ヒット化合物創出ユニット

補助事業代表者（所属・職名）
藤井　郁雄（大阪公立大学 研究推進機構・特任教授）

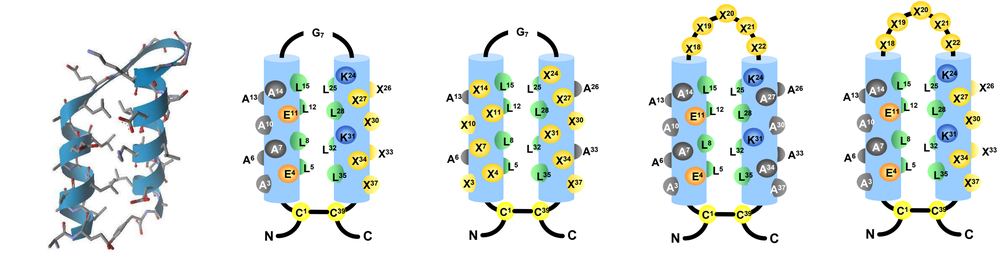
分子標的中分子ペプチド創出の支援

補助事業分担者（所属・職名）
藤原　大佑（大阪公立大学 大学院創薬科学研究科・講師）、道上　雅孝（大阪公立大学 大学院創薬科学研究科・講師）

支援の内容と成果

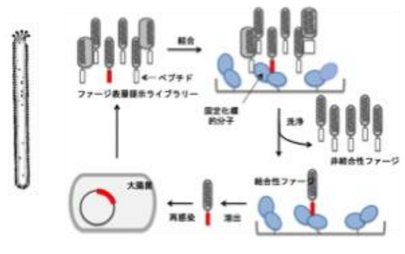
進化分子工学（細胞表層提示ディスプレイ技術）

ライブラリーサイズ：1×10^9　**アミノ酸の種類により17種ライブラリーを保有**

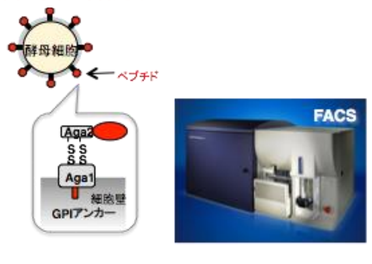


helix-loop-helix 構造ペプチド

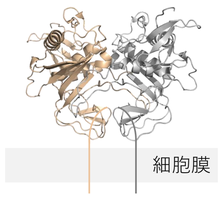
ファージ表層提示HLHペプチドライブラリー



酵母表層提示HLHペプチドライブラリー

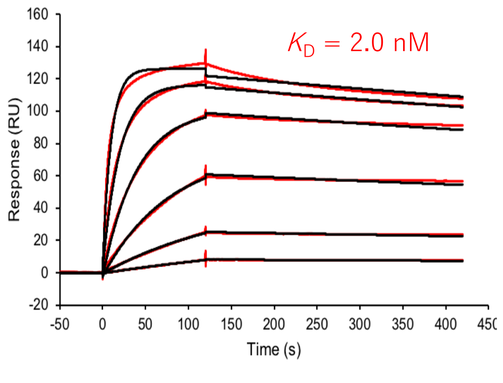


TROP2を標的とするHLHペプチドの創出



膵臓がん, 胆管がん, 胃がん, 子宮頸がんなどで高発現することが知られている。また, 予後不良との関連があり, 腫瘍マーカーとしての臨床試験も実施されている。

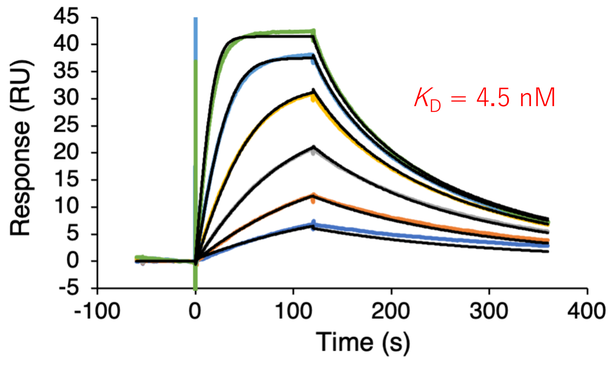
結合活性評価（SPR法）



Cancer-related protein を標的とするHLHペプチドの創出

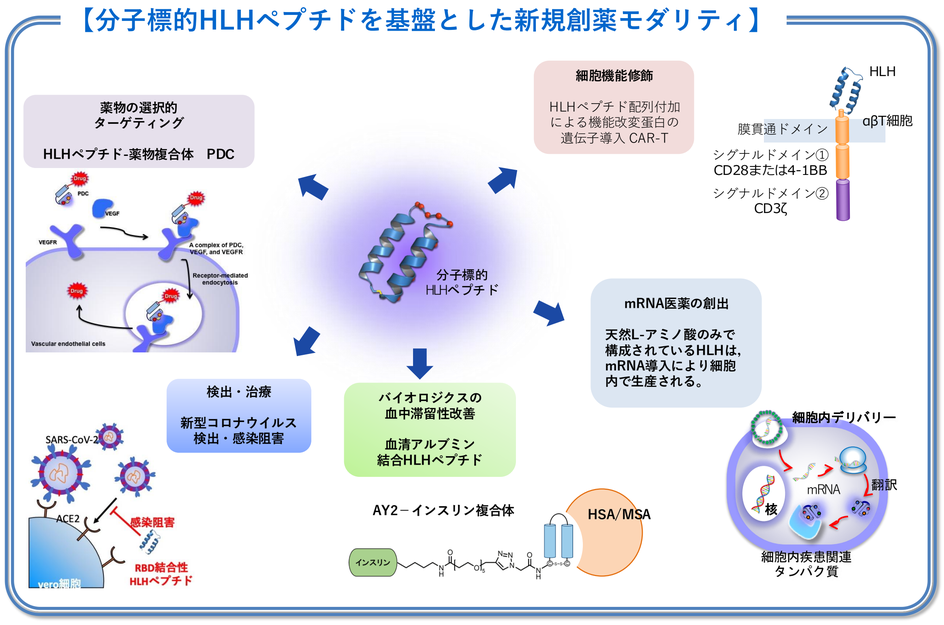
がん細胞特異的に発現している受容体タンパク質に対してHLHペプチドライブラリーのスクリーニングを実施した。得られたペプチドをFmoc固相合成法で合成し、SPR法で結合活性を測定した結果、強い結合活性を示した。

結合活性評価（SPR法）



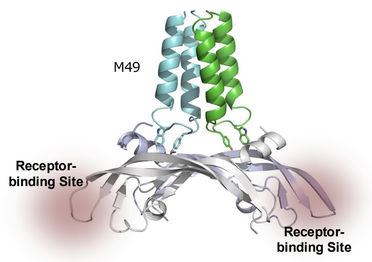
高度化の内容と成果

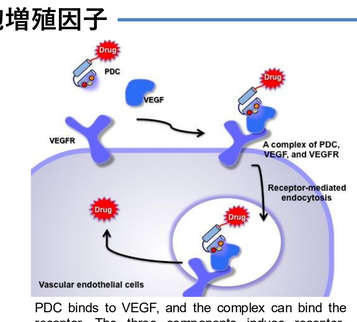
【分子標的HLHペプチドを基盤とした新規創薬モダリティ】



ペプチド-薬物複合体：血管内皮細胞増殖因子

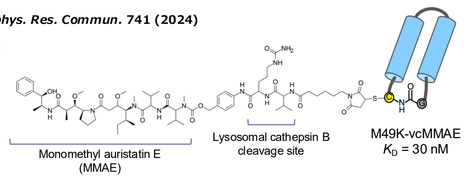
X線構造解析
HLHペプチド M49/VEDF複合体 (2:2)



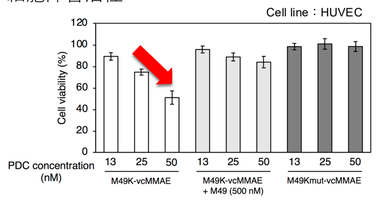


PDC binds to VEGF, and the complex can bind the receptor. The three components induce receptor-mediated endocytosis to go into cells. The complex is degraded in the endosome to release the drug.

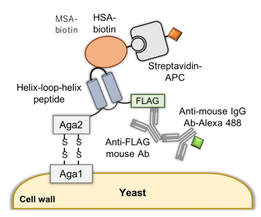
***Biochem. Biophys. Res. Commun.* 741 (2024)**
150980
PDB ID: 9KKU



細胞障害活性

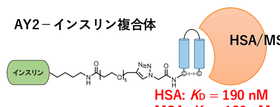


体内動体特性の改善：血清アルブミン結合HLHペプチドとの融合

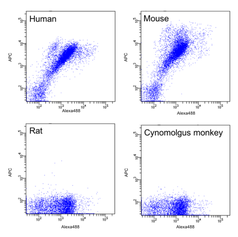


HSA:ヒト血清アルブミン
MSA:マウスヒト血清アルブミン

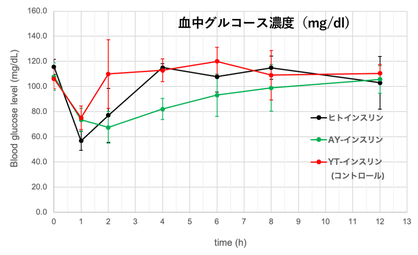
AY2－インスリン複合体



HSA: K_D = 190 nM
MSA: K_D = 130 nM

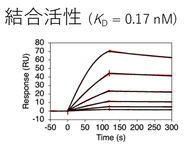


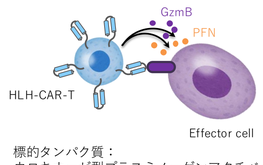
Mol. Pharm. 19 (2022) 2279



CAR-T 免疫細胞療法

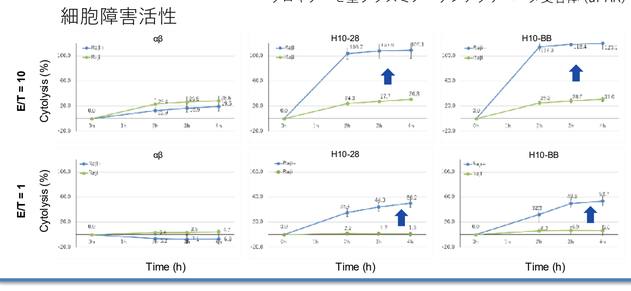
結合活性（K_D = 0.17 nM）





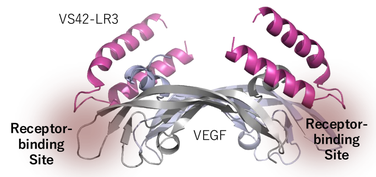
標的タンパク質：
ウロキナーゼ型プラスミノーゲンアクチベータ受容体（uPAR）

細胞障害活性



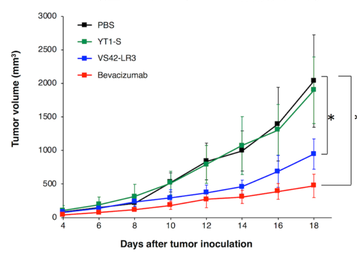
分子標的：血管内皮細胞増殖因子

X線構造解析
HLHペプチド VS42-LR3/VEDF複合体 (2:2)



***Biochem. Biophys. Res. Commun.* 734 (2024)**
150749
PDB ID: 9JU1

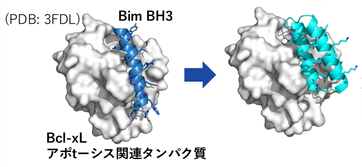
in vivo 腫瘍増殖阻害実験
（担がんマウス：結腸がん）



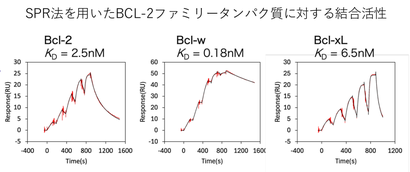
Tumor growth inhibition by the HLH peptides. LS174T cells were inoculated into BALB/c nude mice. The mice were treated with bevacizumab (5 mg/kg, Days, 1, 4, 7, and 10) or the HLH peptides (10 mg/kg, Days 1-10). Data represent mean ± standard deviation (n = 5). *p<0.01 VS control.

mRNA医薬の創出

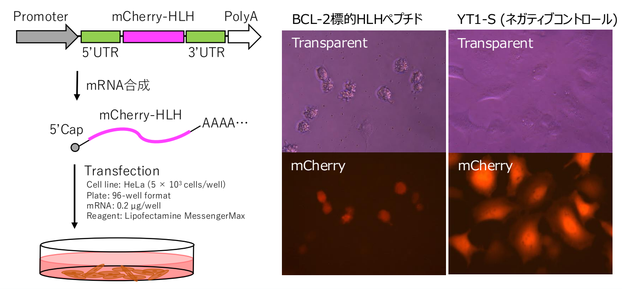
BCL-2標的HLHペプチドの理論設計



SPR法を用いたBCL-2ファミリータンパク質に対する結合活性



分子標的HLHをコードする mRNA の細胞内デリバリー



分子標的HLHペプチド “Helibody” の特徴と利点

1. 抗体（MW: 150,000）に比べ小さな分子（MW: 4,000）にもかかわらず, 抗体と 同等の結合活性（K_D: 数 nM）
2. 免疫システムに対して寛容であり抗原性を示さない。
3. 強固な立体構造を持つため, 生体内の酵素分解に対して抵抗性を示す。（血清中半減期：14日以上）
4. 天然アミノ酸から構成されているので, 従来のペプチド合成が可能であり, 高分子Biologicsと比べ製造コストが低い。したがって, バイオ医薬品の製造管理及び品質管理（GMP）に適合した高価な製造設備が必要ないので, 大手から中小までの多くの製薬企業で製造可能になり, その波及効果は計り知れない。
5. 天然アミノ酸から構成されているので, 生物活性タンパク質との融合タンパク質の作製が可能である。
6. 体内で分解されても20種類の天然アミノ酸が産生するだけで, 安全性が高い。

今後の発展

分子標的HLHペプチドをmRNAから細胞内で作らせる「mRNA医薬」や、2つの異なる標的に作用する「二重特異性ペプチド」の設計など、新しい応用研究も展開中です。これらの研究は、宇宙実験を利用した構造解析や、スーパーコンピュータによる分子シミュレーションとも連携し、構造から機能を精密に設計する研究体制を整えています。HLHペプチド研究は、タンパク質同士の結合を精密に制御することで、これまで薬では届かなかった領域に挑む試みです。小さな分子がもつ大きな可能性―それを発見し、医療の未来へとつなげていくことが、私たちの研究目標です。

本発表に関連して、補助事業代表者・分担者に開示すべきCOI（利益相反）はありません。