

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：33108

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05885

研究課題名(和文) 抗肥満成分を含む機能性食品素材としての米タンパク質の可能性

研究課題名(英文) Possibility of rice protein as a functional food material including anti-obesity component

研究代表者

久保田 真敏 (Kubota, Masatoshi)

新潟工科大学・工学部・准教授

研究者番号：00595879

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)：本研究では、これまであまり注目されてこなかった米のタンパク質を対象とし、米タンパク質の高付加価値化に繋がる新規機能性、特に肥満に与える影響を明らかにすることを目的とした。食事誘導性肥満モデルマウスにデンプン分解米胚乳タンパク質(SD-REP)、米糠タンパク質(RBP)を10ないし12週間給与させる試験を行った。その結果、SD-REPおよびRBPが抗肥満作用を有していることが示され、RBPの抗肥満作用はそのアミノ酸組成ならびにペプチドに由来することが示された。またRBPの作用メカニズムは、糞中への脂質排泄促進を介したものである可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で使用したSD-REPは食品素材として市販されているものであるため、本研究の成果により抗肥満成分を有する新たな食品素材として利用を後押しすることが期待される。またRBPは脱脂米糠の主成分の1つであり、その活用が問題となっていた。本研究の成果によりSD-REPと同様に抗肥満成分を有する食品素材として活用されることが期待される。特にRBPはその有効成分がアミノ酸組成と消化・吸収過程で生成するペプチドである可能性が示され、RBP加水分解物を利用した解析を進めることで、より抗肥満活性が強い画分のみを濃縮することが可能となり、より低用量で抗肥満作用を呈するサプリメントなどへの応用も期待される。

研究成果の概要(英文)：Rice is a staple food and an only self-sufficient cereal in Japan. Thus, increasing consumption of rice is one of the solution approaches on improving self-sufficiency in food. It is required that a new breakthrough is made because rice consumption is decreasing in Japan. Therefore we focused on the physiological functions of rice protein in this study because there are not enough studies about physiological functions of rice protein. We attempted to clarify the effects of rice protein on obese. Diet induced obese mice were fed starch-degraded rice endosperm protein (SD-REP) or rice bran protein (RBP) for 10 or 12 weeks. From these feeding experiments, it is shown that SD-REP and RBP had anti-obese effects in these model mice. It is also shown that this effect of RBP derived from the amino acids composition and some peptides in RBP. In addition, the underlying mechanism in anti-obese effect of RBP was attributable to increasing fecal lipid excretion.

研究分野：食品機能学

キーワード：米胚乳タンパク質 米糠タンパク質 抗肥満作用

1. 研究開始当初の背景

日本人の米の消費量は年々減少しており、それに伴い食料自給率も年々低下し、現在では約40%程度(カロリーベース)となっている。米は穀類では唯一自給可能な食品であり、この米の消費拡大は食料自給率改善に大きく寄与すると考えられている。しかし近年の食の欧米化や低糖質食の流行などもあり、現状のままでは米の消費拡大があまり期待できず、新たな観点からのブレイクスルーが必要となっている。一方、精米時に生成される米糠の有効活用が問題となっている。現在米糠の約55%は米油生産用に利用されているが、残りの約45%の米糠や米油生産の残渣である脱脂米糠は主に飼料、肥料やキノコの苗床などに利用されており、食品素材としての利用は非常に限られているのが現状である。このような状況は、資源の有効活用という面からも非常に大きな問題となっており、新たな食品素材としての米糠の可能性を広げるような研究が求められている。

米は肉類や魚介類に次ぐ3番目に重要なタンパク質供給源であり、その供給量は植物性タンパク質では最も多くなっている¹⁾。このような供給源として重要性から米胚乳タンパク質(REP)の価値は高く、その機能性に目を向けると近年になり機能性に関する報告が増えつつある。一方、米糠タンパク質(RBP)では機能性に関する研究はREPと同様にそれほど多くない。このような白米や米糠を取り巻く現状から、本研究ではこれからアジア圏を中心にその重要性に注目が集まることが期待される米タンパク質を対象とした。

現在の日本では肥満人口の割合は女性がほぼ横ばいで推移しているのに対し、男性は摂取エネルギーの増加はみられないにもかかわらず、その割合がほぼ右肩上がりに上昇している¹⁾。このような現状と糖尿病患者数の増加を考えると、肥満の改善はますます重要な問題として注目されている。この肥満は吸収エネルギーと消費エネルギーのバランスが吸収エネルギー過剰に傾くことによって引き起こされるものであり、余剰なエネルギーが脂肪組織に蓄えられた状態のことである。肥満は生活習慣病をはじめとしたさまざまな疾病の代表的な危険因子であり、食事や運動などの生活習慣の改善により肥満を抑制することが重要であると考えられている。このようなことから、特に食事の面では、社会的に抗肥満作用を有する食品素材あるいは食品成分の発見が非常に求められている。

2. 研究の目的

本研究では、REPおよびRBPの新規機能性を発見することを目的に、特に肥満に与える影響に注目し、食事誘導性肥満モデルマウスの肥満に与える影響について明らかにし、その作用メカニズムについても、吸収エネルギーの抑制作用や消費エネルギーの増加作用を中心に明らかにすることとした。

3. 研究の方法

(1)【試験Ⅰ】REPおよびRBPの摂取が肥満に与える影響を明らかにすることを目的とした。供試動物として6週齢の雄性C57BL/6マウスを用い、肥満誘導を目的として高脂肪高シヨ糖飼料(脂質含量を標準飼料の約4倍となる30%、シヨ糖含量を標準飼料の2倍となる20%に設定した)を12週間給与した。試験飼料は窒素源として、牛乳のタンパク質であるカゼイン、アルカリ抽出法により回収し消化性が高いことが報告されているアルカリ抽出米胚乳タンパク質(AE-REP)²⁾、RBPを用いて、粗タンパク質(CP)含量が20%となるように調製した。試験群として高脂肪高シヨ糖カゼイン(HC)群、高脂肪高シヨ糖AE-REP(REP)群、高脂肪高シヨ糖RBP(RBP)群、標準カゼイン(NC)群の計4群を設定した。試験期間中は肥満の状況を確認するために、体重(毎週)および飼料摂取量(毎日)を測定した。試験終了時には麻酔下にあることを十分に確認した後、下大静脈より採血を行い、各種臓器重量(肝臓、腎臓、精巣上体脂肪、腎周囲脂肪、腸間膜脂肪)を測定した。回収した血液は一般生化学分析に供した。また吸収エネルギー抑制作用に注目し、米タンパク質の抗肥満作用の作用メカニズムを解明するために、糞中への脂質排泄を測定した。

(2)【試験Ⅱ】試験Ⅰの検討結果より強力な抗肥満作用が確認されたRBPに注目し、RBP中の有効成分を明らかにすることを目的とした。試験飼料はカゼイン、RBP、RBPと同じアミノ酸組成となるように結晶の遊離アミノ酸を混合したアミノ酸混合物(AA)を用いて、CP20%となるように調整した。試験群として高脂肪高シヨ糖カゼイン(HC)群、高脂肪高シヨ糖RBP(RBP)群、高脂肪高シヨ糖AA(AA)群、標準カゼイン(NC)群の計4群を設定した。それ以外の試験条件は試験Ⅰと同様に行った。またRBPの抗肥満作用の作用メカニズムを明らかにするために、肝臓および脂肪組織中の脂質代謝関連遺伝子群(carnitine palmitoyltransferase-1(CPT-1), fatty acid synthase(FAS), peroxisome proliferator-activated receptor-(PPAR), PPAR, lipoprotein lipase(LPL), hormone sensitive lipase(HSL))の発現解析をreal time PCR法を用いて行った。

(3)【試験 III】新たな食品タンパク質素材として、デンプン分解米胚乳タンパク質 (SD-REP) が市販されるようになった。今後この SD-REP が REP の機能性研究の中心となる可能性が考えられる。またこの SD-REP は初年度の検討で使用した AE-REP と異なり、プロラミンの消化性が低下しており、難消化性のタンパク質を含んだ REP である²⁾。試験飼料はタンパク質源としてカゼイン、SD-REP を使用し、CP 20%となるように調製した。試験群として高脂肪高シヨ糖カゼイン (HC) 群、高脂肪高シヨ糖 SD-REP (HR) 群、標準カゼイン (NC) 群の計 3 群を設けた。試験期間は 10 週間とし、それ以外の条件は試験 I, II と同様に行った。

4. 研究成果

(1) 試験 I の結果より、NC 群と比較して HC 群で著しい体重増加がみられ、高脂肪高シヨ糖飼料により肥満が誘導されていることが確認された。高脂肪高シヨ糖飼料群間で比較すると、6 週目以降に HC 群と比較して RBP 群で有意に低値を示し、その体重増加抑制効果が試験終了時まで維持されていることが示された。一方 REP 群では減少する傾向はみられたものの、有意な抑制作用はみられなかった (図 1)。また各種脂肪重量の測定結果より、体重増加の結果と同様に HC 群と比較して、REP 群では有意な変動がみられなかったものの RBP 群で精巢上体脂肪、腎周囲脂肪、腸間膜脂肪の全ての項目で有意に低値を示した (図 2)。以上の結果より、カゼインと比較して AE-REP では明確な抗肥満作用はみられないものの、RBP が抗肥満作用を有していることが示された。RBP の抗肥満作用のメカニズムを解明するために、糞中への脂質排泄に与える影響を評価した。その結果、HC 群と比較して REP 群では有意な変動がみられなかったものの、RBP 群で約 3 倍有意に高値を示した (図 3)。このことから RBP における抗肥満作用は、糞中への脂質排泄促進による吸収エネルギーの抑制作用を介している可能性が示された。

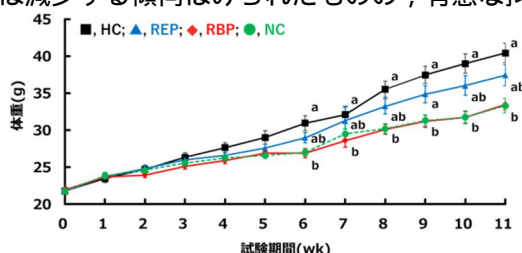


図 1. 米タンパク質の摂取が高脂肪高シヨ糖飼料摂取マウスの体重増加に与える影響 6週齢の雄性C57BL/6マウスに高脂肪高シヨ糖飼料を12週間摂取させ、試験期間中の体重変動を測定した。データは平均値±SEMで示した。HC群、高脂肪高シヨ糖カゼイン群; REP群、高脂肪高シヨ糖アルカリ抽出米胚乳タンパク質群; RBP群、高脂肪高シヨ糖米糠タンパク質群; NC群、標準カゼイン群。^{a,b}P<0.05。

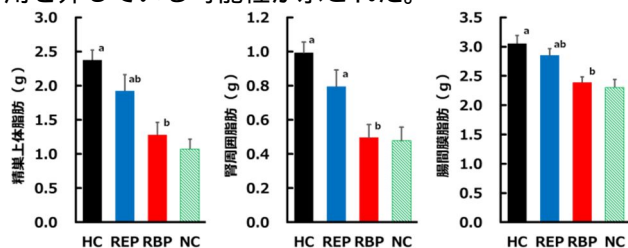


図 2. 米タンパク質の摂取が高脂肪高シヨ糖飼料摂取マウスの脂肪蓄積に与える影響 6週齢の雄性C57BL/6マウスに高脂肪高シヨ糖飼料を12週間摂取させ、各種脂肪重量を測定した。データは平均値±SEMで示した。HC群、高脂肪高シヨ糖カゼイン群; REP群、高脂肪高シヨ糖アルカリ抽出米胚乳タンパク質群; RBP群、高脂肪高シヨ糖米糠タンパク質群; NC群、標準カゼイン群。^{a,b}P<0.05。

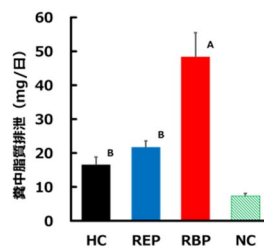


図 3. 米タンパク質の摂取が高脂肪高シヨ糖飼料摂取マウスの糞中脂質排泄に与える影響 6週齢の雄性C57BL/6マウスに高脂肪高シヨ糖飼料を12週間摂取させ、糞中への脂質排泄を測定した。なお、糞の回収は試験終了直前の2日間行い、データは平均値±SEMで示した。HC群、高脂肪高シヨ糖カゼイン群; REP群、高脂肪高シヨ糖アルカリ抽出米胚乳タンパク質群; RBP群、高脂肪高シヨ糖米糠タンパク質群; NC群、標準カゼイン群。^{A,B}P<0.01。

(2) 試験 I の結果より、RBP において強力な抗肥満作用を有していることが明らかとなった。そこで試験 II では RBP 中の有効成分を明らかにすることを目的に、RBP 中のアミノ酸組成に注目し、RBP のアミノ酸組成が肥満に与える影響を検討した。体重増加の結果より、試験開始 4 週目以降で HC 群と比較して RBP 群で有意に低値を示したが、AA 群では減少する傾向はみられたものの有意な変動がみられず、十分な体重増加抑制効果がみられなかった (図 4)。各種脂肪重量の測定結果より、試験 I と同様に RBP 群では有意に低値を示した。一方、AA 群では HC 群と比較して有意な変動がみられず、脂肪蓄積に対して十分な抑制効果がみられなかった (図 5)。以上の結果より、RBP の抗肥満作用の一部はアミノ酸組成に由来する可能性があるものの、消化・吸収の過程で生成する何らかの生理活性ペプチドも抗肥満作用に関与する可能性が示された。

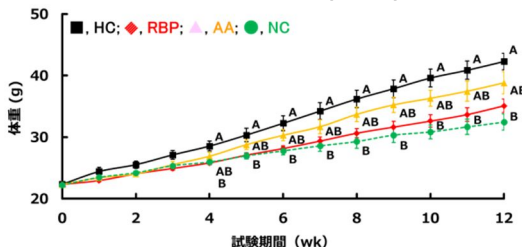


図 4. 米糠タンパク質の摂取が高脂肪高シヨ糖飼料摂取マウスの体重増加に与える影響 6週齢の雄性C57BL/6マウスに高脂肪高シヨ糖飼料を12週間摂取させ、試験期間中の体重変動を測定した。データは平均値±SEMで示した。HC群、高脂肪高シヨ糖カゼイン群; RBP群、高脂肪高シヨ糖米糠タンパク質群; AA群、高脂肪高シヨ糖アミノ酸配合群; NC群、標準カゼイン群。^{A,B}P<0.01。

次に RBP の抗肥満作用メカニズムを解明するために、糞中への脂質排泄を測定した。試験 I と同様に、HC 群と比較して RBP 群で有意に高値を示し、RBP 摂取により糞中への脂質排泄が促進されている可能性が示された (図 6)。また AA 群では、糞中への脂質排泄が増加する傾向はみられたものの有意な変動はみられず、体重増加や脂肪蓄積の結果と同様の傾向が得られた。さらに肝臓および脂肪組織中の脂質代謝関連遺伝子群の発現解析を行った。脂肪酸の燃焼に関わる酸化系の律速酵素である CPT-1、酸化系の律速酵素などの発現を調節する作用を有する核内転写因子である PPAR-³⁾、脂肪酸の合成に関わる FAS の肝臓中遺伝子発現量を測定した

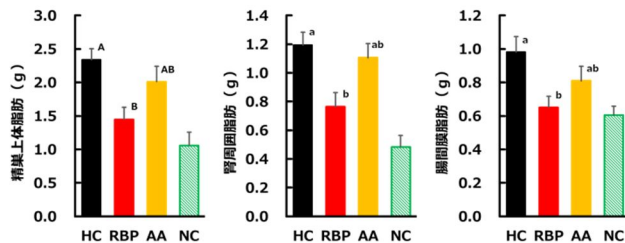


図5. 米糠タンパク質の摂取が高脂肪高シロ糖飼料摂取マウスの脂肪蓄積に与える影響
6週齢の雄性C57BL/6マウスに高脂肪高シロ糖飼料を12週間摂取させ、各種脂肪重量を測定した。データは平均値±SEMで示した。HC群, 高脂肪高シロ糖カゼイン群; RBP群, 高脂肪高シロ糖米糠タンパク質群; AA群, 高脂肪高シロ糖アミノ酸混合群; NC群, 標準カゼイン群。^{a,b}P<0.05, ^{A,B}P<0.01。

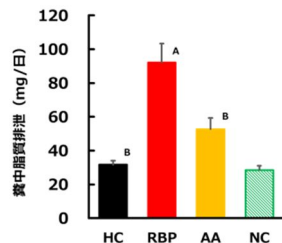


図6. 米糠タンパク質の摂取が高脂肪高シロ糖飼料摂取マウスの糞中脂質排泄に与える影響
6週齢の雄性C57BL/6マウスに高脂肪高シロ糖飼料を12週間摂取させ、糞中の脂質排泄を測定した。なお、糞の回収は試験終了直前の2日間行い、データは平均値±SEMで示した。HC群, 高脂肪高シロ糖カゼイン群; RBP群, 高脂肪高シロ糖米糠タンパク質群; AA群, 高脂肪高シロ糖アミノ酸混合群; NC群, 標準カゼイン群。^{A,B}P<0.01。

が、明確な変動はみられなかった。またリポタンパク質から脂肪酸を遊離させることで脂肪組織への中性脂肪蓄積に関与する LPL⁴⁾、脂肪組織から血中への脂肪酸の放出に関わる HSL⁵⁾、脂肪細胞の分化に関わる PPAR-⁶⁾、FAS の脂肪組織中の発現量についても解析を行ったが、明確な変動はみられなかった。これら遺伝子群の変動がみられなかった原因として、サンプルを回収した時期が適切でなかった可能性が考えられた。遺伝子発現はさまざまなタンパク質発現より前に変動し、その後タンパク質発現が変動することで生物はさまざまな生理応答を示す。このような発現変動順序の違いを考慮すると RBP 摂取による遺伝子発現の変動は、体重増加や脂肪蓄積の抑制が確認される前に起きていることが予測され、今回サンプルを回収した時点では、RBP による遺伝子発現変動が終了し、体重増加抑制や脂肪蓄積抑制に対する二次的な応答を検出している可能性が考えられた。RBP による脂質代謝遺伝子発現への影響をより正確に評価するためには、より短い試験期間を設定する必要があると考えられた。

以上の検討結果より、RBP の抗肥満作用は RBP のアミノ酸組成および消化・吸収の過程で生成される生理活性ペプチドにより発揮される可能性が示され、その作用メカニズムは糞中への脂質排泄促進を介した吸収エネルギーの抑制作用が関与している可能性が示された。

(3) 試験 III の結果より、体重増加は HC 群と比較して HR 群で有意に低値を示し、その抑制は NC 群とほぼ同程度となっていた (図 7)。また各種脂肪重量の測定結果より、HC 群と比較して

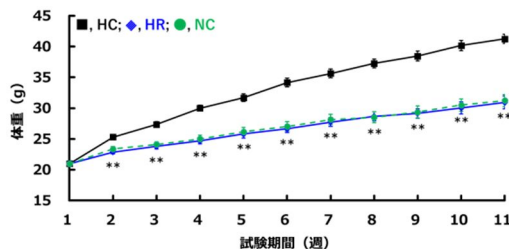


図7. デンプン分解米胚乳タンパク質の摂取が高脂肪高シロ糖飼料摂取マウスの体重増加に与える影響
6週齢の雄性C57BL/6マウスに高脂肪高シロ糖飼料を10週間摂取させ、試験期間中の体重変動を測定した。データは平均値±SEMで示した。HC群, 高脂肪高シロ糖カゼイン群; HR群, 高脂肪高シロ糖デンプン分解米胚乳タンパク質群; NC群, 標準カゼイン群。^{**}P<0.01。

全ての項目において HR 群で有意に低値を示し、SD-REP 摂取により脂肪蓄積が抑制されている可能性が示された (図 8)。以上の結果より、SD-REP の摂取が抗肥満作用を有していることが示された。また SD-REP の抗肥満作用の作用メカニズムを解明するために、糞中への脂質排泄を測定した。体重増加や脂肪蓄積の結果と異なり、HC 群と比較して HR 群で明確な脂質排泄促進作用はみられなかった (図 9)。このことから、SD-REP の抗肥満作用は RBP と異なり糞中への脂質排泄促進を介した吸収エネルギーの抑制作用

以外の経路により、発揮されている可能性が示された。特に SD-REP は難消化性のタンパク質であるプロラミンを含んでいることが報告されており²⁾、このような難消化性タンパク質が腸内細菌叢のバランスに影響し、抗肥満作用を発揮している可能性が推察された。

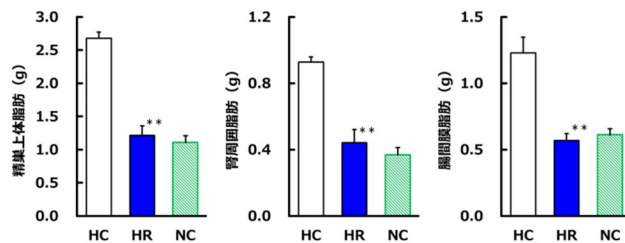


図8. デンプン分解米胚乳タンパク質の摂取が高脂肪高シロ糖飼料摂取マウスの脂肪蓄積に与える影響
6週齢の雄性C57BL/6マウスに高脂肪高シロ糖飼料を10週間摂取させ、各種脂肪組織重量の測定を行った。データは平均値±SEMで示した。HC群, 高脂肪高シロ糖カゼイン群; HR群, 高脂肪高シロ糖デンプン分解米胚乳タンパク質群; NC群, 標準カゼイン群。^{**}P<0.01。

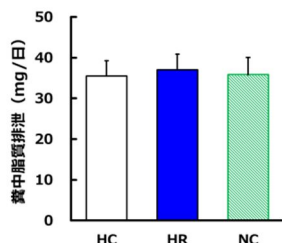


図9. デンプン分解米胚乳タンパク質の摂取が高脂肪高シロ糖飼料摂取マウスの糞中脂質排泄に与える影響
6週齢の雄性C57BL/6マウスに高脂肪高シロ糖飼料を10週間摂取させ、糞中の脂質排泄を測定した。なお、糞の回収は試験終了直前の2日間行い、データは平均値±SEMで示した。HC群, 高脂肪高シロ糖カゼイン群; HR群, 高脂肪高シロ糖デンプン分解米胚乳タンパク質群; NC群, 標準カゼイン群。

また血中の生化学分析の結果より、血中の代表的な肝機能マーカーである alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase が HC 群と比較して、HR 群で有意に低値を示した。また申請者らが行った肥満糖尿病モデルを用いた別の予備的な検討でも、これら血中の肝機能マーカーが SD-REP 摂取により有意に低値を示した。以上の検討結果より、SD-REP の摂

取は肝機能障害を軽減させる作用を有している可能性が示された。

以上試験 I ~ III までの検討結果より，SD-REP と RBP は抗肥満作用を有するタンパク質食品素材であり，特に RBP の抗肥満作用はそのアミノ酸組成だけでなく，消化・吸収の過程で生成する生理活性ペプチドにも由来する可能性が示された。また RBP の抗肥満作用の一部は，糞中への脂質排泄促進を介した吸収エネルギーの抑制作用を介している可能性が示された。

<引用文献>

- 1) 厚生労働省，「令和元年国民健康・栄養調査報告」，2020
- 2) Kubota M, *et al.*, Improvement in the in vivo digestibility of rice protein by alkali extraction is due to structural changes in prolamin/protein body-I particle. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2010, 74: 614-619
- 3) 田中直樹，青山俊文， α 型ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体（PPAR α ）：脂肪肝疾患との関連，*信州医誌*，2008，56(6)：347-358
- 4) Mead JR, *et al.*, Lipoprotein lipase: structure, function, regulation, and role in disease. *J Mol Med (Berl)*, 2002, 80: 753-769
- 5) Kraemer FB and Shen WJ, Hormone-sensitive lipase: control of intracellular tri-(di-)acylglycerol and cholesteryl ester hydrolysis. *J Lipid Res*, 2002, 43: 1585-1594
- 6) Spiegelman BM, (1998) PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes*, 1998, 47: 507-514.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kubota Masatoshi, Watanabe Reiko, Hosojima Michihiro, Saito Akihiko, Sasou Ai, Masumura Takehiro, Harada Yukikazu, Hashimoto Hiroyuki, Fujimura Shinobu, Kadowaki Motoni	4. 巻 70
2. 論文標題 Rice bran protein ameliorates diabetes, reduces fatty liver, and has renoprotective effects in Zucker Diabetic Fatty rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Functional Foods	6. 最初と最後の頁 103981 ~ 103981
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jff.2020.103981	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 Kadowaki M, Kubota M, Watanabe R	4. 巻 65
2. 論文標題 Physiological Multifunctions of Rice Protein of Endosperm and Bran	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 S42-S47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.65.S42.	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1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 久保田真敏, 渡邊令子, 門脇基二
2. 発表標題 健康食品素材としての米タンパク質の可能性
3. 学会等名 第74回日本栄養・食糧学会大会 (招待講演)
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
研究分担者	櫻井 美仁 (Sakurai Misato) (20811491)	新潟薬科大学・応用生命科学部・助手 (33101)	削除：2020年3月9日

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
---------	---------