2La06 ユビキチン阻害 Cblin ペプチドを基に設計した QDGYMPW の Caco-2 膜透過挙動の解明に関する研究

([1] 九大院・生資環, [2] 徳島大院・医歯薬学研究部・生体栄養, [3] 九大院・農)

○小野聖文 [1], Weilin Shen[1], 中尾玲子 [2], 二川健 [2], 松井利郎 [3]

【目的】寝たきりや無重力環境下における廃用性筋萎縮の一因として、筋肉の増殖因子レセプターのユビキチン化が挙げられる。ユビキチン化を阻害するペプチドとして Cblin ペプチド（DGpYMP）が報告され、遺伝子組み換えにより本ペプチドを骨格とした QDGYMPW が導入された機能性米の作製が行われた。動物モデルにおいて、上記 Cblin 米の摂取による筋萎縮抑制作用が認められた一方で、活性本体とされている QDGYMPW の吸収・代謝挙動は未だ明らかとなっていない。そこで本研究では、QDGYMPW の腸管吸収挙動を解明するために、Caco-2（C2BBe1）細胞を用いた検討を行った。

【方法】QDGYMPW および本ペプチドのベースとなった Cblin 様ペプチド DGYMP を用いて、Caco-2 細胞透過試験を実施した。HBSS buffer に溶解したペプチド（1 mmol/L）を頂膜側に添加後、60 分後まで 15 分ごとに側基底膜側溶液を採取し、LC-TOF/MS を用いてペプチドの検出・定量を行った。

【結果】まず、それぞれの透過試験において、側基底膜側から DGYMP および QDGYMPW がそのままの形で検出され、両ペプチドは Caco-2 膜透過性を有することが明らかとなった。両ペプチドの見かけの透過係数（P_{app}）は、QDGYMPW = $2.5 \pm 0.1 \times 10^{-7}$ cm/s および DGYMP = $3.2 \pm 0.4 \times 10^{-7}$ cm/s であり、同程度の透過速度を示した。次いで、想定されるペプチド分解物の質量電荷比（*m/z*）を基に代謝物スクリーニングを行い、QDGYMPW の代謝物として、DGYMPW, GYMPW, YMPW, QDGYMP, DGYMP, MP、DGYMP の代謝物として、DGYM, DGY, GYMP, YMP, MP が検出された。しかし、いずれの代謝物に関しても、そのままの形で透過した QDGYMPW および DGYMP の透過量の 1/5 以下であった。以上の結果より、QDGYMPW は分解を伴い、そのままの形で腸間膜を透過することが明らかとなった。今後、動物を用いて、QDGYMPW ペプチドの生体内における吸収・代謝挙動を究明する予定である。