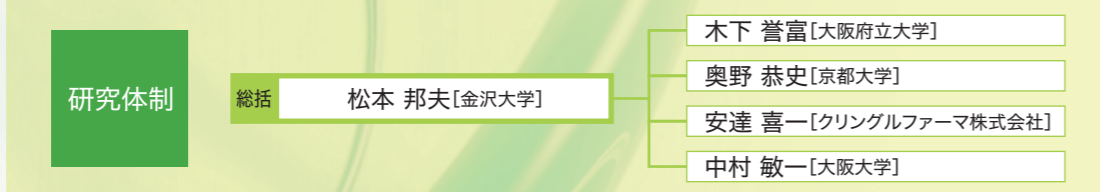


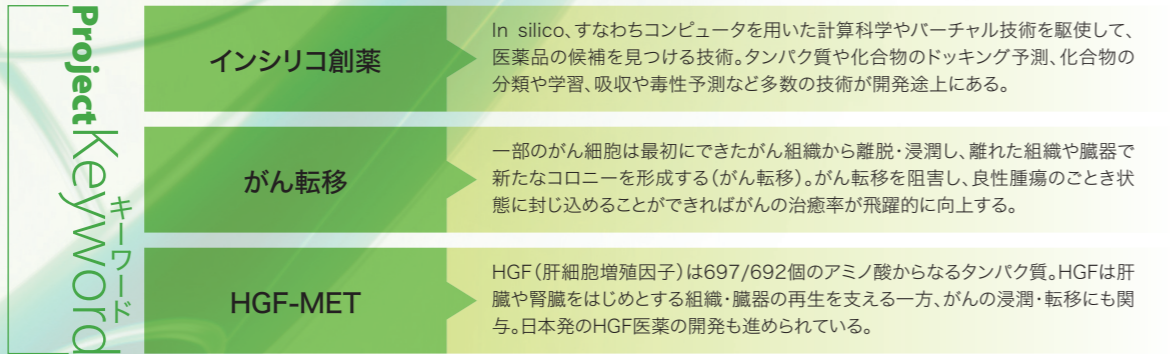
HGF-Met受容体系を標的とする インシリコ分子創薬研究

研究期間 平成18年度～平成22年度(予定)



※平成21年度における研究体制

インシリコ技術によるがん転移阻害剤開発



1 研究の背景・意義

新しい創薬技術による分子標的抗がん剤開発

疾患原因遺伝子の同定や微量タンパク質の解析技術の向上などにより、様々な疾患の原因が分子レベルで理解され、新しい医薬による疾患の克服への期待が高まっている。一方、タンパク質の構造解析技術の進展が計算科学の進歩と相まって、分子の構造情報に基づいて、インシリコバーチャル技術を使用した創薬手法が進展している。このような手法は、従来に比べ短い年月と少ない費用で医薬開発を可能にするとともに、大学など研究機関における研究の成果を背景に、研究者自らが医薬シーズの発見に力を注ぐことにつながる。

従来の抗がん剤の多くは、がん細胞/正常細胞を問わず、非特異的に細胞増殖を阻害すること、あるいは細胞死を促すことで抗がん作用を発揮する。これに対して、近年、肺癌に対するイレッサなど、分子標的薬と呼ばれる抗がん剤が複数のがんに対して使用されるようになった。分子標的薬はがん細胞の増殖や成長に関与する細胞増殖因子やその受容体タンパク質を特異的に阻害することで制がん作用を発揮する。

一方、がんが命を脅かす主たる理由が転移(がんが離れた組織で新たなコロニーを作ると再発(抗がん剤に対する耐性)である。がんの転移や抗がん剤に対する耐性に関与する分子の働きを特異的に阻害する分子標的薬は転移や再発を抑制する新しい抗がん剤となることが期待されている。



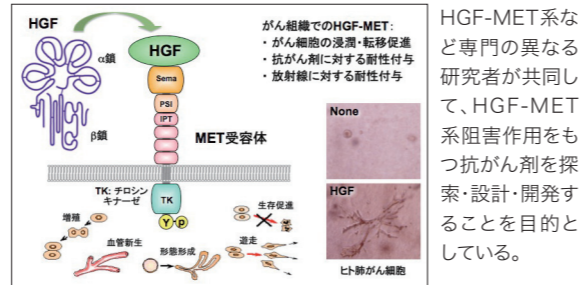
2 研究プロジェクトの目標

HGF-Metを標的とする制がん剤の創成

がん細胞が原発腫瘍を離れて周辺の組織を浸潤することはがん細胞が転移する上でカギとなる。このとき、がん細胞の浸潤を促進する分子の1つがHGFである。HGFは細胞の増殖促進、遊走促進、形態形成誘導といった多彩な活性を発揮するゆえに、本来、臓器の再生・修復を促す分子であるが、がん細胞はHGFのもつダイナミックな活性を浸潤・転移に利用している。

HGFは4個のクリングル構造をもつ特徴的な構造を有している。MET受容体は細胞膜を1回貫通し、細胞外領域と細胞内領域に区別される。HGFはMET受容体の細胞外領域に特異的に結合することで、細胞内のチロシンキナーゼが活性化される。HGFをカギとすればMET受容体はカギ穴でありシグナル発信器である。したがって、HGFとMET受容体の細胞外領域との結合構造の解析や情報に基づき、HGFとMET受容体の相互作用を阻害する低分子化合物は、がん転移阻止作用や抗がん剤に対する耐性を克服する作用をもつ分子標的薬につながると期待される。

本プロジェクトは、タンパク質の結晶化と構造解析、構造情報に基づくインシリコスクリーニング技術、化合物デザイン、化学合成、

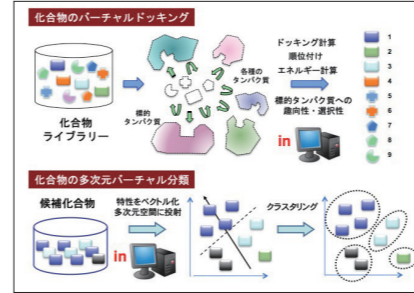


▲HGF-MET系阻害剤はがんの浸潤・転移、抗がん剤や放射線に対する耐性を克服する新しい制がん剤となる。

3 研究プロジェクトの成果

インシリコDrug Discovery技術

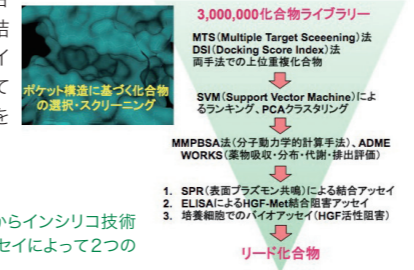
以下のインシリコ技術は参画研究者によって独自に確立・改善された本プロジェクトの中核技術である。MTS法とDSI法:化合物を複数のタンパク質にバーチャルドッキングさせることで、目的タンパク質に最も強くドッキングする化合物を選択。カーネルPCAクラスタリング:化合物の各種特性をベクトル化し、この多次元特徴空間の中で化合物のクラスタリング(分類)を行う。MMPBSA法:量子力学的計算によりタンパク質と化合物の結合エネルギーを精度高く計算する手法。ADME WORKS:化合物の医薬品としてのADME(吸収・分布・代謝・排泄)を予測できる。



▲タンパク質と化合物のドッキング計算、様々な特性に基づく化合物分類など、複数のバーチャル技術でヒット率を向上させた。

リード化合物の選択と絞り込み

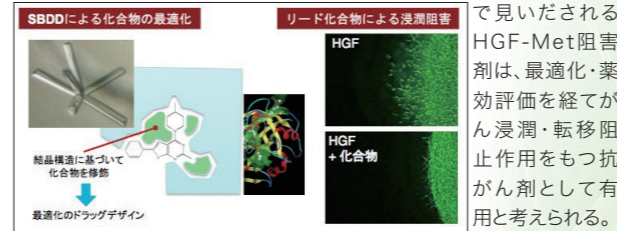
Multiple Target Screening(MTS)法、Docking Score Index(DSI)法、カーネルPCAクラスタリング、サポートベクターマシン(SVM)法、Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area(MMPBSA)法、ADME WORKSを用いて3,000,000の化合物ライブラリーから数百個の候補化合物を選択した。これら化合物について、SPRによる結合アッセイ、HGF-Met結合阻害アッセイ、バイオアッセイなどによって2つのリード化合物を得た。



▶約3,000,000化合物からインシリコ技術による選択とウェットアッセイによって2つのリード化合物を得た。

SBDDによる最適化とがん細胞の浸潤阻害

通常、リード化合物の最適化のため数1000種類に及び化学合成展開が用いられるが、私達はStructure-Based Drug Design(SBDD: 結晶構造に基づくデザイン)を用いた。ターゲットタンパク質の発現・精製、リード化合物との共結晶化のスクリーニングを行い、最適化のための結晶を得た。一方、リード化合物はHGFによって誘導されるMet受容体の活性化やヒト癌細胞の浸潤を阻害した。したがって、本プロジェクトで見いだされるHGF-Met阻害剤は、最適化・薬効評価を経てがん浸潤・転移阻止作用をもつ抗がん剤として有用と考えられる。

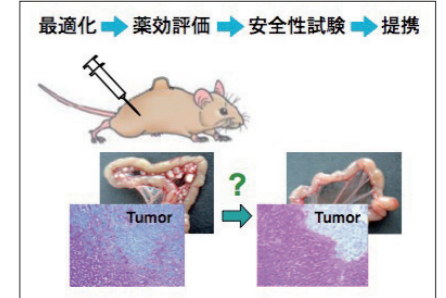


▲構造解析に基づいて化合物の最適化を進めている。リード化合物はHGFによって促進されるがん細胞の浸潤を阻害する。

4 実用化にあたっての今後の課題及び研究方針

最適化、前臨床薬効試験、

最適化: 結晶構造解析によって、タンパク質ポケットにリード化合物がどのようにフィットしているかを知ることが最適化のためにもっとも高効率な手法である。組換えタンパク質の調製を継続し、タンパク質-化合物複合体の結晶構造からドラッグデザイン、化学合成、アッセイによって最適化を進める。これと並行して、インシリコ技術を利用してのポケット構造へのフィッティングと化合物デザインを行う。この間、適切な特許出願によって候補化合物などについての知的財産の基盤をつくる。薬効評価: 化学合成を行い、がん細胞を移植した実験動物を用いるin vivo評価によって医薬候補化合物をさらに絞り込むとともに、それらの結果を考慮して最終的な化合物の選択をする。副作用や安全性試験を実施する。これらの前臨床試験の結果を総合して、臨床試験の計画をたてる。



▲化合物の最適化、化合物の合成、実験動物での薬効評価を進め、医薬候補化合物を決定する。安全性・副作用試験を実施する。

臨床試験・提携

臨床試験: MET阻害剤の開発を進めるメーカーは世界全体で10社を超える。その多くはMETチロシンキナーゼ阻害剤であり、それら阻害剤は副作用が発生するリスクが大きい。これに対して、本プロジェクトで得られる阻害剤は、HGFに依存したMET活性化を阻害するもので副作用のリスクは少ない。加えて化合物であることなど、いくつかの優位点がある。一方、HGF-MET系は抗がん剤に対する耐性にも関与する。既存の抗がん剤との併用による効果増強や耐性克服が期待され、臨床試験として抗がん剤との併用が想定される。提携: スピーディーに実用化に至るため、医薬メーカーとのライセンス契約に入ることが望ましい。抗がん剤としてのHGF-MET系阻害への期待は大きい。ライセンス契約の決め手となるのは、知的財産権の状況、前臨床薬効・安全性と考えている。



参考文献

Fukunishi, Y., Kubota, S., Nakamura, H. Noise reduction method for molecular interaction energy: application to in silico drug screening and in silico target protein screening. Journal of Chemical Information and Modeling, 46: 2071-2084, 2006.

Terasaka, T., Kinoshita, T., Kuno, M., Nakanishi, I. A highly potent non-nucleotide adenosine deaminase inhibitor: efficient drug discovery by intentional lead hybridization. J. Am. Chem. Soc. 126: 34-35, 2004.

Matsumoto, K., Nakamura, T., Sakai, K., and Nakamura, T. Hepatocyte Growth Factor and Met in Tumor Biology and Therapeutic Approach with NK4. Proteomics, 8: 3360-3370, 2008.