

構造活性相関部会・ニュースレター <1 April, 2009>

SAR News No.16

「目次」

| ///// Perspective/Retrospective ///// | | | | | | |
|---|--------------|------------|------------|-----------|-------|---|
| Reprofiling the Hansch-Fujita Type of Classica | I QSAI | R Usir | ıg | | | |
| Modern Molecular Calculations 中馬 | 寛、 | 吉田 | 達貞、藤 | 田 稔 | 夫 … | 2 |
| //// Cutting Edge | | | | | | |
| $\mathrm{CK2}lpha$ 阻害剤創出に向けた \mathbf{X} 線結晶構造解析、記 | 計算化 | 学、お | よび | | | |
| 熱量測定 (ITC) によるアプローチ | | | 関口 | 雄介 | ••• 1 | 1 |
| 擬似分子プローブと標的分子構造に基づく de no | vo 医薬 | 逐分子 | 設計法の関 | 見発 | | |
| 東田・欣松 | 也、後月 | 藤 純 | 一、平山 | 令明 | ••• 1 | 6 |
| | | | | | | |
| //// Activities //// | | | | | | |
| <報告> | | | | | | |
| 第36回構造活性相関シンポジウム | | | 髙木 | 達也 | 2 | 1 |
| 第8回薬物の分子設計と開発に関する日中合同シ | ノンポ シ | ジウム | 藤原 | 英明 | 2 | 2 |
| The 17th European Symposium on Quantitativ | e Stru | cture- | Activity I | Relatio | nship | 3 |
| 参加報告 | | | 浅田 | 直也 | 2 | 4 |
| <会告> | | | | | | |
| 構造活性フォーラム 2009「化合物と標的・非標 | 的タン | パク質 | でとの相互 | 作用 | | |
| - 創薬標的の同定と分子設計-」 | | | | | 2 | 6 |
| 第37回構造活性相関シンポジウム | | | | | 2 | 7 |
| 2009 年度構造活性相関部会 SAR Promotion Awa | ard 受知 | 賞候補 | 者募集 | | 2 | 8 |
| 部会役員人事 | | | | | 2 | 9 |
| | | | | | | |

Reprofiling the Hansch-Fujita Type of Classical QSAR Using Modern Molecular Calculations

中馬 寛¹,吉田 達貞¹,藤田 稔夫²
¹徳島大学大学院・ヘルスバイオサイエンス研究部、²京都大学名誉教授

Hansch と藤田による最初の QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship, 定量的構造活性相関)の論文発表からすでに 40 年以上が経ち、その間に QSAR による数々の創薬の成功例が報告されてきている。一方、この約 40 年間の実験技術の進歩とともにコンピュータの演算・記憶能力の飛躍的発展と大規模分子系に対する非経験的分子軌道法などの新しい分子科学理論・計算法の出現によってタンパク質・阻害剤複合体等についても詳細な情報が得られるようになってきた。著者らは、QSAR のさらなる発展を目的として分子科学理論・計算法を用いて、QSAR 解析の分子間相互作用に基づく新たな理解を目指した研究を行ってきた。本稿は、2008 年 11 月 3~6 日に神戸国際会議場にて開催された The Eighth China-Japan Joint Symposium on Drug Design and Developmentにおける本稿と同じ題名の講演に関する解説である。

1. QSAR 解析における自由エネルギー関連パラメータ

酵素阻害剤や基質を対象とする QSAR (enzymatic QSAR) において、一般に骨格が同一で置換基の異なる一連の芳香族化合物 (congeneric series) の K_i (酵素活性阻害の平衡定数) などの生物活性値の変動は式 (1) に代表される線形式で表現される。

$$\log(1/K_i) = a \sigma + b \log P + const \tag{1}$$

右辺の σ は置換安息香酸の解離定数から定義される化合物の置換基の電子的パラメータ Hammett σ であり、 $\log P$ は n-octanol (oct) 層と水(w)層での分配係数 $P=C_{\rm oct}/C_{\rm w}$ (C は平衡濃度)の対数値で化合物の疎水性の定量的尺度を表す実測値である。Hammett σ や $\log P$ はそれらの定義式から理解できるとおり、化合物の自由エネルギー変化に対応し、一般に自由エネルギー関連パラメータ(free energy-related parameter)と呼ばれている。左辺は、 K_i を $\exp(-\Delta G/RT)$ とおけば、薬物分子がその標的酵素と結合する際の自由エネルギー変化 ΔG に対応し、したがって、式(1)は、一連の化合物の ΔG が各化合物の電子および疎水エネルギー項の和で表現されることを意味する(エネルギー成分への分割)。一般に、QSAR 式は、LFEP (Linear Free Energy Principle,自由エネルギーの線形則)に基づき、一連の薬物分子の標的酵素までへの輸送過程から結合過程までの全 ΔG 値の変動を Hammett σ や $\log P$ など化合物の各自由エネルギー関連パラメータの線形結合式で表現する。

本稿の第1章では、QSAR における二つの代表的な自由エネルギー関連パラメータ $\log P$ および Hammett σ の非経験的分子軌道法等による解析結果に基づく考察をそれぞれ 1-1, 1-2 章で述べる。

1-1. 分配係数 log P の分子科学理論・計算法による解析結果と考察

1995 年までに蓄積された QSAR 式のデータベースによれば、約 90%の QSAR 式が $\log P$ や π を含み、それらは enzymatic QSAR の中でも主要な QSAR パラメータとなっている [1, 2]。式 (2) で示すように、 $\log P_{\text{sol/w}}$ は n-octanol 等の有機溶媒 (sol) 層と水 (w) 層間の自由エネルギー変化 $\Delta G_{\text{sol/w}}$ に対応している。

$$\log P_{\text{sol/w}} = -\Delta G_{\text{sol/w}} / 2.303RT = -\Delta H_{\text{sol/w}} / 2.303RT + \Delta S_{\text{sol/w}} / 2.303R$$
 (2)

ここでR は気体定数、T は絶対温度を表し、2.303 は自然対数と常用対数の底の変換定数(= $\log_e 10$) である。T=298 K のとき、式 (2)の右辺の $\Delta H_{\rm sollow}$ の係数 (=1/2.303RT) は-0.733 (mol/kcal) となる。

式 (2)を検証する目的で、構造が比較的単純な有機化合物;無置換 benzene などの非水素結合体 (NHB, Non-Hydrogen-Bonder) 69 化合物、 acetophenone などの水素結合受容体 (HBA, Hydrogen-Bonding Acceptor) 34 化合物、phenol などの水素結合供与体 (HBD, Hydrogen-Bonding Donor) 50 化合物の n-octanol / 水系の $\log P_{\text{Oct/w}}$ 値に加えて、含窒素芳香族分子のうち水素結合受容体 37 化合物の chloroform (CL) / 水系の $\log P_{\text{CL/w}}$ 値を解析対象とした。式 (2) の $\Delta H_{\text{sol/w}}$ は溶質分子の有機層と水層とのエンタルピー差であり、非経験的分子軌道法 $(B3LYP/6-31^+G(d)//HF/3-21G^*)$ -連続溶媒和モデル[(SCRF) Self-Consistent Reaction Field - CPCM (Conductor-like Polarizable Continuum Model)]を用いて評価した [溶液中では $\Delta E_{\text{sol/w}} = \Delta H_{\text{sol/w}}$]。 $\Delta S_{\text{sol/w}}$ については、Tanford や Chotia らの報告 [3, 4] に基づき、溶質分子の溶媒接触表面積 (ΔSA , solvent Accessible Surface Area) に比例すると仮定した。式 (2) から出発し、最終的に相関式 (3)を得た [5-7]。

$$\log P_{\text{sol/w}} = -0.776 \,\Delta E_{\text{sol/w}} + 0.0266 \,ASA - 0.760 \,I_{\text{HAc}} + 0.564 \,I_{\text{sol}} - 0.421$$

$$n = 208, \, r = 0.972, \, s = 0.283, \, F = 866$$
(3)

- 式 (3) に新たに導入した項、 I_{HAc} は HBA のときは 1 を、NHB のときは 0 を、 I_{sol} は n-octanol / 水 系のとき 1 を、chloroform / 水系のときは 0 をとる indicator variable (尺度変数) である。QSAR 解析において indicator variable を用いることがあるが、その項の持つ物理化学的意味を明確にすることが要求される。以下に、 I_{Hac} と I_{sol} を含め、右辺の 4 種類の説明変数の物理化学的解釈を述べる。 (a) $\Delta E_{sol/w}$ の係数は、式 (2)で予測される-0.733 (= 1/2.303RT, T=298 K) に近く、静電相互作用が支配的な溶媒和エンタルピー項と解釈できる。
- (b) ASA の係数は有機分子の溶媒移行自由エネルギー変化の実験値から算出した値 (22 ~ 25 cal/mol Å-2) に相当し、第 2 項はエントロピー支配の自由エネルギー項と解釈できる。
- (c) 溶質・溶媒 (水, n-octanol, chloroform) 間の化学平衡の考察から、近似的に I_{HAc}は log([oct] / [w])

と、 I_{sol} は \log ([CL] / [oct]) と表わすことができ ([]は単位体積あたりの分子数を表す)、それぞれ-0.95,0.30 となる。これらの値はそれぞれの項の係数値からあまりかけ離れていないことが分かる。 I_{HAc} と I_{sol} が、溶媒濃度の対数の形をとるので、それぞれ溶媒の混合エントロピー項と解釈できる。

式 (3) の導出に含まれていない化合物セット (構造 $-\log P_{\text{sol/w}}$ の実測値) についての回帰式 (3) による $\log P_{\text{sol/w}}$ の予測値と実測値の相関は、導出に用いたデータセットの回帰分析とほぼ同等の 統計的質 (n=51, r=0.973, s=0.296) を与え、予測式 (3) の有意性を確認した。

式 (3) の導出には、HBD を除外している。この理由は、式 (2) における HBD の挙動が NHB および HBA から著しく異なることによる。すなわち、溶質分子を水素結合様式にしたがって NHB (n=69), HBA (34), HBD (50)と分類したときのそれぞれの回帰式 $\log P_{\rm octl/w}=a$ $\Delta E_{\rm oct/w}+b$ ASA+const はいずれも統計的に有意であり、ASA の係数値 b の値もほぼ同じ値 (0.0265 \sim 0.0272)であるが、NHB と HBA における $\Delta E_{\rm oct/w}$ の係数値 a がそれぞれ -0.693, -0.631 であるのに対して、HBD では-0.337 と約半分の値となる。この結果は HBD の特異性を示唆し、また HBD のみが $\log P_{\rm octl/w}$ 値と $\log P_{\rm CL/w}$ 値の間に有意な相関が見られない実験事実とも対応すると考えられる。HBD の特異性は、連続溶媒和モデル (SCRF 法) では表現できない、あるいは式 (3) には考慮されていない、HBD において顕著となる $\log P_{\rm Sol/w}$ と相関する因子の存在を示唆していると考えている。

溶液の統計力学理論に基づく拡張 RISM (e-RISM, extended Reference Interaction Site Model) 法を

用いて $\log P_{\text{CL/w}}$ の推算を行った [8]。図 1 に示すように、実測値との対応は定量的には不十分ではあるものの (標準誤差は 0.670, SCRF による予測値では 0.296)、e-RISM 法による 11 化合物の $\log P_{\text{CL/w}}$ 予測値は、実測値の変動の傾向を大体再現していることが分かる。 e-RISM 法を含む分子科学理論・計算による $\log P$ の予測とその結果の物理化学的解釈の困難さは、 $\log P$ 値の ± 1 の変動がエネルギー変化 ± 1.36 kcal/mol に対応することから分かるように、 $\log P$ の推算には最低でも化学的精度 [chemical accuracy、 ~ 0.5 kcal/mol と一般

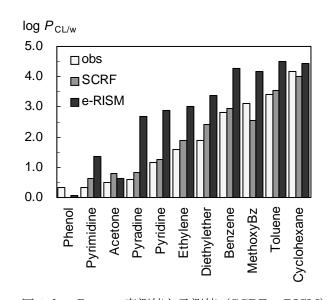


図 $1.\log P_{\mathrm{CL/w}}$ の実測値と予測値(SCRF, e-RISM)

に考えられている] が要求されることにある。化学的精度あるいはそれ以上の精度を有する予測は、 log P の推算を含む分配現象やタンパク質のような巨大生体分子間相互作用に関する問題について は、現状では一般に困難である。それゆえに、化学的精度に達していない計算結果に解析者の物理化学の知識と洞察を加えて解釈することがきわめて重要となってくる。

SCRF 法とともに e-RISM 法のような溶液の統計力学理論に基づく方法からも今後、 $\log P$ および分配現象に関するより深い物理化学的描象が得られると期待している。

1-2. Hammett σ の分子科学理論・計算法による解析結果と考察

Hammett σ は、置換安息香酸の解離定数の実測値から定義され、当然のことながら薬物分子の標的となる受容体側の情報などは含んでいない。したがって、薬物分子・受容体相互作用の観点からは、enzymatic QSAR 式において、Hammett σ がなぜしばしば統計的に有意な説明変数となるかは必ずしも自明ではない。そこで、図 2 に示す単純化した薬物分子・タンパク質モデル系

(substituted acetophenone - *N*-methylacetamide) について、北浦らによって提案された分子間相互作用エネルギー分割法

(PIEDA, Pair Interaction Energy Decomposition

Analysis) [9] による相互 作用エネルギーの詳細解 析を行った。静電相互作 用 (ES) が全安定化エネ ルギー (E) に対して支 配的な寄与をしているこ と、Eを含め、ES および 電荷移動相互作用等 (CT + MIX)、交換相互作用 (EX)、分散相互作用(DP) のエネルギー成分のいず れも Hammett σ と良好 な線形関係 (n=41,r>0.969) を持つことを図 2

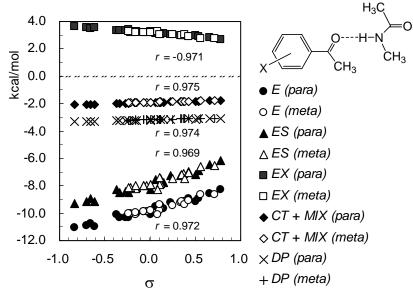


図 2. エネルギー分割解析法 (PIEDA [9], MP2/6-31G(d,p)) によるモデル系 (substituted acetophenone – N-methyl acetamide) の分子間相互作用エネルギー解析; エネルギー成分と Hammett σ との相関

に示す。さらに、電子供与体 (substituted acetophenone) から電子受容体 (N-methylacetamide) への電荷移動量 (Δq) も Hammett σ と良好な線形関係が存在することを確認している [10]。 したがって、電荷移動量と相互作用エネルギーの間にも良好な線形関係が存在する (E (kcal/mol) = 361 Δq (esu) -2.25, n = 41, r = 0.990, s = 0.094)。 例えば、0.01 esu 単位の電荷移動は相互作用エネルギー変化 3.6 kcal/mol に相当する。このようなモデル系における相互作用エネルギーの電荷移動量に対する感受性 ($\partial E / \partial \Delta q$) などの考察は、阻害剤・タンパク質間の電荷分布と阻害剤・タンパク質間相互作用エネルギーとの相関関係の妥当性を判断するときの一つの目安を与える。

以上の結果は、Hammett σ が、一般に多様なエネルギー成分から構成される薬物分子・受容体相互作用エネルギーや電荷移動量の変動など電子状態の変化を実効的に表す定量的パラメータとなっていることを強く示唆している。

薬物分子・タンパク質複合体構造についての分子科学理論・計算の結果は、相互作用様式を直接反映している。このことは、薬物分子・受容体複合体の分子科学理論・計算結果に基づく新たな enzymatic QSAR 解析法の構築が可能なことを示唆している。その解析例を第2章で述べる。

2. 阻害剤・タンパク質複合体の非経験的分子軌道法計算結果に基づく QSAR 解析

エイズ治療薬の標的タンパク質の一つである HIV-1 プロテアーゼは、99 残基から成る単量体 (Chain A と B) が会合したホモダイマーとして存在し、アスパラギン酸プロテアーゼに属する。米

国 FDAにより承認されているHIV-1プロテアーゼ阻害剤は、基質ペプチドの遷移状態構造に基づいて設計され、ほとんどがペプチド結合を含む。一方で、これらのペプチド型阻害剤の問題点として、経口投与による bioavailability が十分に得られないことが指摘され、これまでに多様な非ペプチド型阻害剤の探索とそれらの構造活性相関の研究が行われてきている。

Garg らは、図 3 に示す非ペプチド型の環状ウレ ア型阻害剤の QSAR 式 (4) を報告している [11]。

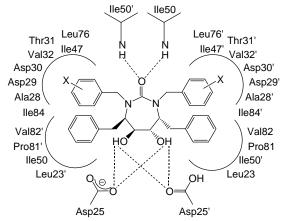


図 3. 環状ウレア型阻害剤と HIV-1 プロテア ーゼの相互作用様式の模式図

log
$$(1/K_i) = -1.29 \sigma - 0.61 \text{ Clog } P + 12.79$$

 $n = 12, r = 0.922, s = 0.57, F = 25.4, Outlier = p-NH_2$

右辺第1項および第2項の係数の符号から、式(4)は、電子供与性置換基の導入と分子全体の疎水性の低下が阻害活性を増大させることを示している。ここで、outlierは統計的に有意な(95%信頼区間の統計検定)回帰式を得るために化合物セットから除外した化合物である。

以下の解析において、Garg らの用いた化合物セットとほぼ同じ環状ウレア型阻害剤 13 化合物セットを解析対象とした。分子動力学法計算を用いて、それらと HIV-1 プロテアーゼとの複合体構造のモデリングを行い、得られた構造について非経験的フラグメント分子軌道 (FMO, Fragment Molecular Orbital) 法による電子状態解析を行った。

FMO 法は北浦らにより考案された量子化学理論であり [12]、分子系を小数原子からなる複数のフラグメントに分割し、各フラグメントの計算を並列処理することで、タンパク質のような巨大分子の高速かつ高精度な非経験的全電子状態計算を可能とする。アミノ酸残基単位に基づき、タンパク質をフラグメント分割*することで、阻害剤とアミノ酸残基 (i) との相互作用エネルギーIFIE(i) (IFIE, Inter-Fragment Interaction Energy) による定量的解析が可能となる [*アミノ酸残基単位 (-NH- C_{α} (-R)-CO-) とフラグメント単位 (-CO-NH- C_{α} (-R)-) には 1 結合分のずれがある]。

HIV-1 プロテアーゼ・阻害剤複合体についての FMO 計算 (HF/6-31G) による相互作用エネルギー ($\Delta E_{\text{bind}} = E_{\text{complex}} - [E_{\text{protein}} + E_{\text{inhibitor}}]$) と両分子の複合体形成に伴う溶媒接触表面積の変化量 ($\Delta ASA = ASA_{\text{complex}} - [ASA_{\text{protein}} + ASA_{\text{inhibitor}}]$)を用いて、outlier のない有意な回帰式 (5) を得た [13, 14]。

$$\log (1/K_i) = -0.0445 \Delta E_{bind} + 0.00875 \Delta ASA + 16.1$$

$$n = 13, r = 0.881, s = 0.555, F = 17.3$$
(5)

式 (5) の ΔE_{bind} は、阻害剤とプロテアーゼ中のアミノ酸残基間の IFIE の総和 (Σ IFIE) に対応し、 実際に、両者間には式 (6) に示す良好な相関が存在する。この結果、回帰式 (7) が得られた。

 $\Delta E_{\rm bind} = 0.838 \Sigma \text{ IFIE} + 17.7$

$$n = 13, r = 0.982, s = 2.30, F = 303$$
 (6)

 $\log (1/K_i) = -0.0409 \Sigma IFIE + 0.00945 \Delta ASA + 15.9$

$$n = 13, r = 0.904, s = 0.500, F = 22.4$$
 (7)

式 (5) および 式 (7) において、阻 害活性値の変動は、Garg らの式 (4) に 対応して電子項と疎水項の線形結合と して表され、また、予想されたように 相互作用エネルギーの安定化に伴い阻 害活性が増大することを理解できる。

図 4 に、IFIE 解析の結果を示す。全相互作用エネルギーの安定化への IFIE の寄与は、IFIE(25) > IFIE(30) > IFIE(31) > IFIE(50) の順であり、これら4項のみの IFIE の和の変動で Σ IFIE の

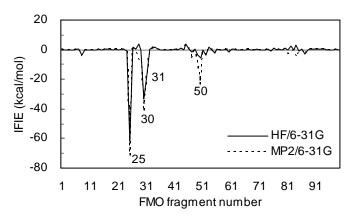


図 4. FMO 計算による DMP323 ($X = CH_2OH$) と HIV-1 プロテアーゼ中のアミノ酸残基間の IFIE

変動を良好に表すことができる [IFIE(i) = IFIE(i) in Chain A + IFIE(i') in Chain B と定義した]。

$$\Sigma$$
 IFIE = 0.872 [IFIE(25) + IFIE(30) + IFIE(31) + IFIE(50)] - 8.01
 $n = 13, r = 0.978, s = 3.00, F = 244$ (8)

式 (8) 右辺において、IFIE(25) は阻害剤と Asp25 (25') との、IFIE(30) および IFIE(31) は Asp30 (30')との、IFIE(50) は Ile50 (50') との相互作用エネルギーに対応し (図 5 にこれらの残基と阻害剤

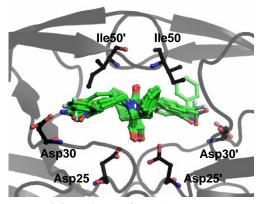


図 5. 全相互作用エネルギー (Σ IFIE) の 安定化に対し寄与の大きなアミノ酸残基

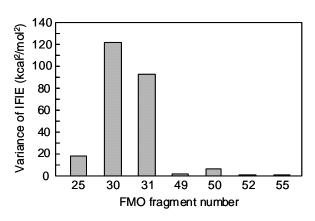


図 6.13 化合物の IFIE の分散値

の相互作用様式を示す)、 Σ IFIE の変動は、阻害剤と近接するこれらの残基との IFIE により支配されていることが分かる。図 6 に示すように、阻害剤の置換基に近接した Asp30 (30') との相互作用エネルギー IFIE(30)および IFIE(31) は、大きな分散値 $[\Sigma (IFIE(i)-\langle IFIE(i)\rangle)^2/n, \Sigma$ は 13 個の阻害剤・複合体についての和、 $\langle \rangle$ は平均を表す]を与える。これら 2 項だけの和の変動と Σ IFIE の変動の間にも良好な相関 (9) が存在し、回帰式 (10) が成立する。

以上、式 (5) から出発し、最終的に回帰式 (10) が導かれた。式 (10) は阻害剤と Asp30 (30') と の相互作用が ΔE_{bind} の変動の支配要因であることを示している。

$$\Sigma \text{ IFIE} = 0.760 \text{ [IFIE(30) + IFIE(31)]} - 77.3$$

$$n = 13, r = 0.961, s = 4.00, F = 132$$

$$\log (1/K_i) = -0.0334 \text{ [IFIE(30) + IFIE(31)]} + 0.00906 \Delta ASA + 18.6$$

$$n = 13, r = 0.914, s = 0.475, F = 25.4$$
(10)

複合体形成に伴う HIV-1 プロテアーゼと阻害剤の電荷変化量の分散行列 $[\Sigma (\Delta q_k(i) - < \Delta q_k(i) >) \cdot (\Delta q_k(j) - < \Delta q_k(j) >) / n$, $\Delta q_k(i)$ は i 番目のアミノ酸残基(および阻害剤)の電荷変化量, Σ は阻害剤・

HIV-1 プロテアーゼ複合体 (k) についての和を表す] に基づく主成分分析によって得られた第 1 主成分の固有ベクトルを図7に示す。図 7 は HIV-1 プロテアーゼと阻害剤間の電荷移動 (collective charge transfer) のパターンを表現している。第 1 主成分スコア Z_1 [$= Z_1$ (k) $= \Sigma$ a_i

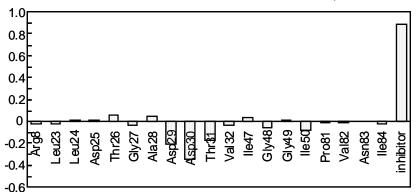


図 7. 電荷の分布変化量に基づく主成分分析の結果より得られた第1主成分の固有ベクトルの係数 (ai), 第1主成分の寄与率は 66.8%

 $(\Delta q_k(i) - \langle \Delta q_k(i) \rangle), (a_i)$ は第 1 主成分の固有ベクトル] を説明変数とする回帰式 (11) を得た。

$$\log (1/K_i) = -10.8 Z_1 + 0.00965 \Delta ASA + 19.6$$

$$n = 13, r = 0.867, s = 0.584, F = 15.1$$
(11)

 Z_1 は阻害剤およびその周辺残基の電荷分布の変化を縮約した合成変数であり、図 7 から分かるように、主に [Asp30 (30'), Asp29 (29'), Thr31 (31')] ブロックから阻害剤への電荷移動を表している。 第 1 章で分子間相互作用エネルギーと電荷移動量の相関について述べたが、第 2 章では HIV-1 プロテアーゼの阻害活性値の変動と複合体形成に伴う阻害剤および特定アミノ酸残基間の電荷変化量との相関を確認できた。

3. 今後の展望と雑感

一連の薬物分子の膜透過を含む輸送過程における相互作用エネルギーや標的タンパク質との結合相互作用エネルギーの変動がなぜ $\log P$ で良好に表現できるかについては、さらなる実験と理論・計算化学の両面からのアプローチによる解析と検討を必要とする。同様に、 $\operatorname{Hammett}\sigma$ のような本来、阻害剤(および基質)の構造情報しか表現していない自由エネルギー関連パラメータがなぜ酵素反応の電子状態変化を表現することが可能かについても今後さらに多くの阻害剤・タンパク質系についてのより詳細な解析と検討を必要としている。また、酵素反応において、タンパク質の立体構造の変化やゆらぎはきわめて重要な役割を果たすことが推測されるが、それらと阻害剤の構造との相関の解析などは今後の課題となる。

本稿で紹介した研究の方向は、薬物分子・受容体相互作用の電子・原子レベルでのメカニズムの解明を目指した "fundamental QSAR" ともいえ、それが 1964 年の Hansch と藤田による QSAR の原典「 ρ - σ - π 解析」[15] の発展と、現在使われている様々な論理的創薬の方法論のより強固な物理化学意味づけにつながることを期待している。

著者 (HC) が創薬の方法論の分子論的な基盤と解析結果の物理化学的解釈や意味を重視するのは、これらが伴わない方法論や解析結果は、40年以上前に発表された Hansch-Fujita type of QSAR が現在に至るまで使われ続けているのとは異なり、後に続く発展がなく、学問体系として残らない? 実際の創薬にあまり貢献しないのでは? などの危惧に基づいているからかもしれない。おそらく、それは Hansch-Fujita type of QSAR の学問としての深さに因っているのであろう。もちろん、このことは、他の論理的創薬の方法論を否定するものではない。むしろ、一見少し離れたように思える他の方法論や関連学問領域への興味と理解が、それぞれの方法論のさらなる発展と深化、他の方法論との論理的接点を見出すことにつながる可能性を感じている。

参考文献

- 1. Itokawa, D.; Nishioka, T.; Fukushima, J.; Yasuda, T.; Yamauchi, A.; Chuman, H. QSAR Comb. Sci. 2007, 26, 828-836.
- 2. Itokawa, D.; Yamauchi, A.; Chuman, H. QSAR Comb. Sci. in press.
- 3. Chuman, H.; Mori, A.; Tanaka, H. Anal. Sci. 2002, 18, 1015-1020.
- 4. Tanford, C. In The Hydrophobic Effect, 2nd ed.; Wiley-Interscience: New York, 1980, 5-20.
- 5. Chothia, C. Nature, 1974, 248, 338-339.
- 6. Chuman, H.; Mori, A.; Tanaka, H.; Yamagami, Y.; Fujita, T. J. Pharm. Sci. 2004, 93, 2681–2697.
- 7. Chuman, H. SAR QSAR Environ. Res. 2008, 19, 71-79.
- 8. Sato, K.; Chuman, H.; Ten-no, S. J. Phys. Chem. B. 2005, 109, 17290-17295.
- 9. Fedrov, D. G.; Kitaura, K. J. Comp. Chem. 2007, 28, 222-237.
- 10. 長岡 和也、徳島大学大学院薬科学教育部·修士論文、**2009**、21-36.
- 11. Garg, R.; Gupta, S. P.; Gao, H.; Babu, M. S.; Debnath, A. K.; Hansch, C. *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 3525–3601.

- 12. Fedorov, D. G.; Kitaura, K. In *Modern Methods for Theoretical Physical Chemistry of Biopolymers*; Starikov, E. B., Lewis, J. P., Tanaka, S., Eds.; Elsevier: Amsterdam, **2006**, 3–38.
- 13. Yoshida, T.; Yamagishi, K.; Chuman, H. QSAR Comb. Sci. 2008, 27, 694-703.
- 14. Yoshida, T.; Fujita, T.; Chuman, H. Curr. Comput. Aided Drug Des. 2009, 5, 38-55.
- 15. Hansch, C.; Fujita, T. J. Am. Chem. Soc. 1964, 86, 1616-1626.

「CK2α 阻害剤創出に向けた X 線結晶構造解析、計算化学、および 熱量測定(ITC)によるアプローチ」

大阪府立大学大学院理学系研究科 生物科学専攻 関口雄介

1. はじめに

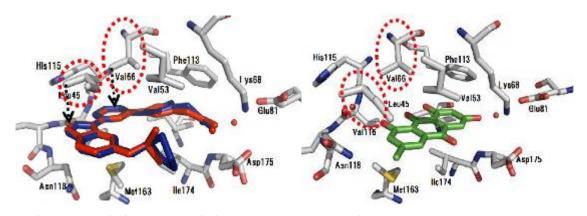
生体内で広範に発現しているプロテインキナーゼ $CK2\alpha$ は、細胞の生存や増殖に関連しており、また、ガン細胞で高発現していることからガンの治療標的分子としても注目されている(1)。近年、辻本らは $CK2\alpha$ を阻害することで腎炎の症状が改善される事を発見し、新規腎炎治療薬として $CK2\alpha$ 選択的阻害剤の開発を進めている(2)。これまでにcc-04791、cc-04820という高阻害活性を示す化合物が得られているが、誘導体の合成展開では副作用の回避が困難であるため、新規の骨格を持つリード化合物の発見が求められている(3)。我々はより高活性を持つ $CK2\alpha$ 選択的阻害剤の創出に向けてX線結晶構造解析、計算化学、そして熱量測定(ITC)によるアプローチを行った。ITC ($Isothermal\ Titration\ Calorimetry$) は分子間相互作用のエンタルピー(Δ H)やエントロピー($T\Delta$ S)、結合の化学量論量(n)、結合親和性(KB)を測定することができる。得られた熱力学パラメータは構造データを補完しSAR(構造活性相関)や相互作用を完全に理解するのに必須である。さらにITCで得られる情報は、ドラッグデザインにおける化合物の最適化に活用することが可能である (MicroCal社ホームページより抜粋http://www.microcal.jp/)。

$$cc\text{-}04791 \text{ (IC}_{50} = 22 \text{nM}) \qquad cc\text{-}04820 \text{ (IC}_{50} = 7.4 \text{nM})$$

ellagic acid (IC $_{50}$ = 7500nM) apigenin (IC $_{50}$ = 800nM) emodin (IC $_{50}$ = 5300nM) 図 1 CK2 α 阻害剤

2. X 線結晶構造解析

我々はヒト由来の CK2αと種々阻害剤複合体の Χ 線結晶構造解析に成功してい る。用いた阻害剤は前述にある cc-04791、 cc-04820 と、阻害活性は高くないが CK2αに対し選択性を示す天然化合物である ellagic acid (4)、 apigenin (5)の計 4 種である。さらに、これまでに解析されている同じく天然化合物である emodin (6) との複合体の構造も交えて比較、検討した。強い阻害活性を見せる cc-04791、 cc-04820 を除いて、apigenin、 emodin、 ellagic acid は結合ポケットにおける重 要な結合ポイントのヒンジ領域を有効に活用していない。これら天然化合物のユニ ークな結合モードを維持しつつ、ヒンジ領域での相互作用を有効活用するように誘 導体合成を展開すれば、CK2αへの選択性を保持し、かつ、より強い結合力を獲得 することが期待される。また、cc-04791 および cc-04820 を上下から挟みこむよう に位置する複数の疎水性アミノ酸残基のうち、Val66 と Leu45 においても同じく 有効に活用できていない。CK2αは他のキナーゼに比べ ATP 結合部位が小さい、こ れはそれらを含む嵩高い疎水性アミノ酸残基に起因する(Val66、Met163、Ile174 など)。それゆえ、これらの残基と効率的にファンデアワールス相互作用 (VDW) できる化合物 (例えば環などのπ電子を持つ構造) は結合力、選択性の両側面に対 して望ましいものと考えられる。これらの事を踏まえ、今後これらの低分子量の化 合物をベースに設計を行う事で高選択性・高阻害活性の獲得が期待される。



a) cc-04791(青), cc-04820(赤)の重ね合わせ

b) emodin 複合体

図 2 各複合体での化合物の相互作用

3. 熱量測定 (ITC)

CK2 α と cc-04791、cc-04820 及び emodin のそれぞれの結合に対し熱量測定 (ITC)を行った。X 線結晶構造解析により cc-04791 と cc-04820 は極めて類似した 結合モードを示していることが判明し、ITC の結果も \triangle Gに差は現れなかった。しかしその熱力学パラメータの内訳を見ると、エンタルピー項では cc-04791 が、エントロピー項では cc-04820 がそれぞれ有利になり、結果として \triangle G が同程度になっている。これらの差の考えられうる要因を以下に挙げる。

1. エンタルピー項 (∠H: cc-04791 > cc-04820)

エンタルピー項に影響を及ぼす要素は、主に水素結合や VDW 力である。今回の結果では両化合物間に水素結合の数に違いはなく、共通する 2 つの水素結合の距離において 0.1 Å程の差が見られるが、X 線結晶構造の分解能からこれらの値の差を議論することは困難である。この約 10 kJ/mol という差は cc-04791の C 原子 2 個分により生じうる VDW 力の値と良く相関がとれている。

2. エントロピー項 (-T∠S: cc-04820 > cc-04791)

cc-04791 において cc-04820 より多い C 原子 2 個が蛋白質側と相互作用することにより局所的に結合前後でフレキシビリティーを減少させていることが、エントロピー項の差を生み出す原因のひとつになっていると考えている。エントロピー項に影響するものとして、溶媒和・脱溶媒和なども考えられるが、いずれにしても定量的に議論することが難しい。

表 1 ITC の結果 (単位 kJ/mol)

| | emodin | cc4820 | cc4791 |
|------|-------------------|-------------------|-------------------|
| -T⊿S | 4.2 ± 1.0 | 3.12 ± 1.34 | 11.92 ± 0.73 |
| ∠H | -45.19 ± 0.79 | -51.51 ± 0.72 | -61.34 ± 0.41 |
| ⊿G | -40.99 ± 0.61 | -48.38 ± 1.14 | -49.42 ± 0.60 |

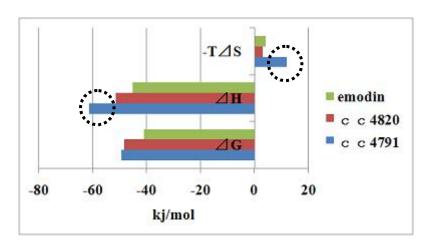


図3 ITC 結果グラフ

4. 計算化学

X 線結晶構造及び熱量測定の値をもとに、cc-04791、cc-04820 及び emodin と $CK2\alpha$ の各アミノ酸残基との相互作用エネルギーを計算した。cc-04791、cc-04820 との相互作用に重要で、emodin では有効に活用していない疎水性アミノ酸残基では顕著なエネルギー差がみられる。また、ヒンジ領域に存在する Val116 は cc-04791 および cc-04820 とは主鎖において水素結合を形成しているが、emodin では形成していない。このことは計算値にもよく反映されている。しかし、その隣の His115 は3つの複合体でいずれも水素結合に関していない残基であり、計算で示される差は予想外の値である。今後の化合物の設計においてこの知見は非常に重要な情報となりうるものと予想される。

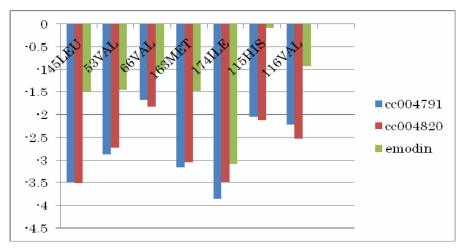


図4 注目アミノ酸における相互作用エネルギー

5. まとめ

X線結晶構造、計算化学、熱量測定のデータを協同的に活用することでより効率的な阻害剤創出への貢献が期待される。特に熱量測定によって得られる1kcal/molレベルの詳細な結合エネルギー差は、キナーゼ間のわずかな構造における差を利用した選択性の獲得に際し、絶大な威力を発揮しうる利用価値の高いデータである。また、今後 SPR などにより結合速度などの kinetics パラメータも取り入れていく事も視野に入れたい。

6. 謝辞

最後になりましたが、第36回構造活性相関シンポジウムにおいて、ポスター発表の際に貴重なご意見、ご指導を賜りました先生方、また本誌にて公表する機会を与えてくださいました先生方に深く感謝申し上げます。

7. 参考文献

- (1) Duncan, J. S.; Litchfield, D. W.: Biochim. Biophys. Acta. 2008, 1784, 33
- (2) Yamada, M.; Katsuma, S.; Adachi, T.; Hirasawa, A.; Shiojima, S.; Kadowaki, T.; Okuno, Y.; Koshimizu, T. A.; Fujii, S.; Sekiya, Y.; Miyamoto, Y.; Tamura, M.; Yumura, W.; Nihei, H.; Kobayashi, M.; Tsujimoto, G.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005, 102, 7736
- (3) Suzuki, Y.; Cluzeau, J.; Hara, T.; Hirasawa, A.; Tsujimoto, G.; Oishi, S.; Ohno, H.; Fujii, N.: Arch. Pharm. (Weinheim.) 2008, 341, 554
- (4) Cozza, G.; Bonvini, P.; Zorzi, E.; Poletto, G.; Pagano, M. A.; Sarno, S.; Donella-Deana, A.; Zagotto, G.; Rosolen, A.; Pinna, L. A.; Meggio, F.; Moro, S.: *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 2363
- (5) Critchfield, J. W.; Coligan, J. E.; Folks, T. M.; Butera, S. T.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1997, 94, 6110
- (6) Raaf, J.; Klopffleisch, K.; Issinger, O. G.; Niefind, K.: J. Mol. Biol. 2008, 377, 1
- (7) Velazquez-Campoy A, Todd MJ, Freire E., Biochemistry, 2000, 39, 2201-2207.

擬似分子プローブと標的分子構造に基づく de novo 医薬分子設計法の開発

東田欣也1、後藤純一1、平山令明2

- 1. 株式会社菱化システム科学技術システム事業部計算科学部
 - 2. 東海大学医学部

1. はじめに

医薬分子の de novo デザイン手法の一つに、標的分子(多くの場合はタンパク質)との結合に深く関与する原子団(以下反応原子団)を含む部分化学構造をつなぎ合わせて新規仮想分子を構築する方法がある。しかし、部分化学構造とそれらを連結する化学構造(リンカー)を機械的に組み合わせると、膨大な仮想分子が発生してしまう。そこで、標的分子の構造情報を最大限に活用し、かつ標的分子への親和性の高い仮想分子を発生させる強力なアルゴリズムが必要になる。このようなコンセプトで作られたアルゴリズムが現在ない訳ではないが、その殆どが実用性という観点から必ずしも満足のいくものではなく、より強力なアルゴリズムの開発が望まれてきた。さて、X線解析等で得られた標的分子の結合部位情報に基づいて、その部位に結合できる新規の分子をデザインする場合、まず決定すべきことは、結合部位内に配置すべき反応原子団の位置である。この作業がde novoデザインにおいて、最も重要であり、かつ最も難しいステップでもある。我々は、この作業を合理的かつ能率的に遂行するために、擬似分子プローブという新しいコンセプトを用いたde novo医薬分子デザインのアルゴリズムであるPseudo Molecular Probe (PMP) 法を開発した 1)。

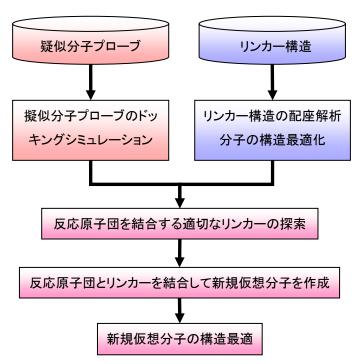


図1 PMP 法のフローチャート

2. 方法

2.1. 手順の概要

今回開発した新規 de novo 分子デザイン法である PMP 法の手順を図1に示す。まず初めに、反応原子団を有する擬似分子プローブをタンパク質の結合部位内の適切な位置にドッキングシミュレーションにより配置する。リンカーに用いる化学構造の可能な立体配座は、予め配座解析により発生しておく。仮想分子は、擬似分子プローブとリンカーを両者の特定の非水素原子位置で重ね合わせることで構築するが、それらの原子位置を結合点と呼ぶことにする。擬似分子プローブの結合点は原則として1箇所であるが、リンカー構造については結合点が複数存在する場合もある。そこで、可能な配置を網羅的に探索し、擬似分子プローブとリンカーの結合点を結合した仮想分子を全て作成する。最終的に、タンパク質の結合部位で仮想分子の構造最適化を行うことにより、タンパク質との結合性が高い仮想分子を選択する。

2.2. 擬似分子プローブの作成

標的分子に対する結合性が高い反応原子団の結合部位における適切な配置を探索するために、擬似分子プローブという新しいコンセプトを本研究では導入した。本研究により、de novo 分子デザインを実現する上で、シクロプロペニルメチル(CPM)基を反応原子団に結合させた擬似分子プローブ(図 2)を用いることが有用であると確認できた。

本アルゴリズム検証のために PDB²⁾から 4 種の医薬分子とその標的分子との複合体 X 線構造を選択した。1GKC、1KE5、1OTH および 1T46 である。各構造中のリガンドとそれに基づき作成した擬似分子プローブを表 1 に示す。

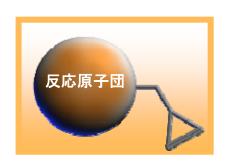


図2 疑似分子プローブ

| PDB コード | リガンド | 擬似分子プローブ |
|---------|--------------------|--------------------|
| 1GKC | | H O O O O O |
| 1KE5 | | HN O HN O |
| 1ОТН | H ThH ₃ | O TNH ₃ |
| 1T46 | | |

表1 リガンドから作成した疑似分子プローブ 破線で囲んだ部分は擬似分子プローブに用いた反応原子団

2.3. 擬似分子プローブの結合部位への配置

タンパク質表面の結合部位の検出には、MOE³⁾ (Molecular Operating Environment) の Site Finder プログラムを用いた。Site Finder は、アルファ球と呼ばれる小球を標的分子の 4 つの重原子に接する位置に置き、そのアルファ球のクラスタ(アルファサイト)によりリガンド結合部位の形状、大きさ、親

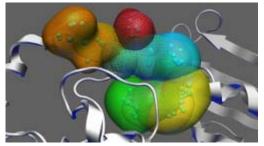


図3 重複分割した 1OTH の結合部位

水性/疎水性領域の分布を表現する。しかし、Site Finder で求められるアルファサイトは結合部位全体を反映するため、擬似分子プローブの結合部位を求める上では必ずしも適切ではなかった。そこで本研究では、疑似分子プローブの結合部位として妥当な大きさになるように、擬似分子プ

ローブと同程度の体積に、アルファサイトを重複分割した (図3)。

結合部位における擬似分子プローブの結合性および結合位置はドッキング法($MOE\text{-}ASEDock^4$)により決定した。CPM 基の立体的な効果により、反応原子団はタンパク質側に配向し、CPM 基は結合部位の空洞側に配向する。即ち、CPM 基が本来のリガンドの母核構造に代わる働きをしている。実際に擬似分子プローブだけのドッキングでも、反応原子団は X 線結晶構造に近い位置に配置することができた。

なお、CPM 基を持たない構造では、反応原子団の可動範囲が広くなりすぎて、X線結晶構造とは異なる配置しか得られなかった。さらに、メチレンを除いたシクロプロペニル基や4員環を持つシクロブタジエニルメチル (CBM) 基を用いると、それらの立体効果の影響で適切に反応原子団を配置できない場合が生じる(図4)。

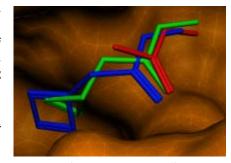


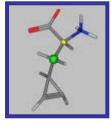
図 4 反応原子団に CPM 基または CBM 基を付加した擬似分子プローブ の比較 (1GKC) 赤: X 線結晶構造、緑: CPM 基を付加した擬似分子プローブ、青: CBM 基を付加した擬似分子プローブ

2.4. 適切なリンカー配座の検出

擬似分子プローブとリンカーを用いた仮想分子の構築は、両者の二つの非水素原子を重ね合わせることで実現した。CPM 基のメチレン炭素原子を第二結合点とし、その原子に直接結合した反応原子団の非水素原子を第一結合点とする。リンカー構造は、1つ以上の水素原子を持つ全ての非水素原子を第一結合点とし、第一結合点から水素原子の方向へ1.5Å離れた点を第二結合点

とした(図5)。擬似分子プローブおよびリンカー構造の対応する第一結合点と第二結合点の重なりの誤差の許容値は、各々0.2 および 0.3 Åとして、新規仮想分子を構築した。

リンカー構造の候補構造には元のリガンド分子から反応原子団を除いた構造も考慮し、さらにその構造と同程度の体積を持つリンカー構造を DCUJ⁵⁾から選択して、候補構造に加えた。1GKC、1KE5、1OTH および 1T46 に対して用いたリンカー構造は各々113、19、20 および 139種類である。これらのリンカー構造の可能な立体配座は、MOE-Conformation Import 機能を用いて発生させた。擬似分子プローブに用いた反応原子団は、元のリガンド中に存在している反応原子団のみを採用した。



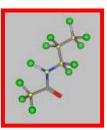


図 5 擬似分子プローブとリンカー構造の結合点 青枠:擬似分子プローブ、赤枠:リンカー構造、黄球:第一結合点、緑球:第二結合点

2.5. 構造最適化とドッキングスコア

MMFF94x 力場を用い、タンパク質の結合部位内で各仮想分子の構造最適化を行った。仮想分子の標的タンパク質分子に対する結合性は次の U_{dock} により評価した。

 $U_{\text{dock}} = U_{\text{ele}} + U_{\text{vdw}} + U_{\text{strain}}$

ここで U_{ele} はタンパク質ー仮想分子間の静電相互作用エネルギー、 U_{vdw} は同 van der Waals 相互作用エネルギー、 U_{strain} は仮想分子のドッキング構造とドッキング構造から最も近い極小構造のポテンシャルエネルギーの差である。

3. 結果

表 2 の「仮想分子の配座数」は、PMP 法により生成した仮想分子のドッキング構造の数である。「 U_{dock} の最小値」は、ドッキング構造中の最小 U_{dock} 値を示す。得られた仮想分子の種類は、1GKC、1KE5、1OTH および 1T46 に対して各々3384、111、254 および 4519 だった。

1OTH では U_{dock} による評価が最も良好な分子が実際のリガンドであった、その構造と X 線結晶構造との RMSD(対応する非水素原子位置に関する root mean square deviation)は 1.13 Åであり、この場合は PMP 法によって、良好に分子が構築できたことを示す。1GKC、1KE5 では、 U_{dock} 値についてそれぞれ第 65 位および 61 位の構造が X 線結晶構造と最も近く、それらの RMSD も十分小さな値だった。一方、1T46 ではかなりの数の配座が得られたにも関わらず、今回の計算条件では X 線結晶構造と同じ分子は得られなかった。しかし、擬似分子プローブの第一結合点における一致許容範囲を今回採用した 0.2 Åから 0.3 Åに広げれば、この構造についても X 線結晶構造に近い仮想分子を得ることができた。しかし結合点の一致許容範囲を 0.3 Åに広げることにより、多くの無意味と思われる構造が生成され、適切な仮想分子の選択が困難になった。

| PDB コード | リンカー 構造の数 | 仮想分子 の配座数 | U _{dock} の最小値 (kcal/mol) | X 線結晶構造に最 も近い配座の $U_{ m dock}$ (kcal/mol) | | X 線結晶構造 との RMSD (Å) |
|---------|--------------|--------------|--------------------------------------|---|----|---------------------------|
| 1GKC | 113 | 9113 | -185.3 | -157.8 | 65 | 1.08 |
| 1KE5 | 19 | 250 | -89.38 | -43.69 | 61 | 1.31 |
| 1OTH | 20 | 989 | -377.2 | -377.2 | 1 | 1.13 |
| 1T46 | 137 | 11527 | -107.6 | = | - | - |

表 2 PMP 法による計算結果

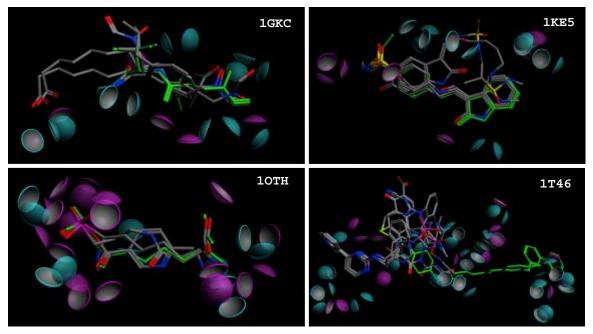


図 6 PMP 法で得られた主な化合物のドッキング構造 緑の構造は X 線結晶構造、元素で色分けした構造は PMP 法で作られた構造。紫、青の傘はそれぞれタンパク質の水素結合ドナーまたはアクセプター原子からの影響を示す。

4. 考察

新しい概念である擬似分子プローブを用いた de novo 分子デザイン法である PMP 法を開発し、その機能を 4 種類の標的分子に対して適用した。今回の評価では、既知のリガンドが、そのリガンドの部分化学構造を含む複数の構造断片から再構築でき、かつ標的分子の位置に X 線構造に匹敵する正確さで結合できるかどうかを検証した。一方、複合体構造中に含まれる分子が最適の

リガンドであるという保証がないので、PMP 法で得られる最良の解が X 線構造に一致することは担保されている訳ではない。また、PMP 法は、本来結合性の高い仮想分子を発生するため、これら未合成の仮想分子の中に結合性のより高いものが含まれている可能性は十分ある。しかし、今回の検証で、1OTH に関しては最終的なドッキングにより最も結合性が高いと判断された仮想分子が実際のリガンドと一致し、その配置まで正確に決定することができた。1GKC および1KE5 でも、結合性の高い分子として得られた仮想分子の結合性上位に実際のリガンドと一致する分子が含まれていた。この3例を見る限り、PMP 法は十分に実用的であり、新規分子の設計を標的分子の構造のみから求める上で有用であることを示している。

1T46 については今回用いたプロトコルでは、複合体中に含まれるリガンドに一致する仮想分子を生成することはできなかった。しかし、擬似分子プローブとリンカー構造の結合点の一致許容範囲を大きくすると、発生する配座数が増加するが、複合体 X 線構造中に存在するリガンド構造を発生することができた。4 分

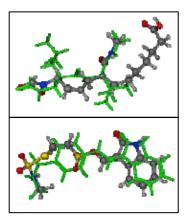


図7 既知リガンドと異なり かつ U_{dock} がより良好な仮想 分子 上段:1GKC、下段: 1KE5、棒モデル:X 線結晶 構造、棒球モデル:仮想分子

子の中で、IT46 のリガンドが最も分子サイズが大きく、かつ自由度が大きい。今回検討したプロトコルでは、この系を考慮することができなかったが、これは PMP 法の本質的な限界というより、計算条件の最適化が不十分である可能性が高く、今後 PMP 法を改良することで乗り越えることのできる課題であると考える。

水分子をプローブに用いてタンパク質表面を解析し、他分子との相互作用に関与する部位を探索することは広く行われている。そうした例には、溶媒露出表面とエピトープ性の相関解析などがある。本研究で新しく導入した擬似分子プローブの概念は、分子表面をプローブ分子で探索するという意味で、水分子プローブの拡張概念である。標的分子の表面を可能な限り精査し、そこからの影響を敏感に感じるためには、適切な化学構造を擬似分子プローブに採用しなければならない。すなわち、適切な擬似分子プローブを採用することで、我々は標的分子の表面を正確に探ることも可能である。本研究で種々の擬似分子プローブを試みた結果、シクロペンチルメチル基を複数の反応原子団に結合させたプローブが非常に有効に機能することが見出された。この擬似分子プローブの特徴は、反応原子団が効果的に標的分子の結合部位にある化学的および構造的な特徴を探査できることにある。本研究の結果は、擬似分子プローブの活用が標的分子に対する新規リガンドの発見に有用なだけでなく、様々な生体高分子の機能解析にも有効であることを強く示唆するものである。

5. 謝辞

第36回構造活性相関シンポジウムの発表において、貴重なご意見、ご指導を賜りました多くの先生方に心よりお礼申し上げます。本研究内容を本誌に掲載して頂く機会を与えてくださいました諸先生方に心よりお礼申し上げます。

6. 参考文献

- (1) K.Toda, J.Goto and N.Hirayama J. Chem. Inf. Model., to be submitted.
- (2) H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shindyalov, P.E. Bourne *Nucleic Acids Research*, **2000**, 28, 235-242.
- (3) MOE (Molecular Operating Environment), Version 2007.0902; Chemical Computing Group Inc.: Montreal, Ouebec, Canada 2007.
- (4) J. Goto, R. Kataoka, H. Muta and N. Hirayama J. Chem. Inf. Model., 2008, 48, 583-590.
- (5) K. Horio, H. Muta, J. Goto and N. Hirayama Chem. Pharm. Bull., 2007, 55, 980-984.

第36回構造活性相関シンポジウム開催報告

(第36回構造活性相関シンポジウム実行委員長 高木達也)

晩秋の神戸ポートアイランドにおいて、第36回構造活性相関シンポジウム(会場:神戸国際会議場、2008年11月2日(日)~11月3日(月)、主催:日本薬学会構造活性相関部会、共催:日本化学会、日本農芸化学会、日本分析化学会、日本農薬学会、協賛:日本薬学会医薬化学部会、日本薬学会薬学研究ビジョン部会)が開催されました。本シンポジウムは初めての試みとして、第8回薬物の分子設計と開発に関する日中合同シンポジウムと前後して、同じ会場で開催されました。これに伴い、星薬科大学薬学部の高山幸三教授をお招きしてご講演頂いた特別講演だけでなく、2日目の一般口頭講演もすべて英語で行って頂きました。日程が日祝日と重なったこと、共同開催となった第8回薬物の分子設計と開発に関する日中合同シンポジウムとの関係もあり、当初懸念していました講演数も、口頭発表11件、ポスター発表31件、特別講演1件、計43件と、例年に匹敵する件数に達しました。主催頂きました、日本薬学会構造活性相関部会はじめ、共催、協賛頂きました学協会に感謝致しますと同時に、ご講演頂きました先生方にお礼申し上げます。また、開催資金のご援助を頂きました、日本薬学会並びに中内力コンベンション振興財団に感謝致します。

医薬品の分子構造をできる限り理論的客観的に設計するという試みから始まったと思われる 構造活性相関(OSAR)研究は、今日では医薬品の薬理活性のみならず、農薬、食品添加物の 生理活性などはもちろんのこと、化学物質の毒性予測や分解性予測、代謝予測などに適用範 囲を広げ、その基盤技術も分子生物学、蛋白質科学、遺伝子科学、生物情報学、統計学、デ ータマイニング、計量薬学、計算化学、量子化学、データベースなど、広範囲の技術を利用する ばかりでなく、新たな進展を促すまでに発展してきました。本シンポジウムでは、このような広い 分野の研究者(学生含む)が一堂に会して、(1)生理活性物質の活性評価と医農薬開発、(2) QSAR を目指した計量化学、化学情報学、バイオインフォマティクス的アプローチ、(3) QSAR と 吸収・分布・代謝・毒性・環境毒性、(4) Structure-Based Approach、(5) データベース、コンビナト リアルケミストリー、その他、の各項目に軸足をおいて最新の研究事情の情報交換や相互討論 を通して、当該学術分野の研究振興と発展に資することができたと自負しております。参加者も 209 名に達し、盛会のうちに終えることができましたことは、誠にご参加頂きました皆様と、実行委 員の藤原英明先生(阪大院医)、田中明人先生(兵庫医療大薬)、川瀬雅也先生(長浜バイオ 大)、木村敦臣先生(阪大院医)、並びに、日本薬学会構造活性相関部会幹事の先生方、更に は、広告、展示等を行って頂きました企業、団体の皆様のご助力、ご支援の賜と存じます。紙面 を借りますこと失礼とは存じますが、ご参加頂きました皆様、ご助力、ご支援頂きました先生方、 広告展示を行って頂きました企業、団体の皆様に、深くお礼申し上げます。また、先述致しまし たように、特別講演頂きました高山幸三先生には、"A Novel Statistical Approach in Pharmaceutical Formulation Development"と題して、これまでともすれば本シンポジウムでは取り 上げられなかった製剤処方における Advance な統計学適用の見事な例をお見せ頂き、本シン ポジウムの新たな展開に資するところ大であったと存じます。改めまして深くお礼申し上げます。

今年度の構造活性相関シンポジウムは、東邦大学の横山祐作先生のお世話で、11 月 12-13 日(木-金)に、北里大学で開催される予定です。皆様のご参加、ご講演、ご討論により、より活発な討論会になりますよう、どうか宜しくお願い申し上げます。

<報告>

第8回 薬物の分子設計と開発に関する日中合同シンポジウム

(大阪大学大学院 医学系研究科 藤原英明)

「薬物の分子設計と開発に関する日中合同シンポジウム」(以下日中シンポと略)も8回目を迎えたが、今回は日本での開催となった。京大藤田名誉教授とGuo教授の努力により、本シンポジウムの出発点となる第1回シンポジウムが1989年に京都で開催されて以来の国内での開催であり、14名からなる実行委員会を構成し2年前から準備を進めた。開催地には、会場の広さや設備、および現地事務所のサポート体制などを考慮して、神戸国際会議場(神戸市ポートアイランド)を選んだ。日中シンポを国内で開催する貴重な機会を幅広く活用する意味もあり、国内の第36回構造活性相関シンポジウムと共同で開催し、両学会の参加者の交流を図った。

前回(2005年杭州開催)まではAFMC(アジア医薬化学連合)の主催であったが、今回はAFMCの後援のもと、医薬化学部会と構造活性相関部会が共同して主催する形をとり、実質的な運営は、従来通り、構造活性相関部会があたることとなった。2つの部会が共同して主催するの



日中シンポの重鎮、李仁利先生・藤田捻夫先生・郭宗儒先生・寺田弘先生を囲んで (2008 年 11 月 3 日、神戸国際会議場にて)

は異例であるが、この形を特別に認めていただいた両部会長および関係者の皆様に感謝申しあげたい。

中国からの参加者は26名であった。この他、数名の方が来日を検討されたが、ビザの発券や日程調整の都合で参加出来なかった。日本からは90名の参加があり、11月3-5日の3日間にわたり口頭およびポスター発表を行った。講演内訳は、基調講演1題(1)、招待講演15題(6)、一般口頭発表8題(3)、ポスター発表27題(6)である(()内は中国からの演題で内数)。学生(院生)の参加が25名と多かったことと、中国からも企業関係の方が増えつつあることが特徴であった。第36回構造活性相関シンポジウム(11月2,3日開催)との連携としては、種々の参加特典の付与やポスター発表を共同セッションとするなどを行った。また、中国からの参加者には、日本の国内学会(懇親会含む)への参加を特別に認め、日中両国の参加者が情報交換と交流の場を広く持てるよう考慮した。

演題の内容には、「医薬品設計と開発」をキーワードに、構造活性相関・分子設計と合成・天然 生理活性物質・薬物代謝など広範なテーマが取り上げられ、基本ツールとしては NMR やX線によ る構造解析から SAR (構造活性相関) のための情報科学・計算科学など、あるいは生体イメージン グも視野に入れた内容が含まれており、今後の創薬科学の発展を支える最先端を見ることが出来 た。

エクスカーションには神戸の醸造所見学と京都小旅行を行った。嵐山では、日本的な風物に興味を刺激された後に訪れた周恩来碑前では、感激し嬉々とした様子の中国の方々が大変印象的であった。

最後になったが、多くの同胞を連れて来日いただいた中国医学科学院の郭宗儒(Zongru Guo)教授に心から感謝申しあげるとともに、貴重な学会を無事終えることが出来たことに関して、国内のご協力いただいた多くの方々に心から御礼申し上げたい。

The 17th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships 参加報告

京都大学薬学研究科 浅田 直也

2008 年 9 月 22 日から 9 月 26 日まで、Sweden, Uppsala の Concert & Congress Hall にて上記シンポジウムが開催された。このシンポジウムでは構造活性相関に関わる応用研究について活発なディスカッションが行われた。招待講演として William Goddard 氏、Gerhard Klebe 氏、Yvonne Martin 氏、Rebecca Wade 氏等、著名な研究者が多く講演し、大変参考になった。特に印象に残った講演としては、Abbott 社の Martin 氏、BMS 社の Doweyko 氏といった QSAR の専門家が QSAR を使う上での心構え・問題点について話していたことである。関連性のない 2 つの情報をどうしても関連付けてしまう相関の魅力、オーバーフィッティング、意味のない記述子の導入など 5 つの項目をあげ QSAR の結果を解釈する上での危険性を述べており非常に分かりやすかった。また、Goddard 教授や Klebe 教授の講演は分子シミュレーションについて重点的に述べられており、筆者としても関心のある分野だったので色々と刺激を受けた。特に Klebe 教授はリガンドの結合様式とエンタルピー・エントロピーなどの熱力学量の関係、また水を介した水素結合などあらわに水を考える場合の補償関係など興味深い現象を説明されており、大変参考になった。

筆者は"Analysis of interactions between Casein Kinase 2α (CK2α) and its ligand using Fragment Molecular Orbital method" という題目でポスター発表を行った。以下にその概要について説明する。

カゼインキナーゼ 2 (CK2) はセリン・スレオニンキナーゼの一つであり生体内にユビキタスに存在している。CK2 は多様な機能を担うと考えられるが、その生理的役割は十分に解明されていない。辻本らは腎炎発症時に腎臓でCK2 発現量が大きく上昇し、その発現メカニズムが糸球体障害に密接に関連していることを報告している[1]。従ってCK2 を阻害する薬剤は腎炎の進行を抑制する新規メカニズムによる腎炎治療薬となる可能性がある。強力な CK2 阻害剤として見出されたリガンド a (図 1) は、精巣毒性の副作用を持つことが判明したため、毒性の少ない新規骨格の阻害剤の設計が求められている。リガンド a は非常に強い活性を有しており、筆者はその高活性の要因を分子認識の視点から精密に解析すれば、新たな候補化合物の設計、最適化に有用な知見が得られるのではないかと考えた。

図 1. 計算に用いた CK2 阻害剤の 構造と活性値.括弧内は K,値 (nM)

量子化学計算手法の一つである Fragment Molecular Orbital (FMO) 法[2]を用いると、高い精度を保ったまま、タンパク質のような巨大系に量子化学計算を適用できる。さらに、系を小さなフラグメント (ここではアミノ酸残基単位) に分割し、フラグメントごとに分子軌道計算を行うことでリガンドと各アミノ酸残基との相互作用を量子化学論に基づいたエネルギーで評価できる。FMO 法により CK2 の分子認識を解析した結果を図 2 に示す。筆者は強い相互作用を持つ残基を 3 つの種類に分類した。すなわち、水素結合や塩橋により強く相互作用する残基 (LYS68, VAL116)、CH/π相互作用などの vdW 相互作用により安定化する非極性の残基 (LEU45, VAL53, VAL66, ILE95, PHE113, MET163, ILE174)、そして予想外の相互作用をする残基 (HIS115, TRP176) である。前 2 つの相互作用は結晶構造から推測できるもので、これまでにいくつかの論文でも報告されている [3,4]。それらは FMO 計算においても強い安定化エネルギーを有しており、構造を反映した結果を示した。水素結合では HF エネルギー、電子相関エネルギー共に大きく、vdW 相互作用では電子相関エネルギーが大きいのが特徴である。対して 3 番目は構造から推測できるような相互作用がないにもかかわらず、大きな相互作用エネルギーを示していた。これらについて詳細に解析する

と HIS115 (FMO 法における分割での名称。一般的にいう GLU114 の主鎖の CO) はリガンドとの CH-O 相互作用、TRP176 は分極による大きな静電相互作用により安定化していた。これは力場計算では考慮されていない相互作用である。実際、力場計算の結果と比較すると、それぞれ HIS115では 5.9 kcal/mol、TRP176では 13.0 kcal/mol もの差が見られる。他のアミノ酸残基では FMO 計算と力場計算のエネルギーの差がおおよそ数 kcal/mol であることを考えると、これらは量子化学計算を行うことで初めて妥当な評価ができることを示している。また、2 つのアミノ酸残基はこれまで活性に重要だという報告がされていないが、今回の計算結果はこれらがリガンド結合において重要であることを示唆している。そこでこれらの残基との相互作用を稼ぐように阻害剤を設計することで、新規骨格を持ったリガンドを設計できる可能性がある。

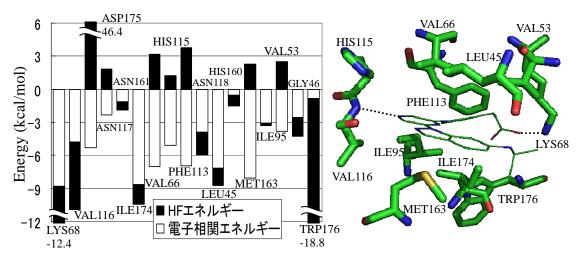


図 2. リガンド a と各アミノ酸残基とのペア相互作用エネルギー (一部のみ示す)。HF エネルギーと電子相関エネルギーに分割して示した。左から、リガンドからの距離が近い順に並んでいる。右図は、リガンド a の近辺にある残基の配置を示す。スティック表示はタンパク質、ライン表示はリガンド、点線は水素結合または塩橋をそれぞれ示している。

本発表に対する会場でのディスカッションとしては、構造データから分かる情報以上の知見が得られたかどうかが論点となった。確かに水素結合や vdW 相互作用は結晶構造から予測のつく相互作用で、計算を行わなくても分かることである。ただし、個々の水素結合や vdW 相互作用の強さの順序はエネルギーを算出しないと分からず、順序が分かれば具体的に活性を上昇させる為に狙うべき残基を特定することができる。また HIS115 や TRP176 は構造データからでは予測のつかない大きな安定化エネルギーを持っており、新規骨格の阻害剤を作るのに有用な知見となる。これらについては筆者も常に考えている問題だったので今後の研究計画を立てる上で改めて考え直す良い機会となった。

最後になりましたが、本研究を SAR Promotion Award にご選出いただき、参加を支援してくださった日本薬学会構造活性相関部会の皆様および、熱心にご指導下さいました北浦和夫教授に心から感謝申し上げます。また、多くの知識や示唆を頂いた医薬品理論設計学講座の皆様に感謝します。

参考文献

- [1] M. Yamada, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 2005, 102, 7736.
- [2] K. Kitaura, et al., Chem. Phys. Lett. 1999, 313, 701.
- [3] R. Battistutta, et al., Protein Sci. 2001, 10, 2200.
- [4] A. Golub, et al., J. Med. Chem. 2006, 49, 6443.

〈会告〉

構造活性フォーラム 2009

「化合物と標的・非標的タンパク質との相互作用 ー創薬標的の同定と分子設計ー」

生体システムは生命現象を司る多種多様な分子の複雑なネットワークから成っており、創薬研究などにおいてもそれらの相互作用情報の活用が必須となっています。そこで今回のフォーラムでは、化合物ータンパク質間およびタンパク質ータンパク質間の相互作用の多様性に焦点をあて、分子標的インシリコ創薬の実際、創薬標的としての GPCR、多重標的創薬のためのインフォマティクス、マルチターゲット化合物の選択性向上と副作用毒性回避、タンパク質ネットワーク解析、構造活性相関研究との関連などについての講演・討論を企画しました。本領域にご関心ある皆様多数のご参加をお待ちしております。

- 主 催: 日本薬学会構造活性相関部会
- 日 時: 平成 21 年 6 月 19 日 (金) 10:30~17:50
- 会 場: 北里大学薬学部コンベンションホール [東京都港区白金 5-9-1、電話: 03-3444-6191]
- 交 通: http://www.pharm.kitasato-u.ac.jp/campus.html 参照

招待講演:

10:30~11:10 合田浩明(北里大学薬学部)

ヒト酸性キチナーゼを標的にした in-silico 創薬研究

11:10~12:10 石黒正路(新潟薬大学応用生命科学部)

GPCR におけるリガンド受容の多様性

13:40~14:40 奥野恭史(京都大学大学院薬学研究科)

多重標的創薬のためのインフォマティクス

14:40~15:40 大田雅照 (中外製薬㈱)

Unwanted Interactions between Small Molecule and Multiple Proteins: Selectivity and Off-targets 15:50~16:50 夏目徹(産業技術総合研究所)

タンパク質ネットワーク解析から展開するケミカルバイオロジー

特別講演:

16:50~17:50 藤田稔夫(京都大学名誉教授)

多様な標的に対応する個々の構造活性関係の間の上位の関係の考察と解析

-SAR-omics の提唱-

17:50~ 部会長挨拶

講演終了後(~19:00)、講師の先生方を囲んで簡単な茶話会を予定しております(無料)。

【申込締切】定員 (150名) になり次第締切り

【参加費】一般 6,000 円、学生 1,000 円

【参加申込方法】氏名(フリガナ)、所属、連絡先(郵便番号、住所、電話、e-mail アドレス)を明記の上、下記 e-mail アドレスまでお申込み下さい。

お申込みに際しては、e-mail の件名を「フォーラム 2009 参加申込」として下さい。

参加費は、下記「ゆうちょ銀行」の振替口座への事前振込みをお願いいたします。

口座名:「構造活性フォーラム 2009 実行委員会」

口座番号:「00130-3-322103」または「○一九(ゼロイチキュウ)店 当座預金 0322103」

【申込および問合せ先】構造活性フォーラム 2009 実行委員会 代表 竹田-志鷹真由子

〒108-8641 東京都港区白金 5-9-1 北里大学薬学部 生物分子設計学教室内

電話: 03-5791-6331、Fax: 03-3446-9553

E-mail: sarforum2009@pharm.kitasato-u.ac.jp

HP: http://bukai.pharm.or.jp/bukai_kozo/forum2009.html

〈会告〉

第 37 回構造活性相関シンポジウム 実行委員長 東邦大学薬学部 横山祐作 ホームページ : http://www2.toho-u.ac.jp/gakkai/phar/sar2009/

日時 2009年11月12日(木)~2009年11月13日(金)

会場 北里大学薬学部コンベンションホール (東京都港区白金 5-9-1)

主催 日本薬学会構造活性相関部会

後援 日本化学会、日本分析化学会、日本農芸化学会、日本農薬学会

討論主題 ① 生理活性物質の活性評価・医農薬への応用

- ② QSAR の基本パラメータ・基本手法・情報数理的アプローチ
- ③ QSAR と吸収・分布・代謝・毒性・環境毒性
- ④ コンビナトリアルケミストリーと創薬
- ⑤ バイオインフォマティクス
- ⑥ 分子情報処理 (データベースを含む)・データ予測

特別講演および招待後援 決まり次第ホームページ上に掲載

一般講演 ロ頭発表およびポスター (詳細は決まり次第ホームページ上に掲載)

発表申込 Web サイト(準備中)または E-mail でお申し込みください。

- ① 演題、② 発表者氏名と所属、③ 連絡先(住所、電話、Fax、E-mail)、
- ④ 200 字程度の概略、⑤ 口頭、ポスターの別、⑥ 上記討論主題番号 詳細は、ホームページ内の発表申し込み要領をご覧ください。

発表申込 6月1日(月)~7月21日(火)締切必着

講演要旨 9月21日(月)締切必着

詳細は、ホームページ上の講演要旨執筆要領をご参照ください。

参加登録 予約申込 10 月 26 日(月)締切

詳細は、ホームページ上の参加登録予約申込要領をご参照ください。

参加費 [一般] 予約 8,000 円、当日 9,000 円

[学生] 予約 3,000 円、当日 4,000 円

※要旨集前送の場合は郵送料 1,000 円を別途申し受けます。

※費用振込み後、参加取り消しによる返金には応じられません。

懇親会 11月12日(木)18:30頃

[一般] 予約 7,000 円、当日 8,000 円 [学生] 予約 3,000 円、当日 4,000 円

【問合せ・申込み先】 〒105-0014 東京都港区芝 3-17-15 クリエート三田 207

第37回構造活性相関シンポジウム事務局 担当:加用

Tel (03) 3798-5253 Fax (03) 3798-5251 E-mail: sar2009@event-convention.com

2009 年度 構造活性相関部会 SAR Promotion Award 受賞候補者募集

日本薬学会構造活性相関部会では、構造活性相関研究の発展を目的として、以下の趣旨に従い、2005年度より SAR Promotion Award を設けております。2009年度は以下の推薦要領にて、構造活性相関部会員より受賞候補者を募集いたします。

趣旨

- 1. 構造活性相関研究に関し、国外の学会で発表を行う部会員に旅費を補助することにより、国内の構造活性相関研究に関する成果を海外に積極的に発信する。
- 2. 国外の学会における最新の研究情況を国内の部会員に伝達し、部会員の研究に新展開の契機を与える。

募集要項: 主として2009年4月~2010年3月の国外学会および部会の指定学会で発表を行う者。

受賞者数: 2名程度。

応募要領: 構造活性相関部会の幹事または常任幹事を推薦人とし下記事項を部会庶務幹事へ提

出する(幹事・常任幹事の一覧は下記 URL の部会ホームページをご覧下さい。

http://bukai.pharm.or.jp/bukai_kozo/jindex.html)

候補者氏名・所属・略歴

参加予定学会名・開催期日・開催場所・演題(口頭発表,ポスター発表のいずれかを明記)・発表者名・要旨(日本語の要約.参考資料として学会へ提出する英語要旨を添付.) 推薦理由

授賞金: 開催場所に応じて1名当たり10~20万円とする。

応募期限: 2009年6月12日

受賞者の義務

- 1. 帰国後、研究発表内容の要約および学会参加報告を部会ニュースレターに掲載する。
- 2. 構造活性相関シンポジウムで研究内容の口頭発表を行う。
- 3. 受賞者が他機関から同一趣旨の補助を受ける場合にはいずれかを辞退するものとする。

連絡先

部会庶務幹事: 米田照代 新潟薬科大学応用生命科学部 E-mail tyoneda@nupals.ac.jp

部会役員人事

平成 21 年度から会計と SAR News 編集委員長が交代することとなりました。新役員は以下の通りです。 会計 山下富義(京都大学大学院薬学研究科)

SAR News 編集委員長 久保寺英夫 (田辺三菱製薬)

以上

構造活性相関部会の沿革と趣旨

1970年代の前半、医農薬を含む生理活性物質の活性発現の分子機構、立体構造・電子構造の計算や活性データ処理に対するコンピュータの活用など、関連分野のめざましい発展にともなって、構造活性相関と分子設計に対する新しい方法論が世界的に台頭してきた。このような情勢に呼応するとともに、研究者の交流と情報交換、研究発表と方法論の普及の場を提供することを目的に設立されたのが本部会の前身の構造活性相関懇話会である。1975年5月京都において第1回の「懇話会」(シンポジウム)が旗揚げされ、1980年からは年1回の「構造活性相関シンポジウム」が関係諸学会の共催の下で定期的に開催されるようになった。

1993 年より同シンポジウムは日本薬学会医薬化学部会の主催の下、関係学会の共催を得て行なわれることとなった。構造活性相関懇話会は1994 年にその名称を同研究会に改め、シンポジウム開催の実務担当グループとしての役割を果すこととなった。2002 年 4 月からは、日本薬学会の傘下組織の構造活性相関部会として再出発し、関連諸学会と密接な連携を保ちつつ、生理活性物質の構造活性相関に関する学術・研究の振興と推進に向けて活動している。現在それぞれ年一回のシンポジウムとフォーラムを開催するとともに、部会誌の SAR News を年二回発行し、関係領域の最新の情勢に関する啓蒙と広報活動を行っている。

本部会の沿革と趣旨および最新の動向などの詳細に関してはホームページを参照頂きたい。

(http://bukai.pharm.or.jp/bukai_kozo/index.html)

編集後記

日本薬学会構造活性相関部会誌 SAR News 第 16 号をお届けいたします。ご多忙の中、ご執筆いただきました諸先生方に 心よりお礼申し上げます。Perspective/Retrospective では、中馬寛先生 1 ・吉田達貞先生 1 ・藤田稔夫先生 2 (1 徳島大学大学 院、 2 京都大学名誉教授)に QSAR における二つの代表的な自由エネルギー関連パラメータ 1 0g P および Hammett 2 0 の非経験的分子軌道法等による解析結果に基づく考察、また、HIV-1 プロテアーゼにおける QSAR 解析を通して、普段利用しているパラメータを改めて理解するために重要な解説をいただき、Cutting Edge では、関口雄介先生(大阪府立大学大学院)に CK2 2 0 阻害剤創出に向けた X 線結晶構造解析・計算化学・熱量測定によるアプローチを、また、東田欣也先生 1 ・後藤純一先生 1 ・平山令明先生 2 2 (1 菱化システム、 2 東海大学医学部)には擬似分子プローブと標的分子構造に基づく 2 2 を改めて要素分子設計法の開発をご解説いただき、それぞれ、新規創薬方法を示していただきました。この SAR News が、今後とも構造活性相関研究の先端情報と展望を会員の皆様にご提供できることを編集委員一同願っております。なお、本号より編集委員長が、藤原巌から久保寺英夫に交代となりました。今後ともよろしくお願い申し上げます。(編集委員会)

SAR News No.16 平成 21 年 4 月 1 日

発行:日本薬学会 構造活性相関部会長 石黒 正路

SAR News 編集委員会 (委員長) 久保寺 英夫 藤原 巖 黒木 保久 福島 千晶 粕谷 敦

*本誌の全ての記事、図表等の無断複写・転載を禁じます。