

「構造ゲノミクス：構造に基づく創薬」

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科（薬学系）
薬品生物工学研究室 伊藤 潔

ゲノムとは何か？これについては3節「遺伝子を読む：ゲノム情報の応用と問題点」で述べられている通りヒトが持つ全遺伝情報のことである。ご存知のようにゲノムとは「遺伝子」を意味する「gene」と「集団」を意味する接尾語の「-ome」からできた言葉である。その配列情報を手に入れた現在、私たちはその情報を基にして切り開かれていくその後の世界「ポストゲノム」の時代へ突入しようとしている。ポストゲノム時代の創薬において中心となる構造ゲノミクス（構造に基づく創薬）について述べるのが本節の主題であるが、その前にゲノム中に存在する多様な遺伝子を身近な例を含めて紹介してみたい。

（1）酒飲みの遺伝子

お酒を飲むと陽気な気分になったりすることができるが、度を越すと痛い目にあうのは誰でも経験したことであろう。「度を越すとはどの程度の量か」には個人差があり、「酒に強い」とか「弱い」と言われる。ご存知の方も多であろうが、この差が遺伝子によって決められている。お酒を飲んだ時に現れる症状はエタノールが酸化されて生じるアセトアルデヒドによって引き起こされるものがほとんどで、症状の程度はアセトアルデヒドをさらに酢酸にまで酸化する反応を担っている酵素、アセトアルデヒド脱水素酵素（ALDH2）の遺伝子によって決まることが知られている。ALDH2の遺伝子には1型と呼ばれるものと2型と呼ばれるものが知られている。広く一般に存在する1型はうまくアセトアルデヒドを代謝することができるのに対し、2型の酵素は酵素の作用を補助する補酵素であるNAD（ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）との親和性が極端に低く、酵素活性の強さを示す反応速度も低くなっているためほとんど活性を示さない1, 2)。この違いは塩基1個の違い（G → A）で、487番目のグルタミン酸残基（カルボキシル側鎖を持ち酸性）がリジン残基（アミノ側鎖を持ち塩基性）に変化しているために引き起こされている。2型遺伝子は東洋人に多く、東洋人に酒が弱い人が多い原因となっている。日本国内の分布にも差があるようで興味のある方は調べてみると面白いかもしれない。ヒトの遺伝子は父方と母方から1個ずつ受け継がれるのでALDH2遺伝子に関しては1型/1型（ホモ）、2型/1型（ヘテロ）、2型/2型（ホモ）の3種類の遺伝子型が存在する。ALDH2は4量体（同じポリペプチド鎖が4本集まってできるもの）として酵素活性を発揮するのだが、2型のホモではほとんど活性がなくなってしまう、アセトアルデヒドを代謝できず全く酒が飲めない。ヘテロで持つ人は少し飲めるが弱い人。1型ホモの人は飲む量に気をつけましょうということになる。身近な遺伝子変異の例を示したが、一番有名な例は多くの教科書にも登場する鎌状

赤血球症であろう。1塩基の違いによりタンパク質（鎌状赤血球症ではグロビン）の機能が変化するために症状が生じることは同じである。このような1塩基の違いによってその遺伝子産物の機能に差が生じるような現象をSNP（シングルヌクレオチドポリモルフィズム = 1塩基多型のことでスニップと読む）と呼び、後で簡単に述べるようにポストゲノム時代の医療では大変重要な研究テーマの一つである。

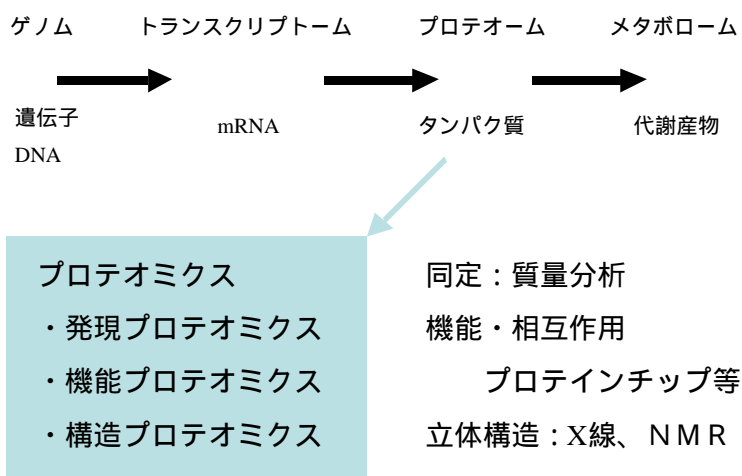
(2) 抗動脈硬化遺伝子

もう一つ興味深い遺伝子変異について紹介しよう。それはアポリポタンパク質A-1遺伝子(apo A-1)。アポA-1は高密度リポタンパク質(HDL)を形成する主要なタンパク質で抹消の余分なコレステロールを取り込んで肝臓に輸送する働きを持っている。アポA-1の変異体の一つ、アポA-1ミラノでは173番目のアルギニン残基がシステイン残基に変化しており、結果としてアポA-1ミラノはシステイン残基同士がジスルフィド結合によって結合し2量体の構造を持つようになっている。この変異型アポA-1ミラノを含むHDLは驚いたことに通常よりも速い速度で余剰コレステロールを取り込むようになる。従ってこの変異を持つ人の血管にはコレステロールが溜りにくくなるのである。詳細は参考図書3)を見ていただくのが良いが、アポA-1ミラノを持つ人々は「ポルタトーリ」(イタリア語で遺伝子を運ぶ人の意)と呼ばれている。予想された方もいるであろうが、アポA-1にはミラノ以外の変異も報告されているが多くは大きな変化がないか、機能低下を伴う変異のようである。極めてまれな遺伝子変異の例であるが、アポA-1ミラノタンパク質を薬として考えるとそのインパクトは極めて大きい。システイン残基は反応性の高い-SH基を有するのが特徴で、先に示したALDHにおいてはアルデヒド分子と結合する活性中心に存在している。システイン残基のようなアミノ酸を特定の位置に挿入したり組換えることでスーパー酵素、スーパータンパク質をデザインできるようになる日がいつか来るかもしれない。

(3) ゲノミクスとは何か

「何かについて調べてみなさい」というと、まず試してみるのインターネットの検索サイトという時代である。あるサイトで「ゲノミクス」と入力して検索したところ、トップにヒットしてきたのはバイオ機器の会社でしたが、幸いなことにその会社のホームページではゲノミクスについて一般向けの説明を掲載していた。他にも薬理、免疫、発生、はたまた機能性食品ゲノミクスまで、3000件近くがヒットしてきた。正確な定義は筆者もよく分からないが、ゲノミクスとはゲノムの解明を目指す研究全般を指すと考えればいいであろう。ゲノムはDNA

図10. 遺伝子DNAからタンパク質へ



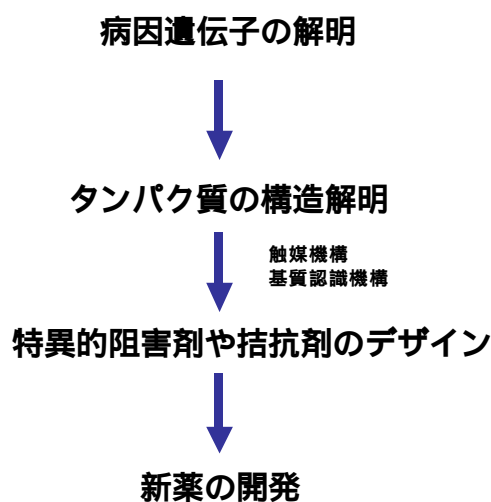
でありタンパク質の設計図である。ゲノムに書かれた設計図を基にその産物であるタンパク質について、さらには複数のタンパク質及びDNA間の相互作用までも明らかにしていこうという幅広い研究である。ヒトゲノムの塩基配列決定は一応の終了を見たが、上に述べたように人類の遺伝子は多様性に飛んでいる。誰一人として同じ配列のゲノムを持つ者はいない。そこにはSNPが存在するので、ある病気に関連しているSNPを探し出すことが競って行われている。また、遺伝子は決められた場所（臓器）で決められた時間に発現している。発現とは簡単に言うと設計図からタンパク質が作られる過程である。今までは個々の研究者が個々の遺伝子について、発現場所、発現時期を調べていたがポストゲノムの時代にあっては「網羅的」という言葉がキーワードとなり、数千、数万の遺伝子について同時に発現状況を調べることが行われている。DNAチップあるいはDNAマイクロアレイと呼ばれる遺伝子発現を丸ごと調べることができる道具の開発がそれを可能にした。DNAチップを用いた遺伝子発現の網羅的解析はトランスクリプトームなどとも呼ばれ、転写産物（トランスクリプト）であるmRNAを解析するものである。そして、ポストゲノムの中心課題として重要視されているのがプロテオームである。ゲノムと同様、プロテオームは「タンパク質」を意味する「protein」と「-ome」から作られた言葉でタンパク質の全体を意味し、プロテオミクスはそれをいろいろいな方法で明らかにしていこうとする学問である。

（４）薬の標的となる遺伝子、タンパク質を探す

ポストゲノム時代の創薬の流れを示したのが図11である。これまでの創薬では、疾患モデルに対して膨大な数の化合物を試験し、治療効果のあるものを選び出していくというチカラ技の手法が採られ、数をこなした者が新薬を手に入れてきた感があります。いわゆるランダムスクリーニングである。まず効果のある化合物が見つかり、それと相互作用する標的タンパク質が同定されという流れが珍しくなかった。そして、一旦候補化合物が見つかり、それらの一部の構造を変えた多数の誘導体が合成され、効果が試験される。

ここでも多分にランダム的なトライアルアンドエラーが繰り返され、その中で高い効果を有する化合物が薬として生き残ってきた。ポストゲノムの創薬では、これら2ヶ所のランダム要素をゲノム情報に基づいた論理的方法で行っていくことになる。まず、薬の標的となるタンパク質を迅速に探し出すことである。ほとんどの薬は標的であるタンパク質と結合して薬効を発揮している。大きく2つの方法が有るが基本は病気の人と健常人との差を見いだすことで行われる。先に述べたDNAチップを用いてmRNAレベルで違いがある遺伝子を同定していく方

図11 . ポストゲノムの創薬



法。もう一つはタンパク質レベルで違いを明らかにする方法である。そのために欠かすことのできない方法が質量分析で、ノーベル賞を受賞した田中耕一博士の成果はまさにそのための方法なのである。

(5) ペプチドマスフィンガープリンティング (PMF)

質量分析とはその名の通り物質の質量を測定することであるが、質量分析を大なうためには測定したい化合物をイオン化することが不可欠である。田中博士の開発した方法は現在一般に「MALDI」(マルディ)と呼ばれている方法である。マトリクス支援レーザー脱離イオン化法が正式名称である。タンパク質を分解させずに丸ごとイオン化することに世界で始めて成功したのが田中博士なのです。方法の詳細についてはいろいろなところで紹介されているので省略するが、イオン化したペプチドやタンパク質は飛行時間を測定したり、電磁場の中に入れることでその質量を小数点以下数桁まで正確に測定することができる。図12は長崎大学薬学部設置されているMALDI/TOF-MS装置。

図12. MALDI-TOF 型質量分析装置



21世紀の薬学が目指す「ゲノム創薬」を念頭に置いた、ヒトゲノム研究の成果に基づいたタンパク質レベルでの解析を目的としたMALDI-TOF型質量分析装置

タンパク質は2次元ゲル電気泳動という手法を使って数千個のスポットとして分離することができる。これを健常人と患者のサンプルについて行くと、患者サンプルで特異的に検出されるもの、逆に消失しているものとして、それらの差を見つけることが可能となる。これらが疾患原因の候補タンパク質であるのだが、それが何というタンパク質なのかを同定することは、これまでは困難であるのが常であった。PMFでは各タンパク質スポットを切り取りトリプシンというタンパク質分解酵素で消化する。トリプシンはタンパク質分子中のアルギニンとリジンのカルボキシル基側だけを特異的に切断して短いペプチド断片をいくつか生じる。質量分析装置で分析するとそれらのペプチド断片の質量を迅速に感度よく、しかも正確に測定することができる。一方、ポストゲノムの時

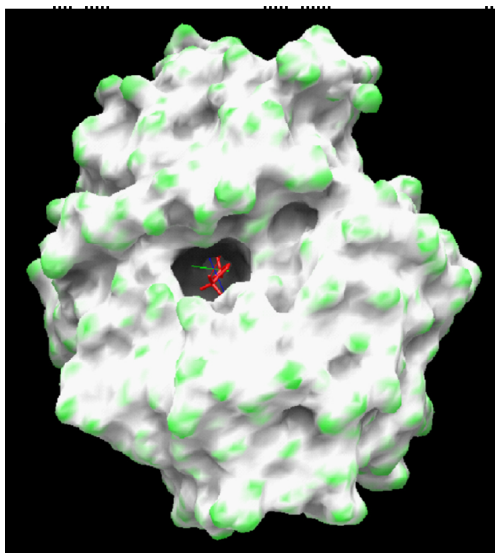
代にいる私たちは事実上ほとんどすべてのタンパク質のアミノ酸配列情報をコンピューターの中に持っている。ここでコンピューターの一番得意なことをさせるのである。すべての配列情報の中のアルギニンとリジンを見つけ出し、そこで切断されたらいくらの分子量を持つペプチドが生じるかを計算させ、それらが実際の質量分析で得られた値と同じパターンになるものを探し出させる。質量が正確に感度よく測定されていれば、コンピューターが探し出してきた候補タンパク質が非常に高い確率で目的のスポットのタンパク質であると同定することができる。質量分析のみ、あるいはゲノム情報のみでは手にすることのできなかつた合わせ技である。この方法を用いることで、一研究室レベルでさえも一日に数十のスポットの同定を行うことができる。とにかく標的タンパク質探しのスピードは確実にアップした。

(6) タンパク質立体構造の解明と薬の論理的デザイン

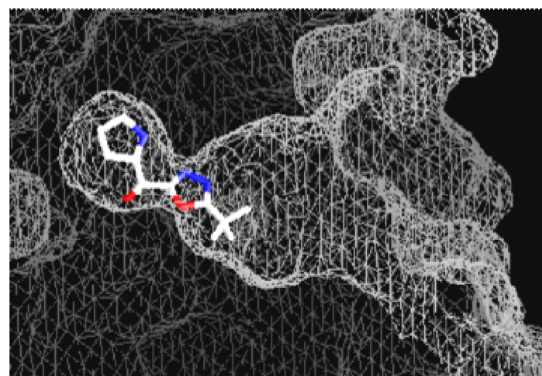
2番目のランダム要素は薬となる化合物のデザインである。ここを論理的に行うためには標的タンパク質の立体構造を解明しなければならない。酵素を例に説明しよう。酵素と基質との反応はカギとカギ穴に喩えられる。酵素の姿形を見たことのある方は少ないかもしれないが、実はデコボコした石のような物を想像していただくとかかなり近い。図13に立体構造の一例を示す。その石には往々にして穴や溝が開いていて、カギである基質分子はそのカギ穴にぴったりと収まり、反応が進行することとなる。これが酵素の「活性部位」と呼ばれる場所である。カギ穴の構造が分かっているならば、そこにフィット

図13 . 酵素の立体構造

(A)



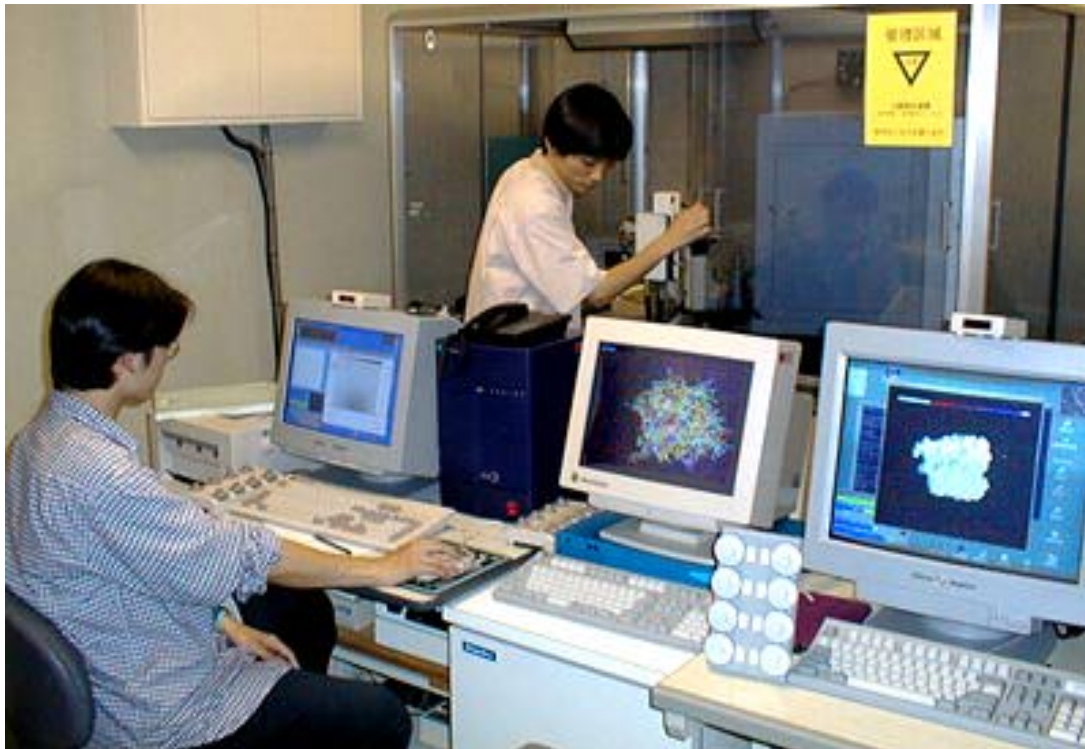
(B)



(A) プロリルアミノペプチダーゼの立体表面構造

(B) 活性中心の穴に基質分子が結合している様子

図14 . X線回折装置



するカギを作ることができるのと同じで、活性部位の構造が明らかになっていれば、そこに結合はするけれども反応はしないような化合物（阻害剤）をデザインすることが可能である。阻害剤は過剰な酵素反応が進むのを阻害して体を正常な状態に戻すことが可能となる。まだまだ頭で考えるほどうまくは行かないことが多いのであるが、少なくとも理論的には論理的なデザインが可能で従来のトライアンドエラーからは格段にデザインが高速化していくことは間違いない。さらに、従来の薬について、タンパク質と薬物との複合体の立体構造を明らかにすると、必ずしもよくフィットしていない部分が見つかることもある。その部分を修正してやることでより効果が高く副作用の少ない薬が開発されることにもつながり得る。タンパク質の立体構造を解明するための手段は現在、X線結晶構造解析法とNMR法の2つがある。前者は結晶を作る段階がハードルであるが、後者はその必要がない。一方で、前者は結晶さえできればリボソームのような巨大分子の解析も可能であるが、後者では分子量が2万を超えるタンパク質の解析は困難である。20世紀最大の発見といわれるDNAの二重らせん構造はウイルキンスとフランクリンのDNAのX線回折像を基にして発見されたもので、原理の詳細は省略するが、ポストゲノム時代の中心として極めて重要な手法であることは疑いない。図14は長崎大学薬学部設置されているタンパク質用X線回折装置。「グリベック」という薬が白血病治療に使用されているが、立体構造からデザインされた例として有名である。

（7）SARSウイルスプロテアーゼの阻害剤開発

最後にウイルス、ゲノム、構造ゲノミクスに共通する話題として抗SARSウイルス薬に

ついて簡単に紹介する。SARSウイルスはRNAウイルスの一種であるコロナウイルスに属するウイルスであることは広く知られる事実となった。そのゲノムであるRNA、約30,000塩基の配列が明らかにされている4, 5)。ウイルスのタンパク質はいくつかがつながった状態でまず合成され、その後ウイルス由来のタンパク質分解酵素（プロテアーゼ）の作用により特異的な位置で分解されて成熟ウイルスが産生する。このウイルスプロテアーゼの立体構造が解明されつつあり、その作用を阻害する特異的阻害剤のデザインも各国で競うように進められている6)。現在は終息した形のSARSであるが、冬には再発の可能性があることも囁かれている。治療薬の早急な開発を望むものである。

【参考文献】

- 1) Farres, J., Wang, X., Takahashi, K., Cunningham, S.J., Wang, T.T., Weiner, H., Effects of changing glutamate 487 to lysine in rat and human liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase. A model to study human (Oriental type) class 2 aldehyde dehydrogenase J. Biol. Chem., 269:13854-13860 (1994)
- 2) Steinmetz C.G., Xie P., Weiner H., Hurley T.D., Structure of mitochondrial aldehyde dehydrogenase: the genetic component of ethanol aversion. Structure. 5(5):701-11 (1997)
- 3) 驚異の小宇宙・人体III 遺伝子・DNA (1) 生命の暗号を解読せよ - ヒトの設計図 -、NHK 人体プロジェクト、NHK 出版 (1999年)
- 4) Paul A. Rota, William J. Bellini, et al., Characterization of a Novel Coronavirus Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome Science, 300, 1394-1399 (2003)
- 5) M. A. Marra, R. L. Roper, et al., The Genome Sequence of the SARS-Associated Coronavirus Science, 300, 1399-1404 (2003)
- 6) Anand K., Ziebuhr J., Wadhwani P., Mesters J.R., Hilgenfeld R., Coronavirus main proteinase (3CLpro) structure: basis for design of anti-SARS drugs. Science. 300(5626):1763-1767 (2003)