

論文の内容の要旨

氏名：伊藤 健太郎

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題名：乳タンパク質および乳タンパク質由来ペプチドの水分補給機能に関する研究

緒論

体内の水分量が不足した状態を脱水症と言う。ヒトは脱水症に陥ると、発汗量・皮膚血流量が低下するため、体温調節機能が抑制される。したがって、暑熱環境下での作業やスポーツなどにおいて、脱水症を治療せずに放置すると熱中症の原因となる。その他にも、脱水症は疲労、認知機能の低下、スポーツにおけるパフォーマンスの低下等との関係が示唆されている。したがって、水分補給により脱水症を予防・治療することは重要である。

脱水症に対応した水分補給飲料には、摂取した水分が体内に長く保持される効果（水分保持効果）、および水分吸収が速やかであることという、2つの機能が求められると考えられる。脱水症の予防のために日常摂取する飲料には水分保持効果が、脱水症の治療のために摂取する飲料には速やかな水分吸収が、特に重要な機能であると考えられる。

これまで、水分補給飲料の機能に関しては電解質と糖質の効果を中心として多くの研究がされてきたが、タンパク質についての研究は未だ少ない。そこで本研究では、ラットの尿排泄量を指標とした乳タンパク質の水分保持効果の評価、ラット小腸灌流試験による乳タンパク質由来ペプチドの水分吸収促進効果の評価、およびラット脱水症モデルによる乳タンパク質由来ペプチドを配合した飲料の有効性評価を行い、脱水症の予防および治療のための新規水分補給法を提案することを目的とした。

第1章 乳タンパク質強化飲料の水分保持効果と脱水症予防飲料の開発

飲料へのNa⁺や糖質の添加が水分保持効果を高めることが報告されている。これらの報告は、十分な水分保持効果を得るためには、Na⁺は約50 mM、糖質は約12%(w/v)の濃度が必要であることを示唆している。しかし、Na⁺や糖質の過剰摂取は生活習慣病を引き起こす危険性があるため、日常的に摂取する飲料には、これらのNa⁺や糖質の濃度は高すぎると考えられる。一方、乳タンパク質も高い水分保持効果を示すことが報告されており、その効果は重量比で糖質よりも高いことが報告されている。したがって、乳タンパク質を強化した飲料は、Na⁺や糖質の濃度を低く抑えながら、高い水分保持効果を有することが期待でき、脱水症予防に有用であると考えられる。そこで、本章では、乳タンパク質の水分保持効果に着目し、脱水症予防のための新規水分補給法を提案することを目的とした。

SD系ラット（オス、8-10週齢）に蒸留水、5%(w/v)のカゼインまたはホエイタンパク質溶液を経口投与し、尿排泄量を4時間後まで測定することで、各タンパク質の水分保持効果を評価した。蒸留水と比較し、カゼインおよびホエイタンパク質溶液投与後の尿排泄量は有意な低値を示し、2つのタンパク質の間には差は認められなかった。この結果から、カゼインおよびホエイタンパク質には同等の水分保持効果があることが示唆された。カゼインとホエイタンパク質の効果が同等であったことから、以降の検討には乳タンパク質を用いた。同様の試験系で0、1、5、または10%(w/v)の乳タンパク質の水分保持効果を評価した。その結果、尿排泄量は乳タンパク質の濃度が高いほど低値を示し、乳タンパク質の水分保持効果は用量依存的であることが確認された。また、十分な水分保持効果を得るため

には、乳タンパク質は5%程度の濃度が必要であることが示唆された。

次に、約5%(w/v)の乳タンパク質を添加した乳タンパク質強化飲料(MPD)の水分保持効果を同様の方法で評価した。比較対照として、蒸留水(DW)および糖質・電解質配合スポーツ飲料(SD)を用いた。また、クレアチニンクリアランスを測定し、腎臓における水再吸収率を計算した。その結果、MPDは、他の試験飲料よりも高い水分保持効果を示した。また、MPDは他の試験飲料と比較して、腎臓における水再吸収率が高値を示した。

MPD投与後の血漿中インスリン濃度は他の試験飲料と比較して有意な高値を示した。インスリンには腎における水再吸収を促進する効果が報告されていることから、MPDの水分保持効果にインスリンが関係していることが示唆された。そこで、ストレプトゾトシン(STZ)によりインスリン分泌能を欠損させたラットを用いて検討を行ったところ、STZ投与ラットではMPDの水分保持効果が認められなかった。したがって、MPDの水分保持効果に対して、インスリンが関与している可能性が示された。

第2章 ホエイペプチドの小腸における水分吸収促進効果

腸管からの水分吸収は、 Na^+ ・グルコース共輸送体1(SGLT1)による Na^+ とグルコースの吸収によって促進されることが知られている。また、ペプチドトランスポーター1(PepT1)によるペプチド吸収と水分吸収が関係していることを示唆する報告がある。しかし、これまでに、食品に応用可能なペプチドに関する報告は少ない。そこで本章では、乳タンパク質由来ペプチドの一種であるホエイペプチド(WP)の小腸における水分吸収促進効果を評価し、その効果の機序について考察した。

WPは、ホエイタンパク質をエンドペプチダーゼにより分解し、未分解タンパク質を限外ろ過膜処理により除去して調製したものをを用いた。また、比較対照として、市販されている大豆タンパク質の酵素分解ペプチド(SP)から、平均分子量がWPに近いものを選んで用いた。これらのペプチドが水分吸収速度に及ぼす効果を、ラット小腸灌流モデルにより検討した。WP水溶液は、溶媒の生理食塩水およびSP水溶液よりも有意に高い水分吸収速度を示した。WPは0.125~1.0%(w/v)の範囲において、濃度依存的に水分吸収速度を高めた。これらの結果から、WPには高い水分吸収促進効果があることが示された。

WPの作用様式としては、ペプチド自体の作用と、ペプチドが小腸刷子縁のペプチダーゼにより分解されて生じたアミノ酸の作用の2つが考えられる。WPおよびWPと同組成のアミノ酸混合物(AA)の水分吸収促進効果を比較したところ、WPはAAよりも有意に高い効果を示した。この結果から、アミノ酸よりもペプチド自体の作用の方が大きいと推察された。また、PepT1阻害剤である4-アミノメチル安息香酸の添加は、WP水溶液の水分吸収速度を有意に抑制した。WPにおいて、ペプチド吸収速度と水分吸収速度の間には、有意な正の相関が認められた。これらの結果から、WPの水分吸収促進効果に対してPepT1が少なくとも一部関与していることが明らかになった。

WP中の有効成分を検討するため、WPに比較的多く含まれているVal-Leu, Ile-Leu, およびLeu-Leuの水分吸収促進効果を調べた。比較対照として、Gly-Glyを用いた。その結果、Ile-Leuが比較的高い水分吸収促進効果を示したが、Gly-Glyとの間に有意差は認められなかった。WPには、より効果の高いペプチドが存在している可能性があり、今後更なる検討が必要である。

第3章 ホエイペプチド配合飲料の脱水症治療効果

第2章の結果から、WPを配合した飲料は脱水症の早期改善に有効であることが期待された。そこで

本章では、WP を添加した糖質・電解質飲料の脱水症治療効果を検討した。

まず、WP を配合した飲料の組成を最適化するため、ラット小腸灌流試験により、試験飲料中の WP および Na^+ 濃度と水分吸収速度の関係を検討した。この結果をもとに、0.5%(w/v)の WP および 20 mM の Na^+ を配合したホエイペプチド配合飲料 (WPD) を調製した。

利尿剤であるフロセミド投与と絶水によるラット脱水症モデルにおいて、WPD 投与後の血漿量は、WP を添加していない糖質・電解質飲料、および既存の水分補給飲料であるスポーツ飲料よりも早く増加し、高値で平衡に達した。また、蒸留水の摂取後は血漿浸透圧が低下したが、WPD 投与後は血漿浸透圧の低下が蒸留水投与後と比較して抑えられた。

これらの結果から、糖質・電解質飲料への WP 添加は、血漿量を増加させる効果を高めることが示された。WPD は、ヒト脱水症の早期改善に対しても有効であることが期待される。

総括

本研究では、乳タンパク質および乳タンパク質由来ペプチドの水分補給に関する機能とその水分補給法への応用を検討した。

第 1 章では、乳タンパク質が用量依存的な水分保持効果を持っていることを示した。その効果を水分補給飲料として応用するために、乳タンパク質強化飲料を調製し、水や一般的なスポーツ飲料よりも水分保持効果が高いことを示した。その機序として、腎の水再吸収促進が関与していることを示し、インスリンが関与している可能性を示した。

第 2 章では、ホエイペプチドの小腸における水分吸収促進効果を検討した。ホエイペプチドの水分吸収促進効果は、大豆ペプチドや同組成のアミノ酸混合物よりも高いこと、そしてその効果に PepT1 が少なくとも一部関与していることを示した。

第 3 章では、ホエイペプチドの効果的な水分吸収作用を水分補給法に応用するため、ホエイペプチドおよび Na^+ 濃度を最適化したホエイペプチド飲料を調製した。利尿剤投与と絶水によるラット脱水モデルを用いて、糖質・電解質飲料へのホエイペプチドの添加は、血漿量をより早く、より多く増加させる効果があることを示した。

本研究により、乳タンパク質および乳タンパク質由来のホエイペプチドを用いることで、それぞれ水分保持効果、小腸における水分吸収促進効果を高めることができることを示した。本研究は、脱水症の予防および治療のための飲料開発における基礎的な知見を提供するものである。