

秋季藻類シンポジウム (2002.12.06) 「新しい海藻由来の製品の科学的検討」要旨

川合正允：海苔由来ペプチド類の血圧調節作用

はじめに

アマノリとミルは古くから神事に用いられた藻類である。特にアマノリはいずれこの神せんにも必ず用いられ、大宝律令には租として記載されている重要な海藻であり、江戸時代には既に栽培が始まっていた¹⁾。現在でも我が国水産物の養殖種目中最大の生産量を誇っている²⁾。ウルグワイランド終結後も輸入制限品目として残り、国内で流通している海苔製品の99%以上は国産品である。

健康によい食素材として海藻を紹介した文献は多い³⁻⁶⁾。海藻の健康への貢献としては、海藻が含んでいる生理活性物質の影響もさることながら、なによりもそれらに多い食物繊維、ミネラル類、ビタミン類によるところが大きいと考えられている。海苔の健康への貢献もこの範疇で捉えられるわけであるが、海苔は海藻の中ではやや特別であって、イコサペンタエン酸やビタミンB₁₂を含んでいるし、 β -カロテンやタウリン含量も高い。ミネラルではカリウム、カルシウムが多く、マグネシウム、亜鉛、鉄、マンガンの供給源としても無視できない存在である。特に海苔は海の大豆と呼ばれるくらいタンパク質の多いのが特徴であろう⁷⁻⁹⁾。

我々は海苔の機能性成分の開発を目的に、海苔の主要成分である粘質多糖類ポルフィランとタンパク質に焦点を当てた。しかし、海苔のタンパク質は大豆のものなどとは違い、水溶性、塩可溶性のもの割合は少なくタンパク含量の1/4以下である。酸・アルカリ可溶性のものとアルコール可溶性のものを合わせると80%に近い。従って抽出が難しく、物性も小麦のグルテンに似ていると言われ、今までタンパク質としての利用はされてこなかった¹⁰⁻¹³⁾。

我々は海苔のタンパク質を酵素分解し、ペプチドとして開発することとした。その結果誕生したのが「毎日海菜 海苔ペプチド」である。製品の剤型は顆粒状でスティック包装とした。初めは摂取量を1日2包の日安とし、一ヶ月分60包1箱を6000円で上市したが、最近では1日1包、一ヶ月分30包で4500円の製品も開発された。自社の通信販売、一部の調剤薬局で市販している。これは海藻のタンパク由来製品としては最初のものである¹⁴⁻¹⁵⁾。JHFAマークを取得し、現在は特定保健用食品の認可を申請中である。

1. 海苔ペプチドの調製

ペプチドの調製にあたり、海苔のタンパク質を抽出してから分解するのでは効率が悪すぎるので、海苔を細断し、熱水でポルフィランを抽出除去したものを直接酵素分解に供することにした。酵素分解物の生理活性を *in vitro* でいくつか測定し

たところ、活性が十分に高く、再現性のよかったのはアンギオテンシン (I) 転換酵素阻害活性 (ACE 阻害活性) であった。

供試酵素として初めは6種類の、後に更に11種類のプロテアーゼ類を検討したが、収率およびACE阻害活性ともに良いのはペプシンだけであったので、以後はペプシン分解法でペプチド画分を調製した。特に留意したのは、水産物に多いヒ素の除去である。

海苔は日本の伝統的食品であり、永い食習慣を持つものなので安全性には問題のない素材であるが、海苔ペプチドは新しいタイプの素材となるので別途安全性を調べた。ラットを用いた急性毒性試験では5000mg/Kgでも何の異常も認められず、Amus 試験、Umu 試験いずれにおいても変異原性は認められなかった。

2. 海苔ペプチドの生理活性 【血圧降下活性】

血圧は様々な因子が複雑に絡み合ったネットワーク反応の表現であるので、単純には分かり難いところがあるが、腎臓のレニン・アンジオテンシン系では、ACEの作用で昇圧ホルモンであるアンジオテンシン(II)が作られ、これが血管を収縮させて血圧をあげることが知られている。今まで原因がよく分からないとされていた本態性高血圧の多くは、ホルモン系が関与していると言われる。

本態性高血圧であるSHRラットに、海苔ペプチドを強制的に単回経口投与(300mg/Kg)した場合、投与1時間後には収縮期、拡張期いずれの血圧も30%近く下がった後、徐々に回

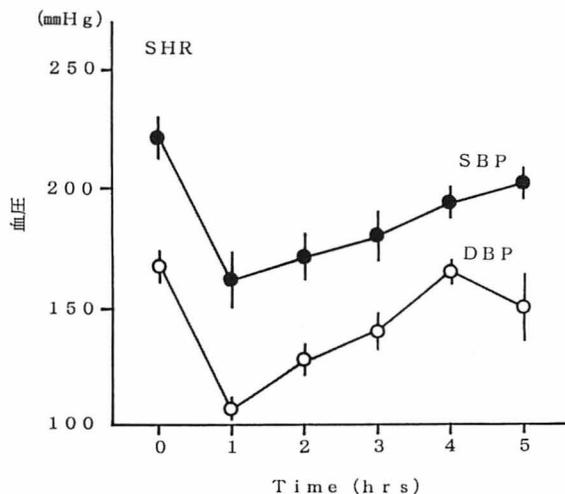


図1 海苔ペプチドのSHRラットへの単回経口投与

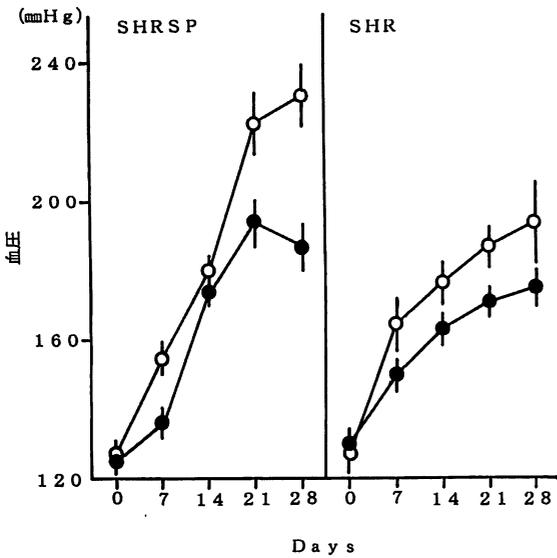


図2 海苔ペプチドのSHRSPラットおよびSHRラットへの連続混餌投与
○：対照群，●：海苔ペプチド1%投与群

復している(図1)。次に、どんどん血圧が上がり続け、遂には脳溢血で死に至る特性を持つSHRSPラットを、海苔ペプチド1%を含む餌で4週間飼育したときの血圧の変化をみると、ペプチド供試区では20%近い血圧上昇の抑制がみられる(図2)。SHRラットでの飼育試験でも同様の結果が得られてい

る。いずれの場合も体重には対照区との差は認められていない。

試験終了時、ラットより肺、大動脈、血清を分取し、そのACE活性を測定したところ、大動脈においてACE活性が有意に低下していた。血圧上昇抑制に、血管でのACE活性阻害が大きく関わっていることを推測させる(図3)。

ペプチド画分をHPLCで分画し、ACE阻害活性を持つ4画分を得た。そのアミノ酸配列はそれぞれIY, MKY, LRY, AKYSYであり、いずれもC末端アミノ酸はチロシンである。チペプチドとペプタペプチドの活性が高い。ここで得られたペプタペプチドを化学合成し、合成ペプチドをSHRラットに単回投与すると、ペプタペプチド単独でも収縮期血圧の降下が認められ、効果の持続性が高かった(図4)。しかし、分画前の海苔ペプチド画分よりは活性が弱く、海苔ペプチドの効果は各画分の複合的效果として現れている可能性が高い。しかし、海苔ペプチドをペプチド、糖類、および灰分(ミネラル)に富む3画分に分け、それぞれを個別に餌に混合してSHRラットを飼育した実験では、ペプチド画分のみ活性がみられたので、血圧降下活性の主体はペプチドであろうと思われる。

【コレステロール低下活性】

海苔ペプチドの脂質代謝に及ぼす影響はICRマウスを用いて検討した。餌にコレステロールとコール酸を加え、食餌的にコレステロールを負荷した条件下では、血清中の総コレステロール、LDLが有意に低下しHDLは増加したが、肝臓での

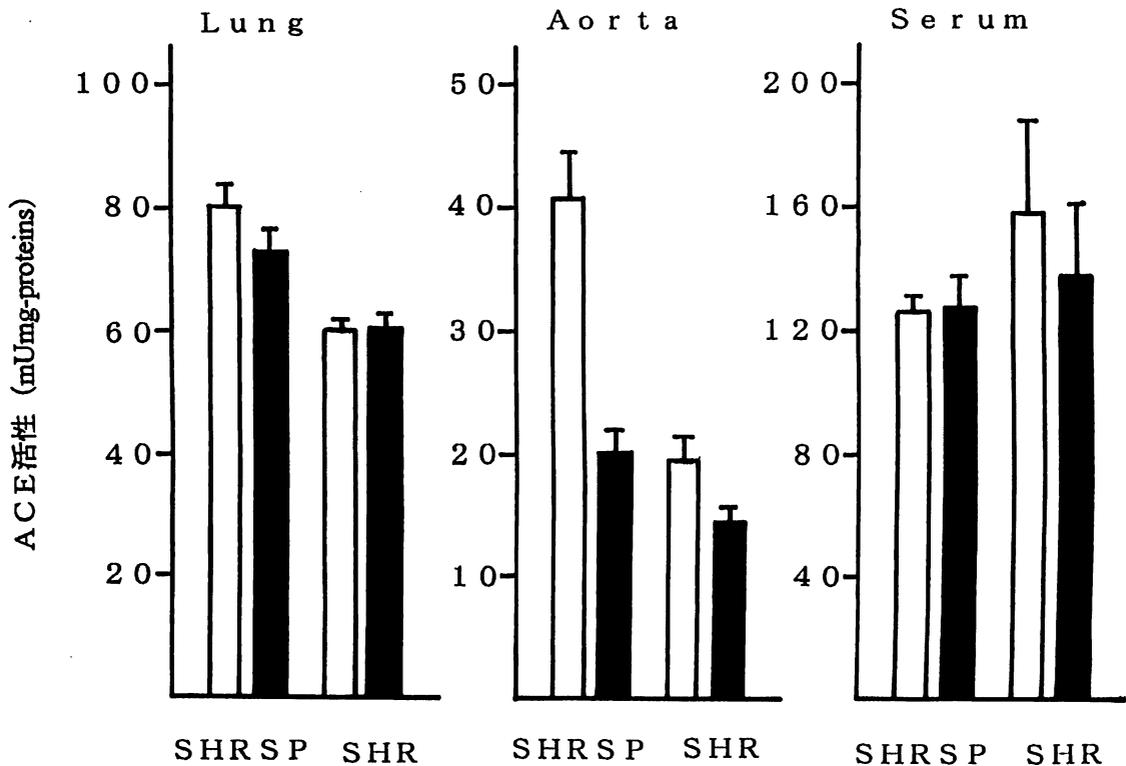


図3 海苔ペプチド混餌投与によるSHRSPラットおよびSHRラットの飼育28日目の組織別ACE活性
□：対照群，■：海苔ペプチド1%投与群

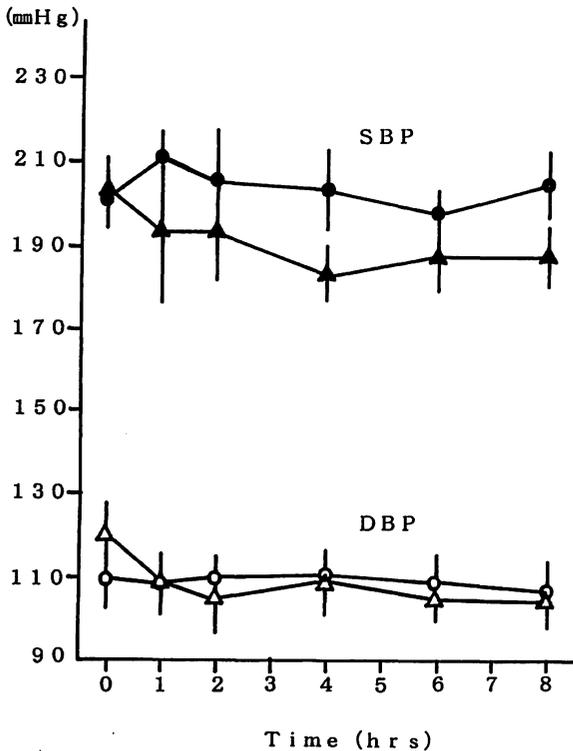


図4 合成AKYSYのSHRラットへの単回経口投与
 ○●：対照群，△▲：AKYSY投与群 (300 mg/kg)

コレステロールの低下は小さかった (表1)。

66%という大量のフラクトースを含む食餌で飼育し、体内でのコレステロール生成を高める条件とした場合は、血清中のコレステロールには対照区と大差は見られなかったが、肝臓のコレステロールと中性脂肪は有意に減少していた (表1)。海苔ペプチドは動物実験レベルではあるが、脂質代謝改善にも有効である。

コレステロールとコール酸負荷条件下のICRマウスで、コレステロールおよび胆汁酸の糞便中排泄量を測定するとペプチド投与群で増加している。ペプチドの作用はコレステロールの胆汁酸への異化の亢進とコレステロール、胆汁酸排泄量

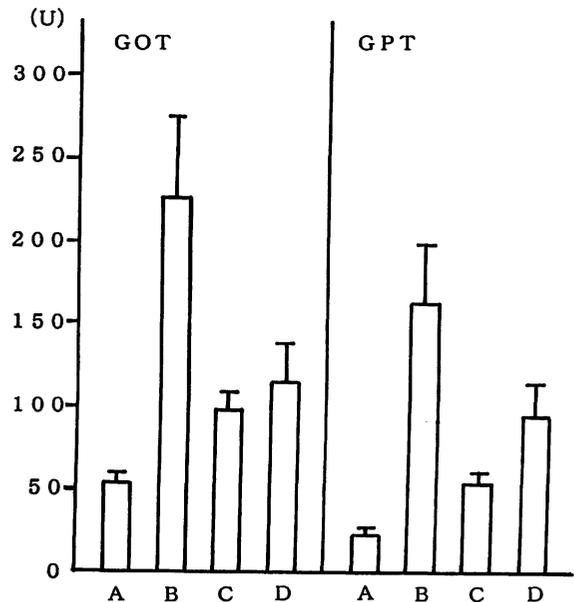


図5 海苔ペプチドのWistarラットにおけるエタノール誘発肝傷害抑制活性 (連続混餌投与4週間目の成績)

A：対照群，B：30%エタノール投与群，C：30%エタノール+海苔ペプチド1%投与群，D：30%エタノール+海苔ペプチド3%投与群

の増加による可能性が示唆された。

【その他】

SHRラットに通常餌料に海苔ペプチドを混合して与え、1%食塩水を飲料として飼育した実験では、脂質代謝に顕著な影響は現れないが、肝機能を示すGOT、GPT値は低下していた。また海苔ペプチドにはエタノール誘発性肝傷害の改善活性もある。Wistarラットに30%エタノールを飲料水替わりに与え、海苔ペプチドを1%或いは3%混ぜた餌で飼育すると、自発運動量の改善とGOT、GPTの数値改善がみられた (図5)。組織検査では肝細胞の脂肪変性が抑制されているのが観察されている。海苔ペプチドは肝機能の改善にも有効であると考

表1 海苔ペプチドのマウスの脂質代謝に及ぼす影響

	s-TC	s-HDL	s-LDL	s-TG	1-TC	1-TG
コレステロール負荷条件 (コレステロール 0.5%+ コール酸 1.5%)						
Normal	139±12	90±7	42±7	68±6	4.5±0.2	5.6±0.4
C. Contorol	215±2	75±4	139±3	71±5	6.8±0.2	5.4±0.6
NOP1%	153±3**	92±6**	61±5**	49±0	7.7±0.1	3.6±0.1
フラクトース負荷条件 (フラクトース 66%)						
Normal	112±9	95±8	17±3	67±6	4.1±0.4	12.4±1.5
F. Control	135±6	80±8	55±6	52±3	5.3±0.6	8.4±1.3
NOP1%	117±9	87±6	30±5	61±5	2.6±0.2**	2.9±0.3**

平均値±標準偏差 ** P<0.01 vs Control

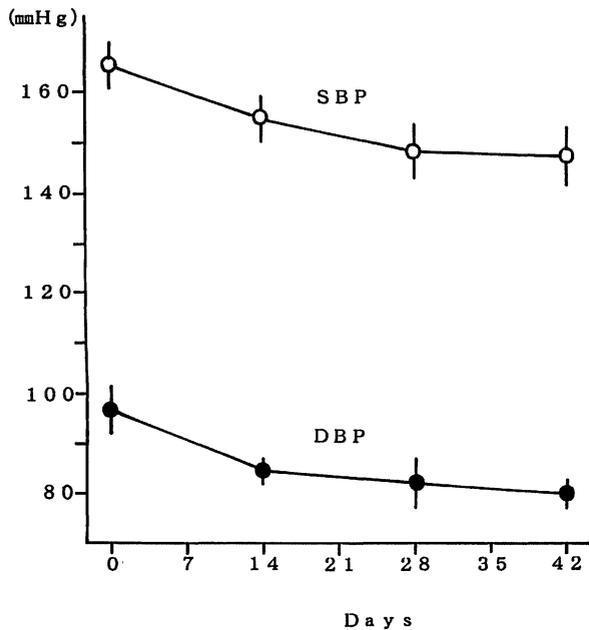


図6 海苔ペプチドのヒトの血圧に及ぼす影響(1)。海苔ペプチド摂取による高血圧被験者 (n = 16) の血圧値の変動 (社外臨床試験の一例)。

えられる。

3. 海苔ペプチドのヒトへの効果

健康食品類はヒトに対して効果があるかどうかで評価される。我々は臨床試験を実施し効果を判定した。ヒトによる試験には海苔ペプチドを含む顆粒を調製して行った。1包中に海苔ペプチドが0.9g含まれており、それを一日2包を目安に摂取してもらった。

【社内ボランティアによる試験】

正常血圧者6名、高血圧者6名の計12名の参加を得、医師の指導下での血圧測定、医師による診察、37項目にわたる血液検査を実施した。期間は35日間である。高血圧者群では比較的早い時期から効果が現れ、35日目で収縮期および拡張期血圧がいずれも約18mmHg下がっている。正常者の血圧変化には有意差が認められなかった。

【社外臨床試験】

数カ所のクリニックで継続して臨床試験を実施しているが、ここでは一例として、高血圧者16名に海苔ペプチドを42日間供試した結果を示す(図6)。この場合も、42日目で有意性をもって収縮期血圧が約17mmHg、拡張期血圧で約15mmHg下がっている。両試験を通じ、海苔ペプチドが被験者全てに有効であったわけではなく、個人差が大きい、有効率としては約70%であった。

【二重盲検試験】

ヒトに対する効果を確認する目的で二重盲検試験を実施した。結果を図7に示すが、海苔ペプチド投与群の血圧は、プラセボ投与群に比べ収縮期、拡張期ともに有意性を持って下がっている。

この試験は医師による3ヶ月以上の観察に基づき38名の軽

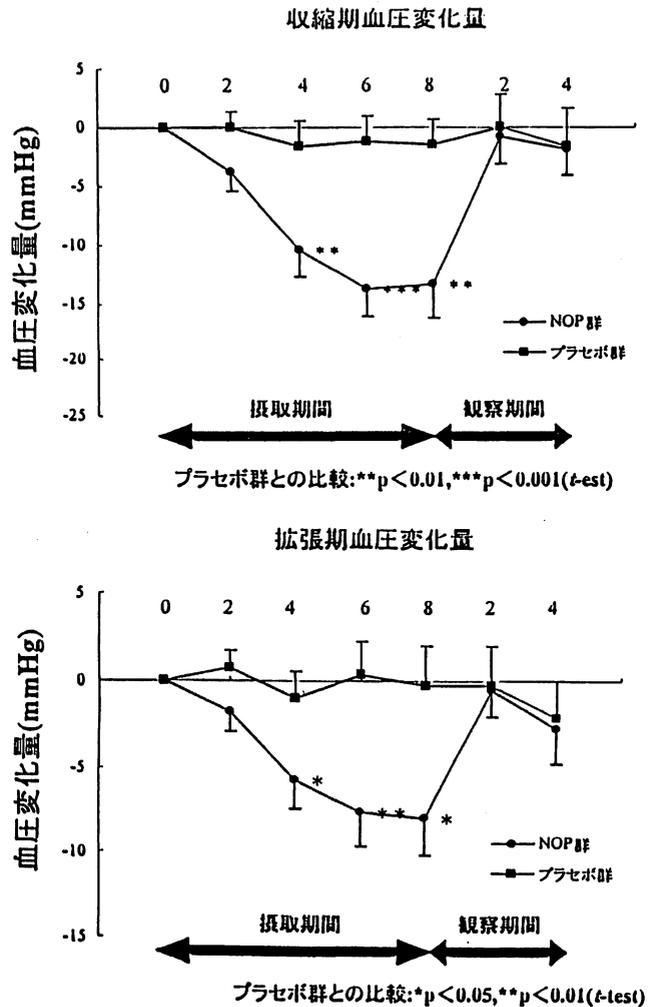


図7 海苔ペプチドのヒトの血圧に及ぼす影響(2)。海苔ペプチド摂取による軽症および中等症高血圧者 (n=38) の血圧値の変動 (二重盲検法)。

症あるいは中等症高血圧者を選抜して行われた。その際、二次性高血圧症、アルコール中毒、重度の貧血や疾病のある人は除いている。内服薬の定期的服用者、血圧に影響する可能性のあるサプリメントなどの常用者も除外した。

年齢、性別、体重、BMI、血圧、脈拍に有意差がないように配慮して試験群とプラセボ群を分けた。試験は血圧測定以外に28項目の血液検査、4項目の尿検査を行い、医師による診察では、有害事象の有無、特に空咳、頭痛、目眩、消化管症状、皮膚搔痒感などを詳細に調べた。この結果より、海苔ペプチドはヒトの血圧を調節する活性を持ち、かつヒトに安全な食品である事が実証されたと言えよう¹⁶⁾。

【ヒトでの肝機能値の改善】

血圧の臨床試験に際して行った血液検査で13名の方の肝機能値が異常を示していた。そこで、この方達の試験開始時と試験終了時の肝機能値を比較した。明らかに、GOT, GPT, γ -GTP値に改善傾向がみえる。海苔ペプチドは動物試験においても、ヒトでの試験においても血圧降下活性および肝機能改善活性が示されており、高血圧症や肝機能傷害の抑制に効果

があるものと考えられる。

4. 海苔ペプチドの特徴

血圧を下げる効果のある物質は多い。ペプチド類に限ってみても経口摂取でも有効なものとして植物由来、乳タンパク由来、魚介類由来など多くの報告があり、特定保健用食品としての認定を受けたものもある¹⁷⁻²¹⁾。最近、海藻由来ペプチドの報告も出た^{22, 23)}。そこで、海藻のタンパク質由来ペプチドとしては最初に製品化された海苔ペプチドの、現在までに明らかになった特徴を以下にまとめておきたい。

- a. 永い食経験のある食品に由来する安全な素材である。
ACE阻害剤に見られる咳などの副作用もない。
- b. 効果が穏やかで、過降下などの心配がない。
- c. 臨症例が多く、ヒトでの効果が実証された。
- d. 効果が早い人では1~2週間で出る。3~6ヶ月で効いてくる例も多い。
- e. 単独でも降圧剤との併用でも有効である。
- f. 血圧調整食品である。収縮期高血圧の人では収縮期の、拡張期高血圧の人では拡張期の血圧を下げる傾向がある。大きな日間、日内変動を縮小する働きもある。
- g. 全体的な well being をもたらす。
- h. 肝機能保護効果も期待できる。
- i. 降圧剤と異なり wash out 時の反動が極めて小さい。

上記の一連の研究は、斉藤雅信、長屋恵子、萩野浩志を中心とする、(株)白子、研究開発センターおよび健食事業部の諸氏によりなされたものである。ここに諸氏の労を多とし感謝の念を表明いたします。

引用文献

- 1) 宮下章 1974. 海藻. 法政大学出版局. 東京.
- 2) 農林水産省. 平成13年度水産の動向に関する年次報告.
- 3) 野田宏行 1984. 保健食品としての海藻. p.114-128. 鴻巣章二(編) 水産食品と栄養. 恒星社厚生閣. 東京.
- 4) 川合正允 1995. 健康を支える海藻. p.41-76. 鎌田博・堀秀隆(編) 21世紀の動植物資源. 日本経済評論社. 東京.
- 5) 辻啓介 1996. 海藻と健康・栄養. p.100-111. 大野正夫(編) 21世紀の海藻資源. 緑書房. 東京.

- 6) Nishizawa, K. 2002. SEAWEEEDS KAISO. Japan Seaweed Association. Kochi.
- 7) 大房剛 1985. シー・ベジタブル (ブルーボックス). 講談社. 東京.
- 8) 西沢一俊・村杉幸子 1988. 海藻の本. 研成社. 東京.
- 9) 西沢一俊 1989. 海藻学入門 (講談社学術文庫). 講談社. 東京.
- 10) 藤原輝子・長谷泰女・浜崎映子・三好美美子 1958. アサクサノリの色素蛋白質, フコシアニンおよびフィコエリスリンの抽出条件について (I). 神戸山手女子短期大学紀要 (III): 79-84.
- 11) 藤原輝子・岡田恵子・小田恭子・古川敬子 1959. アサクサノリの色素蛋白質, フィコシアニンおよびフィコエリスリンの抽出条件について (II). 神戸山手女子短期大学紀要 IV. : 121-126.
- 12) 新崎輝子・美野典子 1973. 海藻中のアルカリ可溶たん白質について. 栄養と食糧 26: 129-133.
- 13) 山内文男 1993. 日本藻類学会秋季シンポジウム講演要旨集. p. 10-11.
- 14) 斉藤雅信・長屋恵子・萩野浩志・川合正允 2000. ラットを用いた海苔オリゴペプチドの降圧作用. 医学と薬学 43: 529-538.
- 15) 斉藤雅信・萩野浩志・川合正允 2000. 海苔オリゴペプチドの正常および高血圧者に対する影響. 医学と薬学 44: 297-306.
- 16) 斉藤雅信・高橋丈生・萩野浩志 2002. 海苔オリゴペプチドの軽症および中等症高血圧者に対する血圧降下作用. 日本臨床栄養学会雑誌 24: 30-37.
- 17) 丸山進 1989. 食品タンパク質からの血圧降下ペプチドの生成. バイオサイエンスとインダストリー 47: 1182-1186.
- 18) 島崎秀雄 1991. 機能性ペプチド開発の現況と今後の展望. ジャパンフードサイエンス 12月号: 20-27
- 19) 今泉勝己 1997. 特定保健用食品素材としてのペプチド類およびタンパク質. ジャパンフードサイエンス 12月号: 35-39
- 20) 川崎晃一・関英治・箆島克裕・吉田真弓・浅田耕造・松井利郎・箆島豊 1998. イワシ蛋白質由来ペプチドの軽症高血圧者に対する降圧効果. 健康・栄養食品研究 1: 62-71
- 21) 山本直之 1999. 血圧降下ペプチド産生に関与する乳酸菌タンパク質分解酵素系. バイオサイエンスとインダストリー 57: 667-672
- 22) Suetsuna, K. 1998. Purification and identification of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from red alga *Porphyra yezoensis*. *J.Mar. Biotechnol.* 6: 163-167
- 23) Suetsuna, K. & Nakano, T. 2002. Identification of an antihypertensive peptides from peptic digest of Wakame. *J. Nutr. Biochem.* 11: 450-454

(元株式会社白子 開発研究センター)