

論文の内容の要旨

論文題目 イミダゾールジペプチドの健康機能性に関する研究
氏 名 塩谷 茂信
指導教員 荒木 徹也

第1章 イミダゾールジペプチド研究の沿革と本研究の目的

本研究は、農林水産省ニューフード・クリエーション技術研究組合「食品産業における新規分離抽出技術の開発」の研究課題「廃鶏屠体の有効利用」が発端であった。著者らは、各種動物の組織中に比較的大量に存在するイミダゾールジペプチド(以下、IMDP と略す)の大量生産規模での分離精製技術の確立と、これまで予想されてきた健康機能性について明らかにし、IMDP を国民の健康維持に貢献できる食品素材として広く普及させることを目的とした。

第2章 GPC-HPLC 法による天然エキス中の IMDP 定量法の確立

迅速簡便な IMDP の定量法としてゲルろ過を原理とする GPC-HPLC 法の開発を行った。この方法は、IMDP の個別定量には不向きであるが、原料中に含まれる IMDP と共存するその他のタンパク質やアミノ酸などの分子量分布とその含有量の推測が可能なので、ろ過膜の選択や製造管理を実行する上で、極めて便利な方法であった。

第3章 ろ過膜技術によるチキンエキスからの IMDP の分離精製

チキンエキスからろ過膜技術のみで IMDP を分離精製する方法の開発を試みた。平均分子量 233 の IMDP を、まず分子量 4,000 以上のタンパク質と分離できる限外ろ過膜(UF 膜)でろ過し、ついで低分子の塩類を除去できるナノろ過膜(NF 膜)でろ過して IMDP を保持液中に回収する連続したろ過工程でのプロセスが有力な方法であった。この方法では、製造時のエネルギー消費量を低く抑えられること、さらにチキンエキスの低アレルゲン化が可能となるが、共存するアミノ酸と IMDP を完全に分離することはできなかった。

第4章 イオン交換クロマトグラフィーと NF 膜ろ過のハイブリッド方式による精製法の確立

チキンエキスをイオン交換体に通液し IMDP を含む塩基性成分のみを吸着させ、それを溶出回収した。本溶出液中の主たる夾雑物はクレアチニンや無機塩類であった。IMDP と夾雑物の分離ができる NF 膜の選択を行い、IMDP を 90 %以上回収し、夾雑物を分離できる条件設定が可能となったことから、数学モデルを利用して、大量生産が可能な IMDP 精製のための NF 膜ろ過工程を設計した。本研究で製造された IMDP は殆んど純化され、チキンエキスの風味を有しないことから、様々な食品に応用できる食材とすることが可能であった。

第5章 IMDP の抗酸化活性の解析

IMDP は一般的な抗酸化活性測定法では極めて弱い活性しか示さなかったことから、生体内で産生される活性酸素(ROS)ラジカルを対象にした抗酸化活性測定法の開発を行った。4 種の ROS ラジカル(H_2O_2 、 $\text{HO}\cdot$ 、 $\text{ClO}\cdot$ および $\text{ONOO}\cdot$)を標的として、これらのタンパク質の分解作用を抑制する活性として IMDP の抗酸化活性を評価した。その結果、IMDP を含む天然抗酸化剤の抗酸化活性には ROS ラジカルへの特異性があることが観察された。つまり、IMDP は $\text{ClO}\cdot$ に対して強い抗酸化作用を示し、V.C.は $\text{ClO}\cdot$ と $\text{ONOO}\cdot$ に抗酸化作用を示し、植物由来の抗酸化剤

(V.E、フェルラ酸など)はHO・に強い抗酸化作用を示した。さらにDNA分子の分解抑制活性を評価したところ、IMDPは、4種のROSラジカルによる分解作用を全て抑制する活性を示した。

第6章 IMDPの生理機能の探索試験

第6章1では、酸化ストレス(H₂O₂)を与えたショウジョウバエの寿命に及ぼすIMDPの影響を試験した。その結果、IMDPを投与した雌のみで寿命が有意に延長した。雌ではIMDPの体内代謝が雄の約1.5倍高いことから、IMDPは酸化ストレス軽減を通して寿命を延長させる可能性が考えられた。第6章2では、ケルセチンが抗酸化活性を有し、かつ血小板凝集を抑制することが知られているので、IMDPなどの天然抗酸化剤が血小板の機能へ影響するかどうかを試験した。ClO・消去剤のIMDPもONOO・消去剤のV.C.も血小板凝集抑制作用は認められなかった。また、ケルセチンと同様にHO・消去剤であるフェルラ酸も極めて弱い作用であった。本結果から、ケルセチンの血小板凝集抑制作用は抗酸化活性とは異なる機序で作用するものと考えられた。

第7章 IMDPのヒト介入試験による健康機能性の検証

第7章1では、ClO・消去剤のIMDP、ONOO・消去剤のV.C.そしてHO・消去剤のフェルラ酸を配合した清涼飲料水の8週間摂取による酸化ストレス軽減作用を試験した。本飲料はリンパ球DNA分子の酸化傷害を顕著に低減させる効果を示し、脂質代謝の改善作用も観察された。第7章2では、純度が異なる他社製品IMDPと本研究のIMDPの生物学的同等性を経口摂取後の血中濃度推移の測定で試験した。その結果、同じ原料のIMDPであれば、血中濃度推移に相違はなく、腸管吸収や血中代謝に差異はないことが確認された。第7章3では、軽度認知障害(MCI)の高齢者の記憶力改善に及ぼす鮭由来アンセリン(IMDP)の作用を試験した。MCIの高齢者に対してアンセリンを0.5g/日で8週間投与すると、認知障害が改善する効果が認められ、被験者全員が認知症へ進行することなく、数例では認知機能の正常化が観察された。これらのことより、鮭由来アンセリンでも、鶏肉由来IMDPと同等の認知機能改善効果を有していることが確認された。

第8章 本研究の総括

廃鶏屠体に含まれるIMDPをろ過膜技術やイオン交換クロマトグラフィーにより、任意の純度に分離精製し、広範囲の食品にIMDPを強化することを可能としたこと、さらにIMDPは生体内産生ROSの中でClO・に対して強い抗酸化活性をもつことを明らかにした。そしてヒト試験により生体内酸化ストレスの軽減作用とMCIの高齢者の記憶力改善効果を証明することできた。

研究業績

- 1) 塩谷茂信, 鈴木貴則, 坂野太研, 柳内延也 (2022) ケルセチン含有タマネギ外皮エキスの血小板凝集抑制作用. 日本食品科学工学会誌 69: 45-53.
- 2) 塩谷茂信, 鈴木貴則, 米山明, 柳内延也, 萩原昌司, 鍋谷浩志 (2017) HPLC法によるヒト血しょう中のイミダゾールジペプチドおよびその代謝物の同時定量. 日本食品科学工学会誌 64: 437-445.
- 3) Shiotani S, Yanai N, Suzuki T, Tujioka S, Sakano Y, Yamakawa-Kobayashi K, Kayashima, Y (2013) Effect of a Dipeptide-Enriched Diet on Adult *Drosophila melanogaster* Laboratory Strain. Biosci Biotech Biochem 77: 836-838.

上記以外に連名著者論文が英文3報、和文4報。