

塩基性ペプチドの血管および腸管での生理作用に関する研究

小林, 優多郎

<https://hdl.handle.net/2324/1500789>

出版情報：九州大学, 2014, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名 : 小林 優多郎

論文題目 : 塩基性ペプチドの血管および腸管での生理作用に関する研究

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

生活習慣病 (高血圧症、動脈硬化症、糖尿病など) の罹患者数は年々増え続けており、その予防が喫緊の課題とされる。これまでの研究により、いくつかの食品成分に疾病を予防する作用があることが示され、疾病予防を担う特定保健用食品 (トクホ) に関しても活発な開発が行われている。疾病予防作用を示す食品成分の中で、低分子ペプチドについては高血圧予防が中心であり、作用機構はレニン-アンジオテンシン系での ACE (アンジオテンシン I 変換酵素) 阻害作用とされる。他方、塩基性アミノ酸残基を含む低分子 (ジ及びトリ) ペプチドが血管内皮非依存的に血管の伸縮性を改善することが報告されている。さらに、動脈硬化発症モデル (ApoE 欠損) マウスに対する塩基性ジペプチドの長期間投与によって大動脈血管での病変形成進展を直接的に阻害することが報告されている。これらの知見を勘案すると、塩基性低分子ペプチドは直接的に血管に作用し、炎症血管の機能を改善していることが示唆されるが、組織での詳細な作用機構については不明であった。そこで、本研究では血管伸縮を担う平滑筋での塩基性ペプチドの生理作用を明らかにするとともに、炎症腸管を用いて抗炎症作用についても解明を試みた。

まず、塩基性ペプチド Trp-His (WH) の血管弛緩メカニズムを解明するために、ラット大動脈血管由来平滑筋細胞 (VSMC) を用いて生理機能の解明を行った。電位依存性 L 型 Ca^{2+} チャンネル (VDCC) 開口剤 Bay K 8644 刺激による細胞内 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) 上昇に対する WH の抑制率は Ang II (アンジオテンシン II) 刺激時と比較して約 4 分の 1 であったことから、Ang II 刺激 Ca^{2+} 収縮シグナル系における WH の $[Ca^{2+}]_i$ 制御機構についてさらに検討を行った。その結果、WH はカルモジュリンキナーゼ II (CaMK II) / VDCC リン酸化系を阻害することで血管伸縮性を改善していることを初めて明らかにした。

次いで、塩基性ペプチド WH を用いた炎症性腸疾患 (IBD) 予防作用の検証を試みた。その結果、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発性大腸炎モデルマウスに対する WH の経口投与 (14 日間: 100 mg/kg/day) によって、結腸における種々の炎症性サイトカイン (TNF- α 、IL-6、IFN- γ 、IL-1 β 、MCP-1) の発現低下とともに、DSS 誘導性の体重減少、クリニカルスコア増大、結腸短小化の有意な抑制が認められた。そこで、腸上皮細胞株 (HT-29 細胞) を用いて作用機序の解明を行ったところ、WH は TNF- α 刺激による炎症性サイトカイン (IL-8) 産生を有意に抑制する一方で、Bay K 8644 刺激により WH の IL-8 産生抑制作用が減弱することが判明した。

塩基性アミノ酸を多く含む卵白タンパク質のひとつであるオボトランスフェリン (OVT) を用いた IBD 予防作用の検証を試みた。その結果、DSS 誘発性大腸炎モデルマウスに対する OVT の経口投与 (14 日間: 50 あるいは 250 mg/kg/day) によって、DSS 誘発性大腸炎症状の明らかな抑制とともに、結腸における炎症性サイトカインの発現低下が認められた。さらに、好中球浸潤に関与する IL-17A 発現の有意な抑制および病変形成 (好中球浸潤、組織構造の破壊) の有意な抑制が認められた。本研究により OVT が結腸において抗炎症作用を発現し、病変形成進展を抑制することを初めて明らかにした。

以上の研究により、塩基性ペプチドが炎症組織に対して直接的な改善作用を示すことが明示された。これら成果は、今後の低分子ペプチド科学の進展を予見させる成果であった。