

マウスの肝臓における脂質代謝関連酵素活性に及ぼすホエイペプチドの影響

Effect of whey peptide on the enzyme activity related liver lipid metabolism in mice

工藤 陽香
Haruka Kudo

大妻女子大学大学院 人間文化研究科 人間生活科学専攻 博士後期課程

キーワード : ホエイペプチド, 肝臓脂質, 脂質代謝

Key words : whey peptide, fatty liver, lipid metabolism

1. 研究目的

近年, 食の欧米化や運動不足など生活習慣の乱れに伴い, 肥満と診断される人が増加している. 2008年4月より, メタボリックシンドロームに着目した特定健診・特定保健指導が実施され, それに伴い, メタボリックシンドロームにおいて併発する頻度の高い非アルコール性脂肪肝(NAFLD)が着目され始めた. NAFLDとは食習慣の乱れなどが原因で肝臓に脂質が蓄積している状態のことで, 日本でのNAFLD患者数は約1000万人とされており, 今後さらに増加していくと予測されている.

乳清(ホエイ)とは, 牛乳からカゼイン, 脂肪, 脂溶性ビタミンなどを除いた水溶性部分のことで, チーズなど乳製品を作る工程で生産される. その乳清中に含まれるたんぱく質を乳清たんぱく質と言い, 濃縮, 濾過後, 酵素によって分解することで作られるものがホエイペプチド(WPH)である. WPHはジペプチドやトリペプチドが主成分となっているため, 吸収されやすいことが特徴としてあげられる. これまでに, 乳清たんぱく質は, 動物実験において血清コレステロール低下作用や肝臓の脂質蓄積抑制作用が多く報告されているが, WPHと脂質蓄積に関する報告は少ない.

申請者の修士論文での研究において, 乳清たんぱく質を加工, 分解することによって作られるホエイペプチドには肝臓脂質の蓄積抑制作用を有することを見出したが, そのメカニズムを明らかにすることができなかった. そのため, 本実験ではホエイペプチドの肝臓脂質蓄積抑制のメカニズムを明らかにすることを目的とした.

2. 研究実施内容

5週齢雄のC57BL/6Jマウス(日本チャールス・リバー株式会社)を用い, 1週間の予備飼育後, 体重が均一になるように1群10匹ずつ2群(CO群, WPH群)に群分けし, 12週間飼育した. 飼料組成をTable 1に示す. コントロール(CO)群の飼料はAIN-93G組成を基本とし, 脂質エネルギー比が50%となるよう, ラードを添加し高脂肪食とした. コントロール群(CO群)のたんぱく質源はカゼイン20%とし, WPH群はカゼインの10%をWPHと置換した(10%WPH). 各群のたんぱく質, 脂質量が等しくなるように, たんぱく質量はカゼイン, 脂質量は大豆油, ラードで調整した.

血清トリグリセリド, 遊離脂肪酸, 総コレステロール濃度は酵素法にて分析した. トリグリセリドの定量には「トリグリセライドE-ワコー」, 遊離脂肪酸(NEFA)の定量には「NEFA C-テストワコー」, 総コレステロール濃度の定量には「コレステロールE-ワコー」(いずれも和光純薬工業株式会社)を使用した.

肝臓脂質の分析は, 肝臓を凍結乾燥後, 粉碎し, Folch法により抽出後, トリグリセリド, 総コレステロール濃度を酵素法にて分析した. トリグリセリドの定量および総コレステロールの定量は, 前出の血清生化学値法と同じである.

肝臓中の酵素の比活性の測定は, 肝臓約0.5gをホモジナイズ後, 遠心分離し, 得られたサイトソル画分を用いてKellyらの方法で脂肪酸合成酵素(FAS), 総ホモジネートを用いてHashimotoらの方法でアシルCoAオキシダーゼ(ACOX)の測定を行った.

Table 1. 飼料組成(g/kg)

	CO群	WPH群
カゼイン	200.0	94.1
ホエイペプチド	-	105.9
L-シスチン	3.0	3.0
コーンスターチ	55.5	56.4
α コーンスターチ	264	264
ショ糖	100	100
大豆油	70	70
ラード	200.0	199.6
セルロース	50.0	50.0
AIN-93G特殊ミネラル混合*	35	35
CaCO ₃	10.0	9.49
AIN-93Gビタミン混合	10	10
重酒石酸コリン	2.5	2.5
<i>t</i> -ブチルヒドロキノン	0.014	0.014

*CaCO₃を含まない

3. まとめと今後の課題

最終体重や腹腔内脂肪組織重量に有意差はなかったが、血清トリグリセリド濃度は WPH 群で有意に増加した。これは、肝臓にアミノ酸が流入したことによる、神経シグナルを介した LPL 発現抑制によるものと思われる。そのため、吸収性の高い WPH 群で血清トリグリセリド濃度が有意に

上昇したと考えられた。

肝臓脂質について、肝臓重量に有意差はなかったが、肝臓トリグリセリド蓄積量は CO 群と比べ WPH 群で有意に低下していた。そこで、肝臓中の酵素の活性を測定したところ、脂質合成系酵素である FAS について有意差は見られなかったが、脂質分解系酵素である ACOX は CO 群と比べて WPH 群で有意に高値であった。ACOX はペルオキシソームでの β 酸化に関与している。ペルオキシソームでの β 酸化は長鎖脂肪酸を短くし、ミトコンドリア内での β 酸化で分解しやすくする役割を担っている。これらの結果から、高脂肪食を摂取させることで脂質が蓄積するが、WPH の添加によって ACOX の酵素活性が高まり、 β 酸化を活性化することで、肝臓の脂質蓄積を抑制する可能性が示された。

WPH はジペプチド、トリペプチドが主体であるため易吸収性である。吸収速度の速さが肝臓脂質蓄積抑制に関わっている可能性があるため、今後は、WPH とカゼインの具体的な吸収速度の差を測定する必要がある。また、呼吸商を測定し、どの程度 β 酸化が活性化されているかも確認が必要である。