

総 説

食肉の消化酵素分解による血圧低下ペプチドの発現について

六車 三治男

宮崎大学農学部

1. はじめに

畜産食品の消費量は近年急増したが、これは我が国が長寿国となった理由の一つとも考えられている。一方、日本人のライフスタイルの変化に伴い生活習慣病の患者が増加し、国民の健康への関心は極めて高くなっている。特に、高血圧症は我が国の死亡原因の2~3位を占める心疾患、脳血管疾患の原因と深く関わっている。

高血圧症は脳、心臓など各種臓器障害、血管性疾患の危険因子であり、主要死因の上位を占めている脳卒中や心不全あるいは腎臓病などの合併症を引き起こすため（日本高血圧治療ガイドライン 2009；山門 2009）いかに抑制するかが重要である。高血圧症は原因の明らかな二次性高血圧と、約90%以上を占めるといわれている本態性高血圧に分類される。本態性高血圧はこれまで原因が不明であったが、最近の研究により、生活習慣が大きな要因である事が分かってきた（日和田と安部 2001）。生体内で昇圧調節を中心的に担っているのはレニン-アンギオテンシン系であり、アンギオテンシンIがアンギオテンシンI変換酵素(以下ACE)の作用によって、昇圧物質であるアンギオテンシンIIへと代謝される（図1）。このアンギオテンシンIIは生体内で最も強力な昇圧物質で

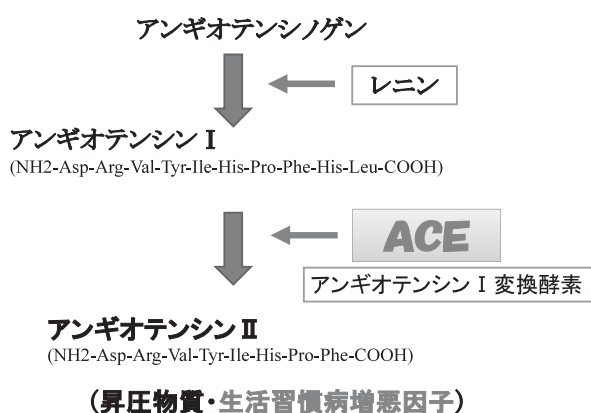


図1 アンギオテンシンII産生経路

あり、血管平滑筋を収縮させる直接的昇圧作用を有しているだけではなく、副腎でのアルドステロン分泌を刺激し、ナトリウムや水の貯留量増大を引き起こし、間接的な血圧上昇にも関与する(三浦 2009)。したがって、ACEの阻害薬は血圧上昇抑制に有効であるとされており、臨床的にも心臓系疾患の改善や

(嶋津ら2001)、他の降圧薬よりも副作用が少ない事が明らかになったこと (Kostis 1995) や、ACE阻害剤単独で本態性高血圧患者の70%に効果を示していること (石光 2009) などから、薬物療法において高血圧治療の第一選択薬の一つとして広く使用されている。

現在、高血圧症の患者には各種治療薬が利用されているが、薬の種類により作用機構が異なると言われている。特にカプトプリルやエナラプリルのようなACE阻害薬は、臨床的にも心臓系疾患の改善や高血圧症の治療に利用されている。しかしながら、このような薬には、過度の血圧低下、空咳、一過性の腎機能低下、発疹、めまいなどの副作用を発症させる可能性も指摘されている(齊藤 2009)。そこで、薬物ではなく食品に含まれるACE阻害物質を摂取することで、副作用がない高血圧の改善を行う研究がなされている。

食品中のACE阻害物質については、今までに多くの研究が行われており、主としてタンパク質派生ペプチドの検索が行われている。これまでに30種類以上の天然タンパク質から少なくとも400種類以上のACE阻害ペプチドが単離・同定されてきた(松本と松井 2004)。これらの中には乳カゼインのトリプシン分解物、鰹節のサーモライシン分解物および、カルピス酸乳などのように、*in vivo*においてACE阻害活性を有し、ヒト臨床試験でも血圧低下作用が認められ、特定保健用食品として厚生労働省の認可を受けているものも存在する (Dziuba J. 1999; 厚生労働省ホームページ 2012)。従って、ACE阻害物質を含む食事の摂取による高血圧症予防は、副作用の心配も無く理想的だと考えられる。

畜産食品においては、とくに上記のような乳製品の発酵乳を中心に血圧低下ペプチドを含む機能性食品の研究・開発が行われてきた。一方、食肉は栄養豊富な食品として古くから認識されてはいたものの、機能性食品としてのアプローチが遅れていた。そこで、著者らは良質なタンパク質を多く含む食肉を各種タンパク質分解酵素で消化し、生活習慣病予防効果を有する機能性ペプチド発現に関する研究(血圧低下作用、抗酸化作用や血糖上昇抑制作用)を実施してきた。本総説では、主に血圧低下作用に関する著者らの研究を中心にして、食肉の消化酵素分解による血圧低下ペプチドの発現について述べる。

2. 豚肉由来タンパク質の消化特性

食肉材料として、肉類のなかでも消費量が多く、食肉加工の主要な原料となっている豚肉を用いて、構成タンパク質個々の消化管酵素（ペプシン、キモトリプシン、トリプシン）による消化性について検討した。また、豚肉を摂取する場合、加熱調理をすることが多いため、消化酵素の基質となる豚肉タンパク質の未変性・変性の違いが酵素処理による加水分解性に及ぼす影響について検討した。材料としては、豚ロース肉から筋肉タンパク質を溶液状にしたミオシンBを用いた。このミオシンB中には、主成分のミオシンのほか、アクチン、トロポミオシン、トロポニンなどの筋原線維構成タンパク質が含まれている。ミオシンBの変性は98℃、10分間の加熱で行い、消化管酵素により加水分解を行った。未変性タンパク質と変性タンパク質の分解程度の違いをドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)で比較した(図2)。

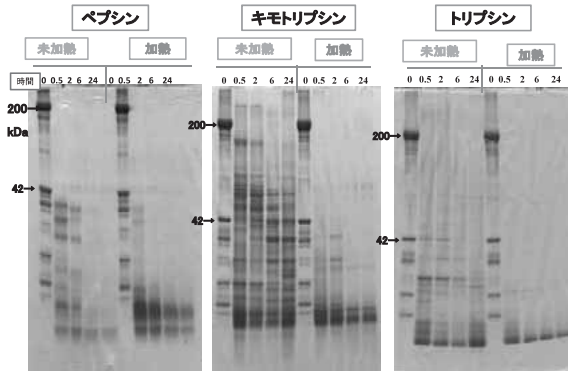


図2 各種消化酵素により分解されたミオシンBのSDS-PAGEパターン

その結果、どの酵素でも未変性タンパク質に比べ、変性タンパク質は容易に分解されていることが示され、食品摂取時の加熱調理が、タンパク質の消化に大きく関与していることが確認された。特にミオシンBの主成分であるミオシン重鎖(MHC：分子量200kDa)がスムーズに分解されていることが認められた。このことから、食肉タンパク質の消化のためには加熱処理による変性が有効であることが認められた(Katayamaら2003a; Katayamaら2003b)。

3. 加熱変性豚ミオシンB加水分解物のACE阻害活性

そこで、加熱変性した豚ミオシンBをペプシン、キモトリプシン、トリプシンで6時間加水分解した試料を、18,000xgで20分間遠心分離した。得られた上清のウサギ肺由来ACEに対する阻害活性を評価した結果(表1)、消化管酵素による加水分解物は、いずれも高い阻害活性を示した。特にミオシンBのペプシン分解物にIC₅₀値(酵素の活性を50%阻害するのに必

要な濃度：数値が低いほど活性が強い) 47 μg/mlという、比較的強い活性が認められた。

表1 ミオシンB各種酵素分解物のIC₅₀

	IC ₅₀ (μg/ml)			
	未分解	ペプシン	キモトリプシン	トリプシン
ミオシンB	2000<	19.3	112	107

IC₅₀値:50%のACE阻害活性を発現するのに必要なタンパク質濃度

4. 加熱変性豚ミオシンBの分解度とACE阻害活性

消化過程におけるミオシンBのACE阻害活性の状況を明らかにするために酵素分解物のタイムコースをとり、分解の程度と活性の変動を評価した(図3)。その結果、いずれの酵素でも経時的にペプチド類のモル濃度が増大していることが認められた。特にペプシンでは6時間までは分解物の生成が多いことが認められ、胃の消化酵素であるペプシンの基質特異性が低いため、多くのペプチドもしくはアミノ酸を生成していると考えられた。そこで、ペプシン分解物について、ACE阻害活性を測定した結果、未分解物ではほとんど活性がなかったのに対し、反応30分では比較的強い活性を示すようになりIC₅₀値が大きく減少(強い活性が発現)した(図3)。この活性は反

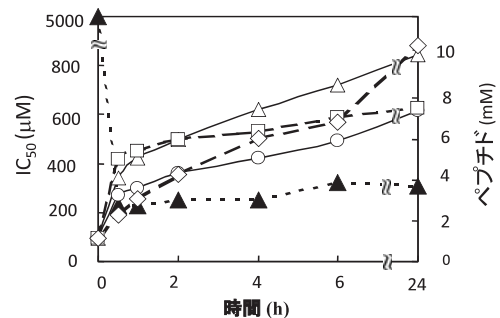


図3 ペプシン(Δ)、キモトリプシン(○)、トリプシン(□)あるいはパンクレアチン(◇)によるミオシンBの加水分解時間に伴うペプチド濃度の変化と加水分解時間に伴うペプシン加水分解物のIC₅₀値の変化(▲)。

応が進むにつれて若干低下する傾向が見られ、ペプシンによる分解初期に生成したACE阻害ペプチドが、さらなる分解を受けて活性を低下させ、活性をほとんど示さない遊離アミノ酸が増えたためであると考えられた。加水分解物のACE阻害活性はペプチドの分解によって低下する傾向が見られるものの、24時間の反応後でも活性を有しており、豚肉摂取時にも、胃で生成したACE阻害ペプチドが活性を有したまま小腸に送られ、作用する可能性が示唆された(Katayamaら2003a)。

5. ACE阻害ペプチドの単離とシーケンス解析

そこで、ACE阻害活性の高かった豚ミオシンBのペプシン加水分解物から、ACE阻害ペプチドの精製・同定を試みた。陰イオン交換カラム、ゲルろ過カラムや各種逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により、高いACE阻害活性を有する単一と認められる2つのピークを得た。これらの画分のアミノ酸配列をプロテインシーケンサーで分析したところ、一つはLys-Arg-Val-Ile-Gln-Tyr(KRVIQY, Hexapeptide, 分子量=805.96)と決定され、ミオシン重鎖の191~196位由来と推定された(M6と命名)。そのIC₅₀値は、6.1 μM(4.89 μg/ml)であった(図4)。同様にもう一つについてもアミノ



図4 ミオシン重鎖由来新規ACE阻害ペプチド (M6)

酸配列を解析した結果、Val-Lys-Ala-Gly-Phe(VKAGF, Pentapeptide, 分子量=520.61)と決定され、アクチンのアミノ酸配列の19~23位に相同性が認められた(A5と命名)。このペプチドについても同配列のペプチドを合成し、その阻害活性を測定した結果、IC₅₀値は、20.3 μM(10.58 μg/ml)であった(Mugurumaら2009)(図5)。さらに、ミオシン

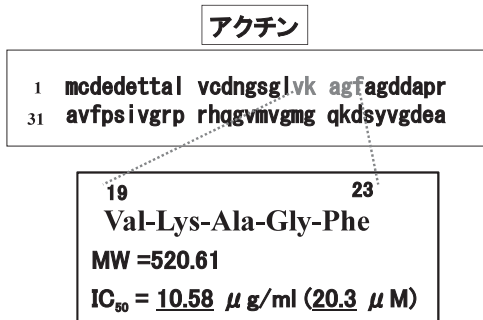


図5 アクチン由来新規ACE阻害ペプチド(A5)

由来の新規ACE阻害ペプチドも同定することができ、そのアミノ酸配列はVal-Lys-Lys-Val-Leu-Gly-Asn-Pro (VKKVLGNP, Octapeptide, 分子量=854)と決定され、ミオシン軽鎖のアミノ酸配列の47~54位に相同性が認められた。そのACE阻害活性を測定したところ、IC₅₀値は、28.5 μM(35.6 μg/ml)であった(Katayamaら2007)。

上記と同様な手法を用いて粗精製トロポニンのペプシン加水分解物を遠心して得られた上清から活性

ペプチドの精製を試み、単一と認められるピークを得た。この画分のアミノ酸配列をプロテインシーケンサーで分析したところ、Arg-Met-Leu-Gly-Gln-Thr-Pro-Thr-Lys(RMLGQTPTK, Nonapeptide(9mer))と決定され、骨格筋トロポニンCの44~52位由来と推定された。そのIC₅₀値は、34 μM(35 μg/ml)であった(Katayamaら2003c)(図6)。また、その他のトロポ



図6 トロポニンC由来ACE阻害ペプチド(9mer)のアミノ酸配列

ニン由来の新規ACE阻害ペプチドを2つを同定することができ、それらのアミノ酸配列はGlu-Lys-Glu-Arg-Glu-Arg-Gln(EKERERQ, Heptapeptide)およびLys-Arg-Gln-Tyr-Asp-Ile(KRQKYDI, Heptapeptide)と決定され、トロポニンTのアミノ酸配列の65~71位および198-204位に相同性が認められた。そのACE阻害活性を測定したところ、IC₅₀値は、552.5 μM および26.2 μMであった(Katayamaら2004)。

6. ペプチドのACE阻害機構推定

ペプチドのACE阻害機構を推定するために、速度論的解析をラインウイバー・バークの逆数プロットを用いて行った。50 μMのACE阻害ペプチドを様々な濃度の基質(HHL)とともにACEと反応させた。それぞれ阻害剤の入っていない系と比較し、阻害機構を推定した。その結果、ペプチドM6およびA5は、ペプチドが酵素ACEの活性中心に可逆的に結合し、基質の結合を妨げる競合阻害様式を示した(図7)。一方、9merのACE阻害機構は、非競合阻害に近いと推定された(図8)。非競合阻害は基質と酵素の結

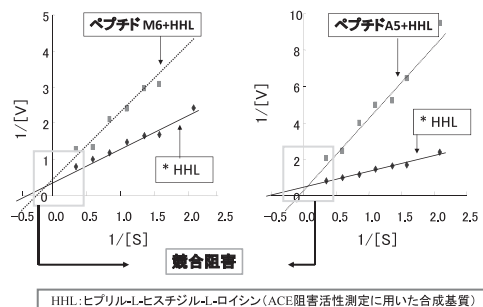


図7 ペプチドM6とA5のACE反応阻害のラインウイバー・バークプロット

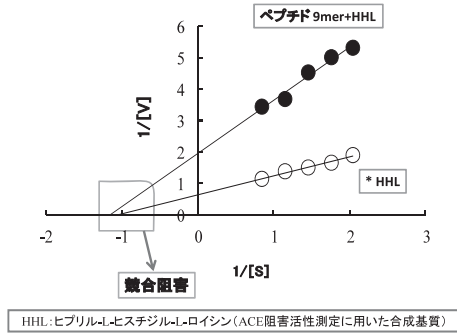


図8 ペプチド9merのACE反応阻害のラインウィーバー・バークプロット

合は妨げないが、基質が結合する以外の酵素の部位に可逆的に結合し、酵素の活性中心を変化させ活性を抑えるタイプである。

そこで、9merおよびACEの作用により9merから生じるフラグメントペプチドについて、それらのACE阻害活性を測定すると共に、各ペプチドの様々な基質濃度でのACE阻害活性を測定し、速度論的に阻害機構を推定した(表2)。9merはこれらのペプチ

表2 合成ペプチドのACE阻害活性と阻害様式

ペプチド	分子量	IC ₅₀ (μM)	阻害様式
RMLGQTPTK (9mer)	1031.2	34	非競合阻害
RMLGQTP (7mer)	802.0	503	混合型
RMLGQ	603.8	358	競合阻害
RML	419.6	1,019	競合阻害
GQ	203.2	5,630	競合阻害
TP	216.2	2,071	競合阻害
TK	248.1	1,634	混合型

グリシン:Gly,G; ロイシン:Leu,L; イソロイシン:Ile,I; スレオニン:Thr,T; メチニン:Met,M; グルタミン:Gln,Q; プロリン:Pro,P; リジン:Lys,K; アルギニン:Arg,R

表3 単離・精製した新規ACE阻害ペプチド

起源	アミノ酸配列	IC ₅₀ (μM)	文献
ミオシン重鎖	KRVIQY	6.1	1)
ミオシン軽鎖	VKKVLGNP	28.5	2)
アクチン	VKAGF	20.3	1)
トロポニンT	KRQKYDI	26.2	3)
トロポニンC	RMLGQTPTK	34.0	4)
トロポニンC	RMLGQTP	503.0	4)
コラーゲンα1鎖	GLPGTAGLPGM	5.2	未発表
コラーゲンα1鎖	GFPGERG	8.0	未発表
免疫グロブリン重鎖	YYRA	59.0	5)

上記アミノ酸配列中のアミノ酸の名称と略号(3文字および1文字)

グリシン:Gly,G; アラニン:Ala,A; バリン:Val,V; ロイシン:Leu,L; イソロイシン:Ile,I; スレオニン:Thr,T; メチニン:Met,M; アスパラギン:Asn,N; グルタミン:Gln,Q; プロリン:Pro,P; フェニルアラニン:Phe,F; チロシン:Tyr,Y; アスパラギン酸:Asp,D; リジン:Lys,K; アルギニン:Arg,R

文献
1): Mugurumaら2009; 2): Katayamaら2007; 3): Katayamaら2008; 4): Katayamaら2003c; 5): Nakadeら2008.

ドの中では最も強い活性を示した。中間体として生じる7merおよび5merは9merの10倍程弱い活性を示したが、最終産物であるジペプチドやトリペプチドよりも依然として強い活性であった。これは、9merがACEの作用により活性の弱いペプチドに分解されていくことを示している。上記のように、9merのACE阻害機構は非競合阻害に近いと推定され、他のフラグメントペプチドとは異なった。これは9merのACEに対する耐性が比較的高いためであると考えられた。7merとTKのACE阻害機構は競合

阻害に近いが、非競合阻害との混合型であると認められた。他のペプチドは典型的な競合阻害を呈していた。

7. 自然発症高血圧ラット(SHR)への経口投与試験

8週齢雄性ラット(自然発症高血圧ラット:SHR)を使用し、精製水で10mg/mlに調整したペプチドを、10mg/kg体重となるようにゾンデを用いて経口投与した。コントロール群には、同じ量の精製水を経口投与した。投与前と投与後の3, 6, 9, および24時間後、測定前に15分間の前保温(38.7℃)を施した後、非観血式血圧測定装置(BP-98A, ソフトロン, 東京)を用いて尾静脈圧を測定した。いずれも試料は単回経口投与における効果作用を検討した。

まず、M6およびA5の二つのACE阻害ペプチドをSHRラットに経口投与したときの収縮期血圧の変化を図9に示した。ペプチドM6を経口投与すると、収

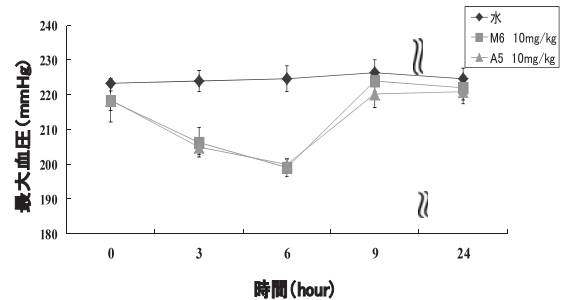


図9 ペプチドM6およびA5を単回経口投与したSHRラットの血圧変動

縮期血圧が3時間後に12mmHg低下した。さらに、6時間後には23mmHgの降圧が認められ、かなり強い活性があると考えられた。一方、ペプチドA5を経口投与すると、収縮期血圧は3時間後に12mmHg低下し、ペプチドM6と同様の活性が認められた。6時間後にはさらに血圧が低下し、17mmHgの降圧が確認されたが、ペプチドM6よりもその降圧幅は小さかった。次に、ペプチド9merをSHRラットに単回経口投与したときの収縮期血圧の変化を図10に示した。

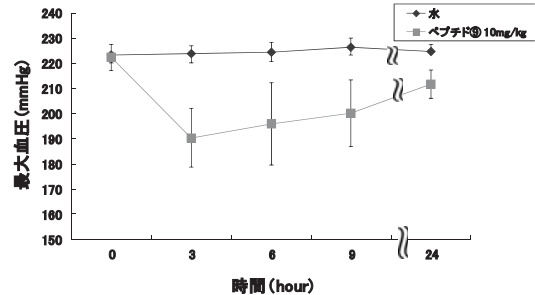


図10 ペプチド9merを単回経口投与したSHRラットの血圧変動

ペプチド9merを経口投与すると、収縮期血圧が3時間後に35mmHg低下した。さらに、6時間後でも27mmHgの降圧が認められ、9時間後も23mmHgの降圧が継続することが明らかになった。また、24時間後もわずかながら血圧低下作用が認められた。

7. 食肉由来酵素分解物の病態モデルラットによる血圧低下作用およびアンギオテンシンII濃度に及ぼす影響

食肉あるいは食肉酵素分解物をヒトが摂取した時の血圧低下作用およびアンギオテンシンII濃度に及ぼす影響を検討するために、病態モデルラットを用いて血圧低下作用の確認実験を試みた。具体的には、豚肉に消化酵素（ペプシン、パンクレチンおよびトリプシン）処理を加え食肉由来酵素分解ペプチド混合物を調製し、病態モデルラットへの経口投与実験を試みた。なお、試料は六車(2009)の方法により調製した。

自然発症高血圧ラット(SHR)を用いた食肉由来ペプチドの経口投与と実験の結果、投与から6時間後のSHRラットの収縮期血圧がコントロールに比べ食肉由来ペプチドの方が優位に低かった ($p < 0.01$) (図11)。

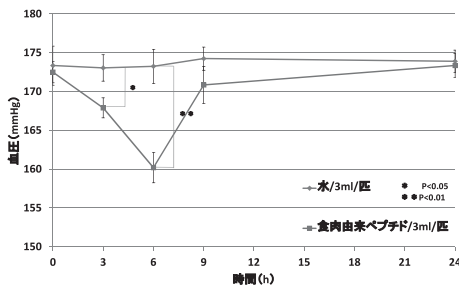


図11 経口投与によるSHRの24時間の血圧変化
数値は平均値±標準誤差で示した。(n=4)

次に、食肉由来ペプチドの経口投与による、Wistar系ラットのアンギオテンシンII量への影響を検討した。アンギオテンシンIIは非常に強力な昇圧物質であり、動脈硬化症および高血圧症の増悪因子となる。また、アンギオテンシンIIが、インスリンをはじめ生活習慣病に関与している種々の因子とも密接にクロストークして作用し、その病態生理に関与していることが次第に明らかにされてきた (堀内 2004)。したがってアンギオテンシンIIの増加を抑制することが、日々の生活習慣病予防において重要である。9週齢の雄性ラット(Wistarラット)に固形飼料(CRF-1)と飲料水を自由摂取させ、ゾンデを用いてサンプルを毎日一回(3ml) 2週間連続して経口投与した。コントロールには蒸留水を同様に経口投与した。2週間後のラットの血液を採取し、ラット血中のアンギオテンシンIIの濃度を測定した結果、水、食肉区に比べ、食肉由来ペプチド区のアンギオテンシンIIの濃度が有意に低下した($p < 0.01$) (図12)。

これらの結果から、食肉由来ペプチドの混合物を摂取しても血圧低下作用が認められ、ヒトがこれを摂取した際に同様の効果が期待できることが示唆された。それはアンギオテンシンIIの生成を抑制することによって起こることも示唆された。動脈硬化、高血圧などの血管病変で炎症反応が存在することが知

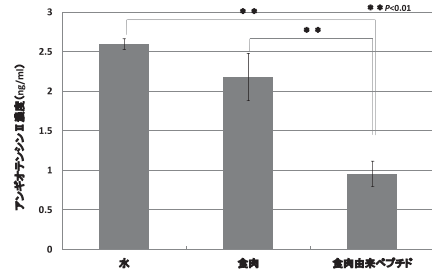


図12 Wistarラットの血中アンギオテンシンII濃度 (ng/ml)
数値は平均値±標準誤差で示した。(n=4)

られているが、アンギオテンシンII, IIタイプI受容体を介し、血管収縮、血管平滑筋の増殖、肥大、遊走を促進するだけでなく、血管内皮細胞障害を引き起こし、血管平滑筋細胞での前炎症物質の発現を促進するなど、血管壁での炎症を促進することが明らかにされてきた(Dzau 2001)。また、心不全や心筋梗塞、血管壁の再構築などの病態にも密接に関与することがほぼ証明されている(森戸と浦田2004)。これらのことから、食肉由来ペプチドの摂取がアンギオテンシンII濃度の低下を介し、心血管障害や心不全、心筋梗塞を低下させることも示唆された。

以上のように、本実験で単離されたACE阻害ペプチドはSHRラットを用いた動物実験(*in vivo*)の結果からも、血圧低下作用があることが認められ、生活習慣病予防につながる効果を食肉に期待できる可能性が示唆された。特に9merは、消化管内や肺・血管内皮といった組織中で分解酵素による作用を受けても、その分解産物を含めて総合的に有効なACE阻害剤として作用する可能性が示唆された。さらに、食肉酵素分解物摂取によりアンギオテンシンII濃度の低下による生活習慣病を予防する可能性も示唆された。

著者は、2010年8月15日から8月20日まで韓国済州島の国際会議場で開催された、第56回国際食肉科学技術会議で招待講演者として「食肉タンパク質の加水分解物と高血圧に関するレビュー」と題して発表する機会を得た(六車と三輪2010)。その講演で筆者は、豚肉以外にも、牛肉や鶏肉をタンパク質分解酵素で消化したペプチドのACE阻害様式について述べ (久保田ら2010)、さらに畜産副生物にも血圧上昇抑制作用があることを紹介した (Nakadeら2008)。これらの内容については、米国食肉科学会誌 (Meat Science) に掲載されている (Ahhmed と Muguruma 2010) ので、ご参考頂ければ幸いです。

6. おわりに

本研究は、食肉に含まれる高血圧の改善に有効な、より活性の強いペプチドを検索することを目的としているが、本来、人間の生体内にあるものと同じ成分を有する食肉を材料としていることから、医薬品なみに強力な活性を発現するものが有効に存在する

とは考えにくい。しかし、だからこそ、見出した活性ペプチドを人間に投与(経口、静注などを問わず)したときに、消化酵素やその他のプロテアーゼの影響をあまり受けず、有効部位まで到達し、急性ではなくじっくりと、強力にではなく穏やかに、効力を発揮する可能性がある。これは、食品の有効性を説明するうえでは非常に価値があり、有効なペプチド(成分)を含む食品を、継続的に適量摂取し続けることの必要性を物語ると考えられる。食肉はもともと栄養価や嗜好性に優れた食品である。この研究を基礎として食肉の食品としての有効性を明らかにしていくことで、より良い食生活をもたらすことにつながると考えられる。

謝 辞

本研究の一部は、財団法人伊藤記念財団および財団法人日本食肉消費総合センターからの研究助成を受けて実施したものであり、心から深く感謝申しあげる。

文 献

- Ahhmed AM, Muguruma M. 2010. A review of meat protein hydrolysates and hypertension. *Meat Science*, 86(1): 110-118.
- Dzau VJ. 2002. Angiotensin II is an active mediator of cardiovascular disease. *Cardiology Review*, 19(12): 1-3.
- Dziuba J, Minkiewicz P, Nalecz D, Iwaniak A. 1999. Database of biologically active peptide sequences. *Nahrung Food*, 43(3): 190-195.
- 日和田 邦夫・安部陽一. 2001. 生活習慣の改善で高血圧を予防する. 高血圧の予防と管理. 学会センター関西. p. 9-27.
- 堀内正嗣. 2004. アンジオテンシン受容体研究の最新展開. *血管医学*, 5(4): 7-16.
- 石光俊彦. 2009. 降圧薬治療におけるわが国のエビデンス. *医学のあゆみ*, 230(5): 430-434.
- Katayama K, Anggraeni HE, Mori T, Ahhmed AM, Kawahara S, Sugiyama M, Nakashima T, Maruyama M, Muguruma M. 2008. Porcine skeletal muscle troponin is a good source of peptides with angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity and antihypertensive effects in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(2): 355-360.
- Katayama K, Fuchu H, Sakata A, Kawahara S, Yamauchi K, Kawamura Y, Muguruma M. 2003a. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities of porcine skeletal muscle proteins following enzyme digestion. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16(3): 417-424.
- Katayama K, Fuchu H, Sugiyama M, Kawahara S, Yamauchi K, Kawamura Y, Muguruma M. 2003b. Peptic hydrolysate of porcine crude myosin has many active fractions inhibiting angiotensin I-converting enzyme. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16(9): 1384-1389.
- Katayama K, Jamhari, Mori T, Kawahara S, Miake K, Kodama Y, Sugiyama M, Kawamura Y, Nakayama T, Mayuyama M, Muguruma M. 2007. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide derived from porcine skeletal muscle myosin and its antihypertensive activity in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Food Science*, 72(9): 702-706.
- Katayama K, Tomatsu M, Fuchu H, Sugiyama M, Kawahara S, Yamauchi K, Kawamura Y, Muguruma M. 2003c. Purification and characterization of an angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide derived from porcine troponin C. *Animal Science Journal*, 74(1): 53-58.
- Katayama K, Tomatsu M, Kawahara S, Yamauchi K, Fuchu H, Sugiyama M, Kawamura Y, Muguruma M. 2004. Inhibitory profile of nonapeptide derived from porcine troponin C against angiotensin I-converting enzyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4): 771-775.
- Kostis JB. 1995. The effect of enalapril on mortal and morbid events in patients with hypertension and left ventricular dysfunction. *American Journal of Hypertension*, 8(9): 909-914.
- 厚生労働省ホームページ. 2012. 「健康食品」のホームページ. <http://www.mhlw.go.jp>
- 久保田 大樹・アブドラティフ アーメド・河原聡・六車 三治男. 2010. 食肉由来機能性成分の畜種別差異の比較検討. 平成21年度食肉に関する助成研究調査成果報告書, (財)伊藤記念財団, 28: 1-9.
- 松本 清・松井利郎. 2004. 食品ペプチドの血圧低下作用. 食品成分のはたらき, 山田耕治編著, p. 59-72. 朝倉書店, 東京.
- 三浦克之. 2001. 治療に関する最新知見. 生活習慣の改善・指導. 生活習慣修正項目. 日本臨床(増刊号)高血圧(第4版)下巻 -日本における最新の研究動向-. P. 423-426.
- 六車 三治男. 2009. 食肉由来生理活性ペプチドの生活習慣病予防効果について そのII. 平成20年度

食肉に関する機能性成分等の調査研究事業報告書,

(財)日本食肉消費総合センター, p.35-52.

Muguruma M, Ahhmed MA, Katayama K, Kawahara S, Maruyama M, Nakamura T. 2009. Identification of pro-drug type inhibitory peptide sourced from porcine myosin B: Evaluation of its antihypertensive effects *in vivo*. Food Chemistry, 114(2): 516-522.

六車 三治男・三輪 操. 2010. 海外事情・第56回国際食肉科学技術会議に参加して. 食肉の科学, 51(2): 153-159.

森戸夏美・浦田秀則. 2004. アンジオテンシン産生研究の新展開. 血管医学, 5(4): 17-24.

Nakade K, Kamishima R, Inoue Y, Ahhmed A, Kawahara S, Nakayama T, Maruyama M, Numta M, Ohta K, Aoki T, Muguruma M. 2008. Identification of an antihypertensive peptide derived from chicken bone extract. Animal Science Journal, 79(6): 710-715.

日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会; 高血圧治療ガイドライン2009年版 (JSH2009). 2009.日本高血圧学会.

齊藤郁夫. 2009. 降圧治療の進め方 -第一選択薬と併用療法-. 医学のあゆみ, 230(5): 341-344.

嶋津 考・加藤秀夫・増山悦子. 2001. 体の働きとその調節, 血圧の調節. 健康の科学, p. 43-48. 化学同人, 京都.

山門 實. 2009. 合併症を伴った高血圧の治療. 腎障害, 悪性高血圧. 日本臨床 (増刊号) 高血圧 (第4版) 下巻 -日本における最新の研究動向-. p. 398-403.