

令和 2 年 6 月 19 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K18150

研究課題名(和文) FMO法による相互作用解析情報を用いたファーマコフォアモデリングの提案

研究課題名(英文) Pharmacophore modeling using interaction analysis information by Fragment Molecular Orbital method

研究代表者

吉野 龍ノ介 (Yoshino, Ryunosuke)

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：50817575

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,600,000円

研究成果の概要(和文)：本申請課題では、標的タンパク質に結合する際の化合物の立体障害や、化合物の活性向上のために重要なタンパク質との新たな相互作用の獲得は一切考慮しない従来のファーマコフォアモデリングの改善を行うため、タンパク質と化合物の相互作用エネルギーを定量的に予測するフラグメント分子軌道(FMO)法を用いたファーマコフォアモデリングを提案することを目的としている。本研究では、ジヒドロオロト酸脱水素酵素と既知阻害剤相間の相互作用解析を量子化学的手法であるFMO法を用いて解析を行った結果、CH- π 相互作用などの量子化学的な効果を考慮したファーマコフォアモデリングを行うことに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既知の阻害剤の構造式に基づいて設計を行う Ligand-based drug discovery(LBDD)は、スクリーニングのヒット率は高いが、新たな構造式を持った化合物が得にくい特徴がある。また、標的蛋白質の構造に基づく Structure-based drug discovery(SBDD)は、新たな骨格の化合物を得やすいが、スクリーニングのヒット率はLBDDよりも低い傾向がある。本研究では、LBDD の一種であるファーマコフォアに阻害剤と標的タンパク質の構造情報を取り入れた手法を提案することにより、両手法のメリットを取り入れた新たなスクリーニング手法の確立が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we propose a pharmacophore modeling based on interaction analysis using FMO method in order to improve conventional pharmacophore modeling that does not consider steric hindrance and acquisition of new interactions.

We analyzed the interaction between dihydroorotate dehydrogenase and inhibitor using the FMO method. As a result, we succeeded in performing the pharmacophore modeling with quantum chemical effects such as CH- π interaction.

研究分野：ケモインフォマティクス

キーワード：フラグメント分子軌道法 ファーマコフォアモデリング IT創薬 in silico創薬 ケモインフォマティクス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

1. 研究開始当初の背景

新規の薬理活性化合物の探索及び開発の研究は非常に長い期間と莫大な開発費が必要となる。創薬研究に掛かる期間は約 12 ~ 14 年、研究開発費は約 3000 億円掛かるといわれている。そのため近年では、研究期間や開発費の削減のため、創薬研究初期に行われる標的タンパク質を阻害するリード化合物の探索にコンピューターを用いるのが一般的な手法となっている。コンピューターを用いた化合物の探索手法は、次の 2 種類に分けられる。標的タンパク質の構造情報に基づいた分子設計を行う Structure-based drug design (SBDD) と、化合物の活性情報と構造式に基づいた分子設計を行う Ligand-based drug design (LBDD) である。SBDD でよく用いられる代表的な手法に、ドッキングシミュレーションがある。ドッキングシミュレーションは標的タンパク質に対して候補となる化合物群をコンピューター上で重ね合わせを行い、高速に大量の化合物の結合能を評価する手法である。一方、LBDD の代表的な手法の一つとしてファーマコフォアモデリングがある。ファーマコフォアモデルは、標的タンパク質に阻害活性を示す化合物群に共通の特徴を抽出する手法であり、化合物の三次元構造の重ね合わせからモデリングされることが多い。しかしながら、ファーマコフォアモデルは実際のタンパク質との結合様式を模してはいないため、スクリーニングによってファーマコフォアに適合する化合物を発見したとしても、標的タンパク質の部位に結合する際の立体障害や、化合物が大きすぎることによって生じる原子間の衝突などによって標的に対して結合できないケースがある。また、ファーマコフォアとして定義された部位が、どのように機能するか確定できない。例えば、活性が確認された化合物群に正電荷を有する官能基が共通していた場合、その官能基がタンパク質との相互作用に重要なのか、または水溶性などの物性で活性向上に寄与しているかは一般に不明である。また、化合物の活性向上のために、タンパク質との新たな相互作用の獲得は重要な課題である。しかしながら、ファーマコフォアモデリングの共通な特徴の抽出を行う手法では、一部の化合物が獲得したタンパク質との新たな相互作用を抽出することは出来ない。LBDD の利点は標的タンパク質の構造が解かれていないケースでも適用できることではあるが、薬理活性が確認された化合物と標的タンパク質の複合体構造に対してタンパク質と化合物間の相互作用解析を行い、それらの相互作用情報をもとにファーマコフォアモデリングを行うことによって従来手法を改善することが可能であると考えられる。

2. 研究の目的

従来のファーマコフォアモデリングの改善を行うため、本研究ではフラグメント分子軌道法 (Fragment molecular orbital: FMO)を用いた相互作用解析に基づいたファーマコフォアモデリングを行う。FMO 法はタンパク質などの巨大分子をフラグメントに分割し、各フラグメントに対して分子軌道計算を行い、系のエネルギーを求める手法である。その結果、各フラグメント間、つまり阻害剤と標的タンパク質間の相互作用エネルギーを求めることが出来る。この FMO 法は、分子力学法とは異なり、原子や分子集団のエネルギーを非経験的に求めることができ、結合している低分子との相互作用エネルギーの詳細も定量的に解析できるため、新規阻害剤のデザインにも応用されている (図 1)。本研究では、この FMO 法で既知阻害剤と標的タンパク質の相互作用エネルギーを解析し、阻害剤と標的タンパク質間に重要な相互作用形成箇所をファーマコフォアとして定義し、モデリングを行う。これにより、タンパク質との結合様式を模していないという既存のファーマコフォアモデルの問題点を解決することが可能である。また、水素結合や塩橋、芳香環のスタッキングなどの各官能基の役割を詳細に知ることができ、特定の阻害剤が新たに獲得した相互作用を考慮したファーマコフォアのモデリングが出来るため、従来のファーマコフォアスクリーニングでは得られなかった新たなヒット化合物の取得が予想される。

$$E_{\text{total}}^{\text{FMO}} = \sum_I E'_I + \sum_{I>J} \Delta \tilde{E}_{IJ}$$

1フラグメントのエネルギー
2フラグメントで計算した場合のエネルギー差

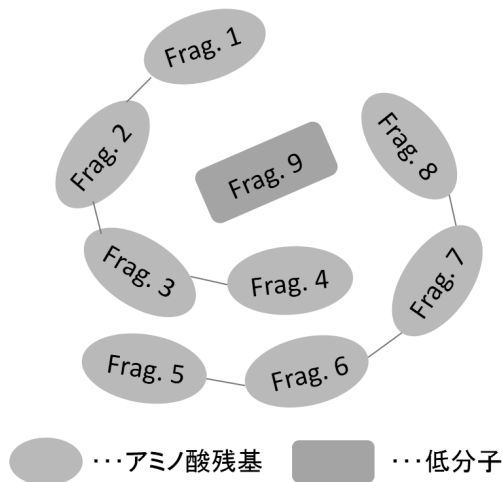


図 1. FMO 法におけるフラグメント分割法

3. 研究の方法

本研究では既にプロテインデータベース等に登録されている既知阻害剤とタンパク質の複合体構造に対して FMO 法による相互作用解析を行い、ファーマコフォアモデリング手法の確立を行う。また、従来法によってモデリングされたファーマコフォアとの比較や、FMO 法によってモデリングされたファーマコフォアに既知阻害剤と非阻害剤のスクリーニングを行い、ファーマコフォアモデルの分離能や有効性を確認する。

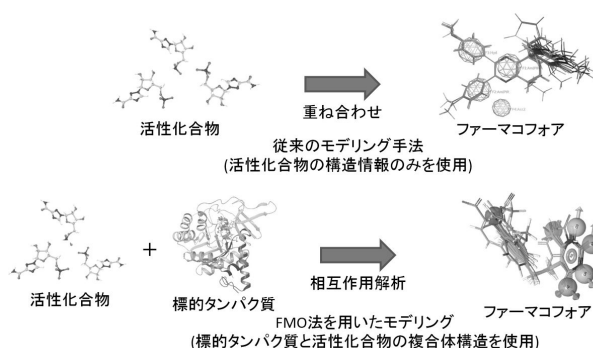


図 2. 従来法と本研究でのモデリング法

4. 研究成果

本研究では、シャーガス病治療薬開発の標的であるジヒドロオロト酸脱水素酵素 (Dihydroorotate dehydrogenase: DHODH) と既知阻害剤の複合体構造 43 種に対して FMO 法による相互作用解析を行い、8 割以上の化合物で -5.00 kcal/mol よりも低い相互作用エネルギーを有する部位、および相互作用をしている化合物数は 8 割以下だが、 -10 kcal/mol よりも低い相互作用エネルギーを有する部位も同様にファーマコフォアと定義した。相互作用解析を行った結果、全ての化合物で Lys43 との塩橋、Asn67 と Asn194 との水素結合、補因子である FMN との Pi スタッキングが共通して確認された。さらに、一部の阻害剤と Lys214 との相互作用エネルギーが確認された。この Lys214 との相互作用部位に定義されたファーマコフォアは、従来の LBDD では定義できず、FMO 法によって相互作用を確認することによりはじめて定義されたファーマコフォアといえる(図 3)。

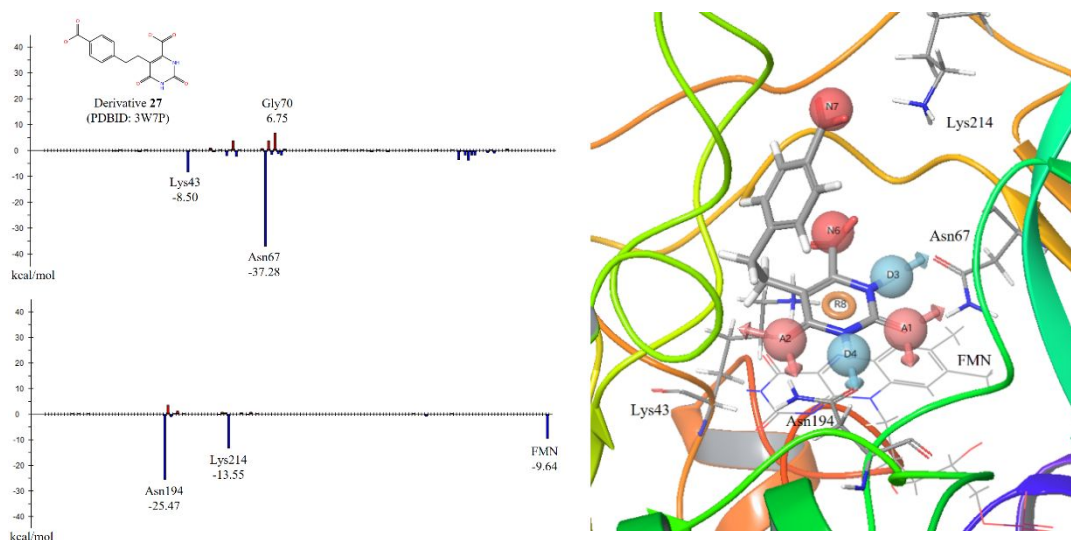


図 3. オロト酸誘導体の相互作用結果、及び FMO 法によりモデリングされたファーマコフォア(左: 阻害剤の相互作用解析結果、右: FMO 法による相互作用解析によってモデリングされたファーマコフォア(D: 水素結合供与対、A: 水素結合受容体、N: 負電荷、R: 芳香環)

阻害剤の活性向上のために、タンパク質との新たな相互作用の獲得は重要な課題であるため、本研究に用いた FMO 法による相互作用解析は有用な一例となる。また、FMO 法は相互作用エネルギーの値を精度よく見積もることができるため、相互作用エネルギーの強さに応じてファーマコフォアに優先度を付けるなどの応用が考えられる。このような FMO 法による相互作用解析の定量性を取り入れることにより、阻害剤探索のスクリーニングの改善が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Arai Naoki, Yoshikawa Shunsuke, Yasuo Nobuaki, Yoshino Ryunosuke, Sekijima Masakazu	4. 巻 16
2. 論文標題 Compound property enhancement by virtual compound synthesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Bioinformatics and Computational Biology	6. 最初と最後の頁 1840016 ~ 1840016
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1142/S0219720018400164	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Harada Ryuhei, Yoshino Ryunosuke, Nishizawa Hiroaki, Shigeta Yasuteru	4. 巻 40
2. 論文標題 Temperature-pressure shuffling outlier flooding method enhances the conformational sampling of proteins	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Computational Chemistry	6. 最初と最後の頁 1530 ~ 1537
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcc.25806	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Harada Ryuhei, Yoshino Ryunosuke, Nishizawa Hiroaki, Shigeta Yasuteru	4. 巻 92
2. 論文標題 Parallel cascade selection molecular dynamics to screen for protein complexes generated by rigid docking	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Graphics and Modelling	6. 最初と最後の頁 94 ~ 99
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jmgs.2019.07.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yoshino Ryunosuke, Yasuo Nobuaki, Sekijima Masakazu	4. 巻 9
2. 論文標題 Molecular Dynamics Simulation reveals the mechanism by which the Influenza Cap-dependent Endonuclease acquires resistance against Baloxavir marboxil	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-53945-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Chiba Shuntaro, Ohue Masahito, Gryniukova Anastasiia, Borysko Petro, Zozulya Sergey, Yasuo Nobuaki, Yoshino Ryunosuke, Ikeda Kazuyoshi, et al.	4. 巻 9
2. 論文標題 A prospective compound screening contest identified broader inhibitors for Sirtuin 1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19585
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-55069-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

[学会発表] 計4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Yoshino Ryunosuke, Yasuo Nobuaki, Hagiwara Yohsuke, Ishida Takashi, Inaoka Ken Daniel, Amano Yasushi, Tateishi Yukihiro, Ohno Kazuki, Namatame Ichiji, Niimi Tatsuya, Orita Masaya, Kita Kiyoshi, Akiyama Yutaka, Sekijima Masakazu
2. 発表標題 Discovery of a novel inhibitor of spermidine synthase for Chagas' disease by molecular dynamics and docking simulation
3. 学会等名 Asia Hub for e-Drug Discovery (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yoshino Ryunosuke, Yasuo Nobuaki, Sekijima Masakazu
2. 発表標題 キャップ依存性エンドヌクレアーゼの薬剤耐性メカニズムの解明
3. 学会等名 第46回生体分子科学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshino Ryunosuke, Yasuo Nobuaki, Sekijima Masakazu
2. 発表標題 Investigation of drug resistance acquisition mechanism of influenza cap-dependent endonuclease against Baloxavir marboxil by molecular dynamics simulation
3. 学会等名 The Chem-Bio Informatics Society
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshino Ryunosuke
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションを用いた標的タンパク質の分子認識機構の解明
3. 学会等名 計算メディカルサイエンス事業部発足キックオフシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考