

氏名(本籍)	いわさき たかし 岩崎 崇 (千葉県)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博甲第5011号		
学位授与年月日	平成21年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Analysis of Multiple Functions of Enantiomeric 9-Mer Peptides Derived from Beetle Defensins (カプトムシディフェンシン由来改変ペプチドのもつ多機能の解析)		
主査	筑波大学教授(連携大学院)	理学博士	山川 稔
副査	筑波大学教授	農学博士	本田 洋
副査	筑波大学准教授	農学博士	戒能 洋一
副査	筑波大学准教授	農学博士	青柳 秀紀

論文の内容の要旨

昆虫の微生物感染に応答して生合成される抗微生物ペプチドは、既存の抗生物質にはない細菌等の細胞膜に直接作用し殺すというユニークな特色をもつ。また昆虫の抗微生物ペプチドはガン細胞の増殖を抑制する効果があると報告されている。このような昆虫の抗微生物ペプチドのもつ優れた性質は、医薬・畜産分野における新規薬剤となり得る可能性を秘めている。

本研究では、カプトムシ及びタイワンカプトムシ由来の抗微生物ペプチド、ディフェンシン(43アミノ酸残基)の活性中心をリードとし人工合成された僅かアミノ酸9個からなる4種の改変ペプチドを用い、細菌とガン細胞に対する増殖抑制効果を調べた。これらの改変ペプチドは安定性と活性の増強を考慮してD型のアミノ酸残基を用い合成された。

まず薬剤耐性を示す緑膿菌及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に対する上記改変ペプチドの抗細菌活性を調べた結果、オリジナルのディフェンシンや既存の抗生物質より強い活性を示した。さらに改変ペプチドを抗生物質と併用することにより相乗効果を示すことが明らかとなった。一方、改変ペプチドや抗生物質を緑膿菌(1000世代)あるいはMRSA(200世代)と長期連続培養した場合、これらの病原細菌は抗生物質に対し強い耐性を獲得したのに対し、改変ペプチドに対する耐性の獲得は見られなかった。

次に改変ペプチドの様々な組織由来のガン細胞の増殖抑制効果について調べたところ、血液ガンの一種骨髄腫細胞に対し強い増殖抑制作用を示した。その作用は極めて短時間内に起こる細胞膜破壊に起因することが分かった。また改変ペプチドは正常細胞や血液ガン以外のガン細胞には作用せず細胞選択性を持つことが明らかとなった。これは細胞膜表面に表出している負電荷を帯びた酸性リン脂質、ホスファチジルセリンの密度に依存していることが判明した。

血液ガン以外のガン細胞も殺すペプチドを作出するため、改変ペプチドの一つにアルギニン残基8個を付加した新たなペプチドを人工合成した。このペプチドは細胞内へ移行しミトコンドリア膜を破壊する活性を示し、これまでの改変ペプチドより高い抗ガン活性を示した。また骨髄腫以外の固形ガンにも強い抗ガン活性をもつことが明らかとなった。この実験結果は、ガン細胞特異抗体とコンジュゲートさせ目的のガン細胞

のみを標的とするようなドラッグデリバリーシステムとの組合せにより新しい抗ガン剤になり得る可能性を示唆している。

審 査 の 結 果 の 要 旨

院内感染等で社会問題を引き起こしている薬剤耐性病原細菌の増加に対し未だ有効な対抗手段はなく、細菌に耐性を付与しない新しい機能を有した抗生剤の開発は急務である。一方、ガンは三大死因に数えられる病気であり、これまでにない機能をもつ抗ガン剤の開発は医薬・畜産分野において重要である。

本研究は新規薬剤開発を目的として、昆虫の抗微生物ペプチドの膜破壊というこれまでの抗生剤や抗ガン剤にない新しい機能に着目し薬剤耐性病原細菌とガン細胞に対する増殖抑制作用を調べたものである。まず、MRSA や緑膿菌の臨床分離株を用い短い改変ペプチドが強い抗細菌活性を示すことを明らかにした。次に、薬剤耐性細菌は既存の抗生物質に対し耐性を示すが、改変ペプチドに対しては耐性を獲得できないということを証明した。また、改変ペプチドを既存の抗生剤と併用することにより強い相乗効果を示すことを明らかにした。これらの結果は、従来の抗生剤の欠点を補う新しい機能を改変ペプチドが有することを示しており、今後の新薬開発に非常に重要な知見である。

本研究により、改変ペプチドの骨髄腫に対する増殖抑制効果とその作用機構の二点が明らかとなった。しかし、血液ガン以外のガン細胞や正常細胞には作用できないことが分かり、その理由として改変ペプチドが細胞表面のホスファチジルセリンの密度に依存して作用することが明らかとなった。これはホスファチジルセリンのもつ負電荷と改変ペプチドの正電荷が静電的に引き合うことにより細胞表面に吸着し膜破壊を引き起こすことを示唆しており、これまでにない新しい知見である。さらに著者は骨髄腫以外のガン細胞にも効果のある改変ペプチドの作出を目指し、細胞内に存在するミトコンドリア膜を破壊する新しい機能をもつ細胞膜貫通型ペプチドの合成にも成功している。このような実験結果は、従来の抗ガン剤にはない膜破壊活性という新しい作用をもつ抗ガン剤の可能性を示唆するものであり、抗ガン剤開発のための優れた知見と判断される。

以上のように、本論文は新規抗生剤及び抗ガン剤開発のための極めて独創性の高い内容となっており高く評価される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。