

立教大学学術推進特別重点資金(立教SFR)

個人研究

2012年度研究成果報告書

研究代表者	所属・職名	氏名
	理学部化学科・教授	常盤 広明 印
研究課題	新規創薬手法の開発および感染症治療薬や抗癌剤などへの応用	
研究期間	2012年度	
研究経費	600,000円	

研究の概要(200~300字で記入、図・グラフは使用しないこと)

高効率な論理的創薬には、ヒトゲノム情報を基に決定されたターゲットタンパク質に対する高精度な *in silico* 解析が今や欠かせないものとなっている。本申請研究では、従来法とは一線を画する“第一原理計算”に基づく『新規ゲノム創薬システム』を開発する。さらに、この新システムを最大限に利用して実際の上市を目指し、現在までに治療薬やワクチンなどが未開発な感染症の新規薬剤をはじめ、脂肪代謝異常、糖尿病、高血圧などを誘発するメタボリックシンドロームに対して、副作用のない新たな治療薬についても論理的に設計・開発を実行する。

キーワード(研究内容をよく表しているものを3項目以内で記入。)

〔感染症治療薬〕

〔新規創薬手法〕

〔フラグメント分子軌道法〕

研究成果の概要 (図・グラフ等は使用しないこと。)

「背景」

新世紀となり 10 余年を迎える現在、理論化学の革新、コンピュータの情報処理能力の上昇、ゲノム情報解析など、創薬を基盤で支える生命理学関連分野の技術が国内外で長足の進歩を遂げている。2000 年代までの創薬に用いられてきたコンピュータ支援型創薬システムは、計算コストの制限から経験的なパラメータを用いた分子力学計算に基づくものであった。しかしながら、それらのシステムには、候補化合物とターゲットタンパク質を同レベルの計算精度で取り扱えないなど、多くの問題点が指摘されていた。一方、事業仕分け以降、国民の高い関心のもと、日本のスーパーコンピュータ「京」が“世界第一位”を取り戻し、その応用による成果に期待が寄せられている。このような情報技術の革新を背景に理論化学の大きな進展により、創薬システムの基盤は第一原理計算にシフトしつつある。本研究では、従来までの経験的な創薬手法とは一線を画し、フラグメント分子軌道(FMO)法を用いた第一原理計算に基づいて、ウイルス感染症に対する新規治療薬、および副作用の少ない臓器特異的効果を示す核内受容体パーシャルアゴニストの合理的設計・開発を行った。

「研究成果」

1. 熱帯ウイルス感染症に対する新規薬物開発

地球温暖化などの環境変化や交通手段の近代化に伴って、熱帯ウイルスの感染拡大が問題となっている。特に蚊を媒介して感染するデングウイルス(DENV)は、デング熱、デング出血熱、および死に至る可能性のあるデングショック症候群を引き起こす。しかしながら、今までワクチンや特異的な化学治療薬は未開発のままであった。それに対して我々は、天然の硫化糖鎖をミミックして設計した新規低分子化合物と DENV Envelope(DENV E)タンパク質との *in silico* 解析を行った。硫化糖誘導体の DENV E タンパク質への結合に伴い、E タンパク質の表面電荷が中和されることによって、ウイルスの宿主細胞への感染が阻害されることが分かった。さらに、硫化糖誘導体の E タンパク質への結合位置を特定し、その結合姿勢からウイルスの宿主細胞への吸着時に働く Domain III のイオン性クラスターの Lys295 および Lys310 などが、阻害活性発現に重要なアミノ酸残基であることを理論的に特定した。最近、これらのアミノ酸残基は、Watterson らによって、実験的にも「鍵」アミノ酸残基であることが示された。

現在、水溶化に成功した蛍光性光応答分子を、感染ウイルスのターゲットタンパク質を特異的に認識できるように新規機能を持たせた化合物に誘導、開発中である。

研究成果の概要 (つづき)**2. 梅エキス抽出物をリードとする新規抗インフルエンザ阻害薬の設計・開発**

最近、梅果汁を古来の製法で加熱濃縮した梅エキスに含まれる Mumefral をはじめとする 5 種のフラン誘導体が、2009 年パンデミックインフルエンザウイルス (A(H1N1)pdm09) のヘマグルチニン(HA)およびノイラミニダーゼ(NA)の両者の活性阻害、さらには同ウイルスの感染・増殖阻害活性を有することが見出された。これらの誘導体は、従来までの NA をターゲットとした抗インフルエンザ薬とは異なり、フラン誘導体であるため、新規抗インフルエンザ薬のリードとなる可能性がある。本研究では、まずこれらの誘導体がどのようにインフルエンザウイルス NA に作用し、その阻害活性を発現しているのかを理論的に解明するために、Mumefral-NA 複合体に対する第一原理計算に基づく結合性解析を行った。理論的結合能は、実験的な Sialidase 阻害活性値(IC50)とよい相関があることが分かった。さらにこれらの誘導体は、150 loop が Cavity となっている 1918 スペイン風邪のパンデミック型 N1 だけでなく、150 loop Cavity を欠く 2009 年成田 (California)株の N1 にも有効に阻害できることが分かり、変異型インフルエンザにも有効な阻害剤のリードとしての有効性が理論的に示唆された。

3. 新規ヒトパラインフルエンザ阻害剤の設計

感染力が非常に強い病原性ウイルスの一種でありながら、現在までに治療薬がないヒトパラインフルエンザウイルス(hPIV)に対して、理論的設計に基づく新規阻害剤開発を目指している。薬物候補化合物と hPIV HN を構成するアミノ酸残基との相互作用解析により、リレンザ®が hPIV には有効に働かない理由を明らかにするとともに、4 位置換基が阻害活性向上に及ぼす原因解明に成功した[5]。この創薬指針に基づき、FMO 計算に基づく高精度 de novo スクリーニングを実行し、4 位置換基の 3 重結合末端の複素環を新たに変更した新規化合物 RKYIT3 が hPIV HN との有効な安定化相互作用を増強することを見出した。RKYIT3 は、1 および 3 型両方の hPIV に有効であるため、hPIV HN に対して新規治療薬として期待される。

4. 臓器特異的核内受容体パーシャルアゴニストの設計・合成

今まで、核内受容体を標的とした創薬はより活性の高いフルアゴニストの開発にしのが削られてきた。しかしながらその多くは、作用点が複数にわたってしまうことで副作用へとつながること問題となっていた。それに対し、我々は共役因子の結合平衡をコントロールすることで、ビタミンDに対する新規パーシャルアゴニスト・アンタゴニストの設計・開発に成功した。一部の化合物は十分な活性を有することを生物学的実験により明らかにするとともに、共結晶化に成功し、その作用機構を明らかにすることができた。今後さらなる高活性化合物の開発・合成により上市を目指している。

研究発表 (研究によって得られた研究経過・成果を発表した①~④について、該当するものを記入してください。該当するものが多い場合は主要なものを抜粋してください。)

- ①雑誌論文 (著者名、論文標題、雑誌名、巻号、発行年、ページ)
- ②図書 (著者名、出版社、書名、発行年、総ページ数)
- ③シンポジウム・公開講演会等の開催 (会名、開催日、開催場所)
- ④ その他 (学会発表、研究報告書の印刷等)

①雑誌論文

1. Takeshi Ikawa, Akira Takagi, Masahiko Goto, Yuya Aoyama, Yoshinobu Ishikawa, Yuji Itoh, Satoshi Fujii, Hiraoki Tokiwa, and Shuji Akai, "Regio-complementary Cycloaddition Reactions of Boryl- and Silylbenzynes with 1,3-Dipoles: Selective Synthesis of Benzo-Fused Azole Derivatives", *J. Org. Chem.*, DOI:10.1021/jo302802b (2013).
2. Yuka Nakano, Yasuo Watanabe, Yoshihiko Ito, Shizuo Yamada, and Hiroaki Tokiwa, "Novel homodimer model of the β -adrenergic receptor in complex with free fatty acids and cholesterol: first-principles calculation studies", *Bioinfo.*, 8(25), 1245-1248 (2012).
3. Hiroaki Tokiwa, "Modern Chemistry & Multiscale Simulations that support Current Drug Design", *Yakugaku Zasshi*, 132(8) 861-862 (2012).
4. Yoshitomo, Suhara, Sayaka Motoyoshi, Yoshihisa Hirota, Natsumi Sawada, Kimie Nakagawa, Hiroaki Tokiwa, and Toshio Okano, "Structure-Activity Relationship of Novel Vitamin K Analogues as Steroid and Xenobiotic Receptor (SXR) Agonists", *Yakugaku Zasshi*, 132(8) 881-886 (2012).
5. Kiyoshi Ikeda, Ipei Watanabe, Tomoko Abe, Ayumi Sando, Yuji Itoh, Hiroaki Tokiwa, Kouichi Morita, Kazuya IPJ Hidari, Takashi Suzuki, "3-O-sulfated glucuronide derivative as a potential anti-dengue virus agent", *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 424(3), 573-578 (2012)
6. Yuji Itoh, Ayumi Sando, Kiyoshi Ikeda, Takashi Suzuki, and Hiroaki Tokiwa, "Origin of inhibitory activity of 4-O-substituted sialic derivatives for human parainfluenza virus", *Glyco. J.*, 29, 231-237 (2012).
7. Kaori Endo-Umeda, S. Uno, K. Fujimori, Y. Naito, K. Saito, Kenji Yamagishi K. Jeong Hiroyuki Miyachi, Hiroaki Tokiwa, Sachiko Yamada, and Makoto Makishima, "Differential Expression and Function of Alternative Splicing Variants of Human Liver X Receptor α " *Mol. Pharm.*, 81, 800-810 (2012).
8. Yuka Nakano, Saki Kawase, Ayumi Sando, and Hiroaki Tokiwa, "Activation of Adrenergic β Receptor by Free Fatty Acid Composition", *J. Comp. Chem. Jpn.*, 11(2), 121-124 (2012).

②渡邊泰雄著『内臓脂肪から落ちていく！えのき茶ダイエット (SHOGAKUKAN)』中「エノキタケリノール酸の作用メカニズム」、中野佑香、常盤広明

③シンポジウム・公開講演会等

1. 常盤広明, 『計算科学はここまで進化した！化学・生命科学研究への応用』静岡県立大学 COE 公開講演会 2013 年 1 月、静岡。
2. 常盤広明, 『理論計算に基づく新規治療薬の合理的分子設計・開発』九州大学大学院特別セミナー 2013 年 2 月、福岡。

④学会発表

国際会議

1. Ayumi Sando, Karl N Kirschner Yuji Itoh, Kazuya Hidari, Takashi Suzuki, and Hiroaki Tokiwa, "Novel in silico analysis between sulfated monosaccharide inhibitors and envelope glyco- proteins", 8th International Symposium on GLYcosyltransferases, Poster Session A, A32, June 6th, 2012, Hannover, Germany.
2. Ayumi Sando, Karl N Kirschner Yuji Itoh, Yasuo Suzuki, and Hiroaki Tokiwa, "How do furan derivatives from fruit-juice concentrate of Japanese apricot inhibit functions of glycoproteins?", 8th International Symposium on Glycosyltransferases, Poster Session B, B32, June 7th, 2012, Hannover, Germany.
3. Ayumi Sando, Yuji Itoh, Karl N. Kirschner, Kazuyuki Hidari, Kiyoshi Ikeda, Takashi Suzuki, and Hiroaki Tokiwa, "THEORETICAL MOLECULAR DESIGN OF NOVEL INHIBITOR FOR DENGUE VIRUS INFECTION", 26th International Carbohydrate Symposium, pp196, P626, July 26th, 2012, Madrid, Spain.
4. Ayumi Sando, Miho Sakai, N. Sriwilaijaroen, S. Magesh, Hiromune Ando, Hideharu Ishida, Makoto Kiso, Yasuo Suzuki, and Hiroaki Tokiwa, "THEORETICAL INTERACTION ANALYSIS BETWEEN NOVEL INFLUENZA INHIBITOR AND ALL SUBTYPES (N1-N9) OF NEURAMINIDASES BASED ON THE FIRST-PRINCIPLES CALCULATIONS", 26th International Carbohydrate Symposium, pp197, P630, July 26th, 2012, Madrid, Spain.
5. Erika Ishitsubo, Nongluk Sriwilaijaroen, Karl N. Kirshner, Yasuo Suzuki, Hiroaki Tokiwa, "Novel in silico analysis between influenza virus Neuraminidase and fruit-juice concentrate of Japanese apricot (*Prunus mume*)", The 1st International Conference on Pharma-Food (ICPF 2012), November, 2012, Shizuoka, Japan.
6. Yuka Nakano, Yasuo Watanabe, Yoshihiko Ito, Shizuo Yamada, Hiroaki Tokiwa, "Novel in silico approach to β -adrenoceptor (β AR) complex activated by a free fatty acid composition extracted from *Flammulina Velvipes enoki*", The 1st International Conference on Pharma-Food (ICPF 2012), November, 2012, Shizuoka, Japan.

国内学会

1. 山藤歩, 伊東祐仁, Karl N Kirchner, 左一八, 池田潔, 鈴木隆, 常盤広明, " Dengueウイルス感染阻害剤の結合サイト解析", 第31回日本糖質学会、鹿児島、P-049, pp144, 2012年9月18日 (ポスター)
2. 石坪江梨花, 山藤歩, Karl N. Kirshner, Nongluk Sriwilaijaroen、鈴木 康夫、常盤広明, "梅エキス Mume-fral はどのようにインフルエンザウイルス NA を阻害するのか?", 0108, 第31回日本糖質学会年会 鹿児島 2012年9月18日 (ポスター)
3. 山藤歩, 高橋忠伸, 池田潔, 鈴木隆, 常盤広明, "スルファチドによるインフルエンザ HA 阻害活性機構に関する理論的解析", 第56回日本薬学会関東支部大会、D07, pp106, 2012年10月13日 (口頭発表)
4. 石坪 江梨花, Karl N. Kirshner, Nongluk Sriwilaijaroen, 鈴木 康夫, 常盤 広明, "第一原理計算およびMDシミュレーションを用いた梅エキス抽出物フラン誘導体のインフルエンザNAに対する理論的相互作用解析", 28-pm05S, 日本薬学会第133年会 横浜 2013年3月28日 (口頭発表)
5. 中野佑香, 渡邊泰雄, 伊藤由彦, 山田静雄, 常盤広明, "混合脂肪酸群の膜タンパク質への作用に対する in silico 解析" 日本薬学会第133年会横浜 2013年3月27日 (ポスター)

など合計 18 件