

食物アレルギーの予防・治療を目指したペプチド創薬[†]

Peptide drug discovery for the prevention and treatment of food allergy

佐藤 陽^{*1} 大平 慎^{*2} 松本 司^{*2,*3} 蝦名敬一^{*2}
Akira Sato Makoto Ohira Tsukasa Matsumoto Keiichi Ebina

Mast cells are major effector cells of food allergic reactions, such as itch, hives, airway contraction, and anaphylaxis, by releasing mediators, including histamine and platelet-activating factor (PAF), upon activation. We previously found that several synthetic biotinylated peptides containing a Tyr-Lys-Asp-Gly sequence markedly inhibited the bioactivities of PAF *in vitro* and *in vivo* and also inhibited anaphylactic reactions such as hypothermia, hypotension, and vascular permeability *in vivo*. Among these peptides, peptide 2 with a D-amino acid, H-D-Lys(Biotinyl)-Trp-Tyr-Lys-Asp-Gly-Asp-OH, suppresses allergic reactions by inhibiting both mast cell degranulation and the bioactivity of histamine by antagonizing the histamine H₁ receptor, as well as by inhibiting the bioactivity of PAF and anaphylactic reactions *in vivo*, with high stability in plasma. These findings provide evidence that peptide 2 can be useful for the prevention and treatment of food allergy targeting mast cells, PAF, and histamine. Further studies are required to understand the mechanism via which synthetic biotinylated peptides containing peptide 2 suppress allergic reactions, which will contribute to therapeutic strategies against mast cell-mediated allergic reactions.

Keywords: Peptide, food allergy, anaphylaxis, mast cells, D-amino acid
ペプチド、食物アレルギー、アナフィラキシー、マスト細胞、D体アミノ酸

1. はじめに

食物アレルギーは、特定の食物がアレルゲンとなってマスト細胞が活性化されると、ヒスタミンや血小板活性化因子 (PAF) などのケミカルメディエーターが遊離され、痒みやじんましんなどの皮膚症状をはじめ、気道収縮、アナフィラキシーなどの症状を誘発する¹⁻³⁾。近年、わが国では食物アレルギー、および食物アレルギーにより起こる重篤で致死的なアナフィラキシーの患者数はともに年々増加傾向にあり、特に児童で多く発症している⁴⁾。

食物アレルギーによる痒みやじんましんの薬物治療としては、抗ヒスタミン薬やステロイド薬が用いられている。しかし、前者は眠気等の副作用を有しており、後者は易感染性、糖尿病、消化性潰瘍、血栓症、精神症状、緑内障など多くの副作用を有しており、急な服用中止によって倦怠感や吐き気、頭痛、血圧低下などの離脱症候群を起こす恐れがある。また、アナフィラキシーの薬物治療としては、アドレナリンを第一選択薬として⁵⁾、症状により気管支拡張薬、ステロイド薬、抗ヒスタミン薬などが用いられている。しかし、アドレナリンの使用は、動脈硬化症や重症不整脈、糖尿病などの患者に対しては

「特定の背景を有する患者に関する注意」となっている⁶⁻⁹⁾。以上より、既存薬に比べて副作用が少なく、誰もが服用 (投与) 可能な食物アレルギー予防・治療薬の開発が必要である。

私達はこれまで、PAF との直接的結合能を有し、その活性を細胞、動物レベルで顕著に抑制する合成ペプチド (図 1、図 2) を発見した。本稿では、このペプチドの発見と食物アレルギーに対する予防・治療薬としての開発研究について紹介したい。

2. アレルギー反応を惹起・誘発する PAF の活性を抑制する合成ペプチドの発見

PAF は、血小板や好中球、好酸球など様々な細胞より産生され、その特異的な PAF 受容体に結合することで強力な炎症・アレルギー反応を惹起・誘発する^{10,11)}。また、PAF が過剰に産生されると、気管支喘息や関節炎、皮膚炎、アナフィラキシーなど様々な炎症・アレルギー疾患を起こすことが知られている。PAF は、特定の食物によるマスト細胞の脱顆粒によっても遊離されてアレルギー反応を誘発する。

まず私達は、本著者・蝦名敬一教授の上司である東北

^{*1}宮城学院女子大学生生活科学部食品栄養学科

^{*2}医療創生大学薬学部

^{*3}医療創生大学大学院生命理工学研究科

[†]2024 年 11 月 15 日受付, 2024 年 11 月 26 日受理

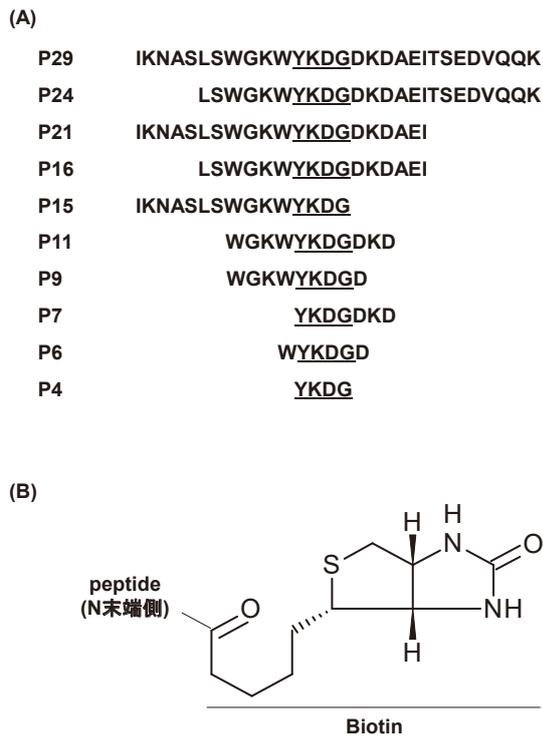


図1. (A) Asp-hemolysin 由来合成ペプチドのアミノ酸配列および (B) そのビオチニル化ペプチドの構造
 アミノ酸は1文字表記で示し、下線はペプチドの PAF との結合に重要な配列 (YKDG 配列) を示す。

Peptide 1	Biotin-(ε-amino group)-KWYKDGD
Peptide 2	Biotin-(ε-amino group)-KWYKDGD
Peptide 3	Biotin-(ε-amino group)-KWYKDGD

図2. ビオチニル化ヘプタペプチドのアミノ酸配列
 アミノ酸は1文字表記で示し、□はD体アミノ酸を示した。

薬科大学 (現 東北医科薬科大学) 横田勝司 元教授が見出した *Aspergillus fumigatus* 産生毒素のタンパク質 (Asp-hemolysin) に着目し^{12,13)}、その中の4~29個のアミノ酸からなる部分ペプチド (P4~P29、図1) がいずれも、Tyr-Lys-Asp-Gly (YKDG) 配列を介して、動脈硬化の主な原因物質である酸化 LDL とその主要構成脂質 (PAF 様脂質) に結合してその活性を抑制することを明らかにした¹⁴⁾。

私達はこの結果をもとに、P4、P21 の PAF との結合実験を行った結果、偶然にも P4、P21 の標識体として用いた N 末端ビオチニル化 P4、P21 (BP4、BP21、図1) が、非ビオチニル化 P4、P21 よりも PAF に対して高い結合性を示した¹⁵⁾。さらにラット PAF 足浮腫 (PAF 活性) モデルを用いた実験により、BP4、BP21 (静脈内投与、皮下投与) はいずれもナノモルレベルの投与量で劇的な抗

PAF 作用を示し、その効果は非ビオチニル化 P4、P21 よりも優れていたが、YKDG 配列を持たない N 末端ビオチニル化ペプチドは抗 PAF 作用を示さなかった¹⁵⁾。以上より、BP4、BP21 は PAF 分子に結合しその活性を抑制すること、この結合にはペプチド中の YKDG 配列並びに N 末端に結合したビオチンが重要であることが明らかになった。また、これらペプチドは PAF 以外のケミカルメディエーター (ヒスタミン、セロトニンおよびブラジキニン) の活性をいずれも抑制しなかった¹⁶⁾。さらに、全身性アナフィラキシーモデル動物を用いた実験において、BP4 および BP21 (特に BP21) は、アナフィラキシーの症状である低体温、低血圧および血管透過性亢進を改善し、その作用にはペプチド中の YKDG 配列が重要であると考えられた^{16,17)}。以上より、BP4 および BP21 は PAF を標的としたアナフィラキシー予防・治療薬として有用であると考えられた (図3)。

一方、この治療薬としての実用化を目指す上での問題は、ペプチドの生体内安定性が乏しいことである。実際に動物実験において、アナフィラキシーによる低体温に対する BP4、BP21 の持続効果時間が短いことがわかった。一般にアミノ酸は L 体と D 体からなり、生体内ではほとんど L 体が存在し酵素によって分解され易いが、D 体は天然に広く存在し、細菌の細胞壁の構成成分や老化組織、ある種の神経細胞などに存在するが、生体内では酵素による分解を受けにくい。

ヒトの血漿中には 234 個のペプチダーゼが存在し、うち 34 個が N 末端側からアミノ酸を順次加水分解するアミノペプチダーゼ、25 個が C 末端側のカルボキシ基を順次加水分解するカルボキシペプチダーゼである¹⁸⁾。さらに、一部が D 体アミノ酸で構成されるペプチドは、これらの酵素による加水分解に対して強い抵抗性を持つことも報告されている¹⁹⁾。

そこで私達は、図1のペプチドの配列を参考にして、7 個のアミノ酸からなるビオチニル化ペプチド (Peptide 1~3: 図2) を作製し、実際に D 体アミノ酸を含む Peptide 2 と 3 が、L 体アミノ酸のみからなる Peptide 1 よりも *in vitro* において血漿中での安定性に優れていること (ラット血漿中において、Peptide 1 の未変化体は 30 分以内に 20% 以下まで減少するのに対し、Peptide 2、3 の未変化体は 6 時間後でもそれぞれ 60%、80% 残存すること) を確認した²⁰⁾。また、Peptide 1~3 のうち特に Peptide 2 が PAF に結合し、アナフィラキシーによる低体温を有意に改善することをモデル動物を用いて確認したが^{20,21)}、この結果は Peptide 2 の PAF に対する結合能が Peptide 3 よりも高いことが理由であると考えられた。

以上より、D 体アミノ酸を含 Peptide 2 は、PAF を標的とした、より持続効果が長いアナフィラキシー予防・治療薬として期待できると考えられた (図3)。

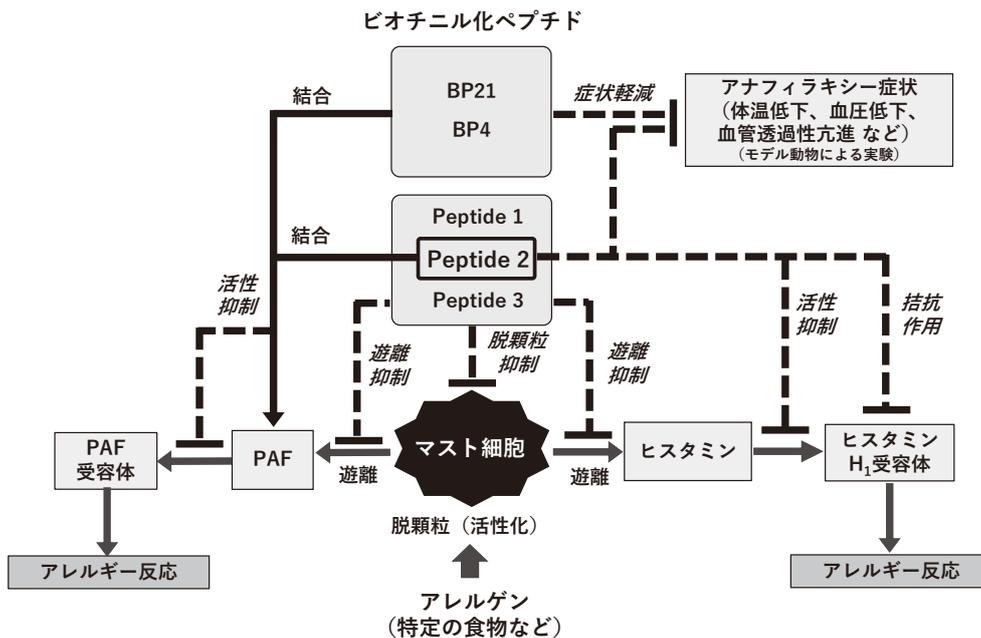


図3. ビオチニル化ペプチドによる食物アレルギー症状の抑制メカニズム
 図中の——は結合、-----は抑制・拮抗作用、症状軽減を示している。

3. マスト細胞の活性化およびヒスタミンの活性に対するD体アミノ酸含有ビオチニル化ペプチドの効果

マスト細胞は、食物アレルギー発症の中心的な役割を担っており、活性化（脱顆粒）によってヒスタミンやPAFなどのケミカルメディエーターを遊離し、痒みやじんましん、気道収縮、アナフィラキシーなどの症状を誘発、惹起する^{3,22,23}。私達は、マスト細胞の脱顆粒およびヒスタミンの活性に対するPeptide 1~3（図2）の効果を調べた結果、特にPeptide 2が、①マスト細胞の脱顆粒を有意に抑制すること、②ラットにおいてヒスタミンの活性を有意に抑制すること、③ヒスタミンの活性に関与するヒスタミンH₁受容体に対して拮抗作用を有すること、が明らかとなった²⁴。特に②、③についてはBP21やBP4による効果は得られなかった。

以上より、D体アミノ酸を含むPeptide 2は、アナフィラキシーを含む食物アレルギーの新たな予防・治療薬として、マスト細胞やヒスタミン、PAFが関連する痒みやじんましん、気道収縮などの様々な症状に対して高い効果が期待できると考えられた（図3）。

4. 最後に

現在私達は、富山大学学術研究部 薬学・和漢系の歌大介准教授、東京大学大学院薬学系研究科の青木淳賢教授をはじめ多くの先生方や学生のご協力を頂きながら、今回紹介したビオチニル化ペプチド（特にD体アミノ酸を含むPeptide 2）について、食物アレルギーの予防・治療を目指したさらなる有用性の検証を行うとともに、ペプチドのアレルギー発症抑制メカニズムを調べているとこ

ろである。将来、このペプチドが食物アレルギーの予防・治療などに広く使用され、この症状で苦しむ多くの患者さんのQOLの向上、死亡率の低下、さらには本研究で得られた知見による様々な研究分野の発展などに貢献したいと考えている。

〈謝辞〉

本研究は、公益財団法人ニッポンハム食の未来財団、JSPS 科研費 JP19K15773、国立研究開発法人科学技術振興機構 研究成果展開事業 A-STEP ならびに日本私立学校振興・共済事業団の助成による支援を受けて行ってきたものであり、併せてここに感謝の意を表します。

〈利益相反〉

本研究における利益相反はありません。

〈参考文献〉

- 1) Reber LL, Hernandez JD, Galli SJ. The pathophysiology of anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 140: 335-348.
- 2) Renz H, Allen KJ, Sicherer SH, Sampson HA, Lack G, Beyer K, Oettgen HC. Food Allergy. *Nat Rev Dis Primers* 2018; 4: 17098.
- 3) Banafea GH, Bakhshab S, Alshaihi HF, Pushparaj PN, Rasool M. The role of human mast cells in allergy and asthma. *Bioengineered* 2022; 13: 7049-7064.
- 4) 松原優里, 阿江竜介, 大矢幸弘, 穂山 浩, 今井孝

- 成, 松本健治, 福家辰樹, 青山泰子, 牧野信子, 中村好一, 斎藤博久. 日本における食物アレルギー患者数の推計: 疫学調査の現状と問題. アレルギー 2018; 67: 767-773.
- 5) Kemp SF, Lockey RE, Simons FE. Epinephrine: the drug of choice for anaphylaxis. A statement of the World Allergy Organization. *Allergy* 2008; 63: 1061-1070.
 - 6) Simons KJ, Simons FE. Epinephrine and its use in anaphylaxis: current issues. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10: 354-361.
 - 7) Wood JP, Traub SJ, Lipinski C. Safety of epinephrine for anaphylaxis in the emergency setting. *World J Emerg Med* 2013; 4: 245-251.
 - 8) Song TT, Worm M, Lieberman P. Anaphylaxis treatment: current barriers to adrenaline auto-injector use. *Allergy* 2014; 69: 983-991.
 - 9) Campbell RL, Bellolio F, Knutson BD, Bellamkonda VR, Fedko MG, Nestler DM, Hess EP. Epinephrine in anaphylaxis: higher risk of cardiovascular complications and overdose after administration of intravenous bolus epinephrine compared with intramuscular epinephrine. *J Clin Immunol Pract* 2015; 3: 76-80.
 - 10) Chao W, Olson MS. Platelet-activating factor: receptors and signal transduction. *Biochem J* 1993; 292: 617-629.
 - 11) Pałgen K, Bartuzi Z. Platelet activating factor in allergies. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2015; 28: 584-589.
 - 12) Yokota K, Shimada H, Kamaguchi H, Sakaguchi O. Studies on the toxin of *Aspergillus fumigatus*. VII. Purification and some properties of hemolytic toxin (asp-hemolysin) from culture filtrates and mycelia. *Microbiol Immunol* 1977; 21: 11-22.
 - 13) Ebina K, Sakagami H, Yokota K, Kondo H. Cloning and nucleotide sequence of cDNA encoding Asp-hemolysin from *Aspergillus fumigatus*. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1219: 148-150.
 - 14) Kumagai T, Tsutsumi H, Ogawa N, Naito S, Ebina K, Yokota K, Nagata K. Oxidized low-density lipoprotein-binding specificity of the Asp-hemolysin-related synthetic peptides from *Aspergillus fumigatus*. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 2181-2186.
 - 15) Sato A, Kumagai T, Aoki J, Ebina K. Synthetic biotinylated peptide compounds derived from Asp-hemolysin: Novel potent inhibitors of platelet-activating factor. *Eur J Pharmacol* 2012; 685: 205-212.
 - 16) Sato A, Ebina K. A biotinylated peptide, BP21, as a novel potent anti-anaphylactic agent targeting platelet-activating factor. *J Pept Sci* 2017; 23: 727-735.
 - 17) Sato A, Ebina K. A biotinylated peptide, BP21, alleviates hypotension in anaphylactic mice. *J Pept Sci* 2019; 25: e3197.
 - 18) Maffioli E, Zhenze Jiang Z, Nonnis S, Negri A, Romeo V, Lietz CB, Hook V, Ristagno G, Baselli G, Kistler EB, Aletti F, O'Donoghue AJ, Tedeschi G. High-resolution mass spectrometry-based approaches for the detection and quantification of peptidase activity in plasma. *Molecules* 2020; 25: 4071.
 - 19) Luo Z, Zhang S. Designer nanomaterials using chiral self-assembling peptide systems and their emerging benefit for society. *Chem Soc Rev* 2012; 41: 4736-4754.
 - 20) Sato A, Yokoyama I, Ebina K. Biotinylated heptapeptides substituted with a D-amino acid as platelet-activating factor inhibitors. *Eur J Pharmacol* 2015; 764: 202-207.
 - 21) Sato A, Fukase T, Ebina K. Biotinylated peptides substituted with D-amino acids with high stability as anti-anaphylactic agents targeting platelet-activating factor. *J Pept Sci* 2022; 28: e3412
 - 22) Galli SJ, Nakase S, Tsai M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2005; 6: 135-142.
 - 23) Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldston MA, Piliponsky AM, Williams CM, Tsai M. Mast cells as "tunable" effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu Rev Immunol* 2005; 23: 749-786.
 - 24) Ohira M, Uwamizu A, Hori K, Obinata Y, Uta D, Aoki J, Ebina K, Matsumoto T, Sato A. Biotinylated heptapeptides with D-amino acids suppress allergic reactions by inhibiting mast cell activation and antagonizing the histamine receptor. *Int J Pept Res Ther* 2025; 31: 9.