

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

研究進捗状況報告書の概要

1 研究プロジェクト

学校法人名	慶應義塾	大学名	慶應義塾大学
研究プロジェクト名	ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点		
研究観点	研究拠点を形成する研究		

2 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

これまでの薬剤の発見・設計では、大半の薬剤が宝探しのようによりて発見されてきた。現代の創薬プロセスでは、疾患標的分子同定、リード化合物探索、作用機序解析、という3つの工程により薬剤を発見・設計する。本プロジェクトは、創薬の3つの工程をそれぞれ研究課題とする各研究ユニットを「データフロー」という情報の受渡しで連動させる。

データ駆動型という全く新しい創薬システムは、次の特徴を有する：

1. 実験・解析結果をオミックスデータとして研究ユニット間で受け渡すことにより、創薬の研究過程で生じる膨大なデータをビッグデータベースとして蓄積できる、
2. データフローをモニタリングすることにより、創薬の全工程を情報の流れとして表現できると同時に、創薬過程で生じた問題点を蓄積データから解析的にトレースバックして、その解析結果を各工程にフィードバックできる。

そして、蓄積された創薬ビッグデータベースを学内外に広く公開することにより、生命科学・医科学・創薬科学に大きく資することも目的とする。

本目的のために、基礎科学(生命科学, 生命情報学)・医科学(臨床学, 腫瘍学)・分析化学(メタボローム)に従事してきた研究者を、疾患標的分子同定、リード化合物探索、作用機序解析の3つの創薬工程における研究ユニットとして配置して、創薬研究を強力に推進するための研究拠点を形成する。

具体的には、慶應義塾大学理工学部の有する生命情報学的スクリーニング技術および情報解析技術に対して、医学部発の臨床検体・培養細胞からの標的分子を入力として、出力となるリード化合物の細胞内での作用機序を理工学部の統計数理解析技術および環境情報学部のメタボローム解析技術で解析する。

3 研究プロジェクトの進捗及び成果の概要

本年度はプロジェクト3年目にあたり、前半期間が終了して、中間評価の年となる。プロジェクトメンバーの間での共同研究により、医学部で樹立されたがん細胞株に対して、理工学部で遺伝子発現、エピゲノム、糖鎖プロファイル、抗がん剤感受性のオミックスデータ、環境情報学部でメタボロームデータが生成され、目標とするデータ駆動型創薬システムと創薬データベースが構築されつつある。

具体的には、医学部発の臨床検体・培養細胞の樹立において、アンドロゲンに依存して増殖し、アンドロゲンを除去するとアポトーシスを起こすヒト前立腺癌細胞株 LNCaP や C4-2 を、アンドロゲン除去の血清の下で 1-2 年培養し、アンドロゲンがなくても安定的に増殖する細胞株(去勢抵抗性前立腺

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

がん株, CRPC), LNK06, LNK012, LNK024, C4-2AT6, C4-2AT12, C4-2AT24 を樹立し, がんの悪性度に応じた, 進展メカニズム解明に有用な実験系を確立することができた。

次に, 理工学部の有する生命情報学的スクリーニング技術および情報解析技術の確立において, 次世代シーケンサーによるバイサルファイトシーケンスとそのデータに基づくエピゲノム情報解析技術, および, small RNA-seq と mRNA-seq による発現差異遺伝子の検出技術を確立し, これらの網羅的ゲノム解析技術を用いて前立腺がんの悪性化過程を解析し, プロジェクトメンバーとの共同研究による創薬データベース構築のためのデータを蓄積した。さらに, Similarity Network Fusion (SNF) 法を用いたマルチオミックス統合解析のバイオインフォマティクス手法の開発を達成した。続いて, 抗がん剤感受性の解析として, 悪性度の高い CRPC モデル LNK024 および C4-2AT24 の生存率を, LNCaP や C4-2 のそれに比べて半分以下にする化合物として Survivin 阻害剤 YM155 がヒットした。一方, 天然物スクリーニングから得られた活性物質を FormycinA と同定し, その薬理活性を評価した。その結果, この化合物の他のがん細胞株に対する感受性が CRPC 細胞に比べて低いことから, FormycinA はがん細胞の中でも特に CRPC 細胞に対して抗がん活性を持つことが分かった。当初計画の予定通り, 悪性度の高い CRPC に選択的に細胞死を誘導する化合物2種(YM155 および FormycinA)を取得した。さらに, 前立腺がん悪性化株などの細胞株を用いて, 糖鎖プライマー法によりガングリオ系列, ネオラクト系列, ムチン型, グリコサミノグリカン型など糖鎖解析を実施した。LC-MS による構造解析により, 階層的なビッグデータとして取り扱い可能な糖鎖プロファイルを取得した。

環境情報学部のメタボローム解析技術の確立として, 陽イオン性代謝物および陰イオン性代謝物用のシースレス CE-MS(キャピラリー電気泳動・質量分析計)法をそれぞれ新たに開発し, 数倍から数十倍の高感度化を達成した。

過去3年間にわたる網羅的実験と解析により本プロジェクトが蓄積した, がん細胞株に対するマルチオミックスの創薬データベースを表1にまとめる。

表 1:がん細胞株に対するマルチオミックスデータ

	LnCaP	LNK06	LNK024	C4-2	C4-2AT6	C4-2AT24
トランスクリプトーム	✓	✓	△	△	△	△
非コードRNA	✓	✓	△	△	△	△
メチローム	△	△	△	✓	✓	✓
メタボローム	✓	✓	✓	✓	✓	✓
糖鎖プロファイル	✓	✓	△	✓	✓	△
化合物感受性	✓	✓	✓	✓	✓	✓

✓:解析済み, △:解析予定

上記データベースが本プロジェクト前半期の研究集大成である。世界でも類を見ない貴重な創薬データベースを構築することができた。本創薬データベースは, 残り2年間をかけて, 最終年度に完成する予定である。

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

**平成26年度選定「私立大学戦略的研究基盤形成支援事業」
研究進捗状況報告書**

1 学校法人名 慶應義塾 2 大学名 慶應義塾大学

3 研究組織名 理工学部・理工学研究科

4 プロジェクト所在地 神奈川県横浜市港北区日吉 3-14-1

5 研究プロジェクト名 ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点

6 研究観点 研究拠点を形成する研究

7 研究代表者

研究代表者名	所属部局名	職名
榊原 康文	理工学部・理工学研究科	教授

8 プロジェクト参加研究者数 9 名

9 該当審査区分 理工・情報 生物・医歯 人文・社会

10 研究プロジェクトに参加する主な研究者

研究者名	所属・職名	プロジェクトでの研究課題	プロジェクトでの役割
榊原康文	理工学部・教授	バーチャルスクリーニング・分子プロファイル解析および創薬ビッグデータベース構築	次世代シーケンス解析, バイオインフォマティクス解析およびデータベースの構築, 研究統括
井本正哉	理工学部・教授	ケミカルバイオロジースクリーニング	ケミカルバイオロジー技術を用いた標的分子に相互作用する化合物の探索
岡浩太郎	理工学部・教授	生理活性イメージング	細胞イメージング技術を用いた化合物の作用解析
佐藤智典	理工学部・教授	グライコーム解析	糖鎖プライマー法を用いた糖鎖プロファイル解析
土居信英	理工学部・教授	薬剤標的タンパク質のプロテオーム解析およびペプチド医薬リードの In vitro スクリーニング	試験管内選択法を用いた薬剤と相互作用するタンパク質の探索およびペプチド医薬リードの最適化
南美穂子	理工学部・教授	作用機序解析における統計数理, 多次元データに対する多重比較	大規模データからの情報抽出における有意性の統計的解析, 特徴量抽出法の構築
大家基嗣	医学部・教授	泌尿器がん標的分子同定	前立腺がんなどの検体解析, 細胞株樹立および標的分子の同定

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

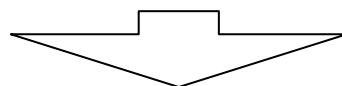
鈴木秀和	医学部・教授	消化器がん標的分子同定	胃がん・肝臓・膵臓がんなどの検体解析と標的分子の同定
曾我朋義	環境情報学部・教授	メタボローム解析	CE-MS 法を用いた検体および細胞内の網羅的メタボローム解析
(共同研究機関等)			

<研究者の変更状況(研究代表者を含む)>

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
消化器がん標的分子同定	医学部・准教授	鈴木秀和	試験管内選択法を用いた薬剤と相互作用するタンパク質の探索およびペプチド医薬リードの最適化

(変更の時期:平成 27 年 11 月 1 日)



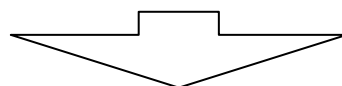
新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
医学部・准教授	医学教育統轄センター・教授(有期・医学部)	鈴木秀和	試験管内選択法を用いた薬剤と相互作用するタンパク質の探索およびペプチド医薬リードの最適化

旧

プロジェクトでの研究課題	所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
薬剤標的タンパク質のプロテオーム解析およびペプチド医薬リードの In vitro スクリーニング	理工学部・准教授	土居信英	胃がん・肝臓・膵臓がんなどの検体解析と標的分子の同定

(変更の時期:平成 29 年 4 月 1 日)



新

変更前の所属・職名	変更(就任)後の所属・職名	研究者氏名	プロジェクトでの役割
理工学部・准教授	理工学部・教授	土居信英	胃がん・肝臓・膵臓がんなどの検体解析と標的分子の同定

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

11 研究進捗状況(※ 5枚以内で作成)

(1) 研究プロジェクトの目的・意義及び計画の概要

これまでの薬剤の発見・設計では、大半の薬剤が宝探しのようによって発見されてきた。現代の創薬プロセスでは、疾患標的分子同定、リード化合物探索、作用機序解析、という3つの工程により薬剤を発見・設計する。本プロジェクトは、創薬の3つの工程をそれぞれ研究課題とする各研究ユニットを「データフロー」という情報の受渡しで連動させる。

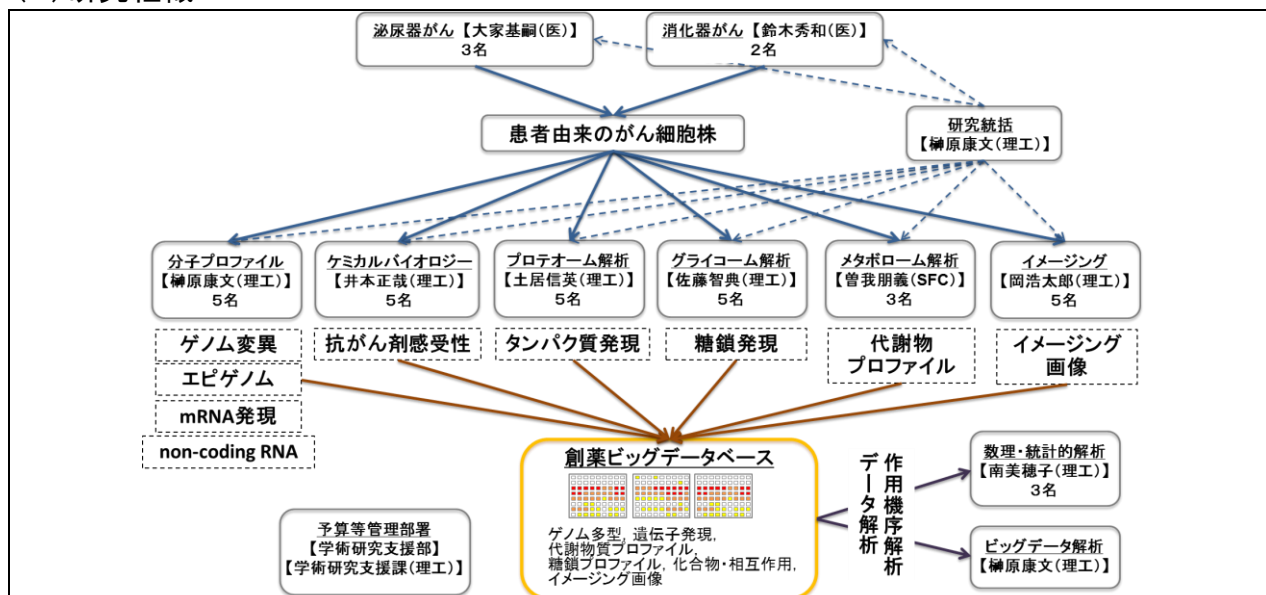
データ駆動型という全く新しい創薬システムは、次の特徴を有する：

1. 実験・解析結果をオミックスデータとして研究ユニット間で受け渡すことにより、創薬の研究過程で生じる膨大なデータをビッグデータベースとして蓄積できる、
2. データフローをモニタリングすることにより、創薬の全工程を情報の流れとして表現できると同時に、創薬過程で生じた問題点を蓄積データから解析的にトレースバックして、その解析結果を各工程にフィードバックできる。

そして、蓄積された創薬ビッグデータベースを学内外に広く公開することにより、生命科学・医科学・創薬科学に大きく資することも目的とする。本目的のために、基礎科学(生命科学、生命情報学)・医科学(臨床学、腫瘍学)・分析化学(メタボローム)に従事してきた研究者を、疾患標的分子同定、リード化合物探索、作用機序解析の3つの創薬工程における研究ユニットとして配置して、創薬研究を強力に推進するための研究拠点を形成する。

具体的には、慶應義塾大学理工学部の有する生命情報学的スクリーニング技術および情報解析技術に対して、医学部発の臨床検体・培養細胞からの標的分子を入力として、出力となるリード化合物の細胞内での作用機序を理工学部の統計数理解析技術および環境情報学部のメタボローム解析技術で解析する。まず、創薬プロセスにおける疾患標的分子同定、リード化合物探索、作用機序解析、という3つの工程にそれぞれ研究課題とする各研究ユニットを配置する。次に、各ユニットの解析結果を徹底的にデジタルデータ化する。そして各ユニット間を「データフロー」という情報の受渡しパイプラインで連動させる。一方、各研究ユニットの実験成果は組織・細胞・生体高分子および有機物であるため、それら生体物質から情報を取り出してデータ化するために、DNAなどの生体分子を高速に解析する次世代シーケンス解析、第3の生体鎖である糖鎖をプロファイリングするグライコーム解析を支援するサブユニットも設置する。これにより、真に情報化された創薬プロセスの実現と、創薬システムを回転させるたびに蓄積される膨大な創薬ビッグデータのデータベース構築が可能となる。

(2) 研究組織



法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

(3) 研究施設・設備等

- ・ 慶應義塾大学理工学部:面積 360m², 研究室数 6, 使用者数 28 名.
- ・ 慶應義塾大学医学部:面積 128m², 研究室数 2, 使用者数 5 名.
- ・ 慶應義塾大学先端生命科学研究所:面積 726m², 研究室数 1, 使用者数 3 名.
- ・ 次世代シーケンサー MiSeq(Illumina 社) (平成 26 年度購入), 稼働時間数 120 時間 (月平均)
- ・ 質量分析装置一式(amazon SL・窒素ガス発生装置システム) (平成 27 年度購入), 稼働時間数 100 時間 (月平均)

(4) 進捗状況・研究成果等 ※下記、13及び14に対応する成果には下線及び*を付すこと。

＜現在までの進捗状況及び達成度＞

【医学部発の臨床検体・培養細胞の樹立および標的分子の同定】

前立腺癌や尿路上皮がんおよび腎細胞癌において, 新規に耐性株の樹立に取り組み, この 3 年間で, 実際に有用な細胞株を樹立することができた. 具体的には, アンドロゲンに依存して増殖し, アンドロゲンを除去するとアポトーシスを起こすヒト前立腺癌細胞株 LNCaP や C4-2 を, アンドロゲン除去の血清の下で 1-2 年培養し, アンドロゲンがなくても安定的に増殖する細胞株(去勢抵抗性前立腺がん株, CRPC), LNK06, LNK012, LNK024, C4-2AT6, C4-2AT12, C4-2AT24 を樹立し, がんの悪性度に応じた, 進展メカニズム解明に有用な実験系を確立することができた.

ピロリ菌感染宿主において, 胃発がんリスクを規定する新しい分子を同定(*1)し, そのメカニズムを分子生物学的に明確にできた. 具体的には, ピロリ菌感染に伴う宿主細胞の CD44v9 発現を制御する分子を同定することができ, これにより, 本研究課題の達成目標である CD44v9 発現制御手法の開発に向けて, CD44v9 にプラスして, 新しい標的分子の同定ができた.

【理工学部の有する生命情報学的スクリーニング技術および情報解析技術の確立】

本プロジェクトのメンバーである大家から供与された 2 つの CRPC モデル細胞系列(LNKO と C4-2)の中からアンドロゲン不含培地で 0, 12 と 24 か月持続培養した細胞株を選択し(LNCaP, LNK012, LNK024 および C4-2, C4-2AT12, C4-2AT24), これら 6 種の細胞に SCADS の 400 化合物を添加, 72 時間後の細胞生存率を CellTiter-Glo(Promega)にて測定した. その結果, 悪性度の高い CRPC モデル LNK024 および C4-2AT24 の生存率を, LNCaP や C4-2 のそれに比べて半分以下にする化合物として Survivin 阻害剤 YM155 がヒットした. 一方, 天然物スクリーニングから得られた活性物質を FormycinA と同定し, その薬理活性を評価した. その結果, この化合物の他のがん細胞株に対する感受性が CRPC 細胞に比べて低いことから, FormycinA はがん細胞の中でも特に CRPC 細胞に対して抗がん活性を持つことが分かった. 当初計画の予定通り, 悪性度の高い CRPC に選択的に細胞死を誘導する化合物2種(YM155 および FormycinA)を取得した.

次世代シーケンサーによるバイサルファイトシーケンスとそのデータに基づくエピゲノム情報解析技術の確立と前立腺がんの悪性化過程に関する成果, small RNA-seq と mRNA-seq のよる発現差異遺伝子の検出技術の確立(*2)とやはり前立腺がんの悪性化過程に関する成果, これらの網羅的ゲノム解析技術を用いてプロジェクトメンバーとの共同研究による創薬データベース構築のためのデータ蓄積, Similarity Network Fusion(SNF)法を用いたマルチオミクス統合解析のバイオインフォマティクス手法の開発を達成した.

これまでに, 前立腺がん, 胃がん, 肺がん, 乳がん, 肝がんなどの細胞株を用いて, 糖鎖プライマー法によりガングリオ系列, ネオラクト系列, ムチン型, グリコサミノグリカン型など糖鎖解析を実施(*3)

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

した。LC-MS による構造解析により、階層的なビッグデータとして取り扱い可能な糖鎖プロファイリングを行った。また、細胞の転移性やウイルス感染性と関与した糖鎖の機能解明を行った。

エネルギー代謝とミトコンドリア機能についての系統的なイメージング研究を進めてきており、細胞内 Ca イオン、ATP 量、ミトコンドリア膜電位などのエネルギー代謝に関わるパラメータが種々のミトコンドリア機能阻害薬物によりどのように経時変化するかを蛍光ライブイメージングで明らかにすることに成功(*4)している。細胞局所の Mg イオン濃度を計測するための新規な蛍光プローブの開発に成功し、ミトコンドリアは内膜と外膜の間の空間での Mg イオン放出の可視化に成功した。

スクリーニングされた薬剤の標的タンパク質の探索やその標的タンパク質に対する抗体医薬の創出に利用するための mRNA ディスプレイ法および DNA ディスプレイ法を拡張した基盤技術を確立(*5)した。

非負値行列分解法(NMF)や Max-min 距離非負値行列分解法(MMDNMF)法を糖鎖データに適用することにより、遺伝子発現量を低次元の非負値の基底関数で表現したところ、腫瘍マーカーとされる糖鎖は、固有の基底関数値が大きくなるという結果が得られ、この方法の腫瘍マーカーの探索法としての有効性が示された。

【環境情報学部のメタボローム解析技術の確立】

メタボローム解析は、現在は基礎研究から産業応用まで様々な分野で使われているが、さらなる高感度化が望まれている。そこで、本研究では、陽イオン性代謝物および陰イオン性代謝物用のシースレス CE-MS(キャピラリー電気泳動-質量分析計)法をそれぞれ新たに開発(*6)し、数倍から数十倍の高感度化を達成した。

<特に優れた研究成果>

CRPCについて、その去勢抵抗性獲得メカニズムには未だ解明されていない部分が多く、また効果的な治療法の開発が期待されている。今回の標的既知化合物スクリーニングの研究成果から Survivin が去勢抵抗性獲得メカニズムに関与している可能性が示唆された。また、天然物スクリーニングの研究成果からは Formycin A が悪性度の高い CRPC に高い抗がん活性を示すことが明らかになり、この Formycin A の標的タンパク質の同定研究を進めることで新たな治療戦略を提案できる可能性がある。

ネオラクト系列とムチン型の糖鎖プロファイリングを元にしたクラスタリングにより、がん細胞を由来の違いにより分類できた。また、前立腺がん等などにおける新たな腫瘍マーカー候補を見いだした。

大規模なデータ取得に向けた mRNA ディスプレイ法のハイスループット化に向けた検討を行い、mRNA ディスプレイ法とマイクロ流体デバイスを組み合わせた pH 応答性一本鎖抗体の試験管内進化の実験系を確立(*7)し、実際に、EGFR に対する一本鎖抗体遺伝子にランダム変異を導入したライブラリーの試験管内選択を5ラウンド行い、pH 応答性結合活性を示す一本鎖抗体を取得することに成功した。

シース液を使わない陽イオン用および陰イオン性メタボローム測定用 CE-MS デバイスを開発し、数倍から数十倍の高感度化を達成した。シースレス CE-MS 法は、感度と操作性の面で優れている全く新しい測定技術であり、今後の産業界の分析機器開発の発展および生命科学、医学分野の希少試料の測定に大きく貢献するはずである。

<問題点とその克服方法>

バイサルファイト法を用いたメチル化シーケンスは初めての挑戦であったため、何度も試行錯誤す

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

る必要があり、時間をかけて技術の確立を行う必要があった。これらの解決にコストと時間が予想以上にかかったが、最終的にはすべて克服することができ、技術と経験の蓄積ができた。

各種細胞株における遺伝子異常を次世代シーケンサーで解析を進めているが、新たに発見された遺伝子異常が多いため、解析対象とする因子の選択が課題である。

疾患標的分子に結合するペプチド／抗体を創出することはバイオ医薬として有用であるが、標的が細胞内の分子である場合、抗体やペプチドなどのタンパク質性の医薬を細胞内に効率よく送達することは難しいという問題点があった。そこで我々は、タンパク質のエンドソーム離脱を促進する新しい膜透過促進ペプチドを探索し、ウニ受精関連タンパク質由来の B18 および B55 ペプチド、および、ヒト由来の S19 ペプチドを新たに同定した(*8)。

<研究成果の副次的効果(実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。)>

・従来法よりも細胞質への送達効率を約 100 倍向上できるヒト由来膜透過促進ペプチドについては、すでに国内及び国際特許出願した：

「融合タンパク質又は複合タンパク質、細胞内送達用担体、部分ペプチド、細胞膜透過促進剤、DNA、及びベクター。特願 2015-118432」

・ムコ多糖症の診断を目指した糖鎖ライブラリーの構築として以下の特許を申請：

「新規糖鎖ライブラリー、並びにその製造方法及びその使用方法、特願 2016-046246」

・IFV の糖鎖認識機能の解析から発展させた高感度な検出手法として以下の特許を申請：

「タンパク質又は病原体の新規検出方法、特願 2015-093132」

・陽イオン用代謝物測定用のシースレス CE-MS 法についてはすでに特許を出願しており(特願 2015-075494)、海外出願も行う予定である。陰イオン用代謝物測定用のシースレス CE-MS 法についても特許を申請する予定である。また、大腸がん特異的な代謝を標的にした創薬候補の特許も研究期間内に出願する予定である。

<今後の研究方針>

最終的な研究目標である：

- ・ 研究ユニットから生産されるサンプルをシーケンスして、分子プロファイルを生成し、データ解析することにより標的分子の絞り込みに貢献する。
- ・ マルチオミックスを統合解析するバイオインフォマティクス手法の開発を行う。
- ・ 分子プロファイルデータの生成とその受け渡しにより各研究ユニットを連動して、データ駆動型の創薬プロセスを実現する。
- ・ 5年間に生成された全オミックスデータを創薬データベースに集約して、創薬データベースを完成する。創薬データベースをインターネット上で学内外に公開する。

を達成するために、加速度的に研究をすすめる方針である。すでに、次世代シーケンス技術、スクリーニング技術、糖鎖プロファイル技術、メタボローム解析技術などの各種技術と情報解析および数理解析の蓄積はできているため、目標の達成は可能であると考えている。

<今後期待される研究成果>

本プロジェクトの第一目的である創薬ビッグデータベースの構築として、上記の表1に示したトランスクリプトーム、非コード RNA、メチローム、メタボローム、糖鎖プロファイル、化合物感受性、さらに細胞イメージングも加えて、すべて揃ったマルチオミックスデータベースを完成し、世界に対して公開する。

次に、この創薬データを活用した医学・生命科学的発見と知見に関する研究成果も生産する。具体

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

的には、機能的に有意性に関するメカニズム解析を進めるに辺り、上述した進行度に応じた細胞株 NKO6, LNK012, LNK024, C4-2AT6, C4-2AT12, C4-2AT24 や、薬剤耐性を獲得した細胞株を有機的に使用することで、メカニズム解析が進み、薬剤耐性や腫瘍の悪性化に関する新たな知見が得られる。また、本プロジェクト独自のがん悪性化細胞株を用いた抗がん剤感受性のスクリーニング、マルチオミックスデータをフルに活用した標的分子の同定とリード化合物の発見も達成する。

<自己評価の実施結果及び対応状況>

上述したように、3つの大きな目標を予想よりも速いスピードで成果を上げてきた。また、研究途中で生じた諸問題もすべて克服することができ、技術と経験の蓄積ができたため、残り2年間の研究を遂行できると見積もっている。

一方で、一部達成できなかった目標もあったが、予定していなかった新たな結果も得られた。例えば、大腸がん組織のマルチオミクスによって、代謝やミトコンドリア異常などの大腸がんの特徴を新たに見いだした。未達成の目標は、残りの2年間で結果を出す予定である。

(プロジェクトに参加する研究者毎の詳細な研究進捗の報告は、別添資料の1に添付。)

<外部(第三者)評価の実施結果及び対応状況>

創薬およびケミカルバイオロジーの分野で日本を代表する三名の外部評価の先生方、

- ・ 神奈川大学特別招聘教授 上村大輔、
- ・ 理化学研究所環境資源科学研究センター副センター長 長田裕之、
- ・ 京都大学大学院薬学研究科教授 掛谷秀昭、

に、第3回シンポジウムに参加していただき、本プロジェクトのメンバーの発表および研究室の学生などによるポスター発表を聴講していただき、審査を行っていただいた。

3名の外部評価者による評価書は別添資料の2に添付してあるが、

「本研究提案は、将に時宜を得たものであり、進捗に期待がかかっている。すでにいくつかの創薬リード、バイオマーカーの提案がなされており、当初の予定以上に研究が進んでいることが見て取れる。益々、研究拠点長のリーダーシップの下に、研究を成功に向けて収束させるように期待する。大きなグループではないが、コンパクトで、精鋭が寄り合った研究組織で好感が持てる。なかなか困難な研究課題ではあるが直実に成果が出ており、研究者集団の中には若い研究者、および女性研究者も含まれており、今後の発展を期待したい。一流雑誌への掲載も含めて、発表論文も順調に出ており、今後をさらに期待したい。」

「大学の研究プロジェクトでは、参加者のベクトルを同じ方向に向かせることが難しいが、榊原先生は、代表者として研究の方向性を示している。具体的には、一つの細胞株に焦点を絞って、そのオミックス解析を経時的に行うことをメンバーに提案し、質の高いビッグデータを取得することに成功している。」

「各参画研究者の技術開発・基礎研究は概ね順調に進展している。また、各参画研究者の応用展開を伴うビッグデータ駆動型創薬システムの確立においては、特に、大家らが樹立した悪性度の極めて高い前立腺がん細胞を共通の研究材料としたプロトタイプにて、着実に研究が進展しており、新しい治療標的分子や治療標的パスウェイの同定や抗がん剤リード化合物の開発が大いに期待できる。さらには、参画研究者間の共同研究成果の主要な学術雑誌への発表をはじめとして、研究成果発表やアウトリーチ活動も順調である。」

など、概ね高評価を受けることができた。

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

12 キーワード(当該研究内容をよく表していると思われるものを8項目以内で記載してください。)

- | | | |
|-------------------------|-----------------------|-------------------|
| (1) <u>マルチオミックス</u> | (2) <u>創薬</u> | (3) <u>抗がん剤</u> |
| (4) <u>バイオインフォマティクス</u> | (5) <u>ケミカルバイオロジー</u> | (6) <u>メタボローム</u> |
| (7) <u>グライコーム</u> | (8) <u>イメージング</u> | |

13 研究発表の状況(研究論文等公表状況。印刷中も含む。)

上記、11(4)に記載した研究成果に対応するものには*を付すこと。

<雑誌論文>

■理工学部 生命情報学科 教授 榊原康文

【平成 26 年度】

1. Kumozaki, S., Sato, K., Sakakibara, Y. A machine learning based approach to de novo sequencing of glycans from tandem mass spectrometry spectrum. *IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform*, 12(6):1267–74, 2015.
2. Afiahayati, Sato, K., and Sakakibara, Y. MetaVelvet-SL: An extension of the Velvet assembler to a de novo metagenomic assembler utilizing supervised learning. *DNA Research*, 22(1): 69–77, 2015.
3. Kamada, M., Hase, S., Sato, K., Toyoda, A., Fujiyama, A., Sakakibara, Y. Whole genome complete resequencing of *Bacillus subtilis* natto by combining long reads with high-quality short reads. *PLOS ONE*, 9(10): e109999, 2014.

【平成 27 年度】

4. Sato, K., Kuroki, Y., Kumita, W., Fujiyama, A., Toyoda, A., Kawai, J., Iriki, A., Sasaki, E., Okano, E., Sakakibara, Y. Resequencing of the common marmoset genome improves genome assemblies and gene-coding sequence analysis. *Sci Rep*, 5:16894, 2015.
5. Kamada, M., Hase, S., Fujii, K., Miyake, M., Sato, K., Kimura, K., Sakakibara, Y. Whole-genome sequencing and comparative genome analysis of *Bacillus subtilis* strains isolated from non-salted fermented soybean foods. *PLOS ONE*, 10(10):e0141369, 2015.

【平成 28 年度】

6. (*2) Tsuchiya, M., Amano, K., Abe, M., Seki, M., Hase, S., Sato, K., and Sakakibara, Y. SHARAKU: An algorithm for aligning and clustering read mapping profiles of deep sequencing in non-coding RNA processing. *Bioinformatic*, 32(12):i369–i377, 2016.
7. Inatsuki, T., Sato, K., and Sakakibara, Y. Prediction of gene structures from RNA-seq data using dual decomposition. *IPSJ Transactions on Bioinformatics*, 9:1–6, 2016.
8. 伊藤詩乃, 田中佑岳, 狩野芳伸, 榊原康文. 医師国家試験を自動解答するプログラムの構築, 人工知能学会論文誌, 31(6): A130–G_1–9.

■理工学部 生命情報学科 教授 井本正哉

【平成 26 年度】

9. Kiga M, Nakayama A, Shikata Y, Sasazawa Y, Murakami R, Nakanishi T, Tashiro E, Imoto M. SMK-17, a MEK1/2-specific inhibitor, selectively induces apoptosis in β -catenin-mutated tumors. *Scientific Report*, 5:8155, 2015.
10. Yoshimaru T, Komatsu M, Tashiro E, Imoto M, Osada H, Miyoshi M, Honda J, Sasa M, and Katagiri T. Xanthohumol suppresses oestrogen-signalling in breast cancer through the specific inhibition of BIG3-PHB2 interaction. *Scientific Report*, 4:7335, 2014.
11. Fujimaki T, Saiki S, Tashiro E, Yamada D, Kitagawa M, Hattori N and Imoto M. Identification of licopyranocoumarin and glycyrurol from herbal medicines as neuroprotective compounds for Parkinson's disease. *PLoS One*, Jun 24;9(6):e100395, 2014.
12. Magi S, Saeki Y, Kasamatsu M, Tashiro E, Imoto M. Chemical genomic-based pathway analyses for epidermal growth factor-mediated signaling in migrating cancer cells. *PLoS One*, 9 (5): e96776, 2014.
13. 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, Kojima S. Neovessel formation promotes liver fibrosis via providing latent transforming growth factor- β . *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1443:950–956, 2014.

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

14. Magi S, Takemoto Y, Kobayashi H, Kasamatsu M, Akita T, Tanaka A, Takano K, Tashiro E, Igarashi Y, Imoto M. 5-Lipoxygenase and CysLT1 regulate EGF-induced cell migration through Tiam1 upregulation and Rac1 activation. *Cancer Science*, 105: 290–206, 2014.

【平成 27 年度】

15. Saito S, Fujimaki T, Panbangred W, Igarashi Y, Imoto M. Antarlides, New-type Androgen Receptor (AR) Antagonists, That Overcome Resistance to AR-targeted Therapy, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 55(8):2728–32, 2016.
16. Kaneta H, Koda M, Saito S, Imoto M, Kawada M, Yamazaki Y, Momose I, Shindo K. Biological activities of unique isoflavones prepared from *Apios Americana Mdeik*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 80(4):774–8, 2016.
17. Mizotani Y, Itoh S, Hotta K, Tashiro E, Oka K, Imoto M. Evaluation of drug toxicity profiles based on the phenotypes of ascidian *Ciona intestinalis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 463(4):656–60, 2015.
18. Kiga M, Nakayama A, Shikata Y, Sasazawa Y, Murakami R, Nakanishi T, Tashiro E, and Imoto M. SMK-17, a MEK1/2-specific inhibitor, selectively induces apoptosis in β -catenin-mutated tumors. *Scientific Report*, 5:8155, 2015.
19. Tashiro E, Imoto M. Chemistry and biology of the compounds that modulate cell migration. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 43(2–3):213–9, 2015.
20. Tashiro E, Imoto M. Chemical biology of compounds obtained from screening using disease models. *Arch. Pharm. Res.*, 38:1651–60, 2015

【平成 28 年度】

21. Shikata Y, Yoshimaru T, Komatsu M, Katoh H, Sato R, Kanagaki S, Okazaki Y, Toyokuni S, Tashiro E, Ishikawa S, Katagiri T, and Imoto M. Protein kinase A inhibition facilitates the antitumor activity of xanthohumol, a valosin-containing protein inhibitor. *Cancer Science*, 2017, in press.
22. Shikata Y, Kiga M, Futamura Y, Aono H, Inoue H, Kawada M, Osada H, and Imoto M. Mitochondrial uncoupler exerts a synthetic lethal effect against β -catenin mutant tumor cells. *Cancer Science*, 2017, in press.
23. Saito S, Fujimaki T, Panbangred W, Sawa R, Igarashi Y, Imoto M. Antarlides F–H, new members of the antarlide family produced by *Streptomyces* sp. BB47. *J. Antibiot*, 2017, in press.
24. Fujimaki T, Saito S, and Imoto M. Arabinol overcomes resistance to AR-targeted therapy. *J. Antibiot*, 2017, in press.
25. Tashiro E, Henmi S, Odake H, Ino S, and Imoto M. Involvement of the MEK/ERK pathway in EGF-induced E-cadherin downregulation. *Biochem Biophys Res Commun*, 477:801–806, 2016.
26. Ikeda H, Shikata Y, Watanapokasin R, Tashiro E, Imoto M. Metacycloprodigiosin (mcPG) induced cell death selectively in β -catenin mutated tumor cells. *J. Antibiot*, 70(1):109–112, 2016.
27. Ioka S, Saitoh T, Iwano S, Suzuki K, Maki S.A., Miyawaki A, Imoto M, and Nishiyama S. Synthesis of firefly luciferin analogues and evaluation of the luminescent properties. *Chem. Eur. J*, 22:9330–9337, 2016.
28. Tashiro E, Imoto M. Screening and target identification of bioactive compounds that modulate cell migration and autophagy. *Bioorg Med Chem*, 24(15):3283–90, 2016.
29. Igarashi Y, Asano D, Sawamura M. In Y, Ishida T, Imoto M. Ulbactins F and G, polycyclic Thiazoline derivatives with tumor cell migration inhibitory activity from *Brevibacillus* sp., *Org. Lett*, 18(7):1658–61, 2016.

■理工学部 生命情報学科 教授 岡浩太郎

【平成 27 年度】

30. Suzuki R, Hotta K, Oka K. Spatiotemporal quantification of subcellular ATP levels in a single HeLa cell during changes in morphology. *Scientific Reports*, 5:16874, 2015.
31. Yamanaka R, Shindo Y, Karube T, Hotta K, Suzuki K, Oka K. Neural depolarization triggers Mg^{2+} influx in rat hippocampal neurons. *Neuroscience*, 310:731–41, 2015.
32. Tanamoto R, Shindo Y, Miki N, Matsumoto Y, Hotta K, Oka K. Electrical stimulation of cultured neurons using a simply patterned indium–tin–oxide (ITO) glass electrode. *Journal of Neuroscience Methods*, 253:272–278, 2015.
33. Shindo Y, Yamanaka R, Suzuki K, Hotta K, Oka K. Intracellular magnesium level determines cell viability in the MPP⁺ model of Parkinson's disease. *Biochim Biophys Acta*, 1853(12):3182–3191, 2015.
34. Ogawa H, Oka K. Direction-specific adaptation in neuronal and behavioral responses of an insect mechanosensory system. *The Journal of Neuroscience*, 35(33):11644–55, 2015.
35. Ogawa M., Shidara H, Oka K, Kurosawa M, Nukina N, Furukawa Y.: Cysteine residues in Cu,Zn-superoxide

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

dismutase are essential to toxicity in *Caenorhabditis elegans* model of amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun.*, 463(4): 1196–202, 2015.

【平成 28 年度】

36. (*4) Yamanaka R, Tabata S, Shindo Y, Hotta K, Suzuki K, Soga T, Oka K. Mitochondrial Mg^{2+} homeostasis decides cellular energy metabolism and vulnerability to stress. *Sci Rep.* 6:30027, 2016.
37. (*4) Shindo Y, Komatsu H, Hotta K, Ariga K, Oka K. An artificial reaction promoter modulates mitochondrial functions *via* chemically promoting protein acetylation. *Sci Rep.* 6:29224, 2016.
38. Shindo Y, Yamanaka R, Suzuki K, Hotta K, Oka K. Altered expression of Mg^{2+} transport proteins during Parkinson's disease-like dopaminergic cell degeneration in PC12 cells. *Biochim Biophys Acta.* 1863(8):1979–84, 2016.
39. Tanamoto R, Shindo Y, Niwano M, Matsumoto Y, Miki N, Hotta K, Oka K. Qualitative and quantitative estimation of comprehensive synaptic connectivity in short- and long-term cultured rat hippocampal neurons with new analytical methods inspired by Scatchard and Hill plots. *Biochem Biophys Res Commun.* 471(4):486–91, 2016.
40. Tanimoto R, Hiraiwa T, Nakai Y, Shindo Y, Oka K, Hiroi N, Funahashi A. Detection of temperature difference in neuronal cells. *Sci Rep.* 6:22071, 2016.

■理工学部 生命情報学科 教授 佐藤智典

【平成 26 年度】

41. K. Hatano, T. Matsubara, Y. Muramatsu, M. Ezure, T. Koyama, K. Matsuoka, R. Kuriyama, H. Kori, T. Sato. Synthesis and influenza virus inhibitory activities of carbosilane dendrimers peripherally-functionalized with hemagglutinin-binding peptide, *J. Med. Chem.*, **57**, 8332–8339, 2014.
42. V. Briones, T. Sato, Ursela G. Bigol, Antibacterial activity of polyethylenimine/carrageenan multi-layer against pathogenic bacteria, *Adv. Chem. Engineering Sci.*, 4:233–241, 2014.

【平成 27 年度】

43. N. Oikawa, T. Matsubara, R. Fukuda, H. Yasumori, H. Hatsuta, S. Murayama, T. Sato, A. Suzuki, K. Yanagisawa. Imbalance in fatty-acid-chain length of gangliosides triggers Alzheimer amyloid deposition in the precuneus, *PLOS ONE*, 10(3):e0121356, 2015.
44. A. Iwasaki, O. Ohno, S. Sumimoto, T. Matsubara, S. Shimada, T. Sato, and K. Suenaga. Mebamamides A and B, Cyclic Lipopeptides Isolated from the Green Alga *Derbesia marina*. *J. Nat. Prod.*, 78:901–908, 2015.
45. T. Ojima, E. Shibata, S. Saito, M. Toyoda, H. Nakajima, M. Yamazaki-Inoue, Y. Miyagawa, N. Kiyokawa, J. Fujimoto, T. Sato, A. Umezawa. Glycolipid dynamics in generation and differentiation of induced pluripotent stem cells. *Scientific Reports*, 5:14988, 2015.
46. Y. Ichida, Y. Utsunomiya, T. Yasuda, K. Nakabayashi, T. Sato, M. Onodera. Functional domains of ZFP809 essential for nuclear localization and gene silencing. *PLOS ONE*, 10(9):e0139274, 2015.

【平成 28 年度】

47. Y. Ichida, Y. Utsunomiya, J. Tomikawa, K. Nakabayashi, T. Sato, M. Onodera. Long time-course monitoring of ZFP809-mediated gene silencing in transgene expression driven by promoters containing MLV-derived PBS, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 80:114–120, 2016.
48. M. Hashizume, A. Onogami, K. Iijima, T. Matsubara, Y. Uchida, T. Sato. Mineralization by dendritic oligomers of apatite-binding peptide under body fluid conditions, *Jap. J. Polym. Sci. Tech.*, 73:55–61, 2016.
49. T. Matsubara, A. Onishi, T. Saito, D. Yamaguchi, T. Sato. Multivalent effect in influenza hemagglutinin-binding activity of sugar-mimic peptide. *Jap. J. Polym. Sci. Tech.*, 73:62–68, 2016.
50. T. Matsubara, A. Onishi, D. Yamaguchi, T. Sato. Heptapeptide ligands against receptor-binding sites of influenza hemagglutinin toward anti-influenza therapy. *Bioorg. Med. Chem.*, 24(5):1106–14, 2016.
51. T. Matsubara, R. Shibata, T. Sato. Binding of hemagglutinin and influenza virus to a peptide-conjugated lipid membrane, *Front. Microbiol.*, 7:468, 2016.
52. T. Matsubara, M. Ujie, T. Yamamoto, M. Akahori, Y. Einaga, T. Sato. Highly sensitive detection of influenza virus by boron-doped diamond electrode terminated with sialic acid-mimic peptide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 113:8981–8984, 2016.
53. T. Matsubara, R. Otani, M. Yamashita, H. Maeno, H. Nodono, T. Sato. Selective intracellular delivery of ganglioside GM3-binding peptide through caveolae/raft-mediated endocytosis. *Biomacromolecules*, in press, 2017.

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

■理工学部 生命情報学科 教授 土居信英

【平成 26 年度】

54. Nagata, T., Shirakawa, K., Kobayashi, N., Shiheido, H., Tabata, N., Sakuma-Yonemura, Y., Horisawa, K., Katahira, M., Doi, N., Yanagawa, H. Structural basis for inhibition of the MDM2:p53 interaction by an optimized MDM2-binding peptide selected with mRNA display. *PLoS ONE*, 9:e109163, 2014.
55. Oyobiki, R., Kato, T., Katayama, M., Sugitani, A., Watanabe, T., Einaga, Y., Matsumoto, Y., Horisawa, K., Doi, N. Toward high-throughput screening of NAD(P)-dependent oxidoreductases using boron-doped diamond microelectrodes and microfluidic devices. *Anal. Chem.*, 86:9570-9575, 2014.

【平成 27 年度】

56. Nagumo, Y., Fujiwara, K., Horisawa, K., Yanagawa, H., Doi, N. PURE mRNA display for *in vitro* selection of single-chain antibodies. *J. Biochem.*, 159:519-526, 2016.
57. Niikura, K., Horisawa, K., Doi, N. Endosomal escape efficiency of fusogenic B18 and B55 peptides fused with anti-EGFR single chain Fv as estimated by nuclear translocation. *J. Biochem.*, 159:123-132, 2016.
58. (*8) Niikura, K., Horisawa, K., Doi, N. A fusogenic peptide from a sea urchin fertilization protein promotes intracellular delivery of biomacromolecules by facilitating endosomal escape. *J. Control. Release*, 212:85-93, 2015.

【平成 28 年度】

59. Nakayama, M., Komiya, S., Fujiwara, K., Horisawa, K., Doi, N. *In vitro* selection of bispecific diabody fragments using covalent bicistronic DNA display. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 478:606-611, 2016.
60. Fujiwara, K., Doi, N. Biochemical preparation of cell extract for cell-free protein synthesis without physical disruption. *PLoS ONE*, 11:e0154614, 2016.
61. (*8) Sudo, K., Niikura, K., Iwaki, K., Kohyama, S., Fujiwara, K., Doi, N. Human-derived fusogenic peptides for the intracellular delivery of proteins. *J. Control. Release*, 255:1-11, 2017.

■理工学部 数理科学科 教授 南美穂子

【平成 26 年度】

62. 南 美穂子, C. E. Lennert-Cody. ゼロの多いデータの解析: 負の2項回帰モデルによる傾向の過大推定, 統計数理, 61(2):271-287, 2014.

【平成 28 年度】

63. T. Koike, M. Minami. Estimation of Risk Contributions with MCMC. arXiv:1702.03098, 2017.
64. C. E. Lennert-Cody, M. N. Maunder, P. C. Fiedler, M. Minami, T. Gerrodette, J. Rusin, C. V. Minte-Vera, M. Scott, S. T. Buckland. Purse-seine vessels as platforms for monitoring the population status of dolphin species in the eastern tropical Pacific Ocean, *Fisheries Research*, 78:101-113, 2016.

■医学部 泌尿器科学教室 教授 大家基嗣

【平成 26 年度】

65. Ishida M, Mikami S, Shinjima T, Kosaka T, Mizuno R, Kikuchi E, Miyajima A, Okada Y, Oya M. Activation of aryl hydrocarbon receptor promotes invasion of clear cell renal cell carcinoma and is associated with poor prognosis and cigarette smoke. *Int J Cancer*, 137(2):299-310, 2014.
66. Kaneko G, Miyajima A, Yuge K, Yazawa S, Mizuno R, Kikuchi E, Jinzaki M, Oya M. Visceral obesity is associated with better recurrence-free survival after curative surgery for Japanese patients with localized clear cell renal cell carcinoma. *Jpn J Clin Oncol*, 45(2):210-6, 2015.

【平成 28 年度】

67. Tanaka N, Kosaka T, Miyazaki Y, Mikami S, Minamishima YA, Mizuno R, Suematsu M, Oya M. et al. Acquired platinum resistance involves epithelial to mesenchymal transition through ubiquitin ligase FBXO32 dysregulation. *JCI Insight*, 1(18):e83654, 2016.
68. Shigeta K, Kosaka T, Kitano S, Yasumizu Y, et al. High absolute monocyte count predicts poor clinical outcome in patients with castration-resistant prostate cancer treated with docetaxel chemotherapy. *Ann Surg Oncol*, 23(12):4115-4122, 2016.
69. Fukumoto K, Kikuchi E, Mikami S, et al Tumor budding, a novel prognostic indicator for predicting stage progression in T1 bladder cancers. *Cancer Sci*, 107(9):1338-44, 2016.
70. Hagiwara M, Kikuchi E, Kosaka T, Mikami S, Saya H, Oya M. Variant isoforms of CD44 expression in upper tract urothelial cancer as a predictive marker for recurrence and mortality. *Urol Oncol*, 34(8):337.e19-26, 2016.

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

71. Kosaka T, Mikami S, Yoshimine S, Miyazaki Y, Daimon T, Kikuchi E, Miyajima A, Oya M. The prognostic significance of OCT4 expression in patients with prostate cancer. *Hum Pathol*, 51:1–8, 2016.
72. Hashimoto S, Mikami S, Sugino H, Yoshikawa A, Hashimoto A, Onodera Y, Furukawa S, Handa H, Oikawa T, Okada Y, Oya M, Sabe H. Lysophosphatidic acid activates Arf6 to promote the mesenchymal malignancy of renal cancer. *Nat Commun*, 7:10656, 2016.
73. Hattori S, Kikuchi E, Kosaka T, Miyazaki Y, Tanaka N, Miyajima A, Mikami S, Oya M. Relationship between increased expression of the Axl/Gas6 signal cascade and prognosis of patients with upper tract urothelial carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 23(2):663–70, 2016.

■医学部 医学教育統轄センター 教授 鈴木秀和

【平成 26 年度】

74. Fukuhara, S., Matsuzaki, J., Tsugawa, H., Masaoka, T., Miyoshi, S., Mori, H., Fukushima, Y., Yasui, M., Kanai, T., Suzuki, H. Musosal expression of aquaporin-4 in the stomach of histamine type 2 receptor knockout mice and *Helicobacter pylori*-infected mice. *J. Gastroenterol. Hepatol*, 29(S4):53–59, 2014.
75. Nakamura, M., Takahashi, T., Matsui, H., Baniwa, Y., Takahashi, S., Murayama, S.Y., Serizawa, H., Suzuki, H., Hibi, T. Alteration of angiogenesis in *Helicobacter-heilmannii*-induced MALT lymphoma: interaction with c-Met and HGF. *J. Gastroenterol. Hepatol*, 29(S4):70–76, 2014.
76. Kurotsu, S., Tanaka, K., Niino, T., Asano, T., Sugizaki, T., Azuma, A., Suzuki, H., Mizushima, T. Ameliorative effect of mepenzolate bromide against pulmonary fibrosis. *J. Pharmacol. Exp. Ther*, 350(1):79–88, 2014.
77. Tanaka, K., Kurotsu, S., Asano, T., Yamakawa, N., Kobayashi, D., Yamashita, Y., Yamazaki, H., Ishihara, T., Watanabe, H., Maruyama, T., Suzuki, H., Mizushima, T. Superiority of pulmonary administration of mepenzolate bromide over other routes as treatment for chronic obstructive pulmonary disease. *Sci. Rep*, 4:4510, 2014.
78. Suzuki, H., Matsuzaki, J., Fukushima, Y., Suzuki, F., Kasugai, K., Nishizawa, T., Naito, Y., Hayakawa, T., Kamiya, T., Andoh, T., Yoshida, H., Tokura, Y., Nagata, H., Kobayakawa, M., Mori, M., Kato, K., Hosoda, H., Takabayashi, T., Miura, S., Uemura, N., Joh, T., Hibi, T., Tack, J. Randomised clinical trial: rikkunshito in the treatment of functional dyspepsia – a multi-centre, double-blind, randomised, placebo-controlled study. *Neurogastroenterol. Motil*, 26(7):950–961, 2014.
79. Suzuki, H., Matsuzaki, J., Masaoka, T., Inadomi, J.M. Greater loss of productivity among Japanese workers with gastroesophageal reflux disease (GERD) symptoms that persist vs resolve on medical therapy. *Neurogastroenterol. Motil*, 26(6):764–771, 2014.

【平成 27 年度】

80. Mori, H., Suzuki, H., Matsuzaki, J., Tsugawa, H., Fukuhara, S., Miyoshi, S., Hirata, K., Seino, T., Matsushita, M., Masaoka, T., Kanai, T. Efficacy of 10-day sitafloxacin-containing third-line rescue therapies for *Helicobacter pylori* strains containing the *gyrA* mutation. *Helicobacter*, 21(4):286–94, 2015.
81. Akazawa, Y., Isomoto, H., Matsuda, K., Matsushita, K., Kido, Y., Yamaguchi, N., Ohnita, K., Takeshima, F., Kondo, H., Tsugawa, H., Suzuki, H., Hirayama, T., Nakao, K., Nakashima, M. Association of BH3-only protein Bim with the degree of gastritis and its localization in the mitochondria of inflammatory cells of *Helicobacter pylori*-infected mucosa. *Int. J. Med. Microbiol*, 305(6):553–62, 2015.
82. (*1) Tsugawa, T., Mori, H., Matsuzaki, J., Masaoka, T., Hirayama, T., Nagasawa, H., Sakakibara, Y., Suematsu, M., Suzuki, H. Nordihydroguaiaretic acid disrupts the antioxidant ability of *Helicobacter pylori* through the repression of SodB activity *in vitro*. *Biomed. Res. Int*, 2015:ID 734548, 2015.

【平成 28 年度】

83. Nakano, M., Yahiro, K., Yamasaki, E., Kurazono, H., Akada, J., Yamaoka, Y., Niidome, T., Hatakeyama, M., Suzuki, H., Yamamoto, T., Moss, J., Isomoto, H., Hirayama, T. *Helicobacter pylori* VacA, acting through receptor protein tyrosine phosphatase α , is crucial for CagA phosphorylation in human duodenum carcinoma cell line AZ-521. *Dis Model Mech*, 9(12):1473–1481, 2016.
84. Nishizawa, T., Suzuki, H., Arano, T., Yoshida, S., Yamashita, H., Hata, K., Kanai, T., Yahagi, N., Toyoshima, O. Characteristics of gastric cancer detected within 1 year after successful eradication in *Helicobacter pylori*. *J. Clin. Biochem. Nutr*, 59(3):226–230, 2016.
85. Horibe, M., Kaneko, T., Yokogawa, N., Yokota, T., Okawa, O., Nakatani, Y., Ogura, Y., Matsuzaki, J., Iwasaki, E., Hosoe, N., Masaoka, T., Inadomi, J.M., Suzuki, H., Kanai, T., Namiki, S. A simple scoring system to assess the need for an endoscopic intervention in suspected upper gastrointestinal bleeding: A prospective cohort study. *Dig. Liver Dis*, 48(10):1180–6, 2016.

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

86. Nishizawa, T., Suzuki, H., Sakitani, K., Yamashita, H., Yoshida, S., Hata, K., Kanazawa, T., Fujiwara, N., Kanai, T., Yahagi, N., Toyoshima, O. Family history is an independent risk factor for the progression of gastric atrophy among patients with *Helicobacter pylori* infection. *United European Gastroenterology Journal*, 5(1):32–36, 2017.
87. Mori, H., Suzuki, H., Matsuzaki, J., Tsugawa, H., Fukuhara, S., Miyoshi, S., Hirata, K., Seino, T., Matsushita, M., Nishizawa, T., Masaoka, T., Kanai, T. Efficacy of 10-day and 14-day triple therapy as a third-line and fourth-line regimen for *Helicobacter pylori* eradication: a pilot study. *United European Gastroenterology Journal*, 4(3):380–387, 2016.
88. Matsuzaki, J., Hayashi, R., Arakawa, T., Ueno, F., Kinoshita, Y., Joh, T., Takahashi, S., Naito, Y., Fukudo, S., Chan, F.K., Hahm, K.B., Kachintorn, U., Fock, K.M., Syam, A.F., Rani, A.A., Sollano, J.D., Zhu, Q., Fujiwara, Y., Kubota, E., Kataoka, H., Tokunaga, K., Uchiyama, K., Suzuki, H.; IGICS (The International Gastroenterology Consensus Symposium) Study Group. Questionnaire-Based Survey on Diagnostic and Therapeutic Endoscopies and *H. pylori* Eradication for Elderly Patients in East Asian Countries. *Digestion*, 93(1):93–102, 2016.
89. Mori, H., Suzuki, H., Matsuzaki, J., Tsugawa, H., Fukuhara, S., Miyoshi, S., Hirata, K., Seino, T., Matsushita, M., Masaoka, T., Kanai, T. Efficacy of 10-day sitafloxacin-containing third-line rescue therapies for *Helicobacter pylori* strains containing the *gyrA* mutation. *Helicobacter*, 21(4):286–94, 2016.
90. Klionsky, D.J., Abdelmohsen, K., Abe, A., Abedin, M.J., Abeliovich, H., Acevedo Arozana, A., Adachi, H., Adams, C.M., Suzuki, H. et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy*, 12(1):1–222, 2016.
91. Nishizawa, T., Suzuki, H., Akimoto, T., Maehata, T., Kanai, T., Morizane, T., Yahagi, N. Effects of preoperative proton pump inhibitor administration on bleeding after gastric endoscopic submucosal dissection: A systematic review and meta-analysis. *United European Gastroenterology Journal*, 4(1):5–10, 2016.

■環境情報学部 教授 曾我朋義

【平成 26 年度】

92. Hirayama, A., Igarashi, K., Tomita, M., Soga, T. Development of quantitative method for determination of γ -glutamyl peptides by capillary electrophoresis tandem mass spectrometry: An efficient approach avoiding matrix effect. *J Chromatogr A*, 1369:161–169, 2014.
93. Hirayama, A., Wakayama, M., Soga, T. Metabolome analysis based on capillary electrophoresis-mass spectrometry. *Trends Anal. Chem.*, 61:215–222, 2014.

【平成 27 年度】

94. Uetaki, M., Tabata, S., Nakasuka, F., Soga, T., Tomita, M. Metabolomic alterations in human cancer cells by vitamin C-induced oxidative stress. *Sci. Rep.*, 5:13896, 2015.
95. Hirayama, A., Sugimoto, M., Suzuki, A., Hatakeyama, Y., Enomoto, A., Harada, S., Soga, T., Tomita, M., Takebayashi, T. Effects of processing and storage conditions on charged metabolomic profiles in blood. *Electrophoresis*, 36:2148–2155, 2015.
96. Ogawara, Y., Katsumoto, T., Aikawa, Y., Shima, Y., Kagiya, Y., Soga, T., Matsunaga, H., Seki, T., Araki, K., Kitabayashi, I. IDH2 and NPM1 mutations cooperate to activate Hoxa9/Meis1 and hypoxia pathways in acute myeloid leukemia. *Cancer Res*, 75:2005–2016, 2015.
97. Kobayashi, S., Sato, M., Kasakoshi, T., Tsutsui, T., Sugimoto, M., Osaki, M., Okada, F., Igarashi, K., Hiratake, J., Homma, T., Conrad, M., Fujii, J., Soga, T., Bannai, S., Sato, H. Cystathionine is a novel substrate of cystine/glutamate transporter: implications for immune function. *J. Biol. Chem.*, 290:8778–8788, 2015.

【平成 28 年度】

98. Bardella C, Al-Dalahmah O, Krell D, Brazauskas P, Al-Qahtani K, Tomkova M, Adam J, Serres S, Lockstone H, Freeman-Mills L, Pfeiffer I, Sibson N, Goldin R, Schuster-Böeckler B, Pollard, P.J., Soga T., McCullagh JS, Schofield CJ, Mulholland P, Ansorge O, Kriaucionis S, Ratcliffe PJ, Szele, FG, Tomlinson I. Expression of Idh1R132H in the murine subventricular zone stem cell niche recapitulates features of early gliomagenesis. *Cancer Cell*, 30:578–594, 2016.
99. Ogawa, T., Tsubakiyama, R., Kanai, M., Koyama, T., Fujii, T., Iefuji, H., Soga, T., Kume, K., Miyakawa, T., Hirata, D., Mizunuma, M. Stimulating S-adenosyl-L-methionine synthesis extends lifespan via activation of AMPK. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 113:11913–11918, 2016.
100. Ishikawa, S., Sugimoto, M., Kitabatake, K., Sugano, A., Nakamura, M., Kaneko, M., Ota, S., Hiwatari, K., Enomoto, A., Soga, T., Tomita, M., Iino, M. Identification of salivary metabolomic biomarkers for oral cancer

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

screening. *Sci. Rep.*, 6:31520, 2016.

101. Saito, T., Sugimoto, M., Okumoto, K., Haga, H., Katsumi, T., Mizuno, K., Nishina, T., Sato, S., Igarashi, K., Maki, H., Tomita, M., Ueno, Y., Soga, T. Serum metabolome profiles characterized by patients with hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B and C. *World J. Gastroenterol.*, 22:6224–6234, 2016.
102. Saito, T., Ichimura, Y., Taguchi, K., Suzuki, T., Mizushima, T., Takagi, K., Hirose, Y., Nagahashi, M., Iso, T., Fukutomi, T., Ohishi, M., Endo, K., Uemura, T., Nishito, Y., Okuda, S., Obata, M., Kouno, T., Imamura, R., Tada, Y., Obata, R., Yasuda, D., Takahashi, K., Fujimura, T., Pi, J., Lee, MS., Ueno, T., Ohe, T., Mashino, T., Wakai, T., Kojima, H., Okabe, T., Nagano, T., Motohashi, H., Waguri, S., Soga, T., Yamamoto, M., Tanaka, K., Komatsu, M. p62/Sqstm1 promotes malignancy of HCV-positive hepatocellular carcinoma through Nrf2-dependent metabolic reprogramming. *Nat. Commun.*, 7:12030, 2016.
103. Karigane, D., Kobayashi, H., Morikawa, T., Ootomo, Y., Sakai, M., Nagamatsu, G., Kubota, Y., Goda, N., Matsumoto, M., Nishimura, E. K., Soga, T., Otsu, K., Suematsu, M., Okamoto, S., Suda, T., Takubo, K. p38 α activates purine metabolism to initiate hematopoietic stem/progenitor cell cycling in response to stress. *Cell Stem Cell*, 19:192–204, 2016.
104. Tando, T., Hirayama, A., Furukawa, M., Sato, Y., Kobayashi, T., Funayama, A., Kanaji, A., Hao, W., Watanabe, R., Morita, M., Oike, T., Miyamoto, K., Soga, T., Nomura, M., Yoshimura, A., Tomita, M., Matsumoto, M., Nakamura, M., Toyama, Y., Miyamoto, T. Smad2/3 are required for immobilization-induced skeletal muscle atrophy. *J. Biol. Chem.*, 291:12184–12194, 2016.

<図書>

該当なし。

<学会発表>

1. (*2) 青戸良賢, 奥村和弘, 石川冬木, 若林雄一, 榊原康文. 発がん過程の経時的ゲノム解析. 第 74 回 日本癌学会学術総会(口頭発表), 2015 年 10 月 8 日～10 日, 名古屋国際会議場.
2. R. Suzuki, K. Hotta, K. Oka. Simultaneous Imaging of EB3 and ATP reveals the mechanism of cell shape control in HeLa cells. 97.21/TT56, Society for Neuroscience, Annual Meeting (Washington, D.C., 2014/11/15–19).
3. F. Nagase, T. Kobayashi, K. Hotta, K. Oka. Analysis of correlation between second messenger dynamics and structural changes of the growth cone. 591.10/B4, Society for Neuroscience, Annual Meeting (Washington, D.C., 2014/11/15–19).
4. M. Makino, H. Shidara, K. Hotta, K. Oka. The synchronized neural activity of olfactory neuron AWC with the head movement in *Caenorhabditis elegans*. 721.09/FF32, Society for Neuroscience, Annual Meeting (Washington, D.C., 2014/11/15–19).
5. Y. Amada, K. Hotta, K. Oka. Identification of brain regions processing male's song in female Zebra Finch by using catFISH technique. 815.01/DD7, Society for Neuroscience, Annual Meeting (Washington, D.C., 2014/11/15–19).
6. 新藤豊, 藤井智彦, 山中龍, 堀田耕司, 西山繁, ダニエル・チッテリオ, 鈴木孝治, 岡浩太郎. 細胞内局所でのマグネシウムイオン濃度変化の計測, 第 23 回日本バイオイメーjing学会, 2014 年 9 月 4–6 日, 大阪.
7. 鈴木美穂, 新藤豊, 山中龍, 岡浩太郎. アポトーシス誘導過程に関与する信号伝の上流から下流の単一細胞内における応答パターンの可視化, 第 23 回日本バイオイメーjing学会, 2014 年 9 月 4 日–6 日, 大阪.
8. Yamanaka R, Shindo Y, Karube T, Tanamoto R, Hotta K, Suzuki K, Oka K. Intracellular magnesium increase induced by neural activity in rat hippocampal neurons ラット海馬神経細胞における神経活動にともなう細胞内マグネシウムイオン濃度上昇. 日本神経科学学会, Neuro2014, 2014 年 9 月 11 日–13 日, 横浜.
9. R. Suzuki, F. Nagase, K. Hotta, K. Oka. Correlation analysis of ATP levels and morphological change during neurite extension, 566.23, Society for Neuroscience (Chicago), Oct. 17– 21, 2016.
10. R. Yamanaka, Y. Shindo, T. Karube, R. Tanamoto, K. Hotta, K. Suzuki, K. Oka. Magnesium influx triggered by neural depolarization, 478.07, Society for Neuroscience (Chicago), Oct. 17– 21, 2016.

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

11. K. Ashida, H. Shidara, K. Hotta, K. Oka. Experimental platform for dissecting olfactory system in *C. elegans*, 326.14, Society for Neuroscience (Chicago), Oct. 17– 21, 2016.
12. (*4) 鈴木李夏, 堀田耕司, 岡浩太郎. ミトコンドリア輸送・膜電位・ATP と神経伸展の相関解析. 第 54 回日本生物物理学会年会, つくば国際会議場(茨城), 2016.11.26.
13. (*4) R. Suzuki, K. Hotta, K. Oka. Simultaneous imaging of ATP levels and membrane potential in mitochondria during axonal transport. Neuroscience 2016, San Diego (USA), 2016.11. 13.
14. (*4) 鈴木李夏, 堀田耕司, 岡浩太郎. 伸長する神経突起でのミトコンドリア輸送・膜電位・ATP 同時イメージング. 第 25 回日本バイオイメージング学会学術集会, 名古屋市立大学薬学部(愛知県), 2016.9.5.
15. R. Suzuki, K. Hotta, K. Oka. Analysis of mitochondrial movement and its ATP production in elongating neurons. 第 39 回日本神経科学大会, パシフィコ横浜(神奈川), 2016.7.10.
16. 城代航, 佐々木克昌, 佐藤智典. 糖鎖プライマー法によるがん細胞でのラクト/ネオラクト系列糖鎖の発現プロファイル解析. 日本化学会第 97 春季年会, 2017 年 3 月 16~19 日, 慶應義塾大学(横浜).
17. (*3) 長井香, 佐々木克昌, 佐倉隆馬, 佐藤智典. 糖鎖プライマー法を用いたがん細胞で発現するムチン型糖鎖のクラスター解析. 日本化学会第 97 春季年会, 2017 年 3 月 16~19 日, 慶應義塾大学(横浜).
18. (*3) 佐々木克昌, 小坂威雄, 大家基嗣, 佐藤智典. 糖鎖プライマー法によるヒト前立腺がん細胞における糖鎖の解析. GlycoTOKYO2016 シンポジウム, 2016 年 11 月 19 日, 東京工業大学(東京).
19. 氏江美智子, 松原輝彦, 山本崇史, 赤堀未来, 栄長泰明, 佐藤智典. 糖鎖模倣ペプチドを修飾したダイヤモンド電極によるインフルエンザウイルスの高感度検出. 第 65 回高分子討論会, 2016 年 9 月 14-16 日, 神奈川大学(横浜).
20. 河野里砂, 大上彩香, 松原輝彦, 佐藤智典. 糖鎖プライマー法により獲得した糖鎖ライブラリーを固定化した微粒子によるインフルエンザウイルスの検出. 第 65 回高分子討論会, 2016 年 9 月 14-16 日, 神奈川大学(横浜).
21. (*3) 佐々木克昌, 小坂威雄, 大家基嗣, 佐藤智典. 糖鎖プライマー法を用いた前立腺がん細胞に発現する糖鎖の解析. 第 35 回日本糖質学会年会, 平成 28 年 9 月 1 日~9 月 3 日, 高知市文化プラザ(高知).
22. 新倉啓介, 藤原慶, 堀澤健一, 土居信英. 膜融合促進ペプチド B18 および B55 による生体高分子の細胞内送達. 第 37 回日本分子生物学会年会要旨集, 2014.
23. (*5) 小宮尚子, 住田壮, 藤原慶, 堀澤健一, 柳川弘志, 土居信英. 共有結合型バイシストロン性 DNA ディスプレイ法による抗体 Fab 断片の試験管内進化. 第 37 回日本分子生物学会年会要旨集, 2014.
24. 南雲優, 水原真実子, 藤原慶, 堀澤健一, 柳川弘志, 土居信英. PURE mRNA ディスプレイ法を用いた翻訳停止ペプチド配列の試験管内選択. 第 37 回日本分子生物学会年会要旨集, 2014.
25. 設楽俊也, 及木遼, 渡辺剛志, 栄長泰明, 松本佳宣, 藤原慶, 堀澤健一, 土居信英. 酸化還元酵素の進化工学に向けたマイクロビーズディスプレイ法の検討. 第 37 回日本分子生物学会年会要旨集, 2014.
26. 須藤慧, 新倉啓介, 藤原慶, 土居信英. ヒト由来膜融合促進ペプチドによる生体高分子の細胞内送達. 第 31 回日本 DDS 学会学術集会要旨集, 2015.
27. (*5) 海野佑樹, 南雲優, 藤原慶, 堀澤健一, 柳川弘志, 角田慎一, 向洋平, 堤康央, 土居信英. PURE mRNA ディスプレイ法による低分子抗体の試験管内選択. 第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会要旨集, 2015.
28. (*5) 中山真尚, 小宮尚子, 藤原慶, 堀澤健一, 土居信英. 共有結合型 DNA ディスプレイ法による二重特異性抗体の試験管内進化. 第 38 回日本分子生物学会年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会要旨集, 2015.
29. (*7) 須藤慧, 新倉啓介, 藤原慶, 土居信英. ヒト由来膜融合促進ペプチドと pH 依存性抗体を組み合わせた膜透過抗体の開発. 第 39 回日本分子生物学会年会要旨集, 2016.
30. 植木明日香, 藤原慶, 土居信英. 複数の遺伝子群の共進化を可能とする完全試験管内選択系の開発. 第 54 回日本生物物理学会年会要旨集, 2016.
31. Hamano, T., Nagumo, Y., Chadani, Y., Tokunaga, M., Fujiwara, K., Taguchi, H., Chiba, S., Ito, K., Doi, N. In vitro selection of translational arrest sequences using mRNA display. Nascent Chain Biology Meeting, 2016.
32. 南美穂子. 大気汚染データの解析と健康影響調査との連携. 統計数理研究所共同研究集会「環境・生態データと統計解析」, 2014 年.
33. M. Minami and C. Lennert-Cody. Analysis of data with many zero-valued observations: over-estimation of temporal trend by negative binomial regression. International symposium: Innovation and Challenges for Fisheries Assessment and Management, 2014.
34. 南美穂子. ゼロの多いデータの解析: 負の2項回帰モデルによる傾向の過大推定. 統計数理研究所リスク解析戦略研究センター講演会, 統計数理研究所, 2014 年.
35. M. Minami and R. Kiguchi. Analysis of Seasonal Daily Pattern of CO2 Concentration in Antarctica Using

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

Doubly Cyclic Smoothing Splines. Proceedings of Joint Statistical Meeting, 2015. 36. T. Nakamura and M. Minami. Prediction of SPM and PM2.5 concentration using land use data and spatial correlation. Proceedings of Joint Statistical Meeting, 2015. 37. 南美穂子. 判別ルール of 推測. 2015 年度統計関連学会連合大会報告集, 2015. 38. 中村知繁, 南美穂子. 空間相関構造と Land Use データを用いた微小粒子状物質の予測. 2015 年度 統計関連学会連合大会報告集, 2015. 39. 小池孝明, 南美穂子, 白石博. 配列アルゴリズムを用いた VaR 境界の算出. 日本統計学会, 45/2, 353-375, 2016. 40. 水野隆一, 森田伸也, 篠田和伸, 宮嶋哲, 林松彦, 大家基嗣. 後天性嚢胞腎に生じた腎細胞癌進行例に対する薬物療法. 第 45 回日本腎臓学会東部学術大会, 東京, Oct 2015.

<研究成果の公開状況>(上記以外)

シンポジウム・学会等の実施状況、インターネットでの公開状況等 ホームページで公開している場合には、URL を記載してください。 <既に実施しているもの> シンポジウム: - ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点第1回シンポジウム, 慶應義塾大学日吉キャンパス 来住舎1F シンポジウムスペース, 2014 年 12 月 27 日(土)13:00~17:30. - ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点第2回シンポジウム, 慶應義塾大学矢上キャンパス 厚生棟3階 大・中会議室, 2016 年 3 月 17 日(木)13:00~18:00. - ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点第3回シンポジウム, 慶應義塾大学日吉キャンパス 来住舎2F 大・中会議室, 2017 年 3 月 7 日(火)13:00~18:00. (プログラムは別添資料の3に添付.) インターネットのホームページ: 拠点ホームページ URL: http://bddd.bio.keio.ac.jp/ <これから実施する予定のもの> シンポジウム: - ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点第4回シンポジウム, 2017 年度中. - ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点第5回シンポジウム, 2018 年度中.
--

14 その他の研究成果等

「12 研究発表の状況」で記述した論文、学会発表等以外の研究成果及び企業との連携実績があれば具体的に記入してください。また、上記11(4)に記載した研究成果に対応するものには*を付してください。 - 従来法よりも細胞質への送達効率を約 100 倍向上できるヒト由来膜透過促進ペプチドについては、すでに国内及び国際特許出願した:「融合タンパク質又は複合タンパク質, 細胞内送達用担体, 部分ペプチド, 細胞膜透過促進剤, DNA, 及びベクター. 特願 2015-118432」 - ムコ多糖症の診断を目指した糖鎖ライブラリーの構築として以下の特許を申請:「新規糖鎖ライブラリー, 並びにその製造方法及びその使用方法, 特願 2016-046246」 - IFV の糖鎖認識機能の解析から発展させた高感度な検出手法として以下の特許を申請:「タンパク質又は病原体の新規検出方法, 特願 2015-093132」 (*6) <u>陽イオン用代謝物測定用のシースレス CE-MS 法についてはすでに特許を出願しており(特願 2015-075494), 海外出願も行う予定である. 陰イオン用代謝物測定用のシースレス CE-MS 法についても特許を申請する予定である. また, 大腸がん特異的な代謝を標的にした創薬候補の特許も研究期間内に出願する予定である.</u>
--

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

15 「選定時」に付された留意事項とそれへの対応

＜「選定時」に付された留意事項＞

該当なし.

＜「選定時」に付された留意事項への対応＞

該当なし.

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

16 施設・装置・設備・研究費の支出状況(実績概要) (千円)

年度・区分		支出額	内 訳						備 考
			法 人 負 担	私 学 助 成	共同研 究機関 負担	受託 研究等	寄付金	その他()	
平成 26 年度	施 設	0							
	装 置	0							
	設 備	12,474	4,778	7,696					
	研究費	27,500	14,500	13,000					
平成 27 年度	施 設	0							
	装 置	0							
	設 備	13,932	4,644	9,288					
	研究費	24,700	12,700	12,000					
平成 28 年度	施 設	0							
	装 置	0							
	設 備	0							
	研究費	38,000	20,000	18,000					
総 額	施 設	0	0	0	0	0	0	0	
	装 置	0	0	0	0	0	0	0	
	設 備	26,406	9,422	16,984	0	0	0	0	
	研究費	90,200	47,200	43,000	0	0	0	0	
総 計		116,606	56,622	59,984	0	0	0	0	

17 施設・装置・設備の整備状況 (私学助成を受けたものはすべて記載してください。)
《施 設》(私学助成を受けていないものも含め、使用している施設をすべて記載してください。) (千円)

施 設 の 名 称	整備年度	研究施設面積	研究室等数	使用者数	事業経費	補助金額	補助主体
慶應義塾大学理工学部		360 m ²	6	28 名			
慶應義塾大学医学部		128 m ²	2	5 名			
慶應義塾大学先端生命科学研究所		726 m ²	1	3 名			

※ 私学助成による補助事業として行った新增築により、整備前と比較して増加した面積
0 m²

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

《装置・設備》（私学助成を受けていないものは、主なもののみを記載してください。）（千円）

装置・設備の名称	整備年度	型番	台数	稼働時間数	事業経費	補助金額	補助主体
(研究装置)				h h h h h			
(研究設備) 次世代シーケンサー MiSeq(Illumina社)	26	CP3-MS-J-001	1式	120(月平均) h	12,474	7,696	私学助成
質量分析装置一式 (amaZon SL・窒素ガス 発生装置システム)	27	amaZon SL-KBH本 体(ESIイオン源込 み)、他	1式	100(月平均) h	13,932	9,288	私学助成
(情報処理関係設備)				h h h h h			

18 研究費の支出状況（千円）

年度	平成	26	年度	
小科目	支出額	積算内訳		
		主な使途	金額	主な内容
教育研究経費支出				
消耗品費	19,649	試薬、器具、コンピュータ関連部品	19,649	試薬、器具、コンピュータ関連部品
光熱水費				
通信運搬費				
印刷製本費	77	報告書印刷費	77	報告書印刷費
旅費交通費				
報酬・委託料 ()	540	ホームページ作成費	540	ホームページ作成費
計	20,266			
アルバイト関係支出				
人件費支出 (兼務職員)	704	実験補助臨時職員人件費、 学生アルバイト謝金	704	時給 900円, 年間時間数 780時間 実人数 7人
教育研究経費支出				
計	704			
設備関係支出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備 品	6,526		4,129 514 1,883	Agilent 2200 TapeStation 核酸分析用システム EVOS XL Core, Fixed Stage EVOS FL, No obj/no cube/ au cord
図書				
計	6,526			
研究スタッフ関係支出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

法人番号	131015A01
プロジェクト番号	S1411003

(千円)

年 度	平成 27 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	17,562	試薬、実験用器具、コンピュータ関連部品	17,562	試薬、実験用器具、コンピュータ関連部品
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費	44	報告書印刷費	44	報告書印刷費
旅費交通費	1,491	学会出張費	1,491	学会出張費
報酬・委託料				
(諸謝金)	33	講演謝金	33	外部講師シンポジウム講演謝金など
(その他)	392	学会参加費など	392	学会参加費、検体のブロック作製
計	19,522			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 (兼務職員)	2,486	実験補助等臨時職員人件費	2,486	時給 1050円、年間時間数 2370時間 実人数 4人
教育研究経費支出				
計	2,486			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備 品	2,687		698 1,989	サーバ PowerEdge C4130 一式 グラフィックボード ETSK40-12GER 二式
図 書				
計	2,687			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

(千円)

年 度	平成 28 年度			
小 科 目	支 出 額	積 算 内 訳		
		主 な 使 途	金 額	主 な 内 容
教 育 研 究 経 費 支 出				
消 耗 品 費	27,630	試薬、実験用器具、コンピュータ関連部品	27,630	試薬、実験用器具、コンピュータ関連部品
光 熱 水 費				
通信運搬費				
印刷製本費	76	報告書印刷費	76	報告書印刷費
旅費交通費	413	シンポジウム出張旅費等	413	学会出張費、シンポジウム出張費、被招聘者滞在費
報酬・委託料				
（諸謝金）	189	講演謝金等	189	講演謝金、外部委員謝金等
（修繕費）	1,972	機器修理費	1,972	MiSeqシーケンサー修理費
（その他）	178	学会参加費など	178	学会参加費、検査料、英文校正料、論文投稿料
計	30,458			
ア ル バ イ ト 関 係 支 出				
人件費支出 （兼務職員）	2,637	実験補助等臨時職員人件費	2,637	時給 1050円、年間時間数 2511時間 実人数 10人
教育研究経費支出				
計	2,637			
設 備 関 係 支 出(1個又は1組の価格が500万円未満のもの)				
教育研究用機器備 品	4,901		2,916 1,985	GPUサーバ(JCSワークステーション) 一式 ストレージサーバ(DELLサーバ) 一式
図 書				
計	4,901			
研 究 ス タ ッ フ 関 係 支 出				
リサーチ・アシスタント				
ポスト・ドクター				
研究支援推進経費				
計	0			

別添資料

「ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点」

1. プロジェクトメンバー研究進捗報告
2. 外部（第三者）評価者による報告書
3. ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点シンポジウムプログラム

1. プロジェクトメンバー研究進捗報告

【進捗状況・研究成果等】

榊原康文

＜現在までの進捗状況及び達成度＞

初年度は、試験的な解析として、腎細胞癌の次世代シーケンスデータを用いたがんゲノム解析を行い、またグライコーム解析のために、マスペクトルデータから糖鎖構造を正確に同定するアルゴリズムを開発した。具体的には、本プロジェクトのメンバーである医学部泌尿器科の大家より提供されたシーケンスデータを用いて、標的治療薬投与患者 5 名（標的治療薬耐性獲得患者 2 名）、透析腎癌患者 3 名、副腎転移患者 1 名を解析し、それぞれの患者の変異遺伝子を同定した。結果は、標的治療薬耐性を獲得した患者に共通する遺伝子、透析腎癌の患者に共通する変異、副腎転移に特異的な遺伝子をそれぞれ同定した。

二年度は、プロジェクト間の本格的な共同研究を始動した。具体的には、大家より提供された

- 既存のアンドロゲン非依存性細胞株 C4-2 をアンドロゲン除去下で 6 か月、12 か月、24 か月と培養することで樹立した C4-2 の悪性化株 C4-2AT6, C4-2AT12, C4-2AT24 について、DNA メチル化の経時変化の網羅的解析、
- 前立腺がん細胞株 LNCaP と悪性化細胞株 LNK06 について、mRNA と derived RNA の発現の経時変化の解析、

を行い、アンドロゲン非依存性による前立腺がんの悪性化過程に関して、その要因の解明を行った。まず、C4-2, C4-2AT6, C4-2AT12, C4-2AT24 について次世代シーケンサーによるバイサルファイトシーケンスを行い、得られたリード配列をヒトゲノムにマッピングし、メチル化シトシンの検出を行った。次に、得られたメチル化検出の結果から領域的にメチル化に差のある「差次的メチル化領域 (DMR)」の検出を行った。DMR 検出結果を継時的に見ることで悪性化の原因となっているメチル化異常の探索を行った。結果として、AT24 でのみプロモーター領域のメチル化度が上昇した遺伝子として CASP6 が見つかった。次に、LNCaP と LNK06 から small RNA および mRNA を抽出し、次世代シーケンサーによって配列を読んだ。得られたリードをゲノムに対してマッピングし、mRNA は発現差異遺伝子の検出、small RNA はマッピング形状の類似度行列を算出してクラスタリングを行い、これを元にプロセシング差異 RNA を検出した。mRNA の発現差異遺伝子解析の結果、139 の発現差異遺伝子が検出された。一方で small RNA については解析の結果、miRNA で 1 遺伝子、snoRNA で 16 遺伝子、tRNA で 57 遺伝子のプロセシング差異 RNA 候補を検出することができた。この候補のうちサンプル間でプロセシング差異があることが明確な RNA の derived RNA のターゲット予測を行い、mRNA の発現差異遺伝子として検出されたものと相関関係の探索を行った結果、LNK06 において SNORA17 の 5' 末端由来の derived RNA と PMEPA1, SCARNA8 由来の derived RNA と MAPK8IP2 に抑制の制御関係があることが示唆された。

三年度は、

- 大家より提供された透析腎がん患者から樹立した細胞株 KU20-02 (コントロール) とソラフェニブを 4 週間暴露した KU20-02 (ソラフェニブ 4 週間暴露) の 2 サンプルについて、薬剤耐性に対する DNA メチル化の経時変化の網羅的解析、
- 腎細胞がん 104 症例の非がん部・がん部の 3 層マルチオミックスデータに対して、Similarity Network Fusion 法を用いたマルチオミックス統合解析の実施、

を行った。まず、KU20-02 と KU20-02 の 2 サンプルから DNA を抽出、バイサルファイト処理を施した後、次世代シーケンサーを用いてシーケンシングを行った。得られたデータからメチル化シトシンの検出を行い、DMR を同定した。結果として、ソラフェニブ耐性に関連のあると思われる MAPK パスウェイおよび PI3K/AKT パスウェイについてメチル化解析を行ったところ、遺伝子にメチル化度の変化が見られる遺伝子が多数見つかった。また、エンリッチメント解析によ

り **Oxytocin** シグナリングパスウェイやカルシウムシグナリングパスウェイなどのアポトーシスや細胞増殖に関わるパスウェイにおいてもメチル化度の変化が観察された。次に、慶應義塾大学医学部病理学教室金井弥栄教授より提供いただいた腎細胞がん 104 症例の非がん部・がん部の 3 層マルチオミックスデータ（エキソーム 21,677 SNV/indel, メチローム 27,578 probe, トランスクリプトーム 42,543 probe）について、**Similarity Network Fusion (SNF)** 法を用いたマルチオミックス統合解析を実施した。得られた患者群のクラスタリング結果を元に、生存時間解析を実施し、患者の生存時間と関連を示す新規患者サブタイプの同定を試みた。また、同定された新規サブタイプを目的変数として、**Random Forest** を用いたバイオマーカーの探索を行った。結果として、**Bonferroni** 補正後有意水準 $p < 2.02 \times 10^{-6}$ を満たす遺伝子セット・クラスタ数 15 組が得られ、中には腫瘍細胞応答や **p53** パスウェイ、**Ras** パスウェイなど、がんに関連が深い遺伝子セットも多数含まれていた。また、**Random Forest** を用いて、新規に同定した 15 のサブクラスタを規定するようなバイオマーカー候補を探索したところ、47 の候補遺伝子を得た。新規バイオマーカー候補と先行研究で得られた **CIMP** マーカーは一つも重複しなかった。

<特に優れた研究成果>

5 年間の研究目標は、DNA などの生体分子を高速に解読する次世代シーケンスとその情報解析手法、マルチオミックスデータを集積した創薬データベースの構築、マルチオミックスを統合解析するバイオインフォマティクス手法の開発を行う、ことを掲げている。この 3 つの大きな目標を予想よりも速いスピードで成果を上げてきた。具体的には、次世代シーケンサーによるバイサルファイトシーケンスとそのデータに基づくエピゲノム情報解析技術の確立と前立腺がんの悪性化過程に関する成果、small RNA-seq と mRNA-seq のよる発現差異遺伝子の検出技術の確立とやはり前立腺がんの悪性化過程に関する成果、これらの網羅的ゲノム解析技術を用いてプロジェクトメンバーとの共同研究による創薬データベース構築のためのデータ蓄積、そして三年目に **Similarity Network Fusion (SNF)** 法を用いたマルチオミックス統合解析のバイオインフォマティクス手法の開発を達成した。

<問題点とその克服方法>

バイサルファイト法を用いたメチル化シーケンスは初めての挑戦であったため、何度も試行錯誤する必要があり、時間をかけて技術の確立を行う必要があった。また、細かい問題点であるが、シーケンス解読実験中に、細菌ゲノムのコンタミが何度か生じたため、再実験を複数回行う必要があった。これらの解決にコストと時間が予想以上にかかったが、最終的にはすべて克服することができ、技術と経験の蓄積ができた。

<研究成果の副次的効果（実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。）>
とくに今のところ実用化や特許化の計画はしていない。

<今後の研究方針>

5 年間の研究目標である：

- 研究ユニットから生産されるサンプルをシーケンスして、分子プロファイルを生成し、データ解析することにより標的分子の絞り込みに貢献する。
- マルチオミックスを統合解析するバイオインフォマティクス手法の開発を行う。
- 分子プロファイルデータの生成とその受け渡しにより各研究ユニットを連動して、データ駆動型の創薬プロセスを実現する。
- 5 年間に生成された全オミックスデータを創薬データベースに集約して、創薬データベースを完成する。創薬データベースをインターネット上で学内外に公開する。

を達成するために、加速度的に研究をすすめる方針である。すでにシーケンス技術とバイオインフォマティクス手法の蓄積はできているため、目標の達成は可能であると考えている。

<自己評価の実施結果及び対応状況>

上述したように、3つの大きな目標を予想よりも速いスピードで成果を上げてきた。また、研究途中で生じた諸問題もすべて克服することができ、技術と経験の蓄積ができたため、残り2年間の研究を加速度的に遂行することが可能となった。以上より、3年間を総括した自己評価を実施した結果、高評価の点数として90点とした。

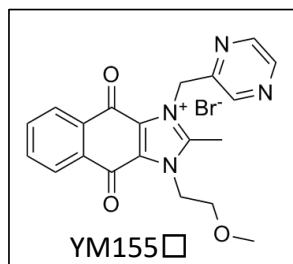
【進捗状況・研究成果等】

井本正哉

＜現在までの進捗状況及び達成度＞

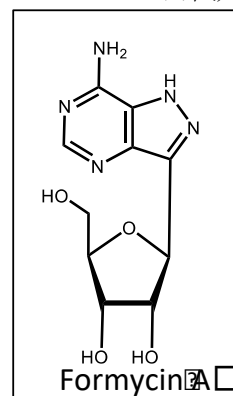
前立腺がんは、2020年に男性のがんの中で罹患率が第1位となることが予測されており、治療法の確立が急務とされている。前立腺がんは、精巣や副腎より分泌された男性ホルモンにより悪性化する。現在、前立腺がんに対しては外科的な精巣摘除や内分泌療法によりホルモンの供給を断つホルモン療法が有効とされている。しかし、前立腺がんはこれらのホルモン療法に対し抵抗性を獲得し、去勢抵抗性前立腺がん(CRPC)と呼ばれる病態へ移行することが問題視されている。このCRPCについて、その去勢抵抗性獲得メカニズムには未だ解明されていない部分が多く、効果的な治療法の開発が期待されている。そこで本研究では、本プロジェクトのメンバーである大家らが樹立した2系統のCRPCモデル細胞(Kosaka T. et al. *Prostate* 70: 162-9 (2010))を用い、ホルモン治療抵抗性獲得メカニズムをケミカルゲノミクス的手法に基づいて解析するとともに、通常の前立腺がん細胞よりもCRPC細胞に対して選択的に細胞死を誘導する化合物を取得することで、悪性化因子の探索と治療薬リード化合物の取得を目的とした。

大家から供与された2つのCRPCモデル細胞系列(LNKOとC4-2)の中からアンドロゲン不含培地で0、12と24か月持続培養した細胞株を選択し(L0, L12, L24およびC0, C12, C24)、これら6種の細胞にSCADSの400化合物を添加、72時間後の細胞生存率をCellTiter-Glo (Promega)にて測定した。その結果、悪性度の高いCRPCモデルL24およびC24の生存率が、L0やC0のそれに比べて半分以下にする(CRPC細胞に良く効く)化合物としてSurvivin阻害



剤YM155がヒットした。一方、天然物スクリーニングからは放線菌二次代謝産物1342サンプルを評価した結果、放線菌2048A-28株の1-BuOH抽出物のみがL24細胞選択的な細胞死誘導活性を持つことを見出した。そこで、2048A-28株が生産する活性物質の同定を試みた。まず1-BuOH抽出物に対し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて粗精製を行った。その結果、極性の高い溶媒条件で活性物質が溶出されたことから、活性物質が水溶性であることが推定された。次に、順相

カラム(HILICカラム)を用いたHPLCによる精製を行ったところ、比較的純度の高い活性物質を取得できた。そこで、取得した活性物質のUV吸収波長と分子量の情報を用いたデータベース検索及び¹H-NMRスペクトルの取得を試みた。その結果、取得した活性物質は、ヌクレオシド系抗生物質の一つであるFormycin Aであることが推定された。Formycin Aの評価についても同様に¹H-NMRスペクトルの測定を行ったところ、そのスペクトルが活性物質と一致したため、活性物質をFormycin Aと同定した。続いて、Formycin Aについての薬理活性を評価した。まず、Formycin AはL24細胞選択的に細胞死を示すことが確認できた。そこで次に、他のがん細胞株についてもFormycin Aの感受性評価を行った。その結果、この化合物の他のがん細胞株に対する感受性がCRPC細胞に比べて低いことから、Formycin Aはがん細胞の中でも特にCRPC細胞に対して抗がん活性を持つことが分かった。ここで、Formycin AはATPアナログとして機能しRNA合成を阻害するが、類縁体のFormycin Bはそのような阻害活性を示さないことが知られている。そこで、Formycin Bについても同様に感受性評価を行ったところ、この化合物はL0、L24細胞双方に対して抗がん活性を示さなかった。当初計画の予定通り、悪性度の高いCRPCに選択的に細胞死を誘導する化合物2種(YM155およびFormycin A)を取得したことから達成度は極めて高い。



<特に優れた研究成果>

CRPC について、その去勢抵抗性獲得メカニズムには未だ解明されていない部分が多く、また効果的な治療法の開発が期待されている。今回の標的既知化合物スクリーニングの研究成果から **Survivin** が去勢抵抗性獲得メカニズムに関与している可能性が示唆された。これは未だ解明されていない去勢抵抗性獲得メカニズムを解析する上で重要な手がかりになる。また、天然物スクリーニングの研究成果からは **Formycin A** が悪性度の高い CRPC に高い抗がん活性を示すことが明らかになり、この **Formycin A** の標的タンパク質の同定研究を進めることで新たな治療戦略を提案できる可能性がある。

<問題点とその克服方法>

今後は、**Formycin A** の作用機構に着目した解析研究を行うことで、去勢抵抗性獲得メカニズムの解明を試みたいと考えている。

<研究成果の副次的効果（実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。）>

今回見出した化合物は既知物質であることから現時点では特許申請の可能性は低い

<今後の研究方針>

- (1) 得られた化合物については、薬効試験を行う。CRPC に対する選択的細胞死誘導活性については前立腺がん細胞以外のがん細胞も用いて検討する。また、アポトーシス関連タンパク質の発言に及ぼす化合物の影響を検討する。
- (2) CRPC のゲノム解析データやメタボローム解析データなどを通して、ヒット天然化合物の標的タンパク質を同定する。そのことから、なぜヒット化合物が CRPC に選択的に細胞死を誘導するかを解析する。
- (3) これまで我々は、AR アンタゴニストとして微生物培養液から新規物質アラビリン (Fujimaki T. et al. *J Antibiot* 63: 601-5 (2010))やアンタルライド (Saito S. et al. *Angew Chem Int Ed Engl* in press)を見出している。そこで、アラビリンやアンタルライドが CRPC モデル細胞に抗がん活性を示すのか評価する。

<自己評価の実施結果及び対応状況>

3年間を総括した自己評価を実施し、当初の目標である成果が得られており順調であることから 90 点の高評価とした。

【進捗状況・研究成果等】

岡浩太郎

＜現在までの進捗状況及び達成度＞

3年目目標として「セカンドメッセンジャー経時変化データの整理と薬物固有応答パターンの抽出」を目指してきた。主要な3つのセカンドメッセンジャーである cAMP, cGMP, Ca イオンの同時イメージング系を開発することに成功している。これにより従来仮説であり実証されていなかった神経成長円錐でのガイドンスメカニズムについて系統だった解析を行うことができるようになった。

また特にエネルギー代謝とミトコンドリア機能についての系統的なイメージング研究を進めてきており、細胞内 Ca イオン、ATP 量、ミトコンドリア膜電位などのエネルギー代謝に関わるパラメータが種々のミトコンドリア機能阻害薬物によりどのように経時変化するのかを蛍光ライブイメージングで明らかにすることに成功している。特に細胞内 Mg イオンがエネルギー代謝を制御する新規なセカンドメッセンジャーではないかという観点からの研究は、細胞内 Mg イオン動態計測と上記代謝パラメータの同時計測が行えるほぼ世界で唯一の研究室であることから、大変注目されてきている。特にこの研究では本プロジェクトのメンバーである曾我とのメタボロームを用いたプロジェクト内共同研究も進め、論文として成果をまとめることにも成功している。

以上のような観点から当初計画を十分に達成していると思われる。

＜特に優れた研究成果＞

- 1) 細胞局所の Mg イオン濃度を計測するための新規な蛍光プローブの開発に成功し、ミトコンドリアは内膜と外膜の間の空間での Mg イオン放出の可視化に成功した (Fuji et al. JACS, 2014)。
- 2) パーキンソンモデル細胞系での Mg イオン濃度調節と細胞死との関係を種々の Mg イオン輸送体との関係から明らかにした (Shindo et al. BBA, 2015, 2016)。
- 3) 細胞運動とミトコンドリア機能 (ATP 産生、ミトコンドリア膜電位など) との関係を同時イメージングとそれにより得られた相関解析手法から明らかにすることに成功した (Suzuki et al. Sci. Rep. 2015, Suzuki et al. submitted)。またミトコンドリアの主要な Mg イオン輸送体である Mrs2 に着目して研究を進めた。この輸送体をノックダウンすると、細胞内 ATP 濃度は減少し、その際にエネルギー代謝とミトコンドリア形態が大きく変化することを見出した。さらにこの細胞では種々の細胞ストレスに対する耐性が低下していることを明らかにした (Yamanaka et al. Sci. Rep. 2016)。

＜問題点とその克服方法＞

研究は順調に進んでいるが、イメージングを利用した即時的なエネルギー代謝評価方法がないことが、癌細胞や神経細胞などのエネルギー代謝を評価する上での障害となっていることを認識している。そこで細胞内での解糖系と TCA サイクルによる ATP 生成過程を明らかにするために、乳酸とピルビン酸をマルチカラーイメージングするための新規手法の開発の検討を進めている。

＜研究成果の副次的効果（実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。）＞

本研究を含め、従来の生物イメージング研究は、「まず見たい分子（またはイベント）を事前に決めて、これを選択的にイメージングする手法を開発する (Bio-imaging with targets)」が主流であった。実際にこれまで私は複数の蛍光プローブを用いて、細胞内情報伝達過程を調べる研究を進めてきている。これらの研究では選択性が高く、生体内での至適濃度を計測するプローブの開発が重要であることを示してきた。一方でこれらの研究は大変な労力を必要とし、しばしば他の研究室と知らず知らずの間に競争関係になることも生じる。これらの研究から「事前に何か見

るものを決めて」調べる研究 (Bio-imaging with targets) の難しさを痛感した。そこで大きく発想を転換し、「事前に観察対象を決めることなく生物材料をイメージングする」ことにより、大規模なスペクトルデータを取得することを考えた。この大規模データに「人工知能」に代表されるような種々の情報処理技術を適用することにより、従来不可能であった **Bio-imaging without targets** (事前に何を見るかを決めないで大規模データを取得し、取得データから特徴的な時空間パターンを抽出することにより、隠れていた生命現象を抉り出す技術と定義する)の開発を進める。この研究構想はラマンイメージングやハイパースペクトルカメラの併用により、実現性が高いことが実証されてきている。このコンセプトは脳神経接続の網羅的解析と大変相性が良いことなどが認められ、昨年秋に開催された国際ワークショップ NSF/USA Workshop Invitation: Comparative Principles of Brain Architecture and Functions. San Diego, CA, 2016.11.17~18, 及び、日本生物物理学会シンポジウム：ラマン散乱で探る bio. phys. chem. 三重点, つくば国際会議場, 2016 年 11 月 25 日~27 日, に招待講演者として招かれ、講演を行った。

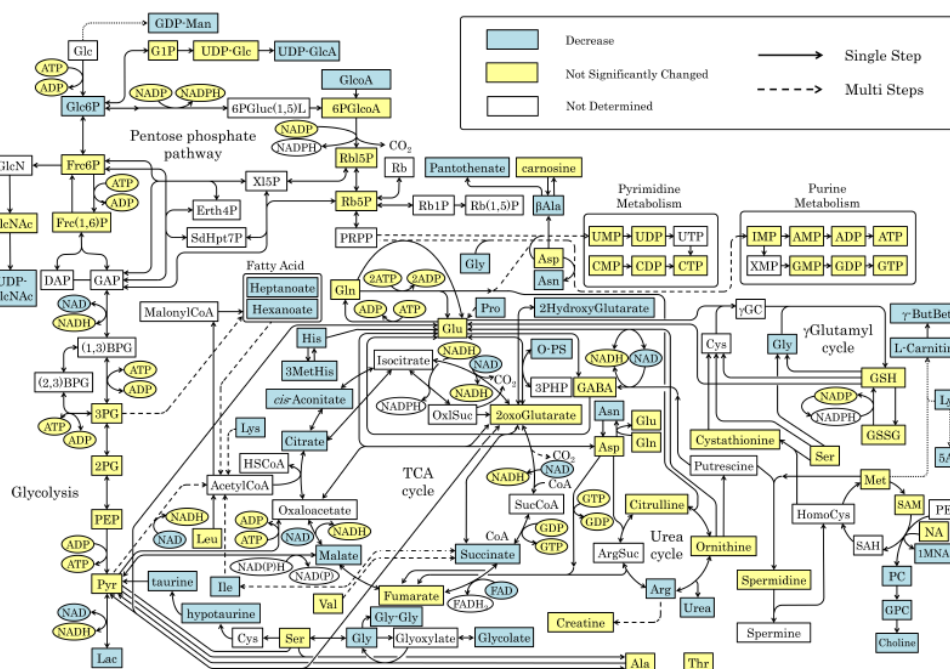
<今後の研究方針>

- 1) 癌細胞や神経細胞などのエネルギー代謝の異常が通常の細胞と異なったり、または低酸素条件下でエネルギー獲得を要求される細胞について、エネルギー代謝とセカンドメッセンジャー (Mg イオンを含む) との経時的な関係を明らかにするイメージング研究を進める。
- 2) Bio-imaging without targets 研究の可能性について検討を進め、脳ドラフトマップの作成や臨床現場で利用されていない固定標本を再利用することが可能な研究に育てる。

<自己評価の実施結果及び対応状況>

当初計画は順調 (論文掲載を含め) に進んでおり、従来のイメージングと全くことなったアイディアによるバイオイメージング研究への足がかりを得ることに成功しているため、100%の目標が達成されていると判断した。

Mrs2 knock-down modulates metabolism



ミトコンドリアの Mg 輸送体 MRS2 をノックダウンした際のメタボローム解析

【進捗状況・研究成果等】

佐藤智典

＜現在までの進捗状況及び達成度＞

これまでに、前立腺がん、胃がん、肺がん、乳がん、肝がんなどの細胞株を用いて、糖鎖ブライマー法によりガングリオ系列、ネオラクト系列、ムチン型、グリコサミノグリカン型など糖鎖解析を実施した。LC-MS による構造解析により、階層的なビクデーターとして取り扱い可能な糖鎖プロファイリングを行った。また、細胞の転移性やウイルス感染性と関与した糖鎖の機能解明を行った。

＜特に優れた研究成果＞

ネオラクト系列とムチン型の糖鎖プロファイリングを元にしたクラスタリングにより、がん細胞を由来の違いにより分類できた。また、前立腺がん等などにおける新たな腫瘍マーカー候補を見いだした。

転移性がん細胞の糖鎖プロファイリングにより、肺がんや乳がん細胞の遊走性に関与する糖鎖とその糖鎖合成遺伝子の同定を行った。

C 型肝炎ウイルス（HCV）の感染性の異なる細胞での糖鎖プロファイリングにより、HCV の感染に関与する糖鎖を世界で初めて同定することに成功した。

インフルエンザウイルス（IFV）感染性の細胞での糖鎖解析を行い、IFV の検出や感染阻害方法の開発に成功した。

＜問題点とその克服方法＞

LC-MS での糖鎖プロファイリングにおいては、手法の簡便さ、検出感度、構造決定法などが技術的な課題であった。新たな質量分析装置の購入と分析手法の改良を重ねることで、技術的な課題を改善した。

＜研究成果の副次的効果（実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。）＞

- ・ ムコ多糖症の診断を目指した糖鎖ライブラリーの構築として以下の特許を申請
「新規糖鎖ライブラリー、並びにその製造方法及びその使用方法、特願 2016-046246」
- ・ IFV の糖鎖認識機能の解析から発展させた高感度な検出手法として以下の特許を申請
「タンパク質又は病原体の新規検出方法、特願 2015-093132」
- ・ 産・学・官での複数の共同研究に展開中

＜今後の研究方針＞

糖鎖プロファイリングを多様な細胞株で行い、細胞機能との関係を明確にする。特に、糖鎖生合成の遺伝子レベルでの制御回路について検討し、薬剤やホルモンなどの影響についての作用機序を行い、診断・創薬への展開を目指した糖鎖大規模解析の有用性を明確にする。

＜自己評価の実施結果及び対応状況＞

糖鎖プロファイリングおよび糖鎖の機能解析において、当初予定した以上の成果が得られている。よって、自己評価は100点。

【進捗状況・研究成果等】

土居信英

＜現在までの進捗状況及び達成度＞

創薬プロセスにおける疾患標的分子同定、リード化合物探索、および、作用機序解析、という3つの工程において、薬剤標的タンパク質の効率的な探索技術の開発は不可欠である。また、同定された疾患標的分子に結合するペプチド／抗体を創出することはバイオ医薬として有用であるばかりでなく、その構造情報を得ることでリード化合物のデザインにも役立つ。そこで本事業では、我々が独自に開発したタンパク質とそれをコードする mRNA または DNA を連結した『表現型と遺伝子型の対応づけ分子』のライブラリーを簡便に構築できる mRNA ディスプレイ法および DNA ディスプレイ法をマイクロ流体デバイスや次世代シーケンサーと組み合わせることでハイスループット化し、本プロジェクトでスクリーニングされた化合物の標的タンパク質を大規模に探索し、薬剤-タンパク質相互作用に関する膨大なデータを収集するとともに、その標的分子に対するペプチド／抗体医薬の創出に応用することを目指してきた。

なお、提案書では1年目から薬剤標的タンパク質のスクリーニングを記載していたが、本プロジェクトで対象とする標的に作用する化合物がスクリーニングされるまでは着手できないことから、採択直後に計画を見直し、最初の3年間で mRNA ディスプレイ法および DNA ディスプレイ法を拡張した基盤技術確立し、後半の2年間に、本プロジェクトでスクリーニングされた化合物に本技術を適用することにより、それらの薬剤の標的タンパク質の同定および作用機序の解明に貢献する計画に切り替えた。結果的に、計画通り基盤技術のハイスループット化と用途拡大を十分に達成することができた。

さらに、当初の計画にはなかったが、分子標的医薬を細胞内に効率よく送達するための基盤技術の開発も行い、タンパク質の細胞質への送達効率を向上できる新規の膜透過促進ペプチドを複数発見した。この膜透過促進ペプチドと CD44 バリエーションに対する抗体とを組み合わせることで、がん幹細胞を標的としたオートファジー誘導薬 DDS の開発を、拠点メンバーの医学部鈴木秀和教授との共同研究としてスタートした。

＜特に優れた研究成果＞

まず、mRNA ディスプレイ法および DNA ディスプレイ法を利用したペプチド／抗体の試験管内選択の応用例を拡張した。具体的には、共有結合型の Bicistronic DNA ディスプレイ法を開発し、次世代抗体医薬のフォーマットとして期待されているヘテロ二量体の Diabody をジスルフィド結合で安定化した二重特異性抗体をデザインし、その完全試験管内選択実験に成功した (*Biochem. Biophys. Res. Commun.* **478**, 606-611, 2016)。また、mRNA ディスプレイ法によりランダムペプチドライブラリーから試験管内選択した高親和性 MDM2 結合ペプチド MIP と MDM2 との複合体の高分解能 NMR による立体構造解析を行い、高親和性に寄与する新たなアミノ酸側鎖を同定した (*PLoS ONE*, **9**, e109163, 2014)。さらに、これらの技術に必要な大量の無細胞タンパク質合成系を従来よりも簡便に調製できる生化学的手法を開発した (*PLoS ONE*, **11**, e0154614, 2016)。

さらに、大規模なデータ取得に向けた mRNA ディスプレイ法のハイスループット化に向けた検討をおこなった。具体的には、mRNA ディスプレイ法とマイクロ流体デバイス (*Anal. Chem.*, **86**, 9570-9575, 2014) を組み合わせた pH 応答性一本鎖抗体の試験管内進化の実験系を確立し、実際に、EGFR に対する一本鎖抗体遺伝子にランダム変異を導入したライブラリーの試験管内選択を5ラウンド行い、pH 応答性結合活性を示す一本鎖抗体を取得することに成功した。また、mRNA ディスプレイ法による一本鎖抗体の試験管内選択の効率化の過程で、本手法がリボソーム上で翻訳を停止させるペプチド配列の探索に応用可能であることが示唆されたことから (*J. Biochem.* **159**, 519-526, 2016)、mRNA ディスプレイ法と次世代シーケンサーを組み合わせた大規模なゲノム断片ライブラリーの試験管内選択を行い、翻訳停止配列を含む候補遺伝子を 900 個以上同定することができた (Nascent Chain Biology Meeting 2016&論文投稿準備中)。これにより次年度以降、mRNA ディスプレイ法により薬剤に結合するタンパク

質の遺伝子断片を大規模に同定するためのサンプル調製条件と、mRNA ディスプレイ法と次世代シーケンサーにより得られた大規模データのゲノムへのマッピングの解析手順を確立することができた。

<問題点とその克服方法>

疾患標的分子に結合するペプチド／抗体を創出することはバイオ医薬として有用であるが、標的が細胞内の分子である場合、抗体やペプチドなどのタンパク質性の医薬を細胞内に効率よく送達することは難しいという問題点があった。そこで我々は、タンパク質のエンドソーム離脱を促進する新しい膜透過促進ペプチドを探索し、ウニ受精関連タンパク質由来の B18 および B55 ペプチドを新たに同定した(*J. Control. Release*, **212**, 85-93, 2015)。また、抗体を利用した細胞選択的な DDS に応用するために、多くのがん細胞のマーカである EGFR に対する一本鎖抗体に B18 および B55 を融合したところ、共添加した IgG 抗体およびデキストランのエンドソーム離脱を EGFR 高発現細胞選択的に促進することを、核移行シグナルを利用した新たな評価系により示した(*J. Biochem.* **159**, 123-132, 2016)。また、ウニ由来のペプチドを DDS に応用すると免疫原性が懸念されることから、新たにヒト膜融合関連タンパク質由来の膜透過促進ペプチド S19 を探索・同定することに成功した(*J. Control. Release*, revised)。

<研究成果の副次的効果(実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。)>

従来法よりも細胞質への送達効率を約 100 倍向上できるヒト由来膜透過促進ペプチドについては、すでに国内及び国際特許出願(公開番号 WO2016/199674)し、日本経済新聞のバイオ中分子創薬の特集記事の一部としても紹介された(12月26日付朝刊13面)。また、これを応用した抗体 DDS の開発に向けて複数の製薬企業およびバイオベンチャーと共同研究契約を締結しており、実用化に向けた研究を進めている。

<今後の研究方針>

3年間で mRNA ディスプレイ法および DNA ディスプレイ法を拡張した基盤技術を確立することができたので、後半の2年間では、これまでに本プロジェクトでスクリーニングされた化合物に本技術を適用することにより、それらの薬剤の標的タンパク質の同定とその周辺のネットワーク解析を行い、作用機序の解明に貢献する。その過程で同定された疾患標的分子に結合するペプチド／抗体を創出し、細胞質にデリバリーすることで画期的なバイオ医薬の創出を目指す。

<自己評価の実施結果及び対応状況>

一部達成できなかった目標もあったが、予定していなかった新たな結果も得られたため、費用対効果は高いと判断し、80点の高評価とした。達成できていない目標は、残りの2年間で結果を出す予定である。

【進捗状況・研究成果等】

南美穂子

＜現在までの進捗状況及び達成度＞

データ解析を支援し、それらのデータを活用した作用機序解析のために統計解析法、および、数理解析法を適用することを研究目標としており、現時点までの研究内容としては主に以下の2点が挙げられる。

1. 大規模データにおける多重比較問題：マイクロアレイによる遺伝子発現量などの大規模データに対して、条件を変えて得られた2つのデータ群、あるいは、疾病患者群と対照（健常者）群の2つの群間で発現量に差がある遺伝子を探索することを考えるとき、従来の多重比較法で行われていた **Family wise error rate** コントロールではなく、偽陽性率（**FDR, False Discovery Rate**）に基づいて有意水準を設定する方法が一般的になってきた。FDR法を用いた場合の偽陽性率に関する既存の統計理論は、各遺伝子に対する検定統計量が独立であることを仮定しているが、本研究では、遺伝子間に相関がある場合や、脳の拡散テンソル画像などのような2次元データで空間相関がある場合の偽陽性率の数理的特性について調べている。興味の対象は、検定統計量がその分布の裾にあるときのふるまいであるが、これは、リスク管理におけるリスク指標（例えば **VaR, Value at Risk**）とも共通の関心であり、変量間の従属性を表す **Copula** 理論を用いることにより、分布の裾に特徴的な複雑な従属性を柔軟に解析することを試みる。現在は理論面での調査・研究を行っている。
2. 非負値行列分解法(**NMF, Non-negative Matrix Factorization**)に関する研究：非負値行列分解法は、マイクロアレイによる遺伝子発現量などのように各成分が非負の値をとる非負値行列データを次元の低い非負値行列の積として表現することにより、特徴量を抽出する行列分解法である。本研究では、プロジェクトのメンバーである大家と佐藤により提供された12種のガンの糖鎖データに非負値行列分解を適用することにより、各ガンに固有の腫瘍マーカーの探索と、この分解法の腫瘍マーカー探索法としての可能性の検証を行う。また、12種のガンがどのタイプのガンであるかをラベルとして与え、同じタイプのガンは、特徴量の値が大きくは異ならないような分解を与える **Max-min 距離非負値行列分解法(MMDNMF)**法を用いることによりガンタイプ固有の腫瘍マーカーをより頑健に探索する方法を考えた。

＜特に優れた研究成果＞

非負値行列分解法(**NMF**)や **Max-min 距離非負値行列分解法(MMDNMF)**法を糖鎖データに適用することにより、遺伝子発現量を低次元の非負値の基底関数で表現したところ、腫瘍マーカーとされる糖鎖は、固有の基底関数値が大きくなるという結果が得られ、この方法の腫瘍マーカーの探索法としての有効性が示された。

＜問題点とその克服方法＞

特になし。

＜研究成果の副次的効果（実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。）＞

特になし。

＜今後の研究方針＞

マイクロアレイデータの2群間での大規模比較については、実際のデータ解析に適用したいと考える。また、2群間の様々な違いを反映することのできる検定統計量に関して研究を行いたい。

＜自己評価の実施結果及び対応状況＞

糖鎖データに非負値行列分解法を用いた結果は、興味深いものであった。遺伝子発現データの大規模比較に関しては、公表されている既存データを用いた理論面での研究の段階であるが、今後は実際のデータでの解析に発展させたいと考える。

【進捗状況・研究成果等】

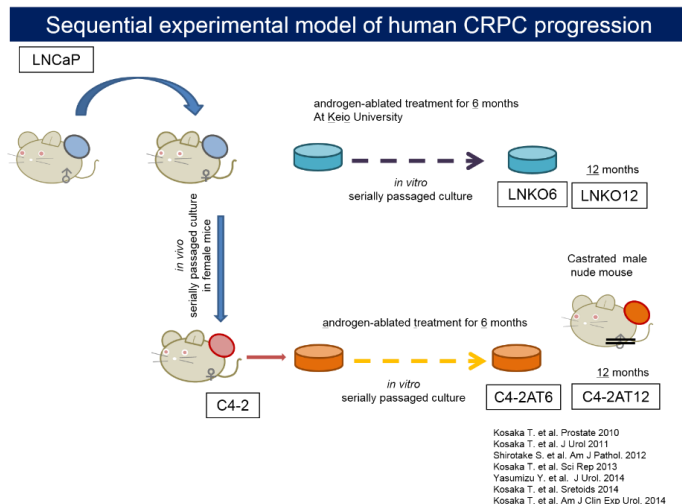
大家基嗣

< 現在までの進捗状況及び達成度 >

前立腺癌や尿路上皮がん腎細胞癌において、薬剤耐性のメカニズムの解明や新規薬剤スクリーニング実験系の確立を目的に、微小環境を模倣するような細胞実験系や、新規に耐性株の樹立に取り組んできた。この3年間で、実際に有用な細胞株を樹立することができ、進展メカニズムの解明が少しずつ進んでいる。また、ヒト臨床検体、特に、チロシンキナーゼ（TK）阻害剤に治療を行った淡明細胞がん組織を用いた解析を進めており、新たな遺伝子異常や候補標的因子のスクリーニングも順調に進んでおり、進捗は順調で、達成度は高いと考える。

< 特に優れた研究成果 >

アンドロゲンに依存性して増殖し、アンドロゲンを除去するとアポトーシスを起こすヒト前立腺癌細胞株 LNCaP や C4-2 を、アンドロゲン除去の血清の下で1-2年培養し、アンドロゲンがなくても安定的に増殖する細胞株を樹立し、がんの悪性度に応じた、進展メカニズム解明の有用な実験系を確立することができた。また、新規抗がん剤カバジタキセル耐性株の樹立を試みたが、2年の歳月をかけて、*in vitro* と *in vivo* において耐性を獲得した細胞株の樹立に成功した。透析腎がんのゲノクス解析のデータを詳細に分析したところ、淡明細胞がん症例で見られた VHL 遺伝子変異は確認されなかったことは、新規知見である。



< 問題点とその克服方法 >

各種細胞株における遺伝子異常を次世代

シーケンサーで解析を進めているが、新たに発見された遺伝子異常が多いため、解析対象とする因子の選択が課題である。

機能的に有意であるかというメカニズム解析を進めるに辺り、上述した進行度に応じた細胞株や、薬剤耐性を獲得した細胞株を有機的に使用することで、メカニズム解析が進むことが期待される。

< 研究成果の副次的効果（実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。） >

透析腎がんにおける NGS の報告は無く、淡明細胞がん症例での VHL 遺伝子変異は確認されない点で、今後の解析により、新規のがん化のメカニズムや治療標的の創出が期待される。また、各ユニットにおける解析から、悪性度による糖鎖の違いが明らかになってくるなど、あらたな進展機構解明へと波及効果が期待されるなどの副次効果がもたらされてきている。

< 今後の研究方針 >

がんの進展メカニズムの解明のみならず、患者への還元を目的とした、*in vitro* から *in vivo*、そしてヒト臨床試験に至るまで、段階的かつシームレスな研究を展開する必要がある。薬剤耐性の克服に向け、既存薬を含めた新規薬剤の同定に向け薬剤スクリーニングを進める。

< 自己評価の実施結果及び対応状況 >

一部達成できなかった目標もあったが、予定していなかった新たな結果も得られたため、費用対

効果は高いと判断し、80点の高評価とした。達成できていない目標は、残りの2年間で結果を出す予定である。

【進捗状況・研究成果等】

鈴木秀和

＜現在までの進捗状況及び達成度＞

ピロリ菌感染宿主において、胃発がんリスクを規定する新しい分子を同定し、そのメカニズムを分子生物学的に明確にできた。具体的には、ピロリ菌感染に伴う宿主細胞の CD44v9 発現を制御する分子を同定することができ、その分子の新しい機序として、autophagolysosome 形成抑制機序を明確にすることが出来た。これにより、本研究課題の達成目標である CD44v9 発現制御手法の開発に向けて、CD44v9 にプラスして、新しい標的分子の同定ができた。

＜特に優れた研究成果＞

これまでに知られていなかったオートファジーの制御メカニズムの一端を解明し、またこの分子機構がピロリ菌感染宿主における胃発がんリスクを規定する臨床医学的にも重要なメカニズムであることを見出した。この分子の制御法の開発により、ピロリ菌感染宿主における胃発がんリスクの低減に繋がる。また、この分子は、CD44v9 発現誘導にも強く関与しており、がん幹細胞誕生機序解明にむけた基盤構築がなされた。

＜問題点とその克服方法＞

生理的条件において、本研究において同定した分子（CapZA1）の制御システムの開発が難航している。つまり、CpaZA1 はハウスキーピング遺伝子であり、その抑制方法の開発では、サイドエフェクトの惹起が問題となるためである。そこで、CapZA1 の発現制御機構を解析したうえで、発現を制御するシステムをコントロールする手法を開発しなくてはならない。現在までに、動物実験により、実際に CapZA1 過剰発現細胞が存在することを見出しており、さらにその発現制御には、CapZA1 の CpG island は関係なく、DNA アセチル化の関与が疑われることを明らかにし始めた。これらの解析を足がかりに、CpaZA1 の発現制御機構を解明し、CapZA1 発現を制御する手法の開発につなげる。

＜研究成果の副次的効果（実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。）＞

CapZA1 の発現レベル解析手法の開発は、ピロリ菌感染者の中から胃発がんリスクの高い集団を選び出す技術に繋がると期待される。今後、簡易的な発現レベル解析手法を開発することが望まれる。また、CapZA1 発現制御剤の開発は、ピロリ菌感染者、さらに除菌後においても、がん幹細胞の誕生を抑制し、胃発がんリスクを下げる薬剤として機能することが期待され、胃がん撲滅に向けた大きな一歩を踏み出せる画期的な発見である。

＜今後の研究方針＞

学術的には、オートファジーを制御する新しい分子機構の解明につながり、また臨床医学的には、胃発がんリスクの高い集団をピンポイントで見抜く技術の開発につながる事が予想され、胃がん予防に多大なる貢献が期待される成果である。今後、CapZA1 の autophagy への関与の詳細の明確化により、世界をリードする日本の autophagy 研究に貢献するばかりではなく、CapZA1 の発現制御機構の解明と、それを基盤とした制御剤の開発により、胃発がんリスク低減剤の開発へと進める予定である。

＜自己評価の実施結果及び対応状況＞

年間を総括した自己評価を実施し、一部達成できなかった目標もあったが、予定していなかった新たな結果についても得ることができたため、70 点の評価とした。達成できていない目標は、残

りの2年間で結果を出したいと考えている。

【進捗状況・研究成果等】

曾我朋義

＜現在までの進捗状況及び達成度＞

メタボローム解析は、現在は基礎研究から産業応用まで様々な分野で使われているが、さらなる高感度化が望まれている。そこで、本研究では、陽イオン性代謝物および陰イオン性代謝物用のシーストレス CE-MS（キャピラリー電気泳動-質量分析計）法をそれぞれ新たに開発し、数倍から数十倍の高感度化を達成した（論文準備中）。またメタボローム解析法と他のオミクス解析を、大腸がん患者（275 例）から採取されたがん組織と正常組織に応用し、代謝産物と代謝関連遺伝子は良性腫瘍の段階から変動しており、ステージが進行しても変動しないこと、大腸がんで見られる特定の遺伝子の変異では代謝は変動しないことを見いだした。さらに、大腸の腫瘍組織では、ミトコンドリア異常が良性腫瘍の段階で起きていることも判明した。さらに、ミトコンドリアの生合成およびメンテナンスに関与する重要な転写因子や転写活性化因子が、大腸がん組織で著しく低下していることを見いだした。大腸がんでは、ミトコンドリアの生合成、オートファジーが抑制されており、それによって異常なミトコンドリアが蓄積していると推測された。今後ミトコンドリア異常と代謝の変動が起きる分子メカニズムを解明し、治療標的を探索する予定である。

＜特に優れた研究成果＞

本研究では、シーストレスを使わない陽イオン用（論文準備中）および陰イオン性メタボローム測定用 CE-MS デバイスを開発し、数倍から数十倍の高感度化を達成した。シーストレス CE-MS 法は、感度と操作性の面で優れている全く新しい測定技術であり、今後の産業界の分析機器開発の発展および生命科学、医学分野の希少試料の測定に大きく貢献するはずである。

＜問題点とその克服方法＞

シーストレス CE-MS 法は、高感度な素晴らしいメタボローム測定法であるが、現在は実験段階のプロトタイプである。誰もが使える、いつでも安定した結果を出せるようにするためには、キットなどの製品化を行い、一定の性能を保つように製品を検査し、品質を管理する必要がある。そのためには、分析機器メーカーにライセンスアウトし、製造から品質管理まで十分に行う必要がある。

＜研究成果の副次的効果（実用化や特許の申請など研究成果の活用の見通しを含む。）＞

陽イオン用代謝物測定用のシーストレス CE-MS 法についてはすでに特許を出願しており（特願 2015-075494）、海外出願も行う予定である。陰イオン用代謝物測定用のシーストレス CE-MS 法についても特許を申請する予定である。また、大腸がん特異的な代謝を標的にした創薬候補の特許も研究期間内に出願する予定である。

＜今後の研究方針＞

大腸がん組織で観察されるミトコンドリア異常と代謝の変動が起きる分子メカニズムを解明し、大腸がんの代謝を制御しているマスターレギュレーターを特定し、その因子の働きを阻害することで、がん細胞への代謝物の供給を遮断することによって、がんの増殖を抑制するという治療法の開発を行う予定である。

＜自己評価の実施結果及び対応状況＞

当初の計画通り、陽イオンおよび陰イオン用シーストレス CE-MS デバイスを開発した。また大腸がん組織のマルチオミクスによって、代謝やミトコンドリア異常などの大腸がんの特徴を新たに見いだした。3年間で総括した自己評価を実施し、当初の目標以上の成果が得られたため、100

点の最高評価とした。

2. 外部（第三者）評価者による報告書

慶應義塾大学

文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業「ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点」

中間評価

神奈川大学特別招聘教授 上村大輔

全体：本研究事業は、平成28年3月に出された公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団の「医療ビッグデータの活用並びにバイオマーカー実用化の最新動向」にもあるように、グローバルな研究プラットフォームの構築が急がれている研究分野である。そんな中での本研究提案は、将に時宜を得たものであり、進捗に期待がかかっている。すでにいくつかの創薬リード、バイオマーカーの提案がなされており、当初の予定以上に研究が進んでいることが見て取れる。益々、研究拠点長のリーダーシップの下に、研究を成功に向けて収束させるように期待する。大きなグループではないが、コンパクトで、精鋭が寄り合った研究組織で好感が持てる。なかなか困難な研究課題ではあるが直実に成果が出ており、研究者集団の中には若い研究者、および女性研究者も含まれており、今後の発展を期待したい。一流雑誌への掲載も含めて、発表論文も順調に出ており、今後をさらに期待したい。

連携研究の新展開と成功例：薬剤耐性がん細胞の細胞株の確立に成功し、これを各研究班に提供している。これに対する有効薬物の発見を促し、実際に候補薬品が完成している。臨床に進む所まで来ている。特に、前立腺がん、消化器がんでは成果が顕著である。
マルチオミックスデータと統合解析：本研究課題はビッグデータの中心に位置しているはずであるが、一部に偏った内容で、世界的な動向の中での立ち位置がもっと見えるとさらに良いように考える。ビッグデータの活用という観点からは今少し見え易くすることが重要であろう。大腸がんの MYC バイオマーカーの提案は非常に魅力的ではあるが、論文発表に期待したい。

がん細胞の動態解析：測定技術の考案によって、時間軸で変化する代謝産物の解析を行っている。また、糖鎖修飾の変化による動態解析も順調に推移している。

今後への期待：少しでも評価を高めるためには異分野との連携が重要で、本研究集団内のみならず、広い共同研究の提案を期待したい。若手に関しても共同研究の自由度を高

めさせ、広く世界を含めて研究内容を知られることに期待した。本件研究事業は目標以上には順調に推移しており大きな成果を期待したい。

**文部科学省 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点 中間評価書**

所属:理化学研究所環境資源科学研究センター

名前:長田 裕之

I. 本事業全体に関する総評

慶應義塾大学には、基礎から臨床までカバーできる人材が揃っており、プロジェクトに参加している方々が、ビッグデータを活用した創薬に意欲的に取り組んでいることを理解した。これだけの研究者が協力すれば、各研究者が個別に行っただけでは達成できない研究成果を生み出すことができるのではないかと期待する。特に、独自に開発した研究材料（大家先生の樹立した耐性細胞株、井本先生が開発した阻害剤など）や研究手法（榊原先生のマルチオミックス解析法、佐藤先生の糖鎖プライマー法、曾我先生のメタボローム解析法など）があるので、オリジナリティーの高い成果につながりそう。

II. 研究の進め方に対する具体的なコメント

1. プロジェクトリーダーの役割：優

大学の研究プロジェクトでは、参加者のベクトルを同じ方向に向かせることが難しいが、榊原先生は、代表者として研究の方向性を示している。

具体的には、一つの細胞株に焦点を絞って、そのオミックス解析を経時的に行うことをメンバーに提案し、質の高いビッグデータを取得することに成功している。

2. 研究内容の妥当性：優

各実験系は、よく考えられており、臨床サンプルを用いたオミックスデータを取得することにより、新しい薬剤シードの開発につなげようとする意欲を感じた。

参加者の独自性、強みを生かした研究を遂行しておりオリジナリティーの高い研究成果が生まれている。

3. 若手研究者、学生の育成：優

ポスター発表で、若手研究者、大学院生が発表していたが、きちんと実験の目的に合った実験デザインを考えて、得られた結果に関しても、自分の言葉で説明できていた。単に、指導教員の指示に従って行った研究成果ではないことを感じた。

4. 研究の進捗状況と将来性：優

個別の研究は順調に進んでいると評価するが、研究終了時までには、これを統合したマルチオミックス解析の成果を出すことが重要。

本事業の評価に関して、気になったこと

上述の評価は、シンポジウムに参加して、半日間で感じたことを書き留めたもので、単なる印象記に近い。もし、プロジェクトの評価委員に対して、全体のロードマップ（重要な評価軸）を示すとともに、現在までの成果（論文や学会発表）を教えてもらってれば、もう少し、踏み込んだコメントもできたのではないかと思う。

法人番号	
プロジェクト番号	

<外部（第三者）評価の実施結果及び対応状況>

京都大学大学院薬学研究科 教授・副研究科長 掛谷秀昭

疾患ゲノム解読や病原菌ゲノム解読など、世界中の膨大なビッグデータ解析結果などから、近年、多くの薬剤標的分子が明らかになり、それら薬剤標的分子に対して新薬リード化合物の開発が加速されうると考えられていたが、産業界およびアカデミアのいずれにおいても現状はなかなか厳しい。その主たる要因として、特にアカデミアにおいては、疾患標的分子同定、リード化合物探索、作用機序解析という各工程が各研究科・各研究室レベルで分離・独立しがちであることなどが挙げられる。

そのような背景のもと、本研究プロジェクトでは疾病に関して解明された制御機構や薬剤標的分子の特性をデジタル化し、慶應義塾大学の基礎科学（生命科学、生命情報学）・医科学（臨床学、腫瘍学）・分析化学（メタボローム、イメージング）を専門とする研究者を結集し、これらのビッグデータの利活用を介して創薬工程を実現し薬を創り出すデータ駆動型のシステム構築を目指すものである。泌尿器がん、消化器がん、グライコーム、メタボローム、ケミカルバイオロジー、mRNA/DNA ディスプレイ、イメージング、分子プロファイル、次世代シーケンス、情報システムなどに関する各参画研究者の技術開発・基礎研究は概ね順調に進展している。また、各参画研究者の応用展開を伴うビッグデータ駆動型創薬システムの確立においては、特に、大家らが樹立した悪性度の極めて高い前立腺がん細胞を共通の研究材料としたプロトタイプにて、着実に研究が進展しており、新しい治療標的分子や治療標的パスウェイの同定や抗がん剤リード化合物の開発が大いに期待できる。さらには、参画研究者間の共同研究成果の主要な学術雑誌への発表をはじめとして、研究成果発表やアウトリーチ活動も順調である。

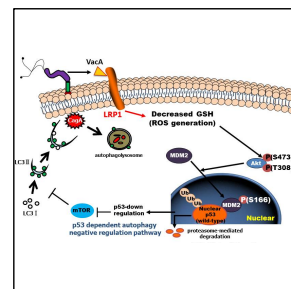
以上、総合的に判断して、本プロジェクトは概ね当初の計画通り進展しており、本プロジェクトが掲げる「理工、医学、環境情報学」の連携を活かしたビッグデータ駆動型創薬システム拠点の形成が大いに期待される。

3. ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点シン ポジウムプログラム

第1回シンポジウム

場所：慶應義塾大学日吉キャンパス来往舎1F シンポジウムスペース

総合討論



—ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点—

第2回シンポジウム

日時：2016年 3月17日（木）

場所：慶應義塾大学理工学部矢上キャンパス厚生棟3F 大・中会議室

12:30-

開場・受付開始

13:00-13:10

ご挨拶

慶應義塾常任理事 真壁 利明

13:10-13:20

はじめに：ビッグデータ時代の創薬

慶應義塾大学大学院理工学研究科教授 榎原 康文

13:20-14:00

オミックスによる大腸がんのワールブルグ効果の解明

慶應義塾大学先端生命科学研究科教授 曾我 朋義

14:00-15:00

ポスターセッション1（奇数番号）

15:00-15:40

特別講演：バイオマーカー開発と創薬標的の同定を目指した
臨床試料における多層的オミックス解析

慶應義塾大学医学部病理学教室教授 金井 弥栄

15:40-16:00

休憩

16:00-16:40

特別講演：データ同化システムの作り方

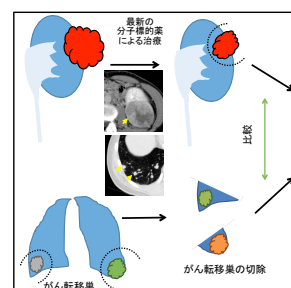
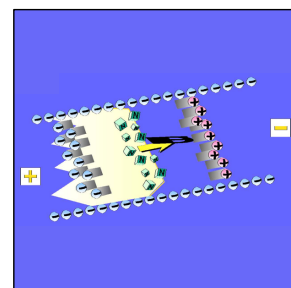
統計数理研究所准教授 上野 玄太

16:40-17:40

ポスターセッション2（偶数番号）

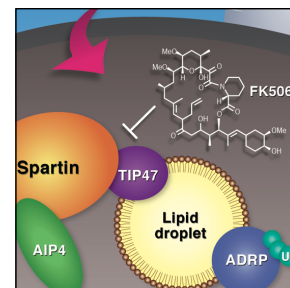
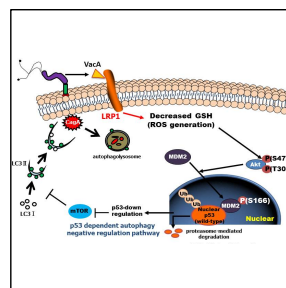
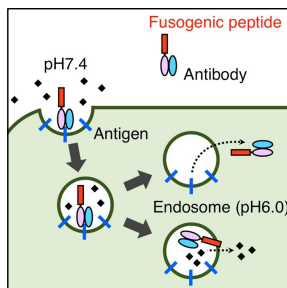
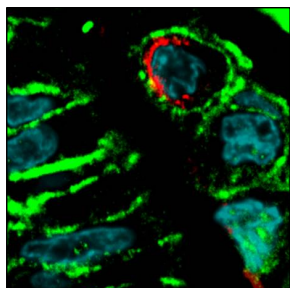
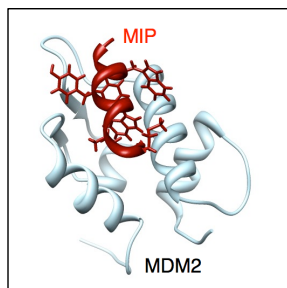
17:40

閉会



参加費無料 事前登録不要

お問い合わせ：慶應義塾大学理工学部生命情報学科 土居 信英（内線：48304 e-mail：doi@bio.keio.ac.jp）



特別講演要旨

15:00-15:40

バイオマーカー開発と創薬標的同定を目指した臨床試料における
多層的オミックス解析

金井 弥栄（慶應義塾大学 医学部 病理学教室）

多数のがん症例において、同一の病理組織検体を用い、ゲノム・エピゲノム・トランスクリプトーム・メタボロームといった多層のオミックス解析を同時に行うことにより、発がん分子経路の理解が進み、バイオマーカー開発・創薬標的同定に帰結すると期待される。本シンポジウムでは、ナショナルセンター等を主体として展開した「多層的疾患オミックス解析プロジェクト」における腎細胞がん等の解析の成果を供覧するとともに、このようなデータ駆動型研究の成否の鍵を握る、臨床試料の質と臨床病理情報の重要性について論じる。

16:00-16:40

データ同化システムの作り方

上野 玄太（統計数理研究所）

数値シミュレーションで思うように現実を再現できない。これがデータ同化導入の出発点である。その原因は当然シミュレーションモデルの不備にある。シミュレーションの初期条件・境界条件、モデル化されていない異スケールの現象、差分近似のための格子の大きさ、経験的公式やパラメータ、などがその内訳である。データ同化とは、データを参考にしながらシミュレーションモデルを修正するプロセスをいい、現象の正確な再現や予測を狙うものである。本講演では、大気海洋システムのデータ同化例を通して、一連のデータ同化プロセスを紹介する。

ポスター演題

- [01] 前立腺がん悪性化株C4-2におけるDNAメチル化解析
平尾 香菜（慶應義塾大学 理工学部 榊原研究室）
- [02] 前立腺がん悪性化株 LNK06 における derived RNA のプロファイル解析
青木 言太（慶應義塾大学 理工学部 榊原研究室）
- [03] 糖鎖プライマー法を利用したC型肝炎ウイルス複製細胞に発現する糖脂質の解析
山口 裕崇（慶應義塾大学 理工学部 佐藤研究室）
- [04] 糖鎖プライマー法を用いたがん細胞で発現する糖鎖の比較解析
佐々木 克昌（慶應義塾大学 理工学部 佐藤研究室）
- [05] 糖鎖プライマー法を用いたがん細胞で発現するムチン型糖鎖の構造解析
佐倉 隆馬（慶應義塾大学 理工学部 佐藤研究室）
- [06] 糖鎖プライマー法により獲得したオリゴ糖を用いたインフルエンザウイルス検出法の開発
河野 里砂（慶應義塾大学 理工学部 佐藤研究室）
- [07] 酸化ストレス抵抗性胃がん幹細胞におけるTrastuzumab耐性メカニズムの解明
森 英毅（慶應義塾大学 医学部 内科学教室（消化器））
- [08] β -catenin変異がんに対して合成致死を誘導する治療薬シードの探索
四方 雄貴（慶應義塾大学 理工学部 井本研究室）
- [09] エンザルタミド耐性前立腺がんに対する治療薬シードの開発
齋藤 駿（慶應義塾大学 理工学部 井本研究室）
- [10] ケミカルゲノミクスに基づいた CRPC 悪性化因子の探索
田代 悦（慶應義塾大学 理工学部 井本研究室）
- [11] パーキンソン病 MPP⁺モデルにおける細胞内 Mg²⁺の神経保護作用
新藤 豊（慶應義塾大学 理工学部 岡研究室）
- [12] ミトコンドリア Mg²⁺による ATP 産生の調節
山中 龍（慶應義塾大学 理工学部 岡研究室）
- [13] 神経突起におけるミトコンドリア動態・活性の同時イメージングとその定量的評価
鈴木 李夏（慶應義塾大学 理工学部 岡研究室）

- [14] 非負値行列分解(NMF)を用いた白血病データの解析
早瀬 亮（慶應義塾大学 理工学部 南研究室）
- [15] 一般極値分布を用いた年最大降水量データ解析
檜山 文音（慶應義塾大学 理工学部 南研究室）
- [16] 一般化加法モデルを用いた、MLBトラッキングデータにおけるストレートのコンタクト確率解析
永田 大貴（慶應義塾大学 理工学部 南研究室）
- [17] 臨床検体と臨床情報を利用した進行性腎細胞がん新規分子標的の探求
水野 隆一（慶應義塾大学 医学部 泌尿器科学教室）
- [18] 進展プロセスに着目した進行前立腺癌の進展メカニズムと新規治療標的
小坂 威雄（慶應義塾大学 医学部 泌尿器科学教室）
- [19] PURE mRNA ディスプレイ法によるヒト抗 GPCR 抗体の試験管内選択
海野 佑樹（慶應義塾大学 理工学部 土居研究室）
- [20] ヒト由来膜透過促進ペプチドと pH 依存性抗体を組み合わせた新規抗体 DDS の開発
須藤 慧（慶應義塾大学 理工学部 土居研究室）
- [21] DNA ディスプレイ法による二量体低分子抗体の試験管内進化
中山 真尚（慶應義塾大学 理工学部 土居研究室）

※ポスターパネルの大きさは、「たて166 cm x よこ114 cm」です。この範囲におさまるサイズで作成してください。

※ポスターの貼付は、シンポジウム開始前の12:50までをお願いいたします。
（午前中にパネルが設置され次第、開場前から貼付可能です。）ポスターを留めるピンはこちらでご用意いたします。

※奇数番号の方はポスターセッション1（14:00-15:00）、偶数番号の方はポスターセッション2（16:40-17:40）の時間にポスターの前に立ってください。

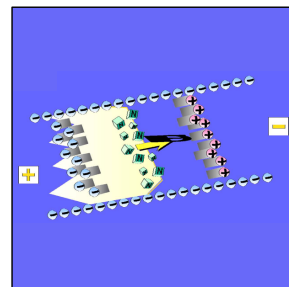
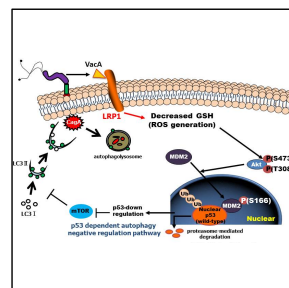
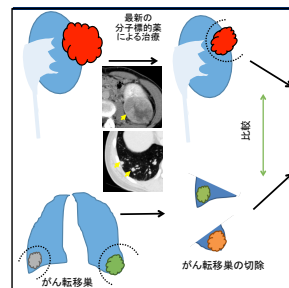
—ビッグデータ駆動型創薬システム研究拠点—

第3回シンポジウム

日時：2017年 3月7日 (火)

場所：慶應義塾大学 日吉キャンパス来往舎2F 大・中会議室

12:30-	開場・受付開始	
13:00-13:05	ご挨拶	慶應義塾大学大学院理工学研究科教授 榊原 康文
13:05-13:20	本事業におけるマルチオミクスデータと統合解析	慶應義塾大学大学院理工学研究科教授 榊原 康文
13:20-13:35	泌尿器科癌における薬剤耐性克服に向けた新規治療戦略	慶應義塾大学大学院医学研究科教授 大家 基嗣
13:35-13:50	糖鎖プライマー法を用いたがん細胞での糖鎖プロファイリング	慶應義塾大学大学院理工学研究科教授 佐藤 智典
13:50-14:20	特別講演1：天然物の化学—魅力と展望	神奈川大学理学部教授 上村 大輔
14:20-14:50	ポスターセッション1（奇数番号）兼コーヒーブレイク	
14:50-15:20	特別講演2：創薬ケミカルバイオロジー研究方略： 表現型スクリーニングとシード分子開発	京都大学大学院薬学研究科教授 掛谷 秀昭
15:25-15:40	悪性化前立腺癌細胞に対する治療薬シードの探索	慶應義塾大学大学院理工学研究科教授 井本 正哉
15:40-15:55	消化器がんにおける標的分子同定	慶應義塾大学大学院医学研究科教授 鈴木 秀和
15:55-16:10	薬剤標的タンパク質の探索およびバイオ医薬創出・送達基盤技術の開発	慶應義塾大学大学院理工学研究科准教授 土居 信英
16:10-16:40	ポスターセッション2（偶数番号）兼コーヒーブレイク	
16:40-17:10	特別講演3：酸化ヌクレオチド分解酵素MTH1は抗がん剤標的となるか？ 理化学研究所環境資源科学研究センター副センター長	長田 裕之
17:15-17:30	判別・多重比較問題とホタルの意思決定	慶應義塾大学大学院理工学研究科教授 南 美穂子
17:30-17:45	種々のイメージング手法による細胞の特徴づけ	慶應義塾大学大学院理工学研究科教授 岡 浩太郎
17:45-18:00	マルチオミクスによる大腸がんの代謝解明に基づく標的探索	慶應義塾大学先端生命科学研究科教授 曾我 朋義
18:00	閉会	



参加費無料 事前登録不要

ポスター演題

- [01] 透析腎がん薬剤耐性と相関のあるDNAメチル化異常の解析
溝渕 嶺 (慶應義塾大学 理工学部 榊原研究室)
- [02] 発がん過程における腫瘍の悪性化と退縮のトランスクリプトーム比較解析
伊藤 惟 (慶應義塾大学 理工学部 榊原研究室)
- [03] 糖鎖プライマー法を用いた前立腺がん細胞で発現する糖鎖の解析
佐々木 克昌 (慶應義塾大学 理工学部 佐藤研究室)
- [04] 糖鎖プライマー法を用いたがん細胞に発現するⅠ・Ⅱ型糖鎖の比較解析
城代 航 (慶應義塾大学 理工学部 佐藤研究室)
- [05] 糖鎖プライマー法を用いたがん細胞に発現するムチン型糖鎖の比較解析
長井 香 (慶應義塾大学 理工学部 佐藤研究室)
- [06] ヒト Syncytin1 由来膜融合ペプチドの DDS への応用
岩城 洸汰 (慶應義塾大学 理工学部 土居研究室)
- [07] mRNA ディスプレイ法による抗 CCK-BR 抗体の試験管内選択
漆島 穰一 (慶應義塾大学 理工学部 土居研究室)
- [08] mRNA ディスプレイ法による翻訳アレスト配列の大規模探索
濱野 理 (慶應義塾大学 理工学部 土居研究室)
- [09] 事前情報を用いた非負値行列分解
早瀬 亮 (慶應義塾大学 理工学部 南研究室)
- [10] サッカートラッキングデータを用いた失点リスクの推定
酒井 優行 (慶應義塾大学 理工学部 南研究室)
- [11] アセチル反応促進によるミトコンドリア機能制御
新藤 豊 (慶應義塾大学 理工学部 岡研究室)
- [12] 細胞内 Mg^{2+} によるエネルギー代謝の調節
山中 龍 (慶應義塾大学 理工学部 岡研究室)
- [13] 蛍光イメージングによる神経ミトコンドリアの膜電位・ATP同時定量
鈴木 李夏 (慶應義塾大学 理工学部 岡研究室)
- [14] シスプラチン持続暴露によるEMT誘導機構の解析
田代 悦 (慶應義塾大学 理工学部 井本研究室)
- [15] 去勢抵抗性前立腺がん細胞選択的細胞死誘導物質の探索
濱村 裕輝 (慶應義塾大学 理工学部 井本研究室)
- [16] ドセタキセル耐性去勢抵抗性前立腺癌における遺伝子発現プロファイルを標的としたリプログラミング薬剤のスクリーニング
本郷 周 (慶應義塾大学 医学部 泌尿器科学教室)

※奇数番号の方はポスターセッション1 (14:20-14:50)、偶数番号の方はポスターセッション2 (16:10-16:40) の時間にポスターの前に立ってください。