

# 30P-pm158

マクロファージ様に分化させた HL-60 細胞の活性化を引き起こす牛乳カゼイン由来の生理活性ペプチド

○岸本 成史<sup>1</sup>, 手塚 優<sup>2</sup>, 西郡 秀夫<sup>2</sup>(<sup>1</sup>帝京大薬, <sup>2</sup>岩手医大薬)

【目的】牛乳カゼインおよびそのトリプシン消化物によってある種の血球系細胞の遊走や細胞内カルシウム応答が引き起こされるが、これらの応答がカゼインホスホペプチドやオピオイド様ペプチドといったカゼイン由来の既知の生理活性ペプチドによるものではないことを、これまでに我々は示唆してきた。今回、マクロファージ様に分化させた HL-60 細胞の細胞内カルシウム応答を引き起こす活性を指標として、血球系細胞の活性化作用を持つ新規の牛乳カゼイン由来生理活性ペプチドを同定し、その作用機序について若干の検討を加えた。【方法】HL-60 細胞は、 $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$  を添加した培養培地中で 5 日間培養することによりマクロファージ様に分化させた。各種リガンドに対する HL-60 細胞の細胞内カルシウム応答は、蛍光プローブとして Fura 2-AM を用いて測定した。牛乳カゼインをトリプシン結合アガロースビーズと共に  $37^{\circ}\text{C}$  で 24 時間インキュベートした後、限外ろ過により分画して得られた 3 kDa 以下のペプチドをトリプシン消化カゼインペプチドとして以下の実験に用いた。【結果・考察】トリプシン消化カゼインペプチドの中から血球系細胞活性化作用を示すペプチドを、細胞内カルシウム応答を指標としてヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーにより精製後、逆相クロマトグラフィーにて分離した。活性のある画分に存在するペプチドの配列を LC-TOF-MS により決定したところ、 $\alpha s1$  カゼイン由来のペプチドが同定された。このペプチドは、HL-60 細胞の細胞内カルシウム応答を濃度依存的に引き起こした。また、この応答は百日咳毒素で阻害される一方、カゼイン由来の既知の生理活性ペプチドの作用を阻害する各種阻害剤では阻害されなかったことから、本ペプチドの作用は  $G_i$  タンパク質を介する未知の機序を介している可能性が示唆された。