

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

生物活性を有するペプチドは、その高い標的特異性から医薬品のリード化合物として有望視されている。だが一方で、生体への吸収性および体内での安定性における問題の克服が課題である。また、ペプチド性リード化合物は、天然由来のものが多く、人為的に構築されたランダムペプチドライブラリから得られたリードからの創薬成功例はいまだに少ない。

本研究では、上記問題を解決しうる、リード化合物の新規探索戦略の立案と方法論の開発を行っている。すなわち、①優れた生体安定性を有するペプチドの骨格をあらかじめ選定し、②その骨格に固定されたランダムペプチドライブラリを化学的あるいは遺伝子工学的な方法で構築し、③そのライブラリの中から高スループットで医薬品リードたり得るペプチドを取得しようとしている。

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、新しいアイデアに基づく創薬研究を展開する。加えて、天然由来のコラーゲンあるいは化学合成により構築できるコラーゲン様 3 重らせんペプチドの高分子化、あるいは超分子化によって、新しいゲル状バイオマテリアルを創製し、医療への応用を目指している。

2. 主な研究成果

2.1 3 重らせん型ランダムペプチドライブラリからの新規タンパク質結合ペプチドの探索

昨年度までに構築したランダムペプチドからのスクリーニング法を利用して、複数のコラーゲン結合タンパク質によって認識される新規ペプチドが得られている。血液凝固因子である von Willebrand 因子を標的にしたスクリーニングからは天然コラーゲン上のアミノ酸配列に匹敵する親和性をもった新規ペプチドが得られている。コラーゲン結合型インテグリンに結合するペプチドの探索からは、インテグリン $\alpha 1 \beta 1$ と $\alpha 2 \beta 1$ とを区別して結合できる新規なペプチドが得られている。またスクリーニングによって得られた血管新生阻害タンパク質である色素上皮由来因子 (Pigment epithelium-derived factor, PEDF) に結合するペプチドの構造活性相関研究から、PEDF とヘパラン硫酸プロテオグリカンそれぞれに選択性を有するペプチドが得られた。加えて吸血蚊の唾液中のタンパク質であるエジプチンを標的とするスクリーニングも進行中である。

また標的を、コラーゲン結合タンパク質以外の球状タンパク質、あるいは特定の塩基配列を有する DNA に変えたスクリーニングも進行中である。

2.2 ヘテロキラルなランダムペプチドライブラリからモノクローナル抗体の mimotope を探索する方法の開発

L/D アミノ酸から成るヘテロキラルなビーズ結合型ランダムペプチドライブラリ [One-bead 2ⁿ Peptides (OB2ⁿP) Library] からの高感度スクリーニング法の開発に引き続き取り組んだ。複数の増幅手法を組み合わせることでシグナル増幅が観測されたが、要求されるレベルには達しなかった。

増幅法を組み合わせることによる実験手順の増加によってペプチドビーズから標的分子が解離し、シグナル増幅の効果を相殺していることが懸念された。そこで、標的分子がビーズに結合した後で共有結合を導入することによる複合体の安定化を試みた結果、さらに一定程度の検出感度の向上が観察された（図1）。

2.3 人工コラーゲン様ポリマーの開発と医療への応用

次世代型の人工コラーゲンとして、インジェクタブルな性質をもつコラーゲン様ペプチド超分子の開発を進めている。枝分かれ状に3重らせんを形成してゲルを形成する、分岐状コラーゲン様ペプチドの分子デザインをほぼ決定した。現在、この超分子の細胞培養系への応用可能性について検討している。

また、天然コラーゲンの水溶液に混ぜるだけで3重らせんを互いに架橋でき、可視光透過率に優れたハイドロゲルを形成する物質を発見し、このコラーゲンゲルの特性検討を進めている（図2）。

2.4 緩んだコラーゲン 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の構造最適化および化学合成ルートの確立

すでに我々は、緩んだコラーゲンのポリペプチドにハイブリッド3重らせん形成することにより結合する環状ペプチドを開発し、変性コラーゲン検出試薬として技術移転している。しかし、これらはジスルフィド結合による架橋により環化されていたため、生体内での安定性に難があり、かつ薬物等とのコンジュゲート化に利用できる化学反応の種類にも制約があった。これらの問題を解決するために、ジカルボン酸とのアミド結合による当該ペプチドの環化条件を検討し、その分子設計および合成方法を確立した。また、この環状ペプチドと生物活性ペプチドとのコンジュゲート化にも成功した。

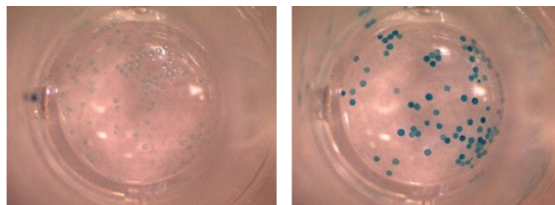


図1. ペプチドビーズ上に提示されたペプチドを抗体で検出するにあたり、共有結合的架橋を導入することで感度が上昇する。（左）架橋なし、（右）架橋あり



図2. 天然コラーゲンを架橋することにより形成される透明なハイドロゲル

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 招聘研究員）
能勢 博（理工総研 招聘研究員）

4. 研究業績

4.1 特許

小出隆規, 市瀬慎一郎, 増田亮, 中村颯志, 能勢博
「NOVEL PEPTIDES」PCT/JP2022/48245, 2022 年

4.2 招待講演

Takaki Koide, “Obtaining collagen-like triple-helical peptides modulating specific protein interactions”, 2022 Korea-Japan Joint Symposium on Matrix Biology, Jeju, Korea, October 2022.

4.3 学会および社会的活動

日本結合組織学会 評議員
日本ペプチド学会 理事
日本薬学会関東支部 幹事

5. 研究活動の課題と展望

3 重らせん型ランダムペプチドライブラリからの創薬リードの探索については、標的を拡大しつつ引き続き実施する。また、これまでに得られた新規 3 重らせんペプチドについては、構造活性相関研究を実施し、より親和性の高いものの取得を目指す。コラーゲン結合性インテグリンに結合するペプチドについては、4 種のインテグリンサブタイプそれぞれに選択的なリガンド配列の取得を目指す。このようにして得られるペプチド配列は、単独で、あるいは複数を組み合わせて人工コラーゲン様ポリマーに組み込むことで、それらの生物活性を検討する。さらに、このような生物活性を付与した人工コラーゲンポリマーのバイオマテリアルとしての応用についても検討する。

ペプチド性人工コラーゲン様マテリアルおよび新規な架橋コラーゲンゲルについては、細胞培養基材としての応用の他に、眼科および皮膚科領域の疾患治療への適用を目指して検討する。

ヘテロキラルな生物活性ペプチドの取得を目指した OB2[®]P ライブラリからの探索方法については共有結合導入による高感度検出条件を最適化し、普遍的な薬物リード化合物候補探索の手法としてそのプロトコルを確立する。