
致死的臓器障害に対する次世代分子標的治療法の開発

平成 23 年度～平成 27 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

平成 28 年 3 月

学校法人名 愛知医科大学

大 学 名 愛知医科大学

研究組織名 愛知医科大学

研究代表者 渡辺秀人

(愛知医科大学
分子医科学研究所 教授)

目次

1. はしがき	3
2. 研究成果報告書概要	4
3. 各講座の研究成果報告	47
4. 研究発表会関係書類	83
5. 外部評価	86

はしがき

このたび平成 23-27 年度文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
研究課題名「致命的臓器障害に対する次世代分子標的治療法の開発」を無事終了し、
おかげさまでここに最終報告書をお届けする運びとなりました。

平成 22 年度に学長に就任された石川直久先生は学内における研究基盤の強化を
希求され本事業への応募を自ら企画されました。薬理学専門の石川先生が提案され
た「創薬」を元に学内研究者同士の相談を経て立案・応募した本事業はめでたく採択
されました。戦略的研究基盤形成支援事業の採択は本学において初めてのことで
す。

本事業開始の一年後には本学に寄附講座を開設された梅澤一夫先生（慶應義塾
大学より異動）が参加され、本事業の研究体制はより充実したものとなりました。当初
は各講座・教室が独自に研究を行っていた感がありましたが、梅澤先生の参加によ
って「分子標的創薬」という明確な基軸が固まり、共同研究も積極的に推進されるよ
うになりました。また、二度に亘る外部評価では評価委員の先生方に正鵠かつ建設的
なご意見を賜ると同時に具体的な対策を提案くださり、おかげさまでの確な軌道修正
ができたと思っております。

報告書を改めて読みかえすと、良く言えば多様な研究を展開しているともいえ
ますが未だ研究の寄せ集めに留まっているとの反省があります。比較的規模の小さい私
立医科大学が独自性を発揮して研究を展開するための研究基盤をどのように整備し
ていくのかは未だに大きな課題として残っていますが、本事業の推進によって一定の
方向性が見えてきたように思います。

最後になりましたが、本事業を支障なく円滑に遂行できたのは数多くの先生方の奮
闘の結果であると同時に、文部科学省をはじめとする多くの機関からの支援のおか
げであります。ここに深く感謝の意を表しますと共に、今後のご支援を賜りますよう重
ねてお願い申し上げます。

研究代表者 渡辺秀人

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

平成23年度～平成27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 愛知医科大学 2 大学名 愛知医科大学

3 研究組織名 愛知医科大学

4 プロジェクト所在地 愛知県長久手市岩作雁又1番地1

5 研究プロジェクト名 致命的臓器障害に対する次世代分子標的治療法の開発

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
渡辺秀人	分子医科学研究所	教授

8 プロジェクト参加研究者数 84 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
渡辺 秀人	分子医科学研究所・教授	腫瘍の病態を制御するバーシカン機能ドメイン	がん治療法の開発
杉浦 信夫	分子医科学研究所・准教授	バーシカン機能ドメインを標的とした新規癌治療法の探索	がん治療法の開発
梅澤 一夫	分子標的医薬探索寄附講座・教授	疾患・病態を制御する生理活性物質の探索と分子デザイン	化学物質スクリーニング・分子デザインによる分子標的医薬創製
横地 高志	感染・免疫学講座・教授	急性肺障害の新規治療法の開発	炎症性臓器障害の治療法の開発
石川 直久	学長	神経変性疾患等の分子標的治療法の探索	アポトーシス制御による変性疾患の予防・治療法の開発
馮 国剛	薬理学講座・講師	神経変性疾患等の分子標的 新薬の探索	アポトーシス制御による変性疾患の予防・治療法の開発
米田 政志	内科学講座(消化器内科)・教	非アルコール性脂肪性肝炎の新規治療法の開発	炎症性臓器障害の治療法の開発

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

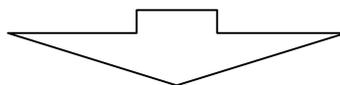
	授		
中尾 春壽	内科学講座(消化器内科)・教授	非アルコール性脂肪性肝炎由来肝癌の予防・治療法の開発	がんの予防・治療法の開発
山口 悦郎	内科学講座(呼吸器・アレルギー内科)・教授	急性肺障害の新規治療法の開発	炎症性臓器障害の治療法の開発
雑喉 正泰	眼科学講座・教授	眼疾患の新規治療法の開発	炎症性臓器障害の治療法の開発
細川 好孝	生化学講座・教授	遺伝子発現解析による疾患モデル動物の病態評価	マイクロアレイ解析
小西 裕之	生化学講座・准教授	ヒト細胞遺伝子改変法を用いた K-ras 変異癌の分子標的治療法の探索	がん治療法の開発
シバスダラン カルナン	生化学講座・助教	疾患組織の網羅的遺伝子発現解析	マイクロアレイ解析
雑喉 正泰	眼科学講座・教授	眼疾患の新規治療法の開発	炎症性臓器障害の治療法の開発
三輪 啓志	内科学講座(血液内科)・教授	代謝様式を標的とした白血病の新規治療法の探索	がん治療法の開発
(共同研究機関等)			

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

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
神経変性疾患等の分子標的治療法の探索	学長(薬理学講座・教授)	石川 直久	アポトーシス制御による変性疾患の予防・治療法の開発

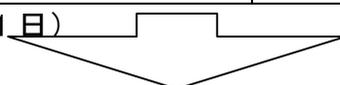
(変更の 時期:平成 23 年 6 月 1 日)



旧

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
学長(薬理学講座・教授)	学長	石川 直久	アポトーシス制御による変性疾患の予防・治療法の開発

(変更の 時期:平成 25 年 4 月 1 日)



新

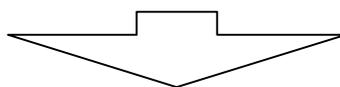
法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

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
学長(薬理学講座・教授)	名誉教授	石川 直久	アポトーシス制御による変性疾患の予防・治療法の開発

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
疾患・病態を制御する生理活性物質の探索と分子デザイン	慶應義塾大学理工学部・教授	梅澤 一夫	化学物質スクリーニング・分子デザインによる分子標的医薬創製

(変更の時期:平成 24 年 4 月 1 日)



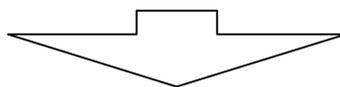
新

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
慶應義塾大学理工学部・教授	分子標的医薬探索寄附講座・教授	梅澤 一夫	化学物質スクリーニング・分子デザインによる分子標的医薬創製

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
急性肺障害の新規治療法の開発	微生物・免疫学講座・教授	横地 高志	炎症性臓器障害の治療法の開発

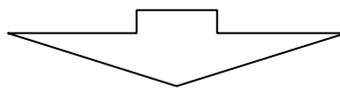
(変更の時期:平成 24 年 6 月 1 日)



旧

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
微生物・免疫学講座・教授	感染・免疫学講座・教授	横地 高志	炎症性臓器障害の治療法の開発

(変更の時期:平成 27 年 4 月 1 日)



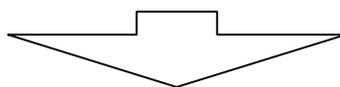
新

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
微生物・免疫学講座・教授	名誉教授	横地 高志	炎症性臓器障害の治療法の開発

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
非アルコール性脂肪性肝炎の新規治療法の開発	内科学講座(消化器内科)・教授	米田 政志	炎症性臓器障害の治療法の開発

(変更の時期:平成 27 年 4 月 1 日)



法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

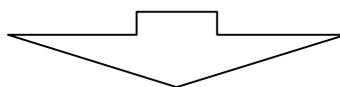
新

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
内科学講座(消化器内科)・教授	内科学講座(肝胆膵内科)・教授	米田 政志	炎症性臓器障害の治療法の開発

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
非アルコール性脂肪性肝炎由来肝癌の予防・治療法の開発	内科学講座(消化器内科)・教授	中尾 春壽	がんの予防・治療法の開発

(変更の 時期:平成 27 年 4 月 1 日)



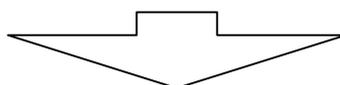
新

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
内科学講座(消化器内科)・教授	内科学講座(肝胆膵内科)・教授	中尾 春壽	がんの予防・治療法の開発

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
ヒト細胞遺伝子改変法を用いた K-ras 変異癌の分子標的治療法の探索	生化学講座・准教授	小西 裕之	がん治療法の開発

(変更の時期:平成 25 年 4 月 1 日)



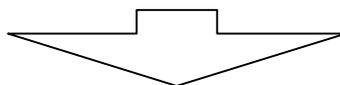
新

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
生化学講座・准教授	生化学講座・教授	小西 裕之	がん治療法の開発

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
代謝様式を標的とした白血病の新規治療法の探索	内科学講座(血液内科)・教授	三輪 啓志	がん治療法の開発

(変更の 時期:平成 26 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
内科学講座(血液内科)・教授	特定医療法人同心会 遠山病院 内科	三輪 啓志	がん治療法の開発

11 研究の概要(※ 項目全体を10枚以内で作成)

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

本プロジェクトの目的は、致命的臓器障害における多様な細胞の急激かつ大量の細胞死の機構を、細胞死(アポトーシス)と細胞不死化(癌化)の両面から解析し、その制御分子群を同定するとともに同分子群を標的とした創薬を通じて致命的臓器障害を阻止する新規分子標的治療法を確立することである。

炎症・変性疾患、がんなどの臓器障害に対する治療法は近年、多大な進歩があったが、効果はまだ極めて限定的であり、このため新しい機構で働く化学療法剤、タンパク質製剤の創製、それらの新しい投与方法や包括的治療法が強く求められている。一方、分子標的治療薬は、疾患特異的な高発現・高活性化分子に対する阻害剤であり、炎症反応やアポトーシスにおいては病態を沈静化し、がん細胞においてはがん形質保持に必要なシグナル経路を抑制して増殖抑制・細胞死を誘導する。正常組織に対する副作用が少なく罹患組織だけを標的とする薬剤として近年次々と臨床応用されており、その有用性は定評を得つつある。

そこで本プロジェクトでは、多数の疾患に対して体系的に分子標的治療法を開発するため、学内に機能的かつ組織横断的な共同研究システムを設立する。具体的には、本学で独自に樹立した様々な疾患モデル細胞を用いて医薬シーズ探索を行い、疾患の異常活性化因子やシグナル経路を特異的ターゲットとする新しい生理活性物質を同定する。さらに、疾患モデル動物を用いて新規医薬シーズの前臨床的検討を行い、将来の新規治療法開発に道を開く。これにより、多様な細胞の大量で急激な細胞死の制御を可能にし、重篤で致命的な臓器障害を阻止することを目標とする。

本プロジェクトにおける医薬シーズ探索では、主としてこれまでに収集蓄積された多種類の熱帯植物抽出液や微生物培養液を出発点として化学物質スクリーニングを行い、生理活性を示す材料からクロマトグラフィーなどによって有効成分を分離・精製する。一方で、近年本邦で整備・公開が進められる小分子化合物ライブラリーの網羅的スクリーニングも併用する。小分子化合物ライブラリー・スクリーニングは極めて多数の化合物検索を可能にするが、一方で天然資源のスクリーニングは時にまったく新しい構造や機能を持つ物質の発見につながることもあり、人為的化合物のスクリーニングとは異なる長所を有する。さらに本研究では、これらの方法で得られたリード化合物から類似化合物(アナログ)を分子デザインによって合成し、生理活性を検討する。このように複数の方法論を取り入れ、検索対象の化学物質の多様性を増やす工夫をする。以上のような独創的なスクリーニング・システムによって、本研究では多数の疾患に対する画期的な新規医薬シーズの発見を目指す。

(2) 研究組織

本プロジェクトには本学の8研究室から主要研究者13名、慶應義塾大学理工学部から1名の研究者が参加し、計14名による緊密な共同研究体制を組む(2年目より慶應義塾大学の当該研究者は本学医学部寄附講座教授に就任し、学内で計9研究室の参加となった)。参加する講座・研究室の内訳は、基礎医学3講座(免疫・感染学、生化学、薬理学)、研究所1部門、臨床系2講座4研究室(内科学講座(消化器内科)、内科学講座(呼吸器・アレルギー内科)、内科学講座(血液内科)、眼科学)、寄附講座1である。

研究代表者の役割は、1)各研究内容を総括し適宜研究者間の会談を企画して、基礎研究から臨床研究、さらには創薬への円滑な道筋ができるよう図ること、2)研究に問題が生じた際に可及的速やかに解決して研究の推進を図ること、3)シンポジウム等を企画して参加研究者のみならず学内外に幅広く研究内容を公開することである。当該研究代表者は大学院医学研究科運営委員会、学術国際交流委員会、知財委員会の委員長であり、学内の研究関係の事業を総覧している。これらの学内事業との連携で大学院生の動員、外国人研究者の有効活用、特許出願等を行い、研究基盤の強化、研究の推進、社会への発信を図る。主要

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

研究者は研究が進展すべく責任を持って教室内の研究者の指導に当たる。ポスドクトラルは参加していないが本プロジェクト全体で合計 4 名の実験補助員を雇用している。学内公開シンポジウムは年 1 回の開催だが、参加研究者同士の会合は年間 3-4 回の頻度で行われており、活発に情報の共有を行っている。会計業務は大学本部・研究支援課が、その他の事務業務は医学部庶務課が担当している。

(3) 研究施設・設備等

本事業の研究施設は研究棟(2号館、使用床面積 2005 m²)と総合実験研究棟(5号館、使用床面積 462 m²)である。研究棟(2号館)では参加講座のうち 8 研究室が研究を行っている。研究棟 2 階と 3 階には高度研究機器部門があり共有の大型研究機器(電子顕微鏡、DNA シーケンサー、共焦点レーザー顕微鏡、イメージアナライザー、FACS、リアルタイム PCR 機器、超遠心機等)が揃っている。4 階には感染実験区域を有する動物実験室がある。総合実験研究棟(5号館)では本プロジェクトに参加する研究所 1 部門が研究を行っている。同研究棟 1 階には小 SPF 動物飼育施設(SPF とコンベンショナル各々 4 部屋ずつ、各部屋 4 ケージ収納)が設置されており、動物実験部門専任の飼育係計 6 名が動物維持を担当している。同棟 3 階は核医学実験部門で放射性同位元素を用いた実験を支障なく遂行する設備が整っている。また同棟 2 階には本プロジェクトに参加する研究所の研究室があり、糖鎖解析専用 HPLC システムを含む糖鎖科学研究機器が揃っている。従って研究に必要な大型機器、特殊機器はほぼ全て整っているといつてよい。本プロジェクトでは新たに化合物・生体分子等検出・定量および構造解析システム(使用時間:712 時間)、高速・ハイスループット細胞培養総合システム(使用時間:20 時間)、超微量成分分析システム(使用時間:675 時間)を購入した。これによって研究の尚一層の推進が可能となる環境が整備されたといつてよい。

(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。

本プロジェクトでは、第 1 段階として作用分子と病態との因果関係を的確に把握するアッセイ系の確立、第 2 段階として当該アッセイ系を利用した標的分子の同定や化学物質・天然物質のスクリーニングによる生体内機能制御分子の同定、第 3 段階として標的分子の情報を基にした創薬という一連の過程をグループ共通の行程として設定した。

致死的臓器障害に至る「炎症」と「がん」の二大病態には共通する部分が多く、本プロジェクト内でも大半の主要研究者が両者を手掛けている。各研究グループの研究概要を以下に記載する。

1. 分子標的医薬探索寄附講座

1. 分子標的医薬探索寄附講座:同講座は致死的臓器炎症やがんを抑制する低分子化合物の探索および作用機構の解明、さらに発見した化合物を用いて疾患の機構解析を行った。主な研究成果は以下のとおりである。

(1)[植物由来 conophylline による組織線維化抑制およびオートファジー促進]

同グループは、以前、キョウチクトウ科植物の葉から得られるアルカロイド conophylline が KRas 活性を阻害すること、膵β細胞の分化を誘導・促進することを見出し、さらに動物実験においても同化合物の抗癌活性と血糖値低下作用を報告した。本プロジェクトにおいて Goto-Kakizaki ラットの膵島(*56)およびラット肝硬変モデル(*38)において同化合物の線維化抑制作用を見いだした。NASH 肝硬変モデルでは同化合物の肝脂肪化抑制効果が新たに発見された(4. 内科学講座・肝胆膵内科の項参照)。さらに学外共同研究を通じて conophylline のオートファジー誘導活性が見出された(*15)。当該成果はパーキンソン病、ハンチントン舞踏病等、オートファジーが関与する神経変性疾患の治療の糸口を与えるものとして価値が高い。また感染・免疫学講座との共同研究で、conophylline が RANKL に誘導されるマクロファ

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

ージから破骨細胞への分化を阻害することを明らかにした(*28)。

(2)[NF-kappa B 阻害剤 DHMEQ の新しい作用機構と臓器障害の抑制]

弱い抗菌物質 epoxyquinomicin C の骨格をもとに分子デザインして合成された新規 epoxydone 化合物の DHMEQ は、細胞レベルで NF-kappa B の活性化を阻害し、その機構は p65 に結合して DNA 結合を阻害することがわかっている。NF-kappa B 活性化経路には、自然免疫および炎症に重要な canonical 経路と B 細胞成熟および自己免疫疾患に重要な noncanonical 経路がある。今回、培養細胞において (-)-DHMEQ の non-canonical 経路の阻害機構を調べたところ、(-)-DHMEQ は代表的 noncanonical NF-kappa B として知られる RelB/p52 の RelB の 144Cys に直接共有結合し、DNA binding と核局在を阻害することで noncanonical NF-kappa B の活性を阻害し、RelB と p52 の不安定化も誘導することが明らかとなった(*57)。この結果は、自己免疫疾患や一部の癌等 noncanonical NF-kappa B の活性化を伴う疾患に対する(-)-DHMEQ の有用性を示唆する。

またマウスインスリノーマ Min6 細胞を beta 細胞のモデルとして用い、NO による細胞死を (-)-DHMEQ が抑制することを見出し、その作用機構を解析した結果、(-)-DHMEQ はおそらく Nrf2-抗酸化酵素系の活性化と Akt の不活性化を介して細胞死を抑制し、2 型糖尿病において膵島の障害を軽減することが示唆された(*47)。

DHMEQ 軟膏は現在、アトピーなどの激しい皮膚傷害を治療する医薬として開発が進められている。マウスアトピーモデルにおいて、DHMEQ 軟膏は治療効果を示し、おそらくその機構のひとつとして炎症部位におけるマスト細胞の浸潤を阻害することを以前に報告した。PCR アレイにより細胞の運動性に関連する 84 遺伝子について増減を調べ、マスト細胞の浸潤における重要な因子として matrix metalloproteinase-2 (MMP-2)を見出した(*47)。

(-)-DHMEQ を発見した後も NF-kappa B 阻害剤の探索と誘導體合成を試み、LPS に誘導される NO 産生を阻害する新規化合物として以前 DTCM-glutarimide を見出した。同化合物は RAW267.4 細胞において LPS による iNOS や COX-2 の誘導を阻害し、マウスメラノーマ細胞において浸潤抑制とアノキス誘導を示した(*73)。また感染・免疫講座との共同研究で、DTCM-glutarimide は RANKL または LPS によるマクロファージから破骨細胞への分化誘導を毒性を示さない濃度で阻害することがわかった(*11)。動物実験でも inflammatory bowel disease (IBD) モデルで臓器傷害を抑制した(*3)。

(3)[DHMEQ の安定誘導體 SEMBL の分子デザインと抗炎症作用]

第 2 世代の化合物シードとして、不安定性をもたらす epoxide のない(-)-DHMEQ 誘導體 SEMBL を分子デザインした。マクロファージ系細胞において SEMBL は(-)-DHMEQ と同等の濃度で核分画の p65 と kappa B DNA との in vitro 結合を阻害し、LPS に誘導される NF-kappa B の誘導と iNOS 発現/NO 産生、IL-6、IL-1 beta、TNF-alpha の分泌を阻害した(論文準備中)。また細胞毒性を示さない濃度で卵巣がん細胞株の浸潤を抑制した。SEMBL は (-)-DHMEQ より合成が容易であり、第二世代の DHMEQ として、開発候補物質の可能性はある。

(4)がん細胞の遊走・浸潤を阻害する微生物由来 migracin の発見と作用機構の解析:

乳がん細胞株の遊走を阻害する物質を約 1500 の微生物株培養液から探索し、単離、精製、構造決定を経て 2 つの新規化合物を発見し migracin A および B と命名した(*55)。migracin A と B は幾つかの癌細胞株において遊走阻害効果を示したが、特に明細胞卵巣がん細胞 ES-2 において migracin A は毒性のない濃度で ES-2 細胞の遊走と浸潤を顕著に抑制し、その阻害効果が IGF-1 の down-regulation によることを明らかにした(*8)。migracin A は細胞毒性が低く、転移を抑制する新しい分子標的医薬の候補として可能性がある。

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

これらの 2011 年以降の成果は合計 90 の英論文に報告した。

2. 感染・免疫学講座

エンドトキシンショックの本体は、エンドトキシンが Toll-like receptor 4 (TLR4) シグナルを活性化し、炎症性メディエーター(炎症性サイトカイン、フリーラジカルなど)の産生を誘導するため、細胞死シグナルの引き金が引かれることである。そのため私達は、その特異的シグナルを詳細に見極め、ピンポイントで制御することが副作用の少ない良質の治療につながると考え研究を進めてきた。これまでの研究成果として、i) 抗酸化物質以外に、数種の抗がん剤(フラボピリドールやサリドマイドなど)がエンドトキシン誘導性の炎症性メディエーターを抑制すること(*45, 51)、ii) エンドトキシン自身に細胞死を阻止する興味深い効果があること、iii) 一連の癌関連遺伝子がエンドトキシンの炎症性メディエーターシグナルを制御すること (*43, 49) などを明らかにしてきた。本研究では、これまでの成果をもとに、さらに臨床的なエンドトキシンショックの病態に近い呼吸器不全の原因となる肺傷害の治療法の開発を試みた。これまで再現することが出来なかった肺傷害を伴った実験モデルを独自に開発し、病態形成のメカニズムを解析した。その結果、肺に誘導された natural killer T (NKT) 細胞から分泌されるインターフェロン γ (IFN- γ) とエンドトキシン誘導性の炎症性メディエーターが有効な治療標的となると考えられた。そこで、肺に特異的に局在し、これらのメディエーターを制御することが期待できる Sendai virus (SeV) 感染の効果調べた。SeV (別名 mouse parainfluenza virus type 1) は自然免疫の中心的な役割を担うインターフェロン (IFN) やサイトカインのシグナル伝達を阻害するウイルス蛋白質を有し、上気道から肺に特異的に感染し効率良く増殖するので、ドラッグデリバリーベクターの機能も備えた理想的な治療薬と考えた。まず手始めに、*in vitro* の実験系であるマクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞を用いて LPS 応答への影響を検討した。その結果、SeV のアクセサリー蛋白質 C が炎症性メディエーター—NO、HMGB1 の二次的な増幅に関わる JAK-STAT 経路を抑制し、炎症性メディエーター—の産生を阻止出来ることが明らかになった。SeV はウイルスベクターとして既に治療にも使用されており、さらに目的に応じた低病原性ウイルス株も用意されているため、エンドトキシンショックの治療に応用可能と考えられた。

一方、抗精神薬バルプロ酸 VPA によるエンドトキシン炎症反応の制御についても検討した。VPA は PI3 キナーゼ/Akt/MDM-2 経路活性と p53 の発現上昇を介して、LPS による NF- κ B 依存性の転写活性を負に制御した。本研究結果はエンドトキシンショック治療の新たな標的を示すものと考えられた。

3. 薬理学講座

同グループは WD 40 repeat を含有するタンパク質 (WDR) の一種であるラット WDR35/naofen 遺伝子をクローニングし、その機能解析を行ってきた。その過程で、臓器傷害モデルである CCl₄ および LPS による肝傷害モデルラットやストレプトゾシンによる糖尿病モデルラットにおける WDR35 の発現増加が、アポトーシス誘導に関連する可能性のあることを見いだした。そこで *in vivo* ならびに *in vitro* 実験系を用いて、これらの病態モデルに共通する WDR35 の発現に関与する細胞内シグナル伝達経路の薬理的な解明を目指した。ドウモイ酸 (DA) 投与によって海馬の神経細胞のアポトーシスを惹起する *in vivo* 実験系にて naofen/WDR35 発現誘導をもたらすシグナル伝達経路の解析を行ったところ、AMPA/KA 受容体活性化-p38MAPK のリン酸化が同分子の発現を誘導することが明らかとなった (*117)。また Neuro2a 細胞を用いた *in vitro* 実験系において、神経細胞にアポトーシスを誘導するナトリウムチャンネル阻害薬の Bupivacaine は CaMKK 活性化を介して AMPK および p38MAPK を活性化すること、さらに CaMKK/AMPK/p38MAPK シグナル伝達経路が

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

WDR35 発現に関与することを明らかにした。これら一連の研究成果は認知症などをはじめとする中枢神経変性疾患の発症機序の解明および新たな治療法への開発に繋がるものと期待される。

4. 内科学講座(消化器内科)

非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)は飲酒歴がないにもかかわらず脂肪肝から肝硬変へ、さらには肝発癌へと進行する疾患として近年注目されているが、その原因や治療法は確立していない。1995年よりいち早くNASHに着目し、その治療法について研究を遂行してきた同グループは、抗酸化剤である α -tocopherol およびアンギオテンシンII受容体阻害剤がNASHの肝線維化と炎症を改善することを見出した。さらに実験動物NASHモデルにおいてアンギオテンシンII受容体阻害剤は肝線維化および肝発癌を抑制することを確認した(*132)。アンギオテンシンII受容体阻害剤は高血圧症を合併していないNASH患者に投与し難いため、NASH患者に投与可能な新規薬剤の開発が望まれる。そこで線維化抑制効果を有するconophyllineがNASHにおける肝線維化と肝発癌を抑制しうるか否かを検討した。糖尿病モデルマウスdbdbにMethionine choline deficient diet(MCD)によりNASHモデルを調製し、conophyllineの影響を検討したところ、同分子が肝脂肪化を抑制すること、その機構としてPPAR α の活性化、 β 酸化の亢進および肝脂質輸送の促進が示唆された(特許出願中)。さらにBALB/cAJcl高脂肪食マウスモデルを用いてconophyllineの作用を検討したところ同分子投与群では対照群と比べて体重増加の抑制と肝脂肪化の抑制が観察された。本研究結果はconophyllineが肝脂肪化抑制剤として使用できる可能性を示唆しており、現在その機序について検討中である。

5. 内科学講座(呼吸器・アレルギー内科)

重篤で潜在的に致死的な肺傷害を基盤とする呼吸器疾患の代表は、成人呼吸促迫症候群と特発性肺線維症の急性増悪である。その際には全身的副腎皮質ステロイドを使用することが多いが、その効果は一律ではなく、また至適用量に関する検討も不十分である。そこでヒト末梢血単核球のサイトカイン産生に及ぼすメチルプレドニン(mPL)の影響に関して以下の2つの研究計画を立案して検討した。(1) mPLは末梢血単核球のIL-8産生をある濃度範囲では促進させるが、さらに濃度が上昇すると抑制に変わることを見出した(変曲現象と呼称)。そこで網羅的遺伝子発現解析等により変曲現象関連遺伝子を探索したが候補分子は同定できず、IL-8量の増減は同分子のmRNAやタンパク質合成によるものではないこと、また生細胞数とIL-8産生促進効果を有するIL-17AF濃度はmPLによって影響を受けないことがわかった。さらに細胞内輸送阻害剤を用いて検討を続けたところ、mPLによるIL-8変曲現象の機序として粗面小胞体からゴルジ体への分子輸送が関与することがわかった。(2)喘息患者におけるステロイド反応性との相関が報告(Tantisira, N Engl J Med, 365,1173-83, 2011)されているrs37972の遺伝子型の遺伝子型同定を行い、各検者に対してmPL投与による各種サイトカインの50%阻害濃度(IC50)を測定したところ、Th1サイトカインでは高くTh2サイトカインでは低い傾向が確認された。rs37972の遺伝子多型に関してはアリルGでIL-5のIC50が高い、すなわちmPLの効果が弱いことがわかった。現在、確認実験を含めた再検討を遂行中である。

6. 眼科学講座

本邦においてベーチェット病、Vogt-Koyanagi-Harada disease、サルコイドーシスを三大原因とする「ぶどう膜炎」に限らず数多くの眼疾患において眼内炎症が認められる。このことから、眼内の炎症抑制は、幅広く眼疾患の治療に貢献する。そこで同グループは以下の研究を行った。(1)ベーチェット病は急性反復性炎症を特徴とする難治疾患で、TNF α が病態の進展に

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

中心的役割を果たすことが知られている。同疾患の病態進展と治療を再現するモデルを複製し、ブドウ膜炎発症と infliximab の効果発揮の過程の詳細を検討したところ、TNF α 濃度依存的に発現促進される matrix metalloproteinase (MMP)-1、3、9 が毛様体無色素上皮間のタイトジャンクションの構成分子である claudin と occludin を分解することを見だし、この分解が細胞透過性亢進に繋がる可能性を示した(*159)。同モデルを用いて DHMEQ の効果を検討したところ抗 TNF α 様作用が見られた。現在その作用機構を解析中である。

その他眼内炎症疾患に対する以下の臨床研究を行った。(2) 脈絡膜や網膜色素上皮の VEGF-A 異常発現による炎症と血管新生を特徴とする加齢黄斑変性に対して硝子体切除術が予後を改善するとの報告があるが、硝子体切除による網膜色素上皮の局所温度の低下に伴う VEGF-A 産生低下が観察された。また治療目的で注入されたヒアルロン酸(hyaluronan)と抗 VEGF 抗体との親和性が治療効果に影響しうることを示した(*162)。(3) 毛様体無色素上皮に存在する Fibrillin-Versican-Hyaluronan (FiVerHy) (Ohno-Jinno et al., 2008) は血液房水関門の構築に不可欠である。Versican のコンドロイチン硫酸と HA の流速に対する影響を検討し、FiVerHy が眼圧の決定因子であり、緑内障治療薬のラタノプラストが MMP-3 の発現を亢進させ FiVerHy を分解させることを示した。

7. 生化学講座

同講座では2つのグループが参加し、各々異なる2つの研究プロジェクトを遂行した。

(1) [ヒト細胞遺伝子改変法を用いた Kras 変異癌の分子標的治療法の探索]

肺癌、特に肺腺癌では *KRAS* 癌遺伝子に高頻度の活性化変異を認める。したがって活性化変異 *KRAS* タンパク質の生理活性を特異的に阻害する化合物は有望な抗癌医薬シーズの候補になりうる。しかし *KRAS* タンパク質に対する特異的阻害剤の合成は困難とされ、明確な臨床的効果を持つ *KRAS* 阻害剤は未だ見出されていない。本研究では、変異 *KRAS* タンパク質自身を標的とする代わりに、*KRAS* 遺伝子に変異した細胞内環境でのみ毒性を発揮する(*KRAS* 変異と合成致死性を持つ)化合物の同定を試みた。まず、ヒト気管支上皮細胞株 NuLi-1 に由来する *KRAS*^{G12V} 変異ノックインクローンと *KRAS* が野生型に留まる対照クローンのペアを作成した。同クローンペアを基盤として化合物スクリーニングを行った結果、PI3K-AKT-mTOR 経路の阻害が *KRAS* 変異ノックインクローンの選択的な増殖抑制に有効であることが示唆された。mTOR 阻害剤 everolimus による同クローンの選択的増殖抑制は、ネガティブ・フィードバックによると思われる RAF-MEK-ERK 経路の活性化を抑制することにより一層増強された。本研究の結果は、*KRAS* 変異肺癌に対する新たな併用療法の開発に向けて有効な手がかりを与えるものであり、今後さらに詳細な検討を加える必要がある。

(2) [口腔扁平上皮癌細胞における新規併用療法の開発と作用機序の解析]

口腔扁平上皮癌に対する新たな治療戦略を提供するために、口腔扁平上皮癌細胞株(以下 OSCC 細胞株)を利用して近年注目されている抗がん剤である三酸化ヒ素(以下 ATO)および天然抗がん物質プランバギン(Plumbagin、以下 PL)に着目し以下の研究を行った。(ア) ATO に関しては、ATO と CDDP の併用療法(以下 ATO/CDDP 療法)が OSCC 細胞株に対して相乗的な細胞増殖抑制効果を示すこと、薬剤低減化インデックスの解析から ATO/CDDP 療法が CDDP 投与量を最大で 80%低減化できることを示した。さらに本併用療法による細胞死の作用機序として、細胞内における過剰な活性酸素産生の誘導によるアポトーシスが密接に関与することを明らかにした。マイクロアレイ解析では、本併用療法が細胞生存に関わる *AKT* (Protein kinase B) や *STAT* (Signal Transducers and Activator of Transcription) などの遺伝子発現を抑制することを確認した(*173)。(イ) PL に関しては、PL が OSCC 細胞株のアポトーシスと Caspase-3/7 活性を濃度依存的に増加させ、ミトコンドリア膜電

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

位の低下と細胞質へのシトクロム C タンパク質の漏出を惹起し、細胞生存率とコロニー形成能を顕著に抑制することを明らかにした。また、活性酸素に関する検討を加えたところ、PL は OSCC 細胞株にプロオキシダント効果によるアポトーシスを引き起こし細胞増殖を抑制することがわかった(*169)。これらの研究成果は ATO と PL が口腔扁平上皮癌細胞の新たな治療薬として有望であることを示唆している。

8. 分子医科学研究所

細胞外マトリックスのプロテオグリカン、グリコサミノグリカンを専門とする同研究所では以下の2つのプロジェクトを遂行した。

(1) [酵素合成コンドロイチン硫酸ライブラリーの構築と糖鎖配列決定方法の確立および医薬品開発への試み]

コンドロイチン硫酸(CS)は動物組織に広く分布し、発生・分化、炎症や感染等で多彩な生理機能を発揮する。CS はグルクロン酸(GlcA)と N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)の二糖繰返し構造に、硫酸基が多様に修飾した直鎖酸性多糖体で、その生理活性は糖鎖配列に依存する。天然の CS 糖鎖は混合物であり生理機能を司る糖鎖構造の詳細な解析は困難である。そこでまず特定の糖鎖長と特定の硫酸基修飾構造を備えた CS 糖鎖ライブラリーを酵素合成法により構築した(*200)。合成糖鎖のうち CS 十二糖ライブラリーを用いて、これまで未開拓であった糖鎖配列を体系的に決定する方法を確立し、同手法を用いて硫酸基転移酵素の糖鎖内修飾部位の特性を明らかにした(*185)。さらに上記の CS 糖鎖ライブラリーを用いてマラリア感染に関与する CS 構造の同定を試みたところ、マラリア原虫のタンパク質 VAR2CSA との結合の最低結合単位は3個の連続した A 構造をもつ CS 十二糖であることを突き止めた。本研究は、生体内 CS 合成機序の解明のみならず、合成 CS 糖鎖誘導体の医薬品としての可能性を示した。

(2)[癌微小環境におけるバーシカンの役割]

細胞外マトリックス(extracellular matrix、以下 ECM)の巨大コンドロイチン硫酸プロテオグリカンとして知られるバーシカン(Versican、以下 Vcan)は、その普遍的発現、他の ECM 分子群との特異的結合能、培養系にて観察される細胞挙動制御作用、遺伝子欠損マウスが重篤な表現型を呈するという事実から、ECM のダイナミズムの主要な役割を担うプロテオグリカンと考えられ、ヒアルロン酸と特異的に結合する G1ドメイン、他の ECM 分子群と結合し TGFβ スーパーファミリー分子群の貯留を司る G3ドメイン、中央の CS 鎖に機能本体があると推測されている。腫瘍間質局所にて Vcan 発現を欠失させるコンディショナルノックアウトマウス系を樹立し、Vcan を発現していない QRsSP-11 線維芽細胞株を用いて移植実験を行ったところ間質 Vcan 発現欠失によって CD44-ERK1/、TGFβ、VEGF シグナル伝達経路の亢進と腫瘍増殖と血管新生の促進が認められ、同時に間質では線維芽細胞数の減少とコラーゲン線維の脆弱化が観察された。この変化は G1-G3 から成る Vcan V3 バリエーションの局所発現によって対照群と同等にまで回復し、さらに対照群に V3 を発現させたところ腫瘍塊はさらに小さくなった。これら一連の結果から、1)宿主の Vcan が腫瘍増殖をすること、2)コラーゲン線維を主体とする ECM による物理的障壁の維持ならびに腫瘍増殖に関与するシグナル伝達の制御の二点が作用機序として挙げられること、3)Vcan の機能ドメインが G1-G3 であることがわかった(*187)。本研究は細胞外環境の人為的操作による腫瘍制御の可能性を示唆するものといえる。

9. 内科学講座(血液内科)

白血病細胞のエネルギー代謝に着目して治療戦略の確率を目指してきた同グループは、グルコースの取り込みやその代謝産物である乳酸の測定、解糖系阻害薬を用いた増殖抑制の検討を行い、白血病細胞株毎に解糖系への依存度が異なること、ならびに各々の系の阻

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

害薬が腫瘍増殖抑制効果を発揮することを確認した(*207, 208)。さらにメタボローム解析により、一定の細胞株では解糖系と酸化的リン酸化以外にグルタミン代謝が深く関与することを突き止めた(*206)。次に低酸素化にて上記の検討を行ったところ、通常条件下で酸化的リン酸化優位な細胞株は、低酸素下では pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1)を高発現させることにより、主たるエネルギー代謝経路を解糖系へシフトさせる等、細胞株毎に様々な低酸素への適応がみられた(*204)。低酸素への適応が白血病細胞株毎に異なるという事実は白血病細胞の代謝が複雑なものであることを示しているが、一方で、白血病毎の主要代謝経路のパターン化、それに応じた個別治療の検討が今後の大きな課題として挙げられた。

<優れた成果が上がった点>

特筆すべきものは上記1の分子標的医薬探索寄附講座の研究成果である。病態の進展を抑制する新規生理活性物質を次々に見出し、その作用機構を *in vitro* にて解析するとともに *in vivo* において効果と毒性を解析するという一連の研究行程は本プロジェクトのあるべき姿を体現するものであり、他のグループにとって出口戦略を見据える重要な指標となった。同グループの発見した conophylline と DHMEQ は本プロジェクト内の種々のアッセイ系に適用されており、その効果が次々に確認されつつある。これらの化合物を用いた研究実績は、今後新規化合物を探索する際に重要な技術的情報を提供する点できわめて価値が高い。

その他のグループにも先駆的技術や独創的発想に基づく研究成果が数多く見られる。例えば2. (番号は上記研究グループの番号に対応)の肺ショックモデルは新規の動物モデルであり、同グループが長年に亘って手掛けてきたエンドトキシンの作用機序の詳細の解明に大いに役立った。3. アポトーシス関与分子 naofen は本学にて初めて(前学長によって)遺伝子クローニングされた分子であり、研究のオリジナリティは高い。4. NASH の炎症と線維化の抑制分子を発見した当該研究者らはその治療戦略では世界を牽引しているが、今回上記1のグループとの共同研究で conophylline の脂肪肝抑制剤としての可能性を示した成果は極めて大きい。5. 臨床の場で汎用されているステロイドに対する応答の差異に着目した研究は斬新で、大きな発見に繋がる可能性を持っている。6. 炎症性眼疾患の病態解明を目指す同グループに関しては Fibrillin-Versican-ヒアルロン酸の複合体とマトリックスメタロプロティナーゼによる同複合体の分解が眼圧に影響することを示したことは注目に値する。7. K-ras 変異細胞特異的増殖阻害低分子化合物の探索とそのシグナル伝達経路の同定は新しい試みであり、三酸化ヒ素やプランバギンの他の薬剤との併用療法の効果を検討した研究も興味深い。8. コンドロイチン硫酸の構造と生体内機能に関して長年に亘って研究を続けてきた同グループが今回作製したCSオリゴ糖鎖ライブラリーは世界初であり、その有用性の高さは特筆に値する。また細胞外マトリックスのダイナミズムを司るプロテオグリカンが腫瘍微小環境の本体であることを *in vivo* で証明した研究成果には今後の大きな発展が期待される。9. 白血病細胞の代謝回路の差異に着目した研究も当該分野の中では特色がある。

各研究グループは独自の分野を有しており、これまでの研究蓄積を元に今回の事業を契機として出口を見据えて研究を大きく進展させたといつてよく、いずれの分野においても総じて優れた成果が上がったといえる。

<課題となった点>

課題となった点は(1)予算配分、(2)遅延している研究グループの支援、(3)十分な情報共有の三点である。(1)学内 9 講座 13 名の主要研究者にて開始した本事業では最初の二年間、予算をほぼ均等に分配していた。本事業開始 2 年後に開催された第一回外部評価委員会にて「選択と集中」を行うべきとの指示を受け三年目からの予算配分は差別化したが、公平性を担保した上で予算を有効活用するには事前の十分な相談が必要であった。(2)研究

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

の遅延しているグループに対しては遅延の原因を突き止めて支援を試みたが研究の遅延を十分に回復するには及ばなかった。(3)講座間、研究グループ間の相談は主として研究者個人の自発的なものに留まっていた。事業全体で頻繁に会議を開く等していれば更に多くの共同研究を確立・推進することができたと思われる。

<自己評価の実施結果と対応状況>

本事業開始後 2 年間は年に 1-2 回の頻度で主要研究者が集まり研究内容と予算配分に関して相談を行ったが、当初は各グループが手掛けている研究内容、意義、進捗状況を十分に把握することは困難であったため均等な予算配分を行った。3 年目以降は年間の予算を二段階に分けて配分することとした。4 月に一定額を均等配分し、9 月に要望に応じて残りの予算の配分を行った。要望を受けた段階で研究の進捗と研究費増額の必要性を判断することができたため研究費の有効利用が可能となった。

<外部(第三者)評価の実施結果と対応状況>

2 年目の平成 24 年 11 月と 4 年目終了時平成 27 年 3 月の二度、外部評価委員会を開催した。1 回目の委員会における評価は、1) 基軸となる研究が必要である、2) 学内外で共同研究・連携を積極的に組む、3) 十分な情報共有を心掛ける、4) 出口がみえるところまでの仕組みをつくる、の 4 点が改良すべき項目として挙げられた。そこで DHMEQ と conophylline を発見し出口戦略の見えている分子標的医薬探索寄附講座・梅澤教授の研究を基軸とし、他の講座の研究を収斂させていく旨の方向性を打ち出した。基軸を設定したため自ずと研究は創薬へ向けた取り組みへと方向転換しグループ間の連携・共同研究も自発的に開始・推進された。情報共有に関しては主要研究者による会議の開催は日程調整に難しく充分とは言えなかったが、副代表研究者を二名設置し懸案に関してはその都度相談することとしたため迅速かつ適切な対応が可能となり研究の推進は加速したと思われる。2 回目の外部評価委員会では各分野の専門家を含めて計 12 名の先生方に評価委員をお願いした。各グループの研究内容に関して詳細なコメントを頂いたおかげで研究の微調整が可能となり、最終年度の研究は大幅に推進させることができた。

<研究期間終了後の展望>

本事業の推進によって学内全体の研究基盤の骨格は形成できたと考えている。これを元に、基礎と臨床との連携、学内外の共同研究推進、大学院の底上げ、若手研究者の育成、外国人研究者の支援等多面的な取り組みが可能でかつ学内全体を統括する強固な研究体制を構築したい。また本事業によって、基礎研究から治療法開発へのロードマップを意識して研究に取り組む姿勢が各研究者に定着しつつある。本事業にて進めてきた各研究は引き続き継続し、是非創薬に結びつけたいと考えている。

<研究成果の副次的効果>

知財関係

発明者 梅澤一夫、米田政志、中出幸臣

発明の名称 脂肪肝および脂肪性肝炎治療剤

特許出願人 学校法人愛知医科大学

出願 特願 2014-254131 (出願日 2014 年 12 月 16 日)

特許権者 学校法人愛知医科大学

発明者 杉浦信夫

発明の名称 高硫酸化コンドロイチン硫酸類の合成方法、高硫酸化コンドロイチン硫酸類、お

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

よび解析用試薬

出願人:学校法人愛知医科大学

出願 特願 2011-18629 (出願日 2011 年 1 月 31 日)

公開 特開 2012-157271 (公開日 2012 年 8 月 23 日)

登録 特許第5885136号(2016(平成 28)年 2 月 19 日)

特許権者 学校法人 愛知医科大学

発明者 杉浦信夫, 塩入達政

発明の名称 グリコサミノグリカン糖鎖の配列構造を決定する方法

出願人:学校法人愛知医科大学

出願 特願 2014-141999 (出願日 2014 年 7 月 10 日)

発明者 杉浦信夫

発明の名称 コンドロイチン分解用またはコンドロイチン硫酸分解用の酵素, 試薬, 分解方法, 高硫酸化オリゴ糖の製造方法, ならびに粗製物

出願人 学校法人愛知医科大学

出願 特願 2012-6544 (出願日 2012 年 1 月 16 日)(優先権主張出願)

公開 特開 2012-175969(公開日 2012 年 9 月 13 日)

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) 臓器障害 (2) 分子標的治療 (3) 化合物スクリーニング
 (4) 創薬 (5) 線維化 (6) 低分子化合物
 (7) コノフィリン (8) DHMEQ

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>

分子標的医薬探索寄附講座

1. Wang L, Lin Y, Sidthipong K, Tang J, Li M, Koyano T, Kowithayakorn T, Sumiyoshi K, Ukaji T, Umezawa K: Inhibition of NF- κ B and cellular invasion by novel flavonoid desmal in ovarian carcinoma cells. *Heterocycles*, 2016, in press.
2. El-Salhy M, Umezawa K: Anti-inflammatory effects of novel AP-1 and NF- κ B inhibitors in dextran-sulfate-sodium-induced colitis in rats. *International J. Molecular Medicine*, DOI: 10.3892/ijm.m.2016.2560.
3. Ichikawa N, Yamashita K, Funakoshi T, Ichihara S, Fukai M, Ogura M, Kobayashi N, Zaitso M, Yoshida T, Shibasaki S, Koshizuka Y, Tsunetoshi Y, Sato M, Einama T, Ozaki M, Umezawa K, Suzuki T, Todo S: A novel anti-inflammatory agent, DTCM-glutarimide, ameliorates murine models of inflammatory bowel disease. *Inflammatory Res*, 65, 245-260, 2016.
4. Seubwai W, Vaeteewoottacharn K, Kraiklang R, Umezawa K, Okada S, Wongkham S: Inhibition of NF- κ B activity enhances sensitivity to anticancer drugs in cholangiocarcinoma cells. *Oncology Res*, 23, 21-28, 2016.

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

5. Okamoto T, Ozawa Y, Kamoshita M, Osada H, Toda E, Kurihara T, Nagai N, Umezawa K, Tsubota K: The neuroprotective effect of rapamycin as a modulator of the mTOR-NF- κ B axis during retinal inflammation. *PLOS ONE*, DOI:10.1371/journal.pone.0146517, 2016.
6. Toda T, Watanabe M, Kawato J, Higashihara M, Kunisada T, Umezawa K, Horie R: Brefeldin A exerts differential effects on anaplastic lymphoma kinase positive anaplastic large cell lymphoma and Hodgkin lymphoma cell lines. *British J Haematology*, 170, 837-846, 2015.
7. Ali TFS, Iwamura K, Ciftci H. I, Koga R, Matsumoto M, Oba Y, Kurosaki H, Fujita M, Okamoto Y, Umezawa K, Nakao M, Hide T, Makino K, Kuratsu J, Abdel-Aiziz M, El-Din G, Abuo-Rahma AAM, Beshr EA, Otsuka M: Novel metal chelating molecules with anticancer activity. Striking effect of the imidazole substitution of the histidine-pyridine-histidine system. *Bioorg Med Chem*, 23, 5476-5482, 2015.
8. Ukaji T, Lin Y, Banno K, Okada S, Umezawa K: Inhibition of IGF-1-mediated cellular migration and invasion by migracin A in ovarian clear cell carcinoma cells. *PLOS ONE*, 10(9), e0137663, 2015.
9. Inokawa S, Watanabe T, Keino H, Sato Y, Hirakata A, Okada A. A, Fukuda K, Fukushima A, Umezawa K: Dehydroxymethylepoxyquinomicin, a novel nuclear factor- κ B inhibitor, reduces chemokines and adhesion molecule expression induced by IL-1 β in human corneal fibroblasts. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 253, 557-563, 2015.
10. Kuboki M, Ito A, Simizu S, Umezawa K: Activation of apoptosis by caspase-3-dependent specific RelB cleavage in anticancer agent-treated cancer cells: Involvement of positive feedback mechanism. *Biochem Biophys Res Commun*, 456, 810-814, 2015.
11. Koide N, Kaneda A, Yokochi T, Umezawa K: Inhibition of RANKL- and LPS-induced osteoclast differentiations by novel NF- κ B inhibitor DTCM-glutarimide. *International Immunopharmacology*, 25, 162-168, 2015.
12. Horie K, Ma J, Umezawa K: Inhibition of canonical NF- κ B nuclear localization by (-)-DHMEQ via impairment of DNA binding. *Oncology Res*, 22, 105-115, 2015.
13. Noma N, Asagiri M, Takeiri M, Ohmae S, Takemoto K, Iwaisako K, Simizu S, Umezawa K: Inhibition of MMP-2-mediated mast cell invasion by NF- κ B inhibitor DHMEQ in mast cells. *International Achieves of Allergy and Immunology*, 166, 84-90, 2015.
14. Mbongue J. C, Nicholas D, Zhang K, Hamilton B. N, Larios M, Zhang G, Umezawa K, Firek A, Langridge WHR: Induction of indoleamine 2, 3 dioxygenase in human dendritic cells by a cholera toxin B subunit - Proinsulin vaccine. *PLOS ONE* DOI: 10.1371/journal.pone.0118562, 2015.
15. Sasazawa Y, Sato N, Umezawa K, Simizu S: Conophylline protects cells in cellular models of neurodegenerative diseases by inducing mTOR-independent autophagy. *J Biol Chem*, 290, 6168-6178, 2015.
16. Ito Y, Kikuchi E, Tanaka N, Kosaki T, Suzuki E, Mizuno R, Shinojima T, Miyajima A, Umezawa K, Oya M: Down-regulation of NF-kappa B activation is an effective therapeutic modality in acquired platinum-resistant bladder cancer. *BMC Cancer* (2015) 15:324 DOI 10.1186/s12885-015-1315-9.
17. Yamanouchi S, Adachi Y, Shimo T, Umezawa K, Okigaki M, Tsuji S, Li M, Takaya J, Kuge T, Ikehara S, Kaneko K: A nuclear factor- κ B inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, ameliorates GVHD in allogeneic bone marrow transplantation. *Immunobiology*, 220, 1059-1066, 2015.
18. Zaitzu M, Yamashita K, Shibasaki S, Tsunetoshi Y, Fukai M, Ogura M, Yoshida T, Igarashi R, Kobayashi N, Umezawa K, Todo S: 3-[(dodecylthiocarbonyl)methyl]-glutarimide attenuates graft arterial disease by suppressing alloimmune responses and vascular smooth muscle cell proliferation. *Transplantation*, 99, 948-956, 2015.

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

19. Ukaji T, Sasazawa Y, Umezawa K, Simizu S: Involvement of conserved tryptophan residues for secretion of TIMP-2. *Oncology Letters*, 7, 631-634, 2014.
20. Togano T, Watanabe M, Itoh K, Umezawa K, Masuda N, Higashihara M, Horie R: Activation of Akt involves resistance to NF- κ B inhibition and abrogation of both triggers synergistic apoptosis in lung adenocarcinoma cells. *Lung Cancer*, 83, 139-145, 2014.
21. Watanabe M, Umezawa K, Higashihara M, Horie R: Combined inhibition of NF- κ B and Bcl-2 triggers synergistic reduction of viability and induces apoptosis in melanoma cells. *Oncology Res*, 21, 173-180, 2014.
22. Goto Y, Niwa Y, Suzuki T, Dohmae N, Umezawa K, Simizu S: C-mannosylation of human hyaluronidase 1: Possible roles for secretion and enzymatic activity. *International J Oncology*, 45, 344-350, 2014.
23. El-Salhy M, Umezawa K, Gilja O.-H, Hatlebakk JG, Gundersen D, Hausken T: Amelioration of severe TNBS induced colitis by novel AP-1 and NF- κ B inhibitors in rats. *The Scientific World*, Volume 2014 Article ID 813804 (8 pages).
24. Celegato M, Borghese C, Umezawa K, Casagrande N, Colombatti A, Carbone A, Aldinucci D: The NF- κ B inhibitor DHMEQ decreases survival factors, overcomes the protective activity of microenvironment and synergizes with chemotherapy agents in classical Hodgkin lymphoma. *Cancer Letters*, 349, 26-34, 2014.
25. Nishio H, Yaguchi T, Sugiyama J, Sumimoto H, Umezawa K, Iwata T, Susumu N, Fujii T, Kawamura N, Kobayashi A, Park J-H, Aoki D, Kawakami Y: Immunosuppression through constitutively activated NF- κ B signaling in human ovarian cancer and its reversal by a NF- κ B inhibitor. *British J Cancer*, 110, 2965-2974, 2014.
26. Sato M, Nakanishi K, Haga S, Fujiyoshi M, Baba M, Mino K, Yimin, Niwa H, Yokoo H, Umezawa K, Ohmiya Y, Kamiyama T, Todo S, Taketomi A, Ozaki M: Anoikis induction and inhibition of peritoneal metastasis of pancreatic cancer cells by a nuclear factor-kappa B inhibitor, (-)-DHMEQ. *Oncology Res*, 21, 333-343, 2014.
27. Ukaji T, Umezawa K: Novel approaches to target NF- κ B and other signaling pathways in cancer stem cells. *Advances in Biological Regulation*, 56, 108-115, 2014.
28. Koide N, Kondo Y, Odkhuu E, Ulziisaikhan J, Ukaji T, Yokochi T, Umezawa K: Inhibition of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) or lipopolysaccharide-induced osteoclast formation by conophylline (CNP) through downregulation of CREB. *Immunology Letters*, 161, 31-37, 2014.
29. Matsui C, Ikeda Y, Inuma H, Kushida N, Kunisada T, Simizu S, Umezawa K: Isolation of a novel paxilline analog pyrapaxilline from fungus that inhibits LPS-induced NO production. *J Antibiotics*, 67, 787-790, 2014.
30. Haga S, Ozawa T, Yamada Y, Morita N, Nagashima I, Inoue H, Inaba Y, Noda N, Abe R, Umezawa K, Ozaki M: p62/SQSTM1 plays a protective role in oxidative injury of steatotic liver in a mouse hepatectomy model. *Antioxidants and Redox Signaling*, 18, 2515-2530, 2014.
31. Lampiasi N, Umezawa K, Montalto G, Cervello M: Poly (ADP-Ribose) polymerase inhibition synergizes with the NF- κ B inhibitor DHMEQ to kill hepatocellular carcinoma cells. *BBA-Molecular Cell Research*, 1843, 2662-2673, 2014.
32. Miyagi T, Shiotani B, Miyoshi R, Yamamoto T, Oka T, Umezawa K, Ochiya T, Takano M, Tahara H: DSE-FRET: A new anti-cancer drug screening assay for DNA binding proteins. *Cancer Science*, 105, 870-874, 2014.
33. Seubwai W, Kraiklang R, K. Vaeteewoottacharn K, Umezawa K, Okada S, Wongkham S: Aberrant expression of NF- κ B in liver fluke associated cholangiocarcinoma: implications for targeted therapy. *PLOS ONE*, 9 (8), e106056, 2014.
34. Kamoshita M, Ozawa Y, Kubota S, Miyake S, Tsuda C, Nagai N, Yuki K, Shimmura S, Umezawa K, Tsubota K. AMPK-NF- κ B axis in the photoreceptor disorder during retinal inflammation. *PLOS ONE*, 9 (7), e103013, 2014.

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

35. Kuroda M, Funasaki S, Saitoh T, Sasazawa Y, Nishiyama S, Umezawa K, Simizu S: Determination of topological structure of ARL6ip1 in cells: Identification of the essential binding region of ARL6ip1 for conophylline. *FEBS Letters*, 587, 3656-3660, 2013.
36. Watanabe M, Yamashita K, Kamachi H, Kuraya D, Koshizuka Y, Shibasaki S, Asahi Y, Ono H, Emoto S, Ogura M, Yoshida T, Ozaki M, Umezawa K, Matsushita M and Todo S: Efficacy of DHMEQ, a NF- κ B inhibitor, in islet transplantation: II. Induction DHMEQ treatment ameliorates subsequent alloimmune responses and permits long-term islet allograft acceptance. *Transplantation*, 96, 454-462, 2013.
37. Kuraya D, Watanabe M, Koshizuka Y, Ogura M, Yoshida T, Asahi Y, Kamachi H, Nakamura T, Harashima H, Ozaki M, Umezawa K, Matsushita M, Yamashita K, Todo S: Efficacy of DHMEQ, a NF- κ B Inhibitor, in islet transplantation: I. HMGB1 suppression by DHMEQ prevents early islet graft damage. *Transplantation*, 96, 445-453, 2013.
38. Kubo N, Saito R, Hamano K, Nagasawa M, Aoki F, Takei I, Umezawa K, Kuwano H, Kojima I: Conophylline suppresses hepatic stellate cells and attenuates thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Liver International*, 2013, DOI: 10.1111/liv.12328.
39. Brassesco MS, Roberto G, Morales A, de Oliveira J, Delsin LE, Pezuk JA, Valera ET, Carlotti CG Jr, Rego EM, de Oliveira HF, Scrideli CA, Umezawa K, Tone LG: Inhibition of NF- κ B by Dehydroxymethylepoxyquinomicin suppresses invasion and synergistically potentiates Temozolomide and g-radiation cytotoxicity in glioblastoma cells. *Chemother Res Pract*, 2013, Article ID 593020 (16 pages).
40. Shimogaki S, Ito S, Komatsu S, Koike R, Miyasaka N, Umezawa K, Kubota T: Inhibition of the NF- κ B pathway as a candidate therapeutic strategy for cryopyrin-associated periodic syndrome. *Mod Rheumatol*, 24, 517-524, 2013.
41. Kono H, Nakagawa K, Morita S, Shinoda K, Mizuno R, Kikuchi E, Miyajima A, Umezawa K, Oya M: The effect of a novel nuclear factor kappa B activation inhibitor on renal ischemia reperfusion injury. *Transplantation*, 96, 863-870, 2013.
42. Umezawa K: Peritoneal NF- κ B as a Possible molecular target for suppression of various cancers and inflammation. (Review) *For Immunopathol Dis Therap*, 4, 63-77, 2013.
43. Togano T, Nakashima M, Watanabe M, Umezawa K, Watanabe T, Higashihara M, Horie R: Synergistic effect of 5-azacytidine and NF-kappa B inhibitor DHMEQ on apoptosis induction in myeloid leukemia cells. *Oncol Res*, 20, 571-577, 2013.
44. Sidthipong K, Todo S, Takei I, Kojima I, Umezawa K: Screening of new bioactive metabolites for diabetes therapy (Review). *Intern Emerg Med*, 8, 57-59, 2013.
45. Nishimura M, Nii T, Trimova G, Miura S, Umezawa K, Ushiyama A, Kubota T: The NF- κ B specific inhibitor DHMEQ prevents thrombosis formation in a mouse model of antiphospholipid syndrome. *J Nephropathology*, 2, 114-121, 2013.
46. Shimo T, Adachi Y, Yamanouchi S, Tsuji S, Kimata T, Umezawa K, Okigaki M, Takaya J, Ikehara S, Kaneko K: A novel NF- kappaB inhibitor DHMEQ ameliorates puromycin aminonucleoside induced nephrosis in mice. *Am J Nephrol*, 37, 302-309, 2013.
47. Ogasawara A, Simizu S, Ito A, Kawai T, Saisho Y, Takei I, Umezawa K: Inhibition of NO-induced b-cell death by novel NF- κ B inhibitor (-)-DHMEQ via activation of Nrf2-ARE pathway. *Biochem Biophys Chem Commun*, 433, 181-187, 2013.
48. Suzuki K, Aiura K, Matsuda S, Itano O, Takeuchi O, Umezawa K, Kitagawa Y: Combined effect of dehydroxymethylepoxyquinomicin and gemcitabine in a mouse model of liver metastasis of pancreatic cancer. *Clin Exp Metastasis*, 30, 381-392, 2013.
49. Kassan M, Choi SK, Galán M, Bishop A, Umezawa K, Trebak M, Matrougui K: NF κ B impairs vascular function through PARP-1, SP-1 and COX2-dependent mechanisms in type 2 diabetes. *Diabetes*, 62, 2078-2087, 2013.
50. Ohsugi T, Ishida T, Shimasaki T, Okada S, Umezawa K: p53 dysfunction precedes the activation of nuclear factor- κ B during disease progression in mice expressing Tax, a

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- human T-cell leukemia virus type 1 oncoprotein. *Carcinogenesis*, 34, 2129-2136, 2013.
51. Nakajima S, Kato H, Gu L, Takahashi S, Johno H, Umezawa K, Kitamura M: Pleiotropic potential of dehydroxymethylepoxyquinomicin for NF- κ B suppression via reactive oxygen species and unfolded protein response. *J Immunol*, 190, 6559-6569, 2013.
 52. Shibasaki S, Yamashita K, Goto R, Wakayama K, Tsunetoshi Y, Zaitu M, Igarashi R, Haga S, Ozaki M, Umezawa K, Todo S: Immunosuppressive effects of DTCM-G, a novel Inhibitor of the mTOR downstream signaling pathway. *Transplantation*, 95, 542-550, 2013.
 53. Brassesco MS, Pezuk JA, de Oliveira JC, Valera ET, de Oliveira HF, Scrideli CA, Umezawa K, Tone LG: Activator Protein-1 Inhibition by 3-[(dodecylthiocarbonyl)methyl]-glutamaride impairs invasion and radiosensitizes osteosarcoma cells in vitro. *Cancer Biother Radiopharm*, 28, 351-358, 2013.
 54. Sukumwang N, Umezawa K: Earthworm-derived pore-forming toxin Lysenin and screening of its inhibitors. *Toxins*, 5, 1392-1401, 2013.
 55. Arai Y, Inuma H, Ikeda Y, Igarashi M, Hatano K, Kinoshita N, Ukaji T, Simizu S, Umezawa K: Migracins A and B, new inhibitors of cancer cell migration, produced by *Streptomyces* sp. *J. Antibiot*, 66, 225-230, 2013.
 56. Saito R, Yamada S, Yamamoto Y, Kodera T, Hara A, Tanaka Y, Kimura F, Takei I, Umezawa K, Kojima I: Conophylline suppresses pancreatic stellate cells and improves islet fibrosis in Goto-Kakizaki rats. *Endocrinology*, 153, 621-630, 2012.
 57. Takeiri M, Horie K, Takahashi D, Watanabe M, Horie R, Simizu S, Umezawa K: Involvement of DNA binding domain in the cellular stability and importin affinity of NF- κ B component RelB. *Org Biomol Chem*, 10, 3053-3059, 2012.
 58. Noma N, Simizu S, Kambayashi Y, Kabe Y, Suematsu M, Umezawa K: Involvement of NF- κ B-mediated expression of galectin-3-binding protein in tumor necrosis factor- α -induced breast cancer cell adhesion. *Oncology Reports*, 27, 2080-2084, 2012.
 59. Hinohara K, Kobayashi S, Simizu S, Tada K, Tsuji E, Nishioka K, Umezawa K, Mori M, Kanauchi H, Ogawa T, Inoue J, Tojo A, Gotoh N: ErbB/NF κ B signaling controls self-renewal of breast cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 109, 6584-6589, 2012.
 60. Kobayashi R, Hanaya K, Shoji M, Umezawa K, Sugai T: A chemo-enzymatic expeditious route to racemic dihexanoyl (2R*,3R*,4R*)-dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ), the precursor for lipase-catalyzed synthesis of the potent NF- κ B Inhibitor, (2S,3S,4S)-DHMEQ. *Chem Pharm Bull*, 60, 1220-1223, 2012.
 61. Fukushima T, Kawaguchi M, Yorita K, Tanaka H, Umezawa K, Kataoka H: Antitumor effect of dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ), a small molecule inhibitor of nuclear factor- κ B, on glioblastoma. *Neuro-Oncology*, 14, 19-28, 2012.
 62. Funakoshi T, Yamashita K, Ichikawa N, Fukai M, Suzuki T, Goto R, Oura T, Kobayashi N, Katsurada T, Ichihara S, Ozaki M, Umezawa K, Todo S: A novel NF- κ B inhibitor, dehydroxymethylepoxyquinomicin, ameliorates inflammatory colonic injury in mice. *J Crohns Colitis*, 6, 215-225, 2012.
 63. Kawata M, Koinuma D, Ogami T, Umezawa K, Iwata C, Watabe T, Miyazono K: TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition of A549 lung adenocarcinoma cells is enhanced by proinflammatory cytokines derived from RAW 264.7 macrophage cells. *J Biochem*, 151, 205-216, 2012.
 64. Goto R, Yamashita K, Aoyagi T, Ueki S, Uno M, Oura T, Kobayashi N, Igarashi R, Shibasaki S, Wakayama K, Hirokata G, Shibata T, Umezawa K, Ozaki M, Todo S: The immunomodulatory effect of nuclear factor- κ B inhibition by dehydroxymethylepoxyquinomicin in combination with donor-specific blood transfusion. *Transplantation*, 93, 777-786, 2012.
 65. Lampiasi N, Azzolina A, Umezawa K, Montalto G, McCubrey JA, Cervello M: The novel NF- κ B inhibitor DHMEQ synergizes with Celecoxib to exert antitumor effects on

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- human liver cancer cells by a ROS-dependent mechanism. *Cancer Lett*, 322, 35-44, 2012.
66. Shimizu K, Konno S, Ozaki M, Umezawa K, Yamashita K, Todo S, Nishimura M: Dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ), a novel NF-kappaB inhibitor, inhibits allergic inflammation and airway remodelling in murine models of asthma. *Clin Exp Allergy*, 42, 1273-1281, 2012.
67. Nakayama M, Niki Y, Kawasaki T, Takeda Y, Horiuchi K, Sasaki A, Okada Y, Umezawa K, Ikegami H, Toyama Y, Miyamoto T: Enhanced susceptibility to lipopolysaccharide-induced arthritis and endotoxin shock in interleukin-32 alpha transgenic mice through induction of tumor necrosis factor alpha. *Arthritis Res Ther*, 14, R120, 2012.
68. Alberti C, Pinciroli P, Valeri B, Ferri R, Ditto A, Umezawa K, Sensi ML, Canevari S, Tomassetti A: Ligand-dependent EGFR activation induces the co-expression of IL-6 and PAI-1 via NFκB pathway on advanced-stage epithelial ovarian cancer. *Oncogene*, 31, 4139-4149, 2012.
69. Castro-Gamero AM, Borgesa KS, da Silva Silveira V, Lira RC, de Paula G Queiroz R, Valera FC, Scrideli CA, Umezawa K, Tone LG: Inhibition of nuclear factor-κB by dehydroxymethylepoxyquinomicin induces schedule-dependent chemosensitivity to anticancer drugs and enhances chemoinduced apoptosis in osteosarcoma cells. *Anti-Cancer Drugs*, 23, 638-650, 2012.
70. Valera FC, Umezawa K, Brassesco MS, Castro-Gamero AM, Queiro RG, Scrideli CA, Tone LG, Anselmo-Lima WT: Suppression of inflammatory cytokine secretion by an NF-κB inhibitor in nasal polyps fibroblasts. *Cell Physiol Biochem*, 30, 13-22, 2012.
71. Kozakai N, Kikuchi E, Hasegawa M, Suzuki E, Ide H, Miyajima A, Horiguchi Y, Nakashima J, Umezawa K, Shigematsu N, Oya M: Enhancement of radiosensitivity by a unique novel NF-κB inhibitor, DHMEQ, in prostate cancer. *British J Cancer*, 107, 652-657, 2012.
72. Takeiri M, Ota E, Nishiyama S, Kiyota H, Simizu S, Umezawa K: Structure-activity relationship of 9-methylstreptimidone that induces selective apoptosis in adult T-cell leukemia cells. *Oncol Res*, 20, 7-14, 2012.
73. Kaneda A, Gantsev SK, Umezawa K: Inhibition of cellular invasion and induction of anoikis in mouse melanoma cells by an anti-inflammatory agent DTCM-glutarimide. *Creative Surgery and Oncology*, 2012, 4-9, 2012.
74. Brassesco MS, Pezuk JA, Morales AG, de Oliveira JC, Valera ET, da Silva GN, de Oliveira HF, Scrideli CA, Umezawa K, Tone LG: Cytostatic *in vitro* effects of DTCM-glutarimide on bladder carcinoma cells. *Asian Pac J Cancer Prev*, 13, 1957-1962, 2012.
75. Ota E, Takeiri M, Tachibana M, Ishikawa Y, Umezawa K, Nishiyama S: Synthesis and biological evaluation of molecular probes based on the 9-methylstreptimidone derivative DTCM-glutarimide. *Bioorg Med Chem Lett*, 22, 164-167, 2012.
76. Yasukagawa T, Niwa Y, Simizu S, Umezawa K: Suppression of cellular invasion by glybenclamide through inhibited secretion of platelet-derived growth factor in ovarian clear cell carcinoma ES-2 cells. *FEBS Lett*, 1504-1509, 2012.
77. Niwa Y, Matsui C, Sukumwang N, Iinuma H, Ikeda Y, Koyano T, Kovitayakorn T, Simizu S, Umezawa K: Inhibition of lysenin-induced hemolysis by all-E-lutein derived from the plant *Dalbergia latifolia*. *Planta Medica*, 78, 957-961, 2012.
78. Hosoi H, Kawai N, Hagiwara H, Suzuki T, Nakazaki A, Takao K, Umezawa K, S. Kobayashi S: Determination of the absolute structure of (+)-akaterpin. *Chem Pharm Bull*, 60, 137-143, 2012.
79. Shimo T, Adachi Y, Umezawa K, Okigaki M, Takaya J, Taniuchi S, Ikehara S, Kaneko K: Dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) can suppress tumour necrosis factor-α production in lipopolysaccharide-injected mice, resulting in rescuing mice from death in

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- vivo. *Clin Exp immunol*, 166, 299-306, 2011.
80. Levati L, Ruffini F, Muzi A, Umezawa K, Graziani G, D'Atri S, Lacial PM: Placenta growth factor induces melanoma resistance to temozolomide through a mechanism that involves the activation of the transcription factor NF- κ B. *International J Oncol*, 38, 241-247, 2011.
 81. Mino K, Ozaki M, Nakanishi K, Haga S, Sato M, Kina M, Takahashi M, Takahashi N, Kataoka A, Yanagihara , Ochiya T, Kamiyama T, Umezawa K, Todo S: Inhibition of nuclear factor-kappa B suppresses peritoneal dissemination of gastric cancer by blocking cancer cell adhesion. *Cancer Science*, 102, 1052-1058, 2011.
 82. Kobayashi K, Umezawa K, Yasui M: Apoptosis in mouse amniotic epithelium is induced by activated macrophages through the TNF receptor type 1/TNF pathway. *Biology of Reproduction*, 84, 248-254, 2011.
 83. Niitsu Y, Hakamata M, Goto Y, Higashi T, Shoji M, Sugai T, Umezawa K: Chemoenzymatic synthesis of (2R,3R,4R)-dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ), a new activator of antioxidant transcription factor Nrf2. *Org Biomol Chem*, 9, 4635-4641, 2011.
 84. Umezawa K: Possible role of peritoneal NF- κ B in peripheral inflammation and cancer: Lessons from the inhibitor DHMEQ. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 65, 252-259, 2011.
 85. Hosoi H, Kawai N, Hagiwara H, Suzuki T, Nakazaki A, Takao K, Umezawa K, Kobayashi S: Synthesis and determination of the relative structure of akaterpin, a potent inhibitor of PI-PLC. *Tetrahedron Lett*, 52, 4961-4964, 2011.
 86. Rapozzi V, Umezawa K, Xodo LE: Role of NF- κ B/Snail/RKIP loop in the response of tumor cells to photodynamic therapy. *Lasers in Surgery and Medicine*, 43, 575-585, 2011.
 87. Isshiki M, Umezawa K and Tamura H: Coffee induces breast cancer resistance protein expression in Caco-2 cells. *Biol Pharm Bull*, 34: 1624-1627, 2011.
 88. Saitoh T, Takeiri M, Gotoh Y, Ishikawa Y, Umezawa K, Nishiyama S: Design and synthesis of biotinylated DHMEQ for direct identification of its target NF- κ B components. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21, 6293-6296, 2011.
 89. Tsumura K, Suzuki A, Tsuzuki T, Kaneko H, Matsumura S, Imoto M, Umezawa K, Takahashi D, Toshima K: Molecular design, chemical synthesis, and biological evaluation of agents that selectively photo-degrade the transcription factor estrogen receptor. *Org Biomol Chem*, 9, 6357-6366, 2011.
 90. Takeiri M, Tachibana M, Kaneda A, Ito A, Ishikawa Y, Nishiyama S, Goto R, Yamashita K, Shibasaki S, Hirokata G, Ozaki M, Todo S, Umezawa K: Inhibition of macrophage activation and suppression of graft rejection by DTCM-glutarimide, a novel piperidine derived from the antibiotic 9-methylstreptimidone. *Inflammation Res*, 60, 879-888, 2011.

感染免疫学講座

91. Ando T, Komatsu T, Naiki Y, Yokochi T, Watanabe D, Koide N: Pretreatment of LPS inhibits IFN- β -induced STAT1 phosphorylation through SACS3 induced by LPS. *Biomed Pharmacother*, 76, 1-5, 2015.
92. Naiki Y, Komatsu T, Koide N, Dagvadorji J, Yoshida T, Arditi M, Yokochi T: TGF β 1 inhibits the production of IFN in response to CpG DNA via ubiquitination of TNF receptor-associated factor (TRAF)6. *Innate Immun*, 21, 770-7, 2015.
93. Koide N, Kaneda A, Yokochi T, Umezawa K: Inhibition of RANKL- and LPS-induced osteoclast differentiations by novel NF- κ B inhibitor DTCM-glutarimide, *Int Immunopharmacol*, 25,162-8, 2015.
94. Mori D, Koide N, Tsolmongyn B, Nagata H, Sano T, Nonami T, Yokochi T: Poly I:C enhances production of nitric oxide in response to interferon- γ via upregulation of

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- interferon regulatory factor 7 in vascular endothelial cells. *Microvasc Res* 98C, 68-73, 2015.
95. Odkhuu E, Koide N, Tsolmongyn B, Jambalganiin U, Naiki Y, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T: Involvement of redox balance in in vitro osteoclast formation of RAW 264.7 macrophage cells in response to LPS. *Innate Immun*, 21,194-202, 2015.
 96. Odkhuu E, Mendjargal A, Koide N, Naiki Y, Komatsu T, Yokochi T: Lipopolysaccharide downregulates the expression of p53 through activation of MDM2 and enhances activation of nuclear factor-kappa B. *Immunobiology*. 220, 136-41, 2015.
 97. Koide N, Kondo Y, Odkhuu E, Ulziisaikhan J, Ukaji T, Yokochi T, Umezawa K: Inhibition of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand- or lipopolysaccharide-induced osteoclast formation by conophylline through downregulation of CREB. *Immunol Lett*. 161, 31-37, 2014.
 98. Haque A, Koide N, Odkhuu E, Tsolmongyn B, Naiki Y, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T: Mouse pyrin and HIN domain family member 1 (pyhin1) protein positively regulates LPS-induced IFN- β and NO production in macrophages. *Innate Immun*, 20, 40-8, 2014.
 99. Tanigawa T, Odkhuu E, Morikawa A, Hayashi K, Sato T, Shibata R, Goto F, Ueda H, Yokochi T: Immunological role of prostaglandin E2 production in mouse auditory cells in response to LPS. *Innate Immun*, 20, 647-658, 2014.
 100. Koide N, Odkhuu E, Naiki Y, Tsolmongyn B, Ito K, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T: Augmentation of LPS-induced vascular endothelial cell growth factor production in macrophages by transforming growth factor- β 1. *Innate Immun*, 20, 816-25, 2014.
 101. Wakayama S, Haque A, Koide N, Kato Y, Odkhuu E, Bilegtsaikhan T, Naiki Y, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T: Lipopolysaccharide impairs insulin sensitivity via activation of phosphoinositide 3-kinase in adipocytes. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 36, 145-9, 2014.
 102. Jambalganiin U, Tsolmongyn B, Koide N, Odkhuu E, Naiki Y, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T: A novel mechanism for inhibition of lipopolysaccharide-induced proinflammatory cytokine production by valproic acid. *Int Immunopharmacol*, 20, 181-187, 2014.
 103. Kato Y, Kamiya H, Koide N, Odkhuu E, Komatsu T, Dagvadorj J, Watarai A, Kondo M, Kato K, Nakamura J, Yokochi T: Spironolactone inhibits production of proinflammatory mediators in response to lipopolysaccharide via inactivation of nuclear factor- κ B. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 36, 237-41, 2014.
 104. Odkhuu E, Komatsu T, Naiki Y, Koide N, Yokochi T: Sendai virus C protein inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production through impairing interferon- β signaling. *Int Immunopharmacol*. 23, 267-272, 2014.
 105. Koide N, Naiki Y, Odkhuu E, Tsolmongyn B, Komatsu T, Ito K, Yoshida T, Yokochi T. Involvement of oncogenic protein β -catenin in LPS-induced cytotoxicity in mouse mononuclear leukemia RAW 264.7 cells. *Oncol Res* 21, 59-65, 2013.
 106. Tsolmongyn B, Koide N, Odkhuu E, Haque A, Naiki Y, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T: Lipopolysaccharide prevents valproic acid-induced apoptosis via activation of nuclear factor- κ B and inhibition of p53 activation. *Cell Immunol* 282,100-5, 2013.
 107. Tsolmongyn B, Koide N, Jambalganiin U, Odkhuu E, Naiki Y, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T: A toll-like receptor 2 ligand, Pam3CSK4, augments interferon- γ -induced nitric oxide production via a physical association between MyD88 and IFN- γ receptor in vascular endothelial cells. *Immunology*, 140, 352-61, 2013.
 108. Tanigawa T, Odkhuu E, Morikawa A, Hayashi K, Sato T, Shibata R, Goto F, Ueda H, Yokochi T: Immunological role of prostaglandin E2 production in mouse auditory cells in response to lipopolysaccharide. *Innate Immun*, 20, 639-646, 2013.
 109. Komatsu T, Kido N, Sugiyama T, Yokochi T: Antiviral activity of acidic polysaccharides from *Coccomyxa gloeobotrydiformis*, a green alga, against an in vitro human influenza A

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- virus infection. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 35, 1-7, 2013.
110. Tanigawa T, Morikawa A, Hayashi K, Dan K, Tsuchihashi N, Goto F, Ueda H, Yokochi T: Auditory cells produce nitric oxide in response to bacterial lipopolysaccharide. *Innate Immun*, 19, 115-120, 2013.
111. Tsolmongyn B, Koide N, Odkhuu E, Haque A, Naiki Y, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T: Lipopolysaccharide prevents valproic acid-induced apoptosis via activation of NF- κ B and inhibition of p53 activation. *Cell Immunol*, 282, 100-105, 2013.
112. Mendjargal A, Odkhuu E, Koide N, Nagata H, Kurokawa T, Nonami T, Yokochi T: Pifithrin- α , a pharmacological inhibitor of p53, downregulates lipopolysaccharide-induced nitric oxide production via impairment of the MyD88-independent pathway. *Int Immunopharmacol*, 15, 671-678, 2013.
113. Odkhuu E, Koide N, Haque A, Tsolmongyn B, Naiki Y, Hashimoto S, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T: Inhibition of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL)-induced osteoclast formation by pyrroloquinoline quinine (PQQ). *Immunol Lett*, 142, 34-40, 2012.
114. Terashima T, Haque A, Kajita Y, Takeuchi A, Nakagawa T, Yokochi T: Flavopiridol inhibits interferon- γ -induced nitric oxide production in mouse vascular endothelial cells. *Immunol Lett*, 148, 91-96, 2012.

薬理学講座

115. Huang L, Kondo F, Goshō M, Feng GG, Harato M, Xia ZY, Ishikawa N, Fujiwara Y, Okada S: Enhanced expression of WD repeat-containing protein 35 via CaMKK/AMPK activation in bupivacaine-treated Neuro2a cells. *PLoS ONE*, 9, e98185, 2014.
116. Huang L, Kondo F, Harato M, Feng GG, Ishikawa N, Fujiwara Y, Okada S: Enhanced expression of WD repeat-containing protein 35 via nuclear factor- κ B activation in bupivacaine-treated Neuro2a cells. *PLoS ONE*, 9, e86336, 2014.
117. Tsunekawa K, Kondo F, Huang L, Feng GG, Ishikawa N, Okada S: Enhanced expression of WD repeat-containing protein 35 (WDR35) stimulated by domoic acid in rat hippocampus: involvement of reactive oxygen species generation and p38 mitogen-activated protein kinase activation. *BMC Neurosci*, 14, 4, 2013.
118. Harato M, Huang L, Kondo F, Tsunekawa K, Feng GG, Fan JH, Ishikawa N, Fujiwara Y, Okada S: Bupivacaine-induced apoptosis independently of WDR35 expression in mouse neuroblastoma Neuro2a cells. *BMC Neurosci*, 13, 149, 2012.
119. Fan JH, Feng GG, Huang L, Tsunekawa K, Honda T, Katano Y, Hirooka Y, Goto H, Kandatsu N, Ando K, Fujiwara Y, Koide T, Okada S, Ishikawa N: Role of naofen in apoptosis of hepatocytes induced by lipopolysaccharide through mitochondrial signaling in rats. *Hepato Res*, 42, 696-705, 2012.
120. Wongsawatkul O, Feng GG, Li C, Huang L, Kondo F, Kurokawa S, Fujiwara Y, Ishikawa N: Effects of Naofen on Enzyme Activities of Serine Proteases and Matrix Metallo-proteases. *International Journal of Pharmacology*, 7, 388-393, 2011.

内科学講座(消化器内科)

121. Yamamoto T, Nakade Y, Yamauchi T, Kobayashi Y, Ishii N, Ohashi T, Ito K, Sato K, Fukuzawa Y, Yoneda M: Glucagon-like peptide-1 analogue prevents nonalcoholic steatohepatitis in non-obese mice. *World J Gastroenterol*, 22, 2512-23, 2016.
122. Ito K, Yotsuyanagi H, Sugiyama M, Yatsuhashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Tanaka Y, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Koike K, Mizokami M: Japanese AHB and CHB Study Group: Geographic distribution

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- and characteristics of genotype A hepatitis B virus infection in acute and chronic hepatitis B patients in Japan. *J Gastroenterol Hepatol*, 31, 180-189, 2016.
123. Watanabe S, Hashimoto E, Ikejima K, Uto H, Ono M, Sumida Y, Seike M, Takei Y, Takehara T, Tokushige K, Nakajima A, Yoneda M, Saibara T, Shiota G, Sakaida I, Nakamuta M, Mizuta T, Tsubouchi H, Sugano K, Shimosegawa T: Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatol Res*, 45, 363-377, 2015.
124. Sato K, Goshō M, Yamamoto T, Kobayashi Y, Ishii N, Ohashi T, Nakade Y, Ito K, Fukuzawa Y, Yoneda M: Vitamin E has a beneficial efficacy on nonalcoholic fatty liver disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition*, 3, 923-930, 2015.
125. Watanabe S, Hashimoto E, Ikejima K, Uto H, Ono M, Sumida Y, Seike M, Takei Y, Takehara T, Tokushige K, Nakajima A, Yoneda M, Saibara T, Shiota G, Sakaida I, Nakamuta M, Mizuta T, Tsubouchi H, Sugano K, Shimosegawa T: Evidence-based clinical practice guidelines for nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol*, 50, 364-377, 2015.
126. Yoneda M, Hasegawa T, Sato K: Vitamin E therapy on NAFLD/NASH. *Nutrition*, 31, 898-899, 2015.
127. Kobayashi K, Nakao H, Nishiyama T, Lin Y, Kikuchi S, Kobayashi Y, Yamamoto T, Ishii N, Ohashi T, Satoh K, Nakade Y, Ito K, Yoneda M: Diagnostic accuracy of real-time tissue elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Eur Radiol*, 25, 230-238, 2015.
128. Kanamori H, Nakade Y, Yamamoto T, Kobayashi Y, Sato K, Ito K, Ohashi T, Nakao N, Ishii N, Takahashi E, Yokoi T, Nakao H, Kurokawa T, Yamaguchi C, Yoneda M: Case of cholangiocellular carcinoma in a patient with glycogen storage disease type Ia. *Hepatol Res*, 45, 494-499, 2015.
129. Masaki N, Sugiyama M, Shimada N, Tanaka Y, Nakamuta M, Izumi N, Watanabe S, Tsubota A, Komatsu M, Masaki T, Enomoto N, Yoneda M, Murata K, Ito K, Koike K, Mizokami M: Pretreatment prediction of the outcome of response-guided peginterferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*, 29, 1996-2005, 2014.
130. Nakade Y, Yoneda M: Prognostic factors for regression from impaired glucose tolerance to normal glucose regulation in Japanese patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Intern Med*, 53, 1399-1400, 2014.
131. Yoneda M: Is the measurement of serum cytokeratin-18 useful for diagnosis or screening nonalcoholic steatohepatitis? *Hepatol Res*, 44, 827-828, 2014.
132. Tamaki Y, Nakade Y, Yamauchi T, Makino Y, Yokohama S, Okada M, Aso K, Kanamori H, Ohashi T, Sato K, Nakao H, Haneda M, Yoneda M: Angiotensin II type 1 receptor antagonist prevents hepatic carcinoma in rats with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol*, 48, 491-503, 2013.
133. Kono T, Asama T, Chisato N, Ebisawa Y, Okayama T, Imai K, Karasaki H, Furukawa H, Yoneda M: Polaprezinc prevents ongoing thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Life Sci*, 16, 90, 122-130, 2012.
134. Tamano M, Kojima K, Akima T, Murohisa T, Hashimoto T, Uetake C, Sugaya T, Nakano

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- M,Hiraishi H, Yoneda M: The usefulness of measuring liver stiffness by transient elastography for assessing hepatic fibrosis in patients with various chronic liver diseases. *Hepatogastroenterology*, 59, 826-830, 2012
135. Matsunaga M, Isowa T, Yamakawa K, Tsuboi H, Kawanishi Y, Kaneko H, Kasugai K, Yoneda M, Ohira H: Association between perceived happiness levels and peripheral circulating pro-inflammatory cytokine levels in middle-aged adults in Japan. *Neuro Endocrinol Lett*, 32, 458-463, 2011.
136. Iida A, Konagaya T, Kaneko H, Funaki Y, Kanazawa T, Tokudome K, Hijikata Y, Masui R, Ogasawara N, Sasaki M, Yoneda M, Kasugai K: Usefulness of a slow nutrient drinking test for evaluating gastric perception and accommodation. *Digestion*, 84, 253-260, 2011.
137. Kono T, Kashiwade Y, Asama T, Chisato N, Ebisawa Y, Yoneda M, Kasai S: Preventive effect of urinary trypsin inhibitor on the development of liver fibrosis in mice. *Exp Biol Med* (Maywood), 236, 1314-1321, 2011.

内科学講座(呼吸器・アレルギー内科)

138. Akasaka K, Tanaka T, Kitamura N, Ohkouchi S, Tazawa R, Takada T, Ichiwata T, Yamaguchi E, Hirose M, Arai T, Nakano K, Nei T, Ishii H, Handa T, Inoue Y, Nakata K: Outcome of corticosteroid administration in autoimmune pulmonary alveolar proteinosis: a retrospective cohort study. *BMC Pulm Med*, 15, 88, 2015.
139. Akasaka K, Tanaka T, Maruyama T, Kitamura N, Hashimoto A, Ito Y, Watanabe H, Wakayama T, Arai T, Hayashi M, Moriyama H, Uchida K, Ohkouchi S, Tazawa R, Takada T, Yamaguchi E, Ichiwata T, Hirose M, Arai T, Inoue Y, Kobayashi H, Nakata K: A mathematical model to predict protein wash out kinetics during whole-lung lavage in autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 15, 308, L105-117, 2015.
140. Yokoe N, Yamaguchi E, Nishimura M, Tanaka H, Takahashi A, Baba K, Gosho M, Okada S. UGT1A1*28 is associated with greater decrease in serum K⁺ levels following oral intake of procaterol. *J Asthma*, 10, 1-6, 2014.
141. Tazawa R, Inoue Y, Arai T, Takada T, Kasahara Y, Hojo M, Ohkouchi S, Tsuchihashi Y, Yokoba M, Eda R, Nakayama H, Ishii H, Nei T, Morimoto K, Nasuhara Y, Ebina M, Akira M, Ichiwata T, Tatsumi K, Yamaguchi E, Nakata K: Duration of benefit in patients with autoimmune pulmonary alveolar proteinosis after inhaled GM-CSF therapy. *Chest*, 145, 729-737, 2014.
142. Tanaka H, Yamaguchi E, Fukuoka T, Ohbayasi Y, Sato M, Yokoi T: A case of disseminated nontuberculous mycobacteriosis and cerebellar toxoplasmosis with autoantibody to interferon-g. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*, 30, 312-316, 2013.
143. Shigemura M, Nasuhara Y, Konno S, Shimizu C, Matsuno K, Yamaguchi E, Nishimura M: Effects of molecular structural variants on serum Krebs von den Lungen-6 levels in sarcoidosis. *J Transl Med*, 10, 111, 2012.

眼科学講座

144. Yamada H, Yoneda M, Gosho M, Kato T, Zako M. Bimatoprost, latanoprost, and tafluprost induce differential expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases. *BMC Ophthalmol*, 16, 26, 2016.
145. Takeyama M, Yoneda M, Gosho M, Iwaki M, Zako M: Decreased VEGF-A and sustained PEDF expression in a human retinal pigment epithelium cell line cultured under hypothermia. *Biol Res*, 48, 42, 2015.
146. Sugita K, Mizumoto K, Kato N, Zako M: Early resolution of subretinal fluid without

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- high-dose corticosteroids in a pregnant patient with Vogt-Koyanagi-Harada disease: a case report. *J Ophthalmic Inflamm Infect*, 5, 20, 2015.
147. Uchida K, Takeyama M, Zako M: Valsalva-like retinopathy spontaneously occurred after ocular massage. *Case Rep Ophthalmol*, 6, 88-92, 2015.
148. Miyake G, Ota I, Miyake K, Zako M, Iwaki M, Shibuya A: Late-onset toxic anterior segment syndrome. *J Cataract Refract Surg*, 41, 666-669, 2015.
149. Mizutani K, Yoneda M, Matsuura K, Naruse K, Takeyama M, Yamada H, Iwaki M, Zako M: Effect of low concentrations of hyaluronan and chondroitin sulfate on flow rates. *J Aichi Med Univ Assoc*, 43, 1-7, 2015.
150. Tamaki R, Zako M: Interference of Descemet's Membrane with Aqueous Humor Drainage via an ExPRESS Mini Shunt. *Case Rep Ophthalmol*, 5, 343-346, 2014.
151. Zako M, Murata K, Inukai T, Yasuda M, Iwaki M: Long-term progressive deterioration of visual function after papilledema improved by embolization of a dural arteriovenous fistula in the sigmoid sinus: a case report. *J Med Case Rep*, 8:392, 2014.
152. Jee D, Zako M, La TY. Serum D-dimer levels to evaluate the risk for arterial thromboembolism after intravitreal injection of bevacizumab and ranibizumab. *J Ocul Pharmacol Ther*, 31, 32-36, 2015.
153. Miyake G, Ota I, Miyake K, Zako M, Iwaki M. Effects of topical diquafosol pretreatment on intraoperative corneal wetting. *J Cataract Refract Surg*, 40, 1682-1688, 2014.
154. Mizumoto K, Goshō M, Zako M. Correlation between optic nerve head structural parameters and glaucomatous visual field indices. *Clin Ophthalmol*, 8, 1203-1208, 2014.
155. Takeyama M, Iwaki M, Zako M: Recurrent vitreous hemorrhage associated with regressed retinopathy of prematurity in a 47-year-old patient: a case report. *J Med Case Rep*, 8, 183, 2014.
156. Takeyama M, Iwaki M, Zako M. Macroaneurysm on the optic disc in a patient with aortic dissection. *Case Rep Ophthalmol*, 4, 234-237, 2013.
157. Kawamura M, Zako M. Long-term stability of uveitis with faint anterior chamber flare treated with once-daily topical ophthalmic betamethasone. *Inflammation*, 37, 417-425, 2014.
158. Murasawa Y, Watanabe K, Yoneda M, Zako M, Kimata K, Sakai LY, Isogai Z. Homotypic versican G1 domain interactions enhance hyaluronan incorporation into fibrillin microfibrils. *J Biol Chem*, 288, 29170-181, 2013.
159. Yamada H, Yoneda M, Inaguma S, Watanabe D, Banno S, Yoshikawa K, Mizutani K, Iwaki M, Zako M: Infliximab counteracts tumor necrosis factor- α -enhanced induction of matrix metalloproteinases that degrade claudin and occludin in non-pigmented ciliary epithelium. *Biochem Pharmacol*, 85, 1770-1782, 2013.
160. Kawamura M, Zako M: Successful trabeculotomy in a patient with corticosteroid-induced glaucoma with anti-aquaporin 4 antibody-positive neuromyelitis optica: a case report. *J Med Case Rep*, 7, 101, 2013.
161. Takeyama M, Iwaki M, Zako M. Intravitreal Injection of Bevacizumab to Treat a Macular Edema Caused by Leber's Miliary Aneurysm. *Case Rep Ophthalmol*, 3, 392-395, 2012.
162. Sugita I, Yoneda M, Iwaki M, Zako M: Comparative analysis of hyaluronan's affinity for antivascular endothelial growth factor agents. *Ophthalmic Res*, 49, 43-48, 2013.
163. Koike A, Handa T, Zako M. Trabeculotomy in a Behçet's Disease Patient One Week after Infliximab Administration. *Case Rep Ophthalmol*, 3, 151-155, 2012.
164. Zako M, Takeyama M, Naito E, Mizumoto K, Iwaki M. Choroidal and optic disc metastases from breast cancer and their response to combination pharmacotherapy with tamoxifen, cyclophosphamide hydrate, letrozole, and bevacizumab. *J Ocul Pharmacol Ther*, 28, 89-93, 2012.

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

165. Kitamoto K, Miura Y, Karnan S, Ota A, Konishi H, Hosokawa Y, Sato K: Inhibition of NADPH oxidase 2 induces apoptosis in osteosarcoma: role of reactive oxygen species in cell proliferation. *Oncology Letters*, 2016, in press
166. Karnan S, Ota A, Konishi Y, Wahiduzzaman M, Hosokawa Y, Konishi H: Improved methods of AAV-mediated gene targeting for human cell lines using ribosome-skipping 2A peptide. *Nucleic Acids Res*, 2016, Advanced Online Publication.
167. Mizuno S, Hanamura I, Ota A, Karnan S, Narita T, Ri M, Mizutani M, Goto M, Gotou M, Tsunekawa N, Shikami M, Iida S, Hosokawa Y, Miwa H, Ueda R, Nitta M, Takami A: Overexpression of salivary-type amylase reduces the sensitivity to bortezomib in multiple myeloma cells. *Int J Hematol*, 102(5), 569-578, 2015.
168. Tanaka M, Miura Y, Numanami H, Karnan S, Ota A, Konishi H, Hosokawa Y, Hanyuda M: Inhibition of NADPH oxidase 4 induces apoptosis in malignant mesothelioma: Role of reactive oxygen species. *Oncol Rep*, 34(4), 1726-1732, 2015.
169. Ono T, Ota A, Ito K, Nakaoka T, Karnan S, Konishi H, Furuhashi A, Hayashi T, Yamada Y, Hosokawa Y, Kazaoka Y: Plumbagin suppresses tumor cell growth in oral squamous cell carcinoma cell lines. *Oral Dis*, 21, 501-511, 2015.
170. Asai A, Karnan S, Ota A, Takahashi M, Damdindorj L, Konishi Y, Hossain E, Konishi H, Nagata A, Yokoo K, Hosokawa Y: High-resolution 400K oligonucleotide array comparative genomic hybridization analysis of neurofibromatosis type 1-associated cutaneous neurofibromas. *Gene*, 558, 220-226, 2015.
171. Hossain E, Ota A, Karnan S, Takahashi M, Shanewaj BM, Konishi H, Hosokawa Y: Lipopolysaccharide augments the uptake of oxidized LDL by up-regulating lectin-like oxidized LDL receptor-1 in macrophages. *Mol Cell Biochem*, 400(1-2), 29-40, 2015.
172. Damdindorj L, Karnan S, Ota A, Hossain E, Konishi Y, Hosokawa Y, Konishi H: A comparative analysis of constitutive promoters located in adeno-associated viral vectors. *PLoS ONE*, 9, e106472, 2014.
173. Nakaoka T, Ota A, Ono T, Karnan S, Konishi H, Huruhashi A, Ohmura Y, Yamada Y, Hosokawa Y, Kazaoka Y: Combined arsenic trioxide-cisplatin treatment enhances apoptosis in oral squamous cell carcinoma cells. *Cellular Oncol*, 37, 119-29, 2014.
174. Guo Y, Takeuchi I, Karnan S, Miyata T, Ohshima K, Seto M: Array-comparative genomic hybridization profiling of immunohistochemical subgroups of diffuse large B-cell lymphoma shows distinct genomic alterations. *Cancer Sci*. 105, 481-489, 2014.
175. Suguro M, Yoshida N, Umino A, Kato H, Tagawa H, Nakagawa M, Fukuhara N, Karnan S, Takeuchi I, Hocking TD, Arita K, Karube K, Tsuzuki S, Nakamura S, Kinoshita T, Seto M: Clonal heterogeneity of lymphoid malignancies correlates with poor prognosis. *Cancer Sci*, 105, 897-904, 2014.
176. Hossain E, Ota A, Karnan S, Damdindorj L, Takahashi M, Konishi Y, Konishi H, Hosokawa Y: Arsenic augments the uptake of oxidized LDL by upregulating the expression of lectin-like oxidized LDL receptor in mouse aortic endothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 273, 651-658, 2013.
177. Wang GM, Wong HY, Konishi H, Blair BG, Abukhdeir AM, Gustin JP, Rosen DM, Denmeade S, Rasheed Z, Matsui W, Garay JP, Mohseni M, Higgins MJ, Cidado J, Jelovac D, Croessmann S, Cochran R, Karnan S, Konishi Y, Ota A, Hosokawa Y, Argani P, Lauring J, Park BH: Single copies of mutant KRAS and mutant PIK3CA cooperate in immortalized human epithelial cells to induce tumor formation. *Cancer Res*, 73, 3248-3261, 2013.
178. Hossain E, Ota A, Takahashi M, Karnan S, Damdindorj L, Konishi Y, Konishi H, Hosokawa Y: Arsenic upregulates the expression of angiotensin II Type I receptor in mouse aortic endothelial cells. *Toxicol Lett*, 220, 70-75, 2013.
179. Takahashi M, Ota A, Karnan S, Ekhtear H, Konishi Y, Damdindorj L, Konishi H, Yokochi T, Nitta M, Hosokawa Y: Arsenic trioxide prevents nitric oxide production in

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- LPS-stimulated RAW 264.7 by inhibiting a TRIF-dependent pathway. *Cancer Sci*, 104, 165-170, 2013.
180. Karnan S, Konishi Y, Ota A, Takahashi M, Damdindorj L, Hosokawa Y, Konishi H: Simple monitoring of gene targeting efficiency in human somatic cell lines using the *PIGA* gene. *PLoS ONE*, 7, e47389, 2012.
181. Konishi Y, Karnan S, Takahashi M, Ota A, Damdindorj L, Hosokawa Y, Konishi H: A system for the measurement of gene targeting efficiency in human cell lines using an antibiotic resistance–GFP fusion gene. *BioTechniques*, 53, 141-152, 2012.
182. Damdindorj L, Karnan S, Ota A, Takahashi M, Konishi Y, Hossain E, Hosokawa Y, Konishi H: Assessment of the long-term transcriptional activity of a 550-bp-long human β -actin promoter region. *Plasmid*, 68, 195-200, 2012.
183. Garay JP, Karakas B, Abukhdeir AM, Cosgrove DP, Gustin JP, Higgins MJ, Konishi H, Konishi Y, Lauring J, Mohseni M, Wang GM, Jelovac D, Weeraratna A, Sherman Baust CA, Morin PJ, Toubaji A, Meeker A, De Marzo AM, Lewis G, Subhawong A, Argani P, Park BH: The growth response to androgen receptor signaling in ERalpha-negative human breast cells is dependent on p21 and mediated by MAPK activation. *Breast Cancer Res*, 14, R27, 2012.
184. Konishi H, Mohseni M, Tamaki A, Garay JP, Croessmann S, Karnan S, Ota A, Wong HY, Konishi Y, Karakas B, Tahir K, Abukhdeir AM, Gustin JP, Cidado J, Wang GM, Cosgrove D, Cochran R, Jelovac D, Higgins MJ, Arena S, Hawkins L, Lauring J, Gross AL, Heaphy CM, Hosokawa Y, Gabrielson E, Meeker AK, Visvanathan K, Argani P, Bachman KE, Park BH*: Mutation of a single allele of the cancer susceptibility gene BRCA1 leads to genomic instability in human breast epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108, 17773-17778, 2011.

分子医科学研究所

185. Shioiri T, Tsuchimoto J, Watanabe H, Sugiura N: Sequence determination of synthesized chondroitin sulfate dodecasaccharides. *Glycobiology*, 26, 592-606, 2016.
186. Iohara K, Fujita M, Ariji Y, Yoshikawa M, Watanabe H, Takashima A, Nakashima M: Assessment of pulp regeneration induced by stem cell therapy by magnetic resonance imaging. *J Endod*, 42, 397-401, 2016.
187. Fanhchaksai K, Okada F, Nagai N, Pothacharoen P, Kongtawelert P, Hatano S, Makino S, Nakamura T, Watanabe H: Host stromal versican is essential for cancer-associated fibroblast function to inhibit cancer growth. *Int J Cancer*, 138, 630-641, 2016.
188. Yamahara M, Sugimura K, Kumagai A, Fuchino H, Kuroi A, Kitagawa M, Itoh Y, Kawahara H, Nagaoka Y, Iida O, Kawahara N, Takemori H, Watanabe H: Callicarpa longissima extract, carnosol-rich, potently inhibits melanogenesis in B16F10 melanoma cells. *J Nat Med*, 70, 28-35, 2016.
189. Kawaguchi Y, Sugiura N, Kimata K, Kimura M, Kakuta Y: The crystal structure of novel chondroitin lyase ODV-E66, a baculovirus envelope protein. *FEBS Lett*, 587, 3943-8, 2013.
190. Sugiura N, Ikeda M, Shioiri T, Yoshimura M, Kobayashi M, Watanabe H: Chondroitinase from baculovirus *Bombyx mori nucleopolyhedrovirus* and chondroitin sulfate from silkworm *Bombyx mori*. *Glycobiology*, in press, 2013.
191. Nagai N, Habuchi H, Sugaya N, Nakamura M, Imamura T, Watanabe H, Kimata K: Involvement of heparan sulfate 6-O-sulfation in regulation of energy metabolism and alteration of thyroid hormone levels in male mice. *Glycobiology*, 23, 980-992, 2013.
192. Lord MS, Day AJ, Youssef P, Zhuo L, Watanabe H, Caterson B, Whitelock JM: Sulfation of the bikunin chondroitin sulfate chain determines heavy chain-hyaluronan complex formation. *J Biol Chem*, 288, 22930-22941, 2013.
193. Sato Y, Shimono C, Li S, Nakano I, Norioka N, Sugiura N, Kimata K, Yamada M,

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- Sekiguchi K: Nephronectin binds to heparan sulfate proteoglycans via its MAM domain. *Matrix Biol.* 32, 188-195, 2013.
194. Jinno-Oue J, Tanaka A, Shimizu N, Mori T, Sugiura N, Kimata K, Isomura H, Hoshino H: Inhibitory effect of chondroitin sulfate type E on the binding step of human T-cell leukemia virus type 1. *AIDS Res. Human Retrovirus.* 29, 621-629, 2013.
195. Ichijo H, Sugiura N, Kimata K: Application of chondroitin sulfate derivatives for understanding axonal guidance in the nervous system during development. *Polymers*, 5, 254-268, 2013.
196. Shimbo M, Ando S, Sugiura N, Kimata K, and Ichijo H. (2013) Moderate repulsive effects of E-unit-containing chondroitin sulfate (CSE) on behavior of retinal growth cones. *Brain Res.* 1491, 34-43, 2013.
197. Kono A, Oguri A, Yokoo K, Watanabe H: YAG laser treatment causes rapid degeneration and regeneration of collagen fibers in pig skin and facilitates fibroblast growth. *J Plast Surg Hand Surg*, 46, 308-312, 2012.
198. Hatano S, Kimata K, Hiraiwa N, Kusakabe M, Isogai Z, Adachi E, Shinomura T, Watanabe H: Versican/Pg-M is essential for ventricular septal formation subsequent to atrioventricular cushion development. *Glycobiology*, 22, 1268-1277, 2012.
199. Ogawa H, Hatano S, Sugiura N, Nagai N, Sato T, Shimizu K, Narimatsu H, Kimata K, Watanabe H: Chondroitin sulfate synthase-2 is necessary for chain extension of chondroitin sulfate but not critical for skeletal development. *PLoS ONE*, 7, e43806, 2012.
200. Sugiura N, Shioiri T, Chiba M, Sato T, Narimatsu H, Kimata K, Watanabe H: Construction of a chondroitin sulfate library with defined structures and analysis of molecular interactions. *J Biol Chem*, 287, 43390-43400, 2012.
201. Imagama S, Sakamoto K, Tauchi R, Shinjo R, Ohgomori T, Ito Z, Zhang H, Nishida Y, Asami N, Takeshita S, Sugiura N, Watanabe H, Yamashita T, Ishiguro N, Matsuyama Y, Kadomatsu K: Keratan Sulfate Restricts Neural Plasticity after Spinal Cord Injury. *J Neurosci*, 31, 17091-17102, 2011.
202. Shimokawa K, Kimura-Yoshida C, Nagai N, Mukai K, Matsubara K, Watanabe H, Matsuda Y, Mochida K, Matsuo I: ell surface heparan sulfate chains regulate local reception of FGF signaling in the mouse embryo. *Dev Cell*, 21, 257-272, 2011.
- 内科学講座(血液内科)
203. Goto M, Miwa H, Shikami M, Tsunekawa-Imai N, Suganuma K, Mizuno S, Takahashi M, Mizutani M, Hanamura I, Nitta M: Importance of glutamine metabolism in leukemia cells by energy production through TCA cycle and by redox homeostasis. *Cancer Investigation*, 32, 241-247, 2014.
204. Goto M, Miwa H, Suganuma K, Tsunekawa-Imai N, Shikami M, Mizutani M, Mizuno S, Hanamura I, Nitta M: Adaptation of leukemia cells to hypoxic condition through switching the energy metabolism or avoiding the oxidative stress. *BMC Cancer*, 14, 76, 2014.
205. Tsunekawa-Imai N, Miwa H, Shikami M, Suganuma K, Goto M, Mizuno S, Takahashi M, Mizutani M, Horio T, Komatsubara H, Gotou M, Yamamoto H, Wakabayashi M, Watarai M, Hanamura I, Imamura A, Mihara H, Nitta M: Growth of xenotransplanted leukemia cells is influenced by diet nutrients and is attenuated with 2-deoxyglucose. *Leukemia Research*, 37, 1132-1136, 2013.
206. Miwa H, Shikami M, Goto M, Mizuno S, Takahashi M, Tsunekawa-Imai N, Ishikawa T, Mizutani M, Horio T, Gotou M, Yamamoto H, Wakabayashi M, Watarai M, Hanamura I, Imamura A, Mihara H, Nitta M: Leukemia cells demonstrate a different metabolic perturbation provoked by 2-deoxyglucose. *Oncology Reports*, 29, 2053-2057, 2013
207. Gotou M, Hanamura I, Nagoshi H, Wakabayashi M, Sakamoto N, Tsunekawa N, Horio T, Goto M, Mizuno S, Takahashi M, Suganuma K, Yamamoto H, Hiramatsu A, Watarai M,

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

Shikami M, Imamura A, Mihara H, Taki T, Miwa H, Taniwaki M, Nitta M: Establishment of a novel human myeloid leukemia cell line, AMU-AML1, carrying t(12;22)(p13;q11) without chimeric MN1-TEL and with high expression of MN1. *Genes Chromosomes Cancer*, 51, 42-53, 2012.

<図書>

該当なし

<学会発表>

分子標的医薬探索寄附講座

- Ukaji T, Umezawa K: Inhibition of IGF-1-mediated cellular migration and invasion by migracin A in ovarian clear cell carcinoma cells
AACR-JCA 10th Joint Conference in Hawaii, 2016.2.16-20 (Maui, USA)
- Sidthipong K, Umezawa K: NF-kappa B inhibitor, (-)-DHMEQ, as an anti-inflammatory agent in cosmetics (Poster and oral presentations)
10th World Congress of the International Academy of Cosmetic Dermatology
2015.11.14-16 (Rio de Janeiro, Brazil) (1st Palce Poster Prize)
- Ukaji T, Umezawa K: Inhibition of IGF-1 mediated cellular migration and invasion by migracin A in ovarian clear cell carcinoma cells
European Gynecological Oncology Congress 2015.10.24-27 (Nice, France)
- 宇梶珠未、梅澤一夫: 卵巣がん細胞における migracin A による IGF-1 発現および遊走・浸潤の抑制(口演)
日本癌学会 2015.10.8-10 (名古屋)
- 宇梶珠未、Lin Yinzhi、梅澤一夫: 放線菌由来新規がん細胞遊走阻害物質 migracin の発見と卵巣がん細胞における遊走・浸潤抑制の作用機構
第 57 回天然有機化合物討論会 2015.9.9-11 (横浜)
- 梅澤一夫、小出直樹: LPS 誘導性炎症反応を阻害する微生物生産物質の探索(招待講演)
第 62 回トキシシンポジウム 2015.7.8-10 (伊勢志摩)
- 松木葵、笹澤有紀子、梅澤一夫、清水史郎: Conophylline によるオートファジ ー誘導と標的タンパク質の同定
第 19 回がん分子標的治療学会 2015.6.10-12(松山)
- 宇梶珠未、林音知、梅澤一夫: 放線菌由来 migracin A による vasohibin 発現を介した卵巣がん細胞遊走の抑制。(口演)
第 19 回がん分子標的治療学会 2015.6.10-12(松山)
- Sidthipong K, Kobayashi S, Umezawa K: Discovery and biological activity of epoxide-free DHMEQ analog: Compound of second generation (KS, invited speaker)
BRICS Summit Satellite Symposium “Development of DHMEQ in BRICS countries”
2015.6.4-6 (Ufa, Russia)
- Umezawa K: Discovery of DHMEQ and the role of peritoneal NF-kappa B on diseases (invited speaker) BRICS Symposium “Development of DHMEQ in BRICS countries”
2015.6.4-6 (Ufa, Russia)
- Ukaji T, Umezawa K: Isolation of novel cell migration inhibitor migracins from *Streptomyces* and inhibition of cellular invasion in ovarian carcinoma cells
13th International Congress on Targeted Anticancer Therapies 2015.3.2-4 (Paris, France)
- 梅澤一夫、渡辺秀人、米田政志: 糖尿病や肝硬変を改善する植物成分 (展示と発表)
メディカルメッセ 2015.2.16 (名古屋)
- 梅澤一夫: 糖尿病治療に有用な低分子シグナル伝達阻害剤の探索と分子デザイン (招待講演)
Diabetes Research フォーラム 2014.11.26 (幕張)

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- Umezawa K: Screening of signal transduction modulators that inhibit cancer cell growth and spread (invited speaker)
DSK Mini-Symposium-Perspectives in Anticancer Drug Discovery and Development. 2014.11.11 (Kyoto)
- Sidthipong K, 小林進、梅澤一夫: 新規 epoxide-free (-)-DHMEQ 誘導体の分子デザイン・合成と抗炎症活性
第 56 回天然有機化合物討論会 2014.10.15-17 (高知)
- Umezawa K: Suppression of cellular invasion by novel NF-kappa B inhibitor Exo-ene EQ in ovarian carcinoma cells (invited speaker)
第 10 回延世—慶應ジョイントシンポジウム 2014.10.24 (Yokohama)
- Sidthipong K, Umezawa K: Suppression of cellular invasion by novel NF-kappa B inhibitor Exo-ene EQ in ovarian carcinoma cells (KS, invited speaker)
The 19th World Congress on Advances in Oncology, and 17th International Symposium on Molecular Medicine, 2014.10.9-11 (Athens, Greece)
- Umezawa K: Inhibition of cancer cell invasion by bioactive metabolites (invited speaker)
The 19th World Congress on Advances in Oncology, and 17th International Symposium on Molecular Medicine, 2014.10.9-11 (Athens, Greece)
- Sidthipong Kulrawee, 梅澤一夫: 新規 NF-kB 阻害剤 Exo-ene EQ による卵巣がん細胞の浸潤抑制(口演)
第 18 回がん分子標的治療学会 2014.6.25-27 (仙台)
- 宇梶珠未、梅澤一夫: 放線菌由来新規細胞遊走阻害物質 migracin の単離と管腔形成およびがん細胞浸潤の抑制
日本癌学会 2014.9.25-27 (横浜)
- 宇梶珠未、梅澤一夫: 放線菌由来新規がん細胞遊走阻害物質 migracin の単離と卵巣がん細胞浸潤の抑制(口演)
第 18 回日本がん分子標的治療学会 2014.6.25-27 (仙台)
- 宇梶珠未、梅澤一夫: 微生物由来新規細胞遊走阻害物質 migracin の単離と卵巣がん細胞浸潤の抑制
日本ケミカルバイオロジー学会 2014.6.11-13 (大阪)
- 佐藤夏実、笹澤有紀子、梅澤一夫、清水史郎: Conophylline の抗ハンチントン病作用
日本ケミカルバイオロジー学会 2014.6.11-13 (大阪)
- 梅澤一夫: 低分子シグナル伝達阻害剤の探索とマトリクス修飾への応用(招待講演)
第 46 回日本結合組織学会学術大会 第 61 回日本マトリクス研究会大会 合同集会 2014.6.5-7 (名古屋)
- Ukaji T, Umezawa K: Isolation of novel metabolite migracin from *Streptomyces* that inhibits migration and invasion of ovarian carcinoma cells
3rd Regional International Gynecologic Cancer Society (IGCS) Meeting 2014, 2014.5.16-18 (Cape Town, South Africa)
- 梅澤一夫: 植物成分コノフィリンによる組織線維化の抑制(シンポジウム招待講演)
中部橋渡し研究支援シンポジウム 2014.3.6(名古屋)
- Umezawa K: Anti-inflammatory and anticancer activities of novel NF-kappa B inhibitor DHMEQ (invited speaker)
Eurasian Anticancer Conference, 2013.11.22-23 (Ufa, Russia)
- Umezawa K: Biological activities of plant-derived conophylline in vitro and in vivo. (invited speaker)
第 9 回延世—慶應ジョイントシンポジウム 2013.10.25 (Seoul, Korea)
- Sidthipong K, Kobayashi S, Umezawa K: Molecular design of epoxide-free (-)-DHMEQ analog that inhibits NF-kB and cytokine secretions. (K.S. invited speaker)
The 18th World Congress on Advances in Oncology, and 16th International Symposium on Molecular Medicine, 2013.10.10-12 (Crete, Greece)

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- Umezawa K, Takei I: Protection of b-cells from cell death by NF-kB inhibitor (-)-DHMEQ via activation of Nrf2-ARF pathway (invited speaker)
The 18th World Congress on Advances in Oncology, and 16th International Symposium on Molecular Medicine, 2013.10.10-12 (Crete, Greece)
- Ukaji T, Sidthipong K, and Umezawa K: Molecular design of novel NF-kappa B inhibitors active on inflammation and cancer
The 2nd Official Conference of the International Chemical Biology Society (ICBS2013), 2013.10.7-9 (Kyoto)
- 宇梶珠未、竹入雅敏、伊藤あゆみ、清水史郎、梅澤一夫: 新規 alkylglutarimide 化合物による成人 T 細胞白血病細胞の NF-kappa B 阻害と選択的アポトーシス誘導
日本癌学会 2013.10.3-5 (横浜)
- Umezawa K, Ukaji T, Ogasawara A, Simizu S, Takei I: Suppression of NO-induced beta cell death by (-)-DHMEQ via activation of Nrf2-ARE pathway and alteration of MAPK activity (invited speaker)
49th Annual European Association for the Study of Diabetes (EASD) Meeting 2013 2013.9.23-27 (Barcelona, Spain)
- 笹澤有紀子、梅澤一夫、清水史郎: Conophylline によるオートファジー誘導
日本ケミカルバイオロジー学会 2013.6.19-21 (東京)
- 宇梶珠未、Kulrawee Sidthipong、小林進、梅澤一夫: 新規 epoxide-free (-)-DHMEQ 誘導体の分子デザインとサイトカイン分泌の抑制
日本ケミカルバイオロジー学会 2013.6.19-21 (東京)
- Kulrawee Sidthipong、宇梶珠未、梅澤一夫: 新規(-)-DHMEQ 誘導体の分子デザインとサイトカイン分泌の抑制
第 17 回日本がん分子標的治療学会 2013.6.12-14(京都)(ポスター賞受賞)
- 野間成人、清水史郎、梅澤一夫: NF-kB 阻害剤(-)-DHMEQ は MMP-2 依存性のマスト細胞浸潤を抑制する
第 17 回日本がん分子標的治療学会 2013.6.12-14 (京都)
- 松井知野、丹羽祐貴、Neelanun Sukumwan、飯沼寛信、池田洋子、小谷野喬、Thaworn Kovitayakorn、清水史郎、梅澤一夫: 植物由来 All-E-Lutein によるライセニンに誘導される溶血の抑制
新規素材探索研究会 2013.6.7(新横浜)
- Sidthipong K, Umezawa K: Amelioration of islet transplantation in diabetes by NF-kappa B inhibitors (Invited speaker)
Tuscany Endocrinology and Metabolism Conference 2013.4.5-6 (Pisa, Italy)
- Umezawa K: Anti-diabetic and anti-fibrosis effect of plant-derived conophylline (Invited speaker)
Tuscany Endocrinology and Metabolism Conference 2013.4.5-6 (Pisa, Italy)
- 梅澤一夫: 糖尿病に有用なシグナル伝達阻害剤の探索と分子デザイン (Meet the Professor 招待講演)
第18回日本糖尿病眼科学会総会・第27回日本糖尿病合併症学会 2012.11.2-3 (福岡)
- Horie K, Sidthipong K, Takeiri M, Simizu S, Umezawa K: Inhibition of canonical and noncanonical NF-kBs by (-)-DHMEQ (Invited speaker)
The 17th World Congress on Advances in Oncology, and 15th International Symposium on Molecular Medicine, 2012.10.11-13 (Crete, Greece)
- Umezawa K, Simizu S, Funasaki S, Sidthipong K, Saito R, Kojima I: Inhibition of islet fibrosis by conophylline and analysis of target protein (Invited speaker)
The 17th World Congress on Advances in Oncology, and 15th International Symposium on Molecular Medicine, 2012.10.11-13 (Crete, Greece)
- 伊藤あゆみ、清水史郎、梅澤一夫: DTCM-glutarimide による成人 T 細胞白血病における RelB の分解とアポトーシス誘導
日本癌学会 2012.9.19-21 (札幌)

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- 舟崎慎太郎、宇梶珠未、Kulrawee Sidthipong、清水史郎、梅澤一夫: 植物性アルカロイド conophylline による癌細胞薬剤耐性の軽減と標的タンパク質の結合解析
第 16 回日本がん分子標的治療学会 2012.6.27-29 (福岡) (ポスター賞受賞)
- 梅澤一夫: 炎症・癌を抑制するシグナル伝達阻害剤の探索と分子デザイン(招待講演)
名古屋大学医学部グローバル COE「第 31 回プログレスレポート会議」 2012.6.5 (名古屋)
- 梅澤一夫: NF-kB 阻害剤の発見と臨床への橋渡し研究 (招待講演)
文科省がん支援・化学療法基盤支援活動 第 2 回シンポジウム「アカデミアからの抗がん剤創薬へ向けて」 2012.2.22(日吉)
- Umezawa K: Screening and molecular design of signal transduction inhibitors active on inflammation and cancer
BIT's 9th Annual Congress of International Drug Discovery Science and Technology (IDDST)-2011 2011.11.3-6 (Shenzhen, China)
- Horie K, Hamasaka A, Abe R, Todo S, Umezawa K: Amelioration of atopic dermatitis model in mice by NF-kB inhibitor DHMEQ and its mechanism of action
BIT's 9th Annual Congress of International Drug Discovery Science and Technology (IDDST)-2011 2011.11.3-6 (Shenzhen, China)
- Ito A, Kaneda A, Takeiri M, Umezawa K: Induction of apoptosis in adult T-cell leukemia cells by a novel PDK-1 inhibitor DTCM-glutarimide
16th World Congress on Advances in Oncology, and 14th International Symposium on Molecular Medicine, 2011.10.6-8 (Rhodes, Greece)
- Umezawa K: Role of peritoneal NF-kB on inflammation and cancer progression; Lessons from the inhibitor DHMEQ
The 16th World Congress on Advances in Oncology, and 14th International Symposium on Molecular Medicine, 2011.10.6-8 (Rhodes, Greece)
- 竹入雅敏、兼田亜弓、伊藤あゆみ、梅澤一夫: 新規 PDK1 阻害剤 DTCM-glutarimide によるマウスメラノーマ細胞のアノキス誘導および浸潤抑制
日本癌学会 2011.10.3-5 (大阪)
- 堀江佳奈、竹入雅敏、梅澤一夫: (-)-DHMEQ による NF-kappa B の DNA 結合および核局在の抑制
日本癌学会 2011.10.3-5 (大阪)
- 伊藤あゆみ、竹入雅敏、兼田亜弓、太田英介、西山繁、山下健一郎、藤堂省、梅澤一夫: 9-methylstreptimidone 由来新規 PDK-1 阻害物質 DTCM-glutarimide による in vivo 炎症反応の抑制
第 53 回天然有機化合物討論会 2011.9.27-29(大阪)
- Umezawa K: Screening from nature and molecular design of signal transduction inhibitors active on inflammation and cancer (invited speaker)
14th Asian Chemical Congress 2011.9.5-8 (Bangkok, Thailand)
- Matsui C, Ota E, Nishiyama S, Umezawa K: Screening of NO production inhibitors in macrophages from microorganisms (oral presentation)
14th Asian Chemical Congress 2011.9.5-8 (Bangkok, Thailand)
- Umezawa K: Screening from nature and molecular design of signal transduction inhibitors active on inflammation and cancer (invited speaker)
1st Symposium on New Drugs for Inflammatory and Oncologic Diseases 2011.7.18 (Ribeirao Preto, Brazil)
- 野間成人、清水史郎、梅澤一夫: Galectin-3 binding protein の作用と発現における NF-kB の関与。Regulation of Galectin-3 binding protein expression by NF-kappa B
日本がん分子標的治療学会 2011.6.22-24 (東京)
- 兼田亜弓、森田侑子、伊藤あゆみ、竹入雅敏、梅澤一夫: 新規 PDK1 阻害剤 DTCM-glutarimide によるマウス悪性黒色腫細胞の浸潤抑制およびアノキス誘導
日本がん分子標的治療学会 2011.6.22-24(東京)

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- 竹入雅敏、清水史郎、梅澤一夫: (-)-DHMEQ による noncanonical NF-kappa B の新規阻害機構
日本ケミカルバイオロジー学会 2011.5.23-25 (神奈川)
- 松井知野、櫛田伸明、國定孝夫、梅澤一夫: カビ由来 pyranopaxilline および類縁体によるマクロファージ活性の抑制
日本ケミカルバイオロジー学会 2011.5.23-25 (神奈川)

感染・免疫学講座

- 小出直樹、Erdenezaya Odkhuu、内記良一、小松孝行、高橋和子、吉田友昭、横地 高志: RANKL あるいは LPS による破骨細胞形成の CREB 制御を介したコノフィリンによる抑制
第 87 回日本細菌学会総会 2014.3.26-28 (東京)
- Erdenezaya Odkhuu、小出直樹、内記良一、小松孝行、高橋和子、吉田友昭、横地高志
リポ多糖による RAW264.7 細胞の破骨細胞形成におけるレドックスバランスの関与
第 87 回日本細菌学会総会 2014.3.26-28 (東京)
- 小出 直樹、内記 良一、小松孝行、高橋 和子、森川 彰子、吉田 友昭、横地 高志
ベーターカテニン阻害による LPS の細胞毒性の軽減
第 86 回日本細菌学会総会 2013.3.18-20 (千葉)
- Tsolmon B, Koide N, Odkhuu E, Haque A, Naiki Y, Komatsu T, Yoshida T, Yokochi T:
Lipopolysaccharide prevents valproic acid-induced apoptosis via activation of NF-κB and inhibition of p53 activation
International Endotoxin and Innate Immunity Society Meeting 2012 (IEIIS2012)
2012.10.23-26 (Tokyo)
- Odkhuu E, Koide N, Haque A, Tsolmon B, Yokochi T: The novel inhibitory effect of pifithrin (PFT)-α, an inhibitor of p53, on lipopolysaccharide-induced nitric oxide via reducing interferon-β production
International Endotoxin and Innate Immunity Society Meeting 2012 (IEIIS2012)
2012.10.23-26 (Tokyo)
- Haque A, Koide N, Kato Y, Odkhuu E, Tsolmon, Naiki Y, Komatsu Y, Yoshida T, Yokochi T: Flavopiridol inhibits the expression of suppressor of cytokine signaling 3 in response to lipopolysaccharide and ameliorates the impaired insulin sensitivity
International Endotoxin and Innate Immunity Society Meeting 2012 (IEIIS2012)
2012.10.23-26 (Tokyo)
- Koide N, Odkhuu E, Haque A, Tsolmon B, Yokochi T: Low susceptibility of NC/Nga mice to the lipopolysaccharide-mediated lethality with D-galactosamine sensitization and the involvement of fewer natural killer T cells
International Endotoxin and Innate Immunity Society Meeting 2012 (IEIIS2012)
2012.10.23-26 (Tokyo)
- 横地高志、Jargalsaikhan Dagvadorj、内記良一、小出直樹、吉田友昭: 致死的肺傷害を伴う新しいエンドトキシンショックモデルの確立—肺 NKT 細胞の関与
第 17 回日本エンドトキシン・自然免疫研究会 2011.12.10 (兵庫)
- 横地高志、小出直樹、内記良一、吉田友昭: アレルギー疾患モデルマウス NC/nga のエンドトキシン低感受性のメカニズム
第 58 回トキシシンポジウム 2011.7.6-7 (東京)

薬理学講座

- 馮国剛、岡田尚志郎
EGR-1 は Neuro2a 細胞における WDR35 の発現に關与する
第 89 回日本薬理学会年会 2016.3.9-11 (横浜)
- 馮国剛、黄磊、石川直久、近藤文雄、岡田尚志郎

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

NF-κB は WDR35 の発現に関与する

第 87 回日本薬理学会年会 2014.3.19-21(仙台)

- 黄磊、近藤文雄、馮国剛、藤澤明子、石川直久、岡田尚志郎

AMPK は bupivacaine 処理 Neuro2a 細胞における WDR35 の発現に関与する

第 87 回日本薬理学会年会 2014.3.19-21(仙台)

- 馮国剛、神立伸久、黄磊、近藤文雄、藤原祥裕、岡田尚志郎

LPS を投与下ラット肝細胞のアポトーシスに対するプロポフォルの保護作用

第 86 回日本薬理学会年会 2013.3.21-23(福岡)

- 黄磊、近藤文雄、馮国剛、恒川幸司、石川直久、岡田尚志郎: Bupivacaine 処理 Neuro2a 細胞における WDR35 の発現に対する NF-κB の関与

第 86 回日本薬理学会年会 2013.3.21-23 (福岡)

- 黄磊、近藤文雄、恒川幸司、馮国剛、石川直久、岡田尚志: Bupivacaine は Neuro2a 細胞における naofen (WDR35) 発現を増加させる - ROS を介する p38MAPK 活性化との関連について

第 21 回 日本 Cell Death 学会 2012.7.27-28.(名古屋)

- 石川直久: WD repeat protein と細胞死との関係- 特に naofen/WDR35 について (イブニングセミナー)

第 21 回 日本 Cell Death 学会 2012.7.27(名古屋)

内科学講座(消化器内科)

- 中出幸臣、大橋知彦、米田政志: ニコチンの非アルコール性脂肪性肝炎に対する影響; 迷走神経の関与

第 41 回日本肝臓学会西部会 2015.12.4 (名古屋)

- 大橋知彦、中出幸臣、米田政志: The relationship among fatty liver, endogenous Glucagon like peptide-1 (GLP-1) and bile acid in spontaneously diabetic torii fatty (SDTF) rat

第 19 回日本肝臓学会大会 2015.10.9 (東京)

- 中出幸臣、大橋知彦、米田政志: 糖尿病肥満 (SDTF) ラットにおける脂肪肝と内因性 Glucagon like peptide-1 (GLP-1) の関連について

第 51 回日本肝臓学会総会 2015.5.21 (熊本)

- 中出幸臣、佐藤顕、米田政志: エンドトキシン投与における脳腸ペプチド Corticotropin releasing factor (CRF) の肝腸における発現

第 18 回日本肝臓学会大会 2014.10.24 (神戸)

- 中出幸臣、大橋知彦、米田政志: Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) アナログは糖尿病マウスにおける非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) を血糖に依存せず改善する。

第 50 回日本肝臓学会総会 2014.5.29 (東京)

- 中出幸臣、大橋知彦、米田政志: 高脂肪食投与にもかかわらず II 型糖尿病モデルにおいて脂肪肝を抑制する因子の検討: 胆汁酸の観点から

第 40 回日本肝臓学会西部会 2013.12.6 (岐阜)

- 中出幸臣、大橋知彦、山本高也、佐藤顕、伊藤清顕、中尾春壽、米田政志: 高脂肪食投与にも関わらず II 型糖尿病モデル (SDT ラット) における脂肪肝を抑制する因子についての検討

第 17 回日本肝臓学会大会 2013.10.10 (東京)

- 大橋知彦、中出幸臣、米田政志: 糖尿病モデルに対する高脂肪高フルクトース食による NASH モデル作成の試み

第 49 回日本肝臓学会総会 2013.6.6 (東京)

- 中出幸臣、中尾春壽、米田政志: 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) モデルに対する Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) アナログによる投与効果

第 39 回日本肝臓学会東部会 2012.12.6 (東京)

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- 中出幸臣、山本高也、坂野文美、金森寛幸、大橋知彦、佐藤顕、中尾 春壽、米田政志: Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1)アナログの非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)におけるコレステロール代謝に及ぼす影響
第 48 回日本肝臓学会総会 2012. 6.7 (金沢)
- Nakade Y, Yamamoto T, Banno F, Kanamori H, Ohhashi T, Sato K, Yamauchi T, Nakao H, Yoneda M: Effect of Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) analogue on hepatic cholesterol metabolism in nonalcoholic steatohepatitis
Digestive Disease Week 2012.5.21 (San Diego, USA)
- 金森寛幸 中出幸臣 山本高也 坂野文美 大橋知彦 佐藤顕 中尾春壽 米田政志: ニコチン投与は非アルコール性脂肪性肝炎における肝線維化進行を抑制する
第 16 回日本肝臓学会大会 2011.10.11 (福岡)
- 中出幸臣、中尾春壽、米田政志: Glucagon-Like Peptide-1 アナログは非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH)における炎症細胞浸潤を軽減する
第 47 回 日本肝臓学会総会 2011.6.2 (東京)
- Nakade Y, Yamamoto T, Banno F, Kanamori H, Ohhashi T, Sato K, Yamauchi T, Nakao H, Yoneda M: Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) analogue inhibited hepatic inflammation
Digestive Disease Week 2011. 5.9 (Chicago, USA)

内科学講座(呼吸器・アレルギー内科)

- Yamaguchi E, Nishimura M, Asai N, Tanaka H, Takahashi A, Baba K, Kubo A: Comparative role of serum cathepsin S concentrations for differential diagnosis of sarcoidosis from other lung diseases.
ERS International Congress 2015.9.29 (Amsterdam, Netherland)
- Takahashi A, Yamaguchi E: Temporal Changes of the Serum Levels of Autoantibodies Against Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in natural clinical course of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis (APAP)
ATS 2015 International Conference 2015.5.19 (Denver, USA)
- Asai N, Katsuta E, Numanami H, Haniuda M, Yamaguchi E, Kubo A: The classification of interstitial pneumonia by the official ATS/ERS/JRS/ALAT statement “idiopathic pulmonary fibrosis by high resolution computed tomography” could predict acute exacerbation of interstitial lung disease in advanced non-small cell lung cancer patients with pre-existing interstitial lung disease
19th Congress of Asian Pacific Society of Respiriology, 2014.11.15 (Bali)
- 横江徳仁、久保昭仁、小坂顕司、濱中理恵、松原彩子、西村眞樹、田中博之、浅井信博、高橋歩、山口悦郎: 悪性胸水(MPE)に対する胸膜癒着術後の間質性肺疾患(ILD) (Interstitial lung disease (ILD) after pleurodesis fi against malignant pleural effusion (MPE)) (英語)
第 54 回日本呼吸器学会学術講演会 2014.4.25 (大阪)
- 浅井信博、久保昭仁、小坂顕司、濱中理恵、松原彩子、西村眞樹、田中博之、横江徳仁、高橋歩、馬場研二、山口悦郎: 進行性非小細胞肺癌患者において crizotinib 誘発性間質性肺疾患後の crizotinib による再治療の奏効例 (Successful crizotinib re-challenge after crizotinib-induced interstitial lung disease in patients with advanced non-small cell lung cancer) (英語)
第 54 回日本呼吸器学会学術講演会 2014.4.27 (大阪)
- Takahashi A, Yamaguchi E, Matsubara A, Nishimura M, Tanaka H, Asai N, Yokoe N, Kubo A, Baba K: Serum Levels of Autoantibodies against Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) in Clinical Course of Autoimmune Pulmonary Alveolar Proteinosis (APAP)
第 54 回日本呼吸器学会学術講演会 2014.4.27 (大阪)
- 赤坂圭一、田中崇裕、森山寛史、田澤立之、高田俊範、山口悦郎、福島康次、

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

中田光: 全肺洗浄時の肺胞洗浄液中物質濃度変化を予測する数理モデルについて
第 54 回日本呼吸器学会学術講演会 2014.4.25 (大阪)

- 横江徳仁、久保昭仁、小坂顕司、濱中理恵、松原彩子、西村眞樹、田中博之、浅井信博、高橋歩、山口悦郎: 肺がん化学療法中の好中球減少に対する顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)と抗生剤の使用について
第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2014.7.19 (福岡)
- 浅井信博、久保昭仁、小坂顕司、松原彩子、西村眞樹、田中博之、横江徳仁、高橋歩、沼波宏樹、羽生田正行、山口悦郎: ALK 陽性非小細胞癌におけるクリゾチニブの有効性と安全性の検討
第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2014.7.19 (福岡)
- Takahashi A, Yamaguchi E, Kosaka K, Hamanaka R, Matsubara A, Nishimura M, Tanaka H, Asai N, Yokoe N, Kubo A, Baba K: Levels of autoantibodies against granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in clinical course of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis (APAP)
18th Asian Pacific Society of Respiriology. 2013.11.14 (横浜)
- Yokoe N, Yamaguchi E, Kosaka K, Hamanaka R, Matsubara A, Nishimura M, Tanaka H, Asai N, Takahashi A, Kubo A: Characteristics of two single-dose dry-powder inhalation devices used in COPD
第 53 回日本呼吸器学会学術講演会 2013.4.20 東京.
- 横江徳仁、久保昭仁、小坂顕司、濱中理恵、松原彩子、西村眞樹、田中博之、浅井信博、高橋歩、山口悦郎: 癌性胸膜炎に対する胸膜癒着後の間質性肺炎
第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2013.8.31 (仙台)
- 馬場研二、竹内正行、吉田光伸、田中栄一、物江孝司、浅井和子、稗田信之、浅川順一、楨村進、西村眞樹、山口悦郎: 非小細胞肺癌(NSCLC)の癌性胸膜炎(MPE)におけるゲフィチニブの薬力学・薬物動態・臨床第 II 相試験
第 52 回日本呼吸器学会学術講演会 2012.4.21 (神戸)
- Kubo A, Kanaji N, Bandoh S, Ishii T, Fujita J, Matsunaga T, Yamaguchi E: Cytokeratin (CK) 8: the dominant type II intermediate filament protein in non-small cell lung cancer (NSCLC)
第 52 回日本呼吸器学会学術講演会 2012.4.22 (神戸)
- 西村眞樹、馬場研二、濱中理恵、小坂顕司、田中博之、横江徳仁、高橋歩、高橋大輔、久保昭仁、山口悦郎: 成人喘息患者における Most Graph データの特徴と再現性について
第 52 回日本呼吸器学会学術講演会 2012.4.21 (神戸)
- Kubo A, Kanaji N, Bandoh S, Ishii T, Fujita J, Matsunaga T, Yamaguchi E: Cytokeratin (CK) 8 expression in non-small cell lung cancer (NSCLC) and its relation to tumor invasiveness and patient survival
第 10 回 日本臨床腫瘍学会 2012.7.26 (大阪)
- 横江徳仁、山口悦郎、小坂顕司、濱中理恵、松原彩子、西村眞樹、田中博之、高橋歩、高橋大輔、久保昭仁、馬場研二: 成人喘息患者における遺伝子多型と臨床所見
第 62 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2012.11.30 (大阪)

眼科学講座

- 雑喉正泰、山田洋史、稲熊真悟、岩城正佳、米田雅彦: 毛様体無色素細胞で TNF- α にて発現増加したMMPは infliximab で抑制される
第 45 回日本結合組織学会学術大会・第 60 回マトリックス研究会大会合同学術大会 2013.6.28 (和歌山市)
- Yamada H, Yoneda M, Iwaki M, Zako M: Infliximab Attenuates Tumor Necrosis Factor- α -Induced Alterations in Non-Pigmented Ciliary Epithelium
ARVO 2013 2013.5.5 (Seattle)
- 山田洋史、米田雅彦、岩城正佳、雑喉正泰: TNF- α による matrix metalloproteinase

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

<p>の発現増加をインフリキシマブが抑制する 第 117 回日本眼科学会総会 2013.4.6 (東京)</p> <ul style="list-style-type: none"> ● 加藤 彩, 半田恒明, 雑喉正泰. : インフリキシマブ投与1週間後に施行したベージェット病患者の眼科手術 第 66 回日本臨床眼科学会 2012.10.27 (京都) ● 山田洋史, 米田雅彦, 岩城正佳, 雑喉正泰. : TNF-α によるヒト毛様体無色素上皮細胞の変化に対するインフリキシマブの抑制効果 第 116 回日本眼科学会総会 2012.4.6 (東京) ● 水谷圭吾, 岩城正佳, 雑喉正泰, 米田雅彦 : コンドロイチン硫酸がヒアルロン酸溶液の流速に与える影響 第 116 回日本眼科学会総会 2012.4.6 (東京) ● 片岡卓也, 武山正行, 杉田圭二郎, 雑喉正泰, 岩城正佳. : 眼内レンズ脱臼に対する経 23 ゲージ硝子体ポートによる低侵襲毛様溝逢着術 第 35 回日本眼科手術学会総会 2012.1.27 (名古屋) ● 武山正行, 米田雅彦, 竹内 実, 山田洋史, 片岡卓也, 大野安季子, 雑喉正泰, 岩城正佳. : 光凝固後網膜における MMP-2, MMP-9, MMP-2 の結時的変化 第 115 回日本眼科学会総会 2011.5.13 (東京) ● 半田恒明, 恒川日南子, 雑喉正泰: ベージェット病によるぶどう膜炎と眼外症状に対する infliximab の長期治療成績 第 115 回日本眼科学会総会 2011.5.12 (東京) ● Huili Li, 片岡卓也, 石田政也, 丹羽慶子, 武山正行, 恒川日南子, 雑喉正泰, Saad Samae, 岩城正佳: A case of Oguchi disease associated with macular atrophy 第64回日本臨床眼科学会 2011.11.12 (神戸) ● 川村雅英, 片岡卓也, 石田政也, 丹羽慶子, 雑喉正泰, 岩城正佳: 房水へ効果的に移行するレボフロキサシンの内服と点眼の併用デザイン 第64回日本臨床眼科学会 2011.11.13 (神戸) ● 村田一弘, 犬飼 崇, 安田宗義, 岩城正佳, 雑喉正泰: うつ血乳頭に塞栓術が著効した S 状静脈洞部硬膜動静脈瘻の一例 第64回日本臨床眼科学会 2011.10. (神戸) <p>生化学講座</p> <ul style="list-style-type: none"> ● シバスタン・カルナン, 太田明伸, 小西裕之, 細川好孝: 400K オリゴアレイ CGH を用いた NF1 患者の皮膚神経線維腫の解析 第 88 回日本生化学会大会 2015.12.1 (神戸) ● 太田明伸, カルナン シバスタン, 小西裕之, 細川好孝: 口腔がん細胞株に対するプランバギンのプロオキシダント作用とアポトーシス誘導にはミトコンドリア遺伝子発現系が関与する 第 88 回日本生化学会大会 2015.12.1 (神戸) ● 村上恵子, 細川好孝, 吉野昌孝: フルクトース 1,6-ニリン酸/ニ価鉄による活性酸素生成—Crabtree 効果のメカニズム 第 88 回日本生化学会大会 2015.12.1 (神戸) ● Hatano S, Karnan S, Ota A, Hosokawa Y, Kimata K, Watanabe H: The versican A-subdomain is essential for regulating cell behavior 第 74 回日本癌学会学術総会 2015.10.8 (名古屋) ● Ota A, Karnan S, Konishi H, Hosokawa Y: Delta40p53 suppresses tumor cell proliferation in HepG2 cells 第 74 回日本癌学会学術総会 2015.10.8 (名古屋) ● Konishi H, Karnan S, Ota A, Hosokawa Y: Oncogenic properties of a human bronchial epithelial cell line undergoing targeted knock-in of a KRAS mutation 第 74 回日本癌学会学術総会 2015.10.8 (名古屋) ● 村上恵子, 細川好孝, 吉野昌孝: 亜鉛イオンによる活性酸素生成・処理系の調節
--

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- 第 32 日回本微量栄養素学会学術集会 2015.5.30 京都
- Konishi H, Karnan S, Ota A, Hosokawa Y: Promoters regulating antibiotics resistance gene within AAV-based targeting vectors affect gene targeting efficiency
第 37 回日本分子生物学会 2014.11.25 (横浜)
 - Hossain Ekhtear, Ota A, Hosokawa Y: Arsenic Trioxide prevents expression of suppressor of cytokine signaling-3 in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 by inhibiting JAK-STAT signaling pathway
第 87 回日本生化学会大会 2014.10.18 (京都)
 - 村上恵子、細川好孝、吉野昌孝: 遷移金属依存および非依存性の活性酸素生成反応の促進・抑制因子の作用機構
第 87 回日本生化学会大会 2014.10.18.(京都)
 - 太田明伸、イックティアル ホセイン、シバスダラン カルナン、シャナワジ マンナン、小西裕之、細川好孝: リポポリサッカライドは Erk1/2 シグナルを介した LOX-1 の発現増加によってマクロファージの酸化 LDL の取り込み能を増強する
第 87 回日本生化学会大会 2014.10.16 (京都)
 - Ota A, Karnan S, Konishi H, Kazaoka Y, Hosokawa Y: Plumbagin suppresses cellular growth through generation of reactive oxygen species in oral squamous cell carcinoma cells
第 73 回日本癌学会学術総会 2014.9.27 (横浜)
 - Karnan S, Ota A, Konishi H, Hosokawa Y: High-resolution 400k Oignonucleotide Array CGH Analysis of neurofibromatosis type 1-associated cutaneous neurofibromas
第 73 回日本癌学会学術総会 2014.9.26 (横浜)
 - 村上恵子、細川好孝、吉野昌孝: アスコルビン酸とメナジオンの相互作用によるレドックス制御
第 31 回日本微量栄養素学会学術集会 2014.6.7 (大阪)
 - 水野昌平、花村一朗、太田明伸、シバスダラン カルナン、成田朋子、李 政樹、後藤峰明、後藤麻由子、恒川敬和、爾見雅人、飯田真介、細川好孝、上田龍三、仁田正和、三輪啓志: MM 細胞株を用いた異所性アミラーゼ安定的発現株の樹立とその性状解析
第 39 回日本骨髄腫学界学術集会 2014.5 (掛川)
 - Konishi H, Karnun S, Ota A, Hosokawa Y: Analysis of the KRAS-P13K signaling pathways using genome editing in human cell lines.
第 72 回日本癌学会学術集会 2013.10.4 (横浜)
 - Ota A, karnan S, Konishi H, Kazaoka Y, Hosokawa Y: Arsenic trioxide and cisplatin synergistically enhances cytotoxicity toward oral squamous cell carcinoma cells.
第 72 回日本癌学会学術集会 2013.10.4 (横浜)
 - 太田明伸、Ekhtear Hossain、Sivasundaram Karnan, Damdindorj Lkhagvasuren、小西裕子、小西裕之、細川好孝: ヒ素は酸化LDL受容体LOX-1の発現を増加させることによりマウス血管内皮細胞の酸化LDL取り込み能を増強する
第86回日本生化学会大会 2013.9.11-13 (横浜)
 - Sivasundaram Karnan、太田明伸、細川好孝、小西裕之: KRAS変異およびPIK3CA変異のノックインを施したヒト上皮細胞株の生化学的解析
第86回日本生化学会大会 2013.9.11-13. (横浜)
 - Hossain E, Ota A, Karnan S, Damdindorj L, Konishi Y, Konishi H, Hosokawa Y: Arsenic trioxide inhibits interferon-gamma-mediated nitric oxide production in mouse vascular endothelial cells
第86回日本生化学会大会 2013.9.11-13 (横浜)
 - 小西裕之、小西裕子、Sivasundaram Karnan、高橋美裕希、太田明伸、Damdindorj Lkhagvasuren、細川好孝: 抗生剤耐性遺伝子-EGFP融合遺伝子を用いたヒト体細胞株の遺伝子ターゲティング効率の定量
第85回日本生化学会大会 2012.12.14-15 (福岡)
 - Sivasundaram Karnan、小西裕子、太田明伸、高橋美裕希、Damdindorj Lkhagvasuren、

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

細川好孝、小西裕之: *PIGA*遺伝子を利用したヒト体細胞株の遺伝子ターゲティング効率の測定

第85回日本生化学会大会 2012.12.14-16 (福岡)

- Damdindorj L, Karnan S, Ota A, Takahashi M, Konishi Y, Hossain E, Hosokawa Y, Konishi H: A comparative investigation of the long-term transcriptional activity of constitutive promoters placed in plasmids and adeno-associated viral vectors
第85回日本生化学会大会 2012.12.14-16 (福岡)
- 太田明伸、高橋美裕希、Sivasundaram Karnan、Ekhtear Hossain、Damdindorj Lkhagvasuren、小西裕子、小西裕之、細川好孝: 三酸化ヒ素はSTAT1の活性化を阻害しRAW264.7細胞からの二重鎖RNA刺激によるNO産生を抑制する
第85回日本生化学会大会2012.12.14-16 (福岡)
- Hossain E, Ota A, Takahashi M, Karnan S, Damdindorj L, Konishi Y, Konishi H, Hosokawa Y: Arsenic exposure accelerates Angiotensin II-mediated Ca²⁺ signaling in mouse aortic endothelial cells by upregulation of AT₁ receptor
第85回日本生化学会大会2012.12.14-16 (福岡)
- 高橋美裕希、太田明伸、Sivasundaram Karnan、小西裕之、花村一朗、三輪啓志、仁田正和、細川好孝: 三酸化砒素はTRIF依存性経路を抑制しLPS刺激後のRAW264.7細胞からの一酸化窒素の産生を抑制する
第71回日本癌学会学術総会 2012.9.19-21 (札幌)
- Konishi H, Karnan S, Hosokawa Y: *BRCA1*ヘテロ変異はヒト乳腺上皮細胞のゲノム不安定性を誘導する
第70回日本癌学会学術総会 2011.10.3-5 (名古屋)
- 太田明伸、山本雅樹、今井伸一、小西裕之、細川好孝、小海康夫: CCL8濃度とCCL8陽性細胞の増加はマウス肺のGVHD病態と密接に関与する
第70回日本癌学会学術総会 2011.10.3-5 (名古屋)
- 小西裕之、Sivasundaram Karnan、細川好孝、Ben Ho Park: *BRCA1*ヘテロ変異によってヒト乳腺上皮細胞にゲノム不安定性が発生する
第84回日本生化学会大会 2011.9.21-24 (京都)
- Sivasundaram Karnan、小西裕子、高橋美裕希、Damdindorj Lkhagvasuren、細川好孝、小西裕之: ヒト体細胞株における*PIGA*遺伝子を利用した遺伝子ターゲティング効率定量系の作成
第84回日本生化学会大会 2011.9.21-24 (京都)

分子医科学研究所

- Watanabe H: Role of versican, and chondroitin sulfate in development and diseases
5th FEBS Advanced Lecture Course FEBS – MPST 2015
2015.9.24-29 (Rhodes Island, Greece)
- Sugiura N: Molecular interaction and sequencing of chemo-enzymatically synthesized chondroitin sulfate library
糖鎖科学中部拠点/日本ウォーターズ共催セミナー(Pauline Rudd, NIBRT 来日記念), 2015.8.3 (名古屋)
- Shioiri T, Tsuchimoto J, Watanabe H, Sugiura N: Sequencing of Chondroitin Sulfate Chains
9th International Conference on Proteoglycans and 10th Pan-Pacific Connective Tissue Societies Symposium 2015.8.23-27 (Seoul, Korea)
- 杉浦信夫, Thomas Mandel Clausen, 塩入達政, 渡辺秀人, Ali Salanti, マラリアタンパク質 VAR2CSA と合成コンドロイチン硫酸ライブラリーとの相互作用解析
第34回日本糖質学会年会, 東京, 東京大学安田講堂, 2015.8.2(東京)
- 塩入達政, 渡辺秀人, 杉浦信夫. 二種類の硫酸基修飾を持つコンドロイチン硫酸十二糖の配列決定
第34回日本糖質学会年会, 東京, 東京大学 山上会館, 2015.7.31-8.2 (東京)

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- 渡辺秀人
真皮細胞外マトリックス:構築と病態による変容
第 41 回日本熱傷学会総会・学術集会 教育講演 2015.6.19 (名古屋)
- 渡辺秀人, ファンチャクサイ カンダ, 岡田 太, コンタウェラート・プラチャ
宿主発現バーシカンによる腫瘍増殖制御 (Versican provides microenvironment that regulates tumor cell growth). 第 73 回日本癌学会学術総会 2014.9.27 (横浜)
- 塩入達政, 渡辺秀人, 杉浦信夫: コンドロイチン硫酸の糖鎖配列決定方法,
第 33 回日本糖質学会年会 2014.8.12 (名古屋)
- ファンチャクサイ カンダ, 岡田太, 幡野その子, コンタウェラート プラチャ, 渡辺秀人:
Host versican provides microenvironment that inhibits tumor growth
第 46 回日本結合組織学会第 61 回マトリックス研究会合同学術集会 2014.6.6 (名古屋)
- 幡野その子, 牧野伸司, ミツタル ニシヤント, 中邨智之, 木全弘治, 渡辺秀人: 成長後の循環器に対するバーシカンの役割
第 46 回日本結合組織学会第 61 回マトリックス研究会合同学術集会 2014.6.6 (名古屋)
- Watanabe H: Role of chondroitin sulfate proteoglycans in development and disease
2014 KSBMB Annual Meeting, 2014.5.14 (Seoul, South Korea)
- Watanabe H: Role of chondroitin sulfate proteoglycans in development and disease
8th Annual Symposium in Institute of Human-Environment Interface Biology 2014.2.8
(Seoul, South Korea)
- Watanabe H: Roles of versican in heart and skeletal development
9th Pan Pacific Connective Societies Symposium, 2013.11.25 (Hong Kong)
- Hatano S, Makino S, Kimata K, Watanabe H: Ventricular septal defects in mice targeted deletion in versican smooth muscle cells
8th International Conference on Proteoglycans 2013.8.29. (Frankfurt, Germany)
- 杉浦信夫, 吉村真弓, 塩入達政, 渡辺秀人: カイコ組織のコンドロイチン硫酸分布に関する免疫組織化学的解析
第 32 回日本糖質学会年会 2013.8.7 (大阪)
- 杉浦信夫, 塩入達政, 池田素子, 小林迪弘, 渡辺秀人: カイコ結合組織中のコンドロイチン硫酸とバキュロウイルスのコンドロイチン分解酵素.
第 45 回日本結合組織学会・第 60 回マトリックス研究会合同学術大会 2013.6.29 (和歌山)
- 塩入達政, 渡辺秀人, 杉浦信夫: 組換え酵素による人工コンドロイチン硫酸ライブラリーの作成と生理機能の検討.
第 45 回日本結合組織学会・第 60 回マトリックス研究会合同学術大会 2013.6.29 (和歌山)
- Hatano S, Makino S, Kimata K, Watanabe H: Roles of versican in cardiovascular development
Hyaluronan 2013 (International Society for Hyaluronan Science, 9th International Conference) 2013. 6.5 (Oklahoma City)
- Ishimaru D, Sugiura N, Akiyama H, Watanabe H, Matsumoto K. Alterations in the Chondroitin Sulfate Chain in Human Osteoarthritic Cartilage of the Knee
60th Annual Meeting of the ORS, 2013.3.15-18 (New Orleans)
- Watanabe H, Ogawa H, Shionyu M, Sugiura N, Hatano S, Nagai N, Sato T, Narimatsu H, Shimizu K, Kimata K: Chondroitin Sulfate synthase-2/chondroitin polymerizing factor: characterization and impact on chondroitin sulfate biosynthesis
2012 Joint Meeting of the Society for Glycobiology & American Society for Matrix Biology. 2012.11.11-14 (San Diego)
- 杉浦信夫, 吉村真弓, 池田素子, 小林迪弘, 渡辺秀人: 各種バキュロウイルスのコンドロイチナーゼ活性とカイコ囲食膜のコンドロイチン硫酸

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- 第 31 回日本糖質学会年会 2012.9.17-20 (鹿児島)
- 塩入達政, 渡辺秀人, 杉浦信夫: 組換え硫酸基転移酵素を用いた人工コンドロイチン硫酸の合成と構造解析
第 31 回日本糖質学会年会 2012.9.17-20 (鹿児島)
 - 塩入達政, 渡辺秀人, 杉浦信夫: 組換え硫酸基転移酵素を用いた人工コンドロイチン硫酸の合成と構造解析
第 31 回日本糖質学会年会 2012.9.17-20 (鹿児島)
 - Kono A, Oguri A, Yokoo K, Watanabe H: YAG laser treatment causes rapid degeneration and regeneration of collagen fibers in pig skin and facilitates fibroblast growth
23rd FECTS and ISMB Joint Meeting. 2012.8.25-29 (Katowice, Poland)
 - 渡辺秀人: 間葉系組織の構築と維持におけるパーシカンの役割
第 101 回日本病理学会春期総会 2012.4.28 (東京)
 - Ogawa H, Shionyu M, Sugiura N, Hatano S, Nagai N, Sato T, Gotoh M, Narimatsu H, Shimizu K, Kimata K, Watanabe H: Chondroitin sulfate synthase-2/chondroitin polymerizing factor: characterization and impact on chondroitin sulfate biosynthesis
7th International Conference on Proteoglycans. 2011.10.16-23 (Sydney, Australia)
- 内科学講座(血液内科)
- Goto M, Miwa H, Shikami M, Tsunekawa N, Suganuma K, Uchino K, Horio T, Mizutani M, Takahashi M, Mizuno S, Gotou M, Yamamoto H, Wakabayashi M, Watarai M, Hanamura I, Imamura A, Mihara H, Nitta M: ROS has a key role in proliferation of leukemia cells under hypoxia
第 75 回日本血液学会学術集会 2013.10.11-13 (札幌)
 - Goto M, Miwa H, Komatsubara H, Horio T, Mizutani M, Takahashi M, Mizuno S, Suganuma K, Gotou M, Tsunekawa N, Hiramatsu A, Yamamoto H, Wakabayashi M, Watarai M, Hanamura I, Shikami M, Imamura A, Mihara H, Nitta M: The growth of THP1 is increased under hypoxia by changing metabolism through PDK1 upregulation.
第 74 回日本血液学会学術集会 2012. 10.19~21. (京都)
 - Tsunekawa N, Miwa H, Mizutani M, Komatsubara H, Horio T, Goto M, Mizuno S, Takahashi M, Suganuma K, Gotou M, Yamamoto H, Hiramatsu A, Wakabayashi M, Watarai M, Hanamura I, Shikami M, Imamura A, Mihara H, Nitta M: Metabolic switch of leukemia cells in NOD/scid mice treated by 2-deoxy-D-glucose
第 74 回日本血液学会学術集会 2012. 10.19~21. (京都)
 - Tsunekawa N, Miwa H, Shikami M, Suganuma K, Goto M, Mizuno S, Takahashi M, Mizutani M, Gotou M, Hiramatsu A, Wakabayashi M, Hanamura I, Imamura A, Mihara H, Nitta M: Pharmacological Inhibition of Fatty Acid Oxidation Effectively Suppressed the Growth of THP-1 in NOD/scid Mice
The 3rd JSH International Symposium 2012.5.26-27 (Kawagoe)
 - Miwa H, Shikami M, Tsunekawa N, Suganuma K, Goto M, Mizuno S, Takahashi M, Mizutani M, Gotou M, Yamamoto H, Watarai M, Hanamura I, Imamura A, Mihara H, Nitta M: Importance of Glutamine Metabolism in Leukemia Cells by Energy Production through TCA Cycle and by Redox Homeostasis
The 3rd JSH International Symposium 2012.5.26-27 (Kawagoe)
 - Tsunekawa N, Miwa H, Suganuma K, Mizuno S, Goto M, Takahashi M, Wakabayashi M, Nitta M: Metabolism of human leukemia cells in NOD/scid mice: Effectiveness of 2-deoxy-Dglucose(2-DG).
第 73 回日本血液学会学術集会 2011.10.14-16 (名古屋)
 - Shikami M, Miwa H, Horio T, Goto M, Mizuno S, Takahashi M, Suganuma K, Gotou M, Tsunekawa N, Hiramatsu A, Nitta M: Effect of inhibitors for metabolic pathways in acute myeloid leukemia.
第 73 回日本血液学会学術集会 2011. 10.14-16 (名古屋)

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

- Miwa H, Shikami M, Tsunekawa N, Suganuma K, Goto M, Takahashi M, Mizuno S, Horio T, Hanamura I, Nitta M: Metabolomic analysis of AML cell lines (glycolysis, TCA cycle and pentose phosphate pathway).
第 73 回日本血液学会学術集会 2011.10.14-16 (名古屋)

<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>

シンポジウム・セミナー

1. 第 1 回(学内)公開シンポジウム
平成 23 年 9 月 5 日 於 203 講義室
2. 第 1 回外部評価委員会
平成 24 年 11 月 26 日 於 204 講義室
3. 第 1 回学内シンポジウム
平成 25 年 4 月 24、26 日 於 203 講義室
4. 戦略的研究基盤形成支援事業・学内セミナー
平成 25 年 7 月 9 日 於 701 会議室
5. 第 2 回公開シンポジウム・第 2 回外部評価委員会
平成 27 年 3 月 13 日 於本館第 1 会議室

インターネットでの公開状況

以下の URL にて本事業活動を公開し、適宜更新した。

<http://amu-strategy.org/>

<これから実施する予定のもの>

平成 28 年度中に学内報告会を開催する予定である。

上記ホームページは最終更新後、最低 2 年間は維持し、閲覧可能としておく予定である。

14 その他の研究成果等

特になし

法人番号	
プロジェクト番号	S1101027

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>

多様なバックグラウンドを有するメンバーの研究成果の集約に留意されたい。

<「選定時」に付された留意事項への対応>

グループ間共通のキーワード「細胞死の制御」を掲げ、本キーワードを念頭に研究を行うよう提案した。

<「中間評価時」に付された留意事項>

1. 研究組織について

- 計9研究室が並列に共同研究体制を組んでいるように記述されているが、多くの部署が関わるので、研究全体を見渡せる組織の存在(代表者一名に依らず)が欲しいところである。「選択と集中」という KeyWord が後述されているが、その判断をする組織の存在である。

2. 研究施設・設備等について

- 施設・設備の整備状況、稼働状況は妥当である。

3. 研究プロジェクトの進捗状況・研究成果等について

- 自己評価でも記されているが、進捗に部署間の格差がある。
- 各講座・研究者は、それぞれ克服すべき課題・問題点を把握していると思われるが、「致命的臓器障害に対する次世代分子標的治療法の開発」とその実用化を目指し、更に具体的成果を挙げていただきたい。
- 既に2件の特許出願がなされたことは評価できる。
- 研究進捗状況の芳しくないグループが存在するので、その問題解決に努めていただきたい。

4. その他(選定時「留意事項」への対応状況等)

- 外部評価委員の評価結果を具体的に示すよりも具体的な改善策を示すのがよい。
- 選定時の指摘事項に対しては一定の改善がなされている。

<「中間評価時」に付された留意事項への対応>

- 統括を研究代表者1名に依存するのではなく研究全体を見渡せる組織を作るため、梅澤教授、米田教授に副代表者就任を依頼し、課題や懸案事項に関しては三名で相談して対応した。幅広い視野で迅速に課題に対応することができるようになった。
- 研究の遅れている部署に対しては問題の中核を探索し、支援することとした。例えば人的支援が必要なグループに対しては実験補助員の雇用を支援し、技術的障壁を抱えているグループに対しては問題を解決できる実験技術を有する部署との連携を図った。その結果、研究遅延は回復した。
- 各研究の問題点を明らかにし解決するために、第2回公開シンポジウム・外部評価委員会を開催し、各研究分野の専門家に評価頂いた。各評価者の適切な指摘は問題解決に向けて大いに役に立ち、尚一層の共同研究が生まれ、本事業全体としての研究の収斂が推進された。

低分子シグナル伝達阻害剤の探索と臓器障害の抑制

分子標的医薬探索寄附講座 梅澤一夫

1. 植物由来 conophylline による組織線維化抑制およびオートファジー促進:

私たちは以前にキョウチクトウ科植物の葉から得られるアルカロイドの conophylline (図 1) ががん遺伝子産物 K-Ras 活性を阻害すること、および膵 beta 細胞の分化を誘導・促進することを見出した。動物実験においても抗がん活性、血糖値低下作用を示した。経口投与が可能で、比較的高い血中濃度が保たれる。さらに、この数年で、組織線維化を阻害することを見出した。Goto-Kakizaki ラットはヒト 2 型糖尿病の優れた動物モデルとされ、6 週から 10 週で膵島に線維化がみられる。Goto-Kakizaki ラットを用いた実験から膵島の線維化が 6-10 週の conophylline 経口投与で強く抑制されることが見出された。その機構として膵星細胞の浸潤や活性を低下させることがわかった(*56)。thioacetamide で誘導するラット肝硬変モデルにおいても線維化を阻害した。この場合も in situ, in vivo で smooth muscle antigen 抗体で検出される肝星細胞の活性を低下させ、肝臓組織中のコラーゲン量を減少させた(図 2, *38)。さらに、本プロジェクト内共同研究で、NASH 肝硬変モデルに conophylline を経口与する実験の過程で、conophylline はマウスにおいて肝細胞の脂肪化を抑制することがわかった(詳細は分担研究者・米田の記述を参照)。この発見は愛知医科大学から特許を申請した。

さらに conophylline の新しい生物活性を見出した。生体物質分解系のひとつであるオートファジーは、細胞質において不要物質を膜で囲うオートファゴソーム形成、それがリソソームと融合するオートリソソーム形成を介した大量タンパク質分解機構である(図 3)。オートファジーは発生や神経系の維持に必要とされている。パーキンソン病やハンチントン病は、神経細胞内でタンパク質が蓄積し神経細胞が死滅することで発症する神経変性疾患であり、有効な治療薬は未だ存在しない。一方、オートファジーの低下が神経変性疾患のひとつの原因であることが報告されている。このことからオートファジー誘導化合物は神経変性疾患の治療薬として期待される。共同研究により、conophylline がオートファジー誘導活性を示すことを見出した。conophylline はヒト子宮頸癌 HeLa 細胞、ヒト神経芽腫 SH-SY5Y 細胞、ラット副腎髄質褐色細胞腫 PC12D 細胞においてオートファジーのマーカーである LC3-II の発現量を上昇させた。GFP-LC3 安定過剰発現細胞においてオートファゴソームを増加させた。オートファジー基質である p62 も減少させた。さらに p70S6K のリン酸化を抑制しなかったことから conophylline は mTOR 非依存的にオートファジーを誘導することがわかった。パーキンソン病の細胞モデルとして PC12hD 細胞に神経毒性物質 MPP⁺ を処理すると細胞死が誘導されるが、conophylline は MPP⁺ が誘導するタンパク質凝集と細胞死を顕著に抑制した(*15)。ハンチントン病は huntingtin (HTT) タンパク質における 36 個以上のグルタミンリピートによる HTT の

凝集・蓄積が原因とされている。74個のグルタミンを含む変異型 HTT に GFP を融合させた発現ベクターを作製し細胞に過剰発現させると、凝集体が観察された。このハンチントン病の細胞モデルにおいても、conophylline を添加すると、濃度依存的に凝集体の形成が抑制された(図 4, *15)。以上のことから、conophylline はパーキンソン病やハンチントン病など神経変性疾患の治療薬として期待される。

conophylline の結合タンパク質として数年前に ARL6-interacting protein (ARL6ip) を見出した。その後、ARL6ip 分子のどのドメインに結合するのかを deletion mutant を使って解析した。ARL6ip は小胞体膜貫通分子として存在し、細胞質側の部分に結合することがわかった(*)。この結果から conophylline が ARL6ip に結合することが確認され、結合部位が示された。conophylline の beta 細胞の分化誘導や抗線維化活性に ARL6ip が関与するかわかっていない。本プロジェクト内の感染・免疫研究部との共同研究で、conophylline は RANKL に誘導されるマクロファージから破骨細胞への分化を阻害し、阻害機構には ARL6ip の不活性化が関与していることが示唆された(図 5, *28)。

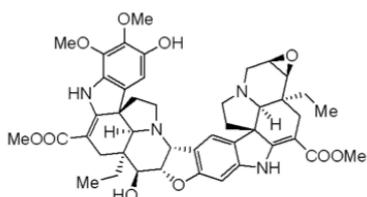


図1 キョウチクトウ科植物 *Ervatamia microphylla* の葉から単離される conophylline

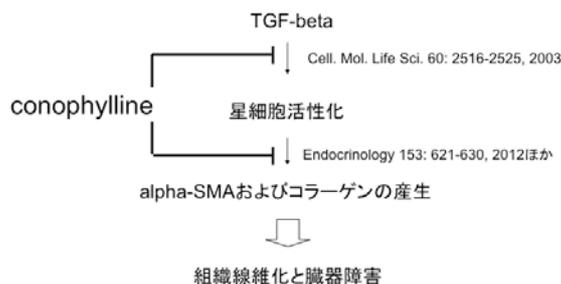


図2 conophyllineによる組織線維化抑制の作用機構

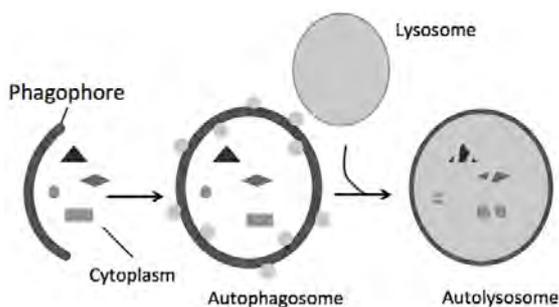


図3 オートファジー発生の機構

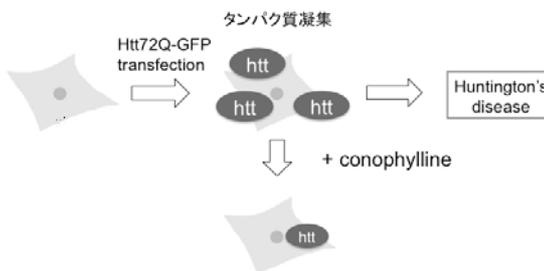


図4 conophyllineによるハンチントン病細胞モデルの抑制

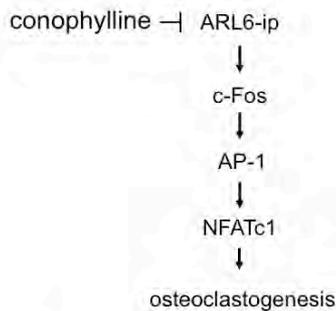


図5 ARL6ip阻害を介したconophyllineによる破骨細胞分化の抑制

2. NF-kappa B 阻害剤 DHMEQ の新しい作用機構と臓器障害の抑制:

DHMEQ は、弱い抗菌物質 epoxyquinomicin C の骨格をもとに分子デザインし、合成された新規 epoxydone 化合物である(図 6)。以前、panepoxydone や cycloepoxydon など、epoxydone 骨格を持つ化合物が I-kappa B のリン酸化を阻害することで NF-kappa B を阻害することが報告された。これらの化合物は epoxyquinomicin C の構造に一部似ていたため、epoxyquinomicin 類に NF-kappa B 阻害作用が期待されたが、阻害活性を示さなかった。そこで構造的相関を高めるために 5 位の水酸化メチル基を除去した化合物 DHMEQ を分子デザインして合成した。合成された化合物 DHMEQ は細胞レベルで NF-kappa B の活性化を阻害し、後に阻害の機構は参考にした panepoxydone 等と異なるユニークなものであることがわかった。DHMEQ はラセミ体として合成され、リパーゼを利用して(-)体と(+)体に分けることができる。(-)体は(+)体より約 10 倍阻害活性が強い。培養細胞の実験には(-)-DHMEQ を、動物実験にはラセミ体 DHMEQ を主に用いている。2008 年に DHMEQ の標的分子が解明された。(-)-DHMEQ は NF-kappa B 構成成分 p65, p50, RelB, cRel の特異的な cysteine に共有結合して DNA への結合を阻害する。

NF-kappa B 活性化経路には、自然免疫および炎症に重要な canonical 経路と B 細胞成熟および自己免疫疾患に重要な noncanonical 経路がある。本プロジェクトにおいて(-)-DHMEQ の non-canonical 経路の阻害機構を調べた。その結果、(-)-DHMEQ は、代表的な noncanonical NF-kappa B である RelB/p52 に対して、RelB の 144Cys に直接共有結合し、DNA binding と核局在を阻害することで、noncanonical NF-kappa B の活性を阻害することが明らかとなった(*57)。RelB と p52 の不安定化も誘導した。この結果から、(-)-DHMEQ は自己免疫疾患や一部のがんなど noncanonical NF-kappa B が活性化している疾患に対する有用かもしれない。

インスリンを唯一生産する膵 beta 細胞の減少や劣化は 2 型糖尿病の要因である。マウスインスリノーマ Min6 細胞を beta 細胞のモデルとして用い、NO による細胞死を(-)-DHMEQ が

抑制することを見出したので、その機構を解析した。NO ドナーとして *S*-nitroso-*N*-acetyl-*DL*-penicillamine (SNAP)を用いて、SNAP は Min6 細胞に細胞死を誘導し、(-)-DHMEQ は細胞死を抑制した。Min6 細胞は恒常的な NF-kappa B の活性があり、(-)-DHMEQ により阻害された。Nrf2 は多くの抗酸化酵素を誘導する、最近注目されている転写因子である。(-)-DHMEQ は Nrf2 を誘導し、さらにその下流の複数の抗酸化酵素を発現させた(*47)。NO による Akt の活性化を抑制することもわかった(図 7)。このようにして (-)-DHMEQ はおそらく Nrf2-抗酸化酵素系の活性化と Akt の不活性化を介して細胞死を抑制し、2 型糖尿病において膵島の障害を軽減することが示唆された。

DHMEQ 軟膏は現在、アトピーなどの激しい皮膚傷害を治療する医薬として開発が進められている。マウスアトピーモデルにおいて、DHMEQ 軟膏は治療効果を示し、おそらくその機構のひとつとして炎症部位におけるマスト細胞の凝集を抑制することを以前に報告した。本プロジェクトでは培養細胞系で(-)-DHMEQ マスト細胞の浸潤阻害効果を調べた。マスト細胞はヒスタミンやロイコトリエンを産生するが、浸潤能もある。そこで IgE が結合した感作マスト細胞の抗原への浸潤に着目し、(-)-DHMEQ の抑制効果を調べた。その結果、(-)-DHMEQ は感作マスト細胞の抗原への浸潤を顕著に抑制した。そこで (-)-DHMEQ を処理したときに発現の抑制される遺伝子について、PCR アレイにより細胞の運動性に関連する 84 遺伝子について増減を調べた。その結果、(-)-DHMEQ 処理により matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) 発現が抑制された。さらに MMP 阻害剤 GM6001 は感作マスト細胞の抗原への浸潤能を顕著に抑制した。以上の結果はマスト細胞様ラット白血病 RBL-2H3 細胞とマウス初代培養マスト細胞で示された。このようにマスト細胞の浸潤における重要な因子として MMP-2 を見出し、MMP-2 発現は NF-kappa B により制御されていることが示唆された(*13)。

DHMEQ は約 10 年間、動物実験で多くの抗炎症作用、抗がん作用を示した。最近の臓器傷害を抑制する作用として、DHMEQ は虚血によるマウス腎臓の傷害を改善した(:41)。Puromycin 誘導体によるネフローゼにも改善効果がみられた(*46)。エンドキシンショックはグラム陰性菌が放出するエンドキシン(LPS)が原因で各所に致死性臓器傷害が起きる。DHMEQ は *in vivo* エンドキシンショックモデルで LPS の後に投与しても延命効果がみられた(図 8, 79)。DHMEQ は臓器障害を軽減して炎症性腸疾患 Crohn 病モデルを改善し(*62)、動物実験で膵島移植において recipient に投与され、移植された膵島の免疫機能による傷害を抑制した(36, *37)。

(-)-DHMEQ を発見した後も私たちは NF-kappa B 阻害剤の探索を継続し、微生物培養液から以前に既知抗生物質 9-methylstreptimidone を単離した。しかし、9-methylstreptimidone は微生物による生産性が低く、さらに化学合成による大量合成が難しかったため、より簡便な構造で大量に得やすい誘導体合成を試み、その活性を評価した。その結果、以前に LPS に

誘導される NO 産生を阻害する新規化合物として、DTCM-glutarimide を見出した(図 9)。また、DTCM-glutarimide は NF-kappa B を 24 h で阻害するが 30 min では阻害せず、直接的な NF-kappa B 阻害剤ではない。DTCM-glutarimide は RAW267.4 細胞において LPS による iNOS や COX-2 の誘導を阻害し、マウスメラノーマ細胞において、浸潤抑制とアノキス誘導を示した(*73)。本プロジェクトの感染・免疫講座との共同研究で、DTCM-glutarimide は RANKL または LPS によるマクロファージから破骨細胞への分化誘導を毒性を示さない濃度で阻害することがわかった。機構として DTCM-glutarimide は RANKL に誘導される Akt リン酸化、GSK-beta リン酸化、NF-kappa B を阻害した(図 10, *11)。

DTCM-glutarimide も心臓移植モデルで移植された臓器の傷害を軽減し、改善効果を示した(*90, *52)。DTCM-glutarimide はマウスにおいて TNBS に誘導される大腸傷害を軽減した(*3)。DTCM-glutarimide と DHMEQ はどちらも TNBS に誘導されるラットの炎症性腸疾患モデルを改善した(*2)。DTCM-glutarimide が apoptosis を誘導する機構解析の過程で、RelB の分解が関与し、新たに caspase-3 が Relb を特異的な配列で切断することを見出した。こうして caspase-3/RelB 切断のアポトーシス誘導 positive feedback 機構が見出された(*10)。

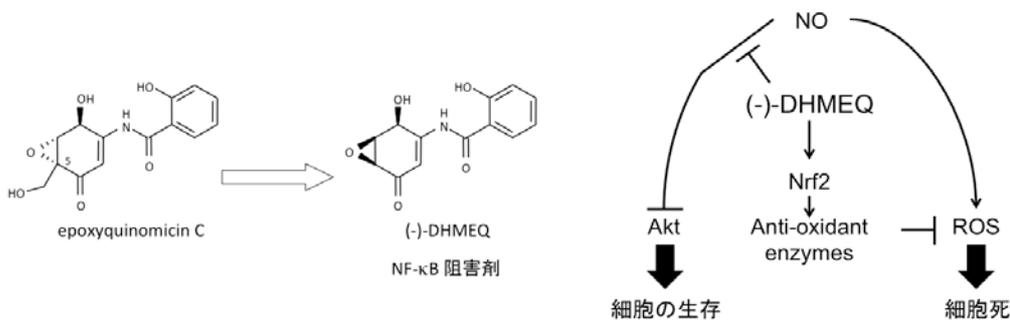


図6 epoxyquinomicin CからDHMEQへの分子デザイン 図7 Min6細胞における(-)-DHMEQ によるNO誘導細胞死の抑制

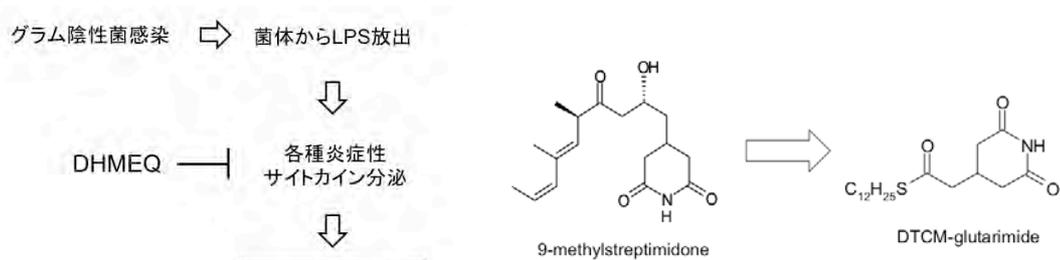


図9 NF-kappa B阻害剤DTCM-glutarimideの分子デザイン

図8 エンドトキシンショックの発生とDHMEQによる抑制

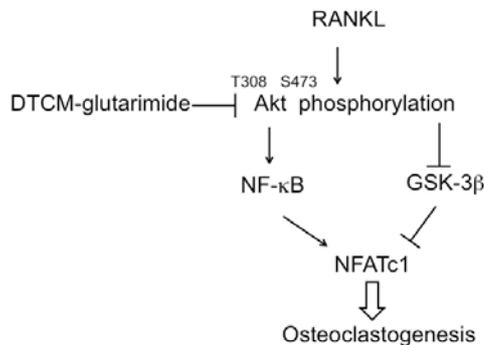


図10 DTCM-glutarimideによる破骨細胞分化抑制の機構

3. NF-kappa B 阻害剤 DHMEQ の安定誘導体 SEMBL の分子デザインと抗炎症作用:

(-)-DHMEQ は非常に特異性の高い NF-kappa B 阻害剤であり、多くの炎症疾患やがんの動物モデルに使われ、毒性を示さず、強力な抑制効果を示す。一方、(-)-DHMEQ は構造に epoxide を有している。(-)-DHMEQ の阻害活性には標的分子の cysteine との共有結合が必要であり、cysteine SHはこの epoxideを親核的に攻撃して結合する。(-)-DHMEQ は標的分子のポケットに入り、特異的な SH とのみ結合できると考えられる。しかし epoxide は一般に広く生体物質と反応することから、その存在は開発の際、敬遠されることがあるため、私たちは epoxide のない(-)-DHMEQ 誘導体の SEMBL を分子デザインして合成した(図 11)。SH 基と結合できる exomethylene carbonyl を epoxide のかわりに導入し、そのほかは(-)-DHMEQ と近い構造を保つように設計した。

生物活性は LPS 刺激マクロファージ様マウス RAW264.7 細胞を用いて評価した。SEMBL は(-)-DHMEQ と同等の濃度で核分画の p65 と kappa B DNA との in vitro 結合を阻害した。培養細胞でも LPS に誘導される NF-kappa B の誘導を阻害した。さらに、LPS に誘導される iNOS 発現/NO 産生、IL-6、IL-1 beta、TNF-alpha の分泌も阻害した(論文準備中)。

卵巣がんは悪性度が高く、しばしば腹腔、肝、肺などに転移する。NF-kappa B は悪制度の高いがん細胞においてしばしば恒常的に活性化されており、それにより抗アポトーシスタンパク質、炎症性サイトカイン、さらに MMP や uPA など転移促進タンパク質の発現が向上する。明細胞卵巣がん細胞 ES-2 における SEMBL による遊走や浸潤の抑制を調べた。浸潤は Matrigel chamber assay で調べ、SEMBL は細胞毒性を示さない濃度で浸潤を抑制した。

SEMBL は(-)-DHMEQ より合成が容易であり、第二世代の DHMEQ として、開発候補物質の可能性はある。

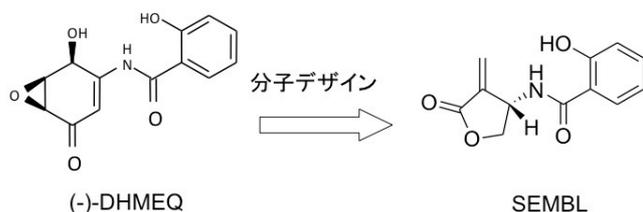


図11 epoxideのないDHMEQ誘導体SEMBLの分子デザイン

4. がん細胞の遊走・浸潤を阻害する微生物由来 migracin の発見と作用機構の解析:

がん細胞の遊走・浸潤を抑制する低分子化合物は新しい転移抑制剤として有用と考えられる。そこで、私たちは wound healing assay を用いて乳がん MDA-MB-231 細胞の遊走を測定し、探索系を構築した。そして阻害物質を約 1500 の微生物株培養液から探索した。その結果、放線菌培養液のひとつに活性を見出し、単離、精製、構造決定を経て2つの新規化合物を発見し、migracin A および B と命名した(図 12)。migracin A および B は MDA-MB-231 細胞のほか、肺腺がん A549 細胞、線維腫 HT1080 細胞においても遊走を阻害した。migracin A と B は同等の阻害活性を示した(*55)。一方、卵巣がんは転移しやすいので致死率が高い。中でも明細胞卵巣がんは比較的、日本人に多く、また、若年層に多い。そこで明細胞卵巣がん細胞 ES-2 における migracin A の遊走や浸潤の抑制を調べた。生存率は MTT により測定し、遊走・浸潤の抑制には毒性のない濃度を用いた。wound healing assay を用いて遊走を調べ、Matrigel chamber を用いて浸潤を調べた。migracin A は細胞毒性を示す濃度より数十倍低い濃度で ES-2 細胞の遊走と浸潤を抑制した。ES-2 細胞遊走の阻害機構を解析したところ、motility array において migracin A は IGF-1 発現を低下させた。IGF-1 および下流シグナルは細胞の遊走・浸潤を活性化させることが知られている。ES 細胞で IGF-1 をノックダウンすると遊走・浸潤能が低下した。migracin A は IGF-1 下流の Akt 活性を低下させた。さらに IGF-1 receptor antagonist と Akt 阻害剤はどちらも遊走を阻害した。ノックダウンまたは阻害剤で処理した細胞に migracin A を加えても、遊走をそれ以上低下させなかった。そこで migracin A による遊走・浸潤阻害は IGF-1 の down-regulation によることがわかった(図 13)。もうひとつの明細胞卵巣がん細胞 JHOC-5 においても同様の結果が得られた。一方、ES-2 細胞の寒天内増殖を阻害しないこと、VEGF に誘導される HUVEC の管腔形成を阻害することがわかった。migracin A は細胞毒性が低く、転移を抑制する新しい分子標的医薬の候補として可能性がある(*8)。

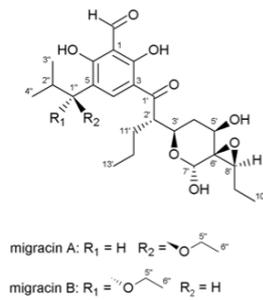


図12 がん細胞の遊走阻害物質として微生物から発見されたmigracin A & B

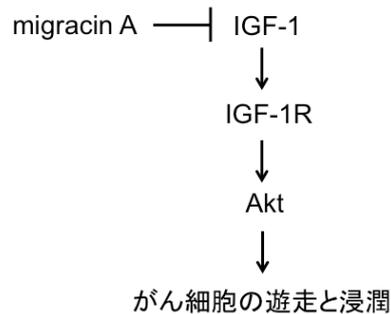


図13 migracin Aによる遊走・浸潤抑制の機構

5. まとめ:

分子標的医薬探索寄附講座は致死性臓器炎症やがんを抑制する低分子化合物の探索および作用機構の解明、さらに発見した化合物を用いて疾患の機構解析を行った。本プロジェクト開始からこれまでに、植物由来低分子化合物の conophylline が代表的な致死性臓器障害である線維化を膵臓(*56)および肝臓(*38)で抑制することを見出した。さらに最近本プロジェクト内の分担研究者との共同研究により、conophylline が肝の脂肪化を抑制することがわかって愛知医科大学から特許を出願した。conophylline が骨破壊につながる破骨細胞の分化を抑制する機構の解析においては本プロジェクトの内の共同研究を行い、論文発表した(*28)。conophylline は神経組織の障害につながる神経変性疾患の細胞モデルも抑制した(*15)。一方、NF-kappa B 阻害剤 DHMEQ に関しては「細胞死の抑制」により膵 beta 細胞の保護効果があること(*47)、皮膚炎症の防御機構を解明し(*13)、in vivo ではエンドトキシンショックをエンドトキシン投与後に投与しても全身性の致死性臓器障害が抑制されることがわかった(*79)。動物実験においては以前の結果に加えて多くの抗炎症・抗がん活性を示し、毒性がないので致死性臓器障害の改善に利用できる可能性がある。DTCM-glutarimide は私たちが分子デザイン・合成した DHMEQ と構造が全く異なる NF-kappa B 阻害剤である。今回、DTCM-glutarimide が破骨細胞の分化を抑制することを見出し、本プロジェクト内の感染・免疫講座と共同で論文発表した(*11)。DHMEQ は現在、軟膏などで開発が進められているが、第2世代の化合物シードとして epoxide のない(-)-DHMEQ 誘導体 SEMBL を分子デザインした。その他、本プロジェクトにおいて放線菌由来新規化合物 migracin を発見し(*55)、がん細胞の遊走・浸潤の機構を明らかにした(*8)。以上およびそのほかの2011年以降の成果は90の英論文に報告した。

エンドトキシンによる臓器障害のメカニズムとその制御

感染・免疫学講座 横地高志

1. センダイウイルスによるエンドトキシン炎症反応の制御:

臨床的なエンドトキシンショックや敗血症ショックは、肺病変を主徴とする呼吸不全が主体である。私達は、この肺傷害のメカニズムを解析し、治療法を開発するために、臨床的な敗血症に近い肺傷害モデルの開発を行ってきた。その結果、マウスを α -galactosylceramide (α -GalCer) で感作した後に、エンドトキシン(リポ多糖体:LPS)を投与すると、他臓器への傷害はほとんど誘導されず、肺に著しい病変が形成される理想的なモデルを作製できた。このモデルを用いて、病態形成のメカニズムを解析したところ、肺に誘導された natural killer T (NKT)細胞から分泌されるインターフェロン γ (IFN- γ) が、肺の血管内皮細胞に vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)発現を誘導するため、counterpart である炎症細胞 VLA-4⁺が肺にリクルートされ蓄積することが明らかになった。この感作状態で、LPS 誘導性の炎症性メディエーターである一酸化窒素(NO)、腫瘍壊死因子(TNF- α)等が存在すると、肺の血管透過性、細胞死が亢進され、著明な肺傷害が生じると考えられた。

この成果から、治療には、IFN- γ 、LPS 誘導性の炎症性メディエーターを標的とすることが有効と考えられた。そこで、肺に特異的に局在し、これらのメディエーターを制御することが期待できる Sendai virus (SeV) 感染の効果を調べた。SeV は、別名 mouse parainfluenza virus type I と呼ばれ、上気道から肺に特異的に感染する。さらに、生体内で効率良く増殖するため、自然免疫の中心的な役割を担うインターフェロン(IFN)やサイトカインのシグナル伝達を阻害するウイルス蛋白質を有する。以上の背景から、LPS 誘導性炎症性メディエーターの阻害を期待して、マクロファージ様細胞株 RAW264.7 細胞を用いて、SeV の LPS 応答への影響を以下の実験を行い治療への応用を検討した。

- 1) 4種類の LPS 応答性メディエーター(NO, HMGB1, TNF-a, IL-6)産生への SeV 感染の影響を検討。
- 2) LPS 応答性メディエーター産生に関わるシグナル伝達経路への SeV 感染の影響を検討
- 3) 責任 SeV 因子の同定

その結果、SeV 感染は、LPS で誘導される NO, HMGB1 産生を有意に抑制したが、TNF- α 、IL-6 産生は抑制しなかった。この抑制は C 蛋白欠損 SeV では認められなかった。この結果から、4種類のメディエーターに共通のシグナル経路ではなく、前二者のメディエーターに共通な経路が標的で、それを C 蛋白質が負に制御していると考えられた。実際、NF- κ B、MAPK 経路には影響がなく、NO, HMGB1 の二次的な増幅に関わる IFN 応答シグナル伝達経路 JAK-STAT の活性化阻害が認められた。この阻害は C 蛋白欠損 SeV では認められな

いことから、C 蛋白質が責任 SeV 因子と考えられた。そこで、C 蛋白質安定発現 RAW 細胞 (RAW-C) を樹立し、C 蛋白質自身の LPS 応答への影響を調べた。予想通り、RAW-C 細胞では LPS に応答して誘導される NO 産生、iNOS 蛋白質が抑制された。さらに、JAK-STAT 阻害能を有しない変異 C 蛋白質 (C_{F170S}) では、NO 産生の抑制ができなくなることから、JAK-STAT を介して NO 産生を抑制することも確かめられた。以上の結果から、SeV の C 蛋白質は、炎症性メディエーターの主要なシグナル伝達経路 NF-κB, MAPK ではなく、二次的に産生増強に関わるシグナル伝達経路 JAK-STAT を抑制して、一部の炎症性メディエーターを抑制すると考えられた。このことは、副作用の低い分子標的治療の点からは有利と考えられた。SeV はウイルスベクターとして、既に治療にも使用されており、より低病原性のウイルス株を使用すれば、エンドトキシンショックの治療に応用可能と考えられた。

2. 抗精神薬バルプロ酸によるエンドトキシン炎症反応の制御:

抗精神薬のバルプロ酸 VPA はてんかん薬として広く使われている。今回、リポ多糖 LPS の炎症反応に対する VPA の効果をマウスマクロファージ RAW264.7 を用いて調べた。VPA は LPS による PI3(phosphatidylinositol 3)キナーゼや Akt のリン酸化を抑制したが、NF-κB や MAP(mitogen-activated protein)キナーゼのリン酸化は抑制しなかった。VPA はユビキチンリガーゼである MDM-2(Mouse double minute 2 homolog)のリン酸化を減少させ、LPS による p53 の分解を阻止し、p53 の発現を増強したこの結果は、p53 の siRNA を用いた実験によって、VPA の LPS による NF-κB p65 の活性化の阻止効果を減少させること、更に、VPA の LPS による TNF-alpha や IL-6 の産生減少を阻止することからも支持された。更に、VPA は LPS による PTEN(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten)の分解を阻止し、PTEN の発現を上昇させた。つまり、VPA は PI3 キナーゼ/Akt/MDM-2 経路活性と p53 の発現上昇を介して、LPS による NF-κB 依存性の転写活性を負に制御すると考えられた。このように LPS による炎症反応の VPA による新たな治療の可能性とそのメカニズムを明らかにした。

中枢神経系疾患モデルにおける WDR35/naofen 発現に關与する

細胞内シグナル伝達経路の解析

薬理学講座 石川直久・馮国剛・岡田尚志郎

我々は、WD 40 repeat を含有するタンパク質(WDR)の一種であるラット WDR35/naofen 遺伝子をクローニングし、その機能解析を行ってきた。その過程で、臓器傷害モデルである CCl₄およびLPSによる肝傷害モデルラットやストレプトゾシンによる糖尿病モデルラットにおける WDR35 の発現増加が、アポトーシス誘導に關連する可能性のあることを報告してきた。しかし、これらの病態モデルに共通する WDR35 の発現に關与する細胞内シグナル伝達経路について、詳細は不明である。本研究は、中枢神経系疾患モデルにおける WDR35 発現に關与するシグナル伝達経路を【1】*in vivo* 実験系および【2】*in vitro* 実験系を用いて薬理的に明らかにすることを目的とする。得られた実験成績は、認知症などをはじめとする中枢神経変性疾患の発症機序の解明および新たな治療法への開発へ繋がることが期待される。

1. *in vivo* 実験系

ドウモイ酸(DA)は、一過性健忘をきたすカイニン酸 (KA) 類似の興奮性アミノ酸であり、グルタミン酸受容体の活性化を介して、特に海馬において神経細胞死を引き起こすと推測されている。近年、*in vitro* の実験系において DA は活性酸素(ROS)産生を誘発し、p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) p38MAPK の活性化を介してアポトーシスを誘導することが報告されているが、*in vivo* における ROS、p38 MAPK の關与については未だ明らかではない。そこで本研究では、*in vivo* 投与した DA による海馬の神経細胞傷害に、グルタミン酸受容体、ROS、p38 MAPK および WDR35 が關与するか否かを検証するために、以下の実験を行った。DA をラットに腹腔内投与後、ラット全脳における DA の同定・定量、海馬における組織学的および生化学的解析を行った。LC-MS/MS によりドウモイ酸の脳内分布を同定した。その濃度は約 20 pmol/g tissue であり、先行研究における脳内濃度と同程度であった。海馬の組織学的解析において、腹腔内に投与した DA は、海馬の CA1 領域におけるアポトーシスを含む神経変性所見と WDR35 の発現増強を引き起こした。生化学的解析においても、DA は海馬における WDR35 の mRNA およびタンパク質発現を用量および時間依存的に増加させた。グルタミン酸受容体拮抗薬の前投与実験において、NBQX (AMPA/KA 受容体拮抗薬)の前投与は、DA によって増加した WDR35 のタンパク質発現を有意に減少させたが、MK-801 (NMDA 受容体拮抗薬)の前投与は有意な変化を認めなかった。さらに NBQX の前投与およびラジカルスカベンジャーであるエダラボンの前投与は、DA によって亢進した p38 MAPK のリン酸化を有意に減少させた。以上の実験成績から、DA は *in vivo* で AMPA/KA 受容体を活性化し、ROS の産生および p38 MAPK のリン酸化を亢進させ、WDR35 の発現の

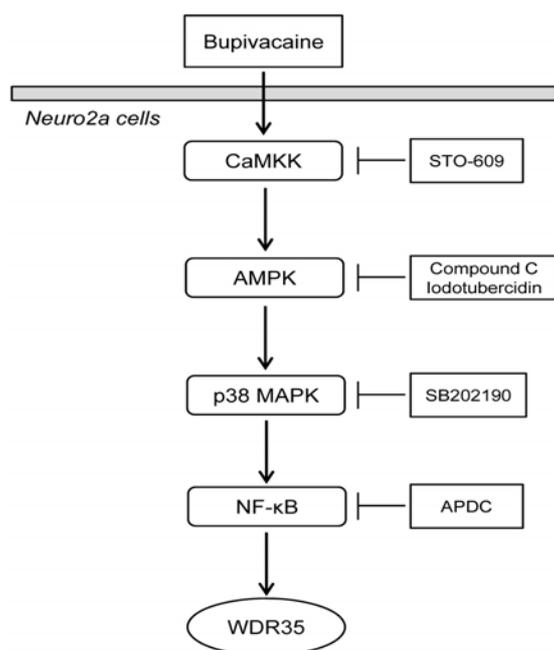
増加をもたらすことが明らかとなった。さらに既に報告した肝臓や腎臓の病態においても、ROS 産生および p38 MAPK のリン酸化亢進によって WDR35 の発現が増加すると予想された。

2. *in vitro* 実験系

Bupivacaine はナトリウムチャンネル阻害薬であり、局所麻酔薬として広く臨床応用されている。最近、Bupivacaine が ROS 産生および p38 MAPK のリン酸化亢進によって神経細胞にアポトーシスを誘導し、神経障害を引き起こす可能性が示唆された。そこで本研究では、マウス neuroblastoma 由来の Neuro2a 細胞を Bupivacaine で処理し、同細胞にアポトーシスが誘導されるか否か、さらにその過程に ROS 産生、p38 MAPK および WDR35 発現が関与するか否かを薬理的に検証した。Bupivacaine は Neuro2a 細胞において、ROS 産生および p38 MAPK のリン酸化を亢進し、アポトーシスを誘導した。同時に WDR35 発現を用量 (0 ~ 2mM) および時間 (0 ~ 9 時間) 依存的に増加させた。Neuro2a 細胞を Bupivacaine の代わりに H₂O₂ で処理しても WDR35 発現は同様に増加した。Bupivacaine および H₂O₂ によって増加した caspase-3 活性、細胞死および WDR35 発現は、EUK-8 (抗酸化薬) および SB202190 (p38 MAPK 阻害薬) の前処置によって有意に抑制された。しかし WDR35 siRNA は Bupivacaine および H₂O₂ によって増加した WDR35 発現を有意に抑制したが、caspase-3 活性は抑制されなかった。以上の実験成績から、Bupivacaine は Neuro2a 細胞において、ROS 産生および p38 MAPK のリン酸化を亢進することによって、WDR35 発現を増加させることが明らかとなった。しかし、既報の実験成績とは異なり、本実験系では、アポトーシス誘導に WDR35 発現が必須ではないことが示唆された。

そこで、WDR35 の生理機能を明らかにするために、WDR35 発現に関与するシグナル伝達系をさらに詳細に検討した。ROS 産生によって活性化した p38 MAPK が、転写因子である nuclear factor-kappa B (NF- κ B) および activator protein -1 (c-Jun/AP-1) を活性化することは既に知られている。そこで本研究では、これら転写因子が Bupivacaine 処理した Neuro2a 細胞における WDR35 発現に関与するか否かを薬理的に検証した。Bupivacaine は Neuro2a 細胞における NF- κ B および c-Jun を活性化させた。APDC (NF- κ B 阻害薬) は NF- κ B 活性および WDR35 発現増加を有意に抑制した。これに対して、GW9662 (選択的 peroxisome proliferator-activated receptor- γ antagonist) は、NF- κ B 活性および WDR35 発現増加を増強した。一方、c-Jun siRNA は、WDR35 発現増加を抑制しなかった。これらの実験成績から、Bupivacaine は Neuro2a 細胞において、NF- κ B および c-Jun/AP-1 を活性化させ、NF- κ B 活性化が WDR35 発現に関与することが示唆された。

ここまでの実験成績から、Bupivacaine は Neuro2a 細胞において、ROS 産生、p38MAPK 活性化および NF- κ B 活性によって WDR35 発現を増加させることが明らかになったが、WDR35 発現に関与する p38 MAPK 上流のシグナル伝達経路については不明である。そこで、p38MAPK より上流のシグナル伝達経路について、AMP-activated protein kinase (AMPK) および Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase kinase (CaMKK)との関連で、薬理的に検証を進めた。Bupivacaine は Neuro2a 細胞において、AMPK および p38MAPK を活性化させた。Compound C および iodosulfone (AMPK 阻害薬)は、Bupivacaine による AMPK および p38MAPK 活性化を有意に抑制し、WDR35 発現増加を抑制した。STO-609 (CaMKK 阻害薬)もまた、AMPK、p38MAPK 活性化および WDR35 発現を有意に抑制した。これらの実験成績から、Bupivacaine は、Neuro2a 細胞において CaMKK 活性化を介して AMPK および p38MAPK を活性化すること、さらに CaMKK/AMPK/p38MAPK シグナル伝達経路が WDR35 発現に関与することが明らかとなった(下図)。



コノフィリンによる肝脂肪化抑制とそのメカニズムに関する検討

内科学講座・肝胆膵内科 米田政志

メタボリックシンドロームの肝での表現型である脂肪肝は近年増加し社会問題となっている。なかでも非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) は飲酒歴がないにもかかわらず脂肪肝から肝硬変へ進行し、肝発癌をきたしてくる疾患として注目されているがその原因や治療法は確立していない。私たちは 1995 年よりいち早く NASH に注目し、その治療法について研究を行ってきた。これまでに抗酸化剤である α -tocopherol が NASH に有効であることを報告し (Aliment Pharmacol Ther. 2001 Oct;15(10):1667-72.)、その後の randomized スタディーでその有効性が証明された (N Engl J Med. 2010 May 6;362(18):1675-85.)。さらに高血圧合併の NASH に対して、肝線維化における肝星細胞の中心的な役割に着目し、肝星細胞の活性化を抑制するアンジオテンシン II 受容体阻害剤 (losartan) が NASH における肝線維化および炎症を軽減させることを報告してきた (Hepatology. 2004 Nov;40(5):1222-5.)。動物実験においてはアンジオテンシン II 受容体阻害剤の一つである telmisartan (2 mg/kg) をラット NASH 肝線維化、肝硬変発癌モデルに適用したところ肝線維化の進展および肝発癌抑制しうることをつきとめた (J Gastroenterol. 2013 Apr;48(4):491-503.)。

一方、タイのキョウチクトウ科植物 *Ervatamia microphylla* の葉から抽出した conophylline は膵 β 細胞の分化を促進することが報告されている (Int J Biochem Cell Biol. 2006; 38(5-6):923-30.)。ヒト 2 型糖尿病ラットモデルでは膵島の線維化がみられ、本ラットにおける膵島の線維化が conophylline 投与により顕著に抑制されることが報告されている (Endocrinology. 2012 Feb; 153(2):621-30.)。さらに肝においては、実験的肝硬変モデルにおいて conophylline は肝線維化抑制を示すことが報告された (Liver Int. 2014 Aug; 34(7):1057-67)。以上の背景を踏まえ、conophylline が脂肪肝から肝線維化を来たす NASH に有効であるか、とくに肝線維化を抑制するか否かを検討するため以下の実験を行った。糖尿病モデルマウスである 10 週齢 *dbdb* マウスを用いて、NASH は Methionine choline deficient (MCD) diet を用いたモデルを作成し、コノフィリンを (1 μ g/g/day) の経口投与を行った。MCD diet は肥満を伴わないが、病理学的に肝脂肪化、肝炎症細胞浸潤、肝細胞の風船様膨化を認め進行すると肝線維化より肝硬変にいたり、比較的早く肝脂肪化から肝炎症、線維化へ進展するモデルとして知られている。コントロール群、MCD diet 群、MCD diet + conophylline 群の 3 群にわけて、摂食開始より 8 週で犠死させ、血液、肝を取り出し各種パラメータを比較した。MCD diet 群と MCD diet + conophylline 群を比較したところ摂食量および体重は著変なかった。肝組織学的検討を行ったところ、コントロール群では肝脂肪化はなかったが、MCD diet 群では著明な肝脂肪化を認めた。(図 1) MCD diet + conophylline 群は

MCD diet 群に比べ著明に肝脂肪化は減少していた。Oil Red O 染色にて肝脂肪化を定量し比較したところ、MCD diet 群はコントロール群に比し著明に肝脂肪化は増加したが、MCD diet + conophylline 群においては顕著に肝脂肪化が軽減した。肝中性脂肪量を定量したところ、MCD diet 群ではコントロール群に比べ著明に肝中性脂肪量は増加したが、MCD diet + conophylline 群において著明に肝中性脂肪量は減少した(図 1)。また MCD diet により増加した血清 ALT 値は MCD diet + conophylline 群において有意に低下した。さらにシリウスレッド染色による肝線維化を評価したところ、MCD diet 群で増加した肝線維化は MCD diet + conophylline 群において減少した。

次に肝脂肪化に関連する遺伝子の変化を Real time PCR で検討したところ、脂質代謝全般に関与する PPAR α mRNA は MCD diet によりコントロールに比べ低下傾向を示したが MCD diet + conophylline 群では増加し(図 2)、 β 酸化に関わる ACOX1 mRNA の発現は MCD diet により低下したが、MCD diet + conophylline 群で増加した。さらに肝細胞での脂質合成に関わる SREBP1c mRNA の発現は MCD diet で著変なかったが MCD diet + conophylline 群で変化をみとめなかった。肝内で脂質輸送に関わる FABP mRNA および肝外への脂質排出に関わる MTP mRNA 発現は MCD diet + conophylline 群によって有意に上昇していた(図 2)。肝線維化に関わる遺伝子に関しては、MCD diet により TGF- β および TIMP-1 mRNA の発現が増加したが、MCD diet + conophylline 群ではいずれの遺伝子発現も低下していた。

以上のことから conophylline は MCD 誘発 NASH モデルにおいて、PPAR α の活性化、 β 酸化の亢進および肝脂質輸送を促進し肝脂肪化および肝線維化を抑制する可能性が示唆された。conophylline は本モデルにおいては肝線維化を発症する前の肝脂肪蓄積の段階で肝脂肪化を抑制することがわかり、脂肪肝に対する有効な治療薬になりうる可能性があると考えられた。現在本研究結果は 2014 年 12 月に特許出願を行っている。

上記のごとく病理学的 NASH モデルにおいて conophylline は肝脂肪化を改善する作用があることが見いだされたことから、次に高脂肪食モデルにて以下の実験を進行中である。5 週齢雄性 BALB/cAJel マウスを用いて、コントロール食群、高脂肪食群、高脂肪食 + conophylline 群の 3 群にわけ、摂食開始より 9 週目で擬死させ、各種パラメータを検討した。Conophylline は経口投与にて 1 μ g/g/day の用量で与え、体重の変化および摂食量を観察した。高脂肪食群においては、体重はコントロールに比べ増加したが、高脂肪食 + conophylline 群において体重は有意な変化はなく、また摂食量に関しても高脂肪食群と高脂肪食 + conophylline 群の間では有意な変化をみとめなかった。さらに高脂肪食により増加した肝脂肪沈着は高脂肪食 + conophylline 群において減少し、また肝中性脂肪に関しても同様に高脂肪食 + conophylline 群において減少していた。このように高脂肪食モデルにおいても肝脂肪沈着は

conophylline の投与によって軽減したことから、現在その機序について探索中で、conophylline が肝脂肪化抑制剤として使用できるか現在研究を継続している。

副腎皮質ステロイドによる抗炎症作用の変曲現象と遺伝子多型による制御

内科学講座 呼吸器・アレルギー内科 山口悦郎

1. IL-8 の変曲現象

重篤で潜在的に致死的な肺傷害を基盤とする呼吸器疾患の代表は、成人呼吸促迫症候群と特発性肺線維症の急性増悪である。その際には全身的副腎皮質ステロイドを使用することが多いが、その効果は一律ではなく、また至適用量に関する検討も不十分である。そこでヒト末梢血単核球のサイトカイン産生に及ぼす、メチルプレドニゾン(mPL)の影響を検討した。

健常者 53 名から末梢血単核球を分離し、抗 CD3 抗体被覆プレート上で可溶性の抗 CD28 抗体共存下、種々の濃度の mPL 存在下で 48 時間培養し、培養上清中の各種サイトカイン濃度を測定した。その結果、IL-1 β 、IL-2、IL-6、IL-10、TNF- α 、TNF- β 、IFN- γ については、mPL を 62.5 ng/ml、125 ng/ml、250 ng/ml、500 ng/ml、1000 ng/ml と濃度を上昇させるに伴い、一貫して産生抑制が観察された。しかし

IL-8 は全体として 62.5 ng/ml、125 ng/ml、250 ng/ml で mPL 無添加よりも濃度が上昇し、125 ng/ml がもっとも高かった(図1)。最大の濃度上昇を示したのは、mPL 濃度 62.5 ng/ml、125 ng/ml、250 ng/ml、500 ng/ml 各濃度でそれぞれ 13 名(26%)、23 名(47%)、16 名(25%)、1 名(2%)であった。(1000 ng/ml で濃度ピークを示した個体は認めず)

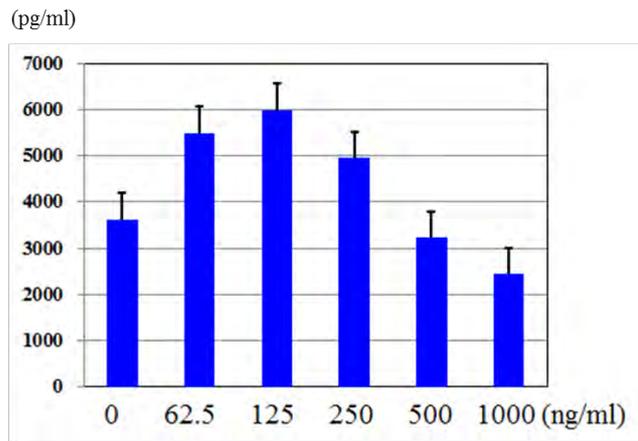


図1. 末梢血単核球の *in vitro* IL-8産生とメチルプレドニゾン濃度

以上のように mPL は末梢血単核球の

IL-8 産生をある濃度範囲では促進させるが、さらに濃度が上昇すると抑制に変わり作用の反転がみられ、我々はそれ変曲現象と呼ぶことにする。その機序を明らかにするために、まず IL-8 mRNA 発現を RT-PCR や microarray 法で検討したが、mPL 濃度上昇に伴い一貫して抑制されていた(データ非提示)。したがって、mPL の一定濃度範囲における産生増強は新たな IL-8 遺伝子発現と蛋白合成によるものではないことが判明した。次に上記測定系における mPL による生細胞数への影響を、NADH 産生量依存的に発色する WST-8 を用いて評価したが、有意な関連は認めなかった(非提示)。また IL-8 の産生を促進すると言われる培養上清中の IL-17AF 濃度を測定したが、それと上記の現象との相関も認められなかった(非提示)。またステロイド反応性との相関が報告されている rs37972 の遺伝子型とも相関しなかった(非提示)。

一般に細胞内の粗面小胞体で産生されたサイトカインなどの分泌蛋白は、ゴルジ体へと輸送され糖鎖が付加される。その輸送を阻害する化合物として brefeldin A がある。上記培養系に brefeldin A を添加して、IL-8 の産生量を測定すると、mPL 62.5 ng/ml ないし 125 ng/ml での変曲現象はほぼ消失していた(図2)。したがって変曲現象の機序の少なくとも一部には、粗面小胞体からゴルジ体への蛋白輸送の亢進があると考えられた。さらにその詳細な機序については今後の検討課題である。

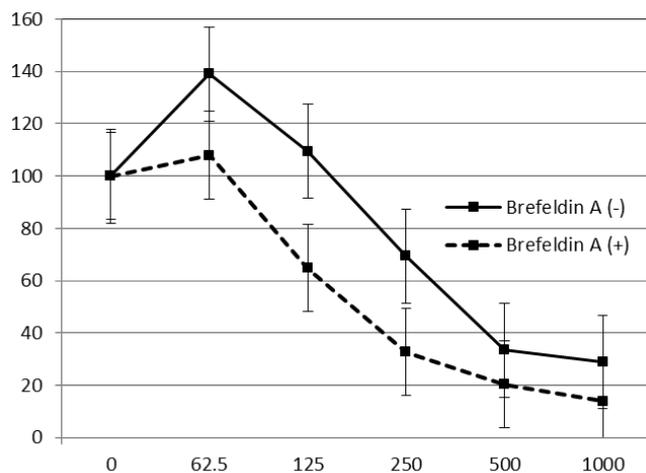


図2. Brefeldin A添加によるIL-8産生量の比較(平均±標準誤差)メチルプレドニゾン(mPL)無添加濃度を100%とした相対比率を示す。

2. IL-5 産生と glucocorticoid-induced transcript 1 (GLCCI1)遺伝子多型

2011年に喘息患者における吸入ステロイドの効果が、*GLCCI1*の rs37972によって大きく影響されるとの報告が Tantisiraらによってなされた(N Engl J Med. 2011. 365 (13):1173-83)。喘息の基本病態は主に Th2 サイトカインによる I 型の気道アレルギーであるが、難治性喘息では IFN- γ の役割も指摘されて (ng/ml)

いる。したがって特定のサイトカインに限定せずに、上述の培養系で産生される多数のサイトカインについて、各個体の mPL 添加による 50% 阻害濃度(IC50)を求めた。図3に示すように IC50 はサイトカインによって大きく異なり、また個人差もあった。IL-4 や IL-5 といった Th2 サイトカインはそれが低く、IFN- γ や Th2 などの Th1 サイトカインは高い傾向があり、一般に I 型アレルギー疾患では副腎皮質ステロイドが奏効する事実

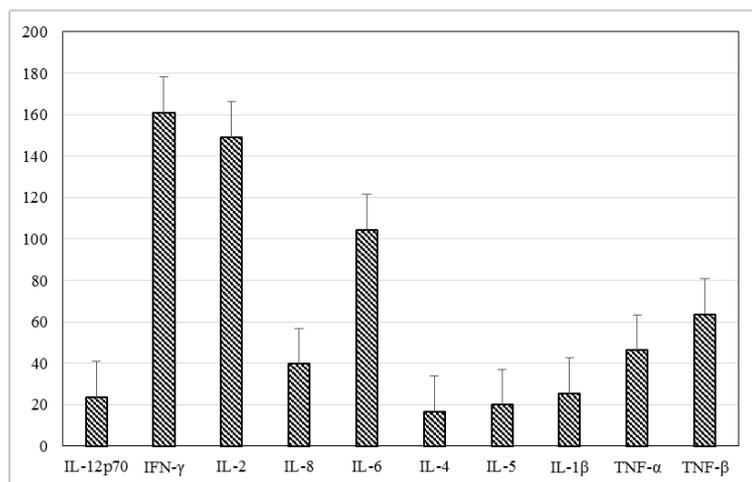


図3. 各サイトカイン産生に対するメチルプレドニゾンのIC50 (平均+標準誤差)

符合すると考えられた。次にIC50と *GLCC11* rs37972との相関を検討したところ、IL-5のIC50のみと有意な相関を認めた(図4)。しかしその影響は先の Tantisira らの報告とは逆で、アレルGでIC50が高い、すなわち mPL の効果が弱いという結果であった。これが副腎皮質ステロイドの種類の違いによるのか、あるいは作用の場、すなわち様々なサイトカインがすべて混在する *in vitro* 培養系と限られたサイトカインが存在するであろう喘息患者の気道組織との違いを反映するのか現在のところは不明である。先の報告で示されたIL-5の転写活性に及ぼすrs37972の各アレルの作用に関する確認実験を含めて、再検討が必要であろう。

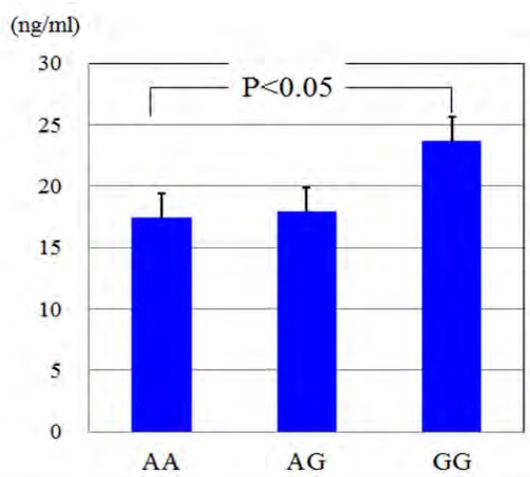


図4. IL-5のIC50とIC50と *GLCC11* rs37972の相関

炎症性眼疾患から眼を守る！

眼科学講座 雑喉正泰

眼内の炎症性疾患は一般に「ぶどう膜炎」と呼ばれることが多い。日本では、ベーチェット病、Vogt-Koyanagi-Harada disease、サルコイドーシスが、ぶどう膜炎の3大原因とされている。しかし、厳密に言えば、眼内の多くの疾患において眼内の炎症が認められる。このことから、眼内の炎症を抑制することは、眼疾患の治療に貢献しうるものと私はこれまで考えてきた。その実践を以下のいくつかのプロジェクトにおいて試みた。

ベーチェット病を炎症のモデルとみなして、臨床的な視点から研究を行った。我々は以前に「抗 TNF- α 製剤である infliximab の体内濃度が高い時期がベーチェット病による眼発作への予防効果が高く、安全といえる」との仮説を基礎研究データから報告した(Li et al., 2010)。ベーチェット病患者の白内障手術の事例において、この仮説の妥当性を示した(Handa et al., 2011)。さらにベーチェット病患者の難治性緑内障手術症例においても、本仮説の妥当性を示した(Koike et al., 2012)。

さらに、ベーチェット病でしばしば見られる前部ぶどう膜炎に注目して研究を進めた。血液房水関門を構築する毛様体無色素上皮細胞では、投与された TNF- α の濃度依存的に MMP-1、MMP-3、MMP-9 の発現が促進される。そして、この病的な MMP の発現の増加は infliximab により抑制される。さらに MMP-1、MMP-3、MMP-9 が、毛様体無色素上皮間のタイトジャンクションの構成分子である claudin と occludin を分解することを示した。そして、この分解が細胞透過性を亢進させるであろう事を *in vitro* 系の実験システムを用いて示した。一連の研究は、TNF- α による前部ぶどう膜炎発症と infliximab による治療をシミュレーションするものとする (Yamada et al., 2013)。一方で、臨床研究において、前部ぶどう膜炎に対しては、1日1回のベタメサゾン点眼のレスポナーならびに炎症抑制に関してのレトロスペクティブな解析を行った(Kawamura and Zako, 2014)。その結果として、1日1回のベタメサゾン点眼は、副腎皮質ステロイドとしての副作用の発現頻度は極めてまれである一方で、ぶどう膜炎発症の予防効果がある可能性を示す事ができた。この結果は、現在の私のぶどう膜炎診療において有効に活用されている。

日本のぶどう膜炎のもう一つの原因とされる Vogt-Koyanagi-Harada disease は、一般には病気が発見され次第に副腎皮質ステロイドの大量全身投与にて治療を開始する。ところが、副腎皮質ステロイドの大量全身投与は、妊娠期間中では胎児死亡などのリスクを伴うことが知られている。今回、副腎皮質ステロイドの全身投与を実施することなく、発症から19日という世界最短期間で完全寛解に至る症例を経験した(Sugita et al., 2015)。本症例から、妊娠が Vogt-Koyanagi-Harada disease に対して治療という視点で有利に働く可能性が示唆された。

加齢黄斑変性は、脈絡膜や網膜色素上皮が病的に発現する VEGF-A により、網膜下に炎症を伴う新生血管を生じ、最終的に視機能障害に至る疾患である。日本人の 1.3%にみられる。現在、抗 VEGF 抗体の硝子体注入が主な治療法となっている。以前より、硝子体切除術を実施した患者で加齢黄斑変性の予後が良いとの意見があったが、その機序の詳細は不明とされた。硝子体手術を実施した眼内では、対流効率が良くなり、網膜色素上皮の温度が下がる傾向がある。我々は、温度の低下に伴い、網膜色素上皮が産生する VEGF-A の発現量に減少がみられることを報告した (Takeyama et al., 2015)。これらの事が、加齢黄斑変性が硝子体手術により、その進行が抑制されることの根拠になり得ることを示した。さらに興味深いことに、加齢黄斑変性に対して抗 VEGF 剤が硝子体中に投与されるが、硝子体切除術後の眼においては抗 VEGF 剤の薬効の持続期間が短い傾向にあることが以前より知られていた。これに関して、ヒアルロン酸と抗 VEGF 剤のアフィニティーによる影響の可能性を示した (Sugita et al., 2013)。硝子体切除術後眼においては抗 VEGF 剤の薬効持続期間が短いことのメカニズム解明に役立った。

毛様体無色素上皮に存在する Fibrillin-Versican-Hyaluronan (FiVerHy) (Ohno-Jinno et al., 2008) は血液房水関門の構築に不可欠である。Versican はコンドロイチン硫酸プロテオグリカンであることから、毛様体無色素上皮においては、ヒアルロン酸とコンドロイチン硫酸の共存には生物学的な意義があるものと考えていた。*in vitro* 系の実験システムを用いて、ヒアルロン酸とコンドロイチン硫酸の流速に与える影響について研究を行い、これを報告した (Mizutani et al., 2015)。眼内の圧力、すなわち眼圧が高いと緑内障という疾患を発症する。FiVerHy は眼圧の決定因子であるとの仮説をたてていた。この仮説を支持するデータとして、代表的な緑内障治療薬として知られるラタノプロストには、毛様体無色素上皮において MMP-3 の発現を促進させ、FiVerHy の分解を促す作用がある事が示された (Yamada et al., *in preparation*)。

NF- κ B inhibitor である Dehydroxymethylepoxyquinomicin (DHMEQ) には、上記 *in vitro* 系のアッセイシステムを用いて、抗 TNF- α 様作用を確認しており、infiximab の効果との差を現在は比較検討中である。

アクアポリン4抗体陽性視神経炎に対する治療を報告した (Kawamura and Zako, 2013)。

本研究助成のお陰をもちまして、様々な視点から「炎症性眼疾患から眼を守る」についての研究を遂行することができました。感謝の意を表します。今後も臨床に役立つ研究をさらに実現してゆければと願っております。

ヒト細胞遺伝子改変法を用いた *Kras* 変異癌の分子標的治療法の探索

生化学講座 小西裕之、シバスンダラン・カルナン

肺癌、特に肺腺癌では *KRAS* 癌遺伝子に高頻度の活性化変異を認める。したがって、活性化変異 *KRAS* タンパク質の生理活性を特異的に阻害する化合物は有望な抗癌医薬シーズの候補になりうる。しかし、*KRAS* タンパク質に対する特異的阻害剤の合成は困難とされ、明確な臨床的効果を持つ *KRAS* 阻害剤は未だ見出されていない。本研究では、変異 *KRAS* タンパク質自身を標的とする代わりに、*KRAS* 遺伝子に変異した細胞内環境でのみ毒性を発揮する(*KRAS* 変異と合成致死性を持つ)化合物の同定を目指す方針とした。そこでまず、アデノ随伴ウイルスベクターを用いた遺伝子ターゲティングにより、非癌ヒト気管支上皮細胞株 NuLi-1 の内在性 *KRAS* 遺伝子に癌原性 *KRAS*^{G12V} 変異を導入(ノックイン)し、クローンを単離した。これにより、*KRAS* 活性化変異の有無を理論上唯一の違いとする細胞クローンのペアを作成した。

NuLi-1 細胞株は気管支上皮に由来し、上皮細胞の特徴である敷石状の外観を示す。しかし作成した *KRAS* 変異ノックインクローンは、細長い紡錘形の形状を呈し、隣接する細胞との接着は疎になっていた。また、同クローンは *KRAS* 下流シグナル伝達分子 ERK の過剰リン酸化、サイクリン D1 の発現亢進、軟寒天培地での足場非依存性コロニー形成能の獲得など、細胞の形質転換の徴候を示した。さらに、近年 *KRAS* 経路の活性化が細胞の間質浸潤能を誘導することが報告されているが、本研究の *KRAS* 変異ノックインクローンも細胞運動能およびマトリゲル浸潤能の亢進を示した。以上のことから、本研究で作成した *KRAS* 変異ノックインクローンと対照クローンのペアは、*KRAS* 変異細胞に選択的な増殖阻害剤を探索するスクリーニングの基盤として適切であると考えられた。

そこで本研究では、作成したクローンペアの細胞増殖速度を指標として、抗癌剤や分子標的阻害剤などからなる低分子化合物ライブラリーのスクリーニングを行い、*KRAS* 変異クローン特異的に細胞死誘導・増殖抑制効果をもたらす化合物を探索した。このアッセイにはそれぞれ 3 個ずつの *KRAS* 変異ノックインクローンと対照クローンを使用し、対照クローンに比べて *KRAS* 変異ノックインクローンの増殖を有意に ($p < 0.05$) 強く抑制する薬剤を陽性とした。その結果、6 種類の薬剤が陽性と判定され、そのうち 3 種類はシグナル伝達経路

PI3K-AKT-mTOR の阻害剤 (everolimus、rapamycin、および temsirolimus) であった。3 種類の PI3K-AKT-mTOR 阻害剤の中で、everolimus は *KRAS* 変異ノックインクローンに対して最も強い増殖抑制効果を示した。また everolimus は、濃度 0.1 μM ~ 10 μM の間で濃度依存的に *KRAS* 変異ノックインクローンに対する選択的増殖抑制作用を示した。さらに AKT inhibitor IV による細胞増殖抑制効果は、*KRAS* 変異ノックインクローンと対照クローンの間で有意差はな

かったものの、その平均値の差はライブラリーに含まれる薬剤の中で最大であった。一方、興味深いことに、KRAS 下流シグナル伝達経路の中で最も重要と目される RAF-MEK-ERK 経路の阻害剤は、上記の化合物スクリーニングの結果いずれも陰性であった。

PI3K-AKT-mTOR 経路の阻害が KRAS 変異ノックインクロンの増殖抑制に特に有効である理由を調べるため、次に mTOR 阻害剤を作用させた後の PI3K および MEK タンパク質の酵素活性を評価した。まず細胞クローンペアに everolimus を添加した後、PI3K および MEK の基質である AKT および ERK タンパク質のリン酸化をウェスタンブロットによって定量的に解析した。その結果、KRAS 変異ノックインクロン、対照クローンのどちらにおいても everolimus 添加による上記の両タンパク質のリン酸化は上方制御されていた。このことから、everolimus の作用に起因するネガティブ・フィードバックの存在が示唆された。

次に、ネガティブ・フィードバックにより活性化された分子の阻害剤と mTOR 阻害剤との併用が KRAS 変異ノックインクロンの増殖をより強力に抑制する可能性を検討した。まず everolimus と MEK 阻害剤 U0126 を細胞クローンペアに同時に添加して増殖速度を比較した。その結果、U0126 濃度が 1.0 μ M および 3.0 μ M のどちらの条件においても、2 剤併用による KRAS 変異ノックインクロンの増殖抑制効果は、everolimus 単独または U0126 単独の添加の場合よりも増強しており、かつ対照クローンに対する増殖抑制効果より有意に大きかった。一方、mTOR 阻害剤 everolimus と PI3K 阻害剤 LY294002 を併用したところ、KRAS 変異ノックインクロンと対照クローンに対する増殖抑制効果に違いを認めず、everolimus 単剤で見られた KRAS 変異ノックインクロン選択的な増殖抑制効果は消失していた。このことから、PI3K-AKT-mTOR 経路を 2 剤併用によって強力に阻害することは、KRAS 変異ノックインクロンの選択的増殖抑制に有効ではないことが示唆された。

以上のように、本研究ではまず、ヒト気管支上皮細胞株 NuLi-1 に由来する KRAS^{G12V} 変異ノックインクロンと KRAS が野生型に留まる対照クローンのペアを作成した。同クローンペアを基盤として化合物スクリーニングを行った結果、PI3K-AKT-mTOR 経路の阻害が KRAS 変異ノックインクロンの選択的な増殖抑制に有効であることが示唆された。mTOR 阻害剤 everolimus による同クローンの選択的増殖抑制は、ネガティブ・フィードバックによると思われる RAF-MEK-ERK 経路の活性化を抑制することにより一層増強された。本研究の結果は、KRAS 変異肺癌に対する新たな併用療法の開発に向けて有効な手がかりを与えるものであり、今後さらに詳細な検討を加える必要がある。

がんの新たな治療戦略

生化学講座 細川好孝、太田明伸

口腔扁平上皮癌細胞における新規併用療法の開発と作用機序の解析：口腔扁平上皮癌は、全頭頸部癌の約半数を占め、口腔癌の中で最も発生頻度の高い予後不良疾患である。近年、機器の進歩や外科的切除・化学療法・放射線療法を組み合わせた三種併用療法によって、口腔癌の治療成績は飛躍的に向上した。しかしながら、再発・転移症例に対する十分な治療法は未だ確立されておらず、難治性の口腔癌に対する新たな治療薬や治療戦略が切望されている。そこで我々は、口腔扁平上皮癌に対する新たな治療戦略を提供するために、口腔扁平上皮癌細胞株（以下 OSCC 細胞株）を利用して近年注目されている抗がん剤である三酸化ヒ素（以下 ATO）および天然抗がん物質プランバギンに着目し、以下の研究を行った。

- i) **三酸化ヒ素とシスプラチン（CDDP）による新規併用療法の開発**：ATO は、難治性 APL の治療薬として確立しており、現在固形がんへの臨床応用も検討されている有望な薬剤である。我々は、ATO と CDDP の併用療法（以下 ATO/CDDP 療法）が OSCC 細胞株に対して相乗的な細胞増殖抑制効果を示すことを見出した。また、薬剤低減化インデックスの解析から ATO/CDDP 療法は CDDP 投与量を最大で 80%低減化できる可能性が示された。さらに、本併用療法による細胞死の作用機序として、細胞内における過剰な活性酸素産生の誘導によるアポトーシスが密接に関与することを明らかにし報告した。cDNA マイクロアレイ法を用いて、ATO/CDDP 療法の作用機構を分子レベルで解析した結果、細胞生存に関わる *AKT* (Protein kinase B) や *STAT* (Signal Transducers and Activator of Transcription) などの遺伝子発現が顕著に減少することを確認した。 ([Nakaoka et al, 2014](#))
- ii) **天然抗がん物質の増殖抑制効果とその作用機序の解析**：プランバギン (Plumbagin、以下 PL) は、ナフトキノン構造を有する天然物質で、薬用植物であるルリマツリ属の根に存在する。これまでに肺癌や膵臓癌細胞に対する高い抗腫瘍効果が報告されている。我々は、PL が 5 種類の OSCC 細胞株の細胞生存率とコロニー形成能を顕著に抑制することを見出した。また、PL は OSCC 細胞株のアポトーシスと Caspase-3/7 活性を濃度依存的に増加させた。この時、ミトコンドリア膜電位の低下と、細胞質へのシトクロム C タンパク質の漏出が認められた。PL は濃度依存的に活性酸素（以下 ROS）産生量、p53 および MAPK ファミリーである c-Jun N-terminal kinases (JNK) のリン酸化を増強した。ROS スカベンジャー *N*-Acetylcysteine (NAC) を利用すると、PL によるアポトーシスは顕著に減少した。また、JNK 阻害剤である SP600125 も PL によるアポトーシスを有意に抑制した。さらに、シスプラチンとの併用処理は単剤に比べてアポトーシスの有意な増加を認めた。この増強作用は、NAC によって確かに抑制された。cDNA マイクロアレイ解析の結果、PL 処理によ

ってミトコンドリア DNA にコードされる遺伝子群の発現量が減少した。以上より、PL は OSCC 細胞株にプロオキシダント効果によるアポトーシスを引き起こし細胞増殖を抑制する。(Ono et al, 2015)

口腔扁平上皮癌は難治性の予後不良疾患である。口腔扁平上皮がん細胞の性質を理解し新たな治療薬や治療戦略を開発することは、口腔癌患者の QOL の改善につながり意義深いものと考えられる。その点において、三酸化ヒ素およびプランバギンは口腔扁平上皮癌細胞の新たな治療薬として有望である可能性が高い。

酵素合成コンドロイチン硫酸ライブラリーの構築と糖鎖配列決定方法の確立 および医薬品開発への試み

分子医科学研究所 杉浦信夫

緒言

コンドロイチン硫酸(CS)は、生体内で各種コアタンパク質と結合したプロテオグリカンとして存在している。動物組織に広く分布しており、発生や分化、炎症や感染などで多彩な生理機能を発揮する。CSは、グルクロン酸(GlcA)とN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)の二糖の繰り返し構造に、硫酸基が多様に修飾した直鎖酸性多糖体であり、その生理活性は糖鎖配列に依存すると考えられている。しかし、天然から得られるCS糖鎖は複雑な構造を持った混合物であり、生理機能を発揮する構造を詳細に決定することはきわめて困難である。

そこで我々は、CSの生理活性構造を探求するために、特定の糖鎖長と特定の硫酸基修飾構造を備えたCS糖鎖ライブラリーを酵素合成法により構築した。その合成糖鎖のうち十二糖鎖長のCSライブラリーを用いて、今までほとんど未開拓であった糖鎖配列を体系的に決定する方法を確立した。酵素合成CS十二糖の配列構造を決定したことで、硫酸基転移酵素が優先的に反応する位置が明らかになった。これは、CSの生合成機構解明に繋がる有用な知見である。

CSの生理機能として、病原体感染に関与することが知られている。たとえば、胎盤マラリア感染において、マラリア原虫が発現するタンパク質VAR2CSAと、ヒト胎盤のCSプロテオグリカンとの結合が、病態に重要な影響を与えている。その結合性を合成CS糖鎖ライブラリーを用いて解析し、GalNAcの4位硫酸基(図1 $R_1=SO_3H$)のみがVAR2CSAタンパク質との結合に関与し、3個の連続した4位硫酸基二糖単位をもつCS十二糖が最低結合単位であることを突き止めた。

今後、このような医薬品開発を目指して、合成CS糖鎖誘導体の調製と生理機能の探求を進めていく。

糖鎖合成CSライブラリーの構築

CS糖鎖が持つ二糖単位構造は、図1に示すように主に6種類有り、硫酸基修飾の無いO構造、GalNAcの4位(R_1)が硫酸化したA構造、6位(R_2)が硫酸化したC構造、GlcA2位(R_3)とGalNAc6位が硫酸化したD構造、GalNAcの4位と6位に硫酸化したE構造、および3硫酸化T構造である。天然から得られるCSは、これら二糖構造が複雑に配列し、多様な糖鎖構造をもった混合物である。天然CSを用いていたのでは、特定の生理機能を発揮するCS構造を特定することは、困難であった。

そこで我々は、糖鎖長や硫酸化位置を制御した人工 CS 糖鎖を図2に示すように遺伝子組換え酵素群を駆使して調製し、合成 CS ライブラリーを構築した。合成経路の概略は以下の通りである。コンドロイチンオリゴ糖を出発物質として、大腸菌由来コンドロイチンポリメラーゼ (K4CP) で長鎖伸長させ、任意長のコンドロイチンポリマーを調製した。続いて、コンドロイチン4硫酸転移酵素-1 (C4ST-1) を用いて CSA を、コンドロイチン6硫酸転移酵素-1 (C6ST-1) で CSC を調製した。C4ST-1 と C6ST-1 を同時に作用させることで A 構造 C 構造を共に含む CSAC を作り、CSA に GalNAc4S 6硫酸転移酵素 (GalNAc4S-6ST) を作用させ CSE を、CSC や CSAC にウロン酸 2 硫酸転移酵素 (UA2ST) を作用させて CSCD や CSAD を作った。さらに、CSAD に GalNAc4S6ST を作用させて2種類の2硫酸化二糖単位をふくむ CSDE を、CSE から US2ST により3硫酸化二糖を含む CST を調製した。それぞれの酵素反応を制御することで、糖鎖長や硫酸化度の調製をすることが出来る。このようにして任意の糖鎖長を持ち、特定の硫酸基が多様に修飾した CS 糖鎖ライブラリーが構築できた。

CS 糖鎖配列決定方法の確立

続いて我々は、合成 CS 糖鎖ライブラリーから十二糖を選択して、糖鎖配列決定方法の確立に挑戦した。十二糖程度のオリゴ糖の調製は K4CP 変異酵素を固定化したバイオリクターで1糖ずつ伸長させることで高純度な糖鎖を調製可能なこと、後述するようにマラリア感染に関して CS 十二糖が作用する最小単位とされていたこと、および天然 CS 由来のオリゴ糖では多様な配列が含まれ構造決定は困難と予想されたことが、合成十二糖を選択した理由である。

その結果、図3に示すような CS 糖鎖配列を決定する方法を確立した。今回確立した CS 糖鎖配列決定方法を概説する。① 合成・分離・精製した CS 十二糖の還元末端を蛍光 (PA) 標識し、② 加水分解酵素 (ヒアルロニダーゼ) で限定分解した。限定分解により二糖ずつ短くなった PA 標識オリゴ糖 (十から四糖) を分離・精製した。③ 十二糖から四糖の糖鎖画分を、脱離酵素 (コンドロイチナーゼ) で二糖まで完全に分解後、蛍光 (AB) 標識した。すると、各オリゴ糖の非還元末端は飽和二糖、他は不飽和二糖の蛍光標識体が得られた。その飽和二糖 (U1-U5)、および還元末端の PA 化不飽和二糖 (U6) を蛍光 HPLC で同定・定量することで、十二糖鎖の配列 (および複数ある場合はその存在比) を決定した。

このようにして得られた酵素合成 CS 十二糖分画の主要な糖鎖配列の結果から、各種硫酸転移酵素が優先的に硫酸基修飾する位置を特定することもできた。すなわち、C4ST-1 によって硫酸化した CSA12 は、1硫酸化から4硫酸化した分画が得られ、主に中央に連続した A 構造クラスターを形成した。したがって C4ST-1 は、糖鎖中央からの 4S 修飾反応が優先的に行われ、両末端は反応しないことがわかった。C6ST-1 によって硫酸化される CSC12 は、1硫

酸から5硫酸化した分画が得られ、主に非還元末端からの連続した C 構造クラスターを形成した。すなわち C6SDT-1 は、非還元末端から順次 6S 化反応が主になされ、還元末端には反応しないことがわかった。2種の硫酸基転移酵素 C4ST-1 と C6ST-1 を同時に反応させて得られる CSAC12 は、A 構造2個に C 構造1個、あるいは A 構造1個に C 構造2ないし3個を含む分画が得られ、それらの配列は非還元末端側に C 構造、中央付近に A 構造を持つ糖鎖であった。すなわち C4ST-1 は糖鎖の中央、C6ST-1 は非還元末端から修飾するそれぞれの性質を表していた。中央4個の二糖単位が A 構造である CSA12 に GalNAc4S-6ST を作用させて得た CSAE12 は、A クラスターの非還元末端側の GalNAc6位が硫酸化して、1ないし2個の E 構造を含む糖鎖であった。非還元端4個の二糖単位が C 構造である CSC12 に、UA2ST を作用させて得た CSCD12 は、C クラスターの還元側の GlcA2位に硫酸化して D 構造を含む糖鎖が最も多かったが、他の位置が 2S 化した D 構造もかなり存在した。すなわち、2硫酸化酵素 GalNAc4S-6ST は非還元末端側から反応するのに対し、UA2ST はランダムな硫酸基修飾をする傾向が伺えた。

CS の生理活性(マラリアタンパク質との相互作用)

酵素合成 CS ライブラリーを用いて、CS 結合性分子であるミッドカインやプレイオトロピンあるいは抗 CS 抗体との親和性を解析し、神経細胞の軸索伸展阻害作用や、ウイルス感染阻害効果などの解析を行った。その中で、最近行ったマラリア原虫が発現する CS 結合性分子との親和性解析を紹介する⁽⁴⁾。

マラリアは、アフリカ・南アジアを中心に世界で年間5億人の患者が発生し、毎年 100 万人が死亡する広範で重篤な感染症である。病原体のマラリア原虫は蚊を媒体とし、ヒト赤血球に感染する。特に、妊婦に感染したマラリア原虫は胎盤に潜伏することで、薬剤の効果を回避し、重篤・難治性の病態を呈する(胎盤マラリア)。これは胎盤中の CS プロテオグリカンに原虫由来の CS 結合蛋白質(VAR2CSA)が特異的に結合するためである。VAR2CSA は A 構造(GlcA-GalNAc4S)を含む CS に結合し、その最小単位は十二糖であるとされている。

そこで、われわれの合成 CS ライブラリーを用いて VAR2CSA の結合性および結合阻害活性を SPR (Biacore) および ELISA により測定した。その結果、GalNAc の4位(図1 R1=SO₃H)硫酸基(4S)の含量に応じて VAR2CSA 結合性が増加し、4S 基をもつ CSA, CSE, および CST 糖鎖に強く結合し、他の硫酸基修飾は結合に関与しないことを確認した(図4)。また、ELISA で阻害活性を測定したところ、3個の連続した A 構造をもつ CS 十二糖が最低結合単位であり、CSA 二十糖はさらに結合阻害活性が高くなることを見出した。これらの結果を踏まえ、新規な抗マラリア治療薬の開発を目指している。

今後、さらにこのような医薬品開発を目指した、合成 CS 糖鎖の調製と生理機能の探求を進

めていく。

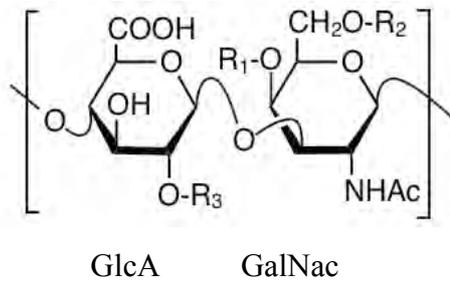


図1. CS の二糖単位構造

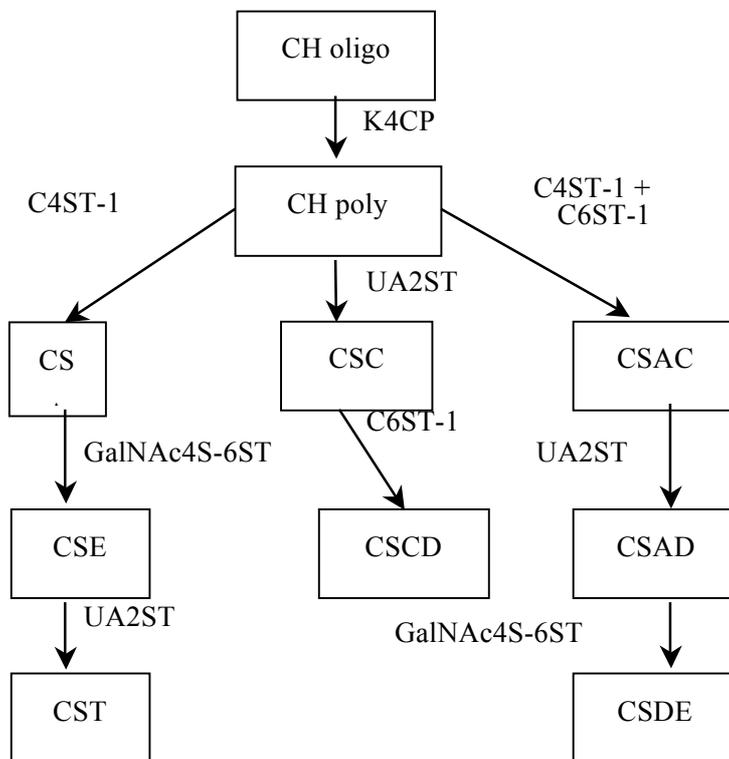


図2. 酵素合成 CS ライブラリー調製概略

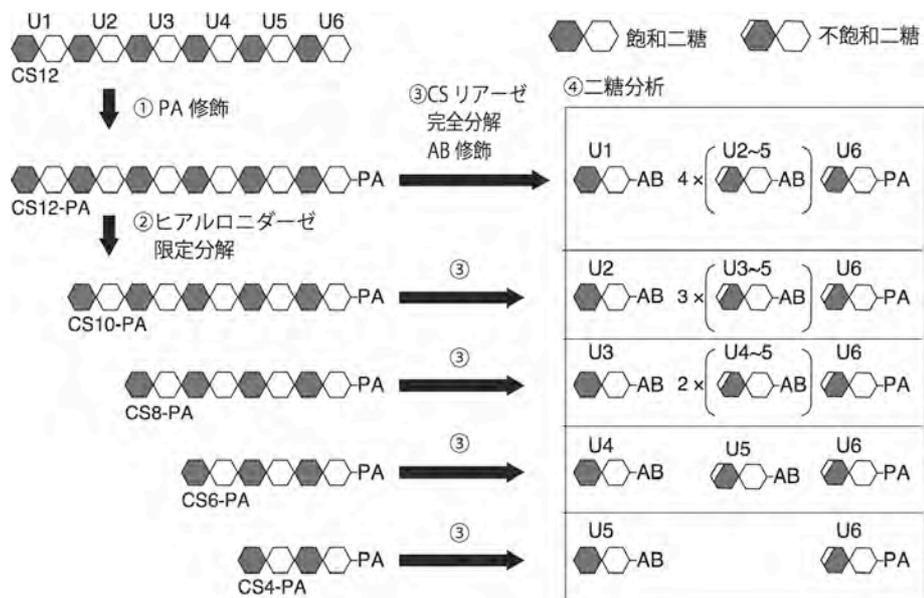


図3. CS 糖鎖配列決定方法

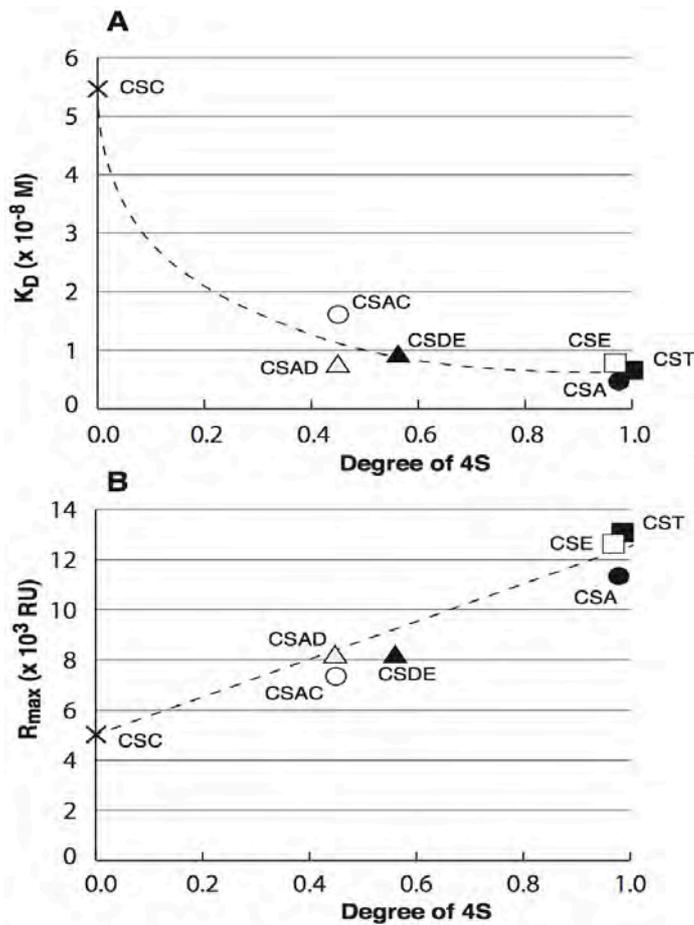


図4. マラリアタンパク質と合成 CS 糖鎖との結合解離解析

細胞外マトリックスプロテオグリカンによる腫瘍微小環境の形成と腫瘍制御

分子医科学研究所 渡辺秀人

生体は細胞のみから構成されているわけではなく、細胞の外には細胞外マトリックス (Extracellular Matrix, ECM) と呼ばれる特殊な構造が存在する。ECM は細胞を支持して組織・臓器を形づくるとともに種々の生理活性分子を貯留したりその濃度勾配を形成するなどして細胞の挙動を制御しており、その成分はコラーゲン線維、弾性線維等の線維成分と線維の間隙を埋めるヒアルロン酸、プロテオグリカン、その他の糖蛋白質等である。

ECM の巨大コンドロイチン硫酸プロテオグリカンとして知られるバーシカン (Versican、以下 Vcan) は、その普遍的発現、他の ECM 分子群との特異的結合能、培養系にて観察される細胞挙動制御作用、遺伝子欠損マウスが重篤な表現型を呈するという事実から、ECM のダイナミズムの主要な役割を担うプロテオグリカンと考えられている。

Vcan のコア蛋白質は N-および C-末端側の2つの球状ドメインと中央に位置する2つのコンドロイチン硫酸結合ドメインから成る (図 1)。N-末端側の G1 ドメインはヒアルロン酸 (hyaluronan, HA) と特異的に結合し、HA-CD44 を介したシグナル伝達を制御する。一方、C-末端側の G3 ドメインはフィブリリン、フィビュリン、テネイシン等の ECM 分子と複合体を形成し、同複合体は TGF β や BMPs を ECM 内に蓄積してこれらの生理活性分子のシグナル伝達を調節している。

我々は Vcan^{flox/flox} マウスに Cre 酵素発現アデノウイルス (Ad-Cre) を感染させて Vcan 発現を局所的に欠失させるマウスモデル系を用いて腫瘍の増殖・浸潤における Vcan の役割を検討してきた。マウス線維肉腫細胞株 QRsP-11 を Ad-Cre と共に Vcan^{flox/flox} マウス

皮下に移植すると、同腫瘍細胞株を Ad-GFP と共に移植した対照群と比較して腫瘍塊は有意に増大していた (図 2A)。また Vcan^{flox/-} マウスの移植したところ腫瘍塊は Ad-Cre 発現 Vcan^{flox/flox} 群と対照群の中間の大きさを示し (図 2B)、宿主間質の Vcan 発現の程度と移植腫瘍塊の大きさに負の相関があることがわかった。腫瘍塊の大きさの差異は肉眼的には腫瘍

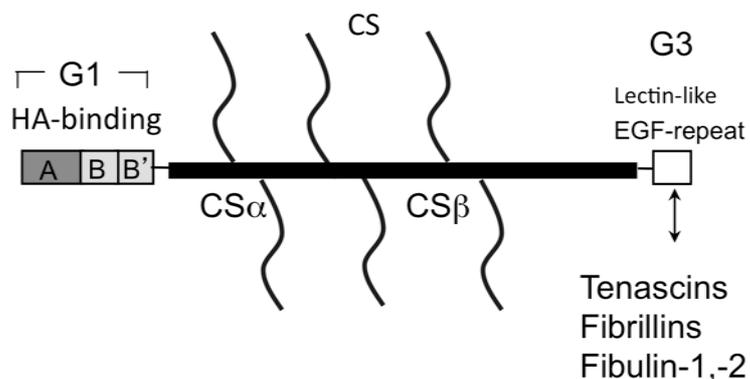


図1. バーシカンの構造。バーシカンコアタンパク質はN-末端側にG1ドメイン、C-末端側にG3ドメイン、中央にCS α とCS β の2つのCS結合ドメインを持つ。この2つのCS結合ドメインには合計23個のCS結合可能部位が存在し、そのうちの幾つかの部位にCS鎖が付加している。

移植後 7 日目より明らかとなり、組織学的には対照群では腫瘍細胞と宿主の線維芽細胞が混在し、一定のコラーゲン線維が観察されるのに対し、Ad-Cre 投与群では腫瘍塊はほぼ腫瘍細胞から成り間質面積は減少していた。Ki67 免疫染色では、対照群と比較して Ad-Cre 群において高い腫瘍細胞増殖が確認された。移植後 14 日目には Ad-Cre 群で腫瘍血管の増生が目立っていた。腫瘍増殖と血管新生の亢進に関与するシグナル経路を探索したところ、宿主 Vcan 発現欠失による ERK1/2、TGF β 、VEGF 経路の亢進が確認された。これら経時的な検討から宿主間質における Vcan 発現の欠失による最初の変化は腫瘍細胞増殖の亢進であると考えられた。

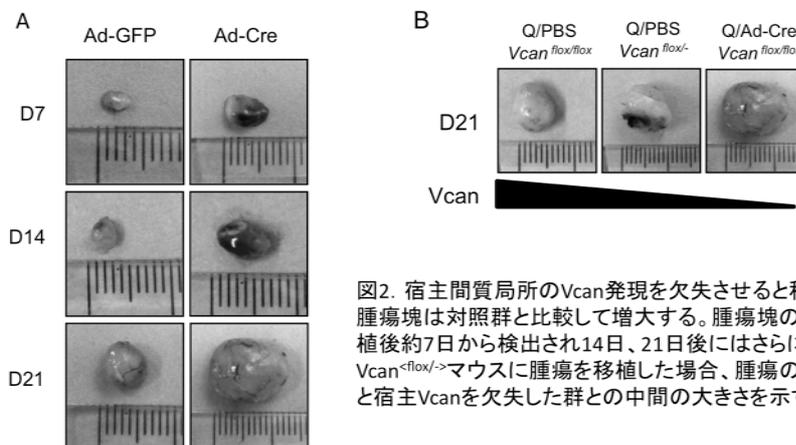


図2. 宿主間質局所のVcan発現を欠失させると移植したQRsP-11腫瘍塊は対照群と比較して増大する。腫瘍塊の大きさの差は移植後約7日から検出され14日、21日後にはさらに顕著となる(A)。Vcan^{flox/-}マウスに腫瘍を移植した場合、腫瘍の大きさは対照群と宿主Vcanを欠失した群との中間の大きさを示す(B)。

次に Vcan V3 バリエント(G1-G3)を強制発現する QRsP-11 細胞を準備し同細胞の増殖が QRsP-11 親株と同様であることを確認した上で上記の移植実験を行ったところ、腫瘍の増大は抑制され、組織学的に間質のコラーゲン線維形態は回復していた。興味深いことに宿主間質 Vcan 発現時における Vcan V3 バリエント発現株の腫瘍塊は親株腫瘍塊と比較して有意に小さかった。これら一連の結果から、1) 宿主の Vcan が腫瘍増殖を抑制すること、コラーゲン線維を主体とする ECM による物理的障壁の維持ならびに腫瘍増殖に関与するシグナル伝達の制御の二点が作用機序として挙げられること、3) 腫瘍増殖抑制に関わる Vcan の機能ドメインは G1-G3 であること、4) 腫瘍局所の Vcan が腫瘍増殖抑制効果を有するがその発現細胞は重要ではないことがわかった。本研究は細胞外環境の人為的操作による腫瘍制御の可能性を示唆するものとして重要である。

代謝様式を標的とした白血病の新規治療法の探索

内科学講座 血液内科・三輪啓志、後藤峰明

白血病治療は今から30年前では30%を下回る長期全生存であったが、抗癌剤や抗菌薬などの支持療法の充実、造血幹細胞移植の進歩によって2000年には50%近くまで改善された。しかしながら、まだまだその長期全生存は良いとはいえ、近年はその伸びが頭打ちともいえる。それを克服するための新たな視点として、我々の研究室では、細胞の基本であるエネルギー代謝に着目し、白血病細胞に特異的なエネルギー代謝を探求し、より効果的な治療戦略の確立を目指して研究を進めてきた。

一般的にがん細胞がグルコースを活発に取り込み、解糖系を亢進することは Warburg 効果として広く知られており、その事実は PET-検査などに臨床応用されている。しかしながら白血病細胞におけるエネルギー代謝に Warburg 効果がどの程度関与しているか明らかでなかった。そこで、我々は、通常の培養条件下における白血病細胞株において、グルコースの取り込みやその代謝産物である乳酸の測定、解糖系阻害薬を用いた増殖抑制の検討を行い、白血病細胞株毎に解糖系への依存度が異なることを確認した。解糖系への依存度が低い細胞株の主要代謝経路はミトコンドリアでの酸化的リン酸化であり、酸化的リン酸化薬を用いた増殖抑制の検討によって解糖系阻害薬による増殖抑制効果が低かった細胞株においてその増殖抑制効果が高いことを確認した(図 1)。これら白血病細胞株毎の主要な代謝経路の多様性について、細胞内の代謝産物を網羅的に探索するメタボローム解析を用いた検討も行い、先の知見に矛盾ないことを確認した。以上より、主に、解糖系優位な細胞株と酸化的リン酸化優位な細胞株とを対比することで白血病細胞のエネルギー代謝の理解をより深めることができ、治療標的の探求に結びつくと考えた。なお、このメタボローム解析によって解糖系と酸化的リン酸化以外の重要な代謝経路として、グルタミン代謝の検討を行う足掛かりとなり、グルタミン代謝への依存が比較的高い細胞株における特徴も見出すことができた。

この *in vitro* における知見に基づいて、NOD/scid mouse に解糖系優位な細胞株と酸化的リン酸化優位な細胞株を移植し、食餌の影響や、解糖系阻害薬や脂肪酸 β 酸化阻害薬を用いた抗腫瘍効果を検討した。結果、解糖系優位な細胞株では糖質制限食により腫瘍増大が抑制され、逆に酸化的リン酸化優位な細胞株では糖質制限食(=高脂肪食)により腫瘍増大がみられ(図 2)、脂肪酸 β 酸化阻害薬によって抗腫瘍効果が得られることも確認した(図 3)。

並行して、白血病細胞が増殖する骨髄が低酸素下であることから、好气的条件で得られた前述の知見が低酸素条件においても確認できるかどうかを検証した。特に、通常条件下で酸化的リン酸化優位な細胞株は、低酸素下で pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1)を高発現さ

せることにより、主たるエネルギー代謝経路を解糖系へシフトさせるなど、細胞株毎に様々な低酸素への適応がみられ、細胞株毎の代謝の特徴がより複雑なものであることを確認した。以上より、白血病毎の主要代謝経路をパターン化すること、それに応じた個別治療を検討することが肝要であり、また今後の大きな課題と認識している。その治療において、解糖系阻害薬は重要な位置を占めるが、白血病細胞が環境変化に様々な方法で適応し生存することをふまえると、他の代謝阻害薬などとの併用は不可欠であろう。まとめとして、がん細胞特異的な代謝経路は、その治療標的として魅力的であり、さらに理解を深めることで治療成績向上に寄与しうると考えられた。

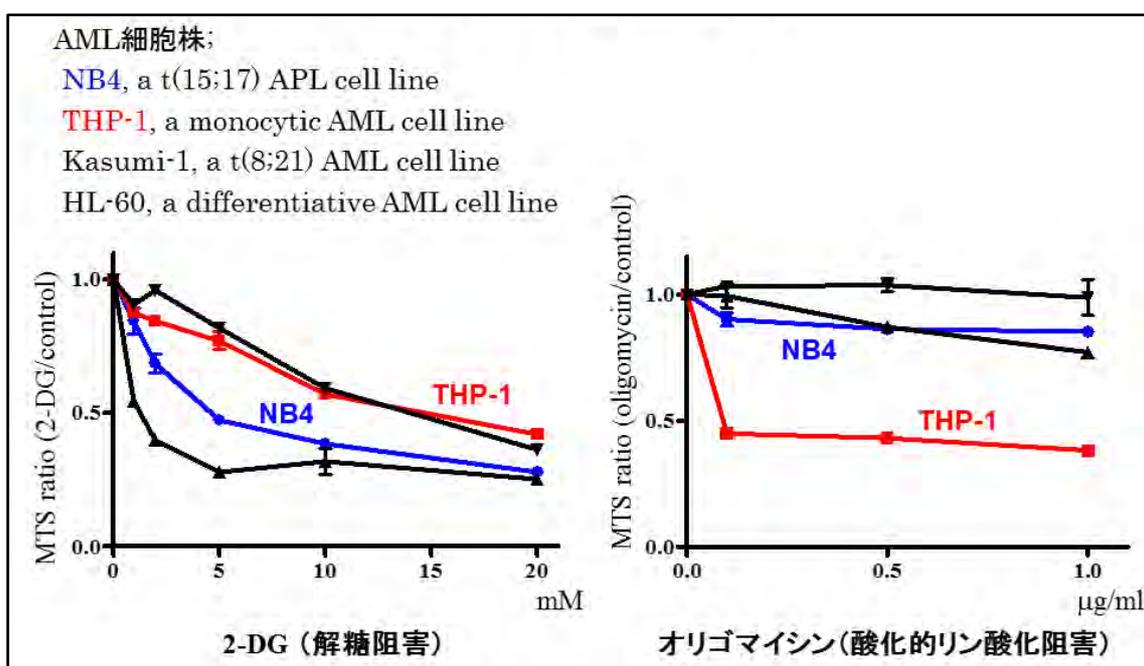


図1) 白血病細胞株における解糖系阻害薬あるいは酸化的リン酸化阻害薬を用いた増殖抑制の検討

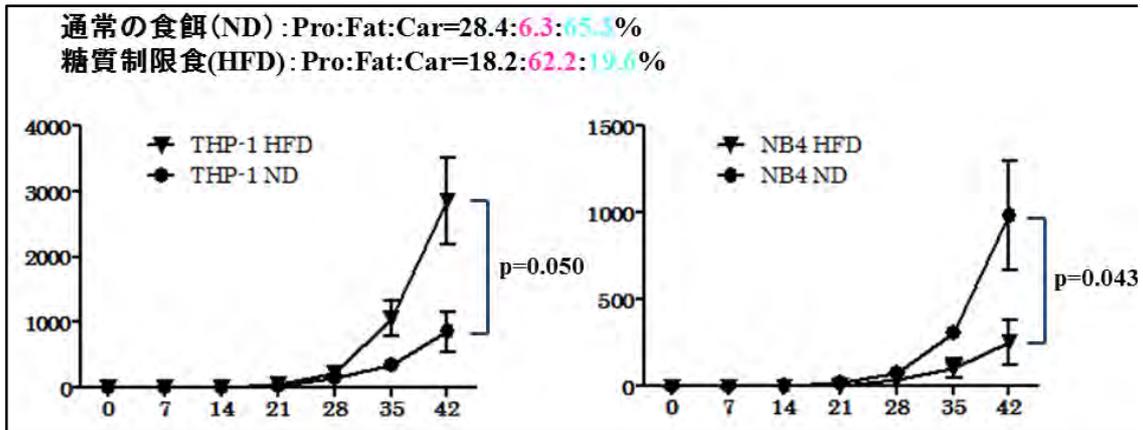


図 2) 食餌による白血病細胞株への影響の検討

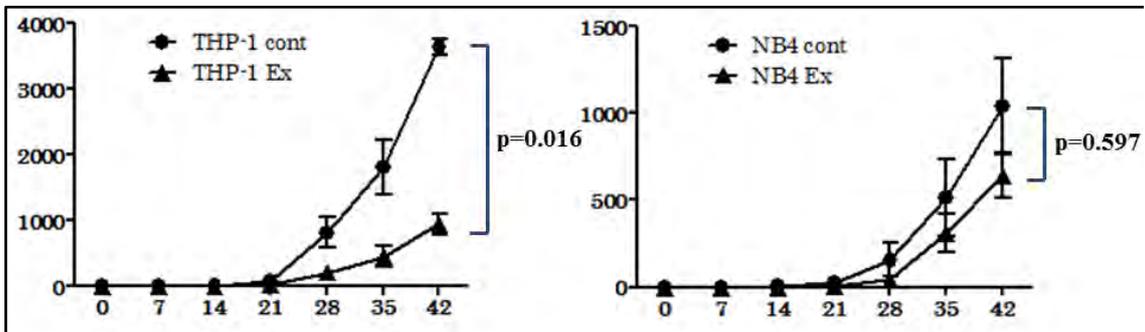


図 3) 脂肪酸β酸化阻害薬(etomoxir; Ex)を用いた増殖抑制の検討

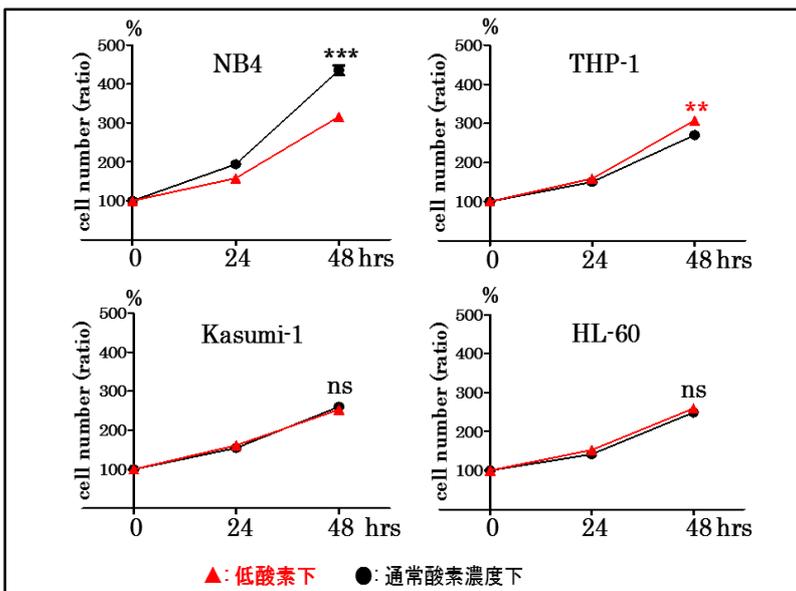


図 4) 酸素条件の違いによる白血病細胞株の増殖への影響

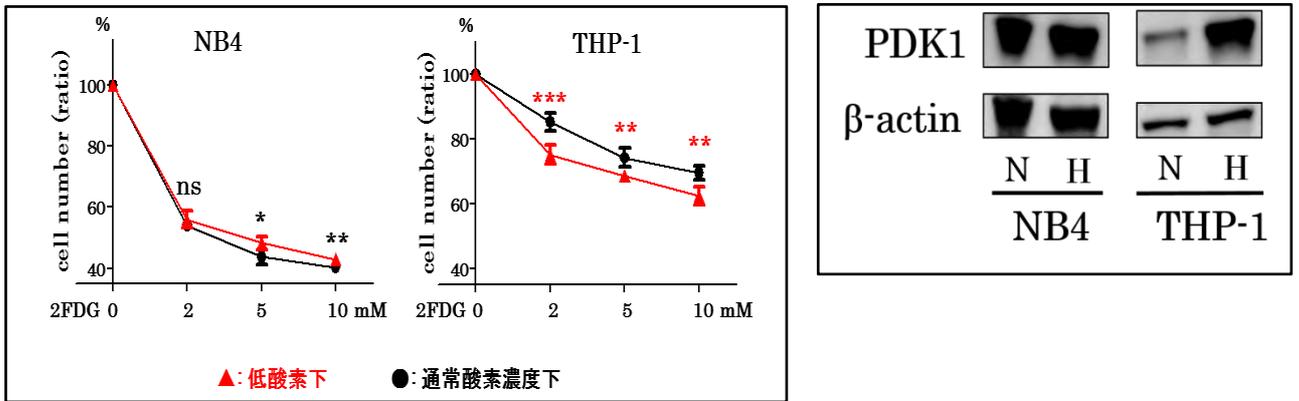


図 5) 左;異なる酸素条件下での解糖系阻害薬を用いた増殖抑制の検討

右;酸素条件の違いによる pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1)発現の検討

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

第1回 学内公開シンポジウム

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 研究プロジェクト名・研究テーマ名
致命的臓器傷害に対する次世代分子標的治療法の開発

日時 平成23年9月5日(月) 16時～

場所 愛知医科大学本館 203講義室

開始予定時間	発表講座等名	発表者	演題名
16:00	御挨拶	理事長及び学長のシンポ開催への挨拶 引き続き 研究代表者渡辺による事業概要説明	
16:15	分子医科学研究所	渡辺秀人	腫瘍の病態を制御するパーシカン機能ドメイン
16:30	微生物・免疫学講座	横地高志	エンドトキシンによる致命的肺傷害のメカニズム
16:45	薬理学講座	馮国剛	神経変性疾患等の分子標的新薬の開発
17:00	生化学講座	小西裕之	ヒト細胞遺伝子改変法を用いたK-ras変異癌の分子標的治療法の探索
17:15	慶応義塾大・理工学部	梅澤一夫	疾患・病態を制御する生理活性物質の探索と分子デザイン
17:30	内科学講座(消化器内科)	米田政志	非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)動物モデルの確立:NASH病態進展と肝発癌予防法の探索
17:45	内科学講座(呼吸器・アレルギー内科)	山口悦郎	副腎皮質ステロイドによる抗炎症作用の変曲現象—その機序と臨床的意義—
18:00	内科学講座(血液内科)	三輪啓志	白血病細胞におけるエネルギー代謝様式の高多様性と代謝を標的とする治療法の開発に向けて
18:15	眼科学講座	雑喉正泰	炎症性眼疾患から眼を守る!

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 学内シンポジウム

私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 研究プロジェクト名・研究テーマ名
『致命的臓器傷害に対する次世代分子標的治療法の開発』

場 所 愛知医科大学本館 203講義室

第1日 平成25年4月24日(水)

【挨拶】

16:00～16:15 渡辺秀人 (分子医科学研究所)

【研究発表】

16:15～16:40 米田政志・中尾春壽 (消化器内科)

16:40～17:05 三輪啓志 (血液内科)

17:05～17:30 細川好孝・小西裕之・

カルナンジバスルダラン (生化学)

17:30～17:55 梅澤一夫 (分子標的医薬探索寄附講座)

第2日 平成25年4月26日(金)

【研究発表】

15:30～15:55 雑喉正泰 (眼科)

15:55～16:20 横地高志 (感染・免疫学)

16:20～16:45 山口悦郎 (呼吸器・アレルギー内科)

16:45～17:10 岡田尚志郎・馮国剛 (薬理学)

17:10～17:35 杉浦信夫 (分子医科学研究所)

公開シンポジウム

致死的臓器障害に対する次世代分子標的治療法の開発

2015年

3月13日13:30~

愛知医科大学 本館

講演

梅澤 一夫 分子標的医薬探索寄附講座
新しいNF- κ B阻害剤、がん細胞浸潤阻害剤、
組織線維化阻害剤の探索と生物活性

米田 政志 内科学講座・消化器内科学
コノフィリンによる肝脂肪化抑制とその機序に関する検討

横地 高志 感染・免疫学講座
エンドトキシンによる臓器障害のメカニズムとその制御

山口 悦郎 内科学講座・呼吸器内科学
副腎皮質ステロイドによるIL-8産生の変曲現象とその個体差

雑喉 正泰 眼科学講座
炎症性眼疾患から眼を守る

憑 国剛 薬理学講座
神経系由来細胞におけるnaofen/WDR35発現に
関与するシグナル伝達機構の解析

杉浦 信夫 分子医科学研究所
コンドロイチン硫酸の生物活性探索と糖鎖配列の決定方法の確立

渡辺 秀人 分子医科学研究所
細胞外マトリックスプロテオグリカンによる
腫瘍微小環境の形成と腫瘍制御

後藤 峰明 内科学講座・血液内科学
白血病とエネルギー代謝

小西 裕之 生化学講座
KRAS遺伝子を改変した気道上皮細胞株による
医薬標的分子と医薬シーズの探索

太田 明伸 生化学講座
口腔扁平上皮がん細胞における天然抗がん物質の
増殖抑制効果とその作用機序の解析

お問合せ先

〒480-1195 愛知県長久手市岩作雁又1番地1 愛知医科大学 医学部 庶務課(戦略事業担当)
TEL:0561-62-3311(内線 11243)

愛知医科大学 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業

参加費無料
事前申込不要

<http://amu-strategy.org/>

第1回 外部評価

平成 24 年 11 月 26 日、本学 204 講義室にて第 1 回外部評価委員会を開催した。

評価委員(五十音順)

上田龍三(愛知医科大学・腫瘍免疫寄附講座 教授)

高橋利忠(愛知県がんセンター名誉総長)

堀部敬三(国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター センター長)

各委員の講評

A 委員

研究者は自分の興味のあるところに行ってしまうが、このような研究費の場合はある程度コアになるデータがないと長期に研究費を貰うのが難しくなる。したがって皆さん我慢して目的に沿った研究を進める必要がある。特に医科大学では患者をアタマにおいてどのような疾患に自分たちの研究が応用できそうかを考えて欲しい。例えば線維化とがんの関連に関しては正面から取り組んだ研究はないが、線維化は予防できるので、こういった研究は真っ当ながん研究より効果があるかもしれない。

B 委員

自分はトランスレーショナルリサーチを続けてきた。基礎研究のシーズを如何に発展させるかの視点でずっと仕事をしてきたので今回は敢えてこのような視点から発言をした。例えば、現在日本で内閣府が作っているイノベーションセンターなどは、まさにそれをやっている。そういう趨勢があるのに愛知医大だけ別個の世界にいる訳にはいかない。自分らの土俵は何か、特に良い土俵があれば皆で協力してやっていき、特色を出していくことで 5 年間の間に結実することが大事だ。自分の好きなことだけやっていては発展は望めない。せっかくいろんな人が集まっているのだからどうやってインテグレートするのが大事だ。海外留学の経験者は、一番簡単なのは隣をノックすれば隣も世界的な仕事をしているから楽にペーパーになる、ということを経験しているだろう。同様に自分たちでそういう環境を作っていく、足りないものは思い切ってアウトソーシングして外と連携しながらやる。「ここだけでやる必要はない、ただし土俵はある」ということが大事。土俵がなければ根は生えない。

C 委員

自分は臨床を中心に出口を目指す、臨床応用できるような治療開発を目指すことを主眼に置いてきた。愛知医大で「次世代の分子標的の治療法開発」という1つの大学の中でシーズの開発からキチンと出口の見えるところまでのしくみ作りのスタートラインに立っていることはよくわかる。いろんなチーム

でやっているが基礎と臨床をいかに繋いでいくか、密接なコミュニケーションなりお互いの情報を共有していくことが大事。今回のプレゼンテーションの中でも随分ヒントがあったのではないかと思うし、次も期待できるというところも見えてきた。先程言った「しくみ」の構築は大事。各教室でやっていることは透明性を持って他からも見える状態にしておくことでスムーズな連携できる。

第2回 外部評価

平成27年3月13日、本学第1会議室にて第2回公開シンポジウムならびに第2回外部評価委員会を開催した。今回は全体評価に加え、各分野の専門家の先生方に個別の評価を頂いた。

評価委員(五十音順)

- | | |
|-------|--------------------------------|
| 飯田真介 | 名古屋市立大学 医学研究科 血液・腫瘍内科学 教授 |
| 磯貝善蔵 | 国立長寿医療センター 先端診療部 皮膚科 医長 |
| 今泉和良 | 藤田保健衛生大学呼吸器内科・アレルギー科 教授 |
| 上田龍三 | 愛知医科大学腫瘍免疫寄附講座 教授 |
| 岡野幸雄 | 放送大学 岐阜学習センター 所長 |
| 長田裕之 | 理化学研究所生物質研究室 主任研究員 |
| 黒澤美枝子 | 国際医療福祉大学薬学部生理学教室 教授 |
| 近藤英作 | 新潟大学医学部分子病理学教室 教授 |
| 門松健治 | 名古屋大学大学院医学系研究科生物化学講座 教授 |
| 杉山剛志 | 岐阜薬科大学 准教授 |
| 高橋利忠 | 愛知県がんセンター名誉総長 |
| 堀部敬三 | 国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター センター長 |

A 委員：本事業の総合評価を担当

I. 本事業全体の評価：1（劣っている）～5（たいへん優れている）の中から1つ選び番号の右に○を記入ください（例、4○）。

A: 本事業の研究組織の纏まり： 1 2 3 4○ 5

（各研究が事業に積極的に参加し事業全体として纏まった組織となっているか）

B: 事業全体の進捗状況： 1 2 3 4○ 5

（残り1年で終了することを踏まえて本事業が進んでいるといえるか）

C: 研究の将来性： 1 2 3 4○ 5

（当該事業終了後も本研究が発展していくか）

D: 予算の妥当性： 1 2 3 4○ 5

（予算に対して十分な成果が挙げられているか）

E: 総評（全体の評価をお書きください）

本事業の課題は「分子標的治療法の開発」となっており、平成23年度の採択以降、各々の研究者がそれぞれの目標を設定し、研究を活発に遂行していることは評価できる。特に梅澤一夫らが精力的に開発しつつある分子標的薬は、本事業の基盤となっている。植物由来のコノフィリンに関しては、共同研究者の米田政志らにより、NASH モデルマウスにおいては、肝線維化の前の時点で、脂肪の蓄積が抑制されることが示されており、将来 NASH 患者の予防に応用できる可能性もある。また、雑喉正泰らにより、NF κ B 阻害剤である DHMEQ には、in vitro で抗 TNF α 様作用があることが確認されており、将来ベーチェット病等への応用が期待される。

がんの分子標的薬の開発研究は、世界的に莫大な研究費と人材が投入され行われており、既に臨床応用も進みつつある。しかしながら、もっとも期待された変異 RAS 遺伝子を標的にした分子標的薬はまだ実用化に至っていない。小西裕之らの変異 KRAS 遺伝子のノックイン細胞株を用いた in vitro スクリーニング系は、簡便な系であり、現在までに mTOR 関連分子の阻害剤が複数検出されているが、今後分子標的薬候補を拡大してスクリーニング進めていくことが望まれる。また、渡辺秀人らの遺伝子欠失マウスを用いた腫瘍微小環境の解析により、Versican の G1-G3 ドメインが腫瘍増殖に働くことが示された。Versican の作用を阻害することにより、腫瘍増殖を抑制できる可能性もあり、そのような働きを持つ分子標的薬の開発が待たれる。

また、杉浦信夫らの合成 CS 糖鎖ライブラリーの構築、並びに合成 CS 十二糖を用いた糖鎖配列決定方法の確立は、高く評価できる。現在、マラリア原虫の CS 結合分子の検索が行われているが、これらの技術を活用することにより、種々の疾患における分子標的薬の開発につながる可能性もあり、今後の展開が期待される。

上記以外にも、本事業では、種々の疾患の病態の解析や、薬剤効果の発現機序に関する分子レベルの研究が進められており、紙面の関係上列記できないが、興味ある知見も得られている。

本事業は後一年を残すのみとなったが、各々の研究によって開発段階は異なっており、この間に実行可能な研究は限られてはいるが、目標に向け努力し、次段階の研究につながる成果を積み上げて行って欲しいと考える。今後、学内での協力体制を強化するために、進行状況をお互いに把握できるような小グループの発表会等の開催や、研究を効率的に推進するために、国内外の多くの研究者との共同研究を進めていくための体制作りが望まれる。

Ⅱ. 各研究に対する評価: 1(劣っている)~5(たいへん優れている)で評価ください。

またよろしければ寸評をお書きください。

梅澤一夫: 新しいNF- κ B 阻害剤、がん細胞浸潤阻害剤、組織線維化阻止剤の探索と生物活性

A: 研究内容の妥当性:	1	2	3	4	5○
(本事業のテーマに沿った研究内容か)					
寸評: 分子標的薬の探索に加え、本事業の基盤となる分子標的薬を提供している。					
B: 研究の独自性:	1	2	3	4	5○
(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)					
寸評:					
C: 研究の進捗状況:	1	2	3	4○	5
(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)					
寸評: 研究の効率化を図るために、研究目的の集約化が望まれる。					
D: 研究内容の質:	1	2	3	4	5○
(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)					
寸評:					
E: 研究の将来性:	1	2	3	4	5○
(当該事業終了後も本研究が発展していくか)					
寸評: 種々の疾患における分子標的薬の開発につながる可能性もある。					

米田政志: コノフィリンによる肝脂肪化抑制とその機序に関する検討

A: 研究内容の妥当性:	1	2	3	4	5○
(本事業のテーマに沿った研究内容か)					
寸評:					
B: 研究の独自性:	1	2	3	4	5○
(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)					
寸評: NASH に関する長年に亘る研究を基盤にした研究課題である。					
C: 研究の進捗状況:	1	2	3	4○	5
(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)					
寸評: 一年後の研究目標が必ずしも明確にされていない					

D: 研究内容の質: 1 2 3 4 5○

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3 4 5○

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 将来 NASH 患者の予防に応用できる可能性もあり、興味を持たれる。

横地高志: エンドトキシンによる臓器障害のメカニズムとその制御

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4 5○

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:

B: 研究の独自性: 1 2 3 4 5○

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: エンドトキシンに関する長年に亘る研究を基盤にした研究課題である。

C: 研究の進捗状況: 1 2 3○ 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: ショックを予防するような薬剤をどのように選別していくかが、問題である。

D: 研究内容の質: 1 2 3 4 5○

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3 4○ 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 有用な薬剤の肺局所へのデリバリーに、センダイウイルスを使用するというアプローチに興味もたれる。

山口悦郎: 副腎皮質ステロイドによる IL-8 産生の変曲現象とその個体差

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4○ 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評: このような臨床の場で得られた病態の解明を目指した研究は有用。

B: 研究の独自性: 1 2 3○ 4 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:

C: 研究の進捗状況: 1 2 3○ 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 現時点では「IL-8 産生の変曲現象」を説明できる実験結果が得られていない。

D: 研究内容の質: 1 2 3○ 4 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3○ 4 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評:

雑喉正泰: 炎症性眼疾患から眼を守る

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4 5○

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評: ベーチェット病の眼疾患に対する抗 TNF α 抗体の有効性の研究。

B: 研究の独自性: 1 2 3 4 5○

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:

C: 研究の進捗状況: 1 2 3 4 5○

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: TNF α による発症機序と、抗 TNF α 抗体による発症阻害機序の解析が進んでいる。

D: 研究内容の質: 1 2 3 4○ 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3 4○ 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: NF κ B 阻害剤・DHMEQ は、in vitro で抗 TNF α 様作用を示すことを確認しており、将来ベーチェット病等への応用が期待される。

憑 国剛: 神経系由来細胞における naofen/WDR35 発現に関与するシグナル伝達機構の解析

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3○ 4 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:

B: 研究の独自性: 1 2 3 4○ 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: 長年に亘り WDR35 に関する研究に携わっている。

C: 研究の進捗状況: 1 2 3 4○ 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 局所麻酔薬・ブピカバインの Neuro2a 神経細胞における WDR35 発現に関わる一連の転写因子を明らかにしている。

D: 研究内容の質: 1 2 3 4○ 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3○ 4 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: どのような疾患に対する分子標的治療法を開発していくのか、検討を要する。

杉浦信夫: コンドロイチン硫酸の生物活性探索と糖鎖配列の決定方法の確立

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4 5○

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:

B: 研究の独自性: 1 2 3 4 5○

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: 合成CS糖鎖ライブラリーの構築、並びに合成CS十二糖を用いた糖鎖配列決定方法の確立は、極めて重要な成果。

C: 研究の進捗状況: 1 2 3 4 5○

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:

D: 研究内容の質: 1 2 3 4 5○

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3 4 5○

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: マラリア原虫の CS 結合分子の検索も行われているが、今後これらの技術を活用することにより、種々の疾患における分子標的薬の開発につながる可能性もある。

渡辺秀人: 細胞外マトリックスプロテオグリカンによる腫瘍微小環境の形成と腫瘍制御

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4 5○

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:

B: 研究の独自性: 1 2 3 4 5○

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: 長年に亘る巨大CSプロテオグリカンである Versican に関する研究の一環として行なわれている研究である。

C: 研究の進捗状況: 1 2 3 4 5○

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:

D: 研究内容の質:	1	2	3	4	5○
(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)					
寸評:					
E: 研究の将来性:	1	2	3	4○	5
(当該事業終了後も本研究が発展していくか)					
寸評: Versican の作用を阻害するような働きを持つ分子標的薬の開発が待たれる。					

後藤峰明: 白血病とエネルギー代謝

A: 研究内容の妥当性:	1	2	3	4○	5
(本事業のテーマに沿った研究内容か)					
寸評:					
B: 研究の独自性:	1	2	3	4○	5
(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)					
寸評: 酸化的リン酸化が優位な細胞株と解糖系が優位な細胞株の間には、食事や阻害剤による抗腫瘍効果に差異があることを、NOD/scid マウス系等を用い、示した。					
C: 研究の進捗状況:	1	2	3○	4	5
(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)					
寸評:					
D: 研究内容の質:	1	2	3○	4	5
(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)					
寸評:					
E: 研究の将来性:	1	2	3○	4	5
(当該事業終了後も本研究が発展していくか)					
寸評: 患者由来の白血病細胞を用い、いずれの代謝経路が優位かを簡便に分類し、患者治療に役立つようなアプローチを研究することが望まれる。					

小西裕之: KRAS 遺伝子を改変した気道上皮細胞株による医薬標的分子と医薬シーズの探索

A: 研究内容の妥当性:	1	2	3	4	5○
(本事業のテーマに沿った研究内容か)					
寸評:					
B: 研究の独自性:	1	2	3	4	5○
(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)					
寸評: 変異 KRAS 遺伝子をノックインした非がん気管支上皮細胞株の樹立と、それを用いた分子標的薬候補の in vitro スクリーニング系の開発。					
C: 研究の進捗状況:	1	2	3	4○	5
(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)					

寸評:3種のmTOR 関連阻害剤の検出に成功。

D: 研究内容の質: 1 2 3 4○ 5
 (各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評: 検出された薬剤と既知の薬剤を用い、ヒト腫瘍移植マウスモデル等で抗腫瘍効果を比較検討する必要がある。

E: 研究の将来性: 1 2 3 4○ 5
 (当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 種々の分子標的薬候補をスクリーニングするため、多くの研究者との共同研究が必要。

太田明伸: 口腔扁平上皮がん細胞における天然抗がん物質の増殖抑制効果とその作用機序の解析

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4○ 5
 (本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:

B: 研究の独自性: 1 2 3○ 4 5
 (研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:

C: 研究の進捗状況: 1 2 3 4○ 5
 (残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 植物由来のプランバギンは口腔扁平上皮がん細胞株にアポトーシスを誘導し、シスプラチン併用により、その作用が増強する、という in vitro 解析。

D: 研究内容の質: 1 2 3○ 4 5
 (各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評: ヒト腫瘍移植マウスモデル等での抗腫瘍効果の検索が必要。

E: 研究の将来性: 1 2 3○ 4 5
 (当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: プランバギンが best の薬剤かどうかを知るため、他の候補物質の検討も必要。

Ⅲ. その他気になったこと、今後へのご示唆等: 今や高価な機器を用い、多額な研究費を投入した研究が主流となりつつあるが、愛知医科大学では、日常的に種々の疾患を対象にし、最先端の診療が行われており、その結果、患者由来の腫瘍、血液などの貴重な生体資料を比較的容易に得ることが出来るという利点がある。これらを活用し、研究を進めれば、限られた研究費でも有用な知見が得られる可能性がある。本研究組織においても、現在既にそのような研究が行なわれてはいるが、今後より一層推進していくためには、病理部門や臨床検査部門等の研究者の参画が望ましいと考える。

B 委員：本事業の総合評価を担当

I. 本事業全体の評価：1(劣っている)~5(たいへん優れている)の中から1つ選び番号の右に○を記入ください(例、4○)。

A: 本事業の研究組織の纏まり: 1 2 3○ 4 5

(各研究が事業に積極的に参加し事業全体として纏まった組織となっているか)

B: 事業全体の進捗状況: 1 2○ 3 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて本事業が進んでいるといえるか)

C: 研究の将来性: 1 2 3○ 4 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

D: 予算の妥当性: 1 2 3○ 4 5

(予算に対して十分な成果が挙げられているか)

E: 総評(全体の評価をお書きください)

報告会の内容が年次ごとに良くなっており、私学助成の趣旨を踏まえた個人個人の進捗状況が認められたことは評価する。ただ、プロジェクトの企画・作成の段階からの問題とは思われるが、折角の班構成者の役割とその統御に関する方針に基づく成果が、数名の班員を除いて十分理解できるような発表ではなかった。個々の研究には見るべき成果もあり、今後の企画次第では大きく発展する素地となったと思われる。

創薬の観点からは、企業との共同研究とかシーズの企業への導出が少ない。

尚、多くの外部評価者が一堂に会して行われた研究会の発表の質疑応答は有意義であったし、全国的にもしっかりした内容のものとなった点は高く評価する。

II. 各研究に対する評価：1(劣っている)~5(たいへん優れている)で評価ください。

またよろしければ寸評をお書きください。

梅澤一夫：新しいNF- κ B 阻害剤、がん細胞浸潤阻害剤、組織線維化阻止剤の探索と生物活性

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4 5○

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評: 最も本事業に適した課題

B: 研究の独自性: 1 2 3 4 5○

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: 自らの開発による創薬研究であり独自性が高い

C: 研究の進捗状況: 1 2 3 4○ 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 基礎研究としては進捗著しい。TR の立場からは国がん研究所の早期探索臨床センターや

FIH(first in human)の治験治の体制が整っている大学の施設などとの連携に取り組む必要性がある。企業導出ができるか否かが重要なポイントでもある。

D: 研究内容の質: 1 2 3 4 5○

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:これまでの研究代表者の研究成果に則り、堅実で價格的根拠に基づいた研究計画である点は高く評価できる

E: 研究の将来性: 1 2 3 4○ 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評:Cの進捗状況のコメントと符合するが、臨床導出へのTRが成功するか否に関わる。TRの観点から、明確にしたいことはNF- κ B阻害剤のような多機能阻害剤を抗がん剤として、抗炎症剤として用いる場合のその際の選択性を現実的にはどのように工夫できるか?この点を解明しないと企業導出は困難と思われる。

米田政志:コノフィリンによる肝脂肪化抑制とその機序に関する検討

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4○ 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:ウイルス肝炎対策の目処がつかけた現在、これから注目されている非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)を対象とした創薬研究で本事業目的に合致している。

B: 研究の独自性: 1 2 3 4○ 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: α -tocophenol、telmisartha、コノフェリンと着眼点がしっかりしている。

C: 研究の進捗状況: 1 2 3○ 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:動物モデルから抜けきれない。

D: 研究内容の質: 1 2 3 4○ 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:動物モデルの現象をヒトのNASHでproof of concept(POC)を得ることが重要

E: 研究の将来性: 1 2 3 4○ 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評:医学的に重要な課題、POCをえられるTRの進展を期待する。

横地高志:エンドトキシンによる臓器障害のメカニズムとその制御

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4 5○

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:本事業の目的そのものに合致する課題である。

B: 研究の独自性: 1 2 3 4○ 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:新しい独自性のある肺障害モデルの構築は素晴らしい。

C: 研究の進捗状況: 1 2○ 3 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:本実験モデルを用いた実際の制御実験の進捗が見られない。

D: 研究内容の質: 1 2 3○ 4 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:実験モデル自体の質は高いが、有用性の検索にかける点が課題。特に、抗精神薬バルプロ酸が本実験モデルでエンドキシン炎症反応を制御の可能性の解析を急ぎたい。

E: 研究の将来性: 1 2 3 4○ 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評:23 年度提案の申請書には、5年度に疾患モデルに薬物動態の検討となっている。それまでにバルプロ酸以外のエンドキシンショック制御薬の探索、候補薬物等開発を他の機関などとの共同で早急に進める必要がある。

山口悦郎:副腎皮質ステロイドによる IL-8 産生の変曲現象とその個体差

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3○ 4 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:ARDS(成人呼吸促迫症候群)におけるステロイドホルモンの作用機序の検討は臨床的には重要な研究である。

B: 研究の独自性: 1 2 3○ 4 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:mPL の薬理作用に関して変曲現象を見出し、今後の臨床応用に導入しようとする点は評価できる。

C: 研究の進捗状況: 1 2○ 3 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:まだ健常人での mPL の影響(変動)に加えて、疾患におけるデータなどの取り組みが遅れている。

D: 研究内容の質: 1 2○ 3 4 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:もうひと工夫が必要。

E: 研究の将来性: 1 2 3○ 4 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評:社会に還元する成果を得るには一層の努力と系の再検討も必要

雑喉正泰:炎症性眼疾患から眼を守る

A: 研究内容の妥当性: 1 2○ 3 4 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:眼病変を主体とするベーチェット病が本事業計画の一翼を担う必然性がやや弱い。

B: 研究の独自性: 1 2 3○ 4 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:ベーチェット病をモデルに炎症性眼疾患を用いて基盤的研究成果を検討する姿勢は評価できる。

C: 研究の進捗状況: 1 2○ 3 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:一般臨床研究の粋を出していない。

D: 研究内容の質: 1 2○ 3 4 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:ベーチェット病全体の病態と眼病変との関係を明確にすること。また、より研究の質を高めるには、ベーチェットの全国ネットワーク(ベーチェット友の会等)提携の上で臨床研究を進めるような方策が必要。

E: 研究の将来性: 1 2○ 3 4 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評:より実質的な成果を求めるなら、ベーチェットの全国ネットワーク定期の上で臨床研究を進めるような方策が必要と思われる。

憑 国剛:神経系由来細胞における naofen/WDR35 発現に関与するシグナル伝達機構の解析

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4 ○ 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:本プロジェクト発足に当たり、課題決定に関係する重要な分子と思われるが、その後の進展が十分でなく基盤薬学のエビデンスを創薬に結びつけるには現状では距離がありすぎる。

B: 研究の独自性: 1 2 3○ 4 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:

C: 研究の進捗状況: 1 2○ 3 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:

D: 研究内容の質: 1 2○ 3 4 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3○ 4 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 生物学的には興味のある分子であり、もう少し多角的な検討・解析が望まれる。

杉浦信夫:コンドロイチン硫酸の生物活性探索と糖鎖配列の決定方法の確立

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3○ 4 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:

B: 研究の独自性: 1 2 3 4○ 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:

C: 研究の進捗状況: 1 2 3○ 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:

D: 研究内容の質: 1 2 3 4○ 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3 4○ 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 知的財産権も申請しておられる点は評価に値する。合成 CS 糖鎖ライブラリーを現時点で多くの研究者に利用していただき、有効利用を実質的に検討されては。

渡辺秀人:細胞外マトリックスプロテオグリカンによる腫瘍微小環境の形成と腫瘍制御

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3 4○ 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:

B: 研究の独自性: 1 2 3○ 4 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:

C: 研究の進捗状況: 1 2 3○ 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: Vcan のがん生物学的役割に関して着実な成果が得られている。創薬への連携に関してはこれからの課題。

D: 研究内容の質: 1 2 3○ 4 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3 4○ 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: がんの増殖・進展機序を解明するに重要な課題、今後の創薬もがん細胞に対する直截的抗がん剤に加えて腫瘍微小環境に対する薬剤が期待されている。

後藤峰明: 白血病とエネルギー代謝

A: 研究内容の妥当性: 1 2 3○ 4 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:

B: 研究の独自性: 1 2○ 3 4 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:

C: 研究の進捗状況: 1 2○ 3 4 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:

D: 研究内容の質: 1 2○ 3 4 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2 3○ 4 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 課題は今日がん領域で重要性が再認識されている課題である。ただ、方法論は無論のこと、使用された細胞株や患者検体資料などにもっと明確な論理性を持った材料を用いないと結果の解釈が非常に困難な領域である。全体に手法や解析方法に独自性が欠ける。

小西裕之: KRAS 遺伝子を改変した気道上皮細胞株による医薬標的分子と医薬シーズの探索

A: 研究内容の妥当性:	1	2	3	4○	5
(本事業のテーマに沿った研究内容か)					
寸評:					
B: 研究の独自性:	1	2	3	4○	5
(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)					
寸評:スクリーニングシステムの構築に成功したことは素晴らしい。 気管支上皮以外の別な細胞にも同様な導入歳暮を作成して、同時にライブラリーのスクリーニングをする計画はないか?					
C: 研究の進捗状況:	1	2	3	4○	5
(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)					
寸評:					
D: 研究内容の質:	1	2	3○	4	5
(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)					
寸評:					
E: 研究の将来性:	1	2	3	4○	5
(当該事業終了後も本研究が発展していくか)					
寸評:KRAS を標的とした薬剤探索システムを構築し、このけいから 6 種の有効性が期待される薬剤が抽出できたことは評価できる。この系によるスクリーニングから、既存の薬剤がどの程度選出され、未知の抑制剤(薬剤)がどの程度選出されるか興味と期待がある。 KRAS 阻害剤の開発研究は Frank McCormick を始め世界で最も競争な激しいところであるが、本系でユニークな抑制剤が選別されることを期待する。					

太田明伸: 口腔扁平上皮がん細胞における天然抗がん物質の増殖抑制効果とその作用機序の解析

A: 研究内容の妥当性:	1	2	3○	4	5
(本事業のテーマに沿った研究内容か)					
寸評:					
B: 研究の独自性:	1	2○	3	4	5
(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)					
寸評:					
C: 研究の進捗状況:	1	2○	3	4	5
(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)					
寸評:					
D: 研究内容の質:	1	2○	3	4	5
(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)					

寸評:

E: 研究の将来性: 1 2○ 3 4 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 発表からも丁寧に研究を施行していることは十分に理解できる。単純に何故口腔扁平上皮癌がんが標的細胞であり、天然抗がん物質が Plumbagin なのか。

Plumbagin は、他の抗癌剤とも併用効果がアポトーシスの増強効果として普遍的に出てくるもので、今後アジュバント製剤として期待されるとしてよいか？この分野の創薬研究はアカデミアだけでは非常に困難である。

Ⅲ. その他気になったこと、今後へのご示唆等:

学内の多くの班員から構成されているが、全体の班会議は年にどの程度行ってきたか？

その際に全体の方向性や、研究の拡大や縮小などの進捗管理はされていたのか疑問がある。

C 委員：分子標的医薬探索寄附講座の研究を担当

I. 本事業全体に関する総評

愛知医大には、基礎から臨床までカバーできる人材が揃っており、プロジェクトに参加している方々が、次世代分子標的治療法の開発に意欲的に取り組んでいることを理解した。これだけの研究者が協力すれば、各研究者が個別に行っているとはできない研究成果を生み出すのではないかと期待する。特に、独自に開発した研究材料や研究手法があるので、オリジナリティーの高い成果につながりそう。

II. ご担当戴いた研究課題に対する評価 ア~オの項目では1(最も悪い)~5(最も良い)で評価のうえ、寸評をお書きください。カ:総合評価には A(最も良い)~E(最も悪い)のうち1つを選んでご記入のうえ、お気づきの点がありましたらご記入ください。

A: 研究内容の妥当性: 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評: 薬剤シードの開発は、本プロジェクト(次世代分子標的治療法の開発)にとって最も重要な部分であり、梅澤先生の貢献を高く評価する。

B: 研究の独自性: 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: 開発中の化合物は、いずれも梅澤先生が独自に開発したものであり、それを活用した研究はいずれもオリジナリティーが高い。

C: 研究の進捗状況: 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 研究は順調に進んでいると評価するが、どこまでか、本研究プロジェクトの到達点かは知らされていないので、評価し難い。もし、製薬企業に導出する(臨床試験に入る)ことが、目標だとしたら1年では足りないが、DHMEQの欠点を改良した Exo-eneEQ の活性評価が進むことを期待する。

D: 研究内容の質: 4

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評: 今回梅澤先生は、臨床系の研究者へ研究材料(化合物)を提供し、共同研究の成果発表が主体であったと思う。自分の研究室で行っている研究は基礎研究で、良くデザインされているが、共同研究の成果は梅澤先生のコントロール外なのでバラバラなのはやむを得ないと思う。共同研究の多くは論文発表というかたちで実を結んでいるが、製薬企業が関与した臨床へ向けた取り組みがあって欲しい(大学の知財担当者のサポート体制が必要)。

E: 研究の将来性: 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 論文業績をみると、多くの研究者が DHMEQ を用いて論文を発表している。今回は、DHMEQ の安定性を改良した Exo-eneEQ を開発したとのことなので、今後の Exo-eneEQ の評価結果が楽しみで

ある。

F:総合評価:(5)

評価記載欄(上記寸評に記載しなかったお気づきの点がありましたらご記載ください)

新しい医薬品シードの開発としては、論文発表も多数あって、基礎研究としては非常にうまくいっていると思う。しかし、今回報告していた化合物の中から、製薬会社が引き取って開発しに結びついていないのは残念。新たに開発した Exo-eneEQ が DHMEQ を上回る効果を示すことが期待される。

III. 本事業全体に関して、その他気になったこと、今後へのご示唆等:

我々に期待されたことが、評価なのかアドバイスなのか? 全体のロードマップ(重要な評価軸)が示されていないので、困りました。

D 委員:内科学講座・消化器内科の研究を担当

I. 本事業全体に関する総評

多岐にわたる専門分野の研究を大変興味深く拝聴させて頂きました。個々の研究は大変優れていると思いましたが、各研究の横のつながりを感じさせる研究が少ないことが少々残念でした。分子標的医薬を幾つか選択し、各専門分野からその標的医薬の研究をするというような取り組みがあれば、もっと素晴らしいと思いました。

II. ご担当戴いた研究課題に対する評価

1(劣っている)~5(たいへん優れている)で評価ください。また寸評をお書きください。

A: 研究内容の妥当性: 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:臓器障害(肝脂肪化)の予防効果があることを示した点が非常に評価されます。

B: 研究の独自性: 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:脂肪肝および非アルコール性脂肪性肝炎研究の第一人者として、これまでのご研究を発展させた独自性の高いご研究と思います。

C: 研究の進捗状況: 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:コノフィリンに肝脂肪化抑制作用があることを突き止め、さらにそのメカニズムの研究も進んでおり、研究の進捗は順調と思います。

D: 研究内容の質: 4

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:コノフィリンによる肝線維化抑制効果を研究する予定が、その前段階の肝脂肪化の抑制を示す

研究になってしまったとのことでしたが、コノフィリンに肝脂肪化を予防する効果があることを示した点は、結果的には素晴らしいと思います。

E: 研究の将来性: 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 本研究はコノフィリンによる組織障害の予防を示している点で、今後の研究の発展が期待されます。治療薬と同様あるいはそれ以上に、予防薬の開発は重要と思います。

III. 本事業全体に関して気になったこと、今後へのご示唆等:

今回初めて評価に参加させて頂きましたが、各研究がどのような経過で行われてきたのかが、不明確だったと思います。年度ごとの研究内容(或いは前回の発表内容)を示し、今回(前回発表した以降の研究内容)はそのどの部分を発展・改良したのかを、きちんと明示する形での発表であればよかったと思います。以前の評価に参加された委員から、「前回の発表とあまり変わらない」とのコメントがありましたが、評価員全員にその経緯がわかる形での発表にして頂けるとよいと思いました。研究の経過がわからないため、現段階の4年目の研究があと1年でどうなるか、評価しにくく感じました。

また、評価表を事前にお送りいただけると、よかったと思います。

この度は、大変興味深い支援事業の評価をさせてくださり、誠に有難うございました。

今後貴支援事業がますます発展することを祈念いたします。

E 委員: 感染・免疫学講座の研究を担当

I. 本事業全体に関する総評

本プロジェクトに参加している各研究代表者は、各々が専門とする研究分野で本プロジェクトの目的に沿って真摯な取り組みを行っていると感じられた。総じて各専門分野における致死性臓器障害の病態、発症メカニズムの解明、鍵となる標的分子の同定と治療薬へのアプローチに焦点を置き、分野毎に進捗の差はあるが、一定の成果がみられている。いくつかの有力な治療薬候補となりうる薬物について、いくつかの研究で治療効果が見出されていることは特筆すべき点である。(以下、シンポジウムの最後にも述べたが、)各研究において、治療標的となりうる分子を同定(あるいは想定)し、そのアッセイ系を構築した時点で、プロジェクト全体として用意した、ある一定の化合物ライブラリーを一律にスクリーニングする、というシステムがあっても良いのではないかと、また、治療薬に至らなくても、予防法につながるような成果についても正しく評価し、現実的に予防につながる戦略を提示していくことも意義あることであり、そのような視点を持つことも考慮したほうが良いと感じた。

II. ご担当戴いた研究課題に対する評価

A: 研究内容の妥当性: 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:敗血症における肺障害は致死的な病態であり、そこに着目した本研究は本事業のテーマとしてふさわしい。

B:研究の独自性: 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:マウスを用いたエンドトキシンショック実験モデルは簡便で再現性の高い敗血症ショックモデルであるが、ヒトとの病態の違いがしばしば問題となる。本研究では α -GalCer感作後にエンドトキシンを投与するというユニークな実験モデルによって、ヒトの敗血症ショックにより近い病態の解析を可能としている。ヒトに病原性を示さないセンダイウイルスを用いる点も興味深い。

C:研究の進捗状況: 4

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:論文による発表は着実になされ、研究の進捗・成果が伺える。本事業の性格から、治療薬および治療方法を動物実験に積極的にアプライし、薬物(含むウイルス)の治療薬としての有効性を検討するとともに、有効性を引き出す投与方法の研究が進められることが期待される。

D:研究内容の質: 4

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:in vitroの研究によって作用メカニズムの解析は十分進められており、in vivoにおける効果が期待できる。動物実験における治療効果と方法論に関する研究の進展を期待したい。

E:研究の将来性: 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評:分子レベルで作用メカニズムの解析を行っている in vitro の成果を、今後、積極的に in vivo の実験系に適用することにより、新たな治療薬、治療戦略の開発が期待できる。

F:総合評価: 5

評価記載欄(上記寸評に記載しなかったお気づきの点がありましたらご記載ください)

特になし

III. 本事業全体に関して、その他気になったこと、今後へのご示唆等:

特にありません。

F 委員：内科学講座・呼吸器アレルギー内科学の研究を担当

I. 本事業全体に関する総評

致死的臓器障害は肺、肝臓、腎臓など多くの重要臓器に起こり得るが、その病態を解析し新しい創薬につなげることは臨床的にも大変期待の高まる重要な研究事業である。既に多くの論文、3件の特許出願を行っており多くの成果をあげている。基礎医学、臨床医学それぞれの分野から専門分野を掘り下げながらも、同じテーマに向かって有機的、補完的に研究を行っており大変価値のあるプロジェクトであると考えます。

II. ご担当戴いた研究課題に対する評価

1(劣っている)~5(たいへん優れている)で評価ください。また寸評をお書きください。

A: 研究内容の妥当性: 4

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評: 致死性肺障害であるARDSの病態では様々な炎症サイトカインが関与していると考えられているが多くの症例で臨床的にはステロイドの効果が得られない。その機序を解明することが本疾患制圧の第一歩である。本研究は血液中 T 細胞からのサイトカイン産生にステロイドが及ぼす影響を詳細に検討するものであり事業のテーマに沿った研究といえる。

B 研究の独自性: 4

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: 血液単球を用いた手法自体は独創的ではないが、ARDS に関与する様々なサイトカイン産生に対するステロイドの影響を網羅的に解析し、かつステロイド濃度を細分化して検討しているところは独創的である。

C: 研究の進捗状況: 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 当初の計画自体は順調に進んでおりデータ解析も終了している。進捗状況としては問題ない。

D: 研究内容の質: 3

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評: 研究の端緒となっているステロイドの ARDS に対する無効性を解明するためにステロイド濃度により変化するIL-8量とその機序を解明する目的での mRNA の量的解析は標準的な方法ではあり信頼性が高い。一方で、本研究は健常者のリンパ球(T細胞)におけるデータであるが、当然、ARDSの症例あるいはARDSに陥りやすい感染症の症例などでの解析が必要であり、また対象細胞がT細胞のみでよいかという問題もある。

E: 研究の将来性: 4

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 上述のごとく、今回の解析での知見が病的状態の細胞、あるいは他種類の肺 resident cells において同様の結果がえられるのかが重要である。また今回変化が見られなかったサイトカインあるいは

他のケモカインを、さらに網羅的に肺胞マクロファージなど他の細胞で検討するなど大いに研究を進展させる可能性がある。以上から本研究はそれらの重要な端緒となる研究である。

評価記載欄(上記寸評に記載しなかったお気づきの点がありましたらご記載ください)

特になし。今後の研究の発展を祈念します。

III. 本事業全体に関して気になったこと、今後へのご示唆等:

特にありません。

G 委員:眼科学講座の研究を担当

I. 本事業全体に関する総評

個々の研究者の皆様は臨床や教育でご多忙にもかかわらず、真面目に頑張ってみえる様子が拝見できました。改善点としては臨床ニーズが十分に研究に反映されていないように見受けられ、もう少し臨床からの視点があると、研究目的の明確化やニーズの発掘などに役立つと思いました。また現状の創薬研究は競争的ですので、それが成功しなかった場合でのセカンドエンドポイント的、つまり病態解明や病態評価などを目標にしてもよいと思います。

II. ご担当戴いた研究課題に対する評価

1(劣っている)~5(たいへん優れている)で評価ください。また寸評をお書きください。

A: 研究内容の妥当性: 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評: 失明は感覚器の致死的ともいえる病態であり、妥当と思われる。

B: 研究の独自性: 4

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: 眼といういわば閉鎖系であるいっぽう、全身の状態を反映する臓器の特異性を考慮。

C: 研究の進捗状況: 4

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 研究の進捗は良好である。

D: 研究内容の質: 4

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評: 洗練されている。

E: 研究の将来性: 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

評価記載欄(上記寸評に記載しなかったお気づきの点がありましたらご記載ください)

新規治療の開発と同様に既存治療の機序解明は重要であり、その研究を通じて今後の新しい治療や副作用の対策に資すると思います。特異的な眼組織における炎症の機序解明に踏み込んでおり、

新規性、独創性について評価できます。さらに眼組織の炎症の特殊性と共通性を意識した研究アプローチがもっとあると良いと思います。またキーワードにもなっている血管透過性に関しては前に発表したARDSの病態や癌の細胞外マトリックスなどとの共通点があるとも思いますので、相互に発展できるように期待しています。

III. 本事業全体に関して気になったこと、今後へのご示唆等：

本研究資金の主旨からいっても、少なくともグループ間での共同研究や討議は活発に行われることを期待しております。愛知県の代表的な医科大学であり、私学である利点を最大限に活かして頑張ってください。炎症・線維化と癌のサブグループにわたっての学内での交流セミナーなどで一層の共同研究をすすめてもよいと思います。

H 委員：薬理学講座の研究担当

I. 本事業全体に関する総評

全体5年間の計画の最終年を残す段階での研究成果である。この点、概観的には探索による基盤的な解析段階、すなわち *in vitro* レベルから *vivo* レベルへの検討の進捗が遅れている印象を持った。最終年において TR 研究による詳細なデータ集積が必要であると考える。

ただし、個別の研究プロジェクトの中には独創性の高い研究も見られ、これらに関しては次段階の発展が期待される。

II. ご担当戴いた研究課題に対する評価

1(劣っている)~5(たいへん優れている)で評価ください。また寸評をお書きください。

A: 研究内容の妥当性: 4

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評: 目的に対する研究の方向性は全体として合致していた。

B: 研究の独自性: 3

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: 11課題の中に独創性の高いプロジェクトがあった。

C: 研究の進捗状況: 2

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 全体として遅れている。

D: 研究内容の質: 3

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評: 質の高い研究と単なる基礎生物学的研究レベルのもの、それぞれがあった。

E: 研究の将来性: 3

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評:対象疾患に対する TR レベルでの実効性を証明できれば可能性が期待される。

評価記載欄(上記寸評に記載しなかったお気づきの点がありましたらご記載ください)

Ⅲ. 本事業全体に関して気になったこと、今後へのご示唆等:

本グラントのテーマ、主旨に鑑みて、未だ基礎生物学的検討段階にあるものが見受けられた。独自性が高く、次段階への展開可能なプロジェクトが存在することから、本事業の基盤研究成果報告のため、これらに集約して精力的な解析を行うのも一つの方法であるかと思われた。

I 委員:分子医科学研究所の研究を担当

I. 本事業全体に関する総評

設定するテーマの重要性とハードルを十分に踏まえたうえで、プロジェクトチームとして真摯に取り組んでいる姿が印象的で、大変よく取り組んでいると評価できる。ただ、「治療法の開発」と銘打った以上はその成果が求められるわけで、基礎研究の成果を基にしたシーズ探索～化合物を用いた治験への橋渡しまで、いろいろなフェーズの研究のそれぞれに成果を求める必要がある。その点については各研究テーマの間で凸凹がある。

本プロジェクト研究は、愛知医科大学の研究リーダーを集めたという意味でも意義がある。このような中期的研究プロジェクトは、大学の研究力強化にまたとない機会である。例えば、担当教室の若手研究者が発表する月一回程度の発表会にすべての PI が出席し、互いに批判と助言を交わすことは、学内の研究文化の醸成以上の効果があると、(評価者の経験上も)思われる。

この研究チームの大きな特徴として通常みられる基礎医学者と臨床医学者の協同に加えて、梅澤、杉浦という化学者が参入している。医学系のキャンパスにこのような多様性を保持しているところは珍しく、本プロジェクト推進のためにシーズ提供以上の貢献が期待される。

II A. 杉浦の研究課題に対する評価

1(劣っている)~5(たいへん優れている)で評価ください。また寸評をお書きください。

A: 研究内容の妥当性: 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:酵素学的アプローチで糖鎖構造、合成に踏み込んだ基盤研究で、本事業のみならず広く応用が可能な研究である。

B: 研究の独自性: 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:本来の専門性を最大限に活かしている。

C: 研究の進捗状況: 4

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 挑戦的な課題なので十分な到達点に達してはいないが、目標達成の暁には成果のインパクトは大きい。

D: 研究内容の質: 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評: 独自の手法を用いた、よく練られた研究である。

E: 研究の将来性: 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 目標達成の暁には成果のインパクトは大きい。

評価記載欄(上記寸評に記載しなかったお気づきの点がありましたらご記載ください)

II B. 渡辺の研究課題に対する評価

1(劣っている)~5(たいへん優れている)で評価ください。また寸評をお書きください。

A: 研究内容の妥当性: 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評: プロテオグリカンと腫瘍に焦点を絞った研究で、本事業のテーマとも合致している。

B: 研究の独自性: 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: プロテオグリカンであるパーシカン研究の第一人者の研究であり、腫瘍間質の機能に踏み込んだ独自性の高い研究である。

C: 研究の進捗状況: 4

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 臨床への応用を考えると道は遠いが、腫瘍進展機構の解明の点で、高く評価されている。

D: 研究内容の質: 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評: プロテオグリカンと腫瘍に焦点を絞った研究で、特に腫瘍間質の宿主側のプロテオグリカン(パーシカン)の腫瘍抑制効果を示した、優れた研究である。

E: 研究の将来性: 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: G1-G3 の中で決め手となるフラグメントの同定が成功すれば、臨床応用へ道も開ける。

評価記載欄(上記寸評に記載しなかったお気づきの点がありましたらご記載ください)

杉浦の研究はプロテオグリカンに付加する長大な糖鎖コンドロイチン硫酸に関して、その構造と合成を、酵素を使った手法を中心に用いて解こうとする。いずれの技術も一般的手法として確立するまでに

ブラッシュアップすれば、糖鎖生物学を著しく発展させ、ひいては癌、神経などあらゆる分野の研究・開発に恩恵をもたらせるであろう。

渡辺の研究は腫瘍間質のマトリックス、特にパーシカン、の役割について、腫瘍抑制効果があることを見事に明らかにした。腫瘍進展の機構を知るうえで大きな貢献といえる。今後、肉腫以外の腫瘍ではどうか、パーシカン以外のプロテオグリカンはどうか、など数々の疑問に答えることで癌科学の発展と臨床応用に貢献することが期待される。

Ⅲ. 本事業全体に関して気になったこと、今後へのご示唆等：

愛知医科大学は将来の医学・医療にインパクトを与える研究を遂行するに十分な人材を多く集めている。本事業の陣容に加わる研究者の多くはそれに当たると思われる。本事業は特化したミッションの完遂が求められるが、医学・医療界あるいは愛知医科大学の立場から俯瞰すると、本事業をきっかけに研究の加速と共同研究の先に、インパクトある医学・医療的成果が出るのが最も期待されるのだと思う。その意味では、発表会やリトリートを通して、学内の議論をさらに活発化させ、学外の知恵や示唆も積極的に取り込んで、本事業が「次に繋がる」ものとなることを期待したい。

J 委員：内科学・血液内科の研究を担当

I. 本事業全体に関する総評

全体としては、概ね本事業の研究課題に沿った研究発表が成され、それぞれの研究課題のレベルは高いものと評価しております。さらなる発展のために要望することは、1) 大学内外の講座の壁を取り払った共同研究の活性化、2) 臨床材料(検体)を用いた解析の必要性を強く感じます。1)に関しては梅沢教授の研究室で同定された化合物が、米田教授らの研究へ見事に展開されていると感じました。同様の共同研究の発展のためにも、学内で本事業に参加されている基礎と臨床の研究室間での研究ミーティングを定期的で開催されてはいかがでしょうか。2)に関しまして、基礎講座の研究レベルは非常に高いと感じましたが、狭い領域での研究に留まっているように感じました。臨床応用を可能にするには多くの臨床検体を用いた検討を行い自らの基礎研究をどのような疾患に応用できるのか見極める必要があります。逆に臨床講座の場合には、基礎講座と共同で分子病態の解析を行われることがお互いの発展に繋がると考えます。

II. ご担当戴いた研究課題に対する評価

1(劣っている)~5(たいへん優れている)で評価ください。また寸評をお書きください。

後藤峰明：白血病とエネルギー代謝

A: 研究内容の妥当性： 4

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評：特異的なエネルギー代謝阻害薬の有用性に関する研究であり本事業のテーマに相応しいテ

マです。

B: 研究の独自性: 3

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評: エネルギー代謝という新たな視点を治療標的としており、少なくとも白血病領域においては独自性が高い研究であると考えます。

C: 研究の進捗状況: 3

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評: 細胞株レベルでは興味深い結果が示されており、白血病細胞の種類によって適切なエネルギー代謝阻害薬の存在が示されています。しかし、実際の患者検体での検討が遅れており、代謝阻害薬を選択するためのバイオマーカーが明らかにされておらず、臨床応用には距離感を感じます。

D: 研究内容の質: 4

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評: 白血病細胞株レベルでは、依存している代謝経路が明らかにされており、適切な代謝阻害薬、食事療法への展開など将来の個別化治療が期待できる結果が得られています。

E: 研究の将来性: 4

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評: 解糖系、酸化的燐酸化、 β 酸化、AMPKなどの阻害薬は様々な腫瘍を対象に基礎的開発が進んでいます。白血病患者毎に適切な薬剤の選択が可能となるように、依存代謝経路の同定が可能となる簡便なバイオマーカーの確立が重要です。今後の研究の発展に期待しています。

評価記載欄(上記寸評に記載しなかったお気づきの点がありましたらご記載ください)

Ⅲ. 本事業全体に関して気になったこと、今後へのご示唆等:

総評においても記載しましたが、学内での本事業に参加されている教室の共同ミーティングの開催、今回の公開シンポジウムのような形での外部審査の定期的開催が必要だと考えます。

今後の本事業の発展に期待しております。

K 委員: 生化学講座を担当

I. 本事業全体に関する総評

「致命的臓器障害に対する次世代分子標的治療法の開発」事業において、文字通り新しい治療に結びつくと期待できるトップレベルの研究がなされていることを大変頼もしく感じた。個々の研究の進展もあるが、9グループの中に基礎研究から臨床応用へと繋がるものもあり、今後もグループ間の交流が盛んとなり切磋琢磨して発展されることを期待できる。限られた資源をすべてに均等配分ではなく、研究の進展状況に応じてケースバイケースで適切に配分されていることも評価できる。

Ⅱ. ご担当戴いた研究課題に対する評価 ア~オの項目では1(最も悪い)~5(最も良い)で評価の

うえ、寸評をお書きください。力:総合評価には A(最も良い)~E(最も悪い)のうち1つを選んでご記入のうえ、お気づきの点がありましたらご記入ください。

A:研究内容の妥当性: 5

(本事業のテーマに沿った研究内容か)

寸評:

B:研究の独自性: 5

(研究者自身の独自性を生かした研究を遂行しているか)

寸評:

C:研究の進捗状況: 5

(残り1年で終了することを踏まえて研究が進んでいるといえるか)

寸評:細胞系の樹立からスクリーニング、作用機序の解明など着実に研究が進められている。

D:研究内容の質: 5

(各実験系のデザイン・方法がよく練られたものとなっているか)

寸評:

E:研究の将来性: 5

(当該事業終了後も本研究が発展していくか)

寸評:KRAS 変異導入細胞を用いたスクリーニング系は、気管上皮細胞に留まらず他の細胞系を樹立することや、新たな薬剤ライブラリーを活用するなどしてさらなる発展が期待できる。

F:総合評価: 5

評価記載欄(上記寸評に記載しなかったお気づきの点がありましたらご記載ください)

・KRAS 変異導入細胞を用いたスクリーニングの研究は、他の細胞系にも応用できる。本研究で有望視された薬剤の臨床に近い系での効果の検索が期待される。

・評価者のコメントのようにプランバギンの作用機序が周知であれば、プランバギン研究による大きな成果は得られないかも知れない。培養細胞だけでなく、臨床分離株や他の薬剤と比較検討することは可能と思われる。

Ⅲ. 本事業全体に関して、その他気になったこと、今後へのご示唆等:

事業終了後に広く広報して公開シンポジウムを開催されることを期待します。評価者のコメントにもありましたが、異なる分野の研究者が交流の場をもつことは大変重要と思いますので、定期的にコミュニケーションの場をもたれることを提案します。