

大豆成分と神経系の相互作用に関する研究

吉川正明*・園田壮司

京都大学大学院農学研究科

Studies on Interaction between Soy Constituents and Central Nervous System

Masaaki YOSHIKAWA and Soushi SONODA

Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Uji 611-0011

ABSTRACT

Effect of a pentapeptide Leu-Pro-Tyr-Pro-Arg (LPYPR), which corresponds to residues No. 63-67 of soy bean glycinin A₅A₄B₃ subunit, on central nervous system was investigated in mice. LPYPR showed analgesic activity after intracerebroventricular (icv) administration at a dose of 30 nmol/mouse. The analgesic activity was non-opioidic since it was not blocked by naloxone. In passive avoidance test, LPYPR improved memory retention at a dose of 20 nmol/mouse (icv) or 100 mg/kg (per os). *Soy Protein Research, Japan* **7**, 75-78, 2004.

Key words: soy, glycinin, peptide, central nervous system, analgesia, memory, learning

食品成分の中には中枢系に作用するものがあることが判明しつつある。例えば、大豆はヒトの記憶を改善すると報告されており、その有効成分としてイソフラボンが想定されている¹⁾。一方、我々はグルテンおよびribulose biphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) 等の植物たん白質から派生するδオピオイドペプチドがマウスへの経口投与の際に学習記憶能を改善することを見出してきた^{2,3)}。今回は、我々が以前に血清コレステロール低下作用を有するペプチドとして、大豆glycinin A₅A₄B₃サブユニット中に見出したLeu-Pro-Tyr-Pro-Arg (LPYPR) の中枢作用を検討した⁴⁻⁶⁾。

方 法

ペプチドはFmoc法により合成したものをを用いた。Tail pinch法による鎮痛テストおよびstep through装置を用いた学習促進作用は前報に記載の方法に準じて行った⁴⁾。

結 果

LPYPRの鎮痛作用

LPYPRは我々がコメアルブミンから回腸収縮ペプチドとして得たoryzatensin (GYPMYPLPR) のC末端5残基に相当するYPLPR、およびその誘導体LPLPR

*〒611-0011 宇治市五ヶ庄

の類縁体と見なすことが出来る⁷⁾。YPLPRは μ オピオイドレセプターおよび補体C3aレセプターに親和性を有し、脳室内投与の際に鎮痛作用を有するのに対し、LPLPRは補体C3aレセプターに対してのみ親和性を示し、モルヒネの鎮痛作用と拮抗する抗鎮痛作用を有することが判明している⁸⁾。そこで、痛覚に対するLPYPRの効果を検討したところ、30 nmol/マウスの側脳室内投与により弱い鎮痛作用を示した (Fig. 1)。LPYPRの鎮痛作用はYPLPRの場合とは異なり、オピオイドアンタゴニストであるnaloxoneによりブロックされないことから、非オピオイド性であることがわかった (Fig. 2)。なお、LPYPRは経口投与では300 mg/kgという高用量でも、鎮痛作用を示さなかった。

LPYPR配列は深沢らによりクローン化されたglycinin A₅A₄B₃サブユニット配列中に見出されたものであるが、その後Nielsenらによりクローン化された配列中ではSPYPRとなっている^{9, 10)}。一方、相当する配

列はA₃B₄サブユニットではLPYPQ、さらに、A₂B_{1a}およびA_{1a}B_{1b}サブユニットではTNGPQとなっている¹⁰⁾。そこでSPYPRおよびLPYPQを合成し、鎮痛活性を検討したところ、いずれも30 nmol/マウスでは鎮痛作用を示さなかった。

LPYPRの学習促進作用

学習記憶能に対するLPYPRの効果をステップスルー装置による受動的回避実験より検討した。学習訓練直後に20 nmol/マウスのLPYPRを側脳室内投与することにより、24時間後の記憶の保持が有意に向上した (Fig. 3)。また、LPYPRは100 mg/kgの経口投与の場合にも学習記憶促進作用を示した (Fig. 4)。このように、LPYPRの学習促進作用は訓練後投与の系で見られることから、記憶固定の段階を促進すると考えられる。LPYPRは100 mg/kgの経口投与では鎮痛作用を示さないに関わらず、学習記憶促進作用を示すことは注目に値する。

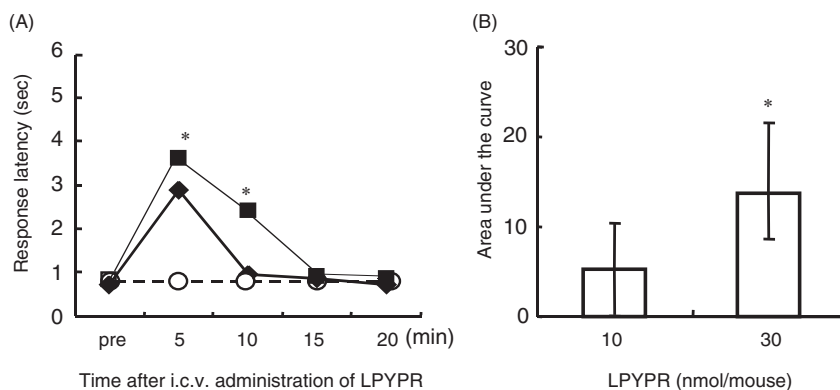


Fig. 1. Analgesic activity of LPYPR (icv.): (A) time course; (B) area under the curve. Cut off value was 6 sec. ■, 30 nmol/mouse; ◆, 10 nmol/mouse; ○, artificial cerebrospinal fluid. * $P < 0.05$ against control group by Student's *t*-test.

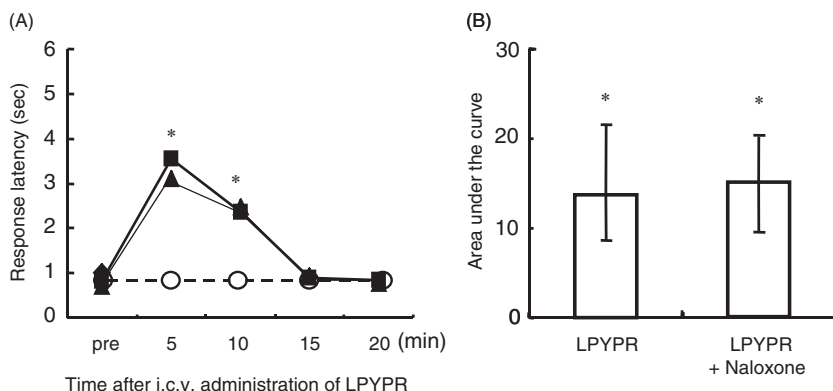


Fig. 2. Effect of naloxone on the analgesic activity of LPYPR: (A) time course; (B) area under the curve. Naloxone (2 mg/kg, ip.) was injected 30 min before the administration of LPYPR (30 nmol/mouse, icv.). ■, LPYPR; ◆, LPYPR + naloxone; ○, artificial cerebrospinal fluid. * $P < 0.05$ against control group by Student's *t*-test.

考 察

Table 1はLPYPRおよび類縁ペプチドの諸性質を比較したものである。補体C3aアゴニストはスコポリン投与または脳虚血による健忘を改善する効果を示したが、正常マウスの学習能に対しては改善効果を示さなかった^{8, 11)}。また、先に述べたように、補体C3aアゴニストは痛覚に関してはLPYPRとは逆に抗鎮痛作用を示した。これらの結果は、LPYPRの中樞作用は補体C3aレセプターを介したものではないことを示唆している。

LPYPRは第2および第4位にPro残基を有する点で内因性摂食抑制ペプチドエンテロスタチン（VPDPRおよびAPGPR）とも部分的なホモロジーがあり、また、学習記憶改善作用およびコレステロール低下作用を示す点でエンテロスタチンとの類似性が認められる

が^{12, 13)}、摂食抑制作用および抗鎮痛作用は示さないことから、エンテロスタチンとも作用機構を異にすると考えられる（Table 1）。

Rubisco由来の δ オピオイドペプチドであるrubiscolinもLPYPR同様、鎮痛作用と学習促進作用を併せ持つが、LPYPRの作用は非オピオイド性である点で異なっている。

LPYPRは鎮痛作用、学習促進作用およびコレステロール低下作用を有する点で、我々が牛乳 β -ラクトグロブリンから単離した β -lactotensin（HIRL）ときわめて類似している（Table 1）^{14, 15)}。LPYPRの作用が β -lactotensin同様、neurotensin NT₂レセプターを介しているかどうかについて興味を持たれる。また、マウスよりはるかに高度な中枢神経系をもつヒトにおいて、LPYPRがどのような効果を示すかについてはさらなる検討が必要である。

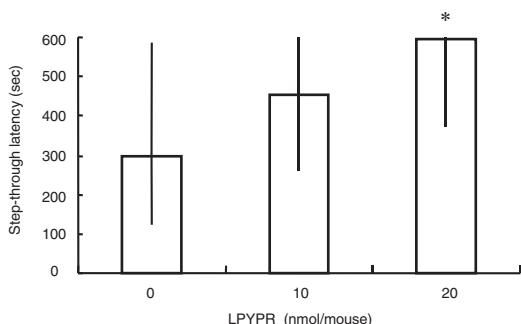


Fig. 3. Effect of LPYPR on learning performance in mice (icv.). LPYPR was given immediately after the training. Cut off value was 10 min. Each value represents median and interquartile range. * $P < 0.05$ against control group in Mann-Whitney's U-test.

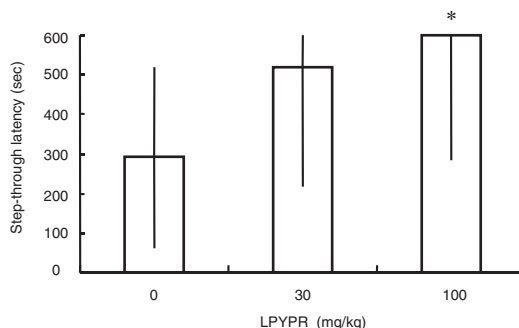


Fig. 4. Effect of LPYPR on learning performance in mice (per os). * $P < 0.05$ against control group in Mann-Whitney's U-test.

Table 1. Properties of LPYPR and related peptides

Peptides	Memory	Pain	Serum cholesterol	Receptor
LPYPR	enhancement	analgesia	↓	?
YPLPR	?	analgesia	?	μ -opioid complement C3a
LPLPR	anti-amnesia	anti-analgesia	↓	complement C3a
VPDPR (enterostatin)	anti-amnesia	anti-analgesia	↓	enterostatin
YPLDLF (rubiscolin)	enhancement	analgesia	→	δ -opioid
HIRL (β -lactotensin)	enhancement	analgesia	↓	neurotensin NT ₂

要 約

コレステロール低下作用を有するペプチドとして、我々が以前にグリシニンA₅A₄B₃サブユニット中に見出したLeu-Pro-Tyr-Pro-Arg (LPYPR) の中枢作用をマウスを用いて検討した。30 nmol/マウスの側脳室内投与によりLPYPRは非オピオイド性の鎮痛作用を示したが、経口投与では300 mg/kgでも無効であった。一方、ステップスルー装置による受動回避実験において、LPYPRは側脳室内投与 (20 nmol/マウス)、および経口投与 (100 mg/kg) により学習記憶促進作用を示した。

文 献

- 1) File SE, Duffy R and Wiseman H (2002): Soya improves human memory. In: *Soy & Health 2002, Clinical Evidence-Dietetic Applications*, Descheemaeker K and Debruyne I eds., Garant, Belgium, pp. 167-173.
- 2) Takahashi M, Fukunaga H, Kaneto H, Fukudome S and Yoshikawa M (2000): Behavioral and pharmacological studies on gluten exorphin A5, a newly isolated bioactive food protein fragment, in mice. *Jpn J Pharmacol*, **84**, 259-265.
- 3) Yang S, Kawamura Y and Yoshikawa M (2003): Effect of rubiscolin, a δ opioid peptide derived from Rubisco, on memory consolidation. *Peptides*, **24**, 325-328.
- 4) 吉川正明, 山本大地, 竹中康之 (1999): 血中コレステロール低下作用を持つ大豆たん白質由来低分子ペプチドに関する研究。大豆たん白質研究, **2**, 125-128.
- 5) 竹中康之, 仲村太志, 吉川正明 (2000): 大豆たん白質から派生する低分子ペプチドによる脂質代謝調節に関する研究。大豆たん白質研究, **3**, 105-109.
- 6) Takenaka Y, Utsumi S and Yoshikawa M (2000): Introduction of enterostatin (VPDPR) and a related sequence into soybean proglycinin A1aB1b subunit by site-directed mutagenesis. *Biosci Biotechnol Biochem*, **64**, 2731-2733.
- 7) Takahashi M, Moriguchi S, Ikeno M, Kono S, Ohata K, Usui H, Kurahashi K, Sasaki R and Yoshikawa M (1996): Studies on the ileum-contracting mechanisms and identification as a complement C3a receptor agonist of oryzatensin, a bioactive peptide derived from rice albumin. *Peptides*, **17**, 5-12.
- 8) Jinsmaa Y, Takenaka Y and Yoshikawa M (2001): Designing of an orally active complement C3a agonist peptide with anti-analgesic and anti-amnesic activity. *Peptides*, **22**, 25-32.
- 9) Fukazawa C, Momma T, Hirano H, Harada K and Udaka K (1985): Glycinin A₃B₄ mRNA. Cloning and sequencing of double-stranded cDNA complementary to a soybean storage protein. *J Biol Chem*, **260**, 6234-6239.
- 10) Nielsen NC, Dickinson CD, Cho T, Thanh VH, Scallan BJ, Fischer RL, Sims TL, Drews GN and Goldberg RB (1989): Characterization of the glycinin gene family in soybean. *Plant Cells*, **1**, 313-328.
- 11) Jinsmaa Y, Takahashi M, Takahashi M and Yoshikawa M (2000): Anti-analgesic and anti-amnesic effect of complement C3a. *Life Sci*, **67**, 2137-2143.
- 12) Takenaka Y, Nakamura F, Jinsmaa Y, Lipkowski AW and Yoshikawa M (2001): Enterostatin (VPDPR) has anti-analgesic and anti-amnesic activities. *Biosci Biotechnol Biochem*, **65**, 236-238.
- 13) Takenaka Y, Nakamura F, Yamamoto T and Yoshikawa M (2003): Enterostatin (VPDPR) and its peptide fragment DPR reduce serum cholesterol levels after oral administration in mice. *Biosci Biotechnol Biochem*, **67**, 1620-1622.
- 14) Yamauchi R, Sonoda S, Jinsmaa Y and Yoshikawa M (2003): Antinociception induced by β -lactotensin, a neurotensin agonist peptide derived from β -lactoglobulin, is mediated by NT₂ and D₁ receptors. *Life Sci*, **73**, 1917-1923.
- 15) Yamauchi R, Ohinata K and Yoshikawa M (2003): β -Lactotensin and neurotensin rapidly reduce serum cholesterol via NT₂ receptor. *Peptides*, **24**, 1955-1961.