

2018 Issue

Science Translational Medicine

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2017

トランスレーショナルメデイシンに載った
日本人研究者



COSMO BIO CO., LTD.
Inspiration for Life Science

Science
Translational
Medicine
AAAS

このJapanese Scientists in *Science Translational Medicine*(STM)2017では、2017年の1年間にトランスレーショナルメディシンに論文が掲載された日本人研究者・グループを紹介しています。誌面の都合上、または著者本人のご意向により、すべての日本人著者を紹介しているわけではありませんが、その旨ご了承ください。

所属名、共著者名、本文から図表の選定まで、すべて著者の皆様からご提供いただいたものです。特に、掲載論文については、日本語で分かりやすく解説いただいておりますので、トランスレーショナルメディシンに掲載された図表とは異なるものを使用している場合があります。また、記載の所属先やメールアドレス、URLなど一切の情報は、2018年1月時点のものになります。

内容については細心の注意を払っていますが、情報の正確性、専門性について発行者はいかなる責任を負うものではありません。正確な情報は、必ず原文にてご確認ください。

発行元

American Association for the Advancement of Science (AAAS)
1200 New York Avenue, NW
Washington, DC 20005
USA

協賛

コスモ・バイオ株式会社
〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
TEL: 03-5632-9610 FAX: 03-5632-9619
<http://www.cosmobio.co.jp>

企画・翻訳・編集

株式会社アスカコーポレーション (Science Japan Customer Service Office)
〒541-0046 大阪市中央区平野町 1 丁目 8-13 平野町八千代ビル
TEL: 06-6202-6272 FAX: 06-6202-6271
<http://www.asca-co.com>

表紙デザイン

株式会社大伸社 東京本社
〒151-0051 東京都渋谷区千駄ヶ谷 2-9-9
TEL: 03-3405-0603 FAX: 03-3405-0653
<http://www.daishinsha.co.jp/>

発行日

2018 年 3 月

Science Translational Medicine

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2017

トランスレーショナルメディシンに載った日本人研究者

ご挨拶

米国科学振興協会 (AAAS) の公式刊行物である *Science Translational Medicine* (STM) は、世界的な科学学術誌 *Science* の姉妹誌として、トランスレーショナル医療に関する先進的な研究成果を毎週発信しています。Translational research (トランスレーショナル・リサーチ) は日本では「橋渡し研究」とよばれ、基礎研究と応用研究とをつなぐための、実用化を見据えたメカニズム・現象解明の研究を指します。同誌では、疾患に関する研究室ベースの生物学的知見から医薬品などの開発による医療応用を目的とした研究を2009年の創刊以来取り上げています。

この「トランスレーショナルメディシンに載った日本人研究者」は、「サイエンス誌に載った日本人研究者」の姉妹冊子として2016年に刊行され、本年の冊子は第3号にあたります。今回は、2017年に *Science Translational Medicine* で発表された9件の研究を紹介しています。*Science Translational Medicine* の日本語ウェブサイトではタイトルのみを日本語で掲載していますが、本誌では新たに翻訳したアブストラクトと、さらに各論文の著者の方々より寄稿いただいた、研究の論点をわかりやすく記した解説文を掲載しています。

今回取り上げた研究には、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) に関するものが3件含まれています。よく知られているように、ALSは筋力低下により身体を動かすことが次第に困難になる進行性の神経変性疾患のひとつであり、有効な治療法は確立されていませんでした。これらの研究成果により、ALSの機序、病態や治療標的に関する知見が蓄積され、人類がまたひとつ難病を克服するための基盤となるでしょう。また、免疫チェックポイント阻害薬を含め、新たながん治療薬の開発につながる研究も依然として活発です。さらには自己免疫疾患やiPS細胞治療、微生物叢など、臨床応用への橋渡しに大きな期待の掛かる研究成果も相次いでおり、今後もトランスレーショナル・リサーチ、そして *Science Translational Medicine* にぜひご注目いただければ幸いです。

最後に、本誌の制作にあたり、ご多忙の中、ご協力いただきました日本人研究者の皆様にご心より御礼申し上げます。そして、多大なるご支援を賜りましたコスモ・バイオ株式会社様に深く感謝を申し上げます。

2018年3月
編集チーム一同

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2017

トランスレーショナルメディスンに載った日本人研究者

Science Translational Medicine 投稿について 3

2月22日号 Research Article	ヒト皮膚常在菌由来の抗菌物質は黄色ブドウ球菌に対する 防御作用を有しアトピー性皮膚炎では不足している 4 Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against <i>Staphylococcus aureus</i> and are deficient in atopic dermatitis Project Scientist, Department of Dermatology, University of California, San Diego 仲辻 晃明
5月3日号 Research Article	小胞輸送タンパク質アネキシン A11 の遺伝子変異は筋萎縮性側索硬化症と関連している 6 Mutations in the vesicular trafficking protein annexin A11 are associated with amyotrophic lateral sclerosis 名古屋大学大学院 生命農学研究科 分子細胞制御学研究室 准教授 柴田 秀樹 名古屋大学大学院 生命農学研究科 分子細胞制御学研究室 教授 牧 正敏
5月24日号 Report	Src/c-Abl経路は筋萎縮性側索硬化症の潜在的な治療標的である 8 The Src/c-Abl pathway is a potential therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis 京都大学IPS細胞研究所(CiRA) 教授 井上 治久 京都大学IPS細胞研究所(CiRA) 特定拠点助教 今村 恵子
7月5日号 Research Article	視神経脊髄炎患者からの血液脳関門を破綻させる Glucose-regulated protein 78抗体の同定 10 Glucose-regulated protein 78 autoantibody associates with blood-brain barrier disruption in neuromyelitis optica 山口大学大学院 医学系研究科 神経内科学 助教 清水 文崇 山口大学大学院 医学系研究科 神経内科学 教授 神田 隆
9月27日号 Research Article	ヒトiPS/ES細胞からエリスロポエチン産生細胞の作製に成功 ～腎性貧血に対する細胞療法の可能性～ 12 Spatially selective depletion of tumor-associated regulatory T cells with near-infrared photoimmunotherapy 京都大学IPS細胞研究所(CiRA) 増殖分化機構研究部門 教授 長船 健二 香川大学医学部薬理学 准教授 / 京都大学IPS細胞研究所(CiRA) 増殖分化機構研究部門 研究員 人見 浩史
10月4日号 Research Article	固形腫瘍治療のための抗グリピカン3/CD3 T細胞リダイレクト二重特異性抗体 14 An anti-glypican 3/CD3 bispecific T cell-redirecting antibody for treatment of solid tumors Research Head, Chugai Pharmabody Research Pte. Ltd. (現 中外製薬株式会社 研究本部副本部長 創薬薬理研究部長) 根津 淳一 中外製薬株式会社トランスレーショナルクリニカルリサーチ本部 グループマネージャー 石黒 敬弘
11月8日号 Review	RNA結合蛋白質と筋萎縮性側索硬化症 / 前頭側頭型認知症における病態カスケード 16 RNA binding proteins and the pathological cascade in ALS/FTD neurodegeneration 慶応義塾大学医学部 神経内科 専任講師 伊東 大介
11月8日号 Research Article	マトリックス結合型免疫チェックポイント阻害薬により抗腫瘍効果が増強し、 有害事象が減少する 18 Matrix-binding checkpoint immunotherapies enhance antitumor efficacy and reduce adverse events Postdoctoral Scientist, Institute for Molecular Engineering, University of Chicago Institute of Bioengineering, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne 石原 純 Postdoctoral Scientist, Institute for Molecular Engineering, University of Chicago 石原 亜香 Institute for Molecular Engineering, University of Chicago Institute of Bioengineering, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (現 東京工業大学 生命理工学研究科 博士課程) 福永 和人
11月15日号 Research Article	がんにおける病的意義の不明なEGFR遺伝子バリエーションのハイスループット機能評価法 20 A method of high-throughput functional evaluation of EGFR gene variants of unknown significance in cancer 東京大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学専攻 ゲノム医学講座 特任助教 高阪 真路 東京大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学専攻 細胞情報学分野 教授 / 国立がん研究センター研究所 所長 間野 博行

Science Translational Medicine 投稿について

Science Translational Medicine は、トランスレーショナル医療 (Translational Medicine) を対象とした最先端の研究成果を取り上げる週刊の科学専門誌です。基礎科学研究者と臨床研究者を結び、患者ケアの世界的な改善を図るためのトランスレーショナル・リサーチについて、最新の知見を取りまとめ、利用可能なデータとして提供することが本誌の主要な目的です。

以下に、*Science Translational Medicine* の Information for Authors (投稿規定) の簡易日本語版を掲載します。あくまでこの記事は抜粋版であり、すべての規定を網羅しているわけではないことをご了承ください。投稿前には、後述のウェブサイトで、最新の完全版を必ずご確認ください。

ポリシー

Science Translational Medicine に論文を投稿する著者は、著者資格、事前出版、研究デザインなどについて定めた論文の要件を満たすと同時に、資金提供を含む利益相反、著作権の所在、アクセスポリシー、報道解禁など著者の権利と責任に関するポリシーに合意する必要があります。詳細を投稿前にご確認ください。 <http://stm.sciencemag.org/content/editorial-policies>

掲載される論文・記事の種類

Research Article : トランスレーショナル・リサーチに関する画期的な研究成果を発表する原著論文。構成はアブストラクト、本文 (Introduction, Results, Discussion, Materials and Methods, References, Figures and Tables, Supplementary Materials)。8,000 語以内、図表は 8 点まで。論文の理解、評価に必要ではない場合のみ Supplementary Material として別途添付可。Editor の采配により図表の数を減らした短い Research Article を Reports として投稿可能。

Focus : *Science Translational Medicine* やその他のジャーナルで発表された最近の論文に関連した短報。アブストラクト、本文、References、および図表の説明文を含め 1,800 語以内。簡潔なタイトル、1 文のアブストラクト、References 10 点以内、図表は 1 点のみ。

Editorial : トランスレーショナル・リサーチに関する依頼原稿。1,000 語以内。アブストラクトはなしで、References 5 点以内、図表は掲載不可。

Perspectives : 最新のトランスレーショナル・リサーチの進展について第三者の視点から分析する記事。基礎研究、臨床研究の両者からの視点を含める。2,500 語以内で簡潔なタイトル、アブストラクト 50 語以内、本文、References 20 点以内、図表 2 点以内、および図表の説明文を含めること。3~5 点の key bullet points を提出すること。

Review : トランスレーショナル・リサーチの仮説や知見についての総説。5,000 語以内でアブストラクト 75 語以内、本文、References 75 点以内、図表 4 点以内、および図表の説明文を含めること。

Letter : 過去 2 ヶ月以内に発表された *Science Translational Medicine* の論文に対する返報。1,000 語以内で References 10 点以内、図表は 1 点のみ。

原稿の作成

執筆に関する規程は原稿の種類によって異なります。個別の Information for Authors のページを必ずご覧ください。

Research Article (初回投稿) : <http://stm.sciencemag.org/content/instructions-authors-new-research-articles>

Research Article (査読後修正原稿) : <http://stm.sciencemag.org/content/instructions-authors-revised-research-articles>

Focus : <http://stm.sciencemag.org/content/instructions-authors-editorial-focus-perspective-and-commentary-articles>

Editorial : <http://stm.sciencemag.org/content/instructions-authors-editorial-focus-perspective-and-commentary-articles>

Commentary : <http://stm.sciencemag.org/content/instructions-authors-editorial-focus-perspective-and-commentary-articles>

Perspectives : <http://stm.sciencemag.org/content/instructions-authors-editorial-focus-perspective-and-commentary-articles>

Review : <http://stm.sciencemag.org/content/instructions-authors-reviews>

Science Translational Medicine 投稿規定

Information for Authors

<http://stm.sciencemag.org/content/information-authors>

オンライン投稿システム

<https://cts.sciencemag.org>

論文投稿に関する問い合わせ先

E-mail: scitranslmededitors@aaas.org

<http://stm.sciencemag.org/feedback>

ヒト皮膚常在菌由来の抗菌物質は 黄色ブドウ球菌に対する防御作用を有し アトピー性皮膚炎では不足している

Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis

Richard L. Gallo¹ et al.

¹ Department of Dermatology, University of California, San Diego

全著者リスト: <http://stm.sciencemag.org/content/9/378/eaah4680>



仲辻 晃明 Teruaki Nakatsuji

Project Scientist, Department of Dermatology, University of California, San Diego

Contact

E-mail: tnakatsuji@ucsd.edu

所在地: 9500 Gilman Drive #0869, La Jolla, CA92093

Abstract

微生物叢(microbiome)は、適応免疫と自然免疫の両方に影響を及ぼすことで、ヒトの健康を促進または阻害する要因となりうる。健康皮膚における微生物叢は多様性が保たれているが、アトピー性皮膚炎(atopic dermatitis: AD)の皮膚では、同疾患の重要な増悪因子である黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)の定着が高頻度で認められる。われわれは、ヒト皮膚上に常在する細菌が、黄色ブドウ球菌を排除することによって、宿主防御に関与しているか否かを検討した。健康者およびAD患者の皮膚から分離されたコアグラゼ陰性ブドウ球菌(CoNS)分離株を対象に黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性を調べるハイスループットスクリーニングを実施した。抗菌活性を有するCoNS株は、健康者集団では高頻度に認められたが、AD患者では稀であった。また黄色ブドウ球菌の定着は抗菌活性を有するCoNS株の頻度の低い患者にのみ確認された。抗菌活性は、表皮ブドウ球菌(*S. epidermidis*)やスタフィロコッカス・ホミニス(*S. hominis*)などのCoNS種によって産生され、これまで未知であった抗菌ペプチド(AMP)によるものであることが明らかになった。これらのAMPは宿主細胞由来の一般的なAMPより効力が強く、選択的に黄色ブドウ球菌を殺滅し、ヒトAMPであるLL-37と相乗的に作用を及ぼした。これらのCoNS株をマウスの皮膚に塗布したところ、活性を有さない株との比較で、黄色ブドウ球菌に対する防御機能が確認された。驚いたことに、抗菌活性を有するCoNS株を、AD患者の皮膚に自家移植したところ、黄色ブドウ球菌の定着数が減少した。これらの所見から、皮膚常在細菌は病原性細菌に対する防御作用を有することが示され、皮膚の微生物叢の異常(dysbiosis)がいかんしてADに影響し得るかが実証された。

Figure and Note

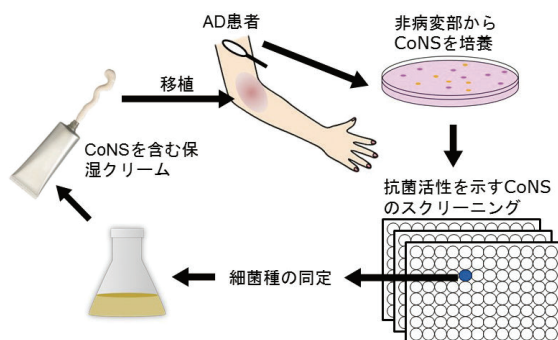


図: 皮膚常在細菌の自家移植によるアトピー性皮膚炎の新規治療法の確立に向けた臨床試験

有用な常在細菌株の自家移植でアトピー性皮膚炎を治療する

哺乳類の皮膚は多種多様な抗菌ペプチド (AMP) を生産することで微生物叢の均衡を保ち、かつ外来性の病原性細菌による感染を防いでいます。しかし、アトピー性皮膚炎(atopic dermatitis: AD)の病変部の皮膚は健康皮膚のようにAMPを誘導発現できないため、黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)などの病原性細菌が皮膚上で増殖しやすくなると考えられています。皮膚における黄色ブドウ球菌の増殖がADの症状を悪化させることは古くから知られていましたが、これがどのような機序により誘発されるのかについては完全には理解されているわけではありませんでした。

われわれの最近の研究から、健康皮膚に優位に定着しているコアグラゼ陰性ブドウ球菌 (Coagulase-negative staphylococci, CoNS)は、宿主細胞同様、ヒトの皮膚上でAMPを生産していることがわかりました。本研究では、AD患者および健康者の皮膚から約8,000株のCoNSを単離し、それぞれの黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性を測定しました。健康皮膚の場合、単離された多くのCoNS株が抗菌活性を示し、それらは主に表皮ブドウ球菌 (*Staphylococcus epidermidis*)あるいは*Staphylococcus hominis*であるということがわかりました。また、それらはこれまでは未知であったAMPを皮膚上で生産していることを突き止めました。常在菌由来のAMPは、黄色ブドウ球菌に対し選択的に抗菌活性を示し、ヒトの皮膚において共存する細菌種に対しては効果を示しませんでした。この選択的な抗菌活性は、皮膚細菌叢の恒常性の維持に必要であると考えています。一方、ADの皮膚の場合、抗菌活性を示すCoNS株の頻度は著しく低いことがわかりました。また、黄色ブドウ球菌の皮膚への定着は、抗菌活性を有するCoNS株の分布の頻度が低い被験者においてのみ確認されました。以上の結果から、皮膚常在菌は独自のAMPを生産し、黄色ブドウ球菌などの病原性細菌を拮抗的に排除することで宿主防御機構の一端を担っていることがわかりました。また、ADにおける黄色ブドウ球菌の皮膚への定着は常在細菌叢のもつ病原性細菌排除能の低下が関係していることを示唆しています。

われわれは本研究結果をもとに、ADの新たな治療法の確立へ向けた研究に着手しています。抗菌活性を示すCoNS株の自家移植という試みです(図参照)。これにより、ADの皮膚表面における黄色ブドウ球菌に対する排除機能を回復できると考えています。本研究では、少数のAD患者に対しフェーズIの予備的臨床試験を二重盲検法的に行いました。その結果、抗菌活性を示すCoNSを塗布した病変部皮膚において、細菌移植から24時間後の黄色ブドウ球菌の定着数は対照群の病変部に比べ1~10%にまで低下していました。このように、皮膚常在細菌の自家移植治療は、予備的ではありますが良好な臨床結果が得られています。われわれが提唱するこの治療は、従来の抗生物質を用いた治療法とは異なり、有用な常在菌株には影響を与えず、外来性の病原性細菌に対して選択的に作用すると考えています。また、移植された有用な細菌株が皮膚に定着することで細菌叢の恒常性が再構築され長期間にわたる安定した効果が得られると期待しています。

常在細菌で皮膚を健康に!

近年、腸内細菌叢が健康や美容に深く関与していることに注目が集まっています。一方、皮膚常在細菌叢にも同様のことが当てはまるにもかかわらず、人々の関心も低く、あろうことか巷には皮膚常在菌に影響し得る抗菌グッズが氾濫しています。近年、われわれを含む多くのグループの研究により、これまでに知られていなかった皮膚常在細菌叢の機能の一端が解明され始め、その機能の利点を生かした新規治療法の確立を目指した研究にまで漕ぎ着けることができました。今後、さらに発展が望まれる研究分野であると考えられます。

写真：筆者の所属するRichard Gallo(後列左から4人目)研究室の集合写真。
サンディエゴ、ラホヤ海岸にて撮影。



小胞輸送タンパク質アネキシン A11 の 遺伝子変異は筋萎縮性側索硬化症と 関連している

Mutations in the vesicular trafficking protein annexin A11 are associated with amyotrophic lateral sclerosis

Bradley N. Smith¹ Simon D. Topp¹ Claudia Fallini² Han-Jou Chen¹ et al.

¹ United Kingdom Dementia Research Institute Centre, Maurice Wohl Clinical Neuroscience Institute, Institute of Psychiatry, Psychology and Neuroscience, King's College London

² Department of Neurology, University of Massachusetts Medical School

全著者リスト: <http://stm.sciencemag.org/content/9/388/eaad9157>



左から柴田 秀樹、牧 正敏

柴田 秀樹 Hideki Shibata

名古屋大学大学院 生命農学研究科 分子細胞制御学研究室 准教授

牧 正敏 Masatoshi Maki

名古屋大学大学院 生命農学研究科 分子細胞制御学研究室 教授

Contact

柴田 秀樹 E-mail: shibabou@agr.nagoya-u.ac.jp

所在地: 464-8601 名古屋市千種区不老町

U R L: <http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~mcr/>

Abstract

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は致死的な神経変性疾患である。本研究において、家族性および孤発性 ALS 患者の全エクソーム配列の解析から、アネキシン A11 をコードする *ANXA11* 遺伝子に 6 つのミスセンス変異 (p.D40G を含む) が同定された。p.D40G 変異は、家族性 ALS の 2 家系でそれぞれ 2 症例に確認され、また類縁関係のない別の 2 症例でも確認された。p.D40G 変異は対照 70,000 例のエクソーム配列には検出されなかった ($P=0.0102$)。p.D40G 変異保有者の *ANXA11* 遺伝子近傍の配列を解析したところ、全例において共通の創始者ハプロタイプを保有していた。アネキシン A11 陽性タンパク質凝集体が、p.D40G 変異を保有する ALS 患者 1 例の脊髄運動ニューロンおよび海馬ニューロン軸索で豊富に認められた。本研究で同定されたアネキシン A11 の ALS 関連変異体をヒト胎児腎細胞 (HEK293) に発現させた生化学的解析の結果、カルサイクリンへの結合に変化が認められること、および R235Q 変異体が不溶性の凝集体を形成することが判明した。*ANXA11* 遺伝子の変異は ALS と関連し、その変異体の発現によって細胞内タンパク質輸送に何らかの障害が生じることが、ALS の病態発生の一因ではないかと考えられる。

Figure and Note

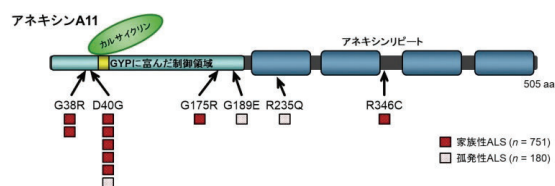


図 1: アネキシン A11 の構造と家族性および孤発性 ALS 症例で同定された変異部位

アネキシン A11 は、N 末端側に Gly, Tyr, Pro に富む領域、C 末端側にアネキシンリピートをもつ。N 末端領域にカルサイクリンが結合する。N 末端領域に 4 つ、C 末端領域に 2 つの ALS 発症に関わるミスセンス変異が同定された。

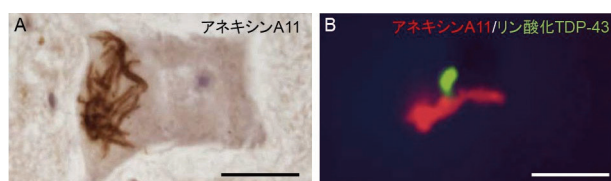


図 2: p.D40G 変異をもつ孤発性 ALS 患者で観察されたアネキシン A11 の凝集体

(A) p.D40G 変異をもつ ALS 患者の脊髄検体の抗アネキシン A11 抗体染色。運動ニューロンにアネキシン A11 陽性のスケイン様凝集体が観察された。
(B) 抗アネキシン A11 抗体と抗リン酸化 TDP-43 抗体による共免疫染色。これらのタンパク質の凝集体は一致しない。

家族性 ALS 患者の約1%、 孤発性 ALS 患者の1.7%に *ANXA11* 遺伝子の変異

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、脳と脊髄の運動ニューロンが選択的に変性することで運動麻痺を起し死に至る難病です。生涯罹患リスクは400人に1人で、ALS症例の10%が家族歴をともない、欧州の家族性ALSの約60%でその原因遺伝子がつきとめられています。孤発性を含む全ALS症例の約20%は、*SOD1*、*TARDBP*、*FUS* 遺伝子の非同義変異、あるいは *C9orf72* 遺伝子のイントロン領域の6塩基伸長のいずれかが原因とされています。今回の研究では、家族性と孤発性ALS症例から、カルシウム依存性リン脂質結合タンパク質であるアネキシンA11をコードする *ANXA11* 遺伝子のミスセンス変異を新たに見出しました。

欧州の家族性ALS症例のエクソーム解析 ($n > 751$) から、*C9orf72* の6塩基伸長がなく、かつ家系内で2人以上が発症している50家系を抽出しました。そして、ALS患者に認められ、かつ対照群 ($n > 72,000$) では認められない変異を同定しました。その中で、2家系以上で共通に認められた変異のひとつが、*ANXA11* の p.D40G 変異でした。さらに、類縁関係のない家族性および孤発性ALS症例についての解析から、*ANXA11* に、p.D40Gとあわせて、図1に示す6つのミスセンス変異が同定されました。

p.D40G 変異をもつ6人のALS症例では認知症状はともなわず、5人では初期に発語および嚥下機能の低下がみられました。1人の孤発性症例の骨髄検体について組織病理学的に解析した結果、脊髄前角内のニューロンの脱落が顕著で、前皮質脊髄路および外側皮質脊髄路に髄鞘の淡明化とアストログリアの異常増殖が認められました。また、抗アネキシンA11抗体に陽性の比較的大きな凝集体が観察されました(図2)。さらに、残存している運動ニューロンの多くは抗リン酸化TDP-43抗体に陽性の凝集体をもっていました。この凝集体はアネキシンA11凝集体とは局在が一致せず、別々の凝集体として存在していました。

アネキシンA11の変異がその生化学的性質に与える影響を解析したところ、S100タンパク質カルサイクリンとの結合が強くなる変異体(G38R)と結合能が減弱する変異体(D40GとG189E)があることがわかりました。また、培養細胞に発現させたR235Q変異体は界面活性剤不溶性の画分に回収されました。通常は可溶性の野生型アネキシンA11も不溶性画分に回収されたことから、R235Q変異体はドミナントネガティブ変異体であると考えられます。また、マウスの初代培養運動ニューロンに発現させると、野生型アネキシンA11は細胞質に小胞状の構造物を形成し、そこに局在しますが、G38R変異体では小胞状の局在様式が有意に減少しました。一方、R235Q変異体は小胞よりも小さな斑点状の局在様式を示しました。このように変異体によって生化学的、細胞生物学的性質が異なることから、アネキシンA11の変異による病態発症のメカニズムは一様ではないと考えられます。

私たちは以前に、アネキシンA11が初期分泌経路を制御することを報告しています。今後、アネキシンA11の変異が、そのフォールディング、安定性、さらにタンパク質輸送の制御機能にどのような影響を及ぼすのか、また変異体の発現によって、なぜリン酸化TDP-43の凝集体が形成されるのかなど、ALS発症の分子機構の解明に迫る詳細な解析を進めていきたいと考えています。

名古屋大学大学院 生命農学研究科 分子細胞制御学研究室

日本是世界有数の長寿国ですが、健康な生活を続けられる時間、いわゆる健康寿命の延伸は現代の重要な研究課題です。私たちの研究室では、カルシウムをキーワードにシグナル伝達、遺伝子発現、タンパク質輸送、細胞の成長と死の制御機構などの研究を展開しています。カルシウム応答の破綻は細胞機能の異常につながり、がんや神経変性疾患などの発症原因となります。様々なカルシウム結合タンパク質の機能を解明することで、健康に暮らせる長寿社会の構築に貢献していきたいと、日々、研究を進めています。



Src/c-Abl経路は筋萎縮性側索硬化症の潜在的な治療標的である

The Src/c-Abl pathway is a potential therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis

和泉 唯信² 渡辺 亮¹ 月田 香代子¹ Knut Woltjen^{1,3} 山本 拓也^{1,4} 堀田 秋津^{1,4,5} 近藤 孝之¹ 北岡 志保¹ 太田 章¹ 田中 彰人¹ 渡邊 大⁶ 森田光哉⁷ 宅間 浩⁸ 玉岡 晃⁸ Tilo Kunath⁹ Selina Wray¹⁰ 古谷 博和¹¹ 江良 沢実¹² 牧岡 幸樹¹³ 岡本 幸市¹⁴ 藤澤 貴央¹⁵ 西頭 英起¹⁶ 本間 謙吾¹⁵ 一條 秀憲¹⁵ Jean-Pierre Julien¹⁷ 小幡 菜々子¹⁸ 細川 雅人¹⁸ 秋山 治彦¹⁸ 金子 鋭¹⁹ 綾木 孝²⁰ 伊東 秀文²¹ 梶 龍兒⁴ 高橋 良輔²⁰ 山中 伸弥^{1,22}

¹ 京都大学IPS細胞研究所 (CiRA)

² 徳島大学大学院 医歯薬学研究所 臨床神経科学 (神経内科)

³ 京都大学白眉センター

⁴ 京都大学高等研究院 物質・細胞統合システム拠点 (WPI-iCeMS)

⁵ 科学技術振興機構 さきがけ

⁶ 京都大学大学院 医学研究科 生体情報科学講座

⁷ 自治医科大学 内科学講座 神経内科学部門

⁸ 筑波大学大学院 臨床医学系 神経内科

⁹ MRC Centre for Regenerative Medicine, School of Biological Sciences, University of Edinburgh

¹⁰ Department of Molecular Neuroscience, University College London Institute of Neurology

¹¹ 高知大学 医学部医学科 神経内科学

¹² 熊本大学 発生医学研究所 幹細胞部門 幹細胞誘導分野

¹³ 群馬大学大学院 医学系研究科 脳神経内科学

¹⁴ 老年病研究所付属病院

¹⁵ 東京大学大学院 薬学系研究科 細胞情報学教室

¹⁶ 宮崎大学医学部 機能制御学講座 機能生化学分野

¹⁷ Department of Psychiatry and Neurosciences, Research Centre of Mental Health Institute of Quebec (IUSMQ), Laval University

¹⁸ 東京都医学総合研究所

¹⁹ 関西医科大学 神経内科学講座

²⁰ 京都大学大学院 医学研究科 臨床神経学

²¹ 和歌山県立医科大学 神経内科

²² Gladstone Institute of Cardiovascular Disease



左から井上 治久、今村 恵子

井上 治久 Haruhisa Inoue

京都大学IPS細胞研究所 (CiRA) 教授

今村 恵子 Keiko Imamura

京都大学IPS細胞研究所 (CiRA) 特定拠点助教

Contact

井上 治久 E-mail : haruhisa@cira.kyoto-u.ac.jp

所在地 : 606-8507 京都市左京区聖護院川原町53

URL : http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/inoue_summary.html

Abstract

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、進行性の運動ニューロン死を引き起こす難治性疾患であるが、根本的な治療法はない。われわれは、ALS 運動ニューロンの生存率を指標として用いた化合物スクリーニング法を開発し、既存薬などからなる化合物ライブラリのスクリーニングを行った。運動ニューロンは、superoxide dismutase 1 (SOD1) の変異を有する ALS 患者由来の人工多能性幹細胞 (iPSC) から作製した。化合物スクリーニングの結果、ヒットした薬物の約半数が Src/c-Abl シグナル伝達経路を標的とするものであることが示された。Src/c-Abl 阻害剤により、in vitro で ALS 運動ニューロンの生存率の改善が認められた。低分子干渉 RNA (siRNA) により Src または c-Abl をノックダウンした場合にも、ALS 運動ニューロンの変性が抑制された。ヒットした化合物のひとつであるボスチニブは、オートファジーを促進し、折り畳み異常を呈する SOD1 蛋白質の量を減少させ、ミトコンドリア関連遺伝子の発現異常を軽減した。また、ボスチニブにより、TAR DNA 結合蛋白質 (TDP-43) の変異または C9orf72 の反復伸長が原因の家族性 ALS や孤発性 ALS 患者から作製した運動ニューロンの生存率も改善した。さらに、ボスチニブ投与により SOD1 変異を有する ALS マウスモデルの生存期間が延長した。これらの所見から Src/c-Abl は ALS 治療のための新薬開発における治療標的分子となる可能性が示唆された。

Figure and Note

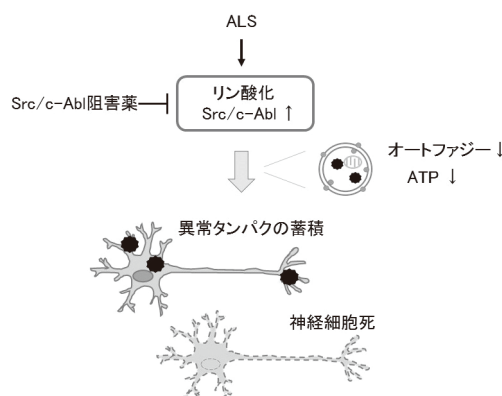


図 : Src/c-Abl 阻害薬は ALS 運動ニューロンの変性を抑制する
ALS 運動ニューロンでは Src/c-Abl 経路の活性化、異常タンパク蓄積、細胞死がみられる。Src/c-Abl 阻害薬は、オートファジーを促進し、異常タンパク減少、細胞死抑制効果を発揮する。

ALSにおけるSrc/c-Abl阻害薬の有効性

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis; ALS) は、進行性に運動ニューロンの細胞死が生じる神経変性疾患で、病気の進行は早く、根本的な治療法がありません。多くは家族歴がない孤発性ですが、約10%は家族性で、そのうちの約25%は*SOD1* 遺伝子の変異が原因とされています。筆者らは、ALS患者iPS細胞を用いて、運動ニューロンの細胞死を抑制する薬剤の探索を行いました。

大規模薬剤スクリーニングを行うためには短期間で大量の運動ニューロンを作製する方法が必要です。そこで、転写因子をiPS細胞に導入して運動ニューロンを作製する方法を開発しました。3つの転写因子 *Lhx3*, *Ng2*, *Isl1* をiPS細胞に導入し、7日間でiPS細胞から運動ニューロンを作製することに成功しました。この方法を用いて、*SOD1* 変異を有する家族性ALS患者さん由来の運動ニューロンを作製したところ、ALS運動ニューロンでは、立体構造が異常になったミスフォールド*SOD1* タンパクが蓄積しており、運動ニューロンの細胞死を来しやすいことがわかりました。そこで、ALS運動ニューロンの生存率を指標とする化合物スクリーニング系を構築しました。既存薬と開発候補薬を含む1,416個の化合物スクリーニングを施行し、27個のヒット化合物を同定しました。その中の14個がSrc/c-Ablに関連する分子経路を標的とする化合物であることがわかりました。ALS運動ニューロンでは、Srcおよびc-Ablのリン酸化が増加しており、Src、c-Ablのノックダウンにより、ALS運動ニューロンの生存率が改善することがわかりました。

Src/c-Abl阻害薬のひとつであるボスチニブに注目し、ALS運動ニューロンに対する有効性メカニズムについて調べたところ、ボスチニブがオートファジーを促進し、ミスフォールド*SOD1* タンパクを減少させ、ATP不足を改善することが、ALS運動ニューロンにおけるボスチニブ有効性のメカニズムのひとつであることが示されました。

次に、別の遺伝子変異を有する家族性ALSや孤発性ALSにおけるボスチニブの効果を調べました。*TDP-43* 変異を有する家族性ALS、*C9orf72* リピート伸長を有する家族性ALS、孤発性ALS患者iPS細胞由来運動ニューロンを作製し、ボスチニブの有効性を調べたところ、これらの運動ニューロンにも有効であることがわかりました。さらに、ALSモデルマウスでも脊髄のミスフォールド*SOD1* タンパクを減少させ、生存期間を延長させました。ALSは多様性があることが知られていますが、ボスチニブは様々なタイプのALSに有効である可能性が示されました。

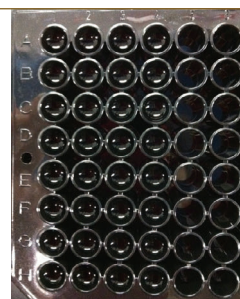
本研究では、Src/c-Abl経路がALSの潜在的な治療標的分子経路のひとつであること、Src/c-Abl阻害薬ボスチニブが、培養皿中および動物モデルで異常タンパク蓄積抑制と運動ニューロン細胞死抑制効果を有することがわかりました。今後、Src/c-Abl経路の中のALSの病態に関連する治療標的分子の詳細がさらに明らかになることによって、ALS病態の解明や治療薬開発が加速することが期待されます。

神経難病への挑戦

当研究室では、患者さんのiPS細胞を用いて、難治性神経疾患に対する創薬基盤開発・移植治療開発・高精度医療開発を目的とした研究を進めてきました。幹細胞技術を利用することによって、ヒトの中枢神経系の理解、病態の解明、そして最終的には臨床への還元を目指しています。

写真：スマイル・Smile-

2013年 The Third CiRA Science Photo Contest, The Best Photo Prize



視神経脊髄炎患者からの血液脳関門を破綻させる Glucose-regulated protein 78抗体の同定

Glucose-regulated protein 78 autoantibody associates with blood-brain barrier disruption in neuromyelitis optica

Kristin L. Schaller¹ Gregory P. Owens¹ Anne C. Cotleur³ Debra Kellner³ 竹下 幸男² Birgit Obermeier³
Thomas J. Kryzer⁴ 佐野 泰照² Vanda A. Lennon⁴ Richard M. Ransohoff³ Jeffrey L. Bennett¹

¹ Departments of Neurology and Ophthalmology,
Program in Neuroscience,
University of Colorado Denver School of Medicine

² 山口大学大学院 医学系研究科 神経内科学

³ Neuroimmunology and Acute Neurology, Biogen

⁴ Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo Clinic



左から清水 文崇、神田 隆

清水 文崇 *Fumitaka Shimizu*

山口大学大学院 医学系研究科 神経内科学 助教

神田 隆 *Takashi Kanda*

山口大学大学院 医学系研究科 神経内科学 教授

Contact

清水 文崇 E-mail: fshimizu@yamaguchi-u.ac.jp

所在地: 755-8505 山口県宇部市南小串 1-1-1

U R L: <http://www.neurol.med.yamaguchi-u.ac.jp/>

神田 隆 E-mail: tkanda@yamaguchi-u.ac.jp

Abstract

視神経脊髄炎は疾患特異的自己抗体として抗アクアポリン4抗体が同定された自己免疫性中枢神経疾患であり、急性期に血液脳関門が破綻する。抗アクアポリン4抗体は主に末梢血中の形質細胞から産生されるため、中枢神経アストロサイトの足突起に存在するアクアポリン4に結合するためには血液脳関門を通過する必要がある。我々は視神経脊髄炎患者の血液中に存在する血管内皮細胞を標的とする自己抗体が血液脳関門の透過性を亢進させることで、抗アクアポリン4抗体を中枢神経内に流入させ、視神経脊髄炎の発症に関与するという仮説を立てた。まず、視神経脊髄炎患者の脳脊髄液から分離した形質細胞から複数のモノクローナル抗体を精製し、ヒト血液脳関門構成血管内皮細胞に強く結合するモノクローナル抗体を2つ同定した。これらのモノクローナル抗体は、血液脳関門血管内皮細胞のNF-κBの核内移行を誘導し、主要なtight junction proteinであるclaudin-5発現を低下させ、バリア機能を弱めた。次に、プロテオーム解析を駆使して、これらのモノクローナル抗体が結合する標的抗原Glucose-regulated protein 78 (GRP78)を同定した。視神経脊髄炎患者免疫グロブリンGから抗GRP78抗体を除去すると、その血液脳関門血管内皮細胞に対する生物学的活性が低下した。最後に、GRP78を標的とするモノクローナル抗体をマウスに投与すると血液脳関門が破綻することを確認した。視神経脊髄炎患者血清中に存在する抗GRP78抗体が、視神経脊髄炎での血液脳関門破綻に関与すると考えられた。GRP78抗体は現在開発中の中枢神経をターゲットとした抗体製剤の中枢神経内への移送に応用できる可能性がある。

Figure and Note

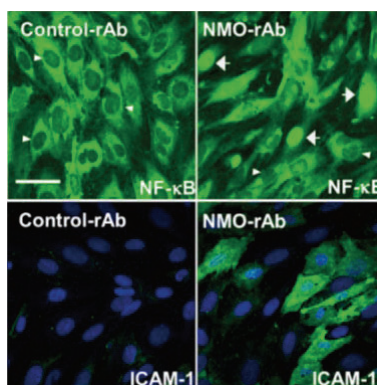


図1: 視神経脊髄炎由来モノクローナル抗体はヒト血液脳関門血管内皮細胞に生物学的活性を有する

視神経脊髄炎患者髄液中のB細胞から精製したモノクローナル抗体を作用させると、ヒト血液脳関門構成血管内皮細胞のNF-κB p65核移行とICAM-1発現増加を誘導した(右上、右下)。他疾患患者から精製したモノクローナル抗体では変化がなかった(左上、左下)。

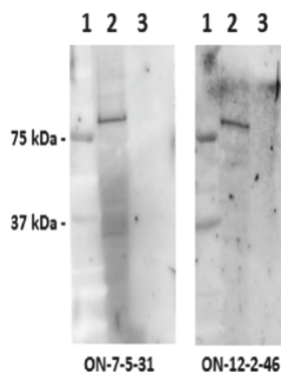


図2: 視神経脊髄炎から内皮細胞に対する自己抗体の標的抗原Glucose-regulated protein 78を同定した
グリオーマ細胞に患者由来モノクローナル抗体を結合させ、細胞を溶解後に抗原抗体複合体を単離した。これを溶出し、ウェスタンブロット法で解析すると、同一のバンドに反応した(図)。このバンドから蛋白質質量解析により、GRP78が同定された。

視神経脊髄炎ではGRP78抗体が血液脳関門破綻に関与する

視神経脊髄炎(neuromyelitis optica)は視神経と脊髄を病変の首座とする自己免疫性炎症性中枢神経疾患です。視神経脊髄炎は歴史的に多発性硬化症の亜型であると考えられてきましたが、疾患特異的自己抗体としてアクアポリン4抗体が同定されたため、多発性硬化症とは明確に区別されるようになりました。血中のアクアポリン4抗体検出は視神経脊髄炎の有用な診断マーカーとして世界中で利用されており、早期診断や早期治療に大きく貢献しています。また、アクアポリン4抗体がアストロサイトの足突起に存在するアクアポリン4に結合すると補体介在性あるいは抗体依存性の細胞傷害をきたすことが報告され、アクアポリン4抗体は視神経脊髄炎の病態形成にも大きく関わると考えられています。アクアポリン4抗体は、主に末梢の形質細胞から産生され、明らかな神経症状を伴わずに流血中を循環しうることが示唆されています。したがって、流血中のアクアポリン4抗体が中枢神経内のアストロサイト足突起に存在するアクアポリン4と結合し病原性を示すためには、血液脳関門を通過する必要があります。急性期視神経脊髄炎患者では臨床的に血液脳関門の破綻が確認されているため、私たちは「視神経脊髄炎患者の血液中に血液脳関門を構成する脳微小血管内皮細胞を標的とする自己抗体が存在し、この抗体が血液脳関門の透過性を亢進させることで、アクアポリン4抗体を中枢神経内に流入させ、視神経脊髄炎の発症・増悪に関与する」という仮説を立てました。

まず、視神経脊髄炎患者の脳脊髄液から分離した形質細胞から複数のモノクローナル抗体を精製し、血液脳関門構成血管内皮細胞に強く結合し、NF- κ Bの核内移行を誘導し、バリア機能を弱めるモノクローナル抗体を同定しました。次に、プロテオーム解析により、そのモノクローナル抗体が結合する標的分子Glucose-regulated protein 78(GRP78)を同定しました。さらにNMO患者由来免疫グロブリンGからGRP78抗体を除去するとTY10細胞のNF- κ B p65核内移行率が低下しました。最後に、このGRP78に対するモノクローナル抗体をマウスに投与すると血液脳関門が破綻することを確認しました。これら一連の解析により、視神経脊髄炎患者血清中に存在するGRP78自己抗体が、視神経脊髄炎での血液脳関門破綻に関与すると考えられました。

現在、国内外の研究所や製薬メーカーが競って、アルツハイマー病での β アミロイド抗体やタウ抗体、パーキンソン病での α シヌクレイン抗体など複数の有望な中枢神経疾患に対するモノクローナル抗体の開発を進めています。しかし、流血中の抗体製剤はわずかしかな健全な血液脳関門を通過できないため、いかに効率よく血液脳関門を通過させるかが今後の重要な課題となります。視神経脊髄炎患者から同定されたGRP78抗体は、現在製薬メーカーで開発中である中枢神経をターゲットとした抗体製剤の血液脳関門を超えた中枢神経内へのデリバリーに応用できる可能性があります。

米国のアカデミックとインダストリーでの研究

私は米国での2年3ヵ月の留学期間でクリーブランドクリニック神経炎症センター(アカデミック)からボストン製薬会社バイオジェン(インダストリー)に移り、全く性質の違う二つのフィールドで本研究を継続する機会を得ました。両者では研究の目的、やり方、重要視されること、ラボメンバーの価値観などが全く異なり、とても興味深かったです。私のボスであったRichard Ransohoff先生は考え方が聡明で、研究者として大事なことをたくさん教わりました。帰国後は山口大学神経内科で血液脳関門を操作する新規標的分子を同定する研究を進めています。留学の機会を与えていただいた神田 隆教授や医局の先生方など、支えていただいた方々に深謝いたします。

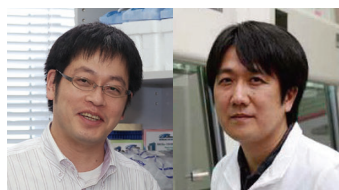


ヒトiPS/ES細胞からエリスロポエチン産生細胞の作製に成功 ～腎性貧血に対する細胞療法の可能性～

Human pluripotent stem cell-derived erythropoietin-producing cells ameliorate renal anemia in mice

笠原 朋子¹ 片桐 直子¹ 保科 あずさ¹ 前 伸一¹ 小高 真希¹ 豊原 敬文¹ Asadur Rahman²
中野 大介² 丹羽 明³ 斎藤 潤³ 中畑 龍俊³ 西山 成²

¹ 京都大学iPS細胞研究所(CiRA)増殖分化機構研究部門 ² 香川大学医学部薬理学 ³ 京都大学iPS細胞研究所(CiRA)臨床応用研究部門



左から長船 健二、人見 浩史

長船 健二 Kenji Osafune

京都大学iPS細胞研究所(CiRA)増殖分化機構研究部門 教授

人見 浩史 Hirofumi Hitomi

香川大学医学部薬理学 准教授

京都大学iPS細胞研究所(CiRA)増殖分化機構研究部門 研究員

Contact

長船 健二 E-mail: osafu@cira.kyoto-u.ac.jp
所在地: 606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53
U R L: <http://www.cira.kyoto-u.ac.jp/osafune/>

人見 浩史 E-mail: hitomi@med.kagawa-u.ac.jp
所在地: 761-0793 香川県木田郡三木町池戸 1750-1
U R L: <http://www.kms.ac.jp/~yakuri/>

Abstract

エリスロポエチン(EPO)は造血系における基本的なホルモンであるが、慢性腎臓病(CKD)患者の腎臓では、腎機能低下に伴い、その産生が低下し、最終的に重度の貧血に至ることになる。組換えヒトEPO製剤はCKD患者の貧血を改善するが、間歇的投与では赤血球数の変動を認めることがあり、必ずしも生理的治療とは言えない。われわれは、以前に報告された肝細胞の分化誘導プロトコルを改良して、ヒト人工多能性幹細胞(hiPSC)からEPO産生細胞を作製する方法を確立した。作製されたヒトiPSC由来のEPO産生(hiPSC-EPO)細胞では、低酸素条件、プロリン水酸化酵素阻害剤、およびインスリン様成長因子1に反応して、EPOの発現および分泌の亢進が認められた。hiPSC-EPO細胞から分泌されるEPO蛋白質は、ヒト臍帯血前駆細胞の赤血球への分化をin vitroで誘導した。さらに、アデニン投与により誘導したCKDマウスへのhiPSC-EPO細胞の移植により、腎性貧血が改善した。したがって、hiPSC-EPO細胞はEPO産生機序を明らかにする上で有用なツールであるとともに、腎性貧血の治療にも有用な薬物療法戦略となる可能性がある。

Figure and Note

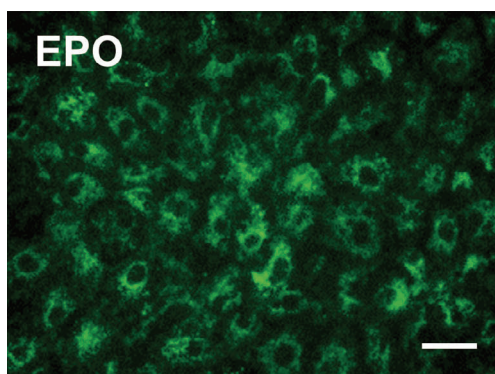


図1: EPO産生細胞の確認

緑: EPO、青: 核、スケールバー: 40μm

ヒトiPS細胞から分化誘導されたEPO産生細胞。緑色に染色されている細胞はEPOを産生していることがわかる。

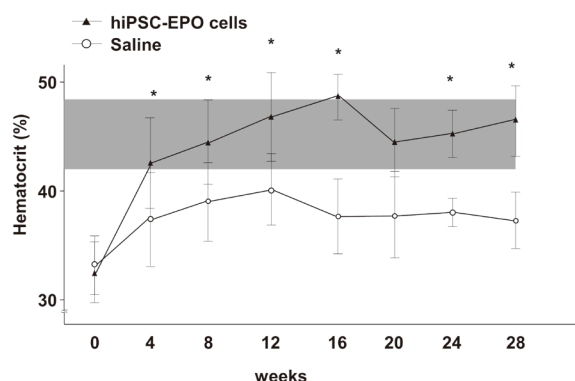


図2: ヒトiPS細胞由来EPO産生細胞の移植効果

▲: ヒトiPS細胞由来のEPO産生細胞を移植した群

○: コントロールの生理食塩水投与群

免疫不全マウスにアデニンを投与することで、腎性貧血モデルマウスを作製した。灰色の領域はマウスのHct正常値の範囲を示している。EPO産生細胞の移植により、28週間の貧血改善を認めた。値は平均値±標準誤差を表す(n=4)、*p<0.05 vs Saline

ヒトiPS細胞を用いたエリスロポエチン産生細胞による腎性貧血細胞治療

全身に酸素を運ぶ赤血球は、エリスロポエチン(EPO)という物質の血中濃度に応じて骨髄における産生量が調節されています。EPOは胎児期には肝臓の細胞から作られますが、成人では腎臓にあるEPO産生細胞から放出されます。そのため、腎臓に障害が発生するとEPO産生細胞の働きが弱くなり、EPOの量が減少、赤血球の産生量も低下し、貧血状態になります。これを腎性貧血といいます。これまではヒトのEPOを人工的に作った遺伝子組換えEPO製剤が開発されており、それを腎性貧血の患者さんに注射で投与することにより赤血球の産生を促していました。しかし、そもそも製剤が高価であることと、正常な状態のように、ある程度一定の血中濃度になるよう調整するのが難しい、またEPOに対する自己抗体が体内で作られてしまうことがあるなど課題もありました。そこで筆者らはヒトiPS/ES細胞からEPO産生細胞を作ることを試みました。

今回の研究では、ヒトiPS細胞を肝細胞の系譜へと分化を誘導することによりEPOを産生する細胞を作製しました。このEPO産生細胞は低酸素状態に応答してEPOを産生し細胞外へと分泌しました。同じ方法を用いて、ヒトのES細胞、マウスのiPS細胞およびES細胞からもエリスロポエチン産生細胞を作製することができました。さらに、腎性貧血の経口治療薬として開発中のプロリン水酸化酵素阻害剤の投与によりEPOの産生は増加しました。また、ヒトiPS細胞由来EPO産生細胞の培養上清は、コロニーアッセイにおいてヒトの臍帯血から得たCD34陽性の造血前駆細胞を赤芽球へと分化させ、腎性貧血のモデルマウスにおいて貧血を改善しました。さらに、ヒトiPS細胞由来EPO産生細胞を腎性貧血状態の免疫不全マウスの腎被膜下に移植したところ、28週間も生着し多血症となることなく腎性貧血の改善を認めました。

ヒトiPS/ES細胞からEPO産生細胞を作製する方法を世界で初めて確立しました。今回の結果より、ヒトiPS細胞を用いた腎性貧血の細胞治療の可能性を示すことができました。また、iPS/ES細胞由来のEPO産生細胞は腎性貧血の治療薬スクリーニングや現在開発中の薬剤の薬効評価にも有用であると考えています。慢性腎臓病患者数の増加により今後需要の増す腎性貧血治療に対して、安価で生理的な治療を提供する重要な技術として期待されています。

活気あふれる京都大学iPS細胞研究所 (長船研究室)

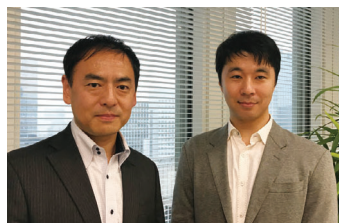
京都大学iPS細胞研究所増殖分化機構研究部門(長船研究室)は、主にヒトiPS細胞を用いて腎臓、脾臓、肝臓を再生することを目的としております。これにより、移植に提供できる細胞を作ることや、新しい治療薬を開発することを研究しています。実際には、発生生物学の知見に基づき、iPS細胞からこれら3つの臓器の構成細胞を高効率に分化誘導する方法の確立を行っています。早朝から夜まで研究に従事し、研究室内外で活発に議論が交わされています。親睦を深める会合も多く、世界最先端の研究だけでなく、オフも非常に充実した研究室です。



固形腫瘍治療のための 抗グリピカン3/CD3 T細胞リダイレクト二重特異性抗体

An anti-glypican 3/CD3 bispecific T cell-redirecting antibody for treatment of solid tumors

全著者リスト: <http://stm.sciencemag.org/content/9/410/eaal4291>



左から根津 淳一、石黒 敬弘

根津 淳一 Junichi Nezu

Research Head, Chugai Pharmabody Research Pte. Ltd.
(現 中外製薬株式会社 研究本部副本部長 創薬薬理研究部長)

石黒 敬弘 Takahiro Ishiguro

中外製薬株式会社 トランスレーショナルクリニカルリサーチ本部 グループマネージャー

Contact

根津 淳一 E-mail: nezujyn@chugai-pharm.co.jp
所在地: 247-8530 神奈川県鎌倉市梶原200
石黒 敬弘 E-mail: ishigurotkh@chugai-pharm.co.jp
所在地: 103-8324 東京都中央区日本橋室町2-1-1
日本橋三井タワー

Abstract

癌治療は、免疫チェックポイント阻害薬、遺伝子改変T細胞療法、細胞ワクチンなどの免疫療法によって革命的な変化を遂げつつある。T細胞リダイレクト二重特異性抗体(TRAB)は、そうした有望な免疫療法薬の一つで、T細胞上のCD3と腫瘍細胞上の抗原を標的とすることによってT細胞をリダイレクトできる。T細胞は、T細胞受容体の特異性にかかわらずに腫瘍細胞にリダイレクトされ得るため、TRABは十分な新生抗原(ネオ抗原)を持たない免疫原性の低い腫瘍に対して有効と考えられる。TRABの臨床効果はすでにblinatumomabによって示されている。同剤は二重特異性を有するT cell engagerでCD19とCD3を標的とし、血液腫瘍に対してこれまでに顕著な臨床効果が示されている。しかし、固形腫瘍におけるTRABの成功は、on-target off-tumor 毒性を回避するための十分な腫瘍選択性を有する標的分子がないことで妨げられている。グリピカン3(GPC3)は、腫瘍特異性の高い抗原で胎児成長期に発現されるが、正常な成人組織内では厳格に抑制されている。われわれは、共通の軽鎖を有する全ヒトIgG構造を持ち、GPC3とCD3の両方に特異的に結合するTRAB、ERY974を開発した。われわれは再構成したヒト免疫細胞を有するマウスモデルを用いて、ヒト腫瘍と同等のGPC3発現を有する様々な種類の腫瘍に対し、ERY974が非常に優れた抗腫瘍作用を出すことを示した。ERY974はまた、PD-1(programmed cell death protein-1)やCTLA-4(cytotoxic T lymphocyte-associated protein-4)などの免疫チェックポイントの阻害では治療が困難な、免疫原性の低い腫瘍に対しても、顕著な抗腫瘍効果を誘導した。免疫モニタリングにより、ERY974は炎症性の低い腫瘍微小環境を炎症性の高い微小環境に転換することが示された。カニクイザルを用いた毒性試験では一過性のサイトカイン産生が認められたが、これはマネージ可能であり可逆的であった。臓器毒性は認められなかった。これらのデータは、GPC3陽性固形腫瘍を有する患者を対象としたERY974の臨床試験を行う根拠を提供している。

Figure and Note

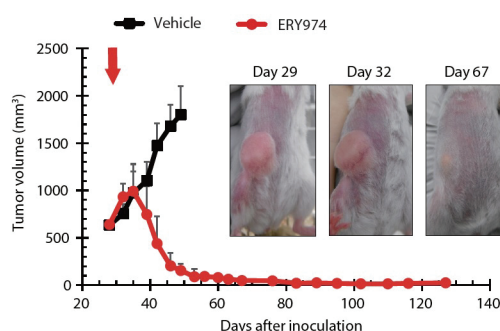


図1: ERY974の担癌マウスモデルにおける抗腫瘍効果

ヒト食道扁平上皮癌細胞株であるKYSE70を免疫不全マウスに移植し、腫瘍が600mm³以上という大きな状態に増殖した後でERY974による治療を開始した。一回のERY974投与により、癌は完全に消失することが示された。

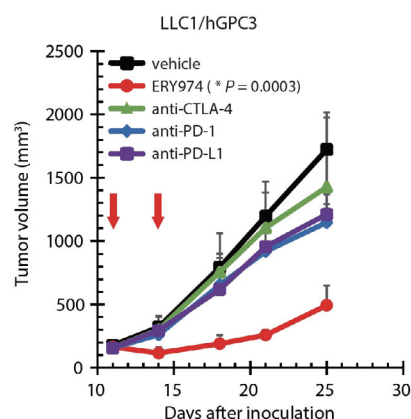


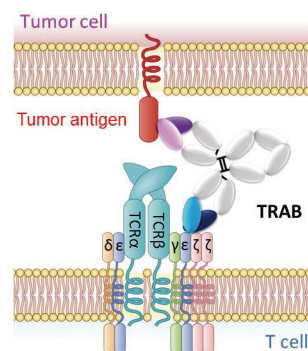
図2: 免疫チェックポイント阻害抗体が効かない癌モデルに対するERY974の抗腫瘍効果

抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体が効かないLLC1/hGPC3癌モデルにおいてERY974は抗腫瘍効果を示した。

既存の腫瘍免疫薬の限界を打ち破る T細胞リダイレクト抗体 ERY974

最近になり、抗CTLA-4抗体、抗PD-1/PD-L1抗体といった免疫チェックポイント阻害抗体(CPi)が非常に優れた抗腫瘍効果を発揮することが示され、癌の治療に大きな革命が起こっています。CPiにより活性化されたT細胞は、癌の表面に提示されるネオ抗原と呼ばれる変異抗原タンパクを認識して癌を攻撃します。CPiは、その治療が有効な患者さんには非常に優れた抗腫瘍効果を表しますが、残念ながら、CPiが効かない癌もまだ多数あることも同時にわかってきました。これらの癌においては、ネオ抗原の数が少なかったり、あるいはネオ抗原を認識できるT細胞が体内に少ないために、CPiでT細胞が活性化されても癌を殺すことができないものと考えられています。

T細胞リダイレクト抗体(T cell Redirecting AntiBody/TRAB)は、癌細胞上にある癌抗原とT細胞上のCD3を結合させるバイスペシフィック抗体(二重特異性抗体)です(図)。TRABにより、ネオ抗原の存在にかかわらずT細胞に癌細胞を認識させて癌を攻撃させることができることから、TRABはCPiが効かない癌に対しても有効である可能性が考えられます。TRABの臨床的な有用性については、既に、血液癌を標的としたblinatumomabが優れた成績を臨床試験であげていることから証明されています。しかしながら固形癌においては、未だ有望なTRABが開発されていません。われわれは、癌に非常に特異性が高いグリピカン3(Glypican 3/GPC3)をターゲットとしたTRAB、ERY974を創製し、その抗腫瘍効果、および安全性を多面的に調べこの論文に報告しました。



まずわれわれは、in vitroにおいて、ERY974がGPC3に特異的に結合し、GPC3を発現する細胞を殺す能力を持つことを確認しました。またこの際、ERY974はT細胞をポリクローナルに活性化すること、またCD8細胞のみならずCD4細胞も癌細胞を殺すために使うことができることを見出しました。CPiのように癌反応性を持つごく一部のT細胞を使うのではなく、体内のより多くのT細胞を、癌細胞を殺すために使うことができるために、TRABはより強い抗腫瘍作用を出しうることが示唆されました。次にわれわれは、ERY974のin vivoにおける抗腫瘍作用を、肺癌、肝臓癌、胃癌などを含む7種類の癌マウスモデルにおいて調べました。いずれの癌モデルにおいてもERY974は非常に強い薬効を示し、また腫瘍組織が非常に大きくなった状態で投与を開始したとしても、その癌を完全に除去することが可能であることが示されました。さらにわれわれは、CPiが効かない癌のモデルにおいても、ERY974が抗腫瘍作用を出すことを示しました。

次にわれわれは、ERY974の安全性についてのサルを用いた検討を行いました。その結果、ERY974投与により、一時的なサイトカインの産生が見られたものの、網羅的な病理学的な解析においては、正常組織における組織傷害は認められないことが示されました。

ERY974は現在、各種の固形癌を標的に、第一相臨床試験を実施中です。この論文で報告した非臨床の試験結果より、われわれはERY974が優れた抗腫瘍薬効を示し、安全性的にも優れた新しい有望な癌免疫治療薬となることを期待しています。

モデル動物のヒト予測性の限界に挑む

中外製薬の薬効薬理研究チームは、主にマウスをモデル動物として新規薬剤候補の薬理研究を行います。その際に常に強く意識しているのがモデルのヒトへの予測性(外挿性)です。特に癌免疫療法のようなホストの免疫機能を利用する薬剤の場合、従来の抗がん剤評価に用いてきたモデルのみでは、患者さんに投与した際の効果を正確に研究することができません。本論文でも3つのモデル(ヒトT細胞移植モデル、ヒト免疫構築モデル、ヒトCD3トランスジェニックモデル)を組み合わせることで、臨床試験の成功確率を上げるべく、非臨床段階におけるモデル動物研究の限界に挑戦しています。



RNA 結合蛋白質と筋萎縮性側索硬化症 / 前頭側頭型認知症における病態カスケード

RNA binding proteins and the pathological cascade in ALS/FTD neurodegeneration

鈴木 則宏¹ 波多野 まみ²

¹ 慶応義塾大学医学部 神経内科

² 慶応義塾大学医学部 病理学



伊東 大介 *Daisuke Ito*

慶応義塾大学医学部 神経内科 専任講師

Contact

E-mail : dito@keio.jp

所在地 : 160-8582 東京都新宿区信濃町 35

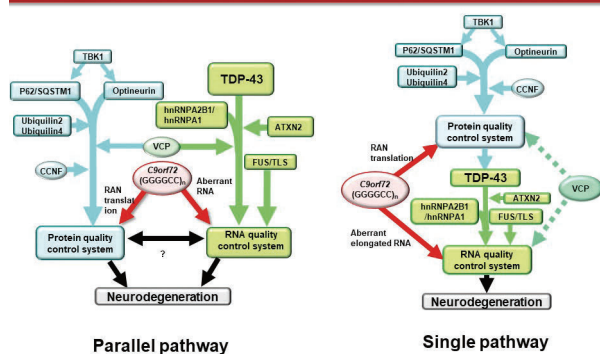
U R L : <http://www.keio-med.jp/neurology/>

Abstract

近年の遺伝学的アプローチにより、神経変性疾患である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) および前頭側頭型認知症 (FTD) に関連する原因遺伝子の同定が加速化している。これらの遺伝子によりコードされる疾患関連蛋白質のほとんどは、RNA 代謝と蛋白品質管理機構といった細胞内機構に集約される。これらの機構を制御するシグナル伝達経路間のクロストークは、変異 RNA 結合蛋白質の凝集が介在する病理学的カスケードにつながる。本レビューでは、著者自身の基礎研究を踏まえ上記について概説するとともに、神経変性疾患の克服にむけて異常蛋白の蓄積抑制を導く病態修飾薬開発の重要性を説いている。

Figure and Note

Possible relevance of ALS/FTD-linked molecules



(Ito D et al. Science translational medicine, 2017)

図1: ALS/FTD 関連遺伝子による病態カスケード

同定された多くの ALS 原因遺伝子の生理機能は、RNA 代謝と蛋白品質管理機構といった細胞内機構に集約され、病態カスケードを形成している。この二つが並行しているのが融合して一つのパスウェイを形成するのは今後の研究が必要である。

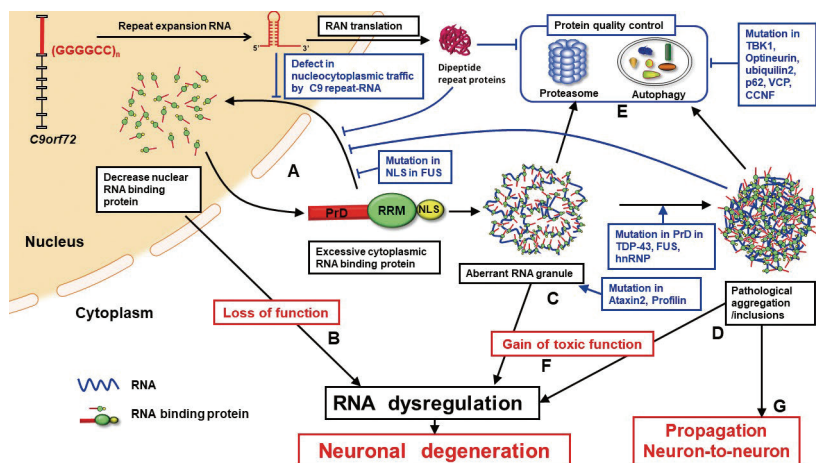


図2: RNA 結合蛋白の細胞質の異常局在と ALS/FTD の分子病態

細胞質内に蓄積した RNA 結合蛋白 TDP-43 と FUS は、不適切な RNA 顆粒形成、さらには封入体形成を介して RNA 品質管理機構を破たんさせ、神経変性カスケードを引き起こすと示唆される。また、種々の ALS 遺伝子変異は RNA 結合蛋白の細胞質移行、蓄積を促進するものと考えられる。

筋萎縮性側索硬化症／前頭側頭型認知症の分子病態解明に向けて

筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis: ALS) は、数年のうちに呼吸不全に陥る神経難病であります。1869年フランスの神経内科医 Jean-Martin Charcot が、最初の患者を報告して以来、予後を十分に改善させる病態修飾薬は存在しません。2006年、RNA 結合蛋白である TDP-43、2009年に Fused in sarcoma (FUS) と ALS 疾患概念に変革を与える画期的な原因遺伝子が同定されました。その後、分子遺伝学の発展に伴い筋萎縮性側索硬化症の原因遺伝子が次々に同定され、その分子メカニズムが劇的に明らかとなってきました。さらに、これまで ALS は運動神経が選択的に障害される疾患と考えられていましたが、若年性認知症である前頭側頭型認知症 (frontotemporal dementia: FTD) や筋 (inclusion body myopathy や distal Myopathy)・骨 (Paget's bone disease) 疾患とも併発する多彩な表現型を持つ疾患スペクトルであることがわかってきました。

同定された ALS 原因遺伝子の生理機能は、RNA 代謝と蛋白品質管理機構といった細胞内機構に集約され、ALS の分子病態がこの二つの分子機構の破たんにあることが明らかとなりつつあります (図1)。

特に、原因遺伝子の6つ TDP-43、FUS、TAF15、ESWR1、hnRNPA1、hnRNPA は、生化学的、細胞生物学的に共通性が見られます。すなわち 1) RNA recognizing motif (RRM) を持つ RNA 結合蛋白である。2) prion-like domain (PrLD) を持ち凝集性が高い。この PrLD はアミノ酸配列において2つの特徴があり glycine/serine-tyrosine-glycine/serine (G/S-Y-G/S) の繰り返し配列があり、さらに glutamine と asparagine (Q/N) に富む。3) ストレス顆粒の構成分子である。4) 患者死後脳で細胞質への局在異常を起こし封入体を形成する (図2)。これらの特徴は、ALS/FTD の分子病態を理解するにあたり極めて重要と考えられています。

さらに、多くの ALS 原因遺伝子は、クロイツフェルトヤコブ病の病因蛋白であるプリオンと類似した性質を持ち病因蛋白の異常蓄積と脳内伝播といった共通の病態メカニズムの存在が示されつつあります。他の神経変性疾患、アルツハイマー病やパーキンソン病においても同様な知見が蓄積してきており、神経変性疾患の治療ターゲットが病因蛋白の異常蓄積であることがわかってきました。

慶應義塾大学医学部神経内科

当研究室の研究分野は神経内科学全般にわたります。まず伝統である「脳循環の調節機序、脳血管の神経支配、頭痛」を中心に、脳血管障害の研究、片頭痛の研究が進められています。また認知症、パーキンソン病、変性疾患についての臨床的・基礎的研究も活発に行われています。これらに加え、重症筋無力症・多発性硬化症をはじめとした免疫疾患についても研究成果を挙げています。本研究は、伊東らが中心とする運動ニューロン疾患、認知症の分子病態の解析するグループによる論文であります。



マトリックス結合型免疫チェックポイント阻害薬により抗腫瘍効果が増強し、有害事象が減少する

Matrix-binding checkpoint immunotherapies enhance antitumor efficacy and reduce adverse events

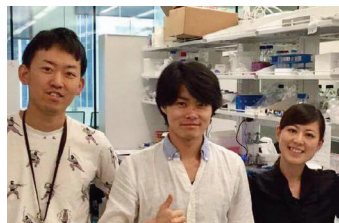
Hans M. Larsson¹ Lambert Potin^{1,2} Peyman Hosseini² Gabriele Galliverti¹ Melody A. Swartz^{1,2,3,4} Jeffrey A. Hubbell^{1,2,4}

¹ Institute of Bioengineering, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne

² Institute for Molecular Engineering, University of Chicago

³ Swiss Institute for Experimental Cancer Research, School of Life Sciences, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne

⁴ Institute of Chemical Sciences and Engineering, School of Basic Sciences, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne



左から石原 純、福永 和人、石原 亜香

石原 純 Jun Ishihara

Postdoctoral Scientist, Institute for Molecular Engineering, University of Chicago
Institute of Bioengineering, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne

石原 亜香 Ako Ishihara

Postdoctoral Scientist, Institute for Molecular Engineering, University of Chicago

福永 和人 Kazuto Fukunaga

Institute for Molecular Engineering, University of Chicago

Institute of Bioengineering, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne

(現 東京工業大学 生命理工学研究科 博士課程)

Contact

石原 純 E-mail : juni@uchicago.edu

所在地 : 5640 South Ellis Avenue Chicago, Illinois 60637

Abstract

免疫チェックポイント阻害薬は高い抗腫瘍活性を示す抗体医薬だが、近年の研究では、治療に関連する重篤な有害事象の発現も報告されている。われわれは、腫瘍内および腫瘍周囲に保持されて全身曝露が抑えられるように改良した局所免疫チェックポイント阻害薬の開発を行った。われわれはチェックポイント阻害抗体を、胎盤成長因子2由来の細胞外マトリックス(ECM)高親和性ペプチド(PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄)で修飾した。PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄での修飾により抗体の組織内への保持が増強されて、血漿内濃度が低下し、自己免疫性糖尿病のリスクなどの全身性副作用が抑制されることを示した。PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄-抗CTLA4(細胞毒性Tリンパ球抗原4)抗体およびPIGF-2₁₂₃₋₁₄₄-抗PD-L1(プログラム細胞死リガンド1)抗体の腫瘍周囲への注入により、通常の抗体の場合と比較して、黒色腫および乳がんの遺伝子改変マウス腫瘍モデルにおいて腫瘍増殖が遅延し、生存が延長した。PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄-抗体により、活性化されたCD8⁺ T細胞およびCD4⁺ T細胞の腫瘍浸潤が増加し、その結果として遠隔腫瘍の増殖も遅延した。ペプチド修飾によるECM結合抗体の作成は簡単かつ臨床応用も可能であり、チェックポイント阻害療法における有効かつより安全なアプローチとなり得る。

Figure and Note

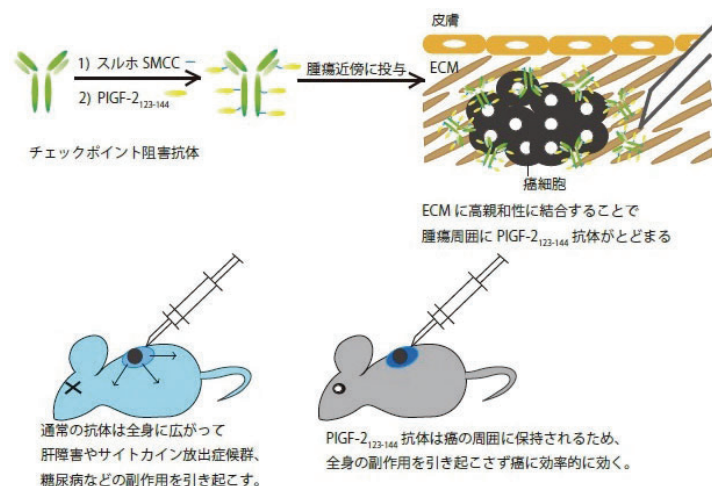


図1: 抗体の修飾と、投与のスキーム

細胞外マトリックスに親和性の高いペプチドを抗がん剤(抗体)に修飾させ、がんの近くに注射すると、がんの周囲の免疫細胞が活性化されて、抗がん活性が上がる。

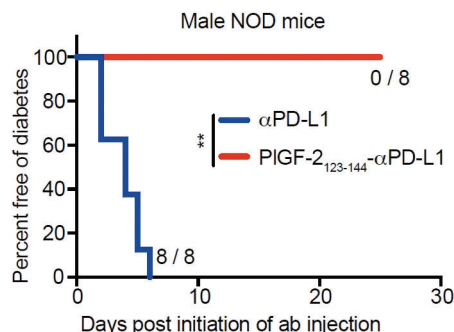


図2: 修飾した抗体は1型糖尿病発症のリスクが低い

PD-L1抗体投与は自己免疫反応を誘発し、糖尿病を引き起こすことが知られているが、PIGF-2ペプチド修飾によって糖尿病誘発リスクが低下した。横軸は抗体投与後の日数を表し、縦軸は糖尿病にならなかったマウスの割合を示している。

マトリックスに結合するよう改変すると抗がん剤は改良される

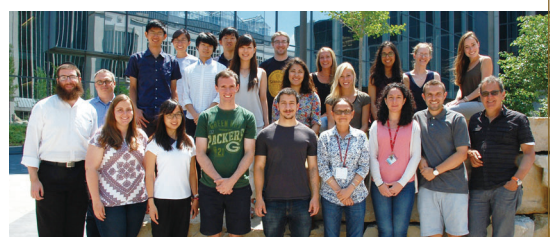
免疫チェックポイント阻害抗体はその高い治療効果が認められ、様々ながんに適応が広がっている新薬ですが、近年その副作用が問題視されてきています。そこで、私たちは薬をがんの局所にとどまるよう改変することで副作用を下げ、効果をもっとあげられないかと考え、今回の研究を行いました。そこで用いたのが、細胞外マトリックス(ECM)に親和性の高いペプチドです。私たちの研究室ではもともと胎盤由来成長因子-2(PIGF-2)の一部にECMに高親和性のドメイン(PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄)があることを発見していました。そこで、私たちはこのペプチドをチェックポイント阻害抗体に結合させたPIGF-2₁₂₃₋₁₄₄-チェックポイント阻害抗体を作り、がんの周囲に投与することで、PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄-チェックポイント阻害抗体ががんの周りのECMに結合し、血流に乗って全身に薬が広がることを抑えることで全身性の副作用を下げ、かつがん周囲には高濃度で保持されるため、治療効果は上がるのではないかと考えました。

PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄修飾による副作用低減の根拠として、通常のチェックポイント阻害抗体投与が血中サイトカイン濃度の上昇や肝障害のマーカーを上昇させたのに対し、PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄-チェックポイント阻害抗体は上がらないことを確認しました。また、PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄修飾したチェックポイント抗体は自己免疫型糖尿病を引き起こすリスクが下がることも確認しました。PIGF-2₁₂₃₋₁₄₄-チェックポイント阻害抗体は通常のチェックポイント阻害抗体よりも悪性黒色腫と乳がんに対して高い抗がん活性を示していました。また、この治療効果がT細胞の活性化を介していること、それにより遠隔腫瘍にも同様に治療効果が認められることを確認しました。

これまでの研究では抗がん剤の副作用を抑えることを目的とした研究は少なく、特にチェックポイント阻害抗体の副作用をマウスの実験でどのように評価するかについても一般的な指標がないのが現状でした。未修飾の抗体は臨床で、99%以上の人が副作用を訴え、37%の患者が副作用を理由に治療継続を断念しています。今回の私たちの研究では、副作用の低減と効果の増強の双方を狙っており、副作用を様々な指標で評価し、様々ながん種で増殖を抑えられていることが意義深いと考えています。しかし、この治療法は、がんの局所で投与することが条件となるため、表面から注射可能ながんに適応が限られてしまうことが今後の課題です。これからも患者さんに安全でより良い薬剤の開発を目標に研究を続けていきたいと考えています。

シカゴ大学 Jeffrey A. Hubbell laboratory

研究室では再生医療、自己免疫疾患、がん免疫治療の研究をしています。将来患者さんの役に立てよう臨床応用も視野に入れ、精力的に活動しています。教授は聡明で優しい方で、良い研究環境を作ってくれています。本研究は、私が就職面接の時に出したアイデアを元にしており、スイスからシカゴへの研究室移動も挟みつつ3年半かかって論文になりました。また、東京工業大学の福永和人君が、博士課程の卒業を延ばしてでもやり遂げたいと、熱意を持って1年以上一緒に研究してくれたおかげで形になりました。ぜひ私たちの研究室に留学してみたい学生さんはご連絡ください。



がんにおける病的意義の不明な *EGFR* 遺伝子バリエントのハイスループット機能評価法

A method of high-throughput functional evaluation of *EGFR* gene variants of unknown significance in cancer

長野 匡晃^{1,2} 上野 敏秀¹ 末原 義之³ 林 大久生⁴ 嶋田 奈緒子⁵ 高橋 和久⁵ 鈴木 健司⁶ 高持 一矢⁶ 高橋 史行⁵

¹ 東京大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学専攻 細胞情報学分野

⁴ 順天堂大学 医学部・大学院医学研究科 人体病理病態学講座

² 東京大学大学院 医学系研究科 外科学専攻 呼吸器外科学講座

⁵ 順天堂大学 医学部・大学院医学研究科 呼吸器内科学講座

³ 順天堂大学 医学部・大学院医学研究科 整形外科科学講座

⁶ 順天堂大学 医学部・大学院医学研究科 呼吸器外科学講座



左から高阪 真路、間野 博行

高阪 真路 Shinji Kohsaka

東京大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学専攻 ゲノム医学講座 特任助教

間野 博行 Hiroyuki Mano

東京大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学専攻 細胞情報学分野 教授

国立がん研究センター研究所 所長

Contact

高阪 真路 E-mail: kohsakas@m.u-tokyo.ac.jp

所在地: 113-0033 東京都文京区本郷7-3-1 教育研究棟6階

U R L: <http://mano-lab.umin.jp/genome.html>

間野 博行 E-mail: hmano@m.u-tokyo.ac.jp

所在地: 113-0033 東京都文京区本郷7-3-1 教育研究棟6階

U R L: <http://mano-lab.umin.jp/>

Abstract

大規模がんゲノムプロジェクトにより多数の意義不明の遺伝子バリエント(VUS)が同定されているが、その機能的な意義はまだ研究されていない。われわれは、VUSの形質転換能と薬物感受性をハイスループットで評価するためのmixed-all-nominated-mutants-in-one(MANO)法を新たに開発し、本法を101の非同義上皮成長因子受容体(EGFR)変異体に適用した。その結果、EGFRチロシキナーゼ阻害薬(TKI)に対する耐性を付与する複数の変異体を発見することに成功し、これらにはエクソン19内のゲフィチニブおよびエルロチニブ耐性ミスセンス変異、ならびにその他のゲフィチニブ耐性変異(L833V、A839T、V851I、A871T、G873Eなど)が含まれていた。*EGFR*(L858R)陽性腫瘍(12.8%)は主として*cis*アレルに重複変異を保有しており、重複変異陽性腫瘍はゲフィチニブ感受性が低下していた。さらにMANO法の適用により、全てのTKIに高度の耐性を有する一部のEGFR変異体は、セツキシマブに感受性であることが明らかになった。これらのデータにより、*EGFR*内のまれな変異の臨床的意義を調べる、またこうした変異の機能を併せて評価することの重要性が支持される。本法は、がん関連遺伝子のバリエントを*in vitro*および*in vivo*で評価する上で基盤技術となるものであり、またがん治療を個々の患者に合わせて調節するゲノム医療の実践で有用となり得る。

Figure and Note

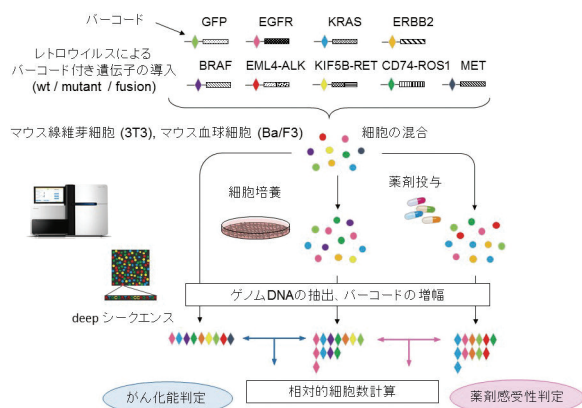


図1: MANO法の概要

固有のバーコード配列が組み込まれた遺伝子導入細胞を混和してアッセイを行い、各導入細胞の相対細胞数変化をNGSでバーコード相対量を計測することで判定し、各遺伝子の薬剤感受性やがん化能を一度に多数評価する。

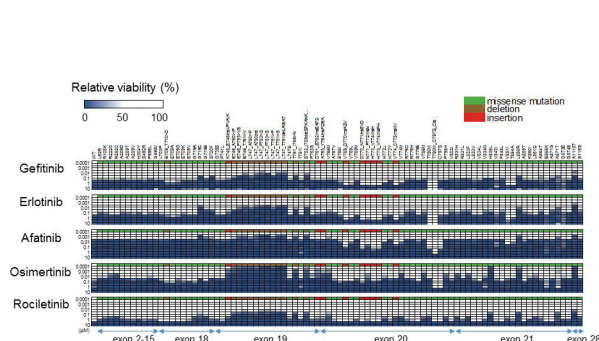


図2: EGFR変異体の薬剤感受性評価

87種類のEGFR変異体における5種類のEGFRチロシキナーゼ阻害剤に対する薬剤感受性をMANO法で評価した。

網羅的機能解析をすることで明らかになった 新たな薬剤耐性機構

次世代シーケンサーの登場によりがんのゲノム異常と発がんのメカニズムが明らかになりつつありますが、同時に数多くの臨床的意義不明の変異 (variants of unknown significance: VUS) が同定されました。このような VUS は発がんにどのように関わっているのか、治療標的になり得るのか、あるいは抗がん剤の感受性にどのような影響を及ぼすのかということについてはわかっていませんでした。その原因としては従来の変異遺伝子機能解析法は一つずつの変異遺伝子の機能を調べるために多くの時間と労力を要することから、次々と報告される変異遺伝子に対して機能解析が追いついていないということが考えられます。この問題を解決するために革新的なハイスループット遺伝子変異機能解析手法 (mixed-all-nominated-mutants-in-one method: MANO 法) を構築しました。

MANO 法は様々な遺伝子を導入した細胞を全て混和した上で機能解析を行います。各遺伝子導入細胞の相対細胞数を算出することで、各遺伝子の薬剤感受性や細胞増殖に与える影響を一度の解析で多数評価できます (図1)。この手法を用いて 101 種類の EGFR 変異を評価したところ、64 種類ががん化能をもつ遺伝子変異であることが判明しました。さらに 5 種類の EGFR 阻害剤に対する感受性を評価すると、多くの EGFR 阻害剤耐性変異が発見され、特に EGFR エクソン 19 番内の非同義変異や L833V、A839T、V851I、A871T、G873E などがゲフィチニブやエルロチニブに耐性変異であるということが、今回新たに判明しました (図2)。

また、EGFR のマイナー変異は一般的に薬剤感受性が低いことが明らかになったため、EGFR 阻害剤耐性の原因になっているのではないかと予想しました。そこで従来から知られていた EGFR チロシンキナーゼ阻害剤耐性変異を有しないにもかかわらず、ゲフィチニブ耐性になった 11 症例の肺腺がんにおける EGFR 遺伝子配列を解析すると、驚くべきことにそのうちの 3 例は L858R (最も頻度の高いがん化変異) と E709A あるいは E709G との重複変異を有するがんでした。培養細胞を用いて重複変異の薬剤耐性に及ぼす影響を実験してみると、L858R に加えて E709A/K/G/V の重複変異があると、L858R 変異単独のがんに比べて、ゲフィチニブの効果は 1/20 から 1/60 にも減弱することが判明しました。さらに EGFR (L858R) 変異陽性の肺腺がんを検査すると、約 20% には EGFR 遺伝子内の同一アレル上に重複変異が存在し、ゲフィチニブ耐性を誘導していることが明らかになりました。このように、これまで意義不明であった EGFR 遺伝子のマイナー変異のがん化能および薬剤感受性を簡便に明らかにする手法が構築されたとともに、今後のがんゲノム医療において、マイナー変異を正確に評価することの重要性が示唆されました。

MANO 法は、今後がん関連遺伝子の VUS を網羅的に評価することでがんゲノム医療の基盤技術になると期待されるとともに、阻害剤の効果を一度に多数の遺伝子変異に対して評価できるため、新しい分子標的治療薬開発にも有用となると考えられます。

東京大学大学院医学研究科 間野博行教授研究室

私(高阪)の所属する間野博行教授研究室では、がんの本態解明から臨床応用までの幅広いテーマに取り組んでおります。本研究はがんゲノム医療をサポートできるような技術を開発したいという想いから研究をスタートさせました。一人の力で達成できる課題ではなく、多くの方の力を合わせ、最大限の工夫と努力をすることでやっとどうにか解決できる課題に取り組むことが、新しい発見をもたらし、がんの診断や治療法の開発につながると考えております。今後も皆さまのご協力・ご支援をよろしくお願い申し上げます。



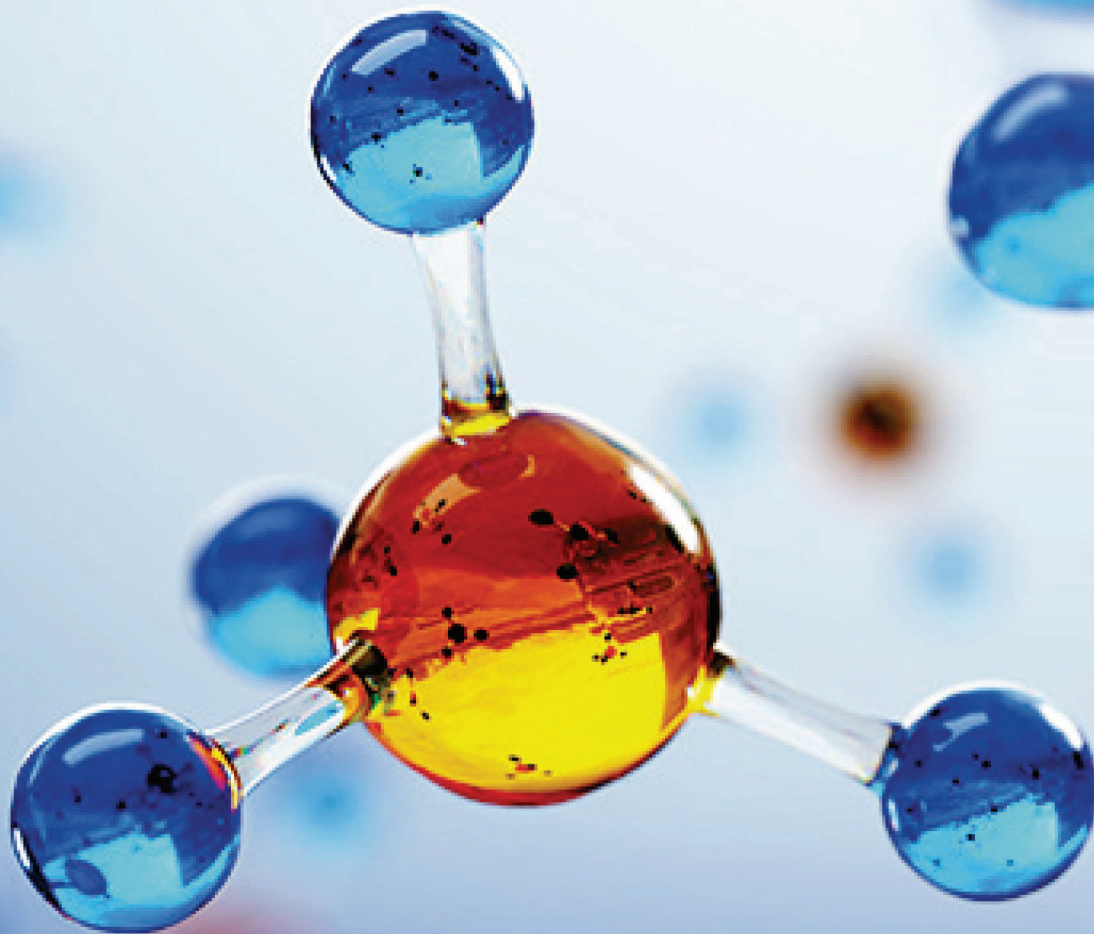
Step up your job search with *Science* Careers



- Access thousands of job postings
- Sign up for job alerts
- Explore career development tools and resources



Search jobs on **ScienceCareers.org** today



Submit Your Research for Publication in the *Science* Family of Journals

The *Science* family of journals are among the most highly-regarded journals in the world for quality and selectivity. Our peer-reviewed journals are committed to publishing cutting-edge research, incisive scientific commentary, and insights on what's important to the scientific world at the highest standards.

Submit your research today!

Learn more at www.sciencemag.org/journals

Science
AAAS

ScienceAdvances
AAAS

ScienceImmunology
AAAS

ScienceRobotics
AAAS

ScienceSignaling
AAAS

ScienceTranslational Medicine
AAAS

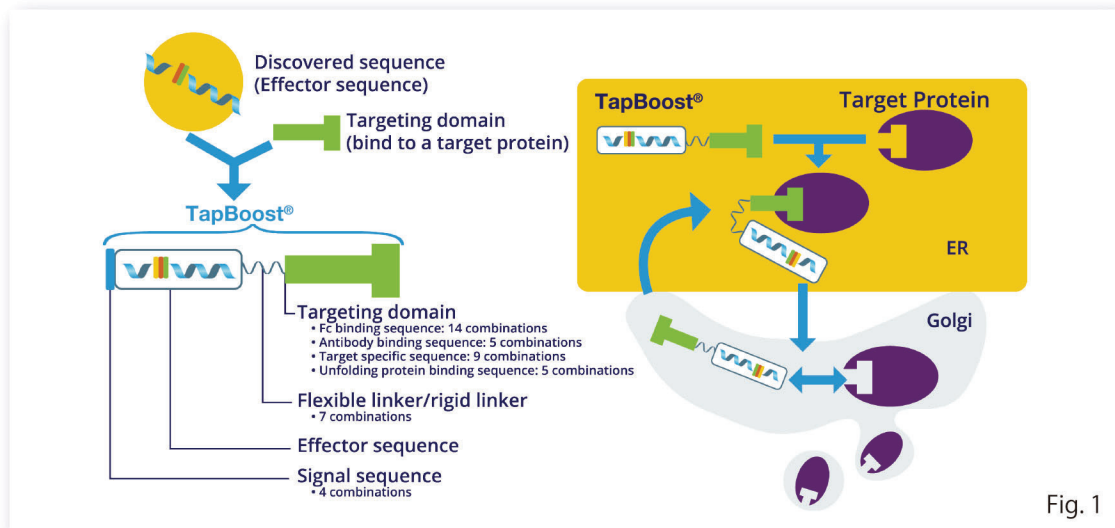
TapBoost® Breakthrough technology

to improve your target
protein production.

[Learn about our technology.](#)

独自の TapBoost® 技術により タンパク質フォールディングとタンパク質の発現を劇的に向上させます。

SOLA Biosciences 社では、独自の分子シャペロンモチーフを利用したタンパク質発現プラットフォーム“TapBoost® 技術”(Fig.1)を開発しました。目的タンパク質の正しいフォールディングを可能にし、さらに従来では発現が困難なタンパク質(分泌タンパク質や GPCR、Fc 融合タンパク質等)の発現を劇的に向上することに成功しました。TapBoost® は、ターゲットのタンパク質、または抗体だけを選択して生産性を向上させるために、そのターゲットタンパク質と結合可能な部位と連結できるように設計されています。



特長

- 既存の生物製剤やターゲット抗体の発現量を 3 ~ 10 倍に高める
- 発現の困難なタンパク質または抗体の発現を可能にする
- 活性を維持したまま発現が可能

サービス内容

- TapBoost® 技術を取り入れたタンパク質発現ベクターのデザインおよび構築サービス
- タンパク質および抗体発現サービス
※ご希望により、安定発現細胞株の構築も可能です。

対応可能な宿主細胞

- 哺乳動物細胞 (293 細胞系、CHO 等)

Mammalian Expression Platform

TapBoost® Platform has a great potential to enhance the production of many therapeutic recombinant proteins

Target proteins	Increased Productivity by TapBoost®	Fold Increase
293T monolayer System		
IL13Rα2-Fc		20
TNFR1-Fc (Enbrel)		5
Factor FVII-Fc		10
Factor IX-Fc		3
Factor VIII-Fc		21
Avastin		4
Humira		6
DP12		7
293F Suspension System*		
IL13Rα2-Fc		11
CHO Suspension System*		
IL13Rα2-Fc		4

*Optimization process is in progress



人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

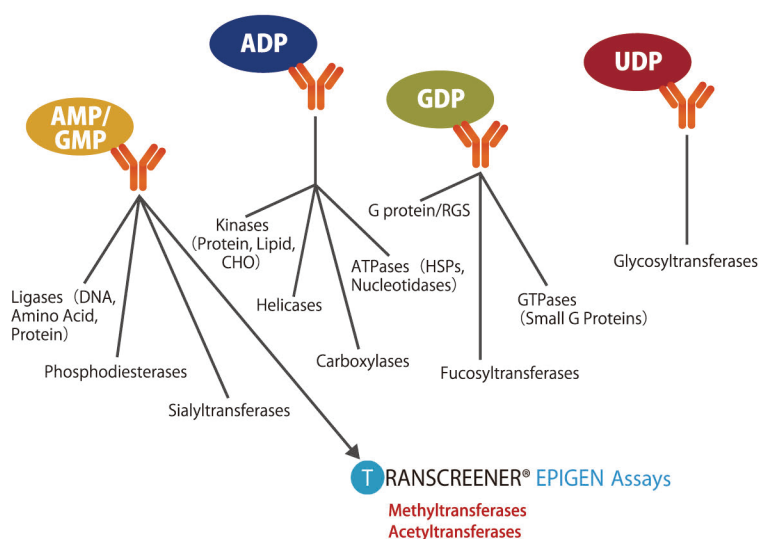
お問い合わせ
創業・受託サービス部 TEL: (03)5632-9616
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

キナーゼ、ATPase、GTPase を含む 数千種類以上の酵素の活性測定キット

T RANSCREENER[®] HTS ASSAYS

BellBrook 社の Transcreener[®] アッセイキットは、
多数のヌクレオチド依存性酵素の活性測定が可能です。

Transcreener[®] アッセイキットで解析可能な酵素一覧



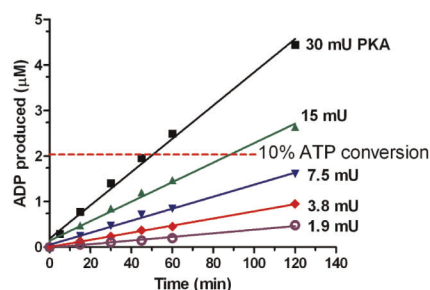
解析可能なアッセイ系

FP、FI、TR-FRET に対応した機器で検出可能

特長

- 抗体を使用した非常に高感度な検出系（右図）
- 混合して検出するだけの簡便なプロトコル
- ダイレクト検出法により、化合物干渉による偽陽性、偽陰性を低減
- 自動化 HTS にも対応

測定例：低濃度の ADP も高感度に検出可能



20 μM ATP を使用して PKA の活性を測定した。

 **BellBrook**
www.bellbrooklabs.com **Labs**



人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

お問い合わせ
創業・受託サービス部 TEL: (03)5632-9616
URL: <http://www.cosmobio.co.jp/>

Active Kinase and Other Active Enzymes



- Active Kinases** 活性型キナーゼ
- Active Acetyltransferases** 活性型アセチルトランスフェラーゼ
- Active Histone Deacetylases** 活性型ヒストン脱アセチル化酵素
- Active Arginine Deiminases** 活性型アルギニン分解酵素
- Active Kinase Mutants** 活性型キナーゼ変異体
- Active Phosphatases** 活性型脱リン酸化酵素
- Active Methyltransferases** 活性型メチル基転移酵素

バルクサイズ

カタログ品のバルクサイズもご用意いたします。お気軽にお問い合わせください。

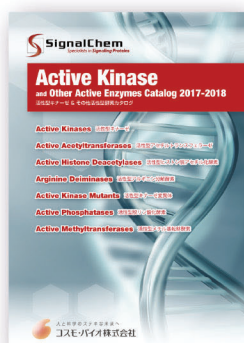
カスタム品

変異を入れたカスタム品も承っております。

詳細は、コスモ・バイオの Web サイトから 記事 ID 検索：14772

キナーゼプロファイリングサービス

約 500 種類のキナーゼによる酵素活性ベースの阻害剤の探索・解析に最適なプロファイリングサービスです。SignalChem 社では、使用するキナーゼについて厳格な QC を実施しており、またキナーゼの基質パネルにより、最適なリン酸化基質を選択しております。詳細は、コスモ・バイオの Web サイトから 記事 ID 検索：14771



Active Enzyme カタログ 大好評配布中!!

SignalChem 社の 500 種類を超える活性型キナーゼ等のカタログです。各遺伝子の情報をはじめ、発現系や法規制、タグ、配列などを一目でご確認いただけます。巻末には別名索引を設けておりますので、検索も簡単です！がんなどの疾患研究や、創薬、薬理研究を行う研究者様におすすめです。

コスモ・バイオ WEB サイト『カタログ請求』からご請求ください。



人と科学のステキな未来へ
コスモ・バイオ株式会社

お問い合わせ
創業・受託サービス部 TEL: (03)5632-9616
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>