

食品成分がHMG-CoA還元酵素（HMGR）に及ぼす影響

岡部晋彦・アヒンバレ・ココ・イミナ
石川莉紗子・角 京香・与那城みなみ

美作大学・美作大学短期大学部紀要（通巻第66号抜刷）

食品成分がHMG-CoA還元酵素（HMGR）に及ぼす影響

Effect of Food Ingredients on HMG-CoA Reductase（HMGR）

岡部晋彦^{1†}・アヒンバレ・ココ・イミナ²
石川莉紗子²・角 京香²・与那城みなみ²

キーワード：コレステロール HMG-CoA還元酵素 ポリフェノール アロニア

緒言

いわゆる先進国において、動脈硬化性の疾患が死亡原因の上位を占める状況が一般的にみられる。現在の日本においても、平成30年度には高血圧性のものを除いた心疾患が15.3%、脳血管疾患が7.9%でそれぞれ死亡原因の第2位、第4位を占めており、合計すると23.2%で日本人の4人に1人近くがこれらの疾患で死亡するという現状である¹⁾。

これらの動脈硬化が原因となる生活習慣病においては、血中コレステロールレベルがリスクファクターとして重要な要素であり、そのコントロールは今日の日本において重要な栄養学的課題であると考えられる。

主に肝臓で合成されたコレステロールは低密度リポタンパク質（LDL）によって血中を運搬され、活性酸素などによって酸化されることでアテロームを形成し、動脈硬化を惹起する。生体内のコレステロールはその8割が生体内で合成されたもので、血中コレステロールレベルのコントロールにはコレステロール合成経路の制御が重要となる。特に律速段階である3-ヒドロキシ3-メチルグルタリルCoA（HMG-CoA）をメバロン酸に変換する反応を触媒するHMG-CoA還元酵素（HMGR）の阻害が重要であり、本酵素の阻害剤で

あるスタチン製剤などが高コレステロール血症の治療に用いられている²⁾。

本酵素の活性はさまざまな食品によって影響を受けることが知られており³⁾、日常摂取する食品成分によって本酵素の活性を制御し、コレステロールレベルのコントロールにつなげることで生活習慣病としての動脈硬化性疾患の予防効果を期待することができる。本研究では北海道、岡山県、兵庫県の特産農産物から調製した粗抽出液を試料として*in vitro*のレベルでHMGRに及ぼす影響を調査し、影響を及ぼすものの中からどのような食品成分がその効果をもたらしているのかを検討した。

方法

1. 材料

今回、材料として北海道および岡山県、兵庫県で2020年に収穫された果実を使用した。入手先としてアロニア果実およびブルーベリー果実は北海道きたひろベリーファーム様より提供されたもの、シャインマスカットおよびピオーネは津山市内のスーパーマーケット

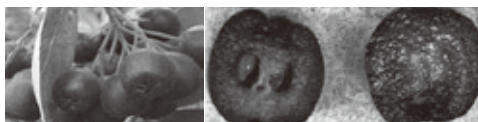


写真1 アロニア果実

¹⁾ 美作大学短期大学部栄養学科

²⁾ 美作大学生生活科学部食物学科学学生

トから、玉ねぎは淡路島農業協同組合から購入した。

アロニアは北米原産のバラ科果実で、世界的にはロシアやポーランド、日本では北海道、東北地方で栽培されている。果実中にはポリフェノール類やアントシアニン系色素などが豊富に含まれ、健康果実としての認識が広まってきており、主に果汁を利用した飲料の形で利用されている。

2. 実験方法

1) 粗抽出液の調製

本研究では、先行研究となる小塚らによるアロニア果汁の製造方法⁴⁾に準じて試料を調製した。試料の種子を除いて重量を測定し(250g)、包丁を用いて細断したのち、さらに包んでピーカーに搾汁した。

2) ポリフェノール類の定量

Navarroら、および小塚らの先行研究^{4), 5)}より果実由来のポリフェノール類がHMGR阻害活性を示すことが考えられたので、各試料のポリフェノール類の定量をFolin・Ciocalteu法を用いて行った。試料である果汁1mLにFolin・Ciocalteu試薬(富士フィルム-和光純薬工業)を1mL加えて混合し、3分間室温で放置した。次に10%炭酸ナトリウム溶液1mLを加えて混合し60分間室温で放置し、700nmの吸光度を測定した。基準物質として没食子酸を用いて検量線を作成し、ポリフェノール量を算出した。なお妨害物質であるアスコルビン酸による補正を行った。

3) HMGR阻害活性の測定

HMGR阻害活性の測定はSigma-Aldrich社製のHMGR活性/阻害剤スクリーニングキットを用いた吸光度法によって行った。試料2 μ LとキットのHMGR5 μ Lを96穴マイクロプレートのウェルに入れ、緩衝液を加え10 μ Lとしたのち、反応混合液を加えてそれぞれのウェルの内容をよく混合し、反応を開始した。反応開始後直ちに340nmでの吸光度変化を、37 $^{\circ}$ Cの温度条件で10分まで測定した。吸光度変化の直線性が保たれた2か所のタイムポイントでの吸光度変化を対照

と比較し、阻害活性を算出した。

4) RP-HPLCによる含有成分の分離(アロニアについてのみ実施)

HMGR阻害活性が認められたアロニア果汁について、RP-HPLCにより成分分離を行った。Colum:Poroshell 120SB-C18カラムを用い、溶出溶媒として溶媒A:0.1%ギ酸水溶液、溶媒B:アセトニトリルで流速:1 mL/minの条件で分離を行った。

結果

1) 各材料のポリフェノール含有量

使用した材料のポリフェノール含有量は、100g当たりの没食子酸当量として表1に示す結果となった。

表1 各試料中のポリフェノール含有量

材料	ポリフェノール含有量 (mg没食子酸/100g)
アロニア	1856
ブルーベリー	286
シャインマスカット	17
ピオーネ	165
玉ねぎ	12

2) HMGR阻害活性

各試料のHMGRに対する影響について、図1に示す結果が得られた。

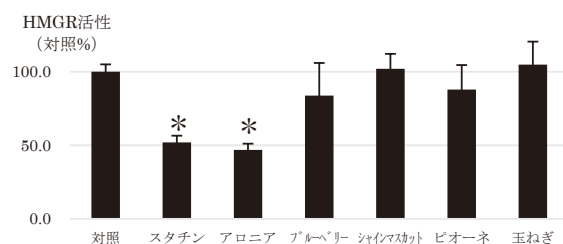


図1 各試料によるHMGR活性に対する影響
n=10 * : p<0.05 縦軸: HMGR活性 (対照の活性を100%とした場合の数値)、横軸: 添加した試料 (スタチンはキットに付属の標準阻害物質) グラフ値: 平均値 \pm S.D

HMGR活性は標準阻害物質であるスタチンで対象の48%、アロニア果汁で45%と有意に低下しており、小塚らの先行研究⁵⁾の結果を確認する結果が再現された。ブルーベリーとピオーネではある程度のHMGR阻害活性が認められる結果となったが、統計的に有意であるとは言えない結果であった。シャインマスカット、玉ねぎについてはHMGR阻害活性は認められなかった。

3) RP-HPLCによる含有成分の分離

HMGR阻害活性の認められたアロニア果汁について、アントシアニン系色素に着目してRP-HPLCによる成分分離を行った結果、以下のようなスペクトルが得られた。含有量およびリテンションタイムより各ピークの成分を推定した。

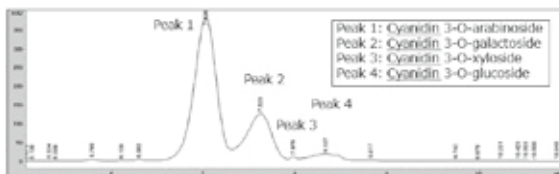


図2 アロニア果汁成分（アントシアニン系色素）のRP-HPLCによる分離

使用カラム：Poroshell 120SB-C18 測定条件：溶出溶媒A：0.1%ギ酸水溶液 溶出溶媒B：アセトニトリル 流速：1 mL/min サンプルinject：10 μ L

アロニアのアントシアニンは、シアニジン-3-O-アラビノシドが最も多く、次いでシアニジン-3-O-ガラクトシド、わずかにシアニジン-3-O-キシロシド、シアニジン-3-O-ガラクトシドが含まれているものと推定された。

考 察

ポリフェノール類は果実類の色素成分であり、今回の分析結果は各試料の外見の印象を反映した結果となった。各種の先行研究と比較して各試料ともやや値が低い結果となったが、これは試料の調製に熱水や有機溶媒を用いることなく圧搾搾汁のみによって行ったことが影響していると考えられた。

HMGR阻害活性については小塚らの先行研究⁵⁾によって示されたアロニア果実のHMGR阻害活性が再現された。それに対し岡山県産のシャインマスカット、ピオーネ、淡路島産の玉ねぎでは、明確なHMGR阻害活性は観察されなかった。ポリフェノール含量で比較するとアロニアは圧倒的な含有量であり、ポリフェノール類の中にHMGR阻害活性を有する成分があるとすれば妥当な結果であると考えられる。アロニア果汁に含まれるポリフェノール類としてはアントシアニン系色素が主要成分であり、その中でも各種のシアニジン配糖体が多く含まれ、これらの中にHMGR阻害活性を有するものがある可能性が考えられる。ただしこれについてはアロニア果汁中に含まれるポリフェノール類以外の各種成分についても詳細に検討し、HMGR阻害活性を示す主要成分を明らかにする必要があると考えられる。

今回の研究では岡山県産のブドウや兵庫県産の玉ねぎには明確なHMGR阻害活性は認められなかったが、*in vivo*での研究でトマト⁴⁾や玉ねぎ⁷⁾、緑茶⁶⁾などポリフェノール類やフラボノイドに富む食品によって血中脂質異常の改善がみられたという報告が複数あり、これらの結果にHMGR活性に対する阻害効果が影響していることは十分に考えられる。特にピオーネなどの色の濃いブドウにはポリフェノール類が豊富に含まれており、試料抽出など、実験方法を改良することで新たな展開が開けることが期待される。

謝 辞

本研究全般においてご指導いただきました北海道文教大学健康栄養学科 小塚美由紀先生並びに実験操作をお手伝いいただいた小塚研究室所属の学生の皆様方、また研究用試料をご提供いただきましたきたひろベリーファーム様に心より感謝申し上げます。

参考文献

1. 「平成30年(2018)人口動態統計(確定数)の概況」厚生労働省, 2019, 第6表 <https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei18/>

index.html

2. Akira Endo. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J Lipid Res* 1992 (33) : 1569~1582.
3. Iqbal D, Khan MS, Khan MS, Ahmad S, Hussain MS, Ali M. Bioactivity guided fractionation and hypolipidemic property of a novel HMG-CoA reductase inhibitor from *Ficus virens* Ait. *Lipids Health Dis.* 2015 Mar (4) :14~15.
4. Navarro-González I, Pérez-Sánchez H, Martín-Pozuelo G, García-Alonso J, Periago MJ. The inhibitory effects of bioactive compounds of tomato juice binding to hepatic HMGCR: in vivo study and molecular modelling. *PLoS One.* 2014 Jan 2;9 (1) :e83968.
5. Kozuka M, et al : Isolation of HMG-CoA reductase inhibitors from aronia juice. *Food Bioscience.* 2020 (34) :100535
6. Cuccioloni M, et al : Epigallocatechin-3-gallate potently inhibits the in vitro activity of hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase. *J Lipid Res.* 2011 May;52 (5) :897-907.
7. Arai, Y., Watanabe, S., Kimira, M., Shimoi, K., Mochizuki, R., and Kinae, N. (2000). Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. *J Nutr*, 130 (9), 2243-2250.