
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/2024/report-meeting>

2024年2月15日(木)

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

13:35～14:35

プロジェクト成果発表（1）

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

14:35～14:55

プロジェクト成果発表（2）

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

14:55～15:05

休憩

15:05～16:15

プロジェクト成果発表（3）

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

プロジェクト総括

名古屋大学大学院 医学系研究科 上田 龍三

新規 Th1-like CD4+ T 細胞クラスターのがん免疫サイクルにおける役割とバイオマーカー性能

埼玉医科大学 医学部国際医療センター呼吸器内科 各務 博

免疫ゲノム解析から得られたがん免疫治療抵抗機序とバイオマーカー

国立がん研究センター 腫瘍免疫研究分野 西川 博嘉

患者層別化を可能とする空間バイオマーカーの探索

東京大学 大学院医学系研究科 衛生学分野 石川 俊平

がん免疫ビブリオテカの社会実装に向けて

産業技術総合研究所 人工知能研究センター 堀本 勝久

16:15~16:35 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. 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.....	1
1-1. 「核磁気共鳴法による RNA 標的創薬技術開発」の成果	
1-2. 「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	
1-3. 「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	
2. 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.....	4
2-1. 福島医薬品関連産業支援拠点化事業の進捗と今後	
3. 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.....	5
3-1. 新規 Th1-like CD4+ T 細胞クラスターのがん免疫サイクルにおける役割と	
3-2. 免疫ゲノム解析から得られたがん免疫治療抵抗機序とバイオマーカー	
3-3. 患者層別化を可能とする空間バイオマーカーの探索	
3-4. がん免疫ビブリオテカの社会実装に向けて	
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.....	9
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. 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

1-1. 「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。昨年度はクライオ電子顕微鏡により東京医科歯科大学藤吉教授が決定した脳心筋炎ウイルス (EMCV) の IRES と真核生物の翻訳開始因子 4G (eIF4G) 複合体構造に基づき、緩和分散法などの NMR 解析を進めることにより IRES の eIF4G 認識機構を解明した (Imai S, Suzuki H, Fujiyoshi Y, Shimada I, Nat. Commun. (2023))。本講演では、現在進行中の研究成果に関して概説する。

1-2. 「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発展させ、活用することで「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法は、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が、クライオ電子顕微鏡法を高度化できて、相対的に小さい RNA の構造まで解析できるようになると、動的な構造情報が得られ、小さい分子の構造情報を得ることが出来る NMR 法と切れ目なく RNA の構造研究が進められるようになる。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/eIF4GI-p50/eIF4A の 3 者複合体の構造機能研究を進めて、これら複合体のクライオ電子顕微鏡による構造解析に成功した。これらの結果を、嶋田グループと論文発表した (Nat. Commun., 14, 4977 (2023))。

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。Sm/RNP+CD72 複合体の構造解析を中心に解析を進めている。

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 単体と Exportin-5+Ran-GTP+pre-miRNA との複合体の構造解析に成功した。その結果、Exportin-5 の閉じた構造と開いた構造を解析し、Exportin-5 が RNA との複合体形成する場合に、動きやすい部分などが明らかになった。

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、脂質分子が関与する新しい 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ー技術開発を進めて、実際に構造解析も行った。

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 EM 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最近の進展を報告する。

1-3. 「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。

本課題の目的は、RNA を標的とする実用的な分子動力学(MD)シミュレーション、薬物ドッキング・スクリーニング計算手法の開発である。RNA が立体構造をとる場合は、低分子・中分子創薬の標的になりえ、逆に決まった立体構造を取りにくい部位は ASO 等の核酸医薬の標的になりえる。前者は抗菌剤標的として数千種が知られており、後者はヒト RNA の 75-96%が miRNA で制御され、ヒト蛋白質の一部しか創薬標的となっていないことに比べて RNA 標的創薬の開拓の余地が大きい。しかし RNA の計算理論はタンパク質標的創薬より大きく遅れており、検証用の実験データも RNA のデータは蛋白質の約 1/100 しかなく、Alpha fold などデータ数を背景とした AI・統計的手法も適用しがたい。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、データ数に依存しない物理科学的手法で RNA 創薬用ソフトウェアを開発している。

(1) RNA 力場7種類の RNA、RNA 複合体での精度比較

RNA の分子シミュレーション計算の問題の1つは、タンパク質のように精度の高い力場が確立していないこと、複数の力場が提案されているが、それぞれ力場精度の見積もり方が異なるため、異なる力場の良し悪しを比較しがたいことである。我々は、溶液 NMR で RNA 構造を決定する場合、溶媒がほぼ 1MNaCl 溶液であり、RNA 構造は力場の種類が異なっても NMR シグナルの再現が重視され、力場の影響を受けにくいことに着目した。

我々は、RNA の分子シミュレーション計算で得られた構造集団と、溶液 NMR 実験で得られた構造モデル集団の、構造集団同士の重なりを最大にする力場が良い力場であると定義した。溶液 NMR で 5 個以上のモデル構造が PDB に登録されているもののうち、各種構造モチーフを持つ短鎖 RNA30 種類に対し、7 種類の代表的な力場を適用し、0.3 μ 秒の MD シミュレーション計算を行った。RNA の NMR 実験で得られた構造集団と MD シミュレーション計算で得られた構造集団の重なりから、7 種類の核酸力場の順位付けを行うことができた。

(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には核酸固有の問題がある。RNA は強く負に帯電しているが立体構造データには電場を中和するカウンターイオンの座標が足りないことが多い。そのため RNA のリガンド結合サイトの電場環境が不明確である。タンパク質では Trp, Tyr, Phe といった芳香族アミノ酸がリガンドを結合しやすいが、塩基は4種類しかなく塩基の種類で結合サイトを予測できない。また細胞内に 1mM 含まれる Mg^{2+} イオンが RNA に結合すると、電荷移動が生じ、古典力場で定められた原子部分電荷の値と実際の原子電荷が異なる。

我々は RNA 近傍の見えない Mg^{2+} イオンの位置を推定し、RNA から Mg^{2+} イオンへの電荷移動を見積もって足りない情報を補うドッキングソフトを開発し、配座をランダム化したリガンドの self-docking 試験で、RNA・蛋白質に対し 2 Å 精度、計算時間 20 秒で、それぞれ 24%、27%の複合体構造を再現した。 Mg^{2+} イオンへの取り扱いに対しては、別途、MD シミュレーション計算に適用できる新規理論の開発を行っている(Fukuda I, et al, J. Chem. Phys. 2023)。

(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 のリガンド結合サイトは、cryptic site (リガンドが結合しない状態では閉じており、リガンドが結合する場合に開く結合サイト)であることが多く、リガンド結合後にリガンドを RNA が包み込むカプセル化が生じる。

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 手法の結果が一致したことで計算理論と計算結果の妥当性を確認した。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 法を適用し、タンパク質のリガンド結合と同様に、弱く非特異的な会合複合体の形成と、特定の RNA のループが開き、結合パスウェイが作られること、リガンドが結合活性に応じて選択的にパスウェイを通過し、適切な構造でドッキングし、ループが閉じてカプセル化すること等、一連の RNA-リガンド結合過程を明らかにした(Higo J, et al. BPPB 2023, Bekker GJ, et al. ACS Omega 2024)。

2. 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

2-1. 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

福島医薬品関連産業支援拠点化事業（福島事業）は、東日本大震災復興事業の一環として経済産業省平成23年度第三次補正予算を原資として開始された。本事業は、実質的には過去の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にあたり、それらのプロジェクトで蓄積した成果やノウハウ（技術）をもとに本事業で新たに取得した成果により、医薬品等の開発支援や新規産業の創出・集積、雇用創出等による復興支援を目的としている。

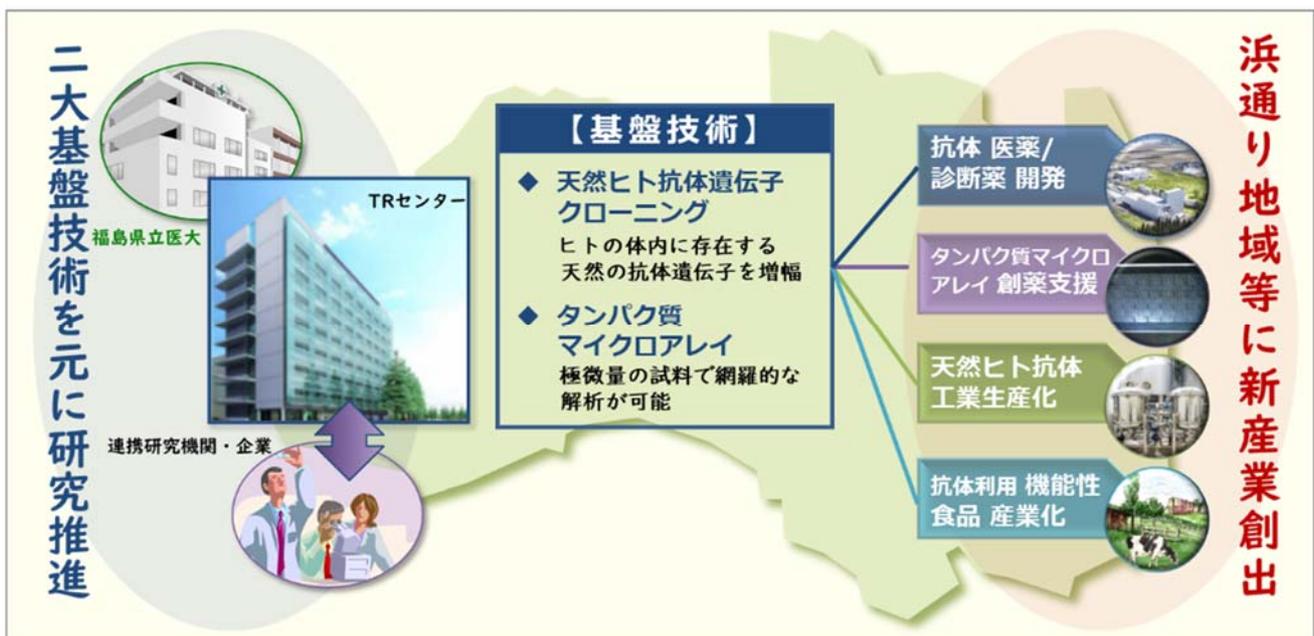
本事業は、生体試料を収集・保存し、それらをそのまま研究機関等に提供する、いわゆる「バイオバンク事業」とは異なり、希少かつ微量な生体試料を、①「情報に変換する」②「加工して増やす」③「極微量試料の解析技術を開発する」ことにより最大限に活用して、これらにより創出・取得した生体由来加工試料、解析情報等の多種多様な成果物を「福島コレクション[®]」と命名し、製薬企業、検査・診断薬企業、大学等の公的研究機関等へ提供（MTA）、あるいは受託・共同研究にて継続的な利活用を推進している。

「福島コレクション[®]」は、独自開発した二大基盤技術（「天然ヒト抗体遺伝子クローニング」「タンパク質マイクロアレイ」）により取得した成果を順次加えて継続的に充実化を図ると共に、持続的な復興への貢献を目指し、衛生材料や食品・畜産分野等へも積極的に展開している。

本事業成果の活用を推進するために、事業発ベンチャーをこれまで5社輩出し、また、「福島コレクション[®]」の企業・アカデミア等への橋渡し機関として2020年2月に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て成果普及体制を構築してきた。更に2021年11月には南相馬市に浜通りサテライトを開所し、浜通り地域における産業集積化の拠点としての活動も進めている。

また、「未来のパンデミックに備える」という新たなミッションを掲げ、この二大基盤技術を用いて、病原体に対する抗体遺伝子を網羅的に取得および備蓄し、次のパンデミックの際に速やかに抗体遺伝子を提供する公益的な取り組みも始めている。

本発表では「福島コレクション[®]」の意義と有用性や、最新の事業成果と活動状況について報告したい。



福島医薬品関連産業支援拠点化事業第二期の概要

3. 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

3-1. 新規 Th1-like CD4⁺ T細胞クラスターのがん免疫サイクルにおける役割とバイオマーカー性能

埼玉医科大学 国際医療センター呼吸器内科 各務 博

背景

がん免疫サイクルは、腫瘍所属リンパ節でプライミングされたがん抗原特異的T細胞が、末梢血を通じて遊走し腫瘍局所で抗腫瘍活性を示す一連の動態を表している。従来、腫瘍細胞死を誘導したT細胞は疲弊し死滅するとされてきた。一方、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)のscRNAseq解析により、疲弊しても増殖能を保ち再生される細胞群が見出された。これは、stem-like memory・precursor exhausted T cell (Tpex)と呼ばれ、腫瘍内に形成されるtertiary lymphoid structure (TLS)のhigh endothelial venule (HEV)を侵入門戸として従来のがん免疫サイクルとは異なった循環動態を示した。従来は循環がde novoでeffector T細胞を作るのに対して、新たな循環は既存のeffector T細胞を再利用することでがんなどに対する長期T細胞免疫を支えるメカニズムと考えられる。

成果

PD-1 阻害薬治療効果予測性能を示すeffector型Th1-like CD4⁺ T細胞として発見したTh7Rは、腫瘍局所においてTLS/HEV形成に不可欠な*CXCL13*や*LTβ*遺伝子を高発現していた。末梢血解析と腫瘍組織IHCの比較より、末梢血Th7R割合の高い症例では、腫瘍微小環境HEV面積割合が高かった。TLS/HEV循環が活発であれば、腫瘍局所で増殖したT細胞が再流入することで末梢血Tpexも増加していると考えられる。そこで、CD4⁺ T細胞クラスターとCD8⁺ T細胞クラスターの数的相関関係を解析した結果、Th7RはTpexと有意な正相関関係にあり、classical Th1はcytotoxic T lymphocyte (CTL)とのみ有意な相関関係を示すことが判明した。

抗CTLA-4抗体薬ipilimumabと抗PD-1抗体薬nivolumab併用治療を受けた進行期肺癌症例では、抗PD-1抗体薬pembrolizumab単剤治療症例で見られない、Th7Rの*CXCL13*遺伝子発現上昇が認められた。治療前末梢血Th7R割合を用いて四分位した結果、Th7R top 25%と中間群50%でPFS、OSが良好であった。これに対してpembrolizumab単剤治療では、Th7R top 25%のみ良好であった。この結果は、Th7R中間群50%が抗CTLA-4抗体治療を必要とするサブグループであることを意味していた。

結論

Th7Rは、*CXCL13*、*LTβ*を発現し、TLS/HEV形成に関わり、Tpexのがん免疫サイクルを担っているものと考えられた。抗CTLA-4抗体は、Th7Rの活性化を示し、Th7R割合中間群における抗PD-1抗体の抗腫瘍活性回復効果を示した。Th7RはPD-1阻害薬のみならず、抗CTLA-4抗体併用治療効果予測性能を示した。

3-2. 免疫ゲノム解析から得られたがん免疫治療抵抗機序とバイオマーカー

国立がん研究センター 腫瘍免疫研究分野 西川 博嘉

免疫チェックポイント阻害剤の治療効果は、抗腫瘍免疫応答の活性化に依存しているため、治療効果には個人差がある。その原因として、発がん過程での免疫系の関わりが患者毎に異なり、がん組織の微小環境(がん微小環境)での免疫応答の違いが重要な役割を果たしていると考えられている。

この様ながん微小環境の免疫応答の違いを詳細に解析するため、生検組織などの微量のがん組織を用いてがん微小環境の免疫応答とがん細胞の遺伝子異常を統合的に検討する解析法(免疫ゲノム解析)を確立して上市した。本免疫ゲノム解析法を用いたがん組織の解析により、PD-1/PD-L1 阻害剤の治療前のがん組織の PD-1+CD8⁺ T細胞とPD-1+制御性 T(Treg)細胞の存在比が治療効果を精度高く予測するバイオマーカーとなることを明らかにした。さらに、Treg 細胞上の PD-1 が Treg 細胞の抑制機能を制御し、PD-1/PD-L1 阻害剤の治療効果と相関することが示されたことから、Treg 細胞のみで PD-1 分子発現が増強する機構を検討した。糖代謝が亢進している肝転移病変等で Treg 細胞に PD-1 が高発現することを見出した。これは Treg 細胞が乳酸代謝を介した独自の PD-1 発現機構を持つことに起因していた。

また、がん細胞自身が持つ遺伝子変異が直接的にがん微小環境の免疫応答の調節に関わり、PD-1/PD-L1 阻害剤の治療抵抗を引き起こしていることを解明した。特に CD8⁺ T 細胞の浸潤が予後不良因子となる腎細胞がんでは、遺伝子コピー数異常によりがん微小環境で Treg 細胞の増殖・活性化が誘導されていることを見出した。CD8⁺ T 細胞が多い腎細胞がんでは Treg 細胞の過剰な活性化が認められるために CD8⁺ T 細胞が予後不良因子となり、免疫チェックポイント阻害剤への抵抗性に関与していることを明らかにした。

以上より、免疫ゲノム解析によってがん微小環境の複雑な免疫抑制機構を明らかにして免疫ゲノムプレジジョン医療を展開する基盤技術が確立された。

3-3. 患者層別化を可能とする空間バイオマーカーの探索

東京大学 大学院医学系研究科 衛生学分野 石川 俊平

がん免疫はがん組織内のがん細胞と、周囲のリンパ球や炎症細胞などの間質細胞の複雑な相互作用により成立しており、がん組織におけるこれらの細胞の空間的位置関係を把握し、それに解釈を加えることは重要である。このような空間的バイオマーカーについては従来から報告されていたが、その空間配置に対して客観性を加えて評価することは技術的に難しかった。しかしながら近年ディープラーニングの技術の発達によりこうした組織構築や細胞間の位置関係のような抽象的な情報を数値化する技術が出てきており、このような技術を利用したがん病理組織像解析が注目されている。我々はこれまで最適化したディープニューラルネットワークによって取り出したディープテキスト情報ががんの病理組織像を良く表現する Universal Encoder として用いることが可能であることを見いだした。この技術を用いて病理組織像の構造化を行ない、がんの組織像と他の様々な臨床情報との相関を解析している。

こうした背景の元、我々はがん免疫療法の客観的な空間バイオマーカーを見出すことを目的として免疫チェックポイント阻害療法を行った胃癌の生検組織の H. E. 染色画像のディープテキスト情報を取り出して解析を行なった。その結果、投与後の生存期間が H. E. 病理組織画像のディープテキストを用いて分離可能であり、現行のバイオマーカーとして使われている PD-L1 の免疫染色に比較して優れていることが確認できた。これらの生物学的な意味づけを行うべく、多くの免疫染色画像と H. E. 病理組織画像のペア情報の最大規模のデータベースを構築しそれをもとに、H. E. 病理組織画像から上皮・間質・血管・リンパ管などのコンポーネントを whole slide imaging レベルで segmentation できる技術を開発した。

さらにがん免疫の空間的相互作用を 1 細胞かつ分子レベルで捉えることを目的として空間ゲノミクス技術を導入し胃粘膜をモデルケースとして腸上皮化生における疾患上皮と特異的な間質細胞の相互作用を特定することに成功した。この技術基盤を用いることで実際のがん免疫治療を行なった胃癌症例の解析を進めている。

以上、人工知能の解析結果に生物学的情報を捉えることにより高精度化と検出の安定性をはかり、がん免疫療法の空間バイオマーカーとその評価技術の開発を進めている。

3-4. がん免疫ビブリオテカの社会実装に向けて

産業技術総合研究所 人工知能研究センター 堀本 勝久

背景

本事業では、多癌種のヒト検体の末梢血及び局所の免疫細胞に関する様々な分子データの計測が実行されることが計画された。実際、開始当初は最新の計測技術であったCyTOF やシングルセル計測に加え、トランスクリプトームやメチロームのデータが計測され、これら多様な計測データを組織的・系統的に収納し、それらデータの検索や解析に際して、利用者の利便性を考慮したウェブサイト構築する必要があった。特に、検体の詳細な臨床情報が付与されるため、分子と個体との間の関連付けが可能な構成が期待された。また、データベースとしてデータを単に収納するだけでなく、持続的に有効利用できる可能性を探ることも課題であった。

成果

VPNによる広域ネットワーク上にデータ共有インフラを構築し、ウェブサイトを「がん免疫ビブリオテカ」と命名した(<https://iobiblio.org>)。その内容は、埼玉医科大学各務博教授指導の元で計測されたヒト検体データを同大山崎智助手の支援を受けて、産業技術総合研究所細胞工学研究センター福井一彦研究チーム長（現山陽小野田市立山口東京理科大学教授）が、オープンソースから抽出した外部関連データを加え、収納・整備したものである。

がん免疫ビブリオテカでは、主に、各務教授の新規T細胞亜集団の発見につながる一連の論文の基礎データが収納されており、肺がん患者の末梢血及び局所の分子計測データが、患者臨床情報と共に整備・収納された、臨床指向データベースとなっている。また、それらデータを解析するための標準的な数理解析ツール、可視化ツール、自然言語処理技術を用いたAI ツールを装備している。ただし、最終年度の生成AI ツールの出現により、当初計画したAI ツールの設計変更を余儀なくされた。

また、最終年度には、社会実装への可能性を評価すべく、JBICの協力を得て製薬会社10社にデモ版を披露し、ビジネスの観点からの有用性を評価頂いた。幸い、臨床情報に紐づいたデータ構成や表示法に高い評価を頂き、数社からはデータベース購入可能性も提示された。

結論

ヒト検体に関する臨床情報と5年間の計測データとを組織的・系統的に収納し、解析ツールを搭載した臨床指向データベース、がん免疫ビブリオテカ、を構築した。製薬業界からの持続的な発展への期待も高く、社会実装へと続くデータベースの雛型として十分な機能を備えていることが証明された。

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

本研究では耐性菌にも有効な化合物を開発する目的で既存の抗結核薬および抗抗酸菌薬とは作用部位の異なる化合物として結核菌を含む抗酸菌に対しても優れた抗菌活性を有するチオペプチド化合物を見出した。我々は既に RiPPs (Ribosomally synthesized and Post-translationally modified Peptides) と呼ばれるペプチド化合物の生合成機構に即した革新的な誘導体の創製法を確立している。昨年度はチオペプチド化合物の thiostrepton の生合成遺伝子の骨格ペプチド部分をコードする遺伝子の改変によって各種の誘導体を作製することを報告した。また、これらの誘導体は抗酸菌のみならず結核菌に対しても優れた抗菌活性を示すことを確認した。昨年度は thiostrepton と同じチオペプチド化合物である thiopeptide および nosiheptide に関しても thiostrepton と同様に各種の誘導体の創製のための基礎的な検討を行った。本年度は thiopeptide に関しても thiostrepton と同様に骨格ペプチド部分をコードする遺伝子の改変により各種の誘導体の生成を確認した。さらに結核菌および抗酸菌に対する生物活性の検討のため大量取得を行っている。同様に nosiheptide に関しても構造改変可能なアミノ酸残基は少ないがいくつかの誘導体の創製を検討した。これらのうち 2 種の誘導体が抗菌活性を有していることから、これらの大量調製も検討している。なお、nosiheptide はチオペプチド化合物の中で結核菌および抗酸菌に対する抗菌活性が最も高いので期待がもたれる。

一方、上記のチオペプチド化合物は *Streptomyces lividans* の *tipA* 遺伝子のプロモーターの誘導活性を有することが知られている。この性質を利用して新たなチオペプチド化合物の探索を行うことを検討した。これまで *tipA* プロモーターの下流に *aph* (kanamycin 不活化酵素遺伝子) を連結し、kanamycin 存在化の寒天培地での *S. lividans* の生育の有無によって判断することが報告されている。しかし、この方法は煩雑かつ多数の検体を一度に処理することが困難であるため、384 穴プレートを用いた簡便かつ多数の検体を処理する方法を確立した。合成化合物および天然物抽出物を含む化合物ライブラリーの中から 81,280 種の検体を網羅的に探索した。1 次スクリーニングさらに再現性などを確認する 2 次スクリーニングを行ったところ、合成化合物からは *tipA* プロモーター誘導活性を有する化合物は見出されなかったが天然物抽出検体 13 種から上記の活性を有することが明らかとなった。これらの天然物抽出物を生産する菌株を培養し、個々の培養物から *tipA* プロモーター誘導活性を有する化合物を単離精製した。得られた化合物の高分解能 MS-MS 解析などの結果から、新規化合物を見出すことはなかったが 13 種の菌株の生産物のうち 3 株が beminamycin A を、4 株が geninthiocin を、2 株が promothiocin B をそれ以外はそれぞれ promothiocin A, sulfomycin I そして thiotipin であることを確認した。これらの化合物の *tipA* プロモーター誘導活性と *Micrococcus luteus* に対する抗菌活性を thiostrepton と比較した結果、thiostrepton が最も活性が強かった。これらのチオペプチド化合物の構造を比較するとペプチド鎖で形成される環状構造の違いが存在する。thiostrepton, thiopeptide および nosiheptide は環状ペプチド構造にさらにもう一つの環状構造を有している。このことによって環状ペプチド構造が安定化されることが抗菌活性に重要であるのかも知れない。