

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05883

研究課題名(和文)米アルブミンの大量調製法の確立とその消化ペプチドの血糖値上昇抑制作用機序の解明

研究課題名(英文)Preparation of rice albumin on a large scale and the suppressive mechanism of its digestive peptides on blood glucose elevation

研究代表者

熊谷 日登美 (KUMAGAI, Hitomi)

日本大学・生物資源科学部・教授

研究者番号：20225220

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：難消化性米アルブミン(RA)を大量に抽出するため、生米や米糠に種々の酵素を作用させた。米胚乳ではグルコアミラーゼ、米糠ではヘミセルラーゼの使用により、タンパク質濃度が増加した。さらに、トリプシンにより夾雑タンパク質が除去された。RAの消化で得られる14 kDaの難消化性高分子ペプチドはグルコースを吸着し、排出を促進するが、ジャポニカ米だけでなく、インディカ米やジャバニカ米の中にもHMPが含まれていた。2 kDa以下の低分子ペプチドはグルコーストランスポーターの発現を抑制するが、それに加え、インクレチンの分泌を促進した。RAの2型糖尿病モデルラットに対する長期投与では、HbA1c値が低下した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病の患者の多くは2型であり、この予防と治療には、食後の血糖値上昇を穏やかにする食品の摂取が有効である。しかし、特定保健用食品に用いられている有効成分は、デンプンやショ糖分解酵素の阻害作用を示すものである。難消化性米アルブミン(RA)は、グルコースの吸着およびグルコーストランスポーターの発現抑制というdual functionで、グルコースを摂取した場合でも血糖値の上昇を抑制するが、米胚乳から、硫安沈殿などを経て抽出する必要があった。本研究の成果により、安価に手に入る米糠やジャポニカ以外の米からもRAが抽出できることが明らかになった。さらに、RAが糖尿病の治療にも有効であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)： In order to extract a large amount of indigestible rice albumin (RA), various enzymes were applied to rice and rice bran. The use of glucoamylase in rice endosperm and hemicellulase in rice bran increased the protein concentration. In addition, trypsin removed contaminating proteins.

A 14-kDa indigestible high-molecular-weight peptide obtained by RA digestion adsorbs glucose and promotes its excretion. HMP was found not only in Japonica rice, but also in Indica and Javanica rice. Small peptides of 2 kDa or less inhibited the expression of glucose transporters, but also promoted the secretion of incretins. Long-term administration of RA to type 2 diabetes model rats decreased HbA1c level.

研究分野：食品科学

キーワード：米アルブミン 血糖値上昇抑制 米糠アルブミン グルコース吸着 ジャポニカ米 インディカ米 ジャバニカ米 糖尿病予防

1. 研究開始当初の背景

食生活や生活習慣の変化により糖尿病の患者数は世界的に増大している。患者の多くは、2型糖尿病であり、この予防と治療には、食後血糖値の上昇を穏やかにする食品の摂取が有効である。我々は、16 kDa のジャポニカ米胚乳アルブミン (REA) が、健常ラットにおいて、グルコースを摂取させた場合にも、血糖値の上昇を抑制することを明らかとしている。REA は、消化過程で 14 kDa の難消化性高分子ペプチド (HMP) と 2 kDa 以下の低分子ペプチド (LMP) に分解され、HMP が食物繊維様にグルコースを吸着し、LMP がグルコーストランスポーターの発現を抑制することにより、小腸でのグルコース吸収を抑制すると考えられる。しかし、ジャポニカ米胚乳は日本人が日々摂取する米であり、高価であるのと、抽出効率があまり高くないということが課題であった。また、糖尿病モデルラットに対する長期投与の効果も不明であった。

2. 研究の目的

本研究では、安価に手に入る米糠(赤糠および中糠)やジャポニカ以外の品種の米(インディカ米およびジャバニカ米)から、酵素(α -アミラーゼ、 α -グルコシダーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼ、プルラーゼ、ヘミセルラーゼ、トリプシン)処理により、16 kDa の難消化性米アルブミンが得られるか見当した。さらに、2型糖尿病モデルラットに、米アルブミンを長期投与した場合の効果についても検討した。

3. 研究の方法

(1) 米胚乳および米糠からのアルブミン抽出

生米あるいは米糠の粉末を緩衝液に溶解し、 α -アミラーゼを作用させた後、 α -グルコシダーゼ、 β -アミラーゼ、グルコアミラーゼまたはプルラーゼを加えて反応させた。反応溶液を加熱し酵素を失活後、遠心分離し得られた上清中の還元糖量およびタンパク質濃度を測定した。米糠アルブミンの抽出においては、上記酵素に加え、ヘミセルラーゼも作用させた。また、トリプシンを作用させ、夾雑タンパク質の除去を試みた。抽出タンパク質が、16 kDa のアルブミンを含んでいるか、SDS-PAGE により評価した。

(2) 米アルブミンの消化耐性の測定

米アルブミンに、ペプシン、パンクレアチンを反応させ、14 kDa の難消化性高分子ペプチドが含まれるか否かを SDS-PAGE により測定し、その消化耐性を評価した。

(3) 米アルブミンのグルコース吸着能の測定

米アルブミンとグルコースの混合溶液から、透析膜を介してグルコースが拡散する速度を測定し、グルコース拡散モデルを用いて、グルコース吸着量を算出した。

(4) インクレチン分泌量の測定

マウス小腸上皮由来細胞株 (STC-1 細胞) にジャポニカ米胚乳アルブミンあるいは、その分解で生成する低分子ペプチドを添加し、培地上清中の GLP-1 分泌量を測定した。

(5) 抗糖尿病作用の *in vivo* での評価

2 型糖尿病モデルラットに、米アルブミンを 4 週間、連日経口胃内投与した。4 週間の投与終了後、経口グルコース負荷時における血糖値とインスリン値を測定し、長期的な血糖値の評価指標として糖化ヘモグロビン (HbA1c) 値を測定した。

4. 研究成果

(1) 16 kDa の米アルブミンの有無

赤糠, 中糠, インディカ米, ジャバニカ米から抽出したアルブミン画分は, いずれも, ジャポニカ米と同様に, 16 kDa のタンパク質を有していた。

(2) 米アルブミンの消化耐性

米アルブミンに対し, ペプシンを 2 時間, パンクレアチンを 2~6 時間作用させても, インディカ米, ジャバニカ米, 中糠から抽出したアルブミンは, 14 kDa のペプチドは分解されなかった。一方, 赤糠から抽出したアルブミンは, ペプシンを 2 時間作用させた段階で, かなり分解され, 消化耐性は低かった。

(3) 米アルブミンのグルコース吸着能

米アルブミンのグルコース能は, 中糠アルブミンが最も高く, 次いで, 赤糠アルブミンであり, ジャポニカ米胚乳アルブミンの約 2 倍のグルコースを吸着した。しかし, 赤糠アルブミンは消化耐性が低いので, 小腸内では, グルコースの吸着能は低下すると考えられる。インディカ米胚乳アルブミンとジャバニカ米胚乳アルブミンは, グルコース吸着能が低く, ジャポニカ米アルブミンの約 20% 程度であった。

(4) インクレチン分泌量の測定

ジャポニカ米胚乳アルブミン, および, その消化で生成する 2 kDa 以下の低分子ペプチドは, GLP-1 分泌を促進した。

(5) 抗糖尿病作用の *in vivo* での評価

米胚乳アルブミンを, 2 型糖尿病モデルラット 4 週間, 連日投与することにより, 糖化ヘモグロビン (HbA1c) 値が低下した。

以上の成果から, 難消化性の 16 kDa 米アルブミンは, 中糠からも得られ, 中糠アルブミンは, 安価な食後血糖値上昇抑制作用を有する機能性タンパク質としての活用が可能である。また, 米アルブミンは, 糖尿病の予防だけでなく, 治療としての利用も期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Rio Ogawa, Chiaki Sugimoto, Aya Hamada, Kazumi Ninomiya, Shigenobu Ina, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai	4. 巻 1
2. 論文標題 Differences and similarities of albumins from japonica rice bran, japonica, indica, and javanica rice endosperm in the suppressive effect of postprandial blood glucose elevation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Sustainable Food Proteins	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/sfp2.1006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kazumi Ninomiya, Yusuke Yamaguchi, Fumie Shinmachi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai	4. 巻 11
2. 論文標題 Suppression of postprandial blood glucose elevation by buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i>) albumin hydrolysate and identification of the peptide responsible to the function	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Food Science and Human Wellness	6. 最初と最後の頁 992 ~ 998
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fshw.2022.03.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kazumi Ninomiya, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai	4. 巻 6
2. 論文標題 Physicochemical and functional properties of buckwheat (<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench) albumin	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Future Foods	6. 最初と最後の頁 100178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fufo.2022.100178	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 小川里桜, 山口勇将, 熊谷日登美	4. 巻 6
2. 論文標題 米アルブミンによる食後血糖値上昇抑制作用 – 小腸におけるグルコーストランスポーター発現抑制とグルコース吸着 –	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 42-46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yusuke Yamaguchi, Yushi Hirata, Takeshi Saito, Hitomi Kumagai	4. 巻 10
2. 論文標題 Combined effects of amino acids in garlic and buna-shimeji (<i>Hypsizygus marmoreus</i>) on suppression of CCl4-induced hepatic injury in rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 1491
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/foods10071491	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hitoshi Kumagai, Atsuko Hasegawa-Tanigome, Kazumi Ninomiya, Yusuke Yamaguchi, Hitomi Kumagai	4. 巻 27
2. 論文標題 Physical and textural properties of foods with swallowing ease for aged people	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Food Science and Technology Research	6. 最初と最後の頁 817-836
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3136/fstr.27.817	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ninomiya Kazumi, Ina Shigenobu, Nakamura Hanae, Yamaguchi Yusuke, Kumagai Hitomi, Kumagai Hitoshi	4. 巻 129
2. 論文標題 Evaluation of the amount of glucose adsorbed on water-soluble dietary fibres by the analysis of its diffusion rate through a dialysis membrane	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Food Hydrocolloids	6. 最初と最後の頁 107626
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.foodhyd.2022.107626	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ryosuke Abe, Narumi Matsukaze, Hayato Kobayashi, Yusuke Yamaguchi, Harumi Uto-Kondo, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai	4. 巻 9
2. 論文標題 Allergenicity of deamidated and/or peptide-bond-hydrolyzed wheat gliadin by transdermal administration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 635 (14 pages)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/foods9050635	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shigenobu Ina, Aya Hamada, Hanae Nakamura, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai	4. 巻 64
2. 論文標題 Rice (<i>Oryza sativa japonica</i>) albumin hydrolysates suppress postprandial blood glucose elevation by adsorbing glucose and inhibiting Na ⁺ -d-glucose cotransporter SGLT1 expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Functional Foods	6. 最初と最後の頁 103603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jff.2019.103603	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yusuke Yamaguchi, Hitomi Kumagai	4. 巻 19
2. 論文標題 Characteristics, biosynthesis, decomposition, metabolism and functions of the garlic odour precursor, S-allyl-L-cysteine sulfoxide (Review)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Experimental and Therapeutic Medicine	6. 最初と最後の頁 1528-1535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/etm.2019.8385	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Harumi Uto-Kondo, Ayaka Sakurai, Kazuki Ogawa, Yusuke Yamaguchi, Takeshi Saito, Hitomi Kumagai	4. 巻 12
2. 論文標題 Suppressive effect of shiitake extract on plasma ethanol elevation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu12092647	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 松原奈緒, 小川里桜, 稲成信, 二宮和美, 山口勇将, 熊谷仁, 熊谷日登美
2. 発表標題 米胚乳アルブミンの食後血糖値上昇抑制作用と抗糖尿病効果の検討
3. 学会等名 第77回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Rio Ogawa, Shigenobu Ina, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai
2. 発表標題 The suppressive effect of rice-albumin hydrolysates on postprandial hyperglycemia on glucose loading
3. 学会等名 22nd IUNS- ICN (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nao Matsubara, Rio Ogawa, Kazumi Ninnomiya, Shigenobu Ina, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai
2. 発表標題 Search for proteins that inhibit postprandial blood glucose elevation in rice bran and various rice varieties
3. 学会等名 22nd IUNS- ICN (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二宮和美, 稲成信, 中村華恵, 小川里桜, 山口勇将, 熊谷仁, 熊谷日登美
2. 発表標題 穀物アルブミンの食後血糖値上昇抑制作用およびそのメカニズム
3. 学会等名 日本食品工学会第23回 (2022年度) 年次大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松原奈緒, 小川里桜, 杉本千晶, 濱田彩, 二宮和美, 稲成信, 山口勇将, 熊谷仁, 熊谷日登美
2. 発表標題 糠や種々の品種の米中における食後血糖値上昇抑制効果を有するタンパク質の検索
3. 学会等名 2022年度日本農芸化学回関東支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山口勇将, 小川里桜, 杉本千晶, 濱田彩, 二宮和美, 稲成信, 熊谷仁, 熊谷日登美
2. 発表標題 血糖値上昇抑制効果を有する米由来タンパク質の探索
3. 学会等名 日本食品科学工学会第69回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二宮和美, 稲成信, 中村華恵, 小川里桜, 山口勇将, 熊谷仁, 熊谷日登美
2. 発表標題 穀物アルブミンによる食後血糖値上昇抑制効果
3. 学会等名 日本食品科学工学会第69回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二宮和美, 小川里桜, 山口勇将, 熊谷仁, 熊谷日登美
2. 発表標題 ソバアルブミンの物理化学的特性
3. 学会等名 日本食品科学工学会第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rio Ogawa, Kazumi Ninomiya, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai
2. 発表標題 Physicochemical properties of buckwheat albumin
3. 学会等名 2022 AOCs Meeting & Expo (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 二宮和美, 小川里桜, 山口勇将, 熊谷仁, 熊谷日登美
2. 発表標題 食後血糖値上昇抑制作用を有するソバアルブミンの食品加工への利用に向けた機能特性の評価
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hitomi Kumagai, Rio Ogawa, Shigenobu Ina, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai
2. 発表標題 Physicochemical and surface properties of rice albumin with suppressive effect on postprandial hyperglycemia
3. 学会等名 The 13th International Conference and Exhibition, Functional Food (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hitomi Kumagai, Ryosuke Abe, Narumi Matsuakze, Yusuke Yamaguchi, and Hitoshi Kumagai,
2. 発表標題 Evaluation of allergenicity of deamidated and/or hydrolyzed wheat gliadin by cutaneous sensitization
3. 学会等名 2021 AOCs Meeting & Expo (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rio Ogawa, Chiaki Sugimoto, Sunao Kotani, Shigenobu Ina, Kazumi Ninomiya, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai
2. 発表標題 Examination of an efficient extraction method for rice-bran albumin and its suppressive effect on postprandial blood glucose elevation
3. 学会等名 2021 AOCs Meeting & Expo (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小川里桜, 杉本千晶, 小谷純, 稲成信, 二宮和美, 山口勇将, 熊谷仁, 熊谷日登美
2. 発表標題 米糠アルブミンの効率的な抽出法の確立とその食後血糖値上昇抑制作用の検討
3. 学会等名 日本農芸化学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小川 里桜, 杉本 千晶, 小谷 純, 野端 拓光, 稲 成信, 二宮 和美, 山口 勇将, 熊谷 仁, 熊谷 日登美
2. 発表標題 食後血糖値上昇抑制作用を有する米タンパク質の効率的な抽出方法
3. 学会等名 日本農芸化学会関東支部2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hitomi Kumagai, Shigenobu Ina, Aya Hamada, Chiaki Sugimoto, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai
2. 発表標題 Rice albumin hydrolysates suppress glucose Absorption from the small intestine by dual function
3. 学会等名 2020 AOCs Meeting & Exp (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yusuke Yamaguchi, Rotimi Aluko, and Hitomi Kumagai
2. 発表標題 Albumin extracted from defatted flaxseed inhibits trypsin
3. 学会等名 2020 AOCs Meeting & Expo (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Chiaki Sugimoto, Aya Hamada, Shigenobu Ina, Yusuke Yamaguchi, Hitoshi Kumagai, Hitomi Kumagai
2. 発表標題 Rice-bran albumin is resistant to digestion and adsorbs glucose
3. 学会等名 2020 AOCs Meeting & Expo (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------