

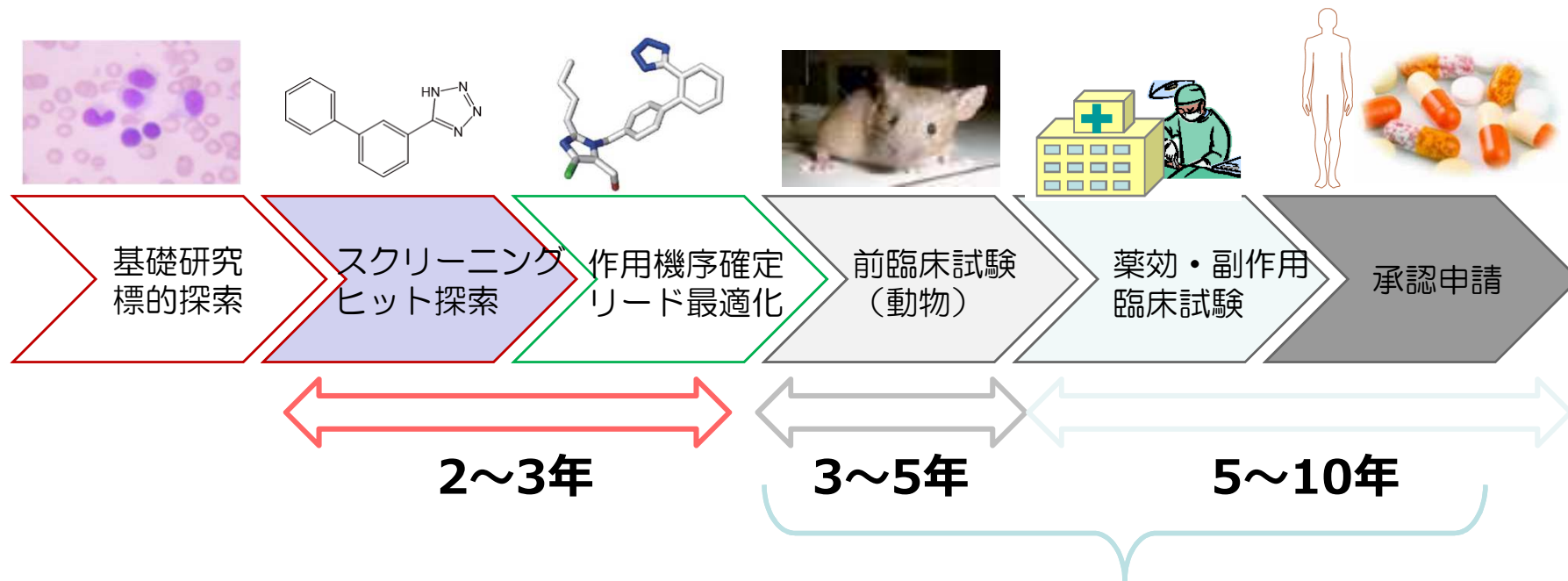
新たな創薬モダリティに対応した NMR構造創薬研究

産業技術総合研究所
創薬分子プロファイリング研究センター
構造モダリティ研究チーム
研究チーム長

竹内恒

2019年7月2日

基礎研究から新薬承認まで創薬の流れ



新薬の開発には長い研究開発期間と膨大な投資を要する。

平均9.2年、484億円/1新薬

(製薬協調べ・国内・2000~2008年)
海外開発コストは国内開発の3.6倍 1,764億円

1982年

1992年

1998年

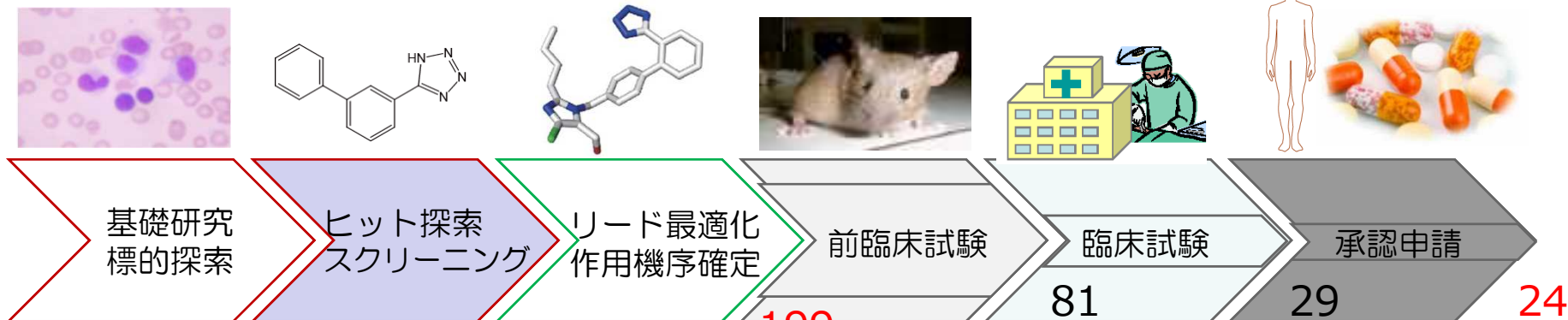
2001年

慢性骨髄性白血病薬：イマチニブ（商品名：グリベック）

標的の発見から製品化まで19年

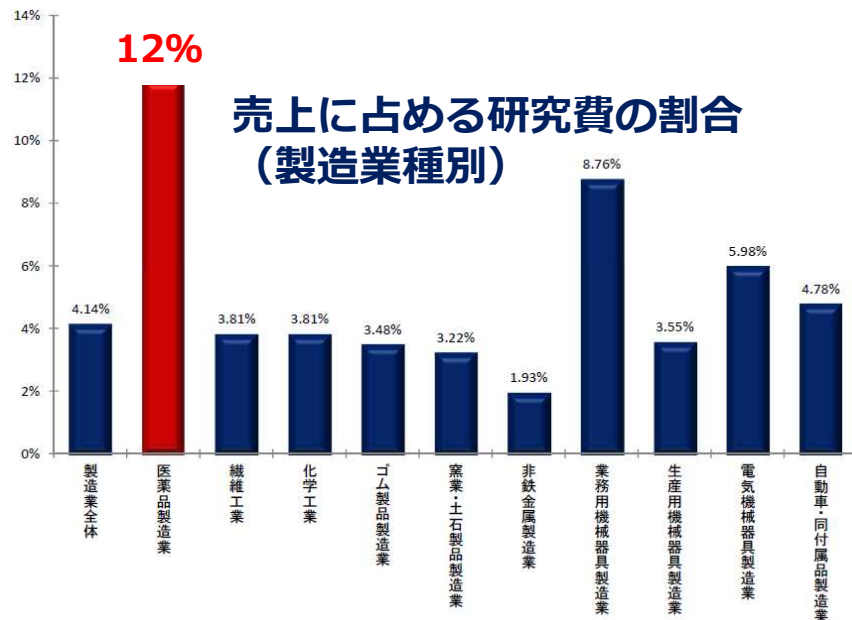
新薬開発の成功確率

-コツコツ積み上げてても必ず成功するわけではない-



合成された化合物：61万種
(成功確率：0.004%)

製薬協調べ（2004～2008年）現状変化なし



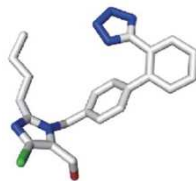
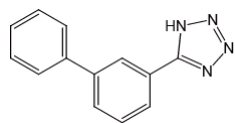
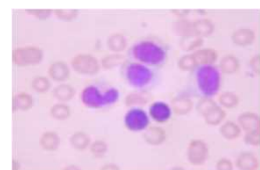
199化合物のうち24化合物のみ承認
9割近くがドロップアウト

約50社、5年間の統計
= 各社新薬は10年に1回

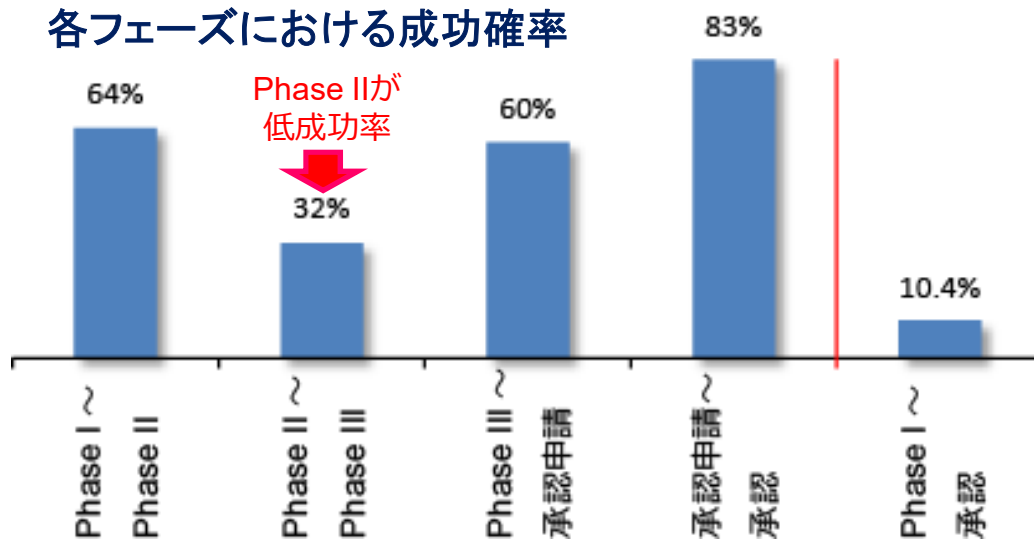
↓
ハイリスク・ハイリターン

現在の創薬における技術的問題

-拙速なリード最適化-



各フェーズにおける成功確率



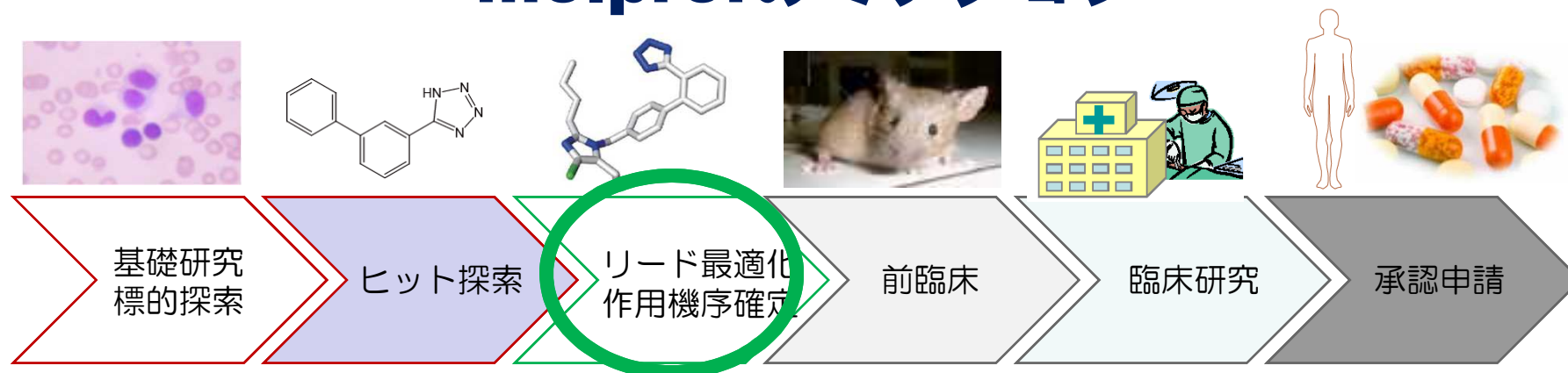
Phase I: 安全性 (健常: ~30人)
Phase II: 薬効 (患者: ~100人)
Phase III: 薬効 + 安全性 (患者: 200~3000人)

薬効が不十分なリード化合物が
臨床研究に突入しドロップ

Nat. Biotech., 2014, 32, 40-

セレンディピティー・総当たり方式に依存した既存リード開発の限界

創薬における構造的問題 -molprofのミッション-



学
大学・研究機関等

ギャップ

産
製薬企業など

創薬分子プロファイリング研究センター
(molprof) 2013.4~

- ・ リード最適化のギャップを埋め、産学官「一体型」創薬を実現
- ・ 創薬産業の活性化と健康で安全な生活を実現する。

molprofの目標（2013/4発足当時）

化合物プロファイリングの体系化



作用標的タンパク質と副作用標的を同定し
作用機序を解明（質量分析・ネットワーク解析）

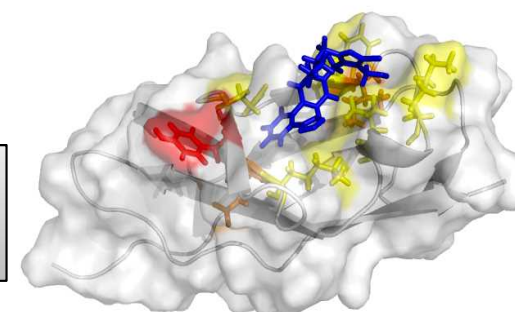
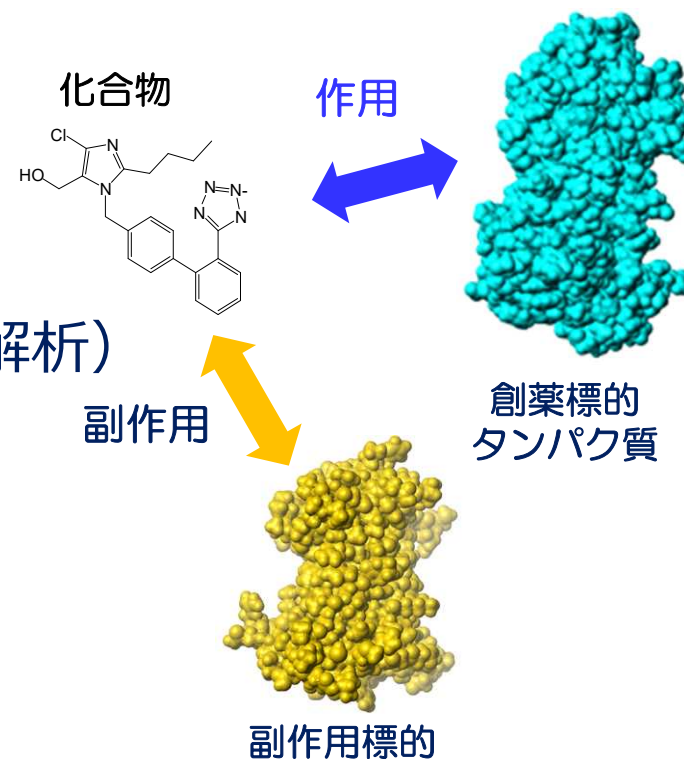


分子間相互作用様式の立体構造的な理解



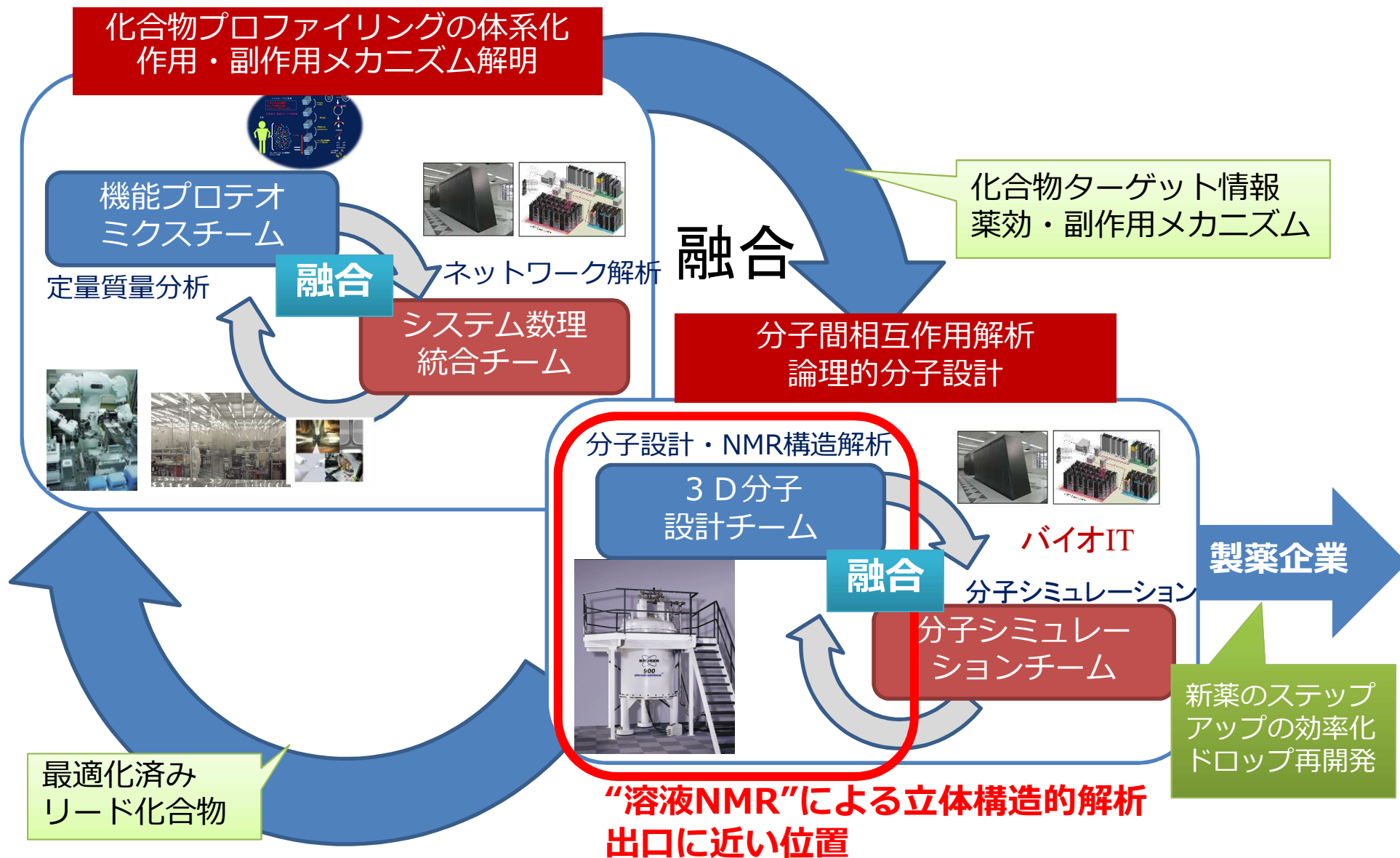
論理的分子設計（リード最適化）を実現
（NMR, MDシミュレーション）

- ・ 高活性・低副作用リード化合物による臨床試験の成功率↑
- ・ 作用機序解明によるドロップ薬の再最適化、再開発



化合物・タンパク質複合体構造

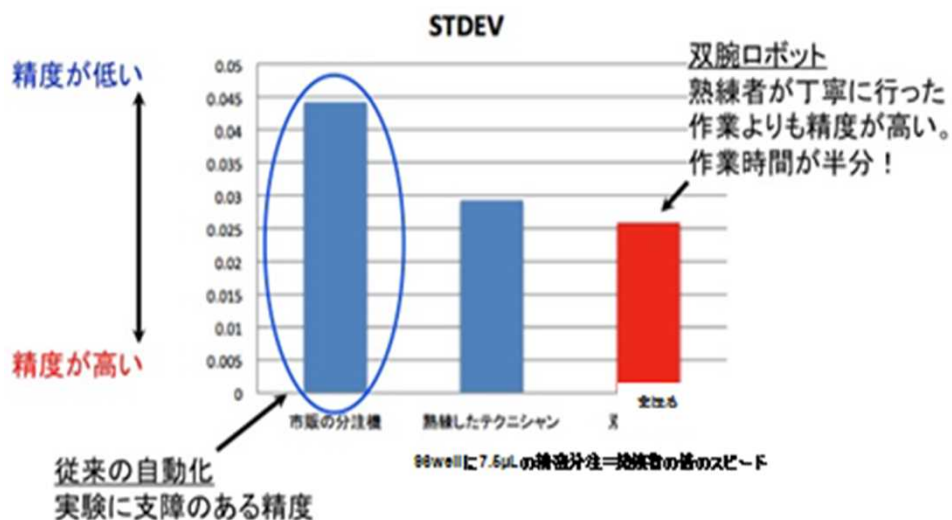
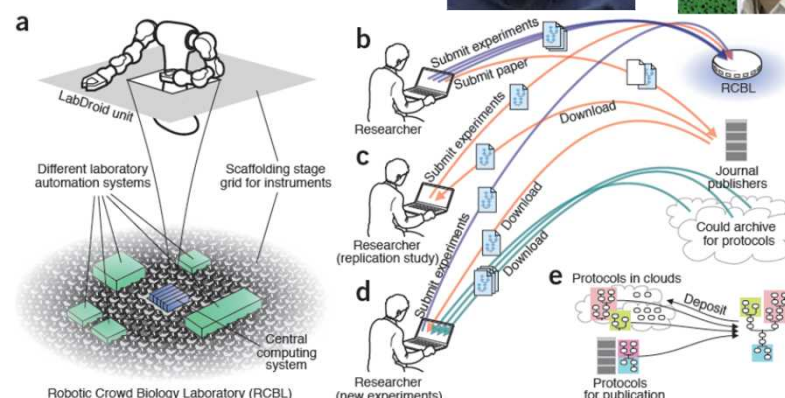
目標実現に向けたmolprofのチーム構成 -バイオ計測技術とITの融合-



ラボドロイド：マホロによる高精度薬効検証 標的同一化技術



夏目 徹
RC長

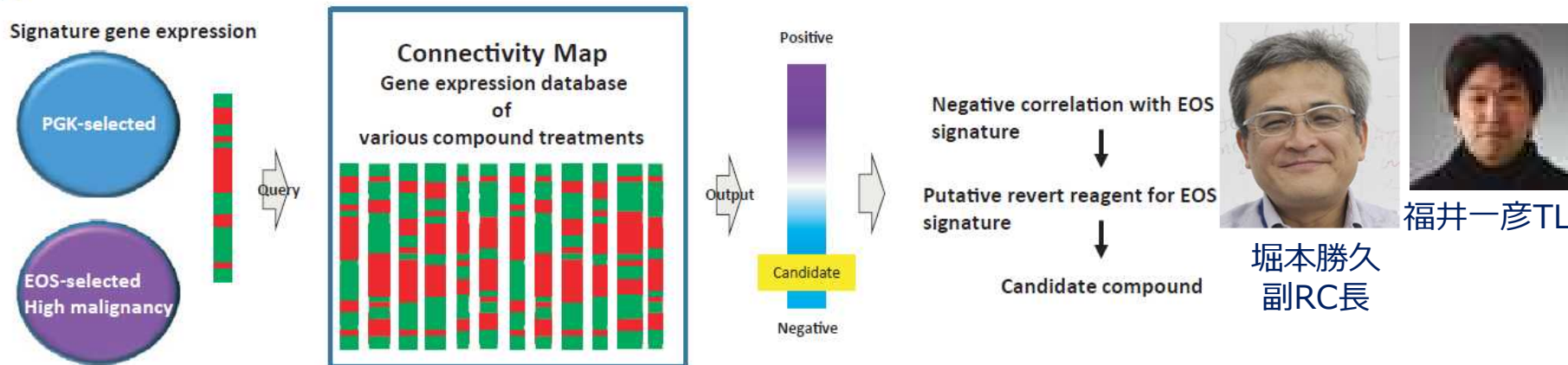


- ラボドロイドにより熟練の研究者の手技をより高い精度で再現し、常に同じ結果を保証
- クラウドロボティクスによりアッセイに応じたプロトコルをクラウド上で構築、AIを用いた作業の最適化
- 定量質量分析と組み合わせることで化合物プルダウンによる高精度の標的同一化を可能に

パスウェイ解析による標的同定

(a) 遺伝子発現プロファイルに基づく標的遺伝子群の絞り込み

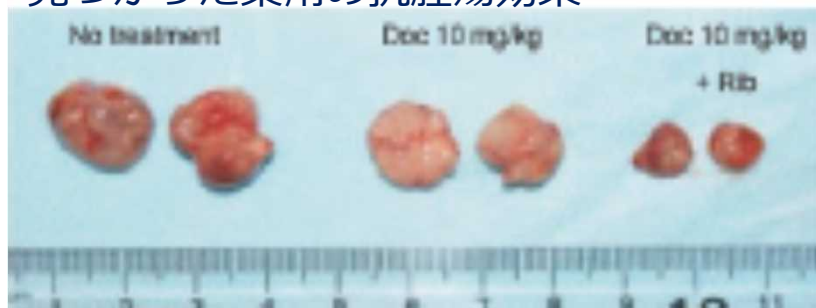
Cancer science (2013), 104, 1017-



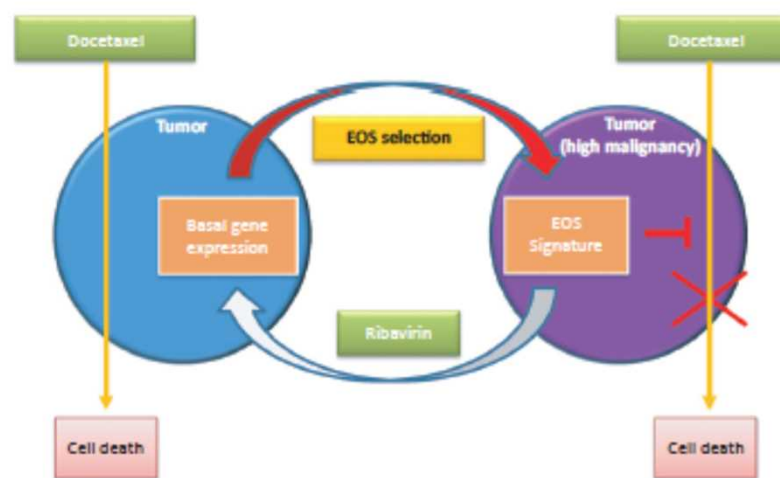
標的遺伝子群に作用する薬剤の探索



見つかった薬剤の抗腫瘍効果



薬剤の作用機序 (細胞のリプログラミング)



パスウェイ解析から明らかになった標的群に対する薬剤応答を指標に、C型肝炎薬 (MSD, 中外製薬) を抗腫瘍性活性薬剤をリポジショニング→コア技術の一つとしてソシウム社へ橋渡し

タンパク質相互作用情報を創薬に役立てる

学際的研究や
タンパク質相互作用ネットワークの解析

↓
創薬標的タンパク質の同定

電子顕微鏡、X線結晶構造解析による
タンパク質立体構造の解明

↓
創薬標的タンパク質の個別構造

タンパク質 A

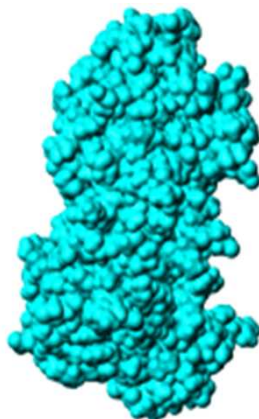


相互作用



阻害化合物を見いだせば
病気の治療につながるのだが...

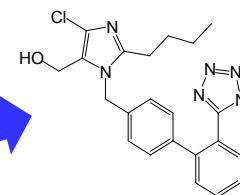
創薬標的
タンパク質



作用



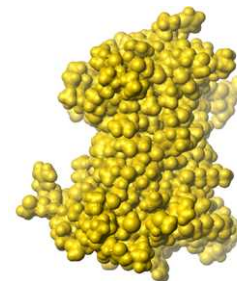
化合物B



副作用



タンパク質C



化合物プロファイリング

特異的な化合物を見いだせば、
副作用のない薬を作れるのだが...

創薬標的タンパク質に対する原子レベルでの相互作用情報が欠落

目的とする生理活性を持つ
化合物が見いだせない

高活性・低副作用の
化合物が見いだせない

精度よく迅速に相互作用情報を取得することで創薬開発を加速する技術が必要。

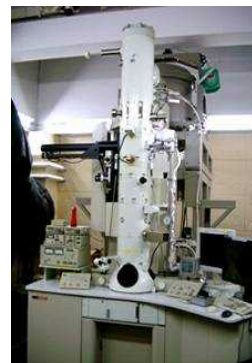
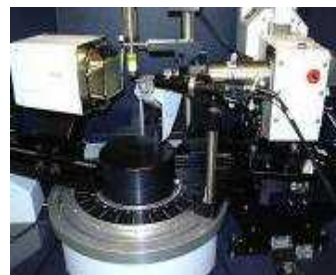
立体構造解析手法とその特徴

-なぜ溶液NMRなのか？-

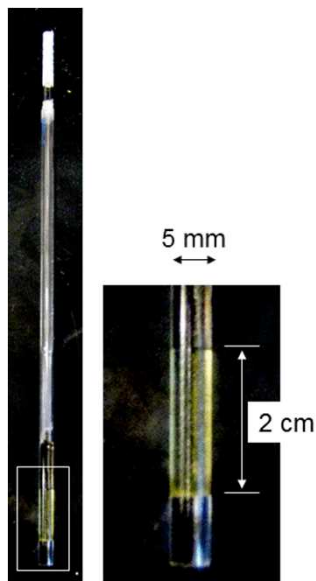
精密な立体構造決定



- X線結晶構造解析
- 極低温電子顕微鏡
- 溶液NMR法



NMR試料



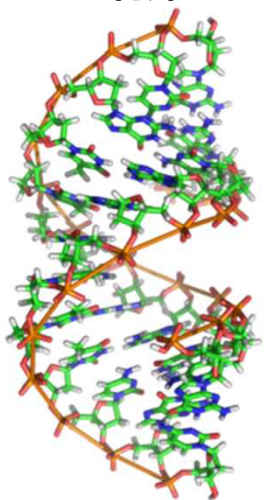
- 水溶液中での立体構造決定が可能
- 化合物をタンパク質に添加することで、**分子間相互作用を迅速かつ正確**に解析可能
- 水溶液中で分子の動的立体構造を解析できる**唯一の方法**

X線結晶構造への過度な依存が孕む危険性

DNAのX線結晶構造

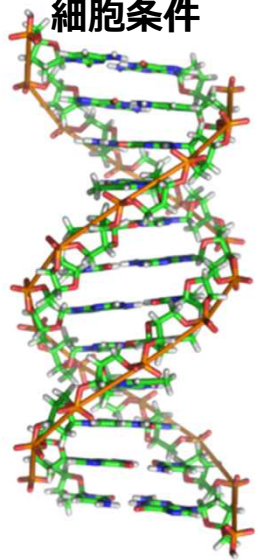
A型

低湿度
乾燥



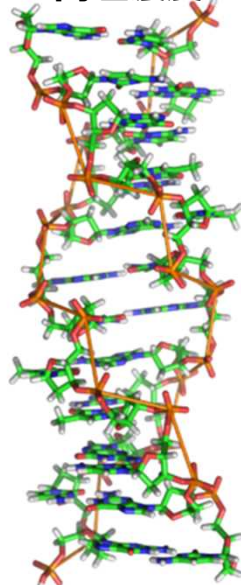
B型

水溶液中
細胞条件



Z型

高塩濃度



A, Z型は生体内では無いか、非常にまれ
正解であるB型DNA構造とかけ離れる

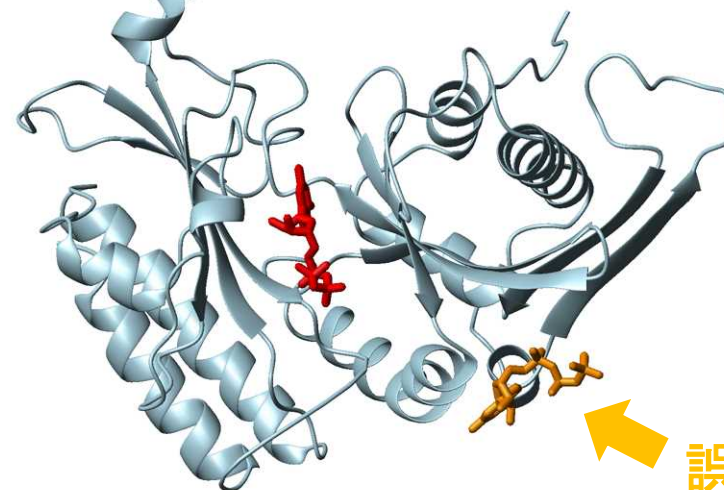
結晶中の構造 ≠ 生理条件での構造

創薬標的キナーゼ-基質複合体

誤り



7~20 hr soaking



誤り

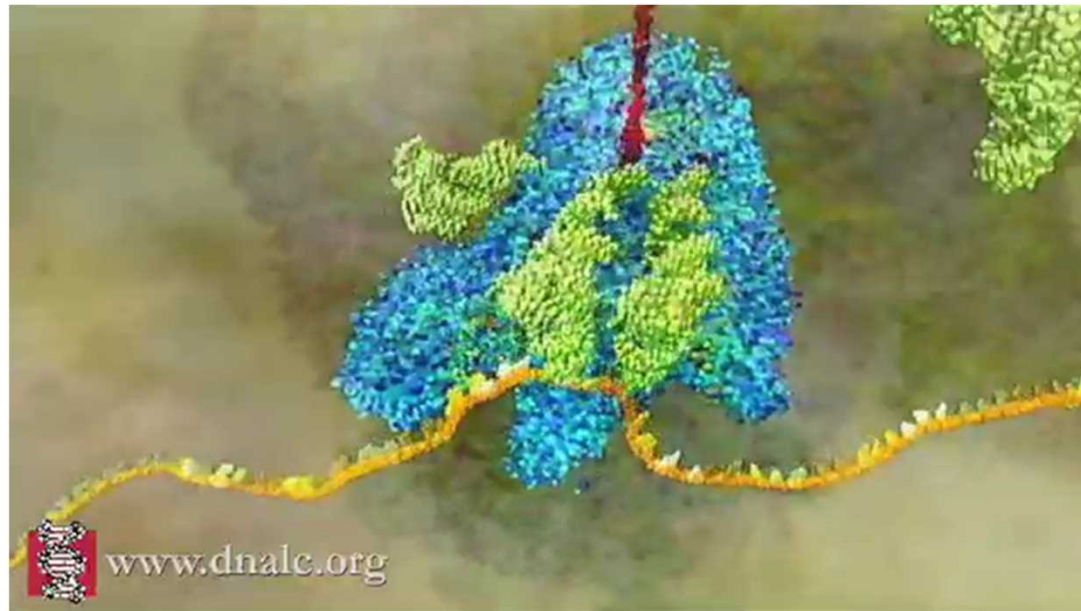
誤った部位への結合がみられる
正しい部位に対する結合が優先しない

結晶中の結合 ≠ 生理条件での結合

➡ 結晶化に頼らない生理条件に近い立体構造解析がリード開発において必須

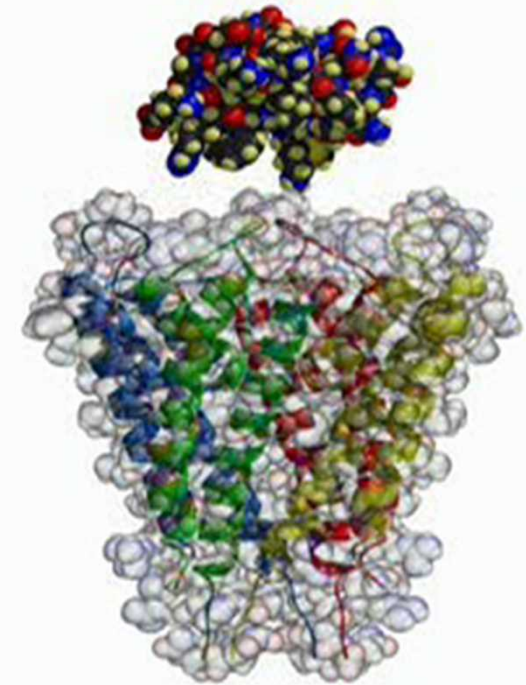
タンパク質の運動性と機能

蛋白質の生合成



細胞内のGTPを10秒で使い切る速さ

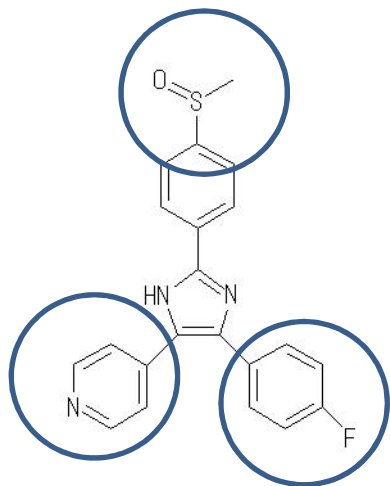
カリウムチャンネルと神経毒の相互作用



Takeuchi et al., *Structure*, 2003

蛋白質は水溶液中で柔軟に立体構造を変化させながら機能を発揮する。
⇒水溶液中で動的立体構造をありのままに解析することが重要

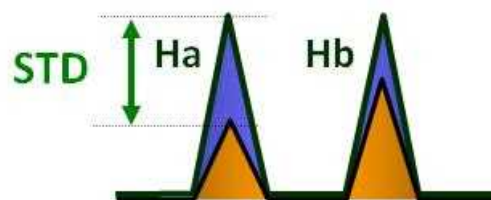
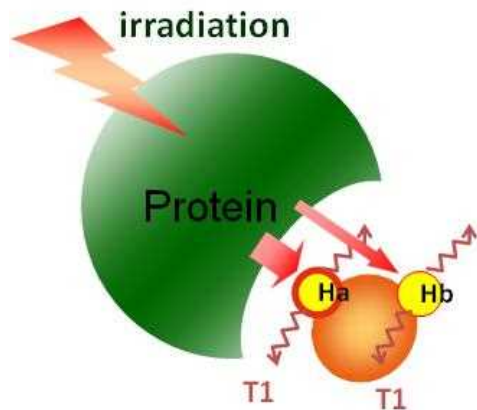
低分子リガンドの相互作用部位の決定 -従来法の限界-



低分子リガンドの標的タンパク質に対する
相互作用部位の決定
どこで結合？どこが重要？どれだけフィット？

➡ 新たな化合物を論理的にデザイン
化合物の最適化・高機能化において必須の情報

NMRにおける従来法：STD 法



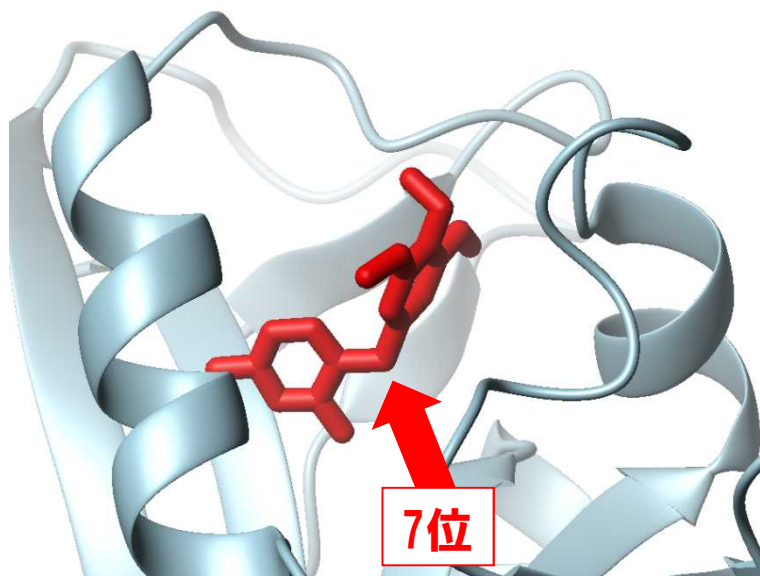
• シグナル強度の減少により結合時のタンパク質からの距離を判定し、結合部位を同定する方法。

• シグナル減少の度合いはタンパク質からの距離のほか、化学構造の差異など周辺環境の違いに影響され**不正確**になる。

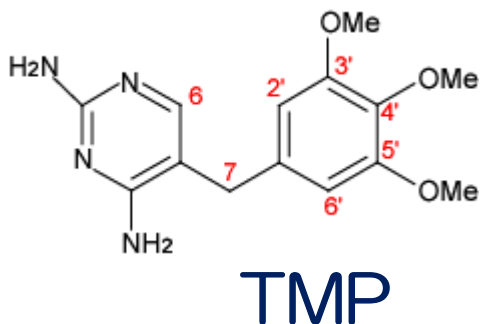
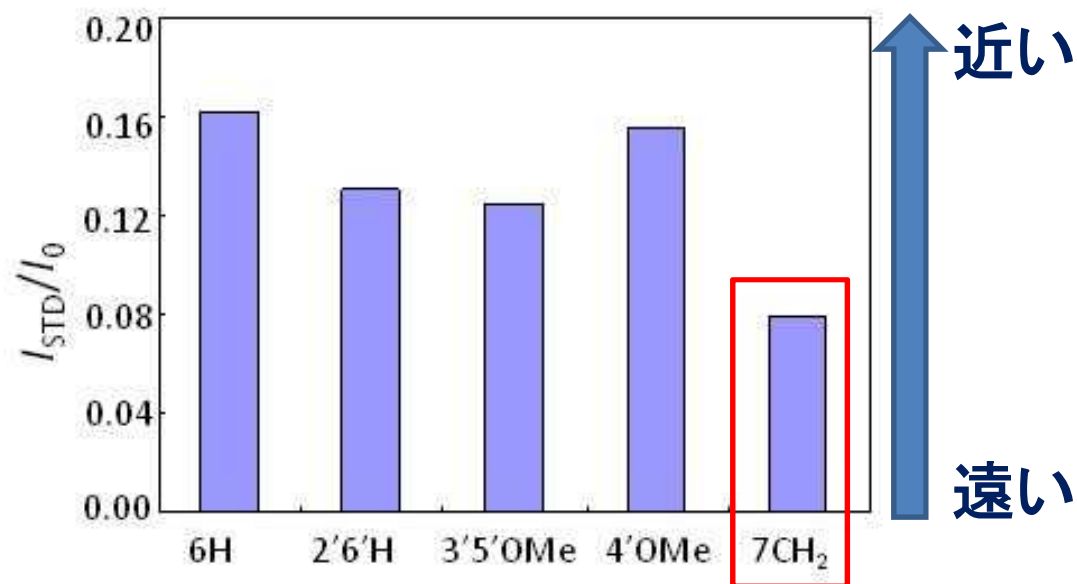
従来法STD法の限界

J.Magn. Res., 2004, 163, 270

TMP-DHFR複合体



STD法におけるシグナル減衰率



• 複合体形成時に最も標的タンパク質に近くなるはずの7位のプロトンのSTDが最も小さい

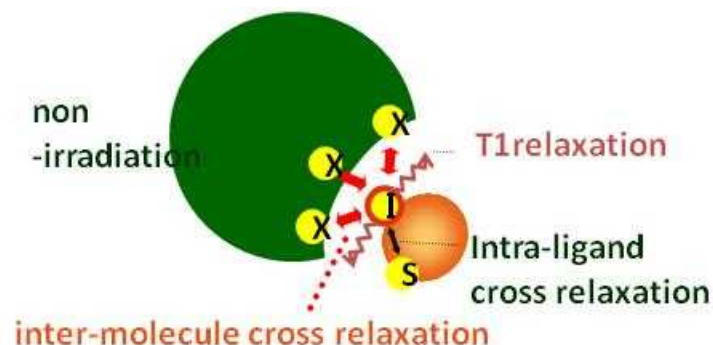


各プロトンの環境の違いを考慮したより
定量的な手法の開発が必要

DIRECTION法

Mizukoshi et al., Ang Chem. (2012)
Fukunishi et al., J. Mol. Graph. Mod., (2011)

実験条件A

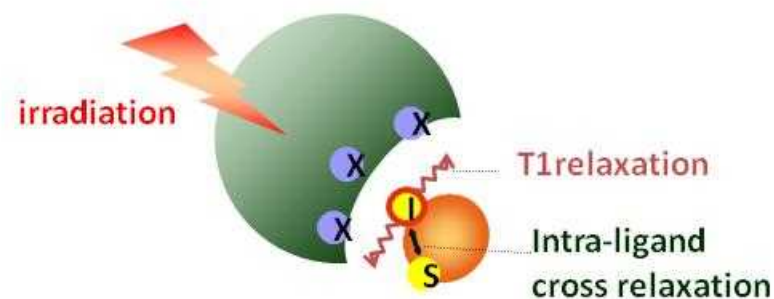


$$\frac{dI_z}{dt} = -R_I(I_z) - \sigma_{IS}(S_z) - \sigma_{IX}(X_z)$$

$$\frac{dS_z}{dt} = -R_S(S_z) - \sigma_{IS}(I_z) - \sigma_{SX}(X_z)$$

環境の違いを反映する項
+標的との距離に依存する項

実験条件B



$$\frac{dI_z}{dt} = -R_I(I_z) - \sigma_{IS}(S_z)$$

$$\frac{dS_z}{dt} = -R_S(S_z) - \sigma_{IS}(I_z)$$

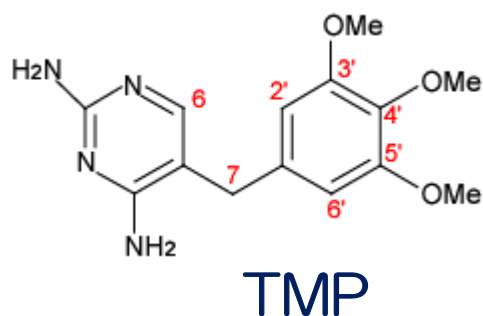
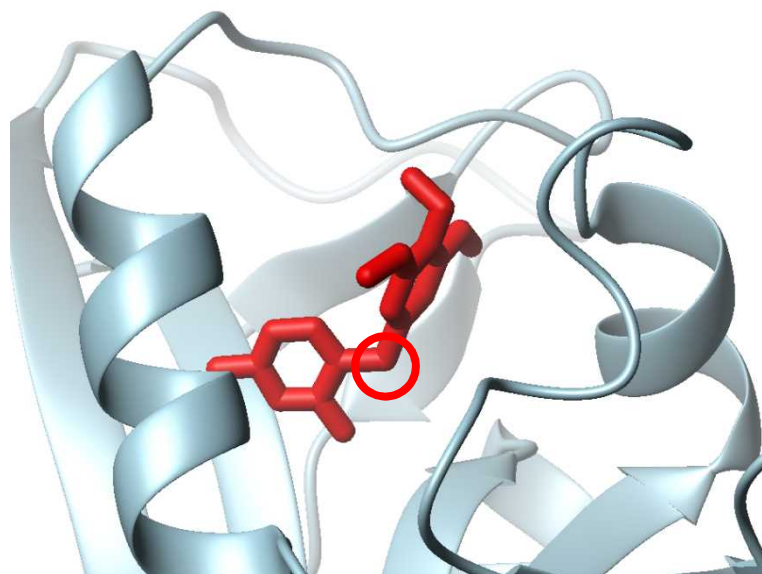
環境の違いを反映する項

両者の差をとる

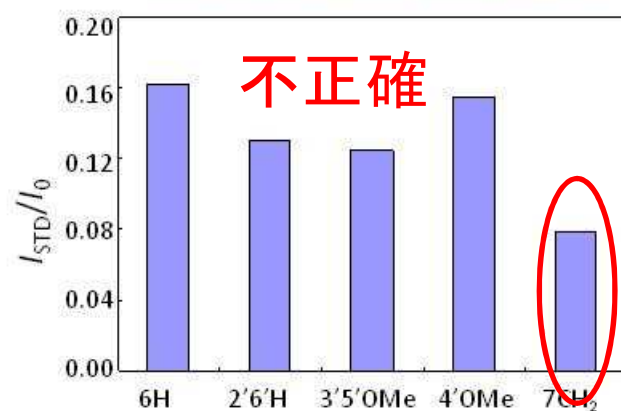
実験法を工夫することで、目的の標的との距離に依存する項だけを抽出

DIRECTION法と従来法の比較

TMP-DHFR複合体

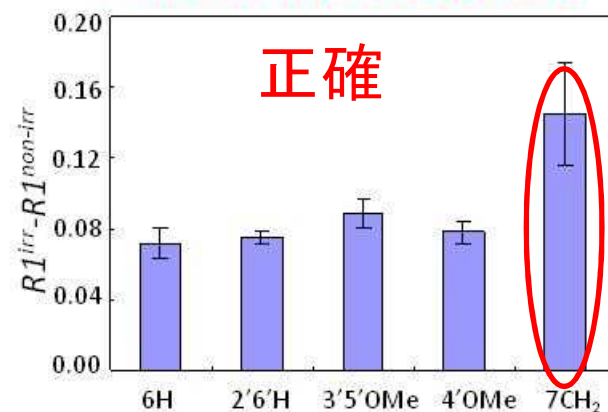


STD法における実験結果



↑ 近い
↓ 遠い

DIRECTION法の実験結果

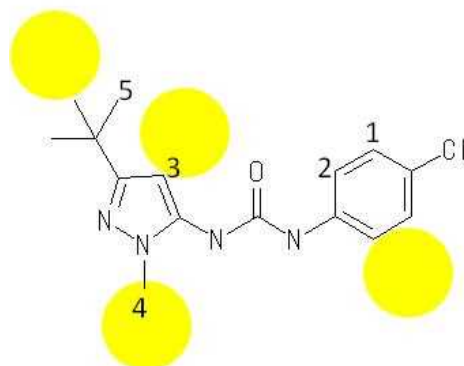


↑ 近い
↓ 遠い

DIRECTION法は従来法に比べ、実際の相互作用様式を正しく反映

DIRECTION法によるリード最適化 -化合物周辺の間隙を探す-

キナーゼ阻害ヒット化合物 (抗炎症剤)

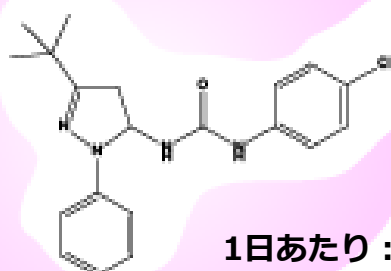


どこが空いてる?
どちらに伸ばす?

結合強度 = $2.8 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$

抗炎症剤リード化合物

40倍の
活性増強

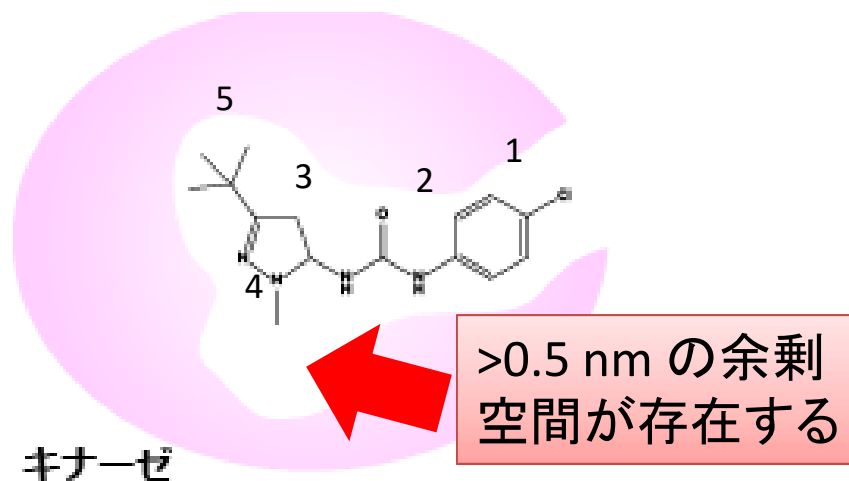
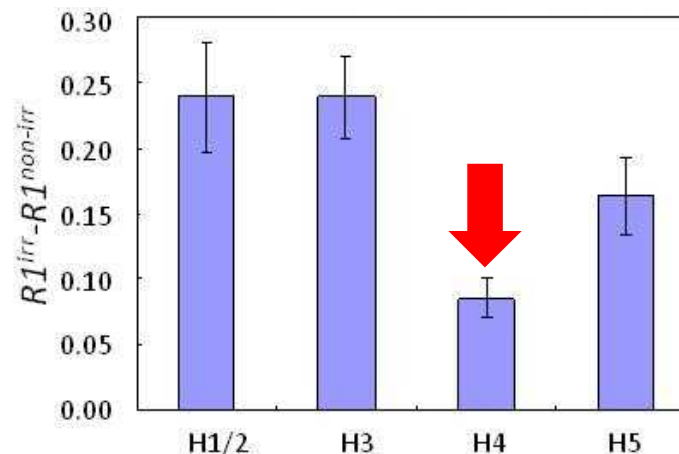


1日あたり : 100 mg

結合強度 = $1.3 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$

十分に薬として使えるレベルの活性に成長
構造を見なくとも化合物の高活性化を行える

DIRECTION法で化合物周辺の間隙を検知



キナーゼ

第一三共株式会社との共同研究

Mizukoshi et al, Ang. Chem (2012) 51,1362⁸
Fukunishi Y et al, J Mol. Gr. Mod. (2011), 31:20-7.

多様化する創薬戦略（モダリティ＝薬の特徴・作り方）

低分子創薬の限界

技術的進歩にも拘らず治験成功率は向上せず

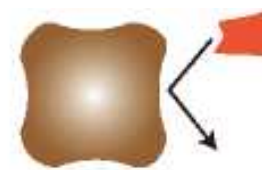


創薬標的の枯渇

低分子－標的タンパク質が高親和性結合できる結合部位の形状に制約（狭く深い）。このようなタンパク質は調べつくされた、という認識。



創薬標的
(調べつくされた)とされる)

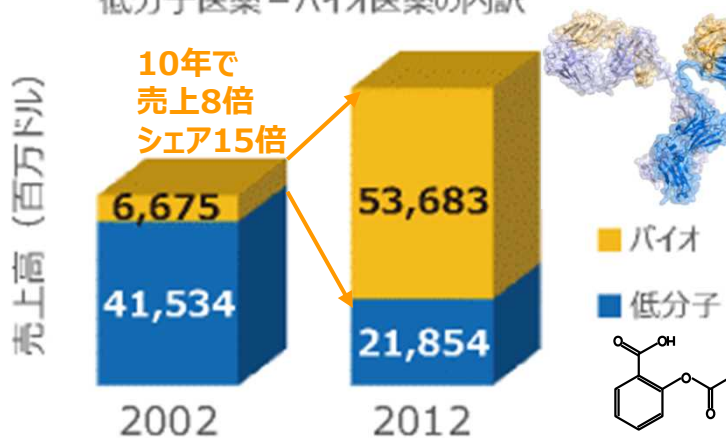


創薬標的にはならない、
とされる分子 (ポケット無いため)

バイオ医薬の躍進

- ・高い標的特異性
- ・既存低分子と相補的に活用

世界医薬品売上トップ10に占める
低分子医薬－バイオ医薬の内訳



特許庁資料（2014年）を改変



2018年ノーベル賞
医学・生理学 化学



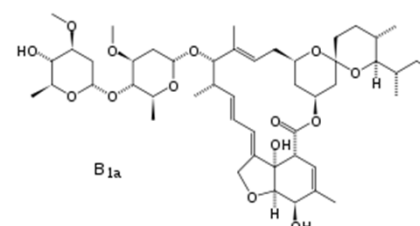
Dr. T. Honjo Dr. G. Winter

中分子創薬の黎明

* 中分子：
ペプチド、天然物など

- ・低分子とバイオ医薬の特徴をあわせ持つ
- ・広い構造空間による特異性
- ・広い結合面積によるPPII

2016年ノーベル賞
医学・生理学



Dr. S. Omura

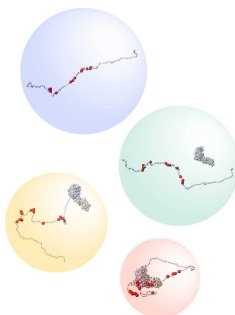
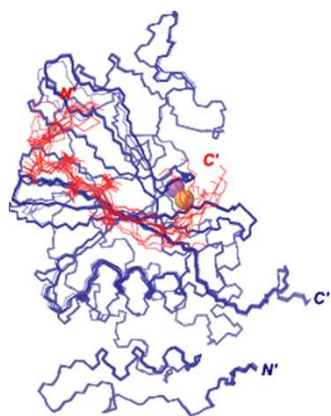
技術的進歩

- ・大規模ライブラリ作成
- ・安定化、高活性化（システインノット・環状化）

構造モダリティ研究チーム (2017/4~)

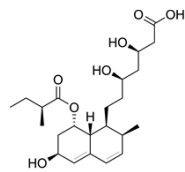
NMRを軸として、多様化する創薬戦略を柔軟に支援する技術開発

立体構造解析

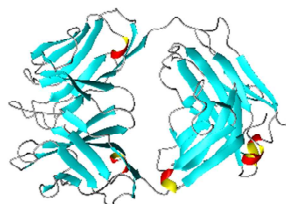


溶液中における相互作用
解析・立体構造解析

低分子医薬

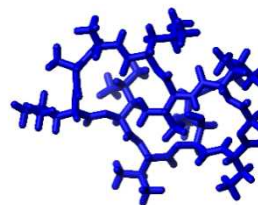


溶液NMR

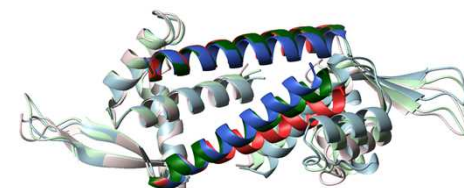
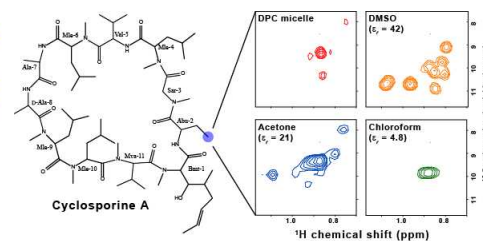


高分子バイオ医薬

中分子医薬



動的構造解析



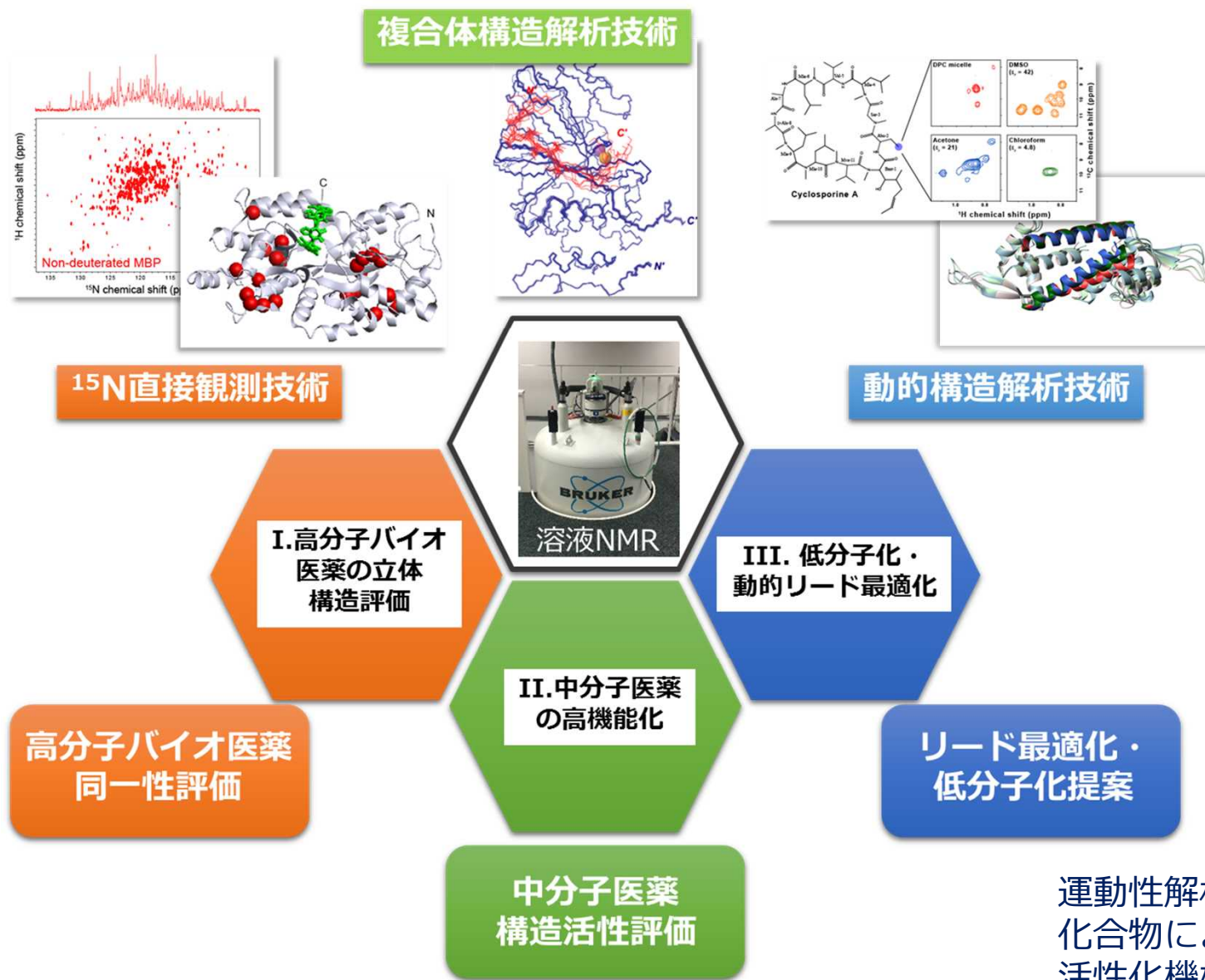
溶液中における機能的
構造転換の解明

開発技術の用途

- ・バイオ医薬の立体構造的同一性の検証
- ・中分子医薬の複合体立体構造解析・高機能化
- ・構造活性相関研究による低分子化・リード化合物の創成

構造が柔軟であるという共通の特徴を持つ高分子バイオ医薬・
中分子医薬に動的構造を解析できる唯一の方法であるNMRで対応

核となる技術と重点課題



高分子医薬を保存条件で観測できる NMR測定法の開発

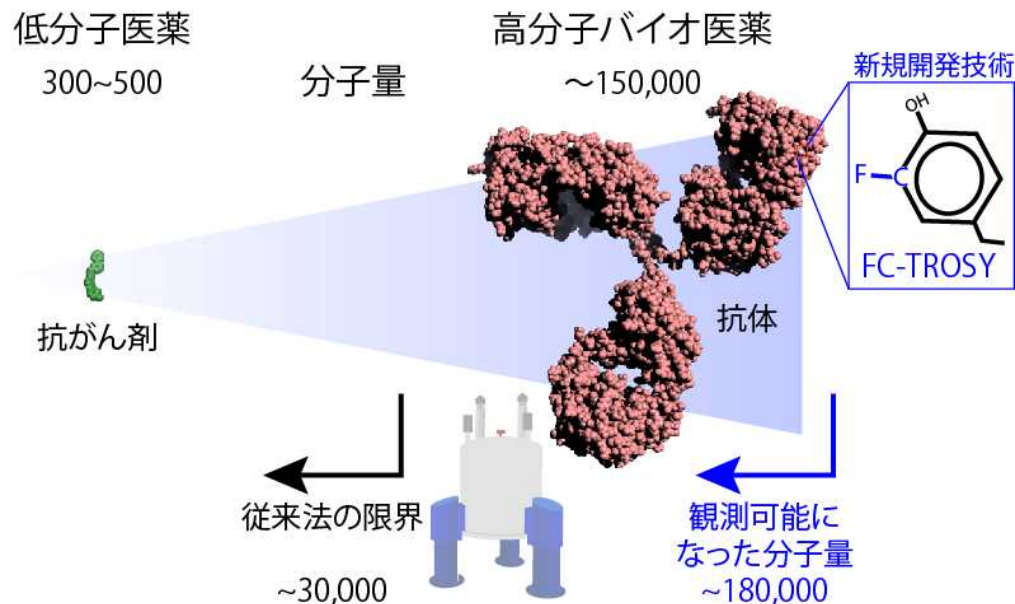
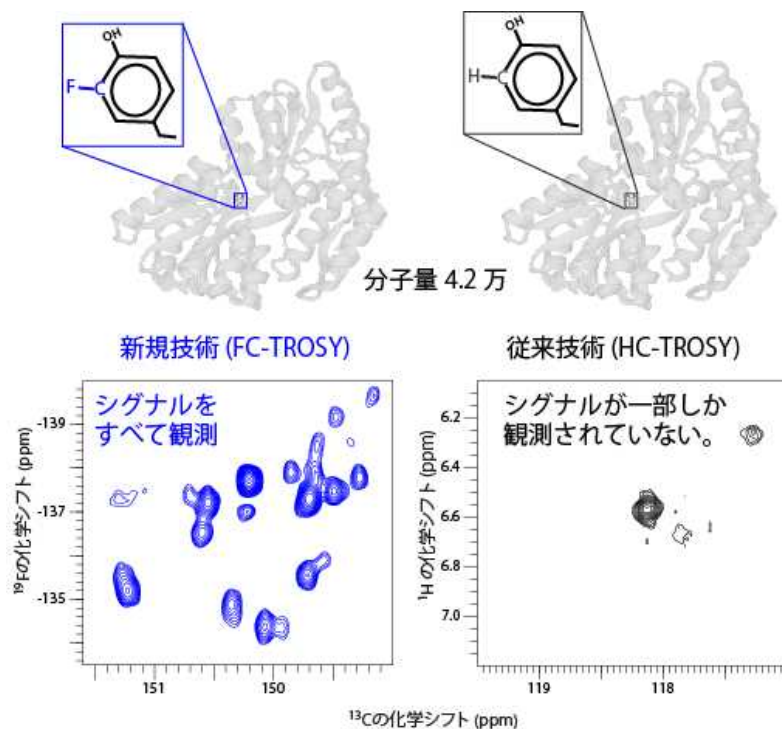
nature|methods

ARTICLES

<https://doi.org/10.1038/s41592-019-0334-x>

産総研プレスリリース
2019年3月12日

Aromatic ^{19}F - ^{13}C TROSY: a background-free approach to probe biomolecular structure, function, and dynamics



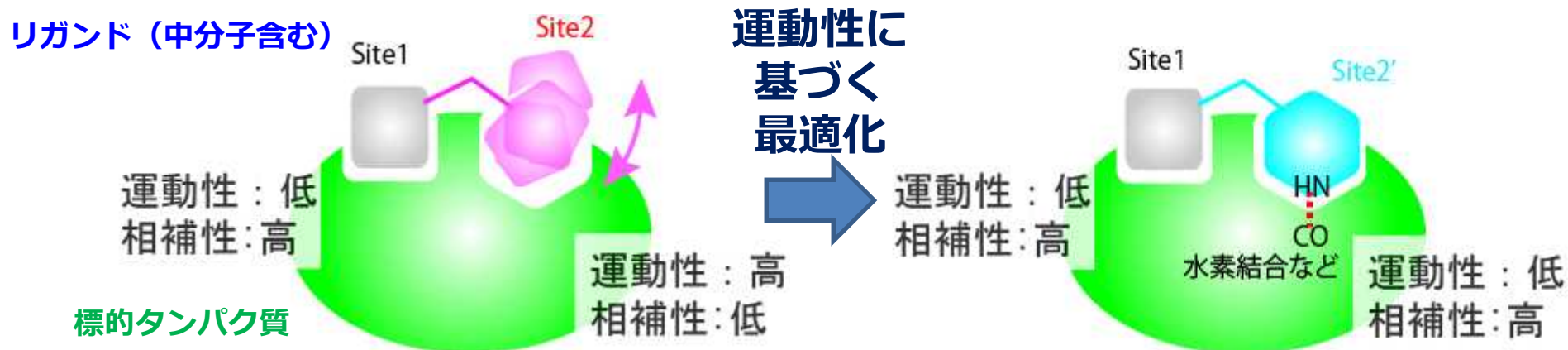
溶液状態のまま高次構造評価
構造同一性評価
タンパク質だけでなく核酸にも対応

中分子シミュレーション技術の開発 AMEDプロジェクト 2018年度～

1. 革新的中分子創薬技術の開発

【1-1】中分子製造技術の開発		
研究開発課題名	代表機関名	研究開発代表者
モジュール編集を主とする中分子天然化合物の母核改変及び修飾酵素による構造展開に向けた技術開発	次世代天然物化学技術研究組合/産業技術総合研究所	新家一男
【1-2】中分子シミュレーション技術の開発		
研究開発課題名	代表機関名	研究開発代表者
中分子シミュレーション技術の開発	次世代天然物化学技術研究組合	嶋田一夫
立体構造を基盤とする中分子創薬の合理的設計	北海道大学	前仲勝実
1-3】先端的な中分子創薬関連技術の開発		

NMRによる標的結合時の 化合物の運動性・相補性の評価

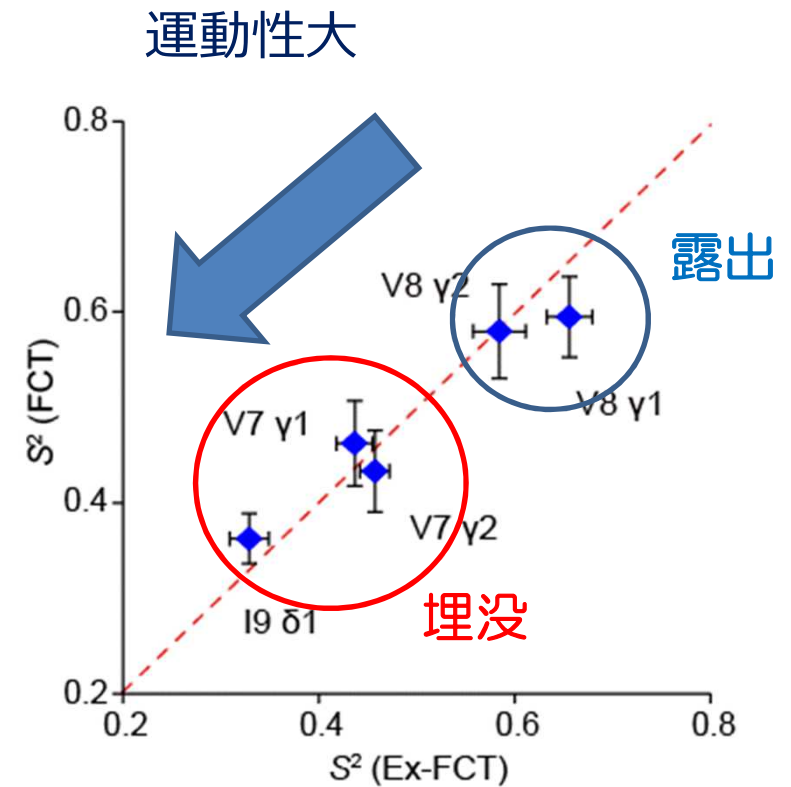
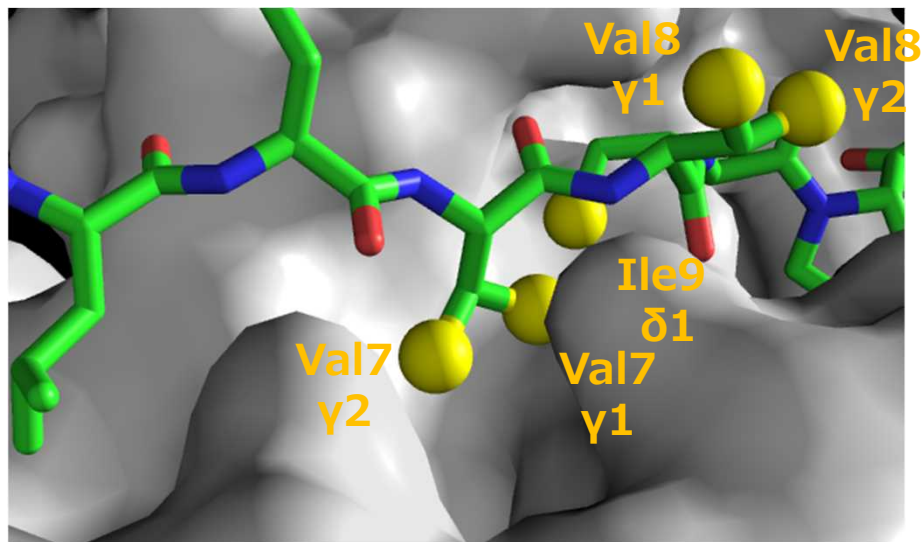


- ・各サイトの運動性および相補性を個別に算出
- ・運動性が残っているサイトに合理的な構造最適化を施す

- ・合理的な構造最適化を施し、特異的相互作用を強化
- ・特異性の高い理想的なリガンドの構築

キナーゼと阻害ペプチドの相互作用での検証

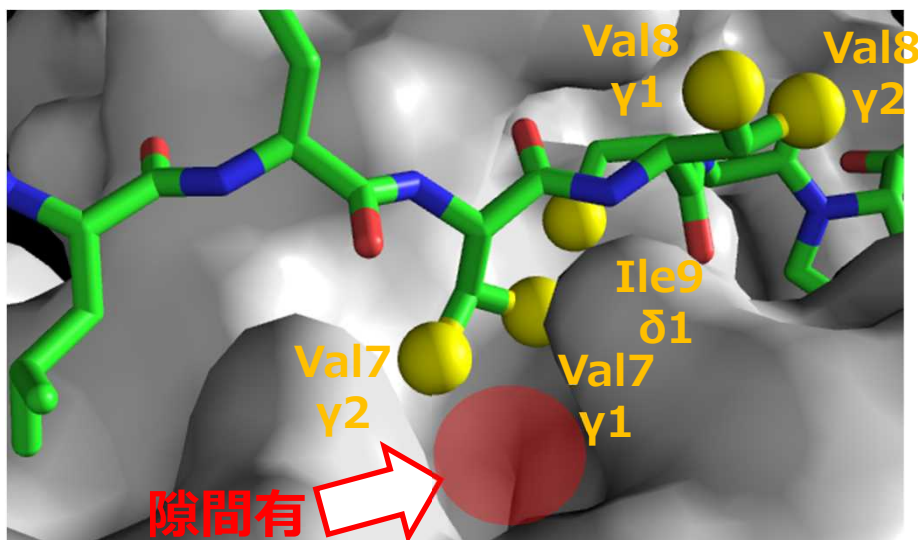
MEF2Aのp38αに対する結合様式



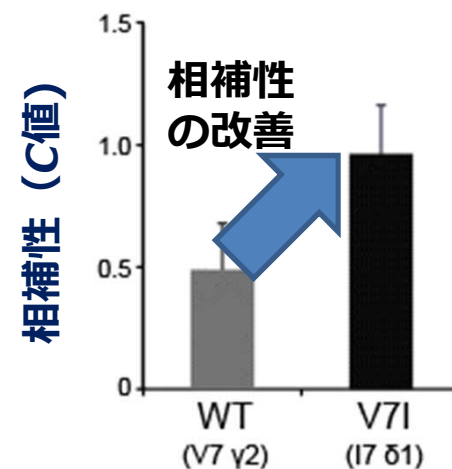
ポケットに埋没 = 運動性が低下とはなっていない

交換系FCT解析に基づく変異導入と結合の質の改善

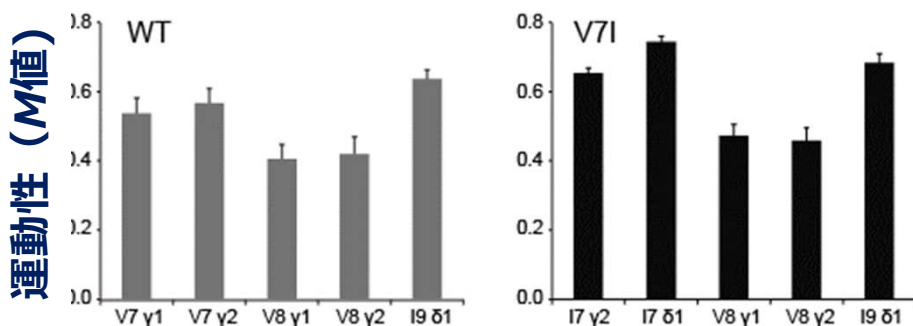
MEF2Aのp38αに対する結合様式



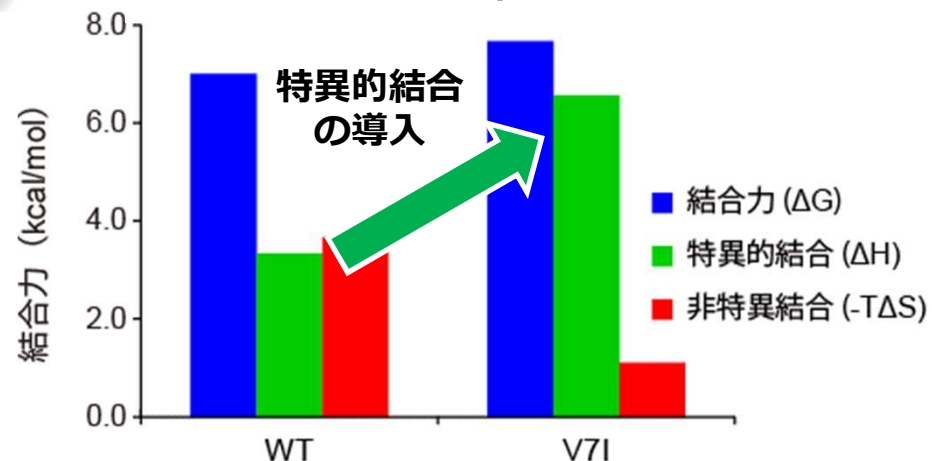
変異導入前後での空間相補性値



変異導入前後での運動性変化



変異導入前後での結合様式の変化



FCT法を活用することで、特異的結合の導入²⁶が可能

過去4年間の構造モダリティチームの共同研究の事例

>9社、11大学
>25課題

お問い合わせ先

産業技術総合研究所 生命工学領域

イノベーションコーディネーター 新聞 陽一

TEL 029-862-6032

FAX 029-862-6048

e-mail life-liaison-ml@aist.go.jp