

新規生物活性ペプチドの取得を基盤とした医薬・マテリアルの開発

研究代表者 小出 隆規
(先進理工学部 化学・生命化学科 教授)

1. 研究課題

ペプチドは高い特異性と切れ味の良い効果が期待できる薬物の骨格である。だがその一方で、プロテアーゼによる分解を受けやすく生体内での半減期が短いことが問題である。また、創薬リード化合物のソースは、内因性のペプチドホルモンや種々の生物が産生する天然物に大きく依存している。ランダムペプチドライブラリから探索・取得されたリード化合物からの創薬成功例は期待されたよりはるかに少ない。

本研究では、これら問題を解決するために、新しい創薬リードの探索ストラテジーを提案し、実践を通してその有用性を確かめる。このストラテジーは、以下 3 つのステップからなる。すなわち、①プロテアーゼによる分解に抵抗するペプチド骨格をあらかじめ選定し、②その骨格に固定された多様性の大きいランダムペプチドライブラリを構築し、③高いスループットで生物活性ペプチドを取得する。ここでは、高い生体内安定性が期待できる骨格として、コラーゲン様 3 重らせんペプチドと、L/D アミノ酸が混在するヘテロキラルなペプチドの二つを選定し、それぞれについて適切なライブラリ構築法、スクリーニング法を開発し、新規な生物活性ペプチドを取得し、引き続き創薬研究につなげる。

また、コラーゲン 3 重らせんを模倣するペプチドの理論的な分子デザインからも新しいアイデアに基づく創薬研究を展開する。本研究から得られる新規機能性ペプチドは、バイオマテリアルの機能修飾への応用も期待できる。

2. 主な研究成果

コラーゲン様 3 重らせん構造を有するランダムペプチドライブラリを出芽酵母細胞内に構築し、2-ハイブリッドスクリーニングによって、標的タンパク質と結合するペプチドをスクリーニングできる方法を構築し、そのコンセプト妥当性を確認した。ヘテロキラルなランダムペプチドライブラリについても split-and-mix 法を利用した化学合成法によりそれを構築し、モノクローナル抗体を標的タンパク質としたスクリーニングを行った。抗エンドルフィン抗体によるスクリーニングから、D-アミノ酸を含む新規な μ -オピオイド受容体リガンドを取得した。

また、理論的設計により開発したコラーゲン 3 重らせんにハイブリッド形成して結合する環状ペプチドを技術移転した。本化合物は変性したコラーゲンを検出するための研究用試薬として上市された。また、さらなるセラノスティクス（診断兼治療薬）への応用を目指して、このプロドラッグ化にも成功した。

3. 共同研究者

増田 亮 (理工総研 次席研究員)

市瀬慎一郎 (理工総研 研究助手)

4. 研究業績

4.1 学術論文

1. S. Kanai, K. Machida, R. Masuda, T. Koide

Peptide precursors that acquire denatured collagen-hybridizing ability by *O*-to-*N* acyl migration at physiological pH

Org. Biomol. Chem. in press (2020), doi: 10.1039/C9OB02136A.

2. K.K. Fujii, Y. Taga, T. Sakai, S. Ito, S. Hattori, K. Nagata, T. Koide

Lowering the culture temperature corrects collagen abnormalities caused by HSP47 gene knockout.

Scientific Reports. **9**, 17433 (2019), doi:10.1038/s41598-019-53962-0

3. K.K. Takita, K.K. Fujii, K. Ishii, T. Koide

Structural optimization of cyclic peptides that efficiently detect denatured collagen.

Org. Biomol. Chem. **17**, 7380-7387 (2019), doi: 10.1039/c9ob01042d.

4. S.F. Ichise, S. Takeuchi, S. Aoki, K.C. Kuroda, H. Nose, R. Masuda, T. Koide

Development of a collagen-like peptide polymer via end-to-end disulfide cross-linking and its application as a biomaterial.

Acta Biomaterialia. **94**, 361-371 (2019), doi: 10.1016/j.actbio.2019.06.010.

5. H. Udagawa, T.H. Yoneda, R. Masuda, T. Koide

A Strategy for Discovering Heterochiral Bioactive Peptides by Using the OB²nP Library and SPOTs Method.

ChemBioChem. **20(16)**, 2070-2073 (2019), doi: 10.1002/cbic.201900237.

4.2 招待講演

1. 小出隆規「3重らせんペプチドを基盤とした創薬研究」

第35回創薬セミナー (山梨県北杜市), 2019年7月

2. 小出隆規「コラーゲンとペプチドに関する話」

日本ペプチド学会市民フォーラム 2019 (東京), 2019年10月

3. 小出隆規「生物機能を担えるフォルダマーとしてのコラーゲン様3重らせん」

日本薬学会第140年会シンポジウム (京都), 2020年3月

4.3 受賞・表彰

1. 金井沙也伽（小出研究室）

第 56 回ペプチド討論会 RSC Chemical Science Young Investigator's Oral Presentation Prize

受賞題目：Peptide precursors that acquire collagen-hybridizing ability *via O*-to-Nacyl migration

2. 金井沙也伽（小出研究室）

第 51 回 日本結合組織学会学術大会 Young Investigator Award

受賞題目：自発的な構造変換により変性コラーゲンへの結合能を獲得するペプチドの設計と合成

4.4 学会および社会的活動

日本結合組織学会 理事

日本ペプチド学会 評議員

第 56 回ペプチド討論会（東京） 運営委員

5. 研究活動の課題と展望

開発したストラテジーを基盤とした創薬リード化合物の探索を本格化するとともに、より高効率なスクリーニング実現のため、方法論の改善を行っていく。新規に取得したペプチドに対しては順次 *in vitro* での活性評価を実施し、有望な化合物については構造-活性相関研究を通じた構造最適化を行う。さらに、得られた新規 3 重らせんペプチドを、独自に開発した人工コラーゲンの機能修飾に用いることで、テイラーメイドな新規バイオマテリアルの創出に挑戦する。