

平成 23 年度豆類振興事業調査研究（雑豆需要促進研究）成果概要

1. 研究課題名 新規食品機能成分としての豆類スフィンゴ脂質特性の解析
2. 研究者 京都大学大学院農学研究科 准教授 菅原達也
3. 成果概要

【研究目的】

スフィンゴ脂質は、真核生物の細胞膜構成成分の一つであり、細胞の分化やアポトーシスなどの生命現象に深く関わっていることが知られている。近年、食品機能成分として注目されつつあり、大腸ガン抑制作用 (Prog. Lipid Res. 48, 62, 2009)、抗糖尿病作用 (J. Agric. Food Chem. 58, 7030, 2010)、血中脂質低下作用 (Am. J. Clin. Nutr. 84, 312, 2006) などが報告されている。現在市販されているスフィンゴ脂質素材の多くは、米、小麦、トウモロコシなど穀類由来グルコシルセラミドであり、これらの摂取によっても様々な効果が示されてきている。一方、豆類のスフィンゴ脂質含有量も穀類と同等以上と考えられるが、その含有量や詳細な化学構造について、とくに豆類間での比較検討はなされていない。そこで本研究は、豆類由来スフィンゴ脂質の有効利用のために、その含有量、化学構造の特性および食品機能性について評価することを目的とした。そのために一般的に流通している豆類について、スフィンゴ脂質含有量とその化学構造の解析を行い、その特徴を評価した。さらに得られたスフィンゴ脂質試料について、培養細胞を用いた食品機能性の評価を試みた。

【研究方法】

市販の豆類（ダイズ、アズキ、ササゲ、エンドウ、インゲン、クロマメ、ヒヨコマメ、レンズマメ、リョクトウ）から、クロロホルム/メタノールを用いて脂質を抽出した後、0.4N 水酸化カリウムを含むメタノール溶液に溶解し、37°C 2 時間処理することで、グリセロ脂質を分解除去した。クロロホルムと水を加え分配した。得られたアルカリ安定脂質画分をクロロホルム/メタノール混液に溶解し、光散乱検出 (ELSD) -HPLC に供することで、グルコシルセラミドの含有量を定量した。さらに高速液体クロマトグラフィーイオントラップ型質量分析装置 (LCMS-IT-TOF, 島津製作所製) を用いて、スフィンゴ脂質の分子種分析を行った。TLC により精製した豆類由来グルコシルセラミドの MS/MS 解析を行い、分子種の化学構造解析を行った。

ヒト大腸がん由来 Caco-2 細胞を DMEM 培地で 3 週間培養し、小腸上皮様に分化させたものを消化管上皮モデルとして用い、TNF α によって誘導される IL-8 の発現を指標に、消化管における炎症反応に与えるスフィンゴ脂質の影響を評価した。分化させた Caco-2 細胞に TNF α (100 ng/ml) と豆類由来グルコシルセラミドを添加して 3 時間培養した後、細胞を回収した。セパゾール試薬 (ナカライテスク) を用いて、トータル RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR を行い、IL-8 mRNA 発現量を定量した。

【研究成果】

今回調べた試料に含まれるグルコシルセラミドの含有量は乾燥重量 100 g 当たり 29～179 mg であり、エンドウとインゲンに比較的多く含まれていることが初めて明らかとなった（表 1）。LC-MS/MS 解析の結果から同定されたグルコシルセラミド分子種をまとめたものを表 2 に示した。豆類のグルコシルセラミドは α -ヒドロキシ脂肪酸を構成成分とする分子種であることが見出された。また、スフィンガトリエニン（d 18 : 3）に由来するプロダクトイオン $m/z = 260$ がダイズのみから検出された。高等植物において、トリエン型スフィンゴイド塩基は、本研究結果により豆類から初めて確認された。

ダイズとエンドウ由来グルコシルセラミドは、 $100 \mu\text{g/ml}$ の添加濃度で $\text{TNF}\alpha$ によって誘導される IL-8 産生を抑制し、エンドウで特に強いことが明らかとなった（図 1）。今後、より詳細な検討が必要であるものの、消化管における炎症反応に対して、抑制的に働く可能性が期待された。なお、このときスフィンゴ脂質による細胞毒性は認められなかった。

一般に市販されている豆類に関し、グルコシルセラミド含有量の比較検討の結果、これらは植物性素材の中でも、比較的含有量が高いことが明らかとなった。また、その組成も市販されているグルコシルセラミド素材（トウモロコシ、コメなど由来のもの）とほぼ同様であることが示された。したがって、豆類はグルコシルセラミドの新しい素材として有効利用されることが期待できる。さらに本研究から、豆類由来のグルコシルセラミドが消化管における炎症を抑制できる可能性が示された。今後詳細に研究を推進することにより、機能性素材としての応用が期待される。

表 1 豆類のグルコシルセラミド含有量

	mg/100g 乾燥重量		
ダイズ	83.7	±	10.7
アズキ	59.9	±	8.0
ササゲ	78.0	±	8.1
エンドウ	137.4	±	10.9
インゲン	178.7	±	35.5
クロマメ	96.2	±	21.8
ヒヨコマメ	38.8	±	13.3
レンズマメ	28.9	±	5.2
リョクトウ	42.7	±	14.4

表 2 豆類のグルコシルセラミド分子種

	ダイズ	アズキ	ササゲ	エンドウ	インゲン	クロマメ	ヒヨコマメ	レンズマメ	リョクトウ
d18:2-C16:0h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
d18:1-C16:0h					+				
d18:2-C18:0h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
d18:2-C20:0h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
d18:2-C16:0h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
t18:1-C22:0h	+	+	+	+	+	+	+	+	
t18:1-C24:0h	+	+	+	+	+	+	+	+	+
d18:2-C24:0h	+	+	+	+	+				
d18:2-C25:0h	+	+	+	+	+				
d18:1-C26:0h	+	+	+	+	+				
d18:2-C26:0h	+	+	+	+	+				
d18:3-C18:0h	+								
d18:3-C20:0h	+								

+, 検出された分子種

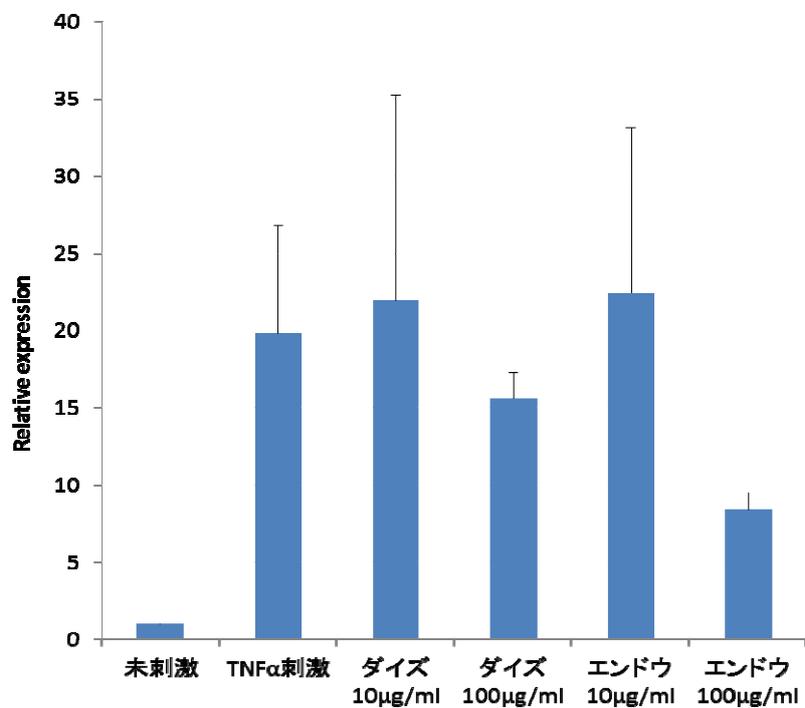


図 1 分化させた Caco-2 細胞における TNF α によって誘導される IL-8 遺伝子発現に与える影響