

# 様々な組織を標的として 選択的な遺伝子の送達を可能にする ペプチド

福岡大学 医学部 医学科（解剖学講座）  
講師 貴田 浩志

2022年5月31日

# 背景:遺伝子治療

## 遺伝子治療の実現が見込まれる疾患

### 【遺伝性疾患】

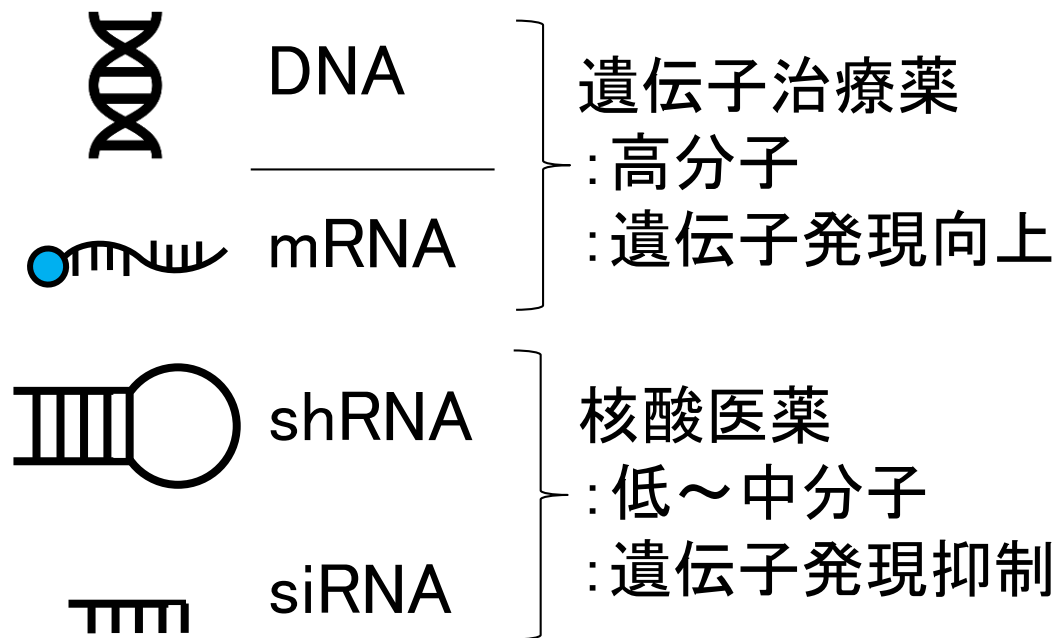
- ADA欠損症
- X連鎖免疫不全症
- 副腎白質ジストロフィー
- 血友病

### 【非遺伝性疾患】

- 悪性腫瘍
- パーキンソン病
- アルツハイマー病
- ALS

非遺伝性疾患への応用拡大

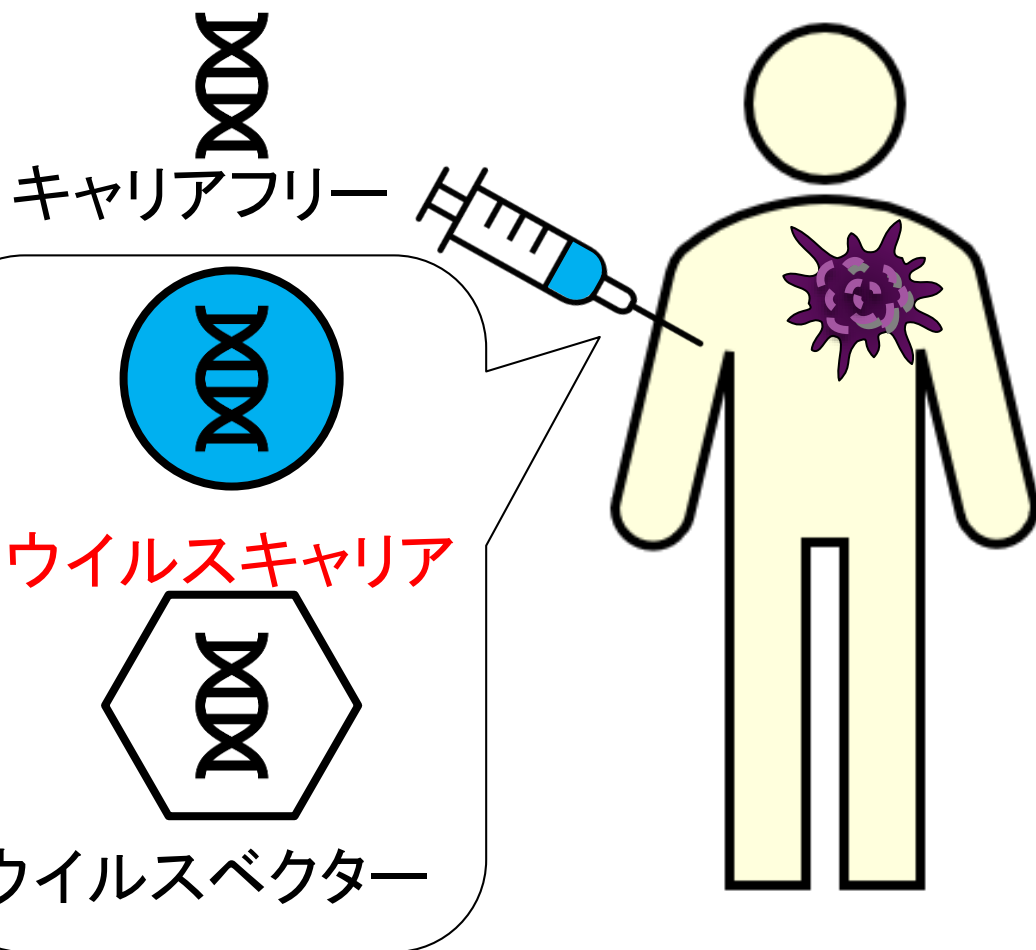
## 遺伝子治療薬と核酸医薬



遺伝子・核酸医薬はこれまでの低分子薬で実現できなかった様々な疾患の治療を可能にする

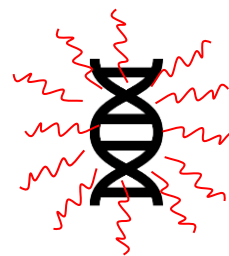
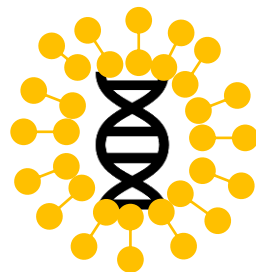
# 背景:遺伝子送達キャリア

## 治療遺伝子の導入方法



## 非ウイルスキャリアの種類と特徴

### 【種類】



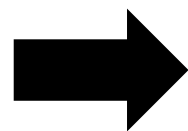
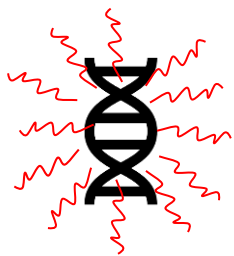
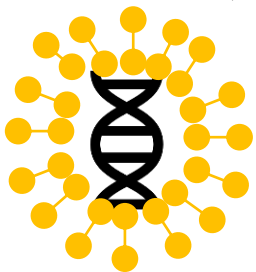
リポソーム 高分子ポリマー ペプチド

### 【特徴】

- 導入効率はウイルスより低い
- 高い安全性
- 高い汎用性
- 高い経済性(安価)
- 取り扱いの容易さ
- 工業生産の容易さ

効率的な送達にはキャリア搭載が必須

# 背景:非ウイルスキャリアの問題点(1)

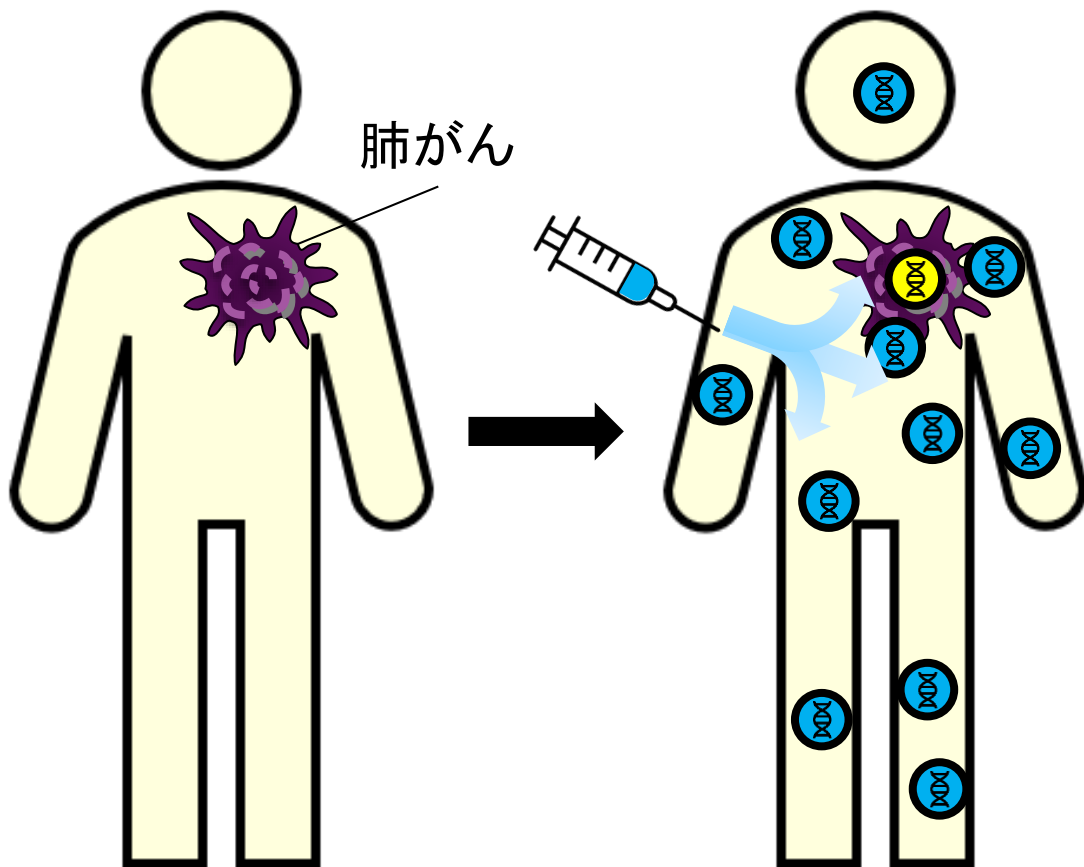


標的指向性がない  
(細胞・組織選択性が低い)



リポソーム 高分子ポリマー **ペプチド**

【例】肺がんへの治療遺伝子投与



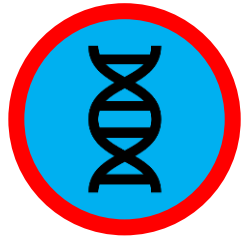
全身組織への遺伝子導入

治療効果の減弱

高用量遺伝子が必要

副作用の出現

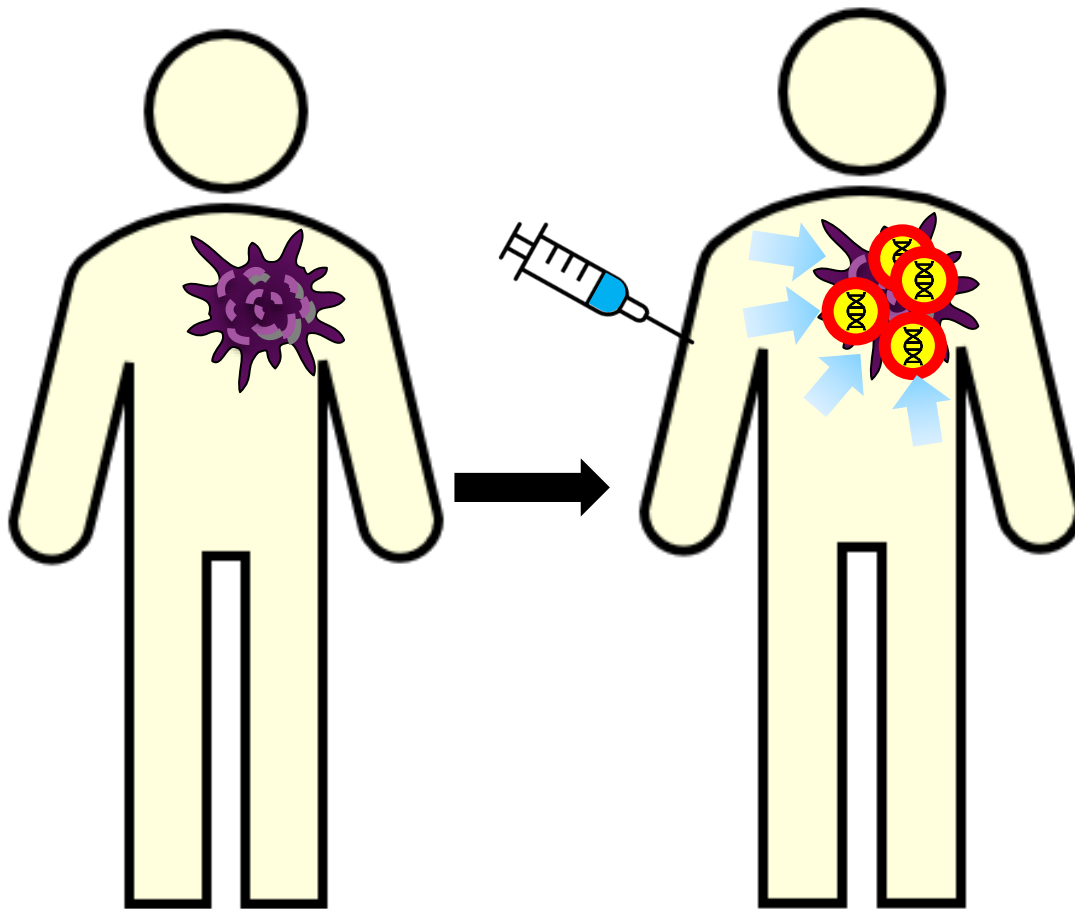
# 背景:非ウイルスキャリアの問題点(2)



試みられている方法

キャリア表面を標的指向性分子などで修飾する

【例】肺がんへの治療遺伝子投与



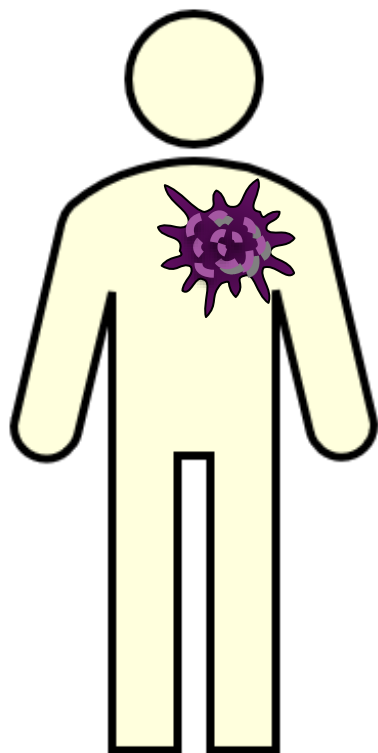
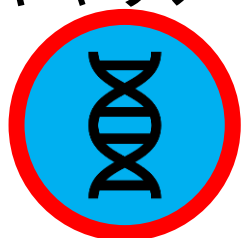
- 遺伝子の病変集積
- 効果の向上
- 使用遺伝子量の減量
- 副作用の軽減



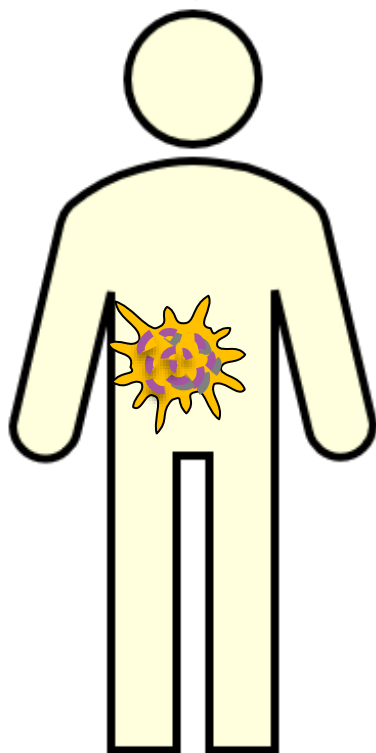
だがしかし・・・

# 背景:非ウイルスキャリアの問題点(3)

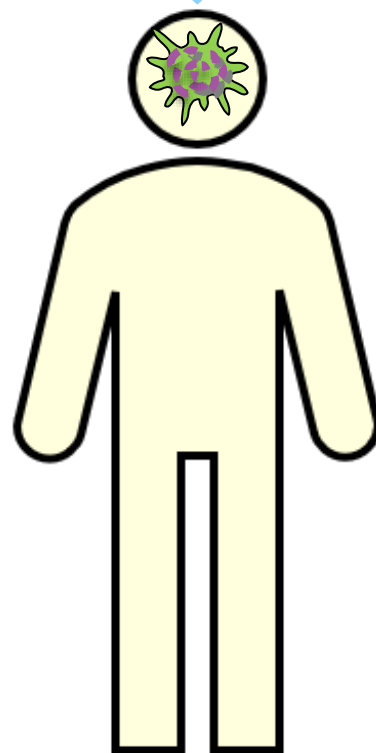
肺がん用  
キャリア



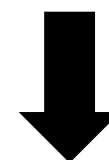
肝がん用  
キャリア



脳腫瘍用  
キャリア



標的臓器や疾患ごとに  
個別に標的指向性キャ  
リア開発が必要



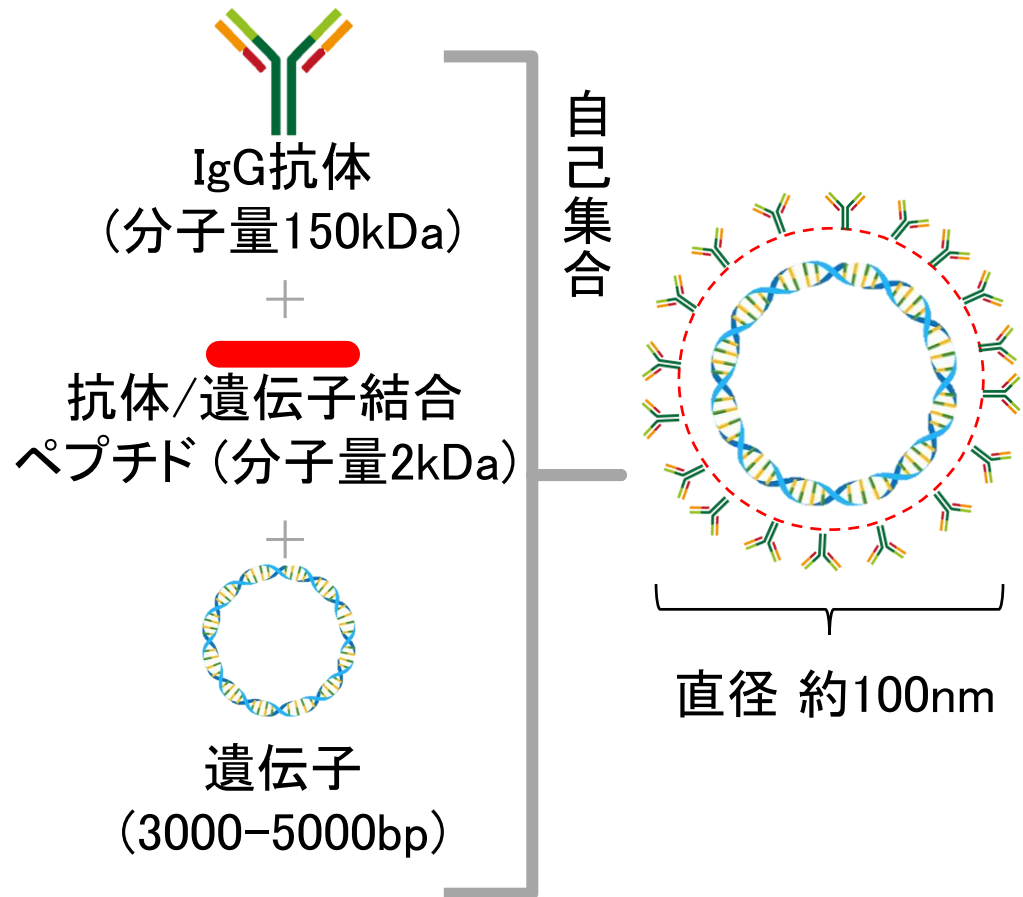
- 汎用性の低下
- 開発期間・費用の増加

# 新技術の概要

## 新技術：抗体/遺伝子結合ペプチド

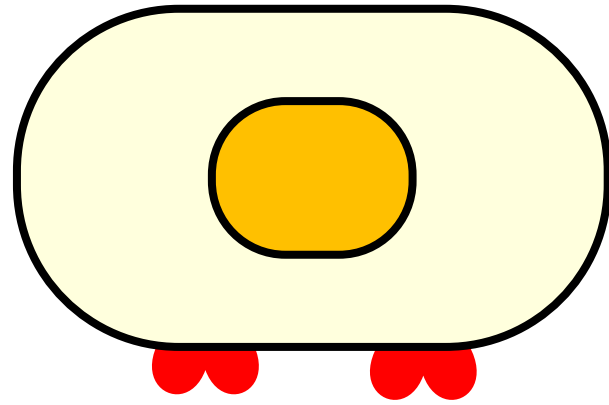
- 標的組織に特異的な遺伝子送達を実現する。
- 様々な組織への遺伝子送達を同一キャリアで可能にする。
- 標的指向性付与が簡単に行える
- 治療遺伝子の病変特異的送達・使用料減量・副作用軽減

抗体/遺伝子結合ペプチド  
はIgG抗体と遺伝子との  
非共有結合による、  
自己集合でナノ粒子を形成  
する

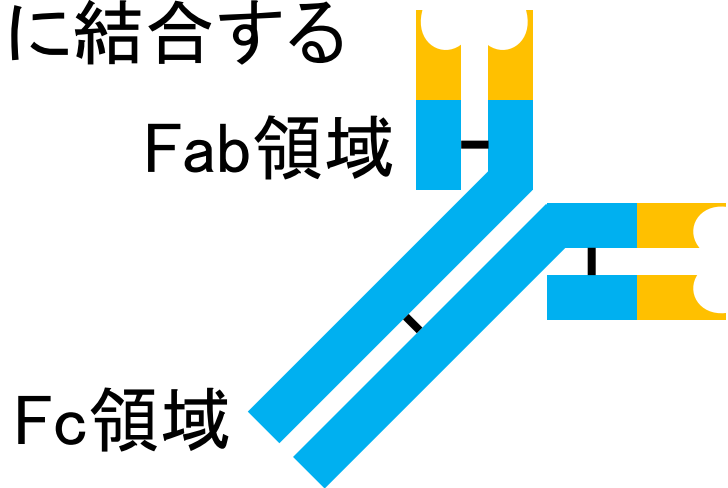


# 予備知識: IgG抗体と細胞表面抗原

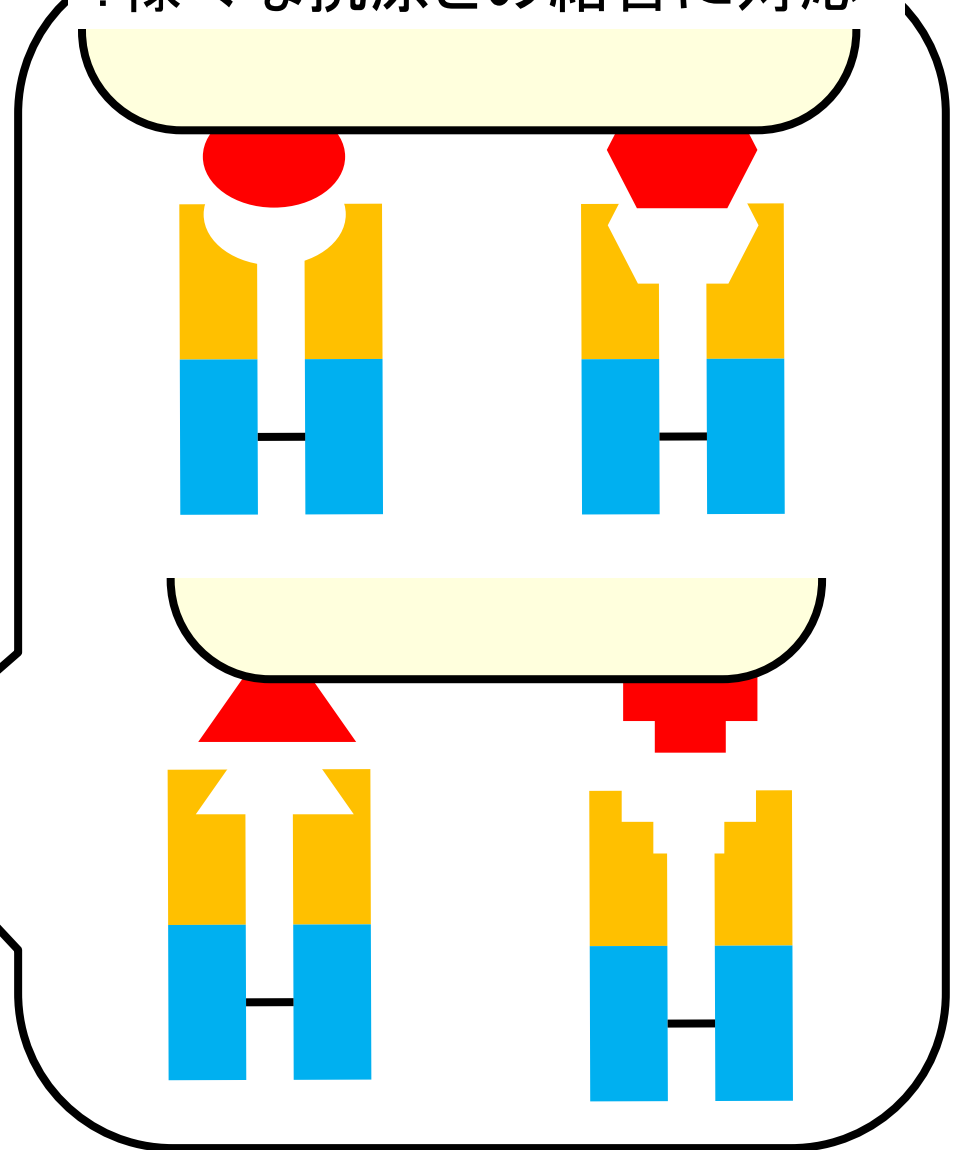
【細胞】表面に細胞の種類ごとに特異的な表面抗原を発現している



【IgG抗体】  
抗原に結合する



Fab領域  
: 様々な抗原との結合に対応

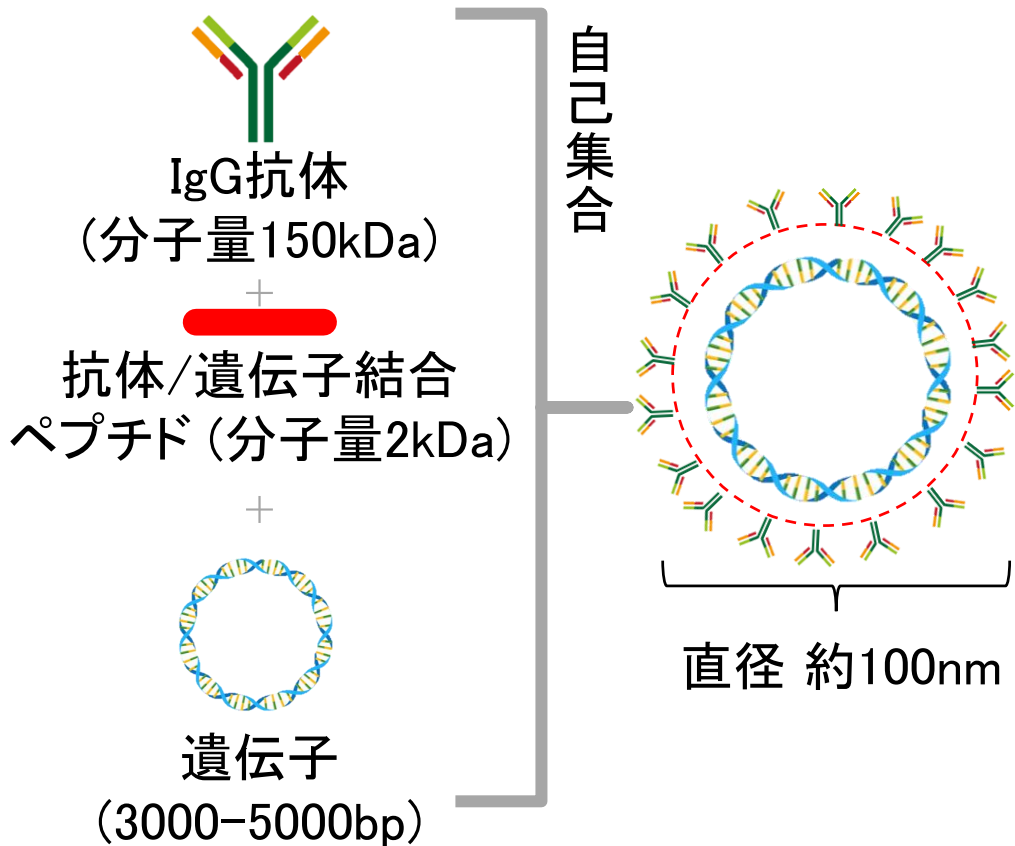




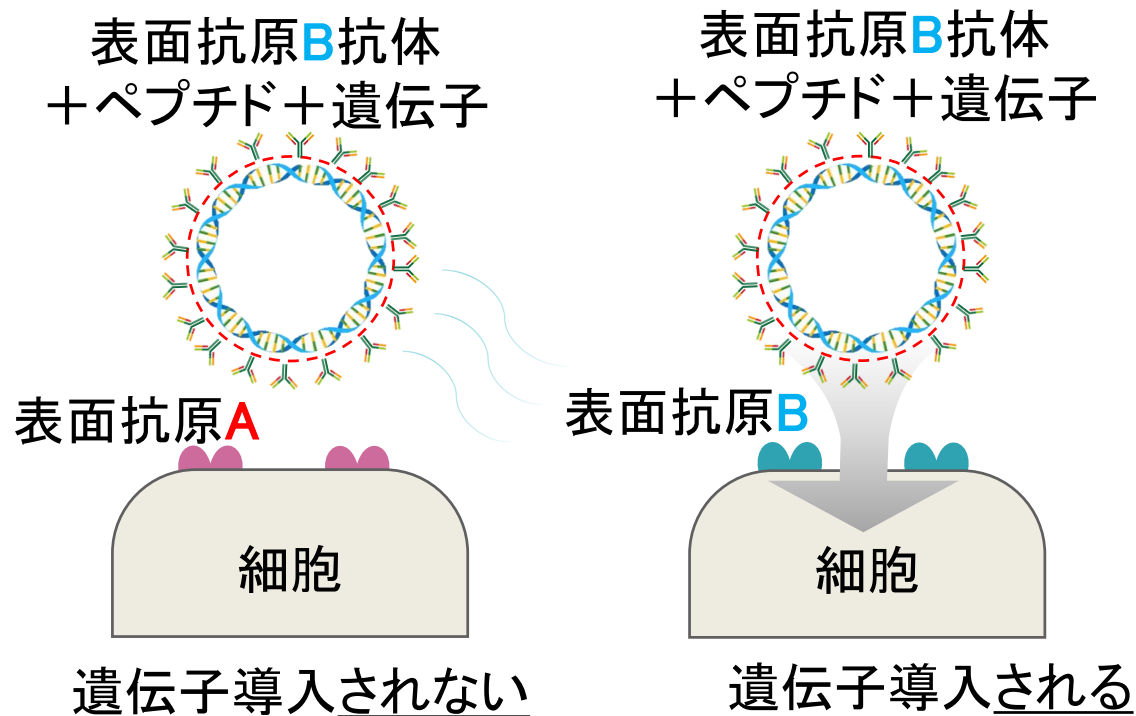
# 新技術の概要

## 新技術：抗体/遺伝子結合ペプチド

混合するだけで複合体を形成する

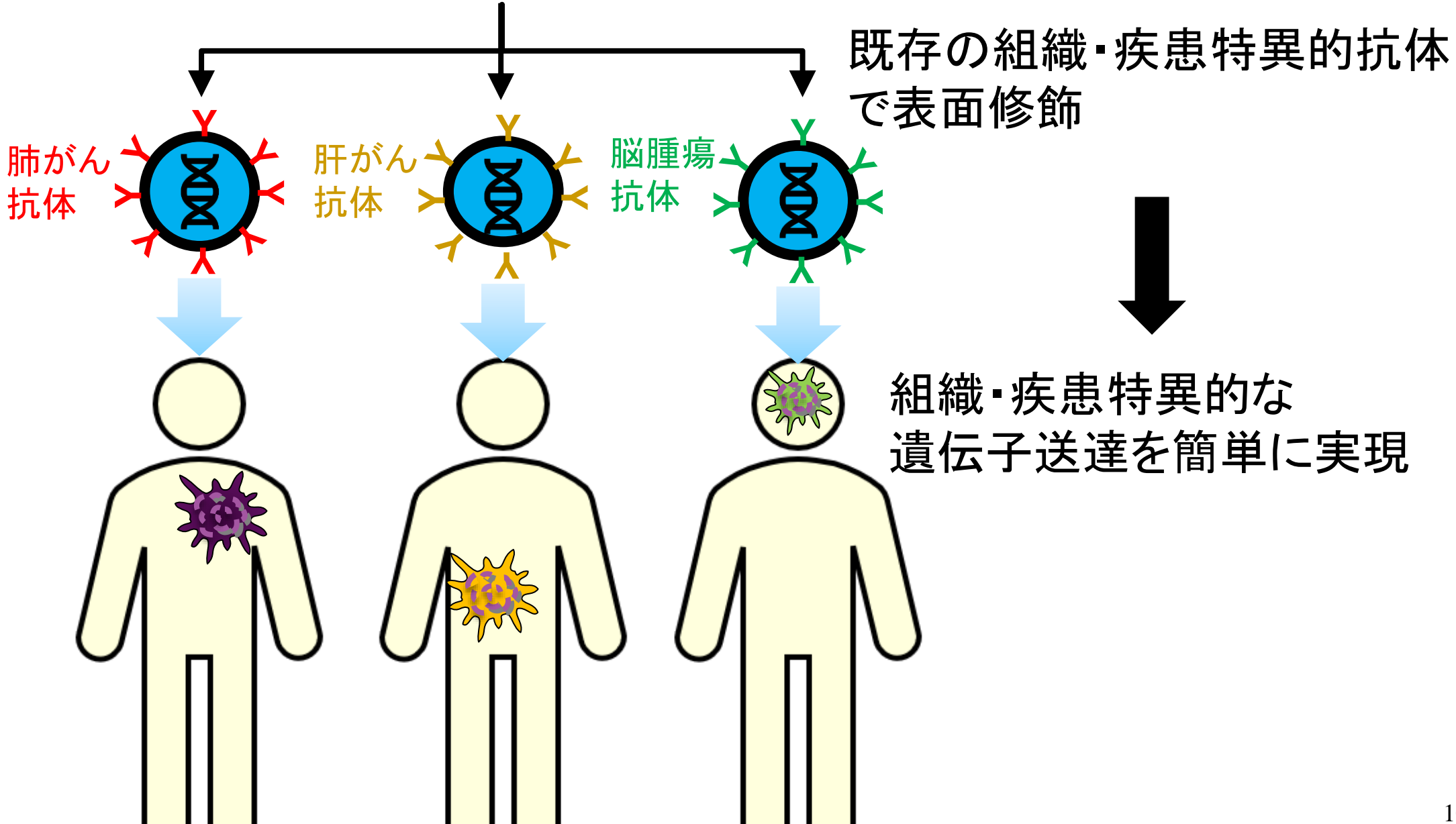
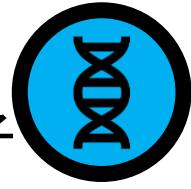


抗体が結合する細胞だけに遺伝子導入



# 新技術の概要

抗体/遺伝子結合ペプチド  
キャリアに搭載された遺伝子



既存の組織・疾患特異的抗体  
で表面修飾

肺がん  
抗体

肝がん  
抗体

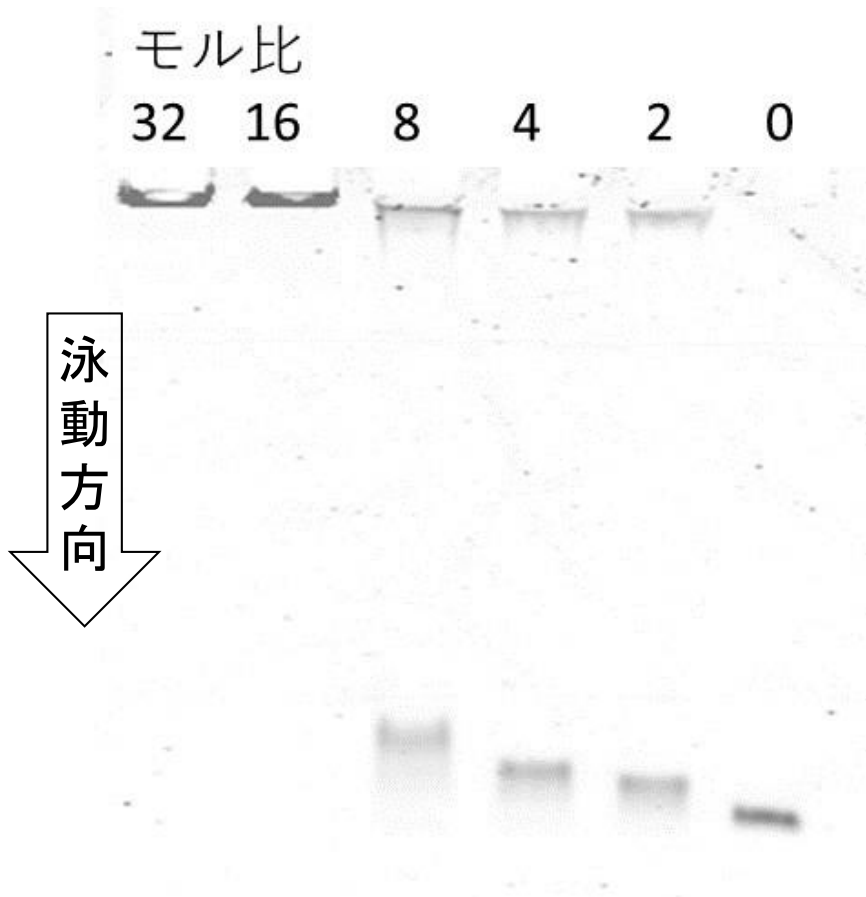
脳腫瘍  
抗体

組織・疾患特異的な  
遺伝子送達を簡単に実現

# ペプチド＋遺伝子の結合能

## 【方法】

- EMSA法
- DNAプローブと抗体/遺伝子結合ペプチド(蛍光標識)を混合
- DNAプローブ量を固定して、ペプチドをモル比0～32まで増量
- SDS-PAGEで電気泳動後に蛍光撮影



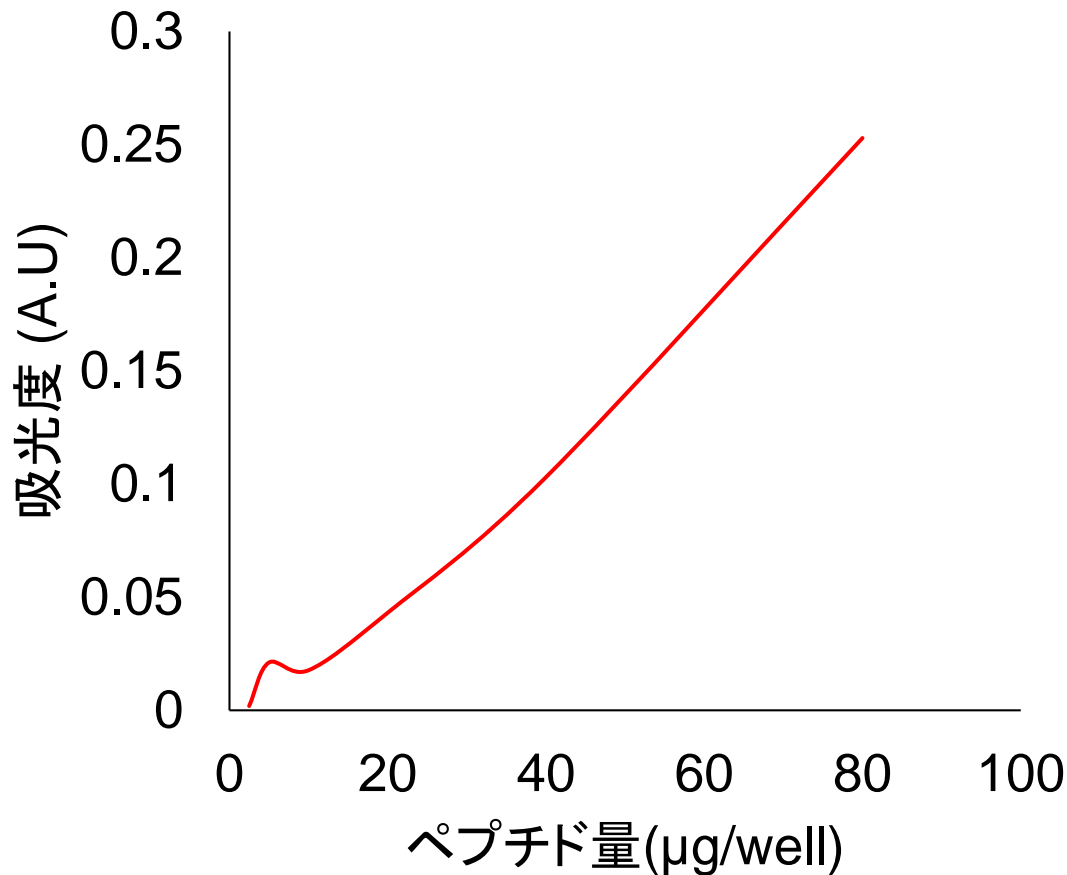
## 【結果】

- DNAプローブに対するポリペプチドのモル比を上げるに従い、電気泳動におけるプローブの移動度が低下した。
- モル比が大きくなりすぎるとゲル内にDNAプローブが入ることができなくなった。
- ポリペプチドと核酸との分子間相互作用による結合で、DNAプローブの分子量が増大した結果と考えられる。

# ペプチド＋抗体の結合能

## 【方法】

- ELISA法
- ELISAプレートの底部にペプチドを縮合固定化
- 一次抗体として正常ヒトIgG、二次抗体として抗ヒトIgG抗体を用いたELISA法で検出した。



## 【結果】

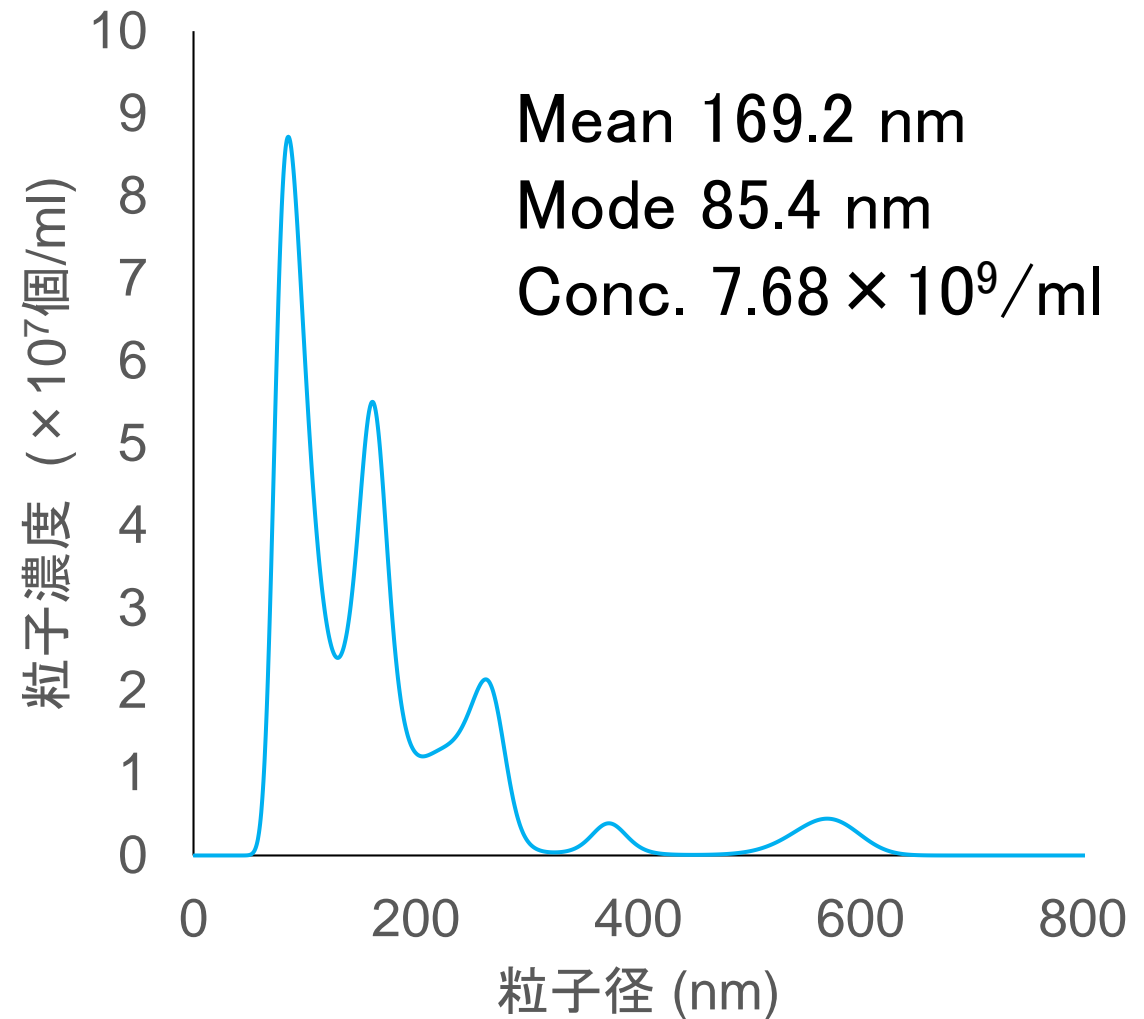
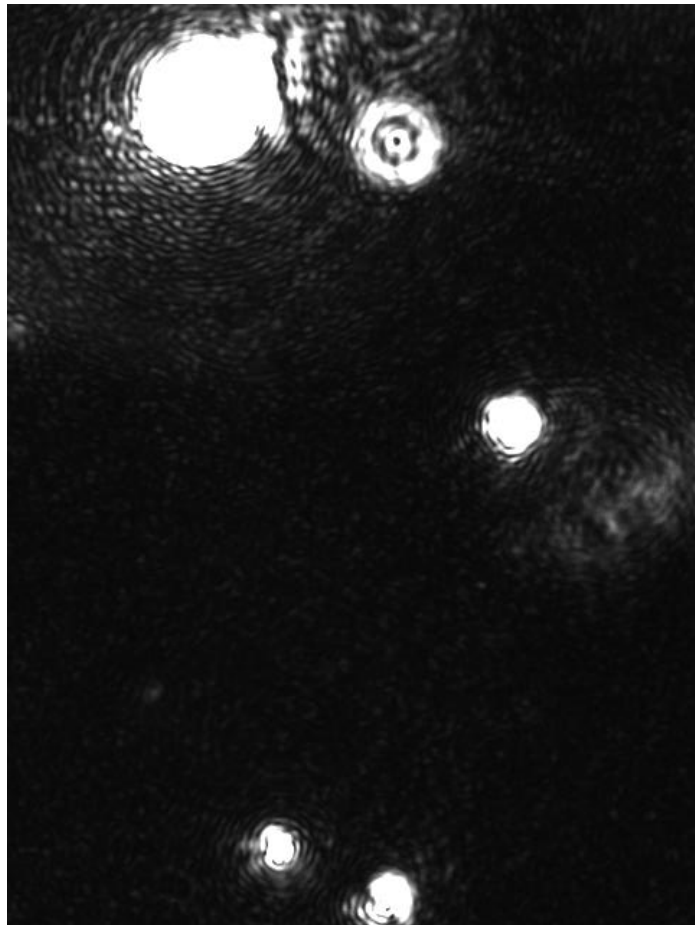
- プレートにコーティングしたペプチドの増量に従って、吸光度が上昇した。
- ポリペプチドにヒトIgG抗体が結合し、それにペルオキシダーゼ修飾した2次抗体が結合した結果と考えられる。

# 抗体＋ペプチド＋遺伝子複合体

【方法】

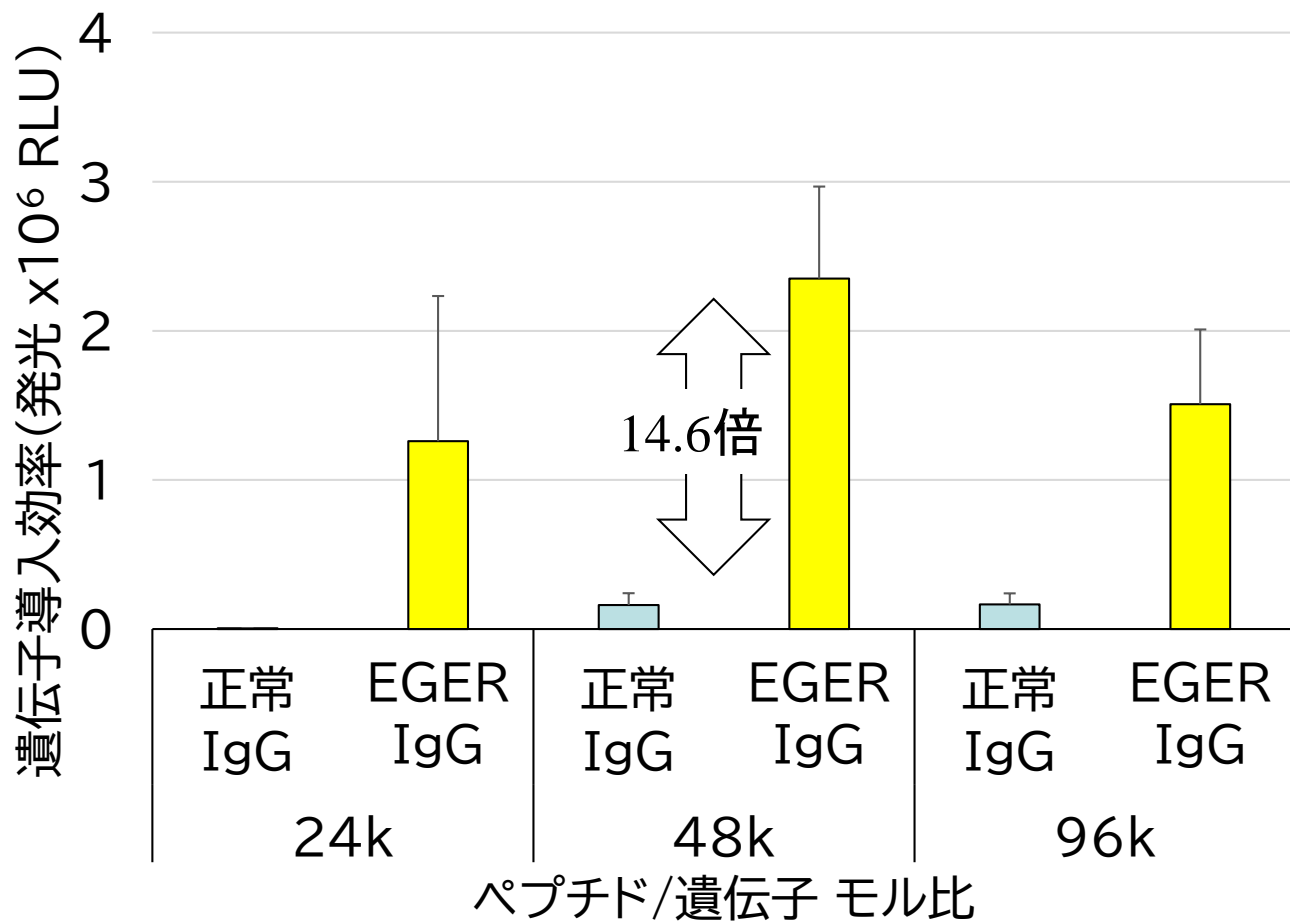
- 遺伝子、抗体、ペプチドを混合してナノ粒子を形成
- Nanoparticle Tracking Analysisで粒子測定

抗体＋ペプチド＋遺伝子複合体



# 抗体＋ペプチド＋遺伝子複合体 での遺伝子導入

- EGFR表面抗原を発現するがん細胞株を使用
- ルシフェラーゼpDNA+ペプチド+抗EGFR IgG抗体複合体で遺伝子導入
- コントロールにルシフェラーゼpDNA+ペプチド+正常IgG抗体複合体で遺伝子導入
- 24時間後に上清と基質を反応させて発光測定



## 【結果】

- EGFR IgG修飾によりがん細胞への選択的遺伝子導入が生じた。
- 正常IgG修飾と比較して最大14.6倍、選択性が向上した。
- **In Vivoでの検証も進めている。**

# 新技術の特徴・従来技術との比較

- 従来のウイルス遺伝子キャリア技術の問題点であった、標的指向性(細胞・組織選択性)がない点を改善することに成功した。
- 従来、非ウイルスキャリアに標的指向性を付与するには標的臓器・疾患ごとにリガンドを表面修飾する煩雑な工程が必要であったが、それを簡略化することに成功した。
- 遺伝子治療の効果向上・使用遺伝子量の減量・副作用の軽減につながる。
- キャリアの開発期間短縮・費用削減につながる。

## 想定される用途

- 抗体/遺伝子結合ペプチドを「**遺伝子送達プラットフォーム**」として、様々な臓器の疾患を標的とした遺伝子治療への利用が想定される。
- 特定の表面抗原を過剰発現する悪性腫瘍や、異なる表面抗原を発現する複数種の細胞が混在する中枢神経組織の疾患などが特に有望な標的疾患と想定される。
- 研究用途で細胞・組織への選択的遺伝子導入試薬としての応用も想定される。



## 実用化に向けた課題

- 現在、In vitroのレベルでの効能は確認され、In vivoでの機能性と障害性の有無について検討している。
- 複合体の安定的な製造方法、精製方法と長期保存方法の技術の確立が必要である。

## 企業への期待

- 特定の臓器疾患（**悪性腫瘍や中枢神経疾患、自己免疫疾患など**）を標的とした遺伝子治療の開発を目指す、企業との共同研究を希望。
- 複合体の安定的製造・精製・保存に関して、特にHPLCなどによる遊離体・複合体の分離のノウハウを有する企業との共同研究を希望。

## 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 抗体と遺伝子に結合能を有するポリペプチド
- 出願番号 : 特願2021-115889
- 出願人 : 学校法人福岡大学
- 発明者 : 貴田 浩志、立花 克郎

# 産学連携の経歴

- 2022年: AMED「橋渡し研究プログラム」(シーズA)に採択された。

# お問い合わせ先

**福岡大学 研究推進部 産学官連携センター**

**TEL 092-871-6631**

**FAX 092-866-2308**

**e-mail [sanchi@adm.fukuoka-u.ac.jp](mailto:sanchi@adm.fukuoka-u.ac.jp)**