九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

Study on the intestinal absorption of small and oligopeptides in rats

ブ, ティ, ハン

https://doi.org/10.15017/1866364

出版情報：九州大学, 2017, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：

KYUSHU UNIVERSITY

氏　　名	ブ　ティ　ハン
論　文　名	Study on the intestinal absorption of small and oligopeptides in rats （ラットにおける低分子およびオリゴペプチドの腸管吸収に関する研究）
論文調査委員	主　査　　九州大学　　教授　　松井　利郎 副　査　　九州大学　　教授　　下田　満哉 副　査　　九州大学　　准教授　井倉　則之

論　文　審　査　の　結　果　の　要　旨

本研究は、質量分析（mass spectrometer、MS）装置を用いた生理活性ペプチド定量法の構築とラットにおけるペプチドの腸管吸収挙動の解明を図ったものである。まず、ペプチド混合物（タンパク質加水分解物）に存在する低分子ペプチドを定量するために、2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸（TNBS）を用いたアミン誘導体化液体クロマトグラフ(LC)−Time−Of−Flight (TOF)−MS 法を提案している。アンジオテンシン I 変換酵素阻害作用を示す 5 種類のジペプチド（GY、YG、SY、YS、IY）を測定対象として、TNBS 誘導体化反応後のペプチド溶液をエレクトロスプレーイオン化（正イオンモード）法による LC−TOF−MS 測定（溶離液 : 60−100%メタノール/0.1%ギ酸、カラム : Biosuite C18）を行い、25 分以内に一斉分析が達成されることを明らかにしている。また、定法である絶対検量線法（0.5−10.0 μg/mL）で得られた大豆タンパク質加水分解物中の各ペプチドの定量値は標準添加法（ペプチド添加量：0.4、0.8、1.6 μg/mg−タンパク質加水分解物）で得られた定量値の 7−24 倍高く見積もられたことから、LC−MS 法によるペプチド測定ではマトリックスによるイオン化抑制（感度低下）の影響が極めて大きいことを明らかにしている。

次に、TNBS−LC−MS 法を用いてジペプチドからペンタペプチドの in vivo での吸収挙動の解明を図っている。まず、ペプチド鎖長と吸収量の関係を明らかにするため、Gly-Sar（Sar: *N*-methylated glycine）を鋳型としてモデルペプチドを合成し、8 週齢高血圧自然発症ラット（SHR）に対して単回経口投与試験（10 mg/kg）を実施している。投与後 90 分までの尾静脈採血によって、テトラ以上の鎖長であってもペプチドはそのままの形で吸収されることを明らかにしている。また、総ペプチド吸収量は Gly-Sar > Gly-Sar-Sar > Gly-Sar-Sar-Sar > Gly-Sar-Sar-Sar-Sar の順に減少し、ペンタペプチドの吸収量（71.7 ± 2.8 nmol · min/mL-plasma）はジペプチド（341.9 ± 41.1 nmol · min/mL-plasma）の 1/5 程度であることを示している。次いで、40 週齢 SHR を用いてペプチド吸収に及ぼす加齢の影響を検討し、ジおよびトリペプチドでは 40 週齢 SHR において有意に吸収量が増大することを明らかにしている。他方、テトラおよびペンタペプチドでは週齢間で吸収量に差は認められなかったことから、加齢による吸収量の増大は低分子ペプチドに限定されることを示している。なお、空腸におけるペプチドトランスポーター（PepT1）の発現量は 8 週齢 SHR と比べて 40 週齢 SHR で有意に高かったことから、加齢による PepT1 発現量の増加が低分子ペプチドの吸収量増大の要因であると推察するに至っている。

以上要するに、本研究は LC−MS 法での低分子ペプチドの一斉分析を可能とする新たな定量法を提案するとともに、ラットでのペプチド吸収挙動をペプチド鎖長ならびに加齢の観点から明らかにしたものである。これらの成果は、生理活性ペプチド量と生体内利用効率を評価するための重要な分析化学的手法を与えるものであり、食品分析学および食品機能学の発展に寄与する価値ある業績

と認める。

よって、本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。