


新概念による抗体の細胞内導入と細胞現象の制御・展開のための基盤構築

	研究代表者	京都大学・化学研究所・教授
		二木 史朗（ふたき しろう）
研究課題情報	課題番号：24H00051	研究期間：2024年度～2028年度
	キーワード：抗体、送達ペプチド、細胞膜、細胞内送達、細胞現象制御	

なぜこの研究を行おうと思ったのか（研究の背景・目的）

●研究の全体像

抗体（IgG）は、私たちの体内に細菌やウイルスなどの異物が侵入した際に産生されるタンパク質であり、生体内の多くの物質の中から特定の異物を見分け、選択的に結合する。細胞の中に抗体を導入出来れば、細胞中で重要な働きをするタンパク質の細胞内での存在や、他の細胞内分子との相互作用の検出に有用な役割を果たす。さらに病気と関連するタンパク質に対する抗体の細胞内導入は、病気の進行を抑えるかも知れない。しかし、抗体を細胞内に効果的に導入する手段がないことがこれらの応用展開を阻んでいた。

研究代表者は、以前に細胞内抗体導入ペプチドL17Eを開発し、L17Eの3量体と蛍光標識した抗体を混合すると、複合体（液滴）が形成され、液滴が細胞と接することにより、抗体が細胞内に短時間（1分以内）に一気に流入する現象を見出した。本研究は、この現象を、生物・化学・医療における細胞操作のための汎用的手法として活用することを念頭に、1）ペプチドの設計や抗体注入の際の細胞応答などの検討と導入系の改良を行い、2）培養細胞内の細胞内タンパク質の検出やタンパク質相互作用の調節における実用的な手法として確立することを目指す。さらに、医療展開を念頭に、3）マウス組織において、この方法を用いて抗体導入が可能であるかの検討を行う。

新概念による抗体の細胞内導入と細胞現象の制御・展開のための基盤構築

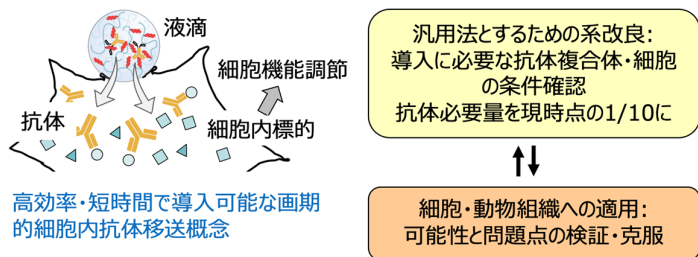


図1 研究のイメージ図

●研究の背景

抗体は究極の分子認識ツールである。高い分子認識能を有する抗体を細胞内に導入することにより、細胞内の標的分子の時空間的局在・挙動が明らかにできるのみならず、細胞内の種々の分子間相互作用・情報伝達の制御が期待される。さらに、疾病に関連するタンパク質とそれに付随する情報伝達の調節も期待される。現在上市されている抗体医薬品のほとんどは血中や細胞表面のタンパク質を標的としている。臨床レベルで使用可能な効率的な抗体の細胞内導入法が開発されれば、抗体医薬品の適用範囲は一気に広がり、医療におけるパラダイムシフトになりうる。このように、高効率の細胞内抗体送達法の開発は細胞生物学、化学、医療のいずれの分野にも大きなインパクトを与え、また、これが可能になることで、新たな研究手法の開発や研究分野の創出にもつながる。一方、抗体は親水性の高い高分子量タンパク質であり、容易に細胞内に送達出来ないことがこれを阻んでいた。

研究代表者は、高い膜傷害性を有するクモ毒由来の塩基性両親水性ペプチドM-lycotxinの疎水面にカルボキシ基を有するグルタミン酸を配置することで弱毒化したL17Eの3量体と蛍光標識したIgGとが液滴様複合体を形成し、これが細胞と接することにより、驚くべき効率で抗体の細胞内への流入が起こることを見出した。さらに、この現象は、従来の細胞への物質移送の概念では説明できないことも確認された。本研究ではこの概念を用いた抗体の細胞内導入と細胞現象の制御・展開のための基盤を構築する。

●研究の目的

- 1) 送達能向上のためにペプチド・担体・抗体に求められる条件の検討
本研究では、L17Eなどのペプチドを高分子担体に担持させたものと抗体との複合体を調製し、抗体の細胞内導入を図る。ペプチド、担体、抗体の配列や物性に検討を加え、導入の高効率化を図る。
- 2) 細胞内タンパク質機能調節のための実際的手法としての系の確立
抗体の液滴様複合体から細胞への移行様式を検討するとともに、同細胞内に移行した抗体が最大限の効果を与える条件を見出す。
- 3) 医療展開に向けた情報収集
マウス組織において、この方法での抗体導入を可能とする系の樹立を図る。

抗体の液滴内への濃縮・細胞内一気に注入は研究代表者が見出した独自概念である。効果的な抗体の細胞内流入を導く細胞応答もこれまで知られることのなかったものであり、新たな研究分野の発展や細胞操作技術としての展開が期待される。

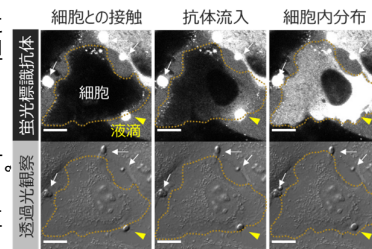
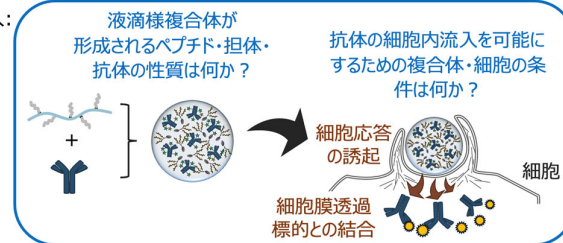


図2 液滴様複合体と細胞と液滴の接触により抗体は細胞表面から細胞内一気に流入する

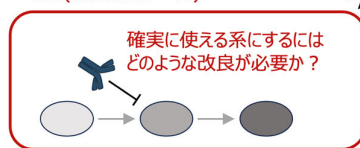
この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

- 送達能向上のためにペプチド・担体・抗体に求められる条件の検討
導入効果の向上と細胞内における期待の効果を得るのに必要な抗体濃度の低減（現時点の1/10に）
- 細胞内タンパク質機能調節のための実際的手法としての系の確立
導入された抗体の細胞内効果・細胞特性の検証 / 細胞内情報伝達・がん増殖抑制効果の検証と展開
- 医療展開に向けた情報収集
がん組織細胞内への抗体の移行・がん縮小活性の確認 / 液滴様複合体中の体内動態の検討

新概念による抗体の細胞内導入：
送達能向上のためのペプチド・担体・抗体の性質検討



細胞現象の制御：
細胞生物学の実際的手法としての系の確立（培養細胞レベル）



方法論の展開：
医療展開に向けた基盤検証



図3 本研究での検討内容

●本研究への期待

本研究における移送系の効率向上の努力は、液滴様複合体形成・細胞への複合体の取込様式・抗体の細胞内注入を可能にする液滴/ペプチドの形成に必要な要件および細胞応答に関する学術的理解を深める。これらの理解から、種々の新規生体材料・操作技術の創出と展開が期待される。細胞生物学分野でホットな話題となっている細胞内液-液相分離の理解への寄与も期待される。この細胞内抗体導入技術が汎用可能な手法となることで、細胞生物学や細胞を指向する化学関連分野の研究が大きく加速される。組織、さらに血中投与によって抗体が細胞内に移送される道筋が示されれば、細胞内疾病関連標的への抗体医薬品の適用に向けての大きな前進となる。