

## 福井県産キノコの生理活性成分の検索 —アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害活性—

小木 圭子・森 富男・平井 敏之・飯田 英侃

Searching the Physiological Active Function of Mushrooms in Fukui

—Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Activity—

Keiko KOGI, Tomio MORI, Toshiyuki HIRAI, Hidetada IIDA

### 1 はじめに

食品のもつ栄養、感覚機能に加え、近年第3の機能と呼ばれる生理活性機能についての研究に高い関心が寄せられている。中でもキノコについては、抗腫瘍効果<sup>1), 2)</sup>、<sup>3)</sup>や血圧降下作用<sup>1)</sup>、コレステロール低下作用<sup>1)</sup>などと、その保有する生理活性成分の分離同定が行われており、生活習慣病の予防や改善効果などが大いに期待されている。

当センターでも平成15年から17年の3ヵ年をかけ県産キノコの一般栄養成分、血圧降下作用、抗腫瘍作用、抗ウイルス作用等の調査を試み、健康食品としての有用性を検証し、県民の健康増進を目指した研究に取り組んできた。今回、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系による血圧調節機構の中心的役割をもつアンジオテンシンI変換酵素(ACE)の阻害活性の試験を行ったので、その結果について報告する。

### 2 実験方法

#### 2.1 材料

試験に使用したキノコの名称、採取地については表1のとおりである。ウスヒラタケ、ハタケシメジは福井県総合グリーンセンターで栽培されたものを用いた。マイタケ、シイタケ、カンタケ(越前カンタケ)については県内の栽培所より購入した。その他のキノコについては平成15年度から16年度にかけて県内で天然品を採取した。これらのキノコは全て凍結乾燥し、粉砕後使用まで冷凍で保存し必要に応じ検査に供した。

#### 2.2 試料の調整法

冷水抽出物(CWE)は、キノコ粉末 200mg に冷水 10ml を加えて、約15℃で超音波洗浄器にかけ約15時間抽出した。熱水抽出物(HWE)は、キノコ粉末 200mg に熱水 10ml を加えて、沸騰水中で15分間抽出した。エタノール抽出液(EE)は、キノコ粉末 200mg に80%エタノール 10ml を加えて、室温で1日抽出した。これらを遠心分離後、上清をディスポフィルターでろ過し試験液とした。

#### 2.3 ACE阻害活性測定法

ACE阻害活性測定は和光純薬工業(株)のACE酵素活性測定法に準じて行った。0.1M ホウ酸緩衝液(pH8.3) 0.5ml、酵素液(ACE:和光純薬工業(株)製)0.3mlを加える。ここに希釈したキノコ抽出液0.1mlを加え37℃で予備

加温する。基質液(ヒプリル-L-ヒスチジル-L-ロイシン四水和物:和光純薬工業(株)製)0.1mlを加え、37℃で30分間反応させる。その後0.1M水酸化ナトリウム溶液2.0mlを加え反応を停止させ、o-フタルアルデヒド・メタノール溶液0.1mlを加えて室温で15分間反応させた後、1.5Mリン酸溶液0.4mlを加える。測定は、蛍光分光光度計で励起波長360nm、蛍光波長480nmにおける蛍光強度を測定する。同様に蒸留水を添加して氷浴中で反応させたものを対照として、ACE阻害率を求めた。

表1 試験に使用したキノコの名称と採取地

キノコ	キノコの名称	採取場所	備考
1	ウスヒラタケ*	総合グリーンセンター	食用
2	マイタケ*	福井市愛菜館	食用
3	ブナハリタケ*	大野市上小池刈込池	食用
4	ヌメリグチ	美山町市波	食用
5	ハタケシメジ*	総合グリーンセンター	食用
6	ナラタケ	勝山市	食用
7	スギヒラタケ	池田町菅生	食用
8	オオイチョウタケ	大野市飯降山	食用
9	ムキタケ	大野市上小池	食用
10	ヒラタケ	勝山市村岡町浄土寺	食用
11	カンタケ*	池田町	食用
12	シイタケ*	大野市	食用
13	ウスヒラタケ	今立町八ツ杉	食用
14	シロハツ	今立町八ツ杉	食用
15	マスタケ	今立町八ツ杉	食用
16	コタマゴテングタケ	今立町八ツ杉	毒
17	ヌメリシギタケモドキ	大野市上小池刈込池	食用
18	ヌメリシギタケ	大野市上小池	食用
19	ハツタケ	美山町市波	食用
20	ハタケシメジ	大野市牛ヶ原	食用
21	アシグロダケ	大野市平家平	食用
22	アミヒラタケ	大野市平家平	幼菌のみ食用
23	ホテイシメジ	大野市平家平	食注意
24	カヤタケ	大野市平家平	食用
25	オシロイタケ	大野市平家平	食用
26	ツチシギタケ	和泉村	毒
27	コガネタケ	丹生郡清水町健康の森	食用
28	スギヒラタケ**	清水町SSTランド	食用
29	スギエダタケ	福井市一乗城山	食用
30	ベニタケ属	福井市一乗城山	食用
31	シロカイメンダケ	福井市一乗城山	食用
32	ワヒダタケ	福井市一乗城山	食用
33	ツキヨタケ	大野市上小池	毒
34	ニガクリタケ	大野市上小池	不食
35	ツリガネダケ	大野市上小池	不食
36	ヒトヨタケ	大野市上小池	不食
37	オオワライタケ	名田庄村	毒
38	クリタケ	今庄町藤倉山	食用
39	ナメコ	美山町	食用
40	チャカイガラダケ	池田町樫俣	不食
41	カワラタケ	池田町樫俣	不食
42	オオムラサキアンズタケ	今庄町	食用

\*は培養品  
\*\*赤松に生育

### 3 結果および考察

図1はウスヒラタケCWEを乾燥キノコ量で0.1~2mg添加した時のACE活性阻害曲線である。CWEでは阻害率は0.1~0.6mg添加で急激に上昇し、1mgでは90%に達する。このグラフからACE活性を50%阻害する試料量を求めると、ウスヒラタケCWEでは0.18mgであった。試料添加量が少ないほど阻害率が高いといえる。

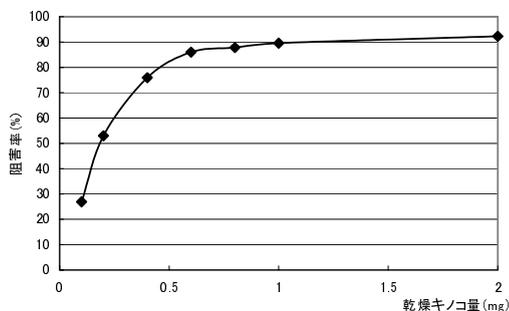


図1 ウスヒラタケ冷水抽出物(CWE)のACE阻害曲線(乾燥キノコ量で0.1~2mg添加)

次に乾燥キノコ量で0.4~2mgまで添加して同様にして求めたキノコ(表1 No.1~42)の50%阻害率を図2に示した。これらキノコには食用だけでなく不食、毒性のあるキノコも含まれている。各々50%阻害率を求めたが、2mgを添加しても50%阻害率が得られないキノコについてはグラフ上は2mgとして表示されている。

抽出方法で比較するとCWEの方がHWEよりACE阻害活性が高い傾向にあった。CWEではハタケシメジ(天然品)、ウスヒラタケ(培養品)、ヒトヨタケ、オオイチョウタケ、ハタケシメジ(培養品)、マイタケの順に阻害活性が高かった。HWEではハタケシメジ(天然品)、ハタケシメジ(培養品)、マイタケ、スギヒラタケ(赤松)、オオイチョウタケ、コガネタケの順に高かった。ハタケシメジとウスヒラタケの培養品と天然品を比較するとHWEでは2種共天然品の方が培養品よりも高かった。特にハタケシメジの天然品は今回試験したHWE、CWE中で最も阻害活性が高かった。ウスヒラタケの場合天然品は培養品に比べCWEは低か

ったがHWEは活性が高かった。また、ハタケシメジ、オオイチョウタケ、マイタケはCWE、HWEの50%阻害活性の値に大きな違いがないが、ナラタケ、ムキタケ、ウスヒラタケなどのキノコはHWEでの阻害活性がCWEに比べ大きく低下していた。ベニタケ属、シロカイメンタケ、ワヒダタケ、ツリガネタケではCWE、HWE共に乾燥キノコ量で2mgまで添加しても50%ACE阻害活性には至らなかった。

次にEEではエタノール添加が測定値に影響を及ぼすことが懸念されるので、キノコ添加量を一定(1mg)にして阻害率の比較をおこなった(図3)。EEではキノコNo.1~13、20の14検体について試験した。ハタケシメジ(天然品、培養品)、オオイチョウタケ、ヌメリグチに高いACE阻害活性が認められた。しかしどのキノコでもEEはCWE、HWEに比べACE阻害活性が低いことがわかった。

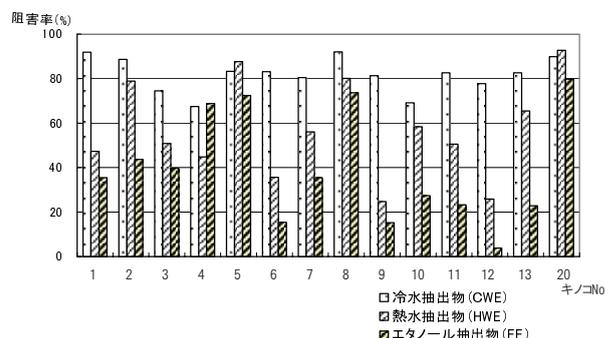


図3 冷水、熱水、80%エタノール抽出物(乾燥キノコ量で1mg)を添加した時のACE阻害活性(%)

津田らは<sup>4)</sup>北海道産のキノコ136種類について70%アセトン抽出物について調査した結果、キツネノロソク、マンネンタケ、コウタケ、ハタケシメジ、ブナシメジ、コキララタケなど14種キノコにACE阻害活性が認められたと報告している。今回キツネノロソク、マンネンタケなどの調査は行っていないがコキララタケはヒトヨタケ科のキノコで、今回の調査でもヒトヨタケ(ヒトヨタケ科)にACE阻害活性が認められている。当センターでは水抽出で42検体検索しただけであるが福井県産キノコでも今後の検索でさらに高い活性を持つキノコが見出される可能性があると考えられる。

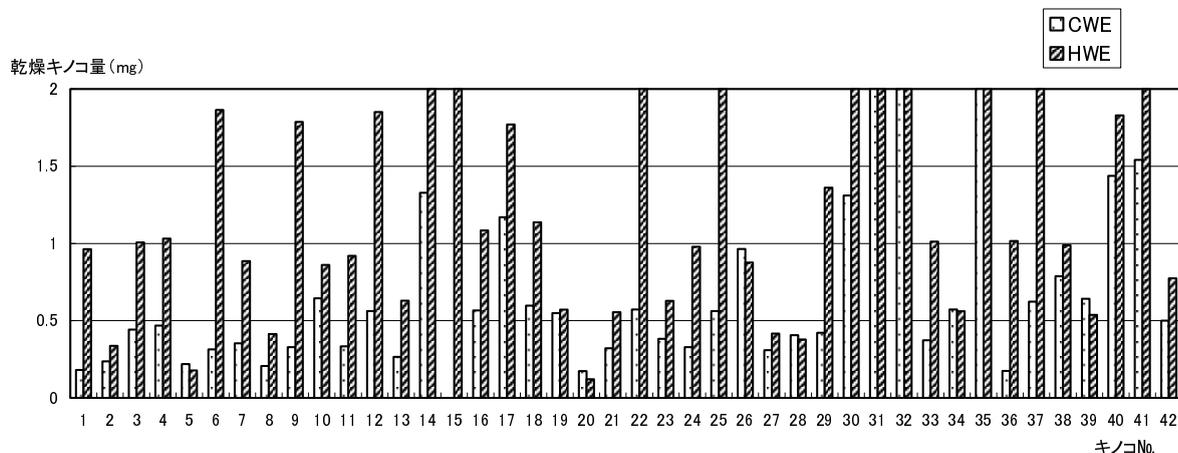


図2 キノコの冷水抽出物(CWE)、熱水抽出物(HWE)におけるACE活性を50%阻害する乾燥キノコ量(mg)(乾燥キノコ2mg添加を添加しても50%阻害に至らない場合は、2mgとして表示する。)

福井県では、県総合グリーンセンターで特産キノコの開発研究を行っていて、カンタケ(フクヒラ1号)<sup>5)</sup>、ウスヒラタケ(フクヒラ2号)<sup>6)</sup>の2種については、すでに品種登録されている。一方ハタケシメジ(福井HS62号)はまだ未登録ではあるが、抗腫瘍活性やACE阻害活性<sup>7)</sup>が報告されていて、機能食品としても、付加価値の高い食品として非常に注目されている。兼俊ら<sup>8)</sup>はACE阻害活性を指標とした生薬の育苗・増殖試験を行っているが、キノコの人工栽培においてもより高い生理活性を得るために今後種菌の選抜や栽培条件の検討における指標として用いられるようになるのではないかとと思われる。福井県で培養されたハタケシメジは今回の調査の結果、天然品と同じ高いACE阻害活性がある品種であることが証明された。また、オオイチョウタケはキシメジ科オオイチョウタケ族に属するキノコで、中から大型の白色キノコで食用にされているが、今のところ人工栽培は行われていないので、今後商品化が期待されるキノコの一つといえる。

これまでに生薬<sup>8)</sup>、食品<sup>9)</sup>、水産物<sup>10)</sup>などからACE阻害活性ペプチドが見出されている。キノコではハタケシメジ<sup>7)</sup>、ブナハリタケ<sup>11)</sup>などでACE阻害活性が報告されているが、ブナハリタケエキスからはイソロイシルチロシンというジペプチドが血圧降下成分として同定されている。今回の試験の結果、ハタケシメジ、オオイチョウタケ、マイタケ、ウスヒラタケでのACE阻害活性が高いことがわかったので、ACE阻害活性物質がペプチドであるかどうかについては今後検討していく予定である。

#### 4 まとめ

福井県産キノコの生理活性機能の検索として、血圧降下作用(ACE阻害活性)の検索を行った。今回試験したキノコの中ではハタケシメジ、オオイチョウタケ、マイタケ、ウスヒラタケなどにACE阻害活性のあることがわかった。これらは健康機能食品として、今後単に食材としてだけでなく乾燥品、加工品としても県民の健康増進への寄与が期待される。

#### 参考文献

- 1) 水野卓他編:キノコの化学・生化学, 49~51 学会出版センター,東京(1992)
- 2) 木方正:きのこに存在する有用物質,岐阜県保健環境研究所報,10,1~14(2002)
- 3) Takasi Mizuno:A Development of Antitumor Polysaccharides from Mushroom Fungi, FFI journal, 167, 69-85(1996)
- 4) 津田真由美他:北海道産キノコのアンジオテンシン変換酵素阻害活性,北海道林産試験情報,Vol.14, 2,10-15(2000)
- 5) きのこと登録品種 200, 107, 全国食用きのこ種菌協会(2000)
- 6) 赤松やすみ 公立林業試験研究機関成果選集、独立行政法人森林総合研究所 No.2,87-88 (2005)
- 7) 卯川裕一他:ハタケシメジのアンジオテンシン I 変換酵素阻害活性および抗腫瘍活性,日本食品科学工学会誌,48,1,58~63(2001)
- 8) 兼俊明夫他:薬用植物クコの育苗・増殖試験とクコ果実(枸杞子)のアンジオテンシン変換酵素阻害活性,北海道衛生研究所報,43,1~5(1993)
- 9) 斉藤義幸他:清酒、および副産物中のアンジオテンシン変換酵素阻害物質,日本農芸化学会誌,66,1081~1087(1992)
- 10) 平野和恵他:機能性ペプチドの利用に関する研究(第2報),愛媛県工業技術センター,33,119(1994)
- 11) 佐藤 拓他:2002年度版きのこ年鑑, 259~265 特産情報きのこ年鑑編集部,東京,(2002)