第19回　金沢大学十全医学賞受賞

# Fc領域への大環状ペプチド内挿による薬物動態が強化された受容体アゴニストの設計

## Designing receptor agonists with enhanced pharmacokinetics by grafting macrocyclic peptides into fragment crystallizable regions

金沢大学 がん進展制御研究所 腫瘍動態制御分野 准教授　**酒井　克也**（SAKAI Katsuya）

サイトカインと細胞成長因子は細胞のコミュニケーションとシグナル伝達を調整する生理活性タンパク質で、がん、自己免疫疾患、ウイルス感染に対するタンパク質治療薬として臨床的に使用されている。 また、神経新生や脳修復などの新しい分野への応用の可能性が研究されている．しかし医薬品利用においては、固有の構造的特性による薬物動態、特に、短い血中半減期や血液-脳関門を通過しないことが制約となっている．サイトカインや細胞成長因子の構造的な制約を克服するために、私たちは本来のリガンドとは構造的に無関係な代替アゴニストを開発した（図）．

HGF（Hepatocyte Growth Factor: 肝細胞成長因子）は細胞膜一回貫通型のチロシンキナーゼ受容体c-Metを活性化し、肝細胞などの上皮細胞や神経細胞の増殖、遊走、生存、管腔形成などを誘導する[1]． HGF/c-Met系の活性化が再生を促進し組織を保護することが、肝炎、肝硬変、腎障害、肺線維症、皮膚潰瘍、脳虚血などの疾患モデル動物に組換えHGFタンパク質を投与する基礎研究や、組織特異的c-Met KOマウスの研究から明らかにされた[1]．しかしながら、HGFタンパク質の血中半減期は短く、血液-脳関門を通過できないため、慢性疾患や中枢神経系疾患の治療に利用することには制約がある．

HGFの機能を代替する分子を作製するために、私たちはc-Met受容体の細胞外領域を標的として環状ペプチドのin vitroセレクションを行い、c-Met受容体に解離定数が数nM程度で強く結合する環状ペプチドを複数取得した[2]． 環状ペプチドはN末端とC末端で環状化した十数アミノ酸からなるペプチドで、安定した環状構造のために標的タンパク質に結合する最適な構造を保ち、解離定数が数nM以下と抗体並みの結合親和性を有する。次に、これらc-Met結合環状ペプチドを適当な長さのスペーサーで連結することによって、細胞上のc-Met受容体をダイマー化し活性化できることを示した[2]．しかしながら、ペプチドは一般的に血中半減期が短く、血液-脳関門を通過できない．そこで、高い発現、製造の容易さ、長い血中半減期、およびFabを付加した抗体の形を取り得ることなど、医薬品として望ましい特性を持つ免疫グロブリンFcの8箇所のループ構造内に、c-Met受容体結合環状ペプチドの活性配列を挿入し、「二つのc-Metバインダーを提示するFc分子」を作製した（図）[3]． これらc-Metバインダー提示Fcタンパク質は、ペプチド配列挿入部位によって大きく活性は異なるが、細胞のc-Met受容体を活性化することができ、本来のリガンドであるHGFタンパク質と同等の遺伝子発現プロファイルの変動や細胞増殖を誘導した[3]．

Fcの長い血中半減期を損なわないように、大環状ペプチドのFcへの挿入部位は、neonatal Fc受容体との結合に関与するFc領域の外側に設定した． 実際に、これらc-Metバインダー提示FcはFcタンパク質と同様マウスにおいて長期にわたって血液中に留り、長期作動性のc-Metアゴニストとして機能した[3]．

続いて、血液-脳関門を通過する方法として現状有望である抗トランスフェリン受容体（TfR）抗体を利用し、Fabを1つ持つ抗TfR抗体のFcループにc-Met結合環状ペプチドを挿入し、「二つのc-Metバインダーを提示する抗TfR抗体」を作製した（図）．

SLIDESMANIA.C

このタンパク質は、c-Met受容体を活性化することが可能であり、マウス尾静脈投与24時間後には投与量のおよそ1%が脳内に移行し、c-Met受容体が発現し治療標的である神経細胞に分布した[3]．

本方法は様々なサイトカイン・細胞成長因子受容体に応用することが可能である．例えば、セマフォリン受容体ファミリーの一つであり、骨代謝に関わるPlexin B1受容体に対する大環状ペプチドをFcのループに内挿することによって、Plexin B1受容体アゴニストやPlexin B1受容体アンタゴニストが作製できる[4]．サイトカインや細胞成長因子は一般に循環半減期が短く、ほとんど血液-脳関門を通過しないため、慢性疾患や脳疾患の治療においてその有用性が制限されているが、この方法で作製した人工細胞成長因子は、慢性疾患や脳疾患の治療に利用できると期待される（図）．

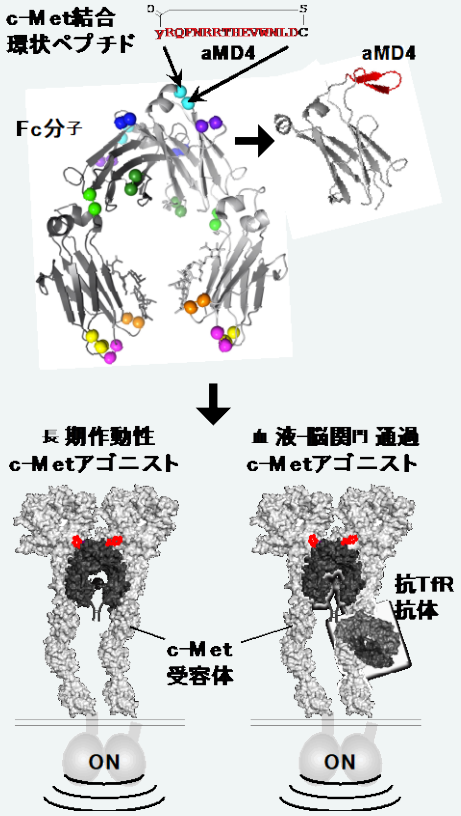


図 薬物動態を改善した人工細胞成長因子の作製

Fcの8箇所のループ構造のいずれか1組にc-MetバインダーaMD4の活性配列を内挿した(上)．c-Metバインダーを2つ提示するFcタンパク質は、血中半減期の長い長期作動性c-Metアゴニストとして機能する．c-Metバインダーを2つ提示する抗TfR抗体は血液-脳関門を通過するc-Metアゴニストとして機能する．


参考文献

1）Sakai K, et al. Hepatocyte growth factor and Met in drug discovery. J Biochem. 157: 271-284, 2015

2）Ito K, et al. Artificial human Met agonists based on macrocycle scaffolds. Nat Commun. 6: 6373, 2015

3）Sakai K, et al. Designing receptor agonists with enhanced pharmacokinetics by grafting macrocyclic peptides into fragment crystallizable regions. Nat Biomed Eng. 7: 164-176, 2023

4）Sugano-Nakamura, N. et al. De novo Fc-based receptor dimerizers differentially modulate PlexinB1 function. Structure 30: 1367-462, 2022

Profile

1996年　3月　筑波大学生物学類　卒業
1998年　3月　大阪大学医学研究科修士課程　修了
1998年　4月　バイエル薬品株式会社
2003年 12月　大阪大学医学研究科　特任研究員
2010年　4月　金沢大学がん進展制御研究所　助教
2017年　4月　金沢大学ナノ生命科学研究所（併任）
2020年　9月　金沢大学がん進展制御研究所　准教授

SLIDESMANIA.C