

## 2021年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	“新規ロイシン誘導體”が秘める生理機能の解明に向けた基礎研究
キーワード	①新規ロイシン誘導體、②ペプチド、③LC-MS/MS

### 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	シラコ サキ 白子 紗希
配付時の所属先・職位等 (令和3年4月1日現在)	立命館大学 生命科学部 助教
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	立命館大学 生命科学部 助教
プロフィール	京都府立大学 食保健学科 卒業後、管理栄養士の免許を取得。食と栄養、食品機能学について深く学びたいと思い、京都大学大学院 農学研究科に進学し、修士・博士課程を修了。主に、味噌などの麹発酵食品に含まれるピログルタミルペプチドの生理機能や消化吸収について研究している。 2020年立命館大学の助教として着任後は、ペプチドの研究に加え、漢方薬（生薬）の機能性や活性成分の探索にも取り組んでいる。

### 1. 研究の概要

“日本食は健康的な食事である”と言われてきた。疫学調査等からも日本食が健康食であると報告されている。そこでどのような成分が日本食による健康増進に寄与しているのかを明らかにすることは非常に有益であると考え、日本食中の有益な成分に関する研究はほとんどなされていない。

これまでに、味噌等の日本の伝統的な発酵食品中から図1に示すピログルタミルペプチド（pE ペプチド）と呼ばれるペプチドが見出されており、細胞を用いた実験において抗炎症作用、動物実験において肝保護作用、大腸炎の緩和、乱れた腸内細菌叢の改善作用などが報告されている。しかし、pE ペプチド摂取後の体内動態についての研究例はほとんどない。本研究の予備試験において、pE ペプチドの単回投与後に、回腸において有機酸とロイシンから成る、ロイシン誘導體が生成されることを見出した。本研究では、pE ペプチドからどのようにしてロイシン誘導體が見出されるのかを調べることを目的として、pE ペプチドのうちpE ロイシン（pEL）に着目して実験を行った。しかし実験の結果、予想とは異なり、pEL を投与してもロイシン誘導體は見出されなかった。様々な原因を考察した結果、飼育環境や腸内細菌叢の違いなどが影響していることが推察されたため、再現性を得るため、試験を重ねていきたいと考えている。

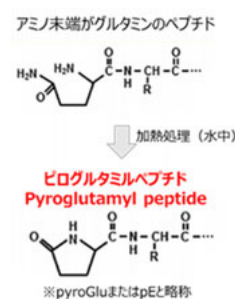


図1. ピログルタミルペプチドの生成

### 2. 研究の動機、目的

麹菌 (*Aspergillus oryzae*) を用いる味噌等の日本の伝統的な発酵食品の消費量は減少しており、日本人の発酵食品離れが進んでいる。これまでに小麦グルテン等の食品タンパク質酵素分解物から、図1の pE ペプチドが見出されており、麹菌を用いる発酵食品にも多いことが知

られている。しかし、pE ペプチドの構造やその生理機能に関する研究は十分ではない。そこで私は、ペプチド含量の多い豆味噌に注目し、pE ペプチドの構造と生理機能の解明を試みた。その結果、pE ペプチド（ピログルタミルロイシン；pEL）の投与で、ラットにおいて肥満誘導性の腸内細菌叢の乱れを改善する効果などを見出した。この結果を受けて、次に pE ペプチドの吸収・代謝を明らかにすることを試みた。

ラットを用いた pE ペプチド混合物（ピログルタミルバリン；pEV、ピログルタミルイソロイシン；pEI、及び pEL）の単回投与試験において、これらのペプチドが小腸後半部（回腸）特異的に吸収されること、そして血中や末梢組織への移行性が極めて少ないことを見出した（未発表データ）。これらの結果は、回腸に吸収された pE ペプチドが別の物質に変換・代謝されている可能性を示唆している。液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS/MS）を用いて、投与前後の回腸を網羅的に解析したところ、pE ペプチドの投与 1 時間後において有機酸とロイシンのペプチド結合からなるロイシン誘導体が生成されることを明らかにした（予備試験）。しかし、ロイシン誘導体に関する報告例はほとんど無く、pE ペプチドの投与でなぜ、ロイシン誘導体が生成されるのか不明であった。そこで、pE ペプチドからロイシン誘導体が生成／変換される可能性について検討することを目的とし、今までに未解明であったロイシン誘導体の機能性を知る基礎研究として位置付けて実験を行った。

### 3. 研究の結果

ロイシン誘導体は、pE ペプチドの中でも、同じロイシン残基を有するピログルタミルロイシン（pEL）から生成／変換されると予想し実験を行った。pEL のロイシン残基に対して、炭素原子 C と窒素原子 N をそれぞれ安定同位体で標識した pE-<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N-labeled Leu(pE-<sup>13</sup>, <sup>15</sup>Leu) を作製した（図 2）。

このペプチドをラットに単回投与したところ、予備試験の通り、回腸において最も良く pE-<sup>13</sup>, <sup>15</sup>Leu（pEL）が吸収されていることを確認した。また LC-MS/MS を用いた分析の結果、ペプチドの吸収は投与 30 分後～1 時間後に最大になることが示唆された。

しかしながら、回腸においてロイシン誘導体の存在はいずれの時間においても確認することができなかった。同様の試験を繰り返したが、再現されなかったため、以下のように考察している。pE ペプチドからロイシン誘導体が生成される過程においては、腸内細菌叢による代謝や変換の可能性も考えられる。予備試験時と異なる点について考えたところ、飼育環境や飼養するための餌、水の違いがあった。ラットの腸内細菌叢は、これらの飼育環境によって影響を受けて違いが生じる可能性が考えられるため、本研究において pE ペプチドからのロイシン誘導体の生成を確認することができなかったのではないかと考察した。以上より、申請時の目標を達成することはできなかったが、pEL を含む pE ペプチドは、回腸を標的としている可能性が高いことが分かった。そして、ロイシン誘導体の生成には腸内細菌叢が関わっている可能性も考えられた。

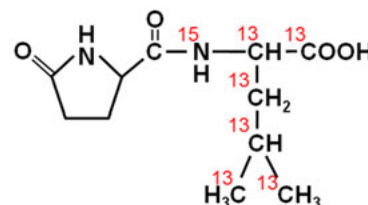


図 2. <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N-pEL の作製

### 4. 研究者としてのこれからの展望

私は学生時に所属した研究室で、ピログルタミルペプチドの研究を始めました。研究者としてだけでなく、温かさ溢れる人柄にも憧れ、尊敬している恩師にご指導いただいたことをきっかけに、自身も教員としての一步を歩み始めたところです。

まだまだ経験の浅い研究者ですが、研究の面白さや楽しさを伝えることのできる教員になることを目標にしています。研究者としては、食品科学や機能性の研究を通じて、「食」で多くの人々の健康に貢献したいと考えています。これからも幅広く視野を広げ、誠実さ・素直さを忘れずに、研究に対して真摯に取り組んでいきたいと思っています。

### 5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

本奨励金は、私にとってはじめて採択いただくことのできた奨励金でした。採択が決定したときは、研究について興味を持っていただけたことに大変感激したことを覚えております。学

生のころから取り組んできたペプチドの研究について、このように奨励金をいただきましたことは、私の自信につながり大きな励みとなりました。ご支援いただいた企業の方、皆様に心より御礼申し上げます。

私が研究しているピログルタミンペプチドは、味噌や日本酒をはじめ、日本食に使われる発酵食品に見出されています。今後ピログルタミンペプチドの研究が発展することで、将来的には日本食の科学的な価値を高めることに役立てたいと考えております。助成していただいた感謝の気持ちを忘れずに、これからも引き続き日々、ペプチドの研究に精進してまいります。この度は、ご支援いただきましてありがとうございました。