

OLETF ラットのカロリー制限による減量に及ぼす 大豆たん白質の効果

森 豊¹・青山敏明²・福井健介²・黒川修行³・小宮秀明³・池田義雄^{*4}

¹ 国立療養所東宇都宮病院 ² 不二製油株式会社新素材研究所

³ 宇都宮大学教育学部 ⁴ 東京慈恵会医科大学健康医学センター

Effect of Soy Protein Isolate on Body Weight Reduction by Energy Restriction in OLETF Rats

Yutaka MORI¹, Toshiaki AOYAMA², Kensuke FUKUI², Naoyuki KUROKAWA³,
Hideaki KOMIYA³ and Yoshio IKEDA⁴

¹ National Higashi-Utsunomiya Hospital, Utsunomiya 329-1193

² Novelty Materials Research Institute, Fuji Oil Co., Ltd., Izumisano 598-8540

³ Faculty of Education, Utsunomiya University, Utsunomiya 321-8505

⁴ Center for General Health Care, The Jikei University School of Medicine, Tokyo 105-8461

ABSTRACT

Effect of soy protein isolate (SPI) on the body weight reduction by energy restriction was studied in a genetically obese-hyperglycemic Otsuka Long Evans Tokushima Fatty (OLETF) rat, characterized by intra-abdominal fat accumulation. Obese OLETF rats aged 25 weeks were fed the energy-restricted diets containing SPI or casein as protein source for 3 weeks. Body weight reduction was significantly greater and body fat content was significantly decreased in SPI diet-group compared with those in casein diet-group, although body protein content was significantly higher in SPI diet-group. Moreover, the decreases in plasma levels of leptin, total cholesterol and free fatty acid were significantly greater in SPI diet-group. In the experiment of body weight reduction by energy restriction using obese animal model, SPI was suggested to have more favorable effect on the amelioration of obesity and insulin resistance than casein. *Soy Protein Research, Japan* **1**, 96-101, 1998.

Key words : Otsuka Long Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, soy protein isolate (SPI), intra-abdominal fat accumulation, brown adipose tissue (BAT), uncoupling protein (UCP)

熱産生臓器である褐色脂肪組織 (brown adipose

tissue, BAT) ¹⁾ の機能低下が², 肥満の一成因になりうる
ことが各種の実験肥満モデルにおいて証明されてお
り ^{2,3)}, この低下した BAT 機能の活性化が肥満の軽減に

* 〒 105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8

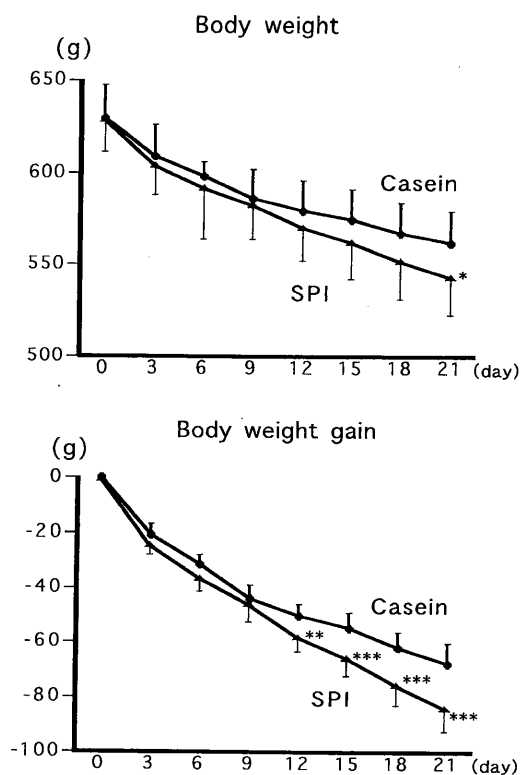
有効である可能性が報告されている⁴⁾。一方、大豆ペプチドが交感神経系の活性化を介してBATでの熱産生を亢進させエネルギー効率の低下を引き起こすことが報告されている^{5,6)}。さらに、我々は大豆たん白質（大豆ペプチド）の長期摂取が内臓脂肪肥満モデルであるOLETFラット⁷⁻⁹⁾におけるエネルギー効率を低下させ、肥満の進展を軽減させる効果を持つことを報告した¹⁰⁾。そこで今回は、内臓脂肪型肥満を既に呈したOLETFラットに対し、摂取カロリーを60%に制限した低エネルギー食を与え、たん白質を大豆たん白質に置き換えた際の減量に対する効果を検討した。

Table 1. Ingredient and nutrient composition of experimental diets

	Ingredient (%)	
	Casein-diet	SPI-diet
Casein	52.7	—
Soy protein isolate	—	52.8
DL-Methionine	0.5	0.5
Cornstarch	9.4	11.5
α -Cornstarch	8.0	8.0
Sucrose	5.0	5.0
Corn oil	6.0	6.0
Cellulose powder	5.0	5.0
Vitamin mixture	1.0	1.0
Mineral mixture	5.0	5.0
Choline bitartrate	0.2	0.2
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.3	1.3
CaCO_3	1.9	1.9
KCl	0.9	0.9
NaCl	0.57	—
MgCO_3	0.9	0.9
$\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$	0.09	0.09
Na_2CO_3	1.61	—
Nutrient composition		
	Casein-diet	SPI-diet
Moisture (%)	8.0	8.0
Protein (%)	45.4	45.0
Fat (%)	6.1	6.0
Ash (%)	6.3	6.9
Others (%)	34.2	34.1
Energy (kJ/g)	15.1	15.1

方 法

大塚製薬(株)より提供された生後4週齢雄性OLETFラットを市販固形飼料(MB3, 船橋農場(株))にて25週齢まで個別ケージにて飼育し、600 g以上の体重になったことを確認後、各群の体重がマッチするようにInitial Control (IC) 群 (n = 5), Casein 群 (n = 12), 大豆たん白質 (SPI) 群 (n = 12) の計3群に分けた。IC 群は群分けした直後に16時間絶食後採血、解剖を行った。Casein 群, SPI 群の摂餌量は、実験開始前7日間の全ラットの1日平均摂餌量を計測し、その60%に設定した。実験食の基本組成は市販飼料(MB3)と同様とし、実験開始後のたん白質摂取量を実験開始前と同レベルに保つため、実験食のたん白質含量を45% (N% $\times$ 6.25) に設定し、たん白質量の違いによる配合比の差はコーンスターチで補正した (Table 1)。Casein 群, SPI 群は個別ケージにて温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, vs value of Casein

Fig. 1. Changes in body weights and body weight gains in casein-diet and SPI-diet groups.

度 $55 \pm 5\%$ で 12 時間明暗サイクル (7:00 ~ 19:00 照明) の条件下で 3 週間飼育した。飼育期間中は摂餌量は毎日、体重は 3 日に 1 回計測し、実験終了時 8:00 am より 6 時間絶食後採血、解剖を行った。

眼窩静脈叢より採血し得られた血液は血漿をサンプルとして、血糖、インスリン (IRI)、レプチン (IRL)、中性脂肪 (TG)、総コレステロール (TC)、遊離脂肪酸 (FFA) の測定を行った。また解剖時には、左後腹膜 (腎周囲) 脂肪、腸間膜脂肪、左副睪丸周囲脂肪、左腹部皮下脂肪の各脂肪組織重量の測定を行った。後腹膜脂肪、腸間膜脂肪、副睪丸周囲脂肪の合計を腹腔内脂肪とし、腹部皮下脂肪の切除範囲は、Krotkiewski and Björntorp の方法¹¹⁾ に従った。体組成については、カーカス処理を行った後、体たん白質含量、体脂肪含量、体灰分含量を測定した。体たん白質量については、体窒素の定量をケルテックオートアナライザー 1030 (日本ゼネラル株) を用いて行い、窒素たん白質換算係数として一律 6.25 を用いて粗たん白質量を算出した。体脂肪含量は、ジエチルエーテル溶媒でエクスファット (日本ゼネラル株) を用いて脂肪を抽出し、抽出前

後の重量差で算出した。体灰分含量は、 600°C で 4 時間加熱灰化した後の残存量で測定した。

統計学的処理として、数値は全て、Mean $\pm$ SD で表し、有意差検定は unpaired *t*-test を用いた。

結 果

実験開始前に計測した市販飼料の 1 日平均摂餌量から算出し設定した Casein 群と SPI 群の摂餌量は 16.0 g/日 であった。Casein 群、SPI 群の体重は、両群ともに実験開始後経過に伴い減少したが SPI 群の体重は、Casein 群と比較し、実験開始直後より、より減少傾向が強く、実験開始 21 日目においては SPI 群の体重は Casein 群と比較して有意な減少を示した (Fig. 1)。また、体重変化量で評価すると、実験開始 12 日目以後、SPI 群の体重減少は Casein 群と比較して有意に大きかった (Fig. 1)。すなわち、エネルギー効率に関して、SPI 群は、Casein 群より全期間を通じて低い傾向にあり、特に実験開始 12 日目以後は、SPI 群のエネルギー効率は Casein 群と比較して有意に低かった (Fig. 2)。

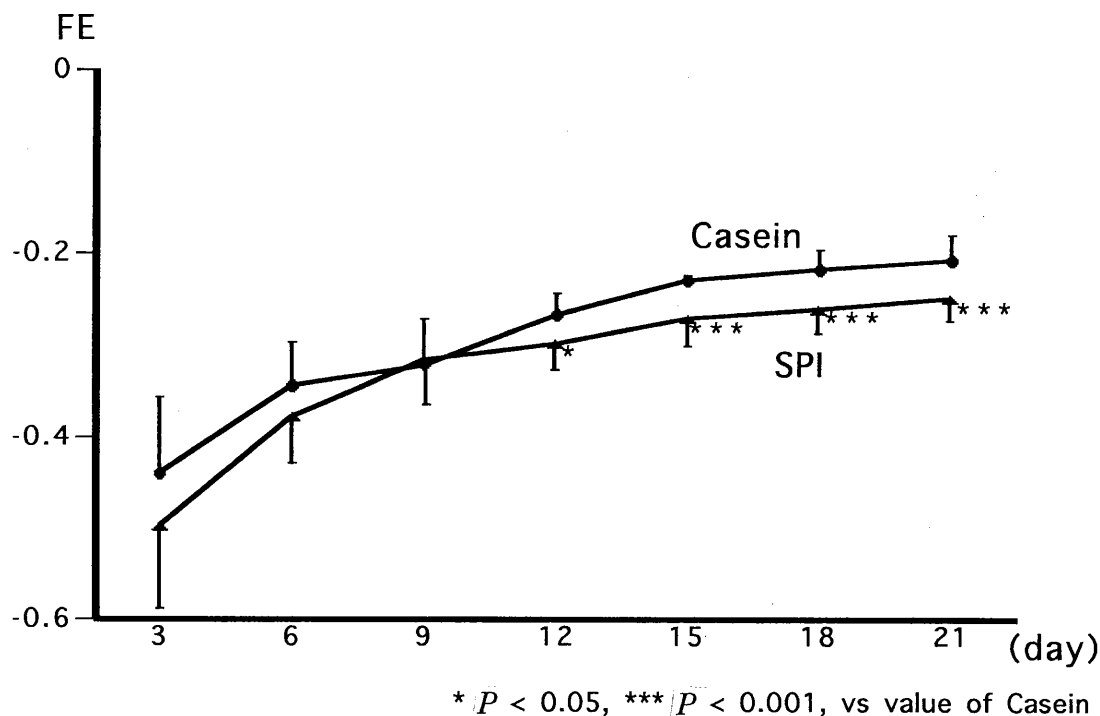


Fig. 2. Changes in food efficiency in casein-diet and SPI-diet groups.

体組成に関しては、SPI 群の体脂肪含量は Casein 群と比較して有意に減少していたのに対して、SPI 群の体たん白質％は Casein 群と比較して逆に有意に増加していた (Table 2)。また、体脂肪分布に関しては、SPI 群の腹腔内脂肪 (後腹膜脂肪、腸間膜脂肪) 重量、腹部皮下脂肪重量は Casein 群と比較していずれも有意に減少しており、体脂肪量の減少に部位特異性は認められなかった (Table 3)。

実験終了時の血糖、IRI については、Casein 群と SPI 群の間で有意差は認められなかったが、SPI 群の IRL は Casein 群と比較して有意に低下していた (Table 4)。また、脂質に関しても、TG については両群間に有意差を認めなかったが、SPI 群の TC、FFA は Casein 群と

比較して有意に低下していた (Table 4)。

考 察

BAT はエネルギー貯蔵を目的とする白色脂肪組織と異なり、寒冷時と過食後に熱産生を行い、エネルギーを消費する重要な部位として知られている。また、BAT の熱産生は交感神経系の刺激を介して行われており、肥満動物では、しばしば BAT の熱産生能に障害があり、これが肥満の一成因になると考えられている^{2,3)}。このため、逆にこの BAT 機能の活性化が肥満の軽減に有効である可能性も報告されている⁴⁾。

斉藤は、大豆たん白質由来の大豆ペプチドの肥満改

Table 2. Body composition analysis

	Initial control	Casein-diet	SPI-diet
Body weight (g)	609.3 ± 14.2	561.7 ± 18.1	545.1 ± 22.3
Water (%)	50.3 ± 1.1	53.3 ± 2.0	55.6 ± 2.5*
Fat (%)	27.2 ± 1.0	22.9 ± 2.7	19.8 ± 3.3*
Protein (%)	17.5 ± 0.7	18.4 ± 0.7	19.2 ± 0.7*
Ash (%)	2.5 ± 0.3	3.3 ± 0.6	3.5 ± 0.9
Others (%)	2.6 ± 0.8	2.1 ± 1.4	1.9 ± 1.0

* $P < 0.05$, vs value of Casein-diet.

Table 3. Body fat distribution (g/100 g body weight)

	Initial control	Casein-diet	SPI-diet
Intra-abdominal fat	9.8 ± 0.8	8.9 ± 1.2	7.5 ± 0.9**
Retroperitoneal fat	5.2 ± 0.3	4.8 ± 0.8	3.9 ± 0.7**
Mesenteric fat	2.3 ± 0.4	2.0 ± 0.2	1.6 ± 0.2***
Epididymal fat	2.4 ± 0.3	2.1 ± 0.3	2.1 ± 0.2
Subcutaneous fat	2.1 ± 0.2	1.7 ± 0.3	1.3 ± 0.2**

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, vs value of Casein-diet.

Table 4. Plasma levels of glucose, IRI, IRL and lipids

	Initial control	Casein-diet	SPI-diet
Glucose (mg/100 mL)	157.4 ± 13.3	130.3 ± 15.5	136.9 ± 13.0
IRI (ng/mL)	15.5 ± 7.1	3.6 ± 2.3	2.9 ± 0.9
IRL (ng/mL)	13.8 ± 2.5	8.7 ± 2.7	5.0 ± 1.8***
TG (mg/100 mL)	219.4 ± 64.0	42.4 ± 20.1	28.5 ± 10.3
TC (mg/100 mL)	118.6 ± 12.5	139.6 ± 15.1	107.7 ± 8.4***
FFA (μ mol/L)	1.59 ± 0.27	1.20 ± 0.33	0.97 ± 0.16*

* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, vs value of Casein-diet.

善効果を GTG 肥満マウスと MSG 肥満マウスを用いて検討し、大豆ペプチドが交感神経の活性化を介して熱産生機能を有する BAT の活性を高める成績、さらには大豆たん白質の摂取が肥満の改善に結びつく可能性を報告している^{5,6)}。今回の我々の実験における SPI の肥満改善効果の機序にも BAT での熱産生の亢進が寄与している可能性が考えられ、今後、大豆たん白質の BAT や脱共役たん白質 (uncoupling protein, UCP) に対する作用がより明確にされる必要があると考えられた。

BAT の活性化物質として、我々はトウガラシの刺激性成分であるカプサイシンの本ラットにおける体脂肪蓄積抑制効果を報告した¹²⁾。さらに、最近、選択的に褐色脂肪細胞を活性化させ、白色脂肪を分解させる β_3 受容体作動薬の種々の肥満動物モデルにおける有効性が報告されており¹³⁾、今回の大豆たん白質の効果を含め、肥満治療において摂取カロリーの制限に加え BAT の活性化物質がその有効な手段となりうることを期待できる。

要 約

内臓脂肪型肥満 OLETF ラットを用いて摂取カロリーを 60% に制限した時の大豆たん白質の減量に及ぼす効果をカゼインの効果と比較検討した。4 週齢の雄性 OLETF ラットを 25 週齢まで飼育して肥満状態になったのを確認後、Initial-Control (IC) 群、60% カロリー制限カゼイン群、60% カロリー制限大豆たん白質 (SPI) 群の 3 群に分け、カゼイン群、SPI 群を 3 週間経過観察した。カゼイン群、SPI 群の体重は両群ともに経過に伴い減少したが、2 週以後の SPI 群の体重は、カゼイン群と比較して有意な減少を示した。実験終了時における体脂肪分布の検討では、SPI 群は IC 群はもとよりカゼイン群と比較しても、腹腔内脂肪、皮下脂肪の組織重量は有意に低下していた。さらに、SPI 群の血中レプチン、総コレステロール、遊離脂肪酸に関しても、IC 群はもとよりカゼイン群と比較して有意に低下していた。低エネルギー食による肥満動物モデルの減量実験において、大豆たん白質はカゼインと比較して、より体脂肪量を減少させ、さらには、よりインスリン抵抗性、レプチン抵抗性、高 NEFA 血症の改善をもたらした。

- 1) Rothwell NJ and Stock MJ (1979): A role for brown adipose tissue in diet-induced thermogenesis. *Nature*, **281**, 31-35.
- 2) Yoshida T, Nishioka H, Nakamura Y and Kondo M (1984): Reduced norepinephrine turnover in mice with monosodium glutamate-induced obesity. *Metabolism*, **33**, 1060-1063.
- 3) Yoshida T, Nishioka H, Yoshioka K and Kondo M (1987): Reduced norepinephrine turnover in interscapular brown adipose tissue of obese rats after ovariectomy. *Metabolism*, **36**, 1-6.
- 4) Arch JR, Ainsworth AT, Cawthorne MA, Piercy V, Sennitt MV, Thody VE, Wilson C and Wilson S (1984): Atypical β -adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti-obesity drugs. *Nature*, **309**, 163-165.
- 5) 斎藤昌之 (1989): 大豆たん白質ペプチドの経管栄養への応用: 熱産生に及ぼす影響。大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 81-83.
- 6) 斎藤昌之 (1990): 交感神経活動に及ぼす大豆たん白質ペプチドの影響。大豆たん白質栄養研究会会誌, **11**, 95-97.
- 7) Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M and Natori T (1992): Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes*, **41**, 1422-1428.
- 8) Mori Y, Yokoyama J, Nemoto M, Katoh S, Nishimura M and Ikeda Y (1992): Characterization of a new genetically obese-hyperglycemic OLETF rat. *Jikeikai Med J*, **39**, 349-359.
- 9) 森 豊, 横山淳一, 畑 章一, 加藤秀一, 村川祐一, 磯貝行秀 (1994): 肥満を伴った自然発症糖尿病 OLETF ラットに関する研究—第 3 報: Zucker fa/fa ラットとの比較検討—. 第 14 回日本肥満学会記録, 275-279.

- 10) 森 豊, 畑 章一, 村川祐一, 加藤秀一, 池田義雄(1996): 内臓脂肪型肥満 OLETF ラットの体脂肪分布並びに耐糖能に及ぼす大豆たん白質の効果. 大豆たん白質研究会会誌, **17**, 108-113.
- 11) Krotkiewski M and Björntorp P(1979): The effect of progesterone and of insulin administration of regional adipose tissue cellularity in the rat. *Acta Physiol Scand*, **96**, 122-127.
- 12) 村川祐一, 森 豊, 横山淳一, 畑 章一, 加藤秀一, 田 嶋 尚子, 磯 貝 行 秀, 池 田 義 雄(1995): OLETF ラットの体脂肪分布, 耐糖能に対するカプサイシンの効果. *Diabetes Frontier*, **6**, 482-483.
- 13) 吉田俊秀, 吉岡敬治, 釜鳴孝吉, 平岡範也, 近藤元治(1989): 新 β 受容体刺激剤 BRL26830A の抗肥満作用. 医学のあゆみ, **151**, 561 : 562.