

水溶性大豆ペプチド画分の肝臓脂肪酸代謝改善作用 —肝臓および血清トリグリセリド濃度低下作用—

倉山貴行・窄野昌信・福田亘博*

宮崎大学農学部

Effect of Water-Soluble Soybean Peptide Fractions on Liver and Serum Triglyceride Concentrations in Rats

Takayuki KURAYAMA, Masanobu SAKONO and Nobuhiro FUKUDA

Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Miyazaki 889-2192

ABSTRACT

Effects of various peptides prepared by enzymatic hydrolysis of soy protein isolate (SPI) on liver and serum triglyceride (TG) were compared with those of SPI alone or casein in Sprague-Dawley rats fed diets with and without cholesterol. In experiment 1, the liver triglyceride-lowering effect of SPI, HD1 (a low molecular peptide fraction with residual high molecular peptides), and LD3 (a low molecular peptide fraction) was evident, compared to casein. In addition, SPI and LD3 exhibited a potent hypotriglyceridemic effect in rats fed diets with and without cholesterol; the extent of this lowering effect being greater in LD3 than in SPI, suggesting the effectiveness of LD3 in lowering serum and liver triglyceride concentrations. In experiment 2 with no dietary cholesterol, the effect of increasing amounts of LD3 on liver and serum triglyceride was examined, and we found that there was a dose-dependent reduction in the concentrations of triglyceride with increasing amounts of LD3 in the diet. In experiment 3, also with no added cholesterol in the diet, other fractions such as HMF (a high molecular peptide fraction in HD1) and D5 (an acid-soluble low molecular peptide fraction) were compared with SPI, HD1 and LD3; the D5 fraction exhibited a potent serum and liver cholesterol lowering activity; the extent of reduction appeared to be greater in D3 than in LD3. HMF had no lowering effect. In experiment 4, the effect of F5 (a highly water soluble low molecular peptide) was examined in rats fed diets free of cholesterol, and we found that there is a greater reduction in the concentration of serum and liver triglycerides compared to SPI and LD3. The results of these four experiments suggest that the water-soluble low molecular fraction prepared from SPI is a useful dietary component to prevent and/or ameliorate

*〒889-2192 宮崎市学園木花台西1丁目1番地

hypertriglyceridemia and fatty liver. *Soy Protein Research, Japan* **6**, 83-87, 2003.

Key words : soy protein, soy peptide, triglyceride, water soluble, low molecular

生活習慣病の予防を考える上で、肥満や脂肪肝は、高脂血症さらには動脈硬化症につながる危険因子である。

これまで大豆ペプチドの生理作用に関して、我が国を中心にさまざまな研究が行われている。Suganoらのグループは、プロテアーゼ処理で得られる高分子ペプチドのステロイドの糞中排泄増加を介した血清コレステロール低下作用を報告している¹⁻⁵⁾。一方、Aoyamaらは、最近分離大豆たん白質 (SPI) 加水分解物の体重減少⁶⁾ や体脂肪減少⁷⁾ への影響を報告している。しかしながら、低分子ペプチドの脂質代謝特にトリグリセリド (TG) 代謝への影響に関する報告は少ない。

我々は、ラット肝臓灌流法により、水溶性の高い低分子大豆ペプチド画分LD3が、肝臓における脂肪酸の β 酸化系への代謝を亢進させ、肝臓TG濃度低下、さらに肝臓からのTG分泌低下を引き起こす可能性を見出した。大豆ペプチドの脂肪肝抑制作用ならびに血清TG濃度低下作用が明らかになれば、機能性食品としての新たなニーズを開拓する可能性がある。

本研究では、無コレステロール食あるいは高コレステロール食条件下で、SPIより分画した種々の水溶性ペプチドの肝臓および血清TG濃度に及ぼす影響をカゼインやSPIと比較検討した。

実験方法

実験動物および飼料

ラットは、Sprague-Dawley系雄ラット (5週齢、体重130 g前後) を九動株式会社 (熊本) より購入した。6～10日間予備飼育した後、以下に記すような実験食を2週間給餌した。

実験1

AIN-76組成に準じたコレステロール無添加食あるいはコレステロール添加食 (コレステロール0.5%およびコール酸ナトリウム0.13%) に、カゼイン、SPI、HD1 (低分子ペプチドおよび高分子ペプチドを含む画分)、LD3 (低分子ペプチド画分) を20%レベルで添加した飼料を摂取させた。

実験2

20%レベルでカゼインとLD3の添加割合を20:0, 15:5, 10:10, 0:20となるように変化させたコレステロール無添加食を摂取させた。

実験3

カゼイン、SPI、HD1、LD3、HMF (HD1に含まれる高分子画分) およびD5 (LD3から塩酸可溶性画分として調製した画分) をたん白質レベル20%で添加したコレステロール無添加食を摂取させた。

実験4

カゼイン20%ならびにSPI、LD3あるいはF5 (LD3から疎水性樹脂処理により調製し、より水溶性の高い画分) をカゼイン10%レベルに10%添加したコレステロール無添加飼料を摂取させた。

飼育室の温度は22～24℃に維持し、7:00～19:00までを明期とした。なお、飼料および飲料水は自由に与えた。飼育終了後、ラットは断頭屠殺し、血清および肝臓を採取した。

血清および肝臓の脂質分析

血清および肝臓の脂質はFolchらの方法に準じて抽出した。TG濃度はFletcher法により定量した。

統計解析

各群のデータは平均値±標準誤差で示した。また、各群の平均値の有意差は、Duncan's multiple range testにより検定した。

結果

いずれの実験においても、摂食量、体重増加量には、各群間で明確な差異は観察されなかった。

実験1

肝臓TG濃度をFig. 1に示した。コレステロール添加の有無に関わらず、肝臓TG濃度は、SPI群でカゼイン群に比べ有意に低下した。HD1群およびLD3群でも、SPI群とほぼ同等の有意な低下を示した。血清TG濃度はFig. 2に示すように、無コレステロール食において、SPI群ではカゼイン群に比べ、有意に低下し、HD1群では低下する傾向を、LD3群では、SPI群と同様の有意な低下を示した。コレステロール添加食において、血清TG濃度は、カゼイン群に比べ、SPI群ならびにHD1群では、低下する傾向を、LD3群では、有意な低下を示した。これらの結果から、低分子ペプチドであるLD3は肝臓および血清TG低下作用をもつことが明らかになった。

実験2

肝臓TG濃度の結果をFig. 3に示した。肝臓TG濃度

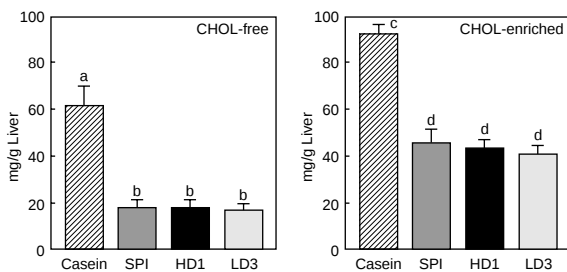


Fig. 1. Liver triglyceride level. Data are means $\pm$ SE of 6 rats. Means not sharing a common letter are significantly different at $P < 0.05$.

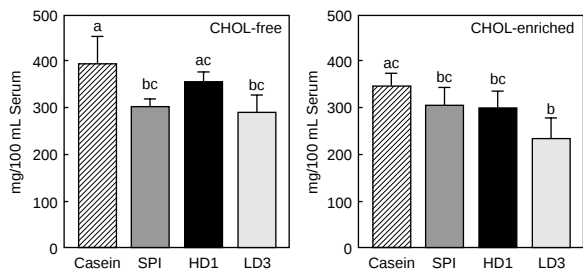


Fig. 2. Serum triglyceride level. Data are means $\pm$ SE of 6 rats. Means not sharing a common letter are significantly different at $P < 0.05$.

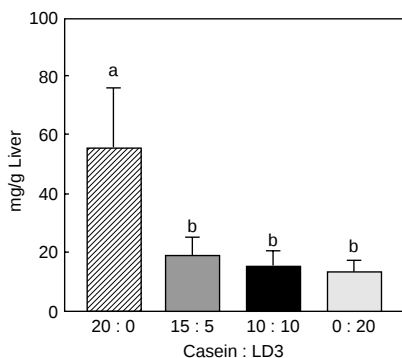


Fig. 3. Liver triglyceride level. Data are means $\pm$ SE of 6 rats. Means not sharing a common letter are significantly different at $P < 0.05$.

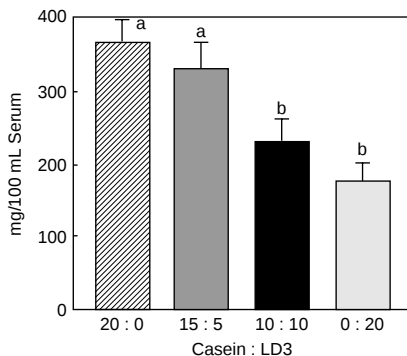


Fig. 4. Serum triglyceride level. Data are means $\pm$ SE of 6 rats. Means not sharing a common letter are significantly different at $P < 0.05$.

は、LD3の投与量に依存して低下した。とくに、5%レベルの添加でも有意な低下効果を有することが確認された。血清TG濃度 (Fig. 4) は、カゼイン群と比較して、LD3の添加により投与量依存的に低下した。とくに、10%の添加レベルで、統計的に有意であった。

実験 3

肝臓TG濃度 (Fig. 5) は、カゼイン群に比べ、SPI群、HD1群、LD3群、HMF群、D5群のいずれも有意に低下したが、HMF群ではその低下効果は軽度であった。血清TG濃度は、Fig. 6に示すように、カゼイン群に比べ、SPI群およびD5群で低下傾向を、HD1およびLD3で有意な低下を示した。HMFには低下効果は観察されなかった。

実験 4

肝臓TGをFig. 7に示した。肝臓TG濃度は、カゼイン群に比べ、SPI群、LD3群、F5群でいずれも有意に低下した。血清TG濃度 (Fig. 8) は、SPI群、LD3群、F5群で低下する傾向を示した。低下の程度は、F5群において最も大であった。

考 察

実験 1 においては、コレステロール無添加食およびコレステロール添加食を摂食させたラットで、2種類の大豆ペプチド製品であるHD1およびLD3が血清および肝臓脂質濃度に及ぼす影響をカゼインやSPIと比較検討した。その結果、水溶性大豆ペプチド画分であるLD3に強い血清および肝臓TG濃度低下作用があることが明らかになった。また、LD3は、血清および肝臓のコレステロール濃度低下作用も同時に有するものの、このコレステロール低下作用は、SPIやHD1よりも弱いことが示唆された (データ未掲載)。SPI群およびHD1群では、糞中へのステロイド排泄量が増加しており (データ未掲載)、これが体内のコレステロールプールを減少させ、血清および肝臓コレステロール濃度を低下させていると考えられ、TG濃度の低下は2次的なものである可能性が考えられた。しかしながら、LD3には、糞中ステロイド排泄促進作用は観察されず (データ未掲載)、またコレステロール低下作用はSPI

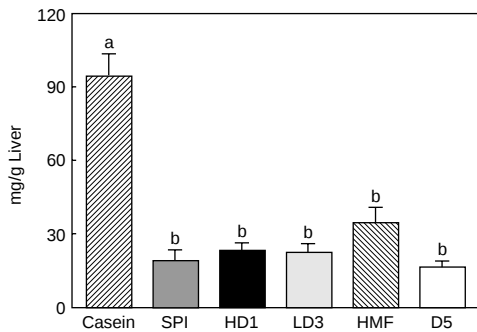


Fig. 5. Liver triglyceride level. Data are means $\pm$ SE of 6 rats. Means not sharing a common letter are significantly different at $P<0.05$.

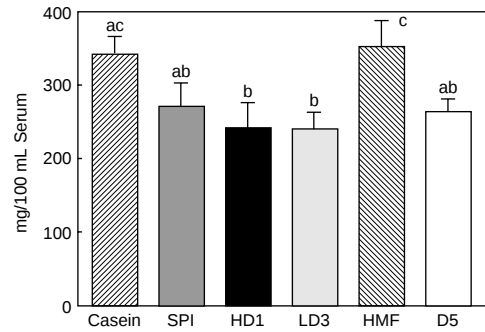


Fig. 6. Serum triglyceride level. Data are means $\pm$ SE of 6 rats. Means not sharing a common letter are significantly different at $P<0.05$.

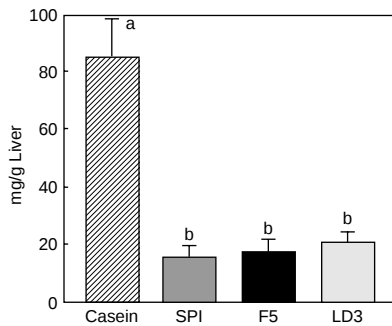


Fig. 7. Liver triglyceride level. Data are means $\pm$ SE of 6 rats. Means not sharing a common letter are significantly different at $P<0.05$.

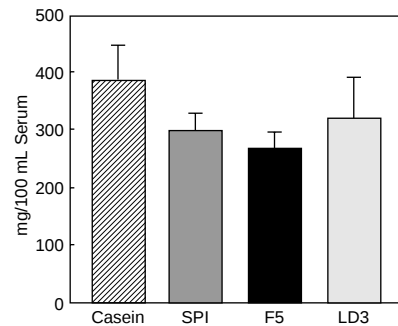


Fig. 8. Serum triglyceride level. Data are means $\pm$ SE of 6 rats.

やHD1ほど強くないことから、LD3による血清および肝臓TG低下作用には、肝臓における脂肪酸合成抑制やエネルギー代謝の亢進など、異なったメカニズムの存在が示唆された。以上のように実験1の結果から、水溶性大豆ペプチド画分であるLD3には優れた血清および肝臓TG濃度低下作用があることが明らかになった。

ついで実験2においては、このLD3の投与量依存性をもコレステロール食給餌ラットを用い検討した。たん白質源として用いているカゼインをLD3で置き換えていくことで、LD3の投与量を増加させたところ、肝臓重量（データ未掲載）、血清および肝臓TG濃度（Fig. 3, Fig. 4）、血清および肝臓コレステロール濃度（データ未掲載）は、いずれもLD3の投与量が増大するにつれて低下しており、LD3の投与量依存性が確認された。また、肝臓TG濃度の低下は、LD3の5%添加において、すでに有意であり、実用面での有用性が期待された。

実験3においては、LD3中の塩酸可溶性画分である

D5およびHD1中の高分子画分であるHMFを実験に供した。血清および肝臓TG濃度の強い低下作用が、水溶性画分であるLD3およびD5に認められ、とくに肝臓TG濃度低下作用はD5で顕著であった。また、D5では脂肪組織重量低下作用も若干ながら観察されており（データ未掲載）、この画分は体脂肪減少作用を有する可能性が示された。

実験4においては、LD3を疎水性樹脂で処理することにより、さらに水溶性の高い画分であるF5を用いて実験を行った。その結果、肝臓TG濃度は、カゼイン群と比べ、SPI群、LD3群、F5群のいずれの画分でも有意に低下しており、水溶性画分に肝臓TG濃度低下作用を有することが再確認された。また、血清TG濃度は、SPI、LD3、F5で低下傾向にあり、F5において最も顕著な低下効果が見られた。

以上のことから、SPIより調製した水溶性大豆ペプチドは、強力な脂肪肝抑制作用ならびに血清TG濃度低下作用を有することが示唆され、新しい機能性食品素材として利用が大いに期待される。

要 約

実験動物としてラットを用い、各種大豆ペプチド画分の血清および肝臓トリグリセリド (TG) 濃度への影響を検討した。カゼイン、分離大豆たん白質 (SPI), LD3 (低分子ペプチド画分) ならびにHD1 (低分子および高分子ペプチド画分) について検討した結果、低分子ペプチド画分に肝臓および血清TG濃度低下作用が観察された。また、LD3の血清TG低下作用には投与量依存性が確認された。HMF (HD1の高分子ペプチド画分) およびD5 (LD3の塩酸酸性可溶性ペプチド画分) について検討した結果、肝臓TG濃度低下作用はD5で顕著であった。LD3を疎水性樹脂処理して得られる高親水性ペプチド画分であるF5について検討した結果、この画分が最も強い血清TG濃度低下効果をもつことが確認された。以上のように、SPIから調製した水溶性ペプチド画分にはTG代謝改善作用を有する成分が含まれることが示唆された。

文 献

- 1) Yashiro A, Oda S and Sugano M (1985): Hypercholesterolemic effect of soybean protein in rats and mice after peptic digestion. *J Nutr*, **115**, 1325-1336.
- 2) Sugano M, Yamada Y, Yoshida K, Hashimoto Y, Matsuo T and Kimoto M (1988): The hypocholesterolemic action of the undigested fraction of soybean protein in rats. *Atherosclerosis*, **72**, 115-122.
- 3) Sugano M, Goto S and Yamada Y (1990): Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats. *J Nutr*, **120**, 977-985.
- 4) Sugano M and Goto S (1990): Steroid-binding peptides from dietary proteins. *J Nutr Sci Vitaminol*, **36**, S147-150.
- 5) Sugano M, Yamada Y, Goto S and Yoshida K (1990): Hypocholesterolemic effect of the undigested fraction of soy protein. *Monogr Atheroscler*, **16**, 85-96.
- 6) Aoyama T, Fukui K, Nakamori T, Hashimoto Y, Yamamoto T, Takamatsu K and Sugano M (2000): Effect of soy and milk whey protein isolates and their hydrolysates on weight reduction in genetically obese mice. *Biosci Biotechnol Biochem*, **64**, 2594-2600.
- 7) Aoyama T, Fukui K, Takamatsu K, Hashimoto Y and Yamamoto T (2000): Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow KK). *Nutrition*, **16**, 349-354.