

# UCP family発現に対する分離大豆たん白質の影響： ラットの動物実験と初代培養脂肪細胞での研究

福田ひとみ<sup>\*1</sup>・木村智恵<sup>1</sup>・大脇章子<sup>1</sup>・中森俊宏<sup>2</sup>・高松清治<sup>2</sup>・入谷信子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>帝塚山学院大学人間文化学部 <sup>2</sup>不二製油株式会社

## Effects of Soy Protein Isolate on Gene Expressions of Uncoupling Proteins: Studies in Rats and Primary Cultured Adipocytes

Hitomi FUKUDA<sup>\*1</sup>, Tomoe KIMURA<sup>1</sup>, Akiko OHWAKI<sup>1</sup>, Toshihiro NAKAMORI<sup>2</sup>,  
Kiyoharu TAKAMATSU<sup>2</sup> and Nobuko IRITANI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Human and Cultural Studies, Tezukayama Gakuin University, Sakai 590-0113

<sup>2</sup>Fuji Oil Co., LTD., Izumisano 598-8540

### ABSTRACT

(1) Regulation of the gene expressions of uncoupling protein (UCP)-1, 2, 3 was investigated in the white and brown adipose tissues of rats fed diets containing various fats (hydrogenated fat or corn oil) and proteins (casein or soy protein isolate, SPI) for 2 wk. The mRNA and protein concentrations of UCP-1, 2, 3 were elevated in the white adipose tissues of the rats fed SPI compared to those fed casein, and those of UCP-2 were particularly elevated by corn oil/SPI diet. Moreover, in the fasted-refed experiment of rats, the UCP-2 induction in the white adipose tissues reached maximal levels at 2 h. The UCPs were rapidly induced. (2) In cultured white adipocytes, the mRNA expressions of UCPs were stimulated by the hydrophilic soy peptides (MW<1,000). (3) By giving triiodothyronine treatment to rat, the UCP-2 mRNA and protein were induced in the white adipose tissue and the UCP-1, in the brown adipose tissue. The thyroid hormone receptor (TR $\beta$ 1) protein concentrations were increased in the liver and adipose tissues of rats fed SPI. Thus, SPI appeared to stimulate the energy consumption by UCPs induction. The correlation in stimulation mechanisms of UCPs expression by peptides and by triiodothyronine has not been elucidated. *Soy Protein Research, Japan* **8**, 103-107, 2005.

Key words : UCP-1, 2, 3 mRNA, protein induction, soy protein isolate, triiodothyronine, thyroid hormone receptor, rats

\*〒590-0113 堺市晴美台4-2-2

脱共役たん白質 (uncoupling protein: UCP) はミトコンドリアでの酸化的リン酸化を脱共役させて酸化エネルギーを熱として発散させ、エネルギー消費に関わるので多くの関心を集めている。当研究室では、以前、分離大豆たん白質により血漿、肝臓のトリアシルグリセロールが低下すること<sup>1)</sup>を見出し、脂肪合成の抑制に起因することを早くから報告<sup>2)</sup>してきたが、それだけでは考察が不充分であった。そこで今回は、分離大豆たん白質のエネルギー代謝系への関与を研究した。

## 実験方法

**実験1** Wistar系雄ラット（7週齢）に食餌たん白質として20%の分離大豆たん白質（不二製油株式会社、以下SPIと略す）または乳製カゼインを与え、油として10%のウシ硬化油またはコーン油の飼料で計4群とし、2週間飼育した。それらの動物の副辜丸周囲白色脂肪組織と褐色脂肪組織についてUCP-1, 2, 3 mRNA量を測定した<sup>3)</sup>。さらに、抗体を用いてWestern-blotting法によりUCPsたん白量を測定した。また、ラットを2日絶食させた後、等カロリーの無脂肪高糖食または10%コーン油食を再摂食させ、UCPs mRNA量とたん白量の経時変化を調べた。

**実験2** コラゲナーゼ法で得た初代培養白色脂肪細胞を用いて、SPIから分画した分子量1,000以下の親水性ペプチド（不二製油）を培地に添加し（0.2 g/L）、UCPs mRNA発現ならびにたん白誘導を測定した。

**実験3** 血中トリヨードチロニン ( $T_3$ ) 値と脂肪組織、肝臓の甲状腺ホルモン受容体 ( $TR\beta 1$ ) たん白量をWestern-blotting法により測定した。カゼイン食を摂取しているラットに $T_3$ を体重100 g当たり50  $\mu$ g腹腔内注射した後、UCP mRNA発現ならびにたん白誘導の経時変化を調べた。

## 結果と考察

### 実験1 UCPs mRNAとたん白誘導に対する分離大豆たん白質の影響

ラットをSPIまたは乳製カゼイン群に分け、油として硬化油またはコーン油を投与して飼育した後、白色および褐色脂肪組織のUCP-1, 2, 3 mRNA量とたん白量を測定した。白色脂肪組織UCPs mRNA発現はどの食餌油群でもカゼインよりSPIで有意に上昇した (Fig. 1)。これらのうち、UCP-2 mRNA発現が最も強く、またSPIとコーン油の食餌群で特に強く誘導された。UCPのたん白量はmRNA量とはほぼ連動していた。

次に、ラットを2日絶食させた後、等カロリーの無脂肪高糖食または10%コーン油食を摂食させ、8時間までの白色および褐色脂肪組織のUCP発現を経時的に測定した。白色脂肪組織のUCP1, 2, 3 mRNA発現は2時間で最高値に達し、いずれもコーン油群の方が無脂肪群より高く誘導された (Fig. 2)。mRNA発現は2時間後に最高値となり、たん白誘導は2～4時間後に最高値となった。褐色脂肪組織ではUCP-1の発現が強く、

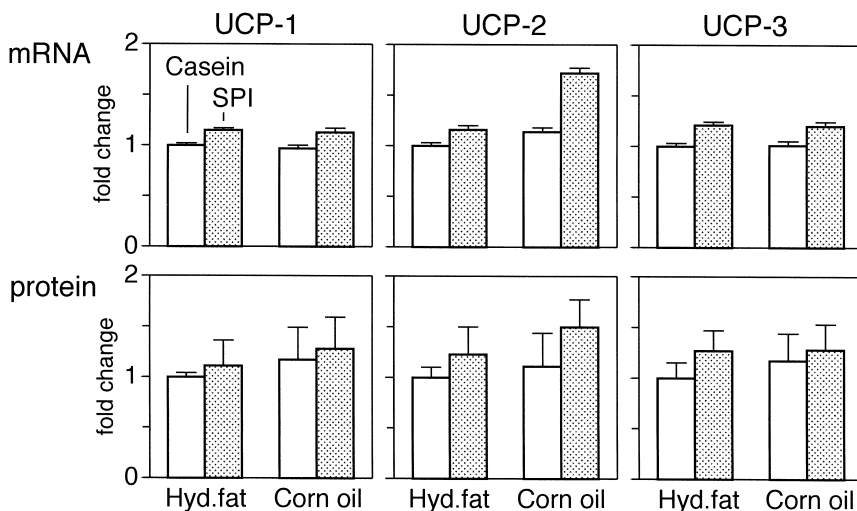


Fig. 1. Effects of dietary protein and fat types on UCP-1, 2, 3 mRNA and protein concentrations in white adipose tissues. Rats were fed casein or SPI diets containing 9.5% hydrogenated fat +0.5% corn oil (Hyd. fat) or 10% corn oil for 2 wk. The mRNA and protein concentrations were normalized to casein/hydrogenated fat. The values are means  $\pm$  SD, n=4 or 8.

白色脂肪組織におけるUCP-2と同様な経時変化であった (Data not shown). すなわち, UCP-1, 2, 3たん白の誘導は極めて速く, 食後迅速に作用することが示唆された.

## 実験2 初代培養白色脂肪細胞におけるUCPs mRNA発現に対する大豆親水性ペプチドの影響

初代培養白色脂肪細胞を用いて大豆親水性ペプチドの分画品の添加実験を行った. 数種類の分画品につい

て検索した結果, 分子量1,000以下の親水性ペプチドのうちUCP-1, 2, 3 mRNA発現の上昇に添加効果が最も大きかったものの結果をFig. 3に示した. なかでもUCP-2 mRNA発現が大きかった.

実験1で大豆たん白質摂食後, 白色脂肪組織ではUCP-2 mRNA発現が亢進し, 極めて速くたん白が誘導されたのは, 親水性大豆ペプチドが関与していることが示唆された.

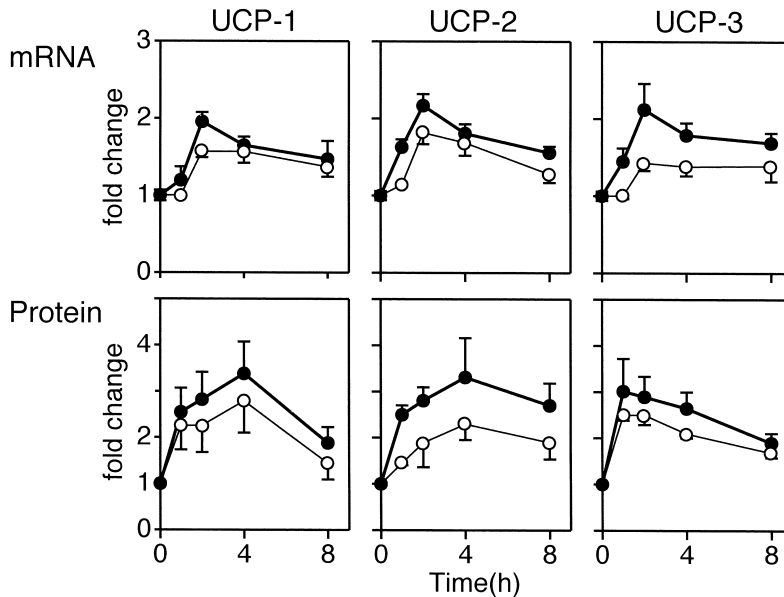


Fig. 2. UCPs mRNA and protein concentrations in white adipose tissue after feeding a fat-free (open circle) or 10 % corn oil (closed circle) diet to food-deprived rats. The mRNA and protein concentrations were normalized to each value at 0 time (food-deprived rats). The values are means  $\pm$  SD, n=4.

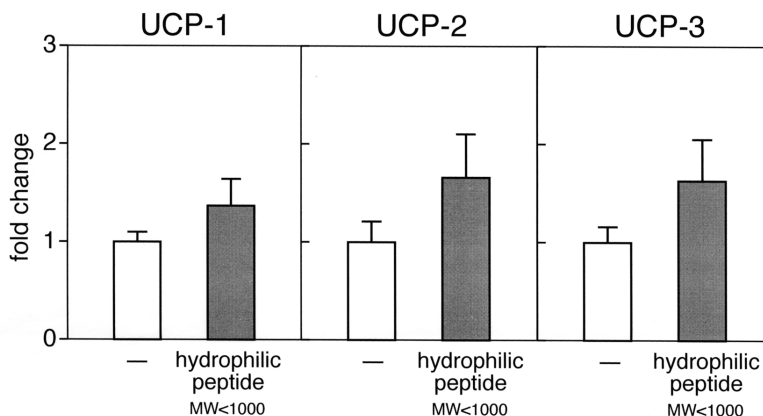


Fig. 3. Effects of hydrophilic soy peptide (< MW 1,000) on UCPs mRNA concentrations in primary cultured adipocytes. Adipocytes were plated and cultured in WE medium supplemented with 0.1  $\mu$ M insulin and 20 mM glucose. Hydrophilic soy peptide (0.2 g/L) were added to the medium for 24h. The mRNA concentrations were normalized to no addition of the peptide. The values are means  $\pm$  SD, n=4.

### 実験3 UCPs mRNAとたん白誘導に対する甲状腺ホルモンの影響

SPIを投与したラットでは、肝ミクロゾームでの甲状腺ホルモンのthyroxine ( $T_4$ ) から活性型のtriiodothyronine ( $T_3$ ) への転換が亢進し、血中の $T_3$ 値が幾分上昇することが認められた<sup>2)</sup>。そこで、カゼイン食で飼育したラットを $T_3$ 処理した後、UCP発現の経時変化を測定した。結果をFig. 4に示したが、白色脂肪組織ではUCP-2 mRNA発現が最も顕著で、 $T_3$ 処理後4時間で最高値となり、たん白誘導も連動していた。また、褐色脂肪組織ではUCP-1発現が2時間で最高値となり、 $T_3$ により著明に誘導された。

さらに、 $T_3$ 受容体 ( $TR\beta 1$ ) のたん白量を調べたところ、褐色脂肪組織と肝臓で $T_3$ 受容体たん白誘導がSPI群でカゼイン群より誘導された (Fig. 5)。

SPI群では血漿 $T_3$ 値が高く、また脂肪組織や肝臓での $T_3$ 受容体たん白量も多いことから、 $T_3$ がUCP発現とたん白誘導を亢進し、エネルギー代謝を亢進している可能性が示唆された。

一方、実験1、2で大豆の親水性ペプチドがUCP発現を亢進させることが示唆されたが、実験3でSPIの摂取により $T_3$ 作用が亢進していることとの相関については、まだ解明できていない。

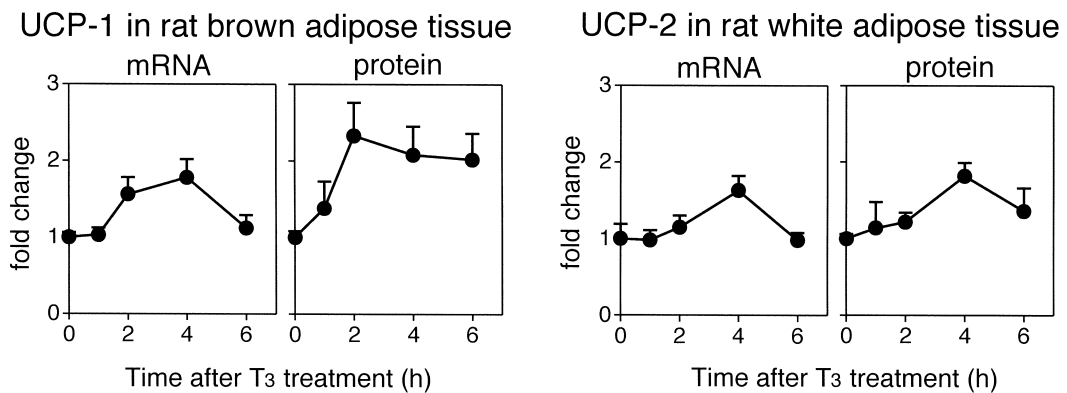


Fig. 4. Effects of triiodothyronine ( $T_3$ ) treatment on UCPs induction in white and brown adipose tissues of rats. Rats were fed the casein/10% corn oil diet for 1 wk and then intraperitoneally injected  $T_3$  ( $50 \mu\text{g}/100 \text{ g BW}$ ). The mRNA and protein concentrations were normalized to no  $T_3$  treatment. The values are means  $\pm$  SD,  $n=4$ .

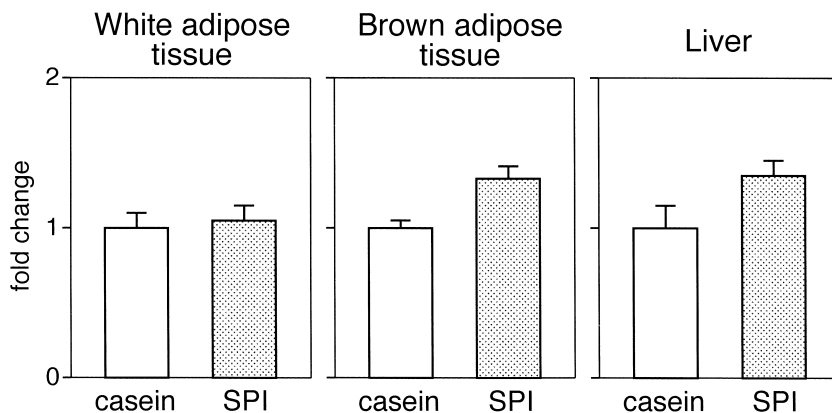


Fig. 5. Effects of dietary soy protein isolate on thyroid hormone receptor protein ( $TR\beta 1$ ) concentrations in white adipose tissue, brown adipose tissue and liver of rats. Rats were fed casein or SPI/10% corn oil diet for 2 wk. The  $TR\beta 1$  protein concentrations were normalized to casein. The values are means  $\pm$  SD,  $n=4$ .

## 要 約

(1) ラット白色脂肪組織UCP-1, 2, 3 mRNA発現はカゼイン群より分離大豆たん白質 (SPI) 群で有意に上昇し, 特にUCP-2がコーン油/SPI食餌群で高く誘導された. UCPsたん白誘導はmRNA発現と連動していたが, UCPsの誘導は絶食/再摂食後2時間で最高となり誘導がきわめて速いことが示唆された. (2) 一方, 初代培養白色脂肪細胞を用いた実験で, SPIから得られた分子量1,000以下の親水性ペプチドによりUCPs mRNA発現が上昇した. (3) トリヨードチロニン ( $T_3$ ) 処理により白色脂肪組織ではUCP-2, 褐色脂肪組織ではUCP-1の誘導が著明であった.  $T_3$ 受容体 ( $TR\beta 1$ ) も, SPI群でカゼイン群より誘導された. 以上の結果, 大豆たん白質によりUCPsのmRNA発現が亢進し, エネルギー代謝系を亢進していることが示唆された. しかし,  $T_3$ 作用(3)との相関はまだ明らかでない.

## 文 献

- 1) Iritani N, Suga A, Fukuda H, Katsurada A and Tanaka T (1988): Effects of dietary casein and soybean protein on triglyceride turnover in rat liver. *J Nutr Sci Vitaminol*, **34**, 309-315.
- 2) Iritani N, Hosomi H, Fukuda H, Tada K and Ikeda H (1996): Soybean protein suppresses hepatic lipogenic enzyme gene expression in Wistar fatty rats. *J Nutr*, **126**, 380-388.
- 3) Boss O, Samec S, Desplanches D, Mayet MH, Seydoux J, Muzzin P and Giacobino JP (1998): Effect of endurance training on mRNA expression of uncoupling proteins 1, 2, and 3 in the rat. *FASEB J*, **12**, 335-339.