



創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム

Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research



創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業

令和
3年度

BINDS公開シンポジウム

「知って、使って、進む あなたの研究」

日時 2021年11月25日(木) 12:30~16:00



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
Japan Agency for Medical Research and Development

令和3年度 BINDS 公開シンポジウム

～知って、使って、進む あなたの研究～

座長：中村 春木 PS

P. 1 クライオ電子顕微鏡によるプロスタグランジン受容体/Gタンパク質複合体の構造解析

清水(小林) 拓也 氏 (関西医科大学 医学部 教授)

P. 2 富山大学における抗体作製支援の取り組み ～マラリア抗体からスーパー中和抗体など

小澤 龍彦 氏 (富山大学 学術研究部医学系 准教授)

P. 3 改変ACE2が可能にする変異株を克服したCOVID-19創薬

星野 温 氏 (京都府立医科大学 大学院医学研究科 学内講師)

P. 4 AMED-BINDSとの協同による新型コロナウイルス感染症治療薬開発の体制構築
およびその成果

渡士 幸一 氏 (国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター 治療薬開発総括研究官)

座長：近藤 裕郷 PO

P. 5 低分子化合物から抗体までのCOVID-19治療薬開発への北大創薬センターの取り組み

前仲 勝実 氏 (北海道大学 大学院薬学研究院 教授)

P. 6 1細胞・1粒子解析技術を活用したSARS-CoV-2ウイルス研究へのアプローチ

－ 基盤技術の開発と将来への展望 －

竹山 春子 氏 (早稲田大学 理工学術院 教授)

P. 7 東北大学におけるオープンイノベーションを基軸としたアカデミア創薬

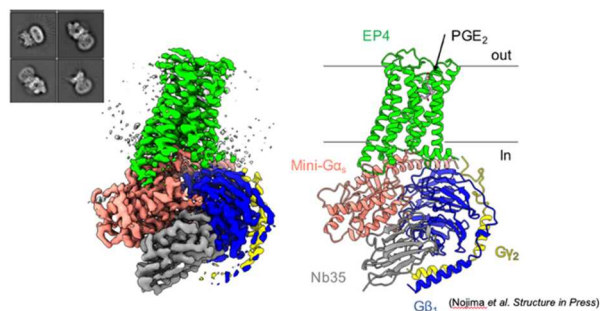
山本 雅之 氏 (東北大学 大学院医学系研究科 教授 / 東北大学メディカル・メガバンク機構 機構長)

クライオ電子顕微鏡によるプロスタグランジン受容体／ G タンパク質複合体の構造解析

清水(小林)拓也 / 関西医科大学 医学部 教授

脂質メディエータの一つであるプロスタグランジン(PG)は、発赤、熱感、腫脹、疼痛など急性炎症の局所反応と、発熱、倦怠感、食欲不振などの全身症状を起こす。PG には、 PGD_2 , PGE_2 , $\text{PGF}_2\alpha$, PGI_2 とロソキシサン(TX) A_2 があり、刺激に応じて合成、放出され、近傍の細胞にある各々の受容体に働いて作用を発揮する。PG 受容体には、2 種の PGD 受容体(DP1, DP2)、4 種の PGE 受容体(EP1~EP4)、PGF 受容体(FP)、PGI 受容体(IP)、TXA 受容体(TP)の 9 種があり、いずれも細胞膜を 7 回貫通する G タンパク質共役受容体(GPCR)である。脂質メディエータの結合した GPCR は、G タンパク質(Gs, Gi, Gq 等)、 β アレスチンなどを介してシグナルを細胞内へと伝達する。PG 受容体は、進化的に三つのグループに分類される。細胞内の cAMP を上昇させる Gs 共役型受容体(DP, IP, EP2, EP4)、細胞内 Ca^{2+} を上昇させる Gq 共役型受容体(EP1, FP, TP)、主に cAMP 産生を抑制する Gi 共役型受容体(EP3)に分類される。即ち、EP2 と EP4 は、同じ PGE_2 をアゴニストとする受容体(EP1, EP3)よりも、シグナル伝達が同じ受容体(DP, IP)とアミノ酸相同性が高い。 PGE_2 に応答する細胞は、複数の PGE 受容体を介して、複数のシグナルが複雑に細胞内へ伝達される。非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)は、PG 合成の初発酵素である Cyclooxygenase(COX)を阻害して抗炎症、解熱、鎮痛作用を発揮する。我々は、PG 受容体遺伝子欠損マウスと受容体選択的薬物を用いた研究により、PG の生理的・病態生理的な役割を明らかにしてきた(*Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2002)。

2000 年以降、PG 受容体の活性化及びシグナル伝達機構の分子メカニズムを理解することを目的として PG 受容体の X 線結晶構造解析を行ってきた。その結果、機能性抗体(EP4 の細胞外領域を認識し、 PGE_2 による cAMP の産生を抑制する)が結合した EP4 受容体を結晶化することで、アンタゴニストの結合した EP4 受容体の構造を分解能 3.4 Å で決定した(*Nat. Chem. Biol.* 15(1):18-26, 2019)。また、ナチュラルアゴニストである PGE_2 の結合した EP3 受容体の構造解析に成功した(*Nat. Chem. Biol.* 15(1):8-10, 2019)。しかし、X 線結晶構造解析では G タンパク質の結合した PG 受容体の立体構造を高分解能で決定することが難しかった。そこで、BINDS を利用してクライオ電子顕微鏡による単粒子解析を試みることにした。その結果、クライオ電子顕微鏡を利用し、EP4 受容体／Gs タンパク質複合体の構造解析に成功することができた(*Structure* 29(3):252-60, 2021)。



EP4 受容体/Gs タンパク質複合体の立体構造

1995年京都大学大学院医学研究科博士課程に入学、成宮教授の下、プロスタグランジン受容体の研究をスタートする。1998 年から留学するまでの 5 年半、成宮研究室の助手として受容体欠損マウスの薬理学的解析に携わる。2004 年からは留学を機に岩田教授の下で GPCR の X 線結晶構造解析を目指す。2018 年から関西医科大学に異動し、プロスタグランジン受容体のシグナル選択的な制御を目指して日々研究を進めている。



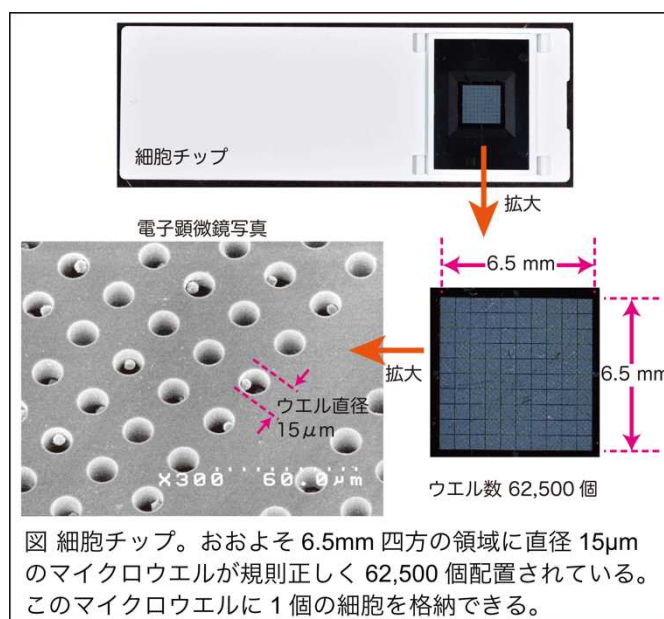
富山大学における抗体作製支援の取り組み ～マラリアからスーパー中和抗体など～

小澤 龍彦 / 富山大学 学術研究部医学系 准教授

B 細胞が産生する抗体は、生体の防御機構を担う免疫システムの重要なタンパク質であり、特異的なタンパク質と高い親和性で結合する性質を持ち、ウイルスや微生物などの病原性微生物を排除する働きを持つ。このような性質と働きを利用して、様々な研究用、体外診断薬用、そして治療用のモノクローナル抗体が開発され、創薬への応用が進んでいる。最近では技術革新も進み、従来のハイブリドーマ法と比べて、効率的にモノクローナル抗体の作製ができるようになったとは言え、手軽に作製するほどには至っていない。

我々は、手軽にモノクローナル抗体を作製するために、B 細胞が丁度 1 個入る大きさのウエルが 6 万個以上並んだ「細胞チップ」を工学系のグループと共同で開発した(図)。この細胞チップを用いて、抗原特異的な抗体を産生する B 細胞を迅速かつ網羅的に検出して回収し、回収した B 細胞より抗体遺伝子を得て 1 週間程度でリコンビナント抗体を作製できる ISAAC 法を開発した。

我々はこれまでにISAAC法を用いて、マラリアの感染を阻止するウサギ抗体、自己免疫疾患患者に誘導された自己抗体、そして様々な新型コロナウイルス変異株に対して中和活性を持つスーパー中和抗体など、計40種類以上の抗原に対して、累計400種以上の抗体を作製してきた。本講演では、BINDS事業にて富山大学が精力的に行ってきた抗体作製支援の取り組みと、その成果を紹介する。



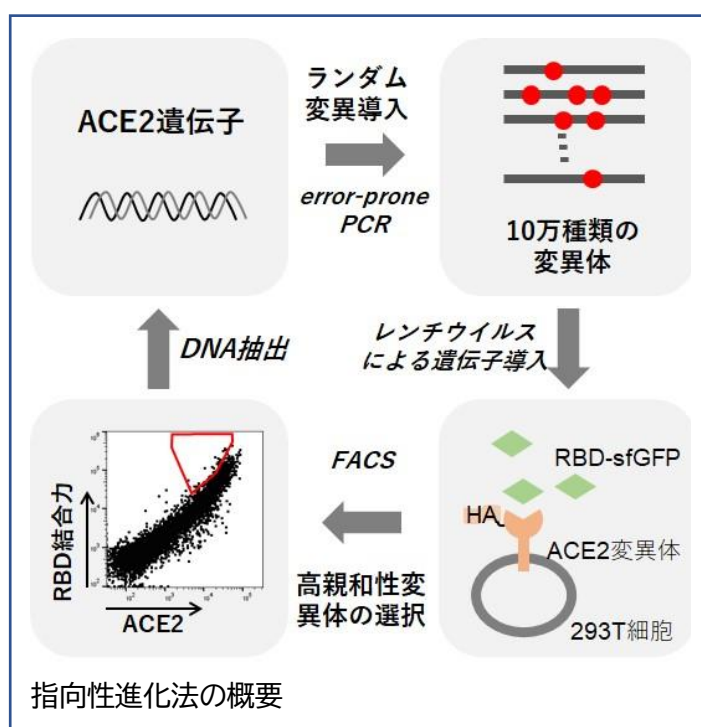
- 2004年 富山大学大学院 理工学研究科 博士後期課程 修了
- 2004年 財団法人富山県新世紀産業機構 派遣研究員
- 2006年 富山大学大学院 医学薬学研究部(医学)助手
- 2007年 富山大学大学院 医学薬学研究部(医学)助教
(学校教育法改正による)
- 2019年 富山大学 学術研究部医学系 助教 (改組による)
- 2020年 富山大学 学術研究部医学系 准教授 (現職)



改変 ACE2 が可能にする変異株を克服した COVID-19 創薬

星野 温 / 京都府立医科大学 大学院医学研究科 学内講師

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は 2019 年末に発生してから急速に世界中に広がり現在でも大きな問題となっているが、その間に感染力が増強したアルファ株やデルタ株に置き換わり、またワクチン逃避性のある変異株もいくつか報告されている。これまでに COVID-19 治療薬として新たに開発され認可されたものは中和抗体製剤のみであるが、我々は新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の受容体である ACE2 をデコイとして用いる中和タンパク製剤の開発に取り組んだ。指向性進化法と呼ばれるタンパク質工学的手法により ACE2 のウイルスへの親和性を約 100 倍にまで高め、抗体薬と同等の中和活性を得ることに成功した。そしてこの高親和性 ACE2 はハムスターの COVID-19 モデルでも重症化予防効果が確認された。ウイルス治療薬では一般的に逃避変異と呼ばれる治療薬に対して耐性を持つ変異株の出現が問題となる。しかし、本製剤から逃避する変異株は細胞表面の ACE2 にも結合できずに感染力を失うため、実質的に耐性株が出現しにくい大きな強みがある。実際の培養実験におけるエスケープ変異誘発試験でも耐性株は出現せず、これまでに脅威となった各種変異株に対しても中和活性の低下は認めていない。この高親和性 ACE2 は抗体製剤と同等の中和活性を持ち、かつ耐性株の心配がなく一度開発すれば感染症を克服するまで使用が可能な治療薬になることが期待される。



2003 年 3 月 京都府立医科大学医学部卒業
2011 年 3 月 京都府立医科大学大学院単位取得退学
2014 年 8 月 ペンシルバニア大学心血管研究所 ポスドクフェロー
2015 年 8 月 日本学術振興会 海外特別研究員
2017 年 9 月 京都府立医科大学循環器内科 助教
2019 年 7 月 京都府立医科大学循環器内科 学内講師



AMED-BINDS との協同による新型コロナウイルス感染症治療薬開発の体制構築およびその成果

渡士 幸一 / 国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター 治療薬開発総括研究官

2020 年初頭からの新型コロナウイルス感染症の世界的流行を受けて、迅速な治療薬候補の提案が求められた。私たちは新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の感染培養系を用いた化合物スクリーニングを計画した。スクリーニングに供する化合物は製薬会社や大学、研究所から提供いただいた化合物を用い、特に北海道大学 前仲勝実先生から 3000 を越える承認薬ライブラリーをご提供いただき、日本での承認薬のほぼすべてをスクリーニングすることができた。承認薬からは、ネルフィナビル、セファランチン、メフロキンなどが抗 SARS-CoV-2 活性を有することを見出した。またこれら化合物の作用メカニズムの解析においても、同時期に筑波大学 広川貴次先生らが SARS-CoV-2 メインプロテアーゼのドッキング in silico スクリーニングでネルフィナビルを見出され、さらにその証明は再び前仲先生らのリコンビナントメインプロテアーゼを用いた酵素アッセイ系で、ネルフィナビルがプロテアーゼ活性を阻害することが示された。ネルフィナビルは臨床血中濃度でもウイルス複製阻害効果を持つと期待され、これは現在、無症候性および軽症者を対象とした臨床試験で薬効評価中である。

承認薬だけでなく、現在新規治療薬の開発も進めている。AMED-BINDS 事業の複数のモダリティのライブラリーからのシーズ探索だけでなく、すでにスクリーニングで得られた化合物から長浜バイオ大学 白井剛先生らとの共同研究によって化合物最適化を模索している。このように化合物の探索段階から作用メカニズム解析に至るまでの間に、AMED-BINDS 事業に参画する様々な先生方との共同研究によって治療薬研究の効率化を目指してきた。今後も AMED-BINDS 事業を通して開始した共同研究で新型コロナウイルス感染症研究を進め、ひいては新興感染症への迅速対応に有用な成果の取得と体制の構築に繋がっていききたい。

- 1994-1998 年 京都大学薬学部
- 1998-2003 年 京都大学大学院薬学研究科
- 2002-2003 年 日本学術振興会特別研究員
- 2003-2008 年 京都大学 ウイルス研究所・助手(助教)
- 2007-2009 年 National Institutes of Health,
USA・Visiting Fellow
- 2009-2021 年 国立感染症研究所 ウイルス第二部・主任研究官
- 2011 年-現在 (併任)東京理科大学大学院理工学研究科応用生物科学専攻・客員准教授(2019 年より客員教授)
- 2021 年-現在 国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター・治療薬開発総括研究官(治療薬部門長)

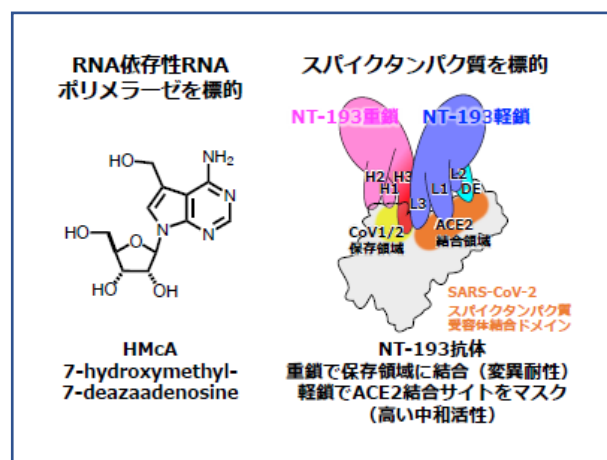


低分子化合物から抗体までの COVID-19 治療薬開発への 北大創薬センターの取り組み

前仲 勝実 / 北海道大学 大学院薬学研究院 教授

北海道大学薬学研究院創薬科学研究教育センターでは、AMED-BINDS/PDIS 事業のサポートを受け、既存薬およびオリジナル化合物ライブラリーを整備し、化合物スクリーニング・蛋白質科学・構造生物学を軸に統合的な創薬開発体制を構築してきた。特に、ウイルス感染症に対する治療薬開発のため、ウイルス感染系を用いたスクリーニングやウイルス侵入に関わる蛋白質の立体構造解析を北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所や国立感染症研究所などと共同で進めてきている。COVID-19 の緊急事態においては、すでに整備済であった日本承認既存薬ライブラリーを国立感染症研究所の渡士幸一先生に迅速に提供すると同時に、SARS-CoV-2 蛋白質の機能解析のサポート体制を構築し、既存薬候補特定に貢献した(1)。また、抗ウイルス治療薬開発プロジェクトとして、核酸化合物のスクリーニングにより、デングウイルスなどを含むフラビウイルスに薬効を示すヌクレオシド HMcA を COVID-19 発生直前に見出していたが(図左)、HMcA がさらに新型コロナウイルス SARS-CoV-2 の感染も阻害することを発見した(2)。他方、中和抗体開発においては、国立感染症研究所の高橋宜聖先生・京都大学の橋口隆生先生と連携し、SARS-CoV-2 変異ウイルスや SARS-CoV-1 に対しても有効な高い中和活性と交差反応性を持つ中和抗体 NT-193 の構造解析に成功した(3)(図右)。

その結果、NT-193 抗体はウイルス感染にとってアキレス腱となる脆弱性部位を認識し、変異耐性と高い中和活性を示すことを明らかにした。本講演では、北大創薬センターが広く医薬品モダリティを用いて COVID-19 治療薬開発を進めてきた上述の例を紹介するとともに、将来起きうるパンデミックを見据えた今後の対策について、BSL3 ハイエンドクライオ電子顕微鏡の導入による構造解析を基盤にした感染症創薬研究の実施体制などの展望を議論したい。



- 1) Ohhashi. *et al.*, *iScience*, 24, 102367 (2021).
- 2) Uemura. *et al.*, *iScience*, 24, 103120 (2021).
- 3) Onodera. *et al.*, *Immunity*, 54, 2385-2398 (2021).

1991 年 東京大学工学部工業化学科卒業。1996 年 同大学院工学系研究科化学生命工学専攻修了。日本学術振興会特別研究員、HFSP 長期博士研究員(University of Oxford)、国立遺伝学研究所助手、九州大学生体防御医学研究所助教授を経て、2010 年より北海道大学薬学研究院教授。同大創薬科学研究教育センター長、国際連携研究教育局バイオサーフィス創薬グローバルステーション長。



1 細胞・1 粒子解析技術を活用した SARS-CoV-2 ウイルス研究へのアプローチ

- 基盤技術の開発と将来への展望 -

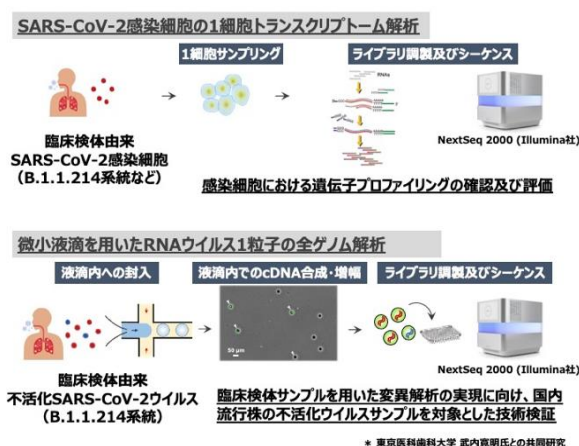
竹山 春子 / 早稲田大学 理工学術院 教授

創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業(BINDS)では、空間的情報に紐付いた微小組織のマルチオミックス解析からシングルセル RNA-seq 解析を進めてきた。その中で、腸内細菌や病原性微生物のシングルセルゲノム解析のニーズに対応して支援メニューの拡大を進め、幅広い対象種でのシングルセル解析を可能にしてきた。特に、微生物を対象としたシングルセルゲノム解析では、マイクロ流体デバイスを活用した微小液滴作製技術を開発し、支援を進めている。さらに 2020 年 11 月から、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)をターゲットとした解析を開始した。

COVID-19 の原因病原体である SARS-CoV-2 に関して、世界各地でウイルスゲノムに地域特有の新たな遺伝子変異が蓄積し、多数の変異株の出現と感染拡大が報告されている。日本国内においても 2020 年に感染拡大を引き起こした日本固有の変異株(B.1.1.284 および B.1.1.214 系統)が確認されている。先行研究では、SARS-CoV-2 が感染した同一感染者の体内で変異が蓄積されたことにより複数の異なるウイルスゲノムが検出された例(Nature, 2020)や、異なる系統株による重複感染事例

(PNAS, 2019)(J. Med. Virol., 2020)が報告されている。しかし、様々な SARS-CoV-2 系統株の宿主細胞への感染機序及び宿主細胞の応答に関する知見は未だ少ない。ウイルスゲノムの変異と感染効率の因果関係については、地域特性があり、また日々蓄積していく変異を、単一細胞および単一ウイルス粒子レベルで解析することが SARS-CoV-2 感染動態のさらなる理解の深化につながると考えられる。

我々は、BINDS 支援を通して、東京医科歯科大の武内寛明准教授と連携し、SARS-CoV-2 感染細胞内における機能遺伝子発現動態理解を目指した単一細胞トランスクリプトーム解析や、ウイルス 1 粒子レベルでの変異検出の技術開発に取り組んでいる。本シンポジウムでは、これらの 1 細胞・1 粒子解析技術の確立や実装化に向けた検証事例に加え、今後の展望や他の研究対象への応用展開について紹介する。



1984 年 東京農工大学農学部環境保護学科卒業

1992 年 東京農工大学工学研究科物質生物学専攻修了(博士(工学))

1991 年 1 月～1994 年 2 月 米国マイアミ大学海洋研究所研究員

1994 年 3 月から東京農工大学工学部助手、助教授、教授を経て 2007 年 4 月より現職。単一細胞解析、微生物ゲノム工学、マリンバイオテクノロジー、遺伝子資源活用、バイオ計測を専門としている。



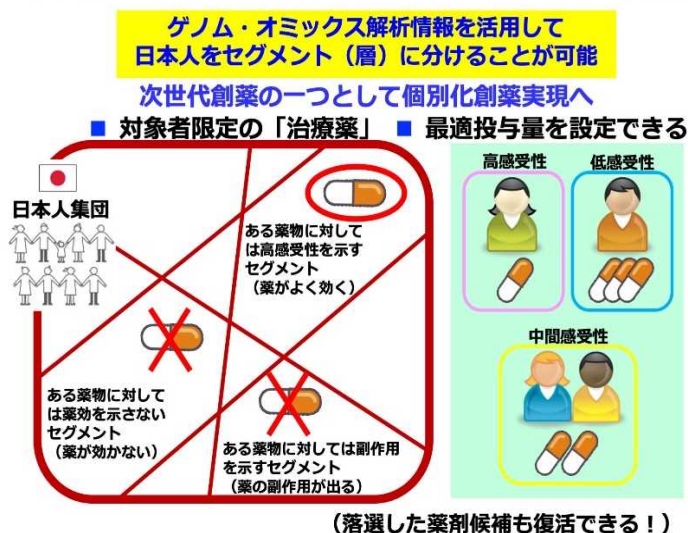
東北大学におけるオープンイノベーションを基軸としたアカデミア創薬

山本 雅之 / 東北大学 大学院医学系研究科 教授/東北大学メディカル・メガバンク機構 機構長

東北大学は、創薬研究に力を入れており BINDS 課題にも多くの研究者が参加して、アカデミア発の薬の開発に取り組んでいる。一方、東北大学は、2012 年にゲノム・オミックス情報と臨床情報の統合により東北メディカル・メガバンク機構(ToMMo)を設置した。また、2017 年には個別化医療・未来型医療の実現を目指して、東北大学病院、医学系研究科、加齢医学研究所、歯学研究科、医工学研究科、薬学研究科、情報科学研究科、工学研究科、生命科学研究所が連携する未来型医療創成センター(INGEM)を設置した。さらに、2020 年度には、BINDS の支援の元、スーパーコンピューターに直結したクライオ電顕を INGEM 内に配置して、ToMMo や INGEM が進める大規模ゲノム解析によって蓄積してきた疾患発症に関わる遺伝子多型に関する膨大なデータをもとに導き出される創薬標的を、ハイスループットで構造解析することが可能な体制を整えた。また、宇宙空間の創薬への利用可能性を探るべく、JAXA と協力して遺伝子組換えマウスの宇宙旅行を実現し、その解析データを ibSLS(integrated biobank for Space Life Science)を設立して公開している。

本講演では、未来型医療と構造生命科学研究を効果的に連結し、ゲノム・オミックス情報を活用した層別化創薬に取り組む東北大学拠点の創薬研究について紹介する。

ゲノム・オミックス情報を活用した層別化創薬への挑戦



1979 年 東北大学医学部

1983 年 同 医学研究科 修了 / 同年よりノースウエスタン大学 博士研究員

1995 年 筑波大学 先端学際領域研究センター 教授(分子発生生物学)

2007 年 東北大学 医学系研究科 医化学分野 教授

2008 年より 東北大学 副学長 / 医学系研究科 研究科長 / 医学部長(2012 年まで)

現在は東北大学 メディカル・メガバンク機構 機構長 / 東北大学 教授(医化学分野) / 東北大学 Distinguished Professor

