解説

仮想スクリーニング技術の変遷

柿谷　均

近年医薬品の研究開発現場では，新規なリード化合物を見つける手段として，ハイスループットスクリーニング（high-throughput screening : HTS）とともに，標的タンパク質の構造に基づく分子設計（structure-based drug design : SBDD）が広く利用されるようになってきている．一時は両者のうちどちらがより有用かといった議論がなされたが，現在では互いに補い合うものとして認識されており，ひとつの創薬プロジェクトの中で，実験を主体とするHTSと計算を主体とするSBDDの両方を組み合わせて用いることが多くなっている．一般にHTSは多くの資源（人・費用・設備）を要するのに対して，SBDDは少数の専門家によって小規模になされる．20年前であれば，意味のある結果を出すために年間10億円の費用がかかると言われていたが，現在では百分の一以下の費用で，当時よりもはるかに意味のあるアウトプット（候補化合物）を見いだすことができる．これは第一には計算機の能力向上によるものであるが，第二にはタンパク質（および低分子化合物との複合体）の構造データベースの充実によるものであり，タンパク質の立体構造解析という基礎的で地道な作業が健康産業を支える社会インフラを形成したと言うことができる．また第三の要因として，計算プログラムの進化が挙げられる．プログラムの開発は計算機の能力やデータベースの充実度と不可分の関係にあり，ハードウェア（計算機）/ データベース（構造情報）/ ソフトウェア（プログラム）の三者が一体となってSBDDの発展を推し進めている．

SBDD が既存の化合物の性能を向上させる（lead optimization）ツールとして有用であることは広く認識されているが，まったく新しい骨格の化合物を見いだす（lead discovery）ことができるかどうかについては，長らく肯定的な見方と否定的な見方が交錯していた．タンパク質の構造情報と低分子化合物のデータベースを用いることで新しいリード化合物を見いだす（仮想スクリーニング，virtual screening : VS）という考えはすでに1970年代に提唱されていたが，その成果が目に見える形で示されてきたのは比較的最近のことである．純粋にVSだけで実用的な性能（活性）を持った化合物を見いだすことはできないまでも，VSが新しい化合物骨格のアイデアを与えたり，あるいは既存化合物の修飾や部分的な構造変換の指針を与えたりするケースはきわめて多い．2004年のNatureに報告された統計によると，VSで活性のある医薬候補物質を見いだす確率は，経験に頼った化合物スクリーニングを用いた場合と比べて100から1000倍であったという[1]．VS技術の進歩した今日においてその差ははるかに広がっているだろう．

VSを含めたSBDDが創薬に重要な役割を果たした医薬品の一例として，リレンザやタミフルのようなインフルエンザ治療薬（ノイラミニダーゼ阻害剤）が挙げられる．インフルエンザウイルスのノイラミニダーゼはその活性中心の構造がウイルスの型によらず比較的良く保存されていることから，標的タンパク質として好適である．リレンザとタミフル（の代謝活性体，本稿では単にタミフルと記載する）はともにノイラミニダーゼの基質結合ポケットに強く結合して酵素活性を阻害する．両化合物の構造は類似しており，実際に酵素との結合様式もよく似ていることが酵素 - 化合物複合体のX線構造解析で確かめられている．これだけだと話は簡単なのだが，新型インフルエンザ（H1N1）や高病原性トリインフルエンザ（H5N1）のウイルス表面にあるグループ1のノイラミニダーゼ（N1，N8など）は，その基質結合ポケットがグループ2のノイラミニダーゼ（N2，N9など）と比べて柔軟性が高く，阻害剤の結合によってゆっくりとした構造変化（オープンフォームからクローズドフォームへ）を起こすことが明らかになった[2]．阻害剤が結合していないオープンフォームにはクローズドフォームでは見られなかったくぼみ（150キャビティー）が基質結合ポケットの端に見いだされたことから，この部位を結合標的とした新たな阻害剤設計の可能性が広がった．その後N1型酵素の立体構造を用いたVSにより，150キャビティーに結合する新しい骨格の阻害剤が多数提案された[3]．かつてリレンザやタミフルの分子設計に用いられた標的タンパク質はグループ2のノイラミニダーゼで

著者紹介　（財）相模中央化学研究所（酵素工学グループリーダー），兼 東ソー株式会社東京研究所
E-mail: kakidaniscrc@sagami.or.jp

あったが，現在ではグループ1のノイラミニダーゼ（特にN1）が標的タンパク質として精力的に研究されており，さらにタミフル耐性になった変異型の酵素を構造解析して新たな薬剤開発につなげる動きも活発である．

上記の例が示すように，現在のSBDDはVSを含めてかつての静的なイメージから大きく変化している．薬効の評価/タンパク質の構造解析/化合物の設計/化合物の合成，にはそれぞれ別の専門性が必要であるが，これらを担当する部署の間での連携は緊密になっており，また必ずしもSBDDの専門家でない人たちがSBDDのツールを用いて新規な活性化合物を設計し，さらにその仮設を検証できるようになってきた．専門家でなくてもSBDDのツールを使ってVSを行い新規な活性化合物のアイデアを得ることができるという実例を，筆者の経験をもとに述べたい．

VSに必要なものは，①SBDDが行える計算機環境，②精度の高い標的タンパク質の立体構造情報，および③配座解析された低分子化合物の構造データベース，である．①のハードウェアとしては幾分ハイスペックのPCで十分である．ソフトウェアとしては市販のパッケージソフトがお薦めであるが，多くのSBDDツールがウェブ上で提供されており，非商業目的であれば自由にダウンロードして利用できる．②について言えば，タンパク質の構造解析を自ら手がけなくても，Protein Data Bank[4]で公開されている構造情報を用いることでさまざまなプロジェクトを立案することができる．特に大手企業が手を出さないオーファンドラッグはアカデミアベースの創薬が重要な領域である．③は最後のネックであったが，これもウェブからダウンロード可能な化合物データベースであるZINC[5]が登場し，状況が大きく変化した．

ドッキンプログラムとしては1980年代からさまざまなものが開発されてきているが，代表的なものとしてDOCK，AutoDock[6]，FlexX，GOLD[7]などを挙げることができる．このうちDOCKとAutoDockは非商業利用に限り無償でダウンロードできる．筆者らはまずAutoDockをダウンロードしてLinuxマシン上でコンパイルし，Windowsマシンとデータ共有することで快適なSBDD環境を立ち上げることができた．AutoDockは無償で利用できるドッキングソフトとして非常に有用であるが，複数の化合物ファイルを読み込めず，VSには対応していない．その後GOLDを購入して，精密ドッキングとVSに適した高速ドッキングの両方を行えるようにした．筆者らにとってVSを可能にしたのは上に述べたZINCの登場である．ZINCには3千万を超える数の配座解析された低分子化合物の構造データが収録されており，しかもそれらの大部分が購入可能であるため，計算でヒットした化合物の活性を容易に検証できる．GOLDとZINCの組み合せは費用対効果を考慮した場合，VSを行うのに最も適した選択肢のひとつであろう．

このようにVSを含めたSBDDツールを利用するハードルが低くなった結果，今後は医薬品の分子設計のみならず幅広い用途でSBDDの適用が拡大するだろう．たとえば農薬はそうしたことが期待される分野のひとつである．農薬は自然環境の中で使用されるため*in vitro*での酵素阻害活性とフィールド試験での薬効の相関性が低く，これまで研究開発においてSBDDは敬遠されがちであった．しかしながらリガンドベースの構造活性相関から新しい骨格を持った活性化合物が見いだされることは稀であり，SBDDは新しいアプローチとしての可能性を秘めている．筆者らはこうした観点から緑色植物の必須酵素である4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ（4-HPPD）を標的としたVSを行い，新たな化合物骨格を持った除草剤の可能性を提案した[8]．

医農薬以外でもタンパク質などの生体分子と特異的な相互作用を持つ低分子化合物は幅広い分野で要望されている．筆者らは近年，タンパク質の分離・分析における分子認識素子としての化合物設計に取り組んでおり，この目的でパッケージソフトMOEを使用している．MOEユーザーには3種類のドッキングソフトが提供されているが，筆者が主に使っているのは2008年に開発されたASEDock[9]である．ASEDockは低分子の結合可能サイトを予測し，特定のサイトあるいは全サイトに対する精密ドッキングを行う．ASEDockは精密ドッキングを目的として設計されているが，計算機の処理能力が高ければベンダーから提供される化合物データベースを読み込んでVSを行うことも可能である．なおMOEではタンパク質と化合物の相互作用（水素結合，イオン結合，π-π スタッキングなど）が二次元で図示されるなど直感的な理解を助けるツールが充実している．こうした利便性の高さはパッケージソフトならではのものであり，GOLDのような単機能ソフトと大きく異なる点である．

以上，筆者の経験を交えながら，VSおよびSBDDの変遷を紹介した．現在ではさまざまなツールが有償・無償で提供されており，目的や予算に応じて選択できる幅が広がったことを強調したい．本稿がこうした領域に興味を持っている初学者にとって理解の助けになれば幸いである．

文　献

1) Shoichet, B. K.: *Nature*, **432**, 862 (2004).
2) Russell, R. J. *et al.*: *Nature*, **443**, 45 (2006).
3) Cheng, L. S. *et al.*: *J. Med. Chem.*, **51**, 3878 (2008).
4) http://www.rcsb.org/
5) http://zinc.docking.org/
6) http://autodock.scripps.edu/
7) http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
8) 柿谷　均ら：玉川大学学術研究所紀要，**13**，19 (2007).
9) Goto, J. *et al.*: *J. Chem. Inf. Model*, **48**, 583 (2008).