

機関番号：30105

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20700597

研究課題名 (和文) 絹タンパク質セリシンのメタボリックシンドローム抑制作用の発見

研究課題名 (英文) Preventive effect of silk protein, sericin, on metabolic syndrome

研究代表者

岡崎 由佳子 (OKAZAKI YUKAKO)

藤女子大学・人間生活学部・講師

研究者番号：80433415

研究成果の概要 (和文)：本研究では、絹タンパク質セリシンが高脂肪食摂取下において、血中脂質低下作用、脂肪肝抑制作用、糖代謝改善作用を有することを明らかにし、これらの作用に血中アディポネクチンの増加が関与していることを新たに見出した。また、セリシンは腸管バリア機能の指標である糞中 IgA およびムチンを増加させることや、腸内発酵を促すことを明らかにした。これらの成果から、セリシンは、腸内環境を改善し、メタボリックシンドロームの発症を予防することが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：This study was performed to examine the effect of dietary sericin on the lipid and carbohydrate metabolisms in rats fed high-fat diet. Consumption of sericin significantly reduced serum and liver lipids and the activities of the lipogenic enzymes. Dietary sericin suppressed the increases in plasma glucose and insulin levels after intraperitoneal glucose injection. Dietary sericin caused a marked elevation in serum adiponectin. These results imply that the increase in serum adiponectin by sericin intake may, at least in part, contribute to the protective effect against hyperlipidemia, fatty liver and glucose intolerance in rats fed a high-fat diet. Consumption of sericin markedly elevated fecal immunoglobulin A (IgA, index of intestinal immune function), mucins (index of intestinal barrier function) and cecal organic acids in rats fed the high-fat diet. There was an inverse correlation between serum triglyceride and cecal acetate. These results imply that sericin is a useful agent for improving lipid and carbohydrate metabolisms and intestinal luminal environments in rats fed a high-fat diet.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：セリシン, メタボリックシンドローム, アディポサイトカイン, 腸内環境, 栄養学, ラット

1. 研究開始当初の背景

蚕の繭は「フィブロイン」と「セリシン」という 2 種類のタンパク質からできており、フィブロイン約 70~80%に対しセリシン約 20~30%の割合で構成されている。シルクタンパク質セリシンは、セリン含量が約 30%と高く、肌の保湿作用や皺を防ぐ作用を有することが知られている。しかしながら、フィブロインが繊維状のタンパク質で絹糸になる一方で、セリシンは絹糸や絹織物にする工程で除去され、廃棄されている。そのため、セリシンの有用な生理機能を解明することは、シルクの利用開発において極めて重要である。

一方、現代の食生活では、欧米食の普及に伴う肥満の増加が社会問題となっている。肥満・インスリン抵抗性は、耐糖能障害・高脂血症・高血圧症が重複するいわゆるメタボリックシンドロームを惹起し、糖尿病や心血管疾患の一因と考えられている。2008年度の国民健康・栄養調査によると、40~73歳男女の3割以上がメタボリックシンドロームが強く疑われるものおよび予備軍と考えられている。そのため、食生活の面から肥満の予防法を検討することは、社会的にも意義深い。

2. 研究の目的

これまでに、セリシンの生理機能として、広島大の加藤らにより抗酸化作用、抗腫瘍作用、抗皮膚炎作用などが発見されている。またセリシンは、種々のプロテアーゼに対して消化抵抗性を示すことから、食物繊維様の作用を有することが明らかとなっている。実際に、アトロピンを投与した便秘モデルラットにおいて、セリシンが便秘抑制作用を有することや、発ガン剤の1,2-ジメチルヒドrazilinを投与したラットの aberrant crypt foci (ACF, 大腸発ガンの有用マーカー)はセリシン摂取により減少することが、加藤らの研究によって実証されている。

食物繊維の生理作用として、血中脂質低下作用や耐糖能の改善作用などが知られている。そのため、食物繊維と同様に難消化性作用を有するセリシンは、肥満に伴う種々の疾病(メタボリックシンドローム)を予防する因子となりうる考えられる。そこで本研究では、高脂肪食摂取下におけるセリシンの糖・脂質代謝改善作用を解明することを目的とした。また近年、脂質の過剰摂取による腸内環境の変化がメタボリックシンドロームの発症につながる可能性が指摘されていることから、セリシンが腸内環境に及ぼす影響について検討し、脂質代謝との関連性を明らかにすることも目的とした。

3. 研究の方法

(1) セリシンが高脂肪食摂取ラットの糖・脂質代謝に及ぼす影響について検討を行った。

実験動物として、5週齢の Sprague Dawley 系雄ラットを用いた。高脂肪食として、20%牛脂食を用いた。セリシン添加食群には、20%カゼインに4%セリシンを添加した。コントロール食群には、24%カゼイン食を用いた。1週間の予備飼育後、実験食を一定量の制限食として与え、脱イオン水は自由摂取させて35日間飼育した。

実験食開始後24日目にラットを6時間絶食させ、2g/kg体重のグルコース溶液を腹腔内に投与した。グルコース投与前、投与後30分、60分及び120分に尾静脈より採血し、血漿を得た。採取した血漿を用いて、酵素法により血漿グルコース濃度を定量し、ELISA法を用いて血漿中のインスリン濃度を定量した。飼育終了後、肝臓重量および脂肪組織重量を測定した。また、肝臓及び血清脂質含量、血清遊離脂肪酸含量、血清リポタンパク質量、肝臓の脂肪酸合成系酵素である glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD)、malic enzyme (ME)および分解系の酵素である carnitine palmitoyltransferase I (CPT I) 活性を測定した。さらに、ELISA法を用いて、血中アディポネクチン、TNF- α 、レジスチン等のアディポサイトカインを測定した。

(2) 高脂肪食の摂取による腸内環境の変化が、メタボリックシンドロームの発症につながる可能性が指摘されていることから、セリシンが高脂肪食摂取ラットの腸内環境に及ぼす影響について検討した。

実験動物として、4週齢の Sprague Dawley 系雄ラットを用いた。実験食として、高脂肪食(30%牛脂食)あるいは低脂肪食(5%牛脂食)、またはそれぞれの食餌に4%セリシンを添加した食餌を用いた。1週間の予備飼育後、実験食を一定量の制限食として与え、脱イオン水は自由摂取させて21日間飼育した。飼育5~7日目、12~14日目、及び19~21日目に糞を採取し、凍結乾燥させた。乾燥重量を測定後に粉末化し、分析を行うまで-35°Cで保存した。飼育終了後、腹部大動脈より採血し、血清を得た。盲腸と大腸を速やかに採取し、液体窒素で直ちに凍結させた後、分析を行うまで-80°Cで保存した。

糞及び大腸組織中の IgA、血清 IgA、IgE、IgG および TNF- α は、ELISA法を用いて測定した。糞中よりムチンを抽出し、ムチン含量(0-結合性糖鎖当量)を測定した。盲腸内容物については、重量と pH を測定後、HPLCを用いて有機酸含量を測定した。また、盲腸内容物中の DNA を抽出し、terminal restriction fragment polymorphism

(T-RFLP) 法を用いて細菌叢を分析した。血清の脂質含量を測定し、上述する指標との関連性を検討した。

(3) 腸内環境の改善が肝障害の防御につながる可能性があるため、セリシンが肝障害に及ぼす影響について検討を加えた。

実験動物として、4週齢の Sprague Dawley 系雄ラットを用いた。実験食として、高脂肪食および高脂肪食に 4%セリシンを添加した食餌を用いた。1 週間の予備飼育後、実験食を一定量の制限食として与え、脱イオン水は自由摂取させて 21 日間飼育した。D-ガラクトサミン (450 mg/kg 体重) を腹腔内に投与し、肝障害を誘発させた。投与 22 時間後に腹部大動脈より採血し、血清を得た。肝障害の指標である血清 AST, ALT, LDH 活性および血清中性脂肪量を測定した。また、肝臓の non-protein SH 含量についても併せて検討を加えた。

4. 研究成果

(1) セリシンが、高脂肪食摂取ラットの糖・脂質代謝に及ぼす影響について検討を加えたところ、成長量、食餌摂取量、肝臓重量および脂肪組織重量は、セリシン摂取による影響を受けなかった。血清トリグリセリドはセリシン添加食群において有意に減少し、この作用は、主に VLDL トリグリセリドの低下によるものであることが示された。血清コレステロール、VLDL コレステロールおよび LDL コレステロールもセリシン摂取により有意に減少することが明らかとなり、これらの結果からセリシンは高脂血症を抑制することが示された。

肝臓脂質への影響について検討を行ったところ、食餌セリシンは、肝臓トリグリセリドと肝臓脂肪酸合成関連酵素である G6PD と ME 活性を有意に低下させることが明らかになった。一方、脂肪酸分解系酵素である

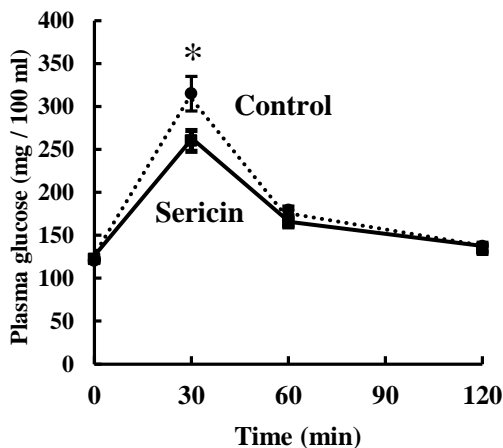


図 1 セリシンによる耐糖能改善作用

CPT I 活性は、セリシン摂取による影響を受けなかった。そのため、セリシンによる肝臓脂質低下作用のメカニズムには、主に脂肪酸合成系の抑制が関与しており、脂肪酸分解系のメカニズムは関与していない可能性が示された。

セリシン摂取は腹腔内グルコース注射後の血糖値とインスリンの上昇を有意に低下させた。さらに、セリシンの血中アディポサイトカインへの影響について検討を加えた結果、メタボリックシンドロームの予防因子として注目されているアディポネクチンがセリシン摂取により顕著に増加していることが見出された。これらの結果から、セリシンが高脂肪食摂取下での脂質代謝と糖代謝の改善に有効であることが示唆された。

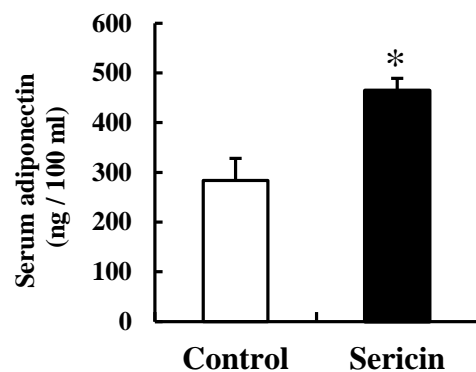


図 2 セリシンによる血中アディポネクチンの上昇作用

(2) セリシンが高脂肪食摂取ラットの腸内環境に及ぼす影響について検討したところ、セリシンの摂取は、腸管免疫能の指標である糞中 IgA 含量を著しく増加させることが明らかとなった。また、腸管バリア機能の指標である糞中ムチン含量もセリシン添加群で有意に増加しており、IgA の変動と一致していた。一方、血中 IgA は高脂肪食摂取により有意に増加したが、このことに対する食餌セリシンの影響は認められなかった。血中 IgE, IgG 及び炎症性サイトカインである TNF- α は、セリシン摂取による影響を受けなかった。大腸組織中の IgA 量は、セリシン摂取により有意に増加することが認められた。

セリシン摂取により、盲腸内容物重量の顕著な増加と内容物 pH の低下が認められた。腸内の発酵産物である有機酸量について検討したところ、高脂肪摂取により盲腸内の酢酸、プロピオン酸、酪酸およびコハク酸量が減少した。一方食餌セリシンは、高脂肪食摂取条件下において、盲腸内の酢酸、乳酸及び酪酸を有意に増加させることが明らかとなった。さらに、血清中性脂肪量と盲腸内の酢

酸量との間に有意な逆相関関係が認められ、セリシンによる血中脂質低下作用に、腸内での酢酸発酵の増加が関与している可能性が示唆された。盲腸内容物の細菌叢についてはセリシン摂取による影響は認められなかった。これらの結果より、セリシンは高脂肪食条件下で腸内環境を改善し、脂質代謝の改善に関与する可能性が示された。

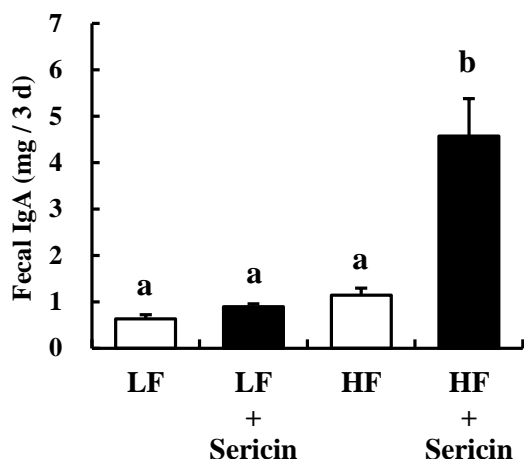


図 3 セリシンによる高脂肪食摂取ラットの糞中 IgA 増加作用 (LF: 低脂肪食, HF: 高脂肪食)

(3) ガラクトサミン肝障害に及ぼすセリシンの影響について検討を加えた。高脂肪食摂取条件下でガラクトサミン肝障害を誘発させたラットにおいて、血清 ALT, AST および LDH 活性は著しく増加した。食餌セリシンは、ガラクトサミン投与による血清 ALT 活性の増加を有意に低下させ、血中 AST と LDH 活性及び肝臓の non-protein SH 含量を低下させる傾向を示した。これらの結果より、セリシンは肝障害抑制作用を有する可能性が示された。

以上のように、セリシンは、高脂肪食摂取下において、糖・脂質代謝改善作用を有することを明らかにし、これらの作用に血中アディポネクチンの増加が関与していることが新たに見出された。また、セリシンは腸管バリア機能の増強や腸内発酵の促進を通して、腸内環境を改善することや、肝障害を抑制する可能性が示された。したがってセリシンは、腸内環境を改善し、メタボリックシンドロームの発症を予防する因子として有用な成分であることが考えられる。これらの成果をもとに、メタボリックシンドロームをはじめ、様々な疾病予防に対するセリシンの有効性についてさらに検討を行う予定である。また現在、セリシンを用いた調理加工食品の開発

を試みており、今後は、調理学的な視点からもセリシンの利用性について検討を加えていく予定である。

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 1 件)

- ① Okazaki, Y., Takehi, S., Xu, Y., Tsujimoto, K., Sasaki, M., Ogawa, H., Kato, N. Consumption of sericin reduces serum lipids, ameliorates glucose tolerance and elevates serum adiponectin in rats fed a high-fat diet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 1534-1538, 2010. 査読有り

[学会発表] (計 2 件)

- ① 平成 23 年度日本農芸化学会大会, 絹タンパク質セリシンの盲腸有機酸含量と肝障害に及ぼす影響, 岡崎由佳子・辻本和久・佐々木真宏・加藤範久, 平成 23 年 3 月 27 日, 京都
- ② 平成 22 年度日本農芸化学会大会, 絹タンパク質セリシンの腸内環境に及ぼす影響, 岡崎由佳子・辻本和久・佐々木真宏・加藤範久, 平成 22 年 3 月 29 日, 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡崎 由佳子 (OKAZAKI YUKAKO)
藤女子大学・人間生活学部・講師
研究者番号: 80433415

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者