

セレノニン含有サバペプチド の抗酸化力と機能性

はせ たまる しづか¹⁾、まつもと さとし²⁾
長谷(田丸) 静香¹⁾、松本 聡²⁾

1)福岡工業大学工学部生命環境化学科、2)㈱エル・エス コーポレーション

セレノネイン含有サバペプチドの抗酸化力と機能性

はせ たまる しづか¹⁾、まつもと さとし²⁾
 長谷(田丸) 静香¹⁾、松本 聡²⁾

はじめに

種々の生活習慣病発症の根源として、生体活動により生じる活性酸素によって細胞が酸化ダメージを受けることが挙げられる。近年、肥満、糖尿病、脂質異常症、免疫疾患および疲労や認知症などの発症と、生体内における酸化ストレスとの関係が注目され、食品成分による酸化ストレス抑制、つまり抗酸化作用に関する研究成果が多く見られる。しかしながら、各種食品成分の抗酸化活性に関する報告は、試験管内(*in vitro*)において評価されたものが多く、実際にその食品成分を摂取した際に生体内(*in vivo*)において抗酸化作用を発揮していること、また抗酸化を介した具体的な疾患予防や健康維持への関与を証明した報告は少ない。

われわれは、サバの可食部(タンパク質)を酵素処理して得られるペプチドを製造した。本稿では、サバペプチドの抗酸化力と機能性について検討した結果の概要を紹介する。

1. 酵素分解サバペプチドの製造

真サバやゴマサバを原料として、可食部を脱脂したタンパク質を酵素処理してペプチド化した。約400 gのサ

バー尾から約20 gのサバペプチド粉末が得られる。なお、サバペプチドの分子量は、電気泳動法によりほとんどが約3,500~6,500であることを確認している。

表1にサバペプチドの栄養成分組成(あるロットの例)を示す。1 gのサバペプチドにセレノネインが6.2 μg含まれていた。図1にセレノネインの構造を示す。エルゴチオネインはキノコ類に多く含まれ、従来より抗酸化物質としてよく知られている^{1, 2)}。一方、セレノネインは、エルゴチオネインの硫黄(S)基がセレン(Se)基に置き換わった構造をとる新規抗酸化物質であり、魚類、特に回遊魚の血合いに多く含まれ、水銀の解毒などの役割を果

表1 サバペプチドの栄養成分組成

成分	g/100g
タンパク質	90.1
炭水化物	0
糖質	0
脂質	0.1
水分	3.1
灰分	9.0
総セレン	8.0 μg/g
セレノネイン	6.2 μg/g
エネルギー	361kcal/100 g

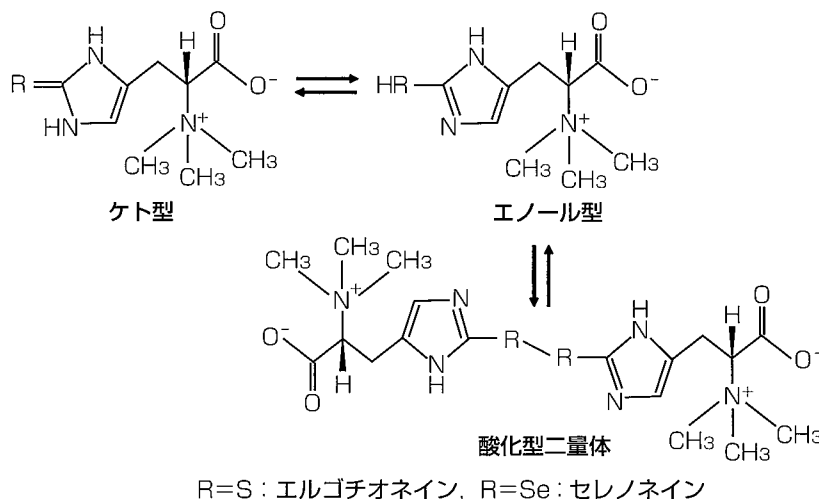


図1 セレノネインの構造

1) 福岡工業大学工学部生命環境化学科、2) (株)エル・エス コーポレーション

たす³⁻⁷⁾。生物にとっては微量元素であるセレンの供与体として重要なアミノ酸である。セレノネインはエルゴチオネインの数百倍もの抗酸化活性を有することが報告されている⁵⁾。

2. サバペプチドの抗酸化活性

抗酸化、つまり酸化を防ぐという現象は、相手を酸化させない=相手を還元することである。また、抗酸化とはラジカルや活性酸素を消去する現象も含む。さらに、これらの抗酸化作用を介して、種々の生活習慣病発症の一因とされる終末糖化産物(糖とタンパク質が結合した悪性物質)の生成が抑制されることが報告されている^{8,9)}。

そこで、*in vitro*におけるサバペプチドの抗酸化活性をいくつかの指標により評価した(表2)。銅イオン還元力(PAO)では、1 μgのサバペプチドが182.5 μmolの

Cu^{2+} を Cu^{+} に還元することが示された。また、ラジカルを有する物質(DPPH)に対して、1 mgのサバペプチドが抗酸化標準物質であるトロロックス9.85 nmolに相当するラジカル消去能を有することが示された。1 mgのサバペプチドがトロロックス520 nmolに相当する活性酸素吸収能(ORAC)を有することも示された。さらに1 mgのサバペプチドは終末糖化産物(AGEs)の生成量をμgレベルで33.3%阻害した。以上の結果から、サバペプチドは抗酸化活性を有することが示された。

3. 生体内の酸化ストレス環境下におけるサバペプチド摂取の影響

1) II型糖尿病モデルKK-A^yマウス

KK-A^yマウスは、過食や肥満を伴い、血糖調節(血糖値の低下へ導く)ホルモンであるインスリンは分泌され

表2 サバペプチドの抗酸化活性(*in vitro*)

抗酸化項目	平均値(n=3)	単位
銅イオン還元力(PAO)	182.5	μmol Cu^{2+} /μg sample
DPPHラジカル消去能	9.85	nmol Trolox eq./mg sample
活性酸素吸収能(ORAC)	520	nmol-Trolox eq./mg sample
終末糖化産物(AGEs)生成阻害率	33.3	%(μg/mg sample)

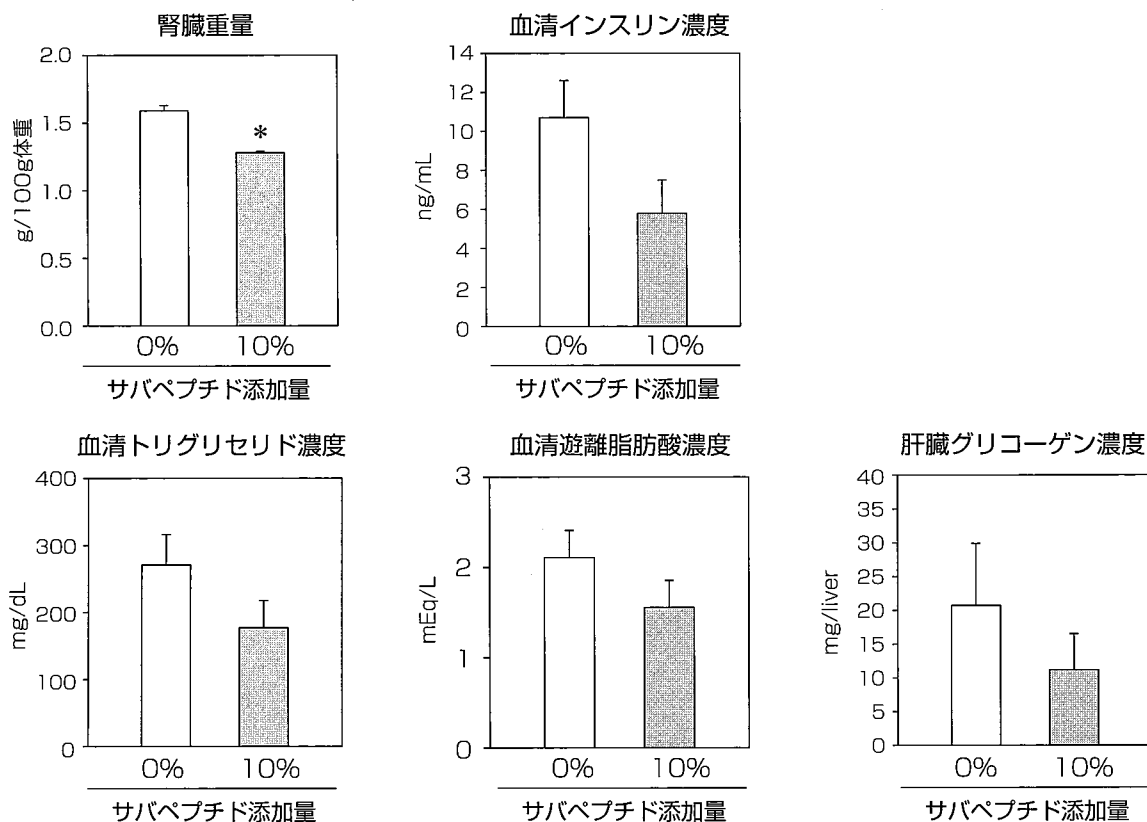


図2 KK-A^yマウスにおけるサバペプチド摂取の影響

平均値±標準誤差(n=6), *サバペプチド無添加食(0%, 対照食)と比較して有意に低下(t-test, p<0.05)

るが効きが弱い、つまりインスリン抵抗性により高血糖に陥りⅡ型糖尿病を自然発症する系統である。インスリンは、分泌多過の状態では血糖低下の一方で脂質合成が促進されるため、少ない分泌量(濃度)で効きが強い、つまり感受性が強い状態が理想とされる。

本実験では、強い酸化ストレス環境下にある疾患状態の一例としてKK-A^yマウスに着目し、サバペプチド摂取の影響を検討した。5週齢、雄のKK-A^yマウスを用いて、サバペプチドを10%含む食餌を7週間自由摂食させた結果、血糖値の上昇抑制は観察されず、体脂肪の低減も観察されなかった。しかし、図2に示す通り、血清インスリン濃度、血清脂質(トリグリセリドや遊離脂肪酸)濃度、肝臓における糖質(エネルギー)の貯蔵型であるグリコーゲン濃度の低下傾向が示された。よって、インスリン濃度が低い傾向であっても血糖値は上昇していなかったことから、インスリン抵抗性の改善(インスリン感受性の向上)傾向が示され、そのことにより糖や脂質の代謝を改善する傾向が見受けられた。しかしながら、血清中の酸化指標となるパラメータに及ぼすサバペプチド摂取の影響は明確ではなかったことから、これらの効果はサバペプチドの酸化を介した効果であるのか、今後検討が必要である。

2) 免疫疾患モデルBrown Norway(BN)ラット

Brown Norway(BN)ラットは、アレルギー反応に関わる免疫グロブリンEの抗体産生能が高く、種々のアレルゲン(アレルギーの原因となるタンパク質)や化学物質に対して気道反応性が高い系統であり、これも強い酸化ストレス環境下にあるといえる。

5週齢、雄のBNラットに、フロイトアジュバンドおよびアレルゲンとして卵白由来アルブミンを含むリン酸

緩衝液を腹腔内投与することにより抗原感作を行い、アレルギー反応を誘発した。その後、サバペプチドを5もしくは10%含む食餌を41日間自由摂食させた結果、サバペプチド摂取による体重増加や摂食量に及ぼす影響は観察されず正常に成長し、解剖時の目視による臓器異常も観察されなかった。図3に示す通り、血清の免疫グロブリンE(IgE)濃度はサバペプチドの食餌への添加量に依存して低下する傾向を示したことから、サバペプチドはアレルギー反応抑制に関与する傾向が見受けられた。

3) 正常ラットにおける安全性および機能性評価

Sprague-Dawley(SD)系ラットは特定の疾患のない正常な系統で、安全性試験をはじめ薬理、毒性、生化学、栄養、その他の幅広い研究分野で汎用されている。

サバペプチドに含まれるセレノネインは、前述のように微量元素として重要なセレンの供給源となるが、一方でセレンは毒性が懸念されるミネラルである。そこで、5週齢、雄のSD系ラットにサバペプチドを5もしくは10%添加して4週間自由摂食させることにより、反復毒性試験による安全性評価を兼ねた機能性評価を行った。安全性評価として、体重増加量、摂食量、各臓器および白色脂肪組織重量に各群間で有意な差は観察されず、正常に成長した。赤血球や白血球などの血液像および各血清パラメータに各群間で有意な差は観察されなかった。機能性評価としては、図4に示す通り、盲腸(内容物を含む)は、サバペプチドを含まない通常の食餌群(0%、対照食)と比べて10%サバペプチド添加食群で有意に増加したことから、糞便としての排泄が促進される可能性が示された。血清コレステロールエステル濃度は、対照食と比べて5%添加食群で有意に低下した。一方、血糖値を表す血清グルコース濃度は群間で有意な差は観察さ

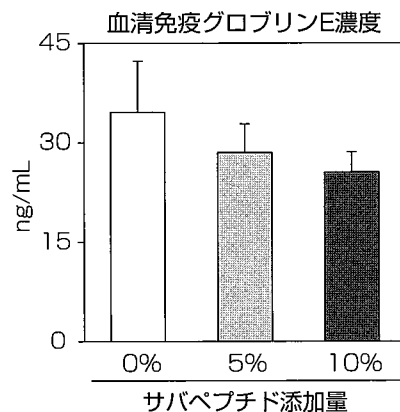


図3 BNラットにおけるサバペプチドの摂取が免疫グロブリンE濃度に及ぼす影響
AIN-93G組成に基づく純化食に、サバペプチドをカゼイン代替にて5もしくは10%添加した食餌を41日間自由摂食させた結果を表す。解剖は摂食下で行った。
平均値±標準誤差(n=6)

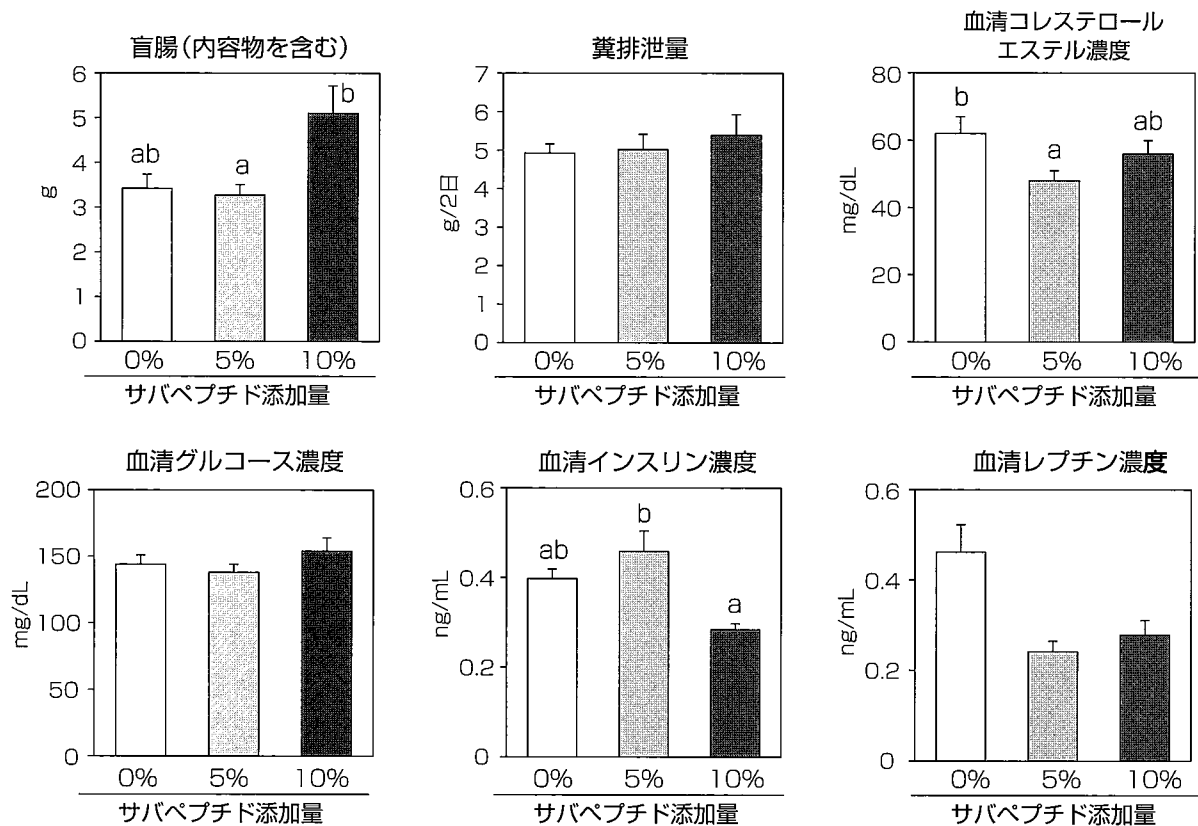


図4 SDラットにおけるサバペプチド摂取の影響
 平均値±標準誤差(n=5~6), a, b:異なるアルファベット間では有意差あり(Tukey-Kramer, p<0.05)

れなかったが、血清インスリン濃度は10%サバペプチド添加食群で有意に低下した。レプチンは脂肪組織から分泌される食欲抑制ホルモンで、エネルギー消費や脂質代謝に関わる。レプチンもインスリン同様、少ない分泌量(濃度)で感受性が強い状態が望ましい。本実験では、血清レプチン濃度は5%および10%サバペプチド添加食群において低下傾向を示した。

以上のように、本実験ではサバペプチドの食餌への10%添加レベルにおいて安全性が確認された。機能面としては、インスリンやレプチンの感受性向上傾向による脂質代謝改善傾向が示された。しかしながら、前述のKK-A^yマウスを用いた実験同様、やはり血清中の抗酸化パラメータにおけるサバペプチド摂取の影響は明確ではなかった。

おわりに

本実験では、サバペプチドの食餌への添加レベルは10%を上限として設定したが、マウスやラットに自由摂食させた食餌の量から計算すると、1日当たりのセレン摂取量は最大20 μg程度であり、この摂取レベルでは安全性が確認された。しかし、食品の機能性としては必ずしもデータの有意性が明確に観察されなかったため、安

全性が確保される添加レベル内で明確な機能性を見出していくことが今後の課題である。

サバペプチドは、これに含まれるセレノネインや、低分子かつ難消化性のペプチド¹⁰⁾自体により抗酸化活性を發揮する可能性が考えられる。酸化のステップは多段階にわたるため、今後、酸化還元分析装置(REDOXLIBRA、(株)ウイスマー)による抗酸化能の総合的評価により、種々の生活習慣病発症との関連について明らかにするとともに、ストレス環境によって変動すると考えられるホルモン分泌との相関についても検討して参りたい。

《《《《《 参考文献 》》》》》

- 1) Ito T, Kato M, Tsuchida H, Harada E, Niwa T, and Osawa T: Ergothioneine as an anti-Oxidative / anti-Inflammatory component in several edible mushrooms, *Food Sci Technol Res*, 17(2), 103-110(2011)
- 2) 松本 聡: 機能性素材としてのタモギ茸, *FOOD STYLE* 21, 22(2), 67-74(2018)
- 3) Yamashita Y, and Yamashita M: Identification of a novel selenium-containing compound, selenoneine, as the

- predominant chemical form of organic selenium in the blood of bluefin tuna, *J Biol Chem*, **285**(24), 18134-18138 (2010)
- 4) Yamashita Y, Amlund H, Suzuki T, Hara T, Hossain MA, Yabu T, Touhata K, and Yamashita M : Selenoneine, total selenium, and total mercury content in the muscle of fished, *Fish Sci*, **77**, 679-686 (2011)
- 5) 山下倫明, 今村伸太郎, 藪 健史, 石原賢司, 山下由美子 : 水産物由来のセレン, セレノネインの栄養生理機能, *Biomed Res Trace Elements*, **24**(4), 176-184 (2013)
- 6) Yamashita Y, Yamashita M, and Iida H : Selenium content in seafood in Japan, *Nutrients*, **5**, 388-395 (2013)
- 7) 山下倫明, 山下由美子, 松本 聡 : 魚介類の新規成分セレノネインの抗酸化能, *FOOD STYLE 21*, **21**(10), 22-26 (2017)
- 8) Uribarri J, del Castillo M D, de la Maza M P, Filip R, Gugliucci A, Luevano-Contreras C, Macías-Cervantes, M H, Markowicz Bastos, D H Medrano A, Menini T, Portero-Otin M Rojas A, Sampaio G R, Wrobel K, and Garay-Sevilla M E : Dietary advances glycation end products and their role in health and disease, *Adv Nutr*, **6**, 461-473 (2015)
- 9) Vlassara H, and Uribarri J : Advanced glycogen end products (AGE) and diabetes, cause, effect, or both? *Curr Diab Rep*, **14**, 453 (2014)
- 10) 佐藤健司, 江島晃佳, 松本 聡 : 新規セレノネイン含有サバペプチドに含まれる難消化性ペプチドの構造, *FOOD STYLE 21*, **22**(11) (2018)

はせ(たまる)・しづか / Shizuka Hase-Tamaru

福岡工業大学工学部生命環境化学科 准教授

2006年 鹿児島大学大学院連合農学研究科生物資源利用学専攻 満期退学、同年 宮崎県食品開発センター 非常勤研究員、同年 県立長崎シーボルト大学(現長崎県立大学)看護栄養学部栄養健康学科助手・助教、2008年 博士(農学)取得、2015年 福岡工業大学工学部生命環境科学科(現生命環境化学科)准教授、現在に至る

まつもと・さとし / Satoshi Matsumoto

(株)エル・エス コーポレーション

1985年 東京農業大学農学部・栄養学科栄養学専攻卒業、同年 常盤薬品工業(株)・企画開発本部入社(大阪)、同年 東京農業大学農学部・農芸化学科生物化学研究室出向研究生(東京)、1998年 放射線医学総合研究所(宇宙放射防御研究室)研究員(千葉)、2002年 ノエビアG常盤薬品研究所・三重薬理研究室長(化粧品・食品・医薬品)(三重)、2014年 (株)エル・エス コーポレーション入社、現在開発部部长、品質保証責任者、化粧品総括製造販売責任者(東京)

著書・論文 :

- ① Shizuka Hase-Tamaru, Ayaka Okushima, Yu Miyata, Hisayuki Nakayama, Sadayuki Aramaki, Yuji Miyata, Yasuo Nagata, and Kazunari Tanaka : Unripe and discarded Satsuma Mandarin (Citrus Unshiu MARC) improved lipid metabolism in rats, *Food Sci and Tech Res*, **25**(5), 705-713 (2019)
- ② Shizuka Tamaru, Kazuma Ohmachi, Yuji Miyata, Takashi Tanaka, Takahisa Kubayashi, Yasuo Nagata, and Kazunari Tanaka : Hypotriglyceridemic Potential of Fermented Mixed Tea Made with Third-Crop Green Tea Leaves and Camellia (Camellia japonica) Leaves in Sprague-Dawley Rats, *J Agri Food Chem*, **61**(24), 5817-5823 (2013)
- ③ 渡邊憲和, 松本 聡, 鈴木 真, 深谷泰亮, 加藤将夫, 橋弥尚孝 : Effect of Ergothioneine on the Cognitive Function Improvement in Healthy Volunteers and Mild Cognitive Impairment Subjects, -A Randomized, Double-blind, Parallel group comparison Study-, *Jpn Pharmacol Ther*(薬理と治療), **48**(4), 685-697 (2020)