

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25870222

研究課題名(和文) 熱帯病治療薬開発に向けた新薬開発高度化

研究課題名(英文) Enhancement of drug discovery of NTDs based on in silico computer-based modeling technologies

研究代表者

関嶋 政和 (SEKIJIMA, MASAKAZU)

東京工業大学・学術国際情報センター・准教授

研究者番号：80371053

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)：シャーガス病・アフリカ睡眠病・リーシュマニア症等のトリパノソーマ症は、WHOに指定される顧みられない熱帯病であり寄生性の原虫であるTrypanosomaによって引き起こされる人獣共通感染症である。我々は、トリパノソーマ症の治療薬候補の探索を目指して、スペルミジン合成酵素(SRM)に着目し、分子動力学シミュレーションとドッキングシミュレーションにより、化合物を選択し、Trypanosoma cruzi由来SRMのin vitro酵素アッセイ系を用いた阻害活性評価in vitro 試験によって評価を行った結果、IC50 が10 μ Mオーダーのヒット化合物を得ることに成功した。

研究成果の概要(英文)：Chagas' disease, African trypanosomiasis, and leishmaniasis are some examples of neglected tropical diseases (NTDs), and are transmissible zoonotic diseases caused by the parasitic protozoan Trypanosoma. To facilitate new drug development for Chagas' disease and other trypanosomiasis caused by Trypanosoma, we exploited a database to narrow down on potential drug target proteins, proposed for drug candidates by molecular dynamics simulation and docking simulation, and evaluated them by in vitro assays.

We successfully obtained active compounds with IC50 values of the 10 μ M order against SRM selected by narrowing down using iNTRODB. The MD simulations on the supercomputer identified hit compounds that could not be found by docking on the X-ray structure. We intend to conduct further studies including determination of trypanocidal activity of the compounds obtained herein.

研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：創薬 ハイパフォーマンスコンピューティング 生体生命情報学

1. 研究開始当初の背景

主に熱帯地域を中心にして、いわゆる顧みられない熱帯病 (NTDs, Neglected Tropical Diseases) と呼ばれる寄生虫、細菌感染症が蔓延している。WHO が焦点を当てている 17 の疾患群において、世界で 10 億人以上が感染しているとされているが、未だ安価で安全な治療薬を入手できない為に、人々の生命を脅かす健康問題に留まらず、経済活動の足かせ・貧困の原因ともなっている。NTDs の中で、リーシュマニア症、シャーガス病、アフリカ睡眠病といった疾患を引き起こす寄生原虫治療薬は、ターゲットとなるタンパク質が解明されており、早期の治療薬の開発が待たれている。

従来のタンパク質立体構造情報に基づく薬剤設計は、リガンド結合部位の立体構造解析と静電場の解析 (鍵穴構造の解析) から、この部位での相補的構造を有する分子 (鍵) をデータベースから検索し、結合を行う (Kuntz et al., Science, 1992)。しかし、この手法では設計されるリガンドは立体構造上の相補性に依存することになる。また、タンパク質は生体中で結合部位を含めて揺らいでおり、PDB から得られる rigid な構造への結合シミュレーションなどだけでは、正しいリガンドを得ることは難しいと考えられる。申請者は、炎症性疾患の鍵になるシグナル伝達系に重要な機能を果たしている CK1 について、阻害剤となる化合物と、これを母化合物として化合物を伸張した誘導体について、コンピュータシミュレーションから、binding assay 実験までを一貫して行い、新規な 2 つのリガンドを獲得することに成功した。

2. 研究の目的

本申請課題「熱帯病治療薬開発に向けた新薬開発高度化」では、世界には未だ治療満足度が低く、更なる医薬品の貢献が求められるアンメットメディカルニーズの高い疾患である、いわゆる顧みられない熱帯病の標的タンパク質に対して、京や TSUBAME2.0 等の世界最高水準のスーパーコンピュータを用いた創薬手法を確立し、リガンド結合部位の熱揺らぎに対応した化合物の伸張や結合等の最適化を行いタンパク質とリガンドが結合した構造 (活性構造) を考慮したリガンド設計を可能にすることにより革新的な創薬を実現することを目的とする。

3. 研究の方法

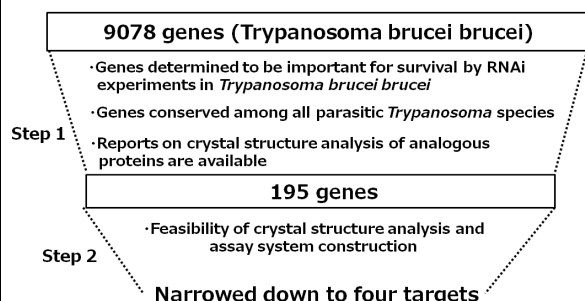
本申請では、リガンドの設計に於いてタンパク質とリガンドの結合部位の熱揺らぎを考慮し、立体構造上の相補性に加えて、水分子が自由度を得るとエントロピー的に有利に働くことを利用することで、タンパク質とリガンドが結合した構造 (活性構造) を考慮したリガンド設計を可能にすることを目的

とする。この目的で具体的に行うことは、
 (1) タンパク質の熱揺らぎから、リガンド結合部位の揺らぎを抽出する機構の実装。
 (2) 骨格とする化合物 (母化合物) の伸張や結合を行う方向を定める機構の実装。
 (3) 置換基の選択と結合による化合物 (誘導体) の設計機構の実装。上記 (2) で求められた方向に従い、立体構造上の相補性を考慮した化合物の設計
 (4) 設計したリガンドと標的タンパク質との結合性の評価

以上の機構を、まずは東京工業大学のスーパーコンピュータ TSUBAME2.0 で実装・評価を行い、大規模に実行可能な創薬手法の確立を目指す。

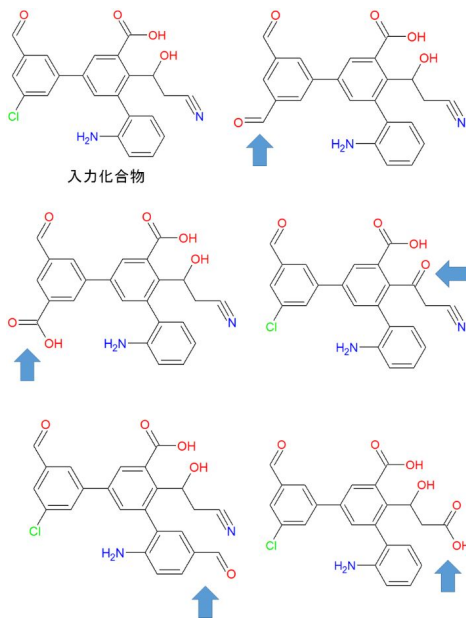
4. 研究成果

我々は、トリパノソーマ症の治療薬候補の探索を目指して、まず、トリパノソーマ科寄生原虫 3 種に関する遺伝子、蛋白質、化合物の情報を統合し、効率的に標的分子候補を絞り込むことが出来る iNTRONDB と呼ばれるデータベースを用いることで、9078 遺伝子のうち 4 つの標的蛋白質の決定を行い、スペルミジン合成酵素 (SRM) に着目した。



生体内では、蛋白質は熱揺らぎをしていることから、東京工業大学が所有するスーパーコンピュータ TSUBAME2.5 を用いて SRM の分子動力学シミュレーション (MD) を 300K で 20ns 行った。同様に TSUBAME2.5 を用いて X 線結晶構造解析で得られている構造と共に MD で得られた代表構造に対してそれぞれ 480 万化合物のドッキングシミュレーションを行い、MD を行うことでドッキングする化合物の多様性が増すことが確認された。ドッキング結果の上位の化合物に対し、*Trypanosoma cruzi* 由来 SRM の *in vitro* 酵素アッセイ系を用いた阻害活性評価 *in vitro* 試験によって評価を行った結果、IC50 が 10 μ M オーダーのヒット化合物を得ることに成功した。

また、目的に応じた特性を持つ化合物を生成してライブラリを構築するシステムの開発を行い、化合物のデータを入力し、入力した化合物データに対して仮想的に化学反応を行うことで新しく化合物のデータを生成し、仮想化合物ライブラリの構築を実現した。その際に、化合物の構造をグラフ構造として扱い、部分グラフの変換によって化学反応による化合物の構造の変換を表現する。この仮

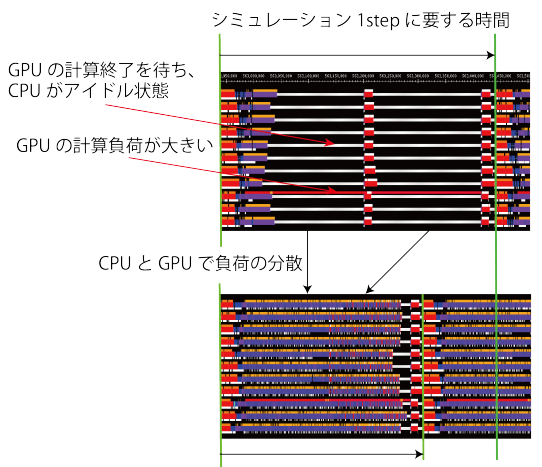


供与体数増加方向の反応ルール

想的な化学反応に方向性を持たせることで、目的に応じた特性を持つ化合物を含むライブラリを構築する。本システムでは入力した化合物から反応ルールを適用することで新しく生成された化合物グラフを再度入力として適用し、多段階に構造の変換を行う。現在、本システムでは、水素結合の供与体増加方向・水素結合の受容体増加方向・環構造増加方向の3種類の反応ルールの方向性を作成することを可能にしている。

さらに、タンパク質の熱揺らぎを求める為に、分子動力学シミュレーションの応用とその高速化が非常に重要となるが、HPC(High Performance Computing)分野において主流になりつつある GPGPU(General Purpose Graphics Processing Unit)向け最適化を行った。CPU と GPU のような異なるプロセッサが混在する計算環境、すなわちヘテロジニアスな計算環境においては計算資源を十分に活かすために様々な特殊な配慮が必要となる。その1つが異なるプロセッサ間で計算負荷のバランスをとることである。

上側の図に示してある通り、CPU の多くが GPU の計算の終了を待ってアイドル状態(白い領域)となり、計算資源が有効に活用しきれていない状態を改善するために、CPU と GPU の負荷のバランスをとった結果が図の下側



計算資源の利用効率上がり、計算速度の向上

になる。アイドルだった CPU に GPU の負荷を割り当てることで、このケースでは約 20%程度計算速度を向上させることに成功した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 3 件)

[1] N. Yasuo and M. Sekijima "Application for evaluating and visualizing the sequence conservation of ligand-binding sites", IPSJ Transaction on Bioinformatics, accepted. 査読有

[2] T. Udagawa and M. Sekijima, "GPU Accelerated Molecular Dynamics with Method of Heterogeneous Load Balancing", The 16th IEEE International Workshop on Parallel and Distributed Scientific and Engineering Computing (PDSEC 2015), DOI 10.1109/IPDPSW.2015.41, 2015. 査読有

[3] R. Nagarajan, S. Pankaj Chothani, C. Ramakrishnan, M. Sekijima, and M. M. Gromiha, "Structure based approach for understanding organism specific recognition of protein-RNA complexes", Biology Direct, doi:10.1186/s13062-015-0039-8, 2015. 査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

[1] 吉川舜亮, 安尾信明, 吉野龍ノ介, 関嶋政和 「方向性を持たせたグラフ構造変換による仮想化合物ライブラリの構築の研究」情報処理学会バイオ情報学研究会, 2015-BI0-41, 2015年3月22日, 北海道大学(札幌市).

[2] 安尾信明, 関嶋政和 「配列相同性に基づくタンパク質のリガンド結合候補部位の評価」情報処理学会バイオ情報学研究会, 2014-BI0-38, 2015年3月22日, 北海道大学(札幌市).

[3] 吉野 龍ノ介, 安尾 信明, 萩原 陽介, 大野 一樹, 生田目 一寿, 折田 正弥, 関嶋政和 「インシリコスクリーニングを用いた抗トリパノソーマ薬の探索」, 第84回日本寄生虫学会大会, 2015年3月21日, 杏林大学(東京都).

[4] 安尾信明, 関嶋政和 「タンパク質立体構造中のリガンド結合候補部位における配列保存性評価手法の開発」, 情報処理学会第77回全国大会, 2015年3月18日, 京都大学(京都市).

[5] 宮津知美, 安尾信明, 関嶋政和 「残基との相互作用エネルギーに基づくドッキングシミュレーション結果の絞り込み」, 情報処理学会第77回全国大会, 2015年3月18日, 京都大学(京都市).

[6] 吉川舜亮, 安尾信明, 吉野龍ノ介, 関嶋政和, 「多段階グラフ拡張による仮想化合物

ライブラリ構築の研究」, 情報処理学会第 77 回全国大会, 2015 年 3 月 18 日, 京都大学(京都市).

[7] 千葉峻太郎, 萩原陽介, 大野一樹, 本坊和也, 折田正弥, 関嶋政和「Discovery of dengue virus protease inhibitors and their inhibition mechanism through docking simulation」, 第 55 回日本熱帯医学会大会・第 29 回日本国際保健医療学会学術大会, 2014 年 11 月 2 日, 国立国際医療研究センター(東京都).

[8] R. Yoshino, N. Yasuo, Y. Hagiwara, K. Ohno, I. Namatame, M. Orita, M. Sekijima, 「Development of a novel anti trypanosoma drug」, CBI 学会 2014 年大会, 2014 年 10 月 28 日, タワーホール船堀(東京都).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.bio.gsic.titech.ac.jp/visco.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関嶋 政和 (SEKIJIMA, Masakazu)

東京工業大学・学術国際情報センター・准教授

研究者番号: 80371053

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: