

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※乙 第 号
------	--------

氏 名 松本 凌

論 文 題 目

食品のおいしさを制御するペプチド分子の
構造活性相関および網羅的探索技術の開発

論 文 審 査 担 当 者

主 査	名古屋大学准教授	加藤 竜司
委 員	名古屋大学教授	廣明 秀一
委 員	名古屋大学教授	布施 新一郎

論文審査の結果の要旨

松本凌氏の提出論文「食品のおいしさを制御するペプチド分子の構造活性相関および網羅的探索技術の開発」は、肥満や糖尿病などの生活習慣病リスクが高まる現代社会における『未病』を促進するための食品研究として、味覚の制御および食品添加が可能な有用分子としての「新規ペプチド」を取得することを目指し、ペプチド分子に機能性を与えるための分子設計指針を理解するための構造活性相関解析の有効性と、効果的な機能性ペプチド設計に必須なペプチド-細胞相互作用の網羅的探索技術開発について検証した研究である。

近年、食事から摂取されるカロリー量は増加しており、多くの国で肥満や糖尿病人口が増加し続けている。これらの高カロリー食に誘引される生活習慣病は、心臓や循環器系への致命的なリスクを発生させる要因である他、少子高齢化社会を迎える我が国において医療費増加の原因として大きな社会問題となっている。このため、次世代のヘルスケアとして「未病」を目指した生活習慣の改善と、そのための食生活の改善は、医療のみならず創薬分野においても重要な課題となっている。

ペプチドは、可食経験豊富な安全性の高い分子として食品業界では重要な機能性分子として長年注目されて来た。機能性食品や食品添加物の設計では、「安全」と「安心」の両立は最も重要な品質特性である。このため、自由度の高い化学合成可能な分子の設計・探索よりも、可食経験のある食品や食品原料由来のペプチド分子は、安全と安心と共に「高度な機能性」を設計可能な分子として、製品開発実現性の極めて高い研究対象となっている。

近年、ペプチドをリガンドとする味覚受容体の多くは、口腔内だけでなく全身の臓器に発現し、代謝など多様な生体現象に関与することが理解されつつある。このため、味覚受容体は、重要な創薬ターゲットとしても期待が膨らんでいる。甘味受容体やうま味受容体は腸管内分泌細胞で発現し、様々なホルモン分子の分泌調節に機能することが知られ、経腸免疫調節の薬剤研究が進みつつある。苦味受容体は、喘息など閉塞性肺疾患の治療対象としても注目され、近年では SARS-CoV-2 の症状に対する薬物ターゲットとして機能する可能性も示されている。即ち、味覚を制御する分子としてのペプチドは現在、食品添加物としての研究開発に留まらず、創薬の研究対象としても重要な意味を持っている。

しかし、現在、ペプチドを用いた味覚の制御研究にはまだ多くの課題がある。第一は、受容体構造の解明が難しいことに起因する構造活性相関における知見の少なさである。これまで *in vitro* / *in silico* のアプローチを用いて、味覚受容体とリガンド構造との構造活性相関研究が挑戦されているが、対象受容体の立体構造情報の欠如という致命的な原因と、味覚受容体研究を主に取り組む企業の特許戦略などの影響から、この分野の研究は極めて進捗が遅い。さらに、味覚受容体の構造的な難しさから、*in vitro* での細胞評価モデルの構築例もまだ数少なく、ペプチドの構造が与える細胞レベルで

の機能性・表現型を効率的かつ網羅的に研究できる技術が少ない。

松本氏は、このように研究事例の少ない「味覚を制御可能かつ食品添加が可能な有用分子としてのペプチド」の設計および探索を加速するための研究として、次の2つの取り組みに挑戦した。

取組①：甘味受容体に対するペプチド型甘味増強成分（Positive Allosteric Modulators : PAMs）設計のための構造活性相関の検証

取組②：ペプチド-細胞相互作用を計測する新規ペプチドスクリーニング技術の開発

取組①では、甘味受容体 taste receptor type 1 member 2 (T1R2)、taste receptor type 1 member 3 (T1R3) を味覚制御の標的と定め、松本氏の所属する研究グループが過去に見出した2種類のペプチド型 T1R2/T1R3 PAMs (IN4260 および IN4150) を元に、構造活性相関の検証を行い、ペプチド構造における高機能 PAM 設計指針を見出すことに成功した。

取組②では、将来の味覚受容体発現細胞を用いた *in vitro* アッセイにおいて網羅的なペプチド-細胞相互作用データを取得するための基盤技術として、固相ペプチドアレイにフォトリンカー分子の導入した遊離型ペプチドアレイを開発することで、96 well plate での遊離ペプチド-細胞相互作用や細胞内送達機構の効率化を実現した。

本論文は（第1章）高甘味度甘味料と甘味増強成分、（第2章）IN4260の構造活性相関と新規テトラペプチドの同定、（第3章）IN4150の構造活性相関と各種HISに対するT1R2/T1R3刺激活性の促進効果検討、（第4章）遊離型ペプチドアレイによる新規呈味ペプチドスクリーニングシステムの開発、（第5章）甘味増強成分・呈味ペプチド探索の今後の展望と解決課題の全5章から構成され、第2章・第3章でペプチド分子にPAMとしての機能性を与えるための構造活性相関解析、第4章で効果的な機能性ペプチド設計に必須なペプチド-細胞相互作用の網羅的探索技術開発についてまとめられている。

第2章では、IN4260の化合物構造をHead、Linker、Tailという3部位に分割して捉え、38種類の構造類縁体を合成した。合成分子の機能性は、キメラT1R2/T1R3を強制発現させた動物細胞の細胞質内カルシウム濃度変化を指標に、スクロースのT1R2/T1R3刺激活性として定量化した。この結果から、Tail部分の疎水性構造がスクロースのT1R2/T1R3刺激活性の促進に寄与していることを見出し、IN4260と同等の促進効果を有する新規テトラペプチドの同定にも成功した。

第3章では、IN4260とLinker構造が異なるIN4150の構造活性相関の検証を実施し、19種類の構造類縁体がスクロースのT1R2/T1R3刺激活性をどの程度促進できるか計測することで、Linker構造の寄与度を考察すると共に、IN4260およびIN4150に匹敵もしくは凌駕する新規化合物が取得できるか検証した。この結果、IN4260、IN4150に

匹敵もしくは凌駕する化合物は見出せなかったものの、IN4150 の Tail 部分の疎水性が増強効果に寄与していることを再確認し、IN4150 によるスクロースの T1R2/T1R3 刺激活性の促進効果における重要構造を明らかにした。また IN4260 および IN4150 が、スクロース以外の甘味成分 11 種類の T1R2/T1R3 刺激活性を促進するか検討した結果、IN4260 はスクラロースとフルクトースの T1R2/T1R3 刺激活性を、IN4150 はフルクトースの T1R2/T1R3 刺激活性を促進することを見出した。

第 4 章では、ペプチド型 T1R2/T1R3 PAMs のような呈味ペプチド/呈味修飾ペプチドのようにペプチド-細胞相互作用や、食品添加物としてのペプチドの細胞内への送達機構、呈味ペプチドの安全性評価などを効率的に探索するために、フォトリンカーペプチドアレイを活用したスクリーニングシステムの開発を行った。開発の結果、フォトリンカーペプチドアレイを用いたペプチド-細胞相互作用アッセイに必要なプラットフォーム性能の定量化・最適化に成功し、その大きな利点として網羅的な検証データの蓄積によって「高機能化のための物性ルールの抽出」が可能であることを見出した。

本研究を通じて松本氏は、トリペプチド T1R2/T1R3 PAMs の促進効果に関わる Tail 部位の構造設計の重要性を解明した。この結果はペプチド型 T1R2/T1R3 PAMs の構造的多様性を拡張し、トリペプチド以上の鎖長を有する新規 T1R2/T1R3 PAMs の設計や、相関解析データを元にしたデータ駆動型の結合予測モデルの構築へと発展できる可能性を導くものである。これは、T1R2/T1R3 PAMs の研究領域を含めた食品だけでなく、味覚受容体を標的とした創薬研究領域を切り拓く重要な知見だと言える。さらに、本研究で開発されたペプチドスクリーニング技術は、今後従来では評価に膨大な時間がかかっていた呈味ペプチド・呈味修飾ペプチドの同定や、受容体制御薬剤のスクリーニング技術として応用できる可能性が高い。これまで味覚受容体を刺激するペプチド分子の探索研究は、多種類合成のコストと効率の壁が大きく存在したが、今回開発された技術は安価かつ効率的に多数の分子効果を検証できることが期待でき、*in vitro* スクリーニング系として重要な発展である。また、本研究は企業研究として多くのメンバーに支えられた研究ではあるが、松本氏はその研究コンセプトの設計～実験系の充実に～解析結果の機能考察まで、非常に多岐に渡る専門的な知識と高度な論理的な研究推進力によって中核的な役割を果たしていることが確認された。また、本論文が含む構造活性相関研究という分野と、スクリーニング技術開発という分野は、ペプチド研究の推進に重要でありながら、一人の研究者が分野横断的にカバーし、技術融合することは一般的に難しい。このような多分野融合研究としての完成度の高さからも、松本氏が果たした研究実績と研究力は非常に高いと評価できる。

以上より、本論文の提出者である松本凌氏は、博士（創薬科学）の学位を受ける十分な資格を有すると判断した。