大豆たん白質成分イソフラボンによる自律神経調節と体重調節

谷田　守*・今西一善・小松未英・里見　潤

立命館大学生命科学部

Chainging of Autonomic Nerve Modulation and Body Weight Regulation by Isoflavone of Soybean

Mamoru TANIDA*, Kazuki IMANISHI, Mie KOMATSU and Jun SATOMI

Department of Biomedical Sciences, College of Life Sciences,
Ritsumeikan University, Shiga, 525-8577

ABSTRACT

It is known that there are some bitter components of soybean. Previously, we found that one of them, isoflavone, affected autonomic nerve activities supplying the adrenal gland and stomach and reduced body weight gain of rats fed a normal diet. In the study presented here, we examined the effects of intragastric (IG) injection of Isoflavone on brown adipose tissue sympathetic nerve activity (BAT-SNA) and white adipose tissue sympathetic nerve activity (WAT-SNA) in urethane-anesthetized rats. IG injection of isoflavone solution (S-HG) did not affect BAT-SNA and WAT-SNA. Moreover, intraoral injection of S-HG did not affect the plasma glycerol level in conscious rats. Furthermore, drinking S-HG for 14 d reduced body weight gain, food intake and abdominal fat tissue weight in rats fed a normal diet. However, drinking S-HG for 12 wks did not affect body weight gain, food intake and abdominal fat tissue weight in rats fed a high fat diet. These results thus suggest that isoflavone supplementation exerts its reducing action on body weight through changes in appetite-related autonomic modulation. *Soy Protein Research, Japan* **14**, 162-166, 2011.

Key words : energy metabolism, obesity, autonomic nerve, adipose tissue, appetite, glycerol

* 〒531-0072　滋賀県草津市野路東1-1-1

一般的に食品を摂取すると味覚による自律神経反応が誘発された後に，胃および腸内刺激による二次的自律神経反応が起こると考えられている．これまで我々は，乳酸菌を含んだ飲料水をラットに投与すると，急性実験では脂肪組織を支配する自律神経に作用し，慢性実験では，高脂肪食による体重増大作用を抑えることを示唆してきた[1, 2]．特に，内臓脂肪が過剰に蓄積した肥満はメタボリックシンドロームを引き起こすリスクが上昇することから，抗肥満食品の開発はメタボリックシンドローム予防戦略の最重要課題となっている．

これまで，我々は大豆の渋味成分であるサポニンとイソフラボンの自律神経効果について麻酔下ラットを使った急性実験で検討してきた結果，イソフラボン含有飼料の胃内投与が，血糖調節に関与する交感神経副腎枝促進と副交感神経腹腔枝抑制を起した[3]．従ってイソフラボンは自律神経調節作用を介して血糖調節に関与することを示した．一方，体重調節には，エネルギー摂取（摂食）と消費（脂肪分解）のバランスが重要で，体重増大を抑えるためには，脂肪分解に関与する白色脂肪交感神経やエネルギー消費と熱産生に関与する褐色脂肪交感神経が需要な役割を示すことを報告してきた[3]．しかしながらイソフラボン摂取が，体重調節に関与する褐色および白色脂肪組織を支配する自律神経に作用するかは不明である．従って本研究はイソフラボンによる脂肪組織支配の自律神経作用を確認するとともに，体重調節に及ぼす作用の検討を目的とする．

方　　法

実験動物

実験には8週齢のWistar系雄ラット（約280 g）を使用し，飼料と水は自由に摂取させた．また動物は12時間毎の明暗周期（07：00 ～ 19：00が明期）下で，室温24±1℃の条件のもと飼育された．

電気生理学実験

本研究では，3 ～ 4時間絶食させたラットをウレタン（1.2 g/kg体重）の腹腔内投与により麻酔し，体温の低下を防ぐために，直腸温をモニターし，サーモスタット・コントローラにより直腸温が35.0±0.5℃になるように保った．

右の大腿部も切開し，薬物投与用カニューレを大腿動脈へ挿入した．褐色脂肪組織交感神経活動（BAT-SNA）を測定するために，実体顕微鏡下で肩甲骨間の皮膚を切開し，褐色脂肪に投射している遠心性交感神経を剥離した．剥離した神経を銀線双極電極にのせ，電気的絶縁のためシリコンジェルでコーティングした．白色脂肪交感神経活動（WAT-SNA）を測定するために[4]，腹部を正中切開し，精巣動脈を露出させた．精巣周囲白色脂肪の動脈に投射する神経束を同定し，遠心性交感神経活動を計測した．

得られた電気信号は，アンプで増幅し，ウインドウ・ディスクリミネーターを通してパルスカウンターで時間当たりのパルス数を算出して，波形とともにコンピュータに記録した．心電図に関しては，標準肢誘導の第2誘導により導出される電気信号をアンプで増幅し，心拍カウンターより得られた値と波形をコンピュータに記録した．なお，これらの信号をコンピュータに記録する為にPower-Lab（model 4sp, AD instruments）を用いた．

胃内投与のために，コントロール液のvehicle（0.1%DMSO溶液）またはソヤフラボン-HG溶液5 mg/mL（S-HG；イソフラボン含有58%=イソフラボン10 mmol/L，不二製油株式会社），の2溶液をポリエチレンカテーテルを用いて各々1 mL投与し，60分間の反応を観察した．

覚醒下血中グリセロール濃度の測定

ペントバルビタール（35 mg/kg体重）をラット腹腔内に注入し，十分に麻酔がかかったと判断したのち手術を行った．大腿部を切開し，採血用カテーテルを大腿動脈へ挿入した．またカテーテルは皮下を通し背部より体外に出し固定した．手術後，覚醒回復させ，水と餌を自由摂取させた．翌日ラットを4時間絶食させ，実験を開始する試料投与前に採血を行った．経口投与用のゾンデを用いて，実験試料であるコントロール液のvehicle（0.1%DMSO溶液）またはソヤフラボン-HG溶液（0.5 mg, 5 mg/mL）をそれぞれ1mL経口投与し，投与後30分ごとに120分間採血を行った．採取した血液より血漿を分離し，血漿中のグリセロール濃度を吸光度計（λ：470）で測定した．

摂食量及ぶ体重への作用

飲料ボトル内にvehicleまたはS-HGを用意し，普通食（MF；日本クレア）または高脂肪食（HFD-60；脂肪60%，オリエンタル酵母）とともに自由摂取させた．食餌摂取量，摂水量および体重を実験期間中測定し，実験終了後，内臓脂肪組織重量（副睾丸周囲脂肪組織，腸間膜脂肪組織，腎周囲脂肪組織）を計測した．

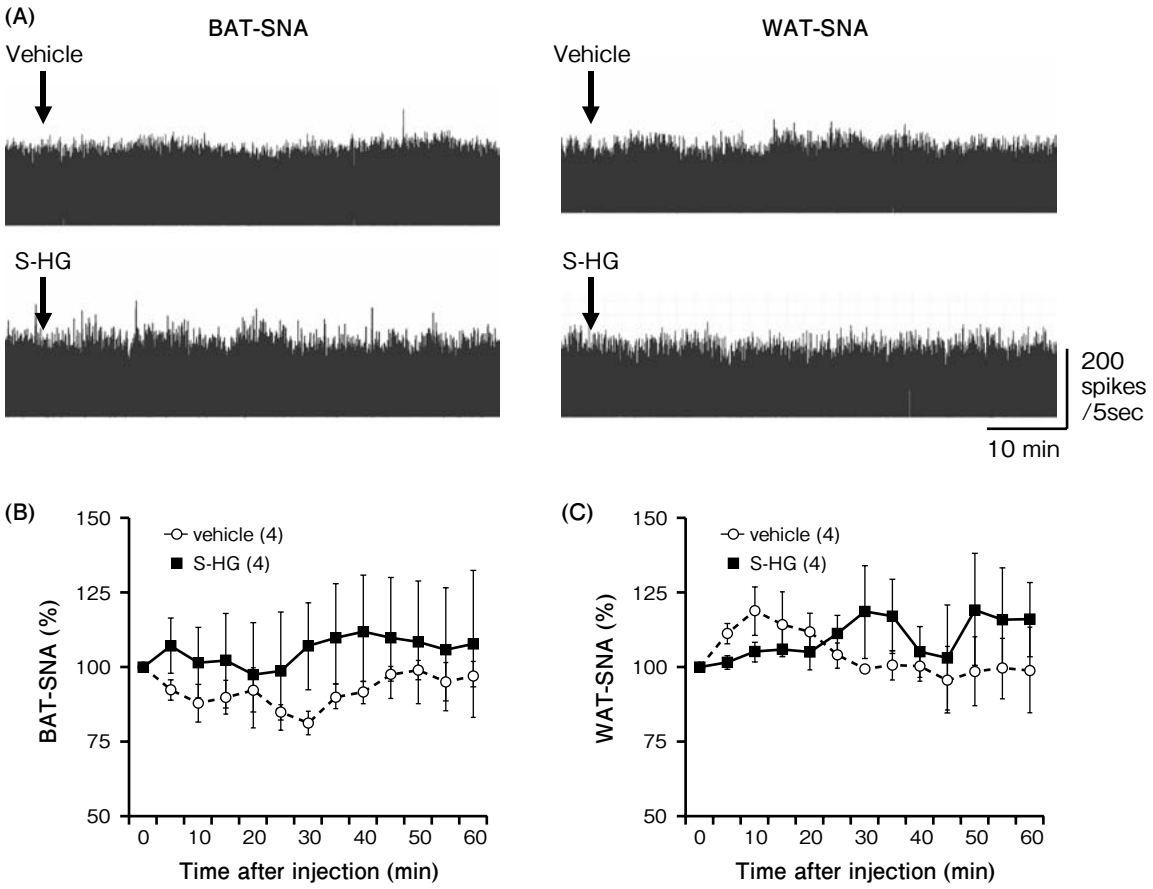

Fig. 1. Effects of vehicle or S-HG (5 mg) on BAT-SNA and WAT-SNA of anesthetized rats. Raw spike data from BAT-SNA and WAT-SNA are expressed in (A). Time course data of BAT-SNA (B) and WAT-SNA (C) are expressed in (B & C). Values are expressed as mean ± SEM in each group. Numbers of animals used are shown in the parentheses.

結果と考察

大豆イソフラボンによる脂肪組織交感神経活動と血中グリセロール濃度への作用

本研究では，大豆イソフラボンが自律神経へ及ぼす作用について，麻酔下ラットの白色脂肪交感神経活動（WAT-SNA）と褐色脂肪交感神経活動（BAT-SNA）を電気生理学的に計測し，大豆イソフラボンを含有するS-HGの胃内投与効果を検討した．その結果，コントロールのvehicleおよびS-HGの胃内投与はラットのWAT-SNAとBAT-SNAに影響を与えなかった（Fig. 1）．また，覚醒下ラットの血中グリセロール濃度へ及ぼす大豆イソフラボンの効果を検討した結果，S-HGの経口投与は，120分間ラットの血中グリセロール濃度変化に影響を与えなかった（Fig. 2）．

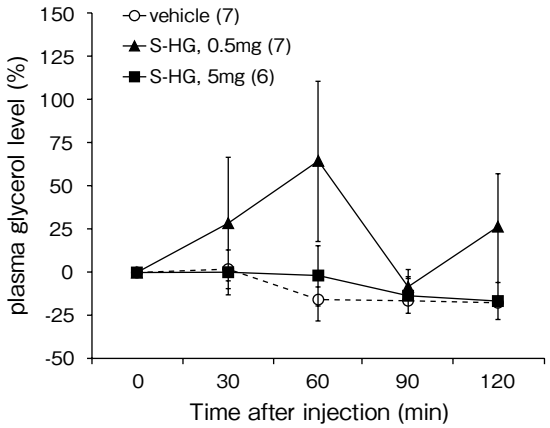

Fig. 2. Effects of vehicle or two dose of S-HG (0.5, 5 mg) on plasma glycerol level of conscious rats. Values are expressed as mean ± SEM in each group. Numbers of animals used are shown in the parentheses.

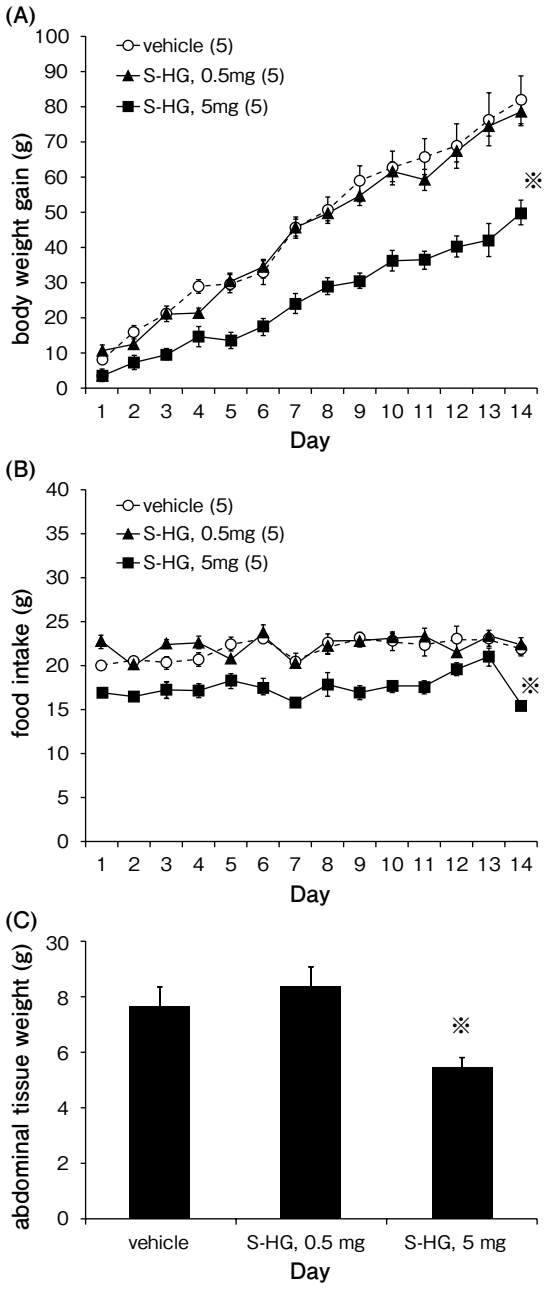

Fig. 3. Effects of vehicle or S-HG on body weight gain (A), food intake (B) and abdominal fat tissue weight (epididymal fat, mesenteric fat, perirenal fat) of rats fed a normal diet for 14 days. Values are expressed as mean ± SEM in each group. Numbers of animals used are shown in the parentheses. ※Significat difference between vehicle and S-HG group (p <0.05).

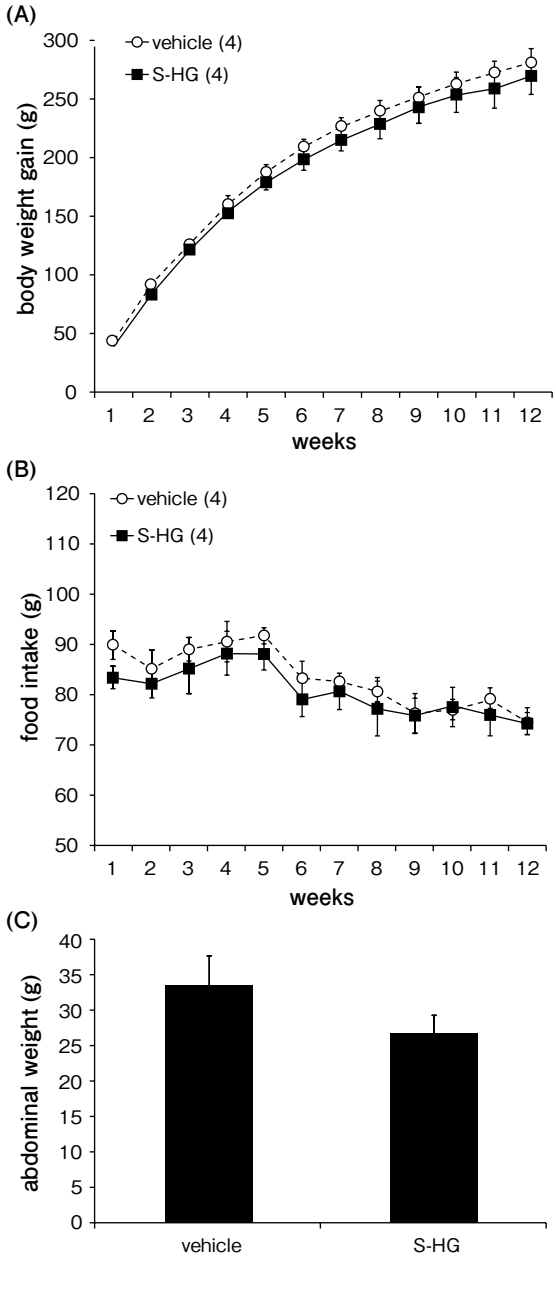

Fig. 4. Effects of vehicle or S-HG on body weight gain (A), food intake (B) and abdominal tissue weight (epididymal fat, mesenteric fat, perirenal fat) of rats fed a high-fat diet for 12 weeks. Values are expressed as mean ± SEM in each group. Numbers of animals used are shown in the parentheses.

本実験では，先行研究[3]より，副腎交感神経活動に有効な濃度を基準にS-HGの二つの濃度について検討を行った．今後は，さらに濃度検討を行う予定である．

大豆イソフラボンの長期摂取が高脂肪食性体重増大作用へ及ぼす効果

本研究では，まずS-HG溶液の長期摂取が体重および摂食量に及ぼす作用について普通食で検討した結果，5 mgの用量のS-HG溶液摂取群において，コントロールのvehicle溶液群に比べて，有意に摂食量と内臓脂肪重量の減少と体重増加の抑制を確認した（Fig. 3）．次に高脂肪食性の体重増大作用について検討した結果，vehicle溶液群と比較して，S-HG溶液群のントロールの体重，食餌摂取量，内臓脂肪重量に有意な変化はなかった（Fig. 4）．

普通食で検討した先行研究[3]では，摂食量も抑制することがわかっていることから，普通食では，摂食調節に関与する自律神経を介して，摂食量を抑えて体重調節に関与している可能性が考えられる．従って高脂肪食下では，このような摂食抑制にはたらく自律神経活動へ及ぼすイソフラボンの効果がキャンセルされている可能性が考えられる．

要　　約

本研究では，自律神経を変化させる作用をもつ大豆成分の一つである大豆イソフラボンに着目して，大豆イソフラボンの胃腸刺激がラットのエネルギー代謝調節に関与する褐色脂肪組織と白色脂肪組織を支配する交感神経活動へ及ぼす効果について検討した．その結果，ウレタン麻酔下ラットの胃内にイソフラボンを含有するS-HG（イソフラボン含有58%）を投与しても，BAT-SNAおよびWAT-SNAに有意な変化は確認されなかった．また，覚醒下でラット血中グリセロール濃度へ及ぼすイソフラボンの効果についても同様に，S-HGの経口投与は血中グリセロール濃度に有意な変化を引き起こさなかった．さらに，S-HG含有飲料の長期摂取は，高脂肪食性の体重増大と摂食量にも有意な変化を起さず，内臓脂肪重量にも影響を与えなかった．これらの結果から，大豆イソフラボンの摂取は組織特異的に自律神経を調節し，副腎枝や胃枝の活動には影響を与える一方，脂肪組織を支配する交感神経には影響を与えないことが明らかとなった．さらに，本実験結果とこれまでの研究から高脂肪食による体重増大作用ではなく，普通食による体重増大作用の減弱に大豆イソフラボンの摂取が有効であることがわかった．また，本研究では，S-HGについて2つの濃度検討しか行っていないので，今後は，様々なイソフラボン濃度について，脂肪組織支配の自律神経作用と体重調節作用のメカニズム解析を行っていく予定である．

文　　献

1）Tanida M, Shen J, Horii Y, Maeda K, Yamano T, Fukushima Y and Nagai K. (2008) High-fat diet-induced obesity is attenuated by probiotic strain Lactobacillus paracasei ST11 (NCC2461) in rats. *Obes Res Clin Prac* **2**: 159-169.

2）永井克也，谷田守，福島洋一，山野俊彦，新島旭，前田景子，奥村宣明，堀井裕子，沈嬌（2009）：乳酸菌の腸内投与による自律神経活動と生理機能の変化．腸内細菌学雑誌 **23**, 209-216.

3）谷田守，小松未英，里見潤（2010）大豆たん白質成分による自律神経調節機構の解明．大豆たん白質研究，**13**, 159-163.

4）Tanida M, Tsuruoka N, Shen J, Horii Y, Beppu Y, Kiso Y and Nagai K. (2009): Effects of flavangenol on autonomic nerve activities and dietary body weight gain in rats. *Biosci Biotechnol Biochem.* **73**, 2374-2378.