

## 平成 29 年度 事業計画書

公益財団法人 野口研究所

公益財団法人野口研究所は 1941 年に、旧日窒コンツェルンの創始者故野口遵が全私財を投げうって設立した、70 年以上の歴史をもつ研究所である。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・・・」とその時代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、今の時代のアンメットニーズ（満たされていない社会ニーズ）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進めている。

研究開発では、糖鎖バイオロジー分野を軸とした研究が中心になっている。本分野の研究は、第二次大戦後、資源の少ない日本に貢献すべく開始した森林資源を利用する木材化学の研究がスタートになっている。そこで蓄積されたセルロースなどの知見をベースに糖類の合成研究・構造決定研究を続け、野口研究所固有の技術として蓄積してきた。近年になりバイオサイエンスの飛躍的な進展に伴い、糖鎖が「第三の生命鎖」とも呼ばれ、生命システムに重要な役割を果たしていることがわかってきている。また、抗体医薬に代表されるバイオ医薬品等で糖鎖の役割に注目が集まり、糖鎖の研究も新しい時代に入って来た。幅広い応用分野が開けそうで、新たな活動の時期に入ったと認識しており、平成 22 年度より実際の研究活動に反映させてきた。

今年度は、引き続き、モデル糖タンパク質の糖鎖を人為的に均一改変する技術（糖鎖リモデリング技術）を展開、発展させてゆく。昨年度までに、まとまった量の均一糖鎖を有する糖たんぱく質を得ることにある程度道筋をつけられたことは、それをベースとする応用展開や解析に新たな道を開くものであった。この技術が評価され、国立医薬品食品衛生研究所からの要請で共同研究も始まっている。この技術は合成、バイオ、解析のきめ細かな連携で進化する。進めば進むほど技術とノウハウが蓄積し、野口研究所の固有技術に育ってゆく可能性が高く、大切にしたい。そして、これらで培ってきた技術と経験の当然の出口として、疾患と糖鎖修飾の関わりに関する研究や糖構造を有する生理活性物質の探索研究にも継続して力を入れ、疾病克服の一翼を担うことを目指している。昨年度、都立健康長寿医療センター研究所のパートナーとして参加した筋ジストロフィー症の原因解明研究において役割を果たすことができた。本年度も更なる研究の発展に向けて連携を深めてゆく。

機能性材料研究については、触媒にとらわれず、環境・エネルギー分野に資する研究を目指し、テーマを開拓してゆく。また、当研究所で長年取り組んできた、溶媒・廃棄物による環境負荷の少ないと期待されるフルオラス科学も糖鎖合成等の研究において固有技術の一つとして役立つ

ており、継続的に磨いてゆく。

平成 29 年度は、当研究所の原資のおよそ 90%を糖鎖研究に充てる。

これらのターゲットも時代の要請の変化に合わせて出世魚のように変身してゆくのが当然だと思っている。唯我独尊に陥ることをいましめつつ、創始者野口遵の志のように、その時代の要請にこたえる研究において不可欠の役割を果たしてゆくことが使命である。

研究成果は学会報告、論文投稿を実施するとともに、取得特許をホームページに掲載、及び野口研究所時報に掲載し配布するなどして、成果を広く使っていただく事を目指して活動している。

一方、単独でできることには限りがある。当研究所のレベル維持向上にも大切な事なので、大学等公的機関や企業との共同研究も積極的に進めてゆく。

研究助成事業は、挑戦的な若手研究者を支援するために今年度も野口遵研究助成事業を継続する。「産業応用までには課題も多く短期的な産業有用性が見えにくいものであっても、ロジックはしっかりしていて、実現できた場合の学術性や発展性が強く期待される研究」で、できるだけ他の助成制度にかかりにくいような研究を優先的に助成してゆくことは昨年度と変わらない。過去の助成者から毎年 1 名を選抜して授与する「野口遵賞」は、昨年度、革新的ナノカーボン合成を目指している名古屋大学の瀬川泰知氏に授与したが、明瞭に過去の弊所助成が研究発展の礎となっていた。本助成事業は今年度で 9 年目を迎えるが、ようやく花が開いてきた感がある。この流れを大事にしたい。

人材の育成については講師派遣、卒業研究生受け入れをこれまでどおり実施し、その他の活動として今年度も学会活動等を積極的に補助してゆく。その一環として、10 月には弊所研究棟において「フルオラス科学研究会第 10 回シンポジウム」を開催する予定である。

昨年 9 月に新研究棟が完成し、新しい研究棟での研究が順調にスタートした。創立 75 年目にして新しい研究環境を手に入れることができたが、気持ちを新たに、未来を見据えた研究事業を推進してゆく。

財政面は、債券運用収入を柱として、寄付金・公的機関からの競争的助成金を充当している。運用収入は、厳しい金融環境と経済情勢の不確実性が高くなってきたことから前年度予算比減収を見込んでいる。但し、研究事業支出は、前年度に引き続き選択と集中をはかりながらも積極的な研究活動が行える予算とした。

## 事業の内容

### 1. 研究事業

#### 1-1 糖鎖研究

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と考え検討して来た。いわゆるバイオ医薬品は CHO に代表される動物細胞を利用しタンク培養により製造されている。抗体医薬の場合、10g/L の高い最終生産物濃度に達し、精製も容易になってきており、動物細胞を用いたバイオ医薬品の製造プロセスはほぼ完成されている。しかし、生きた細胞を用いる為、生物反応特有の不確定性や不均一性は避けられない。動物細胞で製造されたバイオ医薬品(糖タンパク質)ではタンパク質部分は同じだが付加される様々な糖鎖構造の違いが薬効や安全性に大きく影響する事が明らかとなり、2012年2月のFDAのガイドラインでも多様性のある糖鎖構造を定量的に分析し、どの糖鎖構造がどの割合で含まれるのかを明らかにするよう求められてきている。これを踏まえ、バイオ医薬品標準品の供給、糖鎖構造と生理活性の機能解明の為、2011年度 HGP(Homogeneous GlycoProtein) プロジェクトを立ち上げ、糖鎖リモデリングによる均一な糖鎖を持つ糖タンパク質合成技術の確立を目指してきた。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、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を用いて人為的に連結する。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。又、一般的にCHO細胞から製造された糖タンパク質を用いてアクセプターを調製すると、根元にフコースを持つ(コアフコースと呼ぶ)アクセプターがメインとなる。コアフコースの有無により、制癌活性が100倍異なるとの報告もあるのでコアフコースの有無も構造活性相関の重要な要因になる事がわかってきている。先ず我々はもともとコアフコースを持たない糖タンパク質のみ合成するカイクに着目し、カイクで合成された糖タンパク質を(株)免疫生物研究所から入手し、コアフコースのないアクセプター調製後、糖鎖リモデリングによる均一な糖鎖を持つ糖タンパク質合成技術を抗体医薬トラスツズマブを例として確立し、これらの成果を BioTech2015,第34回日本糖質学会年会等にて発表、PLOS ONE 誌に報告した。さらに、トラスツズマブ製剤中の主要糖鎖に関してはコアフコースを有し、かつ均一な糖鎖構造を持つ高純度糖鎖均一抗体の調製技術も確立した。そしてコアフコースの有無以外同一の構造を有する数種の均一糖鎖抗体間での活性比較を行い、コアフコースの存在が生物活性をほぼベーサルレベルにまで低下させる事を明らかにした。即ち、製剤中10~15%しか含まれないコアフコース非含有トラスツズマブが活性本体である事をつきとめた。今後は他の抗体へ技術適用するとともに酵素・ドナーのラインアップ拡充検討を推し進め、多分岐糖鎖等を含めた製剤中のマイナー糖鎖構造に関してもリモデリングによる均一化を図り、構造活性相関データを網羅する。さらには他の糖タンパク質への応用展開を考えていく。

一方、鹿児島大の丸山教授らにより澱粉の酵素分解物である単糖 1,5AF(1,5-Anhydro-D-fructose) が in vitro で様々な刺激による炎症惹起経路として知られるインフラマソーム活性化経路を阻害する事が示され、更には未だ高用量ではあるが敗血症のマウスモデルで効果を示す事が見出された。そこで我々は、本単糖の敗血症治療薬候補としてのポテンシャルを見極めるべく各種 1,5AF 誘導体の合成及び評価を鹿児島大と共同で数年前から実施する事とした。研究室横断的プロジェクト(AP プロジェクト)を立ち上げ、評価系の整備、新規誘導体合成に取り組んできている。現在までに in vitro で 1,5AF の数千倍のインフラマソーム阻害活性を示す高活性化合物を取得してきたが in vivo での明確な薬効確認に至っていない。今年度も引き続き、高活性誘導体の探索研究を実施するとともに、特に薬効評価モデルの検討に注力し、新薬候補としてのポテンシャルを見極めていく。

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を行っている。今年度は

- ① 各種糖鎖オキサゾリン(ドナー)の合成を行う。(HGP project)
- ② インフラマソームを阻害する新規高活性物質の創製を行う。(AP project)
- ③ 生化学的知見に有用な糖質誘導体の合成を行う。
- ④ Acid-labile な糖水酸基保護基を用いた糖ペプチド合成法の開発を行う。(卒研生テーマ)
- ⑤ 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”の開発を行う。また、国際糖鎖構造リポジトリの開発と、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を次世代 Web に対応させた「Web3.0 Unique Representation of Carbohydrate Structure: WURCS」の開発を行う。
- ⑥ ENGase の糖鎖転移活性を利用した位置選択的なタンパク質の PEG 化法の開発を行う。
- ⑦ 糖鎖抗体作成用新規糖鎖プローブの開発を行う。
- ⑧ 質量分析法を用いた新規糖鎖構造解析法の開発を行う。

糖タンパク質工学研究室: 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。

- ① LDN 糖鎖による乳癌進行抑制メカニズムを解析する。
- ② LDN 含有 PSA の診断マーカーとしての有用性を検証すべく LDN 含有 PSA 抗体を取得し、EIA 系を構築する。
- ③ GalNAc-DSLc4 及びその合成酵素と腎癌悪性化との関連を解明する。

- ④ HGP プロジェクトにおいて、ターゲットとする糖タンパク質や付加させる糖鎖の種類を拡充し、糖鎖改変体の調製を行う。また、取得した糖鎖改変体の品質評価系を確立し、各種糖鎖の機能を解明する。
- ⑤ AP プロジェクトにおいて、ヒト細胞系を用いた評価系の整備と誘導体評価を行う。また鹿児島大と共同で病態モデルの整備と評価を実施する。
- ⑥ 骨格筋の機能変化と糖鎖の役割を標的とした研究テーマを軌道に乗せる。外部研究者との共同研究を進展させ、技術習得・導入と共に網羅的な探索研究からの方向性を見極める。

糖鎖生物学研究室: 糖鎖とペプチドを遊離せずアミノ酸配列情報および糖鎖付加位置情報を含む糖タンパク質の MS による分析技術研究を推進している。これまで糖ペプチドをプレート上で直接ピレン標識し高感度 MALDI-TOF-MS を本研究室で開発した。また、糖ペプチドを安定同位体ベンゾイル基で標識し、比較定量法を開発した。より定量的にグライコフォームを解析するために、LC-MS/MS も導入した。これらの技術をさらに向上させていくと同時に、様々な糖タンパク質のグライコフォーム(アミノ酸配列は同一で異なる糖鎖を有する)を明らかにし、明確な構造に立脚した糖タンパク質の機能を解明する。

- ① 血清より調製した PSA 糖ペプチドの LC-MS/MS による定量法を開発し前立腺がん患者血清を解析する。昨年度に確立した LC-MS/MS 手法を用いて癌患者血清 PSA のグライコフォームを解析し、以前から提唱している LDN グライコフォームの癌化に伴う増加を確認、検証する。
- ② LacdiNAc 以外のグライコフォームの癌性変化を明らかにすることによって新たな前立腺がんマーカーを探索するため、患者がん細胞由来 CTOS の PSA グライコフォームを解析する。今年度は PSA 糖ペプチドの MS 解析を行い、昨年度に行ったレクチンカラムクロマトグラフィー解析結果と合わせてグライコフォームを明らかにする。
- ③ メソポーラス有機シリカによるレーザー脱離イオン化: マトリックス結晶を用いずにより簡便で再現性の高い MS 解析を目指した LDI-MS のための支持体を開発している。昨年度サブピコモルの検出が可能になったが、今年度はさらなる高感度化を目指す。
- ④ HGP プロジェクトで使用する酵素およびその変異体を調製し、酵素活性や反応条件を検討する。
- ⑤ AP プロジェクトにおいてマウスプライマリーの系での新規化合物の活性評価実施。

HGP プロジェクト: 研究室横断的に力を結集し、均一な糖鎖構造を持つ糖タンパク質を合成する技術確立を進めるプロジェクト。今年度は

- ① バイセクティング GlcNAc 含有糖鎖、多分岐糖鎖等抗体医薬製剤中にマイナー成分として検出される糖鎖を有する均一糖鎖抗体を作成し、構造、活性相関を調べる。
- ② 共同研究を推進し、合成した均一な糖鎖構造を持つ糖タンパク質の物性・機能を調べる。
- ③ ①調製に必要な新規酵素の探索、並びに新規ドナーの作成と基盤技術の確立。

AP プロジェクト:研究室横断的に力を結集し、1.5AF 誘導体の自己炎症性疾患治療薬としてのポテンシャルを見極め新薬リード化合物の創製を目指すプロジェクト。今年度は

- ① 新規誘導体の合成を行う。
- ② ヒト、マウスの細胞系を用いて、上記誘導体群の活性評価を行う。また、細胞評価系の整備、拡充も平行して実施する。
- ③ 自己炎症性疾患モデルでの化合物評価を実施する。

#### 1-2 機能性材料研究

従来培ってきたナノ・メソポーラス材料技術および機能性材料技術の切り口から、次世代電池材料の創出を目指して、電極技術、電解液技術の探索研究を推進する。

#### 1-3 その他

当研究所ではフルオラス科学の研究振興においても国内の中心的な役割を担っている。フルオラス科学は化学合成の精製工程を短縮でき、糖鎖の効率的合成には有効な化学合成手法である。当研究所は糖鎖研究を行う中で当化学の研究をスタートし、研究の成果をベースに、触媒、糖鎖研究のための情報交換とフルオラス科学の普及啓蒙の目的で、2002年野口フルオラスプロジェクトを立ち上げてフルオラス科学研究の専門家を招請し、シンポジウムを開催してきた。この野口フルオラスプロジェクトに賛同した大学の先生方の参画を得て、2008年当研究所が中心になり、更にフルオラスの化学合成以外の適用も目指してフルオラス科学研究会が発足した。当研究所は、情報交換の場の重要性から、フルオラス科学研究会シンポジウムの活性化に尽力している。研究会では2014年に体制を一新し、新会長のもと、ホームページにフルオラストピックスの掲載を開始した。又日本フッ素化学会との連携を強め、ホームページの相互リンクも行っている。今年度は引き続きフルオラス科学の新規活用法の探索を模索していきたい。

尚、今年度はフルオラス科学研究会第10回シンポジウムを当研究所にて開催予定である。

#### 1-4 大学等公的機関及び企業との共同研究

(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]

(共同研究)

- ・ 旭化成株式会社
- ・ 旭化成ファーマ株式会社
- ・ 鹿児島大学(丸山征郎教授)

- ・ 大阪府立病院機構(井上正宏部長)
- ・ 東北薬科大学分子生体膜研究所(井ノ口仁一教授)
- ・ 東海大学工学部応用化学科(稲津敏行教授)
- ・ 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(遠藤玉夫副所長)
- ・ 株式会社豊田中央研究所
- ・ 理化学研究所(山口芳樹氏)
- ・ 慶応義塾大学医学部(工藤純教授)
- ・ 群馬大学(松尾一郎教授)
- ・ 東京理科大学薬学部 (青木伸教授)
- ・ 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所(武田伸一所長)
- ・ 国立医薬品食品衛生研究所(橋井則貴室長)

## 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9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39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。なお、2016 年度は164件の応募の中から13件に助成金を贈呈したが、2017 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8年間で延べ110人となった。過去の採択者のその後の調査では、職位の上昇した研究者、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4回目であり、2013 年度、2014 年度の採択者の中から「野口遵賞」を1名に贈呈する。

## 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 非常勤講師の派遣は、今年度研究員6名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。

## 庶務関係

### 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. 職員に関する事項

平成29年度の職員数は31名(平成28年度は34名)(役員・顧問を除く)

以上