

インシリコスクリーニングと CADD による COVID-19 治療薬候補化合物の探索研究

○辻一徳¹

(¹ 分子機能研究所)

E-mail: motonori@molfuction.com

1. 背景と目的

新型コロナウイルス（重症急性呼吸器症候群-2 (SARS-CoV-2)）は COVID-19 の病原ウイルスとして同定された。SARS-CoV-2 はその強力な飛沫、接触、あるいは空気感染力により世界中に蔓延し、パンデミックを引き起こした。国内では、ワクチン接種が進んでいるが、本要旨執筆時において、最大感染者数を記録している第7波にあると推定され、変異ウイルスの蔓延もあり、第8波が懸念されている。COVID-19 に対して特例的に承認されている医薬品はいくつかあるが、いずれも効果が顕著ではなく、安全性にも問題点を抱えており、安全で経口投与可能な国産の特効薬が強く待ち望まれている。

演者はドラッグリポジショニングの観点から、承認薬から開発段階の医薬品を含む生物活性化合物データベース ChEMBL (約 200 万化合物) のインシリコスクリーニングにいち早く取り組み、2003 年の SARS ですでに実績のある SARS-CoV-2 構成タンパクを標的とした世界初の大規模仮想スクリーニングを実施し、メインプロテアーゼ (M^{pro}) ホモダイマー、及び、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRp) :dsRNA 複合体を標的とした抗 SARS-CoV-2 薬の医薬品候補化合物リストをまとめて論文発表した[1,2]。発表した医薬品候補化合物は多岐の疾患に対する治療薬であり、抗菌剤、抗生物質、抗糖尿病薬、抗エストロゲン薬、抗感染症薬、抗炎症薬、抗腫瘍薬、心血管疾患薬、胃腸薬、抗エイズ薬、抗精神薬、抗アレルギー薬、抗ウイルス薬、抗高血圧薬などが含まれていた。特に、RdRp:dsRNA 複合体との構造ベースでのドッキングシミュレーションによるスクリーニングでは、すでにクライオ電子顕微鏡 (Cryo-EM) で報告されているレムデシビルやファビピラビルの実際の複合体構造を再現する結果となり、加えて、ペンシクロビルの複合体構造を予測することにも成功した。ヒットした医薬品以外の生物活性化合物は、M^{pro} に対しては主に非共有結合性の非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) と類似の構造的特徴を有しており、また、RdRp:dsRNA に対しては非共有結合性のメ

ジャーグループバインダーの特徴を有し、複製中の二本鎖 RNA の主溝にはまり込んで RNA 伸長を阻害する機構が示唆された。

現在、特例的に承認されている COVID-19 治療薬のほとんどが不可逆的阻害剤であり、標的生体高分子と共有結合することから、薬物動態と毒性の改善や副作用の軽減が課題として挙げられる。また、プラセボとの明らかな優位性も求められる。インシリコスクリーニングで得られたヒット医薬品や生物活性化合物は非共有結合性化合物であり、SARS-CoV-2 ウイルス複製増殖抑制効果がウェット実験で確認できれば、薬物動態を改善するための有効な手掛かりとなり、安全で効果の高い COVID-19 治療薬開発に結び付くと期待される。

CADD によるドラッグデザインについても、電子相関 MP2 レベルでの QM/MM ONIOM 構造最適化計算、振動解析による標準温度気圧 (STP) 下気体状態での結合自由エネルギー計算、フラグメント分子軌道法 (FMO) での全系量子化学計算一点計算のサイクルにより、世界最高水準のコンピュータシミュレーションによる一連の解析を行い、薬物動態改善のための分子設計に関する方法論を展開した[1]。

さらに、演者はサイトカインストームに着目し、核内受容体リガンドにフォーカスしたライブラリーを用い、SARS-CoV-2 構成タンパク M^{pro} 及び宿主感染経路の標的タンパク、すなわち、アンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2)、及び、II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2) をターゲットとしたバーチャルスクリーニングと FMO によるインターフラグメント相互作用エネルギー (IFIE) 解析により、有望骨格を絞り込んだ。ACE2 は活性中心に亜鉛を含むメタロプロテアーゼで、阻害剤と結合することでクローズドコンフォメーションを採用し、SARS-CoV-2 スパイク糖タンパク質の受容体結合ドメイン (RBD) が結合できなくなることが早くから知られている。また、TMPRSS2 はスパイク糖タンパク質の S2 ドメインを切断し、宿主細胞へのウイルス侵入を許すが、TMPRSS2 阻害剤はこれを阻害する。これら標的タンパク阻害活性に加え、核内受容体を介した遺

伝子転写レベルでの炎症や免疫機能改善効果が認められれば、COVID-19 に対する特効薬発見に結び付く成果が得られると期待される。本研究を先行研究として、2020 年度と 2021 年度には文部科学省共同利用・共同研究拠点プロジェクトとして採択され、一定の成果を上げているが、本発表では採択前の先行研究のインシリコ創薬についてのみ報告する。

加えて演者は、民間の研究機関と共同で、口腔内感染経路の宿主細胞標的タンパク ACE2、及び、TMPRSS2 を標的とした精密ドッキングシミュレーションを実施し、経験的結合自由エネルギーとウェット実験で得られている阻害活性に相関を見出した[3]。本発表では本研究についての報告も省略するので、詳細については引用文献 3 を参照していただきたい。

本講演では、上記 COVID-19 治療薬候補化合物の一連のインシリコ創薬研究について要点をいくつか報告する。

2. 方法

ドッキングシミュレーションに先立ち、標的生体高分子の立体構造は適切な鋳型または PDB に登録されている X 線結晶構造及び Cryo-EM 構造をもとに、演者が単独開発した Homology Modeling Professional for HyperChem (HMHC) を用いてホモロジーモデリングと精密モデリングで準備した[4]。バーチャルスクリーニングは rDock と AutoDock Vina プログラムを用い、演者が単独開発した Docking Study with HyperChem (DSHC) で管理しつつ、分散処理にて実施した[4]。rDock のスクリーニングで得られた複合体構造を初期構造として AutoDock Vina で再び精密ドッキングする 2 段階スクリーニングを行った。

MP2/6-31G レベルでの ONIOM 構造最適化計算と、最適化した構造の振動解析は HMHC が搭載する Gaussian インターフェイスを用いて Gaussian16 プログラムにて実施した。フラグメント分子軌道計算による全系量子化学計算は ABINIT-MP プログラムを用いて MP2/6-31G 及び HF/6-31G レベルでの一点計算にて実施した。IFIE 解析は BioStationViewer プログラムを用いて実施した。

3. 結果とまとめ

ChEMBL データベースを用いて M^{pro} ホモダイマーと RdRp:dsRNA 複合体構造を標的として 2 段階ドッキングシミュレーションによる大規模仮想スクリーニングを実施し、抗 SARS-CoV-2 薬候補化合物として既存医薬品と既知生物活性化合物を複数見出した。ヒットした医薬品は実験を再

現するドッキングモードを採用しており、また、予測にも成功した。宿主細胞感染経路 (図 1) に存在する標的タンパクをターゲットとしたフォーカスライブラリーのスクリーニングから有望骨格化合物を見出し、大学研究機関や民間研究機関との共同研究へと発展させた。

量子化学計算による新たなドラッグデザイン法を提案し、薬物動態や毒性を軽減した安全性と有効性の高い COVID-19 治療薬開発など、緊急性の高い疾患治療薬開発に応用可能であることを示した。

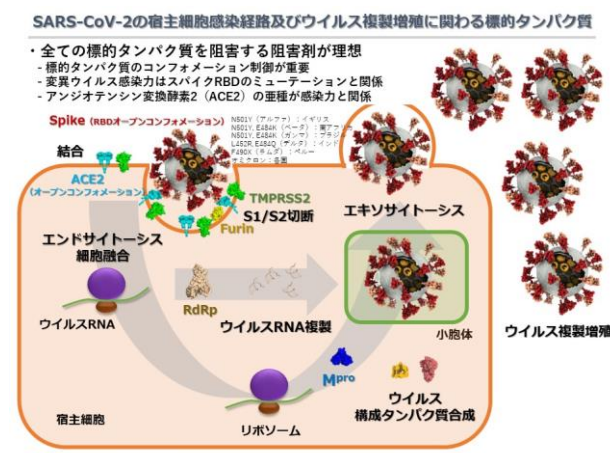


図-1 SARS-CoV-2 の宿主細胞感染経路及びウイルス複製増殖に関わる標的タンパク質

4. 謝辞

引用文献 1 の出版費は、東京大学名誉教授・国立医薬品食品衛生研究所名誉所長の首藤紘一先生からの個人的支援を受けました。ここに感謝申し上げますとともに、2021 年 7 月 7 日の首藤紘一先生のご逝去に際し、心から哀悼の意を表します。

MP2 レベルでの ONIOM 構造最適化計算と振動解析は米 Gaussian 社から無償提供していただいた Gaussian16 プログラムを用いて実施しました。ここに感謝申し上げます。

演者が単独開発した DSHC と HMHC を実行するにあたり、米 Hypercube 社からサイトライセンス版 HyperChem を無償提供していただきました。ここに感謝申し上げます。

5. 参考文献

1. Tsuji M. *Int. J. Mol. Sci.* **23**, 11009 (2022)
2. Tsuji M. *FEBS Open bio* **10**, 995-1004 (2020)
3. Tateyama-Makino R., Abe-Yutori M., Iwamoto T., Tsutsumi K., Tsuji M., Morishita S., Kurita K., Yamamoto Y., Nishinaga E., Tsukinoki K. *PLoS ONE* **16**, e0257705 (2021)
4. 辻一徳. *Mol.Sci.* **1**, NP004 (2007)