

インスリン分泌を亢進する消化管ホルモンに対する大豆たん白質の影響

藤野未奈¹・林 史和¹・鑄方綾香¹・細田明美^{1,2}・

山岸あづみ^{1,3}・福村智恵¹・金 東浩¹・佐伯 茂^{*1}

¹大阪市立大学大学院生活科学研究科食・健康科学講座

²東京医療保健大学医療保健学部 ³山形大学地域教育文化学部

Effect of Dietary Soy Protein on Gastrointestinal Hormones that Cause an Increase in the Amount of Insulin Secretion

Mina FUJINO¹, Fumikazu HAYASHI¹, Ayaka IKATA¹, Akemi HOSODA^{1,2},
Azumi YAMAGISHI^{1,3}, Tomoe FUKUMURA¹, Dong-Ho KIM¹ and Shigeru SAEKI^{*1}

¹Department of Food and Human Health Sciences, Graduate School of Human Life Science,
Osaka City University, Osaka 558-8585

²Faculty of Healthcare, Tokyo Healthcare University, Tokyo 154-8568

³Faculty of Education, Art and Science, Yamagata University, Yamagata 990-8560

ABSTRACT

The present study was undertaken to elucidate whether dietary proteins would affect type 2 diabetes symptoms. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats, a model for type 2 diabetes, and Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) rats, a genetic control for OLETF, were fed a casein- or soy protein isolate (SPI)-containing diet with or without 30% lard for 9 weeks. Glucose tolerance and insulin resistance (HOMA-IR) in LETO rats were unaffected by dietary protein and fat content. Glucose tolerance and insulin resistance in OLETF rats were spontaneously impaired, which condition was aggravated by a high-fat diet containing casein, but not by that containing SPI. Plasma levels of active glucagon-like peptide 1 (GLP-1) in LETO rats were unaffected by dietary protein and fat content. Plasma levels of active GLP-1 in OLETF rats were significantly increased by a high-fat diet containing SPI, but not by that containing casein, irrespective of plasma insulin levels. These results indicate that SPI will be effective in stimulating GLP-1 secretion and improving glucose tolerance and insulin resistance in type 2 diabetes. *Soy Protein Research, Japan* **15**, 50-54, 2012.

Key words : type 2 diabetes, incretin hormone, insulin

*〒558-8585 大阪市住吉区杉本3-3-138

日本人の糖尿病患者は約700万人、潜在的に糖尿病の可能性のある人は約2,000万人にも上り、その90%以上が2型糖尿病である。2型糖尿病は、インスリン分泌調節からインスリン感受性調節に至るまで広範囲の複数の遺伝子異常に、食事などの環境因子が複雑に絡み合って発症する多因子遺伝性疾患である。脂肪摂取量の増大が2型糖尿病の発症を加速させる重要な環境因子であることは広く知られているが、その他の栄養素と2型糖尿病の発症との関わりについては明確ではない。

日本人のエネルギー摂取量は、戦後の食料不足の時代から、飽食の時代と言われる現代まで大きな変化が無い。従来から、日本型食生活は、栄養特性に優れ、生活習慣病の予防に効果的であると考えられており、日本型食生活の特徴の一つは、欧米に比べ植物性たん白質の摂取量が多いことにあった。しかし、近年、植物性たん白質の摂取量が低下し、動物性たん白質の摂取量が増加しており、このことが日本人の2型糖尿病の発症を加速させている可能性がある。

日本人を含めアジア人の2型糖尿病は、インスリン抵抗性を主体とする白人の病態と異なり、インスリン分泌不全を主体とすることが知られている。その原因に、インスリン分泌を亢進させるインクレチンの作用が、日本人やアジア人で弱いことが示唆されている¹⁾。インクレチンとは、食事摂取に応答して消化管から分泌され、血糖依存的にインスリン分泌を促進するホルモンの総称で、これまでにGLP-1 (Glucagon-Like Polypeptide-1)とGIP (Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide) がインクレチンとして機能することが報告されている²⁾。

OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) ラットは、大塚製薬徳島研究所のKawanoらがCharles River Canada Inc.から購入したクローズドコロニーのLong-Evans系ラットから確立した2型糖尿病を発症す

る実験動物である³⁾。彼らは、ヒトの2型糖尿病に類似した病態を示すラットを発見し、選抜交配を重ねて糖尿病好発系のOLETFラットを樹立し、更に、遺伝的にも近縁であるが糖尿病を全く発症しないLETO (Long-Evans Tokushima Otsuka) ラットを樹立した。OLETFラットは、肥満、高脂血症を呈し、加齢とともに高インスリン血症、高血糖を呈する。また、脂肪が皮下よりも腹腔内に蓄積する腹腔内脂肪蓄積型肥満である点や、食事や運動といった環境因子がメタボリック症候群の発症と進展に影響を与える点から、OLETFラットは日本人のメタボリック症候群を解析するに適した実験モデルであると言える。

そこで本研究では、2型糖尿病の発症に対する摂取たん白質の相違を明らかにすることを目的に、2型糖尿病のモデル動物としてOLETFラットを用い、OLETFラットの耐糖能、インスリン抵抗性、活性型GLP-1に対する大豆たん白質の影響について検討した。

方 法

5週齢の♂OLETFラット（日本SLC）と正常系統♂LETO（日本SLC）ラットを1週間予備飼育した後、各4群に分け（n=6）、たん白質源としてカゼインまたは分離大豆たん白質（soy protein isolate：SPI）を含む普通食、それらに30%ラードを添加した高脂肪食を与え、9週目に12時間の絶食の後、経口糖負荷試験を行った。実験飼料の組成はTable 1に示した。ブドウ糖液の投与0, 30, 60, 120分後に尾静脈から血液を採取し、血糖値と血漿インスリン値を測定した。また、ブドウ糖液の投与30分後に、DPP4 (Dipeptidyl Peptidase-4) 阻害剤存在下で尾静脈から血液を採取し、血漿の活性型GLP-1濃度を測定した。

Table 1. Composition of the experimental diets

	Casein	Casein+HF (%)	SPI	SPI+HF
Casein	25.00	25.00		
Soy protein Isolate			25.23	25.23
Lard		30.00		30.00
Sucrose	10.00	10.00	10.00	10.00
α -corn starch	55.25	25.25	55.02	25.02
Corn oil	5.00	5.00	5.00	5.00
AIN-93G mineral mix	3.50	3.50	3.50	3.50
AIN-93 vitamin mix	1.00	1.00	1.00	1.00
Choline Bitartrate	0.25	0.25	0.25	0.25

結果と考察

経口糖負荷試験の血糖値の経時変化をFig. 1に示した。LETOラットの血糖値は、食餌たん白質源および高脂肪食の影響をあまり受けなかった。OLETFラットの血糖値は、何れの飼料群でも、30, 60, 120分においてLETOラットに比べ有意に高値を示した。OLETFラットの120分における血糖値は、カゼイン高脂肪食を摂取するとカゼイン普通食を摂取した時に比べ有意に上昇したが、SPI高脂肪食を摂取してもSPI普

通食摂取時と同レベルだった。これらのことより、2型糖尿病の耐糖能異常は、高脂肪食を摂取すると増悪するが、植物性たん白質であるSPIを同時に摂取すると耐糖能が改善されることが示唆された。

次に、経口糖負荷試験の血漿インスリン濃度の経時変化をFig. 2に示した。LETOラットの血漿インスリン濃度は、カゼイン高脂肪食を摂取するとカゼイン普通食を摂取した時に比べ、何れの時間帯でも有意に上昇した。SPI高脂肪食を摂取したLETOラットの血漿インスリン濃度も、SPI普通食を摂取した時に比

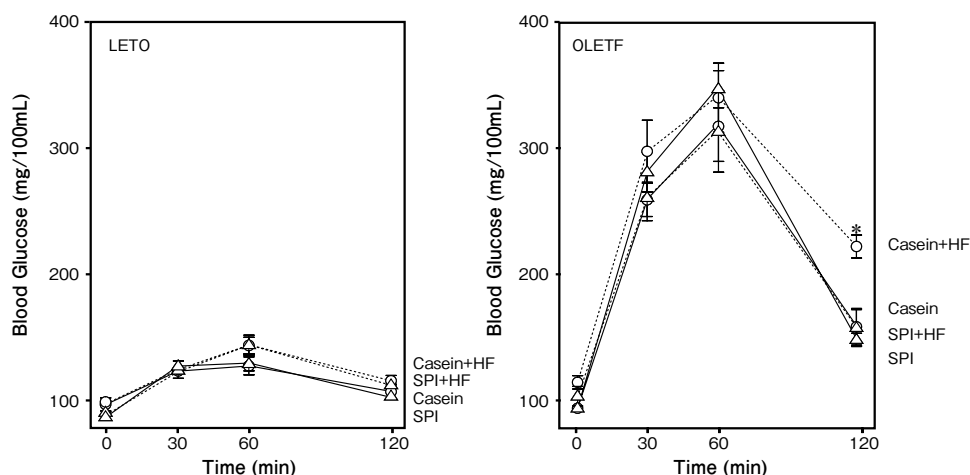


Fig. 1. Changes in plasma glucose concentrations in LETO and OLETF rats fed a casein- or SPI-containing diet with or without 30% lard. Data are expressed as the mean $\pm$ SEM. Means marked with an asterisk are statistically significantly different from others by Fisher's Least Significant Difference test ($p < 0.05$).

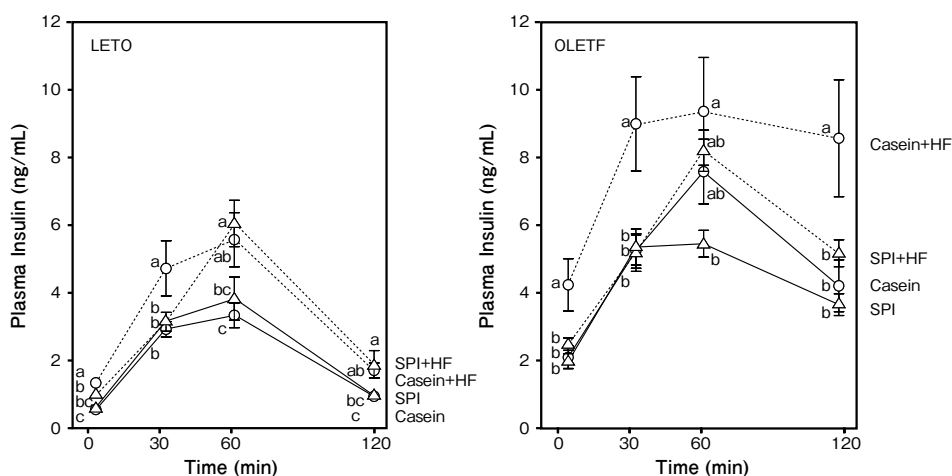


Fig. 2. Changes in plasma insulin concentrations in LETO and OLETF rats fed a casein- or SPI-containing diet with (+HF) or without 30% lard. Data are expressed as the mean $\pm$ SEM. Means not sharing a common letter are statistically significantly different by Fisher's Least Significant Difference test ($p < 0.05$).

べ、60、120分において有意差に上昇した。同様に、OLETFラットの血漿インスリン濃度は、カゼイン高脂肪食を摂取するとカゼイン普通食を摂取した時に比べ、0分、30分、120分で有意に高値を示した。一方、SPI高脂肪食を摂取したOLETFラットの血漿インスリン濃度は、SPI普通食を摂取した時に比べ有意差はなかった。

空腹時血糖値と空腹時インスリン値から算出されるインスリン抵抗性の指標であるHOMA-IR値をFig. 3に示した。LETOラットのHOMA-IR値は、摂取たん白質および高脂肪食の影響をあまり受けなかった。一方、OLETFラットのHOMA-IR値は、カゼイン高脂肪食を摂取するとカゼイン普通食を摂取した時に比べ著しく有意に上昇し、SPI高脂肪食を摂取するとカゼインおよびSPI普通食レベルまで低下した。従って、OLETFラットのインスリン抵抗性は、高脂肪食によって増悪され、SPIはインスリン抵抗性を大きく改善することが示唆された。

経口糖負荷試験の30分後における、インスリン分泌を亢進する消化管ホルモンである活性型GLP-1濃度をFig. 4に示した。LETOラットの活性型GLP-1濃度は、OLETFラットに比べ低く抑えられ、血糖値やHOMA-IR値の結果と同様に、摂取たん白質および高脂肪食の影響をあまり受けなかった。一方、OLETFラットの活性型GLP-1濃度は、SPI高脂肪食を摂取すると大きく上昇した。このことは、SPIは、健常者や、低脂肪食を摂取する2型糖尿病患者では、消化管からのGLP-1分泌を大きく亢進させる作用を有することを示唆する。しかし、高脂肪食を摂取させたOLETFラットでのインスリン分泌は、SPI高脂肪食の摂取によって亢進することは無かった。

膵β細胞からのインスリン分泌を促進する消化管ホルモンとして、現在、GIPとGLP-1が知られている。GIPが上部小腸に存在するK細胞から、GLP-1は下部小腸に存在するL細胞から分泌される²⁾。GIPもGLP-1も、血糖値が高い場合にインスリン分泌を促進し、血糖値が低い場合はインスリン分泌を促進しない。GIPもGLP-1も、それぞれ小腸から活性型として分泌されるが、活性型GIPとGLP-1は、DPP-4と呼ばれるたん白分解酵素によりアミノ末端が速やかに切断されて不活性化し、インクレチン作用を失う²⁾。また、欧米人および日本人の2型糖尿病患者ではGIPがインスリン分泌の促進作用を示さないこと^{4,5)}、2型糖尿病モデル動物であるGKラットではGIPのインクレチン作用が弱いことが報告されている⁶⁾。これらのことから、本研究では、2型糖尿病モデル動物OLETFラットのインクレ

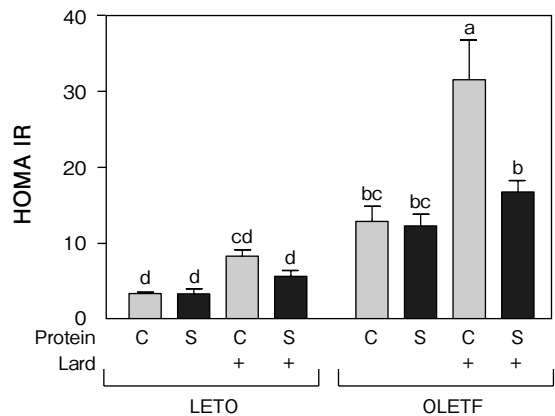


Fig. 3. HOMA-IR in LETO and OLETF rats fed a casein(C)- or SPI(S)-containing diet with (+) or without 30% lard. Data are expressed as the mean $\pm$ SEM. Means not sharing a common letter are statistically significantly different by Fisher's Least Significant Difference test ($p < 0.05$).

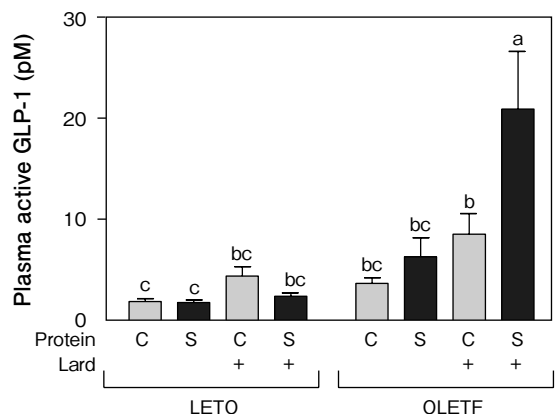


Fig. 4. Plasma levels of active GLP-1 in LETO and OLETF rats fed a casein(C)- or SPI(S)-containing diet with (+) or without 30% lard. Data are expressed as the mean $\pm$ SEM. Means not sharing a common letter are statistically significantly different by Fisher's Least Significant Difference test ($p < 0.05$).

チン作用を検討するには、活性型GLP-1濃度を測定すべきであると考えて実験を行った。しかし、上述のように、高脂肪食を摂取させたOLETFラットの活性型GLP-1濃度はSPI摂取で亢進したが、インスリン分泌は亢進しなかった。

GLP-1には、膵 β 細胞からのインスリン分泌を促進させる作用以外に、中枢神経系での食欲抑制作用、胃

内容物の排泄遅延作用、膵 α 細胞からのグルカゴン分泌の抑制作用などを介して、インスリン抵抗性を改善することが報告されている²⁾。従って、高脂肪食を摂取させたOLETFラットで観察されたSPIによる活性型GLP-1濃度の上昇は、GLP-1の膵外作用を介してインスリン抵抗性を改善させた可能性があると推論した。

要 約

2型糖尿病のモデル動物としてOLETFラットを用い、糖尿病の病態およびインクレチンホルモンに対するSPIの影響について検討した。OLETFラットの耐糖能やインスリン抵抗性は、高脂肪食を摂取すると増悪するが、植物性たん白質であるSPIを同時に摂取すると改善されることが明らかになった。血漿中の活性型GLP-1濃度はSPI高脂肪食を摂取すると大きく上昇したが、血漿インスリン濃度はSPI高脂肪食を摂取しても上昇しなかった。従って、高脂肪食を摂取させたOLETFラットにおけるSPIによる耐糖能やインスリン抵抗性の改善作用は、GLP-1の膵外作用を介して発現した可能性もあると考えた。

文 献

- 1) 矢部大介, 清野 裕 (2010): 糖尿病におけるインクレチン分泌と作用. 医学のあゆみ, **233**, 393-398.
- 2) Drucker DJ (2006): The biology of incretin hormones. *Cell Metab*, **3**, 153-65.
- 3) Kawano K, Hirashima T, Mori S, Kurosumi M, Saitoh Y and Natori T (1991): New inbred strain of Long-Evans Tokushima Lean rats with IDDM without lymphopenia. *Diabetes*, **40**, 1375-1381.
- 4) Nauck MA, Heimesaat MM, Orskov C, Holst JJ, Ebert R and Creutzfeldt W (1993): Preserved incretin activity of glucagon-like peptide 1 [7-36 amide] but not of synthetic human gastric inhibitory polypeptide in patients with type-2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*, **91**, 301-307.
- 5) Takemura J, Seino Y, Tsuda K, Seino S, Ikeda M, Sakurai H and Imura H (1981): Hypersecretion of gastric inhibitory polypeptide induced by glucose ingestion in diabetes mellitus. *Endocrinol Jpn*, **28**, 17-21.
- 6) Yamada Y, Miyawaki K, Tsukiyama K, Harada N, Yamada C and Seino Y (2006): Pancreatic and extrapancreatic effects of gastric inhibitory polypeptide. *Diabetes* **55**, S86-S91.