

平成 21年 6月 1日 現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19500706
 研究課題名（和文） 主食である米タンパク質摂取によるインスリン応答と糖代謝調節機能に関する検討
 研究課題名（英文） Effects of rice protein on insulin response and carbohydrate metabolism in Goto-Kakizaki (GK) rats
 研究代表者
 渡邊 令子 (WATANABE REIKO)
 県立新潟女子短期大学・生活科学科・教授
 研究者番号：70141348

研究成果の概要：「こしひかり」と「春陽」由来の米胚乳タンパク質を、成熟期ラットや自然発症の非肥満2型糖尿病モデルラットに給与して長期の飼養試験(対照はカゼイン食)を実施した。両米タンパク質摂取群の空腹時血糖値やインスリン値に低下傾向がみられ、血中アディポネクチン濃度は有意に上昇し、カゼインに比べてインスリン応答や糖代謝調節維持に有効である可能性が強く示唆された。今後、ヒト試験をふまえて社会的貢献が大いに期待できる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：米タンパク質、糖代謝、インスリン、血糖値、成熟期および2型糖尿病ラット、

1. 研究開始当初の背景

グローバルな視点から栄養学を考える時、食肉類に代わる良質なタンパク質源としての穀類の価値が見直そうとされている。米は世界的にみても重要な食糧資源であり、わが国では、昔から主食として生活・文化と深く結びついている。

米粒、すなわち米胚乳中には形態の異なるProtein body I (PB-I)とProtein body II (PB-II)の2種類が存在しており、米胚乳中のこれらのPBは顆粒内に蓄積しているタンパク質の組成が大きく異なっている (Tanaka,

K. *et al.*, 1980)。田中らにより、米を主食としているヒトの糞便中で観察されたFeces protein particlesが米タンパク質に由来するものであることが報告されているのみで、米タンパク質の消化性に関する生理学的検討はほとんどなされていない。米タンパク質に関してということで、しいて挙げれば、国外では1970年代にJuliano, B. O.らの報告があるのみである。従って、米タンパク質の栄養生理学的な意義については、1990年代に森田らの米タンパク質のコレステロール代謝に関する研究がみられるのみで、一定の見解

が得られていない。

このように、大豆タンパク質に比べて米タンパク質の栄養生理機能に関する研究が全くと言ってよいほどなかった大きな原因の一つが、実験に供する大量の米タンパク質調製の問題であったが、現在、新潟県内企業の協力を得られる状況を確認している。筆者は連携研究者とともに、これまで米タンパク質の未知の栄養生理機能を見だし、そのメカニズムを解明することを目的に、7、8年前から基礎的研究に取り組んできた。今回の申請課題は、下記の論文等を含むこれまでの研究をふまえたうえでの発展的内容である。

(1) 米タンパク質の調製法（アルカリ処理と α -アミラーゼ処理）の違いによる *in vitro* 消化性の相違について検討し、2種類の調製法によるPBの構造特性について免疫化学的手法を用いて電子顕微鏡で比較した。

[Kumagai, T., Watanabe, R., Kadowaki, M., 他 5 名, Production of rice protein by alkaline extraction improves its digestibility. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 52, 467-472 (2006)]

(2) 米タンパク質が肝臓中および血清中トリグリセリドやコレステロール量の低下等の脂質代謝改善作用に有意に寄与し、そのメカニズムについては新たな代謝調節の可能性が示唆された。

[Yang, L., Watanabe, R., Kadowaki, M., 他 5 名, Effects of rice proteins from two cultivars, *Koshihikari* and *Shunyo*, on cholesterol and triglyceride metabolism in growing and adult rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71, 694-703 (2007)]

(3) デンプン分解処理に比べて、アルカリ処理米タンパク質の生体利用率の優位性について、成長試験、門脈カニューレ試験による *in vivo* 消化性、糞中の13 k Daプロラミンの確認により明らかにした。

[Kumagai, T., Watanabe, R., Kadowaki, M., 他3名, Superiority of alkali-extracted rice protein in bioavailability to starch degraded rice protein comes from the digestion of prolamin in growing rats, *J Nutr Sci Vitaminol*, 55, 170-177(2009)] (研究開始時点では、投稿準備中)

2. 研究の目的

アルカリ処理米タンパク質は、消化・吸収性や体内利用率に優れているので、新しい植物性タンパク質素材として、食品産業界での活用が期待される。しかし、主食として食べ続けてきた米タンパク質の栄養生理機能については、大豆タンパク質と同様な脂質代

謝改善作用があることを明らかにしたが、他の生理機能については未知の点が多い。そこで、コシヒカリ由来米タンパク質と春陽由来米タンパク質（アルカリ処理調製）をヒト健康成人のモデルとして成熟期ラット、生活習慣病の一つのモデルとして非肥満型自然発症2型糖尿病モデルラット（Goto-Kakizaki: GKラット）に摂取させて、糖代謝調節機構への影響について、インスリン応答や糖代謝に関連する血液マーカー、貯蔵脂肪量等について検討する。

3. 研究の方法

(1) 実験に供する米タンパク質の調製

米タンパク質の主要タンパク質は、易消化性のグルテリンと難消化性とされるプロラミンである。米タンパク質の栄養生理機能の解析を進めるために、低グルテリン米である「春陽」由来の米タンパク質精製物も調製した。米タンパク質精製物の大量調製（アルカリ処理法）は、亀田製菓(株)の協力を得て行われ、その純度は85~92%であった。図1は、「コシヒカリ」と「春陽」由来米タンパク質の相違を示したものである。

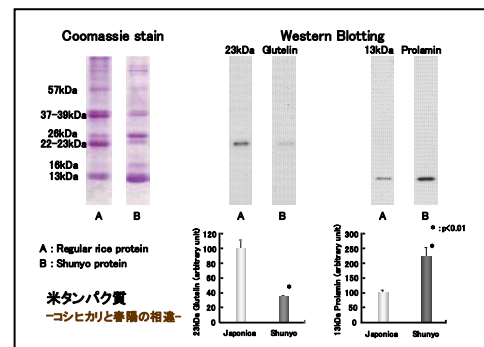


図1 コシヒカリと春陽由来米タンパク質の相違

(2) 米タンパク質を飼料としての栄養試験

① 成熟期ラットを用いた米タンパク質試験
ヒトの中・高年のモデルとして、20週齢のWistar系雄ラット（日本エスエルシー(株)）を用いた。3日間の予備飼育後、カゼイン、大豆タンパク質、米タンパク質（コシヒカリ由来）、米糠タンパク質の4群（各群6匹）に分けて3週間飼育した。飼料組成はAIN-93Mに準じてCP14%とし、飼料と水は自由摂取とした。試験終了時には一晩絶食後、腹部大静脈から速やかに採血し、肝臓等の臓器、腎臓および副睾丸周囲の貯蔵脂肪を摘出して重量測定後、液体窒素を用いて凍結処理して、-80℃で保存し分析に供した。

② GKラットを用いた米タンパク質試験
7週齢のGK雄ラット（日本エスエルシー(株)）を用いた。実験Iでは、予備飼育後3群に分け（各群6匹）、カゼイン、「コシヒ

カリ」と「春陽」由来の米胚乳タンパク質（CP20%）を2週間、水とともに自由摂取させた。飼料組成は、AIN-93G に準じて調製した。この実験は3回実施した。

実験Ⅱでは、実験Ⅰ同様に3群としたが、各群8匹とし、飼料摂取量の差をなくすために、ペアフィーディングとして飼育期間を10週間とした。試験終了時の採血や摘出臓器等は、成熟期ラットのばあいと同様である。

(3) 血糖および血中インスリン値等の測定

① 血糖値および糖負荷試験

試験開始時から1週間ごとに約20hr絶食後、尾静脈から採血して、メディセーフミニGR-102（テルモ株）を用いて血糖値を測定した。試験9週目に20%グルコース溶液2g/kgを胃ゾンデを用いて経口投与し、経時的（0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240 min）に血糖値を測定した。

② インスリン濃度等の測定

血漿インスリン濃度は、採血後直ちに遠心処理して分離した血漿を凍結保存し、後日ELISA法（森永生化学研究所・超高感度インスリン測定キット）で測定した。血漿アディポネクチン濃度も同様にELISA法（大塚製薬株・マウス/ラットアディポネクチン測定キット）で測定した。

(4) トリグリセライド等の測定

血漿、および肝臓のトリグリセライドの測定には、前処理後、トリグリセライドE-テストワコー（和光純薬株）で測定した。また、総コレステロールの測定には、コレステロールE-テストワコー（和光純薬株）を使用した。

(5) 統計処理

飼料摂取量、臓器および組織重量、そして血漿インスリン濃度等の各測定値は、平均値±標準誤差（SE）で示し、3群間による有意差検定は棄却検定後、一元配置の分散分析・多重比較法で行った。

4. 研究成果

(1) 米タンパク質摂取が成熟期ラットの糖代謝に与える影響

20週齢Wistar系雄ラットを予備飼育後、3週間の栄養試験を実施した（終体重約450g）結果、対照のカゼイン群に比べて腎臓・副腎丸周囲の貯蔵脂肪量、血漿総・HDLコレステロール、トリグリセライドともに有意に低値であった（ $p < 0.05$ ）。18hr絶食後血糖値は少し低くなる傾向がみられ、血漿インスリン濃度はカゼイン群に比し有意に低かった（ $p < 0.05$ ）。これより、米タンパク質の摂取は基底インスリン濃度を下げ、インスリン感受性を高めることが示唆された。

なお、大豆タンパク質群および米糠タンパク質群でも血漿インスリン濃度の低下傾向がみられたが、米糠タンパク質に関しては純度の問題もあり今後の検討が必要である。

(2) 自然発症2型糖尿病モデルGKラットにおける米タンパク質摂取の影響

① 【実験Ⅰ】

7週齢GK雄ラットを用いて、「コシヒカリ」と「春陽」由来の米胚乳タンパク質（CP20%）を2週間、自由摂取させた後の絶食後の血糖値はカゼイン群に比し、とくに「春陽」由来の米タンパク質で低く、血漿インスリン濃度も低下した（図2）。

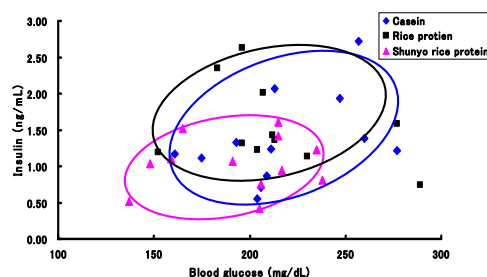


図2 血糖値と血漿インスリン濃度との関係（GKラット）

② 【実験Ⅱ】

実験Ⅰと同様に7週齢GK雄ラットを用いて、10週間にわたって「コシヒカリ」と「春陽」由来の米胚乳タンパク質（CP20%）をペアフィーディング（コントロールはカゼイン食）で給与した。試験終了時に、血液、腎臓、尿サンプルを用いて、次のことが明らかになった。

- ・ 1週間ごとに約20hr絶食後、尾静脈から採血して血糖値を測定した。1~3週目ではとくに「春陽」タンパク質食群の血糖値は有意に低値を示した（ $p < 0.05$ ）。有意差はみられなかったものの、10週間にわたって「コシヒカリ」と「春陽」タンパク質食群の血糖値は、常にカゼイン食群に比較して低値を示した（図3）。

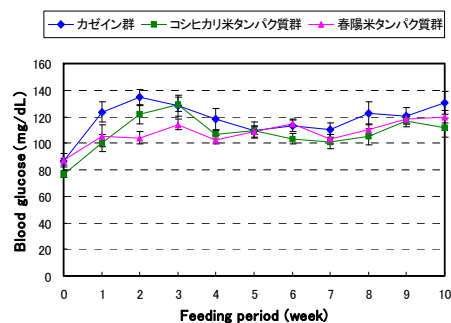


図3 血糖値の変化（GKラット）

・試験 9 週目に約 20hr 絶食後, 20%glucose 溶液を 2g/kg 経口投与して糖負荷試験を実施したが、上記の 3 群間で有意差は認められなかった。

・試験終了日 (約 20hr 絶食後) に採血した血漿インスリン濃度は、試験終了時の血糖値と同様に「コシヒカリ」と「春陽」タンパク質食群でカゼイン食群に比較して低下傾向がみられた。しかし、実験 I とは異なり 10 週間後では「コシヒカリ」と「春陽」タンパク質食群では、差がみられなかった。

・血中アディポネクチンレベルは、内臓脂肪の増加に伴い減少し、インスリン抵抗性、2 型糖尿病の発症、メタボリックシンドローム、脂質代謝異常症などと逆相関することが知られている。血漿アディポネクチン濃度は米タンパク質群が $6.2 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$ で、カゼイン群の $4.7 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$ に比べて有意に高値であり ($p < 0.05$)、米タンパク質摂取はアディポネクチンレベルの上昇に関与することが明らかになった。すなわち、抗糖尿病作用、インスリン感受性増強作用、抗メタボ効果等があることが示された。

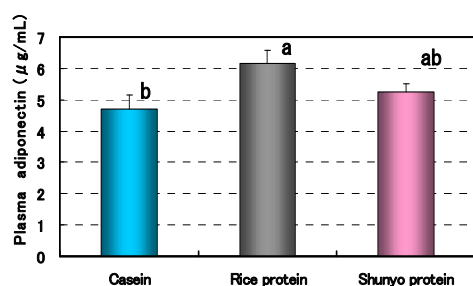


図 4 血漿アディポネクチン濃度

(3) 研究成果の位置づけ

わが国の糖尿病および糖尿病予備軍の推定患者数は、1997 年に 1370 万人であったのが 2007 年には 2210 万人となり 10 年間で 840 万人も増加している。生活習慣病とされる疾患群は肥満に伴って集積する傾向が強く、メタボリックシンドロームという疾患概念として認識されている。この診断基準の一つである肥満は中性脂肪の蓄積であり、脂質代謝はもろ糖代謝と密接に関連している。このような背景の中で、米タンパク質の栄養生理機能としてコレステロールやトリグリセライドの低下作用に加えて、インスリン抵抗性、2 型糖尿病の発症、メタボリックシンドローム、脂質代謝異常症などと逆相関することが知られている血漿アディポネクチン濃度上昇作用が見出されたことは非常に意義深い。米を中心としたわが国の伝統的食生活が栄養学的に再評価されることになる。

近年、超高齢化社会を迎えて医療費の高騰が国家的課題となっている。一方、わが国の食糧自給率はカロリーベースで約 40% (2007 年度概算値、農林水産省) であり、食糧自給率の向上は国を挙げて対応すべき課題の一つとなっている。したがって、本研究の成果は、健康維持・増進や米の消費拡大につながるもので、その社会的意義は多大である。さらに、大豆や小麦タンパク質に次ぐ第 3 の植物性タンパク質食品素材として、米タンパク質 (米ペプチドや米糠タンパク質も含めて) を利用した保健機能食品などの高付加価値食品の開発も期待できる。

(4) 今後の展望

本研究成果から、米タンパク質摂取による糖代謝改善効果 (糖尿病ラット実験による) や、消化管ホルモンの分泌能が促進している可能性 (DNA マイクロアレイ解析による) が強く示唆されたので、今後は GIP や GLP-1 の血中濃度測定や、これらを生産する細胞数の変化も調べる。さらに、中・高齢者を対象としたヒト試験を企画し、米タンパク質と糖質を同時摂取させて、食前から食後にかけての血糖、インスリン、小腸関連ホルモン濃度を経時的に測定したいと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Takehisa Kumagai, Reiko Watanabe, Mariko Saito, Toshiyuki Watanabe, Masatoshi Kubota and Motoni Kadowaki, Superiority of alkali-extracted rice protein in bioavailability to starch degraded rice protein comes from the digestion of prolamin in growing rats, *J Nutr Sci Vitaminol*, **55**, 170-177, (2009), 査読有り.

② 門脇基二, 久保田真敏, 増村威宏, 熊谷武久, 渡邊令子, 新規食品素材としてのコメタンパク質とその生理機能, *New Food Industry*, Vol. **52**, No.12, 37-42 (2008), 査読無し.

[学会発表] (計 10 件)

① Reiko Watanabe, Bioavailability of alkaline extracted rice protein in rats and its effects on serum albumin and cholesterol levels in Japanese elderly. 2nd International Symposium on Rice and Disease Prevention, October 26-27, 2008, Wakayama Prefectural Culture Hall, Wakayama, Japan,.

- ② Masatoshi Kubota, Effects of cooking process on the *in vivo* digestibility of rice prolamin in rats. 2nd International Symposium on Rice and Disease Prevention, October 26-27, 2008, Wakayama Prefectural Culture Hall, Wakayama, Japan.
- ③ Chieko Ohno, Search for new functions of rice protein and rice bran protein by DNA microarray technique. 2nd International Symposium on Rice and Disease Prevention, October 26-27, 2008, Wakayama Prefectural Culture Hall, Wakayama, Japan.
- ④ 久保田真敏、炊飯処理が米タンパク質の *In vivo* 消化性に与える影響、日本アミノ酸学会、2008年10月2日、東京大学鉄門一講堂.
- ⑤ 渡邊令子、米ペプチドの効率的製法とその摂取が血漿および肝臓脂質に及ぼす影響、日本栄養・食糧学会、2008年5月4日、女子栄養大学.
- ⑥ 久保田真敏、米タンパク質プロラミンの消化性に対する炊飯処理の影響、日本栄養・食糧学会、2008年5月4日、女子栄養大学.
- ⑦ 久保田真敏、米タンパク質プロラミンの顆粒構造と *In vivo* 消化性、日本アミノ酸学会、2007年11月22日、東京大学山上会館.
- ⑧ Masatoshi Kubota, Difference in manufacturing process of rice protein affects its digestibility in gastrointestinal tract of rats. 10th Asian Congress of Nutrition, September, 12, 2007. Taipei, Taiwan.
- ⑨ Reiko Watanabe, Effects of rice protein prepared by different methods on *In vivo* digestibility and growth in rats. 10th Asian Congress of Nutrition, September, 12, 2007. Taipei, Taiwan.
- ⑩ Motoni Kadowaki, Influence of alkaline extracted rice protein on serum albumin and cholesterol levels in community-dwelling older Japanese adults. 10th Asian Congress of Nutrition, September, 12, 2007. Taipei, Taiwan.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

・2008年11月29日に、研究者から一般市民までの幅広い層を対象として「食と健康の新潟国際フォーラム」が開催された。その中で、「コメの機能、おいしさ、そして健康」をテーマとして国際会議が企画され、米タンパク質に関する一連の研究成果の一部(雑誌論文に掲載済み)を紹介した。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

渡邊 令子 (WATANABE REIKO)
 県立新潟女子短期大学・生活科学科・教授
 (2009年4月1日から新潟県立大学・人間生活学部・教授)
 研究者番号：70141348

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

門脇 基二 (KADOWAKI MOTONI)
 新潟大学・自然科学系・教授
 研究者番号：90126029

(4) 研究協力者

久保田 真敏 (KUBOTA MASATOSHI)
 新潟大学大学院・自然科学研究科・生命・食料科学専攻・後期課程3年