

## 授乳期母仔ラットの脂質代謝に及ぼす高蔗糖・SPI食の影響

Effects of Soy Protein Isolate on Sucrose-Induced Fat Accumulation in Lactational Maternal Rats and Sucking Baby 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 HARA<sup>1</sup>, Yasutake SHIMIZU<sup>2</sup> and Takashi SHIMAZU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Imabari Meitoku Junior College, Imabari 794

<sup>2</sup>Department of Medical Biochemistry, School of Medicine, Ehime University, Ehime 791-02

### ABSTRACT

Effects of dietary soy protein isolate (SPI) on high sucrose diet-induced fat accumulation were examined in lactational maternal rats and sucking baby rats. Maternal rats were fed 30% sucrose diet with and without 20% SPI during pregnant and lactational period. In maternal rats, sucrose diet increased the liver triglyceride contents remarkably, but SPI suppressed the augmentation completely. In sucking baby rats, the liver and serum triglyceride levels were also lowered by SPI diet. Thermogenic activity of brown adipose tissue (BAT) was examined by measuring the uncoupling protein (UCP) content in the mitochondria by means of immunoblotting. In lactational maternal rats, the UCP contents were decreased markedly irrespective of the diet, suggesting that thermogenesis was lower in lactational period to supply energy to baby rats. In sucking baby rats, the UCP contents were not changed by SPI diet. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **16**, 9-13, 1995.

私共は、これまで肥満や高脂血症などの小児成人病の発症に対する大豆たん白質 (SPI) の効果を調べるために高蔗糖食や高脂肪食を与えた幼若ラットを用いて実験を行ってきた。その結果、SPIの摂取は血中トリグリセリドのレベルを低下させる作用のある事、また熱産生器官である褐色脂肪組織 (BAT) の重量を増加させ、BATに特有な脱共役たん白質であるサーモゲニン含量をも有意に上昇させる事を見いだした<sup>1-3)</sup>。これらの結果は大豆たん白質が肥満や高脂血症に対して抑制的に働く事を示すものである。

今回私共は、脂質代謝やエネルギー代謝が変動すると報告されている<sup>4)</sup>授乳期の母ラットに大豆たん白質を摂取させ、母仔ラットへの影響を検討した。

### 実験方法

実験動物として8週齢のSD系雌性ラット24匹と10週齢の雌性ラット6匹を用いた。雄性ラット1匹に対して雌性ラット4匹を同一ケージに入れて交配した。2週間後、雌性ラットを個別ケージに移し、Table 1に示した4種類の飼料で飼育を開始した。

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) を用いた。合成粉末飼料は自由摂食とし、その摂食量を測定した。

各雌性ラットは、合成飼料による飼育開始後7日目から14日目で出産し、出産した仔ラットの数は8匹から13匹であった。各々の母ラットについて、出産後2日目に仔ラットの数を8匹に調整した。母ラットには

出産後も合成飼料による飼育を継続した。

各ケージの8匹の仔ラットのうちから、生後18日目に任意に3匹を選び、6時間の絶食後ネブタール麻酔下で屠殺し、血液・肝臓・肩甲間BATを採取し、重量を測定した。

母ラットは、出産後21日目に仔ラットから分離し、6時間絶食後ネブタール麻酔下で屠殺し、仔ラットと同様に血液・肝臓・肩甲間BATを採取した。

残りの仔ラットは、離乳後更に3週間にわたり合成粉末飼料で飼育したのち屠殺し、肩甲間BATを採取した。

血液中及び肝臓中のトリグリセリド (TG) 含量はアセチルアセトン法<sup>5)</sup>で、またコレステロール含量は市販のキットを用い、コレステロールオキシダーゼ・

DAOS法で測定した。

BAT中の脱共役たん白質 (UCP) 量の測定は、ウェスタンブロットリング法を用いて次のように行った<sup>6)</sup>。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1500 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 µg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トリングし、UCPに対する特異抗体を一次抗体として反応させ、ついで<sup>125</sup>I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。

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

Ingredient	(g/100 g of diet)			
	CAS	CAS SUC	SPI	SPI SUC
Casein	20	20	—	—
SPI	—	—	20	20
Corn starch	64	34	64	34
Sucrose	—	30	—	30
Soybean oil	6	6	6	6
Cellulose powder	4	4	4	4
Vitamin mixture	2	2	2	2
Mineral mixture	4	4	4	4

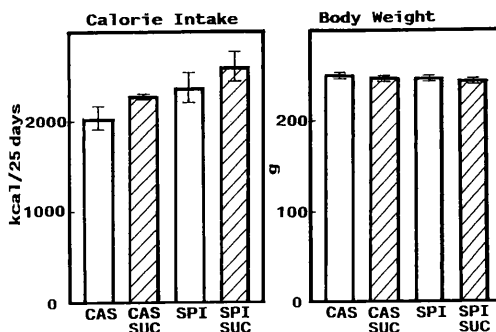


Fig. 1. Energy intake and body weight of lactational maternal rats fed 20% casein (CAS), 20% casein & 30% sucrose (CAS-SUC), 20% SPI (SPI) or 20% SPI & 30% sucrose (SPI-SUC).

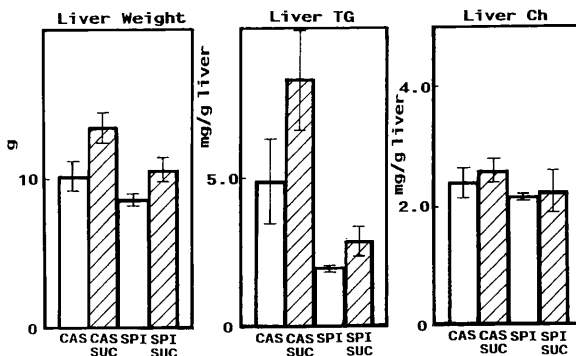


Fig. 2. Liver weight, liver triglyceride (TG) and cholesterol (Ch) contents of lactational rats fed 20% casein (CAS), 20% casein & 30% sucrose (CAS-SUC), 20% SPI (SPI) or 20% SPI & 30% sucrose (SPI-SUC).

## 結果と考察

授乳期における母ラットと仔ラットについて、蔗糖及びSPI食摂取の影響を検討した。母ラットに対し、妊娠中から授乳期にかけてTable 1に示す4種類の合成粉末飼料を与えて飼育した。その間における母ラットのエネルギー摂取量は、Fig. 1に示すようにカゼイン食群に比べてSPI食群では約15%多くなっていた。また、カゼイン・シュクロース食群に比べてSPI・シュクロース食群においても約15%の摂取量の増加が認められた。また、カゼイン食においてもSPI食においても、シュクロースの添加によって摂取エネルギー量が約11%増加した。しかし、体重増加量は4群間で差は認

められなかった。

一方、Fig. 2で示すように、母ラットの肝重量はシュクロース摂取群で増加し、特にカゼイン・シュクロース食群でその増加が著しかった。肝臓中のTG含量は、カゼイン食群に対し、カゼイン・シュクロース食群で著しい増加が認められた。しかし、SPI食群ではカゼイン食群に比べ肝TG含量が半分以下に低下した。また、カゼイン・シュクロース食群に対して、SPI・シュクロース食群においてもTG含量は半分以下の値を示した。このようなSPIの添加による肝TG含量の著しい抑制作用は授乳期の母ラットに特に顕著なものである。また、肝コレステロール含量については、4群間で差が認められなかった。

一方、Fig. 3に示すように、授乳期仔ラットの肝重量

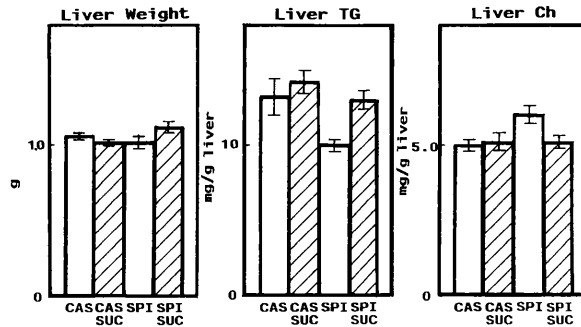


Fig. 3. Liver weight, liver triglyceride (TG) and cholesterol (Ch) contents of suckling baby rats fed 20% casein (CAS), 20% casein & 30% sucrose (CAS-SUC), 20% SPI (SPI) or 20% SPI & 30% sucrose (SPI-SUC).

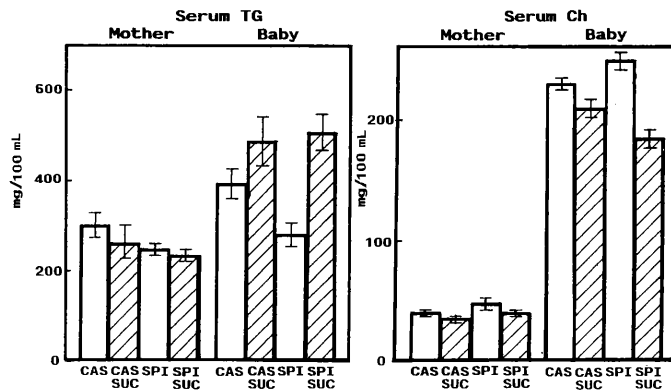


Fig. 4. Serum triglyceride (TG) and cholesterol (Ch) levels of lactational rats (Mother) and suckling rats (Baby) fed 20% casein (CAS), 20% casein & 30% sucrose (CAS-SUC), 20% SPI (SPI) or 20% SPI & 30% sucrose (SPI-SUC).

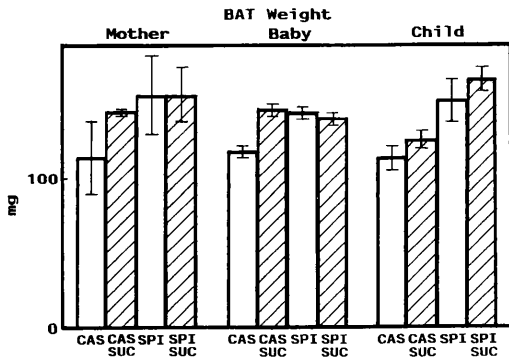


Fig. 5. Interscapular brown adipose tissue (BAT) weights of lactational rats (Mother), sucking rats (Baby) and weaned rats (Child) fed 20% casein (CAS), 20% casein & 30% sucrose (CAS-SUC), 20% SPI (SPI) or 20% SPI & 30% sucrose (SPI-SUC).

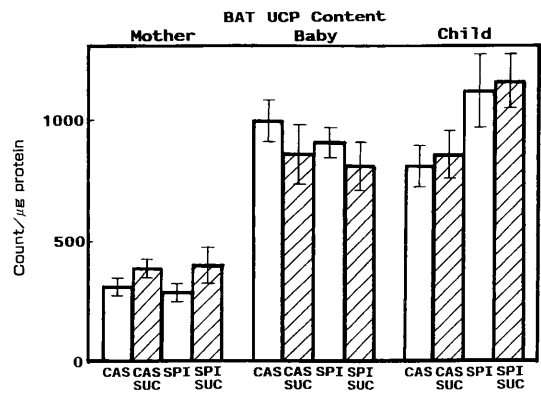


Fig. 6. BAT uncoupling protein (UCP) contents of lactational rats (Mother), sucking rats (Baby) and weaned rats (Child) fed 20% casein (CAS), 20% casein & 30% sucrose (CAS-SUC), 20% SPI (SPI) or 20% SPI & 30% sucrose (SPI-SUC).

は、母ラットとは異なり、4群間にほとんど差は見られなかった。しかし、肝TG含量はSPI食群で有意に低下した。肝コレステロール含量は、母ラットと同様に4群間で有意な差は認められなかった。グラム重量当たりの肝TG及び肝コレステロール含量を授乳期母仔ラット間で比較すると、TG、コレステロールのいずれにおいても、仔ラットの方が母ラットよりも2倍以上の高値を示した。(Figs. 2, 3)

次に、血中のTG値は、Fig. 4に示すように、母ラットでは4群間に差はなく、これまで報告してきた<sup>1-3)</sup> SPIによる血中TG値の低下現象は見られなかったが、授乳中の仔ラットではSPI食群で血中TG値の有意な低下が認められた。血中TG値を母仔ラット間で比較すると、SPI食群を除いて、仔ラットの方が母ラットよりも高値を示した。一方、血中コレステロール値も母ラットに比べて仔ラットで非常に高く、約5倍の値を示した。

これらの結果から、シュクロースの摂取は、母ラットの肝臓でのフルクトースからの中性脂肪合成を著しく高めることにより、肝重量や肝TG含量の増加をもたらすと考えられる。また、この時食餌中のたん白質をカゼインからSPIに変えると、その増加が顕著に抑制されることが明らかとなった。この抑制メカニズムについては不明であるが、SPIが肝臓での脂肪合成酵素の活性を抑制するという報告もあり<sup>7)</sup>、授乳期の母ラットでは、特にこの抑制が強く現れたものと考えられる。

一方、授乳期の仔ラットでは、母乳を通して母ラッ

トの代謝変動の影響を受けると考えられるが、今回の結果では、母ラットへのSPIの投与は、仔ラットの肝TGおよび血中TGを低下させることがわかった。しかし、母ラットへのシュクロースの投与は、仔ラットには有意な変化をもたらさなかった。

授乳期の仔ラットでは、主たるエネルギー源は母乳中の脂質成分であることから、肝臓中および血液中の脂質レベルは高値を示すものと考えられる。また、授乳期にある母ラットでは、仔ラットへの授乳に多くの脂質を供給することが必要であり、肝臓における脂肪合成は通常の場合よりも活性化されると考えられる。特にシュクロースを食餌に添加した場合には、フルクトースからの脂肪合成が著しく高まると考えられる。これに対し、仔ラットにおいてはシュクロース添加によるTG値の変動は認められなかったため、授乳期の母ラットではシュクロースの投与による肝脂肪の増加(脂肪肝)の危険性が考えられる。これに対し、SPIの投与は著しい肝脂肪の増加を抑制する作用のある事が明らかとなった。

一方、褐色脂肪組織(BAT)は、食餌成分によりその重量や活性が変動する事が報告されており<sup>8)</sup>、私共も昨年の報告で、離乳後の幼若ラットにおいて、SPIやシュクロースの投与によりBATの重量増加及びUCPの増加が見られる事を報告した。今回、授乳期の母仔ラットにおいてもBATの変化を調べた。その結果、Fig. 5に示すように、肩甲間BAT重量は、母ラット、授乳中仔ラット及び離乳後仔ラットのいずれにおいてもシュクロースやSPIの投与で増加する傾向が認めら

れた。しかし、BATのUCP含量は、Fig. 6に示すように、授乳期の母ラット、仔ラット共にシクロロスやSPI投与による増加は認められなかった。ところが、離乳後さらに3週間にわたりSPI食を投与した仔ラット群では、カゼイン食群にくらべ有意なUCP含量の増加が認められた。

次に、UCP値を各ラット群間で比較すると、授乳期や離乳後の仔ラットに比べて、授乳期の母ラットではUCP含量が著しく低下しており、その値は他のラットの半分以下であった。この結果は、授乳期の母ラットでは仔ラットへのエネルギー供給を維持する方向に代謝系が働いており、BATの活性を低下させて母ラットのエネルギー消費量を抑制していると考えられる。そしてこの様な状態では、SPIはBAT活性を高める効果のない事も明らかとなった。

## 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) 原 映子, 志水 泰武, 嶋津 孝(1994) : 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. 大豆たん白質研究会会誌, **15**, 95-98.
- 4) Jen C, Rochon C, Zhong S and Whitcomb L (1991) : Fructose and sucrose feeding during pregnancy and lactation in rats changes maternal and pup fuel metabolism. *J Nutr*, **121**, 1999-2005.
- 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) : Dexamerhasone 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) Iritani N, Nagashima K, Fukuda H, Katsurada A and Tanaka T (1986) : Effect of dietary protein on lipogenic enzymes in rat liver. *J Nutr*, **116**, 190-197.
- 8) Simpson MLF, Cooney GJ, Catterson ID and Newsholme EA (1986) : Glycolysis and lipid synthesis in brown adipose tissue during ageing in the rat. *Biochem Biophys Res Commun*, **140**, 419-426.