

アンセリンの摂取がヒト血清アディポネクチン濃度に及ぼす影響

The Effect of Anserine Ingestion on Human Serum Adiponectin Levels

住澤 知之, 浜崎 眞美, 胸元 孝夫

Tomoyuki Sumizawa, Mami Hamasaki, Takao Munemoto

鹿児島女子短期大学

In our previous report, it was suggested the daily ingestion of dried-bonito broth might increase the human serum adiponectin levels. Anserine (β -alanyl-3-methyl-L-histidine), which is water-soluble antioxidant, is present at high concentration in the muscle of migratory fish such as bonito. Therefore, we investigated whether anserine is involved in the increase of blood adiponectin. The measured amount of anserine in the dried-bonito broth ingested at one time was 12.0 mg and 12.9 mg. Fourteen healthy female subjects ingested a commercially available health food supplement of a fish peptide mixture containing 10% of anserine for 2 months. The amount of anserine taken at one time was 20 mg. Measurement of serum adiponectin concentration was performed before and after the ingestion periods. Although the amount of ingested anserine was larger than that of intake of dried-bonito broth, no significant secretion enhancement of adiponectin was observed. Therefore, anserine may not be involved in increasing adiponectin levels in human serum.

Keywords : Dried-bonito Broth, Anserine, Adiponectin, Lifestyle-related diseases prevention

キーワード : 鰹出汁, アンセリン, アディポネクチン, 生活習慣病予防

はじめに

アディポネクチンは、脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインと呼ばれる生理活性物質の一種で、インスリン感受性の亢進などの作用が言われている¹⁾。そのため、2型糖尿病におけるインスリン抵抗性改善医薬品として、アディポネクチン1型受容体のアゴニストの開発なども行われている²⁾。血中アディポネクチン濃度の上昇は、メタボリックシンドロームや糖尿病の効果的な予防が出来ると期待できる。ラットにおいて、大豆に含まれるタンパク質 β -conglycininが血中アディポネクチン濃度を高めるという報告がなされた³⁾。また、シークワサーなどの柑橘類の果皮等に多く含まれるフラボノイドであるノビレチンも、アディポネクチン分泌を亢進することが報告されている⁴⁾。本研究代表者も、鰹本枯れ節より抽出した出汁の摂取により、ヒトにおいて血清中のアディポネクチン濃度が上昇することを見出している⁵⁻⁷⁾。

水溶性のイミダゾールジペプチドの一種であるアンセリン(β -alanyl-3-methyl-L-histidine)は、無脊椎動物及び大部分の白身魚類にはほとんど認められないのに対し、カツオ、メバチマグロ、ミナミマグロのような回遊魚の筋肉中に多く存在していて、それぞれ筋100 gあたり1070 mg, 1260 mg, 636 mgが含有されている⁸⁾。アンセリンは、その抗酸化活性により、抗疲労性や痛風予防などの機能を有する成分として注目されている^{8, 9)}。そこで本研究では、

市販されているアンセリンを多く含有するフィッシュペプチドの健康食品・サプリメントを用いて、アンセリンがヒトにおいてアディポネクチン分泌を亢進させる可能性について検証を行った。

実験方法

1. 鰹出汁中のアンセリン濃度の測定

3 g ずつ紙パックに詰められた鰹本枯れ節粉砕物(山清水産加工業組合, 鹿児島, 日本) 3 袋より熱湯300 ml で1 分間出汁を抽出した。その100 ml を凍結乾燥後に水20 ml にて再溶解したもの及び140 ml をロータリーエバポレーター RE1-DVJ (IWAKI, 東京, 日本) で20 ml まで減圧加温して7 倍濃縮したものを試料として、アンセリンの分析に供した。アンセリン濃度の分析は、(株)東洋環境分析センター(鹿児島, 日本)に依頼した。

2. 被験者

被験者は、ボランティアでの協力を申し出てくれた、2016年度に鹿児島女子短期大学に在籍する18~36歳の14名とした。本研究は、本学の「鹿児島女子短期大学研究倫理規則」に基づいて行い、研究倫理委員会の審議、承認を経た後に、ヘルシンキ宣言に則り、被験者の倫理・人権・個人情報保護へ配慮の上で実施した。すべての被験者には、研究の目的、方法等を十分説明し、試験参加に際しては、

自由意思に基づく文書による同意を得た。また、すべてのデータは番号による管理及び処理を行い、個人が特定できないようにした。実験の開始にあたり、被験者には、実験期間中に食生活・運動習慣等を変えないことと、アンセリンの摂取記録をつけることを指示した。今回の実験では、14名全員の期間中のアンセリン摂取達成度が80%以上であったため、全ての結果を解析に用いた。

3. 実験の手順

実験に使用したアンセリンは、株式会社 DHC（東京、日本）より購入した。この商品は、マグロやカツオといった回遊魚の特有成分を30倍に濃縮したフィッシュペプチドを主成分とするもので、そのうちの10%がアンセリンであるとされている。そのため、指定された用法通りに1日に3粒を服用した場合、アンセリン60 mgを摂取することになる。被験者には、摂取期間中は用法に従い、毎日、朝、昼、晩の3回（基本的には各食事前に）、各1粒ずつを白湯または水を用いて服用してもらった。アンセリンの摂取期間は、平成28年10月10日～12月8日までの2か月とした。

摂取期間の前後には、身長、体重及び血圧の計測とBody Composition Analyzer in Body 3.0（（株）バイオスペース社、東京、日本）を用いた、体重、筋肉量、体脂肪率、BMI、骨量などの体成分分析及び血液検査のための採血を実施した。採血は、平成28年10月7日と12月9日に行い、血液検査の項目は、クレアチニン、尿酸、グルコース、中性脂肪、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、アディポネクチン、レプチン、インスリンで、分析はすべて（株）SRL（東京、日本）に依頼した。

4. 統計処理

全ての測定値は、平均値±標準偏差で示した。統計処理には、GraphPad Prism ver.5 for Windows（日本語版）（（有）エムデーエフ、東京、日本）を用いた。鰹出汁摂取期間前後の測定値の検定には、対応のあるt検定により評価した。統計的有意水準は、すべて5%未満とした。

実験結果

1. 鰹出汁中のアンセリン濃度

鰹本枯れ節より熱水抽出した鰹出汁を、凍結乾燥により5倍に濃縮した試料に含まれるアンセリンの濃度は0.06 g/100 g、エバポレーションにより7倍濃縮した試料中のアンセリン濃度は0.09 g/100 gであった。従って、鰹出汁100 mlあたりに含まれるアンセリン量は、それぞれ12.0 mgと12.9 mgであると見積もられた。

2. 血液検査値の変化

アンセリン摂取期間前後における、被験者14名の血液中のグルコース、中性脂肪、LDL-コレステロール、HDL-コレステロール、クレアチニン、尿酸、インスリン、レプチン及びアディポネクチンの濃度の平均値を表1にまとめて示す。アンセリン摂取期間の前後で、対応のあるt検定により有意な血液検査値の増減を示した項目はなかった。

血中アディポネクチン濃度の平均値も、アンセリンの摂取後には摂取前と比べるとやや増加（+0.40 mg/mL）していたが、有意差は見出されなかった。図1に、アンセリン摂取期間前後の14名の被験者ごとの血中アディポネクチン濃度を示している。

考察

アディポネクチンは、インスリン抵抗性の改善作用¹⁰⁾や動脈硬化抑制作用¹¹⁾を有すると考えられている代表的な善玉アディポサイトカインとして注目されている。そのため、アディポネクチンの分泌亢進は、糖尿病や動脈硬化の予防につながることが期待される。百歳以上の長寿の女性の血漿アディポネクチンレベルは、若年女性などと比べて有意に高いことなどから、アディポネクチンが寿命と関連する可能性も言われている¹²⁾。本研究代表者は、鰹本枯れ節より抽出した出汁の摂取により、ヒトにおいて血清中のアディポネクチン濃度が上昇することを見出し、報告してきた⁵⁻⁷⁾。既知の鰹出汁中の成分で、アディポネクチンの増加に関わる可能性があるものとしては、ドコサヘキサエン酸（DHA）やエイコサペンタエン酸（EPA）が挙げられる¹³⁾。しかしながら、この報告では高濃度のEPAやDHAを給餌したマウスでの実験結果であるため、本研究代表者が行った鰹本枯れ節出汁の摂取実験で摂取したDHAやEPAの量で、ヒトにおいても血液中のアディポネクチンが十分に上昇するとは考えにくい。そのため、現在までのところ、鰹出汁中のどのような成分が、鰹出汁摂取による血中アディポネクチン濃度の上昇に関与しているのか不明である。

アンセリンは1929年にAckermannらによってガチョウの筋肉より発見された¹⁴⁾ため、ラテン語のガチョウであるanserに因んで名づけられた。アンセリンの生理機能としては、抗酸化作用が知られている¹⁵⁾。アンセリンはカツオやマグロ、サケなどの回遊魚の筋肉中に多く存在している⁸⁾。そこで、今回、鰹出汁アンセリンが血清中のアディポネクチン濃度の上昇に関与している可能性を考え、まず摂取実験で被験者に飲用してもらった鰹本枯れ節より抽出した出汁中のアンセリンの量の測定を行った。その結果、1回の飲用に用いた100 mlあたりの鰹出汁中のアンセリン量は、約12.5 mgであると考えられた。前川らは、枕崎

表1 アンセリン摂取前後の、血液中のグルコース、中性脂肪、LDL-コレステロール、HDL-コレステロール、クレアチニン、尿酸、インスリン、レプチン及びアディポネクチンの濃度

	摂取前	摂取後	<i>p</i> 値 ^a
血糖 (mg/dL)	88.36 ± 4.57	88.50 ± 5.79	0.8617
中性脂肪 (mg/dL)	54.14 ± 15.48	57.14 ± 23.17	0.5526
LDL- コレステロール (mg/dL)	97.07 ± 20.96	95.64 ± 24.08	0.6640
HDL- コレステロール (mg/dL)	63.71 ± 13.67	62.86 ± 13.20	0.5303
クレアチニン (mg/dL)	0.64 ± 0.10	0.62 ± 0.10	0.2834
尿酸 (mg/dL)	4.66 ± 0.82	4.29 ± 1.30	0.3038
インスリン (μIU/mL)	5.71 ± 2.18	6.35 ± 2.59	0.1837
レプチン (ng/mL)	16.89 ± 11.55	14.29 ± 6.10	0.2431
アディポネクチン (mg/mL)	10.50 ± 4.06	10.90 ± 3.43	0.3411

p 値以外の数値は、平均値 ± 標準偏差

^a 対応のある *t* 検定による鰹出汁摂取期間前後での評価

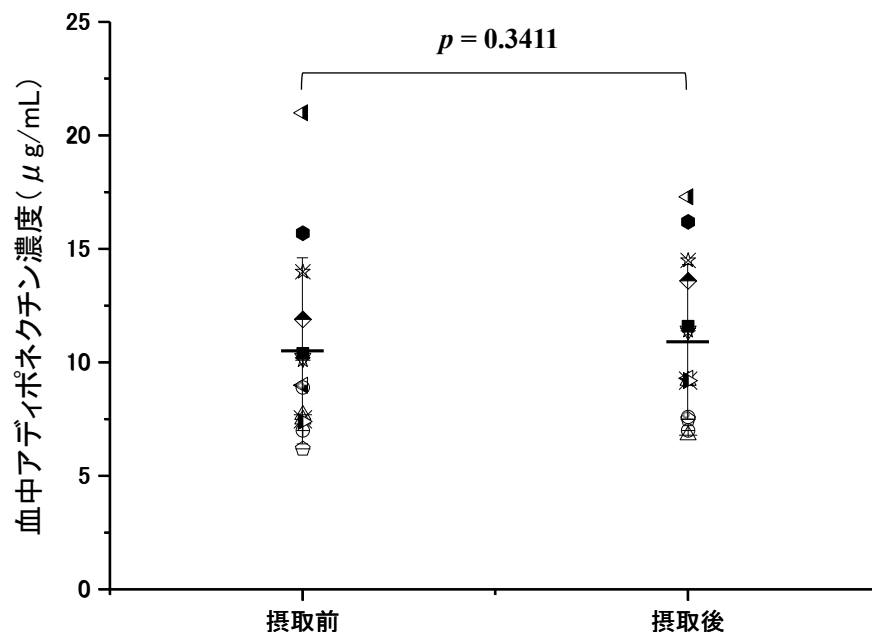


図1 アンセリン摂取期間前後での各被験者の血中アディポネクチン濃度
14名の被験者の血中アディポネクチン濃度の分布を、アンセリン摂取期間前後での血液検査の結果ごとに示した。横線は各検査時の平均値を、上下のひげは標準偏差を示す。

産の鰹荒節 3g を沸騰水にいれ、再沸騰後に火を止めて鰹節が沈むまでの2分間で抽出を行った鰹出汁を用いて、それに含まれるアンセリン量を定量し、報告している¹⁶⁾。その結果によると、鰹荒節から抽出した出汁中には639.0 nmol/ml のアンセリンが含まれるとされている。これより、荒節からとった鰹出汁100 ml あたりには、約15.4 mg のアンセリンが含まれていることになる。さらに前川らは、前述のものとは抽出方法は異なるが、枕崎産の荒節と枯れ節を用いて出汁中のアンセリン量の比較も行ってい

る¹⁷⁾。その結果では、やや枯れ節由来の出汁の方が、荒節由来のものと比べて、出汁中のアンセリン濃度は低くなっているが、大きな差は見られていない。前川らの報告^{16), 17)}でも、出汁の抽出方法の違いによりアンセリン濃度に大きな差が見られていることから、個人差を含めた抽出の手順や方法等の影響も考慮する必要があるため、今回得られた結果のアンセリン濃度と比較的近い値であると言える。

本実験で飲用したアンセリンは、純粋なアンセリンではなく、市販されているアンセリンを10%含有するフィッ

シュペプチドを使用した。用法に従って服用した場合、1日のフィッシュペプチドの摂取量は600 mg となるため、1回のアンセリンの摂取量は20 mg とである。そのため、アンセリンの量としては、計算上鰹出汁で摂取した量の1.6倍程度であるので、十分量のアンセリンが摂取されているものと考えられた。しかしながら、アンセリンを含む健康食品の摂取では、ヒト血清中の有意なアディポネクチンレベルの増加は見られなかった(表1, 図1)。従って、鰹出汁中にはアンセリンの作用を増強する因子が存在する、或いは、アンセリンサプリメント中にアンセリンの作用を阻害する成分が含まれているなどの可能性を完全には除外出来ないものの、アンセリンが、ヒトにおけるアディポネクチンの分泌亢進に働いている可能性は低いと考えられた。鰹出汁中のどのような成分がアディポネクチンを上昇させるのか、非常に興味深いため、今後は、鰹出汁中のアディポネクチンを高める因子の同定を行っていく必要がある。

謝辞

本研究の遂行は、平成28年度鹿児島女子短期大学専攻科食物栄養専攻の学生である野中優里さんと和田智恵さんの多大な尽力により可能になったものです。また、同じく平成28年度鹿児島女子短期大学専攻科食物栄養専攻の学生である高橋瑞記さんと田之上結実さんにも協力して頂きました。さらに、採血等では鹿児島女子短期大学保健室の上大蘭暁子先生にもご協力頂きました。ここに、謹んで感謝の意を表します。

引用文献

- 1) Adiponectin and adiponectin receptors. Kadowaki, T. & Yamauchi, T., *Endocrine Reviews*, 26 : 439-451, 2005
- 2) A small-molecule AdipoR agonist for type 2 diabetes and short life in obesity. Okada-Iwabu M., Yamauchi, T., Iwabu M. *et al.*, *Nature*, 503 : 493-499, 2013
- 3) β -conglycinin lowers very-low-density lipoprotein-triglyceride levels by increasing adiponectin and insulin sensitivity in rats. Tachibana, N., Iwaoka, Y., Hirotsuka, M. *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74 : 1250-1255, 2010
- 4) Identification of nobiletin, a polymethoxyflavonoid, as an enhancer of adiponectin secretion. Kunimasa, K., Kuranuki, S., Matsuura, N. *et al.*, *Bioorg Med Chem Lett.*, 19 : 2062-2064, 2009
- 5) 鰹出汁摂取による血中アディポネクチン濃度の上昇—指宿市「地域食材の健康に及ぼす機能性効果研究委託事業」による検証—。住澤知之, 鹿児島女子短期大学紀要, 52 : 1-4, 2017
- 6) 鰹出汁摂取によるヒトの体組成, 血液検査値及び精神状態の変化。住澤知之, 田中友莉恵, 宮内香奈 他, 鹿児島女子短期大学紀要, 49 : 5-9, 2014
- 7) 鰹出汁摂取によるヒトの体組成と血液検査値の変動。住澤知之, 久保佐也加, 塩賀千恵 他, 鹿児島女子短期大学紀要, 48 : 11-16, 2013
- 8) アンセリン含有フィッシュペプチドの高尿酸血症への効果。青木恵理, *New Food Industry*, 51 : 49-54, 2009
- 9) シンポジウム記録 アンチエイジングを目指した水産物の利用 Ⅲ-1. 機能性食品素材の開発と応用—アンセリンの特性と機能—。又平芳春, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 77 : 264, 2011
- 10) The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H. *et al.*, *Nature Medicine*, 7 : 941-946, 2001
- 11) Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. Kubota, N., Terauchi, Y., Yamauchi, T. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 277 : 25863-25966, 2002
- 12) The relationship between adiponectin levels and metabolic status in centenarian, early elderly, young and obese women. Bik, W., Baranowska-Bik, A., Wolinska-Witort, E. *et al.*, *Neuro. Endocrinol. Lett.*, 27 : 493-500, 2006
- 13) Polyunsaturated fatty acids of marine origin induce adiponectin in mice fed a high-fat diet. Flachs, P., Mohamed-Ali, V., Horakova, O. *et al.*, *Diabetologia*, 49 : 394-397, 2006
- 14) Ubre das anseren einen neun bestandteil der vogelmuskulatur. Ackermann, D., Timpe, O., Poller, K., *Z. Physiol. Chem.*, 183 : 1-10, 1929
- 15) Antioxidant activity of carnosine, homocarnosine, and anserine present in muscle and brain. Kohen, R., Yamamoto, Y., Cundy, K.C. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85 : 3175-3179, 1988
- 16) 削りぶしの抽出液におけるアミノ酸組成の比較検討。前川隆嗣, 甘蔗志帆乃, 野村直孝 他, *Trace Nutrients Research*, 23 : 93-98, 2006
- 17) かつお出汁の製法によるアミノ酸組成の比較検討。前川隆嗣, 野村直孝, 大串美沙 他, *Trace Nutrients Research*, 22 : 125-129, 2005

(2017年12月1日 受理)