

氏名(本籍・生年月日) 小山正浩(愛媛県 昭和61年3月8日)
学位の種類 博士(農学)
学位記番号 甲 第45号
学位授与の日付 平成25年9月30日
学位授与の要件 信州大学学位規程 第5条第1項該当
学位論文題目 ソバスプラウト乳酸発酵物に含まれる降圧成分の
特徴付け
論文審査委員 主査 教授 廣田 満 教授 藤井 博
教授 藤田智之 教授 真壁秀文
教授 佐藤英世(山形大学)

論文内容の要旨

著者が所属する研究室で、高血圧症モデル動物である高血圧自然発症ラット(SHR)に対して優れた降圧作用を示すソバスプラウト乳酸発酵物(発酵キョウバク)が開発された。その降圧作用には、血管拡張作用とアンジオテンシンI変換酵素(ACE)阻害作用が関与することが明らかにされている。しかし、その有効成分は明らかでない。本研究は、乳酸発酵による成分変化という面から発酵キョウバクに含まれる有効成分の探索に取り組み、単離成分についてその降圧作用と降圧機序の検討を行ったものである。

ソバスプラウトと発酵キョウバクの降圧作用を比較したところ、ソバスプラウトでは発酵キョウバクの最少有効用量0.010 mg/kgの100倍量をSHRに投与しても有意な降圧作用は確認されなかった。そのため、発酵キョウバクに含まれる降圧成分は、乳酸発酵により付与されると考えられた。そこで、ソバに含まれる既知降圧成分の定量を行った。ルチンに代表されるフラボノイド成分や総フェノール含量は発酵により増加しなかったが、GABAおよびチロシンは2倍程度増加した。しかしながら、両者ともSHRにおける最少有効用量は発酵キョウバクの50倍以上高い。そのため、発酵キョウバクの主要な降圧成分ではないと判断した。

ソバスプラウトと発酵キョウバクの成分比較を行うために両者のHPLCクロマトグラムを比較したところ、既知成分とは違う、発酵キョウバクに特有のピーク(ODSピーク1および2)を発見した。両ピークの分取物は、0.010 mg/kg用量でSHRの血圧を有意に低下させた。特に優れた降圧作用を示したODSピーク2含有成分をHPLCを用いてさらに精製し、LC-MS/MS分析およびアミノ酸配列分析により構造解析を行った結果、ソバスプラウトには含まれていない7種のペプチド(DVWY, FDART, FQ, GHG, VAE, VVG, WTFR)を同定した。この

うちDVWYとVAE, WTFRはペプチドデータベースに収録されておらず, 新規ペプチドと考えられた。また, 同定ペプチドの全てが0.10または1.0 mg/kg用量でSHRの血圧を有意に低下させたことから, 乳酸発酵により新たに生成したペプチドが, 発酵キョウバクの降圧作用の一端を担っていることが明らかになった。

この発酵キョウバク由来降圧ペプチド (FBP) の降圧機序を検討するため, 血管拡張作用とACE阻害活性を測定した。FBPは, 発酵キョウバクと同様に内皮依存性血管拡張作用を示したが, その効果は弱かった。次に, ACE阻害活性を測定した。FBPの*in vitro* ACE阻害活性は, 他の食品由来ACE阻害ペプチドと比較して非常に弱かった。ところが, SHR組織を用いた*in vivo* ACE阻害活性試験において, FBPはACE阻害薬に匹敵する高い活性を示し, *in vitro*および*in vivo*活性間に大きな差が見られた。そこで, FBPのACE阻害活性を正確に評価するために, 新たに*ex vivo* ACE阻害活性試験を提案した。この試験は, SHR由来胸部大動脈に存在するACEと基質にアンジオテンシンIを用いて, 生成されるアンジオテンシンIIを定量することで生体内に近い条件でACE阻害活性を測定でき, ACE阻害による血圧低下に直結した血管収縮抑制作用を評価できる。*ex vivo*試験の結果, FBPは低濃度でSHR由来胸部大動脈ACEを阻害し, 血管収縮を有意に抑制した。ACE阻害ペプチドのACE阻害と血管収縮抑制の関係については本研究が初めての報告である。これらの結果から, FBPの降圧作用は, 主に組織ACEの阻害により引き起こされるものと結論付けた。

本研究により, 発酵キョウバクの主要な降圧成分の一つとして発酵により新たに生成するペプチド・FBPを単離した。また, 新しい定量的な*ex vivo* ACE阻害活性試験を提案し, FBPは主に生体組織のACE活性を低下させることで発酵キョウバクの降圧作用に寄与していると結論付けた。本研究の結果は, 発酵キョウバクの網羅的な解析の一助になると同時に, FBPは優れたACE阻害作用を持つ機能性素材としての利用が期待される。