住田大志、長谷井友尋、山下正行、渡辺徹志: 高血糖状態における新規メイラード反応生成物の化学構造. フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー (仙台), 2017.9.
 29. Mohammad Shahriar Khan, Nami Furukawa, Yuuki Kubo, Yusuke Nakaoji, Yumi Kawase, Tomohiro Hasei, Takahiro Matsumoto, Yoshitaka Yano, Yuya Deguchi, Hiroaki Nagaoka, Makoto Miura, Yukio Nagasaka, Nobuyuki Yamagishi, Tetsushi Watanabe: Seasonal Fluctuation of the Concentrations of Endotoxin, Protein and Ionic Substances in Outdoor Air and their Effect on Asthmatic Patients. フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー (仙台), 2017.9.
 30. 渡辺徹志、Khan Mohammad Shahriar、古川奈美、久保裕希、中大路友亮、河瀬裕美、長谷井友尋、松本崇宏、出口雄也、長岡寛明、山岸伸行: 西日本における大気中のタンパク質、エンドトキシン、イオン類の濃度の季節的変動と長距離輸送の影響. 第 58 回大気環境学会 (神戸), 2017.9.
 31. 松本崇宏、中村誠宏、小島直人、長谷井友尋、山下正行、松田久司、渡辺徹志: テルペノイドに着目した抗遺伝毒性成分の探索研究. 第 7 回食品薬学シンポジウム (京都), 2017. 10.
 32. 阿知波香月、松本崇宏、今堀大輔、住居潤美、住田大志、村井準、長谷井友尋、渡辺徹志: 生理学的条件下でのメイラード反応生成物の変異原性評価. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017. 10.
 33. 松崎温士、長谷井友尋、川本明佳、彦坂好美、松本崇宏、岩本憲人、渡辺徹志: 3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene の in vivo における DNA 付加体形成. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017. 10.
 34. 石田朋子、植島由希子、児玉歩奈美、河瀬裕美、モハメドシャリアカーン、山村由貴、世

- 良暢之、後藤貴央、平川雅章、松本崇宏、長谷井友尋、渡辺徹志: 九州北部における大気中のタンパク、エンドトキシン等と喘息発作との関連性. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017. 10.
35. 村井準、松本崇宏、小島直人、今堀大輔、住居潤美、住田大志、阿知波香月、長谷井友尋、山下正行、渡辺徹志: 生理学的条件下でのメイラード反応生成物の単離および構造解析. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017. 10.
36. 北川翔大、松本崇宏、金山董玲、中野結華、吉備万純、今井宏美、長谷井友尋、渡辺徹志: レモン (*Citrus limon*) 果皮中の抗変異原性成分の化学構造. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017. 10.
37. 児玉歩奈美、植島由希子、石田朋子、河瀬裕美、モハメドシャリアカーン、三浦誠、長坂行雄、松本崇宏、長谷井友尋、渡辺徹志: 京都市における大気中のタンパク、エンドトキシン等と喘息発作の関連性. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017. 10.
38. 植島由希子、石田朋子、児玉歩奈美、河瀬裕美、モハメドシャリアカーン、出口雄也、長岡寛明、松本崇宏、長谷井友尋、渡辺徹志: 佐世保市における大気中の LPS、タンパク質、イオン濃度の季節変動. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (神戸), 2017. 10.
39. 松本崇宏、中村誠宏、小島直人、長谷井友尋、山下正行、松田久司、渡辺徹志: テルペノイドに着目した抗変異原性成分の探索研究. 日本環境変異原学会第 46 回大会 (東京), 2017. 11.
40. 灘井亮、田村悠樹、錦織花梨、岡田圭祐、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、加藤くみ子、長谷川功紀、赤路健一、坂下直実、斎藤博幸: アポ E 糖鎖結合ドメインに基づく両親媒性膜透過ペプチドの設計. 膜シンポジウム (富山), 2017.10.
41. 工藤信次、長谷川功紀、中峰ともみ、伊藤隆明: リガンド誘導体染色によるソマトスタチン受容体の検出法. 第 56 回日本臨床細胞学会 (福岡), 2017.10.
42. 浅井将貴、武本夕貴子、服部恭尚、真壁秀文: パラジウム触媒を用いた環化反応によるペリジナルカロイドとイソクマリン化合物の合成研究. 第 59 回天然有機化合物討論会 (札幌), 2017.9.
43. 三澤雅樹、大西健、坂本裕貴、岡田圭祐、松本孔貴、長谷川功紀、岡田朋子: 抗体リポソームによる選択的 BPA 取込み増強のためアミノ酸トランスポーターLAT1 遺伝子導入技術の開発. 第 14 回日本中性子補足療法学会学術大会 (福島), 2017.9.
44. 前泊里佳、長谷川功紀、伊藤隆明: リガンド誘導体染色法を用いた Kisspeptin Receptor(KISS1R)の検出検討. 第 58 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (東温), 2017.9.
45. 越野裕貴、吉澤慎一郎、足尾真美、山中優季、山本侑人、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成研究. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2017.10.
46. 原口知子、小林数也、赤路健一、安井裕之: コラーゲン分子の光酸化的クロスリンクに対するイミダゾールジペプチドの抑制効果. 第 67 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2017.10.
47. 関口遼、黒柳友子、小林由佳、小林数也、赤路健一、藤井信孝、大野浩章、大石真也: CXCR7 受容体選択的リガンドの構造活性相関研究. 第 35 回メディシナルケミストリーシンポジウム (名古屋), 2017.10.
48. 小林数也、城寶大輝、谷口智奈美、田中美咲、木村蘭希、川崎友紀、服部恭尚、赤路健一: N-アミジノ含窒素環状骨格を基盤とする BACE1 阻害剤の探索研究. 第 43 回反応と合成の進歩シンポジウム (富山), 2017.11.
49. Kazuya Kobayashi, Takuya Otani, Saki Ijiri, Katsuyasu Ishizawa, Risa Izeki, Taishi Kitazima, Naoka Shindo, Kota Okawa, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Structure optimization of a peptide-based hydroxyethylamine-type BACE1 inhibitor,

- 第 54 回ペプチド討論会 (大阪), 2017.11.
50. 大西康司、三谷勇人、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、照屋健太、赤路健一: 新規相互作用部位を導入したデカヒドロイソキノリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3.
 51. 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と評価. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3.
 52. 大谷拓也、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 大環状 BACE1 阻害剤の合成と活性評価. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3.
 53. 藤原采耶花、大西康司、吉澤慎一郎、瀨本風彩、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 新規相互作用部位を導入したオクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3.
 54. 小川慶子、中村誠宏、齋藤菜月、石丸華子、藤室雅弘、中嶋聡一、松田久司: クロタネソウ *Nigella damascena* 種子を素材とした抗ウイルス作用成分の探索研究. 日本生薬学会第 64 回年会千葉 2017 (千葉), 2017. 9.
 55. 深谷匡、中村誠宏、中川涼太、中嶋聡一、松田久司: 九条ネギ (*Allium fistulosum* cv. *Kujou*) からの新規含硫黄化合物の探索. 日本生薬学会 第 64 回年会千葉 2017 (千葉), 2017. 9.
 56. 深谷匡、中村誠宏、松本朋子、林雅子、中川涼太、中嶋聡一、松田久司: 伝承薬物を素材とした硫黄原子を含む生体機能性成分の探索. 第 7 回食品薬学シンポジウム (京都), 2017.10.
 57. 小川慶子、中村誠宏、齋藤菜月、野口大輔、林田仁志、中嶋聡一、松田久司: キンポウゲ科植物クロタネソウ及びニオイクロタネソウの含有成分探索とその比較研究. 第 7 回食品薬学シンポジウム (京都), 2017.10.
 58. 長谷川功紀. リガンド誘導体を用いた受容体検出法の開発. 第 123 回日本解剖学会総会・全国学術集会 (東京), 2018.3.
 59. 長谷川功紀、工藤信次、伊藤隆明. エストラジオール誘導体を用いたその受容体検出法の開発. 日本薬学会第 138 年会 (金沢), 2018.3.
 60. 長谷川功紀. 68Ga-PSMA の話. PET 化学ワークショップ 2018 (神奈川), 2018.2.
 61. 工藤信次、長谷川功紀、中峰ともみ、伊藤隆明. リガンド誘導体染色によるソマトスタチン受容体の検出法. 第 56 回日本臨床細胞学会 (福岡), 2017.10.
 62. 前泊里佳、長谷川功紀、伊藤隆明. リガンド誘導体染色法を用いた Kisspeptin Receptor(KISS1R)の検出検討. 第 58 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (愛媛), 2017.9.
 63. 小島直人: バンレイシ科アセトゲニン類をモチーフとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究. 第 6 回関西バイオ創薬研究会 (大阪), 2017.4.
 64. 松本卓也、小島直人、赤塚明宣、岡村睦美、且 慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行: N-メチルピラゾール環をスルホンアミドで連結させたアセトゲニン誘導体の合成と活性評価. 第 67 回日本薬学会近畿支部大会 (兵庫), 2017.10.
 65. 夏目若菜、岩崎宏樹、山中三佳、小島直人、山下正行: 酸化剤を用いない新規 isoquinoline N-oxide 合成法の開発. 第 67 回日本薬学会近畿支部 (兵庫), 2017.10.
 66. 八野愛結美、中村亮博、堀江文及、小関 稔、繁田 堯、仁木亜弥、岩崎宏樹、小島直人、山下正行、川崎郁勇: 多置換 α,β -不飽和エステルの立体選択的合成法の開発. 第 67 回日本薬学会近畿支部 (兵庫), 2017.10.
 67. 松本卓也、小島直人、赤塚明宣、岡村睦美、且 慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行: N-メチルピラゾールをスルホンアミドで結合したアセトゲニン誘導体の合成と生物活性評価. 第 47 回複素環化学討論会 (高知), 2017.10.
 68. 井上暁斗、岩崎宏樹、小畑久美、内田 量、小島直人、山下正行: アルキンをラジカル受容体とした新規 2-トリフルオロメチルイン

ドリン誘導体合成法の開発. 第 43 回反応と合成の進歩シンポジウム (富山), 2017.11.

69. 松本卓也、赤塚明宣、岡村睦美、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: N-メチルピラゾール環をスルホンアミドで連結したアセトゲニン類の合成と抗腫瘍活性評価. 日本化学会 第 98 春季年会 (東京), 2018.3.
70. 松本卓也、赤塚明宣、旦 慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 水溶性の向上を指向しエチレングリコール単位を導入したアセトゲニン誘導体の合成と生物活性評価. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.
71. 謝昀翰、山西涼菜、武知理菜子、田中徹、田邊佑季、岩井佑未南、岩崎宏樹、小島直人、山下正行: スルホキソニウムメチリドを用いる 3-oxa-2-oxobicyclo[4.2.0]oct-4-ene-1-carboxylate 体の骨格変換反応. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.
72. 仁木亜弥、小関稔、繁田堯、八野愛結美、岩崎宏樹、小島直人、中村亮博、堀江文乃、山下正行、川崎郁勇: 三置換(E)- α,β -不飽和エステルの簡便で立体選択的な合成法の開発. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.
73. 小畑久美、井上暁斗、岩崎宏樹、小島直人、山下正行: アルキンをラジカル受容体とした新規 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体合成法の開発. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.
74. 篠崎莉穂、岩崎宏樹、夏目若菜、山中三佳、小島直人、山下正行: 酸化剤を必要としない isoquinoline N-oxide 誘導体の合成. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.
75. 上田拓、松本卓也、赤塚明宣、岡村睦美、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: N-メチルピラゾール環をスルホンアミドで連結したアセトゲニン誘導体の合成と抗腫瘍活性評価. 日本薬学会 第 138 年会 (金沢), 2018.3.

以上

News Letter Volume 3

2018年8月 編集・発行

文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業

「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」

News Letter 編集委員

〒607-8414 京都市山科区御陵中内町 5

Tel: 075-595-4706

FAX: 075-595-4796

文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 新規分子標的治療薬創薬に向けた 大学発ベンチャー基盤の確立

2018年度 Annual Meeting

日時: 2018年9月13日 (木) 13:50 ~ 17:30

場所: 京都薬科大学・愛学ホール (A31講義室) + A32講義室 (ポスター会場)

参加登録方法: 直接会場までお越し下さい (入場無料)。

学部生・大学院生・教職員どなたでもご自由に参加ください。

プログラム

- 13:50 開会挨拶 後藤 直正 (京都薬科大学・学長)
- 13:55 概要説明 研究代表者: 芦原 英司 (シーズ発掘・バリデーションGrリーダー)
- 14:10 口頭発表 「共同研究の進捗報告」
- 15:30 Poster Viewing
- 16:15 特別講演
「Muse細胞による修復医療の可能性
～生命科学インスティテュートが切り開く次世代医療～」
木曾 誠一 (生命科学インスティテュート 代表取締役社長)
- 17:15 総評
酒井 敏行 先生 (京都府立医科大学大学院 医学研究科 分子標的癌予防医学 教授)
高須 清誠 先生 (京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 教授)
- 17:25 閉会挨拶 赤路 健一 (合成・相互作用解析Grリーダー)

本プロジェクトは、京都薬科大学独自の薬効評価系と創薬化学研究基盤を有機的に融合させ、シーズの発掘・ライセンスアウトを目指しています。本シンポジウムは、採択後4年目の成果報告を目的として開催します。

連絡先: 〒607-8414 京都市山科区御陵中内町5

京都薬科大学 病態生理学分野

芦原 英司 (研究代表者)

TEL: 075-595-4706

E-mail: bunshihyoteki@mb.kyoto-phu.ac.jp



京都薬科大学

2018 年度（平成 30 年度）
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた
大学発ベンチャー基盤の確立

Annual Meeting

講演抄録集

日時：2018 年 9 月 13 日（木） 13:50 ～ 17:30

場所：京都薬科大学 愛学館 3 階

A31 講義室（愛学ホール） + A32 講義室



京都薬科大学

プログラム

日時：2018年9月13日（木） 13:50～17:30

13:50～13:55 開会挨拶 後藤直正（京都薬科大学 学長）

13:55～14:10 概要説明 芦原英司（研究代表者、
シーズ発掘・バリデーション Gr リーダー）

14:10～15:30 口頭発表

第一部 「共同研究の進捗報告」

座長：中村誠宏（生薬学分野）、小林数也（薬品化学分野）

① 「Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索」

病態生理学分野	若林亮介、芦原英司
共同利用機器センター	服部恭尚
薬品化学分野	小林数也、赤路健一

② 「相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究」

薬品化学分野	小林数也
--------	------

③ 「クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製」

病態生理学分野	杉山雄輝、戸田侑紀、芦原英司
生薬学分野	中村誠宏
薬品製造学分野	山下正行
共同利用機器センター	長谷川功紀

④ 「マウス脳腫瘍幹細胞を用いたアセトゲニン誘導体がん治療薬の開発」

臨床腫瘍学分野	中田 晋
薬品製造学分野	小島直人

第二部 「Poster Viewing」

15:30～16:15 ポスター発表 (1)～(16) 閲覧

16:15～17:15 特別講演

座長：赤路健一（薬品化学分野）

Muse 細胞による修復医療の可能性
～生命科学インスティテュートが切り開く次世代医療～

木曾誠一（生命科学インスティテュート 代表取締役社長）

17:15～17:25 総評 外部評価員

酒井敏行 教授（京都府立医科大学大学院 医学研究科 分子標的癌予防医学）

高須清誠 教授（京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野）

17:25～17:30 閉会挨拶

赤路健一（合成・相互作用解析 Gr リーダー）

はじめに

病態生理学分野

芦原英司（研究代表者）

2015 年度に採択いただきました私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」は今年度で 4 年目を迎えました。中間報告も無事終了し、外部評価員の先生方からも高い評価と期待のお言葉をいただきました。本学教職員の皆様のご支援、ご指導のおかげをおもちまして、概ね順調に進んでいるように感じております。この場を借りまして御礼申し上げます。

本プロジェクトでは、京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させることにより、超高齢者社会における健康長寿生活の実現に貢献できる“大学発創薬ベンチャー”基盤を確立することを目的としております。昨年度、個々の研究内容を、以下の 4 つのシーズに集結させ、共同研究を進めてきました。

- ① Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製
- ② クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製
- ③ アセトゲニン類の構造変換によるがん幹細胞に対する新規分子標的治療薬の創製
- ④ 高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発

見出してきましたヒット化合物を基に構造活性相関研究を進めるとともに、標的分子の同定のステップにはいっております。残す 1 年でどこまで詰められ知財が蓄積できるか、正念場の年です。“シーズ発掘・バリデーショングループ”、“合成・相互作用解析グループ”、それぞれのメンバーが一丸となり綿密な議論を繰り返し、研究を推進しております。

今回の Annual Meeting では、これら 4 つの共同研究グループの進捗報告を口頭発表で行います。また参画研究者が行っております個々の研究進捗は、ポスター発表で報告いたします。

特別講演といたしましては、本学 OB で理事であられる株式会社生命科学インスティテュート社長 木曾誠一先生（1982 年 大学院修了）にお越しいただき、新たな細胞医薬品による次世代医療開発についてご講演いただきます。

外部評価員としまして、京都府立医科大学大学院医学研究科 分子標的癌予防医学 酒井敏行教授、ならびに京都大学大学院薬学研究科 薬品合成化学分野 高須清誠教授に本年もお越しいただき、本報告会のご評価をいただきます。

学部生、大学院生、教職員の皆さま、多数のご参加をお待ちしております。活発なご議論をいただき、有意義な報告会といたしたく存じます。よろしくごお願い申し上げます。

口頭発表①

Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索

病態生理学分野 若林亮介、芦原英司
共同利用機器センター 服部恭尚
薬品化学分野 小林数也、赤路健一

我々は HEK293 細胞に 8xTOP-flush プラスミドを導入し、クローニング後樹立した TOP 細胞を用い、本学所有の化合物ライブラリーの中から Wnt/ β -catenin 経路を阻害する化合物の探索を行ってきた。その結果、本経路を阻害するヒット化合物 (#37) を発掘し (図 1)、*in vitro* の実験系での抗腫瘍効果を検討した。化合物#37 は大腸がん、乳がん、膵臓がん、慢性骨髄性白血病、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病の細胞株に対して、容量依存的に増殖抑制を認め、カスパーセを介したアポトーシスを示した。また#37 処置による大腸がん細胞株 HT-29 細胞における標的遺伝子産物である c-myc、survivin タンパク質の発現変化を確認したところ、ヒット化合物#37 処置によって発現の減少を認めた (図 2)。

候補化合物の構造最適化と標的探索のための分子プローブ化を並行して行った。その結果、新たな候補化合物#41 を見出すことに成功した。また、分子プローブ化については磁気ビーズ法を採用し、リガンド作製条件の最適化を行っている。今後、さらなる構造の最適化を進めるとともに、Wnt/ β -catenin 経路の標的分子の同定を行う予定である。

図 1 ヒット化合物#37
ルシフェラーゼアッセイ

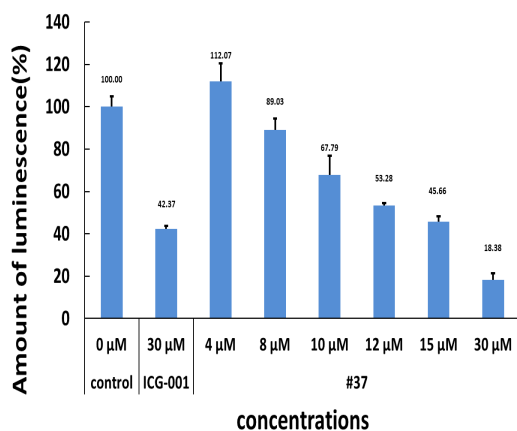
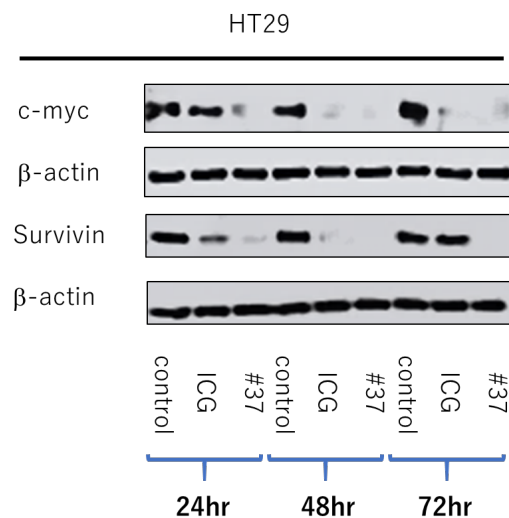


図 2 #37 処置による
ヒト大腸がん細胞株 HT29 における
Wnt 標的遺伝子発現変化



口頭発表②

相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究

薬品化学分野 小林数也

BACE1 (β -site APP cleaving enzyme) は、アルツハイマー病の発症原因と考えられているアミロイド β ペプチドの産生に関与する酵素であることから、BACE1 阻害剤はアルツハイマー病の治療薬／予防薬となりうることが期待されている。

我々はこれまでに、基質配列に基づいて設計したペプチド性 BACE1 阻害剤 1 と BACE1 との共結晶の結晶構造解析の情報に基づき、(1) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入と、(2) P1' 位芳香環への官能基の導入、という 2 つのアプローチから更なる高活性誘導体の探索を行ってきた (Fig. 1)。今回我々は、(1) 環サイズに関する新たな知見と、(2) 置換部位ごとの最適な置換構造に関する情報を得たので、これらについて報告する。

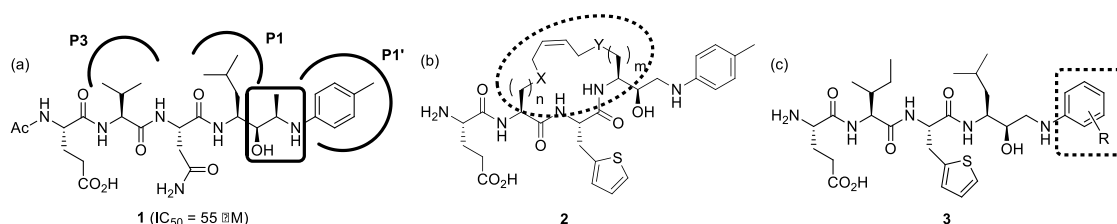


Fig. 1. (a) HEA 型 BACE1 阻害剤、(b) P1-P3 間への架橋構造の導入、(c) P1' 芳香環への官能基の導入

また我々は、上記ペプチド性阻害剤の開発研究と並行して、低分子 BACE1 阻害剤の開発研究を行っている。本研究では、低分子 BACE1 阻害剤のコア構造として近年数多く報告されている非平面性環状アミジン構造 4 から着想を得て考案した *N*-アミジノ含窒素環状骨格 5 に基づき、*N*-アミジノピロリジン型阻害剤 6 について種々置換基を有する誘導体の合成と活性評価を行った (Fig. 2)。今回我々は、かさ高い疎水性官能基を導入することで、中程度の活性を有する阻害剤 7 を見出したので、その詳細を報告する。

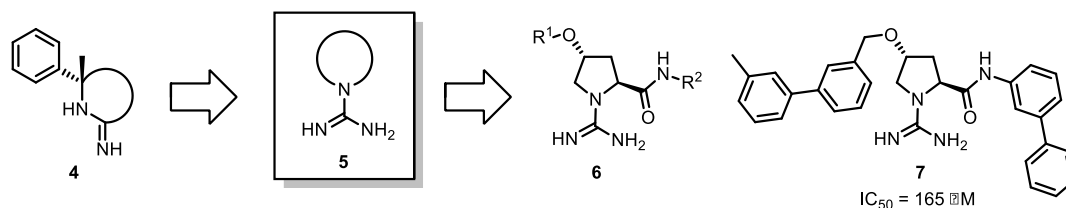


Fig. 2. 非平面性環状アミジン骨格と *N*-アミジノピロリジン型阻害剤

口頭発表③

クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製

病態生理学分野 杉山雄輝、戸田侑紀、芦原英司

生薬学分野 中村誠宏

薬品製造学分野 山下正行

共同利用機器センター 長谷川功紀

薬学・医学の進歩により、多くの抗がん剤、分子標的治療薬が輩出されているが、悪性腫瘍の転移抑制薬として十分な効果を有するものはほとんどなく、より有効な転移抑制薬の創製は最重要課題の一つである。我々は生薬学分野の所有する化合物ライブラリーから、転移抑制化合物のスクリーニングを行い、その結果クマリン系化合物 daphnetin が、マウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞の浸潤および遊走を抑制することを世界で初めて明らかにした (Fukuda M, et al, *BBRC*, 2016)。次に Daphnetin をもとに構造活性相関研究を行い、新規化合物 KPU-Shoyaku-192 が Daphnetin よりも強く用量依存性に LM-8 細胞の浸潤・遊走を抑制し、細胞骨格タンパク質であるアクチンの重合に関わる RhoA、Rac1、FAK のタンパク発現を減少させることを確認している。さらに、Rac1 と RhoA により形成される細胞内アクチンフィラメントの形成が KPU-Shoyaku-192 の処置用量依存的に低下することが確認された。

現在、薬品製造学分野にも協力していただき、引き続き KPU-Shoyaku-192 をヒット化合物として構造活性相関解析を行い、より強力に LM-8 細胞の浸潤・遊走を抑制する新規クマリン系化合物を探索中である。また構造活性相関解析から転移抑制に重要な構造的特徴が明らかになってきた。さらに KPU-Shoyaku 192 の作用機序解明に向けて薬剤標的探索を行っている。標的探索においてはクマリン系化合物が有する蛍光性に着目し、KPU-Shoyaku 192 が LM-8 細胞に取り込まれた後に、核の周囲に局在することを明らかにした。さらに標的探索法として新規手法を開発し、それを本標的探索に利用することも進めている。詳細については本講演において報告する。

口頭発表④

マウス脳腫瘍幹細胞を用いた新規アセトゲニン誘導体がん治療薬の開発

臨床腫瘍学分野 中田 晋
薬品製造学分野 小島直人

脳腫瘍の一種である膠芽腫は成人において最も頻度が高く、その予後は極めて不良である。標準治療として 2006 年にアルキル化剤テモゾロミドが登場して依頼、10 年以上薬物療法に大きな進歩がなく、膠芽腫症例の半分前後はテモゾロミドの効果がみられないと考えられている。従って、これまでにない膠芽腫に対する新規治療法を開発することが必要である。本学薬品製造学分野では、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるアセトゲニン類と呼ばれるポリケチドに着目し、抗癌剤開発を目指した構造活性相関研究を推進してきた。これまでに天然物アセトゲニン的一种である solamin の分子末端に存在する γ -ラクトン環をチオフェン環に変換し、アミド結合で連結した誘導体 JCI-20679 は、ミトコンドリア複合体 I の阻害活性を有し、高い抗腫瘍活性を示すことをみだしている。

本研究では、合成過程を大幅に効率化したさらに高い抗腫瘍活性をもつ新規誘導体の開発と、バイオマーカー同定に向けた JCI-20679 のさらなる作用機序の解明を目的とした。JCI-20679 は低濃度でマウス膠芽腫幹細胞およびヒト膠芽腫細胞の増殖を顕著に抑制し、細胞周期進行の抑制および AnnexinV 陽性早期アポトーシス細胞死を誘導した。その際 AMP/ATP 比の上昇を伴ってリン酸化型 AMPK が増加し、AMPK 阻害剤 Compound-C および Inosine による増殖抑制効果の部分的減弱を認めた。さらに今回新たに合成された JCI-20679 誘導体の増殖抑制効果を評価し、JCI-20679 と同等もしくはさらに強い抗腫瘍活性を発揮しかつ合成過程の大幅な簡略化を実現する NK-128 を同定した。JCI-20679 および NK-128 の作用機序についてさらに詳細に検討したところ、膠芽腫の浸潤能とその進展を促進することが報告されている転写因子 NFAT が顕著に減少することをみだした。この NFAT 減少にはカルシニューリンの脱リン酸化酵素活性の低下およびリン酸化 CAMKII 減少を伴っていた。また、テモゾロミドと JCI-20679 あるいは NK-128 との併用効果について検討したところ、テモゾロミド単剤ではほとんど効果を示さない濃度においてこれらの化合物を併用すると増殖抑制効果の増強を認め、この併用による効果増強と相関して、MAPK の一つである p38 のリン酸化体が減少することをみだしている。さらに現在、マウスモデル由来膠芽腫幹細胞の同所性移植脳腫瘍モデルを用い、生体内脳腫瘍に対する NK-128 の抗腫瘍効果とその安全性の評価を進めており、その進捗状況も含め本会で報告する。

γδT 細胞の抗腫瘍活性と PD-1/PD-L1 経路との関係

病態生理学分野 友金眞光、佐野友亮、清水大器、戸田侑紀、芦原英司

γδT 細胞はがん細胞内のメバロン酸経路の中間代謝物である IPP (isopentenyl diphosphate) などのリン酸抗原により活性化する T 細胞である。これまでに、窒素含有ビスホスホネート製剤 (ゾレドロン酸; ZOL) によるがん細胞の IPP 分泌促進効果を利用した、γδT 細胞による細胞免疫療法の開発が試みられてきた。しかし、近年αβT 細胞である細胞障害性 T 細胞の免疫抑制性の共刺激シグナルである PD-1/PD-L1 経路とγδT 細胞の抗腫瘍作用との関連性を明らかにした知見は少ない。そこで我々はγδT 細胞免疫療法の臨床応用に向けて、γδT 細胞の抗腫瘍活性と PD-1/PD-L1 経路の関連性を明らかにすべく検討を行った。

我々は、健康人末梢血液より 11 日間かけて体外増幅培養させたγδT 細胞と ZOL 前処置がん細胞株との共培養系で、PD-1/PD-L1 経路阻害による抗腫瘍効果の変化をフローサイトメトリー法で解析した。その結果、がん細胞に発現している PD-L1 を阻害すると、PD-L1 の発現強度が高いがん細胞株に対してγδT 細胞の抗腫瘍活性が増大した (図 A, B)。しかし、この抗腫瘍活性の増大は、①PD-1/PD-L1 経路の阻害による活性増大、②抗体依存性細胞障害 (ADCC) による活性増大の 2 つの可能性が考えられた。そこで我々は、γδT 細胞に発現する PD-1 を阻害した上で、PD-L1 の発現強度が高いがん細胞株と共培養させた。その結果、γδT 細胞の抗腫瘍活性に有意な変化はなく、がん細胞の PD-L1 を阻害した際の抗腫瘍活性増大は ADCC 活性によるものであると示唆された。

以上のことから、γδT 細胞の細胞免疫療法における PD-1/PD-L1 経路との関係性はほとんどなく、臨床応用への実用化に向けてがん細胞における PD-L1 の発現を考慮することなく細胞治療が行うことができる魅力的な免疫療法である可能性が示唆された。

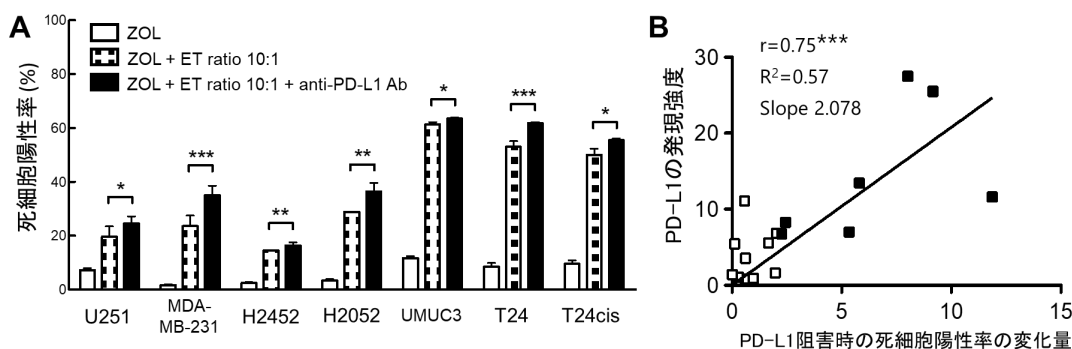


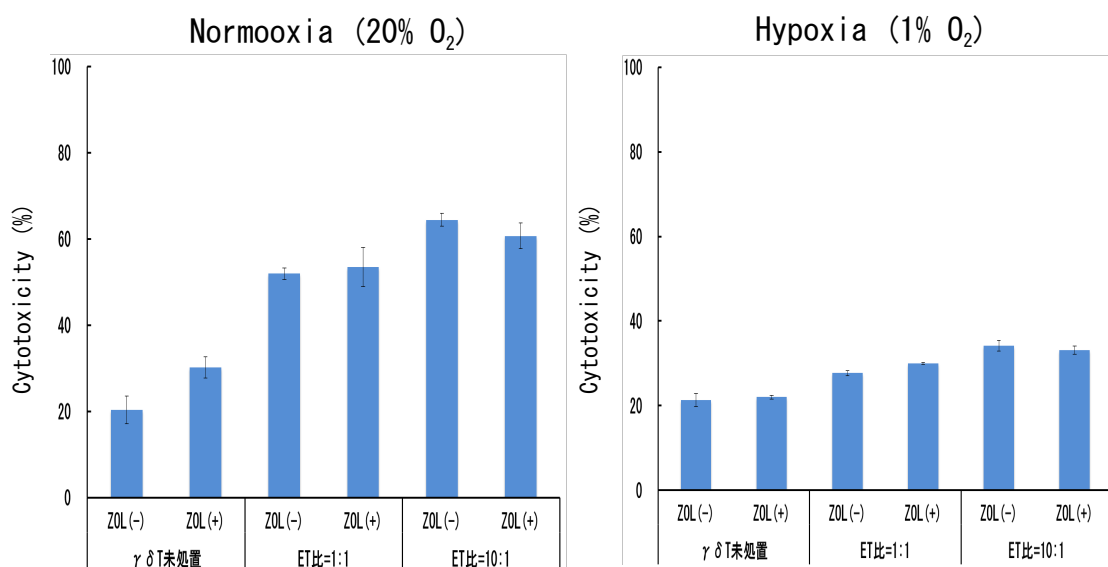
図 (A) がん細胞の PD-L1 を阻害するとγδT 細胞の抗腫瘍効果が有意に上昇したヒトがん細胞株 (* $p < 0.05$ vs ET ratio = 10:1, ** $p < 0.01$ vs ET ratio = 10:1, *** $p < 0.001$ vs ET ratio = 10:1)
 (B) がん細胞における PD-L1 の発現強度と PD-L1 阻害後のγδT 細胞の抗腫瘍効果の差との相関 (Pearson $r = 0.75$; $p < 0.001$, $n = 17$)
 □: PD-L1 を阻害してもγδT 細胞の抗腫瘍効果が変化しなかったヒトがん細胞株
 ■: PD-L1 を阻害するとγδT 細胞の抗腫瘍効果が有意に上昇したヒトがん細胞株

低酸素環境に適応した多発性骨髄腫に対する $\gamma\delta$ T細胞の抗腫瘍効果

病態生理学分野 佐野友亮、清水大器、友金眞光、戸田侑紀、芦原英司

多発性骨髄腫 (Multiple Myeloma: MM) は、MM 幹細胞が既存の治療薬に抵抗性を示すため根治が困難とされている。そのため、MM 幹細胞に対する治療法を確立することは MM の根治を目指す上で必要不可欠と考えられる。当研究室では MM 細胞は低酸素環境下 ($1\%O_2$) において幹細胞様の性状を示すことを示してきた (Nakagawa Y, et al, Biochem Biophys Res Commun, 2018)。また major histocompatibility complex 非拘束性に細胞傷害性をもつ $\gamma\delta$ T 細胞が MM 細胞に対して高い抗腫瘍効果を示すことも示してきた (Ryo Uchida, et al, Biochem Biophys Res Commun, 2007)。

そこで本研究では、 $\gamma\delta$ T 細胞を用いて、低酸素環境下での MM 細胞への抗腫瘍効果を検討した。MM 細胞に対する $\gamma\delta$ T 細胞の抗腫瘍効果は、通常酸素環境 (O_2 20%) 下では約 60% であったが、低酸素環境 (O_2 1%) 下では約 30% に減弱した (下図)。その要因を探索するために、 $\gamma\delta$ T 細胞と MM 細胞における接着因子 (NKG2D - MIC A/B, LFA-1 - ICAM-1, DNAM-1 - PVR) の発現強度と $\gamma\delta$ T 細胞の細胞傷害性タンパク質 (Perforin, Granzyme B)、IFN- γ の産生能を検討したが、低酸素環境下と通常酸素環境下の間で有意な差は認めなかった。これらの結果から、 $\gamma\delta$ T 細胞は低酸素環境下であっても、通常酸素環境下と同程度の細胞傷害性タンパク質を産生することが明らかとなった。したがって、低酸素環境下における抗腫瘍効果減弱の要因として、 $\gamma\delta$ T 細胞を活性化するために必要な低酸素環境下の MM 細胞内に蓄積される IPP 量の減少を考察している。



Cytotoxicity assays, RPMI8226

間葉系幹細胞における骨髄破壊的な前処置は造血関連分子の発現を上昇させる

病態生理学分野 久米侑奈、甘利圭悟、戸田侑紀、芦原英司

造血幹細胞 (HSC) は HSC ニッチと呼ばれる骨髄内の特殊な微小環境に生存している。HSC ニッチでは、ニッチを構成する細胞が発現する接着因子やサイトカインにより HSC を調節している。造血幹細胞移植は造血器腫瘍と診断された患者に対して行われる治療法であり、腫瘍細胞を根絶するために、全身放射線照射や高濃度の抗がん剤投与を用いて骨髄破壊的な前処置が行われる。骨髄破壊的な前処置の副作用として、正常な造血細胞に影響を与えるだけでなく、HSC ニッチを構成する 1 つである間葉系幹細胞 (MSC) にも影響を与えることが予想される。しかしながら、前処置後の MSC における造血への影響については未だ明らかにされていない。そこで私たちは、造血幹細胞移植前処置後の造血に対する MSC の寄与を明らかにするために、マウス骨髄由来 MSC の放射線照射および抗がん剤処置に対する影響について検討した。

まず、6~8 週齢の C57Bl/6 雄マウスの骨髄から MSC を分取した。分取した MSC に 3 Gy および 7 Gy の放射線照射および 10 μ M の 5-フルオロウラシル (5-FU) を処置し、その後の MSC の増殖能および骨分化能の変化を調べた。その結果、放射線照射および抗がん剤処置により増殖能は抑制されるものの、骨分化能には影響を与えないことが明らかになった。次に、放射線照射および抗がん剤処置後の MSC における造血関連分子の発現変化を quantitative RT-PCR 法を用いて調べたところ、造血に関連するサイトカインである *Kitl*, *Thpo*, *Il6* および MSC に発現する接着因子である *Cxcl12*, *Vcam1* の発現が処置後上昇していることが明らかになった。これらの結果は、造血幹細胞移植において輸注された HSC の増幅および生着が、骨髄破壊的な前処置により刺激された MSC によって促進される可能性を示唆する。

ポスター発表 (4)

神経膠芽種幹細胞に高発現する DJ-1 の機能

病態生理学分野 板原多勇、戸田侑紀、吉村亮介、宇野智子、芦原英司

臨床腫瘍学分野 中田 晋

治療抵抗性と高い腫瘍形成能を示すがん幹細胞 (CSCs) はがん再発の根源的存在であり、その根絶を目指した新規治療法の開発は急務である。神経膠芽腫 (GBM) は原発性脳腫瘍の中でも予後が極めて悪く、その悪性度は CSCs に大きく依存するとされている。DJ-1 は H-Ras と協調して無秩序な細胞増殖を引き起こすがん遺伝子産物であり、進行性の卵巣がん、乳がん、ならびに肺がんでの過剰発現が報告されている。しかし、CSCs における DJ-1 の機能については不明な点が多い。本研究ではその解明を目的として、GBM 幹細胞 (CSCs) における DJ-1 の発現量を解析し、DJ-1 ノックダウン時の腫瘍形成能への影響を検証した。

ヒト GBM 細胞株である U87-MG (U87; 野生型 p53 発現) および U251-MG (U251; 変異型 p53 発現) を低接着性プレートに播種し、上皮成長因子および線維芽細胞増殖因子を添加した無血清培地条件下にて培養することにより、GSCs を豊富に含む細胞集塊が形成される (スフェア形成アッセイ)。本アッセイ系を用いて、スフェア形成における経時的な DJ-1 発現量変化および、siRNA により DJ-1 をノックダウンした上記細胞株 (DJ-1 KD 株) のスフェア形成効率を解析した。また、各株の GSC 分画比はアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) 活性測定試薬を用いて解析した。*In vivo* 実験系として、DJ-1 KD 株を BALB/c nude マウスの脳実質に移植し (一次移植) 生存期間を評価した。人道的エンドポイントに達した一次移植マウス脳より腫瘍を摘出し、培養後増殖した細胞群の二次移植を行った。

GBM 細胞株における DJ-1 の発現量は、スフェア形成に伴って経時的に増加した。U87 のスフェア形成効率は DJ-1 ノックダウンにより著しく低下するものの、U251 においては変化がみられなかった。また ALDH 活性を指標とした GSC 分画比においても同様に、U87 のみ DJ-1 ノックダウンで減少した。DJ-1 をノックダウンした U87 (DJ-1 KD-U87) を移植したマウスの生存期間をコントロール細胞移植群と比較したところ、一次移植では大きな差はみられなかった。しかし、二次移植では DJ-1 KD-U87 移植群で生存期間が有意に延長した。以上の *in vitro* および *in vivo* での実験結果より、GSCs において DJ-1 が高発現する可能性と、DJ-1 の発現低下により U87 の腫瘍形成能および CSC 自己複製能が抑制されることが示唆された。すなわち、DJ-1 が CSC 維持に重要な役割を担っていることが一部の GBM 細胞株で明らかになった。これらの現象に関する詳細な分子メカニズムを今後解明し、CSCs に対する新規治療戦略開発に繋げる。

前転移ニッチ組織の代謝環境解析

病態生理学分野 戸田侑紀、沢田瑛子、松井透磨、浅山菜々子、板原多勇、芦原英司

がん細胞は解糖系に偏ったエネルギー代謝を行う結果、細胞内に過剰産生される乳酸を細胞外へ排出し周辺環境を酸性化する。この低 pH 環境はがん細胞が転移に必要な表現型（血管新生能、浸潤・遊走能など）の獲得に寄与する。一方で、がん細胞自身の分泌する因子が全身循環を経て特定の正常臓器の組織環境を転移しやすい環境“前転移ニッチ”に変化させる。我々は、前転移ニッチを構成する一つの因子として組織 pH に着目した。すなわち、原発腫瘍周辺でみられる低 pH 環境が転移予定臓器においても形成され、効率的な転移巣形成に寄与するという仮説を立てた。

肺組織へ高効率に転移する乳がん細胞株 (4T1.2) をマウス乳腺に移植し、肺組織 pH を pH-low insertion peptide (pHLIP® peptide) の蓄積量から評価した。pHLIP® peptide は低 pH 下において膜親和性の高い α -helix 構造をとることによって酸性化組織に蓄積される。移植から 21 日目の解析において、蛍光標識 pHLIP® peptide が担がんマウス肺で強く検出され、control 群と比べて顕著であった。このときの組織乳酸量についても担がん群で有意に高かったことから、腫瘍の存在によって肺組織に乳酸アシドーシスが生じていることが示唆される。

がん細胞はサイトカインの他に、エクソソームというナノサイズの粒子を分泌している。エクソソームの中に含まれる miRNA やタンパク質といった多様な生理活性分子は周辺細胞へ作用しがん微小環境の形成に大きく関与している。本研究で同定した組織酸性化現象は移植細胞が分泌するエクソソームを長期投与することでも生じることから、その内包成分を網羅的に解析し、本現象の責任分子を同定していく予定である。

また酸性化が生じた肺組織において、前転移ニッチ形成に寄与する骨髄性免疫抑制細胞 (MDSCs) が末梢より動員されていたが、その動員は重炭酸水を飲水させることで大きく抑制されることがわかった。本結果は、肺組織での代謝リモデリングが MDSC 動員に伴う前転移ニッチ形成に関わることに加えて、pH 環境の是正が転移予防に繋がる可能性を示唆するものである。

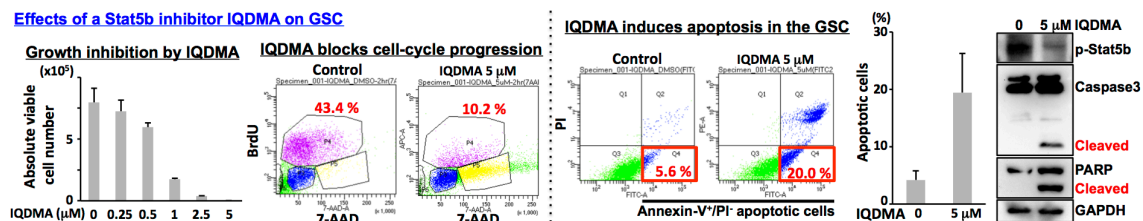
Stat5b は発がんマウスモデル由来膠芽腫幹細胞の生存および増殖を促進する

臨床腫瘍学分野 茂山千愛美、安藤翔太、中田 晋

膠芽腫は悪性脳腫瘍の一種であり、その予後は極めて不良である。近年、膠芽腫組織を構成する悪性細胞の性質は均一ではなく、膠芽腫幹細胞と呼ばれる一部の細胞群が存在することが明らかにされてきた。これまでの研究で、ヒト膠芽腫幹細胞に Lgr5 遺伝子が高発現し、腫瘍組織における Lgr5 発現レベルは不良な予後と相関すること、ヒト膠芽腫幹細胞において Lgr5 をノックダウンするとアポトーシス細胞死が誘導され、多数の低酸素応答シグナル下流標的遺伝子とともに、Stat5b 遺伝子の発現が抑制されることをみいだした。そこで本研究では、マウス膠芽腫組織由来幹細胞モデルを用い、Stat5b の機能解析と発現制御因子の探索、および阻害剤による表現型解析を行った。

Stat5b ノックダウンにより、マウス由来膠芽腫幹細胞の増殖は抑制され、アポトーシス細胞死が誘導された。Stat5 に直接結合しその活性を阻害することが報告されている低分子化合物 IQDMA は、リン酸化型 Stat5b を顕著に減少させ、濃度依存性に膠芽腫幹細胞の増殖を抑制し、Caspase-3 および PARP の切断を伴うアポトーシス細胞死の誘導が検出された。Stat5b 発現は低酸素条件下の培養により増加し、低酸素応答シグナルに中心的な機能を果たす Hif2a のノックダウンにより、Stat5 発現レベルは低下した。また、本マウスモデル由来膠芽腫幹細胞においても Lgr5 ノックダウンによって Stat5b 発現は抑制された。さらに、Wnt 経路の重要な因子である β Catenin をノックダウンにより、Stat5b の発現は抑制された。以上の結果から、低酸素応答シグナルと Wnt 経路の双方が、Stat5b の発現を促進していると考えられた。ヒト膠芽腫組織を用いた免疫組織化学による検討でも、Hif2a 陽性の低酸素領域において、Lgr5 と Stat5b の共局在が観察されており、これらの因子が、実際の臨床例においても膠芽腫の進展に関与している可能性が示唆された。以上の結果から、低酸素応答シグナルおよび Wnt 経路によって誘導される Stat5b は膠芽腫幹細胞の維持・増殖を促進する因子であり、新規治療標的分子として有望である可能性が考えられた。

Effects of a Stat5b inhibitor IQDMA on GSC



膠芽腫に対するテモゾロミド/アセトゲニン 誘導体併用療法の開発

臨床腫瘍学分野 河野雪那、茂山千愛美、安藤翔太、中田 晋
薬品製造学分野 小島直人

膠芽腫は、成人発症の悪性脳腫瘍のうち最も頻度が高く、極めて予後不良である。膠芽腫に対する薬物療法は、アルキル化剤テモゾロミドが 2006 年前後に登場して以来、10 年以上に渡り大きな進歩がみられない。従って、膠芽腫細胞のテモゾロミド耐性の克服は大きな課題である。JCI-20679 は、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離された天然化合物を元に、共同研究者である京都薬科大学薬品製造学分野小島直人博士らによって独自に合成展開されたアセトゲニン類誘導体であり、抗がん作用をもつ新規化合物である。本研究では、JCI-20679 を併用することによって、膠芽腫細胞のテモゾロミド感受性が向上するかについて解析した。

マウス膠芽腫組織由来の培養株およびヒト膠芽腫培養細胞株を用いて検討したところ、テモゾロミド単剤では有意な増殖抑制効果を示さない低濃度での併用において、JCI-20679 は増殖抑制効果を増強することをみいだした。マウス膠芽腫組織由来のニューロスフェア法で維持した幹細胞分画と比較して、通常血清添加接着系培養で維持した分化細胞では、JCI-20679 に対する感受性がやや低い傾向を示したが、テモゾロミドとの併用による効果増強がみられた。ヒト膠芽腫培養細胞株では、特に T98MG 細胞は高度にテモゾロミド耐性であることが知られているが、T98MG を含め、A172、U251MG 細胞においても同様の効果増強がみられた。さらに、テモゾロミドと JCI-20679 との併用によって、MAP キナーゼの一種である p38 のリン酸化体が減少することをみいだした。重要ながんの治療標的分子の一つであり現在その阻害剤が臨床治験中である p38MAP キナーゼ活性の抑制が、JCI-20679 によるテモゾロミドの抗腫瘍効果増強に関与している可能性が考えられた。

考察として、テモゾロミド感受性はメチル化グアニンを修復する MGMT 活性によって低下することが知られているが、この修復反応には NAD^+ が必要である。我々の検討では JCI-20679 により NAD^+/NADH 比が低下することをみいだしており、これがテモゾロミドの効果増強の機序の一部である可能性が考えられる。一方、テモゾロミドを作用させた膠芽腫細胞ではオートファジー依存的に一過性の ATP 上昇がみられ、この適応反応がテモゾロミド耐性に寄与することが報告されている。これまでの我々の検討では、JCI-20679 は様々な細胞で ATP 産生を抑制し AMP/ATP 比の増大させることから、このテモゾロミドによる ATP 上昇作用を介した適応反応に拮抗している可能性が考えられる。

Src 型チロシンキナーゼの活性化により発現誘導されるがん抑制タンパク質の同定

摂南大学 薬学部 生体分子分析学 久家貴寿、山岸伸行
京都薬科大学 生化学 中山祐治

【目的】Src 型チロシンキナーゼは細胞のがん化や転移を促進すると言われており、がん治療の標的分子の一つと考えられている。我々はこれまでに、Src 型チロシンキナーゼの新規基質タンパク質の同定を目的として、恒常的活性型 Src (v-Src) 誘導発現細胞株を用いたプロテオーム解析を行っており、多数の新規 Src 基質タンパク質候補を見出している。候補タンパク質の中には、肺においてがん抑制タンパク質として機能しているものが含まれている。本研究では、Src 型チロシンキナーゼとこの肺がん抑制タンパク質との関係を調べている。

【方法・結果】我々のプロテオーム解析の結果は、v-Src が肺がん抑制タンパク質の発現量もしくは、リン酸化レベルを上昇させていることを示唆していた。これを検証するために、v-Src 誘導発現細胞株のウエスタンブロット解析を行った。肺がん抑制タンパク質の発現量を v-Src の発現誘導の有無で比較した結果、v-Src が肺がん抑制タンパク質の発現量を増加させることが明らかになった。v-Src はウイルス由来の外来性遺伝子である。次に、内在性の Src 型チロシンキナーゼが肺がん抑制タンパク質の発現調節に関与しているのかどうかを検討した。内在性の Src 型チロシンキナーゼを活性化することを目的に、Src 型チロシンキナーゼの活性抑制タンパク質である Csk のノックダウンを行い、ウエスタンブロット解析を行った。Csk をノックダウンした細胞では肺がん抑制タンパク質の発現量が上昇しており、この発現上昇は Src 阻害剤 (SU6656) で打ち消された。これらの結果は、v-Src と同様に内在性の Src 型チロシンキナーゼが肺がん抑制タンパク質の発現を正に制御していることを示唆している。Src 型チロシンキナーゼは EGFR シグナル伝達経路の下流で機能している。がん細胞を EGF で刺激しすると、肺がん抑制タンパク質の発現量が上昇すること、この発現上昇も Src 阻害剤によって打ち消されることを我々は確認している。

【考察】本研究結果から、肺がん抑制タンパク質が、新規の Src シグナル伝達経路下流タンパク質であることが明らかになった。この肺がん抑制タンパク質は、Src 型チロシンキナーゼの活性化で起こる細胞のがん化等を防ぐための防御因子として機能している可能性が考えられる。多くの肺がん組織において、このがん抑制タンパク質の発現が低下していると報告されている。はたして、これらの肺がんでは、Src 型チロシンキナーゼのがん促進作用に対する防御能が失われているのかどうかを今後検討したいと考えている。

オクタヒドロイソクロメン骨格構築を基盤とする縮環型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成

薬品化学分野 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、小林数也、赤路健一
共同利用機器センター 服部恭尚

重症急性呼吸器症候群 (SARS) は新型コロナウイルスによって引き起こされる致死性の高い新興感染症である。SARS ウイルスの増殖にはシステインプロテアーゼである SARS 3CL プロテアーゼが必須であり、有望な治療薬の標的候補と考えられている。

これまでの研究でプロテアーゼ基質配列に基づくペプチドアルデヒド型阻害剤 **1** の開発に成功し、本阻害剤とプロテアーゼとの複合体 X 線結晶構造解析を進めてきた。¹ その結果、基質型阻害剤とプロテアーゼとの相互作用には疎水性相互作用が大きくかかわっており、S2 位での疎水性相互作用に着目したデカヒドロイソキノリン骨格を有する縮環型化合物 **2** が有望な阻害剤骨格となり得ることを明らかにした。² 今回我々は、デカヒドロイソキノリン骨格とは異なる置換基配置を有する酸素原子含有縮環構造—オクタヒドロイソクロメン骨格—に着目し、酸素原子の特性を生かした縮環型阻害剤 **3** の立体選択的合成を行った。また、合成途上で用いるアミンを変更することで種々の置換基を有する **3** の合成経路を確立した。あわせて、現在進めている阻害活性評価についても報告する予定である。

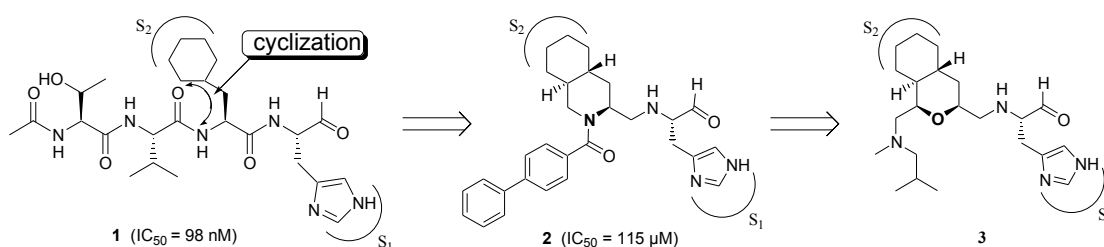


Figure 1.

引用文献

- 1 Akaji, K.; Konno, H.; Mitsui, H.; Teruya, K.; Shimamoto, Y.; Hattori, Y.; Ozaki, T.; Kusunoki, M.; Sanjoh, A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 7962.
- 2 Shimamoto, Y.; Hattori, Y.; Kobayashi, K.; Teruya, K.; Sanjoh, A.; Nakagawa, A.; Yamashita, E.; Akaji, K. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 876.

疎水性空間に対する最適架橋構造を有するペプチド性大環状 BACE1 阻害剤の探索

薬品化学分野 大谷拓也、小林数也、赤路健一
 共同利用機器センター 服部恭尚

アルツハイマー病 (AD) の原因と考えられているアミロイドβペプチド産生の一段階目に関与する BACE1 (β-site APP Cleaving Enzyme-1) に対する阻害剤は AD の有効な予防・治療薬として期待されている。我々はこれまでに、独自に見出した BACE1 に対する高親和配列¹⁾と遷移状態ミメティクスであるヒドロキシエチルアミン構造を組み合わせた BACE1 阻害剤の合成と活性評価を報告しており、阻害剤 1 と BACE1 との複合体の X 線結晶構造解析により、阻害剤の P1-P3 側鎖間に大きな疎水性空間が存在することを確認している (Fig. 1a)。この疎水性空間を適切な官能基で埋めることにより、BACE1 阻害活性の向上が期待できると考え、P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入と架橋構造の最適化を行うこととした。

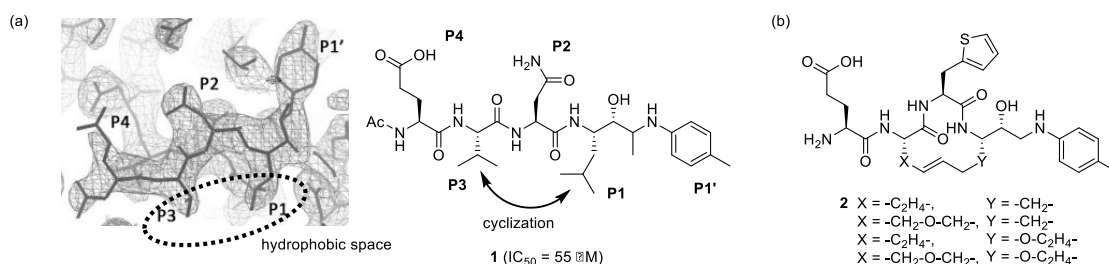


Fig. 1. (a) 阻害剤 1 の X 線結晶構造解析、(b) 直鎖架橋型環状阻害剤 2

最適環サイズの探索を行うため、P1-P3 側鎖間の疎水性空間の大きさから 13~16 員環を有する直鎖架橋型環状阻害剤 2 を設計し (Fig. 1b)、まず 13 及び 16 員環阻害剤の合成を行った。これらの BACE1 阻害活性評価を行ったところ、親化合物と比較してその阻害活性は低下した。この結果より、13 員環阻害剤では環サイズが小さく BACE1 との適切な結合構造を保てなかったこと、16 員環阻害剤では環サイズが大きく BACE1 の疎水性空間に対してうまく収まらなかったことが推測された。

本発表では、13 及び 16 員環阻害剤の活性評価の結果と現在実施している 14 員環阻害剤の合成及び阻害活性評価の結果を報告する。

<参考文献>

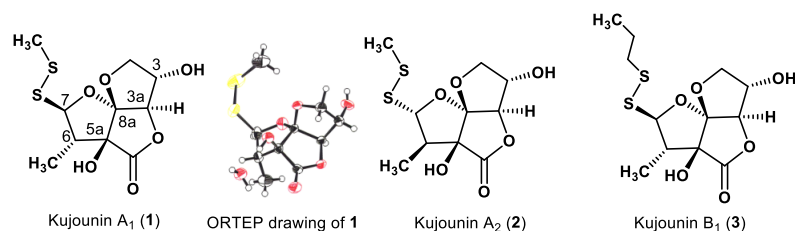
1) Kakizawa, T.; Sanjoh, A.; Kobayashi, A.; Hattori, Y.; Teruya, K.; Akaji, K. *Bioorg. Med. Chem.* 2011, 19, 2785.

Allium 属植物九条ねぎ (*Allium fistulosum* ‘Kujou’) からの含硫黄成分の探索

生薬学分野 中村誠宏、深谷 匡、米田太一、中川涼太、中嶋聡一、松田久司

Allium はラテン語でニンニクという意味で、特徴的な臭いを発するものが多く、ネギ、タマネギ、ニンニクなど多くの種が存在することが知られている。かつてアメリカ国立がん研究所で、発がん予防食品の調査研究を目標に、Designer Foods Project という名で研究計画が進められ、約 30 種類の推奨食品がクラス分けされた。この中には、*Allium* 属植物が多数選ばれている。また最近、ニンニクから得られたエキスおよび含硫黄成分にマクロファージ活性化制御作用が認められ、がん細胞の増殖を抑制する可能性が示唆されている。一方、*Allium* 属植物のネギ (*Allium fistulosum*) は日本国内においても広く栽培されており、その中でも九条ねぎ (*A. fistulosum* ‘Kujou’) は、京都で伝統的に栽培されている京野菜のひとつである。ネギの根の白い部分 (葉鞘部) は“葱白”と呼ばれ、生薬として風邪の初期や頭痛などに広く用いられている。含有成分としては、含硫黄化合物 allicin が知られているが、allicin 以外の含硫黄化合物についての報告例は少ない。

このような背景のもと、我々は *Allium* 属植物から抗がん作用などを有する含硫黄新規生物活性成分の探索を目的とし、葱白を用いその含有成分の探索を行った。すなわち、京都府産九条ねぎ (*A. fistulosum* ‘Kujou’) 葉鞘部 (葱白) のアセトン抽出エキスを酢酸エチル、1-ブタノールおよび水にて分液分配した。酢酸エチル移行部において、順相シリカゲル・逆相 ODS カラムクロマトグラフィーおよび HPLC を用いて繰り返し分離精製を行った。その結果、kujounin A₁ (1)、A₂ (2) や kujounin B₁ (3) を含む 5 種の新規含硫黄成分を得ることができた。これらの化学構造は、NMR をはじめとする各種スペクトルデータの詳細な解析および化学的手法を用いて決定した。新規化合物 1-3 は、珍しい tetrahydro-2*H*-difuro[3,2-*b*:2',3'-*c*]furan-5(5*aH*)-one 構造を母核に有する点、*Allium* 属植物に特有の硫黄原子を有する点が特徴として挙げられる。この二つの特徴を満たす植物成分はこれまでに報告例がなく、本化合物は抗がん薬などの新たな医薬品シーズとして期待できる。



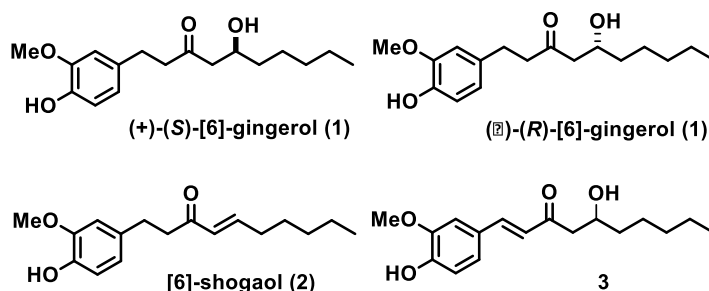
ショウガ (*Zingiber officinale*) 主要成分 [6]-gingerol の立体化学と生体機能

生薬学分野 笠 香織、中村誠宏、中田 葵、松本朋子、中嶋聡一、松田久司

ショウガ科植物ショウガ (*Zingiber officinale*) は日本をはじめ、インド、中国、東南アジア、アフリカなど世界各地で広く栽培されている。その根茎は古くから食用とされるほか、生薬として用いられてきた。これまでに、ショウガ主要成分として [6]-gingerol (1) や [6]-shogaol (2) が単離されており、1 はヒト大腸がん細胞の増殖を抑制するとの報告がなされている。

1 の立体化学に関して、1969 年 Connell D. W. らは 1 を単離するとともにその分解生成物と既知化合物の旋光度を比較することにより、側鎖部分の水酸基の絶対立体配置を *S* と推定した。一方で、これまで多くの文献で 1 はラセミ体、*R* 体として表記されており、その知見は曖昧であった。そこで今回、*Z. officinale* 根茎から単離された 1 の絶対立体構造の確認を行った。合成により得られた (±)-[6]-gingerol、不斉合成により得られた (+)-(*S*)-[6]-gingerol をキラルカラムにより分析した結果、(+)-(*S*)-[6]-gingerol の保持時間は 11.6 分、(-)-(*R*)-[6]-gingerol の保持時間は 13.0 分であることがわかった。*Z. officinale* 根茎より単離した 1 をキラルカラムによって分析したところ、保持時間が 11.6 分であったことから、*Z. officinale* 根茎から得られる 1 の絶対立体構造が *S* 体であることを確認した。加えて、*Z. officinale* 根茎より単離された 1 を用いて改良モツシャー法を行い、1 の 5 位の絶対立体配置が *S* であることを確認した。

また、*Z. officinale* 根茎含有成分および誘導体について、LPS 刺激 RAW264.7 細胞における過剰の一酸化窒素 (NO) 産生抑制作用を検討したところ、2 および誘導体 3 が 1 よりも強い NO 産生抑制作用を示した。このことより、 α, β -不飽和カルボニル構造が強い活性を示すために重要な構造であるという知見が得られた。

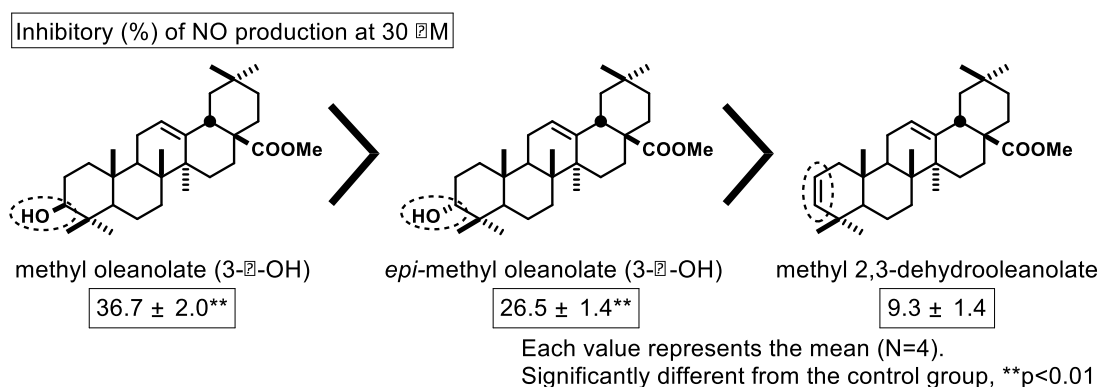


トリテルペン骨格 3 位に着目した誘導体合成および活性比較

生薬学分野 米田太一、中村誠宏、松本 朋子、中嶋聡一、松田久司

トリテルペンは抗がん作用、抗炎症作用および抗ウイルス作用など多様な薬理作用を示すことが報告されている重要なメディカルシーズであり、自然界に存在するトリテルペンの多くは 3 位水酸基の立体配置が β であることが知られている。一方、ステロイドにおいて、生理作用物質である胆汁酸は 3 位水酸基の立体配置が α であるが、前駆物質であるコレステロールの 3 位水酸基の立体配置は β である。そのため、生体内においては、3 位水酸基の立体配置が生物活性に重要な役割を担っているのではないかと推察した。今回、3 位水酸基の立体配置が α および β 、さらに 2、3 位脱水体であるトリテルペンをそれぞれ天然薬物から単離あるいは誘導体合成し、得られた化合物について、活性比較を行うことを目的として、リポ多糖刺激による RAW264.7 細胞からの一酸化窒素 (NO) 産生に対する抑制作用の検討を行った。

【方法および結果】 チャ花部から単離したアシル基あるいは水酸基を有するオレアナン型トリテルペンとともに、オレアノール酸、ウルソール酸およびベツリン酸を出発原料として 3 位水酸基の立体配置が α および β 、さらに 2、3 位脱水体である化合物へと誘導化し、NO 産生抑制作用を検討した。その結果、 3β -水酸基を有するトリテルペンが 3α -水酸基を有するあるいは 2、3 位脱水体であるトリテルペンよりも抑制作用が強く、水酸基の立体配置を含む骨格 3 位の構造により活性に大きな差が認められた。



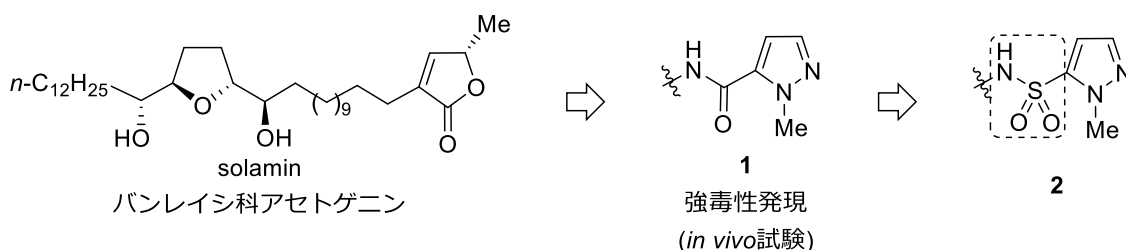
複素環連結部位にスルホンアミド結合を導入したアセトゲニン誘導体の合成と活性評価

薬品製造学分野 松本卓也、岩崎宏樹、山下正行、小島直人
 がん研・がん化学療法セ 赤塚明宜、岡村睦美、且 慎吾、矢守隆夫

私たちは抗腫瘍活性天然物であるバンレイシ科アセトゲニン類に関して構造活性相関研究を行っている。アセトゲニン類は長鎖脂肪族炭化水素の中央部分に 1 から 3 個のテトラヒドロフラン (THF) 環を有し、分子末端に α , β -不飽和- γ -ラクトン環が連結した特異な構造を持つポリケチドである。これら一連の化合物群は免疫抑制活性や殺虫活性など多様な生物活性を有することが明らかにされており、中でも最も興味深いのが抗腫瘍活性を有することである。ミトコンドリア電子伝達系複合体 I を阻害することにより、がん細胞を ATP 欠乏状態に陥らせ、抗腫瘍活性を発現すると考えられているが、詳細は不明である。

これまでに私たちは mono-THF アセトゲニンである solamin の分子末端に存在する γ -ラクトン環を *N*-メチルピラゾール環に変換し、¹⁾ アミド結合で連結した誘導体 1 が天然物の 1 万倍ものヒトがん細胞増殖抑制活性を有することを見出しているが、この誘導体は xenograft モデルを用いた抗腫瘍活性試験において強い毒性を発現することが明らかになっている。そこで毒性を示さずに強い抗腫瘍活性を有する誘導体を探索すべく、複素環と脂溶性側鎖の連結部位について検討を行ったところ、種々のアミド等価体に変換することによってその生物活性が大きく変化することを見出した。²⁾ しかしながらアミド等価体の一種であるスルホンアミド結合を有する誘導体については未検討であった。そのため、今回その合成と活性評価を行うことにした。

これまでに開発した合成経路を応用して THF 環部位を合成し、最後に *N*-メチルピラゾール環を結合させることにより、*N*-メチルピラゾール環をスルホンアミドで連結した誘導体 2 を合成した。そこで 39 種類のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性を評価したところ、2 は強い活性を示すことが明らかになった。また、2 について xenograft モデルを用いた抗腫瘍活性試験を行ったところ、有望な抗腫瘍活性を示すことが明らかになった。



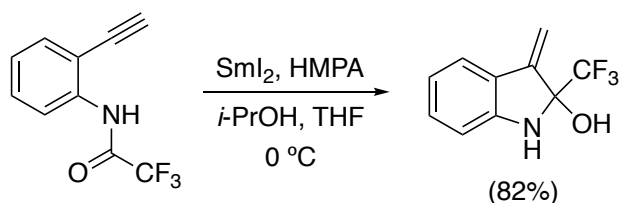
参考文献 1) Kojima N. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 1637; 2) Kojima N. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* 2013, 63, 833.

ポスター発表 (15)

2-トリフルオロメチルインドリン誘導体の合成反応の開発

薬品製造学分野 池田 惇、岩崎宏樹、井上暁斗、小畑久美、蒲田歩美、小島直人、山下正行

インドリン骨格は、多様な生物活性を有するアルカロイドや天然物などに広く見られる構造である。また、天然物の全合成における重要なビルディングブロックとして用いられるだけでなく、新規の生物活性化合物の合成における一般的なモチーフとしても魅力的である。一方、トリフルオロメチル基などフッ素原子を有する官能基を導入した有機分子は、新規医薬品の開発において重要である。しかしながら、2位にフッ素原子を有するインドリン合成の報告はほとんどない。そこで、緩和な条件下で反応が進行するヨウ化サマリウム (SmI_2) を用いて、*N*-(2-ethynylphenyl)-2,2,2-trifluoroacetamide 誘導体を基質として反応させることで、2-トリフルオロメチルインドリン誘導体を合成できると考えて検討を行った。その結果、アルキンに対する 5-*exo* 型環化が進行することで、良好な収率で目的の 2-トリフルオロメチルインドリン誘導体を得た (Scheme 1)。



Scheme 1

我々は、まず本反応の反応条件の最適化を検討した。その結果、 SmI_2 を 2.5 当量、添加剤として HMPA (9 当量)、イソプロパノール (2 当量)、0 °C で行う条件が最適であることが明らかとなった。また、様々なハロゲン原子を有するアセトアミド誘導体を用いて検討を行った結果、本反応はトリフルオロアセチル基特有の反応であることが明らかとなった。さらに、ベンゼン環上に種々の置換基を有する基質を用いて検討を行った結果、置換基の位置およびベンゼン環上の電子密度が収率に大きな影響を与えることが明らかとなった。詳細は、本ポスターにて発表する。

低分子リガンドを用いたエストロゲン受容体検出法の開発

京都薬科大学 共同利用機器センター 長谷川功紀

熊本大学 生命科学研究部 機能病理学 工藤信次、伊藤隆明

我々は現在までにソマトスタチンなどのペプチドホルモンを用い、その受容体を検出する方法を開発してきた。従来の Western blot 法や免疫組織化学染色法は受容体の検出に抗体を用いてきた。それらに対して我々は受容体がもともと有するリガンドとの結合能を利用し受容体を検出する方法を開発した。それらを Western ligand blot (WLB) 法および Ligand derivative stain (LDS) 法と名付け、これら手法の開発を進めてきた。今回、本手法をさらに拡張し、ステロイドホルモンであるエストラジオール誘導体を用い、その受容体検出を行った。

本研究ではまずエストラジオール誘導体の合成を行った。エチニルエストラジオールを出発原料としリンカーを介して FITC 標識し、目的とする FITC 標識エストラジオール (FITC-E2) の合成に成功した (図 1)。合成した FITC-E2 が乳がん細胞株である MCF7 と結合することを蛍光顕微鏡で確認した。次に MCF7 の細胞融解液を用い、FITC-E2 を検出剤として WLB 法で受容体の検出を試みた。その結果、FITC-E2 を高濃度で反応させる必要はあるが、FITC-E2 が結合した受容体と考えられるバンドを転写膜上に検出できた。エストロゲン受容体 (ER) には核内受容体として ER alpha、ER beta があり、また細胞膜上に G タンパク質共役型受容体として GPER が存在する。そこで ER alpha、ER beta および GPER の抗体を用いた Western blot 法と WLB 法のバンド位置を比較した結果、GPER と一致した。

本研究の結果、ペプチドだけでなくステロイドホルモンでも受容体を検出できる事が明らかになった。また細胞膜上に存在する GPER を検出できるが核内受容体は検出できないことも判った。今回合成した FITC-E2 は受容体に対する結合親和性が低く、LDS 法に適用することが難しい。今後、さらに結合親和性の高いリガンド誘導体を合成し、病理検体で GPER 検出を行う予定である。

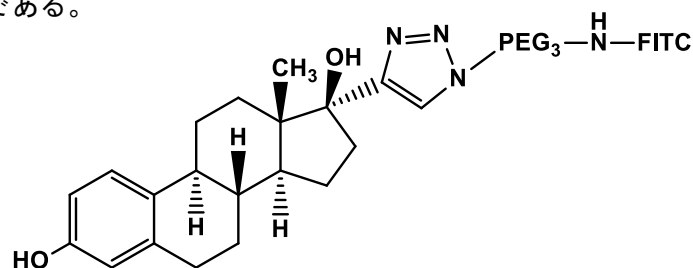


図 1 FITC 標識エストラジオール

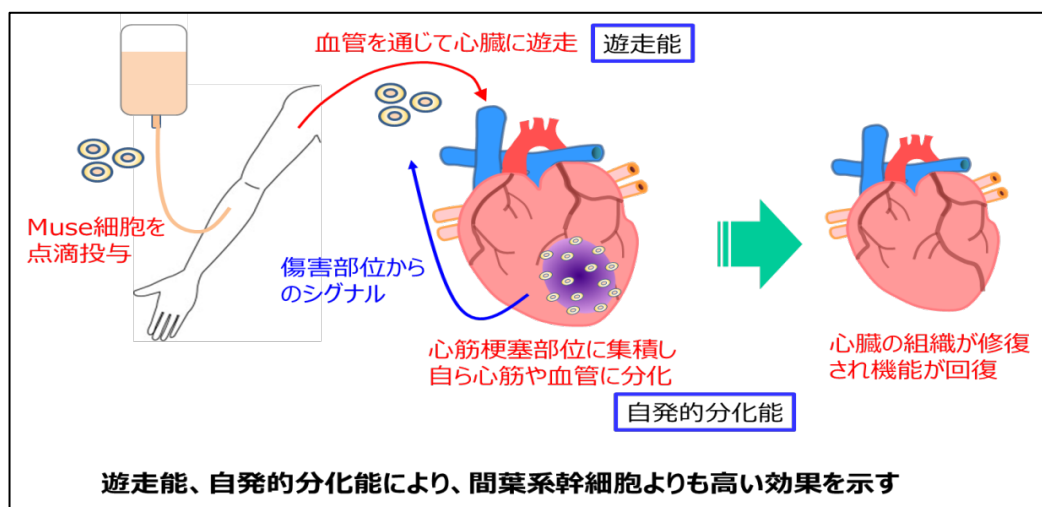
特別講演
Muse 細胞による修復医療の可能性
～生命科学インスティテュートが切り開く次世代医療～

生命科学インスティテュート 代表取締役社長 木曾誠一

生命科学インスティテュート (LSII) は三菱ケミカルホールディングスグループ (MCHC) のヘルスケア事業会社であり、臨床検査や診断薬、創薬支援などの事業を展開する LSI メディエンス社、医薬原体や中間体を製造販売するエーピーアイコーポレーション社、カプセルおよび製剤機器を製造販売するクオリカプス社、そして自己採血による血液検査サービスなどを展開する健康ライフコンパス社の 4 つの事業会社を有している。LSII は、これら事業会社のマネジメントを行うとともに、次世代事業のインキュベーションも行っている。今回は、我々が進めるインキュベーションプロジェクトのうち、再生医療等製品となる Muse 細胞製剤の開発を中心に紹介する。

Muse 細胞は 2010 年に東北大学の出澤教授により発見された新しい多能性幹細胞であり、遊走能と自発的分化能という特長を有している。遊走能とは、細胞が傷害部位から出るシグナルに呼び寄せられて、その傷害部位に集積するというものである。また、自発的分化能とは、細胞が場の論理に応じた分化をする、すなわち、脳であれば神経細胞に、心臓であれば心筋細胞に、肝臓であれば肝細胞に分化することが出来るというものである。これら特長により Muse 細胞製剤による治療は効率的かつ効果の高い治療となることが期待されている。また、Muse 細胞は他家細胞製剤であることから事前に製造、凍結保存が可能であり、必要時に製剤を点滴静注出来ることから身近な治療となると考えられる。

昨今、医療保険制度の危機が叫ばれる中、高薬価の薬剤や細胞製剤に厳しい目が向けられており、医療的価値と薬価のバランスも考慮した製品開発を進める必要がある。このようなことから、製品開発では 3 つの "able"、すなわち、"Valuable"、"Accessible"、"Sustainable" という 3 つの視点が必要と考える。Clinical value、すなわち、アンメットメディカルニーズにミートしているのか、あるいは、既存治療を凌駕できる治療なのか。Accessibility、すなわち、広く使うことが出来る医療なのか、適正な価格で使うことが出来るのか、身近な場所で受けることが出来るのか。そして、Sustainability、それは将来に渡り提供し続けることの出来る治療なのか、健全な事業化が出来るのか、安定供給は出来るのか。これら視点に基づいて、Muse 細胞の事業化についても考察したい。



~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ *Memo* ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~ . ~

文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業
「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」
Annual Meeting-2018 報告書

日時:2017年9月13日(木)13:50~17:30

場所:京都薬科大学 愛学ホール

参加者数:175名(教職員 45名、大学院生 16名、学部生 111名、その他(卒業生 3名))

本私立大学戦略的基盤研究形成支援事業プロジェクト「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」では、9分野1センターから13名、広域大学知的財産アドバイザー1名と学外の3施設から3名、計17名が参画している。本プロジェクト発足後3年経つが、この間進捗会議にて年2回行い議論を重ね、新規分子標的治療薬創薬に向けた4つの共同研究プロジェクトを昨年度に立ち上げた。2018年9月13日に開催された Annual Meeting-2018 では、4つのプロジェクトの進捗報告(口頭発表)、個々の参画研究者の研究発表(ポスター発表)と特別講演を行った。本学学部生、大学院生、教職員および卒業生、併せて175名が参加した。

開会に際して、後藤直正学長から発足当初からの本プロジェクトの使命:①学内共同研究体制の確立、②若手研究者の育成、③研究成果を再確認するご挨拶をいただいた。引き続き、本プロジェクトの研究代表者である芦原から、今までの経過の概要が説明された。

引き続き、共同研究の進捗報告として、以下の4演題の発表がなされた。どの口頭発表においてもそれぞれ活発な質疑応答、議論がなされた。

1. マウス脳腫瘍缶死亡を用いたアセトゲニン誘導体がん治療薬の開発
2. Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製
3. クマリン系がん転移抑制薬の創製
4. A β 産生抑制および凝集阻害薬の創製

それぞれの進捗に差はあるものの、どのグループも着実に成果をあげており、マウスモデルでの検討に進んでおり、臨床試験での評価基準を検討しているグループや特許申請を計画推進しているグループもあった。次に Poster Viewing として、各参画研究者の個々の研究発表が行われた。今年は18演題のエントリーがあり、ポスター会場とした愛学館 A33 講義室に多くの学生や教員が発表に参加し、新規分子標的

後藤 直正 学長



治療薬創薬研究の質疑応答を行った。

次に、本学 OB である生命科学インスティテュート 代表取締役社長の木曾誠一先生から特別講演「Muse 細胞による修復医療の可能性 ～生命科学インスティテュートが切り開く次世代医療～」をいただいた。Muse 細胞は骨髄間葉系幹細胞由来で、三胚葉への自発的分化能をゆする、極めてユニークな多能性幹細胞で、講演では修復医療(再生医療)の実用化を目指した Muse 細胞を用いた脳梗塞や心筋梗塞マウスなどへの研究成果をご提示いただいた。

木曾 誠一 先生



木曾先生は現在の医療保険制度において医療的価値のみならず、医薬品の薬価とのバランスにも考慮する必要があり、製品開発の段階から 3 つの able: “Valuable (アンメットメッドカルニーズに合致しているか)”、“Accessible (広く医療に提供でき、適正な価格で、身近な場所で受けられる医療なのか)”、“Sustainable (健全な事業として、医薬品を安定供給でき、将来にわたり提供し続けることができる医療なのか)”を視野に入れ、展開することが重要であることをお話しいただいた。講演後は活発な質疑応答がなされ、新規分子標的治療薬の開発を視野にいれた本プロジェクトにとって、非常に有意義な特別講演であった。

外部評価委員
高須 清誠 教授



引き続き、ご参加いただいた外部評価員である京都府立医科大学大学院 医学研究科 分子標的癌予防医学 酒井敏行教授、ならびに京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 高須清誠教授を代表して、高須教授から本 Annual Meeting のご講評をいただいた。「昨年度より進捗が見られ、京都薬科大学ならではの共同研究体制で研究がなされている。残り1年半でさらなる進捗を期待する。」と、叱咤激励の総評をいただいた。

最後に、合成・相互作用解析グループリーダー 薬品化学分野 赤路健一教授から、本プロジェクトのさらなる進捗、ならびにさらに全学を上げた共同研究を推進すべく邁進する、旨の言葉があり、盛会のうちに、本 Annual Meeting は終了した。

赤路健一 教授



今後も定期的に進捗会議をもち、知財の獲得、上市を目指した分子標的治療薬候補化合物の創製を続け、さらに新たな“知の創造”も目指して本プロジェクトを遂行していく。

文責: 芦原英司(研究代表者)

アセトゲニン班

小島直人先生(左)、中田 晋先生(右)



Wnt 班

服部恭尚先生(左)、若林亮介君(右)



転移班

杉山雄輝君(左)、長谷川功紀先生(右)



BACE1 班

小林数也先生



私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立

News Letter Vol.4

～はじめに～



研究代表者
病態生理学分野
芦原英司

2015年度に採択いただきました私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」

も、今年度で4年目となりました。本プロジェクトは、京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させ、悪性腫瘍と神経変性疾患・認知症に焦点を絞り、アカデミアの学術基盤を有効利用することによって新たな創薬・予防薬シーズを発掘することを目的とし、シーズのライセンスアウトを目指した産学連携プラットフォームを構築し、充実した健康

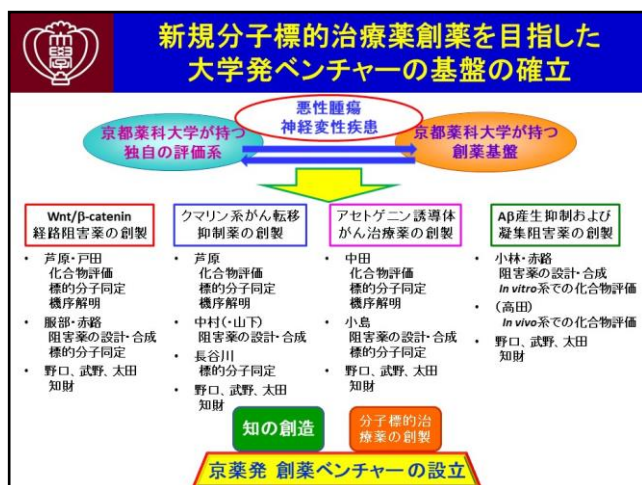
長寿生活の実現に貢献できる大学発創薬ベンチャー基盤の確立を目指してきております。

初年度より年2回の small meeting で議論に議論を重ね、昨年度にはそれぞれの研究者が行ってまいりました個々の研究を、大学として本プロジェクトで推進する4つの柱となる研究に集結し進めてきております。

- ① Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製
- ② クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製
- ③ アセトゲニン類の構造変換によるがん幹細胞に対する新規分子標的治療薬の創製
- ④ 高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発

昨年度には2つの特許出願を行いました。また、現在さらに新たな化合物を発掘し、特許出願に向けて検討いたしております。これらの柱となる研究を推し進め、得られたシーズの学術的評価に臨床評価を加味することで新規化合物の preclinical POC (Proof of Concept) につなげ、トランスレーショナルリサーチの基盤を形成いたします。

本プロジェクトは助教・助手の若手教員および PD・RA といった若手研究者が中心メンバーで、彼らの自由で独創的な発想の元に研究を展開しています。あと1年余りとなりましたが、個々のメンバーの研究も並行して進め、薬学・医学という学問に、新たな「知の概念」の構築を目指し、日々邁進いたしております。



～各研究紹介～

Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索

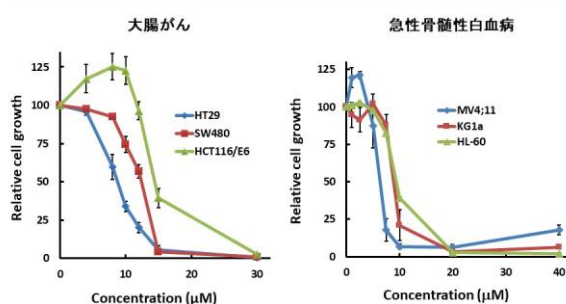
病態生理学分野 芦原英司

我々は、初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などのいくつかの生命現象に重要な働きをしている古典的 Wnt/ β -catenin シグナル経路阻害による新規がん分子標的治療薬の開発を進めている。共同利用機器センター 服部恭尚博士、薬品化学分野の赤路健一博士、小林数也博士との共同研究にて構造活性相関研究を進め、基本骨格となる構造を突き詰めた基本骨格を有する化合物は大腸がんをはじめ、膵がん、白血病細胞、多発性骨髄腫、悪性リンパ腫の増殖を抑制し、アポトーシスを介した細胞死を誘導することを明らかにした。また治療抵抗性を示し、がん幹細胞集団が存在する低酸素環境に適応した膵がん細胞、および神経膠芽腫並びに乳がんの cancer sphere に対しても増殖抑制作用を有することを明らかにした。これらの内容により、昨年度に特許出願を行った（特願 2019-2015）。



さらに本化合物群の真の標的分子の同定を開始した。磁気ビーズに候補化合物をリガンド化した分子プローブを用いて釣りあげ、MS 解析にて同定する。X 線結晶構造解析、構造活性相関解析により、化合物の構造の最適化を図る。

化合物#37の増殖抑制効果



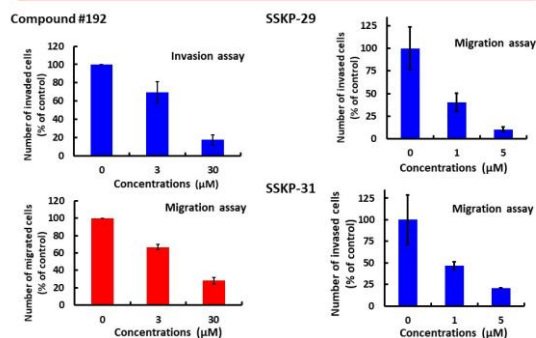
クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製

病態生理学分野 芦原英司

我々は生薬学分野の所有する化合物ライブラリーから、転移抑制化合物のスクリーニングを行い、その結果クマリン系化合物 daphnetin (7, 8-dihydroxycoumarin) が、マウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞の浸潤および遊走を抑制することを世界で初めて明らかにした (Hiroki Fukuda, Seikou Nakamura, Esihi Ashihara, et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **471**, 63-67 (2016))。さらに本化合物はアクチンの重合に関わる分子の発現を検討したところ、RhoA および cdc42 タンパク質発現を減少させ、ストレスファイバーおよび糸状偽足の形成を低下させることで細胞遊走を抑制することを明らかにしている。

Daphnetin をヒット化合物として、構造活性相関研究を行い、本作用にキーとなる構造を推定しており、多くの有効な治療薬候補化合物を取得し、昨年度末に特許出願を行った（生薬学分野 中村誠宏博士、薬品製造学分野 山下正行教授、共同利用機器センター 長谷川功紀博士との共同研究、特願 2018-237944）。現在キーとなる構造部位の変換に伴う浸潤/遊走抑制作用の検討を継続するとともに、さらに磁気ビーズに候補化合物をリガンド化した分子プローブ法、Western ligand blot (WLB) 法とリガンド誘導体染色 (LDS) 法（共同利用機器センター 長谷川功紀博士との共同研究）を用いて真の標的分子の同定に向け検討中である。

クマリン系化合物による浸潤/遊走阻害



エクソソームの脂質組成を基盤としたがん標的化技術の開発

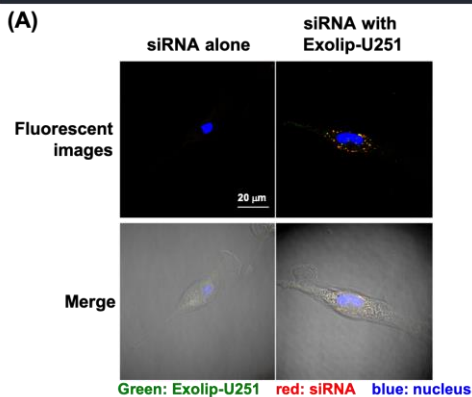


病態生理学分野 戸田侑紀

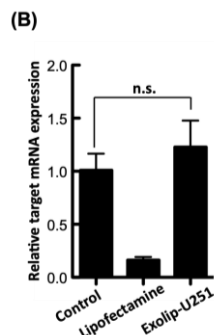
薬剤を標的部位へと特異的に送達できる DDS (drug delivery system) は抗がん剤による全身性の副作用を軽減する上で有効な手段である。我々は、細胞外分泌小胞であるエクソソームの潜在的に備わった指向性を利用して新たな治療標的化技術の開発を目指している。

これまでに、がん細胞指向性を有する glioblastoma 由来エクソソーム (Exo-U251) の脂質成分から再構成したリポソーム (Exolip-U251) のがん細胞内への取り込み量を解析し、Exo-U251 の指向性を自身の脂質成分を用いて部分的に再現できることを明らかにした。本年度は、同リポソームが DDS としての機能性を有するのか検証した。蛍光標識 siRNA を Exo-Fect (siRNA 担持キット) にてリポソームに担持させ細胞に処置したところ、siRNA 由来蛍光が細胞内に観察された (A)。

Ineffective siRNA delivery by Exolip-U251



しかし、標的 mRNA の発現がほとんど抑制されおらず siRNA が有効に機能していないことが示唆された (B)。そこで siRNA の細胞内局在を詳細に解析したところ、ほとんどが



リソソームに蓄積し RNA 干渉を引き起こす前に分解されている可能性が示唆された。

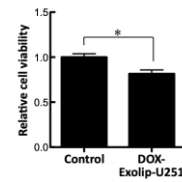
一方、抗がん剤

であるドキソルビシンをリポソームに内包し細胞に処置したところ、有意な細胞増殖抑制がみられた (C)。

以上の結果から、エクソソームの脂質より作製したリポソームは DDS として機能することが明らかになった。また、DDS への薬物導入の仕方がその機能性に大きく影響することが示唆された。今後は、本基盤事業内で見出された有望な低分子化合物を本リポソームに搭載し、有効性を検証する。

Cytotoxicity of doxorubicin-encapsulated Exolip-U251

(C)



マウス膠芽腫幹細胞モデルを用いたアセトゲニン誘導体 JCI-20679 の抗腫瘍メカニズムの解析とテモゾロミド併用効果の解析



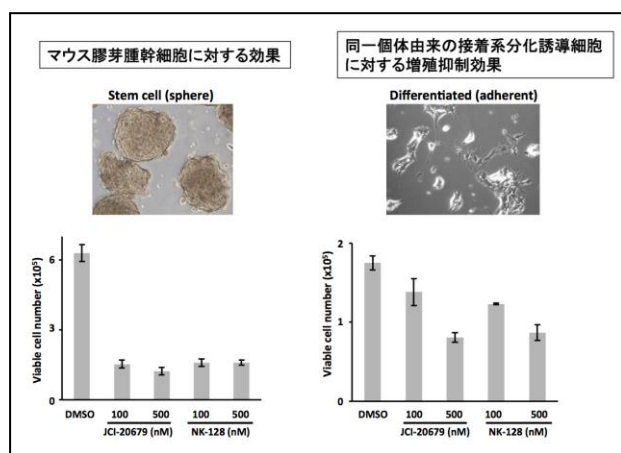
臨床腫瘍学分野 中田晋
薬品製造学分野 小島直人

成人発症の悪性脳腫瘍の中で最も頻度が高い膠芽腫は、既存の治療法に対して極めて難治性であり、一旦再発すると治癒させることは困難である。再発膠芽腫に対する薬物療法は、アルキル化剤テモゾロミドが 2006 年前後に登場して以来大きな進歩がみられず、膠芽腫細胞のテモゾロミド耐性の克服は大きな課題である。近年、膠芽腫の組織中には発癌過程や再発の起点となる、いわゆる膠芽腫幹細胞が存在することが明らかになっており、臨床腫瘍学分野では、その特性を詳細に解析するために、学外研究参画者である近畿大学 藤田貢博士と共同で、sh-p53、EGFRvIII、NRasG12V の生体内導入による自発症型マウスモデルの腫瘍組織から分離した膠芽腫幹細胞を樹立してきた。

一方、薬品製造学分野では、熱帯・亜熱帯に生

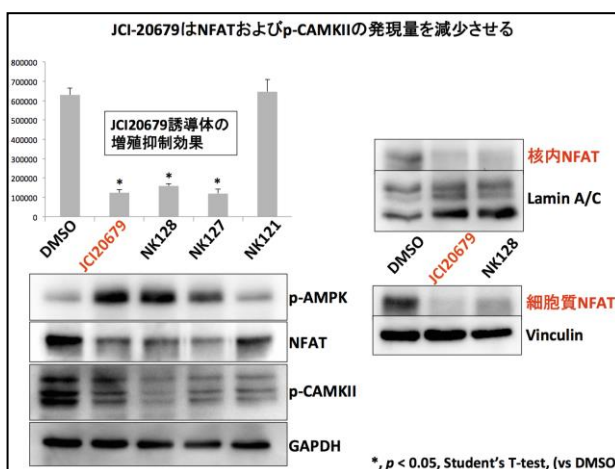
息するバンレイシ科植物から単離されるアセトゲニン類と呼ばれるポリケチドに着目し、抗癌剤開発を目指した構造活性相関研究を推進してきた。これまでに天然物アセトゲニンの一種である solamin の分子末端に存在する γ -ラクトン環をチオフェン環に変換し、アミド結合で連結した誘導体 JCI-20679 は、ミトコンドリア複合体 I の阻害活性を有し、高い抗腫瘍活性を示すことをみいだしている。そこで本研究では、アセトゲニン誘導体 JCI-20679 の膠芽腫幹細胞に対する抗腫瘍活性について評価し、その作用メカニズムを解明することを目的とした。

JCI-20679 は低濃度でマウス膠芽腫幹細胞の増殖を顕著に抑制し、同時に樹立した通常の接着系培養細胞よりも低濃度で効果を発揮した。低濃度における増殖抑制効果には、BrdU 取り込み細胞率の顕著な低下を伴っており、細胞周期の S 期への進行の抑制が主な機序と考えられた。一方、500 nM 以上の高濃度処理においてはアポトーシス細胞死が誘導され、アポトーシス促進因子 Bim の発現誘導がみられた。

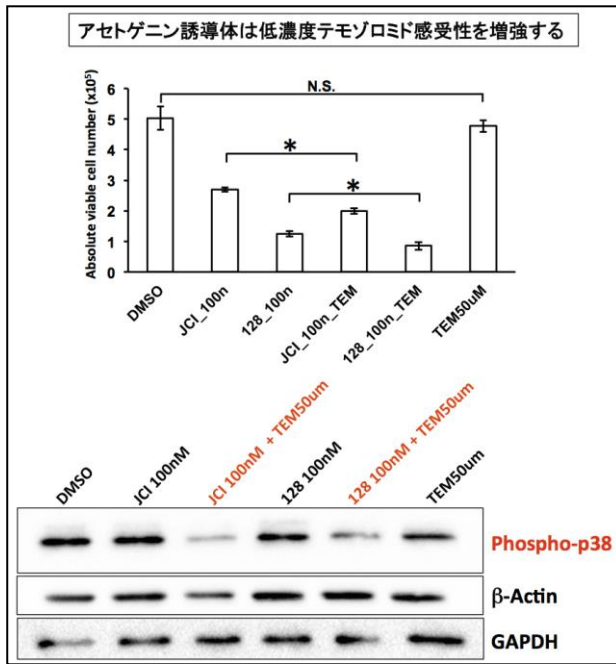


近年、がん細胞のみならず、正常幹細胞の生物学においても、各種の幹細胞がミトコンドリアの機能的もしくは形態的にそれぞれの特徴を有し、エネルギー代謝における酸化的リン酸化と解糖系との間のバランスが異なることが報告されており、幹細胞生物学的にも注目されている。また、がん研究においても、抗がん剤に対する耐性が生じた際にもミトコンドリア機能が変容することや、分子標的治療薬に耐性となった腫瘍細胞がミトコンドリア阻害剤に対する感受性を有してい

るという報告もされている。JCI-20679 は、がん細胞パネルを用いた検討においてピグアナイド系化合物と類似した増殖抑制スペクトラムを示し、生化学的解析においてもミトコンドリア複合体 I の阻害作用を有することが示されていたため、関連因子の解析を行った。その結果、JCI-20679 処理によって、エネルギー代謝ストレスのセンサー分子である AMPK 蛋白質のリン酸化体の発現量が濃度依存的に増加し、この現象に細胞内 AMP/ATP 比の増大が伴っていることをみいだした。また、AMPK 阻害剤 Compound-C および Inosine による増殖抑制効果の部分的減弱を認めた。これらの結果は、JCI-20679 が本膠芽腫幹細胞の増殖を抑制する際においても、ミトコンドリア複合体 I の阻害効果を発揮していることを示している。さらに、膠芽腫の浸潤能とその進展を促進することが報告されている転写因子 NFAT が顕著に減少することをみいだした。この NFAT 減少にはカルシニューリンの脱リン酸化酵素活性の低下およびリン酸化 CAMKII 減少を伴っていた。



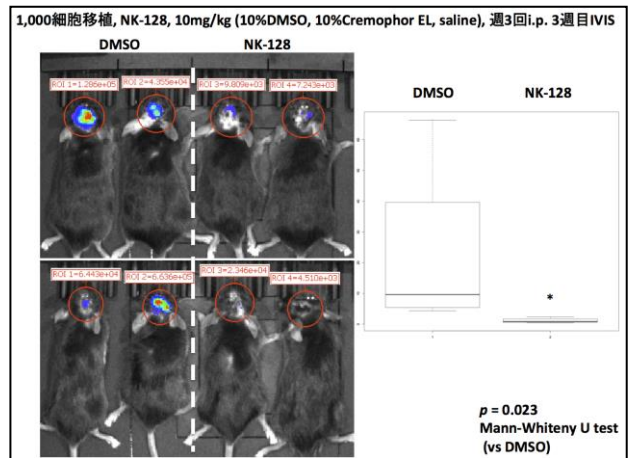
また、JCI-20679 のテモゾロミドの効果増強を評価するために、マウス膠芽腫組織由来の培養株およびヒト膠芽腫培養細胞株を用いて検討したところ、テモゾロミド単剤では有意な増殖抑制効果を示さない低濃度での併用において、JCI-20679 は増殖抑制効果を増強することをみいだした。マウス膠芽腫組織由来のニューロスフェア法で維持した幹細胞分画と比較して、通常血清添加接着系培養で維持した分化細胞では、JCI-20679 に対する感受性がやや低い傾向を示したが、



テモゾロミドとの併用による効果増強がみられた。ヒト膠芽腫培養細胞株では、特に T98MG 細胞は高度にテモゾロミド耐性であることが知られているが、T98MG を含め、A172、U251MG 細胞においても同様の効果増強がみられた。さらに、テモゾロミドと JCI-20679 との併用によって、MAP キナーゼの一種である p38 のリン酸化体が減少することをみいだした。重要ながんの治療標的分子の一つであり現在その阻害剤が臨床治験中である p38MAP キナーゼ活性の抑制が、JCI-20679 によるテモゾロミドの抗腫瘍効果増強に参与している可能性が考えられた。

JCI-20679 の合成には、総行程 23 ステップを要し収率も低く、生体に投与することを想定した場合、大量合成が容易でないという弱点がある。そこで本研究では、JCI-20679 をリード化合物として構造の簡略化を達成し、高い効率で合成が可能となった新規誘導体 NK119~NK129 の活性を評価した。その結果、JCI-20679 よりも活性が高い、NK128 を同定した。NK128 は、JCI-20679 と同様にリン酸型 AMPK を誘導することを確認した。さらに現在、マウスモデル由来膠芽腫幹細胞の同所性移植脳腫瘍モデルを用い、生体内脳腫瘍に対する NK-128 の抗腫瘍効果とその安全性の評価を進めている。1,000 個の膠芽腫幹細胞の同所性移植により、100%の確率で致死性移植腫瘍の生着が確認

され、移植直後からの週 3 回の腹腔内投与治療により、有意に移植腫瘍の成長を抑制することを確認した。今後さらに生体内膠芽腫に対する治療効果について解析を進める方針である。



複素環構造を有する阻害剤候補化合物の設計と合成



共同利用機器センター
服部 恭尚

1. Wnt/β-カテニン経路阻害剤の開発

様々な生物種に高度に保存されているシグナル伝達経路である Wnt シグナルは初期発生における体軸形成や細胞の分化ばかりでなく、発がんの過程においても重要な役割を担っている。本研究の対象である Wnt/β-カテニン経路は Wnt シグナルの一つであり、大腸がんなどで異常亢進していることが知られている。従って、Wnt/β-カテニン経路を選択的に阻害する化合物は、新たながん治療薬のリード化合物となりうる。

これまで、米国で臨床試験が進められている ICG-001 との構造類似性を指標に合成した含窒素複素環化合物を共同研究先である病態生理学分野にて培養細胞を用いたルシフェラーゼアッセイシステムを用いてスクリーニングしていただいた (図 1)。

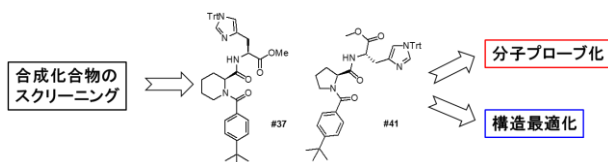


図 1 : 本研究テーマの概略図

その結果、中程度の阻害活性を示す阻害剤候補化合物を見出し、これらの化合物の合成工程を大幅に簡略化した化合物への展開を行った。この中で見出した候補化合物#37 と#41 を分子プローブ化し、リガンド開発へと展開させ標的分子探索を進めるとともにさらなる高活性化合物開発を目指した構造最適化を実施する予定である。(病態生理学分野 芦原英司博士、薬品化学分野 赤路健一博士、小林数也博士との共同研究)

2. SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の開発

21 世紀初の新興感染症である重症呼吸器症候群 (Severe Acute Respiratory Syndrome: SARS) は致死率 10%程度の呼吸器疾患である。ごく最近、中東での SARS 様ウィルスを原因とする感染症 (Middle East Respiratory Syndrome: MERS) が報告されている。SARS 原因ウィルスの増殖に必須の SARS 3CL プロテアーゼに対する阻害剤は抗 SARS 薬となりうると考えられている。

既に報告したペプチドアルデヒド型阻害剤 1 を基にアザデカリン型阻害剤 2 の設計と合成、阻害活性評価を行った。しかしながら、本阻害剤 2 は 1 よりも大幅に活性が減弱しており、環上ヘテロ原子を窒素から酸素に置換した新規阻害剤 3 の設計と合成を進めている (図 2)。

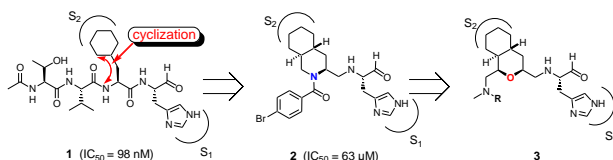


図 2 : オクタヒドロイソクロメン型阻害剤の設計

今後、上記化合物 3 を構造最適化し、SARS 治療薬へ展開したいと考えている。(薬品化学分野 赤路健一博士、小林数也博士との共同研究)

相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究



薬品化学分野 小林数也

アミロイドβペプチド (Aβ) の凝集・蓄積はアルツハイマー病の発症原因の一つと考えられている。Aβ 産生の一段階目に関与するプロテアーゼ (BACE1: β-site APP cleaving enzyme) は、アルツハイマー病の予防・治療薬開発における重要な創薬標的の一つであることから、我々は BACE1 を標的としたペプチド性及び低分子型の阻害剤開発研究を行っている。

(1) ペプチド性 BACE1 阻害剤

我々はこれまでに、高親和性基質配列にヒドロキシエチルアミン (HEA) 型イソスターを導入した新規 BACE1 阻害剤の合成と活性評価について報告している。得られた誘導体と BACE1 との共結晶の結晶構造解析の結果から、(1) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入と、(2) P1' 位芳香環への官能基の導入、という 2 つのアプローチを考案し、更なる活性の向上を目的として、最適構造の探索を行っている。

・ P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入

我々は、P2 位にノルバルリンを有する阻害剤 1 を親化合物として、12~15 員環の環状阻害剤 2~5 を合成することとした。我々は昨年度までに、末端にアルケンを有する側鎖長の異なる 2 種類の P1 ユニットと 3 種類の P3 ユニットの合成法を確立している。目的の架橋構造は、これらを組み合わせることで架橋部の長さが異なる環化前駆体を合成し、閉環メタセシス反応により構築することとした。また、閉環メタセシス反応で形成されるアルケン部分を還元した誘導体も合成し、架橋構造の違いについても精査することとした。本年度は、一部正確な構造決定には至っていないものの、目的の 12~15 員環の環状誘導体の合成を達成した。合成した誘導体の阻害活性は、残念ながら親

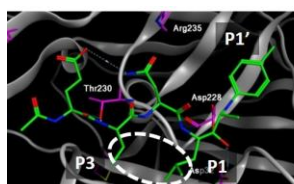
化合物から大きく低下してしまっただが、この結果から、単純な直鎖構造による架橋ではP1-P3間の疎水性ポケットを適切に占有できないことが示唆された。合成した誘導体の中で13員環阻害剤が僅かに高い活性を示したことから、現在は環サイズを13員環に固定し、架橋部に分枝構造を有する誘導体の合成を行っている。

・P1' 位芳香環への官能基の導入

これまでに確立した合成法に基づいて種々P1' 誘導体の合成を行った。得られた誘導体の活性評価の結果、①芳香環パラ位には疎水性官能基が適しており、t-Bu 基の大きさまで許容されること、②芳香環メタ位にはカルボキシル基及びテトラゾリル基が適していること、③芳香環のパラ位にメチル基、メタ位にカルボキシル基を導入した二置換体では一置換体からの活性向上は認められないこと、が明らかとなった。今後は、得られた知見に基づいて更なる構造活性相関研究を行い、より強力な BACE1 阻害剤の開発を目指していく。

(2) 低分子 BACE1 阻害剤

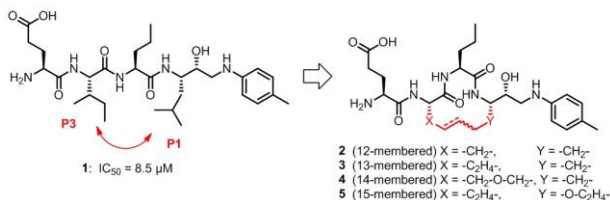
FBDD (Fragment Based Drug Design) による BACE1 阻害剤開発研究において、構造モチーフ 7 が有用なファーマコフォアとして注目されており、これまでに本骨格を有する低分子型阻害剤が数多く報告されている。我々は、本骨格から着想を得、環構造の外側にアミジノ基を配置した *N*-ア



・P1、P3側鎖間に疎水性空間が存在



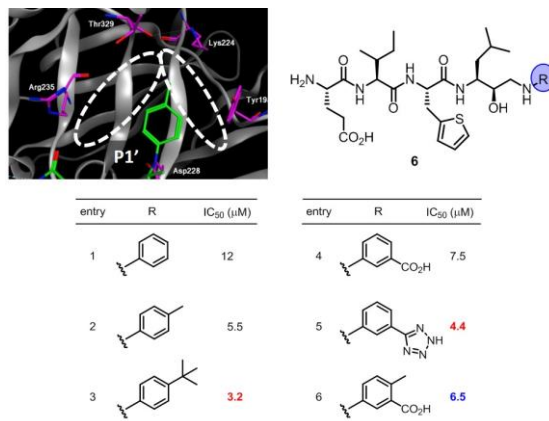
・P1、P3側鎖間に架橋構造を導入
疎水性空間の占有
全体構造の固定化



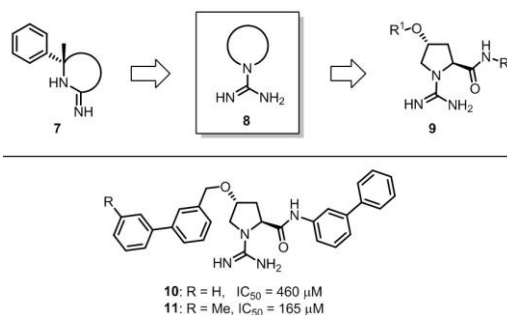
ミジノ含窒素環状骨格 8 をデザインし、*N*-アミジノピロリジン 9 について、種々置換基を有する誘導体の合成と活性評価を行っている。

・*N*-アミジノピロリジン型阻害剤

これまでに確立した合成法に基づき、R1、R2 が



異なるいくつかの 2,4-二置換型 *N*-アミジノピロリジン誘導体を合成し、活性評価を行った。その結果、*trans*-配置の R¹、R² 基に 3-ビフェニル基を導入した誘導体 10 で弱いながらも明らかな BACE1 阻害活性が確認された ($IC_{50} = 460 \mu M$)。本誘導体を基盤に、R¹ 基に関する更なる構造活性相関研究を行った結果、末端ベンゼン環のメタ位にメチル基を導入することで活性が 3 倍程度向上することが明らかとなった (化合物 11)。今後は、これら活性評価の結果に基づき、更なる構造最適化を行う予定である。



天然伝承薬物を素材とした含硫黄、含窒素含有成分の探索



生薬学分野 中村誠宏

我々は、和漢生薬を中心とした天然伝承薬物を素材とし、特にがん転移抑制および神経変性疾患予防作用を有する含窒素、含硫黄含有成

分の探索を進めている。昨年度までに、1) アリウム（ネギ）属植物葱白（九条ねぎ、*Allium fistulosum* ‘Kujou’、葉鞘部分）2) カバノアナタケ（*Inonotus obliquus*）菌核、3) クロタネソウ（*Nigella damascena*）種子4) ネムロコウホネ（*Nuphar pumilum*）根茎を用い含有成分の探索およびそれらの生物活性評価を進めてきた。その結果、葱白から稀有な化学構造[tetrahydro-2*H*-difuro[3,2-*b*:2',3'-*c*]furan-5(5*aH*)-one]を母核に有する環状硫黄化合物 kujounin 類や、カバノアナタケ菌核からがん細胞の浸潤抑制作用を有するトリテルペン類などを見出すことができています。本年度は、天然薬物のうち、特にヤマアイ（*Mercurialis leiocarpa*）、アリウム属植物アサツキ（*A. schoenoprasum* var. *foliosum*）およびニラ（*A. tuberosum*）の含有成分の探索を行った。

1. ヤマアイ（*Mercurialis leiocarpa*）を素材としたアルカロイド成分の探索

藍やアカネなどに代表される染料植物は染料として用いられるばかりでなく、多様な生物活性を有することが知られている。例えば、藍の主要成分であるインドール二量体 indigo は、抗炎症作用を示すことが報告されている。このような背景から、我々は染料の薬学的利用を指向し、植物染料であるヤマアイ（*Mercurialis leiocarpa*）に着目した。ヤマアイは、日本各地に自生しているトウダイグサ科の多年草であり、日本において古くから青色染料として利用されてきた。その含有成分は、ピロールジオン二量体である isochrysohermidine 以外はほとんど知られていない。そこで本研究では、ヤマアイの含有アルカロイド成分の探索を行うと共に得られたピロールジオン二量体の生成経路の検討を行った。その結果、京都府産（京都薬科大学薬用植物園）ヤマアイの地上部より、非対称ジピロール構造を有した稀有な化学構造を有する leiocarpanine A (1) などを含む計 10 種の化合物を単離することができた（図 1）。化合物 1 は X 線結晶構造解析等の詳細な解析を行うことによりその化学構造を決定した。また、アルカロイド成分 1 の生成経路の検討を行った。その結果、これらの成分が、ピリジノン誘導体である hermidine のダイマー化、

続く Favorskii 型の転移反応によって生じる isochrysohermidine を経由して得られると考えられた。

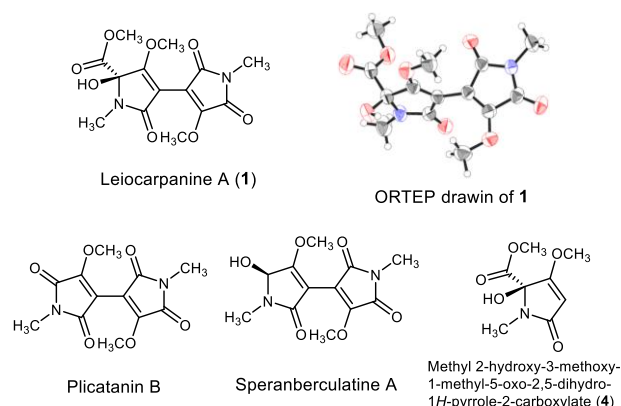


図 1

2. アリウム属植物アサツキ（*Allium schoenoprasum* var. *foliosum*）およびニラ（*A. tuberosum*）を素材とした含硫黄成分の探索

Allium 属植物にはアリシンなどの含硫黄化合物が含まれることが広く知られ抗炎症作用や抗糖尿病、抗腫瘍作用が報告されている。今回、*Allium* 属植物から抗がん作用などを有する含硫黄新規生物活性化合物の探索を目的とし、アサツキ（*A. schoenoprasum* var. *foliosum*、福島県産）の含有成分の探索を進めた。その結果、テトラヒドロチオフェン骨格を有する 4 種の環状含硫黄化合物を得た。これらの成分は、葱白（九条ねぎ、*A. fistulosum* ‘Kujou’、葉鞘部分）には含有しないことが明らかになった。また、古くから滋養強壮や整腸作用など期待して供されきたニラ（*A. tuberosum*、高知県産）を素材として用い、含硫黄化合物の探索を行ったところ tuberoin A と命名した、2 種の直鎖状含硫黄化合物を含む 3 種の化合物を得た。

以上、トウダイグサ科ヤマアイ、アリウム属植物アサツキ（*A. schoenoprasum* var. *foliosum*）およびニラ（*A. tuberosum*）から様々な含窒素、含硫黄化合物を明らかにすることができた。今後、得られた含硫黄化合物の詳細な生物活性評価を行う予定である。

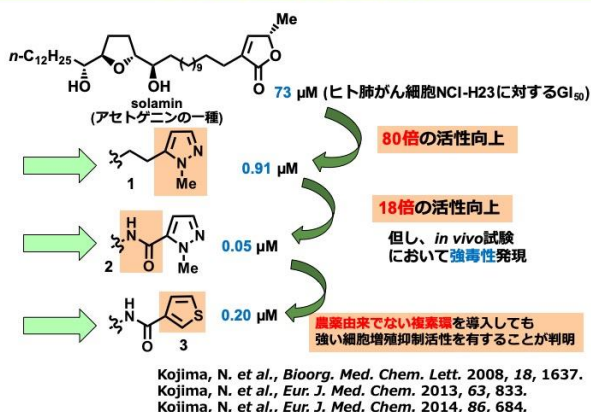
エチレングリコール単位を導入したアセトゲニン誘導体の合成と活性評価



薬品製造学分野 小島直人

我々の研究グループでは、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるポリケチドであるアセトゲニン類をリードとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究を展開している。アセトゲニン類は長鎖アルキル鎖の中央付近に 2,5-二置換のテトラヒドロフラン (THF) 環、末端に γ -ラクトン環を持つ構造的特徴を有しており、強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことが知られている。我々は、 γ -ラクトン環部分を改変した種々の誘導体合成を展開した結果、それらが興味深い生物活性を示すことを明らかにしてきた。例えば、*N*-メチルピラゾール環を炭素-炭素結合で結合させた誘導体 1 はヒト肺がん細胞 NCI-H23 に対して、天然物 solamin の約 80 倍もの強い増殖抑制活性を示すことを見出している。また、複素環連結部位の結合様式は活性に大きく影響し、アミド結合で連結した誘導体 2 は更に 18 倍の非常に強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことを見出した。しかしながら、2 の *in vivo* 試験を実施した結果、マウスに対する毒性が非常に強く、10 mg/kg 以上の投与では毒性死が観察され、5 mg/kg の投

これまでの研究成果



与では有意な抗腫瘍活性を認めなかった。そこで更なる構造活性相関研究を展開した結果、チオフェン環をアミド結合で連結させた誘導体 3 が、強

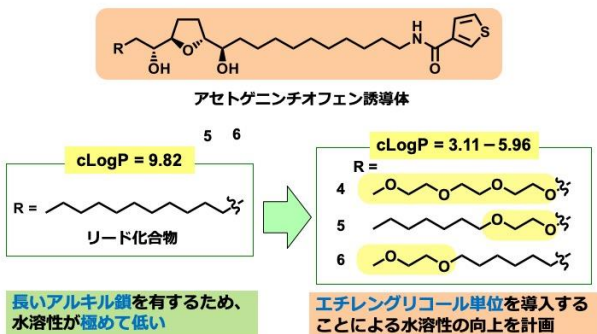
いヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことを明らかにした。また、3 の *in vivo* 試験を実施した結果、3 は 100 mg/kg の投与でも急性毒性を示さず、がん細胞の増殖をほぼ完全に抑制することを見出した。

新たに創製した誘導体 3 は抗がんリード化合物として、優れた活性プロファイルを有しているが、一連の生物活性試験の過程の中で、水溶性が低いという問題点が浮上した。これはリード化合物であるアセトゲニン類の構成要素の一つである、長鎖アルキル鎖によるものであると考えられる。そこで、我々はこの問題を解決すべく新たな誘導体の合成に着手した。

化合物の水溶性を改善する方法として水溶性官能基の導入と、脂溶性部位の削減がある。しかしながら、これまでの構造活性相関研究の結果、チオフェン環上への置換基導入は活性を大きく減弱させる可能性が高いことが明らかになっていることから、前者による解決は困難であると考えた。また、脂溶性部位の削減については、例えば、分子左側のドデシル基の減炭は活性の減弱をもたらすことが明らかになっている。そこで、一定の炭素長を維持しつつ、水溶性を改善する方策として、炭素鎖部分へのエチレングリコール単位の導入を検討することにした。すなわち、分子左側のドデシル基にエチレングリコール単位を導入した 3 つの誘導体 4-6 の合成を検討することにした。

既に合成法を確立している THF 環フラグメントを出発原料に用いて、それに異なるエチレングリコール単位を含む側鎖を、Williamson エーテル化反応あるいは Grignard 反応により結合させた後、数工程を経て、目的とするエチレングリコール単位を導入した 3 種の誘導体 4-6 の合成に成功した。合成した誘導体 4-6 の 39 種類のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性の評価を行った結果、これらの誘導体はいずれもヒトがん細胞に対する活性を保持していることが明らかになった。また、エチレングリコール単位を 2 単位導入した 4 に比べて、一つ導入した 5 および 6 はより強い活性を示すことが明らかになった。更に、その導入位置は THF 環に近い位置に導入した 5 の方が、遠い位置に導入した 6 よりも強い活性を示すことを見出し

エチレングリコール単位の導入による水溶性の改善



た。エチレングリコール単位の導入により、その clogP は 9.82 から 5.96 へと大きく低下することから、今回合成した誘導体 5 は、活性を維持したまま水溶性を付加した誘導体の候補として有望であると言える。今後、詳細な物性および生物活性プロファイルの調査を実施していく予定である。

リガンド誘導体を用いた病理切片上の標的受容体発現解析



共同利用機器センター
長谷川功紀

薬剤標的として着目する受容体分子の存在を癌細胞や組織中から検出・可視化することは薬剤の効果予測に重要な意義を有する。従来から検出には抗体を利用する Western blot 法や免疫組織化学染色法が多用されてきた。しかし、受容体分子は単離が難しく、その抗体作製には困難を伴うことが多い。そこで我々は受容体がもともと有するリガンド結合能を利用し、リガンド誘導体を用いて受容体を検出・可視化する Western ligand blot (WLB) 法とリガンド誘導体染色 (LDS) 法を開発した。

近年、乳癌だけでなく肺癌など様々な癌においてもエストロゲン受容体の発現が報告され、その治療標的としての有用性が高まってきている。そこで今回はエストロゲン受容体の検出法開発を

行った。エストロゲン受容体のリガンドとしてはタモキシフェン誘導体を選び、まずフルオレセイン修飾を行い検出薬剤とした。検出薬剤のエストロゲン受容体結合能を評価するため、標的受容体を発現する乳がん細胞株 MCF7 を用いた。検出薬剤のフルオレセインから発する蛍光を検出することで結合能評価を行った。MCF7 細胞と検出薬剤を反応させ、洗浄後に細胞を蛍光顕微鏡で観察した。結果、蛍光観察が行えたことから、合成した検出薬剤が細胞に結合できることを確認した。

次に結合標的を同定するため、MCF7 細胞の溶解液を用い、WLB 法によりエストロゲン受容体の検出を試みた。細胞溶解液を SDS-PAGE し、タンパク質を Blot 膜に転写し、検出薬剤を反応させて標的を検出した。その結果、G タンパク共役型エストロゲン受容体 (GPER) に相当する位置にバンドを検出した。(図 1) この結果から、検出薬剤は GPER を検出していることが明らかになった。

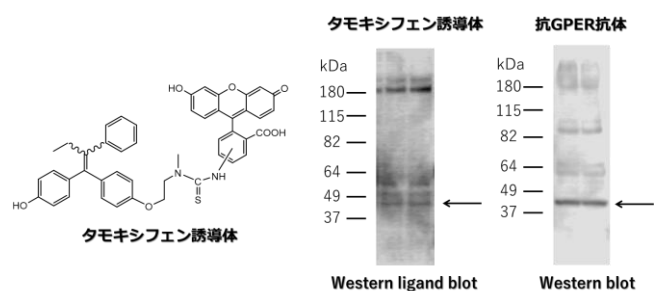


図 1 タモキシフェン誘導体の構造と WLB

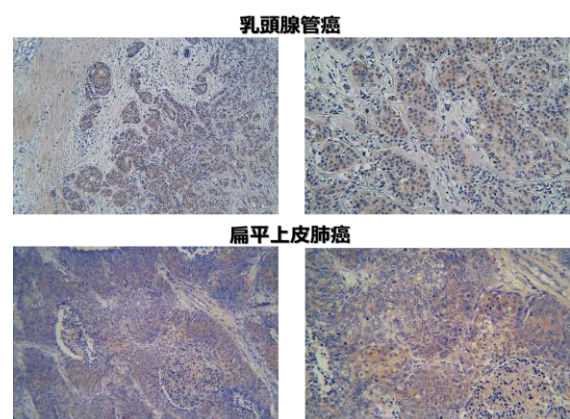


図 2 ホルマリン固定パラフィン包埋病理組織切片のリガンド誘導体染色

次に病理検体を用い、LDS 法によりエストロゲン受容体の検出を試みた。病理検体としては乳頭

腺管癌、扁平上皮肺癌のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いた。その結果、病理切片で癌細胞を染色できることが分かった。(図2)

以上の結果、小分子であるタモキシフェン誘導体を抗体の代わりに用い、Blot 膜上や病理組織切片上の GPER を検出する方法の開発に成功した。本法を利用すれば、タモキシフェンが効果を発揮する癌の同定を、小分子誘導体を用いて安価に行うことが可能となる。今後、さらに病理検体の症例数を増やし、タモキシフェン誘導体が結合する癌が組織型によってどの程度の割合で変化するのか、またエストロゲン受容体発現腫瘍に共通する特徴を明らかにする。

～おわりに～



薬品化学分野
赤路健一
(合成・相互作用解析グループ)

本事業もいよいよ最終年度に入ります。2015 年度に採択された本事業では、京都薬科大学の疾患モデル研究と創薬研究との有機的連携に基づく本学独自のベンチャー基盤形成を目的に掲げています。この目的達成に向け、①シーズ発掘・バリデーショングループと②合成・相互作用解析グループの二つの研究グループに分かれ、それぞれの研究基盤を戦略的に統合させた共同研究体制確立を目指してきました。具体的には、がんを標的とした Wnt/ β -catenin 経路阻害薬、がんの転移抑制を目指したクマリン系化合物による遊走能・浸潤能の抑制、アセトゲニン類をリード化合物とした新規抗がん剤開発、BACE1 阻害によるアルツハイマー病の予防戦略、をテーマに掲げる研究グループによる研究が進められています。本ニュースレターでこれまでの成果が紹介されていますが、ある程度方向性の固まった研究展開が可能になってきたと思います。いくつかの特許申請も実

現化しつつあります。しかし、研究の芽が出つつあるとはいえ、掲げた目標にはまだまだ遠いのが現状ではないかと感じます。それぞれのグループでの研究基盤をしっかりと固め、事業としてのラストスパートをかけなければなりません。

これまで進めてきた連携研究は本事業が終われば終了するものではありません。本事業で作ることができた研究基盤をさらに強固なものにし継続して研究を進めることで、新しい種を見つけ大きくすることができると期待しています。次のステージに向けた意見交換を密にしつつ、次世代を担う教員・大学院生・学部生の力をさらに結集し「山科から世界へ」発信する創薬につなげることを願っています。引き続きのご支援を何卒よろしくお願い申し上げます。

～2018 年度業績～

英文総説

1. Susumu Kageyama, Hiromi Ii, Keiko Taniguchi, Shigehisa Kubota, Tetsuya Yoshida, Takahiro Isono, Tokuhiko Chano, Taku Yoshiya, Kosei Ito, Tatsuhiko Yoshiki, Akihiro Kawachi, and Susumu Nakata: Mechanisms of Tumor Growth Inhibition by Depletion of γ -Glutamylcyclotransferase (GGCT): A Novel Molecular Target for Anticancer Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 19:2054 (2018).

和文総説

1. 矢野恒夫, 長谷川功紀, 蜂須賀暁子, 深瀬浩一, 平林容子: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その 1). *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, 49(10), 676-684 (2018).
2. 矢野 恒夫, 長谷川 功紀, 佐藤 達彦, 蜂須賀暁子, 深瀬 浩一, 平林 容子: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その 2). *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, 50(3), 122-134 (2019).

英文原著

1. Toshimasa Nakao, Tsukasa Nakamura, Koji Masuda, Takehisa Matsuyama, Hidetaka Ushigome, Eishi Ashihara, Norio Yoshimura: Dexamethasone prolongs cardiac allograft survival in a murine model through myeloid-derived suppressor cells. *Transplant Proc.*, 50, 299-304 (2018).
2. Shohei Kawanishi, Kazuyuki Takata, Shouma Itezono, Hiroko Nagayama, Sayaka Konoya, Yugo Chisaki, Yuki Toda, Susumu Nakata, Yoshitaka Yano, Yoshihisa Kitamura, and Eishi Ashihara: Bone marrow-derived microglia-like cells ameliorate brain amyloid pathology and cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 64:563-85 (2018).
3. Keiko Taniguchi, Kengo Matsumura, Hiromi Ii, Susumu Kageyama, Eishi Ashihara, Tokuhiko Chano, Akihiro Kawauchi, Tatsuhiro Yoshiki, and Susumu Nakata: Depletion of gamma-glutamylcyclotransferase in cancer cells induces autophagy followed by cellular senescence. *Am. J. Cancer Res.*, 8, 650-661 (2018).
4. Akihiro Ito, Mitsuhiko Ohta, Yukinari Kato, Shunko Inada, Toshio Kato, Susumu Nakata, Yasushi Yatabe, Mitsuo Goto, Norio Kaneda, Kenichi Kurita, Hayao Nakanishi, and Kenji Yoshida: A real time near-infrared imaging method for the detection of oral cancers in mice using an indocyanine green-labeled podoplanin antibody. *Technology in Cancer Research & Treatments*, 17:1-11 (2018).
5. Yuki Miyazawa, Yasunao Hattori, Hidefumi Makabe: Synthesis of (+)-altholactone, (+)-7-*epi*-altholactone, (-)-etharvensin, and (+)-alumheptolide-A using Pd-catalyzed carbonylation. *Tetrahedron Lett.*, 59, 4024-4027 (2018).
6. Mikihiro Ichikawa, Shinya Yamamoto, Chisato Ishihara, Shuhei Nonobe, Yasunao Hattori, Koji Umezawa, Hiroshi Fujii, Hidefumi Makabe: Synthesis of epigallocatechin trimer, (epigallocatechin)₂-epicatechin, and (epigallocatechin)₂-catechin via a Lewis acid mediated one-pot condensation and their antitumor activities in prostate cancer cells. *Tetrahedron*, 74, 3534-3542 (2018).
7. Haruka Sekiguchi, Tomoko Kuroyanagi, David Rhainds, Kazuya Kobayashi, Yuka Kobayashi, Hiroaki Ohno, Nikolaus Heveker, Kenichi Akaji, Nobutaka Fujii, Shinya Oishi: Structure-activity relationship study of cyclic pentapeptide ligands for atypical chemokine receptor 3 (ACKR3). *J. Med. Chem.*, 61, 3745-3751 (2018).
8. Yuka Kobayashi, Masaru Hoshino, Tomoshi Kameda, Kazuya Kobayashi, Kenichi Akaji, Shinsuke Inuki, Hiroaki Ohno, Shinya Oishi: Use of a compact tripodal tris(bipyridine) ligand to stabilize a single-metal-centered chirality: Stereoselective coordination of iron(II) and ruthenium(II) on a semirigid hexapeptide macrocycle. *Inorg. Chem.*, 57, 5475-5485 (2018).
9. Kouji Ohnishi, Yasunao Hattori, Kazuya Kobayashi, Kenichi Akaji: Evaluation of a non-prime site substituent and warheads combined with a decahydroisoquinolin scaffold as a SARS 3CL protease inhibitor. *Bioorg. Med. Chem.*, 27, 425-435 (2019).
10. Takashi Ohgita, Yuki Takechi-Haraya, Ryo Nadai, Mana Kotani, Yuki Tamura, Karin Nishikiori, Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Koki Hasegawa, Kumiko Sakai-Kato, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito: A novel amphipathic cell-penetrating peptide based on the N-terminal glycosaminoglycan

- binding region of human apolipoprotein E. *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr.*, 1861, 541-549 (2019).
11. Risako Kameda, Takuto Sohma, Kazuya Kobayashi, Ryosuke Uchiyama, Kazuto Nosaka, Hiroyuki Konno, Kenichi Akaji, Yasunao Hattori: Convergent synthesis of trans-2,6-disubstituted piperidine alkaloid, (-)-iso-6-spectaline by palladium-catalyzed cyclization. *Chem. Pharm. Bull.*, 67, 253-257 (2019).
 12. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Nakagawa Ryota, Kinka Manami, Nakashima Souichi, Matsuda Hisashi: Cyclic sulfur-containing compounds from *Allium fistulosum* 'Kujou'. *J. Nat. Med.*, 73, 397-403 (2019).
 13. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Yoshika Kyoku, Souichi Nakashima, Taichi Yoneda, Hisashi Matsuda: Cyclic sulfur metabolites from *Allium schoenoprasum* var. *foliosum*. *Phytochemistry Lett.*, 29, 125-128 (2019).
 14. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Mohamed Elamir F.Hegazy, Yoshikazu Sugimoto, Noriko Hayashi, Souichi Nakashima, Masayuki Yoshikawa, Thomas Efferth, Hisashi Matsuda: Cytotoxicity of sesquiterpene alkaloids from *Nuphar* plants toward sensitive and drug-resistant cell lines. *Food Func.*, 9, 6279-6286 (2018).
 15. Keiko Ogawa, Seikou Nakamura, Kohei Hosokawa, Hanako Ishimaru, Natsuki Saito, Kaori Ryu, Masahiro Fujimuro, Souichi Nakashima, Hisashi Matsuda: New diterpenes from *Nigella damascena* seeds and their antiviral activities against herpes simplex virus type-1. *J. Nat. Med.*, 72, 439-447 (2018).
 16. Saori Ohtani, Satoshi Fujita, Koki Hasegawa, Hiromasa Tsudae, Morio Tonogi, Masayuki Kobayashi: Relationship between the fluorescence intensity of rhodamine-labeled orexin A and the calcium responses in cortical neurons: An in vivo two-photon calcium imaging study. *J. Pharmacol. Sci.*, 138(1), 76-82 (2018).
 17. Younosuke Sato, Akira Matsuo, Shinji Kudoh, Liu Fang, Koki Hasegawa, Yohei Shinmyo, Takaaki Ito: Expression of Draxin in Lung Carcinomas. *Acta Histochem. Cytochem.*, 51(1), 53-62 (2018).
- 学会発表
国際学会
1. Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Masatsugu Miyashita, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Development of intravesical human $\gamma\delta$ T cell based chemotherapeutic against urinary bladder cancer cells in an orthotopic xenograft model. 121th American Urological Association Annual Meeting, San Francisco, USA, 2018.5.
 2. Yuki Sugiyama, Seikou Nakamura, Hiroki Fukuda, Masato Yoshizawa, Shiori Tamai, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: A novel coumarin-based compound inhibits invasion and migration of murine osteosarcoma cells in vitro. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Kyoto, Japan, 2018.7.
 3. Mako Tomogane, Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Keigo Amari, Ryosuke Wakabayashi, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: The expression levels of PD-L1 in cancer cells affect $\gamma\delta$ T cell cytotoxicity. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Kyoto, Japan, 2018.7.
 4. Keigo Amari, Reina Kume, Mako Tomogane, Ryosuke Wakabayashi, Yuki Toda, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: Irradiation increased mRNA transcripts of hematopoiesis-related molecules in bone marrow-derived mesenchymal stem cells. 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, Kyoto, Japan, 2018.7.

5. Hiromi Ii, Taku Yoshiya, Susumu Nakata, Keiko Taniguchi, Koushi Hidaka, Shugo Tsuda, Masayoshi Mochizuki, Yuji Nishiuchi, Yuko Tsuda, Kosei Ito, Susumu Kageyama, Tatsuhiro Yoshiki: A novel prodrug of γ -glutamylcyclotransferase inhibitor has anti-proliferative activity in vitro and anti-cancer activity in vivo. 20th international conference on medicinal chemistry & rational drugs, (Vancouver, Canada), 2018.7.
 6. Kazuya Kobayashi, Daiki Joho, Chinami Taniguchi, Misaki Tanaka, Rani Kimura, Kaho Komurasaki, Yuki Kawasaki, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of novel BACE1 inhibitors based on the N-amidino nitrogen-containing ring structure. 256th ACS National Meeting, Boston, USA, 2018.8.
 7. Kazuya Kobayashi, Minami Takata, Yusuke Morioka, Mika Miyazaki, Masahiko Hosomi, Kaho Morikawa, Sayaka Yoneda, Honami Ooe, Yukako Yamazaki, Takaaki Mizuguchi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Synthesis and evaluation of EGF receptor dimerization inhibitors containing a N-methylated amino acid or a photoreactive group. 10th International Peptide Symposium, Kyoto, Japan, 2018.12.
 8. Takuya Otani, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Design and synthesis of peptide-based macrocyclic BACE1 inhibitors with optimal cross-linking structure for hydrophobic interaction. 10th International Peptide Symposium, Kyoto, Japan, 2018.12.
 9. Takuya Matsumoto, Akinobu Akatsuka, Mutsumi Okamura, Shingo Dan, Takao Yamori Hiroki Iwasaki, Masayuki Yamashita, Naoto Kojima: Synthesis and Antitumor Activity of Acetogenin Derivative with N-Methylpyrazole Connected by Sulfonamide. IKCOC-14, Kyoto, Japan, 2018.11.
- 国内学会
1. 戸田侑紀: 生体内の情報伝達顆粒を利用した腫瘍標的化技術の開発. KYOTO BASIC SCIENCE FORUM (京都), 2018.4.
 2. Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Masatsugu Miyashita, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Combined use of standard anticancer agents increases the cytotoxicity of human $\gamma\delta$ T cell in in vitro and in vivo in bladder cancer. 第 106 回日本泌尿器科学会総会 (京都), 2018.4.
 3. 清水輝記、友金眞光、宮下雅亜、浮村理、芦原英司: Development of intravesical human $\gamma\delta$ T cell based chemo-immunotherapy against urinary bladder cancer in vitro and in vivo. 第 22 回日本がん免疫学会総会 (岡山), 2018.8.
 4. 戸田侑紀、吉村亮介、板原多勇、宇野智子、中田晋、山田佳菜枝、今井悠莉、高田和幸、芦原英司: 神経膠芽種幹細胞における DJ-1 の機能. 生体機能と創薬シンポジウム 2018 (福岡), 2018.8.
 5. 戸田侑紀、吉村亮介、板原多勇、宇野智子、中田晋、山田佳菜枝、今井悠莉、高田和幸、芦原英司: DJ-1 は神経膠芽種幹細胞の維持に寄与する. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2018 (福岡), 2018.8.
 6. Teruki Shimizu, Mako Tomogane, Masatsugu Miyasita, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara. Development of Vy9V δ 2T cell based chemo-immunotherapy in bladder cancer. The 77th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka, Japan, 2018.9.
 7. Keiko Taniguchi, Kengo Matsumura, Susumu Kageyama, Hiromi Ii, Eishi Ashihara, Tokuhiro Chano, Akihiro Kawauchi, Tatsuhiro Yoshiki, Susumu Nakata: Prohibitin-2 regulates p21 expression induced by depleting gamma-glutamylcyclotransferase in breast cancer

- cells. The 77th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka, Japan, 2018.9.
8. Yuki Toda, Msao Itahara, Eishi Ashihara: DJ-1 regulates stem cell function in glioblastoma. The 77th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Osaka, Japan, 2018.9.
 9. 甘利圭悟、久米伶奈、若林亮介、友金眞光、戸田侑紀、高田和幸、芦原英司: 骨髄破壊的な前処置は間葉系幹細胞において造血関連分子の発現を増加させる. 第 80 回日本血液学会学術集会 (大阪), 2018.10.
 10. 戸田侑紀: The role of DJ-1 in cancer stem cells. 京都 Cancer Biology セミナー (京都), 2018.10.
 11. 飯居宏美、中田晋、谷口恵香、高木寛子、茂山千愛美、影山進、吉貴達寛: γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼを標的とした新規抗がん剤開発. 第 77 回 日本癌学会学術総会 (大阪), 2018.9.
 12. 河野雪那、小島直人、茂山千愛美、藤田貢、安藤翔太、谷口恵香、高木寛子、飯居宏美、中田晋: 脳腫瘍幹細胞マウスモデルを用いたアセトゲニン誘導体新規がん治療薬開発. 平成 30 年度 4 大学連携研究フォーラム (京都), 2018.11.
 13. 延原真之、坂本唯、飯居宏美、谷口恵香、高木寛子、吉矢拓、津田修吾、望月雅允、影山進、中田晋: 新規阻害剤による GGCT 酵素活性阻害効率の評価と PC3 ヒト前立腺がん細胞に対する抗腫瘍効果の解析. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019. 3.
 14. 金谷賢吾、早川詩乃、飯居宏美、高木寛子、谷口恵香、吉矢拓、津田修吾、望月雅允、影山進、中田晋: 新規 GGCT 阻害剤は細胞周期停止および細胞老化を誘導し MCF7 乳がん細胞の増殖を抑制する. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019. 3.
 15. 茂山千愛美、藤田貢、東馬智未、安藤翔太、河野雪那、谷口恵香、飯居宏美、中田晋: Stat5b 阻害は発がんマウスモデル由来膠芽腫幹細胞にアポトーシスを誘導する. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019. 3.
 16. 河野雪那、小島直人、茂山千愛美、東馬智未、藤田貢、安藤翔太、谷口恵香、飯居宏美、中田晋: アセトゲニン誘導体 JCI-20679 は膠芽腫細胞に対するテモゾロミドの効果を増強する. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019. 3.
 17. 谷口恵香、影山進、高木寛子、飯居宏美、芦原英司、茶野徳宏、河内明宏、中田晋; Gamma-glutamylcyclotransferase (GGCT) 欠乏で誘導される p21 発現上昇は乳癌細胞において Prohibitin-2 を介して調節される. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019. 3.
 18. 山本慎也、市川幹広、石原知里、野々部修平、服部恭尚、梅澤公二、藤井博、眞壁秀文: エピガロカテキン重合体の合成研究. 第 60 回天然有機化合物討論会 (福岡), 2018.9.
 19. 小林数也、大谷拓也、石沢克康、井関梨紗、北嶋太志、進藤尚加、大川晃汰、井尻咲、服部恭尚、赤路健一: ペプチド型 BACE1 阻害剤を基盤とした構造最適化研究. 第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2018.10.
 20. 田中美咲、木村蘭希、小紫香穂、谷口智奈美、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 疎水性官能基に着目した N-アミジノピロリジン型 BACE1 阻害剤の開発研究. 第 68 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2018.10.
 21. 大西康司、三谷勇人、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 新規相互作用部位を有するアザ-デカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成、粗愛活性評価. 第 44 回反応と合成の進歩シンポジウム (熊本), 2018.11.
 22. 大谷拓也、小林数也、服部恭尚、赤路健一: 最適架橋構造の同定を目指した大環状 BACE1 阻害剤の開発研究. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019.3.
 23. 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、山本侑人、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成、阻害活性評価ならびに立体化学. 日本薬学会 第 139 年会 (千葉), 2019.3.

24. 亀田里紗子、相馬琢人、古田善宏、葛山昌伴、小林数也、服部恭尚、赤路健一：パラジウム触媒による立体選択的環化反応を用いた ent-iso-6-spectaline の合成. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
25. 木村蘭希、田中美咲、小紫香穂、谷口智奈美、小林数也、服部恭尚、赤路健一：疎水性官能基に基づく *N*-アミジノピロリジン型 BACE1 阻害剤の設計と構造活性相関研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
26. 島恭平、岸本翔、大西康司、吉澤慎一郎、小林数也、服部恭尚、赤路健一：1 位置換基を有するデカヒドロイソキノリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成剤の開発研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
27. 大西康司、三谷勇人、嶋本康広、小林数也、服部恭尚、赤路健一：新規相互作用部位を有するアザ-デカリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤および誘導体の合成と阻害活性評価. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
28. 藤原采耶花、大西康司、吉澤慎一郎、濱本凜彩、小林数也、服部恭尚、赤路健一：新規相互作用部位を有するオクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の設計と合成. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
29. 中村誠宏：天然薬物を素材とした含硫黄、含窒素機能性成分の探索. 第 12 回関西バイオ創薬研究会 最先端アカデミア研究と今後の課題 (大阪), 2018.4.
30. 米田太一、中村誠宏、松本朋子、田中 葵、松村桐子、村上穂波、中嶋聡一、松田久司：3 位に着目したトリテルペンの誘導体合成および活性比較研究. 日本生薬学会第 65 回年会 (広島), 2018.9.
31. 野口大輔、中村誠宏、小川慶子、林田仁志、中嶋聡一、松田久司：クロタネソウ (*Nigella damascena*) 種子から得られた dolabellane 型ジテルペン damasterpene 類の化学構造. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
32. 笠 香織、中村誠宏、小川慶子、角岡常成、濱本桜子、宮川晃也、中嶋聡一、松田久司：アブラナ科植物ホソバタイセイ (*Isatis tinctoria*) の含有成分を用いた機能性低分子化合物の開発研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
33. 曲 佳歌、中村誠宏、深谷 匡、中嶋聡一、米田太一、松田久司：山形県産あさつき (*Allium schoenoprasum* var. *foliosum*) から得られた新規環状含硫黄化合物の探索. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
34. 中塔早紀、中村誠宏、深谷 匡、中嶋聡一、米田太一、松田久司：高知県産ニラ (*Allium tuberosum*) の含硫黄化合物の探索およびネギ (*A. fistulosum*) との成分比較研究. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
35. 米田太一、中村誠宏、笠 香織、深谷 匡、中嶋聡一、松田久司：*Allium* 属植物を素材とした擬天然型化合物の構築. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
36. 小島直人：フルーツと殺虫剤から抗がん剤を創る？. 第 4 回 近畿薬学シンポジウム：化学系の若い力 (招待講演) (神戸), 2018.9.
37. 塩見典大、松本卓也、藤井真人、崔 秀リ、森山将吾、赤塚明宣、岡村睦美、且 慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人：アセトゲニンチオフェン誘導体へのエチレングリコール単位導入によるヒトがん細胞増殖抑制活性への影響. 第 68 回日本薬学会近畿支部大会 (姫路), 2018. 10.
38. 今井麻友香、高嶋紗希、原田真規、田村雄太、利光博至、田中結衣、松村優太、山崎莉葉、竹下怜汰、岩崎宏樹、山下正行、小島直人：不斉アルキニル化反応を鍵反応とするオキサゾリジノン誘導体のワンポット合成とその絶対配置の決定. 第 68 回日本薬学会近畿支部大会 (姫路), 2018. 10.
39. 松本卓也、岡村睦美、赤塚明宣、且 慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人：複素環連結部位にスルホンアミドを導入したアセトゲニン誘導体の合成と活性評価. 京都 4 大学連携研究事業「第 8 回 4 大学連携研究フォーラム」(京都), 2018.11.
40. 内田 量、岩崎宏樹、井上暁斗、小畑久美、池田 惇、蒲田歩美、小島直人、山下正行：2-trifluoromethyl indoline 骨格形成反応にお

ける置換基効果の検討. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.

41. 竹見里穂、岩崎宏樹、篠崎莉穂、辻谷優菜、小島直人、山下正行: 酸化剤を用いない isoquinoline *N*-oxide 合成反応における置換基効果の検討. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
42. 松村優太、高嶋紗希、原田真規、田村雄太、利光博至、田中結衣、山崎莉葉、今井麻友香、竹下怜汰、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 不斉アルキニル化反応を経由する光学活性オキサゾリジノン誘導体のワンポット合成法の開発とその絶対配置の決定. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
43. 大田海斗、松本卓也、赤塚明宣、旦 慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 末端アルキル鎖を減炭したアセトゲニンチオフェン誘導体の合成とヒトがん細胞増殖抑制活性の評価. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
44. 小林奈津子、小関 稔、仁木亜弥、繁田 堯、八野愛結美、岩崎宏樹、小島直人、山下正行、川崎郁勇: Tandem 反応を用いた三置換 α, β -不飽和エステル類の立体選択的合成とその開発. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
45. 松本卓也、赤塚明宣、旦 慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 電子求引性基を導入したアセトゲニンチオフェン誘導体の合成とヒトがん細胞増殖抑制活性評価. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
46. 佐藤陽之輔、松尾顕、工藤信次、長谷川功紀、伊藤隆明. 肺癌における新しいガイドランス分子であるドラキシニンについて. 第 108 回日本病理学会総会 (東京), 2018.5.
47. 長谷川功紀、工藤信次、伊藤隆明. 低分子リガンドを用いたエストロゲン受容体検出法の開発. 第 59 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (宮崎), 2018.9.
48. 小谷真菜、田村悠樹、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸: ApoE 糖鎖結合ドメイン改変型両親媒性アルギニンペプチド

の細胞膜透過機構. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.

49. 錦織花梨、長谷川功紀、原矢佑樹、扇田隆司、加藤くみ子、赤路健一、斎藤博幸: 両親媒性環状ペプチドの細胞膜透過機構解明に向けたペプチドの合成. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.
50. 長谷川功紀、工藤信次、伊藤隆明: 病理組織切片上の GPER 検出薬剤の開発. 日本薬学会第 139 年会 (千葉), 2019.3.

以上

News Letter Volume 4

2019 年 7 月 編集・発行

文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業

「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」

News Letter 編集委員

〒607-8414 京都市山科区御陵中内町 5

Tel: 075-595-4706

FAX: 075-595-4796

文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 新規分子標的治療薬創薬に向けた 大学発ベンチャー基盤の確立

最終年度 *Annual Meeting*

日時: 2020年3月13日 (金) 13:30 ~ 17:15

場所: 京都薬科大学・愛学ホール (A31講義室)、ポスター: A33講義室および廊下

参加登録方法: 直接会場までお越し下さい (入場無料)。

学部生・大学院生・教職員どなたでもご自由に参加ください。

- 13:30 開会挨拶 後藤 直正 (京都薬科大学・学長)
13:35 概要説明 研究代表者: 芦原 英司 (シーズ発掘・バリデーションGrリーダー)
13:45 進捗報告①

Wnt/ β -catenin班
(芦原 英司、服部 恭尚、赤路 健一)

BACE1班
(小林 数也、赤路 健一)

14:45 Poster Viewing

15:45 進捗報告②

アセトゲニン班
(中田 晋、小島 直人)

転移抑制班
(芦原 英司、戸田 侑紀、中村 誠宏、
山下 正行、長谷川 功紀)

16:45 総括 芦原 英司

17:00 総評

酒井 敏行 先生 (京都府立医科大学大学院医学研究科 創薬医学 特任教授
京都府立医科大学 創薬センター センター長)

高須 清誠 先生 (京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 教授)

17:10 閉会挨拶 赤路 健一 (合成・相互作用解析Grリーダー)

連絡先: 〒607-8414 京都市山科区御陵中内町5

京都薬科大学 病態生理学分野

芦原 英司 (研究代表者)

TEL: 075-595-4706

E-mail: bunshihyoteki@mb.kyoto-phu.ac.jp

社会を動かす薬学へ。



京都薬科大学

2019 年度（令和元年度）
私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた
大学発ベンチャー基盤の確立

Annual Meeting 講演抄録集

日時：2020年3月13日(金) 13:30 ~ 17:15

場所：京都薬科大学 愛学館3階

A31 講義室(愛学ホール) + A33 講義室



京都薬科大学

プログラム

日時：2019年3月13日（金） 13:30～17:15

13:30～13:35 開会挨拶 後藤直正（京都薬科大学 学長）
13:35～13:45 概要説明 芦原英司（研究代表者、
シーズ発掘・バリデーション Gr リーダー）

13:45～14:45 口頭発表

第一部 「共同研究の進捗報告」 座長：小島直人 [①]、戸田侑紀 [②]

① 「Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索」

病態生理学分野	芦原英司
共同利用機器センター	服部恭尚
薬品化学分野	赤路健一

② 「相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究」

薬品化学分野	小林数也、赤路健一
--------	-----------

14:45～15:45 ポスター発表

第二部 ポスター発表 (1)～(34) 閲覧

15:45～16:45 口頭発表

第三部 「共同研究の進捗報告」 座長：長谷川功紀 [③]、小林数也 [④]

③ 「マウス脳腫瘍幹細胞を用いたアセトゲニン誘導体がん治療薬の開発」

臨床腫瘍学分野	中田 晋
薬品製造学分野	小島直人

④ 「クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製」

病態生理学分野	芦原英司、戸田侑紀
生薬学分野	中村誠宏
薬品製造学分野	山下正行
共同利用機器センター	長谷川功紀

16:45～17:00 総評 外部評価員

酒井敏行 先生（京都府立医科大学大学院医学研究科 創薬医学 特任教授
京都府立医科大学 創薬センター センター長）

高須清誠 先生（京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 教授）

17:10 閉会挨拶 赤路健一（合成・相互作用解析 Gr リーダー）

はじめに

病態生理学分野

芦原英司（研究代表者）

2015 年度に採択いただきました私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」は今年度で 5 年目、最終年度となりました。メンバー全員、時間を作り、精力的に研究活動を行い、多くの研究成果を報告してまいりました。これも本学教職員の皆様のご支援、ご指導のおかげであります。この場を借りまして厚く御礼申し上げます。

本プロジェクトでは、京都薬科大学が独自に開発してきた疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させることにより、超高齢者社会における健康長寿生活の実現に貢献できる“大学発創薬ベンチャー”基盤を確立することを目的として研究を遂行し、2017 年度、個々の研究内容を、以下の 4 つのシーズに集結させ、共同研究を進めてきました。

- ① Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製
- ② クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製
- ③ アセトゲニン類の構造変換によるがん幹細胞に対する新規分子標的治療薬の創製
- ④ 高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発

各 Gr で見出してきましたヒット化合物を基に構造活性相関研究を進め、有効な化合物が創製されており、いくつかの知財が蓄積されてきております。5 年間に亘り繰り返し行ってきた綿密な議論により、強固な共同研究体制が出来上がっております。この共同研究体制は今後も継続致しますが、ひとまずは今回の Annual Meeting におきまして、この 5 年間の総括として進捗報告をいたします。活発なご議論をお願いいたします。

また今回の Annual Meeting におきましても、個々の参画研究者が共同研究と平行して行っております研究の進捗を、ポスター発表で報告いたします。これらの中から、新たな共同研究が成立できることを願っておりますので、積極的なご議論をお願いいたします。

京都府立医科大学大学院医学研究科 創薬医学 特任教授 創薬センター長 酒井敏行先生、ならびに京都大学大学院薬学研究科 薬品合成化学分野 教授 高須清誠先生には、外部評価員として本年もお越しいただき、本報告会のご評価をいただきます。5 年間ご指導いただきましたことを、この場を借りてお礼申し上げますとともに、今後の我々の成長のため、厳しいご評価、ご指導をいただきたいと思っております。

学部生、大学院生、教職員の皆さま、多数のご参加をお待ちしております。活発なご議論をいただき、有意義な報告会といたしたく存じます。よろしくお願い申し上げます。

口頭発表①

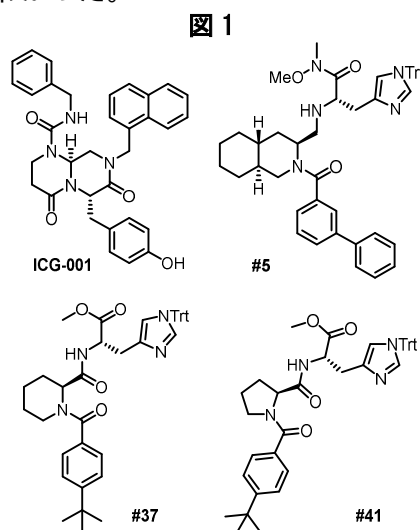
Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索

病態生理学分野	芦原英司
共同利用機器センター	服部恭尚
薬品化学分野	赤路健一

我々は、ヒト生命現象において重要な働きをし、がん細胞の増殖にも関わり、近年多くのがん幹細胞の増殖・維持にも関与することが明らかとなってきた Wnt/ β -catenin 経路を標的としたがん分子標的治療薬の開発研究を計画した。細胞ベースでスクリーニングを行うため、HEK293 細胞に TCF 結合部位の下流にルシフェラーゼ(Luc)遺伝子を搭載した 8xTOP-Flash プラスミドを導入し、クローニング後 TOP 細胞を樹立し、本学所有の化合物ライブラリーの中から Wnt/ β -catenin 経路を阻害する化合物の探索を行った。まず、米国で Wnt/ β -catenin 経路阻害剤として治験進行中の ICG-001 と既に報告した SARS (重症急性呼吸器症候群) 3CL (キモトリプシン様) プロテアーゼ阻害剤合成中間体との構造類似性に着目しスクリーニングを行い、本経路を阻害する一連のヒット化合物を発掘した。このうちの化合物 #5 は、多発性骨髄腫細胞株の増殖を容量依存的に抑制した。また細胞周期を G1 期で停止し、多発性骨髄腫細胞株にアポトーシス死を誘導することがわかった。

次にこれらの化合物の構造を基にして新たな化合物を設計し、構造活性相関解析に供することとした。一連のヒット化合物はその合成に多段階を要し合成困難であることから、合成容易な化合物群の設計を行うこととした。すなわち、構築が困難な中心骨格部分を試薬として入手可能な種々のアミノ酸とすることで合成工程数の大幅な短縮を試みた。これらの化合物群を用いて TCF-Luc 活性を評価し、新たな有効な化合物(化合物#37)を発掘した(図 1)。この化合物#37 は検討した各種がんの増殖を抑制し、 β -catenin タンパク質の発現を減少させるとともに Wnt/ β -catenin 経路下流分子の mRNA ならびにタンパク質発現を抑制し、アポトーシスを誘導した。化合物#37 は乳がん、神経膠芽腫細胞株から作製したがん幹細胞にも増殖抑制効果を示した。

さらに我々は、候補化合物の構造最適化と標的探索のための分子プローブ化を並行して行い、その結果、新たな有効な化合物#41 を見出すことに成功した。また、合成した分子プローブを利用した磁気ビーズ法により、3 つの標的候補タンパク質を発掘している。今後、Wnt/ β -catenin 経路に対する標的分子の同定を行い、さらなる構造の最適化を進めていく。



口頭発表②

相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究

薬品化学分野 小林数也、赤路健一

アミロイドβペプチドはアルツハイマー病の発症原因の一つと考えられており、アミロイドβ前駆体タンパク質 (APP: amyloid precursor protein) が BACE1 (β-site APP cleaving enzyme 1) 及び γ-セクレターゼにより切断されることで産生する。そのため、BACE1 阻害剤はアルツハイマー病予防・治療薬になりうると期待されており、精力的に開発研究がなされている。

我々はこれまでに、高親和性基質配列に基づいて設計したペプチド性 BACE1 阻害剤を基に、(1) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入と、(2) P1' 位芳香環への官能基の導入、という 2 つの構造最適化戦略に基づき、高活性誘導体の探索を行ってきた (Fig. 1)。今回我々は、(1) 環サイズ及び架橋構造に関する新たな知見と、(2) 親化合物から約 10 倍高活性な P1' 誘導体を得ることに成功したので、これらの詳細について報告する。

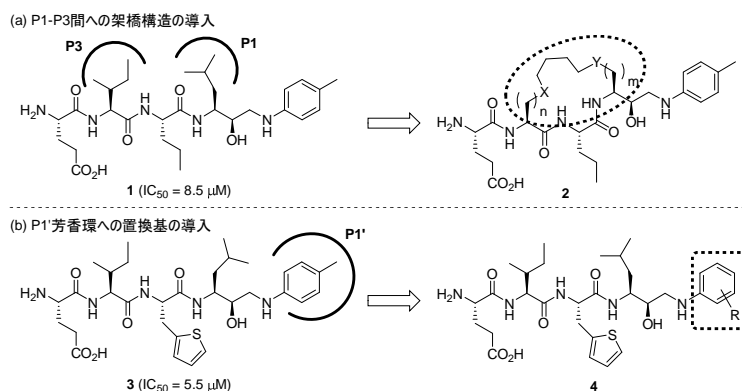


Fig. 1. HEA 型 BACE1 阻害剤の構造と 2 つの構造最適化戦略

また我々は、上記ペプチド性阻害剤と並行して、低分子 BACE1 阻害剤の開発研究を行っている。本研究では、独自に考案した *N*-アミジノピロリジン骨格 7 について種々置換基を有する誘導体の合成と活性評価を行ってきた (Fig. 2)。今回我々は、これまでに見出した弱いながらも明らかな阻害活性を有する誘導体 8 を基に、ビフェニル基への置換基の導入について検討を行ったので、その詳細を報告する。

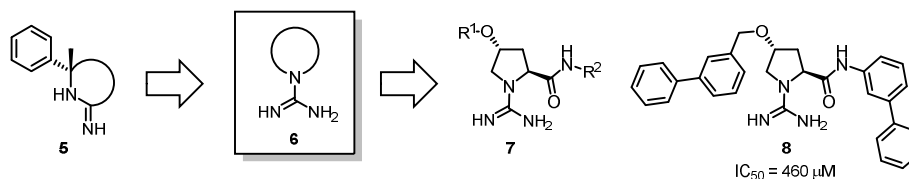


Fig. 2. 非平面性環状アミジン骨格と *N*-アミジノピロリジン型阻害剤

口頭発表③

アセトゲニン類の構造変換によるがん幹細胞に対する新規分子標的治療薬の創製

臨床腫瘍学分野 中田 晋
薬品製造学分野 小島直人

悪性脳腫瘍の一種である膠芽腫の予後は極めて不良である。標準治療薬としてアルキル化剤テモゾロミドが使用されるが、その治療効果は十分ではない。従って、これまでにない膠芽腫に対する新規治療法を開発することが必要である。本学薬品製造学分野では、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるアセトゲニン類と呼ばれるポリケチドに着目し、抗悪性腫瘍薬開発を目指した構造活性相関研究を推進してきた。これまでに天然物アセトゲニン的一种である solamin の分子末端に存在する γ -ラクトン環をチオフェン環に変換し、アミド結合で連結した誘導体 JCI-20679 は、ミトコンドリア複合体 I の阻害活性を有し、抗腫瘍活性を示すことをみいだしている。本研究では、合成過程を大幅に効率化したさらに高い抗腫瘍活性をもつ新規誘導体の開発と、バイオマーカー同定に向けた JCI-20679 のさらなる作用機序の解明を目的とした。

JCI-20679 は分化細胞に比べてより低濃度でマウス膠芽腫幹細胞の増殖を抑制し、細胞周期進行の抑制および Annexin-V 陽性早期アポトーシス細胞死を誘導した。その際 AMP/ATP 比の上昇を伴ってリン酸化型 AMPK が増加し、AMPK 阻害剤 Compound-C および Inosine による増殖抑制効果の部分的減弱を認めた。さらに今回新たに合成した新規 JCI-20679 誘導体 NK-128 は、JCI-20679 と同等もしくはさらに強い抗腫瘍活性を発揮した。JCI-20679 および NK-128 の作用機序についてさらに詳細に検討したところ、膠芽腫の浸潤能とその進展を促進することが報告されている転写因子 NFAT が顕著に減少することをみいだした。この NFAT 減少にはカルシニューリンの脱リン酸化酵素活性の低下およびリン酸化 CAMKII 減少を伴い、安定的 NFAT 強制発現によって増殖抑制効果は減弱した。また、テモゾロミドと JCI-20679 あるいは NK-128 との併用効果について検討したところ、テモゾロミド単剤ではほとんど効果を示さない濃度においてこれらの化合物を併用すると増殖抑制効果の増強を認め、この併用による効果増強と相関して、MAPK の一つである p38 のリン酸化体が減少すること、テモゾロミドによるオートファジー誘導に伴う細胞内 ATP 量の増加が抑制された。ヒト大腸癌細胞の皮下移植モデルを用いて解析したところ、NK-128 腹腔内投与による生体内腫瘍に対する有意な抗腫瘍効果とその安全性が確認され、現在特許出願に向けて準備を進めている。さらに現在新しい膠芽腫治療戦略の提唱に向けて、マウスモデル由来膠芽腫幹細胞の同所性移植脳腫瘍モデルを用い、テモゾロミドと JCI-20679 併用効果の検証を進めている。

口頭発表④

クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製

病態生理学分野	芦原英司、戸田侑紀
生薬学分野	中村誠宏
共同利用機器センター	長谷川功紀
薬品製造学分野	山下正行

薬学・医学の進歩により、多くの抗がん剤、分子標的治療薬が輩出されているが、悪性腫瘍の転移抑制薬として十分な効果を有するものはほとんどなく、より有効な転移抑制薬の創製は最重要課題の一つである。がん細胞の遠隔転移プロセスのうち、がん細胞の浸潤/遊走過程を阻害する化合物の発掘を目的に、我々は生薬学分野の所有する化合物ライブラリーから、転移抑制化合物のスクリーニングを行った。その結果クマリン系化合物 daphnetin (7,8-Dihydroxycoumarin) が、マウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞の浸潤および遊走を抑制することを世界で初めて明らかにした (Fukuda M, et al, *BBRC*, 2016)。次に、daphnetin をもととしてクマリン骨格 3 位にフェニル基などの置換基を導入し構造活性相関研究を行った。すなわち、salicylaldehyde およびその誘導体を出発原料に用い、phenylacetic acid 誘導体との縮合・閉環反応により種々の 3-phenylcoumarin 誘導体を、di-*tert*-butyl malonate との縮合・閉環およびアミンと縮合反応により 3-(phenylcarbonyl)-7,8-hydroxycoumarin 誘導体の合成を進めた。その結果、daphnetin よりも強く用量依存性に LM-8 細胞の浸潤・遊走を抑制する 7,8-dihydroxy-3-(4'-hydroxyphenyl)coumarin (KPU-Shoyaku-192) を発掘した。KPU-Shoyaku-192 は、細胞骨格タンパク質であるアクチンの重合に関わる低分子量 G タンパク質 RhoA、Rac1、および FAK のタンパク発現を減少させ、ストレスファイバーの形成が KPU-Shoyaku-192 の用量依存的に低下することを明らかにした。さらに、3-phenylcoumarin 骨格の A 環や B 環に結合した水酸基あるいはメトキシ基の存在が活性発現に大きく影響することを見出し、構造活性相関研究を進めたところ、より強力に LM-8 細胞の浸潤・遊走を抑制する新規クマリン系化合物 SSKP-0042 を発掘した。現在、複数の細胞株で浸潤/遊走抑制効果を検討中である。

本化合物群の標的分子を明らかにするため、磁気ビーズ法を用いて標的分子探索を開始した。SDS-PAGE により標的候補とするバンドを検出することに成功しており、現在さらに分解能の高い 2 次元電気泳動を用い、溶出したタンパク質の分離を試みている。今後、プロテオミクス解析によりバンドに含まれるタンパク質の同定を行い、引き続き構造活性相関解析を行い、最適化した化合物の創製を目指す。

ポスター発表 (1)

DJ-1 による神経膠芽腫の自己複製制御

病態生理学分野 戸田侑紀、板原多勇、宇野智子、芦原英司

臨床腫瘍学分野 中田晋

統合薬科学系 高田和幸

高い腫瘍形成能を示す神経膠芽腫幹細胞 (GSCs) は治療抵抗性や再発に寄与することが示されている。がん遺伝子産物 DJ-1 は、多くのがん種で過剰発現が報告されているが、GSCs における機能は明らかでない。本研究ではその解明を目的として、DJ-1 ノックダウンによる自己複製能の影響をヒト GBM 細胞株で検証した。

ヒト GBM 細胞株 (U87-MG ; U87、U251-MG ; U251) を低接着性プレートに播種し、無血清培地条件下にて培養することで、GSCs を豊富に含む細胞集塊が形成される。本系を用いて、siRNA により DJ-1 をノックダウン (KD) した各株のスフェア形成効率を解析した。BALB/c nude マウス脳実質に各株を移植し (一次移植)、生存期間を評価した。人道的エンドポイントに達した一次移植マウス脳から腫瘍を摘出し、培養後に増殖した細胞群を別のマウスに移植した (二次移植)。

スフェア形成効率は、U87 における DJ-1 KD により低下したが、U251 においては変化がみられなかった。p53 を KD した U87 では、DJ-1 KD によるスフェア形成効率の低下がみられなかった。DJ-1 KD により酸化ストレスレベルが上昇していたが、自己複製能が低下する要因ではなかった。DJ-1 KD 細胞を移植したマウスの生存期間は、二次移植において有意に延長した。以上より、DJ-1 は一部の GSCs において p53 を介した自己複製能制御を行っており、治療標的分子になり得ることが示唆された。

γδT 細胞の抗腫瘍活性と PD-1/PD-L1 経路との関係

病態生理学分野 友金眞光、佐野友亮、清水大器、宮下雅亜、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司

γδT 細胞はがん細胞内のメバロン酸経路の中間代謝物である IPP (isopentenyl diphosphate) などのリン酸抗原により活性化する T 細胞である。これまでに、窒素含有ビスホスホネート製剤 (ゾレドロン酸; ZOL) によるがん細胞の IPP 分泌促進効果を利用した、γδT 細胞による細胞免疫療法の開発が試みられてきた。しかし、近年免疫抑制性の共刺激シグナルである PD-1/PD-L1 経路とγδT 細胞の抗腫瘍作用との関連性を明らかにした知見は少ない。そこで我々はγδT 細胞免疫療法の臨床応用に向けて、γδT 細胞の抗腫瘍活性と PD-1/PD-L1 経路の関連性を明らかにすべく検討を行った。

健康人末梢血液より体外増幅培養させたγδT 細胞と ZOL 前処置がん細胞株との共培養系で、PD-1/PD-L1 経路阻害による抗腫瘍効果の変化をフローサイトメトリー法で解析した。その結果、がん細胞に発現している PD-L1 を阻害により、一部のがん細胞株に対してγδT 細胞の抗腫瘍活性が増大した。この抗腫瘍活性の増大は、①PD-1/PD-L1 経路の阻害による活性増大、②抗体依存性細胞障害 (ADCC) による活性増大の 2 つの可能性が考えられた。そこで我々は、γδT 細胞に発現する PD-1 を阻害した上で、PD-L1 の発現強度の高いがん細胞株に対するγδT 細胞の抗腫瘍活性および PD-L1 をノックダウンしたがん細胞株に対するγδT 細胞の抗腫瘍活性を評価した。その結果、γδT 細胞の抗腫瘍活性に有意な変化はなく (図 A, B)、がん細胞の PD-L1 を阻害した際の抗腫瘍活性増大は ADCC 活性によるものであると示唆された (図 C)。

以上のことから、がん細胞における PD-L1 の発現強度に関係なく、γδT 細胞は抗腫瘍活性を発揮できるエフェクター細胞であることが明らかとなった。

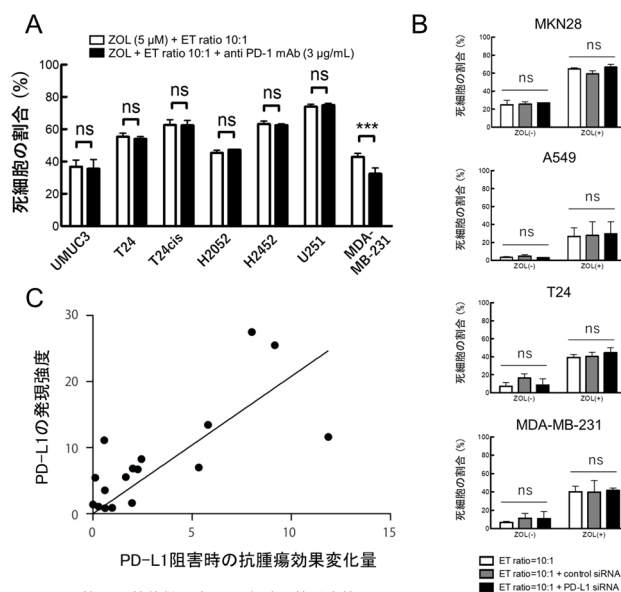


図 (A) 抗PD-1抗体併用時のγδT細胞の抗腫瘍効果 (B) PD-L1ノックダウン時のγδT細胞の抗腫瘍効果 (C) がん細胞におけるPD-L1の発現強度とPD-L1阻害時の抗腫瘍効果変化量との相関

ポスター発表 (3)

MLL 関連白血病細胞株に対して選択的に抗腫瘍効果を示す化合物の探索

病態生理学分野

吉岡希恵、坂井京子、戸田侑紀、芦原英司

共同利用機器センター

阿部祥子、服部恭尚

放射性同位元素研究センター

山本玲美加、田中聡美、河嶋秀和

生薬学分野

中村誠宏

1歳未満で発症する乳児急性リンパ性白血病(ALL)の治療成績は、5年無病生存率において50%未満と極めて不良である。乳児ALLの最大の特徴は、その90%以上にMixed-Lineage Leukemia (MLL) 遺伝子の再構成を伴うことである(MLL関連白血病)。ヒストンH3K4のメチル化に関わるMLL遺伝子がAF4、AF9、ENLなどの遺伝子と融合した場合、その構成タンパク質複合体はH3K79メチル化に関わるDOT1Lを動員し、それを介した遺伝子発現系に変化する。特徴的な遺伝子再構成に始まる本機構は、MLL関連白血病の発症および病態形成に大きく関わっている。

我々は、蓮花成分から単離された化合物群のMLL関連白血病細胞株(MV4;11)に対する抗腫瘍効果を検証した。WST8を用いた細胞増殖抑制試験に単離化合物7種を供したところ、MV4;11に対して濃度依存的な増殖抑制効果を示す化合物を同定した。MLL野生型の白血病細胞に対して有意な効果はみられなかったが、特有の細胞内シグナル系で支持されるMLL関連白血病細胞に対する分子標的薬開発を行う上で有望なリード化合物であると考えられる。

続いて、MLL関連白血病細胞株に対する増殖抑制効果ならびにその選択性の向上を目的として、化合物の誘導体を種々合成した。合成法の簡便性などを考慮して化合物設計を行った結果、リード化合物の細胞増殖抑制効果/選択性を上回るもの(化合物A)を同定することに成功した。また、Annexin V/propidium iodide二重染色による解析から、化合物AはMV4;11に対してアポトーシスを誘導することが示唆された。

現在、化合物Aに放射性同位元素を導入可能な官能基を有した誘導体の設計と合成を行っている。細胞増殖抑制効果/選択性を確認後、その担がんモデルマウスでの体内動態を解析する予定である。

新規 Wnt/ β -catenin 経路阻害剤による殺細胞作用機序の探究

病態生理学分野 若林亮介、芦原英司
共同利用機器センター 服部恭尚
薬品化学分野 赤路健一

我々は HEK293 細胞に 8xTOP-flash プラスミドを導入し、クローニング後樹立した TOP 細胞を用い、本学所有の化合物ライブラリーの中から Wnt/ β -catenin 経路を阻害する化合物の探索を行ってきた。その結果、本経路を阻害するヒット化合物 (#37) を発掘し、急性骨髄性白血病に対する *in vitro* の実験系での抗腫瘍効果を検討した。化合物#37 は急性骨髄性白血病細胞株に対して、容量依存的に細胞増殖抑制を認め、アポトーシスを誘導を示した。さらに本化合物は Wnt 標的遺伝子である *C-MYC*、*GCNND1*、*SURVIVN* の mRNA 発現を抑制した。

我々は化合物#37 における細胞死メカニズムの解析にあたり ROS (reactive oxygen species) の関与に着目した。フローサイトメトリー法により ROS 検出試薬 CM-H2DCFDA を用いて ROS の活性を評価したところ、control 群および既存の Wnt 阻害剤 ICG001 処置群よりも化合物#37 処置群において ROS 産生が亢進していることを見出した。また抗酸化剤である NAC (N-acetyl cystein) と化合物#37 を併用して WST-8 assay を行ったところ、NAC 処置により化合物#37 による細胞増殖の抑制が一部解除された。これらの結果より、化合物#37 による急性骨髄性白血病細胞株の細胞増殖抑制およびアポトーシスを誘導に、ROS が関与していることが示唆された。

図1 ヒット化合物#37 による ROS の上昇

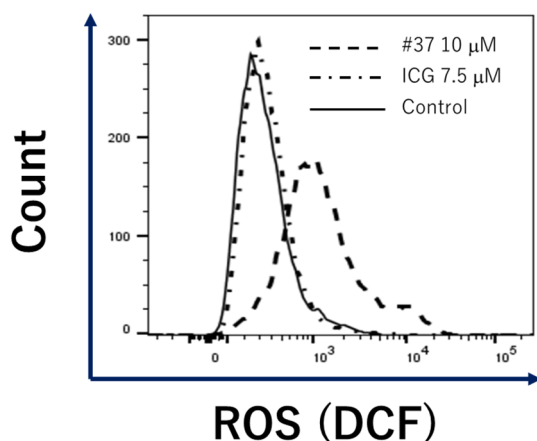
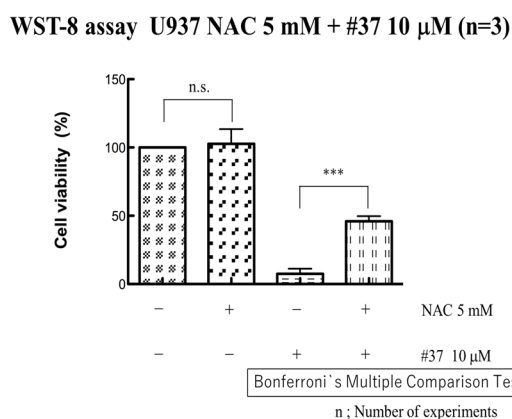


図2 NAC による細胞増殖抑制効果の回復



胆管がん細胞株に対する新規 BET 阻害剤 NCGC210 と放射線の併用効果の検討

病態生理学分野 林洋太郎、甘利圭悟、今吉菜月、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司

現在、切除不能な胆管がんの患者に対してシスプラチン+ゲムシタビンの併用療法が標準治療として行われている。がんの進行抑制や疼痛目的に放射線治療も行われることもあるが、切除不能な胆管がんでは5年相対生存率は約7.3%と、予後は極めて悪い。そのため新たな治療法の開発が切望されている。

Bromodomain and extra terminal (BET) 阻害剤は、bromodomain タンパク質とアセチル化修飾をうけたヒストンとの結合を阻害し、*c-MYC* や *CCND1* の遺伝子発現を抑制することで、がん細胞の増殖を抑制する分子標的治療薬として臨床開発が進められている。今回、我々は新規 BET 阻害剤 NCGC210 の胆管がん細胞株への単独処置時の抗腫瘍効果、および放射線照射との併用処置による抗腫瘍効果を検討した。胆管がん細胞株は SSP-25 細胞、HuCCT1 細胞の2株を使用し、WST-8 assay にて細胞増殖抑制効果を検討した。またコロニー形成抑制効果は14日間培養による Colony assay 法を用いて評価した。併用効果は Isobologram および CalcuSyn を用いて解析した。

NCGC210 は濃度依存的にコロニー形成を抑制し、胆管がん細胞に対して抗腫瘍効果を示した。また放射線単独処置でも、照射線量依存的にコロニー形成を抑制し、抗腫瘍効果を認めた。次に NCGC210 と放射線照射の併用処置の効果を検討した。その結果 NCGC210 を先に処置した群で放射線照射との相乗効果がみられたが、放射線を先に処置した群では併用効果はみられず、処置の順によって効果に差が出るようになった。

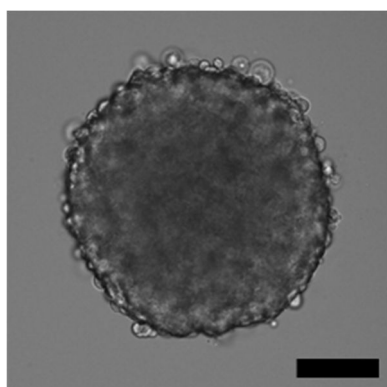
以上より、新規 BET 阻害剤 NCGC210 は、胆管がんに対する有効な治療薬となる可能性が示唆された。また NCGC210 投与に放射線照射を併用することでより高い治療効果が得られたことから、新規 BET 阻害剤 NCGC210 と放射線照射の併用療法が胆管がんに対する新たな治療戦略となる可能性が示唆された。

Spheroid を用いた集団細胞遊走の評価

病態生理学分野 杉山雄輝、細木誠之、戸田侑紀、芦原英司

当分野では、新規がん転移抑制薬の開発に向けて遊走抑制効果を有する化合物の探索を行ってきた。これまで Boyden chamber を用いた *in vitro* のスクリーニング系で単細胞による遊走能の評価を行ってきた。しかし、がん種ごとの微小環境により遊走様式は異なるため、生体内での腫瘍細胞遊走を評価するには、単細胞遊走だけでなく、集団細胞遊走の評価も必要である (Andrew G Clark, et al, Current Opinion in Cell Biology, 2015)。そこで、我々は *in vitro* で作製した細胞塊 (spheroid) を用いて集団細胞遊走の評価を行うことを計画した。

まず、サイズが均一となる Hanging drop 法 (Geeta Mehta, et al, Journal of Controlled Release, 2012) を改変し、高肺転移性マウス骨肉腫 LM8 細胞の spheroid を作製した (Fig. 1)。培養 2 日目から球状の spheroid が形成され、7 日目には径が約 300 μm の spheroid に成長した。生体内での腫瘍細胞遊走に模擬した評価を行うため、作製した spheroid を細胞外基質となるラミニンやコラーゲンIV型などを含むマトリゲル上に静置し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて経時的に集団細胞遊走を観察した。LM8 細胞の単細胞遊走および浸潤能を抑制する新規化合物 7, 8-dihydroxy-3-(4'-hydroxyphenyl) coumarin (化合物#1) は、LM8^{Luc/GFP} 細胞の spheroid の集団細胞遊走も抑制した (Fig. 2)。今後、spheroid を用いた集団遊走の抑制機構も解明していく。



Scalebar: 100 μm

Fig. 1: LM8^{Luc/GFP} 細胞 spheroid

Hanging drop 法により作製した spheroid は均一のサイズを調整ができ、スクリーニングに適している。

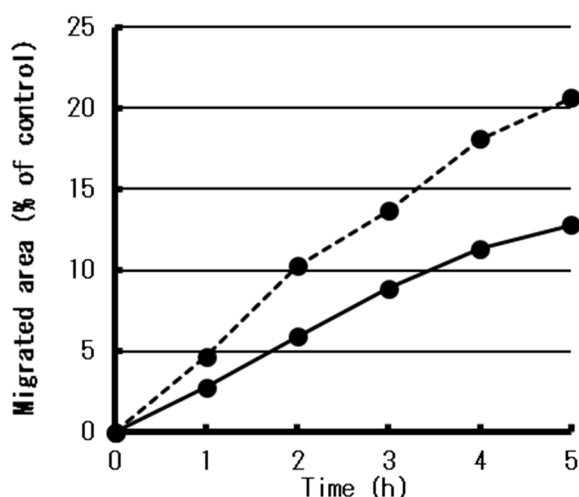


Fig. 2: 化合物#1 による集団細胞遊走抑制効果

LM8^{Luc/GFP} 細胞の spheroid の集団細胞遊走において、化合物#1 により減少傾向が見られる(点線: 無処置群 実線: 化合物#1 処置群)。

ポスター発表 (7)

**Cdk4/6 inhibitor Abemaciclib overcomes resistance to BET inhibitor in leukemic cells with MLL-AF5q31 fusion gene
(Cdk4/6 阻害剤 Abemaciclib は MLL-AF5q31 細胞における BET 阻害剤に対する耐性を克服する)**

病態生理学分野

甘利圭悟、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司

京都府立医科大学 小児科学教室 今村俊彦

Mixed-lineage leukemia (MLL)-related leukemia is an intractable disease. Recently, bromodomain and extra-terminal (BET) inhibitors are promising agents, and clinical trials are undergone. However, drug resistance against BET inhibitors has been reported. Therefore, it is important to elucidate its mechanism. In this study, we established OTX015-resistant leukemic cells with MLL-AF5q31 fusion gene (OTX015-R cells) and identified molecules that contribute to drug resistance. In addition, we evaluated whether identified molecules are effective as a therapeutic target for BET inhibitor-resistant MLL-related leukemia.

To generate OTX015-R cell line, we cultured MLL-AF5q31 cells in the complete medium containing OTX015 with stepwise increasing concentrations. OTX015-R cells exhibited cross-resistance to various BET inhibitors. In addition, protein expressions of bromodomain-containing protein 4 (Brd4) and Brd4-regulated molecules; c-Myc, Cdk6, and Bcl-2, were remarkably increased in OTX015-R cells compared with the parental cells. Treatment of Cdk4/6 inhibitor Abemaciclib showed a significant antitumor effect on OTX015-R cells. Furthermore, protein expressions of Brd4 and Brd4-regulated molecules were decreased after Abemaciclib treatment. Abemaciclib exhibits antitumor effects on the parental MLL-AF5q31 cells by induction of cell cycle arrest. On the other hand, interestingly, apoptosis in the OTX015-R cells was induced without cell cycle arrest. These results suggest that Abemaciclib induces apoptosis in OTX015-R cells by another mechanism different from cell cycle regulation. We are going to clarify this mechanism.

In conclusion, BET inhibitor-resistant MLL-AF5q31 cells upregulated expression levels of Brd4 and its downstream molecules. We suggest that Cdk6 is a potent therapeutic target for BET inhibitor-resistant MLL-related leukemias.

6-Hydroxythiobinupharidine inhibits migration of LM8 osteosarcoma cells by decreasing expression of LIM kinase1 (川骨由来 6-hydroxythiobinupharidine の LM8 骨肉腫細胞の浸潤/遊走抑制作用)

病態生理学分野

吉澤正人、杉山雄輝、戸田侑紀、芦原英司

生薬学分野

中村誠宏

臨床薬学教育研究センター

矢野義孝

Background/Aim:

Osteosarcoma is the most malignant type of bone tumor. Patients with osteosarcoma metastases have a poorer prognosis than those without metastases. Thus, the prognosis of osteosarcoma patients with metastases must be improved.

Materials and Methods:

The present study investigated the inhibitory effects of 6-hydroxythiobinupharidine isolated from *Nuphar pumilum* on migration of LM8 murine osteosarcoma cells by a migration assay and also examined the expression of proteins related to actin dynamics by western blot. The present study also developed an automatic cell counting system using machine learning to count migrated cells by Fiji and Trainable Weka Segmentation.

Results:

6-Hydroxythiobinupharidine inhibited migration of LM8 osteosarcoma cells in a dose-dependent manner, and decreased protein expression of Lin11, Isl-1, and Mec-3 domain kinase 1 (LIMK1) and the level of phosphorylated Cofilin.

Conclusion:

6-Hydroxythiobinupharidine suppressed migration of LM8 osteosarcoma cells by decreasing expression of LIMK1. 6-hydroxythiobinupharidine could be potentially used as an anti-metastatic compound.

がん悪液質治療法の開発に向けたモデルの作製

病態生理学分野 出口和貴、外園良輔、戸田侑紀、細木誠之、芦原英司

がん悪液質はがん患者の 50%-80%に発症し、食欲不振や骨格筋の萎縮により著しい QOL の低下や予後不良をもたらす。がん悪液質における骨格筋萎縮の発症機序として、腫瘍組織や免疫細胞から分泌されたサイトカインにより筋細胞でタンパク質代謝異常が生じることが考えられている。しかしながら、詳細な機序は明らかにされておらず、有効な治療法は存在しない。そこで我々は、がん悪液質による骨格筋萎縮の発症機序の解明および治療法の開発のために、*in vitro*系および *in vivo*系におけるがん悪液質モデルを作製した。

まず、がん細胞による筋芽細胞 (C2C12 細胞) の増殖抑制を評価した。マウス由来結腸がん細胞の Colon26 細胞、悪液質を引き起こさない Colon26 clone5 (c15) 細胞および悪液質を引き起こす Colon26 clone20 (c120) 細胞の培養上清 (CM) を含有する培地を用いて、マウス由来筋芽細胞 C2C12 細胞を培養した。その結果、C2C12 細胞の増殖は、いずれの培養上清により抑制された。特に Colon26 細胞および c120 細胞 CM 添加群で強く増殖が抑制された。

次に各がん細胞が筋組織の分化に与える影響を評価した。Colon26 細胞、c15 細胞もしくは c120 細胞の CM を含有する培地中で筋芽細胞から筋管細胞への分化培養を行った。その結果、c15 細胞 CM 添加群と比較し Colon26 細胞、c120 細胞 CM 添加群では筋分化マーカー (*Myogenin* mRNA) の発現が低下した。

さらに、7 週齢の Balb/c 雄マウスに Colon26 細胞、c15 細胞もしくは c120 細胞を右大腿外側皮下に移植し 4 日毎に体重を測定した。その結果、移植 28 日目において Colon26 および c120 細胞移植群で体重減少が認められた。また、c15 細胞移植群と比較し Colon26 細胞移植群および c120 細胞移植群では、大腿四頭筋の筋繊維径が有意に減少した ($p < 0.01$)。

以上のことから、*in vitro*系および *in vivo*系において、がん悪液質のモデルが作製できたと考えられる。今後は、これらのモデルを用いてがん悪液質発症の機序の解明と、それに基づく治療薬開発を進める。

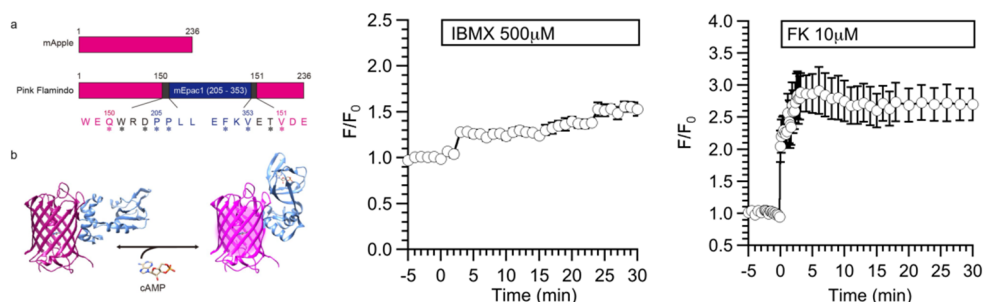
cAMP dynamics を明らかにするスクリーニングシステムの確立

病態生理学分野 法山康太 細木誠之 戸田侑紀 芦原英司

cAMP は、細胞機能に重要なセカンドメッセンジャーであり、細胞分裂や増殖、分化等、重要な生理現象を制御する。G タンパク質共役受容体 (GPCR) のセカンドメッセンジャーとして働き、プロテインキナーゼ A の活性化のみならず、Epac を介した small GTPase の活性化や、イオンチャネル等の直接活性化に密接に関わっている。またその反応速度や半減期を鑑みると cAMP ダイナミクスの理解は困難であり、これまで十分に明らかとなって来なかった。

そこで、近年開発された cAMP イメージングタンパクをトランスポゾンシステムを用いて安定発現株を作成し、生細胞イメージングを用いた時空間解析による cAMP ダイナミクスの評価が可能であるかを検討した。細胞は、気道上皮腺のモデル細胞でもある A549 細胞、胃粘膜上皮細胞モデル MKN28 細胞、神経モデル細胞である Neuro2A 細胞を用いて安定発現株を作成した。機能評価法として、蛍光強度変化を共焦点顕微鏡と蛍光プレートリーダーを用い、刺激薬として FK、IBMX を用いて検討を行った。

いずれの方法においても評価が可能であり、細胞により反応が異なることが明らかとなった。さらには cAMP 活性化薬剤のスクリーニングに用いることが可能であることが示唆された。



ポスター発表 (11)

Antitumor effects of $\gamma\delta$ T cells against hypoxia-adapted multiple myeloma cells (低酸素環境に適応した多発性骨髄腫に対する $\gamma\delta$ T 細胞の抗腫瘍効果)

佐野友亮¹、友金 眞光¹、大村真穂¹、清水 大器¹、宮下雅亜^{1, 2}、戸田 侑紀¹、
細木 誠之¹、芦原 英司¹

¹ 京都薬科大学病態生理学分野、² 京都府立医科大学泌尿器科

Due to the availability of new molecular targeting agents, the prognosis of multiple myeloma (MM) patients have recently improved. However, it remains incurable at present because MM stem cells are resistant to these agents. So, it is essential to develop strategies to eradicate MM stem cells. Recently, we have demonstrated that MM cells adapted to long-exposure of hypoxia (1% O₂) (MM-HA cells) exhibit stem cell characters. (Nakagawa Y, Ashihara E, et al, Biochem Biophys Res Commun, 2018)

$\gamma\delta$ T cells, innate immune cells, attack cancer cells by recognizing isopentenyl pyrophosphate (IPP), a metabolite of mevalonate pathway. Aminobisphosphonates such as zoledronic acid (ZOL) inhibit the mevalonate pathway, leading to the accumulation of IPP in target cells. Consequently, treatment of ZOL activates $\gamma\delta$ T cells to kill target cells. Recent investigations demonstrate that small GTPase RhoB binds to BTN3A1 in the plasma membrane of cancer cells and both of RhoB and BTN3A1 are involved in the recognition of $\gamma\delta$ T cells. In this study, we investigated the effects of $\gamma\delta$ T cells on MM-HA cells. Interestingly, the antitumor effect on MM-HA cells was significantly diminished as compared with that on MM cells cultured under a normoxic condition (20% O₂) (MM-N cells). The expression levels of RhoB proteins decreased in MM-HA cells. Furthermore, the acetylated histone H3, which promotes RhoB expression, also decreased in MM-HA cells.

In conclusion, the antimyeloma effects of $\gamma\delta$ T cell diminished in MM-HA cells because of decreased RhoB expressions. We speculate that RhoB expression regulated by HDAC in MM cells may influence on the response against $\gamma\delta$ T cell immunotherapy.

前立腺がん幹細胞に対する $\gamma\delta$ T 細胞の抗腫瘍効果

宮下雅垂^{1,2}、友金 眞光¹、佐野友亮¹、戸田 侑紀¹、細木 誠之¹、芦原 英司¹

¹ 京都薬科大学病態生理学分野、² 京都府立医科大学泌尿器科

現在、去勢抵抗性前立腺がんに対する様々な二次内分泌療法や抗がん剤治療が開発されているが、最終的に薬剤耐性をもつがん細胞が増殖し、がんの進行・再発をきたすことが問題となっている。その原因として、がん幹細胞 (Cancer Stem Cells; CSCs) 仮説が注目されており、前立腺がんの CSCs に対する治療方法の開発は急務の課題である。一方、自然免疫担当細胞である $\gamma\delta$ T 細胞は腫瘍組織適合性抗原非拘束に抗腫瘍効果を示し、進行性悪性腫瘍に対する臨床応用が開始されている。当研究室でもこれまで $\gamma\delta$ T 細胞による細胞免疫療法の可能性を示してきた (Shimizu T, Tomogane M, Miyashita M, Ukimura O and Ashihara E. Oncoimmunology, 2018)。今回我々は前立腺がんの CSCs に対する $\gamma\delta$ T 細胞の抗腫瘍効果を検討した。

我々は、ホルモン感受性前立腺がん細胞株である LNCaP 細胞、22Rv1 細胞および去勢抵抗性前立腺がん細胞株である C4-2 細胞、C4-2B 細胞、DU145 細胞を無血清培地下、ノンコーティングディッシュで培養し、がん幹細胞モデルの一つとされる 3D spheroid を作製した。健常人末梢血液より 11 日間かけて体外増幅培養させた $\gamma\delta$ T 細胞と CSCs を共培養し、フローサイトメトリー法で $\gamma\delta$ T 細胞の抗腫瘍効果を検討した。結果、すべての細胞株においてゾレドロン酸 (ZOL) を 3D spheroid 由来の前立腺がん幹細胞に前処置することで一定の抗腫瘍効果を認めたと、通常培養下の前立腺がん細胞に対する抗腫瘍効果と比べて有意に低かった。以上のことから、前立腺がん幹細胞は $\gamma\delta$ T 細胞による細胞免疫療法に対して抵抗性を示す可能性が示唆された。今後は抵抗性を示すメカニズムを解明し、抵抗性を解除できるような併用療法の可能性について検討を行う予定である。

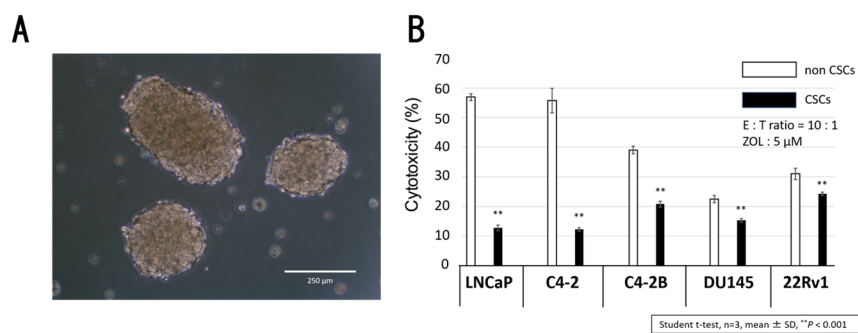


図 (A) DU145 から作製した3D spheroid
(B) ZOL 前処置した前立腺がん幹細胞に対する $\gamma\delta$ T 細胞の抗腫瘍効果は同様にZOL 前処置した前立腺がん細胞に対する場合と比較して低かった

フキ (*Petasites japonicus*) 地上部含有成分の化学構造およびがん幹細胞毒性評価

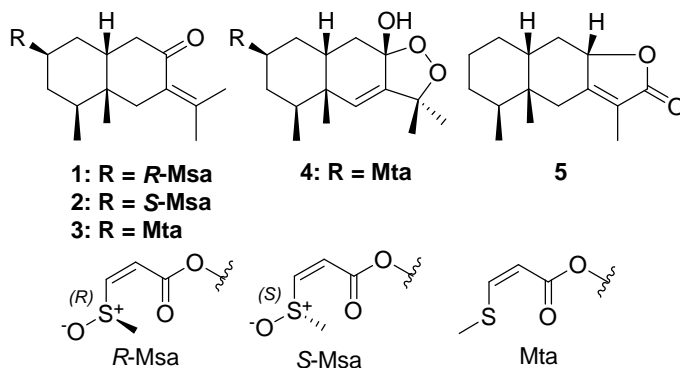
公衆衛生学分野 松本崇宏、今堀大輔、北川翔大、張 巍、渡辺徹志
病態生理学分野 芦原英司

我々の研究グループでは、がん予防（一次予防）への貢献を目的とした研究を行っており、種々の植物含有成分が抗遺伝毒性を有することを見出してきた。中でも、リモノイドおよびオノセラノイド型トリテルペンがマウスを用いた *in vivo* 小核試験において、ヘテロサイクリックアミン類による染色体へのダメージを有意に低減させることを報告している (Matsumoto T, et al, *J. Nat. Prod.*, 2018) (Matsumoto T, et al, *J. Nat. Med.*, 2017)。

今回我々は、がんの一次予防に加え、再発予防（三次予防）への貢献を目的とし、がん幹細胞 (cancer stem cell; CSC) 毒性を有する化合物の探索を行った。CSC は、自己複製能およびがん形成能を有するとともに、従来の抗がん剤に抵抗性を持つと言われていることから、がんの再発を引き起こす原因の一つであると考えられている (Takada T, et al, *J. Physiol. Sci.*, 2016)。よって、CSC を標的とした薬剤はがんの三次予防に有用であると言える。

成分探索素材として、構造中に硫黄原子および塩素原子を有する、特徴的な化合物が単離され、報告されているキク科植物フキ [*Petasites japonicus* MAXIM.] 地上部を用いた。また、CSC モデルの作成には、神経膠芽腫細胞株 U251-MG および乳がん細胞株 MDA-MB-231 に対し、Sphere 形成法を適用した。

含有成分探索の結果、petasites terpenes I-VI と命名した 6 種の新規成分を単離、構造決定すると共に、8 種の既知成分を得た。得られた新規成分の化学構造については、NMR、MS スペクトル解析に加え、ECD スペクトル理論値および実測値の比較により決定した。次に、得られた 14 種の成分について U251-MG non-CSC および U251-MG CSC に対する毒性評価を行ったところ、化合物 1-4 は non-CSC および CSC 双方に対し毒性を示した一方で、化合物 5 は CSC のみに対し、選択的な毒性を示した。さらに、これらの化合物について、MDA-MB-231 細胞に対する毒性を同様の手法により評価した。



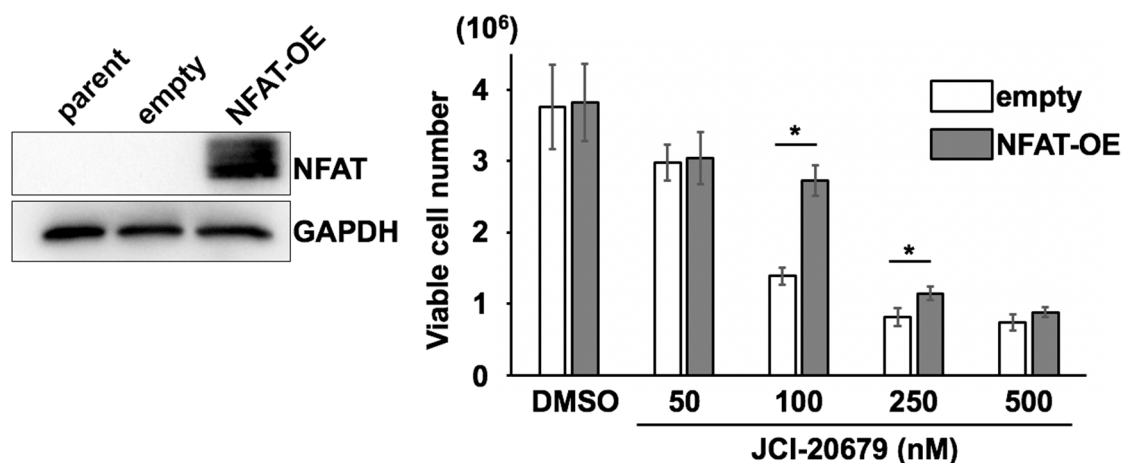
アセトゲニン誘導体 JCI-20679 は NFAT1 発現低下を介して膠芽腫幹細胞の増殖を抑制する

臨床腫瘍学分野 安藤翔太、茂山千愛美、中田 晋

薬品製造学分野 小島直人

成人発症の悪性脳腫瘍で最多である膠芽腫の予後は極めて不良であり、新規治療戦略の開発が必要である。これまでに本学薬品製造学分野ではバンレイシ科植物由来アセトゲニン類から合成展開した JCI-20679 が、ミトコンドリア複合体 I 阻害活性を有し抗腫瘍効果を発揮することを報告してきた。本研究では、JCI-20679 による膠芽腫幹細胞に対する増殖抑制効果の評価とそのメカニズムの解明を目的とした。

マウス新生仔脳室に shRNA-TP53/EGFRvIII/NRasG12V 導入 Sleeping Beauty トランスポゾンシステムを注入し膠芽腫を発症させ、本膠芽腫組織からニューロスフェア法を用いた膠芽腫幹細胞及び接着系培養細胞を樹立した。本膠芽腫幹細胞に対し JCI-20679 は細胞周期停止を伴う増殖抑制効果を示した。JCI-20679 の処理により、ミトコンドリア膜電位低下およびミトコンドリア局所におけるスーパーオキシド活性酸素種の増加がみられた。また、JCI-20679 の処理は、AMP 増加及び ATP 減少に伴う AMP/ATP 比上昇、代謝ストレスセンサー分子 AMPK の活性化型リン酸化体の増加作用を示した。また、細胞内 calcineurin ホスファターゼ酵素活性を低下させ、CaMK II 活性化型リン酸化体の減少と、核内および細胞質における NFAT1 タンパク質の発現量を低下させた。NFAT1 の強制発現は、JCI-20679 による細胞増殖抑制効果を一部有意に回復させた。以上より JCI-20679 の作用機序にミトコンドリア酸化的リン酸化阻害と NFAT1 の発現低下が関与していると考えられる。



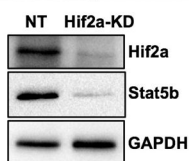
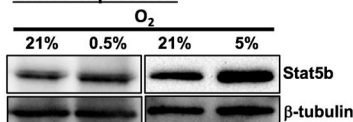
Stat5b は膠芽腫幹細胞の生存および増殖を促進する新規治療標的候補である

臨床腫瘍学分野 茂山千愛美、安藤翔太、中田 晋

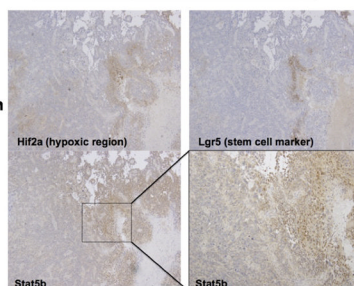
膠芽腫は悪性脳腫瘍の一種であり、その予後は極めて不良である。近年、膠芽腫組織を構成する悪性細胞の性質は均一ではなく、膠芽腫幹細胞と呼ばれる一部の細胞群が存在することが明らかにされてきた。これまでに我々は、ヒト膠芽腫幹細胞に Lgr5 遺伝子が高発現し、腫瘍組織における Lgr5 発現レベルは不良な予後と相関すること、ヒト膠芽腫幹細胞において Lgr5 をノックダウンするとアポトーシス細胞死が誘導され、Stat5b 発現が抑制されることをみいだした。そこで本研究では、マウス膠芽腫組織由来幹細胞モデルを用い、Stat5b の機能解析と発現制御因子の探索、および阻害剤による表現型解析を行った。

Stat5b ノックダウンにより、マウス由来膠芽腫幹細胞の増殖は抑制され、アポトーシス細胞死が誘導された。Stat5 に直接結合しその活性を阻害することが報告されている低分子化合物 IQDMA は、リン酸化型 Stat5b を顕著に減少させ、濃度依存性に膠芽腫幹細胞の増殖を抑制し、Caspase-3 および PARP の切断を伴うアポトーシス細胞死の誘導が検出された。Stat5b 発現は低酸素条件下の培養により増加し、低酸素応答シグナルに中心的な機能を果たす Hif2a のノックダウンにより、Stat5b 発現レベルは低下した。また、本マウスモデル由来膠芽腫幹細胞においても Lgr5 ノックダウンによって Stat5b 発現は抑制された。さらに、Wnt 経路の重要な因子である β -Catenin のノックダウンにより、Stat5b の発現は抑制された。これらの結果から、低酸素応答シグナルと Wnt 経路の双方が、Stat5b の発現促進に関与していると考えられた。さらに、ヒト膠芽腫組織を用いた免疫組織化学による検討でも、Hif2a 陽性の低酸素領域において、Lgr5 と Stat5b の共局在が観察されており、これらの因子が、実際の臨床例においても膠芽腫の進展に関与している可能性が示唆された。以上の結果から、低酸素応答シグナルおよび Wnt 経路によって誘導される Stat5b は膠芽腫幹細胞の維持・増殖を促進する因子であり、新規治療標的分子として有望である可能性が考えられた。

Hypoxia pathway regulates Stat5b expression



Hif2a/Lgr5/Stat5b colocalization in human glioblastoma tissues



GGCT 発現抑制による AMPK-FOXO3a-p21 経路の活性化を介したがん細胞増殖抑制機構

臨床腫瘍学分野 谷口恵香、遠藤百華、安藤孝太、松田凌平、飯居宏美、高木寛子、中田 晋

γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ (GGCT) は膀胱がんをはじめとして、乳がん、前立腺がん、肺がん、大腸がん、卵巣がん等の様々ながん種において高発現し、腫瘍組織における高い GGCT タンパク質発現レベルは乳がんや卵巣がん等においてその予後の不良と相関することが報告されている。さらに、GGCT の発現抑制および低分子阻害剤の投与は、*in vitro* および担がんマウスモデルを用いた *in vivo* の実験系において抗腫瘍効果を発揮することが示されている。以前の研究で我々は、GGCT の発現抑制によって誘導されるがん細胞増殖抑制は、p21^{WAF1/CIP1} (p21) の発現上昇に依存することを報告した。しかし、GGCT 発現抑制によって p21 の発現が上昇する機構の詳細は不明であった。そこで本研究では、p21 の発現を調節することが報告されている転写因子 FOXO3a が GGCT 発現抑制によるがん細胞増殖抑制に重要な役割を果たすという仮説を立て、前立腺がん細胞株 PC3 と膠芽腫細胞株 A172 において、siRNA を用いて GGCT および FOXO3a の発現を抑制し、p21 発現解析および細胞増殖の評価を行った。

まず、GGCT をノックダウンすると、p21 発現上昇に伴って FOXO3a がタンパク質レベルおよび mRNA レベルで誘導されることを示した。FOXO3a は核内に移行することにより転写因子としての機能を果たすことが報告されているので、FOXO3a の核内発現量を調べたところ、GGCT ノックダウンによって細胞質、核内ともにその発現量が増加することがわかった。次に GGCT と FOXO3a を同時にノックダウンして p21 発現解析、細胞数の計測を行うことにより、GGCT 発現抑制による p21 発現上昇および細胞増殖抑制の一部が FOXO3a に依存することを示した。さらに、FOXO3a をリン酸化してその転写活性を増強することが報告されている AMPK が重要な役割を果たしている可能性を考え、AMPK の GGCT との同時ノックダウンを行った。すると GGCT 発現抑制によって増加した FOXO3a リン酸化レベルおよび p21 発現量が、AMPK の同時ノックダウンによって減少した。さらに細胞数の計測を行ったところ、GGCT 発現抑制によって抑制された細胞増殖は、AMPK の同時ノックダウンによって部分的にはあるが、有意に回復した。

以上の結果より、GGCT 発現抑制は FOXO3a の mRNA および核内タンパク質の発現誘導を引き起こし、誘導された FOXO3a は GGCT 発現抑制による p21 発現上昇、がん細胞増殖抑制を制御することが示された。また、AMPK は FOXO3a のリン酸化を介して、GGCT 発現抑制による p21 発現上昇、がん細胞増殖抑制を誘導することを明らかにした。

GGCT 阻害剤によるドセタキセルの前立腺がん細胞に対する増殖抑制効果の増強

臨床腫瘍学分野 高木寛子、飯居宏美、谷口恵香、中田 晋

前立腺がんは、世界では肺がんと乳がんに次いで頻度が高く、多くの症例は初期ではアンドロゲン除去療法（以下、ADT）に反応するが、数年後には ADT への治療抵抗性が生じるため、去勢抵抗性前立腺がんに対する新規治療法が必要とされている。γ-グルタミルシクロトランスフェラーゼ（以下、GGCT）は、グルタチオンの合成・分解に関与するγ-グルタミルサイクル回路の構成酵素の一つであり、γ-グルタミルペプチドからの5-オキソプロリンとアミノ酸の生成およびグルタチオンの恒常性維持に関与しており、様々ながん種において正常組織と比較して高発現していることが知られている。

本研究では、前立腺がんにおける GGCT 発現と、新規 GGCT 阻害剤である pro-GA と既存の抗がん剤であるドセタキセルとの併用効果について解析を行った。まず、前立腺がん組織および正常組織の GGCT タンパク発現を免疫組織学染色法により解析したところ、正常組織と比較して前立腺がん組織において GGCT タンパク質の高発現がみられた。また、前立腺がん培養細胞 PC3、DU-145、LNCaP と正常前立腺細胞 PrEC の GGCT 発現レベルをウエスタンブロット法により解析したところ、前立腺がん培養細胞において正常細胞と比較して GGCT タンパク質の高発現がみられた。次に、WST-8 アッセイとβ-galactosidase 染色法により GGCT 阻害剤 pro-GA による増殖抑制効果と細胞老化誘導の定量を行なったところ、PC3 細胞において細胞増殖抑制と細胞老化の誘導が検出されたが、アポトーシスは検出されなかった。従って、前立腺がん培養細胞株において GGCT を阻害すると、アポトーシス非依存的な細胞死が引き起こされると考えられた。最後に、PC3 細胞において GGCT ノックダウンとドセタキセルを併用したところ、有意な増殖抑制効果の増強がみられた。さらに、PC3 と LNCaP 細胞において pro-GA とドセタキセルの併用効果についても評価したところ、combination index による解析で、PC3 では相加的な、LNCaP では相乗的な増殖抑制作用の増強がみられた。

以上の結果より、GGCT 阻害剤である pro-GA と、アポトーシスを誘導する抗がん剤であるドセタキセルを併用することにより、去勢抵抗性前立腺がん PC3 細胞を含む細胞株に対して、増殖抑制効果が増強することが明らかとなった。今後、前立腺がんに対して既存の抗がん剤に pro-GA を併用することにより、さらなる治療効果の増強につながる可能性が期待される。

γ-グルタミルシクロトランスフェラーゼ標的ギャップマー型アンチセンス核酸による A549 肺がん細胞の増殖抑制機構

臨床腫瘍学分野 田中陸、菅原眞歩、田中真悠、飯居宏美、高木寛子、谷口恵香、中田 晋

γ-グルタミルシクロトランスフェラーゼ (GGCT) は、肺がん、乳がん、前立腺がん等を含む種々のがんにおいて高発現がみられる蛋白質であり、その人為的発現抑制によりそれらのがん細胞の増殖が抑制されることが報告されている。私達は、これまでに GGCT のノックダウンによるがん細胞増殖抑制機構において、p21 の発現量の上昇に伴い細胞周期が停止することを報告している。本研究では、GGCT に対する 4 種類のギャップマー型アンチセンス核酸を A549 肺がん細胞に導入し、GGCT 発現抑制に伴う増殖抑制効果が最も高い配列を見出すとともに、その増殖抑制機構に対する p21 誘導と細胞周期の停止の関与について検討を行った。

ヒト肺がん A549 細胞に GGCT 標的アンチセンス核酸をリポフェクション法で導入し、ノックダウン効果を GGCT 活性阻害効果およびタンパク質発現抑制効果によって評価した。また、25 および 100 nM のアンチセンス核酸を導入した際の、コントロール核酸導入細胞と比較した細胞増殖抑制効果を評価し、ノックダウン効率が高くかつ増殖抑制効果が高い配列を選定した。選定したアンチセンス核酸を用い、BrdU の取り込みを指標に細胞周期を評価したところ、GGCT ノックダウン細胞において S 期細胞の割合が減少した。ウエスタンブロットティング法で解析したところ、サイクリン依存性キナーゼ (CDK) 阻害因子である p21、p16 および p27 蛋白質の発現レベルおよびリン酸化 AMPK の増加がみられた。また、PI 染色を用いた細胞周期解析では、GGCT ノックダウン細胞において SubG1 の有意な増加が見られ、Annexin V 染色においてもアポトーシス細胞死の誘導が検出された。さらに、GGCT ノックダウンにより活性酸素種の増加およびミトコンドリア局所のスーパーオキシドの増加が検出された。

これらの結果から、GGCT アンチセンス核酸による GGCT 発現抑制により、活性酸素種の増加とともに、AMPK のリン酸化と p21、p16 および p27 等の CDK 阻害因子の発現を誘導し、細胞周期の停止が起ること、それに引き続いて誘導されるアポトーシスが A549 細胞の増殖抑制を引き起こしていることが示唆された。

GGCT 阻害剤 pro-GA による MCF7 乳がん細胞増殖抑制機構

臨床腫瘍学分野 大西崇広、菅原櫻希子、小川遥香、飯居宏美、高木寛子、谷口恵香、
中田 晋

乳がん罹患数は増加傾向にあり、既存の薬物療法では克服できない治療抵抗性乳がんに対する新しい治療戦略が求められている。これまでに私達は、乳がん細胞で特に高発現がみられる γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ(以下、GGCT)に対する、独自の阻害剤(pro-GA)を開発し、その有効性を示してきた。pro-GA は前立腺がん細胞や膀胱がん細胞において有意な細胞増殖抑制効果を示し、担がんマウスにおいても抗腫瘍効果を示す。また、その細胞増殖抑制効果には、細胞老化が起因することを報告してきたが、その詳細なメカニズムには不明な点が多い。そこで本研究では、pro-GA による MCF7 乳がん細胞株に対する細胞増殖抑制のメカニズムについて検証した。

MCF7 細胞に pro-GA を処理したところ、細胞内での GGCT 活性の抑制と濃度依存的な細胞増殖抑制効果を示した。また、BrdU の取り込みを指標に細胞周期を評価したところ、顕著な S 期細胞の割合の減少がみられた。さらに、pro-GA 処理により、CDK 阻害分子である p21 および p16 蛋白の発現レベルが増加し、senescence associated β -galactosidase 染色で標識される細胞老化が検出されたが、アポトーシスの誘導は見られなかった。さらに、pro-GA 処理下で活性酸素種の増加とミトコンドリア局所のスーパーオキシドの増加が検出された。また、細胞生存シグナル系因子である AKT のリン酸化もわずかながら抑制された。さらに、pro-GA による CDK 阻害因子の誘導、活性酸素種の増加および細胞増殖抑制は N-アセチルシステイン (NAC) 前処理により解除されることを見出した。これらの結果から、pro-GA の処理による MCF7 細胞の増殖抑制には、p21 および p16 の誘導による細胞周期停止、それに引き続く細胞老化の誘導と、活性酸素種の増加が引き起こす酸化ストレスが関与しており、システイン欠乏を NAC によって補うとその酸化ストレスが解除され、細胞増殖抑制が解除されると考えられた。また、興味深いことに、乳がんに対する既存の抗がん剤であるドキソルビシンと pro-GA を併用すると、*in vitro*において相乗的に効果を増強することを見出している。

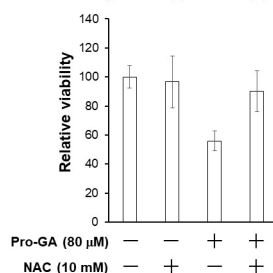
以上の結果から、pro-GA の p21 誘導に伴う細胞周期停止効果がもたらす細胞老化誘導を伴う細胞増殖抑制効果は、既存の抗がん剤の作用機序とは異なるため、その効果の増強および副作用軽減につながる乳がんの新規治療として有望である可能性がある。

造血器腫瘍において GGCT 活性阻害により誘導されるアポトーシスは *N*-アセチルシステインにより抑制される

臨床腫瘍学分野 檜垣綾香、飯居宏美、高木寛子、谷口恵香、中田 晋
病態生理学分野 木村楓希、中條悠、石川青佳、芦原英司

γ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ（以下、GGCT）は、グルタチオン代謝回路である γ -グルタミルサイクルに関与する酵素であり、種々のがん組織において高発現することが報告されている。GGCT は、 γ -グルタミルシステインを 5-オキソプロリンとシステインに分解し、システインを細胞に供給する酵素として知られていることから、その抗酸化効果ががん細胞の増殖に寄与している可能性が考えられる。本研究では、正常末梢血単核球と比較して種々の多発性骨髄腫の細胞株において GGCT は mRNA およびタンパク質レベルで高発現していることを見出した。また、ヒト骨髄性白血病細胞株である HL-60 細胞と多発性骨髄腫細胞である AMO1 細胞、IM9 細胞、NCI-H929 細胞、OPM2 細胞において、我々が独自に開発した GGCT 阻害剤である pro-GA により GGCT 酵素活性の抑制に伴って細胞死が誘導されることを明らかにした。また、その細胞死機構について AMO1 細胞を用いて検討したところ、エネルギー代謝ストレスのセンサー分子である AMPK のスレオニン 172 リン酸化の増加、細胞周期停止因子であるサイクリン依存性キナーゼ p21、アポトーシス細胞のマーカーであるカスパーゼ 3 の活性化体の増加が確認された。また、アポトーシス細胞死の誘導が Annexin V 染色法で検出された。さらに、HL-60 細胞と AMO1 細胞において *N*-アセチルシステインを pro-GA 処理下に併用すると、pro-GA による細胞増殖抑制作用が回復されることを見出した。これらの結果は、GGCT 酵素活性の阻害によって引き起こされる細胞の増殖抑制機構には、活性酸素種代謝の一翼を担う、システインを含む γ -グルタミルサイクル構成因子が関連する代謝ストレスが寄与していると考えられた。

Restorative effect of NAC to growth suppression by pro-GA in AMO1 cells



パクリタキセル耐性改善薬の探索

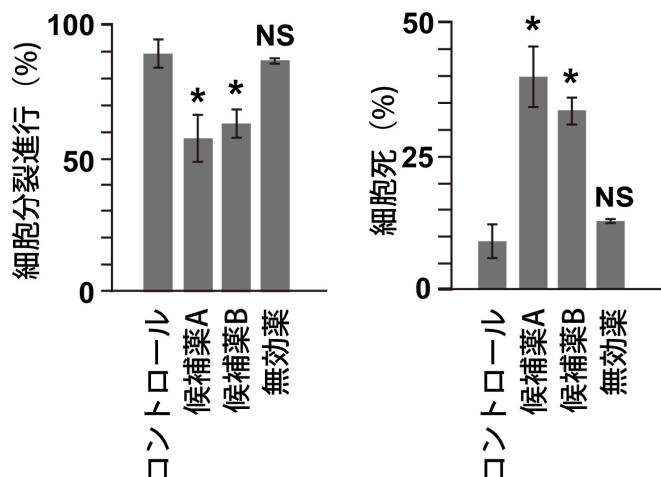
摂南大学 薬学部 生体分子分析学 久家貴寿、中村優志、山岸伸行

パクリタキセルは、多数のがん種に対する標準治療で用いられる抗がん剤である。パクリタキセルは細胞分裂期における紡錘体形成を妨げることで、細胞分裂期の進行を停止させる。細胞分裂期の進行が長時間停止すると、細胞死シグナルが発生し、がん細胞は死滅する。パクリタキセル治療における問題点の一つは耐性である。パクリタキセル耐性が生じる原因の一つとして、細胞分裂期チェックポイントの機能不全が知られている。本研究では、分裂期チェックポイント不全の改善効果を指標に、パクリタキセル耐性改善薬を探索した。

耐性改善薬候補の探索は、生細胞イメージング法で行った。パクリタキセル耐性がん細胞を、パクリタキセルで処理し、ハイコンテンツイメージングシステムで、明視野像と SiR-DNA 試薬で可視化した DNA 像の連続画像を取得した。これらの連続画像から、パクリタキセル耐性がん細胞が、パクリタキセル存在下でも細胞分裂期を進行させ、細胞死を回避する様子を観察することができる。各種化合物とパクリタキセルを併用処理したパクリタキセル耐性がん細胞の生細胞イメージングを行えば、併用した化合物による分裂期チェックポイント不全の改善効果を評価することができる。多数の化合物を検討した結果、ある種のチロシンキナーゼ阻害剤がパクリタキセル耐性改善候補薬として特定された。同じチロシンキナーゼを標的とする別の阻害剤でも、同様のパクリタキセル耐性改善効果が観察された。次に、探索時とは異なるパクリタキセル耐性がん細胞に対しても、耐性改善薬候補が効果を発揮するのかどうかを検証した。しかし、別のパクリタキセル耐性がん細胞ではその効果は見られなかった。本候補薬は、特定のパクリタキセル耐性がん細胞に対してのみ効果を発揮するのかもしれない。

今回発見したパクリタキセル耐性改善薬候補はチロシンキナーゼ阻害剤である。本候補薬は、その標的キナーゼの高活性が原因で分裂期チェックポイント機能を失ったがん細胞に対してのみ、効果を発揮する可能性が考えられた。臨床応用化のためには、バイオマーカー探索が必要である。

パクリタキセル耐性改善薬候補による細胞分裂進行抑制効果と細胞死誘導効果



アザ-デカリン骨格を有する SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の創製

共同利用機器センター
薬品化学分野

服部恭尚
赤路健一、小林数也、大西康司

重症急性呼吸器症候群 (SARS) は 21 世紀初の新興感染症であり、その原因は新種のコロナウイルス (SARS CoV) であることが明らかにされている。最近、SARS CoV に関連するコロナウイルスを原因とする中東呼吸器症候群 (MERS) の流行が確認され、直近でも中国武漢において新型コロナウイルスを原因とする呼吸器症候群が報道されている。しかし、SARS および関連疾患の治療薬はいまだに開発されていない。SARS CoV の増殖にはシステインプロテアーゼである SARS 3CL プロテアーゼが必須であり、その阻害剤は抗 SARS 薬となり得る。

これまでの研究で SARS 3CL プロテアーゼ基質配列に基づくペプチド型阻害剤 1 の開発に成功し、本阻害剤とプロテアーゼとの複合体 X 線結晶構造解析に成功した。¹ その結果、ペプチド型阻害剤 1 とプロテアーゼとの相互作用には S₂ 位での疎水性相互作用が重要であり、本相互作用に着目したアザ-デカリン骨格を有する縮環型化合物 2 が有望な阻害剤骨格となり得ることを明らかにした。² 今回我々は、阻害活性の向上を目的とし、4 位に新たなノンプライムサイト相互作用部位を導入したアザ-デカリン型阻害剤 3 を設計し、合成と阻害活性評価を行ったので報告する (Figure 1)。³ また、アルデヒドに代わる warhead についても検討を行ったので、それらの阻害活性評価についても併せて報告する。

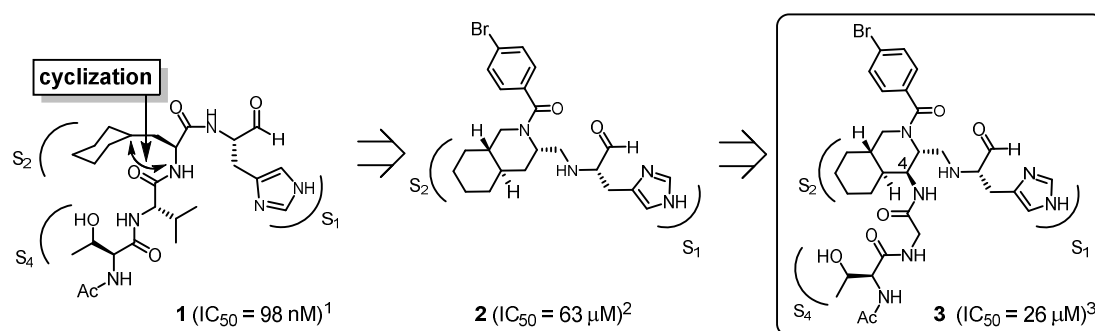


Figure 1.

引用文献

- 1 Akaji, K.; Konno, H.; Teruya, K. *et al. J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 7962.
- 2 Shimamoto, Y.; Teruya, K.; Akaji, K. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 876.
- 3 Ohnishi, K.; Hattori, Y.; Akaji, K. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 425.

大環状 BACE1 阻害剤の環サイズ及び架橋構造の最適化

薬品化学分野 大谷拓也、小林数也、赤路健一
 共同利用機器センター 服部恭尚

アミロイドβペプチド (Aβ) の凝集・蓄積がアルツハイマー病 (AD) の発症原因の一つと考えられていることから、Aβ 産生に關与する BACE1 (β-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1) は AD 治療薬開発における重要な創薬標的の一つと捉えられており、その阻害剤開発が精力的に行われている。我々はこれまでに、BACE1 に対し阻害活性を示した阻害剤 1 と BACE1 との複合体の X 線結晶構造解析により、阻害剤の P1-P3 側鎖間に大きな疎水性空間が存在することを確認している (Fig. 1a)。この疎水性空間を適切な官能基で埋めることにより、BACE1 阻害活性の向上が期待できると考え、P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入と最適化を行うこととした。

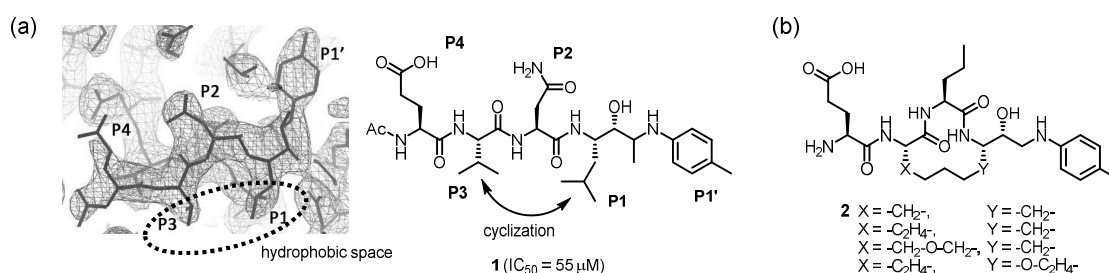


Fig. 1. (a) 阻害剤 1 の複合体 X 線結晶構造解析、(b) 直鎖架橋型環状阻害剤 2

まず、最適環サイズの探索を行うため、P1-P3 側鎖間の疎水性空間の大きさから 12~15 員環を有する直鎖架橋型環状阻害剤 2 の設計及び合成を行った (Fig. 1b)。これらの BACE1 阻害活性評価の結果から 13 員環が環サイズとして最も適していることが示唆された。しかし、これら環状阻害剤の阻害活性は親化合物と比較して低下していたため、MOE によるドッキングシミュレーションを行った。その結果、単純な直鎖架橋では疎水性空間に対する立体的な占有率が低く、そのことが阻害活性低下の原因となったのではないかと推定された。

そこで、疎水性空間をより充足させるため架橋部にかさ高い置換基の導入を行うこととした。その一つとして、ベンゼン環を導入した阻害剤の設計、合成及び阻害活性評価を行った。その結果、直鎖架橋と比較して活性が向上したことから立体的な置換基の存在が阻害活性向上につながることを示唆された。

本発表では、直鎖架橋型阻害剤の合成及び活性評価の結果と現在進行中のアリール型架橋構造を有する大環状阻害剤の合成及び阻害活性評価の結果を報告する。

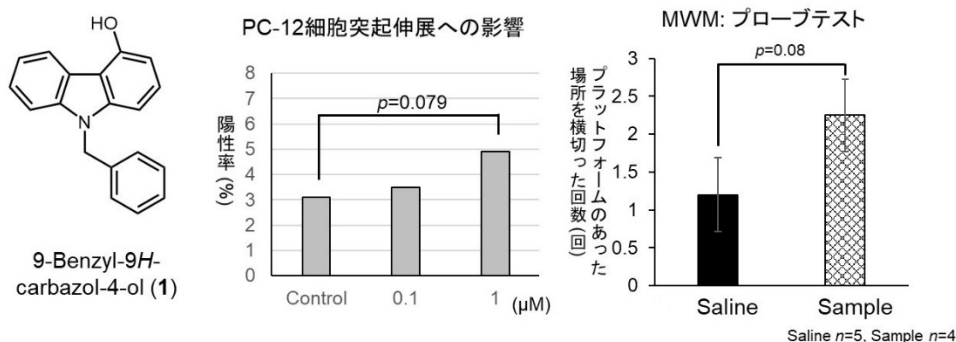
神経突起伸展、神経成熟促進による空間認知記憶改善を目指したカルバゾール誘導体の開発

生薬学分野 矢野真実子、中嶋聡一、平尾みなみ、尾田好美、中村誠宏、松田久司
 統合薬科学系 西村周泰、高田和幸

アルツハイマー型認知症 (AD) 治療には、現在神経伝達物質を増加させる薬物などが処方されているが、対症療法的な作用に留まっている。我々は根本的な AD 治療薬開発の戦略として、新たに神経細胞を作成する『神経新生』による治療を目指している。オオバゲッキツ (*Murraya koenigii*) はカルバゾール型アルカロイドを特徴成分とするミカン科常緑低木である。薬理作用として抗不安作用が報告されており、脳内で神経細胞に直接作用する可能性が考えられる。本研究では、AD 治療薬のリード化合物探索を目的として、オオバゲッキツ含有アルカロイドおよびその誘導体について、神経突起伸展促進作用、*in vivo*における空間認知記憶改善作用の解析を行った¹⁾。

オオバゲッキツ葉部メタノール抽出エキスに、神経細胞様 PC-12 細胞の突起伸展に対する促進傾向を見出した (control 群の陽性率: 2.8% に対し 1 μ g/mL 処理群: 4.2%、 $p=0.092$)。9 種の含有成分について検討したところ、murrayamine-E (control 群の陽性率: 4.1% に対し 10 μ M 処理群: 7.2%、 $p=0.021$) に同作用を見出した。また、細胞障害性への影響などを考慮し合成した 9-benzyl-9H-carbazol-4-ol (1, control 群の陽性率: 3.1% に対し 10 μ M 処理群: 4.9%、 $p=0.079$) に突起伸展促進傾向が認められた。化合物 1 の認知機能改善作用を検討するため、AD モデルマウスである APdE9 マウスおよび野生型マウスを用いたモーリス水迷路試験では一部成績の上昇傾向が見られ、空間認知記憶の改善作用が示唆された。また、ヒト iPS 細胞由来神経前駆細胞を用いて、1 がダブルコルチンなどの神経成熟マーカーの mRNA 発現量に与える影響などを確認した。

1) Yano, M. et al., *J. Nat. Med.* (2020), *in press.* (<https://doi.org/10.1007/s11418-020-01388-8>)



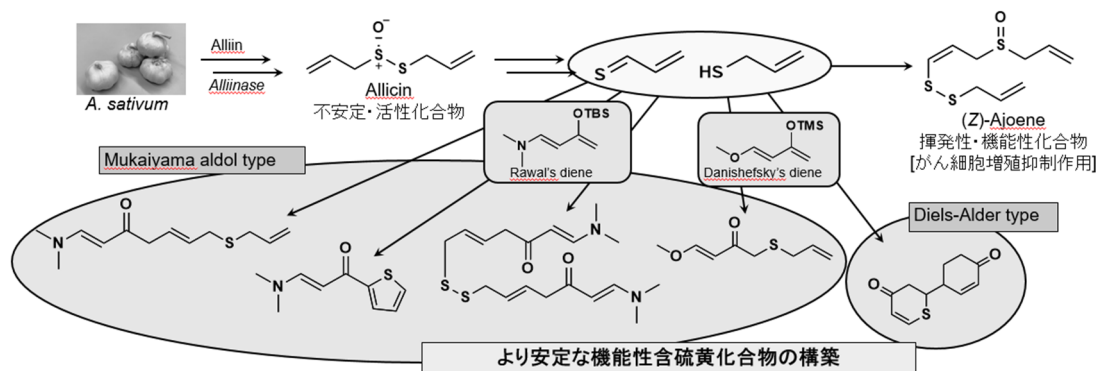
ニンニク (*Allium sativum*) を用いた含硫黄活性化合物構築法の開発およびがん幹細胞毒性評価

生薬学分野 米田太一、中村誠宏、中嶋聡一、松田久司
 公衆衛生学分野 松本崇宏、今堀大輔、渡辺徹志

Allium 属植物であるニンニク (*A. sativum*) は世界中で食用としてのみならず、薬用として感染症や血管障害ほか様々な治療に用いられてきた¹⁾。この有用性はニンニク含有の含硫黄化合物によるが、ニンニクの主要な含硫黄化合物である allicin は酵素反応により生成する非常に不安定な化合物であり、医薬品として用いるには安定性の問題が大きい。ここで、生成した allicin の多くはすぐに分解・揮発してしまうが、一部はさらに反応し、多様な含硫黄化合物へと誘導されることも知られる。特に Block らにより単離・同定された ajoene²⁾ は最も有名な allicin 誘導体含硫黄化合物のひとつであり、がん細胞増殖抑制作用を有することが知られている³⁾。この ajoene についても allicin よりは改善されるものの安定性に関する課題は依然として残ったままである。この背景のもと、我々は ajoene の allicin より誘導されるという生成過程と生物活性に着目し、allicin を用いた化合物構築法の開発とその誘導体化合物の活性の評価を目指した。

ニンニクから化学誘導の鍵となる含硫黄化合物分画を取得し、得られた分画について種々添加物を検討することにより多様な安定含硫黄化合物への誘導を試みた。その結果、一例として、活性ジエンであるシリルエノールエーテルの Danishefsky's diene や Rawal's diene を用いて適切な条件で反応させることで Diels-Alder 反応、Mukaiyama aldol 反応を利用して一挙に多数の安定化合物へと誘導することに成功した。また、得られた化合物のがん幹細胞毒性評価についても合わせて報告する。

- 1) H. V. Beretta, *et al.*, *Food Technol. Biotechnol.*, **55**, 266-275 (2017).
- 2) E. Block, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 8295-8296 (1984).
- 3) C. H. Kaschula, *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **50**, 236-254 (2012).

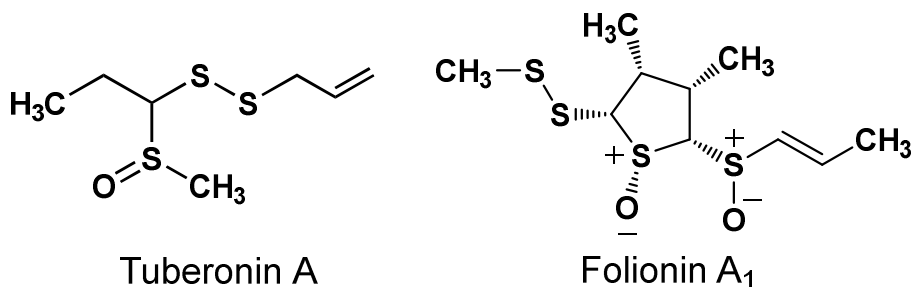


ネギ属植物ニラ (*Allium tuberosum*)、アサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) を素材とした含硫黄成分の探索およびその機能性誘導体の開発研究

生薬学分野 中澤孝佑、中村誠宏、米田太一、汲地玲実、鶴川孔汰、山下遥加、
中嶋聡一、松田久司

ネギ (*Allium*) 属植物はネギやタマネギ、ニンニクなどの野菜・香辛料など多くの種が存在し、主要成分として知られる allicin や ajoene などの含硫黄化合物には抗がん作用など様々な機能性を持つことが報告されている。我々はネギ属植物から得られる含硫黄化合物が抗がん医薬品シーズとして有用であると考え、ニラ葉部 (*Allium tuberosum*) およびアサツキ葉部 (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) を素材として新規含硫黄化合物の探索を行った。また、得られた成分の機能性を評価するために種々の含硫黄複素環化合物の誘導体合成を進めた。

ニラ葉部およびアサツキ葉部をアセトンとともにミキサーで粉碎、室温条件下において3日間アセトン中で冷浸後、減圧留去によって抽出エキスを得た。そのエキスを酢酸エチル、1-ブタノールおよび水を用いて分液分画し、酢酸エチル分画を順相および逆相カラムクロマトグラフィーおよび HPLC を用いて繰り返し精製を行ったところ、ニラから tuberonin A 等の3種のプロピルジスルフィドをアサツキから folionin A₁ 等の8種のテトラヒドロチオフェンやテトラヒドロジフロフラン誘導体を得た。本結果より、ネギ属植物の可食部に含まれる含硫黄化合物の構造に大きな違いが認められることが明らかとなった。また、細胞増殖抑制作用等を期待し、種々のテトラヒドロチオフェン誘導体合成の検討を行った。それらの生物活性評価の結果についても合わせて報告する



ポスター発表 (27)

ホソバタイセイ由来不安定中間体イソチオシアネートを介した含窒素化合物の開発研究

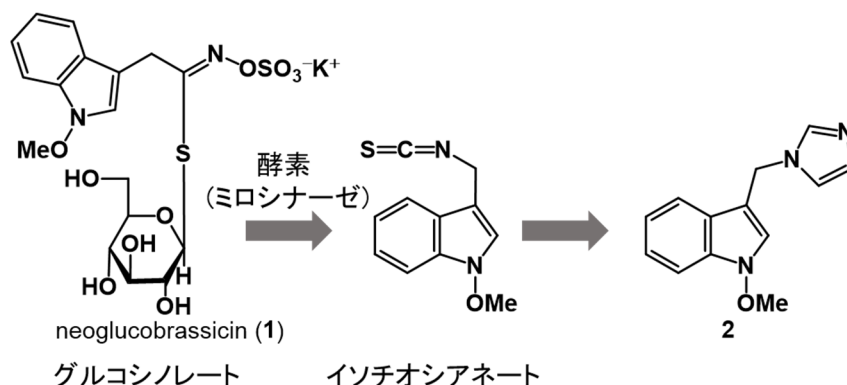
生薬学分野 笠香織、中村誠宏、中嶋聡一、松田久司

公衆衛生学分野 今堀大輔、松本崇宏、渡辺徹志

薬用植物園 月岡淳子

アブラナ科植物は、イソチオシアネート類の前駆体であるグルコシノレートをはじめとして含窒素・含硫黄化合物を豊富に含むことが知られている。アブラナ科植物の1つであるホソバタイセイ (*Isatis tinctoria*) の根部は古くから板藍根 (バンランコン) として熱病に対する効果を期待して用いられ、近年ではインフルエンザや SARS (重症急性呼吸器症候群) などウイルス性疾患の予防を目的としても使用されている。そこで、板藍根から得られたグルコシノレート neoglucobrassicin (1) から植物酵素 (ミロシナーゼ) により生成した不安定なイソチオシアネートを利用し、種々の複素環を有する含窒素低分子化合物の構築を試みた。

ホソバタイセイ (*I. tinctoria*) 乾燥根部のメタノール抽出エキスを作成し各種クロマトグラフィーを用いて繰り返し分離精製を行ったところ、neoglucobrassicin (1) や goitrin などの含窒素・含硫黄化合物が単離された。グルコシノレートである 1 に分解酵素であるミロシナーゼを加えて不安定なイソチオシアネートを生成させ、種々の試薬との求核置換反応を誘導することで含窒素低分子化合物を得た。すなわち、1 から生成したイソチオシアネートに求核剤として種々の複素環化合物を加え、2 を含む新規インドール誘導体を得た。



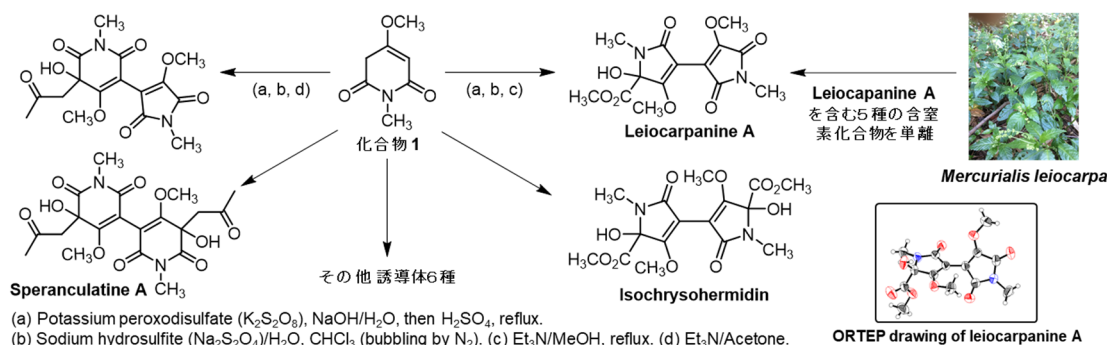
ヤマアイ (*Mercurialis leiocarpa*) 含有成分の生成過程を模倣した含窒素複素環化合物の合成

生薬学分野 近藤悠斗、中村誠宏、伊野早也香、山下 遥加、中嶋 聡一、松田 久司
 薬品製造学分野 山下正行
 薬用植物園 月岡淳子

染料植物であるタデ科のタデアイ (*Polygonum tinctorium*) は、indigo を代表とする数種のアルカロイドを含有していることが知られている。これらは多様な生物活性を有することが報告されており¹⁾、近年、改めて染料植物の機能性について注目が集まっている。一方、ヤマアイ (*Mercurialis leiocarpa*) は、トウダイグサ科に属する日本最古の青色染料として知られるが、その含有成分及び薬理作用等の詳細な検討はまだ十分に行われていない。なお、アイとは含有成分が異なり indigo を含有しているという報告はないが、含窒素二量体化合物として isochrysohemidin が単離されている。Isochrysohemidin は、抽出過程において hermidin の空気酸化により生じるラジカル中間体を經由した二量体化と、それに続くベンジル酸転位反応により生成すると考えられる^{2,3)}。我々は、この生成反応を模倣することで、誘導体の簡易的な合成による医薬品シーズの供給が可能であると考え、① ヤマアイ含有成分の探索及び構造解析、② 得られた成分の生成経路の推定、③ 生成過程を模倣した含窒素二量体の合成及び、④ その合成法を利用した誘導体の合成を行った。

ヤマアイ地上部のメタノール抽出エキスより、新規化合物 leiocarpanine A を含む5種の含窒素化合物を単離し構造を決定した。また、化合物 1 からラジカル中間体を經由する事により、3工程で isochrysohemidin 及び leiocarpanine A の簡便な合成に成功した。さらに、本合成法を応用し、種々の検討の結果、最終工程の条件を変更することで、六員環を有する含窒素二量体 speranculatine A を含む 8種類の誘導体合成に成功した。

1) Naganuma M. *et al. Gastroenterology* **2018**, 154, 935–947. 2) Swan, G. A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1985**, 8, 1757–1766. 3) Abe, K. *et al. Phytochemistry* **1989**, 28, 960.

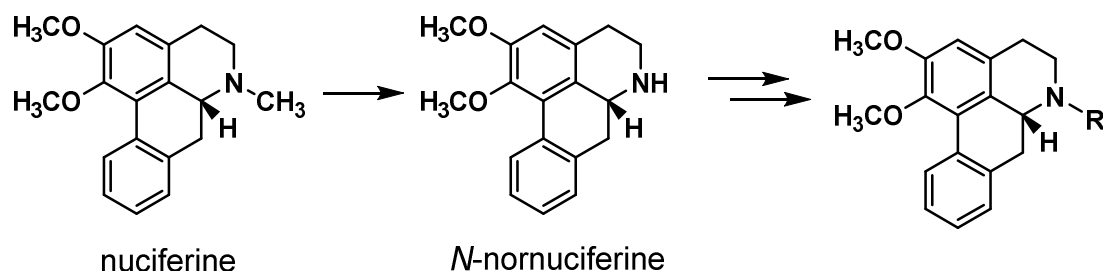


アポルフィン型アルカロイド *nuciferine* およびその誘導体の生物活性評価

生薬学分野 伊野早也香、中村誠宏、松本朋子、笠香織、桂田侑加子、中嶋聡一、松田久司

ハス (*Nelumbo nucifera*) は、インド、中国原産の大型多年生水生草本であり、その根茎はレンコンとして食用にされるほか、節部は止血薬として用いられる。また、おしべは強壯、止血薬として薬用に供されている。ハスの主要成分としては、アポルフィン型アルカロイドの *nuciferine* が知られており、*nuciferine* には抗がん、抗炎症、抗酸化作用等、多様な作用を示すことが報告されている。我々の研究室では、ハス花部（蓮花）や葉部（蓮葉）から得られた *nuciferine* を含むアルカロイドがメラニン生成抑制作用等を示すことを明らかにしている。今回、アポルフィン型アルカロイドの機能性評価の一環として、*nuciferine* をハス葉部から単離するとともにその誘導体合成を行い、それらの一酸化窒素産生抑制活性等、種々の生物活性評価を進めた。

ハス葉部のメタノール抽出エキスを各種カラムクロマトグラフィーおよび HPLC を用いて繰り返し分離精製したところ、*nuciferine* を主要成分として種々のアポルフィン型アルカロイドを単離した。次に、*nuciferine* の *N* 位のメチル基を脱メチル化し、*N*-*nornuciferine* へと変換した後、種々の官能基を結合させた誘導体を合成した。さらに、得られた化合物について、マクロファージ様細胞 (RAW264.7) を用いたリポ多糖 (LPS) 刺激による NO の過剰産生に対する抑制作用等、種々の生物活性評価を行った。

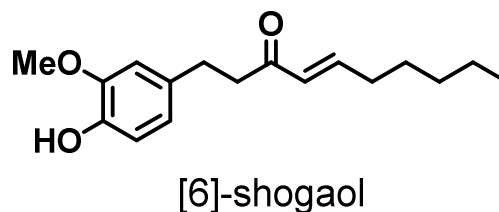
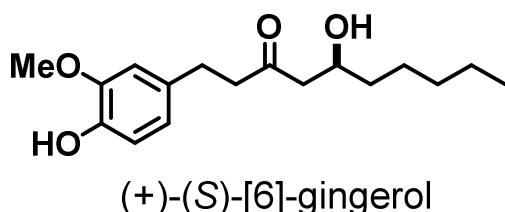


ショウガ (*Zingiber officinale*) 主成分 [6]-gingerol の絶対立体配置の確認およびその違いによる一酸化窒素産生抑制作用の検討

生薬学分野 桂田侑加子、中村誠宏、松本朋子、笠香織、辻田彩、苗村朋世、中嶋聡一、松田久司

ショウガ科植物ショウガ (*Zingiber officinale*) は日本をはじめ、中国、東南アジアなど世界各地で広く栽培されている。その根茎は古くから食用とされる他、鎮吐、芳香性健胃作用を期待して用いられてきた。これまで、*Z. officinale* 根茎から [6]-gingerol や [6]-shogaol が主要成分として単離され、抗炎症、胃粘膜保護作用などを示すことが報告されている。我々は、gingerol 類が抗炎症薬のシーズとして有用であると考え、*Z. officinale* 根茎から gingerol 類を単離するとともにその立体異性体や誘導体を合成し、得られた化合物を用い一酸化窒素 (NO) 産生抑制作用等の生物活性評価を進めた。

ショウガ根茎を素材として用い、(+)-(S)-[6]-gingerol および [6]-shogaol を単離した。また、ヘキサナールを出発原料とし、5 工程で非天然型の (-)-(R)-[6]-gingerol (74%ee) を合成するなど種々の誘導体を得た。得られたショウガ成分および誘導体について、マクロファージ様細胞 (RAW264.7) を用い、リポ多糖 (LPS) 刺激による NO の過剰産生に対する抑制作用を検討した。その結果、[6]-gingerol、[6]-shogaol およびその誘導体が有意な抑制活性を示すことが明らかになった。また、[6]-gingerol において、その絶対立体構造の違いにより、NO 産生抑制作用の作用メカニズムが異なることが示唆された。

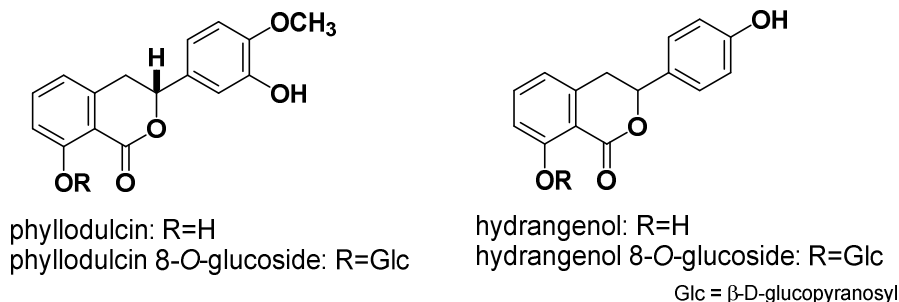


日本民間薬甘茶 (*Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii*) 成分および誘導体の抗単純ヘルペスウイルス活性評価

生薬学分野	中村紗子、中村誠宏、笠香織、中嶋聡一、松田久司
薬品製造学分野	山下正行
薬用植物園	月岡淳子
細胞生物学分野	藤室雅弘

アジサイ属植物アマチャ (*Hydrangea macrophylla* var. *thunbergii*) は、長野県など日本各地で栽培され、その葉部から調製される「甘茶」は、日本固有の生薬であり、糖尿病患者の甘味料などとして用いられている。我々はこれまでに、甘茶エキスに利胆、抗潰瘍作用などの種々の薬理活性を見出し、活性成分を明らかにした。また、主要成分のクマリン成分には、X線暴露による細胞障害に対する防護作用あるいは増感作用、抗アレルギーおよび抗糖尿病作用を認め、作用メカニズムや構造と活性に関する知見を得ている。今回、アマチャの生体機能性成分探索研究の一環として、アマチャ含有成分およびそのクマリン誘導体の抗単純ヘルペスウイルス活性評価を進めた。

アマチャ (*H. macrophylla* var. *thunbergii*) 花部のメタノール抽出エキスを、酢酸エチル、1-ブタノールおよび水にて溶媒分配し、酢酸エチル分画および1-ブタノール移行部を各種クロマトグラフィーを用いて繰り返し分離精製した。その結果、hydrangenol および phyllodulcin などクマリン類およびその配糖体を単離した。また、salicylaldehyde を出発原料として用いて、20種のクマリン誘導体を合成した。得られた化合物について、単純ヘルペスウイルス1型 (HSV-1) を感染させたアフリカミドリザル腎由来 Vero 細胞を用いたプラークアッセイ法により抗ウイルス活性を評価した。



SED を用いた 3-ヒドロキシメチルインドール誘導体合成法の開発

薬品製造学分野 三須健太郎、岩崎宏樹、東莉奈、小島直人、山下正行

複素環は、医薬品を始めとする生物活性化合物によく見られる構造であり、その合成反応の開発は有機合成化学上重要なテーマの一つである。複素環の一つであるインドール骨格を有する 3-ヒドロキシメチルインドール (I3C) は、特にアブラナ科植物に多く含有されており、古くから幅広い抗腫瘍活性を示すことが知られている。また近年、神経膠芽細胞腫に対しても活性を示すことが報告されるなど、I3C に関する構造活性相関研究が盛んに行われている。¹

一方、SED (super electron donor) は、2005 年に J. A. Murphy らによって初めて中性の有機分子を用いて光による活性化を必要としない条件下、アリールハライドからアリールラジカルやアリールアニオンを生成することが報告されて以来、² 様々な構造の SED が開発され、それらを用いた反応も近年報告されており、徐々にその有用な反応性が明らかになっている。

そこで我々は、SED の反応性の解明と新規複素環形成反応の開発を目的として、I3C 誘導体合成反応の開発に着手した。これまでに、SED を用いてアリールハライドから発生させたアリールラジカルをアルケンで捕捉することによる閉環反応が報告されている。² そこで、生じたアリールラジカルをアレンで捕捉すればインドール骨格を形成できると考えた。まず、*N*-allenyl-2-iodoaniline 誘導体を基質とした SED を用いた反応を検討した。様々な条件検討を行った結果、62% の収率で目的物が得られることを見出した。

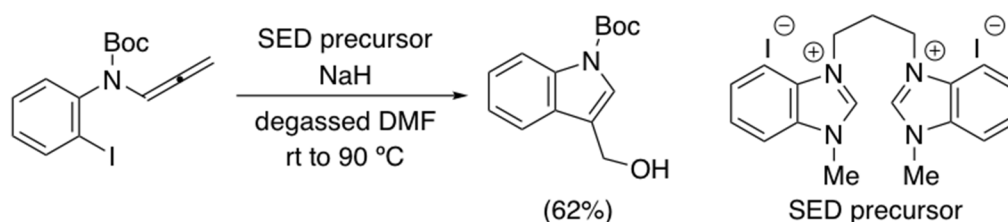


Figure 1.

引用文献

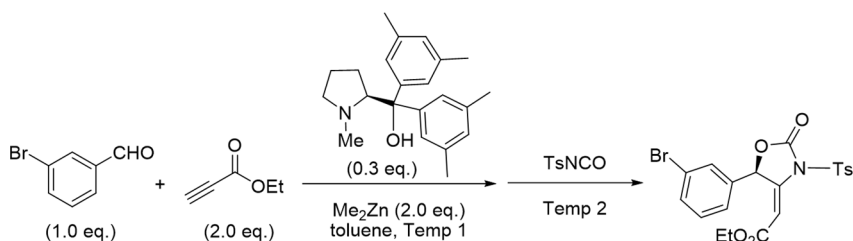
- 1 Sherer, G.; Tolaymat, I.; Rowther, F.; Warr, T.; Snape, T. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 1562.
- 2 Murphy, J. A.; Khan, T. A.; Zhou, S.; Thomson, D. W.; Mahesh, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1356.

光学活性オキサゾリジノン誘導体のワンポット合成における反応条件の最適化

薬品製造学分野 竹下怜汰、今井麻友香、松村優太、田中結衣、山崎莉葉、武田賢昭、松尾実紗、松田千尋、岩崎宏樹、山下正行、小島直人

2-オキサゾリジノン骨格はリネゾリドなどの生物活性を持つ化合物に多く含まれる構造単位の一つであることから、当研究室では、不斉アルキニル化反応を経由するワンポット合成法を検討してきた。その結果、独自に開発したプロリン由来のキラルリガンド存在下、ジメチル亜鉛を塩基として、プロピオレート求核剤とするアルデヒドの不斉アルキニル化反応を行い、そのフラスコに直接 *p*-TsNCO を加えることにより、2-オキサゾリジノン誘導体がワンポットで高エナンチオ選択的に得られることを報告している。しかしながら、その収率は中程度であった。そこで今回、収率の改善を目指し反応条件の検討を行うことにした。

まず、試薬の当量をアルデヒド 1.0 eq. に対してプロピオレート 2.0 eq.、TsNCO 1.2 eq. に固定し、アルキニル化反応時の温度の検討を行ったところ、50 °C では収率の低下が見られた (Entries 1-3)。次に TsNCO を 1.5 eq. に増加させて反応を行ったところ、アルキニル化反応時と TsNCO 添加後がいずれも 30 °C の時は 1.2 eq. の TsNCO を用いた時と差は見られなかったが (Entry 4)、1 段階目の温度を 40 °C、2 段階目を 30 °C とした時はエナンチオ選択性を保ったまま収率の大幅な改善が見られた (Entry 5)。一方で 2 段階目の反応温度も 40 °C とした時は収率の低下が見られた (Entry 6)。そこで、反応温度を固定し、TsNCO の当量を 2.0 eq. に増加させた結果、高エナンチオ選択的かつ高収率 (3 段階 70 %) で目的物が得られることを見出した。現在、最適化した反応条件下にて、他のアルデヒドを用いる反応を検討しており、本発表ではその結果もあわせて報告する予定である。



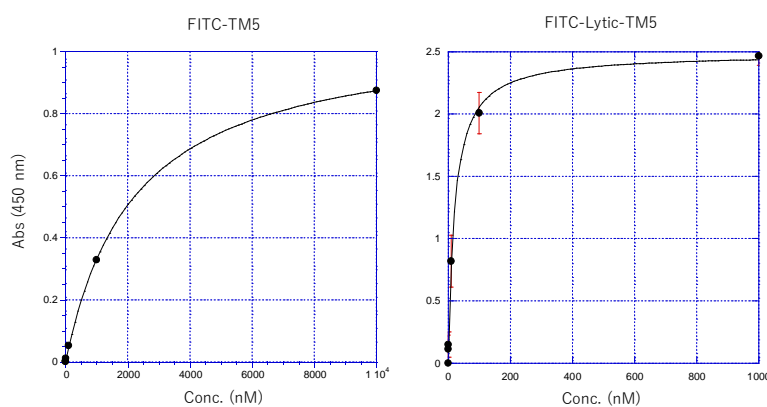
Entry	TsNCO (eq.)	Temp 1 (°C)	Temp 2 (°C)	Yield (%)	Ee (%)
1	1.2	30	30	49	95
2	1.2	40	30	49	91
3	1.2	50	30	30	97
4	1.5	30	30	44	93
5	1.5	40	30	64	96
6	1.5	40	40	55	91
7	2.0	40	30	70	97

上皮成長因子受容体 (EGFR) を標的とした細胞溶解薬剤の開発

共同利用機器センター 福本晴菜、安東友繁、服部恭尚、長谷川功紀

上皮成長因子受容体 (EGFR) は、肺癌や胃癌、大腸癌において過剰発現が見られ、重要な治療標的と考えられている。すでに EGFR に対してはチロシンキナーゼ阻害剤が開発され、臨床使用されている。しかし、薬剤耐性の問題や、変異型 EGFR への効果が乏しいことなど報告されており、新しい作用機序の薬剤開発が求められている。そこで我々は、EGFR に結合性を有するペプチド TM5 を利用し、そこへ細胞溶解性ペプチド配列を組み合わせた Lytic-TM5 ペプチドを新規薬剤として設計し、その有効性を検討した。

TM5 および Lytic-TM5 は Fmoc 固相合成法により合成した。その際に、活性評価や細胞への集積性を評価するためタグとして N 末端にフルオレセインを導入した。EGFR に対するそれぞれの結合能を評価する方法として、一定量固定したリコンビナント EGFR に対して TM5 および Lytic-TM5 をそれぞれ反応させ、その後、抗フルオレセイン抗体を用いることで結合量を定量した。本法を利用し、結合飽和アッセイを行うことでフルオレセイン修飾 TM5 および Lytic-TM5 の EGFR に対する親和性をそれぞれ $2\mu\text{M}$ と 25nM と明らかにすることができた。また EGFR 陽性細胞 A549 を用いて WST-8 アッセイにより Lytic-TM5 の細胞傷害性効果を検討した。その結果、 $30\mu\text{M}$ で殺細胞効果を確認することができた。今後は Lytic-TM5 の薬剤としての安定性を評価し、動物モデルによる効果を検討する予定である。



文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業
「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」
Annual Meeting-2019 報告書*

日時:2020年3月13日(金)13:30~17:15

場所:京都薬科大学 愛学ホール

*新型コロナウイルス感染拡大防止のため中止となった。

本私立大学戦略的基盤研究形成支援事業プロジェクト「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」では、9分野1センターから13名、広域大学知的財産アドバイザー1名と学外の3施設から3名、計17名が参画している。本プロジェクトは5年間のプロジェクトであり、発足後年2回の進捗会議を行い、2017年度には新規分子標的治療薬創薬に向けた4つの共同研究プロジェクトを立ち上げた。その後は共同研究プロジェクトごとの会議、年2回の進捗会議およびAnnual Meetingを行い、研究を展開してきた。

2020年3月13日に開催予定であった最終年度のAnnual Meeting-2019では、4つのプロジェクトの最終報告(口頭発表)、34件の個々の参画研究者の研究発表(ポスター発表)を行い、外部評価委員である京都府立医科大学 創薬センター センター長 酒井敏行特任教授、ならびに京都大学大学院 薬学研究科 薬品合成化学分野 高須清誠教授より最終評価を頂く予定であった。しかしながら、上記の通り新型コロナウイルス感染拡大防止のため中止となったため、Annual Meeting-2019は講演要旨集をもって開催したとみなし、最終評価はAnnual Meeting-2019講演要旨集ならびに成果報告書により行っていただくこととした。

本プロジェクトは今年度で一旦の終了となるが、本プロジェクトにより得られた成果のさらなる進捗、ならびに全学を上げた共同研究への展開は基本的に継続する。そのために、不定期的になる可能性もあるが今後も新たな形での進捗会議をもち、知財の獲得、上市を目指した分子標的治療薬候補化合物の創製を続け、さらに新たな“知の創造”も目指して本プロジェクトを発展させていく。

文責:芦原英司(研究代表者)

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立

News Letter Vol.5

～はじめに～



研究代表者
病態生理学分野
芦原英司

2015年度に採択いただきました私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」

も、最終年度となりました。本プロジェクトは、本学が所有する疾患関連評価系と創薬研究基盤を有機的に融合させ、悪性腫瘍と神経変性疾患・認知症に焦点を絞り、アカデミアの学術基盤を有効利用することによって新たな創薬・予防薬シーズを発掘することを目的とし、シーズのライセンスアウトを目指した産学連携プラットフォームを構築し、充実した健康長寿生活の実現に貢献できる大学発創薬ベンチャー基盤の確立を目指し、研究を行ってきました。

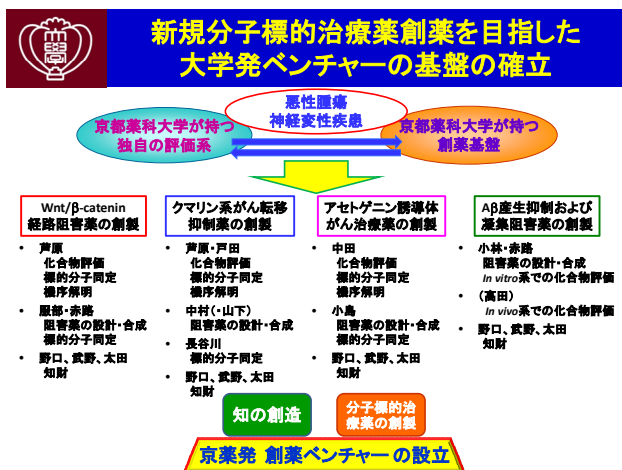
初年度より年2回の small meeting で議論に議論を重ね、大学として本プロジェクトで推進する4つの柱となる研究に集結し進めてきました。

- ① Wnt/ β -catenin 経路阻害薬の創製
- ② クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製
- ③ アセトゲニン類の構造変換によるがん幹細胞に対する新規分子標的治療薬の創製
- ④ 高親和性基質配列に基づく BACE1 阻害剤の開発

これらのうち、2つの特許出願を行い、現在、リード化合物として選定したものについては標的分子の同定行程にはいっており、そのうち1つは標的分子として有力な、新規タンパク質を吊り上げており、現在その確認工程に入っております。また、これらとは別の化合物群で、さらに2つの特許出願準備にかかっております。

最終年度はこれらの柱となる研究をまとめるとともにさらに推し進め、5年間で構築してきた学内共同研究体制をより確固なものにしてまいります。得られたシーズの学術的評価に臨床評価を加味することで新規化合物の preclinical POC (Proof of Concept) につなげ、トランスレーショナルリサーチへ展開してまいります。

本プロジェクトは助教・助手の若手教員およびPD・RAといった若手研究者が中心となり、彼らの自由で独創的な発想の元に研究を展開してきました。今後もこの勢いを消すことなく、本学の共同研究を推進するとともに、個々のメンバーの研究も並行して進め、薬学・医学での新たな「知の概念」の構築を目指し邁進する所存であります。



～各研究紹介～

Wnt/ β -catenin 経路阻害剤の探索

病態生理学分野 芦原英司

我々は、初期胚成熟における体軸形成、各種器官形成、細胞の増殖・分化、組織再生などのいくつかの生命現象に重要な働きをしている古典的 Wnt/ β -catenin シグナル経路阻害による新規がん分子標的治療薬の開発を進めてきた。



共同利用機器センター 服部恭尚博士、薬品化学分野の赤路健一博士との共同研究にて構造活性相関研究を進め、基本骨格となる構造を突き詰めた。この基本骨格を有する化合物は大腸がんをはじめ、膵がん、急性骨髄性白血病細胞、急性リンパ芽球性白血病、多発性骨髄腫、悪性リンパ腫等、多くの悪性腫瘍細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを介した細胞死を誘導することを明らかにした。また治療抵抗性を示し、がん幹細胞集団が存在する低酸素環境に適応した膵がん細胞、および神経膠芽腫並びに乳がんの cancer sphere に対しても増殖抑制作用を有することを明らかにした。これらの内容により、特許出願を行った（特願 2019-2015）。

新規 Wnt 経路阻害剤処置後に急性骨髄性白血病細胞の ROS (reactive oxygen species) を増加させ、NAC (N-acetylcysteine) 添加により抑制された細胞増殖が部分的に回復することを明らかにし、新規 Wnt 経路阻害剤が急性骨髄性白血病に酸化ストレスをもたらす細胞死に至らせることを明らかにした。さらに、磁気ビーズに候補化合物をリガンド化した分子プローブを用いて釣りあげ、MS 解析にて本化合物群の真の標的分子として 3 つの候補分子を得た。現在、候補分子から標的分子の同定に向けて検討を続けている。今後も共同研究を継続し、X 線結晶構造解析、構造活性相関解析により、化合物の構造の最適化を図る。

クマリン系化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製

病態生理学分野 芦原英司

我々は生薬学分野の所有する化合物ライブラリーから、転移抑制化合物のスクリーニングを行い、その結果クマリン系化合物 daphnetin (7,8-dihydroxycoumarin) が、マウス骨肉腫細胞株 LM-8 細胞の浸潤および遊走を抑制することを世界で初めて明らかにした [Hiroki Fukuda, Seikou Nakamura, Esihi Ashihara, et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **471**, 63-67 (2016)]。さらに本化合物はアクチンの重合に関わる分子の発現を検討したところ、RhoA および cdc42 タンパク質発現を減少させ、ストレスファイバーおよび糸状偽足の形成を低下させることで細胞遊走を抑制することを明らかにしている。

Daphnetin をヒット化合物として、構造活性相関研究を行い、本作用にキーとなる構造を推定しており、薬品製造学分野 山下正行教授とも共同研究を行い、多くの有効な治療薬候補化合物を取得し、特許出願を行った（特願 2018-237944）。またこれらの化合物は、マウス骨肉腫細胞に加え、ヒトおよびマウス乳がん細胞の浸潤・遊走を抑制することを見出した。

今までの検討では、一細胞の浸潤・遊走抑制を明らかにしてきたが、三次元培養下における cancer spheroid を作製し、集団遊走 (collective migration) に対する抑制作用を検討した。本化合物群は、single cell migration に加え、collective migration も有意に抑制することを見出した。

現在キーとなる構造部位の変換に伴う浸潤/遊走抑制作用の検討を継続するとともに、磁気ビーズに候補化合物をリガンド化した分子プローブ法で釣りあげ、MS 解析にて本化合物群の真の標的分子の同定を進めている。今後も共同研究を継続し、X 線結晶構造解析、構造活性相関解析により、化合物の構造の最適化を図る。



膠芽腫幹細胞における DJ-1 の機能

病態生理学分野
戸田侑紀

治療抵抗性と高い腫瘍形

成能を示すがん幹細胞 (CSCs) はがん再発の根源的存在であり、その根絶を目指した新規治療法の開発は急務である。神経膠芽腫 (GBM) は原発性脳腫瘍の中でも予後が極めて悪く、その悪性度は CSCs に大きく依存するとされている。DJ-1 は H-Ras と協調して無秩序な細胞増殖を引き起こすがん遺伝子産物であり、進行性の卵巣がん、乳がん、並びに肺がんでの過剰発現が報告されている。しかし、CSCs における DJ-1 の機能については不明な点が多い。本研究ではその解明を目的として、GBM 幹細胞 (GSCs) における DJ-1 の発現量を解析し、DJ-1 ノックダウン (KD) 時の腫瘍形成能への影響の有無を検証した。

ヒト GBM 細胞株である U87-MG (U87; 野生型 p53 発現) および U251-MG (U251; 変異型 p53 発現) を使用した。これらの細胞を低接着性プレートに播種し、上皮成長因子および線維芽細胞増殖因子を添加した無血清培地条件下にて培養することにより、GSCs を豊富に含む細胞集塊が形成される (スフェア形成アッセイ)。本アッセイ系を用いて、スフェア形成における経時的な DJ-1 発現量変化および、siRNA により DJ-1 をノックダウンした上記細胞株のスフェア形成効率を解析した。結果として、U87 および U251 の両細胞における DJ-1 の発現量は、スフェア形成に伴って経時的に増加した。U87 のスフェア形成効率は DJ-1 KD により著しく低下するものの、U251 においては変化がみられなかった。GSC 分画比に与える影響をアルデヒド脱水素酵素活性の観点から評価したところ、DJ-1 をノックダウンした U87 細胞では GSC 分画比が減少していた。

DJ-1 は p53 の転写活性を制御している。DJ-1 KD がスフェア形成効率に与える影響については、p53 の機能が維持された U87 細胞のみでみられたことから、本現象に p53 が関与するのではないか、

と考えた。そこで、DJ-1 と p53 を同時にノックダウンしたところ、スフェア形成効率は低下しなかった。また、幹細胞制御因子の一つである c-MYC のタンパク質発現が DJ-1 KD により低下するが、p53/DJ-1 の同時ノックダウンではその低下がみられなかった。以上より、DJ-1 は p53 を介して c-Myc 発現を制御し、GSC の幹細胞性を維持させていることが示唆される。

DJ-1 は酸化ストレスセンサーとして機能することが知られている。その一例として、DJ-1 を欠損した造血幹細胞では、ミトコンドリア介在性の酸化ストレスが生じ、幹細胞性が低下することが報じられている。U87 細胞においても、DJ-1 KD により細胞内での酸化ストレス (ROS) レベルが上昇していた。しかし、抗酸化剤の添加した場合においても、DJ-1 KD によるスフェア形成効率の低下は抑制されなかった。よって、DJ-1 KD による ROS 上昇はスフェア形成効率の低下には無関係であることが示唆された。

DJ-1 をノックダウンした U87 細胞を Balb/c nu/nu マウス脳実質に移植し (一次移植)、生存期間をコントロール細胞移植群と比較評価した。人道的エンドポイントに達した一次移植マウス脳より腫瘍を摘出し、培養後増殖した細胞群の二次移植を別のマウスに行った。その結果、一次移植マウスでは大きな差はみられなかったが、二次移植マウスでは DJ-1 KD 細胞移植群で生存期間が有意に延長した。

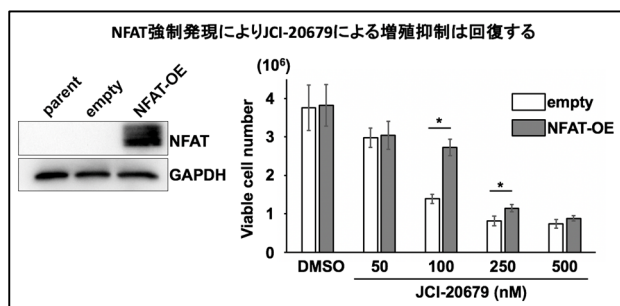
以上より、DJ-1 は U87 株の GSCs において自己複製能を制御しており、p53 変異を有しない GSCs に対する治療標的分子になり得ることが示唆された [Yuki Toda, Susumu Nakata, Eishi Ashihara et al. *Anticancer Res.*, **39**, 5983-5990 (2019)].

マウス膠芽腫幹細胞モデルを用いたアセトゲニン誘導体 JCI-20679 の抗腫瘍メカニズムの解析とテモゾロミド併用効果の解析



臨床腫瘍学分野
中田 晋
薬品製造学分野
小島 直人

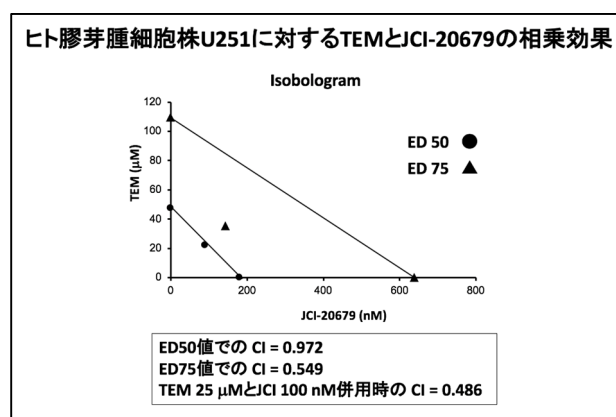
悪性脳腫瘍の一種、膠芽腫の予後は極めて不良であり、既存の治療に対して高い抵抗性を示す。膠芽腫に対する薬物療法は、アルキル化剤テモゾロミドが 2006 年前後に登場して以来大きな進歩がみられず、膠芽腫細胞のテモゾロミド耐性の克服は大きな課題である。一方、薬品製造学分野では、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるアセトゲニン類と呼ばれるポリケチドに着目し、抗癌剤開発を目指した構造活性相関研究を推進してきた。これまでに天然物アセトゲニンの一種である solamin の分子末端に存在する γ -ラクトン環をチオフェン環に変換し、アミド結合で連結した誘導体 JCI-20679 は、ミトコンドリア複合体 I の阻害活性を有し、高い抗腫瘍活性を示すことを見出している。前年度までに、アセトゲニン誘導体 JCI-20679 が、マウス膠芽腫幹細胞の増殖を顕著に抑制し、AMPK の活性化を誘導すること、NFAT の発現を減少させることを明らかにしてきた。



そこで、本年度では、NFAT の減少の生物学的意義を検証するために、安定的な NFAT 強制発現細胞を樹立し、JCI-20679 の効果を解析したところ、

有意な回復がみられることを明らかにした。これらの結果は、JCI-20679 の作用機序の一部に NFAT 減少が寄与していることを示している。

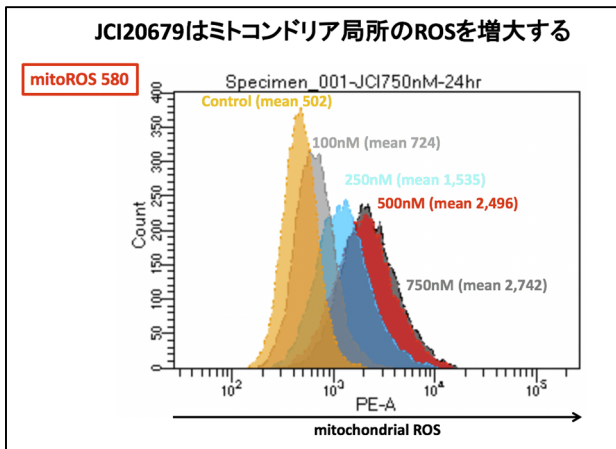
また、JCI-20679 のテモゾロミドの効果増強を評価するために、ヒト膠芽腫培養細胞株を用いて検討したところ、テモゾロミド単剤では有意な増殖抑制効果を示さない低濃度での併用において、JCI-20679 は増殖抑制効果を増強することをみいだした。特に、ヒト膠芽腫培養細胞株 U251 細胞を用いた検討では、Isobologram および Combination Index 法を用いて統計学的に有意なテモゾロミドと JCI-20679 の相乗的効果増強作用が検出された。



JCI-20679 の合成には、総行程 23 ステップを要し収率も低く、生体に投与することを想定した場合、大量合成が容易でないという欠点がある。そこで本研究では、JCI-20679 をリード化合物として構造の簡略化を達成し、高い効率で合成が可能となった新規誘導体 NK119~NK129 の活性を、ヒト大腸癌 SW-48 細胞を用いて評価した。その結果、膠芽腫細胞を用いた検討と合致し、NK-128 が高い抗増殖活性を発揮することを見いだした。ヒト大腸癌 SW-48 細胞の BrdU 取り込みで評価した結果、NK-128 は細胞周期進行を阻害していることを確認した。さらに、細胞内 ATP 量の減少と、細胞内 AMP 量の増加、および、細胞内 AMP/ATP 比の増加を惹起し、AMPK の活性化型リン酸化体が増加することを確認した。また細胞内 NAD⁺/NADH 比を低下させることを見いだした。これらの結果は、NK-128 が JCI-20679 と同様に、ミトコンドリア酸化的リン酸化を阻害していることと合致していた。

さらに、JCI-20679 がミトコンドリアにおける

スーパーオキシドを増加させることを確認し、ミトコンドリア電子伝達系の阻害が起こっていることが示唆された。



そこで、当該年度では、ヒト大腸癌 SW-48 細胞の担癌マウスモデルを作成し、新規化合物 NK-128 の抗腫瘍効果について検証した。その結果、NK-128 の腹腔内投与による有意な抗腫瘍効果を確認した。また、統計学的な有意差を伴わない軽度の体重減少傾向を認めたと、その他明らかな副作用は認めず、安全にマウスへの投与が可能であることを確認した。現在、当該化合物の特許出願の準備中である。

複素環構造を有する阻害剤候補化合物の設計と合成



共同利用機器センター
服部 恭尚

1. Wnt/ β -カテニン経路阻害剤の開発

Wnt シグナルは初期発生における体軸形成や細胞の分化のみならず、発がんの過程においても重要な役割を担っている。本研究の対象である Wnt/ β -カテニン経路は様々な生物種に高度に保存されているシグナル伝達経路 Wnt シグナルの一つであり、大腸がんなどで異常亢進していること

が知られている。従って、Wnt/ β -カテニン経路を選択的に阻害する化合物は、新たながん治療薬のリード化合物となりうる。

これまで、米国で臨床試験が進められている ICG-001 との構造類似性を指標に設計と合成を行った含窒素複素環化合物を共同研究先である病態生理学分野にて培養細胞を用いたルシフェラーゼアッセイシステムを用いてスクリーニングしていただいた。その結果、中程度の阻害活性を示す阻害剤候補化合物#37 と#41 を見出した。

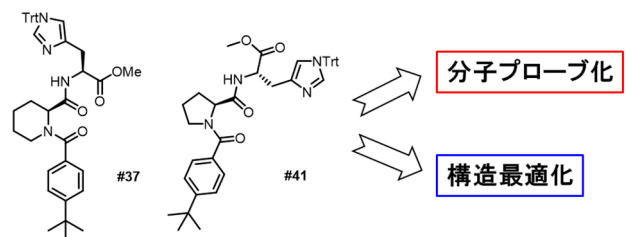


図 1：本研究テーマの概略図

これらの化合物(#37 と#41) のヒスチジン部分を変換することにより、さらなる構造活性相関研究を展開した。しかしながら、#37 と#41 を上回る活性化化合物を得ることはできなかった。一方、#37 と#41 を分子プローブ化し、標的分子の探索を行うことは成功した(図 1)。(病態生理学分野 芦原英司博士、薬品化学分野 赤路健一博士との共同研究)

2. SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の開発

重症呼吸器症候群 (Severe Acute Respiratory Syndrome: SARS) は新種のコロナウイルスを発症の原因とする致死率 10%程度の呼吸器疾患である。最近、中東での SARS 様ウイルスが原因の感染症 (Middle East Respiratory Syndrome: MERS) も報告されている。さらに直近では、中国で新たなコロナウイルスを原因とする肺炎が報道された。SARS コロナウイルスの増殖に必須の SARS 3CL プロテアーゼに対する阻害剤は抗 SARS 薬となりうると思われる。

既に報告したペプチドアルデヒド型阻害剤 1 を基にデカヒドロイソキノリン型阻害剤 2 の設計と合成、阻害活性評価を行った。しかしながら、本阻害剤 2 は 1 よりも大幅に活性が減弱しており、共結晶構造解析からその原因はアミド置換基が

酵素の外側に出ていたためと考えられた。そこで、環上に新たな相互作用基を導入した新規阻害剤 3 の設計と合成を行うこととした (図 2)。

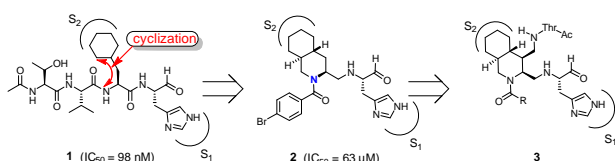


図 2 : デカヒドロイソキノリン型阻害剤 3 の設計
今後、上記化合物 3 の合成と阻害活性評価を行い、SARS 治療薬へ展開したいと考えている。(薬品化学分野 赤路健一博士、小林数也博士との共同研究)

相互作用解析に基づくペプチド性及び低分子 BACE1 阻害剤の開発研究



薬品化学分野
小林数也

アルツハイマー病 (AD) は神経変性疾患の一種であり、アミロイドβペプチド(Aβ)

の凝集・蓄積によって引き起こされると考えられている。β-セクレターゼ (BACE1) は Aβ 産生の第一段階に関わっている酵素であり、AD に対する有力な治療標的として期待されていることから、我々は BACE1 を標的としたペプチド性及び低分子型の阻害剤開発研究を行っている。

(1) ペプチド性 BACE1 阻害剤

我々は、独自に見出した BACE1 に対する高親和配列とヒドロキシエチルアミン (HEA) 構造を組み合わせた BACE1 阻害剤の構造活性相関研究を進めてきた。現在我々は、これまでに得られた HEA 型阻害剤と BACE1 との複合体の X 線結晶構造解析から、(a) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入と、(b) P1' 位芳香環への官能基の導入、という 2 つの構造展開戦略を考案し、更なる活性の向上を目的と

して、最適構造の探索を行っている。

(1-a) P1-P3 側鎖間への架橋構造の導入

昨年度我々は、P2 位にノルバリンを有する阻害剤 1 を親化合物として、12~15 員環の環状阻害剤 2 を合成することに成功し、合成した誘導体の阻害活性評価を行った。しかし、残念ながらその活性は親化合物から大きく低下してしまい、単純な直鎖架橋構造の導入では活性が減弱してしまうことが明らかとなった (図 1-a)。我々は、直鎖構造では十分に S1, S3 ポケットを占有できていないことが、活性低下の原因と推測し、よりかさ高い疎水性基としてベンゼン環を含んだ新規架橋型 BACE1 阻害剤 3 の合成を行うこととした (図 1-b)。

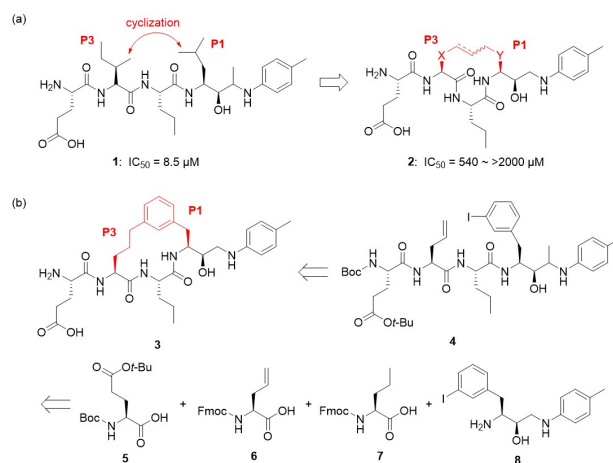


図 1 : (a) 直鎖環状阻害剤の構造、(b) アリール型環状阻害剤の逆合成解析

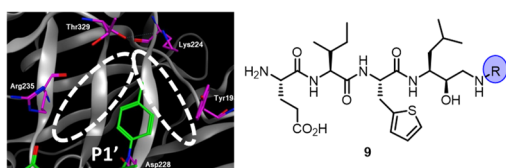
架橋部の構築には Heck 反応を用いることとし、本反応に必要なとなる *m*-ヨードフェニルアラニン由来の P1 フラグメント 8 の合成を行った。8 の合成は、既知の *m*-ヨードフェニルアラニン誘導体の合成法とこれまでに確立している P1 フラグメント合成法を組み合わせることで達成した。得られた 8 を環化前駆体 4 へと誘導後、Heck 反応・脱保護・還元を行い、目的化合物と同一質量を有する化合物 3 を得ることができた。

環化体 3 の BACE1 阻害活性を評価したところ、 $IC_{50} = 215 \mu M$ とこれまでに合成した環状阻害剤において最も高い阻害活性を示した。ベンゼン環の架橋部への導入により、期待通り活性の向上が

確認できたことから、今後は本架橋構造を基盤に更なる構造活性相関研究を進めていく予定である。

(1-b) P1' 位芳香環への官能基の導入

これまでに確立した合成法に基づいて種々P1' 誘導体を合成し、活性評価を行った (図 2)。本年度は、パラ位置換基の阻害活性への影響を精査した。これまでの検討においてアルキル基、特に *t*-Bu 基が最も高活性を示したことから (entry 2)、許容される置換基の大きさを調べるため、まずイソブチル基、シクロペンチル基の導入を検討した。しかしながら、いずれも *t*-Bu 基から僅かに活性が低下するのみで大きな変化は認められなかった (entry 3, 4)。このことから P1' 芳香環のパラ位方向には大きな疎水性空間が広がっているが、アルキル鎖を伸ばしても活性に対してプラスの効果は得られないことが示された。



entry	R	IC ₅₀ (μM)	entry	R	IC ₅₀ (μM)
1		12	4		8.6
2		3.2	5		45
3		6.8	6		0.58

図 2 : P1' 誘導体の BACE1 阻害活性評価

一方、これまでの検討においてカルボン酸を導入した誘導体では活性の大幅な低下が確認されていたが (entry 5)、カルボン酸とベンゼン環との間にメチレンを導入した entry 6 では活性の大幅な向上が認められた。メチレンを導入したことにより、P1' ポケットを構成する Lys224 残基と相互作用可能な位置にカルボン酸を配置することができたことが、活性向上の理由だと推定している。今後は、得られた知見に基づいて更なる構造活性相関研究を行い、より強力な BACE1 阻害剤の開発を目指していく。

(2) 低分子 BACE1 阻害剤

低分子 BACE1 阻害剤開発研究においては、FBDD (Fragment Based Drug Design) から見出された構造モチーフ 10 が有用なファーマコフォアとして注目されており、これまでに本骨格を有する阻害剤が数多く報告されている。我々は、本骨格から着想を得て、環構造の外側にアミジノ基を配置した *N*-アミジノ含窒素環状骨格 11 を考案した。本研究では、5 員環骨格を有する *N*-アミジノピロリジン 12 について、種々置換基を有する誘導体の合成と活性評価を行っている。

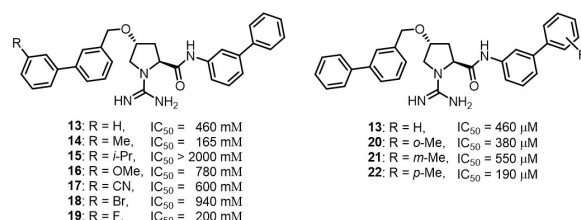
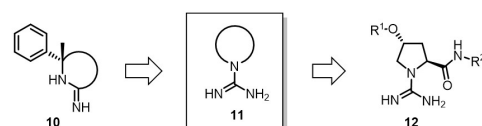


図 3 : *N*-アミジノピロリジン型阻害剤の構造と阻害活性評価

・*N*-アミジノピロリジン型阻害剤

昨年度、誘導体 13 (IC₅₀ = 460 μM) を基盤に R¹ 基に関する構造活性相関研究を行った結果、末端ベンゼン環のメタ位にメチル基を導入することで活性が 3 倍程度向上することが明らかとなった (化合物 14)。今年度は、メタ位置換基に関する更なる検討と、R² 基に関する構造活性相関研究を行った。

R¹ 末端ベンゼン環のメタ位にイソプロピル基を導入したところ活性の大幅な低下が認められたため (化合物 15)、立体的に小さな置換基を種々検討したがいずれの場合もメチル基を超える活性は示さなかった。本検討から、R¹ 末端ベンゼン環の周辺には空間的な余裕がほとんど存在しないことが示唆された。

続いて、R² 末端ベンゼン環の置換基について検討を行った。オルト、メタ、パラ位のそれぞれにメチル基を導入したところ、パラ位に導入した場合に親化合物 13 から 3 倍程度の活性の向上が確

認められた (化合物 22)。今後は、パラ位に置換位置を固定し、最適な置換基構造の探索を行っていく予定である。

天然薬物を素材とした含硫黄、含窒素機能性化合物の開発研究



生薬学分野 中村誠宏

我々は、和漢生薬を中心とした天然伝承薬物を素材とし、特にがん転移抑制および神経変性疾患予防作用を有する含窒素、含硫黄含有成分の探索を進めている。これまでに、1) アリウム (ネギ) 属植物葉部 [①ネギ (九条ネギ, *Allium fistulosum* 'Kujou') ②ニンニク (*A. sativum*) ③アサツキ (*A. schoenoprasum* var. *foliosum*) および ④ニラ (*A. tuberosum*)] 2) カバノアナタケ (*Inonotus obliquus*) 菌核、3) クロタネソウ (*Nigella damascena*) 種子 4) 川骨ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*) 根茎 5) トウダイグサ科ヤマアイ (*Mercurialis leiocarpa*) 地上部を用い含有成分の探索およびそれらの生物活性評価を進めてきた。

その結果、アリウム (ネギ) 属植物葉部から稀有なテトラヒドロジフロフラン骨格およびテトラヒドロチオフェン骨格を有する環状硫黄化合物を、カバノアナタケ菌核からがん細胞の浸潤抑制作用を有するトリテルペン類などを、クロタネソウ種子からは、oxazonigelladine と命名したイソキサゾリジノン誘導体や damasterpene 類と命名したドラベラン型ジテルペン類を、ネムロコウホネ (*Nuphar pumilum*) 根茎から 6-hydroxythiobinupharidine などのチオヘミアミナル型アルカロイドなどを、トウダイグサ科ヤマアイ地上部から非対称ジピロール構造を有した稀有な化学構造を有する leiocarpanine A などを見出すことができた。本年度は、①ニンニクなどのアリウム (ネギ) 属植物から得られる主要な含硫黄化合物である allicin 類を用い、抗がん

作用等の生物活性が期待される含硫黄化合物の開発および②ヤマアイ地上部から得られるジピロール leiocarpanine A およびその誘導体の合成を進めた。

1. アリウム (ネギ) 属植物由来含硫黄化合物 allicin 類を用いた機能性化合物の構築

ニンニクに代表されるアリウム属植物は、古くから食品としてだけでなく疾病治療を目的として用いられてきた。アリウム属植物は、alliin や isoalliin などの含硫黄アミノ酸 [システインスルホキシド] を有しており、それらの成分は植物組織が破壊されると、別の細胞に貯蔵されていたアリイナーゼなどの分解酵素により allicin 類へと変換され、続く多段階の化学反応や酵素反応を介して ajoene などのスルフィド類へと誘導されることが報告されている。Ajoene は、これまでに有意ながん細胞増殖抑制作用を有することが知られており、抗がん医薬品シーズとして注目されている化合物である。我々は allicin より誘導される含硫黄化合物が抗がん医薬品シーズとして有用であると考え、ニンニクから得られる allicin 類を用い含硫黄化合物の開発を行った。すなわち、ニンニク (*A. sativum*) を素材とし用い、得られる粗 allicin 分画に Danishefsky's diene や Rawal's diene などのシリルエノールエーテルを反応試薬として加え、Diels-Alder 反応および Mukaiyama aldol 反応を誘導し、含硫黄化合物の構築を試みた。その結果、系内で allicin から生成する thioacrolein や allylthiol と活性ジエンが反応し、多様な天然型鎖状および環状含硫黄、含窒素化合物を合成することができた。

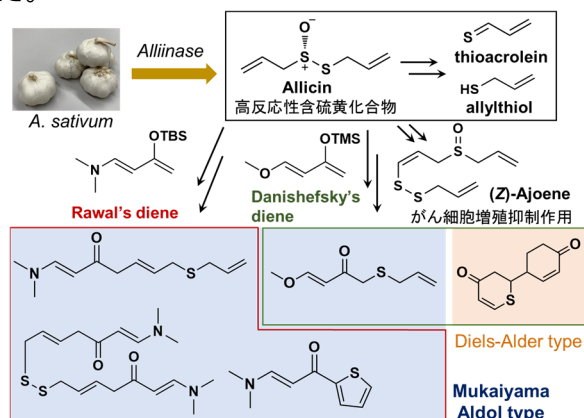


図1 allicin 類を用いた機能性化合物の構築

2. ヤマアイ地上部の単離成分の生成過程を模倣した含窒素複素環式化合物の合成

染料植物は染料として用いられるばかりでなく、多様な生物活性を有することが知られている。本背景から、我々は染料の薬学的利用を指向し、植物染料であるヤマアイ (*Mercurialis leiocarpa*) に着目した。すなわち、ヤマアイは、日本各地に自生しているトウダイグサ科の多年草であり、日本において古くから青色染料として利用されてきた。我々は、京都府産（京都薬科大学薬用植物園）ヤマアイの地上部を素材として用い、その含有成分の探索を進めたところ leiocarpanine A (1) と命名した非対称ジピロール および ピロールジオン二量体 isochrysohermidine を見出した。化合物 1 は、抽出過程において hermidin の空気酸化により生じるラジカル中間体等を経由し、続くラジカル付加反応により生成すると考察された。そこで、アルカロイド成分 1 の合成を、生成過程を考察することで進めた。その結果、4-methoxy-1-methylpyridine-2,6-dione (2) を出発原料としラジカル中間体を経由する事により 1 の合成に成功した。今回、分液操作のみで出発原料 2 から leiocarpanine A (1) を含有した分画を得ることで、カラムクロマトグラフィーによる精製過程は最終工程のみで非対称ジピロール誘導体 1 を簡便に合成することが可能となった。さらに、同合成方法を応用し、数種の誘導体を合成することができた。

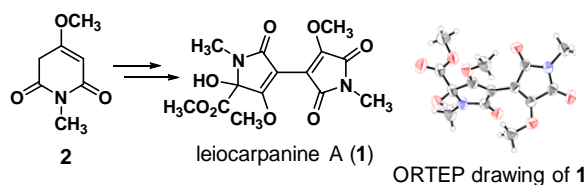


図2 leiocarpanine A (1) の化学構造

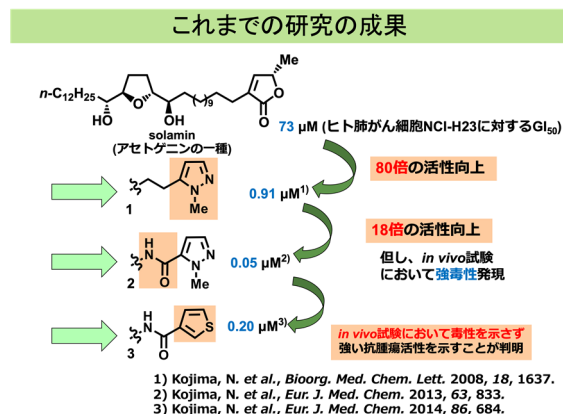
以上、天然物含有成分を基盤とし、多様な含窒素あるいは含硫黄化合物を合成することができた。今後、得られた化合物の詳細な生物活性評価を行う予定である。

電子求引性基を導入したアセトゲニンチオフェン誘導体の合成と活性評価



薬品製造学分野 小島直人

我々の研究グループでは、熱帯・亜熱帯に生息するバンレイシ科植物から単離されるポリケチドであるアセトゲニン類をリードとする新規抗腫瘍活性物質の創製研究を展開している。アセトゲニン類は長鎖アルキル鎖の中央付近に 2,5-二置換のテトラヒドロフラン (THF) 環、末端に γ -ラクトン環を持つ構造的特徴を有しており、強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことが知られている。我々は、 γ -ラクトン環部分を改変した種々の誘導体合成を展開した結果、それらが興味深い生物活性を示すことを明らかにしてきた。例えば、*N*-メチルピラゾール環を炭素-炭素結合で結合させた誘導体 1 はヒト肺がん細胞 NCI-H23 に対して、天然物 solamin の約 80 倍もの強い増殖抑制活性を示すことを見出している。また、複素環連結部位の結合様式は活性に大きく影響し、アミド結合で連結した誘導体 2 は更に 18 倍の非常に強力なヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことを見出した。しかしながら、2 の *in vivo* 試験を実施した結果、マウスに対する毒性が非常に強く、10 mg/kg 以上の投与では毒性死が観察され、5 mg/kg の投与では有意な抗腫瘍活性を認めなかった。

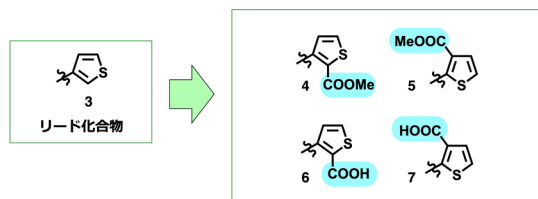
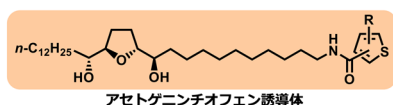


そこで更なる構造活性相関研究を展開した結果、チオフェン環をアミド結合で連結させた誘導体 **3** が、強いヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことを明らかにした。また、**3** の *in vivo* 試験を実施した結果、**3** は 100 mg/kg の投与でも急性毒性を示さず、がん細胞の増殖をほぼ完全に抑制することを見出した。

より高機能な誘導体の創成を目指して、チオフェン環上に種々の置換基を持つ誘導体の合成を行った。その結果、そのほとんどは大幅な活性減弱を示したが、ニトロ基を導入した誘導体のみが **3** より強力な活性を示すことが明らかになった。そこで、今回、チオフェン環上に電子求引性基を有する誘導体を合成し、その活性評価を行うことにした。

後の誘導体展開を考慮し、電子求引性基としてメチルエステル基を持つ誘導体の合成を計画し、そこから誘導できるカルボキシル基を持つ誘導体についても合わせて検討することにした。

今回の研究の目的



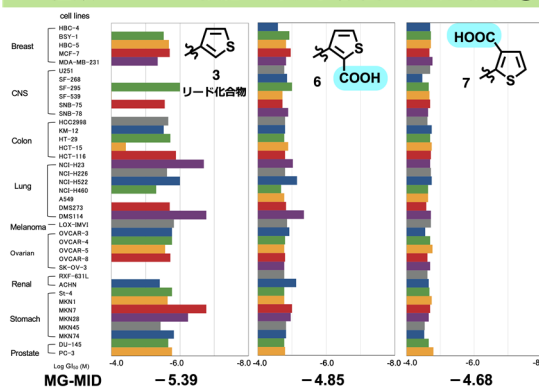
電子求引性基を有する誘導体を合成し、活性を評価

まず、文献既知の手法を参考に、置換位置の異なる2種のメチルエステル基を持つチオフェンカルボン酸を合成し、それを **3** の合成中間体と脱水縮合させることにより、目的のメチルエステル基を持つチオフェン誘導体 **4-5** を合成した。また、それらをアルカリ加水分解することにより対応するカルボキシル基を持つ誘導体 **6-7** へと変換し、計4種の電子求引性基を持つ新規誘導体を合成することに成功した。

合成した4種の誘導体について、39種類のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性の評価を行った。

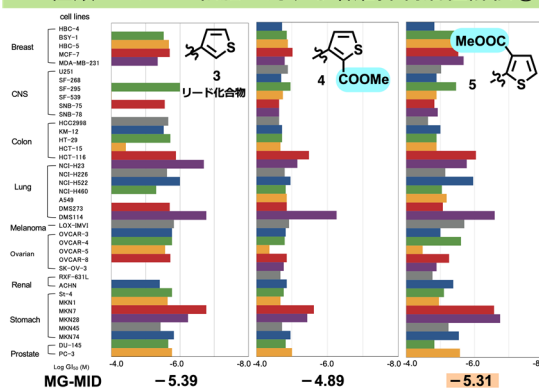
まず、カルボキシル基を持つ誘導体 **6-7** の評価を行ったところ、その置換位置に関わらず、今回評価した全てのヒトがん細胞に対して活性は示すものの、リード化合物 **3** と比較して約10倍弱いことが明らかになった。

39種類のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性評価①



次にメチルエステル基を導入した誘導体の評価を行ったところ、2位にメチルエステル基を持つ3-カルボキサミド誘導体 **4** の活性は低かったが、3位にメチルエステル基を持つ2-カルボキサミド誘導体 **5** はリード化合物 **3** と同等の強いヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことが明らかになった。

39種類のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性評価②



今後、他のエステル基を含む種々の電子求引性基を持つ誘導体を合成し、構造活性相関を明らかにしていく予定である。

リガンド誘導体を用いた肺癌病理切片上の標的受容体発現解析



共同利用機器センター
長谷川功紀

薬剤治療標的として着目する受容体分子の存在を細胞や組織中から検出・可視化することは薬剤の効果予測に重要な意義を有する。従来、抗体を利用する、Western blot 法や免疫組織化学染色法での検出が多用されてきた。しかし、細胞膜上に存在する受容体は疎水性で単離が難しく、その抗体作製は困難を極める。そこで我々は受容体がリガンド薬剤と結合する性質を利用し、リガンド誘導体を用いて受容体を検出・可視化する Western ligand blot (WLB) 法とリガンド誘導体染色 (LDS) 法を開発してきた。

近年、非小細胞肺癌においてエストロゲン受容体の発現が報告され、その治療標的としての有用性が高まってきている。そこで我々は、エストロゲン受容体のリガンドであるタモキシフェンを誘導体化し、WLB 法と LDS 法を検討してきた。今までの研究において、変性条件を経たサンプルにおいてもタモキシフェン誘導体を用いて細胞膜上に存在する G タンパク質共役型エストロゲン受容体 (GPER) が検出できることを明らかにした (図 1)。そこで今回、非小細胞肺癌である肺扁平上皮癌および肺腺癌の病理切片を 15 症例ずつ用いて、その染色率を検討した。

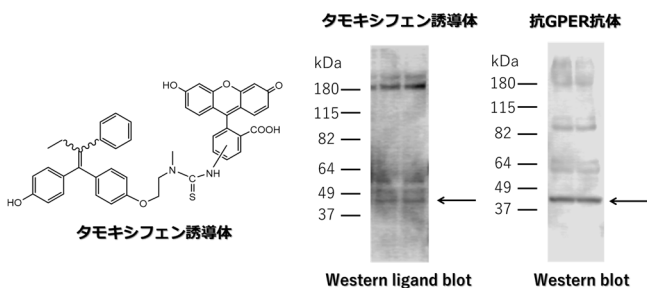


図 1 タモキシフェン誘導体の構造と WLB

病理検体として、肺扁平上皮癌および肺腺癌のホルマリン固定パラフィン包埋切片を 15 症例ずつ共同研究先の熊本大学機能病理学分野から供与していただいた。病理切片は、キシレンを用いて脱パラフィンを行い、エタノール水溶液にて徐々に水和した。ブロッキング後にタモキシフェン誘導体と反応させた。反応後は洗浄を行い、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) 標識抗フルオレセイン抗体を反応させた後にフルオレセイン標識チラミドを用いた増感反応を行った。再び HRP 標識抗フルオレセイン抗体を反応させ、基質にジアミノベンジジンを用いた発色を行い、可視化を行った。その結果、肺扁平上皮癌では 13/15 例 (陽性率: 87%)、肺腺癌では 10/15 例 (陽性率: 67%) で GPER 陽性であることが判った (図 2)。

以上の結果、抗体の代わりにタモキシフェン誘導体を用い、病理組織切片上の GPER 検出法を開発することができた。また本法を利用し、肺扁平上皮癌および肺腺癌の GPER 陽性率を評価し、高率で発現することが判った。本法を利用すれば、タモキシフェンが効果を発揮する癌の同定が可能となる。

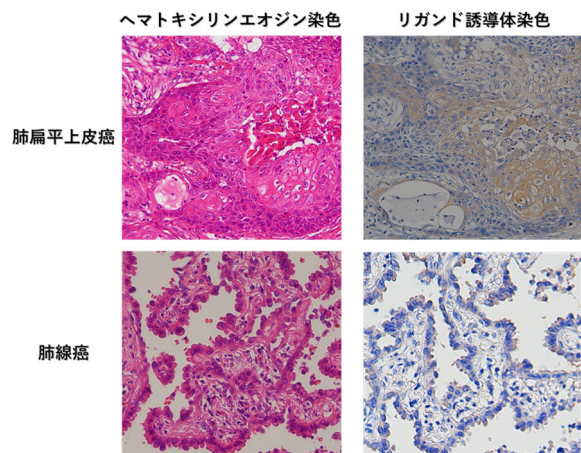


図 2 肺扁平上皮癌および肺腺癌の病理組織切片を用いたヘマトキシリンエオジン染色とタモキシフェンによるリガンド誘導体染色

～おわりに～



薬品化学分野
赤路健一
(合成・相互作用解析グループ)

本ニュースレターでは、これまで京都薬科大学で進めてきた私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」の成果を取りまとめて紹介させていただいております。本事業の最も大きな課題は、研究代表者である芦原教授が本ニュースレター冒頭に書かれているように、京都薬科大学の若手研究者が分野横断的にチームを組み新たな治療薬創製に向けた研究を展開できる基盤を形成することでありました。本ニュースレターのそれぞれの研究グループの報告にありますように、この新しい研究の枠組みが機能し始めるようになり、大学発創薬の芽がいくつか育ち始めております。まだまだ小さな芽ではありますが単独の研究グループからは出てこなかったであろう芽であり、支援事業で進めてきました研究者間の率直な意見交換が大きく貢献した成果の一つであると考えております。当初の研究期間である5年を経ての一定の成果であるとは考えておりますが、本来の事業目的達成にはまだまだ長い道のりが必要です。

大学での研究が創薬にどこまでコミットできるか、は教育・研究を使命とする大学にとって極めて大きな課題であります。本事業で本学がいただいたこれまでの支援で形成してきた共同研究体制やその研究成果により、今後の新たな研究展開を可能にする基盤形成が可能になったという共通認識が形成されました。支援事業終了とともに研究体制が解体されるわけでは決してありません。本事業で可能になった新たな共同研究体制を発展させ、これまでに得られた成果をさらに広げることによってどこまで大学発創薬の道筋を付けられるか、がこれからの大きな課題であります。本

事業に参画したそれぞれの研究者に対するのみならず、京都薬科大学の教育・研究活動への皆様のご支援を引き続き賜ります様なにとぞよろしくお願い申し上げます。

～2019年度業績～

著書

1. Yusuke Yagi, Hidekazu Kawashima, Kenji Arimitsu, Koki Hasegawa, Hiroyuki Kimura: Chapter 6. Single-Photon Emission Computed Tomographic Imaging in Live Animals., Handbook of In Vivo Chemistry in Mice From Lab to Living System., Katsunori Tanaka, Kenward Vong (Editor), pp.151-184, Wiley-VCH (2020)
2. Koki Hasegawa, Hidekazu Kawashima, Yusuke Yagi, Hiroyuki Kimura: Chapter 7. Radiotherapeutic Applications., Handbook of In Vivo Chemistry in Mice From Lab to Living System., Katsunori Tanaka, Kenward Vong (Editor), pp.185-208, Wiley-VCH (2020)

和文総説

1. 矢野恒夫、長谷川功紀、角永悠一郎、樺山一哉、小田敬、上野悟史、蜂須賀暁子、平林容子、深瀬浩一: アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察 (その 3). 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 50(12), 749-763 (2019).

英文原著

1. Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Atsuko Fujiwara, Fumiya Hongo, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Preclinical orthotopic xenograft model of renal pelvis cancer in which cancer growth could be traced by In vivo Imaging System. Int. J. Urol., 26, 138-139 (2019).
2. Yuki Toda, Ryosuke Yoshimura, Masao Itahara, Yuri Imai, Kanae Yamada, Tomoko Uno, Susumu Nakata, Shigekuni Hosogi, Kazuyuki Takata, Eishi Ashihara: DJ-1 contributes to self-renewal of stem cells in the U87-MG glioblastoma cell line. Anticancer Res., 39, 5983-5990 (2019).
3. Masato Yoshizawa, Seikou Nakamura, Yuki Sugiyama, Shiori Tamai, Yukiko Ishida, Mari Sueyoshi, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Yoshitaka Yano Eishi Ashihara: 6-Hydroxythiobinupharidine inhibits migration of LM8 osteosarcoma cells by decreasing expression of LIM domain kinase 1. Anticancer Res., 39, 6507-6513 (2019).

4. Eriko Kuroda, Kazuyuki Takata, Kaneyasu Nishimura, Hikaru Oka, Mari Sueyoshi, Mayu Aitani, Atsushi Kouda, Shiho Satake, Chiaki Shima, Yuki Toda, Susumu Nakata, Yoshihisa Kitamura, Eishi Ashihara: Peripheral blood-derived microglia-like cells decrease A β burden and ameliorate cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.*, 73, 413-429 (2020).
 5. Hiroko Takagi, Hiromi Ii, Susumu Kageyama, Eiki Hanada, Keiko Taniguchi, Taku Yoshiya, Tokuhiko Chano, Akihiro Kawauchi, and Susumu Nakata: Blockade of γ -glutamylcyclotransferase enhances docetaxel growth inhibition of prostate cancer cells. *Anticancer Research*, 39, 4811-4816 (2019).
 6. Keiko Taniguchi, Hiromi Ii, Susumu Kageyama, Hiroko Takagi, Tokuhiko Chano, Akihiro Kawauchi, and Susumu Nakata: Depletion of γ -glutamylcyclotransferase inhibits cancer cell growth by activating the AMPK-FOXO3a-p21 axis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 517, 238-243 (2019).
 7. Eiki Hanada, Susumu Kageyama, Ryosuke Murai, Shigehisa Kubota, Hiromi Ii, Susumu Nakata, Hiroko Kita, Akihiro Kawauchi, and Tokuhiko Chano: Pro-GA, a novel inhibitor of γ -glutamylcyclotransferase, suppresses human bladder cancer cell growth. *Anticancer Res.*, 39, 1893-1898 (2019).
 8. Susumu Nakata, Mitsugu Fujita, and Hayao Nakanishi: Efficacy of afatinib and lapatinib against HER2 gene-amplified trastuzumab-sensitive and -resistant human gastric cancer cells. *Anticancer Res.*, 39, 5927-5932 (2019).
 9. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Yoshika Kyoku, Souichi Nakashima, Taichi Yoneda, Hisashi Matsuda. Cyclic sulfur metabolites from *Allium schoenoprasum* var. *foliosum*. *Phytochemistry Lett.*, 29, 125-128 (2019).
 10. Masashi Fukaya, Seikou Nakamura, Ryota Nakagawa, Manami Kinka, Souichi Nakashima, Hisashi Matsuda. Cyclic sulfur-containing compounds from *Allium fistulosum* 'Kujou'. *J. Nat. Med.*, 73, 397-403 (2019).
 11. Weicheng Wang, Yi Zhang, Souichi Nakashima, Seikou Nakamura, Tao Wang, Masayuki Yoshikawa, Hisashi Matsuda. Inhibition of melanin production by anthracenone dimer glycosides isolated from *Cassia auriculata* seeds. *J. Nat. Med.*, 73, 439-449 (2019).
 12. Weicheng Wang, Souichi Nakashima, Seikou Nakamura, Yoshimi Oda, Hisashi Matsuda: Anti-proliferative effect of auriculataoside A on B16 melanoma 4A5 cells by suppression of Cdc42-Rac1-RhoA signaling protein levels. *J. Nat. Med.*, 73, 450-455 (2019).
 13. Takashi Ohgita, Yuki Takechi-Haraya, Ryo Nadai, Mana Kotani, Yuki Tamura, Karin Nishikiori, Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura, Koki Hasegawa, Kumiko Sakai-Kato, Kenichi Akaji, Hiroyuki Saito: A novel amphipathic cell-penetrating peptide based on the N-terminal glycosaminoglycan binding region of human apolipoprotein E. *Biochim. Biophys. Acta. Biomembr.*, 1861, 541-549 (2019).
- 和文原著
1. 福島和人、高野祥子、長谷川功紀、野上 宗伸、日向信之、樋口 隆弘: 国内未承認 RI 内用療法に関する海外動向ならびに国内導入に向けた臨床サイドから見たニーズ・問題点に関する調査研究. *核医学*. 56, 77-79 (2019)
- 学会発表
国際学会
1. Sayaka Nakayama, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Eishi Ashihara: Increased exosome secretion is essential for myeloma stem cells to survive in hypoxic condition. the 8th Congress of the International Society for Extracellular Vesicles, Kyoto, Japan, 2019.4.
 2. Yuki Toda, Saeka Ukai, Akari Kobayashi, Shin-ya Morita, Eishi Ashihara: Exosomal lipids applicable to cancer targeting. the 8th Congress of the International Society for Extracellular Vesicles, Kyoto, Japan, 2019.4.
 3. Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Atsuko Fujihara, Fumiya Hongo, Osamu Ukimura, Eishi Ashihara: Standard anticancer agents increase the cytotoxicity of human V γ 9V δ 2T cell via upregulation of NKG2D ligands in bladder cancer cells. American Urological Association Annual Meeting, Chicago, USA, 2019.5.
 4. Mako Tomogane, Teruki Shimizu, Masatsugu Miyashita, Yusuke Sano, Daiki Shimizu, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Eishi Ashihara: The relationship between anti-tumor activity of $\gamma\delta$ T cells and PD-1/PD-L1 axis for $\gamma\delta$ T cell immunotherapy. WIN 2019 Symposium, Paris, France, 2019.6.
 5. Kazuyuki Takata, Eriko Kuroda, Shohei Kawanishi, Fumitaka Ueno, Kaneyasu Nishimura, Yuki Toda, Yoshihisa Kitamura, Shun Shimohama, Eishi Ashihara: Promotion of microglial A β phagocytosis by TGF- β 1 secreted from mouse bone marrow-derived

- cells. NEURO2019, Niigata, Japan, 2019.7.
6. Emi Soma, Yuki Toda, Shigekuni Hosogi, Asako Yamayoshi, Eishi Ashihara: Development of exosome-capturing antibody-conjugated nucleic acid medicines targeting multiple myeloma cells. The 61st Annual Meeting of the American Society of Hematology, Orlando, USA, 2019.12. (ASH Abstract Achievement Award 受賞)
 7. Takuya Matsumoto, Akinobu Akatsuka, Shingo Dan, Takao Yamori, Hiroki Iwasaki, Masayuki Yamashita, Naoto Kojima: Convergent Synthesis and Growth Inhibitory Activity Evaluation of Stereoisomers around THF Ring of Acetogenin Thiophene Analogues. 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress, Kyoto, Japan, 2019.9.
- 国内学会
1. 戸田侑紀: DJ-1 により制御される膠芽腫の幹細胞性. KYOTO BASIC SCIENCE FORUM (京都), 2019.4.
 2. Yuki Toda, Sayaka Nakayama, Shigekuni Hosogi, Eishi Ashihara: Increased exosome secretion is a way of hypoxic adaptation in multiple myeloma cells. The 44th Annual Meeting of the Japanese Society of Myeloma (Nagoya), 2019.5. (優秀ポスター受賞)
 3. 杉山雄輝, 戸田侑紀, 細木誠之, 芦原英司: クマリン化合物を基礎としたがん転移抑制薬の創製. 第 23 回日本がん分子標的治療学会学術集会 (大阪), 2019.6.
 4. 杉山雄輝, 山下正行, 中村誠宏, 長谷川功紀, 西口大生, 笠原愛実, 吉澤正人, 戸田侑紀, 細木誠之, 芦原英司: Coumarin-based compounds inhibit migration and invasion of murine osteosarcoma LM-8 cells. 第 28 回日本がん転移学会学術集会・総会 (鹿児島), 2019.7.
 5. 高田和幸, 黒田絵莉子, 河西翔平, 末吉真梨, 植野文貴, 西村周泰, 戸田侑紀, 北村佳久, 下濱俊, 芦原英司: 骨髄造血幹細胞由来マイクログリア様細胞から分泌される TGF- β 1 による内在性マイクログリアの A β 食の促進. 生体機能と創薬シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.
 6. 戸田侑紀, 中山紗矢香, 細木誠之, 芦原英司: 低酸素環境適応における多発性骨髄腫細胞が分泌するエクソソームの役割. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.
 7. 清水大器, 友金眞光, 宮下雅亜, 清水輝記, 佐野友亮, 戸田侑紀, 細木誠之, 田中義正, 芦原英司: プロドラッグ化ビスホスホネート PTA が $\gamma\delta$ T 細胞の増幅を促進し, 非小細胞肺癌細胞に対する抗腫瘍効果を増強する. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.
 8. 上南静佳, 今吉菜月, 甘利圭悟, 戸田侑紀, 細木誠之, 今村俊彦, 芦原英司: MLL 関連白血病に対する新規 BET 阻害剤 CG14223 の抗腫瘍効果と新規併用療法の探索. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.
 9. 松井透磨, 戸田侑紀, 沢田瑛子, 浅山菜々子, 板原多勇, 中井亮太, 横川碧, 細木誠之, 芦原英司: 前転移ニッチにおける骨髄系細胞の動員は乳酸アシドーシスを引き起こす. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.
 10. 植野文貴, 高田和幸, 黒田絵莉子, 河西翔平, 末吉真梨, 西村周泰, 戸田侑紀, 北村佳久, 下濱俊, 芦原英司: アルツハイマー病細胞治療戦略の開発を目指した骨髄由来細胞が分泌する液性因子のマイクログリアへの作用解析. 次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2019 (東京), 2019.8.
 11. 谷口恵香, 飯居宏美, 影山進, 高木寛子, 茂山千愛美, 安藤翔太, 芦原英司, 茶野徳宏, 河内明宏, 中田晋: GGCT の発現低下は AMPK-FOXO3a-p21 経路を介してがん細胞の増殖を抑制する. 第 78 回日本癌学会学術総会 (京都), 2019.9.
 12. 佐野友亮, 友金眞光, 大村真穂, 清水大器, 宮下雅亜, 戸田侑紀, 細木誠之, 芦原英司: 低酸素環境に適応した多発性骨髄腫に対する $\gamma\delta$ T 細胞の抗腫瘍効果. 第 13 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム (岐阜), 2019.10.
 13. 黒田絵莉子, 西村周泰, 中田晋, 戸田侑紀, 北村佳久, 芦原英司, 高田和幸: 末梢血造血幹細胞由来マイクログリア様細胞の機能解析とアルツハイマー病モデルマウスへの移植による治療効果の解析. 第 46 回日本脳科学学会 (滋賀), 2019.11.
 14. 黒田絵莉子, 西村周泰, 戸田侑紀, 芦原英司, 高田和幸: ミクログリアに対する骨髄造血幹細胞由来マイクログリア様細胞から分泌される TGF- β 1 の作用解析. 第 136 回日本薬理学会近畿部会 (大阪), 2019.11.
 15. 中島里奈, 早川詩乃, 飯居宏美, 高木寛子, 谷口恵香, 吉矢拓, 影山進, 中田晋: 新規 GGCT 阻害剤 pro-GA による MCF7 乳がん細胞の CDK 阻害因子 p21 誘導と増殖抑制は N-アセチルシステイン添加により解除される. 第 24 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会 (岐阜), 2019.8.
 16. 飯居宏美, 谷口恵香, 高木寛子, 茂山千愛美, 影山進, 中田晋: GGCT 阻害により誘導される MCF7 がん細胞増殖抑制は, N-アセチルシステイン添加により回復する. 第 78 回日本癌学会

学術総会 (京都), 2019.9.

17. 茂山千愛美、藤田貢、安藤翔太、谷口恵香、飯居宏美、中田晋: Stat5b 阻害は発がんマウスモデル由来膠芽腫幹細胞の増殖を阻害する. 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
18. 谷口恵香、飯居宏美、影山進、高木寛子、安藤翔太、茂山千愛美、芦原英司、中田晋: GGCT 発現低下でがん細胞に誘導されるオートファジーは AMPK を介して調節される. —GGCT 阻害による抗がん効果のメカニズム解明— 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
19. 高木寛子、飯居宏美、影山進、谷口恵香、吉矢拓、中田晋: GGCT 阻害とドセタキセルの併用は前立腺がん細胞に対する増殖抑制を増強する. 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
20. 大西崇広、金谷賢吾、飯居宏美、菅原櫻希子、小川遥香、高木寛子、谷口恵香、吉矢拓、影山進、中田晋: Pro-GA の抗腫瘍効果のメカニズムには細胞周期停止と細胞老化の誘導が関与する. 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
21. 安藤翔太、小島直人、茂山千愛美、藤田貢、谷口恵香、飯居宏美、中田晋: アセトゲニン誘導体 JCI-20679 は膠芽腫細胞の増殖を抑制し NFAT 発現を抑制する. —抗腫瘍性アセトゲニン誘導体化合物の作用機序の解析— 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
22. 遠藤百華、安藤孝太、松田凌平、谷口恵香、飯居宏美、影山進、高木寛子、茂山千愛美、安藤翔太、中田晋: GGCT 発現低下は AMPK-FOXO3a-p21 経路を介して膠芽腫細胞株の増殖を抑制する. —GGCT 阻害による抗がん効果のメカニズム解明— 第 69 回 日本薬学会関西支部総会・大会 (神戸), 2019.10.
23. 宮村美佳、許千春、小林数也、服部恭尚、赤路健一: ヘテロ原子含有アミド置換基を有するデカヒドロイソキノリン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の合成と評価. 第 69 回日本薬学会関西支部総会・大会 (兵庫), 2019.10.
24. 木村明穂、大谷拓也、菊池真理、小林数也、服部恭尚、赤路健一: P1-P3 側鎖間に疎水性架橋構造を導入したペプチド性 BACE1 阻害剤の合成研究. 第 69 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2019.10.
25. 森川夏穂、森岡佑介、安東友繁、小林数也、服部恭尚、赤路健一: EGF レセプターの二量化アーム配列に光官能基を導入した環状ペプチドの評価. 第 69 回日本薬学会近畿支部総会・大会 (兵庫), 2019.10.
26. Takuya Otani, Kazuya Kobayashi, Yasunao Hattori, Kenichi Akaji: Evaluation of the ring size of macrocyclic inhibitors for BACE1. 第 56 回ペプチド討論会 (東京), 2019.10.
27. 吉澤慎一郎、足尾真美、越野裕貴、山中優季、山本侑人、小林数也、服部恭尚、赤路健一: オクタヒドロイソクロメン型 SARS 3CL プロテアーゼ阻害剤の立体選択的合成と阻害活性評価. 第 45 回反応と合成の進歩シンポジウム (岡山), 2019.10.
28. 小林数也、森川夏穂、米田沙也夏、大江保奈美、森岡佑介、細見柁彦、安東友繁、服部恭尚、赤路健一: EGF レセプターの二量化阻害を指向した光反応基含有環状ペプチドの合成と評価. 第 37 回メディスナルケミストリーシンポジウム (東京), 2019.11.
29. 中嶋聡一、岸本真理子、尾田好美、宇野京、田中大輝、里崎久恵、山手直智、中村誠宏、松田久司: 指甲花枝部のがん細胞転移抑制作用と作用ターゲットタンパク質. 第 36 回和漢医薬学会学術大会 (富山), 2019. 8.
30. 矢野真実子、中嶋聡一、尾田好美、平尾みなみ、中村誠宏、松田久司: ハス花部含有成分の神経様突起伸長促進作用. 第 36 回和漢医薬学会学術大会 (富山), 2019. 8.
31. 森川葵、呉剣波、中嶋聡一、執行真莉奈、川本直子、武上茂彦、中村誠宏、小西敦子、北出達也、松田久司: 三黄瀉心湯の血管弛緩作用における berberine および baicalin の寄与と作用様式の検討. 第 36 回和漢医薬学会学術大会 (富山), 2019.8.
32. 下岡美咲、中嶋聡一、宇野京、岸本真理子、中村誠宏、松本崇宏、田中大輝、里崎久恵、山手直智、松田久司: ヒキオコシ成分のがん細胞浸潤抑制作用. 第 36 回和漢医薬学会学術大会 (富山), 2019.8.
33. 中村誠宏、小川慶子、藤室雅弘、中嶋聡一、松田久司: *Nigella* 属植物クロタネソウに含まれるアルカロイド成分の探索とそれらの抗 HSV-1 活性. 第 61 回 天然有機化合物討論会 (広島), 2019.9.
34. 中嶋聡一、森田萌子、尾田好美、太田綾子、中村誠宏、松田久司: *Bryonia cretica* に含まれる、アクチン脱重合制御タンパク質 cofilin 結合性成分の解析と作用. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
35. 矢野真実子、中嶋聡一、尾田好美、中村誠宏、笠詩織、松田久司: カルバゾール誘導体の神経様突起伸長促進作用. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
36. 笠香織、中村誠宏、角岡常成、瀧本桜子、宮川晃也、中嶋聡一、松田久司: アブラナ科植物ホソバタイセイ (*Isatis tinctoria*) 含有成分 neoglucobrassicin を用いた低分子化合物の構

- 築. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
37. 米田太一、中村誠宏、岡崎彩香、奥井翔吾、笠香織、中嶋聡一、松田久司: *Allium* 属植物を用いた含窒素芳香環化合物の合成. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
 38. 林田仁志、中村誠宏、深谷匡、野口大輔、中嶋聡一、松田久司: ニンニク (*Allium sativum*) 葉部を素材としたテトラヒドロジフロフラン骨格を有する含硫黄化合物の探索. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
 39. 細田依里、矢野真実子、中嶋聡一、尾田好美、中村誠宏、松田久司: 血液脳関門透過性ハス特徴成分の神経突起伸長促進作用. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019. 9.
 40. 米山真穂、中嶋聡一、王 巍程、鈴木諒子、尾田好美、中村誠宏、松田久司: *Cassia auriculata* 種子含有アントラセノン二量体のメラノーマ細胞増殖抑制作用と β -catenin 経路タンパク質発現抑制作用. 日本生薬学会第 66 回年会 (東京), 2019.9.
 41. 大田海斗、松本卓也、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 末端脂肪族側鎖を短縮したアセトゲニンチオフェン誘導体の合成とヒトがん細胞増殖抑制活性の評価. 第 39 回有機合成若手セミナー (大阪), 2019.8.
 42. 三須健太郎、岩崎宏樹、小島直人、山下正行: SED を用いた 3-ヒドロキシメチルインドール誘導体合成法の開発. 第 39 回有機合成若手セミナー (大阪), 2019.8.
 43. 松本卓也、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 抗腫瘍活性を有するアセトゲニンチオフェン誘導体への電子求引性基の導入とヒトがん細胞増殖抑制活性評価. 第 69 回日本薬学会近畿支部大会 (神戸), 2019. 10.
 44. 大田海斗、松本卓也、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 末端脂肪族側鎖を減炭したアセトゲニンチオフェン誘導体の合成と生物活性評価. 第 69 回日本薬学会近畿支部大会 (神戸), 2019. 10.
 45. 謝昉翰、平田優里、山西涼菜、阪口鈴菜、阪口尚子、田中雄一朗、岩崎宏樹、小島直人、山下正行: α -ピロン体から合成されるシクロブタン体と硫黄イリドとの反応. 第 69 回日本薬学会近畿支部大会 (神戸), 2019. 10.
 46. 植村祐美子、岩崎宏樹、辻谷優菜、竹見里穂、篠崎莉穂、小島直人、山下正行: 酸化剤を用いない isoquinoline N-oxide 合成反応における置換基効果の検討. 第 45 回反応と合成の進歩シンポジウム (岡山), 2019. 10.
 47. 松本卓也、岡村睦美、赤塚明宣、旦慎吾、矢守隆夫、岩崎宏樹、山下正行、小島直人: 複素環連結部位にスルホンアミドを導入したアセトゲニン誘導体の合成と活性評価. 京都 4 大学連携研究事業「第 9 回 4 大学連携研究フォーラム」(京都), 2019. 11.
 48. 服部恭尚: Pd(II)触媒による立体選択的環化反応を用いた含窒素複素環化合物の効率的合成. 第 5 回 関西薬学シンポジウム: 化学系の若い力 (招待講演) (京都), 2019.7.
 49. 田村悠樹、小谷真菜、扇田隆司、原矢佑樹、西辻和親、内村健治、長谷川功紀、加藤くみ子、赤路健一、齋藤博幸: ApoE 由来アルギニンペプチドの細胞膜透過における糖鎖依存性の評価. 日本膜学会第 41 年会 (東京), 2019.5.
 50. 長谷川功紀、井上康輝、工藤信次、伊藤隆明: タモキシフェン誘導体を用いた肺がんのリガンド誘導体染色. 第 60 回日本組織細胞化学会総会・学術集会 (兵庫), 2019.9.

以上

News Letter Volume 5

2020 年 2 月 編集・発行

文部科学省私立大学戦略的基盤研究形成支援事業

「新規分子標的治療薬創薬に向けた大学発ベンチャー基盤の確立」

News Letter 編集委員

〒607-8414 京都市山科区御陵中内町 5

Tel: 075-595-4706

FAX: 075-595-4796