

世界初！血糖値の安定化に寄与する天然ペプチドの発見

国立大学法人東海国立大学機構 名古屋大学大学院工学研究科の本多裕之 教授らの研究グループは、名古屋大学大学院生命農学研究科の柴田貴広 教授と共同で、天然アミノ酸からなる生理活性ペプチド^{注1)}を発見しました。

腸管内の細胞は様々な栄養素を検知して代謝を制御しています。遊離脂肪酸(FFA)もその一つで、FFA に対する受容体 FFAR1 を活性化するとインスリン^{注2)}分泌により血糖値の上昇を抑えます。FFAR1 を作動させる従来の低分子化合物は、毒性や副作用も報告されており、毒性の少ない新しい化合物の開発が注目されていました。

同グループは、同様の活性を持ち低毒性な新しい候補化合物として、天然アミノ酸からなるペプチド STTGTQ の探索に世界で初めて成功しました。さらに、機械学習^{注3)}を用いた配列機能相関^{注4)}解析により、さらに高い活性を持つペプチドも探索できることを明らかにしました。これらのペプチドは、膵β細胞でグルコース濃度依存的インスリン分泌を、さらに腸内分泌細胞^{注5)}では GLP-1 分泌を促進したことから、従来の作動薬に代わる全く新しい血糖値安定化物質になる可能性があります。また、このペプチドをさらに改変し、本研究室で構築した可食性タンパク質^{注6)}由来のペプチド約 20 万種類を収載したデータベースに突き合わせたところ、同等の活性を持つ可食性タンパク質由来のペプチド 3 種類の同定にも成功しました。

FFAR1 を活性化するペプチドの発見は本研究が初めてであり、本研究で発見されたペプチドは二型糖尿病や肥満の予防・改善に効果がある機能性食品への利用や、FFAR1 作動薬の基礎研究に役立つことが期待されます。

本研究成果は、学術雑誌 Biochemical and Biophysical Research Communications, 550, 177-183 (2021)(2021 年 3 月 6 日)に掲載されました。

【ポイント】

- ・天然アミノ酸からなる FFAR1 活性化ペプチドを発見した。
- ・機械学習でさらに高活性なペプチドが探索できることを明らかにした。
- ・膵β細胞でグルコース濃度依存的インスリン分泌、腸内分泌細胞では GLP-1 分泌を確認。
- ・可食性タンパク質中に同等の活性を持つ 3 種類の天然ペプチドを発見した。

【研究背景と内容】

糖尿病と治療薬

現在、過食、運動不足、肥満、ストレスなどの適切でない生活習慣に起因する二型糖尿病が深刻な問題となっている。二型糖尿病は、主に膵島機能不全によるインスリン分泌の低下や、インスリン感受性が低下するインスリン抵抗性が原因で発症する慢性疾患である。現在用いられている経口血糖降下薬、スルフォニルウレアは、低血糖のリスクがある。インクレチン^{注7)}製剤は膵臓β細胞^{注8)}に直接作用するが、注射剤であり高価で利便性が低い。DPP-4 阻害薬^{注9)}は、血中インクレチン濃度を増加させるが、個人のインクレチン分泌量に影響するため、効果が十分でない場合がある。

糖尿病治療の標的分子

遊離脂肪酸受容体 1 (GPR40/FFAR1) は G protein-coupled receptor (GPCR)^{注10)} であり、膵臓β細胞、腸内分泌細胞に多く発現している。FFAR1 は中・長鎖脂肪酸によって活性化され、膵臓β細胞において受容体に共役した G タンパク質を介して細胞内情報伝達系に伝搬しグルコース濃度依存性インスリン分泌を促進する。低血糖のリスクなく血糖値を安定化できるため、FFAR1 は新規二型糖尿病治療の標的分子として注目を浴びている。また、腸内分泌細胞においては、別の G タンパク質を介してインクレチン (GLP-1、GIP) 分泌を促進する。GLP-1 は膵臓β細胞に作用してインスリン分泌を促進するだけでなく、摂食抑制作用による体重減少を引き起こすため、肥満改善にも効果がある。G タンパク質の両方の経路を活性化する FFAR1 アゴニスト^{注11)} は肥満改善・糖尿病治療両方に効果が期待されるため、新たな治療戦略となっている。

生理活性ペプチド

ペプチドは 2~数十残基のアミノ酸がつながったポリマーである。L 型天然アミノ酸のみでも 20 種類存在するため、ペプチドは配列多様性が非常に大きく、医薬品や機能性食品素材のリード化合物のライブラリーとして期待されている。近年では、生活習慣病の予防・改善を目的とした生理活性ペプチドが注目されており、実際に血圧降下、抗酸化作用などの機能を持つペプチドが発見されている。これらの生理活性ペプチドは、食品タンパク質の酵素分解物として添加する形で機能性食品に応用されることが多い。食品由来のペプチドは体内で機能を発揮した後、最終的には、消化管プロテアーゼや腸内細菌プロテアーゼによってアミノ酸に分解されて代謝されるため人体への毒性も低いと考えられる。

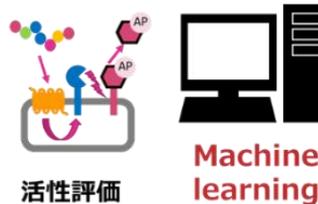
1. シード配列の取得



2. シード配列の改変



3. 機械学習による高活性化



4. 高活性化ペプチドの活性評価



5. 可食性タンパク質からの探索

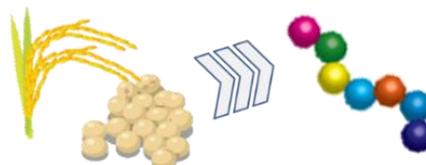


図1 研究の流れ

得られた成果

FFAR1 アゴニスト活性を持ち、低毒性な新しい候補化合物として、天然アミノ酸からなるペプチドの探索に成功した(図1)。まず、FFAR1 を発現する HEK293 細胞を用いて、ファージディスプレイ法^{注12)}により FFAR1 にヒットするペプチド(配列情報: STTGTQ^{注13)})を世界で初めて発見した。次に、このペプチドの1アミノ酸置換体^{注14)}を、当研究室で考案した可溶性ペプチドライブラリー^{注15)}合成法で合成・評価し、機械学習を用いた配列機能相関解析により、高活性なペプチドの予測モデルを構築した。その結果、STTGTQ より約3倍高活性で、より低濃度で高いインスリン分泌を示すペプチド STKGTG を発見した。ペプチド STKGTG は膵β細胞でグルコース濃度依存的インスリン分泌を確認し、また腸内分泌細胞株においても FFAR1 を活性化し、GLP-1 分泌を促進した。最後に、ペプチド STKGTG をさらに改変し、本研究室で構築した可食性タンパク質由来のペプチド約20万種類を収載したデータベースに突き合わせて検索したところ、ペプチド STKGTG と同等の活性を持つペプチド3種類を同定した。

【成果の意義】

FFAR1 は糖尿病の標的分子として注目されてきたが、FFAR1 を活性化できる化合物は低分子創薬化合物の開発のみ進められており、天然アミノ酸からなるペプチドの開発は行われてこなかった。天然ペプチドで活性化できるということは、タンパク質加水分解物で効果が期待できるため、健康食品など、安全な食品添加物の開発につながる。

【用語説明】

注1)ペプチド: アミノ酸がペプチド結合で連なったポリマー。タンパク質になる天然アミノ酸は20種類ある。

注2)インスリン: 膵臓β細胞(後述)で作られるペプチドホルモン。血糖値を下げる作用がある。インスリン分泌量や効き具合が低下すると2型糖尿病を発症する。

注 3)機械学習:学習データを使ってある現象の本質を帰納法的に明らかにしようとするアルゴリズムあるいは構築した数学的関係式(モデル)のこと。ここではアミノ酸の物理化学的特徴を説明変数として生理活性の大小を学習している。

注 4)配列機能相関:機械学習で構築したモデルで配列特性から生理機能の大小を類推すること。

注 5)腸内分泌細胞:腸管上皮細胞の約 1%を占める。消化管ホルモンを分泌することにより胃液や膵液の分泌および蠕動運動を促進し消化の制御に重要な役割をはたす。

注 6)可食性タンパク質:食経験のある食物由来のタンパク質。米、大豆、乳、など多数ある。

注 7)インクレチン:膵臓β細胞を刺激して、血糖値依存的にインスリン分泌を促進する消化管ホルモン。代表例が GLP-1。ジペプチジルペプチダーゼ(DPP)-4 によって不活性化される。

注 8)膵臓β細胞:膵臓ランゲルハンス島に存在するインスリン分泌細胞のこと。

注 9)DPP-4 阻害薬:インクレチンを分解する酵素である DPP-4 の働きを抑えることでインクレチンを長持ちさせて働きを強め、インスリンを増やして血糖を下げる。

注 10)GPCR:G タンパク質共役型受容体。生体に存在する受容体の形式の受容体の 1 つで様々な生体反応の制御に関わっている。

注 11)アゴニスト:受容体に結合し生体内の本来の物質と同様に細胞内情報伝達系を作動させる化合物。

注 12)ファージディスプレイ法:生理活性ペプチドを探索するための方法で、10 の 9 乗種類のペプチドを探索・評価できる。

注 13)配列情報 STTGTQ: ペプチドはアミノ酸配列の違いで機能が発現したり消失したり、別の機能が発現されたりするため、その配列情報がとても重要である。20 種類あるアミノ酸を1文字表記した。S はセリン、T はスレオニン、G はグリシン、Q はグルタミン、また後述の STKGTQ で、K はリジン、F はフェニルアラニンを示す。

注 14)アミノ酸置換体:ペプチド配列中のアミノ酸残基を置換すると生理活性が消失したり増強されたりする。このためここではたくさんのアミノ酸置換体があるなかで、ペプチドを構成する一つのアミノ酸のみを別のアミノ酸に置換した1アミノ酸置換体を評価している。

注 15)ペプチドライブラリー:配列の異なる多数のペプチドを合成した集団のこと。評価できる多数のペプチドが集められたコレクションなのでライブラリーと呼ばれる。

【論文情報】

掲載紙:Biochemical and Biophysical Research Communications, 550, 177-183 (2021)

論文タイトル:Screening of a novel free fatty acid receptor 1 (FFAR1) agonist peptide by phage display and machine learning based-amino acid substitution

著者:Keitaro Yoshioka^a, Haruki Yamashita^a, Kazunori Shimizu^a, Sayako Shimomura^b, Takahiro Shibata^b, Jun-ichi Miyazaki^c, Hiroyuki Honda^a

a:名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻

b:名古屋大学大学院生命農学研究科応用生命科学専攻

c:大阪大学共創機構産学共創本部

DOI: 10.1016/j.bbrc.2021.02.142