

氏 名	つる き たか ひろ 釣 木 隆 弘
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1446 号
学位授与の日付	平 成 16 年 7 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	Protective effect of soymetide, an immunostimulating peptide derived from soybean, against alopecia induced by the anticancer agent (大豆由来免疫促進ペプチド soymetide の抗がん剤脱毛に対する抑制効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 吉 川 正 明 教 授 井 上 國 世 教 授 大 東 肇

論 文 内 容 の 要 旨

食品タンパク質の酵素消化によって生じるペプチドの中には健康の維持増進に寄与するものがある。本研究は、大豆タンパク質の酵素消化物から免疫促進作用を有するペプチドとして単離したソイメタイド (soymetide) が抗がん剤の副作用である脱毛を抑制することを見出し、その作用機構を解明したものである。さらにアミノ酸残基置換によって抗脱毛作用を強化したペプチドを設計した。その主な内容は以下のとおりである。

1. 大豆タンパク質のトリプシン消化物から、ヒト好中球による異物の貪食を促進する作用を示す物質を単離・構造決定した。本物質は大豆 β -コングリシニン α' サブユニットに由来する13アミノ酸残基のペプチドであり、N末端の Met が活性発現に必須であることから、soymetide と命名した。soymetide は、細菌由来の免疫促進ペプチド formyl-Met-Leu-Phe (fMLP) のレセプターに弱い親和性を有し、その貪食能促進作用は fMLP のアンタゴニスト Boc-MLP によって阻害されたことより、fMLP アゴニストであることが判明した。活性発現に最小限必要な構造は N 末端 4 残基に相当する soymetide-4 (Met-Ile-Thr-Leu) であった。

2. soymetide による種々の生理作用を検討したところ、soymetide-4 は新生ラットへの経口投与の際に、抗がん剤 (エトポシド, Ara-C) の副作用による脱毛を抑制することを見出した。一方、fMLP そのものは経口投与では無効であったが腹腔内投与で抗脱毛作用を示した。組織化学染色によって皮膚の形態を観察したところ、各種抗がん剤による毛軸の減少、脂肪細胞の減少、表皮の肥厚および皮脂腺の肥大などが soymetide-4 の経口投与および fMLP の腹腔内投与によって抑制されることが判明した。

3. 次に soymetide-4 の経口投与によるエトポシド誘発脱毛抑制作用のメカニズムを検討した。シクロオキシゲナーゼ阻害剤 indomethacin および prostaglandin (PG) E_2 の EP₄ レセプターアンタゴニスト AH23848B によって soymetide-4 の抗脱毛作用が阻害されたことより、PGE₂ の関与が示唆された。また、nuclear factor- κ B (NF- κ B) 阻害剤 pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) も抗脱毛作用を阻害した。

以上より、soymetide-4 の経口投与によって上昇した PGE₂ が、毛母細胞の NF- κ B を活性化することによってエトポシドによるアポトーシスを抑制し、抗脱毛作用につながるというモデルを推定した。

4. fMLP アゴニストの腹腔内投与の際の抗脱毛作用の作用機構を検討した。ヒト fMLP レセプター低親和性サブタイプの FPRL1R に対する選択的アゴニストとして知られる、MMK-1 および mitochondrial peptide の新生ラットへの腹腔内投与によってエトポシドによる脱毛が抑制された。このことから抗脱毛作用にはラット低親和性 fMLP レセプターサブタイプが関与する可能性が示唆された。fMLP および MMK-1 の抗脱毛作用はヒスタミン H₁ および H₂ レセプターアンタゴニストの pyrilamine および cimetidine の投与によって阻害され、またインターロイキン-1 (IL-1) および NF- κ B の阻害剤である、K(D)PT および PDTC によってもブロックされた。以上より、fMLP アゴニストは腹腔内投与後 FPRL1R を介してヒスタミンおよび IL-1 レベルを上昇させることにより毛母細胞の NF- κ B を活性化し、抗脱毛作用を示すというモ

デルを推定した。

5. soymetide-4をもとにして、アミノ酸残基の部分的置換による強化ペプチドの設計を行った。3残基目の Thr を Trp に置換することにより得られた Met-Ile-Trp-Leu では、fMLP レセプター親和性が約180倍上昇し、同時に経口投与による抗脱毛作用も強化されることが判明した。

論文審査の結果の要旨

本研究は、大豆タンパク質の酵素消化物からヒト好中球の貪食能を促進するペプチドとして単離したソイメタイド (soymetide) が抗がん剤の副作用による脱毛を抑制することを見出し、その作用機構を詳細に解析したものである。さらにアミノ酸残基置換によって抗脱毛作用を強化したペプチドを設計した。評価すべき点は以下のとおりである。

1. 大豆タンパク質の酵素消化物から得られた免疫促進ペプチドは β -コングリシニン α' サブユニットに由来する13残基のペプチドであり、soymetide と命名した。soymetide は細菌由来の免疫促進ペプチド formyl-Met-Leu-Phe (fMLP) のレセプターに弱い親和性を有し、その貪食能促進作用は fMLP アンタゴニストによって阻害されたことより fMLP レセプターを介して作用することが判明した。
2. N 末端4残基に相当する soymetide-4 (Met-Ile-Thr-Leu) は新生ラットへの経口投与の際に、抗がん剤 (エトボシド, Ara-C) の副作用による脱毛を抑制することを見出した。一方、fMLP は経口投与では無効であったが、腹腔内投与で抗脱毛作用を示した。組織化学染色から、各種抗がん剤による毛軸の減少、脂肪細胞の減少、表皮の肥厚および皮脂腺の肥大などが soymetide-4 および fMLP によって抑制されることがわかった。
3. soymetide-4 の経口投与によるエトボシド誘発脱毛抑制作用は、シクロオキシゲナーゼ阻害剤および prostaglandin (PG) E_2 の EP $_4$ レセプターアンタゴニストによって阻害されたことより、PGE $_2$ の関与が示唆された。また、nuclear factor- κ B (NF- κ B) 阻害剤も抗脱毛作用を阻害したことより、soymetide-4 は PGE $_2$ を介して毛母細胞の NF- κ B を活性化することによってエトボシドによるアポトーシスを抑制し、抗脱毛作用を示すというモデルを推定した。
4. 次に fMLP 腹腔内投与の抗脱毛作用のメカニズムを検討した。ヒト fMLP レセプター低親和性サブタイプである FPRL1R に対する選択的アゴニスト、MMK-1 および mitochondrial peptide も抗脱毛作用を示したことから、fMLP レセプター低親和性サブタイプの関与が示唆された。これらによる抗脱毛作用はヒスタミン H $_1$ および H $_2$ レセプターアンタゴニストの投与によって阻害され、インターロイキン-1 (IL-1) および NF- κ B の阻害剤によってもブロックされた。以上より、fMLP アゴニストは腹腔内投与の際に FPRL1R を介してヒスタミンおよび IL-1 レベルを上昇させ、毛母細胞の NF- κ B を活性化することにより抗脱毛作用を示すというモデルを提示した。
5. soymetide-4をもとにして、アミノ酸残基の部分的置換による強化ペプチドの設計を行い、3残基目の Thr を Trp に置換することにより強力な Met-Ile-Trp-Leu を得た。本ペプチドは約180倍強力な fMLP レセプター親和性を示し、経口投与の際に強い抗脱毛作用を示した。

以上のように、本論文は大豆から派生する免疫促進ペプチド soymetide が抗がん剤による脱毛を防ぐことを見出すとともに、その作用機構を解明したものであり、食品生理機能学、皮膚科学およびペプチド科学等の進展に寄与するところが大きい。

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16年6月17日、論文並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。