

**Fig. 2.** CK2 $\alpha$  AS-ODN blocks the progression of GN in an anti-GBM serum-induced rat model. (a) Western blot analysis of CK2 $\alpha$  protein expression in the renal cortex. (b) Urinary protein excretion and blood urea nitrogen levels. Data are shown as mean  $\pm$  SEM;  $n = 4$  or 8 animals. \*,  $P < 0.05$  compared with Anti-GBM group. NS, not significant. (c) PAS staining of the renal tissue in anti-GBM GN rats. (Original magnification:  $\times 200$ . Bar, 100  $\mu\text{m}$ .) Control, rats injected with normal serum ( $n = 8$ ). Anti-GBM, rats injected with anti-GBM serum ( $n = 8$ ). +AS-ODN, rats continuously administered a total of 100  $\mu\text{g}$  of specific AS-ODN against CK2 $\alpha$  into the renal cortex for 14 days, starting 1 day before the injection of anti-GBM serum ( $n = 4$ ). +S-ODN, rats continuously administered a total of 100  $\mu\text{g}$  of specific S-ODN against CK2 $\alpha$  into the renal cortex for 14 days, starting 1 day before the injection of anti-GBM serum ( $n = 4$ ).

mation's Gene Expression Omnibus site (which can be accessed at [www.ncbi.nlm.nih.gov/geo](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo)) accession no. GSE1262.

**RT-PCR.** One microgram of total RNA was reverse-transcribed, and cDNA samples were amplified by using PCR. The housekeeping gene *glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase* was used to standardize the mRNA levels of the target genes. Real-time PCR analysis was performed by using the DNA Engine Opticon2 System and the DyNAmo HS SYBR green qPCR kit (Bio-Rad). Sequences of PCR primers are shown in Table 1, which is published as supporting information on the PNAS web site.

**Western Blotting.** Protein was extracted from the renal cortex, and 20  $\mu\text{g}$  of the total protein was denatured and resolved by SDS/PAGE on a 12.5% (wt/vol) polyacrylamide gel. The proteins were electroblotted onto polyvinylidene difluoride membranes (Millipore). The blocked membranes were incubated with a primary polyclonal goat anti-CK2 $\alpha$  antibody at 1:100 dilution (Santa Cruz Biotechnology) and with a secondary horseradish peroxidase-conjugated donkey anti-rabbit IgG antibody (Santa Cruz Biotechnology) diluted at 1:1,000. Detection was achieved by using the enhanced chemiluminescence method (Amersham Biosciences).

**Immunohistochemical Staining.** Kidneys were removed, rolled in Tissue-Tek 22 OCT compound (Miles), and snap-frozen in liquid nitrogen. Frozen sections were cut at a thickness of 4  $\mu\text{m}$  and fixed in acetone. The endogenous peroxidase in the frozen sections was quenched by hydrogen peroxide, and sections were incubated with polyclonal goat anti-CK2 $\alpha$  antibody (Santa Cruz Biotechnology), anti-Ki67 (Santa Cruz Biotechnology), and anti-phospho ERK (Cell Signaling Technology, Beverly, MA). The sections were then processed by using an avidin-biotinylated peroxidase complex method (Vectastain Elite ABC kit, Vector Laboratories).

**In Vitro CK2 Kinase Assay.** CK2 activity was assayed by using a CK2 assay kit (Upstate Biotechnology) according to the manufacturer's instructions. Kinase activity was calculated by subtracting the mean of the background control samples without enzyme from the mean of samples with enzyme.

**Endogenous CK2 Activity in Kidney.** Renal cortex was removed, homogenized, and centrifuged at 1000  $\times g$  for 5 min at 4°C. Fifty micrograms of proteins from the supernatant was used to assay the CK2 activity. CK2 activity was assayed by using a CK2 assay

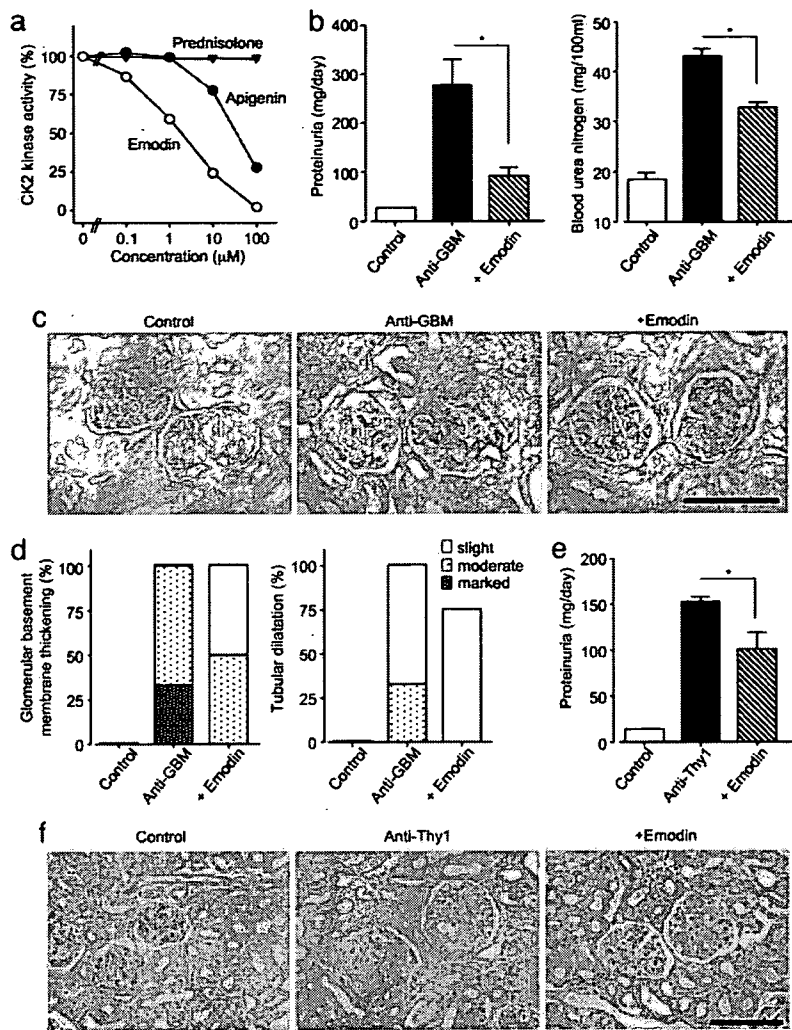
kit (Upstate Biotechnology) according to the manufacturer's instructions.

**TUNEL Staining.** TUNEL analysis was performed as described (18).

**Statistical Analysis.** Results are shown as mean  $\pm$  SEM. Statistical significance of differences in mean values was assessed by using a Student  $t$  test or ANOVA (One-way ANOVA followed by the Dunnett's multiple comparison test) with use of SAS software (SAS Institute, Cary, NC). Differences among means were considered significant at  $P$  values of  $< 0.05$ .

## Results and Discussion

As an initial effort to gain insight into the underlying molecular basis of GN, we have used cDNA microarrays to assess changes in gene expression in the kidneys of anti-GBM serum-induced GN rats. The anti-GBM GN rat is a model of human crescentic GN that rapidly progresses to renal failure. These rats are characterized by prominent inflammatory cell infiltration into the stroma, mesangial cell proliferation, crescent formation in the glomerulus, GBM thickening, and tubular dilatation (13, 14). The renal function of these rats deteriorated progressively after the injection of anti-GBM serum, as reported (13, 14). All anti-GBM serum-injected rats showed a severe proteinuria at day 7, which reached a peak on day 28, whereas the rate of urinary protein excretion was very low ( $\approx 20$  mg/day) throughout the experiment in normal serum-injected rats (Fig. 1a). Also, two serum markers of renal damage, blood urea nitrogen, and serum creatinine levels, significantly ( $P < 0.05$ ) increased on day 14 in anti-GBM serum-injected rats compared with controls. Thereafter, the levels increased further until day 28 (Fig. 1a). The kidneys of anti-GBM serum-injected rats showed histopathological changes characteristic of GN, including marked crescent formation in the glomerulus, GBM thickening, and tubular dilatation (Fig. 1b). Glucocorticoid prednisolone (1 mg/kg twice a day) was administered orally beginning on day 14 of anti-GBM serum injections. This significantly ( $P < 0.05$ ) alleviated the damage according to all parameters examined (proteinuria, blood urea nitrogen, and serum creatinine levels; Fig. 1a). Also, the kidneys of anti-GBM GN rats that were treated with prednisolone showed considerably less severe crescent formation in the glomeruli (anti-GBM:  $26.7 \pm 2.6\%$ , +prednisolone:  $17.3 \pm 2.2\%$ ,  $P < 0.05$ ; Fig. 1b). However, GBM thickening (anti-GBM: marked 33%, moderate 67%; +prednisolone: marked 50%, moderate 50%) and tubular dilatation (anti-GBM: moderate 33%, slight 67%; +pred-



**Fig. 3.** CK2 inhibitors block the progression of GN in an anti-GBM serum-induced rat model and an anti-Thy1 antibody induced rat model. (a) Inhibitory activity of CK2 inhibitors against CK2 kinase *in vitro*. The value for total enzyme activity was 1.1  $\mu\text{mol}$  per min per mg of protein.  $\text{IC}_{50}$  values of emodin and apigenin were 2 and 30  $\mu\text{M}$ , respectively. (b) Urinary protein excretion and blood urea nitrogen levels in anti-GBM GN rats. Data are shown as mean  $\pm$  SEM;  $n = 5$  animals. \*,  $P < 0.05$  compared with the anti-GBM group. (c) PAS staining of the renal tissue in anti-GBM GN rats. (Original magnification:  $\times 200$ . Bar, 100  $\mu\text{m}$ .) (d) GBM thickening and tubular dilatation in anti-GBM GN rats. Control, rats injected with normal serum. Anti-GBM, rats injected with anti-GBM serum. Emodin, rats administered emodin (20 mg/kg once a day) i.p. after injection of anti-GBM serum. (e) Urinary protein excretion in anti-Thy1 GN rats. Data are shown as mean  $\pm$  SEM;  $n = 5$  animals. \*,  $P < 0.05$  compared with the anti-Thy1 group. (f) PAS staining of the renal tissue in anti-Thy1 GN rats. (Original magnification:  $\times 200$ . Bar, 100  $\mu\text{m}$ .)

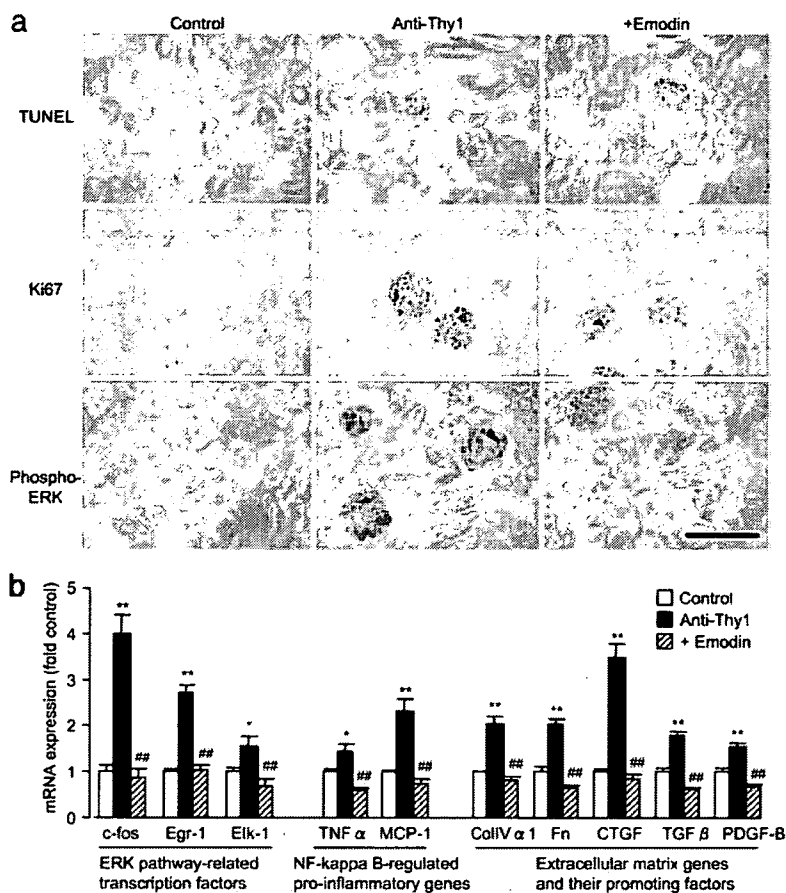
nisolone: moderate 50%, slight 40%) were not alleviated remarkably by the treatment with prednisolone.

Expression profiling was carried out by using mRNA from the renal cortex of anti-GBM GN or control rats on day 28 and cDNA microarrays enriched for clones representing rat kidney genes (16). We selected 43 of 3,000 cDNAs that were examined, in which the expression levels differed by  $>2$ -fold intensity from controls (Table 2, which is published as supporting information on the PNAS web site). The expression of 29 genes, including *CK2 $\alpha$* , *TGF $\beta$ 1*, *osteopontin*, and *collagen IV $\alpha$ 1* were up-regulated, whereas the expression of 14 genes, including *pendrin* and *organic anion transporter 1*, were down-regulated. Expression profiling performed in the renal cortex of prednisolone-treated anti-GBM GN rats showed that 18 up-regulated and 7 down-regulated GN-related genes, respectively, were repressed by prednisolone treatment (Table 2). *TGF $\beta$ 1* (19), *osteopontin* (20), *collagen IV $\alpha$ 1* (21), *pendrin* (22), and *organic anion transporter 1* (23) were previously reported as genes for which expression levels change during the development of renal disease. Real-time RT-PCR analysis on these genes further verified that the microarray data accurately represented gene expression in anti-GBM GN rats (Table 2). Among the differentially expressed genes, we focused on one gene, *CK2 $\alpha$* , that was overexpressed in the anti-GBM GN rats.

CK2 has been reported to phosphorylate a variety of protein substrates involved in diverse cellular functions such as signal

transduction, cell proliferation, malignant transformation, and apoptosis. However, the role of CK2 in GN is unknown. We confirmed ubiquitous expression of *CK2 $\alpha$* , e.g., in the heart, lung, liver, thymus, spleen, and intestine by RT-PCR analysis of both anti-GBM GN and control rats and recorded similar expression levels; however, expression of *CK2 $\alpha$*  was markedly enhanced only in the kidneys of GN model rats (data not shown). RT-PCR monitoring showed a time-dependent increase of *CK2 $\alpha$*  in the renal cortex of anti-GBM model rats during progression of GN (Fig. 1c). Corresponding well with the RT-PCR analysis (Table 2), Western blots verified the enhanced expression of *CK2 $\alpha$*  in renal cortex from anti-GBM GN rats on day 28 (Fig. 1d). Immunohistochemical staining showed that expression of *CK2 $\alpha$*  was markedly enhanced in the affected area of glomeruli in anti-GBM GN rats (Fig. 1e). Enhanced expression of *CK2 $\alpha$*  was suppressed by treatment with prednisolone (Table 2 and Fig. 1d). Also, the endogenous CK2 activity was markedly increased in the kidneys of anti-GBM GN rats (Control:  $33.0 \pm 19.3$  pmol per min per mg of tissue; Anti-GBM:  $91.3 \pm 21.8$  pmol per min per mg of tissue;  $P < 0.05$ ). This enhanced CK2 activity in GN rats was partially suppressed by treatment with prednisolone ( $64.6 \pm 6.3$  pmol per min per mg of tissue). Also, the expression of *CK2 $\alpha$*  in the kidneys was examined in anti-Thy1 GN rats, another model with many features mimicking human mesangial proliferative GN, such as IgA nephropathy (24). The rats injected with anti-Thy1 antibody showed a severe proteinuria on day 3 (Control:  $11.1 \pm 1.0$  mg/day;

PHARMACOLOGY



**Fig. 4.** The resolution of GN by CK2 inhibition is closely associated with its antiproliferative, antiinflammatory, and antifibrotic effects. (a) TUNEL staining (Top) and immunohistochemical staining for Ki67 (Middle) and phospho-ERK (Bottom) of the renal tissue in anti-Thy1 GN rats. (Original magnification:  $\times 120$ . Bar, 100  $\mu\text{m}$ .) (b) Real-time PCR analysis of expression of ERK pathway related transcription factors (*c-fos*, *Egr-1*, and *Elk-1*), NF- $\kappa$ B-regulated proinflammatory genes (*TNF $\alpha$*  and *MCP-1*), extracellular matrix genes (*collagen IV $\alpha$ 1* and *fibronectin*), and their promoting factors (*connective tissue growth factor*, *TGF $\beta$ 1*, and *platelet-derived growth factor B*) in the renal cortex of anti-Thy1 GN rats. Data are shown as mean  $\pm$  SEM.;  $n = 5$  animals. \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$  compared with the control group; ##,  $P < 0.01$  compared with the anti-Thy1 group. CollIV $\alpha$ 1, *collagen IV $\alpha$ 1*; Fn, *fibronectin*; CTGF, *connective tissue growth factor*; PDGF-B, *platelet-derived growth factor B*.

anti-Thy1:  $155.5 \pm 4.8$  mg/day;  $P < 0.05$ ). Real-time RT-PCR analysis (Control:  $1.0 \pm 0.1$ ; Anti-Thy1:  $1.7 \pm 0.2$ ;  $P < 0.05$ ) and Western blots (Fig. 1f) showed enhanced CK2 $\alpha$  expression in the renal cortex of the anti-Thy1 GN rats on day 3. Immunohistochemical staining showed that CK2 $\alpha$  expression was markedly enhanced in the glomeruli of anti-Thy1 GN rats (Fig. 1g). Furthermore, the histologic evaluation was conducted on human renal biopsy specimens obtained from untreated lupus nephritis (Fig. 1h Middle) and IgA nephropathy (Fig. 1h Right) patients. In all specimens examined, CK2 $\alpha$  was overexpressed in the glomeruli, and in some cases, in the peritubular interstitium (Fig. 1h). Hence, overexpression of CK2 $\alpha$  appeared to be closely associated with glomerular injury not only in the GN animal models but also in GN patients.

To elucidate the causal relationship between GN progression and enhanced CK2 $\alpha$  expression, we examined the effects of an AS-ODN against CK2 $\alpha$  in anti-GBM GN rats. By using an osmotic minipump, 100  $\mu\text{g}$  of either specific AS-ODN or sense oligodeoxynucleotide (S-ODN) was continuously administered into the renal cortex for 14 days, starting 1 day before the induction of anti-GBM GN. The enhanced CK2 $\alpha$  protein expression in the renal cortex of anti-GBM GN rats was suppressed by AS-ODN treatment, whereas S-ODN treatment showed no inhibitory effect (Fig. 2a). Also, the AS-ODN treatment significantly ( $P < 0.05$ ) abrogated both the anti-GBM GN-induced increase in proteinuria ( $166 \pm 19$  vs.  $253 \pm 29$  mg/day;  $P < 0.05$ ) and blood urea nitrogen levels ( $21.5 \pm 1.6$  vs.  $44.3 \pm 2.4$  mg per 100 ml;  $P < 0.05$ ) on day 14, whereas S-ODN treatment showed no inhibitory effect (Fig. 2b). Also, the renal histopathologic alterations, GBM thickening, and tubular dilatation were improved by the AS-ODN treatment (Fig. 2c).

We further examined the effects of low molecular weight CK2 inhibitors on the pathology of GN. The anthraquinone derivative emodin and the flavonoid compound apigenin, both extracted from natural products, have been recently reported to be specific ATP-competitive inhibitors of CK2 (25, 26). First, we examined the specificity of these compounds against a panel of seven protein kinases *in vitro*. In the presence of 10  $\mu\text{M}$  emodin, only CK2 was drastically inhibited, whereas the six other kinases (ERK, p38-regulated/activated kinase, S6 kinase, cAMP-dependent protein kinase, protein kinase C, and c-Src kinase) underwent little inhibition (Fig. 5, which is published as supporting information on the PNAS web site). Similar specificity was observed for apigenin as well (data not shown). Emodin and apigenin inhibited the CK2 kinase activity in a concentration-dependent manner, with an IC<sub>50</sub> value of 2 and 30  $\mu\text{M}$ , respectively, whereas prednisolone (up to 100  $\mu\text{M}$ ) did not have any effect on CK2 kinase activity *in vitro* (Fig. 3a). Emodin (20 mg/kg), when administered i.p. once a day from day 1, effectively inhibited the increase in endogenous CK2 kinase activity in the renal cortex of GN rats (anti-GBM:  $93.1 \pm 19.1$  pmol per min per mg of tissue; +emodin:  $26.6 \pm 3.0$  pmol per min per mg of tissue;  $P < 0.05$ ). Also, pharmacokinetic analysis showed that the maximum plasma concentration after 20 mg/kg i.p. (18  $\mu\text{M}$ ) was in the same range of the concentration (10  $\mu\text{M}$ ) we used for *in vitro* kinase assay.

Next, we examined the *in vivo* effects of the CK2 inhibitors on GN progression. Emodin treatment significantly ( $P < 0.05$ ) improved the anti-GBM GN-induced renal dysfunction (proteinuria: Fig. 3b Right; blood urea nitrogen: Fig. 3b Left; serum creatinine; anti-GBM:  $0.57 \pm 0.08$  mg per 100 ml; +emodin:  $0.41 \pm 0.06$  mg per 100 ml; and creatinine clearance; anti-GBM:  $1.25 \pm 0.05$  ml/min; +emodin:  $1.64 \pm 0.37$  ml/min). Also, treatment with emodin

significantly modulated the histological alterations observed in anti-GBM GN rats (Fig. 3c); thus, the crescent formation area of glomeruli in anti-GBM GN rats was significantly alleviated (anti-GBM:  $27.2 \pm 1.5\%$ ; +emodin:  $15.3 \pm 0.4\%$ ;  $P < 0.05$ ). Unlike prednisolone, the emodin treatment effectively prevented GBM thickening and tubular dilatation (Fig. 3d). Similar therapeutic effects were also observed upon treatment with apigenin (20 mg/kg i.p. once a day; data not shown). Additionally, we further examined the therapeutic activity of emodin by administering later, but not at the onset. The emodin treatment (20 mg/kg i.p.) started on the day 7 also significantly inhibited the aggravation of proteinuria ( $221 \pm 17$  vs.  $331 \pm 42$  mg/day;  $P < 0.05$ ) on day 28.

The effects of CK2 inhibitors appear to be different from those of prednisolone, which effectively decreases the expression of CK2. In fact, the treatment with prednisolone moderately inhibited the enhanced CK2 activity in the kidneys of anti-GBM GN rats. This *in vivo* inhibition of CK2 activity by prednisolone may be mainly due to its reducing effect on CK2 expression, because *in vitro* kinase assay showed that prednisolone has little effect on CK2 kinase activity. Prednisolone, hence, may have CK2-specific as well as other effects. This different mode of action between prednisolone and emodin may be reflected in the different histological features caused by the two agents.

The *in vivo* effects of emodin on anti-Thy1 GN progression were also assessed. Emodin treatment significantly ( $P < 0.05$ ) reduced anti-Thy1 GN-induced proteinuria (Fig. 3e). Also, treatment with emodin reduced the histological alterations observed in anti-Thy1 GN rats (Fig. 3f). The emodin treatment effectively prevented mesangiolysis and glomerulosclerosis. These results show that suppression of CK2 $\alpha$  activity by specific inhibitors significantly inhibited the progression of glomerular injury, and thereby renal pathology. However, when considering CK2 inhibitors as therapeutic agents against GN, potential toxicity problems with the CK2 inhibitors should be taken into account. In fact, emodin has been reported to have genotoxicity in *in vitro* experiments (27), although it is not fully understood whether its genotoxicity is due to CK2 inhibitory effect.

To provide mechanistic insight into the role of CK2 in GN, we examined *in vivo* the effect of CK2 inhibition on apoptosis, proliferation, inflammation, and fibrosis, all processes that are relevant to resolution and/or progression of GN. First, we confirmed that the number of TUNEL-positive glomerular cells increased in anti-Thy1 GN (Fig. 4a Top); however, this increase in apoptotic activity was not enhanced significantly by treatment with emodin (Fig. 4a Top), indicating that CK2 inhibition may not be related to increased apoptotic activity. On the other hand, increased cell proliferation (as measured by the proliferative index Ki67) in GN

was markedly suppressed by emodin treatment (Fig. 4a Middle). Concomitant with cell proliferation, immunohistochemical observation revealed increased glomerular staining for phospho-ERK in GN, and this activation of ERK was markedly suppressed by emodin (Fig. 4a Bottom). In good agreement with changes in ERK activation (28), real-time RT-PCR analysis showed that expression of ERK pathway related transcription factors [*c-fos*, *early growth response-1* (*Egr-1*), and *Ets-like protein 1* (*Elk-1*)], was enhanced in GN, and was significantly suppressed by emodin in all cases (Fig. 4b). Furthermore, the NF- $\kappa$ B pathway, which promotes expression of a wide range of proinflammatory genes, is activated in GN (29). Real-time RT-PCR analysis confirmed that expression of NF- $\kappa$ B-regulated proinflammatory genes such as *TNF- $\alpha$*  and *monocyte chemoattractant protein 1* (*MCP-1*) was increased in GN, and this enhanced inflammatory response was significantly reduced by emodin treatment (Fig. 4b). Moreover, we found that emodin treatment markedly suppressed the enhanced expression of both extracellular matrix genes (*collagen IV $\alpha$ 1* and *fibronectin*) and their promoting factors (such as *connective tissue growth factor*, *TGF $\beta$* , and *platelet-derived growth factor B*; Fig. 4b). Changes in the expression of these genes corresponded well with changes in fibrotic response, as assessed by PAS staining (Fig. 3f), indicating that CK2 inhibition is closely associated with the reduced production of extracellular matrix proteins. This observation is in good agreement with a recent study showing that CK2 activation mediates TGF $\beta$ -promoted *collagen IV* gene expression (30). Taken together, the protective effects of CK2 inhibition in GN may result from its suppression of ERK-mediated cell proliferation, and its suppression of inflammatory, as well as fibrotic processes that are enhanced in GN; however, CK2 inhibition apparently does not result in increased apoptotic activity.

In conclusion, we have isolated a GN-related gene, CK2, by microarray analysis performed on kidney cDNA from experimental GN model rats, and demonstrated that *in vivo* inhibition of the kinase ameliorates the renal dysfunction and histological progression. Because diverse insults can induce similar clinicopathologic presentations in GN, a marked overlap among downstream molecular and cellular responses has been suggested (31). Hence, pharmacologic agents that inhibit common underlying cellular mechanisms are expected to prove effective in treating glomerular diseases of diverse etiologies. Our present study indicates that CK2 could be an ideal therapeutic target for treating immunogenic GN.

We thank H. Kurumatani, T. Sudo, K. Takeda, M. Shimamura, and T. Yamada for scientific discussion. We also thank R. Misumi, S. Akegami, and H. Motegi for their excellent technical assistance. This work was supported in part by research grants from the Scientific Fund of the Ministry of Education, Science, and Culture of Japan (to G.T.).

- Madaio, M. P. & Harrington, J. T. (2001) *Arch. Intern. Med. (Moscow)* **161**, 25–34.
- Donadio, J. V. & Grande, J. P. (2002) *N. Engl. J. Med.* **347**, 738–748.
- Couser, W. G. (1999) *Lancet* **353**, 1509–1515.
- Johnson, R. J. (1994) *Kidney Int.* **45**, 1769–1782.
- Schocklmann, H. O., Lang, S. & Stenzel, R. B. (1999) *Kidney Int.* **56**, 1199–1207.
- Bokemeyer, D., Sorokin, A. & Dunn, M. J. (1996) *Kidney Int.* **49**, 1187–1198.
- Meggio, F. & Pinna, L. A. (2003) *FASEB J.* **17**, 349–368.
- Lichfield, D. W. (2003) *Biochem. J.* **369**, 1–15.
- Pinna, L. A. (2002) *J. Cell Sci.* **115**, 3873–3878.
- Ahmed, K., Gerber, D. A. & Cochet, C. (2002) *Trends Cell Biol.* **12**, 226–230.
- Landesman-Bollag, E., Song, D. H., Romieu-Mourez, R., Sussman, D. J., Cardiff, R. D., Sonenshein, G. E. & Seldin, D. C. (2001) *Mol. Cell. Biochem.* **227**, 153–165.
- Lebrin, F., Chambaz, E. M. & Bianchini, L. (2001) *Oncogene* **20**, 2010–2022.
- Yamada, M., Sasaki, R., Sato, N., Suzuki, M., Tamura, M., Matsushita, T. & Kurumatani, H. (2002) *Eur. J. Pharmacol.* **449**, 167–176.
- Oseto, S., Moriyama, T., Kawada, N., Nagatoya, K., Takeji, M., Ando, A., Yamamoto, T., Imai, E. & Hori, M. (2003) *Kidney Int.* **64**, 1241–1252.
- Koo, J. W., Kim, Y., Rozen, S. & Mauer, M. (2003) *J. Nephrol.* **16**, 203–209.
- Katsuma, S., Shiojima, S., Hirasawa, A., Suzuki, Y., Takagaki, K., Murai, M., Kaminishi, Y., Hada, Y., Koba, M., Muso, E., et al. (2001) *Pharmacogenomics J.* **1**, 211–217.
- Katsuma, S., Shiojima, S., Hirasawa, A., Suzuki, Y., Ikawa, H., Takagaki, K., Kaminishi, Y., Murai, M., Ohgi, T., Yano, J., et al. (2002) *Methods Enzymol.* **345**, 585–600.
- Gavrieli, Y., Sherman, Y. & Ben-Sasson, S. A. (1992) *J. Cell Biol.* **119**, 493–501.
- Zhou, A., Ueno, H., Shimomura, M., Tanaka, R., Shirakawa, T., Nakamura, H., Matsuo, M. & Iijima, K. (2003) *Kidney Int.* **64**, 92–101.
- Lan, H. Y., Yu, X. Q., Yang, N., Nikolic-Paterson, D. J., Mu, W., Pichler, R., Johnson, R. J. & Atkins, R. C. (1998) *Kidney Int.* **53**, 136–145.
- Bergijk, E. C., Van Alderwegen, I. E., Baelde, H. J., de Heer, E., Funabiki, K., Miyai, H., Killen, P. D., Kalluri, R. K. & Bruijn, J. A. (1998) *J. Pathol.* **184**, 307–315.
- Petrovic, S., Wang, Z., Ma, L. & Soleimani, M. (2003) *Am. J. Physiol.* **284**, F103–F112.
- Motojima, M., Hosokawa, A., Yamato, H., Muraki, T. & Yoshioka, T. (2002) *Br. J. Pharmacol.* **135**, 555–563.
- Jefferson, J. A. & Johnson, R. J. (1999) *J. Nephrol.* **12**, 297–307.
- Battistutta, R., Sarno, S., De Moliner, E., Papinutto, E., Zanotti, G. & Pinna, L. A. (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 29618–29622.
- Sarno, S., de Moliner, E., Ruzzene, M., Pagano, M. A., Battistutta, R., Bain, J., Fabbro, D., Schoepfer, J., Elliott, M., Furet, P., et al. (2003) *Biochem. J.* **374**, 639–646.
- Muller, S. O., Eckert, I., Lutz, W. K. & Stopper, H. (1996) *Mutat. Res.* **371**, 165–173.
- Bokemeyer, D., Panek, D., Kramer, H. J., Lindemann, M., Kitahara, M., Boor, P., Kerjaschki, D., Trzaskos, J. M., Floege, J. & Ostendorf, T. (2002) *J. Am. Soc. Nephrol.* **13**, 1473–1480.
- Lopez-Franco, O., Suzuki, Y., Sanjuan, G., Blanco, J., Hernandez-Vargas, P., Yo, Y., Kopp, J., Egido, J. & Gomez-Guerrero, C. (2002) *Am. J. Pathol.* **161**, 1497–1505.
- Zdunek, M., Sibiger, S., Lei, J. & Neugarten, J. (2001) *Kidney Int.* **60**, 2097–2108.
- Mittal, B., Hurwitz, S., Rennke, H. & Singh, A. K. (2004) *Am. J. Kidney Dis.* **44**, 1050–1059.

## 第4回(平成18年度)薬学研究ビジョン部会賞受賞者(1)

## ケミカル・バイオ情報に基づく創薬インフォマティクス研究

奥野 恭史 京都大学大学院薬学研究科 統合薬学フロンティア教育センター

## 1. はじめに

ヒトゲノムが解読された今日、莫大なゲノム情報から創薬への手がかりを発見すること、すなわち「ゲノム創薬」に大きな期待が寄せられている。ゲノム創薬は、ゲノム情報を出発点とし創薬の標的遺伝子探索からリード化合物探索を経て臨床段階に至る広範で高度に専門化した複合領域であり、その実践にはこれらの複合領域の橋渡しを実現する統合的なインフォマティクス基盤(創薬インフォマティクス)が必須となる。我々は、創薬インフォマティクスという新たな研究分野の創成に向け、バイオ情報を扱うバイオインフォマティクスとケミカル情報を扱うケモインフォマティクスの独立に発展してきた2つの情報科学分野の統合を図り、バイオ情報とケミカル情報の両者を同時に統合的にマイニングする新しい情報技術の開発に着手している。さらに本研究は、現在、国内外で注目されているケミカルゲノミクス・ケミカルバイオロジーのための有力な情報基盤ともなり得るものと考えられる。

## 2. 化合物の宇宙探索(ケミカル空間の探索)

2004年12月のNature誌において、Chemical Space特集号が発表された(1)。そこでは、化合物の種類は1060個を越える天文学的なバリエーションを有しており、化合物空間を探索することは宇宙探索と同様に壮大な課題であることが提示されている。このことは医薬品の候補化合物となり得る新規な活性化化合物を見つけ出すことが如何に困難でセレンディップなことであることを示唆するものである。

これらケミカル空間の探索の基礎研究としてケミカルゲノミクス・ケミカルバイオロジー研究が近年注目されている。ケミカルゲノミクスでは、その命題として「莫大な数の化合物と生体系(タンパク質や細胞など)との相互作用を包括的に明らかにすること」が挙げられている。実際、米国では、ケミカルゲノミクスプロジェクトを掲げ、数百万もの膨大な化合物に関する情報を収集し、

有用化合物の探索に国策として取り組んでいる。

しかしながら、広大な化合物空間から生物活性を有する化合物を探し当てる化合物探索には、天文学的な数量に対応できる新たなインフォマティクス技術とハイスループット技術の研究開発が必須である。そこで、我々は、莫大な化合物群とタンパク質群との相互作用様式をゲノムスケールで解析することを目的とした情報学的技術、すなわちケミカルゲノミクスのためのインフォマティクス技術の研究開発を行っている。

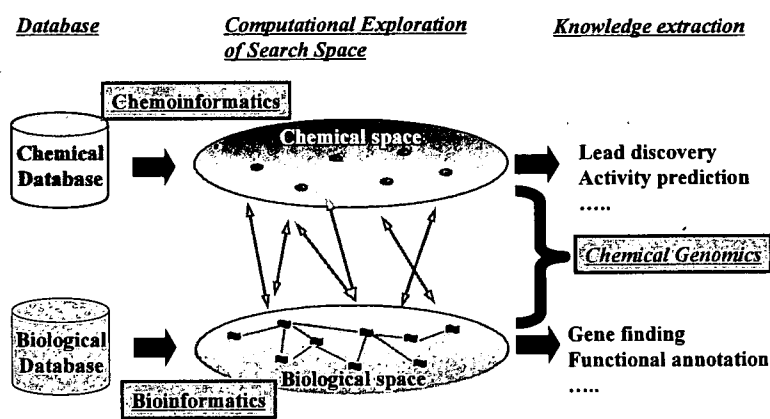
## 3. ケモインフォマティクスとバイオインフォマティクス(図1)

ケミカルゲノミクス・ケミカルバイオロジーでは、化合物のケミカル情報と生体系のバイオ情報の2種の異なる情報が対象となる。従って、ケミカルゲノミクスのための情報処理技術には、ケミカル情報を処理するケモインフォマティクスとバイオ情報を処理するバイオインフォマティクスを融合する新たなインフォマティクス技術の開発が必須となる。しかしながら、化学と生物学という異なる分野を背景にもつ2つのインフォマティクスは、独立して発展してきており現状では互いに相容れない。そこで、我々はケモインフォマティクスとバイオインフォマティクスにおける方法論的なアナロジーに着目しその融合を図った。すなわち、ケモインフォマティクスもバイオインフォマティクスも共に、個体(化合物やタンパク質)の特徴量を数値やベクトルで表現することにより、各個体の相対的な特性の違いを探索空間上の個体間の距離として定量的に算出する方法論を基本としている。例えば、ケモインフォマティクスでは、データベースに集積された膨大な化合物エントリーは化学構造や特性を定量的に表すベクトルとして表現され、その相対的な違いを距離の尺度として持つ座標空間(探索空間)をコンピュータ内部に構築する。データベース検索はこの探索空間において距離が近接する化合物を類似化合物として選出してくることに

なる。また、バイオインフォマティクスでも同様の考え方であり、遺伝子・タンパク質エントリーは配列や構造として表現され、それぞれの相同性（類似度）を尺度として持つ探索空間（バイオデータの場合、探索空間は系統樹やネットワーク構造になっている場合もある。）が構築され、データベース検索にはこの探索空間に基づき、類似（類縁）遺伝子・タンパク質が選出される。

一方、ケミカルゲノミクスとは、ケミカル空間の個体（化合物）とバイオ空間の個体（遺伝子・タンパク質）との相互作用関係を網羅的に明らかにする研究であり、図1の赤線に示す対応関係を付加したモデルであると考えられる。ここで、我々は、ケミカル情報とバイオ情報を統合的に処理するために、ケミカル空間（緑色）とバイオ空間（黄色）を独立して扱うのではなく、2つの空間を融合したモデルをケミカルゲノミクスのためのインフォマティクスモデルとして初めて考案した。

図1. ケモインフォマティクスとバイオインフォマティクス



#### 4. ケミカル空間-バイオ空間の融合モデル

情報科学的アプローチによる化合物探索は、これまで化合物のケミカル情報のみを用いたケモインフォマティクス手法が用いられてきた。これに対し、我々の手法は、このケミカル情報のみの従来手法にバイオインフォマティクス技術を融合させ、バイオ情報を考慮に入れた化合物探索を実現する新しいインフォマティクス手法と言える。（図1）

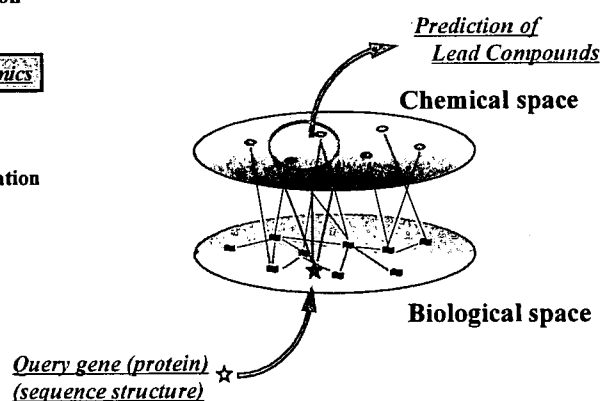
例えば、化合物について構造や特性の類似性を相対的な位置関係として表現したものをケミカル空間（赤が化合物、緑領域がケミカル空間）と

して定義するとともに、タンパク質についても類似関係（配列や構造の相同性）を相対的な位置関係として表現したものをバイオ空間（青がタンパク質、黄色領域がバイオ空間）として定義する。さらに個々の化合物とタンパク質の結合をリンク（黒線）することによって、これらケミカル空間とバイオ空間を融合した単純モデルをコンピュータ内部に構築できる。（図2）

ここで、標的タンパク質に作用する化合物候補を探索する In silico スクリーニングにこの融合モデルを適用する場合を考えると、

- 1) 標的タンパク質（青星）の配列構造から、そのタンパク質がバイオ空間座標にマッピングされる。
- 2) バイオ空間にマッピングされた標的タンパク質の近隣タンパク質からのケミカル空間へのリンク情報をたどること（青矢印）により、その標的タンパク質が関係するケミカル空間のエリア（青円内）を指定することができる。
- 3) 上記エリア内の化合物群が、標的タンパク質に相互作用する可能性のある化合物群と推定される。（ここでは、類似のタンパク質は、類似の化合物を結合するという前提を基にしている。）

図2. ケミカル空間-バイオ空間融合モデルを用いた In silico スクリーニング



我々は、このケミカル空間とバイオ空間の融合モデルを用いた探索を、GPCR ファミリーとそのリガンド化合物の探索に適用し、GLIDA データベース(2,3)として Web サービスを行っている。

#### 5. ケミカル空間-バイオ空間の相関モデル

我々が考案する融合モデルで最も重要なことは、モデルの構築方法である。我々の方法は、こ



のモデル構築方法においても、従来法より大きな優位性を有している。

ケミカル空間の構築に用いられる従来法の代表的なものに主成分分析 (PCA) がある。これは、ケミカル情報のみを用い、化合物の化学特性ができる限り多様になるように、ケミカル空間座標を定義するものであり、ここでの大きな問題点は、化合物の多様性と生物活性との直接の因果関係は無いということである。

これらの問題点を克服することを目的とし、我々は正準相関分析 (CCA) を用いて相関モデル構築を試みた。本手法は、ケミカル情報とタンパク配列情報の両情報を用いて、ケミカル空間とタンパク空間の両空間の相関が高くなるように互いの空間座標を定義するものである。これはバイオ空間の分布を考慮して、ケミカル空間座標を定義する方が、生物活性にとって都合の良い空間座標を構築できるという大きな特徴を有する。

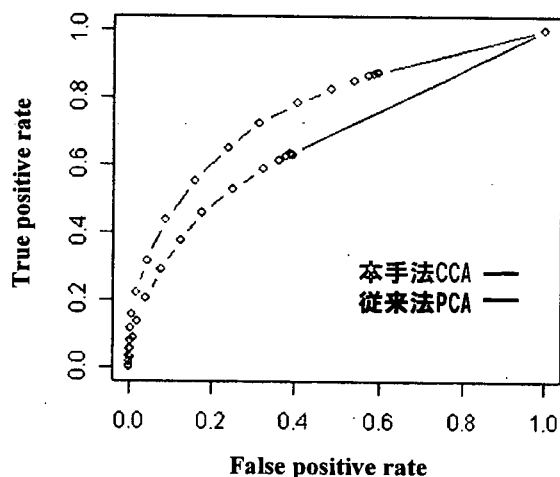


図3. 本手法と従来法との性能比較

実際に、従来法(PCA)と本手法(CCA)の性能を比較するために、既知データ(DrugBank データベース(4))を用いた 5-fold cross validation テストを実施し、化合物とタンパク質の相互作用予測の予測性能評価を行った。その結果を図3に示す。図は、予測性能を評価する有名な方法の一つである ROC 曲線 (横軸は化合物-タンパク質相互作用を誤って予測した割合、縦軸は正しく予測した割合を示す。) であり、このグラフは曲線が上に位置するほど、予測性能が良いことを表す。本手法の赤曲線が従来法の黒曲線より上方に位置するこ

とから、本手法の方が、従来法よりも高い予測性能であることがわかる。

## 6. Biologically relevant chemical space

ごく最近、宇宙観測において、暗黒物質 (ダークマター: 目には見えない物質) の宇宙空間での分布が初めて観測され宇宙の起源解明に期待が寄せられている。化合物の宇宙空間では、我々は何を探索しなければならないのであろうか? Chemical Space 特集号では、その答えとして「生物にとって意味のある化合物群 (Biologically relevant chemical space)」を探索することの重要性を提示している。しかしながら、Biologically relevant chemical space を定義する具体的方法に関する報告は未だなされていない。

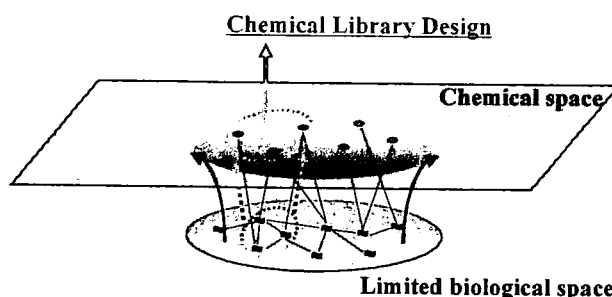


図4. Biologically relevant chemical space

我々の開発した融合モデルはこの難問に一つの解答を与える事ができ、タンパク質群と化合物群の相互作用様式の統計モデルを構築することにより、広大なケミカル空間のうち黄色のバイオ空間に対応するケミカル空間 (biologically relevant chemical space) を限定することを可能にする。(図4) また、バイオ空間のタンパク群を、例えば GPCR ファミリー (赤点線エリア) などに限定することにより GPCR 用のフォーカスライブラリーの設計も可能になり、生物活性を有する化合物ライブラリーの合理的設計が実現できる。

例えば、図5は、カナダでサービスされている DrugBank データベース(4)における 3476 個の既知薬物ターゲットタンパク質からなるバイオ空間とそれに対応する 3079 個の既知薬物からなるケミカル空間の実際の相関モデルである。このように、Biologically relevant chemical space の定義が可能となる。

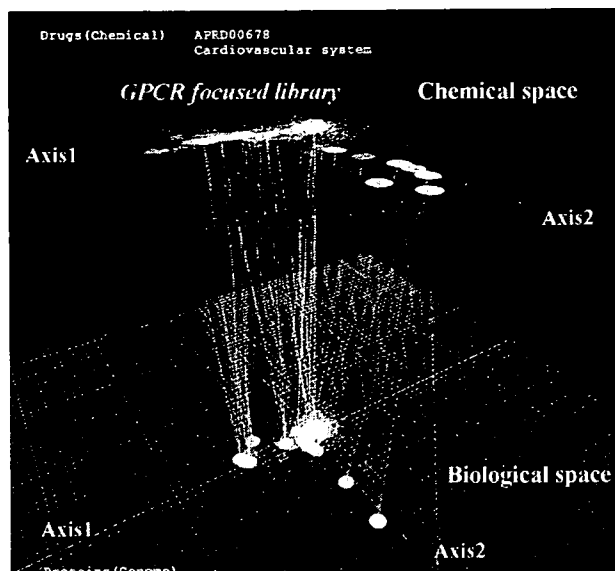


図5. DrugBank データを用いた実際のケミカル空間とバイオ空間

## 7. おわりに

医薬品の開発プロセスにおいて、現在用いられている In silico 技術には、我々が研究開発を行う情報科学的アプローチの他に、立体構造モデルを用いたドッキングシミュレーションのような計算化学的アプローチが有名である。情報科学的アプローチと計算化学的アプローチには、それぞれ一長一短があるが、欠点を互いに補完し合い In silico 創薬の確度向上を図ることが今後の課題であろう。特に、ケミカルゲノミクスが盛んな今日、日々増加し続ける莫大なデータを処理することは必須であり、情報科学的アプローチである創薬インフォマティクスのさらなる研究開発が必要である。

## 謝辞

本研究の一部は、文部科学省、厚生労働省の支援によって行われている。また、検証実験等の共同研究を行って頂いている京都大学薬学研究科ゲノム創薬科学分野の辻本豪三教授に深く感謝申し上げる。

## 参考文献

- 1) Nature, 432 (7019) (Insight), 823-865
- 2) Okuno, Y., Yang, J., Taneishi, K., Yabuuchi, H., Tsujimoto, G, Nucleic Acids Research, 34, D673-677
- 3) <http://pharminfo.pharm.kyoto-u.ac.jp/services/glida/>
- 4) <http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/drugbank/>

◆略歴◆ 奥野 恭史 (Yasushi OKUNO) : 1995年京大薬・修士課程修了、京大薬・博士後期課程進学、1996年京大薬・博士後期課程中途退学、京都大学化学研究所教務職員、2000年京大薬博士号取得、2001年京都大学化学研究所博士研究員、2002年京都大学化学研究所特任助手、2003年京都大学大学院薬学研究科特任助手、2005年産業技術総合研究所外来研究員(併任)、2006年京都大学大学院薬学研究科助教授



# 奨励賞受賞研究

## バイオ空間とケミカル空間の包括的相関解析とそのインシリコ創薬への研究展開

京都大学大学院薬学研究科准教授 奥野 恭史



ポストゲノム時代の今日、莫大なゲノム情報から創薬への手がかりを発見すること、すなわちゲノム創薬に大きな期待が寄せられてきた。ごく最近では、ゲノムプロジェクトで集積された大量のバイオ情報を低分子化合物へと直結することを目標とした「ケミカルゲノミクス」や「ケミカルバイオロジー」が注目さ

れ、生物学分野に加え化学分野にまで包括的概念が導入されつつある。実際、米國を筆頭に国内外において、ケミカルゲノミクスプロジェクトが開始され、「莫大な数の化合物と生体系との相互作用を包括的に明らかにすること」を命題に数百万もの膨大な化合物に関する情報の収集と有用化合物の探索が展開されている。

しかしながら、プロジェクトで算出される成果物は膨大なデータ量であるだけに、それらから生物学と化学とのインターフェイスとなる物理化学的法則性を発見しなければ、ケミカルゲノミクスが単なるやみくもなデータ収集に終わりがかねないという危険性を有している。

このような背景を鑑み、われわれは、莫大な化合物群とタンパク質群との相互作用様式をゲノムスケールで解析することに主眼を置いた情報科学に基づいた理論的アプローチを世界に先駆けて研究開発し、ケミカルゲノミクスデータからの分子認識における物理化学的法則の発見と、その知識

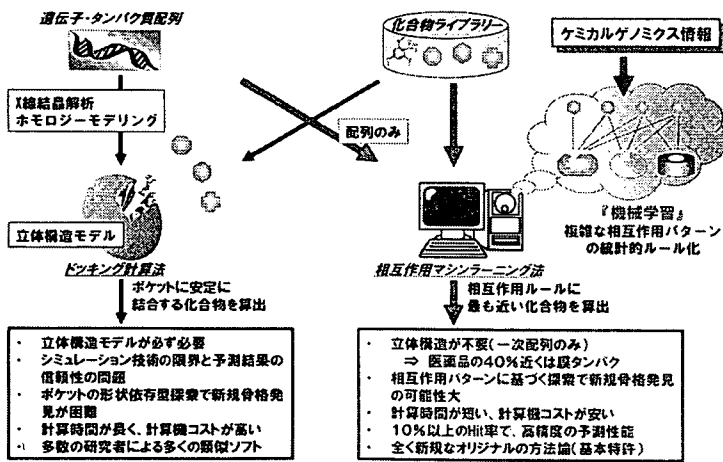
に基づいた新たなインシリコ創薬手法の開発を行ってきた。

代表的な研究成果としては、ケミカル情報とバイオ情報を統合的に処理するために、ケミカル空間とバイオ空間を独立して扱うのではなく、二つの空間を化合物とタンパク質との網羅的な相互作用関係に基づいて融合したモデルを、ケミカルゲノミクスのためのインフォマティクスモデルとして初めて考案した。また、この融合モデルのインシリコ創薬応用として、ケミカルゲノミクス情報の

### 従来法と新手法(相互作用マシンラーニング法)の比較

従来法:ドッキングシミュレーション法

新手法:相互作用マシンラーニング法



機械学習に基づくインシリコスクリーニング手法の開発を行った。

この方法論は、従来のタンパク質の立体構造モデルを用いたドッキング

展させ、定量的な導入、構造活性相関情報の抽出などに取り組んでいる。

# YAKU学・最前線

## 研究現場からあなたへ

ヒトゲノムプロジェクトが開始された当初、ゲノム解読が多くの新薬を生み出し、多くの疾患が治療可能になるものと、大きな夢と希望が抱かれました。しかし、残念ながら、ゲノム解読至上宣言がなされた現在も、夢の医療の実現には至っていません。

では、ゲノムプロジェクトは無意味なものだったのでしょうか？  
もちろん、答えはNoです。例えば、ゲノムプロジェクトの大きな貢献の一つに、ヒトを形作る全ての

とその他の所在(ゲノム上の位置)が明らかになったことが挙げられます。すなわち、研究や医療の対象となり得る遺伝子が有制限に限定されたことにより、病気の原因や薬の治療標的となる遺伝子・蛋白質を簡易に探し回る

またさらに、ゲノムプロジェクトは、科学の世界に、生命現象の全体像を捉えることの重要性、総体、包括性、網羅性と

す。ごく最近、この包括的価値観は、化学(ケミストリー)の世界にも導入され始めています。遺伝

数はいったい幾つあるのでしょうか？  
もちろん、進化の過程で淘汰されてきた遺伝子とは異なり、化合物は無

に存在する無限の星(膨らみ)との相互作用を包括的に明らかにすることが掲げられ、米国では、数百万もの膨大な化合物に関する情報を収集し、有用化合物を探索する国家プロジェクトが展開されています。

このことは、広大な宇宙の中から未知の感星を発見する宇宙探索と同様に、無限のケミカル宇宙から医薬品の種となる活性化化合物を発見することが非常に困難なことを物語っています。

近年、これらケミカル空間を探索する研究分野として、ケミカルゲノミクスやケミカルバイオロジーという分野が注目されています。ケミカルゲノミクスでは、その命題として「莫大な数の化合物と生体系(蛋白質や細

## ゲノムからケミカル宇宙へ

数の組み合わせを創製することが可能であることから、無限に存在すると考えられます。例えば、分子重500以下のものだけでも、理論上では10<sup>15</sup>種類を超える天文学的なバリエーションになると推定されています。従って、無数の化合物を宇宙

この新しい価値観を根づかせました。すなわち、個々の遺伝子、蛋白質、分子の動きを見るのが主流とされてきたこれまでの科学の見方に加え、個々の要素の複雑な関連(相互作用)を導入、包括的に解析しようとする観点が生み出されたので

子の総体をゲノムと名づけるのに対し、化合物の総体はケミカル空間(ケミカル宇宙、ケミカルスペース)と総称されています。

では、ゲノムプロジェクトと同様に、ケミカル空間を構成する化合物の数、すなわち化合物の総

を物語っています。

ケミカル空間を探索する研究分野として、ケミカルゲノミクスやケミカルバイオロジーという分野が注目されています。ケミカルゲノミクスでは、その命題として「莫大な数の化合物と生体系(蛋白質や細

膨らみ)との相互作用を包括的に明らかにすることが掲げられ、米国では、数百万もの膨大な化合物に関する情報を収集し、有用化合物を探索する国家プロジェクトが展開されています。

しかしながら、有制限数を対象にしていたゲノムプロジェクトと異なり、ケミカルゲノミクスプロジェクトでいかに網羅的研究展開がなされたとしても、無限のケミカル空間を探索し尽くすことは不可能であります。

われわれの研究室(Url: /dhaminfo-pharma.kyoto-u.ac.jp)では、この無限に広がる化合物の宇宙空間をコンピュータ上にモデル化し、情報科学技術を用いて医薬品の種となる活性化化合物の探索を行っています。コンピュータの中では、多次元空間を構築することが可能であり、無限の化合物の可能性を対象にできるからです。化合物が無制限であるということは、未知の化合物、すばらしい薬効を有する化合物が存在している可能性も無限であります。

宇宙の中に、地球と同じ感星を探すと同様に、ケミカル宇宙の中の新規化合物探索は夢とロマンに満ち溢れています。

京都大学薬学研究所 統合薬学フロンティア教育センター 准教授

奥野 啓史

京都大学薬学研究所 統合薬学フロンティア教育センター 准教授

京都大学薬学研究所 統合薬学フロンティア教育センター 准教授

京都大学薬学研究所 統合薬学フロンティア教育センター 准教授

京都大学薬学研究所 統合薬学フロンティア教育センター 准教授

京都大学薬学研究所 統合薬学フロンティア教育センター 准教授

京都大学薬学研究所 統合薬学フロンティア教育センター 准教授

# バイオ関連企業の動向

## ハイオグリップメントセンター タリ関西

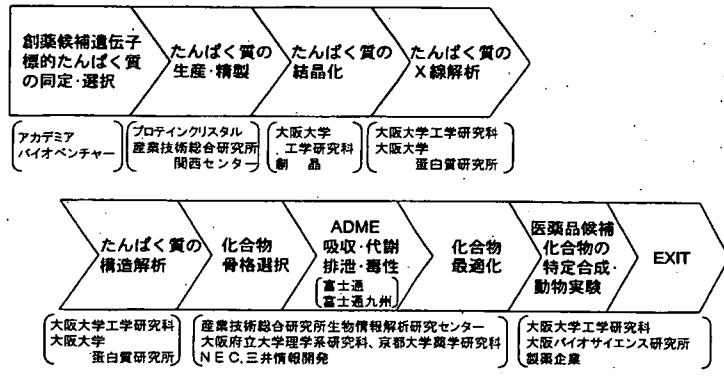
ハイオグリップメントセンター  
関西(大阪府豊中市、  
ト條真司理事長、06・  
6873・2156)は  
「創薬バリューチェーン」  
プロジェクト(代表  
川坂恒昭理事)を進め  
ている。同プロの提案

「インシリコでの創薬手  
法の確立とその実証研  
究」は文科省の大阪北部  
(彩都)地域的クラス  
ター創成事業に採択され  
た。コンピュータ技術  
を用いて、医薬品候補化  
合物の発見(探索)およ

び候補化合物の詳細設計  
(最適化)がそれぞれ可  
能かというテーマを掲げ  
ている。これらのテーマ  
について実験系とコンピ  
ューター系のチームによ  
り実証研究を進めてき  
た。コンピュータによる

候補化合物の構造情報が必要になる。構造の動的な変動を正確にシミュレーションすることは難しく、予測結果の信頼性、再現性などに課題がある。特に膜たんぱく質は新薬開発の標的となるが、結晶化が難しく構造はほとんど分かっている。このため構造が分からなくても、薬を作ることも求められている。

創薬バリューチェーンの概念



## 創薬バリューチェーン プロジェクトを進行

医薬品候補化合物探索の道探る

候補化合物の発見の取り組みとしては、京都大学大学院薬学研究所の奥野恭史助教授が開発したコンピュータを用いた構造未知のたんぱく質に対する薬剤候補化合物の探索手法「相互マシニング法」がある。熱力学的シミュレーションにより結合モードを探索するドッキングシ

相互作用マシニング法は化合物空間とたんぱく質空間を、それぞれ類似性に基づいて定義する。既知の多対多の相互作用パターンを統計的にルール化し、相互作用ルールに最も近い化合物を算出、予測する。同法では標的たんぱく質の立体構造は不要。膜たんぱく質の場合、一次配列のみでの高精度予測できることは検証済みだ。相互作用関係を優先し、化学構造の自由度を許容するため、新規骨格の発見の可能性が高い。計算時間が短時間で済むという利点がある。

実験では構造が未知の膜たんぱく質を用いた。同法を用い論文などの既知化合物の情報を用い、計算機で解析し約130の化合物を抽出、その化合物を購入して生物活性を測定した。すると、既に論文で発表されている化

## 国際級クラスターの形成でわが国をけん引

日刊工業新聞 2007. 3. 26 掲載記事

マラリアの医薬品候補化合物

計算機で探索に成功

グオ  
オ関  
バインド  
バリッド

バイオケリッド関西  
(大阪府豊中市、下條真  
司理専長、06・687  
3・2156)は、コン  
ピューター技術と実験系  
の共同研究で、マラリア  
の医薬品候補化合物の探  
索に成功した。100万  
大規模データベースを基

万個の低分子化合物と致  
百のたんぱく質構造の総  
当たりドッキング計算の  
大規模データベースを基  
用することにより、阻害  
薬候補化合物を約10%の  
高いヒット率で探索し  
た。最終的な化合物合成  
には至っていないが、化  
合物の最適化に計算機を  
使った手法が有効である  
と考えられる。  
実験では計算機で構造的

たんぱく質の構造情報を  
用い、100万化合物か  
ら約7600個に絞った。  
上位約150個の化合  
物を購入し、生化学実  
験を行うと医薬品候補と  
して有力な化合物15個を  
探索できた。通常、計算  
機による化合物探索はヒ  
ット率1%以下という。  
また計算機による抗ア  
レルギー剤の化合物の構  
造最適化も行った。アレ  
ルギー伝達物質であるア  
ロスタグランジンロ2を  
合成するヒト由来酵素に  
対し、経口投与で効果の  
ある既知化合物の計算機  
による最適化を行った。  
酵素の5カ所のポイン  
トに対して、水素結合や  
電荷による結合力などを  
予測し、5カ所のポイン  
トにフィットする部位を  
持つ化合物を合成した。  
試験管実験では合成した  
化合物は酵素に対して既  
知化合物2倍の結合力が  
あった。

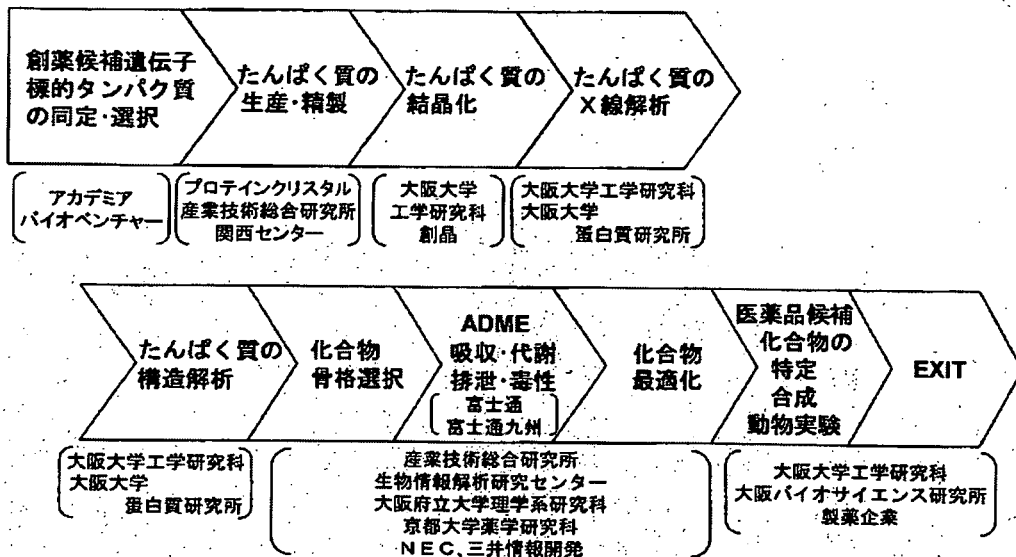
日刊工業新聞 2007. 3. 20 掲載記事

<p><b>マラリア薬候補 化合物15種特定</b></p> <p>阪大など</p>	<p>大阪大学の井上繁・助 教授らのグループは十九 日、マラリアの治療薬の 候補化合物を見つけたと 発表した。コンピュータ ーによる解析とたんぱく 質実験を組み合わせ、百 万個ある化合物の中から 薬効候補を十五個を特定 した。今後は構造の一部 を変えなどの工夫を加 える。</p> <p>特定非営利活動法人 (NPO法人)のバイオ ケリッドセンター関西、 京都大学、産業技術総合 研究所などとの共同成 果。産総研が開発した二 種ある化合物の探索手 法を活用した。</p>
--	---

日経産業新聞 2007. 3. 20 掲載記事

# フロンティアを行く

バイオグリッドセンター関西の「創薬バリューチェーン」(イメージ図)



## バイオグリッドセンター関西

### 昨年からのプロジェクト始動

### IT技術駆使、融合し 新たな創薬手法開発へ

医薬品創製バイオの世界では、バイオ技術および化合物合成や分析などの実験を行ういわゆる「ウェット系技術」と、コンピュータによる計算科学に基づく技術の融合が必要とされる。バイオグリッドセンター関西(大阪府豊中市、下條真司理事)は、大阪大学サイバーメディアセンター長、06・6873・2156)は「ITとバイオ、医療の融合を志向する特定非営利活動法人(NPO)」。コンピュータネットワークワークを活用するグリッド技術を活用するグリッド技術によるバイオインフォマティクスを連携させ、薬の候補原型となる化合物の創製を図っている。知的クラスター創成事業の実用化研究にも採択されている。

創薬候補の遺伝子からたんぱく質を生産、実際にX線、Springer

創薬バリューチェーンを構築している。主にコンピュータ技術を活用して化合物合成などのウェットとの協働による新たな創薬手法を開発する。大阪大学、産業技術総合研究所などの研究機関のほか、バイオベンチャー、NEC、富士通などのコンピュータメーカー、製薬企業などが参加、総合的な創薬プラットフォームを志向する。

ウェット部分にかかわるバイオベンチャー、アカデミア、製薬企業と、グリッドコンピュータ技術によるバイオインフォマティクスを連携させ、薬の候補原型となる化合物の創製を図っている。知的クラスター創成事業の実用化研究にも採択されている。

創薬バリューチェーンは、その名の通り創薬の活発化に貢献するだけでなく、バイオ産業全体の底上げにつながる可能性を秘めている。バイオベンチャーが生み出す創薬シーズを医薬品候補化合物として製薬企業に橋渡しする役割を担うためである。

バイオグリッドR&Dセンターの坂田恒昭氏は「画期的医薬品候補化合物を生み出すには産官学の効果的な連携とバイオベンチャーの力が欠かせない」と話す。より効率的な創薬の仕組みをつくり、大学やバイオベンチャーの研究シーズの製品化を支援、結果的にわが国の製薬産業およびバイオ産業全体のレベルアップを狙う。

日刊工業新聞 2006. 3. 28 掲載記事