

がん分子標的治療薬の躍進が著しいが、耐性や副作用の問題に加え、「標的分子の枯渇」や薬価高騰など「医療経済上の問題」が懸案となっている。我々は、これらの医薬品開発上の問題解決に取り組んできた。本発表では、zebrafish の表現型解析による「標的分子の枯渇」と「医療経済上の問題」の解決を目指したこれまでの取り組みを紹介する。

High-throughput screening は、既存標的分子に対する阻害剤の同定に威力を発揮するが、新規標的の開拓を志向するものではない。我々は、特定のシグナル経路を阻害する「化合物の表現型スクリーニング」と「化合物に結合する細胞内標的分子の同定」の 2 段階探索で、新規の創薬標的分子の同定を試みている。遺伝学の suppressor 変異体の探索は、重要なシグナル制御因子を多数同定してきた。我々は、遺伝学的変異体スクリーニングを参考にして、Wnt/ $\beta$ -catenin 経路阻害剤を同定するために chemical suppressor 探索系を開発した。本経路の異常な活性化は、zebrafish 胚に「目無し (eyeless)」表現型を誘導する。この eyeless 表現型を正常に戻す化合物を探索することで、eyeless suppressor 化合物を同定する。本方法によって、駆虫薬である ivermectin を再発見した。ivermectin は、 $\beta$ -catenin/TCF 転写活性化と内在性の Wnt 経路の標的遺伝子産物の表現を減少させ、APCMin/+マウスの結腸直腸腫瘍の増大を抑制した。次に、ivermectin を共有結合させた磁気ビーズを作成し、ivermectin 結合タンパク質 (IvBP) を同定した。IvBP2 タンパク質は、その C 末端領域を通して ivermectin と直接結合した。また、ivermectin を用いた PROteolysis-TArgeting Chimera (PROTAC) は細胞内で IvBP2 の分解を誘発した。さらに、IvBP2 の siRNA によるノックダウンは、細胞質  $\beta$ -catenin レベルを減少させた。このように、zebrafish eyeless suppressor screening は、Wnt/ $\beta$ -catenin 経路阻害剤を同定して、druggable な新規標的分子の IvBP2 の発見に至った。

莫大な費用を投じて承認された医薬品が、致死的な副作用などの理由で市場から撤退を余儀なくされることは、製薬企業にとって深刻な損失となり得る。また、一命はとりとめたとしても副作用対策で入院期間が延長されることは、医療費を膨らませ、限られた国家予算に悪影響を及ぼしかねない。このような「医療経済上の問題」の解決にも zebrafish の表現型解析は有用と考えられる。zebrafish の whole animal screening では、薬効に加えて潜在的な毒性情報も得られる。特に、哺乳類に比較して心毒性の評価が極めて容易に行える。稚魚は体表が透明なため、特別な処理を行わずに拍動する心房と心室を実体顕微鏡下で観察できる。市場撤退した Histamine H1 blocker である terfenadine は、ヒトの治療濃度域以下で zebrafish 胚に不整脈を誘発し、高濃度では房室ブロックや心停止を引き起こした。一方、terfenadine の類縁体で現役医薬品である fexofenadine は、治療濃度域の 40 倍濃度でも心拍に異常は観察されなかった。したがって、zebrafish 表現型解析は、ヒトで生じ得る重篤な副作用を高感度に予測することが可能と考えられる。受精卵を胎外で扱える特性を活かせば、哺乳類とは比較にならないほど高精度に催奇形性についての情報も得られる。現在、形態形成異常と臓器障害性を予測するために、畳み込みニューラルネットワーク (CNN) を用いて zebrafish 表現型の機械学習モデルを作成している。