

1 課題名：小豆に含有されるレクチンの機能性に関する研究

2 研究者：研究代表者：香川大学教育学部 教授 畦五月

共同研究者：奈良学園大学 保健医療学部 講師 野中紘士

3 成果概要

研究目的：小豆は「古事記」にもその名が載り、古来より貴色とされる赤色から、行事食・儀礼食や日常食で利用されている。また利尿作用等の数々の効能性も有しているため生薬としての使用もされている。

本研究では、機能性成分のうちのレクチンに着目した。レクチンは(糖)タンパク質であり、豆類に多く含有される。加熱不十分な豆の摂取で嘔吐・下痢などの食中毒作用を起こすことが知られているが、微量摂取(投与)した場合のガン細胞増殖抑制作用等の機能性も知られている。

小豆にはウサギ血球を特異的に凝集するレクチンの存在は知られてはいるが、そのレクチンの精製を含めた機能性に関する研究は見られない。そこで、本研究では、小豆からレクチンを精製するとともに、その消化酵素耐性や、生物活性、特にガン細胞増殖抑制作用などの機能性を明らかにすることを目的とした。

研究方法：

(1)生豆7種(No.1~5と7：北海道産、No.6：岡山県産、No.4は大納言)からの水抽出液について赤血球凝集活性(マイクロタイター法によりウサギ赤血球凝集を指標する、HA活性)、ポリフェノール量(フォーリン・デニス法)、抗酸化活性(DPPH法)などを測定した。同時に乾熱加熱(180°Cで10分と20分)及び、湿熱加熱(沸騰湯浴中で60分)後の豆中の活性も併せて測定した。

(2)生豆よりアフィニティークロマトグラフィーにてレクチンを単一のタンパク質に精製した後、その消化酵素に対する耐性及び熱耐性、ガン細胞増殖抑制作用[使用細胞:HepG2(ヒト肝臓ガン細胞)、HeLa(ヒト子宮ガン細胞)、Colo679(ヒト皮膚ガン細胞)、B16(マウス皮膚ガン細胞)、LM8(マウス骨肉腫細胞)、エーリッヒ腹水ガン細胞]をMTT法にて測定した。

研究成果： (1)生豆7種の機能性成分の測定

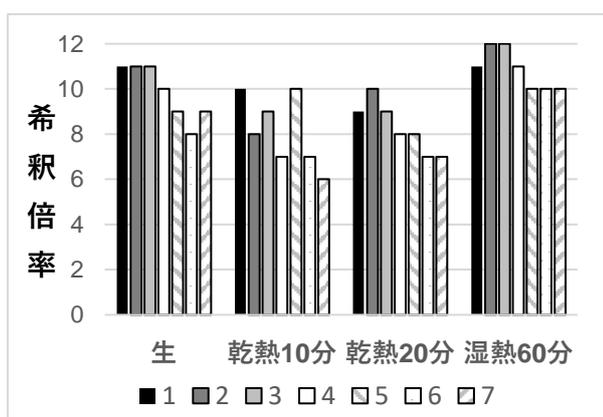


図1 生及び加熱後の豆の赤血球凝集活性

HA活性において、赤色種(No.1~5)に高値の傾向があり、白色種(No.6,7)は赤色種より低活性を示した(図1)。ポリフェノール量は豆間で有意差が確認され、特に赤色種が高値を示した(図2)。抗酸化活性も豆間で有意差が確認され、赤豆よりは劣ったものの白豆種にも活性が確認された(図3)。

(2)加熱処理後における機能性成分の測定

乾熱加熱のHA活性は、生豆と比較して若干低下したが、湿熱加熱豆は生豆以上のHA活性が検出された(図1)。この結果は加熱した豆中に含有するレクチンを微量摂取するのであれば、レクチンによる機能性が期待できることを示している。加熱した後の豆のポリフェノール量は生豆より急激に減少(約1/10~1/20)した(図2)。しかし加熱した後の豆の抗酸化活性は生豆と同程度を示し加熱による低下は確認されなかった(図3)。

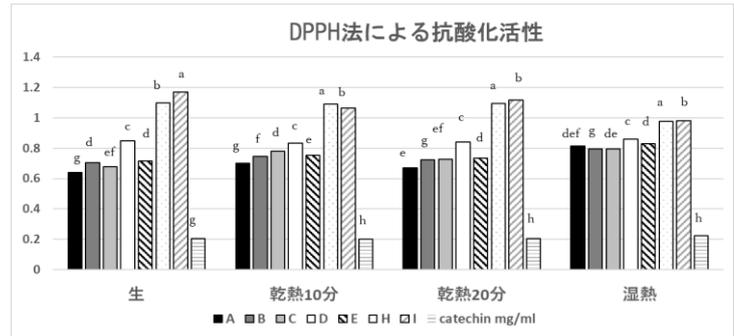
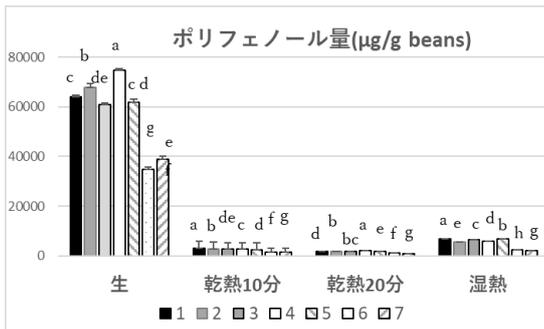


図2. 各種豆のポリフェノール含有量 図3. 各種豆の抗酸化活性 異なるアルファベットは、多重比較により5%で群間有意差があることを示す。

(3) 生小豆からのレクチンの精製と諸性質

水抽出物を硫酸アンモニウムで分画後、チオグロブリンセファロースカラムクロマトグラフィーに負荷しレクチンを精製した。活性画分の SDS 電気泳動結果では、分子量 60 kDa の単一なタンパク質に精製されたことが判明した。

(4) 精製レクチンの性質と機能性

その耐熱性は 60°C までは安定であり、80°C 以上で減少し始めたが、100°C でも 70% 程度が残存していた。豆丸ごとの湿熱加熱で HA 活性は低下しなかった結果と比較し、精製レクチン自体の熱耐性は若干弱い結果であった。さらにタンパク質分解酵素の一部に対して本レクチンは弱耐性を示した。

ガン細胞増殖抑制作用をヒトとマウスのガン細胞を使用し、ConA (タチナタ豆由来レクチン) を比較対照として検討した。その結果、ConA より本レクチンは弱い増殖抑制作用を示したが(図4)。ガン細胞種毎にその活性に強弱はみられたものの、レクチンの添加濃度依存的に増殖は抑制されていた。その効果は、マウスのみならず、ヒトのガン細胞でも認められた。特に B16 メラノーマ細胞と、Colo679 ヒト皮膚ガン細胞への効果が大きかった。以上の結果より本レクチンは抗ガン試薬として使用できる可能性が示唆された。

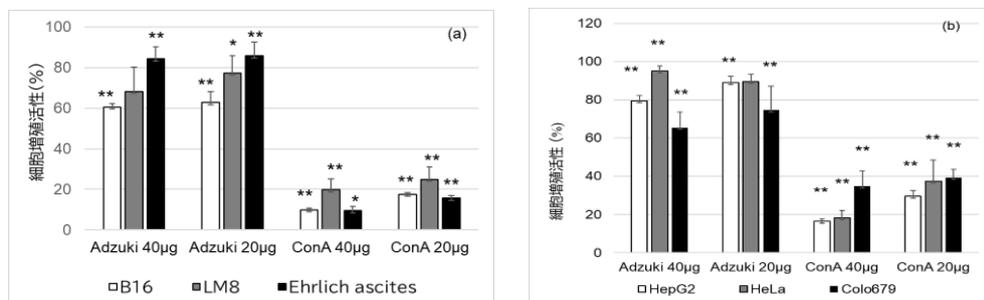


図4. 小豆レクチンのガン細胞増殖抑制作用 (レクチン無添加のコントロールに対する有意差で示した。 ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

豆丸ごとの加熱によってもレクチンの持つ HA 活性は大幅に消失しなかった。以上の結果より、小豆中のレクチンが金時豆で報告があるように、エンドサイトーシス(食飲作用)にて体内へ吸収された場合には、食薬として機能性を示す可能性が示唆された。

4. 今後予想される効果

加熱後も小豆中に高活性を示すレクチンが残存していた結果から、含有される微量のレクチンが機能性を示し小豆の食薬としての作用が期待できる。さらに、レクチン以外の機能性成分が、加熱調理後も消失しない本研究結果から、加熱後の小豆(食用とした状態)の機能性についてさらなる広報を図ることが可能となる。今後は加熱後の小豆からレクチンを分画して、そのガン細胞増殖抑制作用等の機能性を検討することも必要となってくる。