

令和3年度鶏肉イミダゾールジペプチドに関する解析

2022年3月20日

九州大学大学院農学研究院

片倉 喜範



はじめに

イミダゾールジペプチドとは、イミダゾール基をもつアミノ酸の総称であり、その中でも、アンセリンやカルノシンがよく知られている。動物種により組織中のアンセリン、カルノシン構成比および含量が大きく異なっていることがよく知られている。ヒトでは、骨格筋や脳に多く含まれており、様々な動物種の筋肉組織、特に鶏ムネ肉にも多く含まれていることが知られている。このイミダゾールジペプチドはこれまで、抗酸化作用、緩衝作用、抗疲労作用等、多くの機能を有することが報告されているが、最近行われた中高齢者ボランティアに対する二重盲検ランダム化比較試験の結果から、記憶機能改善効果を示すことが明らかとなっており、イミダゾールジペプチドの多機能性に最近注目が集まっている。

ここでは、様々な原産地由来の鶏肉のイミダゾールジペプチド含量の測定法の開発とそれに基づきそれぞれの鶏肉の評価を行った。

材料と方法

## 鶏肉

ここでは、4種の鶏肉（図1）を用い、イミダゾールジペプチド含量の測定を行った。



図1 イミダゾールジペプチド含量を測定した鶏肉

### イミダゾールジペプチド含量測定法（図2）

まずそれぞれの鶏肉 1.0 g を量りとり、水 15 mL 加えた。その後、ポリトロ  
ン(Polytron PT-1200E, シャフト:PT-DA 12/2EC-E157、セントラル科学貿易)  
を用い、ホモジェナイズを行った。完全に一様にホモジェナイズされた溶液から  
5 mL を量りとり、3%のスルホサリチル酸を 5 mL 加え、タンパク質を変性させ  
た。4°C、3,500 rpm で 30 分間遠心分離後、上清をとり、0.45  $\mu$ m フィルター、  
引き続いて、0.22  $\mu$ m フィルターでフィルトレーションを行った。ここで得ら

れた溶液を 10 倍希釈し、イミダゾールジペプチド含量測定のためのサンプルとした。

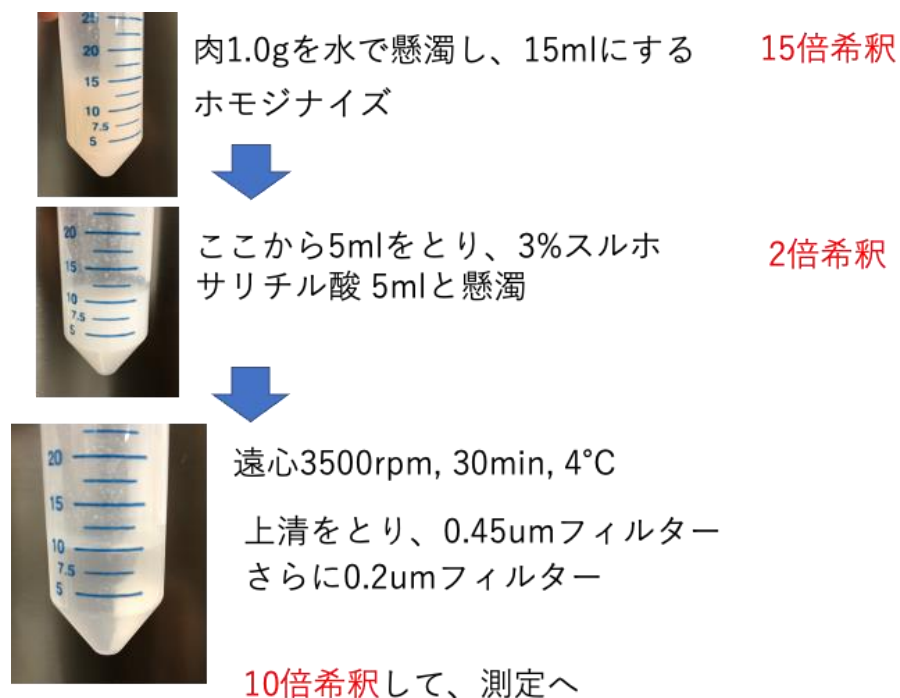


図2 鶏肉抽出液の調製法

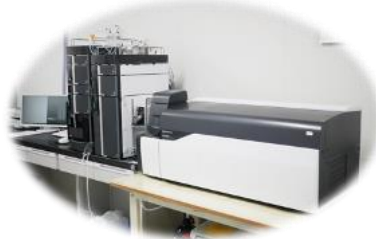
### LCMS を用いたイミダゾールジペプチド含量測定 (図 3)

次に得られた抽出液中のイミダゾールジペプチド含量を LCMS-8500(島津製作所)を用いて測定した。カラムには Discovery HS F5-3 (Supelco) を、移動相には 0.1%ギ酸-0.1%ギ酸アセトニトリル溶液を用いて、カルノシンは、m/z 227.10 > 110.05 として、アンセリンは、m/z 241.10 > 109.10 として検出した。カルノシンおよびアンセリンの定量は、標準試薬を用いた外部標準法により行

った。

#### 分析条件

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| <b>HPLC (Nexera XR, 島津製作所)</b> |  |
| カラム                            | Discovery HS F5-3 (2.1 x 150 mm, 3 μm, SPELCO)   |
| カラム温度                          | 40 °C  |
| 移動相                            | A: 0.1% ギ酸水溶液<br>B: 0.1% ギ酸アセトニトリル溶液   |
| グラジエント                         | B 0% (0-2 min.), 0-25% (2-5 min.), 25-35% (5-11 min.), 35-95% (11-15 min.), 95% (15-20 min.) |
| 流速                             | 0.25 mL/min.   |
| 分析時間                           | 25 min.  |
| 導入量                            | 3 μL   |
| <b>MS (LCMS-8050, 島津製作所)</b>   |  |
| イオン化法                          | ESI (+)  |
| インターフェイス電圧                     | 4.0 kV   |
| ネプライザーガス流量                     | 3.0 L/min.   |
| 乾燥ガス流量                         | 10 L/min.  |
| ヒーティングガス流量                     | 10 L/min.  |
| インターフェイス温度                     | 300°C  |
| 脱溶媒管温度                         | 250°C  |
| ブロックヒーター温度                     | 400°C  |
| MRM                            |  |
|                                | Carnosine: $m/z$ 227.10 > 110.05, CE -<br>Anserine: $m/z$ 241.10 > 109.10, CE -17.0 V        |



#### 測定内容

- ・標準品測定、検量線作成
- ・サンプル測定

図3 LCMS-8500 を用いたイミダゾールジペプチドの定量解析

#### 結果

以上のように、タイ産モモ肉、タイ産ムネ肉、ブラジル産モモ肉、日本産ムネ肉をサンプルとして用い、それぞれ 100 g 中に含まれるカルノシン、アンセリン含量を測定し、それぞれの鶏肉 100 g に含まれるイミダゾールジペプチド含量を測定した (図4)。

\* 肉100g中

|            | カルノシン(mg) | アンセリン(mg) | カルノシン+アンセリン(mg) |
|------------|-----------|-----------|-----------------|
| 1 タイ産もも肉   | 98.0      | 124.43    | 222.5           |
| 2 タイ産むね肉   | 203.6     | 458.54    | 662.1           |
| 3 ブラジル産もも肉 | 90.1      | 70.9      | 161.0           |
| 4 日本産むね肉   | 325.1     | 548.82    | 873.9           |

図4 イミダゾールジペプチド含量

以上の結果から明らかなように、国産ムネ肉が最も多くのイミダゾールジペプチド（カルノシン、アンセリン）を含んでいることが明らかとなった。このイミダゾールジペプチド含量の違いが何に起因しているかについては今後明らかにすべきではあるが、遺伝的・環境的要因により、引き起こされているものと考えられる。特に環境要因として、飼育環境、餌、鶏肉の処理から保管・保蔵の状態などが、その原因の一端となっている可能性があり、今後さらに検討すべき点として考えられる。

#### 考察

イミダゾールジペプチドにはこれまで多くの機能が報告されている。特に、抗酸化作用、抗糖化作用、疲労回復効果などの生理機能が広く知られている。最近になり、アルツハイマー病モデルマウスを用いた解析や中高齢者ボランティア

アに対するヒト介入試験の結果から、イミダゾールジペプチドには記憶機能を改善する効果があることが明らかになりつつある。このイミダゾールジペプチドの示す脳機能改善効果の詳細な作用機序は未だ明らかになっていないが、これまでの研究で、イミダゾールジペプチドにより活性化された腸管を介して脳機能が活性化されることが報告され、その分子基盤として、腸管細胞由来の膜小胞であるエクソソームの関与が推定されている。

さきのヒト試験の結果から、イミダゾールジペプチドが記憶機能改善効果を示すためには1日1g程度の摂取が必要であるとされており、その意味でも、なるべく多くのイミダゾールジペプチドを含む鶏肉を摂取することが、イミダゾールジペプチドの持つ機能性を発揮させるためにも重要であると考えられる。その点、今回試験を行った日本産ムネ肉中には、他国の鶏肉（タイ産モモ肉、タイ産ムネ肉、ブラジル産モモ肉）よりもより多くのイミダゾールジペプチドが含まれていることが明らかとなり、食事を通じて、イミダゾールジペプチドの健康機能を発揮させるためにも、日本産ムネ肉を取ることの重要性が明らかとなった。特に、日本産ムネ肉中には、タイ産ムネ肉の約1.3倍のイミダゾールジペプチドが含まれており、このことは鶏肉必要量として考えると、日本産ムネ肉はタイ産ムネ肉の77%程を摂取すれば良いことになる。記憶機能改善には1日1gのイミダゾールジペプチドが必要であることを考えると、日本産ムネ肉であれば114



g、タイ産モモ肉であれば 450 g、タイ産ムネ肉であれば 150 g、ブラジル産モモ肉であれば 620 g 摂取する必要があることを示しており、日本産ムネ肉であれば、比較的少量の鶏肉の摂取で、イミダゾールジペプチドの健康機能が発揮されるものと考えられる。