

氏 名	おお ひ なた こう さく 大 日 向 耕 作
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1188 号
学位授与の日付	平成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 応 用 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	Studies on Novel Peptides to Decrease Food Intake (新しい摂食抑制ペプチドに関する研究)

論文調査委員 (主 査) 教 授 吉 川 正 明 教 授 小 川 正 教 授 伏 木 亨

論 文 内 容 の 要 旨

近年, leptin に代表される摂食調節ペプチドの機能解析によって, 数多くのペプチドとそのレセプターが摂食調節に重要な役割を演じていることが判明してきている。一方, 新しい摂食抑制ペプチドに関する研究は, 肥満予防の観点からだけでなく, 神経性摂食障害および癌や加齢に伴う食欲不振などの摂食異常疾患のメカニズム解明という観点からも重要である。

本研究は, 蛋白質の酵素消化により派生する種々の生理活性ペプチドの中から摂食抑制作用を示すペプチドとして albutensin A (Alt) を見出すとともに, 本ペプチドの作用機構の解析をきっかけにして, 補体 C3a と proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP) という2つの内因性ペプチドが摂食抑制作用を有することを新たに見出したもので, 得られた結果は以下のように要約できる。

1) Alt (AFKAWAVAR) は血清アルブミンのトリプシン分解物の中から見出された生理活性ペプチドで, これをマウス脳室内 (10-50 nmol/mouse) および腹腔内 (0.3-1.0 μ mol/mouse) に投与したところ, 用量依存的な摂食抑制が認められた。Alt が強力な摂食抑制ペプチドである bombesin (BN) と3残基のホモロジーを有することに着目し, BN レセプターアッセイを行った結果, BN レセプター (BN-R) に弱い親和性を示した ($IC_{50}=78 \mu M$)。哺乳類の BN-R には neuromedin B レセプター (BB1), gastrin releasing peptide レセプター (BB2), bombesin receptor subtype-3 (BB3) という3種類のサブタイプが存在し, その中では BB2 が摂食調節に最も重要である。しかしながら, BB2 ノックアウト (KO) マウスにおいても Alt の摂食抑制が認められ, その摂食抑制作用が BN-R を介していないことが示唆された。

2) Alt の回腸収縮は補体 C3a レセプター (C3a-R) を介していることが判明している。そこで, Alt の摂食抑制作用が C3a-R を介しているかを Alt 類縁体の構造活性相関により検討し, その作用が BN-R ではなく C3a-R を介していることを明らかにした。さらに, C3a そのものの摂食に対する作用を検討したところ, 10-100 pmol/mouse の脳室内投与により摂食抑制作用を示すことを新たに見出した。C3a は C3 から派生する77残基の内因性ペプチドであるが, 免疫系への作用以外に摂食抑制という中枢作用を有するという知見は C3a の生理機能の多様性を示すものである。

3) PAMP は血圧降下作用を有する adrenomedullin の前駆体の N-末端から派生するもう一つの生理活性ペプチドで, 副腎や血管などの末梢組織以外に脳にも存在するが, 血圧降下以外の作用は不明で, PAMP に特異的なレセプターも未同定である。本研究では, PAMP と BN が3残基, 類似アミノ酸残基まで含めると7残基のホモロジーを有することに着目し, PAMP が BN-R に高い親和性を示すことを見出した ($IC_{50}=52 \text{ nM}$)。さらに, BN-R サブタイプを特異的に発現させた細胞を用い, BN-R サブタイプの中では BB2 と BB1 に高い親和性 ($IC_{50}=22, 18 \text{ nM}$) を示すことを見出した。

4) PAMP が摂食抑制, gastric emptying 遅延, 血糖上昇などの BN 様の作用を示すかを検討した。PAMP は脳室内 (3-30 nmol/mouse) および腹腔内 (0.1-0.3 μ mol/mouse) 投与により用量依存的な摂食抑制作用を示すことを初めて見出した。また, gastric emptying は PAMP 投与により遅延した。さらに, PAMP 脳室内投与で血糖値の上昇が認められ, その血糖上昇作用は BB2 アンタゴニストで有意に阻害された。従って, PAMP の血糖上昇作用は BN-R を介することが分

かった。

一方、PAMPの摂食抑制、gastric emptying 遅延、血圧降下作用がBN-Rを介しているかをBB2 antagonistを用いて検討した結果、意外なことにこれらの作用はBB2 antagonistにより阻害されなかった。さらに、BB2やBB3のKOマウスでもPAMPの摂食抑制が認められた。以上の結果により、PAMPの血糖上昇作用はBN-Rを介しているのに対し、摂食抑制やgastric emptying 遅延、血圧低下作用に関してはPAMPに特異的に結合する未知レセプターを介するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

近年、ペプチド性の摂食調節システムの重要性が指摘されており、新しい摂食抑制ペプチドに関する研究は単に肥満予防だけでなく、神経性食欲不振などの摂食異常疾患のメカニズム解明という観点からも重要である。本研究は、蛋白質の酵素分解によって派生する種々の生理活性ペプチドの中から血清アルブミン由来のalbutensin Aが摂食抑制作用を有することを見出し、さらに、このペプチドの作用機構の解析をきっかけにして、補体C3aおよびproadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP) という2つの内因性ペプチドが摂食抑制作用を有することを新たに見出したものであり、評価すべき主な点は以下の通りである。

1) 血清アルブミンのトリプシン分解によって派生するalbutensin Aの摂食抑制作用を見出した。albutensin Aは強力な摂食抑制作用を持つbombesinと3残基のホモロジーを有し、bombesinレセプターに対し低い親和性を示したが、bombesinレセプターノックアウトマウスの検討によりalbutensin Aの摂食抑制作用はbombesinレセプターを介していないことが分かった。

2) 回腸収縮に関してはalbutensin Aが補体C3aアゴニストとして作用することが知られているが、その摂食抑制作用もC3aレセプターを介することをalbutensin A類縁体を用い明らかにした。そこで、C3aそのものの摂食への作用を検討したところ、補体C3aが免疫系への作用以外に摂食抑制という新しい作用を有することが判明し、C3aの生理機能の多様性を示した。

3) PAMPは血圧降下ペプチドadrenomedullinの前駆体のN-末端から派生するもう一つの生理活性ペプチドであるが、一過性の血圧降下以外の作用は不明であり、そのレセプターも未同定であった。PAMPがbombesinとホモロジーを有することに着目し検討したところ、本ペプチドがbombesinレセプターに対してbombesinの1/10という比較的高い親和性を有することを見出した。この値は前述のalbutensin Aの約1000倍に相当するものである。

4) PAMPが摂食抑制作用やgastric emptying 遅延、血糖上昇作用などを有することを新たに見出した。PAMPの作用のうち、血糖に関してはbombesinレセプターを介しているのに対し、摂食抑制、gastric emptying 遅延、血圧降下作用に関しては別のPAMPレセプターを介していることをbombesinレセプターノックアウトマウスやbombesinアンタゴニストを用いた検討により明らかにした。

以上のように本論文は、albutensin A、補体C3aおよびPAMPという3つの生理活性ペプチドが摂食抑制作用を有することを初めて明らかにしたものであり、食品機能学、ペプチド科学および神経内分泌学の発展に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、平成13年2月21日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。