

一般シンポジウム

[S06] 新進気鋭の研究者による物理系薬学分野の最先端研究

オーガナイザー：小池 透（広島大院医系科学）、船津 高志（東大院薬）

2021年3月27日(土) 13:15～15:15 [E会場] 講演会場E (オンライン)

物理系薬学は、薬学のみならず幅広く科学の基盤となる学問領域の一つです。日本薬学会の物理系薬学部会に所属する研究者は、物理化学、分析化学、放射化学、製剤学、錯体化学、分子構造学、構造生物学、生体分子イメージング、ドラッグデリバリー、生体情報科学などの幅広い研究を行っています。物理系薬学部会では、若手研究者のモチベーションの向上を目指して「物理系薬学部会奨励賞」を設け、部会において意欲的に研究を行い、将来を期待される研究者を薬学会年会の一般シンポジウムにおいて表彰しております。本シンポジウムは、物理系薬学部会に属する教員と学生、及び関連領域の研究者が集い、2021年度の物理系薬学部会奨励賞受賞者2名（静岡県大薬：杉山栄二、分子研：谷中冴子）と、オリジナリティーの高いユニークな研究を展開している若手研究者2名（東北医薬大薬：山本由美、広島大院医系科学：木下恵美子）を演者として、物理系薬学分野の最先端研究に関する討論を行い、物理系薬学のさらなる発展に資することを目的としています。

[S06-1] 質量分析イメージングによる生理活性分子の可視化○杉山 栄二¹（1. 静岡県大薬）

13:20～13:45

[S06-2] 抗体の3次元構造と相互作用のダイナミクスを解明する方法の開発と抗体の高機能化への展開○谷中 冴子^{1,2}（1. 分子研、2. 生命創成探究セ）

13:45～14:10

[S06-3] 新規 NSAIDs誘導体による COX-2イメージング○山本 由美^{1,2}（1. 東北医薬大薬、2. 都健康長寿研）

14:20～14:45

[S06-4] Phos-tagを用いたリン酸化タンパク質の解析○木下 恵美子¹（1. 広島大院医系科学）

14:45～15:10

質量分析イメージングによる生理活性分子の可視化

Visualization of bioactive molecules in cells or tissues using mass spectrometry imaging

○杉山 栄二¹

○Eiji Sugiyama¹

1. 静岡県大薬

1. Sch. Pharm. Sci., Univ. Shizuoka

質量分析イメージング (MSI) は、生体組織切片を始めとする平面状試料の各位置からマススペクトルを取得し、検出された分子の分布を調べる技術である。蛍光分子やラジオアイソトープによる標識を用いずに多様な分子を解析できるため、免疫組織化学やオートラジオグラフィーで解析困難な内因性低分子や医薬品代謝物の分布を明らかにできる。一方、組織構造を維持したまま (クロマトグラフを介さずに) 質量分析するため、夾雑成分によりイオン化効率やシグナルの選択性が低下することが課題となる。そこで演者らは、標的分子を選択的に解析するための技術開発を進めてきた。本シンポジウムではまず、誘導体化法と内標準法を利用したモノアミン系神経伝達物質の定量的解析例について紹介する。演者らは、マウス脳内モノアミンの分布を詳細に解析し、複数のモノアミンが集積する神経核 (視床室傍核) を新たに見出した。また、acute tryptophan depletion (ATD) モデルを用いてセロトニン濃度の変動を解析し、ATDに関連する神経核群を抽出することに成功した。次に、MSIの更なる進歩を支える有望技術として、誘導体化法とイオンモビリティマススペクトロメトリー (IMS) を組み合わせた光学異性体分離分析法を紹介する。筆者らは、DL-2-ヒドロキシグルタル酸の各エナンチオマーがそれぞれグリオーマや急性骨髄性白血病、淡明細胞型腎細胞がん等の病態に特異的に関連することに着目し、これらをIMSにより分離する手法を開発した。現在この手法をMSIへ応用すべく検討を進めている。

抗体の3次元構造と相互作用のダイナミクスを解明する方法の開発と抗体の高機能化への展開

Development of method for studying dynamical structures and interactions of antibodies and its applications to antibody engineering

○谷中 冴子^{1,2}

○Saeko Yanaka^{1,2}

1. 分子研、2. 生命創成探究セ

1. IMS, 2. ExCELLS

抗体は、多種多様な外来抗原を認識し、補体やFc受容体などの様々なエフェクター分子を動員するハブとして機能している。これらの分子との相互作用は、抗体を構成する複数のドメインの協調によって司られている。抗体を構成するドメインは柔軟なセグメントで連結されており、ドメイン間の相互作用はかならずしも強固ではない。私は、抗体分子のこうした構造柔軟性が、抗原認識とエフェクター機能の連関の鍵を握るものと想定して研究を進めてきた。すなわち、柔軟なセグメントで連結されたドメインがダイナミックに空間配置を変化させて、抗体分子中に配置された複数の相互作用部位の間の連携が制御されていると考えられる。しかも、抗体は糖鎖修飾を受けており、糖鎖部分とタンパク質部分が緊密な相互作用ネットワークを形成することで、抗体の構造の柔軟性と可塑性が保たれている可能性がある。このような柔構造を持つ糖タンパク質の構造情報を得るには技術的なボトルネックがある。しかも、抗体が本来機能する場である膜表面や血液中における分子間相互作用を理解しようとした際の技術的ハードルはさらに高い。そこで私は抗体の動的構造解析の技術基盤を確立し、3次元構造のダイナミクスの観点から抗体分子の機能連関の仕組みを明らかにすることに取り組んできた。

本シンポジウムでは、統合的な生物物理的アプローチによる抗体の動的構造解析の技術開発とそれに基づく機能改変、さらに生体に近い環境における抗体の動的相互作用の探究について、これまでに得てきた知見を紹介し、将来の展望を述べる。

新規NSAIDs誘導体によるCOX-2イメージング

Novel NSAIDs derivatives for COX-2 imaging

○山本 由美^{1,2}

○Yumi Yamamoto^{1,2}

1. 東北医薬大薬、2. 都健康長寿研

1. Tohoku Med. Pharm. Univ., 2. TMIG

アラキドン酸からプロスタグランジン類の合成を触媒する酵素のひとつであるシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) は、薬学の分野ではNSAIDsのターゲットとして知られている。COX-2は、炎症により誘導されるだけでなく、肺がん、結腸がん、乳がんなどの各種がん組織で高発現したり、アルツハイマー病などの中枢神経系疾患の病状に応じて発現量が変化したりするという報告があることから、病態解明の手がかり、および診断薬のターゲットとしても注目を集めている。

現在、演者らは生体内COX-2を時間的・空間的にトレース可能なPETやSPECTなどのイメージング剤の開発を目的として、COX-2に結合するNSAIDsを基本骨格とした誘導体を合成し、評価を続けている。本講演では、インドメタシン、およびニメスリドを母体骨格とした新規NSAIDs誘導体の開発に関する研究内容を紹介する。

インドメタシンのカルボキシ基に様々な側鎖を導入した誘導体のうち、ペンチルアミド側鎖を有する¹¹C標識誘導体は、マウス*in vivo*評価においてわずかながらCOX-2特異的な脳への分布が認められた。ニメスリドのベンゼン環に様々な置換基を導入した誘導体のうち、パラ位に置換基を有する¹¹Cメトキシ誘導体は、*ex vivo* ARGにおいてCOX-2が定常的に発現している大脳皮質への局所分布を示し、同じくパラ位に置換基を有する¹²⁵Iヨウ素誘導体は、炎症モデルマウスを用いた*in vivo*評価において炎症部位へのCOX-2特異的な分布が認められている。

現在は4種のニメスリドパラ置換誘導体の病態モデルを用いた評価の検討中であるほか、計算科学の手法を用いて新たな化合物の設計を行ったため、当日は最新の研究成果もあわせて紹介したい。

Phos-tagを用いたリン酸化タンパク質の解析

Phos-tag technology for phosphoproteomics

○木下 恵美子¹

○Emiko Kinoshita¹

1. 広島大院医系科学

1. Grad. Sch. Biomed. Health & Sci., Hiroshima Univ.

タンパク質のリン酸化は、細胞内の情報伝達制御などに関わる重要な翻訳後修飾である。ヒトのキナーゼ遺伝子は518種、フォスファターゼ遺伝子は約180種あり、それらによってタンパク質のリン酸化状態は厳密に制御される。その制御の異常は、様々な疾患の原因となるため、タンパク質のリン酸化は、重要な研究ターゲットである。近年は特に、質量分析機器の向上に伴いリン酸化プロテオミクス（リン酸化タンパク質の網羅的解析）が発展している。演者らは、リン酸基を特異的に捕捉する機能性分子Phos-tag（図参照）を開発し、従来の生化学的な解析法や質量分析法と異なる、新たな観点からのリン酸化タンパク質情報を得られる解析方法「Phos-tag 技術」を開発している。本発表では下記の4種類のPhos-tag 技術を概説し、それらを適用した最新の研究成果を紹介する。

1. リン酸基親和性電気泳動法（Phos-tag SDS-PAGE）：Phos-tagを共重合したSDS-PAGEゲルを用いて、リン酸化タンパク質とその非リン酸化型を分離検出する電気泳動法である。同一タンパク質の複数のリン酸化状態の定量検出や、リン酸化状態の違いと細胞内での機能の関係を解析できる。

2. リン酸基親和性クロマトグラフィー：アガロースや磁気ビーズに結合したPhos-tagを用いたリン酸化生体分子の分離技術である。質量分析前のリン酸化ペプチド濃縮などに有用である。

3. リン酸化タンパク質のウェスタン解析：ビオチン化Phos-tagによるPVDF膜上のリン酸化タンパク質の検出法である。抗リン酸化抗体法と同様の分析手順で使用できる。

4. リン酸化タンパク質のゲル染色法：SDS-PAGEゲル中のリン酸化タンパク質を蛍光性Phos-tagを用いて検出する分析法である。In vitro キナーゼ反応などの簡便な検出法に適用できる。

