

幼若ラットを用いた小児成人病モデルに対する大豆たん白質の効果

EFFECTS OF SOY PROTEIN ISOLATE ON HIGH SUCROSE- AND HIGH FAT-INDUCED OBESITY IN POST-WEANING RATS

原 映子（今治明德短期大学）
志水泰武・嶋津 孝（愛媛大学医学部）

Eiko HARA¹, Yasutake SHIMIZU² and Takashi SHIMAZU²

¹Imabari Meitoku Junior College, Imabari 794

²Department of Medical Biochemistry, School of Medicine, Ehime University, Ehime 791-02

ABSTRACT

Effects of dietary soy protein isolate (SPI) on high sucrose- and high fat- diet induced obese model were examined in post-weaning rats. The rats were fed 30% sucrose and 20% soybean oil for 2 weeks. High fat diet increased the serum triglyceride concentrations but the suppressive effect of SPI on serum triglyceride was not observed in rats fed high fat diet. Thermogenic activity of brown adipose tissue (BAT) was also examined by measuring the uncoupling protein (UCP) content in the mitochondria with the use of immunoblotting. UCP contents were increased in SPI-fed rats, suggesting that SPI contributes to the prevention of the development of dietary obesity in weaning rats with high sucrose and high fat diet. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **15**, 95-98, 1994.

私共は、これまで幼若ラットを用いて、蔗糖摂取による小児成人病モデルに対する大豆たん白質の効果を検討してきた^{1,2)}。その結果、大豆たん白質には血中トリグリセリド (TG) 値を抑制する作用があり、その作用は蔗糖摂取によって肝臓での TG 合成が高まっている場合にも認められることを明らかにした。

ところで、近年高 TG 血症が、上半身肥満や高インシュリン血症、高血圧などと共に動脈硬化促進因子として重要視され、いわゆるシンドローム X や死の四重奏などと称されていることから^{3,4)}、大豆たん白質が動脈硬化に対して抑制的に作用する可能性が期待される。

今回、私共は、高蔗糖食に加えて高脂肪食をラットに投与し、脂質代謝の変動に及ぼす大豆たん白質の併用効果を調べた。

また、大豆たん白質投与が褐色脂肪組織 (BAT) で

の熱産生機能に対してどのような効果を及ぼすかを、サーモゲニンとも呼ばれる、本組織に特異的な脱共役たん白質 (UCP) の量的変動を測定することにより検討した。

実験方法

離乳直後の SD 系雄性ラット 48 匹を用いた。初体重は、平均 58.5 g であった。ラットを 1 群 6 匹として 8 群に分け、Table 1 に示した組成の飼料で 2 週間飼育した。

飼料は、標準たん白質としてミルクカゼイン（オリエンタル酵母）及び粉末 SPI（フジプロ-R）を用い、油脂としては精製大豆油（不二製油）を用いた。合成した粉末飼料を自由摂食させ、その摂食量を測定した。

2 週間後にラットをネブタール麻酔下で屠殺し、

血液、肝臓、副睪丸脂肪組織 (WAT)、肩甲間 BAT を採取し、重量を測定した。血液中及び肝臓中の TG 含量はアセチルアセトン法で測定した⁵⁾。

BAT 中の UCP 量の測定はウエスタンブロッティング法を用いて次のように行った⁶⁾。BAT 約 50 mg を分取し、10 倍量の低張緩衝液を加えてホモゲナイズした。これを 1,500 g で 5 分間遠心した後、脂肪層を除去して上清を取り出した。次に、1 レーン当たりたん白質量 15 μ g のサンプルを用いて SDS-電気泳動を行った。電気泳動後、分離したたん白質をニトロセルロース膜にブロッティングし、UCP に対する特異抗体を一次抗体として反応させ、次いで I^{125} でラベルしたプロ

テイン A を結合させ、UCP のスポットを切り取り、その放射活性をカウントし、UCP 含量を定量した。

結果と考察

離乳直後のラットを用いて、高脂肪食摂取に対する SPI の投与効果を検討した。Fig. 1 に示すように、高脂肪食を 2 週間投与した場合の総エネルギー摂取量は、いずれの群においてもコントロール群に比べ約 2 割程度多かった。また高脂肪食群間で比較すると、カゼイン食群は他の 3 群に比べ、有意に摂取エネルギー量が少なかった。しかし、体重増加量と副睪丸脂肪組織重量はいずれも高脂肪食群とコントロール群との間で有

Table 1. Composition of experimental diets (g/100 g of diet)

Ingredient	Control groups				High fat groups			
	CAS	CAS SUC	SPI	SPI SUC	CAS	CAS SUC	SPI	SPI SUC
Casein	20	20	—	—	24	24	—	—
SPI	—	—	20	20	—	—	24	24
Corn starch	62	32	62	32	44	14	44	14
Sucrose	—	30	—	30	—	30	—	30
Soybean oil	6	6	6	6	20	20	20	20
Cellulose powder	4	4	4	4	4	4	4	4
Vitamin mixture	2	2	2	2	2	2	2	2
Mineral mixture	6	6	6	6	6	6	6	6

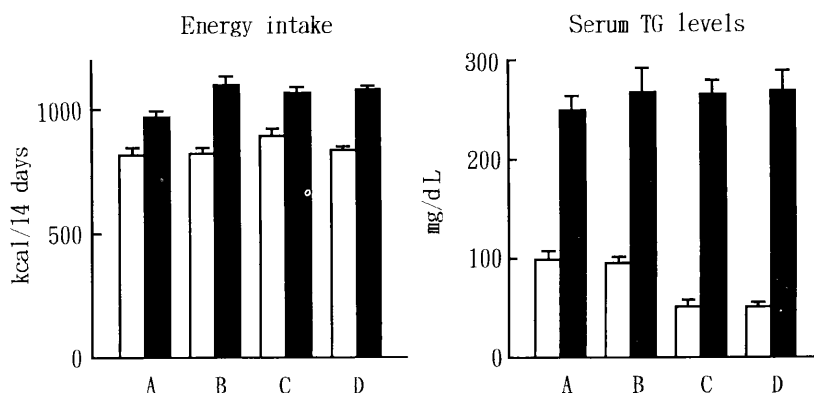


Fig. 1. Total energy intake and serum triglyceride (TG) level of experimental rats fed 20% casein (A), 20% casein and 30% sucrose (B), 20% SPI (C), 20% SPI and 30% sucrose (D). Open columns show control groups and solid columns indicate the groups fed high-fat diet.

意な差は認められなかった。このことから、離乳直後のラットへの2週間の高脂肪食の投与は、摂取エネルギー量の増加をもたらすものの、体脂肪量の増加には至らないことが示された。

一方、血中 TG レベルは、Fig. 1に示すように、高脂肪食群で著しく上昇し、コントロール群と比べて数倍の高値を示した。このような変化は肥満や動脈硬化

を招く準備状態と考えられる。またコントロール群では、SPI の摂食により血中 TG レベルの抑制効果が認められたが、高脂肪食摂取によって TG レベルが著しく上昇している場合には、SPI による抑制作用は認められなかった。この実験結果は血中 TG レベルを抑制する SPI の作用が TG の比較的低い範囲内で有効であることを示す。

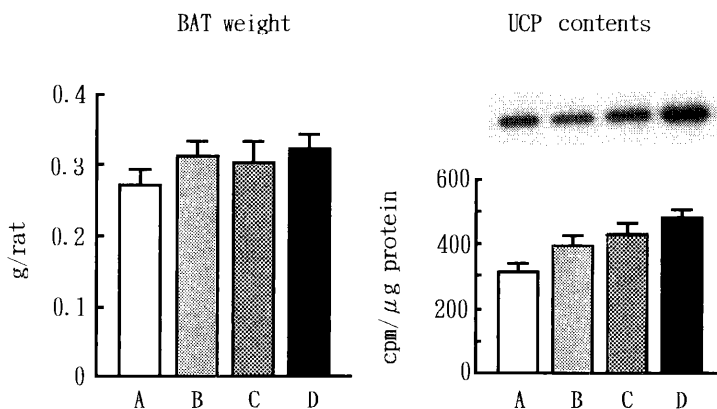


Fig. 2. Interscapular brown adipose tissue (BAT) weight and BAT uncoupling protein (UCP) contents of the rats fed 20% casein (A), 20% casein and 30% sucrose (B), 20% SPI (C), 20% SPI and 30% sucrose (D). Representative autoradiograms of UCP content in BAT are shown. The amount of UCP in each lane was counted with an auto-gamma counter, and the values relative to respective control are expressed as the mean $\pm$ SEM (n=6).

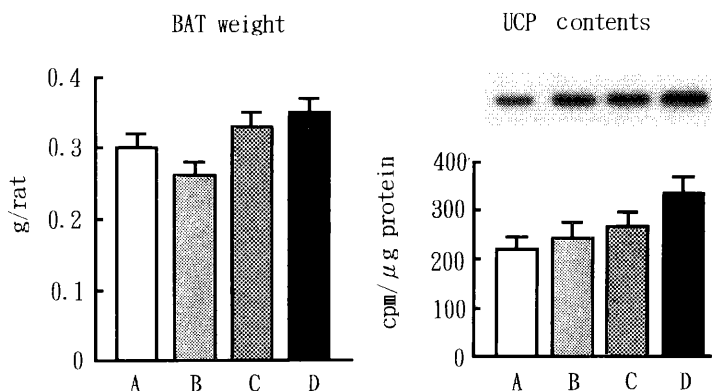


Fig. 3. BAT weight and BAT uncoupling protein (UCP) contents of the rats fed high-fat diet with 20% casein (A), 20% casein and 30% sucrose (B), 20% SPI (C), and 20% SPI and 30% sucrose (D). Representative autoradiograms of UCP content in BAT are shown.

SPI の血中 TG 抑制機序としては、SPI 投与によって肝臓でのアポブロテイン B の合成低下または分解亢進が招来され、肝からの VLDL の分泌が減少する可能性が考えられる。また、SPI 投与によって BAT での熱産生が高まり、血中 TG の利用が亢進するという考えも成立する。

この後者の仮説を検討するため、BAT での熱産生機能の変化を追及した。その手始めに、BAT の重量及び UCP 含量を測定した。UCP は BAT のミトコンドリア内膜にのみ局在する、分子量 3.2 kDa の脱共役たん白質であり、その含量は BAT での熱産生によるエネルギー消費量を推定する尺度となる。

Fig. 2 に示すように、コントロール群における BAT の重量と UCP 含量は、カゼイン摂取よりも、シュクロース摂取、SPI 摂取でいずれも上昇しており、シュクロースと SPI との併用摂取では、カゼイン摂取に比べて BAT 重量は 19%、UCP 含量は 53% の増加が認められた。

また、Fig. 3 に示すように、高脂肪食を摂取した場合にも、SPI やシュクロース投与により BAT の重量や UCP 含量の増加が認められた。つまり、BAT での熱産生は SPI 投与により亢進することを示しており、この結果は、高脂肪食群では摂取エネルギー量の増加があるにもかかわらず (Fig. 1 参照)、体脂肪の増加が見られなかったという今回の実験結果を支持するものであろう。

文 献

- 1) 原 映子, 嶋津 孝 (1992): 蔗糖の過剰摂取による小児肥満モデルに対する大豆たん白質の効果. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **13**, 46-49.
- 2) 原 映子, 嶋津 孝 (1993): 蔗糖の過剰摂取によるラット肥満モデルに対する大豆たん白質の効果. 大豆たん白質研究会会誌, **14**, 70-75.
- 3) Reaven GM (1988): Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, **37**, 1595-1607.
- 4) Kaplan NM (1989): The Deadly Quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med*, **149**, 1514-1520.
- 5) Soloni FG (1971): Simplified manual micro-method for determination of serum triglycerides. *Clin Chem*, **17**, 529-534.
- 6) Shimizu Y, Kielar D, Masuno H, Minokoshi Y and Shimazu T (1994): Dexamethasone induces the GLUT4 glucose transporter, and responses of glucose transport to norepinephrine and insulin in primary cultures of brown adipocytes. *J Biochem*, **115**, 1069-1074.
- 7) Kwiterovich PO (1988): HyperapoB: a pleiotropic phenotype characterized by dense low-density lipoproteins and associated with coronary artery disease. *Clin Chem*, **34**, B71-B77.