

身近な「ペプチド」：いのちの基本からくすりまで

二木 史朗*

最近、食品、飲料、医薬品などの分野で「ペプチド」という言葉をよく目にする。「ペプチド」は、タンパク質と同じく、アミノ酸と呼ばれる分子がいくつか連なってできており、アミノ酸のつながり方により様々な機能を発揮する。本稿では、ペプチドの化学的な特徴とその多彩な働き的一端を紹介する。

1. ペプチドとは

タンパク質は、生体を構成する必須の分子の一つであり、生体構造の形成に係わるとともに、生体内における代謝（物質の化学変換）や情報伝達、栄養分の輸送や貯蔵、生体防御などに係わるなど、多彩な働きをしている。タンパク質は通常、20種類のアミノ酸から構成されている。酸性、塩基性、疎水性、親水性といった様々な化学的性質の異なる数十個から100個以上のアミノ酸が組み合わせられ、連結されることにより、タンパク質となり、個々のタンパク質に特徴的な構造と機能が産み出される。では、ペプチドはどう定義されるか？

ペプチドはアミノ酸が数個から数十個連結されたもので、タンパク質の区分配列とも言える。体の中では、一旦出来たタンパク質が生体内で分解されることにより生理活性を発揮するペプチドも多いが、アミノ酸の数がタンパク質に比べて少ないために、それ自身では特徴的な構造を取らないことも多く、また、もとのタンパク質と全く異なる機能を発揮する場合も多い。こ

れらのペプチドは、生理活性分子として生体の情報伝達や恒常性の維持に働いていたり、栄養分として用いられたりする場合も多く、また、医薬品として利用されている場合も多い。さらに、アミノ酸を化学的あるいは遺伝子工学的に連結した機能性ポリマーとして用いられている場合もある。

2. 生理活性分子としてのペプチド

様々なペプチドが生理活性分子として働いている。その代表的な例はインスリンである。これには血糖値を下げる効果があり、インスリンの分泌や作用に異常があると高血糖状態（糖尿病）となる。インスリンは糖尿病治療薬として用いられている。血糖値が増加すると、インスリンが膵臓から血中に放出され、効果を発揮する。このように、体内において、ある決まった器官で合成・分泌され、体液（血液）を通して体内を循環し、別の決まった器官でその効果を発揮する生理活性物質をホルモンと呼ぶ。また、細胞が化学伝達物質を血管内に放出することを内分泌と呼ぶ。体内には様々なペプチドホルモンが存在し、血圧の調節の他、胃酸分泌の調節、骨からのカルシウムの放出の制御など我々の体の恒常性の維持に重要な働きをしている。

3. 医薬品としてのペプチド¹⁾

ペプチド性の医薬品も数多く開発されている。インスリンのようにペプチドホルモンそのもの

*京都大学化学研究所 教授

を治療に用いる場合もあるが、薬効（生理活性）の向上などを目的とし、アミノ酸を他のアミノ酸や、Dアミノ酸などのタンパク質中には存在しないアミノ酸や原子団に置き換えた誘導体も用いられている。黄体形成ホルモン刺激ホルモン（LH-RH）は脳の視床下部から分泌され、下垂体から黄体形成ホルモン（LH）や卵胞刺激ホルモン（FSH）の分泌を調節する。これらはさらに男性ホルモンや女性ホルモンの分泌を司ることから、性腺刺激ホルモンとも呼ばれている。武田薬品工業から市販されているリュープリン（一般名リュープロレリン：図1）は排卵促進剤として開発されたが、強力なホルモン分泌活性（LH放出活性はLH-RHの約3倍）により逆に性腺機能の抑制効果が現れる（スーパーアゴニスト）ことから前立腺ガンの治療薬として、また、LH-RHによる刺激により脳下垂体からのFSHの分泌を抑制し、エストロゲン（女性ホルモン）の産生を押さえることから閉経前乳ガンの治療薬として使われている。また、カルシトニン血中のカルシウム濃度を下げ、骨形成を促進する働きを持つペプチドホル

モンである。骨粗鬆症、高カルシウム血症に対する治療薬として、ヒトカルシトニンより効果の強いサケカルシトニン、ブタカルシトニン、合成ウナギカルシトニン類縁体（エルカトニン）が用いられている（図1）。

疾病治療のみならず美容を目的としても使われているペプチドやタンパク質もある。コラーゲンは真皮、靭帯、腱、骨、軟骨などを構成するタンパク質の主要タンパク質のひとつであり、古くより保湿剤などとして利用されている。また、ポリ- γ -グルタミン酸は納豆のねばねばした糸の主成分の一つであるが、最近ではこれも保湿剤として注目されている。皮膚に日光が照射されると、皮膚表面でメラニン色素が合成される。これは日光による細胞のDNAなどの損傷を防ぐ反面、繰り返し生成させると色素沈着によるシミ形成の要因となる。メラニン合成、あるいはこれに関与するチロシナーゼという酵素を阻害するペプチドも知られている。

4. 食品・栄養分としてのペプチド

上記の医薬品等の用途の他、ペプチドの機能

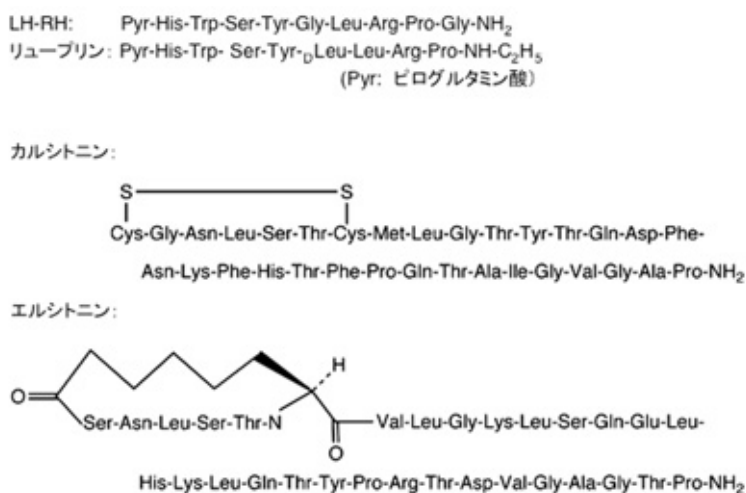


図1. 医薬品としてのペプチド

性食品としての用途が近年注目されている。食品用途として有名なものには、アスパラギン酸とフェニルアラニンのメチルエステルから構成されているアスパルテム（Asp-Phe-OMe）が挙げられる。砂糖の約200倍の甘さがあり、人工甘味料としてパルスweetなどの商品名で市販されている。あるいは、比較的短いペプチドは腸管においてアミノ酸より吸収が速いとされており、タンパク質を数残基のペプチドに分解させ、消化、吸収促進をねらったペプチド配合流動食も市販されている。また、血圧を下げるなどの効果をもつことで特定保健用食品に指定されているペプチドも紹介されている。

5. 機能性材料としてのペプチド

固相ペプチド合成法の発展により、20~30アミノ酸程度のペプチドは比較的容易に化学合成出来るようになり、様々な官能基や原子団をペプチド鎖に組み込むことにより、従来にない新しい機能を持つペプチドを開発しようとする試みも盛んになされている。筆者らは、アルギニンに富む塩基性ペプチドを細胞内への物質送達ベクターとして応用する試みを行っており、以

下、これに関して紹介する。

今、膜透過性を有するペプチドを用いて細胞内にタンパク質を導入する手法が注目されている²⁾。細胞内に導入したいタンパク質に膜透過ペプチドを細胞内導入ベクターとして化学的に結合させるか、あるいは遺伝子工学的にベクターと目的タンパク質の融合タンパク質を調製し、単に細胞培養液に混合するだけで、効率よく細胞内に目的分子が導入される。タンパク質に限らず、薬物や、オリゴ核酸、ナノ粒子（リボソームや微小磁石）など、様々な物質がこの方法を用いて細胞内に導入されたことが報告されており、細胞生化学的な基礎的研究のみならず、臨床的応用も視野に入れて研究が進められている。導入ベクターは、cell-penetrating peptide (CPP) あるいは protein transduction domain (PTD) とも呼ばれることもある。実際に用いられている最も代表的なものとして HIV-1 Tat タンパク質のアミノ酸配列48-60位に対応するペプチド (Tat ペプチド) やオリゴアルギニンなどが挙げられる。Tat あるいはオリゴアルギニンをベクターとして、培養細胞へ生理活性タンパク質を導入することにより、

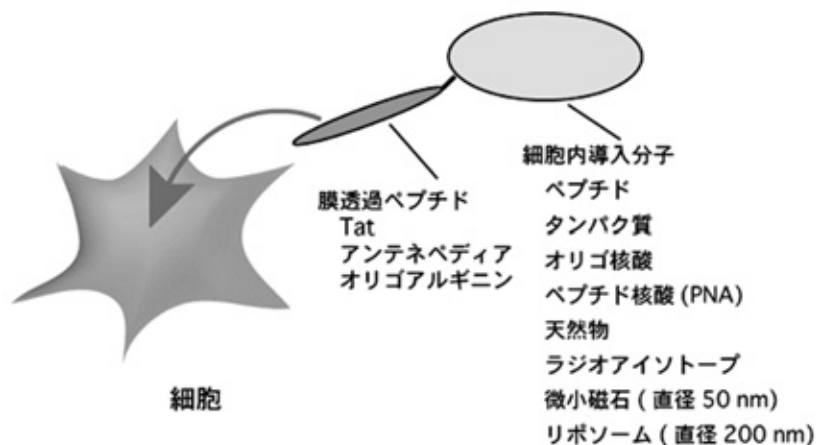


図2. 膜透過ペプチドを用いた細胞内デリバリー

様々な細胞機能が調節・制御できたことが報告されている。また、タンパク質以外にも、小分子薬物やリポソーム、微小磁石、ファージといった種々の物質が細胞内に導入されたことが報告されている(図2)。ペプチドベクターを用いて細胞機能を制御したことを報告する論文数の増加には目をみはるものがあり、細胞導入のための新しい手法として定着しつつあると言える。

Tat ペプチドの細胞内移行に関しては、マクロピノサイトーシスと呼ばれる特殊なエンドサイトーシスが主な取り込み経路の一つとして働くことが指摘されている。マクロピノサイトーシスは、細胞膜が細胞内に陥没する形でエンドソームが形成される一般的なエンドサイトーシスとは様式を異にしており、細胞膜周辺のアクチンフィラメントが重合することにより細胞外へ膜が突き出し、細胞外液の細胞内への取り込みが起こるとされている。通常のエンドソームの直径が100nm程度であるのに対して、マクロピノサイトーシスの場合はしばしば1 μmを越すエンドソーム(マクロピノソーム)が形成されると言われており、直径200nmを越すリポソームやナノ粒子がこの経路で取り込まれ

ることと矛盾しない。

膜透過においては、アルギニンのグアニジノ基とカルボキシル基、リン酸基、硫酸基との間に2個の水素結合を介して相互作用することが重要であることが示唆されている(図3)。細胞への取り込みにおいて、アミノ基を有するリジンよりもグアニジノ基を有するアルギニンがより本質的な役割を果たすという知見とこの結果は一致する。細胞表層のヘパラン硫酸などの硫酸化された糖鎖がTat やアルギニンペプチドの取り込みに重要な役割を果たすことも示唆されており、負電荷を帯びた硫酸化糖との静電的相互作用により、アルギニンなどの正電荷を帯びたペプチドが細胞表層に濃縮され、ついで細胞内に取り込まれることが機序として考えられる。実際、ヘパラン硫酸などを欠損する細胞へのアルギニンペプチドの取り込みは、これらに有する細胞への取り込みに比べて有意に少ないことが示されており、この際にもグアニジノ基が硫酸基と2個の水素結合を介して効果的に相互作用しうることが考えられる。

一方、マクロピノサイトーシスを含め、エンドサイトーシスは細胞膜表面より、細胞外の物

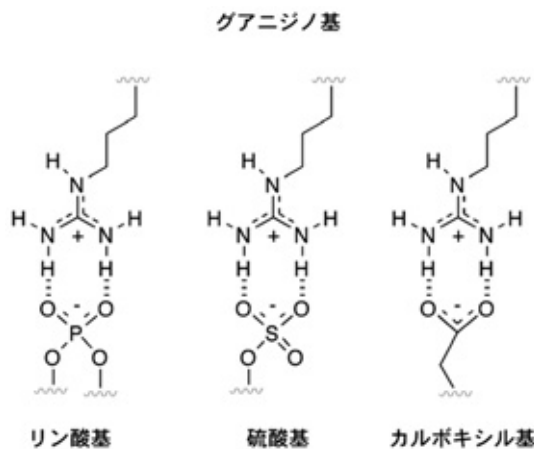


図3. グアニジノ基の水素結合形成能

質を脂質小胞で包み込む形で細胞内部へ取り込む過程であり、たとえ導入分子がエンドサイトーシスで取り込まれたとしても、その膜を透過して、細胞質内へと移行することなしには機能や薬効を発揮できない。従って、アルギニンペプチドが脂質膜を何らかの形で通過することが必要であるが、申請者らは、この際、膜内のアニオン化合物との複合体形成により膜透過が促進されると考えた。実際、生体膜の主要な構成脂質であるホスファチジルコリン存在下に、アルギニンペプチドをリン酸バッファーとクロロホルムとの混液に加えると、アルギニンペプチドはクロロホルム層に分配可能である。この考えを基に、筆者らは、対イオンを用いたタンパク質の画期的な細胞内導入法を見いだした。アルギニンペプチドを移送ベクターとしたタンパク質の細胞内輸送の際にピレンブチレートなどの疎水性対イオンを共存させることにより、導入効率は数倍から数十倍に向上し、わずか数分で、アルギニンペプチドならびに緑色蛍光タンパク質 (EGFP) を細胞内に導入することが出来た^{3,4)} (図4)。また、この方法を用いて、¹⁵Nでラベルしたタンパク質の細胞内効率的輸送に成功し、培養細胞内でのタンパク質構造や薬物との相互作用をNMRによりはじめて観察することに成功した⁵⁾。

このように、生理活性の多彩さ、デザインと調製の容易さなどからペプチドに関する関心が近年大きく高まってきている。タンパク質のような精密な構造や機能を有しない場合も多いが、上手く使うことにより、タンパク質にはない特徴を持たせることが出来ることが魅力である。「たかがペプチド」ではあるが「されどペプチド」の良さを活かす試みに期待したい。

- 1) 創薬化学 (長野, 夏莉, 原 編), 東京化学同人 (2004)
- 2) 最近の総説: 中瀬生彦, 二木史朗, 生化学 81(11) 掲載予定 (2009)
- 3) Perret F, Nishihara M, Takeuchi T, Futaki S, Lazar AN, Coleman AW, Sakai N, Matile S. *J. Am. Chem. Soc.* 127(4), 1114-1115 (2005)
- 4) Takeuchi T, Kosuge M, Tadokoro A, Sugiura Y, Nishi M, Kawata M, Sakai N, Matile S, Futaki S. *ACS Chem. Biol.* 1(5), 299-303 (2006)
- 5) Inomata K, Ohno A, Tochio H, Isogai S, Tenno T, Nakase I, Takeuchi T, Futaki S, Ito Y, Hiroaki H, Shirakawa M. *Nature* 458(7234), 106-109 (2009)

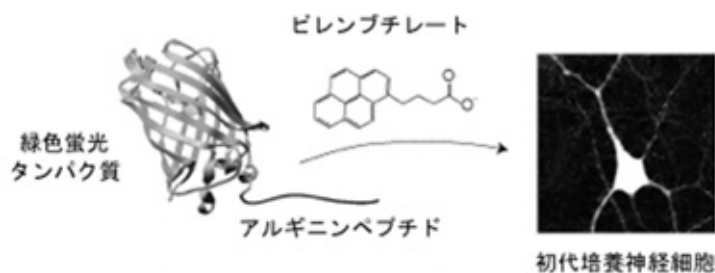


図4. 対イオン存在下でのアルギニンペプチドによる細胞内送達の促進