

ポスト「京」重点課題 2

個別化・予防医療を支援する統合計算生命科学

NEWS LETTER

Vol. 12

Contents

- Research Report

何してるの?なぜ?どうやって?ちょっと解りやすく
教えて!に研究者が応える

UT-Heart 活動により: 創薬を加速する心毒性
スクリーニングシステムの開発

- Information

お知らせやイベント情報

INTEGRATED
COMPUTATIONAL
LIFE
SCIENCE
TO SUPPORT
PERSONALIZED AND
PREVENTIVE MEDICINE



ポスト「京」
重点課題2
個別化・予防医療を支援
する統合計算生命科学



Subtheme **C**

UT-Heart 活動だより 創薬を加速する心毒性スクリーニングシステムの開発



東京大学大学院情報学環 寺田 透 (ポスト「京」重点課題1参加者)
 東京大学大学院農学生命科学研究科 根上 樹 (ポスト「京」重点課題1参加者)
 京都大学大学院医学系研究科・理化学研究所 奥野 恭史 (ポスト「京」重点課題1責任者)
 株式会社 UT-Heart 研究所 久田 俊明 (ポスト「京」重点課題2サブ課題C 責任者)
 (左から)

サブ課題Cでは、ポスト「京」のパワーを活かし、世界で初めて心臓シミュレーションと分子シミュレーションを融合させた真のマルチスケールシミュレーションを実現することにより、医療・創薬に貢献することを目指しています。私達は具体的に二つの目標を掲げていますが、今回のUT-Heart活動だより^{*}では、その内の一つである「創薬を加速する心毒性スクリーニングシステムの開発」について、Newsletter Vol.5の続編としてご紹介を続けたいと思います。

薬の副作用の中でも心臓の不整脈誘発に関しては特に慎重に調べるようガイドラインが定められています。本システムが完成すれば細胞実験や動物実験を行うことなく計算機のみによって心臓への副作用予測が可能となり、さらにはゲノム解析に基づく個々人についてのリスク予測も可能になると考えられます。なお本研究は重点課題1と2のコラボレーションにより行われています。

^{*}サブ課題Cは、「UT-Heart活動だより」と題してResearch Reportに活動を掲載しています。第3回目はVol.9、第2回目はVol.5、初回はVol.1になります。

心臓の電氣的興奮伝播と拍動の巧妙な仕組み

心臓は全身に血液を送るメインポンプとしての左心室に加えて、右心室、左心房、右心房の4つのチャンバーから構成されています。そして、右心房の隅にある洞房結節と呼ばれる箇所にあるペースメーカー細胞が安静時は1秒に1回程度自ら電氣的に興奮し、その興奮が図1に示されるように次々と隣接する心筋細胞に伝

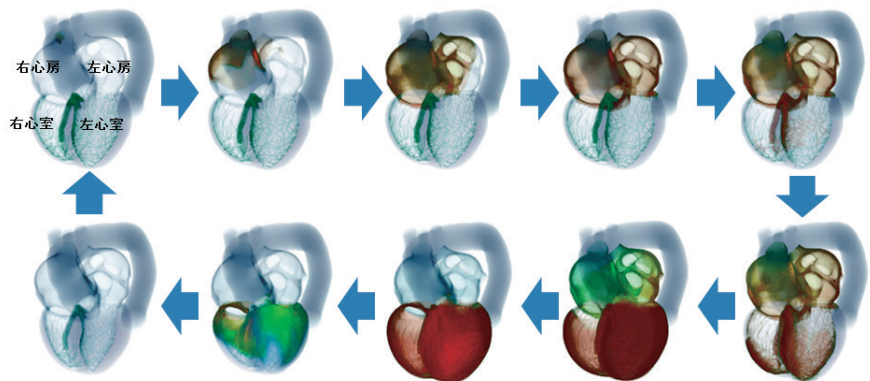


図1: UT-Heart標準モデルにおける興奮伝播の様子 (心室内で網目状に見える陰影はプルキンエ線維、着色は細胞の膜電位を表す)

Subtheme **C**

播することでまず心房の興奮が起こります。次に房室結節と呼ばれる中継点を通じて心室に興奮が伝わりますが、心室には内面にプルキンエ線維と呼ばれる特殊な細胞からなる刺激伝導系が樹根状に張りめぐらされているため、同図に示されるように興奮はその伝導系を経てまず心室の内面に素早く伝わり、続いて外側に向かって心筋壁内を伝播して行きます。ここで細胞の興奮とは、細胞を覆う細胞膜上の各種のイオンチャンネルがナトリウムイオン、カリウムイオン、カルシウムイオンなどを選択的に通過させた結果、細胞外に対する細胞内の電位（膜電位）が急激に上昇する現象を指し、これを脱分極と呼びます。脱分極が生じると細胞内部の筋小胞体と呼ばれる微小器官からカルシウムイオンが放出され細胞内カルシウムイオン濃度が上昇します。するとアクチンとミオシンから構成される収縮タンパクの分子運動が活発になりサルコメアと呼ばれる収縮ユニットひいては細胞が収縮を開始します。そして最後に膜電位が元に戻り細胞も弛緩して行きます。なお心筋細胞同士は長軸方向に電気的にも力学的にも強く結合しており、その方向が心筋壁内でよじれるように分布していることが知られています。このような心筋細胞群の時空間にわたる巧妙な振る舞いにより、心臓は私達の体に安静時で毎分5リットル、運動時で毎分25リットルもの血液を拍出することができます。図2に単離した心筋細胞の興奮収縮の写真と細胞内部構造の模式図を示します。

薬剤による不整脈発生の予測

心臓の拍動は、以上のように力学的な収縮に先立って電氣的に興奮するところから始まりますが、もし電氣的興奮が乱れ最悪の場合興奮波が渦を巻き止まらな

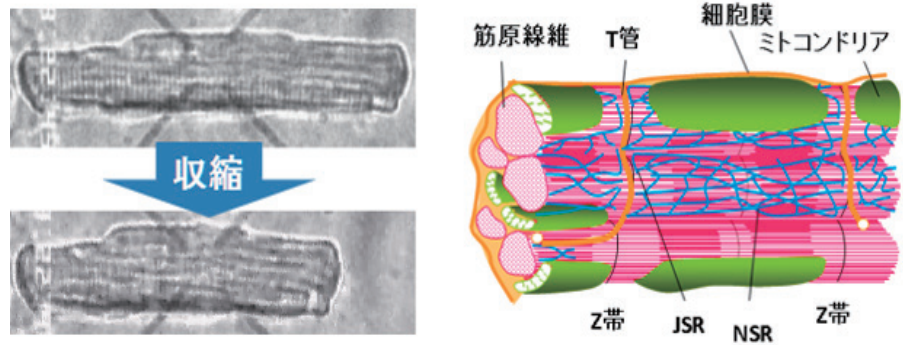


図2：単一の心筋細胞の興奮収縮のスナップショット(左)と内部構の造模式図(右)

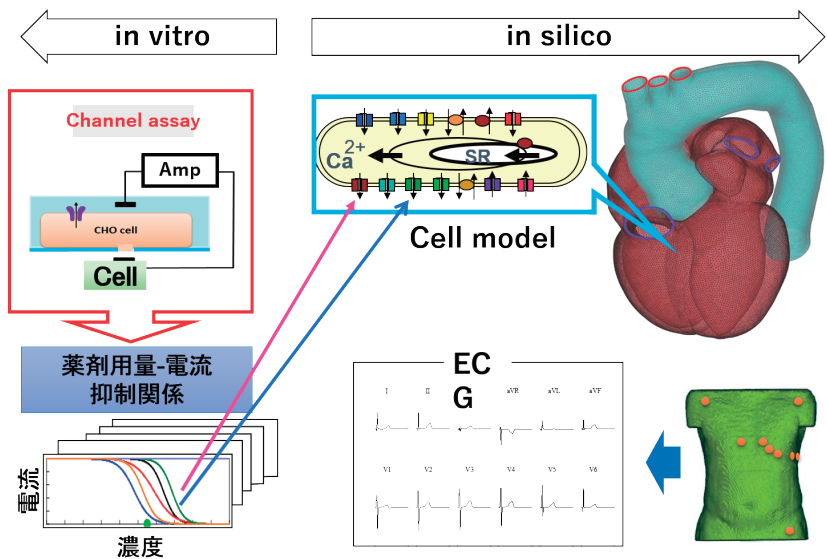


図3：細胞実験とUT-Heartを組み合わせたハイブリッド心毒性評価系

くなると、心臓は同調して収縮できず細胞と呼ばれる状態に陥り血液を拍出することが出来なくなってしまいます。これは致死性不整脈と呼ばれ突然死の原因となります。既刊の Newsletter Vol.5 では、薬の副作用によって各種のイオン電流を通過させるイオンチャンネルの機能が阻害されバランスが崩れた場合、深刻な不整

脈が生じるかどうかを調べることの出来る、細胞パッチクランプ実験と UT-Heart シミュレーションを組み合わせたハイブリッド心毒性評価系 [1] が実用レベルに到達しつつあることをご紹介しました。図3はその概要を示します。そして同図中の赤枠で困った実験系を分子シミュレーションに置き換え、候補化合物が与

Subtheme **C**

えられれば細胞実験を行うことなく計算機のみによって心臓への副作用予測が可能となるシステムを作るのが、このポスト「京」プロジェクトで私達が目指すところです。これが将来完成すれば、時間とコストのかかる創薬における副作用評価の過程を合理化できるだけでなく、例えばある個人のゲノム解析の結果イオンチャンネルに変異があると分かった場合、その変異体イオンチャンネルモデルを用いた

分子シミュレーションを行うことにより、テラーメードの不整脈発生リスクの予測も可能になります。本プロジェクトの分子シミュレーション部は重点課題1(課題責任者：奥野 恭史)との協同により寺田のグループが担当します。以下に分子シミュレーションによるイオンチャンネルのモデル化と薬剤による阻害のシミュレーションについて概要をご説明したいと思います。

イオンチャンネルの構造と動作

分子シミュレーションを行うためには、イオンチャンネルの立体構造データが必要です。本プロジェクト開始時点(2015年)では、心筋イオンチャンネルの立体構造が決定されていなかったため、代わりに神経系のイオンチャンネルを用いて研究を行いました。図4は研究対象としたカ

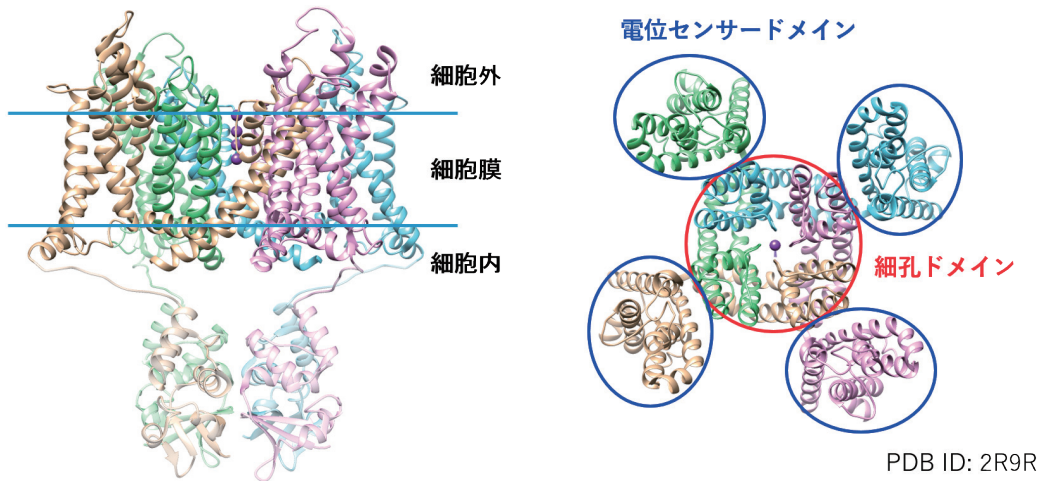


図4: カリウムイオンチャンネルの立体構造

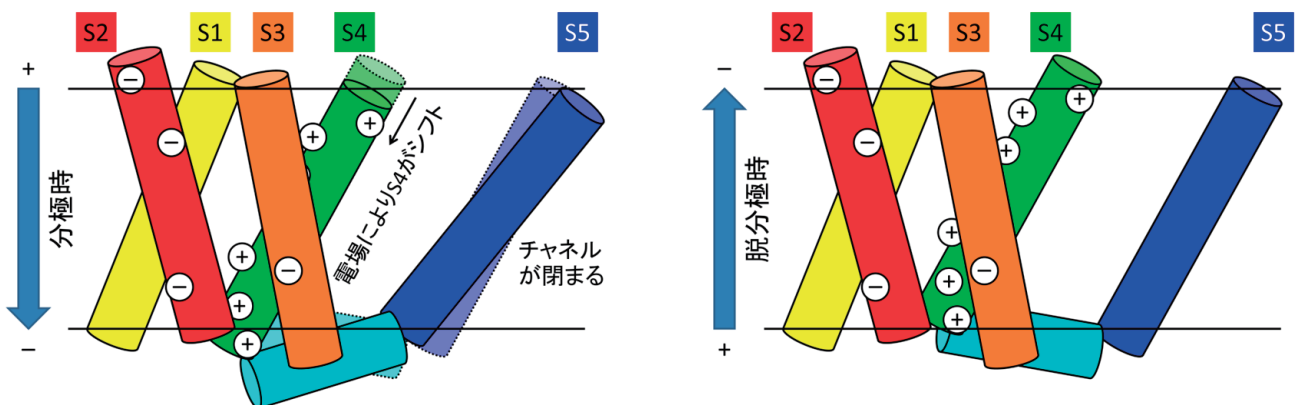


図5: 電位センサードメインの構造変化の模式図

Subtheme **C**

リウムイオンチャンネルの立体構造を示しています。このイオンチャンネルは4つのサブユニットが会合したホモ4量体構造をとっています。カリウムイオンは4回回転対称軸に沿って存在する細孔を通して移動します。細孔を取り囲む構造(細孔ドメイン)の周りには、電位センサードメインが存在します。電位センサードメインは図5に模式的に示すように4本のヘリックスからなり、N末端側から順にS1、S2、S3、S4と呼ばれます。このうち、S4には正に荷電したアミノ酸が多く存在し、興奮が生じていない分極状態では、細胞外から細胞内に向かう電場に引っ張られて細胞内側に移動し(Down状態)、チャンネルの閉鎖を誘導します。一方、脱分極状態では、細胞内から細胞外に向かう電場により、S4は細胞外側に移動し(Up状態)チャンネルが開きます。このイオンチャンネルの動作は、実験でもよく研究されており、実験データ

を再現する動作モデルが作られています。このモデルでは、4つの電位センサードメインが独立にDown状態とUp状態の間を遷移し、4つの電位センサードメインが全てUp状態になると、イオンを透過する開(Open)状態となり、さらに一定の速度でイオンを透過しない不活性化(Inactive)状態に遷移すると仮定しています。これらの仮定は、基本的にどの電位依存性イオンチャンネルでも成り立つと考えられています。本プロジェクトでは、まず電位センサードメインのDown状態とUp状態の間の遷移の速度定数を、分子シミュレーションを用いて決定する方法の開発を行いました。

イオンチャンネルの動作モデルの構築

イオンチャンネルなど、タンパク質の立体構造の変化を追跡する最も直接

的な方法に、分子動力学(Molecular Dynamics; MD)法があります。MD法では、タンパク質を構成する原子の間に働く力を用いてニュートンの運動方程式を解くことで、タンパク質の運動をコンピュータの中に再現します。これをMDシミュレーションと呼びます。タンパク質の運動を正しく再現するためには、タンパク質の周囲の環境を構成する原子との相互作用も考慮する必要があります。とくに、イオンチャンネルは脂質二重層と呼ばれる構造からなる細胞膜に埋め込まれているので、脂質分子や細胞膜の両側に存在する水分子との相互作用を考慮する必要があります。このため、本研究では、図6に示すように、カリウムイオンチャンネルの立体構造から電位センサードメインを取り出し、これを水和した脂質二重層に埋め込むことで、電位センサードメインが動作する環境を再現しました。

ニュートンの運動方程式は、3原子以

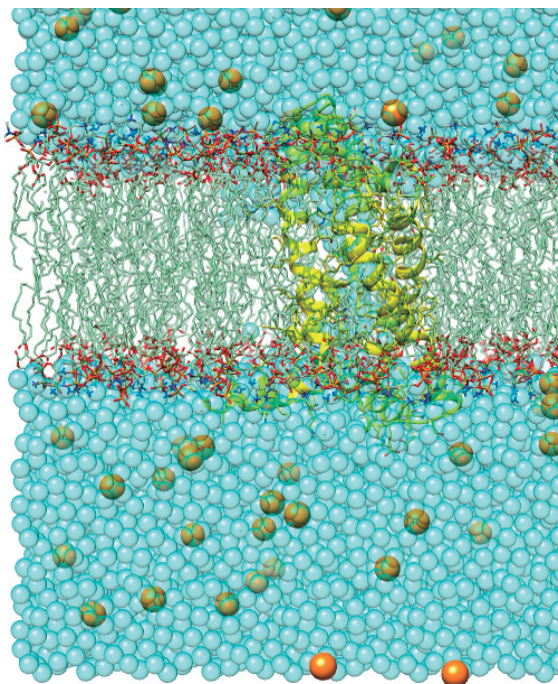


図6: 脂質二重層と水分子に埋め込まれた電位センサードメイン

Subtheme C

上の系では解析的に解くことができないため、タンパク質の系のように多数の原子から成る系では、数値的に解く必要があります。ここでは、短い時間刻み Δt を用いて、時刻 t における各原子の位置と速度から、 Δt だけ先の時刻 $t + \Delta t$ における位置と速度を求めるといように、逐次的に解いていきます。時間刻み Δt は最も速い運動（タンパク質の系の場合 C-H 共有結合の伸縮運動など）の 10 分の 1 程度にする必要があるため、通常は 1 フェムト秒 (10^{-15} 秒) 程度に設定します。一方、電位センサードメインの構造遷移には 10 ミリ秒 (10^{-2} 秒) 程度かかるため、これを、分子動力学法を用いて再現するためには、上記の逐次計算を 10^{13} 回繰り返す必要があります。この繰り返し計算は、スーパーコンピュータを用いても 1 日に 10^8 回が限界ですので、10 ミリ秒のシミュレーションを達成するには、 10^5 日、すなわち 274 年かかることとなります。この問題を解決するため、ここでは構造遷移が多数の中間状態を経て起こることに注目し、これら中間状態から出発した MD シミュレーションを、多数並行して実行しました。中間状態から中間状態へ

の遷移は、全過程の遷移に比べてずっと速く起こるため、現実的な時間で追跡することができます。そして、MD シミュレーションの軌跡（トラジェクトリ）から中間状態の間の遷移速度定数を求め、これを組み合わせることで、全過程の運動を

記述するマルコフ状態モデルを構築しました。これに、膜電位による電場の影響を組み込み、電位センサードメインの電位依存的な運動を記述するマルコフ状態モデルを完成しました。図 7 は、Down 状態から Up 状態、および Up 状態か

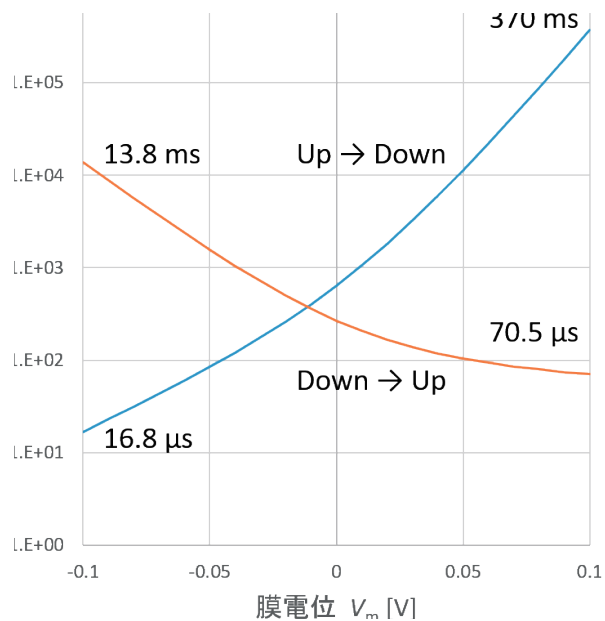


図7: Down状態・Up状態間の遷移に要する時間の膜電位依存性

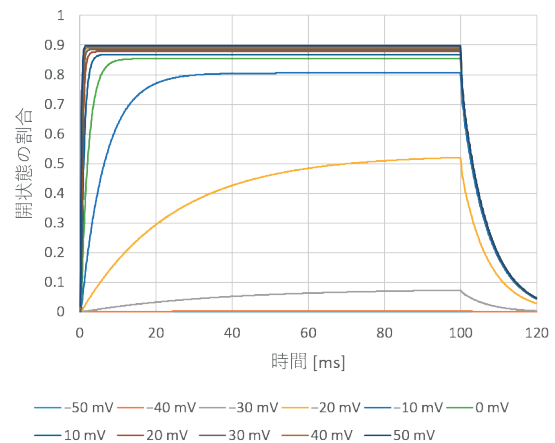
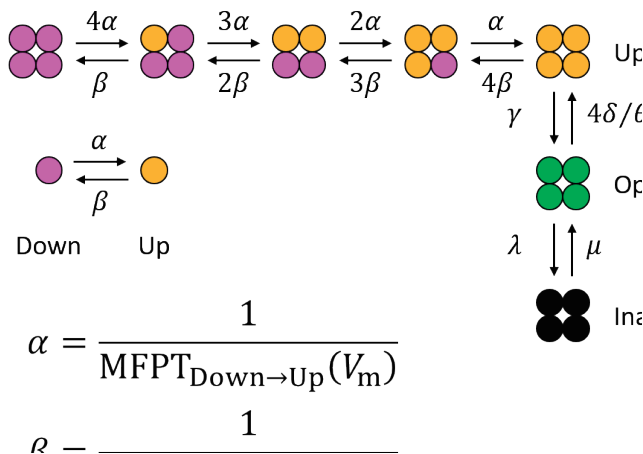


図8: モデル化されたイオンチャネルの開閉挙動

Subtheme **C**

ら Down 状態に到達するのにかかる時間（平均第一通過時間；mean first passage time; MFPT）の膜電位依存性を示しています。膜電位 V_m の低い分極状態では、Up 状態から Down 状態に到達するのにかかる時間の方が、逆の過程より短いことがわかります。逆に、 V_m の高い脱分極状態では、Down 状態から Up 状態に到達するのにかかる時間の方が短くなっています。この結果を元に、イオンチャネル全体の動作モデルを図8左パネルのように構築しました。図8右パネルに示すように、膜電位を上昇（脱分極）させると細孔が開き、低下（分極）させると細孔が閉じるという、イオンチャネルの電位依存的な動作が再現されています。なお、ここで対象としたイオンチャネルは神経系で機能しているものであるため、心筋に存在するイオンチャネルとは異なりますが、まずは分子シミュレーションに基づくモデルを UT-Heart と連成させるこ

とが可能であることを示すため、似た性質を持つ心筋イオンチャネルの1つ IKs を、このモデルに置き換えて心臓のシミュレーションを行いました。図9に得られた心電図を従来のものと比較して示します。今回用いたイオンチャネルは心筋のものに比べて動作が速いためイオン電流の振幅が大きくなるという違いが生じ、その結果 QT 間隔がやや短くなりましたが、心臓の拍動を安定に再現することができました。後述するように、2017年に心筋イオンチャネルの1つ hERG の立体構造が決定されましたので、現在、以上で開発した方法を hERG の電位センサードメインに適用する作業を行っています。今後、他の心筋イオンチャネルについても立体構造が決定されていけば、UT-Heart に含まれる主なイオンチャネルのモデルを、分子シミュレーションに基づくモデルに置き換えることができます。

薬剤とイオンチャネルの相互作用の予測

既に述べましたように、一部の薬剤はイオンチャネルの細孔に結合してイオンの通過を阻害し、致命的な不整脈を引き起こすことが知られています。本プロジェクトでは、分子シミュレーションを用いて、これらの薬剤とイオンチャネルの相互作用の予測にも取り組んでいます。ここでは、分子シミュレーションの手法として、ドッキングシミュレーションと自由エネルギー計算を用いています。ドッキングシミュレーションは、薬剤など低分子化合物（リガンド）のモデルをタンパク質の表面にあるくぼみにはめ込み、リガンド原子とタンパク質原子の間の距離などの情報をもとに、経験的なスコア関数を用いて結合自由エネルギーを予測する手法です。ここで、結合自由エネルギーは、タ

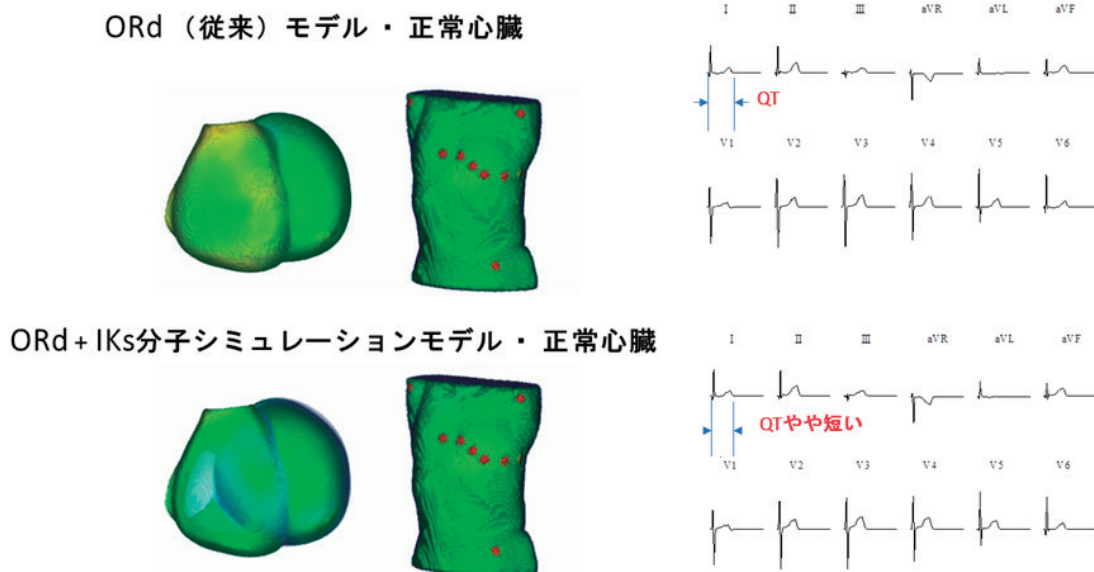


図9: 従来のUT-Heartにおける心電図(上段) と分子シミュレーションをもとに得られた心電図(下段)

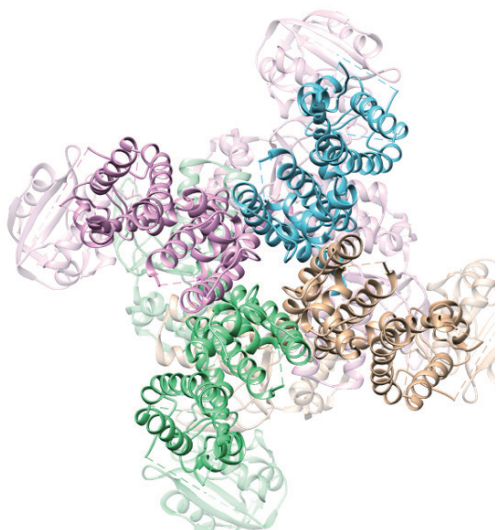
Subtheme **C**

ンパク質とリガンドの結合状態の自由エネルギーから解離状態の自由エネルギーを差し引いたもので、絶対値の大きい負の値をとるほど、リガンドがタンパク質に強く結合すると言えます。しかしドッキングシミュレーションでは、計算負荷を軽減するために、リガンド結合に伴うタンパク質の構造変化を無視しているうえ、水分子もあらわには扱わないため、精度に限界があります。そこで、より高い精度で結合自由エネルギーを予測するために、本プロジェクトでは、MD法を用いて結合自由エネルギーの計算を行いました。ここでは重点課題1の分担者である東京大学先端科学技術研究センターの藤谷 秀章特任教授らが確立したMP-CAFEE法[2]を用いて計算を行いました。カリウムチャンネルの一つであるhERGは、

薬剤による不整脈の誘起に最も強くかわっていると考えられています。相互作用の予測においても、イオンチャンネルの立体構造データが必要となるため、プロジェクト当初はhERGの細孔ドメインの立体構造を予測（モデリング）し、これを用いて薬剤との相互作用の予測を行いました。しかし、2017年5月に、hERGの電子顕微鏡構造が公表されたため、以降はこの構造を用いて計算を行いました。図10にhERGの立体構造を示します。神経系のカリウムチャンネル（図4）と同様に、ホモ4量体構造をとっており、細孔ドメインの周囲に電位センサードメインが存在します。ただし、神経系のカリウムチャンネルでは、細孔ドメインに近接している電位センサードメインが隣のサブユニット由来であるのに対して、hERGで

は同じサブユニット由来であるという違いがあります。薬剤は、細胞内側から細孔に結合すると考えられています。このため、この領域を探索範囲に指定し、hERGに対する結合自由エネルギーの実験値が得られている47種類の薬剤について、これらを結合させるドッキングシミュレーションを行いました。実験値と計算値の間に弱い相関がみられたため、ここから12種類の薬剤をランダムに選び、MP-CAFEE法を用いて結合自由エネルギーの計算を行いました。この結果、相関を大幅に向上させることができました。この結果を用いて、hERGに対する結合の強さがわかっていない新規の薬剤について、結合自由エネルギーを予測する手順は次の通りです。まず、その薬剤を上記と同様にhERGにドッキングさせます。

細胞外側から



横から

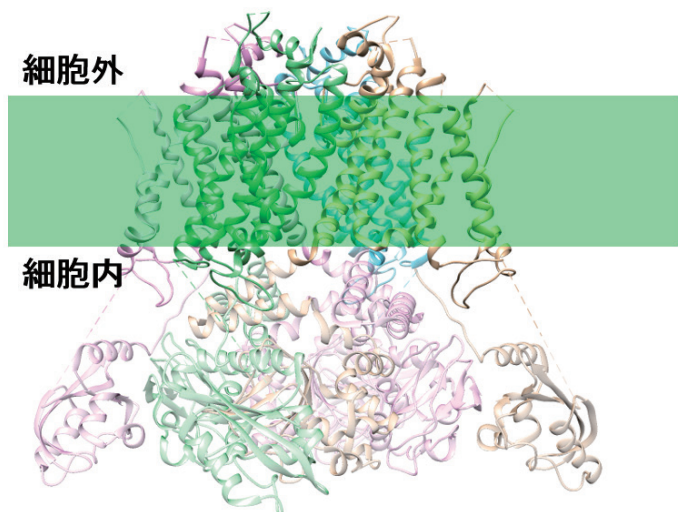


図10: hERGチャンネルの立体構造

Subtheme  C

次にこの複合体構造にMP-CAFEE法を適用し、結合自由エネルギーの計算を行います。この値を、上記12種類の薬剤の実験値と計算値の回帰直線に当てはめることで、最終的な結合自由エネルギーの予測値を算出します。なおチャンネルの阻害定数についてはUT-Heartシミュレーションに必要なIC50やHill係数は、この結合自由エネルギーから簡単な計算式で求めることができます。

薬剤による不整脈の誘起に関わるイオンチャンネルはhERGの他にも複数存在します。しかし現時点ではhERG以外はその立体構造が決定されていないため、モデリングに頼らざるを得ません。このため、現在は、ナトリウムチャンネルについてモデリングを行い、このモデル構造を用いて相互作用の予測を行っています。実験値との相関はまだ十分ではありませんが、今後モデルを改善していくことで、精度を向上させていくことができると期待しています。

ポスト「京」による時代を先取りした研究への取り組み

従来の心毒性のスクリーニングは、ガイドラインに従いhERGチャンネルの阻害とヒト心電図におけるQT間隔の延長を主な指標として行われてきましたが、擬陽性が多いと言われており、現在複数のイオンチャンネルの阻害による複合効果と細胞レベルでのシミュレーションを念頭に置いたガイドライン改訂へ向けての国際的な検討が米国FDAを中心に進められています。一方、既述のように複数のチャンネルに対する細胞パッチクランプ実験とUT-Heartを組み合わせればQT間隔が延長しても不整脈が発生しない場合があることが既に示されています [1]。今回のNewsletterで紹介しましたプロジェクトでは、複数のイオンチャンネルに対する阻害率を分子シミュレーションから求める点、そして単一細胞の挙動だけからでは

分からない臓器レベルでの不整脈発生リスクを心臓シミュレーションから評価する点、で国際的な動向の二歩先を行っているということが出来ます。もちろん今後詰めて行かなければならない箇所は幾つもありますが、私達は従来の発想にとらわれることなく、ポスト「京」という計算機の飛躍的な進歩に相応しい挑戦的研究を行っていくことがこのプロジェクトに課せられた使命であると考え、そのための技術開発を世界に先駆けて行っています。

MP-CAFEE法を開発された藤谷先生は2019年1月に急逝されました。ここに謹んでご冥福をお祈り致します。

重点課題 1



重点課題 2

<参考文献>

[1] Okada J, Yoshinaga T, Kurokawa J, Washio T, Furukawa T, Sawada K, Sugiura S, Hisada T. Screening system for drug-induced arrhythmogenic risk combining a patch clamp and heart simulator. *Science Advances*. 2015;1(4).

[2] Fujitani H, Tanida Y, Ito M, Jayachandran G, Snow CD, Shirts MR, Sorin EJ, Pande VS. Direct calculation of the binding free energies of FKBP ligands. *J. Chem. Phys.* 2005; 123 084108.

The 1st R-CCS International Symposium K and Post-K: Simulation, BigData and AI supporting Society 5.0

- Date : February 18(Mon)-19(Tue)
- Venue : Room 301, Kobe International Conference Center, Kobe, Japan (Kobe, Hyogo)
- Web : <https://www.r-ccs.riken.jp/R-CCS-Symposium/2019/>

○ Talk

- Date : February 18(Mon) 13:00 ~ 14:00
- Session : Distinguished Achievements in K and related to Post-K (1)
- Speaker : **Takumi Washio** (UT-Heart Inc.), Ryo Kanada (RIKEN), Xiaoke Cui (UT-Heart Inc.), Seiryu Sugiura (UT-Heart Inc.), Yasushi Okuno (Kyoto Univ.), Toshiaki Hisada (UT-Heart Inc.)
- Title :
Beating heart simulation driven by three dimensional molecular dynamics model
- Web : <https://www.r-ccs.riken.jp/R-CCS-Symposium/2019/>

第30回 日本医学会総会 2019 中部

- 日程 : 4月27日(土) ~ 29日(月・祝)
- 場所 : 名古屋国際会議場、ウイングあいちほか(愛知県名古屋市)
- 主催 : 日本医学会
- Web : <http://isoukai2019.jp/index.html>

市民公開講座ネルディスカッション ～AIが命を救い、新薬を開発する！～人工知能が切り開く未来医療(柱1-1-4)

- 日時 : 4月28日(日) 14:00 ~ 16:00
- 場所 : 第28会場 ウイングあいち 大ホール
- 講演
- 演者 : 宮野 悟 (東京大学医科学研究所)
- タイトル : 人工知能パワースーツを装着した医師によるがんゲノム医療

【出展報告】2018年度 理化学研究所計算科学研究センター 一般公開

- 日程 : 11月23日(金・祝) 10:00 ~ 16:30
- 場所 : 理化学研究所計算科学研究センター (兵庫県神戸市)
- 入場 : 無料
- Web :
<http://www.r-ccs.riken.jp/jp/outreach/library/event/openhouse2018.html>

○ ブース出展

- 場所 : 6F講堂

ポスト「京」重点課題の研究紹介や工作体験などを行う「神戸スパコンシミュレーション」にて、ブースを出展しました。今年のテーマは、「健康×医療×スパコンー未来はここでとっくにはじまっている」として、研究概要の紹介ポスター展示とゲーム体験を行いました。この体験では、小学校低学年を対象にした「臓器の絵合わせカードあそび」のほか、子どもから大人まで夢中になれる「クロスワード」を難易度別に2つ用意しました。そのうちのひとつ「大人向けクロスワード」は、中学校理科などの用語からポスト「京」重点課題2に関係する専門用語まで幅広く計算生命科学に関する言葉が入っており、難易度が超難レベルでした。それだけに解き終えた時は感激のあまり「やったー！」と両手を挙げて喜ぶ姿や、ポスターにある答えを楽しそうに探す姿が印象的でした。一般公開で大人気だった「クロスワード」、私も解いてみたい！方は、事務局までご連絡ください。



文部科学省 ポスト「京」開発事業

重点的に取り組むべき社会的・科学的課題に関するアプリケーション開発・研究開発
重点課題2 個別化・予防医療を支援する統合計算生命科学

Integrated Computational Life Science to Support Personalized and Preventive Medicine

■ 問い合わせ先

国立大学法人東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター DNA 情報解析分野
ポスト「京」重点課題2 個別化・予防医療を支援する統合計算生命科学 事務局

〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1 TEL : 03-5449-5615 FAX : 03-5449-5442
E-mail : icls-office@hgc.jp URL : <http://postk.hgc.jp/>



ポスト「京」重点課題は、国家基盤技術としてスーパーコンピュータ「京」の後継機となるポスト「京」を活用し、国家的に解決を目指す社会的・科学的課題に戦略的に取り組み、世界を先導する成果の創出を目指す文部科学省の事業です。重点課題2「個別化・予防医療を支援する統合計算生命科学」は、東京大学医科学研究所を代表機関として、ポスト「京」によって初めて実現できる「情報の技術」、「物理の原理の応用」、そして「ビッグデータの活用」により、病態の理解と効果的な治療の探索法の研究を行い、その成果を個別化・予防医療へ返す支援基盤となる統合計算生命科学を確立することを目的としています。