≪若手研究者紹介≫

「肥沃」な環境で，のびのび育んだ研究者の芽

近 藤 彩 乃* Ayano Kondo
協和発酵キリン株式会社 創薬技術研究所

1. は じ め に

2010 年に東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学教室を卒業し，早 7 年が経過した．卒業後薬剤学から離れていた私に，今回このような執筆の機会をいただけたことを大変光栄に思う．同時に，分子薬物動態学教室で得た経験，人とのつながりが大きな礎となり，現在の自分に脈々と息づいていると改めて実感している．

この機会に，私の研究者としてのモットーや，現在の研究者形成につながる人とのつながりや経験に重点を置いて，今までの研究者生活を振り返りたい．

2. 出会いの連鎖が「私」を変えた

私の薬剤学，薬物動態学との出会いは，2007 年 4 月に学部 4 年生として，当時杉山雄一先生主宰の東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学教室に所属した時から始まった．幼少の頃からサイエンスが好きで，かつ自身がアレルギー体質のために薬が欠かせず新薬に助けられた経験から，自分も人のために活かせる研究をしたいと思い，薬学部に進学しようと考えていた．東京大学に入学し，薬学部へ進学できた後，研究室選択で最も重要視したのは「薬学部でしか学べないこと」を学べる点だった．その最たる学問が薬物動態学だった．加えて，いつでも明るくウィットに富んだ話をされる杉山先生，そして研究室に在籍されていた諸先輩方の楽しい人柄に惹かれて専攻を決めた．

杉山先生に教えていただいたことは数えきれない．薬物動態学はもちろん，サイエンスに対する姿勢など枚挙にいとまがないが，ここでは敢えて杉山先生のお人柄にふれさせていただく．杉山先生は常におもてなしの心に溢れ，いつも最高のエンターテイナーでいらっしゃった．学会やシンポジウム，またゲストをお招きしたセミナー等あらゆる場面で，参加者を楽しませることに全力を注がれておられた．私のその後の研究者人生を変えるきっかけになった出来事は，自身が研究室に配属された年に開催された Dr. Leslie Benet（University of California）を招いての英語セミナーで起こった．日頃から杉山研究室のコロキウムでは，発表はもちろんのこと，議論も英語で行うことが推奨されており，それまで人前で英語を話す機会が少なかった私にとって，毎回戦々恐々，心臓がバクバクするイベントだった．加えて当時の私は，人前に立って何かを話すことに慣れておらず，今と比較すると相当な引っ込み思案かつあがり症だった．しかしあろうことか，かの Dr. Leslie Benet を招いたセミナーの懇親会で，杉山先生が私に前に出て英語でコメントするように突然アナウンスされたのだ！ 私は頭が真っ白になり，その際の出来事をよく覚えていないのだが，とにかく精一杯拙い英語で何かを喋ったようだ．その奮闘ぶりを評価していただけたのか，別の機会で Dr. Kathy Giacomini（University of California）を招待した際には，杉山先生との小芝居にキャスティングしていただき，英語での役者（？）デビューを果たしたのだ！

*2008 年 3 月東京大学薬学部薬学科卒，2010 年 3 月東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了，同年 4 月協和発酵キリン株式会社入社，2016 年 3 月東京大学工学系研究科博士課程終了，現在に至る．研究のモットー：世界初の研究に仲間と心躍らせつつ挑戦．趣味：旅行，グルメ，お酒，歌．連絡先：〒194–8533 東京都町田市旭町 3–6–6 E-mail: ayano.kondo@kyowa-kirin.co.jp

図 1　2017 年 7 月に開催された第 5 回がんと代謝研究会にて筆者が口頭発表を行っている様子

最初は戸惑うことも多かったが，このような経験をさせていただいた結果，人前に出ることに少しずつ抵抗がなくなっていった．杉山先生は敢えて私にこのような機会を与えて下さったに違いなく，今，心より感謝している．

更に幸運なことに，このような（主に研究以外の）活動から，日本薬剤学会名誉会長である永井恒司先生とお会いする機会までいただいた．永井先生は女性研究員や薬剤師の地位向上に全精力を注いでいらっしゃった．永井先生との親交から，女性であり薬剤師である私は，自身の思考や視野が日本の慣習や常識に囚われていたことを実感した．薬剤師であることを誇りに思うと共に，女性研究者として奮励していくよう強く鼓舞されることとなった．加えて，永井先生の計らいで，英語での APSTJ Global Education Seminar で発表の機会をいただけた．私にとって人前で自分の研究を発表する初めての経験だった．これを機に，学会で発表，議論することで，より多様な思考，背景知識を持つ研究者の方々に評価やコメントを貰うことができ，また更なる研究の進展やコラボレーションの発展につなげることができると知った（図 1）．

3. 研究の楽しさに魅了される

次に，研究について触れさせていただきたい．研究室配属後の私は，当時助教に着任直後で新進気鋭の林久允助教に師事する初めての学生として，研究を開始した．当時の杉山研究室では，PKPD モデルやシステムズバイオロジー等，生理学的薬物速度論モデルによる薬物体内動態予測法の確立を目指した，薬物動態学のトップラボならではの内容を中心に多くの研究が展開されていた．一方の林先生は，そうした杉山研究室のトレンドとは一線を画し，トランスポーターの細胞内局在制御を介した創薬に取り組まれておられ，4-phenylbutyrate（4PBA）という既存医薬品のドラッグリポジショニングよる Bile salt export pump（BSEP）の細胞内局在制御機構を介した進行性家族性肝内胆汁うっ滞症 2 型（PFIC2）治療に関する研究を推進されていた[1]．林先生は「誰もやっていない新しいことをやる」ことが指導の一つだった．学部–修士研究題目として与えられたのは，当時論文も殆どない機能未知の分子（以下分子 X と表記）によるトランスポーターの細胞膜発現量制御を介した創薬の可能性検討だった．既に分かっていたことは分子 X が PDZ ドメイン（PDZ binding motif を持つタンパク質と相互作用するドメイン）を有することや細胞内局在制御への関与が示唆されている程度で，分子 X がどのようなトランスポーターと相互作用するのか見当もつかなかった．細胞内に局在することが機能発揮や臨床病態に重要なトランスポーターを一意専心に抽出したものの，何から手を付けて良いか途方に暮れていた．

PDZ ドメインが相互作用する PDZ binding motif は 3 つのタイプがあり，分子 X が相互作用する Type 1 PDZ binding motif は，C 末端から 3 残基―［トレオニンまたはセリン］–［任意のアミノ酸］–［疎水性残基］で規定される．ある折，分子 X が相互作用する報告のあった数個のタンパク質の C 末端のアミノ酸配列を，PDZ binding motif の 3 残基に 2 残基加えた 5 残基列記して比較したところ，驚くべきことに何れも PDZ binding motif の一つ前のアミノ酸が共通してグルタミン酸であることに気づいた．そこで，①疾患に関連するトランスポーターで，② Type 1 PDZ binding motif を持ち，③ C 末端から 4 番目の残基がグルタミン酸であるトランスポーターを抽出したところ，抗動脈硬化作用を持つトランスポーター ATP―binding cassette, sub-family A, member 1（ABCA1）が絞り込まれてきた．この ABCA1 は過剰なコレステロールを細胞膜上で細胞外に排出し，高密度リポタンパク（High density lipoprotein, HDL）を形成することで，抗動脈硬化作用を示す[2]．検証実験の結果，確かに分子 X が ABCA1 の PDZ binding motif を介して相互作用すること，その結

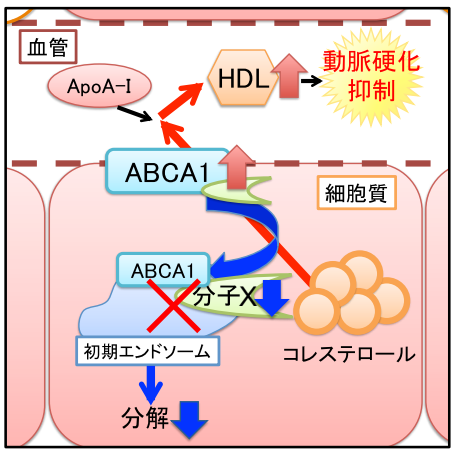

図 2　分子 X による ABCA1 の細胞内局在制御機構
分子 X と ABCA1 の PDZ binding motif を介した相互作用を阻害すると ABCA1 の細胞膜からの内在化および分解が抑制され，細胞膜上 ABCA1 の発現量および過剰なコレステロール排泄機能を正に制御する．排出されたコレステロールは Apolipoprotein A1（ApoA-I）と相互作用することで，血中 HDL 濃度上昇および動脈硬化抑制に寄与すると考えられる．

果，ABCA1 の細胞膜からの内在化および分解を促進し，ABCA1 の発現量と ABCA1 によるコレステロール排泄機能を負に制御されていることが明らかとなった．コレステロール排泄機能は，血中 HDL 濃度と高い相関があることから，分子 X は動脈硬化症への創薬ターゲット分子となりうることが示唆された（図 2）．

今思えば，法則と呼べる代物ではないが，PDZ binding motif の規則性への気づき，そして検証実験を通じた分子 X と ABCA1 の相互作用解明が，私が研究者として一歩を踏み出した瞬間だったと思う．自分で仮説を立てて検証し，世界中の他に誰も知らないことを自分が一番に発見する喜び．実験や研究が思い通りにいかず，苦しいことばかりだったが，それでも一度この甘美な体験をして以来，私は研究に魅了されるようになった．

4. 網羅的解析から誰も予想できない真実を見出す

修士課程卒業後は，協和発酵キリン株式会社に研究員として入社した．採用面接で，「0 から 1 を生み出す人になりたいか，1 を 100 に育てる人になりたいか」と問いかけられ，迷いなく前者を選んだ．その結果，探索研究の中でも非常に初期段階の部署「次世代創薬研究所（当時名）」に配属され，次世代核酸医薬の開発に着手した．

更に，東京大学先端科学技術研究センター油谷浩幸教授の研究室に派遣，博士課程に入学する機会を得た．油谷研は，いち早くマイクロアレイや次世代シークエンサー技術を取り入れ，がんのゲノムや，DNA のメチル化とヒストン修飾で維持・伝達される後天的に書き換えられる遺伝情報であるエピゲノム，特定の状況下での細胞内の全転写産物（全 RNA）を解析するトランスクリプトームといった網羅的解析を得意とする研究室である．このような生体内の分子群（DNA や RNA，タンパク質，代謝物，脂質等）を網羅的に解析することで生命現象を包括的に調べる手法を「オミクス解析」と呼ぶ．オミクス解析では，今まで報告のある分子や既知情報に囚われることなく，アンバイアスに重要な分子を炙り出すことができる．つまり，「誰もやっていない新しいこと」への強力なアプローチである．そこで私は，オミクス解析から得られた多階層の情報を統合して解析する，オミクス統合解析を行うことで，既知情報からは推測困難な，がんにおける重要分子の同定をテーマとした．

実験や論文執筆などを直接的に指導して下さったのは，東京大学先端科学技術研究センター児玉龍彦先生の研究室の大澤毅助教で，血管生物学や腫瘍学において次世代を担い，不完全な血管構築からなる血流不全から形成される低酸素，低栄養と言った腫瘍微小環境によるがん悪性化機構について研究されている先生だった．そこで私は，これまで想像し得なかった重要分子を見つける目的で，誰も注目してこなかった腫瘍微小環境条件として「酸性環境」に注目した．

先述の通り，固形がんにおいてはがんの中心部が低酸素状態に陥りやすく，その結果として解糖系代謝が亢進し，乳酸とプロトン（H^+）の産生が亢進し，酸性状態になることが知られている[3]．しかし，この酸性状態は低酸素状態の「結果」として捉えられ，酸性状態におけるがん細胞の応答メカニズムや酸性環境によるがん悪性化への影響は，当時は明らかではなかった．そこで私は，この酸性環境もがんの悪性化に寄与するのではと仮説を立て，酸性環境における転写制御因子を予測するべく，酸性状態を模した培養系を用い，酸性環境下で培養されたがん細胞のトランスクリプトームおよびエピゲノムの網羅的オミクス統合解析を行った．研究開始当初には，

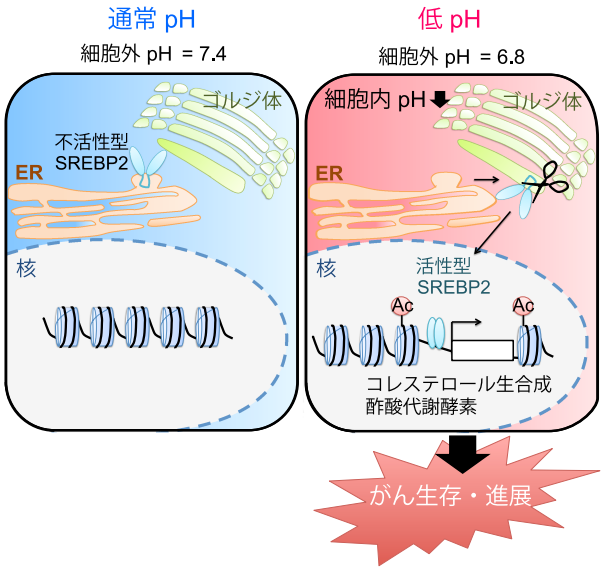

図 3　酸性環境におけるがん細胞の応答メカニズム
（左）細胞外 pH 7.4 の通常状態では，SREBP2 は ER に局在し不活性型である．（右）一方，細胞外 pH 6.8 の酸性状態にがん細胞が陥ると，細胞内の pH が低下し，SREBP2 がゴルジ体を経由して核内に移行し活性化する．結果として，コレステロール生合成や酢酸代謝に関連する酵素群の発現を誘導することで，がんの生存や進展に寄与する．

古くから知られている酸性環境の影響を今更解析してどんな意味があるのかと言われることも多々あった．しかし，そこは持ち前の反骨精神で，一見意味がないと思うことをひっくり返してこそ面白い，と批判に負けまいと研究に取り組んだ．その結果，エピゲノムとトランスクリプトームのオミクス統合解析から，これまでがんにおける役割が不明であった Sterol regulatory element-binding protein 2 (SREBP2) というコレステロール合成を制御する転写因子が酸性環境で活性化している可能性を見出した．更に，培養細胞とマウスを用いた解析では，SREBP2 が酸性環境下で核内移行して活性化すること，その結果コレステロールや酢酸を代謝する酵素群の発現を上昇させ，腫瘍増殖およびがん患者の生存時間に関与することを明らかにした（図 3）．近年，がん細胞の生存や悪性化メカニズムとして，低酸素や低栄養等の周辺環境に応じたトランスクリプトーム，エピゲノム変化や代謝適応がますます注目されている．本研究にて得られた知見は，低酸素や低栄養だけでなく「酸性」という環境が，これまでがんでの作用が明らかにされていなかった転写因子 SREBP2 を介してトランスクリプトーム，エピゲノムや代謝を変化させ，がん増殖や悪性化に関わることを初めて示唆するもので，酸性環境におけるがん細胞の転写・代謝応答に着目した新規創薬開発の切り口に繋がることを期待している [4]．

現在，トランスクリプトーム，エピゲノムに加え，代謝物を網羅的に測定するメタボローム解析を統合し，更に詳細な代謝変化について検証している．近年メタボローム解析の注目度が非常に高まっており，代謝解析にはトランスポーターや代謝酵素の理解が欠かせない．今後薬物動態学で学んだ知識を活かしながら，更にがんの悪性化機構の解明に迫っていきたいと考えている．

5. お　わ　り　に

学部 4 年生で研究をスタートさせてから丸 10 年経過した節目の年に，今までの研究人生を振り返る機会をいただけたことは私にとって非常に意義深かった．諸先生方から時に厳しく，時に優しく指導していただいたことが，一つ一つ私の性格，行動，思想として根付き，現在の研究者としての基礎を築いていると実感した．私が研究者の種として降り立った地は，ハイレベルなサイエンス，独創的な思考，魅力に溢れる人間の結びつきといった沢山の栄養素に満ちた肥沃な環境だったからこそ，腐ることなく幹や枝葉を成長させ，研究に励めたのだと思う．これからも，世界初の新知見を見いだす喜びと初心を忘れることなく研究に取り組んでいきたい．そして今後はその知見を実際の創薬に応用することで，自分の知的好奇心を満たすだけでなく，世の中に研究成果を還元し，薬を待つ患者さんを救っていきたいと考えている．

最後に，現在に至るまでご指導いただきました理化学研究所杉山特別研究室の杉山雄一先生，東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学の楠原洋之先生，前田和哉先生，林久允先生，日本薬剤学会の永井恒司名誉会長，東京大学先端科学技術研究センターの油谷浩幸先生，児玉龍彦先生，大澤毅先生，協和発酵キリン株式会社の冨塚一磨研究所長，吉田哲郎主任研究員，國里篤志主任研究員，そしてご支援いただきました同僚の方々と支えてくれた家族・友人に，この場を借りて御礼を申し上げます．

引 用 文 献

1) H. Hayashi, Y. Sugiyama, 4-phenylbutyrate enhances the cell surface expression and the transport capacity of wild-type and mutated bile salt export pumps, *Hepatology*, **45**, 1506–1516 (2007).
2) R. R. Singaraja, C. Fievet, G. Castro, E. R. James, N. Hennuyer, S. M. Clee, N. Bissada, J. C. Choy, J. C. Fruchart, B. M. McManus, B. Staels, M. R. Hayden, Increased ABCA1 activity protects against atherosclerosis, *J. Clin. Invest.*, **110**, 35–42 (2002).
3) B. A. Webb, M. Chimenti, M. P. Jacobson, D. L. Barber, Dysregulated pH: a perfect storm for cancer progression, *Nat. Rev. Cancer*, **11**, 671–677 (2011).
4) A. Kondo, S. Yamamoto, R. Nakaki, T. Shimamura, T. Hamakubo, J. Sakai, T. Kodama, T. Yoshida, H. Aburatani, T. Osawa, Extracellular acidic pH activates the sterol regulatory element-binding protein 2 to promote tumor progression, *Cell Rep.*, **18**, 2228–2242 (2017).