2025年度（第50回）学術研究振興資金　学術研究報告

| | | | |
|---|---|---|---|
| 学　校　名 | **成　　蹊　　大　　学** | 研究所名等 | |
| 研 究 課 題 | がんを兵糧攻めにするネオ糖タンパク質の創成<br>－糖鎖修飾VEGFの新規合成と機能解明－ | 研 究 分 野 | 理　　学<br>（理 工 系） |
| キーワード | ①糖タンパク質、②糖鎖、③化学合成、④がん、⑤VEGF、⑥抗がん剤、⑦たんぱく質間相互作用、⑧阻害剤 | | |

**○研究代表者**

| 氏　　名 | 所　　属 | 職　　名 | 役　割　分　担 |
|---|---|---|---|
| 岡　　本　　亮 | 成蹊大学理工学部<br>理　　工　　学　　科 | 准　教　授 | 研究代表 統括<br>実験・論文作成 |

**○研究分担者**

| 氏　　名 | 所　　属 | 職　　名 | 役　割　分　担 |
|---|---|---|---|
| 戸 谷　希 一 郎 | 成蹊大学理工学部<br>理　　工　　学　　科 | 教　　授 | 実験・論文作成 |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

# がんを兵糧攻めにするネオ糖タンパク質の創成
## －糖鎖修飾 VEGF の新規合成と機能解明－

### 1. 研究の目的

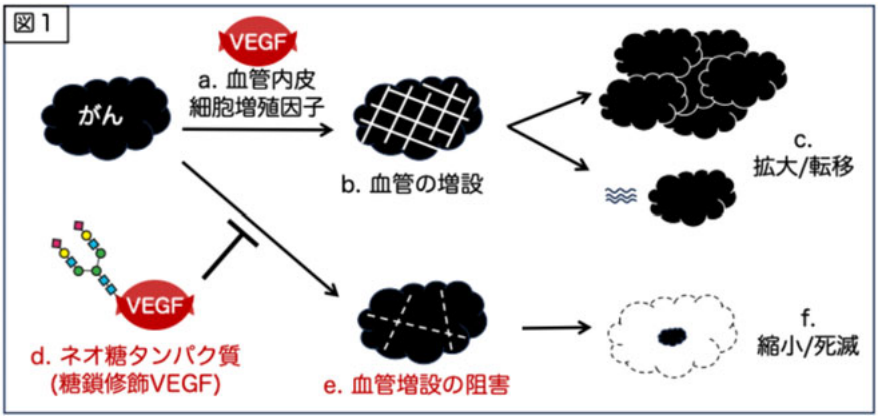
**本研究では、がんに栄養を供給するための血管増設を促すシグナルタンパク質「VEGF」に対して、ヒトの体内にある天然の分子である「糖鎖」で修飾することで機能を逆転させ、血管の増設を阻害できる新しい分子の設計と合成、そして活性評価を行う。これにより、がんへの栄養供給を遮断し兵糧攻めにする新しい糖タンパク質型分子の創成を目指す。**

血管内皮細胞増殖因子 VEGF は、VEGF 受容体と結合することで血管の増設を促すシグナルタンパク質である(図 1，a，b)。がんは自らの異常成長に必要なエネルギーの獲得のために、VEGF を放出し周辺での血管の増設を促す。VEGF は血管内皮細胞上の VEGF 受容体と結合し、二量体化させることで増殖シグナルを細胞に伝達する。このシグナルにより血管が増設されると、がんは栄養を得て拡大するとともに、新しい血管を通って他の部位へと転移してしまう(図 1，c)。この機構を逆手にとって血管の増設を阻害できれば、がんを兵糧攻めにし、がんの死滅や転移阻害が期待できる。

近年、がんによる血管の増設を阻害するために、VEGF と VEGF 受容体の相互作用を阻害し、シグナル伝達を遮断する分子の開発が行われている。従来創薬利用されてきた低分子の有機化合物では、VEGF のようなシグナルを伝達するタンパク質と、その受容体の広い相互作用面を十分に阻害できない。この問題に対し近年、生体高分子である抗体が広く利用されており、VEGF についても、受容体との結合を阻害する抗体医薬が抗がん剤として開発された。一方で抗体医薬は極めて薬価が高く、利用可能な患者に制限がかかるだけでなく、高齢化が進む現代では医療保険システムを破綻させかねない状況となっている。しかし未だ、抗体に替わってタンパク質と受容体の相互作用を強力に阻害できる分子の開発は途上にある。

本研究では、VEGF を糖鎖で修飾することで、血管の増設を阻害するという天然の VEGF とは逆転した新しい機能をもつ、ネオ糖タンパク質の創成を行う(図 1，d，e，f)。糖鎖は、生体内においてタンパク質修飾に利用される天然由来の生体高分子であり、高い生体適合性を有することから、免疫原性や毒性が低い。研究代表者は、化学合成を基盤とした構造活性相関研究により、タンパク質製剤であるインスリンを糖鎖修飾することで、その凝集を抑制し、高度に安定化できることを明らかにした（*J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 1164)。このような糖鎖の機能に着目し、化学合成によって適切に糖鎖修飾した VEGF を創製することで、天然の VEGF と VEGF 受容体との相互作用を阻害し、がん創薬への応用が期待される新しい糖タンパク質型分子を創成できるという着想に至った。

以上の背景のもと本研究では、糖鎖で修飾されたVEGFの新規化学合成法を確立し、得られた糖鎖修飾VEGFの活性評価を実施する。まず新規な糖鎖修飾反応を開発後、糖鎖修飾VEGFタンパク質の合成法を検討する。そして合成した糖鎖修飾型VEGFの活性評価をとおして、糖タンパク質型のVEGF-VEGF受容体相互作用阻害剤の創成を目指す。



## 2. 研究の計画

**糖タンパク質型阻害剤のデザイン**

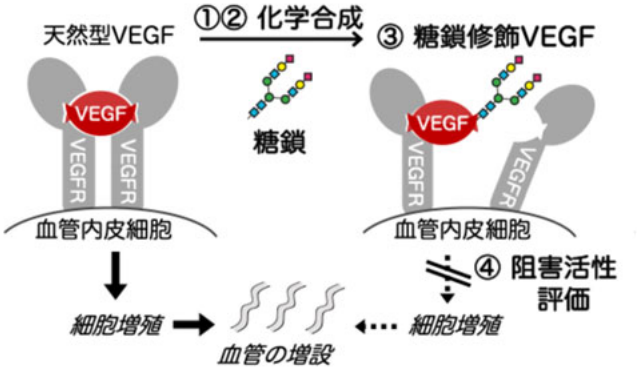
本研究では、VEGF の N 末端または C 末端を糖鎖で修飾することで、VEGF-VEGFR 相互作用を阻害する新規糖タンパク質の創出を目指した。VEGF は点対称に近いホモ二量体構造を形成し、各サブユニットの N 末端および C 末端は VEGFR 結合部位の近傍に位置している（*Structure*, **2017**, *25*, 341-352）。この構造的特徴に着目し、末端にオリゴ糖を導入して立体障害を付与することで、VEGF の VEGFR への結合ならびに受容体二量体化を阻害する新しい分子デザインを考案した。

**研究計画**

本研究では、位置選択的に糖鎖修飾した新規 VEGF の合成法を確立するとともに、その機能評価を行うことを目的とする。この目的を達成するため、以下の 4 項目について、3 年間の研究計画を立案した。

①簡便なペプチド末端糖鎖修飾反応の開発
②ワンポット法による VEGF 合成法の確立
③糖鎖修飾 VEGF の合成
④細胞増殖阻害活性評価と構造活性相関解析

2025 年度は①と②の検討をおこなった。




## 3. 研究の成果

**①簡便なペプチド末端糖鎖修飾反応の開発**

**（進捗結果：おおよそ期待通り、またはそれ以上の結果を得られた）**

**N 末端選択的糖修飾法の開発**

ペプチド N 末端を位置選択的に糖修飾する手法として、N 末端 Cys 残基を標的とした糖修飾反応を開発した。Cys 残基はアルデヒドと反応して環状中間体を形成することから、通常は反応性の低い糖のアノマー位アルデヒド基との反応が可能になれば、ペプチドおよびタンパク質の N 末端 Cys 残基を位置選択的に糖修飾できると考えた。そこで、既報のオキシムライゲーション（*Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7581-7584）を参考に、アミン触媒によるイミン形成を利用した糖アルデヒドの活性化を検討した。その結果、N 末端に Cys 残基をペプチドやタンパク質の位置選択的が糖修飾反応が効率よく進行することを見出した。さらに基質適用範囲を検討したところ、単糖のみならず、11 糖からなるオリゴ糖に対しても本反応が適用可能であることを明らかにした（学術論文準備中）。

**C 末端選択的糖修飾法の開発**

上述のN末端Cys残基選択的糖修飾反応と同様の発想に基づき、ペプチドやタンパク質のC末端ヒドラジド基を、ヒドラゾン結合を介して糖修飾する糖修飾反応を見出した。化学合成によりC末端ヒドラジドを有するペプチドおよびタンパク質の合成が可能である。このヒドラジド基を糖修飾の標的とし、アミン触媒によるイミン形成を利用した糖アルデヒドの活性化を検討した。その結果、種々の糖を用いて、ペプチドC末端ヒドラジド基を位置選択的に糖修飾できることを見出した。

**② ワンポット法によるVEGF合成法の確立**

**（進捗結果：おおよそ期待通り、またはそれ以上の結果を得られた）**

標的とした VEGF は、97 アミノ酸残基からなるポリペプチドを単量体とするタンパク質である。Fmoc 固相合成法により合成を検討した結果、N 末端側 44 残基および C 末端側 53 残基からなるペプチドヒドラジドを、それぞれ良好な純度で合成できることを見出した。今後は、これらの断片を用い、ワンポットでのペプチド連結反応およびフォールディング反応の検討を進め、全長 VEGF の化学合成を目指す予定である。

## 4. 研究の反省・考察

本研究では、糖修飾型 VEGF の合成の鍵となる、N 末端 Cys 残基および C 末端ヒドラジド基の双方に対する位置選択的糖修飾法を確立した。本手法の最大の特徴は、保護基を必要とせず、遊離のペプチドと還元糖を直接反応させるだけで、ペプチド末端選択的な糖修飾を実現できる点にある。糖ペプチドは創薬分野において重要な分子群であり、本研究で標的とする VEGF のみならず、多様な糖ペプチドの迅速な合成基盤として幅広い応用が期待される。今後は、本手法を血管新生に関与する他のタンパク質にも展開し、糖修飾を利用した新たな阻害剤の開発も試みる予定である。

また、VEGF の化学合成については、全長合成の原料となる長鎖ペプチド断片の合成を完了した。一般に、Fmoc 固相ペプチド合成法では 50 残基程度のポリペプチドを高純度で合成することは容易ではない。そのため、100 残基を超えるポリペプチドの化学合成では、30 残基程度の短いペプチド断片を複数調製し、段階的なペプチド連結反応によって全長を構築する手法が一般的である。これを踏まえ、本研究でも申請者らが確立したワンポット法（*Chem. Comm.* **2023**, *59*, 13510）を基盤とし、3 つのペプチド断片を用いた VEGF 全長合成を計画していた。しかし、合成条件を最適化した結果、VEGF を構成する 44 残基および 53 残基からなる長鎖ペプチド断片を十分な純度で調製できることを見出した。これにより、全長 VEGF をわずか 2 つのペプチド断片から構築できる見通しが得られ、当初計画よりも合成工程の大幅な簡略化が期待される。

## 5. 研究発表

(1) 学会誌等

なし（2026年度、研究継続中）

(2) 口頭発表

眞木準平, 岡本亮. 無保護ペプチドの糖鎖修飾を志向した *N,S*-グリコシル化反応の開発. 第 44 回日本糖質学会年会, 弘前, 2025 年 10 月.

(3) 出版物

なし（2026年度、研究継続中）