

氏 名	ユンデンジンスマ Yunden Jinsmaa
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	農 博 第 1035 号
学位授与の日付	平成 11 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 食 品 工 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Designing of Novel Neuropeptides Improving Learning Performance (学習能を改善する新しい神経ペプチドの設計) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 佐々木隆造 教 授 吉川正明 教 授 伏木 亨

論 文 内 容 の 要 旨

食品タンパク質の酵素消化によってオピオイドペプチドなど種々の生理活性ペプチドが派生するが、これらペプチドを生活習慣病の予防のために有効利用することが期待される。特に、高齢化社会の到来を迎え神経系の機能を保護し、老人性痴呆を防ぐ機能を持つ食品成分や医薬が注目されている。本研究の目的は、食品タンパク質から派生する神経ペプチドの構造を基にして、抗健忘及び学習促進作用を示す新しいペプチドを設計することである。本研究で得られた結果は以下の通りである。

1. 牛乳 κ -casein のトリプシン消化物から抗オピオイドペプチドとして得られた casoxin C (YIPIQYVLSR) は補体 C3a レセプターに対して親和性を有し、且つ脳室内投与によって抗鎮痛及び抗健忘作用を示すことが判明した。そこで補体 C3a が casoxin C と同様な作用を示すかどうかを検討した。補体 C3a は 100ng/mouse の脳室内投与により抗鎮痛作用を示した。C3a アゴニストは acetylcholine の放出を促進するが、これがオピオイドによる acetylcholine の放出抑制と拮抗することになり抗鎮痛作用を示すと考えられる。また、補体 C3a は scopolamine 投与及び脳虚血によって誘発された健忘に対する改善効果を示した。以上より、従来免疫系ペプチドとしてのみ認識されてきた補体 C3a が神経ペプチドとして作用することが明らかになった。

2. casoxin C 及び補体 C3a はいずれも経口投与では中枢作用を示さない。そこで、経口投与で有効な C3a アゴニストの設計を試みた。米アルブミン由来の oryzatensin (GYPMYPLPR) の C 末端ペプチドに相当する YPLPR は C3a 活性発現に最低限必要な疎水性残基-X₁-Leu-X₂-Arg という構造を持ち、且つ 2 個の proline 残基を含むことからプロテアーゼ抵抗性を示す C3a アゴニストである。YPLPR は意外にも経口投与の際に抗鎮痛ではなく鎮痛活性を示したが、これは本ペプチドが C3a 活性以外にオピオイド活性を併せ持つためと考えられる。そこで YPLPR のオピオイド活性に必須の N 末端 Tyr を他の疎水性残基に置換したペプチドを各種合成した。その結果、Tyr を Trp に置換したペプチド WPLPR が最も強い C3a 活性を示し、且つオピオイド活性は消失していた。WPLPR は経口投与 (300mg/kg) で抗鎮痛作用を示し、また Scopolamine 投与及び脳虚血によって誘発された健忘に対して改善作用を示した。すなわち、経口投与で中枢作用を示す C3a アゴニストが得られた。WPLPR 配列を遺伝子の部位指定変異により米アルブミンに導入することによって抗健忘活性を内在するタンパク質を得ることが期待される。

3. nociceptin はオピオイド orphan レセプター (ORL₁) に対する内因性リガンドとして脳内から単離された 17 残基のペプチドであり、オピオイドペプチドである dynorphin とホモロジーを有するが、オピオイドとは逆に痛覚増強作用を有する。nociceptin はまた学習及び記憶を阻害することが報告されている。nociceptin アンタゴニストは nociceptin とは逆に鎮痛及び学習促進作用を示すことが期待されるが、未だ見出されてない。食品タンパク質から派生するオピオイドアンタゴニストペプチドの構造-活性相関に基づいて、N 末端と C 末端を逆転させた配列を持つ retro-dynorphin がオピオイドアンタゴニスト活性を示すことが以前に当研究室で見出されている。そこで nociceptin と逆の配列を持つ retro-nociceptin が nociceptin ア

ンタゴニスト活性を示すかどうかを検討した。retro-nociceptinのC末端カルボキシル基が遊離のもの以外にメチルエステル化、アミド化及びアルコール化されたペプチドを合成したところ、メチルエステル化及びアミド化した場合に最も強いレセプター結合活性 ($IC_{50}=10\mu M$) を示した。retro-nociceptin- OCH_3 は100nmol/mouseの脳室内投与で鎮痛作用を示し、その作用はオピオイドアンタゴニストであるnaloxoneで抑制されなかった。また、その鎮痛作用にはモルヒネのような連用による効力の低下(耐性形成)が認められなかった。retro-nociceptin- OCH_3 は100nmole/mouseの脳室内投与でモルヒネとは逆の学習促進作用を示した。以上のように本物質はnociceptinアンタゴニストとして最初の物質であり、モルヒネのような副作用を示さない新しい鎮痛薬のリード化合物として期待される。

論文審査の結果の要旨

食品タンパク質の酵素消化によって派生する生理活性ペプチドの中には神経系に対して作用を示すものが見られる。このような神経ペプチド及びそれらの誘導体を生活習慣病、特に老人性痴呆等の予防のために有効利用することが期待されている。本研究は、食品タンパク質から派生する神経ペプチドの構造を基にして、抗健忘及び学習促進作用を示す新しいペプチドの設計を図ったものであり、評価すべき点は以下の通りである。

1. 牛乳 κ -casein由来の補体C3aアゴニストであるcasoxin Cが脳室内投与の際に抗鎮痛及び抗健忘作用を有することを示すとともに、補体C3aそのものも同様な作用を示し得ることを証明した。また、その作用機構にはC3aレセプターを介したacetylcholineの放出促進が関与していると推定した。これらの結果により、従来は免疫系ペプチドとして据えられてきた補体C3aが神経ペプチドとしても作用することが明らかになった。

2. 上記casoxin C及び補体C3aはいずれも脳室内投与により抗健忘作用を示すが経口投与では無効である。そこで経口投与で有効なC3aアゴニストペプチドを得るために、米アルブミン由来のC3aアゴニストであるoryzatensinのC末端ペプチドYPLPRがプロテアーゼ抵抗性を有することに着目し、その誘導体XPLPRを多数合成した。それらの中でWPLPRが最も強力なC3aアゴニストであり、マウスに対する300mg/kgの経口投与により抗鎮痛作用及び抗健忘作用を示した。このことは遺伝子の部位指定変異による1残基の置換により抗健忘ペプチドWPLPR配列を米アルブミンに導入し得ることを意味している。

3. nociceptinはオピオイドorphan レセプター (ORL_1) の内因性リガンドとして脳内から単離された17残基のペプチドであり、オピオイドとは逆に痛覚増強作用を有する。また、nociceptinは学習及び記憶を阻害することから、そのアンタゴニストはnociceptinとは逆に鎮痛及び学習促進作用を示すことが期待される。しかしnociceptinアンタゴニストは未だ見出されてなかった。本研究では食品タンパク質から派生するオピオイドアンタゴニストの構造-活性相関に基づいて、nociceptinのN末端とC末端を逆転させた配列を持つretro-nociceptinメチルエステルを合成し、本ペプチドがnociceptinアンタゴニスト活性を有することを見出した。本ペプチドはまた依存性及び耐性形成を伴わない鎮痛作用を示した。さらに、モルヒネが学習阻害作用を示すのに対し、本ペプチドは学習促進作用を示した。以上のようにnociceptinアンタゴニストとして最初に得られた本ペプチドはモルヒネのような副作用を示さない新しい鎮痛薬創製のためのリード化合物としての意義が大きい。

以上のように、本論文は食品タンパク質から派生する神経ペプチドの構造-活性相関に基づいて、経口投与により抗健忘作用を示すペプチドを創製するとともに、モルヒネとは逆に学習促進効果を示す鎮痛物質の合成にも成功したものである。本論文によって得られた知見は食品機能学、神経科学及びペプチド化学の発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11年1月21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。