

## 食品中のACE阻害物質に関する研究

木元 幸一, 清水恵美子, 黒田 裕子

(平成9年10月2日受理)

Studies on ACE inhibitory substances from various food stuffs.

Koichi KIMOTO, Emiko SHIMIZU and Yuhko KURODA

(Received on October 2, 1997)

我が国では、1951年から80年までは脳血管疾患が死因の第一位であった。しかし現在では、死因のトップは悪性新生物（いわゆる癌）、第二位は心筋梗塞や狭心症などの心疾患、第3位が脳血管疾患となっている。よく効く薬の開発は勿論、食事傾向の変化と食塩などの摂取量の改善などにより脳血管疾患による死亡数は一位の座を癌に譲った。しかしながら、現在の2位と3位を循環器系障害による死因として両方の数を足すと1位の癌による死亡者数を超える事になる。この2位と3位を占める循環器系疾患の原因に高血圧症がある。脳の血流障害により脳の血管が詰まる脳梗塞や脳血栓、脳の血管が破れて脳内出血を起こすなど一般に脳卒中と言われる病態を総称して脳血管疾患と言い、その誘発要因の一つとして高血圧症が上げられる。また、高血圧が長く続くと心筋梗塞、心不全、腎不全などの合併症を引き起こす危険度が高くなり、いわゆる心疾患の要因となる。このように、高血圧症は深刻な疾患の誘発要因ないしは種々の合併症をまねく原因として見なされており、患者の血圧の正常値への改善が急務であり、治療効果の目安となっている。

高血圧症は、虚血性心血管、糖尿病、高脂血症、肥満、痛風、ある種の癌（子宮癌、乳癌、前立腺癌、大腸癌）などと共に生活習慣病として位置付けられ、エネルギー消費量の減少、体力の低下、男性疲労・ストレスなどによりもたらせるとされている。『成人病』が『生活習慣病』という名前が変わったのは、もはや成人の病気ではなく若年者にも近年多く見られるようになったこともあがるがむしろその成り立ちを表し、成人病の訳はchronic disease, adult disease, aged-related diseaseなどを使っていたが適当な英語はなかった。生活習慣病の訳

は、life-style related diseaseとなっている。国際的にも適当な言葉になったと言うべきであろう。

高血圧症と見なされている人は、国内だけで三千万人をこえると言われている。高血圧の90%以上を占めるのは本態性高血圧であり、その2/3以上にはrenin-angiotensin-aldosterone系が関与していることが明らかにされている<sup>1)</sup>。本態性高血圧は、複数の成因遺伝子の相互作用による遺伝的体質および種々の環境因子が負荷されて発症する。我々は、このrenin-angiotensin-aldosterone系（RA系）に着目しておりその測定方法の改良と種々の環境因子の影響について報告してきた<sup>2),3)</sup>。肝臓で作られたプレホルモンangiotensinogenは血中に移動し、腎臓から分泌されたreninという酵素によりangiotensin I (A I) が切り出される。このA Iが、angiotensin converting enzyme (ACE) によりangiotensin II (A II) に変換される。これが昇圧ペプチドホルモンであり、血管収縮、アルドステロン分泌・Na貯溜などの活性を有している。(Fig.1) この系の律速段階を担うのは腎臓からの血漿renin活性であるといわれている。一方、血管壁などの組織ACE活性の増減によりA IIの生成量が変化し、A IIの生成量は血圧を反映していると予測されている。実際、カプトプリルなどのACE阻害薬が高血圧治療に利用されており、その有効性が認められている<sup>4)</sup>。また、近年に至り、降圧剤により脳血管障害が克服された程の結果が冠動脈疾患患者に対しては期待できなかったが、ACE阻害薬については、降圧効果がなくても心臓や腎臓の臓器保護作用も有する場合は報告されている<sup>5)~7)</sup>。しかし、薬物は一旦服用するとそれを生涯続けねばならない場合が多い。長期に渡る多量の薬物摂取は味覚障害や空咳などの副作用が心配される<sup>8)</sup>。そこで、我々が日常摂取する食

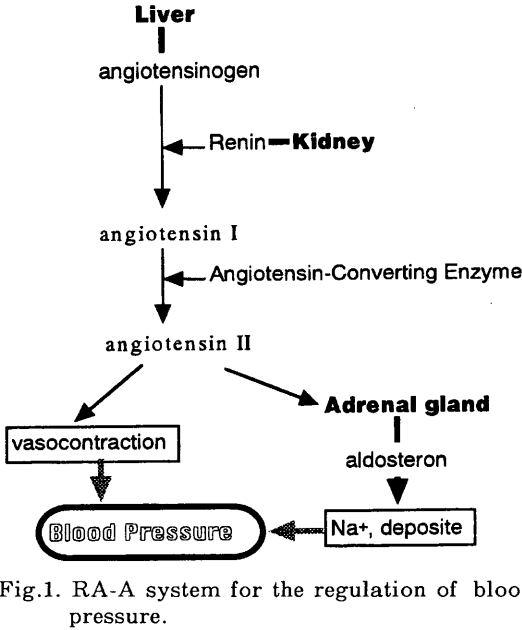


Fig.1. RA-A system for the regulation of blood pressure.

RA-A system (renin-angiotensin-aldosterone system) regulated the blood pressure. Angiotensin I was released from angiotensinogen from liver by renin from kidney. Angiotensin I does not have the activity of hypertensive effects. Angiotensin I is converted to angiotensin II by angiotensin converting enzyme (ACE). Angiotensin II which is called hypertensive hormone has some hypertensive effects, vasoconstriction and secretion of aldosterone.

食べ物の中にこのような効果のあるものが見出されれば副作用の心配から逃れられ、生涯に渡って quality of life を変えず健康体を維持できると期待できる。今回我々は、RA系のACE活性に着目し、我々の周囲にある種々の植物、野菜の抽出液を得、そのACE阻害活性を調べ、若干の知見を得たので報告する。

材料および実験方法

1. 試料

野菜のうち、ほうれんそう、チンゲン菜、ちしゃ、春菊、はやとうりは、埼玉県桶川市内の畑地より、よもぎは都内北区十条で自生したもの、ピーマン、ニンジンも十条のスーパーで購入した。クレソンは、群馬県榛名湖の清流に自生していたものを使用した。自生したものを幾つか特に選んだのは、農薬などの影響を考慮した。

angiotensin converting enzyme (ACE) は、

Sigma社の肺 aceton powder からのもの、Hip-his-leu はペプチド研からそれぞれ購入した。その他の試薬は和光純薬工業株式会社から購入した。

2. ACE阻害活性の測定

ACE活性は、Cushman & Cheung<sup>9)</sup>らの測定法を改良した国府らの方法に準じて行った。(Fig.2)

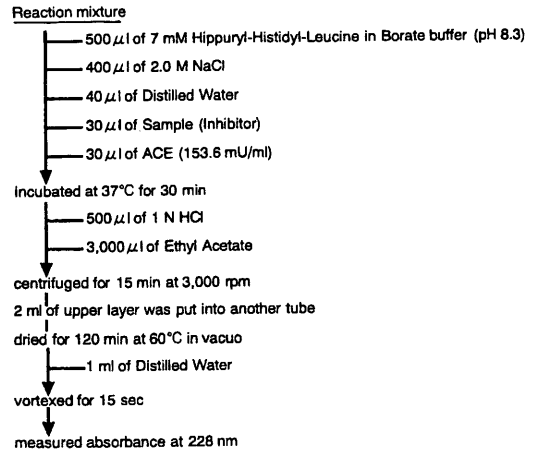


Fig.2. Assay method of ACE inhibitory activity. ACE inhibitory activity was assayed by the modified method of Cushman and Cheung<sup>9)</sup>. The inhibitory activity was calculated by the following formulas; Residual activity (%) = (sample-blank) / (control-blank) x 100, inhibitory activity (%) = 100 - residual activity. 1 unit of ACE activity is defined as the amount catalyzing the formation of 1 μmol of hippuric acid from Hip-his-leu in 1 min at 37°C.

pH8.3のホウ酸緩衝液に7 mMとなるように溶解した基質Hip-his-leu、食塩などと共に、ACEを加え反応させ、ACEにより生成したHippuric acidを酢酸エチルで抽出しその活性を求めた。反応式はFig.3に示した。

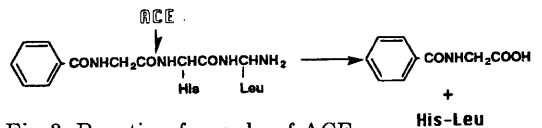


Fig.3. Reaction formula of ACE.

ACE hydrolyze phe-his bond of angiotensin I in vivo. But synthetic substrate, hip-his-leu, was usually used for assay of ACE activity in vitro. ACE hydrolyze gly-his bond and releases hippuric acid. The quantity of hippuric acid was determined the measurement of absorbance at 220 nm.

阻害活性は上記の系に試料を加えACEの活性低下分を阻害率とした。

## 3. 粗抽出液の調製

試料の調製方法は、Fig.4.に示した。試料はすべて軽く水洗いの後、凍結乾燥を行い粉末化したものを用いた。

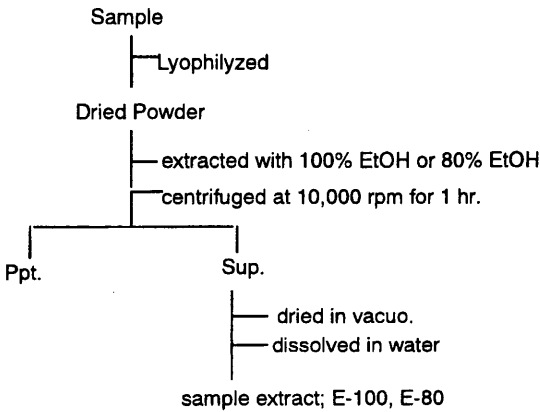


Fig.4. Preparation of crude extract from various plants.

All of plants and vegetables were washed briefly with water, lyophilized and powdered. Dried powder was homogenized and extracted with 10 volumes of 80% ethanol or 100% ethanol for overnight. The crude extracts were obtained by centrifugation.

湿重量のおよそ10倍量の80%と100%のエタノールを用いて一晚攪拌抽出をおこなった。濾過または遠心分離後の抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮・乾固し、蒸留水を加えて溶解し遠心分離後上澄液を得た。凍結乾燥試料1gに対して最終的に5mlの蒸留水に溶解したものを粗抽出液試料とした。

## 結果と考察

使用した植物・野菜は種属の系統だったものではなく手近に手に入るものとした。しかし、残留農薬などの影響を考慮し農薬を使わなかったと思われるものや山に自生しているものなどを加えた。ほうれんそう、チンゲンサイは、農薬散布と農薬を散布していないものを用いた。クレソンは榛名湖の清流に自生していたもので農薬の影響はないものと推定される。よもぎも自生していたものである。はやとうりは埼玉県で栽培されているつる性で実をむすぶ大変な成長力のある植物であるが、ぬかづけなどの漬物に使われる以外はあまり使われていない。栽培も手間が掛からず他に価値を見出す事が望まれる植物である。今回はその新規の利用価値を探すことも考え葉、茎、実、実の皮、種などに分け、詳しく調べた。

本研究室の以前の実験で多くのACE活性は葉の部分に見られたので葉を中心に調べ、実のなる物は実と葉、食用野菜は可食部を中心に調べた。実験には凍結乾燥品1gを多くの場合使用した。その場合、5倍量の蒸留水5mlで抽出をした。凍結乾燥品が1gでない場合も抽出液の5倍量としたが、はやとうりの若茎、成茎は10倍量よもぎは約3倍量とした。試料、部位により凍結乾燥前後の重量比は異なる。Table Iには80%エタノール抽出物及び100%エタノール抽出物のACE阻害活性を調べた結果を示した。

我々は、これまでにモロヘイヤ、アシタバ、さつまいも (sweet potato) などのそれぞれ葉の部分に強いACE阻害活性を見出だしている。図から明らかのようにほうれんそう (spinach)、にんじん (carrot)、春菊 (G. chrysanthemum)、ピーマン (sweet pepper) には高い阻害活性は見られなかった。結果には示さなかったが、明らかに農薬散布を行った方とほとんど農薬散布をおこなっていない方との間では、特に活性の違いが見られることもなく通常の範囲での農薬散布の影響は無いようである。一方、クレソン、チシャ (lettuce)、ヨモギ (mugwort)、チンゲン菜 (pakchoi) には高い活性が見られた。ヨモギ、クレソンは自生のものであり残留農薬が阻害活性を示している可能性は考えなくても良いと思われる。特に、クレソンは、榛名湖の清流に自生していたもので、クレソンそのものから由来する活性と思われる。チシャはレタスの別名ではあるが、今回は韓国などで焼き肉を食べる時に肉を巻くいわゆるレタスとは別種のレタスを使用した。次に、はやとうりについてであるが、実、実の皮、葉に高い阻害活性が見られた。茎については古い茎にはほとんど活性が見られなかったのに対し、できたばかりの若い茎には高い活性が見られた。この原因についてはまだ未定であるが、阻害活性を持つ物質が茎から葉、実の方へ移動していくのか、それとも各々異なる物質が存在するのか興味をもたれるところである。また、はやとうりそのものについては、阻害活性が高くさらなる検討が期待される植物であると思われる。またこれらの結果から、今回検討した試料は、アブラナ科、セリ科、ナス科、シナノキ科、キク科、サトイモ科、アカザ科などの多種系統に渡っており、サンプル数が充分とは言えないがその種・系統による特異性は見られなかった。次に、100%エタノール抽出物の阻害活性であるが、こちらにはほとんどの物に阻害活性が見

Table I. ACE inhibitory activity of extracts from various vegetables.

Sample preparation and ACE inhibitory activity were described in the methods. E-80 and E-100 indicates the extraction with 80% and 100% ethanol, respectively.

sample	parts	ACE inhibitory activity		sample	parts	ACE inhibitory activity	
		E-80	E-100			E-80	E-100
Moloheiya	leaf	+	-	Sweet potato	leaf	+	+
	stem	-	-		vine	-	-
Ashitaba	leaf	+	-	Chayote	leaf	+	-
	stem	-	-		stem	+	-
Cresson	leaf	+	+	Carrot	flesh	+	-
	stem	+	-		root	-	-
Mugwort	leaf	+	-	Spinach	leaf	-	-
Pakchoi	leaf	+	-	Garland.Chr.	leaf	-	-
Leattuce	leaf	+	-				

られなかったが、はやとうりの種だけが強い阻害活性を示した。近年、いろいろな意味で注目を集めているフラボノイド・カテキン類などのACE阻害活性が、一部報告されており<sup>10)</sup> おそらくこの分画に含まれると思うが今回の試料の中ではその存在が示唆されなかった。はやとうりの種に高い活性が見られた点については、今までの報告のほとんどが葉であった事から、今までは異なる物質である可能性が高く今後おおいに興味もたれる所である。また、ACE阻害活性を示す物質のほとんどは、80%エタノールからの抽出物中で、100%エタノール抽出物には見られないことから、これらのACE阻害物は、80%エタノールでは抽出されるが、100%エタノールでは抽出されないと推定される。そうすると、はやとうりの種にある100%エタノールで抽出されるACE阻害物は、この点からも他とは違う新たな物質である可能性が示唆される。

著者らは、今後さらに食べられるいろいろな物を調べていく計画である。食物繊維はコレステロールの吸収を

妨げ、肥満・高脂血症などの生活習慣病に効果があると言われており、また、間接的に血圧を下げると言われていいる。これらは、そういう意味で生活習慣病を防ぐ食材ということになるが、今回のように血圧調節因子のレニン・アンジオテンシン系を阻害する物質がそれに加えて含まれているとすると、更に直接的な予防効果が見込まれることになる。もちろん重症の高血圧患者においては早急な薬物による治療が必要であるがその予後はできるだけ薬の量を減らしたいものである。食べ物についての認識が従来の栄養成分としてだけの効果以外に、更に一歩踏み込んで、様々な疾病に対する予防効果の影響が加えられることが重要であろう。特に天然の物の場合多成分系であり、そのため潜在するその効果が複数・多岐に渡るであろうことが予測され、それらの相乗的な効果が期待される事になる。つまり、いろいろな有効成分が同定され、その作用が明らかになることにより、ある種の食べ物から数種の有効性が発見される場合も多く、また食事に於いては当然幾つかの食品の組み合わせる事にな

り、より広範で適度な効果が表れる事を期待できる。

### ま と め

今回、血圧調節系RA-A系におけるACE阻害活性を有する食品を調べた。

ACE阻害活性は、100%エタノールでは抽出されず、80%エタノール抽出画分に見出された。

クレソン、チシャ、ヨモギ、チンゲンサイ、モロヘイヤ、アシタバなどにACE阻害活性が高く、ほうれんそう、にんじん、ピーマンなどは低かった。

清流に自生しているものなどにも活性が見出され、農業の影響は無いものと推定された。

ACE阻害活性を有するものの中で、種、属などの傾向は見られなかった。

本実験に際し、永松弥生、南澤正恵、飯島吉野、相馬亜希らに深く感謝する。また、本研究は、本学特別研究費の援助を得て遂行されたものであり、この報告の一部は、日本栄養食糧学会において発表した。

### 文 献

- 1) 村上和雄;生化学, 65, 260-276 (1993)
- 2) 黒田裕子, 木元幸一, 他;第49回日本栄養食糧学会 1995年
- 3) 清水恵美子, 木元幸一, 他;第45回日本食品科学工学会, 1997年
- 4) 塩之入洋, 他;医学のあゆみ, 174, 753-760, (1995)
- 5) 後藤光弘, 橋本重厚他;日本内分泌学会誌, 61, 619, (1985)
- 6) Maki. D.D. et. al.; Arch. intern. Med.; 155, 1073-1080, (1995)
- 7) Lonn E.M. et. al.; Circulation; 90, 2056-2069, (1994)
- 8) 藤原拓也, 加藤政孝, 他;岩手医学会誌; 41, 343, (1989)
- 9) D.W. Cushman and H.S. Cheung; Biochemical. Pharmacology, 20, 1673-1648, (1971)
- 10) 原良子, 松崎妙子, 鈴木建夫;日本農芸化学会誌; 61, 803-808, (1987)