



脂質代謝制御に関する食品機能学的研究

岐阜大学応用生物科学部 長 岡 利

はじめに

近年、食品成分の疾病予防や生体調節機能に対する作用などのいわゆる健康機能性に関する研究は、農芸化学分野における一大潮流である。とりわけ、食品タンパク質から派生する健康機能性ペプチドが数多く発見されてきている。食品タンパク質由来の健康機能性ペプチドは、まさに「食品の3次機能：食品機能学」の原点として紹介されることが多い。これらのペプチドは食品タンパク質の機能が生体構成成分の原料獲得などの栄養機能を中心に展開されてきた従来の概念を覆すものである。従来、タンパク質はアミノ酸の供給源としての栄養素としての作用が古くから研究され、体重増加や窒素出納を維持するという基準で評価され、タンパク質とアミノ酸は等価と考えられてきた。しかし、本研究と関連するタンパク質摂取による血清コレステロール（以下CHOL）値の変動は、タンパク質を構成するアミノ酸の作用（アミノ酸栄養の概念）だけでは説明不可能である。よって、タンパク質やペプチドの健康機能性を理解するためには新しい概念が必要である。この新しい概念の解明に興味を抱き、タンパク質・ペプチド・アミノ酸などを中心とした食品成分によるCHOL等の脂質代謝制御について、長年一貫して、食品機能学的に研究してきた。同時に1994年3月～1995年3月まで、米国Boston大学医学部のVassilis Zannis教授（HDLの主要タンパク質Apolipoprotein AI (ApoAI) 遺伝子の発見者：Nature 305, 823 (1983))の研究室でApoAIやApoAII遺伝子の転写因子に関する研究（Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 19, 1456 (1999))に従事した経験を生かし、帰国後から現在に至るまで、タンパク質・ペプチド・アミノ酸やポリフェノールなどの食品成分の脂質代謝改善作用を分子・遺伝子レベルで解明するための研究に注力してきた。本講演では以上の研究成果を概説する。

1. タンパク質・ペプチド・アミノ酸の脂質代謝改善機能に関する研究

1-1. 乳清のタンパク質・ペプチドのCHOL代謝改善機能

私は岐阜大学に赴任した1989年に牛乳乳清タンパク質がCHOL代謝改善作用を発揮することを確認し、研究に着手した。その後、ヒト腸培養細胞Caco-2による新規CHOL吸収抑制ペプチド評価法やラットによる評価などを駆使して研究した。その結果、1908年にIgnatowskiが動物性タンパク質を用いて、タンパク質がCHOL代謝に影響することを報告して以来、長い間仮説であり、その実態が謎だった「血清CHOL低減化ペプチド」を2001年に牛乳乳清タンパク質のβ-ラクトグロブリンから世界に先駆けて発見し、ラクトスタチン (Ile-Ile-Ala-Glu-Lys：IIAEK) と命名した (BBRC 281, 11 (2001))。ラクトスタチンのCHOL代謝改善作用は肝臓のCHOL分解に関与するCHOL 7α-水酸化酵素遺伝子 (CYP7A1) の調節を介するものであり、ヒト肝臓にはCaチャンネル媒介型のMAPキナーゼ依存性新規CHOL分解調節系

が存在することを発見した (BBRC 352, 697 (2007))。腸CHOL吸収抑制も関与することを解明した。また、世界に先駆けて、IIAEKを組込んだCHOL代謝改善新型米を開発した。さらに、長い間、未発見だったオリゴペプチド受容体として、従来の定説を覆す新概念（腸アルカリ性ホスファターゼ (IAP) 受容体説＝酵素IAPはIIAEKの受容体である）を提示した (Nutrients 12, 2859 (2020))。Biacoreによる分子間相互作用解析や *in silico* のAlphaFold 2によるドッキングシミュレーションで、IIAEKはIAPと特異的に結合することを発見した (図1)。大変興味深いことに、IIAEK受容体のIAP (*Akp3*) 欠損マウスではIIAEKのCHOL代謝改善作用が消失した。以上の研究成果から、従来の定説であるタンパク質の疎水性、アミノ酸組成、含硫アミノ酸含量、リジン/アルギニン比、レジスタントプロテインとは一線を画す新しい概念を提示し、外因性ペプチドのCHOL代謝調節に関する新しい学問領域を開拓した。

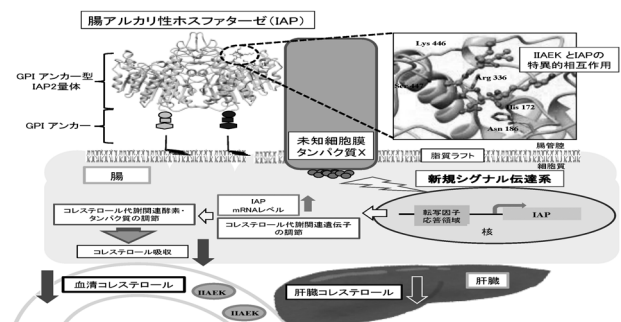


図1 IIAEK受容体である腸アルカリ性ホスファターゼ (仮説)

1-2. 大豆のタンパク質・ペプチドのCHOL代謝改善機能

大豆タンパク質・ペプチドは腸内でCHOLミセル溶解性阻害を介するCHOL吸収抑制によりCHOL代謝改善作用を発揮することを発見した (J. Nutr. 129, 1725 (1999))。世界に先駆けて、動物実験で有効な大豆由来CHOL吸収抑制ペプチド (VAWWMY: ソイスタチンと命名) を発見した (Biosci. Biotechnol. Biochem. 74, 1738 (2010))。CHOL吸収抑制ペプチド (胆汁酸結合ペプチド) の網羅解析技術であるペプチドアレイによる新規評価系を構築した (特許第5582433号)。この革新的方法により新規CHOL吸収抑制ペプチド (VVFLASVSなど) を発見した。リン脂質結合大豆ペプチドが顕著なCHOL代謝改善作用を発揮することを動物実験 (J. Nutr. 129, 1725 (1999)) やヒト試験で証明し、特定保健用食品創成に成功した。大豆β-コングリニニンα'サブユニットのCHOL代謝改善作用を解析し、同成分を含有する動物実験で有効な世界初のCHOL代謝改善米創成に成功した。

1-3. 食肉のペプチド及びFPのCHOL代謝改善機能

牛肉タンパク質 (牛心臓タンパク質) 加水分解物 (HPH) 摂取

が、ラットにおいてCHOL代謝改善作用を発揮することを見出した。さらに、HPHU (HPH限外濾過ペプチド) をカラムクロマトグラフィーにより高度分離精製し、*in vitro*でCHOLミセル溶解性試験やCaco-2細胞のCHOL吸収評価系を駆使して、新規CHOL代謝改善ジペプチド (Phe-Pro: FP) を世界に先駆けて発見し、ヒト培養細胞や動物実験で作用機構を解明した (Sci. Rep. 9, 19416 (2019))。FPは400種類のジペプチドで唯一、動物実験でCHOL代謝改善作用を発揮する。ペプチド輸送担体 (*PepT1*) 欠損マウスではFPの作用が消失することを発見した。よって、従来は単なるペプチドの輸送のみに関与すると考えられてきた *PepT1* が生活習慣病予防改善のための新規標的分子であることを発見した (Sci. Rep. 9, 19416 (2019))。FPの血中濃度を世界に先駆けてLCMSで定量し、生理的血中濃度のFPはペルオキシゾーム増殖因子活性化受容体 (*PPAR $\alpha$* ) のリガンドとなり、ヒト培養肝細胞HepG2でCHOL代謝改善作用を発揮することを発見した。AlphaFold 2によるドッキングシミュレーションでFPは *PPAR $\alpha$*  と特異的に結合することを発見した (Biosci. Biotechnol. Biochem. 87, 90 (2023)) (図2)。

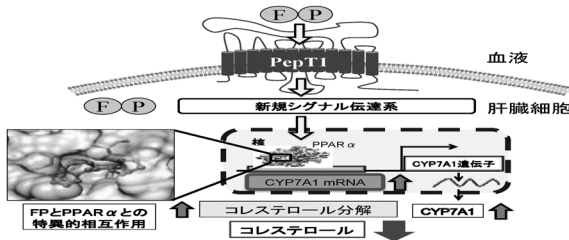


図2 FP受容体である *PPAR $\alpha$*  (仮説)

#### 1-4. プロタミン及びRPRのCHOL代謝改善機能、抗肥満機能及び抗非アルコール性脂肪肝機能

サケ由来のプロタミンは、そのアミノ酸配列の約70%がアルギニンで構成される大変ユニークなタンパク質であり、抗肥満作用及びCHOL代謝改善作用の両方を発揮する。しかし、プロタミン由来の活性ペプチドとその作用機構は不明である。そこで、プロタミン及びプロタミン由来RPR (Arg-Pro-Arg) の脂質代謝に対する影響を動物実験やヒト培養肝細胞HepG2の非アルコール性脂肪肝モデルを用いて評価した。その結果、CHOL代謝改善作用・抗肥満作用の両方を発揮するトリペプチド (RPR) を世界に先駆けて発見し、RPRがプロタミンによる抗肥満作用において主要な役割を発揮することを解明した (Nutrients 13, 2501 (2021))。また、HepG2細胞でRPRは、*PepT1* を介して細胞内トリグリセリド蓄積を抑制することを発見した。

#### 1-5. 藍藻スピルリナ由来の新規CHOL代謝改善タンパク質フィコシアニン

藍藻スピルリナは古代から食されており健康食品として利用されてきた。しかし、スピルリナに含まれるCHOL代謝改善作用を発揮する成分は長い間不明であった。そこで、スピルリナからタンパク質、脂質、その他の画分に、それぞれ画分取り、動物実験などで評価した結果、スピルリナに含まれる青色色素結合タンパク質であるフィコシアニンがCHOL代謝改善作用を発揮する活性タンパク質であることを発見した (J. Nutr. 135, 2425 (2005))。

#### 1-6. ローヤルゼリー由来の新規CHOL代謝改善タンパク質 Major Royal jelly Protein (MRJP) 1

ローヤルゼリーは脂質代謝改善作用を含む種々の健康機能が報告されており健康食品として利用されてきたが、ローヤルゼリーに含まれるCHOL代謝改善作用を発揮する成分は不明であった。そこで、ローヤルゼリーからタンパク質、脂質、その他の画分に画分取りし、*in vitro*の胆汁酸結合試験やCHOLミセル溶解性試験、動物実験などで評価した結果、ローヤルゼリーに含まれるMRJP1がCHOL代謝改善作用を発揮する活性タンパク質であることを発見した (PLOS ONE 9, e105073, 2014))。

#### 1-7. 含硫アミノ酸 (システイン及びS-メチル-L-システインスルホキシド (SMCS)) のCHOL代謝改善機能

ヒトにおいて含硫アミノ酸は脂質代謝に影響することが知られている。含硫アミノ酸であるタウリン、システイン、メチオニン、N-アセチル-L-システイン、S-メチル-L-システインスルホキシド (SMCS) をHepG2細胞に添加し、LDL受容体mRNAレベルの増加を指標にCHOL代謝改善作用を比較評価した。意外にもシステインのみにLDL受容体mRNAレベルの有意な増加が見られた。そこで、システインによるLDL受容体の活性化機構を解析した結果、TGF- $\alpha$ が関与することを解明した (BBRC 444, 401 (2014))。ブロッコリーやキャベツなどのアブラナ科植物に比較的多く含まれるSMCSのCHOL代謝改善作用を解明し、SMCSを関与成分とする特定保健用食品の創成に成功した。

#### 2. ポリフェノールの脂質代謝改善機能に関する研究

茶カテキン (EGCG) による低密度リポタンパク質 (LDL) 受容体の活性化はLDL受容体分解を促進するPCSK9低下を伴って発揮されることを発見した。茶カテキンであるEGCGの受容体と考えられてきた67 kDaラミニン受容体は、EGCGによるLDL受容体の活性化には無関係である点を世界に先駆けて発見した (Mol. Nutr. Food Res. e1901036 (2020))。エラグ酸やeugeninはLDL受容体を活性化することを発見した。バラポリフェノール (ROSE CRYSTA®-70) はCHOL代謝改善作用・抗肥満作用を発揮することを発見した。以上、ポリフェノールの脂質代謝改善機能を新視点から解明した。

#### 3. 抗肥満機能を発揮する食品成分に関する研究

大豆水溶性ペプチドは *PPAR $\gamma$*  発現誘導を介して脂肪細胞の分化を誘導し、インスリン抵抗性を軽減することを発見した。新規抗リパーゼ鶏卵抗体は肥満症治療薬オルリスタットよりも強力なリパーゼ阻害活性を発揮することを発見した。チロシドは糖質の吸収抑制作用を発揮することを解明した。

**謝辞** 本研究は、名古屋大学農学部栄養化学研究室の研究に端を発し、主に岐阜大学農学部 (応用生物科学部) で行われたものである。岐阜大学農学部食品機能化学研究室で御指導いただきました (故) 葛谷泰雄先生、金丸義敬先生、名古屋大学農学部栄養化学研究室で御指導いただきました (故) 吉田昭先生、ボストン大学医学部留学中に御指導いただきました Vassilis Zannis教授、宇都宮大学農学部でアミノ酸インバランス脂肪肝の卒論研究を御指導いただきました (故) 小椋正次先生、その他、大学、企業などの多くの共同研究者、日夜研究に励んでいただいた岐阜大学食品機能化学研究室及び食品分子機能学研究室の多くの卒業生・在校生に厚くお礼申し上げます。