

大豆粉末添加飼料およびその構成成分による情動機能の調節作用

間宮隆吉*

名城大学大学院薬学研究科

Effects of Genistein and Daidzein on the Anxiety-Like Behaviors in Mice.

Takayoshi MAMIYA

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Meijo University, Nagoya 468-8503

ABSTRACT

Previously, we have reported that mice fed food pellets containing soybean powder for 4 weeks show anti-anxious effects in mice. In the frontal cortex of those mice, the contents of 3, 4-dihydroxyphenylacetic acid and homovanilic acid decreased, whereas dopamine contents were not changed. In this study, we investigated the effects of genistein and daidzein, major components of soybean, on anxiety-like behaviors in mice. When genistein (1 mg/kg) or daidzein (1 mg/kg) was administered subcutaneously to ICR strain of male mice, the ratios of time spent in the open arms and the entry to the open arms increased compared to vehicle-treated mice in the elevated plus-maze. Similar effects of these reagents were found in the light/dark box test. The injection of genistein or daidzein into the frontal cortex failed to affect the extracellular dopamine level. These results suggest that genistein and daidzein have anti-anxious effects and dopaminergic system is involved in these effects at least in part. *Soy Protein Research, Japan* **12**, 134-137, 2009.

Key words : anti-anxious effects, genistein, daidzein, dopaminergic system

米や大豆を中心とした和食は日本が誇る健康食であり注目され、特に大豆は豆腐などとして世界中で食されている。またそうした環境の変化は生活習慣病や精神疾患など現代日本人に様々な疾患ももたらしていると考えられている。本研究では大豆の脳機能に及ぼす有用性を再認識するためにマウスを用いた基礎実験を行った。

方 法

動物飼育

5週齢のICR系雄性マウスを2群（普通固形飼料（AIN-93G；オリエンタル酵母工業社製、『大豆』添加飼料：Soy）に分けて6週間飼育した。なお、『大豆』添加飼料はAIN-93Gのカゼイン部分を大豆粉末に置換し作成した。飼育開始から毎日体重および飼料摂取量

*〒468-8503 名古屋市天白区八事山150

を記録し成育状態を調べた。また、daidzeinあるいはgenisteinは1%DMSOに溶解して皮下投与した。

行動薬理的検討

- A 自発運動量の測定：自動運動量測定装置Scanet-20（メルクエスト，富山）にマウスを静かに入れその直後から30分間の運動量を測定した。
- B オープンフィールド試験：W50×L50×H30 cmの亚克力製オープンフィールド装置内にマウスを静かに入れ，その直後から3分間の移所行動回数，立ち上がり回数および身繕い回数を記録した。
- C 高架式十字迷路試験：5分間高架式十字迷路試験を行った（マウスの体の4分の3がアーム内に入った時に新しいアームに移動したと判断した）。 $\text{Open/total (\%)} = \text{open arm (time or entry)} / (\text{open} + \text{closed arm (time or entry)}) \times 100$

生化学的検討

D モノアミン含量の測定

マウスにマイクロ波照射後，脳を前頭皮質と線条体に分割した。過塩素酸溶液を添加，超音波で乳濁化し遠心，ろ過処理を行ったのちに高速液体クロマトグラフィー法を用いてセロトニンおよびドパミンやそれぞれの代謝物を測定した。

結 果

1 6週間の大豆添加飼料摂取による行動変化

自発運動量：30分間の自発運動量は大豆添加飼料摂取によって有意に運動量が増加していた（Fig. 1A）。

オープンフィールド試験：5分間のオープンフィールド試験を行ったところ，大豆添加飼料摂取群において，運動量が増加していた（データ示さず）。また，身繕い行動や立ち上がり行動が増加する傾向が認められた（Fig. 1B）。

高架式十字迷路試験：オープンアームへ侵入した回数の割合および滞在した時間の割合とも大豆添加飼料摂取群で有意に増加していた（Fig. 1C）。

モノアミン含量（Fig. 2）：ドパミンおよびセロトニン含量は，前頭皮質および線条体において変化しなかった。しかし，前頭皮質においてドパミンの代謝物であるHVAおよびDOPAC含量が有意に減少していた。線条体では変化はなかった。また，ドパミンおよびセロトニンとそれらの代謝物の比を計算したところ，DOPAC / ドパミン比およびHVA / ドパミン比は大豆添加飼料摂取群で有意に低下していた。

2 Genisteinおよびdaidzeinの高架式十字迷路試験における抗不安活性：時間および侵入回数ともにgenisteinおよびdaidzeinは1 mg/kgで有意なopen/total（%）を延長させた（Fig. 3）。

考 察

本研究においては，まず大豆摂取による行動変化を検出するために大豆粉末添加飼料を6週間与えた後に行動薬理的検討を行った。煮こんだ大豆を凍結乾燥後粉末にし，4週間与えたマウスでも同様に抗不安活性を示すことが示されている。また，4週間あるいは6週間大豆添加飼料を与えても学習記憶機能には何ら影響を与えなかったことから，大豆添加飼料摂取の効果は，機能特異的である可能性が認められた。行動実験終了後に脳内のモノアミン含量を測定したところ，前頭皮質においてのみドパミン代謝物含量が減少していた。したがって，大豆粉末添加飼料摂取によって前頭皮質のドパミン機能に関係する行動が変化することが示された。

一方，大豆の効果が認められたことから，大豆の主要な構成成分であるdaidzeinおよびgenisteinの効果を

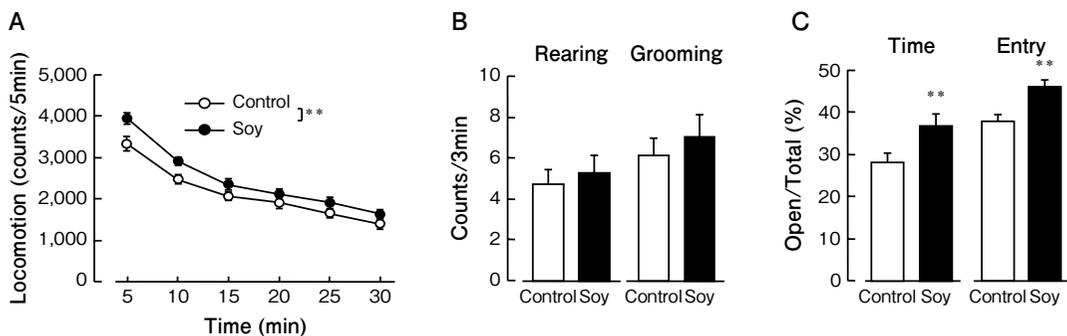


Fig. 1. Performances of mice fed soybean contained food pellets for 6 weeks. A: Locomotor activity; B: Open-field test; C: Elevated plus-maze test. ** $p < 0.01$ vs corresponding control.

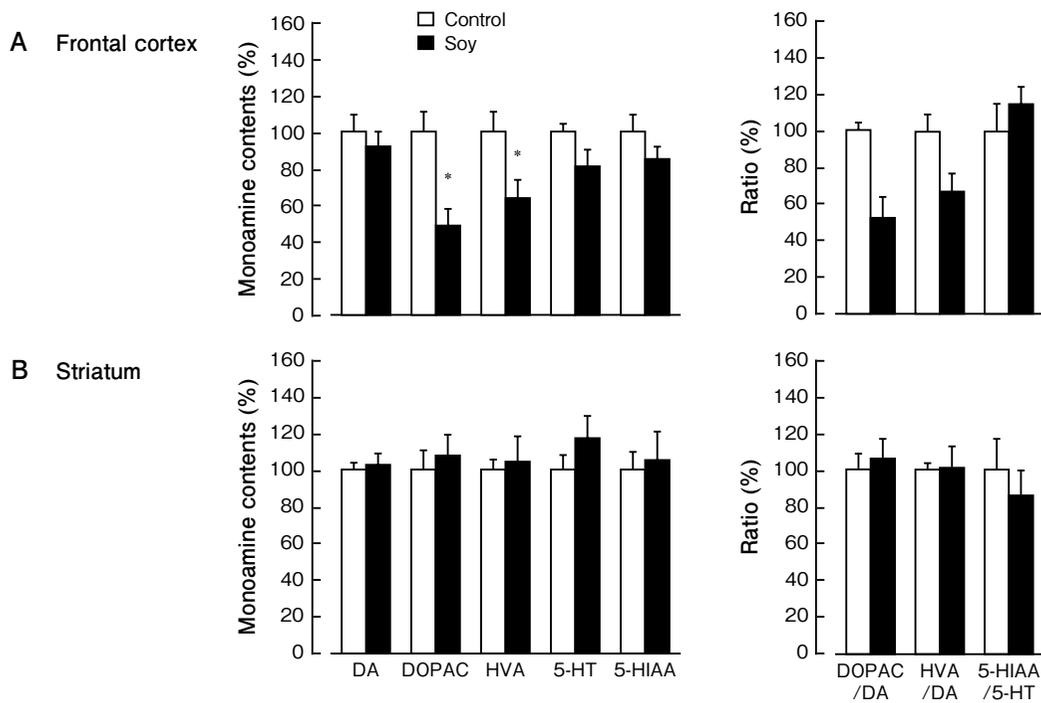


Fig. 2. Contents of monoamines and their metabolites in the frontal cortex and hippocampus of mice fed soybean contained food pellets for 6 wk. * $p < 0.05$ vs corresponding control.

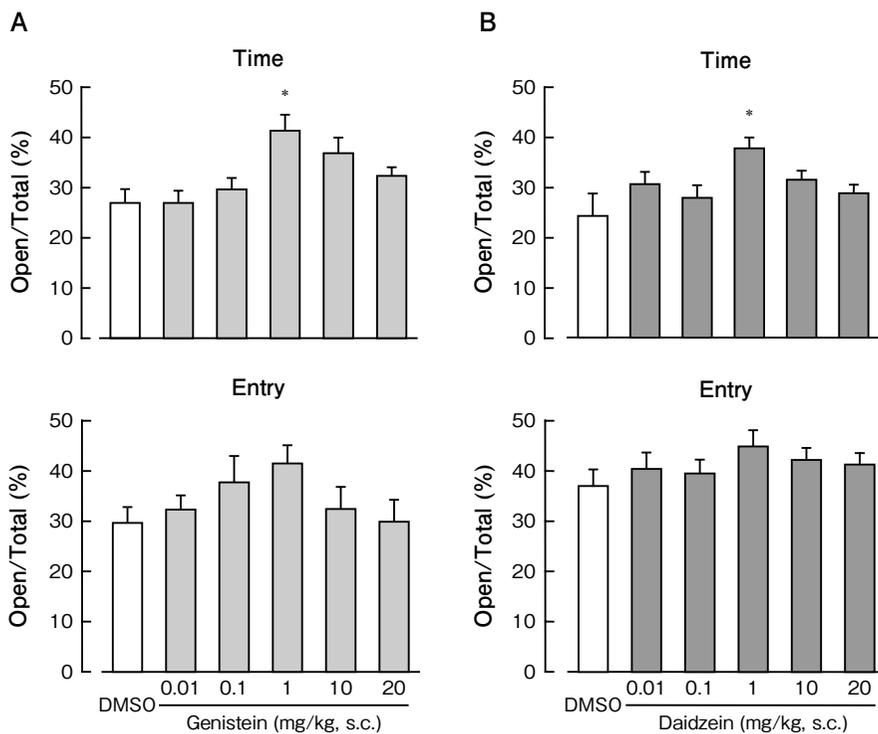


Fig. 3. Anti-anxiety effects of genistein and daidzein in the elevated plus-maze test. * $p < 0.05$ vs DMSO treated group.

行動薬理的に検討したところ、同様な抗不安活性が認められた。また前頭皮質に直接注入しても抗不安作用が観察された。さらに前頭皮質における細胞外ドパミン量を脳内微量透析法で確認したが変化していなかったため、ドパミン代謝機能が何らかの変化を受けている可能性が示唆されたが、詳細については現在も継続して検討を進めている。

本研究によって、日本人にとって重要なたん白源として古くから摂取されてきた大豆の効果を薬理的に証明することができた。今後はさらに神経薬理的に大豆効果のメカニズムを検討していきたい。

要 約

大豆の不安に対する調節作用を評価したところ、抗不安活性があること、前頭皮質のドパミン代謝産物のHVAおよびDOPAC含量の有意な減少を見出した。また、大豆構成成分のdaidzeinあるいはgenisteinでも、不安モデル動物の症状を有意に緩解した。さらに、それぞれ前頭皮質に直接投与しても同様な緩解作用が観察され、この作用はエストロゲン受容体拮抗薬で有意に拮抗された。従って、daidzeinおよびgenisteinが抗不安作用を発現すること、その作用の少なくとも一部には前頭皮質のドパミン代謝機能、あるいはエストロゲン受容体が関与している可能性が示唆された。

文 献

- 1) Mamiya T, Asanuma T, Kawai Y, Hasegawa Y, Nishimura A, Kumazawa T and Ukai M (2006): Effects of soybean food pellets on m-CPP-induced anxiety model of mice. *Biol Pharm Bull*, **29**, 1498-1500.
- 2) Mamiya T and Nishimura A (2007): Intake of fermented soybean increased locomotor activity in mice. *Biol Pharm Bull*. **30**, 845-6.