

アンセリンとカルノシン

日本獣医生命科学大学 応用生命科学部

西村敏英

動物筋肉に多く含まれているアンセリンやカルノシンは、20世紀前半に発見されたジペプチドであるが、その研究は動物組織における分布や代謝に関するものが多かった。近年、これらは、様々な生体調節機能を有することが明らかとなってきた。わが国では、これからの高齢社会に向けて、アンセリンとカルノシンは、ヒトの健康維持に寄与する天然の機能性素材の1つとして非常に注目されている。

本項では、これらの基礎的な知識を概説した後、分析法、代謝および機能に関するこれまでの知見を紹介する。

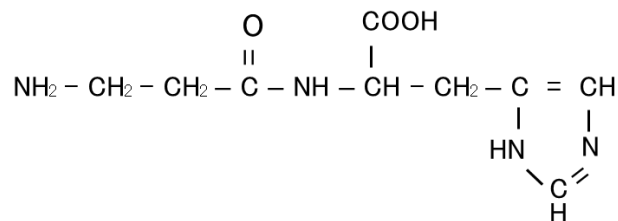
1. アンセリンとカルノシンの特徴と分析法

(1) アンセリンとカルノシンの構造と特徴

カルノシンは、 β -アラニンとL-ヒスチジンがペプチド結合したジペプチドであり、その分子量は226.24である(図1)。1900年に、GulewitschとAmiradzibiによって、肉のエキスから発見され、carnosineと命名された。

アンセリンは、カルノシンのL-ヒスチジン残基にメチル基が結合しているもので、 β -アラニル-1-メチル-L-ヒスチジンである(図1)。分子量は240.26である。1929年にガチョウ

A. カルノシン



B. アンセリン

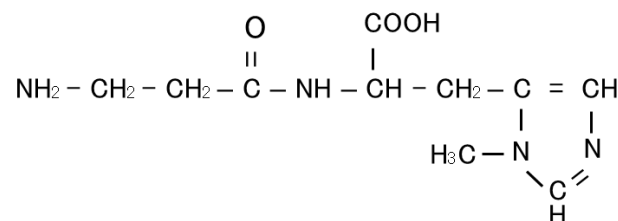


図1 カルノシン(A)とアンセリン(B)の構造

(Anseriformes)の筋肉から発見され、anserine(Ans)と命名された。また、 β -アラニンに3-メチルL-ヒスチジンが結合したものは、バレニン(別名:オフィジン)である。バレニンは、1962年にヒゲクジラ(Balaenoptera sp.)の筋肉から同定され、balenineと命名された。 γ -アミノ酪酸(GABA)とL-ヒスチジンがペプチド結合したホモセリンは脳などの神経組織に存在し、神経伝達物質として働いている。以下、L-ヒスチジンの表記は、すべてヒスチジンとする。

アンセリンとカルノシンを構成しているヒスチジンのイミダゾール環のpK値は、それ

ぞれ 6.83 と 7.04 である。遊離のヒスチジンイミダゾール環の pK 値は、5.97 であることから、生体内 pH である 7.2-7.4 では、遊離ヒスチジンよりもアンセリンとカルノシンの緩衝作用がより強い。この性質は、アンセリンやカルノシンの生体内での機能と深く関連している。

(2) アンセリンとカルノシンの分析法

アンセリンとカルノシンは、ヒスチジンが構成アミノ酸であることから、塩基性である。従来は、強酸性陽イオン交換樹脂カラムを用いたアミノ酸分析計で生体分析プログラムにより、分析されていた¹⁾。アンセリンとカルノシンの溶出位置は、いずれも、ヒスチジンの後、アルギニンの前であり、両者は分離して溶出される。ただし、この方法は、分析時間が長いこと、分離が十分でないことから、両者を短時間で分離・定量できる方法が求められていた。

アミノ酸分析計では、多段積層圧力分散形カラムによる高分離カラム（強酸性陽イオン交換樹脂カラム）を用い、通常のアミノ酸分析用プログラムを改良し、30 分間での分析を可能とした。

また、逆相カラムやゲルろ過カラムを用いた HPLC で、短時間の分析方法を開発した²⁻⁴⁾。逆相カラムを用いた HPLC では、9.2 分以内に分析ができ、その感度は 58.3-80.1nM であった（図 2）。また、回収率もほぼ 100% である。渡辺らは、この方法を用いて牛肉中のアンセリンとカルノシンを 10 分間で定量できることを示した⁵⁾。

2. アンセリンとカルノシンの分布

(1) 動物種や組織による分布の違い

カルノシンは、骨格筋に多量に含まれているが、脳、心筋、腎臓、胃、嗅球にも含まれている。この組織的分布は、種によって異なっており、ヒトでは骨格筋と脳のみで検出されている。また、ラットでは、骨格筋、脳及び心筋で検出されたと報告されている⁶⁾。

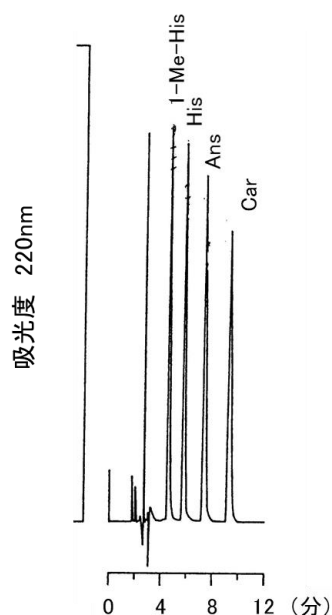


図2 逆相カラムを用いたHPLCでのカルノシンとアンセリンの分離
カラム: Hypersil ODS、流速: 0.8ml/min、pH: 2.0（文献2から引用）

骨格筋には、カルノシンだけでなく、アンセリンも多く含まれている。動物種や筋肉部位によってそれぞれの含量が異なっている（表1）^{7,8)}。牛、豚、馬、鹿および鯨の筋肉には、カルノシンが多い。一方、家兎、鶏、鴨などの鳥類や魚類の筋肉には、アンセリンが多い。各種魚類でのアンセリン含量を比較すると、カジキ、カツオ、マグロ、サケ、トビウオなどに多く含まれている⁹⁾。魚類で、例外的にカルノシンが多い魚種として、ウナギ類がある。

また、同じ動物種でも、筋肉部位でその分布は異なっている。豚肉では、ロースのカルノシン含量がモモのものより多く、鶏肉ではムネのカルノシンやアンセリン含量がモモのものより多い。魚類では、血合い筋肉のアンセリン含量は、普通筋の4分の1から10分の1である。

このような動物種や筋肉部位によるアンセリンやカルノシン含量の違いは、筋肉を構成する筋線維型の量的な違いによると考えられる。アンセリン含量は、筋線維型に違いによる差異があまり認めら

れない。一方、解糖型筋線維であるIIIb型には、カルノシンが有意に多く含まれており、このタイプの筋線維の多い筋肉部位ほどカルノシン含量が高いという報告⁵⁾もある。しかし、ウサギでは、白色型筋線維中のアンセリン及びカルノシンの含量は、赤色型筋線維に含まれるものより多く、それぞれ12-17及び1-2 μ モル/g肉であった¹⁰⁾。なぜ、ウサギの分布が、他の哺乳類と異なっているかは、意外である。アンセリンとカルノシンの分布に関しても、不明な点がまだ多く残されている。

(2) 筋肉における変動とその因子

筋肉中のアンセリンやカルノシンの含量は、摂取した食事の影響を受ける。His量の異なる飼料を摂取したときに、筋肉中のアンセリンとカルノシン含量にどのような影響を与えるかを調べた¹¹⁾。食事でのHis含量が摂取必要量より多くても少なくても、食事摂取後の筋肉中のアンセリン含量は、変化しなかった。一方、カルノシン含量は、His量の摂取量の影響を受け、Hisの摂取量が少ないと筋肉中のカルノシン含量は低く、多いと高い値を示

表1 各食肉中のカルバシおよびアンセリンの含量

食肉の種類と部位	カルバシ含量 (mg/100g)	アンセリン含量 (mg/100g)	カルバシとアンセリンの総含量 (mg/100g)
(1) 牛 モモ	262	3	265
(2) 豚 ロース	899	29	928
(3) 豚 モモ	806	27	833
(4) 鹿 脚	545	376	921
(5) 馬 ロース	403	ND	403
(6) 馬 外モモ	480	ND	480
(7) 家兎 脚	224	526	750
(8) 鶏 ムネ	432	791	1223
(9) 鶏 モモ	153	315	468
(10) 鴨 ムネ	80	272	352
(11) イブナ鯨 背肉	194	19	213
(12) 鯉	252	559	811
(13) ネズミ鮫	0	1060	1060
(14) ミナミ鮪	trace	767	767

(1)-(10)の値は、文献⁷⁾より、(11)-(14)の値は、文献⁸⁾より引用した。

した。また、ヒスチジンの無い食事をラットに食べさせても、同様に、腓腹筋のカルノシン含量は著しく低下した。この低下は、ヒスチジンを含む食事を与えることで、容易に回復した¹²⁾。一方、ヒスチジン過剰の食事を与えると、筋肉中アンセリン及びカルノシンの含量は、2倍に上昇したと報告されている^{13, 14)}。

筋肉中のアンセリンやカルノシンの含量は、年齢による違いがあると報告されている¹⁵⁾。ウマでは、若いサラブレッドの筋肉のカルノシン含量は、老齢のものより有意に高い。また、最近、筋肉におけるこれらの含量は、性ステロイドホルモンであるアンドロゲンやエストロゲンにより変動することがわかってきた¹⁶⁾。個体による含量の違いは、これらのホルモンの含量の違いによると推察される。

(3) 血中における変動

血中でのカルノシン濃度は、飢餓状態でも日内変動が無いと報告されている¹⁷⁾。しかし、激しい運動により筋肉が損傷すると、血中のカルノシン濃度が著しく向上する。また、血中のカルノシン濃度は、年齢と関連があると報告されている。3歳のウマの血中カルノシン濃度は、11.3–14.1 μ モル/リットルであるのに対し、1歳あるいはそれ未満のウマのものは、3.9–8.72 μ モル/リットルであり、前者は後者より2–3倍高い。また、動物種によってその含量が異なっている。ヒトの血液では、カルノシン含量は非常に少ないと報告されている。筋肉と血液でのカルノシン含量あるいはその変動に関する関係があるか否かは、興味深い課題である。

3. アンセリンとカルノシンの吸収と代謝

(1) アンセリンとカルノシンの吸収と動態

カルノシンを摂取した場合にどれくらい吸収されるかについて調べられている。経口摂取したカルノシン及びアンセリンのほとんどは、消化管では分解されることなく、小腸から小腸上皮細胞に吸収される^{18, 19)}。吸収された後の状態が観察されている。ヒトにカルノシン摂取させた後5時間にわたって、血中並びに尿中のカルノシン量を観察した。尿中には、5時間で、摂取量のカルノシンの約14%が回収された。血中には、ヒスチジンだけが検出されて、カルノシンは検出されなかった。また、血中のカルノシナーゼ活性を阻害した状態でも、カルノシンは全く検出されなかった。これらの結果から、尿中のカルノシンは、摂取されたカルノシンがそのまま移行したとは考えにくい。摂取されたカルノシンの多くは吸収された後、小腸細胞内で分解され、ヒスチジン及び β -アラニンとして血中や筋肉に移行すると考えるのが妥当である。

(2) アンセリンとカルノシンの合成

ラット骨格筋では、まず、 β -アラニンとヒスチジンから、L-カルノシンが合成される。カルノシンは、carnosine *N*-methyl transferase (EC2.1.1.22) によってメチル化さ

れてアンセリンやオフィジンになる (図3)。

ラットに低タンパク質の食事を与えると、筋肉中のカルノシン含量は、著しく減少するが、アンセリン含量は変化しない。また、ラット腓腹筋の神経を切断した場合も、カルノシン含

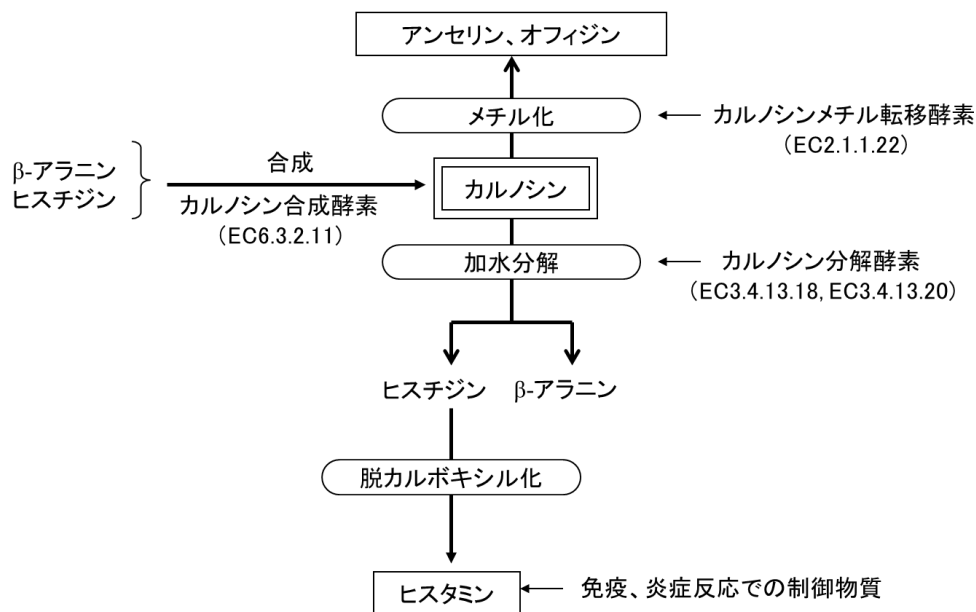


図3 組織におけるカルノシンの代謝経路

量は減少するが、アンセリンは変動しないことが明らかとなっている。このときに、カルノシナーゼの活性は、切断しない場合の2倍以上に上昇した¹⁰⁾。

放射性ラベルしたヒスチジンとβ-アラニンを用い、これらの摂取が、ラットの生体内組織へどのように取り込まれるかを調べた²⁰⁾。これらの摂取後、放射活性の筋肉中アンセリンへの取り込みは検出されなかったが、筋肉中カルノシンへの取り込みが促進された。このことから、取り込まれた食事由来のヒスチジンは、まず、カルノシンへ移行すると判明した。この結果から、アンセリンはカルノシンから合成されると推察された。ヒスチジン及びβ-アラニンのカルノシンへの取り込みは、摂取後8時間で一定となったが、β-アラニンをさらに投与すると、約2倍まで上昇した。β-アラニンは、カルノシン合成律速因子となっている可能性が示唆された。この現象は、鶏ヒナでも認められており、β-アラニンの経口投与により筋肉と脳のカルノシン含量が増加すると報告されている²¹⁾。

カルノシンは、カルノシン合成酵素 (別名: β-アラニン、L-ヒスチジンリガーゼ、EC6.3.2.11) によって合成される。この酵素は、ATPとMgイオン存在下で、β-アラニンとヒスチジンからカルノシンを合成する。基質としては、β-アラニン以外にγ-アミノ酪酸 (GABA) を利用できる。GABAとヒスチジンの結合を触媒し、ホモカルノシンを生成する。分子量は、250,000で、分子量119,000のポリペプチドの2量体を構成している^{22,23)}。

カルノシン合成酵素は、骨格筋に最も多く含まれており、脳や心筋にも存在している。ラットのカルノシン合成酵素の活性は、β-アラニンに類似した構造を有する化合物、アミノプロパンスルホン酸や5-アミノバレリル酸によって阻害される。アミノプロパンスル

ホン酸は、カルノシン合成酵素を競合的に阻害する。一方、5-アミノバレル酸は、本酵素を非競合的に阻害すると報告されている²⁴⁾。

(3) アンセリンとカルノシンの分解

カルノシンは、カルノシン分解酵素(別名:組織カルノシダーゼ、non-specific cytosolic dipeptidase, EC3.4.13.18)によって、構成アミノ酸であるβ-アラニンとヒスチジンに分解される。カルノシン分解酵素のカルノシンに対する最適pHは、9.5付近である²⁵⁾。この酵素は、1949年にブタ腎臓で発見された。腎臓以外では、肝臓、脾臓でも見いだされており、動物組織に広く存在している。ブタ以外にも、ラット、マウス、ヒトで存在が認められている。その後、血液中にもカルノシン分解酵素の存在が見いだされた²⁶⁻²⁸⁾。性質が異なっていることから、別酵素として報告され、血清カルノシダーゼ(serum carnosidase)と命名された。血清カルノシダーゼは、カルノシンだけでなく、組織カルノシダーゼの作用できないホモカルノシンに作用する。また、分子量は、160,000であり、組織カルノシダーゼ(Mr: 90,000)より大きい。

最近、遺伝子工学的研究により、脳に特異的に存在し、カルノシン並びにホモカルノシンのみに作用する新規ジペプチダーゼの存在が明らかとなった²⁹⁾。ヒトカルノシダーゼ(EC3.4.13.20)と命名された。本酵素の最適pHは、8.5であり、脳のカルノシン量を制御していると考えられる。

カルノシンの酵素的分解によって生成されたヒスチジンは、酵素的に脱炭酸作用を受けて、ヒスタミンに変化する(図3)。特に、生理的ストレスが生ずると、肥満細胞からヒスタミンが放出されるが、カルノシンは、肥満細胞のヒスタミン前駆体としてのヒスチジン貯蔵庫として存在しているとの推察もなされている。

4. アンセリンとカルノシンの生理作用

(1) 抗酸化作用

a)抗酸化作用の特徴

生体では、機能の恒常性維持や運動で使われるエネルギーを生産している。このエネルギーは、酸素を使用した電子伝達系で生成されるため、生体は常に活性酸素による酸化障害を受ける危険性にさらされている。生体での酸化障害は、発ガンや老化につながることから、それを食事により防ぐことは、健康を維持する上で大切である。

食品素材から、ポリフェノール、ビタミンE、ビタミンC、オリゴペプチド、アミノ酸等、多くの抗酸化成分が見いだされている。筋肉に多く含まれているカルノシンやアンセリンも抗酸化作用を有することが明らかにされている³⁰⁻³³⁾。

アンセリンとカルノシンの抗酸化作用をDPPH法で測定するとポリフェノールやビタミン類に比べて非常に低い活性を示す(表2)。具体的には、アンセリンとカルノシンの混合体の抗酸化活性は、ポリフェノール類の1種であるエピガロカテキンガレート

(EGCG) の 6700 分の 1、ケルセチン (Qur) の 2500 分の 1、ビタミンCとEの 1000 分の 1 であった。しかし、生体内で生成される 3 種類の活性酸素、次亜塩素酸 (ClO \cdot)、水

表2 DPPH法及びラジカルによるタンパク質分解抑制を指標とした抗酸化活性の比較(文献33より引用)

抗酸化物質	DPPH (mM Trolox eq/M)	タンパク質分解抑制率(%)		
		ClO \cdot	OH \cdot	ONOO \cdot
ビタミンC	1064.0	77.9	24.0	82.9
ビタミンE	993.0	19.5	100.0	0
カルノシン(Car)	0.9	83.5	37.0	22.9
アンセリン(Ans)	6.7	89.7	39.8	22.9
Car + Ans混合物	1.0	96.0	37.0	25.7
還元型グルタチオン	562.6	100.0	34.7	22.9
EGCG	6727.0	100.0	100.0	100.0
50 μ M	—	19.5	100.0	10.0
ケルセチン	2555.0	20.5	100.0	100.0
50 μ M	—	0	100.0	0

すべての抗酸化物質は、表示が無い場合には、全てが5mMで評価された。ClO \cdot 、ONOO \cdot およびOH \cdot は、それぞれ、5, 5 および10mMでタンパク質と作用させた。

酸化 (OH \cdot) 及び過酸化亜硝酸 (ONOO \cdot) ラジカルを用いて、各活性酸素によるタンパク質分解反応を抑制する活性で評価すると、アンセリンとカルノシンは、ClO \cdot に対して、強い抗酸化作用を示した。OH \cdot や ONOO \cdot に対しても、抗酸化作用を示した。EGCG、Qur並びにビタミンEは、OH \cdot に対して強い抗酸化作用を示したが、アンセリンやカルノシンが有効である ClO \cdot や ONOO \cdot に対して強い抗酸化作用を示さなかったと報告されている。

アンセリンやカルノシンは、動物性食品素材に含まれる水溶性の天然成分である。一方、ポリフェノール、ケルセチン、ビタミンEは脂溶性成分である。また、抗酸化剤には、それぞれが有効に作用する活性酸素種があることから、種々の抗酸化剤を組み合わせることで生体の酸化障害を防ぐことが大切である。

b) 細胞や動物に対する抗酸化作用

細胞やヒトを用いた実験系においても、アンセリンとカルノシンの抗酸化作用が評価されている。

Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 並びに過酸化水素でヒトリンパ球を処理した時の酸化ストレスに対するアンセリンとカルノシンの抗酸化作用が調べられている³⁴⁾。 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 並びに過酸化水素は、ヒトリンパ球に対して細胞毒性やDNA損傷を与えるが、カルノシン及びアンセリンを添加すると、FeイオンとCuイオンによるDNA損傷が60-70%抑制された(図4)。また、過酸化水素によるDNA損傷は、約50%抑制された。このように、カルノシンとアンセリンは、抗酸化作用により細胞を保護することが示唆された。また、神経細胞を培養した場合にもカルノシン添加は、活性酸素による酸化ストレスを抑制し、DNA損傷を抑制することが報告されている³⁵⁾。さらに、ラットの線維芽細胞を培養したときに、培養液へのカルノシン添加が細胞の形態並びに酸化ストレスに及ぼす効果が調べられている³⁶⁾。カルノシン添加は、線維芽細胞の形態に全く変化を与えなかった。4週間後の培養液中の8-hydroxy deoxyguanosine (8-OH dG)の生成量も、カルノシン添加により抑制された。8-OH dGは、酸化ストレスの指標となることから、カルノシンは、線維芽細胞に与える酸化ストレスを抑制し、細胞を保護することが明らかとなった。

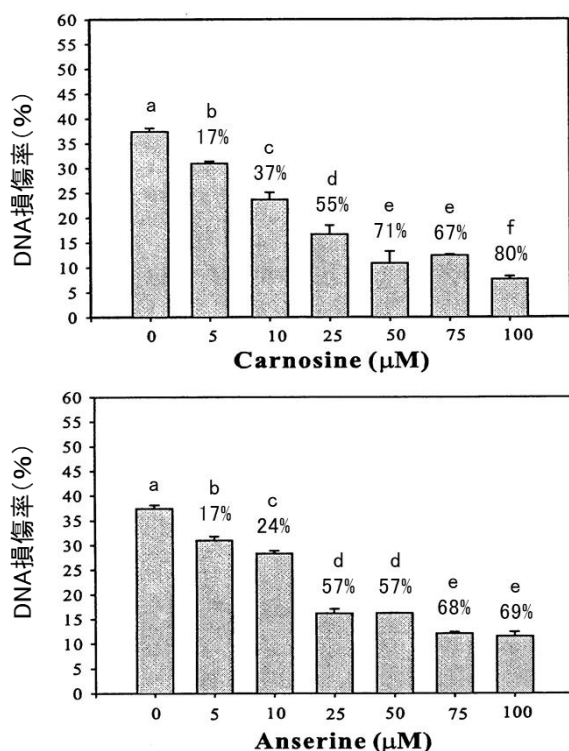


図4 カルノシンとアンセリンによるヒトリンパ球の酸化によるDNA損傷抑制作用

750 μMの Fe^{2+} でDNA損傷を誘導した。棒グラフ上の数字は、抑制率を示す。アルファベットの
違いは、有意差を示す。(文献34より引用)

地中海地方に住む49-82歳のヒトを対象とし、食事内容が血中の抗酸化活性に及ぼす影響を調べた³⁵⁾。典型的な地中海料理、赤ワイン、肉、L-カルノシンを摂食した場合、

食事後 2 時間以内の血中の抗酸化活性は、いずれの場合にも上昇した。L-カルノシンの抗酸化作用をヒトで評価した例は、全く無いことから、L-カルノシン摂取により血中の抗酸化活性が上昇するという知見は、非常に重要である。

(2) 緩衝作用

緩衝作用は、酸やアルカリの添加や生成により生ずる pH 変化を和らげる作用のことである。生体成分でも、アミノ酸やタンパク質は緩衝作用を示すが、筋肉に多く含まれているカルノシンやアンセリンも同様に緩衝作用を示す。既述したように、カルノシンとアンセリンのイミダゾール環の pK 値は、それぞれ 6.83 と 7.04 であるので、これらは筋肉内の中性 pH で強い緩衝作用を示す。

一般的に、筋肉の赤色筋は、アンセリンやカルノシンをあまり多く含まないが、白色筋は高濃度のジペプチドが存在している。これらは、筋肉の生理条件である pH6.5-7.5 で緩衝作用を発揮でき、筋肉の緩衝作用の約 40% に貢献している³⁸⁾。特に、嫌氣的条件での運動時に乳酸生成で生ずる急激な pH 低下を抑制するという重要な役割を果たしている。

短距離走者（スプリンター）の筋肉の緩衝作用は、マラソンランナーや運動しないヒトの筋肉のものより大きいと報告されている^{39, 40)}。これは、前者の筋肉に含まれるカルノシン量が、後者のものより高いからだと推察されている。また、アンセリンやカルノシンを多く含む食品を摂取することにより、サッカー選手の運動に相当する高強度間欠的運動能力が向上すると報告されている⁴¹⁾。さらに、この食品を摂取することにより、陸上の

中距離走に相当する比較的高強度の運動の持続性も有意に向上した（図 5）⁴²⁾。運動による緩衝作用やカルノシン含量の上昇は認められないので、カルノシンとアンセリンの摂取による運動能力の向上は、これらの摂取による筋肉中のカルノ

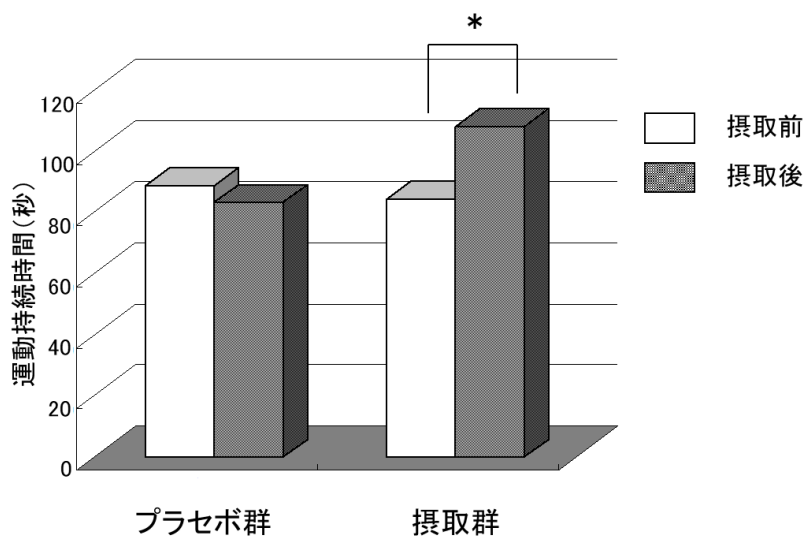


図5 カルノシン・アンセリン含有食品の摂取による高強度運動の持続性の向上
カルノシン・アンセリン含量の高い食品を摂取することにより、運動能力が向上した。
* : $p < 0.05$. (文献42)より引用した。)

シン量の増加によりもたらされたと推察される。

このように、カルノシンとアンセリンは、運動能力をもたらす機能性素材として有

用であるといえよう。

(3) グリコシル化阻害作用

生体内でも、メイラード反応が進行する。この反応で生ずるタンパク質のグリコシル化は、その機能を低下させることから健康能維持や老化予防には、タンパク質のグリコシル化を防ぐことは重要な課題である。

カルノシンは、タンパク質のグリコシル化を阻害する生体成分であると報告されている^{43, 44)}。Hipkiss グループは、まず、カルノシンがジヒドロキシアセトンによる Acetyl-Lys-His-amide のグリコシル化をカルノシンが阻害することを見出した⁴⁵⁾。また、カルノシンは、 α -クリスタリン、スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼを用い、各種糖類（リボース、デオキシリボース、ジヒドロキシアセトン、ジヒドロキシアセトンリン酸、フルクトース）によるグリコシル化や分子間架橋形成を抑制することが判明した（図6）。こさらに、カルノシンが、メチルグリオキサール、マロンジアルデヒド、次亜塩素酸によるタンパク質の架橋を抑制することが明らかとなった^{46, 47)}。これらの抑制は、カルノシンが、カルボニル化合物と反応し、カルボニル化合物によるタンパク質の架橋を抑制することに起因すると推察された。特に、カルノシンの構成アミノ酸ヒスチジンのイミダゾール環が寄与していると報告されている⁴⁸⁾。

カルノシンのグリコシル化あるいは架橋形成を抑制する場合には、グリコシル化カルノシンあるいはカルノシンとアルデヒド化合物との結合物質ができるが、これらは毒性を有しないことも明らかにされているので、カルノシンは、老化予防や血中の糖濃度が高くなる糖尿病で生ずる合併症の予防に薬の開発にも応用できる可能性がある。

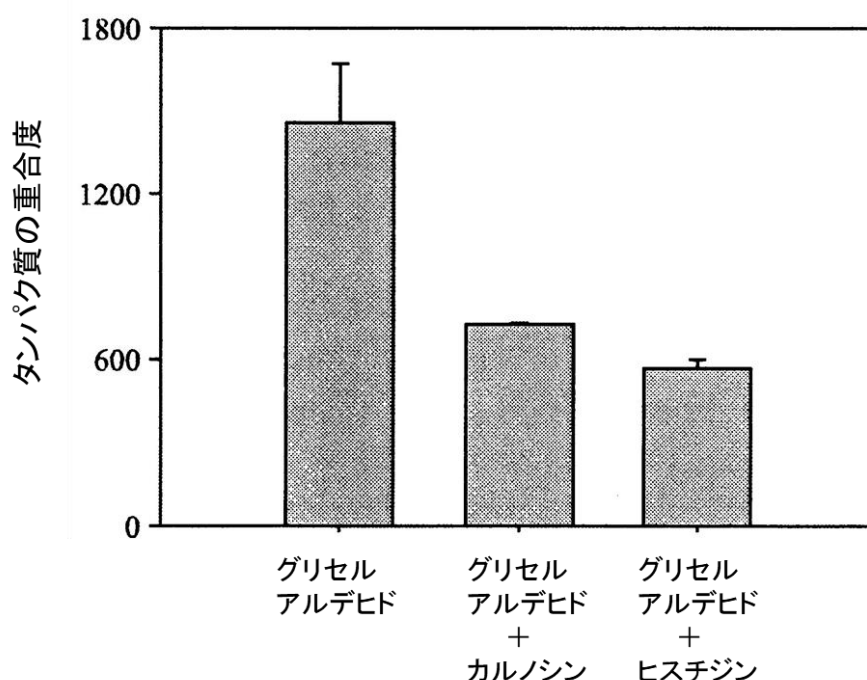


図6 カルノシンの抗グリコシル化作用
グリセルアルデヒドによるアスパラギン酸アミノ転移酵素の重合度抑制を電気泳動で解析した。(文献47より引用)

ロシア共和国では、厚生省により 5 %カルノシン溶液が白内障予防のための点眼薬として認められている。

(4) その他の生体機能調節作用

カルノシンは、既述した作用以外に、以下の生体機能調節作用が報告されている。

a) 免疫調節作用や組織修復作用

カルノシンは、免疫調節作用や組織修復作用を有すると報告されている⁴⁹⁾。抗炎症剤（ヒドロコルチゾン）の処理により免疫機能を低下させたラットを人為的に傷つけ、カルノシン投与が、その後の傷の修復に及ぼす効果を調べた。カルノシン投与のラットでは、投与しないラットよりも傷付近の皮膚強度が大きく、傷の修復速度が速いことが明らかとなった。これは、投与したカルノシンが体内で分解された後、 β -アラニンはコラーゲンの生合成を促進し、ヒスチジンから生じたヒスタミンは、炎症の初期段階で滲出液放出を刺激し、傷の治癒促進に寄与していると推察された。

b) β -アミロイドによる細胞毒性低下作用

ラットの脳血管内皮細胞を用いて、カルノシン添加が β -アミロイドペプチドによる神経毒性を抑制できるか否かを調べた^{50, 51)}。カルノシン添加は、 $200 \mu\text{g/ml}$ β -アミロイドペプチド添加で生ずる細胞毒性を完全に抑制することができた。この作用は、カルノシンのグリコシル化阻害効果もしくは抗酸化作用によりもたらされたと推察されている。

c) 脳の活動亢進作用

自閉症の子供に 8 週間カルノシンを摂取させ、行動変化を観察した結果、プラセボ群の子供には自閉症改善効果は認められなかったが、カルノシンを摂取した子供たちには、自閉症の改善効果が認められた⁵²⁾。この作用メカニズムは明らかではないが、カルノシンの摂取が、前頭葉の機能を高めている可能性が考えられる。また、古瀬グループは、脳におけるカルノシンの機能を解析している。脳内にカルノシンを投与すると、活動亢進状態を引き起こすことが明らかとなった⁵³⁾。カルノシンの構成アミノ酸である β -アラニンとヒスチジンの混合物の投与では、全く活動亢進が起こらなかった。また、最近、カルノシンの構造と逆になるジペプチド His- β -Ala をヒナの脳内に投与すると、カルノシン投与とは逆に、活動しなくなったことから、ジペプチドであるカルノシンが、脳内で生物の行動や活動を制御している可能性が示唆された⁵⁴⁾。

d) 血糖値低下作用

2-deoxy-D-glucose で高血糖を誘発させたラットにカルノシンを低濃度で投与すると、カルノシンは交感神経を抑制し、副交感神経を昂進させることにより、血糖値が低下することが明らかとなった⁵⁵⁾。この作用は、カルノシンがヒスタミン H3 レセプターを介して、

自律神経を調節し、血中のグルコースレベルを下げていることに起因すると推察された。

このように、近年、カルノシンやアンセリンが、様々な効果を有することが明らかになってきた。しかし、生体での効果を検証したものは、それほど多くは無い。今後のヒトでの検証が必要であると同時に、その解明が期待される。生体での検証並びに解明がなされれば、機能性食品素材やサプリメントへの応用が可能となるであろう。

<参考文献>

- 1) Fujiwara, M., Ishida, Y., Nimura, N., Toyama, A. and Kinoshita, T., Postcolumn fluorometric system for liquid chromatography analysis of amino and imino acids using o-phthalaldehyde/N-acetyl-L-cysteine reagent, *Anal. Biochem.*, **166**, 72-78 (1987)
- 2) Dunnett, M. and Harris, R. C., Determination of carnosine and other biogenic imidazoles in equine plasma by isocratic reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **579**, 45-53 (1992)
- 3) Teahon, K. and Rideout, J.M., A sensitive and specific high performance liquid chromatography assay for imidazole dipeptides and 3-methylhistidine in human muscle biopsies, serum and urine, *Biomed. Chromatogr.*, **6**, 16-19 (1992)
- 4) 柳内延也、塩谷茂信、水野雅之、鍋谷浩志、中島光敏、動物エキス中のヒスチジン含有ペプチド（アンセリン、カルノシン）のHPLCによる迅速定量法、*日食科工誌*, **51**, 87-91 (2004)
- 5) 渡辺 彰、上田靖子、樋口幹人、牛筋肉のアンセリン及びカルノシンの迅速測定法と筋肉中の含量、東北農研ホームページ、(2007)
- 6) Jacson M. C. and Lenney, J. F., The distribution of carnosine and related dipeptides in rat and human tissues, *Inflamm. Res.*, **45**, 132-135 (1996)
- 7) 佐藤三佳子、柄澤紀、森松文毅、木村修一：各種食肉中のカルノシン・アンセリン含量の比較、*日本栄養・食糧学会誌*、(2008) (投稿中)
- 8) 須山三千三：エキス成分、水産利用化学(鴻巣章二、橋本周久編)、恒星社厚生閣、(1992)、pp. 103-126
- 9) Abe, H., Distribution of free L-histidine and its related compounds in marine fishes, *Bull. Japan Soc. Fish*, **49**, 1683-1687 (1983)
- 10) Tamaki, N., Nakamura, M., Harada, M., Kimura, K., Kawano, H., and Hama, T., Anserine and carnosine contents in muscular tissue of rat and rabbit, *J. Nutr. Sci., Vitaminol.*, **23**, 319-329 (1977)
- 11) Amend, J.F., Strumeyer, D.H. and Fisher H., Effect of dietary histidine on tissue

- concentrations of histidine-containing dipeptides in adult cockerels, *J. Nutr.*, **109**, 1779-1786 (1979)
- 12) Tamaki, N., Tsunemori, F., Wakabayashi, M. and Hama, T., Effect of histidine-free and -excess diets on anserine and carnosine contents in rat gastrocnemius muscle, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **23**, 331-340 (1977)
- 13) Maynard, L.M., Boissonneault, G.A., Chow, C.K., and Bruckner, G.G., High levels of dietary carnosine are associated with increased concentrations of carnosine and histidine in rat soleus muscle, *J. Nutr.*, **131**, 287-290 (2001)
- 14) Tamaki, N., Funatsuka, A., Fujimoto, S., and Hama, T., The utilization of carnosine in rats fed on a histidine-free diet and its effect on the levels of tissue histidine and carnosine, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **30**, 541-551 (1984)
- 15) Marlin, D.J., Harris, R.C., Gash, S.P. and Snow, D.H., Carnosine content of the middle gluteal muscle in thoroughbred horses with relation to age, sex and training, *Comp. Biochem. Physiol.*, **93A**, 629-632 (1989)
- 16) Penafiel, R., Ruzafa, C., Monserrat, F. and Cremades, A., Gender-related differences in carnosine, anserine and lysine content of murine skeletal muscle, *Amino acids*, **26**, 53-58 (2004)
- 17) Dunnett, M., Harris, R.C., Dunnett, C.E. and Harris P.A., Plasma carnosine concentration: diurnal variation and effects of age, exercise and muscle damage, *Equine vet. J.*, **34**, 283-287 (2002)
- 18) Hama, T., Tamaki, N., Miyamoto, F., Kita, M. and Tsunemori, F., Intestinal absorption of β -alanine, anserine and carnosine in rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **22**, 147-157 (1976)
- 19) Gardner, M.L.G., Illingworth, K.M., Kelleher, J. and Wood D., Intestinal absorption of the intact peptide carnosine in man, and comparison with intestinal permeability to lactulose, *J. Physiol.*, **439**, 411-422 (1991)
- 20) Tamaki, N., Morioka, S., Ikeda, T., Harada, M., Hama, T., Biosynthesis and degradation of carnosine and turnover rate of its constituent amino acids in rats, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **26**, 127-139 (1980)
- 21) 友永省三、梶 雄次、橘 哲也、Denbow, M., 古瀬充宏、 β -アラニンの経口投与はヒナの筋肉および脳のカルノシン含量を変える、*日畜会報*, **76**, 249-254 (2005)
- 22) Horinishi, H., Grillo, M. and Margolis, F., Purification and characterization of carnosine synthetase from mouse olfactory blbs, *J. Neurochem.*, **31**, 909-919 (1978)
- 23) Wood, M.R.G. and Johnson, P., Purification of carnosine synthetase from avian muscle by affinity chromatography and determination of its subunit structure, *Biochim. Biophys. Acta*, **662**, 138-144 (1981)

- 24) Seely, J.E. and Marshall, F.D., Carnosine-synthetase inhibition by β -alanine analogues, *Life Sci.*, **30**, 1763-1768 (1982)
- 25) Lenney, J.F., Peppers, S.C., Kucera-Orallo, C.M. and George, R.P., Characterization of human tissue carnosinase, *Biochem. J.*, **228**, 653-660 (1985)
- 26) Jackson, M.C., Kucera, C.M. and Lenney, J.F., Purification and properties of human serum carnosinase, *Clin. Chim. Acta*, **196**, 193-206 (1991)
- 27) Pegova, A., Abe, H., and Boldyrev, A., Hydrolysis of carnosine and related compounds by mammalian carnosinase, *Comp. Biochem. Physiol.*, **127B**, 443-446 (2000)
- 28) Lenney, J.F., George, R.P., Weiss, A.M., Kucera, C.M., Chan, P.W.H. and Rinzler, G.S., Human serum carnosinase: characterization, distinction from cellular carnosinase, and activation by cadmium, *Clin. Chim. Acta*, **123**, 221-231 (1982)
- 29) Teufel, M., Saudex, V., Ledig, J.M., Bernhardt, A., Boularand, S., Carreau, A., Cairns, N.J., Garter, C., Cowley, D.J., Dunvergr, D., Ganzhorn, A., Guenet, C., Heintzelmann, B., Laucher, V., Sauvage, C. and Smirnova, T., Sequence identification and characterization of human carnosinase and closely related non-specific dipeptidase, *J. Biol. Chem.*, **278**, 6521-6531 (2003)
- 30) Aruoma, O.I., Loughton, M.J. and Halliwell, B., Carnosine, homocarnosine and anserine: could they act as antioxidant *in vivo*?, *Biochem. J.*, **264**, 863-869 (1989)
- 31) Hartman, P.E., Hartman Z. and Ault, K.T., Scavenging of singlet molecular oxygen by imidazole compounds: high and sustained activities of carboxy terminal histidine dipeptides and exceptional activity of imidazole-4-acetic acid, *Photochem. Photobiol.* **51**, 59-66 (1990)
- 32) Babizhayev, M., Seguin, M.C., Gueyne, J., Evstigneeva, R.P., Ageyeva, E.A. and Zheltukhina, G.A., L-carnosine (β -alanyl-L-histidine) and carcinine (β -alanylhistamine) act as natural antioxidants with hydroxyl-radical-scavenging and lipid peroxidase activities, *Biochem. J.*, **304**, 509-516 (1994)
- 33) 柳内延也、塩谷茂信、水野雅之、鍋谷浩志、中島光敏、チキンエキス由来アンセリン-カルノシン混合体の抗酸化活性：植物由来抗酸化物質との比較、*日食科工誌*, **51**, 238-246 (2004)
- 34) Hsieh, C.L., Ho, Y.C., Lai, H.H., and Yen, G.C., Inhibitory effect of carnosine and anserine on DNA oxidative damage induced by Fe^{2+} , Cu^{2+} and H_2O_2 in lymphocytes, *J. Food Drug Anal.*, **10**, 47-54 (2002)
- 35) Boldyrev, A., Bulygina, E., Leinsoo, T., Petrushanko, I., Tsubone, S. and Abe, H., Protection of neuronal cells against reactive oxygen species by carnosine and related compounds, *Comp. Biochem. Physiol.* **137B**, 81-88 (2004)
- 36) Kantha, S.S., Wada, S., Tanaka, H., Takeuchi, M., Watabe, S. and Ochi, H.,

- Carnosine sustains the retention of cell morphology in continuous fibroblast culture subjected to nutritional insult, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **223**, 278-282 (1996)
- 37) Antonini, F.M., Petruzzi, E., Pinzani, P., Orlando, C., Poggesi, M., Serio, M., Pazzagli, M. and Masotti, G., The meat in the diet of aged subjects and the antioxidant effects of carnosine, *Arch. Gerontol. Geriatr. Suppl.*, **8**, 7-14 (2002)
- 38) Davey, C.L., The significance of carnosine and anserine in striated skeletal muscle, *Arch. Biochem. Biophys.*, **89**, 303-308 (1960)
- 39) Parkhouse, W.S., McKenzie, D.C., Hochachka, P.W. and Ovalle, K., Buffering capacity of deproteinized human vastus lateralis muscle, *J. Appl. Physiol.*, **58**, 14-17 (1985)
- 40) Harris, R.C., Marlin, D.J., Dunnett, M., Snow, D.H. and Hultman, E., Muscle buffering capacity and dipeptides content in the thoroughbred horse, greyhound dog and man, *Comp. Biochem. Biophys.*, **97A**, 249-251 (1990)
- 41) 鈴木康弘、佐藤三佳子、森松文毅、高松 薫、トリ胸肉抽出物の経口摂取が高強度間欠的運動パフォーマンスに及ぼす影響、*体育学研究*、**49**, 159-169 (2004)
- 42) Maemura, H., Goto, K., Yoshioka, T., Sato, M., Takahata, Y., Morimatsu, F. and Takamatsu, K., Effect of carnosine and anserine supplementation of relative high intensity endurance performance, *Int. J. Sports and Sci.*, **4**, 86-94 (2006)
- 43) Hipkiss, A.R., Carnosine and protein carbonyl groups: a possible relationship, *Biochemistry (Moscow)*, **65**, 771-778 (2000)
- 44) Lee, Y., Hsu, C.C., Lin, M.H., Liu, K.S. and Yin, M.C., Histidine and carnosine delay diabetic deterioration in mice and protect human low density lipoprotein against oxidation and glycation, *Eur. J. Pharmacol.*, **513**, 145-150 (2005)
- 45) Hipkiss, A.R., Michaelis, J. and Syrris, P., Non-enzymatic glycosylation of the dipeptide L-carnosine, a potential anti-protein-cross-linking agent, *FEBS Lett.*, **371**, 81-85 (1985)
- 46) Hipkiss, A.R. and Chana, H., Carnosine protects proteins against methylglyoxal-mediated modifications, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **248**, 28-32 (1998)
- 47) Hipkiss, A.R., Worthington, V.C., Himsforth, D.J.T. and Herwig, W., Protective effects of carnosine against protein modification mediated by malondialdehyde and hypochlorite, *Biochim. Biophys. Acta*, **1380**, 46-54 (1998)
- 48) Hobart, L.J., Seibel, I., Yeargans, G.S. and Seidler, N.W., Anti-crosslinking properties of carnosine: significance of histidine, *Life Sci.*, **75**, 1379-1389 (2004)
- 49) Nagai, K., Suda, T., Kawasaki, K. and Mathuura, S., Action of carnosine and β

- alanine on wound healing, *Surgery*, **100**, 815-821 (1986)
- 50) Munch, G., Mayer, S., Michaelis, J., Hipkiss, A.R., Riederer, P., Muller, R., Neumann, A., Schinzel, R. and Cunningham, A.M., Influence of advanced glycation end-products and AGE-inhibitors on nucleation-dependent polymerization of β -amyloid peptide, *Biochim. Biophys. Acta*, 1360, 17-29 (1997)
- 51) Preston, J.E., Hipkiss, A.R., Himsworth, D.T.J, Romero, I.G. and Abott, J.N., Toxic effects of β -amyloid (25-35) on immortalized rat brain endothelial cell: protection by carnosine, homocarnosine and β -alanine, *Neurosci. Lett*, **242**, 105-108 (1998)
- 52) Chez, M.G., Buchanan, C.P., Aimonvitch, M.C., Becker, M., Schaefer, K., Black, C. and Komen, J., Double-blind, Placebo-controlled study of L-carnosine supplementation in children with autistic spectrum disorders, *J. Child Neurol.* **17**, 833-837 (2002)
- 53) Tomonaga, S., Tachibana, T., Takagi, T., Saito, E., Zhang, R., Denbow, M. and Furuse, M., Effect of central administration of carnosine and its constituents on behavior in chicks, *Brain Res. Bull.*, **63**, 75-82 (2004)
- 54) Tsuneyoshi, Y., Yamane, H., Tomonaga, S., Morishita, K., Denbow, M. and Furuse, M., Reverse structure of carnosine-induced sedative and hypnotic effects in the chick under acute stress, *Life Sci.*, 2008 (in press)
- 55) Nagai, K., Nijima, A., Yamano, T., Otani, H., Okumura, N., Tsuruoka, N., Nakai, M., Kiso, Y., Possible role of L-carnosine in the regulation of blood glucose through controlling autonomic nerves, *Exp. Biol. Med.*, **228**, 1138-1145 (2003)