

## 2020 年度事業計画書

公益財団法人 野口研究所

当研究所は、我が国化学工業界のパイオニアであり旧日窒コンツェルンの創始者である故野口遵がその私財を投じて 1941 年に設立した研究所である。設立趣旨は「化学工業の振興を期するため、諸般の研究並びに調査を行うとともに広く重要な研究に対し援助をなし、なお研究者の養成、発明・考案の工業化にも力を注ぐ…」と、設立当時の要請にこたえるものとなっている。この精神を尊重しつつ、今日の社会ニーズにこたえるような基礎的研究と人材育成を目的として公益のための事業を行っている。

研究事業については糖鎖バイオロジー分野を研究領域と定め、取り組んでいる。この研究領域で長年の歴史のある糖鎖合成技術、構造解析技術に加えて糖鎖機能解析技術にも重点を置いている。この 3 つの技術を併せ持つことを当研究所の強みとして基礎的研究を進めている。

これまでモデル糖たんぱく質（抗体）の糖鎖を人為的に改変する技術（糖鎖リモデリング技術）や抗体機能における糖鎖の役割解明研究に取り組んできた。こうして蓄積した技術を発展させて、抗体薬物複合体（ADC）の創製技術開発研究や抗体の機能向上を目指した探索研究を進めている。

また癌や筋疾患に伴う糖鎖構造変化を捉え、その構造変化の果たす役割や分子機構を解明する事により、有用なバイオマーカーの発見、更には疾患の予防・治療に関する新たな情報を提供し、疾病克服の一翼を担うことを目指す。

これまで糖鎖研究を支援するため、競争的資金を活用したデータベース開発プロジェクトに参画し、主に国際糖鎖標準表記法の検討、開発を行ってきたが、引き続き糖タンパク質データベースの構築に注力する。

研究成果は学会報告、論文投稿等により公表するとともに、取得特許をホームページや野口研究所時報に掲載し配布するなどして、研究成果を広く使っていただく。また大学、外部研究機関のほか企業との共同研究も行い研究成果の一層の発展を図る。

研究助成事業は、独創的かつ挑戦的な若手研究者の独立した研究を支援するために今年度も野口遵研究助成事業を行う。「産業応用までには課題も多く短期的な産業有用性は見えにくいものであっても、ロジックがしっかりしていて、実現できた場合の学術性や発展が強く期待される研究」を助成してゆくことは従来通りである。過去の助成者の中から毎年 1 名に贈呈する「野口遵賞」も継続実施する。

なお研究助成金採択者および野口遵賞受賞者に対する贈呈式を毎年 3 月に実施してきたが、新型コロナウイルス感染拡大防止の観点より 2019 年度の贈呈式は延期し、2020 年度の贈呈式と共に合同開催することとした。

人材育成事業については大学への講師派遣、卒業研究生受け入れをこれまで通り実施する。

財政面はこれまで債券運用収入を柱としてきたが、長引く低金利の影響で運営資金を確保することが難しくなってきた。そこで昨年度の理事会で承認を得て、資産の効率的な運用とリスク分散を図る目的で、債券を上場投資信託(ETF)へ切り替えて行くこととした。昨年度までに償還を迎えた17億円をETF購入へあてた。今年度も20億円の債券が償還見込みであり順次ETFに切り替えて行く予定である。

また新建屋建設にともなって発生した土壌汚染処理について、当初の想定よりも大幅に費用が超過する見込みであり、資産の取り崩しが必要と考えている。

## 事業の内容

### 1. 研究事業

#### 1. 糖鎖工学研究

##### 1-1 糖鎖リモデリング法の開発と抗体上の糖鎖機能解明

糖鎖を自由にデザインした糖タンパク質が合成できれば、学問的には糖鎖の構造と機能の相関や、バイオ医薬品等の開発、改良ターゲットの明確化が期待できる。我々はバイオ医薬品の中でも隆盛を極め分子内一か所のみ不均一なN結合型糖鎖を有する抗体医薬にフォーカスし、糖鎖リモデリング法により均一な糖鎖を持つ各種抗体分子を調製し、糖鎖構造と活性の相関を解析してきた。糖鎖リモデリング法とはまず酵素反応を利用して、糖タンパク質の糖鎖を切除し、GlcNAc一個のみを有する均一なタンパク質部分を調製する(これをアクセプターと呼ぶ)。一方、別途人為的に調製した任意の糖鎖を用意し(これをドナーと呼ぶ)、このアクセプターとドナーを酵素反応を利用して人為的に連結し、目的物を分離精製する。これにより、任意の糖鎖構造を持った均一な糖タンパク質を自由自在に合成できる。これまでに高マンノース糖鎖、バイセクティング糖鎖、多分岐糖鎖等を含めた28種(25種はSGPより誘導)のドナー糖鎖を酵素・化学的手法で合成し、抗Her2抗体(ハーセプチン) or 抗CD20抗体(リツキサン)由来のアクセプターと連結させ40種以上の高純度の均一糖鎖抗体を創製した。そして其々活性評価を実施し、糖鎖構造と機能に関する種々の重要な知見を得て報告してきた。(PLOS ONE誌2015、BBB誌2018、Mab誌2019〈国衛研との共同〉Glycobiology誌2019投稿中)。未解析の一部データを取得し、速やかに論文化(2報予定)する事を残してプロジェクトとしての研究は終了とした。

##### 1-2 リモデリング技術を活用した抗体医薬の機能向上、改善へ向けた研究

###### ・ADCC活性の向上へ向けた探索

上記研究過程において我々は天然型糖鎖のみならず非天然型糖鎖であるPEG化糖鎖、アジ

ド PEG 化糖鎖も同リモデリング法により抗体の糖付加部位に連結可能である事、PEG 化糖鎖搭載抗体も ADCC 活性を保持している事を見出した。今後、クリックケミストリーを活用し、アジド PEG 化糖鎖搭載抗体に各種官能基を導入し、活性向上の可能性を探っていく。

#### ・抗体・薬物複合体 (ADC) 創製スキャットホルド (足場) の探索

ADC とは抗体医薬品に細胞障害性低分子医薬品等を、リンカーを介して結合させた両医薬品の利点を併せ持つ複合体であり第二世代の抗体医薬として期待されている。すでにグローバルに 6 品目 (国内は 4) が上市され、多くの新規品目が開発されつつある。ADC 創製においては抗体分子の特定部位に、特定数の薬剤を搭載させる事が望まれている。しかしながら抗体分子上多数存在するシステイン残基 or リジン残基を主な結合部位とする現行法では部位及び薬物搭載数の制御が困難である。我々は両制御を可能とする技術として、抗体分子中 1 か所のみ存在する糖鎖付加部位に種々のアジド基含有糖鎖誘導体を搭載させたものをスキャットホルドとし、クリックケミストリーを活用して薬剤を連結する方法の検討を開始した。現在足場としては (1) 上述のアジド化 PEG 糖鎖誘導体と (2) G2 糖鎖を酵素-化学的にアジド化したものの 2 種を考えている。(1) に関してはアジド化 PEG5 糖鎖誘導体搭載リツキサンのアジド基に蛍光物質をモデル薬剤として導入し、抗原発現細胞特異的な発光を予備的に確認した。今後は細胞障害性薬剤の導入、特異的細胞障害活性を確認した後、PEG 鎖の鎖長、導入アジド基の数等を検討しスキャットホルドの最適化を図っていく (一部は共同研究)。(2) に関してはモデル基質による G2 糖鎖の酵素-化学的手法による位置選択的修飾が確認できた。今後はアジド基含有誘導体の合成、G2 糖鎖搭載抗体への付加修飾、クリックケミストリーを活用した薬剤導入、活性評価を順次進め、スキャットホルドとしての総合的性能を見極める。

#### 1-3 複数個所に糖鎖を有する糖タンパク質、糖ペプチドのリモデリング法の開発

一般に糖タンパク質は複数個所で糖鎖付加が起こっており、それぞれの糖鎖機能を解明するには特定の箇所特定の糖鎖を付加できる技術が必要となる。上記抗体に適用したりモデリング技術では複数の付加部位を有する糖タンパク質への適用は困難と考えられる。GlcNAc-Asn もしくはその前駆体をタンパク質、ペプチドの特定部位に導入できれば上記のアクセプターとドナーの酵素連結反応により特定部位に特定糖鎖構造を有する糖タンパク質、糖ペプチドの合成が可能となる。我々は脱保護法の異なる 2 種の保護基を有する GlcNAc-Asn を利用して特定箇所に異なる糖鎖構造を有するモデル糖ペプチドを合成する事に成功している。また、GlcNAc-Tyr に関しては化学的に tRNA に連結させた後、in vitro の翻訳システムによりタンパク質に導入可能である事を確認した (北陸先端大との共同研究)。今後は GlcNAc-Asn への変換可能な前駆体の探索、直行系のアミノアシル tRNA 合成酵素-tRNA の探索等を通して複数個所の糖鎖リモデリング技術の確立を目指す。

## 2. 疾患と糖鎖の関連解析研究

### 2-1 癌と糖鎖の研究

我々は糖鎖伸長に関わる特定の糖転移酵素である $\beta$ 4GalNAc-T4,  $\beta$ 4GalNAc-T2 がそれぞれ乳がん細胞悪性形質の抑制、腎がん細胞の悪性化等に寄与する事を、当該遺伝子高発現細胞を用いて解明してきた。また今年度、悪性度の高い胃がん細胞の腹膜播種の過程で糖鎖結合タンパク質の一種であるガレクチン分子が重要な役割を果たしている事を、当該遺伝子を欠損させた細胞を用いた動物試験により突き止めた。有望な新規創薬標的の発掘、新規治療法考案の糸口となる知見を得るべく、引き続き種々の切り口でこれら乳がん、腎がん、胃がん細胞に上記形質変換を引き起こすメカニズムの解析を実施する。更に癌の診断、治療の新たな標的候補となる疾患特異的なグリコフォームを有する糖タンパク質を特定する事を目指し、グライコプロテオミクス (GP) アプローチによる探索研究を開始した。まずはエクソソームの膜糖タンパク質で、癌との関連性が種々報告されているテトラスパニンファミリーにフォーカスし、悪性形質を獲得した細胞とその親細胞それぞれが放出するエクソソーム間で当該タンパク質由来の N 結合型糖ペプチドの比較解析を行う事を計画し準備を進めている。将来的には O 結合型糖ペプチド解析法も含めた解析技術のブラッシュアップを行い、エクソソームの膜糖タンパク質全体、更には細胞膜総糖タンパクへと GP 解析の幅を拡張し、新たな標的分子の発掘に挑む。抗体医薬を含めた創薬標的の枯渇が叫ばれて久しいが、GP アプローチは従来のオミックス手法では見逃されて来た標的を発掘できる可能性を秘めた手法であると期待される。

### 2-2 骨格筋領域の疾患と糖鎖

加齢に伴い全身の筋量、筋力が低下するサルコペニア (近年疾患として認知) の診断、予防、治療に繋がる知見を提供すべく、糖鎖を切り口とした本病態の発症、進行進展のメカニズム探索研究を実施している。まずは本病態と糖鎖の関連を検証すべく骨格筋モデル細胞で糖鎖関連酵素の発現が異なる細胞株群を樹立した。今後これらの細胞の機能、糖鎖構造の解析等を実施し仮説を検証する。その後、重要糖タンパク質の同定作業、メカニズム解析等を実施していく。

### 糖鎖有機化学研究室

糖・複合糖質・糖タンパク質合成に向けた、有機合成・酵素合成の要素技術研究、及び糖・糖タンパク質糖鎖の質量分析による構造解析技術研究を行っている。また、インフォマティクス技術を活用し、糖質科学支援システムであるグライコナビ TM の開発も行っている。今年度は

- ①グライコプロテオミクス解析手法の確立を目指した技術開発を行う。
- ②糖タンパク質、及び糖ペプチドの効率的合成法の開発を行う。

- ③非天然アミノ酸のタンパク質への導入技術を用いて、タンパク質を糖鎖で修飾するための要素技術研究を行なう。
- ④タンパク質の位置選択的な修飾化法の開発を行う。
- ⑤PEG 化糖鎖を有する均一抗体の創製検討と機能評価、及びその応用を行う。
- ⑥JST・統合化推進プログラムとして実施している「糖鎖科学ポータル構築」において糖鎖構造リポジトリの基盤となる、糖質構造の文字列表記「Web3.0 Unique Representation of Carbohydrate Structure (WURCS)」の開発および複合糖質構造の整理・データベース化を行う。
- ⑦糖鎖技術の普及に向けて、分野の異なる研究者を含め糖質研究をサポートする「糖質科学支援システム」“グライコナビ TM”のコンテンツを拡充するため、糖タンパク質データベースの開発を行う。
- ⑧生化学的知見に有用な糖質関連化合物の合成を行う。
- ⑨糖質科学の研究進展に寄与する新規技術の探索研究を行う。

#### 糖鎖生物研究室

癌などの疾患や加齢に伴う糖鎖構造変化を捉え、その構造変化の果たす役割並びに分子機構の解明により、有用なバイオマーカーの発見、更には疾患の予防・治療に関する新たな情報を提供する。また、糖鎖リモデリング技術を活用して糖鎖を改変した糖タンパク質の調製とその応用について検討を行う。

- ①組織特異的に発現が変化する LacdiNAc 糖鎖が乳がん細胞の悪性形質を抑制するメカニズムを解明する。
- ②GalNAc-DSLc4 及びその合成酵素と腎癌悪性化との関連を解明するため、エクソソームの役割に着目しその関与を調べる。
- ③特定の組織の癌で異所的に発現が亢進するガレクチン-4 に着目し、ガレクチン-4 の癌転移・線維化に関与するメカニズムを解明する。
- ④骨格筋の機能変化における糖鎖の役割に関する仮説を証明するために、樹立した細胞について解析する。
- ⑤確立した均一糖鎖構造を持つ抗体調製法を利用し、抗体の糖鎖結合部位に機能物質を付加させて、その性質について検討する。
- ⑥糖鎖リモデリング技術を活用して特定糖鎖構造を持つ糖タンパク質の調製法を確立し、その機能を解析する。
- ⑦糖タンパク質における糖鎖構造と機能の変化を簡便に評価する方法について検討する。

### 3. 大学等公的機関及び企業との共同研究

#### 3-1 競争的委託研究事業

- ・科学技術振興機構（JST）ライフサイエンスデータベース統合推進事業〔統合化推進

プログラム]

### 3-2 共同研究

- ・東京都健康長寿医療センター研究所老化機構研究チーム（遠藤玉夫シニアフェロー）
- ・北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科（芳坂貴弘教授）
- ・慶応義塾大学医学部百寿総合研究センター（佐々木貴史講師）
- ・大阪大学大学院理学研究科（深瀬浩一教授）
- ・東京化成工業株式会社
- ・国立精神・神経医療研究センター（武田伸一理事）
- ・国立医薬品食品衛生研究所（橋井則貴室長）
- ・東京大学医科学研究所（山梨裕司教授）
- ・立命館大学生命科学部（松村浩由教授）

## 2. 研究助成事業

### 2-1 野口遵研究助成金

野口遵研究助成金は 2009 年度よりスタートし本年度は 1 2 回目の助成を計画している。本助成金は、国内の大学またはそれに準じる研究機関に所属する 3 9 歳以下の若手研究者を対象とし、ライフサイエンス、エネルギー・資源・環境、電子材料等の 3 分野で募集予定である。2019 年度より、昨今の多様な勤務形態に対応するため、応募に常勤である要件を外し非常勤でも応募可能としている。2019 年度は 1 6 4 件の応募の中から 1 3 件に助成金を贈呈したが、2020 年度も同規模の採択件数を考えている。

本助成金の採択者は 1 1 年間で延べ 1 50 人となった。過去の採択者のその後の調査では、職位が上がった研究者、各種の賞の受賞者も多くみられ若手研究者の研究を助成するという本助成金の趣旨にそった成果が得られつつある。

### 2-2 野口遵賞

2014 年度「野口遵賞」を新設した。「野口遵賞」の設置目的は、過去の助成者の中から、特に優れた実績をあげている研究者に贈呈し、更なる研究の発展を支援することである。本年度は 7 回目であり、2016 年度、2017 年度の採択者の中から「野口遵賞」を 1 名に贈呈する。

### 2-3 講演会

研究成果を広く公開するため過去の採択者 3 ~ 4 名による講演会を計画している。

### 3. 人材育成事業

設立趣旨「なお研究者の養成を図る」に則り、

- ①大学から卒研究生、院生を受け入れての研究の指導は、今年度も継続して行う。
- ②今年度も非常勤講師の派遣は、研究員を要請のある大学に派遣し、化学系技術者の教育・育成に努める。

## 総 務 関 係

### 1. 評議員会・理事会に関する事項

- 5月 理事会開催
- 6月 定時評議員会開催
- 3月 理事会開催

### 2. 研究助成金の講演会に関する事項

贈呈式および節目の年の記念講演会の開催について、内閣府へ変更申請を行い認定された。

### 3. 職員に関する事項

2020年度の職員数は30名（2019年度は29名）（役員・顧問を除く）

以 上