

公益財団法人  
薬理研究会

# 助成研究報告

第 62 集

2024年度

## 序

本財団では、1999 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。

2024 年度には 47 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。

京都大学 大学院医学研究科	浅岡 希美	助 教
国立循環器病研究センター 研究所	稲垣 薫克	上級研究員
静岡県立大学 大学院薬学研究院	刀坂 泰史	講 師
筑波大学 医学医療系	柴 綾	准教授
九州大学 大学院医学研究院	山口 智和	助 教
岡山大学 学術研究院医歯薬学域	山田 大祐	研究准教授
群馬大学 大学院医学系研究科	六本木 麗子	助 教

ここに、上記 2024 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 62 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、誠に悦ばしいことであります。

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。

2025 年 12 月

公益財団法人 薬理研究会  
理事長 飯野 正光

## 目 次

- |   |  |        |                                 |      |
|---|--|--------|---------------------------------|------|
| 1 | 独自強迫症モデルマウスを用いたデータ<br>駆動型治療候補薬の実証研究    | 浅岡 希美  | 京都大学<br>大学院医学研究科<br>システム神経薬理学分野 | p.1  |
| 2 | 炎症性サイトカインシグナル阻害による<br>肺高血圧症治療メカニズムの解明  | 稲垣 薫克  | 国立循環器病研究<br>センター 研究所<br>血管生理学部  | p.4  |
| 3 | アルギニンメチル化酵素を標的とする新<br>規肺線維症薬物治療戦略の基盤研究 | 刀坂 泰史  | 静岡県立大学<br>大学院薬学研究院<br>分子病態学講座   | p.8  |
| 4 | ミトコンドリア呼吸依存性肺腺癌の一群の<br>同定と治療戦略の開発      | 柴 綾    | 筑波大学<br>医学医療系<br>診断病理学分野        | p.10 |
| 5 | 急性肺傷害における CCR4-NOT 複合体の<br>肺保護的役割の解析   | 山口 智和  | 九州大学<br>大学院医学研究院<br>薬理学分野       | p.13 |
| 6 | がん細胞特異的融合遺伝子を標的とした<br>新規肉腫治療薬の開発       | 山田 大祐  | 岡山大学学術研究院<br>医歯薬学域<br>組織機能修復学分野 | p.17 |
| 7 | 認知症治療を目指した新戦略の創薬のた<br>めの基礎的研究          | 六本木 麗子 | 群馬大学<br>大学院医学系研究科<br>薬理学講座      | p.22 |

# 1. 独自強迫症モデルマウスを用いたデータ駆動型治療候補薬の実証研究

浅岡 希美

京都大学大学院医学研究科 システム神経薬理学分野

## 【背景・目的】

強迫症（OCD）は、不安や焦燥を伴って繰り返し生じる強迫観念とそれを解消するための強迫行為を繰り返す精神疾患である。治療には選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）や認知行動療法が用いられるが治療抵抗例も多い。特に SSRI は遅効性であり約半数の患者で効果不十分である。こうした難治性患者に対する治療法の開発が望まれている。

申請者はこれまでに、医療ビッグデータ解析から、副作用として強迫症状を示す薬物としてドパミン D2 受容体（D2R）刺激薬を見出した。さらに、D2R 刺激薬をマウスに反復投与することで OCD 様症状が発現し、また OCD 様の神経機能異常を再現しうることを報告した（Asaoka et al., 2019, 2021）。このマウスへ臨床用量の SSRI を長期投与することで、強迫症状が部分的に改善した。これらの知見から、D2R 刺激薬による強迫症状は、OCD と類似した表現型や病理、薬物応答性を示し、その病態・治療メカニズムは OCD の病態・治療研究の有用なツールとなると考えられる。さらに、上記のデータベースから、D2R 刺激薬との併用で強迫症状発生率を低減しうる候補薬を網羅的に解析することで、OCD 治療へとドラッグリポジショニング可能な医薬品を導出できる。すでに、既に複数の候補薬を見出し、一部は動物実験でその有効性を実証した（Hatakama et al., 2024）。そこで本研究提案では、医療ビッグデータ解析とモデルマウスの病態メカニズム解析から見出した新たな候補薬 2 種の強迫症状改善作用実証に向けた検討を行う。

## 【結果】

### 1. 新規 OCD 治療候補薬 X、Y の導出（特許出願予定のため名称非公開）

既に確立している医療ビッグデータ解析から、同効薬すべてが OCD 様症状リスクを低減する薬物群として、非中枢疾患治療薬である候補薬 X を見出した。また、申請者はこれまでに D2R 反復刺激による強迫行動出現への線条体 D2R 陽性神経細胞の関与を報告している。そこで、D2R 陽性神経細胞に選択的に発現する分子を遺伝子発現データベースより検索した結果、ターゲット分子 y および、その分子 y に作用する候補薬 Y を見出した。

### 2. OCD モデルマウスにおける候補薬 X、Y の薬効評価

OCD モデルマウスは、マウスに D2R 刺激薬である quinpirole（QNP; 1 mg/kg）を毎日腹腔内投与することによって作製し、8 回以上の投与を受けたマウスを強迫性モデルマウスとして実験に使用した。9-12 回目の QNP 投与 5 分前に候補薬 X および Y を腹腔内投与した（図 1A）。げっ歯類における OCD 様行動の指標としては、自発的な反復行動が広く用いられる。今回用いた強迫性モデルマウスにおいても、QNP を反復投与することで、巣作り様の自発的反復行動が出現し、8 回目の投与では 10 分間の記録時間のうち 80% 以上を反復行動に費やすようになる（図 1B; Asaoka et al., 2019）。この反復行動は、既存の OCD 治療薬である SSRI の

長期間投与では改善せず、治療抵抗性の OCD 様行動であると考えられる。

そこで、このモデルマウスへ候補薬 X や Y を投与した際の反復行動への影響を OCD 様行動の改善作用として評価した。候補薬 X については、既に臨床使用されている複数の同効薬のすべてがビッグデータ解析上では OCD 様症状のリスクを軽減していた。そのため、構造上、薬物動態の異なると考えられる同効薬 X1 と X2 の二種類を検討に使用した。臨床では非中枢性疾患への治療に用いられていることを踏まえ、臨床用量よりも高濃度の投与を行ったが、モデルマウスの反復行動抑制作用は認められなかった (図 1C)。一方で、候補薬 Y については、濃度依存的な反復行動の抑制作用が認められた (図 1D)。

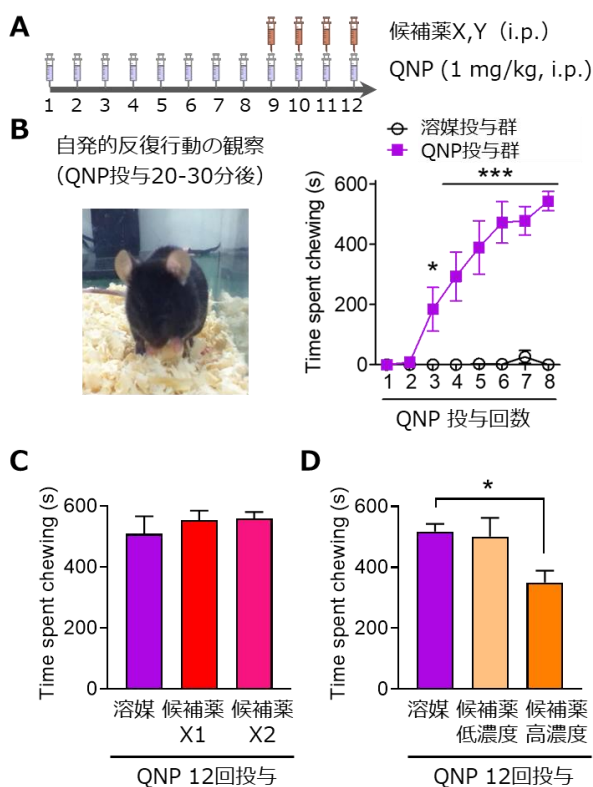


図 1 OCD モデルマウスにおける自発的反復行動と候補薬 X および Y の作用

A QNP および候補薬 X,Y の投与スケジュール

B 各 QNP の投与 20-30 分後の飼育ケージ内における反復行動を計測した。反復行動としては、すべてのマウスが床敷きを掴んで噛むという、巣作り様の行動を示した。QNP の投与回数の増加とともに反復行動に費やす時間は増加した。(Asaoka.et.al., 2019 より改変)

C 候補薬 X1 および X2 を 4 日間投与した際の反復行動。

D 候補薬 Y を 4 日間投与した際の反復行動。高濃度は臨床量の 1/10 相当、低濃度は臨床量の 1/100 相当である。

### 3. OCD 様の意思決定機能異常に対する候補薬 Y の効果

OCD 患者では、習慣的な行動選択が優位となるために、柔軟な行動の切り替えが障害され、反復行動を改善しづらくなっていることが示唆されている (Gillan et al., 2016)。我々は、以前、QNP 反復投与による OCD モデルマウスにおいても、オペラント学習法を用いた習慣行動の評価において、行動習慣化の促進が引き起こされることを報告している (Hatakama et al., 2024)。そこで、行動習慣化に対する候補薬 Y の効果を検証した。オペラント試験箱を用いて、砂糖水を報酬としてレバー押し行動を学習させたのち、価値減弱試験によりレバー押し行動の習慣化を評価した (図 2A)。価値減弱試験では、マウスに自由に砂糖水または通常飼料を摂食させたのち、レバー押し試行を行った。砂糖水を先行摂取した条件では、レバー押しが習慣化されていない (目的指向行動) マウスはレバー押し行動に対するモチベーションが低下し、通常飼料を摂食した条件よりもレバー押し行動が減少する。一方で、レ

バー押し行動が習慣化している場合、試験箱という条件刺激に応答してレバー押し行動が惹起されるため、レバー押し行動は先行摂取の内容に影響されない。通常飼料 (Valued) 条件と砂糖水 (Devalued) 条件をそれぞれ1日ずつ、合計2日の試験を行い、devalued条件で優位なレバー押し行動の減少が認められた場合を目的指向行動、レバー押し行動の減少が認められない場合を習慣行動として評価した (図2B)。

通常のマウスでは目的指向的なレバー押し行動が形成される条件で訓練を行ったため、QNPを投与していない正常マウスでは devalued 条件において有意なレバー押し行動低下が認められたが、QNP投与群では valued と devalued 条件におけるレバー押し行動の差は認められず、レバー押し行動の習慣化が起こっていることが確認できた。一方で、QNP投与群に対し、価値減弱試験の自由摂食開始時に候補薬 Y を投与したところ、正常マウスと同様に、devalued 条件において有意なレバー押し行動低下が認められるようになった (図2C)。

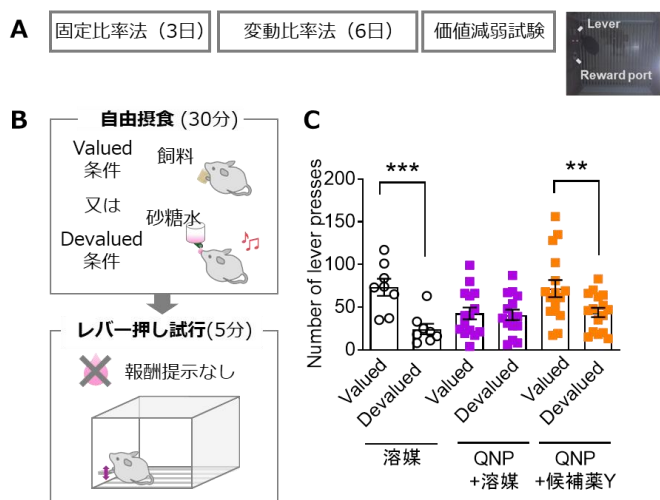


図2 行動習慣化に対する候補薬 Y の作用

A オペラント学習スケジュール。固定比率法、変動比率法は共に、目的指向的なレバー押し行動の学習に使用される強化学習手法である。

B 価値減弱試験は2日間(Valued条件・Devalued条件)に分けて行った。2条件の順番はランダムとした。

C 価値減弱試験における候補薬 Y の効果。

#### 【考察・今後の展望】

以上の結果から、候補薬 Y は OCD モデルマウスの行動・意思決定機能の異常を短期間の投与で改善することが示唆された。今後は、候補薬 Y の作用メカニズムを解析するとともに、OCD 以外の精神疾患への治療効果も検証する予定である。

#### 【謝辞】

本研究に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。

## 2. 炎症性サイトカインシグナル阻害による肺高血圧症治療メカニズムの解明

稲垣 薫克

国立循環器病研究センター・研究所血管生理学部

### 【背景・目的】

肺動脈性肺高血圧症(Pulmonary arterial hypertension: PAH)は肺動脈に原因不明の狭窄や閉塞を生じて、肺動脈圧の上昇から心不全を来す予後不良の厚生労働省指定難病である。近年の血管拡張薬の開発により予後は改善しつつあるが、治療不応性の症例は未だに予後が不良であり、特に膠原病性 PAH(Connective tissue disease associated-PAH:CTD-PAH)は、肺動脈病変のみならず、肺静脈閉塞症や心臓の線維化を合併することが多く、他の原因による PAH と比較して予後不良であることが知られており、その病態解明が必要とされている。我々はこれまでに、低酸素誘導性肺高血圧症(PH)マウスモデルにおいて、炎症性サイトカイン Interleukin-6(IL-6)が CD4 陽性 T 細胞に作用することで PH 病態を促進することを明らかにしてきた(1, 2)。さらに重症 PH モデルである SuHx ラットモデルにおいても、CD4 陽性細胞において IL-6 シグナルの活性化が肺血管周囲において生じ、IL-6 欠損ラットでは PH 病態が著明に抑制されることを見出した(2)。最近、我々は、炎症性サイトカインの mRNA 分解酵素として知られる Regnase-1(3)を骨髄球系細胞で欠損させた Regnase-1 f/f; CD11cCre(Reg1CKO) マウスが重症肺血管病変を呈する肺高血圧症を自然発症し、自己抗体産生や肺静脈にも閉塞性病変が観察されるという膠原病性 PAH に特異な病像を呈することを見出した(4)。最近、我々は IL-6 の下流で機能する炎症関連分子 X に着目し、X シグナルの欠損により重症 PH モデルの病態が劇的に抑制されることを見出した。そこで本研究では新たに見出した重症 CTD-PAH モデルマウスにおいて、この炎症関連分子 X の遺伝的欠損および薬理的な阻害による病態抑制効果を明らかにすることを目的とした。

### 【方法・結果】

初めに重症 CTD-PAH マウスモデルにおいて炎症関連分子 X の発現上昇がみられるかについて検討したところ、Reg1CKO マウスでは血管リモデリングを呈した肺血管周囲に炎症関連分子 X の陽性細胞が著明に増加していることが明らかとなった(図 1)。また、肺の遺伝子発現解析を qPCR により検討したところ、Reg1CKO マウスでは GeneX の著明な発現上昇がみとめられたことから、この重症 CTD-PAH マウスモデルの系でも炎症関連分子 X が病態形成に関与する可能性が示唆された。

肺血管周囲におけるX陽性細胞の増加

肺におけるGene X発現の上昇

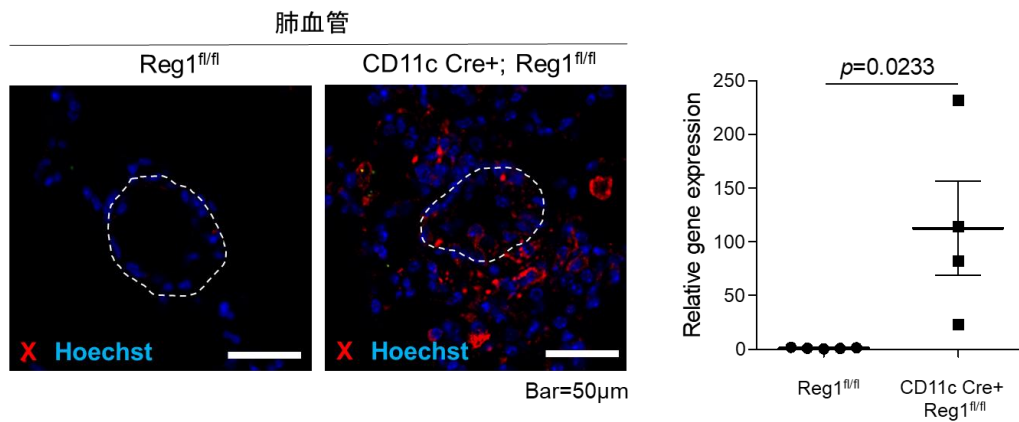


図1. Reg1CKOマウスの肺静脈周囲で炎症関連分子Xの陽性細胞が増加し、肺においてGene XのmRNA発現は著明に上昇する

そこで、重症 CTD-PAH マウスモデルにおける炎症関連分子 X の遺伝的欠損の影響を明らかにするために、Regnase-1 flox; CD11c-Cre マウスと X 欠損マウスを交配して、PH の表現型について右心カテーテル検査により検討した。その結果、遺伝子 X の欠損により、右心室収縮期圧は有意に低下し、肺血管リモデリングが抑制される傾向がみとめられ、肺血管周囲に浸潤する炎症細胞が著明に減少し、生存率の有意な改善もみとめられた(図 2)。

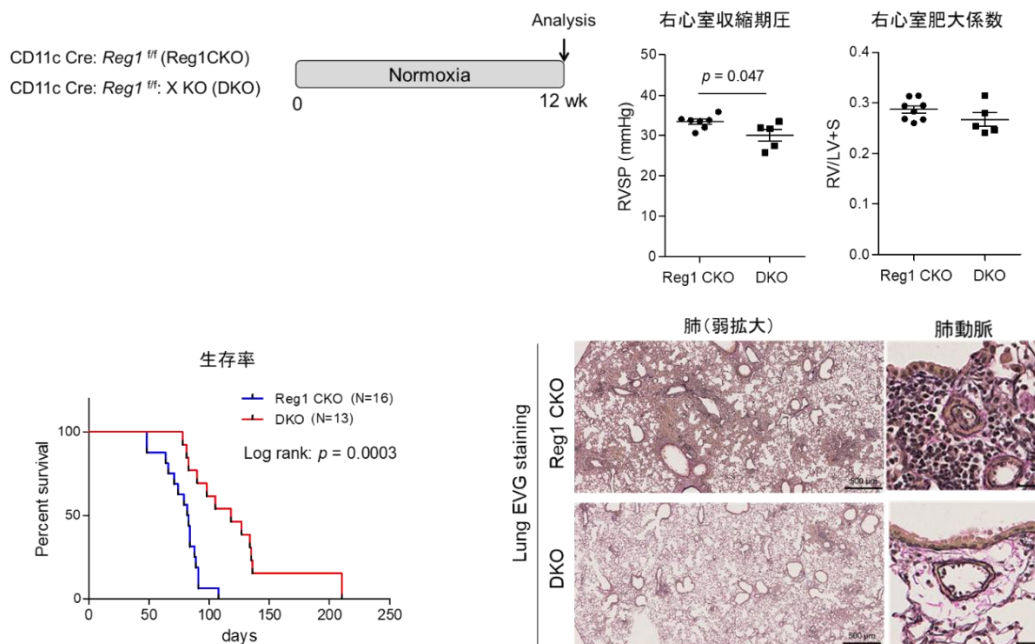


図2. Reg1CKOマウスにおけるGene Xの欠損により、PH病態が有意に減弱し、生存率が有意に改善し、肺血管における炎症細胞浸潤が著明に減少した

次に、薬理的な炎症関連分子 X の阻害効果について、X に特異的に結合して活性を阻害する inhibitor Y を開発して、その効果を検討した。その結果、炎症関連分子 X の遺伝的な欠損の結果と同様に、Inhibitor Y の投与によって右心室収縮期圧は有意に低下し、右心肥大も有意な抑制がみとめられた。また、肺血管周囲に浸潤する炎症細胞が著明に減少し、肺血管の閉塞率は有意に改善した(図 3)。以上の結果から、炎症の強い CTD-PAH モデルマウスの系において、炎症関連分子 X が病態形成に重要な役割を果たしていることが示唆された。

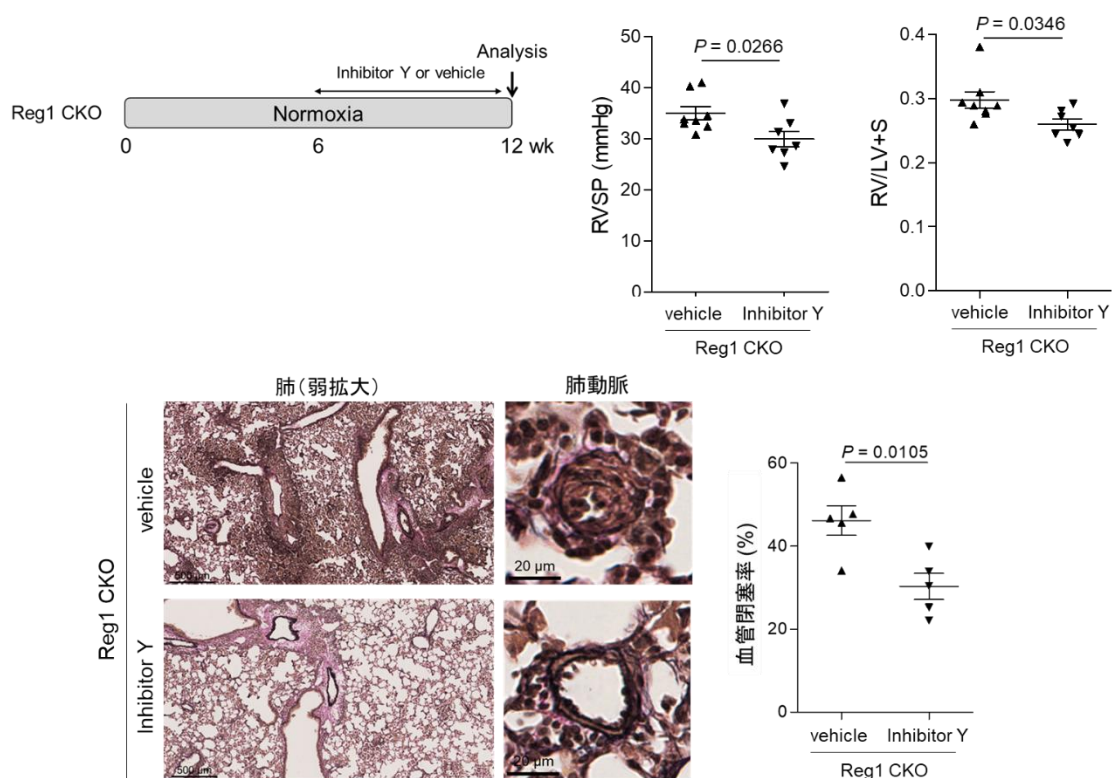


図3. Reg1CKOマウスに対するinhibitor Yの投与により、PH病態が有意に減弱し、肺血管における炎症細胞浸潤が著明に減少して、肺血管リモデリングも有意に改善した

#### 【今後の展望】

本研究では新規に開発した重症 CTD-PAH モデルマウスを対象に、炎症関連分子 X の遺伝的な欠損や薬理的な阻害により、PH 病態が有意に改善することを明らかにした。CTD-PAH は他の原因による PAH と比較して予後不良であり、肺静脈病変を来す場合は、肺血管拡張薬の使用により肺水腫を来す可能性があるため治療に難渋することが多いとされている。今後は本研究をさらに発展させ、PAH の病態形成機構の解明を目指すとともに、重症 PAH や CTD-PAH 患者に対する炎症関連分子 X の阻害の臨床応用へと進めていきたい。

#### 【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。

#### 【参考文献】

1. T. Hashimoto-Kataoka *et al.*, Interleukin-6/interleukin-21 signaling axis is critical in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Proc Natl Acad Sci U S A* **112**, E2677-2686 (2015).
2. T. Ishibashi *et al.*, IL-6/gp130 signaling in CD4(+) T cells drives the pathogenesis of pulmonary hypertension. *Proc Natl Acad Sci U S A* **121**, e2315123121 (2024).
3. K. Matsushita *et al.*, Zc3h12a is an RNase essential for controlling immune responses by regulating mRNA decay. *Nature* **458**, 1185-1190 (2009).
4. A. Yaku *et al.*, Regnase-1 Prevents Pulmonary Arterial Hypertension Through mRNA Degradation of Interleukin-6 and Platelet-Derived Growth Factor in Alveolar Macrophages. *Circulation* **146**, 1006-1022 (2022).

### 3. アルギニンメチル化酵素を標的とする新規肺線維症薬物治療戦略の基盤研究

刀坂 泰史

静岡県立大学薬学部分子病態学分野

#### [背景・目的]

特発性肺線維症 (IPF) は予後が不良な原因不明の難病である。IPF は進行性かつ不可逆的な疾患のため治療が必要だが、現在使用されているピルフェニドンやニンテダニブによる薬物治療は症状の進行抑制が目的であり、根治可能な治療法が無いことから、新規治療標的分子の同定が喫緊の課題となっている<sup>1-3</sup>。我々はこれまでの研究においてエピジェネティクスによる遺伝子発現制御機構が心不全の進展に重要であることを報告してきた<sup>4</sup>。さらに、protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) が心臓線維芽細胞において、transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 誘導性の線維化関連遺伝子の転写および筋線維芽細胞への分化に重要であることを見出した<sup>5</sup>。そこで本研究では、肺線維化に対する PRMT5 の機能および PRMT5 阻害剤の効果を一明らかにすることを目的とした。

#### [方法・結果]

##### 1. 培養細胞および線維化疾患動物モデルにおける PRMT5 の機能解析

ヒト胎児肺由来線維芽細胞株 WI-38 細胞にて PRMT5 をノックダウンし、TGF- $\beta$  刺激後の筋線維芽細胞マーカー  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) の発現を検討した。qPCR 法および WB 法の結果、TGF- $\beta$  刺激にて  $\alpha$ -SMA の発現量は増加したが、PRMT5 をノックダウンは  $\alpha$ -SMA の発現増加を抑制した。同様に PRMT5 阻害剤 JNJ-64619178 と TGF- $\beta$  を添加後、 $\alpha$ -SMA の発現量を検討した。その結果 JNJ-64619178 添加により、 $\alpha$ -SMA の発現亢進は有意に抑制された。

##### 2. 肺線維芽細胞におけるアルギニンメチル化反応を介する線維化進展メカニズムの解析

WI-38 細胞において、PRMT5 と SMAD3 の結合を免疫沈降-WB 法にて検討した。その結果、WI-38 細胞内において PRMT5 と SMAD3 が結合していることが示唆された。さらにクロマチン免疫沈降法にてヒストン H3R2 の対称的ジメチル化を検討した。その結果、TGF- $\beta$  処理により、ヒストン H3R2 の対称的ジメチル化が亢進したが、PRMT5 阻害剤によりこのメチル化の亢進は抑制された。以上の結果より PRMT5 は TGF- $\beta$  処理により H3R2 の対称的ジメチル化を促進することが示唆された。

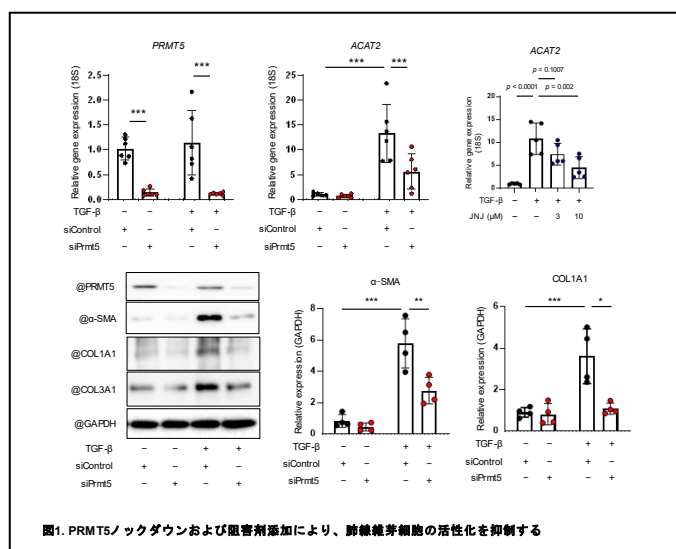


図1. PRMT5ノックダウンおよび阻害剤添加により、肺線維芽細胞の活性化を抑制する

### 3. 肺線維化疾患モデルに対する PRMT5 阻害剤の薬理効果の解析

BLM 誘発性肺線維症モデルマウスに PRMT5 阻害剤 JNJ-64619178 を経口投与し、21 日後に肺線維化を評価した。ピクロシリウスレッド染色および Ashcroft スコアによる評価の結果、BLM により亢進した肺線維化は JNJ-64619178 投与群で有意に減少し、線維化関連遺伝子の発現も抑制された。

#### [考察]

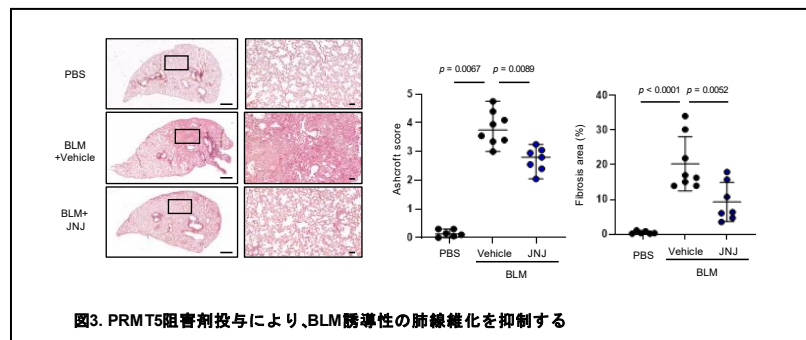
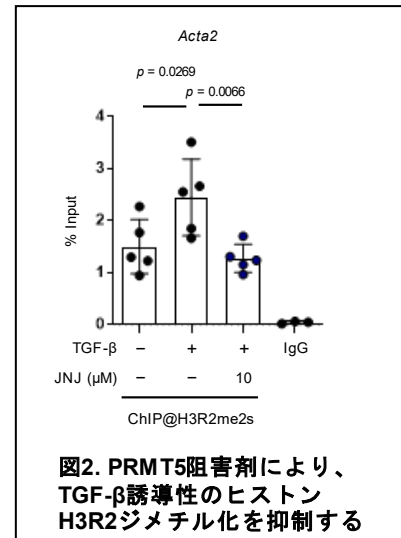
本研究により、PRMT5 のノックダウンおよび阻害剤が培養肺線維芽細胞における TGF- $\beta$  誘導性の線維化反応を抑制することが示された。さらに PRMT5 阻害剤が BLM による肺線維化を改善した。以上の結果より PRMT5 は肺線維症の新たな治療標的となり得ることが示唆された。本成果は、IPF に対する治療薬開発に貢献することが期待される。

#### [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に深く感謝申し上げます。

#### [参考文献]

1. Peng D, Fu M, Wang M, Wei Y, Wei X. Targeting TGF- $\beta$  signal transduction for fibrosis and cancer therapy. *Mol Cancer*. 2022;21:104.
2. Zhao M, Wang L, Wang M, Zhou S, Lu Y, Cui H, Racanelli AC, Zhang L, Ye T, Ding B, et al. Targeting fibrosis: mechanisms and clinical trials. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7:206.
3. Koudstaal T, Funke-Chambour M, Kreuter M, Molyneaux PL, Wijsenbeek MS. Pulmonary fibrosis: from pathogenesis to clinical decision-making. *Trends in Molecular Medicine*. 2023;29:1076-1087.
4. Katanasaka Y, Sunagawa Y, Sakurai R, Tojima M, Naruta R, Hojo Y, Kawase Y, Hamabe-Horiike T, Mori K, Hasegawa K, et al. Cardiac-specific overexpression of PRMT5 exacerbates pressure overload-induced hypertrophy and heart failure. *J Biomed Sci*. 2025;32:61.
5. Katanasaka Y, Yabe H, Murata N, Sobukawa M, Sugiyama Y, Sato H, Honda H, Sunagawa Y, Funamoto M, Shimizu S, et al. Fibroblast-specific PRMT5 deficiency suppresses cardiac fibrosis and left ventricular dysfunction in male mice. *Nat Commun*. 2024;15:2472.



#### 4. ミトコンドリア呼吸依存性肺腺癌の一群の同定と治療戦略の開発

柴 綾

筑波大学 医学医療系 診断病理学分野

##### 1. 研究目的

肺癌は本邦における癌死の最大要因であり、その約 5 割を占める肺腺癌は、分子標的治療薬 (tyrosine kinase inhibitor: TKI) の登場により大きな治療成績の向上が見られた。しかし、初期耐性や獲得耐性による再発は依然として大きな課題であり、とくにドライバー変異を持たない症例においては治療選択肢が限られている。そのため、新規治療標的の探索が強く求められている。

腫瘍代謝は、癌の生存・増殖に不可欠なエネルギー供給経路として注目されている。従来、肺腫瘍は解糖系優位の代謝 (Warburg 効果) を特徴とするとされてきたが、近年では肺腺癌の一部がミトコンドリア呼吸 (OXPHOS) への依存性を示すことが報告されている<sup>1</sup>。申請者の予備実験により、肺腺癌細胞株の中には電子伝達系阻害薬に極めて高い感受性を示す一群が存在し、OXPHOS 活性に大きなばらつきがあることが明らかとなった<sup>2</sup>。

本研究では、「OXPHOS に依存する肺腺癌の特徴とその分子基盤を明らかにし、電子伝達系阻害薬による治療可能性を示すこと」を目的とした。

##### 2. 研究方法

###### (1) 電子伝達系阻害薬感受性スクリーニング

研究室で保有する 41 株の肺腺癌細胞株を用い、電子伝達系 (ETC) 阻害薬である antimycin A、rotenone、oligomycin A の 3 剤に対する感受性を網羅的に評価した。各細胞株の用量依存性曲線から AUC (Area Under the Curve) を算出し、3 剤で共通して AUC が低値を示す群を感受性群、高値の群を耐性群として分類した。

###### (2) 代謝表現型の評価

細胞外フラックスアナライザーを用いて、酸素消費速度 (OCR) および細胞外酸性化速度 (ECAR) を測定し、感受性群と耐性群の代謝特性を定量化した。さらに電子顕微鏡による形態観察を行い、ミトコンドリアの数や形態を評価した。

###### (3) 遺伝子発現解析

肺腺癌細胞株パネルの既取得 mRNA 発現データをもとに、感受性群と耐性群間の比較解析を実施した。GO 解析およびパスウェイ解析を行い、感受性群に特徴的な遺伝子群・経路を抽出し、ETC 阻害薬感受性を規定する候補マーカー遺伝子を選定した。

##### 3. 研究結果

41 株の肺腺癌細胞株に対し、電子伝達系阻害薬 (antimycin A、rotenone、oligomycin A) の感受性スクリーニングを実施した結果、細胞株間で感受性に大きな

ばらつきが認められた。3剤いずれに対しても AUC 値が低値を示した 4 株を感受性群、高値を示した 5 株を耐性群として抽出した。

細胞外フラックスアナライザーによる OCR および ECAR 解析では、基礎呼吸量および基礎解糖量に顕著な差はみられなかったものの、最大呼吸量および予備呼吸量は感受性群で有意に低下していた（図 1）。これにより、感受性群はミトコンドリアの呼吸柔軟性が低く、電子伝達系阻害による影響を受けやすい代謝特性を有していることが示唆された。

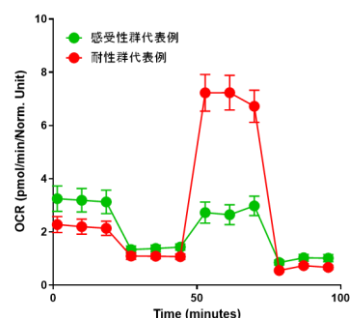


図1. 細胞外フラックス解析結果

電子顕微鏡による観察では、耐性群のミトコンドリアはフィラメント状に伸長し、細胞質全体に広がる形態を示した。一方、感受性群ではミトコンドリアが短く断片化し、主に核近傍に偏在していた。この構造的差異は、エネルギー代謝特性の違いを反映している可能性がある。

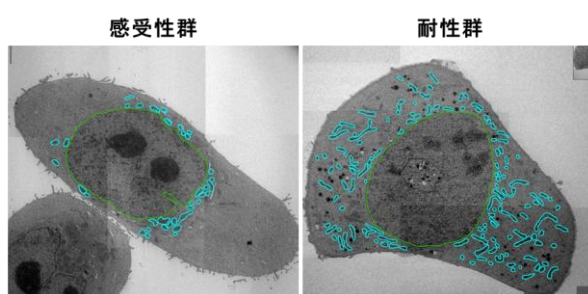


図2. 電子顕微鏡によるミトコンドリアの観察

さらに RNA-seq 解析データの比較解析により、感受性群では細胞周期関連遺伝子の発現が顕著に高く、増殖活性が高いことが明らかとなった。感受性群で特に活性化されている遺伝子群は、ミトコンドリア翻訳およびセリン代謝経路に強くエンリッチしていた。これらの経路が OXPHOS 依存性腫瘍のエネルギー供給に中心的役割を担っていることが示唆された。

#### 4. 考察

本研究により、肺腺癌の一部に OXPHOS 依存性の高いサブグループが存在し、その代謝的・形態的・分子生物学的特徴を明らかにすることができた。OXPHOS 感受性群では、ミトコンドリアの構造が短小化・断片化し、呼吸柔軟性が低下しており、電子伝達系阻害薬の作用を強く受けやすい状態にあると考えられる。また、細胞周期活性化とセリン代謝経路の活性化が特徴的であり、代謝と増殖の密接な連関が OXPHOS 依存性を規定している可能性が高い。

OXPHOS 依存性腫瘍の特定と代謝脆弱性の解明は、ドライバー変異のない肺腺癌など、既存治療が限られる症例に対する新たな治療戦略の開発につながる。今後は、臨床検体でのバイオマーカーの確立および前臨床モデルを用いた治療戦略の検証を進めることで、実臨床への応用を目指す。

## 5. 結語

本研究により、肺腺癌において OXPPOS 依存性を有するサブグループが存在することを明らかにした。従来の遺伝子変異に基づく分類とは異なる、代謝特性に基づく腫瘍の新たな層別化の可能性が示された。

感受性群の特徴として認められた代謝・形態プロファイルは、治療標的となり得る生物学的特性であり、今後、バイオマーカー開発と診断応用を進めることで、個別化治療の一助となることが期待される。

また、OXPPOS 依存性を標的とした治療は、既存の分子標的治療や免疫療法と補完的に活用できる可能性がある。本研究の成果は、治療選択肢の拡大と新たな治療戦略の基盤構築に寄与すると考えられる。

## 6 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。

## 参考文献

1. Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science*. 1956.
2. Shiba-Ishii A, Isagawa T, Shiozawa T, Mato N, Nakagawa T, Takada Y, Hirai K, Hong J, Saitoh A, Takeda N, Niki T, Murakami Y, Matsubara D. Novel therapeutic strategies targeting bypass pathways and mitochondrial dysfunction to combat resistance to RET inhibitors in NSCLC. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 1870(6):167249. 2024

## 5. 急性肺傷害における CCR4-NOT 複合体の肺保護的役割の解析

山口 智和

九州大学大学院 医学研究院 薬理学分野

### 【背景・目的】

急性呼吸窮迫症候群(ARDS)/急性肺傷害(ALI)は急激に発症する重症型の肺傷害の総称であり、発症の誘因はウイルス感染、敗血症、誤嚥など多岐にわたる[1, 2]。炎症細胞の浸潤と滲出液で満たされた肺浮腫が生じる急性発症の病態機序には不明な点が多い。世界的に年間約 300 万人の患者が罹患し、その致死率の高さ(30-60%)や予後が極めて悪いにもかかわらず、治療は人工呼吸、輸液管理を中心とした支持療法とステロイド投与などの対症療法が主体であり、臨床転帰を有意に改善するための薬剤はないため、新たな対策・治療法の開発は喫緊の課題である[3, 4]。

CCR4-NOT タンパク質複合体は poly(A)鎖の消化(脱アデニル化)を介した mRNA 分解、転写、翻訳を介して広範な遺伝子発現調節に関与する[5, 6]。CCR4-NOT 複合体が炎症遺伝子やネクロシス誘導因子の mRNA 発現を抑制するという報告から[7-10]、申請者は CCR4-NOT 複合体が ARDS/ALI 病態の重篤化を阻止する可能性を考えた。そこで、本研究では ALI マウスモデルを用いて、CCR4-NOT 複合体を介した遺伝子発現調節メカニズムを明らかにし、ARDS/ALI の新たな治療薬の標的を見出すことを目的とした。

### 【結果】

#### ① Cnot3 ヘテロ遺伝子欠損マウスにおける急性肺損傷の表現型解析

CNOT3 は複合体の構造維持に必須である足場タンパクであり、その欠損は脱アデニル化作用を不全にする[9, 10]。生殖系列 Cnot3 欠損マウスは胎生致死なため、本研究では成体で Cnot3 ヘテロ遺伝子欠損を誘導したマウス(Cnot3 Hetz)を作製し、塩酸吸引による急性肺傷害(ALI)の症状を解析した。その結果、Cnot3 Hetz マウスは野生型(WT)マウスに比べ重度の肺浮腫や組織傷害を認めた(図 1, A)。さらに、Cnot3 Hetz マウスは WT マウスと比較し、*I11b* 及び *Nos2* mRNA の発現が有意に増加していることがわかった(図 1, B)。

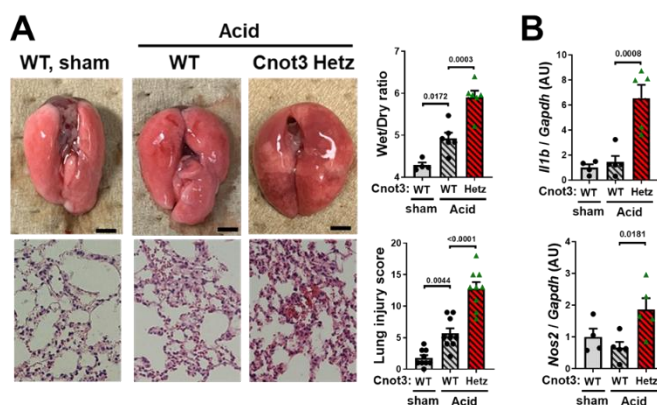


図1: Cnot3ヘテロ遺伝子欠損(Hetz)マウス肺では急性肺障害(ALI)の増悪化(A)と*I11b*, *Nos* mRNAの発現上昇(B)を認める

## ② Cnot3 Hetz マウス線維芽細胞における LPS 刺激応答の解析

Cnot3 Hetz マウス胎児より単離した線維芽細胞(MEF)に LPS 刺激を行った結果、Cnot3 Hetz 細胞では WT 細胞に比べ *I11b* 及び *Nos2* mRNA の発現が有意に増加した(図 2, A)。このことから、ALI の肺におけるこれらの mRNA 発現抑制機構が MEF においても共通して存在すると考えられた。Actinomycin D を用いた mRNA 安定性解析において、Cnot3 Hetz 細胞では WT 細胞に比べ *I11b* 及び *Nos2* mRNA が安定化していることがわかった(図 2, B)。

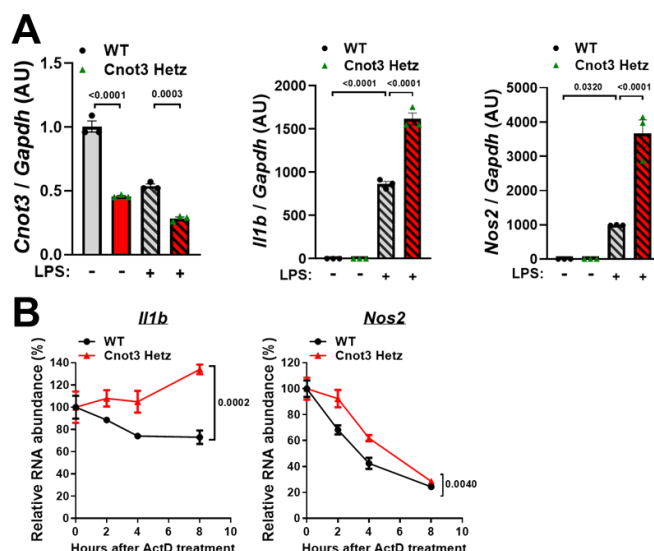


図2: Cnot3 Hetz MEFではLPS刺激下において*I11b*, *Nos2* mRNAの発現上昇及び安定化を認める

## ③ Cnot3 による *I11b* 及び *Nos2* mRNA の転写制御の解析

Cnot3 による *I11b* 及び *Nos2* mRNA の転写調節における関与を解析するために、新規合成された pre *I11b* 及び pre *Nos2* mRNA を定量した。LPS 刺激後の Cnot3 Hetz MEF では WT MEF に比べ pre *I11b* mRNA の発現量は有意に増加したが、*Nos2* mRNA の発現は差を認めなかった(図 3, A)。この傾向は、ALI 後の Cnot3 Hetz マウス肺においても同様であった(図 3, B)。以上の結果から、炎症刺激下において Cnot3 は *I11b* 及び *Nos2* mRNA の分解を促進するだけでなく、さらに *I11b* の転写発現も抑制していることが示唆された。

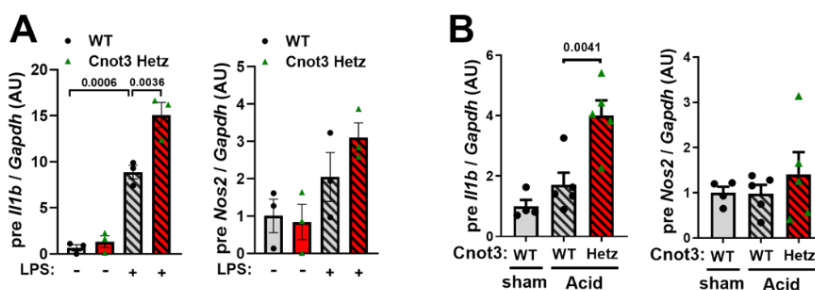


図3: Cnot3はLPS刺激後のMEF (A)及びALIの肺(B)において*I11b*の転写を抑制する

#### ④ Cnot3 による *I11b* 転写抑制機序の解析

Cnot3 Hetz MEFにて *I11b* mRNA の転写を促進している転写因子を探索した。その結果、マクロファージの分化に関与することで知られる *Spi1* (タンパク質名 PU.1) mRNA の発現、および mRNA 安定性が Cnot3 Hetz MEF で上昇していることがわかった(図 4, A, B)。さらに、*Spi1* をノックダウンした条件下では Cnot3 Hetz MEF における *I11b* mRNA の発現亢進が抑制された(図 4, C)。このことから、Cnot3 Hetz MEF では、*Spi1* の発現亢進を介して、*I11b* mRNA の転写が促進されていることがわかった。

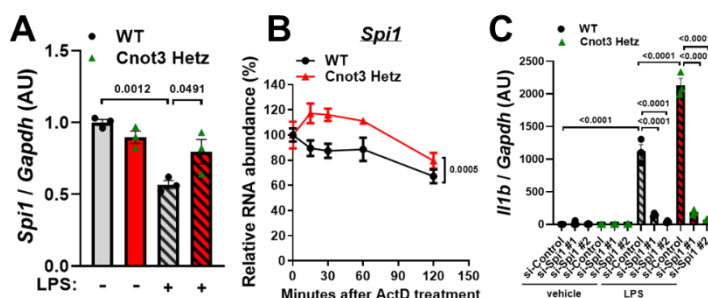


図4: Cnot3は炎症刺激下において *Spi1* mRNAの分解を介し、*I11b* mRNAの転写を抑制する

#### ⑤ PU.1 阻害剤による ALI 治療効果の解析

野生型マウスにおいて ALI 処理 1 時間前、および ALI 後 12 時間で PU.1 阻害剤である DB1976 を投与し、ALI 誘導後 24 時間後に症状を解析した。その結果、組織傷害(図 5, A)、および肺浮腫(図 5, B)の改善を認めた。このことから、PU.1 阻害剤は ALI の重症化抑制に効果的であることが示唆された。

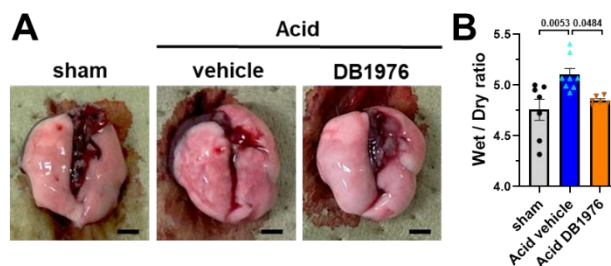


図5: PU.1阻害剤はALIの重症化を抑制する

#### 【考察】

本研究では、CNOT3 や CCR4-NOT 脱アデニル化複合体により仲介される *I11b*、*Nos2*、*Spi1* mRNA の分解調節、及び *Spi1* の発現調節を介した *I11b* の転写抑制が ALI の重症化抑制に寄与している可能性が示唆された。現在、ALI の臨床的転帰を改善する有効な薬剤は存在しないため、今後は CNOT3 タンパク質や脱アデニル化標的 mRNA の発現量を調節する化合物が ALI の重症度を軽減する上で有効かどうかを評価していく必要がある。特に、*Spi1* の siRNA ノックダウンによって LPS 刺激細胞での *I11b* 発現が著しく低下したことや PU.1 阻害剤が ALI 病態の重症化を抑制したことからも、PU.1 を標的とする化合物が ALI 治療の新たな治療薬となることが期待される。

### 【参考文献】

1. Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2017;377(19):1904–1905.
2. Ramji HF, Hafiz M, Altaq HH, et al. Acute respiratory distress syndrome; a review of recent updates and a glance into the future. *Diagnostics*. 2023;13(9):1528.
3. Fan E, Needham DM, Stewart TE. Ventilatory management of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome. *JAMA*. 2005;294(22):2889–2896.
4. Fan E, Brodie D, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome: advances in diagnosis and treatment. *JAMA*. 2018;319(7):698–710.
5. Collart MA. The Ccr4-Not complex is a key regulator of eukaryotic gene expression. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2016;7(4):438–454.
6. Collart MA, Audebert L, Bushell M. Roles of the CCR4-Not complex in translation and dynamics of co-translation events. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2023;15(1):e1827.
7. Mino T, Murakawa Y, Fukao A, et al. Regnase-1 and roquin regulate a common element in inflammatory mRNAs by spatiotemporally distinct mechanisms. *Cell*. 2015;161(5):1058–1073.
8. Paschoud S, Dogar AM, Kuntz C, et al. Destabilization of interleukin-6 mRNA requires a putative RNA stem-loop structure, an au-rich element, and the RNA-binding protein AUF1. *Mol Cell Biol*. 2006;26(22):8228–8241.
9. Suzuki T, Kikuguchi C, Sharma S, et al. CNOT3 suppression promotes necroptosis by stabilizing mRNAs for cell death-inducing proteins. *Sci Rep*. 2015;5:14779.
10. Yamaguchi T, Suzuki T, Sato T, et al. The CCR4-NOT deadenylase complex controls Atg7-dependent cell death and heart function. *Sci Signal*. 2018;11(516):eaan3638.

## 6. がん細胞特異的融合遺伝子を標的とした新規肉腫治療薬の開発

山田 大祐

京都府立医科大学大学院医学研究科・細胞生物学

(旧所属: 岡山大学 学術研究院医歯薬学域(医学系)・組織機能修復学)

### “背景と目的”

ヒト多能性幹細胞 (hPSC) を用いたがんモデリングは、肉腫を含む希少がんの発生や悪性化のメカニズムを解明し、新たな治療戦略を確立するための有望な技術の一つである。小円形細胞からなるユーイング肉腫(Ewing sarcoma, EwS)は主に骨組織が好発部位であるが、ヒト患者における起原細胞は明らかにされていない。

3次元軟骨誘導(3DCI)培養条件下において、骨原基形成能を有する hPSC 由来肢芽様間葉系細胞 (ExpLBM) を誘導する技術を開発することに我々は成功している<sup>1)</sup>。また NOD-SCID マウスに皮下移植した ExpLBM 由来骨で EWS/FLI1 の発現誘導を行うと遺伝子発現プロファイルが臨床検体と類似している腫瘍モデル(EwS モデル)を開発することに成功している。さらに scRNAseq 解析によって ExpLBM 由来骨原基に表在している COL1A1 陽性細胞、すなわち軟骨膜細胞が腫瘍の起原である可能性も見出している。

ことに我々は成功している<sup>1)</sup>。

本研究課題では ExpLBM 由来骨原基を用いたユーイング肉腫(EwS)モデルを用いることでがん幹細胞特異的な相互作用を標的とした新規治療方法の開発を目指している。我々はヒト臨床検体との類似性の高い Xenograft ベースの EwS モデルの開発に成功していることから(図 1)、治療標的の同定を行うために in vitro EwS モデルの開発に取り組んだ。

### “材料と方法”

EwS 患者の約 1 割は TP53 の変異を有しており、さらに同遺伝子の変異を有する場合の 8 割では EWS/FLI1 融合遺伝子が確認されている<sup>2)</sup>。本研究課題ではヒト iPS 細胞株である 414C2 から作成した TP53 機能欠損型 ExpLBM 由来骨原基を用いて解析を行っている。scRNAseq 解析によって COL1A1 陽性細胞が腫瘍の起原になる可能性が示されたことから(図 2)、COL1A1 lineage tracing system を構築した上で骨原基に表在している COL1A1 陽性細胞を単離培養する技術を開発し、さらに EwS のマーカーである NKX2.2 のレポーター株を作成することで治療標的候補探索のための実験系の開発を行った。

### “結果”

#### **ExpLBM 由来骨原基からの COL1A1 陽性軟骨膜細胞の単離培養**

ExpLBM 由来骨原基に表在している COL1A1 陽性軟骨膜細胞を可視化するために、図 3 に示すような COL1A1 lineage tracing system の構築を行った。COL1A1 遺伝子座の 3' UTR 側に IRES-CreER<sup>T2</sup> カセットがホモで導入された株を単離した後、flex-tdTomato の piggyBAC

発現系を導入した。その後、ExpLBM 由来骨原基に分化誘導し 4OHT で 1 日処理したところ、組織体の表層(COL1A1 陽性の箇所)のみが tdTomato で標識された。次に ExpLBM 由来骨原基を接着培養ディッシュに移した後、接着した細胞を継続継代したところ、全ての細胞が tdTomato 陽性であった。このことから、本手法を用いることで ExpLBM 由来骨原基から軟骨膜細胞を単離培養することが可能であることがわかった。

### **NKX2.2-tdTomato レポーターを用いた軟骨膜細胞の形質転換過程の可視化**

次に EwS マーカーの一つである NKX2.2 を発現している細胞を可視化するためのレポーター細胞株を樹立した(図 4)。NKX2.2 遺伝子座の 3` UTR 側に IRES-tdTomato カセットがホモで導入されている株を樹立した後、EWS/FLI1 のドキシサイクリン誘導的 piggyBAC 発現系を導入した軟骨膜細胞を樹立した。EWS/FLI1 の発現誘導を行った結果、興味深いことに tdTomato 陽性細胞はドキシサイクリン処理 2 週間目で観察された。このことから、NKX2.2-tdTomato レポーターによって軟骨膜細胞の形質転換過程が可視化されることがわかった。

#### **“考察”**

図 5 に示す様に、軟骨膜細胞を NOD-SCID マウスの皮下に移植した後、EWS/FLI1 の発現誘導を行うと ExpLBM 由来骨原基の腫瘍と同様の組織像を有する NKX2.2 陽性な腫瘍を形成した。このことから、ExpLBM 由来骨原基に表在している COL1A1 陽性軟骨膜細胞が NKX2.2 陽性 EwS 様細胞の起原となっていることは明らかである。また NKX2.2 は EWS/FLI1 の標的遺伝子の一つとされているが、EWS/FLI1 の発現誘導直後では軟骨膜細胞から NKX2.2 陽性細胞が誘導されなかった(図 4)ことから腫瘍化の過程は段階的に進んでいくことを示唆している。このことから、各段階における細胞を詳細に解析して形質転換過程の詳細なメカニズムを解明することで、EwS の発症を抑制するための予防治療や増悪化を防ぐための新規治療法の開発のための知見が得られることが期待される。

#### **“文献”**

- 1) Daisuke Yamada, Masahiro Nakamura, Tomoka Takao, Shota Takihira, Aki Yoshida, Shunsuke Kawai, Akihiro Miura, Lu Ming, Hiroyuki Yoshitomi, Mai Gozu, Kumi Okamoto, Hironori Hojo, Naoyuki Kusaka, Ryosuke Iwai, Eiji Nakata, Toshifumi Ozaki, Junya Toguchida, Takeshi Takarada. Nature Biomed Eng. 5(8):926-940. (2021)
- 2) Koichi Ogura, Arielle Elkrief, Anita S. Bowman, Richard P. Koche, Elisa de Stanchina, Ryma Benayed, Audrey Mauguen, Marissa S. Mattar, Inna Khodos, Paul A. Meyers, John H. Healey, William D. Tap, Meera Hameed, Ahmet Zehir, Neerav Shukla, Charles Sawyers, Rohit Bose, Emily Slotkin, Marc Ladanyi. JCO Precis Oncol. 6: e2200048. (2022)

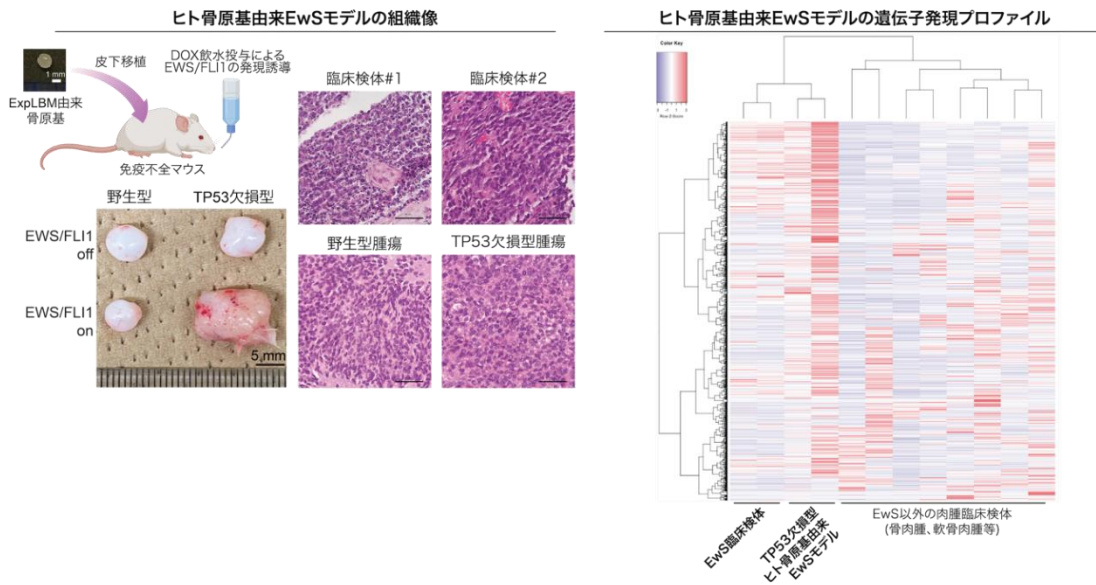


図 1 ヒト骨原基由来 EwS モデル

野生型あるいは TP53 欠損型の ExpLBM 由来骨原基を免疫不全マウスに移植した後、ドキシサイクリン(DOX)投与によって EWS/FLI1 の発現誘導を行うことで、臨床検体同様に小円形細胞からなる腫瘍組織が形成される。bulkRNAseq 解析の結果、ヒト骨原基由来 EwS モデルの遺伝子発現プロファイルは EwS 臨床検体と類似していることも見出している。

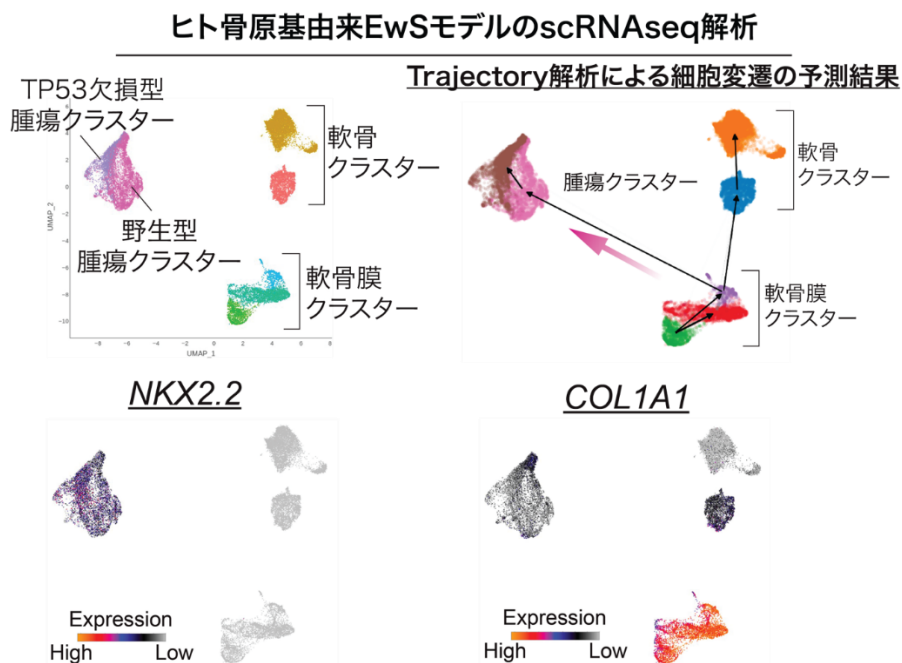
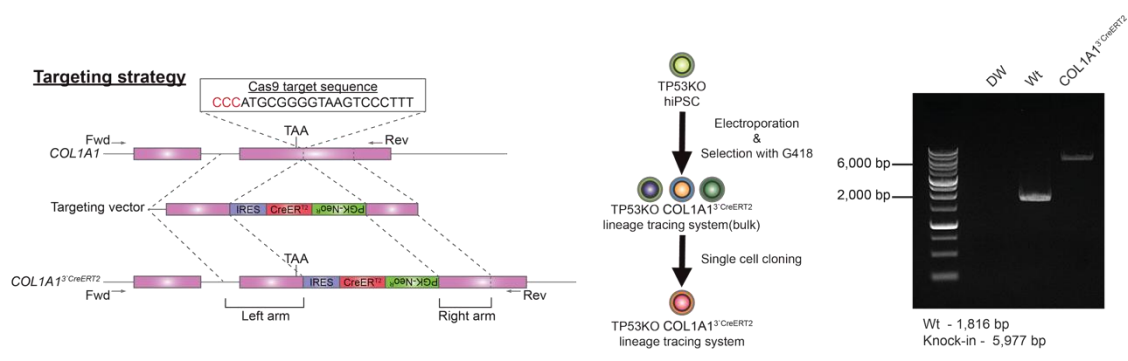


図 2 ヒト骨原基由来 EwS モデルの起源細胞 = 軟骨膜細胞

ヒト骨原基由来 EwS モデルの scRNAseq 解析を行った結果、腫瘍クラスターは COL1A1 陽性な軟骨膜クラスターを起源として発生することが見出された。



TP53KO COL1A1<sup>3</sup>CreERT2/flex-tdTomato ExpLBM由来骨原基

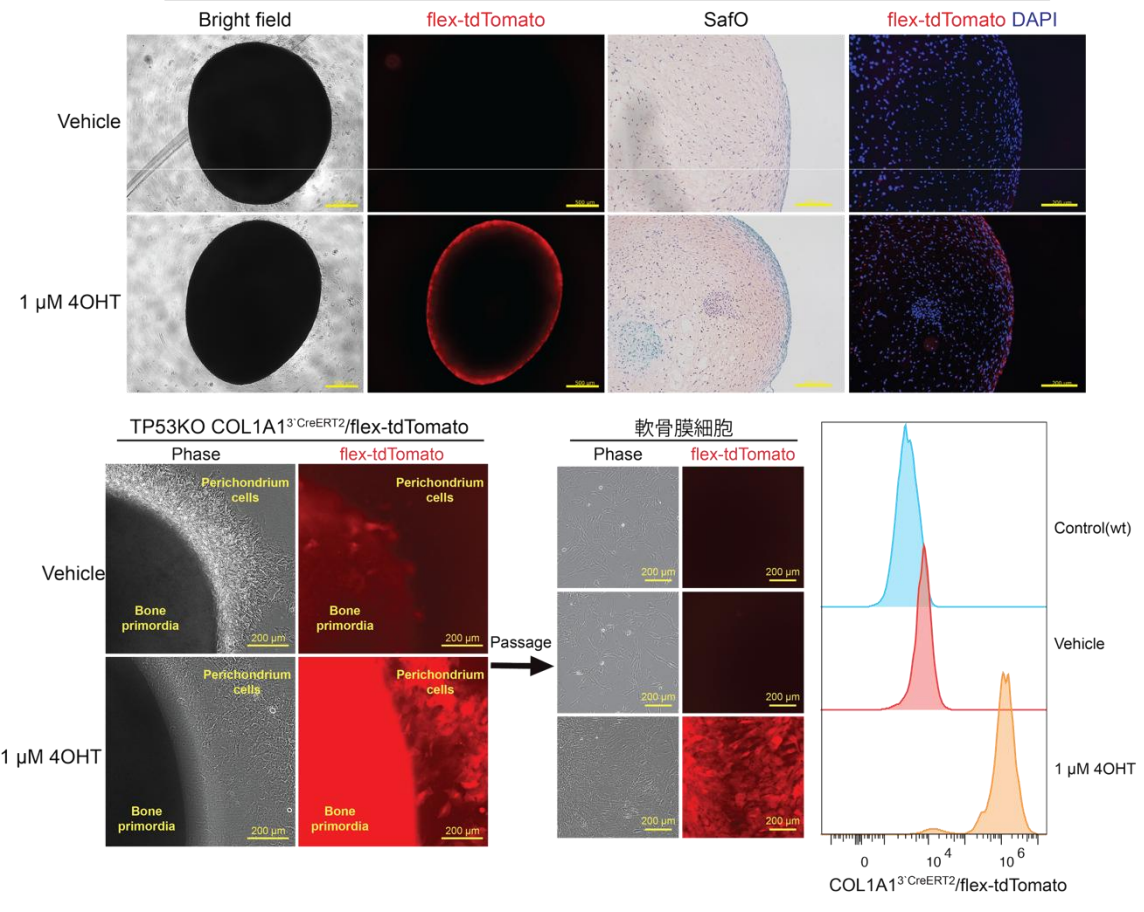


図 3 COL1A1 lineage tracing system の構築  
 COL1A1 遺伝子座に IRES-CreERT2 カセットを導入し,flex-tdTomato の発現系と組み合わせることで 4OHT 処理後に COL1A1 陽性細胞を tdTomato で可視化する実験系を構築した。

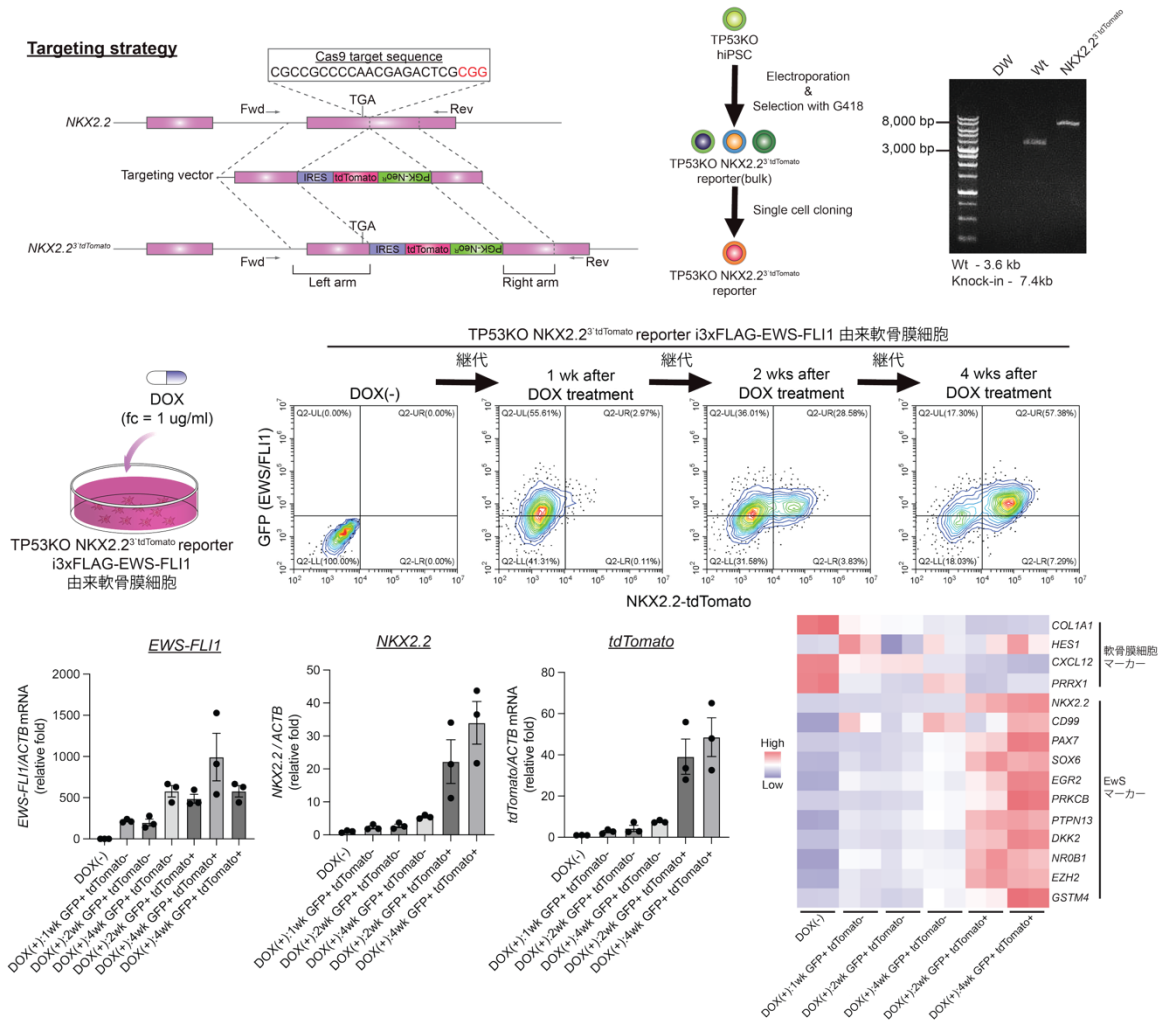
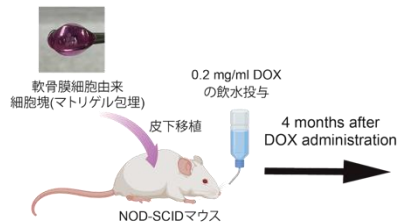
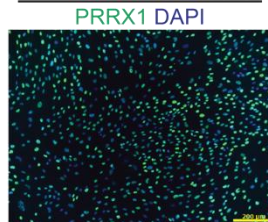


図 4 NKX2.2-tdTomato レポーター由来 in vitro Ews モデル

NKX2.2 遺伝子座に IRES-tdTomato カセットを導入し、NKX2.2 陽性細胞を tdTomato で可視化出来る実験系を構築した。単離培養した軟骨膜細胞で EWS/FLI1 をオンにすると経時的に tdTomato 陽性細胞が増加した。

TP53欠損型軟骨軟骨細胞



TP53KO i3xFLAG-EWS-FLI1

軟骨膜細胞由来腫瘍

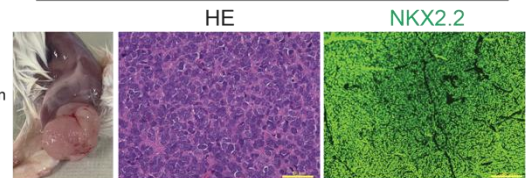


図 5 軟骨膜細胞の NOD-SCID マウスへの移植

ドキシサイクリン誘導的な EWS/FLI1 の piggyBAC 発現系を導入した軟骨膜細胞をペレット状の細胞塊にした後、マトリゲルに包埋して NOD-SCID マウスに皮下移植した。ドキシサイクリン投与により、NKX2.2 陽性な Ews 様腫瘍が形成されることが確認された。

## 7. 認知症治療を目指した新戦略の創薬のための基礎的研究

六本木 麗子

群馬大学大学院医学系研究科薬理学講座

### 【背景と目的】

認知症患者は人口の高齢化に伴いは増加しており、記憶力低下や徘徊などの症状は日常生活を損ない、本人と介護者の双方に大きな負担をもたらしている。近年、アミロイド $\beta$  ( $A\beta$ ) を標的とする抗体医薬が承認され、代表例であるレカネマブは早期アルツハイマー型における認知機能低下を遅らせたと報告された。しかし、その効果は進行抑制が主であり失われた記憶機能の回復にはなお限界がある。このことから、 $A\beta$  のみではなく神経回路の記憶制御機構を直接操作して記憶力を高めるなど新しい概念の創薬が必要である。

記憶はシナプスと呼ばれる神経細胞同士の接合部で形成・保持される。シナプス後部には NMDA 型グルタミン酸受容体 (NMDA 受容体) が存在し、その活性化によりカルシウムイオンが流入すると、シナプス強度を担う分子群の局在や発現が変化し、学習依存的な長期的変化が生じる (1)。この分子動態の破綻は記憶障害の直接原因となるが、分子の種類が多く相互作用が複雑なため、創薬標的として特定することは困難であった。一方、シナプスタンパク質の恒常性はユビキチン-プロテアソーム系によって厳密に制御され、これが破綻すると記憶障害が生じるうることも報告されている (2と3)。

本研究は、シナプス後部に局在する E3 ユビキチンリガーゼ X に着目した。神経細胞特異的に X 遺伝子を欠損させたマウスでは、空間記憶課題の成績が向上することを見出している。徘徊など認知症の周辺症状には空間記憶障害が深く関与すると考えられることから、X の働きを抑えることが記憶障害の改善に有効である可能性が示唆された。

さらに、予備実験として X がシナプス後部膜タンパク質 Y をユビキチン化することで Y の分解を促進することを見いだしていた。実際に X 欠損マウスでは Y のユビキチン化が起らず、Y タンパク質量が上昇していた。以上から、X と Y の結合を阻害して Y の分解を防ぎ、記憶機能を高める戦略を立案した。

### 【結果と考察】

まず、X と Y の相互作用部位を分子レベルで同定し、結合阻害分子の作製を試みた。しかし、初期に得られた阻害分子では、細胞を用いた生化学実験において X と Y の結合と Y のユビキチン化を十分に抑えることができなかった。そこで、計算機的立体構造予測 (AlphaFold2) を用いて X と Y の複合体モデルを再構築したところ、これまで知られていなかった追加の結合界面が存在することが示唆された。この新規界面に位置する Y 側のアミノ酸を点突然変異で改変し、X と結合できない Y 変異体を作製した。その結果、Y 変異体と X の結合はほぼ完全に消失し、X による Y 変異体のユビキチン化も検出限界まで低下した (特許申請準備中・論文準備中のため詳細解析結果は省略する)。

次に、X-Y複合体の分子機構が脳内でも機能するか、さらにX-Y結合の障害が実際に記憶機能の変化をもたらすかを検証するため、Yに点突然変異を導入したノックインマウスを作製した(図1)。このノックインマウスでは内在性Xの発現量は保持される一方で、変異YはXと結合せず、その結果としてXによるユビキチン化は抑制されると予想される。現在、このノックインマウスのコロニー拡大を進めるとともに、生化学的解析、行動学的評価(空間記憶課題など)、およびシナプス可塑性の電気生理学的解析を順次実施する体制を整えている。これにより、分子レベルの特異的相互作用障害がYタンパク質量の上昇、シナプス強度の変化(例:長期増強(LTP)/長期抑圧(LTD)様変化)、さらには空間記憶成績の改善へと階層的に接続するかを検証可能である。

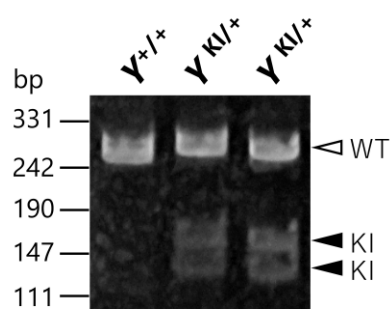


図1: Y突然変異ノックインマウスのGenotyping PCRの結果。  
CRISPR-Cas9法によってマウスゲノムのY遺伝子にXと結合できなくなる点突然変異を入れた。1レーン目:野生型マウス。2、3レーン目: Yノックインヘテロザイゴートマウス。野生型マウスでは280 bpのバンドのみ確認できるが、Yノックインヘテロザイゴートマウスでは137bpと114bpのバンドが認められる。現在、行動学的実験と電気生理学的実験でYノックインホモザイゴートマウスを解析するためにマウス数を増加中である。

#### 【今後の展望】

今後は、第一にこのノックインマウスでX欠損マウスと同様の空間記憶能力の向上が再現されるかを明らかにする。具体的には、モリス水迷路やY字迷路などの複数課題を用いて再現性と一般性を評価し、併せて海馬CA1におけるLTPなどのシナプス可塑性指標との関連を解析する。第二に、XとYの結合界面を標的とするナノボディまたは小型タンパク質阻害剤を野生型マウス脳内で発現させ、薬剤様介入においても同等の記憶増強効果を示すかを検証する。さらに、ノックインマウスを陰性コントロールとして用い、これら阻害剤の効果がXとYの結合の遮断に特異的に依存することを確認する。第三に、薬理学的および遺伝学的アプローチの双方で安全性と可逆性を評価し、投与時期・投与部位・発現量に関する用量反応関係を整備する。

最終的には、本戦略をA $\beta$ とは独立した経路からシナプスレベルの記憶保持能を高めうる治療概念として位置づけ、既存治療との併用(アドオン治療)の可能性も含めて検討を進める。

本研究は、認知症患者の記憶障害そのものの改善に資する新規治療法の基盤となることが期待される。

#### 【謝辞】

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

【参考文献】

1. Paoletti P, Bellone C, Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013, 14: 383-400.
2. Ehlers MD. Activity level controls postsynaptic composition and signaling via the ubiquitin-proteasome system. *Nature neuroscience*. 2003, 6: 231-242.
3. Ribeiro FC, Cozachenko D, Heimfarth L, Fortuna JTS, De Freitas GB, De Sousa JM, Alves-Leon SV, Leite REP, Suemoto CK, Grinberg LT, De Felice FG, Lourenco MV, Ferreira ST. Synaptic proteasome is inhibited in Alzheimer's disease models and associated with memory impairment in mice. *Communications biology*. 2023, 6: 1127.

---

2025 年 12 月 12 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](mailto:zaiyakuriken@woody.ocn.ne.jp)

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

---