
プロジェクト研究成果報告会

プログラム・要旨集

案内サイト: <https://www.jbic.or.jp/news/event/2023/report-meeting>

2023 年 2 月 15 日 (水)

オンライン開催

<主 催>

一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム

次世代天然物化学技術研究組合

【プログラム】

13:30～13:35

開会挨拶

一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム 会長 赤羽 浩一

13:35～14:05

プロジェクト成果発表（1）

福島医薬品関連産業支援拠点化事業に係る研究開発業務

福島医薬品関連産業支援拠点化事業の進捗と今後

福島県立医科大学 医療-産業トランスレーショナルリサーチセンター 家村 俊一郎

14:05～15:10

プロジェクト成果発表（2）

患者層別化マーカー探索技術の開発／免疫応答モニタリングによるがん免疫の全容理解に基づく新規層別化マーカーの開発

プロジェクト概要と成果

名古屋大学大学院 医学系研究科 上田 龍三

がん免疫サイクルT細胞動態とバイオマーカー

埼玉医科大学 国際医療センター呼吸器内科 各務 博

免疫ゲノム解析に基づく腫瘍微小環境における免疫抑制機構の解明

国立がん研究センター 先端医療開発センター 小山 正平

統合データウェアハウス「がん免疫ビブリオテカ」と網羅的リン酸化自動計測機器の

社会実装への進捗

産業技術総合研究所 人工知能研究センター 堀本 勝久

15:10～16 : 10

プロジェクト成果発表（3）

RNA 標的創薬技術開発／標的 RNA の機能解析・構造解析基盤技術開発

「核磁気共鳴法による RNA 標的創薬技術開発」の成果

理化学研究所生命機能科学研究センター 生体分子動的構造研究チーム 嶋田 一夫

「クライオ電子顕微鏡法による RNA 標的創薬技術開発」の成果

東京医科歯科大学 高等研究院卓越研究部門 藤吉 好則

「インシリコ技術による RNA 標的創薬技術開発：RNA 複合体構造予測」の成果

産業技術総合研究所 生命工学領域 細胞分子工学研究部門 生物データサイエンス研究グループ
福西 快文

16:10～16:30 プロジェクト成果発表（4）

新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業

「多剤耐性結核菌に有効な天然物の革新的な構造改変ならびに新規探索手法による創出」の成果

次世代天然物化学技術研究組合 研究開発部 池田 治生

【目 次】

1. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業に係る研究開発業務.....	1
1-1. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業の進捗と今後	
2. 患者層別化マーカー探索技術の開発／免疫応答モニタリングによるがん免疫の全容理解に基づく新規層別化マーカーの開発.....	2
2-1. がん免疫サイクルT細胞動態とバイオマーカー	
2-2. 免疫ゲノム解析に基づく腫瘍微小環境における免疫抑制機構の解明	
2-3. 統合データウェアハウス「がん免疫ビブリオテカ」と網羅的リン酸化自動計測機器の社会実装への進捗	
3. RNA 標的創薬技術開発／標的 RNA の機能解析・構造解析基盤技術開発.....	5
3-1. 「核磁気共鳴法による RNA 標的創薬技術開発」の成果	
3-2. 「クライオ電子顕微鏡法による RNA 標的創薬技術開発」の成果	
3-3. 「インシリコ技術による RNA 標的創薬技術開発：RNA 複合体構造予測」の成果	
4. 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業.....	8
4-1. 「多剤耐性結核菌に有効な天然物の革新的な構造改変ならびに新規探索手法による創出」の成果	

1. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業に係る研究開発業務

1-1. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業の進捗と今後

福島県立医科大学 医療・産業トランスレーショナルリサーチセンター 家村 俊一郎

福島県立医科大学では、東日本大震災福島復興事業の一環として平成 24（2012）年度から福島医薬品関連産業支援拠点化事業（福島事業）を推進している。福島事業は令和 2（2020）年度で第一期が終了し、昨年度から 5 年間の予定で第二期が開始され、JBIC には本事業の「研究開発業務」と「情報収集および提案に関する業務」の一部を委託している。

本事業は、平成 19-23 年度に実施された NEDO「遺伝子発現解析技術を活用した個別がん医療の実現と抗がん剤開発の加速」の後継プロジェクトであると共に、「タンパク質機能解析プロジェクト」を起点とする過去複数の経済産業省バイオ関連国家プロジェクトの集大成事業にあたる。それらのプロジェクトで蓄積した成果やノウハウ（技術）をもとに新たに取得した成果を加えて、医薬品等の開発支援・新規産業の創出・既存企業の誘致及びこれらに伴う雇用の創出等により福島復興に貢献することを目的としている。

第一期においては、希少かつ微量な生体試料を、①「情報に変換する」②「加工して増やす」③「極微量試料の解析技術を開発する」ことにより創出・取得した生体由来加工試料、解析情報等の多種多様な成果物を「福島コレクション®」と命名し、製薬企業や検査・診断薬企業及び研究機関等とこれらを活用した受託・共同研究や成果物の提供（MTA）を推進してきた。また、事業発ベンチャー3 社や、福島コレクション®の企業・アカデミアへの橋渡し機関として一般財団法人福島医大トランスレーショナルリサーチ機構を設立し、成果普及体制も構築した。

第二期においては、第一期の成果である「天然ヒト抗体遺伝子クローニング」及び「タンパク質マイクロアレイ」の二大基盤技術に焦点をあて、これらを活用した抗体医薬・診断薬等の開発や関連産業の集積を通じて福島復興への更なる貢献を目指している。これまでの第二期事業の成果として、二大基盤技術を用いて新型コロナウイルスに中和活性を示す抗体（IgG; 15 種類・IgA; 3 種類）を取得したことを報告する。この中で、オミクロン株にも強く結合する IgA 抗体については、衛生用品開発材料として企業に提供している。その他、タンパク質マイクロアレイ技術の発展状況、本アレイを用いた解析例等のトピックスも報告する。また、昨年度南相馬市に開設した浜通りサテライトの稼働状況や、同所をハブとした浜通り地域における活動についても紹介したい。



福島医薬品関連産業支援拠点化事業第二期の概要

2. 患者層別化マーカー探索技術の開発／免疫応答モニタリングによるがん免疫の全容理解に基づく新規層別化マーカーの開発

2-1. がん免疫サイクルT細胞動態とバイオマーカー

埼玉医科大学 国際医療センター呼吸器内科 各務 博

目的

本研究の目的は、末梢血という軽微侵襲で経時的に解析可能な検体に由来する免疫担当細胞を解析することにより、がん細胞に対する免疫状態を数学的に記述し数理解の理解し、適切な治療介入を可能とする患者層別化マーカーを開発することにある。

背景

腫瘍微小環境で生じる抗腫瘍免疫現象は、Cancer Immunity Cycle 理論で示されるように、所属リンパ節におけるT細胞プライミング・クローン増殖で始まり、末梢血遊走を経て、腫瘍局所に至ったエフェクターT細胞により担われている。このT細胞免疫動態を明らかにすることで、末梢血からT細胞プライミング、腫瘍微小環境免疫を推定することが可能となり、抗腫瘍免疫の量的理解=免疫学的層別化マーカー、の開発につながるものと考えられる。

成果

CD8⁺ T細胞の末梢血、腫瘍微小環境間動態を、同一TCR clonotype 追跡により解析した結果、末梢血内でCTL/effector type、precursor exhausted typeであったものが腫瘍微小環境内ではterminally exhausted typeに変換されていることが判明した。この末梢血-腫瘍微小環境間変換により、末梢血CD8⁺ T細胞から腫瘍微小環境内CD8⁺ T細胞動態を数的予測することは困難であった。

これに対して、CD4⁺ T細胞は、末梢血、腫瘍微小環境内で、いわゆるヘルパーT細胞(Th)極性分化に基づく一貫した遺伝子発現パターンを有しており、TCR clonotype 追跡でもその分化状態に変化は見られなかった。この結果、良好な線形相関がクラスター毎に成り立っており、末梢血Th解析により腫瘍微小環境内CD4⁺ T細胞動態の数的予測が可能であった。腫瘍微小環境を構成する主なCD4⁺ T細胞クラスターは、Th1、Th7R、Tregであり、所属リンパ節においてプライミングされているCD4⁺ T細胞もTh1、Th7Rへの分化を示していた。腫瘍微小環境内Th1はcytolytic activityに関連した*PRF1*, *GZMB*, *GNLY*, *NKG7*などの遺伝子発現をしているのに対して、Th7Rはtertiary lymphoid structure形成に関わる*LTB*や*CXCL13*遺伝子発現を示し、Th1が短期的細胞傷害活性、Th7Rが長期的T細胞免疫維持の機能を担っていると考えられた。Th7Rのみが、PD-1治療後予後、手術後早期肺癌の無再発生存を予測しており、免疫学的層別化マーカー性能を有していた。

2-2. 免疫ゲノム解析に基づく腫瘍微小環境における免疫抑制機構の解明

国立がん研究センター 先端医療開発センター 免疫トランスレーショナル分野 小山 正平、西川 博嘉

がん免疫編集 (Cancer Immunoediting) の理論に基づくと、がん細胞は免疫系からの攻撃を受けにくい免疫原性の低いがん細胞を選択する(免疫選択)とともに、生体に備わっている様々な免疫抑制機構を用いて免疫系から逃避(免疫逃避)することで、生体内で増殖し、臨床的に確認される「がん」となる。それぞれの患者毎に発がん過程での免疫選択と免疫逃避への依存性が異なることから、高免疫原性および低免疫原性腫瘍と呼ばれる腫瘍微小環境の違いが生じると考えられる。以上の背景から、個々のがん患者のがん細胞の特性をゲノム解析によって解明するとともに、腫瘍微小環境での免疫応答を統合的に検討する(免疫ゲノム解析) ことにより、がん免疫療法の治療効果を層別化するバイオマーカーや治療抵抗性機序に基づいた免疫プレシジョン医療の展開が求められている。

我々は、がん微小環境の解析から、エフェクターT細胞であるCD8陽性T細胞と免疫抑制細胞である制御性T細胞に発現するPD-1の発現強度の違いが抗PD-1/抗PD-L1抗体の治療効果と相関する精度の高い効果予測バイオマーカーとなることを示した。さらに制御性T細胞でPD-1が高発現となる新規メカニズムとして、腫瘍の代謝環境による影響:解糖系と乳酸産生の亢進の関与を見出し、制御性T細胞標的治療のバイオマーカーに基づく臨床展開の基盤を構築した。さらに、がん細胞自身が持つドライバー遺伝子変異シグナルが直接的にがん局所の免疫応答の調節に関わっていることを解明した。例えば、遺伝子変異が蓄積した tumor mutation burden が非常に高い非小細胞肺癌では、Wnt/ β カテニン関連シグナルが亢進し、T細胞浸潤の低下による免疫療法への抵抗性が誘導されることを示した。

さらに新鮮な腫瘍生検検体から腫瘍微小環境に関する免疫・ゲノム・代謝の網羅的解析を実施可能なプラットフォームを確立、上市することで、複数の製薬企業との共同研究に展開し、フローサイトメトリーを用いたバイオマーカーの有効性を検証するための治験や、治療耐性化に関わるメカニズム解析を目的とした免疫複合治療前後のシングルセルRNA/TCRシーケンスなどを実施している。

腫瘍微小環境を免疫・ゲノム・代謝の観点から網羅的かつ詳細に解析し、がんが有する様々な免疫抑制機構を詳しくし、それに基づいた適切ながん治療、すなわち免疫ゲノムプレシジョン医療を展開することが今後も重要であると考えられる。

2-3. 統合データウェアハウス「がん免疫ビブリオテカ」と網羅的リン酸化自動計測機器の社会実装への進捗

産業技術総合研究所 人工知能研究センター 堀本 勝久

「がん免疫ビブリオテカ」に関して、骨組みとなるプロトタイプを完成させており、学界及び製薬関連企業の顧客の要求に対応した性能及び利便性の向上を図る、所謂「走りながら考える」、段階を迎えた。幸い頑強な骨組みの設計であるため、少数の市場からの要求ではあるが、それら要求に迅速に応えることができている。現在、社会実装のための主な具体的進捗は、以下の通りである。

- ① 事業内計測データの収納とその予備的解析結果の表示（図 1）
- ② がん免疫関連オープンソースデータの増強と検索機能の向上
- ③ AI マシンツールの性能拡張
- ④ チロシンキナーゼ阻害剤投与によるリン酸化変動パターンデータベースの実装

①については、埼玉医科大学において採取されたサンプルについて、研究グループ内（埼玉医科大学、慶応義塾大学、東京大学）において計測されたデータ（CyToF データ、シングルセルデータ、メチロームデータ等）を収納し、新たにサンプルの臨床データを利用した予備的な解析ツールを搭載した。②については、がん種、投与薬剤種（チェックポイント阻害剤及び化合物）、さらにデータ計測手法に関して、指定した条件でデータ検索が可能になった。③については、探索用語及び関係性を NIH の Medical Subject Headings (MeSH: <https://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>) 及び Gene Ontology knowledgebase (<http://geneontology.org/>) でのがん免疫関連 ontology に拡張し、関連事象の記載検出性能の向上を行っている。④については、チロシンキナーゼ阻害剤の投与前後でリン酸化変動データを収納し、シグナルパスウェイ上での有意に変化した基質の検出等の機能を搭載した。残念ながらウェブデザインによる製品としての外見の洗練は困難であるが、今後、さらに研究も含めた市場の要求を吸収し、性能において継続的利用可能なシステムの完成を目指す。

キヤノングループのリン酸化自動計測機器開発については、開発支援を継続している。既に出版されたリン酸化解析に関する 4 報に加え、さらに南京医科大学薬学院（中国）との共著となる 2 報を出版予定である。また、蘇州工業園區（中国）において本開発機の導入し中国国内への普及を計画している。実際、抗がん剤開発において免疫チェックポイント阻害剤が日米欧において優位であるが、安価な化合物からなる抗がん剤の需要は中国、東南アジア、アフリカ等において高く、これら開発において本開発機による網羅的リン酸化活性計測に基づいた迅速な且つ正確な新規抗がん剤開発への利用が期待される。

キヤノングループは、開発済の 2 つの機能要素のモジュール（リン酸化反応に関する生化学系及びその検出に関する光学系）を統合した試作機を完成させ、市販に向けた製品性能の達成/検証に向けた段階に入っている。今後、市販に向けた製品性能要件の検証を経て、世界標準機としての性能達成を目指す。

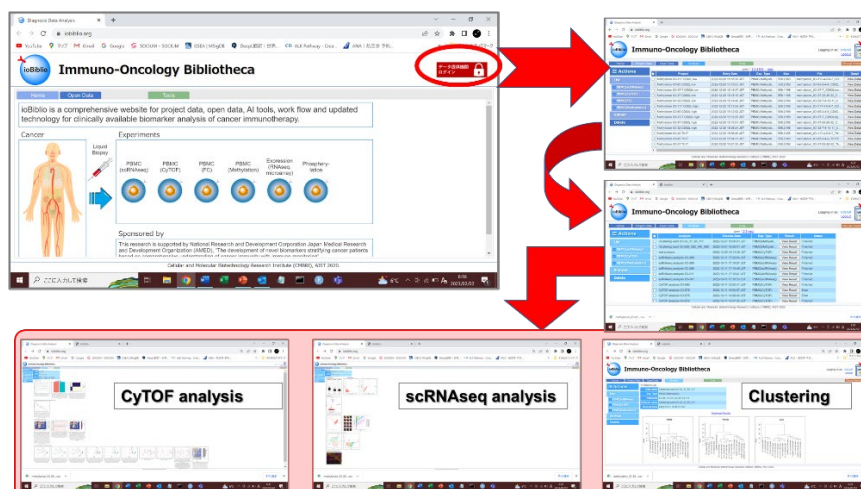


図 1：事業内計測データ収納とその予備解析ツール群の装備

3. RNA 標的創薬技術開発／標的 RNA の機能解析・構造解析基盤技術開発

3-1. 「核磁気共鳴法による RNA 標的創薬技術開発」の成果

理化学研究所生命機能科学研究センター 生体分子動的構造研究チーム 嶋田 一夫

医薬品開発における創薬標的の枯渇を解消する新たな可能性として、立体構造を形成する RNA への注目が高まっている。しかし、RNA 標的創薬の基盤となる立体構造情報は極めて少なく、特に、血清中や実際に作用する細胞内環境などにおける構造情報はほとんど無い。これらの事実が、国内製薬企業において、RNA 創薬の実現への障害となっている。また、創薬の標的になるような RNA 上のサイトは、典型的な塩基対を形成していないことが多く、複数の構造間の平衡にあると想定される。よって、RNA 標的創薬の実現には、創薬標的 RNA およびその複合体の立体構造を決定する技術、生理環境における構造平衡を解明する技術、そして得られた構造情報に基づいた薬剤設計を可能にするシミュレーション技術の確立を、産学連携の枠組みで行う必要がある。本研究課題では、クライオ電子顕微鏡法、NMR 法、インシリコ計算技術の融合により、上記課題を実現する。NMR 法では、特に、新規の安定同位体標識法および NMR 解析技術を確立することで、高分子量 RNA 標的の立体構造解析および動的相互作用解析を実現すべく研究を進めている。

多くの RNA ウイルスは、ゲノム上に内部リボソームエンタリーサイト (IRES) を持ち、宿主の翻訳機構を利用してウイルスタンパク質を生産し、複製を行う。脳心筋炎ウイルス (EMCV) の IRES は、真核生物の翻訳開始因子 4G (eIF4G) と相互作用し、リボソーム 40S サブユニットを開始コドンに呼び寄せる。特に、IRES 中に存在する J-K-St 領域による eIF4G の特異的捕捉は、ウイルスの複製に必須である。しかし、J-K-St 領域単独での立体構造は明らかにされているものの (Imai S et al., Nat Struct Mol Biol. 2016)、eIF4G 複合体の立体構造は不明であり、本来 RNA 結合活性を持たない eIF4G とウイルス RNA との結合を可能にする構造的メカニズムは不明であった。

本年度は、藤吉チームとの連携により、クライオ電顕により J-K-St 領域と eIF4G の複合体立体構造を解明し、NMR により eIF4G とウイルス RNA の相互作用機構を解析したので、その成果を報告する (論文投稿中)。

3-2. 「クライオ電子顕微鏡法による RNA 標的創薬技術開発」の成果

東京医科歯科大学 高等研究院卓越研究部門 藤吉 好則

クライオ電子顕微鏡法を活用して「RNA 標的創薬技術開発」を以下の様に実施している。

1) 90 塩基以下の RNA の立体構造解析技術開発

クライオ電子顕微鏡は複雑で大きな分子の構造解析には適しているが、構造を形成する部分が小さい RNA の構造解析は極めて困難である。一方、NMR 法は小さい分子の構造の解析に適しており、さらに動的な構造情報を取得することができる。クライオ電子顕微鏡法を用いて相対的に小さい RNA の構造まで解析できるようになると、NMR 法と切れ目なく RNA の構造研究が可能になる。それゆえ、クライオ電子顕微鏡システムの高度化と試料作製技術などの開発を行うことにより、RNA の立体構造解析技術の高度化を進めている。

2) RNA・タンパク質相互作用情報取得技術開発

本プロジェクトの中心をなす研究課題は、RNA とタンパク質との相互作用情報を効率良く取得する技術を開発し、インシリコグループが活用できるようにすることである。それゆえ、嶋田グループと共同で脳心筋炎ウイルスの J-K RNA/eIF4G1-p50/eIF4A の 3 者複合体の構造機能研究を進めて、論文投稿にまで進捗している。

3) RNA・タンパク質複合体と低分子との相互作用構造情報取得技術開発

具体例として、全身性エリテマトーデス関連 Sm/RNP 複合体の構造研究などの研究課題として技術開発を進めている。具体的には、Sm/RNP 複合体と Sm/RNP+CD72 複合体の構造解析を進めている。

4) 核内に存在する pre-miRNA の Exportin-5 による核膜孔透過制御機構の理解

pre-miRNA の核膜孔透過制御機構の理解のために Exportin-5 と RNA との相互作用、および、Exportin-5 と核膜孔との相互作用の研究を進めている。

5) 細胞膜及び細胞間の透過制御技術開発

RNA をはじめとする物質の細胞膜及び細胞間の透過機構の詳細を構造学的に研究することで、透過制御技術の開発を目指している。そのために、gap junction の構造解析により新しい gating 機構を解明しつつある。また、tight junction の構造モデルを理解するために、tight junction のクライオ電子線トモグラフィ技術開発を進めている。

6) 細胞内動態観察技術開発

RNA 分子などの細胞内動態観察技術開発のためにラベル法の開発を進めている。

以上の様に、クライオ電子顕微鏡を活用して RNA の立体構造解析法や RNA-タンパク質複合体の構造解析法開発を始めとして、このプロジェクトに必要とされる基盤技術開発を総合的に進めている。それゆえ、RNA 標的創薬技術開発における研究成果について要点を報告する。

3-3. 「インシリコ技術による RNA 標的創薬技術開発：RNA 複合体構造予測」の成果

産業技術総合研究所 細胞分子工学研究部門 生物データサイエンス研究グループ 福西 快文

「RNA 標的創薬技術開発」のインシリコ技術の成果を報告する。

蛋白質標的創薬での MD シミュレーション、ドッキング・スクリーニング計算は、一定の精度があり普及しているが、RNA には通用しない。RNA に適した力場・MD シミュレーション・ドッキング計算の精度は未知で、検証用の実験データも RNA のデータは蛋白質の約 1/100 である。そこで、我々は公的データに加え、嶋田 NMR チーム・藤吉クライオ電顕チームのデータとの整合性を指標として、RNA 創薬用ソフトウェア手法を開発している。

また、創薬支援ソフトウェア myPresto の JBiC 会員向け公開の準備状況も、まとめて当日報告する。

(1) RNA 構造のデータ収集

Protein Data Bank の構造エントリー 20 万種の内、RNA は 3000 個、RNA 複合体数は約 1000 種のみで、エントリーにより原子・残基名、原子並びはマチマチである。我々は原子名・記載順序が異なる塩基を自動認識するソフトの開発と目視により RNA 低分子複合体構造、RNA 用力場のデータベース化を行った。

また、RNA の構造・機能に重要な Mg イオンは、溶媒和が μ 秒にもなる最も計算しにくい金属であり、適切な計算法が確立しておらず、理論的な検討を中心に行った。

(2) RNA-薬物ドッキング・スクリーニング手法の開発

RNA への薬物ドッキングは、蛋白質より難しい。蛋白質の多くは電気的中性に近く、静電ポテンシャル面の電位が多様で、水素結合ドナー(+電位)・アクセプター(-電位)と疎水性部位(ゼロ電位)からなるファーマコフォアを多くのドッキングソフトが利用している。一方、RNA の静電ポテンシャル面は全体が負電位である。負電荷のリン酸骨格の座標はあるが、それらの電荷を中和するカチオンの座標記載がないことが多く、存在すべき原子が欠損した不完全な構造に対するドッキングを行なわねばならない。

我々は見えない原子を理論上で補うドッキングソフトを開発し、self-docking において、RNA・蛋白質に対し 2 Å 精度、計算時間 20 秒で、それぞれ 40%、50%の複合体構造を再現した。

(3) RNA-薬物 MD ドッキングシミュレーション計算手法の開発

RNA 標的創薬での分子シミュレーションが高精度・高速に行えれば、MD シミュレーション結果の活用法は、既に蛋白質用に多数開発されたツールがあり、ノウハウが製薬各社にあると言える。しかし RNA の構造・ダイナミクスの情報が不足し、力場の信頼性が未知の中で、どうやって計算精度を検証し、手法を改良するかが問題である。

我々は、同一標的に同一の低分子結合という1つの問題を2つの異なる物理的に厳密な手法で、別個に計算し、最終的に、2手法の結果が一致するかを確認する方法を取った。微生物の FMN リボスイッチを対象にマルチカノニカル MD と機械学習を利用した VcMD 法の結果が一致した。

4. 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業

4-1. 「多剤耐性結核菌に有効な天然物の革新的な構造改変ならびに新規探索手法による創出」の成果

次世代天然物化学技術研究組合 研究開発部（北里大学名誉教授） 池田 治生

本発表では本年度から始まった多剤耐性結核菌に有効な天然物の創出の研究に関して報告する。

日本における結核感染率および死亡率は先進諸国の中で依然高い水準にあり、より効果的な治療法の開発が喫緊の課題である。一般に結核治療は期間も長かつ多剤併用の化学療法である。多剤耐性結核に対しては薬剤の選択肢が狭まり、既存薬による有害事象の発生も無視できないことから、既存薬と異なる作用機序で、なおかつ自然耐性変異株の出現しにくい薬剤の開発が強く求められている。また多剤耐性菌の出現防止の観点からも、活動期にある（増殖中の）結核菌への作用は無論のこと、マクロファージや結節などの中で休眠状態にある結核菌に対しても殺菌的に作用する薬剤が有望な創薬シーズとなり得る。本研究では革新的抗結核薬シーズを創出し、多剤耐性結核治療法の開発に貢献することを目的とする。

抗結核薬の歴史は streptomycin (SM) に始まり、現在は rifamycin 誘導体 (RFP) が第一選択薬となっているように、天然化合物の果たしてきた役割が大きい。近年では、thiostrepton (TSR) に代表されるチオペプチド類が MRSA を含む多くのグラム陽性菌に効果を示すことが、さらに抗酸菌にも効果のあることから抗結核作用が注目されている。作用標的は、第一選択薬の RFP、isoniazid やアミノグリコシド等の抗結核薬とは異なるリボソーム 50S サブユニットであり、開始複合体の形成阻害や、EF-Tu や EF-G の機能阻害といった複数の作用点によってタンパク質合成を阻害する。結核菌と同じ *Actinomycetales* 目に属する *Streptomyces* 属の菌では結核菌と同様に SM や RFP の自然耐性株(それぞれ *rpsL* あるいは *rpoB* の変異)の出現が観察されるが、TSR、nosiheptide (NOS) や thiopeptin (TPT) などチオペプチドの自然耐性株の出現は非常に稀である。これらの事実から、チオペプチド化合物の多剤耐性結核菌への効果が期待される。

チオペプチドの創薬上の主な課題は、溶解性や吸収率の低さと、それを解決するための誘導体化の難しさである。天然化合物の構造の複雑さは特長であると同時に、誘導体展開の困難さの要因となっている。我々は、このような化合物の骨格改変に関しては遺伝子工学による手法が最も効果的であると考え、RiPPs (Ribosomally synthesized and Post-translationally modified Peptides) と呼ばれるペプチド系抗生物質の生合成経路に即した革新的な誘導体創製法の開発に成功している (*ACS Chem. Biol.*, (2019), 14, 1135-1140)。本手法により、呼吸鎖阻害剤 JBIR-140 のアミノ酸残基を自由かつ複数同時に置換し、人工改変遺伝子の異種発現による安定供給を達成した。生物活性試験の結果、天然物を超える生物活性を有する誘導体も創出している。本研究開発では、この独自技術を基盤としてチオペプチド化合物へと拡張し、活性のみならず溶解性等の物性改善など、これまでにないチオペプチド誘導体を多数製造し新奇抗結核薬シードの創出を目指す。

TSR 活性を示す新規骨格化合物の取得も重要な課題である。我々は、ハイスループットに TSR 活性を検証する系として *tiaA* プロモーター誘導活性を指標としたアッセイ系を構築している。本系を用いることでチオペプチドと同じ活性を示す新規化合物を見出すことが期待される。

近年、海外の製薬企業から報告されている抗結核薬候補化合物の大半が合成化合物である。一方で我々は、国内製薬企業から寄託されたサンプルを含む約 20 万の天然物ライブラリーを保有し、企業、大学発を含む数多くの表現型スクリーニングを実施してきた。本研究では、これらの経験を活かしマクロファージ感染モデル表現型スクリーニング系を構築し、新たな活性機序を示す抗結核薬シード化合物の探索も行う予定である。