

構造活性相関部会・ニュースレター <1 April, 2019>

SAR News No.36

「目次」

//// Perspective/Retrospective /////			
創薬における連携を成功させるには ~ワンス	、ップアカデミア創薬支援	基盤~	
	辻川和丈	• • •	1
//// Cutting Edge 1 ////			
機械学習を用いた高精度力場構築に向けて	加藤幸一郎、増田友秀	• • •	8
///// Cutting Edge 2 /////			
創薬における大学と企業との連携例	安尾 信明	•••	15
///// SAR Presentation Award /////		• • •	21
//// A atiaitica /////			
//// Activities ////			
	年十 、年中		94
構垣活性シンホシリム 2018 開催報告	尚个 進也	•••	34
<会告>			
構造活性シンポジウム 2019 会告	津本 浩平	•••	36
第 47 回構造活性相関シンポジウム 会告	杉本 学	•••	37

///// Perspective/Retrospective /////

創薬における連携を成功させるには ~ワンストップアカデミア創薬支援基盤~ 大阪大学薬学研究科 辻川和丈

1. はじめに

創薬研究において、製薬会社によるオープンイノベーションが拡大される中、我が国における バイオベンチャー設立が十分でないことから、アカデミア創薬に大きな期待が寄せられてきた。 アカデミアでは生命科学の基礎研究により、癌や免疫疾患、難病や希少疾患などの発症・悪性化 機構の解明が進み、その結果疾患標的分子の同定もなされてきている。一方で、それらの研究成 果を創薬に繋げることには苦戦を強いられてきた。その理由として、医薬品候補化合物の創製に おいては、疾患標的分子に対してその機能を制御する化合物のライブラリーを用いた評価、ヒッ トからリードへ繋げる構造展開、さらには *in vivo* での薬物動態解析や安全性試験を実施しなけ ればならないが、それらの実施においては創薬に特化した施設や機器、化合物ライブラリーの整 備、専任創薬研究者の参画が必要不可欠である。また創薬研究の展開においては、アカデミアに おける研究とは異なり、製薬会社が蓄積してきた知識や経験、研究手法等も要求される。よって アカデミア創薬を展開し、医薬品候補化合物を創製するためにはこれらの課題を解決し、製薬会 社の協力も含めた連携の仕組みの構築が重要となる。

平成29年度からこれらの課題の解決により、アカデミア創薬を推進させるために、国立研究 開発法人日本医療研究開発機構(AMED)による創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業が開 始された。この事業では、アカデミア創薬の進展に繋がる最先端機器や設備を整備し、我が国の 創薬基盤技術を結集して、医薬品創製に向けた支援を強力に推進することを目的とするものであ る。その事業において大阪大学は薬学研究科が中心となり、疾患標的分子の機能を制御するヒッ ト化合物の同定から、リード化合物への構造展開、さらに in vivo での薬物動態や安全性試験に より医薬品候補化合物へと磨き上げるシームレスな支援体制を構築した。さらにこの支援体制に おいては、製薬会社の研究者とも連携構築がなされているという特徴を有している。本稿では、 大阪大学におけるこれら創薬支援の積極的活用により次代のアカデミア創薬研究の推進を期待 し、その仕組みや利用法を紹介する。また、このような支援体制の構築が、アカデミア創薬研究 の着実な展開に繋がっている1例として、AlkB homolog 3 (ALKBH3)を分子標的とした first-in-classの癌治療創薬の事例を紹介する。

2. 日本の創薬研究事業

国の施策に基づき、アカデミアによる創薬研究を推進させるため、研究プロジェクトが立ち上 げられてきた。文部科学省においては、平成 14 年度から平成 18 年度まで「タンパク 3000 プロ ジェクト」、続いて平成 19 年度から平成 23 年度まで「ターゲットタンパク研究プログラム」、こ の間平成 16 年度から平成 20 年度には「ゲノムネットワークプロジェクト」も進められた。さら に平成 24 年度から平成 28 年度までは、それまで実施された構造生物学プロジェクトにおける創 薬・医療技術シーズ等の研究成果を迅速に医薬品等に結び付けることを目的として、「創薬等支 援技術基盤プラットフォーム事業」が立ち上げられた。この事業では、それまでの事業において 整備された施設・設備を、創薬等ライフサイエンス研究を行う研究者が広く共同利用できる体制 とすることにより、創薬・医療技術開発支援の強化が図られた。この事業は平成 27 年 4 月 1 日 に設立された国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)に移管された。そして平成 28 年度からは、AMED「創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業」へと繋がった。

2.1 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業

創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業は、我が国の優れたライフサイエンス研究の成果を 医薬品等の実用化につなげることを目的として、5年間のプロジェクトとして開始された。この 事業では、構造解析ユニット、ケミカルシーズ・リード探索ユニット、バイオロジカルシーズ探 索ユニット、インシリコユニットとプラットフォーム機能最適化ユニットの5つのユニットが設 置された。構造解析ユニットは、タンパク質生産や結晶化の支援を行い、放射光施設(SPring-8、 Photon Factory)やクライオ電子顕微鏡などの最先端ファシリティーを駆使して、タンパク質や タンパク質複合体の構造解析を行っている。ケミカルシーズ・リード探索ユニットは、低分子化 合物、天然物やペプチドのライブラリー提供とそれらライブラリーを活用したスクリーニングを 担当するとともに、ヒット化合物の誘導体合成展開によりリード化合物の創出に繋げる支援を行 っている。バイオロジカルシーズ探索ユニットは、ゲノミクス解析やゲノム改変による疾患モデ ル動物作出と評価、薬物動態・安全性評価を支援している。インシリコユニットは計算科学を駆 使して構造ダイナミクス研究やバイオインフォマティクス、ケモインフォマティクスの解析の支 援担当となっている。そしてプラットフォーム機能最適化ユニットでは、この事業における研究 成果の最大化に役立つデータベースクラウドを提供している。これらの最先端技術を有する研究 者による強力な支援が「創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS)」[1]を介して、外 部研究者の創薬研究推進を強力にバックアップしている。

3. 大阪大学創薬サイエンス研究支援拠点

創薬研究においては、創薬標的分子の同定、その標的分子を制御しうる化合物の探索を行うス クリーニング系の構築とそのハイスループット化、ハイスループットスクリーニングの実施、ヒ ット化合物からリード化合物への構造展開、さらに *in vivo* 薬物動態や安全性試験が必要となる。 しかしこれらを各研究者あるいは研究室内などで完結させることはできない。それらの各ステッ プを実施するには、専用の機器や設備が必要となるだけではなく、創薬研究の経験、知識や情報 を有する研究者によるサポートを含めたシームレスな支援体制が必要不可欠である。大阪大学は 上述の創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業に続き、創薬等ライフサイエンス研究支援基盤 事業において、ケミカルシーズ・リード探索ユニットのライブラリー・スクリーニング領域と構 造展開領域、さらにバイオロジカルシーズ探索ユニットにおいて採択を受けた。そして薬学研究 科に化合物ライブラリー・スクリーニングセンター、創薬センター構造展開ユニットと薬物動 態・安全性試験ユニットからなる創薬サイエンス研究支援拠点[2]を設置し(図1)、BINDS と連 携して学内外の創薬研究を強力に支援する体制を構築した。



図 1. 大阪大学薬学研究科創薬サイエンス研究支援拠点の概要

3.1 化合物ライブラリー・スクリーニングセンター

創薬標的分子の機能を制御する化合物創製の第一段階は、そのスクリーニング系の構築である。 さらに構築したスクリーニング系に基づきハイスループットスクリーニング(HTS)系を構築す る必要がある。しかしながら化合物ライブラリーを用いて HTS を実施するためには、HTS 系と しての基準を満たす必要がある。さらにスループット性やランニングコスト、化合物分注機器や 検出装置も考慮して HTS 系構築を考える必要がある。化合物ライブラリー・スクリーニングセ ンターでは製薬企業で HTS 系構築を担当した研究者がこれらを総合した相談とアドバイスを行 っている。一方、化合物としては大阪大学オリジナル化合物ライブラリーとともに市販化合物ラ イブラリーを含めた約 6 万化合物を保有しており、プレート代の実費を除き化合物を無償で提供 している。一方、製薬会社ではまさに独自の druggable な化合物を用いた HTS が実施されてきた。 そこでこれら製薬会社の化合物をアカデミアで利用できれば、アカデミア創薬研究と医薬品の創 出が加速され、製薬会社との共同研究も期待できると考えられた。そこで大阪大学では製薬会社 等 6 社から約 66000 の独自化合物ライブラリーの供与を受け、本年 2 月から提供を開始した(図 2)。



図2. 大阪大学が保有する化合物ライブラリー

大阪大学化合物ライブラリーは、海洋天然物エキスや複素環化合物などの大阪大学オリ ジナル化合物や市販化合物とともに、製薬会社の独自化合物ライブラリーで構成されて いる。

3.2 創薬センター構造展開ユニット

化合物ライブラリーを用 いた HTS によりヒット化合 物が得られても、リード化 合物へと合成展開するため には、メディシナルケミス トの知識や経験、技術が必 用となる。しかし、アカデ ミアの合成研究者は一般的 には創薬研究の経験が十分 ではない。そこで大阪大学 創薬センター構造展開ユニ ットでは、現在製薬会社 5 社からメディシナルケミス トに出向してもらい、製薬 会社の壁を越えた協力に より、アカデミア創薬展開 のためにヒットからリー ド創製向けた合成展開を 進めてもらう仕組みを構



図 3. 大阪大学構造展開ユニットにおけるヒットからリー ド創製スキーム

大阪大学構造展開ユニットは、AMED 創薬等支援基盤プラットフォーム事業において設置された。ここでは、化合物のデザイン-合成-薬理評価-ADMET/物性評価のサイクルによりヒットからリード創製が進められている。

築している。また、製薬会社における合成展開では、デザイン-合成-薬理評価とともに、ADMET (吸収:Absorption、分布:Distribution、代謝:Metabolism、排泄:Excretion、毒性:Toxicity)や 物性評価のサイクルを回しながらリード化合物の創製が進められている(図 3)。そこで、構造 展開ユニットにおいても Caco-2 膜透過性試験、ヒト肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験、 肝ミクロソームを用いた cytochrome P450 阻害試験、血漿蛋白結合試験などの初期薬物動態・物 性評価を行いながら化合物誘導体展開を進めている。

3.3 創薬センター薬物動態・安全性試験ユニット

臨床試験の第 I 相試験においては、医薬品候補化合物の人に対する薬物動態 (Pharmacokinetics: PK) と安全性が検証される。よって創薬研究において、医薬品候補化合物を実験動物に投与し、 薬物動態試験や安全性試験を行うことは、人を対象とした臨床試験を進める以前の実施必須項目 となっている。しかしそれらの実施においては、専用の動物実験施設や、投与・採血の技術が求 められる。創薬センター薬物動態・安全性試験ユニットでは、医薬品候補化合物を実験動物に投 与し、経時的採血により薬物動態パラメーターの算出と評価、標的臓器や細胞への移行評価、血 清の生化学的解析や血球細胞分析の支援を行っている(図 4)。一方、肝臓や腎臓等の摘出臓器 はホルマリン固定され、大阪府立大学に送られる。大阪府立大学では、獣医病理学・毒性病理学 を専門とし、日本獣医病理認定資格 JCVP、日本毒性病理認定資格 JSTP を有する獣医師が、毒 性病理解析により、最も影響を受ける標的臓器や組織を同定し、薬効と安全性を見極める上での 毒性発現用量の評価支援を行っている。これら non-GLP レベルでの薬物動態と安全性を評価す ることで、GLP 非臨床試験や臨床試験を行う製薬企業などへ導出可能な有望な化合物シーズを 見極める支援となっている。



図4. 薬物動態·安全性試験支援体制

薬物動態・安全性試験ユニットでは、医薬品候補化合物の in vivo 薬物動態や 安全性試験を支援している。

4. 支援を活用した癌の革新的創薬研究

以上記載したアカデミア創薬支援を利用して進められた 1 例として癌の革新的創薬研究について紹介する。

クロマチンの後天的修飾による遺伝子の発現変化はエピゲノミクスと呼ばれている。DNAの シトシンのメチル化やヒストンタンパク質のメチル化やアセチル化により、遺伝子の発現が制御 され、発生や分化、環境への応答、さらに癌などの種々の疾患発症に関わっていることが明らか とされている。一方、RNA も種々修飾されていることは以前より知られていたが、mRNAのキ ャップ構造である 7-methylguanosine 以外にほとんどその分子生物学的役割は明らかにされてい なかった。しかし最近、RNA 塩基をメチル化する methyltransferase や脱メチル化する demethylase、 さらにメチル化 RNA を認識して結合するタンパク質が同定されたこと、また RNA のメチル化 が RNA の局在性や安定性、タンパク質の翻訳効率にも影響することなどが明らかにされたこと から、RNA の後天的修飾によるタンパク質の発現変化は、エピトランスクリプトミクスという 新しい概念の創出に繋がり、最近たいへん注目されている[3]。

我々は、癌の分子標的を探索する目的で、前立腺癌術後組織を用いた differential display 解析 により、非癌部と比べ癌部で発現上昇する遺伝子として prostate cancer antigen-1 (PCA-1)と命名し た遺伝子をクローニングした[4]。抗 PCA-1 抗体を作製し、種々の癌病理組織の免疫組織学的解 析を行ったところ、

PCA-1 は前立腺癌 とともに、膵癌や非 小細胞肺癌などに おいて高発現が認 められた[5-9]。また PCA-1 の高発現と 予後不良性が有意 に相関することも 明らかとなった。 PCA-1 の siRNA を 用いた解析により、 膵癌細胞や肺癌細 胞などにおける PCA-1 のノックダ ウンは、in vitro に おいてはアポトー シス誘導による細 胞増殖抑制作用が、 またin vivo xenograft モデルに おいては顕著な抗 腫瘍作用が認めら



図 5. PCA-1 siRNA による膵癌細胞 xenograft モデルにおける抗腫瘍作 用

膵癌細胞の xenograft モデルにおいて、PCA-1 siRNA の投与は顕著な抗腫 瘍作用を示した(左図)。摘出した腫瘍を用いて、PCA-1 の発現を免疫 組織化学的に解析した結果、PCA-1 siRNA 投与によってその発現の低下 が認められた。また PCA-1 投与群では、増殖マーカーである Ki67 の発 現低下、アポトーシス誘導を示す TUNEL 陽性細胞が認められた(右図)。

れた(図 5) [10-11]。これらの結果は、PCA-1 は前立腺癌、膵癌や非小細胞肺癌の有望な分子標的となる可能性を示唆した。

PCA-1 は大腸菌タンパク質 AlkB のC 末端ドメインと高い相同性があるドメインを有している ことが分かっていたが、その後 AlkB のこの領域は 2-oxoglutarate, Fe(II)-dependent oxygenase domain としてメチル化剤によりメチル化された DNA や RNA の塩基を脱メチル化する酵素活性 を発現することが示された。PCA-1 も RNA の 1-methyladenine (m1A) や N6-methyladenine (m6A) を基質として脱メチル化する酵素活性を発現することが明らかになり、現在 AlkB homolog 3 (ALKBH3)と呼ばれている[12]。また癌細胞で高発現する ALKBH3 は tRNA の m1A を脱メチル 化することにより、癌細胞の増殖に必要となるタンパク質翻訳効率を上昇させることも明らかと なった[13]。

そこでこの ALKBH3 の RNA 脱メチル化酵素活性 HTS 測定系を構築し、大阪大学の化合物ラ イブラリーを用いてスクリーニングを実施した。その結果、ALKBH3 の脱メチル化酵素活性を 阻害するヒット化合物を得た[14]。この化合物は、膵癌細胞株や肺癌細胞株に対してアポトーシ ス誘導による増殖抑制活性を示した。また *in vivo* xenograft モデルにおいても ALKBH3 siRNA と 同様の抗腫瘍作用を発現した。さらに質量分析装置を用いたエピトランスクリプトーム解析基盤 技術により、この化合物を添加した膵癌細胞では tRNA の mlA や m6A の発現上昇も認められた。 さらに ALKBH3 酵素活性阻害化合物は癌細胞の新生タンパク質の翻訳を顕著に抑制した。これ らの成果から、ALKBH3 の脱メチル化酵素活性阻害化合物は、癌細胞におけるエピトランスク リプトミクスの制御により細胞増殖を抑制し、抗腫瘍作用を発現することから革新的な癌治療薬 となることが期待された(図 6)。そこでこの化合物をヒット化合物として、構造展開ユニット のメディシナルケミストの力により誘導体展開もなされた。一方、アカデミアの創薬シーズの実 用化を目指した AMED の創薬支援推進事業(創薬ブースター)において、製薬企業などから提 供された約 20 万化合物の HTS を実施する産学協働スクリーニングコンソーシアム (DISC) に おいてもヒット化合物が創出された。現在これらの研究成果に基づき製薬会社と first-in-class と なる癌治療薬に向けた共同開発研究が進められている。



図 6. エピトランスクリプトミクスを制御する ALKBH3 の阻害化合物による first-in-class の癌治療薬創製

ALKBH3 は酸化的脱メチル化酵素活性により RNA の m1A や m6A を脱メチル化し、癌 細胞の増殖等に必要となるタンパク質の翻訳効率の上昇をもたらしている。ALKBH3 酵素活性阻害化合物は、エピトランスクリプトミクス制御による抗腫瘍作用を発現す る first-in-class の癌治療薬となることが期待できる。写真は ALKBH3 酵素活性阻害によ る細胞質 m1A の蓄積を示す。

5. まとめ

アカデミア創薬研究により癌や難病、希少疾患等の革新的治療薬の創製が大きく期待されている。アカデミアの基礎研究を医薬品開発に繋げるために、創薬等ライフサイエンス研究支援基盤 事業における支援はたいへん大きな役割を果たしている。また大阪大学薬学研究科では、疾患治 療標的分子に対する特徴的化合物ライブラリーを用いた HTS の実施、構造展開ならびに *in vivo* 薬物動態・安全性試験のシームレスな支援体制を整えた。これらの支援基盤の積極的な活用によ り、アカデミア創薬の大きな進展が期待される。

BINDS による創薬支援を希望される方は、https://www.supportbinds.jp/からお申込みください。

謝辞

本研究の一部は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)創薬等ライフサイエンス 研究支援基盤事業 創薬等先端技術支援基盤プラットフォーム(BINDS)の課題番号 JP18am0101084、JP18am0101085、JP18am0101123の支援を受けた。また AMED 創薬総合支援事業(創薬ブースター)においても研究支援を受けた。

参考文献

- [1] https://www.binds.jp/
- [2] http://www.phs.osaka-u.ac.jp/souyaku_kyoten/
- [3] Grozhik AV, Jaffrey SR. Epitranscriptomics: Shrinking maps of RNA modifications, *Nature*, **551**, 174-176 (2017).

- [4] Konishi, N., Nakamura, M., Ishida, E., Shimada, K., Mitsui, E., Yoshikawa, R., Yamamoto, H., Tsujikawa, K. High expression of a new marker PCA-1 in human prostate carcinoma. *Clin Cancer Res*, 11, 5090-5097 (2005).
- [5] Shimada, K., Nakamura, M., Ishida, E., Higuchi, T., Yamamoto, H., Tsujikawa, K., Konishi N. Prostate cancer antigen-1 contributes to cell survival and invasion though discoidin receptor 1 in human prostate cancer. *Cancer Sci.* 99, 39-45 (2008).
- [6] Tasaki, M., Shimada, K., Kimura, H., Tsujikawa, K., Konishi, N. ALKBH3, a human AlkB homologue, contributes to cell survival in human non-small-cell lung cancer. Br J Cancer. 104, 700-706 (2011).
- [7] Yamato, I., Sho, M., Shimada, K., Hotta, K., Ueda, Y., Yasuda, S., Shigi, N., Konishi, N., Tsujikawa, K., Nakajima, Y. PCA-1/ALKBH3 contributes to pancreatic cancer by supporting apoptotic resistance and angiogenesis. *Cancer Res.* 72, 4829-4839 (2012).
- [8] Shimada, K., Fujii, T., Tsujikawa, K., Anai, S., Fujimoto, K., Konishi, N. ALKBH3 contributes to survival and angiogenesis of human urothelial carcinoma cells through NADPH oxidase and tweak/Fn14/VEGF signals. *Clin Cancer Res.*18, 5247-5255 (2012)
- [9] Hotta, K., Sho, M., Fujimoto, K., Shimada, K., Yamato, I., Anai, S., Harada, H., Tsujikawa, K., Konishi, N., Shinohara, N., Nakajima, Y. Clinical significance and therapeutic potential of prostate cancer antigen-1/ALKBH3 in human renal cell carcinoma. *Oncol Rep*, 34, 648-654 (2015).
- [10] Koike, K., Ueda, Y., Hase, H., Kitae, K., Fusamae, Y., Masai, S., Inagaki, T., Saigo, Y., Hirasawa, S., Nakajima, K., Ohshio, I., Makino, Y., Konishi, N., Yamamoto, H., Tsujikawa, K. Anti-tumor effect of AlkB homolog 3 knockdown in hormone-independent prostate cancer cells. *Curr Cancer Drug Targets.* 12, 847-856. (2012).
- [11]Kogaki, T., Ohshio, I., Kawaguchi, M., Kimoto, M., Kitae, K., Hase, H., Ueda, Y., Jingushi, K., Tsujikawa, K. TP53 gene status is a critical determinant of phenotypes induced by ALKBH3 knockdown in non-small cell lung cancers. *Biochem Biophys Res Commun.* 488, 285-290 (2017).
- [12] Tsujikawa, K., Koike, K., Kitae, K., Shinkawa, A., Arima, H., Suzuki, T., Tsuchiya, M., Makino, Y., Furukawa, T., Konishi, N., Yamamoto, H. Expression and sub-cellular localization of human ABH family molecules. *J Cell Mol Med.* **11**, 1105-1116 (2007).
- [13] Ueda, Y., Ooshio, I., Fusamae, Y., Kitae, K., Kawaguchi, M., Jingushi, K., Hase, H., Harada, K., Hirata, K., Tsujikawa, K. AlkB homolog 3-mediated tRNA demethylation promotes protein synthesis in cancer cells. *Sci Rep.* 7, 42271 (2017).
- [14] Ueda, M., Shimizu, T., Mabuchi, M., Horiike, K., Kitae, K., Hase, H., Ueda, Y., Tsujikawa, K., Tanaka, A. Novel metabolically stable PCA-1/ALKBH3 inhibitor has potent antiproliferative effects on DU145 Cells *in vivo. Anticancer Res.* 38, 211-218 (2018).

///// Cutting Edge /////

機械学習を用いた高精度力場構築に向けて

みずほ情報総研株式会社東レ株式会社加藤幸一郎増田友秀

1. はじめに

創薬研究において実施されるタンパク質や核酸などの生体分子系を計算対象とする分子動力 学シミュレーションやインシリコスクリーニング等の分子シミュレーションでは、分子力場が一 般に用いられ、それらの計算精度は用いる分子力場の精度に大きく依存する。通常の分子シミュ レーションでは古典力学に基づく分子力場が用いられ、量子力学に基づいた分子シミュレーショ ンと比較して精度は劣るものの、計算コストの面で圧倒的に有利であることからタンパク質や核 酸を含む大規模分子系に対する分子シミュレーションが可能である。

一般に、分子力場には式(1)のようなポテンシャル関数が用いられ、代表的な既存分子力場としては、AMBER[1]、CHARMM[2]、GROMOS[3]、OPLS[4]等が挙げられる。ポテンシャル関数は原子間相互作用を表し、結合長、結合角、二面角に関係する結合エネルギー項と、ファンデールワールス力及びクーロン力に起因する非結合エネルギー項より構成される。

しかしながら、タンパク質の生体高分子と医薬低分子化合物等との相互作用は非常に複雑であ り、例えばハロゲン結合等の相互作用は単純なポテンシャル関数形では表現することは困難であ る。また、ポテンシャル関数に含まれるパラメータを最適化することで高精度化を図ることが可 能な場合もあるが、多様な相互作用に対して統一的な改良を行うことは困難である。さらに、生 体高分子と低分子化合物との相互作用では非結合相互作用が特に重要であるものの、式(1)を用 いた既存分子力場のクーロン項の計算においては点電荷近似による固定電荷を用いるため、周辺 環境やコンフォメーションの変化に対応した電荷分布の変化および分極効果を考慮していない という課題が挙げられる。このような課題に対して、現在でも積極的な分子力場の改良が行われ ており、各種提案されている[5]-[6]。

一方、AI 技術を創薬に用いる試みも世界中で加速してきており、注目を集めている。日本に おいては、京都大学/理研の奥野恭史教授らが中心となり、AI (<u>Artificial Intelligence</u>)による創薬 開発の効率化および成功確率向上を目指す産官学連携コンソーシアム「LINC (<u>Life Intelligence</u> <u>Consortium</u>)」が設立された[7]。LINC では 30 個の AI 開発プロジェクト (PJ) が進行しており、 筆者らはその中の PJ14 にて活動している。PJ14 は、ライフサイエンス企業・IT 企業と所属は異 なるもののバックグラウンドや専門分野が近く、以前より分子力場に対して共通課題を持つメン バーが、AI による課題解決に強い志を持って集まり発足に至った。具体的には、既存分子力場 を用いた場合と同等の計算コストで、より高精度な分子シミュレーションを可能とする力場の構 築を目指しており、以下に示す AI モデルの構築を進めている。

- (A) Neural Network Potential (NNP)
 既存分子力場のポテンシャル関数を用いずに、第一原理計算結果を教師データとした機械
 学習による分子力場モデルの構築
- (B) Neural Network Atomic Charge (NNAC)
 既存分子力場のポテンシャル関数を用いて、その精度向上を目的とした機械学習による
 FMO 原子電荷予測モデルの構築

(A)は、原子種及び座標を Neural Network (NN)の入力として、全系のエネルギーと各原子に 掛る力を出力とする AI モデルであり、原理的にはあらゆる相互作用を含むことが可能なため高 精度分子力場の構築が期待できる。(B)は、原子種及び座標を NN の入力として、各原子電荷を 出力とする AI モデルであり、式(1)に示した既存分子力場のポテンシャル関数を用いるが、固定 電荷ではなく、低分子化合物のコンフォメーション変化やタンパク質の運動性を考慮した原子電 荷の算出が期待できる。

本稿では、上記(A)および(B)の概要と検討状況についてご紹介する。

2. 機械学習モデルの概要

上述の通り、我々はNNを用いた機械学習モデルの構築を進めている。各原子の座標および原 子種情報をNNの入力とするには、記述子化によってベクトル情報に変換する必要がある。我々 は、Behler らにより提案された Atom Centered Symmetry Functions(以後、ACSFs)を用いることに した[8]。また、NNを力場構築に適用する方法として、Behler と Parrinello により提案された High-Dimensional Neural Network Potential (以後、HDNNP)を採用した[9]。それぞれについて詳 細を後述する。

2.1 Atom Centered Symmetry Functions (ACSFs)

ACSFsは、着目原子iの周辺環境を式(2)~(4)に示す関数により記述する。

$$G_i^{\text{rad}} = \sum_{j \neq i} e^{-\eta (r_{ij} - r_s)^2} f_{c(r_{ij})}$$

$$G_{i}^{ang} = 2^{1-\zeta} \sum_{j \neq i} \sum_{k \neq i, j} (1 + \lambda \cos(\alpha_{ijk}))^{\zeta} e^{-\eta (r_{ij} + r_{ik} + r_{jk})^{2}} f_{c(r_{ij})} f_{c(r_{ik})} f_{c(r_{jk})}$$

$$\vec{\mathbb{X}}(3)$$

$$f_c(r_{ij}) = \begin{cases} tanh^3 \left[1 - \frac{r_{ij}}{r_c} \right] & \text{with } r_{ij} \le r_c \\ 0 & \text{with } r_{ij} > r_c \end{cases}$$

式(2)は着目原子 i の周辺環境を動径分布として、式(3)は角度分布として記述する。また、これらの分布は、式(4)のカットオフ関数により着目原子 i からカットオフ距離(*r_c*)以内に存在する 原子についての寄与のみを考える (図 1)。



図 1. ACSFs の計算系イメージ

ACSFs は分子の並進や回転、また原子の交換に対しても不変である。さらには、原子座標に 関して解析的に微分可能であることから、分子力場に必要な各原子に掛る力を計算することがで きるため、NNP 構築には好適な記述子である。ACSFs にはいくつか類似の派生モデルが存在す るが、それらを用いた各種研究結果が報告されている[10-[13]。計算対象系は、理論的には限定 されておらず、水のみから成るバルク系、低分子化合物、TiO₂等の結晶系など多岐に渡る。た だし、各原子に対して設定する ACSFs の数や、式(2)~(4)に含まれる r_s 、 η 、 ζ 、 λ の値は NN に よる学習前に予め準備する必要があり、特に先行文献がない計算対象系に対しては試行錯誤が必 要となる。

2.2 High-Dimensional Neural Network Potential (HDNNP)

まず、力場全体を学習・予測する NNP について説明する。Behler と Parrinello により提案された HDNNP では元素種毎に NN を構成する。系に含まれる各原子に対して、対応する各元素用 NN を用いて原子エネルギーを算出し、それらの和 (E_{NN})によって全系のポテンシャルエネル ギー (つまり、NNP)を表現する。

例えば、水分子のみより構成される系を考える場合には、酸素用 NN と水素用 NN を用意し、 系に含まれる全ての原子について対応する各 NN をそれぞれ用いてポテンシャルエネルギーを 求める(図 2)。学習においては、量子化学計算(Quantum Mechanics:QM)等で得られたポテン シャルエネルギー(EQM)と ENN との比較によって、NN のパラメータを最適化する。系全体に ついてのポテンシャルエネルギーを比較するのは QM 計算によるポテンシャルエネルギーが原 子毎に分解できないためである。なお、学習に用いるデータとしては、開発したい NNP の目的 に応じて変えることができ、必ずしも電子相関効果を考慮した高精度 QM 計算に限定されるも のではない。新規開発した記述子の精度の確認や NN 構成などの方法論開発に主眼を置いた開発 段階では、極端ではあるが、計算負荷が少ない古典力場に基づく方法(Molecular Mechanics: MM) を用いることも可能である。各原子に掛る力については、学習により得られた NNP を各原子座 標に関して解析的に微分することで算出できる[9]。高精度にポテンシャルエネルギー予測が可 能な NNP であれば、力についても高精度な予測性能を持つことが期待される。

次に、原子電荷を学習・予測する NNAC について説明する。NNAC は、NNP の考え方を原子 電荷予測に転用したものであり、元素種毎の NN を構築する点は共通である。ただし、各原子電 荷の値を教師データとして用意することが可能であるため、NNP とは異なり NN の出力値と教 師データを直接比較して学習を進めることができる。



3. 開発状況

3.1 NNP

LINC が発足した開発当初は、プログラムの動作検証や学習に係るノウハウ習得からスタート する必要があった。そのために、先行研究[10]があり、かつ系の構成要素が単純な均一系である 水のみの系に対する NNP 構築を行った。繰り返しになるが、この検討の目的は水の性質を再現 できる NNP を構築することではなく、教師データに用いた第一原理計算レベルのポテンシャル エネルギーと力を得ることである。

ここでは、Gromacs[15]を用いて 10,000 のスナップショット構造を作成し、それらに対して Quantum Espresso[16]による周期 DFT 計算をそれぞれ行うことで、教師データを作成した。記述 子化に必要となるパラメータについても Marawietz らが用いた値と同じものとし、各酸素原子、 水素原子の周辺環境は、それぞれ 30 個、27 個の記述子で表現した[10]。結果として、図 3 に示 すとおり先行研究と同等のエネルギー・力の算出に成功した。力については若干先行研究と比較 して誤差が大きいが、先行研究においては様々なサイズ(構成原子数)の系を学習に用いるなど 教師データ作成に工夫を凝らしているのに対して、本研究では動作検証やノウハウ習得を目的と しているため、単一トラジェクトリのみの教師データを用いており、教師データに含まれる多様 性の違いに起因しているものと考えられる。



図3. 水のみの系に対する検討結果

水のみの系での成功を受け、現在は水和タンパク質の様な非均一系やハロゲン結合を含むモデ ル系の検討なども進めており、NNP の有用性を示す結果が出始めている。これらの系について は、機械学習により分子力場を作る試みが世界的にも未だなされていないものであるため、非常 にチャレンジングなものとなっているが、ライフサイエンス企業・IT 企業が協力し、アカデミ アの助言を受けながら LINC の枠組みを最大限活用するかたちで進めているところである。一般 にライフサイエンス企業・IT 企業の協業ではお互いに「共通認識」を持った議論が困難なこと が多いと言われるが、これまでの PJ14 の活動を振り返ると、各メンバーのバックグラウンドや 専門分野が近いことから、「共通認識」を持った活発な議論ができ、企業間の連携が上手く機能 していると考えている。また、ライフサイエンス企業メンバー数は少ないものの、各種の分子シ ミュレーション分野に精通したメンバーが在籍しており、アカデミアからの助言に加えて、企業 メンバー間で専門的な意見交換・技術交流が容易にできたことも大きかったと思われる。

3.2 NNAC

次に、原子電荷予測用の機械学習モデルである NNAC の開発状況を紹介する。NNAC の教師 データについては、FMO 創薬コンソーシアム FMODD (FMO Drug Design Consortium) [17]と連 携することで、Gaussian 等の QM 計算では作成が困難なサイズのタンパク質も含めたデータを 作成・利用した。具体的には、polyQ10、TrpCage、BRD2-BD2(BRD2 の BD2 ドメイン、以後 BRD2) について、Amber を用いた MD 計算によりそれぞれ 10,000、10,000、1,000 スナップショット構 造を作成し、ABINIT-MP[18]を用いた FMO 計算(FMO2-HF/6-31G*)により RESP 電荷[19]を算出 し教師データとした。MD 計算で得られた構造をそのまま FMO 計算したため、一部の構造で FMO 計算が収束しなかったが、図 4 に示すとおり FMO 計算が収束した各構造のデータを Train、 Validation、Test に分割して学習に用いた。なお、データ分割には各構造の RMSD を用いた k-means クラスタリングを行い、得られたクラスタの代表構造が Test 構造である。残りの構造を 8:2 に分 割して Train、Validation とした。

NNAC の学習については、いずれの系においても Validation データに対する RMSE が 0.10 程度となるまで行った。学習済みの NNAC を用いて Test データに対する予測を行った結果が図 5

である。当然ながら原子数の少ない polyQ10 が最も予測精度が高くなっているが、1,811 原子を 含む BRD2 においても、R²で 0.9 近い精度を達成しており、NNAC の予測精度に我々自身も驚 いているところである。ただし、系全体の電荷の総和である Net charge を見ると、まだまだ改善 の余地がありそうである。特に、BRD2Bromodomain については Net charge のブレが大きい。今 後の効率的な教師データ作成に生かすため、この Net charge のブレの原因をはじめとして、どの 様な環境に置かれた原子についての予測精度が良い/悪いのかについての詳細解析を進めている ところである。

	polyQ10	TrpCage	BRD2
PDBid	20TU*1	1L2Y	5IBN
残基数/原子数	10/173	20/304	111/1811
立体構造	ALL ALL		
全データ ^{※2}	10,000	10,000	1,000
FMOデータ ^{※3}	10,000	9,805	902
Train ^{**4}	7,997	7,840	718
Validation ^{**4}	2,000	1,961	180
Test ^{**5}	3	4	4

※1: 配列を一部改変

※2: Amberにより生成したスナップショット数

※3:スナップショット構造に対してFMO計算を実施し、計算が収束してRESP電荷まで求めることができた数

※4: 全データからTest用を除いて、8:2に分割

※5: k-meansのクラスタリングより、polyQ10, TrpCage, BRD2をそれぞれ3, 4, 4クラスタに分類 各クラスタの中心構造をValidation用として詳細検討の対象に選定

図 4. NNAC の学習に用いたデータの詳細

		poly	Q10 [0] *1	Trp	Cage [1] *1	BR	D2 [1] *1
T	est	R ²	Net charge ^{*2}	R ²	Net charge ^{**2}	R ²	Net charge ^{*2}
	1	0.982	-0.31	0.928	1.50	0.896	1.35
	2	0.960	-0.23	0.926	0.97	0.888	3.63
	3	0.955	0.46	0.917	0.51	0.886	-0.48
	4	-	-	0.900	1.38	0.873	4.60

※1: 括弧内の値は系の総電荷、※2:各原子のNNACの総和





4. まとめと今後の展望

本稿では、LINC の PJ14 にて開発を進めている機械学習を用いた高精度分子力場についての 概要と開発状況を紹介した。PJ テーマとしては非常に基礎研究色の強いものであり、個別企業 で取り組むことは困難なものであるが、LINC において興味を持ったライフサイエンス企業・IT 企業が連携し、アカデミアの支援を受けながら協調的に進めることで、NNP、NNAC の有用性 の一端を示すところまで進めることができた。LINC の活動は、各個人・企業が複数の PJ に参 加することができるため知識・ノウハウを含めた情報共有に注意する必要があるものの、企業の 枠を超えた深い人脈をつくることができるため、大変有意義であると感じている。

今後は、記述子開発を含めた更なるプログラムの改良および教師データの整備を進めて、高精 度な分子力場開発の加速化に努めていきたい。

謝辞

本研究は、LINC のプロジェクトの一部として実施された。また、FMO 計算については、FMO 創薬コンソーシアム FMODD と LINC との連携により実施された。FMO 計算にはスーパーコン ピュータ「京」(課題番号: hp180147)および理研所有のスーパーコンピュータ「HOKUSAI」 を用いた。PJ14 メンバー及び協力・支援を頂いた方々は以下の通りである。(順不同、敬称略)

- 氏名:大島勘二¹、小野聡²、上田寛³、宮川尚紀⁴、溝内秀男⁴、渡邉千鶴⁵、永瀬駿平⁵、 神坂紀久子⁵、本間光貴⁵、福澤薫⁶、徳久淳師⁵、金田亮⁵、千葉峻太朗⁵、大田雅照⁵、 池口満徳^{5,7}
- 所属:1株式会社カネカ、2田辺三菱製薬株式会社、3東レ株式会社、 4 みずほ情報総研株式会社、5理化学研究所、6星薬科大学、7横浜市立大学

参考文献

- Cornell, W. D., Cieplak, P., Bayly, C. I., Gould, I. R., Merz, K. M., Jr., Ferguson, D. M., Spellmeyer, D. C., Fox, T., Caldwell, J.W., Kollman, P. A., A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules, J. Am. Chem. Soc, 117, 5179-5197 (1995).
- [2] MacKerell, A.D., Jr., Banavali, N., Foloppe, N., Development and current status of the CHARMM force field for nucleic acids, *Biopolymers*, **56**, 257-265 (2001).
- [3] Oostenbrink, C., Villa, A., Mark, A. E., Van Gunsteren W. F., A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6, J. Comput. Chem, 25, 1656-1676 (2004).
- [4] Jorgensen, W. L., Tirado-Rives, J., The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin, J. Am. Chem. Soc. 110, 1657-1666 (1988).
- [5] Wang, Z. X., Zhang, W., Wu, C., Lei, H., Cieplak, P., Duan, Y., Striking a balance: optimization of backbone torsion parameters of AMBER polarizable force field for simulations of proteins and peptides, *J. Comput. Chem.* 27, 781-790 (2006).
- [6] Ponder, J. W., Wu, C., Ren, P., Pande, V. S., Chodera, J. D., Schnieders, M. J., Haque, I., Mobley, D. L., Lambrecht, D. S., DiStasio, R. A., Jr., Head-Gordon, M., Clark, G. N. I., Johnson, M. E., Head-Gordon, T., Current Status of the AMOEBA Polarizable Force Field, *J. Phys. Chem. B.* 114, 2549-2564 (2010).
- [7] https://rc.riken.jp/life-intelligence-consortium/
- [8] Behler, J., Atom-centered symmetry functions for constructing high-dimensional neural network potentials, *J. Chem. Phys.* **134**, 074106 (2011).
- [9] Behler, J., Parrinello, M., Generalized neural-network representation of high-dimensional potential-energy surfaces, *Phys. Rev. Lett.* **98**, 146401 (2007).
- [10] Morawietza, T., Singraber, A., Dellago, C., Behler. J., How van der Waals interactions determine the unique properties of water, *PNAS*, **113**, 8368-8373 (2016).
- [11] Gastegger, M., Behler. J., Marquetand, P., Machine learning molecular dynamics for the simulation of infrared spectra", *Chem. Sci.*, **8**, 6924-6935 (2017).

- [12] Smith, J. S., Isayev, O., Roitberg, A. E., ANI-1: an extensible neural network potential with DFT accuracy at force field computational cost, *Chem. Sci.*, **8**, 3192-3203 (2017).
- [13] Gastegger, M., Schwiedrzik, L., Bittermann, M., Berzsenyi, F., Marquetand, P., wACSF Weighted Atom-Centered Symmetry Functions as Descriptors in Machine Learning Potentials, J. Chem. Phys. 148, 241709 (2018).
- [14] Behler. J., First Principles Neural Network Potentials for Reactive Simulations of Large Molecular and Condensed Systems, *Angew. Chem. Int. Ed.* 56, 12828-12840 (2017).
- [15] http://www.gromacs.org/
- [16] https://www.quantum-espresso.org/
- [17] http://eniac.scitec.kobe-u.ac.jp/fmodd/
- [18] Tanaka, S., Mochizuki, Y., Komeiji, Y., Okiyama, Y., Fukuzawa, K., Electron-correlated fragment-molecular-orbital calculations for biomolecular and nano systems, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 16, 10310-10344 (2014).
- [19] Bayly, C. I., Cieplak, P., Cornell, W. D., Kollman, P. A., A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: the RESP model, *J. Phys. Chem.*, 97, 40, 10269-10280 (1993)

///// Cutting Edge /////

創薬における大学と企業との連携例

東京工業大学 情報理工学院, 日本学術振興会特別研究員 DC1 安尾 信明

1. はじめに

筆者は現在シミュレーションや機械学習を応用した創薬を専門領域とし、東京工業大学で博士 課程の学生をしている。今回は、武田薬品工業株式会社との共同研究を昨年 CBI 学会で発表し たことをきっかけに SAR News への寄稿依頼を頂いた。自由に書いて欲しいとのことであったの で、筆者が経験した二つの共同研究事例と、そこから考える創薬における企業との連携における ポイントについて書かせて頂くこととした。SAR News の読者の方々はどちらかというと製薬企 業の側の方が多いことと想像するが、情報側の学生がどのようなことを考えているのかの参考に なれば幸いである。

2. 事例 1: ドッキングを用いた抗トリパノソーマ原虫化合物探索

本研究は、東京工業大学、東京大学、長崎大学、アステラス製薬を中心とする研究グループで 行われた、顧みられない熱帯病 (Neglected Tropical Diseases: NTDs) への創薬を目指した共同研 究である[1]。NTDs は WHO が定義した 20 の疾患群で、開発途上国を中心に世界で累計 10 億人 以上が感染しているとされている。本研究は NTDs の中のシャーガス病を対象とし、その新規治 療薬を発見することを目的とした。シャーガス病はトリパノソーマ科の寄生原虫 Trypanosoma cruzi の感染によって起きるため、体内の原虫の数を減少させる化合物の創出が課題であった。

そこで、まず標的蛋白質を選定するため、iNTRODBというデータベースが東京工業大学の秋山教授を中心としたグループによって開発された。このデータベースはトリパノソーマ科原虫の 蛋白質について各種条件を用いて検索を行うことが可能で、図1に示す絞り込みによって原虫の もつ 9078 の遺伝子から4標的が選択された。



図 1. iNTRODB による標的蛋白質選択

Spermidine synthase (SpdSyn) は4標的のうちの一つであった。この酵素はポリアミンの生合成 経路にあり、RNAi 実験で阻害した際の有効性が確認されている。この蛋白質では既知の阻害剤 である *trans*-4-methylcyclohexylamine (4MCHA)との結晶構造 (PDB ID: 4YUW, IC₅₀ = 1.7 μM)が報 告されていた。 この構造のリガンド結合部位に対して、購入可能な化合物ライブラリの 480 万化合物を Glide により網羅的にドッキングすることで、新規阻害剤の探索を行った。ドッキングにより上位にな った化合物のうち 176 化合物について酵素系の *in vitro* 試験を行い、阻害活性のあった化合物に ついて IC₅₀の測定を行った結果、4 化合物について IC₅₀が得られた(表 1)。このスクリーニン グにおけるヒット率は約 2.3%と比較的高く、またヒット化合物のうちの 1 化合物(化合物 1) では結晶構造も得られた。図 2 に結合部位の構造を示す。図 2 左は既知の結晶構造、図 2 右は新 規に得られた構造である。図の右側の緑で描かれているのが阻害剤であり、左側の水色で描かれ ているのは補因子の S-adenosylmethionine (SAM)である。結晶構造から、ドッキングによりスク リーニングした化合物が実際に想定していた部位に結合していたことが確認された。

ID	構造	化合物名	IC ₅₀ (µM)
1	NH ⁺ ₃	2-(2-Fluorophenyl)ethanamine	124
2	N HO N HO N O HO	2-[(4,6-Dihydroxy-1,3,5-triazin-2-yl)amino]- 4 <i>H</i> -1,3-benzothiazin-4-one	28
3	NH3	2-(5-Ethoxy-1-ethyl-1H-indol-3-yl)ethanamine	113
4	HO	4-(2-Aminoethyl)-1,2-benzenediol	66
4MCHA	•	trans-4-Methylcyclohexylamine	1.9

表 1. ヒット化合物と 4MCHA

得られた化合物は 2-(2-fluorophenyl)ethanamine で、IC₅₀は 124 μ M であった。IC₅₀の値は既知化 合物よりも低かったが、既知化合物よりも drug-likeness の指標である QED[2]が優れており、シ ード化合物としての有用性が示唆された (compound 1 QED = 0.63 > 4MCHA = 0.47)。また、今回 は詳細を割愛するが、得られたヒット化合物に対して分子動力学 (Molecular Dynamics: MD)シミ ュレーションとフラグメント分子軌道法 (Fragment Molecular Orbital: FMO)による相互作用解析 を行い、重要な相互作用残基を特定した。MD シミュレーションは経験的ポテンシャルを用いて 水中での蛋白質・化合物の各原子に働く力を計算し、数値的に解くことで系の時間発展を調べる 手法である。FMO 法は蛋白質と化合物をフラグメントに分割し、フラグメントおよびフラグメ ントのペア間に働く相互作用について量子化学計算によって解析する手法である。

本共同研究では、これらのシミュレーションを組み合わせることで新規阻害剤を発見し、重要な相互作用を特定できることを示した。



図 2. SpdSyn 阻害剤の結晶構造 左:既知阻害剤 (PDB ID: 4YUW), 右:新規阻害剤 (PDB ID: 5B1S)

3. 事例 2: 機械学習を用いたリード最適化の経路予測

本研究は、武田薬品工業株式会社と共同で行われた、リード最適化における経路予測を目指した研究である[3]。リード最適化では、標的への活性のほか ADMET (absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity)を始めとした化合物の物性等のパラメータを最適化していくが、これを機械学習等の技術を用いて効率化することが、当初の目標であったように記憶している。

究極的には、過去のリード最適化の情報を学習して、化合物を入力すると最適化された化合物 が出力されるシステム(図 3)が欲しいわけであるが、このシステムを作るのは非常に難しい。 問題の一つは新規化合物の評価で、シミュレーション上で勝敗が決定できる囲碁や将棋などのゲ ームと異なり、創薬では生化学的な実験を行わなければ化合物の評価ができない。更に、評価指 標が多数あるため多目的最適化が必要であることも課題であった。化合物の drug-likeness の指標 として rule of 5 や quantitative estimate of drug likeness (QED)を用いることも検討したが、リー ド最適化の段階ではこれらの指標は既に考慮済みであり、多くの化合物が良い値を示すためこれ らの手法は最適化の進行状況を表現していなかった。



図 3. 理想的な自動化合物最適化システム

そこで、まず化合物の優劣を一つの尺度で評価するための指標を作成することを目指した。リ ード最適化では、より後に合成された化合物の方がより薬らしい化合物である可能性が高いとい う特徴に着目し、化合物の合成順序を評価軸とすることに決定した。

順序を学習する方法としてはランク学習を利用した。ランク学習には pointwise、pairwise、 listwise の3種類があるが、本研究では pointwise と pairwise の手法を検討した。Pointwise 手法で は、各化合物に値を割り当て、その値に対して回帰を行う。Pairwise 手法では、同じプロジェク トの化合物ペアについて、どちらが後に登場するかを分類問題として予測する手法である。

本研究では、武田薬品工業株式会社で過去に実際に行われた創薬プロジェクトのデータを用いた。ある薬候補化合物の最適化過程において合成された化合物の系列を1プロジェクトとし、31 プロジェクト・15097 化合物のデータを利用した。各プロジェクトはそれぞれ標的が異なり、14 プロジェクトを学習のパラメータチューニングに、17 プロジェクトを学習・評価に用いた。化 合物間の Tanimoto 係数を用いた類似度を調べたところ、同じプロジェクト内の化合物間では非 常に類似しているが、異なるプロジェクトの化合物間では一部の例外を除きほとんど類似してい なかった。

各化合物のラベルは合成順序であり、pointwise 手法ではプロジェクト内で最初に現れた化合物が0、最後に現れた化合物が1となるように正規化した順序をラベルとし、pairwise 手法では化合物のペアの合成順序を2クラス分類問題として予測する。各化合物の特徴量は512 bit のECFP6フィンガープリントであるが、bit の順序が入れ替えられており、照合することができないようになっているとのことであった(入れ替え方は全ての化合物間で共通)。各プロジェクトについて、それ以外の16プロジェクトを用いて学習し予測する。評価は予測された合成順序と実際の合成順序の順位相関係数である。

図4に代表的な手法による各プロジェクトの予測結果を示す。検討した手法群のうち最も良かったのはSVMのRBFカーネルを用いた場合(青)であり、平均の順位相関係数は0.344であった。これはp<0.05で有意に正の相関がある結果である。logistic(赤)はロジスティック回帰による pointwise 手法で平均の順位相関係数は0.262、lasso(緑)はl₁正則化つき最小二乗法による pairwise 手法で平均の順位相関係数は-0.041 であった。

興味深いことに、SVM による予測では、化合物自体はほとんど似ていない異なるプロジェクトを学習したにも関わらず、プロジェクト 1、9、12、17 では 0.5 を超える相関が得られており、他のプロジェクトの情報からある程度合成順序が予測できている。一方、プロジェクト 4、8、11、13 などでは無相関であり、合成順序が予測できていない。

残念ながら今回の共同研究では個別の化合物の構造、標的疾患、最適化の目的等の情報は明か されておらず詳細な考察はできなかったが、構造が類似しているわけではない他のプロジェクト のみから合成順序という形である程度化合物の薬らしさを予測できるという結果を得た。今後の 展望としては、例えば標的疾患ごと、最適化の目的ごとなどに細分化した予測モデルを設計する ことや、単なる順序関係だけでなく合成経路の情報を組み込んだ予測を行うことなどが考えられ る。



図 4. 各プロジェクトにおける順位相関係数

4. 創薬における連携のポイント

筆者が考える連携のポイントは、当然のことであるが、連携を開始するまえに十分に計画を練っておき、お互いが納得できる条件を用意することである。また、目的について、新薬を開発するという大目的は共通であると思うが、共同研究の目標は異なることに注意したい。企業は企業内の問題を解決することが目標であることが多いが、アカデミアでは論文や特許を出すことが大きな目標の一つと考える人が多いだろう。論文を出版する際にどのような情報は公開してもよいか、どのような手続きが必要かなどについては事前に議論しておく必要がある。時間スケールについて、特に新規な技術開発を行う場合は、単に既存技術を適用する場合に比べて検討に時間を要することが多い。そのため、互いが納得できるマイルストーンを設定する必要がある。

具体的な研究内容については、事例1のように直接新規の化合物を取得することを目指す研究 の場合、標的疾患・蛋白質に特徴的な性質や、活性はどの程度必要か、現段階で溶解性や毒性は どこまで検討すべきかといった、得たい化合物の傾向に大きく影響する基準は事前に詳細に議論 し情報共有しておくことが重要と考えている。これらの項目は、実際に筆者がバーチャルスクリ ーニングを行った際に見落としてしまった経験があるものである。

事例2のようにシミュレーションや機械学習などを用いた予測手法を開発する研究の場合、筆 者は以下のようなことを検討する。

データの質

一般的に公開されているデータベースに比べ、社内データは質がよいことが多いが、量や網羅 性には欠けることが多い。ここで言う質がよいというのは、学習するデータにノイズが少なく、 予測するデータと似た特徴をもっていることである。例えばある標的蛋白質に対しての IC₅₀ を 予測する場合、同じ化合物の IC₅₀ は同程度の値であることが期待される。社内データで学習を 行う場合、同じ化合物の IC₅₀ が大きく変動することは考えにくい。一方、公開されているデー タベースでは、実験系の違いなどによって大きく異なる値が登録されていることがある。例えば、 多くの実験結果が収載されているデータベースである ChEMBL で Human Cyclooxygenase-2 (COX2)に対する aspirin の IC₅₀ を調べてみると、最小は 2.4 µM、最大は 18 mM と、750 倍の幅が 見られた。このようなデータを学習に用いる必要がある場合には、実際に適用する系と比較しな がらデータの取捨選択を行うことになる。

● データの網羅性

機械学習による予測では、一般的に予測したいデータ点の近傍に学習データがある場合は比較 的予測が容易で、ない場合は予測が難しいとされる。この性質から、予測を行いたい範囲が広け れば広いほど学習に必要なデータ量が多くなる傾向にある。そのため、予測したいデータの範囲 や、学習に利用可能なデータが予測したいデータとどの程度類似しているのかは事前に検討して おく必要がある。

予測精度と解釈性のトレードオフ

解釈性と予測精度は一般にトレードオフの関係にあると言われる。例えば、ディープラーニン グの予測結果を人間が分かるように解釈する方法は盛んに研究されているが[4]、未だ発展途上 である。解釈性をどの程度重視するかは目的によって異なり、スクリーニング目的など精度が重 視される場合もあれば、構造展開に活用するために重要な官能基を明らかにする必要がある場合 もある。事前に将来の活用予定や必要な精度に関してすり合わせを行っておくことで、不要な実 装や検討を削減できる可能性がある。

5. おわりに

大学と企業の連携は今後さらに増加していき、連携の重要度も増していく可能性が高い。また、 これまで「門外不出」であった製薬企業の社内データも、事例2のような制限つきのものから始 まり、近年ではより詳細な情報の公開に踏み切るケースについても聞き及んでいる。これらの連 携を機に、日本の薬学研究や創薬産業が一層活発になることを願っている。

謝辞

忙しい中、本稿執筆に協力して頂いた私の指導教員である関嶋 政和先生に心より御礼申し上 げます。また、本稿を書くきっかけとなった SAR News 編集委員である理化学研究所の幸 瞳様 および私をご紹介頂いた理化学研究所の本間 光貴先生、SAR News 編集委員長である味の素株 式会社の田上 宇乃様に深く感謝致します。

参考文献

- [1] Yoshino, R., Yasuo, N., Hagiwara, Y., Ishida, T., Inaoka, D. K., Amano, Y., Tateishi, Y., Ohno, K., Namatame, I., Niimi, T., Orita, M., Kita, K., Akiyama, and Y., Sekijima M. *In silico, in vitro*, X-ray crystallography, and integrated strategies for discovering spermidine synthase inhibitors for Chagas disease. *Scientific Reports*, 7, 6666 (2017).
- [2] Bickerton, G. R., Paolini, G. V., Besnard, J., Muresan, S. and Hopkins A. L. Quantifying the chemical beauty of drugs. *Nature chemistry* 4, 90-98 (2012).
- [3] Yasuo, N., Watanabe, K., Hara, H., Rikimaru, K., and Sekijima, M. Predicting Strategies for Lead Optimization via Learning to Rank, *IPSJ Transactions on Bioinformatics*, 11, 41-47 (2018).
- [4] Julius, A., Justin, G., Michael, M., Ian, G., Moritz, H., and Been, K. Sanity checks for saliency maps, *Advances in Neural Information Processing Systems 31 (NeurIPS 2018)*.

///// SAR Presentation Award /////

<SAR Presentation Award について >

「SAR Presentation Award」は、構造活性相関シンポジウムにおける若手研究者の発表を奨励し、 構造活性相関研究の発展を促進するため、2010年度に創設された。当初は応募制として審査対 象講演の募集を行った。2012年度からは、正式名称を「構造活性相関シンポジウム優秀発表賞」 (英語表記 SAR Presentation Award)と定めた。

<2018 年度 SAR Presentation Award について >

2018年度は、構造活性相関シンポジウムにおける45歳以下の発表者による全ての一般講演(口 頭発表・ポスター発表)を選考対象とすることとした。

2018 年度 SAR Presentation Award 受賞者:

口頭発表 :	早川大地	(昭和大学 薬学部)
ポスター発表:	浴本 亨	(横浜市立大学 生命医科学研究科)
ポスター発表:	川﨑惇史	(北里大学院 薬学研究科)

受賞者の選考について:

各審査員から提出頂いた審査票を集計し、最高点を獲得した発表者に対し、平成 30 年度第1 回幹事会において協議して、口頭発表より1名、ポスター発表より2名を選出した。口頭発表の 審査は3段階評価の点数方式、ポスター発表の審査は、最大2演題まで選出するという方式で行 った。受賞候補者に受賞の諾否を確認した後、正式に受賞者と決定した。授賞式は、第46回構 造活性相関シンポジウムの閉会式において行った。後日、受賞者には、賞状と副賞を贈呈した。 なお、審査にあたっての審査項目は下記の通りである。

審査項目:

- a) 講演要旨: 講演要旨は発表内容を反映して適切に作成されているか。
- b) 講演資料: スライドは専門領域の異なる参加者にも分りやすく、見易く、かつ発表時間に見 合って適切に作成されているか。
- c) 研究のねらい:研究の背景と目的、先行研究との関係、研究の新規性あるいは有用性が明確 になっているか。
- d) 論理構成の合理性:研究方法が適切であるか、適切な文献資料、データに基づいて議論が進められているか。考察・結論は妥当か。
- e) 質疑応答: 質問等に対し、的確な応答・議論がなされたか。活発な討論がなされたか。

2018年度審査員: 2018年度常任幹事および幹事(第46回構造活性相関シンポジウム参加者)

< 受賞者コメント >

O06

氏 名 早川 大地(はやかわ だいち)

所 属 昭和大学 薬学部

演 題 量子化学計算とプローブ分子に基づいた分子相互作用場の算出とタンパク質---ド相互作用解析への応用

この度は、第46回構造活性相関シンポジウム優秀発表賞(口頭)をいただき、大変光栄に存じ ます。評価をして下さった先生方、並びに構造活性相関部会の先生方に心より御礼申し上げます。 本研究は、タンパク質-薬物分子間で働く分子間相互作用のうち、ハロゲン結合や弱い水素結 合といった、いわゆる"Nonconventional 相互作用"と呼ばれる相互作用に着目した研究です。 これらの相互作用を考慮した分子設計の一助となる in silico 手法の確立を目指し、本研究では、 与えられた化合物が周辺で形成可能な Nonconventional 相互作用を視覚的かつエネルギー的にも 解析できる分子相互作用場の計算法を考案しました。さらに、算出したタンパク質-阻害剤相互 作用エネルギーは実験的な結合親和性と良好な相関を示すことが確認できました。今後は、 Structure -Based Drug Design における活用を目指し、発展させていきたいと考えています。来年 度のシンポジウムにて、再び皆様の前でご報告できることを目指し、今後も研究に取り組んで参 ります。最後に、ご指導・ご助言頂きました昭和大学教授合田浩明先生、有益なディスカッショ ンをしていただいた同助教の渡邉友里江先生に感謝申し上げます。

P08

氏 名 浴本 亨(えきもと とおる)

所 属 横浜市立大学 生命医科学研究科

演 題 分子動力学シミュレーションを用いたビタミン D 受容体リガンド結合ドメイン(VDR) の溶液構造解析

このたびは、ポスター賞をいただき、誠にありがとうございます。ポスター発表時には、ア カデミックの先生方や、製薬企業の方と様々な議論ができ、また、それぞれのご専門の切り口で、 沢山のコメントを頂くことができまして、非常に楽しい時間を過ごすことができました。心より、 御礼申し上げます。

本研究は、VDR の構造変化と、リガンド結合によって制御される活性間の構造活性相関に、 分子動力学シミュレーション(MD)から迫るものであります。VDR の結晶構造解析では、結合 しているアゴニスト/アンタゴニストに関わらず、VDR 構造が本質的に一致しており、活性の構 造的な理解が難しい状況ですが、MD から得られる動的構造変化の情報が助けになるのではない かと考えております。本研究の始まりは、X線小角散乱(SAXS)実験と MD を組み合わせた SAXS-MD 研究(穴見ら、JMC, 59, 7888 (2016))です。現在、ポスト京プロジェクトで、大規模 /高効率な MD 手法が開発されつつあり、その一部を SAXS-MD 研究の枠組みへ適用しました。 今後も、MD の利点を活かしつつ、実験との連携や、創薬科学のモノの見方を取り入れた仕事が したいと思います。今後とも、ご指導ご鞭撻のほど、よろしくお願いいたします。最後に、本発 表の一部は工藤崇文さん(修士学生)との仕事であり、これらの研究を進めるにあたりご指導を 賜りました、池口満徳教授、山根努特任助教、に感謝申し上げます。 P26

氏 名 川﨑惇史(かわさき あつし)

所 属 北里大学院 薬学研究科

演 題 3 次元格子点に基づくタンパク質特性記述子を用いた網羅的なタンパク質-リガンド相 互作用予測手法の開発

この度は、第46回構造活性相関シンポジウム優秀発表賞にご選考を賜り、大変光栄に存じま す。ご評価頂きました審査員の先生方、ならびに、日本薬学会構造活性相関部会の諸先生方に、 深く御礼申し上げます。

本研究は、in silicoにおける網羅的なタンパク質-リガンド相互作用予測において、より精度 の高い相互作用予測を行うことを目的に、CoMFA等で用いられるような3次元格子点に基づく 新規のタンパク質記述子を用いた予測手法の開発を試みたものです。3次元格子点を用いる場合、 構造の最適な重ね合わせと配座変化による影響を考慮しなければいけません。そこで、提案する 記述子では、①配向が異なる複数のタンパク質立体構造から作成した3次元格子点セットに対し て主成分分析を行い、上位の主成分得点を記述子として用いる、②配座変化への感受性を減らす ため、一般的なドッキングなどで用いられる格子点間隔よりも広く格子点を設定することにより、 3次元格子点の問題点を解決し、この記述子を用いた網羅的なタンパク質-リガンド相互作用予 測を試みました。

本研究を進めるにあたりご指導・ご鞭撻を賜りました西端芳彦准教授、ならびに、北里大学 薬学部情報薬学部門、および、創薬物理化学教室の皆様に心より感謝申し上げます。今回このよ うな栄誉ある賞を頂き、有り難く思うと同時に、発表時に皆様から頂いた貴重なご意見を吸収し、 今後の研究に取り組んで参りたいと存じます。今後もご指導のほど、よろしくお願いいたします。

006 量子化学計算とプローブ分子に基づいた分子 相互作用場の算出とタンパク質-リガンド相 互作用解析への応用

○早川大地¹、渡邉友里江¹、合田浩明¹
(¹昭和大·薬)
E-mail: d-hayakawa@pharm.showa-u.ac.jp

1. 背景と目的

構造ベースの薬物設計(SBDD)において薬物分 子と標的生体分子の相互作用の理解は重要であ る。生体分子によるリガンド認識において、水素 結合やイオン結合に加えて、CH/π 相互作用や CH/O 相互作用のような弱い水素結合や、halogen 結合など様々な分子間相互作用が重要な役割を 果たしていることが、先行研究において指摘され ている[1-4]。例えば、阻害剤の H(水素)を I(ヨウ 素)に置換することで、タンパク質/リガンド間に halogen 結合が形成され、IC₅₀ 値が 7 倍に向上した という実験事実が報告されている[5]。また、水素 結合を形成するために官能基を導入すると、脂溶 性などの物性にも影響を与えるため、薬物設計に おいて、水酸基やカルボキシル基の導入が好まし くないこともある。そのような場合に、水素結合 の代わりに halogen 結合や弱い水素結合などの導 入を考えることができれば、薬物設計の可能性が 広がる。以上より、多様な相互作用を考慮できる 分子設計は、創薬において大きな利得をもたらす と考えられる。

このような多様な分子間相互作用を活用した SBDD を推し進めるには、対象化合物が周囲に形 成可能な相互作用、すなわち分子相互作用場 (moleculer interaction field: MIF)を in silico で正し く評価することが、まず第一に必要である。MIF は、Goodford により 1985 年に提唱され、CoMFA 法や CoMSIA 法においても対象化合物の MIF が 記述子として用いられている[6-8]。 従来の MIF は 多くの場合、静電ポテンシャルと 6-12 Lennard-Jones ポテンシャルによって算出される。 すなわち古典近似に基づいている。一方、halogen 結合は分子軌道が関与し、CH/π相互作用は分散力 が大きく効く。したがって、halogen 結合や弱い水 素結合を正しく描写するためには、古典近似では 不十分であり、量子化学計算(QM)による評価が望 ましい。

そこで本研究では、halogen 結合や弱い相互作用 を網羅的に描写できる、MIF 計算法を考案した。 この手法では、対象とする化合物と、その周囲に 配置した4種類の低分子(probe分子)との間の相互 作用エネルギーをQMにより求めることで、MIF を算出する。4種類のプローブ分子を用いること で、特定の相互作用だけでなく、CH/π, CH/Oなど 様々な相互作用の網羅的サンプリングが可能に なる。加えて、MIFと粗視化したタンパク質モデ ルを用いて、タンパク質/リガンド結合エネルギー を見積もる方法を考案した。本手法では、量子化 学的寄与の大きな相互作用を比較的低コストで 評価できるので、in silico screeningにおける多数 の候補化合物のランク付けにも適用できると期 待される。

2. 方法

2.1. QM 計算とプローブ分子による MIF 計算

MIF 計算の手順を図1に示す。対象化合物の周 囲に定義した格子点に probe 分子を配置し、化合 物を構成する原子のうち格子点から最も近い原 子に対しベクトルを定義した(図 1ab)。格子点は、 1Å間隔で定義した。probe分子に定義した分子軸 が格子点上の定義したベクトルに一致するよう に probe 分子を配向し、得られた構造に対し ωB97XD/6-31G(d,p)レベル(with BSSE correction)で の密度汎関数法(DFT)による OM 計算を実行した (図 1cd)。得られたエネルギー値をその格子点にお ける相互作用エネルギー値とした。この手順を繰 り返すことで MIF を得た(図 1e)。次に、probe 分 子として用いた低分子の選定について示す。図1 に示すように、格子点上に配置した NH₃ 分子の lone pair をリガンド方向に配向して相互作用エネ ルギーを算出すれば、水素結合受容性の化学種に よってリガンド分子周辺に形成される相互作用 の相対位置と大きさを得ることができる。すなわ ち、性質の異なる複数の低分子化合物を probe 分 子として用いて、それぞれ MIF を計算することで、 対象化合物の周囲に形成可能な相互作用情報を、 相互作用相手となる化学種の特性ごとに得るこ とができる。一般に、タンパク質を構成する原子

団は、水素結合供与性(HD)、水素結合受容性(HA)、 親油性(LP)、芳香属性(AR)の4種類に大別するこ とができ、この分類に基づいたモデリング手法は、 先行研究において多くの成功をおさめている [9,10]。したがって、probe 分子としてこれら4種 の原子団を代表する低分子を用いることで、タン パク質/リガンド系における重要な相互作用を網 羅できると考えられる。本研究では、H₂O、NH₃、 CH₄、および benzene をそれぞれ HD、HA、LP、 および AR の代表分子として用いた。また、H₂O, NH₃, CH₄, およびbenzeneは、それぞれ HSAB(Hard and Soft Acids and Bases)則における Hard acid, Hard base, Soft acid,および Soft base に該当する [11]。通常の水素結合は hard acid と hard base 間の 相互作用、CH/O と CH/N は Soft acid と hard base 間の相互作用、CH/πは Soft acid と Soft base 間の 相互作用であると言われている[2,11]。このことか らも、以上4種の probe 分子によって、現在報告 されている様々な分子間相互作用の多くを網羅 的にサンプリングできる。全ての量子化学計算は Gaussian09(Rev.D)を、分子の配置・配向は in-house code を用いた。



図1MIF計算の手順。化合物周囲へのGrid点の 生成(a), Grid点上へのプローブ分子(一例として NH3を示す。)の配置とGrid点から最も近い原子 へのベクトルの定義(b)。プローブ分子の配向(c) と配向されたプローブ分子(d)。各グリッド点上で の相互作用計算を繰り返すことで得られた MIF のヒートマップ表示(e)。

2.2. MIF に基づいたタンパク質/リガンド相互

作用エネルギーの算出

本手法では、先ず、タンパク質/リガンド複合体 構造からリガンドの結合配座を抽出し、抽出した リガンドについて MIF を算出する。次に、タンパ ク質構造を5種類の特性球により粗視化表現する [9,10]。すなわち、タンパク質を構成する原子団を その物理化学特性に基づき、HD、HA、DA(HA and/or HD), LP, AR の5種類に分類し、タンパク質 構造上にこれら5種類の特性球を配置する。そし て、特性球表現されたタンパク質構造に MIF を重 ね合わせ、特性球と MIF との重なりを評価する。 例えば、Probe として NH₃を用いて算出した MIF の相互作用可能領域(相互作用エネルギーがマイ ナスとなる領域)とタンパク質側の特性球 HA の 重なる部位は、タンパク質とリガンドが水素結合 あるいは halogen 結合を形成していると判断でき る(図2)。



図 2. リガンドについて算出した MIF(プロー ブ分子として NH₃を利用)と特性球表示したタ ンパクとの重なり。MIF が特性球 HA と重な る部位を矢印で示している。

このように、MIF と特性球とが重なる点をリガンドとタンパク質の相互作用点と捉え、各特性球とリガンドとの相互作用エネルギー(*E_{s,i}*)を以下の式1より算出した。

$$E_{s,i} = \sum_{j} E_s(j) \delta(\mathbf{R}_{s,i} - \mathbf{R}_j), \qquad s = HD, HA, LP, AR$$
(1)

ここで、 $E_s(j)$ は、格子点jにおける MIF エネルギーである。 $\mathbf{R}_{s,i}$ と \mathbf{R}_j は、それぞれ特性球 s と格子 点の位置ベクトルである。 δ はデルタ関数である が、実際の計算では特性球から半径 1.0Å以内の格 子点のうち最も近い格子点について δ =1 とし、そ れ以外では δ =0 とした。DA の特性球については、 HD および HA の MIF について $E_{s,i}$ をそれぞれ算 出し、エネルギー的に安定な方に帰属するものと した。リガンドとタンパク間の相互作用エネルギーは、

$$E_{\text{int}} = \sum E_{HD,i} + \sum E_{HA,i} + \sum E_{DA,i} + \sum E_{LP,i} + \sum E_{AR,i}$$
(2)

で見積もられる。式2の各項は、相互作用エネル ギーに対する特性球の種類ごとの内訳である。特 性球の配置は、参考文献9と10を参考にして独 自に作成したプログラムにより実施した。

2.3.計算対象

今回の計算対象として、Casein Kinase 2 の系を 用いた。Casein Kinase 2 に対しては、halogen を含 む複数の阻害剤が知られており、それぞれについ て複合体結晶構造も解かれている[12-14]。そして、 halogen が関与する相互作用についても議論され ている[12-14]。したがって、先ず、本手法で halogen が関与する相互作用を同定できるかの検証に役 立つ。また、阻害活性値も報告されており、算出 された相互作用エネルギーとの相関を調べるこ ともできる。具体的には、表 1 に示す Br を含む 7 種類の阻害剤を計算対象とした。

表1 計算対象とした CK2 阻害剤



3. 結果とまとめ

一例として、K25 に対して算出した MIF を

CK2/K25 複合体構造に重ね合わせた図を図3に示 す。図3では、QM計算により得られた各格子点 の相互作用エネルギー値が-1 kcal/mol以下の点を surface モデルで示しており、この領域は好ましい 相互作用を形成できる領域と言える。



図 3. K25 に対して算出した MIF を CK2/K25 複合体構造に重ね合わせた図。MIF はプロー ブ 分 子 と し て H₂O(a), NH₃(b), CH₄(c), Benzene(d)を用いて計算された。相互作用エネ ルギーが-1kcal/mol以下の格子点を surface 表 示で示している。

図 3a は、probe 分子として H₂O(HD)を用いた MIF を CK2/K25 複合体構造に重ねた図である。MIF により予測される水素結合ドナーの相互作用可 能領域に、Val116 と Asn118 が含まれることがわ かる。これは、K25のBrとVal116の主鎖 N-H お よび Asn118 の側鎖 NH2の間の水素結合の形成を 示唆している。このように、MIF とアミノ酸残基 の重なりから、水素結合を視覚的に捉えることが できる。probe 分子として NH₃を用いた計算結果 を図 3b に示す。MIF により予測される水素結合 アクセプターの相互作用可能領域に、Val116のカ ルボニル酸素が含まれることがわかる。この重な りから、C=O/Br 間の halogen 結合を適切に同定で きる。また、相互作用形成可能領域に、Arg47 の カルボニル酸素, Asp175 のカルボキシル基、およ び Asn161 の側鎖カルボニル酸素が含まれること がわかる。このことから、この複合体における CH(K25 側)と O(CK2 側)の間の CH/O 相互作用を 同定できる。次に、Probe 分子として CH₄を用い た結果を図 3c に示す。相互作用形成可能領域に、 Val53, Ile66, Lys68, Met163 および Ile174 のアルキ ル側鎖が含まれ、アルキル鎖(CK2 側)と芳香環 (K25 側)の間の CH/π 相互作用を同定できる。最後 に、probe 分子として benzene を用いた計算結果を 図 4d に示す。相互作用形成可能領域に、Phe113 の芳香環が含まれることがわかり、芳香環(CK2 側)と Br(K25 側)の間のハロゲン/π結合が同定で きる。以上のように、MIF を CK2/inhibitor 複合体 構造に重ね合わせることで、タンパク/リガンド間 に形成される様々な相互作用を見いだせること が確認できた。



図 4. MIF を用いて算出した CK2/阻害剤間の 相互作用エネルギーと log(Ki)(実験値)との相 関。

続いて、式1と2より、算出した MIF に基づい て評価した各阻害剤と CK2 の間の相互作用エネ ルギーと log(Ki)(実験値)の相関を図4に示す[12]。 K22とTBSは相互作用エネルギーが過大評価され、 活性値の序列から大きく外れているが、その他の 化合物では活性値と良好な相関が見られる。この ことから、本手法は、タンパク質-リガンド間相互 作用を評価する新規手法としての可能性を十分 有していると考えられる。K22 と TBS は負電荷を 持つため、相互作用エネルギーが過大評価される と考えられる。このような電荷による過大評価は、 リガンドの溶媒和エネルギーを評価し、全相互作 用エネルギーから差し引くことで改善できると 考えられる。また、CK2/阻害剤複合体構造でみら れる、CK2 と阻害剤の間の架橋水の影響も考慮す る必要がある。これらの検討結果については、当 日詳細に報告する。

4. 謝辞

本研究は、JSPS 科研費 JP18K14887 の助成を受け たものです。

5. 参考文献

1. Auffinger P, Hays F A, Westhof E, Ho P S, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **48**, 16789-16794(2004),

2. Takahashi O, Kohno Y, Nishio M, *Chem. Rev.* **110**, 6049-6076(2010),

3. Brandl M, Weiss M S, Jabs A, Sühnel J, Hilgenfeld R, *J. Mol. Biol.* **307**, 357-377(2001),

4. Derewenda Z S, Lee L, Derewenda U, *J. Mol. Biol.* **252**, 248-262(1995),

5. Xu Z, Liu Z, Chen T, Chen TT, Wang Z, Tian G, Shi J, Wang X, Lu Y, Yan X, Wang G, Jiang H, Chen K, Wang S, Xu Y, Shen J, Zhu W, *J. Med. Chem.* **54**, 5607-5611(2011),

6. Goodford P J, J. Med. Chem. 28, 849-857(1985),

7. Cramer R D III, Patterson D E, Bunce J D, J. Am. Chem. Soc. **110**, 5959-5967(1988),

8.Klebe G, Abraham U, Mietzner T, J. Med. Chem. 37, 4130-4146(1994),

9. Iwase K, Hirono S, J. Comput. -Aided Mol. Des. 13, 499-512(1999),

10. Yamaotsu N, Hirono S, J. Comput. –Aided Mol. Des. in Press,

11. Pearson R G, J. Am. Chem. Soc. 85, 3533-3539(1963),

12. Mazzorana M, Pinna L A, Battistutta R, *Mol. Cell. Biochem* **316**, 57-62(2008),

13. Battistutta R, Mazzorana M, Sarno S, Kazimierczuk Z, Zanotti, G, Pinna L A, *Chem. Biol.* **12**, 1211-1219(2005),

14. Battistutta R, Mazzorana M, Cendron L, Bortolato A, Sarno S, Kazimierczuk Z, Zanotti G, Moro S, Pinna L A, *ChemBioChem* **8**, 1804-1809(2007),

P08 分子動力学シミュレーションを用いたビタミン D 受容体リガンド結合ドメインの溶液構造解析

o浴本亨¹、工藤崇文¹、山根努¹、池口満徳^{1,2}
 (¹横浜市大·生命医、²理研·MIH)
 E-mail: ekimoto@yokohama-cu.ac.jp

1. 背景と目的

ビタミン D 受容体(VDR) は核内受容体スー パーファミリーに属する、リガンド依存的に特定 の遺伝子発現を制御する転写因子である。VDR は 活性型ビタミン D(1a,25-dihydroxyvitamin D₃)と 結合しカルシウム代謝の遺伝子を制御するが、他 にも、細胞の分化誘導と増殖抑制、免疫調節等に 関係していることが知られている。核内受容体は 様々な疾病と関係しており、代表的な創薬標的蛋 白質として知られている。例えば、VDR は骨粗鬆 症の標的蛋白質であり、複数の製薬企業から治療 薬が上市されている。しかし、VDR を標的とした 治療薬はアゴニストであり、アンタゴニストの治 療薬はない。VDR の機能亢進が原因と考えられて いる大理石病や骨パジェット病の治療へは、アン タゴニスト活性を持つ医薬品化合物の開発が求 められている。

核内受容体の機能発現メカニズムは、結晶構造 解析や種々の実験により明らかになってきてい る。核内受容体は DNA 結合ドメインとリガンド 結合ドメイン(LBD)から成る。機能発現は複数 のイベントにより達成される。リガンド結合前の 不活性型(アポ体)では、LBD のヘリックス 12 (H12) がフレキシブルに揺らいだ構造をとって いる。LBD ヘアゴニストが結合すると H12 周囲 の構造変化が起こり、Activation function 2 surface (AF-2 表面)と呼ばれる特定のコンフォメーショ ンをとる。次に、パートナー分子と二量体化し、 標的遺伝子への結合、補助因子であるコアクチベ ーターのリクルートが起こり、標的遺伝子の発現 を制御する。アゴニスト/アンタゴニスト活性の違 いは、AF-2 表面のコンフォメーションの違いで理 解されている。例えば、エストロゲン受容体の結 晶構造解析によると、アンタゴニストが結合した LBDの構造では、H12の配置が活性型と大きく異 なり、AF-2 表面を形成しておらず、コアクベータ ーをリクルートできない。

アゴニスト/アンタゴニスト活性の違いには、 H12周囲のコンフォメーションの違いが鍵となる が、VDR の結晶構造ではアゴニスト/アンタゴニ ストに関わらず、活性型構造しか得られていない。 図1にラットのアゴニスト(活性型ビタミンD) 結合LBD(緑、PDBID: 2ZLC [1])とアンタゴニ スト結合LBD(シアン、PDBID: 2ZXM [2])の結 晶構造を示す。両者の結晶構造は本質的に一致し ている。



図 1: VDR 結晶構造の比較

特に、アンタゴニスト結合 LBD の H12 はアゴニ スト結合 LBD のものと一致しており、この結晶 構造からアンタゴニスト活性が説明できない。ア ンタゴニスト結合 LBD の結晶構造は4例(JB (PDBID: 2ZXM [2])、TEI9647 (PDBID: 3A2H [3])、 ADTT (PDBID: 2XMI [4])、ADMI4 (PDBID: 2ZMJ [4]))が報告されているが、どの結晶構造におい ても、H12 は本質的に活性型コンフォメーション と一致している。さらに、VDR アポ体の結晶構造 は報告されておらず、リガンド結合に伴う不活性 型から活性型へのコンフォメーション変化につ いて知見がなかった。

穴見ら[5]によって、VDR-LBDのアポ体とアン タゴニスト複合体について、合理的な構造モデル が報告されている。結晶構造解析では、アポ体の フレキシブルな構造や、アンタゴニスト複合体の H12のコンフォメーションを捉えることが難しい と考えられるため、溶液中の概形を捉えられる X 線小角散乱(SAXS)実験が行われた。一般に、 SAXS データは低解像度なため、SAXS データ単 独で原子レベルの構造を得るには困難があるが、 彼らは MD から得られる高分解能な溶液構造から 求められる理論散乱曲線と実験散乱曲線を比較 することで、実験散乱曲線と一致した、原子レベ ルの溶液構造モデルを得ることに成功している。



図 2: MD-SAXS による溶液構造モデル[5]

アポ体の溶液構造モデル(図2A)では、H12 が 部分的にほどけており、かつ、ヘリックス11(H11、 図2A、マゼンタ)が H10/11 のキンクで折れ曲が り、外側へ開いた構造になっていた。リガンド結 合ポケット入口が開いた、アポ体として合理的な 構造であった。アンタゴニスト複合体の溶液構造 モデル(図2B)では、H12(図2B、シアン)が 部分的にほどけ、H11 と H12 間のループ

(Loop11-12)がフレキシブルな構造となっていた。 H12 周囲は AF-2 表面を形成しておらず、さらに、 H12 の位置がコアクベーターの結合位置に存在し、 コアクベーターをリクルートできない、アンタゴ ニスト活性を説明できる構造であった。上記の、 アンタゴニストは Loop11-12 を不安定化させると いう知見をもとに、リガンド **5b** が設計され結晶 構造解析が行われた結果、H11 が不規則化した結 晶構造 (PDBID: 5XPL [6]) が得られている。H12 付近のコンフォメーションが異なる、新しいタイ プの結晶構造である。

MD-SAXS 相関構造解析から、アポ体とアンタ ゴニスト複合体の機能が合理的に説明できる溶 液構造モデルが得られてはいるが、実験散乱曲線 には溶液中のコンフォメーション変化の情報が 含まれており、構造アンサンブルの情報も明らか にすることができるはずである。また、構造と活 性間の相関モデルを得るには、アンタゴニスト結 合が、VDR-LBD の構造変化や揺らぎへどのよう に影響するのか、リガンドとタンパク質間の相互 作用の観点で明らかにする必要がある。本研究の 目的は、MD-SAXS 相関構造解析を拡張した、 SAXS 実験散乱曲線と一致した構造アンサンブル モデルを得る手法の開発と、揺らぎを考慮したリ ガンドとタンパク質間の鍵となる相互作用を抽 出する手法の開発である。

2. 方法

これまでの MD-SAXS 相関構造解析のプロト

コルを示す。(図3)複数の初期構造を用意し、それぞれの短い MD シミュレーションを行う。MD



図 3: MD-SAXS 相関構造解析法の概略

は SAXS 実験と同じ溶媒条件で行い、溶液中のス ナップショットを得る。各スナップショットの理 論散乱曲線を求め、実験散乱曲線と比較する。実 験散乱曲線と一致した理論散乱曲線を示すスナ ップショットを探索することで、溶液構造モデル が得られる。

単独の MD シミュレーションから構造アンサン ブルをサンプリングするには、長時間の計算を行 うしかないが、MD 専用機でないと困難がある。 そこで、複数のMDシミュレーションを統合して、 理論的に長時間のダイナミクスを推定できるマ ルコフ状態遷移モデル(MSM) [7]を使ったプロ トコルを採用した。MSM では、構造クラスタリ ングによって状態を定義し、多数の短い MD トラ ジェクトリを状態間遷移として解析する。すると、 各状態間がつながったネットワークを求めるこ とができる。各状態間の遷移はマルコフ的である と仮定し、遷移確率行列を使って、ある状態の滞 在しやすさや、状態間遷移のしやすさを評価する。 従って、各状態における平衡分布が求まれば、各 状態の理論散乱曲線に重みをかけて平均をとる ことができる。(図4)得られた平均理論散乱曲線



図 4: MSM-SAXS 相関構造解析の概要

が実験散乱曲線と一致するかを比較すれば、MSM

から得られる構造アンサンブルモデルが妥当か 評価できる。拡張した MD-SAXS 相関構造解析を MSM-SAXS 法と呼ぶ。

MD シミュレーションの初期構造は、MD-SAXS 相関構造解析で用いた構造を用いた。アポ体の初 期構造はアンタゴニスト複合体 (PDBID: 2ZXM [2])の結晶構造からリガンドを抜いた構造を採用 した。H12 がほどけた構造を、hPPARa にアンタ ゴニストと corepressor が結合した結晶構造

(PDBID: 1KKQ [8])からホモロジーモデリング により作成した。アンタゴニスト複合体の初期構 造は、JB が結合した結晶構造 (PDBID: 2ZXM [2]) を用い、JBを3へ変更した。H12部分についても、 アポ体同様、ほどけた構造へモデリングした初期 構造を採用した。MDでは、50 ps ごとにスナップ ショットを出力させ、理論散乱曲線と一致度χの 計算は CRYSOL [9]で行った。

3. 結果とまとめ

アポ体、及び、アンタゴニスト複合体において、 それぞれ 500 本の独立な MD を実施し、トータル でアポ体 17 µs、アンタゴニスト複合体 8.5 µs のト ラジェクトリデータから MSM を構築した。平均 理論散乱曲線は、1000 個のミクロ状態で構築した MSM から求めた。各状態において、代表構造の 理論散乱曲線を求め、存在確率で重みをかけて全 ミクロ状態分足しあわせた。ミクロ状態のネット



図 5: アポ体の MSM-SAXS 解析

ワークでは状態の数が多いため、10個のマクロ状態の MSM へ粗視化し、状態間ネットワークを求めた。アポ体の結果を図5に、アンタゴニスト複合体の結果を図6に示す。アポ体の平均理論散乱曲線(図5)では、中角領域の一致が悪かったが、アンタゴニスト複合体(図6)では、平均理論散乱曲線が実験散乱曲線とよい一致を示していた。

構造アンサンブルの様子を調べるため、ミクロ 状態の存在確率(平衡分布)とχ値の関係を解析 した。アポ体とアンタゴニスト複合体で構造アン サンブルの様子が異なることがわかった。アポ体 の構造アンサンブル中では、低い存在確率を持っ た多数のミクロ状態が存在していたが、アンタゴ



図 6: アンタゴニスト複合体の MSM-SAXS 解析

ニスト複合体では、高い存在確率を持つミクロ状 態が存在していた。この特徴は、マクロ状態のネ ットワーク(図 5、6)においても、反映されて いた。アンタゴニスト複合体の場合、存在確率の 高い構造の理論散乱曲線が実験散乱曲線とよい 一致をしていたため、平均理論散乱曲線も実験散 乱曲線と一致する結果となっていた。アポ体では、 実験散乱曲線とよい一致を示すミクロ状態も存 在していたが、その存在確率が低いため、平均を とると実験値から外れる結果となっていた。

アポ体のサンプリングについて検証が必要で はあるが、アポ体とアンタゴニスト複合体におけ る構造アンサンブルの様子の違いは、アンタゴニ ストの結合によって VDR-LBD の揺らぎが抑制さ れていることを示している。アンタゴニスト複合 体については、MSM-SAXS 法によって、実験散 乱曲線と一致する構造アンサンブルが得られた。

構造アンサンブルに含まれている大量の構造 データから、リガンドとタンパク質間の鍵となる 相互作用を抽出する手法開発を行った。 MSM-SAXS 法で求めたアンタゴニスト複合体の 構造アンサンブルでは、約17万スナップショッ トの構造が得られたが、その大量のデータからリ ガンドのポーズ変化と VDR-LBD の構造変化の関 係を明らかにし、リガンドがタンパク質へ構造的 に与える影響を評価する必要がある。相互作用を 抽象化して解析する方法として、インシリコスク リーニング研究で定評のある、ファルマコフォア モデルによる解析を採用した。構造アンサンブル の構造を用いることで、揺らぎを考慮した、動的 ファルマコフォアモデルを得ることができる。

動的ファルマコフォアモデルの性能を評価す るため、MD-SAXS 相関構造解析で用いた、スナ ップショット数が少ない構造アンサンブルで解 析を行った。ファルマコフォアモデルは LigandScout [10]で作成した。動的ファルマコフォ アモデルの例を図7に示す。1スナップショット で作成したファルマコフォアモデル(図7A)と 比較



図 7: ファルマコフォアモデル

して、構造アンサンブルから作成した動的ファル マコフォアモデル(図7B)は、相互作用のフィー チャー(図7黄色の球:疎水性相互作用、矢印: 水素結合)が構造揺らぎを反映して、分布を持っ て表現されていることがわかる。

MD-SAXS 相関構造解析で実験散乱曲線と一致 した構造を含む構造アンサンブルで構築したモ デルと、アゴニスト複合体結晶構造から行った MD から作成したモデルを比較した結果、両者に 違いがあることがわかった。アンタゴニスト複合 体では、H7 と H10 の疎水性相互作用があり、H11 と H12 との相互作用が見られなかった。一方、ア ゴニスト複合体では、H7 や H10 との疎水性相互 作用はなく、H12 との疎水性相互作用と水素結合 があった。アンタゴニストとして 22S 位にブチル 基を持つリガンドを採用しているため、他のリガ ンド骨格における検討も必要ではあるが、アゴニ ストとアンタゴニストを区別できるモデルを得 ることができた。

MSM-SAXS 法による溶液構造アンサンブル探 索と、動的ファルマコフォアモデルによる構造活 性相関解析プロトコルの開発を行ったが、それぞ れに課題があることがわかった。SAXS 実験から は、1 次元の散乱曲線のみ得られるため、アンサ ンブルフィットを行う際には過剰適合に注意し なければならない。MSM とは別の理論体系から 求めた構造分布と比較し、妥当性を評価する交差 検証を行う必要がある。動的ファルマコフォアモ デルでは、対象とする構造アンサンブルに結果が 依存してしまう。従って、鍵となる H12 周囲のサ ンプリングが効率よく実施できる計算プロトコ ルを確立しなければならない。これらの課題を解 決できれば、VDR-LBD の構造揺らぎを考慮した リガンド設計が可能になると期待できる。

4. 謝辞

This work was financially supported by "Priority Issue on Post-K computer" (Building Innovative Drug Discovery Infrastructure Through Functional Control of Biomolecular Systems) (Project ID: hp150269, hp160223, hp170255, and hp180191) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT); by the Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research (BINDS) (Project ID: JP17am0101109) from Japan Agency for Medical Research and Development (AMED); by Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas (Grant Number 18H05426) from MEXT and by RIKEN Dynamic Structural Biology Project. We further thank collaborators, Dr. Yasuaki Anami^a, Dr. Nobutaka Shimizu^b, Dr. Daichi Egawa^a, Dr. Toshimasa Itoha, and Prof. Keiko Yamamotoa (^aShowa Pharmaceutical Univ., ^bHigh Energy Accelerator Research Organization).

5. 参考文献

1. Shimizu M, Miyamoto Y, Takaku H, Matuo M, Nakabayashi M, Masuno H, Udagawa N, DeLuca H.F, Ikura T, Ito N. *Bioorg. Med. Chem.* **16**, 6949-6964 (2008),

2. Inaba Y, Yoshimoto N, Sakamaki Y, Nakabayashi M, Ikura T, Tamamura H, Ito N, Shimizu M, Yamamoto K. *J. Med. Chem* **52**, 1438-1449 (2009),

3. Kakuda S, Isizuka S, Eguchi H, Mizwicki M.T, Norman A.W, Takimoto-Kamimura M. *Acta. Crystallogr. Sect. D* **66**, 918-926 (2010),

4.Nakabayashi M, Yamada S, Yoshimoto N, Tanaka T, Igarashi M, Ikura T, Ito N, Makishima M, Tokiwa H, DeLuca H.F, Shimizu M. *J. Med. Chem* **51**, 5320-5329 (2008),

5. Anami Y, Shimizu N, Ekimoto T, Egawa D, Itoh T, Ikeguchi M, Yamamoto K. *J. Med. Chem.* **59**, 7888-7900 (2016),

6. Kato A, Yamao M, Hashihara Y, Ishida H, Itoh T, Yamamoto K. *J. Med. Chem.* **60**, 8394-8406 (2017),

7. Husic B.E, Pande V.S. J. Am. Chem. Soc. 140, 2386-2389 (2018),

8. Xu H.E, Stanley T.B, Montana VG, Lambert M.H, Shearer B.G, Cobb J.E, Mckee D.D, Galardi C.M, Plunket K.D, Nolte R.T, Parks D.J, Moore J.T, Kliewer S.A, Willson T.M, Stimmel J.B. *Nature* **415**, 813-817 (2002),

9. Svergun D, Barberato C, koch M.H. J. Appl. Crystallogr. 28, 768-773 (1995),

10. Wolber G, Langer T. J. Chem. Inf. Model 45, 160-169 (2005).

P26 3次元格子点に基づくタンパク質特性記述子を用いた網羅的なタンパク質-リガンド相互作用予測手法の開発

 ○川崎惇史、西端芳彦 (北里大·薬)
 E-mail: nishibatay@pharm.kitasato-u.ac.jp

1. 背景と目的

*in silico*において、関連する標的タンパク質と 多数の化合物との間の相互作用を網羅的にモデ リングするプロテオケモメトリック (proteochemometric, PCM)モデルがある。PCMモデ ルは、タンパク質-リガンド相互作用空間をモデル 化できるため、複数のタンパク質を同時に制御す る医薬品の作用機序の解明や、選択性の高い医薬 品化合物の設計、ドラッグリポジショニングなど、 様々な分野にてポリファーマコロジーを考慮し た研究に用いられている。このモデルは、特にプ ロテインキナーゼファミリーに多く適用されて いる[1-3]。これらの研究では、タンパク質の記述 子にアミノ酸配列から計算した記述子を用いて いる。

一方、特定の標的タンパク質に対する新規化合物の活性を予測するために広く用いられている 手段の1つとして、定量的構造活性相関(QSAR) モデルがある。QSARモデルでは、化合物の構造 情報や物理化学的性質を記述子として生物活性 との相関を求めている。代表的な手法の1つに Cramer らにより提案された CoMFA(Comparative Molecule Field Analysis)法[4]がある。CoMFA 法は、 化合物の周囲に一定間隔で格子点を設置し、この 格子点に配置するプローブ原子と化合物間の相 互作用エネルギーを計算する。そして、このエネ ルギーを記述子として相関モデルを構築する。こ のようにすることで、古典的な QSAR よりも精度 の高い相関モデルを構築できる。

我々は、in silico における網羅的な相互作用予 測に、タンパク質の立体情報と物理化学的性質を 用いることで、より精度の高い相互作用予測が行 えるのではないかと考え、これらを考慮している タンパク質周辺の格子点での相互作用エネルギ ーを用いた新規の記述子を検討した。しかし3次 元格子点は、網羅的活性予測に用いるには以下の ような問題点があった。

通常、タンパク質の重ね合わせを必要とする。
 配座変化に影響を受けやすい。

そこで我々は、3次元格子点をそのまま相互作

用予測に用いるのではなく、配向が異なる複数の 立体構造から作成した3次元格子点セットに対し て主成分分析(Principal Component Analysis, PCA) を行い、その上位の主成分得点を記述子として用 いること、さらに、配座変化に感受性が低くなる ようにするために一般的なドッキングや CoMFA で用いられる格子点間隔よりも広く設定するこ とにより、3次元格子点の問題点を解決できるの ではないかと考えた。我々はこれまでの研究で、 これらの解決策の検証を行い、3次元格子点に基 づくタンパク質記述子がタンパク質のあらわな 重ね合わせを必要としないこと、タンパク質の配 座変化に対して頑健であることを確認した[5]。

本研究では、開発したタンパク質の記述子を実際に網羅的なタンパク質-リガンド相互作用予測 に適用できるのか検証を行った。

2. 手法

2.1 タンパク質の3次元格子点の作成

タンパク質の3次元格子点には、ドッキングプ ログラムである AutoDock[6]で用いられる格子点 データを用いた。AutoDockではタンパク質周辺に 一定間隔で格子点を配置し、格子点ごとの相互作 用エネルギーを計算する。

2.2 タンパク質の記述子の作成

我々は、次のような手順で3次元格子点に基づ く記述子を計算した。

まず、各々のタンパク質の立体構造を各軸方向 にランダムに回転させ、様々な配向の立体構造を 作成し、それぞれの立体構造ごとに 2.1 のように 格子点ごとの相互作用エネルギーを計算する。全 てのタンパク質の相互作用エネルギーに対して、 PCA を行い主成分得点の計算を行った後、これら を記述子とした(図 1)。

2.3 モデルの構築

2.2 の手順で作成したタンパク質の記述子と別 途計算した化合物の記述子を組み合わせ、これら を PCM モデルの説明変数として用いる。

3. 検証

提案手法が、複数の標的タンパク質に対する化 合物の相互作用の有無の予測に用いることがで きるか検証した。

3.1 データセット

選択的なキナーゼ化合物の開発を促進するために GSK から ChEMBL に提供された PKIS デー タセット[7]を用いた。このデータセットは、454種のキナーゼ(アミノ酸変異体を含む)に対する 367化合物のアッセイデータ(%Inhibition at 0.1 μ M, 1 μ M)から成る。本研究では、%Inhibition at 1 μ M のアッセイデータを用いた。%Inhibition のデータが無いあるいは値が 0 未満の場合は 0 と し、%Inhibition が 50 以上を Active、30 未満を Inactive とラベル付けした。

3.2 モデルの構築

表1のような複数の標的タンパク質に対する 相互作用の有無を予測する二値分類モデルを構 築した。なお、データセットに含まれる全てのタ ンパク質を用いた組み合わせでは計算コストが 膨大になってしまう。本研究では、データセット からタンパク質を絞ったうえで、絞り込んだタン パク質の組み合わせ数のモデルを構築した。

		$\land \circ \circ \circ \circ$
構築モデルの 標的数	用いたタンパク質の名称	検証セットの 組み合わせ数
2標的	ABL1,CDK2,EGFR,KIT,P38a,SRC(6種類)	₆ C ₂ =15通り
3標的	ABL1,CDK2,EGFR,KIT,P38a,SRC(6種類)	₆ C ₃ =20通り
5標的	ABL1,CDK2,EGFR,KIT,LCK,P38a,SRC(7種類)	₇ C ₅ =21通り
10/緸的	ABL1,CDK2,EGFR,IGF1R,KIT,LCK,P38a,	C -11:mp
IU(宗时)	DKC_R1 DIK1 SPC DOCK1(11 種類)	11C10-11通り

表1 検証に用いたタンパク質と組合せ数

タンパク質の記述子は、開発した3次元格子点に基づく記述子を用いた。記述子は、PDBに登録 さているX線結晶構造に対して、(1)1標的あたり 100構造を作成、(2)格子点間隔を5Å、(3)使用す る相互作用エネルギーに静電的相互作用エネル ギーと脱溶媒和エネルギー、(4)累積寄与率が95% を越えるまでの主成分得点を用いるという条件 で作成した。化合物の記述子は、RDKit[8]で計算 した ECFP4(1024 次元)に対して PCA を行い、累 積寄与率が 95%を越えるまでの主成分得点を用 いた。これらの記述子を組み合わせ、説明変数と した。目的変数は Active、Inactive ラベルとした。 これらの比率が等しくなるように化合物を5つに 分割した。この分割したデータを用いて 5-fold CV を行った。

判別は Support Vector Machine(SVM)を用いた。 評価には Accuracy、Kappa 係数、ROCAUC を用いた。

4. 結果

ここでは、5 種類のタンパク質を用いた相互作 用の有無の予測(21 通り)の平均を示す(表 2)。

Accuracy	Kappa	ROCAUC
0.938	0.712	0.844

現在、網羅的なタンパク質-リガンド相互作用 予測に用いるための記述子の最適な条件を調整 中である。これらの調整結果や他の標的数での予 測結果の詳細は、当日の発表で紹介する。

5. 参考文献

[1] M. Lapins, J.E. Wikberg, *BMC Bioinfo.* **11**, 339(2010)

[2] M. Fernandez *et al.*, *J. Chem. Inf. Model.* **50**, 1179-1188(2010)

[3] V. Subramanian *et al.*, *J. Chem. Inf. Model.* **53**, 3021-3030(2013)

[4] R.D. Cremer *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 5959-5967(1988)

[5] 川崎惇史,山崎広之,西端芳彦,第40回ケモインフォマティクス討論会講演要旨集,66-68(2017)
[6] G.M. Morris *et al.*, J. Comput. Chem. 30, 2785-2791(2009)

[7] Published Kinase Inhibitor Set.

https://www.ebi.ac.uk/chembldb/extra/PKIS/

[8] RDKit:Open-Source Cheminformatics Software. https://www.rdkit.org/



図1 タンパク質の記述子の作成方法

///// Activities /////

第46回構造活性相関シンポジウム開催報告

大阪大学大学院薬学研究科 高木達也

第46回構造活性相関シンポジウム(主催:日本薬学会構造活性相関部会、協賛: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、有機合成化学協会、近畿化学協会、大阪大学大学院 薬学研究科)は、大阪大学吹田キャンパスの銀杏会館で、12月5、6日(水、木)の日程で行われ、無事 盛会のうちに終えることができました。

第46回構造活性相関シンポジウムが大阪開催で私が実行委員長に指名されるという話が持ち上がったのは5-6年近く前だったと思います。私の記憶違いでなければ、この時は、久しぶりに情報化学討論会(現ケモインフォマティックス討論会;日本化学会情報化学部会主催)との共同開催を行っては、とのことで、当方の実行委員長案が持ち上がったと覚えています。が、その後情勢が変化したこともあり、例年通りの単独開催となりました。

単独開催が正式に決定したのは2年ほど前で、高木が構造活性相関部会長の職を辞したのとほぼ同時だったと思います。その後、開催会場を探したところ、主だった会場は抑えられていたこと、例年の開催時期である11月末は大阪大学薬学部の長期課題研究の発表時期と重なることから、開催時期は12月初旬、開催場所はアクセスがいいとは言い難い大阪大学吹田キャンパス・銀杏会館(銀杏会館の方、

医学部の銀杏会館担当の方々に大変お世話にな りましたので、このような言い方は大変失礼であるこ とをお詫び申し上げます)に決定させて頂きまし た。

2018 年は紹興(中華人民共和国)で日中シンポ ジウムが開催されたこともあり、参加者が減少する だろうこと、電源等の関係で企業展示が行えないだ ろうことなど、十分に予測可能なことがあったにも関 わらず、日程、開催会場ともに選択肢がなかったた め、参加者の皆様、スポンサー企業になって下さっ ている企業関係者の皆様にご迷惑をおかけしまし たことを、まずもってお詫び申し上げます。

ただ、せっかく高木が実行委員長に指名されたこ ともあり、少し特徴的なことを行おうと考え、大阪大 学大学院情報科学研究科の日比孝之先生に、「グ



レブナー基底と医薬統計」と題して、昨今数理科学で一つの「分野」として認識されつつある(実際に書

店ではグレブナー基底のコーナーがあったりする)グレブナー基底に関する特別講演をお願いすること にしました。46 回を数える当シンポジウムで、特別、招待講演に純粋数学分野の先生をお呼びしたこと はなかったと思うので、事実上初めての試みだったと思います。少々不安もありましたが、意外と好評だ ったことで胸をなでおろしました。また、招待講演として、福澤薫先生(星薬科大学薬学部)に「フラグメ ント分子軌道法に基づく創薬基盤の構築」と題して、福澤先生が代表を務めておられる FMO 創薬コン ソーシアムの活動実績を中心にお話しいただき、石原司先生(産業技術総合研究所)には、「構造活性 相関の自動探索:自動設計と自動合成が融合するロボット創薬の幕開け」と題して、『医薬候補化合物 自動探索装置』の現状と今後の可能性についてお話頂きました。これらの特別講演、招待講演共に、 今後の当部会、当シンポジウムに関して極めて有意義なものと思われます。ご講演頂きました先生方に、 この場をお借りして深くお礼申し上げます。

また、昨年度ご好評を頂きましたこともあり、今回も、ポスターセッションのショートプレゼンテーションを 行いました。こちらも押しなべてご好評いただいたと考えております(高木ではなく、昨年度の実行委員 長、飯島先生のご功績です)。なお、SAR Presentation Award 1 件、SAR Poster Award 2 件も無事選出 されました。詳細は、Award の項目に譲ります。

終えてみると、110名の参加者、内20名が学生さんで、参加者の減少も想定より抑えられたこと、若い参加者が多かったことなど、相応に成功裏に終えることができたのではないかと自賛しております。もっとも、あれもすればよかった、これもこうすればよかったと思うことが多々ありました。実行委員長がそう考えているということは、参加者や関係者の皆様に多大なるご迷惑をおかけしたのではないかと危惧しております。ご不快に思われたことがありましたら、深くお詫び申し上げます。

まるで一人で成功させたようなコメントになっていますが、シンポジウム実行委員を務めて頂きました、 河合健太郎先生(摂南大学薬学部)、川下理日人先生(近畿大学理工学部)、仲西功先生(近畿大学 薬学部)、原田俊幸先生(住友化学株式会社)(50 音順)、大阪大学薬学部、近畿大学理工学部からア ルバイトを担ってくれた学生さんに深くお礼申し上げます。また、昨年度(第45回)の実行委員を務めら れた飯島洋先生(日本大学薬学部)、前田美紀先生(農研機構高度解析センター)には要所で有益な ご指摘を頂きました。この場をお借りして深謝申し上げます。また、会場の関係者の皆様、後援をご許可 頂きました学会、大阪大学大学院薬学研究科にも厚くお礼申し上げます。そして何より御参加頂き、研 究発表やご討論頂きました皆様に厚くお礼申し上げます。

次年度は熊本で杉本学実行委員長の下、より盛大なシンポジウムが開催されることは間違いないと思われます。皆様の更なる御参加とご討論をお願い申し上げます。

35

///// Activities /////

<会告>

構造活性フォーラム 2019

「創薬アプローチの多様性を考える〜創薬モダリティとは〜」

主催: 日本薬学会構造活性相関部会

協賛: 日本化学会、有機合成化学協会、日本農芸化学会、日本農薬学会、日本分析化学会

会期: 2019年6月7日(金)午前9時30分開場、午前10時開始

会場: 日本薬学会長井記念ホール(〒150-0002 東京都渋谷区渋谷 2-12-15)

フォーラムホームページ: http://www.qsarj.org/forum2019 (4月1日公開)

開催趣旨:分子標的創薬における薬剤探索・設計技術の発展が加速する中、標的分子の多様性が 明らかになり、そのために必要なライブラリー設計、スクリーニング技術、評価系の構築も多様 化してきている。そして近年では、標的分子に合わせた創薬手法"モダリティ"を考えなければ ならない時代へとシフトしつつある。そこで本フォーラムでは、低分子創薬にとどまらず、抗体、 ペプチドなどの創薬において、構造生物学、物理化学、計算化学などを駆使した標的分子の機能、 物性に応じた阻害剤開発の現状と、そこで必要な SAR についても議論したい。

本フォーラムが、創薬研究に携わる研究者にとどまらず、標的分子に対する特異的な制御分子設 計を試みている研究者、さらには次世代を担う若手研究者にとって、実りある議論・成果に繋が ることを期待する。

プログラム:

開催の挨拶 津本 浩平(実行委員長、東京大学大学院工学系研究科)

講演者(変更になる場合があります)

- 近藤 裕郷 (国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬デザイン研究センター セン ター長)
- 河野 隆志(国立がん研究センター研究所 ゲノム生物学研究分野 分野長)
- 山東 信介(東京大学大学院工学系研究科 教授)
- 三好 大輔(甲南大学フロンティアサイエンス学部 教授)
- 橋口 隆生(九州大学大学院医学研究院 准教授)他

参加登録および申込締切日: 当日参加受付はありません。事前参加登録は5月17日 (金)までにフォーラム2019ホームページからお願い致します。当日の申し込みはお受けできま せんのでご注意ください。参加人数が上限に達しましたら、参加登録を打ち切らせていただきま すのでご了承ください。参加登録後、5月31日までに銀行口座振り込みをお願いいたします。 なお、お振込みの際には「ご所属とご氏名」を振込人として下さい。領収書は当日受付デスクで お渡しいたします。

- 参加費: (薬学会会員・非会員ともに)一般 5,000 円、 学生無料
- **懇親会:** 17:15~ 長井記念ホール前ロビーにて
- **懇親会費:**(薬学会会員・非会員ともに)一般 4,000 円、 学生 1,000 円

問合先: 構造活性フォーラム 2019 実行委員会 津本浩平(実行委員長)
 〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学工学部 5 号館 4 階津本研究室
 TEL 03-5841-7208 / FAX 03-5841-0481
 E-mail:tsumoto@bioeng.t.u-tokyo.ac.jp

///// Activities /////

<会告>

第47回構造活性相関シンポジウム

- 主催: 日本薬学会構造活性相関部会
- **会期:** 2019年11月28日(木)-29日(金)
- 会場: 熊本市国際交流会館 ホール
 〒860-0806 熊本市中央区花畑町4番18号
 http://www.kumamoto-if.or.jp/kcic/
 - [1] 討論主題
 - (1) 定量的構造活性相関手法の開発と応用
 - ① 基本パラメータ・基本手法・情報数理的アプローチ
 - ② ADME (吸収・分布・代謝・排泄) 特性
 - ③ 毒性·環境毒性
 - (2) 生理活性物質のインフォマティクス技術の開発と応用
 - 活性評価手法
 - ② 構造解析手法
 - ③ 分子設計(構造展開)技術
 - ④ 医薬品開発
 - ⑤ 農薬開発
 - (3) 生理活性物質解析・探索のための in silico 技術の開発と応用
 - ① 薬物-受容体相互作用計算
 - ② バーチャル・スクリーニング
 - ③ 機械学習・人工知能 (データ予測を含む)
 - ④ 分子情報処理(データベースを含む)
 - ⑤ 量子化学計算
 - ⑥ 分子動力学計算/モンテカルロ計算
 - ⑦ バイオインフォマティクス

*今年度は、基調講演セッション、依頼講演(特別講演/招待講演)と一般講演からなる4つ の特別セッション、一般セッション、ポスターセッション、の4部構成とする予定です. (以下,題目は全て仮題)

基調講演

大田雅照(理化学研究所 上級研究員/日本薬学会構造活性相関部会 部会長) 「生理活性物質の創製におけるインシリコ技術 ―その価値と可能性―」

特別セッション(1)「創薬研究と QSAR 研究のインタープレイと将来展望」

塚本佐知子 (熊本大学大学院医学薬学研究部 教授) (特別講演)「天然有機化合物の構造多様性と生物活性」

広野修一 (北里大学薬学部 教授) (特別講演)「In Silico 創薬基盤技術としての Fragment Mapping 法の開発とその応用」

飯島 洋 (日本大学薬学部 教授) 「創薬研究現場と構造活性相関:実験屋からのretrospective,できればperspective」 特別セッション(2)「バイオインフォマティクスと QSAR 研究による食品化学/農薬研究の展開」 金谷重彦 (奈良先端科学技術大学院大学 教授)

(特別講演)「KNApSAcK ファミリーデータベースを活用した薬用植物/代謝/食品研究」

中川好秋 (京都大学大学院農学研究科 准教授)

(特別講演) 「リガンド―受容体複合体をもとにした農薬の分子設計と Hansch-Fujita 法による最適化」

特別セッション(3)「QSAR 研究と AI 技術の融合」

大川和史 (旭化成ファーマ株式会社 合成化学研究部・ユニットリーダー) 「AI で広がる創薬研究」

特別セッション(4)「QSAR 理論と応用の新展開」 赤松美紀 (京都大学大学院農学研究科 准教授) 「QSAR の始まり・現在・未来」

[2] 発表申込

- (1)発表形式: 口頭発表 または ポスター発表
- (2)申込方法: シンポジウム・ホームページ(IP)にて申し込んでください.
- (3) 書類提出: 発表者は A4 サイズの講演要旨を提出してください.(書式は HP を参照)
- (4)審査について: 審査希望の口頭発表,ポスター発表から,優れた発表数件に対して, 賞(SAR award)を授与します.ただし,審査対象は,登壇者が(i)45歳以下, (ii)日本薬学会の会員 or 受賞後に日本薬学会への入会を確約できる方,の両 方の条件を満たす発表です.
- (5) 発表申込期間: 7月23日(火)-8月23日(金)
- (6) 講演要旨投稿期間: 8月27日(火)-9月27日(金)

[3] 参加登録

(1)事前登録: シンポジウム・HP にて行い,期日までに入金してください.
(2)事前登録締切日: 11月15日(金) (以降は当日,受付にて登録してください.)
(3)参加登録費:(早期割引期間:7/23-9/30) [一般] 8,000円,[学生] 2,000円
(通常期間:10/1-11/15) [一般] 9,000円,[学生] 3,000円
(当日) [一般] 12,000円,[学生] 5,000円

[4] 懇親会

- (1) 事前申込: シンポジウム・HP にて行い, 期日までに入金してください.
- (2)事前申込締切日: 11月15日(金) (以降は当日,受付にて申込してください.)
 (3)参加費: (早期割引期間: 7/23-9/30) [一般] 7,000円,[学生] 4,000円
 (通常期間:10/1-11/15) [一般] 8,000円,[学生] 5,000円
 (当日) [一般] 10,000円, [学生] 7,000円
- *参加登録費,懇親会費の振込についてはシンポジウム・HP をご参照ください. これらの費用 の入金後の返金はご容赦ください.

[5] 問合先

〒860-8555 熊本市中央区黒髪2丁目39-1 熊本大学大学院先端科学研究部 杉本研究室内 第47回構造活性相関シンポジウム 実行委員会 杉本 学(実行委員長) e-mail: qsar2019@chem.kumamoto-u.ac.jp

部会役員人事	
平成 31 /2019 年度 常	任世話人 2019/4/1 現在
部会長	大田雅照(理化学研究所)
副部会長	服部 一成(塩野義製薬(株))
副部会長	本間光貴(理化学研究所)
会計幹事	前田美紀(農業•食品産業技術総合研究機構)
庶務幹事	竹田志鷹 真由子(北里大学薬学部)
広報幹事	広野修一(北里大学薬学部)
SAR News 編集長	田上 宇乃(味の素(株))
ホームページ委員長	高木達也(大阪大院薬学研究科)

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1995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1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2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36号をお届けいたします。今号では、「創薬における連携 を成功させるには」をテーマに、BINDS や LINC 等で連携し、成果を出された先生方にご寄稿をお願いい たしました。Perspective/Retrospective では、大阪大学薬学研究科 辻川和丈先生に、創薬における連携に ついて俯瞰して頂いた後、大阪大学内に構築された一連のアカデミア創薬支援基盤についてご紹介いただ きました。Cutting Edge1 では、みずほ情報総研株式会社の加藤幸一郎先生と東レ株式会社の増田友秀先生 という産業界同士の連携で、機械学習と FMO 計算を用いた高精度力場構築を目指したご研究結果をご紹介 いただきました。Cutting Edge2 では、東京工業大学の安尾信明先生に大学と製薬企業との連携例として顧 みられない熱帯病の創薬を目指したインシリコスクリーニング結果と、機械学習を用いたリード最適化の 経路予測を目指したご研究についてご紹介いただきました。

多くの皆様にお読みいただきたく存じます。ご多忙の中、快くご執筆していただいた先生方に深く感謝 申し上げます。

シンポジウムの開催報告、夏のフォーラムの会告、秋のシンポジウムの会告も掲載いたしましたので、 ご参考になれば幸いです。(編集委員会)

SAR News No.36 平成 31 年 4 月 1 日 発行:日本薬学会 構造活性相関部会長 大田 雅照

> SAR News 編集委員会 (委員長) 田上 宇乃、河合健太郎、清田 泰臣、合田 浩明、幸 瞳

*本誌の全ての記事、図表等の無断複写・転載を禁じます。