

日本医療研究開発機構 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 事後評価報告書

公開

I 基本情報

補助事業課題名：（日本語）創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業
（プログラム名）（英語）Platform Project for Supporting Drug Discovery and Life Science Research

実施期間：平成29年4月1日～令和4年3月31日

補助事業担当者 氏名：（日本語）前仲勝実
（英語）Katsumi Maenaka

補助事業担当者 所属機関・部署・役職：
（日本語）国立大学法人北海道大学・大学院薬学研究院・教授
（英語）Hokkaido University・Faculty of Pharmaceutical Sciences・Professor

II 補助事業の概要

「化合物ライブラリーを活用した創薬等最先端研究・教育基盤の整備」及び「創薬等支援技術基盤プラットフォーム（PDIS）」の約5年間強の支援活動によって、シームレスかつ総合的な創薬研究技術や機器解放などにより支援環境を整備し、オリジナリティーの高い実践的創薬研究を行い、医薬品候補品の企業導出やベンチャー企業設立までの成果を上げてきた。他方、創薬支援・開発研究から創薬への課題が見つかると同時に、ライブラリー使用による広範なライフサイエンス研究への貢献の重要性がわかってきた。これらの課題解決及び研究進展には、さらなる最先端技術開発の必要がある。そこで、本課題では、創薬ターゲットタンパク質の構造解析や *in silico* スクリーニングも行うことのできる特徴を活かしたライブラリースクリーニング拠点として、主に難治性疾患や新興再興感染症等を対象に、製薬企業で実施が難しい最先端基礎研究の成果に基づくアカデミア発創薬を目指した。

本課題では、継続して北海道内外の創薬シーズの発掘から前臨床までの創薬ステージを北海道大学の医薬関連部局、北大病院や産学・地域協働推進機構等が主体となる医療・創薬科学プラットフォームと連携し、創薬シーズの発掘を行い、北大有機合成系研究者が提供する“特色のある”化合物ライブラリ

一、承認薬+承認薬以外の薬理活性化合物を収集した既存薬ライブラリーを整備し、両方を合わせて北大ライブラリーとして管理運用を行うとともに、本事業のユニット間で共同研究として利用可能なライブラリー（東大創薬機構、北里大学、長崎大学、阪大など）を用い、培養細胞アッセイ系だけでなく物理化学的測定や *in silico* による広範な化合物スクリーニング支援を行うことを目指した。この北大ライブラリーは、前事業の PDIS 期間も追加し、現在までに 1 万化合物を超える化合物ライブラリーとして整備され、特に天然物や核酸化合物を有する化合物ライブラリーとして非常に注目を集めている。ヒット化合物の有用性解析や創薬ターゲットタンパク質との共結晶構造解析、SBDD (Structure Based Drug Design) を用いた誘導体合成、効率的な最適化合成法開発など、支援・高度化をサイクルさせ、リード化合物の同定を実施した。さらに、培養細胞及び動物モデルを用いた薬効評価系の構築、臨床検体を用いた評価、前臨床動物実験を見据えた支援・高度化することで、特にがん、希少難治性疾患、ウイルスや細菌の新興再興感染症に対する治療薬の開発を進め、創薬イノベーションを加速することに成功した。特に、新型コロナウイルス感染症に関して AMED を中心とし、スクリーニング結果を本拠点が統括することで、迅速な創薬展開を行い、日本での COVID-19 創薬に関して尽力した。その過程で、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質およびメインプロテアーゼのタンパク質発現・精製法を確立し、スクリーニング支援を行なった。国立感染研の SARS-CoV-2 の増殖を阻害する低分子化合物の探索を支援した。ドラッグリポジショニングを期待し、北大ライブラリー中の市販薬をほぼ全て網羅する既存薬ライブラリーを複数のスクリーニング系で評価した。これらについては再現性試験とウイルス RNA 増殖阻害への影響を検証し論文化している。後述するクライオ電子顕微鏡を含む構造解析および物理化学的計測支援として、同様に国立感染研と共同研究を実施し SARS-CoV-2 交差性の高い抗体についての結合試験および構造解析支援を実施した。本課題での創薬研究支援は 52 テーマに上り、内 20 テーマを完了している。本拠点で実施している高度化創薬研究は 31 テーマになり、支援と並行して創薬推進を行なっている。

並行して PDIS から継続し創薬研究支援として、創薬機器 32 台の外部解放を行った。特に、北海道大学医学研究院、人獣共通感染症国際共同研究所、札幌医科大学などの継続利用している医療関連機関だけでなく、北海道科学大学（旧北海道薬科大学）や北海道医療大学からの利用者が増加した。また、北大基礎理学系研究院からは北海道大学理学研究院、生命科学院、農学研究院、工学研究院、電子科学研究所、獣医学部などのほぼ理系研究院を網羅する規模で装置の利用が行われ。また、新規道内アカデミアとしては帯広畜産大学、室蘭工業大学からも新たに解放機器の利用が促進されている。道外の大学や研究機関としては、産総研、東京大学、新潟大学、大阪大学、遺伝研、鳥取大学、熊本大学などからも機器利用および問い合わせがなされている。アカデミア外では、創薬企業だけでなく電機メーカーなどからも創薬研究・装置利用が促進され、道内ベンチャー企業からの利用、さらに北大発ベンチャー企業からの利用もなされている。現在までの利用者は累計 100 名を超え、本課題期間での利用件数はおよそ 12,000 件/72,000 時間となっている。

SBDD (Structure Based Drug Design) の精度向上のため、標的タンパク質及び化合物複合体の結晶構造解析を目指した低容量結晶化スクリーニングシステムを構築しており、上述のこれらの系を用いて標的タンパク質との結晶構造解析および共結晶構造解析を実施し、タンパク質構造の決定を行なった。タンパク質発現系構築に加えて、ライブラリー・スクリーニング領域において構造決定可能な拠点として、十分な結果を示した。NMR スペクトル解析を用いた構造解析研究では、X 線結晶構造解析が難しい標的タンパク質に対して、飽和移動差 NMR 法による標的タンパク質とヒット化合物の配光面の同定を行い、誘導体展開に方針を示すことに成功している。さらに、NMR スペクトル解析による滴定実験からは免疫受容体との結合ペプチドの結合部位同定を行い、X 線結晶構造解析では結晶のパッキングによる不都合な結合状態から、溶液中での実際の結合に重要な部位を明確にすることに成功した。さらに

FBDD (Fragment Based Drug Discovery) も行っており、同標的に対して結合化合物を用いた追い出し実験から、フラグメント化合物の結合部位の探索を行った。また、X線結晶構造解析を用いたFBDDでは、イギリスの放射光施設Diamondで行われている結晶を直接高濃度の化合物にソークし、全ての結晶について回折像を取得する方法により、化合物スクリーニングを実施した。また、複数の相互作用化合物との複合体結晶から、差異のある結晶を選別し相互作用化合物の同定、さらには結合部位、化合物の配向を検出する手法を用いて、化合物スクリーニングを行っており、現在までに複数の化合物が結合していることが明らかとしており、構造解析をベースとした創薬研究を遂行している。このような蛋白質の静的な構造だけでなく、動的な構造解析を行うため高速原子間力顕微鏡 (AFM) を導入し、ウイルス蛋白質の高次構造変化を観察した。

クライオ電子顕微鏡を用いた三次元立体構造解析技術の構築については、Oxford大学と研究協力体制を築き、特任助教を派遣することで技術交流を図った。また、国内では大阪大学蛋白質研究所との連携により、複数の標的タンパク質の構造を決定することに成功した。高エネルギー加速器研究機構に複数の研究者を派遣し、電子顕微鏡の技術交流を図った。300kVと200kVクライオ電子顕微鏡を立ち上げ、SARS-CoV-2のスパイクタンパク質およびその中和抗体や化合物との複合体を構造決定し、さらに、薬剤スクリーニングや、細胞検体の電子顕微鏡像解析を進めた。そのため、収束イオンビーム走査型電子顕微鏡や光・電子相関顕微鏡を導入し、電子顕微鏡用グリッド内での細胞切片作成および電子顕微鏡解析のトレーニングを実施している。200kVクライオ電子顕微鏡を含め、通常のタンパク質だけでなく、不活化SARS-CoV-2ウイルスの表面構造の電子顕微鏡解析や、上述した開発した癌幹細胞の細胞切片解析を実施しており、BSL3でのクライオ電子顕微鏡の本格的運用に向けて、技術の習熟に邁進している。

臨床研究への橋渡しとしては、北大臨床研究開発センターとメールおよび対面で会合し、病院等臨床現場に近い場所からの創薬シーズの発掘からシームレスな臨床研究までの創薬展開について随時情報共有をする体制を整えており、北大全学として期待されるミッションとして臨床研究開発に向けて取り組んでいる。すでに北大病院の各科と連携をスタートしており、臨床サンプルを用いた取り組みも実施している。

The “Active utilization of chemical libraries in the establishment of advanced drug discovery and scientific training infrastructures” and “Platform for Drug Discovery, Informatics, and Structural Life Science” grants over the 5 years have supported us in setting up the ‘state of the art’ instruments necessary for chemical screening, and we have provided the expertise for drug discovery to novice users. We have successfully made progress on highly original research and consequently established two biotechnology ventures. Moreover, we have identified problems and bottlenecks in our studies on drug discovery and realized the importance of chemical library screening needed to help a wider community in life science research. Further development in advanced technologies is required to solve the problems and to facilitate our research progress. Our aim of this project is to build a library-screening platform for intractable diseases and infectious diseases. In order to achieve our proposal, we organized a “Platform for medical care and drug discovery” network, which is used to cooperate with related academic departments, pharmaceutical companies, Hokkaido University hospital and university operations–research industry. The collaborations promote all areas of the drug discovery stages from target discovery to preclinical work performed at Hokkaido University. We also developed a semi-automatic

preparation of a chemical library in order to construct a unique chemical library consisting of compounds developed by our organic chemists at Hokkaido University. In addition, we have supported and developed cell-based assay systems of various disease targets and provided a knowledge base for in silico screening and other assays. We have performed physicochemical analysis of hit compounds, co-crystal structure analysis of target proteins with drugs, derivative synthesis using SBDD/FBDD, and identification of lead compounds by developing efficient synthetic methods for hit compound derivatives. The development of drugs targeting cancer, intractable diseases, and emerging and reemerging infectious diseases was promoted and the innovation process was accelerated by utilizing cultured cells, animal models, and clinical specimens in preclinical animal experiments and by constructing a drug efficiency evaluation system that incorporates pharmacokinetic analysis. The combined drug discovery will support and contribute to the education and enlightenment of young researchers. Finally, we established a research system and formed a foundation for academic drug discovery research and education.