

研究課題別 事後評価結果

1. 研究課題名：細胞を標的とする送達ペプチド：機能解析と制御

2. 研究代表者：二木 史朗（京都大学 化学研究所 教授）

3. 研究内容および成果：

本研究は、アルギニンペプチドの細胞内取り込み機序の解明と細胞内移行の促進化、細胞への標的化の制御、および抗体・遺伝子の細胞導入を主たる目標として遂行した。

以下に、得られた成果を要約する。

1)アルギニンペプチドの細胞内取り込み機序の解明と細胞内移行の促進化

直鎖型や分岐型の典型的なアルギニンペプチドを 5 種類合成し、アクチンの重合化や細胞内情報伝達の活性化に及ぼす影響を検討した。その結果、細胞表層のプロテオグリカンを持たない細胞ではアクチン重合とマクロピノサイトーシスの誘導がほとんど起こらず、アルギニンペプチドの細胞への移行量も大幅に低下した。一方、プロテオグリカンを持つ細胞では、アルギニンペプチドと細胞表層のプロテオグリカンが相互作用をすることにより、細胞内 Rac タンパク質の活性化とアクチン重合の誘導が起こった。これにより、アクチン重合やマクロピノサイトーシスの誘導、細胞内でのシグナル伝達系の活性化において、アルギニンペプチドと細胞表層のプロテオグリカンの相互作用が極めて重要であることを世界で初めて明らかにした。

2)細胞への標的化の制御

ガン細胞に多く発現するトランスフェリン受容体への結合ペプチドとアルギニンペプチドのハイブリッドを作製したところ、細胞のトランスフェリン受容体の発現数と、細胞へのペプチドの取り込みとの間に相関が見られた。これは、細胞表面分子と相互作用するペプチドと、細胞内移行性を有するアルギニンペプチドの相乗効果の結果と考えられた。

3)抗体・遺伝子の細胞導入への応用

遺伝子(プラスミド)を内包し、アルギニンペプチドが高密度に表面に呈示されたリポソームを開発した。また、このリポソームを用いて細胞への遺伝子導入を行ったところ、現在最も効率が高いと言われているアデノウイルスを用いた遺伝子導入法に匹敵する効率での遺伝子導入が達成された。また、動物実験において、毛髪の成長を促す遺伝子の導入等の実験で良好な結果が得られた。感染を含めた副作用の危険性等の観点から、非ウイルスベクターの開発が期待されており、本アルギニン系リポソームは将来性がある。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

期間中の外部発表、特許等の実績を示す。

発表論文:(邦文) 2 件/(英文) 23 件

口頭発表:(国内) 32 件/(海外) 5 件

特許出願:(国内) 4 件/(海外) 2 件

アルギニンペプチドの細胞内移行の際に Rac タンパクを介するシグナル伝達系が活性化されることを見出す等、ペプチド化学・ペプチド工学・細胞生物学のポテンシャルをフルに活用して研究が推進された。また、膜透過効率には血清やアルギニン鎖長、対イオンの寄与が大きいこと、ペプチド濃度がある閾値を超えると非エンドサイトーシス機構である直接的で効率的な膜透過の機序が存在することを示した。更に、ファージディスプレイ法により選別されたトランスフェリン受容体結合ペプチドと膜透過性ペプチドを融合することで、ガン細胞選択的な膜透過システムの開発に成功した。これらは、今後膜透過性ペプチドが個体内においても薬剤送達システムに大きく寄与することを示唆しており、新規な薬剤送達システムを構築する上で非常に重要な研究成果である。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

膜透過性ペプチドを用いた細胞内送達に関するメカニズムの解明に化学と細胞生物学の両面から取り組んだ本研究の試みは、国内外においてあまり例がなく、研究代表者のペプチド化学やペプチド工学のバックグラウンドが最大限に生かされ、効果的な送達手法の開発につながった。特筆すべきことは、アルギニンペプチドの細胞内取り込み機序の解明をもとに、対イオン(ピレンブチレート)を用いるペプチドの直接的膜透過を達成したことである。この手法は、化学プローブを用いる細胞機能解析や生細胞イメージング等、幅広い応用が期待出来る。

4-3. その他特記事項(受賞)

期間中の主な受賞は次の通りである。

竹田国際貢献賞(平成 18 年 9 月)