

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 11日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700777

研究課題名（和文）大豆そのものが有する脂質代謝調節機能の解明

研究課題名（英文）The elucidation of the mechanism for regulating lipid metabolism by whole soybean

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
主任研究員

研究者番号：50353933

研究成果の概要（和文）：大豆の脂質代謝調節機能のうち、タンパク質および脂質成分の役割を明らかにするため、ラットを用いた栄養試験を実施した。両成分とも肝臓の脂肪酸合成系の抑制作用を示し、これが大豆摂取による血清中性脂肪濃度低下作用に寄与すると考えられた。また、肝臓の中性脂肪濃度は大豆摂取群で低下し、大豆タンパク質や大豆油単独では見られなかった脂質代謝改善作用が示唆された。コレステロール代謝では、大豆タンパク質は血清総コレステロールを、大豆油は非 HDL コレステロールを有意に低下させた。

研究成果の概要（英文）：To clarify the mechanism for regulating lipid metabolism by whole soybean, we compared the functionality of whole soybean with those of protein and lipid fractions by animal study using rats. The protein fraction and lipid fraction of soybean suppressed hepatic fatty acid synthesis. Thus, the suppression of hepatic fatty acid synthesis may contribute to the hypotriglyceridemic action of soybean. Soybean also reduced the level of triacylglyceride in liver, although soy protein isolated or purified soybean oil could not prevent the accumulation. As for cholesterol metabolism, the protein fraction lowered serum total cholesterol, while the soy lipid was likely to reduce non HDL-cholesterol fraction.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

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) 日本食の中心的素材である大豆には、様々な機能性成分が含まれている。しかし、大豆の機能性を明らかにするための研究は、大半がタンパク質や油脂のような大豆から精製された成分、またはイソフラボンのような化学合成された成分を対象としている。大豆そのものの機能性は、このような単一成分の研究データを基に予想されている。

(2) 食品は複数の機能性成分を含むため、食品そのものとしての機能性は、上記(1)で示すような単一成分の機能性だけでは説明できないと考えられる。食品全体としての機能性は、食品そのものを対象に解析しなければ明らかにならないが、単一成分の機能性よりも複雑であるため、ほとんど研究されていない。

(3) 機能性成分を強化した健康食品が数多く市場に出回る一方、特定成分の効果を強調せずに、素材を丸ごと使用した加工食品も、健康志向の高い消費者から支持を受けている。また、農産物そのものや豆腐等の伝統的な加工食品は、健康食品類と比べ、安価で日常的に安心して摂取できる食物として、消費者に受け入れられている。このような背景から、特定成分に限らず、食品そのものの機能性について、知見が求められる機会が増加すると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、脂質代謝改善効果が知られている大豆について、どの程度摂取すれば効果が現れるのか、また、大豆成分と大豆そのものの代謝改善作用メカニズムの違いは何か、を明らかにし、大豆を食生活に取り入れる利点を科学的に解明することを目的としている。

(2) ヒト試験では、血清脂質濃度等の生理的变化を検証できるが、生体内での脂質代謝調節メカニズムを見ることは難しい。そこで実験動物を用い、生体内の代謝に主要な役割を果たしている肝臓で、脂肪酸およびコレステロール代謝系酵素の活性や mRNA 発現量と、血清および肝臓での脂質濃度の変動との関連を解析し、大豆食がどのように生体の脂質代謝調節に関与しているかを解明する。

(3) 大豆そのものの機能性と、大豆に含まれる単一成分の機能性の違いを調べるため、脂質代謝調節作用が報告されている大豆のタンパク質成分および脂質成分と、大豆粉そのものの脂質代謝改善作用を比較する。このことにより、タンパク質または脂質成分で示される脂質代謝改善作用は、大豆として摂取し

ても効果が見られるか、また、両成分だけでは説明できない大豆そのものの作用は何か、を明らかにし、大豆として栄養を摂取することのメリットと根拠を示す。

3. 研究の方法

(1) 動物試験： 実験①；4週齢の雄SD系ラット (n=7-8) を、大豆粉が0、12.5、25、または50% (重量比) 含まれるように調製した飼料で3週間飼育した。食餌総タンパク質量は20% (w/w)、総脂質量は10% (w/w) とし、大豆粉だけで不足する成分は、群間のエネルギー摂取量がほぼ同等になるよう、それぞれカゼインおよびパーム油を添加した。食餌中の食物繊維量はセルロースで合わせた。飼育期間終了後、イソフルラン麻酔下で腹部大動脈より脱血し、血清、肝臓、白色脂肪組織を得た。また、飼育終了直前3日間の糞を回収した。実験②；食餌中のタンパク質成分を、精製されたタンパク質 (カゼインまたは分離大豆タンパク質)、あるいは大豆粉に含まれるタンパク質 (総タンパク質20%分のうち10%または20%相当) として飼料を調製し、実験①に準じ試験を実施した。実験③；食餌中の脂質成分を、精製された油脂 (パーム油または大豆油)、あるいは大豆粉に含まれる脂質 (総脂質10%分のうち5%または10%相当) として飼料を調製し、実験①に準じ試験を実施した。

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

(3) 糞中胆汁酸濃度の測定： 凍結乾燥後粉砕した糞100 mgを15 mlのエタノールに懸濁し、70 °Cで1時間加温した。3,000 rpmで10分間遠心し、上清を50 mlのメスフラスコに取った。再度エタノールを加えて加温後、遠心により上清を分取する作業を2回繰り返して、50 mlにメスアップした。1 mlをサンプリングし、ヒドラジン溶液、水酸化ステロイド脱水素酵素の順に反応させて、胆汁酸濃度を測定した。

(4) 肝臓脂肪酸合成系酵素活性の測定： 解剖後速やかに、1.5 gの肝臓片を10 ml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、200,000×gで30分間遠心した上清を、脂肪酸合成系酵素の活性測定に供した。

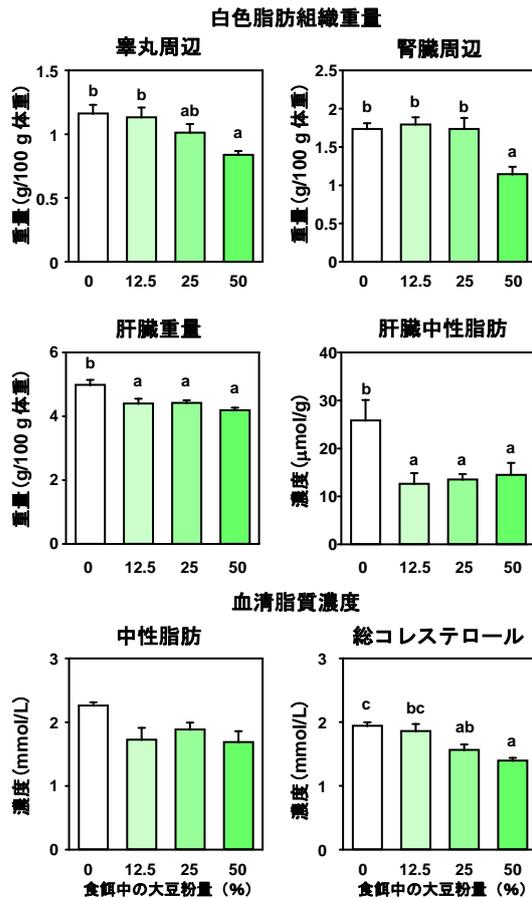
(5) 組織での遺伝子発現量の測定： 肝臓のtotal RNAは、acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction法に従って

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、アクチンの発現量を内部標準として、大豆粉 0% 食 (実験①)、カゼイン食 (実験②)、およびパーム油食 (実験③) での発現量を 100 としたときの相対量で表した。

(6) 統計処理： ソフトウェア SPSS 13.0J を用いて行った。食餌群間の有意差は一元配置分散分析により検定し、有意差が生じた場合 ($p < 0.05$) は、Tukey 法により Post hoc 検定を実施した。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、摂食量や体重増加量に群間の差はなかったが、脂肪組織および肝臓重量、肝臓中性脂肪濃度、血清脂質濃度は、食餌中の大豆粉の量に依り低下した (図 1)。このことは、大豆そのものを摂取することで脂質代謝の改善が期待できることを示している。



abc 異なる文字間に有意差あり ($p < 0.05$)

図 1 大豆食がラットの体重、肝臓重量、肝臓および血清脂質濃度に及ぼす影響

(2) 分離大豆タンパク質と、大豆そのものに含まれるタンパク質の、脂質代謝への影響の違いを調べるため、実験②を行った。分離大豆タンパク質摂取による肝臓中性脂肪濃度の変化はなかったが、大豆粉摂取では、有意差は示されなかったものの低下傾向が認められた。血清中性脂肪濃度も、有意差はなかったが分離大豆タンパク質によりカゼインと比べて 30% 以上低下し、大豆粉では低下量は小さかった (図 2)。

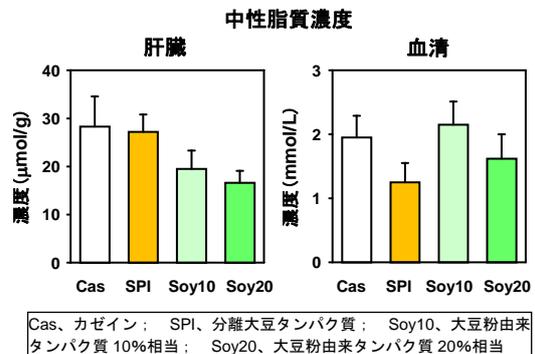
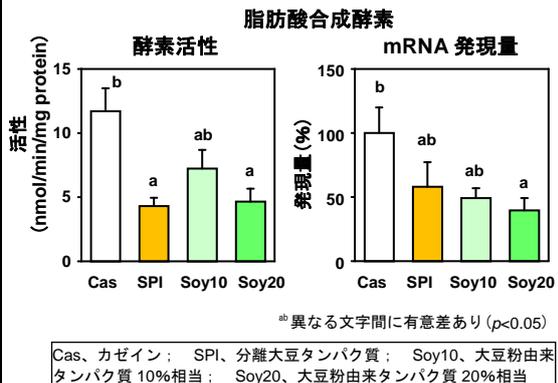


図 2 食餌タンパク質源がラットの肝臓および血清脂質濃度に及ぼす影響

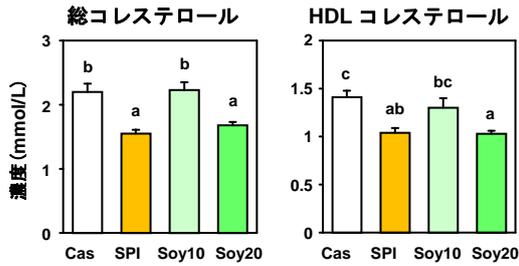
(3) 次に、肝臓での脂肪酸代謝の変化を調べるため、脂肪酸合成酵素の活性と遺伝子発現量を測定した。カゼインと比べて分離大豆タンパク質は両パラメーターを有意に低下させ、大豆粉も摂取量依存的にこれらの値を低下させた (図 3)。他の脂肪酸合成系酵素でも、酵素活性や遺伝子発現量は、分離大豆タンパク質や大豆粉によって同様に低下した。



ab 異なる文字間に有意差あり ($p < 0.05$)

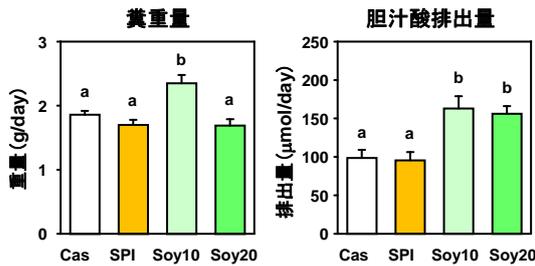
図 3 食餌タンパク質源がラット肝臓脂肪酸合成酵素に及ぼす影響

(4) 一方、血清総コレステロールおよび HDL-コレステロール濃度は、分離大豆タンパク質および大豆粉摂取により、カゼインと比べて有意に低下した (図 4)。また、糞中の胆汁酸量は、カゼインと分離大豆タンパク質では差がなかったが、大豆粉摂取群では有意に増加した (図 5)。



abc 異なる文字間に有意差あり ($p < 0.05$)
 Cas、カゼイン； SPI、分離大豆タンパク質； Soy10、大豆由来タンパク質 10%相当； Soy20、大豆由来タンパク質 20%相当

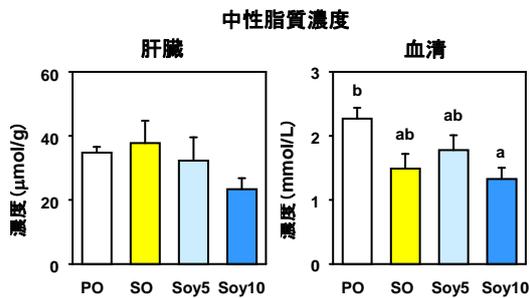
図4 食餌タンパク質源がラット血清コレステロール濃度に及ぼす影響



abc 異なる文字間に有意差あり ($p < 0.05$)
 Cas、カゼイン； SPI、分離大豆タンパク質； Soy10、大豆由来タンパク質 10%相当； Soy20、大豆由来タンパク質 20%相当

図5 食餌タンパク質源がラット糞中胆汁酸量に及ぼす影響

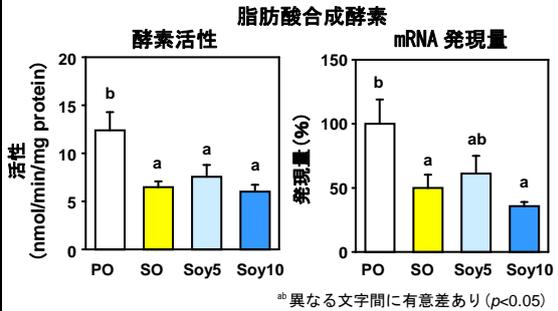
(5) 続いて、精製された大豆油と、大豆そのものに含まれる脂質成分の作用の違いを調べるため、実験③を行った。肝臓中性脂肪濃度は、パーム油と比べて大豆油摂取による変化はなかったが、大豆粉摂取では低下傾向が見られた。血清中性脂肪濃度は、大豆油によりパーム油と比べて低下し、食餌脂質源を全て大豆粉としたときにも低下作用が見られた (図6)。



abc 異なる文字間に有意差あり ($p < 0.05$)
 PO、パーム油； SO、大豆油； Soy5、大豆由来脂質 5%相当； Soy10、大豆由来脂質 10%相当

図6 食餌脂質源がラットの肝臓および血清脂質濃度に及ぼす影響

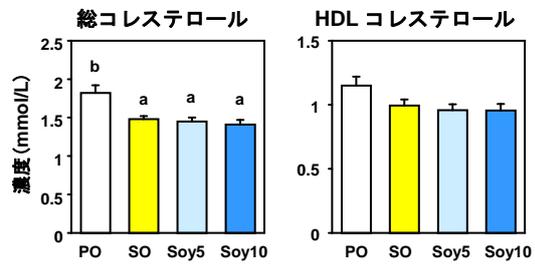
(6) 脂肪酸合成酵素の活性と遺伝子発現は、パーム油と比べて大豆油は両パラメーターを有意に低下させ、大豆粉も摂取量依存的にこれらの値を低下させた (図7)。他の脂肪酸合成系酵素でも、酵素活性や遺伝子発現量は、大豆油や大豆粉によって同様に低下した。



abc 異なる文字間に有意差あり ($p < 0.05$)
 PO、パーム油； SO、大豆油； Soy5、大豆由来脂質 5%相当； Soy10、大豆由来脂質 10%相当

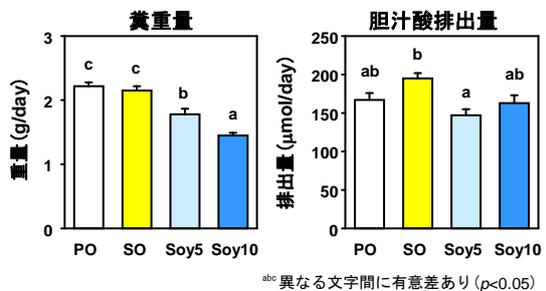
図7 食餌脂質源がラット肝臓脂肪酸合成酵素に及ぼす影響

(8) 一方、血清総コレステロール濃度は、パーム油と比べて大豆油は血清総コレステロール濃度を有意に低下させたが、HDL-コレステロールの低下量は有意でなかった。大豆粉摂取群では、大豆粉の量に関わらず大豆油と同様の变化を示した (図8)。また、糞中の胆汁酸量は、パーム油と大豆油の間に有意差がなく、大豆粉摂取でも明確な違いは認められなかった (図9)。



abc 異なる文字間に有意差あり ($p < 0.05$)
 PO、パーム油； SO、大豆油； Soy5、大豆由来脂質 5%相当； Soy10、大豆由来脂質 10%相当

図8 食餌脂質源がラット血清コレステロール濃度に及ぼす影響



abc 異なる文字間に有意差あり ($p < 0.05$)
 PO、パーム油； SO、大豆油； Soy5、大豆由来脂質 5%相当； Soy10、大豆由来脂質 10%相当

図9 食餌脂質源がラット糞中胆汁酸量に及ぼす影響

(9) 以上の結果から、大豆中のタンパク質と脂質成分は、いずれも精製された分離大豆タンパク質や大豆油と同様に、肝臓の脂肪酸合成系の抑制作用を示した。血清中性脂肪濃度の低下は、主にこの抑制作用によって生じると考えられた。しかし、肝臓中性脂肪濃度は、分離大豆タンパク質や大豆油ではほとんど低下せず、大豆粉では有意差はなかったが低下作用が認められた。これは、タンパク質や脂質以外の成分、またはタンパク質や脂質成分を含めた大豆の複数成分の相互作用によって生じた違いと考えられる。また、コレステロールの低下作用については、大豆のタンパク質成分は主に総コレステロールを、脂質成分は非HDLコレステロールを低下させる傾向があったことから、大豆のタンパク質成分と脂質成分で血清コレステロール濃度低下メカニズムに違いがあると考えられた。本研究を通じて、大豆そのものの摂取により観察された脂質代謝調節作用は、大豆のタンパク質および脂質成分の作用だけでなく、他の成分の作用も寄与していることが示唆され、食品そのものを摂取することの重要性を示す一端が確認された。

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, Soy protein and fish oil independently decrease serum lipid concentrations but interactively reduce hepatic enzymatic activity and gene expression involved in fatty acid synthesis in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 査読有、Vol. 57、No. 1、2011、56-64

<http://dx.doi.org/10.3177/jnsv.57.56>

② Yoko Takahashi, Tomokazu Konishi, Tofu (soybean curd) lowers serum lipid levels and modulates hepatic gene expression involved in lipogenesis primarily through its protein not isoflavone component in rats, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 査読有、Vol. 59、No. 16、2011、8976-8984

doi:10.1021/jf201403u

[学会発表] (計1件)

① 高橋陽子、八巻幸二、大豆の脂質代謝調節機能におけるタンパク質および脂質成分の役割、日本農芸化学会 2012 年度大会、平成 24 年 3 月 24 日、京都女子大学

[その他]

ホームページ等

<http://www.naro.affrc.go.jp/nfri/>

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・主任
研究員

研究者番号：50353933