

## 細胞膜透過ペプチドの神経系への応用

圓谷 智之, 松下 正之

特定の分子を標的に行われる分子標的治療は副作用が少なく高い効果が得られるため、がんや自己免疫疾患などへの新たな治療法として近年注目を集めている。しかし治療の標的となる細胞のみに必要な効果をもたらすことは非常に難しく、この細胞選択性の向上が分子標的治療の発展には不可欠である。脳腫瘍や脳梗塞、アルツハイマー病などの神経系で起こる疾患に分子標的治療が大きな効果をもたらすであろうことは想像にかたくないが、神経細胞は分子を細胞内に導入することが他の細胞に比べ難しく、さらに中枢神経系においては血液脳関門が治療用分子を送達する際の障壁となっているため、効果的な治療を困難なものとしている。本稿ではこれらの問題に対し、近年行われている細胞膜透過ペプチドを用いた神経系への治療戦略の開発について筆者らの試みも交えながら紹介する。

### 1. はじめに

近年、先進医療の一つとして分子標的治療が注目を集めている。がんや自己免疫疾患などに対し特定の分子に標的を絞り行われるこの治療は、低分子化合物、抗体医薬、ウイルスを用いた遺伝子治療などの開発により急速な進歩を遂げつつある。これらは従来の治療法と比較し高い治療効果が望める上、正常な細胞への影響が少なく副作用を軽微にとどめることができるため今後の発展が期待されている。しかし分子標的治療の研究における最大の難関として、目的とする細胞にのみ必要な効果を及ぼす細胞選択的な送達システムの構築が依然大きな課題として取り残されている。

一般に細胞膜は細胞の内外を隔てるバリアとしての役割を持っており、核酸などの親水性物質、あるいは巨大分子などは細胞膜を直接透過することができない。細胞の恒常性を保つためにはこの機能は非常に重要だが、これが医療

目的で細胞内に任意の分子を導入しようとする際の一つの障壁となっている。実験室レベルでは、細胞内に任意の物質を送達する方法としてエレクトロポレーション法やリポフュージョン法などが現在でも広く用いられているが、その導入効率や細胞へのダメージを考えると最良の方法であるとはいえない。遺伝子の導入にウイルスベクターを用いる方法もあるが、抗原性やゲノムへの影響についての問題はいまだ解決されていない。

一方、脳疾患に目を向けると、もともと分裂の乏しい神経細胞は細胞外からの物質の導入が難しい上、中枢神経においては血液脳関門 (blood-brain barrier: BBB) を突破しないとそもそも任意の分子が脳まで到達しないという難題を抱えている。

BBBは高度な中枢神経系 (central nervous system: CNS) を有するすべての脊椎動物に存在する動的かつ複雑なバリアであり、血液とCNSとの間に介在して病原体の侵入を防ぎ脳を保護する役割を持っている<sup>1,2)</sup>。医療技術やBBBに関する研究が急速に進展しているにも関わらず、多くのCNS関連疾患は従来の医療法のみでは解決できない部分も多く、その理由の一つに治療用分子がBBBを通過できないことがあげられる。治療に用いる候補となる分子は数多く発見されているが、そのうち98%以上の分子はBBBを通過できないという報告もある<sup>3)</sup>。この問題を克服するためには新たな分子送達システムの開発が必要である。現在効果があるとされている既存の送達法はBBBの本来の機能と競合する可能性もあり、BBBの中枢神経保護機能に及ぼす影響に関して慎重に検討する必要がある。

琉球大学大学院医学研究科分子・細胞生理学講座 (沖縄県中頭郡西原町字上原207)

The application of cell penetrating peptides to the nervous systems

Tomoyuki Tsumuraya and Masayuki Matsushita (Department of Molecular and Cellular Physiology, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus, 207 Uehara, Nishihara-cho, Nakagami-gun, Okinawa)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2017.890021

© 2017 公益社団法人日本生化学会

本稿ではこれらの問題に対する細胞膜透過ペプチド (cell-penetrating peptide: CPP) を用いた治療戦略の開発について、近年行われている研究活動について筆者らの試みも交えながら紹介する。

## 2. BBBの構造と生理的機能

BBBは非浸透性の細胞バリアとして、主にタイトジャンクションを特徴とする非穿孔の脳血管内皮細胞から構成されており、CNSへの不要な物質の輸送を制限する役割を持つ<sup>4)</sup>。BBBにおけるタイトジャンクションはアクチン細胞骨格に連結する膜貫通タンパク質と細胞質のアクセサリータンパク質の複雑な組み合わせにより、きわめて緊密な細胞間の接続を形成している。このタイトジャンクションは不要な物質の自由な移動を制限し、それらを血管内腔や管腔外膜ドメインへ分離するフェンスとして機能している<sup>5)</sup>。

また、BBBの機能的な構造には、脳の微小血管における内皮細胞以外にも多くのものが関与しており、隣接する周皮細胞やアストロサイトなどが脳の毛細血管の表現型を決める重要な因子であると考えられている<sup>6)</sup>。これらの細胞はBBBをサポートするために細胞外の基底膜やミクログリアと結合し、周囲のニューロンとともに機能的な神経血管ユニットを形成している<sup>5, 7)</sup>。脳血管内皮はBBBにとって最も重要な部分であり、薄く広範な壁を毛細血管および後毛細血管細静脈に形成している。人間の脳では、約一千億本の毛細血管が存在し、合計すると約650kmもの長さとなり、脳毛細血管内皮の表面積の合計はおおよそ20m<sup>2</sup>となる<sup>8)</sup>。

したがって、以下に示すさまざまな生物学的特徴、すなわち

- (1) 非常に少数のピノサイトーシス小胞<sup>2)</sup>
- (2) 脳血管内皮細胞、星状細胞、周皮細胞の相互作用によるタイトジャンクションの強化<sup>9)</sup>
- (3) アストロサイト、周皮細胞、血管周囲マクロファージおよび神経細胞などによる相乗的な機能<sup>10-13)</sup>
- (4) ATP結合カセットトランスポーター、インスリン受容体、多剤耐性関連タンパク質、およびトランスフェリン受容体による不要な物質の透過性の制限<sup>14-16)</sup>
- (5) リンパ排出の欠如および主要組織適合遺伝子複合体(MHC)の不在<sup>17)</sup>

がBBB特有の低い透過性を担うための重要な因子となっている<sup>18)</sup>。BBBのこれらの機能は、脳脊髄液と連携して治療用分子を血流へ押し戻すような選択的障壁を作り出している。

## 3. 細胞透過性ペプチドによるBBB透過性の治療用分子送達

### 1) 中枢神経へ到達するCPPとその概要

近年では脳の疾患に対し、多方面からの治療アプローチ

ができるようになったが、副作用の危険性を抑えながら高用量の薬剤を投与することはいまだ実現されていない。

したがってBBBを通過する効率的な治療用分子送達システムの開発は依然として急務である。近年の分子生物学の急速な進歩により、BBBの分子レベルでの機能も明らかになりつつあり、それが新たなデリバリーシステムの開発を可能としている。CNSへの治療用分子の送達に臨床的に適用されたもののさまざまな制限を受けてきたこれまでの送達システムの大部分と比較して、CPPは送達システムのベースとして組み合わせることで、低毒性ながらも高効率に巨大分子を細胞膜透過させるという優位性を持つ<sup>19)</sup>。最大でも30アミノ酸程度であるCPPのサイズを考慮すると、両親媒性(親水性と疎水性の性質を併せ持つ)とカチオン性という特徴のどちらか一方、あるいは両方を有するCPPは他の送達システムよりもBBBを透過する可能性が高く、CNS関連疾患の治療に対する非常に有望なツールだと考えられている<sup>20)</sup>。

ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)に由来するtrans-activator of transcription (TAT)は最初に発見されたCPPであり、周囲の培地から効率的に培養細胞内に取り込まれることが確認された<sup>19, 20)</sup>。Antpとして知られているAnother penetratinはキイロショウジョウバエのアンテナペディア転写因子由来のペプチドであり<sup>21)</sup>、TATと同様に初期に発見された天然のタンパク質由来のCPPとして一つのグループを形成している。これら以降、効果的な導入特性を持つCPPが数多く発見されてきた。CPPの第二のグループとして、キメラ分子で構成されたペプチドがあげられる。Transportan (TP)は神経ペプチドであるガラニン由来の12アミノ酸と、ハチ毒であるマストラパン由来の14アミノ酸を融合して作られたペプチドである<sup>22)</sup>。CPPの第三のグループは合成ペプチドファミリーであり、中でもポリアルギニンについての研究は盛んに行われている<sup>23)</sup>。

CPPはそれぞれサイズやアミノ酸配列は異なるが、細胞膜を横切ってさまざまな分子を輸送できることを共通の特徴としている。さらにいくつかのCPPはBBBを透過することも可能であり、種々の治療用分子の送達を容易にする分子送達ベクターとして利用することができる。CNS疾患の治療を目的とした治療用分子送達の改善のためにさまざまなCPPを用いた研究が進められており、現在使用されているCPPとしてTAT, Angiopep, ペネトラチン, TP, 狂犬病ウイルス糖タンパク質(rabies virus glycoprotein: RVG), プリオンペプチド, およびSynBなどがあげられる<sup>24-28)</sup>。

CPPはそれぞれ輸送する分子や細胞の種類により異なる侵入経路をとるが、その詳細なメカニズムについてはいまだ議論の余地を残している。現在では細胞膜を直接透過する機構と、エンドサイトーシスを介した機構の2通りが主に提唱されている。

CPPの直接的な細胞膜の透過は、培養細胞の培地を4℃まで下げても進行するエネルギーに依存しない細胞プロ

セスであり、それは負に帯電したリン脂質との静電的相互作用が関与すると考えられている<sup>29)</sup>。最近では細胞膜を直接透過するためには、脂質二重層の両側のリン酸基と、CPPとの間における相互作用が関与すると考えられており、膜の疎水性コアを横切る荷電残基の転位や、水性トロイダル型ポアの形成を介して荷電したペプチドが受動拡散で膜を横断するモデルが提案されている<sup>30)</sup>。

エンドサイトーシスは、細胞外の物質を細胞内に取り込む過程の一つであり、細胞膜が細胞内側に折り込まれることにより始まる。陥凹した細胞膜は根元部分で切断され被覆小胞を形成するが、その後被覆小胞を分解することによって細胞は細胞外の物質を吸収することができる。過去の研究では、ペネトラチンの細胞内移行はエネルギー依存性プロセスであるエンドサイトーシスによるものであり、このプロセスはヘパラン硫酸とポリアルギニンの相互作用によって開始され、エンドサイトーシスを促進することを示している<sup>31)</sup>。

また他の研究では、TATはエンドサイトーシスの一種であるマクロピノサイトーシスにより細胞内部への移行をすることが示されている<sup>32)</sup>。その他のエンドサイトーシスによる細胞内移行は反転したミセル（逆ミセル）の形成に基づいている。逆ミセルは、極性基が内部に集中しており、親油基が溶媒中に外側に延びているコロイド状界面活性物質の凝集体である。このモデルによれば、ペネトラチン二量体は、負に帯電したリン脂質と結合し、そこから脂質二重層の内部に逆ミセルを生成する。逆ミセルを構成することにより、ペプチドは自らを親水性の環境に置き続けることができるのである<sup>33, 34)</sup>。

ここまでを要約すると、CPPはタンパク質、ペプチド、核酸、小分子およびナノ粒子といった治療用分子を細胞に狙いどおりに送達することができ、*in vivo*および*in vitro*で研究や臨床用途の送達ベクターとして利用できる大きな可能性を持っているといえる。以下より、CPPよりCNSへ送達される物質を大きく「タンパク質、ペプチド」、「核

酸」、「小分子薬剤」および「ナノ粒子」の4群に分け、現在まで行われている試みを紹介していく。

## 2) CPPによるタンパク質およびペプチドの中樞神経への送達

これまで、いくつかの方法で治療用タンパク質やペプチドがBBBを透過する試みが行われており、生理的環境下におけるさまざまな制約を回避する方法が模索されてきた。

遺伝子治療は多くの病気に対する魅力的な治療戦略であるが、核酸を保持したベクターを治療目的で投与してもタンパク質レベルで効果を発揮するためには時間がかかるため、急性脳卒中などの急性疾患に対する使用は現実的ではない。対してCPPを用いて大きなタンパク質を送達する方法は、すばやく簡単かつ安全な送達システムである。CPPの細胞内移入は濃度依存的に起こり、細胞膜の脂質二重層を通過して細胞に入る。最近の研究では、CPPが生物学的に活性を持つペプチドやタンパク質をCNSへ送達できることも示されている<sup>35)</sup> (表1)。

CPPが*in vivo*においても送達を行うという最初の報告はSchwarzeらによって提供された<sup>36)</sup>。彼らはTATと融合した $\beta$ ガラクトシダーゼ ( $\beta$ -Gal) をマウスの腹腔内に注射した場合、脳を含むほぼすべての組織内へそれらが輸送されることを確認している。また、脳卒中のモデルマウスにTAT-Bcl-XL融合タンパク質を注入することにより、虚血性損傷を受けた領域で神経細胞死の死亡率が大きく減少することが報告されている<sup>37)</sup>。同報告では虚血前後のTAT-Bcl-xLの処理により、90分という長時間の虚血性侵襲後であっても梗塞体積および神経障害を減少させられるとしている。さらに、TAT-neuroglobin, TAT-islet-brain-1 (IB-1)/JNK-interacting protein-1 (JIP-1), TAT-PSD-95, TAT-NR2B9c peptideおよびTAT-GDNFといったCPPを使用することにより、虚血や脳損傷によるダメージから脳を保護できるという報告も数々あげられている<sup>34, 38-40)</sup>。

表1 ペプチド・タンパク質を送達するCPP

CPP, アミノ酸配列	送達する物質	標 的	備 考
TAT, YGRKKRRQRRR	$\beta$ -Gal/GDNF	虚血性脳障害	TAT融合 $\beta$ -Galはマウス脳内で強い酵素活性を示す <sup>36)</sup> TAT-GDNFは局所的脳虚血後の細胞死から脳の神経細胞を保護する <sup>40)</sup>
TAT, YGRKKRRQRRR	JNK1	ニューロン	TAT-JNK1は低酸素、低グルコース刺激による神経細胞死を減少させる <sup>38)</sup>
TAT-HA, YGRKKRRQRRR-YPYDVPDVA	Bcl-xL	脳梗塞	局所的脳虚血後、TAT-HA-Bcl-XLの投与により用量依存的にマウスの脳梗塞を減少させる <sup>37)</sup>
RDP, KSVRTWNEIIPSKGCLRVGGRCH-PHVNGGRRRRRRRRR	BDNF/ $\beta$ -Gal/Luc	脳梗塞	マウスでの脳梗塞実験でRDP-BDNFは神経保護作用を示す。脳スライスのX-Gal染色によりRDP- $\beta$ -GalはBBBを通過することが証明された <sup>41)</sup>
dNP2, KIKKVKKKGRK	CTLA4	多発性硬化症	dNP2-CTLA4の投与により多発性硬化症モデルマウスの脱髄が減少する <sup>42)</sup>
Peptide-1-NSA, TCTWLKYH	p16MIS	神経膠芽腫細胞株	Peptide-1-NSA-p16MISは神経膠芽腫細胞の増殖抑制、アポトーシスを誘導する <sup>76)</sup>



TAT以外のCPPを用いた例として、RVG由来の39アミノ酸ペプチド（peptides derived from the rabies virus glycoprotein：RDP）と脳由来神経栄養因子（brain-derived neurotrophic factor：BDNF）を融合したRDP-BDNFペプチドはマウスに投与するとわずか15分で脳の神経に到達し、かつ脳梗塞モデルマウスにおいて梗塞体積を減少させるなどの神経保護作用を示している<sup>41)</sup>。

また多発性硬化症は免疫系に異常を来したリンパ球がミエリンを傷害する（脱髄）ことで起こると考えられているが、脊椎動物の遺伝子上にある配列由来のdNP2ペプチドと、リンパ球の活性化を阻害するタンパク質であるCTLA4の断片を融合したdNP2-CTLA4の投与により、多発性硬化症モデルマウスの脱髄を減少させるという報告もある<sup>42)</sup>。

### 3) CPPによる核酸の送達

プラスミド、siRNA（small interfering RNA）、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドなどの核酸を培養細胞へトランスフェクションする方法は過去に多数報告されている。ここで、初代培養されたニューロンや*in vivo*における脳の神経細胞へ核酸を移入するために用いられる方法は、ウイルスベクターを用いる方法とそれ以外の方法に大別されている。

ウイルストランスフェクションを生体に対して行う場合、免疫または炎症応答の発生の予測が難しいなど、安全上の懸念が残る。一方、ウイルスを用いない核酸のトランスフェクション法は効率があまり高くないという欠点を持つ。そこでこれらの問題を克服するために、CPP-核酸コ

ンジュゲート法が開発され、非常に強力なツールであることが証明されてきた（表2）。

遺伝子工学の進歩において重要な役割を担ってきたプラスミドは、特定の部位に任意の遺伝子を挿入することができ、さらにその複合体を生細胞にトランスフェクションでできることから有望な治療アプローチとしても期待されている。TATを重合させたMacro-branched TATを使用し、マウス、ハムスター、ヒトなど種々の哺乳動物細胞株にプラスミドDNAをトランスフェクションすると、通常のTATを用いた場合と比較し導入効率が上昇するという報告がある<sup>43)</sup>。また、TATを二～四量体化することでポリ-L-アルギニン等と比較して6～8倍、市販されているリポフェクション試薬やポリエチレンイミン（polyethylenimine：PEI）と比較して140～390倍もプラスミドDNAのトランスフェクション効率が上昇することが認められている<sup>44)</sup>。

破傷風毒素の非毒性フラグメントとポリリシン[poly(K)]を結合させた場合、DNAとの結合能を向上させ、N18-RE-105細胞（マウス神経芽腫とラット網膜神経細胞のハイブリドーマ）とF98細胞（神経膠腫細胞株）において高いトランスフェクション効率をもたらすことが報告されている<sup>45)</sup>。TATに10個のヒスチジン残基を連結したペプチド（TAT-10H）は、通常のTATと比較し、ヒトおよびラットのグリオーマ細胞株に対するプラスミドDNAのトランスフェクション効率を7000倍に増強させることが観察されている<sup>46)</sup>。さらに同報告において、TAT-10Hペプチドに二つのシステイン残基を組み込むことで効率のさらなる向上が認められている。

中枢神経細胞へ遺伝子をトランスフェクションするため

表2 核酸を送達するCPP

CPP, アミノ酸配列	送達する物質	標 的	備 考
RVG-9RYTIWMPENPRPGTPCD IFTNSRGKRASNG-9R	FvE siRNA	ウイルス性 脳炎	RVG-9Rはマウスの脳内へFvE siRNAを送達し、ウイルス性脳炎から神経細胞を保護する <sup>27)</sup>
TAT, YGRKKRRQRRR	プラスミド DNA	種々の細胞株 (16HBE他)	PEIと比較し、TATはプラスミドを効率的に細胞内へ導入する <sup>44)</sup>
HC-[poly(K)], QYIKANSKFIGITEL-poly(K)	プラスミド DNA	神経膠腫・ 神経膠芽腫 細胞株	HC-[poly(K)]-DNAは神経細胞特異的にプラスミドDNAを導入する <sup>45)</sup>
TAT-10H, 5H-YGRKKRRQRRR-5H	プラスミド DNA	脳実質	TATと比較し、5H-TAT-5Hと融合したプラスミドDNAはBBBの透過性が向上する <sup>46)</sup>
RVG-9R, YTIWMPENPRPGTPCDIFT-NSRGKRASNG-9R	GAPDH/BACE 1 siRNA	脳実質	RVG-9RはGAPDH/BACE1 siRNAをニューロン、ミクログリア、オリゴデンドロサイトに送達する <sup>52)</sup>
ペネトラチン, RQIKIWFQNRRMKWKK	Caspase-3/8/9 siRNA, SOD1-1/2 siRNA	初代培養 交感神経, 海馬細胞	ペネトラチン-Caspase-3i/8i/9iは海馬、交感神経特異的にsiRNAを導入する <sup>54)</sup>
ペネトラチン, RQIKIWFQNRRMKWKK	APPアンチ センスオリゴヌ クレオチド	脳室下帯, 可溶性APP	ペネトラチン-APPアンチセンスオリゴヌクレオチドは脳室下帯における可溶性APPの発現と神経幹細胞の増殖を抑制する <sup>57)</sup>
TP/TP10, GWTLSAGYLLGKINLKALAALAKKIL/ AGYLLGKINLKALAALAKKIL	NFκB デコイDNA	ラットイン スリノーマ 細胞株	TP/TP10とNFκBデコイDNAを融合させるとNFκBの活性化、インターロイキン6の発現が抑制される <sup>59)</sup>

に、TATを改変したりポリソームやミセルといったCPP改変ナノキャリアを用いる方法も研究が進められている。ポリエチレングリコール (polyethylene glycol : PEG) やPEIによるシールドリングは粒子の薬物動態学的挙動を改善したり、リガンドの細胞認識を容易にさせたりするためによく用いられる方法であり、いくつかのグループはCPP修飾ナノキャリアがプラスミド送達のための有効なシステムであることを証明している。たとえばPEI/DNA-TATは遺伝子ベクターの細胞への取り込みを改善し、初代培養した神経細胞への遺伝子トランスフェクション効率を向上させるという報告がある<sup>47)</sup>。

プラスミドDNAの送達とはまた別に、CPPを用いたsiRNAを細胞へトランスフェクションする方法も広く研究されてきた<sup>48-50)</sup>。

RNA干渉 (RNA interference : RNAi) は、細胞が相補的なmRNA分子を分解することにより遺伝子をサイレンシングするという天然に存在するプロセスであり、脳腫瘍、神経外傷、疼痛、および感染症といった多くのCNS疾患に対する有望な治療アプローチとなる可能性を秘めている<sup>51)</sup>。しかしながらBBBは、任意のRNA分子に対してほぼ不透過性であり、siRNAもその例外ではない。その理由の一つとして、BBBを通過できる分子は一般的に分子量が400未満だといわれている<sup>3)</sup>が、多くのsiRNA分子の平均質量が約14,000だということがあげられる。

脳へのsiRNA分子を送達するほとんどの非臨床研究や動物モデルは侵襲性の経路を通るため、全身経路を介しても安全かつ効率的にBBBを通過できる新たな治療用siRNAの開発が求められている。

RVGは神経細胞上のニコチン性アセチルコリン受容体と特異的に相互作用し、ニューロンに侵入することが可能である。これを利用し、Kumarらはマウスにおける致命的なウイルス性脳炎に対し、神経細胞を標的とするRVG-9Rを用いて治療用のsiRNAを送達し、*in vivo*においても神経保護ができることを示した<sup>27)</sup>。Alvarez-Ervitiらは、RVGで修飾したエクソソーム内にsiRNAを組み込み、それをマウスに静脈内注射することにより、脳においてsiRNAが機能することを確認している<sup>52)</sup>。この研究ではマウスに対するRNAi実験により、アルツハイマー病における治療標的分子である $\beta$ アミロイド前駆体タンパク質 ( $\beta$ -amyloid precursor protein : APP) 切断酵素1 (APP cleaving enzyme 1 : BACE1) をmRNAおよびタンパク質レベルでそれぞれ60%ほどノックダウンしたことを証明している。また、RVGで修飾されたPEIナノキャリア (RVG-PEI-SS) を使用してマウスの脳にsiRNAおよびmicroRNAを送達した報告もある<sup>53)</sup>。

治療用のsiRNA送達系としてその他のCPPが使用されている例もある。チオール系結合を介してペネトラチンとsiRNAを結合したとき、*in vitro*では初代培養された哺乳類の海馬と交感神経のニューロンへ、*in vivo*ではラットモデルにおけるCNSへsiRNA二本鎖を送達できることが証

明されている<sup>54)</sup>。このアプローチはポリソームを用いたsiRNAの送達と比較して標的細胞への毒性を低く抑えることができる。

数多くのヒトの遺伝性疾患は遺伝子の突然変異によって引き起こされるが、この突然変異が異常な選択的スプライシングを引き起こす場合もある。この種の疾患に対する有望な治療法の一つとして考えられているのが、pre-mRNAスプライシングの補正である。

アンチセンスモルフォリノオリゴヌクレオチド (anti-sense morpholino oligonucleotide : AMO) は、RNAやDNAの糖部分 (リボース、デオキシリボース) の代わりにモルフォリン環を持つ一本鎖DNA誘導体であり、目標点に相補的に結合しスプライシングを部分的に調節することによりpre-mRNAのスプライシングを修正するため、遺伝性疾患への治療応用の可能性を持ったツールの一つである<sup>55,56)</sup>。しかし、AMOは効率的にBBBを通過することができず、なおかつ*in vivo*において補正効率があり高くないという欠点を持っている。

それらの問題を解決するため、CPPとAMOを共有結合させることにより膜移行性を向上させ、目的の分子を細胞質、最終的には核にまで直接届ける量を増やす試みがされてきた。たとえば、アルギニンリッチCPPの一種である(RXRRBR)<sub>2</sub>XB (R=1-アルギニン, X=6-アミノヘキサン酸, B= $\beta$ -アラニン) と特定のAMOをコンジュゲートした場合、毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子であるATM (ataxia-telangiectasia mutated) のスプライシングの補正効率を飛躍的に向上させることができる<sup>56)</sup>。また、モデルマウスにおいてフルオレセインイソチオシアネート (FITC) で標識した(RXRRBR)<sub>2</sub>XB-AMOは脳への効率的な取り込みを示している。

siRNAの送達およびスプライシング補正という手法に加えて、アンチセンスオリゴヌクレオチド、ペプチド核酸 (peptide nucleic acid : PNA)、およびデコイDNAといった核酸の送達にもCPPを利用することができる。Cailleらは、アンチセンスオリゴヌクレオチドとペネトラチンを融合したペネトラチン-APPが成体マウスの脳室下帯においてAPP発現および胚性神経幹細胞の増殖を減少させたことを実証している<sup>57)</sup>。

デコイDNAは人工的な二本鎖DNAからなり、特定の転写因子を不活性化するプロモーター配列を模倣するように設計された<sup>58)</sup>が、そのバイオアベイラビリティは乏しく必ずしも治療用核酸としての有用性があるとはいえない難かった。FisherらはTP/TP10-PNAの六量体または九量体と、NF $\kappa$ BデコイDNAを結合させることでインターロイキン1誘導性のNF $\kappa$ B活性化およびインターロイキン6の遺伝子発現を効率的に抑制できることを証明している<sup>59)</sup>。

#### 4) CPPによる小分子薬剤の送達

BBBを通過する化学療法剤などの小分子を中枢神経へ送達するためにもCPPは利用されており (表3)、特に

表3 小分子薬剤を送達するCPP

CPP, アミノ酸配列	送達する物質	標 的	備 考
SynB1/SynB3, RGGRLSYRRRFSTSTGR/RRLSYRRRF	ダラルギン	脳実質	ダラルギンの脳への取り込みが亢進することにより、鎮痛作用が向上する <sup>60)</sup>
SynB1/D-ベネトラチン, RGGRLSYRRRFSTSTGR/RQIKIWFQNRMRKWKK	ドキソルピシン	脳実質	SynB1やD-ベネトラチンと融合することで脳へのドキソルピシンの取り込みが増強される <sup>62)</sup>
Angiopep-5, RFFYGGSRGKRNNFRTEEY	ドキソルピシン	神経膠芽腫細胞株, 脳実質	Angiopep-5-ドキソルピシンは神経膠芽腫細胞株を効率的に死滅させ、マウスでは速やかに脳実質に移行する <sup>64)</sup>
Angiopep-2-O-MWNTs-PEG, PFFYGGSGGNRRNNYLREEY-O-MWNTs-PEG	ドキソルピシン	神経膠腫	Angiopep-2-O-MWNTs-PEGは神経膠腫のLRP受容体を標的とし、効率的にドキソルピシンを送達できる <sup>65)</sup>
Angiopep-2, PFFYGGSGGNRRNNYLREEY	パクリタキセル	脳への転移がん	Angiopep-2-パクリタキセルは脳転移したがんへの治療効果を示す <sup>66)</sup>

SynB ペプチドと Angiopep については、このような薬剤を脳へ送達する手段としてよく研究が進んでいる。

SynB ペプチドファミリーと薬剤を結合させて投与することにより、脳に到達する薬剤を増加させる報告がいくつも示されている。Rousselle らは、ドキソルピシン、ベンジルペニシリン、パクリタキセル、ダラルギンといった脳への透過性の乏しい種々の薬剤を SynB1 または SynB3 にコンジュゲートし、それらをマウスに静脈内注射した際に大幅に脳への到達率が向上することを報告している<sup>60)</sup>。また、Drin らは SynB1 と SynB5 が脳内へのドキソルピシンの取り込みを大幅に増加させることを報告した<sup>61)</sup>。また、ドキソルピシンに SynB1 やベネトラチンを共有結合させることにより、ラットにおいて脳への輸送能が最大30倍増加することも確認されている<sup>62)</sup>。

天然のタンパク質由来のペプチドファミリーに含まれる Angiopep は、*in vitro* BBB モデルおよび *in vivo* での試験で薬剤を高効率で脳に送達するために使用されてきた。De-meule らは Angiopep-2 が Alexa488 で標識したパクリタキセルを輸送し、BBB を通過して脳のがんを治療できることを報告した<sup>63)</sup>。Angiopep-5 と、3 分子のドキソルピシンを結合した ANG1007 は、*in vitro* ではがん細胞株を死滅させ、マウスを用いた実験では非常に効率的に BBB を通過することが確認されている<sup>64)</sup>。近年、薬剤やナノ粒子を CNS へ送達するために Angiopep を使用する研究が多くなされており、Angiopep で修飾した分子により脳腫瘍やがんの脳転移をターゲティングすることは有望視される治療法の一つである<sup>65, 66)</sup>。

多くの研究が CPP の生体への投与を静脈内注射で行っている中、TAT 修飾ミセルを鼻腔内投与し、鼻粘膜を介して脳への送達を行っている研究もある<sup>67)</sup>。これらは臨床応用を考えた際により低侵襲な方法であり、CPP の優位性を示すものといえる。

##### 5) CPP によるナノ粒子の送達

ナノ粒子は1~100nmサイズの人工的な微粒子である。

ナノ粒子はバルク（一般的なサイズ・個体）の状態とは異なる物性を示すため、その特性を生かすための研究が進められているが医療分野への応用もその例外ではない。

Santra らは硫化カドミウム、マンガン、硫化亜鉛からなる量子ドットと TAT をコンジュゲートし、それらをラットの頸動脈から注入した際に脳血管の内皮細胞を通過し脳実質に移行することを明らかにしている<sup>68)</sup>。TAT-PEG- $\beta$ -コレステロールは自己組織化によりナノ粒子のミセルを形成するが、これは *in vitro* においてヒト脳内皮細胞へ容易に取り込まれることが確認されている<sup>69)</sup>。さらにこのナノ粒子は、BBB を通過し、神経細胞の核にまで移行することができると併せて報告されている。Wang らは *Cryptococcus neoformans* 感染によるウサギの髄膜炎モデルにおいて、ナノ粒子である TAT-コレステロール- $G_3R_6$  が BBB を横断し、脳組織中において抗菌活性を示すことを報告している<sup>70)</sup>。

なお TAT で修飾したリポソームの多くは、選択的に脳をターゲットとしていないにも関わらず、その多くが尾静脈からの投与後24時間以内に脳に蓄積するという報告もある<sup>71)</sup>。これらの研究は、脳の感染症の治療や生体でのナノ粒子の追跡、また CNS 関連疾患の治療やモニタリングのために TAT によってナノ粒子の輸送を補助することの重要性を表しており、臨床応用可能なナノキャリアの開発の可能性を示している。

TAT に加え、正常な脳における薬物送達のために使用されている CPP も存在する。たとえば二官能性 PEG を介したポリアミドアミン (polyamidoamine: PAMAM) と Angiopep-2 の複合体に、DNA を結合させた PAMAM-PEG-Angiopep/DNA というナノ粒子は、神経膠腫の遺伝子治療のための新規の送達システムとなる可能性を秘めている<sup>72)</sup> (表4)。

また、最近では外傷性脳損傷をターゲットとしたわずか4アミノ酸からなる CAQK というペプチドも発見されている<sup>73)</sup>。CAQK に銀ナノ粒子を結合した CAQK-NPs は、脳内の炎症を起こした部分のみに停滞することが報告されて



表4 ナノ粒子を送達するCPP

CPP, アミノ酸配列	送達する物質	標 的	備 考
PEI-TAT, YGRKKRRQRRR-PEI	プラスミドDNA	初代培養 ニューロン	PEI-DNA-TATは初代培養ニューロンへのトランスフェクション効率を向上させる <sup>47)</sup>
(RXRRBR) <sub>2</sub> XB, RXRRBRRXRRBRXB	AMO	毛細血管拡張性 運動失調症	(RXRRBR) <sub>2</sub> XB-AMOはマウスの尾静脈からの投与後、脳内に移行しATMスプライシングの補正を行う <sup>56)</sup>
TAT-PEG-コレステロール, YGRKKRRQRRR-PEG-コレステロール	FITC	海馬	FITC-TAT-PEG-コレステロールはBBBを通過しラットの海馬まで到達する <sup>69)</sup>
PAMAM-PEG-Angiopep-2, PFFYGGSGGNRNRYLREEY	プラスミドDNA	脳毛細血管 内皮細胞	PAMAM-PEG-Angiopep-2-DNAはBBBを通過し脳内に到達する <sup>72)</sup>
CAQK, CAQK	銀ナノ粒子	外傷性脳損傷	尾静脈より投与されたCAQK-NPsはマウスの外傷性脳損傷部位に停滞する <sup>73)</sup>

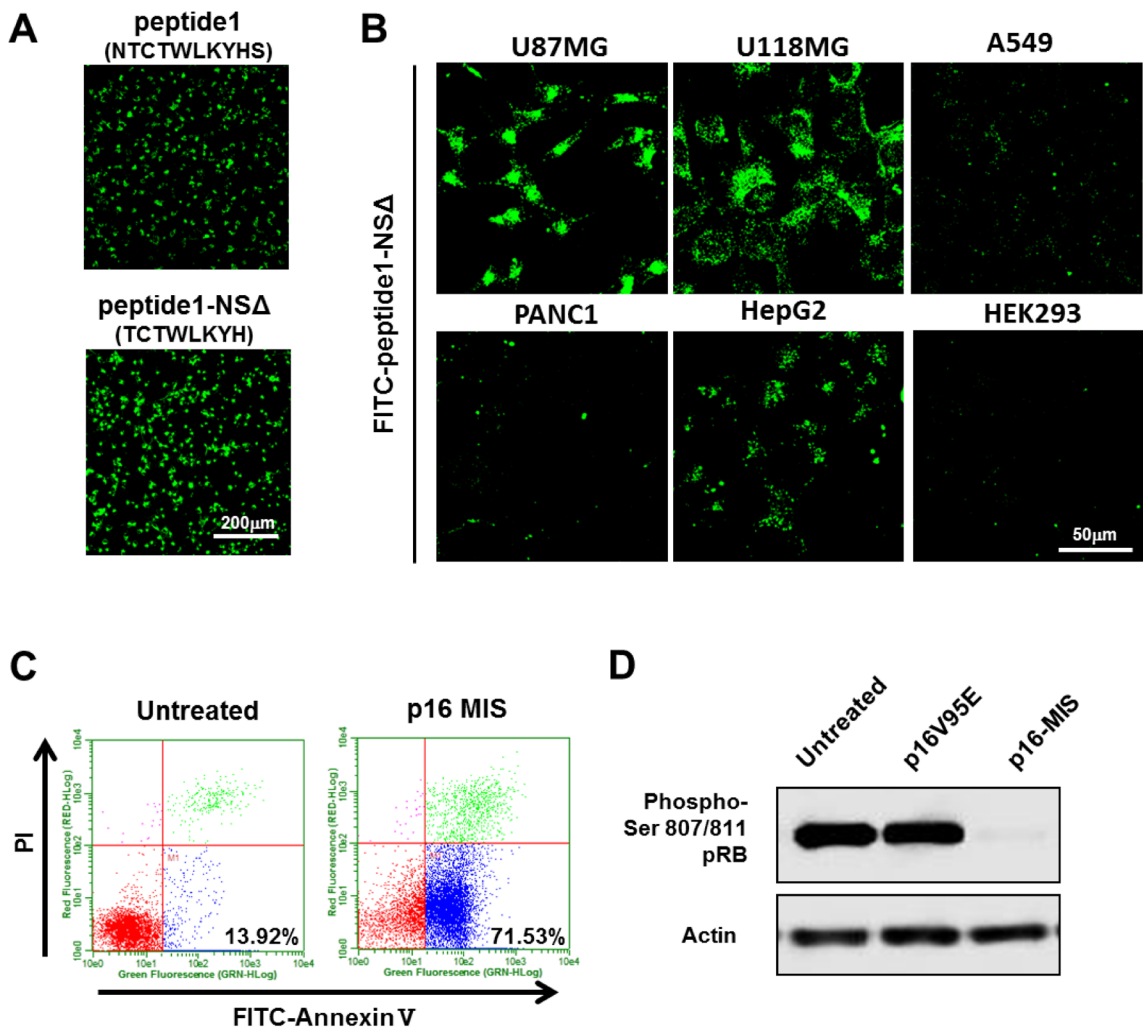


図1 神経膠芽腫細胞に特異的に取り込まれる CPP  
(A) Peptide1 を改変した Peptide1-NSΔ は U87MG 細胞に効率的に導入される。(B) 種々の細胞株を用いた実験において Peptide1-NSΔ は神経由来の細胞に特異的に導入される。(C) Peptide1-NSΔ-p16MIS の導入により U87MG 細胞のアポトーシスが誘導される。(D) Peptide1-NSΔ-p16MIS の導入により U87MG 細胞の細胞増殖抑制が誘導される。p16V95E は p16-MIS の 1 アミノ酸置換体であり、コントロールとして用いている。(A~D) は文献76 より一部改変し、転載した。

いる。なお、これは損傷を起こした神経そのものよりは、その周囲を取り巻くペリニューロナルネットの損傷を認識しているようである。

さらにナノ粒子からは少し話が逸れるが、長さ 10 μm のシリコンナノワイヤー (silicon nanowire : Si NW) の表面に TAT を複数結合させることにより、マウスの初代培養

神経細胞にこのワイヤーを移入するという報告もある<sup>74)</sup>。実験に用いられたニューロンの細胞体がおおよそ20μmであるため、巨大な物質の細胞内導入にもCPPが応用できることを示している。

#### 4. 神経膠芽腫に対する筆者らの試み

神経膠芽腫は脳の悪性腫瘍の中でも非常に予後不良な疾患の一つであり、本疾患に対する新しい診断法や治療技術の開発が求められている。筆者らはこれまで11個のアルギニンからなるペプチドに機能性ペプチドやタンパク質を融合することにより目的の分子を直接細胞内に導入し、細胞内情報伝達を制御する方法の開発を行ってきた<sup>75)</sup>が、これらのCPPは細胞選択性がなく治療用ペプチドとして用いるには限界があった。

そこで、mRNAディスプレイペプチドライブラリーを用いた選択的導入ペプチドのスクリーニングにより、ヒト神経膠芽腫細胞株(U87MG)に選択的に導入されるペプチド、Peptide1 (NTCTWLKYHS)を発見した<sup>76)</sup>。ペプチドはその長さが短い方が安定性が高く、なおかつ生体に投与した際の抗原性が低く抑えられる。これらの理由とPeptide1の導入効率向上を目的としていくつかの短縮型変異体を作製し、そのうちPeptide1-ΔNS (TCTWLKYH)において導入効率の上昇を確認した(図1)。

U87MG細胞では、がん抑制遺伝子であるp16<sup>INK4a</sup>の欠如が報告されているため<sup>77)</sup>、その機能性ペプチドであるp16MIS (minimal inhibitory sequence)をPeptide1-ΔNSに融合したペプチド、Peptide1-ΔNS-p16MISを人工合成しU87MG細胞に添加した。その結果、U87MG細胞中でAnnexin Vの陽性細胞の増加、および網膜芽細胞腫タンパク質(pRB)のリン酸化抑制が観察され(図1)、それぞれアポトーシスの誘導、細胞増殖の抑制が示唆された。

本研究結果より、神経膠芽腫に対するイメージングおよび治療応用における選択的トランスポーターとして、Peptide1-ΔNSの有用性が示唆された。

#### 5. おわりに

薬剤の全身投与により中枢神経障害を効率的かつ安全に治療するための方法は、これまで多大な労力をかけて研究されてきたが、まだ開発が十分とはいえない。CPPは細胞選択性、低毒性、即効性において他の薬剤送達システムより優位性を示しており、細胞内のシグナル伝達経路を制御する治療用分子を導入するための手段として大きな可能性を秘めている。現時点では腫瘍を中心とした研究が多くなされているが、本稿内でも一部示したとおりアルツハイマー病などの神経変性疾患や脳梗塞、多発性硬化症といったCNS障害への応用も進められている。現在ではゲノムワイド関連解析などによりうつ病や統合失調症といった精神疾患の原因遺伝子も徐々に明らかにされつつあり、従

来とは違った視点からの治療法の開発が現実味を帯びてきた。その他にもパーキンソン病や認知障害など、CNS関連疾患は数多く存在しこれまでより効果的で低侵襲な治療法への需要は今後ますます増えていくものと考えられる。BBBを通過し、かつ目標とする細胞へ高い選択性をもって導入されるCPPは、これらの疾患に対する治療法を開発する際に大きなアドバンテージを発揮するものと期待される。

#### 文 献

- 1) Chen, Y. & Liu, L. (2012) *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **64**, 640–665.
- 2) Abbott, N.J. (2005) *Cell. Mol. Neurobiol.*, **25**, 5–23.
- 3) Pardridge, W. (1998) *J. Neurochem.*, **70**, 1781–1792.
- 4) Wong, H.L., Wu, X.Y., & Bendayan, R. (2012) *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **64**, 686–700.
- 5) Hawkins, B.T. & Davis, T.P. (2005) *Pharmacol. Rev.*, **57**, 173–185.
- 6) Weksler, B.B., Subileau, E.A., Perrière, N., Charneau, P., Hol-loway, K., Leveque, M., Tricoire-Leignel, H., Nicotra, A., Bour-doulous, S., Turowski, P., Male, D.K., Roux, F., Greenwood, J., Romero, I.A., & Couraud, P.O. (2005) *FASEB J.*, **19**, 1872–1874.
- 7) Abbott, N.J. (2002) *J. Anat.*, **200**, 629–638.
- 8) Pardridge, W.M. (2003) *Mol. Interv.*, **3**, 90–105.
- 9) Persidsky, Y., Ramirez, S.H., Haorah, J., & Kanmogne, G.D. (2006) *J. Neuroimmune Pharmacol.*, **1**, 223–236.
- 10) Ramsauer, M., Kunz, J., Krause, D., & Dermietzel, R. (1998) *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **18**, 1270–1281.
- 11) Ramsauer, M., Krause, D., & Dermietzel, R. (2002) *FASEB J.*, **16**, 1274–1276.
- 12) Dohgu, S., Takata, F., Yamauchi, A., Nakagawa, S., Egawa, T., Naito, M., Tsuruo, T., Sawada, Y., Niwa, M., & Kataoka, Y. (2005) *Brain Res.*, **1038**, 208–215.
- 13) Pardridge, W.M. (2005) *Mol. Biotechnol.*, **30**, 57–70.
- 14) Bendayan, R., Lee, G., & Bendayan, M. (2002) *Microsc. Res. Tech.*, **57**, 365–380.
- 15) Deeken, J.F. & Löscher, W. (2007) *Clin. Cancer Res.*, **13**, 1663–1674.
- 16) Ronaldson, P.T., Persidsky, Y., & Bendayan, R. (2008) *Glia*, **56**, 1711–1735.
- 17) Wekerle, H. (2002) *Trends Neurosci.*, **186**, 140–144.
- 18) Zou, L.L., Ma, J.L., Wang, T., Yang, T.B., & Liu, C.B. (2013) *Curr. Neuropharmacol.*, **11**, 197–208.
- 19) Derossi, D., Joliot, A.H., Chassaing, G., & Prochiantz, A. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 10444–10450.
- 20) Mäe, M. & Langel, Ü. (2006) *Curr. Opin. Pharmacol.*, **6**, 509–514.
- 21) Vives, E., Brodin, P., & Lebleu, B. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 16010–16017.
- 22) Pooga, M., Hällbrink, M., Zorko, M., & Langel, U. (1998) *FASEB J.*, **12**, 67–77.
- 23) Rothbard, J.B., Garlington, S., Lin, Q., Kirschberg, T., Kreider, E., McGrane, P.L., Wender, P.A., & Khavari, P.A. (2000) *Nat. Med.*, **6**, 1253–1257.
- 24) Heitz, F., Morris, M.C., & Divita, G. (2009) *Br. J. Pharmacol.*, **157**, 195–206.
- 25) Fonseca, S.B., Pereira, M.P., & Kelley, S.O. (2009) *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **61**, 953–964.
- 26) Gallo, G. (2003) *Methods Cell Biol.*, **71**, 325–338.
- 27) Kumar, P., Wu, H., McBride, J.L., Jung, K.E., Kim, M.H., Da-



- vidson, B.L., Lee, S.K., Shankar, P., & Manjunath, N. (2007) *Nature*, **448**, 39–43.
- 28) Cai, B., Lin, Y., Xue, X.H., Fang, L., Wang, N., & Wu, Z.Y. (2011) *Exp. Neurol.*, **227**, 224–231.
  - 29) Luo, D. & Saltzman, W.M. (2000) *Nat. Biotechnol.*, **8**, 33–37.
  - 30) Herce, H.D. & Garcia, A.E. (2007) *J. Biol. Phys.*, **33**, 345–356.
  - 31) Lundberg, M. & Johansson, M. (2001) *Nat. Biotechnol.*, **19**, 713–714.
  - 32) Frankel, A.D. & Pabo, C.O. (1988) *Cell*, **55**, 1189–1193.
  - 33) Plénat, T., Deshayes, S., Boichot, S., Milhiet, P.E., Cole, R.B., Heitz, F., & Le Grimelec, C. (2004) *Langmuir*, **20**, 9255–9261.
  - 34) Deshayes, S., Gerbal-Chaloin, S., Morris, M.C., Aldrian-Herrada, G., Charnet, P., Divita, G., & Heitz, F. (2004) *Biochim. Biophys. Acta*, **1667**, 141–147.
  - 35) Theisen, D.M., Pongratz, C., Wiegmann, K., Rivero, F., Krut, O., & Krönke, M. (2006) *Vaccine*, **24**, 3127–3136.
  - 36) Schwarze, S.R., Ho, A., Vocero-Akbani, A., & Dowdy, S.F. (1999) *Science*, **285**, 1569–1572.
  - 37) Cao, G., Pei, W., Ge, H., Liang, Q., Luo, Y., Sharp, F.R., Lu, A., Ran, R., Graham, S.H., & Chen, J. (2002) *J. Neurosci.*, **22**, 5423–5431.
  - 38) Hirt, L., Badaut, J., Thevenet, J., Granziera, C., Regli, L., Maurer, F., Bonny, C., & Bogousslavsky, J. (2004) *Stroke*, **35**, 1738–1743.
  - 39) Aarts, M., Liu, Y., Liu, L., Besshoh, S., Arundine, M., Gurd, J.W., Wang, Y.T., Salter, M.W., & Tymianski, M. (2002) *Science*, **298**, 846–850.
  - 40) Kilic, E., Kilic, U., & Hermann, D.M. (2005) *CNS Drug Rev.*, **11**, 369–378.
  - 41) Fu, A., Wang, Y., Zhan, L., & Zhou, R. (2012) *Pharm. Res.*, **29**, 1562–1569.
  - 42) Lim, S., Kim, W.-J., Kim, Y.-H., Lee, S., Koo, J.-H., Lee, J.-A., Yoon, H., Kim, D.-H., Park, H.-J., Kim, H.-M., Lee, H.-G., Yun Kim, J., Lee, J.-U., Hun Shin, J., Kyun Kim, L., Doh, J., Kim, H., Lee, S.-K., Bothwell, A.L.M., Suh, M., & Choi, J.-M. (2015) *Nat. Commun.*, **6**, 8244.
  - 43) Liu, Z., Li, M., Cui, D., & Fei, J. (2005) *J. Control. Release*, **102**, 699–710.
  - 44) Rudolph, C., Plank, C., Lausier, J., Schillinger, U., Müller, R.H., & Rosenecker, J. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 11411–11418.
  - 45) Knight, A., Carvajal, J., Schneider, H., Coutelle, C., Chamberlain, S., & Fairweather, N. (1999) *Eur. J. Biochem.*, **259**, 762–769.
  - 46) Lo, S.L. & Wang, S. (2008) *Biomaterials*, **29**, 2408–2414.
  - 47) Suk, J.S., Suh, J., Choy, K., Lai, S.K., Fu, J., & Hanes, J. (2006) *Biomaterials*, **27**, 5143–5150.
  - 48) Eguchi, A., Meade, B.R., Chang, Y.C., Fredrickson, C.T., Willert, K., Puri, N., & Dowdy, S.F. (2009) *Nat. Biotechnol.*, **27**, 567–571.
  - 49) Meade, B.R. & Dowdy, S.F. (2008) *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **60**, 530–536.
  - 50) Said Hassane, F., Saleh, A.F., Abes, R., Gait, M.J., & Lebleu, B. (2010) *Cell. Mol. Life Sci.*, **67**, 715–726.
  - 51) Ralph, G.S., Mazarakis, N.D., & Azzouz, M. (2005) *J. Mol. Med. (Berl.)*, **83**, 413–419.
  - 52) Alvarez-Erviti, L., Seow, Y., Yin, H., Betts, C., Lakhal, S., & Wood, M.J. (2011) *Nat. Biotechnol.*, **29**, 3–4.
  - 53) Hwang, D.W., Son, S., Jang, J., Youn, H., Lee, S., Lee, D., Lee, Y.S., Jeong, J.M., Kim, W.J., & Lee, D.S. (2011) *Biomaterials*, **32**, 4968–4975.
  - 54) Davidson, T.J., Harel, S., Arboleda, V.A., Prunell, G.F., Shelanski, M.L., Greene, L.A., & Troy, C.M. (2004) *J. Neurosci.*, **24**, 10040–10046.
  - 55) Corey, D.R. & Abrams, J.M. (2001) *Genome Biol.*, **2**, 1015.1–1015.3.
  - 56) Du, L., Kayali, R., Bertoni, C., Fike, F., Hu, H., Iversen, P.L., & Gatti, R.A. (2011) *Hum. Mol. Genet.*, **20**, 3151–3160.
  - 57) Caille, I., Allinquant, B., Dupont, E., Bouillot, C., Langer, A., Muller, U., & Prochiantz, A. (2004) *Development*, **131**, 2173–2181.
  - 58) Morishita, R., Gibbons, G.H., Horiuchi, M., Ellison, K.E., Nakama, M., Zhang, L., Kaneda, Y., Ogihara, T., & Dzau, V.J. (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 5855–5859.
  - 59) Fisher, L., Soomets, U., Cortés Toro, V., Chilton, L., Jiang, Y., Langel, U., & Iverfeldt, K. (2004) *Gene Ther.*, **11**, 1264–1272.
  - 60) Rousselle, C., Clair, P., Smirnova, M., Kolesnikov, Y., Pasternak, G.W., Rees, A.R., Scherrmann, J., Tamsamani, J., Scientifique, P., & Besse, G. (2003) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **306**, 371–376.
  - 61) Drin, G., Cottin, S., Blanc, E., Rees, A.R., & Tamsamani, J. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 31192–31201.
  - 62) Rousselle, C., Clair, P., Lefauconnier, J.M.M., Kaczorek, M., Scherrmann, J.M.M., & Tamsamani, J. (2000) *Mol. Pharmacol.*, **57**, 679–686.
  - 63) Demeule, M., Currie, J.C., Bertrand, Y., Ché, C., Nguyen, T., Régina, A., Gabathuler, R., Castaigne, J.P., & Béliveau, R. (2008) *J. Neurochem.*, **106**, 1534–1544.
  - 64) Ché, C., Yang, G., Thiot, C., Lacoste, M.C., Currie, J.C., Demeule, M., Régina, A., Béliveau, R., & Castaigne, J.P. (2010) *J. Med. Chem.*, **53**, 2814–2824.
  - 65) Ren, J., Shen, S., Wang, D., Xi, Z., Guo, L., Pang, Z., Qian, Y., Sun, X., & Jiang, X. (2012) *Biomaterials*, **33**, 3324–3333.
  - 66) Kurzrock, R., Gabrail, N., Chandhasin, C., Moulder, S., Smith, C., Brenner, A., Sankhala, K., Mita, A., Elian, K., Bouchard, D., & Sarantopoulos, J. (2012) *Mol. Cancer Ther.*, **11**, 308–316.
  - 67) Kanazawa, T., Taki, H., Tanaka, K., Takashima, Y., & Okada, H. (2011) *Pharm. Res.*, **28**, 2130–2139.
  - 68) Santra, S., Yang, H., Holloway, P.H., Stanley, J.T., & Mericle, R.A. (2005) *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 1656–1657.
  - 69) Liu, L., Venkatraman, S.S., Yang, Y.Y., Guo, K., Lu, J., He, B., Moomchhala, S., & Kan, L. (2008) *Biopolym. Pept. Sci. Sect.*, **90**, 617–623.
  - 70) Wang, H., Xu, K., Liu, L., Tan, J.P.K., Chen, Y., Li, Y., Fan, W., Wei, Z., Sheng, J., Yang, Y.Y., & Li, L. (2010) *Biomaterials*, **31**, 2874–2881.
  - 71) Qin, Y., Chen, H., Zhang, Q., Wang, X., Yuan, W., Kuai, R., Tang, J., Zhang, L., Zhang, Z., Zhang, Q., Liu, J., & He, Q. (2011) *Int. J. Pharm.*, **420**, 304–312.
  - 72) Ke, W., Shao, K., Huang, R., Han, L., Liu, Y., Li, J., Kuang, Y., Ye, L., Lou, J., & Jiang, C. (2009) *Biomaterials*, **30**, 6976–6985.
  - 73) Mann, A.P., Scodeller, P., Hussain, S., Joo, J., Kwon, E., & Gary, B. (2016) *Nat. Commun.*, **7**, 1–11.
  - 74) Lee, J.H., Zhang, A., You, S.S., & Lieber, C.M. (2016) *Nano Lett.*, **16**, 1509–1513.
  - 75) Matsushita, M. & Matsui, H. (2005) *J. Mol. Med. (Berl.)*, **83**, 324–328.
  - 76) Higa, M., Katagiri, C., Shimizu-Okabe, C., Tsumuraya, T., Sunagawa, M., Nakamura, M., Ishiuchi, S., Takayama, C., Kondo, E., & Matsushita, M. (2015) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **457**, 206–212.
  - 77) Ohgaki, H. & Kleihues, P. (2007) *Am. J. Pathol.*, **170**, 1445–1453.

## 著者寸描

## ●圓谷 智之（つむらや ともゆき）

琉球大学大学院医学研究科分子・細胞生理学講座特命助教。

■略歴 2007年日本歯科大学歯学部卒業。14年琉球大学大学院医学研究科博士課程修了。同年より現職。

■研究テーマと抱負 ペプチドを用いて、いまだ治療のない疾患への革新的診断・治療法開発の足がかりを作りたい。それとは別に、ノーベル賞（「イグ」の方）を狙って取れるような研究者になってみたい。

■ウェブサイト <http://www.ryukyu-physiology.info/>

■趣味 自宅で泡盛を寝かせてコースを作ること（但し本稿執筆時、まだ始めて1か月）。

## ●松下 正之（まつした まさゆき）

琉球大学大学院医学研究科分子・細胞生理学講座教授。

■略歴 1995年香川医科大学大学院医学研究科精神神経医学専攻修了。同年ロックフェラー大学ポールグリーンガード研究室研究員。98年岡山大学医学部生理学第一講座助手。2003年同大学院医歯学総合研究科細胞生理学講座講師。05年三菱化学生命科学研究所グループリーダー。09年現職。

■研究テーマと抱負 人工ペプチドを用いた疾患治療法の開発や神経細胞内情報伝達機構の解析。

■ウェブサイト <http://www.ryukyu-physiology.info/>