

水産廃棄物より誘導した血圧降下ペプチドの腸管吸収機構の解明と応用

細川 雅史 [北海道大学大学院水産科学研究科／助教授]

背景・目的

飽食の時代を迎えた今日、水産物を含む食品産業において副生する廃棄物の処理が大きな問題となっている。このような食品廃棄物を種々の生活習慣病を誘発する高血圧症に対して予防効果を示す食品素材に変換できればその意義は大きい。申請者は、食品価値のない河川遡上シロサケの筋肉タンパク質から調製したペプチドが血圧上昇を司るアンジオテンシンI変換酵素(ACE)に対して阻害活性を持つことを報告した。これらペプチドを生体内でより効果的に機能させるためには、その消化・吸収機構の解明が重要な課題である。そこで本研究ではACE阻害ペプチドの小腸上皮細胞における透過性と消化性について解析するとともにその改善を試みた。

内容・方法

ACE阻害活性を示す遡上シロサケ筋肉由来ペプチドの消化・吸収機構を解明するため、腸管上皮細胞モデル系を作成して実験に使用した。具体的には、Caco-2細胞をトランズウェルインサート中に培養した後、インサート内側(管腔側)にペプチドを添加し、インサート外側(基底膜側)に透過したペプチドを高速液体クロマトグラフィーにより定量することで透過性を評価した。同時に、分解して生成したアミノ酸についても定量を行うことで消化性を評価した。その際、遡上シロサケ加水分解物より分離したACE阻害ペプチドに加え、それらの類縁ペプチドとの透過性の比較から、ペプチドの構造と腸管吸収性に関する系統的な解析を行った。また、ペプチドの透過性や消化耐性を高めるために、複数のペプチドの混合添加による影響やペプチドのアシル化及びアセチル化を試みた。

結果・成果

最初に、遡上シロサケ筋肉のサーモリシン分解物から同定したACE阻害ペプチドのTrp-Ala、Val-Trp、Met-Trp、Trp-Met、Ile-Trp、Leu-Trpをトランズウェルインサート管腔側に添加し、その透過性について調べた結果、6種類のペプチド全てが上皮細胞モデルを透過することが明らかとなった。しかし、透過速度はペプチドによって大きく異なった。中でも、Trp-Alaの透過速度が最も大きく、Met-Trpの透過速度が小さいことが示された。ペプチドの配列と透過性との関係を明らかにするため、N末端側にTrpの結合したTrp-Ala、Trp-Val、Trp-Met、Trp-LeuとC末端側にTrpの結合したAla-Trp、Val-Trp、

Met-Trp、Leu-Trpの透過性を比較した結果、アミノ酸組成が同じ場合、N末端側にTrpが結合したジペプチドのほうがC末端側に結合したものより透過速度が大きいことが見い出された。

また、ACE阻害ペプチドの小腸上皮細胞モデルの透過がペプチドトランспорターによって引き起こされているか否かを明らかにするため、Ile-Trpとペプチドトランспорターによる透過が知られるGly-Proを併用しその影響を調べた。その結果、Gly-Proを併用添加した場合においてIle-Trpの透過速度が大きく減少した。一方、エンドサートシスの阻害剤を併用した場合では透過性に変化は見られなかったことから、Ile-Trpの透過がペプチドトランспорターを介していることが推察された。このような現象は上記の8種類のペプチドにおいても同様に観察された。

更に、ACE阻害ペプチドの透過性を高める目的で複数のペプチドの併用添加による透過性への影響を調べた。Trp-Ala、Trp-Val、Trp-Met、Trp-Leu、Ala-Trp、Val-Trp、Met-Trp、Leu-Trpをそれぞれ0.25mM(合計2mM)併用添加した場合の透過速度の合計は、Trp-Ala、Val-Trpをそれぞれ2mMずつ単独添加の場合に比べ、1.6倍、4.8倍それぞれ大きいことが確認された。その際、ペプチドの混合添加による消化耐性の改善が認められた。この知見は、ACE阻害ペプチドの吸収性を高めるうえで極めて興味深い知見である。しかし、今回添加した8種類のペプチドの中には、併用添加することで透過速度は上昇するが消化耐性が改善されないペプチドも存在した。その他の要因について、今後詳細に調べる必要があると考える。

また、本研究ではACE阻害ペプチドの消化耐性を改善する目的でジペプチドのアシル化及びアセチル化を行ったが、これらの誘導化により本来のACE阻害活性が消失した。今後は、誘導化物の小腸上皮細胞中での分解と透過性について調べることでその有用性について再度検討する必要があると考える。

今後の展望

本研究では、河川遡上シロサケ筋肉の加水分解物中に見出したACE阻害ペプチドの小腸上皮細胞モデルにおける透過性を明らかにした。今後は、本研究で得られた知見をin vivoにおいて確認する必要があると考える。

また、ACE阻害ペプチドを含む河川遡上シロサケ筋肉の加水分解物を食品素材として利用するためには、その官能的評価も忘れてはならない。一般に、タンパク質の加水分解物は苦味を呈することが知られている。そのため、味覚的評価と苦味のマスキングに関する研究も重要な課題である。