

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	特殊ペプチド増幅法の開発と創薬への応用
研究機関・部局・職名	東京大学・大学院総合文化研究科・准教授
氏名	村上 裕

【研究目的】

本研究課題では、申請者が開発した RNA 触媒を用い、増幅可能な化合物（特殊ペプチド）ライブラリーを開発し創薬に応用することを目的とする。これにより迅速・簡便な薬剤候補創製法を開発し、悪性腫瘍や多剤耐性菌に対する薬剤候補を創製する。具体的には計画 1 において、環状ペプチドライブラリーの多様性の向上を行い、計画 2 において TRAP display を開発する。この方法に用いる反応系では、鋳型 DNA の転写、mRNA に対するピューロマイシン DNA のアニール、翻訳の三つの反応が連続的に起きる。さらに計画 3 や計画 4 において、環状ペプチド骨格の型を広げる。これらの成果を用いて、計画 5 と計画 6 において血管新生阻害剤や、抗菌剤の創製を行う。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

本研究課題は、抗がん活性や抗菌活性をもつ特殊ペプチドライブラリーの効率的な構築と活性ペプチドの選択法の開発を目的としている。目的に沿って、ペプチドライブラリーの多様性を検証し、さらに効率を向上させる SD 配列を取得した。また、本研究課題の鍵となる活性ペプチド選択の段階においては、mRNA と生成ペプチドを繋ぐピューロマイシンリンカーが相補的に結合するような設計を巧みにを行い、簡便な処理で選択できる TRAP display システムを構築した。本法は従来法に比べて非常に優れており、短時間で活性ペプチドを得ることができる。以上の 2 つの新技术を用いてペプチドライブラリーから抗がん活性や抗菌活性をもつ高活性のペプチドを得ている。得られたペプチドは別途合成して薬理活性が調べられており、一連の工程の有用性を示すことができた。また、固い構造をもつ二環性ペプチドライブラリー構築も行った。以上のように、本研究課題は難度の高い研究計画であったが着実に成果が出ており、ほぼ当初の目的は達成したといえる。

② 目的の達成状況

・所期の目的が

(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

本研究課題は、抗がん活性や抗菌活性をもつ特殊ペプチドライブラリーの効率的な構築と活性ペプチドの選択法の開発を目的としている。まず、翻訳系を効率化する新たな SD 配列を見つけ、これにより提示効率が 1.5 倍に向上した。また、合成された膨大な種類のペプチドから活性を持つペプチドを選別する過程が最も重要であるが、これに関しても従来の方法を凌駕する TRAP Display 法を開発した。実際に本法を用いて血管新生阻害活性や黄色ブドウ球菌に対する抗菌作用をもつ大環状ペプチドを得ている。二環性ペプチドライブラリー合成の方法論は合理的であり、モデルペプチドを得ている。VEGFR2 について二環性ペプチドはヒットしなかったが、大環状ペプチドが VEGFR2 の自己リン酸化を阻害することを明らかにした。このうち 2 種類の環状ペプチドは強い阻害能を $IC_{50} = 60 \text{ nM}$ 示した。これらの成果により得られた特許は、学内ベンチャー企業にライセンスされ実用化も期待できる。以上のよう

に当初の目的はほぼ達成したと判定できる。

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

新たな SD 配列の取得、活性のあるペプチドを選択する操作を簡便にした高速進化分子工学法 (TRAP Display) など、従来技術と比べてライブラリー構築の効率を大きく上げることに成功している。また、その成果として高親和性の血管内皮細胞増殖因子受容体阻害ペプチドを得ており、方法論・成果物ともに先進性が見られる。これらを特許出願し、学内ベンチャーを通して実用化に向けたライセンスをしている。

本研究課題では、構築した多種のライブラリーから活性をもつペプチドを選別して行く過程が鍵になる。既存の方法では 2～3 日かかるところを、本研究課題で開発した TRAP Display 法では 2.5～3 時間程度で行えるため、数段階の進化実験が手軽に行えるようになった。実際にこの方法を用いて高活性のペプチドを得ており、その有効性も証明されている。mRNA とピューロマイシンリンカーを GC リッチな相補鎖で繋ぐだけで、一連の作業が自律的に進むようになった優れた設計で、既存の装置を使って誰でもが簡単に実施できる方法である。

実際に、本手法を用いることで、高い血管新生阻害活性をもつ環状ペプチドを見出した。また、翻訳後変換法によりこれまで導入ができなかった非蛋白質性アミノ酸の翻訳系での使用が可能になった。これは、特殊な構造をもつ環状ペプチドの翻訳合成の可能性を大きく広げるものであり、ブレークスルーといえる。

また、当初の目的以外に、完全な遺伝暗号の書き換えが可能かどうかを調べるために、プロリンとその誘導体だけからなる非蛋白質性アミノ酸を、NNU (NはA, U, G, or C) の16種類のコドンに指定した翻訳系を構築し、翻訳の正確性、得られるライブラリーの多様性の観点から評価した。また、新たな抗菌剤の探索において標的をクローニングする際に、新しいクローニング法を開発した。本方法は簡便な変異法としても使用でき、当該分野の簡便な遺伝子操作法として多くの研究者から注目を集めている。

④ 研究成果の効果

- ・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)
- ・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

ペプチドライブラリー合成に用いるアミノ酸が多様になったこと、活性のあるペプチドの選択が簡便になったことで、医薬品のシーズ発見が容易になると期待できる。特許がライセンスされるようなので、キット販売などで多くの研究者が変異リボゾームを含む無細胞発現系やピューロマイシンリンカーを入手できるようになれば、様々な標的に対するライブラリー構築がされるようになるだろう。医薬だけでなく酵素阻害剤やチャネル阻害剤など、多くのツールを生み出す基盤ができたと言える。

ペプチド医薬の最大の問題点は生体内での安定性であり、酵素耐性には非タンパク質性アミノ酸の導入が効果的である。本研究課題の成果を用いれば、非タンパク質性アミノ酸を複数含むペプチドライブラリーの構築と活性ペプチドの選択が可能になる。抗体医薬に比べて、ペプチドは安価で大量に得ることができるので、医薬開発に大きなメリットがあると考えられ、社会的・経済的な課題の解決への波及効果があると判断される。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

- ・適切なマネジメントが (行われた ・ 行われなかった)

難度の高い計画を除いては、ほぼ順調に目標が達成されており、研究計画の目標設定やマネジメントは適切に行われていると言える。

助成金で購入された機器類は、本研究課題遂行に密接に関わっており、本プロジェクト終了後も有効に活用できるもので、適切に使用されている。最終年度の経費を博士研究員の人件費とすることも、計画を推進するためには妥当と思われる。また4つの指摘事項に関してはすべて適切に対応していると判断できた。

成果についてはレベルの高い国際誌にインパクトのある論文を発表している。会議発表も学生の発表を含め十分な数が発表されている。招待講演も多いので学会内で高評価されていることが伺える。一方で海外での学会発表実績はやや少ない。特許に関しては、見込みも含めて3件有り、ライセンスもされていることから有効に機能していると考えられる。