

食品由来短鎖抗菌ペプチドの抗炎症作用と創傷治癒作用の解析と そのメカニズムの解明

新潟大学工学部機能材料工学科・教授 谷口 正之

■ 目的

これまでに3種類の食品タンパク質のアミノ酸配列からヒト病原微生物に対して抗菌活性を有する6種類の短鎖ペプチド(12～18アミノ酸残基)を見出し、それらの抗菌活性を明らかにしている。これらの抗菌ペプチドの中でコメの α -アミラーゼの部分配列である18残基のアミノ酸からなるペプチド(AmyI-1-18)は、感染防御ばかりでなく、抗炎症作用や創傷治癒作用を発揮することを新たに見出した。そこで、本研究では、食品由来の短鎖ペプチドであるAmyI-1-18の抗炎症作用と創傷治癒作用をさらに解析し、そのメカニズムを解明することを目的とした。

■ 方法

抗炎症作用を評価するために、AmyI-1-18による炎症性メディエータである一酸化窒素(NO)の産生抑制試験を行った。96ウェルプレートにマウスマクロファージ(RAW264)を播種し、一定時間培養後に*Escherichia coli*のリポ多糖(LPS)とAmyI-1-18を同時に添加して、NOの産生量をGriess試薬によって測定した。また、LPSを特異的に検出するLAL試薬を用いたリムルステストによって、AmyI-1-18とLPSの結合を測定した。

創傷治癒作用を評価するために、管腔形成促進試験を行った。96ウェルプレートにコラーゲン様マトリゲルを用いて人工基底膜を作製し、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)とAmyI-1-18を添加した。一定時間培養後に、血管構造を形成した細胞の長さの合計を測定した。また、細胞遊走を測定するスクラッチ試験では、24ウェルプレートにマウス線維芽細胞(NIH3T3)またはHUVECを播種し、コンフルエントな状態になるまで培養後、スティックによって一定の幅の創傷を作製した。その直後にAmyI-1-18を添加して、一定時間培養後に創傷の幅を測定し、創傷閉鎖率を求めた。

■ 結果および考察

NO産生抑制試験において、RAW264細胞をLPSで刺激した場合にNOの産生量が増加したが、AmyI-1-18を添加することによって、NOの産生量が減少した。リムルステストにおいて、AmyI-1-18は濃度に依存してLPSによる発色反応を阻害した。管腔形成促進試験において、人工基底膜上でHUVECを培養した結果、血管構造をした細胞が形成された。AmyI-1-18を添加した場合に、血管構造をした細胞の長さの合計が増加した。また、増殖因子レセプターの阻害剤を添加してHUVECを培養し、AmyI-1-18の管腔形成促進作用を検討した結果、その作用が減弱した。さらに、NIH3T3細胞を用いたスクラッチ試験において得られた72時間後の創傷閉鎖率を測定した。その結果、コントロールと比べて、AmyI-1-18を添加した場合に、創傷閉鎖が促進し、AmyI-1-18の濃度を $0.1\mu\text{M}$ で添加したときに、最も創傷閉鎖が促進された。

以上の結果から、AmyI-1-18は抗菌作用以外にLPSに結合することによって抗炎症作用を発揮すること、および細胞の増殖因子レセプターと相互作用して創傷治癒作用を発揮することがわかった。

■ 結語

コメの α -アミラーゼの部分配列である18残基のアミノ酸からなるペプチド(AmyI-1-18)は、抗菌作用ばかりでなく、抗炎症作用や創傷治癒作用を発揮することを明らかにした。