



人乳ラクトフェリン由来の オキシトシン様ペプチド

吉川正明*

(公益財団法人日本乳業技術協会学術顧問, 京都大学名誉教授)

体内では種々の生理活性ペプチドがホルモンまたは神経伝達物質として多様な機能を果たしている。これらは、特異的な前駆体タンパク質として一旦生合成されたのち、ペプチダーゼにより体内で切り出されることにより生理活性ペプチドに変換される。一方、このような経路以外に、従来は生理活性ペプチドの前駆体とはみなされていなかった食品タンパク質等の通常タンパク質の酵素消化によっても生理活性ペプチドが派生する例が多数見出されてきた¹⁾。

乳のみならず唾液、涙等の体液や白血球にも含まれているラクトフェリンはそれ自身、鉄結合能および抗炎症能等の多様な生理作用を示すばかりでなく、その酵素分解によって抗菌作用やアンジオテンシン変換酵素阻害活性を有するペプチドが生成することも判明している。以前に筆者らは人乳ラクトフェリンのトリプシンから回腸収縮活性を指標にして、6アミノ酸残基からなるラクトメジン-2 (LM-2: Cys-Phe-Gln-Trp-Gln-Arg) を単離した²⁾。本ペプチドは人乳ラクトフェリンの第20-25残基に由来する。最近、本ペプチドがオキシトシン様の中樞作用を示すことを見出した³⁾。

オキシトシン (Cys-Tyr-Ile-Gln-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂) は子宮筋収縮活性を有するホルモンとして単離されたペプチドホルモンであり、乳房からの射乳を促進させることも知られている。このような雌に特異的な作用以外に、オキシトシンは雌雄両性において抗不安作用、および社会的相互作用、母子間相互作用、生殖行動の促進等の中樞作用を示すことから、安らぎと愛情を司るホルモンとして近年注目されている。

オキシトシンは特異的なオキシトシン受容体 (oxytocin receptor: OT-R) と結合することにより種々の作用を発揮するが、LM-2もOT-Rに対する結合性を示すことが判明した (解離定数: $K_i = 62 \mu\text{M}$)。これは食品たんぱく質から派生するオキシトシン様物質として最初の例である。LM-2のOT-Rに対する親和性はオキシトシンのその約1/200,000であるが、これはLM-2とオキシトシンの構造的類似性が小さいためであろう。

LM-2はマウスを用いた高架式十字迷路による心理的ストレスを評価する実験系 (図1) において、抗不安作用を示した。その作用はOT-Rに選択的なアンタゴニストL-371, 257により阻害されることから、OT-Rへの結合を介していることがわかった。LM-2が脳室内投与で抗不安作用を示すのに必要な投与量は0.1 nmol/マウスであり、意外にもこれはオキシトシンが抗不安作用を示すのに必要な投与量の約1/10に相当する。LM-2のOT-Rへの親和性がオキシトシンのその約1/200,000に過ぎないことと考え合わせると、LM-2はin vivoではきわめて低用量で抗不安作用を示すことを意味している。オキシトシンは体内で特異的な分解酵素であるinsulin-regulated aminopeptidase (IRAP) の作用により分解される⁴⁾。IRAPはシスチン残基、すなわちジスルフィド結合で結ばれたシステイン残基のC末端側のペプチド結合を開裂することによりオキシトシンを失活させる酵素である。オキシトシンは分子内に存在する2個のシステイン残基がジスルフィド結合により架橋された構造

* E-mail: yosikawa@kais.kyoto-u.ac.jp

を有するため IRAP により分解される。一方、LM-2 は 1 個のシステイン残基しか持たないために、分子内でジスルフィド結合が形成されず、IRAP により分解されることはない。このことが、OT-R に対する親和性がきわめて小さいにも関わらず、体内で LM-2 がオキシトシンより低用量で抗不安作用を示す原因と考えられる。

オキシトシンは経口投与では作用を示さないのに対し、LM-2 は 30 mg/kg の経口投与で抗不安作用を示した (図 2)。さらに、30%卵黄溶液中に乳化して投与した場合は上記の 1/30 に相当する 1 mg/kg の投与で抗不安作用を示した。なお、オキシトシンは鼻腔内投与で中枢作用を示すことから、鼻腔内投与薬としても用いられているが、LM-2 も鼻腔内投与で有効なことも見出している。LM-2 がマウスにおいて抗不安作用以外にもオキシトシン様の中枢作用を示すかどうか、またヒトにおいても同様な中枢作用を示すかどうかについては今後の検討課題である。

乳児は母乳を摂取することにより安らぎを感じるが、この現象に LM-2 が関与しているかもしれない。以前、上記現象にはカゼイン由来のオピオイドペプチドが関与する可能性が指摘されたが、人乳 β -カゼインから派生

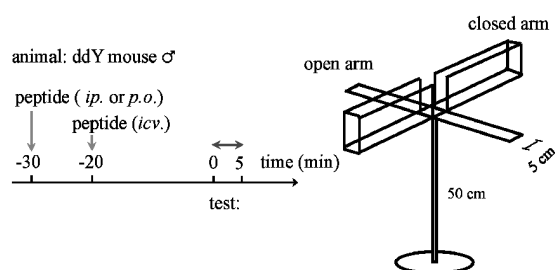


図 1 高架式十字迷路

高架式十字迷路は、不安増強または抗不安作用を測定するための装置であり、床から 50 cm の高さに設置した十字形の板 (arm) からなっている。2 方向の arm には落下防止用の透明板がある一方、これと直角の 2 方向の arm には落下防止板がない。マウスを中央部分に置いた場合、50 cm の高さに恐怖を感じた場合は、囲いのある closed arm に移動するが、恐怖感を感じない場合は囲いのない open arm に移動する。2 種類の arm に対する進入回数と滞在時間を 5 分間計測することにより、マウスが感じた不安の程度を計測することができる。

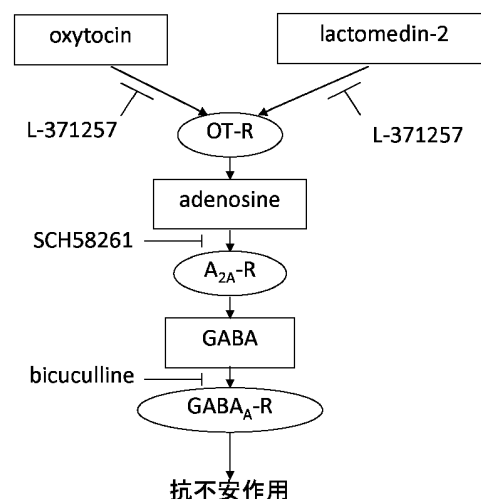


図 3 オキシトシンおよびラクトメジン-2 の抗不安作用機構

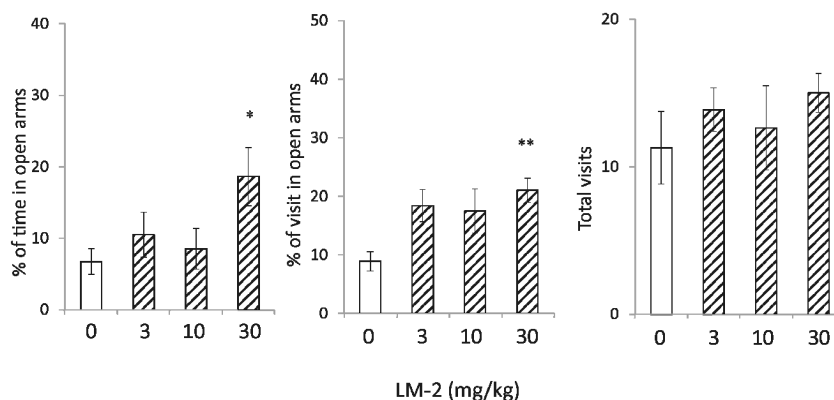


図 2 経口投与によるラクトメジン-2 の抗不安作用

する β -casomorphin のオピオイド活性は牛乳由来のそれより小さいうえに、人乳のカゼイン含有量は牛乳よりはるかに少ないことから、その寄与は小さいであろう。人乳ラクトフェリンの含有量は牛乳のその約10倍であることも上記推論を支持している。

LM-2 およびオキントシンの抗不安作用発現機構を各種神経伝達物質のアンタゴニストを用いて脳室内投与の系で検討したところ、アデノシン受容体 A_{2A} (A_{2A} -R), および $GABA_A$ 受容体 ($GABA_A$ -R) のアンタゴニスト, SCH58261 および bicuculine により阻害されることから、両ペプチドは OT-R に結合した後、その下流において、アデノシンおよび $GABA$ を放出することにより、抗不安作用を示すことが判明した (図3)。オキントシンの抗不安作用が $GABA_A$ -R を介することは従来から知られていたが⁵⁾, その上流においてアデノシン A_{2A} -R を介していることが本研究により初めて明らかとなった。

人乳ラクトフェリン中に存在する LM-2 配列の前後のアミノ酸配列を各種動物で比較すると、ウシ、ブタおよびマウスではオキントシン様活性に必須の LM-2 の第2番目の Phe 残基が、それぞれ Arg または Leu に置換されている⁶⁾。さらに、トリプシンによる切り出しに必要な第6番目の Arg 残基が、それぞれ Trp, Ser および Asn に置換されている。これらの理由から、残念ながら、人乳以外のラクトフェリンからはオキントシン様活性を有する LM-2 様ペプチドが派生する可能性はない。このことは人乳は他の動物にはない高次機能を有することを意味している。ラクトフェリンに類似した鉄結合タンパクとして、血清トランスフェリンおよび卵に含まれるオボトランスフェリンが知られているが、ヒトおよびウシ血清トランスフェリンやニワトリオボトランスフェリン中に存在する LM-2 相当部分のアミノ酸配列において、第2番目および第6番のアミノ酸が上記条件を満たしていないことから⁷⁾, これらのタンパク質からオキントシン活性を有する LM-2 様ペプチドは派生しない。

人乳を大量に得ることは不可能であるが、トランスジェニック動物乳 (マウスおよびヤギ) や植物および微生物において人乳ラクトフェリンを生産する方法が報告されている。同様に、LM-2 そのものを植物で生産することも技術的には可能である。遺伝子操作により得られた人乳ラクトフェリンや化学合成により生産した LM-2 を食品や乳児用粉乳の成分として用いることは現状では難しいが、これらが許される医薬品の分野では、LM-2 を経口または経鼻投与で有効なオキントシンアゴニストとして利用することが考えられる。なお、本題とは少しずれるが、LM-2 のアミノ酸残基を部分的に置換することにより、約 1/100 の投与量で抗不安作用および抗うつ作用を示すペプチドを設計することにも成功している。

参 考 文 献

- 1) Yoshikawa, M., *Peptides* 72: 208–225, 2015
- 2) 吉川正明 他, ラクトフェリン2009, 第3回ラクトフェリンフォーラム実行委員会編, p. 109–115, 2009
- 3) Yoshikawa, M. et al., *Ann. Pharmacol. Pharmaceu.* 2: 1–4, 2017
- 4) Brailoiu, GC. et al., *Neurosci Lett.* 327: 193–197, 2002
- 5) Smith, AS. et al, *Psychoneuroendocrinology* 63: 50–08, 2016
- 6) Lydon, JP. et al, *Biochim. Biophys. Acta* 1132: 97–99, 1992
- 7) Metz-Boutigue, MH. et al., *Eur. J. Biochem.* 145: 659–676, 1984

※「読者からの話題提供」は、読者の皆様から頂いた酪農乳業に関連する話題を掲載するコーナーです。皆さまからの寄稿をお待ちいたします。なお投稿にあたっては、詳細については、あらかじめ協会事務局までお尋ねください。