

mRNA ディスプレイ法により選択された
抗ウイルスペプチドおよび薬剤標的タンパク質の
作用機序の解明

2025 年度

井手 真由子

主 論 文 要 旨

No.1

報告番号	甲 ㉞ 第	号	氏 名	井手 真由子
主 論 文 題 名： mRNA ディスプレイ法により選択された抗ウイルスペプチドおよび薬剤標的タンパク質の作用機序の解明				
(内容の要旨) 本論文では、様々な標的分子に結合するペプチドやタンパク質を取得する手法の一つである mRNA ディスプレイ法によってセレクションされた、B 型肝炎ウイルス (HBV) の感染を阻害するペプチド (2～4 章)、および、低分子化合物医薬品の標的タンパク質 (5 および 6 章) について、それぞれの作用機序の解明を行った。 第 1 章は緒言であり、mRNA ディスプレイ法の原理や従来法との優位性について述べるとともに、その応用例として、HBV 治療薬の開発研究、および、薬剤標的タンパク質の探索研究の背景について説明し、本研究の目的を示している。 第 2 章では、HBV の感染を維持する宿主タンパク質 DOCK11 に対して、mRNA ディスプレイ法によってセレクションされた結合ペプチドとの配列類似性から、DOCK11 と Ack1 との相互作用が新規に明らかになった。また、肝細胞特異的受容体に対する一本鎖抗体を融合した DOCK11 結合ペプチドは、肝細胞選択的に細胞内に送達され、DOCK11 が関与する EGFR のエンドサイトーシスおよび DNA 修復経路を阻害することで、HBV の感染を抑制することがわかった。 第 3 章では、同様に HBV 感染を維持する宿主タンパク質 DENND2A に結合するペプチドとの配列類似性から、DENND2A が重要な免疫系シグナル伝達経路に寄与する SASH1 と相互作用することを見出した。細胞内に送達した DENND2A 結合ペプチドを用いた検証の結果、HBV が DENND2A を介してこの経路を抑制し、免疫系を回避することがわかった。 第 4 章では、肝細胞への HBV の接着に寄与する宿主タンパク質 LIPG に結合するペプチドに関する検証結果から、LIPG と同じく細胞膜に局在する NTN1 が LIPG と結合することがわかった。NTN1 およびその配列をもとに作製した LIPG 結合ペプチドは、LIPG のリパーゼ活性には影響せず、HBV の肝細胞への接着を阻害することで HBV 感染を抑制することが示唆された。 第 5 章では、mRNA ディスプレイ法によって同定された、既存の免疫抑制剤 FK506 の副作用における標的候補タンパク質 Spartin の作用機序の解析を行った。検証の結果、FK506 が Spartin に結合することで脂質代謝の異常が生じ、中枢神経障害を引き起こしている可能性を見出した。 第 6 章では、抗がん剤として開発されたアニリノキナゾリン誘導体 Q15 の標的タンパク質として同定された MIP-2A の作用機序の解析を行った。その結果、Q15 が MIP-2A を介してがん原遺伝子 c-Myc の発現を抑制することによって、アポトーシスを誘導することが示唆された。 第 7 章では、本論文を総括し、HBV 治療薬の開発において本研究が明らかにした新たな疾患標的を論じるとともに、薬剤標的タンパク質の探索における mRNA ディスプレイ法の優位点を述べ、本研究の意義を論じている。 以上、本研究は、HBV の感染を抑制するペプチド医薬の開発および作用機序の解明や、既存の低分子化合物医薬品の作用機序の解明に、mRNA ディスプレイ法がきわめて有用な手法であることを示した。				

Thesis Abstract

No. _____

Registration Number	☐ "KOU" ☒ "OTSU" No. _____ *Office use only	Name	IDE, Mayuko
Thesis Title			
The mechanisms of action of antiviral peptides and drug-target proteins selected by mRNA display			
Thesis Summary			
mRNA display is a powerful method for selecting peptides/proteins that bind to desired target molecules from a large library of mRNA-peptide/protein conjugates. In this study, I elucidated the mechanisms of action of peptides that inhibit hepatitis B virus (HBV) infection (Chapters 2-4) and target proteins of small-molecule drugs (Chapters 5 and 6) obtained by mRNA display. Chapter 1 introduces the principle of mRNA display and its advantages over conventional methods. It also explains the background of research on HBV therapeutics and identification of drug-target proteins and states the objective of this study. In Chapter 2, the interaction between DOCK11, a host protein maintaining HBV infection, and Ack1 was found based on sequence similarity of the DOCK11-binding peptide selected by mRNA display. The DOCK11-binding peptide fused with a single-chain antibody against a hepatocyte-specific receptor was selectively delivered into hepatocytes and inhibited the DOCK11-mediated EGFR endocytosis and DNA repair system, leading to the suppression of HBV infection. In Chapter 3, DENND2A, another essential host protein for HBV infection, was similarly found to interact with SASH1, a key regulator of the immune signaling pathway. Verification with the intracellularly delivered DENND2A-binding peptide showed that HBV suppresses this pathway through DENND2A and evades the immune response. In Chapter 4, verification of peptides binding to LIPG, a host protein important for HBV attachment to hepatocytes, revealed an interaction between LIPG and NTN1, which localizes to the cell membrane like LIPG. NTN1 and the LIPG-binding peptides designed based on a sequence from NTN1 did not affect the lipase activity of LIPG, suggesting that they inhibit HBV infection by blocking HBV attachment. In Chapter 5, the mechanism of the side effect of the existing immunosuppressant drug FK506 was analyzed through spartin, a candidate target protein identified by mRNA display. The results suggest that FK506 induces neurotoxicity by binding to spartin and inducing abnormal lipid metabolism. In Chapter 6, the mechanism of action of Q15, an anilinoquinazoline derivative developed as an anticancer drug, was analyzed with focus on MIP-2A, which was identified as a target protein. The results suggest that Q15 induces apoptosis by suppressing the expression of proto-oncoprotein c-Myc through the interaction with MIP-2A. Chapter 7 summarizes this study, focusing on the newly identified therapeutic targets for HBV therapeutics and the advantages of mRNA display in the identification of drug-target proteins. In summary, this study demonstrated that mRNA display is a useful technique for the development and elucidating the mechanism of action of peptide and small-molecule drugs.			