β-コングリシニンの脂質代謝調節機能および糖代謝調節機能に関する栄養化学的研究

古場一哲*[1]・福田英里子[1]・田丸静香[1]・及川大地[1,2]

[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

Effects of β-Conglycinin on Lipid Metabolism and Glucose Metabolism in Rats

Kazunori KOBA*[1], Eriko FUKUDA[1], Sizuka TAMARU[1] and Daichi OIKAWA[1,2]

[1]Faculty of Nursing and Nutrition, University of Nagasaki, Siebold, Nagasaki 851-2195
[2]Faculty of Education, Nagasaki University, Nagasaki 852-8521

ABSTRACT

Feeding of β-conglycinin, one of the major components of soy protein, has been reported to decrease body fat mass, and serum and liver triglyceride levels in rats. Dietary β-conglycinin was also observed to increase serum adiponectin concentration, which could affect glucose metabolism as well as lipid metabolism. In the present study, therefore, we investigated whether feeding β-conglycinin could affect factors influencing glucose metabolism, such as insulin sensitivity. Male Sprague Dawley rats were fed AIN-93G diets containing 20% protein; either casein (CAS), or CAS replaced soy protein isolate (SPI) or β-conglycinin (CON) at the proportion of 50% for 1 month. After a 4-week feeding period, we conducted an insulin tolerance test (ITT). Compared with CAS, SPI and more clearly CON decreased blood glucose levels 90 min after an intraperitoneal insulin injection (0.75 IU/kg body weight). The results suggested that SPI, especially CON could increase insulin sensitivity in rats. However, CON feeding affected neither fasting glucose level nor serum insulin level after the feeding period. Consistent with previous observations, dietary CON, compared with CAS, decreased white adipose tissue weights and liver triglyceride level. Therefore, results in the present study suggest that dietary CON could affect glucose metabolism as well as lipid metabolism in rats. *Soy Protein Research, Japan* **16**, 48-52, 2013.

Key words : β-conglycinin, insulin tolerance test, body fat mass, liver triglyceride, rats

*〒851-2195　長崎県西彼杵郡長与町まなび野1-1-1

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．これまでの研究で，β-コングリシニンを摂取したラットの血清アディポネクチン濃度は，カゼインや大豆たん白質を摂取した場合に比べ有意に高くなることが観察されている[3, 4]．脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンには，肝臓や筋肉での脂肪酸β酸化を亢進する作用[5, 6]に加え，筋肉や脂肪組織へのグルコースの取り込みを亢進する作用[7]があることが知られている．このため，β-コングリシニンの摂取は，脂質代謝だけでなく糖代謝にも影響する可能性がある．そこで本研究では，β-コングリシニンの摂取が体脂肪や血清・肝臓の脂質濃度に加え，血清グルコース濃度やインスリン感受性などの糖代謝関連因子にどのように影響するかラットを用いた摂食実験により検討した．

方　　法

食餌および実験動物

食餌はAIN-93G組成[8]に準じて調製した．すなわち重量比でたん白質20%，大豆油7%，α-コーンスターチ13.2%，スクロース30%，セルロース5%，ミネラル混合[8] 3.5%，ビタミン混合[8] 1%，酒石酸コリン0.25%，t-ブチルヒドロキノン0.0014%で，コーンスターチで100%に調整した．たん白質源としてカゼイン（CAS）20%含む食餌を対照食とし，カゼインの50%（食餌全体の10%分）を分離大豆たん白質（SPI；フジプロR）またはβ-コングリシニン（CON；リポフ－700）で置換えた食餌を試験食とした．

実験動物として4週齢のSprague Dawley系の雄ラットを用い，1週間の予備飼育の後，体重と血糖値に違いが出ないように3群に分け（1群6匹），それぞれの食餌を1ヶ月間自由摂食させた．期間中，飲料水も自由摂取させた．

摂食開始4週目にインスリン耐性試験（ITT）を行った．すなわち，ラットを6時間絶食させ，インスリン（0.75 IU ヒューマリンR/kg体重）を腹腔内投与し，投与直後および15分，30分，60分，90分，120分および180分後の血糖値を測定した．

ITTの4日後，6時間絶食させ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．血清および肝臓の成分分析，肝臓の脂質代謝関連酵素活性の測定を行った．

全ての結果について，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に対するCON摂取の影響を示した．摂食量は3群間で違いは認められなかった．終体重は統計的有意な違いではなかったが，CAS群に比べ，SPI群でやや減少する傾向にあり，その傾向はCON群でさらに強かった．食餌効率（g gain/g diet）は，CAS群およびSPI群に比べ，CON群で低くなった．肝臓重量は，CAS群に比べSPI群およびCON群で有意に減少した．これらの結果はこれまでの報告と一致した[3, 4]．

睾丸周辺，腎臓周辺および腸間膜の白色脂肪組織重量も，これまでの報告と同様に，いずれもCAS群に比べSPI群およびCON群で低値を示した（Table 2）．一方，褐色脂肪組織重量はCAS群およびSPI群に比べCON群でやや増加する傾向にあった．

血清トリグリセリド（TG）濃度に対する食餌の影響は明確でなかったものの，肝臓トリグリセリド値は，CAS群に比べ，SPI群およびCON群で有意に低下した（Table 3）．

肝臓の脂肪酸合成系およびβ酸化系の酵素活性をTable 4に示した．肝臓サイトソール画分の脂肪酸合成酵素（FAS）活性は，これまでの報告と同様にCAS群に比べSPI群有意に低く，その値はCON群でさらに低かった[9]．肝臓サイトソール画分のMalic enzymeおよびグルコース6リン酸脱水素酵素（G6PDH）の活性

Table 1. Effect of dietary β-conglycinin on growth parameters in rats

	Groups		
	CAS	SPI	CON
Body weight (g)			
Initial	153 ± 2	153 ± 1	153 ± 1
Final	436 ± 19	401 ± 15	383 ± 8
Food intake (g/day)	23.4 ± 1.0	21.3 ± 0.9	22.9 ± 0.7
Food efficiency (g gain/g diet)	0.363 ± 0.008[a]	0.350 ± 0.011[a]	0.297 ± 0.006[b]
Tissue weights (g/100g body weight)			
Liver	3.79 ± 0.17[a]	3.21 ± 0.06[b]	3.30 ± 0.11[b]

CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β-conglycinin. Values are expressed as mean ± SE of 6 rats. [ab]Values without sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 2. Effect of dietary β-conglycinin on adipose tissue weights in rats

	Groups		
	CAS	SPI	CON
White adipose tissue (g)			
Epididymal	8.09 ± 1.19	5.78 ± 0.64	5.59 ± 0.46
Perirenal	11.32 ± 1.66	8.56 ± 0.88	9.38 ± 0.54
Mesenteric	7.89 ± 1.05[a]	4.87 ± 0.66[b]	5.56 ± 0.48[ab]
Interscapular BAT (g)	0.548 ± 0.075	0.506 ± 0.062	0.680 ± 0.141

CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β-conglycinin; BAT, brown adipose tissue. Values are expressed as mean ± SE of 6 rats. [ab]Values without sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 3. Effect of dietary β-conglycinin on serum triglyceride and adipocytokine levels, and liver triglyceride level in rats

	Groups		
	CAS	SPI	CON
Serum			
TG (mmol/L)	2.12 ± 0.30	2.16 ± 0.34	2.15 ± 0.28
Free fatty acid (mmol/L)	0.500 ± 0.026	0.545 ± 0.123	0.559 ± 0.019
Adiponectin (μg/mL)	1.24 ± 0.14[a]	1.93 ± 0.17[ab]	2.27 ± 0.27[b]
Liver TG (mmol/whole liver)	0.430 ± 0.073[a]	0.283 ± 0.032[b]	0.270 ± 0.026[b]

CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β-conglycinin; TG, triglyceride. Values are expressed as mean ± SE of 6 rats. [ab]Values without sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

Table 4. Effect of dietary β-conglycinin on lipogenic and β-oxidation enzyme activities

	Groups		
	CAS	SPI	CON
		(nmol/min/mg protein)	
Liver			
Cytosolic FAS	24.2 ± 1.2[a]	13.9 ± 1.6[b]	11.6 ± 0.9[b]
Cytosolic ME	73.7 ± 3.8[a]	56.3 ± 4.5[b]	50.7 ± 4.3[b]
Cytosolic G6PDH	117.6 ± 8.7[a]	55.3 ± 8.1[b]	49.6 ± 4.9[b]
Mitochondorial CPT	5.56 ± 0.13	5.76 ± 0.57	5.95 ± 0.32
Brown adipose CPT	33.2 ± 2.6	33.9 ± 1.9	33.5 ± 3.1

CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β-conglycinin; FAS, fatty acid synthase; ME, malic enzyme; G6PDH, glucose-6-phosphodehydrogenase; PAP, phosphatidic acid phosphohydrolase; CPT, carnitine-palmitoyl transferase. Values are expressed as mean ± SE of 6 rats. [ab]Values without sharing the same superscript letter are significantly different at $p<0.05$.

でも同様の結果が得られ，肝臓におけるこれらの脂肪酸合成系酵素活性の低下が，肝臓TG量の低下の一因と考えられた．

脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンの血清濃度はこれまでの報告[3, 4]と同様にCAS群に比べSPI群で高く，CON群でさらに高くなり，その違いはCAS群に比べ統計的に有意であった（Table 3）．

アディポネクチン濃度の上昇は，脂質だけでなく，糖代謝に対しても影響する．そこで今回，血清グルコース濃度およびインスリン感受性への影響について検討するために摂食開始4週目にITTを行った．Fig. 1に示すようにラットにインスリン（0.75 IU/kg体重）を腹腔内投与した90分後の血清グルコース濃度は，CAS群に比べSPI群で低い傾向にあり，CON群では有意に

低い値であった．そしてこの傾向はインスリン投与後180分後まで持続し，インスリンに対する応答は，CAS摂取に比べSPI摂取さらにはCON摂取により高くなることが示唆された．この両群の血清アディポネクチン濃度はCAS群に比べ高く，インスリン投与後の血糖値変化との関連が考えられた[10]．

一方，摂食期間終了後の血清グルコース濃度には食餌たん白質の違いによる影響は認められなかった（Fig. 2）．血清インスリン濃度はCAS群に比べSPI群でやや低い傾向にあったもののその違いは有意ではなくCON群はCAS群と同レベルであった．その結果，インスリン抵抗性の指標であるHOMA（homeostatic model assessment）の値[11]も，CAS群に比べSPI群でやや低い傾向にあるものの，全体としては明確な効果ではなかった．今回のような健常ラットでは，CON摂取による血清グルコース濃度およびインスリン濃度への影響は事実上なかったと判断された．

以上のことから，CON摂取はこれまで報告されてきた脂肪組織重量低減効果および肝臓トリグリセリド値低下作用に加え，インスリンに対する応答を改善する効果があることが示された．この効果は，健常ラットの血清グルコース濃度およびインスリン濃度に直接反映されるものではなかったが，今回観察されたITTの結果は，CONがインスリン抵抗性を改善する食餌成分として糖尿病発症の過程に影響する可能性を示唆しており，今後，疾患モデル動物を用いた検討が必要であると考えられた．

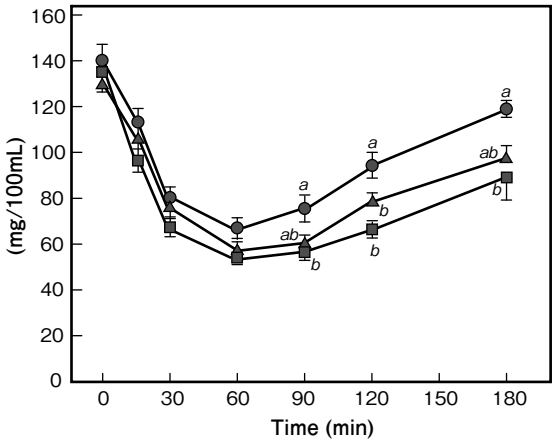

Fig. 1. Effect of dietary β-conglycinin on the time course change of blood glucose levels after insulin injection (insulin tolerance test). ●, casein; ▲, soy protein isolate; ■, β-conglycinin. After 4-week feeding period, rats received 0.75 IU/kg insulin by intraperitoneal injection after a fast (6 hr). Blood glucose was measured at the intervals indicated over 3 hr. All the data are expressed as mean ± SE of 5 rats. *ab*: Values without sharing a common letter are significantly different at $p<0.05$.

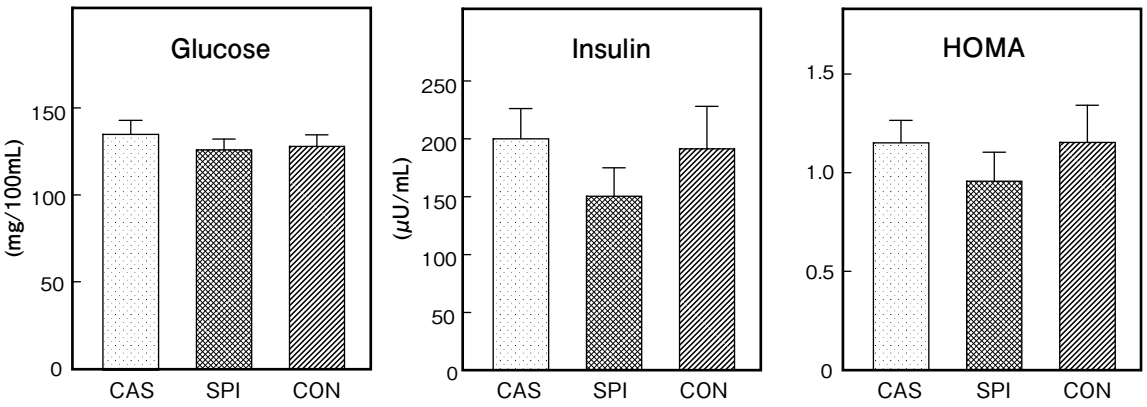

Fig. 2. Effect of dietary β-conglycinin on serum glucose and insulin levels in rats. All the data are expressed as mean ± SE of 6 rats. CAS, casein; SPI, soy protein isolate; CON, β-conglycinin; HOMA (homeostatic model assessment) = insulin (mU/L)/$22.5e^{-\ln \text{glucose (mM)}}$.

要　　約

大豆たん白質の主要な構成成分の一つであるβ-コングリシニンが脂質代謝だけでなく糖代謝に対しても影響するかどうかの可能性を検討するために，今回，β-コングリシニン摂取による血清グルコース濃度やインスリン感受性への影響を調べた．たん白質源としてカゼイン（CAS）20%を含む食餌を対照とし，カゼインの50%を分離大豆たん白質（SPI）またはβ-コングリシニン（CON）で置き換えた食餌を調製した．実験動物として4週齢のSD系雄ラットを用い，それぞれの食餌を1ヶ月間，自由摂食させた．摂食開始後4週目にインスリン耐性試験（ITT）を行った．その結果，食餌たん白質の違いは空腹時血糖値には影響を及ぼさなかったが，インスリンを投与して90分後の血糖値がCAS群に比べSPI群さらにはCON群で低くなった．この両群の血清アディポネクチン濃度はCAS群に比べ高く，インスリン投与後の血糖値変化との関連が考えられた．これまでの報告と同様に，SPIおよびCONの摂取による脂肪組織重量低減や肝臓トリグリセリド値の低下は今回も認められ，β-コングリシニンは脂質代謝だけでなく糖代謝にも影響する可能性が示唆された．

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, down-regulation of fatty acid synthase, and inhibition of triglyceride absorption. *Biosci Biotechnol Biochem*, **68**, 352-359.

3) 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.

4) 古場一哲，及川大地，田丸静香，田中一成，菅野道廣（2011）：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．大豆たん白質研究，**14**，91-95.

5) Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MRS, Yen FT, Bihain BE and Lodish HF (2001): Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Nat Acad Sci USA*, **98**, 2005-2010.

6) Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KSL and Cooper GJS (2003): The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease in mice. *J Clin Invest*, **112**, 91-100.

7) Yamauchi T, Kaman J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB and Kadowaki T (2002): Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinas. *Nat Med*, **8**, 1288-1295.

8) 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.

9) 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.

10) Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M and Scherer PE (2001): The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med*, **7**, 947-953.

11) Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF and Turner RC (1985): Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, **28**, 412–419.