

β -コングリシニン摂取による摂食量減少に対する ラットの系統および食餌組成の影響

古場一哲^{*1}・及川大地¹・赤星亜朱香²・田丸静香¹・田中一成¹・菅野道廣³

¹長崎県立大学シーボルト校看護栄養学部 ²熊本県立大学環境共生科学部 ³九州大学名誉教授

Influence of Rat Strain and Diet Composition on Dietary β -Conglycinin-Dependent Reduction of Food Consumption

Kazunori KOBAYASHI¹, Daichi OIKAWA¹, Asuka AKAHOSHI², Sizuka TAMARU¹,
Kazunari TANAKA¹ and Michihiro SUGANO³

¹Faculty of Nursing and Nutrition, University of Nagasaki, Siebold, Nagasaki 851-2195

²Faculty of Environmental and Symbiotic Sciences, Prefectural University of Kumamoto,
Kumamoto 862-8502

³Professor Emeritus, Kyushu University, Fukuoka 813-0043

ABSTRACT

We previously observed that the feeding of β -conglycinin (CON) as compared with casein (CAS) and soy protein isolate (SPI) lowered body weight gain in rats, due to a significant decrease in food consumption. In the present study, we examined whether the CON-dependent decrease in food consumption was influenced by diet composition (AIN-93G or AIN-76) and/or the rat strain (Sprague Dawley (SD) or Wistar). Male SD or Wistar rats were fed diets prepared according to the AIN-93G or AIN-76 formulas, containing 20% protein: CAS, SOY, CON; or a 1:1 mixture of CAS and CON (CAS+CON). After a 4-week feeding period, dietary CON, as compared with CAS and SPI, reduced food consumption and consequently body weight gain, irrespective of diet formula and rat strain. The CON-dependent effect was not observed at all in rats fed the CAS+CON diet. Therefore, it is suggested that decreased food consumption resulting from the CON diet could be independent on the diet formula and/or rat strain but is instead dependent on the protein itself. Also, in rats fed the CAS+CON diets, CON-dependent physiological effects were still observed at a significant level, such as decreases in white adipose tissue weights, serum triglyceride concentrations and hepatic fatty acid synthesis, and increases in serum adiponectin concentration and fatty acid β -oxidation ability. The results of the present study provide basic information for the elucidation of the

*〒851-2195 長崎県西彼杵郡長与町まなび野1-1-1

Key words : β -conglycinin, AIN-93G, rat strain, food intake, adipose tissue

私たちはこれまでに共役リノール酸 (CLA) の体脂肪低減効果が β -コングリシニンと同時摂取すると高められ、その効果の程度は大豆たん白質との組合せ時よりも強いことを報告した¹⁾。しかし同時に、 β -コングリシニン摂取により摂食量が低下し、体重増加量が減少することも観察した¹⁾。Aoyamaらは、20% β -コングリシニン食がラットの摂食量をむしろ増加させることを報告²⁾しており、私たちが観察したような摂食量の減少はこれまでに例がなく、その原因も不明である。 β -コングリシニンの優れた栄養機能を解明し有効利用する上で、摂食量への影響は重要な問題である。私たちの実験系とすでに報告されている実験系では、ラットの系統などの相違点があるため、本研究ではその点に着目し、ラットの系統 (Sprague Dawley (SD) 系またはWistar系) や食餌組成 (AIN-93GまたはAIN-76) の違いにより、 β -コングリシニンの食餌効果が影響を受けるのか摂食試験により調べた。 β -コングリシニンは、カゼインや大豆たん白質に比べ、構成アミノ酸でMet, Tyr, TrpおよびValが少ないため、今回、この点についても検討した。それぞれの実験条件において、 β -コングリシニンとカゼインを等量混合してこれらの必須アミノ酸を大豆たん白質程度以上に調整した混合たん白質の効果も合わせて調べた。

方 法

基準食としてAIN-93G組成³⁾ またはAIN-76組成⁴⁾ (Table 1)、実験動物として4週齢のSD系またはWistar系の雄ラットを用い、組合せにより4種類の実験条件で摂食試験を行った (Exp. 1: AIN-93G組成 / SDラット, Exp. 2: AIN-93G組成 / Wistarラット, Exp. 3: AIN-76組成 / SDラット, Exp. 4: AIN-76組成 / Wistarラット)。それぞれの実験食において、たん白質源としてカゼイン (CAS) 20.0%、分離大豆たん白質 (SPI; フジプロR) 20.2%または β -コングリシニン (CON; リポフ-700) 19.8%を単独で含む3群に加え、CASとCONを等量含む混合たん白質 (CAS+CON) 群の4群を設定した (Table 2)。各たん白質の窒素含量の違いにより生じたたん白質添加量の過不足分を、AIN-93G組成食の場合は β コーンスターチで、AIN-76組成食の場合はスクロースでそれぞれ100%に調整した。各実験食を4週齢のSD系またはWistar系雄ラッ

ト (1群6匹) に4週間自由摂食させた。飼育期間中、体重および摂食量を1日おきに記録した。飼育期間終了後、ペントバルビタール麻酔下で腹部大動脈より採血し、肝臓および各脂肪組織摘出した。血清および肝臓の脂質分析を行った。肝臓のサイトソールおよびミトコンドリア画分を分離し、脂肪酸合成系および β 酸化系酵素活性を測定した。結果は一元配置分散分析の後、Fisher's Protected LSD testにより統計的有意差 ($p < 0.05$) を検定した。

結果と考察

Fig. 1にラットの体重、摂食量および食餌効率の結果を示した。Exp. 1 (AIN-93G組成食でSDラット) の

Table 1. Composition of control diet (g/kg diet)

Ingredients	AIN-93G	AIN-76
	(Exp. 1 & 2)	(Exp. 3 & 4)
Casein*	200	200
Soybean oil	70	—
Corn oil	—	50
β -Cornstarch	400	150
α -Cornstarch	132	—
Sucrose	100	503
Cellulose	50	50
Mineral mixture (AIN-93G)	35	—
Mineral mixture (AIN-76)	—	35
Vitamin mixture (AIN-93)	10	—
Vitamin mixture (AIN-76)	—	10
Choline bitartrate	2.5	2
<i>tert</i> -Butylhydroquinone	0.014	—

*In experimental groups, casein was replaced with soy protein isolate, β -conglycinin, or 1:1 mixture of casein and β -conglycinin (see Table 2).

Table 2. Composition of protein in the experimental diets (g/kg diet)

	Groups			
	CAS (control)	SPI	CON	CAS+CON
Casein	200	—	—	100
Soy protein isolate	—	202	—	—
β -conglycinin	—	—	198	99

CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β -conglycinin.

場合、終体重はCAS群およびSPI群に比べ、CON群で有意な低値を示した (Fig. 1A). 摂食量はCAS群に比べSPI群でやや多い傾向を示したが有意な違いではなく、CON群では有意に少なかった (Fig. 1B). その結果、食餌効率 (g gain/g diet) は、CAS群に比べSPI群で若干の低値を示し、CON群でかなりの低値を示した (Fig. 1C). これらの結果は私たちのこれまでの報告と一致しており¹⁾、今回行った全ての実験条件で確認されたため、CON摂取によるラット成長への影響は食餌条件やラットの系統に関係なく認められる現象であることが示唆された。一方、CONの一部 (50%) をCASで置き換えたCAS+CON群では、既述のCON由来の効果は全く認められず、食餌効率も少なくともSOY群のレベルまで回復した (Fig. 1A-1C). しかもこのよう

な現象は、食餌組成 (AIN-93GまたはAIN-76) やラットの系統 (SD系またはWistar系) の違いに関わらず認められた。したがって、CONのラット成長への影響はCASのような他の窒素源との併用で、事実上、無視できるようになることが示された。また、このことから、CON摂取による摂食量の低下や体重増加量の減少には、たん白質のアミノ酸組成が関与している可能性も示唆された。Nishiらは、 β -コングリシニンのペプシン消化物が一過的にラットの摂食量を抑えることを報告している⁵⁾が、このことと今回の結果との関連については不明である。

体重100 gあたりの肝臓および脂肪組織重量をTable 3に示した。Exp. 1 (AIN-93G組成食でSDラット) の場合、肝臓重量は、CAS群に比べ他3群で低値を示し

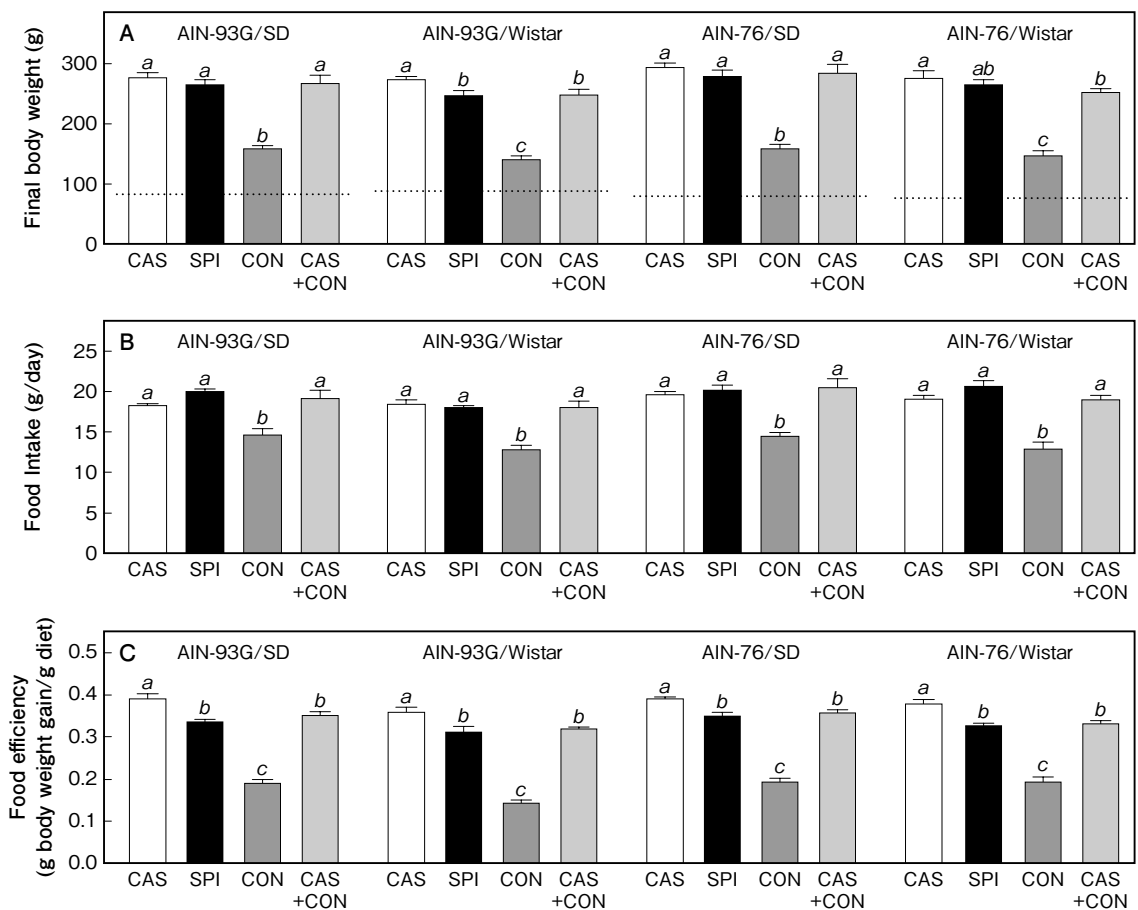


Fig. 1. Influence of rat strain and diet composition on dietary β -conglycinin-dependent modulation of growth parameters (final body weight (A), food intake (B) and food efficiency (C)). CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β -conglycinin. Dotted lines in Fig. 1A show the initial body weight. All the data are expressed as mean $\pm$ SE of 6 rats. *abc*: Values not sharing a common letter are significantly different at $p < 0.05$.

Table 3. Effect of dietary β -conglycinin on tissue weights (g/100 g body weight) in rats

	Groups			
	CAS	SPI	CON	CAS+CON
Exp. 1: AIN-93G/SD				
Liver	4.35 $\pm$ 0.15 ^a	3.70 $\pm$ 0.05 ^b	3.81 $\pm$ 0.10 ^b	3.82 $\pm$ 0.09 ^b
While adipose tissue (epididymal)	1.57 $\pm$ 0.10 ^a	1.35 $\pm$ 0.06 ^{ab}	1.12 $\pm$ 0.13 ^b	1.20 $\pm$ 0.07 ^b
Brown adipose tissue (interscapular)	0.279 $\pm$ 0.019 ^a	0.369 $\pm$ 0.027 ^{ab}	0.505 $\pm$ 0.055 ^c	0.447 $\pm$ 0.034 ^{bc}
Exp. 2: AIN-93G/Wistar				
Liver	4.04 $\pm$ 0.07 ^a	3.60 $\pm$ 0.15 ^b	3.83 $\pm$ 0.12 ^{ab}	4.04 $\pm$ 0.07 ^a
While adipose tissue (epididymal)	1.06 $\pm$ 0.05 ^a	0.96 $\pm$ 0.10 ^{ab}	0.79 $\pm$ 0.03 ^b	1.06 $\pm$ 0.05 ^a
Brown adipose tissue (interscapular)	0.188 $\pm$ 0.018 ^a	0.258 $\pm$ 0.009 ^b	0.335 $\pm$ 0.031 ^c	0.241 $\pm$ 0.023 ^{ab}
Exp. 3: AIN-76/SD				
Liver	5.05 $\pm$ 0.19 ^a	4.45 $\pm$ 0.10 ^b	4.64 $\pm$ 0.14 ^b	4.43 $\pm$ 0.07 ^b
While adipose tissue (epididymal)	1.55 $\pm$ 0.15 ^a	1.18 $\pm$ 0.10 ^b	1.14 $\pm$ 0.11 ^b	1.34 $\pm$ 0.12 ^{ab}
Brown adipose tissue (interscapular)	0.224 $\pm$ 0.019 ^a	0.290 $\pm$ 0.043 ^a	0.609 $\pm$ 0.038 ^b	0.319 $\pm$ 0.049 ^a
Exp. 4: AIN-76/Wistar				
Liver	4.91 $\pm$ 0.11 ^a	4.56 $\pm$ 0.06 ^b	4.79 $\pm$ 0.09 ^{ab}	4.04 $\pm$ 0.07 ^c
While adipose tissue (epididymal)	1.58 $\pm$ 0.12 ^a	1.20 $\pm$ 0.11 ^b	1.21 $\pm$ 0.09 ^b	1.06 $\pm$ 0.05 ^b
Brown adipose tissue (interscapular)	0.323 $\pm$ 0.027 ^a	0.423 $\pm$ 0.008 ^{ab}	0.497 $\pm$ 0.048 ^b	0.403 $\pm$ 0.040 ^{ab}

CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β -conglycinin. Values are expressed as mean $\pm$ SE of 6 rats.

^{abc}Values without sharing the same superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

た。睪丸周辺の白色脂肪組織重量は、CAS群に比べSPI群、さらにはCON群で低値となった。また、肩甲間褐色脂肪組織重量は、CAS群に比べSPI群、さらにはCON群で高値となった。これらの結果は私たちのこれまでの結果と一致していた¹⁾。一方、CAS+CON群では、白色脂肪組織重量はCON群程ではないもののSPI群よりも低値、褐色脂肪組織重量はSPI群よりも高値であり、混合たん白質においてもCON由来の効果は維持されることが示された。しかもこのような効果は、その程度に若干の違いはあるものの、食餌組成やラットの系統に関係なく認められた。

血清トリグリセリド (TG) 濃度は、例えばExp. 1 (AIN-93G組成食でSDラット) の場合、CAS群に比べ、SPI群さらにはCON群で低くなった。CAS+CON群でも同濃度はCON群程ではないもののSPI群程度の低下傾向が認められた (Table 3)。AIN-76組成食 (Exp. 3 およびExp. 4) は高スクロース食であるため、この組成食のCAS群の血清TG濃度は、AIN-93G組成食 (Exp. 1 およびExp. 2) のCAS群の同濃度に比べ2倍以上の高値を示したが、上記のような食餌たん白質の違いによる効果は同様に認められた (Table 3)。肝臓TG濃度も、食餌組成やラットの系統に関係なく、概ね血清TG濃度と同様の傾向を示した。Exp. 1 およびExp. 4 では、肝臓TG濃度はCON群で他3群よりも高い傾向を

示したが、これは肝臓重量や終体重が各群で異なったためと考えられた。例えば、Exp. 1 (AIN-93G組成食でSDラット) の場合、TG濃度はCAS群: 14.0 mg/g, SPI群: 15.8 mg/g, CON群: 19.1 mg/g, CAS+CON群 14.6 mg/gであったが、肝臓全体のTG量 (mg) に換算すると、CAS群: 171 mg, SPI群: 157 mg, CON群: 112 mg, CAS+CON群151 mg (データ未掲載) となり、血清TGの傾向と一致した。

肝臓の脂肪酸合成系および β 酸化系酵素の活性をTable 5に示した。Exp. 1 (AIN-93G組成食でSDラット) の場合、肝臓サイトソールの脂肪酸合成酵素 (FAS) 活性は、これまでの報告と同様にCAS群に比べSPI群で低下し⁶⁾、CON群でさらに低下した^{1), 7)}。そしてCAS+CON群のFAS活性はCON群程ではないもののCAS群に比べ有意に低下し、CON由来の効果が認められた。一方、脂肪酸 β 酸化能は肝臓ミトコンドリアのカルニチン-パルミトイルトランスフェラーゼ (CPT) 活性で評価したが、CPT活性もこれまでの報告と同様にCAS群に比べSPI群で亢進し、CON群でさらに亢進した^{1), 7)}。そしてCAS+CON群でもこの傾向は維持された。このような食餌たん白質による脂肪酸合成の抑制および β 酸化能の亢進が、脂肪組織重量や血清TG濃度の低下の一因であることが示唆された。

脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンの血清濃

Table 4. Effect of dietary β -conglycinin on serum and liver triglyceride and serum adiponectin concentrations in rats

	Groups			
	CAS	SPI	CON	CAS+CON
Exp. 1: AIN-93G/SD				
Serum triglyceride (mg/dL serum)	80.3 $\pm$ 11.9 ^a	66.3 $\pm$ 10.1 ^a	31.6 $\pm$ 1.9 ^b	68.9 $\pm$ 12.4 ^a
Serum adiponectin (μ g/mL serum)	5.89 $\pm$ 1.02 ^a	9.34 $\pm$ 1.07 ^a	20.2 $\pm$ 4.0 ^b	8.42 $\pm$ 0.99 ^a
Liver triglyceride (mg/g liver)	14.0 $\pm$ 1.9	15.8 $\pm$ 2.4	19.1 $\pm$ 2.9	14.6 $\pm$ 2.5
Exp. 2: AIN-93G/Wistar				
Serum triglyceride (mg/dL serum)	63.9 $\pm$ 11.5 ^a	49.5 $\pm$ 7.6 ^{ab}	33.8 $\pm$ 1.9 ^b	55.6 $\pm$ 10.7 ^{ab}
Serum adiponectin (μ g/mL serum)	4.58 $\pm$ 0.21 ^a	9.62 $\pm$ 1.26 ^b	17.5 $\pm$ 0.5 ^c	10.0 $\pm$ 0.9 ^b
Liver triglyceride (mg/g liver)	13.7 $\pm$ 2.3	9.62 $\pm$ 1.26	12.9 $\pm$ 2.1	11.0 $\pm$ 2.1
Exp. 3: AIN-76/SD				
Serum triglyceride (mg/dL serum)	180 $\pm$ 20 ^a	75.6 $\pm$ 11.4 ^{bc}	36.1 $\pm$ 4.6 ^c	119 $\pm$ 18 ^b
Serum adiponectin (μ g/mL serum)	3.67 $\pm$ 0.38 ^a	5.99 $\pm$ 0.57 ^{ab}	12.2 $\pm$ 1.4 ^c	6.77 $\pm$ 0.75 ^b
Liver triglyceride (mg/g liver)	31.2 $\pm$ 6.4 ^a	17.5 $\pm$ 2.3 ^b	17.2 $\pm$ 3.2 ^b	15.0 $\pm$ 1.2 ^b
Exp. 4: AIN-76/Wistar				
Serum triglyceride (mg/dL serum)	190 $\pm$ 32 ^a	190 $\pm$ 34 ^a	48.6 $\pm$ 7.1 ^b	138 $\pm$ 18 ^a
Liver triglyceride (mg/g liver)	10.7 $\pm$ 2.3 ^{ab}	8.86 $\pm$ 0.91 ^a	16.5 $\pm$ 3.3 ^b	6.88 $\pm$ 0.65 ^a

CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β -conglycinin. Values are expressed as mean $\pm$ SE of 6 rats.

^{abc}Values without sharing the same superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

Table 5. Effect of dietary β -conglycinin on lipogenic and β -oxidation enzyme activities in rat liver

	Groups			
	CAS	SPI	CON	CAS+CON
Exp. 1: AIN-93G/SD				
FAS (nmol/min/mg protein)	13.6 $\pm$ 2.0 ^a	6.46 $\pm$ 0.87 ^b	2.08 $\pm$ 0.16 ^c	5.34 $\pm$ 0.42 ^{bc}
CPT (nmol/min/mg protein)	4.42 $\pm$ 0.37 ^a	5.34 $\pm$ 0.22 ^b	8.12 $\pm$ 0.32 ^c	5.23 $\pm$ 0.14 ^{ab}
Exp. 2: AIN-93G/Wistar				
FAS (nmol/min/mg protein)	11.8 $\pm$ 1.1 ^a	5.98 $\pm$ 0.82 ^{bc}	3.82 $\pm$ 0.53 ^c	7.45 $\pm$ 1.14 ^b
CPT (nmol/min/mg protein)	2.79 $\pm$ 0.17 ^a	3.98 $\pm$ 0.35 ^b	5.15 $\pm$ 0.45 ^c	3.71 $\pm$ 0.20 ^{ab}
Exp. 3: AIN-76/SD				
FAS (nmol/min/mg protein)	34.0 $\pm$ 1.6 ^a	21.8 $\pm$ 1.7 ^b	14.1 $\pm$ 3.0 ^c	26.1 $\pm$ 1.6 ^b
CPT (nmol/min/mg protein)	1.72 $\pm$ 0.06 ^a	2.20 $\pm$ 0.20 ^b	2.62 $\pm$ 0.16 ^b	2.19 $\pm$ 0.16 ^b
Exp. 4: AIN-76/Wistar				
FAS (nmol/min/mg protein)	20.3 $\pm$ 3.4 ^a	10.6 $\pm$ 1.9 ^b	10.7 $\pm$ 1.1 ^b	14.7 $\pm$ 2.6 ^{ab}
CPT (nmol/min/mg protein)	2.82 $\pm$ 0.27 ^a	3.58 $\pm$ 0.26 ^a	5.15 $\pm$ 0.22 ^b	3.54 $\pm$ 0.29 ^a

CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β -conglycinin; FAS, cytosolic fatty acid synthase; CPT, mitochondrial carnitine-palmitoyl transferase. Values are expressed as mean $\pm$ SE of 6 rats.

^{abc}Values without sharing the same superscript letter are significantly different at $p < 0.05$.

度を測定した。血清アディポネクチン濃度はCAS群に比べSPI群で1.5～2倍の高値を示し、CON群では3倍以上の高い値となり (Table 4)、これまでと同様の結果が認められた¹⁾。CAS+CON群でもCAS群に比べ1.5～2倍の高い値を示し、CON由来の効果が確認され

た。このような食餌たん白質の違いによる血清アディポネクチン濃度の変化が、SPI群およびCON含有群で認められた脂肪酸 β 酸化能亢進および脂質濃度低下作用の一因と考えられた。

以上の結果から、CON摂取による摂食量の低下や体

重増加量の減少は、食餌組成やラットの系統とは関係がなく、この現象はCASとの併用で事実上なくなること、その際、CON由来の生理機能はある程度維持され

ることが明らかとなった。これらの知見は、CONの栄養機能に関する研究発展の基盤になると考えられた。

要 約

β -コングリシニン (CON) 摂取による摂食量の低下や体重増加量の減少がラットの系統や食餌組成の違いによる影響を受けるのか検討した。AIN-93G組成またはAIN-76組成の食餌たん白質(20%レベル)としてカゼイン (CAS), 分離大豆たん白質 (SPI), CONを単独で含む3群に加え, CASとCONを等量含む群の計4群を設定し, それぞれの食餌をSD系またはWistar系のラットに4週間自由摂食させた。その結果, CON摂取による摂食量低下は, 食餌組成やラットの系統には関係なく認められる現象であることが確認された。このような現象はCONの一部をCASで置き換えることにより認められなくなり, その際, CON由来の脂質濃度低下作用はある程度維持された。

文 献

- 1) 古場一哲, 赤星亜朱香, 田中一成, 菅野道廣 (2007): β -コングリシニン同時摂取による共役リノール酸の体脂肪低減効果の修飾に関する研究。大豆たん白質研究, **10**, 67-71.
- 2) Aoyama T, Kohno M, Saito T, Fukui K, Takamatsu K, Yamamoto T, Hashimoto Y, Hirotsuka M and Kito M (2001): Reduction by phytate-reduced soybean β -conglycinin of plasma triglyceride level of young and adult rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, **65**, 1071-1075.
- 3) Reeves PG, Nielsen FH and Fahey GC (1993): AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, **123**, 1939-1951.
- 4) American Institute of Nutrition (1977): Report of the AIN Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr*, **107**, 1340-1348.
- 5) Nishi T, Hara H and Tomita F (2002): Soybean β -conglycinin peptone suppresses food intake and gastric emptying by increasing plasma cholecystokinin levels in rats. *J Nutr*, **133**, 352-357.
- 6) 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.
- 7) Moriyama T, Kishimoto K, Nagai K, Urade R, Ogawa T, Utsumi S, Maruyama N and Maebuchi M (2004): Soybean β -conglycinin diet suppresses serum triglyceride levels in normal and genetically obese mice by induction of β -oxidation, down-regulation of fatty acid synthase, and inhibition of triglyceride absorption. *Biosci Biotechnol Biochem*, **68**, 352-359.