

令和5年度豆類振興事業調査研究 「小豆に含有されるレクチンの 機能性に関する研究」

香川大学教育学部 教授 畦 五月

1. はじめに

一概に豆と言っても、多くの種類が栽培され食用となっている。なじみ深い豆として、インゲンマメ属の金時豆をはじめとして白花豆、大福豆、うずら豆や、小豆、大豆などの多くの種類がある。これらの豆は、その鮮やかな皮色とともに、豆ごとに異なる風味や食感を持ち、食卓に彩りを添える食材ともなっている。

豆毎にその成分含有量に差があるものの、20%以上の高いタンパク質含有量を示す豆も存在する。また種類によっては熱帯から亜熱帯が原産の豆もあり、地球温暖化が深刻化しつつある中、食糧危機に備えての救荒食料としても重視されてきている。

豆には、多種類の機能性成分と言われる物質が含有されているが、同時に人体にマイナスの（ネガティブな）影響を与える物質（抗栄養物質）を含んでいることも知られている。豆を予め浸漬・膨潤させて調理する理由は、加熱前に豆に吸水させることで加熱時間を短縮し、豆の中心部まで軟らかく仕上げること。もう一点は、人体にマイナスの影響を与える可能性のある物質や、調理過程や味において不都合を与える物質を除去する目的もある。

筆者が研究を進めているレクチンは、読者の皆様には余りなじみがない物質であるかもしれない。2006（H18）年に、火の通りが不確実な豆を食べたことによる健康被害が報告された¹⁾。その原因物質とされたのがレクチンであった。その経緯は以下の通りである。テレビ番組で数分炒った豆を粉末にして食べる方法が紹介された。つまり、予め豆に十分に水分を吸わせた後、沸騰状態で軟らかく煮て食べるという本来行わなければならない調理操作が紹介されなかった。そのため、豆中に含有される嘔吐・下痢などの消化器症状を引き起こす原因物質であるレクチン（タンパク質）の熱による変性が起こらなかった。つまり豆の不十分な加熱という人為的なミスによって発生した被害であった。この被害を受けて、豆は水に浸漬した後、沸騰加熱を十分に行う必要がある旨の注意喚起がなされた。十分に加熱調理した豆を食べ

ることで消化器症状が出るわけではない。この点は誤解しないで頂きたい。健康被害のリスクは、豆の十分な加熱調理により低下する（弱まる）ということである。

以上のように書くと、豆はリスクを持つレクチンを含んでいるから、どうも…と考えるかもしれない。ここで声を大にして申し上げたい点は、レクチンを微量に摂取した場合には、人体への有益性（抗ガン作用、抗ウイルス作用などの機能性）を示すデータ²⁾も出ていることである（多量摂取では毒でも、微量摂取では有益性を示す）。そこで、以下では小豆に含まれるレクチンの機能性研究の一端をご紹介することにする。

小豆 (*Vigna angularis*) は、「古事記」にも名が載る古来よりなじみ深い豆である。日本人は貴色を尊んだことから、赤小豆は慶事に好んで使用された。たとえば、我々は、赤飯、ぜんざい、あん餅、小豆粥などを「ハレの日」の祝い事に不可欠な料理として認識し食してきた。また地域によっては、いとこ煮といわれる南瓜と小豆の煮物もハレ食として加わっている。さらに、我々になじみ深い小豆加工品としてあんが挙げられる。あんは、2022年に「登録無形文化財」に登録された和菓子に欠かせない食材である。甘味の加わったそのおいしさを、日本人は格別な思いを持ち味わっており、あんは人々の味覚に深く入り込み、願いをも刻んできた食品であるともいえよう。

中医学での小豆は「赤小豆^{せきしょうず}」と称される生薬でもある。その煮汁には消炎、利尿、解毒などの数多くの効能・効果³⁾があるとされている。現代の研究では、小豆とその煮汁には、タンニン、ポリフェノール類、食物繊維などをはじめとする多種類の機能性成分が含有されていることが知られている。また小豆抽出物には、血糖値上昇抑制作用⁴⁾、抗酸化機能⁵⁾、血中コレステロール濃度抑制作用⁶⁾などの各種の機能性があることも報告されており、成分の有効性の研究が進んでいる。以下では小豆から精製したレクチンの機能性に関する研究結果をご紹介する。

● 2. 小豆に含有されるレクチンの機能性 ●

【実験方法】

(1) 実験試料

市販の7種の小豆【赤色種：5種、白色種：2種】を実験試料とした（No.5を除外し品種名は不明、表1）。

表1 使用小豆一覧

No.	商品名	色	産地	収穫時期
1	小豆	赤	北海道	令和4年産
2	小豆	赤	北海道	令和4年産
3	小豆	赤	北海道	令和4年産
4	大納言	赤	北海道	令和4年産
5	小豆（きたろまん）	赤	北海道	令和4年産
6	備中夢白小豆	白	岡山県	令和4年産
7	白小豆	白	北海道	令和4年産

(2) 加熱試料の作成方法

実験試料は、①生豆、②180℃10分及び20分の乾式加熱（豆をホイルで包み、180℃のオーブンで加熱後の豆）、③100℃30分の湿式加熱（チューブ内に水と豆を入れ、沸騰湯中で加熱後の豆）の3種類とした。

(3) 試料からの粗抽出液の作成方法

各試料をブレンダーにて粉末とした。その粉末に10倍量の蒸留水を加えて5℃で一晩攪拌し、遠心分離後の上清液を粗抽出液とした。

(4) 赤血球凝集活性の測定方法

ウサギ赤血球（日本生物材料センター製）の凝集の有無によって、レクチンの持つ赤血球凝集活性（HA活性）強度を測定した。赤血球凝集活性の測定には、96穴マイクロプレート（Nunc社製）を使用し、PBS（リン酸緩衝化食塩水）にて試料溶液の倍々希釈を行った後、2%ウサギ赤血球液を添加し、37℃1時間反応後の凝集の有無を肉眼で判定した。

(5) 小豆からレクチンの精製

上記抽出方法により得た赤小豆（No.1試料）からの上清液を、硫酸アンモニウムで処理後、チオグロブリンアフィニティーカラムクロマトグラフィーに負荷し、精製標品を得た。

(6) レクチンの生物活性

1) 耐熱性

精製レクチンをPBSに溶解し、60℃から100℃までの各温度で30分間加熱後のHA活性を測定した。

2) 耐酵素活性

精製レクチン重量に対して1/100量のタンパク質分解酵素（ペプシ

ン、トリプシン、キモトリプシンの3種類) を添加し、37℃で10分反応後のHA活性を測定した。

3) ガン細胞の増殖抑制活性

2種類の濃度 (20 μ gと40 μ g/mL) の精製レクチン溶液を作成し、この溶液と各種ガン細胞溶液とを反応させて、その増殖抑制活性を検討した。使用したガン細胞は、マウス (3種類: B16メラノーマ細胞、LM8骨肉腫細胞、エーリッヒ腹水ガン細胞)、ヒト (3種類: HepG2肝ガン由来細胞、HeLa子宮頸ガン細胞、Colo679皮膚由来悪性黒色腫細胞) であった。活性強度の比較対照としてConA (タチナタマメからの精製レクチン) を使用した。

(7) 統計方法

全データが正規分布していたため、等分散性を確認後、一元配置分散分析またはWelcheの一元配置分散分析を実施した。有意差が認められた場合にそれぞれTukeyまたはGames-Howellにて多重比較を行った。

【実験結果及び考察】

(1) 使用豆の重量と長さ・厚み

表2には、使用豆の詳細を示した。豆毎に重量・長さ・幅ともに差が確認された。No.4は重量・長さ・幅の結果からも、大納言と推測された。白色種のNo.6は、赤色種より小粒が多くみられ、値にバラツキがみられた。

(2) 粗抽出液のHA活性

7種の全試料にHA活性が認められた (図1)。縦軸はマイクロプレート上で試料の希釈倍数を示す (1=試料液の2倍、2=試料液の4倍希釈となる)。特に赤色種が白色種 (No.6,7) より高HA活性を示した。

次に加熱方法とHA活性の関係に着目する。乾式加熱20分後においても、生豆と比較して大幅なHA活性低下は認められなかった。一方で、湿式加熱後は、生豆のHA活性より高い傾向が確認された。湿式加熱で生豆よりHA活性が高くなる傾向は、他種の豆でも報告がみられた現象である。

表2 使用豆の詳細

No.	重量		長さ		幅	
	g	偏差	cm	偏差	cm	偏差
1	0.1220	0.0193	0.6849	0.0330	0.6849	0.0330
2	0.1212	0.0148	0.6971	0.0229	0.6971	0.0229
3	0.1573	0.0171	0.7685	0.0264	0.7685	0.0264
4	0.2392	0.0369	0.8063	0.0507	0.8063	0.0507
5	0.1575	0.0180	0.7838	0.0513	0.7838	0.0513
6	0.1312	0.0275	0.6825	0.0557	0.6825	0.0557
7	0.1436	0.0382	0.7011	0.0808	0.7011	0.0808

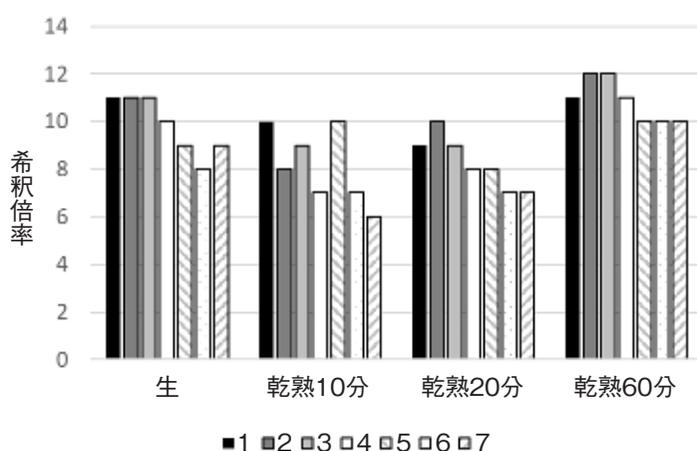


図1 豆ごとのHA活性

(3) レクチンの精製

アフィニティーカラムクロマトグラフィーで精製されたレクチンの分子量は60kDaであり、SDS電気泳動にて単一のタンパク質であることが確認された。

(4) 精製レクチンの生物活性

1) 各種温度で加熱した場合の耐熱性

2種類の濃度（50 μ gと500 μ g/mL）のレクチン液を使用した耐熱性の結果を図2に示した[活性残存率は、無加熱（対照）を100%として示した]。

60 $^{\circ}$ CまではHA活性は両濃度で低下せず安定であったが、80 $^{\circ}$ Cで活性低下がみられた。その低下状態はレクチン濃度にも依存したが、

特に高濃度が著しい低下傾向を示した。100℃加熱での低下傾向は、80℃と同様の傾向を示し、高濃度液の活性は100℃で失活したが、低濃度液では同温度で30%強の低下にとどまった。つまり、低濃度溶液において、耐熱性が強いという結果であった。

以下ではタンパク質であるレクチンを食べた後を仮定して、タンパク質分解酵素を作用した後でもHA活性が保持されているかどうかの検討を行った。

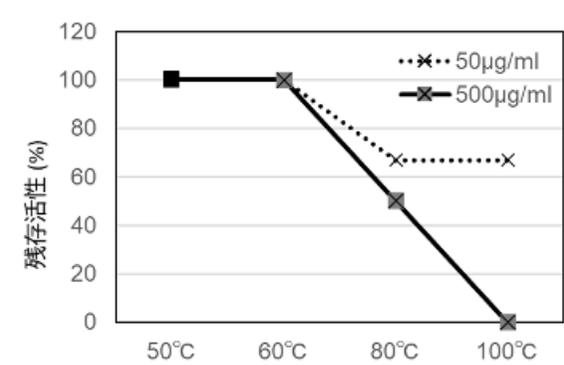


図2 小豆レクチンの耐熱性(30分加熱後の活性)

2) 耐酵素性 (表3)

ペプシンに対する耐性は若干弱いものの、トリプシンには強い耐性を示した。つまり本レクチンは10分間反応では消化酵素に耐性を示した。

表3 酵素に対する耐性

ペプシン	キモトリプシン	トリプシン
100.0	62.5	200.0

数値は残存活性で示している。

3) マウス及びヒトガン細胞の増殖抑制活性

レクチンの分子量は一般的には3万程度である。しかしながら、インゲン豆類に含有されるレクチンは、タンパク質分解酵素で消化されて低分子化されることは少なく、巨大分子のまま小腸壁からエンドサイトーシス（食飲作用）によって、細胞内へ取り込まれる性質を持つ⁷⁾。つまりレクチンの独自構造が持つ機能性を失うことなく、

体内へ吸収される特異なタイプのタンパク質といえる。それ故、微量吸収された場合のレクチンの機能性が期待できる。

以下では、タンパク質分解酵素に耐性を示した小豆レクチンが、各種のガン細胞の増殖作用に与える影響を検討した結果を説明する(図3-a,b)。

レクチン無添加群(対照)のガン細胞増殖率を100%として示し、精製した小豆レクチンのガン細胞増殖活性をConA^{注)}と比較した。対照と比較して、ガン細胞ごとに増殖(抑制)活性に相違はあるものの、小豆レクチンにはマウス及びヒトのガン細胞の増殖を抑える作用が認められた。

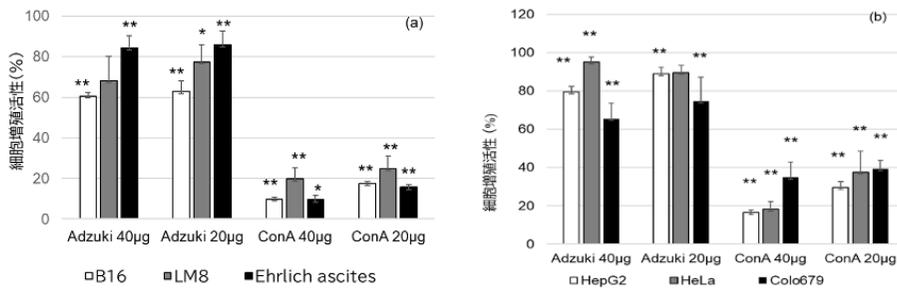


図3 小豆レクチン添加時のガン細胞の増殖(抑制)活性

統計方法：多重比較後、Tukey法 (B16, LM8, HepG2, and Colo 679 cells)、又はGames-Howell post-hoc test (Ehrlich ascites and HeLa cells) で検定した。 **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$ 。(a)：マウスガン細胞、(b)：ヒトガン細胞。レクチン無添加群を100%として示した。

①マウスガン細胞への影響

対照に対して、ConAの増殖率は添加濃度依存的に約10~25%を示し、有意 ($p < 0.01$ 、エーリッヒ腹水ガン細胞40µg: $p < 0.05$) に増殖が抑制されていた。この結果に対して、小豆レクチンの増殖活性は約60~90%程度であった。つまり、ConAよりは小豆レクチンのガン細胞増殖抑制活性は弱いといえた。

細胞種別に検討すると、B16細胞が最も抑制活性が強く(増殖率が約60%)、続いてLM8細胞、エーリッヒ腹水ガン細胞(増殖率が約80~90%)の順であった。対照に対して、全てのガン細胞の増殖は有意に抑制された [$p < 0.01$ 、LM8細胞以外]。

②ヒトガン細胞への影響

対照に対して、ConAは添加濃度依存的に、約20~40%の強力な増殖活性 ($p < 0.01$) を示した。

強力な増殖活性を示したヒト細胞は、Colo679メラノーマ細胞であったが、この活性はConAよりは低活性であった（約60～70%）。一方で、HepG2細胞とHeLa細胞の活性は、Colo679細胞より弱活性（約60～90%）であった。この活性値から増殖を抑制する作用は弱いと考えるかどうかであるが、以前研究した金時豆から得られたレクチンのガン増殖抑制活性と同程度⁸⁾であった。なお、煮た後の金時豆にも生豆に比較してはるかに微量のレクチンが含まれており、この煮豆中のレクチンも生豆と同程度にガン細胞の増殖を抑制する機能性を保持していた⁸⁾。さらに生豆・煮豆中のレクチンには、炎症を抑え免疫機能を活性化するという食薬としての機能性も認められた⁸⁾。

今後は、煮た小豆からレクチンを精製して、その機能性が生豆と同程度に保持されているかどうかの今後の研究に期待したい。

【まとめ】

小豆からレクチンを単一なタンパク質として精製し、そのレクチンの持つ性質について検討した。レクチン自体は熱に弱いですが、タンパク質分解酵素へ耐性を示したため、人体へ微量取り込まれた場合には抗ガン作用を含めた食薬としての機能性を示す可能性が示唆された。

● 3. 謝辞

本研究は、公益財団法人日本豆類協会 令和5年度の助成によって実施したものである。深くお礼を申し上げます。また本研究の遂行において奈良学園大学 野中紘士博士の尽力がありました。

これらのデータは、Journal of Food science の論文 (Purification and antiproliferative effects of lectin from Japanese adzuki beans (*Vigna angularis*) against cancer cells) DOI: 10.1111/1750-3841.70012 90(2), e70012から改変し作成している。

注) 今回比較試料としたConAは、すでに臨床現場でガンの治療薬として使用されている。

4. 参考文献

- 1) 厚生労働省,白インゲン豆の摂取による健康被害事例について,
<https://www.mhlw.go.jp/houdou/2006/05/h0522-4.html> (2025.1.8ダウンロード)
- 2) Kumaret al., (2018). Current Scenario of Legume Lectins and Their Practical Applications. *J. Crop Sci. Biotech.* 21 (3), 217 -227
- 3) 神戸中医学研究会編著 (2006), 中医臨床のための中薬学, 医歯薬出版, p.200
- 4) 齋藤 優介ら (2007), 豆類ポリフェノールの抗酸化活性ならびに α -アミラーゼおよび α -グルコシダーゼ阻害活性,日食科工会誌, 54 (12), 563-567
- 5) 小嶋 道之ら (2006), 小豆ポリフェノールの生体内抗酸化活性と肝臓保護作用, 日食科工会誌, 53 (7), 386-392
- 6) 小嶋 道之ら (2006), 小豆エタノール抽出物添加飼料によるラットの血清コレステロール上昇抑制, 日食科工会誌, 53 (7), 380-385
- 7) Aricigil, S., & Pryme, I. F. (2015). Potential beneficial effects of dietary plant lectins on health. *Natural Products: Research Reviews*, 2, 1-28
- 8) Une.S. et al., (2024), Antiproliferative and anti-inflammatory effects of fractionated crude lectins from boiled kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) . *J. Food Sci.*, 89 (1), 671-683