

講座 食品生物科学

2.7.6 研究分野：食品生理機能学分野

構成員：	准教授	大日向 耕作
	助教	山田 優子
	大学院博士後期課程	1名
	大学院修士課程	5名
	専攻4回生	4名
	その他	1名
	研究員	1名

A. 研究活動（2010.4～2011.3）

A-1. 研究概要

a) 卵白アルブミン由来の新しい抗不安ペプチド

卵は嗜好性の高い食品の素材として広く利用されているが、情動行動に及ぼす影響は不明な点が多い。卵白の主要なタンパク質オボアルブミンに由来する低分子ペプチドに着目し、高架式十字迷路試験により情動に対する影響を検討した。VYLPRは腹腔内投与により、オープンアームでの滞在時間および滞在回数が増加し、抗不安作用を示すことがわかった。さらに、経口投与（0.3 mg/kg）でも抗不安作用を示すことを見出した。VYLPRの抗不安作用はシクロオキシゲナーゼ阻害剤およびプロスタグランジン（PG）D2受容体（DP1）アンタゴニストによって阻害されたが、VYLPRはDP1受容体に親和性を示さないことから、PGD2放出を促進していると考えられる。これまでPGD2の中樞投与によりアデノシンおよびGABA放出を介して抗不安作用を示すことを見出している。そこで、両メディエーターの関与を検討したところ、VYLPRの抗不安作用はA2AおよびGABAA受容体アンタゴニストで阻害されるが、本ペプチドはいずれの受容体にも親和性を示さないことがわかった。以上の結果より、VYLPRはPGD2の下流で、アデノシンおよびGABAを介して抗不安作用を示すものと考えられる。予め加熱処理した卵白アルブミンをトリプシン消化した際にVYLPRがモル比で44 %生成することがわかった。さらに、このトリプシン消化物の経口投与により抗不安作用を示すことを見出した。

b) 中樞PGE2の抗不安作用

これまで我々は食品タンパク質の酵素消化物により派生する低分子ペプチドのなかにはPG類を介して抗不安作用を示す場合があることを明らかにしてきた。今回、PGE2の中樞作用に着目した。中枢神経系において、プロスタグランジン (PG) E2は発熱や発痛、覚醒、摂食抑制作用など多彩な生理作用を示すことが知られている。今回、特に、PGE2の情動調節に着目し、PGE2の4種類の受容体サブタイプ (EP1~4) に対する特異的リガンド、およびEPノックアウト (KO) マウスを使用し、高架式十字迷路試験およびオープンフィールド試験を実施し行動薬理的に検討した。PGE2 (100 pmol/mouse) の脳室内投与により、高架式十字迷路のオープンアームでの滞在時間と進入回数の割合が有意に増加した。オープンフィールド試験ではPGE2投与により中心円での滞在時間の割合が増加した。したがって、PGE2が抗不安作用を示すことを2つの評価系で確認した。EP1~4アゴニストのうち、EP1およびEP4アゴニストの脳室内投与により抗不安作用を示すことがわかった。PGE2の抗不安作用は、EP4アンタゴニストにより阻害され、EP4KOマウスで認められなかった。したがって、PGE2の抗不安作用はEP4受容体を介していることが判明した。一方、PGE2の抗不安作用は、EP1アンタゴニストで阻害されるが、EP1KOマウスでは消失しなかった。この原因としてEP1KOにおける何らかの代償による影響が考えられる。なお、EP1アゴニストによる抗不安作用は、EP1アンタゴニストおよびEP1KOにより消失することから、少なくともEP1シグナルも抗不安作用に関与していることが明らかとなった。以上、PGE2の抗不安作用は主にEP4を介しているがEP1も一部寄与しているものと考えられる。

c) 大豆 β -conglycinin由来の抗不安ペプチドsoymorphinの抗糖尿病作用

過剰な精神的ストレスが各種疾患の発症リスクを高めることが知られている。本研究では、II型糖尿病モデル動物のKK-Ayマウスを用いて、大豆由来の精神的ストレス緩和 (抗不安) 作用を示す μ オピオイドペプチドsoymorphin-5 (YPFVV; SM-5) が糖・脂質代謝改善作用を示すか否かを検討した。SM-5 (10 mg/kg/day) を飲水に溶解しマウスに5週間与えた。SM-5投与により、血糖上昇が抑制され血漿インスリン濃度が低下し、インスリン抵抗性が改善されることが判明した。血漿および肝臓TG量、肝臓重量が減少し脂質代謝も改善されていた。SM-5投与により血漿adiponectin濃度の上昇、肝臓のAdipoR2、PPAR α およびその標的遺伝子のmRNA発現量の上昇が認められ、 β 酸化およびエネルギー消費が促進され、糖・脂質代謝改善作用を示すものと考えられる。なお、 μ オピオイド活性を示さないPFVVには血糖上昇抑制作用が認められないことからSM-5の抗糖尿病作用は μ 受容体を介していると考えられる。

d) ジペプチドRFの動脈弛緩および血圧降下作用

ジペプチドは食品タンパク質の酵素消化による生産法に加え、近年、L-アミノ酸リガーゼ (Lal) を用いた効率的生産法が開発され、その機能性が着目されている。ジペプチドの高血圧自然発症ラット (SHR) 摘出腸間膜動脈に対する影響を検討したところ、ArgをN末端、芳香族アミノ酸をC末端に持つジペプチドが内皮依存性の動脈弛緩作用を示すことがわかった。この中でRFは最も強い動脈弛緩作用 ($EC_{50} = 0.58 \mu M$) を示し、従来の食品由来動脈弛緩ペプチドよりも強力であった。なお、RFにはACE阻害活性は認められなかった。RFの動脈弛緩作用は、NO合成酵素阻害剤のL-NAMEおよびCOX阻害剤のindomethacinでは阻害されなかったが、コレシストキニン (CCK) 1受容体アンタゴニストのlorglumideで阻害された。さらに、RFはSHRへの経口投与で血圧降下作用を示し、この血圧降下作用もlorglumideで阻害された。RFはCCK受容体に親和性を示さないことから、RFの血圧降下作用にはCCK遊離およびCCK1受容体の活性化を介した動脈弛緩が関与していることが判明した。なお、Lalを用いて合成したRFも動脈弛緩作用を示すことがわかった。

A-2. 研究業績 (国内・国外含む)

a)成果刊行

著 書

・食品タンパク質由来の生理活性ペプチドによる多彩な神経調節作用、大日向耕作、吉川正明、「機能性タンパク質・ペプチドと生体利用」、pp. 51-74、建帛社（2010）

原著論文（書評論文を含む）

・Kaneko K, Iwasaki M, Yoshikawa M, Ohinata K. Orally administered soymorphins, soy-derived opioid peptides, suppress feeding and intestinal transit via gut 1-receptor coupled to 5-HT1A, D2, and GABAB systems. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 299(3):G799-805. (2010) 査読あり

・Yamada Y, Ohinata K, Lipkowski AW, Yoshikawa M. Rapakinin, Arg-Ile-Tyr, derived from rapeseed napin, shows anti-opioid activity via the prostaglandin IP receptor followed by the cholecystokinin CCK(2) receptor in mice. *Peptides.* 2011 Feb;32(2):281-5. 査読あり

・Inuzuka M, Tamura N, Yamada N, Katsuura G, Oyamada N, Taura D, Sonoyama T, Fukunaga Y, Ohinata K, Sone M, Nakao K. C-type natriuretic peptide as a new regulator of food intake and energy expenditure. *Endocrinology.* 151(8):3633-42. (2010) 査読あり

・Yamada Y, Iwasaki M, Usui H, Ohinata K, Marczak ED, Lipkowski AW, Yoshikawa M. Rapakinin, an anti-hypertensive peptide derived from rapeseed protein, dilates mesenteric artery of spontaneously hypertensive rats via the prostaglandin IP receptor followed by CCK1 receptor. *Peptides.* 31(5):909-14. (2010) 査読あり

総説

・食品タンパク質由来ペプチドの多様な神経調節作用、大日向耕作、吉川正明、「化学と生物」、学術出版センター Vol. 48, No. 11 (2010) p764-771

・駒井三千夫、後藤知子、大日向耕作、白川仁、味覚など多くの生理機能に重要な亜鉛、ソフトドリンク技術資料、No. 161、2010年・第2号、p81-95

・駒井三千夫、後藤知子、大日向耕作、白川仁、味覚機能への亜鉛酵素「炭酸脱水酵素」の寄与、Biomed Res Trace Element 21(1):38-42 (2010)

報告書・その他

・戦略的創造研究推進事業（CRESTタイプ）研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」「脳発達を支える母子間バイオコミュニケーション」 最終報告書（大日向分担）

・平成21年度 牛乳栄養学学術研究会委託研究報告書（大日向）

・平成21年度 財団法人旗影会 研究助成報告書（大日向）

- ・平成21年度 研究の概要 財団法人糧食研究会（大日向）

- ・平成21年度 食に関する助成研究調査報告書 財団法人すかいらくフードサイエンス研究所（大日向）

- ・大豆タンパク質研究 財団法人不二たん白質研究財団（大日向）

特許

- ・大日向耕作、山田優子、影林皆美、紺谷徳泰、ペプチド、特願2010-260162 (2010. 11. 22)

- ・大日向耕作、小田亜矢子、生理活性ペプチド、特願2010-088531 (2010. 04. 07)

- ・大日向耕作、鈴木千尋、生理活性ペプチドを含む医薬組成物、特願2010-120306 (2010. 05. 26)

b) 学会発表

- ・日本農芸化学会2010年度大会（5件）
- ・第64回日本栄養・食糧学会（4件）
- ・第57回日本食品科学工学会（1件）

- ・ 第83回日本生化学会（1件）
- ・ ISP 2010（京都）（3件）

A-3. 国内における学会活動など①

所属学会等（役割）

A-3. 国内における学会活動など②

競争的資金等獲得状況

②その他の競争的資金

・ 戦略的創造研究推進事業（CRESTタイプ）研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」：大日向耕作（研究分担者）：「脳発達を支える母子間バイオコミュニケーション」

・ 財団法人旗影会 研究助成：大日向耕作：「卵由来の新しい精神的ストレス緩和物質の作用機構に関する研究」

・ 糧食研究会 研究助成：大日向耕作：「神経系に作用する乳成分に関する研究」

・ 牛乳栄養学術研究事業 研究助成：大日向耕作：「牛乳タンパク質の精神的ストレス抑制ペプチドに関する神経生理学的研究」

B. 教育活動（2010. 4～2011. 3）

B-1. 学内活動

a) 開講授業科目（担当教員）

- ・ 学部： 食品基礎生化学 I（大日向）、食品生理機能学（大日向）、食品生物学入門及び実習（大日向）、食品・栄養化学実験および実験法（大日向・山田）
- ・ 大学院： 食品生理機能学専攻演習（大日向）、食品生理機能学専攻実験（大日向）、食品生理機能学特論（大日向）

B-2. 学外における教育活動

公開講座等

- ・大日向 耕作：食品新素材研究会（京都）7月15日

- ・大日向 耕作：京都大学 新技術説明会（東京）8月23日

- ・大日向 耕作：セミナー牛乳を科学する 基調講演「牛乳の科学－成分と機能－」（滋賀）10月30日