

琉球大学学術リポジトリ

食品系生物資源からの生理活性ペプチドの開発と商品化

メタデータ	言語: 出版者: 南方資源利用技術研究会 公開日: 2014-10-26 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 丸山, 進 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016844

食品系生物資源からの生理活性ペプチドの開発と商品化

独立行政法人 産業技術総合研究所

丸山 進

1. はじめに

食品蛋白質のプロテアーゼ加水分解物から見出されたアンジオテンシン I 変換酵素阻害ペプチドを含有する食品が「血圧が高めの方に」の表示が許可された特定保健用食品として幾つも商品化されている。

食品蛋白質のプロテアーゼ加水分解により派生する生理活性ペプチドの研究の歴史は古く、1970年代には牛乳カゼイン分子に存在するカルシウム吸収促進ペプチド（カゼインホスホペプチド、CPP）が研究されていた。1979年になり牛乳カゼインのプロテアーゼ加水分解により派生するオピオイドペプチドが Brantl らにより発見され、次いで、1982年に同じく牛乳カゼインのトリプシン分解により派生するアンジオテンシン I 変換酵素阻害ペプチドが筆者により発見された。そして1980年代の半ば頃から、他のさまざまな食品蛋白質もプロテアーゼで限定分解すると、やはりいろいろな生理活性ペプチドを派生することが明らかになってきた。これまでに発見されたペプチドは主としてレセプターリガンド（オピオイドペプチド、平滑筋作動性ペプチドなど）、酵素阻害ペプチド（アンジオテンシン I 変換酵素阻害ペプチド）、吸収調節ペプチド（カルシウム吸収促進ペプチド、コレステロール吸収抑制ペプチドなど）、抗菌ペプチド（ラクトフェリンなど）、抗酸化ペプチドなどに分類できる。同時に、食品由来ペプチドの腸管吸収メカニズムの研究も盛んに行われ、低分子量ペプチドの経口投与での有効性も確認されるようになった。そして、筆者の見出したカゼイン由来のアンジオテンシン I 変換酵素阻害ペプチドを添加した飲料は CPP と同時期の1995年に特定保健用食品として厚生省の許可を得ている。

2. アンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) 阻害ペプチド

ACE はアンジオテンシン I の C 末端 2 残基のアミノ酸を遊離させ、強い血圧上昇活性を持つアンジオテンシン II に変換するなどの働きをしている酵素で、血管内皮細胞膜などに存在する。ACE の阻害物質は高血圧を抑制する効果があり、1977年に Ondetti らが発表した ACE 阻害剤カプトプリルは高血圧治療薬としてよく知られている。筆者は牛乳カゼインのトリプシン加水分解液が ACE を強く阻害することに気づき、ACE 阻害ペプチド FFVAPFPEVFGK（カゼインドデカペプチド）や TTMLPW などを見出した。当時、ACE の活性中心には C 末端 2 残基のアミノ酸配列が AP あるいは PP であるペプチドがよく収まるといわれていたが、基質特異性はそれ程厳密ではない。このため、阻害ペプチドが発見されやすく、その後筆者らはトウモロコシ蛋白質やサ

メの肉などのプロテアーゼ加水分解物から、あるいはイチジクの樹液からアミノ酸数 2~6 残基の ACE 阻害ペプチドを多数見出した。そして、その幾つかを Wistar 系ラットや高血圧自然発症ラットなどに静脈注射したところ実際に血圧の上昇を抑制することが確認できた。特にカゼインドデカペプチドは東大の唐木英明教授とカネボウ(株)のグループの研究で高血圧自然発症ラットへの経口投与、さらにヒトへの経口投与でも有効であることが確認され、カゼインドデカペプチドを添加した飲料がカネボウ(株)の申請により 1995 年 5 月に厚生省から「特定保健用食品」として許可されている。本食品はペプチドに由来する特有の苦味があり、それを改良した飲料「カゼイン DP」が 1997 年 5 月に試験販売が開始された。これは血圧調節効果を示唆する表示が許可された特定保健用食品として初の商品である。

前述のように ACE は基質特異性が広いため阻害ペプチドが発見されやすいことと阻害ペプチドの実用性が高いことなどから、筆者以外のグループからも、さまざまな食品に由来する ACE 阻害ペプチドの報告が相次いでおり、今では報告あるいは特許出願された ACE 阻害ペプチドの全てを把握するのは困難な状況である。現在、他社が開発した醗酵乳由来の ACE 阻害ペプチド (VPP、IPP)、鰹節由来の ACE 阻害ペプチド (LKPNM)、イワシ由来の ACE 阻害ペプチド (VY) を添加した食品など数種が「特定保健用食品」として許可、商品化されており、一部は一般消費者にもよく知られたヒット商品となっている。なお、カゼインドデカペプチドについては、2002 年 2 月から新商品「ペプティオドリンク」として全国販売が行われている。

関連して、筆者らはトウモロコシ由来 ACE 阻害ペプチド LPP と同一のペプチドを逆反応により合成可能なプロリン特異的ジペプチジルカルボキシペプチダーゼを微生物から見出している。

3. 血栓形成抑制ペプチド

フィブリンの N 末端トリペプチドに相当する GPR はフィブリンポリマーの形成を阻害することが知られている。コラーゲン $\alpha 1$ 鎖には GPR の配列が 8 箇所ほど存在することから、筆者らはコラーゲンの高度利用を目的に、ブタ皮膚コラーゲンを微生物コラゲナーゼで加水分解し、GPR を単離した。そして、GPR やコラーゲン加水分解物はフィブリンポリマーの形成を阻害するのみでなく、*in vitro* の系でヒト血小板凝集を阻害することも明らかにした。これは血小板の糖蛋白質 GPIIb/GPIIIa にフィブリンノーゲンが結合するのを GPR が抑制するためと推定される。さらに、実験的に播種性血管内凝固を誘発したラットに経口投与した GPR やコラーゲン加水分解物は血液中の血小板数の減少を抑制することも確認した。コラーゲンは血小板凝集の惹起物質の一つであるが、酵素消化で遊離したペプチドにはこのように別の機能があることが分かった。

4. エイズウイルスプロテアーゼ阻害物質 ほか

HIV-1 (ヒト免疫不全ウイルス 1 型) プロテアーゼは HIV-1 の前駆体蛋白質を切断し、ウイル

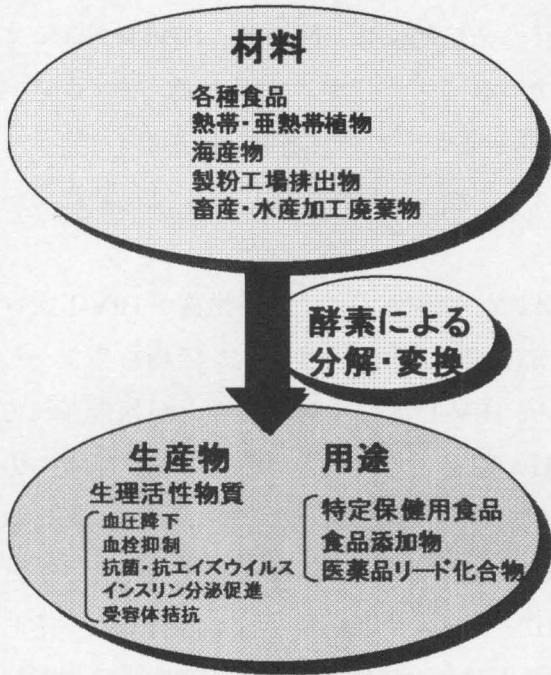
ス自体の酵素と構造蛋白質を生成する。本酵素の阻害物質は HIV-1 の増殖を抑制するため、基質の遷移状態を模倣した阻害物質がこれまでに種々開発されている。筆者らはカキ（牡蛎、*Crassostrea gigas*）の蛋白質のサーモリシン加水分解液から HIV-1 プロテアーゼの活性を強く阻害する 2 種のペプチド LLEYSI および LLEYSL を見出した。カキから見出したペプチドは各々 13nM、10nM の K_i 値で HIV-1 プロテアーゼを選択的且つ拮抗的に強く阻害し、HIV-1 プロテアーゼによって加水分解されることはなく安定に存在した。本ペプチドはアスパラギン酸プロテアーゼ阻害剤であるペプスタチン A より 100 倍も強い HIV-1 プロテアーゼ阻害活性を有しており、アミノ酸を置き換えた様々なペプチドを化学合成したが、これより活性の強いものは得られなかった。

更に、筆者らはブナシメジなどのキノコから熱水抽出した水溶性リグニン様物質が HIV-1 プロテアーゼを強く阻害することに気付いた。筆者らの研究以前に、水溶性リグニン様物質やフェルラ酸等を脱水素重合させた高分子量の合成リグニンが抗 HIV-1 活性を有することが報告されている。これは、HIV-1 の細胞への結合をリグニン様物質が阻害するためとされている。筆者らの実験では、リグニンの構成単位分子であるフェニルプロパノイドや他のポリフェノール類には HIV-1 プロテアーゼ阻害活性はなかったが、*p*-クマル酸あるいはフェルラ酸を脱水素重合させた低分子量 (M_r 500~1,000) のリグニン様物質なども HIV-1 プロテアーゼを強く阻害した。そして、ブナシメジ由来のリグニン様物質や低分子量の合成リグニン様物質は MT-4 細胞の系において抗 HIV-1 活性を有することが確認できた。本実験では HIV-1 が細胞へ結合するのを阻害する効果を区別できないため、上記の抗 HIV-1 活性が実際に HIV-1 プロテアーゼ阻害によるものかは不明であるが、筆者らの研究で初めて M_r 1,000 以下の低分子量のリグニン様物質に抗 HIV-1 活性が確認された。

他に、サブスタンス P などの代謝に関係するとされている脳プロリルエンドペプチダーゼを阻害するペプチドの探索を行い、グリア細胞繊維性酸性蛋白質のフラグメントペプチド MPPPLPARVDFSLAGALN を哺乳動物の脳から見出した。

また、培養血管内皮細胞や膵臓 β 細胞のホルモン分泌等を指標にした生理活性ペプチドの探索についても述べる。

食品系生理活性ペプチドの開発



脳の情報伝達ペプチド分解酵素(PEP)を阻害するペプチド

哺乳動物脳

Met-Pro-Pro-Pro-Leu-Pro-Ala-Arg-Val-Asp-Phe-Ser-Leu-Ala-Gly-Ala-Leu-Asn

血圧降下ペプチド

牛乳

Phe-Phe-Val-Ala-Pro-Phe-Pro

Glu-Val-Phe-Gly-Lys

Thr-Thr-Met-Pro-Leu-Trp

Ala-Val-Pro-Tyr-Pro-Gln-Arg

トウモロコシ

Leu-Pro-Pro

イチジク

Ala-Val-Asn-Pro-Ile-Arg

サメ

Met-Trp

Leu-Trp-Ala

Val-Trp その他多数

カゼインデカペプチド



特定保健用食品

血栓抑制ペプチド

ブタ皮膚コラーゲン

Gly-Pro-Arg

エイズウイルスの酵素(プロテアーゼ)を阻害するペプチド及びリグニン様物質

カキ(牡蠣)

Leu-Leu-Glu-Tyr-Ser-Ile

Leu-Leu-Glu-Tyr-Ser-Leu

ペプチダーゼ

プロリン特異的ジペプチジルカルボキシペプチダーゼ(微生物由来)



血圧降下ペプチドの酵素合成

インスリン分泌促進物質

特許準備中