

From Discovery to Clinical application of PACAP

Atsuro Miyata

Dept. of Pharmacol. Grad. Sch. Med. Dent. Sci.

Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptides (PACAPs) were discovered in the 1980s in the process of searching for unknown hypothalamic factors after the successive discovery of hypophysiotropic hormones such as TRH, GHRH, and CRH. PACAP38, consisting of 38 amino acids, and PACAP27, consisting of 27 residues at its N-terminus, were isolated and identified from sheep hypothalamic extracts in 1989 using the stimulatory activity of cyclic AMP production in rat pituitary cells. Their structures show 68% homology to vasoactive intestinal peptide (VIP) and belong to the secretin-glucagon family. PACAP38 is widely distributed in the brain, with the highest concentration in the hypothalamus, where it promotes the secretion of almost all pituitary hormones. PACAP38 is widely distributed in the brain and is found in highest concentration in the hypothalamus, but it promotes the secretion of almost all pituitary hormones, and its full physiological function in the hypothalamus has yet to be elucidated. However, focusing on its function as a neurotrophic factor, we aim to apply it clinically as an agonist in the treatment of ischemic brain diseases such as stroke and neurodegenerative diseases. In the meantime, research is being conducted on the clinical application of antagonists for the treatment of intractable pain based on their function in pain transmission as neurotransmitters.

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド (PACAP) は、1980年代、TRH、GHRH、CRHなど向下垂体性視床下部ホルモンが次々と発見された後、さらに未知の視床下部因子を探索する過程において発見された。ラット下垂体細胞のcyclic AMP産生刺激活性を指標として、羊視床下部抽出物より、1989年に38アミノ酸からなるPACAP38が、その後そのN末端27残基からなるPACAP27が単離同定された。それらの構造は血管作動性腸管ペプチド(VIP)に68%の相同性を示し、セクレチン・グルカゴンファミリーに属する。その受容体には、PACAP特異的なPAC1Rと、VIPと共有するサブタイプのVPAC1RとVPAC2Rがあり、いずれもGタンパク共役型受容体である。PACAP38は、脳内に広く分布し、視床下部に最も高濃度に存在するが、ほぼ全ての下垂体ホルモンの分泌を促進することが発見当初に明らかにされたものの、未だ視床下部における生理機能の全容は解明されていない。しかしながら神経栄養因子としての機能に着目し、脳卒中など虚血性脳疾患や神経変性疾患の治療へアゴニストとしての臨床応用を目指す一方で、神経伝達物質として痛覚伝達における機能を基盤として、アンタゴニストによる難治性疼痛治療への臨床応用を目指す研究が進められるようになって来た。

Development of Therapeutics for HIV/AIDS, CHB and COVID-19

Hiroaki Mitsuya

NCGM Research Institute

One cannot overstate that both vaccine and antiviral therapeutics are needed to control viral infections. The caveat in the initial response to COVID-19 was that the severity of COVID-19 varies much: some patients have no symptoms, but others die on respirators. While only large randomized studies can give insight into whether the “drugs” help patients, clinicians and researchers were fooled into thinking that those who recovered early were helped by the test drug. Indeed, panic and disorganization dominated the study of COVID-19 drugs in the early stages of our fight with COVID-19. Currently, there are only few to name in the list of possibly efficacious therapeutics. In the present presentation, I would discuss the development of orally available therapeutics for COVID-19 based on the knowledge and skills used in the development of therapeutics for HIV infection and AIDS and its perspective.

COVID-19発症を~95%という高い効率で阻止するワクチンが驚異のスピードで開発されたのは科学がもたらした福音である。しかし、次々と出現する変異株はワクチン効果に対する懸念の域を超える。B型肝炎に対する予防・治療がその典型であるが、ウイルス感染症のコントロールにはワクチンと抗ウイルス薬の両者が必要とされる。しかし、COVID-19発症者の10-20%が中等・重症の呼吸器症状を発症、高齢者や合併症を有する症例では死亡率が高いが、他は軽症か無症状で自然経過、基礎的知見が蓄積される前に投薬された「候補薬」が希望的に「効いた」と間違えて判断されてきた。加えて、「re-purposing (別の目的に再利用)」等の根拠のない期待がその傾向を助長した。そうした混乱から、COVID-19治療薬開発は大きく遅滞したが、初期の「つまづき」は徐々に克服されつつある。しかし、治療効果があると報告された化合物は数例に過ぎない。本講演ではHIV/AIDSに対する治療薬開発のアプローチを基礎としたB型肝炎とCOVID-19治療薬開発の新展開について述べる。

Deciphering the mystery of sleep: toward the molecular substrate for "sleepiness"

Masashi Yanagisawa

International Institute for Integrative Sleep Medicine(WPI-IIIS),The University of Tsukuba

Sleep is a ubiquitous behavior in animals with a central nervous system. However, despite the fact that the executive neurocircuitry and neurochemistry for sleep/wake switching has been increasingly revealed in recent years, the fundamental mechanism for homeostatic regulation of sleep, as well as the neural substrate for "sleepiness" (sleep need), remains unknown. To crack open this black box, we have initiated a large-scale forward genetic screen of sleep/wake phenotype in mice based on true polysomnographic (EEG/EMG) measurements. We have so far screened >8,000 heterozygous ENU-mutagenized founders and established a number of pedigrees exhibiting heritable and specific sleep/wake abnormalities. By combining linkage analysis and the next-generation whole exome sequencing, we have molecularly identified and verified the causal mutation in several of these pedigrees. Biochemical and neurophysiological analyses of these mutations are underway. Since these dominant mutations cause strong phenotypic traits, we expect that the mutated genes will provide new insights into the elusive pathway regulating sleep/wakefulness. Indeed, through a systematic cross-comparison of the Sleepy mutants and sleep-deprived mice, we have recently found that the cumulative phosphorylation state of a specific set of mostly synaptic proteins may be the molecular substrate of sleep need.

睡眠覚醒調節の根本的な原理、つまり「眠気」（睡眠圧）の脳内での実体とはいったい何なのか、またそもそもなぜ睡眠が必要なのか等、睡眠学の基本課題は全く明らかになっていない。私たちはこのブラックボックスの本質に迫るべく、ランダムな突然変異を誘発したマウスを8,000匹以上作成し、脳波測定により睡眠覚醒異常を示す少数のマウスを選別して原因遺伝子変異を同定するという探索的な研究を行ってきた。このフォワード・ジェネティクス研究の進展により、睡眠覚醒制御メカニズムの中核を担うと考えられる複数の遺伝子の同定に成功し、現在その機能解析を進めている。フォワード・ジェネティクスによって同定されたSleepy変異マウスと断眠マウスの解析から、シナプス蛋白質の累積的リン酸化状態が睡眠圧の本態の一部である可能性が提示された。本講演では、筑波大学WPI-IIISの私どものラボにおける睡眠覚醒の謎への探索的アプローチを紹介する。

Technologies to induce targeted protein degradation and their application for drug development

Mikihiko Naito

TPD, Grad Sch Pharm Sci, Tokyo Univ

In recent years, technologies have been developed to degrade target proteins in cells, and drug discovery research has been actively conducted. Molecular glues such as lenalidomide, and chimeric compounds such as PROTACs (Proteolysis Targeting Chimeras) and SNIPERs (Specific and Nongenetic IAP-dependent Protein Erasers) are well known. These compounds degrade the target proteins in the cells, and thus exhibit different pharmacological properties from small molecule inhibitors. PROTACs/SNIPERs are chimeric compounds, in which a ligand that binds to a target protein is linked to a ligand that binds to the E3 ubiquitin ligase, forcing the target protein to be ubiquitinated and degraded by proteasome in the cells. The modular structure of PROTACs/SNIPERs allows us to rationally design the compounds to degrade protein of your interest by substituting target ligands, and therefore, it is expected to be a novel platform technology for drug discovery. In this talk, I will introduce our SNIPER compounds and the current status of proteolytic drug development.

近年、細胞内の標的タンパク質を分解する技術が開発され、創薬研究が活発に行われている。分子糊 (Molecular Glue) として作用するレナリドミドや、PROTAC (Proteolysis Targeting Chimera)、SNIPER (Specific and Nongenetic IAP-dependent Protein Eraser) に代表されるキメラ化合物がよく知られているが、これらの化合物は標的タンパク質を分解してしまうため、小分子阻害剤とは異なる薬理学的特性を示す。PROTAC/SNIPERは標的タンパク質に結合するリガンドとE3ユビキチンリガーゼに結合するリガンドを繋いだキメラ化合物であり、細胞内で標的タンパク質を強制的にユビキチン化してプロテアソームによる分解を引き起こす。標的リガンドを置換することによって様々なタンパク質を狙って分解する化合物を合理的に設計できるため、創薬の新しいプラットフォーム技術になると期待されている。本講演では我々が開発したSNIPER化合物、タンパク質分解医薬品開発の現状等について紹介する。

Synapse formation and remodeling visualized in physiological and pathological states

Shigeo Okabe

Dept. Cell Neurobiol., Grad. Sch. Med., Univ. Tokyo

The development of neuronal circuits *in vivo* depends on precise regulation of synapse formation, elimination, and remodeling. *In vivo* two-photon imaging confirmed the presence of two phases of synapse dynamics in the postnatal mouse cortex. In the first phase (until postnatal 20 days), synapse turnover is maintained to be high, while in the second phase (after three weeks postnatal), synapse dynamics are highly suppressed, leading to the maturation of the cortical neural network. The transition in synapse dynamics may underlie the pathophysiology of neurodevelopmental disorders and psychiatric diseases, but their precise mechanisms have not yet been clarified. Our laboratory has focused on (1) the diverse mechanisms in neural circuits and synapse formation, (2) the structure-function relationship in dynamic synaptic changes, and (3) the relationship between brain diseases and synaptic dysfunction. In particular, we have recently developed new tools for studying neural circuits, such as quantitative methods for analyzing the nano-structure of spine synapses and methods for measuring the molecular dynamics inside spines. Furthermore, we are applying these tools to the study of brain pathology. In this talk, I will introduce these researches and discuss the validity and prospects of understanding the pathogenesis of psychiatric disorders as synaptic dysfunction.

生体内での神経回路の発達には、シナプスの形成、除去、再構築が正確に制御されていることが重要である。マウスの大脳皮質では、シナプスの動態に2つの段階があることが、2光子イメージングによって確認された。第1期（生後20日まで）では、シナプスのターンオーバーが高く維持され、第2期（生後3週間以降）では、シナプス動態が強く抑制され、大脳皮質の神経ネットワークとしての成熟が起こる。このようなシナプス動態の変遷は、神経発達障害や精神疾患の病態生理の背景にあると考えられているが、その正確なメカニズムはまだ明らかになっていない。私たちの研究室では、（1）神経回路やシナプス形成過程の多様なメカニズム、（2）シナプスの動的変化の過程での構造・機能連関、（3）脳疾患とシナプス機能障害の関係、に焦点を当てて研究を行っている。最近では、スパインシナプスの超微細構造を定量的に解析する方法や、スパイン内部の分子ダイナミクスを測定する方法など、神経回路を研究するための新しいツールを開発している。さらに、これらのツールは脳疾患の研究にも応用可能である。本講演では、これらの研究を紹介するとともに、精神疾患の病態をシナプス障害として理解することの妥当性と展望について議論したい。

PMDA's efforts to promote medical innovation in the coronavirus pandemic

Yasuhiro Fujiwara

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

The Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, PMDA, plays three key roles, namely relief services for persons injured by adverse reactions to drugs and regenerative medical products, product reviews, and safety measures.

Based on the concept of the regulatory science, PMDA has been conducting evidence-based review and evaluation, and has been providing citizens and healthcare professionals with rapid access to safer, more effective medical products.

To promote innovative products, PMDA took various measures, i.e. establishment of expedited review tracks and consultation services in response to the needs. Also, the efforts and challenges we face to combat COVID-19 would be introduced in this session.

Today, international collaboration and convergence is necessary and essential in the field of regulatory affairs. PMDA has been continuously contributing to the ICMRA, International Coalition of Medicines Regulatory Authorities, executive-level, strategic coordinating, advocacy and leadership entity of regulatory authorities. The COVID-19 related issues are hot topics of the ICMRA discussion.

The latest international trends of the regulatory affairs, and current situation and challenges of the development of the products would be introduced in this session.

独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）は、健康被害救済業務、承認審査業務及び安全対策業務の3つの業務を柱とした機関である。

平成16年に発足以来、レギュラトリーサイエンスの考え方に基づく適正な承認審査や安全対策の評価を行い、より安全で有効な医薬品・医療機器等をいち早く国民に届けられるよう様々な対策・組織強化を図ってきた。例えば、医療イノベーション推進に向けた迅速な承認審査制度や相談制度の構築、レギュラトリーサイエンスセンターの設置、さらに世界的に猛威を振るっている新型コロナウイルス感染症に関する取り組みについて紹介する。

さらに、薬事規制は国内に留まらず世界との調和・協力が欠かせない時代となっている。PMDAは薬事規制当局の長官レベルの国際会合であるICMRA（International Coalition of Medicines Regulatory Authorities）に参画し、新型コロナウイルス感染症関連製品を含め、薬事規制の国際的なコンセンサスの構築に貢献している。

今般の薬事規制の国際動向や製品開発の現状と課題について紹介する。

The originally developed oncolytic viruses and gene therapies: From basic research to nonclinical and clinical development

Ken-Ichiro Kosai

Dept. Gene Therapy & Regenerative Medicine, Kagoshima Univ. Grad. Sch. Med. Dent. Sci.

Oncolytic viruses (OVs) are promising candidates for innovative cancer treatment technologies. We developed an original platform technology of “Conditionally replicating adenovirus that regulated with multiple factors” (m-CRA) for efficiently developing the next-generation OVs. Survivin-responsive m-CRAs (Surv.m-CRAs), which we developed using the technology, demonstrated the innovative therapeutic effects, including the potent effectiveness against most of malignant tumors in the strictly cancer-specific (safe) manner and the increased effectiveness against cancer stem cells, which are resistant to conventional therapies. After manufacturing GMP products and performing GLP nonclinical studies in accordance with ICH guidelines, we completed the First-In-Human phase I clinical trial of Surv.m-CRA-1 (no transgene) for malignant tumors in bone or soft tissue region and confirmed the high safety and the remarkable effectiveness. Currently, we are performing two Phase II clinical trials of Surv.m-CRA-1 for malignant bone tumors toward approval and for pancreatic cancer. Moreover, we are performing nonclinical development of Surv.m-CRA-2 (armed with a cytokine gene), which more strongly induced systemic antitumor immunity, and developing further novel technologies. In this lecture, I would like to present mainly these projects and also briefly growth factor gene therapy for intractable diseases and viral vector technology for pluripotent stem cell-based regenerative medicine.

腫瘍溶解性ウイルス（OV）は、革新的がん治療技術の有力候補と期待されている。我々はまず、次世代OVのm-CRA（多因子増殖制御型アデノウイルス）プラットフォーム技術を独自開発した。本技術で発明したSurvivin反応性m-CRAは、全がん種に強力な治療効果、高度がん特異性（安全性）、既存治療が無効の「がん幹細胞」に治療効果増強という、革新的作用を示した。治療遺伝子未搭載のSurv.m-CRA-1を、ICH準拠の非臨床開発（GMP製剤製造、GLP安全性試験、規制対応）後、骨軟部腫瘍へのFirst-In-Human医師主導治験第I相を完遂し、高い安全性と著明な治療効果を実証した。現在は骨腫瘍への早期承認を目指した第II相試験、膵癌への第I／II相試験を実施中である。さらに全身性抗腫瘍免疫を効率よく誘導する免疫遺伝子搭載のSurv.m-CRA-2を非臨床開発中で、さらなる新技術開発も行なっている。この内容を中心に、難治性疾患への増殖因子遺伝子治療、多能性幹細胞・再生医療へのウイルスベクター技術も簡単に紹介したい。

Pharmacological action of ATP receptors and current status of related drug development

Kazuhide Inoue

The Institute for Advanced Study, Kyushu Univ.

The importance of P2Rs has increased in various fields in recent years, but this time I will focus on research on pain. Chronic pain is a debilitating condition that often occurs following peripheral tissue inflammation and nerve injury. Especially neuropathic pain is a significant clinical problem because there are few clinically effective drugs. I will review the findings for the role of ATP signaling through P2X3Rs and P2X2/3Rs in primary afferent neurons and through P2X4Rs, P2X7Rs, and P2Y12R in spinal microglia in chronic pain. Many discoveries have strongly accelerated the search for new drugs that target P2Rs, and several compounds have been developed so far in the world. Gefapixant is the only P2X3R antagonist that has finished clinical trials as a refractory chronic cough, and it is under clinical trial for endometriosis-related pain. NP-1815-PX and NC-2600 are recently identified as novel P2X4R antagonists in Japan. NC-2600 has been finished the Phase I study without serious side effects. I think we'll soon get new drugs against pain.

近年、さまざまな分野でP2受容体（P2Rs）の重要性が高まっているが、今回は痛みの研究に焦点を当ててお話しする。慢性的な痛みは、末梢組織の炎症や神経損傷の後にしばしば発生する。特に神経障害性疼痛は、臨床的に有効な薬剤がほとんどないため、重大な臨床的問題となっている。そこで、一次求心性ニューロンのP2X3RとP2X2/3R、脊髄ミクログリアのP2X4R、P2X7R、P2Y12Rを介したATPシグナル伝達の慢性疼痛における役割に関して議論する。さらに、多くの発見により、P2Rsを標的とする新薬の探索が大幅に加速し、これまでにいくつかの化合物が世界で開発されてきたので紹介する。Gefapixantは、難治性の慢性咳嗽として臨床試験を終了した唯一のP2X3R拮抗薬であり承認申請されており、現在は子宮内膜症に関連する痛みの臨床試験が行われている。NP-1815-PXおよびNC-2600は、最近、日本で新規のP2X4Rアンタゴニストとして同定された。NC-2600は、深刻な副作用なしに第I相試験を終了した。このような状況を考えると私たちが痛みに対する新薬を手に入れるも間近と思われる。

Transcriptional and Epigenetic Mechanisms of Drug Addiction

Eric J. Nestler

Friedman Brain Institute Dean for Academic and Scientific Affairs Icahn School of Medicine at Mount Sinai New York, NY USA

Drug addiction can be viewed as a stable form of drug-induced neural plasticity, whereby long-lasting changes in gene expression mediate some of the stable behavioral abnormalities that define an addicted state. Our laboratory has focused on transcriptional pathways in addiction, deduced from large RNA-sequencing datasets of RNAs that show altered expression in brain reward regions of mice as a consequence of drug self-administration, withdrawal, and relapse. Activation or induction of certain transcription factors represent homeostatic adaptations that oppose drug action and mediate aspects of drug tolerance and dependence. In contrast, induction of other transcription factors exerts the opposite effect and contributes to sensitized responses to drug exposure. We are also characterizing a range of chromatin mechanisms that act in concert with these transcription factors to control gene expression. These studies are identifying many of the molecular targets of drug self-administration in brain reward regions and the biochemical pathways most prominently affected. Parallel work has focused on homologous regions in the brains of addicted humans examined postmortem. These advances can now be mined to develop improved diagnostic tests and treatments for addictive disorders.

Funded by the National Institute on Drug Abuse

Statin Pleiotropy: From Mechanistic Insights to Therapeutic Applications

James K. Liao

University of Chicago

Over the past four decades, no class of drugs has had more impact on cardiovascular health than the HMC-CoA reductase inhibitors or statins. Developed as potent lipid-lowering agents, statins were shown to reduce mortality and morbidity of patients who are at risk for cardiovascular disease. However, retrospective analyses of some of these clinical trials have uncovered some aspects of their clinical benefits that may be additional to their lipid-lowering effects. In cell culture and animal studies, these effects alter the expression of endothelial nitric oxide synthase, the stability of atherosclerotic plaques, the production of pro-inflammatory cytokines and reactive oxygen species, the reactivity of platelets, and the development of cardiac hypertrophy and fibrosis. Such cholesterol-independent or "pleiotropic" effects of statins generated intense interest as to their potential mechanism and created debate over their relative contribution to cardiovascular risk reduction. One potential mechanism for statin pleiotropy is through inhibition of isoprenoid synthesis and protein prenylation. In particular, the prenylation of Rho GTPases such as Rho, Rac, and Cdc42 is critical to their cellular localization and function. Thus, inhibition of Rho and its downstream effector, Rho kinase, by statins may constitute an important pleiotropic mechanism that could be exploited therapeutically for non-lipid conditions beyond cardiovascular disease.

Pharmacology of amino acid transporter LAT1 (SLC7A5): Roles in pathogenesis and the drug discovery targeting LAT1

Yoshikatsu Kanai

Dept. Bio-system Pharmacol, Grad. Sch. Med, Osaka Univ.

Transporters are membrane proteins that contribute to the distribution of compounds in the body. Drugs that target them can achieve various metabolic regulations. In the cells involved in pathogenesis, such as cancer cells, changes in the metabolic system due to metabolic reprogramming often play an essential role in maintaining their function and survival. In particular, nutrient transporters that contribute to the regulation of cellular metabolism can be targets for drugs that intervene in intracellular metabolism and prevent the development of pathological states. We discovered the amino acid transporter LAT1 (SLC7A5), upregulated in cancer cells. We revealed that it contributes to maintaining cancer cell-specific functions through the amino acid signaling centered on mTORC1. Inhibitors generated based on the structure-activity relationship analysis showed antitumor effects and regulated the function of cells other than cancer cells that express LAT1 in the course of pathogenesis, such as vascular endothelial cells and immune cells. In addition, the structure of LAT1 was recently elucidated by cryo-EM, showing the mechanism of substrate recognition and action of inhibitors. In this lecture, the role of transporters in metabolic reprogramming revealed by LAT1 inhibitors and the significance of LAT1 as a drug discovery target will be discussed.

トランスポーターは生体内の物質分布に寄与する膜タンパク質であり、それを標的とする薬物により多様な代謝制御を実現することができる。がん細胞をはじめとする病態形成に関わる細胞においては、代謝リプログラミングによる代謝系の変化が細胞生存や機能維持に必須の役割を果たすことが多い。特に代謝改変に寄与する栄養素のトランスポーターは、細胞内代謝に介入して病態進展を阻止する薬物の標的となり得る。演者らは、がん細胞に発現亢進するアミノ酸トランスポーターLAT1 (SLC7A5)を見出し、それがmTORC1を中心とするアミノ酸シグナル系を介してがん細胞特有の機能の維持に寄与することを明らかにしてきた。構造活性相関解析に基づいて創製した阻害薬は、抗腫瘍効果を示し、また血管内皮細胞や免疫系細胞など病態形成の過程でLAT1を発現するがん細胞以外の細胞の機能制御にも有用であることが明らかになった。さらに、最近クライオ電顕によりLAT1の構造が解け、基質認識と阻害薬の作用の機序も示された。本講演では、LAT1阻害薬によって見えてきた代謝リプログラミングにおけるトランスポーターの役割を含め、LAT1の創薬標的としての意義について議論したい。

Development of novel strategies to overcome therapeutic resistant cancers

Hideyuki Saya

Fujita Cancer Center, Fujita Health University

Cancer stem cells (CSCs) are the cells that are the origin and play a central role in maintenance of cancer tissue. Clinically, the most important feature of CSCs is that they are resistant to various treatments and consequently lead to recurrence and metastasis. However, the therapeutic resistant mechanism of CSCs is diverse and depend on the cell of origin and their microenvironment. CSCs are thought to be established by two mechanisms; somatic stem cells change to CSCs by a driver gene mutation (stem cell origin type), and progenitor cells change to CSCs under the background of chronic inflammation (progenitor cell origin type). We have clarified that the differentiation control mechanism, the reactive oxygen species suppression and cell death suppression mechanism are involved in therapeutic resistance of CSCs. In this talk, I would like to explain these mechanisms elucidated by basic research data and propose new treatment strategies based on drug repositioning.

がん幹細胞は、がん組織の起源となり、その維持を担う細胞である。臨床的に見てがん幹細胞の最も重要な特徴は、種々の治療に抵抗性を示し再発や転移の原因になることである。しかし、その治療抵抗性のメカニズムは起源細胞やそれを取り巻く環境によって多彩であり単純ではない。がん幹細胞が樹立する機構としては、体性幹細胞にドライバー変異が導入され、がん幹細胞に変化するもの（幹細胞起源型）、慢性的な炎症を背景として前駆細胞から脱分化してがん幹細胞に変化するもの（前駆細胞起源型）の2つが考えられている。がん幹細胞の治療抵抗性機構はその成立機構の違いを反映し、通常のがん細胞に比べて巧みな生存戦略が内在されている。幹細胞型では分化制御のメカニズムが、前駆細胞起源型では活性酸素の抑制や細胞死抑制メカニズムが治療耐性に関与することを私たちは明らかにしてきた。本講演ではこれらの治療抵抗性機構を基礎研究データに基づいて解説し、ドラッグリポジショニングに基づく新たな治療戦略を提案したい。

Organoid-based analysis of human kidney development and disease

Ryuichi Nishinakamura

Inst. Mol. Embryol. Genet., Kumamoto Univ.

Recapitulating the three-dimensional organ structure in vitro is a major challenge for developmental biology and regenerative medicine. The kidney develops by the reciprocal interactions between the nephron progenitor and ureteric bud, and the origins of these two types of precursors are spatially distinct. Based on these developmental findings, we previously established the induction protocols of the nephron progenitors from pluripotent stem cells (PSCs). Induced nephron progenitors robustly formed nephrons: glomeruli and renal tubules. By generating iPSC cell-derived nephron organoids from a patient with the congenital nephrotic syndrome, we reproduced the glomerular abnormalities that represent the initial phase of this disease. We also established the protocols to induce the ureteric bud from mouse and human PSCs. Mouse organoids reassembled from the differentially induced ureteric bud and nephron progenitors developed the inherent architectures of the embryonic kidney. Human ureteric bud organoids were applied to autosomal dominant polycystic kidney disease to successfully reproduce cyst formation in vitro. Thus, kidney organoids will serve as useful basis to analyze human kidney development and disease.

腎不全による人工透析患者数は33万人、その医療費は年間1.5兆円を越えている。腎臓を作るにはネフロン前駆細胞と尿管芽の二つが必須であり、前者からは糸球体と尿細管が、後者からは集合管・尿管が形成される。我々は腎臓の正しい起源を同定することによって、ヒトiPS細胞からネフロン前駆細胞を経由して糸球体および尿細管を誘導できることを報告した (Cell Stem Cell 2014)。ヒトiPS細胞由来のネフロン前駆細胞をマウスに移植すると、ヒト糸球体がマウス血管と接続して糸球体上皮の成熟が進む。これらの技術を応用することによって、先天性ネフローゼ症候群の患者由来iPS細胞からネフロンオルガノイドを誘導して糸球体の異常を再現した (Stem Cell Rep 2018)。さらに、もう一つの腎臓前駆組織である尿管芽の誘導にも成功し、分岐する集合管の周囲にネフロンが配置された腎臓本来の構造をマウスでは再構築できることを示した (Cell Stem Cell 2017)。また多発性嚢胞腎患者由来のiPS細胞から作ったヒト尿管芽オルガノイドを用いて嚢胞形成を再現した (J Am Soc Nephrol 2020)。一方で、間質前駆細胞という3つ目の前駆細胞の重要性が判明したため、これを誘導することで高次構造をもったヒト腎臓の作製を目指している。

Do you know the novel antidepressant arketamine?

Kenji Hashimoto

Division of Clinical Neuroscience, Chiba university Center for Forensic Mental Health

The N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) ketamine has produce rapid-acting and sustained antidepressant actions in treatment resistant patients with depression. Furthermore, ketamine can reduce suicidal ideation in severe patients with depression. The Johnson and Johnson in the USA developed esketamine as new antidepressant for treatment-resistant depression. In 2019, USA and Europe approved J&J esketamine nasal spray. In contrast, we reported that arketamine, another enantiomer of ketamine, could produce greater potency and longer-lasting antidepressant-like actions in rodent models of depression than esketamine. The Ph2 study of arketamine in depressed patients is underway by Perception Neuroscience (New York, USA). Otsuka Pharmaceutical company will start Ph1 study in Japan. Here, the author will discuss recent findings of novel antidepressant arketamine.

近年、麻酔薬ケタミンがうつ病の画期的な治療薬として注目されている。ケタミンは治療抵抗性うつ病患者に投与して数時間後に抗うつ効果を示し、その効果は1週間以上持続する。さらに、ケタミンはうつ病患者の自殺願望、希死念慮も劇的に改善し、自殺予防という点からも注目されている。ケタミンは、不斉炭素を有しているため、二つの光学異性体を有する。わが国で使用されている麻酔薬ケタミンはラセミ体である。米国Johnson & Johnson社は、NMDA受容体への親和性が強いエスケタミンを開発し、2019年に治療抵抗性うつ病の治療薬として、米国と欧州で承認された。一方、演者らはNMDA受容体への親和性が弱いアールケタミンの方が、エスケタミンより抗うつ作用が強く、副作用が少ないことを発見した。現在、米国企業がアールケタミンの第二相臨床試験を海外で実施中であり、わが国では大塚製薬株式会社が第一相臨床試験を準備中である。本教育講演では、千葉大学で開発した新規抗うつ薬アールケタミンの最新知見について議論したい。

The AMPK-mTORC1 system as a drug target: Anticancer mechanisms of the Dictyostelium differentiation-inducing factor DIF

Toshiyuki Sasaguri

Dept. Clin. Pharmacol., Fac. Med. Sci., Kyushu Univ.

Differentiation-inducing factor (DIF) produced by *Dictyostelium discoideum* inhibits the growth, motility (migration and infiltration) and adhesion to endothelial cells of many types of cancer cells, which leads to the inhibition of cancer growth and metastasis. Its mechanism of action has long remained unclear, however recent studies have revealed that AMP-activated protein kinase (AMPK)-mediated inhibition of mTORC1 activity is the early signal of DIF. When mTORC1 is inhibited, S6 kinase is suppressed, resulting in the suppression of cell proliferation and cell motility through the suppression of STAT3 and Snail. And moreover, analysis of DIF-binding proteins has suggested that DIF binds to and inhibits type 2 malate dehydrogenase (MDH2), which may lead to the activation of AMPK. Although DIF synthase has not been found in organisms other than *Dictyostelium*, the target molecule MDH2 is conserved in almost all organisms. This is probably why the effects of DIF extend to mammals. Many drugs have been made from natural toxins, such as plant alkaloids, however drugs made from signal molecules of other organisms, such as DIF, are rare. In this talk, I would like to consider the possibility of clinical application of DIF.

細胞性粘菌が産生する分化誘導因子（DIF）は、多種類のがん細胞の増殖と運動（遊走と浸潤）、内皮細胞への接着を阻害し、がんの成長と転移を抑制することが明らかとなっている。その作用機序については長らく不明のままであったが、最近の研究により、AMP活性化プロテインキナーゼ（AMPK）の活性化によるmTORC1の活性阻害がDIFの早期シグナルであることが明らかとなってきた。mTORC1が阻害されるとS6キナーゼが抑制され、下流のSTAT3やSnailの抑制を介して細胞増殖や細胞運動が抑制される。また、DIF結合タンパク質の解析から、DIFによりAMPKが活性化されるのは、DIFが2型リンゴ酸デヒドロゲナーゼ（MDH2）に結合し、これを阻害することによって示唆される。DIF合成酵素は細胞性粘菌以外の生物では発見されていないが、標的分子のMDH2はほとんど全ての生物で保存されている。DIFの効果が哺乳類にも及ぶのはこのためであろう。植物アルカロイドなど毒を基原とする薬は多いが、DIFのような他の生物のシグナル分子から作られた薬は稀である。この講演では、DIFの臨床応用の可能性についても考えてみたい。

Proposal of digital pharmacology

Akinori Akaike

Sch. Pharmaceut. Sci., Wakayama Med. Univ.

The application of IT technology to medicine accelerates the improvement of medical quality, the development of diagnostic modality, and the application of precision medicine. The nicotine dependence treatment app & CO checker were approved as the first program medical device in Japan. A new category of medical care, digital therapy, is about to begin. Apps used for digital treatment are commonly referred to as digital medicine. Many of these apps are related to cognitive behavioral therapy and are also called behavior modification apps. US venture companies are leading the development of digital medicine. Japanese pharmaceutical companies and venture companies are following them. Since the approval of new digital drugs will be subject to examination by the Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), a new program medical device examination department has been established in PMDA to strengthen the examination system. In the future, it is expected that the development of digital drugs will progress and many products will be used in clinical practice. However, there are many issues to be resolved, such as the mechanism of action and the interaction between drugs and digital medicine. The pharmacology research on the analysis of the effects of digital drugs will progress in future.

IT技術の医療への導入は、医療の質の向上、画期的な診断技術の開発、精密医療の実用化を加速している。その中で、2020年にはニコチン依存症治療アプリ及びCOチェッカーが日本で初めてプログラム医療機器として承認された。デジタル治療という新しいカテゴリーの医療が始まろうとしている。デジタル治療に用いられるアプリは、一般にデジタル薬と呼ばれている。これらのアプリは認知行動療法に関わるものが多く、行動変容アプリとも呼ばれる。デジタル薬の開発は米国のベンチャー企業が先行しており、日本の製薬企業、ベンチャー企業がそれを追っている状況にある。新規のデジタル医薬品の承認のためには、医薬品医療機器総合機構（PMDA）による審査を経ることになることから、PMDAにプログラム医療機器審査部門が新設され、審査体制の強化が図られている。今後、デジタル医薬品が開発が進み、多くの製品が臨床現場で使用されるようになると予想される、しかし、その作用機序や医薬品とデジタル薬の併用の際の相互作用が不明であるなどの課題も多い。今後、薬理的なアプローチによるデジタル薬の作用の解析研究が進展することが望まれる。

Molecular mechanism of hippocampal synaptic plasticity

Hayashi Yasunori

Kyoto Univ Grad Sch Med

Plasticity of central synaptic transmission has been considered as the mechanism of learning and memory. Its disruption causes neuropsychiatric and neurocognitive disorders. The molecular mechanism of synaptic plasticity has been the center of research since its discovery. I have been particularly interested in the postsynaptic signaling process regulating synaptic surface receptor and found that activity-dependent trafficking of various receptor and intracellular components during synaptic plasticity. This is triggered by the raise in intracellular Ca^{2+} concentration, which in turn triggers various signaling cascades. Among them, Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) has been considered pivotal signaling molecule in the synaptic plasticity. However, its characteristic dodecameric structure and abundance at the synapse have been mystery. I found that CaMKII can indeed undergo liquid-liquid phase separation in a manner dependent on Ca^{2+} /calmodulin- with its substrate proteins and cross-link them together. This modulates the distribution of synaptic surface receptors and define their nanodomains. In this way, Ca^{2+} -dependent liquid-liquid phase separation of CaMKII and other synaptic proteins is a mechanism to modulate synaptic transmission persistently during synaptic plasticity.

シナプス可塑性は、学習や記憶のメカニズムと考えられ、その破綻は精神神経疾患や神経認知障害を引き起こす。そのためその分子機構は、発見以来、研究の焦点となってきた。私は特にシナプス表面の受容体を制御するシナプス後部のシグナル伝達過程に興味を持ち、シナプス可塑性の際に様々な受容体と細胞内成分の活性依存的な輸送が行われることを発見しました。これは細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が引き金となり、様々なシグナル伝達カスケードが引き起こされるが、中でも、CaMKIIは、シナプス可塑性において極めて重要なシグナル伝達分子と考えられている。しかし、その特徴的な12量体構造やシナプスに多量に存在する理由については謎に包まれていた。私は、CaMKIIが、 Ca^{2+} /カルモジュリンに依存的に、基質タンパク質と液-液相分離を起こし、架橋することを見出した。これにより、シナプス表面の受容体の分布が調節され、そのナノドメインが形成される。このように、CaMKIIと他のシナプスタンパク質との Ca^{2+} 依存的な液-液相分離は、シナプス可塑性の間にシナプス伝達を持続的に調節するメカニズムである。

Neurovascular Interactions: Mechanisms, Imaging, Therapeutics

Katerina Akassoglou

Gladstone Institutes and University of California, San Francisco (UCSF)

The communication between the brain, immune and vascular systems is a key contributor to the onset and progression of neurological diseases. We discovered the coagulation factor fibrinogen as a blood-derived driver for neuroinflammation and inhibitor of repair in a wide range of neurologic diseases, such as multiple sclerosis, Alzheimer's disease and brain trauma. We showed that fibrinogen is necessary and sufficient for neurodegeneration and a new culprit for microglia-mediated oxidative stress-dependent spine elimination and cognitive impairment. By developing Tox-Seq, we reported the oxidative stress innate immune cell atlas in neuroinflammation. We developed cutting-edge imaging tools to study brain network synchronization and the neurovascular interface. We discovered a first-in-class fibrin-targeting immunotherapy to selectively target inflammatory functions of fibrin without interference with clotting with potent therapeutic effects in autoimmune- and amyloid-driven neurotoxicity. High throughput drug screens identified small molecule compounds to block fibrin-induced activation of microglia with therapeutic effects in neuroinflammatory disease. These findings could be a common thread for the understanding of the etiology, progression, and new treatments for neurologic diseases with neuroimmune and cerebrovascular dysfunction. As fibrin is a global activator of toxic innate immune responses in the brain and periphery, these studies could provide the basis for the development of a new class of therapeutics for autoimmune and inflammatory diseases¹.

1. Akassoglou, K. The immunology of blood: Connecting the dots at the neurovascular interface. *Nat Immunol* 2020, 21:710-712

High-sensitivity reverse-translational studies in cell-specific genes: modified disease model animal using multidimensional cell-specific analysis of disease iPS cell differentiation-induced cells

Naoko Kuzumaki

Dept. Pharmacol., Hoshi Univ., Tokyo, Japan

Refractory neurological diseases, such as Parkinson's disease and fibromyalgia, may progress and become more severe due to multiple factors triggered by alterations in different neural types. Research on disease mechanisms using human iPS cells has allowed us to infer integrated neural cell fragility by inducing differentiation from one iPS cell to different neural subtypes and observing the intracellular changes caused by the disease. On the other hand, based on information obtained from studies on human iPS cells, tailor-made disease model mice can be produced, and an in vivo analysis of pathophysiological phenotypes can be achieved through the use of “reverse-translational neuroscience research”. Hopefully, the development of pharmacological therapeutic approaches using these cell-specific genetically modified disease model animals will lead to tailor-made drug therapies that will be able to control disease onset and intractability. With these research efforts, I intend to perform “reverse-translational neuroscience research” through the integrated analysis of disease iPS cell differentiation-induced cells and would like to contribute to the development of the pharmacology field.

パーキンソン病や線維筋痛症といった難治性神経疾患は、様々な神経の複合的変容により発症し、時間軸に従って重症化すると考えられる。ヒト iPS 細胞を用いた疾患メカニズム研究の発展により、一つの iPS 細胞から異なる神経サブタイプへと分化誘導を行い、疾患による細胞変容を抽出することにより、統合的な細胞脆弱関連の形成が推測できるようになった。一方、ヒト iPS 細胞研究より得られた情報を元に、テーラーメード型疾患モデルマウスの作製が可能となり、リバーストランスレーショナルニューロサイエンスリサーチを展開することにより、病態表現系の in vivo 解析が可能となった。このような細胞特異的遺伝子改変疾患モデル動物を活用し、薬理的な治療アプローチを展開することで、将来的に、病気の発症や難治化を最大限にコントロールできるテーラーメード薬物療法の提案が期待される。こうした取り組みから、薬理学分野の発展に貢献できるよう、疾患 iPS 細胞由来分化誘導細胞の統合的解析を応用したリバーストランスレーショナルニューロサイエンスリサーチを進めるために邁進していきたい。

Imaging of Neuropathology by PET tracers

Ryuichi Harada

Dept. Pharmacol. Tohoku Univ. Grad. Sch. Med.

We developed radiopharmaceuticals for positron emission tomography (PET tracers) such as [¹⁸F]THK-5351 for imaging tau tangles, which is one of key neuropathological hallmarks in Alzheimer's disease (AD). Clinical PET studies revealed that [¹⁸F]THK-5351 possessed off-target binding. From validation studies such as imaging-autopsy correlations, we identified monoamine oxidase-B (MAO-B) as a dominant off-target binding substrate of [¹⁸F]THK-5351. MAO-B was predominantly expressed in astrocytes and elevated in various neurological conditions. Therefore, MAO-B would be an attractive target for imaging reactive astrogliosis. Though compound optimization from [¹⁸F]THK-5351, recently we developed a selective and reversible MAO-B PET tracer, [¹⁸F]SMBT-1. These translational and reverse-translational research from the development to validations of PET tracers lead to the generation of a new biomarker of reactive astrogliosis.

我々はアルツハイマー病の病理変化の一つであるタウ蛋白質を主成分とする神経原線維変化を画像化するためのポジトロン放出核種標識薬剤（PETプローブ）として[¹⁸F]THK-5351を開発し、臨床応用を実施してきた。臨床評価の結果から、同プローブには神経原線維変化とは関係のない標的への結合（オフターゲット結合）があることが確認され、それがモノアミン酸化酵素B（MAO-B）への結合であることを新たに見出した。アストロサイトに高発現するMAO-Bは多様な神経疾患で観察されるアストログリオーシスのバイオマーカーとして有用であると判断されたため、タウプローブとしては“標的外”の分子であったMAO-Bを”標的”とみなし、その結合性を高めるという開発戦略で新たなPETプローブ[¹⁸F]SMBT-1を開発した。このような神経病理像を画像化するPETプローブの基礎開発からPET画像の妥当性の検証に至る一連のトランスサイトーシス・リサーチとリバーストランスレショナル・リサーチが新たなバイオマーカーの創出につながった。

Elucidation of mechanisms and pathophysiological significance of neural circuit formation and plasticity

Ryota Shinohara

Div. Pharmacol., Grad. Sch. Med., Kobe Univ.

Neural circuits are mainly formed by genetic programs in early development but reorganized after birth under the influence of external factors. We have focused on social and environmental stress as an external factor and analyzed stress-induced changes in neural circuits and their functional significance. Long-term (chronic) stress attenuates dopaminergic function in the medial prefrontal cortex, leading to depressive-like behavior. Along with this behavioral change, long-term stress causes dendritic atrophy of pyramidal neurons in the medial prefrontal cortex. On the other hand, we found that short-term stress (acute) stress suppresses depressive-like behavior via dopamine response and dopamine D1 receptor signaling in the medial prefrontal cortex and induces dendritic hypertrophy of pyramidal neurons in a D1 receptor-dependent manner. Concomitantly, short-term stress increases the neural activity of the extended amygdala via dopamine D1 receptors in the medial prefrontal cortex. We have also revealed that rapid antidepressant effects of ketamine are mediated by neural circuits similar to those activated by short-term stress. In this presentation, I would like to introduce our recent findings and future directions on neural circuit plasticity in stress and depression.

神経回路は発生初期には主に遺伝的プログラムによって形成されるが、生後は外的因子の影響を受け再編成される。我々は外的因子として社会や環境から受けるストレスに着目し、ストレスによる神経回路の変化とその機能的意義を解析してきた。長期的（慢性）ストレスは内側前頭前野のドパミン応答を抑制してうつ様行動を促す。この行動変化に伴い、長期的ストレスでは内側前頭前野で錐体神経細胞の樹状突起が委縮する。一方で、短期的（急性）ストレスでは内側前頭前野のドパミン応答とドパミンD1受容体シグナルを介してうつ様行動が抑制されること、ドパミンD1受容体依存的に錐体神経細胞の樹状突起の増生が誘導されることを見出した。このストレス抵抗性の増強に付随して、短期的ストレスは内側前頭前野のドパミンD1受容体を介して拡張扁桃体の神経活動を高める。また、ケタミンの即効性抗うつ作用が短期的ストレスと類似した神経回路を介することも示してきた。本講演では、ストレス・うつ病における神経回路の可塑性について、最新の知見と今後の展望を紹介したい。