

特殊ペプチド創薬イノベーション

東京大学大学院理学系研究科 菅 裕明

近年の生命科学研究の急速な発展は、人類の健康維持・管理に関する革新的な技術を生み出し、病気の診断や治療を飛躍的に向上させてきた。その中でも医薬品は、病人ばかりでなく健康人に至るまで、その健康を維持し、また疾患をコントロールし治療するには欠くことのできないものである。その医薬品開発の主流は、有機小分子薬剤である。有機小分子薬剤は、比較的製造コストが安価かつ経口投与が可能であり、また免疫毒性がない。その一方で、しばしば有機小分子薬剤では、その副作用障害が問題となる。こういった副作用は、有機小分子薬剤の標的疾患原因タンパク質への特異性の低さから、標的としていないタンパク質にも作用してしまうことに起因する。このような問題を解決する手段として、近年、標的タンパク質へ高い特異性をもつ抗体が開発された。副作用が少なく薬理効果の高い抗体は、有機小分子薬剤に代わる薬剤として非常に期待が高い反面、標的タンパク質が細胞表面分子や分泌分子に限られるため、応用範囲が限定される。さらに、免疫毒性や生産コストが高いことも、患者への負担を高めている。

そういった中、タンパク製剤に代わる次世代薬剤として、有機小分子薬剤なみの低い分子量をもつ特殊ペプチド医薬の期待が近年高まってきた。実は、特殊ペプチド自体決して新しい薬剤ではない。例えばサイクロスポリン A は、天然から単離され製剤化された免疫抑制剤として歴史をもつ。これらのペプチド医薬は、その骨格に通常のアミノ酸以外のアミノ酸（特殊アミノ酸）を含む特徴をもち、「非リボン

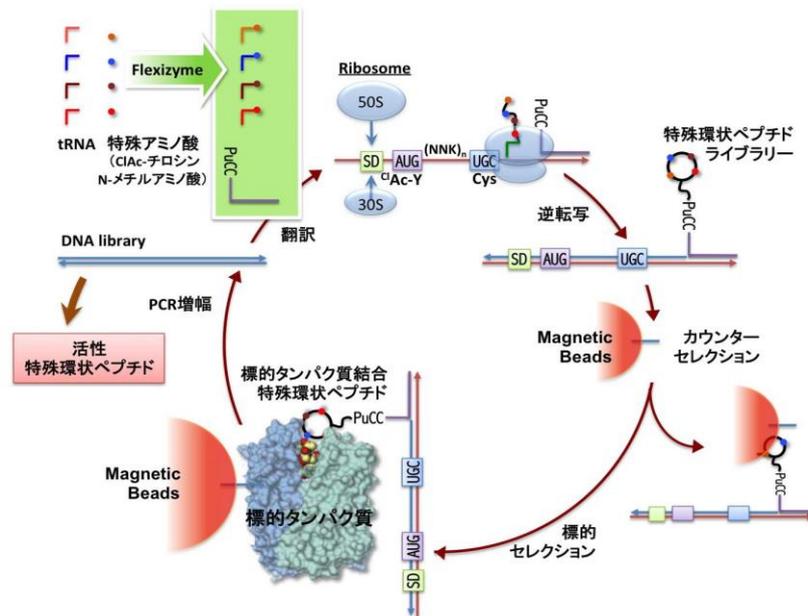
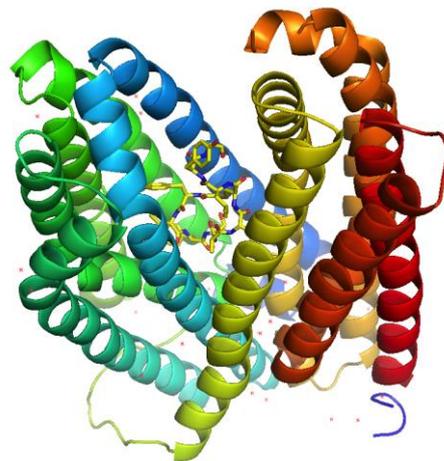


図1 RaPID システム: 特殊環状ペプチドライブラリーの翻訳合成と mRNA ディスプレイを組み合わせることで、標的蛋白質に結合する活性種を濃縮、さらにその活性種をコードしている cDNA を回収して PCR により増幅をすることで再び mRNA を転写、この過程を繰り返すことで高い親和性と特異性をもつ特殊環状ペプチドを同定する手法 (菅オリジナルの技術)。N-chloroacetyl-Tyrosine (ClAc-Y) は、翻訳したペプチドの N 末端とランダム配列下流に導入したシステイン残基側鎖 (C-SH) と自発反応させ大環状化 (Macrocyclization) させることで、還元的に安定なチオエーテル結合を形成させる為に遺伝暗号リプログラミング法により導入。SD はリボソーム結合配列、(NNK)_n の n は通常は 8 ~ 15 の混合物、N は UAGC の混合物 (DNA の場合は U = T)、K は U か G の混合物 (すなわち翻訳後は 8 ~ 15mer の長さのランダムペプチド鎖)、(GGC AGC)₃ は翻訳されると (GS)₃ のペプチドリンカーになる。

ーム合成系」を有する細菌・カビ等から産生される天然物であり、その発見や製剤化は必ずしも容易ではない。もし天然物のような特殊アミノ酸を含む多様な特殊ペプチドを人工的にライブラリー化する技術が確立できれば、様々な標的タンパク質に対し強い親和性をもち、且つ生体安定性の高い特殊ペプチド薬剤の開発に道が拓ける。しかし、これまでその要望に応える簡便な技術がなく、特殊ペプチドを主軸とした薬剤開発は、抗体を用いた薬剤開発と比較して著しく遅れていた。

菅らは、この問題を一挙に解決できるブレークスルー技術 RaPID (Random peptide integrated discovery) システムを開発した。RaPID システムは、菅らが独自に開発した人工 RNA 酵素「フレキシザイム」と大腸菌再構築無細胞リボソーム翻訳系を組み合わせ FIT システムに、mRNA ディスプレイを組み合わせ構築された。本システムは、mRNA を鋳型として、特殊ペプチドを自在かつ簡便に翻訳合成し、活性種を迅速にスクリーニングする技術である。この技術を駆使することで、特殊ペプチドのライブラリー化も極めて容易に達成でき、様々な疾患原因タンパク質に対する特殊ペプチドの薬剤探索が可能となった。本講演では、この技術開発に至った経緯、技術の特徴、さらにその将来ビジョンと創薬イノベーションを含めた最近の進展を紹介する。



参考文献

- K. Ito; K. Sakai; Y. Suzuki; N. Ozawa; T. Hatta; T. Natsume; K. Matsumoto; H. Suga "Artificial human Met agonists based on macrocycle scaffolds" **Nature Communications**, 6, 6373 (2015)
- Y. Goto, Y. Ito, Y. Kato, S. Tsunoda, H. Suga* "One-pot synthesis of azoline-containing peptides in a cell-free translation system integrated with a posttranslational cyclodehydratase" **Chemistry & Biology** 21, 766-774 (2014).
- C.J. Hipolito, N.K. Bashiruddin, H. Suga* "Protein cocrystallization molecules originating from in vitro selected macrocyclic peptides" **Current Opinion in Structural Biology** 26, 24-31 (2014).
- A. Kodan, T. Yamaguchi, T. Nakatsu, K. Sakiyama, C.J. Hipolito, A. Fujioka, R. Hirokane, K. Ikeguchi, B. Watanabe, J. Hiratake, Y. Kimura, H. Suga, K. Ueda, H. Kato. "Structural basis for gating mechanisms of a eukaryotic P-glycoprotein homolog" **Pro. Nat. Acad. Sci.** 111, 4049-4054 (2014).
- T. Passioura, T. Katoh, Y. Goto, H. Suga* "Selection-based discovery of druglike macrocyclic peptides" **Annual Review in Biochemistry**, Feb. 12 (2014).
- K. Yamagata, Y. Goto, H. Nishimasu, J. Morimoto, R. Ishitani, N. Dohmae, N. Takeda, R. Nagai, I. Komuro, H. Suga*, O. Nureki "Structural Basis for Potent Inhibition of SIRT2 Deacetylase by a Macrocyclic Peptide Inducing Dynamic Structural Change" **Structure** 22, 345-352 (2014).
- Y. Tanaka, C.J. Hipolito, A.D. Maturana, K. Ito, T. Kuroda, T. Higuchi, T. Katoh, H.E. Kato, M. Hattori, M. K. Kumazaki, T. Tsukazaki, R. Ishitani, H. Suga*, O. Nureki "Structural basis for the drug extrusion mechanism by a MATE multidrug transporter." **Nature** 496, 247-51 (2013).
- K. Ito, T. Passioura, H. Suga* "Technologies for the synthesis of mRNA-encoding libraries and discovery of bioactive natural product-inspired non-traditional macrocyclic peptides." **Molecules** 18, 3502-28 (2013).

- J. Morimoto, Y. Hayashi, H. Suga* “Discovery of macrocyclic peptides armed with a mechanism-based warhead that isoform-selectively inhibit a human deacetylase SIRT2” **Angewandte Chemie International Edition** *51*, 3423-3427 (2012).