

公益財団法人

薬理研究会

助成研究報告

第 57 集

2019 年度

序

本財団では、平成 11 年度から、「薬物治療に関する基礎的研究並びに実地応用上の研究」をテーマに研究助成者を公募してきました。

2019 年度には 31 件の応募をいただき、本財団の選考委員会において厳正に審査を行った結果、次の 7 名の研究者に研究助成金を支給しました。

大阪大学大学院薬学研究科	吾郷 由希夫	准教授
名城大学大学院総合学術研究科	衣斐 大祐	准教授
大阪大学大学院医学系研究科	大垣 隆一	助教
日本大学薬学部	徳田 栄一	専任講師
東邦大学医学部	富田 太一郎	講師
理化学研究所 開拓研究本部	閻 閻 孝介	専任研究員
東北大学大学院生命科学研究所	向井 康治郎	助教

ここに、上記 2019 年度に研究助成を受けられた方々による研究成果を、助成研究報告第 57 集として刊行するものです。

本財団の研究助成によって、薬理学、薬学に係わる基礎的研究が着実に進められていることは、誠に悦ばしいこととあります。

研究助成を受けられた方々におかれては、本財団の設立の趣旨を体し一層のご精進を期待しております。

2020 年 12 月

公益財団法人 薬理研究会
理事長 大塚 正徳

目 次

1	治療抵抗性統合失調症の克服を目指した創薬スクリーニングモデルの開発	吾郷 由希夫	大阪大学大学院 薬学研究科 薬剤学	1
2	セロトニン 5-HT _{2A} 受容体刺激を介した抗うつ作用における神経ネットワークおよび抗うつ関連分子の探索	衣斐 大祐	名城大学大学院 総合学術研究科 薬品作用学	5
3	血管内皮細胞のアミノ酸取り組み阻害による腫瘍血管新生の抑制	大垣 隆一	大阪大学大学院 医学系研究科	7
4	細胞外ミスフォールドタンパク質の効率的な除去を可能にするエンドサイトーシス誘導薬の探索と筋萎縮性側索硬化症への治療応用	徳田 栄一	日本大学薬学部 臨床医学	11
5	骨格筋萎縮治療法開発に向けた p38MAPキナーゼ活性の動的挙動の可視化研究	富田 太一郎	東邦大学医学部 生理学講座 統合生理学	14
6	虚血性疾患治療を目指したネクローシス型細胞死抑制の開発研究	闔闔 孝介	理化学研究所 開拓研究本部 袖岡有機合成化学	17
7	STING 経路を介する自己炎症性疾患治療標的の探索	向井 康治郎	東北大学大学院 生命科学研究科 細胞小器官疾患学	21

1. 治療抵抗性統合失調症の克服を目指した創薬スクリーニングモデルの開発

吾郷 由希夫

(広島大学 大学院医系科学研究科 細胞分子薬理学)

【背景・目的】

近年、ヒト 7 番染色体(7q36.3)遺伝子座における微細重複が、統合失調症や自閉スペクトラム症と高いオッズ比で関連することが報告された^{1,2)}。この遺伝子座における全ての重複は、VPAC2 受容体をコードする *VIPR2* 遺伝子とオーバーラップ、または上流 89 kb 以内に位置していた。さらに、重複をもつ患者の培養リンパ球では、*VIPR2* mRNA の発現と VPAC2 受容体アゴニストに対する反応性(セカンドメッセンジャーである cAMP の産生)が増加しており、VPAC2 受容体の発現増加と機能亢進が認められている。これは、VPAC2 受容体からの過剰なシグナルが病態発症に関与していることを示唆しており、7q36.3 微細領域のコピー数多型(copy number variant: CNV)の性質を具体的に示すものである。そのため、*VIPR2* 遺伝子の重複による影響を解析することは、精神疾患の発症機序を、分子・細胞・回路・個体の各レベルで解明できる可能性がある。

VPAC2 受容体は、血管作動性腸管ペプチド(vasoactive intestinal peptide: VIP)と下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド(pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide: PACAP)に共通する受容体として知られている。マウスの脳において、VPAC2 受容体は出生後 1 週間程度から発現がみられ、出生 2 週間後をピークに大きく増加した後、成熟に伴い発現量が低下していく³⁾。これまでに我々は、選択的 VPAC2 受容体アゴニストである Ro25-1553 を出生後発育早期に投与したマウスが、成熟後に認知機能障害や感覚情報処理機能障害、無快感症といった行動異常を示すこと⁴⁾、そして前頭前皮質の神経細胞の樹状突起の発達不全といった神経形態学的異常を示すことを明らかにしてきた。またこれらの異常が、非定型抗精神病薬であるクロザピンの慢性投与によって改善されることを見いだした。クロザピンは、治療抵抗性統合失調症に対して適応が認められている世界で唯一の薬剤であるが、その作用機序の詳細は不明である。また、無顆粒球症等の重篤な副作用をもたらす危険性があること等から、クロザピンに替わる新たな治療薬の開発が期待されている。本研究では、ゲノム CNV に着目した治療抵抗性統合失調症治療薬創製のための *in vitro* スクリーニングモデルの開発を目指して、マウス初代培養神経細胞を用いた神経形態学的解析を実施した。

【結果・考察】

マウス大脳皮質由来の初代培養神経細胞において、選択的 VPAC2 受容体アゴニスト Ro25-1553 が、軸索および樹状突起の伸長の遅延、樹状突起数の減少といった神経細胞の成熟不全を引き起こすことを見出した(図 1A, B)。本作用は、VPAC2 受容体アンタゴ

ニスト PG99-465 の共処置あるいは VPAC2 受容体欠損マウスで消失した(図 1C, D)。また、PKA 阻害薬である H89 の共処置によって Ro25-1553 の作用は消失したが、PKC 阻害薬 GF109203X および MEK 阻害薬 U0126 の共処置は影響を与えなかった。このような条件下、クロザピンは VPAC2 受容体活性化による cAMP の産生には直接影響を与えず(図 2A)、神経細胞の成熟不全を抑制した(図 2B)。一方、他の抗精神病薬であるアリピプラゾールやハロペリドールは、VPAC2 受容体活性化による神経突起伸展の障害に影響を与えなかった。

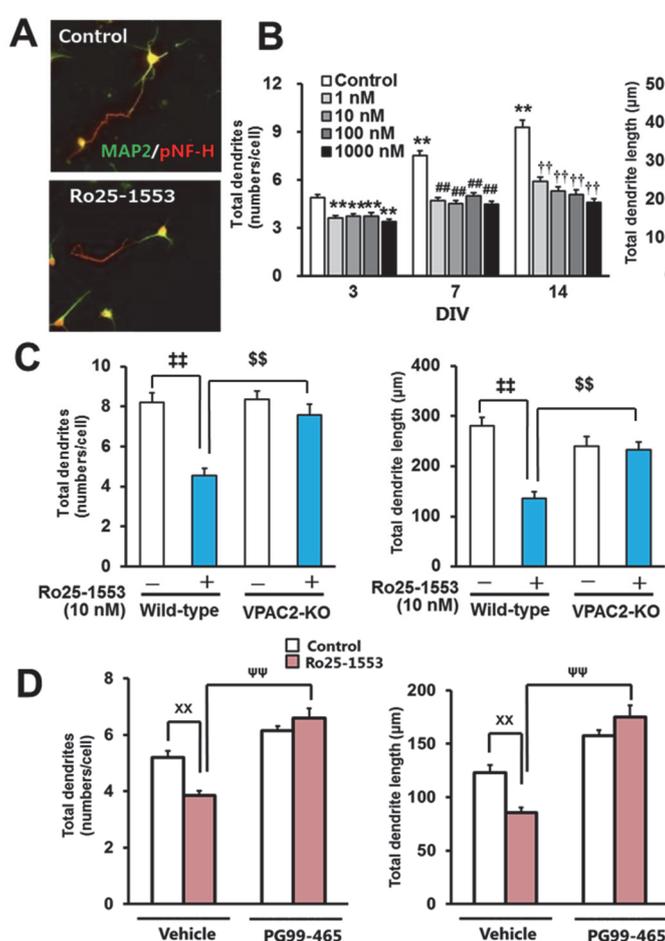


Fig. 1 Effects of Ro25-1553 on dendritic morphology in primary cortical neurons. (A) Representative pNF⁻ and MAP2-immunostained images of primary cultured neurons. Primary cortical neurons were cultured with Ro25-1553 (10 nM) for 3 days *in vitro* (DIV) and double-immunostained for pNF (red) and MAP2 (green). (B) Quantification of morphological changes. Total numbers of dendrites and total dendritic length were measured. (C) Effects of Ro25-1553 on dendritic morphology in primary cortical neurons from VPAC2 receptor-deficient mice. (D) Effects of PG99-465 on Ro25-1553-induced decreases in dendritic outgrowth. Data are expressed as the mean \pm SEM (n = 40-60 cells). ** P < 0.01, compared with control at 3 DIV. ## P < 0.01, †† P < 0.01, compared with control at 7, 14 DIV, respectively. ††† P < 0.01, compared with wild-type/control, §§ P < 0.01, compared with wild-type/Ro25-1553. xx P < 0.01, compared with control, $\Psi\Psi$ P < 0.01, compared with vehicle/ Ro25-1553 at 3 DIV.

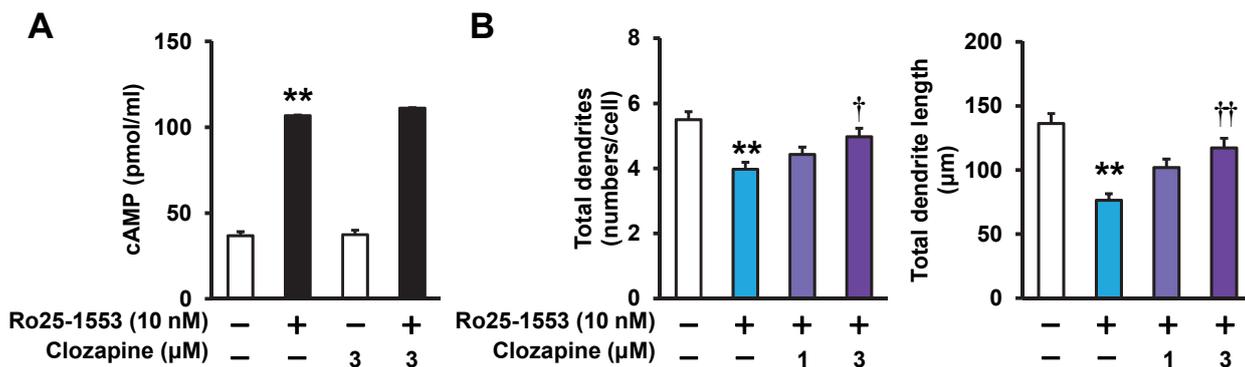


Fig. 2 Effects of clozapine on Ro25-1553-induced impairment of dendritic outgrowth in cultured cortical neurons. (A) Effects of Ro25-1553 and clozapine on intracellular cAMP levels in the VPAC2 receptor-overexpressed HEK293T cells. Data are expressed as the mean \pm SEM (n = 3 wells). ** $P < 0.01$, compared with control. (B) Total numbers of dendrites and total dendritic length of primary cortical neurons were measured at 3 days *in vitro*. Clozapine (1, 3 μ M) was treated 30 min before the treatment with Ro25-1553 (10 nM). Data are expressed as the mean \pm SEM (n = 40 cells). ** $P < 0.01$, compared with control, † $P < 0.05$, †† $P < 0.01$, compared with Ro25-1553 alone.

本研究により、VPAC2 受容体過活性化による *in vivo* での神経形態学的異常とクロザピンの有効性を含む薬物応答性を、*in vitro* の初代培養神経細胞実験系で再現することができた⁵⁾。今後、本評価系を用いたスクリーニングにより見いだされる候補化合物の *in vivo* での有効性を検証し、ドラッグリポジショニングを含めた新たな創薬へ展開したいと考えている。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人薬理研究会に深く感謝申し上げます。

【参考文献】

1. Vacic V, McCarthy S, Malhotra D, Murray F, Chou HH, Peoples A, Makarov V, Yoon S, Bhandari A, Corominas R, Iakoucheva LM, Krastoshevsky O, Krause V, Larach-Walters V, Welsh DK, Craig D, Kelsoe JR, Gershon ES, Leal SM, Dell Aquila M, Morris DW, Gill M, Corvin A, Insel PA, McClellan J, King MC, Karayiorgou M, Levy DL, DeLisi LE, Sebat J. Duplications of the neuropeptide receptor gene *VIPR2* confer significant risk for schizophrenia. **Nature** 471: 499–503, 2011.
2. Levinson DF, Duan J, Oh S, Wang K, Sanders AR, Shi J, Zhang N, Mowry BJ, Olincy A, Amin F, Cloninger CR, Silverman JM, Buccola NG, Byerley WF, Black DW, Kendler KS, Freedman R, Dudbridge F, Pe'er I, Hakonarson H, Bergen SE, Fanous AH, Holmans PA, Gejman PV. Copy number variants in schizophrenia: confirmation of five previous findings and new evidence for 3q29 microdeletions and *VIPR2* duplications. **Am J Psychiatry** 168: 302–316, 2011.
3. Waschek JA, Ellison J, Bravo DT, Handley V. Embryonic expression of vasoactive intestinal peptide (VIP) and VIP receptor genes. **J Neurochem** 66: 1762–1765, 1996.

4. Ago Y, Condro MC, Tan YV, Ghiani CA, Colwell CS, Cushman JD, Fanselow MS, Hashimoto H, Waschek JA. Reductions in synaptic proteins and selective alteration of prepulse inhibition in male C57BL/6 mice after postnatal administration of a VIP receptor (*VIPR2*) agonist. **Psychopharmacology** 232: 2181–2189, 2015.
5. Takeuchi S, Kawanai T, Yamauchi R, Chen L, Miyaoka T, Yamada M, Asano S, Hayata-Takano A, Nakazawa T, Yano K, Horiguchi N, Nakagawa S, Takuma K, Waschek JA, Hashimoto H, Ago Y. Activation of the VPAC2 Receptor Impairs Axon Outgrowth and Decreases Dendritic Arborization in Mouse Cortical Neurons by a PKA-Dependent Mechanism. **Front Neurosci** 14: 521, 2020.

2. セロトニン 5-HT_{2A} 受容体刺激を介した抗うつ作用における神経ネットワークおよび抗うつ関連分子の探索

衣斐 大祐

(名城大学薬学部 薬品作用学研究室)

【目的】

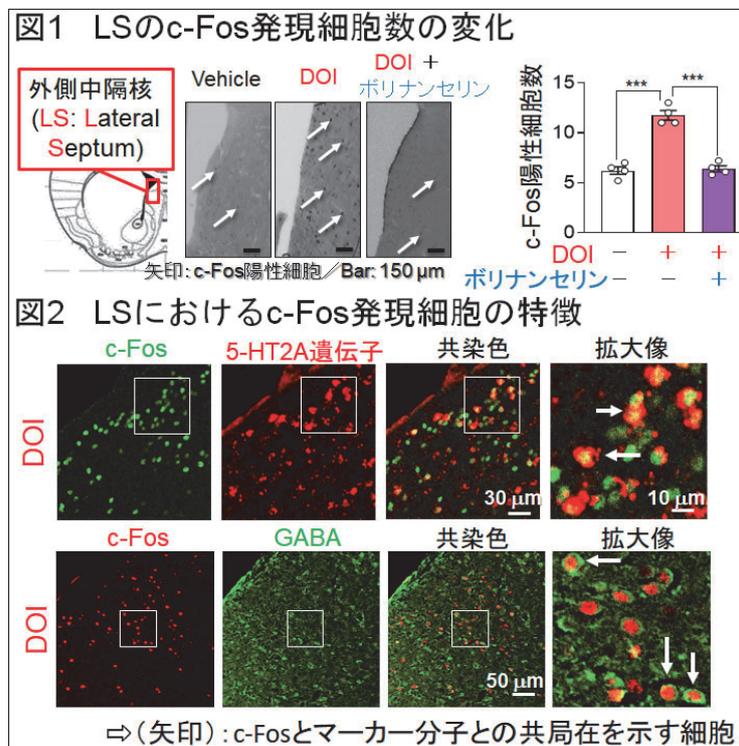
うつ病患者の約 30%が、難治性うつ病である。最近、幻覚薬のシロシビンなどセロトニン 5-HT_{2A} 受容体 (5-HT_{2A}) 刺激薬が難治性うつ病に対し、治療効果を示すことが報告され (Carhart-Harris et al., 2016)、米国 FDA はシロシビンがうつ病治療のブレイクスルーになり得ると発表した (Nutt et al., 2020)。しかし、5-HT_{2A} 刺激薬による抗うつ作用の分子・神経機構は分かっていない。本研究では、5-HT_{2A} 刺激による抗うつ作用に関する分子・神経基盤を解明することを目的とする。

【対象・方法】

5-HT_{2A} の選択的刺激薬としては、シロシン (シロシビンの活性代謝物) および DOI を、5-HT_{2A} 拮抗薬としては、ポリナンセリンを、それぞれ用いた。マウスのうつ様行動を調べるために強制水泳試験 (FST) とショ糖飲水嗜好性試験を、不安様行動を調べるために新奇環境下摂食抑制試験を、それぞれ行った。活性化脳領域を調べるために、神経活性の指標である c-Fos タンパクの染色を各脳領域において行った。さらに 5-HT_{2A} 遺伝子 (*Htr2a*) の発現を調べるために *In Situ* Hybridization 法を用いた。 *Htr2a* のノックダウン (KD) のために *Htr2a*-shRNA を用いた。

【結果】

マウスにシロシンおよび DOI を投与し、FST を行ったところ、うつ様行動の指標である無動時間が短縮した。さらに、抗うつ様作用に関連する脳領域を c-Fos 染色により調べたところ、5-HT_{2A} 刺激薬投与は、外側中隔核 (LS) の c-Fos 陽性細胞数を有意に増加させていた (図 1)。これら 5-HT_{2A} 刺激薬の作用は、ポリナンセリン前処置により抑制された (図 1)。また 5-HT_{2A}



刺激薬により増加する LS の c-Fos 陽性細胞は *Htr2a* 陽性 GABA 神経であることが分かった (図 2)。そこで LS の *Htr2a* を KD したところ、DOI による FST での無動時間の短縮は認められなかった。

うつ病患者では HPA 軸の異常によって、血中の糖質コルチコイド濃度が高い状態で維持される。マウスに糖質コルチコイド (コルチコステロン, CORT) を投与するとうつ様行動を示すため、うつ病モデルとして使われている。CORT 投与マウスで認められるうつ様・不安様行動および LS における c-Fos 陽性細胞数の低下が DOI 投与によりコントロールレベルまで改善した。

【考察】

本結果から 5-HT_{2A} 刺激薬は LS の GABA 神経の 5-HT_{2A} を刺激することで抗うつ作用を発揮することが考えられる。今後は、LS の GABA 神経に関わる神経回路を明らかにし、さらに抗うつ行動との関係を調べる。加えて、LS における抗うつ作用に関わる分子を同定し、5-HT_{2A} 刺激による抗うつ作用に関わる分子・神経基盤を解明していきたい。

【引用文献】

Carhart-Harris RL, Bolstridge M, Rucker J, Day CM, Erritzoe D, Kaelen M, Bloomfield M, Rickard JA, Forbes B, Feilding A, Taylor D, Pilling S, Curran VH, Nutt DJ. Psilocybin with psychological support for treatment-resistant depression: an open-label feasibility study. *Lancet Psychiatry* (2016) 7:619-627.

Nutt D, Erritzoe D, Carhart-Harris R. Psychedelic psychiatry's brave new world. *Cell* (2020) 181:24-28.

3. 血管内皮細胞のアミノ酸取り込み阻害による腫瘍血管新生の抑制

大垣 隆一

(大阪大学大学院医学系研究科 生体システム薬理学)

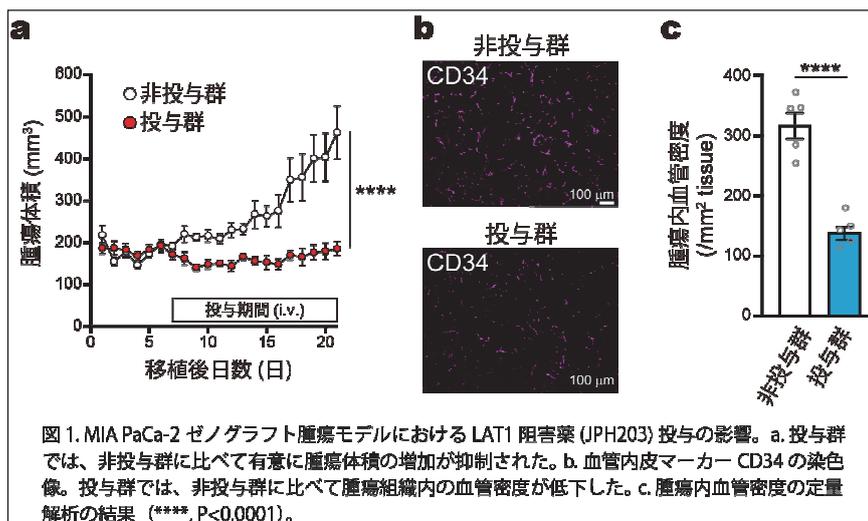
【背景と目的】

LAT1 (L-type amino acid transporter 1) は、必須アミノ酸を選択的に輸送するトランスポーターである。その発現は、由来臓器によらず多くの癌種において顕著に亢進し、腫瘍成長や悪性化に寄与する「腫瘍細胞型アミノ酸トランスポーター」として知られている。そのため、悪性腫瘍治療薬としての選択的阻害薬の開発が進められてきた (文献 1-3)。我々は最近、膵管癌の病理組織や、免疫不全マウスにヒト癌由来細胞株を移植したゼノグラフト腫瘍組織において、LAT1 が腫瘍細胞のみならず血管内皮細胞にも高発現していることを見出した。また、内皮細胞初代培養を用いた *in vitro* 血管新生アッセイ (管腔形成・浸潤・遊走アッセイ) や、*ex/in vivo* 血管新生アッセイ (大動脈リングアッセイ・マトリゲルプラグアッセイ) において、LAT1 阻害薬および遺伝子ノックダウン、あるいは血管内皮特異的 LAT1 遺伝子欠損による顕著な抑制作用を確認した。腫瘍組織の血管内皮細胞では LAT1 の発現が亢進しており、必須アミノ酸取り込みを介して血管新生を促進し、癌の増殖や悪性化に寄与しているものと考えられる。本研究は、「血管内皮細胞の LAT1 を標的として得られる抗血管新生作用を機序とした抗腫瘍効果の実証」と、「腫瘍組織の血管内皮細胞における LAT1 の発現亢進の機序の解明」を目的として実施した。

【方法と結果】

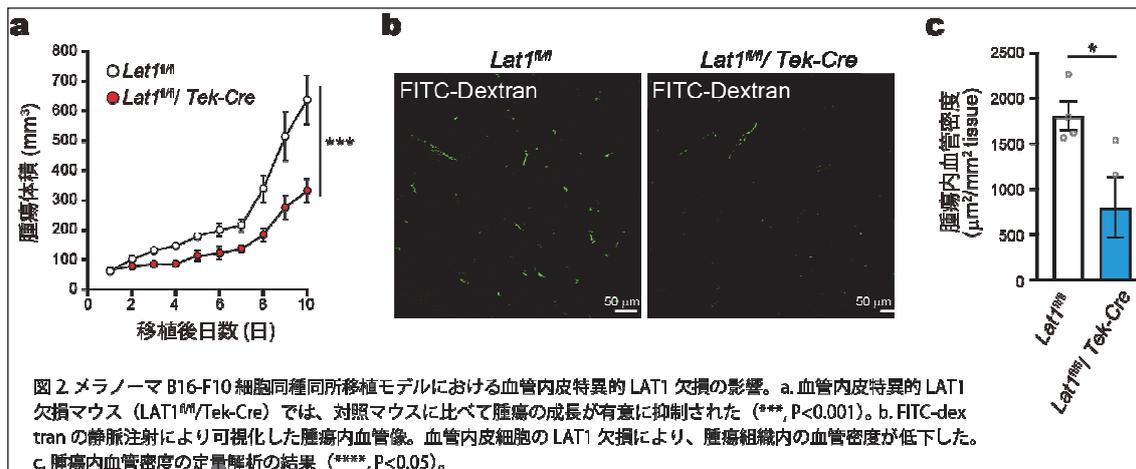
1. 血管内皮細胞の LAT1 を標的とした腫瘍血管新生抑制効果の実証

免疫不全マウスの皮下に膵癌由来 MIA PaCa-2 細胞を移植してゼノグラフト腫瘍を作製し、LAT1 阻害薬 JPH203 の静脈投与により血管新生への影響を検証した。その結果、投与群では非投与群に



比べて顕著に腫瘍増大が抑制され、また腫瘍組織内血管の密度も大きく減少した (図 1)。さらに、血管内皮特異的 LAT1 遺伝子欠損マウスの皮下にマウスメラノーマ B16-F10 細胞を移植して作製した同種同所移植腫瘍モデルにおいても、腫瘍増大が有意に抑制され、また腫

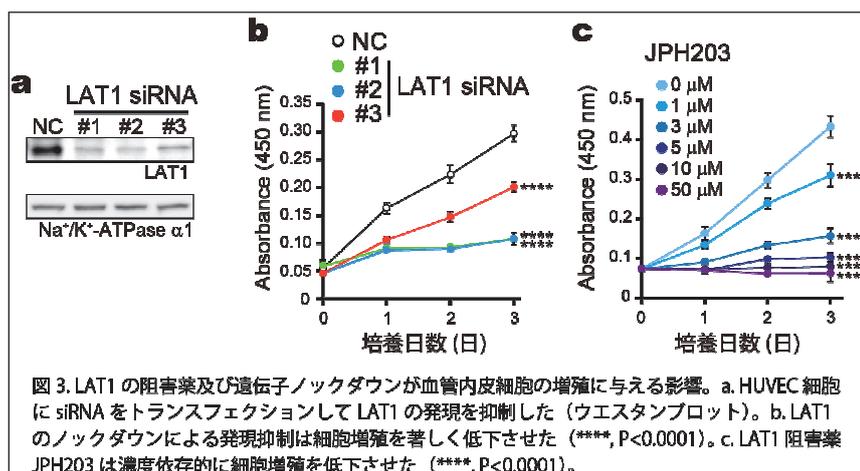
瘍組織内の血管密度が半減した。(図2)。以上より、血管内皮細胞に発現するLAT1を標的



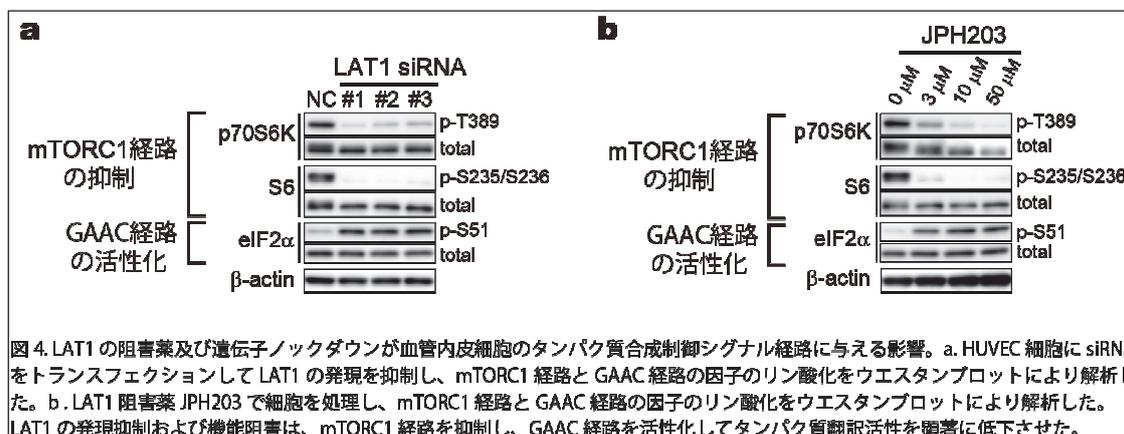
として、腫瘍内血管形成の抑制を機序とする抗腫瘍効果が得られることが示された。

2. 血管内皮細胞の増殖およびタンパク質翻訳制御における LAT1 の重要性

LAT1 阻害薬 JPH203 および遺伝子ノックダウンは、血管内皮モデルのヒト臍帯静脈内皮 HUVEC 細胞の増殖能を顕著に抑制した(図3)。このとき、アミノ酸量に応じて翻訳を正に制御



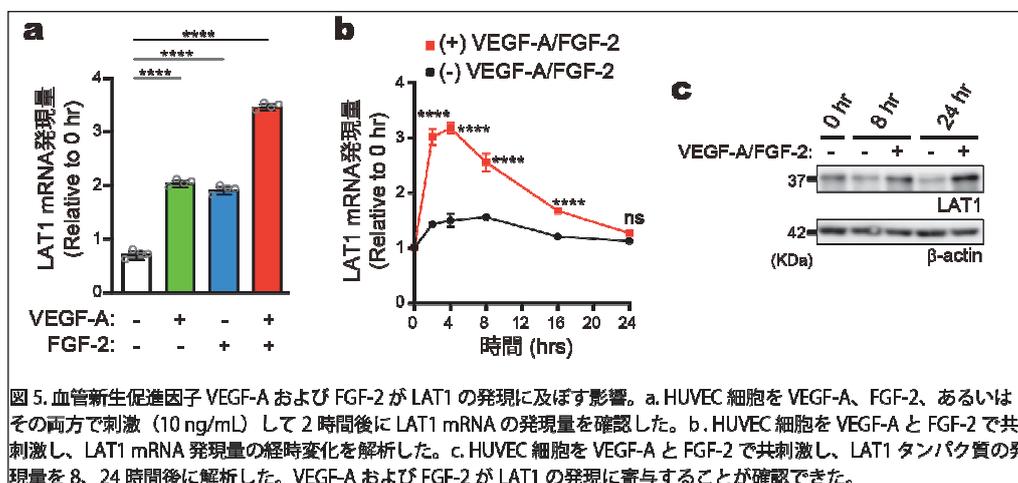
する mTORC1 経路の細胞内リン酸化シグナル (文献 4) は抑制され、またアミノ酸欠乏時に翻訳を負に制御する GAAC 経路 (文献 5,6) が活性化していた (図4)。以上により、LAT1 を介したアミノ酸輸送は血管内皮細胞におけるタンパク質翻訳活性と細胞増殖に極めて重



要であることが示された。またこの他にも、比較定量リン酸化プロテオミクス解析を実施し、LAT1 が制御している可能性が高い因子群を見出しており、その機能解析を引き続き進行させている。

3. 腫瘍血管内皮細胞における LAT1 発現誘導の機序の解明

HUVEC 細胞を膀胱癌由来 T3M-4 細胞株の培養上清（条件培地）で処理したところ、LAT1 mRNA の発現量が有意に上昇した。腫瘍細胞から分泌された血管新生促進因子によって、LAT1 の発現が誘導されることが示唆されたため、HUVEC 細胞を VEGF-A および FGF-2 で刺激した。その結果、それぞれの単独刺激による LAT1 mRNA の発現上昇に加えて、共刺激による相加的な発現誘導効果が見られた（図 5）。また、VEGF-A と FGF-2 の共刺激による LAT1 の発現誘導は、タンパク質レベルでも確認された（図 5）。



【まとめと考察】

以上の結果は、腫瘍血管内皮細胞に発現する必須アミノ酸トランスポーターLAT1 の病的な血管新生への寄与を示すものであり、LAT1 を抗血管新生療法における新規分子標的候補として意義付けるものである。その機序として、LAT1 を介したアミノ酸取込みが血管内皮細胞の増殖およびタンパク質合成の制御に必須であることを示した。これまで明らかにしてきた、血管新生促進因子 VEGF-A 依存的な遊走、浸潤、管腔形成といった血管新生関連の細胞機能のみならず、血管内皮細胞における LAT1 の多様かつ重要な機能が明らかになった。また、LAT1 の発現は VEGF-A や FGF-2 の刺激により上昇したことから、実際の腫瘍組織では近傍の腫瘍細胞から分泌されるこれらの血管新生促進因子が、血管内皮細胞の LAT1 の発現亢進に寄与しているものと考えられる。これまでに得ていた知見と本研究の成果を統合して学術論文を作成し、腫瘍関連分野の国際誌において報告した（文献 7）。

本研究の成果は、将来的に LAT1 を標的とした新たな抗血管新生療法の提唱にも繋がり得るものである。また、腫瘍組織を構成する「腫瘍細胞」と「血管内皮細胞」という、2つの異なる細胞集団における LAT1 の重要性が実証された。開発中の LAT1 選択的阻害薬は、「腫

瘍細胞のアミノ酸取り込み遮断による増殖抑制効果」と、「血管内皮細胞の LAT1 を標的とした腫瘍血管新生抑制作用」というユニークな 2 つの作用機序を併せ持つ悪性腫瘍治療薬として期待される。

【参考文献】

1. Oda K, Hosoda N, Endo H, Saito K, Tsujihara K, Yamamura M, et al. L-Type amino acid transporter 1 inhibitors inhibit tumor cell growth. *Cancer Sci.* 2010;101:173–9.
2. Kongpracha P, Nagamori S, Wiriyasermkul P, Tanaka Y, Kaneda K, Okuda S, et al. Structure-activity relationship of a novel series of inhibitors for cancer type transporter L-type amino acid transporter 1 (LAT1). *J Pharmacol Sci.* 2017;133:96–102.
3. Napolitano L, Scalise M, Koyioni M, Koutentis P, Catto M, Eberini I, et al. Potent inhibitors of human LAT1 (SLC7A5) transporter based on dithiazole and dithiazine compounds for development of anticancer drugs. *Biochem Pharmacol.* 2017;143:39–52.
4. Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* 2020;21:183–203.
5. Baird TD, Wek RC. Eukaryotic initiation factor 2 phosphorylation and translational control in metabolism. *Adv Nutr.* 2012;3:307–21.
6. Kilberg MS, Shan J, Su N. ATF4-dependent transcription mediates signaling of amino acid limitation. *Trends in Endocrinology and Metabolism.* 2009;20:436–43.
7. Quan L*, Ohgaki R*, Hara S, Okuda S, Wei L, Okanishi H, et al. Amino acid transporter LAT1 in tumor-associated vascular endothelium promotes angiogenesis by regulating cell proliferation and VEGF-A-dependent mTORC1 activation. *J Exp Clin Cancer Res.* (Accepted: November 3rd, 2020.) *Equal contribution.

【謝辞】

本研究の実施にあたり、多大なるご支援を賜りました公益財団法人薬理学研究会の皆様
に深く感謝申し上げます。

4. 細胞外ミスフォールドタンパク質の効率的な除去を可能にするエンドサイトーシス誘導薬の探索と筋萎縮性側索硬化症への治療応用

徳田 栄一

(日本大学薬学部 臨床医学研究室)

背景・目的

Superoxide dismutase-1 (SOD1) は構造的に安定な抗酸化酵素である。しかし、SOD1 は筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の運動神経内で構造異常型 (ミスフォールド体) として蓄積しており、神経変性の原因と指摘されている[1]。近年、ミスフォールド SOD1 は細胞間を伝播することが判明し、この細胞間伝播の概念は ALS 病態形成の理解を飛躍させると大きな期待を集めている。研究代表者は、細胞外に存在し細胞間を伝播するミスフォールド SOD1 が運動神経死を誘発することを報告した[2]。この知見に基づき「ミスフォールド SOD1 を細胞外環境から除去できれば、運動神経に対する毒性を軽減できるのではないかと考えた。エンドサイトーシスは、細胞外物質を細胞内に取り込むことで、細胞外環境の恒常性を維持する膜輸送システムである。実際、研究代表者は、エンドサイトーシス受容体 LRP (LDL receptor related protein) が細胞外ミスフォールド SOD1 と相互作用することを見出している (未発表データ)。

本研究では、運動神経に発現する LRP を薬理的に誘導し、エンドサイトーシス機能を高めることで、細胞外ミスフォールド SOD1 の細胞内移行が亢進するか、その結果、ミスフォールド SOD1 の神経毒性が軽減するか、細胞レベルでの解明を目的とした。

研究成果

①LRP 発現量を迅速かつ簡便に定量できる In-Cell ELISA の開発

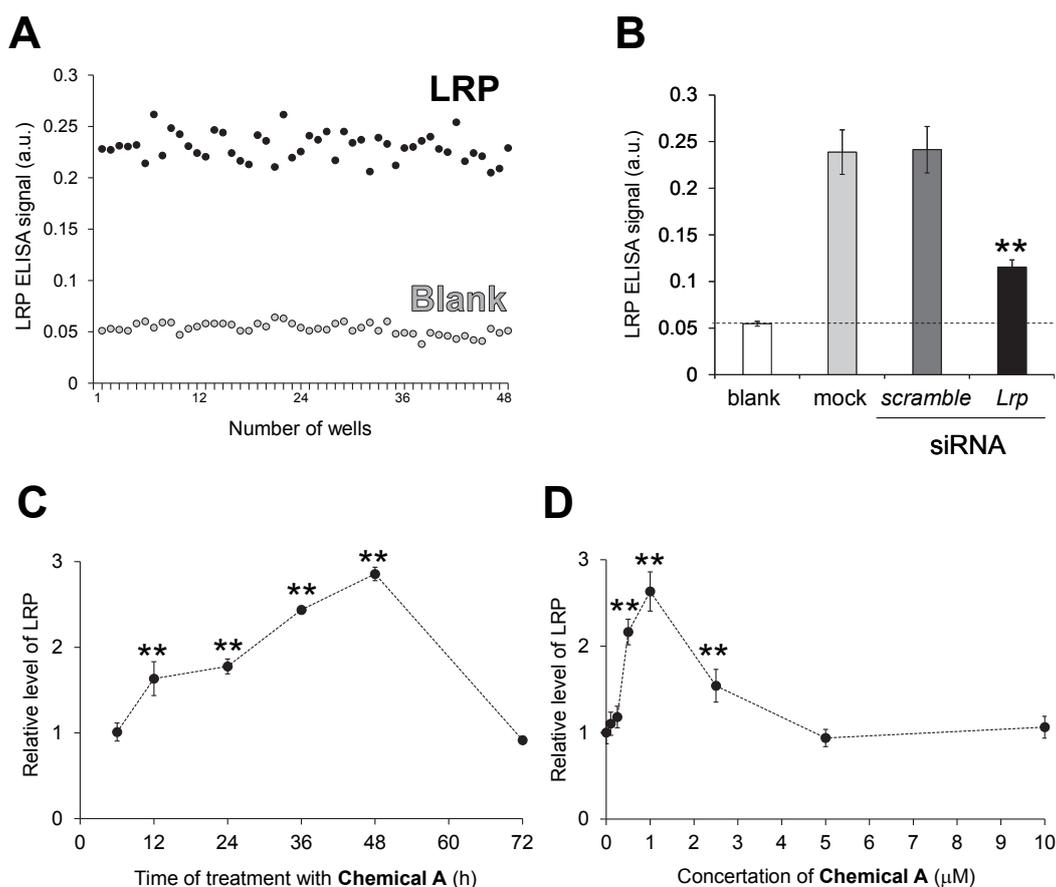
運動神経モデル細胞 NSC-34 に発現する LRP を誘導する化合物を探索するため、スクリーニング系の開発を行った。本研究では In-Cell ELISA に着目した。In-Cell ELISA は、ウェル内で培養した細胞に抗体を直接反応させ、細胞に発現する標的タンパク質を定量する方法である。従来の ELISA と異なり、In-Cell ELISA では、細胞からのタンパク質抽出や抗体のウェルへの固相化を必要としない。このため、In-Cell ELISA は標的タンパク質を迅速かつ簡便に定量できる。まず、In-Cell ELISA の精度と再現度を算出した。その結果、変動係数 CV が 5.5% (バラツキの指標、10%未満で良好)、S/B 比が 4.3 (検出感度の指標、3.0 以上で良好)、Z'値が 0.85 (再現性の指標、0.5 以上で良好) と、いずれも基準値を満たしており、本法の高い精度と再現性が確認できた (図 A)。また、siRNA で NSC-34 の *Lrp* をノックダウンすると、In-Cell ELISA のシグナルが減少したことから、本法の特異性を裏付けることもできた (図 B)。

②LRP 発現量を増加させる低分子化合物の探索

構築した In-Cell ELISA を駆使して、NSC-34 の LRP を誘導する化合物を探索し、複数の候補を見出すことができた。その中で「化合物 A」が最も有望であった（未発表データのため、化合物の詳細は非公表）。化合物 A の LRP 誘導における作用時間および作用濃度依存的な効果を In-Cell ELISA で検討したところ「1 μ M の化合物 A を 48 時間、NSC-34 に作用させると最も LRP を誘導する」ことが判明した（図 C, D）。

③LRP によるミスフォールド SOD1 の細胞内取込みと細胞生存率

化合物 A が LRP を最も誘導する実験条件で、NSC-34 の LRP を増加させ、細胞外からミスフォールド SOD1 を曝露し、ミスフォールド SOD1 の細胞内移行量を In-Cell ELISA で測定した。その結果、溶媒コントロール DMSO と比較して、化合物 A で LRP を誘導した NSC-34 ではミスフォールド SOD1 の細胞内移行が有意に増加した（図 E）。この細胞の生存率を CCK-8 アッセイで測定したところ、当初の予想とは異なり、細胞死が増強する結果が得られた（図 F）。



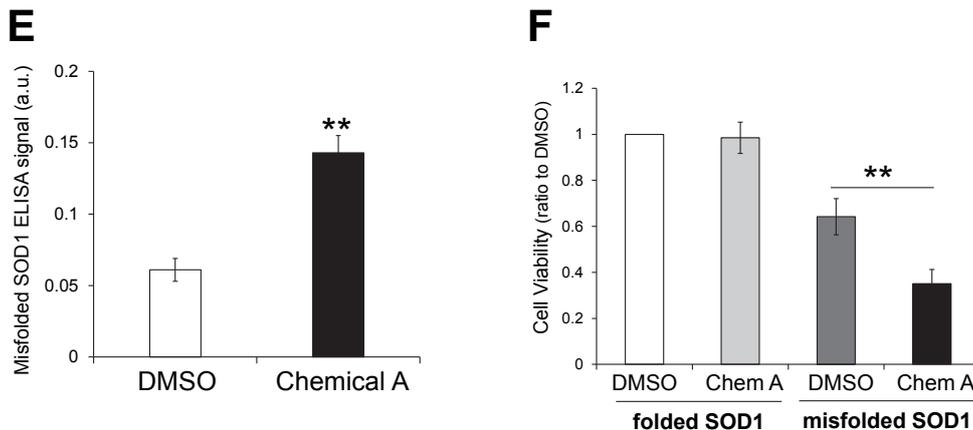


図 ミスフォールド SOD1 の細胞内移行により誘発される神経細胞死

(A) In-Cell ELISA の精度・再現度の確認。ブランクには培養メディアのみを添加した。(B) *Lrp* または scramble siRNA で処理した NSC-34 の LRP 量。(C) 化合物 A が誘導する LRP 発現量の経時的変化。(D) 化合物 A の濃度依存的な LRP 誘導量の変化。(E) ミスフォールド SOD1 の細胞内移行量。(F) フォールドまたはミスフォールド SOD1 を曝露した NSC-34 の細胞生存率。図 A 以外のすべての結果は平均値 ± 標準偏差で表記した。** $P < 0.01$ 。

まとめ・今後の展望

本研究では、運動神経モデル NSC-34 に発現する LRP を高感度で検出可能な In-Cell ELISA 法の開発に成功した。この系を用いて、NSC-34 の LRP を誘導する化合物 A を同定することができた。化合物 A による LRP の増加により、細胞外ミスフォールド SOD1 を効率的に細胞外環境から除去することができたが、細胞内に移行したミスフォールド SOD1 は強い神経毒性を示すことが判明した。今後は、細胞内に侵入したミスフォールド SOD1 の細胞内動態を詳細に検討し、ミスフォールド SOD1 がどのように細胞死を誘発するか、その分子機構を明らかにする予定である。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人 薬理研究会に心より感謝申し上げます。

参考文献

1. Furukawa Y, Tokuda E. Does wild-type Cu/Zn-superoxide dismutase have pathogenic roles in amyotrophic lateral sclerosis? *Transl Neurodegener.* (2020) 9 33. IF: 5.551
2. Tokuda E, Takei YI, Ohara S, Fujiwara N, Hozumi I, Furukawa Y. Wild-type Cu/Zn-superoxide dismutase is misfolded in cerebrospinal fluid of sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Mol Neurodegener.* (2019) 14 42. IF: 9.599

5. 骨格筋萎縮治療法開発に向けた p38MAPK キナーゼ活性の動的挙動の可視化研究

富田 太一郎

(東邦大学医学部 生理学講座 統合生理学分野)

研究背景および目的

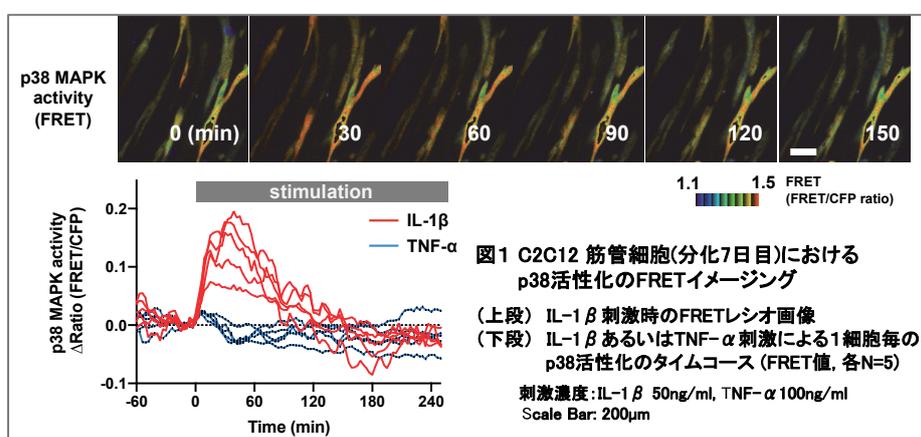
筋肉量を維持することは種々の疾患の予後改善や延命とも密接に関わるが、加齢や慢性炎症、がんサルコペニア等により引き起こされる筋萎縮に対する効果的な対処法はほとんどなく、その治療や創薬シーズにつながる基礎的な筋形成メカニズムの理解が必要な状況である (文献1)。

筋芽細胞は筋組織に細胞融合することによって筋繊維の形成および再生に働く。近年、細胞融合過程を担う分子として、Myomaker および Myomerger/Minion という2つの膜タンパク質の存在が明らかとなり、筋再生の鍵分子として注目されている。我々は先行研究においてストレス応答キナーゼの p38MAPK 活性依存的に Myomerger の遺伝子発現が生じて細胞融合が生じることを見出していた。p38MAPK は筋分化に必須であることが知られるが、その一方で、炎症や細胞ストレスの刺激による筋萎縮の誘導にも関与しており、このキナーゼが筋の形成と萎縮の相反する作用をもつ理由は明らかになっていない。そこで、本研究では骨格筋細胞の p38MAPK 活性化の動的な挙動を新規の可視化手法により解明し、炎症性サイトカインによる筋細胞の分化制御メカニズムを明らかにすることを目的とした。

研究結果および考察

まず、先行研究で作成した FRET 型 p38MAPK 活性レポータを基にして(文献2、3)、より量子収率の高い蛍光タンパク質 Turquoise と YPet を有する新たな FRET 型コンストラクトを構築した。内部のアミノ酸配列を最適化することにより p38 活性依存的な FRET ratio 変化の大きいコンストラクトを得た。

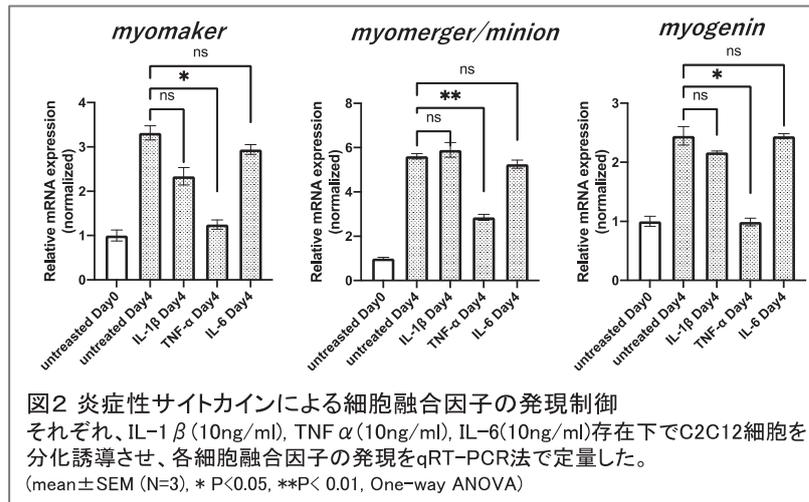
次に、このコンストラクトをマウス筋芽細胞由来培養細胞の C2C12 に導入し、炎症



性サイトカイン刺激に対する p38MAPK 活性化動態を解析した。遺伝子導入後にウマ血清を含む分化培地を用いて筋管細

胞を作製し、FRET イメージングにより p38MAPK 活性を定量した(図1)。その結果、IL-1 β 刺激により筋管細胞の p38MAPK 活性が一過的に上昇したが、持続的に IL-1 β を処置しても活性は2時間後には緩やかに刺激前のレベルにまで戻ることが示された。一方で、TNF α では p38MAPK 活性の増大は認められなかった。

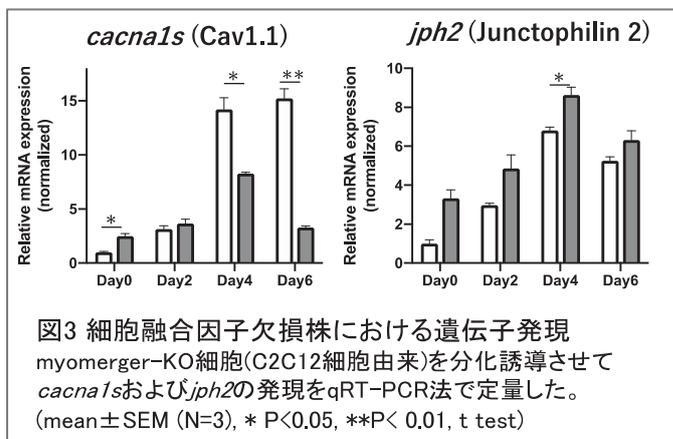
炎症性サイトカイン存在下で C2C12 細胞を分化させると、TNF- α 存在下では Myomaker および Myomerger の2つの細胞融合因子の mRNA 発現上昇が抑制される



ことが明らかとなった(図2)。このとき、同時に筋特異的転写因子 myogenin の発現も抑制されており、TNF- α は筋分化制御因子の抑制によって細胞融合過程を抑制する可能性が示唆された。一方で、IL-1 β および IL-6 の場合には

は有意な mRNA の抑制は認められなかった。

細胞融合因子の有無がその後の筋細胞の興奮収縮連関の形成にどのように関連するのは明らかでない。そこで、CRISPR-Cas9 により細胞融合因子の Myomerger/Minion の遺伝子 (*gm7325*) をノックアウトさせた C2C12 由来株を用いて分化誘導に伴う mRNA の変化を qRT-PCR 法で定量解析した(図3)。その結果、*myomerger*-KO 株では、骨格筋細胞の興奮収縮連関を担う電位依存性カルシウムチャネルの主サブユニット *cacna1s* (Cav1.1) の発現が分化4日目および6日目において大きく抑制されることが明らかとなった。一方で、結合膜構造の形成を担う *jph2* (Junctophilin-2) の発現については、野生株と KO 株との間に顕著な差は認められなかった。これらの結果から、細胞融合過程の有無はイオンチャネルの発現制御により興奮収縮連関に影響を与える可能性が示唆された。



大きく抑制されることが明らかとなった。一方で、結合膜構造の形成を担う *jph2* (Junctophilin-2) の発現については、野生株と KO 株との間に顕著な差は認められなかった。これらの結果から、細胞融合過程の有無はイオンチャネルの発現制御により興奮収縮連関に影響を与える可能性が示唆された。

結語

本研究により、IL-1 β とTNF- α の刺激では、筋管細胞におけるp38MAPKの応答が異なること、また、炎症性サイトカインによる細胞融合因子の抑制が単に筋管形成を抑制するだけでなく、さらに、その後の筋の興奮収縮連関の制御にまで及ぶ可能性が見出された。

謝辞

本研究を実施するにあたり助成をいただきました公益財団法人薬理研究会の関係各位に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Tomida, T., & Adachi-Akahane, S. (2020). Roles of p38 MAPK signaling in the skeletal muscle formation, regeneration, and pathology. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 155(4), 241-247.
- 2) Tatebayashi, K., Yamamoto, K., Tomida, T., Nishimura, A., Takayama, T., Oyama, M., Kozuka-Hata, H., Adachi-Akahane, S., Tokunaga, Y., Saito, H. (2020). Osmostress enhances activating phosphorylation of Hog1 MAP kinase by mono-phosphorylated Pbs2 MAP2K. *EMBO J*, 39(5), e103444.
- 3) Tomida, T., Takekawa, M., & Saito, H. (2015). Oscillation of p38 activity controls efficient pro-inflammatory gene expression. *Nat Commun*, 6, 8350.

6. 虚血性疾患治療を目指したネクローシス型細胞死抑制剤の開発研究

閻闡 孝介

(理化学研究所 開拓研究本部 袖岡有機合成化学研究室)

【背景・目的】

細胞死は生体の維持に必須であり、中でもアポトーシスは生体内で不必要な細胞を除去するための「プログラム細胞死」の代表として盛んに研究されてきた。一方で細胞の膨潤・破裂という形態変化で識別され、アポトーシスとは対極で偶発的・受動的な細胞死と考えられてきたネクローシス（壊死）が、近年新たなプログラム細胞死として認識されるようになった。最近の研究ではネクローシス型のプログラム細胞死にも様々な種類が存在し（Necroptosis、Pyroptosis、Ferroptosis、NETosis など）、それぞれが異なる制御機構を持つことも明らかとなっている。その詳細な分子機構や生体内での役割に関しては不明な点がまだ数多く残されているが、虚血性疾患（心筋梗塞、脳梗塞など）においては障害部位でネクローシスが多く観察され、その病態悪化に関与することが推定されている。

このような背景で我々はアポトーシス研究が中心であった頃から、世界に先駆けてネクローシス阻害剤の開発を開始し、酸化ストレスで誘導されるネクローシスに対して抑制効果を示す indolylmaleimide (IM) 化合物 **IM-54** の開発に成功している（図1）。さらに水溶性の高い誘導体 **IM-17** がラット虚血性心疾患モデルにて保護効果を示し、不整脈による突然死を完全に抑制することも報告した（図1）。このことは IM 化合物が阻害するネクローシスが虚血性疾患に関連し、その阻害が治療法へとつながることを示唆している。

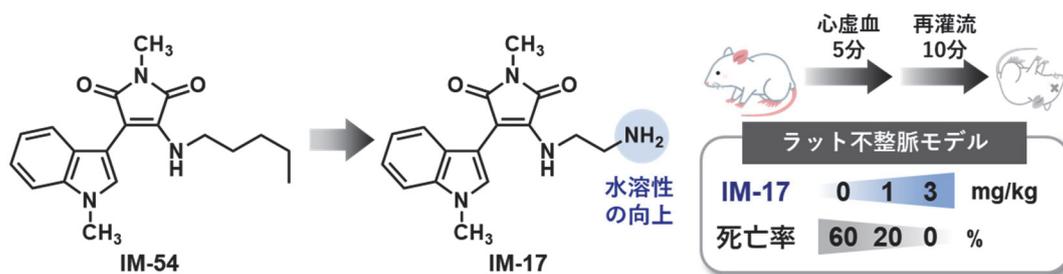


図1 IM化合物の構造およびIM-17の虚血性疾患モデルへの効果

そこで本研究では、IM 化合物の虚血性疾患への応用をさらに進めるべく、より高活性な誘導体の開発を目指して構造展開を行う。さらに、数多く存在するネクローシス型のプログラム細胞死に対して IM 化合物の抑制効果を検証することで、虚血性疾患の治療において標的となりうるネクローシスを特定し、虚血性疾患治療に向けた創薬標的の同定や新たな阻害剤の探索を目指す。

【結果と考察】

様々な疾患モデルに適用可能な IM 化合物の開発

ラット疾患モデルで保護作用を示した誘導体 **IM-17** は水溶性が高く動物への投与が容易であったが、そのネクロシス抑制活性は低いものであった。そこで、より広範な虚血性疾患モデルを検討することを目指し、高いネクロシス抑制活性と水溶性を兼ね備えた誘導体の開発を計画した。

まず IM 化合物の構造のうち、マレイミド環窒素上の置換基 (図 2 : 青色で表示) およびアミノアルキル基 (図 2 : 赤色で表示) の 2 ヶ所に関して種々構造を変換し、40 種類以上の誘導体を合成した。その後、ヒト白血球細胞 HL-60 を 100 μM の過酸化水素で処理した際に誘導されるネクロシスに対する抑制活性を評価した (図 2)。その結果、マレイミド環窒素

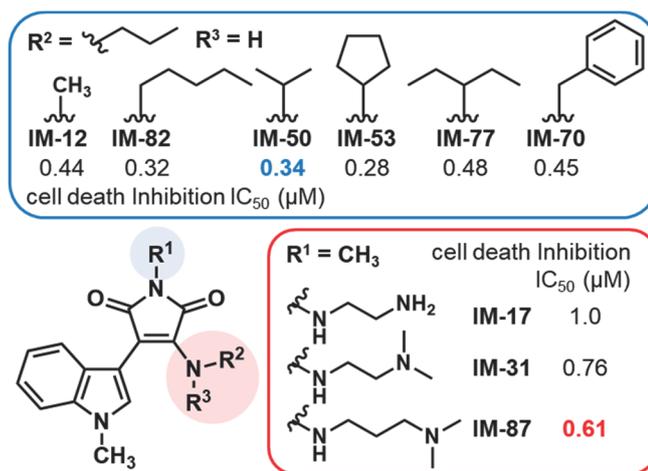


図 2 IM化合物の構造活性相関

素の置換基ではイソプロピル基が、アルキルアミノ基の部分ではジメチルアミノプロピル基が良好なネクロシス抑制活性を示すことが分かった。そこで双方の置換基を持つ **IM-93** を合成し、その活性を評価したところ **IM-17** に比べて高いネクロシス抑制活性を示すことがわかったと共に、その塩酸塩は非常に高い水溶性を持つことも明らかとなった (図 3)。このことは **IM-93** が **IM-17** よりも優れ、虚血性疾患へと適用可能なことを示唆している。

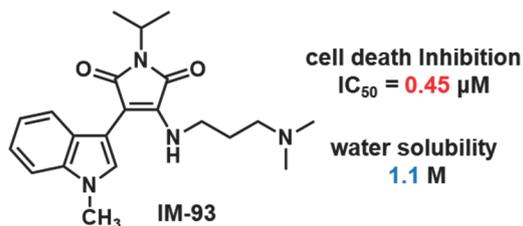


図 3 IM-93の細胞死抑制活性と水溶性

IM 化合物が抑制するネクロシスの特定

一般的に個体レベルの組織観察ではその形態変化からネクロシスを識別することはできるが、様々なタイプのネクロシスのどれが起きているのかを特定することは困難である。一方で **IM-17** の保護効果から、IM 化合物が抑制するネクロシスは虚血性疾患と強い関連性があると考えられる。そこで培養細胞で様々なタイプのネクロシスを選択的に誘導し、それぞれに対する IM 化合物の抑制効果を確認し、どのタイプのネクロシスに IM 化合物が効果を示すかを明らかにすることにした。

これまでに報告されているネクロシス型の細胞死の主なものとして Necroptosis、Pyroptosis、Ferroptosis、NETosis の4つの細胞死に関して、それぞれ異なる細胞株・刺激剤を組み合わせて誘導し、**IM-93** の抑制効果を調べた。Necroptosis に関してはヒト T 細胞株 Jurkat に対して Fas リガンド (FasL)、カスパーゼ阻害剤 Z-VAD、シクロヘキシミド (CHX) を処理することで誘導し、Necroptosis 阻害剤である Nec-1 が抑制効果を示すことを確認した (図 4 A)。Pyroptosis に関してはヒト単球細胞株 THP-1 を黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) または緑膿菌 (*P. aeruginosa*) に感染させることで誘導し、Pyroptosis 阻害剤として知られる CA-074Me で抑制効果が示されることを確認した (図 4 B、C)。これらの細胞死に対して **IM-93** を処理したところ、いずれも抑制効果を示さないことが明らかとなった (図 4)。

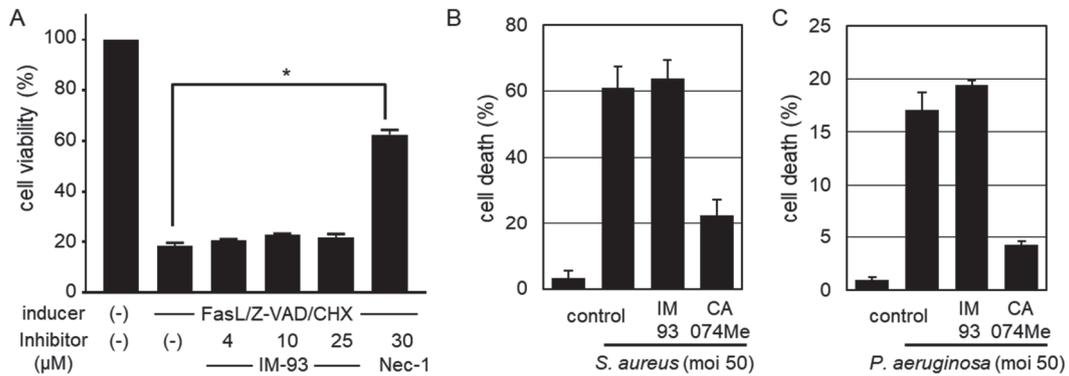


図 4 **IM-93** の Necroptosis (A) および Pyroptosis (B・C) への抑制効果

さらに NIH3T3 細胞に Ferroptosis 誘導剤 Erastin を処理することで Ferroptosis を、ヒト好中球に Phorbol 12-Myristate 13-Acetate (PMA) を処理することで NETosis を誘導し、同様に **IM-93** の抑制効果を検証した (図 5)。Ferroptosis に対しては Ferroptosis 阻害剤である Fer-1 および鉄キレーター DFO が抑制効果を示す一方で、**IM-93** も抑制効果を示した (図 5 A)。さらに NETosis に対しても同様に **IM-93** が抑制効果を示すことがわかった (図 5 B)。

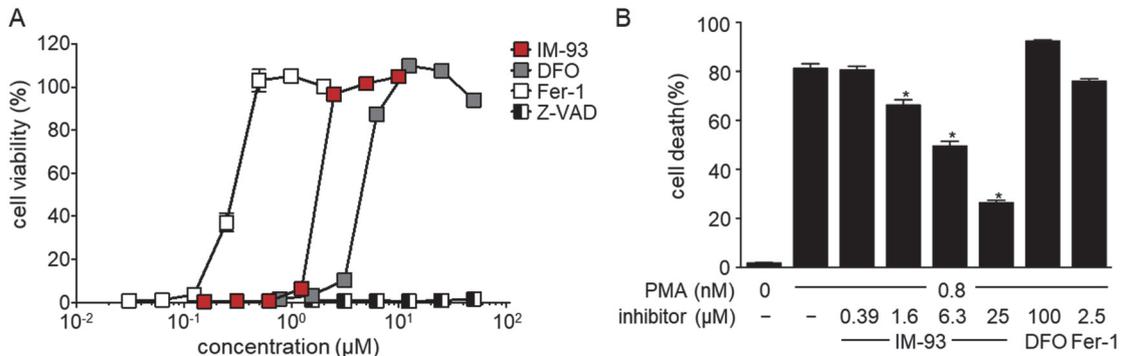


図 5 **IM-93** の Ferroptosis (A) および NETosis (B) への抑制効果

以上の結果から、IM 化合物は2つのタイプのネクロシスをどちらも抑制することで虚血性疾患に効果を持つことが示唆された。今後 IM 化合物の標的分子を明らかにすることで、虚血性疾患の治療に貢献することを目指したい。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、ご支援を賜りました公益財団法人薬理研究会に深く感謝申し上げます。また各種細胞死への効果を解析するにあたっては、東京薬科大学の田中正人先生、金沢大学の須田貴司先生にご協力いただきました。この場をお借りして感謝申し上げます。

【参考文献】

1. **Dodo K.**, Kuboki E., Shimizu T., Imamura R., Magarisawa M., Takahashi M., Tokuhito T., Yotsumoto S., Asano K., Nakao S., Terayama N., Suda T., Tanaka M., Sodeoka M., Development of a Water-Soluble Indolylmaleimide Derivative IM-93 Showing Dual Inhibition of Ferroptosis and NETosis, *ACS Med. Chem. Lett.* **2019**, *10*, 1272-1278.
2. **Dodo K.**, Shimizu T., Sasamori J., Aihara K., Terayama N., Nakao S., Iuchi K., Takahashi M., Sodeoka M., Indolylmaleimide Derivative IM-17 Shows Cardioprotective Effects in Ischemia-Reperfusion Injury, *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 182-187.
3. **Dodo K.**, Hayamizu K., Shimizu T., Sodeoka M., Structure-activity relationship study of 3-amino-2-indolylactam derivatives: Development of inhibitors of oxidative stress-induced necrosis, *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 886-898.
4. **Dodo K.**, Katoh M., Shimizu T., Takahashi M., Sodeoka M., Inhibition of hydrogen peroxide-induced necrotic cell death with 3-amino-2-indolylmaleimide derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 3114-3118.
5. Katoh M., **Dodo K.**, Fujita M., Sodeoka M., Structure-activity relationship of *N*-methyl-bisindolylmaleimide derivatives as cell death inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15*, 3109-3113.

7. STING 経路を介する自己炎症性疾患治療標的の探索

向井 康治朗

(東北大学 大学院生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野)

[背景と目的]

自然免疫は先天的に備わっている、異物を排除するための応答機構である。近年、ウイルスの感染や核・ミトコンドリア膜の傷害によって細胞質に漏出した DNA が異物として認識され、STING 経路の活性化を介して IFN β などの I 型インターフェロンを誘導することが明らかになった。また、この STING 経路の恒常的な活性化は systemic lupus erythematosus (SLE)、Aicardi-Goutières syndrome (AGS)、stimulator of IFN genes-associated vasculopathy with onset in infancy (SAVI) などの I 型インターフェロノパチーと呼ばれる自己炎症性疾患を引き起こすことが示唆されている。

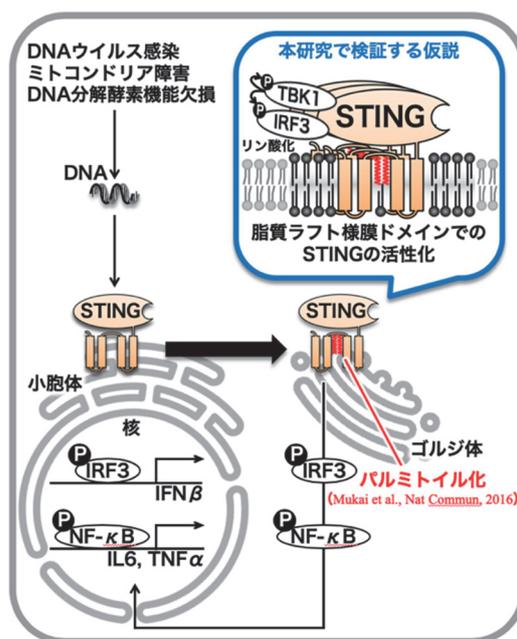
我々はこれまでに細胞内での STING の活性化機構を解析し、DNA 刺激依存的に STING が小

胞体からゴルジ体へと輸送され、ゴルジ体で STING の Cys88,91 がパルミトイル化されることが下流シグナルの活性化に必要であることを発見した (Mukai et al., *Nat Commun*, 2016) (右上図)。さらに最近、我々のグループ (Hansen et al., *PNAS*, 2018)、及びスイスのグループ (Haag et al., *Nature*, 2018) から、STING の Cys88,91 に選択的に共有結合することでパルミトイル化を抑制する低分子が同定され、STING のパルミトイル化が創薬標的となる可能性が示唆された。しかし、膜タンパク質である STING がパルミトイル化されることで、なぜ STING 経路が活性化されるのか、その分子機構は明らかとなっていない。

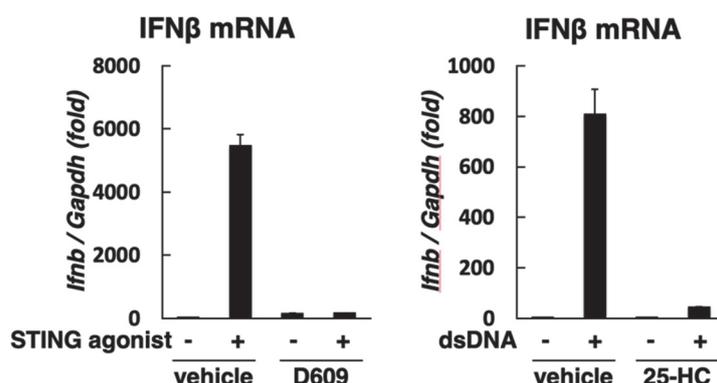
そこで本研究では、パルミトイル化された STING が下流シグナルを活性化する分子機構を明らかにすることで、新しい自己炎症性疾患の治療戦略を提案することを目的とした。

[結果・考察]

細胞膜においては、パルミトイル化されたタンパク質がスフィンゴミエリンとコレステロールで構成される脂質ドメイン (脂質ラフト) 上で会合することが知られている。そこで、ゴルジ体のスフィンゴミエリンの脂肪酸組成を変化させることが報告されている C6-セラミド処理をした所、STING の活性化が劇的に抑制されることを見出した (Mukai et al., *Nat Commun*, 2016)。このことから、パルミトイル化された STING はゴルジ体の脂質ラフト様膜ドメインでクラスターリングして



下流シグナルを活性化している可能性がある。そこで本研究では、野生型 STING の DNA 刺激依存的な活性化に、ゴルジ体のスフィンゴミエリン及びコレステロールが必要であるかを、ゴルジ体に局在するスフィンゴミエリン代謝酵素 (SMS1) 及びコレ



ステロール輸送タンパク質 (OSBP) の阻害剤を用いて検証した。その結果、SMS1 の阻害剤である D609 や OSBP の阻害剤である 25-hydroxycholesterol (25-HC) で STING 経路の活性化が抑制できることを見出した (右上図)。また、STING がゴルジ体の脂質ラフト様ドメインで下流シグナルを活性化しているかを、STING の下流キナーゼ TBK1 の活性化体 (リン酸化体) 認識抗体による免疫染色とスフィンゴミエリン可視化プローブを用いて検証した。その結果、リン酸化 TBK1 はスフィンゴミエリンとゴルジ体上でよく共局在した。これら結果から、ゴルジ体の脂質ラフト環境で STING 経路が活性化することが示唆された。

近年、STING の点変異により引き起こされる自己炎症性疾患 SAVI (STING-associated vasculopathy with onset in infancy) が報告された (Liu et al., *N Engl J Med* 2014; Jeremiah et al., *J Clin Invest* 2014)。この病気型 STING は、DNA 刺激が無い状態でも活性化しており、それによって炎症が恒常的に引き起こされ、病態形成に至ると考えられている。我々はこれまでに STING のパルミトイル化を抑制することで SAVI-STING による炎症応答を抑制できることを見出している (Hansen et al., *PNAS*, 2018; Ogawa and Mukai et al., *BBRC* 2018; Mukai et al., *Nat Commun* 2016)。そこで本研究において、上述の 25-hydroxycholesterol (25-HC) を SAVI-STING 発現細胞に添加したところ、下流シグナルの活性化を抑制できる結果を得た。この結果は、STING のパルミトイル化やゴルジ体の脂質ラフト環境が、STING 経路を介する自己炎症性疾患の有用な治療標的となり得ることを示唆している。

[今後の展望]

最近我々は、COPA 異常症と呼ばれる自己炎症性疾患の炎症病態が、STING の小胞体維持機構の破綻に起因しており、STING のパルミトイル化阻害剤が本疾患に有用であることを明らかにした (Deng et al., *JEM* 2020, Mukai et al., *Nat Commun* accepted)。本研究の成果は、COPA 異常症のような STING のゴルジ体での過剰な活性化に起因する自己炎症性疾患の治療法の開発に貢献すると期待される。

[謝辞]

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援を賜りました公益財団法人薬理研究会に深く感謝申し上げます。

[参考文献]

- Mukai, K., Ogawa, E., Uematsu, R., Kuchitsu, Y., Uemura, T., Waguri, S., Suzuki, T., Dohmae, N., Arai, H., Shum, A. K., and Taguchi, T. (2020). Homeostatic regulation of STING by Golgi-to-ER membrane traffic. *bioRxiv* 2020.05.20.107664. (*Nat Commun*, accepted)
- Deng, Z., Chong, Z., Law, C. S., Mukai, K., Ho, F. O., Martinu, T., Backes, B. J., Eckalbar, W. L., Taguchi, T., and Shum, A. K. (2020). A defect in COPI-mediated transport of STING causes immune dysregulation in COPA syndrome. *J Exp Med* 217, e20201045.
- Hansen, A. L., Mukai, K., Schopfer, F. J., Taguchi, T., and Holm, C. K. (2019). STING palmitoylation as a therapeutic target. *Cell Mol Immunol* 16, 236-241.
- Taguchi, T., and Mukai, K. (2019). Innate immunity signalling and membrane trafficking. *Curr Opin Cell Biol* 59, 1-7.
- Ogawa, E.* , Mukai, K.* , Saito, K., Arai, H., and Taguchi, T. (2018). The binding of TBK1 to STING requires exocytic membrane traffic from the ER. *Biochem Biophys Res Commun* 503, 138-145. (*equal contribution)
- Hansen, A. L., Buchan, G. J., Rühl, M., Mukai, K., Salvatore, S. R., Ogawa, E., Andersen, S. D., Iversen, M. B., Thielke, A. L., Gunderstofte, C., Motwani, M., Møller, C. T., Jakobsen, A. S., Fitzgerald, K. A., Roos, J., Lin, R., Maier, T. J., Goldbach-Mansky, R., Miner, C. A., Qian, W., Miner, J. J., Rigby, R. E., Rehwinkel, J., Jakobsen, M. R., Arai, H., Taguchi, T., Schopfer, F. J., Olganier, D., and Holm, C. K. (2018). Nitro-fatty acids are formed in response to virus infection and are potent inhibitors of STING palmitoylation and signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115, E7768-E7775.
- Matsudaira, T.* , Mukai, K.* , Noguchi, T., Hasegawa, J., Hatta, T., Iemura, S., Natsume, T., Miyamura, N., Nishina, H., Nakayama, J., Semba, K., Tomita, T., Murata, S., Arai, H., and Taguchi, T. (2017). Endosomal phosphatidylserine is critical for the YAP signalling pathway in proliferating cells. *Nat Commun* 8, 651. (*equal contribution)
- Mukai, K., Konno, H., Akiba, T., Uemura, T., Waguri, S., Kobayashi, T., Barber, G. N., Arai, H., and Taguchi, T. (2016). Activation of STING requires palmitoylation at the Golgi. *Nat Commun* 7, 11932.

2020年12月1日発行

編集発行 公益財団法人 薬理研究会

〒113-0033

東京都文京区本郷2-40-14 山崎ビル 202C

電話 FAX : 03-5842-6308

E-mail : zaiyakuriken@woody.ocn.ne.jp

<http://www.dislo-koeki.org/08a/00994/index.html>

印刷・製本 有限会社 プリンティングサービス

〒538-0043 大阪市鶴見区今津南2-7-6

電話 : 06-6969-8111 FAX : 06-6969-8112