

2I-10p ペプチドアレイによる大豆オレオシン由来新規胆汁酸結合ペプチドの網羅解析

○加藤 由喜奈、柴田 麗、長岡 利

岐阜大・応生・応用生命

【目的】高コレステロール (CHOL) 血症などの生活習慣病の増加が指摘されている。大豆タンパク質が血清 CHOL 低下作用を有することは以前から多く報告され、大豆タンパク質由来胆汁酸結合ペプチドが CHOL 吸収抑制作用や胆汁酸再吸収阻害に対して重要な役割を担っていると推定されてきた。しかし、*in vivo* で CHOL 吸収抑制作用を発揮する大豆タンパク質由来胆汁酸結合ペプチドは、ソイスタチン (VAWWMY) 以外は不明である。そこで、本研究では、大豆のオイルボディを形成する膜タンパク質であり、CHOL 代謝改善作用を発揮する可能性のある大豆オレオシンのアミノ酸配列に的を絞って、ペプチドアレイにより胆汁酸結合ペプチドを網羅的に解析した。

【方法・結果】165 kDa、24 kDa 大豆オレオシンのアミノ酸配列 (疎水度 0.8 以上) を網羅したペプチドアレイを作成し、タウロコール酸とハイブリダイゼーションを行った。抗コール酸抗体、蛍光標識した抗体と順次反応させ、蛍光強度を測定した結果、複数の胆汁酸結合ペプチドを発見した。これらのペプチドの中から 2 種類のペプチドを化学合成し、*in vitro* で従来法 (試験管内で放射性胆汁酸との結合能を測定) により胆汁酸結合能を評価した結果、VAWWMY よりも高い胆汁酸結合能を示すペプチドが存在した。また、試験管内で放射性 CHOL を含むミセル溶液に、発見した 2 種類の新規胆汁酸結合ペプチドを添加し、CHOL ミセル溶解性に対する影響を評価した結果、いずれのペプチドも VAWWMY と比較して CHOL ミセル溶解性を顕著に低下させた。さらに、CHOL ミセル溶解性低下作用を有する新規胆汁酸結合ペプチドと放射性 CHOL を含むエマルジョン溶液を調製し、ラットに経口投与し、1 時間後に解剖し、*in vivo* における CHOL 吸収に及ぼす影響を評価した結果、CHOL 吸収抑制作用を発揮することを発見した。

2I-12p 卵白タンパク質の有用性に関する研究 (第3報: 内臓脂肪蓄積抑制効果の作用機序)

○高橋 弥生¹、松岡 亮輔¹、木村 守¹、増田 泰伸¹、久能 昌朗¹、和田 義明²、高橋 陽子²、宇都宮 一典²

1) キュービー (株)・研究所、2) (独) 農研機構 食品総合研究所、3) 慈恵医大 糖尿病・代謝・内分泌内科

【目的】卵白タンパク質 (EWP) は、栄養学的に非常にバランスのよいアミノ酸組成であり、良質なタンパク質と評価されている。我々は一昨年の本学会で、カゼインと比較して EWP が体タンパク質を増加させ、体脂肪量および内臓脂肪を減少させることを報告した。本研究では、EWP による体脂肪蓄積抑制効果の作用機序を解明するため、肝臓、骨格筋および内臓脂肪への影響を調べた。

【方法】4 週齢の SD 系雄ラットにタンパク質源としてカゼイン (対照)、大豆タンパク質、EWP をそれぞれ 20%、コーン油を 10% 配合した試験食 (AIN-76 組成に準拠) を 2 週間ペアフィーディングにて摂取させた。内臓脂肪組織、肝臓、骨格筋の重量測定、血清分析、肝臓および骨格筋における脂質代謝に関連する酵素活性と mRNA の発現量を測定した。

【結果】内臓脂肪重量は、EWP 群では 3.44 ± 0.06 g/100 g B.W. で対照群の 3.97 ± 0.24 g/100 g B.W. および大豆群の 4.01 ± 0.30 g/100 g B.W. と比べて低値傾向を示した。骨格筋重量は EWP 群および大豆群が対照群に比べ有意に高値を示し、骨格筋での β 酸化に関連する酵素活性は EWP 群が対照群や大豆群に比べ有意に高値を示した。肝臓トリグリセリド濃度は、EWP 群および大豆群が対照群に比べて有意に低い値を示した。また、肝臓の脂肪酸合成に関与する酵素活性は EWP 群が対照群に対し低値であり、脂肪酸合成関連酵素の一部で mRNA 発現量が有意に低値を示した。

【結論】EWP の摂取により、骨格筋では β 酸化が亢進し、肝臓では脂肪酸合成減退により内臓脂肪蓄積を抑制している可能性が示唆された。これらのことから、EWP は内臓脂肪増加に伴うメタボリックシンドロームの予防に活用できる可能性が示された。

2I-11p 新規抗リパーゼ鶏卵抗体による抗肥満作用

○広瀬 麻衣¹、安藤 太志¹、A.K.M.Shofiqur Rahman²、梅田 浩二²、児玉 義勝²、長岡 利¹

1) 岐阜大・応生・応用生命、

2) (株) イーダブルニュートリション・ジャパン

【目的】肥満の予防改善には、腸管内のリパーゼによる脂肪分解を阻害し、食餌由来の脂質吸収を抑制することが効果的な手段の一つである。本研究はより安全で有効性の高いリパーゼ阻害剤として、日常的に摂取される鶏卵由来の新規鶏卵卵黄抗体 (IgY) に着目した。豚由来リパーゼを免疫させた鶏の卵黄から抗リパーゼ鶏卵抗体 (Anti-lipase IgY)、対照としてリパーゼを免疫しない卵黄から鶏卵抗体 (Control IgY) をそれぞれ精製し、Anti-lipase IgY のリパーゼ阻害による脂質代謝への影響を *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。

【方法】実験 1: 25、25mg/ml の IgY を添加してリパーゼによるトリオレインからのオレイン酸生成量を測定し、リパーゼ活性を測定した。実験 2: 6 週齢の C57BL/6J 雄マウスに 34% 高脂肪食 (C 群)、0.2% Control IgY 配合 34% 高脂肪食 (CY 群)、0.2% Anti-lipase IgY 配合 34% 高脂肪食 (AY 群) を 35 日間摂取させ、体重、摂餌量を毎日測定し、糞便を採取した。飼育終了後、血中・糞中・肝臓脂質、各脂肪組織重量などを測定した。

【結果】実験 1: Anti-lipase IgY の添加によってリパーゼ活性が有意に低下した。実験 2: 体重増加量及び摂餌量に有意差はなかったが、AY 群は C 群に対し、糞中の総脂質・胆汁酸量が有意に増加した。AY 群は C 群及び CY 群に対し、糞中トリグリセリド・リン脂質が有意に増加、脂肪組織重量は有意に低下、血漿トリグリセリドは低下傾向を示した。肝臓中の総脂質、リン脂質、コレステロールは CY 群に対し AY 群で有意に低下し、トリグリセリドは C 群に対し AY 群で有意に低下した。以上の結果から、Anti-lipase IgY はリパーゼ活性の阻害作用により、脂質吸収を抑制し、抗肥満作用を発揮することを発見した。

2I-13p マウスの肝臓脂肪蓄積に対する低アミノ酸食と朝食・夕食の摂餌時刻の効果

○霜田 愛美、田原 優、青木 菜摘、平尾 彰子、柴田 重信
早稲田院 先進科 生理・薬理

【背景・目的】哺乳類の代謝機能は体内時計により制御されており、代謝関連遺伝子の発現は日内変動しているものが多い。当研究室では、摂餌時刻により脂肪蓄積が異なるという、時間栄養学的な研究も行われている。また摂取するタンパク質量の低下は、インスリンシグナルを増強し、臓器特異的に脂肪蓄積を誘導する (Toyoshima et al.2010)。本実験では、食餌中のタンパク質量と摂餌時刻を変化させ、肝臓の脂肪蓄積状態や、その制御機構について調べた。

【方法】実験 1 では、マウスに与える食餌中のタンパク質量を、タンパク質が 14% の通常食 (14C) 群と、タンパク質が 6% の低タンパク食 (6C) 群に分け自由摂食下で飼育した。続いて実験 2 では、制限給餌装置を用いて、朝食のみ餌を与える朝食群と、夕食のみ餌を与える夕食群に分け、それぞれ 14C/6C を与えた場合と比較した。そして、タンパク質量と摂餌時刻の違いによる、肝臓・血清 TG、肝臓の脂質代謝関連遺伝子の発現量の変化を調べた。

【結果・議論】実験 1 では、6C 群の肝臓の脂質代謝関連遺伝子の発現量が、合成系は増加し、分解系は減少した。それに伴い肝臓 TG 量は増加し、血清 TG 量は減少した。実験 2 では、14C を与えた場合、夕食群の遺伝子発現の合成系は増加したが、他は差がなく、肝臓・血清 TG 量ともに増加した。6C を与えた場合は、夕食群の遺伝子発現の合成系が増加し、分解系が減少した。それに伴い、肝臓 TG 量は増加し、血清 TG 量は減少した。また、実験 1 の自由摂食時に比べて、実験 2 の夕食群は、遺伝子発現量や TG 量の増減幅が大きくなった。低タンパク食と夕食のみの制限給餌が蓄積条件とそのメカニズムを、インスリンシグナル、2DG 取込み率から追及している。(本研究は生物系特定産業技術研究支援センターのサポートによる)