

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18380160
 研究課題名（和文） 食肉の保健的価値として相応しい抗ストレス・抗疲労作用を備えたペプチドの機能と利用
 研究課題名（英文） Functional properties and application of meat protein-derived peptides with anti-stress and anti-fatigue activities
 研究代表者
 有原 圭三（ARIHARA KEIZO）
 北里大学・獣医学部・教授
 研究者番号：00175994

研究成果の概要：

鶏肉等の食肉タンパク質の酵素分解物中に、強い抗酸化活性を有するペプチドが存在することを明らかにした。この分解物を経口投与した場合には、抗ストレス作用や抗疲労作用が認められた。また、コラーゲンを多く含む畜産副産物の酵素分解物についても検討を加え、糖質の添加と加熱により保健的機能性だけでなく嗜好性向上効果も有する素材の開発につながる成果を得た。一連の研究成果は、食肉等を原料とする新しい食品の誕生につながるものである。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	10,200,000	3,060,000	13,260,000
2007年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
年度			
年度			
総計	15,600,000	4,680,000	20,280,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・草地学

キーワード：食肉、ペプチド、抗ストレス作用、抗疲労作用

1. 研究開始当初の背景

食肉は栄養豊かな食品として古くから認識されてきた。しかし、その一方で、十分な科学的根拠が乏しいままに、食肉摂取が多くの生活習慣病の原因となるとの誤解も、消費者に持たれ続けてきた。本研究者は、食肉の保健的な価値を客観的に示し、食肉を積極的に取り込んだ健康的な食生活の消費者への提言と、食肉の関わる産業の健全な発展への寄与を目指している。この一環として、特に食肉が高タンパク食品であることに注目し、

熟成・加工・消化過程等において食肉タンパク質から生成する生理活性ペプチドに焦点を当て、その機能解明や利用法開発について検討を進めてきた。

本研究者は、過去に食肉タンパク質から生成する生理活性ペプチドの機能として、主に血圧降下作用や抗酸化作用を扱ってきた。しかし、その間に、単にペプチドとしての新規性や生理活性の強さだけが食肉タンパク質由来のペプチドとして重要であるわけでないことも痛切に感じていた。すなわち、食肉

という食材ならではの保健的価値を見出すことが最重要であるという意識を強く持つようになってきていた。そのような状況の中で、食肉タンパク質の分解により生成する抗酸化ペプチドの摂取が、抗ストレス作用や抗疲労作用を示す可能性を見出した。これこそ、食肉の保健的価値として相応しいものであると思っている。これらの作用は、代表的な「元気の出る食品」と言える食肉の保健的価値をアピールする機能として消費者にとっても受け入れやすいものであろう。

食肉の保健的機能性の解明を行う場合、「食肉ならではの保健的価値」を重視することが大切である。食肉タンパク質由来の生理活性ペプチドを検討対象とする場合も、牛乳や大豆のような他の食品で盛んに研究が行われているという理由だけで血圧降下ペプチドに注目するというのは安易なアプローチと言えよう。本研究者も、過去にこのような研究に力を注いできた一人であり、反省もしている。

食品（主に牛乳・大豆）のタンパク質由来の抗酸化ペプチドは、これまでに比較的多くの研究が行われてきた。しかし、活性酸素が漠然と多くの疾病の発症に関わることを背景とし、*in vitro*の抗酸化活性を示すだけで良しとする研究報告が大部分を占めていた。また、食肉タンパク質由来の抗酸化ペプチドについては、報告自体が非常に乏しく、動物への投与による効果を検討した例は皆無であった。本研究で抗酸化ペプチドの生理活性として扱う抗ストレス作用や抗疲労作用は、食肉に相応しい保健的機能であるだけでなく、ほとんどの現代人が深刻に向き合っているストレスや疲労の軽減（あるいはストレスや疲労に原因する疾病の予防）に寄与するものであり、その検討価値は大きい。

本研究者は、1990年頃より食肉の有する潜在的な保健的機能に関する検討を進めると共に、民間企業との共同研究により、実際の機能性食肉製品の開発にもかかわってきた。その後、高タンパク食品である食肉の特性を生かすために、1998年に食肉タンパク質より生成する生理活性ペプチドを対象とした研究を開始した。当時、すでに牛乳等の食品タンパク質から生成する生理活性ペプチドの研究が盛んに行われていた。しかし、食肉科学領域では、この種の研究は全く行われていなかった。本研究者は、牛乳や大豆等の食品タンパク質由来の生理活性ペプチドとして注目されていた血圧降下ペプチドを食肉タンパク質分解物中に検索することから着手した。その結果、新規の血圧降下ペプチドを見出すことができた。この成果は、食肉タン

パク質由来の生理活性ペプチドとして実質上初めてのものであった。現在、血圧降下ペプチドは、実際の乳製品等において産業レベルで利用されている。しかし、食肉や食肉製品の保健的価値をアピールするために適した機能であるかについては、かねてから疑問も感じていた。食肉摂取は高血圧を誘発しないことが科学的に示されている。しかし、食肉・食肉製品を血圧降下食品の方向で消費者に訴求するのは困難を感じさせる。すなわち、血圧降下作用は、食肉という食材のイメージにそぐわない保健的価値に思えるのである。一方、本研究者らのこれまでの検討により、食肉タンパク質のプロテアーゼ分解物（ペプチド）に、抗ストレス作用や抗疲労作用があることが示唆されている。

2. 研究の目的

本研究は、鶏肉等の食肉タンパク質の酵素分解物中が抗酸化活性を有することに注目し、この分解物の抗ストレス作用や抗疲労作用を解明にし、食肉の有する潜在的機能の一端を示すものである。また、コラーゲンを多く含む畜産副産物の酵素分解物の有効利用についても検討を加え、保健的機能だけでなく嗜好性向上効果も有する素材の開発を目指した。現代人が抱えるストレスや疲労の問題は深刻なものが多く、これらに対応する方向での研究は意義が大きい。また、本研究では、ストレス・疲労マーカーをも検討対象とするが、これにより得られる成果は、広い範囲でのストレス・疲労研究に貢献するものである。

本研究により得られる成果は、「元気の出る食品」である食肉の科学的根拠の一端を示し、消費者が食肉を安心して積極的に摂取するために必要な情報を提供するものとなる。この知見を生かすことにより、新しい機能性食肉製品の開発等を通して、食生活の改善による人々の健康増進と食肉関連産業の健全な発展に寄与できるものと確信している。

本研究は、食肉タンパク質がプロテアーゼの作用を受けることにより生成する抗酸化ペプチドの保健的機能として抗ストレス・抗疲労作用に注目した。当初計画として、研究期間内に以下の項目の実施を目指した。すなわち、(1) 抗酸化ペプチドの抗ストレス・抗疲労作用の解明、(2) 伝統的食肉製品からの抗酸化ペプチドの検索、(3) 研究手段としてのストレス・疲労マーカーの開発、(4) 抗酸化ペプチドを経口摂取した際の生理作用の検討、(5) 食肉を原料とするに相応しい機能性食品開発の検討、である。

3. 研究の方法

(1) 食肉タンパク質由来の抗酸化ペプチドの同定および保健的効果の解明

食肉タンパク質分解物や同定した新規抗酸化ペプチド（Asp-Leu-Tyr-Ala、Ser-Leu-Tyr-Ala、Val-Trpなど）をラットやマウスに経口投与することにより、抗ストレス作用や抗疲労作用に関する検討を行った。本研究では、とくに水浸拘束によるストレス性胃潰瘍試験と強制走行持続試験を中心とした検討を実施した。また、摘出した臓器の生化学分析（過酸化脂質蓄積等）を実施し、食肉タンパク質分解物や食肉タンパク質由来の抗酸化ペプチドの抗ストレス・抗疲労作用を、メカニズムの面からも検討した。さらに、DNAマイクロアレイ法による初期的検討も実施した。試料（食肉タンパク質分解物など）のマウスへ胃ゾンデで経口投与し、最終投与から30分後に肝臓を摘出し、mRNAを調製し、DNAマイクロアレイ解析に供した。

(2) 伝統的食肉製品の抗酸化活性

実際に市場で流通している長期発酵・熟成型の食肉製品中に生成されているペプチドの検索・同定を行った。対象とする食肉製品は、主として欧米産の生ハムと発酵ソーセージ類とした。また、食肉を経口摂取した際に、消化管内酵素の作用により抗酸化ペプチドが生成することを示唆するデータをこれまでで得ていることから、食肉タンパク質の消化酵素分解物からの抗酸化ペプチドの検索にも着手した。これは、未加工の食肉をヒトが食した場合の保健的効果の発現という観点から重要な検討事項である。

(3) 研究手段としての血清ストレス・疲労マーカーの開発

ストレスあるいは疲労を負荷することにより変化する血清タンパク質（マウス・ラット）を二次元電気泳動像の解析により明らかにした。発現が変化するスポットは、TOF-MASS法により同定した。

(4) 食肉副産物分解物を原料とするメイラード生成物の機能性と嗜好性の検討

コラーゲンを多く含む畜産副産物（鶏皮・足など）を酵素分解して得られるペプチドを主成分とする素材の用途開発のために、メイラード反応に注目した。すわなち、副産物分解物にキシロース等の還元等を添加した後に加熱処理を行った。得られた素材の保健的機能（上述）を解析した。また、嗜好性については、パネラーによる嗜好性試験を実施すると共に、香気性成分をGC-MS法により同定した。

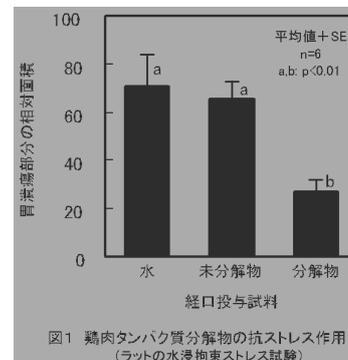
4. 研究成果

(1) 抗酸化ペプチドの同定

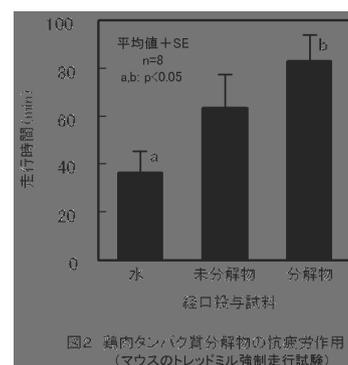
鶏肉などの各種食肉タンパク質の酵素分解物の抗酸化活性を検討した結果、酵素の選択によっては、高い抗酸化活性を示す分解物が得られることが明らかにされた。この抗酸化活性を担うペプチドを、スーパーオキシドイオン消去能を指標として精製したところ、Asp-Leu-Tyr-Ala、Ser-Leu-Tyr-Ala、Val-Trpをはじめとする多くのペプチドが同定された。また、同時に、血圧降下ペプチド、オピオイドペプチド、ピフィズス菌増殖促進ペプチド等についても、同定を行った。

(2) 抗酸化ペプチドの抗ストレス・抗疲労効果

ラットのストレス性胃潰瘍を指標とした抗ストレス作用を検討した結果を図1に示した。食肉タンパク質分解物の経口投与による抗ストレス作用が確認された。



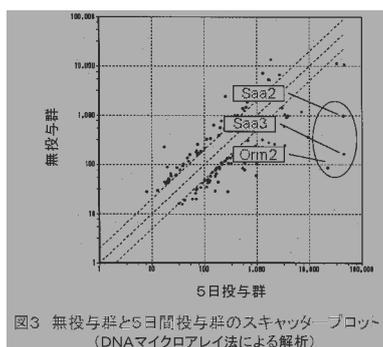
一方、マウスの強制走行試験による抗疲労効果を検討した結果を図2に示した。分解物の経口投与は、顕著に走行時間を延長したことから、抗疲労作用も確認された。



(3) DNAマイクロアレイによる解析

近年、食品や食品成分の摂取が生体に及ぼす影響を探索するために、遺伝子発現の網羅的な解析を行うDNAマイクロアレイ法の利用が盛んになりつつある。ここでは、DNAマイクロアレイ法を用いて、食肉タンパク質分解物をマウスに経口投与した際の影響

を、肝臓における遺伝子発現の変化から検討した。対照群（分解物投与なし）、1日投与群（分解物の単回投与）、5日投与群（1日2回投与）の肝臓からmRNAを抽出し、DNAマイクロアレイ解析に供した。全遺伝子37,440個のうち、2倍以上発現量が変化した遺伝子は、1日投与群で2,247個、5日投与群で2,751個だった。さらに10倍以上発現量が変化した遺伝子は、それぞれ、12個と91個だった。5日投与群で発現量の変化が大きかった遺伝子は、血漿アミロイドAタンパク質(Saa3, Saa2)とオロソムコイド(Orm2)であった(図3)。今後、これらの遺伝子発現の意味を検討していく予定である。



(4) 伝統的食肉製品の抗酸化活性

スペインのセラーノハムなどの生ハムや欧米のドライソーセージといった発酵食肉製品から調製した抽出液は、これらの原料として利用される未加工の豚肉に比べて、ほとんどの製品のもので抗酸化活性（スーパーオキシドイオン消去能）やACE阻害活性が高かった。これは発酵・熟成期間中における食肉タンパク質の分解により生成するペプチドに起因するものと考えられた。すでに、抗酸化ペプチドとACE阻害ペプチドのいくつかを同定している。

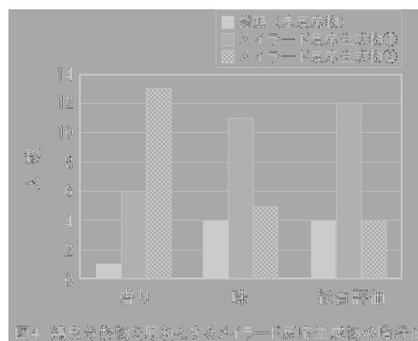
(5) ストレス・疲労マーカー

マウスあるいはラットに水浸拘束ストレスあるいは走行疲労を負荷した場合に、2次元電気泳動図上で現われた最も顕著な変化は、筋肉由来のクレアチンキナーゼスポットの出現であった(TOF-MASSにより同定)。今後、これをマーカーとすることにより、ストレスや疲労の程度を定量的に扱うことができる可能性がある。

(6) 食肉副産物の有効利用法の開発に関する検討

主に畜産副産物として鶏皮を用い、酵素処理により調製した分解物（ペプチドを主成分とする）にキシロースを添加してメイラード反応を起こさせた。得られた素材は、反応前の分解物に比べて顕著な抗酸化活性の上昇が認められた。また、良好な風味を有し、嗜好

性試験の結果も好ましいものであった(図4)。現在、香気成分の同定を進めている。



(7) 食肉および副産物を原料とするに相応しい機能性食品開発の検討

現在、本研究で得られた知見を取り纏め、民間企業に所属する共同研究者を交えて、機能性食品開発についての議論を深めている。今後、製品試作など一歩進んだ段階に進めたい。実際の製品では、精製あるいは合成ペプチドを利用することは原料費の面からも現実的ではないので、プロテアーゼ処理あるいは発酵・熟成により食肉タンパク質の分解を進行させるプロセスを伴う製品を、現在考えている。また、畜産副産物を利用した製品は、保健的機能性と嗜好性向上効果を兼ね備えた食品素材としての展開を視野に入れている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

- ① 有原圭三. 食肉の保健的機能と機能性食肉製品の開発. 食肉の科学 48: 4-19, 2007 (査読有)
- ② Arihara, K. Strategies for designing novel functional meat products. Meat Science 74: 219-229, 2006 (査読有)
- ③ 有原圭三. 健康維持や疾病予防に役立つペプチド化畜産食品の可能性. 畜産の情報 203: 35-40, 2006 (査読無)

〔学会発表〕(計6件)

- ① 新井健夫, 有原圭三, 大畑素子, 石川伸一, 伊藤良. 鶏コラーゲンペプチドから調製したメイラード反応生成物の血圧降下作用. 第110回日本畜産学会大会(藤沢) 2009年3月29日.
- ② 有原圭三. 食肉・食肉製品の機能性研究. 日本食肉研究会50周年記念シンポジウム(藤沢) 2009年3月28日.
- ③ 大畑素子, 有原圭三, 石川伸一, 伊藤良. 鶏肉をパパインで分解して調製したペプ

チド性ペトフード素材の嗜好性向上効果。第109回日本畜産学会大会（水戸）2008年3月29日

- ④ 有原圭三，新井健夫，大畑素子，石川伸一，伊藤良．鶏皮コラーゲン分解物を原料とするメイラード反応生成物の抗酸化活性と嗜好性．第109回日本畜産学会大会（水戸）2008年3月29日
- ⑤ 有原圭三．機能性食品の可能性と限界．第6回北里大学農医連携シンポジウム「食の安全と予防医学」（相模原）2008年10月24日
- ⑥ Arihara, K. Health-promoting properties of meat and the opportunity to develop functional meat products. 52nd International Congress of Meat Science and Technology (Dublin, Ireland) 2006年8月18日.

〔図書〕（計6件）

- ① Arihara, K. & Ohata, M. “Functional meat products”. In *Handbook of Meat Processing* (Toldra, F. ed.). Wiley-Blackwell (Ames), 2009 (印刷中).
- ② 有原圭三．“機能性食品の可能性と限界”．北里大学農医連携学術叢書第6号「食の安全と予防医学」．養賢堂（東京）．2009（印刷中）．
- ③ Arihara, K. & Ohata, M. “Bioactive compounds in meat”. In *Meat Biotechnology* (Toldra, F. ed.). Springer (New York) p.231-249. 2008.
- ④ 有原圭三．“食肉の機能と品質”，“食肉製品の機能と品質”，“臓器・血液等の畜産副産物の機能と品質”新編畜産ハンドブック．講談社（東京） p.408-419. 2006.
- ⑤ Arihara K. “Functional properties of bioactive peptides derived from meat proteins” In *Advanced Technologies for Meat Processing* (Nollet, L.M.L. & Toldra, F. eds.). CRC Press (Boca Raton) p.245-273. 2006.
- ⑥ 有原圭三．“食肉の保健的機能性”新畜産物利用学．朝倉書店 p.122-124. 2006.

〔産業財産権〕

○出願状況（計4件）

- ① 名称：コラーゲンを原料とする保健的機能性と嗜好性向上効果を備えた食品・ペトフード素材

発明者：有原圭三，大畑素子，石川伸一，伊藤良

権利者：学校法人北里研究所

種類：特許

番号：特願2008-273268

出願年月日：2008年10月23日

国内外の別：国内

- ② 名称：Peptide pet food material having anti-stress action and palatability-increasing effect

発明者：K. Arihara

権利者：学校法人北里研究所

種類：特許

番号：US Patent Serial Number 12/219,325

出願年月日：2008年7月18日

国内外：国外（アメリカ合衆国）

- ③ 名称：抗ストレス作用と嗜好性向上効果を備えたペプチド性ペトフード素材

発明者：有原圭三

権利者：学校法人北里研究所

種類：特許

番号：特願2007-188378

出願年月日：2007年7月19日

国内外の別：国内

- ④ 名称：新規ストレスバイオマーカー及びその用途

発明者：浪岡真，有原圭三，他6名

権利者：プリマハム株式会社

種類：特許

番号：特願2006-240039

出願年月日：2006年9月5日

国内外の別：国内

〔その他〕

株式会社フード・ペプタイドホームページ
（トピックスページ）

<http://topics.foodpeptide.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有原 圭三 (ARIHARA KEIZO)

北里大学・獣医学部・教授

研究者番号：00175994

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

大畑 素子 (OHATA MOTOKO)

北里大学・獣医学部・助教