

財団使用欄

令和6年6月26日 受理
No. 1

完了報告書

(兼 会計報告書)

令和5年 4月 12日

公益財団法人 シオノ健康財団

理事長 塩野谷 貫一 殿

個人の方

氏名 出水 庸介



団体の方

団体名

代表者



貴財団より助成いただいた活動が完了いたしましたので、下記のとおり報告します。

活動内容	特殊な構造を有する中分子ペプチド医薬品創出のための基盤技術開発
------	---------------------------------

※今後の連絡に必要となりますので、全ての項目にご記入ください。

提出者に関する事項	(フリガナ) 氏名又は団体名	デミズ ヨウスケ 出水 庸介	生年月日 又は設立年月日	年 月 日
	(フリガナ) 提出担当者	同上		
	住所	〒210-9501 神奈川県川崎市川崎区殿町 3-25-26 (TEL) 044-270-6578 (FAX) 044-270-6578 (E-mail) demizu@nihs.go.jp		
	連絡先 ・ 郵送先	〒 (TEL) (FAX) (E-mail)		

※提出後の住所・連絡先変更の際は、速やかに事務局までご連絡ください。

(1) 活動成果

中分子ペプチド医薬品は、低分子医薬品とバイオ医薬品双方の利点を活かすことができる新規モダリティとして注目されており、未解決の治療ニーズに対する新しい解決策を提供できる可能性がある。特に細胞内ターゲットに作用する中分子ペプチドは、タンパク質-タンパク質相互作用 (Protein-Protein Interaction; PPI) を効果的に阻害することにより、がん、感染症、神経系疾患を含む幅広い疾患の治療法に革命をもたらす可能性が示されている。本研究では、細胞内標的 PPI 阻害ペプチド創出のための基盤技術確立を目的とした。

令和5年度は、 β -カテニンをモデル標的として PPI 阻害ペプチドの合理的なデザインアプローチを検討した。以前に我々が開発した Pen-Stp1 は Wnt シグナル阻害活性を示したが、 $20\mu\text{M}$ と十分な活性レベルには至っていなかった。より高活性を達成するには配列最適化が必要であるが、全変異体の合成と評価には多大な時間と労力が必要となる。そこで、計算機を用いた効率的な配列最適化を試みた。具体的には、Molecular Operating Environment (MOE) の Protein Design アプリケーションを使用してペプチド変異体をデザインし、 β -カテニン結合予測と物性評価により PPI 阻害ペプチドを設計した。結合親和性が高いと予測されたペプチド変異体 2 について、MD シミュレーションで相互作用を解析した。実際に変異体を合成し結合活性を評価したところ、MOE デザイン変異体 2 が最も高い活性を示した。さらに、アミノ酸側鎖の架橋を導入したステーブルペプチド Stp2 は、結合活性が増強した。この結果に基づき、ステーブルペプチドに細胞膜透過性ペプチド (Pen) を導入したペプチド Pen-Stp2 をデザインし、Wnt/ β -catenin 経路に依存する DLD-1 細胞と依存しない A549 細胞における細胞増殖抑制効果を評価した。その結果、Pen-Stp2 は Wnt 依存性がん細胞 DLD-1 に対して濃度依存的な増殖抑制が確認され、以前の Pen-Stp1 を上回る効果が認められた。一方、非依存性 A549 細胞では影響がなかった。加えて、レポータージーンアッセイを通じて、新たにデザインされた Pen-Stp2 が強力な転写阻害活性を持つことが確認された。

以上より、*in silico* デザインによる PPI 阻害ペプチドの合理的配列最適化と、ステーブル化や膜透過性付与の複合的修飾が、細胞内 PPI 阻害中分子ペプチドの高活性化に有効であることが実証された。本研究で構築した基盤技術は、PPI 阻害ペプチド創薬の加速に貢献できると期待される。

(2) 今後の課題

本研究では、*in silico* アプローチにより PPI 阻害ペプチドを効率的にデザインできることを実証した。しかしながら、現行の手法では設計後にステーブル化や細胞膜透過性付与などの修飾を別途行う必要があり、一体的なデザインプロセスとはなっていない。そこで今後は、ステーブル化した PPI 阻害ペプチド配列にさらに細胞膜透過性ペプチドを組み込んだ分子をテンプレートとして、*in silico* で細胞膜透過性を有する PPI 阻害ペプチドを一括してデザインすることを目指す。このような *in silico* 統合的デザインアプローチによって、細胞内動態や構造的特性を考慮した上で、より効率的にドラッグ化が可能な高機能 PPI 阻害ペプチドを創出できると期待される。PPI 阻害は未だ課題も多い創薬ターゲットであるが、コンピュータ支援によるデザイン技術の高度化が、新たな治療法開発につながる可能性がある。