

平成 25 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. 課題名

秋田県産「てんこ小豆（黒ささげ）」の機能性探索に関する研究

2. 研究者

研究代表者 秋田県総合食品研究センター 食品加工研究所 所長 高橋砂織

共同研究者 秋田県総合食品研究センター 醸造試験場 上席研究員 渡辺隆幸

秋田県総合食品研究センター 食品加工研究所 主任研究員 畠 恵司

3. 成果概要

(1) 研究目的

秋田県では大豆や小豆の栽培が盛んである。その中で秋田県の在来種である「てんこ小豆」は、秋田市雄和地区で古くから栽培され同地区や秋田県内で小豆の代わりに赤飯に多用されている。てんこ小豆は、黒ささげの秋田での名称であり、小粒で黒大豆様の形態をしている。てんこ小豆で作った赤飯は、小豆の赤飯に比べはるかに濃い赤褐色の色づきがあり、且つ風味が豊である（図1）。てんこ小豆は生産量が少ないこと単価が高いことなどからその消費は伸び悩んでいる。また、てんこ小豆の機能性に関する研究は皆無である。そこで本研究では、血圧調節系として最も解析が進んでいるレニン・アンギオテンシン系(RAS)に注目して、RASの重要な構成要素であるレニン、アンギオテンシン変換酵素(ACE)やキマーゼを標的酵素としててんこ小豆からそれら酵素の阻害物質探索を行う。さらに培養細胞系を駆使して脂質代謝改善効果作用についても検討することで、てんこ小豆の機能性素材としての可能性を探る。てんこ小豆の機能性が明らかになることで、秋田県内での作付け増加と国内での豆類の消費拡大が期待される。



図1 小豆、タイ産てんこ小豆及び秋田県産てんこ小豆で試作した赤飯

(2) 研究方法

In vitro アッセイ系の標的酵素としては、高血圧に関連するレニン、ACE 及びキマーゼを用いた。我々の研究グループは既に組換え型ヒトレニンのバキュロウイルス・昆虫細胞系発現系を構築しており、効率良く活性型ヒトレニンを発現することに成功している。そこで本組換え型ヒトレニンと新たに開発した蛍光消光基質、*N*-methylantranyl (Nma)-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu*Val-Ile-Thr-His-Lys-2, 4 dinitro phenyl (Dnp)-D-Arg-D-Arg-NH₂ (*、レニンによる切断部位) を用いて阻害物質の探索を行った (図2)。ACE 活性は、これも我々が開発した簡便・高感度測定に対応した蛍光消光基質、*N*ma-Phe-His-Lys(Dnp)を用いて測定した。一方、キマーゼ活性については、上記ヒトレニン基質が有効であることがしめされ、同基質を用いてキマーゼの至適 pH 領域を決定し、最良の条件活性を測定した。

培養細胞系での脂質代謝改善効果を検討にはマウス 3T3-L1 細胞を用いた。マウス 3T3-L1 細胞の脂肪細胞分化処理を行ない、作成した脂肪細胞を用いて脂質の蓄積抑制効果を検討した。一方、培養細胞から分化誘導した小腸、肝臓や脂肪組織の人工モデル臓器を用いた評価をおこなった。

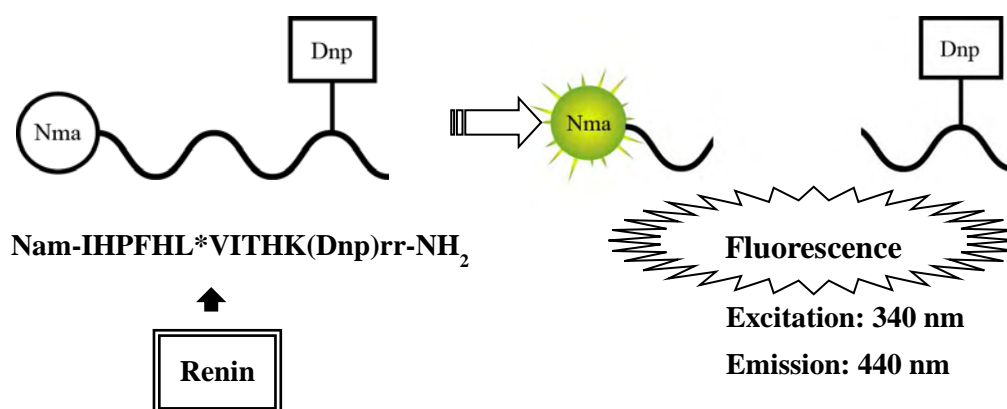


図2 蛍光消光基質を用いたレニン活性測定方法

(3) 研究成果

1) てんこ小豆抽出液の血圧関連酵素に及ぼす影響

小豆、タイ産てんこ小豆及び秋田産てんこ小豆の熱水抽出液およびエタノール抽出液を調整し、レニン、ACE 及びキマーゼの阻害活性を測定した。表1にそれぞれの酵素に対する50%阻害値 (IC₅₀値) を示した。各豆類の酵素阻害活性はエタノール抽出液に比べ熱水抽出液で一桁程度強い値を示した。熱水抽出液においては、秋田産てんこ小豆抽出液が北海道産小豆やタイ産てんこ小豆抽出液に比べていずれの酵素に対しても強い阻害活性を示した。秋田産てんこ小豆の阻害物質の特性を調べる一端として秋田産てんこ小豆熱水抽出液を C18 逆相カラムで分画した。それぞれの酵素の阻害活性の大部分は、C18 カラムを素通りした。次に、この通過液を Bio-Gel P-4 カラムを用いたクロマトグラフィーで分画した。

表1 豆抽出液のレニン、ACE 及びキマーゼ阻害活性 (IC₅₀値)

品 種	抽出方法	レニン阻害活性 ($\mu\text{g/ml}$)	ACE 阻害活性 ($\mu\text{g/ml}$)	キマーゼ阻害活性 ($\mu\text{g/ml}$)
秋田てんこ	EtOH	620	420	230
タイてんこ	EtOH	650	1000<	290
北海道小豆	EtOH	400	1000<	260
秋田てんこ	熱水	69.0	11.0	8.6
タイてんこ	熱水	97.0	18.0	14.0
北海道小豆	熱水	113.0	10.0	23.0

レニン阻害活性とキマーゼ阻害活性は、高分子領域から低分子領域にわたり観察された。このことは、レニンとキマーゼの阻害物質が単一化合物によるものではなく、複数の化合物が存在していることを示唆している。一方、ACE の阻害活性を見て見ると阻害活性は低分子領域にシングルピークとして検出されることから、てんこ小豆由来の ACE 阻害物質は単一化合物もしくは分子量が近接した複数の化合物である可能性が示唆された。今後、これら阻害物質の精製と構造解析を進める予定である。

2) 豆類抽出液の脂肪蓄積抑制効果の検討

マウス由来 3T3-L1 細胞をホルモン処理により脂肪細胞に分化させた。本脂肪細胞に秋田産てんこ小豆及び比較としてのタイ産てんこ小豆、北海道産小豆、大豆及び黒豆の熱水抽出液及びエタノール抽出を添加し、細胞内脂肪蓄積を検討した。その結果いずれの抽出液においても顕著な蓄積抑制は観察されなかった。

3) 豆類抽出液の人工モデル臓器での評価

培養細胞から分化誘導した人工モデル臓器を用いて各抽出液の影響を検討した。具体的には人工モデル臓器培養系に各種抽出液を加え、培養液中の LDL, HDL、コレステロール及びトリグリセリドの量を分析した。その結果、ポジティブコントロールとして用いた Pluronic L18 では顕著な LDL コレステロールの低下が確認されたが、秋田てんこ小豆のエタノール抽出液や熱水抽出液の添加効果は認められなかった。

4) まとめ

以上の結果より、秋田産てんこ小豆には高血圧関連酵素であるレニン、ACE やキマーゼ阻害物質が豊富に含まれていることが明らかとなった。これまでの研究で我々は、大豆由来レニン阻害物質としたソヤサポニン I を、また、米由来レニン阻害物質としてオレイン酸やリノール酸を同定している。今後、秋田産てんこ小豆の機能性を確立すべくこれら阻害物質の精製と構造解析を進める予定である。