

**研究助成 2022 – がん領域 –**  
**研究成果報告書（最終） <概要>**

<b>現 所 属</b>	東京薬科大学 生命科学部 腫瘍医科学研究室
<b>氏 名</b>	小林 大貴
<b>研 究 テーマ</b>	造血器腫瘍に挑むケミカルバイオロジー
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。</li> <li>● 構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果等 1 ページにまとめること。 （図表、写真等の貼付を含む）</li> </ul>	
<p><b>【研究目的】</b></p> <p>難治性血液がんである骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndromes, MDS）では血小板減少がみられる場合、生命存続に直結する重大な出血リスクとなる。重度の患者は発症から生涯血小板輸血が必要となるが、低分子化合物で血小板減少症を治療できれば画期的であり、患者 QOL 向上に大きく貢献できる。申請者らはケミカルバイオロジーのアプローチにより、MDS 疾患モデルを用いて血小板産生細胞である巨核球の成熟化を促進させる低分子化合物を承認薬ライブラリーから探索し、既知承認薬を見出すに至った。当該物質は分子標的治療薬として知られるが、巨核球成熟化活性は既知の標的分子に対する阻害作用とは独立していることが判明した。そこで本研究ではドラッグリポジショニングによる血小板減少症治療薬開発を見据え、①当該物質の巨核球成熟化作用機序解明、②血小板減少症動物モデル／患者由来サンプルを使用した薬効検証を行うこととした。</p> <p><b>【研究手法・成果】</b></p> <p>種々の阻害剤を用いたケミカルプロファイリングの結果、オーロキナーゼ阻害剤バラセルチブ、アリセルチブを同様の活性を示す物質として見出した。実際当該物質は <i>in vitro</i> で オーロキナーゼの酵素活性を阻害し、細胞内でも巨核球成熟化を促進させる濃度域でその活性を抑制したことから、オーロキナーゼを抑制することで巨核球成熟化を促進させることが強く示唆された。</p> <p>一部の MDS 患者骨髄では微小巨核球や単核巨核球などが観察され巨核球が未熟な状態にある。この臨床像とオーロキナーゼとの関連性を調査するため、血小板数低値を示す MDS 患者の骨髄検体より造血前駆細胞画分である CD34 陽性細胞の網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、健常者由来細胞に比べて MDS 患者細胞では有糸分裂調節因子である Aurora A kinase (<i>AURKA</i>)、Aurora B kinase (<i>AURKB</i>)、<i>polo-like kinase 1 (PLK1)</i> の顕著な発現上昇が確認できた。また Gene Set Enrichment Analysis により、<i>AURKA</i>、<i>AURKB</i>、<i>PLK1</i> にとどまらず、細胞周期を正に制御する E2F 標的遺伝子発現セットが血小板数低値を示す MDS 患者で強烈に濃縮されていることを見出した。巨核球の成熟化には細胞分裂を伴わない核複製（エンドマイトーシス）が必須だが、一部の MDS 患者では細胞周期制御プログラムの異常により、エンドマイトーシスではなく細胞分裂にバランスが傾くことで巨核球が未熟なまま蓄積しているという臨床関連性が得られた。見出した既知承認薬が血小板減少症を改善するか評価するため、MDS モデルマウスを用いて薬効評価を行った結果、試験化合物投与群の血小板数は溶媒投与群に比べて有意に高く、血小板数を回復させた。この血小板数増加には骨髄細胞のオーロキナーゼ活性の低下、巨核球核倍数性・サイズの増加、巨核球前駆細胞の蓄積解消を伴っており、巨核球成熟化を介して血小板数を増加させていることが判明した。さらに MDS 患者臨床検体由来の巨核球成熟化も促進したことからマウスだけでなく、ヒトにも応用可能であることがわかった。患者臨床検体の遺伝子発現解析より、潜在的治療応答患者層特定できており、本研究成果により当該物質の MDS 血小板減少症へのドラッグリポジショニングの道が拓けたと考えられる。</p>	

## 研究助成 2022 – がん領域 –

## 研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

現 所 属	東京薬科大学 生命科学部 腫瘍医科学研究室
氏 名	小林 大貴
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 研究助成報告として財団ホームページ等に公表するので、その点を留意すること。</li> <li>● 欄が足りない場合は増やして記入すること。</li> </ul>	
<b>1. 論文発表実績</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。</li> <li>● 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入すること。なお、著者名は省略せず全てを記入し、自分の名前に<u>下線</u>を引くこと。</li> <li>● 国内外雑誌を問わない。</li> <li>● 印刷中は in press と記入し、投稿中の論文および学会のabstractは含めない。</li> </ul>	
1	Ryo Kakehi, <u>Hiroki Kobayashi</u> , Haruna Mashiyama, Tatsuo Yajima, Hiroo Koyama, Takashi K. Ito, Minoru Yoshida, Yasuo Nagaoka, Takaaki Sumiyoshi. Asymmetric Synthesis, Structure Determination, and Biologic Evaluation of Isomers of TLAM as PFK1 Inhibitors, <i>ACS Medicinal Chemistry Letters</i> , <b>16</b> : 59-63, 2025【査読有り】
2	Yoshihiro Hayashi, Yasushige Kamimura-Aoyagi, Sayuri Nishikawa, Rena Noka, Rika Iwata, Asami Iwabuchi, Yushin Watanabe, Natsumi Matsunuma, Kanako Yuki, <u>Hiroki Kobayashi</u> , Yuka Harada, Hironori Harada. IL36G-producing neutrophil-like monocytes promote cachexia in cancer. <i>Nature Communications</i> , <b>15</b> : 7662, 2024【査読有り】
3	Natsumi Matsunuma, Yoshihiro Hayashi, Marina Fukuda, Kanako Yuki, Yasushige Kamimura-Aoyagi, <u>Hiroki Kobayashi</u> , Naoki Shingai, Yuka Harada, Hironori Harada. HMGA2 promotes platelet-neutrophil complex formation and pulmonary tissue damage in myelodysplastic syndromes. <i>Blood Vessels, Thrombosis &amp; Hemostasis</i> , <b>1</b> : 100014, 2024【査読有り】
4	<u>Hiroki Kobayashi</u> *, Shohei Takase, Haruna Nishimura, Ken Matsumoto, Hironori Harada, Minoru Yoshida. RNAi screening reveals a synthetic chemical-genetic interaction between ATP synthase and PFK1 in cancer cells. <i>Cancer Science</i> . <b>114</b> : 1663-1671, 2023 (*, corresponding author)【査読有り】
5	
6	
7	
8	

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成交付後のものに限る。</li> <li>● 発表学会名、発表者名、演題を記入すること。</li> <li>● 国内外を問わない。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2024年10月13日	第86回 日本血液学会学術集会 小林大貴、小溝悠太、渡邊七海、上村(青柳)泰成、結城加奈子、林嘉宏、原田結花、原田浩徳 骨髄異形成症候群における血小板減少症治療薬同定
2	2024年9月21日	第83回 日本癌学会学術総会 小林大貴、小溝悠太、渡邊七海、上村(青柳)泰成、結城加奈子、林嘉宏、原田結花、原田浩徳 Identification of a drug for anti-thrombocytopenia in myelodysplastic syndromes
3	2024年6月21日	第28回日本がん分子標的治療学会学術集会 小林大貴、林嘉宏、吉田稔 骨髄異形成症候群における血小板減少症治療薬の探索・同定
4	2024年5月29日	日本ケミカルバイオロジー学会 第18回年会 小林大貴、小溝悠太、渡邊七海、上村(青柳)泰成、結城加奈子、林嘉宏、吉田稔、原田結花、原田浩徳 巨核球成熟化促進物質の同定とその応用
5	2024年1月26日	第28回造血器腫瘍研究会 小林大貴、小溝悠太、渡邊七海、上村(青柳)泰成、結城加奈子、林嘉宏、原田結花、原田浩徳 骨髄異形成症候群での血小板減少症治療薬同定
6		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1	2025年1月	がん研究専門誌あるいは総合誌
2		
3		