

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-169129

(P2008-169129A)

(43) 公開日 平成20年7月24日(2008.7.24)

(51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)		A 6 1 K	37/02	4 B 0 1 8
A 6 1 P 1/16 (2006.01)		A 6 1 P	1/16	4 C 0 8 4
A 2 3 L 1/305 (2006.01)		A 2 3 L	1/305	

審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2007-2083 (P2007-2083)	(71) 出願人	504300088 国立大学法人帯広畜産大学 北海道帯広市稲田町西2線11番地
(22) 出願日	平成19年1月10日 (2007.1.10)	(71) 出願人	393017535 コスモ食品株式会社 東京都中央区日本橋小伝馬町12番2号
		(71) 出願人	596075417 財団法人十勝圏振興機構 北海道帯広市西22条北2丁目23番地
		(74) 代理人	100078662 弁理士 津国 肇
		(74) 代理人	100113653 弁理士 東田 幸四郎
		(74) 代理人	100116919 弁理士 齋藤 房幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 水溶性ポテトペプチドを含む、肝機能改善剤

(57) 【要約】

【課題】 安全性及び肝機能改善機能に優れた肝機能改善剤の提供。

【解決手段】 水溶性ポテトペプチドを含む、肝機能改善剤。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

水溶性ポテトペプチドを含む、肝機能改善剤。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、水溶性ポテトペプチドの肝機能改善剤としての利用に関する。

【背景技術】**【0002】**

肝疾患治療薬としてはグリチルリチンや、小柴胡湯等の漢方薬など数種の薬剤が用いられているが、その選択肢は少なく、新たな肝疾患治療薬の開発が望まれている。同様に、肝機能障害の予防・改善を目的とした機能性食品としてウコン等が数種の食品が利用されているがその選択肢は少なく、新たな肝機能障害予防・改善作用を有する機能性食品の開発が望まれている。

10

【0003】

また、現時点では肝機能障害の予防・改善効果をヘルスクレームとした特定保健用食品や栄養機能食品は存在しないことから、安全性が高く、機能性の確かな肝機能障害予防・改善食品の開発が強く望まれている。

【0004】

ダイズタンパク質は、血中のコレステロールやトリグリセリド濃度を低下させる脂質代謝調節作用を有することが古くから知られている。また、ジャガイモ由来のペプチド混合物（ポテトペプチド）がアンジオテンシン変換酵素阻害活性を有することも知られている（特許文献1）。さらに、ポテトペプチドが、不適切な食生活又は運動不足に起因する生活習慣病を予防又は改善する作用を有することも知られている（特願2006-125677）。しかし、ポテトペプチドの別の生理機能は知られていなかった。

20

【特許文献1】特開2000-4799号公報

【発明の開示】**【発明が解決しようとする課題】****【0005】**

安全性及び肝機能改善機能に優れた肝機能改善剤を提供する。

30

【課題を解決するための手段】**【0006】**

本発明者は、上記課題を解決するために鋭意努力した結果、水溶性ポテトペプチドが、肝機能障害を抑制する作用を有することを見出し、本発明を完成させた。すなわち、本発明は、水溶性ポテトペプチドを含む、肝機能改善剤に関する。

【0007】

本発明の水溶性ポテトペプチドは、ジャガイモ由来タンパク質をタンパク質分解酵素で消化して得ることができる。本発明の水溶性ポテトペプチドの分子量は、最大10kDaである。

【0008】

本発明の水溶性ポテトペプチドの製造原料であるポテトプロテインとしては、馬鈴薯でん粉製造時に副成するポテトプロテインなど、従来公知のポテトプロテインであればどのようなものでも使用することができる。

40

【0009】

本発明の水溶性ポテトペプチドは、ポテトプロテインを、タンパク質分解酵素で処理することによって得ることができる。タンパク質分解酵素は、任意の従来公知のタンパク質分解酵素を用いることができるが、好ましくは、「アルカラゼ2.4L」（登録商標）や「フレーバーザイム」（登録商標）（ノボノルディスクインダストリー）を用いることができる。

【0010】

50

本発明におけるポテトプロテインを原料に用いた水溶性ペプチドの製造においては、まずポテトプロテインの5～15重量%の水懸濁液にアルカリ剤、好ましくは、水酸化ナトリウムを加えてpHを6.0～12.0、好ましくは7.5～8.0に調節する。

【0011】

pHを調節後80～90に加熱することが、雑菌の混入防止及びポテトペプチドの変性による酵素反応促進の面から望ましい。

【0012】

「アルカラーゼ2.4L」（登録商標）は、40～60、好ましくは50～55で作用させる。pHが7付近まで低下した時点で、「フレーバーザイム」（登録商標）を添加して、これらの酵素を継続的に作用させる。

【0013】

アルカリを加えてpH7.5～8.0に調節した10重量%のポテトペプチドの水懸濁液を酵素処理する場合、まず80～90に加熱後液温を50まで冷却し、「アルカラーゼ2.4L」をポテトプロテイン1kgあたり、10アンソン単位以上添加して50で1～5時間反応させpHが7付近まで低下させ、続いて「フレーバザイムL」をポテトプロテイン1kgあたり1500u（ユニット）以上添加し、さらに50で15時間以上反応させることにより、本発明の水溶性ポテトペプチドを得ることができる。

【0014】

酵素処理後の反応液を80以上に加熱し、反応液中の酵素を失活させた後、反応液中の不溶分を濾過によって除去する。得られた濾液中にはポテトペプチド中に混在する馬鈴薯特有のポリフェノールが含まれているため、濾液は緑がかった暗色を呈しており、このままでは外観上多様な用途に好ましく適用することができないことから、さらに精製することが望ましい。混在するポリフェノールは、微量金属、特に鉄と反応して呈色している場合が多く、活性炭による吸着脱色はほとんど効果がない。

【0015】

そこで、イオン交換樹脂を利用すると、緑がかった暗色が除かれて、淡褐色の液が得られ、この液に少量の活性炭を加えて濾過すると、ほとんど無色に精製することができる。

【0016】

このようにして得られた精製液を噴霧乾燥することにより、白～淡黄色の粉末状の本発明の水溶性ポテトペプチドが高収率で得られる。得られた水溶性ポテトペプチドの分子量分布は、分子量100～500のペプチドが約20～30%、分子量500～3000のペプチドが約70～80%である。また、この水溶性ポテトペプチドをゲル濾過剤を用いて分画処理することにより所望の画分を得ることができる。

【0017】

本発明の肝機能改善剤は、上記の方法で製造した水溶性ポテトペプチドを用い、常法に従って公知の医薬用無毒性担体と組み合わせて製剤化することができる。本発明の肝機能改善剤は、種々の剤型での投与が可能であり、例えば、経口投与剤としては錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、ソフトカプセル剤等の固形剤、溶液剤、懸濁剤、乳剤等の液剤、凍結乾燥製剤等が挙げられ、非経口投与剤としては、注射剤のほか、坐剤、噴霧剤、経皮吸収剤等が挙げられ、これらの製剤は製剤上の常套手段により調製することができる。上記の医薬用無毒性担体としては、例えば、グルコース、乳糖、ショ糖、澱粉、マンニトール、デキストリン、脂肪酸グリセリド、ポリエチレングリコール、ヒドロキシエチルデンプン、エチレングリコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、アミノ酸、アルブミン、水、生理食塩水等が挙げられる。また、必要に応じて、安定化剤、滑剤、湿潤剤、乳化剤、結合剤等の慣用の添加剤を適宜添加することができる。本発明に関わる肝機能改善剤において、水溶性ポテトペプチドの投与量は、患者の年齢、体重、症状、疾患の程度、投与スケジュール、製剤形態等により、適宜選択・決定されるが、例えば、一日あたり0.01～10g/kg体重程度とされ、一日数回に分けて投与してもよい。

【0018】

また、本発明の水溶性ポテトペプチドは、天然成分であることから安全性が高いと考え

10

20

30

40

50

られ、肝機能障害の予防・改善を図るための機能性食品として摂取することもできる。本発明の水溶性ポテトペプチドを含有することを特徴とする機能性食品は、特定保健用食品、栄養機能食品、又は健康食品として位置付けることができる。

【0019】

本発明の機能性食品は、上記本発明に係るポテトペプチドを含むものであればよい。したがって、当該ポテトペプチドのみからなる食品でもよく、当該ポテトペプチド以外の成分を含む食品でもよい。本発明のポテトペプチド以外の成分としては、肝機能改善作用を阻害しないものであれば特に限定されるものではない。具体的には、例えば、当該ポテトペプチド以外のジャガイモ成分、植物および動物性タンパク質、炭水化物、食物繊維、脂質、各種ビタミン、ミネラル類等を挙げることができる。食品の形状についても特に限定

10

【0020】

本発明の機能性食品素材は、上記ポテトペプチドを含むものであるため、肝機能改善効果を有している食品である。

【0021】

本発明に係る食品の具体例としては、例えば、いわゆる栄養補助食品（サプリメント）として本発明に係る食品素材を含む錠剤、顆粒剤、散剤、ドリンク剤等を挙げることができる。これ以外に、当該食品素材を含む調味料、菓子、パン、惣菜、飲料水等を挙げること

20

【0022】

本発明に係る食品素材および食品、並びに医薬品はヒトを対象とするものであることはいうまでもないが、ヒトに限定されるものではなく、広く動物全般を対象とすることができる。特に、肝機能障害に陥っているイヌやネコ等の愛玩動物は対象として好適である。

【実施例】

【0023】

以下本発明を実施例によりさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によって限定されるものではない。

【0024】

実施例1（ポテトペプチドの製造）

ポテトプロテイン450kgに水4500L及び水酸化ナトリウム2kgを加え、50で10分間攪拌して懸濁させた。この懸濁液を10分間放置し、上清約3000Lを廃棄し、新たに水約3000Lを加え、50で10分間攪拌して懸濁させ、この懸濁液を10分間放置した。この懸濁液を10分間放置し、上清約3000Lを廃棄し、新たに水約3000Lを加えた。この懸濁液を90～95で15分間加熱することによって、懸濁液を殺菌した。次いで、水2000Lを加えた。

30

【0025】

これに「アルカラーゼ2.4L」3gを加えて、攪拌しながら50～52で4時間反応させたところ、反応液のpHは6.9であった。この反応液に、「フレーバザイム1000L」0.75gを加え、攪拌しながら50～52で、16時間反応させた。反応終了後、90～95に加熱し15分間保持して酵素を失活させて18時間静置放冷した。放冷後の反応液は、上澄部分が約1/3で、残余は軽質のコロイド様の不溶分であり、またそのpHは6.8であった。

40

【0026】

上記放冷後の反応液に濾過助剤としてケイソウ土105kgを加えて15分間攪拌した後吸引濾過して、残渣を水洗し、黒ずんだ灰褐色の濾液700mlを得た。濾液を攪拌しながら酢酸1.2mlを加えてpH5.5に調整し、活性炭20gを加えて15分間攪拌した後吸引濾過し、残渣を水洗して濾液740mlが得られたが、濾過途中から清澄だったものが徐々に黒ずんだ灰色に変わり、かつ、わずかに濁りを生じていた。この濾液を200mlになるまで減圧濃縮した後、凍結乾燥して灰色の乾燥物113kgを得た。この

50

乾燥物は水分 0.83 重量%、強熱残分 4.3 重量%、全窒素 12.3 重量%であった。

【0027】

実施例 2 (ラットへの影響)

肝機能への影響

まず、ラット血清中の GOT 及び GPT に対する影響を検討した。市販飼料摂取群を対照群とした。処理群は、カゼイン (CAS)、ハイアミロースコーンスターチ (HAS)、PPI (ポテトペプチド) 及び PPI/H S (PPI 及び HAS の混合物) の 4 群を設け、D - ガラクトサミンを 300 mg/kg の用量で腹腔内投与し肝障害を誘導した。D - ガラクトサミン投与 20 時間後に採血し、血清中の GOT 及び GPT を測定した。その結果を図 1 に示した。ポテトペプチド摂取群では、血清中の GOT 及び GPT 値が顕著に減少し、ポテトペプチドが肝機能障害を改善する作用を有することが立証された。

10

【0028】

次いで、ポテトペプチドによる肝機能改善作用のメカニズムを解明するために、肝臓中のグルタチオン系の酵素活性を測定した。

【0029】

使用動物：6 週齢の SD 系雄ラットを日本チャールズリバー株式会社から購入した。飼育条件は、室温 23 ± 1 、湿度 $60 \pm 5\%$ 、明暗周期 12 時間 (明 07:00、暗 19:00) とした。ラットはプラスチックケージ内で個別に飼育した。ラットは、Guide of the Care and Use of Laboratory Animals に従って飼育した。一群当たりのラットの数は、6 匹とした。

20

【0030】

7 日間普通食を摂取させた後、10 日間試験食を摂取させ、2 日後にラットを解剖し肝臓を摘出した。また、肝障害モデルでは、D - ガラクトサミンを 300 mg/kg の用量で腹腔内投与し、20 時間後に採血及び解剖した。

【0031】

ポテトペプチド (PPI) 飼料の配合組成 (g/kg diet)

ポテトペプチド	250
コーンスターチ	655
コーンオイル	50
ミネラル類 (AIN 76)	35
ビタミン類 (AIN 76)	10

30

なお、カゼイン飼料 (Casein) では、ポテトペプチドに代えてカゼインを同量配合し、大豆タンパク質飼料 (SPI) では、ポテトペプチドに代えて大豆タンパク質を同量配合し、米タンパク質飼料 (E-RPI) では、ポテトペプチドに代えて米タンパク質を同量配合した。見かけの消化率は、Casein が 95、SPI が 93、PPI が 90、そして E-RPI が 94 であった。

【0032】

試験期間終了時での体重 (g)、体重変化 (g/15 日間)、試験食摂取量 (g/15 日間) 及び飼料効率を示した。なお、数値の右の記号は、分散分析及びダンカンの多重範囲検定によって解析した場合に有意差 ($p < 0.05$) があることを示す。

40

群	Casein	SPI	PPI	E RPI	市販
体重	312bc	303ab	284ab	297ab	326c
体重変化	94.1b	85.0b	67.7ab	80.1ab	110.8c
摂取量	277b	277b	247b	282b	329c
飼料効率	0.33b	0.30ab	0.27a	0.28a	0.33b

【0033】

試験食終了後の体重は、PPI を摂取したラットにおいて低かった。したがって、PPI の摂取量は、他の餌に比較して少ないものであった。

【0034】

試験終了後の肝臓重量 (g) 及び体重当たりの肝臓重量 (肝臓 g / 100 g 体重) を示し

50

た。なお、数値の右の記号は、分散分析及びダンカンの多重範囲検定によって解析した場合に有意差 ($p < 0.05$) があることを示す。

群	Casein	SPI	PPI	E RPI	市販
肝臓重量	14.9b	12.6a	12.6a	12.5a	15.3b
/ 体重	4.67b	4.16a	4.44a	4.21ab	4.69b

【 0 0 3 5 】

試験終了後の解剖された肝臓の重量は、市販食及カゼインと比べて、大豆タンパク質、米タンパク質及びポテトペプチドにおいて少ない値を示した。

【 0 0 3 6 】

試験期間終了後の肝臓中の還元型グルタチオン (G S H) 含量 (mg/g肝臓) 及びメタロチオネイン (M T) 含量 ($\mu\text{mol}/\text{min} \cdot \text{mg}$ タンパク質) とグルタチオンSトランスフェラーゼ (G S T) 活性 (nmol NADPH酸化/min \cdot mgタンパク質) 及びグルタチオンペルオキシダーゼ (G P X) 活性 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 肝臓) を示した。なお、数値の右の記号は、分散分析及びダンカンの多重範囲検定によって解析した場合に有意差 ($p < 0.05$) があることを示す。

群	Casein	SPI	PPI	E RPI	市販
G S H	1.39b	1.12a	1.35b	1.39b	1.44b
G S T	1.78a	1.86ab	2.49c	1.76ab	2.13b
G P X	704	559	576	667	759
M T	43.0	58.0	52.6	72.3	44.4

【 0 0 3 7 】

肝臓に含まれるグルタチオンSトランスフェラーゼ (G S T) 活性は、ポテトペプチド摂取群において、他の4つの試験食に比べて有意に高い値を示した。

【 0 0 3 8 】

さらに、この肝臓からmRNAを抽出し、DNAマイクロアレイを用いて遺伝子発現量を解析したところ、ポテトペプチド摂取群でグルタチオンSトランスフェラーゼ μ タイプ3、グルタチオンSトランスフェラーゼ 2、及びグルタチオンペルオキシダーゼ3の3つの遺伝子発現量が、1.5倍を超えて増加していることが明らかとなった。

【 0 0 3 9 】

以上のデータから、ポテトペプチドが肝臓におけるグルタチオンSトランスフェラーゼの活性を増加させる効果があることが証明された。

【 0 0 4 0 】

近年、薬物や食品添加物など多様な化合物が環境中に増加し蓄積し、ヒトを始めとする哺乳動物はこれらに曝されるようになってきている。これらの化合物が生体異物として認識されると、主として肝臓で解毒代謝される。この解毒代謝には、チトクロームP450と呼ばれる一群の酵素によって触媒される水酸化反応を主体として生体異物の水溶性を高める第一相と、第一相の代謝物やその他の生体異物をグルタチオン等と抱合するかあるいはメチル化してより高い水溶性を持った代謝産物へと変換して体外への排出を容易化する第二相とがある。グルタチオンSトランスフェラーゼは、第二相解毒代謝系に關与する酵素として知られている。

【 0 0 4 1 】

したがって、グルタチオンSトランスフェラーゼは生体異物からの重要な防御機構ひいては発ガンに対する防御機構を担っているといえ、本発明の肝機能改善剤が生体内においてグルタチオンSトランスフェラーゼを増量しあるいはその活性を増強することにより、生体防御機能の向上や生体異物によるDNA損傷等の除去も期待される。

【 産業上の利用可能性 】

【 0 0 4 2 】

本発明の肝機能改善剤は、肝機能の改善のために有用である。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 4 3 】

【 図 1 】 ラット血清中のGOT及びGPTに対する影響

10

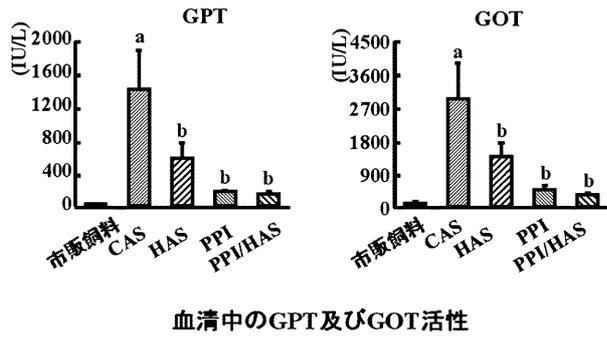
20

30

40

50

【 図 1 】



フロントページの続き

(72)発明者 福島 道広

北海道帯広市西18条南37丁目3-5

(72)発明者 森田 達也

静岡県静岡市清水区折戸1丁目20-10 合同宿舎三保第一住宅10-22

(72)発明者 得字 佳彦

北海道帯広市稲田町西2線15番地 畜大宿舎81-1

(72)発明者 島田 謙一郎

北海道帯広市稲田町西2線15番地 畜大宿舎25-2

(72)発明者 大西 正男

北海道帯広市西22条南2丁目26-3

(72)発明者 塩地 伸夫

北海道河西郡芽室町東6条2丁目3 クリーンハイツD号

(72)発明者 佐々木 香子

北海道帯広市西17条南4丁目41-6 公共2-203号

(72)発明者 大庭 潔

北海道帯広市西3条南27丁目1-17 サンブライトハイツ1-203

Fターム(参考) 4B018 MD22 MD53 ME14 MF12

4C084 AA01 AA02 BA03 BA44 CA13 NA14 ZA75