

大豆たん白質の末梢組織におけるブドウ糖利用及びインスリン感受性に対する長期効果

THE LONG-TERM EFFECT OF SOY PROTEIN ON GLUCOSE UTILIZATION AND INSULIN SENSITIVITY OF THE PERIPHERAL TISSUE

成宮 学・石井賢治・池田義雄（東京慈恵会医科大学）

Manabu NARIMIYA, Kenji ISHII and Yoshio IKEDA

Third Department of Internal Medicine, The Jikei University School of Medicine, Tokyo 105

ABSTRACT

The effect of protein on the glucose utilization and insulin sensitivity of rat hindlimb muscles was investigated. The present study was aimed mainly at its long-term effect. Studies were performed on male Wistar rats, weighing about 250 g. First, rats were given soy protein or albumin orally, and one hour later they were prepared for hindlimb perfusion. Second, for the purpose of studying the long-term effect of soy protein, rats were fed soy protein diet *ad libitum* for 4 weeks, and then the hindlimb perfusion was attempted. Plasma glucose and insulin concentrations were comparable in the two groups when soy protein or albumin was orally given respectively. The clearance of glucose by hindlimb skeletal muscle was examined in the absence of added insulin among the two groups, compared with the control. The soy protein and the albumin fed rat groups cleared glucose from the medium approximately 60 and 40%, respectively, more than did the control, whereas at various insulin levels, the clearance of glucose by hindlimb skeletal muscle was comparable among the three groups. The four week feeding of the soy protein diet or the control diet brought about a significant rise in basal plasma glucose concentration, however, the rise was comparable in the two groups. But there was no significant difference in plasma insulin concentration. The clearance of glucose by hindlimb skeletal muscle was comparable in the two groups in the absence of added insulin and at perfusate insulin levels of 62.5 and 125 μ U/ml, while the soy protein diet caused a significant rise at a perfusate insulin level of 500 μ U/ml. The four week feeding of each diet, however, decreased the clearance of glucose by hindlimb skeletal muscle at a respective perfusate insulin level. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **10**, 122-126, 1989.

各種栄養素の末梢組織での糖代謝及びインスリン作用に対する影響に関してこれまで糖質と脂質についてはいくつかの報告がある。我々も砂糖¹⁾とエタノール²⁾の影響に関してすでに報告した。しかしたん白質の効果についてはこれまではほとんど報告されてい

ない。その食品機能として栄養機能、感覚機能に加えて生体調節機能が注目されている大豆たん白に関して、前回より本研究会において、その末梢組織でのブドウ糖利用に及ぼす影響について下肢灌流法を用いて得られた成績を示してきたが、今回は主としてその長期効

果についての実験結果を報告する。

方 法

体重250 g 前後の雄性 Wistar 系ラットを用い実験を行なった。まず大豆たん白の短期効果をみる目的で、実験開始3時間前より禁食とし、大豆たん白及びアルブミンをラット体重1 kg あたり1 g の量を胃ゾンデにより経口投与し投与前と投与後1時間目に血糖値、血漿インスリン濃度を測定した。採血は尾静脈より行なった。

さらに、下肢灌流実験を行ない骨格筋のブドウ糖利用およびインスリン感受性に対する大豆たん白の効果を調べた。下肢灌流実験は Mondon らの方法³⁾ に準じて行なった。4.5%デキストラン、0.1%ウシ血清アルブミンを含む Krebs-Ringer 重炭酸緩衝液とラット赤血球の混合液を灌流液として用いた。下肢骨格筋の糖利用をみる目的で、実験開始時の灌流液中のブドウ糖濃度は250 mg/100 ml 前後とし、インスリン濃度は、0, 62.5, 125, 500 μ U/ml とした。また灌流液は95% O₂ と5% CO₂ で飽和し37°C に保ち5 ml/min の速さで10分ごとに灌流液中のブドウ糖濃度を測定し、下肢筋ブドウ糖クリアランス（以下K値と略す。）を以下の式で算出した。

ブドウ糖クリアランス (K)=

$$(\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g muscle}^{-1})$$

$$\frac{\text{ブドウ糖摂取量 (nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g muscle}^{-1})}{\text{ブドウ糖濃度 (nmol}/\mu\text{l})}$$

また体重250 g 前後のラット下肢の組織組成は脂肪組織12%, 骨組織14%, 筋肉組織74%であり、下肢灌流時のブドウ糖利用は主に筋肉組織によることが理解できる。

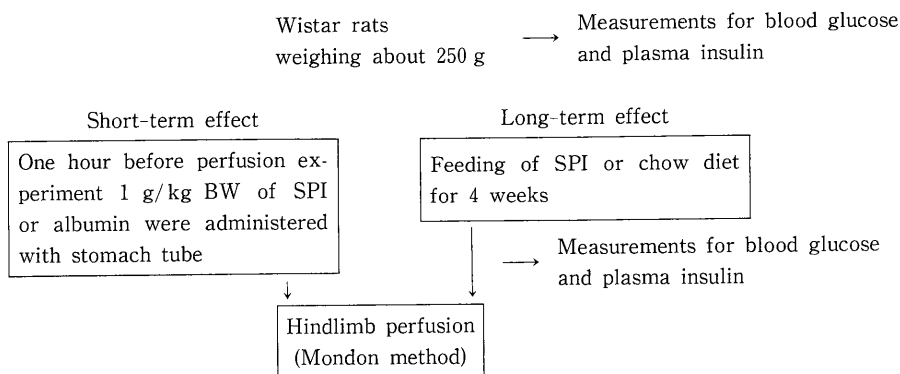
なお、灌流液中の赤血球によるブドウ糖利用は灌流1時間では数%以内でありほとんど誤差範囲内であった。

次に大豆たん白の長期効果をみる目的で、大豆たん白食および通常食にて4週間飼育したラットを用いて同様の下肢灌流実験を行なった。

なお実験に用いた大豆たん白はいづれも不二製油より提供された分離大豆たん白質 (SPI) である。

ブドウ糖濃度はヘキソカイネース法により、インスリン濃度は二抗体法による放射性免疫化学的方法で測定した。

以上の実験によって得られた成績の統計的分析は Student's t test を用いて行なった。



Perfusate : Krebs-Ringer solution containing 4.5% dextran, 0.1% bovine serum albumin and rat erythrocytes with or without insulin (0, 62.5, 125 or 500 μ U/ml).

Perfusion rate : 5 ml/min.

Sample : Perfusate was taken every 10 minutes for 60 minutes.

$$\text{Glucose clearance (K)} = \frac{\text{Glucose uptake (nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g muscle}^{-1})}{\text{Glucose concentration (nmol}/\mu\text{l})}$$

$$(\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g muscle}^{-1})$$

Fig. 1. Outline of experiment.

成績

短期効果

大豆たん白及びアルブミン投与により血糖値は投与後低下傾向を認め、血漿インスリン濃度は投与後上昇傾向を認めるものの有意差はみられなかった (Figs. 2, 3)。

下肢灌流実験では、インスリン非存在下でK値は大豆たん白投与群で 4.2 ± 0.3 (mean $\pm$ SEM), アルブミン投与群 3.6 ± 0.1 , 対照群 2.6 ± 0.2 ($\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g muscle}^{-1}$) で大豆たん白投与群はアルブミン投与群と対照群に比較して有意のK値の上昇を認めた (Fig. 4)。また各種濃度のインスリン添加での検討では大豆たん白投与群, アルブミン投与群, 対照群のそれぞれの間にすべてのインスリン濃度でK値に有意差は認められなかった。

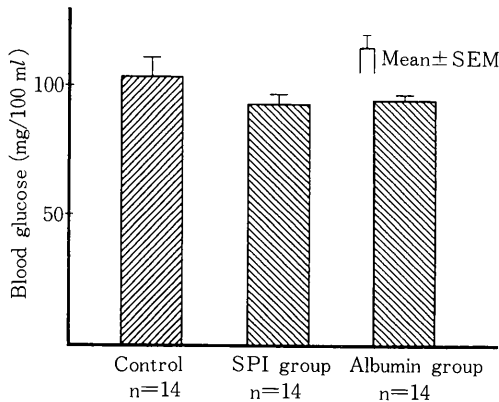


Fig. 2. Short-term effect of SPI or albumin administration on blood glucose concentration.

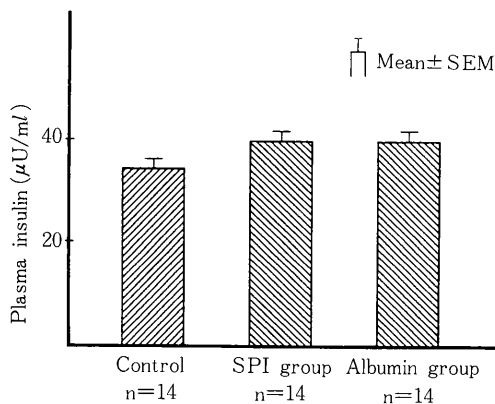


Fig. 3. Short-term effect of SPI or albumin administration on plasma insulin level.

長期効果

大豆たん白食群および通常食群の間に体重差は認められなかった (Fig. 5)。

大豆たん白食および通常食による4週間のラットの飼育により、実験開始時と比較して有意の血糖値の上昇を認めたが両群間には、差はみられなかった (Fig. 6)。一方、血漿インスリン濃度に関しては、変化は認められなかった (Fig. 7)。

下肢灌流実験では、インスリン非存在下で両群間にK値に差はみられなかった (Fig. 8)。

次にインスリン存在下では、生理的最大効果を示す $125 \mu\text{U/ml}$ のインスリン濃度下で両群間にK値に差は認めなかった。しかし実験開始時のK値 5.6 ± 6.2 ($\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g muscle}^{-1}$) 時と比較して両群とも有意のK値の低下がみられた (Fig. 9)。次にインスリン感受性の変化の可能性を考慮してインスリン濃度を $62.5 \mu\text{U/ml}$

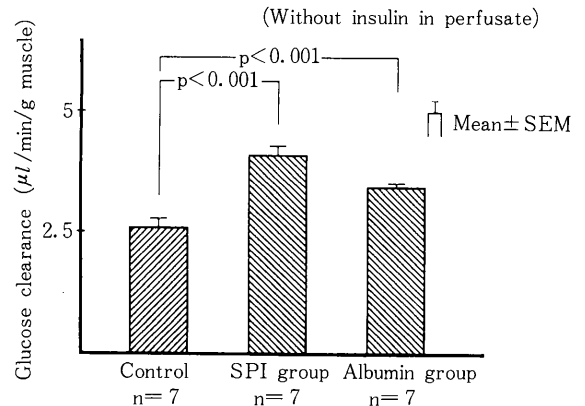


Fig. 4. Acute effect of SPI or albumin feeding on glucose clearance by hindlimb perfused with Krebs-Ringer based solution without insulin.

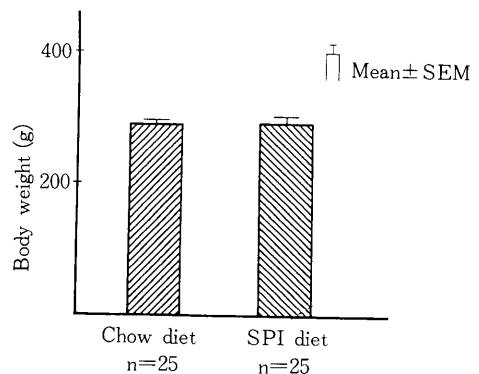


Fig. 5. Effect of long-term feeding of SPI diet on body weight.

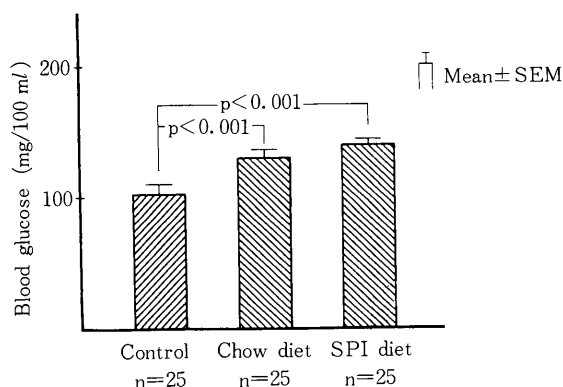


Fig. 6. Effect of long-term feeding of SPI diet on blood glucose concentration.

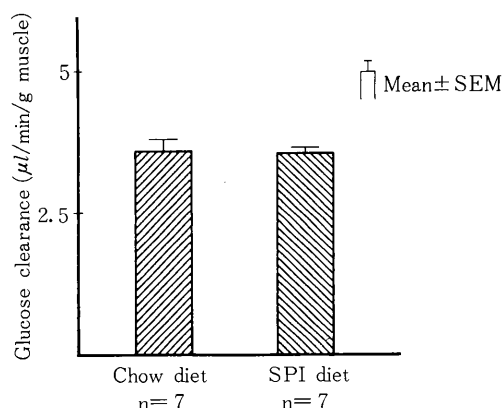


Fig. 9. Chronic effect of SPI feeding on glucose clearance by hindlimb perfused with Krebs-Ringer based solution with insulin (125 μU/ml).

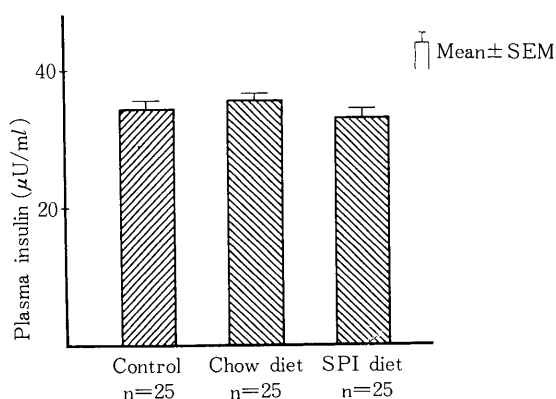


Fig. 7. Effect of long-term feeding of SPI diet on plasma insulin level.

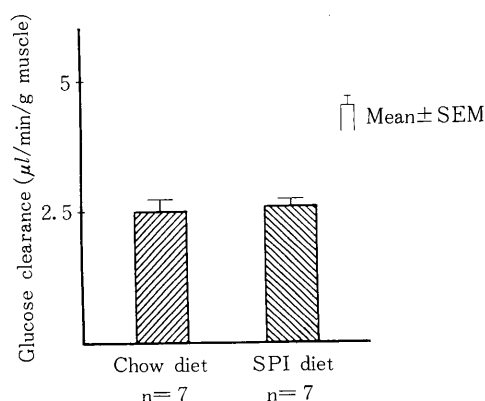


Fig. 10. Chronic effect of SPI feeding on glucose clearance by hindlimb perfused with Krebs-Ringer based solution with insulin (62.5 μU/ml).

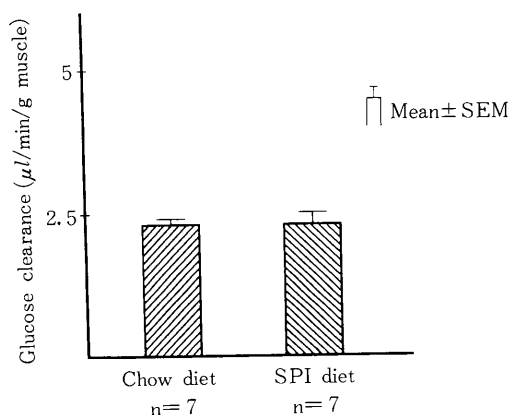


Fig. 8. Chronic effect of SPI feeding on glucose clearance by hindlimb perfused with Krebs-Ringer based solution without insulin.

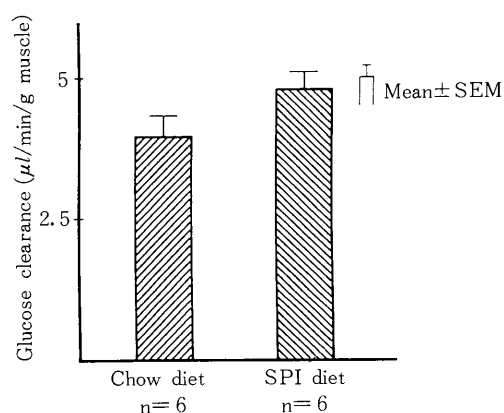


Fig. 11. Chronic effect of SPI feeding on glucose clearance by hindlimb perfused with Krebs-Ringer based solution with insulin (500 μU/ml).

まで下げて同様の実験を行なった両群間に差を認めなかった (Fig. 10)。さらにインスリン反応性の変化についても検討するためインスリン濃度を500 μ U/ml まで上昇させたところ、インスリン濃度125 μ U/ml 時と比較して、通常食群ではK値に差をみなかったが、大豆たん白食群ではK値の有意の上昇が認められた (Fig. 11)。

考 察

大豆たん白の投与により、急性効果としてインスリン非存在下で、ブドウ糖クリアランスの促進が認められた。たん白質、アミノ酸投与によりインスリン分泌が促進されることが知られており、大豆たん白投与によりインスリン分泌が促進され、その結果、骨格筋組織の糖代謝律速酵素活性が亢進した可能性も考えられる。そこでアルブミン投与により同様な実験を行なったところ、アルブミン投与群ではブドウ糖クリアランス値は、対照群と大豆たん白投与群の中間の値を示した。したがってたん白質による非特異的なブドウ糖クリアランス促進作用の可能性に加えて大豆たん白特有な何らかの作用の可能性も考慮する必要があると考える。

次に長期効果に関しては、まず大豆たん白食、通常食の別なく、実験開始時と比較して、血漿インスリン濃度に変化はみられなかったが、血糖値の有意の上昇を認め、さらに下肢灌流実験でもインスリン存在下でブドウ糖クリアランス値の低下がみられ、ラットの成長に伴うインスリン抵抗性の存在が示唆された。我々

がすでに行なった加齢に伴うインスリン抵抗性に関する研究³⁾でも、末梢組織のブドウ糖利用に関しては、生後4ヶ月のラットでインスリン抵抗性は最高値を示し、以後その値はプラトーにとどまることが明らかとなっている。

下肢灌流実験においてインスリン非存在下で、通常食群と比較して大豆たん白食群ではブドウ糖クリアランスの変化はみられなかった。また生理的最大効果を示す125 μ U/ml のインスリン濃度下でも両群間に差を認めなかった。通常食群ではインスリン濃度を500 μ U/ml まで上昇させてもブドウ糖クリアランス値に変化をみなかったが、大豆たん白食群では有意の上昇が認められ、大豆たん白の長期効果としてインスリン反応性を増加させる可能性が示唆された。

文 献

- 1) 成宮 学, 池田義雄, Reaven G. M. (1987): 運動および高シヨ糖食の糖尿病代謝に及ぼす影響. *Peptide Hormone in Pancreas*, 7, Biomedical Research Foundation, 東京, pp. 159-164.
- 2) 成宮 学, 石井賢治, 池田義雄 (1988): エタノールの末梢組織インスリン感受性に及ぼす影響. *Peptide Hormone in Pancreas*, 8, Biomedical Research Foundation, 東京, pp. 158-162.
- 3) Narimiya M., Azhar S., Dolkas C. B., Mondon C. E., Sims C., Wright D. W. and Reaven G. M. (1984): Insulin resistance in older rats. *Am. J. Physiol.*, **246**, E 397-E 404.