

論文題目 エラスチンに由来する短鎖型ペプチドの開発と応用

研究論文の概要

エラスチンタンパク質は細胞外マトリックスの一種で、大動脈をはじめ、項靱帯、皮膚、子宮、弾性軟骨、黄色靱帯などの弾性が必要な組織や臓器に存在している。エラスチンの最も重要な機能は弾性機能であり、これらの組織に適切な割合で存在し、弾力性を与えている。エラスチンには特徴的なアミノ酸の繰り返し配列が存在するが、その中でも Val-Pro-Gly-Val-Gly (以下 VPGVG と略) から成るペンタペプチド繰り返し配列は、エラスチンの弾性機能発現に重要なコアセルベーションと呼ばれる温度依存的な分子の自己集合、解離の性質をもち、エラスチンの弾性機能を担う配列であると報告されている。これまで、エラスチンの弾性発現について、いくつかの分子モデルが提示されてきたが、未だに弾性発現メカニズムは解明されていない。一方、VPGVG から成る繰り返し配列 Poly(VPGVG) は、コアセルベーションを示すため様々なバイオマテリアルへの応用が期待されている。しかし、使用されている VPGVG の繰り返し回数は少なくとも 40 回以上であり、素材を作製する上で技術面、コスト面における問題があり、産業界での利用には至っていない。

これまでに、VPGVG 配列とコアセルベーション能に関して、ポリマーではコアセルベーション能を示すが、繰り返し回数が 1 であるモノマーでは示さないと報告されている。しかし、コアセルベーションを示すために最低限必要な繰り返し回数に関しては議論されていなかった。コアセルベーションを示す為に最低限必要な分子サイズを確認し、コアセルベーションを示す配列と示さない配列の構造的な相違を調べることで、弾性機能の分子メカニズム解明には必要となる。また、その分子サイズが分かれば、従来よりも短い配列でコアセルベーションを示すようなペプチドが設計可能となり、応用面への貢献も期待される。本研究ではコアセルベーションの分子メカニズムの解明と短鎖ペプチドのバイオマテリアルへの応用を目標とし、以下の章立てで記述した。

第 1 章では、エラスチンのコアセルベーション能と構造に関する一般的な知見及びバイオマテリアルへの応用研究について述べ、本研究の重要性について記載した。

第 2 章では、エラスチン由来ペプチドの分子サイズ、コアセルベーション能、分子構造の系統的な研究を行うことで、コアセルベーションを示すペプチドの構造的な特徴を調べた。コアセルベーションには分子自身の疎水度が重要であるという報告をもとに、ここでは VPGVG 配列における 1 位の Val を Ile に置換した一連のエラスチン由来ペンタペプチドアナログ $\text{H-(IPGVG)}_n\text{-NH}_2$ ($n=1-10$) を作製しコアセルベーション特性の解析を行った。その結果、VPGVG 配列と比較するとより短い配列で非常に高いコアセルベーション能を示すことが明らかとなった。特に、 $\text{H-(IPGVG)}_n\text{-NH}_2$ ($n \geq 7$) はコアセルベーションを示したが、 $\text{H-(IPGVG)}_n\text{-NH}_2$ ($n=1-6$) では示さず、繰り返し回数による明確な違

いが確認された。よって、次にこれらのペプチドを用いて詳細な構造解析を行った。その結果、コアセルベーションを示す自己集合性ペプチドは温度に応じて構造が変化し、低温ではランダム構造、高温では II 型 β ターン構造を示した。一方、コアセルベーションを示さないペプチドでは高温においてもランダム構造が多い結果となった。即ち、コアセルベーション能を示すペプチドの構造上の特徴として、主に II 型 β ターン構造を含んだより規則的な構造を持つということが明らかとなった。これらの結果は、繰り返し回数が 40 以上の Poly(VPGVG) で報告されている構造とも類似しており、短い配列でも同様な構造をとることを示した。

第 3 章では、バイオマテリアルに利用できるような短鎖ペプチドの探索を目的とし、ペプチドの設計及びコアセルベーション能の解析を行った。ここでは、VPGVG 配列の 1 位の Val を Phe に置換した FPGVG 配列を作製した。コアセルベーション能を解析した結果、 $H-(FPGVG)_n-NH_2$ ($n=5$) がポリマーと同等の自己集合能を示した。僅か 25 残基からなるペプチドが 200 残基以上のペプチドと同等の性質を示す事は驚くべきことであり、本研究で初めて明らかとなった。この成果から、より安価なバイオマテリアル用素材の開発が期待される。さらに、これまでコアセルベーション能には分子自身の疎水度が重要である事が一般的に認識されていたが、ここでは芳香環がコアセルベーション能を促進している可能性も示唆された。

第 4 章では、第 3 章の結果を受け、コアセルベーションに対する芳香族アミノ酸の影響を調べた。ここでは、VPGVG 配列の 1 位の Val を、芳香族アミノ酸 Trp、Tyr にそれぞれ置換した WPGVG 配列及び YPGVG 配列から成る繰り返し配列を合成した。同じ配列を比較すると、コアセルベーションに対する一般的な知見と同様に、すべての配列において疎水度の増加に伴いコアセルベーション能も増加した。特に、(WPGVG)₃ に関しては僅か 15 残基でありながらコアセルベーション能を示した。一方、(YPGVG)₅ は第 2 章で検討した (IPGVG)₅ よりも疎水度が低いにも関わらずコアセルベーションを示した。このことは、コアセルベーション能が疎水度に加えて芳香環によっても促進される事を示唆している。一般的な知見に加え、コアセルベーションを促進する別の因子の発見は、分子設計の上で重要となるだろう。

第 5 章では、第 3 章で開発した (FPGVG)₅ について、バイオマテリアル用担体としての検討を行い、(FPGVG)₅ がポリマーの代替材料として利用できる可能性が示された。

最後に第 6 章を結論とし、ここまでの成果をまとめた。

本研究では、様々なエラスチン由来ペプチドアナログを設計して系統的な検討を行った。その結果、コアセルベーションに必要な分子構造、分子サイズ、促進因子など、エラスチンの弾性機能解明やバイオマテリアル用素材としての設計に関する様々な知見が得られた。