

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K12110

研究課題名（和文）肺がん分子標的薬の選択を可能にする分子シミュレーションと数理モデルの解析系の確立

研究課題名（英文）Establishment of molecular simulation with mathematical model to enable the selection of molecular target drugs for lung cancer.

研究代表者

高岡 裕（Takaoka, Yutaka）

富山大学・学術研究部医学系・教授

研究者番号：20332281

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：肺がんのEGFR二量体の単独変異と複数変異について「知られている変異部位以外にもアミノ酸置換が存在する」という仮説を検証し、L858R変異またはA871G変異ではいずれもエルロチニブは有効だが、L858RとA871Gの複数変異を生じている患者では無効という論文報告を、分子シミュレーションで再現できた。この結果は、EGFR遺伝子検査は変異部分だけでは不十分で、シーケンス解析が必要であると示唆している。また、この解析技術基盤が多数の病態解析等に应用可能であることも確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的・社会的意義は、肺がんの分子標的薬のEGFR-TKI世代別にin silico薬効予測を可能にすることである。特に肺がん細胞で新規変異体の発見が続くEGFRから、抗がん剤選択の基準を提供する点は意義深い。薬効予測の実現により副作用の少ない効率的・効果的で安全な医療を実現する。またこの研究で得られた成果は、あらゆる分子標的薬の評価や創薬にも応用可能で、波及効果は大きい。また解析技術基盤としては、病態研究への応用が可能である。

研究成果の概要（英文）：We examined the hypothesis that there are amino acid substitutions outside the known mutation sites for single and multiple mutations of the EGFR dimer, and reported that erlotinib is effective for both L858R and A871G mutations, but not for patients with multiple mutations of L858R and A871G. Molecular simulations were able to reproduce these results. In addition, it was also confirmed that this molecular analysis methods can be applied to the research of numerous pathological process.

研究分野：バイオインフォマティクス

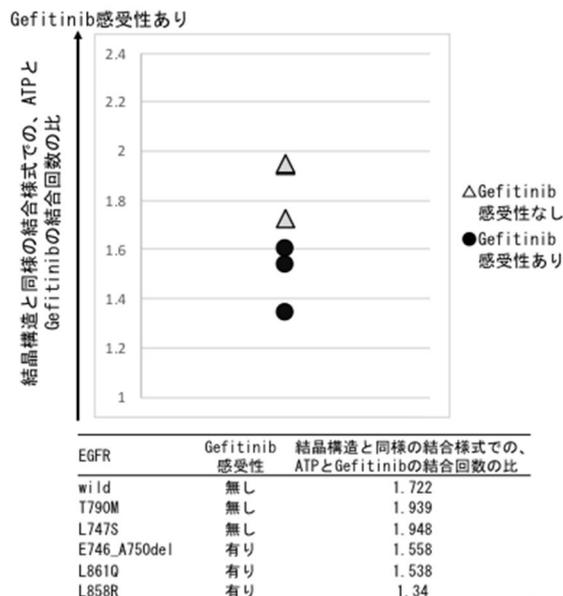
キーワード：EGFR-TKI 分子標的薬 分子シミュレーション バイオインフォマティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

薬剤感受性(薬効)には、薬物代謝酵素や薬物トランスポーターや、薬剤標的分子の遺伝子変異との関連が知られている。特に分子標的薬の薬剤感受性は標的分子の遺伝子変異と強く関連し、肺の非小細胞がんの上皮成長因子受容体(EGFR)の一部の遺伝子変異では薬剤選択の指標となるなど、EGFR 遺伝子型を治療薬選択の指標として利用されつつある。しかしEGFR の遺伝子変異 1,891 種類(2020 年 10 月 14 日時点)のうち、一部を除く多くの変異型 EGFR の薬剤感受性は不明確である。これまでの我々の研究成果からは、分子標的薬とEGFR の結合親和性と薬効との間には、関連があることを見出している。

そこで本研究では、肺がん分子標的薬であるEGFR チロシンキナーゼ阻害剤(EGFR-TKI)を1~3の世代別に分け、申請者らが既に進めている第1世代のゲフィチニブ以外の、エルロチニブ(第1世代)、アファチニブ(第2世代)、オシメルチニブ(第3世代)と各変異型EGFR との薬物相互作用を、チロシンキナーゼ活性阻害の分子シミュレーション解析とその数理モデル化により解明し、各々の薬効予測法を確立し、変異型EGFR ごとの最適な肺がん分子標的薬の選択指標を提供可能にすることを着想した。実際我々は、右図のようにEGFR への結合比(ATP÷ゲフィチニブ)に差を見出しており、これを用いて解析を進めることにした。



2. 研究の目的

薬効や副作用は、抗がん剤の標的や代謝に関連する分子の変異型との関係性が強い知られてきている。抗がん剤の使用に際しては副作用が少なく、薬効の明らかなものの選択が望ましいが、多くは臨床経験に基づく選択がされている。近年、蓄積された知見から遺伝子変異と副作用や薬効との関連が明らかになった一部では、がん化学療法開始前の遺伝子検査が必須な例も存在する。しかし、がん細胞では多くの遺伝子変異が生じており、実際、新しい変異が次々と報告されており、患者への投与後に薬効が判明するか、最後まで薬効不明で終わる事も多い。

このように、特に新規変異では治療の為の判断材料が皆無に近いことがほとんどであり、これは大きな問題である。抗がん剤治療にあたり、副作用と薬効の予測が実現できれば、薬剤選択の臨床的な指標として有用であると考えられる。

そして、これらに利用可能な分子シミュレーション解析の手法を確立することで、生命現象全般の理解を可能にする基盤技術とすることを目指し、本研究を開始した。

3. 研究の方法

EGFR チロシンキナーゼ阻害剤(EGFR-TKI)と各変異型EGFR との薬物相互作用を、チロシンキナーゼ活性を競合阻害するモデルとして分子シミュレーション解析(モデリングとMD計算による変異型の立体構造解析およびEGFR-TKI とのドッキング解析)により評価することにした。まず高速の計算機を購入し、解析に必要なプログラム(統合化学プログラム, MOE; 分子動力学計算プログラム, GROMACS プログラム)を導入した。次に、3世代全てに薬剤感受性の高い遺伝子変異のうち未解析の5変異の構造を、ドッキング解析や数理モデル導出の実験用として解析した。ここで、EGFR は二量体で各サブユニットの機能が異なる(レシーバーとアクティベータ)ため、単独変異と複数変異(cis)では1変異で(1)変異ホモ、(2)レシーバーが変異型のヘテロ、(3)アクティベータが変異型のヘテロの計3分子の解析が必要なため、実際には15種類の分子の解析を行なった。

またこの研究を進める中で、分子シミュレーション解析結果と薬効が合わないケースを見出したので、その解明に取り組んだ。具体的には文献調査により、各々では薬効がある変異が二つ同時に存在することで、分子標的薬が無効になる例がないかを検索した。そして第一世代薬のエルロチニブにおいて、L858R 変異またはA871G 変異ではいずれも有効だが、L858R とA871G の複数変異では無効という報告を見出した。そこで、その現象を分子シミュレーション解析で再現できないかを検討した。

さらに、この研究を通して確立した方法論を疾患メカニズム解明や病態解明に応用できる部分について、検討を加えることで基盤技術としての検証も加えた。

4. 研究成果

研究の初年度に、これまでの我々の研究成果である分子標的薬の結合親和性と薬効の関連について、一部の変異において結合親和性と薬効が矛盾する解析結果を得た。ここから、仮説として「知られている変異部位以外にもアミノ酸置換が存在するのではないか」という考えを得て、その検証を進めることにした。まず文献調査により、L858R 変異または A871G 変異ではいずれもエルロチニブは有効だが、L858R と A871G の複数変異では無効という報告について、EGFR 二量体の各単独変異と複数変異について、(1)変異ホモ、(2) レシーバー が変異型のヘテロ、(3)アクティベータが変異型のヘテロの計 3 分子の立体構造解析と、エルロチニブのドッキング解析を実施した。その結果、論文報告と同じ結果を分子シミュレーションで再現できた。この結果は、分子標的薬の EGFR-TKI の治療前の遺伝子検査において、部分的な遺伝子検査では不十分であることを示唆している。

次に、確立した分子シミュレーション解析の方法論を疾患メカニズム解明や病態解明に応用可能な技術基盤かどうか、検討を加えた。その結果、多数の疾患において病態メカニズムの解明に成功した。それらの成果の中で、新型コロナウイルスの感染力解析や感染抑制物質の発見、感染力予測の数理モデル導出など、研究遂行と共に社会的要請が高かった新型コロナに関する研究であった。また、新たな高血圧の病態発見など、この研究目的外ではあるが興味深い、思わぬ研究成果を得て、新たな技術基盤として有益であることを確認できた。そして新聞記事(全国)に 4 成果が、日本放送協会と民放のニュースに 1 成果が取り上げられるなど、社会的に大きな反響を得た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 8件）

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Takaoka Yutaka, Sugano Aki, Morinaga Yoshitomo, Ohta Mika, Miura Kenji, Kataguchi Haruyuki, Kumaoka Minoru, Kimura Shigemi, Maniwa Yoshimasa | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Prediction of infectivity of SARS-CoV2: Mathematical model with analysis of docking simulation for spike proteins and angiotensin-converting enzyme 2 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Microbial Risk Analysis | 6. 最初と最後の頁 100227 ~ 100227 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mran.2022.100227 | 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 Sugano Aki, Takaoka Yutaka, Kataguchi Haruyuki, Ohta Mika, Kimura Shigemi, Araki Masatake, Morinaga Yoshitomo, Yamamoto Yoshihiro | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 SARS-CoV-2 Omicron BA.2.75 Variant May Be Much More Infective than Preexisting Variants Based on In Silico Model | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Microorganisms | 6. 最初と最後の頁 2090 ~ 2090 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms10102090 | 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 Shigemi Kimura, Yutaka Takaoka, Aki Sugano | 4. 巻 68 |
| 2. 論文標題 Increase in the number and duration of sleep episodes during class after reopening of schools following closure due to COVID-19. | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Kobe Journal of Medical Sciences | 6. 最初と最後の頁 E23-E29 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 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 Takaoka Yutaka, Ohta Mika, Tateishi Satoshi, Sugano Aki, Nakano Eiji, Miura Kenji, Suzuki Takashi, Nishigori Chikako | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 In Silico Drug Repurposing by Structural Alteration after Induced Fit: Discovery of a Candidate Agent for Recovery of Nucleotide Excision Repair in Xeroderma Pigmentosum Group D Mutant (R683W) | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Biomedicines | 6. 最初と最後の頁 249 ~ 249 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines9030249 | 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 Nagano China, Takaoka Yutaka, Kamei Koichi, Hamada Riku, Ichikawa Daisuke, Tanaka Kazuki, Aoto Yuya, Ishiko Shinya, Rossanti Rini, Sakakibara Nana, Okada Eri, Horinouchi Tomoko, Yamamura Tomohiko, Tsuji Yurika, Noguchi Yuko, Ishimori Shingo, Nagase Hiroaki, Ninchoji Takeshi, Iijima Kazumoto, Nozu Kandai | 4. 巻 6 |
| 2. 論文標題 Genotype-Phenotype Correlation in WT1 Exon 8 to 9 Missense Variants | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Kidney International Reports | 6. 最初と最後の頁 2114~2121 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ekir.2021.05.009 | 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 Kimura Shigemi, Takaoka Yutaka, Toyoura Makiko, Kohira Shinji, Ohta Mika | 4. 巻 87 |
| 2. 論文標題 Core body temperature changes in school-age children with circadian rhythm sleep/wake disorder | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Sleep Medicine | 6. 最初と最後の頁 97~104 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sleep.2021.08.026 | 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 Hagiyama Man, Takeuchi Fuka, Sugano Aki, Yoneshige Azusa, Inoue Takao, Wada Akihiro, Kajiyama Hiroshi, Takaoka Yutaka, Sasaki Kenroh, Ito Akihiko | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Indigo plant leaf extract inhibits the binding of SARS-CoV-2 spike protein to angiotensin-converting enzyme 2 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Experimental and Therapeutic Medicine | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/etm.2022.11200 | 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 Wu Xilin, Azizan Elena A. B., Goodchild Emily, Garg Sumedha, Hagiyama Man, (中略), Takaoka Yutaka, Murray Sandra A., Zennaro Maria-Christina, Beuschlein Felix, Ito Akihiko, Brown Morris J. | 4. 巻 55 |
| 2. 論文標題 Somatic mutations of CADM1 in aldosterone-producing adenomas and gap junction-dependent regulation of aldosterone production | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Nature Genetics | 6. 最初と最後の頁 1009~1021 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41588-023-01403-0 | 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 |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Shimada Yoshifumi, Ojima Toshihiro, Takaoka Yutaka, Sugano Aki, Someya Yoshiaki, Hirabayashi Kenichi, Homma Takahiro, Kitamura Naoya, Akemoto Yushi, Tanabe Keitaro, Sato Fumitaka, Yoshimura Naoki, Tsuchiya Tomoshi | 4. 巻 54 |
| 2. 論文標題 Prediction of visceral pleural invasion of clinical stage I lung adenocarcinoma using thoracoscopic images and deep learning | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Surgery Today | 6. 最初と最後の頁 540 ~ 550 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00595-023-02756-z | 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 Sugano Aki, Murakami Junon, Kataguchi Haruyuki, Ohta Mika, Someya Yoshiaki, Kimura Shigemi, Kanno Akira, Maniwa Yoshimasa, Tabata Toshihide, Tobe Kazuyuki, Takaoka Yutaka | 4. 巻 25 |
| 2. 論文標題 In silico binding affinity of the spike protein with ACE2 and the relative evolutionary distance of S gene may be potential factors rapidly obtained for the initial risk of SARS-CoV-2 | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Microbial Risk Analysis | 6. 最初と最後の頁 100278 ~ 100278 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mran.2023.100278 | 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 Takeuchi Fuka, Sugano Aki, Yoneshige Azusa, Hagiwara Man, Inoue Takao, Wada Akihiro, Takaoka Yutaka, Ito Akihiko | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 Potential Contribution of Cell Adhesion Molecule 1 to the Binding of SARS-CoV-2 Spike Protein to Mouse Nasal Mucosa | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Cells Tissues Organs | 6. 最初と最後の頁 1 ~ 12 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000534892 | 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 - |

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 5件 / うち国際学会 2件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 高岡 裕 |
| 2. 発表標題 仮説検証から予測確認へのパラダイムシフト: in silico解析のヘルスケアへの展開 |
| 3. 学会等名 第43回和漢医薬学総合研究所特別セミナー 『富山大学 熊本大学連携による持続可能なグローバルヘルスケア研究拠点の形成』（招待講演） |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 高岡 裕 |
| 2. 発表標題 病態の分子シミュレーション解析系確立と計算創薬教育基盤の整備 |
| 3. 学会等名 Toyama Academic GALA 2023 (招待講演) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 高岡 裕 |
| 2. 発表標題 検証から予測へ:分子シミュレーションと数理モデルによる漢方薬の薬物有害反応解析 |
| 3. 学会等名 第13回 日本中医薬学会シンポジウム「伝統医学を科学する」(招待講演) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yutaka TAKAOKA |
| 2. 発表標題 Prediction research for the bio process by the homology modeling and molecular dynamics simulation - from Verification to Prediction |
| 3. 学会等名 MOE Symposium 2023 (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Yutaka TAKAOKA |
| 2. 発表標題 Prediction for Adverse Reaction and Efficacy of Medicine by Molecular Dynamics Simulation - from Verification to Prediction - |
| 3. 学会等名 The 7th Toyama-Basel Joint Symposium (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

富山大学先端抗体医薬開発センター・バイオインフォマティクス部門
<https://www.antibody.u-toyama.ac.jp/team/bioinformatics/>

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 |
|-------|---|---------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 菅野 亜紀 (Aki Sugano) (20457039) | 富山大学・学術研究部医学系・特命助教 (13201) | |
| 研究分担者 | 永野 達也 (Nagano Tatsuya) (80624684) | 神戸大学・医学研究科・講師 (14501) | |
| 研究分担者 | 大田 美香 (Ohta Mika) (20274706) | 富山大学・学術研究部医学系・特命助教 (13201) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 | | | |
|---------|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------|------|
| 英国 | Queen Mary University, LONDON | Imperial College London | MRC Instit. NIHR Cambridge | 他2機関 |
| マレーシア | Universiti Kebangsaan Malaysia | | | |

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 | | | |
|---------|---------------------------------------|----------------------------|--------------------------|--|
| フランス | University devParis, PARCC | Pitiaux de Paris | | |
| シンガポール | National University of Singapore | | | |
| ドイツ | Ludwig-Maximilians-Universiti Munchen | | | |
| 米国 | University of Michigan Medical School | University of Pennsylvania | University of Pittsburgh | |
| チェコ | University Hospital Hradec Kralove | | | |
| スイス | USZ und UZH | | | |