

人工臓器材料としてのペプトイド

関西大学化学生命工学部化学・物質工学科

奥野 陽太

Yota OKUNO



1. はじめに

生体と触れる、そして生体の一部となる人工臓器においては、用いる材料の特性が極めて重要となる。これまでに先人達が様々な高分子材料を開発し、力学的な特性からその生体との相互作用に至るまで研究を行ってきた。特に、生体と材料の架け橋となる材料表面の分子設計は最も重要であり、革新的な材料の登場は、これまでにない高性能な人工臓器の開発に直結する。したがって、新しい材料を開発しその特性を正確に理解していくことが、次の革新的な材料創成への道である。本稿では「ペプトイド」と呼ばれる人工アミノ酸の重合体について、近年の研究成果の進歩を紹介する。

2. ペプトイドの性質と一般的な合成方法

ペプトイドはペプチドに類似した構造の人工ポリマーで、*N*-置換グリシンの重合体の総称である(図1)。ペプチドは主鎖アミド基間での水素結合に由来する二次構造を取るのに対して、ペプトイドは側鎖がアミド窒素上に結合しており主鎖に水素結合用ドナーを持たないため、アミド結合に由来する二次構造を取らない¹⁾。したがって、ペプトイドの物理化学的な性質は主に主鎖の置換基の構造によって決定される。例えば、ペプトイドのコンフォメーションも側鎖の種類に大きく依存する。ペプトイドの一種とも捉えられるポリプロリンも、主鎖の水素結合ではなく特異的な側鎖の歪み構造のためにプロリンヘリックスという特徴的な構造を取ることはよく知られている。このように、ペ

プトイドは側鎖でコンフォメーションを制御し得る一方で、水素結合によるフォールディングや分子間での凝集を引き起こさないため、ペプチドに比べて汎用有機溶媒への溶解性が高く、この点で取り扱い上有利である。さらに、ペプトイドはペプチド類似主鎖骨格を有しているにもかかわらず、タンパク質分解酵素に対する耐性が高いことが知られており、このような酵素が存在する環境での使用において有利であると考えられる。

このように、ペプチドと類似した点と異なる点を併せ持つペプトイドであるが、その合成にあたってはペプチド化学で培われた手法が活用できる。汎用される合成手法は、Zuckermannらが開発したsolid-phase submonomer synthesis (SSPS) 法と*N*-substituted glycine *N*-carboxy anhydride (NNCA) の開環重合(以下、NNCA重合法)である(図2a)。SSPS法はペプチド固相合成と同様に、固相担体にブロモ酢酸と側鎖となるアミンを1つずつ導入する手法であり、完全に配列を制御したペプトイドの合成が可能である。しかし、固相表面での合成であるため伸長できる長さに制限があり、一般的には50残基程度が限界とされている。これに対してNNCA重合法では、*N*-置換グリシンからNNCAの合成を行う(図2b)。このNNCAを含む溶液にアミン等の開始剤を添加すると、アミノ酸の*N*-カルボキシ無水物 (NCA) 重合と同様にリビング性を有する機構で重合が進行し、ペプトイドが得られる。後ほど紹介するが、近年の進歩によりNNCA重合法では1,000残基を超えるペプトイドの合成も可能となっている。また、複数の種類のNNCAをあらかじめ添加しておいたり、順次添加したりすることで、ランダムやブロックといった配列を有するペプトイドの合成も可能である。その一方で、SSPS法とは異なり配列の厳密な制御は不可能であるため、必要に応じた使い分けが必要である。

■著者連絡先

関西大学化学生命工学部化学・物質工学科

(〒564-8680 大阪府吹田市山手町3-3-35)

E-mail: y_okuno@kansai-u.ac.jp

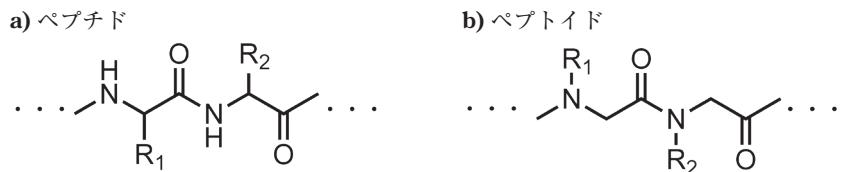


図1 ペプチドとペプトイドの分子構造の違い

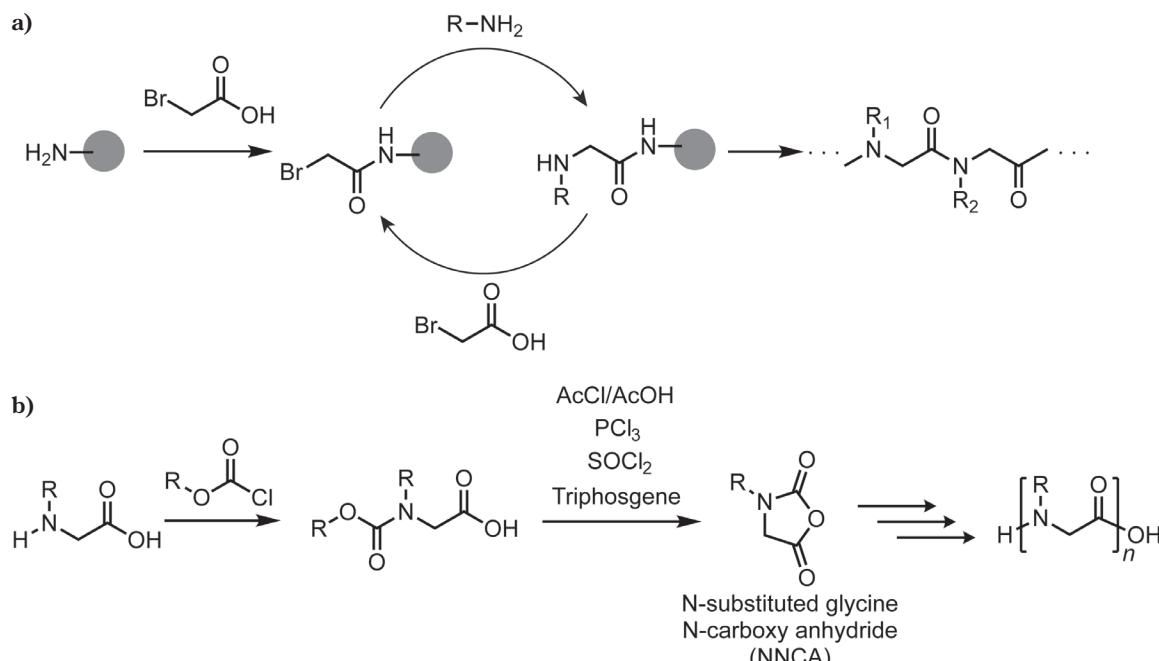


図2 ペプトイドの合成方法

a) SPSSによる配列が規定されたペプトイドの合成。 b) NNCA重合法による高分子量ペプトイドの合成。

3. ポリサルコシンと合成技術の進展

ポリサルコシン [poly (sarcosine), PSAR] は poly (*N*-methyl glycine) の別名であり、ペプトイドの中でも最も応用が期待され、研究が行われているポリマーである。前述の通り PSAR の側鎖はメチル基であるため、PSAR は完全に親水性のポリマーである。さらに、その分子構造内に電荷を持たないノニオン性であること、重合ユニットであるサルコシンは体内に存在する内因性アミノ酸であることからポリエチレンギリコール (PEG) 代替ポリマーとしての研究が行われている²⁾。PSAR の合成にあたっては NNCA 重合法が頻用される³⁾。筆者らもこれまでにアミノ基を開始剤として、厳密に脱水したジメチルホルムアミド (DMF) 中で sarcosine NCA (SAR-NCA) を重合することで糖鎖と PSAR、他のペプトイドと PSAR のブロックコポリマーを合成してきた。この方法では開始剤とモノマーである SAR-NCA の割合を調整することで、100 程度までの任意の重合度を有する PSAR を、分散度 1.05 程度の狭小な分子量分布で合成するこ

とは可能であるものの、それ以上に重合度を上げるのは難しかった。近年、Nagorna らはこれに対して、DMF 中で副反応が生じていることを突き止め、重合溶媒としてジクロロメタン (DCM) を用いれば、重合度 400 までリビング性を保ったまま PSAR を合成できることを報告している⁴⁾。

ここ数年は有機触媒を用いることで、重合速度と分子量分布をより精密に制御した PSAR 重合の研究も活発に行われている。特に注目すべき最近の研究として、Wang らはここ 2 年ほど散発的に報告されていたカルボン酸触媒による NNCA 重合について詳細な報告を行った⁵⁾。彼らは、アミンを開始剤とした NNCA 重合時にカルボン酸を追加するだけの極めて簡便な手法で、SAR-NCA の重合速度を無触媒時の 50 倍に加速して重合度 4,000 (284 kDa) までの PSAR を、分子量分散度 1.01 以下と極めて狭小な分子量分布で合成することに成功し、最大重合度 8,000 (567 kDa) まで PSAR を伸長可能であることを示した。この重合度は、それまでに報告されていた PSAR の最大重合度の 16 倍に達する。第 1 原理計算と核磁気共鳴分光法による解析から、

単純なカルボン酸が開始剤のSAR-NCAへの求核攻撃、結合開裂、脱炭酸の3ステップを触媒していることを示した。この触媒メカニズムは、これまで実験的に示されてきた酸触媒の報告をより包含するものである⁶⁾。例えば、米国食品医薬品局(FDA)に承認されているPEG化ポリマーの分子量は40~80 kDaであり、PSARで同等の分子量を得ようとすると重合度1,000程度が必要である⁷⁾。すなわち、この研究により初めてPSARをPEGと同程度以上の分子量で安定に合成することが可能となった。

PSARを合成する際のもう1つの難点は、水の除去が必要なことである。PSARは水溶性ポリマーであるが、そのモノマーであるSAR-NCAは水によって加水分解してサルコシンとなり、生成したサルコシンが開始剤となって重合システムが破綻する。したがって、SAR-NCAの合成とPSARの重合は厳密に脱水された環境で行う必要があり、従来のSAR-NCA重合においてはグローブボックスやシュレンクテクニックなどの高度な水除去下で行われてきたが、工業化においては重大な問題である。この課題に対してTianらは、湿潤条件下でNCAを10 gスケールで安定に合成する手法を提案している⁸⁾。Tianらは、NCAの水による分解がNCA合成時に副生する塩化水素(HCl)存在下で大幅に加速されることを発見し、HClと高速反応するプロピレンオキシドをNCA合成系に添加することで、特段の水除去プロセスを経ていない汎用有機溶媒を用いても、SAR-NCAを良好な収率で合成可能であることを示した。ただし、サルコシンに適用するためには、N端の事前の保護が必要であり、この点は今後改善が必要であろう。

他の興味深い研究として、Wuらは開始剤を従来のアミンではなくアンモニウム塩となったカルボン酸を用いることで、水含有有機溶媒中でもNCA重合が進行することを示した⁹⁾。カルボン酸使用開始時のNCA重合の成長末端は、常にアンモニウムイオンとのイオン対を形成しているため、このイオン対の距離を調整する観点から、ジメチルスルホキシド(DMSO)が最適な溶媒であることも見出した。この報告は前述したようなアミン開始型に適する溶媒とは全く異なる点は注目に値する。さらに、DMSOと水の容量比が50:50である含水溶媒中ですら、良好な量論比で重合が進行することも示された。このように、厳密な脱水条件を必要としない重合システムは、今後より大規模に合成を行っていくうえで非常に重要な知見となることが期待される。

4. 人工臓器材料としてのペプトイド

ここ数年のペプトイドの応用分野で最も注目されている

のは、PEG代替ポリマーとしての活用である。新型コロナウイルス感染症(COVID-19)に対するmRNAワクチンで抗PEG抗体や関連するアレルギー反応が課題となってから、多くの研究者によってPEGの代わりにPSARを用いたナノ粒子が検討されている¹⁰⁾。Sonらは、ジパルミトイロホスファチジルエタノールアミン(DPPE)の親水部からPSARを伸長したPSAR化脂質を含むリポソームをマウスに静注投与し、血中滞留性と2回目投与後の血中からのクリアランス加速を評価した¹¹⁾。同等の分子量を有するPEG化脂質と比較した場合、リポソームとしての物理化学的性質はPEGとPSARではほとんど変化がなかったものの、PSAR化脂質を含むリポソームの場合のみ血中滞留性が改善し、2回目投与後もクリアランスの加速がみられなかつた。Bleherらは、PEG化リポソームで課題となっている補体活性化が、PSAR化リポソームでは低減されることを報告している¹²⁾。これらのPSAR化リポソームの特性を活かし、Biらは、PSAR化脂質を含むリポソームとmRNAを複合化して細胞への送達を行い、PSAR化脂質がPEG化脂質と同等のトランسفェクション能を有することを示した¹³⁾。またTanらは、ホタルルシフェラーゼタンパク質をコードしたmRNAをマウスに送達する実験を行い、PSAR化リポソームを用いた場合では肝臓と脾臓に有意にmRNAを送達できることを示した¹⁴⁾。なおTanらは、先の実験の中でPSARはほとんど赤血球を溶血させないことも確認している。このようにPSAR修飾ナノ粒子は、今後PEGに代わる材料となることが期待されている。

ナノ粒子だけでなく、PSARを用いた基材表面の改質に関する研究も行われている。先駆的な研究として、Lanらは、3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン(DOPA)とリシンのオリゴマーを末端に有するPSARを合成して基材表面にPSARグラフト鎖を作製し、その防汚性能を評価した¹⁵⁾。その結果、表面PSAR鎖密度が依存的にフィブリノーゲンや細胞の吸着が抑制し、実験環境下で緑膿菌を7週間以上にわたって付着抑制できることを明らかにした。一方、筆者らはPSARを基材に直接結合させるのではなく、PSARを表面に有する二次元状分子集合体ナノシートを作製し、これをパッチワークのように用いて不織布の纖維表面をPSAR鎖で被覆した¹⁶⁾。さらに、不織布纖維表面に固定化された分子集合体表面のPSARを足場として抗CD25抗体を固定化することで、この不織布フィルタが制御性T細胞のみを選択的に除去可能なアフェレシスカラムとして活用できることを示した。Haoらは透析等で使用されるポリスルホン膜に、PSARとポリリジンのランダム共重合体を修飾した¹⁷⁾。この基材の使用ではPSAR修飾の効果によっ

て血小板の接着率が著しく減少し、結果として血液凝固時間を見延長できた。このようにPSARは、血液と触れる界面の構築という観点からも今後の応用が期待される。

ここまで、重合によって作製したPSARを中心に話を進めてきたが、前述したようにペプトイドは配列が完全に定まった固相合成も可能である。近年、Saraらはカチオン性側鎖を有するペプトイドの配列探索を行い、特定のペプトイドが多剤耐性緑膿菌やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の増殖を効果的に阻害できることを示した¹⁸⁾。さらにこの抗菌ペプトイドは、タンパク質分解酵素に対して耐性があることも確認している。これを受けSaraらは抗菌ペプトイドをコンタクトレンズ表面に結合させ、角膜炎の原因となる多剤耐性緑膿菌の付着抑制能を評価した¹⁹⁾。その結果、抗菌ペプトイドが結合されたコンタクトレンズは角膜上皮細胞に対して無毒であった一方で、緑膿菌の付着を極めて効果的に抑制できた。この効果は抗菌ペプチドであるメミリン誘導体よりも優れており、湿熱滅菌後もその効果が維持されていた。このようなペプトイドの配列設計に伴う機能発現や強化、そしてペプトイド特有のタンパク質分解酵素に対する安定性は、今後の人工臓器の表面設計の幅を広げるものとなることが期待される。

5. おわりに

本稿では、有機材料としてペプトイドに焦点を当て、近年大幅な進歩がみられた合成法から人工臓器に関連する研究まで、特に2024～2025年に報告されたものを中心に紹介した。ここ最近のペプトイドの重合技術の進歩は著しく、既存の生体適合性ポリマーと同等以上に制御された合成が可能となってきた。このように、ペプトイドは新たな材料として研究が盛んに行われており、実際に人工臓器の材料の一部として活用した際の実使用環境での特性や長期安定性などについては、今後より研究が進んでいくものと思われる。新たな材料の開発は、これまでにない機能を持った人工臓器の可能性を開くと信じており、ペプトイドを用いた人工臓器が実用化までたどり着けることを願いながら本稿を終えたい。

本稿の著者には規定されたCOIはない。

文 献

- 1) Okuno Y, Iwasaki Y: Well-Defined Anisotropic Self-Assembly from Peptoids and Their Biomedical Applications. *ChemMedChem* **18**: e202300217, 2023
- 2) Kabil MF, Azzazy HME, Nasr M: Recent progress on polySarcosine as an alternative to PEGylation: Synthesis and biomedical applications. *Int J Pharm* **653**: 123871, 2024
- 3) Ballard DGH, Bamford CH: Studies in Polymerization-VII. The Polymerization of N-Carboxy- α -Amino Acid Anhydrides. *Proc. R. Soc. London A* **223**: 495-520, 1954
- 4) Nagorna Z, Barz M, Van Guyse JFR: Toward Quantitative End-Group Fidelity in the Synthesis of High Molecular Weight Polysarcosine. *ACS Macro Lett* **14**: 532-7, 2025
- 5) Wang S, Lu MY, Wan SK, et al: Precision Synthesis of Polysarcosine via Controlled Ring-Opening Polymerization of N-Carboxyanhydride: Fast Kinetics, Ultrahigh Molecular Weight, and Mechanistic Insights. *J Am Chem Soc* **146**: 5678-92, 2024
- 6) Sieffker D, Williams AZ, Zhang D: Organic Acid Promoted Controlled Ring-Opening Polymerization of α -Amino Acid-Derived N-Thiocarboxyanhydrides (NTAs) toward Well-Defined Polypeptides. *ACS Macro Lett* **7**, 1272-7, 2018
- 7) Hou Y, Lu H: Protein PEPylation: A New Paradigm of Protein-Polymer Conjugation. *Bioconjug Chem* **30**: 1604-16, 2019
- 8) Tian ZY, Zhang Z, Wang S, et al: A moisture-tolerant route to unprotected α / β -amino acid N-carboxyanhydrides and facile synthesis of hyperbranched polypeptides. *Nat Commun* **12**: 5810, 2021
- 9) Wu Y, Chen K, Wu X, et al: Superfast and Water-Insensitive Polymerization on α -Amino Acid N-Carboxyanhydrides to Prepare Polypeptides Using Tetraalkylammonium Carboxylate as the Initiator. *Angew Chem Int Ed Engl* **60**: 26063-71, 2021
- 10) Berger M, Degey M, Curnel A, et al: The benefits of emerging alternatives to PEG for lipid nanoparticle RNA delivery systems. *Nanomedicine (Lond)* **10**: 1-3, 2025
- 11) Son K, Ueda M, Taguchi K, et al: Evasion of the accelerated blood clearance phenomenon by polysarcosine coating of liposomes. *J Control Release* **322**: 209-16, 2020
- 12) Bleher S, Buck J, Muhl C, et al: Poly(Sarcosine) Surface Modification Imparts Stealth-Like Properties to Liposomes. *Small* **15**: e1904716, 2019
- 13) Bi D, Unthan DM, Hu L, et al: Polysarcosine-based lipid formulations for intracranial delivery of mRNA. *J Control Release* **356**: 1-13, 2023
- 14) Tan R, Liu Z, Chen Y, et al: Influence of Structural Variations in Polysarcosine Functionalized Lipids on Lipid Nanoparticle - mediated mRNA Delivery. *J Polym. Sci.* **62**: 4908-20, 2024
- 15) Lau KH, Ren C, Sileika TS, et al: Surface-grafted polysarcosine as a peptoid antifouling polymer brush. *Langmuir* **28**: 16099-107, 2012
- 16) Okuno Y, Yamazaki Y, Fukutomi H, et al: A Novel Surface Modification and Immobilization Method of Anti-CD25 Antibody on Nonwoven Fabric Filter Removing Regulatory T Cells Selectively. *ACS Omega* **5**: 772-80, 2020
- 17) Hao K, Cui R, Fang L, et al: Lysine-Sarcosine PiPo Functionalized Surface with Excellent Hemocompatibility. *ACS Appl Mater Interfaces* **15**: 29700-12, 2023
- 18) Sara M, Yasir M, Kalaiselvan P, et al: The activity of antimicrobial peptoids against multidrug-resistant ocular pathogens. *Cont Lens Anterior Eye* **47**: 102124, 2024
- 19) Sara M, Chakraborty S, Chen R, et al: The effect of immobilisation strategies on the ability of peptoids to reduce the adhesion of *P. aeruginosa* strains to contact lenses. *Exp Eye Res* **250**: 110149, 2025