

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 20 日現在

機関番号：32648
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2010 年 ～ 2012 年
 課題番号：22700740
 研究課題名（和文） イソフラボンの新たな摂取源としてのアピオスの可能性について
 研究課題名（英文） Possibility of the groundnut (*Apios americana* Medik) as new supply source of isoflavone

 研究代表者
 奈良 一寛（NARA KAZUHIRO）
 東京家政学院大学・現代生活学部・講師
 研究者番号：60540903

研究成果の概要（和文）：

マメ科植物であるアピオス (*Apios americana* Medik) から、新規イソフラボンである Genistein-7-O-genitiobioside を新たに見出した。アピオスイソフラボンの機能性について検討したところ、エストロゲン受容体 (ER) α および ER β への結合能を示した。さらに、生体内で産生される強力なラジカルスカベンジャーとして知られているビリベルジンおよびビリルビンを産生する酵素ヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) の発現上昇が認められた。したがって、アピオスが新たなイソフラボンの摂取源となると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

We focused on groundnut (*Apios americana* Medik), a leguminous crop, as a new supply source of isoflavones. The structure of purified major isoflavone in groundnut was deduced to be genistein-7-O-genitiobioside. The groundnut extract exhibited ER-binding ability. The groundnut extracts increased gene expression of heme oxygenase-1 (HO-1), a major antioxidative stress enzyme. The present study demonstrated that possibility of the groundnut as new supply source of isoflavone.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
2012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：アピオス、イソフラボン、調理、加工、機能性

1. 研究開始当初の背景

マメ科の代表であるダイズは、健康増進効果や疾病予防効果といった点から世界的にも非常に注目されているが、その保健機能において重要な役割を果たしているのが豊富に含まれるイソフラボン類である。イソフラボンはフラボノイドの一種として広く植物界に分布し、現在までにダイズからダイゼイン、ゲニステインおよびグリシテインの3種類のアグリコンとその配糖体を含む12種類の存在が確認されており、近年、エストロゲン作用や骨粗鬆症改善効果、発ガン・ガン細胞増殖抑制、血圧降下作用、抗酸化作用、アレルギー等の様々な薬理作用も報告され、食品の持つ機能性成分としてイソフラボンは非常に注目されている。その様なイソフラボン類は、ダイズおよびその加工品以外で生理機能が期待できる量を摂取することは、通常の食生活における食物では困難であると考えられている。

2. 研究の目的

アピオス (*Apios americana* Medik) は、北米原産のマメ科のツル性植物であり、青森県では、リンゴの苗木の導入とともに入ってきたとされている。根茎は1メートル以上も伸び、5~10センチ間隔で節が付き、それが地上部の生長とともに次第に大きく肥大し、数珠状に連なった塊茎となる。通常、その塊茎が食用部となる。アピオスの栄養成分や脂肪酸およびアミノ酸組成、単糖・オリゴ糖をはじめとする炭水化物組成については既に報告されている。また最近では、岩井らによって血圧上昇抑制作用についても示され、栄養価が高く、機能性成分を含む非常に興味深い食材である。

アピオスはマメ科植物であるにも関わら

ずイソフラボン類についての十分な検索は現在まで行われていない。そこで、アピオスのイソフラボン類に注目し、含有量などの基礎調査を行うこととした。また、様々な調理・加工が、それらイソフラボン類含有量におよぼす影響についても検討した。さらには機能性の検索など未だ解明されていない問題を解決し、アピオスをイソフラボン類の新たな摂取源として展開するための基盤を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) アピオスのイソフラボン類について

アピオスにおけるイソフラボン類について明らかにすることとした。アピオスを80%メタノールにて抽出し、得られた抽出液を濃縮乾固後、凍結乾燥した(アルコール可溶性画分)。アルコール可溶性画分におけるイソフラボン類はHPLCを用いて分析した。また、主要なピークは、HP20カラム(2.5×25cm)、Inertsil PREP-ODSカラム(20×250mm)を用いて分離・精製し、化学構造は、¹H-NMR、¹³C-NMRおよびLC/MSに供して明らかにした。

(2) 異なる栽培地、塊茎の大きさ(重量)、部位におけるイソフラボン類含量の差異

アピオスのイソフラボン類について基礎的なデータを収集するため、栽培地の異なるA~G(7地点)よりアピオスを採取し、それぞれのイソフラボン類についてHPLCに供して分析した。また、塊茎の大きさ(重量)および部位の違いにおけるイソフラボン類含量の差異についても検討した。

(3) 様々な調理・加工によるイソフラボン含量について

イソフラボンを豊富に含むダイズにおい

ては、加工食品の製造における加熱処理が、もともと含まれるイソフラボン類の構造にも影響を与え、さらに機能性にも影響をおよぼすことが知られている。そこで、アピオスの様々な調理・加工法について検討し、イソフラボン類の組成の変化におよぼす調理・加工の影響について検討した。

(3)機能性評価

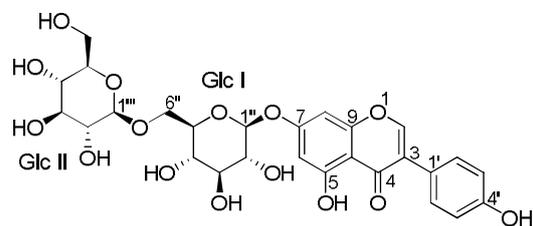
アピオスのアルコール可溶性画分から HP-20 カラムによってイソフラボン類を含む画分をアピオスイソフラボン画分として回収し、エストロゲン様活性について検討した。また、ヒト乳がん由来 MCF-7 細胞を用いて、細胞に対する影響についても調査した。さらに、市販のダイズイソフラボン混合物（アグリコン）を用いて、アピオスイソフラボン画分との機能性の差異についても比較した。

4. 研究成果

(1)アピオスのイソフラボン類について

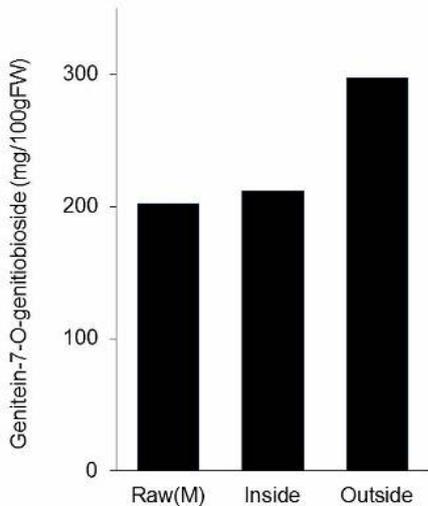
アピオスのアルコール可溶性画分におけるイソフラボン類を HPLC によって分析したところ、いくつかのピークが認められた。ゲニステインの存在が確認されたが、主要なピークは既存のイソフラボン類のピークとは一致しなかった。そこで主要なピークを分離・精製し、構造解析を行った。アピオスのアルコール可溶性画分を HP-20 カラムに供し、アルコール濃度を段階的に上昇させることで吸着物を溶出させたところ、40%メタノールにてイソフラボン類が溶出された。アピオスイソフラボン画分の組成について HPLC によって解析したところ、乾燥粉末 100 mg には、主要なピークが 37.5mg 含まれていることが確認された。さらに分離・精製したところ、アピオス由来のイソフラボン類における主要なピークは、ゲニステインにゲンチオビオ

ース (6-O-β-D-glucopyranosyl-D-glucose) が結合した構造を持つ新規成分 Genistein-7-O-gentiobioside (構造式) であることが明らかとなった。



(構造式)

(2)異なる栽培地、塊茎の大きさ(重量)、部位におけるイソフラボン類含量の差異
栽培地の異なる(A~G地点)7地点よりアピオスを採取し、それぞれの Genistein-7-O-gentiobioside 含量について調査した。栽培地によって採取した試料の1個当たりの重量が8.5~28.6gと差異が認められ、7地点における Genistein-7-O-gentiobioside 含量の平均値は100gあたり190.8mgであった。ダイズのイソフラボン含量は、品種や栽培地の影響を受けるが、栽培年による変動が最も大きく、これは気象条件、特に登熟期の気温の影響が大きいと報告されている。したがって、アピオスもまたダイズと同様にイソフラボン類の含量に差異が認められると考えられた。アピオスを重量別にL(約13g/個)、M(約8g/個)およびS(約4g/個)サイズとし、それぞれのイソフラボン類について検討した。サイズ別でみると、Genistein-7-O-gentiobioside 含量に差は認められないものの、ゲニステイン含量はSサイズで最も多く、次いでM、Lの順であり、小さいサイズほど多い傾向にあった。また部位別では、内側に比べ外側(皮付き)に Genistein-7-O-gentiobioside およびゲニステインが多く含まれていた(第1図)。

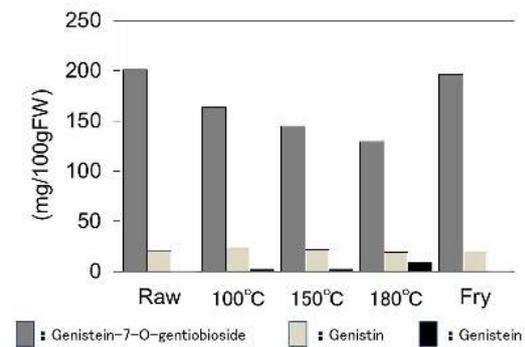


第1図 部位によるイソフラボン含量の差異

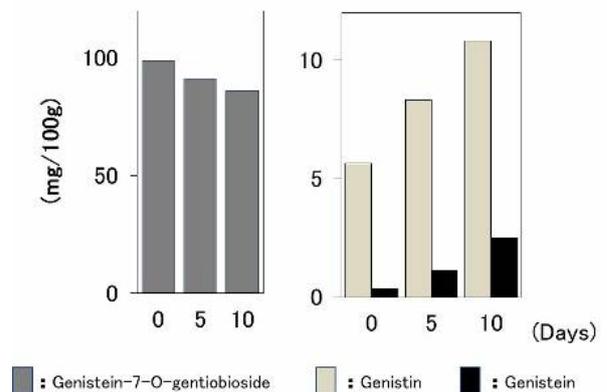
(3) 様々な調理・加工によるイソフラボン含量について

茹でる、蒸す（沸騰後試料投入および水から試料投入）および 45℃24 時間加温のそれぞれの加熱操作におけるイソフラボン含量の変化について比較した。調理前に比べ茹でるおよび蒸す（沸騰後試料投入）では、Genistein-7-O-gentiobioside が減少傾向にあった。45℃24 時間加温では、Genistein-7-O-gentiobiosid が減少し、ゲニスチンおよびゲニステインが増加するという明らかなイソフラボン組成の変化が認められた（第2図）。一方、蒸す（水から試料投入）では、顕著な変化は認められなかった。オーブン（100℃、150℃および180℃：30分）およびフライ（180℃：2～3分）における加熱操作についても検討した。オーブンでは加熱温度の上昇とともに、Genistein-7-O-gentiobiosid の減少の程度が大きかった。また180℃では、ゲニステインの増加が認められた。フライでは、蒸す（水から試料投入）と同様に変化は認められなかった。ダイズを用いた優れた加工品として味噌があることから、ダイズをアピオスに置き

換え、発酵におけるイソフラボン類の変化について調査した。時間の経過とともに Genistein-7-O-gentiobiosid は明らかに減少し、ゲニステインが増加していた（第3図）。以上のことから、加熱操作によってアピオスでのイソフラボン類は組成が変化することが明らかとなった。一般に、イソフラボン類では、配糖体に比べアグリコンにおいて様々な効果が報告されている。アピオスの摂取には加熱操作が必要であることを考えると、アグリコンが顕著に増加する 45℃24 時間加温後、加熱調理する操作や発酵といった調理・加工工程が、より効果的な摂取方法になることが示唆された。



第2図 加熱方法の違いがイソフラボン類に与える影響

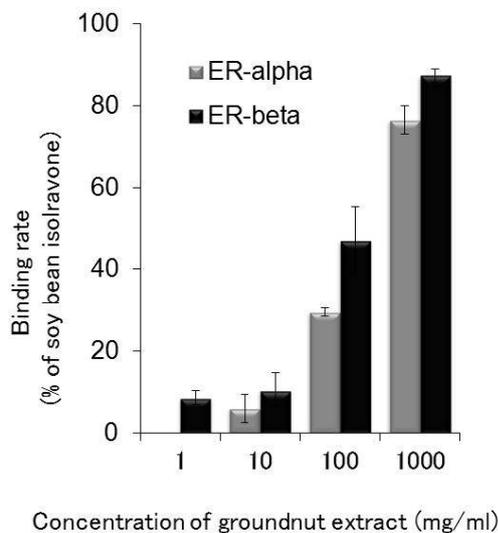


第3図 発酵工程によるイソフラボン類含量の変化

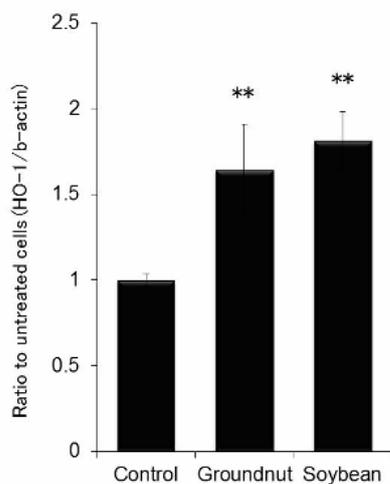
(4) 機能性評価

アピオスの主要なイソフラボンである

Genistein-7-O-genitobioside を含むアピオスイソフラボン画分における機能性について検討した。エストロゲン様活性について検討したところ、ダイズイソフラボン類（アグリコン混合物）におけるエストロゲン受容体（ER） α およびER β への結合率をそれぞれ100%とした場合、アピオスイソフラボン画分では約77%および87%と非常に高い結合能を示した（第4図）。また、ヒト乳がん由来MCF-7細胞を用いて、細胞に対するイソフラボン類の影響について調査したところ、ア



第4図 アピオス抽出物におけるエストロゲンレセプター結合能



第5図 アピオス抽出物におけるHO-1の発現量

ピオスイソフラボン画分およびダイズイソフラボン混合物ともに100 μ g/mlの濃度で、生体内で産生される強力なラジカルスカベンジャーとして知られているビリベルジンおよびビリルビンを産生する酵素ヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) の発現上昇が認められた（第5図）。さらに、同濃度のダイズイソフラボン類と比較して、アピオスイソフラボン画分の投与では細胞膜損傷が認められず、細胞毒性が低いという特徴が認められた。ヘムオキシゲナーゼは種々の刺激によって誘導されるストレス応答性タンパク質であり、組織、細胞におけるHO-1の誘導が、様々な疾患の予防あるいは改善等に関与が報告されていることから、アピオスのイソフラボン類が、間接的に抗酸化作用に関与するという大変興味深い結果が得られた。

一般に通常の食生活では、ダイズおよびその加工品以外で有用なイソフラボン類を摂取することは困難であると考えられている。

本研究において、アピオスにおけるイソフラボンについて明らかとなり、さらには新たな機能性についても示すことが出来たことから、アピオスはイソフラボンの供給源としても十分な可能性を秘めた素材であることが示唆された。また、アピオスは、根粒菌と共生し、窒素固定するマメ科植物であることから、近年、増加の一途をたどっている休耕地や耕地放棄地の地力維持や、多くの化学肥料に依存した作物栽培における農耕地本来の生産性低下の改善にも寄与でき、これまで開拓されていない新たな需要の創造やそれによる事業化など、高い潜在能力を持った農産物である可能性が示された。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① TAKASHIMA MIZUKI, NARA KAZUHIRO, NIKI ETSUO, YOSHIDA YASUKAZU, HAGIHARA YOSHIHISA, STOWE MAYUMI, HORIE MASANORI. Evaluation of biological activities of a groundnut (*Apios Americana* Medik) extract containing a novel isoflavone. Food Chemistry. 138. 298-305 (2013) 査読有
- ② NARA KAZUHIRO, NIHEI KEN-ICHI, OGASAWARA YASUO, KOGA HIDENORI, KATO YOJI. Novel isoflavone Diglycoside in Groundnut (*Apios americana* Medik). Food Chemistry. 123. 703-710 (2011) 査読有

[学会発表] (計 3 件)

- ① 奈良一寛, 堀江祐範, 高島瑞紀, 二木鋭雄, 吉田 康一, 萩原 義久. アピオスイソフラボン類における生理活性の評価. 日本農芸化学会 2013 年度大会 (仙台)、2013 年 3 月 26 日、東北大学
- ② 奈良一寛. 加熱調理によるアピオスの主要イソフラボン含量の変化. 日本農芸化学会 2012 年度大会 (京都)、2012 年 3 月 23 日、京都女子大
- ③ 奈良一寛, 岩崎梨恵. アピオスに含まれる主要イソフラボン含量の測定. 日本農芸化学会 2011 年度大会 (京都)、2011 年 3 月 27 日

[図書] (計 1 件)

- ① NARA Kazuhiro. Isoflavones:

Chemistry, Analysis, Function and Effects. CHAPTER20 p.333-346. Analysis of Novel Isoflavone Digycoside in Nuts. (2012)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

奈良 一寛 (NARA KAZUHIRO)
東京家政学院大学・現代生活学部・講師
研究者番号 : 60540903