

38 コーンオリゴペプチドの降圧効果に関する研究

林 峰, 梁 锐, 王 军波, 李 勇

北京大学公共衛生学院 栄養・食品衛生学 北京、100191

劉 克洋訳 (大阪大学医学部 医学博士課程)

要旨

コーンオリゴペプチドの血圧降下効果を研究するために、高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rats, 以下SHRと省略) を用いて、コーンから抽出したオリゴペプチドを異なる投与量 (0.45, 1.35, 4.05g/kg. bw) で与えた。同時に、陰性対照群のラットには同等量の蒸留水を、陽性対照群には10mg/kg. bwのカプトプリルをそれぞれ経口投与した。8週間後、各対象群におけるラットの体重、心臓重量/体重比、および、心拍数に有意な差 ($P > 0.05$) は無かった。低、中投与量群、および、陽性対照群におけるラットの収縮期血圧は、陰性対象群 ($P < 0.05$) より有意に低下し、その内、低投与量群と陽性対照群での血圧降下効果はほぼ同値を示した。高投与量群と陽性対照群の血漿アルドステロン濃度は、陰性対象群に比べて有意な低値を示した ($P < 0.01$)。以上の結果より、コーンオリゴペプチドには明らかな降圧効果が確認された。本研究は、今後の抗高血圧薬および機能性食品の開発に科学的根拠を提供するであろう。

キーワード: コーンオリゴペプチド、抗高血圧、高血圧自然発症ラット

背景

中国は高血圧症の発生率が高い国の一つである。中国衛生部の発行による「2002年中国国家栄養と健康状態に関する調査報告書」^[1]では、18歳以上の居住者での高血圧症の有病率は18.8%であり、中国全土の罹病者数は1.6億人以上と推定している。現在、高血圧の治療薬は、伝統薬と合成薬を合わせ、約200種類あるが、すべて終生服用することが必要であり、副作用も多いことが知られている^[2]。したがって、天然素材から降圧効果の活性成分を抽出することは、新薬研究と機能性食品開発の両面から重要な課題となっている。

生理活性ペプチド (Bioactive peptides) とは、生理機能上重要な

役割を持つペプチドで、機能性ペプチドとも呼ばれている

(functional peptide)^[3]。最近の研究^[4]から、乳清タンパク質、大豆タンパク質、魚介類のタンパク質、或いはそれらの組替えDNAを含むいくつかの食品媒介性タンパク質等を酵素分解して得られるペプチドに、血圧降下の作用機序が見出されてる。コーンオリゴペプチド

(Corn oligopeptides, COP) は、コーンのタンパク質から酵素分解により抽出され、主に2~6個のアミノ酸で構成し、分子量200~1000に集中するオリゴペプチドの混合物である^[5]。消化管内で消化されず、腸内作用により直接吸収され作用する^[6]。本研究では、コーンオリゴペプチドを被験物質として、SHR

系ラットによる血圧降下作用を研究し、その降圧効果を検証した。

実験材料と方法について

1. 材料と装置

コーンオリゴペプチドは、北京中食海氏生物技術株式会社により提供され、淡い黄色粉末である。使用前に蒸留水で異なる濃度に希釈して用いた。対照物質には、米中の上海ブリistol・マイヤーズスクイブ製薬株式会社

(bristol-myerssquibb)製のカプトプリル (Captopril) を使用した。血圧測定には、株式会社ソフトロン製のラット・マウス自動血圧計 BP-98A を使用した。

2. 実験動物

実験動物は、北京大学医学部実験動物科学部提供 (実験動物使用許可証号: SCXK (京) 2006-0025; 実験動物生産許許可証号: SCXK (京) 2006-0008) で、10~11 週齢、体重 240~280g、収縮期血圧 >180mmHg の SPF 級、雄性高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rats, SHR) を 40 匹選択し、飼養した。

3. 試験方法

SHR を 1 週間予備飼育し、血圧と体重を測定して、ランダムに陰性対照群、低投与量群、中投与量群、高投与量群、陽性対照群の 5 群 (n=8) に分類した。コーンオリゴペプチドを、低・中・高投与量群のそれぞれに、0.45、1.35、4.05g/kg. bw ずつ経口投与した。また、陰性対照群には、適切な投与量の蒸留水を、陽性対照群には 10mg/kg. bw のカプトプリルを投与した。各群に一日 1 回、8 週間でそれぞれのサンプルを経口投与した。実験前の予備飼育期間から一日おきに血圧を測定し、群わけの後から実験記録を行った。各

対象群の SHR には、実験期間内に水と食物を自由に摂取させた。収縮期血圧と心拍数は、毎週、指定した一定時間に測定した。SHR が覚醒している状態で、ラット・マウス自動血圧計 BP-98A を使用し、ラット尾動脈の収縮期血圧と心拍数を測定した。各テストは同条件下で 3 回ずつ実施し、3 回の平均値をこのテストポイントの血圧と心拍値として記録した。実験の最後に、大腿動脈から採血し、血清を分離し、その後、実験動物を頸椎脱臼により致死させ、心臓を摘出した。筋膜を取り除き、濾紙で臓器表面の血液を拭取り、心臓重量を (体重比) を測定した。アルドステロンの測定は、ラジオイムノアッセイ法 (または放射免疫測定、Radioimmunoassay: 略称 RIA) により検出した^[7]。

4. 統計方法

実験データは、SPSS13 統計ソフトを用いて解析し、平均値±標準偏差 (x±sd) で表わした。各対象群における比較検討は、一元配置分散分析法 (1-way ANOVA) により、P<0.05 の場合は、その差が推計統計学的に考慮して有意差があったとする。

実験結果について

1. コーンオリゴペプチドによる SHR の心臓重量への影響

表 1 に表したように、各実験群と陰性対照群の SHR の初期重量では、有意差はなかった (P>0.05)。実験群に異なる投与量のコーンオリゴペプチドを経口投与して 8 週間後、それぞれの最終体重が陰性対照群と比較しても有意差がなかった (P>0.05)。つまり、コーンオリゴペプチドの体重に対する影響は認められなかった。また、実験最終時に各対

象群において体重比に基づく心臓重量を測定し、陰性対照群と比較しても、有意差はなかった ($P>0.05$)。

組別	初始体重 /g	終期体重 /g	心臓/体重比値/(mg/g)
空白対照組	258 ±11	309 ±21	4.04 ±0.52
低剂量組	259 ±9	327 ±13	4.00 ±0.76
中剂量組	260 ±6	319 ±22	3.84 ±0.71
高剂量組	258 ±9	327 ±15	4.19 ±0.67
卡托普利組	257 ±13	318 ±17	3.45 ±0.67

1. 各対象群での実験開始時と最終時の体重比による心臓重量の変化 ($x \pm sd$,

2. コーンオリゴペプチドによるSHRの心拍数への影響

表2より、各実験群のSHRの心拍数と陰性対照群を比較して有意差はない ($P>0.05$)。つまり、コーンオリゴペプチドはSHRの心拍数に影響を与えなかったと考えられる。

表2 実験経過時における各対象群での一週間毎の心拍数の推移 ($x \pm sd$, $n=8$)

対象群	0w	1w	2w	3w	4w	5w	6w	7w	8w
陰性対照群	393 ± 37	377 ± 41	384 ± 32	361 ± 35	375 ± 40	379 ± 18	358 ± 28	371 ± 44	386 ± 39
低投与量群	411 ± 36	402 ± 48	407 ± 36	419 ± 38	410 ± 39	389 ± 24	366 ± 37	394 ± 29	393 ± 46
中投与量群	416 ± 37	373 ± 36	394 ± 37	422 ± 23	379 ± 41	374 ± 32	353 ± 44	391 ± 26	385 ± 27
高投与量群	423 ± 40	386 ± 31	396 ± 26	396 ± 23	382 ± 30	369 ± 37	354 ± 33	380 ± 38	397 ± 33
陽性対照群	395 ± 31	374 ± 23	378 ± 33	404 ± 27	395 ± 41	389 ± 37	369 ± 20	374 ± 21	401 ± 22

表3. 異なる時点における各群ラットの血圧値結果 ($x \pm sd$, $n=8$, mmHg)

組別	0w	1w	2w	3w	4w	5w	6w	7w	8w
空白対照組	197 ±15	198 ±22	202 ±15	199 ±10	205 ±16	203 ±9	202 ±10	204 ±11	206 ±13
低剂量組	199 ±14	196 ±12	191 ±10	190 ±17	185 ±14	178 ±18	172 ±9*	169 ±14*	168 ±10*
中剂量組	195 ±16	192 ±21	190 ±14	186 ±13	186 ±16	183 ±8	180 ±11	177 ±13	175 ±12*
高剂量組	198 ±12	196 ±17	194 ±17	195 ±23	192 ±16	189 ±16	189 ±13	186 ±14	190 ±16
卡托普利組	193 ±6	184 ±16	177 ±9	174 ±12	170 ±14*	168 ±12*	164 ±17**	162 ±15**	161 ±16**

注：*陰性対照群と比較して、その差は有意であった。 $P < 0.05$ 。

**陰性対照群で発現し、その差は $P < 0.01$ で有意であった。(図1と同じ)

3. コーンオリゴペプチドがSHRの血圧に及ぼす影響

表3より、陰性対照群ラットの血圧は約200 mmHgであった。蒸留水の経口投与期間が経過するにつれて、若干増加したが、有意差が見られなかった ($P > 0.05$)。低投与量群のSHRの血圧は、経口投与期間の経過に伴い、徐々に減少し、6週目の血圧を陰性対照群と比較して有意差があった ($p < 0.05$)。さらに、7週目、8週目まで有意差 ($p < 0.05$) を維持し、血圧を15.6%下げた。中投与量群では経口投与期間の経過に伴い、血圧はゆっくりで低下した、投与開始から8週目に、陰性

圧は約200 mmHgであった。蒸留水の経口投与期間が経過するにつれて、若干増加したが、有意差が見られなかった ($P > 0.05$)。低投与量群のSHRの血圧は、経口投与後、8週間でわずかに減少したが、その差は陰性対照群と比較し統計学的に有意ではなかった ($P > 0.05$)。カプトプリルを投与した陽性対照群は、実験中に血圧を急激に低下させ、経口投与後、第4週目に陰性対照群と比較して16.6%減少し、有意

差を見せた ($P < 0.05$)。この大幅な有意差は、実験の終了時まで維持され最終的に、血圧は 16.6%減少した。

4. コーンオリゴペプチドの SHR 血漿アルドステロン濃度への影響

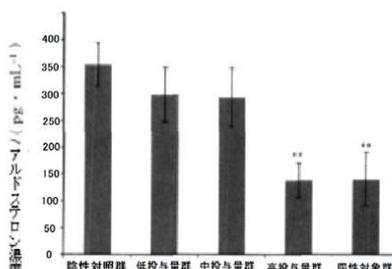


図 1. 各対象群別、SHRの実験最終時における血漿アルドステロン濃度値

図 1 から、経口投与 8 週間後、低投与量群および中投与量群の SHR の血漿アルドステロン濃度を陰性対照群と比較すると、有意な差がなかった ($P > 0.05$)。高投与量群と陽性対照群の血漿アルドステロン濃度は陰性対照群と比較して、その差は有意であった ($P < 0.01$)。

考察

本研究では、コーンオリゴペプチドを 0.45, 1.35, 4.05g/kg. bw、三つの投与量で SHR に経口投与した。飼養第 8 週後に、各投与量群、および陰性、陽性対照群のラットの心臓重量を体重比に基づき測定したが、有意差はなかった。Cheng ら^[8]は鶏のタンパク質加水分解物から抽出したペプチドが体重比に基づく心臓重量を明らかに減らすことができ、高血圧症ラットで心臓肥大の傾向を遅らせることができると報告している。本研究では、各実験群別の心臓重量比が陰性対照群に比較して、有意差を観察されなかった ($P > 0.05$)。実験結果からは、

中投与量群とカプトプリルを投与した陽性対照群の体重比に於ける心臓重量には減少傾向が認められた。低、中投与量群の収縮期血圧 (Systolic Blood Pressure) は、陽性対照群より有意に低かった ($P < 0.05$)。このことから、コーンオリゴペプチドが SHR の血圧を低下させる効果を持っていると考えられた。陰性対照群と比べ、経口投与後の 6 週目に、低投与量群の収縮期血圧は有意差を示し、経口投与後の 8 週目に中投与量群の収縮期血圧も有意差を示し、高投与量群での収縮期血圧は有意な差がなかった。コーンオリゴペプチドは 0.45g/kgbw の低投与量で最大の降圧効果を発揮し、10mg/kgBw ずつのカプトプリルを投与した陽性対照群の降圧効果と同等であった。

血圧の上昇はレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS) で制御される^[9]。レニン (Renin) が血液中に入って、血漿アンジオテンシノーゲン

(Angiotensinogen) を加水分解し、アンジオテンシン I (Ang I) に変換させる。アンジオテンシン変換酵素阻害薬 (angiotensin converting enzyme inhibitor, ACE inhibitor) により、Ang I が Ang II に変換される。Ang II が血管を収縮させ、同時にアルドステロン (Aldosterone) の分泌を促進する。バソプレッシンによる水分保持効果と併せ、アンジオテンシン II、アルドステロンにより、血管収縮や体内の Na⁺ の再吸収を亢進させ、その結果として、血圧を上昇させる。アルドステロンはレニン・アンジオテンシン系に於けるバランス制御に関与する最終産物である。本研究では、低、中投与量群に

におけるSHRの血漿アルドステロン濃度が、陰性対照群に比べて減少傾向が在ったが、有意差は認められなかった ($P > 0.05$)。高投与量群における血漿アルドステロン濃度は陰性対照群より低かった ($P < 0.01$)。コーンオリゴペプチドはレニン・アンジオテンシン・アルドステロン系に作用することで血圧を低下させると考察される。高投与量群のSHRの収縮期血圧はわずかに減少し、陰性対照群に比較すると有意差は認められなかった

($P > 0.05$)。原因について更なる研究が必要である。

多くの研究^[11-12]により、天然に存在するタンパク質には、異なるアミノ酸の配列から成る様々なアンジオテンシン変換酵素阻害ペプチド (angiotensin converting enzyme inhibitory peptide, ACEIP) が発見されている。タンパク質の酵素分解により、降圧機能を持つACEIPが放出される。ACEIPは消化酵素で消化されず、腸管内作用で直接吸収され、アンジオテンシン変換酵素の活性を阻害することにより、アンジオテンシンII (以下Ang IIと省略) およびアルドステロンの生成を低減させ、最終的に降圧効果を達成している。文献報道^[4]により、ACE阻害ペプチドは、分子量が小さい、疎水性アミノ酸とProの含量が高いなどの特徴を持っている。これまでの研究^[5, 13]から、コーンオリゴペプチドの分子量は200-1000に集中し、低分子のオリゴペプチドである。中でも特に、疎水性アミノ酸とPro含有量はそれぞれ約40%と10%に達する。この特徴から、コーンオリゴペプチドにACEIPが豊富に含まれていることを示唆すると共に、コーンオリゴペプチドが、血圧降下作用の

重要な基礎を担う作用機序を保持していることを提示する。

本研究では、SHRを異なる投与量のコーンオリゴペプチドで飼養し、その実験結果から、コーンオリゴペプチドに明らかな降圧効果が在ることを確認した。今後、降圧剤や機能性食品のさらなる発展のために、科学的根拠を明示する。

【参考文献】

- 1) 中华人民共和国卫生部. 中国居民营养与健康状况 (2002) [C]1 北京: 人民卫生出版社, 20051
- 2) Paran E, Anson O, Neumann L. *The effects of replacing β 2 blockers with an angiotensin converting enzyme inhibitor on the quality of life of hypertensive patients*. American Journal of Hypertension, 1996, 9 (1): 1 206 - 1 2131
- 3) 李勇. 生物活性肽研究现状与进展. 食品与发酵工业, 2007, 33 (1): 3 - 91
- 4) Fang H, Luo M, Sheng Y, et al. *The antihypertensive effect of peptides: A novel alternative to drugs*. Peptides, 2008, 29: 1062 - 10711
- 5) 林峰, 马勇, 徐亚光, 等. 基于分子量分布的食源性低聚肽品质评价. 食品与发酵工业, 2008, 34 (9): 128-1311
- 6) Da Costa EL, Gontijo J, Netto FM, *Effect of heat and enzymatic treatment on the antihypertensive activity of whey protein hydrolysates*. International Dairy Journal, 2007, 17: 632 - 640.
- 7) Marquez-Rodas L, Longo F, Aras-Lopez R, et al. *Aldosterone increases RAMP1*

- expression in mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats.* Regulatory Peptides, 2006, 134: 61 - 661
- 8) Cheng FY, Wan TC, Liu Y, et al. *A study of in vivo antihypertensive properties of enzymatic hydrolysate from chicken leg bone protein.* Animal Science Journal. 2008. 79: 614 - 6191
- 9) Dostal DE, Baker KM. *The cardiac renin - angiotensin system: conceptual, or a regulator of cardiac function.* Circ Res, 1999, 85: 643 - 501
- 10) Muguruma M, Ahmed AM, Katayama K, et al. *Identification of pro-drug type ACE Inhibitory peptide sourced from porcine myosin B: Evaluation of its antihypertensive effects in vivo.* Food Chemistry, 2009, 114: 516 - 5221
- 11) Bougatef A, Nedjar-Arroume N, Ravallec-Ple R, et al. *Angiotensin II converting enzyme (ACE) inhibitory activities of sardinelle (Sardinella aurita) by-products protein hydrolysates obtained by treatment with microbial and vertebrate fish serine proteases.* Food Chemistry, 2008, 111: 350 - 3561
- 12) Miguel M, Contreras MM, Recio I, et al. *ACE2 inhibitory and antihypertensive properties of a bovine casein hydrolysate.* Food Chemistry, 2009, 112: 211 - 2141
- 13) 林峰, 蔡木易, 谷瑞增, 等. 基于响应面的玉米分离蛋白酶解工艺研究 ;

2009年第35卷第8期(总第260期)