

Antisense Homology Box (AHB) 理論に基づいての 補体成分機能制御技術の開発経過

岡田秀親

(株)蛋白質科学研究所

我々は蛋白質ペプチド鎖内に、相互にアンチセンスペプチドとして対位する配列が全ての蛋白質に存在することを発見し、アンチセンスホモロジーボックス (AHB) と命名した^{1,2)}。AHB部分のペプチド断片で蛋白質の機能を阻害することも立証した^{3,4,5,6)}。その知見を基に任意のペプチド鎖に対する相補性ペプチドを自動設計するプログラムを考案した⁷⁾。設計試作した相補性ペプチド (C-pep) が

夫々の標的蛋白質に対する活性阻害は、作成したペプチドの約30%に認められた⁹⁾ (Table 1)。C5aアナフィラトキシンを特異的に阻害するペプチドも創生できた^{10,11)}。C5a阻害ペプチドPepAのアミノ末端アラニンをアセチル化したAcPepAはC5aを阻害する効果が更に強く、致死量のLPSを投与してエンドトキシンショックを起こしたカニクイザルを救命する効果も発揮した (Table 2)。

Table 1. 相補性ペプチド設計プログラム (特許第 4712282 号)⁸⁾ で設計した相補性ペプチド (C-pep) と標的分子抑制作用 (Effective %) ⁹⁾

ターゲット分子	ターゲットの活性	設計試作した C-pep の数	
		テスト数	Effective %
HIV 逆転写酵素	酵素活性*	10	3 (30 %)
ProCPR (TAFI)	酵素活性**	10	3 (30 %)
トロンボモジュリン	コファクター活性***	3	2 (67 %)
C5a アナフィラトキシン	生物活性	19	7 (37 %)

*HIV 逆転写酵素の活性を阻害する作用を指標

**ProCPR がトロンビンで活性化される作用の抑制を指標

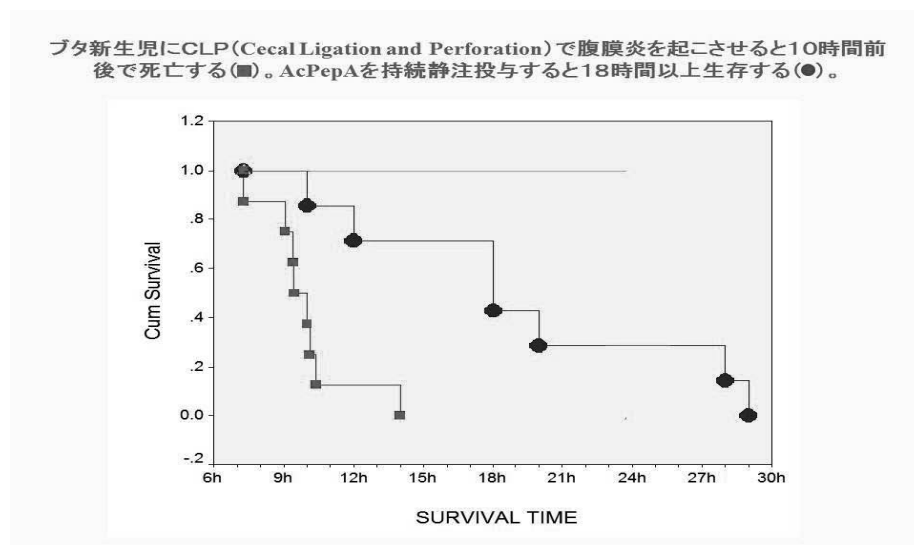
***コファクター活性：トロンビンに対する活性増強作用

Table 2. 致死量の LPS (4mg/kg) を投与したカニクイザルは翌日には全例死亡したが、一時的にショック病態に陥ったサルに AcPepA の静脈内投与を行った 7 頭は全てが救命された ⁹⁾

	LPS のみ	LPS と AcPepA	AcPepA のみ
血圧低下	4/6	3/7	0/1
体温の上昇	5/6	3/7	0/1
白血球減少	6/6	7/7	0/1
CPK 上昇	6/6	7/7	0/1
死亡	3/3	0/7	0/1
	(3/3)*		

*3 匹のサルは、死亡する前に苦痛を避ける為に安楽死させた。

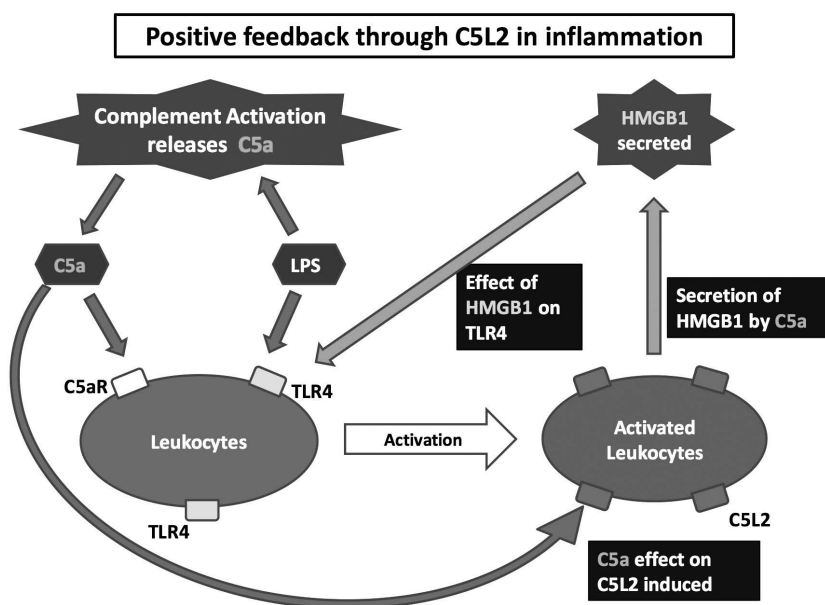
Figure 1. ブタ新生児の回盲部結紮穿孔腹膜炎モデルでの C5a 阻害ペプチド (AcPepA) の治療効果



一方、ブタ新生児の回盲部を結紮穿孔して起こした致死性急性腹膜炎モデル(CLP モデル) (Figure 1) でも救命効果を認めることができた (9 時間で死亡するブタ新生児 CLP モデルで cGMP-AcPepA の投与で 24 時間に延命できた)。この場合にも AcPepA の投与で HMGB1 の上昇が抑えられていることが分かった。その他のサイトカインの動態を解析した結果、C5a を阻害することにより、HMGB1 の放出

を抑えサイトカインストームの悪循環を遮断することが分かった。このような救命効果は抗酸化剤、酵素阻害剤、ヘパリン、ステロイド等の現有治療剤では達成することができない。C5a は従来から知られていた C5a receptor (C5aR) の他に新たに発見された C5a 第 2 レセプターである C5L2 にも反応し、この刺激が炎症細胞に HMGB1 を放出させる。

Figure 2. C5a阻害ペプチドがサイトカインストームによるSIRS発症を抑制する機序：白血球が活性化されるとC5L2が発現誘導され、C5aの作用で放出されたHMGB1が、TLR4を再刺激してサイトカインストームの増悪フィードバック反応を起こす。C5a阻害がこの反応を遮断する



以上に記述したごとく、相互にアンチセンスペプチドとして対位する配列が全ての蛋白質に存在して、それをアンチセンスホモロジーボックス (AHB) と命名した¹⁾ が、AHB部分のペプチド断片で蛋白質の機能を阻害できることも立証して^{3,4,5,6)} 来たが、その知見を基に任意のペプチド鎖に対する相補性ペプチドを自動設計するプログラム⁸⁾ で、C5aアナフィラトキシンを特異的に阻害するペプチドも創生できた¹¹⁾ が、致死量のLPS投与でエンドトキシンショック病態のカニクイザルもAcPepAの投与で救命できる (特願2008-288523) ほどの強力な作用を発揮することが分かった。さらに、ブタでの心タンポナーデに随伴する虚血再灌流障害を抑制する作用¹²⁾ が認められた他に、ラットでの大動脈圧迫虚血再灌流障害を抑制する作用¹³⁾ もAcPeAに認められている。このC5a (74アミノ酸からなる

ペプチド) の37～53番目のアミノ酸から成るペプチド部分のアミノ酸配列に対する相補性ペプチドであるC5a阻害ペプチドの作用メカニズムをモデル題材として解析し、相補性ペプチド間反応のメカニズムの解析を行いたい。その解明は、タンパク質分子内のAntisense Homology Box (AHB) がタンパク質分子の高次構造の形成と維持に果たす役割の解明にも繋がると期待できる。

いずれにしても、アンチセンスペプチド理論に基づく相補性ペプチドの設計は極めて効率よく制御ペプチドを創生できるので、次世代のペプチド創薬に大きな貢献をすると期待しています。

【利益相反】

筆者は、本論文内容に関連した開示すべき COI 関係にある企業等はありません。

【文献】

- 1) Baranyi L, Campbell W, Ohshima K, Fujimoto S, Boros M, Okada H. The antisense homology box: a new motif within proteins that encodes biologically active peptides. *Nat Med* 1: 894-901 (1995)
- 2) 特許第4053616号「タンパク質分子内のアンチセンスホモロジーボックスの検索法」発明者：岡田秀親、ラジョス・バラニ、ウイリアム・キャンベル；特許権者：岡田秀親 平成19年12月14日登録
- 3) Baranyi L, Campbell W, Ohshima K, Fujimoto S, Boros M, Kaszaki J, Okada H. Antisense homology box-derived peptides represent a new class of endothelin receptor inhibitors. *Peptides* 19: 211-223 (1998)
- 4) 特許第3923515号「エンドセリン活性抑制剤」発明者：岡田秀親、バラニ・ラジョス他；特許権者：岡田秀親、平成19年3月2日登録
- 5) Baranyi L, Campbell W, Okada H. Antisense homology boxes in C5a receptor and C5a anaphylatoxin: a new method for identification of potentially active peptides. *J Immunol* 157: 4591-4601 (1996)
- 6) Imai M, Okada N, Okada H. Inhibition of HIV-1 infection by an intramolecular antisense peptide to T20 in gp160. *Microbiol Immunol* 44: 205-212 (2000)
- 7) Campbell W, Kleiman L, Baranyi L, Li Zhou, Khorchid A, Fujita E, Okada N, Okada, H. A novel genetic algorithm for designing mimetic peptide that interfere with the function of a target molecule. *Microbiol Immunol*. 46: 211-215 (2002)
- 8) 特許第4712282号「活性ペプチドの評価システムと新規活性ペプチド」出願人：岡田秀親、岡田有武、出願日：平成15年2月20日
- 9) Okada H, Imai M, Ono F, Okada A, Tada T, Mizue Y, Terao K, Okada N. Novel complementary peptides to target

- molecules. *Anticancer Res* 31: 2511-2516 (2011)
- 10) Fujita E, Farkas I, Campbell W, Baranji L, Okada H, Okada N. Inactivation of C5a anaphylatoxin by a peptide that is complementary to a region of C5a. *J Immunol.* 172: 6382-6387 (2004)
 - 11) 特許第4106691号「アナフィラトキシンC5aを不活性化するペプチド」特許権者：岡田秀親、岡田則子 発明者：岡田秀親、岡田則子、藤田恵美子 登録日：平成20年4月11日
 - 12) Erces D, Nogrady M, Nagy E, Varga G, Vass A, Suveges G, Imai M, Okada N, Okada H, Boros M, Kaszaki J. Complement C5a antagonist treatment improves the acute circulatory and inflammatory consequences of experimental cardiac tamponade. *Critical Care Med.* 41: e344-e351 (2013)
 - 13) Eszter T, Futakuchi M, Varga G, Erces D, Tokes T, Meszaros A, Kaszaki J, Suzui M, Imai M, Okada A, Okada N, Boros M, Okada H. C5a inhibitor protects ischemia/reperfusion injury in rat small intestine. *Microbiol Immunol.* in press (2016)