日本医療研究開発機構　　創薬基盤推進研究事業
事後評価報告書

Ⅰ 基本情報

研究開発課題名：モダリティの組織選択的送達と経口吸収を可能にする創薬デザイン技術開発
Study of drug design technology for tissue-selective delivery and oral absorption of therapeutic modalities

研究開発実施期間：令和 5 年 4 月 15 日～令和 8 年 3 月 31 日

研究開発代表者　氏名：伊藤　慎悟
Shingo Ito

研究開発代表者　所属機関・部署・役職：
国立大学法人熊本大学 大学院生命科学研究部　准教授
Associate Professor, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University

II 研究開発の概要

本研究開発課題では、バイオ医薬品に代表される中・高分子創薬モダリティの実用化において大きな障壁となっている「組織選択的送達」と「経口吸収」の課題を解決するため、組織関門透過性を有する環状ペプチドを活用した創薬デザイン技術の確立を目指した。近年、抗体医薬、Fc 融合タンパク質、ペプチド医薬、核酸医薬など、多様な中・高分子モダリティが創薬の中心的な位置を占めつつある。一方で、これらのモダリティは分子量が大きく、親水性も高いため、生体内の組織関門を自発的に通過しにくいという本質的な課題を有している。特に、中枢神経系疾患を対象とするバイオ医薬品では、血液脳関門 (blood–brain barrier: BBB) が脳内送達の大きな障壁となる。一方、経口投与型バイオ医薬品では、小腸上皮を介した吸収効率の低さが実用化を妨げる主要な課題となっている。そこで本研究では、BBB を介した中枢神経系への送達と、小腸上皮を介した全身循環への吸収という二つの組織関門に着目し、BBB 透過性を有する SLS ペプチドおよび小腸透過性を有する DNP ペプチドを用いて、抗体医薬および Fc 融合タンパク質等の高分子モダリティに組織関門透過能を付与する分子設計の有効性を検証した。本研究の特徴は、単に透過性を高める添加剤や製剤技術を検討するのではなく、創薬モダリティそのものに組織関門を越える機能を付与する点にある。すなわち、SLS ペプチドおよび DNP ペプチドを「機能性送達モジュール」として高分子医薬に組み込み、分子設計の段階から組織移行性や経口吸収性を制御することを目指した。

中枢神経系への薬物送達に関しては、SLS ペプチドを高分子医薬へ導入することで、抗体本来の標的結合活性や物理化学的性質を大きく損なうことなく、脳内移行性を向上させ得ることを示した。研究期間の初期には、抗体分子の末端部位へ SLS ペプチドを融合する設計を検討し、リンカー構造や融合様式が産生性、品質、輸送能に与える影響を比較した。中・高分子医薬に機能性ペプチドを導入する場合、単にペプチドを付加すればよいわけではなく、導入部位、リンカー長、ペプチドの価数、立体構造の保持、抗体機能への影響、凝集性、製造性などを総合的に最適化する必要がある。本研究では、これらの要素を体系的に比較することで、抗体製造に汎用される細胞発現系により作製可能であり、かつ脳内移行性を高める分子設計条件を見出した。さらに、*in vitro* BBB モデルおよび *in vivo* 動物実験を組み合わせて評価した結果、SLS ペプチドの導入により、BBB 関連細胞への取り込みおよび BBB 透過性が向上することが示された。また、動物実験

においても、末梢投与後の脳内移行性が向上することを確認した。重要な点として、脳内濃度の増加が単なる脳毛細血管への結合や血管内滞留ではなく、脳実質側への移行を伴う現象であることを、脳毛細血管画分と脳実質画分を分けた解析および組織学的解析により確認した。これは、SLS ペプチドを用いた設計が、単に血管壁に抗体を集積させる技術ではなく、BBB を越えて脳実質側へ高分子医薬を届ける技術であることを示す重要な成果である。

次に、SLS ペプチドの構造安定性と抗体機能の両立を図るため、抗体の立体構造情報をもとに、分子内の特定ループ領域へ SLS ペプチドを組み込む新たな設計を検討した。環状ペプチドは、その機能発現に立体構造の保持が重要であると考えられるため、抗体分子上でペプチドの環状構造を安定に提示できる設計が必要である。本研究では、抗体の立体構造を考慮し、抗体機能に大きな影響を与えにくい領域を利用して SLS ペプチドを組み込む設計を行った。この設計により、抗体の基本機能や血中動態を大きく変化させることなく、脳内移行性、脳内滞留性、ならびに特定脳領域への分布を向上させることが可能であることを見出した。この成果は、SLS ペプチドの導入部位が脳内送達性能に大きく影響することを示すものであり、今後の抗体医薬設計において重要な指針となる。従来の脳内送達技術では、BBB 上の特定受容体を標的とした抗体改変が広く検討されてきたが、受容体発現の組織分布、標的受容体の飽和、末梢組織への取り込み、血中濃度低下などが課題となる場合があった。本研究で得られた SLS ペプチド導入設計では、血中動態を大きく損なうことなく脳内移行性を向上させ得ることが示され、既存技術とは異なるプロファイルを有する脳内送達基盤となる可能性が示された。また、本技術を中枢神経疾患関連抗体に応用し、疾患モデル動物を用いた検証を行った結果、SLS ペプチドを導入した抗体では、脳内病理指標の改善傾向が認められ、さらに行動学的指標においても有効性を示唆する結果が得られた。これにより、SLS ペプチドによる脳内移行性の向上が、単に脳内濃度を上昇させるだけでなく、薬理効果の増強につながる可能性を支持する Proof of Mechanism を得た。

経口投与型高分子医薬の開発においては、DNP ペプチドを抗体医薬および Fc 融合タンパク質へ導入し、小腸上皮を介した吸収促進の成立性を検証した。一般に、抗体医薬や Fc 融合タンパク質のような高分子医薬は、消化管内で分解を受けやすく、さらに小腸上皮を通過しにくいため、経口投与は極めて困難とされてきた。そのため、現在のバイオ医薬品の多くは注射剤として投与されている。しかし、慢性疾患や長期治療を必要とする疾患においては、注射による患者負担、医療従事者の負担、通院頻度、医療コストが課題となる。本研究では、DNP ペプチドを用いて高分子医薬に小腸透過能を付与することで、経口投与型バイオ医薬品の実現に向けた基盤構築を目指した。抗体医薬を用いた検討では、DNP ペプチド融合体が小腸内投与後に門脈血を介して全身循環へ移行し得ることを確認し、高分子医薬の小腸透過を可能にする分子設計の有効性を示した。一方で、経口投与時には、胃酸や消化酵素による分解、小腸到達性、消化管内での滞留時間、製剤からの放出制御など、分子設計のみでは解決できない課題も明らかとなった。したがって、DNP ペプチドによる小腸透過促進技術を実用化するためには、消化管内で高分子医薬を保護し、適切な部位で放出する製剤技術との組み合わせが重要であることが示された。この点を踏まえ、本研究ではモデルタンパク質を用いた製剤学的検討も実施し、高分子医薬の活性を保持しつつ、固形製剤化し得る可能性を検討した。その結果、DNP ペプチドを用いた経口吸収促進技術と製剤設計を組み合わせることで、経口投与型バイオ医薬品開発へ展開できる基盤が得られた。これは、分子設計、製剤設計、薬物動態評価を統合した創薬基盤技術として重要な成果である。

さらに、本研究では、SLS ペプチドおよび DNP ペプチドによる組織関門透過機構の解明にも取り組んだ。組織関門透過性ペプチドを創薬技術として発展させるためには、単に現象として透過性が向上することを示すだけでなく、どのような細胞機構を介して取り込みや輸送が起こるのかを明らかにすることが重要である。本研究では、小腸上皮および BBB において、これらの環状ペプチドによる取り込み促進には、細胞表面分子との相互作用および細胞内小胞輸送経路が関与する可能性を示した。特に、小腸上皮においては、

阻害剤、細胞表面分子の機能抑制、ならびに *in vivo* 吸収評価を組み合わせることで、DNP ペプチドによる受容体介在型の細胞内取り込み機構が高分子医薬の吸収促進に寄与することを示した。このことは、DNP ペプチドが単に上皮バリアを非特異的に緩めることで吸収を促進しているのではなく、小腸上皮細胞が本来有する能動的な取り込み機構を利用している可能性を示すものである。これは安全性の観点からも重要であり、バリア破壊を伴わずに高分子医薬を経細胞的に輸送する設計概念につながる。BBB においても、SLS ペプチドと候補となる細胞表面分子との相互作用が輸送能と関連することを見出した。BBB は、脳血管内皮細胞、周皮細胞、アストロサイトなどから構成される高度に制御された組織関門であり、単純な拡散では高分子医薬を通過させにくい。一方で、BBB には生理的に必要な分子を輸送するための能動的な取り込み・輸送機構が存在する。本研究の成果は、SLS ペプチドがこうした細胞機構を利用して高分子医薬の脳内移行を促進する可能性を示しており、BBB を「越えられない障壁」としてではなく、「制御可能な輸送界面」として捉える新たな創薬設計概念につながる。

また、抗体医薬で得られた知見をより汎用的な創薬モダリティへ展開するため、Fc 融合タンパク質を基盤とするハイブリッド型分子の創製を行った。Fc 融合タンパク質は、抗体に比べて設計自由度が高く、種々の薬理活性分子を搭載できるため、組織送達技術との相性が高いモダリティである。本研究では、SLS ペプチドまたは DNP ペプチドを Fc 融合タンパク質に導入することで、脳内送達型および経口投与型の新たな高分子モダリティ設計へ展開した。脳内送達型 Fc 融合タンパク質では、SLS ペプチドの導入により、末梢血中動態を大きく損なうことなく脳内移行性および脳内滞留性が向上することを確認した。さらに、脳実質側への移行を支持する組織学的所見も得られ、SLS ペプチドが Fc 融合タンパク質に対しても脳内送達能を付与し得ることが示された。加えて、中枢作用性ペプチドを搭載した検証系において、末梢投与後に中枢薬理作用の増強を示唆する結果が得られた。この成果は、SLS ペプチド融合 Fc タンパク質が単なる脳内移行性評価のモデルにとどまらず、薬理活性を持つ分子を脳内へ送達するキャリアとして機能し得る可能性を示している。経口投与型 Fc 融合タンパク質においても、DNP ペプチドの導入により、小腸投与後に全身循環へ移行し、薬理作用を発揮し得ることを示した。これは、DNP ペプチドによる小腸透過促進技術が、抗体医薬のみならず、Fc 融合タンパク質にも適用可能であることを示す成果である。

これらの成果は、SLS ペプチドおよび DNP ペプチドを用いた環状ペプチド融合技術が、抗体医薬に限定されず、Fc 融合タンパク質など多様な中・高分子モダリティへ応用可能であることを示している。すなわち、本研究は、個別の薬物や個別の疾患に限定された技術開発ではなく、複数のモダリティに横展開可能な組織関門透過型創薬プラットフォームの構築を目指したものである。SLS ペプチドは BBB を介した脳内送達、DNP ペプチドは小腸上皮を介した経口吸収という異なる組織関門に対して、それぞれ機能性送達モジュールとして利用可能であり、目的とする投与経路や標的組織に応じて選択的に組み込むことができる。本研究開発の意義は、第一に、これまで困難であった中・高分子医薬の脳内送達および経口投与に対して、分子設計に基づく新たな解決策を提示した点にある。第二に、DNP ペプチドを用いて小腸上皮の能動的輸送機構を活用することで、経口投与型バイオ医薬品開発に向けた実現可能性を示した点にある。第三に、SLS ペプチドおよび DNP ペプチドを単なる付加配列としてではなく、組織関門を越えるための「機能性送達モジュール」として位置づけ、抗体医薬、Fc 融合タンパク質、ペプチド性薬物など複数のモダリティへ展開可能であることを示した点にある。さらに、環状ペプチドの導入部位、価数、構造安定性、リンカー設計、分子サイズ、薬理活性保持、血中動態、組織分布など、今後の創薬応用に必要となる設計指針を体系的に得た点も重要である。

以上より、本研究開発では、SLS ペプチドおよび DNP ペプチドを基盤とする創薬デザイン技術により、脳内送達型および経口投与型の高分子医薬開発に向けた有効な基盤を構築した。本成果は、中枢神経系疾患、代謝性疾患、希少疾患等に対する新たな治療モダリティ開発を支える基盤技術となることが期待される。今後は、大型動物を含む非臨床評価、製剤技術との統合、安全性および送達効率のさらなる最適化を進めるこ

とで、実用化に向けた研究開発を加速する。また、SLS ペプチドおよび DNP ペプチドのさらなる高機能化、適応可能なモダリティの拡張、ならびに製薬企業等との連携を通じて、組織関門透過性環状ペプチドを活用した次世代バイオ医薬品開発の実用化を目指す。

This research project aimed to establish a drug design technology that enables tissue-selective delivery and oral absorption of middle- and high-molecular-weight therapeutic modalities, including biologics. The project focused on two major biological barriers that limit the clinical application of biologics: the blood–brain barrier (BBB), which restricts drug delivery to the central nervous system, and the small intestinal epithelial barrier, which limits systemic absorption after oral administration. To address these challenges, we developed and evaluated a molecular design strategy using tissue barrier-permeable cyclic peptides as functional delivery modules for antibody-based and Fc-fusion modalities. In particular, the project investigated whether cyclic peptides could be incorporated into therapeutic modalities to confer barrier-crossing properties at the molecular design stage, rather than relying solely on formulation-based or nonspecific permeation-enhancing approaches.

For brain delivery, we demonstrated that introducing the BBB-permeable SLS peptide into antibody molecules can enhance brain exposure without substantially compromising the intrinsic binding activity, physicochemical properties, or systemic pharmacokinetic profiles of the parent molecule. In the early phase of the project, we optimized fusion formats and linker structures and identified molecular designs that were compatible with conventional recombinant protein production processes. In vivo analyses further suggested that the increased brain exposure was not simply due to vascular association or retention in brain capillaries, but was accompanied by delivery into the brain parenchymal compartment. We subsequently developed an improved design based on structural information of antibody molecules. By incorporating the SLS peptide into a selected loop region of the antibody framework, we obtained a format that maintained the fundamental functions of the antibody while improving brain delivery, retention, and distribution to relevant brain regions. When this design was applied to an antibody related to a central nervous system disorder, studies in a disease model showed trends toward improvement in pathological markers and suggested functional benefits in behavioral assessments. These findings provide proof of mechanism that enhanced brain delivery can contribute to improved pharmacological efficacy.

For oral delivery, we investigated whether the small intestine-permeable DNP peptide could promote the absorption of biologics across the intestinal epithelium. Antibody-based molecules and Fc-fusion proteins modified with the DNP peptide were evaluated using intestinal administration models. The results demonstrated that DNP peptide modification can facilitate transport from the intestinal lumen to the portal circulation and, subsequently, to systemic circulation. At the same time, the studies clarified that protection from gastrointestinal degradation and appropriate formulation design are critical for achieving effective oral delivery. Formulation studies using a model protein further suggested that solid dosage forms can be prepared while preserving biological activity, supporting future integration of DNP peptide-based absorption technology with pharmaceutical formulation strategies.

The project also provided important mechanistic insights into how the SLS and DNP peptides promote tissue barrier transport. In both the intestinal epithelium and the BBB, the data suggested that interactions with cell-surface molecules and intracellular vesicular transport pathways are involved. In the intestinal barrier, pharmacological inhibition, suppression of candidate cell-surface molecules, and in vivo absorption studies supported the contribution of receptor-associated cellular uptake mechanisms. These findings indicate that the technology is not merely a passive permeation enhancer, but rather a molecular design platform that utilizes active cellular transport systems present in tissue barriers. This concept is important because it suggests that tissue barriers can be regarded not only as obstacles to drug delivery, but also as regulated biological interfaces that can be exploited for selective transport of therapeutic modalities.

In addition to antibody therapeutics, we extended the technology to Fc-fusion proteins as a more versatile modality platform. SLS peptide-modified Fc-fusion proteins showed enhanced brain delivery and prolonged brain retention without major changes in systemic exposure. Furthermore, when a pharmacologically active peptide was fused to this platform, peripheral administration resulted in enhanced central pharmacological effects, suggesting that the platform

can deliver a therapeutically relevant amount of cargo to the brain. Similarly, orally administered DNP peptide-modified Fc-fusion proteins entered systemic circulation through the intestinal route and exerted pharmacological activity. These findings demonstrate that the cyclic peptide-based design is applicable not only to monoclonal antibodies but also to broader biologic modalities, including Fc-fusion proteins and peptide-based drugs.

The significance of this research lies in the establishment of a generalizable molecular design concept for overcoming tissue barriers. First, the project provides a promising strategy for brain delivery of biologics, an area in which conventional approaches often face challenges related to peripheral distribution, receptor saturation, or altered pharmacokinetics. Second, the project demonstrates a potential route toward oral administration of biologics by harnessing active transport mechanisms in the small intestine. This may contribute to the development of patient-friendly alternatives to injectable biologics. Third, by defining the SLS and DNP peptides as functional delivery modules, the project provides design principles that can be applied across different therapeutic modalities. These principles include the importance of peptide insertion site, valency, structural stability, linker design, preservation of pharmacological activity, systemic pharmacokinetics, and tissue distribution.

Overall, this project established an SLS and DNP peptide-based drug design platform for tissue-selective delivery and oral absorption of high-molecular-weight therapeutic modalities. The outcomes are expected to support the development of next-generation biologics for central nervous system disorders, metabolic diseases, rare diseases, and other conditions in which tissue barrier transport remains a major bottleneck. Future studies will focus on further optimization of delivery efficiency, formulation integration, safety assessment, and validation in larger nonclinical models to accelerate translation toward practical therapeutic applications.