

鶏卵由来成分の抗メタボリックシンドローム作用に関する研究

京都大学学際融合教育研究推進センター・特定助教 水重 貴文

■ 緒言

最近、我々はジペプチド Arg-Phe(RF)が強力な動脈弛緩活性($EC_{50}=0.58 \mu M$)を示すことを見出した。従来の食品タンパク質由来動脈弛緩ペプチドのいずれよりも低用量で認められ、非常に強力であることが判明した。さらに、ジペプチド RF は血圧降下作用と摂食抑制作用を示すことを見出し、メタボリックシンドロームの症状のうち高血圧と肥満を予防・改善する可能性があることがわかってきた。一方、主要な鶏卵タンパク質のオボアルブミンの一次構造中に RF 配列が存在する。そこで本研究では、オボアルブミンの RF 配列を含む部分構造に相当するモデルペプチドを化学合成し、消化管プロテアーゼ消化により RF ペプチドが派生するかどうかを検討するとともに、その派生した卵由来ペプチドの生理作用について検討した。

■ 方法

1. 消化管プロテアーゼを用いたモデルペプチドの消化実験

オボアルブミンの部分構造に相当する RF 配列を含む 15 残基のモデルペプチド (TQINKVVRF-DKLPGF) を Fmoc 法で化学合成し (図 1)、逆相 HPLC で精製したものを使用した。モデルペプチド溶液 (1 mg/mL) を調整し、E:S=1:100 となるように消化管プロテアーゼを加えた。なお、酵素の至適 pH を考慮し、ペプシンでは pH2、トリプシンおよびキモトリプシンの場合は、pH7.5 に調整した。モデルペプチド溶液に対し各種消化管酵素を処理し HPLC や質量分析計により生成したペプチドを測定した。

2. 卵白由来ペプチドの動脈弛緩活性評価法

強力な動脈弛緩ジペプチド RF 配列を含むオボアルブミン由来ペプチドを化学合成し、精製、凍結乾燥して得られたペプチドサンプルを使用した。高血圧自然発症ラット (SHR) の腸間膜動脈を摘出し螺旋状に切開し、この血管標本を栄養液中に懸垂し、その張力変化をトランスデューサーで検出した (図 2A)。また、既知の内皮由来因子の阻害剤や受容体のアンタゴニストなどを用いて作用機構を詳細に検討した。

3. 血圧降下作用

無麻酔状態の SHR の血圧を tail-cuff 法 (MK-2000、室町機械) により測定した。数週間、tail-cuff 装置でトレーニングをした動物を使用する。ペプチドサンプルを経口投与し、経時的に血圧を測定した。

4. 摂食調節作用

実験動物として 7 週齢雄性 ddY マウスを使用した。18 時間絶食後に、ペプチドサンプルを経口投与し、固形飼料を与え、経時的に重量を測定し、摂食量を算出した。

■ 結果

1. 消化管プロテアーゼ処理により Val-Val-Arg-Phe (VVRF) が生成する

モデルペプチドをペプシンで消化し、さらに、トリプシンで消化した際に、VVRF が効率的に生成することがわかった。ペプシンが芳香族アミノ酸である Phe の C 末端を切断し、TQINKVVRF が生成するものと考えられる (図 1)。トリプシンは、塩基性アミノ酸の C 末端を切断するが、エキソペプチダーゼ活性を示さないため、C 末端側 2 残基の Arg と Phe のペプチド結合は切断されない。一方、分子内に存在する Lys 残基の C 末端側を切断するため、VVRF が生成すると考えられる。通常、消化管内ではペプシンの次にトリプシンなどの膵臓酵素が作用するため、オボアルブミン摂取時に消化管内で VVRF が生成している可能性が考えられる。

2. オボアルブミン由来 VVRF は新しい動脈弛緩ペプチドである

VVRF は動脈弛緩活性を示すとともに(図 2B)、その作用は用量依存的であった(図 3A)。その EC₅₀ は 3 μ M 程度で、RF よりは若干弱い弛緩活性を示すことが明らかとなった。次に、その作用機構を検討した。一酸化窒素(NO)およびプロスタグランジン(PG)類が動脈弛緩因子として知られている。しかしながら、NO 合成酵素の阻害剤である L-NAME や PG 類の合成に関与する COX の阻害剤である indomethacin などではブロックされず、従来の動脈弛緩因子を介していないことが判明した。一方、食後の飽食因子として知られるコレシストキニン(CCK)に対するアンタゴニスト lorglumide で阻害されることが判明した(図 3B)。本結果は、ジペプチド RF と同様であり、VVRF と RF は共通の作用機構を介していることが明らかとなった。なお、VVRF は CCK₁ および CCK₂ 受容体には親和性を示さないことから(data not shown)、内因性の CCK 遊離を促進し動脈弛緩作用を示すことが明らかとなった。

3. VVRF の経口投与による持続的な血圧降下作用

VVRF の血圧降下作用を RF と比較した。RF は投与後 2 時間で最大降圧値が観察されたが、4 時間目にはコントロールレベルにまで戻っていた(図 4)。一方、VVRF は有意な血圧降下作用が投与 2 時間目から認められ、血圧降下作用のピークは 7 時間目であった。すなわち、VVRF は RF よりも弱い動脈弛緩活性を示すにもかかわらず、RF よりも持続的でより強力な血圧降下作用を示すことが判明した。

4. VVRF の経口投与による摂食抑制作用

VVRF の動脈弛緩作用が飽食因子として知られる CCK 遊離を介していることから、VVRF の摂食抑制作用について検討した。その結果、VVRF の経口投与により摂食抑制作用を示すことを新たに見出した(図 5B)。なお、今回の条件では RF は摂食抑制作用を示さないことがわかった。以上、VVRF の経口投与により血圧降下作用と摂食抑制作用を示すことを見出した。

■ 考 察

メタボリックシンドロームは、現代社会における飽食と運動不足による内臓脂肪型肥満に起因するマルチリスクファクター症候群であり、高血圧、高血糖、高脂血症のうち、2 つ以上を併発している状態をいう。従来、CCK は動脈弛緩物質とは考えられていなかったが、我々は循環器系の改善作用を新たに見出したことにより、飽食因子として知られる CCK の遊離促進因子は、メタボリックシンドロームの主要な症状のうち肥満と高血圧の 2 つを改善することが期待される。ちなみに、メタボリックシンドローム患者では CCK 分泌が低下しているとの報告もあり、血圧降下作用と摂食抑制作用を示す CCK 分泌促進ペプチドは抗メタボリックシンドローム効果を示す可能性がある。

卵は栄養価が高いことから、肥満の原因となるように思われるが、実際には肥満を促進する食品には分類されていない。むしろ、同じカロリーでは早く食欲を満たすとの報告がある²⁾。しかしながら、その機能性分子は全く明らかではなく、十分なエビデンスがないのが現状である。CCK 依存的な動脈弛緩および血圧降下作用に加え、食欲抑制作用を併せ持つ抗メタボリックシンドローム活性を示す機能性ペプチドを特定できれば、鶏卵の潜在的な健康機能性を解明することに結びつく。さらに、機能性ペプチドの生成率を上昇させる食品加工により、新しい商品開発が可能となる。

■ 要 約

最近、我々はジペプチド Arg-Phe(RF)が強力な動脈弛緩活性(EC₅₀=0.58 μ M)を示すことを見出し、さらに、血圧降下作用と摂食抑制作用を併せ持つことを明らかにした。一方、主要な鶏卵タンパク質のオボアルブミンの一次構造中に RF 配列が存在する。そこで本研究では、オボアルブミンの RF 配列を含む部分構造に相当するモデルペプチドを化学合成し、消化管プロテアーゼにより RF ペプチドが派生するか否かを検討したところ、ペプシンおよびトリプシン消化により VVRF が効率的に生成することが判明した。VVRF は動脈弛緩活性を有することを明らかにした。この動脈弛緩活性は RF よりも弱いだが、VVRF のより強力な持続的な血圧降下作用を示すことを見出した。VVRF の動脈弛緩作用は従来の動脈弛緩因子ではなく、飽食因子として知られるコレシストキニン(CCK)遊離を介することを見出した。さらに、VVRF は経口投与で摂食抑制作用を示すことを明らかにした。

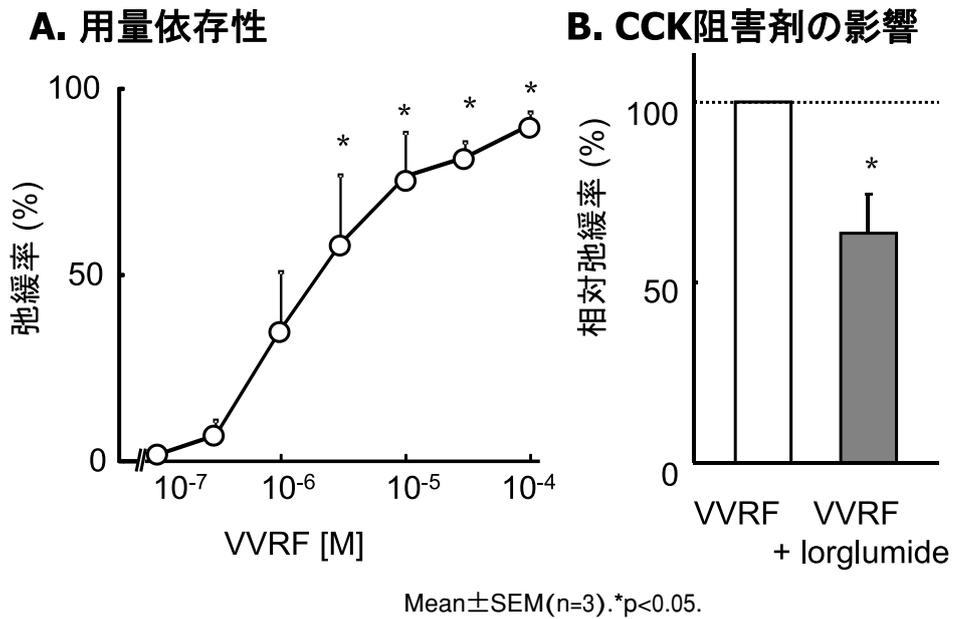


図3. 卵白由来ペプチド VVRF の動脈弛緩作用。A. 用量依存性。B. 作用機構。VVRF の動脈弛緩作用は CCK₁ 受容体アンタゴニスト lorglumide により阻害される。

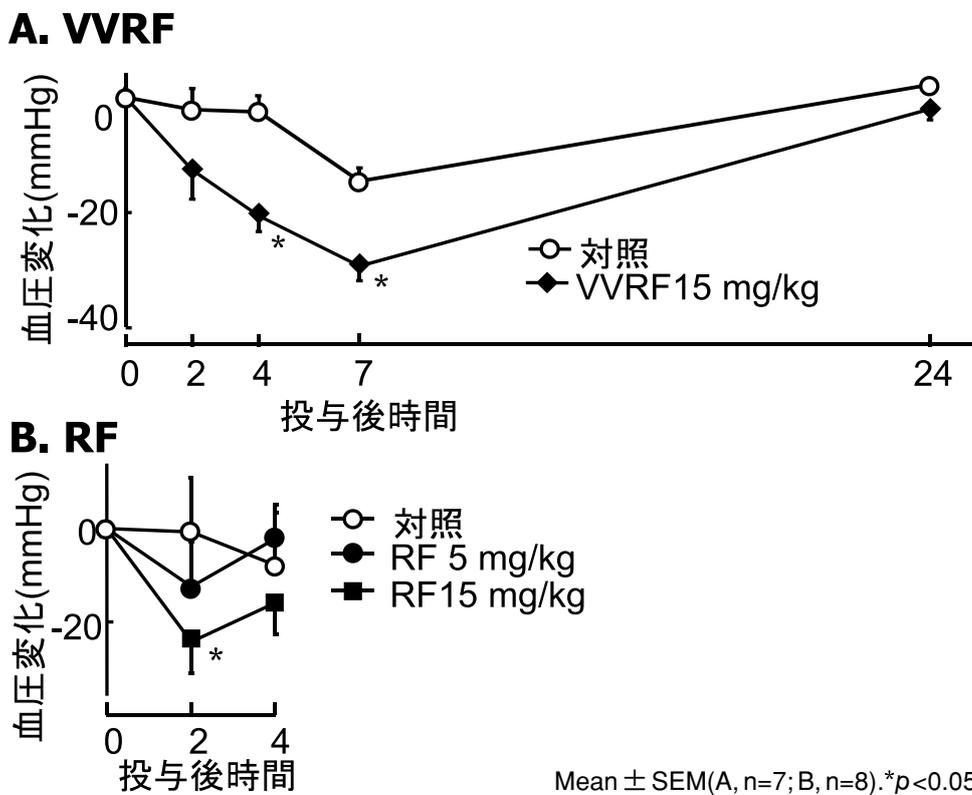


図4. VVRF の持続的な血圧降下作用。VVRF(A)および RF(B)の経口投与による血圧降下作用の比較。

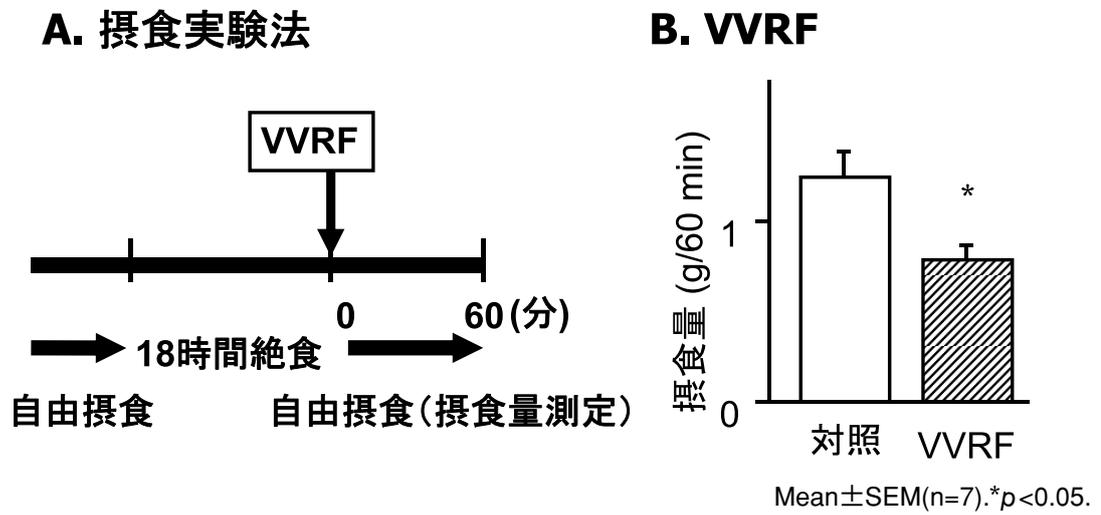


図5. VVRFの摂食抑制作用。A. 摂食実験方法。B.VVRFの経口投与による摂食量に及ぼす影響。