

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第1分野

先端的創薬技術の開発に関する研究

第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

第3分野

医薬品等開発のためのレギュラトリーサイエンスに関する研究

第4分野

創薬に係る臨床研究ならびに稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

第6分野

医療材料および製剤設計技術の開発に関する研究

第7分野

ヒト組織を用いた薬物の有効性、安全性に関する研究

目 次

第 1 分野

課題番号

KH11001	バイオフィotonクスを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 ……	1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 ……	11
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(総合研究報告)	松田潤一郎 ……	13
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(平成17年度報告)	松田潤一郎 ……	17
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 ……	25

第 2 分野

KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン 1-リン酸 (S1P) 受容体 (S1P3) の拮抗薬の開発	望月直樹 ……	31
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 ……	35
KH21006	病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 ……	47
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 ……	58
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 ……	66
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 ……	70
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG 1 蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 ……	77
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 ……	86
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析；癌予防および治療への応用	矢野友啓 ……	96
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 ……	102
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 ……	108
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 ……	113
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(総合研究報告)	野々垣勝則 ……	117
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(平成17年度報告)	野々垣勝則 ……	120

KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（総合研究報告）	田平 武 …… 124
KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（平成17年度報告）	田平 武 …… 129
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山 耕造 …… 134
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出 利光 …… 142
KH21021	エンドトキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島 正弘 …… 148
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木 哲朗 …… 152
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西 正孝 …… 156
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤 準一 …… 160
KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功刀 浩 …… 167
第3分野		
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉岡 澄江 …… 175
KH31025	生薬及び漢方処方の科学的品質保証に関する研究	合田 幸広 …… 185
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工藤由起子 …… 194
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能美 健彦 …… 200
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉里 勝利 …… 210
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜山 行雄 …… 218
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクスの手法の開発に関する研究	斎藤 嘉朗 …… 226
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山口 照英 …… 235
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 讓 …… 243
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（総合研究報告）	頭金 正博 …… 252
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（平成17年度報告）	頭金 正博 …… 257
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川崎 ナナ …… 261

KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内田恵理子 …… 271
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純一 …… 281
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永井洋士 …… 288
第4分野		
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	網脇祥子 …… 307
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍児 …… 315
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名和行文 …… 319
第5分野		
KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法（DLI）の実用化	藤原成悦 …… 327
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（総合研究報告）	安枝 浩 …… 336
KH51040	アレルギーによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（平成17年度報告）	安枝 浩 …… 342
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆字 …… 349
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子 …… 359
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネージメントへの応用	山本茂貴 …… 367
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 …… 372
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行 …… 376
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治 …… 383
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（総合研究報告）	竹森利忠 …… 387
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（平成17年度報告）	竹森利忠 …… 395
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹 …… 401
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治 …… 406

KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広 ……	410
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人 ……	418
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子 ……	422
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和 ……	428
KH51055	siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用	森川 茂 ……	431
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（総合研究報告）	鈴木孝昌 ……	437
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（平成17年度報告）	鈴木孝昌 ……	442
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾 ……	452
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 ……	459
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二 ……	464
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（総合研究報告）	浅沼秀樹 ……	466
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（平成17年度報告）	浅沼秀樹 ……	471
第6分野			
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江 ……	479
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫 ……	500
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明 ……	511
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（総合研究報告）	澁谷統壽 ……	516
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（平成17年度報告）	澁谷統壽 ……	524
第7分野			
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法的确立に関する研究	乾 賢一 ……	531
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘 ……	540
KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究ーヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作りー（総合研究報告）	松浦成昭 ……	548

KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究ー ヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作りー（平 成17年度報告）	松浦成昭 …… 554
KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・ 細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸 …… 559
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模 臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（総合 研究報告）	森川 馨 …… 569
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模 臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（平成 17年度報告）	森川 馨 …… 575
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間正充 …… 591
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込型細胞チップとナノセンサーによる 新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサ ーの開発	永森静志 …… 601
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬 効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤 の開発	西尾和人 …… 611
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺 伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野泰雄 …… 617
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的 評価	澤田康文 …… 628
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資 源高度化に関する研究（総合研究報告）	小林真一 …… 634
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資 源高度化に関する研究（平成17年度報告）	小林真一 …… 640

第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究（総合研究報告）

所属 東北大学大学院医学系研究科 COE
・分子代謝病態学分野
研究者 野々垣 勝則
研究期間 平成16年4月～平成18年3月

研究要旨 神経性過食症や無茶食い障害だけでなく、肥満、糖尿病の自己制御できない過食に対しても選択的セロトニン再取込み阻害薬（SSRI）の1種であるフルボキサミンが有効なケースがあることを臨床的に見出した。フルボキサミンの食欲抑制効果の発現機序として、セロトニン5-HT_{2C}受容体シグナル伝達系の障害と脳内メラノコルチン（MC）系のシグナル伝達系の正常機能が必要であることがマウスの実験から示唆された。以上のことから、フルボキサミンが有効な過食の病態とは、セロトニン5-HT_{2C}受容体シグナル伝達系に障害があり、脳内MC系のシグナル伝達系は正常に保たれている病態であると推測できる。一方、セロトニン2C受容体刺激薬であるmCPPは、視床下部のPOMCだけでなくCARTの遺伝子発現を増強したが、NPY, AGRP, MCH, CRFの遺伝子発現には影響を与えなかった。更にmCPPはAymiceでも摂食抑制効果を発現したため、MC系はmCPPの摂食抑制効果に必須ではないことが示唆された。

分担研究者

- | | |
|---------------------|-------|
| 1) 明治製菓株式会社 | 平岡秀一 |
| 2) 独立行政法人国立健康・栄養研究所 | 大賀英史 |
| 3) 東京大学大学院医学系研究科 | 久保木富房 |
| 4) 東京大学大学院医学系研究科 | 熊野宏昭 |

A. 研究目的

過食行動の制御は肥満、糖尿病など生活習慣病の予防や治療管理に重要な因子であるが、臨床現場で確立した治療法は未だない。現在、臨床的に有効性が示唆されているのは神経性過食症や無茶食い障害に対する選択的セロトニン再取込み阻害薬（SSRI）の1種であるフルボキサミンの効果である。しかし、本剤が無効な神経性過食症や無茶食い障害もあり、その効果の差の原因は解明されていない。従ってフルボキサミンの抗過食効果発現に関与する因子の同定は過食の予防、治療の開発の糸口になる可能性がある。申請者らはフルボキサミンなどSSRIの食欲抑制機序の解明から過食病態の解明、抗

過食薬の創薬に役立つ標的遺伝子の探索を本研究目的とする。

B. 研究方法

- 1) フルボキサミンの食欲抑制効果における5-HT_{2C}受容体の役割：C57BL6J雄性マウス（5週齢）を用いて24時間絶食後に選択的セロトニン5-HT_{2C}受容体選択的拮抗薬（SB242084；以下SBと略す）（1 mg/kg）または生食水を腹腔内前投与した30分後に生食水またはフルボキサミン（3-30 mg/kg）を腹腔内投与し30分後から餌を与え1時間ごとの摂食量を測定した。
- 2) フルボキサミンの食欲抑制効果における脳内メラノコルチン（MC）4受容体と3受容体の役割：脳内MC4受容体と3受容体のシグナル伝達系に遺伝的障害を有するA^y雄性マウス（5週）を用いて24時間絶食後SB（1 mg/kg）を腹腔内投与した30分後に生食水、フルボキサミン（30 mg/kg）を腹腔内投与し30

分後から餌を与え1時間後の摂食量を測定した。次に 雄性 A/a マウスと野生群 (5 週) を用いて暗サイクルになる 30 分前に、生食水、フルボキサミン (30mg/kg) を腹腔内投与して暗サイクル後1時間の摂食量を測定した。

3) フルボキサミンによる血中活性型グレリン濃度の変化: 前記断頭時に採血した血漿で各投与群の活性型グレリン濃度を ELISA で測定した。

4) リアルタイム RT-PCR を用いた視床下部の摂食関連ペプチドの遺伝子発現の変化: 前記1) と同様に C57BL6J マウスに生食と各薬物を投与後、餌を与えず絶食のままで1時間後に断頭し、採血すると同時に視床下部を取り出し、液体窒素で瞬間凍結し、後に RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR で視床下部での摂食調節に関与する代表的神経ペプチドである POMC, CART, NPY, AGRP, Ghrelin, CRF, MCH の遺伝子発現を定量した。

5) DNA chip を用いて標的遺伝子の探索を行なった。

C. 研究結果

1) フルボキサミンの食欲抑制効果における 5-HT_{2C} 受容体の役割の同定: 24 時間絶食にした C57BL6J mice にフルボキサミン単独を投与してもいずれの用量でも摂食抑制効果は認められなかった。また SB は生食水投与群と摂食量に差は認められなかった。しかし、SB を前投与後に、フルボキサミンを投与すると 3-30 mg/kg のいずれの用量でも同様に摂食抑制効果が発揮された。この摂食抑制効果は 2 時間持続した。これらの結果から、フルボキサミンが食欲を抑制する効果の発現には、5-HT_{2C} 受容体のシグナル伝達障害が必要であることが示唆された。

2) フルボキサミンの食欲抑制効果における脳内メラノコルチン 4 受容体と 3 受容体の役割: この SB を前投与後、フルボキサミンを投与する際に見られる摂食抑制は、遺伝的 MC4 受容体と MC3 受容体のシグナル伝達系の障害をもつ A/a マウスでは消失したこ

とから、その摂食抑制効果は MC4 受容体と MC3 受容体を介していることが示唆された。また A/a マウスとその野生群にフルボキサミン単独を投与しても摂食抑制効果は認められなかった。

3) フルボキサミンによる視床下部の摂食関連ペプチドの遺伝子発現の変化: POMC については、SB+フルボキサミン群の値が生理食塩水投与群およびフルボキサミン群と比較すると有意に POMC の遺伝子発現の増強 (約 2 倍) を認めた。NPY については、いずれの薬物投与群も対照群と比較して有意な差を認めなかった。これらのことから SB 前処理によるフルボキサミンの摂食抑制は視床下部の POMC ニューロンが活性化を伴うことが示唆された。

4) フルボキサミンによる血中活性型グレリン濃度の変化: フルボキサミン自体にはグレリン抑制効果は認められなかったが、SB 前投与後にフルボキサミンを投与すると活性型グレリンの抑制効果が見られた。これらの結果からフルボキサミンの摂食抑制効果の末梢機序として血中活性型グレリン濃度の低下の関与が示唆された。

5) DNA chip により、SB+フルボキサミン投与群で他群に比較して SGK-1 遺伝子の発現が強度 (2 倍以上) 増加していることが判明し、リアルタイム RT-PCR で定量し確認した。

D. 考察

従来のセロトニン作動薬の報告と異なり、フルボキサミンには食欲抑制効果が認められず、フルボキサミンの食欲抑制効果はセロトニン 5-HT_{2C} 受容体の薬理的な不活化が必要とされることは新規な発見である。研究代表者は、5-HT_{2C} 受容体遺伝子ノックアウトマウスを産生して、過食から中年期肥満を発症させることを報告している。臨床的に海外でもフルボキサミンは神経性過食症、無茶食い障害の治療に有効性が認められている。これからの結果から、フルボキサミンが有効となる過食病態とは、5-HT_{2C} 受容体の刺激伝達系に障害をもつ病態であ

ると想定できる。更に、今回の研究から、その食欲抑制効果は脳内メラノコルチン系を介していることから、メラノコルチン系のシグナル伝達系が正常である必要もあることが推測できる。

E. 結論

フルボキサミンそれ自体には食欲抑制効果が認められないが、セロトニン 5-HT_{2C} 受容体の不活性化により食欲抑制効果を発揮する。その食欲抑制効果は脳内メラノコルチン系を介し、末梢では血中グレリン濃度の低下が関与することが示唆された。フルボキサミンが有効な過食病態とは 5-HT_{2C} 受容体のシグナル伝達障害があり、メラノコルチン系が正常な過食病態であることが推測された。一方、セロトニン 2C 受容体刺激薬である mCPP は、視床下部の POMC だけでなく CART の遺伝子発現を増強したが、NPY, AGRP, MCH, CRF の遺伝子発現には影響を与えなかった。更に mCPP は A^ymice でも摂食抑制効果を発現したため、MC 系は mCPP の摂食抑制効果に必須ではないことが示唆された。

F. 研究発表

- 1) K. Nonogaki, K. Ohashi-Nozue, Y. Oka
Induction of hypothalamic serum- and glucocorticoid-induced protein kinase-1 gene expression and its relation to plasma des-acyl ghrelin in energy homeostasis in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 344: 696-699, 2006
- 2) K. Nonogaki, K. Ohashi-Nozue, Y. Oka
A negative feedback system between brain serotonin systems and plasma active ghrelin levels in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 341: 703-707, 2006
- 3) 野々垣勝則、齊藤佐知子 セロトニンニューロン系と摂食障害 *Pharma Medica* 3: 47-53, 2006
- 4) 野々垣勝則、野末香奈 脳内セロトニン系とエネルギー代謝調節 *内分泌・糖尿病科* 22: 523-530, 2006

- 5) 野々垣勝則、野末香奈 脳内セロトニン系の異常による過食と脂肪蓄積、糖代謝異常への進展機序 *内分泌・糖尿病科* 21: 161-165, 2005
- 6) 野々垣勝則、岡芳知 *糖尿病と心療内科: 総説 心療内科* 8: 293-296, 2004
- 7) Takimoto Y, Yoshiuchi K, Kumano H, Yamanaka G, Sasaki T, Suematsu H, Nagakawa Y, Kuboki T. QT interval and QT dispersion in eating disorders. *Psychother Psychosom.* 73: 324-8, 2004.

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 出願番号: 特願 2004-68732
発明者: 野々垣 勝則
発明の名称: 糖尿病治療薬
権利者: 野々垣 勝則
出願日: 2004年3月11日
- 2) 出願番号: 特願 2006-114578
発明者: 野々垣 勝則
発明の名称: 披検物質の食欲抑制効果をスクリーニングする方法
権利者: 東北大学
出願日: 2006年4月18日

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

平成18年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社