

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
FS ステージ シーズ顕在化タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	: がん選択的透過型抗腫瘍ペプチドのヒト型糖鎖修飾による機能増強の技術研究
プロジェクトリーダー	: (株)糖鎖工学研究所
所属機関	: (株)糖鎖工学研究所
研究責任者	: 近藤英作(愛知県がんセンター)

1. 研究開発の目的

われわれが先行技術として開発した「がん選択的細胞膜透過ペプチド」を応用して、標的対象とするがん(腫瘍)のみに特異的に作用する細胞増殖抑制性抗腫瘍ペプチドを創成した。本研究課題では、従来の標的特性を保持し生体内安定性を増強したプロトタイプ抗腫瘍ペプチド医薬の創成を目指し、生体内投与時に必須要素となるペプチドの in vivo 安定性を高めるため、独自のヒト型糖鎖修飾技術を用いたペプチド機能増強法の開発研究を行うことにより、現行医療で未だ達成されていない生体低侵襲性ペプチド医薬創成への展開を目指した基盤技術の構築を図る。

2. 研究開発の概要

①成果

(目標)

本研究課題における、in vitro ならびに in vivo の目標を以下のように設定する。

① ヒト型糖鎖の修飾最適部位の同定と糖鎖タイプの決定

in vitro アッセイで白血病細胞株 AML に対する 50%腫瘍細胞増殖抑制効果の発現に要するペプチド濃度として、終濃度 2~5 μ M 以下となるような改良型ペプチドを得るため、ヒト型糖鎖の修飾最適部位を同定し、修飾糖鎖タイプを決定する。また、研究遂行の過程で、ペプチドの抗腫瘍効果についてのスペック増強は極めて重要と判断し、ペプチド配列の再デザイン化を検討した。(補足追加実験)

② 動物実験による生体での実効性の解析

上記実施項目①にて得られた改良型ペプチドが in vivo アッセイ(ヒト白血病細胞移植モデルマウス)で 150%の生存期間延長に要する一回当たりの用量を 50~100 μ g/25g B.W.以下となるような性能を有することを確認する。

(実施内容)

① ヒト型糖鎖の修飾最適部位の同定と糖鎖タイプの決定

(1) 糖鎖修飾に用いる基盤材料である抗白血病ペプチドに対するヒト型糖鎖修飾型 Cystein (Cys; C) の挿入候補部位の探索

(2) 機能増強用に用いる修飾糖鎖のタイプの決定

(3) 基盤材料である抗白血病ペプチドの性能向上を目指した再デザイン化。(追加実験)

② 動物実験による生体での実効性の解析

(1) ヒト白血病移植モデルマウスの作製と、実施項目1で絞り込んだ糖鎖型 CPP44-RI-p16 ペプチドのモデルマウス体内投与による腫瘍抑制効果の解析

(2) ペプチド投与マウスにおける正常組織などへの副作用の有無の解析。

(3) 高機能型抗腫瘍ペプチドプロトタイプの標的細胞への選択的透過性の検証

(達成度)

① について:

(1) 糖鎖のペプチドへの修飾部位を選定できた。

(2) ペプチドの修飾に最適な人型糖鎖の選定ができた。生体投与を目的とする、ペプチド溶解性(親水化)の向上に糖鎖修飾が大きく寄与することが検証された。

(3) 基盤材料である抗白血病ペプチドの性能向上を目指した再デザイン化について、GRRRR 親水性タグの付加および、がん細胞内で増殖抑制機能を大幅に増強することのできる p16 機能回復配列細胞内開裂型スパーサー配列を組み込んだペプチドのデザインに成功した。

②について:

(2) ヒト白血病担がんモデルマウスへの静脈投与によるヒト型糖鎖修飾抗白血病ペプチドの血中安定性(分解耐性)の向上を非修飾型ペプチドの比較試験において証明・確認できた。

(2) 生体内投与(静脈投与ルート)でのペプチド導入マウスにおいて、人型糖鎖修飾抗白血病ペプチドは非修飾型ペプチドとの比較試験で、抗原性の抑制に優れていることが検証された。

(3) 蛍光標識ヒト型糖鎖修飾抗白血病ペプチドの白血病担がんモデルマウスへの静脈投与で、腫瘍組織以外に正常肝への取り込みが有意であることが確認され、改善を要することが判明した。ただし、腫瘍組織自体には有意なペプチドの取り込みが確認できる。

※(1)について:(3)に表記した上記の体内動態改良のための試行を実施中のため、研究期間内での生体における抗腫瘍効果の検定は未実施となった。

②今後の展開

生体内投与実用化における重要点である、ペプチドの親水性向上にヒト型糖鎖修飾が明確な利点を示したことは大きい。標的腫瘍組織へのペプチドの集積・吸収を確認でき、また、血中安定性や、反復投与という実用面につながる抗原性の抑制効果を期待できる基盤データを獲得できた点も極めて重要である。従って、生体内動態の改良、生体内転移・浸潤腫瘍に対する抗腫瘍効果の実効性解析を次段階として実施・達成できれば新規生体低侵襲性抗白血病ペプチド医薬の開発技術の基盤構築に関する展望が大きく開ける。

3. 総合所見

一定の成果は得られており、イノベーション創出の可能性が期待される。

当初計画にそって設計されたペプチドの糖鎖修飾をほぼ達成し、細胞レベルでの効果も、当初の目標に近い結果を示した。しかし、動物レベルでの抗腫瘍活性の評価は、体内動態の改善に時間を要し、実施するにいたらなかった。

動物実験で有効な結果が得られたら、イノベーション創出の期待が膨らむ。今後の研究の進展を期待したい。