



Title	マグロ筋肉由来アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドの生理化学的研究
Author(s)	岡, 弘章
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37935
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	おか 岡 弘 章
博 士 の 専 攻	博 士 (薬 学)
分 野 の 名 称	
学 位 記 番 号	第 1 0 2 2 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 4 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科 応用薬学専攻
学 位 論 文 名	マグロ筋肉由来アンジオテンシン変換酵素阻害ペプチドの生理化学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 三村 務 (副査) 教授 近藤 雅臣 教授 真弓 忠範 助教授 馬場 明道

論 文 内 容 の 要 旨

四方を海に囲まれる我が国にとって、海洋資源を有効活用することは重要な課題である。魚類に由来する物資群は栄養素並びにエネルギーの供給源としての重要性の他に、生体調節に寄与する重要機能を包括していることがしだいに明らかにされつつある。著者は、海洋生物の医薬品資源としての活用研究の一環として種々の生理活性スクリーニングを行ったところ、マグロ筋肉抽出物中にアンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害活性があることを認めた。そこで、このACE阻害活性成分をカラムクロマトグラフィー及びHPLCを駆使して分離・精製を行い、ACE阻害活性の化学的本体としてオクタペプチド(tuna AI)の単離に成功し、その一次構造を Pro-Thr-His-Ile-Lys-Trp-Gly-Aspと決定した。Tuna AIのIC₅₀値は、牛及び家兎肺ACEでそれぞれ1 μM及び2 μMであり、既に報告されている天然物由來のペプチド性ACE阻害剤の中でも比較的強い阻害活性を示した。

Tuna AIは、拮抗阻害を示す既知の天然物由來ACE阻害ペプチドとは異なりACEの活性部位と最も親和性の低いAspをC末端に有していることから様々な生物学的性質について検討した。まず、Lineweaver-Burk plots及びDixon plotsによる阻害様式の検討より非拮抗阻害であることを確認した。またACEは、その活性部位にZn²⁺を有しており活性発現のためにZn²⁺は重要な役割を担っている。Tuna AIもZn²⁺をキレートすることによりACE活性を阻害する可能性があり、tuna AIのZn²⁺キレート作用について検討を行ったが、そのような作用は認められなかった。この結果は、Zn²⁺がACE一分子当たり活性部位に一つだけ存在することからtuna AIが非拮抗阻害を示すという結果を裏づけた。さらにtuna AIは、ACEと非常に類似しているカルボキシペプチダーゼAを始めトリプシン、キモトリプシン、コラゲナーゼなどに対して阻害活性を示さず、ACEに特異的であった。Tuna AIは、in situ

において $5 \mu\text{M}$ の濃度でモルモット回腸収縮反応を増強し、また *in vivo* において $20\text{mg}/\text{kg}, \text{i.v.}$ の用量でアンジオテンシン I 昇圧反応を抑制したが、これらの作用は *in vitro* における活性と比較すると若干弱く、生体への適用にはドラッグデザインなど何らかの工夫が必要であると考えられる。

最近、血管壁レニンーアンジオテンシン系 (RAS) が血圧調節のみならず血管新生など血管機能維持に極めて重要な役割を演じていることが明らかにされつつある。血管壁において RAS の中心的役割となるのは、血管内皮細胞でありアンジオテンシン I を II へ変換し分泌することによって血圧調節や血管平滑筋細胞の内膜への移行に影響を与えている。そこで、tuna AI の血管内皮細胞に対する影響を調べた結果、 $1 \mu\text{M}$ で血管内皮細胞の migration 増強作用を示し、同時にカプトプリルとは異なりインターロイキン 1 産生能及びプロトオンコジーン (c-myc) や血小板由来増殖因子 (PDGF) の mRNA 発現量を著明に増加することを認め、tuna AI が血管内皮細胞の機能調節において遺伝子の転写レベルにも影響することが示唆された。

Tuna AI のアミノ酸配列はホモロジー検索の結果、新規であったが、種々の脊椎動物グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) のアミノ酸配列中に高い相同意を示す配列 (Pro-X-Y-Ile-Lys-Trp-Gly-Asp) が見いだされた。そこで、マグロ筋肉より GAPDH を調製し、tuna AI の調製法に従って GAPDH を処理したところ tuna AI と全く同じオクタペプチドが得られ、従って、tuna AI が Asp-Pro 及び Asp-Ala の酸限定分解により GAPDH から部位特異的に切り出されたことを証明した。

以上の結果より tuna AI は、新しいタイプの ACE 阻害剤のリード化合物として有用であると思われる。

論文審査の結果の要旨

本論文は海洋生物資源の医薬品としての活用研究の一環として行われたもので、マグロ筋肉抽出物中にアンジオテンシン変換酵素 (ACE) を阻害する成分の存在を認め、その単離、構造解析、合成を行ない、以上の知見を得ている。

- 1) ACE 阻害活性の化学的本体を単離し tuna AI と命名した。tuna AI は Pro-Thr-His-Ile-Lys-Trp-Gly-Asp からなるオクタペプチド (新規の活性ペプチド) で $\text{IC}_{50} : 1 \mu\text{M}$ であった。
- 2) Tuna AI は ACE に対して非拮抗阻害、ブラジキニンによるモルモット回腸収縮反応増強作用及びアンジオテンシン I による血圧上昇反応を抑制した。さらに血管内皮細胞に対して増殖因子活性を示さないで migration を増強した。また同時に IL-1 産生や c-myc 及び PDGF の mRNA の発現を増強する。
- 3) Tuna AI はホモロジー検索の結果、ホスト蛋白が解糖系グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) であり、酸による限定分解により、GAPDH の特定部位の切り出しがおこったことを証明した。

以上のように本論文は医薬品開発に大きく寄与するものであり、博士論文として価値あるものと認める。