

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) 革新的バイオ医薬品創出基盤技術開発事業
(英語) Basic Science and Platform Technology Program for Innovative Biological Medicine

研究開発課題名：(日本語) 特殊環状ペプチドを中核とした革新的次世代バイオ医薬品開発の加速
(英語) Acceleration of the development for the next generation bio-drugs based on macrocyclic nonstandard peptides

研究開発担当者 (日本語) 東京大学大学院理学系研究科 教授 菅裕明
所属 役職 氏名：(英語) Hiroaki Suga, Professor, Graduate School of Science, The University of Tokyo

実施期間：平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 特殊ペプチドの生理活性評価
開発課題名 (英語) Evaluation of the physiological activities of nonstandard macrocyclic peptides

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人筑波大学医学医療系 教授 加藤 光保
所属 役職 氏名：(英語) Mitsuyasu Kato, Professor, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人群馬大学大学院医学系研究科 特任准教授 花岡 宏史
所属 役職 氏名：(英語) Hirofumi Hanaoka, Associate Professor, Gunma University Graduate School of Medicine

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人金沢大学 がん進展制御研究所 教授 松本 邦夫
所属 役職 氏名：(英語) Kunio Matsumoto, Professor, Cancer Research Institute, Kanazawa University

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人神戸大学大学院 医学研究科 教授 勝二 郁夫
所属 役職 氏名: (英語) Ikuo Shoji, Professor, Graduate School of Medicine, Kobe University

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本事業では、任意の標的蛋白質に結合・阻害する特殊環状ペプチドを高速に探索できる RaPID (Random non-standard Peptide Integrated Discovery) システムを基盤技術として活用することで、そこから生み出される特殊環状ペプチドを日本発の次世代バイオ医薬品として確固たる地位を確立させることを達成目標とした。この目標を達成するべく、下記の中核技術目標を平成 28 年度に設定した。

中核技術目標①疾患細胞特異的な薬剤デリバリーベークルとしての技術革新

疾患細胞を特異的に認識する特殊環状ペプチドに薬剤を共役した cPDC (cyclic Peptide-Drug Conjugate) 技術確立し、「薬剤デリバリーベークル」開発の技術革新を進める計画を立てた。

具体的なマイルストーンとして、

- ①疾患細胞に強発現されているタンパク質に結合する特殊環状ペプチドの RaPID セレクション
- ②疾患細胞の任意の細胞膜タンパク質に選択的に結合する特殊環状ペプチドの細胞 RaPID セレクション
- ③特殊環状ペプチドを基盤にした cPDC 構造の最適化
- ④cPDC の実証

を掲げた。

平成 28 年度は、3 種の膜タンパク質 A~C を標的として cPDC の開発を進めた。標的 A に関しては、平成 27 年度中に①④を達成したため、平成 28 年度は③に重点を置き④を進めた。標的 B に関しては、平成 27 年度中に①を達成したため、平成 28 年度は③④の前段階の検討として蛍光化した特殊環状ペプチドを用いた検討を進めた。標的 C に関しては、平成 27 年度中に①を達成したため、平成 28 年度は③④を進めた。②については、現在の標的に関しては全て①を達成できているため、平成 28 年度には進めていない。詳細については、特許の関連で未公開とする。

中核技術目標②中分子医薬品としての技術革新

細胞膜を透過し、細胞内のタンパク質間相互作用 (Protein-Protein Interaction, PPI) を効率的に阻害する特殊環状ペプチドの探索法を確立し、「中分子医薬品」開発の技術革新を進める計画を立てた。

具体的なマイルストーンとして下記を掲げた。

- ①細胞内 PPI を標的にした Lipid セレクションによる特殊環状ペプチドの同定
- ②細胞内 PPI 阻害能を発揮する特殊環状ペプチドの同定と細胞評価

平成 28 年度は、平成 27 年度までに標的 D を標的とした①を達成したので、その特殊ペプチドの細胞評価として②を中心に進めた。また、標的 E については、フォーカスライブラリーからの特殊環状ペプチドリガンドの獲得に成功し、現在、濃縮された特殊環状ペプチドの結合活性確認中である。詳細については特許の関連で未公開とする。

This project aims at building the foundation of the next generation of biomedicines based on nonstandard macrocyclic peptides. The molecules will be generated by the RaPID (Random non-standard Peptide Integrated Discovery) system developed by the PI of this project, which enables for the discover of potent ligands and inhibitors against various protein targets with an extraordinary speed. In this fiscal year of 2016, we set two specific aims toward the overall goal.

Specific aim ① Innovative development of cyclic peptide drug conjugates (cPDCs) as drug delivery vehicles against disease targets

We have aimed at to develop cPDCs capable of specifically targeting to disease cells.

Four milestones were set in this specific aim:

- ① RaPID selection of nonstandard macrocyclic peptides against biomarker proteins specifically overexpressed in disease cells
- ② Cell-based RaPID selection of nonstandard macrocyclic peptides against biomarker proteins specifically overexpressed in disease cells
- ③ Optimization of cPDC as drug delivery vehicles
- ④ Proof-of-concept of cPDC

In the fiscal year of 2016, we attempted developing cPDC against three membrane proteins. For the details of the development would not be available in this report due to patent disclosure.

Specific aim ② Innovative development of cyclic peptide drugs against intracellular disease targets

We have aimed at developing cyclic peptide drugs capable of being permeable to cell membrane and target specific intracellular targets, particularly inhibiting protein-protein interaction (PPI).

Two major milestones were set in this specific aim:

- ① RaPID/LiPID selection of nonstandard macrocyclic peptides against intracellular targets inhibiting PPI
- ② Determination and evaluation of the intracellular PPI inhibitors of nonstandard macrocyclic peptides

In the fiscal year of 2016, two proteins were chosen as intracellular targets and their macrocyclic peptides were selected by means of the RaPID/LiPID system. For the details of the development would not be available in this report due to future patent disclosure.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 8件）

1. Yu H., Dranchak P., Li Z., MacArthur R., Munson M.S., Mehzabeen N., Baird N.J., Battalie K.P., Ross, D., Lovell, S., Carlow C.K., Suga H., Inglese J. “Macrocyclic peptides delineate locked-open inhibition mechanism for microorganism phosphoglycerate mutases” **Nature Communications**, 2017, Apr. 3, 14932. Doi: 10.1038/ncomms14932.
2. Jongkeess S.A., Caner S., Tysoe C., Brayer G.D., Withers S.G., Suga H. “Rapid discovery of potent and selective glycosidase-inhibiting de novo peptides” **Cell Chemical Biology**, 2017, 24, 381-390. Doi: 10.1016/j.chembiol.2017.02.001
3. T. Passioura, H. Suga “A RaPID way to discover nonstandard macrocyclic peptide modulators of drug targets” **Chemical Communications**, 2017, 53, 1931-1940. Doi: 10.1039/c6cc06951g
4. Okita Y., Kimura M, Xie R, Chen C, Shen LTW, Kojima Y, Suzuki H, Muratani M, Saitoh M, Semba K, Heldin C-H, Kato M. The transcription factor MAFK induces EMT and malignant progression of triple-negative breast

cancer cells through its target GPNMB. *Sci. Signal.*, 2017, 10, eaak9397. doi: 10.1126/scisignal.aak9397. PMID: 28400538

5. Isozaki H, Ichihara E, Takigawa N, Ohashi K, Ochi N, Yasugi M, Ninomiya T, Yamane H, Hotta K, Sakai K, Matsumoto K, Hosokawa S, Bessho A, Sendo T, Tanimoto M, Kiura K. Non-small cell lung cancer cells acquire resistance to the ALK inhibitor alectinib by activating alternative receptor tyrosine kinases. *Cancer Research*. 2016, 76, 1506-16.
6. Adachi E, Sakai K, Nishiuchi T, Imamura R, Sato H, Matsumoto K. Cell-autonomous changes in Met receptor expression regulate the growth and metastatic characteristics in malignant melanoma. *Oncotarget*. 2016, 7, 70779-93.
7. Umitsu M, Sakai K, Ogasawara S, Kaneko M, Asaki R, Tamura-Kawakami K, Kato Y, Matsumoto K, Takagi J. Probing conformational and functional states of human hepatocyte growth factor by a panel of monoclonal antibodies. *Scientific Reports*. 2016, 6, 33149.
8. Kawaguchi Y, Taoka M, Takekiyo T, Uekita T, Shoji I, Hachiya N, and Ichimura T. TRIM32-Cytoplasmic-Body formation is an ATP-consuming process stimulated by HSP70 in cells. *PLoS One*, 2017, 12 (1): e0169436.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. A RaPID way to discover bioactive pseudo-natural peptides from therapeutic uses、口頭発表（招待講演）、菅裕明、AsiaTIDES Plenary Lecture、京都、2017/2/21、国内（国際学会）
2. A RaPID way to discover bioactive pseudo-natural peptides from therapeutic uses、口頭発表（招待講演）、菅裕明、Gordon Research Conference, Translation Machinery in Health & Disease, Houston, USA, 2017/3/22、国外（国際学会）
3. 特殊ペプチド創薬イノベーション、口頭発表（招待講演）、菅裕明、万有財団福岡シンポジウム、福岡、2016/4/23、国内
4. 特殊ペプチド創薬イノベーション、口頭発表（招待講演）、菅裕明、万有財団札幌シンポジウム、札幌、2016/7/2、国内
5. A RaPID way to discover bioactive pseudo-natural peptides from therapeutic uses、口頭発表（招待講演）、菅裕明、EMBO Conference-Chemical Biology、Heidelberg、ドイツ、2016/9/2、国外（国際学会）
6. A RaPID way to discover bioactive pseudo-natural peptides from therapeutic uses、口頭発表（招待講演）、菅裕明、tRNA Conference 2016、Jeju、韓国、2016/9/8、国外（国際学会）
7. 特殊ペプチド創薬イノベーション、口頭発表（招待講演）、菅裕明、Plenary Lecture in Novartis Pharma Oncology Meeting、東京、2016/9/10、国内
8. 特殊ペプチド創薬イノベーション、口頭発表（シンポジウム講演）、菅裕明、日本蛋白質学会年会、仙台、2016/9/27、国内
9. A RaPID way to discover bioactive pseudo-natural peptides from therapeutic uses、口頭発表（招

待アワード講演)、菅裕明、Gold Medal Awardee Lecture Max-Bergmann Conference 2016、Ilsenburg、ドイツ、2016/10/11、国外 (国際学会)

10. A RaPID way to discover bioactive pseudo-natural peptides from therapeutic uses、口頭発表 (招待講演)、菅裕明、Symposium on the Genetics of Industrial Microorganisms GIM2016、Wuhan、中国、2016/10/19、国外 (国際学会)
11. A RaPID way to discover bioactive pseudo-natural peptides from therapeutic uses、口頭発表 (招待講演)、菅裕明、The 1st international PSL Chemical Biology Symposium、Paris、フランス、2016/12/9、国外 (国際学会)
12. 乳がんの発生・進展における GPNMB の役割、ポスター、沖田結花里、第 105 回日本病理学会総会、2016/5/13、国内。
13. Roles of GPNMB in breast cancer initiation and malignant progression、ポスター、Yukari Okita、Ai Kato, Chen Chen, Hiroyuki Suzuki, Mitsuyasu Kato、第 41 回内藤コンファレンス、2016/7/6、国内。
14. 乳がんの発生と進展における Glycoprotein NMB の作用、ポスター、加藤光保、沖田結花里、Chen Chen, Rudy Xie, 木村美範、第 35 回分子病理学研究会、2016/7/15、国内。
15. Roles of GPNMB in tumorigenic activity、口頭、Mitsuyasu Kato、TGF- β Signaling LCR Meeting Leiden 2016、2016/8/22、国外。
16. 乳がんの発生・進展における GPNMB の役割、口頭、沖田結花里、鈴木裕之、加藤光保、第 75 回日本癌学会学術総会、2016/10/7、国内。
17. 乳がんの発生と進展における Glycoprotein NMB の作用、ポスター、加藤光保、沖田結花里、Chen Chen, Rudy Xie, 木村美範、第 62 回日本病理学会秋期特別総会、2016/11/11、国内。
18. 特殊環状ペプチドからなる人工 MET/HGF 受容体アゴニストの細胞内シグナル・遺伝子発現制御特性、ポスター、Miao Wenyu, 酒井克也, 小澤直也, 伊藤健一郎, 菅裕明、松本邦夫、第 89 回日本生化学会大会、2016/9/25、国内。
19. 特殊環状ペプチドによる人工 Met アゴニスト、ポスター、酒井克也, 伊藤健一郎, 鈴木芳典, 小澤直也, 菅裕明、松本邦夫、第 89 回日本生化学会大会、2016/9/25、国内。
20. B16F10 メラノーマの造腫瘍性/転移性における Met 階層的発現の意義、ポスター、足立恵理, 酒井克也, 今村龍, 松本邦夫、第 75 回日本癌学会学術総会、2016/10/8、国内。
21. 脱ユビキチン化酵素 USP15 阻害剤の探索と機能解析、ポスター、勝二郁夫、Lin Deng, 松井千絵子, 南奈苗, 阿部隆之、第 39 回日本分子生物学会年会、2016/12/1、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 創薬のゲームチェンジを目指して、菅裕明、読売テクノフォーラム「ゴールドメダル」受賞東京講演会、2016/5/28、国内
2. 創薬のゲームチェンジを目指して、菅裕明、読売テクノフォーラム「ゴールドメダル」受賞大阪講演会、2016/7/18、国内
3. 特殊ペプチド創薬イノベーション、菅裕明、東京大学理学部公開講義「分子から生命へ 理学がたどる」、2017/3/28、国内

4. 特殊ペプチド創薬イノベーション、菅裕明、本田財団3月懇談会、2016/3/2、国内
5. 遺伝子とタンパク質と細胞の増殖、松本邦夫、市民公開講座「がん研究の最前線」、2016/5/14、国内.
6. 生物学とバイオ医薬と縁、松本邦夫、石川県高等学校教育研究会生物部会、2016/11/21、国内.

(4) 特許出願

本研究事業に関しての特許出願は、該当無し。