

平成18年度

政策創薬総合研究  
重点研究報告書（I）

# 目 次

課題番号		
KH11001	バイオフィotonics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 …… 16
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 …… 21
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 …… 30
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 …… 40
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 …… 100
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 …… 126
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 …… 144
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 …… 154
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 …… 168
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 …… 181
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 …… 196
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 …… 208
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 …… 221
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 …… 235
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 …… 247
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 …… 262
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 …… 286
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 …… 300
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 …… 310
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 …… 318

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 …… 344
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 …… 358
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 …… 373
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 …… 390
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 …… 402
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 …… 417
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 …… 435
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的手法の開発に関する研究	斎藤嘉朗 …… 449
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 …… 466
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 …… 481
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 …… 494
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 …… 509
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 …… 525
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 …… 537
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 …… 551
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 龍兒 …… 566
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 …… 576



## 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

所 属 国立循環器病センター研究所 循環器形態部  
研究者 望月直樹

研究要旨： S1P3 受容体拮抗薬 TY-52156 が S1P3 特異的に拮抗し、血管平滑筋収縮を制御する Rho を抑制することがわかった。摘出心臓では S1P による冠状動脈収縮を抑制することを明らかにした。

### 分担研究者

- (1) トーアエイヨー株式会社製品開発部  
村上 晶
- (2) 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター  
分子病態・診断部門  
澤 洋文
- (3) 国立循環器病センター研究所循環器形態部  
福原 茂朋

### A. 研究目的

動脈硬化症は高齢化社会では不可避の病気であり、現在の日本の主要な死因である心血管疾患・脳血管疾患の原因として重要な病態である。血小板凝集抑制・高脂血症治療薬・糖尿病治療薬だけでは抑えきれない動脈硬化症を内皮細胞で発現する S1P 受容体を制御することで動脈硬化症を治療するという発想から S1P 受容体の拮抗薬を創薬することを目的として研究をおこなった。

スフィンゴシン1-リン酸(S1P)は活性化血小板から分泌され、S1P受容体(これまでに5つの受容体; S1P1-S1P5が明らかにされている)を発現する血管内皮細胞と血管壁細胞(血管平滑筋細胞・周細胞)に作用することで生物学的作用を示す。S1P3受容体が血管内皮細胞に及ぼす作用は明らかになっていないためにS1P3受容体による生物学的作用は、細胞レベルでも動物個体レベルでも理解されていないのが現状である。本研究ではこのS1P3受容体の拮抗薬を開発し、動脈硬化症の発症におけるS1Pの機能を明らかにするとともに治療に結びつけることを目的とする。このためには、まずS1P3の細胞・組織での生理作用を検討することが重要であり培養細胞をつかって細胞内情報伝達系についてS1P1拮抗薬との比較を行ってその違いを明らかにする必要がある。

S1P1-S1P5 のなかでも S1P3 の特異的拮抗薬の開発に焦点をあわせている。S1P3 特異的シグナルの解明もあわせて行うためにヒト組織を使用して S1P3 受容体の臓器ごとの分布についても調べる。

### B. 研究方法

#### (1) S1P<sub>3</sub>/EDG3 受容体拮抗薬のスクリーニング

S1P3/EDG3 受容体拮抗薬のスクリーニングのために、S1P<sub>1</sub>/EDG1, S1P<sub>2</sub>/EDG5, S1P<sub>3</sub>/EDG3, S1P<sub>4</sub>/EDG6 及び S1P<sub>5</sub>/EDG8 をそれぞれ恒常発現させた CHO-K1 細胞を調整して用いた。候補化合物による S1P 由来[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇の抑制作用を、蛍光カルシウム指示薬である FLIPR® Calcium 3 Assay Kit (Molecular Devices Corporation, CA, USA) または Fura-2™ (Molecular Probes, Inc., OR, USA) を用いて測定した。測定機器には蛍光セルアッセイシステム FlexStation® II (Molecular Devices Corporation, CA, USA) を用いた。

2) S1P3/EDG3 受容体拮抗薬の候補化合物の合成  
S1P3/EDG3 受容体拮抗薬として有望な候補化合物の関連誘導体の合成は、パーソナル有機合成装置 ChemiStation™ PPW2000 (Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan) によるパラレル合成と、High-Performance FLASH Chromatography (HPFC) system Horizon™ または Quad3™ (Biotage AB and Biosystems, Uppsala, Sweden) を用いて精製を行い、throughput の向上を図った。

#### 3) *In silico* スクリーニング

創薬支援ソフトウェア Catalyst® (Accelrys, Inc., CA, USA) を用いて、S1P3/EDG3 受容体拮抗薬の構造活性要求を表す薬理活性モデル (Pharmacophore model) を作成し、市販化合物データベースおよび設計化合物の *in silico* スクリーニングを行い、論理的創薬手法に依る高活性化化合物の効率的探索を図った。

#### 4) 血管内皮細胞・平滑筋細胞の S1P3 受容体活性化による情報伝達系の検討

ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) 及びヒト冠動脈平滑筋細胞 (HCASMCs) を用い、S1P刺激 (1μM) による接着分子の発現及びRhoの活性化をwestern blot法により評価した。さらに、PKCの細胞膜移行、細胞内CaのオシレーションにS1P3が関わるか否かを検討した。

#### 5) 動物個体への TY-52156 の影響

ラット血圧および心拍数は、ラット・マウス用無加温型非視血式血圧計MK-2000 (muromachi kikai Co, Ltd., Japan) の手順書に従い、収縮期血圧 (SBP) および心拍数 (HR) を測定した。血圧およ



び心拍数は、化合物投与前1時間、化合物投与直前0時間、化合物投与後1、2、3、4、5、6および24時間に経時的に測定した。TY-52156 (10および30 mg/kg) を経口投与し、Control群には溶媒を経口投与した。

#### 6) ラット摘出心 Langendorff 灌流標本

ADInstruments ラングENDORFFシステムを用い、70mmHg の灌流圧下で定圧灌流を行った。灌流量 (冠血流量) (CF) の変化は、循環系の途中に装着した電磁血流プローブを介して測定した。約 20 分間の通常灌流による安定化の後、化合物 (0.1 $\mu$ M) 又は溶媒を循環系に約 5 分程度灌流し、灌流状態が安定した後に S1P (0.1 $\mu$ M) 及び化合物 (0.1 $\mu$ M) を含む溶液を負荷して灌流量の変化を測定した。

#### 7) S1P 受容体ファミリー分子の組織発現

抗体: S1P<sub>1</sub>/Edg1, S1P<sub>3</sub>/Edg3, S1P<sub>2</sub>/Edg5, S1P<sub>4</sub>/Edg6, S1P<sub>5</sub>/Edg8 に対する抗体は United States Biological 社 (Swampscott, MA) から販売されている抗体を用いた。各抗体に対して data sheet に基づいて、1:250, 1:1,500, 1:1,500, 1:250, 1:1,500 倍の希釈倍率で検討を行った。

対象: 剖検により作製されたヒト冠状動脈 (18 部位)、ヒト脳内動脈 (9 部位) のパラフィン切片を用いて、以下の方法により免疫組織学的方法を行った。

(倫理面への配慮)

札幌市東徳洲会病院において承諾された遺体の解剖に関する承諾書の内容に基づき、匿名性に重きをおいた。また今回のスフィンゴシン 1-リン酸受容体の発現の検索は臓器における発現を検索するものであり、遺伝性疾患の解析を目的とはしていません。倫理面に関しては問題が無いと判断した。これらの配慮は日本病理学会の指針に沿うものである。

トーアエイヨー株式会社における実験動物の飼育管理及び動物実験 (動物を利用する試験研究) の計画・実施に際し、科学的及び動物福祉の観点からも遵守すべき事項を定め、実験動物の飼育管理及び動物実験を適正に実施することを目的に制定された、トーアエイヨー実験動物利用に関する規程に基づき実施した。

## C. 研究結果

### S1P3 拮抗薬のスクリーニング結果と合成

昨年度得られた ID102455 の分子官能基の副次構造を検索条件として、市販化合物データベースに対して構造検索を実施した。さらに、ヒットした ID102455 類似化合物群を購入し、*in vitro* スクリーニングに供した。スクリーニングにより得られたこれらの誘導体の構造活性相関情報を考察して、S1P3 受容体拮抗薬活性のさらなる向上を指向した関連誘導体の合成を行った。医薬品として使用しうる S1P3 受容体選択的拮抗薬として有望な TY-52156 を見出した (S1P3 IC<sub>50</sub> = 0.47  $\mu$ M, S1P1

阻害率 27.7% (10  $\mu$ M), S1P2 阻害率 1.2% (10  $\mu$ M), S1P4 阻害率 32% (10  $\mu$ M), S1P5 阻害率 12% (10  $\mu$ M))。また、TY-52156 は他の G 蛋白共役型受容体 (GPCR) (GPCR Profile set 1, 25 GPCRs: Cerep Co. Ltd., France) 及びイオンチャネル (Ikr, Ca<sup>2+</sup>, IkATP) に対して顕著な拮抗作用を示さず、S1P3 受容体に高い選択性を有していることが明らかとなった。

次に、TY-52156 の経口吸収性、FTY720 誘発の徐脈作用に対する効果について検証した。なお、FTY720 誘発性の徐脈は S1P3 受容体作動性 K<sup>+</sup> チャネル (IkACh) に起因することが報告されている。TY-52156 の経口投与 (10 及び 30 mg/kg) は FTY720 (1 mg/kg) 誘発の徐脈に対して濃度依存的な拮抗作用を示した。また、TY-52156 の単独投与では、ラット血圧および心拍数に明確な作用を示さないと考えられ、生理的条件下における血行動態調節機序において S1P3 受容体は重要な役割を果たしていない可能性が示唆された。

### TY-52156 の S1P3 特異性の検討

#### ① ERK/MAPK 活性化の検討

CHO-K1-S1P1, -S1P2, S1P3 を S1P で刺激した場合には昨年度と同様に 3-5min を peak にした ERK/MAPK のリン酸化を認めた。この ERK の活性化は 100nM で刺激前との優位差を認めたので、TY-52156 の特異性の決定にはこの濃度での抑制を指標に検討した。TY-52156 は、10  $\mu$ M を前処理濃度に用いた。S1P 依存性の ERK/MAPK の活性化は CHO-K1-S1P3 細胞でも抑制された。CHO-K1-S1P1, S1P2 細胞では TY-52156 による ERK/MAPK の抑制は認められなかった。この結果から TY-52156 が S1P3 特異的阻害剤であることを確認できた。

### S1P3 の細胞での機能と TY-52156 の阻害効果の検討

#### (1) HUVEC の遊走能

S1P の HUVEC への作用として、細胞遊走能及び管腔形成能の亢進作用が報告されている。そこでこれら作用に対する TY-52156 (20 $\mu$ M) の効果を検証した結果、いずれの作用も TY-52156 単独処理で抑制することはできなかった。

#### (2) S1P による細胞接着分子の発現

S1P (1 $\mu$ M) 刺激による接着分子 (ICAM-1 及び VCAM-1) の発現に対して TY-52156 (10 $\mu$ M) は強く抑制したが、S1P1 受容体選択的拮抗薬である VPC23019 (10 $\mu$ M) は抑制しなかった。

#### (3) 血管平滑筋で S1P3 の作用

(i) Rho の活性化: HCASMCs において S1P は低分子量 GTPase の一つ、Rho を活性化することにより血管平滑筋の収縮に促進的に作用する。そこで、S1P 刺激 (1 $\mu$ M) による Rho の活性化に対する TY-52156 (20 $\mu$ M) の効果を検証した。その結果、本化合物は Rho の活性化を抑制することが確認できた。S1P1 受容体選択的拮抗薬である VPC23019 (20 $\mu$ M) は Rho の活性化を抑制しなかった。



(ii) nPKC の膜局在化：S1P 刺激により EGFP タグ付き PKC の局在変化をタイムラプス顕微鏡で観察したところ nPKC の細胞膜への移行が観察できた。PKC-delta, PKC-epsilon の局在変化が数 10 秒間誘導され、細胞膜から再度細胞質への局在変化がおきることがわかった。さらに S1P3 拮抗薬である TY-42156 で 30 分前処理した後に S1P 刺激すると、細胞膜への移行が抑制される傾向が見られた。このため、細胞膜フラクションを刺激前後で検討したところ、明らかに S1P 刺激により細胞膜への nPKC の集積がみられた。この膜画分への移動は TY-52156 で抑制された。

### S1P3 の冠状動脈収縮作用と TY52156 による収縮抑制

ラット摘出心 langendorff 標本を用いた冠流量 (CF) の測定を行った結果、TY-52156 は  $1 \times 10^{-7}$  M で CF を約 30% 増加させ、さらに S1P ( $1 \times 10^{-7}$  M) による CF 低下作用に対して有意な拮抗作用を示した。VPC23019 ではこれらの作用は認められなかった。

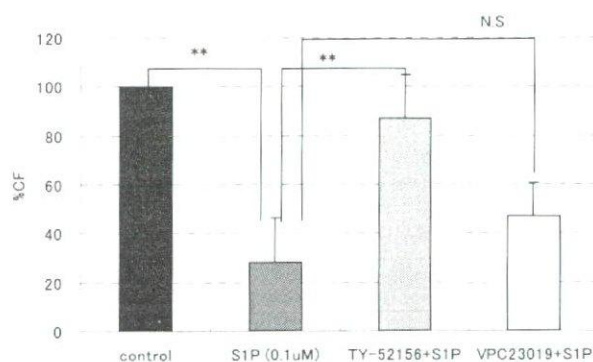


Figure ラット摘出心 langendorff 標本を用いた S1P による冠血流量の低下に対する TY-52156 の効果

### S1P3 受容体の発現

ヒト冠状動脈平滑筋細胞では S1P3 受容体を発現する

(1) PCR による血管平滑筋細胞での S1P1-3 の発現の結果：RT-PCR で S1P1-3 の発現を HCASMCs で確認したところ S1P1, S1P2, S1P3 のいずれも発現していた。Western blot による発現確認を複数の市販の抗体で調べたが、特異性が低く S1P1-3 の発現の差を検討することは不可能であった。

(2) 免疫組織学的検討

① ヒト脳内血管における S1P<sub>1</sub>/Edg1, S1P<sub>3</sub>/Edg3, S1P<sub>2</sub>/Edg5, S1P<sub>4</sub>/Edg6, S1P<sub>5</sub>/Edg8 の発現：今回は冠状動脈の直径に合わせて 3-4 mm の内腔の血管を検索した。染色性に関しては冠状動脈に比して脳内

血管の方が強かった。血管での S1P<sub>1</sub>/Edg1 の局在は中膜平滑筋細胞および内膜肥厚部に認められた。

S1P<sub>3</sub>/Edg3 の発現は脳内血管では中膜平滑筋細胞に認められた。冠状動脈での S1P<sub>1</sub>/Edg1 の局在は脳内血管と同様に中膜平滑筋細胞および内膜肥厚部および冠状動脈周囲の心筋に認められた。

S1P<sub>1</sub>/Edg1 とほぼ同様に S1P<sub>3</sub>/Edg3 の免疫陽性反応は中膜平滑筋細胞および内膜肥厚部、冠状動脈周囲の心筋に認められた。さらに S1P<sub>1</sub>/Edg1 とは異なった点としては、S1P<sub>3</sub>/Edg3 は心筋周囲の脂肪組織中の神経にも陽性反応を認めた。これまでの報告 (J Biol Chem, 2001, 276: 33697) によると S1P<sub>3</sub>/Edg3 は心臓以外に脳でも発現していることが mouse 組織を用いて示されており、これらを総合的に判断すると、神経での免疫性反応は陽性であることが示唆された。

### D. 考察

S1P<sub>3</sub>/EDG3 受容体拮抗剤 ID102455 はドラッグライクな構造ではないため、医薬としての開発を目指すためには大規模な構造修飾が不可欠であった。副次構造検索により得られたドラッグライクな化合物群の中にも S1P<sub>3</sub> 受容体拮抗活性を有する化合物が認められたが、S1P<sub>3</sub> 受容体拮抗活性は軒並み 1/10 以下に低下した。しかし、これらの誘導体から得られた構造活性相関情報を活用し、合成展開を図った結果、S1P<sub>3</sub>/EDG3 受容体に選択的な拮抗薬として TY-52156 を見出した。

TY-52156 は他の G protein-coupled receptor との結合がみられないこと、さらに CHO-K1-S1P<sub>1</sub>, -S1P<sub>2</sub>, -S1P<sub>3</sub> を使った特異性の検討から TY-52156 が S1P<sub>3</sub> 特異的拮抗薬であることが強く示唆された。また、臨床的に使用可能であるために必須の経口投与についても検討したところ、十分経口吸収可能な薬剤であることが明らかになった。

この TY-52156 を使用することで細胞及び臓器での S1P<sub>3</sub> 受容体活性化による生物反応、生体の反応をあき来にすることができると予想した。S1P<sub>3</sub> ノックアウトマウスが正常に生まれ、障害なく成長することから S1P<sub>3</sub> がある病態の時に積極的に機能することも考えられた。まず、S1P<sub>3</sub> の細胞での機能をつきとめるために、われわれは血管内皮細胞の遊走能を検討した結果 S1P<sub>3</sub> 拮抗薬単独では阻害効果が見られなかった。血管構築の際の S1P による内皮細胞の遊走には S1P<sub>3</sub> だけでなく S1P<sub>1</sub> も重要であること予想した。さらに、血管内皮細胞では S1P により ICAM-1, VCAM-1 などの接着分子の発現することが知られていたが、これは興味深いことに TY52156 の単独の前処理によって、抑制することができた。

血管平滑筋では S1P 刺激による Rho の活性化を完全に抑制した。この結果を反映して摘出心臓を用いた冠状動脈の S1P による収縮も抑制することができたと考えている。血管平滑筋には S1P<sub>2</sub> 及び



S1P3 受容体の発現が知られている。S1P が受容体に結合すると、受容体に結合している Gq タンパクからのシグナルにより、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度が上昇し Ca<sup>2+</sup>/カルモジュリン複合体を形成後、myosin light chain kinase を活性化させて平滑筋の急激な収縮相を形成する。一方で、G12/13 タンパクを介した Rho kinase の活性化が、myosin phosphatase の不活化を起こすことにより、平滑筋の Ca<sup>2+</sup> 感受性を増大させることで平滑筋収縮の持続相を形成する。本研究では S1P による Ca の増加は S1P3 拮抗薬では完全に抑制できないことが判明したので、TY-52156 の効果は主冠状動脈の血管平滑筋に発現する S1P3 受容体を介した G12/13-Rho-Rho キナーゼ系の抑制による可能性が高いことがわかった。

S1P1 と S1P3 の生理作用の検討も可能になった。いままで VPC23019 (S1P1 拮抗薬) だけであったが、今回われわれの研究で合成した TY-52156 と比較することで様々な現象が S1P1, S1P3 依存性であることをつきとめることができた。前述した S1P による血管新生では血管内皮細胞の遊走は S1P1 と S1P3 の両方が重要であることがわかった。しかし、VCAM-1, ICAM-1 の発現には S1P3 が単独で十分であることもわかった。

本年度とくに S1P が冠状動脈収縮作用があり S1P3 拮抗薬単独でその収縮を抑制することができたのは、大きな臨床薬剤候補として展開できることへの大きなステップである。日本人には冠攣縮性の狭心症や、脳血管疾患にともなう攣縮が脳梗塞の拡大を助長していると考えられている。しかし、これまでこの攣縮を抑制できる薬剤はなかったために、梗塞の拡大を防ぐことができなかった。しかし、S1P3 拮抗薬が少なくとも冠状動脈では血管収縮を抑制することから、脳血管の攣縮モデルでも検討して、S1P3 拮抗薬の適応症の探索を継続して行うことを計画している。

また、S1P 受容体活性化剤 (S1P1, S1P3, S1P4 及び S1P5 受容体活性化剤) として報告されている FTY720 は再発性多発性硬化症治療剤 (欧米) および腎移植後の免疫抑制 (国内) を適応として臨床試験中 (Phase II) である。本剤は循環リンパ球を 2 次リンパ組織に誘引し、かつ活性化 T 細胞のリンパ組織から末梢炎症部位及び移植部位への再循環を抑制することにより免疫抑制作用を示す。一方で FTY720 の臨床試験において、その初回投与時に、S1P3 受容体の活性化が原因で一過性の徐脈作用が生じることが報告されている。従って、TY-52156 の経口投与により、ラットにおける FTY720 誘発の徐脈作用が抑制されたことは、TY-52156 がヒトにおいても S1P3 受容体由来の作用に対して拮抗作用を示す可能性を強く示唆するものである。

## E. 結論

選択的 S1P<sub>3</sub>/EDG3 受容体拮抗活性を有する

TY-52156 を見出した。S1P3 特異的な ERK/MAPK の抑制作用を示したことから、他の GPCR には結合活性がないことから特異性が確認できた。また、興味深いことに S1P 依存性の接着分子 (ICAM-1, VCAM-1) の発現の抑制、血管平滑筋での Rho の活性化の阻害効果を示した。さらに、心臓全体では S1P による冠状動脈収縮を完全に抑制した。

血管での S1P 受容体の発現を検討した結果として血管平滑筋細胞に定量的には判断できないが、少なくとも S1P 受容体が様々なパターンで発現していることが分かった。本研究で確認した冠状動脈の S1P による収縮実験からも明らかのように、S1P3 が冠状動脈平滑筋の収縮を S1P3 を介して誘発していることと矛盾のない組織学的検討の結果を得た。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) Koide, Y.; Uemoto, K.; Hasegawa, T.; Sada, T.; Murakami, A.; Takasugi, H.; Sakurai, A.; Mochizuki, N.; Takahashi, A.; Nishida, A. Pharmacophore-Based Design of Sphingosine 1-phosphate-3 Receptor Antagonists That Include a 3,4-Dialkoxybenzophenone Scaffold. *J Med Chem* 2007, 50, 442-454
- (2) Kogata N, Arai Y, Pearson JT, Hashimoto K, Hidaka K, Koyama T, Somekawa S, Nakaoka Y, Ogawa M, Adams RH, Okada M, Mochizuki N. Cardiac ischemia activates vascular endothelial cadherin promoter in both preexisting vascular cells and bone marrow cells involved in neovascularization. *Circ Res*. 98: 897-904, 2006
- (3) Sunden Y, Suzuki T, Orba Y, Umemura T, Asamoto M, Nagashima K, Tanaka S, Sawa H\*. Characterization and application of polyclonal antibodies that specifically recognize JC virus large T antigen. *Acta Neuropathol* 111: 379-387, 2006
- (4) Tabu K, Ohnishi A, Sunden Y, Suzuki T, Tsuda M, Tanaka S, Sakai T, Nagashima K, Sawa H\*: A novel function of OLIG2 to suppress human glial tumor cell growth via p27Kip1 transactivation. *J Cell Sci* 119:1433-1441, 2006

### 2. 学会発表

特になし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

### 2. 実用新案登録

特になし

### 3. その他

特になし

---

平成18年度  
政策創薬総合研究  
重点研究報告書(Ⅰ)

平成19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