

# 生薬由来化合物及び生薬エキスを対象とした プロテアーゼ阻害物質の探索

(申請代表者)	尾山 廣	摂南大学理工学部生命科学科	教授
(共同研究者)	芳本 忠	摂南大学理工学部	教授
(共同研究者)	梅寄雅人	富山大学和漢医薬学総合研究所	特命准教授

## 【背景・目的】

プロテアーゼは多くの複雑な生命現象に関わる重要な生体高分子のひとつである。このうち、ある特定のアミノ酸配列を認識してペプチド結合を水解する「基質特異性の高い」プロテアーゼは、生理機能を有するタンパク質を分解することにより、その機能発現の調節に関わっている。従って、「基質特異性の高い」プロテアーゼを阻害する物質は、プロテアーゼの生理機能を調べるバイオツールのみならず、医薬品への開発も可能となる。例えば、オウゴン、ヨウバイヒ及び生薬抽出液(コガネバナ、ヤマモモの有機溶媒抽出物)は、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)を阻害し、関節リウマチ、癌細胞の転移または歯肉炎等の予防・治療が期待されている(特開平8-104628)。本研究では「生薬由来化合物及び生薬エキス」を対象に細菌由来のプロテアーゼ阻害剤の探索を行った。

セロイドリポフスチノーシスは遺伝性脳変性疾患のひとつであり、若年型は **Batten**病とも呼ばれ、北欧に好発する疾患であるが、日本での発症頻度などは不明な疾患である。この病態の発症にはセリンカルボキシルペプチダーゼファミリーのひとつ、トリペプチジルアミノペチダーゼ I が関与している。

歯周病菌は歯肉のコラーゲンをプロリルトリペプチジルペプチダーゼで分解したアミノ酸を栄養とする。この酵素の活性を阻害すれば歯周病菌は歯肉を分解できないために生育できず、歯周病の治療薬として開発が可能である。

本研究では、セリンカルボキシルペプチダーゼとプロリルトリペプチジルペプチダーゼを標的酵素に「生薬由来化合物および生薬エキス」に含まれる阻害物質を検索した。

## 【結果・考察】

ヒト酵素のトリペプチジルアミノペチダーゼは入手困難のため、微生物起源で構造が類似する耐熱性酵素 **kumamolisin** を標的酵素に阻害実験を行った。生薬エキスセットでは、サフラン、サンシュユ(山茱萸)、ダイオウ(大黃)、チョウジ(丁子)、リョウキョウ(良姜)に阻害活性が検出された。生薬由来化合物では、**Berberine Chloride**、**Dehydrocorydaline Nitrate**、**Demethoxycurcumine**、**Palmatine Chloride**、**Sennoside A**、**Sennoside B**に阻害活性が検出された。なお、サンプル自体に蛍光があるものは適宜希釈して測定したが、測定できないものがあった。

強い阻害活性が見られた **Sennoside** はダイオウやセンナに含まれており、生薬エキスの「ダイオウ」にも阻害が見られたことから、**Sennoside** が **kumamolisin** 阻害物質の候補と考えられた。

歯周病菌由来のプロリルトリペプチジルペプチダーゼを標的酵素に阻害実験を行った。生薬エキスセットでは、カシュウ(何首烏)、ケイガイ(荊芥)、ゴミシ(五味子)、ケイケツウ(鶏血藤)、ゴミシ(五味子)、ダイオウ(大黃)、ビワヨウ(枇杷葉)、ビンロウジ(檳榔子)に阻害活性が検出された。一方、生薬由来化合物には強い阻害活性が検出されなかった。

生薬由来化合物からプロリルトリペプチジルペプチダーゼ阻害物質の候補は見つからなかったが、いくつかの生薬エキスには阻害活性が認められたことから、生薬中に含まれる微量な水溶性物質が阻害に関与するものと考えられた。

## 【結論】

プロテアーゼに対する阻害物質の阻害機構を解明することにより、阻害物質をベースとしたバイオツールや創薬シーズの創製が可能となる。今回の実験では、kumamolisinの阻害物質及びプロリルトリペプチジルペプチダーゼ阻害物質が含まれる生薬の候補がいくつか見つかった。阻害物質の同定や阻害機構の解明を進めることにより、病態発現に関わるプロテアーゼやプロテアーゼ以外の酵素に対する有効な阻害剤やバイオツールを探索する契機となることが予想され、天然物由来化合物の産業応用推進に貢献するものとする。