

Study on the adiponectin receptor agonistic di- and tripeptides by in vitro and in silico analyses

イ, ユナ

<https://hdl.handle.net/2324/5068273>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (農学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名	イ ユナ Lee Yuna		
論 文 名	Study on the adiponectin receptor agonistic di- and tripeptides by <i>in vitro</i> and <i>in silico</i> analyses (<i>in vitro</i> および <i>in silico</i> 分析によるアディポネクチン受容体アゴニストジ・トリペプチドに関する研究)		
論文調査委員	主 査	九州大学	教授 松井 利郎
	副 査	九州大学	名誉教授 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

糖尿病は世界的に増加傾向にあり、なかでもインスリン非依存型糖尿病は運動不足や過食などの生活習慣の乱れに起因しているとされ、その予防や改善は喫緊の課題となっている。本論文は、インスリンとは独立して組織への糖の取り込みを担うアディポネクチンに着目し、アディポネクチン受容体 (AdipoR1) に対するアゴニスト作用を示す成分をペプチドに求め、その構造と作用機構を解明したものである。

まず、AdipoR1 アゴニストとして設計された合成薬剤である AdipoRon (2-(4-benzoylphenoxy)-N-[1-(phenylmethyl)-4-piperidinyl]acetamide) 構造をもとに芳香族および環状アミンを有するアミノ酸からなる 15 種類のジペプチドを合成し、ラット由来骨格筋細胞 (L6 細胞) を用いた糖取り込み試験を実施している。蛍光標識グルコースである 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino]-2-deoxyglucose の蛍光強度変化 (Ex/Em: 485 nm/535 nm) をもとに L6 細胞への取り込み量を評価したところ、Tyr-Pro (10 μ M, 0.5 h) によって有意に糖の取り込みが促進されることを明らかにしている。AdipoR1 をノックダウンした L6 細胞を用いて糖取り込み試験を実施したところ、その作用が消失したことから、Tyr-Pro は AdipoR1 を介して作用発現していると推察している。なお、逆配列構造である Pro-Tyr では取り込み作用は認められなかったことから、本作用はペプチド配列特異的であると結論している。さらに、Tyr-Pro を基本骨格として各種のトリペプチドを合成したところ、C末端に Gly および Pro を導入したトリペプチドで Tyr-Pro の約 10 倍、モデルとした AdipoRon とほぼ同等の取り込み活性を示すことを明らかにしている。なお、Tyr-Pro あるいは Tyr-Pro-Pro による糖取り込み促進作用は、AdipoR1 刺激による AMP 活性化プロテインキナーゼの活性化によるグルコーストランスポーター4 の細胞膜へのトランスロケーション量の増大によるものと結論付けている。

次いで、分子動力学 (MD) シミュレーション法によって AdipoR1 とリガンド間に働く分子間相互作用を評価し、Tyr-Pro および Tyr-Pro-Pro の AdipoR1 に対する結合性を *in silico* 解析している。

CHARMM-GUI 力場解析法を適用してホスファチジルコリンからなるリン脂質二重膜に 7 回膜貫通

型 AdipoR1 受容体を埋め込み、さらに仮想水環境を配置した複合体の安定的な連動運動 (310 K, 200 nsec, 1 atm) の MD シミュレーションに成功している。そこで、Tyr-Pro および Tyr-Pro-Pro をリガンド分子として本複合体に埋め込み、MD シミュレーション解析を実施した結果、AdipoR1 受容体の

Arg¹⁵⁸ および His³⁵¹ との間での分子間相互作用と負の結合自由エネルギーが認められ、L6 細胞での糖取り込み促進作用と一致する結果を得ている。

以上要するに、本研究はアディポネクチン様の作用を示す食品成分をペプチドに求め、特定配列のジペプチドおよびトリペプチドに AdipoR1 アゴニスト作用があることを明らかにしたものである。また、本研究で構築した生体膜模倣 *in silico* 解析法は他の膜タンパク質にも適用可能であることから、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。