

第6期 第1回創発セミナー 拡大し続けるタンパク質研究の最前線

大隅基礎科学創成財団 理事
大谷清

大隅基礎科学創成財団は2022年10月21日午後4時から「拡大し続けるタンパク質研究の最前線」をテーマに創発セミナーをオンラインで開きました。前半は東京工業大学科学技術創成研究院細胞制御工学研究センターの田口英樹教授が「タンパク質科学の基礎と新たな常識」と題して講演、後半は大阪大学蛋白質研究所の高木淳一教授が「タンパク質で薬を創る その魅力とチャレンジ」と題してそれぞれ講演し、約110人の参加者との間で質疑応答が交わされたあと午後6時に閉会しました。その要旨を以下に報告します。

講演1 タンパク質科学の基礎と新たな常識

東京工業大学科学技術創成研究院
細胞制御工学研究センター 教授
田口 英樹

私はタンパク質の立体構成形を助けるシャペロン (chaperone) という利他的なタンパク質を30年来研究しているが、まずは「生命とは何か」から話を始めたい。「生命とはタンパク質の存在様式である」と19世紀に喝破したのはフリードリッヒ・エンゲルスだ。

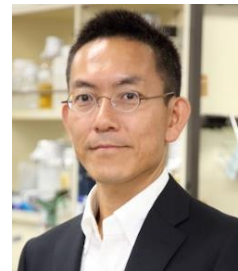
ではそのタンパク質はどのようにしてできてくるのか、との問いに解答を与えたのが1950年代に確立した、いわゆるセントラルドグマだ。DNAの中のゲノムがRNAに転写され、メッセンジャーRNAがその情報を翻訳してタンパク質を作る。DNAの情報がRNAへ、そしてタンパク質へと流れていく。

タンパク質はドイツ語では Eiweiß、卵白のことで、漢字で書く蛋白の「蛋」は殻付き卵が語源。英語でいう protein はギリシャ語の proteios、第一のもの、あるいは最初のもの、という意味の言葉から来ている。

さてタンパク質は20種類のアミノ酸が遺伝子に規定された配列で鎖状につながったヒモのようなもの (ポリペプチド鎖) で、このヒモが形を形成して螺旋 (2次構造) になり、その螺旋が集まって立体構造 (3次構造) に折り畳まれる。この立体構造型を作ることをフォールディング (folding) と呼ぶ。

タンパク質は形が命。ヒモの状態ではできなかったことが立体を形成するとできるようになる。顕微鏡で覗くと、走る、歩く、回転する、光る、とさまざまことを観察できる。たとえば「光る」を取り上げると「蛍光」を出せるタンパク質がある。下村脩 (おさむ) 博士がクラゲで発見してノーバル賞を受賞した緑色蛍光タンパク質 (GFP) が有名だが、サンゴなどからは赤色に光るタンパク質も発見されている。タンパク質の形にはいろいろなものがあり、その立体構造がタンパク質の機能を決定する。

ここで GFP を使ってタンパク質のフォールディングの実験を試みよう。緑色の GFP に塩酸を加えると緑色が消えて透明になる。これは、pH が酸性になると GFP の立体構造が崩れるか



らである。タンパク質の形が崩れることを「変性」という。また pH を中性に戻すと緑色が回復するので、立体構造が元に戻ったことを意味する。

このようにアミノ酸の配列がタンパク質の立体構造を決定し、タンパク質のフォールディングは自発的に進むことを明らかにしたのがクリスチャン・アンフィンセンで、60 年も前にこのドグマを確立してノーベル化学賞を受賞している。

ではそれほどフォールディングは簡単なのか。答えは否。タンパク質は数百個から数千個のアミノ酸で形成されている。これが立体になる組み合わせはスーパーコンピュータでも計算できないほど膨大かつ複雑で、究極のパズルとも言われている。アミノ酸の配列はすぐわかっても、その立体構造はなかなか予測できない。

ここで第 2 の実験をしてみよう。今度は赤色に光るサンゴの赤色蛍光タンパク質 (RFP) を使って pH を酸性にすると GFP の時と同じように色が消える。ところが pH を中性に戻しても赤色は復活せず、濁った状態のまま。つまりフォールディングが失敗している。その理由として、タンパク質は極めて不安定で、立体構造を作る前にしばしば凝集体を作ってしまうことがある。凝集体はタンパク質の機能を喪失し、これがアルツハイマー病、パーキンソン病、ALS (筋萎縮性側索硬化症)、プリオン病などの病気にもつながる。凝集体の中でも線維状のもの (アミロイド) が神経細胞に蓄積されるとアルツハイマー病などの病気の原因となる。

凝集体ができないようにフォールディングを助けるのがシャペロンだ。タンパク質が変性するときにできるタンパク質で、変性タンパク質を閉じ込めて凝集を防ぎ、フォールディングの空間を作る。シャペロンは細胞内の利他的なタンパク質といえる。

タンパク質はアミノ酸が連なったヒモで、それが立体構造を作り機能する、しかしタンパク質は完璧な分子ではなく不安定で、フォールディングは失敗しがちだ。そこにシャペロンがフォールディングを助けてタンパク質の進化を可能にする。これがタンパク質科学のこれまでの基礎であり常識だった。

1960 年代にアンフィンセンによってタンパク質は自発的にフォールディングするというドグマができ上がり、しかしフォールディングが困難なタンパク質もあることから 80 年代シャペロンの研究が進み、90 年代には凝集体のタンパク質がさまざまな病気につながるという意味で「形をつくらないタンパク質」にもスポットライトが当てられてきた。

ところが 21 世紀に入ると全く新しいタンパク質科学が新たな常識として登場してきた。その一つが天然変性タンパク質。真核生物の約 30% はそもそもフォールディングしないアミノ酸配列になったタンパク質で、常に変性していて自分自身ではフォールディングできない。これらがアミロイド線維を形成したり、変性したものが寄り集まって周囲から分離された状態 (液-液相分離、liquid-liquid phase separation, LLPS) を作って液滴 (ドロップレット) を形成するという新しい考え方だ。

もう一つがタンパク質の立体構造予測の革命と人工デザインタンパク質の出現だ。2010 年ごろからワシントン大学のデイビッド・ベーカーによって人工的に設計したタンパク質が作られるようになった。2020 年にはプロ棋士を破る囲碁ソフトの開発で有名になったグーグルの子会社 DeepMind 社から超高精度でタンパク質の立体構造を予測できるプログラムの AlphaFold が発表

されてタンパク質研究にブレイクスルーが起き、昨年 2021 年にはさらに精度を上げた AlphaFold2 が、誰でも使える公開プログラムとして提供されている。

将来、フォールディングの原理の解明が進めば人工タンパク質（人工酵素）が作れるようになり、すでに新薬の 30-50% を占めるに至ったバイオ医薬が抗体医薬を中心にタンパク質医薬としてさらに発展するだろう。シャペロンやタンパク質凝集体の理解が進めばアルツハイマー病やパーキンソン病などの構造異常病の予防や治療にもつながる。そしてタンパク質科学全般の解明が進めば細胞を創る合成生物学が発展し、究極の「生命の理解」へと進むことができる。

用語解説（編集者）

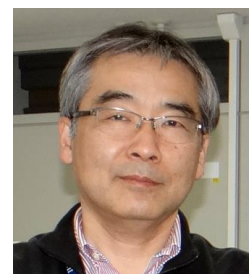
- ・フリードリッヒ・エンゲルス（Friedrich Engels、1820-1895）：カール・マルクスの明友で思想家、科学的社会主義者。著書の一つ「反デュリング論」のなかで「生命とはたんぱく質の存在の仕方である」と記述
- ・クリスチャン・アンフィンセン（Christian b. Anfinsen, 1916-1995）：ハーバード大学助教授、NIH（国立衛生研究所）、ジョンズホプキンス大学教授などを歴任。フォールディングに必要な情報がタンパク質の一次構造にコーディングされていることを 1961 年に示し、1972 年にノーベル化学賞を受賞。
- ・GFP：green fluorescent protein 緑色蛍光タンパク質。1960 年にオワンクラゲで下村脩博士が発見、2008 年ノーベル化学賞を受賞
- ・RFP：red fluorescent protein 赤色蛍光タンパク質
- ・液滴(droplet)：液体の滴、表面張力でまとまった液体の塊。
- ・デイビッド・ベーカー（David Baker, 1962—）：ワシントン大学教授、ハワード・ヒューズ医学研究所研究員兼務、2021 年ブレイクスルー生命科学賞、ワイリー賞受賞
- ・AlphaFold、AlphaFold2：DeepMind 社が開発した人工知能、deep learning を利用したタンパク質構造予測プログラム
- ・DeepMind 社：DeepMind Technologies、2010 年設立、2014 年 Google が買収、2016 年囲碁ソフトの AlphaGo がプロ棋士を破ったことで有名

講演 2 タンパク質で薬を創る – その魅力とチャレンジ –

大阪大学蛋白質研究所 教授
高木 淳一

なぜ「タンパク質の薬」が必要か、と問われれば、薬の標的がタンパク質だから、がその答えだ。薬の標的となる体内のタンパク質が酵素の場合なら、基質（低分子）が酵素の「ポケット」に結合するのでその基質をもとに薬を創ることができる。しかし受容体など酵素以外の体内タンパク質を標的にする場合は、表面がフラットなので低分子化合物は結合しにくい。ところがタンパク質なら広く、ベッタリと結合でき、このタンパク質とタンパク質の界面（PPI、protein-protein interface）を標的に薬を創ることができる。

わかりやすい例が新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に対するワクチンだ。コロナウイルスがヒトの体内に侵入すると、そのスパイクタンパク質がヒトの細胞の受容体（ACE2、アンジオテンシン変換酵素 II）に結合して感染が起きる。ところがメッセンジャーRNA（mRNA）ワクチン（これはタンパク質ではないが、タンパク質をコードする）をうつと、ヒトの体内にスパイクタ



ンパク質が作られ、これが異物と認識されて免疫反応が誘発されて、異物に対抗する抗体（これもタンパク質）が作られて感染を防御する。中和抗体の効果を発揮する薬は抗体医薬と呼ばれ、「タンパク質の薬」の一つだ。mRNA ワクチンもその最終的な効果が中和抗体に依存するので、広い意味ではタンパク質の薬と呼ぶことができる。

私は「受容体構造生物学」という、ヒトの病に関わる受容体の研究、特に PPI の基礎研究を 30 有余年にわたって続けてきた。その間に高品質のタンパク質試料を作ること、その立体構造を調べることで、構造をもとにタンパク質を改変することなどが得意になり、これを活かして「タンパク質の創薬」に取り組むたいと考えてきた。

そこで今日はタンパク質創薬の新しいプラットフォームの創成と、アカデミア発のタンパク質創薬の希望と挫折についてお話ししたい。

まずタンパク質創薬の新しいプラットフォームの創成について。

医薬品のモダリティ（枠組み）は低分子化合物、タンパク質（抗体）、核酸医薬、中分子（環状ペプチド）、細胞医薬と幅広いが、私はタンパク質に比べて分子量が 100 倍はあるものの作用モードが同じ中分子医薬（環状ペプチド）に数年前から注目し、研究者に接近した。

そしてペプチドリーム社の創業者でもある東大理学部の菅裕明教授が開発した、超迅速に標的結合性環状ペプチドを探索できるシステム（RaPID、random peptide integrated discovery）法と、私の立体構造に立脚したタンパク質の工学的改変（構造生物学）技術を組み合わせ、LassoGraftTechnology と呼ぶ骨格となる基盤技術を 2017 年に開発した。Lasso は投げ縄、Graft は埋め込み、移植するという意味だ。

この技術は菅教授の RaPID によって標的に特異的に結合する環状ペプチド（配列のみ）を入手し、その情報を立体構造やフォールディングを考慮してタンパク質上のループ内にグラフトする（埋め込む）。この LassoGraft 法は抗体やヒト成長ホルモン、血清アルブミンなど 11 以上の多様な土台タンパク質の複数のループ領域に適用可能で、これまでに 50 以上の異なる標的タンパク質に対して 500 以上の独立なペプチド配列を試した結果、全ての標的にグラフト体の創成に成功した。

わかりやすい応用例を示そう。現代は「抗体医薬」の時代ともいえる。免疫チェックポイント阻害因子の発見とがん治療への応用でノーベル生理学・医学賞を受賞した京都大学・本庶佑先生が創薬に貢献した「オプシーボ」を始め、抗体を含むバイオ医薬は全世界の医薬品売上高上位品目の 53% を占めるまでになっている（2020 年調査）。

LassoGraft 法を既存の抗体に適用すると瞬時に多重特異性抗体が得られる。結合サイトを複数追加できるという意味でこれを Addbody と名付けた。たとえば 4 重特異性抗体では一つの抗体が 4 つの異なる分子を認識する。わずか 10 数残基の RaPID ペプチド配列を挿入することで、一つずつ結合特性も与えられる。Addbody を応用すると標的細胞に T 細胞を引き寄せることができ、実際、がん細胞にペプチドが結合してがん細胞を殺すことを発見した。

LassoGraft の技術は遺伝子治療にも応用できる。遺伝子治療は 1990 年代以降、遅々として実用化が進んでいない。その理由は経費が高いこともあるが、遺伝子のベクター（乗り物）として最も有望とされるアデノ随伴ウイルス（AAV）の感染効率が低く、大量投与が必要なこと、また強い免疫誘導のため 1 回しか投与できないこと、などの制約があるためだ。

我々は LassoGraft 法で改変した AAV ベクターを使えば細胞への感染効率を飛躍的に高められ、標的指向性も付与できると考えている。実際、標的にする細胞にだけ遺伝子を届けられることが実証実験では確かめられている。

次にアカデミア発のタンパク質創薬の希望と挫折について。

私はコロナウイルスが猛威を示し始めた直後に京都府立大の星野温講師、大阪大学微生物病研究所の岡本徹教授のグループとチームを組んで、新型コロナウイルスの変異体を逃さないコロナ治療薬の創成に取り組んだ。

中和抗体の効果は受容体 (ACE2) より先に、かつ強くウイルスのスパイクに結合できるかどうかにかかっている。従来株 (武漢株) に対しては抗体が強く結合して感染を阻害するが、変異株には抗体が効かなくなる。そこで我々は受容体 (ACE2) を改変して、スパイクタンパク質に強く結合する「高親和性 ACE2 変異体」、いわゆる「デコイ (囷) 医薬」を創ろうと考えた。

2020 年 4 月から取り掛かり 12 月までに高親和性 ACE2-RBD (スパイク蛋白質の受容体結合部位) 複合体の結晶構造を解析できるまでになった。新型コロナウイルス関連タンパク質の立体構造としては国内第 1 号だった。

しかしこの ACE2 デコイをコロナ治療薬にまで仕上げるためには動物での抗ウイルス効果、ACE2 のペプチダーゼ活性、抗原性 (変異導入部位に対して免疫ができるか)、安定性 (血中半減期を抗体並みに)、タンパク製剤としてのコストなど、本当にエスケープフリー (変異株対応) か、non-human primate (霊長類) での効果、などの検証が必要になる。

動物 (ハムスター) 実験では治療効果を確認した。ACE2 活性は血圧上昇の副作用があるので酵素活性を破壊する必要がある。そこで我々はさまざまな工夫を盛り込んで活性の除去に成功した。その他、オミクロン株に対してもウイルス中和活性が全く落ちないことが確かめられ、BA.5 や今後懸念される BA.2.75 にも有効であることも確認できた。霊長目ではデルタ株感染のカニクイザルモデルでも効果が確認されるなど、検証の必要な項目は 2020 年 11 月までに全てクリアした。

しかし残念なことに臨床開発には莫大な資金が必要で、今までのところこれを実施してくれる企業は出てきていない。創薬にまでは至らないでいるというフラストレーションを抱えているが、サイエンスの世界では勝ったと考えている。

それにしても大隅先生がしばしば語られる「自然科学上のブレイクスルーはすぐに役に立つ研究をとる発想からは生まれません」には全く同感だ。私もプリンシプル (基本原理) の解明が第一、それに基づいた工夫が実用につながると強く思っている。

用語解説 (編集者)

- ・環状ペプチド：ペプチドはアミノ酸がペプチド結合によって鎖状につながった分子の総称。環状ペプチドは通常のペプチドと異なり、アミノ末端とカルボキシル末端がペプチド結合で結ばれて環状になったポリペプチド鎖
- ・ペプチドリーム：菅裕明氏が開発した特殊なペプチドを商業化するため 2006 年に創業した東大発ベンチャー。13 年東証マザーズ上場、15 年同 1 部 (現プライム) に市場変更。成功したバイオ関連ベンチャーの先駆けとも評される。

- ・血中半減期：生体内に入った薬などの物質が、代謝や排泄などによって半分に減るまでの時間。短いとそれだけ薬の効き目も短いことになる
- ・ペプチダーゼ：ペプチド結合を加水分解する反応を触媒する酵素の総称。