



私の研究

2017年度の「私の研究」は、本年、創立30周年を迎えたいわき明星大学の新しいシリーズを展開いたします。看護学部を開設し、「学び」の環境が一層充実した当大学の先生方に1年間ご執筆いただきます。ご期待ください！

連載にあたって

いわき明星大学

学長 **山崎 洋次**



本学教員による「私の研究」の連載にあたり、本学の紹介と研究に関する若干の所感を述べたい。

本学は昭和62年、いわき市からの誘致をうけた学校法人「明星学苑」により、東京都日野市にある明星大学の兄弟校として開学された。約14万坪の校地と校舎建設費の半分がいわき市から提供され、理工学部と人文学部の2学部で発足した。平成4年には大学院（理工学研究科、人文学研究科）が開設され、その後、平成13年に人文学部に心理学科の設置、平成17年に理工学部から科学技術学部への改組などを経て、平成19年に6年制薬学部が新設された。

平成23年の東日本大震災と、それに伴う福島第一原子力発電所事故という大災厄による科学技術学部と人文学部の入学者激減は、大学経営の根幹を大きく揺るがすこととなった。科学技術学部の

存続は極めて困難と判断し、平成27年度から学生募集停止という苦渋の決断をした。周囲の関係者からは、原子炉の廃炉や再生可能エネルギー関連の技術者養成という観点から科学技術学部の存続要請もあったが、それ等の目的だけで科学技術学部を維持することは到底不可能と考えた。また人文学部は表現文化学科、現代社会学科、心理学科の3学科構成であったが、経営・ビジネス、行政等の実学的教育課程も盛り込んだ学際的学部へ転換することとし、同じく平成27年度から教養学部地域教養学科の1学部1学科に再編し、メジャー制を採用して再出発することとした。したがって、平成29年度現在、教養学部は1-3年生、人文学部は4年生、科学技術学部も4年生という学年構成となっている。

教養学部の学科名称であるが、地域に根差した

人材養成を具現化するために「教養学科」ではなく「地域教養学科」とした。地域教養学という学問体系、学術用語があるのかという意見もあったが、他大学で標榜されている国際教養学の比較・対比として、また本学の目指していることのメタファー（暗喩）として「地域教養学科」とした。

教養学部は3つのメジャー（地域と社会、心理と人間行動、国際コミュニケーション）と6つのサブメジャー（地域公共政策、地域とビジネス、復興支援、ICT、日本語・日本文化、教職）からなっている。

薬学部も、開設してから平成28年度で節目の10年目を迎えた。6年制薬学部の入学者はほぼ例外なく薬剤師になることを目指しているため、薬剤師国家試験に合格することが、唯一の目的ではないが最優先の目的である。従って、本学では国家試験に合格するに十分な学力獲得には特段の意を用いてきた。その結果、平成25年卒業の1期生から平成28年卒業の4期生までの合格率は4年連続で全国平均を上回り、東北・北関東地区の薬系大学に限っていえば1位、2位、1位、1位と推移し、第101回（平成28年）には全国1位という快挙を達成することができた。

また、科学技術学部が募集停止したことを受けて、新学部としてかねてから地元関係者から要望があった看護学部設置許可申請（看護学部看護学科、入学定員80名）を平成28年3月に行い、10月に設置が認可され、この4月に看護学部1期生を受け入れることとなった。平成29年4月現在、全国の4年制看護大学（大学校を含む）は263校で、人口あたりで見ると約50万人に1校となる。福島県の人口は約190万人であるので、県内に4校程度の4年制看護大学があってもいいことになるが、県立医科大学に看護学部が設置されているのみであった。

さて大学における研究であるが、大学の使命は

教育、研究、地域貢献（医学部や歯学部は付属病院における医療の提供も含まれる）である。そして研究についての喫緊の課題は研究経費の減少ということである。

財政制度等審議会（財政審）財政制度分科会（平成28年11月4日開催）において、財政審から提出された資料（国立大学法人運営費交付金関係）によると、平成16年度と平成28年度を比較した場合、学生一人当たり、研究者一人当たりのベースで見ても、国立大学生の教育経費は8割増加しており、国立大学研究者の研究経費も4割増加している。一方、文部科学省の見解は以下の通りである。(1)教育研究経費は見かけ上のものを含め増えているが、その増加の一方で、運営費交付金は減少している。(2)運営費交付金の減少によって、常勤教職員人件費を圧迫しており、教職員の雇用の不安定化が懸念される。(3)教員の個人研究費は減少し、国立大学教員の約6割が年間50万円未満で、国立大学の教育研究基盤の脆弱化が懸念される。以上のことから文部科学省は、外部資金で研究措置をしても、教育研究を支える基幹的な教員の体制確保は運営交付金で賄わなければならないと主張している。

私立大学についていえば、状況はさらに深刻であり、平成29年度の予算でも86校の国立大学には1兆970億円の運営費交付金等が措置されるのに対して、604校に上る私立大学への補助は3,153億円で、国私間格差は大きいままであるから、私立大学における教育研究費の減少は推して知るべしである。

本学においても個人研究費の大幅削減を余儀なくされ、各教員には外部の競争的研究資金の積極的な取得・導入を督励しているところであるが、そのような厳しい研究環境下で、われわれがどのような研究を行っているかの一端を、読者の皆様にご覧いただければ幸いです。



私の研究

脂質を標的とした ペプチド創薬研究

佐藤 陽 (さとう あきら)

いわき明星大学 薬学部
助教



1. はじめに

脂質は、人間が生きるために必要不可欠な三大栄養素の一つである。私達が食事から摂取した脂質は、身体のエネルギー源になる他、私達の基本単位である細胞の膜構成成分として重要な役割を果たしている。また、脂質は生理活性物質としての役割も有しており、例えばテストステロンやエストロゲンなどの性ホルモンはコレステロールを原料として作られている。このように、脂質は身体にとって極めて重要な役割を担っているが、一方で近年、脂質の過剰摂取がメタボリックシンドロームや脂質異常症などを引き起こすこと、また脂質は高血圧や糖尿病、脂質異常、肥満、喫煙、加齢などによる酸化ストレスを受けて過酸化脂質を生じ、動脈硬化やがん、脳卒中、虚血性心疾患など生命に関わる疾患を引き起こすことが問題となっている。現在、これら疾患の患者数・死亡数はともに増加傾向にあることから、その有用な予防・診断・治療法を開発することが喫緊の課題となっている。

私達の研究室では、特にリン酸を含む脂質（リ

ン脂質）に着目し、様々な生理的・病理的状況で酸化や分解を受けた2種類のリン脂質（酸化リン脂質、リゾリン脂質）、およびそれら脂質を主な構成成分として動脈硬化の発症・進展に関わる酸化低密度リポタンパク質（酸化LDL）を標的とした創薬研究を行っている。本稿では、最近私達が見出した、これら脂質との特異的結合能を有する複数種のペプチド（図1）を用いた創薬研究について紹介する。

2. 血小板活性化因子（platelet-activating factor: PAF）を標的とした創薬研究

PAFは、酸化リン脂質・リゾリン脂質に類似した構造を有しており、血小板や好中球、好酸球など種々の細胞より産生され、その特異的なPAF受容体に結合することで強力な炎症・アレルギー反応を惹起する⁽¹⁾⁽²⁾。また、PAFが過剰に産生されると、気管支喘息や関節炎、皮膚炎、アナフィラキシーなど様々な炎症・アレルギー疾患を引き起こすことが知られている。私達は、本ペプチド（図1）のPAF関連疾患治療薬

(A)

P29 IKNASLSWGK**WKYKDG**DKDAEITSEDEVQKQ
 P24 LSWGK**WKYKDG**DKDAEITSEDEVQKQ
 P21 IKNASLSWGK**WKYKDG**DKDAEI
 P16 LSWGK**WKYKDG**DKDAEI
 P15 IKNASLSWGK**WKYKDG**
 P11 **W**GK**WKYKDG**DKD
 P9 **W**GK**WKYKDG**
 P7 **YKDG**DKD
 P6 **WYKDG**
 P4 **YKDG**

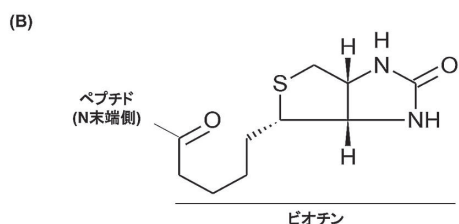


図1 (A)合成ペプチド (P4-P29) のアミノ酸配列と (B)そのN末端ビオチニル化ペプチドの構造

としての有用性を調べる目的から、まず P4、P21 の PAF との結合実験を行った結果、偶然にも P4、P21の標識体として用いていたN末端ビオチニル化P4およびP21 (BP4、BP21、図1)が、非ビオチニル化P4、P21に比べ、PAFに対して高い結合性を示した。さらに、ラットPAF誘発足浮腫モデルを用いて各種ペプチドのPAF活性に対する効果を調べた結果、BP4、BP21はともに静脈内、皮下いずれの投与においても低用量 (10 nmol) で劇的な抗PAF作用を示し (図2)、その効果は用量依存的でP4、P21よりも優れていた。一方、Tyr-Lys-Asp-Gly (YKDG) 配列を有さないN末端ビオチニル化ペプチドは抗PAF作用を示さなかった。以上の結果から、BP4、BP21を含む図1のビオチニル化ペプチドはPAFと直接結合してその活性を劇的に抑制することが解り、この結合にはYKDG配列およびN末端に結合したビオチンが重要な役割を果たしていると考えられた。

現在、PAFに関連した薬剤については、PAF

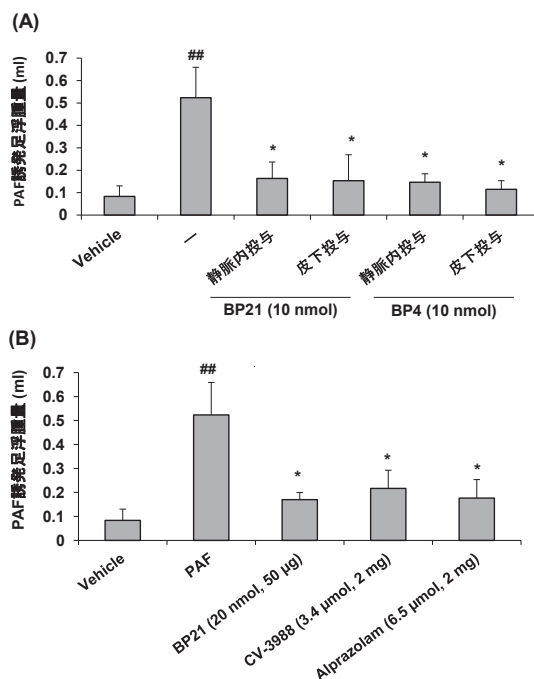


図2 ラットPAF足浮腫モデルを用いたビオチニル化ペプチドのPAF活性に対する効果

(A) BP21, BP4のPAF活性に対する効果
 (B) BP21と既知PAF受容体拮抗薬 (CV-3988、アルプラゾラム) の抗PAF活性に対する効果の比較
 ## $P < 0.05$ (対 vehicle) * $P < 0.05$ (対 PAF 単独)

受容体を標的としたPAF受容体拮抗薬が多く開発・研究されている。特にCV-3988⁽³⁾などは抗アレルギー薬や抗喘息薬として臨床試験段階にあるが、未だ実用化されていない。そこで、BP21と、既知PAF受容体拮抗薬のCV-3988⁽³⁾、アルプラゾラム⁽⁴⁾との抗PAF作用を比較した結果、BP21はPAF受容体拮抗薬の150~300分の1の投与モル量と極めて低用量で劇的な抗PAF作用を示した (図2)。PAF受容体拮抗薬は、PAF分子を直接阻害しないため、局所投与では効果を示すが、全身投与では効果不十分である、PAF受容体以外のリゾリン脂質や酸化リン脂質などの受容体にも拮抗するため予期しない副作用が発現するおそれがある、などの問題点を有している。それに対し、本ビオチニル化ペプチドは、PAF分子を標的としており、局所・全身投与いずれにお

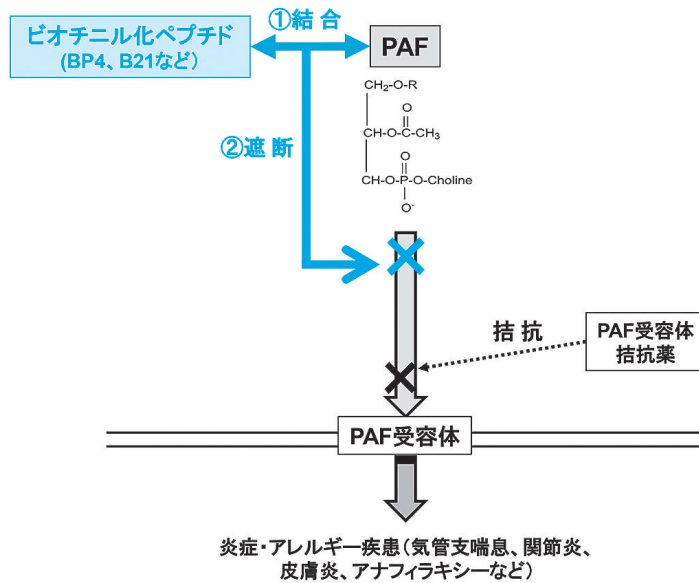


図3 ビオチニル化ペプチドとPAF受容体拮抗薬のPAF活性阻害メカニズムの違い

いても十分な効果が期待できると考えられる（図3）。なお、実験動物において本ペプチドは高用量を投与しても副作用を発現しないことを確認している。

以上より、本ビオチニル化ペプチド（図1）はPAF分子を標的とした新しい抗炎症薬ならびに抗アレルギー薬として期待できると考え、2016年に特許を取得した（特許第5982676号）。現在はビオチニル化ペプチドのアナフィラキシー治療薬としての有用性を疾患モデル動物を用いて調べているが、今後はさらに他のPAF関連疾患に対するペプチドの効果についても調べていきたい。

3. 酸化LDLを標的とした動脈硬化診断薬の開発研究

動脈硬化は、生活習慣病や喫煙、加齢などで増大した酸化ストレスによる血管内皮機能の低下（血管内皮細胞の障害）から始まる。その後、血液中の単球が、弱った血管内皮細胞の隙間から内膜下に入り込んでマクロファージに変化し、酸化ストレスにより増加した酸化LDLを無限に取り

込んで泡沫細胞になり、その結果として内膜が肥厚して盛り上がった粥腫（プラーク）が形成される。近年、酸化LDLは動脈硬化の形成・進展に関与する酸化ストレスのマーカーとして注目されており、血液中に増加する酸化LDLの濃度を測定する技術、もしくはプラークに蓄積する酸化LDLを検出する技術が開発されれば⁽⁵⁾⁽⁶⁾、動脈硬化の診断、予防、治療などにつながり、患者の生活の質（QOL）の向上や死亡率の低下につながると考えられている。

通常、血液中に存在する全LDLの90～95%は非酸化型であり、残りの約5～10%はわずかに酸化を受けた微小酸化LDL（minimally modified LDL: MM-LDL）である⁽⁵⁾⁽⁶⁾。そして、動脈硬化の発症・進展時には、より酸化されたLDL（heavily oxidized LDL: Ox-LDL）がプラークに存在し、わずかながら血液にも存在している（図4）。また、MM-LDLは血管の壁組織と内腔との間を移動して、プラークでOx-LDLへ変化しマクロファージの泡沫化に関与するとも考えられている。一方、各種LDL中のリン脂質に注目すると、

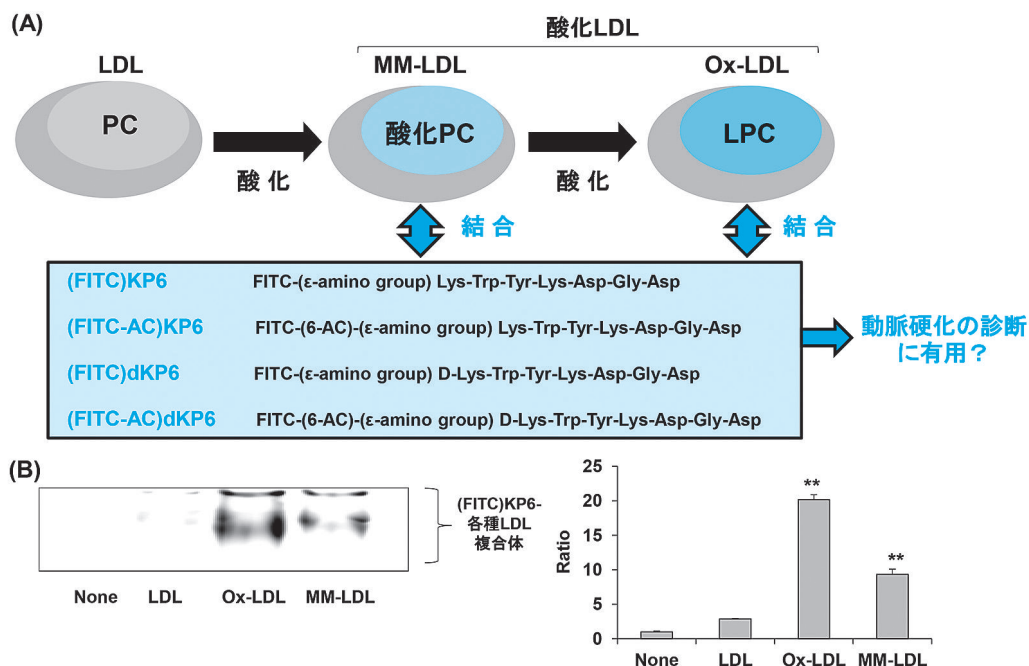


図4 蛍光標識ペプチドのアミノ酸配列および酸化LDLとの特異的結合

- (A) LDLの酸化過程および酸化LDLとの特異的結合能を有する蛍光標識ペプチドのアミノ酸配列
6-AC: 6-アミノカプロン酸
- (B) 電気泳動および蛍光画像解析を用いた (FITC) KP6-各種LDL複合体とその定量 (Noneを1としたときの各種LDLに対する (FITC) KP6の結合量の比) ** $P < 0.01$ (対LDL)

LDLのホスファチジルコリン (phosphatidylcholine: PC) は、MM-LDLでは酸化リン脂質(酸化PC)に、Ox-LDLではリゾリン脂質の一種であるリゾホスファチジルコリン (lysophosphatidylcholine: LPC) にそれぞれ変化する。私達はこれまで、酸化LDLおよびその主要構成脂質である酸化PC、LPCに対し特異的に結合するペプチド(図1)を見出してきた。さらに私達は、酸化LDLを標的とした動脈硬化診断薬を開発する目的から、代表的な蛍光物質のフルオレセインイソチオシアネート (fluorescein isothiocyanate: FITC) を用いて、酸化LDLに対して特異的かつ高い結合性を示す蛍光標識ペプチドの設計、作製を行った。まずBP4、BP21に結合するビオチンをFITCに代えたFITC標識化P4、P21は酸化LDLに対してほとんど結合しないことが解った。一方、図1のペプチドの配列をもとに設計

した、7個のアミノ酸 (Lys-Trp-Tyr-Lys-Asp-Gly-Asp) からなりN末端側Lysのε-アミノ基に直接またはリンカーである6-アミノカプロン酸を介してFITCを修飾したペプチド-(FITC)KP6、(FITC-AC)KP6-はいずれも、LDLに比べ、Ox-LDL、MM-LDLに対してそれぞれ約10倍、約4倍高い結合性を示した(図4)。

一般に、ペプチドは生体内(特に血漿中)において酵素による分解を受け易く安定性に乏しいと言われている。そこで私達は、ペプチドの生体内安定性向上の一手法であるペプチドのD-アミノ酸化法をもとに、酸化LDLに対する特異結合性を示すD-アミノ酸含有FITC標識ペプチドを設計・作製し、そのマウス血漿中での安定性を調べた。その結果、(FITC)KP6の未変化体は1時間後に約70%まで低下したのに対し、(FITC)KP6のN末端側LysをD体化した(FITC)dKP6の未

変化体は1時間後でもほぼ100%のままで血漿中安定性に優れていることが解った。

以上より、本蛍光標識ペプチドは新たな動脈硬化診断薬として期待できると考え、現在特許出願を行うとともに、本ペプチドを用いた動脈硬化の体外診断としての血中酸化LDL濃度定量法の開発を進めている。将来的には、ペプチドを用いた生体内の酸化LDL検出技術を開発し、動脈硬化の体内診断にも応用したいと考えている。

4. 最後に

本稿では、酸化リン脂質やリゾリン脂質およびそれらを主要構成成分とした酸化LDLとの特異的結合能を有する複数種のペプチド（図1）を用いた創薬研究について紹介した。将来、本ペプチドがアナフィラキシーや動脈硬化をはじめ様々な疾患の予防・診断・治療などに広く使用され、患者のQOLの向上、死亡率の低下、医療費の削減、さらには本研究で得られた知見による様々な研究分野の発展などに貢献したいと考えている。

<謝辞>

本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構の研究成果展開事業（A-STEP）、日本私立学校振興・共済事業団ならびに公益財団法人インテリジェント・コスモス学術振興財団の助成による支

援を受けたものであり、併せてここに感謝の意を表します。

<参考文献>

- (1) Chao W, Olson MS. Platelet-activating factor : receptors and signal transduction. *Biochem. J.* 292, 617-629, 1993.
- (2) Pałgen K, Bartuzi Z. Platelet activating factor in allergies. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 28, 584-589, 2015.
- (3) Terashita Z, Tsushima S, Yoshioka Y, et al. CV-3988-a specific antagonist of platelet activating factor (PAF). *Life Sci.* 32, 1975-1982, 1983.
- (4) Zarco P, Maestre C, Herrero-Beaumont G, et al. Involvement of platelet-activating factor and tumour necrosis factor in the pathogenesis of joint inflammation in rabbits. *Clin. Exp. Immunol.* 88, 318-323, 1992.
- (5) Nishi K, Itabe H, Uno M, et al. Oxidized LDL in carotid plaques and plasma associates with plaque instability. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 22, 1649-1654, 2002.
- (6) Itabe H, Obama T, Kato R. The dynamics of oxidized LDL during atherogenesis. *J. Lipids* 2011, 418313, 2011.

<プロフィール>

1977年 岩手県生まれ。2001年 東北大学薬学部卒業、2001年 薬剤師免許取得、2003年 東北大学大学院薬学研究科博士前期2年の課程修了、2003年 一般財団法人大原総合病院薬剤師、2007年～2013年 いわき明星大学薬学部研究助手、2009年 東北大学大学院薬学研究科博士後期3年の課程（社会人）入学、2012年 同課程修了、博士（薬学）（東北大学）、2013年よりいわき明星大学薬学部助教。

2015年 インテリジェント・コスモス奨励賞、2015年 日本薬学会東北支部奨励賞。