

# イワシたんぱく質由来短鎖ペプチド[Valyl-Tyrosine]の 軽症高血圧者に対する降圧効果に関する研究

川崎晃一・関 英治\*・箴島克裕\*・松井利郎\*\*・箴島 豊\*\*\*

## 1. 緒 言

生活習慣病といわれている疾病の中で高血圧は極端に多い<sup>1)</sup>。これら高血圧患者の治療を降圧薬のみで続けていくことはわが国の医療費高騰にもつながり、国の財政上大きな問題となってきた。最近では、生活習慣病は自己管理が重要であるとの視点に立って、個人個人の生活習慣を見直し、適切な食事療法や運動療法等によって、疾病の一次予防と早期治療を推進している<sup>2-4)</sup>。その一連の政策として、高血圧に関わる機能性食品の創製にも注目し、現在、天然資源から数多くのアンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) 阻害活性を有する成分が単離され<sup>5)</sup>、生産から市場への供給に至っている。しかしながら、消費者が毎日無理なく摂取できる食品はまだ数少ない。現時点では、カゼインのトリプシン分解物<sup>6)</sup>、かつお節のサーモライシン分解物<sup>7)</sup>、カルピス酸乳<sup>8)</sup>およびイワシたんぱく質由来ペプチド<sup>9-12)</sup>を素材とした食品、ならびに ACE 阻害作用とは機作を異にし、副交感神経系を刺激する作用を有する杜仲葉配糖体<sup>13)</sup>を含む食品が市販されているに過ぎない。これらの食品

は特定保健用食品 (生活習慣病の一次予防として食生活の改善に役立つと認められた食品) として“血圧が高めのヒトに適した食品”の表示で、特定の保健の効果に基づいて厚生省の認可を受けている。

著者らは降圧作用を有する機能性食品の開発を行い、アルカリプロテアーゼ (*Bacillus licheniformis* 由来) によるイワシの加水分解物から疎水性吸着樹脂カラム処理により、官能特性に優れた強力な ACE 阻害活性を有するペプチドが得られることを見出し<sup>14-16)</sup>、その中で Valyl-Tyrosine (VY) が高血圧自然発症ラット (SHR) に対する降圧作用に関する主要な成分であることを明らかにした<sup>17)</sup>。また、VY を含む画分を経口投与したところ著明な降圧作用が認められた<sup>18)</sup>。さらに、軽症高血圧者を含む健常な成人を対象に“ペプチドドリンク”を与え、軽症高血圧者に対して有意な血圧降下作用が認められることを明らかにして<sup>6,7)</sup>、特定保健用食品として許可を受けた。しかしながら、機能性食品が多くの人々に受け入れられ、食品の補助として長期間継続して摂取するためには、携帯利便性や飲用

\* 仙味エクス KK 研究開発部  
\*\* 九州大学大学院農学研究院  
\*\*\* 広島県立大学生物資源学部

回数および飲み安さが商品設計上重要となる。

今回は、軽症高血圧者に対する30ml 用量のペプチドドリンク（イワシたんぱく質由来ペプチド；サーデンペプチド配合）の1日1回投与での降圧効果の有無を明らかにするために、臨床試験を実施した。

## 2. 対象と方法

### 1) 対象

試験の主旨、方法等について十分な説明を行ったうえで、試験の被験者として参加することに同意したボランティアの中から、収縮期血圧140mmHg 以上 and/or 拡張期血圧90mmHg 以上の軽症本態性高血圧（Stage1または Grade1）で、通常の日常生活を営む成人を対象に、プロトコール（図1）に示した臨床研究を実施した。対象者のプロフィールを表1に示す。ペプチドドリ

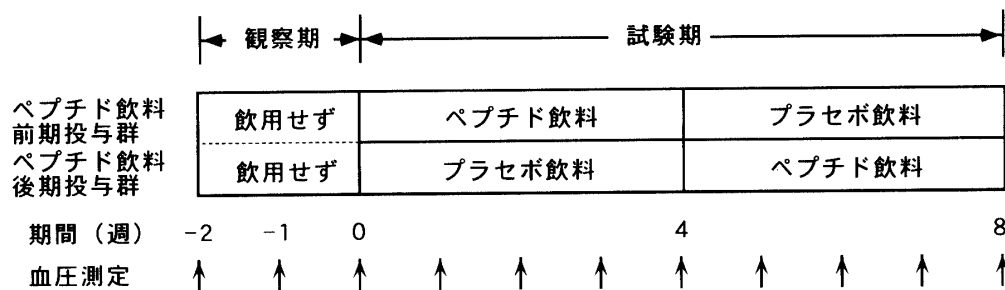


図1 軽症高血圧者に対するプラセボ飲料を対照に用いた二重盲検群間比較交叉試験

ペプチド飲料：1本あたりに Valyl-Tyrosine0.4mg を含む30ml 用量に処方した飲料。

プラセボ飲料：Valyl-Tyrosine を含まない飲料。

ペプチド飲料前期投与群(12名)：試験期間中ペプチド飲料を4週間1日1本投与後、プラセボ飲料を4週間1日1本投与した。

ペプチド飲料後期投与群(12名)：試験期間中プラセボ飲料を4週間1日1本投与後、ペプチド飲料を4週間1日1本投与した。

表1 対象者の背景

項目	ペプチド飲料前期投与群	ペプチド飲料後期投与群
対象数 (男/女)	12(11/1)	12(11/1)
年齢 (歳)	47.9±3.0	47.4±3.8
身長 (cm)	168.4±2.5	165.8±1.9
体重 (kg)	67.6±3.8	68.2±2.7
肥満指数 (kg/m <sup>2</sup> )	23.8±0.9	24.8±0.8
飲酒率 (%)	9/12(75)	8/12(67)
喫煙率 (%)	5/12(42)	6/12(50)
高血圧の家族歴陽性率 (%)	9/12(75)	5/12(42)
観察期収縮期血圧 (mmHg)	147.5±4.6	146.7±3.5
観察期拡張期血圧 (mmHg)	89.6±2.5	90.5±2.5
観察期脈拍数 (拍/分)	69.4±2.0	76.1±2.4

平均値±標準誤差

ンク前期投与群12名と、ペプチドドリンク後期投与群12名の2群間の平均年齢・体格・血圧・脈拍値、家族歴、生活習慣などに有意な差は認められなかった。対象者の中に降圧薬服用者はなく、またいずれの群においても試験期間中で辞退する者はいなかった。

## 2) プロトコール

軽症高血圧者24名を対象にプラセボ（偽薬）を用いた無作為二重盲検交叉法による比較対照試験を実施した。図1に示すプロトコールを用いて、2週間の観察期ののち、ペプチドドリンク前期投与群12名にはペプチドドリンクを、またペプチドドリンク後期投与群12名にはプラセボドリンクをそれぞれ4週間飲用してもらった。その後、両群の投与ドリンクの種類を入れ替えて、4週間各々のドリンクを飲用してもらった。ペプチドドリンクには、サーデンペプチド500mg (VY0.4mg含有)、糖質、酸味料および香料を用量30mlに処方し毎日朝食前に飲用してもらった。プラセボドリンクは、糖質、酸味料および香料を処方し、外見、味、風味などは全く区別がつかないようにした。

## 3) 測定

観察期、プラセボ期、ペプチド投与期の全期間中、自覚症状を調査し、1週毎の朝食前に、体重・血圧・脈拍を測定した。血圧・脈拍は熟練した看護婦が自動血圧計

(BP-203N, 日本コーリン社製)を用いて、最低5分間の安静後、左上腕にて座位で連続3回測定した。個人の血圧・脈拍値は3回の平均値を採用した。

## 4) インフォームドコンセント

ボランティアには研究内容、方法などに関する十分な説明を行い、文書によるインフォームドコンセントを取り交わした。

## 5) 統計解析

全ての値は平均値±標準誤差で表記した。観察期の値との統計学的な検定はStudent's paired t-testを用い、両側検定で有意水準は5%以下とした。

## 3. 結果

### 1) 血圧低下作用

血圧の測定結果を図2に、その%変化率を図3に示した。ペプチド前期投与群は投与1週後から収縮期 (SBP)、拡張期血圧 (DBP) とともにそれぞれ  $-10.7 \pm 3.6$  mmHg、 $-3.6 \pm 2.0$  mmHg と降圧し (観察期血圧  $147.5 \pm 4.6/89.6 \pm 2.5$  mmHg に対して、投与1週後血圧  $136.8 \pm 4.7/86.0 \pm 3.2$  mmHg :  $p < 0.05$ )、4週後で SBP  $-12.3 \pm 3.4$  mmHg ( $p < 0.01$ )、DBP  $-4.3 \pm 1.4$  mmHg ( $p < 0.01$ ) と有意な血圧低下作用が認められた。ペプチド後期投与群も同様に投与1週後から SBP、DBP とともにそれぞれ  $-10.6 \pm 2.6$  mmHg、 $-5.6 \pm 1.6$  mmHg と血圧が低下し、観察期血圧  $146.7 \pm 3.5/90.$

5±2.5mmHg に対して、投与1週後の血圧は136.1±4.8/84.9±3.1mmHg (いずれも p<0.01)、4週後でSBP139.1±3.4(p<0.01)、DBP 86.0±2.6mmHg (p<0.05) と、有意な血圧低下作用が認められた。両群ともにプラセボ期は血圧の有意な変動は認めず、心拍数ならびに体重のいずれも試験期間中に有意な変化を示さなかった。

血圧の変動を、2週間の観察期に3回測定した平均値を0として、それ以降の血圧変化を%変化率で図3に示す。SBPで最高7.8%、DBPで最高6.2%低下し、観察期に比していずれも有意であった。プラセボドリンク摂取時の血圧の変化はほとんど認められなかった。

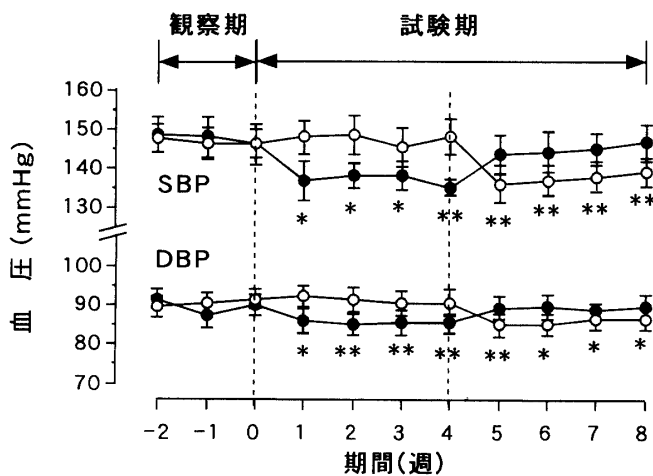


図2 軽症高血圧者に対するペプチド飲料前期投与群およびペプチド後期投与群の収縮期 (SBP) と拡張期血圧 (DBP) 変動

2週間の観察期後、ペプチド飲料前期投与群(●—●、12名)には1本当たりに Valyl-Tyrosine0.4mg を含む30ml 用量に処方したペプチド飲料を4週間1日1本投与後、プラセボ飲料を4週間1日1本投与した。ペプチド飲料後期投与群(○—○、12名)にはプラセボ飲料を4週間1日1本投与後、ペプチド飲料を4週間1日1本投与した。

プラセボ飲料：Valyl-Tyrosine を含まない飲料。  
\*P<0.05、\*\*P<0.01 (vs. 観察期)

## 2) 副作用

医師による問診の結果、自覚症状および他覚所見のいずれにも異常を認めなかった。

## 4. 考 察

著者らは、漁獲量も豊富で古くから食されているイワシたんぱく質のアルカリプロテアーゼ分解物からカラム処理による活性成分の高収率化・高活性化を行い、親水性の10%アルコール溶出画分に ACE 阻害活性の高いペプチドを見出した<sup>14-16)</sup>。活性画分はジないしトリペプチドを主体とした低分子ペプチドで、腸管プロテアーゼに対する耐消化性<sup>19)</sup>、易吸収性を有していた。また、一般的にたんぱく質酵素分解物には苦味、臭いなどがあり食品

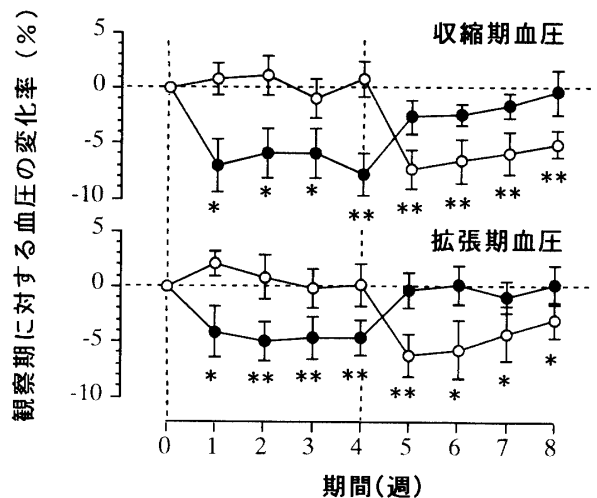


図3 軽症高血圧者に対するペプチド飲料前期投与群およびペプチド後期投与群の飲料投与前後の血圧の変化率

方法は図2と同じで、横軸は飲料を飲み初めてからの期間を示した。

縦軸は観察期2週間の血圧の平均値を0とし、それぞれの飲料投与期間中の血圧値の変化率を%で示した。

プラセボ飲料：Valyl-Tyrosine を含まない飲料。  
\*P<0.05、\*\*P<0.01 (vs. 観察期)

素材として利用しにくいですが、本ペプチドはカラム処理により苦味、においを取り除いており<sup>20)</sup>、長期間毎日無理なく摂取できる極めて有効な機能性食品素材であると考えた。

これまでに著者らは、軽症高血圧者ならびに正常高値血圧者を対象として、100ml 容量ペプチドドリンクを1日朝・夕2回飲用してもらってペプチドの降圧効果とその安全性試験を行い、投与4週後でSBP-9.3mmHg、DBP-5.2mmHgの降圧作用を認めて報告している<sup>9,10)</sup>。今回の試験では血液生化学検査や尿検査は行っていないが、これまでの一連の臨床研究<sup>9-12)</sup>で、副作用と思われる自覚症状、他覚的異常所見の出現もなく、とくに全経過を通じて空咳を生ずるものは全く認められなかった。また、ACE阻害作用を有するペプチドドリンクを長期間飲用した際に稀に認められる血液障害や肝機能障害等も全く認められなかったことから、ペプチドドリンクの安全性については問題ないと判断している。さらに本試験では、商品としての携帯利便性を考慮し、ドリンク剤の用量を30mlとして、1日1回朝投与で臨床試験を行ったが、既に行っている1日2回朝夕投与試験の結果<sup>9,10)</sup>と同様の降圧作用が認められた。

本ペプチドの降圧作用は、軽症高血圧者の血圧を正常高値血圧レベル以下に、正常高値血圧者の血圧を正常血圧まで緩徐に下げしており、医師の問診による自覚症状、空咳等の副作用がなく体調不良者もいなかったことから、本試験で飲用したペプチドドリンクは、血圧の正常化とその維持に有効な食品である

ことを再確認した。正常血圧者に対する降圧効果については、ドリンク飲用前後および群間において正常血圧者の血圧値に変動は認められておらず、ペプチドドリンクは正常血圧者に対しては不必要に血圧を下げる作用はないことを明らかにしている<sup>9)</sup>。

「特定保健用食品」として許可されている他の食品の場合、軽症高血圧者に対してカゼイントリプシン分解物20g/日を4週間連続投与し、SBP-4.6mmHg、DBP-6.6mmHgの血圧降下が認められている<sup>6)</sup>。カゼイン由来ラクトリペプチドの場合、トリペプチドを含む95ml/日の酸乳を8週間連続投与してSBP-14.1mmHg、DBP-6.9mmHgの降圧が認められたとしている<sup>8)</sup>。また、かつお節オリゴペプチドについては、3g/日の投与4週後におおよそSBP-10mmHg、DBP-5mmHgの降圧が認められている<sup>7)</sup>。これらのペプチドを素材とする食品と比較して、30ml用量の本ペプチドドリンクも同様の降圧効果が認められた。

本ペプチドの血圧下降度は市販のACE阻害薬には及ばないものの、軽症高血圧者や正常高値血圧者を対象とし、日常摂取を目的とした特定保健用食品としては、空咳・湿疹・皮膚搔痒感などの副作用や自覚症状の出現もまったくなく、飲用終了後の急激なりバウンド現象も認められず、極めて有用かつ安全な食品といえよう。また、素材の嗜好性の高さと同量から一本当たりの容量を極力抑えて、30mlのドリンクを調製し得たこと、試験期間中にドリンクの嗜好性に起因すると思われる

不快を訴える脱落者がいなかったこと、そして降圧効果が認められたことは、携帯利便性や飲用継続性からも有益であると考えている。

これまで ACE 阻害作用を有するペプチドの、ヒト降圧機序についての詳細な検討は行われていない。著者らは、正常ヒト血漿中のアンジオテンシン (Ang) 類の代謝に及ぼすレニン・アンジオテンシン系の賦活状態の影響を検討し、60分間の立位による血漿レニン活性の賦活に連動して、Ang- I と Ang (3-4) (VY) 濃度が増加すること<sup>20,21)</sup>、またヒト血漿中 VY 濃度が、正常者より高血圧症者で低値であること<sup>22,23)</sup>、さらに、in vitro でヒト血漿を用いて Ang- I からのみ VY が生成することを明らかにしている<sup>20,21)</sup>。従って、Ang の代謝生成物で ACE 阻害活性を有する内因性 VY が、レニン・アンジオテンシン系でのフィードバックシステムとして血圧を調節している可能性も示唆している<sup>10)</sup>。また、VY-ドリンク飲用後血漿 Ang- I が有意に増加し、Ang- II 及び PAC が有意に減少したこと、およびコントロール期のヒト血漿中 VY 濃度が正常血圧者より血圧高値者で有意に低値であることから、VY による ACE 阻害を介したものと考えられる。本食品の降圧作用のメカニズムについては、VY による降圧効果が外因性 VY による一過性の VY の増加よりも、むしろ代謝生成が増大した内因性 VY によって、ACE が阻害された結果であろうと推察しているが、現在、bioavailable VY について、詳細な検討を行っているところである<sup>24,25)</sup>。

## 5. 結 論

成人を対象にサーデンペプチドの血圧に対する効果を検討した。軽症高血圧者において二重盲検法によるプラセボ-コントロール交叉試験を行い、30ml 用量のペプチドドリンクの 1 日 1 回投与で、投与 1 週後から有意な降圧が認められた。プラセボドリンクでは有意な血圧降下を認めなかった。全対象者において自覚症状、他覚症状ともに異常は認められず、副作用もなかった。

VY0.4mg を含むサーデンペプチド500mg を配合する30ml 用量のペプチドドリンクは 1 日 1 回の投与で、軽症高血圧者の血圧を、自他覚症状にも全く影響を与えずに有意に低下させると結論した。また素材の嗜好性の高さや有効量から一本当たりの容量を極力抑えて30ml のドリンクを調製し得て、その降圧効果が認められたことは、携帯利便性、飲用継続性からも機能性食品として極めて有益であると結論した。

## 6. 文 献

- 1) 厚生統計協会, 国民衛生の動向・厚生 の指標, 第 4 章 健康状態と受療状況, 1999, 46(9) : 82.
- 2) The Joint National Committee: The sixth report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure (JNC VI). Arch. Intern. Med., 1997 ; 157 : 2413-2446.
- 3) Guidelines Subcommittee: Guide-

- lines for the management of mild hypertension: memorandum from a WHO/ISH meeting. *Hypertens. Res.*, 1993; 16: 149-161.
- 4) 日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会編, 高血圧治療ガイドライン 2000年版. 日本高血圧学会, 2000, Pp. 1-125.
  - 5) Arai S: Studies on functional foods in Japan -State of the art. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1996; 60: 9-15.
  - 6) 関屋宗一郎, 小林義雄, 喜多英一, 今村吉水, 戸山靖一: カゼインのトリプシン加水分解物の高血圧症に対する効果および副作用について. *日本栄養・食糧学会誌*, 1992; 45: 513-517.
  - 7) 藤田裕之, 安本良一, 長谷川昌康, 大嶋一徳: かつお節オリゴペプチドによるヒトボランティアに対する血圧降下作用 (II). *薬理と治療*, 1997; 25: 2161-2165.
  - 8) Hata Y, Yamamoto M, Ohni M, Nakajima K, Nakamura Y: A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1996; 64: 767-771.
  - 9) 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: イワシタンパク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*, 1998; 1: 62-71.
  - 10) Kawasaki T, Seki E, Osajima K, Yoshida M, Asada K, Matsui T, Osajima Y: Antihypertensive effect of Valyl-Tyrosine, a short chain peptide derived from sardine muscle hydrolyzate, on mild hypertensive subjects. *J. Human Hypertens.*, 2000; 14: 519-523.
  - 11) 松井利郎, 川崎晃一: 食品タンパク質由来の機能性ペプチドによる血圧降下作用—イワシペプチド (Val-Tyr) による降圧食品の開発を中心として—. *日本栄養・食糧学会誌*, 2000; 53: 77-85.
  - 12) 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: 軽症高血圧者, 正常高値血圧者ならびに正常高値血圧者に対するイワシタンパク質由来ペプチドの降圧効果—プラセボを対照とした二重盲検群間比較試験—. *臨床と研究*, 2000; 77: 1800-1808.
  - 13) 上園慶子, 川崎晃一, 阿部 功, 鍵山俊太郎, 天本敏昭, 中沢慶久, 中田千登勢, 鬼塚重則: 杜仲茶エキスの血圧に対する効果. *Therapeutic Research*, 1997; 18: 570-573.
  - 14) Matsui T, Matsufuji H, Seki E, Osajima K, Nakashima M, Osajima Y: Inhibition of Angiotensin I-converting enzyme by licheniformis alkaline protease hydrolyzates derived from sardine muscle. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1993; 57: 922-925.
  - 15) Matsufuji H, Matsui T, Seki E, Osajima K, Nakashima M, Osajima Y:

- Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide in an alkaline protease hydrolyzate derived from sardine muscle. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1994 ; 58 : 2244-2245.
- 16) 関 英治, 箆島克裕, 松藤 寛, 松井利郎, 箆島 豊: Val-Tyr は消化管プロテアーゼ耐性なイワシ由来の ACE 阻害ペプチドである。日本農芸化学会誌, 1995 ; 69 : 1013-1020.
- 17) Matsufuji H, Matsui T, Oshige S, Kawasaki T, Osajima K, Osajima Y: Antihypertensive effect of angiotensin fragmens in SHR. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1995 ; 59 : 1398-1401.
- 18) 関 英治, 川崎晃一, 吉田真弓, 箆島克裕, 玉屋 圭, 松井利郎, 箆島 豊: イワシタンパク質由来ペプチドならびに Valyl-Tyrosine の降圧作用—高血圧自然発症ラットに対する効果—。日本栄養・食糧学会誌, 1999 ; 52 : 271-277.
- 19) 関 英治, 箆島克裕, 松藤 寛, 松井利郎, 箆島 豊: 降圧作用を有するイワシ由来短鎖ペプチドの消化管プロテアーゼ耐性。日本食品科学工学会誌, 1996 ; 43 : 920-925.
- 20) Matsui T, Matsufuji H, Kawasaki T, Osajima Y: Determination of endogenous peptides with in vitro ACE inhibitory activity in normotensive human plasma by the fluorometric HPLC method. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1997 ; 61 : 1052-1054.
- 21) Matsui T, Matsufuji H, Tamaya K, Kawasaki T, Osajima Y: Metabolic behavior of angiotensin in normotensive human plasma in the supine and upright postures. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1997 ; 61 : 1814-1818.
- 22) Matsui T, Osajima Y, Uezono K, Kawasaki T: Metabolism of endogenous Val-Tyr with antihypertensive effect in human plasma. *J. Hypertens.*, 1998; 16 (Supp 2) : s138.
- 23) Matsui T, Tamaya K, Matsumoto K, Osajima Y, Uezono K, Kawasaki T: Plasma concentrations of angiotensin metabolites in young male normotensive and hypertensive subjects. *Hypertens. Res.*, 1999 ; 22 : 273-277.
- 24) Seki E, Kawasaki T, Osajima K, Tamaya K, Matsui T: Antihypertensive effect of sardine peptide, Val-Tyr, in normotensive and hypertensive subjects. *J. Hypertens.*, 2000 ; 18 (Supp 4) : s90.
- 25) Matsui T, Tamaya K, Matsumoto K, Seki E, Osajima K, Kawasaki T: The bioavailability of antihypertensive small peptide, Val-Tyr, in human. *J. Hypertens.*, 2000 ; 18 (Supp 4) : s87.