

# Study on the intestinal absorption of oligopeptides by electrospray ionization-mass spectrometric assay

申, 偉琳

<https://hdl.handle.net/2324/4784688>

---

出版情報 : Kyushu University, 2021, 博士 (農学), 課程博士  
バージョン :  
権利関係 :

氏名	申 偉琳		
論文名	Study on the intestinal absorption of oligopeptides by electrospray ionization-mass spectrometric assay (エレクトロスプレーイオン化質量分析法を用いたオリゴペプチドの腸管吸収に関する研究)		
論文調査委員	主査	九州大学	教授 松井 利郎
	副査	九州大学	教授 古瀬 充宏
	副査	九州大学	准教授 田中 充

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、筋萎縮抑制作用を有するペントペプチド (DGYMP および DGpYMP) をはじめとするオリゴペプチドを高感度で検出するためのエレクトロスプレーイオン化 (ESI) 特性を明らかにするとともに、液体クロマトグラフ-質量分析 (LC-MS) 法を用いてオリゴペプチドの腸管吸収挙動を解明したものである。

まず、グリシンおよびサルコシンからなる 5 残基までのモデルペプチドについて 4 種のアミン誘導体化反応 (2,4,6-trinitrobenzene sulfonate, 3-aminopyridyl-*N*-hydroxysuccinimidyl carbamate, *N*-succinimidyl 7-methoxycoumarin-3-carboxylate, naphthalene-2,3-dialdehyde) を行い、誘導体化後のペプチドについて、鎖長、誘導体構造と ESI-MS 検出強度の関係を検討している。その結果、誘導体の種類にかかわらず誘導体化処理によってジおよびトリペプチドの ESI-MS 検出強度は増大するが、テトラ以上のオリゴペプチドでは誘導体化処理によって MS 検出強度は低下することを明らかにしている。そこで、誘導体化オリゴペプチドの ESI-MS 検出性について分子表面積を指標として検討を行ったところ、MS 感度はイオン化対象分子の気相での表面積に依存している (最大 MS 検出領域: 250–300 Å<sup>2</sup>) との知見を得るに至っている。

次いで、筋萎縮抑制作用を有するペントペプチドの腸管吸収性を評価することを目的として、Caco-2 細胞層を用いたペプチド透過試験を実施している。その結果、ペントペプチドはそのままの形で Caco-2 細胞層を透過すること、透過経路は細胞間隙タイトジャンクションであることを突き止めている (見かけの透過係数  $P_{app}$ : DGYMP,  $7.0 \pm 0.8 \times 10^{-7}$  cm/sec; DGpYMP,  $3.5 \pm 1.2 \times 10^{-7}$  cm/sec)。Sprague-Dawley 系ラットを用いた単回経口投与試験 (100 mg/kg) を実施し、DGYMP の一部は GYMP および MP へと分解されるものの、DGYMP としてもラット血中から検出され ( $C_{max}$ :  $2.78 \pm 0.17$  pmol/mL-plasma,  $t_{max}$ : 15 min,  $AUC_{0-60 \text{ min}}$ :  $100.35 \pm 23.40$  pmol·min/mL-plasma,  $t_{1/2}$ : 28 min)、ペントペプチドであってもそのままの形で体内吸収されるとの初めての知見を得ている。さらに、DGpYMP は腸管吸収過程で脱リン酸化反応を受け、DGYMP として腸管吸収されることを明らかにしている。

以上要するに、本研究はペプチドの MS 検出感度を向上させるための ESI 特性を明らかにするとともに、LC-ESI-MS 法に基づくオリゴペプチドの腸管吸収挙動を解明したものである。また、本研究で明らかにした ESI 特性をもとに、他のオリゴペプチドについても MS 検出感度の向上が期待されることから、食品分析学および食品機能学の発展に寄与する価値ある業績と認める。

よって、本研究者は博士 (農学) の学位を得る資格を有するものと認める。