

第12回

カルノシン・アンセリン研究会

講演要旨

■講演内容

小前 奏明 先生（大阪公立大学大学院 理学研究科 分子生物学講座）

「2-オキシイミダゾールジペプチドの定量法の確立と生体内産生」

森脇 浩樹 先生（浜理薬品工業株式会社 研究開発本部）

「HAMARI の健康食品「カルノシン」に関して」

高橋 義宣 先生（マルハニチロ株式会社 中央研究所）

「アンセリン含有サケエキスの機能性について」

座長: 西村 敏英 先生（女子栄養大学）
早川 徹 先生（北海道大学大学院）

令和4年6月11日(土) 18:00~20:00

武庫川女子大学中央キャンパス L会場

カルノシン・アンセリン研究会のご案内

我が国の食生活は、過去半世紀余りの間に大きく変化し、特に動物性食品の消費が飛躍的に伸びています。その結果、食が豊かになると同時に世界でも類をみない長寿国となりました。その一方で、文明の進歩による生活習慣の変化に伴い、生活習慣病の罹患率が増えています。この罹患率は、我が国の今後の少子高齢化に伴い、益々増加することが予想されており、生活習慣病の予防並びに健康維持は解決されるべき重要な課題となっております。生活習慣病の予防には、食生活や運動等による生活習慣の改善が必要であります。食生活の改善に関して言えば、昔から「医食同源」といわれるように、病気を治すことと食事は、生命を養い健康を保つためのもので、本質的には同じであり、正しい知識に基づく、食生活の改善が必要であります。今後の食生活の改善には、食品成分の機能に関する情報の蓄積が必須であると考えられます。その中で、近年飛躍的に消費量が増大した動物性食品の成分に関する情報の蓄積は、食生活の改善に極めて意義深いものであります。動物性食品の成分の中で、多いものの1つとしてカルノシンとアンセリンがあります。これらは、筋肉や脳に多く含まれておりますが、その機能は十分に明らかにされておられません。このような背景から、カルノシン・アンセリンに関心のある研究者が集い、広く情報交換をする場として、私たちはカルノシン・アンセリン研究会を平成19年に設立いたしました。本研究会では、講演会等を通じて、カルノシン・アンセリンの分布、機能について、議論を深めていきます。本研究会の趣旨をご理解いただき、多くの方がご参加下さいますよう、心からお願い申し上げます。

令和4年6月 研究会世話人一同

*カルノシン・アンセリン研究会ホームページも合わせてご覧ください。

URL : <https://carans-anserine.jimdo.com/>



カルノシン・アンセリン研究会の賛助企業（五十音順）

東海物産株式会社

日本ハム株式会社

浜理薬品工業株式会社

焼津水産化学工業株式会社

2-オキシイミダゾールジペプチドの定量法の確立と生体内産生

小前 奏明¹、笠松 真吾¹、内田 浩二²、居原 秀¹

¹大阪公立大学大学院 理学研究科 生物化学専攻 分子生物学講座

²東京大学大学院 農学生命科学研究科 応用生命化学専攻 食糧化学研究室

カルノシンやアンセリンなどのイミダゾールジペプチド (Imidazole-dipeptides; IDPs) は脊椎動物の骨格筋などに豊富に含まれており、抗酸化活性などの様々な生理機能を有することが報告されている。しかし、その生理機能の詳細な分子機構や生体での役割については不明な点が多く残っている。最近我々は、液体クロマトグラフィー-タンデム型質量分析装置 (LC-MS/MS) を用いた IDPs およびその酸化誘導体である 2-オキシ IDPs の高選択・定量解析法を確立し、2-オキシ IDPs の生体内産生を世界で初めて明らかにした。さらに、IDPs および 2-オキシ IDPs の酸化ストレスとの関連や抗酸化活性などについて報告している。本講演では、これまでに我々が明らかにしてきた 2-オキシ IDPs に関する知見と、LC-MS/MS を用いた、多重反応モニタリング(MRM)法、安定同位体希釈法による高選択・定量解析法について発表する。

IDPs、2-オキシ IDPs の合成および定量法の確立

カルノシンやアンセリン以外の IDPs は入手が困難であるため知見がほとんどない。そこでバレニン、ホモカルノシン、ホモアンセリン、ホモバレニンの合成を行った。保護基を導入した β -アラニンまたは γ -アミノ酪酸を、ヒスチジンまたはメチルヒスチジンとカルボジイミドカップリング法により縮合させ、脱保護・精製を行った。本法により、90%以上の高収率で IDPs を合成することができた。次に、合成した IDPs を銅イオン・アスコルビン酸存在下で酸素通気させることにより 2-オキシ IDPs を合成し、精製後に LC-MS/MS を用いて目的の物質であることを確認した。さらに、これらの安定同位体標識標準物質の作製、MRM 条件の決定により、IDPs、2-オキシ IDPs の高感度絶対定量系を確立した。

食肉中の IDPs、2-オキシ IDPs の定量

カルノシンやアンセリンは食肉中に豊富に含まれていることが知られているが、2-オキシ IDPs に関する知見は未だない。そこで、確立した定量解析法によって、食肉 (牛肉、豚肉、鶏肉、羊肉、鹿肉、猪肉) に含まれるカルノシン、アンセリン、2-オキシカルノシン、2-オキシアンセリンの定量を試みた。その結果、カルノシン、アンセリンの定量結果は、既報の HPLC 分析等で得られている結果とほぼ一致していた。一方、2-オキシカルノシン、2-オキシアンセリンも解析したすべての食肉に含まれていることが初めて明らかになった。IDPs の総量は 51.7–280.0 nmol/mg protein、2-オキシ IDPs の総量は 0.048–0.34 nmol/mg protein であった。また、解析したすべての食肉において、上記 4 種の IDPs、2-オキシ IDPs が検出されたことから、鳥類や哺乳類の筋肉組織には、IDPs だけでなく、2-オキシ IDPs も普遍的に存在することが示唆された。

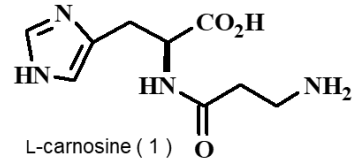
HAMARI の健康食品「カルノシン」に関して

森脇浩樹¹、安川侑佑²

¹ 浜理薬品工業(株)研究開発本部、² 浜理薬品栄養科学(株)

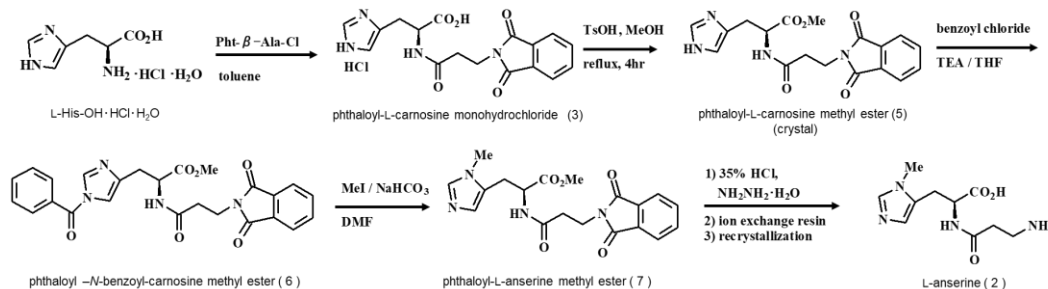
浜理薬品工業株式会社は、オリゴペプチド (2~10 amino acids) や特殊アミノ酸の製造を得意としている医薬品原薬製造業者であり、既に 75 年以上の実績がある。本研究では、近年欧米及び国内で健康食品素材としても需要が高まっているイミダゾールジペプチドの L-carnosine (1) や、同じく天然ジペプチドである L-anserine (2) の合成方法について紹介する。

更に、グループ会社の浜理薬品栄養科学株式会社で開発した L-carnosine (1) を主成分とするサプリメント「カルノパワー」の筋損傷抑制効果についても報告する。



1. L-carnosine (1) と L-anserine (2) の製法

一般に L-carnosine (1) はアミノ基を保護したフタロイル β-アラニンの酸クロライドと L-ヒスチジンとのカップリング反応で合成されている。L-anserine (2) の製法は、L-carnosine (1) の合成中間体である phthaloyl-L-carnosine (3) を出発原料として L-anserine (2) を得る新しい合成法であり、目的とする L-anserine (2) が L-ヒスチジンからの収率 53%、中間体 (3) からの収率 70%、化学純度 99.7%、光学純度 100% ee で得られる。



Scheme 1 L-anserine (2) の製法

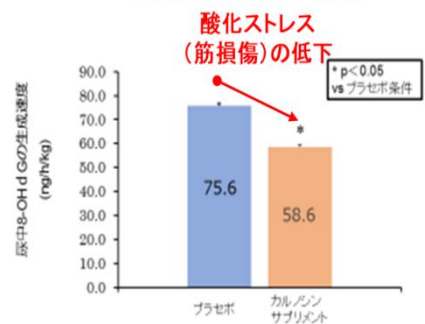
2. L-carnosine (1) を主成分とするサプリメント「カルノパワー」の筋損傷抑制効果について

カルノシンは、運動でできた乳酸を中和（緩衝）することで筋肉の状態を維持し、より長時間の運動持続を可能とすると言われている。また、抗酸化・抗糖化作用による筋肉のダメージを抑えるとともに、筋肉損傷や疲労回復作用を高める作用がある。

我々は、当社で開発したカルノシンを含有するサプリメント「カルノパワー」を用いて、運動時の筋損傷の抑制効果について検討した。運動 2 時間後の 8-OHdG 濃度を測定したところ、尿中の 8-OHdG 生成速度はカルノシンを主成分としたサプリメントを摂取した場合の方がプラセボと比較して有意に低い値を示した。

尚、「カルノパワー」はアスリートや運動をしている方に安心して使用していただけるように、インフォームドスポーツ認証を取得している。

運動後の尿中 8-OHdG の比較



アンセリン含有サケエキスの機能性について

高橋 義宣

マルハニチロ株式会社 中央研究所

脊椎動物の骨格筋や脳には、イミダゾールジペプチド(IDs)と称されるアンセリン(Ans)やカルノシン(Car)が多く存在している。当社ではサケ筋肉由来のアンセリンに着目し、アンセリン含有サケエキス(SEAns)を開発し、その機能性についていくつかの知見を得たので紹介する。

1. SEAns の脂肪蓄積抑制効果

高脂肪食給餌 SD ラットによる試験において、SEAns 投与時に睾丸周囲脂肪組織の重量減少や肝臓への脂肪蓄積抑制効果が確認された。ラット内臓脂肪細胞を用いた in vitro 試験においても、SEAns は有意な脂肪蓄積抑制を認めた。しかし、Ans 単体での効果は弱く、他の成分の関与が示唆された¹⁾。食餌性肥満誘導ゼブラフィッシュによる試験において、SEAns 投与時に肝脂肪蓄積抑制効果が認められ、活性成分として Ans とクレアチンの寄与が明らかとなった。またトランスクリプトーム解析から、作用機序として e2f2-fabp3 パスウェイの発現抑制が寄与していることが明らかとなった²⁾。

2. SEAns の抗疲労効果と運動機能向上効果

運動時の SEAns 摂取の有効性について、複数の臨床試験を実施して検証した。筋肉疲労をもたらす運動負荷時において、SEAns の摂取は血中クレアチンホスホキナーゼ (CPK：筋肉疲労の指標) 濃度や血中コルチゾール(疲労感の指標)濃度を低減し、運動機能として持久力向上が確認された³⁾。1500m 走を 3 セット実施した試験では、SEAns 摂取群では 3 セット目においても走行タイムが維持され、CPK 濃度の上昇も確認されなかった⁴⁾。卓球における運動パフォーマンス (返球精度) と動体視力を評価した試験では、対照群では返球精度、動体視力ともに低下していたのに対し SEAns 摂取群では向上し、対照群との有意な差が認められた⁵⁾。

3. IDs を活性関与成分とする疲労感軽減を表示した機能性表示食品の開発

IDs は運動機能向上や疲労感軽減に有効な機能性成分であると考えられたことから、IDs 摂取による疲労感軽減の有効性を謳う機能性表示食品の開発を検討した。機能性の科学的根拠として研究レビュー(SR)を作成した。疾病に罹患していない者(P)に、IDs を摂取すること(I)は、プラセボの摂取もしくは IDs の介入なし(C)と比較して、疲労感軽減に対する有効性(O)が認められるかについて文献調査を行った。結果、8 報(9 群)中 7 報(8 群)で有効性を認め、有効性を認めた報告における 1 日当たりの IDs の摂取量は 120~4000mg であった。我々は IDs の一日摂取目安量を 200mg とし、サケ肉を使ったサーモンソーセージを開発し、SR を用いて IDs の疲労感軽減効果を表示した機能性表示食品を初めて受理させた⁶⁾。

- 1) 高橋義宣ら 日本水産学会誌(2008) 74:1075-1081, <https://doi.org/10.2331/suisan.74.1075>
- 2) Shimada et al. Nutrition & Metabolism (2015) 12:17, [DOI 10.1186/s12986-015-0012-7](https://doi.org/10.1186/s12986-015-0012-7)
- 3) 高橋義宣ら、日本食品科学工学会誌(2008) 55:428-431, <https://doi.org/10.3136/nskkk.55.428>
- 4) 寺沢なお子ら、日本水産学会誌(2014) 80:601-609, <https://doi.org/10.2331/suisan.80.601>
- 5) Takahashi Y. Imidazole Dipeptides: Chemistry, Analysis, Function and Effects, Chapter 16, pp313-324, RSC publishing, [DOI 10.1039/9781782622611-00313](https://doi.org/10.1039/9781782622611-00313)
- 6) <https://www.fld.caa.go.jp/caaks/cssc02/?recordSeq=41910010900301> (届出番号 D417)

第12回 カルノシン・アンセリン研究会
講演要旨

令和4年6月10日 印刷

令和4年6月7日 発行

発行者 カルノシン・アンセリン研究会事務局
〒180-8602 東京都武蔵野市境1-7-1
日本獣医生命科学大学 応用生命科学部
食品機能化学教室（内）
TEL：0422-31-4151