

平成29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 「ササゲ属雑豆の抗ウイルス活性に関する調査研究」
2. 研究者 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 助教 渡邊 健
3. 成果概要

研究目的

アズキのもつ生理活性は古くから知られ、江戸時代の書「狂犬咬傷治方」に生アズキを用いた狂犬病治療が記載されている。狂犬病は人が発症すると致死的な感染症である。河合らはアズキの赤い煮汁に狂犬病の原因である狂犬病ウイルスに対する抑制作用がある事を見出している（Microbiol. Immunol. 2007）。日本国内では半世紀以上狂犬病の発生が無い一方、インフルエンザは治療薬やワクチンがあるにも関わらず毎年流行を繰り返す。インフルエンザが引き金となる死者は日本で年間1万人と言われ、ウイルスが原因となる数ある感染症のなかでも極めて重要な研究対象である。今後新型コロナウイルスや高病原性トリウイルスのヒトでの流行も懸念されるが抗ウイルス薬にはすぐ耐性ウイルスが出現する。そこで、日常摂取する食料、とりわけ毎日摂取が可能な主要な食料のひとつである豆類の抗ウイルス効果を明らかにする事ができれば、国民の健康増進に寄与し、予防医学上極めて有用である。我々はこれまでの研究でピーナッツの赤い薄皮に抗ウイルス活性があることを見出している（J Med Food 2018 印刷中）。以上より赤い皮をもつササゲ属雑豆に抗インフルエンザウイルス作用があることが予想される。そこで本調査研究では、「アズキ」と、アズキと同属（ササゲ属）の赤い豆である「ササゲ」の抗インフルエンザウイルス活性を実証することを目的とした。

研究方法

（1）研究材料の入手

アズキは、品種間での抗ウイルス活性の差異を検討するため 十勝農業試験場の2016年産、同一圃場で生産した各種アズキ10品種を入手した。ササゲは同試験場から入手出来なかった為市販品を入手した。

表 入手したアズキ・ササゲ一覧

種類	番号		産地	
アズキ	1	「エリモショウズ」=十育77号=十系123号	北海道十勝農業試験場 2016年産	
	2	「しゅまり」=十育140号=十系641号		
	3	「ちはやひめ」=十育164号=十系1094号		
	4	「きたあすか」=十育155号=十系881号		
	5	「きたのおとめ」=十育127号=十系454号		
	6	「きたるまん」=十育147号=十系782号		
	白小豆	7		「きたほたる」=十育146号=十系774号
	8	「アカネダイナゴン」=十育69号=なし		
	大納言	9		「とよみ大納言」=十育143号=十系699号
	10	「ほまれ大納言」=十育154号=十系887号		
ササゲ	11	大粒ささげ	山形県 2016年産	
	12	ささげ	長崎県 2017年産	

(注)十育(といく)、十系(とけい)は品種開発コード

(2) 抗ウイルス活性検定

【2-1】 様々なインフルエンザウイルスに対するアズキ・ササゲ抽出液の効果

入手した 12 種類のアズキ・ササゲのうち、日本の代表的アズキ産地である北海道で最も広く栽培されている代表品種としてエリモシヨウズが挙げられるので、これを選び、8 種類の抽出法により抽出液を作成した (表)。

抽出液	温度
脱イオン水	室温
脱イオン水	37度
0.9%NaCl溶液	37度
50%エタノール水溶液	37度
1%重曹(NaHCO ₃)溶液	37度
脱イオン水	ボイル
0.9%NaCl溶液	ボイル
1%重曹(NaHCO ₃)溶液	ボイル

標準ウイルス株である A/WSN/33 株を用いて抗ウイルス活性の強さを比較し、最も適した抽出法を調べ、その抽出法を標準抽出法とした。さらに標準抽出法により作成したエリモシヨウズ抽出液について、冬季流行のウイルス株や B 型インフルエンザウイルスを含む合計 6 種類のインフルエンザウイルスへの効果の有無を検討した。

抽出液作成法：

エリモシヨウズ 5 グラムに 15 mL の上記抽出液を加えた。室温または 37 度処理はプラスチック製チューブで毎分 140 回振盪、24 時間抽出を行った。ボイルは沸騰後殆どの粒が浮いてくるまで 20 分程度加熱を続けた。抽出液は 50%エタノール抽出以外、滅菌のためフィルターろ過滅菌を行い、-20 度に保管した。

抗ウイルス活性試験法：

イヌ腎臓由来 MDCK 細胞を生育させた 96well プレートを用いた。評価検体を段階希釈後、細胞を播種したプレートの培地を除き、希釈したサンプル溶液を 100uL/well で加えた。つづけて希釈したインフルエンザウイルス液を 100 uL/well で加え、37°C で 2 日間培養した。培地を取り除き、70% エタノールを加え細胞を固定、Crystal Violet 染色液で染色後水洗、染色の有無にて抗ウイルス活性を評価した。

【2-2】 アズキ、ササゲの品種間での抗ウイルス活性の 差違

2-1 で決定した標準抽出法により 12 種類のアズキ・ササゲの抽出液を作成、標準ウイルス株である A/WSN/33 に対する抗ウイルス活性を比較した。

(図) 1% NaHCO₃ で熱水抽出した抽出液 左から検体番号 1 ~ 12 まで並んでいる。

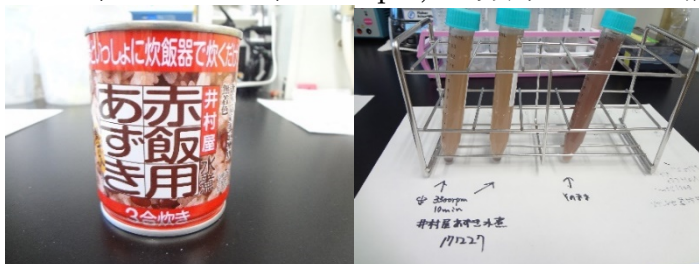


【2-3】 アズキ加工品の抗ウイルス活性

アズキ加工品として餡を生産する際に生じる煮汁、こし餡製造時に出る外皮等製餡の各工程で生じる廃棄物に抗ウイルス活性が見いだせれば新たな需要喚起、廃棄物利用法となりうる。そこで市販のアズキ水煮缶の煮汁の抗ウイルス活性を上記 2-1, 2-2 と同様の手法で評価した。

検体作成法：

井村屋株式会社の「赤飯用あずき水煮缶 3 合炊き」(スーパーマーケットにて購入、賞味期限 2020.9.22) の上清(煮汁)に抗ウイルス活性があるかどうかを検討した。煮汁は濁っていたので、そのままと、3300rpm, 10 分間遠心した上清の 2 検体について検討した。



(図) 購入したアズキ水煮缶と、煮汁

研究成果

【2-1】様々なインフルエンザウイルスに対するアズキ・ササゲ抽出液の効果

エタノール抽出以外では、いずれも 0.1~0.33%の抽出液添加で抗ウイルス活性がみられ、エタノール抽出での活性は低かった。とりわけ 1% NaHCO₃ ボイル抽出がもっとも活性が安定してみられたので、以下標準抽出法として用いることとした。次にエリモショウズを標準抽出法にて各種インフルエンザウイルス(表)を用いて活性試験を行った。

種類	亜型	株名	備考
A型インフルエンザ	H1N1	A/WSN/33	
	H1N1	A/PR/8/34	実験室株
	H3N2	A/Aichi/2/68	
	H1N1	A/Virginia/ATCG2/2009	臨床分離株
	H1N1	A/California/7/2009	ワクチン製造株
B型インフルエンザ		B/Lee/40	実験室株

結果、エリモショウズ抽出液を 0.1%程度加えることで上記表の各種インフルエンザウイルスの増殖を抑制した。B型インフルエンザに対しての効果は 0.33%を添加した時にみられた。

【2-2】アズキ、ササゲの品種間での抗ウイルス活性の差

白小豆「きたほたる」のみ抗ウイルス活性が検出限界以下(3.3%添加でも活性みられず)となった。それ以外のアズキ、ささげではいずれも 0.1~0.33%での添加で抗ウイルス活性が認められた。

【2-3】アズキ加工品の抗ウイルス活性

煮汁を 1~3.3%程度加えた場合に抗ウイルス活性が認められた。缶詰中の煮汁とアズキ粒の割合を考えると、当方が(1)(2)の研究項目で独自に作成した抽出液と比して煮汁の量が数倍程度多いことも活性が低い一つの理由と考えられた。また、濁った煮汁そのままと、遠心後の上清では抗ウイルス活性に大きな差はなかった。

まとめ

白小豆で抗ウイルス活性が無く、その他のアズキ・ササゲ品種で抗ウイルス活性があったこと、および熱水抽出液や市販アズキ水煮缶の煮汁でも抗ウイルス活性があったことから、抗ウイルス活性成分は熱耐性でかつ色素の成分である可能性が考えられた。特に製造過程で高熱処理が施される市販水煮缶で抗ウイルス活性が保持されていることは、大部分のアズキ調理法において抗ウイルス活性が保持されていることが示唆されるため、本研究結果をもとにさらに研究開発を進めることでアズキやササゲの消費拡大に資することが期待される。