

平成22年 6月21日現在

研究種目：若手研究 (B)  
 研究期間：2008～2009  
 課題番号：20700615  
 研究課題名 (和文) 大豆食品と魚油の組み合わせによる肝臓・脂肪組織での脂質代謝調節機能  
 研究課題名 (英文) The effects of soy food and fish oil on lipid metabolism in livers and adipose tissues of rats  
 研究代表者  
 高橋 陽子 (TAKAHASHI YOKO)  
 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所 食品機能研究領域  
 研究者番号：50353933

## 研究成果の概要 (和文)：

大豆タンパク質と魚油摂取が脂質代謝に及ぼす影響を検討した。カゼインおよびパーム油と比べ、ラットの血清脂質濃度は大豆タンパク質および魚油により低下した。大豆タンパク質は肝臓脂肪酸合成系の抑制、魚油は脂肪酸合成系の抑制および脂肪酸酸化系の活性化により脂質代謝を改善することが示された。凍り豆腐の作用は大豆タンパク質と類似していた。大豆タンパク質と魚油の同時摂取は、各々の単独摂取よりも血清脂質低下作用を増強したが、相乗効果はほとんどなかった。

## 研究成果の概要 (英文)：

We investigated how the simultaneous intake of soy protein and fish oil modulates lipid metabolism in rats. Compared with casein and palm oil, soy protein and fish oil significantly decreased serum lipid concentrations, respectively. Soy protein significantly reduced the activities and mRNA expressions of hepatic fatty acid synthetic enzymes compared with casein in palm oil diets, whereas fish oil strongly decreased the values regardless of protein sources. The supplementation of diets with fish oil significantly stimulated hepatic fatty acid oxidation at the level of enzymatic activity and mRNA expression, whereas soy protein significantly increased the activities of these enzymes, but not their mRNA expression. Freeze-dried tofu also showed hypolipidemic effect similar to soy protein. Therefore, simultaneous ingestion of soy protein (freeze-dried tofu) and fish oil generally had the greatest hypolipidemic effect among the dietary groups, although these actions were not synergistic.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,600,000	780,000	3,380,000

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：健康と食生活

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 大豆と魚は日本食を代表する食材であり、いずれも血清脂質濃度を低下させる作用を持つ食品である。大豆に含まれるタンパク質と魚に含まれる多価不飽和脂肪酸が、これらの作用を示す機能性成分として特定され、その作用メカニズムについて多くの研究がなされてきた。

(2) これまでの研究結果より、大豆タンパク質と魚油が持つ脂質代謝調節機能には、両成分で共通する作用機構と、特異的な作用機構の存在が示唆されていた。したがって、大豆と魚が多く使われる日本食を摂取すると、食品由来の脂質代謝改善効果が相加的、あるいは相乗的に得られる可能性があった。食品成分が単独で示す脂質代謝調節作用についての研究報告は多くあるが、複数の食品成分を同時に摂取した場合の作用については、遺伝子発現レベルで解析する研究はほとんどなかった。さらに、大豆タンパク質が有する脂質代謝調節機能は、大豆食品を摂取しても同じように示されるのかについても不明であった。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究では、大豆タンパク質と魚油の単独摂取、あるいはその組み合わせ摂取が、ラットの肝臓および脂肪組織における脂質代謝にどのような影響を与えるかについて、遺伝子発現や酵素活性のレベルで解明することを目的とした。

(2) 日常の食生活を改善して生活習慣病の発症を予防する、という観点から、薬剤のような精製された成分ではなく、通常の食事で摂取できる食品でも、血清脂質濃度の低下等の有効な作用が得られるかについても検討したい。そこで、大豆タンパク質に替えて凍り豆腐を用いることで大豆食品の作用を観察した。さらに、凍り豆腐と魚油という伝統的な日本食で使われてきた食素材の組み合わせでも、期待されるような脂質代謝調節機能や食品成分の相互作用が示されるかどうかを検証した。

### 3. 研究の方法

(1) 動物実験：実験①；4週齢の雄SDラットを用いて実験を行った ( $n=7-8$ )。異なる2種類のタンパク質源と脂質源を組み合わせ

た、計4種類の飼料でラットを3週間飼育した。食餌タンパク質源として20% (w/w) のカゼインまたは分離大豆タンパク質を、食餌油脂源として15%パーム油または10%魚油+5%パーム油を用いた。飼育期間終了後、血清、肝臓、睾丸周辺白色脂肪組織、肩胛骨間褐色脂肪組織をサンプルとして得た。実験②；食餌タンパク質源として20%カゼインまたは20%タンパク質量に相当する凍り豆腐粉末を、脂質源として15%大豆油または5%魚油+10%大豆油を用い、それぞれを組み合わせた計4種類の飼料でラットを飼育した。凍り豆腐に含まれる脂質や食物繊維は、ラットの脂質・エネルギー代謝に影響すると考えられるため、それぞれの食餌に大豆油、セルロースを添加することで、各食餌の脂質、食物繊維量が等しくなるように調整した。その他の方法は、実験①と同様に行った。

(2) 血清・肝臓脂質濃度：血清中性脂肪と総コレステロール濃度は、市販の測定キット（和光純薬）を用いて定量した。肝臓脂質はFolch法に従って抽出し、中性脂肪およびコレステロール濃度を測定した。

(3) 肝臓脂肪酸代謝系酵素活性の測定：解剖後速やかに1.5gの肝臓片を10mlの緩衝液（0.25 M sucrose buffer containing 1 mM EDTA and 3 mM Tris-HCl (pH 7.2)）でホモジナイズし、半量を脂肪酸酸化系酵素の活性測定に供した。残りは200,000×gで30分間遠心し、上清を脂肪酸合成系酵素の活性測定に供した。

(3) 組織での遺伝子発現量の測定：肝臓および脂肪組織のtotal RNAは、acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction法に従って抽出した。total RNAを鋳型として逆転写反応を行った後、得られたcDNAと各遺伝子に対応するプライマー・プローブを用いてリアルタイムPCRを行ない、mRNA量を測定した。各遺伝子の発現量は、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenaseの発現量を内部標準として、カゼイン+パーム油食での発現量を100としたときの相対量として表した。

(3) 統計処理：ソフトウェアSPSS 13.0J for Windowsを用いて行った。食餌タンパク質源と脂質源による作用の有意差を検定す

るため、二元配置分散分析を行った ( $p < 0.05$ )。グラフ中の各測定値は means  $\pm$  SE で示した。

#### 4. 研究成果

(1) 実験①の結果、摂食量には群間の差はなかった。ラット血清脂質濃度はカゼインと比べて大豆タンパク質摂取群で、パーム油と比べて魚油摂取群で有意に低下した (図 1)。体重増加量は大豆タンパク質摂取により抑制された。肝臓中性脂肪濃度は大豆タンパク質摂取群で大きくなる傾向 ( $p = 0.053$ ) があつたが、コレステロール濃度には食餌の影響はなかった。

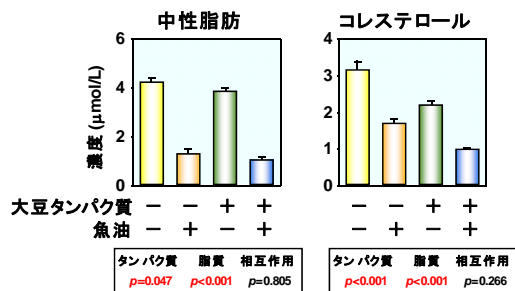


図 1 食餌タンパク質と脂質がラット血清脂質濃度に及ぼす影響

(2) 肝臓での脂肪酸合成系酵素の活性は、魚油摂取により大きく減少し、大豆タンパク質摂取でも減少した (図 2)。食餌成分の組み合わせによる相互 (交互) 作用には有意差があつた。パーム油摂取時では、大豆タンパク質はカゼインと比べて酵素活性を有意に低下させたが、魚油摂取時では、その大豆タンパク質による低下作用が小さくなった。この傾向は、遺伝子発現レベルでも見られた。一方、脂肪酸酸化系酵素の活性は、魚油摂取および大豆タンパク質摂取により上昇したが、食餌タンパク質と脂質間の相互作用はなかった (図 2)。魚油による脂肪酸酸化系酵素の活性上昇は遺伝子発現レベルでも観察されたが、大豆タンパク質による酵素活性の上昇は、遺伝子発現レベルとは一致しない応答があつた。

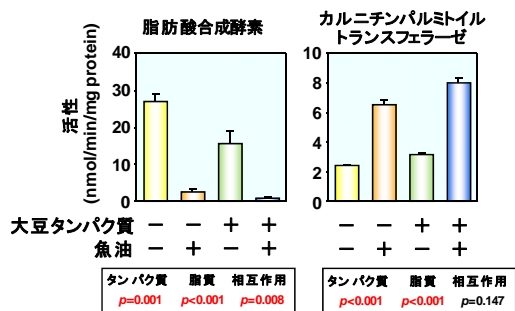


図 2 食餌タンパク質と脂質がラット肝臓脂肪酸合成酵素とカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (脂肪酸酸化系酵素) の活性に及ぼす影響

(3) 大豆タンパク質は、肝臓のコレステロール合成関連酵素の mRNA 発現を抑制し、胆汁酸合成関連酵素の mRNA 発現は増加させた (図 3)。しかし、魚油はこれらの発現に対し有意な作用を示さなかった。一方、コレステロール排出に関与すると考えられている輸送タンパク質 Abcg5 と Abcg8 の mRNA 量は、魚油摂取により大きく増加した。いずれも食餌成分間の相互作用はみられなかった。

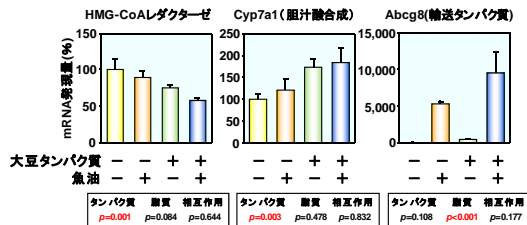


図 3 食餌タンパク質と脂質がラット肝臓コレステロール合成酵素 (HMG-CoA レダクターゼ)、Cyp7a1 (胆汁酸合成)、および Abcg8 の mRNA 発現に及ぼす影響

(4) 白色および褐色脂肪組織では、グルコース輸送体 4 (Glut4) の mRNA 量は大豆タンパク質摂取により増加した。レプチン mRNA 発現量は、白色脂肪組織において魚油群で低下した。

(5) 次に、大豆食品である凍り豆腐でも脂質代謝調節作用が見られるかを検討するために、食餌タンパク質をカゼインまたは凍り豆腐に、食餌脂質を大豆油または魚油にしたときの影響を解析した (実験②)。ラット血清脂質濃度は、カゼイン食と比べて凍り豆腐摂取により、大豆タンパク質と同様に低下した (図 4)。また魚油も、大豆油と比較して低下作用を示した。

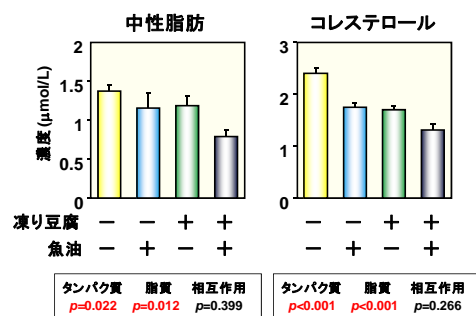


図 4 凍り豆腐と魚油がラット血清脂質濃度に及ぼす影響

(6) 肝臓での脂肪酸合成系酵素活性は、凍り豆腐摂取により大きく減少し、魚油摂取でも減少した (図 5)。食餌成分の組み合わせによる相互作用も、実験①の (2) で示した現象と似た傾向が見られたが、遺伝子発現レベルでは有意差はなかった。脂肪酸酸化系酵素活

性は実験①と同様に、魚油摂取より上昇したが、凍り豆腐摂取群では減少した。

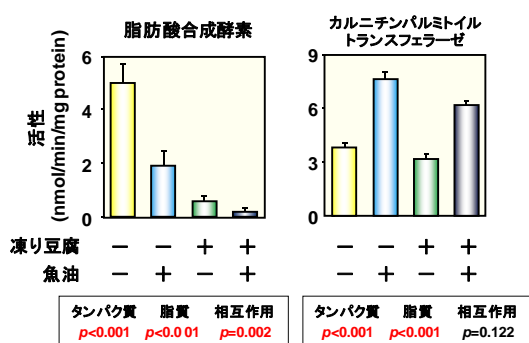


図5 凍り豆腐と魚油がラット肝臓脂肪酸合成酵素とカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ（脂肪酸酸化系酵素）の活性に及ぼす影響

(7) コレステロール代謝関連の遺伝子発現の変化については、Cyp7a1の発現量は凍り豆腐摂取群で増加したが、食餌脂質の影響は観察されなかった(図6)。凍り豆腐は肝臓Abcg5とAbcg8の発現量を大きく上昇させ、魚油もこれらの発現量を上昇させた。

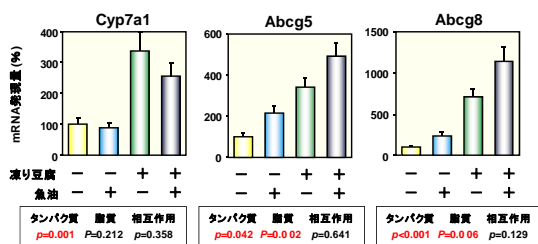


図6 凍り豆腐と魚油がラット肝臓 Cyp7a1、Abcg5、および Abcg8 の mRNA 発現に及ぼす影響

(8) 褐色脂肪組織では、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )と脱共役タンパク質 (UCP) の発現量が凍り豆腐および魚油摂取群で増加したが、白色脂肪組織ではそれらの変化が認められなかった。

(9) 以上の結果から、大豆タンパク質はラット肝臓の脂肪酸合成系を抑制し、魚油は脂肪酸合成系を抑制するとともに脂肪酸酸化系を促進することが示唆された。これらの作用は、血清中性脂肪濃度の減少に寄与していると考えられた。一方、血清コレステロール濃度の減少には、大豆タンパク質のコレステロール合成系抑制作用と胆汁酸合成促進作用、魚油のコレステロール輸送タンパク質合成促進作用の関与が示された。また、大豆タンパク質と魚油の同時摂取は、それぞれの単独摂取よりも強い脂質濃度低下作用を示した。食餌タンパク質源と脂質源の相互作用は、肝

臓の脂肪酸合成系酵素の活性で有意差が示されたが、その他の脂質代謝変化のパラメータには相互作用はなく、双方の食品成分が独立して作用していることが示唆された。凍り豆腐摂取も、大豆タンパク質と同様に血清脂質濃度低下作用を持ち、その作用メカニズムも大豆タンパク質の作用と類似していた。したがって、凍り豆腐は生体の脂質代謝改善に有用な食品であると考えられ、魚油との同時摂取はその作用をさらに高めることが期待できる。

## 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 Yoko Takahashi, Takashi Ide, Effects of soy protein and isoflavone on hepatic fatty acid synthesis and oxidation and mRNA expression of uncoupling proteins and peroxisome proliferator-activated receptor gamma in adipose tissues of rats. The Journal of Nutritional Biochemistry、査読有、Vol. 19、No. 10、2008、682-693

② Yoko Takahashi, Tseye-Oidov Odbayar, Takashi Ide, A comparative analysis of genistein and daidzein in affecting lipid metabolism in rat liver, Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition、査読有、Vol. 44、No. 2、2009、223-230

[学会発表] (計3件)

① Yoko Takahashi, Dietary soy components and lipid metabolism - analysis of gene expression, The 21st Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology、2008. 11. 26

② 高橋陽子、食餌大豆タンパク質及び魚油がラット肝臓の脂質代謝に及ぼす影響、第63回日本栄養・食糧学会大会、平成21年5月22日

③ 高橋陽子、凍り豆腐と魚油がラット肝臓の脂質代謝に及ぼす影響、日本農芸化学会2010年度大会、平成22年3月28日

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
<http://nfri.naro.affrc.go.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高橋 陽子 (TAKAHASHI YOKO)  
独立行政法人  
農業・食品産業技術総合研究機構  
食品総合研究所 食品機能研究領域  
研究者番号：50353933

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし