

科学技術の未来を展望する戦略ワークショップ 「低分子量化合物による生体機能制御」 報告書

平成19年12月



独立行政法人科学技術振興機構 研究開発戦略センター
江口グループ・田中グループ

Center for Research and Development Strategy Japan Science and Technology Agency

Executive Summary

【開催趣旨】

研究開発戦略センター（CRDS）は昨年度、国のファンディングの対象とすべき新しい技術開発を志向した研究領域の一つとして「低分子量化合物による生体機能制御」領域を抽出した。本領域は、低分子量化合物による細胞やタンパク質の挙動を解析することにより、医薬品のリード化合物（非臨床試験に用いられる薬理活性のある分子量 2000 未満の化合物）を創出することを目的とした創薬研究である（図 1）。

このような医薬品のリード化合物の創出を目的とする開発研究は、2001 年のヒトゲノム解読の完了により大きな転換期を向かえた。すなわち、解読された遺伝子情報に基づいた創薬ターゲットの同定とハイスループットスクリーニングによる候補化合物の絞り込みが研究の主流となり、疾患ターゲット分子とアッセイ用化合物の「量」を競い合う研究が世界各地で展開された。

このような流れの中で、米国は一早く大規模な施策の実施に着手し、製薬企業の支援策を打ち出した。例えば、国立衛生研究所（NIH）は 2004 年より莫大な予算を投じ、化合物ライブラリーやスクリーニングセンターを各地に設置、公的機関を中核としたリード化合物の開発に対する積極的な投資を行った。また、欧州では 2006 年よりドイツ政府と民間企業の出資によるシーズ探索プラットフォームを構築、産学の垣根を超えた創薬研究をスタートさせている。

他方、我が国の施策に目を向けると、各省において医薬品開発の基盤整備に関するプロジェクトがいくつか発足しつつあるものの、欧米のような戦略的な創薬研究は皆無に等しい。このことは、医薬品の研究開発のすべてのプロセスが企業において行われるべきという考え方が企業や行政機関等に根強くあり、また公的研究機関の研究者が創薬研究に積極的ではなかったことが深く関係していると考えられる。しかしながら、近年の国内製薬企業のパイプライン（開発中の新薬候補化合物）の低減と欧米各国で実施されている創薬研究とを鑑みると、これまでの我が国における取り組みを厳しく見直し、いよいよわが国も国策として創薬研究に着手する時期にあると言えよう。

以上のような観点に立ち、本ワークショップは、5 年～10 年先を見据えて国のファンディングによるリード化合物の創出を目的とした創薬に関する研究開発戦略を産官学の研究者により検討を行うことを目的として開催された。この目的を達成するために、ワークショップにおいては、当該領域の研究の現状を俯瞰した上で、重要な研究課題を抽出し、その研究推進方法を時間軸まで含めて検討することとした。

【実施概要】

ワークショップは平成19年9月10日（月）に開催された。セッションを「本領域に投資する意義」、「具体的な研究開発課題」、「研究開発の推進方策」、の3部構成とし、杉浦幸雄教授（同志社女子大学薬学部）の元、当該分野の第一線で活躍している17名の有識者により討議を行った。

【まとめ】

本ワークショップの結果と考察は以下のようにとりまとめられる。

- 企業が公的研究機関に求めている研究開発は生体機能制御分子（タンパク質等）の評価（Validation）とその技術開発である。
- 我が国では制御分子の評価に関する研究開発が絶対的に不足している。
- 一方、公的研究機関には多くの疾患関連分子と活性化合物が蓄積されているものの、これらは生体機能制御分子の評価に十分活用されていない。
- よって生体機能制御分子の評価に関する研究開発に国が積極的に投資し、その成果をスムーズに企業等へ橋渡しする仕組みを構築するべきである。

研究開発戦略センターは本ワークショップの結果を基礎資料とし、国内外のさらなる調査と併せて当該分野に関する政策提言書を取りまとめていく予定である。そして、これを広く科学技術政策関係機関、研究者コミュニティ等へ向けて発信することにより今後の施策立案等の一助として活用されることを期待している。

医薬品開発における本領域の研究フェーズ

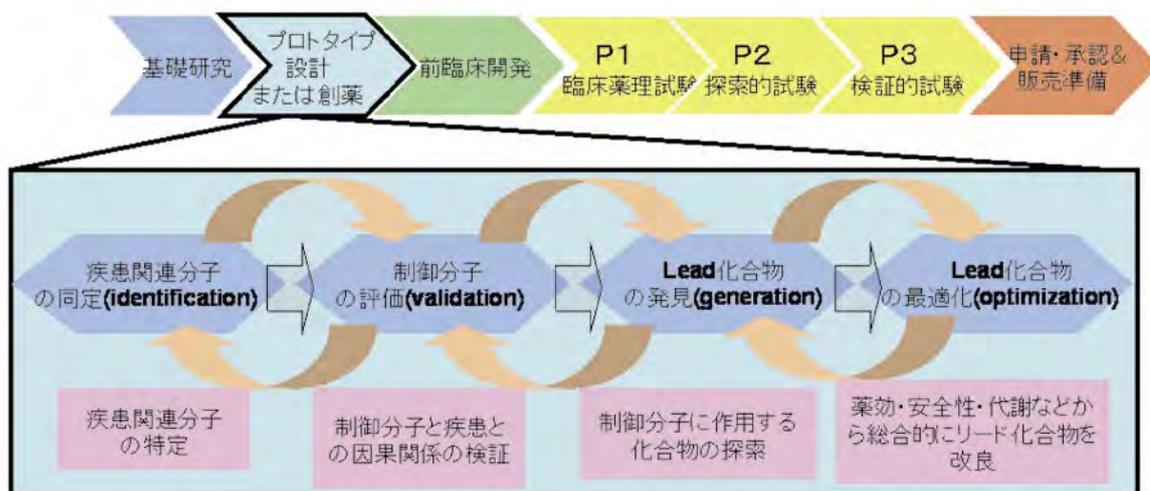


図 1

目 次

Executive Summary

1 「低分子量化合物による生体機能制御」について……………	1
2 投資する意義……………	6
3 具体的な研究開発課題……………	10
4 研究推進方策……………	14
5 まとめ……………	17

参考資料

1 講演録（抜粋）

セッション1 投資する意義

1 ケミカルバイオロジー研究の世界動向と我が国のポテンシャル・課題 （理研・長田裕之）……………	20
2 武田薬品の創薬研究－現状と課題－（武田薬品・石原雄二）……………	25

セッション2 具体的な研究開発課題

1 ターゲットと考えられる疾患

1.1 Decoding chemical structure and target interaction mode via the identification of biologically active natural products or natural product-like small molecules（エーザイ・大和隆志）……………	31
1.2 表現型スクリーニングからのケミカルバイオロジーと創薬展開 （理研・吉田稔）……………	40
1.3 低分子化合物による mRNA プロセシングの制御 （東京医科歯科大・萩原正敏）……………	50

2 疾患制御に資する技術・ツール

2.1 ツールとしての小分子有機化合物（京大・上杉志成）……………	56
2.2 天然有機化合物による創薬（中外製薬・加藤秀之）……………	60
2.3 醗酵の知恵を結集した本邦独自の創薬インフラストラクチャーの構築 （アステラス製薬・中島秀典）……………	71

セッション3 研究推進方策

1	Protein network analysis (産総研・夏目徹).....	74
2	Centralization + Localization (エーザイ・大和隆志).....	88
2	ワークショッププログラム.....	94
3	参加者一覧.....	95

1 「低分子量化合物による生体機能制御」について

本ワークショップでは、「低分子量化合物による生体機能制御」を、低分子量化合物を用いて生命体の挙動や生命体構成因子の機能解析を行い、病態の発症機構とその制御の概念を実証し、医薬品リード化合物の創出を目的とする研究領域と定義する。なおここではこれら化合物の創出に資する解析ツール等の開発も含む。またリード化合物については、「薬理活性のプロファイルが明らかで非臨床試験に用いることが可能な化合物」と定義し、討議を行う（図 1-1）。

「低分子量化合物による生体機能制御」領域とは

低分子量化合物による生命体の挙動や生命体構成因子の機能を解析し、病態制御の概念を実証することにより医薬品リード化合物*の創出を目的とする研究領域。ここではこれら化合物の創出に資する解析ツール等の開発も含む。

*医薬品リード化合物: 薬理活性のプロファイルが明らかで非臨床試験に用いることが可能な化合物

図 1-1

次に本研究領域が担う医薬品開発プロセスのフェーズを図 1-2 に示す。医薬品の開発研究は一般的に生理機能や病態機構の解明といった科学的知識（図 1-2 の発見のフェーズ）に基づき、病態の概念証明とその制御概念を実証（同発明のフェーズ）し、そこから見出された化合物等を非臨床試験、さらにはヒトを対象とした臨床試験へ移向させることにより、安全性や有効性を検証するプロセスを踏む。

本領域はこれらのプロセスの中で、図中の太枠にある病態を制御する概念を実証し、創薬コンセプトの形成を目的とする研究開発フェーズを担い、またこれらの実証に資する技術開発等も対象とする。

科学技術イノベーションStep & Loop モデルにおける 本領域の位置づけ

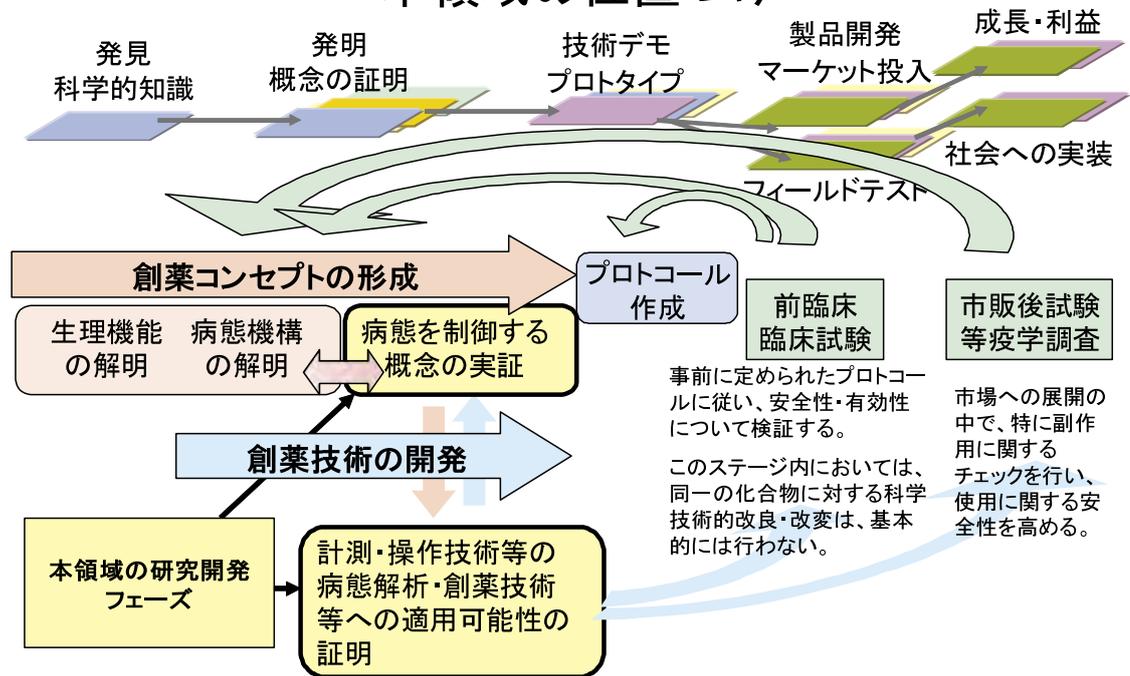


図 1-2

創薬コンセプトについては、これまで民間企業等で行われてきた研究開発と一線を画すため、従来にない新しい作用機序、新しい薬理ターゲットに基づいたものを対象とする。具体的には、図 1-3 の例にあるようなこれまでのライフサイエンス研究により見出された病態発症機構から、その原因因子と考えられるタンパク質や遺伝子、細胞等を出発点とし、制御因子の評価や疾患の制御概念の実証を行う。

新規創薬コンセプトにおけるターゲットの例

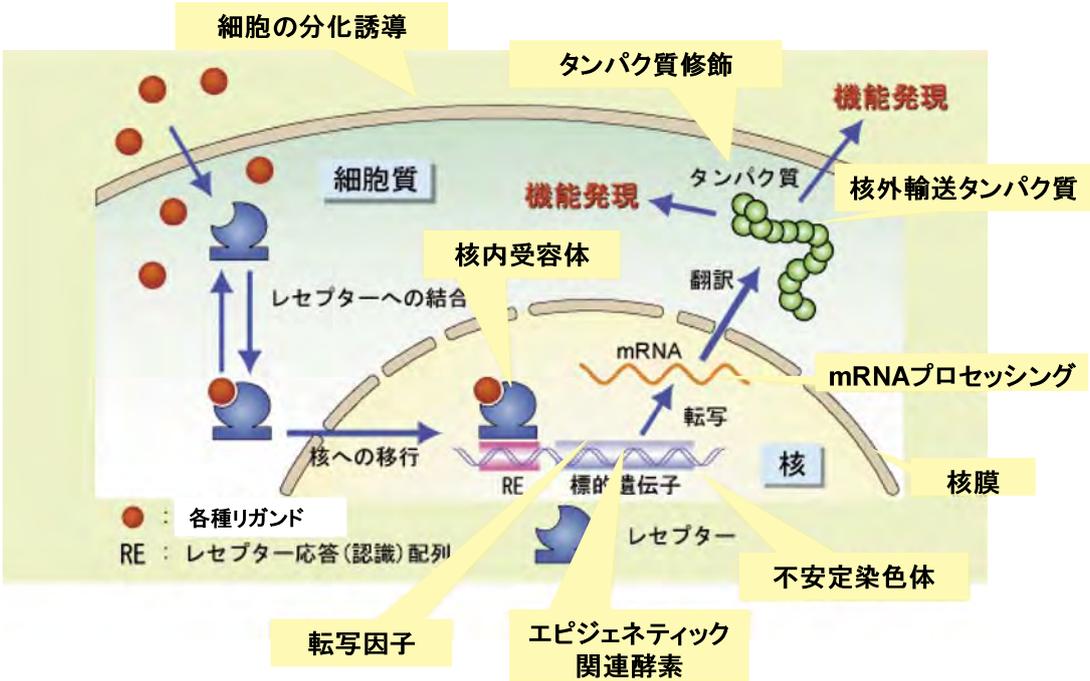


図 1-3

また、創薬研究に用いられる技術開発については、図 1-4 にあるような目的に資する既存の技術等の中から、創薬研究において律速段階となっていたり、または新たに開発することで研究開発が加速されるようなものを対象とする。

「低分子化合物による生体機能制御」について(事務局説明)

投資する意義

具体的な研究開発課題

研究推進方策

まとめ

参考資料

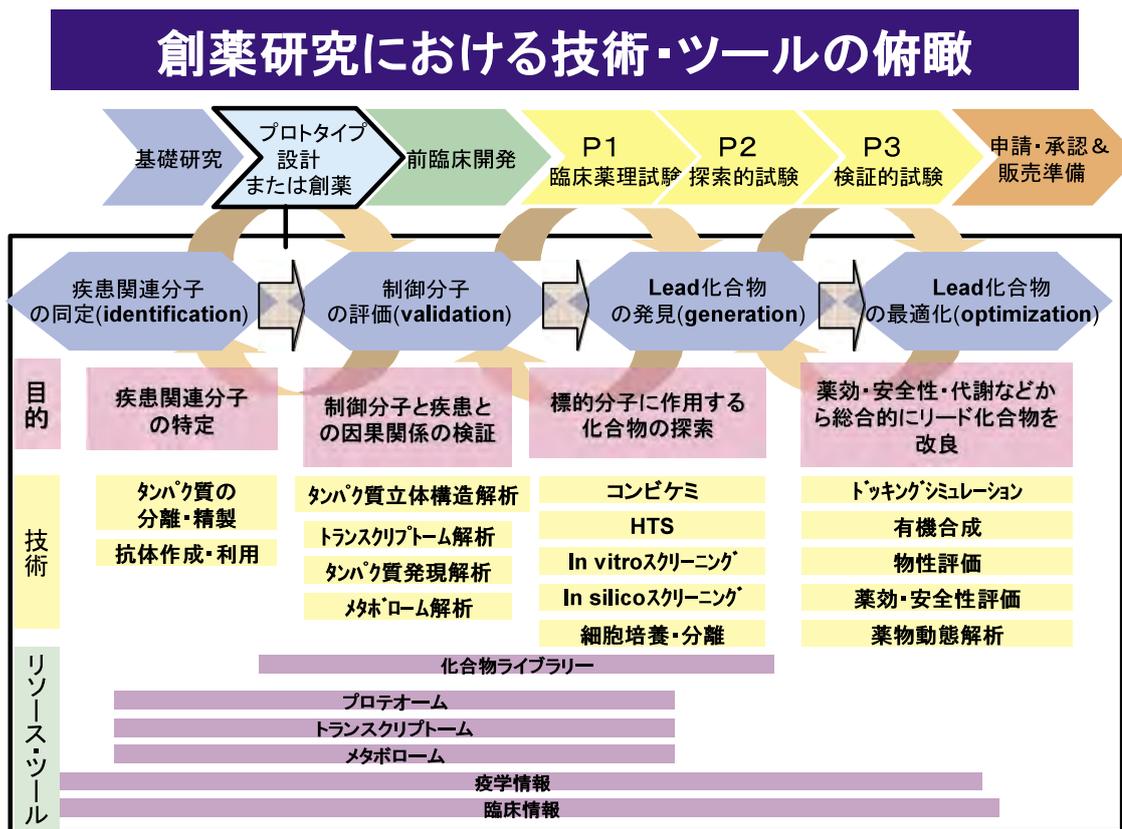


図 1-4

最後に本ワークショップで用いる言葉を定義する(図 1-5)。今回のワークショップは、DNA や RNA、タンパク質といった生体内に存在する化合物は対象としない。また、本領域は医薬品開発という新薬を創出する研究開発ではなく、新薬の種となるリード化合物の創製を目的とすることから、創薬研究という言葉で医薬品開発との違いを区別する。さらに POC (Proof of Concept) については、企業等で用いられる POC との混乱を避けるため、「In vivo において化合物の作用機序と薬効の相関が明らかになること」を POC と定義し、ヒトでの安全性等までを担保するものではない。また、本領域より創出が期待される化合物は、これまでになかった新しい作用機序に基づいた医薬品が開発される期待があることから、このような革新的医薬品に繋がる化合物を First-In-Class と呼ぶこととする。



本ワークショップで用いる言葉の定義

- **低分子量化合物**: 2種類以上の元素から構成される分子量2000以下の化合物。ただしDNA、RNA、タンパク質は含まない。
- **創薬研究(Drug Discovery)**: 標的に作用する化合物を評価し、新薬の候補となる物質を見出すこと。
- **POC (Proof of Concept)**: ある病態モデルにおいて、創製した化合物の薬効・効果が証明されること。
- **リード化合物**: POCが検証された化合物。
- **First-In-Class**: ある治療領域において従来にない新しい作用機序、新しい薬理ターゲットをもつ革新的医薬品。

図 1-5

2 投資する意義

本章では、第1セッションの命題である「本領域を推進する意義」について、「企業ニーズ」、「公的機関のシーズ」をそれぞれの代表者の話題提供から明らかにし、研究実施後に期待される成果とその実現根拠についての討議結果をまとめた。

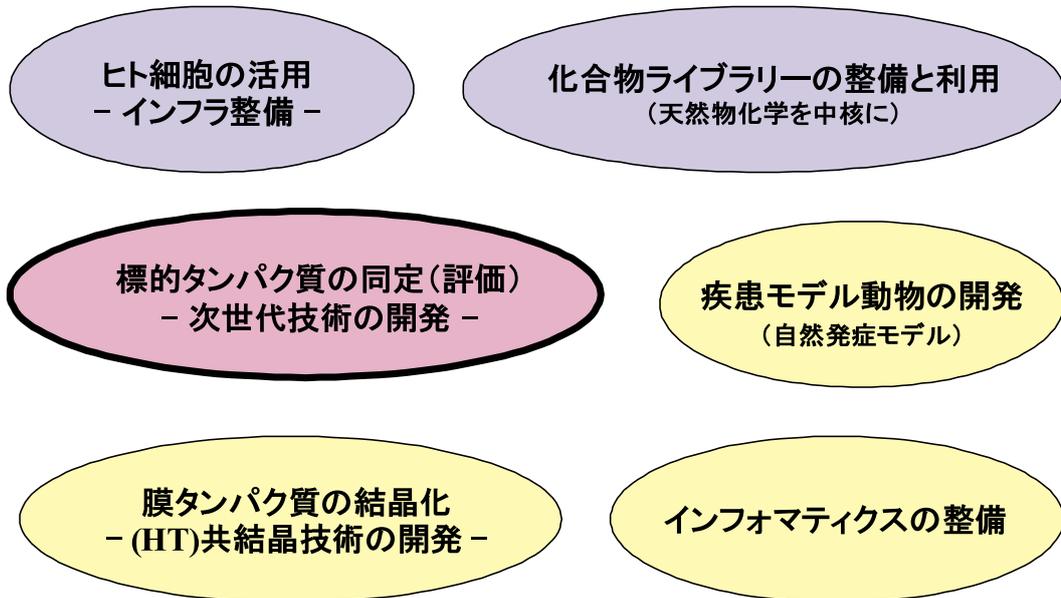
【企業のニーズ】

多くの製薬企業には Best-in-Class（上市後に市場へ広く浸透が見込める）医薬品と First-in-Class（これまでにない作用機序で新しい薬理活性を示す）医薬品を開発していくという社会的な使命がある。しかしながら、企業間の競争がグローバルに激化する中、我が国のほとんどの製薬企業は大きな利潤が期待できる Best-in-Class の医薬品開発に重点的に投資しせざるをえない現状がある。このような状況の下、本セッションにおいては、First-in-Class の医薬品開発こそ国が支援すべきであり、特に希少疾病など社会的な要請が強い疾患分野については、積極的に取り組むべきであるとの意見で一致した。

一方、対照的に既に上市された医薬品の評的分子に基づいた研究の重要性についても多くの指摘がなされた。すなわち、製薬企業では既に上市された医薬品の適応拡大を推進する一方で、それらが標的とするタンパク質等の分子レベルでの解析とこれに基づいた創薬研究はほとんど行われていない。このため、上市された医薬品のターゲット因子を正確に把握し、ここから導き出される新規標的分子の同定とそれに作用する化合物開発は国が投資すべきとの意見である。

また、技術・リソースについては特に企業からの要望が多かったものを次ページにまとめた（図 2-1）。企業側からは主に、創薬の基盤整備に関する技術開発の要望が多く寄せられた。具体的には、化合物ライブラリーの充実とそのプロファイリング、遺伝子発現データベース、パスウェイ解析情報などのインフォマティクスに関するインフラ整備に関するものである。そしてこれらの基盤整備と並び、特に標的タンパク質の同定・評価とその技術開発が、製薬企業の共通的な要望として抽出された。

企業が国内の公的研究機関に期待すること



石原氏(武田薬品)の資料を一部改変

図 2-1

また今回のワークショップでは企業が外部研究機関へ求める化合物の質が高く、公的研究機関だけでは企業のニーズを満足させることができないことが明らかとなった。すなわち企業は、化合物の外部導入にあっては、単に病態制御の概念を実証するにとどまらず、その化合物の安全性や物性のプロファイルまでを求めており、可能な限り医薬品として完成度が高い化合物を必要としている。しかしながら、これらに費やす費用と研究期間を考慮すると公的研究機関のみで対応するのは現実的に不可能である。このため、企業が満足する化合物の創出には、効果を実証した化合物をベンチャー企業等へスムーズに橋渡しするなど成果を展開する仕組みの構築が重要であることが確認された。

【世界動向と我が国の公的研究機関のポテンシャル】

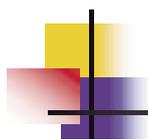
本領域の中核となるケミカルバイオロジー研究については様々な定義があるが、一般的には「生体分子に特異的に作用する低分子化合物を利用し、生体機能を解明する研究」と定義される。

この定義に基づいた研究動向については、各国とも精力的に研究を推進している。米国は 2004 年から各地に拠点を設置しスクリーニングセンター等を稼働させることにより、いち早くこの分野の大規模な研究開発に着手している。またこれに追随するかたちで欧州各国が拠点の整備を行い、ドイツにおいては産学の出資による大規模なスクリーニングセンターが稼働している。アジア諸国では台湾や韓国などが天然化合物等を用いた独自のケミカルバイオロジー研究を展開している。

このような中、我が国においては平成 19 年度よりターゲットタンパク研究プログラムが発足し、この中で化合物ライブラリーの構築とスクリーニング拠点を中核とした基盤整備が行われつつある。

一方、本領域に関する研究分野の我が国の強みとポテンシャルについてはいくつか特筆すべきものがある。例えば強みとしては、天然物化学、有機合成化学が伝統的に強く、これまでにこの分野の研究者からリード化合物の候補となるいくつかの化合物が創出されている。また生物分野ではライフサイエンス研究の推進により iPS 細胞や TLR などアッセイ対象となる疾患関連因子が多く見出されており、現在も分子・細胞レベルでの解析が行われている。

以上より、今回のワークショップでは、我が国で進みつつあるケミカルバイオロジーに関する基盤整備と化学や生物学の分野で蓄積された成果の活用により、公的研究機関においても画期的な新薬の種や生命現象の解析ツールの開発が行える時期にあることが確認された（図 2-2, 3）。



投資する意義

- これまで見出された生物学的知見と発見された化合物を活用し、First-In-Class医薬品へ繋がる化合物が創製されることが期待される。
- 見出された活性化合物が生命現象の解析ツールとして利用され、生理機能や病態機構の解明が飛躍的に進む。

図 2-2



実現性の根拠

1. 創薬ターゲットとなる生命体(タンパク質、細胞等)の知見が蓄積されている。
2. 本年度より文科省においてターゲットタンパク研究プログラムがスタートし化合物アッセイのためのインフラが整備(化合物ライブラリー、スクリーニング拠点)される。
3. また同省においてハイスペックの計算機の整備予定がある。
4. 多くの疾患マーカーが見出されており、それらを活用した効率的なアッセイが可能となる。
5. ケミカルバイオロジー研究会が発足し、生物学と化学の融合が進みつつある。

図 2-3

3 具体的な研究開発課題

本章では、第2セッションで主に議論された推進すべき重要な研究課題についてとりまとめた。特に、低分子量化合物を用いて実際に疾患制御を試みる場合、具体的なターゲットとなる因子として現在どのようなものが考えられるか？また、制御に資する技術開発やリソース整備として重要なものは何か？この2点についての討議結果をまとめた。

【具体的なターゲット】

疾患としてはまず癌が対象として挙げられる。本疾患は我が国の死因の上位にあり治療薬開発の社会的なニーズが大きい。また細胞の増殖に關与する多くの因子が明らかとなっており、化合物の標的となりうる分子が我が国の研究者によって見出されている。さらにガン細胞という比較的扱い易い細胞を対象としていることから表現系スクリーニングの構築が容易である。

次に希少疾病など、企業が積極的に開発研究を行っていない疾患分野も研究対象となりうる。例えば早老化症などは、異常が起こる分子機構が明らかになりつつあり、化合物による制御が細胞レベルでは行える状況にあるが、患者数が極端に少ないため企業の開発研究の投資対象となりにくい。

また生命現象のあらゆるプロセスに強い関与が示唆されているエピジェネティクス制御の分野も創薬ターゲットとして有望である。この概念に基づいた創薬研究については、既に欧米が先行して開発に着手し、いくつかの医薬品が市場に投入されている。しかしながら、我が国はこの分野の研究を先導してきた実績があり、また新たなターゲット因子や制御化合物が多く見出されている。

その他の疾患としては、アレルギー等の免疫異常や糖尿等の慢性疾患の制御に関する研究が、ターゲット因子としては、転写因子やタンパク質の翻訳後修飾関連因子などが挙げられている。

【創薬技術・ツール、リソースなど】

創薬技術については、新規アッセイ系の構築が本領域の中核となる。アッセイは、①モデル動物に直接化合物を投与する *in vivo* のアッセイ、②細胞へのアッセイ、そして③タンパク質を中心とした分子へのアッセイの大きくわけて3つの種類が考えられ、それぞれの系には一長一短がある。例えば、①については、直接的に有効性や安全性を解析できる理想的なアッセイだが、十分量の化合物が必要でかつロースループットである ②は表現系を解析するには最も効率的な系であるが、細胞毒性等の感受性の問題が生じやすい ③はアッセイスピードは速いが、体内での動態に関するデータは全く得られない、などが考えられる(図3-1)。いずれも甲乙付けがたいが、現在は多くの化合物を短時間で評価することが求められることか

ら、製薬企業の多くは③を選択しており、ゲノム情報からターゲットと考えられるタンパク質を同定し、バリデーションを行った後に HTS を行うフローが欧米の大手製薬企業でも主流である。

アッセイの俯瞰

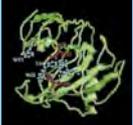
対象	個体 (モデル動物) 	① ・直接的に効果や副作用を解析できる理想的なアッセイ ・十分量の化合物が必要でかつロースループットであることが難点		
	細胞 	② ・表現系を解析するには最も効率的な系である ・細胞毒性等の感受性がボトルネックとなる		
	タンパク質 	③ ・アッセイスピードが速い ・体内での動態に関するデータは全く得られない		
			A. 有機合成化合物	B. 天然化合物
化合物				

図 3-1

これらを踏まえ、国費を投資して行うアッセイ系の構築については、上記②を中核としたもので効率的かつ再現性が高くユニークなシステムに関する研究開発が戦略として考えられる。企業であまり取り組みがなされていない一方で、我が国の公的研究機関において表現型解析に関する成果が生み出されつつあるのがその理由である。具体的な例としては、線維芽細胞の分裂機構の変化や細胞の形態的な扁平化を指標にしたアッセイや老廃物の蓄積などに着目したものなどで、ワークショップでは一度に複数のタンパク質と複数の化合物をアッセイするハイスループット評価系の開発などの提案もあった。

一方、そのアッセイ系に用いる化合物ライブラリーの整備についても多くの議論がなされた。これらについて以下に列挙する。

- 創薬を指向したスクリーニングでは、A. 有機合成化合物、B. 天然化合物、そして C. 市販の医薬品や研究開発段階でドロップアウトした化合物などが供される（図 3-1）。

- 天然化合物は有機合成化合物にない多様性や強力な薬理活性があるものの、生物等から抽出したクールドな状態から精製や構造変換を行う行程がボトルネックとなっている。
- 有機合成化合物については最も簡便で短時間での膨大な量の化合物アッセイが可能であるが、すでに欧米の企業や公的機関において1機関あたり100万個単位で整備が進んでいる。
- 既に市販されている医薬品等は研究材料としては魅力的だが、化合物特許等の関係で保有企業以外での展開が難しい。
- 日本の強みとして天然化合物を重視すべきである。特に微生物等の機能を活用し、未知の有望な化合物を論理的に合成する手法の開発を国として本格的に取り組むべきである。
- 将来の医薬品としての展開を考慮すると、合成化合物の魅力は極めて大きい。我が国の合成化学者の粋を結集させて従来にない合成法を開発したり、既存のユニークな化合物を収集するなどする仕組みづくりが必要である。

その他の技術・ツールとしては、新規ケミカルプローブの合成に資するアフィニティ精製技術や天然物等の全合成、化合物の不斉合成に関する新技術について提案がなされた。

最後に具体的に出席者から提案のあった研究課題を次ページに掲載する（表1-1）。

表 1-1 出席者から提案のあった研究開発課題

ヒト臍島移植（エドモントン・プロトコル）を改善する低分子化合物の探索と開発基礎研究
遺伝子および転写因子を標的とする天然化合物を基軸とした創薬リード化合物の創出
低分子化合物による mRNA プロセシングの制御
エピジェネティクス創薬を目指したケミカルバイオロジー
たんぱく質の翻訳後修飾を阻害する薬剤の開発
Decoding chemical structure and target interaction mode via the identification of biologically active small molecules
再生医療あるいは早老老化症治療を指向した新規創薬標的とリード化合物の探索研究
天然有機化合物を基盤とした医薬品開発
前臨床試験への iPS 細胞の活用
化合物が有するポテンシャルを最大限引き出すための、生きた状態での機能評価
小分子化合物先導生命科学の開拓
医薬品開発および生体機能制御研究の双方のニーズを満足し得る対外競争力のある天然物化合物ライブラリー構築のための「伝統的微生物もの造り基盤技術の進化研究」
切れ味のよい天然有機化合物ライブラリーの新構築
スクリーニング系の開発実施機関の創設
大学や公的研究機関における生物科学分野の基礎研究の先進的成果を真に有用な新規医薬品の開発候補化合物の創生へと結びつける公的資金による「創薬研究所」の設立
NEDO ケミカルバイオロジープロジェクトとの連携による化合物スクリーニング拠点の設立

4 研究推進方策

本章では、第2セッションで議論された研究開発課題の具体的な研究推進方策について、第3セッションでの討議結果を中心にとりまとめた。

推進方策としては、拠点を形成して集中的に投資する方法と、既存のインフラを活用して少人数のチームに対して投資する方法の2つの方策が考えられる。第3セッションではそれぞれの体制でプロジェクトを推進している2名の参加者からの話題提供を基にこれらのメリットやデメリットについて討議を行った。

まず分散型投資については、日本の強みを活かした研究提案が多くなされた。すなわち、新規スクリーニング系の構築、イメージングプローブの開発、天然物等の全合成技術などである（図4-1）。

スクリーニング技術は、化合物による生命体の挙動解析において極めて重要であり、本領域の中核技術といっても過言ではない。なぜならこの系の質が、検出される生命現象やアッセイ速度に大きく影響するからである。我が国はこのようなアッセイ系の構築に強みを持つ。例えば発光現象や酵素活性を利用し多くのユニークなシステムを開発してきた実績がある。また細かなチューニングやリファインニングがともなうシステム構築は日本人が得意とするものづくり技術が活かされる典型例といえる。以上のような理由から本技術については分散投資の対象として有望であると考える。

またイメージングプローブについては、これまでも我が国から見出された多くの化合物が生命現象の解析ツールとして活用されている。しかしながら、実用化の段階では諸外国に先行される現実があることから、本ワークショップでもこの段階での競争力を高めるための研究提案が多くなされた。

合成技術に関しては、天然物全合成、選択的不斉合成などこれまでも日本人研究者から多くの傑出した成果が生み出されている。新規化合物の合成技術は研究者の個性により生み出されることが多いため、本ワークショップにおいても分散投資により我が国独自の化合物ライブラリーの構築が必要との結論であった。

Localized Approaches（分散投資が有効な分野）

1. スクリーニング法の構築とパイロット研究の実施
 - 細胞系の表現型スクリーニング
 - Target-orientedな結合アッセイや酵素アッセイ
2. 新規ケミカルプローブやケミカルツールの合成
 - アフィニティー精製試薬
 - イメージング試薬
3. 新規合成法の開発
 - 天然物全合成
 - 選択的不斉合成



図 4-1

エーザイ(株)大和氏提供

次に集中投資に必要な分野を以下にまとめる。

創薬を志向した研究開発においては、共同施設等の拠点形成が有効であるとの意見が多くある。これは、生物学者によって見出されたタンパク質等のターゲットを集中的にアッセイする施設がヒット化合物の創出には最も効果的だからである。

このような共同施設において研究投資する技術開発としては、まず化合物ライブラリーの構築が挙げられる。特に多様性のあるライブラリーは新規ターゲット分子の同定に極めて有効であることから従来にないユニークな合成手法の開発が急がれる。また同様に化合物の特徴的な構造に立派したライブラリーの構築手法も重要となろう。

次に、生体分子の構造データやタンパク質間のネットワーク情報など、インフォマティクスに関する基盤情報の構築技術も集中投資の対象となる（図 4-2）。例えば近年 siRNA による遺伝子発現プロファイルの情報が充実しつつあるが、低分子量化合物によるプロファイル情報は決して十分とはいえない。将来、これらの情報の相関解析が標的分子の同定に活用されることを考慮すると、低分子量化合物の遺伝子発現に及ぼす影響に関する情報整備などが今後益々重要となる。

その他、集中投資によりブレイクスルーが期待されるテーマとしては、標的分子を同定したり、それらを評価する技術の一般化がある。これら技術は製薬企業から

の要望も多いが、これまで有効な手法が確立されていない。我が国の生化学や分子生物学、さらには情報科学などの技術の粋を結集させこの課題に集中的に取り組むことが創薬研究の隘路を打開する国の役割とも言える。

Centralized Approaches (集中投資が必要な分野)

1. 天然物資源の深耕、開拓とライブラリー化
 - 遺伝子改変による人工天然物の創製 (微生物ゲノム情報の活用)
 - 新規天然物の発掘 (革新的な培養技術の開発)
2. 化合物プロファイリングならびに標的分子同定のための基盤整備
 - 遺伝子 (トランスクリプト) の発現ならびにネットワーク解析
 - タンパク質の発現ならびに相互作用解析
 - 上記解析結果に関するデータベースの構築 (インフォマティクスの整備)
 - スクリーニングファクトリーの整備
 - 標的分子同定&検証手段の一般化 (生化学的手法&分子生物学的手法)
 - 化学構造のデコーディングとトランスフォーメーション
3. 基礎研究 (創薬シード) から産業開発 (薬) への移行の円滑化
 - ブリッジング (ファンディング) システムの整備
 - IP基本戦略の策定



図 4-2

エーザイ(株)大和氏提供

5 まとめ

CRDS では、ワークショップから抽出した重要な研究課題とその推進方策について検討した結果、生体を制御するタンパク質等の評価に関する研究とその技術開発が国として特に推進すべき領域と結論づけた（図 5-1）。

ワークショップの結果と考察

- 企業が公的研究機関に求めている研究開発は生体機能制御分子（タンパク質等）の評価（Validation）とその技術開発である。
- 我が国では制御分子の評価に関する研究開発が絶対的に不足している。
- 一方、公的研究機関には多くの疾患関連分子と活性化化合物が蓄積されているものの、これらは生体機能制御分子の評価に十分活用されていない。
- よって生体機能制御分子の評価に関する研究開発に国が積極的に投資し、その成果をスムーズに企業等へ橋渡しする仕組みを構築すべきである。

図 5-1

制御分子の評価（validation）に関する研究開発は、リバー型とフォワード型の2つのアプローチがある。すなわち、既知の疾患関連分子を出発点に化合物による作用や表現系の解析を行い、創薬ターゲット分子を同定・評価する研究（リバー型）と、細胞やモデル動物に直接化合物を作用させ、その表現系の変化からターゲット分子を同定・評価していく研究開発（フォワード型）である（図 5-2）。いずれも有用な解析手法で、このようなアプローチによりいかに迅速に制御分子を見出すかがリード化合物創出の鍵を握っている。

またこのような研究開発のキーテクノロジーとしては新規アッセイ技術が挙げられる。ハイコンテックスクリーニングなど、最新のイメージング技術などを駆使し、化学、生物学、工学の研究者を結集させることにより、汎用性と再現性の高いアッ

セイ系の構築を行うことが我が国の戦略として重要である。

アッセイに供する化合物については天然化合物と合成化合物が考えられるが、現時点で優位な差は認められない。むしろ化合物ライブラリーは質と量のバランスが重要となるため、ライブラリー整備については、このバランスを重視した合理的な手法の開発が求められる。

さらに、化合物と制御分子の原子レベルでの相関解析とそれに基づいた独自の合成技術も本研究領域では重要な研究課題である。特に天然物のような比較的分子量の大きい化合物の活性を保持した状態で小分子化合物へ変換する技術開発は将来の医薬品への展開を考えると避けて通れない課題といえる。

生体制御分子の評価技術に資する研究開発

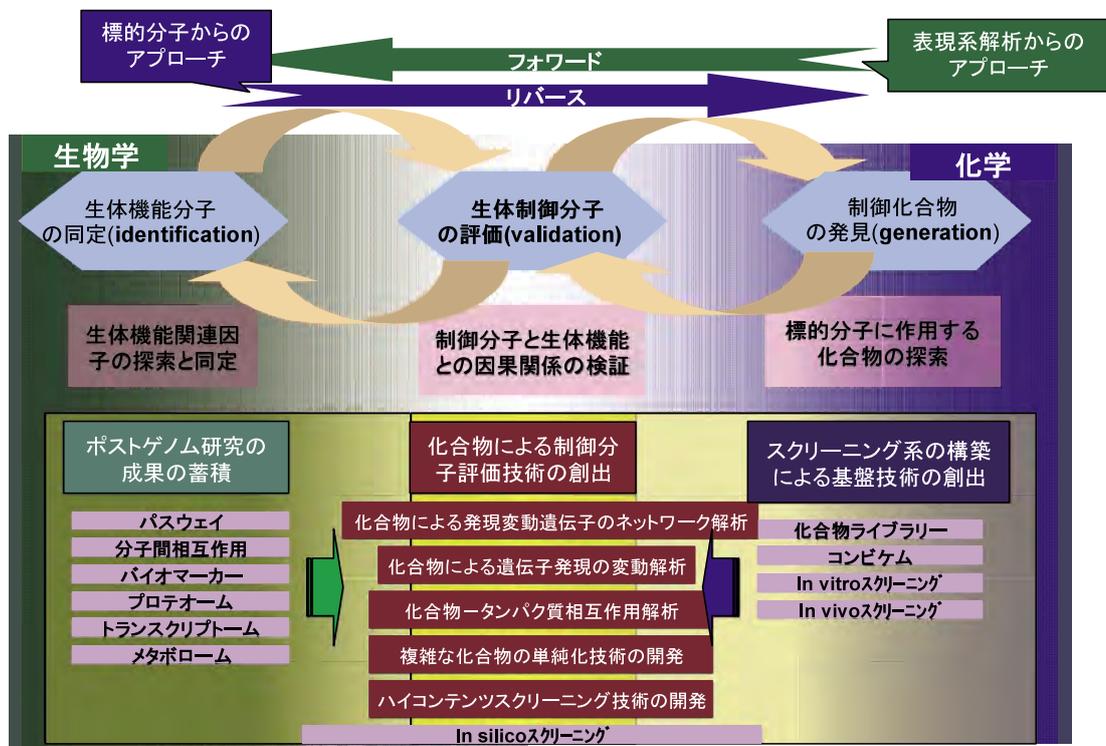


図 5-2

以上を踏まえ、今後研究開発戦略センターでは、国内外のさらなる調査と併せて当該分野に関する政策提言書を取りまとめていく予定である。そして、これを広く科学技術政策関係機関、研究者コミュニティ等へ向けて発信することにより今後の施策立案等の一助として活用されることを期待している。

参 考 資 料

1 講演録（抜粋）

セッション1 投資する意義

1 ケミカルバイオロジー研究の世界動向と我が国のポテンシャル・課題（理研・長田裕之）

1.1 世界の動向

ライフサイエンス分野では現在いろんな国家プロジェクトが動いておりまして、基礎研究としては、『Science』、『Nature』クラスの論文が出るようになったという面では、日本のサイエンスレベルをレベルアップしたということでは非常に大きな貢献があったと思います。しかし、国民はそれで納得するのかということになると、将来につなげるレールが欠けていると感じております。

例えば、新幹線で東京ー大阪3時間というキャッチフレーズをつくったところで新幹線が実現したというドキュメンタリーを見たことがあるんですけども、基礎研究でいい研究をやるぞというだけでは将来につながらない。何が必要かということをもっと明確にしてつなげていかなければならない。それが、化合物を薬というとらえ方をするとおかしな方向に行ってしまいますけれども、病態のバリデーションに使えるツールをつくるということで創薬を定義しますと、国が投資すべきプロジェクトとしてふさわしいと思います（図1）。

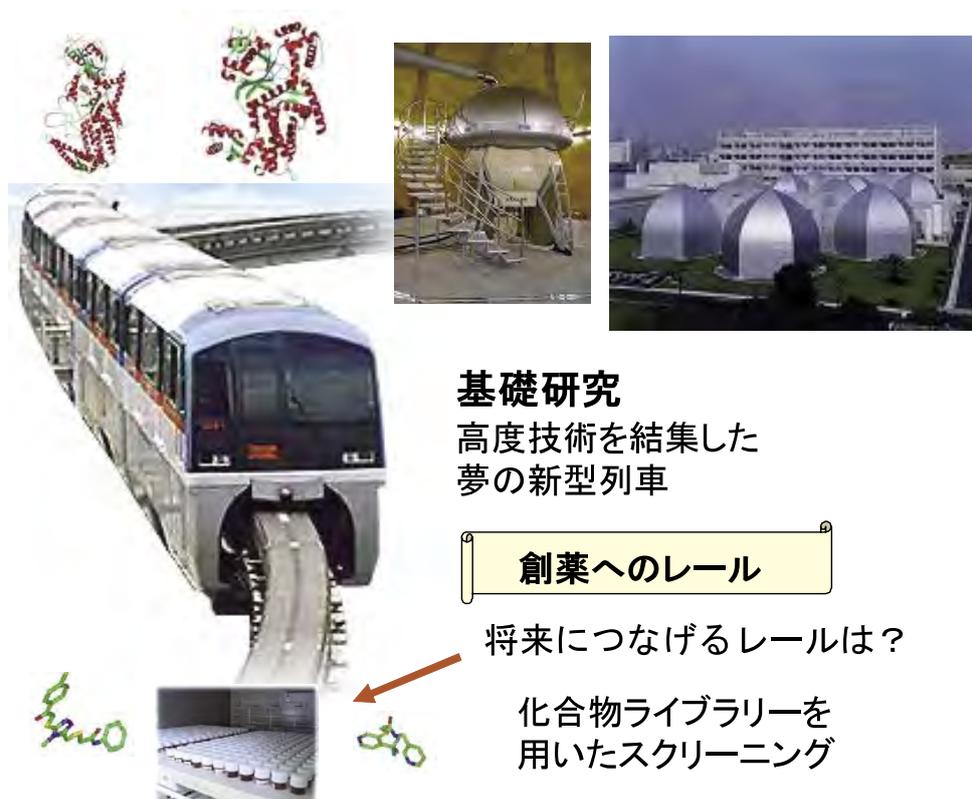


図1

NIH に行って彼らとディスカッションしたときに、何が一番大事かということを知ったら、プライベートセクターと NIH のケミカルゲノミクスセンターで目指すべきところが違ふと。薬をつくるんだということはプライベートセクターがやるべきところで、薬になる前のシーズあるいはプローブというものを NCGC では見つける。すべてそういったものをオープンにしていくということで、ファーマあるいはバイオテックがそれを利用して、本当の臨床試験に耐え得るような薬をつくっていくということを目指しているということです。予算規模も全然違います。何百億円という予算を使ってやっているところは製薬会社ではざらにあるわけですが、臨床試験に大部分を使っておりますので、国の研究としては向かない。もう少しベーシックなところに予算を振り分けるということも大事だと思います。

これはアメリカの状況で (図 1)、シュライバーたちが今力を入れている Broad Institute、物すごい大きな建物で、年間 100 億くらいの予算を使ってやっていると思いますけれども、こういったものは日本にはできないだろう。つくっていただければ非常にメリットはあるわけですが、財力を集中投資するセンスは日本にはない。プロジェクトが日本は下手くそで、月のロケットを打ち上げるようなものはうまくいかないだろう。シュライバーみたいな教祖様のような人がいないとうまくいかないだろうと思います。



CHEMICAL
Engineering News-Record

TODAY'S HEADLINES

June 23, 2003
Volume 81, Number 25
GENEAL 81 25 p. 11
ISSN 0009-2347

RESEARCH

A COLLABORATIVE TRIUMVIRATE
Harvard, MIT, and Whitehead create \$300 million bioscience institute

**Broad Institute
Harvard Medical School
MIT, Whitehead**

Annual budget: \$80 million
Number of employee: 250

CORE FACULTY Lander (left) will head new institute, and Schreiber will direct its chemistry efforts.

図 2

もう一つ、NIH がやっていますケミカルゲノミクスセンターですけども、これはもしかしたら日本でもこのくらいのことはできるのかもしれない。NIH はここですべてをやるというのではなくて、全米に 10 カ所のスクリーニングセンターを置いて、国を挙げての体制を整えています。そういったものを日本でも、コアを何カ所かに置いてやっていくのであればうまくいくかなと思います。

NIH のスモールモレキュールリポジトリということで、パートナーディスカバリーインターナショナルが 10 万のイニシャルセットをそろえるということで、化合物ライブラリーのスクリーニングをするというプロジェクトをスタートさせております。NIH のスクリーニングセンターで回すイニシャルセット 10 万と言っておりナチュラルプロダクトを 3000 くらい揃える計画だったらしいですが、そんなに集まらないということでナチュラルプロダクトについてはあきらめたという情報があります。したがって NIH のライブラリーはほとんどが合成化合物でつくったものですので、そういう面で日本とアメリカとの差別化はできるかと思えます。

アメリカだけではなくて、ヨーロッパあるいは台湾、韓国などでもケミカルゲノミクスセンターができておまして、韓国は理研と共同でケミカルゲノミクスをやるという話も進んでおります。理研では、数年前から、個人的な動きですけども、例えば日本の製薬企業 10 社、大学にもちょっと入ってもらってますけれども、微生物のプロスをみんなで共有するというプロススクリーニングネットワークというものをつくりまして、私はそのお世話役をやって、企業からプロスを提供してもらって、集めたプロスをまた企業へと再配分する。同じプロスを使って、それぞれのユニークなスクリーニング系で化合物を見つけましょうということが、いろんな人達の努力で実現されつつあります。

1.2 我が国のポテンシャル

国内の動向を少しまとめたものですけども、化合物ライブラリーとしては古くから癌研が中心になって、ファンディングエージェンシーとしては文部科学省のがん特別研究あるいはがん特定研究というのが長いこと続いています。ここでがんに特化した化合物が集められて、その評価が行われてきました。それから、大学発の化合物バンクというのは奥山さん（大学化合物プロジェクト）が中心になって、大学の先生方が合成した、あるいは抽出した化合物を集めて企業に配るといような、プロジェクトもあります。静岡県立大学、東大での化合物ライブラリー、夏目先生たちも企業あるいは自分たちでおつくりになった化合物を使ったスクリーニングをやっていると思います。

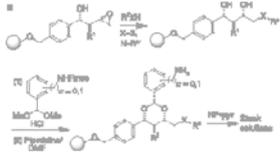
化合物の重要性は、コンビナトリアルケミストリーでつくったものよりはナチュラルプロダクトの方がバラエティがあって医薬品の可能性があるだろうということで、アメリカでは集められていませんけれども、ここに注目すると他国とは違った化合物スクリーニングができるだろうということで、理研ではナチュラルプロダク

トにフォーカスを当ててやっています。これは今準備がかなり進みまして、理研天然化合物バンク、NPDepo というものができつつあります。

国でどういう化合物バンクの利用法があるかという、化合物ライブラリーあるいは化合物バンクというのは非常に基盤的なものですので、大学の先生方に、化合物を集めてそれをみんなに配ってくださいというようなボランティアをお願いするのはふさわしくないでしょう。大学は教育がありますので、学生と一体になってできるような仕事ということになりますと、こういった基盤的なところは国のプラットフォームとして整備すべきだろうと思います。ただ、この合成手法の開拓とか、微生物や植物を使ったライブラリーの充実化、こういったところは先進的なアイデアあるいはサイエンスがあると思いますので、大学の先生たちと、企業とが一体になってやっていくと、化合物ライブラリーは充実してくると思います。当然、集めるだけでは意味がありませんので、スクリーニングについては、ハイスループットスクリーニングということがケミカルゲノミクスでは必須になります。大学の先生方にはアイデア、こういったものが病態の原因ですとか、ターゲットタンパクについてこんな阻害剤があるといいですよといった概念を出していただくようなところをやっていただき、どこか数カ所にハイスループットスクリーニングができるような基盤をつくって、そこに大学の先生がみずから学生さんと一緒にやってもいいですし、あるいはそのアイデアをそこにゆだねてスクリーニングをするといった、化合物バンクとスクリーニングセンターを一体化した動きが必要だと思います（図3）。

化合物バンクとスクリーニングセンター

ライブラリー合成
 ・多様性志向合成(DOS)
 ・フォーカストライブラリー



化合物バンクの高度化
 ・標識化合物合成
 ・ケミカルマイクロアレイ

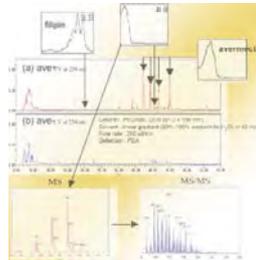
相互作用情報解析
 ・物理的相互作用解析
 ・遺伝学的相互作用解析
 ・ハイコンテンツスクリーニング
 ・複合体解析

化合物ライブラリー
 ・化合物の収集・分配
 ・ケムインフォーマティクス



メタボローム
 ・微生物、植物の利用
 ・天然物の分離・精製

メタゲノムと生合成
 ・生産菌の利用
 ・生合成経路の解明と利用
 ・メタゲノムの応用



アノテーション(生物活性情報)
 ・ハイスループット発現・精製・標識化
 ・ロボティクス・オートメーション
 ・ナノフロー解析
 ・バイオインフォーマティクス

図 3

2 武田薬品の創薬研究—現状と課題— (武田薬品・石原雄二)

2.1 医薬品の研究開発の世界情勢

1990年代というのは、コンビケムやゲノム、あるいはハイスループットスクリーニングというところに製薬企業が狂喜していた時代かなと思います。こういった三種の神器を使えば薬はどんどんできるんじゃないかということも言われておりましたが、その成果が十分出てきていないということで、基盤技術を獲得する時代から、研究の生産性向上に向けて、ある程度規模を確保しながら独自のR&Dのモデルをつくり上げようとしている時期に入っているかなと思います(図1)。

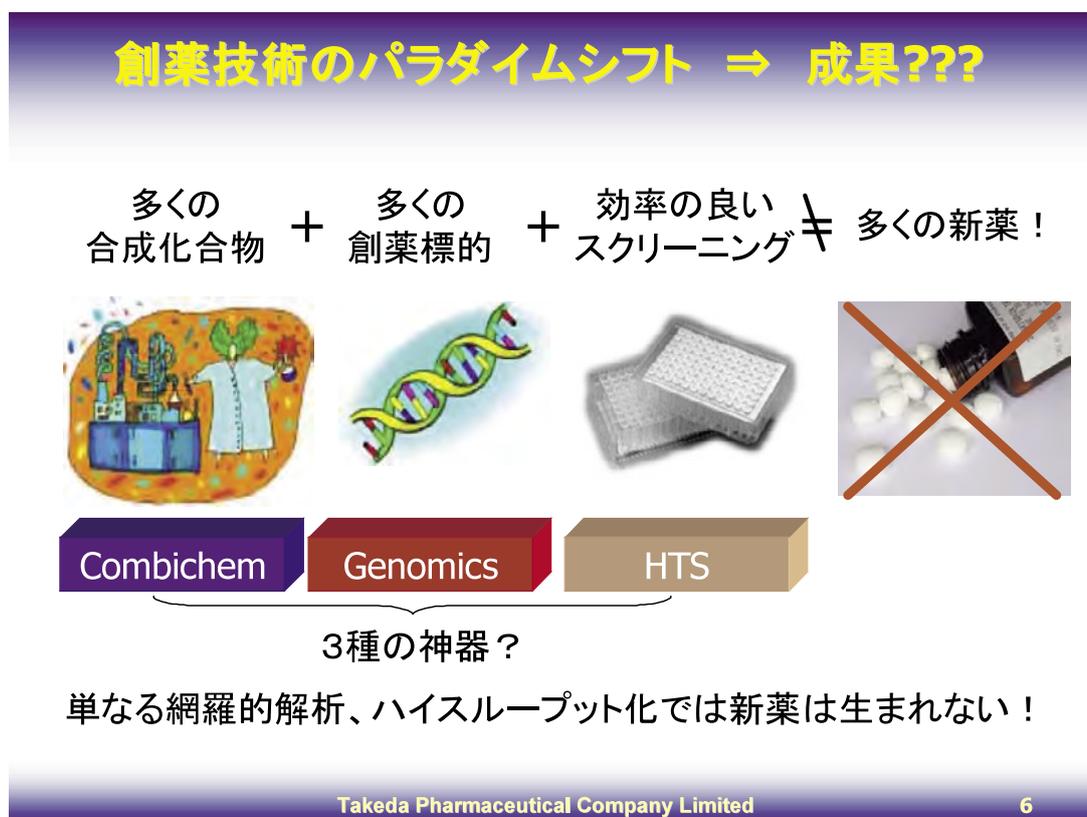


図1

ゲノム、コンビケム、ハイスループットスクリーニングだけでは新薬の創製に有効な手段になり得ないということで、現在では創薬コンセプトが非常に重要な考え方に世界的になってきております。ターゲットプロダクトプロファイル、お題目のように我々も言っているんですけども、最終目的とする薬のあるべき姿を初期の段階から、また途中の段階でも常に確認しながら進めるということで、それを実際の創薬の各過程でバリデーションを上げながら研究のプロジェクト及び化合物を絞り込んで新薬創出につなげようという考え方になってきております(図2)。

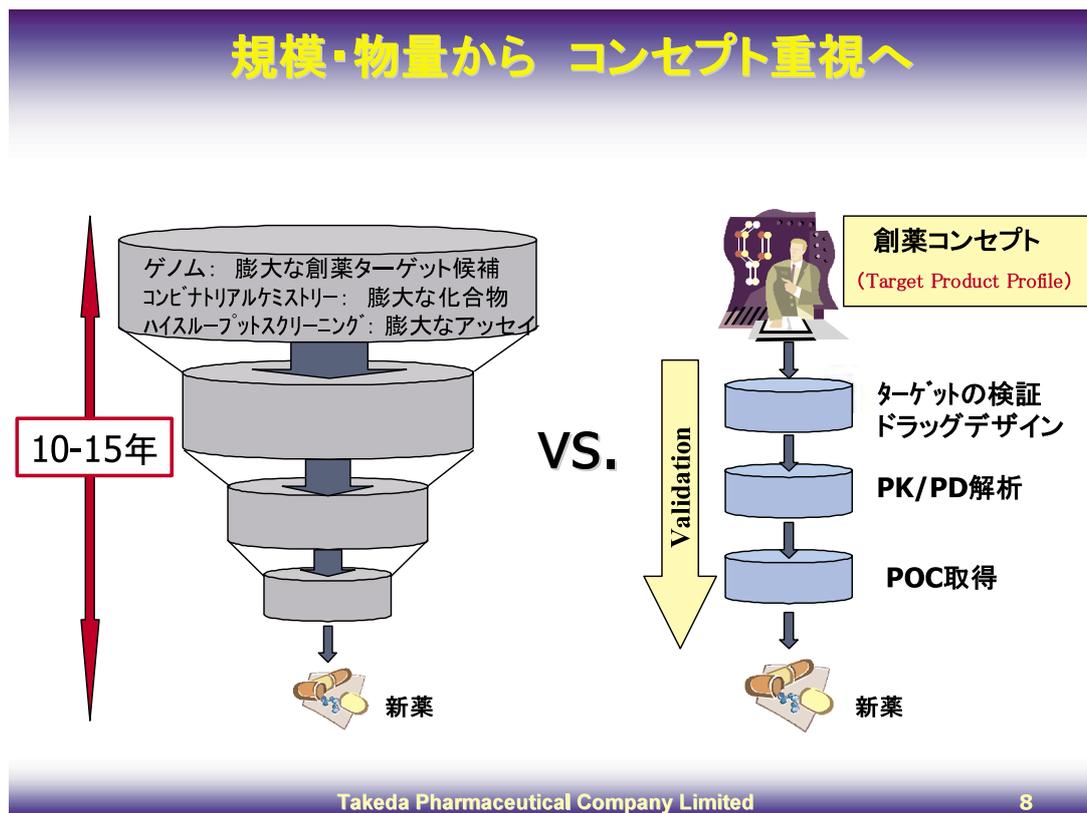


図 2

2.2 武田薬品の創薬研究

ヒット・リード化合物の創出。我々の考えているリード化合物というのは、動態や毒性等も考えた上で、一定期間に資本を投資すればもの（薬）が出せますよという形の意味でのリード化合物ということですが、それを創出するためにまずは化合物ライブラリーを欧米のビッグファーマに匹敵するだけの数と質を目指しましょうということをやっております。先ほどから天然物の話が出ておりますけれども、物性、動態とか毒性とかを一緒に考えますとなかなか難しい。現在は低分子でリードライクな化合物、特に分子量の小さい溶解性のいいものを中心に考えております。また溶解性の悪いあるいは不安定なものは除くという形で、できるだけ高濃度の単品でアッセイするようなシステムも考えております。しかしこれだけではビッグファーマと今後差別化できないということで、メディシナルケミストがオリジナルにデザインするような化合物についても力を入れておまして、ヒット率を考えてみますと、メディシナルケミストが考えたものの方がよく当たっているように思います。

具体的にヒット・リード化合物の種なんですけど、ケミカルスペースを埋めるようなライブラリー、コンビケムの考え方で網羅的につくるということは最初から我々は考えておりませんで、ドラッグライク、リードライクな化合物を目指してスペースを埋めていくような合成をやっております。そういったもので見いだされたものについてメディシナルケミストによるデザインを入れて、薬になりやすい独自

のプリビリッジドストラクチャー (privileged structures) を増やしていこうという戦略になります。

実際にこの10年間でどれくらいリードの芽がどこから出てきたかというのをプロジェクトベースでプロットしたものでんですけど(図3)、ハイスループットスクリーニング・ドラッグライク/リードライクスペースのところは少し多目ではありますが、一応全体にバランスがとれた形かなと思っております。ただ、ナチュラルプロダクトの部分、これは発酵研究所を数年前に閉鎖したということもありまして、そういうところからのリードの芽というのは現在ほとんどない状態です。天然物そのものを修飾してそれを薬にしようとする方策というのはとっておりませんので、むしろ天然物のコアの骨格あるいは薬効に関係する部分を抽出したような化合物ライブラリーをつくっていければと思っております。

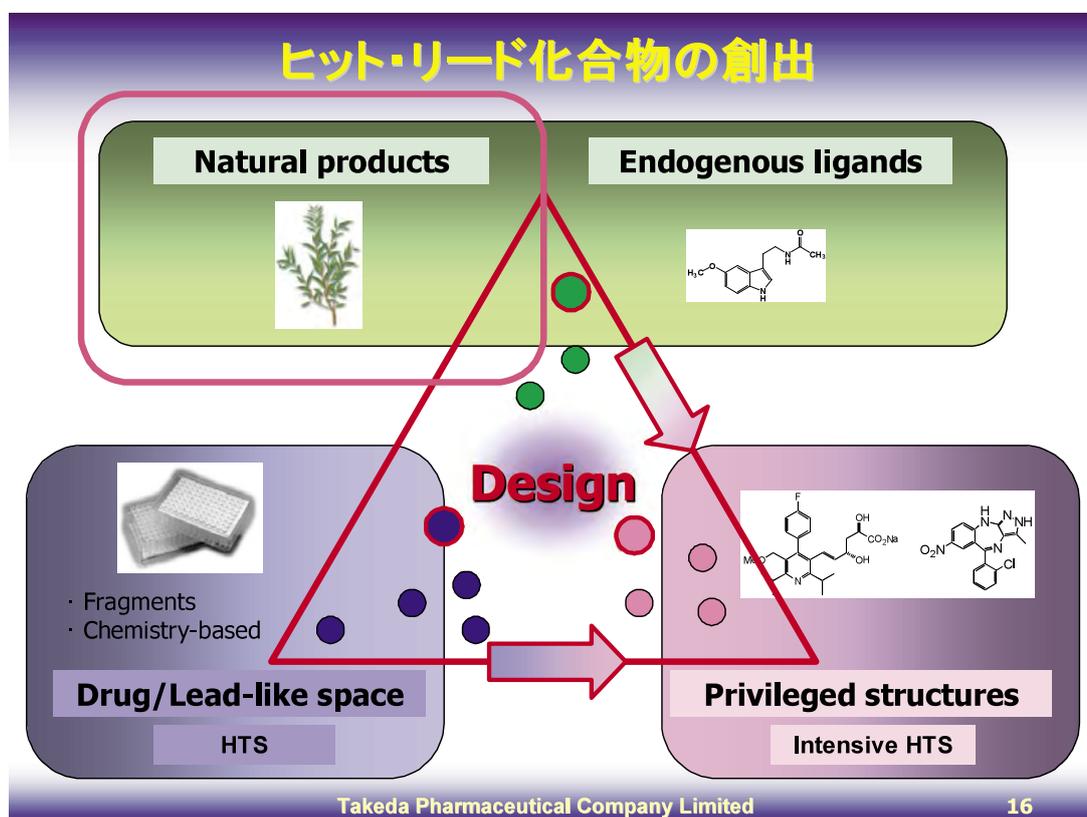


図3

コンビケムに関係するところなんですけれども、もともと網羅的につくろうという考えは最初からありませんで、創薬化学を志向した形での技術開発ということで、初期からメディシナルケミストとのインタラクションを重視してまいりました。それは技術開発の部分でもそうですし、運用の面でもそうです。そういう意味で、液相の反応を中心に検討してきたり、出てきた技術をどう使うかというところでメディシナルケミストリーからの要望を受けて迅速に合成するというような形の運用を現在やっております。

これが概略図なんですけれども（図 4）、基本的に液相反応、合成研究者が使いやすい、やりたい反応をやるように開発しようということ、80年代、98年以降からもやっております。特に反応、抽出、精製などのケミストが普通にやっていたことをそのままモジュール型に平行にやっていくというような形で改良して使っているというところです。

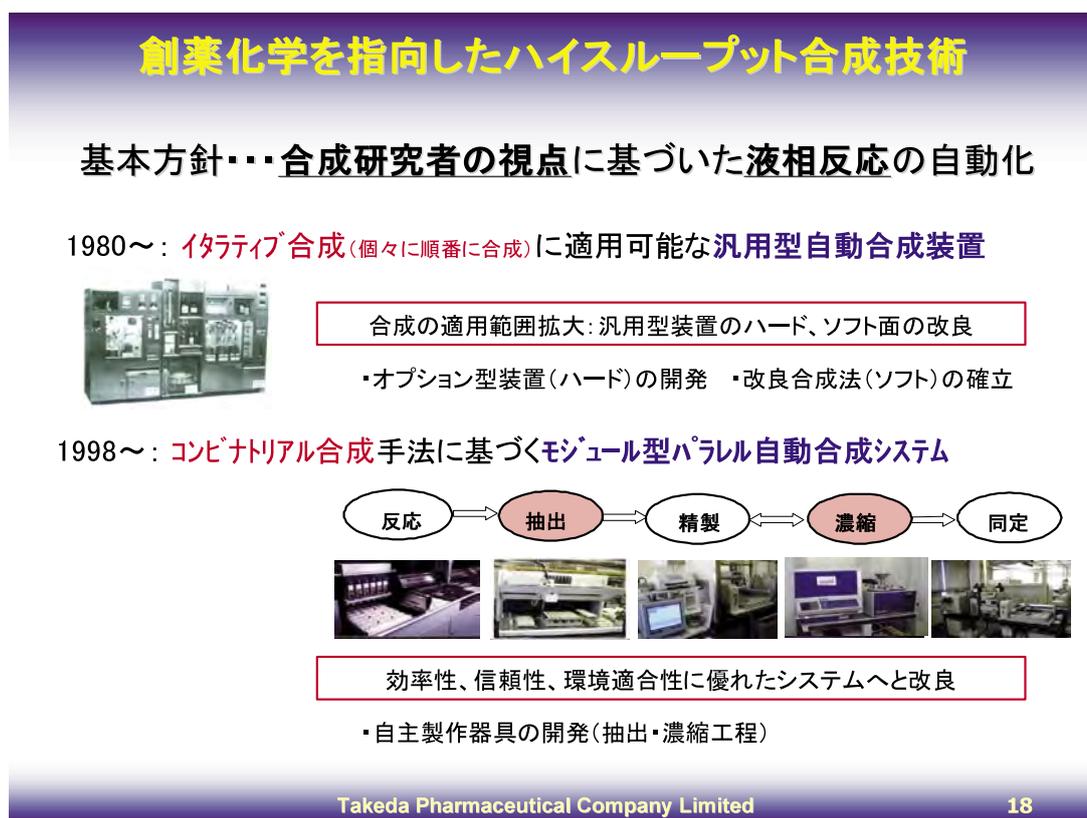


図 4

続いて、今度はスクリーニングのことですけれども、世界的なレベルのハイスループットスクリーニングを目指しているということなんですけれども、いろんな創薬ターゲットに対応可能なスクリーニングを考えております。その中にはセルベーストのファンクショナルアッセイをメインとした部分もありまして、今回の趣旨に少し合ってる部分かなと思いますので、少しお話しさせていただきます。

ケミカルバイオロジーの概念が余り一般的でなかったころから我々はそのような創薬をやっております。その成果がアクトス（ピオグリタゾン）になるわけなんですけれども、その後、標的タンパクからスタートするリバーズファーマコロジーが中心になって医薬品を生み出していたころにもフォワードファーマコロジーの部分は大事だねということで、研究を進めていった成果がやっと出つつあるかなというのが TAK-242、重症セプシス治療薬なんです。セルベーストのアッセイで NO の産生抑制等を見ながら研究を進めたんですけど、当初ヒットした化合物が α 、 β -不飽和エステルということで、マイケル付加の懸念があり、これが本当に薬になる

んだらうかということで相当社内でも議論になっていたんですけども、研究を進めるに従ってTLR4のある部位に特異的にバインドするということを見いだしまして、アクトスのときはターゲット分子を見つけるのに20年近くかかりましたけれども、242の場合には10年程度でこういった分子を見つけるに至っています（図5）。

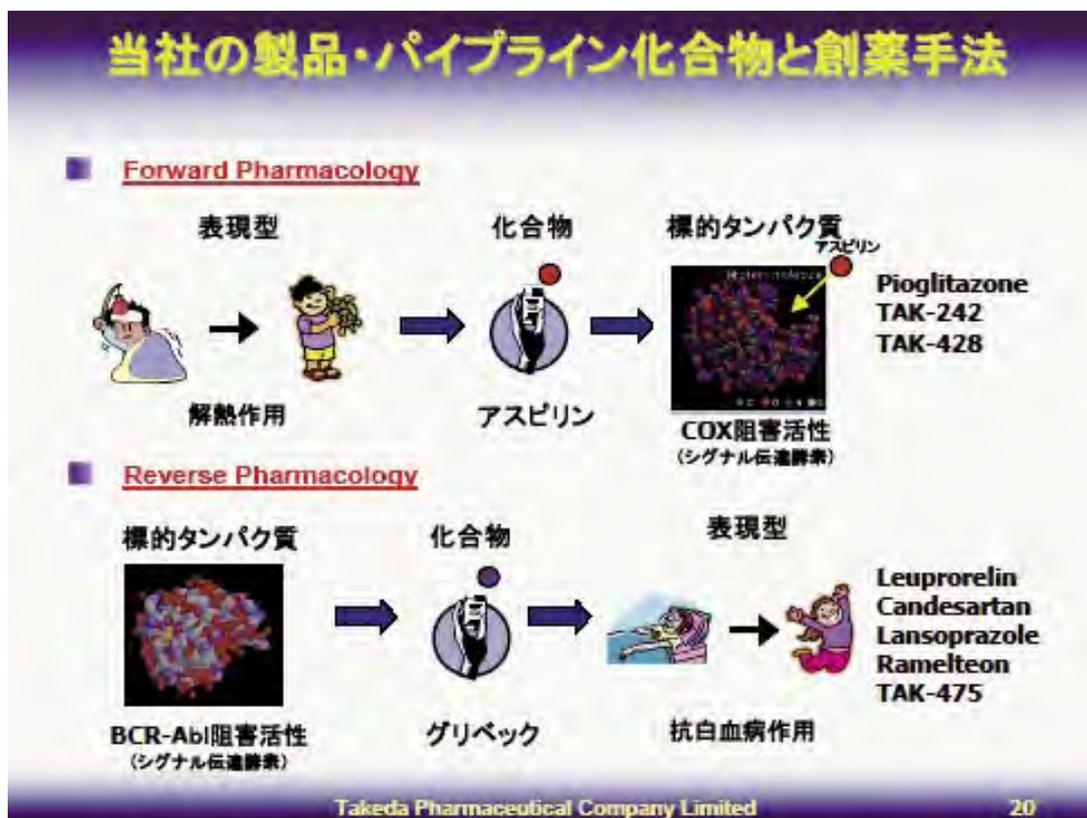


図5

こういったアプローチをやっているんですけども、やはりネックとなるのは、ターゲットタンパクの同定のところです。今も何割かはセルベースのアッセイ系で試験をしていますけれども、ヒット化合物の構造の種類、多様性があるときには、どれを選んで最適化していったらいいのか、バックアップ化合物をほかの骨格から選んでいけるのかどうかということも、ターゲットタンパクを早く同定するというのがキーになってくるかと思っています。

それと、スクリーニング系の人には、今回いろんな分野の方にいろいろお話を伺ったんですけども、ヒト細胞をもっと使えるようになってほしいという、そういう整備を国でしていただければいいかなという意見が出ておりました。

そのほか、化合物の物性評価やコンピューターケミストリー、ストラクチュアルバイオロジーについても最先端のものをねらっているということです。特にタンパク複合体のX線結晶構造解析については、創薬ターゲットの構造を解析して目に見える形で医薬品とタンパクが相互作用しているということを見ながら進められるということで、非常に有効に活用できるようになってきました。

2.3 公的研究機関に期待すること

最後に、公的研究機関に期待することなんですけど、今まで課題として挙げていたことの羅列になります。いろんな人とお話しさせていただいて一番ニーズが高かったのは、ターゲットタンパク質の同定に関する次世代技術の開発、これがあれば本当に創薬に役に立つものになるというのが一つあります。それと、ヒトの細胞をもっと使いたいという希望が強いです。国レベルでインフラが整備されるということ望んでいるということと、天然物化学を中核にした化合物ライブラリー、今は少しばらばらにやられているような感じがしておりますけれども、国として一本化するような形にしていいただければなというのがあります。

疾患モデル動物については、生物の方に聞きますと、自分たちの強みなので余りやってもらってもというような意見もあるんですけど、実際には自然発症のモデル動物というのは日本の強みかなと思っています。海外ではそういったアプローチはなかなかされていないようで、8年、10年かかるような自然発症のモデルをつくるというのは日本の強みになっていくかなと思っています。

それと、膜タンパク質の結晶化、できればハイスループットでできるような技術レベルまで高まれば創薬の生産性を向上するには役に立つかなと。あと、細胞系のアッセイで天然物等を評価するということになると、恐らくデータポイントは非常に多くなるので、インフォマティクスを整備しないととてもできませんよというコメントをいただきましたので、それについてもここに書かせていただきました(図6)。

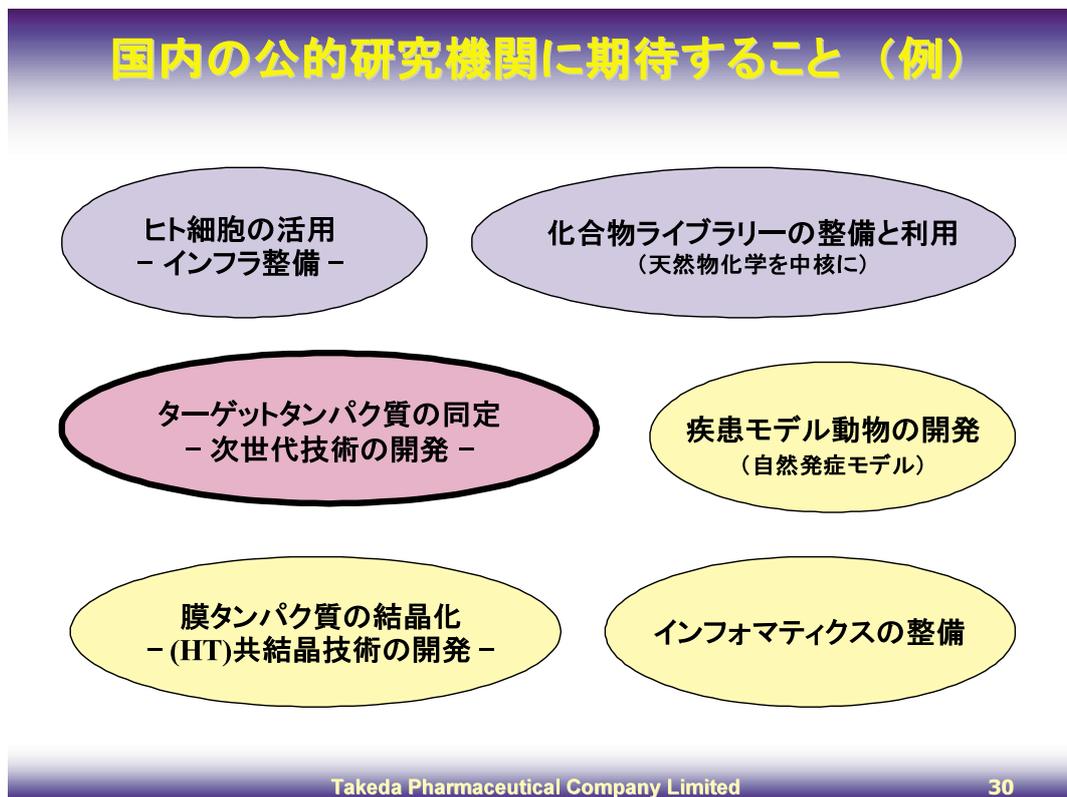


図 6

セッション2 具体的な研究開発課題

1 ターゲットと考えられる疾患

1.1 Decoding chemical structure and target interaction mode via the identification of biologically active natural products or natural product-like small molecules (エーザイ・大和隆志)

きょうの私の発表の要点を、最初にお話してしまいます。まず1番目に申し上げたいのは、我々の強みとか競合優位性というのは何であるのかを今一度考えてみるということです。日本でやるべきことは何なのかというのがキーワードかと思います。ここで私が特に焦点を当てたいのは、天然有機化合物のリソースというのを最大限に活用してさらに開発していくようなことを考える必要があるのではないかとということです。

2点目は、この10年余りでテクノロジーの進化がありました。似たような研究を昔と同じアプローチでやるといっても説得力がない。この10年余りで新たにできるようになったことが必ずあります。そういう要素をふんだんに盛り込めば、そこに何億、何十億というお金を投資することに説得性を持たせられるはずで。一つの例として、新しいテクノロジープラットフォーム、特にプロテオームやトランスクリプトームのテクノロジーを使うことができます。それらを用いれば、興味深い生理活性を有する低分子化合物に関してこれまでになかった、さらに進んだプロファイリングができるという例をお示ししたいと思います。

3番目として、化学構造のデコーディングをするという非常に重要な課題について、我々の取り組みをご紹介します。生理活性天然物に関するケミカルバイオロジー研究は、時として予想を超えた創薬ターゲット分子の存在を明らかにしてくれることがあります。天然物そのものが実際の薬になるとは限りません。例えば、ヒストンデアセチラーゼ（HDAC）阻害剤の場合言えば、当初HDAC阻害剤として日本で同定された天然物であるトリコスタチンやトラポキシンは薬にならず、合成低分子化合物のSAHA（Zolinza[®], MERCK社）が皮膚性T細胞リンパ腫に対する治療薬としてアメリカで承認されました。それから、プロテアソーム阻害剤の場合も、日本で発見された天然物であるラクタシスチンそのものは薬になることはなく、やはり合成低分子化合物のPS-341（Velcade[®], MILLENNIUM M社）が他剤抵抗性の多発性骨髄腫に対する治療薬としてアメリカで承認されました。さらに最近では、これまた日本で見出された核外輸送阻害剤レプトマイシンのケースでも、アメリカのKOSAN社が合成アナログで臨床開発を目指しています。要するに、いったん興味深い生理活性を有する天然物を見つけたら、それを合成低分子化合物にトランスフォーム（変換）してやる必要があるのではないかと考えられます。これにはなかなか確立された方法論がない。そうすると、天然物そのものはなかなか薬にならないから、天然物からの創薬研究は成功確率が低いということで終わってしまう。ここ

に何か新しい技術を活用できないかということ、化学構造のデコーディングというタイトルで、まだ非常に初歩的な段階ですけれども、お話しさせていただきたいと思います。

さて、我々の研究グループが見つけたスルホンアミド系の抗腫瘍性低分子化合物 E'7010 と ER67870 は、がん細胞を用いた表現型スクリーニングで有糸分裂を停止させる物質として見出されました（図 1）。その後の詳細な検討から、両化合物が強いチューブリン重合阻害活性を有していることが明らかになりました。ここで重要なのは、これらの化合物がどういう結合様式でチューブリンと相互作用しているかということです。簡便な結合競合実験で、チューブリンの溶液に対してコルヒチンの存在下にそれぞれの化合物を添加してやると、典型的な競合的結合のパターンを示すことが分かりました。すなわち、この結果から、E'7010 と ER67870 はコルヒチンの結合部位で β -チューブリンに結合していることが示唆されました。

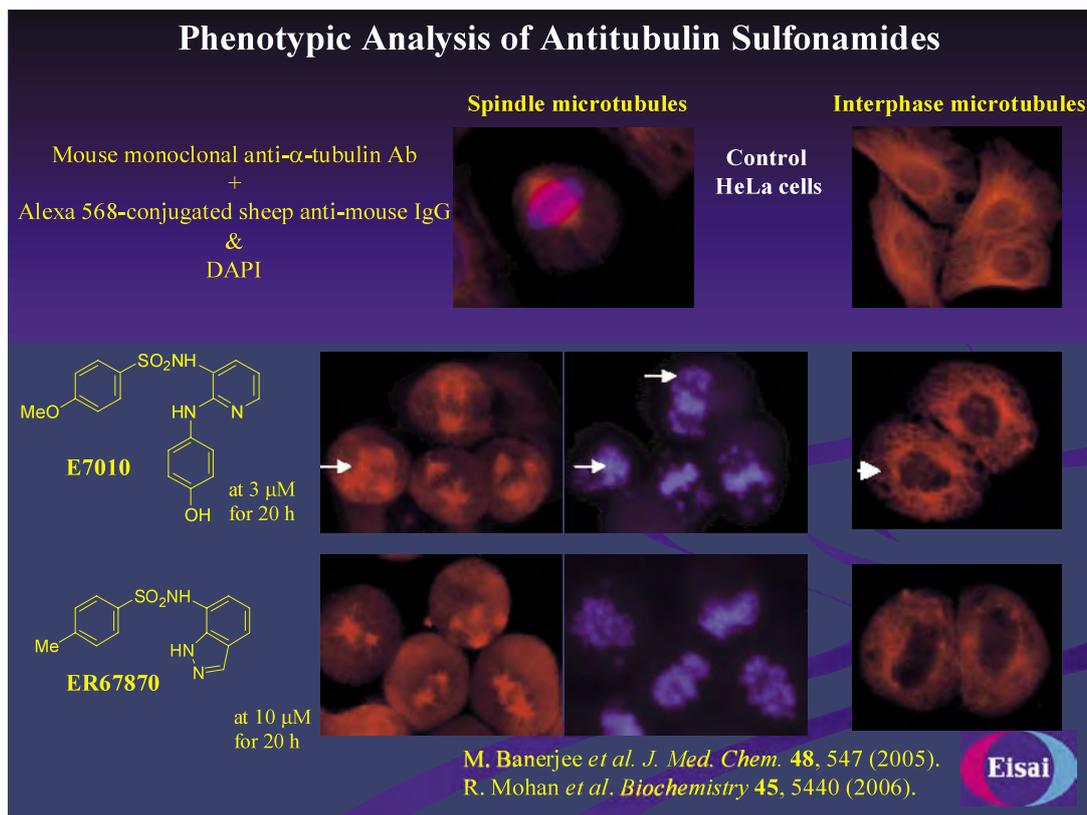


図 1

次のスライドは、NIH と Pittsburgh 大学の Wipf 教授のグループによる分子モデリングのデータになります。この結果の中で私が特に注目したいところは、 β -チューブリンのシステイン-239 のチオール (-SH) 基が E7010 の 4-メトキシベンゼンスルホンアミド部位と相互作用しているという点です。より具体的には、チオール基の水素原子がメトキシ基の酸素原子と水素結合すると同時に、もう一つ重要な計算結果として、チオール基の硫黄原子における空位の d 軌道がベンゼン

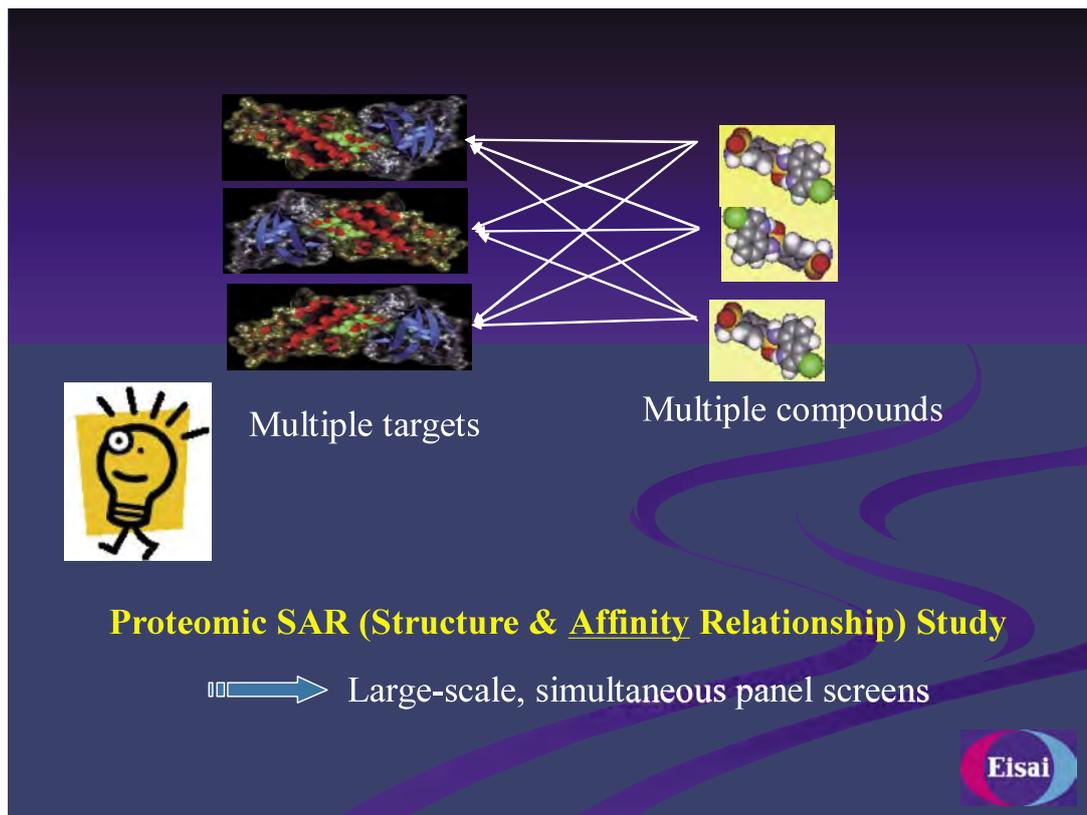


図 3

本実験では定量的な解析を可能にするために、安定同位体元素の ^{12}C および ^{13}C のみを含むロイシンをそれぞれ用いて、細胞内タンパク質の代謝的標識化を行います。図 4 において、青色の細胞抽出液 (cell lysate) は ^{12}C で標識されたもので、赤色の方が ^{13}C で標識されたものです。これをそれぞれアフィニティ樹脂に通しますが、その際樹脂には、例えば ATP のミメティックスになるような化合物を予め固定化しておきます。そうすると、細胞抽出液の中に含まれている一群のタンパク質リン酸化酵素 (プロテインキナーゼ) などが樹脂上の ATP 様の構造を認識して結合することになります。この作業を ^{12}C で標識された細胞抽出液に関して進める一方で、片や ^{13}C で標識された細胞抽出液に対しては、予め化合物を添加しておき、それから同様の作業を行います。同じ条件で適宜洗浄後、この 2 つのアフィニティ樹脂からそれぞれ結合タンパク質を回収し、同量を混合した後、LC-MS/MS で解析する。すると、 ^{12}C と ^{13}C でそれぞれ標識されたペプチド断片が、おのおの一定の質量の差をもって MS チャート上で検出されることとなります。ここで、 ^{12}C 由来の青のピークと ^{13}C 由来の赤のピークがほぼ同じ高さになるペプチドフラグメントというのは、予め加えておいた化合物が当該結合タンパク質のアフィニティ樹脂に対する結合を全く阻害しなかったことを意味します。このタンパク質は、いわば樹脂への非特異的な結合タンパク質と見なせます。一方、化合物が存在していた時に、 ^{13}C 由来の赤のピークが ^{12}C 由来の青のピークよりも低く検出されるペプチドフラグメントがある。これはすなわち、化合物が存在していた

ために細胞抽出液中のある種のタンパク質がアフィニティー樹脂に結合できなかった、より具体的には、化合物によって、例えばプロテインキナーゼの樹脂上 ATP 様構造への結合が競合的に阻害されたことになります。この解析をそれぞれ化合物 A、B、C...に関していっぺんに行ってやる。そして、 ^{12}C 由来と ^{13}C 由来でピーク高に差のあるペプチドフラグメントをすべてプロテオームデータベースを用いて同定します。このアッセイは、特定のタンパク質を予め選んでおいてから結合する化合物をスクリーニングするというものではなく、複数の化合物に関して検出可能かつ特異的な結合タンパク質を網羅的に調べてやるというシステムになります。その際、例えば ATP に対する化合物の結合競合の程度は、2つのピークの比($^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$)で表されます。

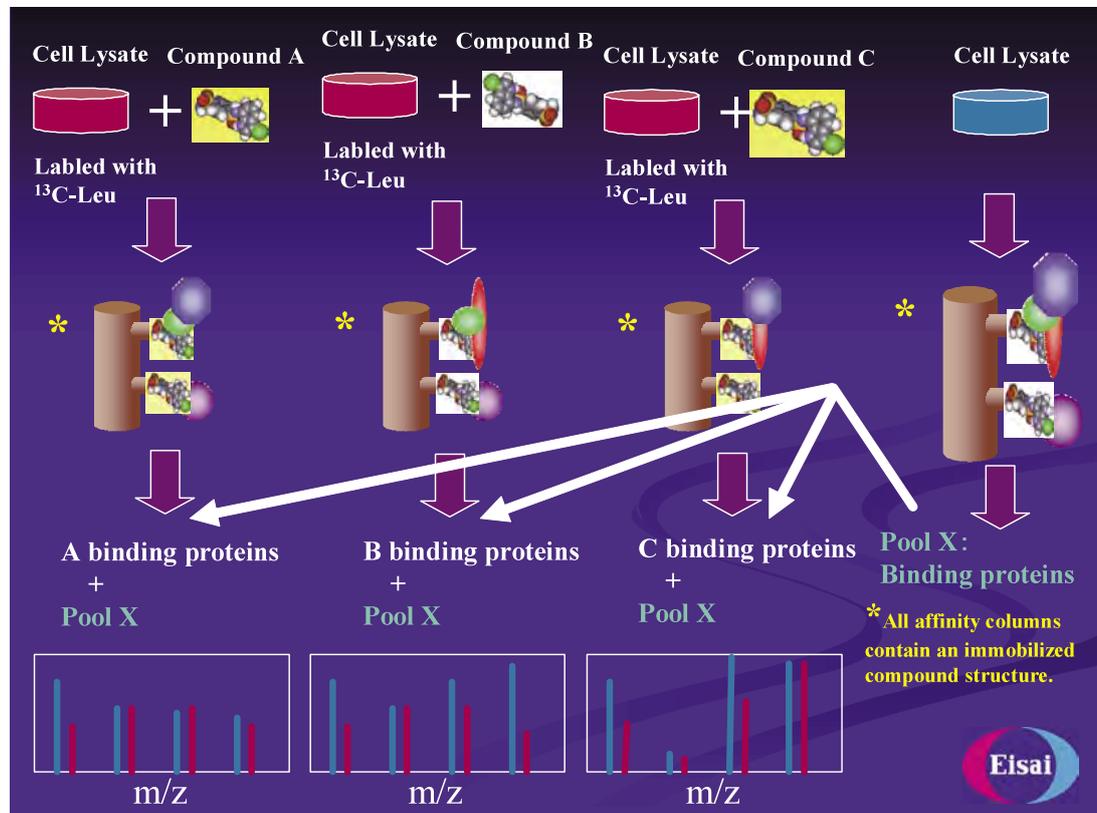


図 4

図 5 にお示しするのが proof of principle (POP、原理の証明) の実験結果になります。樹脂上に固定化する化合物として用いたのは ATP のミメティックスで、評価化合物として、既に上市されているグリーベック、イレッサ、タルセバ、それに現在臨床開発中のゼクティマというすべてチロシンキナーゼ阻害剤を選びました。それぞれの化合物に関して、LC-MS/MS 解析の結果同定されてきた結合タンパク質を横軸に並べて、縦軸に $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ のピーク比をプロットしてあります。ここで、縦軸の値が小さければ小さいほど化合物が ATP と競合的に当該タンパク質のアフィニティー樹脂への結合を阻害したということになるわけです。緑色のライ

ンがイレッサ、水色のラインがタルセバのデータになりますが、両化合物はともにEGFレセプター（EGFR）のチロシンキナーゼに対する阻害剤で、我々の実験結果でもEGFRが結合タンパク質として同定され、しかもATPに対して高い結合競合性を示していることが分かります。

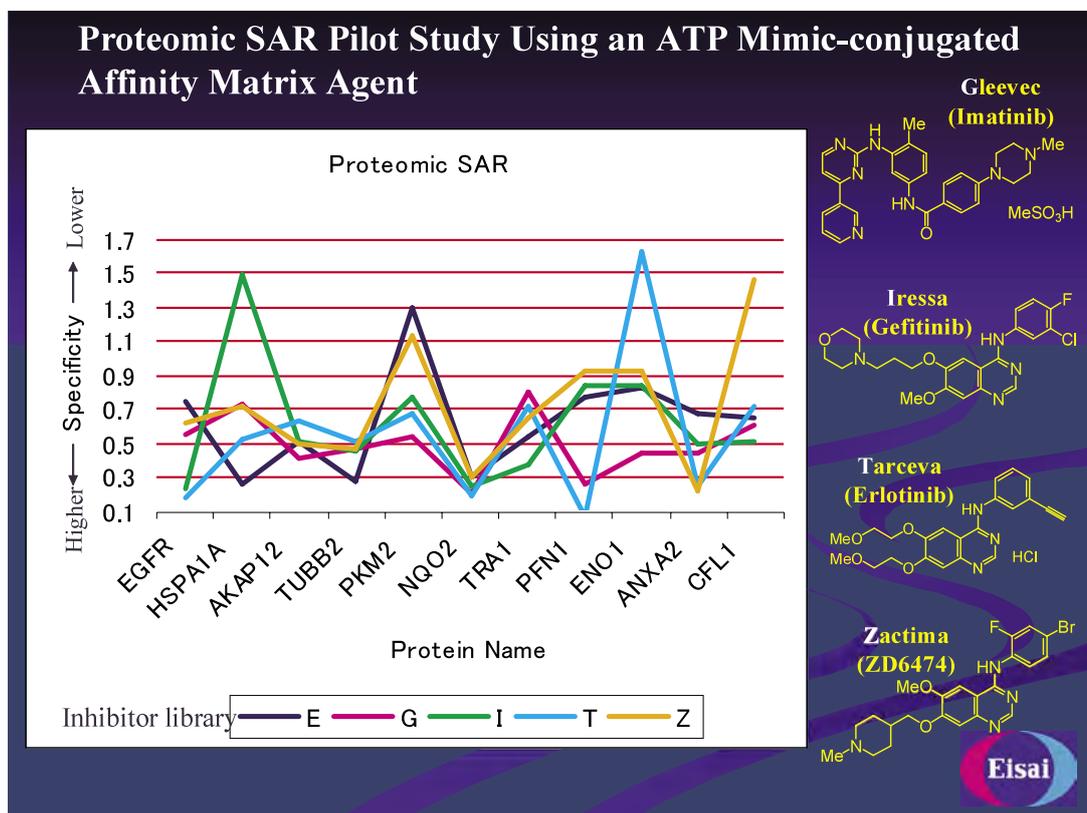


図 5

ここで重要なのは、単にEGFRが特異的な結合タンパク質として予想通り同定されたことだけではなく、他にも種々の特異的な結合タンパク質がそれぞれの化合物に関して見出されてきたという点です。その中で、あるタンパク質は二次的な薬理効果や副作用に関係しているかもしれません。PSARではこういう体系的なアプローチが可能であると考え、現在、自社の化合物群に関して同様の実験を展開しているところです。ここにお示した結果からも一応パイロットスタディとしては成立しているということになりますが、ただ、技術的な問題として質量分析器の検出限界の問題ですとか、 ^{12}C ならびに ^{13}C 由来のピークをどうやってピックアップしてアサインするのかということなどには、まだまだ問題点があります。要するに、テクノロジーのプラットフォームとしてはまだまだ改良すべき余地があるということです。

ここで、生理活性低分子化合物の化学構造のデコーディングの話に戻ります。例として取り上げるのは、標的分子がCRM1/XPO1である核外輸送阻害剤レプトマイシンに関するものです。具体的には、先ほどご説明した「4-メトキシあるいは4-メチルベンゼンスルホンアミドのベンゼン環とシステインのチオール基の

間の相互作用」の話を、レプトマイシンに端を発する創薬化学研究の展開につなげるという意図が込められています。図6にレプトマイシンBの構造式を提示しましたが、理化学研究所・吉田先生のグループが、末端のカルボキシル基の部分でアフィニティー樹脂につないで、標的分子であるCRM1/XPO1を釣り上げていらっしゃいます。レプトマイシンには6員環の α, β -不飽和ラクトン部分があり、この構造単位はマイケルアクセプターとなってCRM1/XPO1の非常に重要なシステイン残基のチオール基と共有結合することが示されています。先ほど、コルヒチン競合型のチューリン重合阻害剤の話で、我々が構築したスルホンアミド化合物ライブラリーの中に、システインのチオール基との相互作用に関与しうる化合物が歩ことをお示ししました。そこで、レプトマイシンBをアフィニティー樹脂に固定化しておいて、そこに結合してくるCRM1/XPO1を競合的に排除するスルホンアミド化合物をPSARの原理でスクリーニングするという実験が組めるようになります。この系では、CRM1/XPO1以外の結合タンパク質についても競合特異性を同時に評価できます。実験の結果として、スルホンアミド化合物ライブラリーの中に、非常に強い競合阻害パターンを示すものから、全く競合阻害をしないものまでバリエーションを持って見つかることが分かりました。

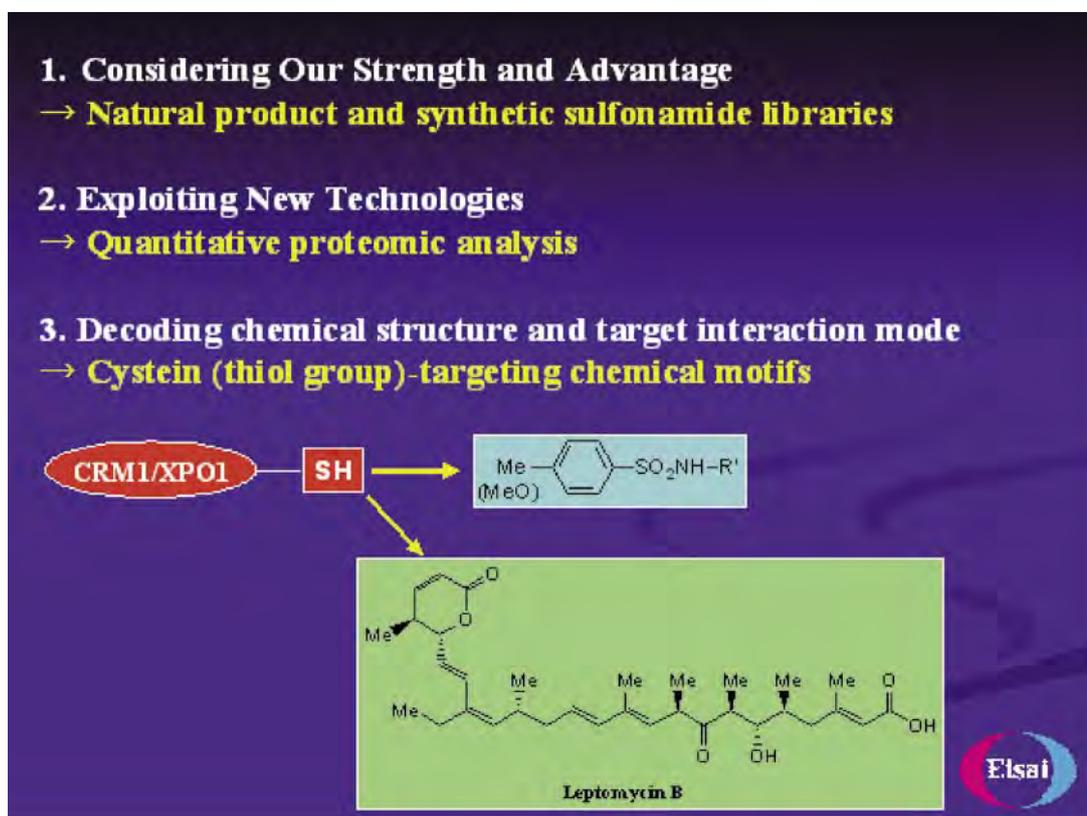


図6

今回、レプトマイシンからスルホンアミド化合物への展開を具体例としてご紹介いたしました。要点は、新技術の定量的プロテーム解析の手法を応用することによって、生理活性天然物の構造を合成低分子化合物の構造に等価変換できる可能性が示されたということです。この方法論は、特定の標的タンパク質に対してアフィニティーを示す化学構造単位を、天然物を足掛かりにして合成低分子化合物からも見出すために適用可能であるともいえます。

この研究アプローチをより一般化するという観点では、例えば、プロテインキナーゼ阻害剤を新規低分子化合物として発見するのにも同様のやり方が適用できると考えています。図7に種々のプロテインキナーゼ阻害剤のテンプレートを列挙しました。プリン系統、ピリミジン系統、オキシインドール系統、キナゾリン系統、ジアリルウレア系統などに分類される低分子化合物がそれぞれプロテインキナーゼ阻害剤になるということは、メディシナルケミストリーの努力によって既に論文報告されている事実です。その一方で、例えば、スタウロスポリンやフラボピリドールなどの天然物が様々なプロテインキナーゼを強く阻害する天然物であることが古くから知られています。

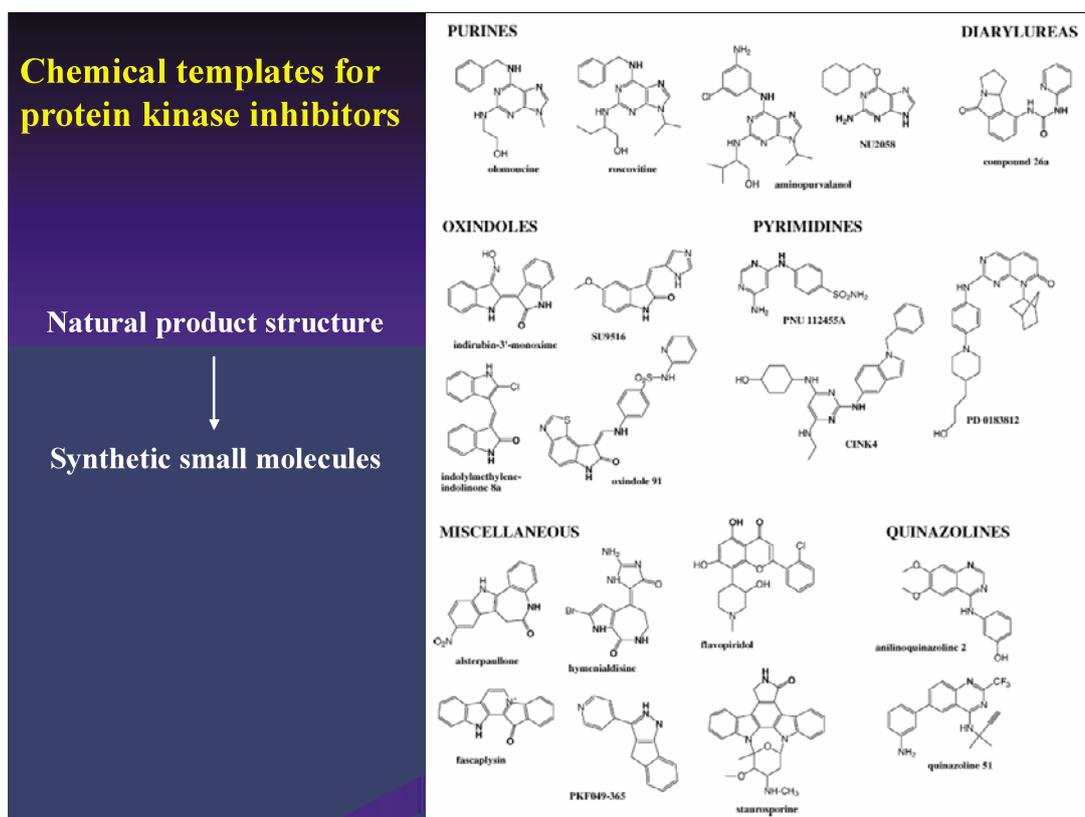


図7

そこで、例えばまず、スタウロスポリンの構造をアフィニティー樹脂に固定化してやる。そして、様々なプロテインキナーゼに対して競合的に結合する低分子化合物を自分達の保有している化合物ライブラリーの中から見出すべく、PSARの実験

系でスクリーニングを行うことができます。その結果、これまでのプロテインキナーゼ阻害剤には同定されていない構造テンプレートを有する化合物の中に、新たな阻害剤のリード化合物を見つけられるかもしれない。さらに進んで考えれば、プロテインキナーゼ阻害剤の研究は既に激しい競争の渦の中にあるので、この PSAR のアプローチというのをもっと別なものに使ってやることもできるはずです。例えば、ATPase 活性を有する酵素タンパク質群であるとか、NAD/NADH 依存性の脱水素酵素群の阻害剤スクリーニングに応用してやる。

最後に、「化学構造のデコーディング」に関して今一度強調したい点を述べます。日本は、天然物化学や有機合成化学の分野に従来から強みを持っています。その強みは世界レベルと言えます。ただ、興味深い生理活性を示す天然物を同定し、全合成を行い、細胞内の標的分子を明らかにできたとしても、その天然物そのものが実際の薬になるとは限りません。確率的には、むしろ極めて低いと考える方が妥当かと思います。そこに創薬化学の知恵を盛り込んで、薬に仕上げていく努力はこれまでも行われてきましたが、複雑な天然物の構造をより単純な合成低分子化合物に等価変換することは容易ではありません。したがって、より一般的な方法論が開発されれば、創薬プロセスの流れを加速できる可能性があります。本日お話をさせていただいた PSAR のアプローチというのは、一般化のための具体的な一例と考えています。ただし、まだまだ原理的にも技術的にも改良を加えなければ、パイロット研究の域を出ることはできません。エーザイのような企業一社で果たして十分な取り組みができるのかという点につきましても、非常に厳しいかもしれないというのが実感であります。

1.2 表現型スクリーニングからのケミカルバイオロジーと創薬展開 (理研・吉田稔)

実際にスクリーニングをやっている方々と話をすると常に話題になるのが、どういふスクリーニングがいいのかということです。これは永遠の命題でして、表現型スクリーニングがいいのか、つまりセルベース、あるいは個体レベルのアッセイがいいのか、あるいは *in vitro* でタンパクや特定のものをターゲットにした標的スクリーニングがいいのかというのがよく議論になります。どちらがいいかにはいろいろなファクターがありまして、細胞の中に入って効くものが欲しいということであれば表現型スクリーニングが有利ですが、本当に我々がねらったターゲットがとれるのかということになると、表現型スクリーニングの場合にはさまざまな Unknown のところに作用して、ねらったものではないものがとれる可能性が非常に高いんですね。あるいは、ハイスループットに適用できるかということを見ると、明らかに標的スクリーニングが有利であるということになってきます。最近の流れとしては、さまざまな標的のバリデーションの方法論が揃ってくれば、ゲノムプロジェクト等から出てくる標的が本当にそれを阻害すれば薬効が出るのかという検証が十分できるようになるので、そのように十分に検証された標的であれば標的スクリーニングの方が有利だろうという話になってくるのではないかと思います。

そういうことを考えますと標的スクリーニングの方が主流になってきます。しかし、実際やってみるといわゆる三種の神器ではそんなにいいものがヒットするわけではない。そうすると再びセルベースのアッセイに戻ってくるというように、標的スクリーニングと表現型スクリーニングの繰り返しのような状況があるのかもしれない。

また、天然物がいいのか、合成化合物のライブラリーがいいのかという問題も重要です。これについてもそれぞれメリット、デメリットがあるわけですし、我々が生物学のツールとして利用したいと思うと、強くて、かつ特異的なものでないとなかなか先に進まないわけです。そうすると天然物が非常に有利になるわけです。しかし、通常の天然物スクリーニングはブロスやミクスチャーでやりますので、医薬として開発することが目的の場合には、ヒットした後、その後の精製、構造決定等の時間や労力を考えると合成化合物のライブラリーの方が有利だろうと思われまふ。あるいは、とれてきたものの構造を見ると、例えばリピンスキーのルールオブ5に当たるようなものは天然物には少ないですから、その後の展開というのは合成化合物に軍配が上がるでしょう。そういった観点から、合成化合物の方がかなり主流になっているのではないかと考えています。

しかし、重要なことは、その標的が正しいかどうかということと同時に、その標的がユニークかどうかということ、あるいはこれまでの蓄積に基づいた日本の強みは何なのかということも大事だと思います。さらには、それを標的とする疾患、がんだと天然物が結構いいのかもしれないし、それ以外だと苦しいのかもしれない

し、そういった相性のようなことも考えていく必要があるだろうと思っています。

いろんな視点があるわけですが、現在の産業界では合成化合物がメインであることを考えれば、これからアカデミアが取り組んでいくべきものとして、天然物の部分に光を当てる必要があるのではないかというお話をしたいと思います（図1）。

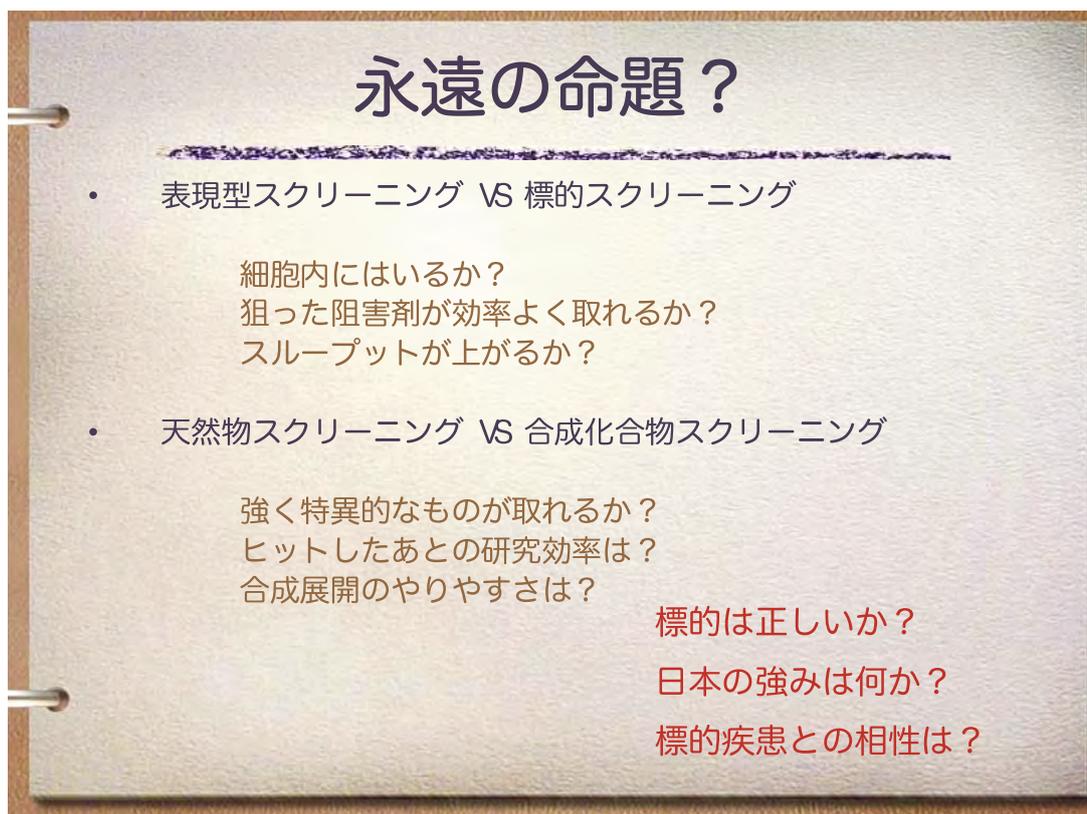


図1

最初に HDAC 阻害剤の発見について私なりにレビューさせていただきたいと思っています。別府輝彦先生の研究室で 1970 年代の後半にスタートしたフレンド白血病細胞分化誘導物質のスクリーニング研究の結果としてトリコスタチン A を再発見しました。当時の天然物化学の常識ですと既知物質に当たるとやめてしまうんですが、この化合物に対する私の個人的な愛情に近いような気持ちから、この研究をぜひやりたいと別府先生にお願いしまして、さらに標的分子の解析に進ませていただきました。結果的に、生化学的アプローチにより標的分子が HDAC であるということ、さらに、遺伝学的アプローチで、確かにこのトリコスタチン A が細胞に増殖阻害を引き起こすためのターゲットが HDAC であることを明らかにしたわけであります（図2）。

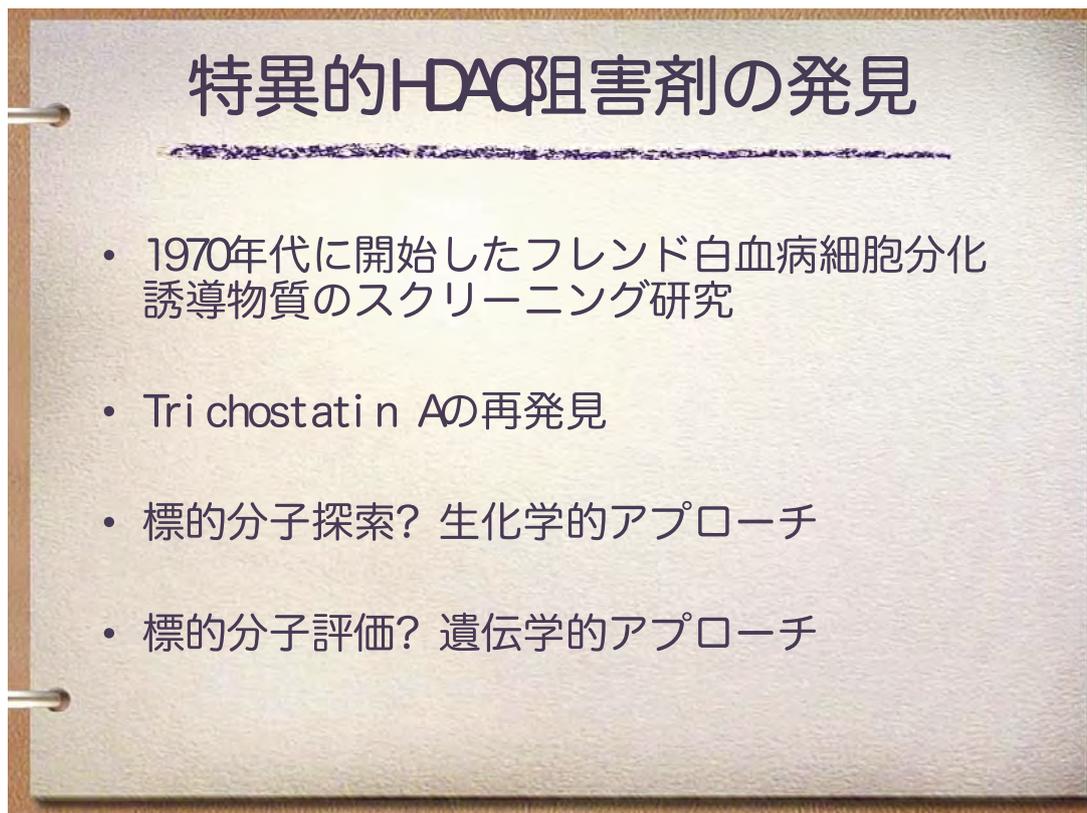
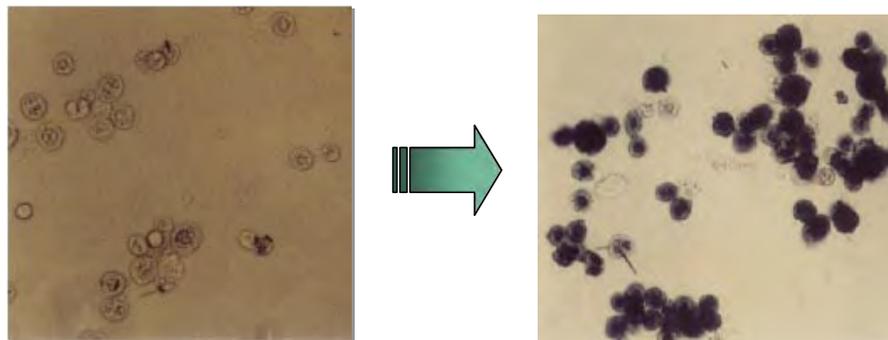
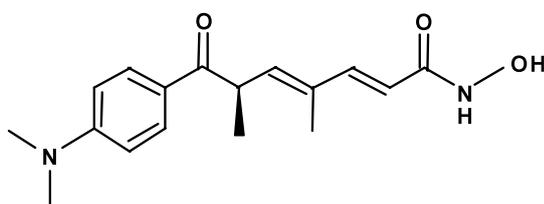


図 2

細胞の分化誘導物質をスクリーニングするというのは当時の最新のストーリーだったと思います。この場合は赤芽球性白血病でしたから、ヘモグロビンの合成を指標にスクリーニングしたわけです（図3）。当時は今のようなアフィニティマトリクスのような技術はほとんどありませんでしたので、いわゆる生化学的アプローチでターゲットの同定に挑んだわけです。研究の過程で TSA をかけた細胞ではヒストンが高度にアセチル化されているということがわかりました。これがアセチル化酵素の活性化なのか、あるいは脱アセチル化酵素の阻害なのかということをはっきりさせるためにパルスチェイス実験を行ったところ、薬剤がないと速やかに消えていくヒストンのアセチル化が薬を入れておくとずっと残っているということがわかり、細胞レベルで脱アセチル化の阻害であるということが確認できたわけです。さらに、細胞から酵素を部分精製して、確かに阻害することを確認しました。

Trichostatin A (TSA)



Mri ne Friend erythroleukemia cells

Yoshida et al. *Cancer Res.* 47: 3688, 1987

図 3

ここまでが生化学でありまして、次に遺伝学的に、これが本当にターゲットかどうかということを示すために、TSA 特異的な耐性を示す細胞株をとって、同じように精製した酵素活性を見てみると、その酵素は高いレベルで耐性化していることがわかりました。ターゲットの酵素が変異して化合物に耐性化したおかげで細胞も耐性化したわけで、このことは、いわゆる遺伝学的に標的が HDAC であるということを示したことになるわけでありまして。

さらに、塩野義で発見されたトラポキシシンという構造は全く違う化合物が、表現型の類似性から HDAC 阻害剤ではないかと考えまして共同研究しましたところ、確かに阻害することがわかりました。ところが、トラポキシシンのエポキシケトンという非常に特徴的な反応性が高いと考えられる部分を還元すると活性が失われるということで、トラポキシシンは TSA と異なり不可逆的な阻害を示すということがこうした研究から明らかになりました。

この当時 HDAC というのは難しい酵素でまだだれも精製できませんし、だれもクローニングできていませんでした。転機になったのは、シュライバーのグループが、トラポキシシンの共有結合という性質をアフィニティビーズに適用して標的をつかまえてくるというケミカルバイオロジーのアプローチを使って、最終的に RPD3 のホモログ、今では HDAC1 と言われているものとしたことであります。これが 1996 年のことであります。

HDAC が分子レベルで明らかになったということが、この分野の基礎的な大き

な発展につながったわけでありまして、その3年後の99年にはX線の結晶構造解析ができました。TSAとの共結晶でこの酵素が活性中心に亜鉛を持っていて、末端のヒドロキサム酸が亜鉛をキレートすることによって酵素活性を阻害していること、すなわち酵素活性のメカニズムがメタロプロテアーゼと類似しているようなものであるということがわかりました。そうしますと、先ほどのケミカルデコーディングではありませんけど、こうした亜鉛酵素を阻害する構造というのは十分考えることができるわけですし、カルボン酸やチオールのようなものが阻害剤となり得るだろうということが推定されるわけです。ここから先は、これが本当に標的としていいのであれば開発競争になっていきます。

次に、非常に強い抗腫瘍活性があって、かつターゲットが不明であったFK228についてアステラスの中島さんたちと共同研究した結果、FK228は細胞の中に取り込まれて、分子内のジスルフィドが細胞内の還元力で還元されて亜鉛と配位する構造に変換されるという、一種の天然のプロドラッグであるということがわかりました。さまざまな構造であってもHDACの亜鉛と相互作用するという共通した分子機能が特異的な阻害剤になり得るということが、こういう形から証明できたわけがあります。

この表は私の手元にあった現在の開発状況の資料から抜粋したものでありますけれども、10種類以上の化合物が現在臨床試験に入っています(図4)。SAHAについては皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)で承認されていて、その他のがんでもフェーズⅢまで行っています。そのほか、AN9のようにカルボン酸のプロドラッグのようなものもありますし、現在大鵬が導入しているメチルジーンのもは、フェニレンジアミン構造を持ったものであります。MS275、FK228については、ディスカバリーの部分は日本の製薬会社でありましたが、開発は、いずれも海外の製薬企業によって行われています。逆に言うと、先行した三井製薬のMS275、あるいはFK228のようなものの提供が、皮肉にもHDAC阻害剤が有効な抗がん剤になり得るということのバリデーションをしたようなものだと思います。

HDAC阻害剤の開発現状

Drug	Highest status	Company
Vorinostat	Registered Phase 3	Merck
Belinostat	Phase 2	TopoTarget
Valproic acid	Phase 2	TopoTarget
Panobinostat	Phase 2	Novartis
Tecedinaline	Phase 2	Pfizer Inc
AN-9	Phase 2	Bar-Ilan Research & Development

Drug	Highest status	Company
Romidepsin	Phase 2	Gloucester
MBCD-0103	Phase 2	MethylGene Inc
MS-275	Phase 2	Bayer-Schering Pharma
Pyroxamide	Phase 1	Aton Pharma NCI
CRA-024781	Phase 1	Celera Genomics
ITF-2357	Phase 1	Italfarmaco

図 4

もう少し歴史的に見てみますと、ヒストン脱アセチル化酵素活性を細胞が持っているということは、当時東北大学におられた藤本大三郎先生たちのグループが世界で初めて報告しております。ですから HDAC 活性の発見そのものは日本であります。それから、初めての特異的阻害剤 TSA の発見も日本です。HDAC クローニングはアメリカにやられて、私も悔しい思いをしました。その後、スローン・ケタリングのグループがフレンドの白血病細胞の分化誘導物質として SAHA を開発していきます。96年に SAHA は報告されていますが、実際に彼らが HDAC 阻害剤と気づくまでにはまだしばらく時間がかかって、私と中島さんの共著で FK228 が HDAC 阻害剤だということを報告したのと同じ98年のことでした。さらに翌年、X線の結晶構造解析が出たわけでありまして、私が見たところ、ここまでは基礎研究のレベルで、しかも日米互角、あるいは日本の方がむしろ優勢であったと思っています。しかし、この後は開発競争が始まっているわけですので、その後は大きく日本が遅れをとってしまったと思っています（図5）。

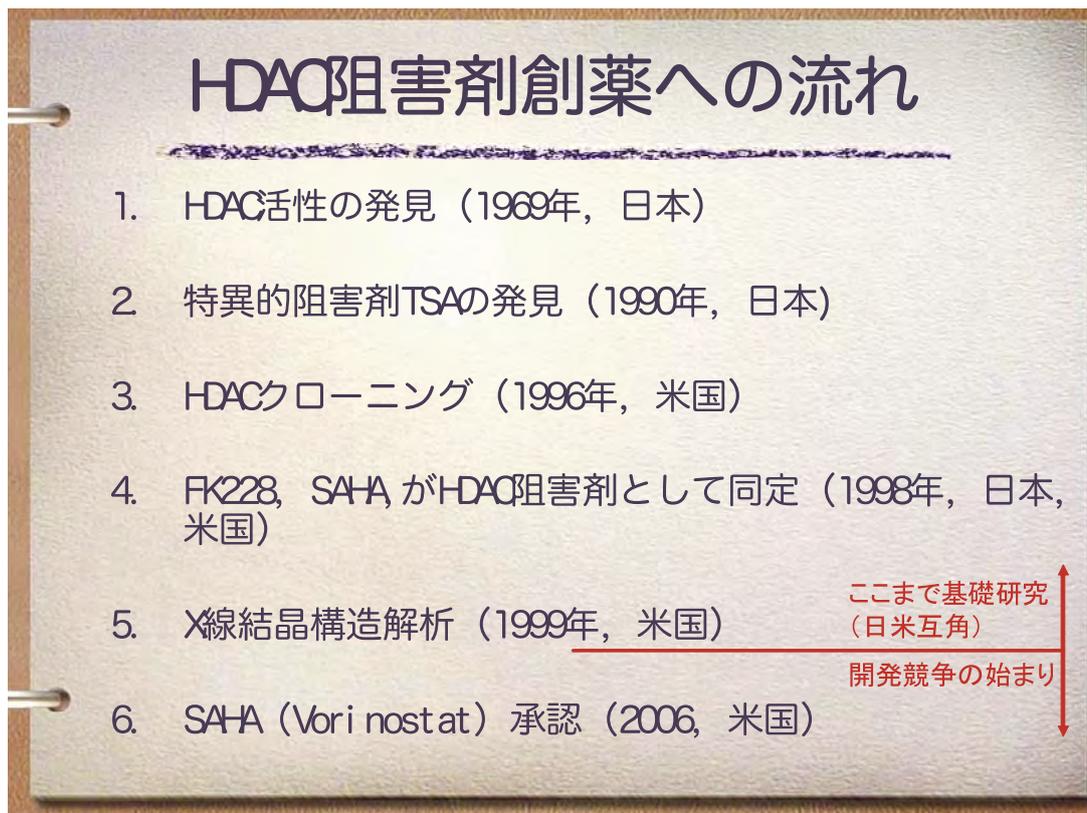


図 5

この原因はどこにあるのかと考えると、我々のような現場で研究をしていた人間が、これは本当に大事なんだともっともっと強く言わなきゃいけなかったという責任を感じて、じくじたるものがありますが、実際のところ、開発する人たちと研究する私たちとの間に大きな距離があったということが大きな原因じゃないかと思っています。

ここに示した化合物は、私たちがターゲットを明らかにしたいずれも天然物として、構造的にもユニークなものでした (図 6)。この3つはそれぞれ分化誘導活性や抗がん活性で見つかったもので、それらが HDAC 阻害剤であることを見いだしました。レプトマイシン B については、そのターゲットが CRM1 であるということを見いだしました。94 年にはターゲットとして CRM1 を見つけていたんですが、見つけた当時、CRM1 が何をやってるかがわからなかったのです。これがタンパク質の核外輸送シグナルの受容体であるということを見出すのに、あと少なくとも3年かかりました。シュライバーがトラポキシンを使って HDAC1 を同定した、これは見事な仕事でしたが、もし我々の TSA の仕事がなければ、とった RPD3 ホモログは何の機能かわからなかったはずです。実はこうした生化学的なアプローチは機能を明らかにするのに非常に重要なのです。遺伝子配列からだけでは本当の意味でのターゲットはわからない可能性が高いからです。

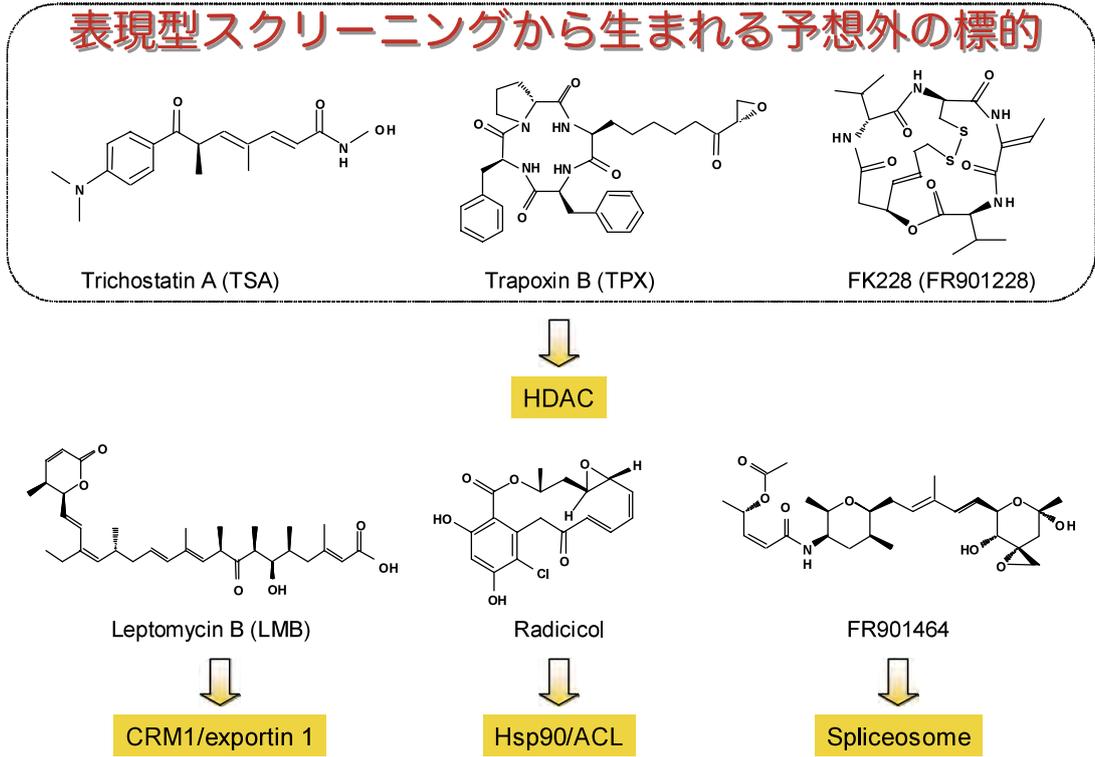


図 6

ラディシコールは HSP90 の阻害剤ですが、HSP90 も近年、がんの創薬の標的としては非常に重要であると認識されておりまして、特に NCI ではゲルナノマイシンのアナログの臨床試験が行われています。それから、FR901464 も中島さんとの共同研究ですが、最近スプライセオソームを標的としているということを見いだしました。これら明らかになった天然物のターゲットはいずれも細胞の機能の根幹にかかわるような分子でありまして、普通はこれらがすんなりと創薬の標的になるというのは考えにくいと思われまして、しかし、劇的な表現型を示す特異的な化合物が手元があれば、それをさらに動物に加えて薬理活性が出ると、そのターゲットは創薬標的として優れていることが証明できます。これらは論理からではなくて「もの」から生まれた予想外な創薬標的であったということだと思います。最近のエーザイのお仕事でプラジエノライドのターゲットが SF3b であることが示されました。これは非常に強い抗腫瘍活性を持っています。我々の研究では、FR901464 のアナログであるスプライソスタチン A が SF3b に結合して、スプライシングと mRNA 前駆体の核内保持を阻害することを示しました。この結果としてイントロン配列がタンパク質に翻訳されてしまうという非常にショッキングな表現型が出てまいりまして、これらは応用の研究と基礎の研究が同時に一つのターゲットに結びついたということでありまして、新聞などででも並列して扱っていただき、嬉しく思いました。

さて、このセッションのポイントは、どういうところに投資すべきかという視点かと思いますが、そういう点では大ざっぱな話をさせていただきます。医学・生物学の

発展を契機に、そこから役に立つ化合物を見いだしていこうとするときに、大きく分けて表現型スクリーニングと標的スクリーニングがあります。表現型スクリーニングから生まれるものというのは単なるヒットではなくて、そこから生命科学のブラックボックスに当たる部分の大事な分子が出てくるということでもあります。これは当然生物学にフィードバックされますし、HDAC やスプライセオソームのような新たな創薬標的としても提示できるので、このアプローチは決して忘れてはいけません。つまり、バランスよくやっていかなきゃいけないと考えています。もちろん、メディシナルケミストリーは非常に重要です。ヒットがすぐにリードになることは非常に少ないわけですから、そういった点では標的スクリーニングの部分も極めて重要だと思っています。

今後注目すべきと個人的に考えている研究領域ですが、エピジェネティクスとか、発生・再生研究、脳・神経研究などだと思います。ここに示した変異の乗り越えというのは割と個別な話ですが、今年の5月の『Nature』に、ナンセンス変異を乗り越える薬というのが報告されました(図7)。セントラルドグマを書きかえるようなストーリーだと思いました。我々のところでも複数の温度感受性変異を乗り越える化合物みたいなものが見つかってきていて、こうした活性物質は、遺伝病や体細胞変異による疾患の治療薬として将来的におもしろいアプローチかなと思っています。いずれにしても、私が申し上げたいのは、ブラックボックスにチャレンジするような研究が必要である。エピジェネティクスにしても発生・再生にしても、ケミカルバイオロジーのアプローチが有効なのは、非常にブラックボックスの多い研究テーマなんじゃないかと思っています。発生・再生や脳科学というのは理化学研究所でも大きなセンターができて、大きな研究領域となっているわけですので、もしかするとこういう領域というのはケミカルバイオロジーとは独立に今後新たな研究投資の対象になるのかもしれませんが。推進方法として、ケミカルバイオロジーという領域の中でこういう研究を取り上げていくのか、あるいは、個別の生物研究領域ができるときに必ずケミカルバイオロジーを取り入れていくのか、どちらがいいのか私にはわかりませんが、大事なことは、生物学研究者とケミカルバイオロジー研究者たちが同じプラットフォームの上で一緒に議論しながらやる必要があるんじゃないかということです。そうでなければ欧米に勝てないんじゃないかと思っています。

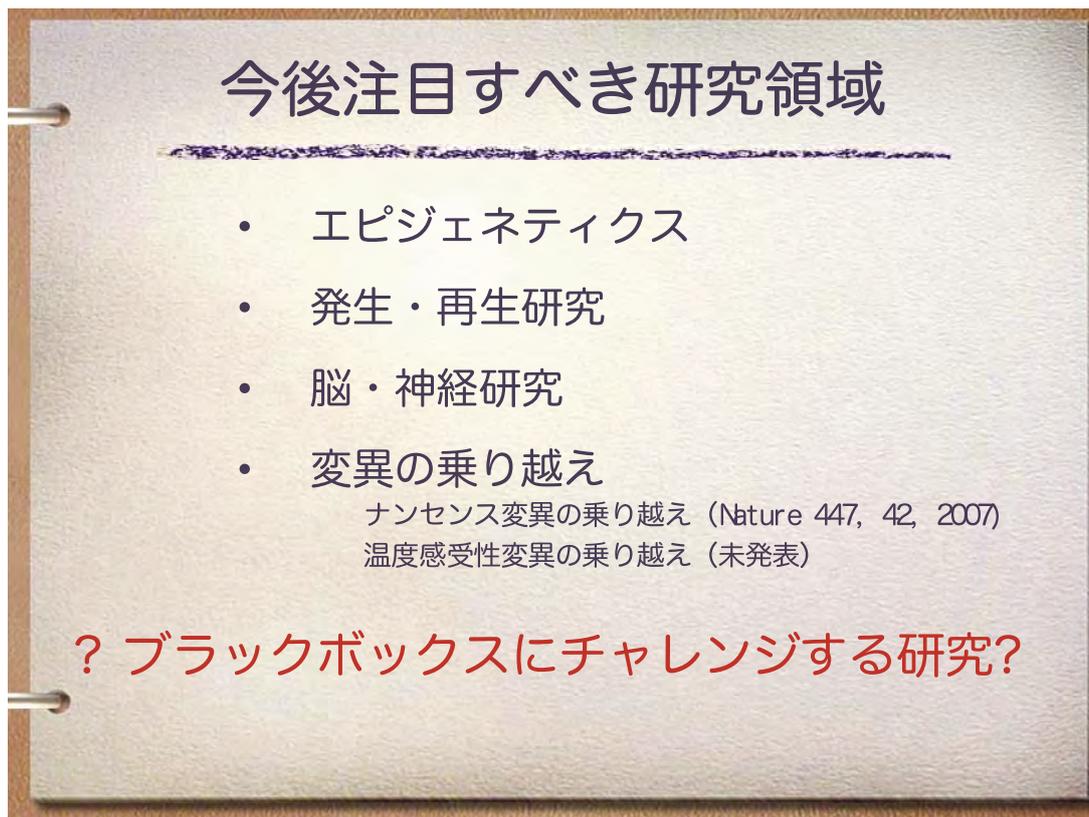


図7

1.3 低分子化合物による mRNA プロセシングの制御

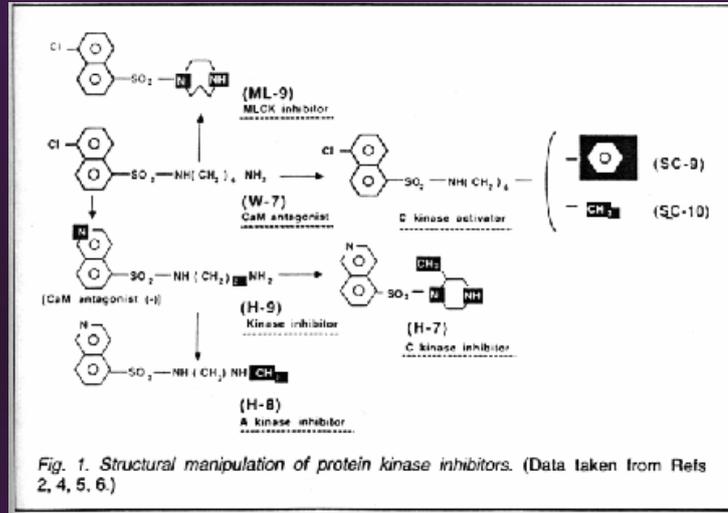
(東京医科歯科大・萩原正敏)

私も吉田先生と同じく、mRNA プロセシングの制御と書きました。、 mRNA プロセシングの制御に関してはブラックボックスが多いので、それを単にノックアウトとかだけではアプローチし切れないので、低分子を使って制御機構を解こうとし始めたというのが実際のところです。

生命現象を解くにしても薬を作るにしても、現象側から行くのか分子側から行くのか、すなわちフォワードで行くのかリバースで行くのかというのは大きな議論になるところです。このことについて私なりの意見を述べさせていただきたいと思えます。私自身は典型的にリバースで、標的分子から研究しておりました。私は日高研の出身で、リン酸化酵素阻害剤を中心に研究してまいりましたので、きょうはその話を中心にして、ここで議論になっている、本当に日本は米国の後塵を拝しているのか、それとも実は先行していたのかということを議論させていただきます。

グリーベックがイレッサと並んで 1996 年にアメリカ側から出てきて、非常に衝撃を与え、リン酸化酵素阻害剤による創薬は一つのブームになっています。蛋白リン酸化酵素阻害剤を日本で今さらやってもというようなことを言われることも多いんですが、実は 1984 年に H7 とか H8 のイソキノリンスルホナマイドが特異的に C キナーゼや A キナーゼを阻害するという論文は我が国で出ています。これが特異性のあるリン酸化酵素阻害剤の最初の研究で、それが発展して旭化成のファスジルという臨床医薬に結びついていますから、実は蛋白リン酸化酵素阻害剤に関して日本の方が早く始めて、臨床薬まで行ったわけです (図 1)。

各蛋白リン酸化酵素を阻害する阻害剤への合成展開



Trends in Pharmacological Sciences 8, 162-164, 1987

Pharmacology of the isoquinoline sulfonamide protein kinase C inhibitors
Hiroyoshi Hidaka and Masatoshi Hagiwara



脳血管拡張薬ファスジル(HA1077)

図 1

なぜ特異的かという、その機構も解かれています。それまで ATP のポケットに結合する ATP アナログとかは報告されいましたが、非特異的だと思われていました (図 2)。これはイソキノリンスルホナマイドのように全然違う構造のものがどういう形で ATP ポケットに入ってるかというのを模式化したものなんですけれども、この図自体はドイツのボッシュマイヤーたちが共結晶構造解析から 1996 年に出してるんですけれども、その同じ結論を 1987 年に我々が発表してしまして、ATP とイソキノリンスルホラマイドは違う形で、一部オーバーラップして ATP ポケットに入っているので特異性を生み出せるという、非常に先駆的な研究をしておりました。ですから、これを利用すれば幾らでも特異的なリン酸化酵素阻害剤ができたわけです。実際、1980 年代に蛋白リン酸化酵素阻害剤のミーティングに行くと、大体は協和発酵の玉置さんたちがスタウロスポリンの話がされるか、梅澤先生のところのウエハラさんがハービマイシンとかの話がされるとかで、日本人同士が蛋白リン酸化酵素阻害剤の話がアメリカのミーティングでしているという、そういう奇妙な現象が 1980 年代はありました。ここまで行っていたのにもかかわらず、あまり日本の製薬会社の方からは振り向いてもらえずに、逆にアメリカがこれでいけるぞと思ったのか、とにかくいろんなリン酸化酵素阻害剤の研究をスタートさせて、圧倒的に今のような状況をつくり上げたということじゃないかと思えます。

「低分子化合物による生体機能制御」について (事務局説明)

投資する意義

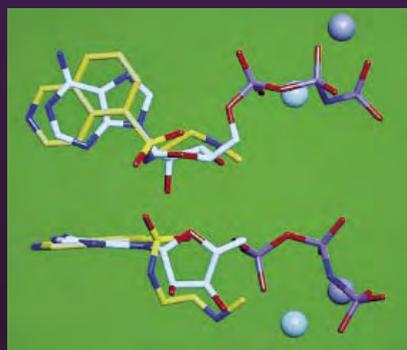
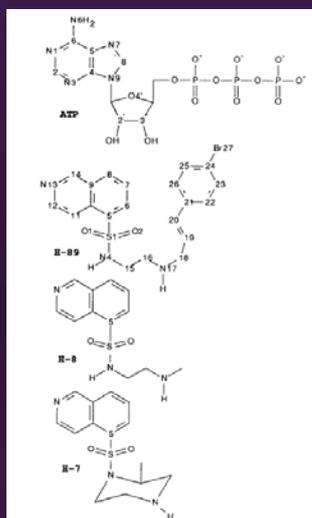
具体的な研究開発課題

研究推進方策

まとめ

参考資料

ATP binding siteに結合するisoquinolinesulfonamide化合物はATPの構造的類似体ではないのか？



isoquinolinesulfonamide化合物とATPは構造的に異なるが、
蛋白リン酸化酵素のATP結合ポケットに競合的に結合する。

Hagiwara et al. Mol Pharmacol. (5):523-8, 1987

Engh et al. J. Biol.Chem. (271), 26157-64, 1996

図 2

なぜ先行した日本が出口で米国で抜かれるか。トラック勝負に入るといつも抜かれるという、マラソンの瀬古の逆のパターンでやられているような気がするんですけども、それは個々の研究者が一種の職人芸でいろんなアイデアでやっても、組織化されたファクトリーにやられているという気がしてしょうがありません。だったら日本もファクトリーをつくればいいんじゃないかというので、私のところではケミカルバイオロジーをやっているんですが、大学レベルでこういうケミカルバイオロジースクリーニングセンター、小規模ですけど、作ってもらいまして、データベースもつくっている最中です。合成化学者も少人数ですけどみえますし、バイオロジスト、医学系の研究者、そういったものを全部結集して、小規模ながらファクトリーをつくってみようという試みを始めました。

我々の特徴は、ライブラリーの化合物の数や質云々というよりは、むしろ独自のアッセイだと思っています。例えばリン酸化酵素のアッセイですと、FRETを使って、生きた細胞の中でリン酸化反応をモニターする系を作りました。この技術は nature biotechnooly に論文で出してるんですけども、今まで問い合わせがあったのは全部米国からなんです。日本国内からは一件も問い合わせがありません。非常に不思議な現象です。しょうがないので自分たちでいろんな技術をスクリーニングセンターに持ち込んで、独自のアッセイ系をつくろうとしています (図 3)。

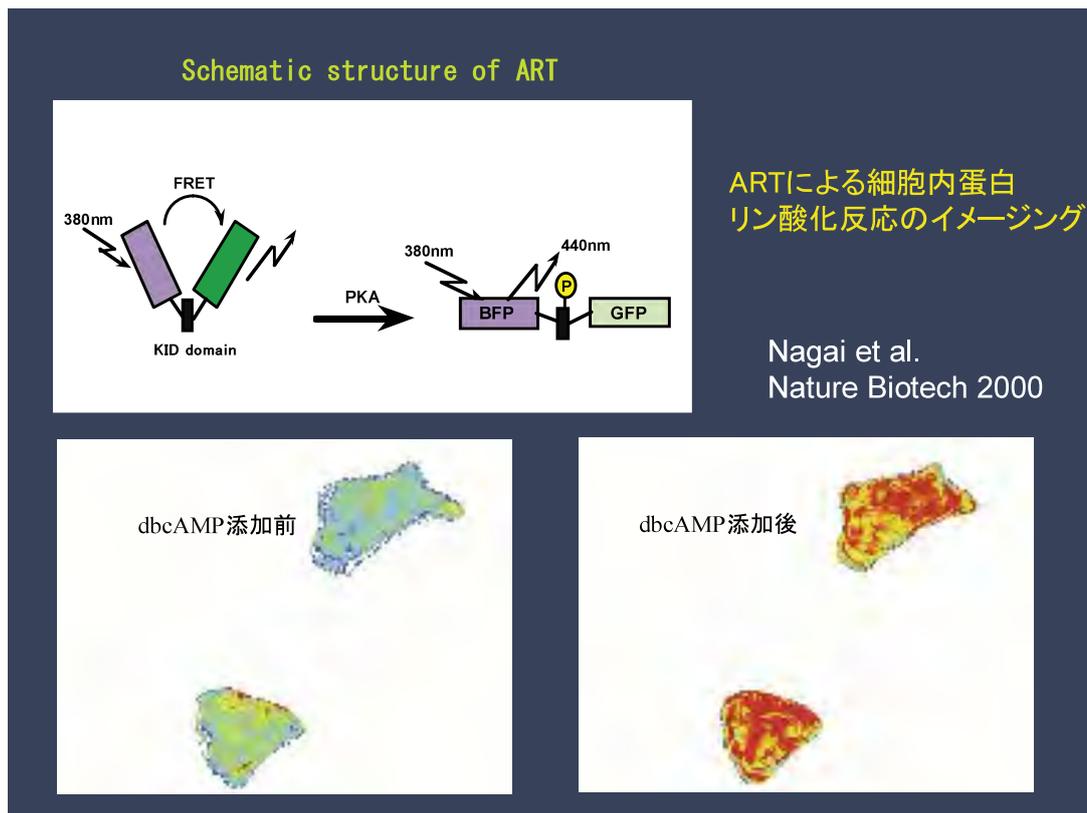


図 3

新しい創薬にいかにしてアプローチするかという、フォワードから行くかリバースから行くかというんですけど、私はむしろバイディレクショナルにやった方がいいのではないかと考えています。単に疾病をねらうとか、この分子をねらうとかいうのではなくて、例えば、選択的スプライシングを我々は研究していきまして、このモニター系をつくりました。線虫の FGF 受容体遺伝子の中では、5 番目のエクソンが 5A と 5B どちらか片方だけを使う。これを選択的スプライシングというのですけれども、5A が使ったらこちらの赤のイメージ、5B を使ったらグリーンのイメージ、こういうモニター系をつくった。これを線虫の中で発現させると、ある組織にはこのように赤、別の組織にはグリーンというイメージができるわけです (図 4)。

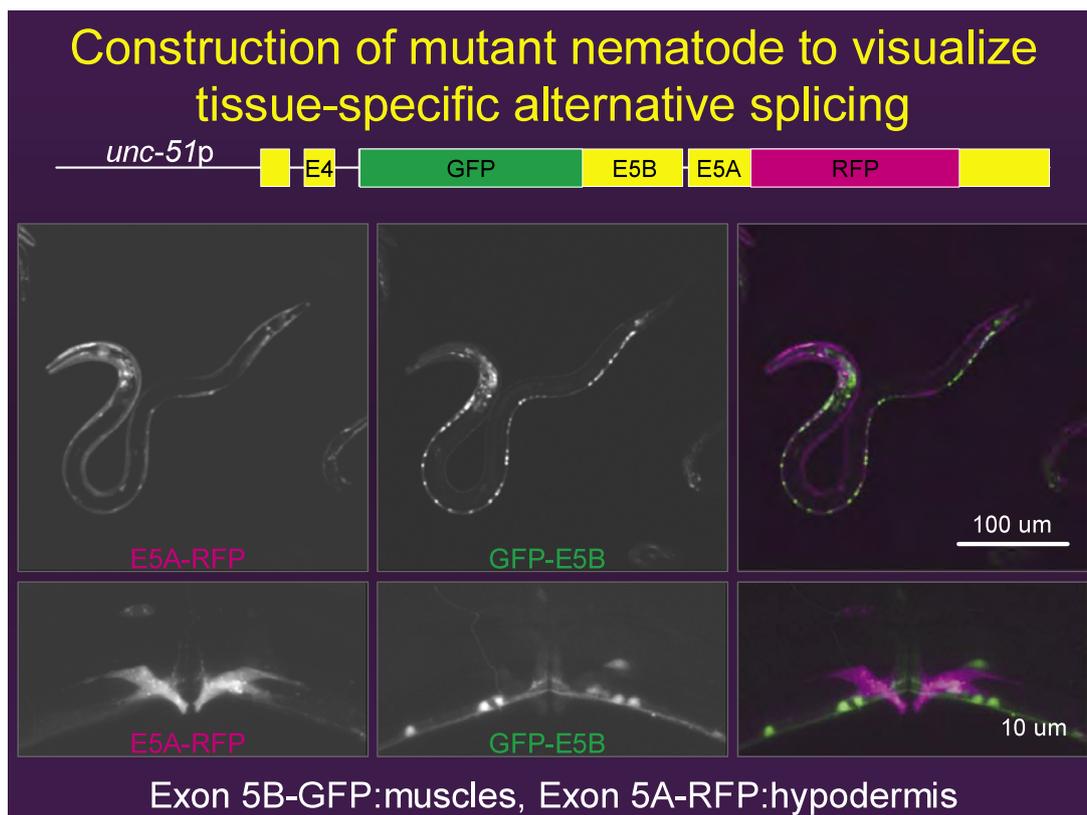


図 4

この選択的スプライシングはバイオリジカルには非常に重要で、タンパク質の多様性を生み出す面からは転写よりも大きな役割を果たしていると言われておりますし、ヒトでは7割の遺伝子に見られます。組織特異的あるいは発生時期特異的制御がされていますし、実際、疾患も幾つかの疾患がこの選択的スプライシングに起因すると言われております。これは疾患モデルをつくっても、あるいは制御分子からトライしてもよくわからないんですね。だったら途中のモニター系をつくってやって、そうすれば分子を探しに行くこともできますし、これが当たっている病気にもいけるということで、ちょうど中間のところをモニター系に使うって、バイディレクショナルにやったらいいんじゃないかと思って、最近はこのアッセイ系を組み立てています。

例えば疾患ですと、ラミンAという核タンパクのスプライシング異常でこういった早老症が起きます。フジテレビが「少女アシュレーの物語」とかをやってくれたので一般の人にも知られているので、こういう事例を出すんですけど、要するにラミンAのスプライシングです。これは米国NIHの私の友人が研究していて、この家系はたまたま遺伝子レベルでおかしいんですけども、このスプライシング異常は正常なゲノムの人でも加齢によって同じことが起こると言われています。スプライシング異常を是正できれば、もしかすると加齢現象をとどめるような道具ができるかもしれませんよね。でも、それをダイレクトに探しに行くとか、疾患モデルをつくるのはとても大変なので、それよりはスプライシングのモニター系にして探して

やればいいんじゃないかというのが私のプロポーザルです。

選択的スプライシングというのは、Aのエクソン、Bのエクソン、片方だけがつながれるときに、このタンパクとこのタンパクは別々の機能タンパクになってしまうわけですね。それをどうやって制御しているか。その一例ですと、あるエクソンにはSRタンパクというのが結合して、片方を特異的に選ぶ。こういうメカニズムがあるわけです。このSRタンパクというのはリン酸化酵素によって制御されているので、我々はこのリン酸化酵素をターゲットにしてドラッグをつくって見たわけです。これはPNASに発表した論文のデータなんですけれども、SRPINという阻害剤です。結晶構造を解いてみて、合成展開をかけてやって、それを再スクリーニングするという、製薬会社でやられているのと同じような、ケミカルライブラリーから化合物をあるアッセイからとってきて、共結晶をつくって、その情報をもとに合成展開を図る。そこで得られた特異的なプローブをいろんなバイオロジカルな現象の方に持って行って臨床応用を図るということをやっています。

小規模ながら、システムを整備してやると大学でもこれくらいのことはできます。ですから、日本の創薬研究システムとして必要なパーツは何かと考えますと、スクリーニングのハブになるようなスクリーニングセンターは必要だと思います。公的ライブラリーを活用してスクリーニングできるようなものをつくっていただく。その情報を、あるところはアッセイシステムを出すでしょうし、あるところはドラッグを出したいとか、一つの研究室では賄い切れないので共同研究のネットワーク化というのは是非推進していくべきではないかと思います。スクリーニングしていると、ある頻度でヒットします。よっぽど変なスクリーニング系とか変なライブラリーを使わない限り、ヒットして当然なんですね。ところが、そこでみんな困り果てます。ですから、ヒットした化合物を得て、細胞レベルだとPOPができましたとか言ってる人がいるんですけど、それでどうするのというと、そこでもう終わりとかいうのが圧倒的に多いのです。POPからPOCまでつなげるような一種のインキュベーションファンドのようなものを整備していただかないと、アメリカで起こっているのと同じように、何個ヒットしましたという報告書だけがいっぱいあらわれて、それで消えていくという事態が起こるのではないかと思います。

あと、ダブルメジャー、トリプルメジャーの複数分野に精通した人材が日本では圧倒的に不足していると思います。これにどうやって対処していくかなんですけど、例えばJSTですと人材養成プログラムなどをやっておられるので、即戦力だけをいえば、合成化学者・医師など、特定の分野の専門家の方に違う分野のセカンドメジャーの教育を行うというのも一つの方法だと思います。もう少し長期的なことを考えるなら、融合型大学院をつくってそこにファンドするというようなことを政策的に誘導すれば、もう少し複数のメジャーを持つような人材が養成できるんじゃないかと思います。

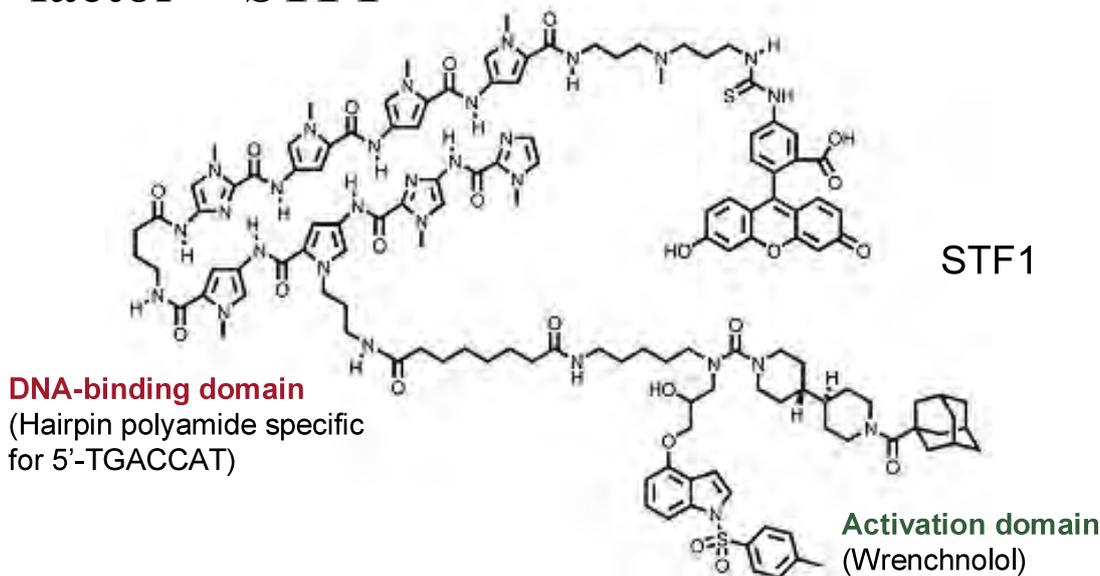
2 疾患制御に資する技術・ツール

2.1 ツールとしての小分子有機化合物（京大・上杉志成）

我々の研究室は、天然物に学びながら合成化合物の研究をしています。約3万個の化合物からなる合成化合物のライブラリーをスクリーニングして、いろいろなものを見つけました。一つ目の例は、レンチノロールという化合物です。この化合物は何をしているのかといいますと、転写因子の転写活性化ドメインを模倣して、タンパクタンパク相互作用を阻害して、それである特定の遺伝子の発現を抑えるというものです。その遺伝子の一つにはHER2がありますから、抗乳がんの活性もある化合物です。

この化合物を利用して、小分子化合物で転写因子を丸ごとつくることができました（図1）。ここがレンチノロールで、転写活性化ドメインの役割を果たします。ここがDNA結合ドメインで、転写活性化ドメインがありますので、丸ごとでタンパク質の転写因子をまねることができます。

Design of a small molecule transcription factor – STF1



“*Small molecule transcription factor mimic*” Kwon, Y., Arndt, H., Mao, Q., Choi, Y., Kawazoe, Y., Dervan, P. B. & Uesugi, M. *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 15940 (2004).

図 1

何が言いたいのかといいますと、有機化合物で転写因子ができるということです。この小分子転写因子、口が裂けてもドラッグライクとは言えません。つまり、ドラッグライクというのを一たん忘れてしまえば化合物にはいろんなことができる、転写因子もできる、ほかにいろいろなものができるかもしれません。

二つ目の例は、我々が名づけましたところのクロメセプチンという化合物です。

この化合物については本当に生物学の道具になりまして、今ではシグマで世界的に売られています。この化合物は何をするのかといいますと、インシュリンの働きを抑える、インシュリン様成長因子の働きを抑えるというものです。この化合物を調べていきますと、MFP2というタンパク質について機能を発現していることがわかりました。いろいろなことが起こりまして、結局STAT6という転写因子が活性化されていろんな遺伝子が出る。それぞれの遺伝子はインシュリンのパスウェイとか、インシュリン様成長因子のパスウェイを抑えます。今このクロメセプチンの作用を詳しく調べていますが、予想しなかったことが起こってます。化合物から研究するといろんなことがわかるんだなと実感します。化合物で研究するのはいつもいつもうまくいくわけではありませんが、うまくいえばこういう新しいパスウェイが見つかり、疾病の研究に新しい切り口を与えることができます。

他にもいろいろな化合物を見つけています。食べても太らない化合物、細胞をべったりとプレートに張り付かせる化合物、細胞の中が泡だらけになる化合物などがあります。いずれも標的を決定しました。

以上の例から何が言いたいのかといいますと、こんな偶然にでもいろいろなものが見つかってきまして、ターゲットを決めれば道具になり得る。ターゲットを決めないとなかなか道具になりにくいんですけども、ターゲットを決めれば道具になり、波及効果が期待されます。

我々が学んだことを幾つか挙げます。一つは、我々は合成品をやってるんですけど、結局天然物はすばらしい。合成品はやっぱり難しいですね。いろんなことを考えてやらなきゃいけないわけです。うまくいったときは大体天然物に学んだときにうまくいっています。1つ大切なのは、化合物のプロファイリングをつけるということ。天然物のいいところの1つは多様性ですが、もう一つは生理活性に富むということです。何かをやっているものが多いということです。細胞に対して何かをやっているものだけを合成化合物ライブラリーから選び出して、それをもう一遍スクリーニングしたりします。ヒットしたものはマイクロアレーをやって、マイクロアレーがわかりやすくして学生が卒業できそうなものを選んでいくからうまくいくわけです。ややこしいものは置いておく。合成化合物のプロファイリングは成功確率を高めます。

もう一つは、ライブラリーのユニークさです。ライブラリーの構築には目的をハッキリさせるのが大切。我々の目的は薬物そのものを見つけることではありませんので、へんてこな化合物ばかり集めています。一つ一つ化合物を目で見まして、お薬には適してないが道具にはなりえるようなもの、構造式が面白いものを集めています。ですから、何がヒットしても基礎研究の道具になったり構造式が面白かったりするのです。面白い化合物は合成展開すると学生が卒業できます。ライブラリーは目的をハッキリさせてユニークなものを使うのが上策です。アッセイのユニークさも大切。(我々のアッセイはそんなにユニークではないんですけども) アッセ

イがユニークであってライブラリーがユニークだと必ずユニークなものが生まれます。その辺で売られているような細胞を使うのではなく、ユニークな細胞をスクリーニングに使える、ユニークなアッセイになります。

これらから学んだ日本の戦略はどのようなものがあるのか、私の意見をいいます。アメリカと同じことをやるわけにはいきません。天然物というのは日本がリードしているところでありますから、リードしているところを最大限に活用していただきたい。その活用法というのは天然物のプロファイリングやユニークなアッセイ。これまで天然物は細胞毒のアッセイにはよくかけられてきましたが、もっといろんなアッセイにかけてみるのが良いと思います。そのようなプロファイリングをつけると、また違う活性が見つかるかもしれません。例えば、今ある天然物を全部マイクロアレーでやってみるのも面白いですね。新しい天然物探索方法も大切であります。

天然物、合成化合物に問わず、プロファイリングは大切。もっともっと面白い生理活性を持った化合物は見つかります。そしてその標的タンパク質を決定すれば、基礎研究の優れた道具になり、また薬物の開発に画期的な考え方を提供します。標的決定の方法はこれからも開拓していくのが必要。我々やっている釣りざお法でさえも製薬業界で使っていただけくらいですから、もっと画期的な方法があれば、もっともっと使われるでしょう（図2）。

最後に一言付け加えます。このような研究は生物医学基礎研究に化合物の道具を提供します。みつけれられる化合物自身は薬物そのものにはならないかもしれませんが、化合物の限界に挑戦し、化合物でどのような生命現象を操ることができるのかを例示します。薬物開発に画期的な考え方を提供するでしょう。また、生物と化学の両方に通じた人材を製薬業界に輩出するという効果もあるでしょう。

学んだことから学んだ日本戦略

- 天然物の最大限活用(プロファイリング、多様なアッセイ)
- 新しい天然物探索方法
- 天然物に学んだ「ユニークな」合成
品開拓(多様な構造、プロファイリング)
- 標的決定の方法開拓
- 化学・生物連携(人材)

図 2

2.2 天然有機化合物による創薬（中外製薬・加藤秀之）

スクリーニングの歴史をお話したいと思います。ファイザーが1984年に天然物を開始して、86年にはHTSというコンセプトをつくり上げてずっとやってきている。90年代前半のときにロボットとかコンピケムを導入し始めてスクリーニングを開始しています。ロッシュの場合はもっと時間がシフトしてしまうんですが、95年にHTSADME、in vitroで化合物のADMEの評価を始めているということで、とても早いです。この辺でウルトラハイスループットスクリーニング、アッセイポイントが1日数万のロボットが導入されてきました。それに伴って天然物スクリーニングを閉じる、もしくはスピアウトするという流れがビッグファーマの中に流れてくる。このときにロッシュも閉じましたし、ファイザーさんも閉じた。グラクソもこのときに天然物を閉じています。2000年代に入ってからケミカルスクリーニングの、アッセイポイントの数を大まかに書いたんですけども、ほぼ定常化します。ケミカルライブラリーの数と大体一緒なんですけど、ケミカルライブラリーの数も2000年代後半に定常化して、ある程度の数のところにとまります。この段階でケミカルスクリーニングにはちょっと問題があるのではないかという話が出てきていました。現在はケミカルスクリーニングのクオリティも改善されて非常によくなってきつつあります。ほぼ平常なのは、同じ数の同じものがあるというわけではなくて、それぞれのクオリティが上がって同じ数になっていると考えていただければいいと思います。ロッシュの場合、ここでもレキユラーバイオロジーのターゲットスクリーニングを非常に多くやりました。この時期にやったスクリーニングはとても強力な酵素阻害剤とか、とても強力なアンタゴニスト、ケミカルスクリーニングで得られないようなものをいっぱいとってきていますけれども、実際に細胞にかけるとアッセイがない、もしくは不安定というものが多かったというのがここにあります（図1）。

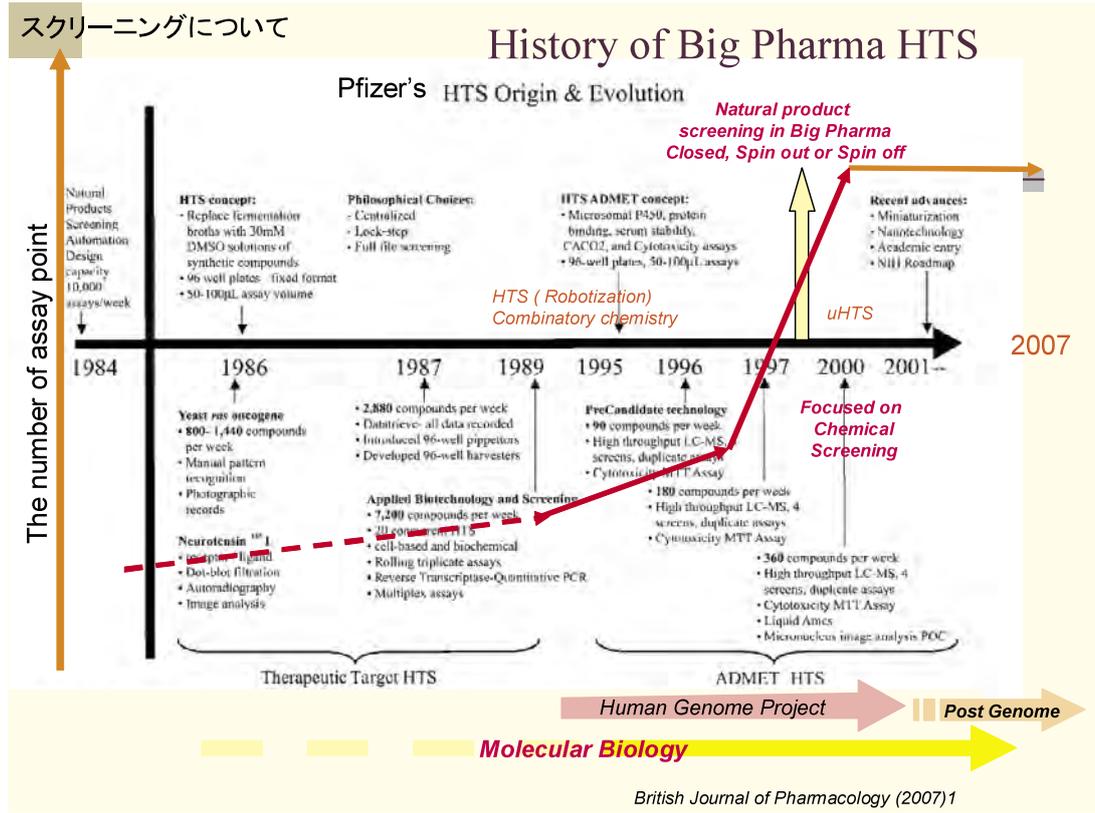


図 1

スクリーニングストラテジーを細かく書くと、1990年代に非常に多くのビッグファーマがナチュラルプロダクトスクリーニングをやっていたんですけど、2000年にはもう天然物のスクリーニングをやめている。ですけど、2004年くらいから天然物スクリーニングに対して少し興味がわきつつある状況です。これはアメリカとかヨーロッパがそういう状況なんですけど、日本はまだ天然物に対して興味がまだ復活してないというような感じを持っています。スクリーニングの場合は化合物の数とターゲットの数、数をそのまま絶対的に比較しているのではなくて、どっちに重きを置いてスクリーニングをするかということだと思いますけれども、ファイザーは90年代は化合物の数もケミカルスペースを埋めるような形でコンビケムでばんばん合成してスクリーニングする。アッセイは少し絞ってやるというようなストラテジーでやっていました。逆にメルクは、化合物はある程度絞った形でやって、アッセイ数を回すというようなストラテジーでやっていました。それぞれの化合物もしくは薬を多く出していたという状況です。最近になってから多くのビッグファーマが化合物の数のある程度マキシマムに近い形でふやして、逆にアッセイ数が減ってきているという状態にあります。これはHTSにシフトしたということと、化合物のコンパウンドライブラリーの数が増えたということと、必然的にこうならざるを得なかった。あと、ターゲットバリデーションが非常に厳しくなって、スクリーニングに行くターゲットが少ないということがあります(図2)。

Screening strategy change

- Natural Products vs. Chemical Compounds
 - 1990's
 - Many Big Pharm – Natural Products Screening
 - 2000's
 - Many Big Pharm – closed natural products activity
 - Recently , Renaissance ??
- Number of Compound (Sample) vs. Number of Target (Assay)
 - 1990's
 - Pfizer's Strategy Compound > Assay
 - Merck's Strategy Compound < Assay
 - 2000's
 - Many Big Pharm Compound > Assay
 - shift to HTS and large scale of compound library
 - Strict target validation

図 2

天然物スクリーニングはやっぱり悪いのか。先ほどからずっとお話しされていて繰り返しのなってしまうけれども、ケミカルの場合にはサンプルはシングルで、評価は1カ月くらいで終わってしまう。構造はシンプルでスモール。それに比べて天然物はミクスチャーで、バイオアッセイガイドピュアリフィケーション、ここが非常に時間がかかってしまう。時間がかかるというのが一つ。構造が複雑というのがあります。ですけども活性は非常に強いものがとれるということと、ニューケモタイプがとれるというのが利点です。今ビッグファーマでは、グラクソ、ファイザー、サノフィアベンティスはケミカルに集中しています。ロッシュもです。ナチュラルではメルク、ワイス、ノバルティス、あと日本の数社が天然物をやっているという状況です（図3）。

低分子ソースについて

Natural vs. Chemical

	Chemical		Natural
Sample	Single	?	Mixture
Number	~1000,000		~50,000
Time	ca. 1month	>	Bioassay guided purification
Novelty	Known	<	new chemo type
Activity	moderate	<	Often strong
Structure	Simple, small	>	Complex



Glaxo, Pfizer, Sanofi-Aventis,
Roche, NCGC



Merck, Wyeth, Novartis
Asteras, Eisai, Chugai---

図 3

今現在天然物をやっているところは方法が2つあります。一つは、完全にケミカルスクリーニングと違うタイムスケールでスクリーニングするという手法。この手法をとっているところはほぼセラピウティックエリアはある程度絞っていると思います。あと、大体オールマイティにナチュラルをかけるというようなものは、ケミカルスクリーニングに合わせたタイムスケールにするためにバイオアッセイガイドピュリフィケーションというのを導入して時間を短く設定してやっているということになります。

実際の構造についてお話ししたいんですけど、このプロジェクトでもどちらがいいかということになると思いますけれども、構造を見ていただくと、天然物の場合は立体的にかさがある、スペースをある程度確保されたような構造を持っています。ケミカルの場合は、多少でこぼこがありますが横に伸びていきます。これの大きな違いは、スクリーニングをやっていたときに、天然物の場合は余りいじるところのないところの非常に高いところがリードクライテリアになります。ケミカルスクリーニングの場合にはどちらかといえば集中されるべき母核のところを見つけて、それをメディシナルケミストが一生涯懸命つくって薬をつくるというふうになります。ですので、ケミカルスクリーニングをばんばんやって、それを次どうするかとなると、母核の非常に弱い活性のものを先に進めるかどうかというのはジャッジできません。メディシナルケミストが一生涯懸命つくって初めてジャッジされるということになるので、ケミカルスクリーニングをやる場合には必ずメディシナルケ

「低分子量化合物による生体機能制御」について (事務局説明)

投資する意義

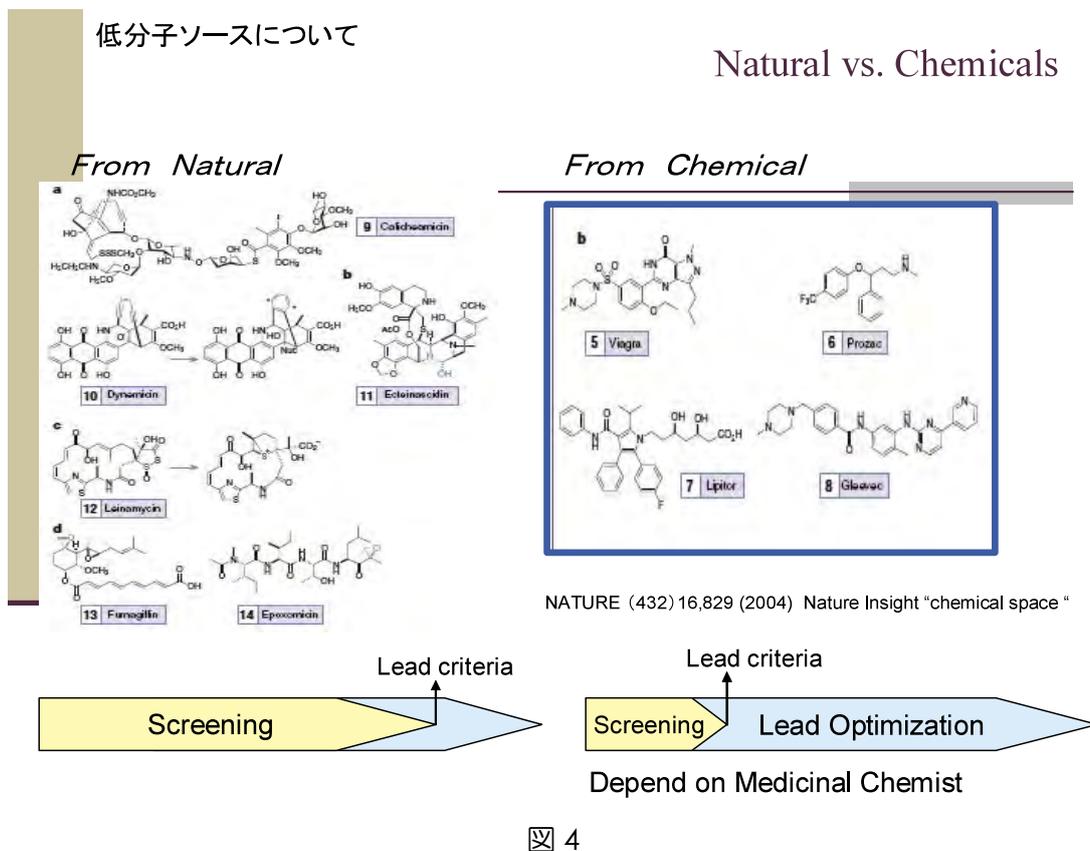
具体的な研究開発課題

研究推進方策

まとめ

参考資料

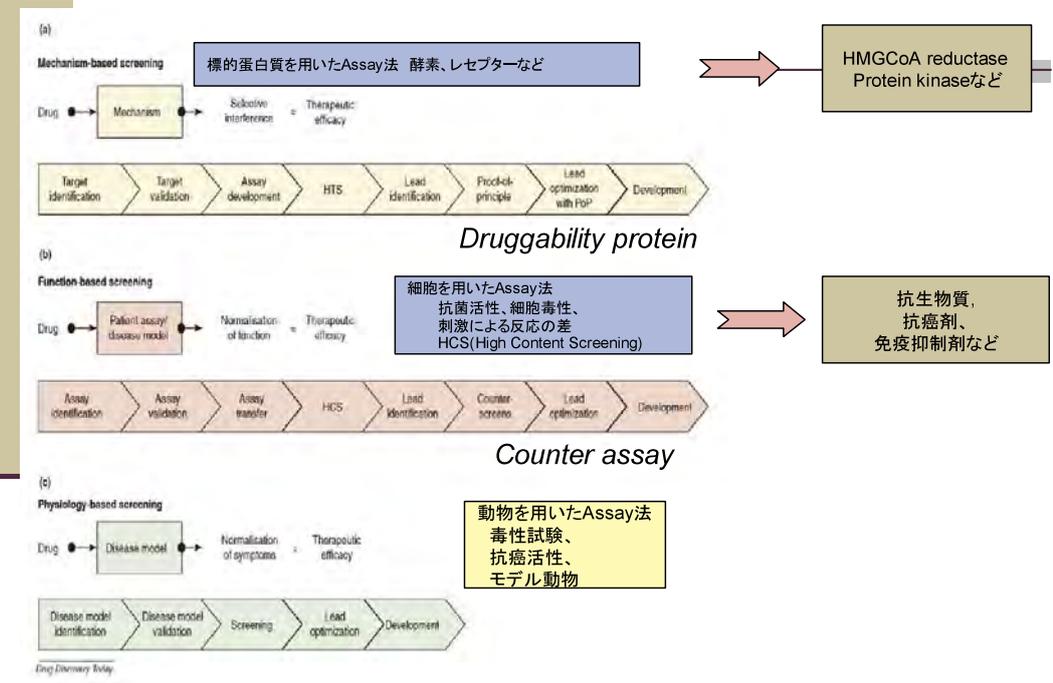
ミスがついて評価してやるということが必要ではないかと考えます (図 4)。



次に評価法です。ナチュラルプロダクトの場合には必ずついて回る、どちらがよい悪いという話になるんですけど、それぞれ一長一短あります。in vitro の酵素とかターゲットを使ったアッセイ系、細胞系を使ったアッセイ系、vivo のアッセイ系。私自身は b 以下の細胞とか vivo を使ったアッセイ系が好きですけども、上の方でも HMGC_oA レダクターゼのメバロチンのとれた例とか、プロテインキナーズがとれた例とか、成功例は多々あります。こちらの方は昔からやられている抗菌活性、細胞毒性の抗がん活性です。免疫抑制剤なんかは細胞を使ったアッセイ系でとれてきてます (図 5)。

評価法について

生物学的評価法の種類



DDT(11)9/10,465-471(2006)

図 5

これだけ見るとそれほど難しくありませんが、ただスクリーニングキャパシティという意味では、セルフリーもしくはセルを使ったターゲットタンパクに絞ったものの方が数もこなせてスピードも早い。アッセイのデベロップメントも早いということになります。こちらの組織とか動物に行くに従ってアッセイする数も減るし、時間もかかるということになります。薬品会社というのはタイムイズマネーなので、非常に多くの数を評価して短時間にかけるということが重要になってきます。

それぞれの評価系が本当にいいのか悪いのか。これがバイオリジカルスペース、これがセラピューティックエリア、これがディジーズエリア、ファンクショナルエリア、メカニズムベース。メカニズムベースというのはターゲットベースと考えていただければいいんですけど、理想的には真ん中に全部集まっていればいいんですけど、実際はこんなばらばらだと。バイオリジカルスペースがあって、セラピューティックエリアがあって、ここにディジーズエリア、ここがファンクショナルエリア。ばらばらにあって、どれが一番セラピューティックに効くかどうか。ここに黒い点がありますので、このような黒い点のターゲットを選んでしまうと、実際に薬にしたときに効かないということになってしまいます (図 6)。

「低分子化合物による生体機能制御」について (事務局説明)

投資する意義

具体的な研究開発課題

研究推進方策

まとめ

参考資料

評価法について

評価法の問題点

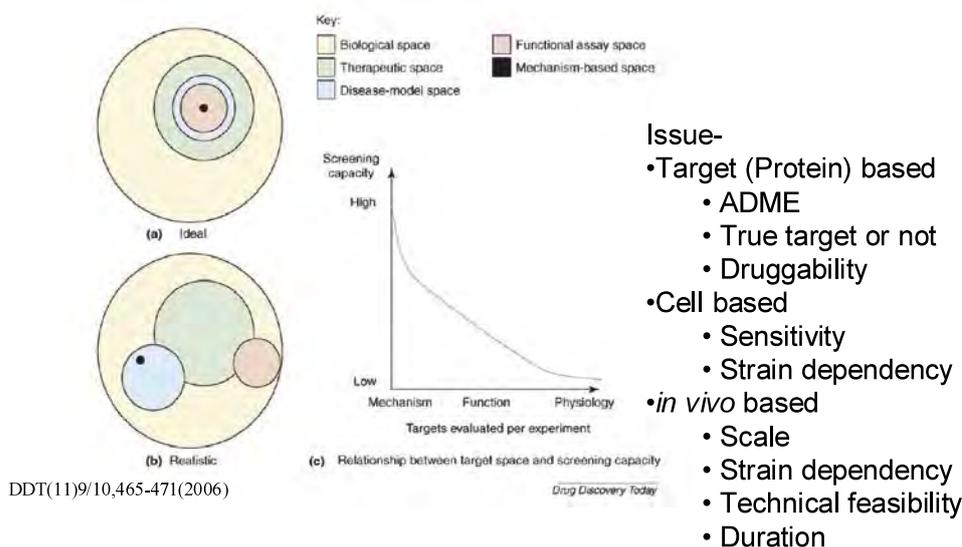


図 6

問題点として、ターゲットベースの場合、ADMEの問題です。ADMEが実際に細胞内に入る入らない、動物内の体内動態がいい悪いというのがはっきり最初のファーストスクリーニングでわかりません。あとは、ツールターゲットorノット、ここはバリデーションの仕方が非常に厳しくなっているので少なくなってきましたけども、やはり真のターゲットかどうかというのは、ターゲットの場合にはあけてみないとわからないところがある。実際動物のところを持っていかないとわからない場合がある。あと、ドラッグアビリティです。ターゲットは非常によくて、ここを抑えるのがいいのはわかってるんですけど、実際低分子向きかどうかというのがわかりません。低分子向きかどうかというのをちゃんと評価してやらないと失敗する。あともう一つ、細胞ベース、これはセンシティブリティ、これは必ずプライマリースクリーニングのときに問題になるんですけど、カウンターアッセイとの細胞毒性の感受性の差が問題になります。例えばメバロチンという化合物は、ある会社ではセルベースでやって毒性が出たので開発をやめたという経緯があります。あの場合はHMGCoAレダクターゼのターゲットでやったことが先行したということが言えると思います。あとは、*in vivo*の場合にはスケールの問題があります。量の問題。あとはテクニカルフィージビリティ。動物を扱うというので技術が要る。あと時間がかかるということで、それぞれいい点、悪い点がある。

これをフローで書き直したんですけど、ターゲットベースコンセプトはこうなります。ディーズベースコンセプトの場合はこうなります。セルベースか *in vivo* ベースの場合にはこういう形になると思います。実際にゲノムからターゲットを見

つけてきて、それをバリデーションを行ったターゲットにしてスクリーニングを流す。これが今主流です。ビッグファーマのほとんどはこういう形でスクリーニングを行っていると思います（図7）。

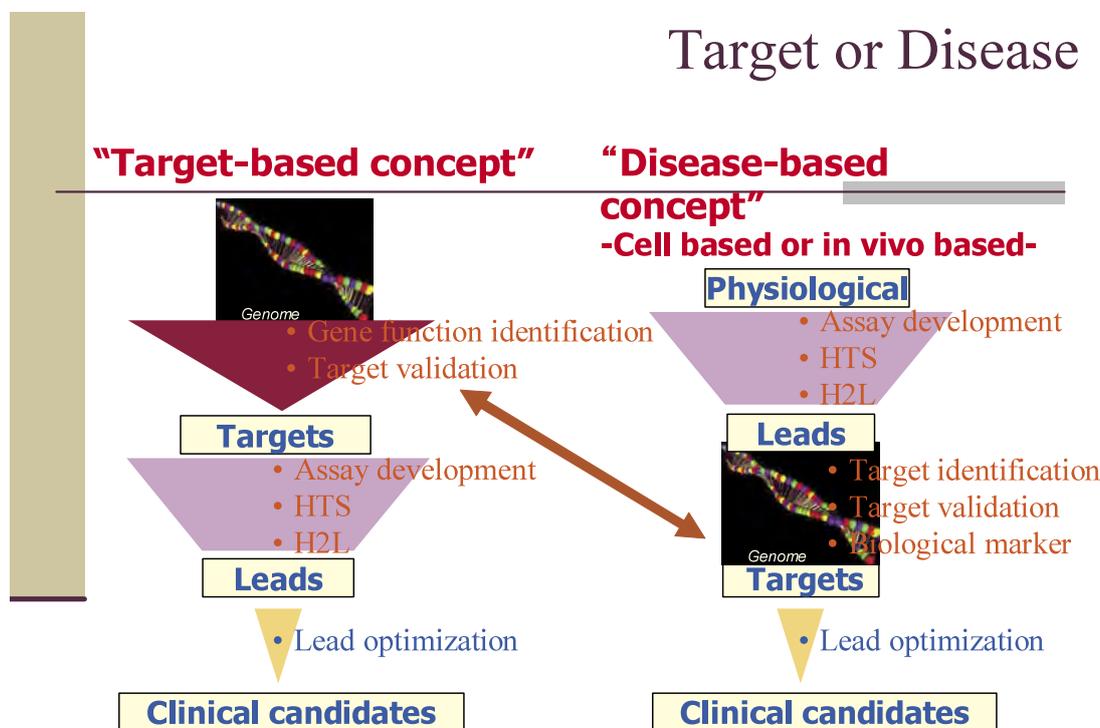
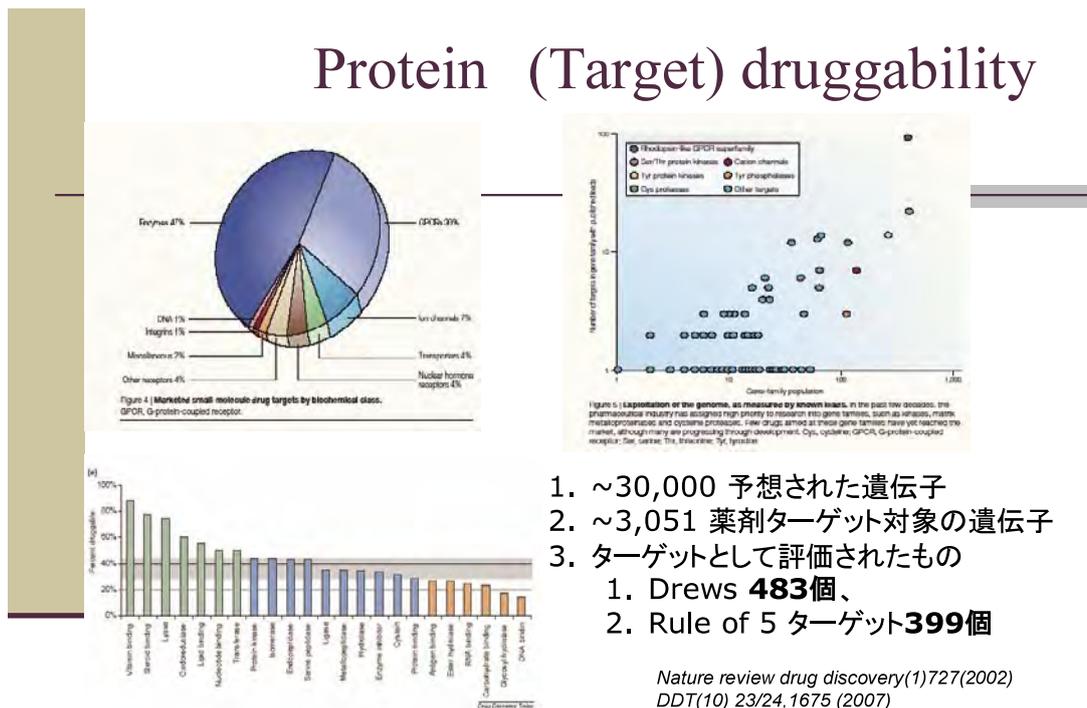


図7

こちらの方はどちらかというとな日本のアステラスさんが非常に得意なところだと思えますけれども、ある細胞のフィジオロジカルなプロパティを見つけて、その中でスクリーニングを行ってリードを見つける。リードを見つけた後にターゲットアイデンティフィケーション、ターゲットバリデーションをやるということになります。現在ポストゲノムでゲノムの情報をどちらで使うかということになってはいますが、今はこちらの方が主流になりつつありますけれども、こちら側の方でゲノムとかプロテオミクスという手法を使って、こちら側で使って先に進める、薬になるようなものを探すというような方法があるのではないかと考えます。

プロテインのターゲットドラッグアビリティということで、大体3万以上の遺伝子が予想されていて、実際にターゲットとして評価されるものは400個とか500個程度しかないんですね。これは既知の遺伝子でしか評価されていない、知られていないようなブラックボックスのタンパクというのはほかにいっぱいあるわけです。FKBPが特にそのいい例だと思いますけど、あれだと実際にスクリーニングを組まれたかというのと、組まれなかった。あれは細胞系を使って拾われたからできたものだと思います（図8）。

Protein (Target) druggability



1. ~30,000 予想された遺伝子
2. ~3,051 薬剤ターゲット対象の遺伝子
3. ターゲットとして評価されたもの
 1. Drews **483**個、
 2. Rule of 5 ターゲット**399**個

Nature review drug discovery(1)727(2002)
DDT(10) 23/24,1675 (2007)

知られていない機能のたんぱく質はないのか？

図 8

今までのことを踏まえて提案させていただくと、ナチュラルプロダクト、ケミカルをやったときにどれがいいか。ケミカルを選ぶとビッグファーマ、ある会社は300万化合物を持っています。普通のビッグファーマは100万以上化合物を持っています。NIHのジェネリックセンターが最終的には50万そろえるということになってきますので、こういうことを考えると、こういうところでケミカルで勝負するのはちょっと難しいかなというのが一つ。天然物の場合にはミクスチャーというのが普通です。大学でも企業でもスクリーニングをやるならダイバシティを考えるとミクスチャーが一番だと考えますけれども、評価系のことを考えてシングルの方がいいのではないかと考えています。そのシングルで天然物をコレクションして、ラージスケールのプレパレーションを行ってリサプライをしたらどうだろうということを考えています。スクリーニングはある程度スケールファクターがかかってくるので、ターゲットかセルベースでやる。vivoでやりたいのが私個人の希望ですけども、なかなかそれは難しいということがあります。創薬を考えればドラッグとケミカルプローブのどちらになるかというのはvivoにかかってくるので、vivoの評価系を必ず入れるというのが提案の一つです。必ずターゲットプロテインもしくは細胞系でやったときには動物試験の系を組んでおく。組んでおいて、これでよかった場合には必ずクリニカルリサーチの方へのつなぎも考える。こういうコーディネーションするようなトランスレーションする組織というのが必要ではないかと考えています(図9)。

Proposal 1 Screening Strategy

- Sample; **Natural Products** or Chemical
 - Compete with Big Pharm 3~1M & NCGC ~0.5M
 - **Single** or Mixture
- 
 - Collection
 - Sample Re-supply
 - or Large scale preparation
- Screening; **Target, cell based** or *in vivo* based
 - For Scale factor, prefer to Target based
 - For ADME, prefer to *in vivo* based
 - Approach – HTS or Non HTS
- 
 - Drug (Lead) or Chemical Probe
- Translation
 - Target Protein or Cell → Disease (Animal)
 - Disease (Animal) → Clinical Research

図 9

ただアメリカではやられているけれど日本ではなかなかできない。一つは、アカデミアと創薬の接点が少ないということ。NCIのような評価システムセンターが不在。評価サンプルの量を確保するのが非常に難しかったということになると思いますが。実際にシングル化合物を集めるとなるとどんなふうを集めるかということになりますけど、コンビケムのケミカルサンプルの手法をここに取り入れて、CHCDの20万化合物、アンチベースに3万入ってますけども、これをin silicoでケミカルダイバシティを調べて、その中から化合物をセクションする。それでケミカルスペースをある程度埋めるようなライブラリーをつくる。あと、買えるものは買う。買ったもの、もしくは集めたものに関しては、ADMEをちゃんとチェックする。そこに対してデポジット、デリバリーをすればいいだろう。実際に買ったり、ほかの人にリクエストして買うとなかなか集まらないものなので、実際は自分たちでそれを調製するようなグループをつくったらどうだろうと。この場合、未知のものを探すととてもじゃないけど普通のスクリーニングになってしまいますので、既知のソースでラージスケールで集める。既知のプロデューサーを集めて培養して、これもコンビケム用に最近いろんな会社が出してますけど、LC/MSのバス分子用のシステムを何台か並べて自動化する。それで量を稼ぐというようなグループがあるとおもしろいかなと考えています。

ターゲットをやる場合には、ターゲットドラッグアビリティ、ターゲットバリデーションをやりながら、スクリーニンググループとバリデーショングループ、必ず

vivo のエスティメーションを入れたようなバリデーショングループをつけてスクリーニングをする。そのときに必ずスクリーニンググループ、間の後継ぎをするような組織が必ず必要だと。でないと創薬というのは成功しないのではないかなと考えます。

これが大まかに書いた絵です(図 10)。こんな感じで 10 何年かかるんですけど、ここでターゲットの評価、ここでスクリーニングということになります。スクリーニングに関してはスクリーニングをやって、バリデーションをやって、トランスレーショングループというのはコーディネーションするグループで、このコーディネーションするグループが vitro と vivo のつなぎ、あとは、このベンチからベッドサイドのつなぎをちゃんとやるという組織が必要ではないかなと考えました。

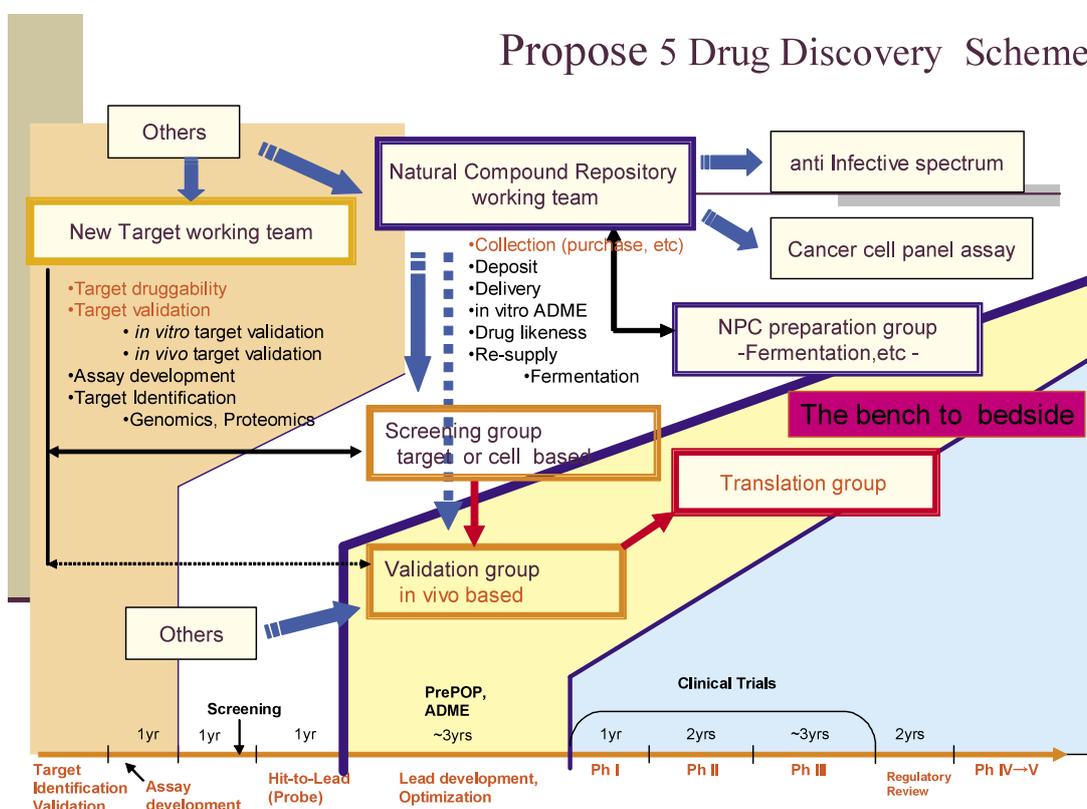


図 10

2.3 醜酵の知恵を結集した本邦独自の創薬インフラストラクチャーの構築（アステラス製薬・中島秀典）

天然物創薬というのは世界的にシュリンクの方向にあります。これはどうしようもない事実です。私も醜酵が長いので、海外の製薬会社に単身乗り込んで腹を割って話をしようということで情報交換もいろいろやってきてます。その中で、やはりやり方が間違ってるんだということが非常によくわかりました。ここを何とかしない限りだめだなと思います。最近微生物の悲鳴が聞こえて眠れないような状態なんですけども、何とかなればなと思って、私の思うところを発表させていただきます。

醜酵は日本の強みであると言われてます。いろんな人に話をするんですが、醜酵は日本の強みですよ、確かにそうですねという話をします。タクロリムスやメバロチン、ミカファンギン、ロミデプシン、日本は醜酵天然物の画期的医薬品を創出していますねと、だから強いんですねという話をします。確かに昔はそうですねという話です。メガファーマは醜酵天然物に回帰してますという話もよくしています。だから醜酵天然物はまだ今後有望なんですよという話をされます。そうですね。ただ、メガファーマのやり方と日本のやり方は違います。メガファーマはこれまでのやり方が間違っていながら、また新たな方法でやろうとしているんです。

ただし、私が藤沢（薬品）のときに考えた問題点だと思ったことがここなんです。これは抗真菌リポペプチド FK463、ミカファンギンの前駆体、FRFR901379 という化合物ですけど、当時他社でやられていた化合物とほとんど同じなんです（図1）。当時他社でやられていた、我々はおくれていたんです。他社、特にメルクは進んでいて、我々は後で入っていったわけですがけれども、なぜ我々が製品にできたかというところ、ここに硫酸基が入っている。要するに、こういうリポペプチドの問題点というのは溶解性であると言われてたんです。こういう硫酸基の入った化合物をとってきて、溶解性が上がってるんですね。メルクで当時やってたような人たちと話をしますと、なぜあそこに硫酸基を入れたのか。こんなことはメディシナルケミストは絶対発想が起らないと思ってるんですね。やっぱり天然物はすばらしいという話をしていたんです。じゃあこういう化合物、当時はわかってた。溶解性が問題点であるというのをわかってたんですね。それに対して、我々も企業の間人だから、偶然にこれを見つけた。ただ、これを見つけた過程において、これを誘導する試みというのはそれも偶然になされていたわけですがけれども、なぜこんなところに硫酸基が入るのかということが当時はわからなかった。でも今は理解できるようになっています。今もしこういう化合物があって、溶解性が問題であるならば、どういう菌をどういう培養したらどうなるかということも対応できるんですけども、有用な天然物があるときに、それをドラッグライクに仕立てていくということに対して、かつての醜酵創薬というのは非常に無力であったということです。この辺は今後強くしていかなきゃいけないなと私は考えます。



抗真菌リポペプチド

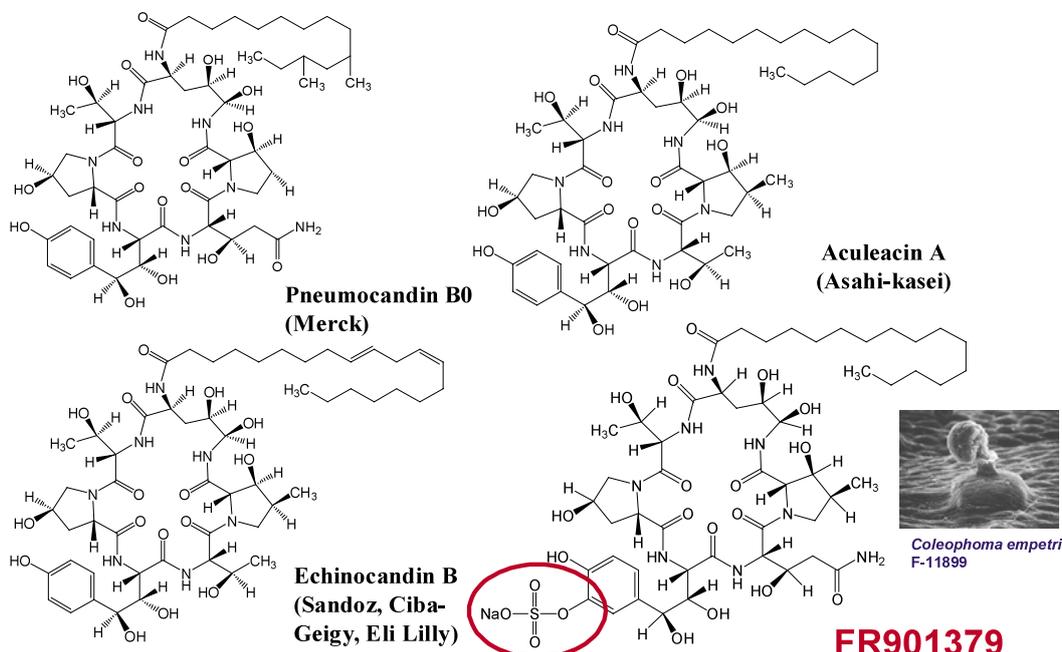


図 1

ということで、これまでは余りにもものを見つける、発見に重きを置き過ぎてきたと思います。今後はものをつくるということですね。ものをつくるということがまず先じゃないかと私は思っています。

生物活性を有する単離天然物ライブラリーというのが長い歴史の中でたまっています。あるスクリーニングにおいてとってきた既知の化合物も含めたライブラリーですけれども、私はクルード・サンプルライブラリーには全く興味がなくて、単離天然物ライブラリーに興味があります。これは活性であるとか、物性であるとか、すべてわかっています。サンプル管理のデータベースがあります。サンプルを造るときに、どのような条件でどういう菌を培養したかというデータも残っています。それをきっちりとつなげる。そうしてものづくりの知恵のデータベースを構築するという事です。そうすることによって、なぜ微生物はそういうのをつくるのかというのがわかってきます。その上にメディシナルマイクロバイオロジーというのを勝手に名前をつけてやってるんですが、微生物創薬化学ということなんです。こういうものをもとに、ものをつくるんだと。微生物に、微生物の思いどおりのものをつくっていただくということをやっています。

我々は、これまでに蓄積したデータを受けて、意図した知恵というので、いろんな培養をやっているんです。微生物というのは環境の変化に応じてものをつくってきます。持ってる生合成遺伝子を全部発現してくれないので、なかなか問題なんですけども、ある条件をやりますと、普通に培養したらつからないような物質もつくっ

てくれる。その辺のノウハウも我々にはあります。

こうしていくとどういうことがわかるかというと、ある物質があって、こういう構造のものがあるとしたら、その構造のものをつくらせたいと思ったら、どういう微生物をどういう培養をやったらいいかが分かるのです。

セッション3 研究推進方策

1 Protein network analysis (産総研・夏目徹)

我々の目標というのは、ノックアウトマウスをつくるがごとく、研究対象であるタンパク質、遺伝子を制御する化合物をとりたいというのが目標です。遺伝子工学的な方法では解析不可能な、より高次なバイオロジーに貢献すると同時に、そしてここで得られた化合物のプロープそのもの、あるいは化合物を使い観察された表現型等の情報全てが創薬を加速することに貢献するはずで、それにより産業界に大きな波及効果をもたらしたいと考えています(図1)。



図1

それを実際にどうやるかという戦略ですが、天然物化学が一つの柱で、もう一つはタンパク質相互作用ネットワーク解析というのがベースにあります(図2)。これらを利用し汎用的・統一的スクリーニングを行い、高効率に生理活性化合物をとるという戦略です。。この戦略に至った経緯としては産業界ではやりたくてもやれない、あるいはやりづらい、あるいは製薬企業一社でやるようなことではない。そういうことをやるということが国のプロジェクトの精神であるべきだといひこだわりを持ってプロジェクトのプランニングという結果であります。

大規模タンパク質相互作用ネットワーク解析

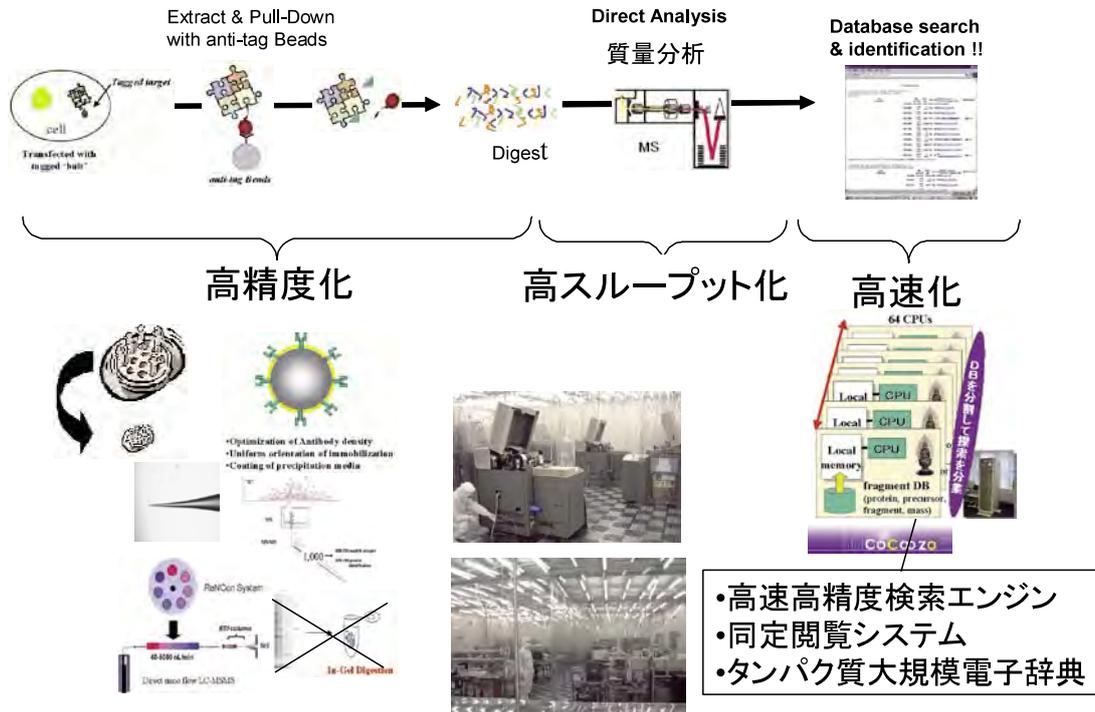


図 2

私自身は、タンパク質のネットワーク解析というのは質量分析計を使ってそこそこ大規模にやりたいということでやってきました。これは非常に単純なやり方で cDNA をベースとしてアフィニティピュアリフィケーション、抗体を使ったプルダウンをやって、質量分析でタンパク質複合体を一網打尽的に決定するだけです。このアイデアは世界じゅうでだれでもやってるんですけども、実際にこのような方法論で、高感度且つ高精度な解析を行うのは困難なのです。まず、質量分析計を買えばそのまま高感度になるわけではなく、クリーンルームの中で解析したり、質量分析へ極微のタンパク質導入技術を世界に先駆けて開発し高感度化して来ました。我々は絶滅品種と呼ばれているタンパク質微量分析の末裔なのですが、その長年培って来た微量分析の技術を応用し、高精度な非特異的な吸着がないサンプル調製法を確立しました。さらに並列コンピューターの専門家が我々のサイドバイサイドでおりますので、データをパイプラインで処理できるような高速データ処理システムを構築しました。このように、ハイテク（質量分析・並列計算機・産業ロボット等）を伝統的なタンパク質の匠を組み合わせ、それをとをとことん突き詰めることによって、結構新しい発見をしました。

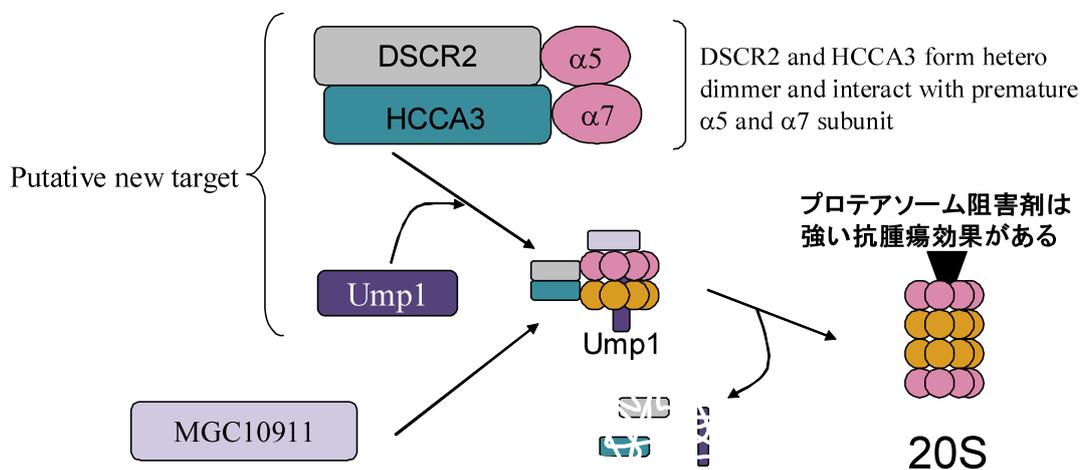
例えばこれは一つの例で、ダウン症の原因遺伝子産物である DCCR2 というタンパク質と、肝癌関連遺伝子産物である HCCA3 というタンパク質がヘテロダイマーになってプロテアソームをアセンブルしているという発見をしました。さらに、機能未知の遺伝子 2 つが加わり、最低 4 つのタンパク質が協調的に働いている 20S

のプロテアソームを組み上げてるのです（図3）。ダウン症の遺伝子とがん関連遺伝子が一緒に働いてたということは非常に興味深いのですが、それ以上に注目すべきことは、創薬上においても重要な発見かも知れないということです。それは、がん細胞はプロテアソームがたくさん必要だということです。そして我々が実験で確かめると、プロテアソームのアセンブリーファクターというのもノックダウンすると、新製セiproテアソームの量がすごく減ります。アセンブリーが正しく行われなくなって組み立ての効率が落ちるんですね。それはがん細胞では致命的で、あっという間にアポトーシスを起こしますが、正常な細胞は割と平気だということがわかったのです。プロテアソームの機能を落とす薬が抗癌剤として有効だということはよく分かっていますが、プロテアソームは正常細胞においても必須のものです。ですから、プロテアソームそのものを潰してしまう薬は毒性も強いのです。しかし、我々が発見したアッセンブリーファクターを制御できれば、もしかするとこっちの方が創薬ターゲットとして有望かもしれないというアイデアを得ました。

Proteasome assembly factor

Down syndrome critical region protein 2 (DSCR2) and Hepatocellular carcinoma associated protein 3 (HCCA3) promotes the assembly of 20S proteasomes

ガン細胞はプロテアソームがたくさん必要！



Hirano, Y., *et al.*, *Mol Cell* (2007) *in press*

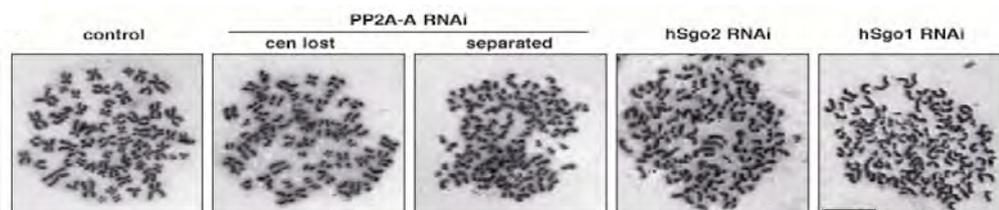
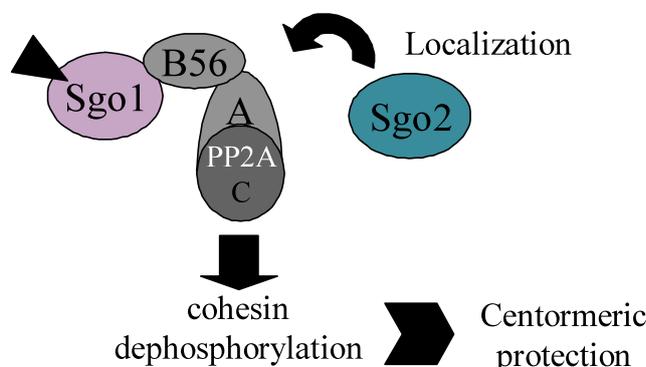
Hirano, Y., *et.al.* (2005) *Nature* 437, 1381-85

図 3

それから、Shugoshin という、相同染色体を娘細胞に均等に分配するのに非常に大切な Shgoshintoiu という遺伝子があります（図4）。この遺伝子がどのように相同染色体を「守っている」かを知るためにネットワーク解析をしました。相同染色体の中心体と呼ばれる部分が、ポロキナーゼやアウロキナーゼと呼ばれる酵素によってリン酸化されるとそのチャージで相同染色体は二つに分割されるのです

が、正しいチェックポイントが来るまで Shugoshin は非常にジェネラルな PP2A という脱リン酸化酵素を中心体に局在させ、一生懸命脱リン酸化して相同染色体を守っているということが分かりました。そういう仕組みを見つけました。この Shugoshin をドミナントネガティブというものを発現させると、これは非常に強力な M 期のインヒビターとなりアポトーシスを誘導しますが、割と正常細胞は耐性であることも分かりました。したがって、これもこの辺も抗癌剤のターゲットとして狙えるのではないかと思います。

Shugoshin (Sgo) collaborates with protein phosphatase 2A to protect cohesin

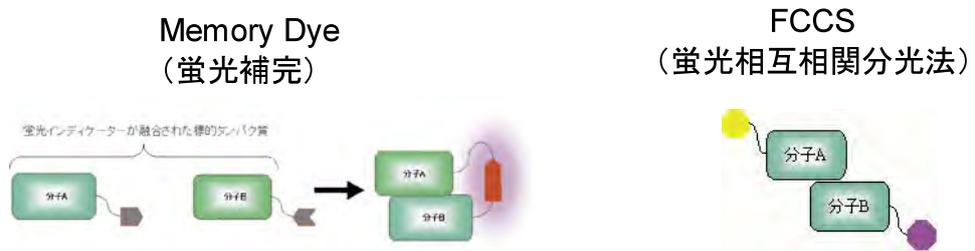


Kitajima, S., *et al.*, *Nature* (2006) *in press*

図 4

このような 2 つの例があるのですが、両方とも別に酵素活性のような分かりやすい機能指標があるわけではないので、これらのタンパク質を制御する化合物をスクリーニングしようとする、相互作用を可視化しそれを指標としてスクリーニング系を構築しなければなりません。それを、蛍光イメージングの技術を中心にやるのですが、相互作用というものを可視化出来れば、タンパク質は基本的にすべての他のタンパク質と相互作用して機能を発揮しますから、酵素活性を持たないようなもの、どのようなタンパク質をターゲットにしても統一的なスクリーニングが出来るはずで、統一的なスクリーニングができれば非常に少ない人数で効率よくスクリーニングができます (図 5)。

・相互作用を再構築・可視化



・相互作用を指標とした統一的なスクリーニングプラットフォーム

- ・タンパク質は必ず相互作用して機能を発揮する
- ・全てのタンパク質に対して統一的なスクリーニングが可能
- ・酵素活性のような明確な指標のないタンパク質に適応可能

蛍光イメージングによるスクリーニング

- ・ハイスループット化に適する
- ・ローコスト
- ・試験管レベル、細胞レベル、臓器レベル、個体レベルで共通の原理でスクリーニングを展開可能

図 5

これはメモリーダイというやり方で、理研の宮脇先生がつくった蛍光タンパク質です。相互作用するものに片割れ同士を目的タンパク質に融合し、両者が相互作用すればぴかっと光る(図6)。これはFKBPとカルシニューリンがFK506の作用によって観察される蛍光です。従って光ってないものが光るというスクリーニングが出来ます。これは逆で、相互作用していたものがインヒビターで断ち切られると光らなくなるとい例です。このような系をハイスループットな創薬スクリーニングができるようなレベルまでファインチューニングするところを一生懸命やってきました。

Memory Dye (蛍光補完) : ハイスループットにタンパク質間相互作用を再構築・検出可能

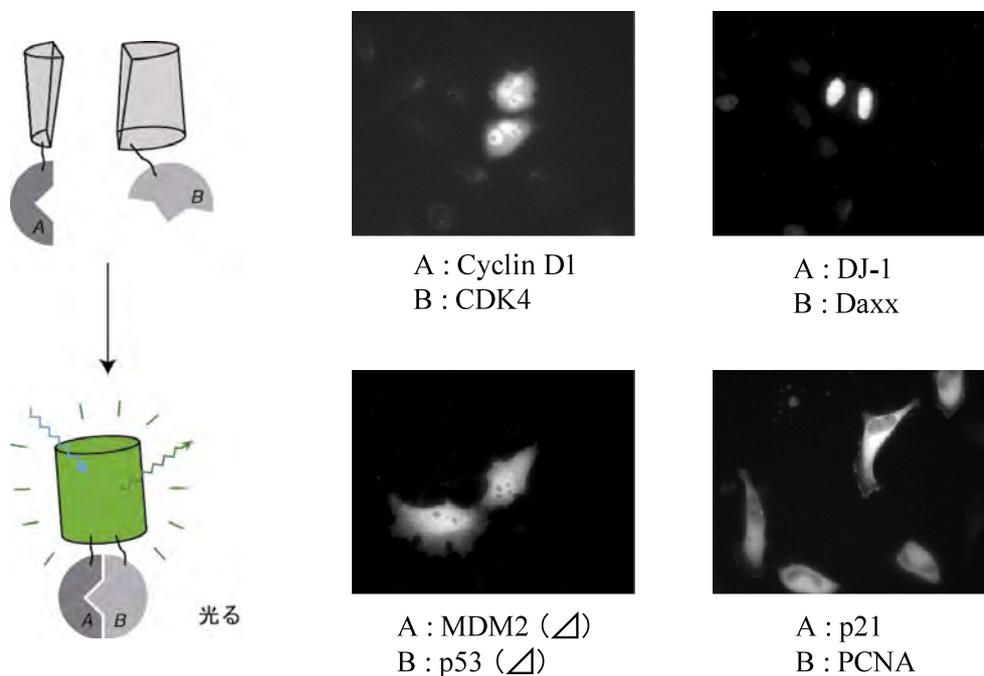


図 6

この他に、FCCS とかそのほかのスクリーニング系も用いて、徹底的に相互作用にこだわったスクリーニングというのをやっています。ある意味究極のターゲットオリエンテッドなスクリーニングですが、相互作用を指標とするスクリーニングは下の下の下であると。そんなものは難しいからやっちゃいけませんみたいなことを大分言われました。要するに、賛否両論なわけです。難しいけれど、そこに切り込まなければいけないという議論も随分されていますし、国のプロジェクトというのはそういうリスクチャレンジを徹底的にやるというのが我々の基本的な精神であります。

とはいうものの、下の下の下ばかりやっててもいかんということで、それを補完する意味で、モデル生物を用いた表現型スクリーニングにも取り組んでいます。しかし、単なる表現型スクリーニングではなくて、なるべく汎用性の高いスクリーニング系というものにこだわってやっています。。きょう話題提供いたしたいのはハエです。ハエはいろんな疾患モデルをつくれます。ハンチントン舞踏病バエとか、こういうものをオーバーエクスポジションさせると、成虫のモーターニューロンが脱落し飛べなくなるのです。これにトリコスタチン A を食べさせると飛べるようになります (図7)。即ちモデル動物として機能し、薬にスクリーニングに使えるというわけです。

Locomotor defects in HD (ハンチントン舞踏病) model flies



Htt128Q-expressing flies

Control

図7

これはなかなか楽しいんですね。神経変性疾患以外にもいろんな病気のモデルをつくれます。糖尿病のハエとか、リウマチのハエとか、つくれます。さらに、ハエというのは線虫と違って非常に表現型が豊富ですので、観察もしやすいなどのメリットがあります。工夫をすればスクリーニングもやりやすい。首都大学東京の相垣先生が1万2000系統以上の、ほぼ網羅的に遺伝子の過剰発現とノックアウトの変異株を持っているのです。これはCRESTで整備されたのだと思うんですけども、こういうリソースをスクリーニングに活用したいと思いました。即ちスクリーニングをしたいと思えば、必要な変異株は既に用意されているということなのです。

しかし、問題は、そんな個体を使ってハイスループット化ができるかということです。ウジを集めて、卵を集めて、まいたり、えさをあげたり、本来は手作業でやるんですけど、それを自動化ロボットと、特殊なウェルを開発して実際にやってみました。ものすごく特殊なウェルを使った体力測定ロボットです。96穴の縦長のウェルにウジをまいてこの中で飼うんですね。神経変性疾患のハエというのは、こうやって持ち上げて、トンと落とすと抗重力本能というのがハエにはあって、たたくと落とされるとハエはもといいた位置に戻ろうとするのです。それを画像解析によってスクリーニングするというをやっています。その他の疾患についても、今3つほどスクリーニングをやっていますが、現在1万7000サンプルくらいを終了し、でヒット候補なども出ています。結構おもしろいものがとれそうな予感があります。

このような国で整備されたリソースとかそういうものを活用して、製薬会社一社ではやりにくい、あるいはリスク過ぎてやれない、しかし、効率的なスクリーニング系を構築するインフラとなるような研究開発を国のプロジェクトとしてやるべきであるというのが私のプロジェクトの基本方針です。ジェネラルに、糖尿病だろうがリウマチだろうが一つのプラットフォームでいろんなタンパク質・遺伝子ターゲットに対するスクリーニングができれば非常に大きな波及効果がアカデミアにも産業界にもあると考えています。

さらに、表現型スクリーニングのボトルネックは、どうやって化合物のターゲットを決定するかなんですけども、我々はタンパク質間相互作用のおたくというか、プロフェッショナル集団ですから、タンパク質と化合物に置きかえてこれをやろうということで、スタートレックタグというタグを開発しまして、これは小分子の化合物なのですが、これに対する抗体を開発しました。先ずスタートレックタグをクソリである化合物に融合させて、クソリとタンパク質の複合体を、抗体により、プルダウンし質量分析により結合タンパク質を決定します。非特異的な吸着もなるべくミニマイズできるようなエンジニアリングして、こういうもので効率よくターゲット決定できないかなと、頑張っってこの辺もやっております（図8）。

Star Trek: 化合物のタンパク質ターゲット決定

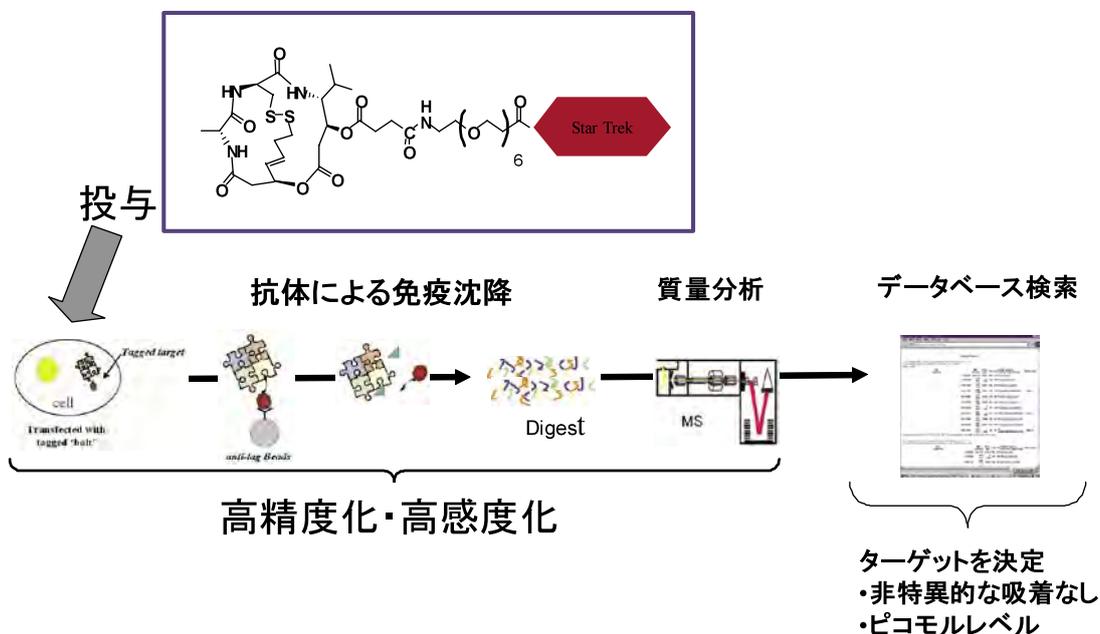


図 8

例えば HDAC インヒビターにこのタグをつけると、物の見事に HDAC のコンプレックス、結構コピー数の少ないリプレッサー群とか、一網打尽的にちゃんと同定できています。さらに、複数の製薬会社さんから臨床開発薬を提供していただいて、

そのターゲットを決めるということも始めており、実際の創薬開発の部分にも少しずつ応用し始めています。

次に、このようなスクリーニング系を構築して、一体何に対して化合物を当てるんだということなんですけども、基本的に我々アカデミアのプロジェクトで欧米型の巨大合成ライブラリーをつくる時間もお金もありません。ですから天然物化学をやると。天然物化学は日本のお家芸なんですけど、この辺にあるような欠点があり廃れてしまいました。ですから、国費を投じてもう一回天然物化学を懐古主義的に復興しても仕方がないので、天然物を母骨格としたコンビナトリアルケミストリーを展開する。それを計算機を使ってアシストして、効率よくやろう次世代の天然物化学というものを提唱しています。

要するに、非常に泥くさくて暗黙知の世界の、日本の文化伝統に近いものを徹底的にハイテクでアシストしてやろうというアイデアです。日本の強みと新しさをまぜるみたいな感じです。実際にいろんな相互作用を指標としたスクリーニング系、ショウジョウバエ、あるいは酵母を使ったランダムスクリーニングを展開して、ヒット化合物があったら、最初から相互作用をねらっていますからターゲットは、はっきりしてます。ですから、これに対してコンピューターのシミュレーションをやって、こういうものがヒットしたとして、実際は骨格というのはこの辺が大事だ。この辺バルキーなのはだめそうだと。この辺太らせてみましようなんていうような *in silico* のシミュレーションをやって、薬理骨格 4 つくらいに割って、それぞれのブロックに対して多様性を与えて、一気にコンビ展開をするということをやっています。コンピューターシミュレーションの部分は産総研の計算機生物学の専門家集団がいて、広川さんが非常に上手な仕事をしてくれます。それから、天然物を母骨格にしたブロック合成のプロ集団、東工大の高橋先生のグループと一緒にプロジェクトに入らせていただいてやっています。Blue Gene なんていう 8000CPU のコンピューターが我々のビルの 8 階にありまして、こんなものを使うとシミュレーションの時間も非常に早くできるというのが強みです。

我々のスクリーニングの全体像なんですけど、先ずネットワーク解析を行います。今は、いろんな製薬会社から要請の多いものを色々な条件を変えてネットワーク解析をやり、よりターゲットとしていいものをどんどん見つけていき、見つけたら相互作用を指標としたスクリーニングと、モデル動物の表現型スクリーニングを展開し、ヒットがあったらコンビ展開しようという流れでやっております（図 9）。

「タンパク質ネットワークを基点とする化合物スクリーニング」の全体像

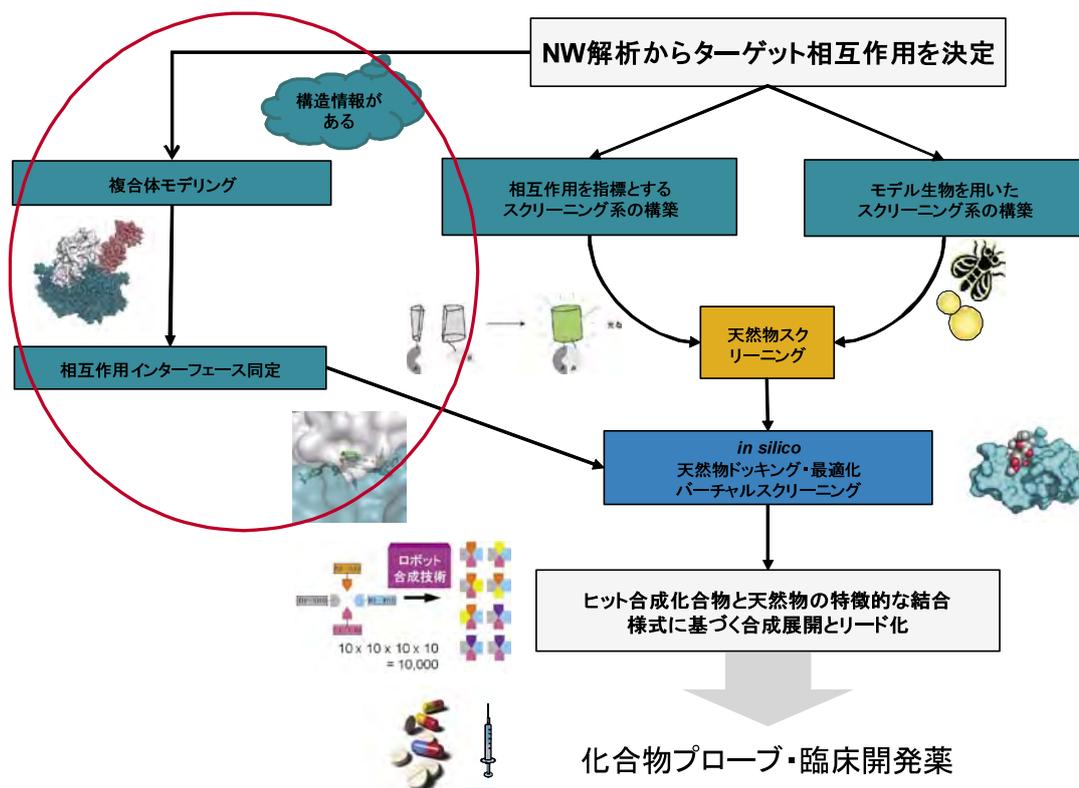


図 9

こういう話をしますと、in silico のシミュレーションが上手にできるのだったら、構造情報が沢山あればランダムスクリーニングなんてやらなくていいんじゃないのという議論も当然あります。実際それは本当にそうで、ターゲットタンパク質の構造情報がある場合は、計算機によるバーチャルスクリーニングも実施しています。というのは、我々がつけた新規のタンパク質相互作用を指標として今ある製薬会社ともスクリーニング展開をしてヒット化合物もとってるんですけども、それと同時に in silico のシミュレーションからバーチャルスクリーニングを行いました。こちらのタンパク質は構造解けてたんですけど、こちらは構造情報なかったんで、構造のモデリングをしました。モデリングしてタンパク質同士のドッキングシミュレーションというかなり難しいことをやって、相互作用界面を決定しスクリーニングをしたのです。購入・合成可能な約 300 万化合物ライブラリーを使用しバーチャルスクリーニングを行って、スコア上位の 87 化合物を実際に購入・合成し活性があるかどうか調べたのですが、実際 6 個の化合物に活性がありました。

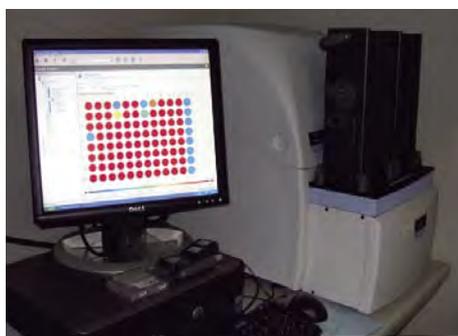
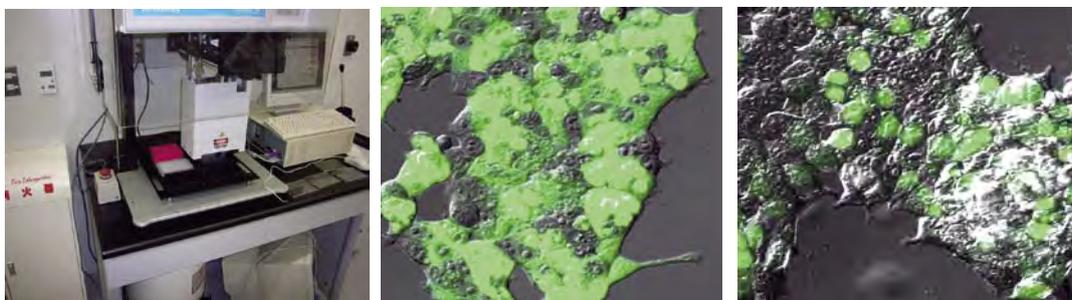
本当にこんなことできるの？ということなんですけども、我々は別に物すごい高度なドッキングのアルゴリズムがあるとか、物すごいプログラミングのテクニックがあるわけではないのです。やるのは徹底的に泥くさいのです。それは、ここにあるようにウェットとドライの緻密な連携なのです。物すごく高度なシミュレーションをいきなりするのではなくて、先ず粗々のシミュレーションをし、すぐそこ

でミュレーションの実験をします。計算機内の探索空間をそれによって物すごく狭めてやり、残った可能性をまた計算機でモデリングしていきます。さらにそこから出てきた結果をまた、とことん変異実験をやっていく。このように、ドライ、ウェットの連携を何度も繰り返すのです。

実際に、in silicoで見つけた活性のあった化合物6個中、4つはほぼ同じ骨格を持っていて、それをスーパーインポーズして最適化をさらにしました。その化合物の活性をメモリーダイ法で、観たものこれです。濃度依存的に、物の見事にぴたっと特異的に相互作用がインヒビションできているということが示されていることが分かると思います。24 μM なんて全然大した活性ではないという見方もあると思いますが、これは内因性の分子に対して数十倍・百倍以上に過剰発現しているダイを24 μM の濃度で消してるので、これはそこそこ活性は高い化合物であると思っております。このようにある相互作用というのをねらってin silicoだけで薬をつくることができました。これが医薬品になるかどうかなんていうのは神のみぞ知るんですが、少なくともバイオリジストの化合物プローブには使えそうなものを、こういう方法で作れるということが示せたと思います。

相互作用を指標としたスクリーニング(メモリーダイアッセイ)

導入する遺伝子を変えるだけで、癌、生活習慣病、中枢疾患等、様々な疾患に対する薬剤のスクリーニングを同時に行える



マルチプレートリーダー: 2台

4相互作用/人

5000サンプル/週



スクリーニング系が数倍増やせる

図 10

このウェットの実験というのを *in silico* のシミュレーションと同じペースで、車の両輪のように回すためには、我々のプロジェクトの1つ前のプロジェクトであるヒト完全長 cDNA プロジェクトがありまして、これが全部ゲートウェイ化されているんですね。それを使って例えばタンパク質を1万種類を3日間くらいで発現させられるインフラが出来ています。さらにゲートウェイの技術を使うとミュータントも物すごく早くつくれるんですね。ですから、計算機の中で2000通りくらいの可能性があると思ったら、2000個くらいのタンパク質の発現をプロ集団の手によってぱっと発現させて、結合アッセイすぐしてしまうということができ、その結果をコンピューターシミュレーションにフィードバックさせます。

我々のプロジェクトの中で、構造解析のプロジェクトの連携というのはぜひしたいなと考えています。もちろん我々のセンターにも構造チームはあるのですが、構造の情報があるというのはすばらしいなと思います。

我々の天然物化学の新家は、もともとメルシャンさんと共同で産総研サンプル1万6000サンプルくらいを常に回しているのですが、ことしの頭に多くの製薬企業からサンプル提供をいただきましたので、最終的に我々のプロジェクトで10万サンプルくらい当てるような供給体制をつくりたいと思っています。こういうスクリーニングをやろうとすると、散らばってやるのはなかなか難しいのだろうなと思っています。このサンプルをいろんな場所に供給するだけでも非常に大変で、天然物というのは生き物なので、アッセイ系がうまく回ってないうちにサンプルの活性が失われたりなんていうことはよくあるわけなので、こういうことをやろうとするとやっぱり拠点型でないとだめかなと思います。

それから、天然物化学といえば何と言っても構造の同定が大変で、この辺で大量培養をもう一回やり直して、なんて言ってるうちに活性がよくわからなくなるというわけなんです。最近こういう分析器が非常に進歩して、隔世の感があります。構造として物すごく新しいものでない限り、スクリーニングサンプル数 μl で構造決定まで行ってしまいます。これも拠点型のメリットで、どんどんプロファイリングしていくとデータベースに蓄積されていきますので、新しいか、そうでないかというのはほとんど峻別できるようになってきます。この辺は天然物化学とハイテクを組み合わせると全く違ったスクリーニングになりつつあると思っています。

未来像ですけれども、天然物化学部隊の隊長の新家一男なんか、あと10年したらランダムスクリーニングなんかしたくない、ざくっと土なんかとりに行きたくない。マレーシアのジャングルなんか行くと、ヤマヒルに血を吸われて血だらけになって帰ってきたりするわけですが、そんなことは一回限りにして、どんどん LC/MS NMR のようなもので天然物化合物のプロファイリング、どんな菌がどんなものをつくってるかというのをプロファイリングして電子化してしまう。電子化してしまえばいきなりバーチャルスクリーニングからスタートできて、それが効率いいという時代があと10年くらいで来ないかなと思っています(図11)。バーチャ

ルスクリーニングは素晴らしいんですけど、ここに入ってる電子化された化合物の情報がプアーであればプアーな化合物しか当たらないわけで、自然の知恵を学んでそれを電子化できれば、ほとんどランダムスクリーニングというのは必要なくなってきた、非常に少量のサンプルで構造決定ができるようになれば、将来的にはそういうことも可能で、そうするとマリオンバイオロジーだろうが、虫についてるカビだろうが、何でも来いで、大量培養しなきゃいけないような足かせも外れるんじゃないかなと思っています。

天然物化学と*in silico*の未来像



図 11

私たちが今やっているような拠点型・プロジェクト型研究というのは、大学で行うような研究とはかなり違うと思います。そういう意味での特殊性はあると思います。一言で言うと、プロ集団による完全分業制、チームワークによって成り立っているわけです。学生さんと一緒にテーマになりやすいものをやるとか、そういうところとはちょっと違う。

といいながら、じゃあそれが完璧にワークするかというと、必ずしもそうじゃないんですね。これはこれでそれなりの難しさがあります。プロ集団分業にすると、一体だれがスクリーニングするかという問題が出てきます。構造シミュレーションを担当するチーム、表現型スクリーニング用のミュータントのハエをつくるチーム、コンビケムに展開するチーム、じゃあ一体だれがスクリーニングするのかというのは難しい問題なのです。スクリーニング専門チームと言うものを作っても機能しま

せん。スクリーニングというのはアイデアを出して、系を構築して、それが本当にワークするようなスクリーニング系になるまでには、実際に化合物を当てながら、さらにインプルーブして、ファインチューニングしていきながら使えるものになるわけです。それを一体だれがやるかということ、最終的にはケミストがやってもだれがやっても、バックグラウンドはどういう人間がやってもいいと思うんですけども、薬をとってバイオロジーを展開するという気持ちを持っているバイオリジストがスクリーニング系にちゃんと仕上げなきゃいけない。そういう担当者を当てはめていくというのがプロジェクト型では結構難しい。

それから、抗体をつくっているチームとか、いろんなチームがあるんですが、そこで働いてる人間は全部が全部テクニシャンたちではありません。みんなポストドク以上の優秀な研究者です。それをプロジェクト研究で薬がたくさんとれました、よかったよかったとなっても、その成果をどう評価し、共有するかというのは非常に難しい問題があって、かかわった人間をどう幸せにするかということに対して、私自身もまだ完全には答えを出し切れているとは思っていません。

3.2 Centralization + Localization (エーザイ・大和隆志)

チーム形成のあり方に関して、マトリクス形成ということをお話しました。ここでは、セントライゼーションとローカライゼーションの組み合わせということをお話したいと思います。

過去の事例に学ぶことは確かに重要です。しかし、そうは言っても、今回のファンディングに関して、「10年前や20年前には十分な支援もなく研究展開できず、結局アメリカに先を越された。だから今度はそうならないように、同じ戦略かつ同じアプローチの研究に50億円、100億円支出して欲しい。」と提案しても、それで勝算はあるのかということをお話する必要があります。過去の失敗を教訓にして成功のシナリオを描くためには、この10年あまりの間で新たにできるようになった方法論を積極的に取り入れ、その上で日本ならではの強み、競合優位性の要素を盛り込まなければなりません。そのために、セントライゼーションとローカライゼーションの話をお話させていただきます。

まず、何故今、ケミカルバイオロジーの研究分野に重点投資すべきかという点です。製薬企業で働く研究者として、創薬研究を展開するに資するターゲット分子や創薬コンセプトが著しく枯渇してきている感があります。ゲノム情報の中からバーチャルに様々な創薬ターゲット候補が提示されてきていますが、ターゲットバリデーションが困難で、本当に標的分子になりうるかどうかは探索的な臨床試験の結果を見るまで分からないという場合がほとんどです。標的分子の遺伝子をモデル生物でノックアウトしてどのような表現型が出るか調べればよいという意見をよく聞きますが、ノックアウトしても何の表現型も出ない場合が数多くあります。逆に、ノックアウトマウスの実験で胎生致死になったからといって、その遺伝子のコードするタンパク質が創薬標的分子にはなりえないというわけでもありません。例えば、アセチルコリンエステラーゼの遺伝子をノックアウトしたら当然胎生致死だと思いますが、この酵素タンパク質は、検証済みの創薬ターゲットです。そこで我々が今一度振り返らなければならないのが、興味深い表現型を誘導する生理活性低分子化合物—もちろん天然物を含みます—ではないかと考えます。標的分子が必ずしも明らかでなくても、細胞や個体のレベルで明確な表現型を誘導する低分子化合物を利用してケミカルバイオロジーの研究を展開し、その成果を創薬研究に活かしてやる。

このような上流からの研究アプローチを行うことは、企業においてももちろん重要です。ただ、そればかりを許容してもらえない状況ではありませんので、国からの財政的な支援を得て、アカデミアの先生方に精力的に展開していただくことは非常に良いことだと思います。私としては、製薬会社で一般的に言うところの「リード化合物」以前の「創薬シード」を同定するところに今回のファンディングの目的を置くというのは、極めて妥当性が高いと考えています。今こそ使うべき最新技術やリソースを積極的に活用し、マーケット開拓型の創薬プログラムへ果敢に挑戦する。これは日本の製薬企業でなかなかできていないところです。先ほどマラリア等のお

話がございましたけれども、「既に患者も多い。これからの地球温暖化を考えると先進国でもいずれ深刻な問題になる可能性がある。しかし、高い薬価も付けられず、なかなか利益につながらないだろう。」という予測のもとで企業も重い腰を上げられない。こういう疾患に対しては、粘り強くマーケット開拓型の取り組みを行う必要があります。実際に、慢性骨髄性白血病（CML）治療薬のプロテインキナーゼ阻害剤グリベックの例をとっても、初めにCMLの治療薬の開発を目指すNOVARTIS社のCEOが宣言した際、そんなマーケットサイズの小さいニッチの疾患を狙っても売り上げの面でインパクトがないという意見が業界内では大半であったという話を聞いたことがあります。ところが、いざグリベックが承認されると画期的な分子標的治療薬という位置付けでマーケットがどんどん開拓されました。第一の標的分子であるbcr-ablキナーゼに続いて、新たにc-kitキナーゼの阻害も臨床上意味があることが分かり、消化管間質腫瘍（GIST）に対する適応拡大にもつながったことは、記憶に新しいところです。創薬に資する標的分子を見つけて、どんどんマーケットを広げているわけです。その一方で、「CMLの患者数が世界中で一体どれだけいるのか。果たして十分な売り上げにつながるのか。」とリスク評価が先に立ってしまって、積極的な投資を躊躇してしまうのが今の日本の製薬企業の状況だと思います。そこで、マーケット開拓型の先行投資が必要な疾病領域に対して、国の費用を使ってアプローチしていくのは非常に重要と言えます。これは、企業サイドからのニーズという点でも今こそ取り組むべきと考えられます（図1）。

何故今なのか (企業のニーズ)

1. 創薬ターゲットの枯渇
2. ターゲットバリデーションの難しさ
3. ゲノム創薬のカウンターパートの必要性
4. より上流（創薬シードの同定）からのアプローチの重要性
5. 今だからこそ使うべき技術やリソースの活用
6. マーケット開拓型の創薬プログラムへの挑戦



図1

さて、ここで具体的にセントライゼーションとローライゼーションの話に移りたいと思います。図2に、集中投資が必要でセンター化して取り組むべきものを、ドラッグデベロップメントにつながるまでの流れの中で上流、中流、下流に分けてピックアップしてみました。まず上流の位置にあるのが、天然物資源を深耕、開拓して、ライブラリー化することです。ここには微生物のゲノム情報が使えます。革新的な培養技術を開発、導入して、新規の天然物を発掘を目指します。これは、企業としては、なかなか一社だけで取り組めるものではありません。国として生物資源を充実させるということになると、一企業の問題ではないと言えます。

Centralized Approaches (集中投資が必要な分野)

1. 天然物資源の深耕、開拓とライブラリー化
 - 遺伝子改変による人工天然物の創製 (微生物ゲノム情報の活用)
 - 新規天然物の発掘 (革新的な培養技術の開発)
2. 化合物プロファイリングならびに標的分子同定のための基盤整備
 - 遺伝子 (トランスクリプト) の発現ならびにネットワーク解析
 - タンパク質の発現ならびに相互作用解析
 - 上記解析結果に関するデータベースの構築 (インフォマティクスの整備)
 - スクリーニングファクトリーの整備
 - 標的分子同定&検証手段の一般化 (生化学的手法&分子生物学的手法)
 - 化学構造のデコーディングとトランスフォーメーション
3. 基礎研究 (創薬シード) から産業開発 (薬) への移行の円滑化
 - ブリッジング (ファンディング) システムの整備
 - IP基本戦略の策定



図2

次に中流に位置するのが、化合物プロファイリングと標的分子同定のための基盤整備です。化合物プロファイリングに関しては、遺伝子発現解析にしてもタンパク質発現解析にしても、企業の研究者やアカデミアの先生方が様々なフォーマットで行っているのが現状です。もう少し統一的な解析手法やデータベース化を中央組織から発信してやる必要性を感じます。標的分子同定の作業についても、テクノロジーは確実に進化していますが、迅速で活発な情報交換によってそれを共有化して取り組んでいくことが重要です。それから、mRNAの発現情報ならびにそのネットワーク情報、タンパク質の発現情報ならびに相互作用情報などは、データベース化が必要になります。そこで、インフォマティクスを整備して、これらを集中管理するこ

とになるかと思えます。国が主導して構築する化合物ライブラリーや新たに見つかる創薬ターゲット候補分子のスクリーニングに関しては、集中管理下で効率的に進めるようなスクリーニングファクトリーを設立するのも一つの方策かと考えます。そして、実際の標的分子を次々と同定して、その妥当性を検証する手段を一般化する。生化学的手法と分子生物学的手法の両方を盛り込んで、創薬ターゲットの同定（アイデンティフィケーション）と検証（バリデーション）を行う技術プラットフォームを立ち上げるには、集中投資すべきです。それから、化学構造のデコーディングとトランスフォーメーションについても、可能であれば集中的な取り組みが望まれます。私は、天然物からの創薬に大きな魅力を感じています。ただ、天然物そのものを薬にすることの難しさも同時に理解しているつもりでいます。そこで、何とか生理活性天然物を合成低分子化合物に効率的に変換する手法を確立したいと考えています。確かに、*in silico* のモデリングとそれに基づくバーチャルスクリーニングも方法論としては十分な可能性があると思いますが、決して万能ではありません。例えば、プロテインキナーゼ阻害剤のモデリング研究で、スタウロsporin等の天然物の構造式からシミュレーションしてより単純なウレア系とかキナゼリン系の合成低分子化合物の構造式が *in silico* で出てくるかということ、そうは簡単に行きません。結局、PSARのようなウェットの実験と *in silico* のドライの実験を繰り返し行う必要があるので、この部分はセンター化して、国が主導する化合物ライブラリーを有効活用して行くようなアプローチが必要ではないかと感じています。

最後に下流のところですが、基礎研究から産業開発にどうやって橋渡しするのか、この部分がこれまでうまく行っていません。しっかりしたブリッジングとファンディングのシステムを JST でも作ろうという話があると聞きましたが、一定の組織体を設立して知的財産権（IP）に関する基本戦略を策定しないと、企業サイドからはなかなかアプローチのしようがないとも言えます。

以上、上流、中流、下流に分けてお話をさせていただきましたが、ここで申し上げたようなところは、決して一社レベルで対処できる問題ではなく、国策として国のお金を投資して、インフラ整備をきっちり行わなければ立ち行かないと感ぜられます。

さて一方、ローカライゼーションの方では分散投資の意義というのを真剣に考えなければなりません（図3）。まず、オリジナリティーの高いスクリーニング法を構築してパイロット研究を実施するところというのは、そのスクリーニング系に思い入れのある研究者が自ら関らないとうまく行きません。通常、チューニングとかリファインメントの繰り返し作業というのがスクリーニング系の構築には伴います。また、小規模の化合物群を使ってパイロット研究を行わないと、実際そのスクリーニング系が効率的に回るかどうか分かりません。これをいきなりセンターに持って行って、「標的分子はこれです。スクリーニングはこういうバインディング

アッセイでやりましょう。」と委譲しても決してうまくいかないと思います。そこで、この部分に分散投資をして、オリジナルにスクリーニング系を立ち上げた研究者、自らスクリーニングをしたいと思ってる研究者に実施してもらうべきです。

Localized Approaches (分散投資が有効な分野)

1. スクリーニング法の構築とパイロット研究の実施
 - 細胞系の表現型スクリーニング
 - Target-orientedな結合アッセイや酵素アッセイ
2. 新規ケミカルプローブやケミカルツールの合成
 - アフィニティー精製試薬
 - イメージング試薬
3. 新規合成法の開発
 - 天然物全合成
 - 選択的不斉合成

図 3

次に、ケミカルプローブやケミカルツールの開発に関してですが、イメージング試薬やアフィニティー精製試薬などは、当該分野の専門家へ分散投資を行えば、彼らがこれまでの経験を生かして作り上げてくる可能性が高いところかと思われまます。

最後に、新規合成法の開発に関して、天然物全合成や選択的不斉合成などの分野で、世界的な競争力を持った個々の先生方に分散投資するというやり方が望まれます。これはなかなかセンター化できない話ではないかと思ひます。

セントラライゼーションとローカライゼーションのマトリックスシステムを構築するということは、要するに集中投資と分散投資のバランスを意識した取り組みを意味すると思ひます。今一度、日本で HDAC 阻害剤が発見された経緯を振り返ってみると、がん細胞を用いた表現型スクリーニングは、国のセンターが実施したわけでもなく、現理化学研究所の吉田稔先生のグループ、あるいは塩野義製薬のグループが、研究室の単位で行いました。そして、がん細胞に対する分化誘導やがん化形質の正常回帰といった非常に興味深い表現型に研究者が着目して、トリコスタチンやトラポキシンが見つかった。強調したいことは、個々のグループにおいて強

い思い入れを持った研究者が0から1の仕事有成し遂げている点です。いったんシード化合物が同定されると、様々な手法でその化合物のプロファイリングがなされます。一つ一つの化合物のプロファイリングであれば、一人一人の発見者が十分に行えます。ところが、ゲノムワイドな遺伝子発現変化のフィンガープリントパターンを、DNA マイクロアレー法を用いて数百、数千、数万の化合物に関してカタログ化してデータベースに登録するということになる、拠点化して取り組むべき課題になります。結果的に、こういうパターンのものはプロテインキナーゼの阻害剤、方やこういうパターンのものは DNA トポイソメラーズの阻害剤というように分類されることとなります。例えば HDAC 阻害剤の場合、どういう遺伝子変化が誘導されるのか—この手のカタログ化されたデータが、アメリカでは Broad Institute や NIH などから大規模な予算を背景に次々と発表されてきています。さらに、RNA 干渉法 (siRNA 法) で標的遺伝子をノックダウンするアプローチも、アメリカでは産官学のコンソーシアム形式で精力的に進められています。そこで、見出された興味深い表現型は当該遺伝子の機能と関連付けられ、早晩カタログ化されてパブリックドメインに発表されると考えられます。

ここで、日本として重要なことは、こだわりのあるスクリーニング系を用いて、こだわりのある化合物というのを、研究者あるいは研究班なりが見出して来れるかということかと考えます。申し上げたいことは、決して拠点研究を否定するわけではなく、拠点は拠点でやらなければならないところ、研究班は研究班でやらなければならないところのすみ分けをしっかりと行って、日本独自の成果を目指すべきであるということです。セントライゼーションとローライゼーションのバランスをとりながらファンディングしていくことが今回のケミカルバイオロジー関連のプロジェクトの中でしっかりとなされ、その結果一つでも創薬につながるような種が見つければ、そこで使われる資金は全て回収されて尚お釣りが来るという話になると思います。

2 ワークショッププログラム

- ◆ 開催日 : 平成 19 年 9 月 10 日 (月) 9:30-17:30
- ◆ 開催場所: 研究開発戦略センター (CRDS) 2F 大会議室
<http://crds.jst.go.jp/jp/access.html>

総合司会: 川口哲 CRDS アソシエイトフェロー

趣旨説明 9:30-10:00

1. 挨拶

小川 智也 CRDS シニアフェロー

2. 趣旨説明

川口 哲 CRDS アソシエイトフェロー

セッション1 10:00-12:00

「低分子化合物による生体機能制御」とは—今なぜ他の研究領域より優先して本領域への投資が必要なのか—

話題提供: 長田裕之先生 (理研)、石原雄二先生 (武田薬品)

【昼食】

セッション2 13:00-16:00

重要な研究開発課題—どのような研究課題に投資すべきか—

話題提供: 大和隆志先生 (エーザイ)、吉田稔先生 (理研)、加藤秀之先生 (中外製薬)、萩原正敏先生 (医科歯科大)、上杉志成先生 (京大)、中島秀典先生 (アステラス製薬)

セッション3 16:00-17:00

推進方策—誰が、どのような規模で、いかにして行うのが最も効果的か—

話題提供: 夏目徹先生 (産総研)、大和隆志先生 (エーザイ)

まとめ 17:00-17:30

ワークショップの成果の確認

3 参加者一覧

コーディネータ	杉浦 幸雄	同志社女子大学 薬学部
	石原 雄二	武田薬品工業(株) 医薬研究本部 化学研究所
	上杉 志成	京都大学 化学研究所
	上村 大輔	名古屋大学大学院 理学研究科
	梅澤 一夫	慶應義塾大学 理工学部
	大和 隆志	エーザイ(株) 創薬研究所
	長田 裕之	理化学研究所 中央研究所
	加藤 秀之	中外製薬(株) 創薬資源研究所
	菊地 和也	大阪大学大学院 工学研究科
	北浦 良彦	理化学研究所
	柴崎 正勝	東京大学大学院 薬学系研究科
	高柳 輝夫	第一三共(株)
	寺西 豊	京都大学「医学領域」産学連携推進機構
	中島 秀典	アステラス製薬(株) 醣酵研究所
	夏目 徹	産業技術総合研究所生物情報解析研究センター
	萩原 正敏	東京医科歯科大学大学院 疾患生命科学部
	福山 透	東京大学大学院 薬学系研究科
	吉田 稔	理化学研究所 中央研究所

五十音順、敬称略

以上

科学技術の未来を展望する戦略ワークショップ

**「低分子化合物による生体機能制御」
報告書**

CRDS-FY2007-WR-11

独立行政法人 科学技術振興機構 研究開発戦略センター

江口グループ・田中グループ

平成19年12月

〒102-0884 東京都千代田区二番町3番地

電話 03 (5214) 7481

ファクス 03 (5214) 7385

<http://crds.jst.go.jp/>

平成19年12月

©2007 JST/CRDS

許可なく複写・複製することを禁じます。
引用を行う際は、必ず出典を記述願います。

