

2008年4月22日
第1回J-PARC利用懇談会

J-PARC利用への期待

エーザイ株式会社
創薬研究本部
川上善之

新薬の発見

1 偶然の発見

- ペニシリン：世紀の発見
- 副作用を主作用へ

2 天然資源からの発見

- 抗生物質
- 抗ガン剤

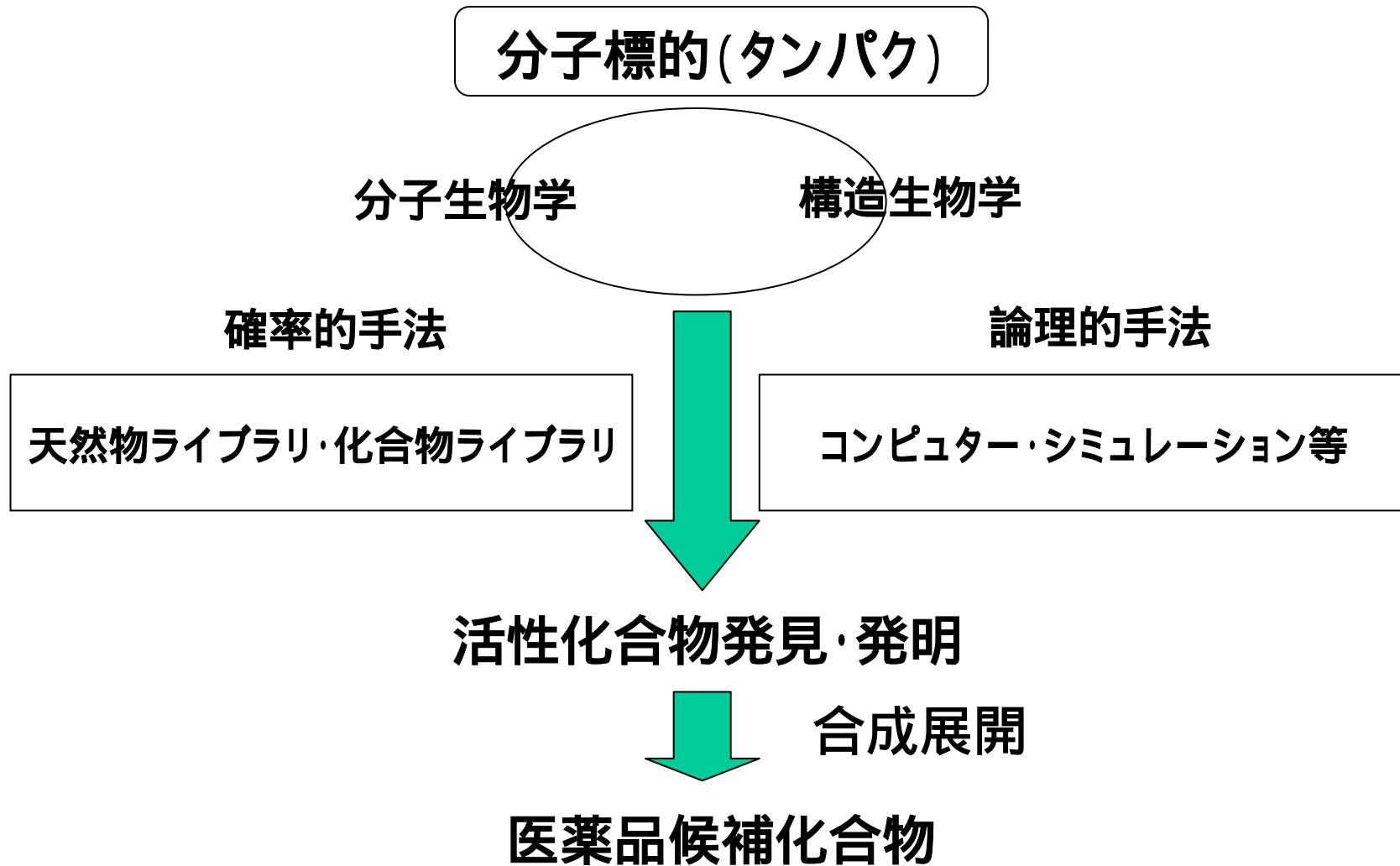
3 HTS(多検体薬効評価選別)からの発見

入手しうる全化合物について広範囲にわたる種々の生物学的
活性評価を行い生物活性物質を見出す方法(数十万から数百万化合物)

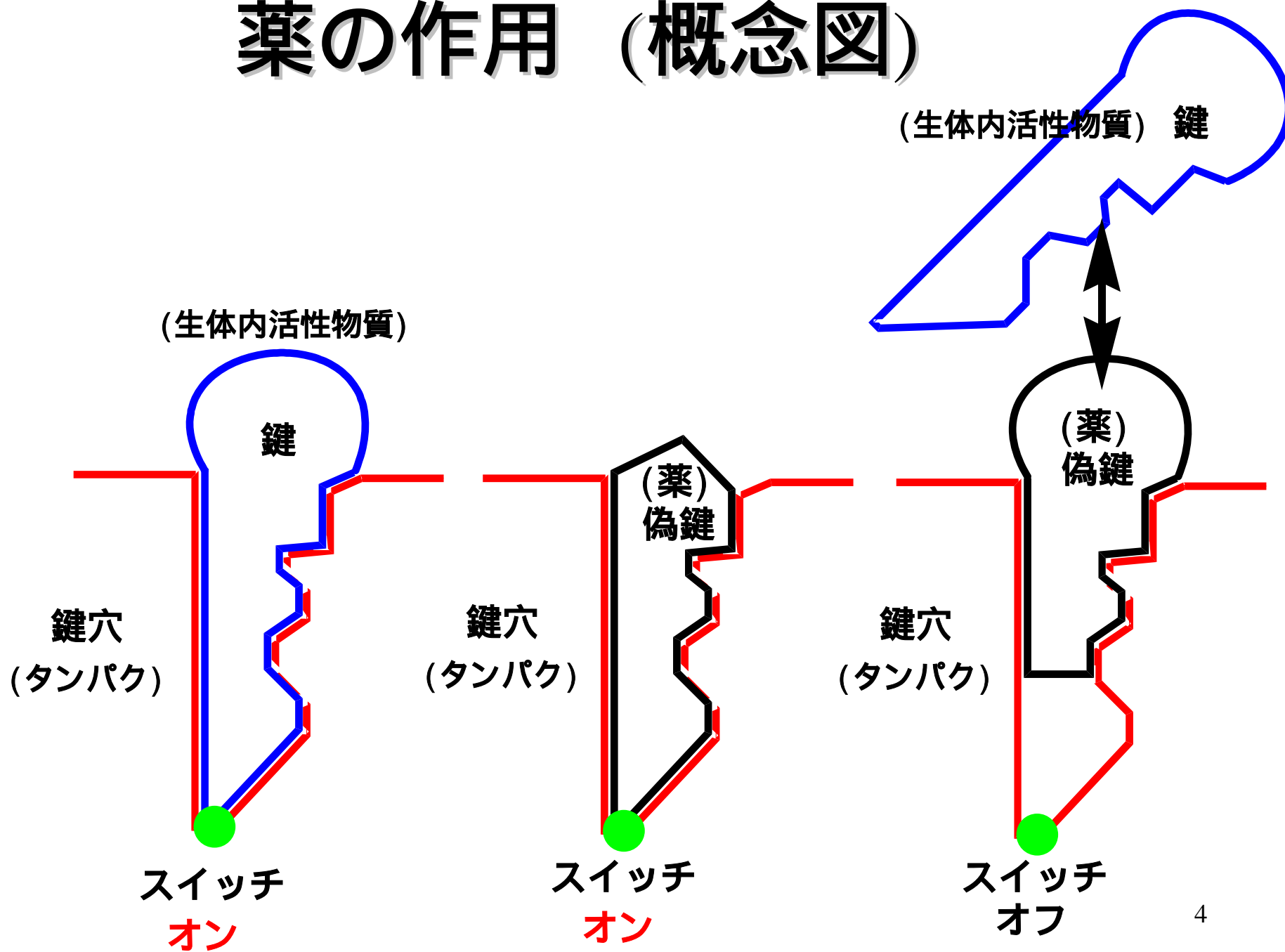
4 既知医薬品の分子変換および分子修飾法

- 単純化、組み合わせ、結合、大きさと動き
- 生物学的等配性、反応性、立体化学

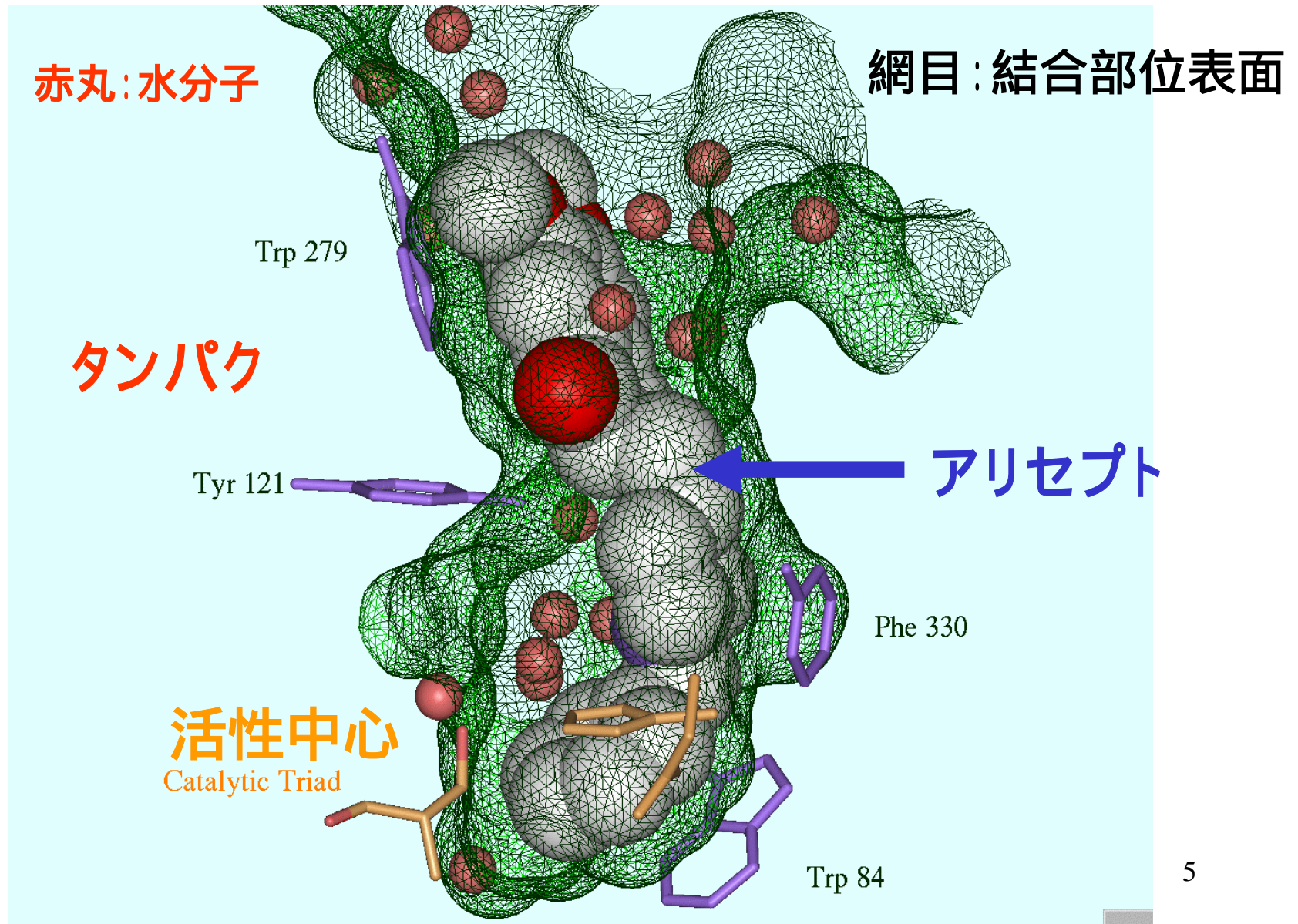
新薬発明の現状



薬の作用 (概念図)



X線結晶構造解析により明らかにされたアリセプトのアセチルコリンエステラーゼ活性部位への結合



タンパクの立体構造の解析

■なぜタンパクの構造解析か？

薬は、病気の原因となっているタンパクに働きかけることで効果を発揮。

つまり、薬と、その標的となるタンパクは、鍵と鍵穴の関係。

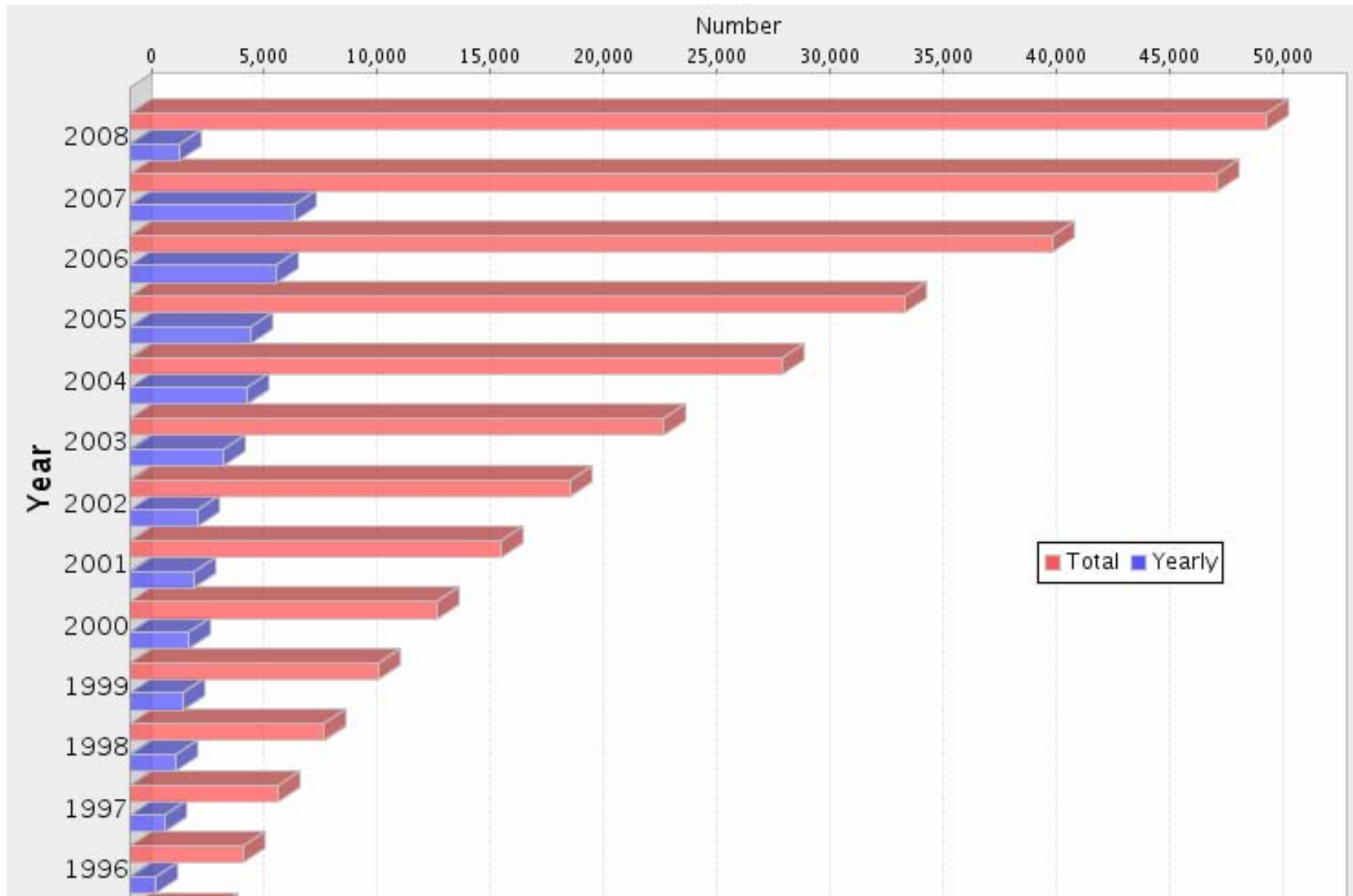
■創薬への利用

鍵穴(標的タンパク)の構造が分かれば
鍵の複製(薬物分子設計)ができる。

創薬の確度やスピードの向上に寄与

タンパク構造解析数の伸び

2008年4月15日現在



エーザイの放射光施設利用の歴史

高エネ研フotonファクトリー 坂部PJ、つくば共同体

- 1994 筑波大TARA坂部プロジェクト申請
- 1995 筑波大TARA坂部プロジェクト発足
参加企業14社、代表 坂部知平先生
- 1996 専用ビームライン完成 120時間/年/社
- 1999 構造生物坂部プロジェクトに名称変更
- 2006 つくば構造生物産業利用推進共同体(つくば共同体)
に発展 (代表:若槻壮市先生)

SPring-8 製薬協蛋白コンソ

- 1999 SPring-8構造生物産業応用研究会発足
- 2001 製薬協蛋白質構造解析コンソーシアム(蛋白コンソ)発足
参加企業:日本製薬工業協会所属22社
- 2002 専用ビームライン完成(利用時間:144時間/年/社)⁸

創薬における構造生物学

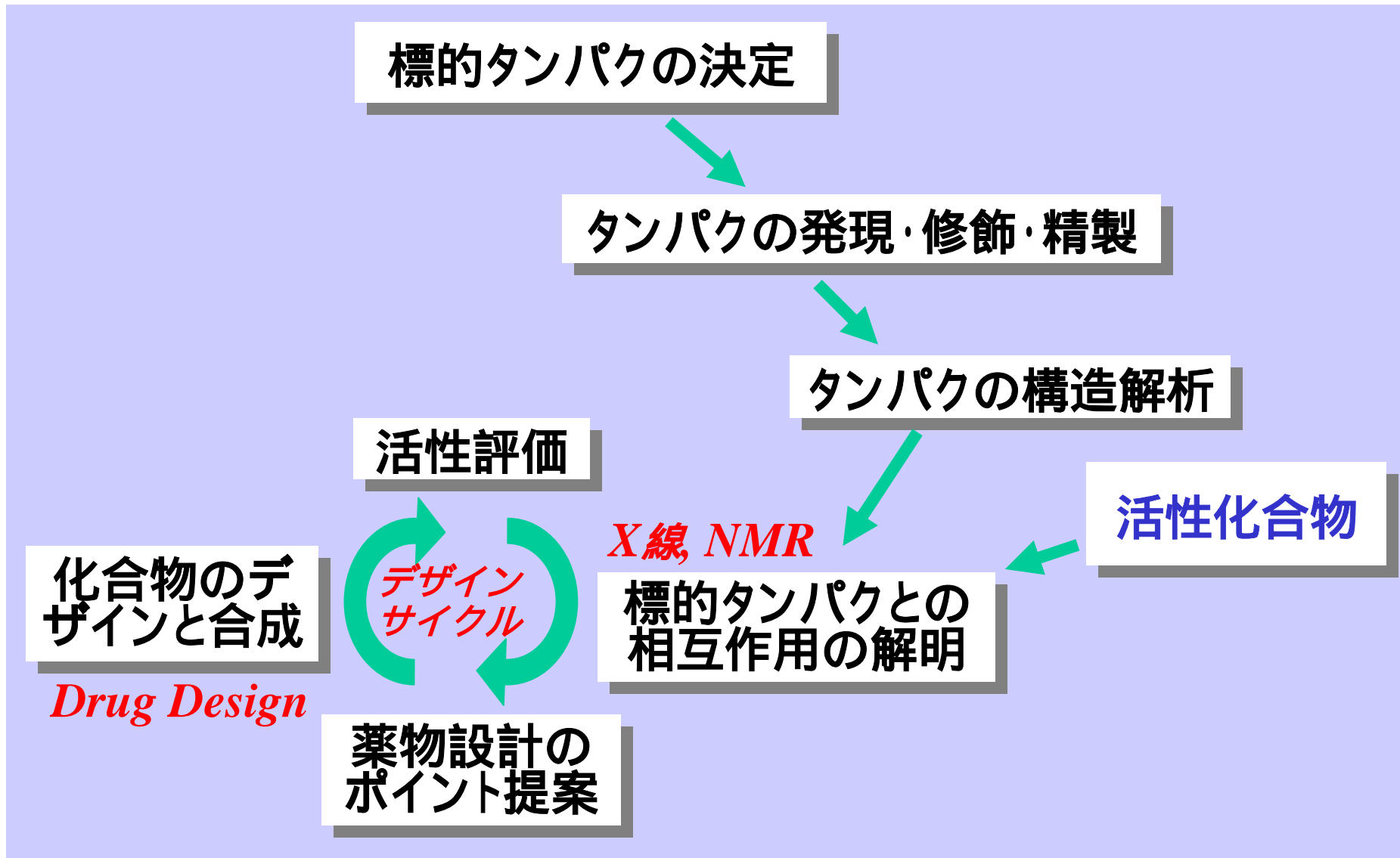
- ・ **SBDD** (Structure-Based Drug Design) アプローチ
タンパク (鍵穴) の構造解析を行い、薬 (偽鍵) の分子を設計する方法。

標的タンパクと薬物の複合体結晶構造解析を利用
分子標的医薬 例: グリベック (抗がん剤)
タミフル (抗インフルエンザ)
など

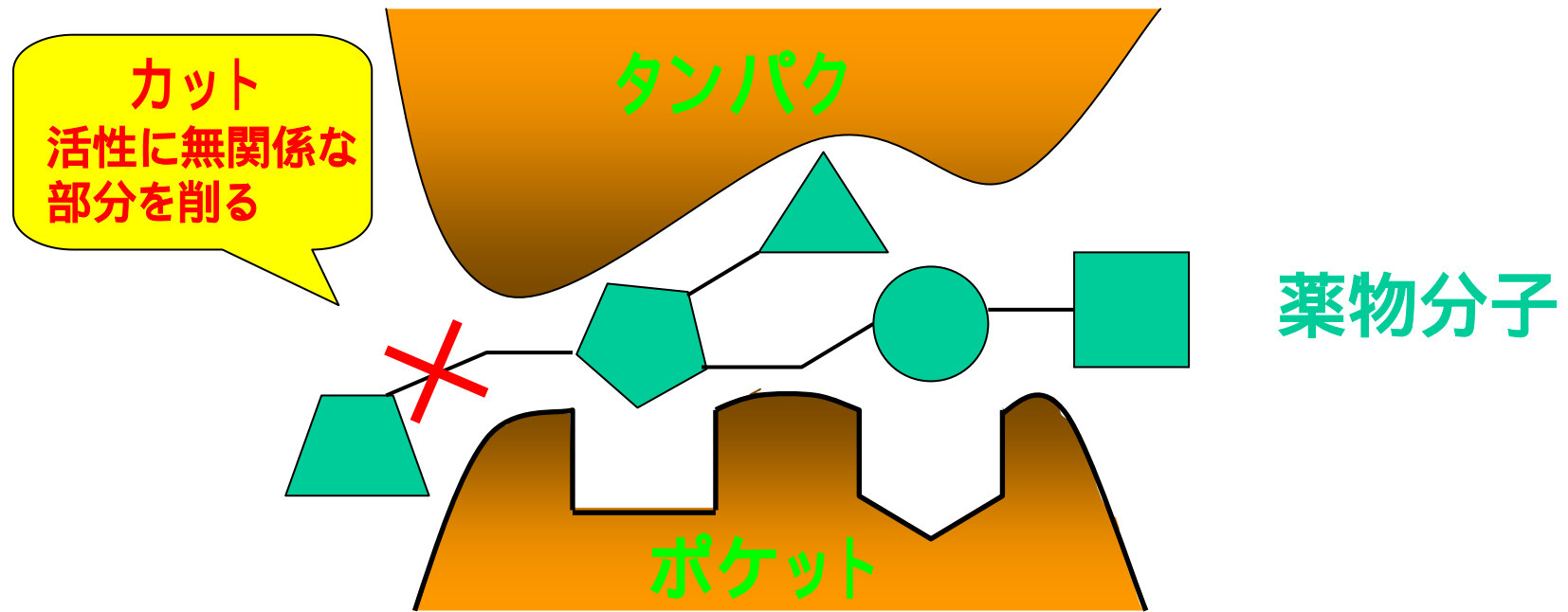
SBDDにより開発された医薬品

Inhibitor/Drug	Disease	Company	Protein targeted	Enzyme Family
STI-571/Gleevec	Chronic Myeloid Leukemia	Novartis	c-Abl kinase	Tyrosine kinase
Fluoroquinolone/Ciprofloxacin	Bacterial infection	Bayer	Gyrase	ATP Hydrolase
Saquinavir/Invirase Ritonavir/Norvir Indinavir/ Crixivan Nelfinavir/Viracept Amprenavir/Agenerase, Fosamprenavir/Lexiva,	AIDS	Roche Abbott Agouron Merck Vertex/GSK	HIV-1 Protease	Aspartylprotease
Trusopt	Glaucoma	Merck	Carbonic anhydrase	Lyase
Thymitaq	Cancer	Agouron	Thymidylate synthase	Methyl transferase
Celecoxib/Celebrex Rofecoxib/Vioxx	Inflammation, Rheumatoid arthritis	Searle Merck	Cox-2	Oxidoreductase
AG3340/Prinomastat	Cancer	Agouron	Matrix metalloprotease	Metalloprotease
Oseltamivir phosphate/Tamiflu, Zanamivir/Relenza	Influenza	Roche	Neuraminidase	Glycosidase

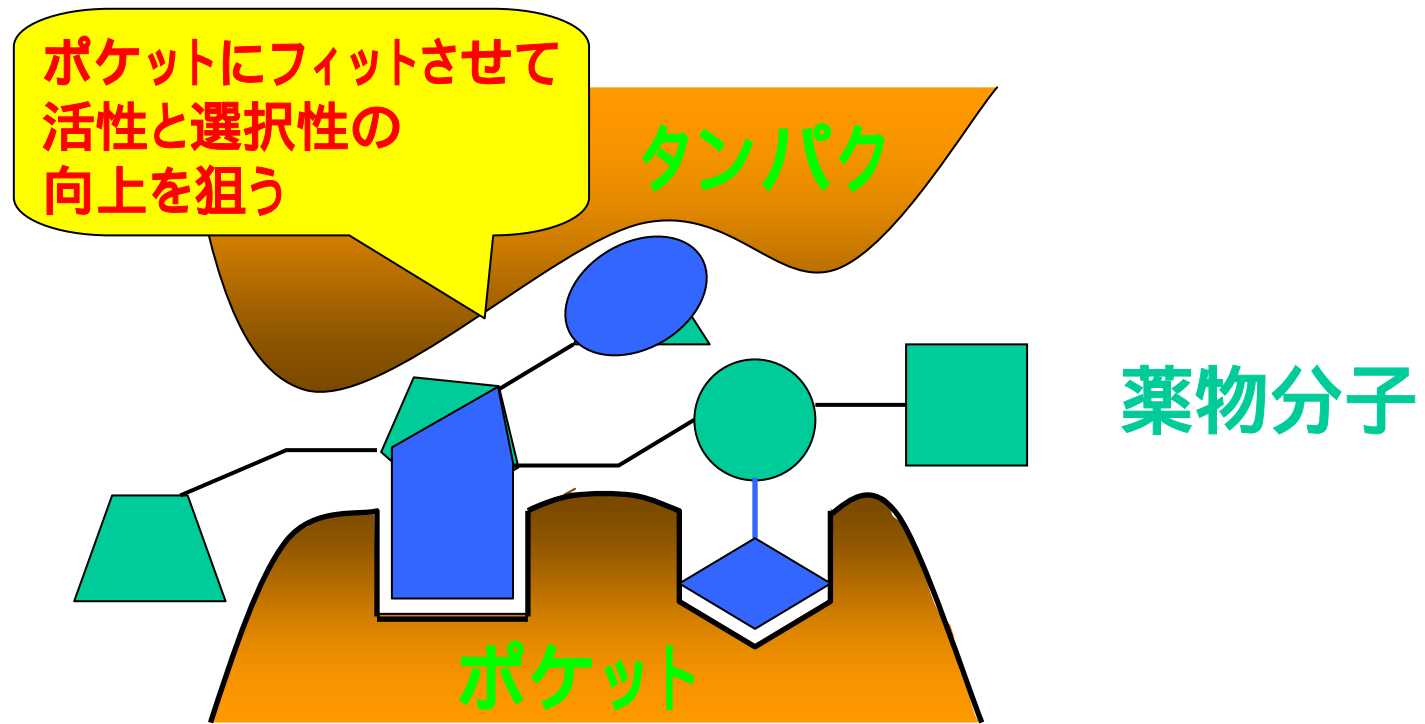
SBDDアプローチとは？



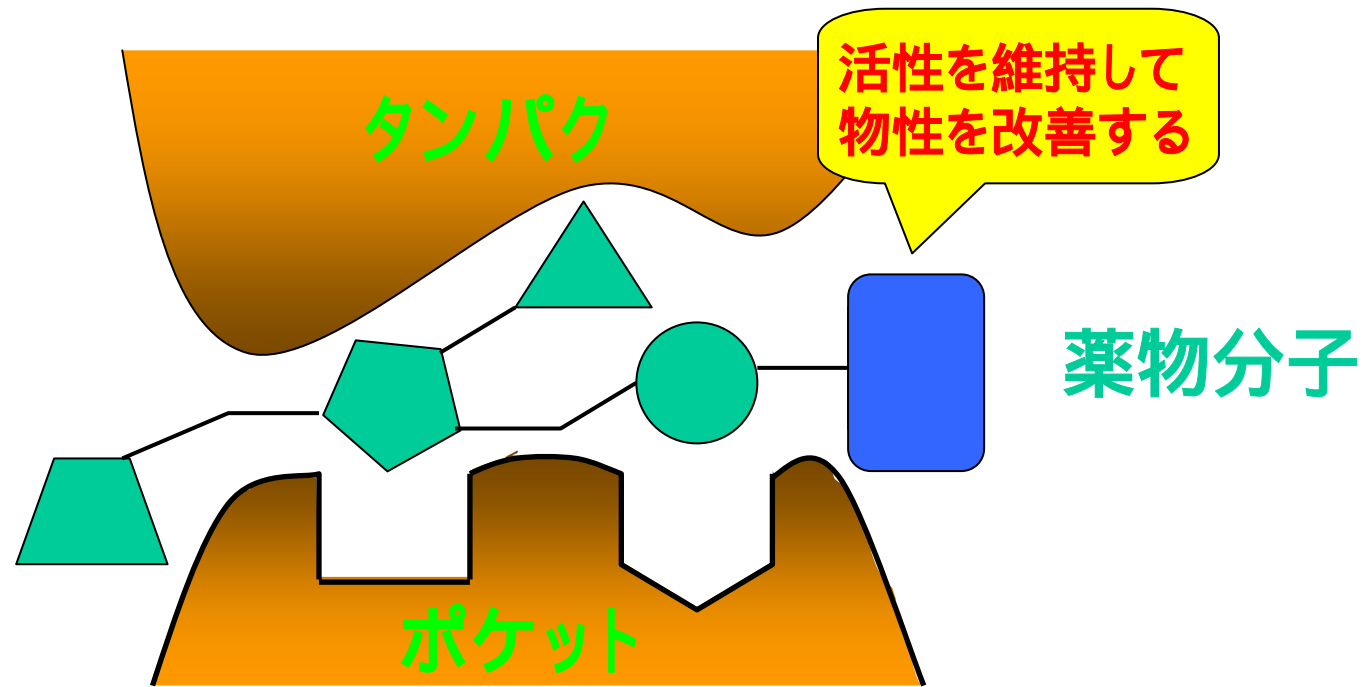
SBDDのポイント 1



SBDDのポイント 2

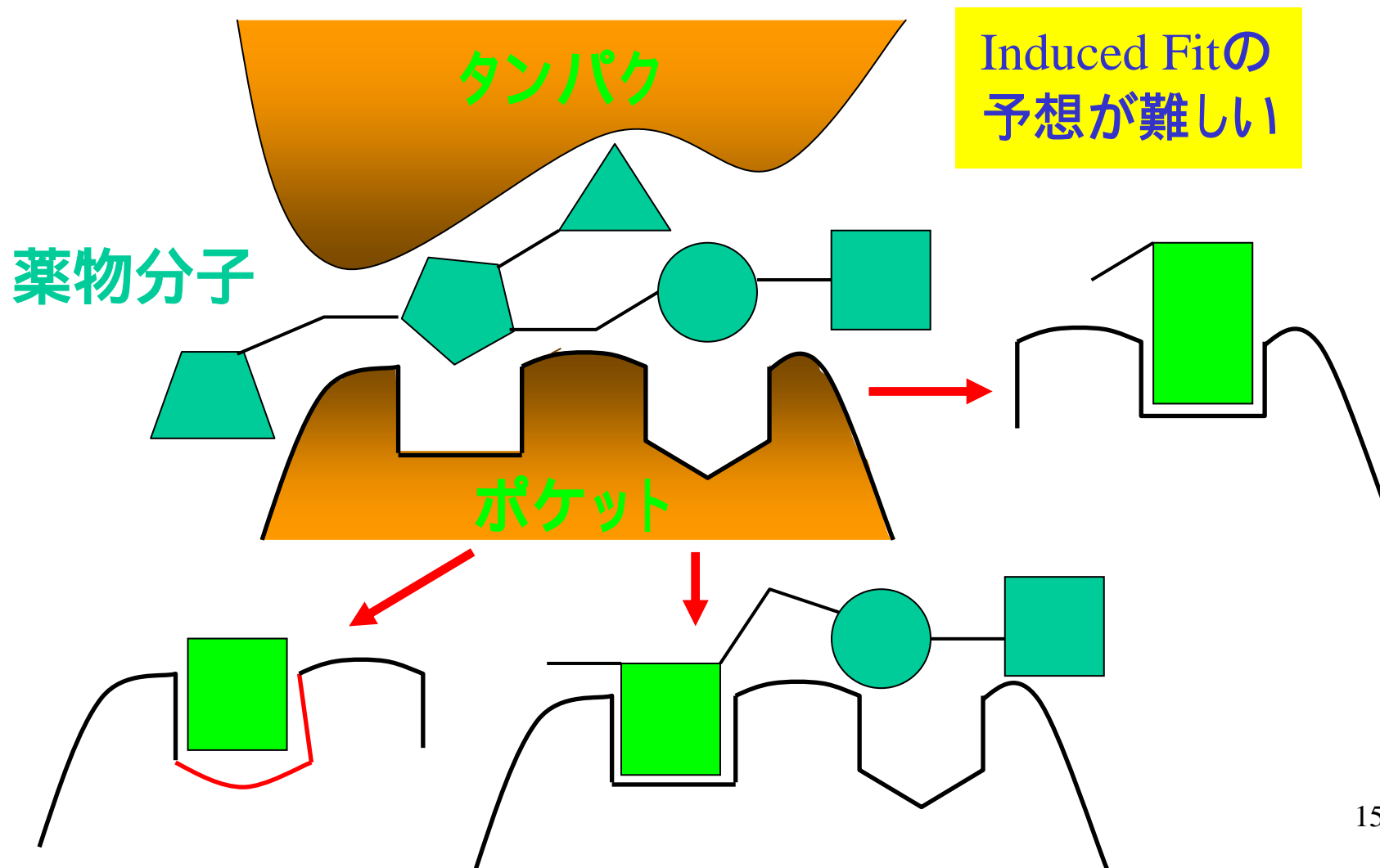


SBDDのポイント 3



SBDDのポイント 4

必ずしもうまくいかない



私たちが目指しているもの

「物質特許を保有する医薬品の創出」

薬効だけでなく安全性(毒性、副作用、薬物相互作用など)を考慮。

S B D Dによって、原子レベルで正確に、薬物と標的タンパク(酵素、受容体など)との相互作用を解明。

ピンポイントの医薬分子設計

中性子回折に対する一般的な現状認識とは？

- 中性子回折による構造解析法もあるらしい。
- しかしながら、中性子回折で何がわかるのかといった基本的な情報を知る人が少ない。
つまり、**実用化されていない。**
- さらに問題は **線結晶構造解析アカデミア** の理解がない。

中性子回折とX線結晶構造解析

- 何が見えるか

中性子線：水素、炭素、窒素、酸素

線：炭素、窒素、酸素、硫黄ほか

- なぜ、水素原子が重要か

分子の形：分子構成原子のほぼ半分が水素

分子の電荷：酸性・アルカリ性 = 水素の脱着

アミド構造の平面性

中性子回折とX線結晶構造解析

中性子回折

原子核を観測

1mm角の結晶があればタンパク質に結合する全ての水と水素を決定することが出来る

測定時間がかかる(20日以上)

室温測定が可能

大強度陽子加速器を用いれば飛躍的にデータ収集効率が高まる(原理的には100倍あがるらしい)

X線結晶構造解析

電子分布を観測

50 μ m角の結晶があればタンパク質中の重元素(C,N,Oほか)を決定することが出来る

測定が早い(SP-8で10 - 30分)

低温測定(-150)中心

シミュレーション計算で予想できない蛋白質の構造変化が観測された。

中性子回折構造生物学は現在研究段階であり、
応用はこれからである。

中性子回折を利用しないのか？

- ・X線結晶構造解析で十分なのか!?

いいえ

- ・X線では、水素原子が観測されないので重要な相互作用に関する情報が得られない。
- ・タンパク質のX線結晶構造解析は、つくば高エネ研PFのビームタイムを企業ユーザに開放してはじめて振興した。
- ・中性子回折も使って見なければ分からない。企業がアカデミアと共同で使える環境を整えて開放して欲しい。

そうしなければ価値がわからない

線結晶構造解析 どう違うのか

- 水素以外の構造情報の差は？
- 水素が見えることで得られる新情報は？
- S B D Dの9割は 線結晶構造解析で間に合うという現実
- Crystallographyは 線が圧倒的成果を有す

中性子回折に期待すること

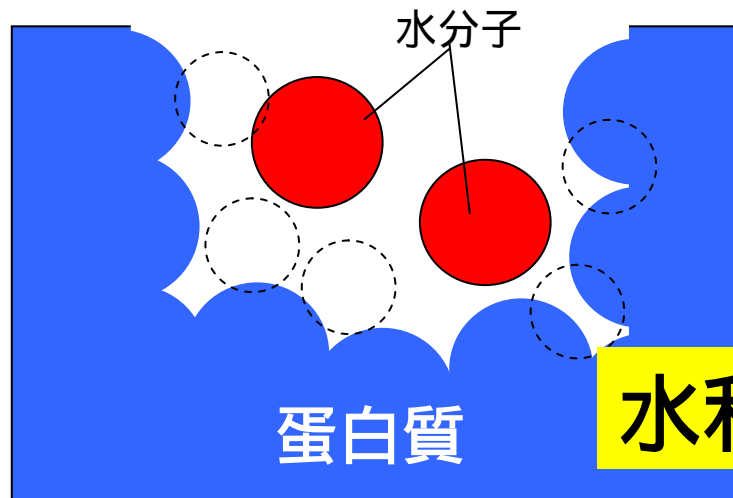
- 線結晶構造解析と相補的利用
水素・プロトンの観測、水構造の解析、水素を介した弱い相互作用の解析
- 酵素反応解析
- アミノ酸側鎖の精密構造と電荷状態解析
- 重要な創薬ターゲットのGPCR (市販薬の3分の1は GPCRが作用点) は膜タンパク質で良質な結晶が得られにくく、構造解析成功例が極めて少ないので、中性子回折で構造解析に挑戦
- 構造パラメータをMO、MM、MDなど計算科学の計算パラメータの精密化に利用
- 水素結合の理解: 低障壁分子内水素結合、対称的水素結合、親水性

新たな創薬研究への応用の可能性
があふれている

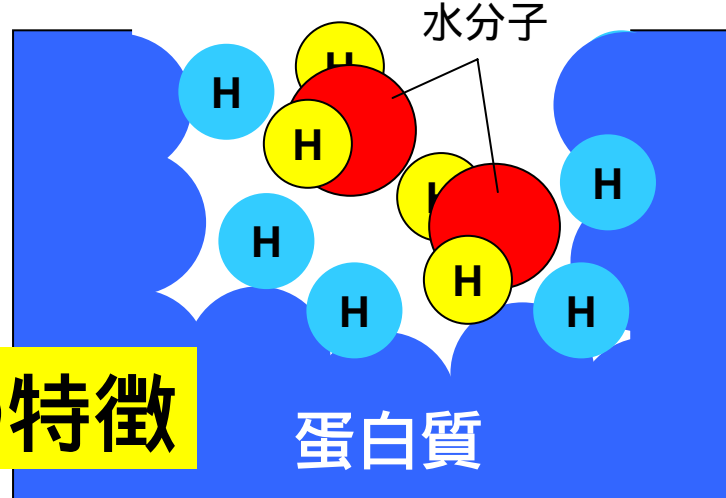
など

中性子解析で加わる重要な情報

水素情報が無い構造

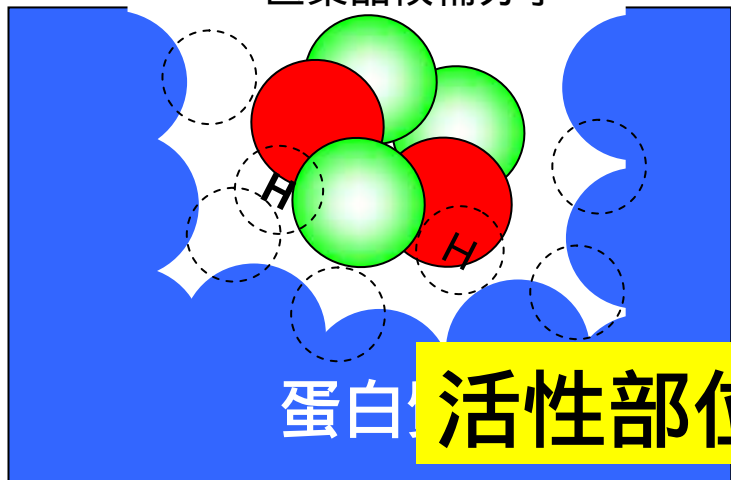


水素情報が加わった構造

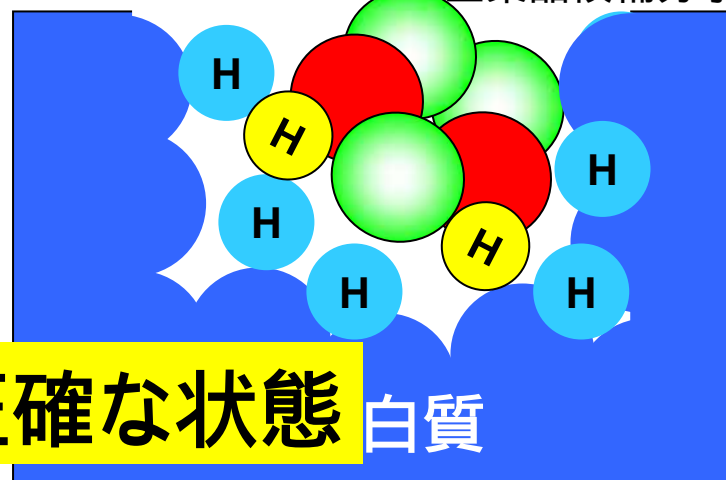


水和水の特徴

医薬品候補分子



医薬品候補分子

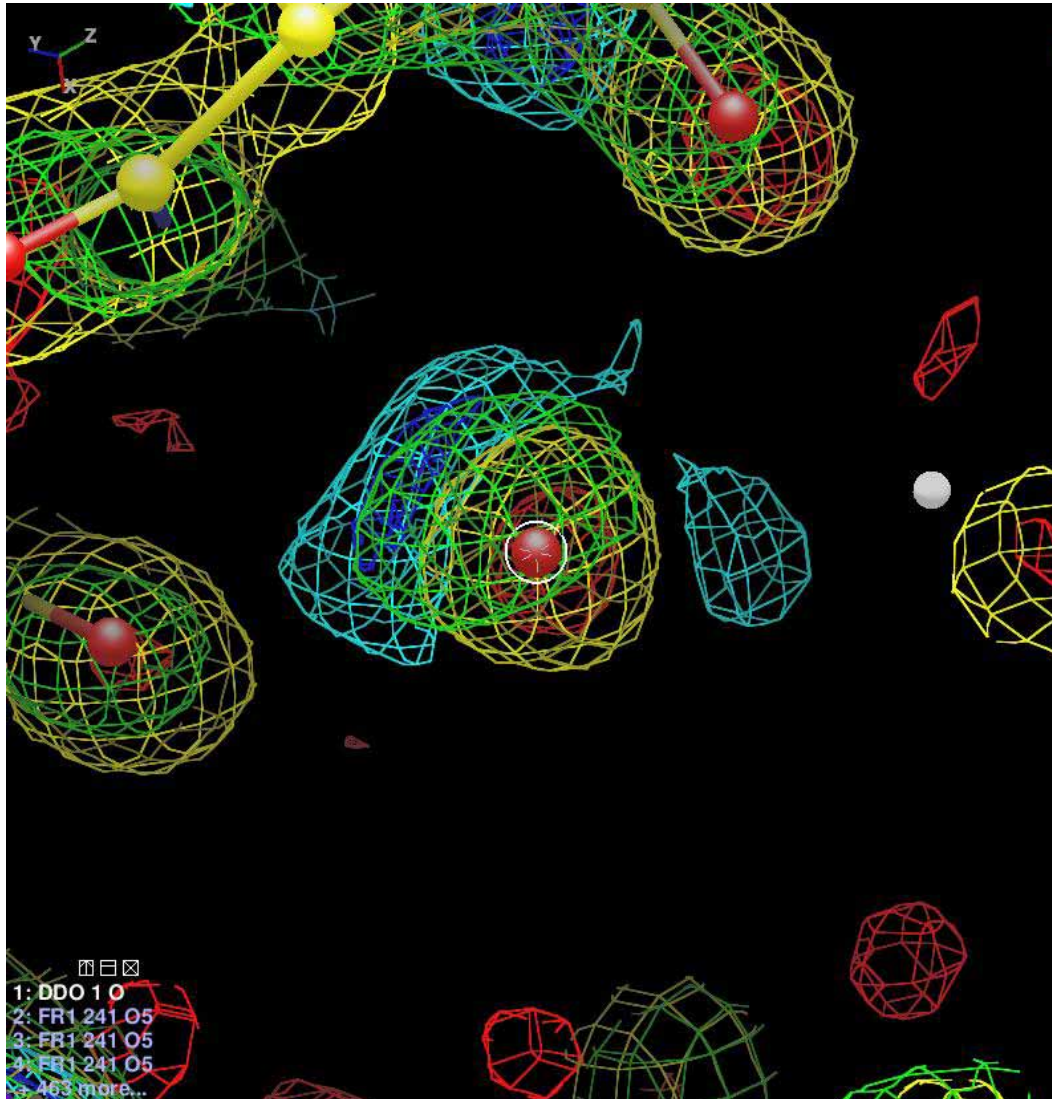


活性部位の正確な状態

X線は電子を観測(水素情報を得にくい)

中性子解析から水素情報が加わる場合

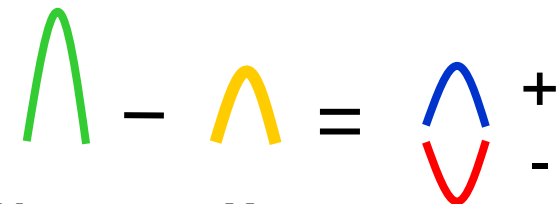
同一結晶を用いてX線と中性子の両方で観測した水分子



1) X線結晶構造およびその電子密度(黄色)

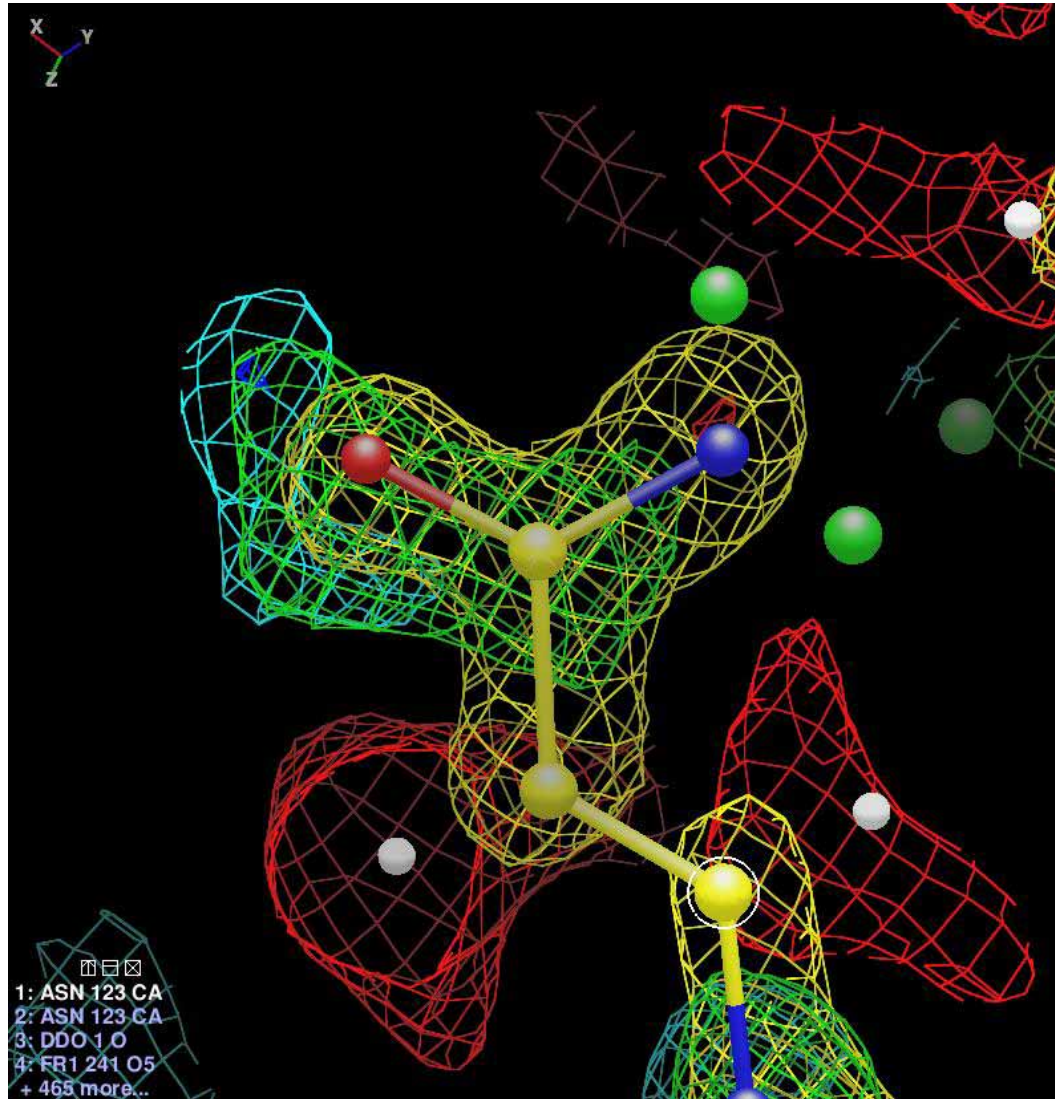
2) 中性子構造解析で観測した原子核密度(緑色)

3) 原子核密度(中性子)
- 電子密度(X線)
= 差分(青色+, 赤-)



Neutron - X-ray

同一結晶を用いてX線と中性子の両方で観測したAsn123



1) X線結晶構造およびその電子密度(黄色)

2) 中性子構造解析で観測した原子核密度(緑色)

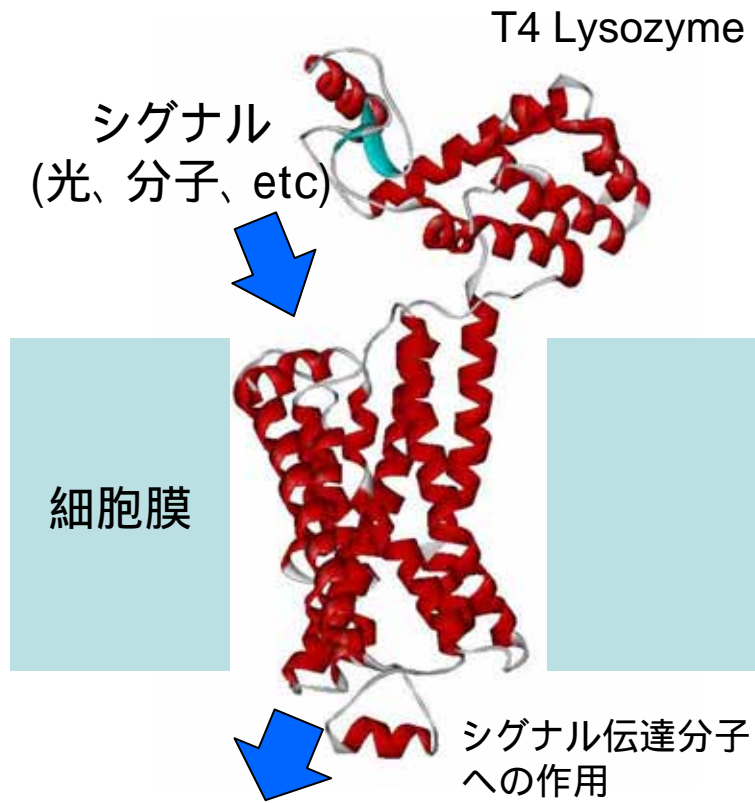
3) 原子核密度(中性子)
- 電子密度(X線)
= 差分(青色+, 赤-)



Neutron - X-ray

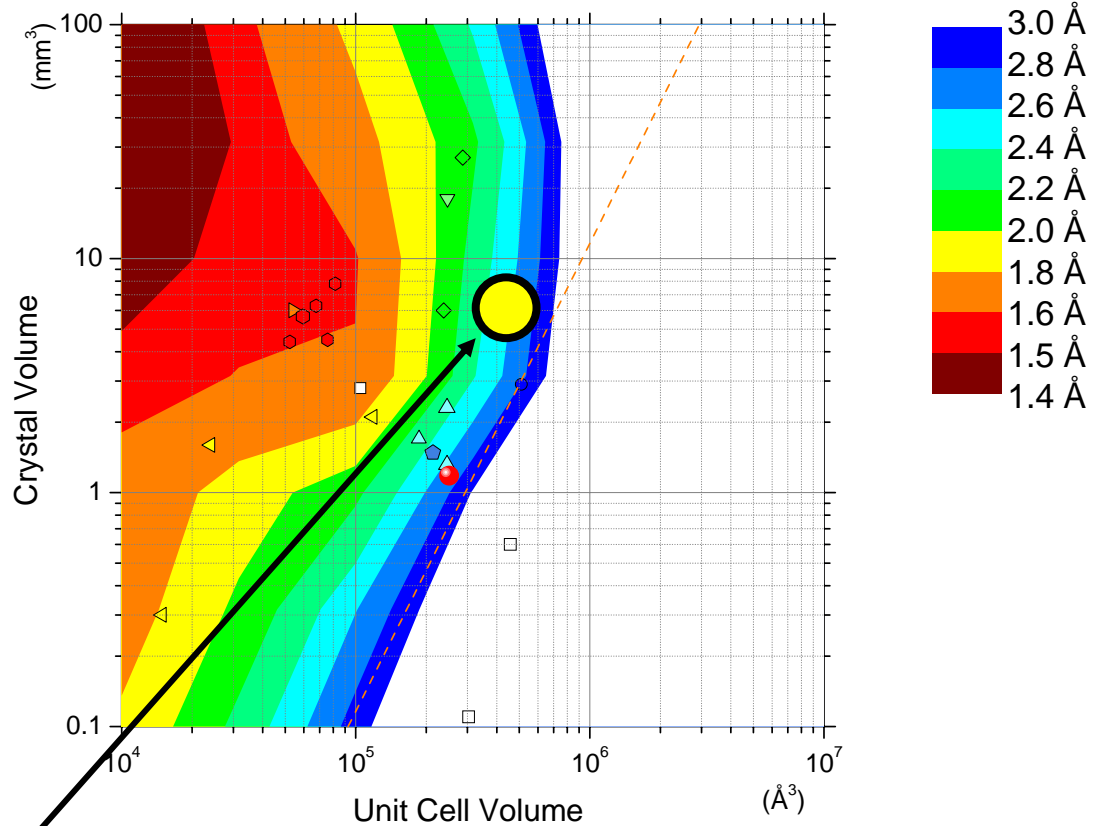
中性子で何を観測していくか？

膜タンパク質を介するシグナルの伝達機構の解明



human B2-adrenergic Receptor
Science (2007)
(PDB:2rh1)

C2, a=106.32, b=169.24, c=40.15



結晶を充分大きくすれば
GPCRも射程圏内

創薬プロセスでの応用が考えられること

- S B D Dで 線結晶構造解析と相補的利用
水素・プロトンの観測、電荷状態解析、酵素反応解析、水構造の解析
- 精密化された計算パラメータの利用による正確なシミュレーションの実行
- 医薬品原薬の固体物性分析
- 医薬品製剤の分析
- 重要な創薬ターゲットのGPCRの中性子回折による構造解析
- トライアルユースで利用したJRR3では十分な結果が得られなかったのでJ-PARCでの実験に期待

最後に

単なるハコの提供ではだめ
構造生物学研究の成果を示してほしい

J-PARCを使った実験が始まれば
何か新しいことが分かる
私は期待しています