



Title	Development of a drug screening method using single-molecule imaging
Author(s)	渡邊, 大介
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/101888
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (渡 邊 大 介)

論文題名

Development of a drug screening method using single-molecule imaging
(1分子イメージングを用いた薬剤スクリーニング法の開発)

論文内容の要旨

Single-molecule imaging visualizes individual molecules in living cells, providing a lot of insights in the functions of various proteins. Applications of this method to studies of membrane receptors have shown that the lateral diffusion mobility and cluster formation correlate the protein phosphorylation and the downstream signaling, respectively. These results instigated me to apply a large-scale single-molecule analysis, which can be achieved by an automated system, for evaluation of drug effects on the protein activities. In this study, I tried to perform a drug screening by the automated system (AiSIS) based on the single-molecule tracking of receptor behavior on the cell membrane. I targeted epidermal growth factor receptor (EGFR), which is a receptor tyrosine kinase and one of the target molecules in drug exploration because its overexpression and/or mutations are found in various cancers. The screening was performed on 1,134 FDA-approved drugs containing EGFR tyrosine kinase inhibitors (TKIs) and selected hit compounds with significant changes in the EGFR mobility and clustering. These compounds expectedly contained all the EGFR TKIs, which suppressed the mobility decrease by the ligand-induced phosphorylation. The other compounds caused mobility changes regardless of the phosphorylation, and almost all of them triggered EGFR internalization and declined the cell viability. The results suggest that single-molecule screening can identify drugs acting not only on the EGFR phosphorylation, which can be detected by conventional methods, but also on several events in the signal transduction. This method enables to find novel drugs effective for related receptors with previously undefined mechanism.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (渡 邊 大 介)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	上 田 昌 宏
	副 査	教授	石 島 秋 彦
	副 査	教授	高 島 成 二
	副 査	教授	井 上 大 地

論文審査の結果の要旨

細胞内1分子イメージング法は、生体分子の活性化・不活性化に伴う拡散運動の変化や多量体の形成といった細胞内シグナル伝達の分子メカニズムに関する重要な知見を与えるため、生体分子の機能発現に影響する薬剤のスクリーニングの手法として期待されてきたが、実現された例はなかった。

本論文において渡邊大介氏は、上皮成長因子受容体（EGF受容体）を対象として、薬剤スクリーニングに適した1分子イメージングの計測・解析条件を確定した。1000種類を超える承認薬ライブラリに対してスクリーニングを行い、EGF受容体の阻害剤として知られる全てのチロシンキナーゼ阻害剤（TKIs）を正確に検出することで、開発した手法の有用性を実証した。さらに、EGF受容体への作用が未報告の薬剤も検出できることを示し、それら非TKI化合物がEGF受容体の内在化を誘導することでEGF依存的な細胞増殖を阻害するという新たな作用機序を持つ薬剤であることを明らかにした。これにより、薬剤スクリーニングとして利用できる新規の基盤技術を確立した。今後、さまざまな生体分子の薬剤スクリーニングへの応用が期待される。また、細胞膜に存在する受容体の機能発現の仕組みを明らかにするための有効な手法を提供しており、基礎研究分野における貢献も大きい。

よって、博士の学位を授与するに値するものと認める。

なお、チェックツール“iThenticate 2.0”を使用し、剽窃、引用漏れ、二重投稿等のチェックを終えていることを申し添えます。