

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：33108

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03816

研究課題名(和文) 米胚乳・米糠タンパク質の多様な新規機能性の探索と機構解析

研究課題名(英文) Search for novel functionalities of rice endosperm protein/bran protein and analysis of their mechanisms

研究代表者

門脇 基二 (Kadowaki, Motoni)

新潟工科大学・工学部・教授

研究者番号：90126029

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：新たな米の健康機能性を発掘するため、米胚乳(REP)・米糠(RBP)タンパク質に注目し、以下の新規機能性について調べた。高脂肪食摂取のC57BL/6マウスを用いて、REPとRBPでともに肥満の抑制作用が認められた。また、慢性腎疾患におけるミネラル・骨代謝異常に対する影響を肥満2型糖尿病ZDFラットで調べた結果、特にRBPで優れた骨代謝異常の緩和効果が認められた。さらに、アレルギーに対する影響として、液性免疫の強いBALB/cマウスを用いてREPがTh1偏向誘導作用をもつこと、さらに血中総IgE濃度、抗原特異的IgE濃度を抑制することで抗アレルギー作用があることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

米は我が国で唯一の自給可能な穀物であり、長らく食料自給率の維持に貢献してきた。けれども、その消費量は近年、減少の一途を辿り、現在ではピーク時から半減している。そこで、米の魅力として、美味しさに加えて健康に対する機能性を新たに発掘することができれば、米に対する消費者の意識は大きく変わり、消費量の増加を期待することができる。これはすなわち、我が国の農業、そして食料自給率の改善に大きく寄与することは間違いない。

研究成果の概要(英文)： In order to discover the novel functionalities of rice, proteins from rice endosperm (REP) and rice bran (RBP) were investigated to show the following significant effects for health. REP and RBP were shown to suppress the obesity, body weight gain and some adipose tissue weight, in C57BL/6 mice fed with a high fat diet. By using type 2 diabetic ZDF rats, RBP showed to alleviate deterioration of bone microstructures and bone strength of diabetic rats. Finally, by using BALB/c mice, REP showed the induction of skewing toward Th1, and the suppression of total blood IgE and antigen-specific IgE concentrations, indicating anti-allergic property.

研究分野：食品科学、栄養生化学、食品機能学

キーワード：米タンパク質 生活習慣病 肥満 ミネラル・骨代謝異常 アレルギー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

1. 研究開始当初の背景

米は我が国で唯一の自給可能な穀物であり、食料自給率の維持に寄与してきた。けれども、その消費量は減少の一途をたどり、現在ではピーク時から半減している。この解決のためには米の消費量の拡大が大きく寄与することが期待されるが、近年の低糖質ダイエットなどの流行もあり、米のデンプンが悪いイメージを与えている現状では、劇的な拡大は望めない。したがって、健康に対する米の新しい機能性の発見が強く望まれている。

2. 研究の目的

米の消費拡大に向けて、健康に対する米の有効性・機能性が期待されているが、報告者らはこれまでほとんど関心を引かれなかった米のタンパク質に注目し、その純度の高い抽出物の調製に始まり、脂質代謝改善作用(文献)、消化性の改善(文献)、糖尿病及び糖尿病性腎症に対する有効性(文献)を発見して来た。本研究では、その多様な新規機能性をさらに発掘するため、素材として米胚乳タンパク質(REP)と米糠タンパク質(RBP)を対象に、(1)肥満に対する影響を食事誘導性肥満モデルである高脂肪食摂取の C57BL/6 マウスを用いて、(2)慢性腎疾患におけるミネラル・骨代謝異常に対する影響を自然発症肥満 2 型糖尿病モデル ZDF ラットを用いて、(3)アレルギーに対する影響を液性免疫の強い BALB/c マウスを用いて、これらに対する効果を検証し、さらに作用機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究の実施にあたり、当初新潟大学にて統括したが、動物実験を担当する久保田特任講師が新潟薬科大学に異動したため、動物飼育実験は新潟薬科大学で実施することとした。また、2年度目に新潟薬科大学での動物実験実施に問題が起こり、さらに久保田博士が新潟工科大学に異動(准教授として)したため、動物実験は新潟工科大学で実施することとした。

(1) 米胚乳・米糠タンパク質の肥満に対する影響

まず、肥満の抑制作用を持つか否かを明らかにすることを目的に、6週齢の食事誘導性肥満モデルである C57BL/6J マウスにカゼインまたは REP、RBP を 20% で調製した高脂肪食(大豆油 7%+ラード 23%)を摂取させて、10週間の飼育実験を実施した。体重の推移の確認とともに、代表的脂肪組織(腎周囲脂肪、精巣上体脂肪、腸間膜脂肪)の重量変化で評価した。さらに肝臓や脂肪組織の遺伝子発現解析を行うことで、脂質代謝全般に対する影響も検討した。また、REP の中の有効成分をより明らかにすべく、コレステロール低下作用の場合の有効成分と推定されている α -グロブリン画分を目標に定め、REP を α -グロブリンを高度に含む画分とほとんど含まない画分とに分け、同じくマウスでの成長試験を実施した。

(2) 米胚乳・米糠タンパク質の慢性腎疾患に伴うミネラル・骨代謝異常に対する影響

既に報告者らは REP や RBP が ZDF ラットでの糖尿病及び糖尿病性腎症に対して進行遅延作用を示していることを報告しており、かつ骨代謝に関連する血中アルカリフォスファターゼ並びにオステオカルシン濃度を改善することを観察している。従って、そこで今回は RBP に絞り、7週齢の雄性 ZDF ラット及び ZDF Lean(非糖尿病)ラットを用いて 10週間の飼育実験を実施した。糖尿病性腎症の遅延効果が確認された上で、ミネラル・骨代謝異常(CKD-MBD)への効果を明らかにするために、血中繊維芽細胞増殖因子(FGF)-23、副甲状腺ホルモン(PTH)、骨形成マーカーとしてのオステオカルシン、骨吸収マーカーの NTx 等を測定した。さらに、マイクロ CT を用いて皮質骨と海綿骨を形態学的に解析し、骨微細構造に与える影響を評価した。また、これら微細構造が最終的に骨強度にまで影響を与えているかを 3 点曲げ試験を行い、確認した。

(3) 米胚乳・米糠タンパク質のアレルギーに対する影響

予備的な検討から、REP の摂取が体内の細胞性免疫(Th1)、液性免疫(Th2)のバランスを Th1 側に偏向させることが示され、REP が Th1 偏向誘導作用を介してアレルギー抑制作用を有している可能性が期待された。そこで、Th2 側の強い BALB/c マウスを用い、REP の抗アレルギー作用を明らかにすることを目的に、アレルギー感作モデルマウスを用いた検討を行った。供試動物として 3 週齢の雌性 BALB/c マウスを用い、卵白タンパク質(EWP)あるいは REP をタンパク質源とした飼料を 7 週間摂取させた。アレルギー感作モデルを作製するために、試験開始 4 および 6 週目に腹腔内にアレルギー感作溶液(50 μ g α -ラクトグロブリン、50 μ L Al(OH)₃、150 μ L PBS(-))を投与した。試験開始 4 週(アレルギー感作前)、7 週目に採血を行い、血清中 IgG サブタイプ、IgE 濃度の測定に供した。また試験終了時には脾臓、パイエル板などを回収し、フローサイトメトリー解析、mRNA 発現解析(インターフェロン- γ 、インターロイキン-4)に供した。

4. 研究成果

(1) 米胚乳・米糠タンパク質の肥満に対する影響

一般の「米」のイメージと異なり、REP、RBP は体重増加や脂肪蓄積を抑制することが予備的に観察されていた。そこで、ここでは肥満の抑制作用を調べた。6週齢の食餌誘導性肥満モデル C57BL/6J マウスにカゼインまたは REP、RBP で調製した高脂肪食 (脂肪 30%:大豆油 7%+ラード 23%) を摂取させ、10 週間の飼育実験を実施した。その結果、RBP 群と REP 群で有意な体重抑制が、脂肪重量 (腎周囲脂肪、精巣上体脂肪、腸間膜脂肪) でも RBP 群で有意な抑制が見られた (REP では同様の傾向)。また、糞中脂質排泄量は RBP、REP でもともに有意な促進効果がみられた。脂肪組織における脂質代謝関連遺伝子の発現 (PPAR、C/EBP、RXR、FABP4) を調べたが、今回は有意差が認められなかった。これは実験技術の問題と思われた。また、さらに REP の中のどの成分が有効かを検討すべく、 α -グロブリンを含む画分と含まない画分とで比較したところ、予想に反して α -グロブリンを含まない画分に体重抑制作用、脂肪重量の抑制作用が認められた。つまり有効成分は α -グロブリン以外の画分に存在することが推定された。

(2) 米胚乳・米糠タンパク質の慢性腎疾患に伴うミネラル・骨代謝異常に対する影響

糖尿病性腎症は骨折リスクの増加因子でもあることから、糖尿病性腎症モデル ZDF ラットを用いて REP の効果を調べた。7 週齢雄性 ZDF ラットに 20%カゼインまたは RBP を 10 週間摂取させた。糖尿病性腎症の評価項目として、HbA1c と尿中アルブミン排泄で確認した。ミネラル代謝への影響を検討するために、副甲状腺ホルモン (PTH)、FGF-23 の血中濃度を測定した。また、 μ CT を用いて大腿骨の微細構造の評価を行い、さらに骨強度への影響も 3 点曲げ試験で評価した。

ZDF L ラット (非糖尿病) に比べ、血中 PTH および FGF-23 は ZDF ラットで大きく上昇したが、FGF-23 は REP、RBP で共に有意に抑制した (図 1)。PTH は両者で抑制傾向を示した。 μ CT 装置による骨微細構造では ZDF により皮質骨、海綿骨で共に顕著に構造が劣化することが観察され、REP、RBP の摂取により大きく改善された (図 2)。さらに大腿骨の 3 点曲げ試験により、糖尿病により低下した骨強度が REP、RBP の摂取により有意に回復した (文献)。

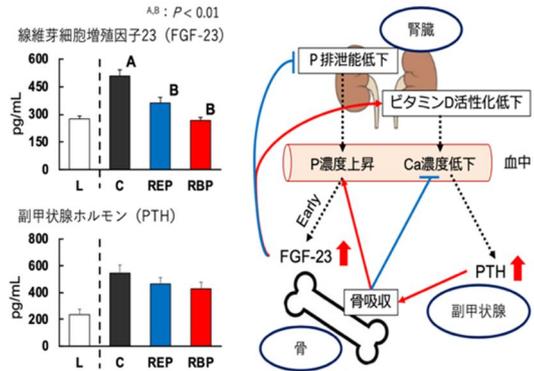


図 1 REPおよびRBP摂取によるミネラル代謝異常の抑制作用

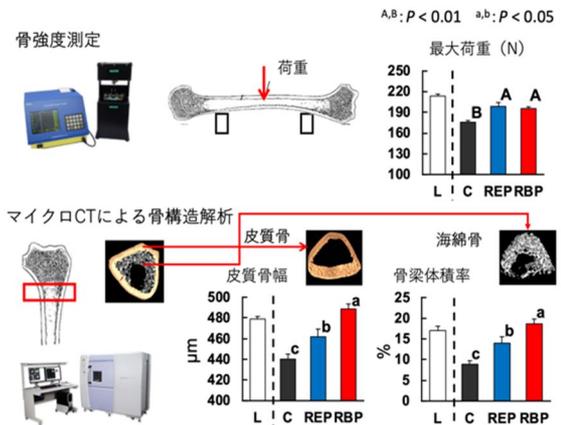


図 2 REPおよびRBPの骨代謝に対する影響

(3) 米胚乳・米糠タンパク質のアレルギーに対する影響

試験開始 4, 7 週目において、Th2 側免疫応答の指標である血清 IgG1 濃度が REP 摂取により有意に低値を示し、血清中 Th1/Th2 バランスの指標である IgG2a/IgG1 比は REP 群で有意に高値を示した (4 週目) (図 3)。また、脾臓を用いたフローサイトメトリー解析でも、Th1 および Th2 細胞の存在割合に影響が見られ、Th1 細胞 (T-bet⁺ CD3⁺ CD4⁺) の割合は REP で有意に上昇した。脾臓およびパイエル板の各種サイトカインの遺伝子発現では明確な変動はみられなかった。また、アレルギー発症に重要な血清中総 IgE 濃度は REP 摂取により 4 および 7 週目で有意に低値を示し、REP が抗アレルギー作用を有している可能性が示された (図 4) (文献)。

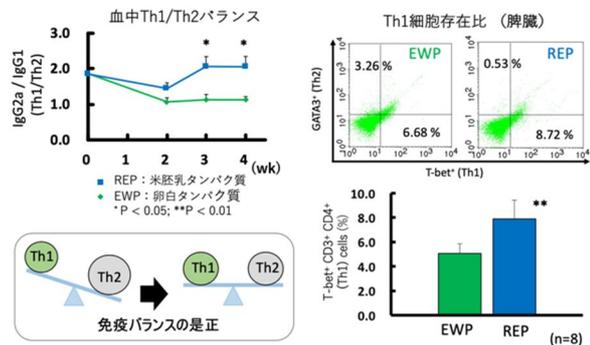


図 3 米胚乳タンパク質のTh1偏向誘導作用

さらに、REPによる抗アレルギー作用を明らかにするために、アレルゲンの経口投与による下痢症状の改善作用を評価するための8週間の飼養試験を行った。アレルゲン感作モデルマウスの作成は上述の試験と同様に行い、2回目のアレルゲン感作後から1日おきにアレルゲン(20mg/個体-ラクトグロブリン)の投与を行った。アレルゲン感作前(4週目)および試験終了時の血中IgGサブタイプ濃度を測定したところ、これまでの検討と同様にEWP群と比較してREP群でIgG1濃度は有意な低値を示し、IgG2a/IgG1比の有意な上昇がみられた。またIgE濃度は総IgE、抗原特異的IgE濃度ともにREP群で有意な低値を示し、REPが抗アレルギー作用を有している可能性が示された(図5)。一方、抗原の経口投与による下痢症状の緩和は、EWP群において明確な下痢症状が確認できず、REP摂取による下痢症状の改善作用を評価するには至らなかった。以上の検討結果より、REPはTh2側の免疫応答を抑制し、抗アレルギー作用を有している可能性が示された。

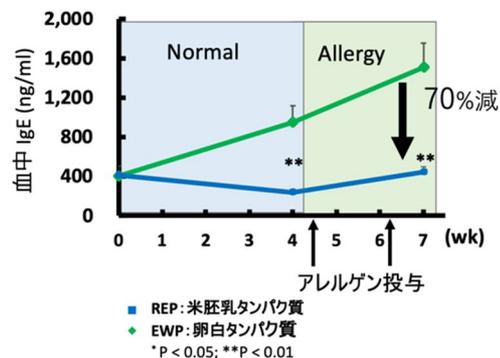


図4 REPのIgE産生抑制作用

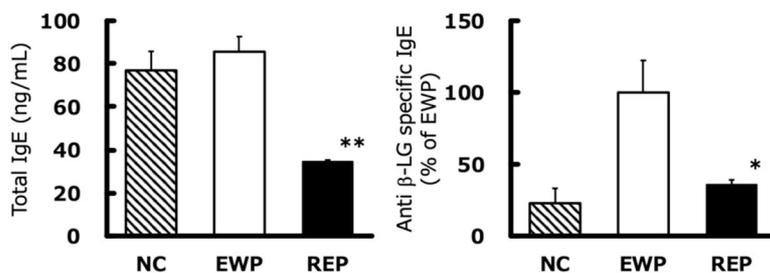


図5 REPの血中総IgE、抗原特異的IgEに与える影響(8週目)
β-LG、β-ラクトグロブリン *P<0.05; **P<0.01 vs EWP

<引用文献>

Yang et al., Biosci Biotechnol Biochem, 71, 694 (2007)
 Kubota et al., Biosci Biotechnol Biochem, 74, 614 (2010); J Nutr Sci Vitaminol., 60, 300 (2014)
 Kubota et al., Br J Nutr, 110, 1211 (2013); Br J Nutr, 116, 1326 (2016); J Func Foods, 70, 103981 (2020)
 Watanabe et al., Ann Nutr Metab, 71(suppl 2) 1218 (2017)
 Kubota et al., Ann Nutr Metab, 71(suppl 2) 1218 (2017)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kupkanchanakul W, Kadowaki M, Kubota M, Naivikul O.	4. 巻 52
2. 論文標題 Effect of pre-germination at varying stages of embryonic growth length on chemical composition and protein profile of Thai rice (<i>Oryza sativa</i> L.).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Agric Nat Res	6. 最初と最後の頁 59-65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.anres.2018.05.009	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Pantao T, Baricevic-Jones I, Suwannaporn P, Kadowaki M, Kubota M, Roytrakul S, Mills ENC.	4. 巻 93
2. 論文標題 Young rice protein as a new source of low allergenic plant-base protein.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cereal Science	6. 最初と最後の頁 102970
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102970	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Kubota M, Watanabe R, Hosojima M, Saito A, Sasou A, Masumura T, Harada Y, Hashimoto H, Fujimura S, Kadowaki M.	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
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/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 Watanabe G, Kobayashi H, Shibata M, Kubota M, Kadowaki M, Fujimura S.	4. 巻 99
2. 論文標題 Reduction in dietary lysine increases muscle free amino acids through changes in protein metabolism in chickens.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Poultry Science	6. 最初と最後の頁 3102-3110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.psj.2019.11.025	査読の有無 有
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 Kadowaki M, Kubota M, Watanabe R.	4. 巻 65
2. 論文標題 Physiological multifunctions of rice proteins of endosperm and bran.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J.Nutr Sci Vitaminol.	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) なし	査読の有無 有
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 宮野 博、涓原 博、橋詰直孝、廣田晃一、桑 克彦、市原清志、安東敏彦、門脇基二、遠藤文夫、栃久保修.	4. 巻 47
2. 論文標題 「血漿アミノ酸濃度の基準範囲設定」に関する見解	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床化学	6. 最初と最後の頁 64-73
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 Md.Razaul Karim, Motoni Kadowaki	4. 巻 142
2. 論文標題 Effect and proposed mechanism of vitamin C modulating amino acid regulation of autophagic proteolysis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochimie	6. 最初と最後の頁 51-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.biochi.2017.08.004	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Michihiro Hosojima, Hisaki Shimada, Yoshitsugu Obi, Shoji Kuwahara, RyoheiKaseda, Hideyuki Kabasawa, Hazuki Kondo, Mikio fujii, Reiko Watanabe, Yoshiki Suzuki, Motoni Kadowaki, Shigeru Miyazaki, Akihiko Saito	4. 巻 7
2. 論文標題 A randomized, double-blind, crossover pilot trial of rice endosperm protein supplementation in maintenance hemodialysis patients.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 18003 (1-10)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI:10.1038/s41598-017-18340-8	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 久保田 真敏、門脇 基二	4. 巻 1
2. 論文標題 お米の化学 白米タンパク質の生理学的機能性	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 食と医療	6. 最初と最後の頁 32-39
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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 久保田真敏、菅木省吾、渡邊令子、細島康宏、斎藤亮彦、樋口裕樹、藤井幹夫、笹川一郎、藤村忍、門脇基二
2. 発表標題 米胚乳タンパク質が2型糖尿病モデルZDFラットのCKD-MBDに与える影響
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 半澤拓夢、渡邊源哉、金野健一郎、甲斐慎一、久保田真敏、門脇基二、藤村忍
2. 発表標題 低リジン飼料による鶏肉の呈味性アミノ酸の増強
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 村松芳多子、渡邊令子、林祐美、細島康宏、門脇基二、斎藤亮彦
2. 発表標題 ステージ別による慢性腎臓病 (CKD) 患者のたんぱく質およびりん摂取量とその食品群の関連
3. 学会等名 日本栄養・食糧学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tomoko Yamaguchi, Nami Horita, Mizuki Niwano, Satomi Eguchi, Yasuaki Enoki, Katsumi Sasagawa, Motoni Kadowaki
2. 発表標題 Effect of different amylose content on the quality of Funori (<i>Gloiopeltis furcata</i>) added rice noodles
3. 学会等名 International Congress of Nutrition (IUNS 21th ICN, Buenos Aires, Argentina) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Reiko Watanabe, Masatoshi Kubota, Shogo Sugaki, Michihiro Hosojima, Akihiko Saito, Mikio Fujii, Ichiro Sasagawa, Shinobu Fujimura, Motoni Kadowaki
2. 発表標題 Beneficial effects of rice endosperm protein on chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD) in Zucker diabetic fatty rats
3. 学会等名 International Congress of Nutrition (IUNS 21th ICN, Buenos Aires, Argentina) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masatoshi Kubota, Takuya Kamada, Takashi Hara, Yuki Higuchi, Mikio Fujii, Shinji Sato, Shinobu Fujimura, Motoni Kadowaki
2. 発表標題 Beneficial effect of rice endosperm protein on IgE production
3. 学会等名 International Congress of Nutrition (IUNS 21th ICN, Buenos Aires, Argentina) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 門脇基二
2. 発表標題 新たな米の健康機能性
3. 学会等名 日本外科代謝栄養学会第54回学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計3件

産業財産権の名称 Composition for suppressing fatty liver and rena hypertrophy due to diabetes and method for producing same	発明者 Kadowaki M., Kubota M., et al.	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、11201606837X	取得年 2017年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 糖尿病による脂肪肝を抑制するための組成物及び糖尿病による腎肥大を抑制するための組成物	発明者 門脇基二、久保田真敏、近藤亮、川上智子	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、6230681	取得年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 Composition inhibiting fatty liver and nephromegaly caused by diabetes and method for producing same	発明者 Kadowaki M., Kubota M., et al.	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、ZL201580017620.9	取得年 2019年	国内・外国の別 外国

〔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	久保田 真敏 (Kubota Masatoshi) (00595879)	新潟工科大学・工学部・准教授 (33108)	
研究分担者	藤村 忍 (Fujimura Shinobu) (20282999)	新潟大学・自然科学系・教授 (13101)	2019年度は削除。