連携・融合ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
辻川　和丈（大阪大学薬学研究科・特任教授）

FTP

難治性呼吸器疾患治療に向けた細胞補充と分化誘導化合物のハイブリッド肺再生創薬研究

補助事業分担者（所属・職名）
細谷　孝充（東京科学大学総合研究院・教授）、中川　晋作（大阪大学薬学研究科・特任教授）、春田　純一（大阪大学薬学研究科・特任教授）、北崎　智幸（大阪大学薬学研究科・特任准教授）

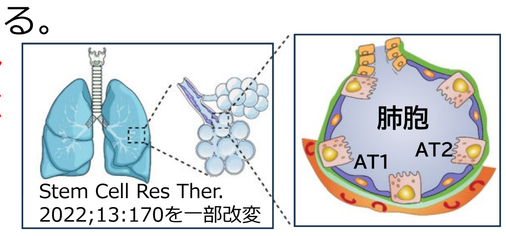
Fast Track Project　背景・目的

背景：

- ●間質性肺炎急性増悪：感染症を契機として間質性肺炎が急激に悪化
- ●急性呼吸促迫症候群：先行する基礎疾患や外傷が引き金となり重症の呼吸不全を呈する疾患、感染症合併症としても発症
- ●慢性閉塞性肺疾患：タバコ煙などの有害物質を長期に吸入することで肺胞破壊や気道炎症により惹起

死亡率が高く、患者数が年々増加している。根治的治療法としては肺移植以外確立されていないが、ドナー不足が深刻な現状にある。

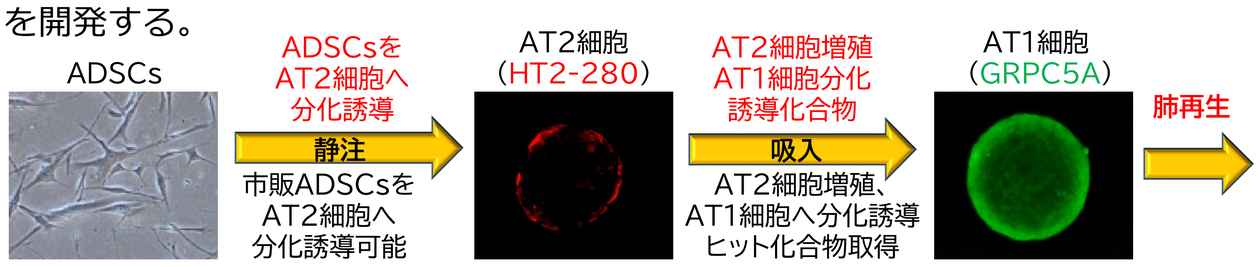
これら難治性呼吸器疾患はアンメットメディカルニーズの高い疾患であり、新規治療法の開発が強く求められている。



- ➢ 1型肺胞上皮(AT1)細胞：ガス交換機能を有し、AT2細胞から分化する。
- ➢ 2型肺胞上皮(AT2)細胞：サーファクタントを産生。肺組織幹細胞としても機能する。

研究目的：

脂肪組織由来幹細胞（Adipose tissue derived-stem cells：ADSCs)をAT2細胞へと分化誘導する技術と肺胞再生促進作用化合物の創製を融合し、難治性呼吸器疾患に対する革新的肺再生治療法を開発する。



Fast Track Project　連携体制

大阪大学医学系研究科呼吸器外科
（新谷 康、福井絵里子、木村 亨、木村賢二）
ADSCs肺再生研究、肺術後組織検体提供

臨床連携

大阪大学薬学研究科　連携・融合ユニット
ヒット化合物創出ユニット：作用機序解析、DIAプロテオーム解析
（辻川和丈、伊藤眞理、長谷拓明）
モダリティ探索ユニット：誘導体合成展開、初期ADMET・物性評価
（春田純一、北崎智幸、森江俊哉）



薬効・安全性評価ユニット
（大阪大学　上田裕子、中川晋作）
肺オルガノイド培養

モダリティ探索ユニット
（東京科学大学　細谷孝充）
ジアジドプローブ化合物合成

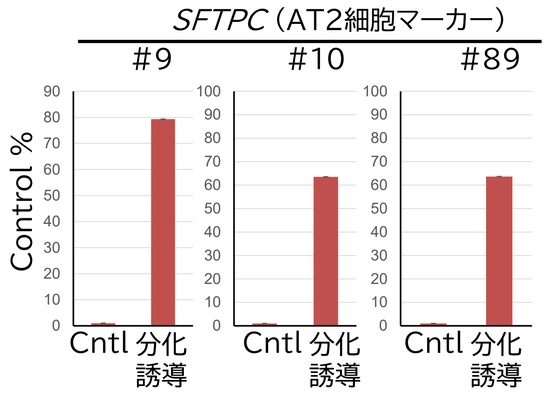
Fast Track Projectの成果

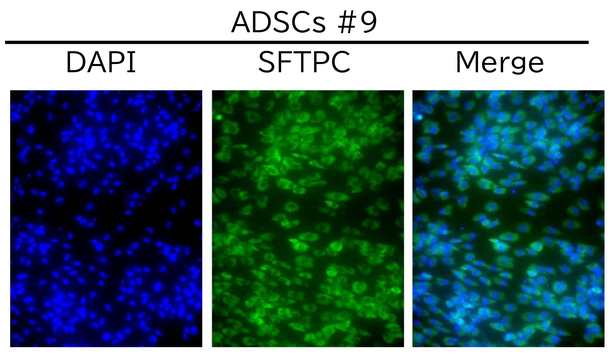
1．ADSCsのAT2細胞への分化誘導の効率・成熟度の向上

共同研究先のロート製薬から提供された3種類のヒトADSCs（#9, #10, #89）を用い、AT2細胞への分化誘導法を検討する。

Stepwise分化誘導培養

Day: 0	3	7	9	16	28
15% FBS	0.2% FBS Activin A Wnt3a	0.2% FBS NOGGIN SB-431542	0.2% FBS Wnt3a, KGF FGF10, EGF	0.2% FBS Wnt3a, FGF10 EGF	
胚様体形成	確定内胚葉	前方前腸 内胚葉誘導	腹側化前方前腸 内胚葉誘導	AT2細胞誘導	

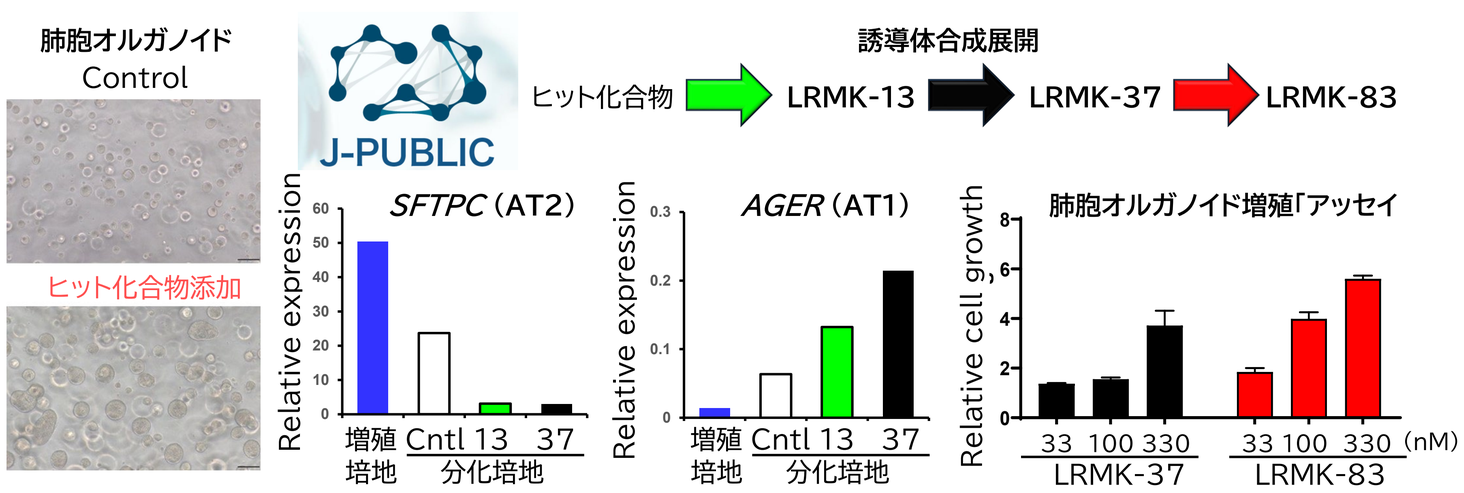




Stepwise分化誘導法により、ADSCsをAT2細胞マーカー発現細胞へと分化誘導可能であることが示された。

2．肺胞オルガノイドの増殖・分化誘導化合物の最適化誘導体合成

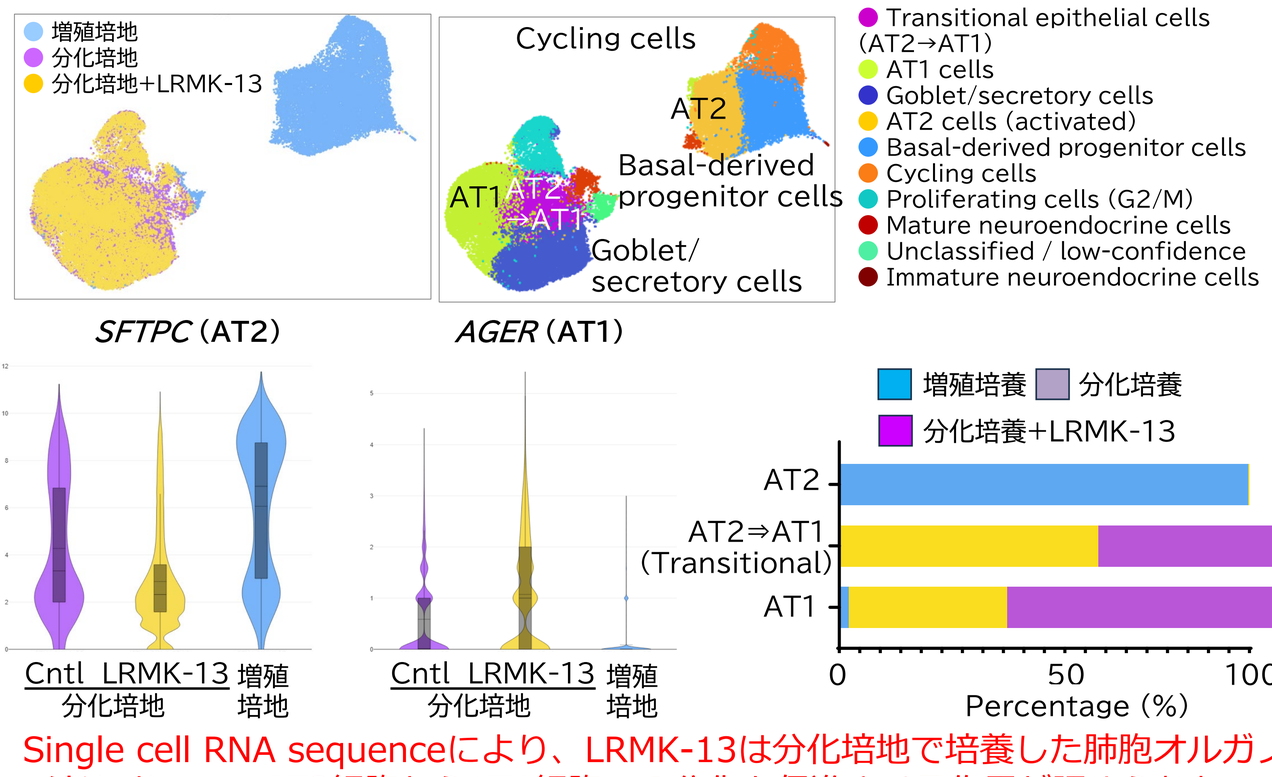
肺癌術後検体の非癌部肺組織を用いて肺胞オルガノイド培養系を樹立し、J-PUBLICライブラリーを用いて肺胞オルガノイドの増殖促進作用とAT2細胞からAT1細胞への分化誘導作用を有するヒット化合物を取得した。そこで誘導体合成展開により、高活性化合物を創製する。



ヒット化合物の誘導体合成展開により、AT2細胞からAT1細胞へ分化マーカーの発現をより強く誘導する化合物LRMK-37を取得した。さらに合成展開したLRMK-83は33 nMでも肺胞オルガノイドの増殖促進活性を示した。

3．LRMK-13のAT2細胞からAT1細胞への分化誘導促進作用評価

肺胞オルガノイドにおけるLRMK-13のAT2からAT1への分化誘導作用をシングルセルレベルで確認する。



Single cell RNA sequenceにより、LRMK-13は分化培地で培養した肺胞オルガノイドにおいて、AT2細胞からAT1細胞への分化を促進させる作用が認められた。

今後の課題

- ➢ ADSCsの機能的AT2細胞への分化誘導を、AT2細胞特異的分子（SFTPC、ABCA3、LAMP3、CLDN18、HTII-280）の発現解析およびサーファクタント顆粒形成、lamellar body形成、ABCA3依存輸送能などの評価により検証し、分化誘導法を最適化する。
- ➢ ジアジドプローブ化合物等を用いて、化合物の標的分子を同定する。またAT2細胞増殖作用、AT2細胞からAT1細胞への分化誘導作用の機序を解明する。
- ➢ 構造活性相関解析に基づく誘導体合成展開により、より高活性化合物を取得する。
- ➢ *In vivo*マウス肺気腫モデルを用い、ADSCs由来AT２細胞の生着・分化挙動と化合物による肺胞再生促進効果を統合的に評価し、ハイブリッド肺再生治療の有効性を実証する。

COI:ロート製薬株式会社から共同研究費を受けている。