

山梨県産スモモ果実の アンジオテンシン I 変換酵素 (ACE) 阻害活性

木村 英生・長沼 孝多・小嶋 匡人・小松 正和・恩田 匠・辻 政雄

Angiotensin I Converting Enzyme (ACE) Inhibiting Activity of Fruits Produced in Yamanashi Prefecture

Hideo KIMURA, Kota NAGANUMA, Masato KOJIMA,
Masakazu KOMATSU, Takumi ONDA and Masao TSUJI

要 約

山梨県産スモモ果実8品種を対象に、そのアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性を調査した。その結果、スモモ果実中で最も高いACE阻害活性を示したのはソルダムであった。

Abstract

The angiotensin converting enzyme (ACE) inhibiting activity of plum (sordum, taiyo, kelsey, redbutte, kiyou, riou, queen rosa, and santa rosa) were investigated. Sordum showed the high ACE inhibiting activity as compared with others.

1. 緒 言

山梨県は果樹王国として全国に知られ、モモ、ブドウ、スモモは生産量日本一を誇る。これまで、山梨県の特徴でもあるこれら果実類を対象に、各種機能性評価や機能性成分の解析を行い、生活習慣病やアレルギーなどに対する予防効果を持つ新しい機能性食品の開発を目的として研究を進めてきた。

既報^{1)~2)}では県産果実を対象に、抗酸化活性を評価し、活性の主要な原因物質がポリフェノールであることを報告した。また、県産果実の高血圧予防効果 (アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性) と抗アレルギー性 (脱顆粒抑制性) について評価した。

その中で、スモモ果実については、高いポリフェノール含量と抗酸化活性を示し、さらにアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性についても高いことが示唆された。

ここでは、県産スモモ果実のアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性について着目し、さらに詳細な検討を行った。

2. 実験方法

2-1 供試スモモ果実

スモモ (*Prunus salicina*) のうち、ソルダム、太陽、ケルシー、貴陽、サンタローザ、クインローザ、レッドビュート及び女王の8品種を供試した。これらの果実に

は、いずれも山梨県産で、平成16~18年度に収穫された適熟のものを使用した。

2-2 試料抽出液の調製

既報³⁾を参考に、スモモ果実 (果皮及び果肉) を数個細断して、よく混合した後、20gを計り取り、破碎後の終濃度が80%となるよう99.5%エタノールを加え、15分間加熱還流抽出した。冷却後ホモジナイザーで破碎し、濾紙 (ADVANTEC No.2, TOYO ADVANTEC社製) で濾過した。残渣を回収し、80%エタノールを加えて同様に加熱還流を行い、濾紙 (ADVANTEC No.2) で濾過した。濾液はすべて合わせて45°Cで減圧濃縮を行い、蒸留水で50mlに定容した。この液を濾紙 (ADVANTEC No.5C, TOYO ADVANTEC社製) で濾過したものを分析試料とした。

2-3 アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性評価試験

試験は堀江らの方法⁴⁾に従った。

2-3-1 試薬の調製

(1) リン酸緩衝液

600mMの塩化ナトリウムを含む400mMリン酸一カリウム水溶液と同濃度のリン酸二カリウム水溶液をpHが8.3となるように混合した。

(2) アンジオテンシン変換酵素基質液 (A液)

アンジオテンシン変換酵素合成基質 H₂p-His-Leu (Hippuryl-L-histidyl-L-leucine, 和光純薬工業(株)製) 2 mg に対し, リン酸緩衝液 1 ml の割合で溶解した。

(3) アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 液 (B液)

アンジオテンシン変換酵素 (ACE; ウサギ肺由来, SIG MA 社製) 0.1 unit に対し, 蒸留水 4 ml の割合で溶解させた。

2-3-2 操作

試験管に A 液 100 μ l, 試料抽出液 100 μ l を加え, 5 分間 37°C で保持した。次いで B 液 100 μ l を加え, 攪拌した後, 37°C で 30 分間酵素反応させた。1N 塩酸 250 μ l を加えて反応を停止させ, 反応生成物 (馬尿酸) を回収するため酢酸エチル 1.5 ml を加えて 15 秒間攪拌した後, 遠心分離した (3000 rpm, 10 分間)。酢酸エチル層 1 ml を採取し, 酢酸エチルを減圧乾燥機で除去した後, 蒸留水 1 ml を加えて攪拌し, 15 分間静置して溶解させた。この液について, 分光光度計を用いて 228 nm の吸光度を測定した。このときの吸光度を A_s とした。また B 液 100 μ l を加えずに 37°C で 30 分間反応させ, 1N 塩酸を加えて反応を停止させた後, B 液を加えた試験区も同時に行った。この吸光度を A_{b1} とした。

試料抽出液の代わりに蒸留水を用いた試験区も同時に行い, それぞれの吸光度を A_c, A_{b2} とした。

ACE 阻害率 (%) は, $\{1 - (A_s - A_{b1}) / (A_c - A_{b2})\} \times 100$ で算出した。試料抽出液は適宜希釈し, それぞれの試料濃度の ACE 阻害率 (%) を上記の操作で求め, 阻害率と試料濃度のプロット上 50% 阻害に対応する試料量を読み取り, IC₅₀ とした。

3. 結果及び考察

ACE 阻害活性評価の結果を図 1 に示した。なお, ACE 阻害活性は, ACE 活性を 50% 阻害するために必要な試料濃度 (IC₅₀; g 湿重量/100 ml) で示した。既報²⁾ で示したように, 果実 9 種中では, スモモ (太陽) が最も高い阻害活性を示し, 3.8 (g/100 ml) であった。続いてブドウ (甲州) とリンゴ (ふじ) がそれぞれ 5.8, 10.2 (g/100 ml) を示し, モモ, ナシ, カキ, ウメ, ネクタリン及びサクランボは 20 (g/100 ml) 以上であった。

ACE は, 不活性なアンジオテンシン I の C 末端 His-Leu を切断し, 血管収縮などの強い血圧上昇作用を有するアンジオテンシン II を生じさせ, 一方で, 強い血管拡張作用を有するブラジキニンを分解する働きをしている昇圧系酵素である⁵⁾。この ACE の働きを阻害することにより, 高血圧を抑制することが可能である。

今回は既報²⁾ で特に高い阻害活性を示したスモモについて, 品種を増やして品種による差異を検討した。

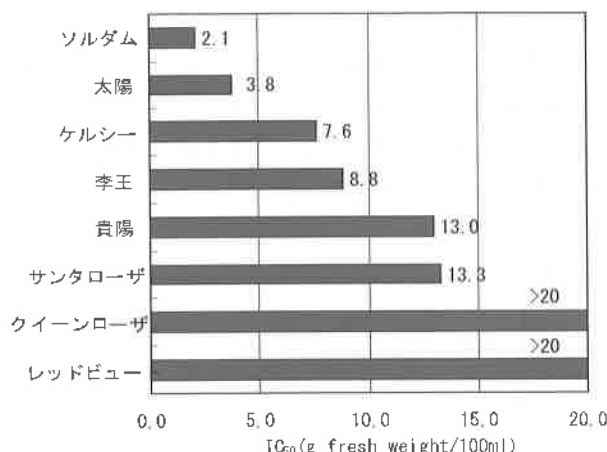


図 1 スモモ果実 (8 品種) の ACE 阻害活性 (IC₅₀)

スモモ 8 品種について比較すると, 最も高い阻害活性を示したのは, ソルダムであった。ソルダムの ACE 阻害活性は, IC₅₀ で 2.1 (g 湿重量/100 ml) であった。次いで, 既報²⁾ に示した太陽が 3.8 (g 湿重量/100 ml), ケルシー, 李王がそれぞれ 7.6, 8.8 (g 湿重量/100 ml) を示した。品種によって阻害活性に違いは見られるが, ソルダムをはじめとして高い活性を持つ可能性が示唆された。

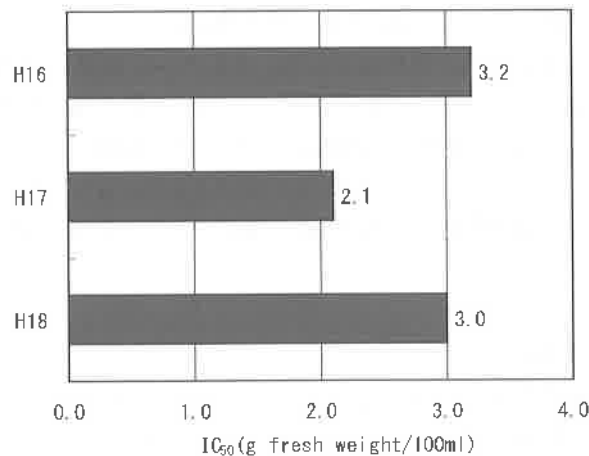


図 2 採取年度別によるソルダムの ACE 阻害活性の差異

次に最も高い阻害活性を示したソルダムについて, 採取年度別に阻害活性を比較した (図 2)。平成 16 年度から平成 18 年度で見ると, IC₅₀ は 2.1 ~ 3.2 (g 湿重量/100 ml) の範囲であり, スモモ (太陽) やブドウ (甲州) と比較していずれも高い値を示したことから, 年度毎に差はあるものの, 他の果実, 品種と比較して十分に高い阻害活性を示すことが明らかとなった。

ソルダムの ACE 阻害活性を示す原因物質については, 現状, 特定をしていないが, 他の食品については食品タンパク質由来のペプチド型物質^{6)~10)} や茶成分のポリフェノール類 (カテキン類やテアフラビン類)¹¹⁾ が報告されている。スモモ類には, ソルダムをはじめ, 他の果実

と比較して高いポリフェノール量を示すものが多いことから、ポリフェノールがACE阻害の主要な原因物質である可能性も考えられた。そこで IC_{50} とポリフェノール量についての相関を検討した(図3)が、両者の間には高い相関関係は見られなかった。

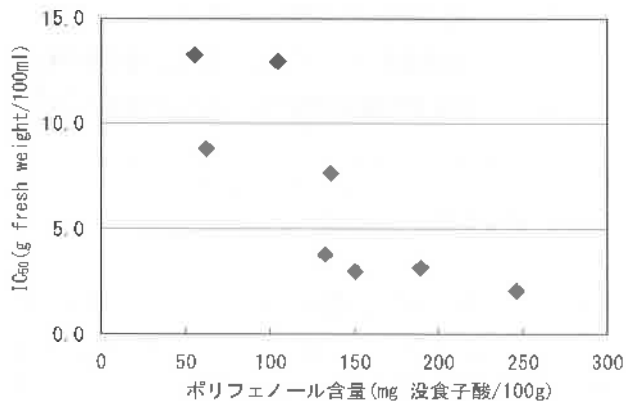


図3 スモモ果実のACE阻害活性(IC_{50})とポリフェノール含量

4. 結 言

山梨県産果実について高血圧予防効果に関わるアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害活性を評価したところ、スモモが最も高い阻害活性を示した。そこでスモモ8品種について、品種別の差異を検討したところ、ソルダムが最も高い活性を示した。ソルダムのACE阻害活性は、ACE活性を50%阻害するために必要な試料濃度 IC_{50} で2.1(g湿重量/100ml)であった。本成果は、スモモ(ソルダム)を素材として用いることにより、高血圧予防効果を持つ機能性食品が開発できる可能性を示唆している。

参考文献

- 1) 木村英生, 辻政雄, 恩田匠, 長沼孝多: 山梨県工業技術センター研究報告, 19, p.6-10 (2005)
- 2) 木村英生, 長沼孝多, 小松正和, 恩田匠: 山梨県工業技術センター研究報告, 20, p.5-8 (2006)
- 3) 辻政雄, 木村英生: 山梨県工業技術センター研究報告, 15, p.34 (2000)
- 4) 農林水産省 農林水産技術会議事務局 食品総合研究所: 食品の機能評価マニュアル集, p.117 (1999)
- 5) 川岸舜朗編著: 食品中の生体機能調節物質研究法, 学会出版センター, p.116 (1997)
- 6) 川村幸雄: 食品工業, 33, p.20 (1990)
- 7) 千葉英雄, 古川正明: 化学と生物, 29, p.454 (1991)
- 8) 小浜恵子, 高橋亨, 大澤純也: 岩手県工業技術センター研究報告, 15, p.85 (2005)
- 9) Yokoyama, K., Chiba, H., Yoshikawa, M.: Biosci. Biotechnol. Biochem, 56, p.1541 (1992)

- 10) 野村明, 月原百合香: 高知県工業技術センター研究報告, 35, p.13 (2004)
- 11) 原征彦, 松崎妙子, 鈴木建夫: 農芸化学会誌, 61, p.803 (1987)