

研究報告書
令和3年度：A課題

2022年 4月 27日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 国立がん研究センター研究所

住 所 東京都中央区築地5-1-1

研究者氏名 中奥 敬史

(研究課題)

分子シミュレーション駆動によるキナーゼ阻害剤感受性の推定モデルの構築

令和4年 3月 1日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

<研究目的>

遺伝子パネル検査によるがんゲノム医療の広がりの中、患者・薬剤感受性情報と紐付いたがんゲノムの実世界データの蓄積が進みつつあるが、標的治療薬に恩恵にあずかることができるのはそのうち10%程度にとどまり、薬剤到達効率の拡大に向けた研究が喫緊に求められている。その解決に、申請者が実施してきた *in vitro* 実験データと分子動力学シミュレーションを組み合わせた変異に応じた感受性薬剤選択の手法の拡張は、より多くの変異に対して薬剤感受性情報が付与でき、がん個別化医療への寄与が期待できる。一方で、分子シミュレーションによる機能アノテーションは、汎用性や頑健性の点で未だ開発途上にある。そこで、本研究では、大規模ゲノム情報からキナーゼ遺伝子変異を題材に、オリジナルの結晶構造を用いて実験データと同化した分子シミュレーション駆動型アプローチによって、変異ごとに薬剤感受性の定量法を確立し、有効なキナーゼ変異の薬剤応答性予測モデルを構築することを目的とする。

<研究方法>

■ シークエンスデータからの変異・臨床データと *in vitro* 実験データの取得

所属研究室の有する 10,000 例超の進行がんの治療標的となる遺伝子を対象に、解析経験のあるキナーゼ遺伝子をモデル分子として、阻害剤での治療情報とともに遺伝子異常を収集する。対象変異の cDNA 発現ベクターライブラリーの構築し、細胞や精製タンパク質に導入し、薬剤感受性情報を得る。

■ 分子シミュレーション駆動型アプローチによる薬剤応答性予測モデルを構築

代表変異に対して阻害剤との相互作用に着目し、薬剤感受性を推定のための構造的指標や条件設定を行う。また、用いる構造は、公的データベースに登録のある構造のほか、オリジナルな複数の阻害剤との共結晶構造を取得する。作成した指標をもとに複数の変異に拡張させ、予測可能性を調べる。実験により得られた薬剤感受性と結合安定性情報を組み入れ、分子シミュレーションデータを組み合わせ、薬剤応答性推定モデルの構築を行う。

<結果>

所属研究室にてアクセス可能な 10,000 例超の進行肺がんのゲノム情報を収集した。解析対象として、ゲノム情報やタンパク質を使用した構造取得、最新の臨床試験へのアクセスが可能な RET をモデル分子として採用し、阻害剤での治療情報とともに遺伝子異常の情報を収集した。変異 cDNA を発現するベクターライブラリーを構築した。細胞や精製タンパク質に導入により、薬剤存在下における細胞生存率やリン酸化抑制状況を確認し、薬剤感受性情報を取得した。それに加えて、キナーゼドメインを発現するバキュロウイルス発現系を用いた精製タンパク質を用いて、各種阻害剤との薬剤感受性を調べた。さらに、理研 タンパク質機能・構造研究チームとの連携により、RET-Selpercatinib/RET-Pralsetinib のリン酸化の共結晶構造を新規に取得した。PDB に登録される構造や新規取得構造を用いて各種変異を導入しモデル構造を作成した。このモデル構造の薬剤相互作用を阻害剤-タンパク質間の相互作用を、分子動力学シミュレーションにより、結合自由エネルギー値を算出し、実験から得られた薬剤感受性情報との相関関係が認められた。結晶構造から得られる変異と阻害剤との相互作用を組み入れることで、より精度の高い薬剤感受性予測モデルを構築することができた。

<考察>

用いた各種阻害剤ごとにそれぞれ薬剤感受性に強い影響を与える変異は、残基部位および置換アミノ酸パターンによって大きな差異が認められた。実臨床でも各種変異に応じた最適な阻害剤を選定につながる薬剤感受性情報と考えられた。また、その機能を予測する方法として分子動力学シミュレーションは有効な方法であり、臨床現場へ活用が期待される薬剤感受性情報を得るツールとなることが想定された。

<謝辞>

本研究の着実な遂行に多大なるご支援を賜りました、公益財団法人がん研究振興財団に心から感謝申し上げます。

<学会発表>

Development of a drug response model: prediction of RET TKIs sensitivity using MD simulation, 丸山宏輔、中奥敬史、田畑潤哉、額賀重成、河野隆志, 第 80 回日本癌学会学術総会、2021、口頭