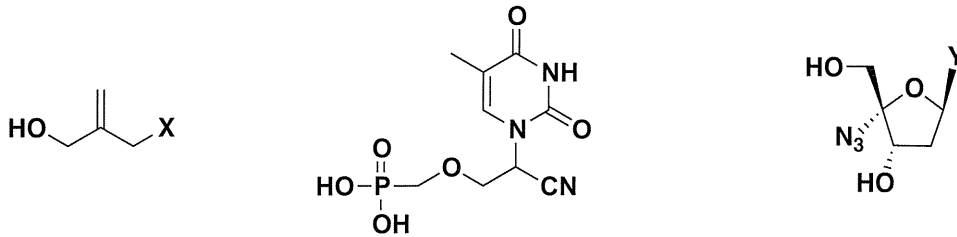






(概要図 3)

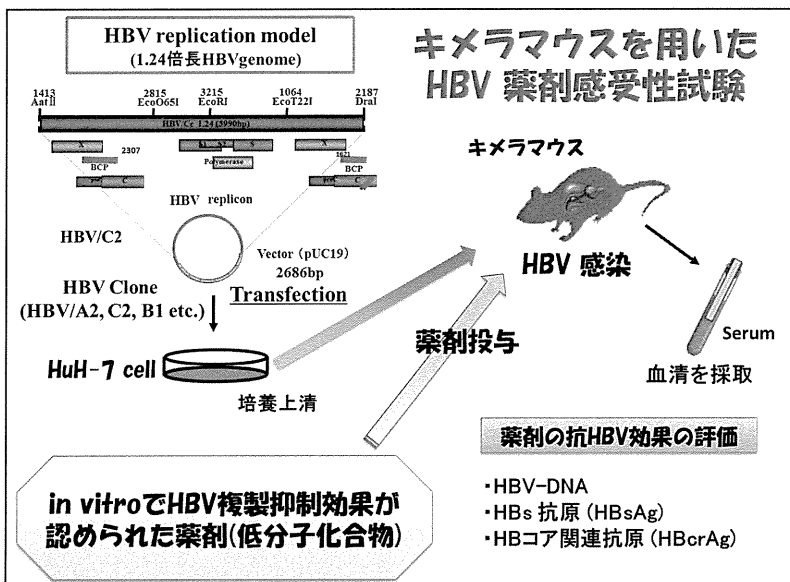


- X= adenine (1)  
 guanine (2)  
 cytosine (3)  
 5-fluorocytosine (4)  
 thymine (5)

- 1'-cyano thymine  
 acyclonucleoside phosphate (6)

- Y= guanine (7)  
 2,6-diaminopurine (8)  
 N6-methyl-2,6-diaminopurine (9)  
 6-methoxy-2-aminopurine (10)  
 adenine (11)  
 thymine (12)

(概要図 4)



### ● 研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

#### ・ 過去に所属した研究機関の履歴

1980年2月 熊本大学医学部内科学講座第二助手

1982年10月 米国国立癌研究所客員研究員 (Visiting Fellow)

- 1984年2月 米国国立癌研究所上級研究員 (Cancer Expert)  
1988年12月 米国国立癌研究所主任研究員 (Senior Investigator)  
1991年7月 米国国立癌研究所、レトロウイルス感染症部部長 (現在迄)  
1997年4月 熊本大学医学部内科学第二講座 (現血液内科・膠原病内科) 教授  
1997年4月 日本学術振興会未来開拓学術研究推進事業「HIV-1 感染症の病理病態解析とその治療法の開発」リーダー (2002年迄)  
1999年4月 熊本大学医学部附属病院治験支援センター長 (現在迄)  
2000年4月 熊本大学医学部附属病院感染免疫診療部部長 (現在迄)  
2001年7月 熊本大学医学部附属病院副病院長 (2005年3月迄)  
2003年4月 京都大学ウイルス研究所客員教授 (2005年3月迄)  
2008年6月 熊本大学グローバル COE「エイズ制圧を目指した国際教育研究拠点」リーダー  
2012年1月 国立国際医療研究センター・理事・臨床研究センター長、開発医療部部長 (現在迄)  
2012年4月 京都大学ウイルス研究所客員教授  
2012年4月 獨協医科大学特認教授

#### ・ 主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

松岡雅雄 (京都大学ウイルス研究所所長) ; 岡慎一 (国立国際医学研究センター・エイズ治療・研究開発センター長) ; 児玉栄一 (東北大学医学部助教) ; 岡田誠司 (熊本大学エイズ学研究センター教授) ; Arun K. Ghosh (米国 Purdue 大学教授) ; Stefan Sarafianos (米国 Missouri 大学准教授) ; Eddie Arnold (米国 Rutgers 大学教授) ; Robert Yarchoan (米国国立癌研究所研究部長)

#### ・ 主な研究課題

逆転写酵素阻害剤の基礎的研究と臨床開発 (HIV および HBV) ; HIV プロテアーゼ阻害剤・侵入阻害剤の基礎的研究と臨床開発 ; HIV 感染症とエイズの病理発生機序の解析 ; 原発性免疫不全および続発性免疫不全症の病理発生機序の解析 ; 急性骨髄性白血病などの血液腫瘍の病理発生機序の解析と新規の治療法の研究・開発

#### ・ これまでの研究実績

※研究代表者の本研究の成果以外の実績も記載してください。

(成果概要VIと重複するものや本研究成果によるものは、**太字・斜体**文字で記載してください)

※発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、知的財産権の取得及び申請状況、研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)のうち、主なものを選択し、直近年度から順に記載してください。

1984年から米国国立癌研究所 (NCI/NIH) において HIV 感染症とエイズに対する治療法開発に従事、世界で最初の3種類のエイズ治療薬 AZT, ddI, ddC の抗ウイルス活性を初めて明らかにし、それらの臨床開発に中心的な役割を果たしてエイズに対する化学療法の基礎を築いた。また、HBV が逆転写酵素を有する事から ddI や ddG 等の逆転写酵素阻害剤を HBV 治療薬として開発、それらの前臨床試験・臨床試験の実施に中心的な役割を果たした。1993年には日本での ddI の臨床試験の

プロトコルを起草、作成して同剤の日本での早期認可を導いた。1999年には第二世代の HIV プロテアーゼ阻害剤 (ダルナビル) の共同開発に成功、同剤は現在世界中でファーストラインの治療薬として汎用されている。満屋は ddI, ddC, ダルナビル等の米欧日を含む国際特許の発明者である。平成 9 年から現在までに熊本大学医学部第二内科 (現血液・膠原病内科、感染免疫診療部) で計 64 プロトコルの臨床試験 (Phase I : 4 件、Phase I/II : 4 件、Phase II : 26 件) を統括し、また平成 11 年から現在まで熊本大学病院治験支援センター長として延べ 920 件のプロトコルの臨床試験を統括・推進した。

## 受賞など

1989 年 米国癌研究所 (NCI) より発明賞 ; 1990 年 NCI より特別功労賞 ; 1992 年 米国国立衛生研究所 (NIH) 所長賞 ; 1992 年 Listed among 10 most cited AIDS researchers, 1988-1992. Science 260:1262, 1992 ;

1993 年 Outstanding Paper Award, Controlled Release Society ; 1994 年 American Society for Clinical Investigation (Elected; Member “Young Turk” ) ; 2006 年 DART Achievement Award in HIV DART 2006 ; 2006 年 Technology Recognition Award, Federal Laboratory Consortium For Technology Transfer ; 2007 年 Mitsuya’ s work on darunavir selected as one of top two NCI advances in 2007 ; 2007 年 NIH から第 1 回 NIH World AIDS Day Award ; 2007 年紫綬褒章 ; 2007 年 NCI から NCI HIV/AIDS Research Excellence Award ; 2007 年日本エイズ学会アルトマーク賞 ; 2007 年慶応医学賞 ; 2007 年高峰記念三共賞 ; 2012 年 Fellow, the American Academy of Microbiology (elected in 2012) ; 日本学術会議会員 (二部会員・臨床医学委員会 : 2008 - 現在迄)

## 特許権等知的財産権の取得数


14 件

## 研究課題の実施を通じた政策提言数

提言「エビデンス創出を目指す検証的治療研究の推進・強化に向けて」(2011 年 7 月 13 日) 日本学術会議臨床医学委員会 (大野竜三委員長、満屋裕明副委員長)

National Center for Global Health and Medicine

第2回 Hep-B 創薬プロジェクト  
研究発表会 January 31, 2014



## B型肝炎ウイルス感染症に対する 新規の治療薬の研究・開発

国立大学法人 熊本大学  
血液内科学・膠原病内科学・感染免疫診療部  
満屋 裕明

## CONCLUSIONS

7種類の新規核酸誘導体グループを合成.

1. 4'-Cyano(-fluoromethyl)-2'-deoxypurines
2. Cyclopropylvinyl nucleosides
3. 4'-Modified L-nucleosides
4. Fluoroentecavir
5. 3'-Modified bis-hydroxymethyl-cyclopente-nyl-adenines
6. Acyclic nucleosides
7. 4'-Azido-2'-deoxypurines

## CONCLUSIONS

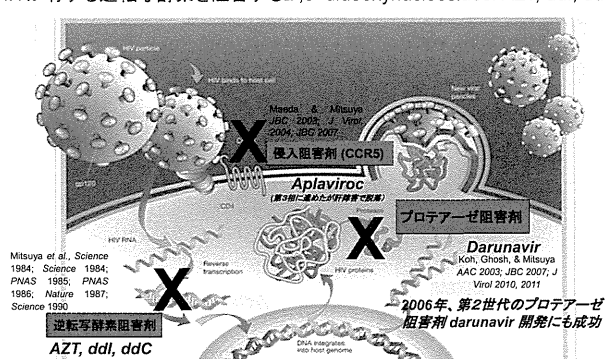
150余種類の新規ヌクレオシド誘導体をデザイン、合成等して、抗HIV・HBV活性を評価、12種にHBV増殖抑制活性を確認 (EC<sub>50</sub>: 0.4-46 nM)、YMS1144と1145にHBV<sub>ETV</sub><sup>R</sup>複製抑制能を確認.

YMS1144/1145にHBV感染ヒト肝移植キメラマウスでHBV<sup>WT</sup>及びHBV<sub>ETV</sub><sup>R</sup>に対する強力な活性を確認したが、細胞毒性が今後の課題.

HBV-polの一部削除産物を種々作成、可溶性関連領域を特定。Polの安定産生につながると思われるeRNA発現系とpol各ドメインのbaculovirus発現・無細胞翻訳発現系を構築.

## 世界で最初の3種類のAIDS治療薬の開発に成功

HIVが有する逆転写酵素を阻害する2',3'-dideoxynucleosides: AZT, ddI, ddC



逆転写酵素阻害剤  
AZT, ddI, ddC

侵入阻害剤 (CCRS)  
Aplaviroc  
(第3期に達めたとの報告で失敗)

プロテアーゼ阻害剤  
Darunavir  
Koh, Ghosh, & Mitsuya  
AAC 2005, JBC 2007, J Virol 2010, 2011

2006年、第2世代のプロテアーゼ阻害剤 darunavir 開発にも成功

## HIV (レトロウイルス)とHBV (ヘパドナウイルス)の 逆転写酵素(RT)活性部位は互いに類似

HBVの逆転写酵素 (モデル)  
HBV-RTの結晶構造はまだ得られていない

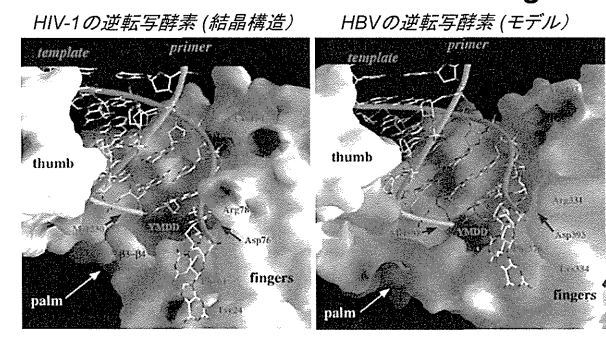
アミノ酸配列のホモロジーでみる限り、HBV-RTに最も近いものは HIV-RT と MolLV-RT だが、配列の相同性は 25%に満たない。しかし、機能的に重要なアミノ酸残基は両者間で良く保たれているところがある

HBV	315	DRGAFKPK FQKCYLQK VLVKQKQK KQKQKQK KKK-KAVK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV-1	31	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV	393	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV-1	74	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV	463	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV-1	121	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV	593	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV-1	145	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV	604	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV-1	203	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV	674	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK
HBV-1	245	QKQKQKQK KQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK QKQKQKQK

Data by Sarafianos/Arnold

## Electrostatic-Potential Surface Diagrams

HIV-1の逆転写酵素 (結晶構造)      HBVの逆転写酵素 (モデル)



template primer thumb palm fingers

DNA-Binding Cleft (DNA結合裂溝): Positively & Negatively Charged

Data by Sarafianos/Arnold

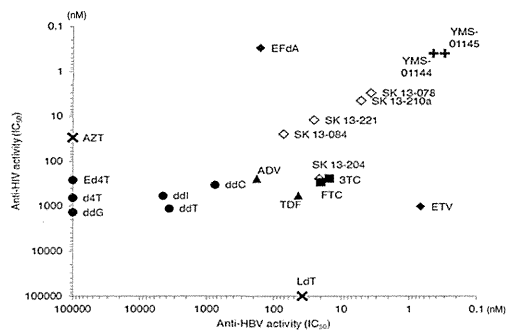
抗HIV活性と抗HBV活性の間に必ずしも相関はない

Drug	抗 HIV 活性	抗 HBV 活性
3TC (lamivudine)	480	100 - 500 $IC_{50}$ (nM)
TDF (tenofovir)	30	60 - 200
ETV (entecavir)	1,000 - 2,900	0.5 - 3
EFdA	0.5	500 - 2,900

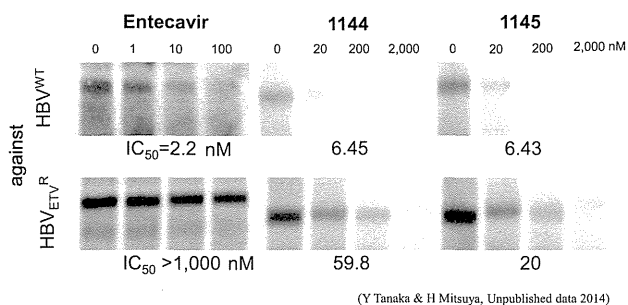
Entecavir はHIV-1には活性を示さないが、HBVには高い活性を発揮  
EFdAはHIV-1には高い活性を発揮するが、HBVには活性を示さない

HIVに活性を示さない(又は弱い活性)のためにそのままになっている  
ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤(150~200種類)の中にHBVに  
対して高い活性を示すリード化合物の探索から開始

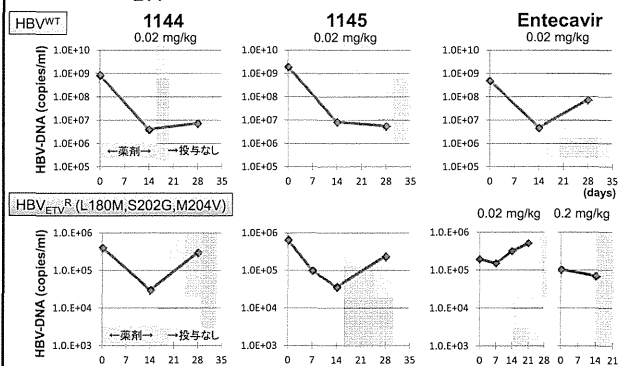
ヌクレオシド誘導体の抗HIV・HBV活性相関  
— 150余種類の新規誘導体をデザイン・合成等して、活性を評価 —



YMS1144/1145はHBV<sup>WT</sup>に対してETVと同等の活性を  
有するが、HBV<sup>ETV<sup>R</sup></sup>に対しては強力な活性を発揮する



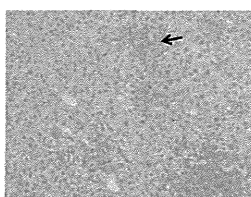
1144/1145はHBV感染キメラマウスでHBV<sup>WT</sup>と  
HBV<sup>ETV<sup>R</sup></sup>の増殖の双方を強力にブロックする



YMS1144の過剰量投与 (0.2 mg/kg)  
の投与量で軽度の肝障害が出現



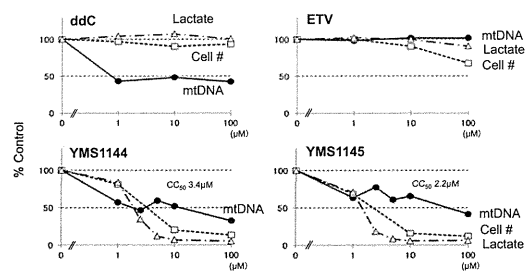
白い部分がヒト肝細胞(>80%)、  
赤色調部分はマウス肝臓細胞で  
占められ、キメラ状となっている。



ヒト肝細胞部分に炎症細胞(好中  
球)の浸潤(矢印で示す)が見ら  
れるが、肝細胞壊死は明らかで  
はない。

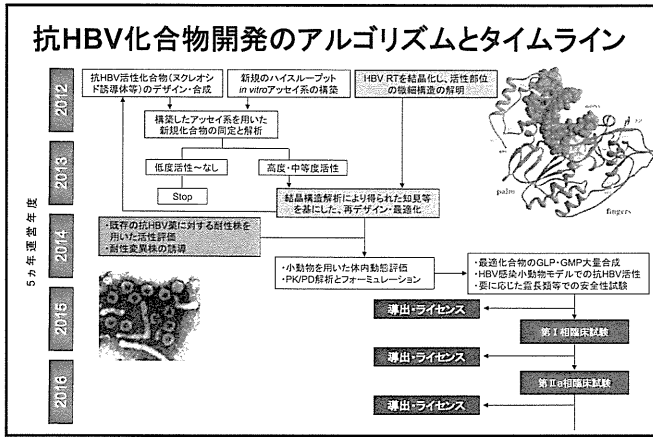
(Y Tanaka & H Mitsuya, Unpublished data 2014)

ETVは過剰量でも細胞内ミトコンドリアDNA量の減少を  
殆ど起こさないが、1144と1145は著明な減少を  
もたらし、更に細胞毒性も著明であった



Mitochondrial DNA copy numbers, cell numbers (HepG2), concentrations of L-lactate in culture supernatants were determined and % reduction is shown. ddC decreased mitochondrial DNA at 1  $\mu$ M, but no decrease was seen at up to 10  $\mu$ M for ETV.

(Takamatsu, Delino, Maeda & Mitsuya, Unpublished data 2014)



### 本『B型肝炎ウイルス感染症に対する新規の治療薬の研究・開発』プロジェクトの特長

1. 申請者・酒造のベチからベト迄の逆転写酵素阻害剤等の臨床開発の深い経験
2. 150~200種類のプールに期待されるリード化合物の最適化と新規化合物の合成
3. 活性化合物の再デザインと *de novo* デザインを可能とするHBV-RTの活性部位の結晶解析
4. 早期臨床試験、海外臨床試験、早期輸出、並行して出口戦略

必ず一定の成果と結論を得て、目に見える形で確実なインパクトをもたらす

### 工程表(研究代表者 満屋 裕明)

24年度に実施すべき事項	25年度に実施すべき事項	26年度に実施すべき事項	27年度に実施すべき事項	28年度に実施すべき事項
	抗HBV活性化合物(スクレオンド誘導体等)のデザイン・合成			
	70%/100%			
	新規のハイスループット <i>in vitro</i> アッセイ系の構築			
	70%/100%			
	HBV RTを結晶化し、活性部位の微細構造の解明			
	10%/100%			
		小動物を用いた体内動態評価		
		PK/PD解析とフォーミュレーション		
		最適化合物のGLP・GMP大量合成		
		HBV感染小動物モデルでの抗HBV活性		
		(要に応じた)薬長類等での安全性試験		
		導出ライセンス		
		第I相臨床試験		
		第IIa相臨床試験		

### 利益相反の有無 (H25年度)

本プロジェクトの推進で報告すべき利益相反はありません

### 他の研究班への参加状況

なし

### 他の研究班との合同研究班会議開催

児島聡一 創薬研究班と2回目の合同研究発表・勉強会開催 (10.13.13@東京)

## 平成 25 年度 B型肝炎創薬実用化等研究事業『成果概要』

研究課題：次世代生命基盤技術を用いた B型肝炎制圧のための創薬研究課題番号：H24-B創-肝炎-一般-003予定期間：H24年度からH28年度まで研究代表者：小嶋 聡一所属研究機関：独立行政法人 理化学研究所所属部局：ライフサイエンス技術基盤研究センター 微量シグナル制御技術開発特別ユニット職名：特別ユニットリーダー年次別研究費(交付決定額)：1年目 390,000,000円 2年目 268,000,000円**I. 研究の意義**

- (1) HBV 治療の中心は核酸アナログであるが、HBV の完全排除は望めず飲み続ける必要あり。
- (2) 肝炎の治療は近年目覚ましい進歩を遂げているが、HBV 患者でも肝炎ウイルスを抑えた患者から肝癌になる患者は絶えず、その予後を決定する因子が肝硬変と言われている。

**II. 研究の目的、期待される成果**

- (1) 3年後に有望な非核酸アナログ抗ウイルス薬候補、並びに付随病態改善薬候補の計3つ以上について前臨床試験を開始し、製薬会社に提供することを目的。
- (2) HBV の生活環の他ステップに効く薬剤を見出し相加相乗的な抗 HBV 効果獲得、それによる HBV 完全排除、もしくは中和抗体である HBs 抗体の獲得を期待。
- (3) HBV に付随する病態（肝線維化や劇症肝炎）治療薬は上記 I (2) の患者のためになると期待。さらに、他の原因による同病態にも適用を期待。

**III. 2年間の研究成果**

・研究代表者

- (1) 研究分担者・協力者を総括、スプリットルシフェラーゼ利用カプシド形成阻害剤探索系で NPDepo30,000 化合物から得たヒット化合物5種のうち NPD7819/NPD684 に HepaRG 細胞/HepAD38.7 細胞を用いた抗ウイルス活性を確認。
- (2) 田中班から疑似ウイルスバイオナノカプセル(BNC)を用いたウイルス侵入阻害剤探索系を導入。
- (3) 脇田班と連携し HBV 受容体 NTCP 発現抑制、抗ウイルス活性発現 RO41-5253 見出、NCTP 標的ウイルス侵入阻害の有効性提示。化合物探索用 HepG2-NTCP 細胞+3%DMSO 感染効率 50%系を感染研から導入。
- (4) 抗ウイルス活性測定用蛍光核酸試薬 Eprobe を用いた HBV pg RNA 抗ウイルス剤探索系を確立。
- (5) 研究分担者・協力者を総括、慢性 HBV 肝線維化予防・治療候補薬開発では、ヒット化合物 CMR05 (IC<sub>50</sub>: 5.4μM; 自作ヒト肝細胞移植キメラマウス HBV 線維化モデルで有効)の構造活性相関研究で 70 倍高活性低毒性 CMR46 (IC<sub>50</sub>:80nM)を得て、標的 TGF-β LAP タンパクとのドッキングシュミレーション、共結晶化成功、ヒト肝細胞移植キメラマウス HBV 線維化田中モデルで薬効試験中(1月中旬試験終了年度末までに解析)。
- (6) 劇症肝炎の治療薬開発では、HBV 劇症肝炎茶山モデルへの核トランスグルタミナーゼ(TG2)による転写因子 Sp1 架橋・不活性化機構関与を見出、肝細胞株を用いた高速大規模核 TG2 阻害剤探索系で NPDepo 約 30,000 化合物から phenosafranin がヒット、年度末までに薬効評価。

・研究分担者 (小川健司)

- (1) 分泌型 Gaussia ルシフェラーゼを用いたヌクレオカプシド形成阻害化合物探索: 1年目構築コアタンパク質 HBc の二量体形成を可視化・数値化する高速大規模探索系を用いて2年目に5種のヒット化合物取得。



・研究分担者（平野秀典）

- (1) CMR46 のクマリン骨格が、標的潜在型 TGF- $\beta$ -LAP の  $\alpha$  ヘリックスと活性型 TGF- $\beta$  のループに挟まれたスポットに入り、4 位から伸びた官能基が TGF- $\beta$  活性化を引き起こす LAP R58-L59 の切断を阻害しているという分子ドッキング結果を得た。

・研究分担者（白水美香子）

- (1) NMR 実験により、ヒット化合物 CMR05 よりリード候補 CMR46 が水溶液中で安定であること確認。CMR46 と標的 TGF $\beta$ LAP タンパク質との共結晶化に成功。

・研究分担者（吾郷日出夫）

- (1) IFN $\alpha$ 2 型受容体細胞外ドメインと IFN $\alpha$ 2 の発現コンストラクトを構築、蛍光 IFN 疑似薬 RO8191 の結合位置についての初期的知見を得た。

・研究分担者（松浦知和）

- (1) 6 大学(7 施設)での臨床検体収集体制構築、2013 年 1 月より検体（血液、肝臓等）収集開始。  
 (2) 鈴木(治)、金井、堂前と一緒に既存の HBV 産生株細胞 Hep2.2.15 とコントロールである HepG2 細胞の比較オミックス（トランスクリプトーム解析、メチルフィコーム解析）実施。  
 (3) 研究協力者の坪田と一緒に SCID マウスより更に免疫不全状態でヒト由来細胞の生着率が良い NOD-scid IL2Ry<sup>null</sup> に uPA をマウス肝臓特異的に発現させた TK-NOG マウスのヒト肝臓キメラマウスを作成中

・研究分担者（名越澄子）

- (1) 埼玉医科大、慈恵医科大、山口大、岩手医科大、岐阜大、東大の 6 大学 7 施設から再活性化症例、急性肝不全症例、兄弟姉妹で病態の異なる慢性肝炎症例などの HBV 感染症例 87 検体収集。約半数は未治療症例

・研究分担者（鈴木治和）

- (1) HBV 感染 Hep2.2.15 細胞とラミブジン、アデフォビル、テノフォビル投与同細胞を用い、宿主側の関与因子のトランスクリプトーム解析を実施。ncRNA も含めて解析中。

・研究分担者（堂前直）

- (1) 同上述の細胞を用いメチルフィコームを行い感染細胞で NTCP へ関連が指摘されたリゾホスファチジルコリンアセチル転移酵素のアセチル化変化を見出

・研究分担者（金井好克）

- (1) ターゲットプロテオミクスを用い NTCP タンパク質高感度絶対質量分析計定量法確立。

・研究分担者（相崎英樹）

- (1) ウイルス侵入阻害化合物探索用 HepG2-NTCP 細胞+3%DMSO 感染効率 50%系を構築。  
 (2) HBV 粒子からコレステロールを除き、そこに蛍光コレステロールを戻した蛍光ウイルス構築

・研究分担者（種村健太郎）

- (1) HBV 付随肝線維化予防・治療薬リード候補化合物 CMR46 の 0, 100, 300, 1000 mg/kg 単回経口投与で一般状態観察、病理解剖所見、肝機能影響評価において異常所見は検出されず。

・研究分担者（渡辺恭良）

- (1) ヒト肝細胞移植キメラマウス HBV 感染モデル動物の PET 撮像用システムを整備。<sup>11</sup>C 標識 telbivudine を用い PET イメージングを試み、実験環境条件検討、問題点洗い出し。  
 (2) 非侵襲的抗 HBV 薬の動物モデル体内動態イメージング系確立のため <sup>18</sup>F entecavir 標識法開発。

#### IV. 平成 26～28 年度の課題

- (1) コアタンパク質カプシド形成阻害抗ウイルスヒット化合物 NPD7819/NPD684 : 26 年度リード化合物候補取得、有用性をキメラマウスで確認。一般毒性試験+新規毒性アレイ評価系毒性調査。  
 (2) 経口 IFN 疑似薬 R08191 の改良 : 26 年度 R08191-IFNR2 立体構造解析の結果を計算、血中安定誘導体を合成、生物活性評価、リード化合物候補取得、キメラマウスで有用性確認。毒性調査。  
 (1)と(2)は 27 年度にリード化合物取得、毒性評価、臨床的意義検討、臨床研究計画準備。導出活動開始。28 年度薬効向上、薬物動態改善、毒性回避のため化学修飾をし、前臨床試験を開始。

- (3) 侵入阻害剤大規模探索：蛍光標識疑似ウイルスバイオナノカプセル(BNC)を用いた侵入阻害剤-田中班連携、並びに NTCP を標的とした侵入阻害剤-脇田班連携 26 年度田中班から導入した蛍光標識 BNC を用いた侵入阻害 HTS 系で大規模探索。脇田班作製 NTCP 発現持続ウイルス産生株 HepG2-NTCP で生物活性評価。
- (4) RNase H 活性阻害剤/コアプロモータ活性阻害剤大規模探索：26 年度それぞれ度脇田班から導入簡易ルシフェラーゼ(Luc)測定 HTS 系/森屋班から導入コアプロモータ Luc 安定発現株 HTS 系で大規模探索。抗ウイルス活性を Eprobe を用いた HBV pg RNA 量/オメガアンプを用いた HBV DNA 測定量で確認、ヒット化合物取得。27 年度に構造活性相関 2 次探索、合成展開、in silico 探索、構造解析によりリード候補化合物を得てキメラマウスで薬効評価。28 年度に毒性評価と構造活性相関研究によりリード化合物を得て導出活動開始。
- (5) TGF  $\beta$  LAP 断片標的 HBV 付随肝線維化治療薬 CMR46 誘導体開発—田中班連携 26 年度 CMB46 と LAP 共結晶解析結果を基に in silico 探索、合成、LAP 共結晶を構造解析、in vitro 培養系と田中 HBV 付随肝線維化モデルで活性評価してリード化合物取得、毒性評価、臨床的意義検討、臨床研究計画準備。導出活動開始。27 年度薬効向上、薬物動態改善、毒性回避のため化学修飾をし、28 年度までに前臨床試験を開始。
- (6) 核 TG2 標的劇症肝炎治療薬開発—茶山班連携 26 年度 TG2 核局在阻害剤 phenosafranin 誘導体構造活性相関研究、茶山 HBV 付随劇症肝炎モデルで有望化合物薬効評価、リード候補化合物。27 年度にリード化合物取得、毒性評価、臨床的意義検討、臨床研究計画準備。導出活動開始。28 年度薬効向上、薬物動態改善、毒性回避のため化学修飾をし、可能であれば前臨床試験開始。
- (7) 26 年度臨床検体収集完了 重症化に関与する臨床的指標探索、網羅的比較定量プロテオミクスによるタンパク質変動解析、再活性化症例、急性肝不全症例、兄弟姉妹で病態の異なる慢性肝炎症例のトランスクリプトーム解析による新規標的因子同定、27~28 年度(1)~(4)に使用
- (8) 26 年核酸アナログ耐性 HBV 産生株と NOG マウス系樹立確立、27~28 年度(1)~(6)に使用
- (9) 26 年  $^{18}\text{F}$  標識 entecavir・満屋班核酸アナログ剤を PET プローブ化、動物モデル体内動態イメージングを実施、27~28 年度(1)~(4)で得るリード化合物に応用。

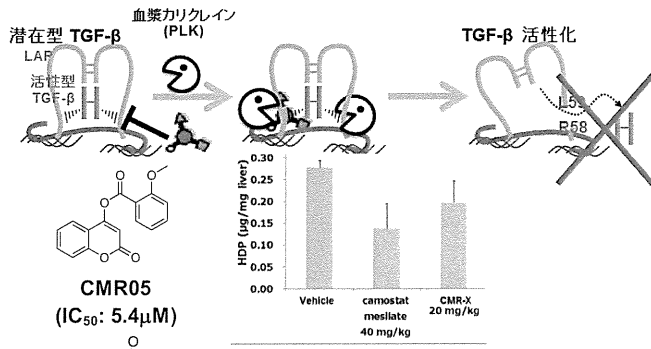
## V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) HBV 制圧の為の創薬基盤を形成、副作用の少ない新薬開発に貢献、患者の予後改善に資する。
- (2) 日本版 NIH サポートの下での生命基盤施設の創薬研究への有用性を示すモデルケース、産学官連携研究への布石。大規模化合物バンクと高速大規模探索に、京コンピュータや次世代シーケンサー、プロテオミクス技術を組合わせた次世代生命基盤技術の融合は多くの疾病克服に有用。医療費軽減を期待
- (3) SPring-8 での標的タンパク質-薬剤複合体結晶構造解析/SACLA での創薬に向けた構造機能解析、分子イメージングを用いた薬物動態解析と DDS 合理的開発の技術開発を通し創薬に貢献。

## VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

1. Watashi K, Sluder A, Daito T, Matsunaga S, Ryo A, Nagamori S, Iwamoto M, Nakajima S, Tsukuda S, Borroto-Esoda K, Sugiyama M, Tanaka Y, Kanai Y, Kusahara H, Mizokami M, Wakita T. Cyclosporin A and its analogs inhibit hepatitis B virus entry into cultured hepatocytes through targeting a membrane transporter NTCP. *Hepatology* in Press.
2. Sakata, K., Hara, M., Terada, T., Watanabe, N., Takaya, D., Yaguchi, S., Matsumoto, T., Matsuura, T., Shirouzu, M., Yokoyama, S., Yamaguchi, T., Miyazawa, K., Aizaki, H., Suzuki, T., Wakita, T., Imoto, M., and Kojima, S. (2013) HCV NS3 protease enhances liver fibrosis via binding to and activating TGF- $\beta$  type I receptor. *Sci. Rep.* 3:3243.
3. Matsumoto Y, Matsuura T, Aoyagi H, Matsuda M, Hmwe SS, Date T, Watanabe N, Watashi K, Suzuki R, Ichinose S, Wake K, Suzuki T, Miyamura T, Wakita T, Aizaki H. Antiviral activity of glycyrrhizin against hepatitis C virus in vitro. *PLoS One* 2013;8:e68992.
4. Watashi K, Liang G, Iwamoto M, Marusawa H, Uchida N, Daito T, Kitamura K, Muramatsu M, Ohashi H, Kiyohara T, Suzuki R, Li J, Tong S, Tanaka Y, Murata K, Aizaki H, Wakita T. Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Trigger Restriction of Hepatitis B Virus Infection via a Cytidine Deaminase Activation-induced Cytidine Deaminase (AID). *J Biol Chem.* 2013 ;288: 31715-27.
5. 山本由佳、原詳子、小嶋聡一 (2013) TGF- $\beta$  活性化反応と治療・診断への応用、*医学のあゆみ*「肝線維化研究 Update—基礎から臨床へ」244(6) :533-537

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

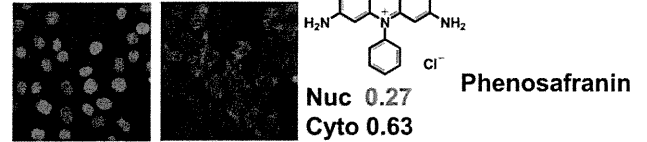
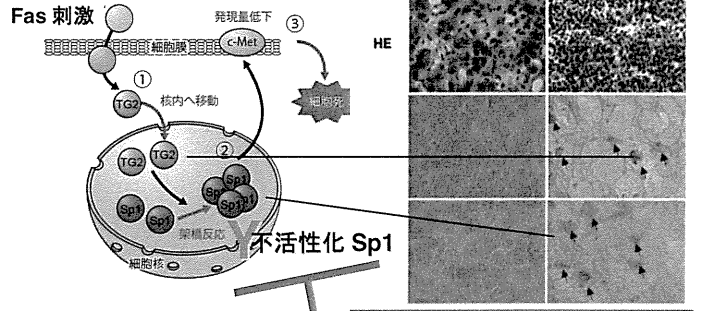


CMR05  
(IC<sub>50</sub>: 5.4 μM)

CMR46  
(IC<sub>50</sub>: 80 nM)

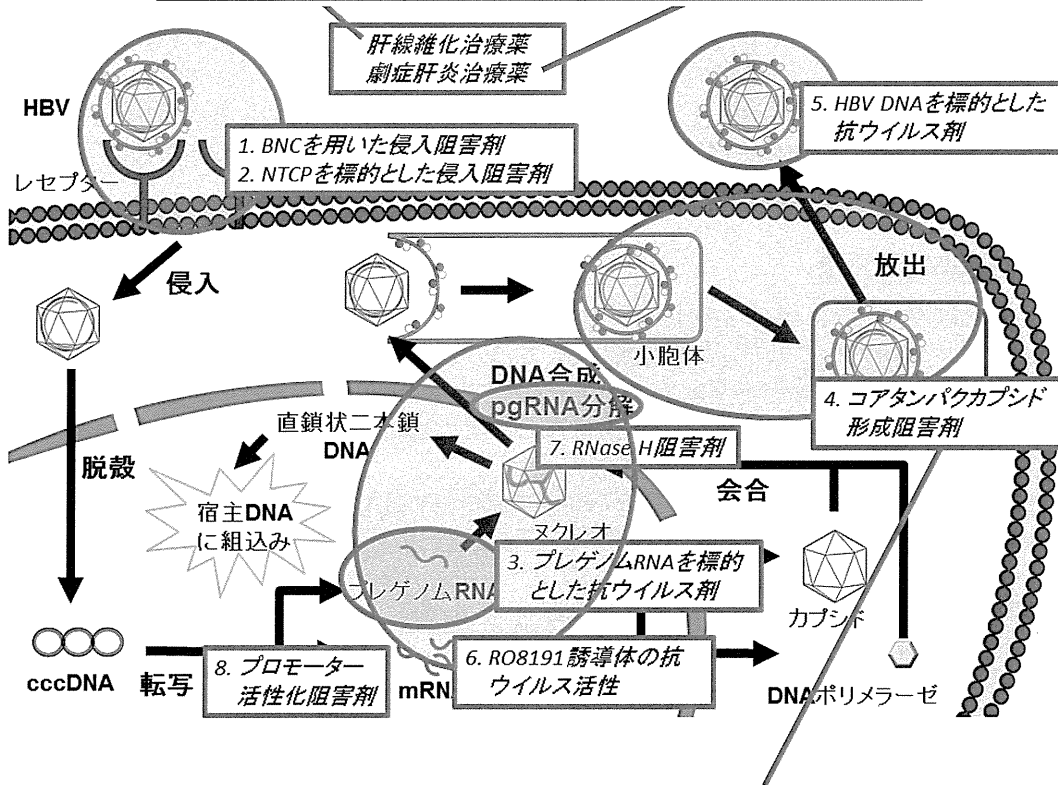
動物実験進行中

TGF β 活性化阻害剤の HBV 線維化抑制活性

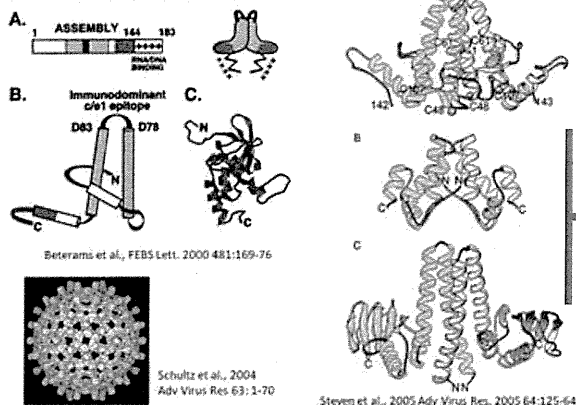


HBV 劇症肝炎抑制が期待される核 TG2 阻害剤

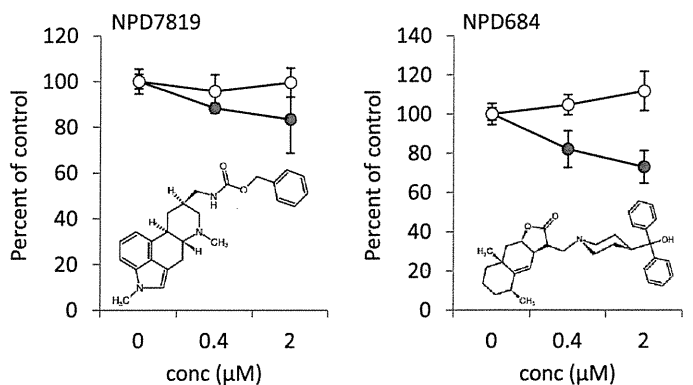
小嶋班で行う抗HBV薬探索・病態改善薬の開発



Structures of the HBV core protein (HBc) A



HBc 二量体阻害ヒット化合物の抗ウイルス活性



## ●研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

### ・過去に所属した研究機関の履歴

1981年4月～1990年3月 東京工業大学  
 1990年4月～1993年3月 ニューヨーク大学医療センター  
 1993年4月～現在に至る 独立行政法人理化学研究所

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

Daniel B. Rifkin (ニューヨーク大学医療センター・教授)、  
 Scott L Friedman (マウントシナイ医療センター・教授)、  
 掛谷秀昭 (京都大学・教授)、佐藤靖史 (東北大学・教授)、森脇久隆 (岐阜大学・教授)、  
 池嶋健一 (順天堂大学・准教授)、河田則文 (大阪市立大学・教授)  
 松浦知和 (東京慈恵会医科大学・准教授)、相崎英樹 (国立感染症研究所・室長)

<指導教官> 広瀬茂久 (東京工業大学大学院)、斎藤佑尚 (東京工業大学大学院)

### ・主な研究課題

ケミカルバイオロジー的手法を用いて病気、特に肝疾患の病態形成機構に関わる蛋白質修飾反応を見出し、創薬基盤のための基礎研究を展開、実用化に向けて医学部や企業と応用研究を実施し、ユニークなスクリーニング系を構築、展開した。

具体的な研究課題は以下の通りである。

- ① レチノイド(ビタミンAとその誘導体)による新規転写調節機構
- ② 核内レチノイド受容体のリン酸化に関する研究
- ③ 非環式レチノイドの作用機構解析
- ④ TGF- $\beta$  活性化反応を標的とした肝疾患の新規診断法、治療・予防法開発
- ⑤ トランスグルタミナーゼによる転写因子架橋不活性化を介する肝細胞死に関する研究
- ⑥ 腫瘍血管新生の制御

### ・これまでの研究実績

<欧文>

- 1.Sato, M., Hikita, H., Hagiwara, S., Sato, M., Soroida, Y., Suzuki A., Gotoh, H., Iwai T., Kojima S., Matsuura, T., Yotsuyanagi, H., Koike, K., Yatomi, Y., and Ikeda, H. Potential associations between perihepatic lymph node enlargement and liver fibrosis, hepatocellular injury, or hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis B virus infection. MS under consideration
- 2.Sakata, K., Eda, S., Kirita, A., Lee, E-S., Hara, M., Imoto, M., and Kojima, S. VEGF-induced neovessel formation contributes to liver fibrosis via providing latent transforming growth factor- $\beta$  for activation by plasma kallikrein on the surface of hepatic stellate cells. MS under consideration.
- 3.Hara, M., Kirita, A., Kondo, W., Matsuura, T., Nagatsuma, K., Dohmae, N., Ogawa, S., Imajoh-Ohmi, S., Friedman, S. L., Rifkin, D. B., and Kojima, S. LAP degradation products as a surrogate marker of plasma kallikrein-dependent TGF- $\beta$  activation reaction during hepatic fibrosis in patients. MS under consideration.
4. ***Sakata, K., Eda, S., Lee, E-S., Hara, M., Imoto, M., and Kojima, S. VEGF-induced Neovessel formation promotes liver fibrosis via providing latent transforming growth factor- $\beta$ . *Biochem. Biophys. Res. Commun. in press.****

5. Qin, X-Y., Wei, F., Tanokura, M., Ishibashi, N., Shimizu, M., Moriwaki, H., and Kojima, S.  
Comparative studies on the effect of acyclic retinoid on metabolomics profiling of hepatocytes and hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One* in press.
6. Sakata, K., Hara, M., Terada, T., Watanabe, N., Takaya, D., Yaguchi, S., Matsumoto, T., Matsuura, T., Shirouzu, M., Yokoyama, S., Yamaguchi, T., Miyazawa, K., Aizaki, H., Suzuki, T., Wakita, T., Imoto, M., and Kojima, S. Hepatitis C virus NS3 protease enhances liver fibrosis via provoking TGF- $\beta$  signals through binding and activating TGF- $\beta$  type I receptor. *Sci. Rep.* in press.
7. Uranbileg, B., Enooku, K., Soroida, Y., Ohkawa, R., Kudo, Y., Tateishi, R., Yoshida, H., Kojima, S., Matsuura, T., Koike, K., Yatomi, Y., and Ikeda, H. High ubiquitous mitochondrial creatine kinase expression in hepatocellular carcinoma denotes a poor prognosis with highly-malignant potential. *Int. J. Cancer* in press.
8. Miura, A., Kambe, Y., Inoue, K., Tatsukawa, H., Kurihara, T., Kojima, S., and Miyata, A. (2013) PACAP type 1 receptor (PAC1) gene is suppressed by transglutaminase 2 activation through crosslinking of Sp1. *J. Biol. Chem.* 288(45):32720-32730.
9. Kasahara, K., Kaneda, M., Miki, T., Iida, K., Sekino-Suzuki, N., Kawashima, I., Suzuki, H., Shimonaka, M., Arai, M., Ohno-Iwashita, Y., Kojima, S., Abe, M., Kobayashi, T., Okazaki, T., Souri, M., Ichinose, A., and Yamamoto, N. (2013) Clot retraction is mediated by factor XIII-dependent fibrin- $\alpha$ IIb  $\beta$ 3-myosin axis in platelet sphingomyelin-rich membrane rafts. *Blood* 122(19):3340-3348.
10. Itoh, M., Tatsukawa, H., Lee, E-S., Yamanishi, K., Kojima, S., and Hitomi, K. (2013) Tissue distribution of in situ activities for transglutaminases during mouse embryo development. *J. Histochem. Cytochem.* 61(11):793-801.
11. Kuo, T.-F., Tatsukawa, H., and Kojima, S. (2012) Regulation of transglutaminase-mediated hepatic cell death in alcoholic steatohepatitis and non-alcoholic steatohepatitis. *J. Gastro. Hepatol.* 27(suppl 2) : 52-57.
12. Kuo, T.-F., Tatsukawa, H., Matsuura, T., Nagatsuma, K., Hirose, S., and Kojima, S. (2012) Free fatty acids induce transglutaminase 2-dependent apoptosis in hepatocytes via ER stress-stimulated PERK pathways. *J. Cell Physiol.* 227(3):1130-1137.
13. Kuo, T. -F., Tatsukawa, H., and Kojima, S. (2011) New insights into functions and localization of nuclear transglutaminase 2. (Review) *FEBS J.* 278(24):4756-4767.
14. Watanabe, N., Aizaki, H., Matsuura, T., Kojima, S., Wakita, T., and Suzuki, T. (2011) Hepatitis C virus RNA replication in human stellate cells regulates gene expression of extracellular matrix-related molecules. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 407(1):135-140.
15. Tatsukawa, H., Sano, T., Fukaya, Y., Ishibashi, N., Watanabe, M., Okuno, M., Moriwaki, H., and Kojima, S. (2011) Dual induction of caspase 3- and transglutaminase-dependent apoptosis by acyclic retinoid in hepatocellular carcinoma cells. *Molecular Cancer* 10(1):4 (11pages).
16. Kojima, S., Kuo, T.-F., Tatsukawa, H., and Hirose, S. (2010) Induction of crosslinking and silencing of Sp1 by transglutaminase during liver injury in ASH and NASH via different ER stress pathways. *Digestive Diseases.* 28(6):715-721.
17. Furumai, R., Uchida, K., Komi, Y., Yoneyama, M., Ishigami, K., Watanabe, H., Kojima, S., and Yoshida, M. (2010) Spliceostatin A blocks angiogenesis by inhibiting global gene expression including VEGF. *Cancer Sci.* 101(11):2483-2489.
18. Mukhopadhyay, B., Liu, J. Osei-Hyiaman, D., Godlewski, G., Mukhopadhyay, P., Wang, L., Jeong, W., Gao, B., Duyster, G., Mackie, K., Kojima, S., and Kunos, G., (2010) Transcriptional regulation of cannabinoid receptor-1 expression in the liver by retinoic acid acting via retinoic acid receptor- $\gamma$ . *J. Biol. Chem.* 285(25):19002-19011.
19. Komi, Y., Sogabe, Y., Ishibashi, N., Sato, Y., Moriwaki, H., Shimokado, K. and Kojima, S. (2010) Acyclic retinoid inhibits angiogenesis by suppressing the MAPK pathway. *Lab. Invest.* 90(1):52-60.
20. Tatsukawa, H., Fukaya, Y., Frampton, G., Martinez-Fuentes, A., Suzuki, K., Kuo, T.-F., Nagatsuma, K., Shimokado, K., Okuno, M., Wu, J., Iismaa, S., Matsuura, T., Tsukamoto, H., Zern, M. A., Graham, R. M., and Kojima, S. (2009) Role of transglutaminase 2 in liver injury via crosslinking and silencing of transcription factor, Sp1. *Gastroenterology* 136(5):1783-1795.
21. Botella, L. M., Rodriguez-Sanz, F., Komi, Y., Fernandez-L, A., Varela, E., Garrido-Martin, E. M., Narla, G., Friedman, S. L., and Kojima, S. (2009) TGF- $\beta$  regulates expression of KLF6 and its splice variants, and promotes cooperative transactivation of common target genes through a Smad3-Sp1-KLF6 interaction. *Biochem. J.* 419(2):485-495.
22. Komi, Y., Suzuki, Y., Shimamura, M., Kajimoto, S., Nakajo, S., Masuda, M., Shibuya, M., Itabe, H., Shimokado, K., Oettgen, P., Nakaya, K., and Kojima, S. (2009) Mechanism of inhibition of tumor

- angiogenesis by  $\beta$ -hydroxyisovalerylshikonin. *Cancer Sci.* 100(2):269-277.
23. Komi, Y., Ohno O., Suzuki, Y., Shimamura, M., Shimokado, K., Umezawa, K., and Kojima, S. (2007) Inhibition of tumor angiogenesis by targeting endothelial surface ATP synthase with sangivamycin. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 37(11):867-873.
  24. Yamazaki, K., Shimizu, M., Okuno, M., Matsushima-Nishiwaki, R., Kanemura, N., Araki, H., Tsurumi, H., Kojima, S., Weinstein, I. B., and Moriwaki, H. (2007) Synergistic effects of RXR  $\alpha$  and PPAR  $\gamma$  ligands to inhibit growth in human colon cancer cells—phosphorylated RXR  $\alpha$  is a critical target for colon cancer management. *Gut.* 56(11):1557-1563.
  25. Kojima, S. (2006) Change erythrocytes into thrombolytic agents. *Blood* 108(6):1789-1790.
  26. Furutani, Y., Kato, A., Fibriani, A., Hirata, T., Kawai, R., Jeon, J.-H., Fujii, Y., Kim, I.-G., Kojima, S., and Hirose, S. (2005) Identification, evolution, and regulation of expression of guinea pig trappin with an unusually long transglutaminase substrate domain. *J. Biol. Chem.* 280(21):20204-20215.
  27. Suzuki, Y., Komi, Y., Ashino, H., Yamashita, J., Inoue, J., Yoshiki, A., Eichmann, A., Amanuma, H., and Kojima, S. (2004) Retinoic acid controls blood vessel formation by modulating endothelial and mural cell interaction via suppression of Tie2 signaling in vascular progenitor cells. *Blood* 104 (1) :166-170.
  28. Kojima, S., Okuno, M., Matsushima-Nishiwaki, R., Friedman, S. L., and Moriwaki, H. (2004) Acyclic retinoid in the chemoprevention of hepatocellular carcinoma (Review). *Int. J. Oncol.* 24(4): 797-805.
  29. Matsushima-Nishiwaki, R., Okuno, M., Takano, Y., Kojima, S., Friedman, S. L., and Moriwaki, H. (2003) Molecular mechanism for growth suppression of human hepatocellular carcinoma cells by acyclic retinoid. *Carcinogenesis.* 24 (8): 1353-1359.
  30. Akita, K., Okuno, M., Enya, M., Imai, S., Moriwaki, H., Kawada, N., Suzuki, Y., and Kojima, S. (2002) Impaired liver regeneration in mice by lipopolysaccharide via TNF- $\alpha$ /kallikrein- mediated activation of latent TGF- $\beta$ . *Gastroenterology* 123 (1): 352-364.
  31. Matsushima-Nishiwaki, R., Okuno, M., Adachi, S., Sano, T., Akita, K., Moriwaki, H., Friedman, S. L., and Kojima, S. (2001) Phosphorylation of retinoid X receptor  $\alpha$  at serine 260 impairs its metabolism and function in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.* 61 (20): 7675-7682.
  32. Shimada, J., Suzuki, Y., Kim, S.-J., Wang, P.-C., Matsumura, M., and Kojima, S. (2001) Transactivation via retinoic acid receptor/RXR-Sp1 interaction: characterization of binding between Sp1 and GC box motif. *Mol. Endocrinol.* 15 (10): 1677-1692.
  33. Okuno, M., Akita, K., Moriwaki, H., Kawada, N., Ikeda, K., Kaneda, K., Suzuki, Y., and Kojima, S. (2001) Prevention of rat hepatic fibrosis by the protease inhibitor, camostat mesilate, via reduced generation of active TGF- $\beta$ . *Gastroenterology* 120 (7):1784-1800.
  34. Kojima, S., Hayashi, S., Shimokado, K., Suzuki, Y., Shimada, J., Crippa, M. P., and Friedman, S. L. (2000) Transcriptional activation of urokinase by the Krüppel-like factor Zf9/COPEB activates latent TGF- $\beta$  1 in vascular endothelial cells. *Blood* 95 (4): 1309-1316.
  35. Okuno, M., Sato, T., Kitamoto, T., Imai, S., Kawada, N., Suzuki, Y., Yoshimura, H., Moriwaki, H., Onuki, K., Masushige, S., Muto, Y., Friedman, S. L., Kato, S., and Kojima, S. (1999) Increased 9,13-di-cis-retinoic acid in rat hepatic fibrosis: implication for a potential link between retinoid loss and TGF- $\beta$  mediated fibrogenesis in vivo. *J. Hepatol.* 30 (6): 1073-1080.
  36. Suzuki, Y., Shimada, J., Shudo, K., Matsumura, M., Crippa, M. P., and Kojima, S. (1999) Physical interaction between retinoic acid receptor and Sp1: mechanism for induction of urokinase by retinoic acid. *Blood* 93 (12): 4264-4276.
  37. Okuno, M., Moriwaki, H., Muto, Y., and Kojima, S. (1998) Protease inhibitors suppress TGF- $\beta$  generation by hepatic stellate cells. *J. Hepatol.* 29(6): 1031-1032.
  38. Matsuura, T., Kawada, M., Hasumura, S., Nagamori, S., Obata, T., Yamaguchi, M., Hataba, Y., Tanaka, H., Shimizu, H., Unemura, Y., Nonaka, K., Iwaki, T., Kojima, S., Aizaki, H., Mizutani, S., and Ikenaga, H. (1998) High density culture of immortalized liver endothelial cells in the radial-flow bioreactor for development of an artificial liver. *Int. J. Artificial Organs.* 21(4): 229-234.
  39. Yoshizawa, M., Miyazaki, H., and Kojima, S. (1998) Retinoids potentiate TGF- $\beta$  activity in bovine endothelial cells through up-regulating the expression of TGF- $\beta$  receptors. *J. Cell. Physiol.* 176(3): 565-573.
  40. Okuno, M., Moriwaki, H., Imai, S., Muto, Y., Kawada, N., Suzuki, Y., and Kojima, S. (1997) Retinoids exacerbate rat liver fibrosis by inducing the activation of latent TGF- $\beta$  in liver stellate cells. *Hepatology* 26 (4): 913-921.

41. Imai, S., Okuno, M., Moriwaki, H., Muto, Y., Murakami, K., Shudo, K., Suzuki, Y., and Kojima, S. (1997) 9, 13-di-cis-Retinoic acid induces the production of tPA and activation of latent TGF- $\beta$  via RAR $\alpha$  in a human liver stellate cell line, LI90. *FEBS Lett.* 411 (1): 102-106.
42. Kojima, S., Inui, T., Muramatsu, H., Suzuki, Y., Kadomatsu, K., Yoshizawa, M., Hirose, S., Kimura, T., Sakakibara, S., and Muramatsu, T. (1997) Dimerization of midkine by tissue transglutaminase and its functional implication. *J. Biol. Chem.* 272 (14): 9410-9416.
43. Nunes, I., Kojima, S., and Rifkin, D. B. (1996) Effects of endogenously activated transforming growth factor- $\beta$  on growth and differentiation of retinoic acid-treated HL-60 cells. *Cancer Res.* 56 (3): 495-499.
44. Kojima, S., Muramatsu, H., Amanuma, H., and Muramatsu, T. (1995) Midkine enhances fibrinolytic activity of bovine endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 270 (16): 9590-9596.
45. Kojima, S., Nara, K., and Rifkin, D. B. (1993) Requirement for transglutaminase in the activation of latent transforming growth factor- $\beta$  in bovine endothelial cells. *J. Cell Biol.* 121(2): 439-448.
46. Kojima, S., and Rifkin, D. B. (1993) Mechanism of retinoid-induced activation of latent transforming growth factor- $\beta$  in bovine endothelial cells. *J. Cell. Physiol.* 155(2): 323-332.
47. Kojima, S., Harpel, P. C., and Rifkin, D. B. (1991) Lipoprotein (a) inhibits the generation of transforming growth factor  $\beta$ : an endogenous inhibitor of smooth muscle cell migration. *J. Cell Biol.* 113(6): 1439-1445.
48. Kojima, S., Sekiya, F., Inada, Y., Sato, F., Tsukada, T., and Saito, Y. (1990) Cooperativity between platelet-activating factor and collagen in aggregation of bovine platelets III. *FEBS Lett.* 267(2): 226-228.
49. Nara, K., Nakanishi, K., Hagiwara, H., Wakita, K., Kojima, S., and Hirose, S. (1989) Retinol-induced morphological changes of cultured bovine endothelial cells are accompanied by a marked increase in transglutaminase. *J. Biol. Chem.* 264(32): 19308-19312.
50. Kojima, S., Tadenuma, H., Inada, Y., and Saito, Y. (1989) Enhancement of plasminogen activator activity in cultured endothelial cells by granulocyte colony-stimulating factor. *J. Cell. Physiol.* 138(1): 192-196.
51. Kojima, S., Hagiwara, H., Soga, W., Shimonaka, M., Saito, Y., and Inada, Y. (1987) Transglutaminase in endothelial cells from bovine carotid artery. *Biomed. Res.* 8(1): 25-29.
52. Kojima, S., Soga, W., Hagiwara, H., Shimonaka, M., Saito, Y., and Inada, Y. (1986) Visible fibrinolysis by endothelial cells: effect of vitamins and sterols. *Biosci. Rep.* 6(12): 1029-1033.

## &lt;邦文&gt;

1. 佐藤希美、大越麻由、合川貴博、松村恵里、橋本紋佳、五十嵐則夫、山野幹夫、坪井良治、小嶋聡一 (2013) 琥珀エタノール抽出物による VEGF 発現の亢進ならびに育毛促進作用、*Aesthetic Dermatology*、印刷中
2. 山本由佳、原詳子、小嶋聡一 (2013) *TGF-β 活性化反応と治療・診断への応用、医学のあゆみ「肝線維化研究 Update-基礎から臨床へ」*244(6):533-537
3. 桐田暁子、原詳子、小嶋聡一 (2012) 肝線維症とサイトカイン、*TGF-β*、*肝胆膵*、65(2):211-218
4. 原詳子、小嶋聡一 (2010) *TGF-β* と線維症、*医学のあゆみ* 第1土曜特集「*TGF-β* シグナル研究—メカニズムの解明から新たな治療へ—」■*疾病と TGF-β* シグナル伝達異常— *TGF-β* を標的とした 線維症の予防・治療法、診断法開発の試み、234(10):977-982
5. 大原麻由、武田令子、梅平和孝、佐藤希美、Eun-Seo LEE、五十嵐則夫、山野幹夫、小嶋聡一 (2010) 琥珀アルコール抽出画分の皮膚ターンオーバー促進、およびヒアルロン酸産生促進効果について、*日本化粧品学会誌*、34(2):89-101
6. 辰川英樹、小嶋聡一 (2009) アルコール性肝障害の新規肝細胞死誘導経路の発見、*バイオサイエンスとインダストリー* 67(8):423-427
7. 辰川英樹、小嶋聡一 (2003) 生体内バイオハイブリッド反応: 架橋多機能性酵素トランスグルタミナーゼによるタンパク質の機能変換 *化学工業* 54(12): 908-915
8. 小嶋聡一、奥野正隆 (2002) ビタミンAと肝障害. 特集:ビタミンA研究の最前線、*細胞* 34(3): 104-107.
9. 一瀬白帝、小嶋聡一 (2000) トランスグルタミナーゼ関連疾患の分子病態、*実験医学* 18(10): 1421-1425.
10. 小嶋聡一、一瀬白帝 (2000) トランスグルタミナーゼとアポトーシス、*生化学* 72(3): 198-202.
11. 奥野正隆、秋田國治、森脇久隆、小嶋聡一 (2000) 肝星細胞をターゲットにした肝線維化の治療、*肝胆膵* 40(2): 263-272.
12. 小嶋聡一、一瀬白帝 (1999) トランスグルタミナーゼ: タンパク質架橋反応が司る多彩な生命 現象、*細胞工学* 18(7): 1030-1038.
13. 奥野正隆、小嶋聡一 (1998) 肝星細胞とレチノイド、*細胞* 30(14): 572-575.
14. 小嶋聡一 (1998) 線溶系因子の発現調節機構、*現代医療* 30(6): 1549-1556.
15. 小嶋聡一 (1997) 線溶因子の発現調節機構—レチノイドによる組織線溶の調節—、*医学のあゆみ* 182(5): 293-298.
16. 小嶋聡一 (1997) レチノイドによる組織線溶の調節: レチノイド-PA-TGF-β システムの機序と 意義、*生化学* 69(2): 104-108.
17. 小嶋聡一、稲田祐二 (1994) ビタミンAによる血管内皮細胞の機能調節、*蛋白質核酸酵素* 39(1): 66-73.
18. 小嶋聡一、齊藤佑尚、稲田祐二 (1989) 血管内皮細胞 7・5 血小板との相互作用、*現代化学増刊* 16: 67-71.



## &lt;特許出願&gt;

1. 小嶋聡一、大原麻由、佐藤希美「琥珀から得られるエンドセリン-1 産生抑制剤、SCF 産生抑制剤、及び／又はメラニン産生抑制剤並びにその使用」  
特願 2011-112736 平成 23 年 5 月 19 日出願
2. 掛谷秀昭、服部明、高須康明、藤井信孝、大石真也、小嶋聡一、原詳子  
「新規 TGF- $\beta$  シグナル伝達阻害剤」  
JP2011/53428 平成 23 年 2 月 17 日 PCT 出願
3. 小嶋聡一、原詳子、松本武久、高谷大輔  
「TGF- $\beta$  受容体の活性化を抑制する活性を有する化合物、そのスクリーニング方法、並びにC型肝炎ウイルスに起因する疾患の予防又は治療のための組成物」  
特願 2010-192803 平成 22 年 8 月 30 日出願 (国内優先取下)  
JP2011/069620 平成 23 年 8 月 30 日 PCT 出願
4. 助永義和、小嶋聡一、原詳子  
「アイソフォーム特異的TGF- $\beta$  活性化反応を抑制する抗体」  
特願2010-34449 平成22年2月19日出願 (国内優先取下)  
JP2011/053559 平成 23 年 2 月 18 日 PCT 出願
5. 小嶋聡一、寺岡龍太郎  
「TGF- $\beta$  活性化反応阻害物質」  
特願2007-058222 平成19年3月8日出願 (国内優先取下)  
平成20年3月7日出願  
US優先権出願 12/044463 登録番号7,732,401 (平成22年6月8日)  
EU EPC出願 08004355.7 登録番号EU 1967526(平成22年2月24日)  
JP PCT 出願 特願 2008-058486
6. 小嶋聡一、近藤和嘉子、掛谷秀昭、長田裕之、坂本康治、中田忠  
「TGF- $\beta$  情報伝達経路阻害剤」  
特願2003-367654 平成15年10月28日出願 (国内優先取下)  
JP2004/016370 平成16年10月28日PCT出願  
JP PCT 出願 特願 2005-515065 登録番号 4688680 (平成 23 年 2 月 25 日)
7. 小嶋聡一、近藤和嘉子、堂前直  
「TGF- $\beta$  活性化制御領域の切断面を認識する抗体」  
特願2003-313014 平成15年9月4日出願 (国内優先取下)  
JP2004/013189 平成16年9月3日PCT出願 US,EP,JP移行手続き済  
US優先権出願 10/570606 登録番号7,803,553 (平成22年9月28日)  
US優先権出願 12/856195 登録番号8,198,412 (平成24年6月12日)  
EU EPC出願 04772928.0  
JP PCT 出願 特願 2005-513729 登録番号 4653660 (平成 22 年 12 月 24 日)

# 次世代生命基盤技術を用いた B型肝炎制圧のための創薬研究

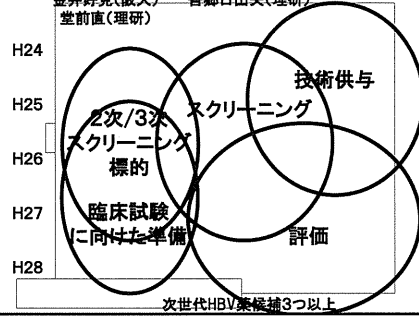
総括代表 理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター  
微量シグナル制御技術開発特別ユニットリーダー 小嶋聡一

## 次世代生命基盤技術を用いたB型肝炎制圧のための創薬研究

総括代表 理化学研究所 小嶋聡一  
松浦知和(慈恵医大) 小川健司(理研) 相崎英樹(感染症研)  
名越澄子(埼玉医大) 平野秀典(理研) 種村健太郎(東北大)  
鈴木治和(理研) 白水美香子(理研) 渡辺恭良(理研)  
金井好克(阪大) 吾郷日出夫(理研)  
堂前直(理研)

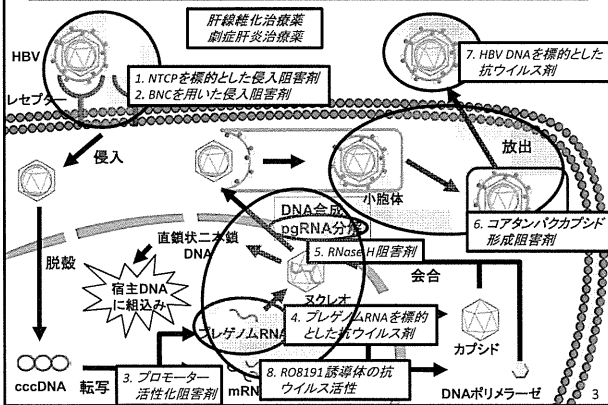
連携研究

- 脳田班
- 田中班
- 茶山班
- 満屋班
- 下遠野班
- 森屋班
- 小原班
- 成松班

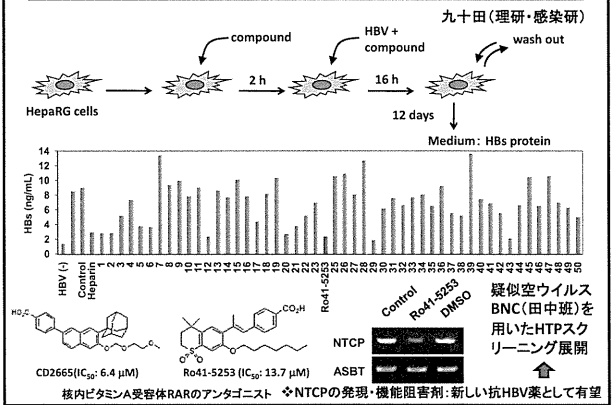


次世代HBV薬候補3つ以上

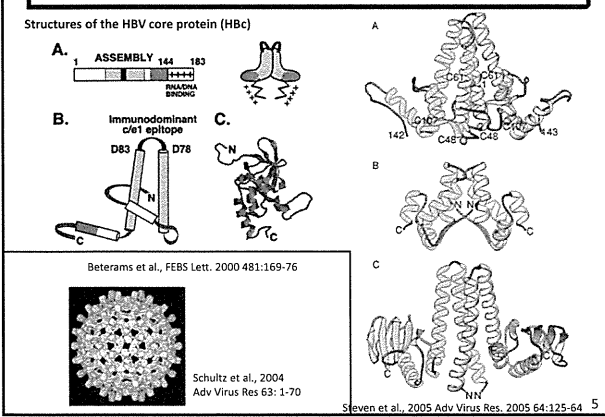
### 小嶋班で行う抗HBV薬探索・病態改善薬の開発



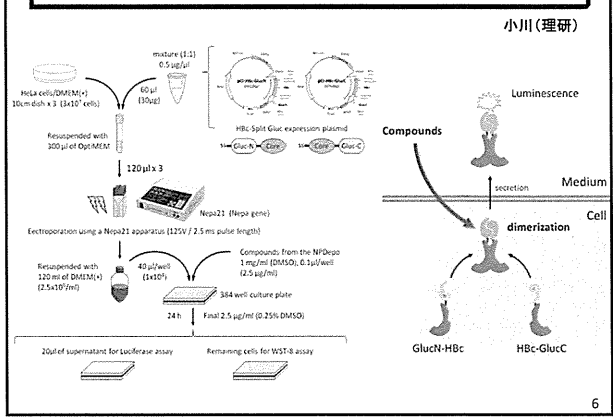
### 生ウイルスを用いた侵入阻害剤スクリーニング

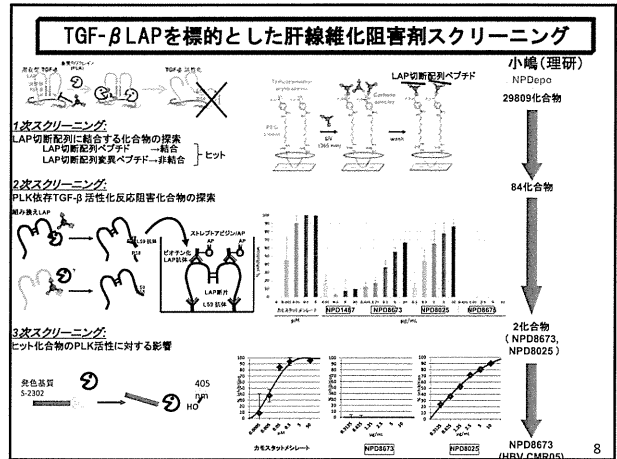
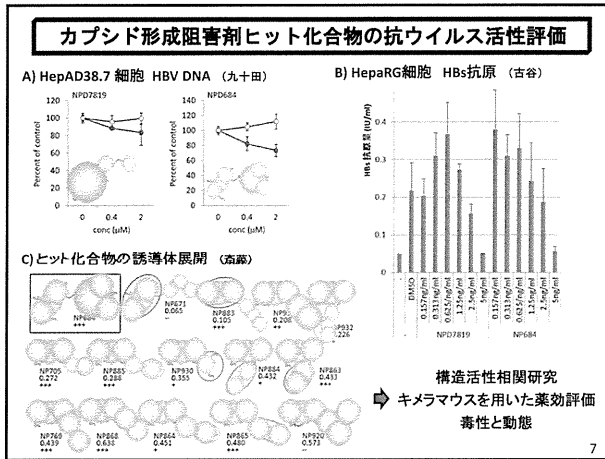


### コアタンパクカプシド形成阻害剤スクリーニング



### 分割ルシフェラーゼを用いたカプシド形成阻害剤スクリーニング

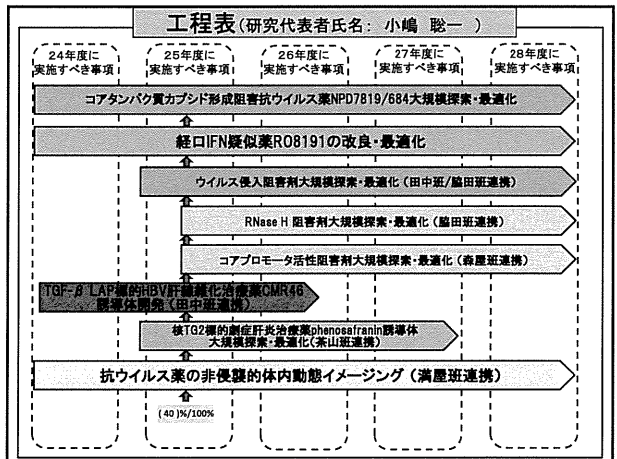
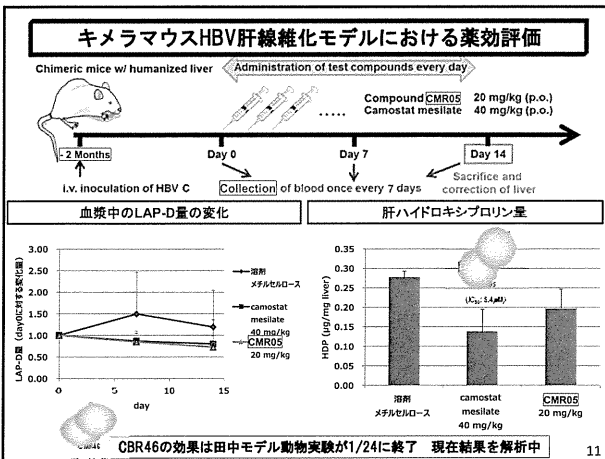
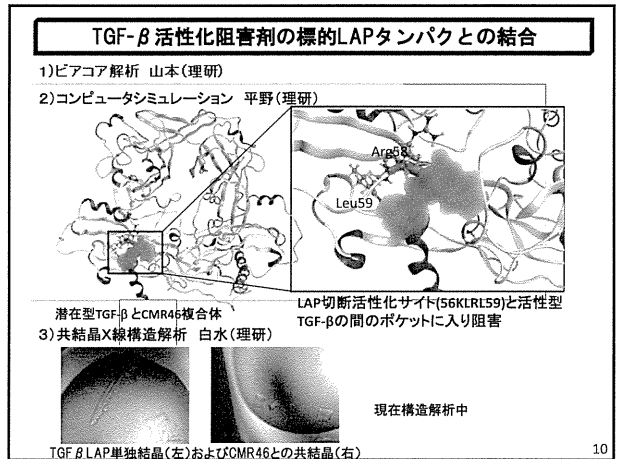




### TGF-β LAP阻害ヒット化合物の構造活性相関研究

山本(理研)

Compound	TGF-β Activation (% inhibition)	PLK activity (% inhibition)	Compound	TGF-β Activation (% inhibition)	PLK activity (% inhibition)	Compound	TGF-β Activation (% inhibition)	PLK activity (% inhibition)
CMR05	60 ± 18 (0.4 μM)	0	CMR19	35 ± 4	N.D.			
CMR06	61 ± 7 (0.73 μM)	0	CMR20	31 ± 37	N.D.	CMR30	0 ± 23	N.D.
CMR07	42 ± 5	0	CMR21	42 ± 10	N.D.			
CMR39	23 ± 6	N.D.						
CMR46	69 ± 16 (0.08 μM)	0	CMR49	2 ± 7	N.D.	CMR50	0 ± 15	N.D.
CMR41	22 ± 1	N.D.						
CMR27	76 ± 1	N.D.	CMR17	28 ± 37	N.D.	CMR01	58 ± 4	39
			CMR18	25 ± 3	N.D.	CMR02	0 ± 4	0



## 利益相反について

### 利益相反の有無等(平成25年度)

- ア 利益相反の有無 有(無)いずれかを記載  
イ 利益相反がある場合には具体的内容(以下に記載)

13

## 他の研究班への参加状況

研究代表者が、「肝炎等克服緊急対策研究事業」または「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(肝炎関係研究分野)」研究班の研究代表者として参加しているか(ア又はイに記載)

- ア 上記研究事業の研究班の研究代表者として参加していない。  
イ 上記研究事業の研究班の研究代表者として参加している。  
(以下①、②を記載)

- ①「C型肝炎ウイルスに起因する肝硬変に対する抗線維化治療薬の開発に関する研究班」(研究代表者名:木村公則)  
②上記研究では、分担研究者として、PRI-724投与後のヒト、マウス検体について血漿TGF- $\beta$ 、LAP等の線維化マーカーを測定し、HCVに伴う肝線維化に対するPRI-724の薬効評価をした。本事業小嶋班では、同じテクニックを用いて、HBVに伴う、肝線維化に対する新薬の開発研究を行っており、対象候補薬が違う。

14

## 合同研究班会議開催状況

### 他の研究班と合同での研究班会議開催状況(平成25年度)

- ア 他の研究班と合同で研究班会議を開催していない。  
イ 他の研究班と合同で研究班会議を開催している。  
(開催している場合は、①開催日、②他の研究班の名称、③他の研究班の研究代表者名を記載してください)

・平成25年5月10日  
革新的な動物モデルや培養技術の開発を通じたHBV排除への創薬研究(茶山一彰)  
・平成25年9月9日  
B型肝炎ウイルスにおける糖鎖の機能解析と医用応用技術の実用化へ(成松久)  
B型肝炎ウイルスの感染複製機構の解明に関する研究(臨田隆幸)  
HBVの感染初期過程を評価する系の開発とそれを用いた感染阻害低分子化合物およびレセプター探索(下道野邦忠)  
・平成25年10月13日  
B型肝炎ウイルス感染症に対する新規の治療薬の研究・開発(満屋裕明)  
平成25年5月2日田中博人研究班会議、平成25年6月2日森屋恭爾研究班会議へ参加・共同研究討議

15