

学位論文内容要旨

氏名 半田 耕一



題目 「薬物動態予測のための CYP 酵素阻害及び誘導に関する *in silico* 研究」

新薬開発の成功率は、最初の化合物合成の段階から考えて 0.01%以下と言われており、成功を収めるのは非常に困難である。毎年全世界で米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration, FDA) に承認される新薬の数は約 20 個であるが、画期的医薬品と呼ばれる、アンメットニーズを満たすようなものはたった 3 個か 4 個程度しか登場していない。また、一つの化合物の合成から新薬の上市に至るまでの期間は平均で約 13.5 年かかり、新薬を上市するまでのコストは平均で約 1 千 8 百億円と報告されている。さらに、多くの先進国では医療費抑制のため、現在国策としてジェネリック医薬品の導入を推奨しており、アメリカでは既に約 7 割がジェネリック医薬品の処方にとって代わられている。新薬の特許切れに伴う、ジェネリック医薬品の置換により、米国では 2010-2014 年度に約 10 兆円の売り上げが転換されると試算されている。これらのことから、今後画期的な新薬開発を成功させるには、開発期間の短縮及び開発コストの低減を目指した、研究開発の劇的な効率化が急務である。

新規医薬品の開発過程を考えると、順に化合物シード探索、リード化合物最適化、非臨床動物試験、臨床試験と続いて行くが、この過程の初期段階では、バーチャルスクリーニング、簡単な化合物合成及び *in vitro* 実験などが主に行われ、必要となるコストは比較的小さい。一方で、後期の段階になるとそれまでにかかったコストに加え、例えば臨床試験に必要なコストは莫大であるため、絶対に失敗できないような状況になって行く。したがって、新薬開発を効率的に行うには、初期段階での正しい研究判断が必要なのはもちろんであるが、現実には開発後期の臨床試験における失敗の例が数多く知られている。これについて、薬物動態の観点から見てみると、その原因として薬物による CYP (Cytochrome P450) 阻害、CYP 誘導及び CYP が持つ遺伝子多型への影響などが考えられ、FDA による非臨床薬物動態相互作用試験ガイダンスや ICH-E5 ガイドラインには、その回避またはそれに関する十分なデータの提示を求める旨が記載されている。これらによる新薬開発の失敗を防ぐには、研究開発の初期段階で薬物動態を考慮して候補化合物を正確に評価し、絞り込むことが重要である。研究の現場では *in vitro* 実験として、LogD 測定、タンパク質結合測定、ミクロソームまたは肝細胞を用いた薬物代謝に関する実験及び Caco-2 細胞または Parallel Artificial Membrane Permeability Assay を用いた膜透過性実験などが実施されているが、探索すべき化合物空間は膨大であるため、これら優れた実験系を用いても十分な数の化合物を評価し切れない。

そこで、本研究では *in silico* 創薬技術を活用して、まず (1) “薬物の CYP3A4 に対する阻害作用に関する *in silico* 研究”, 次に (2) “薬物の CYP3A4 に対する誘導作用に関する *in silico* 研究”, 最後に (3) “薬物の CYP2D6 の遺伝子多型に対する阻害作用に関する *in silico* 研究”を行い、創薬初期段階における医薬品候補化合物の薬物動態予測手法の確立を目指した。

(1) “薬物の CYP3A4 に対する阻害作用に関する *in silico* 研究”では、薬物による CYP3A4 阻害の定量的な予測を試みた。CYP3A4 はほとんどの医薬品の代謝に関与することが知られており、医薬品候補化合物がこの酵素の働きを阻害する場合、併用され得る既存の医薬品の薬物動態に大きな影響を与えるため、創薬初期段階において可能な限り CYP3A4 阻害活性を持つ化合物をスクリーンアウトすることが望まれる。しかしながら、CYP3A4 の基質結合部位は大きくかつ柔軟性に富んでいるため、様々な化学タイプの化合物の阻害活性を正確に予測することは難しく、これまでに有効な 3 次元定量的構造活性相関 (3D-QSAR) モデルは得られていない。そこで、この研究では分子ドッキングを用いた CYP3A4 阻害予測のための 3D-QSAR モデルの作成を目指した。本研究では、CYP3A4 阻害活性が定量されている複数の化合物を用いて Glide プログラムによるコンピュータドッキングを行い、評価関数として PMF スコアを用いることによって化合物アライメントを得た。この時、ドッキングには、大きく柔軟な基質結合部位を考慮して、Protein Data Bank に登録されている、複数のヒト CYP3A4 タンパク質を用いた。ドッキングによって得られた化合物アライメントを用いて、Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) を実施した。その結果、 q^2 値が 0.565、テストデータセットの r^2 値が 0.986 の統計的に妥当なモデルを得ることができた。これらの結果から、本研究において作成されたモデルを用いることによって、多種多様な構造を持った医薬品候補化合物群であっても、創薬の初期段階で CYP3A4 阻害を定量的に予測することが可能であると考えられた。

(2) “薬物の CYP3A4 に対する誘導作用に関する *in silico* 研究”では、薬物による Pregnane X receptor (PXR) の活性化を介した CYP3A4 誘導の定量的な予測を試みた。PXR はアゴニストによる活性化によって CYP3A4 などの代謝酵素や P-gp などの排出系トランスポーターの発現を誘導することが知られている。そのため、医薬品候補化合物が PXR を活性化する場合、併用され得る既存の医薬品の薬物動態に大きな影響をあたえるため、創薬初期段階において可能な限り PXR アゴニスト活性を持つ化合物をスクリーンアウトすることが望まれる。しかしながら、PXR の基質結合部位は柔軟性に富んでいるため、様々な化学タイプの化合物の CYP3A4 誘導活性を正確に予測することは難しく、これまでに有効な 3D-QSAR モデルは得られていない。そこで、この研究では分子ドッキングを用いた PXR 活性化による CYP3A4 誘導活性予測のための 3D-QSAR モデルの作成を目指した。本研究では、分子動力学 (Molecular Dynamics, MD) シミュレーションのトラジェクトリからサンプリングした PXR タンパク質構造に対して、

CYP3A4 誘導活性が定量されている複数のリガンドを Glide プログラムによってコンピュータドッキングし、結合自由エネルギーを表す Molecular Mechanics-Generalized Born/Surface Area (MM-GB/SA) スコアによって評価、選択されたりガンドアライメントを用いて CoMFA を実施した。作成された 3D-QSAR モデルによって予測された CYP3A4 誘導活性は、実験値と良く一致しており、 q^2 値及びテストデータセットの r^2 値はそれぞれ 0.518 及び 0.969 であった。また、化学構造が似ているにも関わらず、CYP3A4 誘導活性が異なる化合物群に関して、その要因をドッキングポーズと CoMFA 等高線から説明することが可能となった。これらの結果から、本研究で得られた 3D-QSAR モデルは多様な構造を持つ化合物の CYP3A4 誘導活性を予測することができ、このモデルを用いることによって、創薬の初期段階において新規な候補化合物の PXR 活性化による CYP3A4 誘導の評価を行うことができると考えられた。

(3) “薬物の CYP2D6 の遺伝子多型に対する阻害作用に関する *in silico* 研究”では、医薬品候補化合物の薬物動態に大きな影響を与える遺伝子多型に注目し、CYP の中でも特に多くの遺伝子多型を持つことが知られている CYP2D6 に対する薬物の阻害作用に焦点を当てた。CYP2D6.17 (自然変異体) は主にアフリカ系の人種に多く見られ、CYP2D6.1 (野生型) に比べて三つのアミノ酸残基の変異 (T107I/R296C/S486T) を持ち、CYP2D6.17 は CYP2D6.1 とは異なった、薬物による阻害活性を持つことが知られている。そこで、この研究ではまず、六つの薬物を用いて、MD シミュレーションのトラジェクトリからサンプリングした複数の CYP2D6.1 構造へ Glide プログラムによるコンピュータドッキングを行い、MM-GB/SA スコアを計算した。次に、薬物の CYP2D6.1 阻害を予測するため、MM-GB/SA スコアに基づく回帰分析を行った。用いた六つの薬物での回帰式による計算値は実験値とよく一致した (r^2 値: 0.81)。さらに、それら薬物の CYP2D6.17 阻害を CYP2D6.1 と同様の手法で解析した。これについても回帰式による計算値は実験値とよく一致した (r^2 値: 0.92)。また、本研究では、CYP2D6.1 と CYP2D6.17 とで薬物による阻害活性が異なる原因について、タンパク質 3 次元構造の違いによって推測することが可能となった。これらの結果から、本研究の計算手法を用いることによって、CYP2D6 が持つ遺伝子多型による医薬品候補化合物の薬物動態への影響を、創薬の初期段階で評価することができると考えられた。

最後に、本研究によって確立された (1)、(2)、(3) における計算モデルは、創薬の初期段階であっても、それぞれ医薬品候補化合物の CYP3A4 阻害、CYP3A4 誘導、CYP2D6 遺伝子多型に対する作用を正確に見積もり、その薬物動態予測を可能にするため、効率的な新薬研究開発の実現に大きく貢献するものと考えられる。