

抗体に反応してバイオ医薬を自律的に放出する機能性ゲルを開発 —体内埋め込み型の新たな医療用ソフトデバイスとして期待—

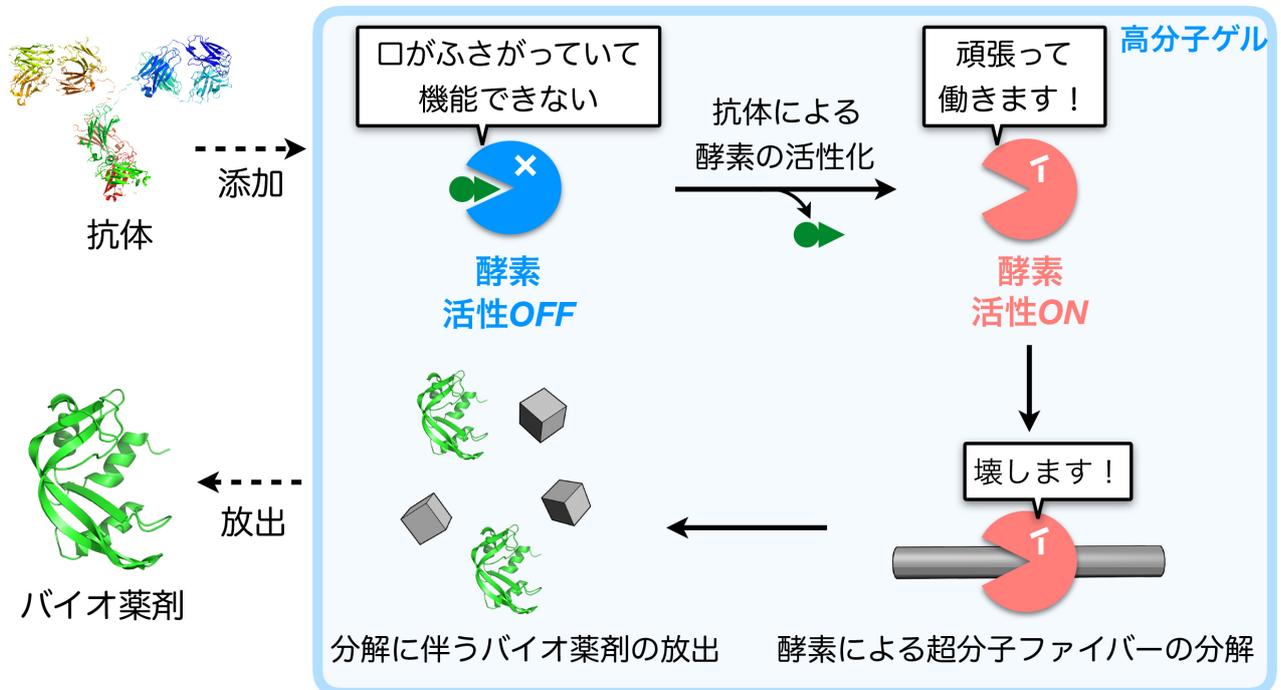
概要

京都大学大学院工学研究科 浜地格 教授、窪田亮 同助教、重光孟 同博士研究員(研究当時、現：大阪大学助教)、中村圭佑 同博士課程学生、京都工芸繊維大学大学院 浦山健治 教授らの研究グループは、抗体に反応してタンパク質などのバイオ医薬を自律的に放出することが可能な複合ゲル材料の開発に成功しました。

生体内には、抗体のように、酵素ではないタンパク質が多く存在します。ある種の非酵素タンパク質はがん等の疾病環境で過剰発現していることから、これらのたんぱく質に反応して自律的に薬剤を放出する材料は、薬物放出担体として期待されています。ところが、タンパク質は酵素と異なり反応性を持たないため、タンパク質に反応する材料設計の指針は確立されていませんでした。本研究グループは、「タンパク質の存在により活性が回復する酵素スイッチシステム」と「酵素により分解する超分子ファイバー」を組み合わせ、これらを高分子ゲルに内包させた複合ゲル材料を開発しました。開発した複合ゲルは、抗体の添加により酵素スイッチがオンになり、超分子ファイバーの分解が進み、内部に包接させたバイオ医薬を放出することを明らかにしました。本成果は、疾病環境においてタンパクや酵素のようなバイオ医薬品を自律的に放出できる、体内埋め込み型インテリジェント複合ゲル材料に展開できると期待されます。

本成果は 2020 年 7 月 31 日に英国の国際学術誌「Nature Communications」にオンライン掲載されました。

抗体をトリガーとするバイオ医薬放出メカニズム



1. 背景

タンパク質は、生命機能の中心を担う分子です。タンパク質の中には、疾病のバイオマーカーや抗体のようにバイオ薬剤として機能するものがあります。こうしたタンパク質に応答して薬剤を放出できるソフトマテリアルは、次世代の薬物放出材料として注目を集めています。しかしながら、これまでに開発されてきた材料は、酵素などの反応性を持つ分子に応答することができましたが、反応性を持たない抗体のような非酵素タンパク質に応答することは原理上困難でした。非酵素タンパク質に応答できるソフトマテリアルが開発できれば、放出材料としての応用の幅が広がり、様々な疾病に対応できるようになると期待されます。そこで本研究グループは、非酵素タンパク質に応答可能な新たなソフトマテリアルの開発を目指しました。

2. 研究手法・成果

非酵素タンパク質に応答するシステムを開発するため、「非酵素タンパク質に応答して酵素が活性化するシステム」と「酵素によって分解する超分子ヒドロゲル」を組み合わせることを考案しました(図 1a)。

まず、非酵素タンパク質というシグナルを酵素活性に変換するために、酵素の阻害剤と非酵素タンパク質のリガンドを連結した EAT 分子をデザインしました(図 1 b)。非酵素タンパク質添加前に、EAT は酵素と結合して活性を阻害します。一方、非酵素タンパク質を添加すると、EAT はより親和性の高い非酵素タンパク質と結合することで、酵素活性が回復する仕組みとなっています。また、酵素として炭酸脱水酵素(CAII)、超分子ヒドロゲル化剤として N 末端に CAII により加水分解されるアセチル基を持つジペプチドを設計しました。実際に、EAT および CAII を内包した超分子ゲルに対してモデルタンパク質である非酵素タンパク質のアビジンを添加すると、アビジンを添加した場合のみゲルが溶解することを発見しました。

続いて、得られたゲルに内包させたタンパク質放出挙動を調べることにしました。しかしながら、残念なことに超分子ゲルは強度が低く、放出実験には不向きであることが判明しました。そこで、構築した非酵素タンパク質応答性超分子ゲルと、強度が高い高分子ゲルを複合化することにしました。その結果、得られた複合ゲルはタンパク質放出実験に十分な強度を有していることを見出しました(図 2a)。また、共焦点レーザー顕微鏡を用いて、超分子と高分子が独立にネットワーク構造を形成していることを明らかにしました(図 2b,c)。さらに、この複合ゲルは抗がん剤治療の候補薬である RNA 分解酵素(RNase)を保持できることを発見しました。そこで、非酵素タンパク質である抗体に応答する EAT 分子と CAII、および RNase を内包させた複合ゲルに対して抗体を作用させたところ、抗体を添加した場合のみ RNase を放出することが明らかになりました(図 2d)。以上の結果から、本研究で構築した複合ゲルは、バイオマーカーとして機能する抗体に応答し、バイオ薬剤を自律的に放出可能な担体として機能することがわかりました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究で提案した機能性分子を合理的に複合化させる戦略は、インテリジェントなマテリアル作成を可能とする優れた戦略であると期待されます。開発した複合ゲルは、目的に応じた分子設計を行い多様なバイオマーカー・バイオ薬剤に対応させることで、様々な疾病治療に貢献できると期待されます。今後、得られた複合ゲルを疾病部位へと埋め込むことで、疾病部位の環境に応じたバイオ薬剤の自律的放出の実現を目指したいと考えています。

4. 研究プロジェクトについて

(1) 科学研究費助成事業「新学術領域研究（研究領域提案型）」（文部科学省）

「分子夾雑の生命化学」（領域代表者：浜地 格 京都大学 教授）

研究課題名：「分子夾雑下での生命分子の直接修飾/機能解析を実現する有機化学」

研究者：浜地 格（京都大学 工学研究科 合成・生物化学専攻 教授）

研究期間：2017 年度～2021 年度

(2) 科学研究費助成事業「若手研究」（文部科学省）

研究課題名：「細胞内シグナルネットワークを解読する Metallo-chemogenetics」

研究者：窪田 亮（京都大学 工学研究科 合成・生物化学専攻 助教）

研究期間：2018 年度～2019 年度

(3) 科学研究費助成事業「若手研究」（文部科学省）

研究課題名：「前生命環境の超分子化学」

研究者：窪田 亮（京都大学 工学研究科 合成・生物化学専攻 助教）

研究期間：2020 年度～2021 年度

<用語解説>

超分子：構成要素である分子が非共有結合性の相互作用を介して自己集合(自己組織化)することで形成する高次構造体。個々の分子単独では発揮されない性質や機能を示す。

ヒドロゲル：寒天やこんにゃく等に代表されるゼリー状物質の総称。紐状の高分子・超分子が互いに架橋したネットワークにより水が固定化されることで形成する。薬物担持や細胞培養基盤としてのバイオ応用が期待されている。

リガンド：タンパク質の特定の部位に対して特異的に結合する分子

共焦点レーザー顕微鏡：試料からの蛍光を画像化する蛍光顕微鏡の一種。光源にレーザーを使用し、検出器手前にピンホールを配置することで、高感度かつボケの少ない画像を得ることができる。

バイオマーカー：疾病の指標となる分子。例えば、糖尿病におけるグルコースが挙げられる。

<研究者のコメント>

非酵素タンパク質に応答してタンパク質を放出するシステムを開発するために、複合ゲル内に6つの機能性分子を合理的に組み合わせました。実現までには3年以上に渡る時間と努力が必要でしたが、重光、窪田、中村君の見事な連携プレーによって素晴らしい成果にまとまりました。このような異なる分子・システムが協働して機能する様は、細胞内のシグナル伝達に類似しているのではないかと我々は捉えています。こうした細胞を模した複雑ながらも整然とした化学システムは、次世代の診断・治療材料を設計する新たな方法論になると期待しています。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Protein-responsive protein-release of supramolecular/polymer hydrogel composite integrating enzyme activation systems (酵素活性化システムを内包した超分子-高分子複合ゲルによるタンパク質応答性タンパク質放出)

著者：重光孟、窪田亮、中村圭佑、松崎友伸、南沙央理、青山拓磨、浦山健治、浜地格

掲載誌：Nature Communications

DOI：10.1038/s41467-020-17698-0

<参考図表>

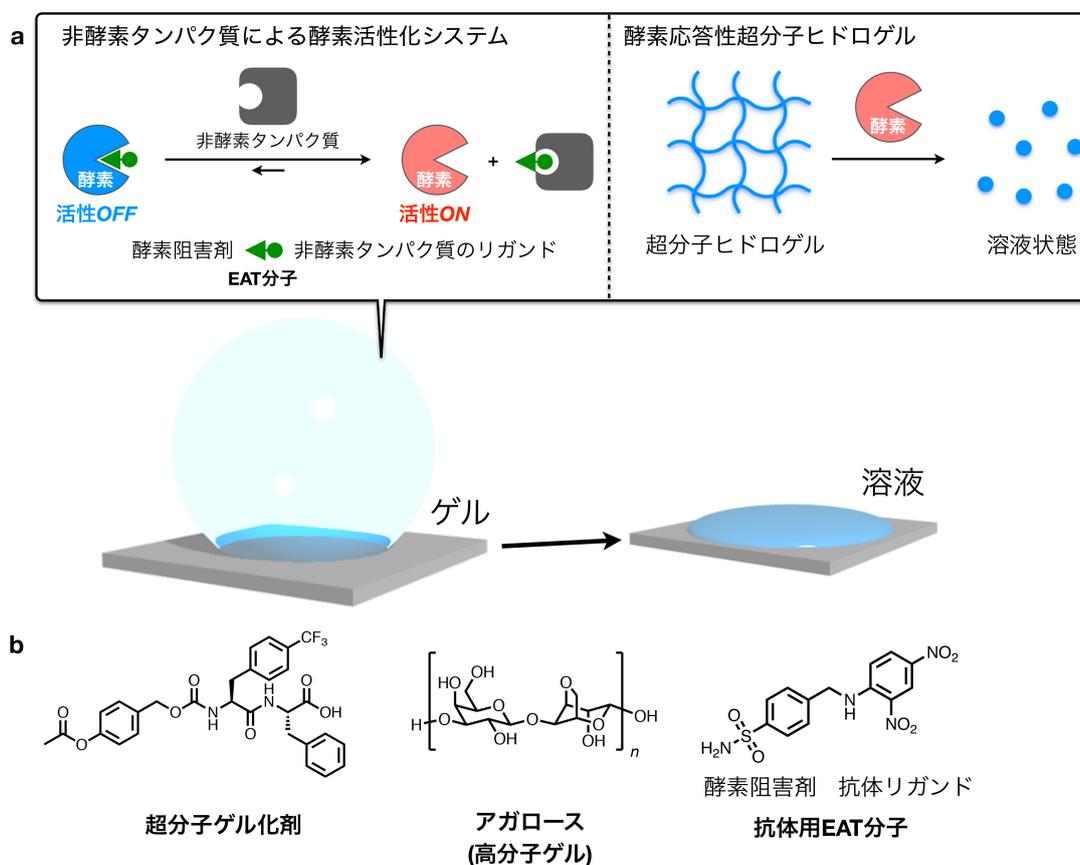


図 1. (a) 非酵素タンパク質応答性ヒドロゲルの設計。非酵素タンパク質による酵素の活性化と酵素による超分子ゲルの分解を組み合わせる。(b) 実際に使用した分子の構造。

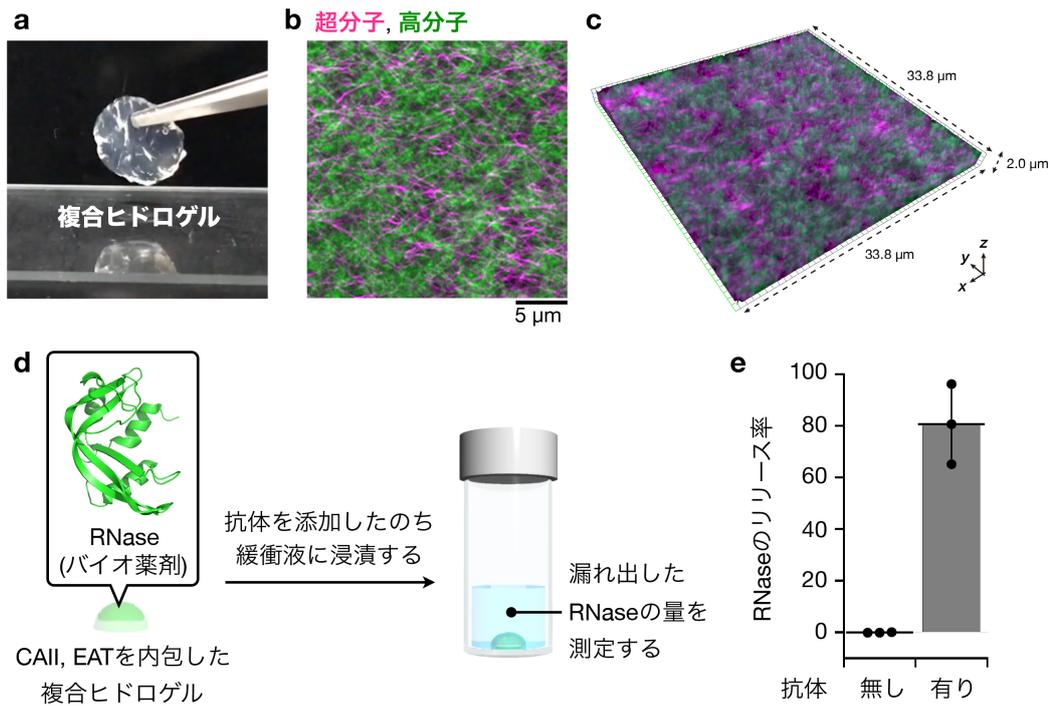


図 2. (a) 超分子と高分子を組み合わせた複合ゲルの見た目。(b,c) 複合ゲル内部構造の顕微鏡画像。ピンクの超分子の紐状構造と緑の高分子の海島構造が存在している。(d) バイオ薬剤(RNase)放出実験の模式図。(e) RNase 放出実験の結果。抗体なしでは RNase は放出されないが、抗体添加で約 80%放出された。