

大豆たん白質 β -コングリシニンの 非アルコール性脂肪肝改善・NASH予防効果と作用機序の解明

山崎聖美*

独立行政法人国立健康・栄養研究所基礎栄養研究部

The Effect of Soy Protein β -conglycinin on Nonalcoholic Fatty Liver Disease and NASH

Tomomi YAMAZAKI*

Department of Nutritional Science, National Institute of Health and Nutrition, Tokyo 162-8636

ABSTRACT

The prevalence of obesity in Western societies has increased dramatically, due in large part to high-sucrose and high-fat diets. The consequences of obesity include the emerging epidemics of hepatic steatosis and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Fatty liver has been thought to be benign. However, it is a precursor of nonalcoholic steatohepatitis (NASH), which progresses to cirrhosis in up to 25% of patients. Soy protein is composed of the two major proteins, β -conglycinin and glycinin. β -Conglycinin is known to decrease plasma TG concentrations and is considered to have protective effects against fatty liver. Mice fed a high-fat diet, especially one with saturated fat-rich oil, develop fatty liver with an increase in PPAR γ 2 protein in the liver. The fatty liver induced by a high-fat diet is improved by the knockdown of liver PPAR γ 2. In our previous study, β -conglycinin could reduce PPAR γ 2 protein and prevent high-fat-diet-induced fatty liver in ddY mice. We analyzed the effects of soybean β -conglycinin on NAFLD induced by a high-fat diet in ddY mice. Mice with obesity induced by a high-fat diet for 8 weeks were fed a high-fat diet (60 en%), middle-fat diet (30 en%) or low-fat diet (10 en%) for 5 weeks. Either β -conglycinin or casein was given as dietary protein. β -Conglycinin supplementation did not improve NAFLD. A high-fat diet increased PPAR γ 2 and target mRNA in the liver, but β -conglycinin did not reduce these increases. *Soy Protein Research, Japan* **17**, 99-102, 2014.

Key words : NAFLD, β -conglycinin, high-fat diet, PPAR γ 2

*〒162-8636 東京都新宿区戸山1-23-1

非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) は良性疾患と軽く考えられていたが、メタボリックシンドローム発症にも関係し、肝硬変、肝臓にも至ることがあり、さらに、日本人中年男性を対象とした研究からNAFLDは2型糖尿病の危険因子であると報告され¹⁾、臨床的に重要な疾患として認識されるようになってきた。

食事が関係するNAFLDの原因として、砂糖過剰摂取、脂肪過剰摂取があげられる。しかし、一般的な予防・治療法としてはカロリー制限、運動が知られているが、食事成分による予防・治療法に関して殆ど研究されていない。我々は、砂糖過剰摂取による脂肪肝では肝臓でのsterol regulatory element-binding protein (SREBP)-1c活性化が主因で、高脂肪食による脂肪肝ではperoxisome proliferators-activated receptor (PPAR) γ 活性化が主因であることを見出した²⁾。高脂肪食摂取による脂肪肝発症にはPPAR γ 発現抑制が有効であり³⁾、大豆に含まれるたん白質の一つ β -コングリシニン⁴⁾は、高脂肪食摂取時に肝臓におけるPPAR γ 発現を抑制することによって、高脂肪食誘導性脂肪肝発症を予防することを見出した⁴⁾。

β -コングリシニンは、血中中性脂肪および内臓脂肪を減少させ、肝臓では脂肪酸の β 酸化をさかんにし、脂肪酸合成酵素を不活性化させることが知られており⁵⁾、メタボリックシンドローム発症を抑制する食品成分として注目されている。さらに、肥満マウスへの投与による血糖値、血中中性脂肪濃度、インスリン濃度の低下⁶⁾、肥満者への投与による血中中性脂肪濃度の低下、内臓脂肪量の減少が報告されている⁷⁾。そこで、本研究では、高脂肪食により発症した脂肪肝に対する β -コングリシニンの改善効果について調べた。

方 法

実験動物および実験飼料

6週齢のddYマウス (♂) に1週間普通エサを食わせて飼育した後、60en%脂肪、20en%炭水化物、20en%たん白質 (カゼイン) を8週間投与し、肥満および脂肪肝を発症させた。その後、60en%脂肪、20en%炭水化物、20en%たん白質 (高脂肪食摂取群; HF)、30en%脂肪、50en%炭水化物、20en%たん白質 (中脂肪食摂取群; MF)、10en%脂肪、70en%炭水化物、20en%たん白質 (低脂肪食摂取群; LF) の3種の栄養素比率の異なるエサで、さらにそれぞれのエサについてたん白質がカゼインのものと β -コングリシニンのものを作製し、マウスを6群に分けて5週間投与し解剖後解析を行った (各群8匹)。

肝臓トリグリセリド量の測定

肝臓の総脂質をクロロホルム:メタノール (2:1) にて抽出し、肝臓中のトリグリセリド (TG) 量を測定した。

血清パラメータの測定

血中トリグリセリド濃度、コレステロール濃度、インスリン濃度は、それぞれトリグリセリドE-テストワコー、コレステロールE-テストワコー、モリナガ超高度マウスインスリン測定キットを使用して測定した。

肝臓におけるmRNA発現量

TRIzolにて肝臓からRNAを調製後、リアルタイムPCRを用いて肝臓mRNA量について調べた。

結 果

5週間投与後の体重、肝臓、脂肪組織重量

HFカゼインを8週間投与したマウスの体重は 61.0 ± 2.1 gであった。このマウスをHFカゼイン、HF β -コングリシニン、MFカゼイン、MF β -コングリシニン、LFカゼイン、LF β -コングリシニン投与群の6群に分け、さらに5週間投与した結果、体重はHFカゼイン投与群 68.2 ± 2.5 g、HF β -コングリシニン投与群 67.4 ± 2.3 g、MFカゼイン投与群 58.0 ± 2.2 g、MF β -コングリシニン投与群 61.4 ± 0.8 g、LFカゼイン投与群 54.4 ± 1.6 g、LF β -コングリシニン投与群 56.7 ± 1.8 gであった。HF、MF、LF中の各群間に有意差はなかった。また、5週間の全摂取エネルギーも各群間に有意差はなかった。肝臓重量、精巣周囲脂肪組織重量についてはFig. 1に示す。

肝臓トリグリセリド量

肝臓トリグリセリド量についての結果をFig. 2に示す。 β -コングリシニンによる脂肪肝改善はみられなかった。

血糖値、血中TG、コレステロール、インスリン濃度

血糖値、血中TG、コレステロール濃度はHF、MF、LF中の各群間に有意差はみられなかった。インスリン濃度の結果をFig. 3に示す。

肝臓におけるmRNA発現量

肝臓におけるPPAR γ 2 mRNA発現量についてFig. 4に示す。PPAR γ 2の標的遺伝子であるCD36、FSP27の

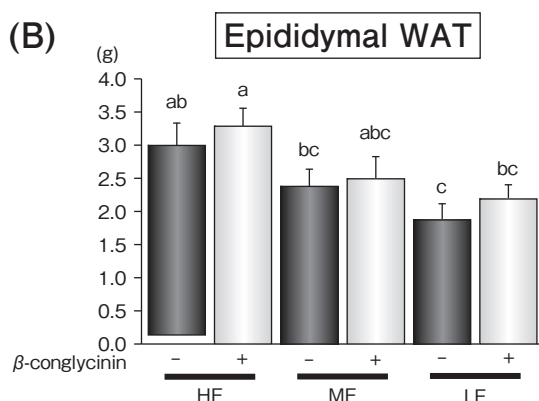
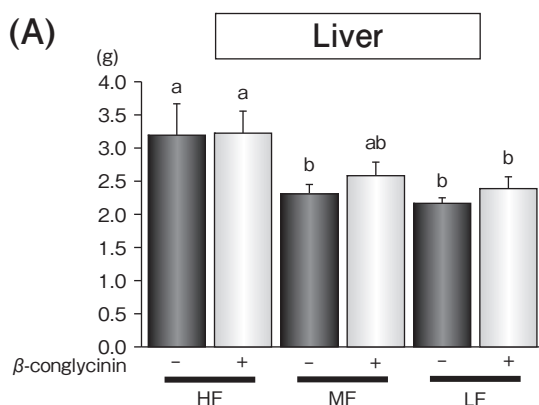


Fig. 1. Liver (A) and epididymal WAT (B) weights of mice after 5 weeks on experimental diets. Values are mean $\pm$ SEM (n=8). Means without a common letter differ ($p<0.05$). HF, high-fat diet; MF, middle-fat diet; LF, low-fat diet.

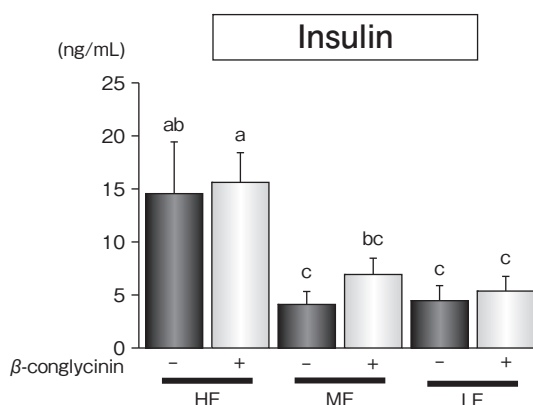


Fig. 3. Serum analysis of insulin in mice after 5 weeks on experimental diets. Values are mean $\pm$ SEM (n=8). Means without a common letter differ ($p<0.05$). HF, high-fat diet; MF, middle-fat diet; LF, low-fat diet.

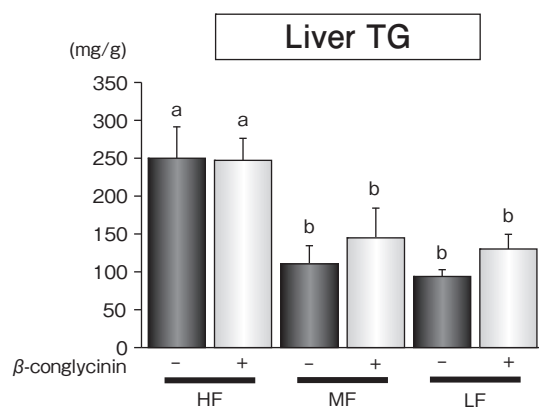


Fig. 2. Hepatic TG concentrations of mice after 5 weeks on experimental diets. Values are mean $\pm$ SEM (n=8). Means without a common letter differ ($p<0.05$). HF, high-fat diet; MF, middle-fat diet; LF, low-fat diet.

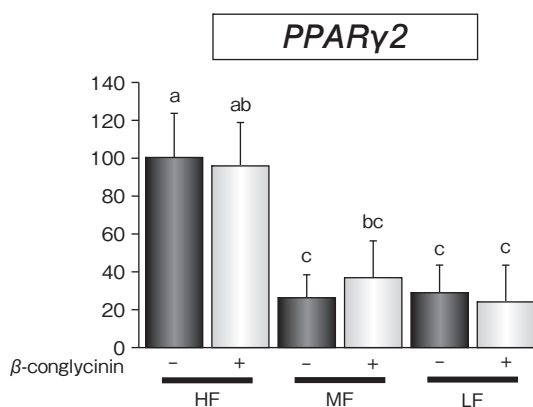


Fig. 4. Hepatic PPAR γ 2 gene expression in mice after 5 weeks on experimental diets. Values are mean $\pm$ SEM (n=8). Means without a common letter differ ($p<0.05$). HF, high-fat diet; MF, middle-fat diet; LF, low-fat diet.

mRNA発現量は、HF、MF、LF中の各群間で有意な差はみられなかった。

考 察

β -コングリシニンには高脂肪食による脂肪肝発症に対する予防効果はあるが、脂肪肝改善効果はみられなかった。予防効果を示す時と同様に、肝臓におけるPPAR γ 2 mRNA発現量の増加を抑制していたが、そ

の標的遺伝子であるCD36やFSP27といった脂肪酸流入や脂肪滴保護に働くたん白質をコードする遺伝子の発現増加を抑制、減少させられなかったことが原因と考えられた。脂肪肝改善には脂肪摂取量を減少させることが最も効果的であった。発症した脂肪肝の改善には、強力に脂肪を燃焼させる作用を有する食品成分が有効と考えられる。脂肪肝を発症予防するために、普段の食事では β -コングリシニンを多く含む大豆製品を摂取することが大切である。

要 約

高脂肪食摂取によって発症した脂肪肝の改善に対する大豆たん白の一つ β -コングリシニンの効果について調べた。 β -コングリシニンは、高脂肪食摂取によって発症する脂肪肝には予防効果を有するが、発症した脂肪肝に対する改善効果はみられなかった。高脂肪食摂取による脂肪肝発症の原因となるPPAR γ 2および標的遺伝子の発現を減少させられなかったためと考えられた。

文 献

- 1) Shibata M, Kihara Y, Taguchi M, Tashiro M and Otsuki M (2007): Nonalcoholic fatty liver disease is a risk factor for type 2 diabetes in middle-aged Japanese men. *Diabetes Care*, **30**, 2940-2944.
- 2) Yamazaki T, Nakamori A, Sasaki E, Wada S and Ezaki O (2007): Fish oil prevents sucrose-induced fatty liver but exacerbates high-safflower oil-induced fatty liver in ddY mice. *Hepatology*, **46**, 1779-1790.
- 3) Yamazaki T, Shiraishi S, Kishimoto K, Miura S and Ezaki O (2011): An increase in liver PPAR γ 2 is an initial event to induce fatty liver in response to a diet high in butter: PPAR γ 2 knockdown improves fatty liver induced by high-saturated fat. *J Nutr Biochem*, **22**, 543-553.
- 4) Yamazaki T, Kishimoto K, Miura S and Ezaki O (2012): Dietary β -conglycinin prevents fatty liver induced by a high-fat diet by a decrease in peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 protein. *J Nutr Biochem*, **23**, 123-132.
- 5) Fukui K, Kojima M, Tachibana N, Kohno M, Takamatsu K, Hirotsuka M and Kito M (2004): Effects of soybean β -conglycinin on hepatic lipid metabolism and fecal lipid excretion in normal adult rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, **68**, 1153-1155.
- 6) 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.
- 7) Kohno M, Hirotsuka M, Kito M and Matsuzawa Y (2006): Decreases in serum triacylglycerol and visceral fat mediated by dietary soybean β -conglycinin. *J Atheroscler Thromb*, **13**, 247-255.