

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	バイオフォトン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JAG1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 of 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	綱脇祥子 …… 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確立に関する研究	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



## 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

所属 国立感染症研究所 免疫部  
研究者 葛西 正孝

研究要旨 造血疾患モデル動物を用いて、リンパ球減少症や骨髄不全症の発症機構と造血幹細胞の分化増殖に関する基盤的研究をおこなった。本研究成果は造血機構の解明と制御因子の発見につながり、最終的には移植治療と医薬品の開発に発展する可能性を示唆している。

### 分担研究者

第一製薬(株)東京研究開発センター  
創薬第三研究所 高子 徹

### A. 研究目的

生体を防御する免疫機構が破綻した状態は免疫不全症と呼ばれ、再生不良性貧血(aplastic anemia)、骨髄線維症(myelofibrosis)、骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome, MDS)などの血液難病が含まれる。これらの疾病で観察されるリンパ球減少症(lymphocytopenia)と骨髄不全症(bone marrow failure)は、薬物(抗がん剤や免疫抑制剤)、放射線療法、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)による感染等の外因性要因(続発性免疫不全)と造血細胞の内因的欠損(先天性免疫不全)によって分類される。しかし、それぞれの病因と発症機構の詳細は不明な点が多く、疾患モデル動物実験を基盤にした研究の必要性が高まっている。

主任研究者らは、DNA結合蛋白、Translinの遺伝子欠損マウス(TSN-KO)に認められる造血系の異常を詳細に観察した。その結果、幼年期に

おけるTSN-KOマウスの末梢血中の白血球数が激減していることを見出した。この現象は、末梢血リンパ球の成熟が未分化な状態で停止していることに因るものであった。また、老齢TSN-KOマウスが重篤な骨髄不全に陥ることも明らかとなり、造血系におけるTranslin遺伝子の重要性が示された。本研究の目的は、造血疾患モデルマウスを用いて、リンパ球減少症と骨髄不全症の発症に係わる因子の解明と医薬品開発の基盤技術を確立することである。

### B. 研究方法

#### 遺伝子欠損マウスの作製

Translin キメラマウス作製のために、Translin 遺伝子(11 kb)を含むターゲティングベクターを129系統マウス由来ES細胞にエレクトロポレーション法で導入した。次に、遺伝子欠損ES細胞をマウス初期胚に導入し、偽妊娠マウスに移植した。作製されたキメラマウス雄とC57BL/6マウス雌をかけて得られたF1マウスから、導入したES細胞がキメラ個体内で生殖系列に分化したマウスを

選択した。ホモ遺伝子欠損マウスは、F1 同士のかけあわせで得られた。遺伝子組み換え体の解析は、Southern, Northern, Western ブロットング法で確認した。なお、F2 マウスの遺伝子組み換え体のタイピングは、薬剤耐性遺伝子(Neo)と Translin 遺伝子の 3', 5' プライマーを用いた PCR 法で行った。

#### 遺伝子欠損マウスのコンジェニック化

Translin 遺伝子欠損マウス (TSN-KO) を C57BL/6 マウスに戻し交配を繰り返して、遺伝的背景が同じコンジェニックマウスに置き換えた。これによって、ヘテロ同士の掛け合わせで得られる 25% のホモに依存していた従来の研究と比較して、遺伝的背景が均一なホモマウスを安定供給することが可能になり、本研究のスピードアップと一層の進展が期待できる。

#### 定量的 RT-PCR 解析

末梢血から全 RNA を抽出後、reverse transcriptase によって cDNA を合成した。定量的 RT-PCR 解析は、cDNA を鋳型として LC Fast Start DNA master SYBR Green I kit を用いて行った。E2A (E47), EBF, Pax-5 遺伝子の増幅には特異的プライマーを用い、beta-Actin を標準として補正を行った。

#### (倫理面への配慮)

研究対象者に対する人権擁護や研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と理解 (インフォームドコンセント) に係る状況においては十分な配慮をおこなう。動物愛護上、実験動物に対しては苦痛を和らげる等、倫理面への十分な配慮をおこなう。

#### C. 研究結果

我々は、DNA結合蛋白であるTranslinを発見し、その機能が細胞分裂時の染色体分配に深く関わっていることを指摘した。この蛋白の機能の詳細を明らかにするために、Translin遺伝子欠損マウス (TSN-KO) を作製してその表現型を詳細に解析した。その結果、幼年期におけるTSN-KOマウスの末梢血中の成熟白血球数が激減していることを見いだした。この現象は、末梢血リンパ球の成熟が停止していることに因るものであった。すなわち、TSN-KOマウスでは末梢血中の成熟Bリンパ球が減少し、幼若リンパ球 (B220-, IL-7R+, CD43+) の分化成熟が停止していることがFACS解析で明らかとなった。因みに、リンパ球前駆細胞に不可欠な転写因子、E2A, EBF, Pax-5 遺伝子を欠損したマウスで分裂を停止したリンパ球の表現型は、さらに分化の進んだB220+, IL-7R+, CD43+である。実際、定量的RT-PCR解析によって、TSN-KOマウス末梢血中のE2A, EBF, Pax-5及び更に上流のPU.1遺伝子のmRNAの発現低下が判明した。従って、Translinは、造血機構の極めて初期の段階で深く係わり、造血幹細胞の自己複製や前駆細胞への分化振り分け機構に不可欠の因子であると結論できる。

TSN-KOマウスに認められるもう一つの異常は、加齢と共に骨髄の造血能が低下し、生後1年を経過すると骨髄の幼若骨髄系細胞が激減することである。さらに進行すると、骨髄の造血能は廃絶し、脾臓肥大を伴う髄外造血が観察された。この現象を明らかにするため、骨髄系細胞の分化に不可欠なPU.1遺伝子の発現をRT-PCR法で解析したが、活性に変化は認められなかった。しかし、意外なことにbasic helix-loop-helix (bHLH) 型転写因子、E2Aとそれに特異的に結合す



る蛋白、TAL1の発現が低下していた。E2AとTAL1の複合体形成は、新たなDNA結合ドメインを形成し、骨髄系幹細胞の自己複製や前駆細胞への振り分けに不可欠な遺伝子の発現を調節することを示唆している。

以上の結果を総合すると、Translin遺伝子は幼若リンパ系細胞と骨髄系細胞の分化成熟機構に重要な役割を果たしている結論することができる。

#### D. 考察

遺伝子治療や人工臓器開発などが含まれる再生医学の分野は、血液幹細胞が多分化能を備えていることが明らかになったことから近年大きく発展し始めている。特に、造血細胞（腹側中胚葉から由来）と血管内皮細胞の共通祖先の実体が最近になって解明されたことは、免疫系、血液循環系、内分泌系などの垣根を越えて多くの研究者の興味を引き、この分野への参入を可能にしたといえる。一方、自己複製することが出来る造血幹細胞の由来や移動、胎生期と成体期における相違点、分化方向が決定した前駆細胞への振り分け機構等、数多くの基本的な問題点が未解決のまま残されていることも事実である。

本研究では、遺伝子欠損マウスを用いた解析から、末梢血における幼若リンパ系細胞と骨髄における幼若骨髄系細胞の分化成熟機構にTranslin遺伝子が重要な役割を果たしていることが指摘された。今後、さらに本研究が大きく発展することが期待される。

#### E. 結論

TSN-KOマウスは、リンパ系細胞のみならず骨髄

系細胞の分化成熟機構にも異常を示すことが明らかにされた。したがって、ヒトの免疫不全で観察されるリンパ球減少症と骨髄不全症のモデル実験動物として有用性が高いと考えられる。

実際、TSN-KOマウスを用いた本研究から、Translin遺伝子が幹細胞の自己複製やリンパ系及び骨髄系前駆細胞への振り分け機構に係わる制御因子として重要な役割を果たしている結論することができた。今後、末梢血と骨髄に存在する造血幹細胞の関連が明らかにされなければならない。また、本研究成果は造血機構の解明と様々な因子の発見につながり、最終的には移植治療の発展と医薬品の開発に発展する可能性を示している。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kasai, M., Fukuda, Y and Ishida, R.

A gene-targeted mouse model for bone marrow failure syndrome

Blood 106 140b (2005)

Ohnishi, K, Sakaguchi, M, Kaji, T, Akagawa, K, Taniyama, T, Kasai, M., et al.

Immunological Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus by Monoclonal Antibodies Jpn. J. Infect. Dis. 58, 88-94 (2005)

Kasai, M.

A Significant Role for the Peripheral Blood in Juvenile Hematopoiesis

Molecular Biology of the Cell 15, 340a (2004)

Takasuka N, Fujii H, Takahashi Y, Kasai M, Morikawa S, Itamura S, Ishii K, Sakaguchi M, Ohnishi K, Ohshima M, Hashimoto S, Odagiri T, Tashiro M, Yoshikura H, Takemori T, Tsunetsugu-Yokota Y.

A subcutaneously injected UV-inactivated SARS coronavirus vaccine elicits systemic humoral immunity in mice.

Int Immunol. 16, 1423-1430 (2004)

Sugiura, I, Sasaki, C, Hasegawa, T, Kohno, Sugio, T, Moriyama, H, Kasai, M and Matsuzaki, T

Structure of human Translin at 2.2Å resolution

Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 60, 674-679 (2004)

Ishida, R., Okado, H., Sato, H., Shionoiri, C., Aoki, K., and Kasai, M.

A role for the octameric ring protein, Translin, in mitotic cell division.

FEBS Lett. 525, 105 (2002)

## 2. 学会発表

Okado, H, Kawano, H, Matsuda, J, Terashima, T, and Kasai, M.

Transcriptional repressor, RP58, is essential for development of the cortical layer formation and the reciprocal connectivity between cortex and thalamus  
Annual Meeting of Japanese Molecular Biology Society (Symposium), Kobe, Dec, 2004



---

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