

第51回(社)日本栄養・食糧学会中部支部大会 学生・大学院生研究発表会

平成 17 年 12 月 17 日(土)13:45 ~ 17:05

演題および発表者

1. 発芽に伴う大豆種子中のアレルゲンタンパク質の分解
○関 亮太郎¹⁾、山下裕香理¹⁾、山田千佳子¹⁾、平野順子¹⁾、和泉秀彦¹⁾、松田 幹²⁾
(¹⁾名古屋学芸大・管理栄養、²⁾名大院・生命農)
2. 精白米の塩溶液浸漬による低アレルゲン化
○鍋田早希子¹⁾、山本美由紀¹⁾、山田千佳子¹⁾、平野順子¹⁾、和泉秀彦¹⁾、松田幹²⁾
(¹⁾名古屋学芸大・管理栄養、²⁾名大院・生命農)
3. ラット体内ビタミン E 同族体濃度に及ぼすケトコナゾール投与の影響
○太田萌香¹⁾、阿部稚里¹⁾、池田彩子¹⁾、山下かなへ²⁾、市川富夫¹⁾
(¹⁾名古屋学芸大・管栄、²⁾椙山女大・食栄)
4. γ -トコフェロールの体内動態に及ぼす α -トコフェロールの影響
○吉野由希¹⁾、山田和¹⁾、阿部皓一²⁾、吉村寛幸²⁾、山下かなへ¹⁾
(¹⁾椙山女学園大・生活科学部、²⁾エーザイ(株))
5. α -トコフェロール輸送タンパク質欠損マウスのトコフェロール濃度と繁殖に及ぼすゴマの影響
○永島麻里¹⁾、山田 和¹⁾、寺社下浩一²⁾、新井洋由³⁾、山下かなへ¹⁾
(¹⁾椙山女学園大・生活科学部、²⁾中外医科学研究室、³⁾東京大・薬学部)
6. フォローアップ調査からみた長生きのための食生活のありかたについて
○鈴木祐子¹⁾、堀江祥允¹⁾、堀江和代²⁾、菅瀬君子³⁾
(¹⁾名市大院システム自然科学、²⁾浜松大学、³⁾愛知学泉大)
7. シイタケ粉末飼料の摂食低下作用
○安野圭祐¹⁾、堀江祥允¹⁾、堀江和代²⁾(¹⁾名市立大院システム自然科学、²⁾浜松大)
8. ラクトスタチン(IIAEK)は腸細胞の ABCA1 発現上昇を介してコレステロール吸収を抑制する ○星 晶文、
金丸 義敬、長岡 利(岐阜大・応用生物科学部)
9. 酵素合成したイヌリンの食物繊維としての効果
○寺部 茜¹⁾、三嶋 智之²⁾、和田 正³⁾、早川 享志^{1,2)}
(¹⁾岐阜大大学院・農学研究科、²⁾岐阜大・応用生物科学部、³⁾フジ日本精糖(株))
10. 米ケフィランがストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットに及ぼす影響
○喜多村 尚、小原 郁夫 (愛知学泉大・家政学部・管理栄養士専攻)
11. マウス用流水プールの改良とアルファルファの摂取による持久運動能力低下
○山田あゆみ、浅野恵、石原健吾、植山恵理、畔柳朱里、小島尚子、安本教傳
(椙山女大・生活科学)
12. 各種アミノ酸溶液の抗肥満作用に関する比較検討
○ 内田友乃¹⁾、石原健吾¹⁾、森下幸治²⁾、長尾淳二³⁾、浅野麻衣¹⁾、伊藤翌香¹⁾、佐川昌代¹⁾、
弓達靖子¹⁾、安本教傳¹⁾(¹⁾椙山女大・生活科学、²⁾協和発酵、³⁾小林製薬)

13. グルタミン酸の栄養学的必須性の検討

○ 吉田 卓矢、増田 友輔、小原 郁夫(愛知学泉大・家政学部・管理栄養士専攻)

14. ウシ乳汁より分離した新規膜小胞画分に含まれるタンパク質の解析

○ 村上耕介¹⁾、青木直人²⁾、灘野大太¹⁾、松田幹¹⁾

(¹⁾名大院生命農・応用分子生命科、²⁾三重大・生資)

15. ラット肝分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素(BCKDH)複合体に対する中鎖脂肪酸(MCT)摂取の影響

○ 杉森 翔一、下村 吉治(名古屋工業大・工学部)

16. 分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素複合体とそのキナーゼの相互作用

○ 清水綾子¹⁾、村上太郎²⁾、下村吉治¹⁾

(¹⁾名古屋工業大大学院・工学研究科、²⁾中京女子大・健康科学部)

17. 食餌タンパク質による血中コレステロール改善作用のメカニズム

○ 奥浦 朋子、北澤 隆宏、岩田 剛幸、荒川 真吾、小田 裕昭

(名大大学院・生命農学研究科・栄養生化学研究室)

1. 発芽に伴う大豆種子中のアレルギータンパク質の分解

○関 亮太郎¹⁾、山下裕香理¹⁾、山田千佳子¹⁾、平野順子¹⁾、和泉秀彦¹⁾、松田 幹²⁾

1)名古屋学芸大学・管理栄養、2)名大院・生命農

【目的】大豆は植物性食品の中では、タンパク質含量が高く良質なタンパク質源である。また、豆腐や味噌などに加工される他に発芽させてモヤシとして食されるなど日本人の食生活に欠くことのできない食品である。しかし、一方で食物アレルギーの発症を誘発する食品として問題視されている。現在では、種々の食品で低アレルギー化が試みられており、微生物由来のプロテアーゼを用いた方法などがあるが、これまでに我々は、発芽に伴って活性化されるプロテアーゼに着目し、大豆種子中の主要アレルギーが分解されることを確認している。そこで、本研究では異なる品種の大豆を用いて発芽による貯蔵タンパク質の変動、特にアレルギーの分解について明らかにすることを目的とした。

【方法】大豆はミヤギシロメとフクユタカを用い、一晩水に浸漬後 28℃暗所にて経時的に発芽させ、これをすり潰し PBS にて可溶性タンパク質を抽出したものを試料とした。その後、Lowry 法によりタンパク質量を、SDS-PAGE および二次元電気泳動によりタンパク質組成を解析した。主要アレルギーについては *Gly m Bd* 28K、*Gly m Bd* 30K、7S グロブリンに対するモノクローナル抗体を用いたイムノブロットにより解析した。また発芽に伴うタンパク質分解がプロテアーゼによるものかどうかを明らかにするために、種子中のプロテアーゼ活性をカゼイン消化法により測定した。さらに、発芽大豆をすり潰したものを 37℃で 1~6 時間インキュベートし、経時的にアレルギーの分解について解析した。

【結果】Lowry 法の結果より発芽日数の違いによるタンパク質量の顕著な差は確認できなかったが、SDS-PAGE の結果より発芽後 1~2 日目から主要タンパク質の分解が見られた。フクユタカにおいて 7S グロブリンの α' 鎖は発芽後 3 日目に、 α 鎖および β 鎖は 6 日目に消失し、ミヤギシロメでは全てのサブユニットが 5 日目に消失した。*Gly m Bd* 30K は発芽後 2 日目より低分子化し、電荷の変化が観察された。*Gly m Bd* 28K はフクユタカにおいてはもともと種子中に存在せず、ミヤギシロメでは発芽後 5 日目より消失した。また、プロテアーゼ活性を測定した結果、発芽日数に関わらず浸漬直後から発芽後 5 日目まではほぼ同程度の活性があった。発芽大豆より調製した呉を 37℃で 6 時間インキュベートしたところ、発芽後 3 日目の呉では粒の状態に残存していた 7S グロブリン α' 鎖は消失し、 α 鎖、*Gly m Bd* 28K、および *Gly m Bd* 30K の分解が見られた。以上の結果より、大豆を発芽させることによってタンパク質源としての栄養価が保持されたまま主要アレルギーのいくつかに分解が見られ、時期は品種により多少異なるものの *Gly m Bd* 28K および 7S グロブリンは消失し、*Gly m Bd* 30K は低分子化されることが明らかになった。さらに、発芽によりプロテアーゼの活性化が見られ、発芽大豆をすり潰してインキュベートすることでアレルギー分解が促進されたことから、内因性プロテアーゼによるアレルギー分解の可能性が示唆された。

2. 精白米の塩溶液浸漬による低アレルギー化

○鍋田早希子¹、山本美由紀¹、山田千佳子¹、平野順子¹、和泉秀彦¹、松田幹²

(¹名古屋学芸大学・管理栄養、²名大院・生命農)

【目的】米は日本人にとって主食であり、エネルギー源として重要であるばかりでなく、タンパク質を8~10%含むことからタンパク質源としても重要である。一方で、卵や牛乳などとともに、米の摂取による食物アレルギーが問題になっている。米の低アレルギー化については、これまでに酵素および界面活性剤処理によりアレルギーを選択的に除去した低アレルギー米が開発されている。また我々も味噌溶液浸漬による精白米中のアレルギーの低減化、および内因性酵素を用いた発芽玄米中のアレルギーの低減化について報告している。さらに我々は、塩溶液に精白米を一定条件下で浸漬させることにより、可溶性タンパク質が溶出することに着目し、これを利用した浸漬による米アレルギーの低減化についても報告した。そこで本研究では、精白米を浸漬する塩溶液を変化させることによる可溶性タンパク質、特にアレルギーの溶出量の変化について明らかにすることを目的とした。

【方法】精白米を0、0.1、0.5MのNaCl溶液に浸漬させ、4℃、30℃、50℃で一晩置いた。米粒から浸漬溶液中に溶出したタンパク質量をLowry法で定量し、タンパク質組成をSDS-PAGEにより解析した。さらに主要アレルギーに対するモノクローナル抗体を用いたイムノブロットによりアレルギーの溶出量の変化を調べた。また、米粒中に残存したタンパク質についても解析を行うために浸漬後の米粒を回収して、洗浄後に粉碎し、0.5M NaCl溶液にて米粒残存可溶性タンパク質を、1%SDS溶液にて米粒残存総タンパク質を抽出し、溶出タンパク質と同様に解析を行った。さらに、米粒残存アレルギー量については、阻害ELISA法を用いて定量解析を行った。また、浸漬溶液をKCl、CaCl₂、MgCl₂溶液に変え、同様に塩濃度・温度を変化させた場合の溶出タンパク質およびアレルギーについて解析を行い、NaCl溶液の場合と比較した。

【結果】Lowry法の結果から、塩濃度および温度の上昇に伴い米粒中の可溶性タンパク質の溶出量は増加した。SDS-PAGEおよびイムノブロットの結果から、可溶性タンパク質の溶出量の増加に伴い、アレルギーの溶出量も増加した。浸漬後の残存可溶性タンパク質については、塩濃度および温度の上昇に伴いタンパク質量、アレルギー量ともに塩濃度、温度依存的に残存量が減少した。50℃、0.5Mの場合に最もアレルギーが減少しており、阻害ELISA法で米粒残存アレルギー量を定量したところ、精白米中にもともと存在しているアレルギー量に比べ約45%に減少していた。一方、米粒残存総タンパク質に関しては米の主要貯蔵タンパク質であるグルテリン等には顕著な変化が見られず、タンパク質源としての栄養価はある程度保持されていることが確認された。さらに、浸漬溶液をCaCl₂溶液にした場合、溶出タンパク質量はNaCl溶液の場合に比べて約2倍になり、それに伴いアレルギー溶出量も増加していた。これより、CaCl₂溶液に浸漬した場合の方がNaCl溶液に浸漬した場合に比べて残存アレルギー量が少なく、低アレルギー化されている可能性が示唆された。

3. ラット体内ビタミン E 同族体濃度に及ぼすケトコナゾール投与の影響

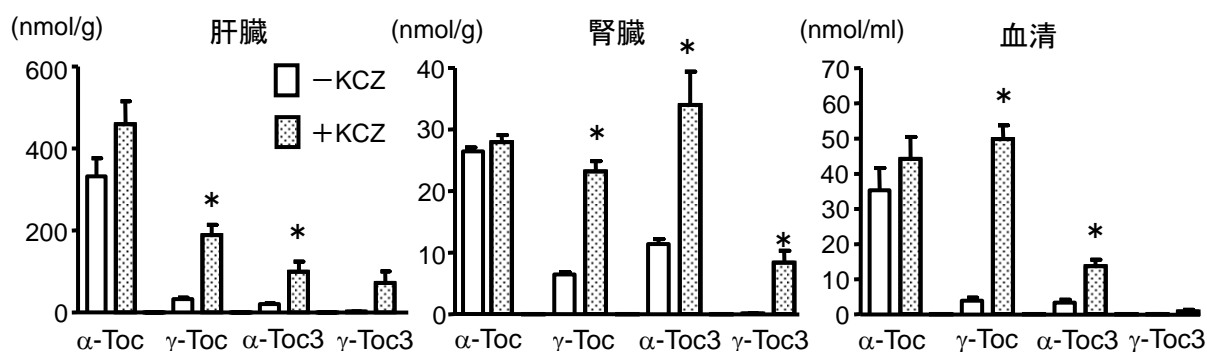
○太田萌香、阿部稚里、池田彩子、山下かなへ*、市川富夫

(名古屋学芸大・管栄、*梶山女大・食栄)

【目的】ビタミンEは、 ω -酸化とそれに続く β -酸化によってカルボキシクロマン(CEHC)に代謝され、主に尿中に排泄されることが、近年明らかになった。私達は、代表的なシトクローム P450 3A(CYP3A)阻害剤であるケトコナゾール(KCZ)と γ -トコフェロール(γ -Toc)の添加飼料をラットに 3 日間摂取させると、 γ -Toc の代謝産物である γ -CEHC の排泄が阻害され、体内の γ -Toc 濃度が著しく上昇することを見出した。したがって、CYP3A による γ -Toc の水酸化が、 γ -Toc 代謝を調節していると考えている。そこで、 γ -Toc 以外のビタミンE同族体の代謝も CYP3A によって調節されているかどうかを明らかにするために、ビタミンE同族体の体内分布に対する KCZ 投与の影響を調べ、比較した。

【方法】ビタミン E 無添加飼料で 4 週間飼育したビタミンE欠乏ラットに、 α -トコフェロール(α -Toc)10 mg、 γ -Toc 10 mg、トコトリエノール(Toc3) 29.5 mg (10 mg の α -Toc3 と 13.9 mg の γ -Toc3 を含む)、またはそれぞれのビタミン E 同族体と KCZ(50 mg/kg)の混合物を、胃内に強制投与した。24 時間後に屠殺し、主要な臓器および血清のビタミンE濃度を測定した。

【結果】主要な臓器および血清の α -Toc 濃度は、KCZ 投与の影響を受けなかった。一方、主要な臓器の γ -Toc、 α -Toc3 および γ -Toc3 濃度は KCZ 投与によって上昇し、血清の γ -Toc および α -Toc3 濃度も KCZ 投与によって上昇した。以上の結果から、CYP3A 活性によって α -Toc 代謝はほとんど影響を受けないが、 γ -Toc、 α -Toc3 および γ -Toc3 の代謝は、CYP3A による水酸化によって調節されていることが推察された。



肝臓、腎臓および血清のビタミンE濃度

*は、-KCZ に対する有意差(P<0.05)を示した。

4. γ -トコフェロールの体内動態に及ぼす α -トコフェロールの影響

○吉野由希¹⁾ 山田和¹⁾ 阿部皓一²⁾ 吉村寛幸²⁾ 山下かなへ¹⁾

1) 椛山女学園大・生活科学部 2) エーザイ(株)

【目的】ビタミン E(VE)同族体の中では α -トコフェロール(Toc)が最も生理活性が高く、2005 年日本人の食事摂取基準では α -Toc のみを VE とすることになっている。ところが最近、トコリエノール(Toc3)や γ -Toc に α -Toc とは異なる生理機能が明らかにされ、注目されている。当研究室では、これまで γ -Toc や Toc3 の体内動態について調べてきた。今回は経口投与後 24 時間までの γ -Toc の体内動態に及ぼす α -Toc の影響について調べた。

【実験方法】Wistar 系雄ラットを用い、①4 週齢から VE 無添加飼料で 4 週間飼育した後、 α -Toc と γ -Toc を同量含む投与液を経口投与($\alpha + \gamma / E$ 欠群)②8 週齢まで α -Toc を含む飼料で飼育し、 γ -Toc を含む投与液を経口投与($\gamma / 50\alpha$ 群)した。その後、0,1,3,6,24 時間で解剖を行い、採血し、肝臓、腎臓周囲脂肪を摘出した。血漿はリポタンパク質に分画した。0, 24 時間群は解剖前 24 時間の採尿を行った。各血漿、組織サンプル中の VE 同族体濃度を測定し、尿サンプル中の CEHC 量を測定した(現在分析中)。

【結果・考察】

実験① α -Toc と γ -Toc の体内動態($\alpha + \gamma / E$ 欠群)

カイロミクロンでは α -Toc と γ -Toc は同じ経時的変化を示した。肝臓では投与後 3 時間までは同様の傾向を示したが、投与後 6 時間以降で差が見られ、投与後 24 時間では α -Toc は高濃度保持されていたにもかかわらず、 γ -Toc はほとんど消失していた。VLDL では、 α -Toc がより多く取り込まれたが、これはすでに明らかである α -TTP との親和性の違いによるものである。LDL、HDL、腎臓周囲脂肪でも α -Toc 濃度は有意に高い値を示していた。このように γ -Toc は吸収までは α -Toc と同様であるが、代謝において大きく異なることを示した。

実験②体内に α -Toc が存在するときの γ -Toc の体内動態($\gamma / 50\alpha$ 群)

$\gamma / 50\alpha$ 群ではカイロミクロンに取り込まれた γ -Toc 量は $\alpha + \gamma / E$ 欠群とほぼ同量であった。しかし、肝臓、VLDL、LDL、HDL、腎臓周囲脂肪では $\gamma / 50\alpha$ 群のほうが $\alpha + \gamma / E$ 欠群より γ -Toc 濃度が高い傾向が見られた。特に肝臓では、 α -Toc 量は投与後 0~3 時間まで $\gamma / 50\alpha$ 群の方が高かったにもかかわらず、 γ -Toc の VLDL への取り込みはより多かった。このことから、肝臓に存在している α -Toc よりも摂取時に共存している α -Toc の方が摂取した γ -Toc の組織への取り込みに大きく影響していると考えられた。

5. α -トコフェロール輸送タンパク質欠損マウスの トコフェロール濃度と繁殖に及ぼすゴマの影響

○永島麻里¹⁾ 山田 和¹⁾ 寺社下浩一²⁾ 新井洋由³⁾ 山下かなへ¹⁾

¹⁾椛山女学園大学生生活科学部 ²⁾中外医科学研究所 ³⁾東京大学薬学部

<目的>

ラットにおいてゴマ摂取による体内トコフェロール(Toc)濃度上昇作用が明らかになっている。本研究では、 α -トコフェロール輸送タンパク質(α -TTP)の存在しない状態でのゴマ摂取による体内 Toc 濃度への影響を観察するために α -TTP 欠損マウスを用いてゴマ摂取時の体内 Toc 濃度について検討した。また、ビタミン E は繁殖に必要な物質である故に α -TTP 欠損マウスは通常食で繁殖不可能であるが、高 α -Toc や抗酸化物質を与えると繁殖可能になることが報告されている。そこで、本研究では通常食にゴマを添加した際の繁殖状況を観察してゴマの効果を検討することにした。

<実験方法>

6 週齢の α -TTP 欠損マウスをビタミン E 欠乏飼料群(E 欠群), 50 mg α -Toc 添加飼料群(50 α 群), 50 mg α -Toc 及び 12%ゴマ添加飼料群(50 α +ゴマ群), 1600 mg α -Toc 添加飼料群(1600 α 群)に分けて 11 週間飼育して繁殖状況を観察した後、肝臓・腎臓・脳・心臓・血漿中 Toc 濃度を測定した。

<結果・考察>

現段階(n=5)での体内 α -Toc 濃度の結果では、脳以外の組織ではゴマによる有意な上昇は見られていないが、脳ではゴマによる上昇が見られた。 α -TTP 欠損マウスで体内 Toc 濃度上昇傾向がみられたことから、 α -TTP が関与しない Toc 濃度上昇の可能性が考えられた。一方、繁殖では E 欠群と 50 α 群で失敗したが、50 α +ゴマ群では成功した(現在の成功率 40%)。これは妊娠時に必要な抗酸化作用において、ゴマ摂取による体内ビタミン E 濃度の上昇やゴマリグナンの抗酸化性によって繁殖に成功した可能性が考えられた。現在は組織中過酸化脂質濃度を測定しており、当日はその結果も合わせて報告する。

6. フォローアップ調査からみた長生きのための食生活のありかたについて

○鈴木 祐子¹, 堀江 祥允¹, 堀江 和代², 菅瀬 君子³

(¹名古屋市システム自然科学, ²浜松大学, ³愛知学泉大学)

【目的】長生きするための食生活のありかたを知ることが目的として、堀江らは70歳以上の某市在住高齢者について3日間の食品摂取量および非栄養的生活関連の項目について面接調査を行い、さらにその後5年後および10年後に生死の有無についてフォローアップ調査を行った。今回はそれぞれのフォローアップ調査時における生存者群とそれまでの死亡者(以下死亡者)群間の栄養摂取量および健康度など6カテゴリーと日常生活における自立度について比較検討した。ここでは、栄養素全体の充足状況をみるのに各栄養素の充足度にスコアを与える方法で総スコア表示を試み、栄養摂取については体格を調整する表示法の違いも検討した。

【方法】対象者は某市在住の70歳以上の高齢者、男性43名、女性46名の計89名である。調査方法は面接聞き取り法を用いた。調査開始時期は1991年で、5年後の1996年と10年後の2001年に同一対象者に追跡調査を行った。5年後の生存者は男性34名、女性41名であり、さらに10年後の生存者は男性15名、女性28名であった。栄養素摂取量の計算はエクセル栄養君 Ver3.0(建帛社)を使用し、栄養摂取量は一人あたり、体重あたりおよびエネルギー密度それぞれについて計算表示した。栄養摂取以外の調査項目(運動量、健康度、生活意識、精神活動、文化社会活動、人間関係)および自立度については質問項目ごとにスコアを与え総スコアの計算を試みた。スコアの与え方は原則として国際栄養学会エイジング小委員会提案の方式にしたがった。

【結果】1. 生存者と死亡者の栄養に充足度および摂取量の比較

男女とも群分けしたいずれのグループも栄養充足度は高いレベルを示し、5、10年後とも死亡者群のほうが生存者群よりも低い傾向があった。一方、調べた栄養素のなかで特に脂肪の摂取に特徴がみられた。すなわち、体格調整のあるなしに関わらず、死亡者群のほうが男女とも5、10年後のいずれにおいても、植物および魚類からの脂肪摂取量、多価不飽和脂肪酸の摂取量が少なく、P/S, n-6/n-3 比もよくない傾向がみられた。

2. 生存者と死亡者の非栄養カテゴリー項目の比較

(1)カテゴリーによっては死亡者群のほうが生存者群よりも高いスコアを示したものがあつたが、すべてのカテゴリーの総スコアは男女、5、10年後とも死亡者群のほうが生存者群よりも低い傾向を示した。ただし、運動量と文化・社会活動については女性で5、10年後とも死亡者群の方が低い傾向が見られた。

(2)日常生活における自立度の総スコアは10年後の女性の死亡者群で低い傾向があつた以外はどの群間でも違いはなかつた。

7. シイタケ粉末飼料の摂食低下作用

○安野圭祐¹, 堀江祥允¹, 堀江和代²

(¹名古屋市立大院システム自然科学, ²浜松大学)

【目的】すでに本研究室で内藤らは、ラットを用いてシイタケなどの食用キノコ粉末を含む飼料とセルロース含有飼料(対照飼料)を、2日間絶食後3日間投与する実験を行い、その摂取量が対照飼料投与ラットよりも有意に低下することを観察した。そこで今回は、シイタケが飼料摂取量を低下させるメカニズムを追究するため、次のような実験をおこなった。まず、シイタケ飼料摂取量の低下が投与開始後、どの時点から有意に下がるか調べた。ついで、ラットがシイタケとセルロース含有のどちらの飼料をより好んで摂取するかを調べた。このときラットの飼料に対する慣れの影響の有無も検討した。さらに、シイタケ粉末中に含まれるどの成分が飼料摂取量を低下させるのかを調べるため、シイタケ粉末からエーテル抽出物、エタノール抽出物、その残りの食物繊維分画を分離し、それぞれを含む飼料を投与する実験を行った。最後に食欲調節にかかわるとされている血糖値と血中遊離脂肪酸値を測定し、シイタケ飼料摂取量の低下との関連を検討した。

【実験方法】使用したラットは初体重90–100gのWistar系雄で、室温25℃、湿度50%で飼育し、水および飼料は自由摂取とした。対照飼料は既報と同じ正常飼料で、食物繊維源として10%のセルロースを含み、シイタケ粉末飼料はセルロースの代わりに同量のシイタケ乾燥粉末を含むものとした。実験は①ラットを2日間絶食させ対照飼料とシイタケ粉末飼料をそれぞれ投与した直後は2時間ごとおよび3日間の飼料摂取量を測定した。②ラットに対照飼料およびシイタケ粉末飼料をそれぞれ3日間与えた群について、それぞれ2日間絶食させた後、対照とシイタケ飼料を同時に投与し、直後4時間後および3日間のそれぞれの飼料摂取量を測定した。③シイタケ原粉末から得られたエーテル抽出物、エタノール抽出物およびその残渣の食物繊維画分(EES)をそれぞれ含む飼料を2日間絶食後3日間投与し、飼料摂取量を測定し、さらに各群から採取した血液中のグルコース濃度及び血中遊離脂肪酸濃度を和光純薬製のテストワークキットを用いて測定した。有意差の検定はt検定でおこなった。

【結果】①シイタケ飼料摂取量は投与直後2時間から有意に低下することが観察された。②ラットにあらかじめ前飼料として対照飼料およびシイタケ飼料をそれぞれ3日間与えた場合でも、絶食後のシイタケ飼料摂取量が有意に低いことがわかった。③シイタケから分離した成分のうちEES含有飼料の摂取量が有意に低下した。このとき、シイタケ飼料群およびEES含有飼料群の血漿グルコース濃度が対照群ラットより有意に高く、一方血漿遊離脂肪酸濃度は低い傾向が認められた。

【まとめ】ラットによるシイタケ粉末飼料の摂取量低下はシイタケ中の食物繊維によるものであり、シイタケの食物繊維を摂取すると食欲中枢が血糖値の上昇と血中遊離脂肪酸値の低下の影響をうけるためにシイタケ粉末飼料の摂食抑制が起きることが示唆された。

8. ラクトスタチン (IIAEK) は腸細胞の ABCA1 発現上昇を介して コレステロール吸収を抑制する

○星 晶文、金丸 義敬、長岡 利 (岐阜大 応用生物科学部)

【目的】食品による疾病予防や健康増進の可能性の探求は現代生命科学研究の焦点のひとつである。我々は牛乳乳清蛋白質が動脈硬化性疾患のリスクファクターである血中コレステロール値を低下させることを見出し、その主要蛋白質である β -ラクトグロブリンから新規コレステロール代謝改善ペプチド IIAEK を同定し¹⁾、ラクトスタチン (lactostatin) と命名した。本研究ではラクトスタチンのコレステロール吸収抑制機構を解明することを試みた。

【方法】コレステロールのミセル溶解性に対するラクトスタチンの影響及びラクトスタチンの胆汁酸結合性を *in vitro* で評価した。分化 Caco-2 細胞において、ラクトスタチンを培地に添加し、^[14C] コレステロールの取り込み量を評価した。^[3H] コレステロールを取り込ませた分化 Caco-2 細胞から腸管腔側及び基底膜側に排出される^[3H] コレステロール量を測定した。分化 Caco-2 細胞から RNA を抽出し、コレステロール代謝関連遺伝子の mRNA レベルをリアルタイム定量 PCR 法により定量した。分化 Caco-2 細胞のコレステロール排出トランスポーターである ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) の蛋白質発現量をイムノブロット法により定量した。ABCA1-Luc (ルシフェラーゼ) プラスミドを用いた転写活性への影響についても検討した。

【結果】ラクトスタチンはコレステロールのミセル溶解性及び胆汁酸結合性に影響を及ぼさなかった。しかし、ラクトスタチンは無添加の場合と比較してミセルコレステロールの取り込み量を有意に低下させ、腸管腔側へのコレステロール排出量を有意に増加させた。さらに、ラクトスタチンが腸のコレステロール排出トランスポーターである ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) の蛋白質発現量、mRNA 量および転写活性を増加させることを発見した。したがって、ラクトスタチン (IIAEK) は腸細胞の ABCA1 発現上昇を介してコレステロール吸収を抑制することを明らかにした。

¹⁾ Nagaoka, S., et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281, 11-17 (2001)

9. 酵素合成したイヌリンの食物繊維としての効果

○寺部 茜¹、三嶋 智之²、和田 正³、早川 享志^{1,2}

¹岐阜大学大学院農学研究科、²岐阜大学応用生物科学部、³フジ日本精糖(株)

【目的】

イヌリンは水溶性食物繊維の一種であり、スクロースのフルクトース側にフルクトースが β (2-1)結合で2~60分子重合した直鎖状のポリマーである。イヌリンはチコリの根やキクイモの塊茎に多く含まれており、ヨーロッパではチコリの根から抽出・精製することで工業的に生産されている。近年このイヌリンをショ糖から酵素的に合成することが可能となったが、天然のイヌリンとは重合度分布などいくつかの違いがある。そこで本研究では合成イヌリンの発酵特性について天然イヌリンとの比較を行うと同時に、現在特定保健用食品の素材などとして広く利用されているいくつかの水溶性食物繊維(ポリデキストロース、難消化性デキストリン)との比較を行うことを目的とした。

【方法】

Wistar/ST Clean 雄ラット(6週齢)をコントロール、合成イヌリン(INs)、天然イヌリン(INn)、ポリデキストロース(PD)、難消化性デキストリン(Idex)の5群(各6匹)に分け、4週間の飼育を行った。各群の飼料はセルロースパウダー3%を含み、コントロール群以外の4群はさらにそれぞれの食物繊維を5%添加した。飼料はINs群に対するpair-feedingにて与え、水は自由摂取とした。本飼育19日目から96時間分の糞を回収し排便量を測定した。また本飼育23日目、26日目の新鮮糞を採取し、短鎖脂肪酸(SCFA)の測定、保水性の測定に供した。本飼育最終日にラットをエーテル麻酔下にて脱血死させ、盲腸を採取した。盲腸は重量を測定した後、盲腸内容物のpH測定、SCFA測定を行った。

【結果および考察】

食物繊維を添加した4群において、盲腸の肥大、盲腸内容物pHの低下が確認された。またINs、INn群で排便量の増加が見られた。PD群では保水性、排便量で有意に高値を示したが、これは糞が下痢や軟便であることが多かったためと考えられた。盲腸内容物中のSCFA含量については、INs、INn、Idex群でプロピオン酸が増加し、INs、INn群でn-酪酸が有意に増加した。糞中のSCFA含量については、INs、INn、Idex群でプロピオン酸、n-酪酸が増加していたが、有意差は見られなかった。また、SCFA含量を百分率換算したところ、食物繊維の種類によるSCFAの組成の変化がより顕著に示された。PD群は組成の変化は見られず、Idex群によるプロピオン酸の割合の増加、INs、INn群によるn-酪酸の割合の増加が見られた。n-酪酸は大腸粘膜細胞の増殖促進効果などを有し、大腸の健康増進に関わるSCFAである。それゆえn-酪酸を増加させる合成イヌリンは天然イヌリンと同様に有用な食物繊維素材であると考えられた。

10. 米ケフィランがストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットに及ぼす影響

○喜多村 尚、小原 郁夫

愛知学泉大学 家政学部 管理栄養士専攻

【目的】米ケフィランは、米を主成分とし乳酸菌発酵 (*L.kefirifaciens*) させることによって得られるガラクトースとグルコースで構成される粘質性多糖 (ガラクトグルカゴン) でケフィール中のケフィランと同一物質である。ケフィランは動物の乳が原料であるが、米ケフィランは純植物性である。本研究では、飼料組成比率の異なる飼料 (糖質エネルギー比; 18% 及び 73%) を基礎飼料として、上記の米ケフィランを添加したそれぞれの飼料を、糖尿病ラットに与えて米ケフィランが糖尿病に及ぼす影響について検討した。

【方法】12 週齢 Wistar 系雄性ラットに、糖尿病誘発薬であるストレプトゾトシンを 40mg/kgBW を投与し糖尿病モデルラットを作成した。ラットを糖質エネルギー比 18% 及び 73% 投与の 2 群に分け、さらにこれらの飼料に 0.1% のケフィランを添加したもの、計 4 群に分けた。実験食は paired-feeding の方法を用い、11 日間飼育を行った。飼育期間中、体重、摂食量、飲水量、尿量を毎日測定し、11 日目に無麻酔下で胴体血と肝臓を採取した。採取した血液を用いて、血中グルコース、尿素窒素、総コレステロール、トリグリセリド、遊離脂肪酸濃度を測定し、肝臓は肝アルギナーゼ活性の測定に用いた。

【結果】体重は糖質エネルギー比 18% 群に比べて、73% 群の方が有意に減少したが、飲水量及び尿量は 73% 群で有意に増加した。しかし、体重、飲水量、尿量及び血中脂質の項目においては、ケフィランの有無による影響は見られなかった。血中尿素窒素及び肝アルギナーゼ活性は、糖質エネルギー比 73% 群においても 18% 群と比べて有意に高くなったが、ケフィランを与えることによって有意に減少した。また、糖質エネルギー比 73% 群で、血中グルコースもケフィランを与えると低下する傾向が見られた。

【結論】米ケフィランを添加した飼料を与えると、血糖値の低下傾向及び体タンパク質の分解抑制によるタンパク質代謝が改善される。このことから、糖尿病の病態を悪化させる糖質含量の多い飼料を与えたときにおいて、米ケフィランは短期間で病態を改善し、糖尿病に有効であることが示唆された。

11. マウス用流水プールの改良とアルファルファの摂取による持久運動能力低下

○山田あゆみ、浅野恵、石原健吾、植山恵理、畔柳朱里、小島尚子、安本教傳

(梶山女大・生活科学)

【目的】我々はこれまでに市販の配合飼料 MF(オリエンタル酵母)に比べて、AIN-93 を改変したカゼイン食を与えた方がマウスの限界までの遊泳時間が長くなることに気がついていた。この 2 種の飼料はいずれもマウスの成育にとって好適な組成でありながら、これらの飼料を摂取したマウスの遊泳時間の差は非常に大きい。この遊泳時間に対する作用の差異が 2 種の飼料のどの原料・成分に由来するのか明らかにするために、MF だけに含まれていると推測される α (アルファルファ)、および MF 中の V(ビタミン混合)含量がカゼイン食の 43%に過ぎないことに着目して、持久運動能力や運動時のエネルギー代謝に対する作用を評価した。

【方法】5 週齢雄性 Std ddY マウスを 4 群に分けて、MF 食・MF+V 食(MF に 1.9%の V を添加)・Casein 食・Casein+ α 食(Casein 食に 1.9%のアルファルファもやし粉末を添加)を自由摂取させた。1 週間後に限界までの運動時間を流水プール運動装置にて測定した。2 日後に 20 分間の遊泳運動直後に屠殺して、血中乳酸・グルコース・インスリン・遊離脂肪酸・中性脂肪・総ケトン体・アセト酢酸・3-ヒドロキシ酪酸濃度、および肝臓・腓腹筋・四頭筋グリコーゲン濃度を測定した。

【結果と考察】限界までの遊泳時間は、Casein 食群>Casein+ α 食群>MF+V 食群>MF 食群の順に平均 47, 34, 26, 19 分であった。カゼイン食群は MF 食群に比べて血中乳酸濃度が約 2 mM、グルコース濃度が約 60 mg/dL、インスリン濃度が約 1.5 ng/mL 低く、遊離脂肪酸濃度が約 30%高く、3 種のケトン体濃度も高い傾向が認められた。血中中性脂肪濃度は、2 群間に差が認められなかった。Casein 食群は MF 食群に比べて骨格筋・肝臓グリコーゲン残存量がそれぞれ 0.25, 5 mg/g ほど少なかった。血中成分・グリコーゲン濃度は、Casein+ α 群では MF 食群に近づいた値になり、MF+V 群では Casein 食群に近づいた値になった。以上の知見から、MF 食群は Casein 食群に比べて運動中のグリコーゲン利用が抑制されたために、脂質の利用も制限され、持久運動能力が低くなったと考察した。MF 食群におけるエネルギー基質の動員の劣化は、MF に V を添加することによってある程度改善が認められたが、MF に何%か含まれると推測される α も持久運動能力を低下させる原因の一つであると考えられた。

今後、 α の分画を行ない、 α 成分の持久運動能力に対する作用を検討するためには、現在よりも検出感度・再現性に優れた持久運動能力測定系の開発が不可欠である。当日は現在行なっているマウス用流水プール運動系の改良も含めて発表する。

12. 各種アミノ酸溶液の抗肥満作用に関する比較検討

○内田友乃、石原健吾、森下幸治¹、長尾淳二²、浅野麻衣、伊藤翌香、佐川昌代、弓達靖子、安本教傳(梶山女大・生活科学、協和発酵¹、小林製薬²)

【目的】市販されている様々なアミノ酸混合ドリンクには、運動の際に摂取することで、運動による体脂肪の燃焼、骨格筋の肥大によるエネルギー消費の亢進をもたらすことが期待されている。しかしアミノ酸混合ドリンク摂取による抗肥満作用やそのメカニズムは明らかではない。本研究では、市販アミノ酸混合ドリンクのアミノ酸組成を再構成して、流水プールでトレーニングを行っているマウスに摂取させ、それらの抗肥満作用について比較検討した。

【方法】VAAM[®]、Amino Value[®]、ダイエットアミノ酸[®](Diet AA)、卵白タンパク質組成のアミノ酸混合物(EGW)、ダイエットヘルプ[®](Diet help)の各混合物を蒸留水に溶解し、2%溶液とした。5週齢 Std ddY 雄性マウスに試験飲料を4週間自由摂取させ、週3回30分、遊泳運動を負荷した。対照群は脱イオン水の自由摂取とし、トレーニング群(DW Tra 群)と非トレーニング群(DW Sed 群)に分けた。各種アミノ酸溶液摂取開始5週目に遊泳運動負荷後、採血し、各臓器重量、白色脂肪重量、骨格筋重量と各種血漿中成分を分析した。

【結果・考察】マウスに各種アミノ酸溶液を飲料水として4週間自由摂取させ、週3回遊泳運動を負荷したところ、EGW、Diet help、Diet AA 群の内臓脂肪重量(副精巣周囲、腎臓周囲脂肪の合計)が少なくなる傾向が見られた。一方、骨格筋重量(腓腹筋、四頭筋の合計)は他の群と差は無く、EGW、Diet help、Diet AA 群はむしろ多い傾向が見られた。体重に差はなく、血漿アルブミン濃度からも、栄養状態に差は見られなかった。血漿レプチン濃度は、DW Sed 群と比較して他の群に低い傾向が見られ、白色脂肪重量とも同じような傾向を示した。血漿中性脂質濃度は Diet AA、Diet help、EGW、DW Tra 群に低い傾向が見られた。血漿遊離脂肪酸濃度は各群に差は認められなかったが、DW Sed 群が他の群と比較して、低い傾向が見られた。血漿ケトン体濃度は Diet AA 群に高い傾向が見られ、血漿遊離脂肪酸濃度には差が見られなかったことから、Diet AA 群は脂質のβ酸化が促進されていたと考えられた。

以上の結果より、Diet AA、EGW、Diet help の摂取と運動負荷によって、内臓脂肪重量が減少し、抗肥満作用が期待できると示唆された。またその要因として脂質のβ酸化が促進されたためと考えられた。現在、臓器から mRNA を抽出し、RT-PCR(Reverse transcriptase-polymerase chain reaction)法にてエネルギー代謝関連の遺伝子発現量を解析中であるため、当日はそれらの結果も含めて、各アミノ酸溶液の抗肥満作用について報告する予定である。

13. グルタミン酸の栄養学的必須性の検討

○吉田 卓矢、増田 友輔、小原 郁夫

愛知学泉大学 家政学部 管理栄養士専攻

【目的】非必須アミノ酸に分類されるグルタミン酸はタンパク質中に最も多く存在するアミノ酸であり、通常の食事では欠乏することがほとんどないことから、その重要性はあまり注目されていない。しかし、アミノ酸分解により常に産生されるアンモニアの除去や腸粘膜内でのエネルギー源など、生体内での役割は重要であることから、グルタミン酸は栄養学的に必須ではないかと考えられる。そこで従来の評価法のほかに肝アルギナーゼ活性、血中尿素窒素濃度(BUN)を用いて体内代謝の面からグルタミン酸の栄養学的必須性を検討した。

【方法】アミノ酸混合物を窒素源とし、グルタミン酸を含む完全食、グルタミン酸を含まない欠乏食、グルタミン酸をグルタミンに置き換えたグルタミン食の 3 種類の飼料を調製し、4 週齢の Wistar 系雄性ラット 30 匹を完全食群、欠乏食群、グルタミン食群の 3 群に分け 21 日間飼育した。19 日目から 3 日間糞と尿を採取した後、無麻酔下にて胴体血、肝臓を採取した。それらの試料を用いて生物価、正味アミノ酸価($NAU = \{ \text{摂取 N} - (\text{糞 N} + \text{尿 N}) \} / \text{摂取 N} \times 100$)、BUN、肝アルギナーゼ活性を測定した。

【結果】体重増加、摂食量において完全食と欠乏食の間に有意な差は無かった。欠乏食は完全食よりも生物価、NAU で有意に低い値を示し、BUN、肝アルギナーゼ活性において有意に高い値を示した。

【結論】これらのことから、グルタミン酸が欠乏することは体重増加に影響しないため非必須アミノ酸に分類されるが、体重増加と共に窒素出納、肝アルギナーゼ活性や BUN のような生化学的指標を子細に検討すると、グルタミン酸は明らかに必須であると言える。

14. ウシ乳汁より分離した新規膜小胞画分に含まれるタンパク質の解析

○村上 耕介、青木 直人*、灘野 大太、松田 幹

(名大院生命農・応用分子生命科、*三重大生資)

【目的】

これまでに、乳腺上皮細胞株 COMMA-1D が、乳脂肪球皮膜タンパク質 MFG-E8 (PAS6/7)を含む膜小胞を細胞外に分泌していることを明らかにした (Oshima K *et al.*, 2002. *Eur J Biochem.* 4:1209-18)。このことから、乳腺上皮細胞は生体内でも同様の膜小胞を分泌しており、この膜小胞が乳汁にも含まれていると予想した。本研究では、大量に入手可能で食品的高いウシ乳汁から膜小胞画分を調製、実際に膜小胞が調製されているかどうかを透過型電子顕微鏡により確認した後、膜小胞画分に存在するタンパク質を解析した。タンパク質の解析には、乳タンパク質に対するモノクローナル抗体を用いた Western blotting および MALDI-TOF/MS を用いた PMF 法を用いた。

【方法と結果】

ウシ乳汁(初乳および常乳)を脱脂した後、乳清を段階的に遠心分離し、最終的に 100,000 x *g* にて超遠心分離することで、膜小胞画分を沈殿画分として得た。沈殿画分はさらにショ糖密度勾配超遠心分離により、異なる密度の膜小胞画分へと分画した。このうち 1.12 g/ml および 1.18 g/ml の密度画分に含まれる膜小胞の超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡により観察した。各画分に存在するタンパク質は SDS-PAGE にて展開した後、乳タンパク質 (MFG-E8, butyrophilin および lactophorin) に対するモノクローナル抗体を用いた Western blotting、あるいは MALDI-TOF/MS を用いた PMF 法により解析した。透過型電子顕微鏡にて観察したところ、1.12 g/ml の密度画分には直径 1.5 μm 程度の脂質二重膜に覆われた膜小胞が観察され、内側に 100 nm の膜小胞を内包するものも観察された。1.18 g/ml では直径 150 nm 程度の膜小胞が観察された。Western blotting により解析したところ、MFG-E8 は常乳で 1.15-1.18 g/ml、初乳で 1.14-1.18 g/ml の密度画分に分画された。これに対して butyrophilin は常乳で 1.16-1.18 g/ml、初乳で 1.17-1.18 g/ml に分画された。また lactophorin は初乳で 1.10-1.13 g/ml の密度画分に分画されたのに対して、常乳では検出されなかった。MALDI-TOF/MS を用いた PMF 法により、1.17-1.18 g/ml の密度画分には乳脂肪球に局在するタンパク質が多く同定されたが、その他に ALG-2 interacting protein 1 および actin が同定された。また 1.10-1.12 g/ml の密度画分には免疫グロブリンおよび lactoferrin が同定された。

【考察】

1.17-1.18 g/ml の密度画分には乳脂肪球由来の乳脂肪球皮膜が分画されていると考えられるが、同じ乳脂肪球に局在するはずの MFG-E8 と butyrophilin の密度が異なっていた。MFG-E8 は近年報告されるようになった膜小胞 exosome にも局在することが報告されており、乳汁にも同様の膜小胞が存在していることが示唆された。この密度画分では、乳脂肪球タンパク質以外に ALG-2 interacting protein 1 および actin が同定されたが、これらも exosome での局在が報告されているタンパク質であり、いくつかの種類の exosome 様膜小胞が存在していることが予想された。1.10-1.12 g/ml の密度画分には lactophorin、免疫グロブリンおよび lactoferrin といったタンパク質が同定されたが、これらは細菌やウイルスに対する阻害活性を持っており、膜小胞と複合体を形成して機能する可能性が示唆された。

15. ラット肝分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素 (BCKDH) 複合体に対する 中鎖脂肪酸 (MCT) 摂取の影響

○ 杉森 翔一、下村 吉治
名古屋工業大学 工学部

【背景・目的】長鎖脂肪酸 (LCT) は、腸で吸収されると、リンパ管・静脈を経て、身体の種々の臓器に運搬される。一方、中鎖脂肪酸 (MCT) の場合には、吸収された後、肝門脈を経て、直接肝臓に運ばれ、その多くが肝臓で代謝される。一方、分岐鎖アミノ酸代謝の調節酵素である BCKDH 複合体は特異的キナーゼ (BCKDH kinase) により不活性化される調節を受けるが、そのキナーゼの阻害剤として中鎖脂肪酸である octanoate が知られている。そこで、本研究では、ラット肝臓の BCKDH 複合体の活性に対する MCT 投与の影響を検討した。

【方法】8 週齢の雌の Sprague-Dawley 系ラット 21 匹を市販食 CE2 と水を与え、18 日間飼育した。その後、ラットを任意に control 群、trioctanoin 群及び、triolein 群の 3 群に分けた。実験最終日の 7 時に全てのラットの餌を除去し、12 時に control 群には 1%カルボキシメチルセルロース、trioctanoin 群と triolein 群にはそれぞれの油脂を 3.8ml 経口投与した。次いで、13 時に、control 群に生理食塩水、その他の油脂群に heparin (300U) を皮下注射した。17 時に、ラットを麻酔し、血液と肝臓を採取した。屠殺時刻を夕方にした理由は、雌ラットでは、夕方に肝 BCKDH 複合体活性が低いためである。血清中の遊離脂肪酸 (FFA)、トリグリセリド (TG) 及び、グルコース濃度をそれぞれのキットを用いて、測定した。また、肝臓抽出液の BCKDH 複合体の活性を分光学的方法により、測定した。

【結果】血清中の FFA 濃度は、control 群よりも trioctanoin 群と triolein 群で有意に高かった。TG 濃度は、他の 2 群より triolein 群で高い傾向を示した。グルコース濃度は各群間で同じであった。肝臓中の BCKDH 複合体活性は、trioctanoin 群が他の 2 群より著しく高かった。本研究により、MCT である octanoate は、BCKDH キナーゼを阻害し、BCKDH 複合体を活性化したことが示唆された。

16. 分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素複合体とそのキナーゼの相互作用

○清水綾子、村上太郎*、下村吉治

名古屋工業大学大学院・工学研究科、*中京女子大学・健康科学部

【目的】

分岐鎖アミノ酸代謝は、その代謝系の第2反応を触媒する分岐鎖 α -ケト酸脱水素酵素複合体 (BCKDC) により律速される。この酵素複合体の活性調節は、酵素タンパク質のリン酸化・脱リン酸化により行われる。すなわち、BCKDC は特異的キナーゼ (BDK) による酵素タンパク質のリン酸化により失活し、特異的ホスファターゼ (BDP) による脱リン酸化により再活性化する。近年、我々の研究において BCKDC と BDK の相互作用では、生理状態によって解離・結合が起こることが示された。現在までに、ラットの肝臓から精製された BCKDC と組み換え体 BDK (rBDK) の複合体は、BDK の阻害剤である α -クロロイソカプロン酸 (CIIC) 存在下で解離しないが、肝臓抽出液中の BCKDC-BDK の複合体は、CIIC 存在下で解離することが示唆された。これらの所見より、肝臓抽出液中には BDK の解離因子が存在する可能性が考えられる。本研究では、ミトコンドリア抽出液および肝臓抽出液を用いて CIIC 存在下における BCKDC と rBDK の解離に及ぼす影響をさらに検討した。

【方法】

ラットの肝臓から精製された BCKDC と rBDK の複合体に、低タンパク食で飼育したラットの肝臓抽出液、もしくはミトコンドリア抽出液を添加し、インキュベートした後、BDK 阻害剤である CIIC を作用させた。そのサンプル中の BCKDC に結合する rBDK の量を、BCKDC に対する抗体を用いた免疫沈降法により回収し、Western blot 法により分析した。

【結果と考察】

以前に得られた結果と同様に、肝臓抽出液を BCKDC-rBDK 複合体に作用させたところ、CIIC 存在下で BCKDC と rBDK の解離が認められた。さらに、ミトコンドリア抽出液を作用させた場合においても、CIIC 存在下で BCKDC と rBDK の解離が認められた。これらの結果より肝臓およびミトコンドリア中には、BCKDC-rBDK 複合体の解離因子が存在することが示唆された。

17. 食餌タンパク質による血中コレステロール改善作用のメカニズム

○奥浦 朋子、北澤 隆宏、岩田 剛幸、荒川 真吾、小田 裕昭

名古屋大学 大学院生命農学研究科 栄養生化学研究室

【目的】 これまでに当研究室での研究により、高コレステロール (chol) 食負荷時において卵白タンパク質や小麦グルテンが血中 VLDL-chol 濃度上昇の抑制因子として働くことが明らかになり、また両者の摂取により肝臓での chol 7 α 水酸化酵素 (CYP7A1) の遺伝子発現が亢進することが明らかになった。卵白タンパク質の作用は、主に卵白タンパク質に多く含まれる含硫アミノ酸によるものであることを示してきた。一方、小麦グルテンに制限アミノ酸であるリジンとスレオニンを添加した食餌を摂取させた場合、CYP7A1 遺伝子発現の活性化は抑制されたが、VLDL-chol 濃度は低下したままであった。本実験では、主に小麦グルテンに焦点を当て、小麦グルテンの VLDL-chol 上昇抑制効果はそのアミノ酸組成によるのかタンパク質そのものの効果によるのか検討するため、小麦グルテンとアミノ酸組成を同じくするアミノ酸混合食を作成し、VLDL-chol 濃度ならびに CYP7A1 遺伝子発現の変動を検討した。【方法】 実験動物として Wistar 系雄ラットを用いた。1%chol、0.25%コール酸ナトリウムを含む高コレステロール食を実験食とし、タンパク質源としてカゼイン、小麦グルテン、小麦グルテンにリジンとスレオニンを添加したもの、さらにそれぞれとアミノ酸組成を同じくするアミノ酸混合食を7日間与えた。7日目の0000時に屠殺し、肝臓と血液を採取した。【結果と考察】 カゼイン群と比較して、小麦グルテンと小麦グルテンにリジンとスレオニンを添加した食餌の群では血中 chol 濃度の低下が見られた。アミノ酸混合食群では、カゼインアミノ酸群に比べ小麦グルテンアミノ酸群で血中 chol 濃度の低下が見られ、リジンとスレオニンの添加により増加した。アガロースゲル電気泳動によって血中 chol 濃度の低下は VLDL 画分でおこっていた。肝臓 CYP7A1 mRNA 量はカゼイン群と比較して、小麦グルテンで上昇し、リジンとスレオニンの添加により低下した。アミノ酸混合食でも同様な結果が得られた。以上の実験から、小麦グルテンによる血中 chol 濃度低下作用は主にそのアミノ酸組成によるものだとわかった。ここで、小麦グルテンならびに卵白タンパク質などのアミノ酸組成の比較から、含硫アミノ酸の必要量に対する割合の第一制限アミノ酸の割合に対する比率を取り(これをここでは、RASAA (relative availability of sulfur-containing amino acid) と呼ぶ)、その値と血中 chol 濃度との関係をとったところ、相対的に含硫アミノ酸の余剰度が高く含むタンパク質の摂取によって血中 chol 濃度が低下していることがわかった。このことから、食餌タンパク質中の相対的な含硫アミノ酸の余剰度は血中コレステロール濃度を決定する因子として働くことが示され、RASAA は血中 chol 濃度低下効果の指標になる可能性が示された。

