

高蔗糖食または高脂肪食の長期投与ラットに及ぼす 分離大豆たん白質の効果

原 映子¹・志水泰武²・浜井盟子²・嶋津 孝^{*2}

¹今治明德短期大学 ²愛媛大学医学部

Effect of Soy Protein Isolate on Sucrose-or Lard-Induced Fat Accumulation in Rats Fed for Long Period

Eiko HARA¹, Yasutake SHIMIZU², Meiko HAMAI² and
Takashi SHIMAZU²

¹Imabari Meitoku Junior College, Imabari 794

²School of Medicine, Ehime University, Ehime 791-02

ABSTRACT

Effects of dietary soy protein isolate (SPI) on sucrose or lard-induced fat accumulation were examined in rats. Thirty percent sucrose diet feeding for 8 weeks increased the liver weight and the liver triglyceride (TG) content significantly, but SPI feeding suppressed the augmentation completely. On the other hand, 14% lard diet also increased liver TG content remarkably, but SPI feeding did not suppress the augmentation. Thermogenic activity of the interscapular brown adipose tissue (BAT) was examined by measuring the uncoupling protein (UCP) content in the mitochondria by means of immunoblotting. In sucrose fed rats, the UCP content increased by SPI feeding additionally. In lard fed rats, the UCP content was increased remarkably, but SPI feeding did not increase the UCP content any longer. In conclusion, SPI feeding worked suppressively for sucrose-induced fat accumulation, but not for lard-induced fat accumulation. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **17**, 103-107, 1996.

Key words: brown adipose tissue, uncoupling protein, sucrose feeding, fat accumulation

私共は、これまで幼若期のラットに高蔗糖食または高脂肪食を与え、この時の脂質代謝に及ぼす分離大豆たん白質 (SPI) の効果を検討してきた。その結果、離乳直後のラットに約2週間SPIを投与すると、肩甲間褐色脂肪組織 (BAT) の脱共役たん白質 (UCP) の含量が有意に増加することが明らかと

なった¹⁾。この成績はSPIがBATでの熱産生を高めることにより、肥満の発生を抑制する可能性を示唆するものである。

一方、授乳期の母ラットでは、BATのUCP含量は低く、成熟ラットの50%に過ぎず、またSPIの投与によってもUCP含量の増加は認められなかった²⁾。この事実は授乳期の母ラットがエネルギー消費を抑えて、仔ラットへのエネルギー供給を維持しようとする

*〒791-02 愛媛県温泉郡重信町志津川

ためであると考えられる。また授乳期の仔ラットの UCP 含量は幼若ラットのそれとほぼ同レベルであったが、SPI を投与した母ラットから母乳を介して仔ラットの UCP 含量に対する影響は認められなかった²⁾。このように、BAT の UCP 含量に対する SPI の効果はラット側の生理的な条件の違いによって増加作用を示す場合と、全く効果のない場合とがあることが明らかとなった。

そこで今回は、幼若期から長期間（8 週間）にわたり、蔗糖食または脂肪食を摂取させたラットの脂質代謝に対して、SPI の添加がどのような効果を示すのかを調べる目的で実験を行った。

実験方法

実験動物として 3 週齢のウイスター系雄性ラット 36 匹を用いた。始めの 5 日間は市販固形飼料で飼育し、6 日目から 6 匹ずつ 6 群に分け、①コントロール食群（カゼイン 20%，スターチ 64%）、②コントロール・SPI 食群（SPI 24%，スターチ 60%）、③蔗糖食群（カゼイン 20%，蔗糖 30%，スターチ 34%）、④蔗糖・SPI 食群（SPI 24%，蔗糖 30%，スターチ 30%）、⑤脂肪食群（カゼイン 20%，脂肪 20%，スターチ 50%）、⑥脂肪・SPI 食群（SPI 24%，脂肪 20%，スターチ 46%）の 6 種類の食餌で 8 週間飼育した（Table 1）。グラム当たりの各飼料のエネルギー量は、①～④の飼料が 4.06 kcal、⑤と⑥の飼料が 4.76 kcal であった。

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）および粉末 SPI（フジプロール）を用いた。糖質として α -コーンスターチ（オリエンタル酵

母）および精製蔗糖（オリエンタル酵母）を、また脂肪として大豆油（不二製油）およびラード（オリエンタル酵母）を用いた。飼料はすべて自由摂食とし、摂食量と体重を測定した。

合成飼料による飼育開始後 56 日目に、一晩絶食した後ネブタール麻酔下で屠殺し、肝臓、肩甲間褐色脂肪組織を採取し、重量を測定した。

肝臓中のトリグリセリド（TG）含量はアセチルアセトン法で測定した³⁾。BAT 中の脱共役たん白質（UCP）量の測定はウェスタンブロッティング法を

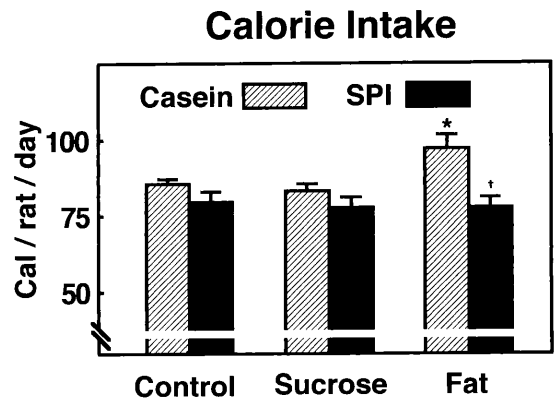


Fig. 1. Energy intake of rats fed casein-based diets (hatched columns) or SPI-based diets (solid columns) for 8 weeks. *, significantly different from the value in controls. †, significantly different from casein group.

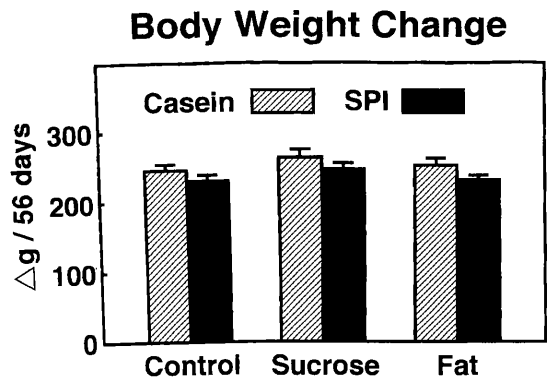


Fig. 2. Changes in body weight of rats fed casein-based diets (hatched columns) or SPI-based diets (solid columns) for 8 weeks.

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

Ingredient	Control		Sucrose		Fat	
	CAS	SPI	CAS	SPI	CAS	SPI
Casein	20	-	20	-	20	-
SPI	-	24	-	24	-	24
Corn starch	64	60	34	30	50	46
Sucrose	-	-	30	30	-	-
Soybean oil	6	6	6	6	6	6
Lard	-	-	-	-	14	14
Cellulose powder	4	4	4	4	4	4
Vitamin mix.	4	4	4	4	4	4
Mineral mix.	2	2	2	2	2	2

用いて次のように行った⁴⁾。BAT を約50 mg 分取し、10倍量の低張緩衝液を加えて、ホモゲナイズし、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 μg のサンプルを用いて SDS 電気泳動を行った。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、ついで I¹²⁵ でラベルしたプロテインAを結合させて 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。

測定値は、平均±標準偏差で表し、検定はスタットソフトを使用して、2 ウェイ ANOVA で行い、0.05 以下を有意とした。

結 果

8週間にわたり蔗糖食または脂肪食を与えたラットの脂質代謝に対する SPI 投与の影響について検討した。Table 1 に示す6種類の合成粉末飼料を離乳後の幼若ラットに8週間自由摂食させたところ、エネルギー

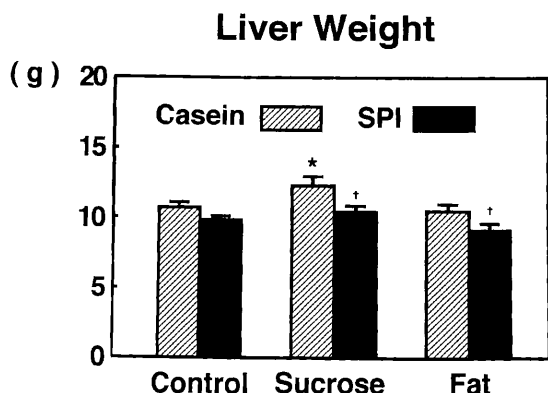


Fig. 3. Liver weight of rats fed casein-based diets (hatched columns) or SPI-based diets (solid columns) for 8 weeks. *, significantly different from controls. †, significantly different from casein group.

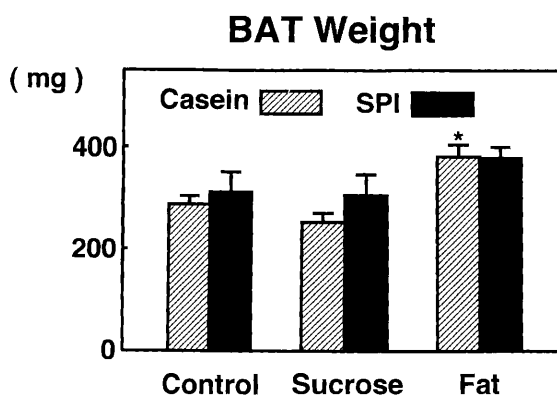


Fig. 5. Interscapular brown adipose tissue (BAT) weight of rats fed casein-based diets (hatched columns) or SPI-based diets (solid columns) for 8 weeks. *, significantly different from controls.

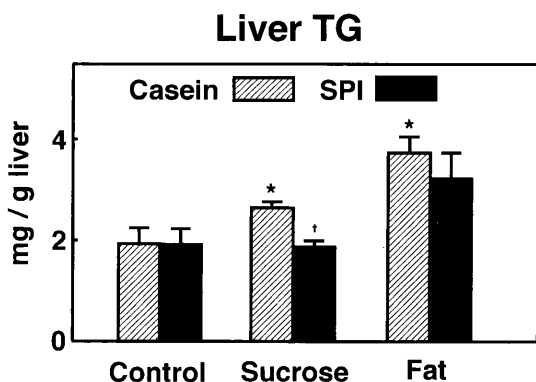


Fig. 4. Liver triglyceride (TG) content of rats fed casein-based diets (hatched columns) or SPI-based diets (solid columns) for 8 weeks. *, significantly different from controls. †, significantly different from casein group.

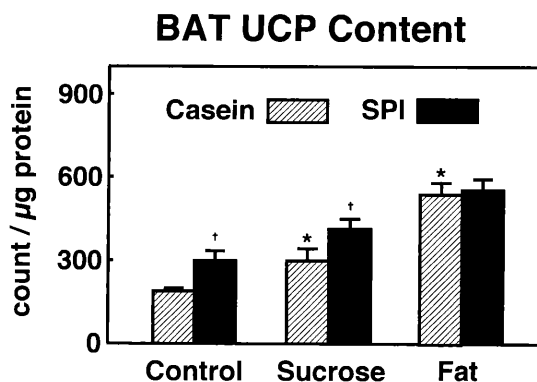


Fig. 6. Uncoupling protein (UCP) content of BAT in rats fed casein-based diets (hatched columns) or SPI-based diets (solid columns) for 8 weeks. *, significantly different from controls. †, significantly different from casein group.

ギー摂取量はコントロールのCAS食群に対し、FAT-CAS食群で有意に増加したが、SUC-CAS食群では増加は認められなかった (Fig. 1)。カゼインに代えてSPIを投与したラットでは、蔗糖食群においても脂肪食群においてもエネルギー摂取量の変動は認められず、いずれもカゼイン食群に比べて低値を示した。

この間の体重増加量は、Fig. 2に示すように、コントロールのCAS食群に比べ、SUC-CAS食群で多少増加傾向を示したが、エネルギー摂取量の増加していたFAT-CAS食群では体重増加量に差は見られなかった。SPI投与群では、カゼイン投与群に比べ、各群とも体重増加量は少なめであった。

肝臓重量はSUC-CAS食群で有意に増加していた (Fig. 3)。しかしカゼインに代えてSPIを投与すると、この蔗糖による肝の肥大は防止された。

肝臓のTG含量はFig. 4に示すように、コントロールのCAS食群に比べ、SUC-CAS食群で増加傾向を示し、FAT-CAS食群で有意に増加した。これらの群に対してSPIを投与すると、蔗糖食群のTG増加は抑制されたが、脂肪食群では有意な抑制効果は認められなかった。

BAT重量およびUCP含量の変化をFig. 5とFig. 6に示した。コントロールのCAS食群に比べ、SUC-CAS食群ではUCP含量の増加が認められ、FAT-CAS食群ではBATの重量とUCP含量の両方の著しい増加が認められた。カゼインに代えてSPIを投与すると、コントロール食群と蔗糖食群ではUCP含量が有意に増加したが、脂肪食群では増加効果は示さなかった。

考 察

たん白質源をカゼインとした場合、コントロールに

比べて脂肪食群ではエネルギー摂取量は有意に増加しているにもかかわらず、体重はコントロール群と差がなかった。これは脂肪食群でBATの重量やUCP量が著しく増加したことにより、熱産生が亢進した結果、体重増加が抑制されたものと考えられる。これまでも食餌中の脂肪含量を増やすと、交感神経系が活性化され、BATでの熱産生が促進することが報告されている⁵⁾。一方、蔗糖食群では、8週間にわたる実験期間中のエネルギー摂取量や体重変化量の増加は認められなかった。しかし、肝臓の重量と、TG含量は増加した。また既に報告したように、授乳期の母ラットにおいても肝重量およびTG含量の顕著な増加が認められた。これは蔗糖由来のフルクトースが肝での脂肪合成を亢進したことによるものと考えられる⁶⁾。

カゼインに代えてSPIをたん白質源とした場合には、蔗糖食群では肝重量とTG含量の増加は抑制され、肝臓での脂肪合成の亢進を抑える効果を示した。またBATのUCP含量を増やして熱産生を高める効果も明らかとなった。一方、脂肪食群ではSPIは摂食量を抑制する傾向を示したが、肝TG含量の増加に対する抑制効果は見られず、UCP含量を増やす働きも見られなかった。

このように、肥満を招来しやすいと考えられている蔗糖と脂肪の摂取に対し、SPIは異なる効果を示すことが明らかとなった。すなわちSPIは蔗糖摂取による肝脂肪の合成促進に対しては抑制効果を示すが、食餌性の脂肪による肝脂肪量の増加に対しては影響せず、またBATのUCP含量に対しても、もともと高い値を示す脂肪食下では相加的な増強作用を示さなかった。しかし、コントロール食や蔗糖食ではSPI投与でUCP含量に対する増加作用が認められ、熱産生を高めて肥満を抑制する効果のあることが明らかとなった。

要 約

離乳直後から8週間にわたりSPIを摂取させ、高蔗糖または高脂肪食ラットにどのような影響を及ぼすかを調べた。その結果、蔗糖食群の肝TG含量とBATのUCP含量はSPIの添加によってそれぞれ有意に低下ならびに増加した。しかし、脂肪食群では肝TG量およびBATのUCP含量はともに高値を示し、SPIによっても有意な変化を示さず、脂肪食に対するSPIの効果は蔗糖食に対する場合と異なることがわかった。

文 献

- 1) 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.
- 2) 原 映子, 志水泰武, 嶋津 孝 (1995): 授乳期母子ラットの脂質代謝に及ぼす高蔗糖・SPI食の影響. 大豆たん白質研究会会誌, **16**, 9-13.
- 3) Soloni FG (1971): Simplified manual micro-method for determination of serum triglycerides. *Clin Chem*, **17**, 529-534.
- 4) 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.
- 5) Schwartz JH, Young JB and Landsberg L (1983): Effect of dietary fat on sympathetic nervous system activity in the rat. *J Clin Invest*, **72**, 361-370.
- 6) 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.