

*Bull. Mukogawa Women's Univ. Nat. Sci.*, **55**, 41-46 (2007)

武庫川女子大紀要(自然科学)

## オカラがラットの血漿・肝臓脂質およびアディポサイトカイン濃度に及ぼす影響

堀内 理恵\*, 北脇 涼子\*\*, 高木 尚紘\*\*\*, 福田 満\*\*

\* (大阪夕陽丘学園短期大学食物学科)

\*\* (武庫川女子大学生生活環境学部食物栄養学科)

\*\*\* (武庫川女子大学大学院生活環境学研究科食物栄養学専攻)

## Effects of Okara on Levels of Plasma and Hepatic Lipids, and Adipocytokine in Rats

Rie Horiuchi\*, Ryoko Kitawaki\*\*, Naohiro Takagi\*\*\* and Mitsuru Fukuda\*\*

\* *Department of Food Science and Nutrition,*

*Osaka Yuhigaokagakuen Junior College,*

*Osaka City, Osaka 543-0073, Japan*

\*\* *Department of Food Science and Nutrition,*

*School of Environmental Sciences,*

*Mukogawa Women's University, Nishinomiya, Hyogo, 663-8558, Japan*

\*\*\* *Food Science and Nutrition Major*

*Graduate School of Human Environmental Sciences,*

*Mukogawa Women's University, Nishinomiya, Hyogo, 663-8558, Japan*

The effects of okara on plasma lipid, liver lipid and adipocytokine levels in rats were investigated to clarify that okara would be suitable as a material for a functional food. When okara was given to rats fed a high-cholesterol diet, the increase in plasma cholesterol level and the decrease in plasma adiponectin level were suppressed. The improvement of the levels of serum cholesterol and adipocytokine induced by the intake of okara suggests that okara would be useful for prevention of lifestyle-related diseases.

### 諸言

産業廃棄物扱いされるオカラには生理効果をもつ大豆タンパク質, 食物繊維, イソフラボンが含まれている<sup>1)2)</sup>. 大豆タンパク質には小腸内胆汁酸結合作用による胆汁酸の腸肝循環抑制を通して血清コレステロール低下作用が報告されている<sup>3)4)</sup>. また7Sグロブリン由来ペプチドがコレステロールの合成を抑制し<sup>5)</sup>, 褐色脂肪細胞組織の重量を増加させ体脂肪を減少させると報告されている<sup>6)</sup>. そのため大豆

タンパク質を含むオカラに生活習慣病予防効果が期待される.

我々は高コレステロール食摂取ラットにおいてオカラの投与によって血漿コレステロール上昇抑制作用, 肝臓重量増加抑制作用, 肝臓脂肪蓄積防止作用を認めた<sup>7)</sup>. 近年, 大豆タンパク質の機能として脂肪細胞で分泌されるアディポネクチン増加による抗動脈硬化作用, 抗インスリン抵抗性作用についても報告されている<sup>8)</sup>.

本研究ではオカラ摂取がラットの血液成分にどの

ような影響を与えるかについて, また血中アディポネクチンなどのアディポサイトカイン成分の変動を検討し, 若干の知見を得たので報告する.

## 実験方法

### 1. 飼料材料

粉末オカらはマルサンアイ株式会社で, 豆乳製造時の副産物のオカらを熱風乾燥したもので, 粒径平均  $50 \mu\text{m}$  であった. 乾燥オカらの組成を Table 1 に示した.

### 2. 動物実験

#### ① 実験動物と飼育条件

**Table 1.** Composition of dry okara

Component	Ratio
Dietary fiber	44.3
Protein	24.7
Lipid	13.6
Saccharide	5.9
Mineral	3.3
Water	8.2

**Table 2.** Composition of experimental diets

Ingredients	(g)	
	Control	Okara
Casein	18.00	12.80
Corn starch	36.00	33.30
Dextrinized cornstarch	13.20	13.00
Sucrose	10.00	10.00
Soy oil	7.00	4.20
Vitamin mixture (AIN - 93VX)	1.00	1.00
Mineral mixture (AIN - 93MX)	3.70	3.00
Cellulose	10.00	0.40
Cholesterol	1.00	1.00
Sodium cholate	0.25	0.25
Choline bitartrate	0.25	0.25
Butylhydroquinone	0.0014	0.0014
L-Cystine	0.30	0.30
Okara (dried)	0.00	20.00

実験動物として5週齢の雄性SD系ラット14匹を日本クレアから購入して使用した. 2種の飼料の組成を Table 2 に示した. 標準飼料にコレステロールを1%添加した飼料(対照群用), 乾燥オカラで

20%置換した飼料(オカラ投与群用)を実験飼料とした. 本実験では標準飼料組成はAIN93の組成に準拠し, オカラ置換飼料の組成についてはオカラ組成 (Table 1)を考慮してタンパク質, 脂質, 食物繊維の組成と総エネルギー量が対照群用と等しくなるように調整した (Table 2).

飼育条件については飼育温度  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 湿度  $55 \pm 7\%$  に調節し, 12時間明暗サイクルで5週間飼育した. 金網ケージで1匹ずつ飼育し, 最初の1週間は標準飼料で予備飼育し, 予備飼育後に2群(対照群とオカラ投与群)各々7匹ずつ群分けした. 各群の体重の平均が等しくなるように群分けし5週間飼育した.

飼料は水道水とともに自由摂取させた. 1日おきに体重を測定し飼料摂取量は毎日測定した. 飼育5週目に2日間の糞を採取し, 凍結乾燥後, 糞重量の測定を行った. 本動物実験は武庫川女子大学動物実験指針に基づいて実施した.

#### ② 血液, 肝臓, 盲腸, 腎臓および精巣周辺脂肪組織の採取

飼育期間中1週間ごとに, エーテル麻酔下で尾部動脈からヘパリン処理した注射器で採取した. 採血量は  $0.5\text{ml}$  とし,  $4^\circ\text{C}$ , 3000rpm で15分, 遠心分離した後, 上清(血漿)を採取した. 飼育期間終了後, エーテル麻酔下で絶命させて心臓採血後, 肝臓, 盲腸, 腎臓および精巣周辺脂肪組織をすみやかに摘出し, 氷冷した生理食塩水で洗浄後, 重量測定し, 分析時まで  $-80^\circ\text{C}$  で凍結保存した.

#### ③ 血漿成分の測定

血漿の総コレステロール(TC), HDL-コレステロール(HDL-C), トリグリセリド(TG)およびグルコースは酵素法による臨床キット(和光純薬工業, コレステロールEテストワコー, HDL-コレステロールテストワコー, トリグリセリドG-テストワコー, グルコースCIIテストワコー)を用いて測定した. また, インスリン, アディポネクチン, レプチンについても測定した. レビスインスリンキット(株式会社シバヤギ), アディポネクチンELISAキット(大塚製薬株式会社)およびレプチンELISAキット(大塚製薬株式会社)を用いて測定した.

#### ④ 肝臓脂質および脂質含量の測定

摘出した肝臓からの脂質の抽出は Folch ら<sup>9)</sup>の方法に従い, クロロホルム-メタノール(2:1)を用いて行った. 抽出液から窒素気流中で溶媒を除去し,

総脂質重量を求めた。肝臓脂質については、5% TritonX-100 含有イソプロパノールに溶解後、血漿と同様に市販の酵素法による臨床キットを用いて測定を行った。

### ⑤ 糞中胆汁酸測定

凍結乾燥糞を乳鉢で粉碎後、0.5g を 5.0ml の加熱エタノール(70℃, 60 分間)抽出した。続いて 5.0ml のクロロホルム-メタノール混液(1:1, v/v)洗浄を 2 回繰り返し、抽出液と洗浄液を合わせ、糞中胆汁酸について総胆汁酸テストワコー(和光純薬工業)を用いて測定した。

### 3. 統計処理

実験結果は平均値 ± 標準誤差(S.E.)で示した。データは SPSS13.0 を用いコントロール群とオカラ投与群間の比較には Mann - Whitney, s U 検定を、週齢間の比較には Scheffe および Dunnet 法を用いた。

## 結果および考察

### 1. 動物実験

#### ① 体重, 飼料摂取量

摂取量はオカラ投与群の方が若干高く、体重もオ

カラ投与群が若干高値の傾向になった(Table 3)。

#### ② 血漿脂質濃度

総コレステロール濃度はコントロール群では 2 週目に増加し、2 週目と比較して 4 週目で有意に減少した(Table 4)。オカラ投与群は 2 週目と比較し 3・4・5 週目で有意に減少した。オカラ投与群はコントロール群より総コレステロールが低値を示す傾向であった。

HDL-コレステロール/総コレステロール比は両群間に有意差は認められなかった(Table 5)。

トリグリセリド濃度は両群とも飼育開始後一旦上昇後減少した。コントロール群は 2 週目と比較して 5 週目は有意に減少した。オカラ群も 2 週目と比較して 4, 5 週目は有意に減少した(Table 6)。オカラ投与群はコントロール群よりも、トリグリセリド濃度相対値がわずかに低値を示す傾向であった。森山<sup>10)</sup>はマウスを用いた実験で  $\beta$ -コングリシニンがトリグリセリド濃度を低下させると報告しているが、本実験でも若干低値傾向にあった。

#### ③ サイトカイン濃度

コントロール群でアディポネクチン濃度相対値は低下したが、オカラ群では低下は認められなかった

**Table 3.** Effect of okara on body weight and food intake

Group	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Initial food intake (g/day)	Final food intakes (g/day)
Control	223.1 ± 10.5	456.2 ± 28.2	27.9 ± 1.1	32.1 ± 1.6
Okara	227.1 ± 3.6	468.0 ± 6.8	27.0 ± 1.5	36.0 ± 2.3

Each value is the mean ± SE of seven rats per group (n=7).

**Table 4.** Changes of total cholesterol level in rat plasma

Group	concentration	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	average (mg/dl)	73.8 ± 4.6	102.8 ± 5.7	79.3 ± 5.9	71.7 ± 5.9*	75.0 ± 7.4
	relative value	100	139	107	97	102
Okara	average (mg/dl)	80.4 ± 3.6	107.2 ± 6.8	71.7 ± 4.5*	68.0 ± 5.4*	73.3 ± 7.4*
	relative value	100	133	89	84	91

Each value is the mean ± SE of seven rats per group (n=7).

\*:  $p < 0.05$  vs. 2 week.

**Table 5.** Changes of HDL-cholesterol/total cholesterol ratio in rat plasma

Group	concentration	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	average	55.3	34.8	29.8	37.2	37.8
	relative value	100	63	54	67	68
Okara	average	47.7	27.5	25.4	30.5	30.3
	relative value	100	58	53	64	63

Each value is the mean ± SE of seven rats per group (n=7).

**Table 6.** Changes of triglyceride level in rat plasma

Group	concentration	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks
Control	average (mg/dl)	109.9 ± 14.0	130.7 ± 14.7	75.0 ± 5.6	71.7 ± 8.4	58.2 ± 12.7*
	relative value	100	119	68	65	53
Okara	average (mg/dl)	142.8 ± 18.8	178.3 ± 22.6	91.5 ± 13.6	75.6 ± 6.8*	73.4 ± 5.7*
	relative value	100	125	64	53	51

Each value is the mean ± SE of seven rats per group (n = 7).

\* :  $p < 0.05$  vs. 2 week.

**Table 7.** Effect of okara on metabolic parameters of plasma in rat fed a high-cholesterol diet

Parameters	concentration	feeding time	Diet group	
			control	okara
Adiponectin	(ng/ml)	2 weeks	2.8 ± 0.2	2.3 ± 0.2
	relative value		100	100
	(ng/ml)	5 weeks	1.9 ± 0.3*	2.1 ± 0.2
	relative value		76	96
Leptin	(pg/ml)	2 weeks	1177 ± 23	1372 ± 137
	relative value		100	100
	(pg/ml)	5 weeks	1338 ± 86*	1320 ± 78
	relative value		114	96
Insulin	(ng/ml)	2 weeks	0.77 ± 0.14	0.53 ± 0.06
	relative value		100	100
	(ng/ml)	5 weeks	1.09 ± 0.18	0.78 ± 0.18
	relative value		142	147

Each value is the mean ± SE of seven rats per group. (n = 7)

\* :  $p < 0.05$  vs. 2 week.

**Table 8.** Changes of glucose level in rat plasma

Group	concentration	1week	2weeks	3weeks	4weeks	5weeks
Control	average (mg/dl)	125.0 ± 9.0	113.1 ± 6.5	164.2 ± 29.4	126.0 ± 13.9	171.8 ± 14.3
	relative value	100	90	131	101	137
Okara	average (mg/dl)	119.5 ± 7.2	93.3 ± 7.4	96.9 ± 7.7*	135.7 ± 4.6	159.4 ± 6.7
	relative value	100	78	81	113	133

Each value is the mean ± SE of seven rats per group (n = 7).

\* :  $p < 0.05$  vs. control.

(Table7). レプチン濃度相対値はコントロール群では上昇し、オカラ群で上昇は認められなかった (Table7). 肥満するとアディポネクチン濃度は低下しレプチン濃度は上昇すると報告されている<sup>8) 10)</sup>.

オカラ群はコントロール群より、若干体重が重い傾向にあるが、これらの血中サイトカイン濃度の変動から内臓脂肪が増加していないと推測され、オカラ摂取によるメタボリックシンドローム予防効果が期待される。

両群で、インスリン濃度は増加したが、群間に増

加率の差は認められなかった。(Table7).

④ 血糖値は2週目にはコントロール群で一時的に減少する傾向にあった。オカラ群では2・3週目に減少し、3週目に対照群に対して有意に低下した (Table8)。森ら<sup>11)</sup>は内臓脂肪型肥満 OLETF ラットを用いた実験でカゼインに比べ大豆タンパク質投与群ではラットの血糖値が有意に低くなったと報告している。また森山<sup>9)</sup>は大豆タンパク質のβ-コングリシニンが血糖値を下げる働きがあることを報告している。本研究でも血糖値を一時的に下げる傾向が

若干みられた。

⑤ 肝臓脂質濃度

肝臓 g あたりの総脂質量はオカラ群がコントロール群よりも低くなったため ( $p < 0.1$ ) (Table 9), オカラには肝臓脂肪蓄積防止作用があることが示唆された。肝臓で、アディポネクチンが AMP キナーゼや核内受容体型転写因子である PPAR- $\alpha$  を活性化し、脂肪酸燃焼を促進するとされている<sup>12) 13)</sup>。オカラ群でアディポネクチンがコントロール群と比較して高濃度で維持されたことにより、肝臓での脂肪酸の  $\beta$  酸化が促進されたと推測される。

また Tovar ら<sup>14) 15)</sup>の報告によると in vivo で、大豆タンパク質摂取により、肝臓での脂肪酸合成酵素を活性化する転写因子である Sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1) の発現が減少する。オカラ中に含まれる大豆タンパク質により SREBP-1 が減少し、肝臓での脂肪酸合成が抑制され、オカラ群はコントロール群よりも、肝臓の総脂質量が低値となったと考えられる。

**Table 9.** Effect of okara on hepatic lipid contents of rats fed a high-cholesterol diet

contents	Diet group	
	control	okara
Total lipid (mg/g liver)	384 $\pm$ 18	354 $\pm$ 14 #
Total cholesterol (mg/g liver)	62 $\pm$ 2	61 $\pm$ 3
Triglycerides (mg/g liver)	108 $\pm$ 8	99 $\pm$ 8

Each value is the mean  $\pm$  SE of seven rats per group (n=7). # :  $p < 0.1$  vs. control.

**Table 10.** Effect of okara on fecal excretion of bile acid of rats fed a high-cholesterol diet

Weight and contents	Diet group	
	control	okara
Fecal dry weight (g/day)	3.3 $\pm$ 0.1	3.7 $\pm$ 0.2 #
Total bile acid (mg/g feces)	127 $\pm$ 6	134 $\pm$ 10

Each value is the mean  $\pm$  SE of seven rats per group (n=7). # :  $p < 0.1$  vs. control.

**Table 11.** Weight of the liver, cercum and adipose tissue of rats fed the experimental diets for 4 weeks

	control	okara
Perirenal adipose tissue weight (g/100g b.w.)	1.9 $\pm$ 0.2	1.9 $\pm$ 0.2
Epididymal adipose tissue weight (g/100g b.w.)	1.0 $\pm$ 0.1	1.0 $\pm$ 0.1
Cercum (g/100g b.w.)	1.0 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.1*
Liver weight (g/100g b.w.)	6.6 $\pm$ 0.1	6.1 $\pm$ 0.1*

Each value is the mean  $\pm$  SE of rats per group (n=7). \*:  $p < 0.05$  vs. control group.

また Torres ら<sup>16)</sup>の報告によるとイソフラボンによりコレステロール代謝系酵素の転写因子 SREBP-2 の発現が促進される。肝臓 g あたりのコレステロール量についてはオカラ群とコントロール群の間に有意差は認められなかったが、血漿コレステロールは、コントロール群と比較してオカラ群において若干減少傾向にあった。オカラに含まれるイソフラボン<sup>17)</sup>によって SREBP-2 の発現が促進されコレステロールレセプターが活性化されたと推測される。

⑥ 糞中胆汁酸濃度

糞重量および糞中胆汁酸濃度を Table 10 に示した。オカラに含まれる食物繊維や大豆タンパク質には胆汁酸の糞中排泄促進作用があるとされる<sup>3) 4) 18)</sup>。本実験では、コントロール群と比較して、オカラ群の方が糞重量および糞中胆汁酸濃度のいずれも若干多い傾向となった。これはオカラに含まれる大豆タンパク質による胆汁酸排泄促進作用であると推測される。

⑦ 肝臓・脂肪組織・盲腸重量

体重あたりの肝臓・脂肪組織・盲腸重量を Table 11 に示した。肝臓ではオカラ群の方が有意に軽く、精巢周辺および腎周辺脂肪組織量は両群間に差はなかった。盲腸重量はオカラ群で有意に増加した。

以上の結果からオカラには代謝改善効果が示唆される。

要 約

生活習慣病予防目的でオカラを有効利用するために、乾燥オカラがラットの血液成分に与える影響について検討した。高コレステロール食摂取ラットにオカラを投与したところ、血中総コレステロール濃度はオカラ投与群で低値傾向を示した。血中トリグリセリド濃度は両群とも飼育開始後一旦上昇しその後減少したが、オカラ群の相対値はコントロール群よりもわずかに低値傾向にあった。コントロール群

でアディポネクチン濃度は有意に低下したが, オカラ群では低下は認められなかった. レプチン濃度はアディポネクチンとは逆の傾向を示しコントロール群では増加傾向であったが, オカラ群では増加は認められなかった. オカラ投与群には血糖値を一時的に下げる傾向が若干みられた. 肝臓重量はオカラ群の方が有意に軽く, 組織脂肪量は差違がなかった. 盲腸重量はオカラ群で有意に増加した. 以上の結果からオカラには代謝改善効果が示唆される。

## 謝 辞

乾燥オカラを提供して頂いたマルサンアイ株式会社に感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 福田 満: 調理食品と技術, **7**, 150-156 (2001).
- 2) O' Tool, D.K.: *J Agric. Food Chem*, **47**: 363-371 (1999).
- 3) 菅野道廣, 山本卓史: *The Lipid*, **12**, 497-503 (2001).
- 4) Fukui, K., Tachibana, N., Wanezaki, S., Tsubuzaki, S., Takamatsu, K., Yamamoto, T., Hashimoto, Y., and Shimoda, T.: *J Agric. Food Chem*, **50**: 5717-5721 (2002).
- 5) Lovati MR, Mazoni C, Gianazza E, Anna Arnoldi, Elzbieta Kurowska, Kenneth K. Carroll, and Cesare R. Sirtori: *J Nutr*, **130**, 2543-2549 (2000).
- 6) 原 映子, 嶋津 孝: 大豆たん白質研究会誌, **13**, 46, (1992)
- 7) 福田 満, 杉原良枝, 伊藤みどり, 堀内理恵, 浅尾弘明: *日食科工誌*, **53**, 195-199 (2006).
- 8) Nagasawa, A., Fukui K, Funahashi T, N. Maeda, I. Shimomura, S. Kihara, M. Waki, K. Takamatsu, Y. Matsuzawa: *Horm. Metab. Res.*, **34**, 635-639 (2002).
- 9) Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S.: *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 - 509 (1957).
- 10) 森山達哉: 食生活科学・文化及び地球環境科学に関する研究助成研究紀要, **16**, 15-20 (2003).
- 11) 森 豊, 畑 章一, 村川祐一, 加藤秀一, 池田義雄: 大豆たん白質研究会誌, **17**, 108-113 (1996).
- 12) Yamauchi T., Kamon J., Waki K., Terauchi Y., Kubota N., Hara K., Mori Y., Ide T., Murakami K., Tuboyama - Kasaoka N., Ezaki O., Akanuma Y., Gavrilova O., Vinson C., Reitman M. L., Kagechika H., Shudo K., Yoda M., Nakano Y., Tobe K., Nagai S., Kimura S., Tomita M., Froguel P., and Kadowaki T.: *Nat. Med.*, **7**, 941 - 946 (2001).
- 13) Yamauchi T., Kamon J., Minokoshi Y., Ito Y., Waki H., Uchida S., Yamashita S., Noda M., Kita S., Ueki K., Akanuma Y., Froguel P., Foufelle F., Ferre P., Carling D., Kimura S., Nagai S., Kahn B. B. and Kadowaki T.: *Nat. Med.*, **8**, 88 - 1295 (2002).
- 14) Tovar, A. R., Torre - Villalvazo, I., Ochada, M., Elias A. L., Ortiz, V., Aguilar - Salinnas, C.A. and Torres, N.: *J. Lipid Res.*, **46**, 1823-1832 (2005).
- 15) Ascencio, C., Forres, N., Isoard - Acosata, F., Gomez - Perz, F.J., Hernandez - Pando, R. and Tover, A. R.: *J. Nutr.*, **134**, 522-529 (2004).
- 16) Torres, N., Torre - Villalvazo, I., and Tovar, A.R.: *J. Nutr. Biochem.*, **17**, 365 - 373 (2006).
- 17) 山手好枝, 堀内理恵, 福田 満: 武庫川女子大学紀要(自然科学), **50**, 109 - 112 (2002).
- 18) 石見公和, 東直之, 須田仁志, 岩崎浩, 金本龍平: 大豆たん白質研究会誌, **2**, 129 - 137 (1999).