

学位論文題名

Study on Developing Appetite-Suppressive and CCK-releasing Food Peptides Derived from Dietary Proteins

(CCK分泌刺激を介した摂食調節作用を有する
食品たんぱく質由来ペプチドに関する研究)

学位論文内容の要旨

Introduction

The prevalence of life style-related diseases such as obesity and diabetes has become an increasing problem around the world. Overeating with hunger is thought to be a course for developing these life-style related diseases. Development of appetite-suppressive agents to incorporate as functional food may be a good approach for the prevention of these diseases, particularly by reducing their risks through improved dietary practices in daily life.

Some appetite-suppressive food peptides such as soybean β -conglycinin peptides induce satiety by stimulating secretion of a gut hormone, cholecystokinin (CCK). Unlike many functional peptides with other specific health benefits, no notable works have been done for the development of CCK-releasing peptides to apply functional foods and for understanding their stimulatory mechanisms. Searching for new CCK-releasing and appetite-suppressive peptides together with understanding the underlying mechanisms would be an attractive target for the development of anti-obesity, anti-diabetic functional food components.

Objectives

The present study investigated appetite-suppressive and CCK-releasing activities in peptides derived from different proteins of commonly edible and unconventional origins after various enzymatic hydrolysis. The CCK-releasing activities were examined in the murine

enteroendocrine cell (EEC) line STC-1 and some of the highly active CCK-releasing peptides were investigated for appetite-suppressive effects in rats compared with the known CCK-releasing appetite-suppressive peptides. Some potent CCK-releasing peptides were subsequently characterized for defining parent protein or active peptide structures.

Findings

1. Among peptones derived from several dietary animal proteins, pork peptone (PorkP) suppressed food intake correspondingly with binding to the rat small intestinal brush-border membrane and potently stimulated CCK secretion from the EECs, which suggests that peptic hydrolysis unmasks highly bioactive CCK-releasing peptides in pork protein.
2. An underexploited legume, Country beans (*Dolichos lablab*) derived peptides – Country bean peptone (CBP), had highest stimulation in CCK secretion from the EECs among three legumes investigated including the known CCK-releasing β -conglycinin peptides.
3. The active CCK-releasing peptides in CBP are originated from ‘Dolicholin’ – a newly identified Phaseolin-like protein in Country beans. The ‘Dolicholin’ amino acid sequence is highly homologous with several legume proteins including soybean β -conglycinin. These findings laid a ground for studying structure-function relationships of food peptides by comparison of similar legume proteins and peptides in CCK-releasing activities.
4. Boiled water extracts of Brewer’s yeast BY-G (BW) – a byproduct of brewing with rich source of proteins, potently stimulated CCK secretion despite very low peptide content, indicating that peptides in BW have very high CCK-releasing properties. The activity is originated from approximately 14 kDa peptides.

In summary, the appearance of appetite-suppressive peptides in pork meat may benefit this commonly edible protein to develop as functional food for human consumptions. The potent CCK-releasing Country beans and Brewer’s yeast peptides are also anticipated to be promising candidates for appetite-suppression. The physiological benefits have once been proven; these bioactive peptides can be incorporated as functional foods which may help researchers to plan and design desired food factors in our daily life and let people promote an active life-style by healthy food choice with the purpose of controlling increased hunger for the prevention of obesity and diabetes.

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	原	博
副 査	教 授	浅 野	行 蔵
副 査	教 授	木 村	淳 夫
副 査	助 教	比 良	徹

学 位 論 文 題 名

Study on Developing Appetite-Suppressive and CCK-releasing Food Peptides Derived from Dietary Proteins

(CCK分泌刺激を介した摂食調節作用を有する
食品たんぱく質由来ペプチドに関する研究)

本論文は、104 頁からなる英語論文であり、図 31 と表 5 を含み、参考論文 2 編が添えられている。

世界中で肥満や糖尿病が増加しているが、これらの予防あるいは病態の改善を難しくしているのは食欲の亢進である。本研究はこの課題に対して、食欲抑制作用のある消化管ホルモン、コレシストキニン (CCK) に着目して、このホルモン分泌を促進する食品成分を探索している。すでに、大豆たん白質に含まれる特定のペプチドに CCK 分泌促進作用が見いだされていたが、ここではさらに広範な食品素材から、ペプチドを中心に成分を抽出して活性を評価している。活性評価には CCK 産生培養内分泌細胞を使い、抽出された成分をスクリーニングした結果、バングラデシュで常食される Country bean (*Dilichos lablab*、和名、ふじ豆) から抽出されるペプチドに、極めて強い CCK 分泌活性を見いだした。さらに、そのペプチドを含む、元の豆たんぱく質を同定した。また、別の食品素材としてビール酵母や畜肉からも、CCK 分泌を強く刺激するペプチドを見いだしている。畜肉ペプチドに関しては、実際に実験動物であるラットの摂食を抑制することも確認している。

以下、主要な結果である。

1. 数種のマメから、種々の食品用のたんぱく質分解酵素を用いてペプチドを調製して、培養内分泌株細胞、STC-1 を用いてそれらペプチドの CCK 分泌活性を測定した。その結果、これまで知られていた、大豆 β コングリシニンペプチドより、遙かに強力な CCK 分泌刺激活性をもつ、Country bean たんぱく質部分分解物（ペプチド）を見いだした。
2. Country bean よりたんぱく質を抽出し、硫酸分画法とゲル濾過カラムによる分子量分画法により、抽出されたたんぱく質を分画した。これら分画をペプシンで部分分解して、それぞれペプチドを調製し、STC-1 を用いて活性を測定、Country bean 中の 51kDa の Phaseolin 様たんぱく質から調製したペプチドに、強力な CCK 分泌活性を見いだした。この活性ペプチドを内包する Phaseolin 様たんぱく質を、“dolicholin”と命名した。また、N 末端アミノ酸配列と、内部アミノ酸配列の一部を同定、これらを基に全アミノ酸配列も決定した。
3. ビール酵母から、熱水およびたんぱく質分解酵素でその成分を抽出、たんぱく質分解物に CCK 分泌活性を見だし、さらに、熱水抽出物からも同等の活性を見いだした。この活性成分は、プロナーゼ処理やさらなる分画により 14kDa のペプチドであることを推定した。
4. 数種の畜肉からペプシン加水分解物を調整し、CCK 分泌活性を測定したところ、豚肉のペプシン分解物に強い CCK 分泌活性が見いだされた。このペプシン分解物を、絶食させたラット胃内に投与して、30 分後に基本食を摂食させたところ、50 mg / rat 以上の投与でラットの摂食量が有意に抑制された。

本論文では、食欲を抑制する消化管ホルモンである CCK 分泌を強力に刺激する、いくつかのペプチドを発見している。さらに、そのひとつの起源を同定し、また一方で酵母より熱水抽出という実用性の高い方法で抽出される活性ペプチドも見いだしている。これらのペプチドは、血中に吸収されることなく、消化管の管腔内で作用を発現するところに大きな特徴と研究の独創性があり、また安全性の高い食欲抑制法の提供も可能にする。これらの結果は、世界的に問題になっている、肥満や糖尿病の予防、治療への応用が可能で、基礎的な面とともにその実用性からも非常に高く評価できる。

よって、審査員一同は、カオサル ニアズ ビン スフィアンが博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。