

β -コングリシニンの栄養生理機能に関する研究 摂取量およびアミノ酸組成の影響について

古場一哲^{*1}・及川大地^{1,2}・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長崎大学教育学部 ³九州大学名誉教授

Nutritional Studies on Dietary β -Conglycinin -Effects of Dose and Amino Acid Composition-

Kazunori KOB^A^{*1}, Daichi OIKAWA^{1,2}, Sizuka TAMARU¹, Kazunari TANAKA¹
and Michihiro SUGANO³

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

²Faculty of Education, Nagasaki University, Nagasaki 852-8521,

³Professor Emeritus, Kyushu University, Fukuoka 813-0043

ABSTRACT

We previously observed that feeding of β -conglycinin (CON) as compared with casein (CAS) and soy protein isolate (SPI) lowered the body weight gain in rats, due to a significant decrease of food consumption. In the present study, we examined how the dietary level of CON and supplementation of essential amino acids affect food consumption and lipid metabolism in rats. Male SD rats were fed diets containing 20% protein; either CAS, SPI, or CAS was replaced with CON at the proportion of 25, 50, 75 or 100%. After a 4-week feeding period, CON-dependent reduction of food consumption was observed only in rats fed the 75% CON diet and the 100% CON diet. Dietary CON dose-dependently decreased serum triglyceride concentration. Liver triglyceride level of all the CON groups was lowered at least to the comparable level to that of the SPI group. The results indicated that the 50% CON diet did not cause a reduction in food consumption, and was enough to decrease serum and liver triglyceride levels. As compared with CAS, CON contained fewer essential amino acids, such as Thr, Val, Met, Tyr and Trp. Then, the influence of the supplementation of these amino acids to CON was examined. Rats were fed the diets containing either CAS, SPI, CON or CON supplemented with the five amino acids to make the levels equal to CAS. After a 4-week feeding period, dietary CON supplemented with the amino acids completely ameliorated the CON-dependent decrease in food consumption. Also, CON supplemented with

^{*}〒851-2195 長崎県西彼杵郡長与町まなび野1-1-1

amino acids exerted a decrease of serum and liver triglyceride concentrations. The results indicated that the essential amino acid profile is in part responsible for a CON-dependent reduction of food consumption. The results in the present study provide basic information to elucidate the physiological functions of CON. *Soy Protein Research, Japan* **14**, 91-95, 2011.

Key words : β -conglycinin, essential amino acid, food intake, serum triglyceride, rats

大豆たん白質はカゼインに比べ、体脂肪低減作用や血清トリグリセリド濃度低下作用を示すが、この作用は大豆たん白質の主要な構成成分の一つである β -コングリシニンでより強いことが報告され^{1, 2)}注目されている。しかし私たちは、 β -コングリシニンを唯一の窒素源とする食餌をラットに与えると、体脂肪低減作用や血清トリグリセリド濃度低下作用に加え、摂食量の低下や体重増加量の減少が引き起こされることを観察している^{3, 4)}。そしてこの現象が少なくともラットの系統や基本的な食餌組成に関わらず引き起こされることをこれまでに確認している⁴⁾。 β -コングリシニンの優れた栄養機能を解明するためには、摂食量の低下は重要な問題となる。 β -コングリシニンには、数種類の必須アミノ酸含量が比較的少ないことから、摂食量低下の原因について必須アミノ酸量の面から検討するために、本研究ではラットを用いて2つの摂食実験を行った。すなわちExp. Iでは、実験食のたん白質源として、良質なたん白質であるカゼインを対照に、その一部を段階的に β -コングリシニンで置換えてラットに与え、 β -コングリシニンの摂取量の違いが、摂食量や脂質濃度に及ぼす影響を調べた。Exp. IIでは、カゼインに比べ β -コングリシニンに少ない主な必須アミノ酸 (Met, Trp, Thr, ValおよびTyr) をカゼインと同レベルまで添加した際の食餌効果について調べ、 β -コングリシニンの必須アミノ酸含量と摂食量低下の関連性について検討した。

方 法

Exp. I, Exp. IIともに、食餌はAIN-76組成⁵⁾に準じ、重量比でたん白質20%, コーン油5%, コーンスターチ15%, セルロース5%, ミネラル混合⁵⁾ 3.5%, ビタミン混合⁵⁾ 1%, 酒石酸コリン0.2%で、スクロースで100%に調整した。

Exp. I では、たん白質としてカゼイン (CAS) を20%含む食餌を対照食とし、カゼインの一部 (25%, 50%および75%) または全てを β -コングリシニ

ン (CON; リボフ-700) で置換えた食餌 (CON-25, CON-50, CON-75およびCON-100) を試験食とした。比較として、分離大豆たん白質 (SPI; フジプロR) を20%含む食餌を調製した。

Exp. II では、たん白質としてCAS, SPIまたはCONをそれぞれ20%含む食餌を調製した。さらに、CONの必須アミノ酸のレベルがCASと同レベルになるように、CON食にMet 0.40%, Tyr 0.51%, Thr 0.39%, Trp 0.14%およびVal 0.58%を添加した試験食 (CON+AA) を調製した。

Exp. I, Exp. IIともに、実験動物として4週齢のSD系の雄ラットを用い (1群6匹), 食餌中の窒素源の違いにより, Exp. I は6群 (CAS, CON-25, CON-50, CON-75, CON-100およびSPI), Exp. II は4群 (CAS, SPI, CONおよびCON+AA) に分け、それぞれの食餌を4週間自由摂食させた。一夜絶食後、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を摘出した。血清および肝臓の脂質分析、および肝臓の脂肪酸合成酵素および β 酸化系酵素の活性測定を行った。結果は一元配置分散分析の後、Tukey-Kramerの多重解析法により統計的有意差 ($p < 0.05$) を検定した。

結果と考察

Table 1にラットの成長パラメータおよび各組織重量に対するCONの摂取量の影響 (Exp. I) を示した。CAS群とSPI群で摂食量に違いはなかった。CON-25群およびCON-50群の摂食量もCAS群と違いはなかったが、CON-75群、CON-100群と食餌たん白質に占めるCONの割合がさらに高くなると、CON摂取量依存的に摂食量は低下した (Table 1)。終体重はCAS群に比べ、SPI群でやや低くなったため、食餌効率 (g gain/g diet) もSPI群でCASよりやや低値を示した。CASの一部をCONで置換えた際の終体重および食餌効率への影響は、CON-25群およびCON-50群では殆ど認められず、CON-75群、CON-100群となるにつれ、両値

は量依存的に明確に低下した。このことから、CON摂取による摂食量の低下は、CASのような良質のたん白質と同時に摂取することで解消されることが明らかとなった。そして、摂食量の低下が観察されたCON-75群およびCON-100群の食餌条件下ではラットの必須アミノ酸必要量が満たされていなかった可能性が示唆された。なお、Nishiらは、 β -コングリシニンの加水分解物がラットの摂食量を抑えることを報告している⁶⁾が、今回の結果との関連については不明である。

腸間膜白色脂肪組織重量は、CAS群に比べSPI群で低い傾向にあった (Table 1)。食餌たん白質に占めるCONの割合が高いほど同脂肪組織重量は低い傾向を示し、CON-75群およびCON-100群ではCAS群に比べ有意な低値となった。一方、褐色脂肪組織重量はCAS群に比べSPI群で高く、またCON摂取量依存的に増加した。

血清トリグリセリド (TG) 濃度は、CON摂取量依存的に低下する傾向を示し、CON-75群およびCON-

100群ではCAS群に比べ有意に低くなった (Table 2)。一方、肝臓TG量は、摂食量の低下が認められなかったCON-25群およびCON-50群でもCAS群に比べ有意に低く、CONのTG低下作用が認められた。

肝臓の脂肪酸合成系および β 酸化系の酵素活性をTable 3に示した。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群で低かった⁷⁾。CONの摂取は量依存的にFAS活性を低下させた。特に同活性はCAS群に比べCON-25群で既に有意に低く、肝臓TG量の低下の一因と考えられた²⁾。一方、肝臓ミトコンドリアでの脂肪酸 β 酸化の指標となるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT) 活性は、CON摂取量依存的に上昇した。

脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンの血清濃度はこれまでと同様^{3, 4)}、CAS群に比べSPI群で有意に高くなった (Table 2)。CONの摂取は量依存的に同濃度を上昇させ、その効果は摂食量に影響がないCON-

Table 1. Effect of dose of dietary β -conglycinin on growth parameters and tissue weights in rats (Exp. I)

	Groups					
	CAS	CON-25	CON-50	CON-75	CON-100	SPI
Body weight (g)						
Initial	85 $\pm$ 1	85 $\pm$ 1	85 $\pm$ 1	85 $\pm$ 1	85 $\pm$ 1	85 $\pm$ 1
Final	295 $\pm$ 10 ^a	278 $\pm$ 9 ^{ab}	271 $\pm$ 9 ^{ab}	193 $\pm$ 4 ^c	137 $\pm$ 4 ^d	253 $\pm$ 14 ^b
Food intake (g/day)	19.1 $\pm$ 0.7 ^a	18.2 $\pm$ 0.5 ^a	19.5 $\pm$ 0.7 ^a	15.3 $\pm$ 0.4 ^b	12.0 $\pm$ 0.4 ^c	19.2 $\pm$ 1.0 ^a
Food efficiency (g gain/g diet)	0.44 $\pm$ 0.01 ^a	0.42 $\pm$ 0.01 ^{ab}	0.39 $\pm$ 0.01 ^{bc}	0.30 $\pm$ 0.01 ^d	0.18 $\pm$ 0.01 ^e	0.36 $\pm$ 0.01 ^c
Tissue weights (g/100 g body weight)						
Liver	3.96 $\pm$ 0.08 ^a	3.40 $\pm$ 0.12 ^b	3.29 $\pm$ 0.05 ^{bc}	2.97 $\pm$ 0.08 ^c	3.26 $\pm$ 0.05 ^{bc}	3.05 $\pm$ 0.08 ^c
Mesenteric WAT	1.72 $\pm$ 0.11 ^{a*}	1.43 $\pm$ 0.09 ^{ab}	1.51 $\pm$ 0.08 ^{ab}	1.29 $\pm$ 0.06 ^b	1.31 $\pm$ 0.06 ^b	1.46 $\pm$ 0.11 ^{ab}
Interscapular BAT	0.21 $\pm$ 0.01 ^a	0.24 $\pm$ 0.01 ^{ab}	0.28 $\pm$ 0.02 ^{abc}	0.34 $\pm$ 0.01 ^c	0.47 $\pm$ 0.04 ^{d*}	0.31 $\pm$ 0.02 ^{bc}

CAS, casein; CON, β -conglycinin; SPI, soy protein isolate; WAT, white adipose tissue; BAT, brown adipose tissue. Values are expressed as mean $\pm$ SE of 6 rats except values with asterisk (n=5).

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

Table 2. Effect of dose of dietary β -conglycinin on serum triglyceride and adipocytokine levels, and liver triglyceride level in rats (Exp. I)

	Groups					
	CAS	CON-25	CON-50	CON-75	CON-100	SPI
Serum						
TG (mmol/L)	1.63 $\pm$ 0.26 ^a	1.48 $\pm$ 0.40 ^a	0.89 $\pm$ 0.09 ^{ab*}	0.34 $\pm$ 0.02 ^b	0.34 $\pm$ 0.02 ^b	0.57 $\pm$ 0.10 ^b
Leptin (ng/mL)	4.40 $\pm$ 0.33 ^{a*}	3.52 $\pm$ 0.92 ^{ab}	3.63 $\pm$ 0.29 ^{ab}	1.87 $\pm$ 0.15 ^b	1.50 $\pm$ 0.13 ^b	3.55 $\pm$ 0.69 ^{ab}
Adiponectin (μ g/mL)	4.77 $\pm$ 0.24 ^a	6.56 $\pm$ 0.70 ^{ab}	9.54 $\pm$ 0.82 ^{bc*}	14.2 $\pm$ 1.0 ^d	19.0 $\pm$ 1.0 ^e	10.9 $\pm$ 0.7 ^c
Liver TG (μ mol/liver)	253 $\pm$ 34 ^a	126 $\pm$ 10 ^{bc}	136 $\pm$ 18 ^{bc}	198 $\pm$ 22 ^{ab}	87.9 $\pm$ 14.0 ^c	134 $\pm$ 19 ^{bc}

CAS, casein; CON, β -conglycinin; SPI, soy protein isolate; TG, triglyceride; FFA, free fatty acids.

Values are expressed as mean $\pm$ SE of 6 rats except values with asterisk (n=5).

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

50群でも認められた。このようなアディポネクチン濃度の上昇は、SPI群およびCON含有群で認められた脂肪酸 β 酸化能亢進や脂質濃度低下作用の一因と考えられた。

ラットの成長や脂質濃度に対するCONへの必須アミノ酸添加の影響をTable 4に示した。Exp. Iの結果やこれまでの報告^{3, 4)}と同様、摂食量はCAS群とSPI群に差はなく、CON群で有意に低くなった。CONにアミノ酸を添加したCON+AA群では、摂食量はCAS群と同レベルまで増加した。終体重および食餌効率についても、摂食量の結果と同様、CON群で認められた低下がCONへのアミノ酸添加により解消されたため、CON摂取による成長パラメータの低下は必須アミノ酸不足によるものと考えられた⁸⁾。

血清TG濃度も、これまでの結果^{3, 4)}と同様にCAS群

に比べSPI群で低く、CON群でさらに低かった (Table 4)。CONへのアミノ酸添加により同濃度はやや高くなったものの、CAS群と比べると有意に低かった。肝臓TG値も、CONにアミノ酸を添加したCON+AA群でCAS群に比べ有意に低かった (Table 4)。その一因として、肝臓での脂肪酸合成能の低下が考えられた (データ未掲載)。

以上のことから、CON摂取時に見られる摂食量の低下は、CONの必須アミノ酸含量に起因し、たん白質そのものに脂質濃度低下作用があることが示唆された。また、この摂食量の低下はCASとの同時摂取で解消され、その際、CON由来の生理機能はある程度維持されたことから、CONの生理作用を解明していくための基礎となる知見が示された。

Table 3. Effect of dose of dietary β -conglycinin on lipogenic and β -oxidation enzyme activities (Exp. I)

	Groups					
	CAS	CON-25	CON-50	CON-75	CON-100	SPI
	(nmol/min/mg protein)					
Liver						
Cytosolic FAS	30.1 $\pm$ 2.4 ^a	18.9 $\pm$ 1.8 ^b	15.1 $\pm$ 2.3 ^{bc}	10.4 $\pm$ 1.2 ^c	8.0 $\pm$ 0.8 ^c	10.3 $\pm$ 1.0 ^c
Mitochondrial CPT	4.69 $\pm$ 0.15 ^a	4.87 $\pm$ 0.25 ^a	5.47 $\pm$ 0.28 ^{ab}	6.82 $\pm$ 0.50 ^b	6.64 $\pm$ 0.34 ^b	5.40 $\pm$ 0.43 ^{ab}
Brown adipose CPT	10.6 $\pm$ 1.3	12.5 $\pm$ 0.3	11.3 $\pm$ 0.9 [*]	11.5 $\pm$ 0.5	10.2 $\pm$ 0.6	12.1 $\pm$ 0.7

CAS, casein; CON, β -conglycinin; SPI, soy protein isolate; FAS, fatty acid synthase; CPT, carnitine-palmitoyl transferase. Values are expressed as mean $\pm$ SE of 6 rats except values with asterisk (n=5).

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

Table 4. Effect of amino acid supplementation to β -conglycinin on growth parameters and tissue weights in rats (Exp. II)

	Groups			
	CAS	SPI	CON	CON+AA
Body weight (g)				
Initial	87 $\pm$ 1	87 $\pm$ 1	87 $\pm$ 1	87 $\pm$ 1
Final	269 $\pm$ 6 ^a	226 $\pm$ 8 ^b	132 $\pm$ 3 ^c	260 $\pm$ 11 ^a
Food intake (g/day)	18.5 $\pm$ 0.2 ^a	17.3 $\pm$ 0.5 ^a	12.0 $\pm$ 0.4 ^a	17.8 $\pm$ 0.8 ^a
Food efficiency (g gain/g diet)	0.39 $\pm$ 0.01 ^a	0.33 $\pm$ 0.01 ^b	0.16 $\pm$ 0.00 ^c	0.39 $\pm$ 0.01 ^a
Tissue weights (g/100 g body weight)				
Liver	3.94 $\pm$ 0.05 ^a	3.06 $\pm$ 0.06 ^b	3.43 $\pm$ 0.10 ^c	3.49 $\pm$ 0.10 ^c
Mesenteric WAT	1.31 $\pm$ 0.10	1.16 $\pm$ 0.06	1.30 $\pm$ 0.07	1.02 $\pm$ 0.08
Interscapular BAT	0.24 $\pm$ 0.04 ^a	0.34 $\pm$ 0.02 ^a	0.58 $\pm$ 0.09 ^b	0.26 $\pm$ 0.02 ^a
Serum TG (mmol/L)	1.13 $\pm$ 0.11 ^a	0.51 $\pm$ 0.06 ^{bc}	0.25 $\pm$ 0.02 ^c	0.59 $\pm$ 0.09 ^b
Liver TG (μ mol/liver)	252 $\pm$ 47 ^a	100 $\pm$ 23 ^b	136 $\pm$ 27 ^{ab*}	63.1 $\pm$ 9.6 ^{b*}

CAS, casein; CON, β -conglycinin; SPI, soy protein isolate; WAT, white adipose tissue; BAT, brown adipose tissue.

Values are expressed as mean $\pm$ SE of 6 rats except values with asterisk (n=5).

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

要 約

β -コングリシニン (CON) 摂取によるラットの摂食量の低下や体重増加量の減少がCONの必須アミノ酸含量に起因するのかが検討した。20%カゼイン (CAS) 食のたん白質の一部を段階的 (25%, 50%, 75%および100%) にCONで置換してラットに自由摂食させた結果, 置換率が50%までは摂食量の低下は認められず, 75%置換群さらには100%置換群で量依存的に摂食量は低下した。CONの脂質濃度低下作用は, 摂食量が低下しなかった50%置換群でも認められた。そこで, CASに比べCONに比較的少ないMet, Trp, Thr, ValおよびTyrの5種類の必須アミノ酸を全てCASと同レベルになるように添加した食餌をラットに与えたところ, 摂食量の低下は認められなくなった。その際, 脂質濃度低下作用は維持された。これらの結果から, CONによる摂食量低下は, 必須アミノ酸含量に起因し, 脂質濃度低下作用はたん白質そのものの効果であることが示唆された。

文 献

- 1) 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.
- 2) 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, downregulation of fatty acid synthase, and inhibition of triglyceride absorption. *Biosci Biotechnol Biochem*, **68**, 352-359.
- 3) 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.
- 4) 古場一哲, 及川大地, 赤星亜朱香, 田丸静香, 田中一成, 菅野道廣 (2009): 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. 大豆たん白質研究, **12**, 109-114.
- 5) American Institute of Nutrition (1977): Report of the AIN ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J Nutr*, **107**, 1340-1348.
- 6) Nishi T, Hara H and Tomita F (2003): Soybean β -conglycinin peptone suppresses food intake and gastric emptying by increasing plasma cholecystokinin levels in rats. *J Nutr*, **133**, 352-357.
- 7) 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.
- 8) Gietzen DW, Hao S and Anthony TG (2007): Mechanisms of food intake repression in indispensable amino acid deficiency. *Annu Rev Nutr*, **27**, 63-78.