

第5章 キビデンプン画分(PMS)が肥満型2型糖尿病モデルKK-A^y系マウスの血糖値制御、脂質代謝及びアディポネクチン、インスリンレベル、脂肪組織での遺伝子発現に及ぼす影響

第3,4章では、精白キビのデンプンをアミラーゼとグルコアミラーゼにより分解したキビタンパク質濃縮物を調製し、マウスに摂取させ血糖値制御、脂質代謝およびアディポネクチン、インスリンレベル、脂肪組織での遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

しかし、調製されたキビタンパク質濃縮物の約32%が糖質である。食品成分としての糖質の機能性にもインスリン抵抗性を抑制する作用を有することが報告されており [162]、キビタンパク質濃縮物のHDL-コレステロールの上昇、血糖値上昇の抑制効果などはキビタンパク質濃縮物に含まれる糖質による作用の可能性も少なくはないと考えられる。

Shibataらはアミロースとアミロペクチンという糖質の質の違いにより糖質摂取後のグルコース、インスリン応答に差があることを報告している [79]。また高アミロース食は、高インスリン血症患者に有効であるという報告もある [163]。更に、アミロースとアミロペクチンを一気に摂取し、血糖値の経時変化を比較すると60分間までの全ての時間において血糖値の上昇が抑制され、その結果AUCはアミロース摂取群で有意に低値を示すことを報告している [164]。

一方、正常人に高糖質食(総エネルギーの68%)を与えると、高脂肪食(総エネルギー66%)を与える群と比べ、血中中性脂肪の増加、HDL-コレステロールの減少が見られ、高糖質食は高脂血症を惹起するという報告もある [165]。

Englystらは澱粉を消化性によって3つで分類し [166]、一部は消化されずに下部消化器官に流れ込むことをつきとめ、レジスタントスターチ(resistant starch)と名付けた。レジスタントスターチは、血糖値の上昇を抑制する作用、血中脂質を低下させる作用、および整腸作用があると報告されており、食物繊維に類似した生理機能を持つものと考えられている [86]。また、2型糖尿病の患者にレジスタントスターチ食を与えると、血糖値、血中脂質濃度の減少が見られ、2型糖尿病の改善効果がみられている [85]。

そこで本章では、キビの糖質代謝改善機能が、糖質によって影響を受けるものかどうかを検討した。すなわち第2章、第3節で調製したキビデンプン画分を糖質源として用い、高脂肪食を与え肥満を誘導した2型糖尿病モデルKK-A^y系マウスにおける血糖値制御、脂質代

謝及びアディポネクチン、インスリンレベル、脂肪組織での遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

1. 方法

飼料の調製

実験飼料は、Table 5-1に示した。実験飼料は第2章、第3節の方法で調製したキビデンプン画分(PMS)を糖質源として添加した飼料を調製した。キビ飼料を調製する際、糖質以外の組成はAIN-93飼料組成に準拠して調製した [108]。ただし、キビ飼料は、キビデンプン画分中に含まれている脂質、タンパク質や食物繊維を考慮し、飼料調整時の大豆油、カゼインとセルロース粉末の添加量を調整した。今回、実験に用いたキビデンプン画分の総デンプン含量は64.1%、レジスタントスターチ2.5%、粗タンパク質含量は2.7%であった。正常群(C群)、およびC群にラードを添加したHC群、糖質源として韓国キビデンプン画分を添加した飼料群(HPS群)の3群の飼料群とした。

Table 5-1. Diet Compositions (g/100g)

	High fat diet		
	Control (C)	Control (HC)	Proso millet starch (HPS)
Casein ¹	20.0	19.9	18.4
PMS	-	-	47.8
AIN-93 Vitamin mixture ²	1.0	1.1	1.1
AIN-93 Salt mixture ²	3.5	4.0	4.0
Soybean oil ³	7.0	6.0	-
Choline bitartrate ³	0.2	0.2	0.2
Cellulose ¹	5.0	5.7	5.2
Cornstarch ¹	53.0	45.3	-
L-Cystine ⁴	0.3	0.3	-
Lard ³	-	16.0	16.0
Sucrose ⁵	10.0	6.9	6.9

¹Oriental yeast, Tokyo

²AIN-93G diet composition

³Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan

⁴Ajinimoto, Tokyo

⁵Toyo Sugar Refining, Tokyo

実験動物および飼育方法

5週齢の肥満2型糖尿病モデルKK-A^y系雄マウス(日本クレア)18頭を使用し、第3章、第1節と同様の条件で、個別にステンレスケージに入れて飼育した。購入後3日間予備飼育期間とし、AIN-93組成カゼイン飼料と水を自由摂取させ、3日目に各群6頭ずつの計3群に群分けし、表の飼料で21日間飼育し、飼料摂取量と体重変化を測定した。飼育開始日と一週間ごとに6時間の絶食の後、尾静脈血より血糖値の測定を行った。飼育17日目にoral glucose tolerance testを行った。採血前に6時間の絶食を行い、ジエチルエーテル麻酔下で解剖した。0.1M EDTAで処理したシリンジを使用し、下大静脈から採血した。血液は試験管に移し、4°C、3,000×gで15分間の遠心分離を行い、血漿を分離した。肝臓は生理食塩水で還流した後に採取し、重量を測定した。また、腎臓、精巣周囲脂肪組織、腎臓周囲脂肪組織、腸管膜周囲脂肪組織を採取し、重量を測定した。分離した血漿、肝臓、脂肪組織は、分析時まで-80°Cで保存した。

血糖値およびoral glucose tolerance testの測定

1) 血糖値の測定

血糖値の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

2) Oral glucose tolerance test

Oral glucose tolerance testは、第3章、第2節と同様の方法で行った。

血漿中脂質濃度の定量

1) 血漿中の総コレステロール濃度の測定

血漿総コレステロール濃度の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

2) 血漿中のHDL-コレステロール濃度の測定

血漿HDL-コレステロール濃度の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

3) 血漿中の遊離脂肪酸濃度の測定

血漿中の遊離脂肪酸濃度の測定は、酵素法(ACS-ACOD法)による流離脂肪酸測定用キット(NEFA C-テストワコー、和光純薬工業(株);大阪)を用いて行った。

4) 血漿中のトリグリセリド濃度の測定

血漿中のトリグリセリド濃度の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

5) 血漿中のインスリン及びアディポネクチン濃度の測定

血漿中のインスリン及びアディポネクチン濃度は、第3章、第2節と同様の方法で行った。

肝臓中脂質の抽出および定量

1) 肝臓中の脂質の抽出

肝臓中の脂質の抽出は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

2) 肝臓中のコレステロール濃度の測定

肝臓中のコレステロール濃度の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

3) 肝臓中のトリグリセリド濃度の測定

肝臓中のトリグリセリド濃度の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

糞中脂質の抽出、胆汁酸排泄量の定量

1) 糞中脂質の抽出

糞中脂質の抽出は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

2) 糞中の胆汁酸量の測定

糞中の胆汁酸の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

3) 糞中のコレステロール濃度の測定

糞中のコレステロール濃度測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

4) 糞中のトリグリセリド濃度の測定

糞中のトリグリセリドの測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

Real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction (real-time PCR)

1) マウスの脂肪組織からtotal RNA抽出

マウスの脂肪組織からtotal RNA抽出は、第4章、第1節と同様の方法で行った。

2) RNAの定量

Total RNAの定量は、第4章、第1節と同様の方法で行った。

3) Complementary DNA (cDNA) 合成

cDNAで合成は、第4章、第1節と同様の方法で行った。

4) Real time PCR (quantitative assay)

Real-time PCRは、第4章、第1節と同様の方法で行った。

統計処理

本実験で得られたデータの計算および整理は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

2. 結果

KK-A^y系マウスへのキビデンプン画分摂取によって、体重、組織重量、血糖値、血中脂質濃度、肝臓中脂質濃度に顕著な変化は認められなかった。しかし、飼育最終日の血糖値、血漿中遊離脂肪酸濃度は有意に減少し、血漿中アディポネクチン濃度、糞中の脂質排泄量は有意な増加が見られた。

体重、飼料摂取量、組織重量および糞乾燥重量

21日間の飼育による解剖時の体重、総飼料摂取量、組織重量および糞乾燥重量をTable 5-2に示した。

21日間の飼育の結果、体重増加量はC群で 10.3 ± 1.5 g、HC群で 12.7 ± 2.7 g、HPS群で 12.0 ± 1.6 gと通常食群、高脂肪食群ともに有意な差は認められなかった。また、飼料摂取量に関しては、C群で 77.2 ± 9.17 g、HC群で 76.1 ± 13.1 g、HPS群で 73.6 ± 17.5 gと有意な差は認められなかった。臓器重量に関しては、体重100g中肝臓重量はC群で 4.93 ± 0.26 g、HC群で 5.28 ± 0.41 g、HPS群で 5.31 ± 0.45 gと3群間で有意差は認められず、体重100g中精巣周囲脂肪組織重量、腎臓周囲脂肪組織重量でもそれぞれC群で 4.04 ± 0.36 、 1.97 ± 0.17 g、HC群で 3.79 ± 0.33 g、 1.88 ± 0.24 g、HPS群で 3.82 ± 0.39 g、 1.85 ± 0.24 gと3群間で有意差は認められなかった。糞乾燥重量はC群で 1.64 ± 0.20 g、HC群で 1.69 ± 0.26 g、HPS群で 2.14 ± 0.39 gと、HPS群で有意な増加が見られた($p < 0.05$)。

Table 5-2. Effects of dietary PMS on body-weight gain, food intake, tissue and dried feces weights in KK-A^y mice fed high-fat diet

	C	HC	HPS
Initial weight (g)	25.0±0.6	24.9±1.1	25.1±0.8
Final weight (g)	35.3±1.7	37.6±2.6	37.1±1.9
Weight gain (g/3wk)	10.3±1.5	12.7±2.7	12.0±1.6
Food intake (g/3wk)	77.2±9.17	76.1±13.1	73.6±17.5
Liver weight (g)	1.74±0.11 ^a	1.98±0.06 ^b	1.97±0.19 ^b
Kidneys weight (g)	0.47±0.01 ^a	0.52±0.02 ^b	0.49±0.03 ^{ab}
Adipose tissue weight (g) :			
Epididymal	1.43±0.18	1.42±0.17	1.42±0.20
Perirenal	0.69±0.08	0.71±0.13	0.69±0.11
Dried feces wt.(g/5day)	1.64±0.20 ^a	1.69±0.26 ^a	2.14±0.39 ^b
Tissue weight/100g body wt.			
Liver	4.93±0.26	5.28±0.41	5.31±0.45
Kidneys	1.33±0.04	1.39±0.08	1.34±0.12
Adipose tissue :			
Epididymal	4.04±0.36	3.79±0.33	3.82±0.39
Perirenal	1.97±0.17	1.88±0.24	1.85±0.24

Values are means ± SD for 6 mice.

Means with a different letter (a,b) within each diet group differ ($p < 0.05$).

See Table 5-1 for details of dietary groups.

Oral glucose tolerance test

Oral glucose tolerance testの結果と血糖上昇下面積(AUC)をFig. 5-1に示した。

OGTTにおけるグルコース投与後の血糖値変化(Fig. 5-1A)は、120分でHPS群の血糖値は、C群とHC群に比べて有意に減少した。血糖上昇下面積(AUC, Fig. 5-1B)は3群間には、有意な差は認められなかった。

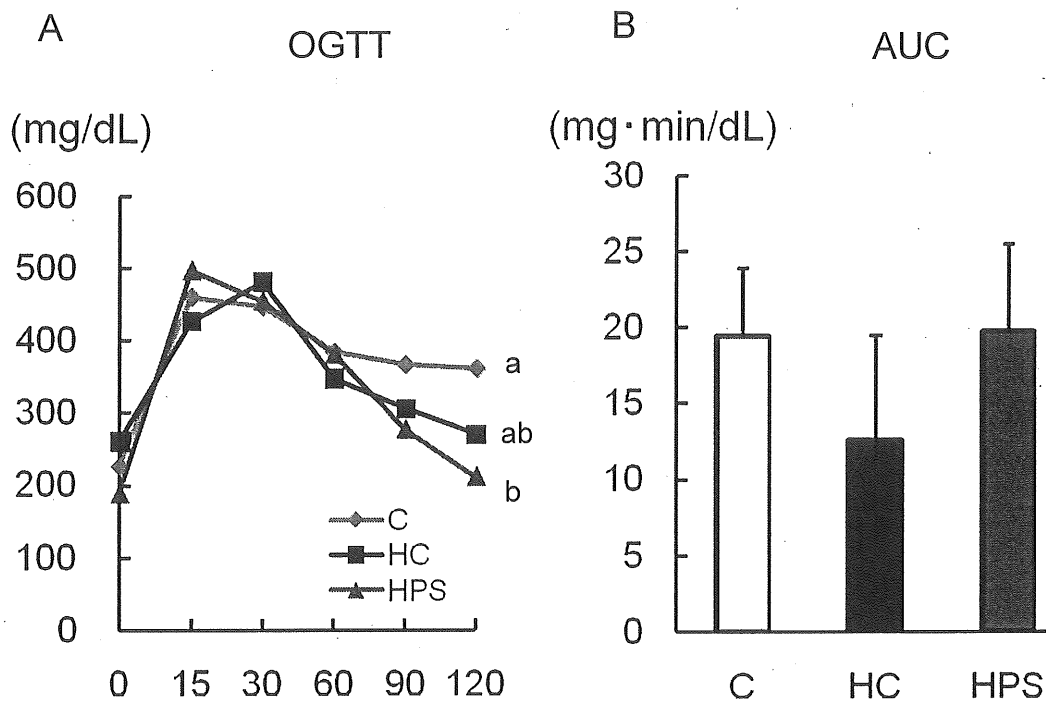


Fig. 5-1. Effect of dietary PMS on blood glucose response at OGTT and AUC in KK-A^y mice fed high-fat diet.

Values are means±SD for 6 mice.

Means with a different letter (a,b) within each diet group differ ($p < 0.05$).

See Table 5-1 for details of dietary groups.

血糖値経時変化、血中グルコース濃度

飼育期間中の血糖値の経時変化と、飼育終了日の血中グルコース濃度をFig. 5-2に示した。

飼育期間中の血糖値の経時変化(Fig. 5-2A)は1、2、3週目にそれぞれC群で187.5±37.2、218.0±37.7、385.3±64.9mg/dLに対して、HC群で229.8±33.7、278.5±27.7、571.0±38.8mg/dL、HPS群で244.5±52.8、214.0±31.9、465.0±58.0mg/dLと21日目のHPS群の血糖値は有意に低下した。また、飼育終了日の血中グルコース濃度(Fig. 5-2B)は、C群で385.3±64.9mg/dL、HC群で571.0±38.8mg/dLに対して、HPS群で465.0±58.0mg/dLとHC群と比べて有意な減少が見られた。

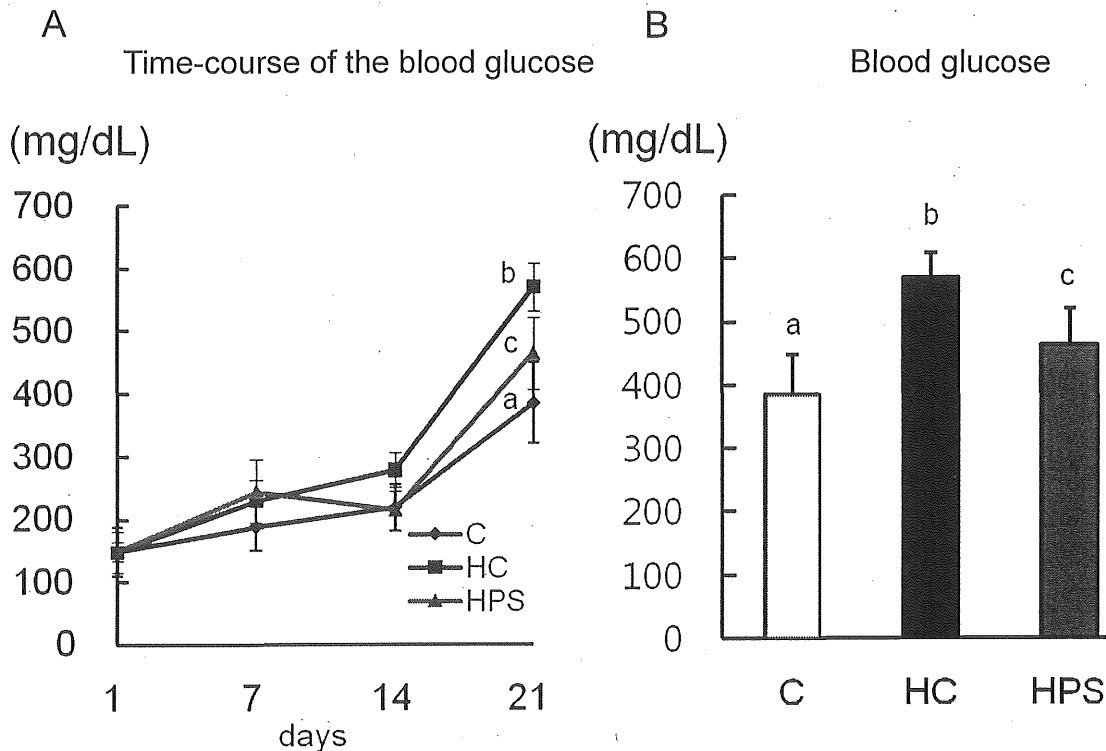


Fig. 5-2. Effect of dietary PMS on blood glucose levels in KK-A^y mice fed high-fat diet.

Values are means±SD for 6 mice.

Means with a different letter (a,b,c) within each diet group differ ($p < 0.05$).

See Table 5-1 for details of dietary groups.

血漿中脂質濃度

血漿中の各脂質濃度を測定した結果をFig. 5-3に示した。

総コレステロール濃度(Fig. 5-3A)は、C群で 117.68 ± 14.17 mg/dL、HC群で 124.15 ± 11.53 mg/dL、HPS群で 114.77 ± 21.42 mg/dLと有意な差は認められなかった。HDL-コレステロール濃度(Fig. 5-3B)においては、C群で 37.58 ± 7.42 mg/dL、HC群で 39.76 ± 10.14 mg/dL、HPS群で 35.54 ± 10.32 mg/dLと有意な差は認められなかった。トリグリセリド濃度(Fig. 5-3C)は、C群で 195.95 ± 52.03 mg/dL、HC群で 186.92 ± 63.77 mg/dL、HPS群で 162.62 ± 56.99 mg/dLと有意な差は認められなかった。遊離脂肪酸濃度(Fig. 5-3D)は、HPS群で 0.40 ± 0.08 mEq/Lに対してC群で 0.52 ± 0.13 mEq/L、HC群で 0.47 ± 0.08 mEq/Lで有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。

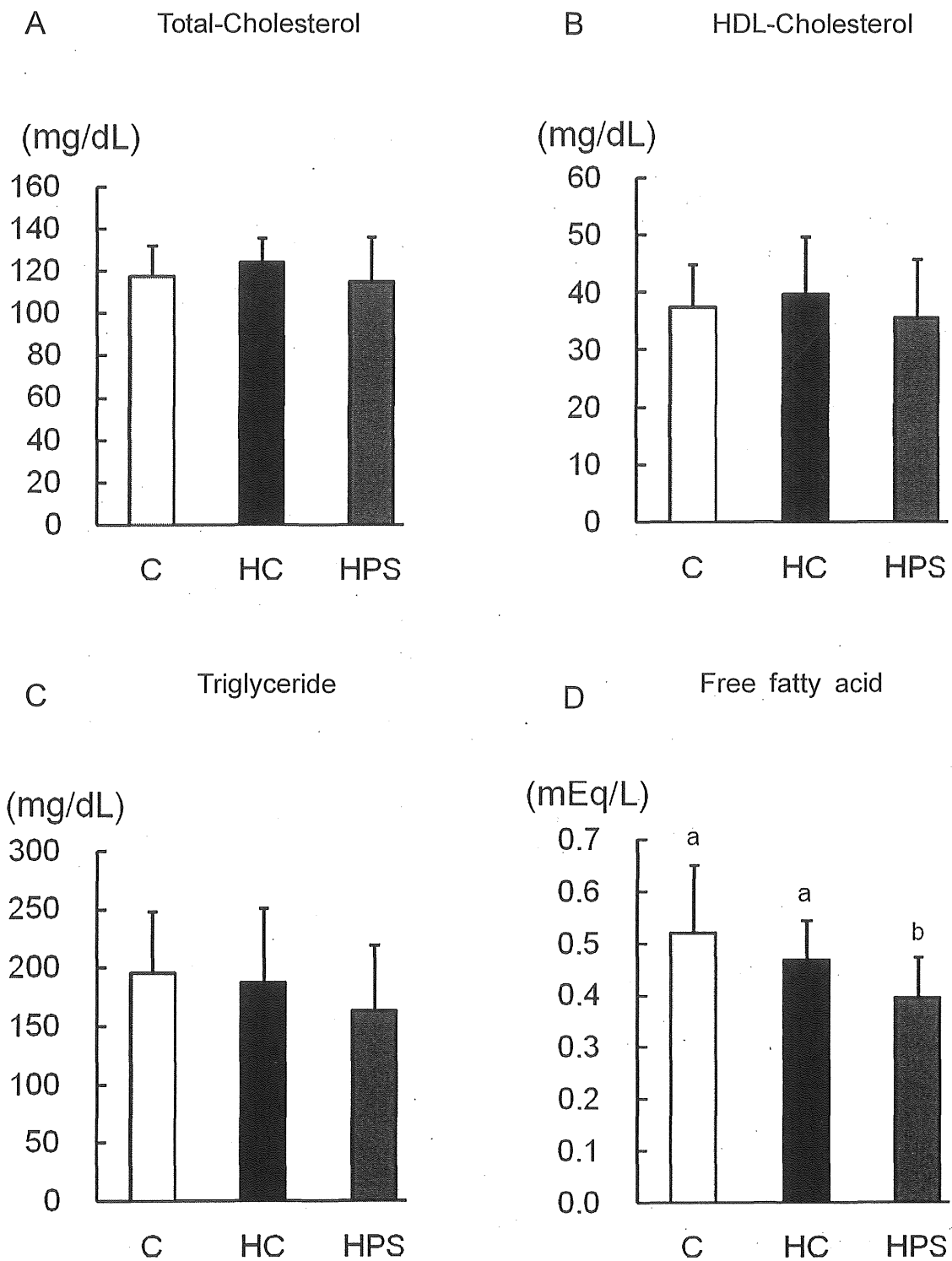


Fig. 5-3. Effect of dietary PMS on plasma lipid concentrations in KK-A^y mice fed high-fat diet.

Values are means±SD for 6mice.

Means with a different letter (a,b) within each diet group differ ($p < 0.05$).

See Table 5-1 for details of dietary groups.

血中インスリン、アディポネクチン濃度

血中インスリン、アディポネクチン濃度を測定した結果をFig. 5-4に示した。

血中インスリン濃度(Fig. 5-4A)は、C群で 9.63 ± 3.22 ng/mL、HC群で 11.02 ± 1.68 ng/mL、HPS群で 11.97 ± 1.24 ng/mLと各群間有意な差は認められなかった。一方、血中アディポネクチン濃度(Fig. 5-4B)は、C群で 11.25 ± 2.22 μ g/mL、HC群で 9.34 ± 0.98 μ g/mL、HPS群で 11.25 ± 1.23 μ g/mLと、HC群と比較してHPS群で有意に高まった($p < 0.05$)。

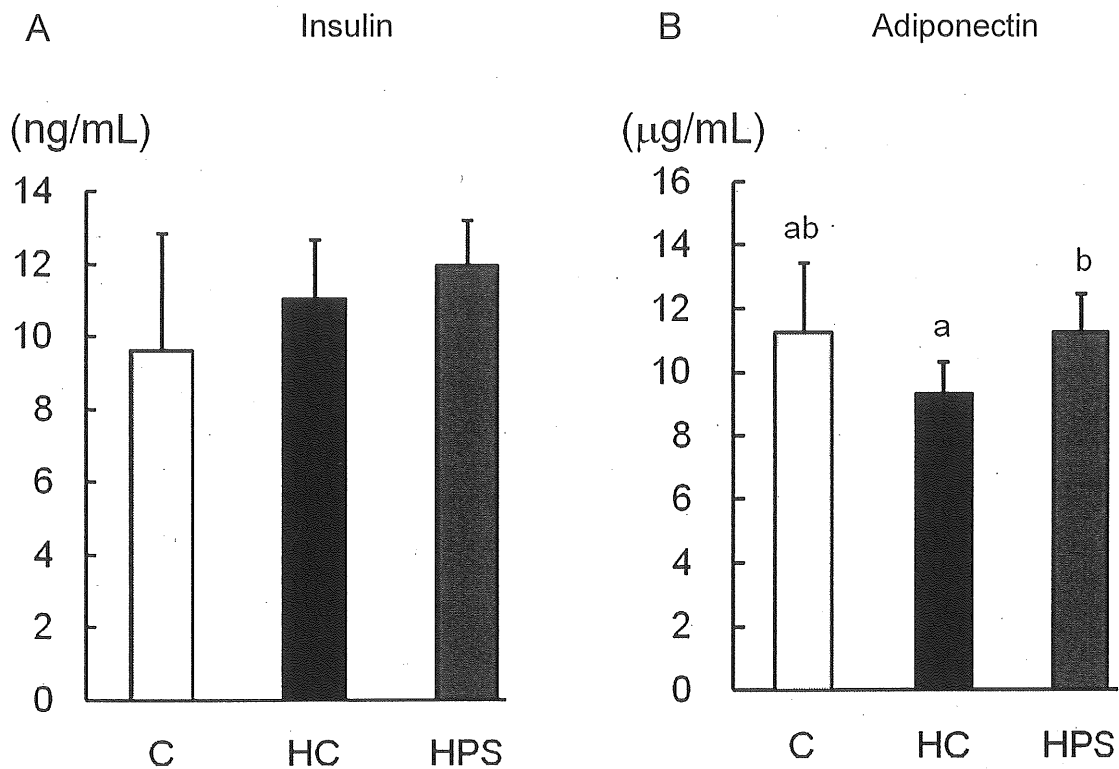


Fig. 5-4. Effect of dietary PMS on plasma insulin and adiponectin concentrations in KK-A^y mice fed high-fat diet.

Values are means \pm SD for 6 mice.

Means with a different letter (a,b) within each diet group differ ($p < 0.05$).

See Table 5-1 for details of dietary groups.

肝臓中脂質濃度

肝臓中の各脂質濃度を測定した結果をFig. 5-5に示した。

肝臓のコレステロール濃度(Fig. 5-5A)は、C群で 2.49 ± 0.38 mg/g Liver wt、HC群で 3.90 ± 0.59 mg/g Liver wt、HPS群で 3.72 ± 0.54 mg/g Liver wtと高脂肪食群で有意に高値を示した($p < 0.01$)。トリグリセリド濃度(Fig. 5-5B)は、C群で 15.58 ± 2.07 mg/g Liver wt、HC群で 27.24 ± 5.49 mg/g Liver wt、HPS群で 30.09 ± 10.32 mg/g Liver wt 高脂肪食群で有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

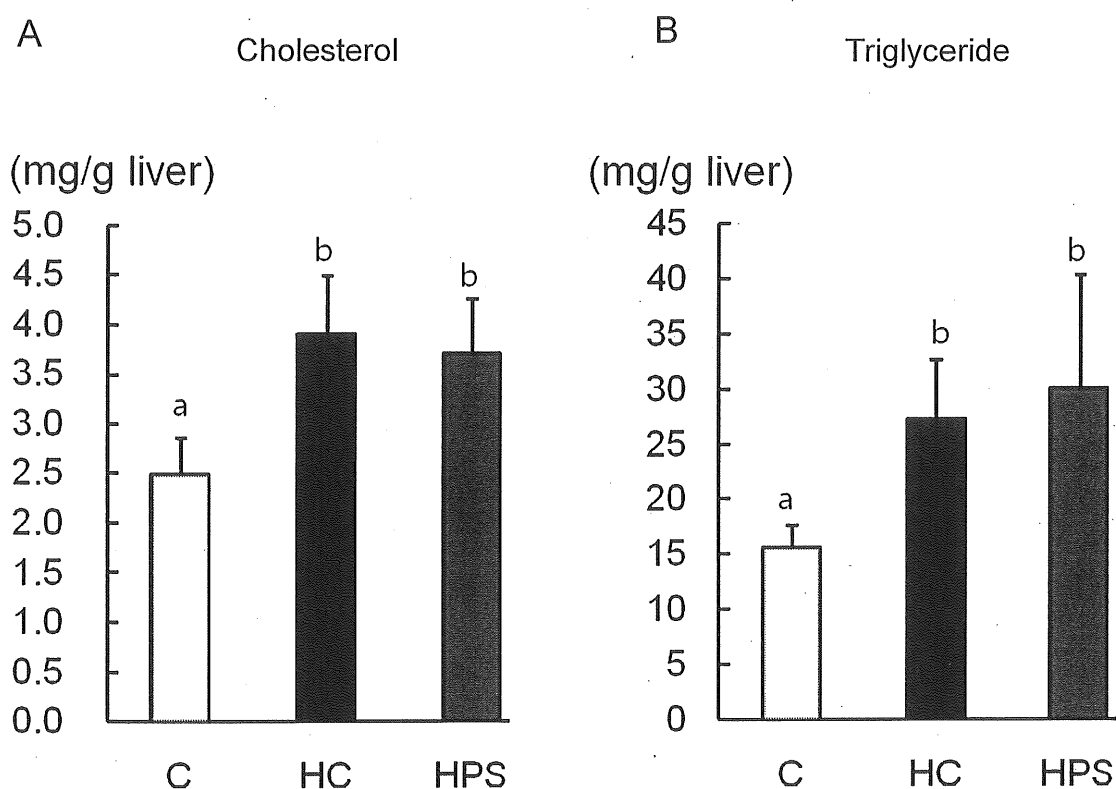


Fig. 5-5. Effect of dietary PMS on liver lipid concentrations in KK-A^y mice fed high-fat diet.

Values are means ± SD for 6 mice.

Means with a different letter (a,b) within each diet group differ ($p < 0.05$).

See Table 5-1 for details of dietary groups.

糞中胆汁酸排泄量, 脂質濃度

糞中胆汁酸排泄量、脂質濃度を測定した結果をFig. 5-6に示した。

糞中胆汁酸排泄量(Fig. 5-6A)はC群で $0.07 \pm 0.03 \mu\text{mol/L/day}$ に対して、HC群で $0.03 \pm 0.07 \mu\text{mol/L/day}$ 、HPS群で $0.03 \pm 0.04 \mu\text{mol/L/day}$ と各群間有意な差は認められなかった。

糞のコレステロール濃度(Fig, 5-6B)は、C群で $0.84 \pm 0.18 \text{mg/day}$ に対して、HC群で $0.75 \pm 0.15 \text{mg/day}$ 、HPS群で $1.25 \pm 0.18 \text{mg/day}$ とHPS群で有意に高値を示した($p < 0.01$)。糞

中トリグリセリド濃度(Fig. 5-6C)は、C群で $0.60 \pm 0.17 \text{mg/day}$ に対して、HC群で $1.53 \pm 0.48 \text{mg/day}$ 、HPS群で $3.16 \pm 1.11 \text{mg/day}$ と高脂肪群で有意に高値を示した($p < 0.01$)。

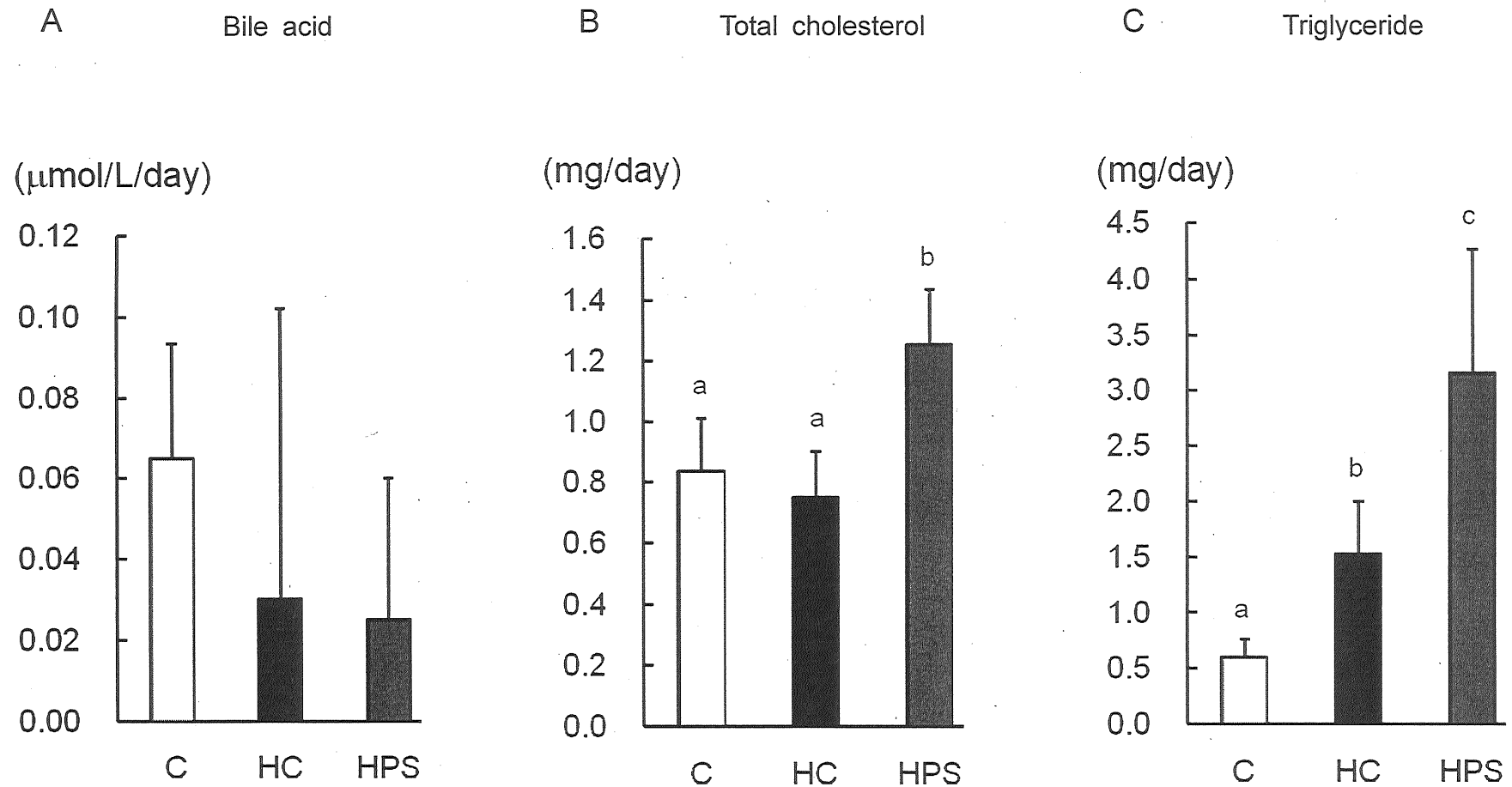


Fig. 5-6. Effect of dietary PMS on the fecal excretion of lipids in KK- A^y mice fed high fat diet.

Values are means \pm SD for 6mice.

Means with a different letter (a,b,c) within each diet group differ ($p < 0.01$).

See Table 5-1 for details of dietary groups.

遺伝子発現量

腎臓周囲脂肪での遺伝子発現(adiponectin, AdipoR1, AdipoR2, PPAR γ mRNA)を測定した結果をFig. 5-7に示した。

腎臓周囲脂肪でのadiponectin, AdipoR1, AdipoR2, PPAR γ mRNAの発現量は、各群間有意な差は認められなかった。

Relative mRNA abundance (%) :

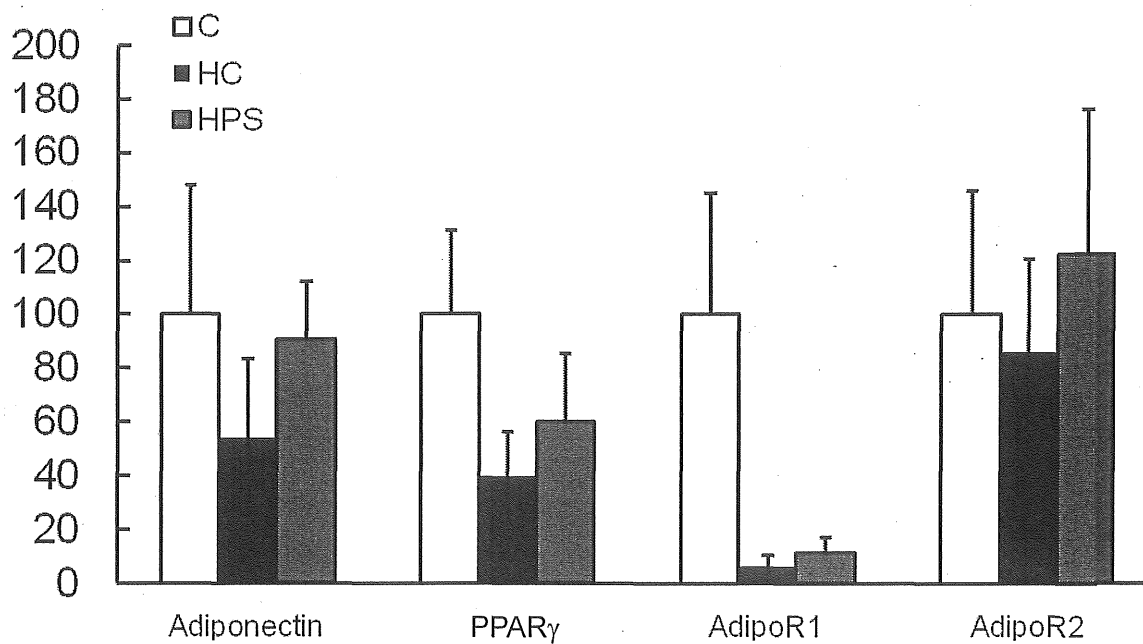


Fig. 5-7. Effect of dietary PMS on gene expressions in adipose tissue in KK-A y mice fed high-fat diet.

Values are means \pm SD for 6 mice.

Gene expression was normalized using the expression of the β -actin gene.

See Table 5-1 for details of dietary groups.

3. 考 察

本章では、キビ精白粉を酸性条件下でペプシンによりタンパク質を分解して調製したキビデンブン画分を用いて、肥満2型糖尿病モデルKK-A^y系マウスにおける血糖値制御、脂質代謝及びアディポネクチン、インスリンレベル、遺伝子発現に及ぼす影響について検討した。

Nishizawaらの研究では、ヒエデンブン画分の摂取は飼育期間中マウスの血糖値や最終日血糖値、また血漿、肝臓中の脂質濃度およびアディポネクチンレベルには影響を与えなかった [69]。しかし、本章の韓国産キビデンブン画分の摂取の結果は、飼育期間中の血糖値がキビデンブン画分摂取で上昇抑制効果が見られ、血漿中の遊離脂肪酸濃度の減少、アディポネクチン濃度の有意な上昇が見られた。

糖質摂取と血中脂肪は代謝的な相互関係があり、多くの量の糖質摂取による中性脂肪の過剰生成と中性脂肪のクリアランスが低くなることで高中性脂肪血症を惹起させる。糖質で誘導された高中性脂肪血症はインスリンの機能障害で、脂肪細胞で脂肪分解を低めなくて血中遊離脂肪酸濃度の増加で現われる。これにより肝臓では遊離脂肪酸が中性脂肪としての合成が起きる。最近蓄積されたatherogenic TAG-rich remnantsが中性脂肪を多めに生成する結果もある [74]。また、レジスタントスターチや糖質の質の違いにおける糖質、脂質代謝改善効果も認められ、その中レジスタントスターチは整腸作用や糖尿病改善効果などが報告されている [85,86]。

本章では、キビデンブン画分の摂取による食餌摂取量と体重増加量、血漿、肝臓中脂質濃度は正常食、高脂肪食群と有意な差は認められなかった。多くの研究で、消化酵素に抵抗性のあるレジスタントスターチは血漿中コレステロール低下作用、食後血糖値の上昇抑制作用などが知られている [167-169]。また、糖質の種類によっても代謝に影響を与えることが知られており、アミロースを多く摂取することで血糖値の上昇が抑制されること [170] や空腹時トリグリセリド、コレステロール濃度を減少させること [171]、アミロース、アミロペクチンの割合により糖代謝に影響を生じること [79]などが報告されている。本章で用いたキビデンブン画分には総デンブン含量は64%であり、2.5%のレジスタントスターチが含まれていた。キビデンブン画分の摂取による血糖値の上昇抑制、アディポネクチン濃度の上昇は、アミロースあるいはレジスタントスターチの影響の可能性も考えられる。

コレステロール低下作用についてはレジスタントスターチの腸内発酵性と関連性があり、レ

ジスタントスターチが盲腸内で発酵を受けることになって生成される短鎖脂肪酸、特にプロピオン酸がコレステロールの合成を阻害することが指摘されている [86]。さらに、肝臓や血中トリグリセリド量については、脂肪酸合成酵素(Fatty acid synthase ; FAS)の活性が関わっている。伊藤らはアミロース含量70%のハイアミロースデンプンと温熱処理を加えて調製された温熱処理デンプンを添加した飼料をラットに与えた結果、FASの活性は低下したにも関わらずハイアミロースデンプン摂取による肝臓中のトリグリセリド量の有意な低下効果はなかったと報告している [172]。

キビデンプン画分に含まれているレジスタントスターチの量は微量であることから、本章でキビデンプン画分摂取により、糞中への胆汁酸排泄量に変化が認められなかったにも関わらず、血漿や肝臓中コレステロールやトリグリセリドを低下させたことは、FASの活性低下、腸内発酵パターンによるものではないと考えられる。

キビデンプン画分の摂取は、血漿中HDL-コレステロール及びインスリンには影響を与えなかった。しかし、血糖値は低下し、血漿中アディポネクチン濃度がキビデンプン画分摂取によって、有意に増加した。第4章、第2節でもキビタンパク質摂取によって、血漿中アディポネクチン濃度の上昇、血糖値の上昇抑制効果がみられ、この効果はキビデンプン摂取より強く観察された。従って、この効果はキビデンプン画分の調製する時、分解されずに残存している1.3%のレジスタントタンパク質の影響も少なくないと考えられる。

しかし、二戸在来ヒエデンプン画分を用いた研究では、最終日血糖値、血漿中アディポネクチン濃度にヒエデンプン画分摂取での影響は認められず、糞排泄量や糞中脂質濃度にも変化は認められなかったものの、本章の結果と異なり、本章で示された結果は観察されなかった [69]。従って、これらの結果から韓国産キビには、アディポネクチン濃度を増加させる機能が、他のキビ属作物よりも高いことが示唆された。

最近の研究では、高脂肪-低糖質食事が、血中HDL-コレステロール濃度を上昇、中性脂肪濃度を下げることが報告されている [173]。また、高糖質食の摂取はインスリン抵抗性を高め、心血管疾患や糖尿病などの慢性疾患に進行することが知られている [174]。同じカロリーの食事で糖質の構成割合を高めた場合、血中インスリン濃度と血糖が有意的に上昇する結果も示されている [175]。アメリカ糖尿病学会(American Diabetes Association)およびアメリカ心臓学会(American Heart Association)では、低脂肪-高炭水化物食事を勧奨したが、低脂肪-高糖質食が心血管関係疾患のリスクを高めるだけでなく、体重の減少と血中

中性脂肪濃度を低めることには有益ではないことが報告されている [176]。

糖質摂取によるインスリン感受性に及ぼす効果についての研究は、9週間から26週間と長期間にわたって異なる糖質を食べ続けることによって差が生じてくることが報告されているが [177,178]、本章のキビデンプン画分の実験では、インスリンレベルの影響はみられなかった。

以上の本章の結果から、キビデンプン画分の摂取は、2型糖尿病モデルKK-A^y系マウスの飼育最終日血糖値の上昇抑制効果、血漿中の遊離脂肪酸濃度の減少、アディポネクチン濃度の有意な上昇させる。これらの有効な効果は、第4章の結果を考慮すると、上述のようにキビデンプン画分に含まれているキビタンパク質が作用していることが推察された。

第6章 高脂肪食餌条件におけるキビプロラミン(PMPr)摂取が肥満2型糖尿病モデル KK-A^y系マウスの血糖値制御、脂質代謝及びアディポネクチン、インスリンレベル、脂肪組織での遺伝子発現に及ぼす影響

本論文の4章まで行われてきたキビタンパク質の摂取が、脂質代謝や血糖値の応答に及ぼす影響やアディポネクチン、TNF- α 、PPAR γ 、IL-6、adipoR1、adipoR2の発現の実験は、タンパク質含量として20%の条件で行った。キビのタンパク質含量は元々10%しかないため、実験にはアミラーゼとグルコアミラーゼによってデンプンを加水分解したタンパク質の濃縮したものをを用いた。

本論文の結果は、キビタンパク質は、血糖値制御を改善し、HDL-コレステロールやアディポネクチンレベルの上昇効果を持ち、アディポネクチンの遺伝子発現を高め、TNF- α 、IL-6の遺伝子発現を抑制する効果を表し、機能性素材としても注目される結果を示した。しかし、キビタンパク質のどの成分がこのような機能を発現するか判っていない。従って難消化性のデンプンも濃縮されていることになり、タンパク質の効果を調べるためにはある程度の精製を行ったタンパク質の効果を検討する必要があると思われる。

雑穀キビ、アワ、ヒエの主要構成タンパク質は、プロラミンであることはよく知られている[179-181]。従って、このプロラミンの脂質代謝や血糖値の応答に及ぼす影響やアディポネクチン、TNF- α 、PPAR γ 、IL-6、adipoR1、adipoR2の発現を研究することが重要と思われる。プロラミンペプチドの腸管細胞におけるapo-A I 遺伝子への作用も認められることから[182]、プロラミンもしくはグルテリンが血漿中HDL-コレステロール濃度の上昇に関与している可能性も少なくないと思われる。

そこで本章では、プロラミン画分をマウスに投与して、血糖値制御、脂質代謝及びアディポネクチン、インスリンレベル、脂肪組織での遺伝子発現に及ぼす影響を調べた。

1. 方法

飼料の調製

実験食餌は、Table 6-1に示した。実験飼料は第2章、第4節の方法で調製したキビプロラミン画分 (PMP_r)を使用して、AIN-93組成に従って調製した [108]。

実験1. 実験群には17%タンパク質相当量のタンパク質源としてカゼインを添加し、ラードを20%添加した高脂肪食を与えながら、13mgのカゼインを与えた群をC群、50mgのキビプロラミンと制限アミノ酸であるL-Lys-HClとThr [78]をカゼインのアミノ酸組成に合わせて添加した群をPMP_r群と2群で群分けし、マウスに二日に1回ずつ経口投与した。なお、食餌量は2群とも二日で9gを摂取するように制限した。実験群は、コントロール飼料群をCO群、キビプロラミン飼料群をPMPO群と略して表記した。

実験2. 実験群には17%タンパク質相当量のタンパク質源としてカゼインを添加し、ラードを20% 添加した高脂肪食を与えながら、50mgのカゼインを与えた群をC群、200mgのキビプロラミンと制限アミノ酸であるL-Lys-HClとThrをカゼインのアミノ酸組成に合わせて添加した群をPMP_r群と2群で群分けした。マウスにこの飼料を、二日に1回ずつミールフィーディングさせた。すなわち、食餌量は2群とも二日で9gを摂取するように制限した。実験群は、コントロール飼料群をCM群、キビプロラミン飼料群をPMPM群と略して表記した。

今回、実験に用いたPMP_rのタンパク質含量は23.29%であった。

実験動物及び飼育方法

実験動物には、5週齢のKK-A^y系雄マウス(日本クレア;東京) 24頭を使用し、第3章、第1節と同様の条件で、個別にステンレスケージに入れて飼育した。購入後3日間は予備飼育期間とし、AIN-93組成カゼイン飼料と水を自由摂取させ、各群7頭ずつ4群に群分け、Table 6-1の飼料で14日間飼育し、体重変化を測定した。飼育期間の10日目から13日目までの糞を採取し、分析時まで-20°Cで保存した。14日目にマウスを8時間絶食させ、ジエチルエーテル麻酔下で次のように解剖を行った。0.1M EDTAで処理したシリンジを用いて、下大静脈から採血し、血液は試験管に移し、4°C、3000×gで15分間の遠心分離を行い、血漿を分離した。肝臓、精巣周囲脂肪組織を採取し、重量を測定した。分離した血漿、肝臓、脂肪組織は、分析時まで-80°Cで保存した。

Table 6-1. Diet compositions (g/100g)

	Oral feeding		Meal feeding	
	(Exp. 1)		(Exp. 2)	
	Casein (CO)	Prolamin (PMPO)	Casein (CM)	Prolamin (PMPM)
Casein ¹	19.4	19.4	19.4	19.4
Casein	-	-	0.05	-
PMPr	-	-	-	0.2
AIN-93 Salt mixture ²	4.3	4.3	4.3	4.3
AIN-93 Vitamin mixture ²	1.2	1.2	1.2	1.2
Soybean oil ³	7.0	7.0	7.0	7.0
Choline bitartrate ³	0.3	0.3	0.3	0.3
Cellulose ¹	6.2	6.2	6.2	6.2
α-Cornstarch ¹	8.6	8.6	8.6	8.6
Cornstarch ¹	22.7	22.7	22.7	22.7
L-Lys-HCl ⁴	-	0.0008	-	3.2
Cystine ⁴	0.3	0.3	0.003	-
Theronine ⁴	-	0.0002	-	0.0008
Lard ³	20.0	20.0	20.0	20.0
Sucrose ⁵	10.0	10.0	10.0	10.0

¹Oriental yeast, Tokyo

²AIN-93G diet composition

³Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japan

⁴Ajinomoto, Tokyo

⁵Toyo Sugar Refining, Tokyo

血糖値の測定

血糖値の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

血漿の分析

1) 血漿中の総コレステロール濃度の測定

血漿中の総コレステロール濃度測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

2) 血漿中のHDL-コレステロール濃度の測定

血漿中のHDL-コレステロール濃度の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

3) 血漿中のトリグリセリド濃度の測定

血漿中のトリグリセリド濃度の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

4) 血漿中のLDL-コレステロール濃度の算出

血漿中のLDL-コレステロール濃度は、第4章、第1節と同様の方法で行った。

5) 血中のインスリンおよびアディポネクチン濃度の測定

血中のインスリンおよびアディポネクチン濃度は、第3章、第2節と同様の方法でおこなった。

肝臓の脂質分析

1) 肝臓脂質の抽出

肝臓脂質の抽出は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

2) 肝臓中のコレステロール濃度の測定

肝臓中のコレステロール濃度の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

3) 肝臓中のトリグリセリド濃度の測定

肝臓中のトリグリセリド濃度の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

糞中脂質の抽出、胆汁酸排泄量の定量

1) 糞中脂質の抽出

糞中脂質の抽出は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

2) 糞中の胆汁酸量の測定

糞中の胆汁酸の測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

3) 糞中のコレステロール濃度の測定

糞中のコレステロール濃度測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

4) 糞中のトリグリセリド濃度の測定

糞中のトリグリセリドの測定は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

Real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction (real-time PCR)

1) マウスの脂肪組織からtotal RNA抽出

マウスの脂肪組織からtotal RNA抽出は、第4章、第1節と同様の方法で行った。

2) RNAの定量

Total RNAの定量は、第4章、第1節と同様の方法で行った。

3) Complementary DNA (cDNA) 合成

cDNAで合成は、第4章、第1節と同様の方法で行った。

4) Real time PCR (quantitative assay)

Real-time PCRは、第4章、第1節と同様の方法で行った。

統計処理

本実験で得られたデータの計算および整理は、第3章、第1節と同様の方法で行った。

2. 結果

キビプロラミンをマウスに経口投与摂取させることで、以下のように血糖値上昇抑制効果および血漿または肝臓中のコレステロール、トリグリセリド濃度の上昇抑制作用が確認されたが、アディポネクチンレベル及びアディポサイトカイン遺伝子発現には顕著な変化はみられなかった。

体重、飼料摂取量、組織重量、糞乾燥重量

14日間の飼育による解剖時の体重と総飼料摂取量、組織重量を、Table 6-2に示した。

14日間の飼育の結果、体重増加量はCO群で 9.8 ± 1.5 g、PMPO群で 10.0 ± 1.2 g、CM群で 9.9 ± 2.5 g、PMPM群で 9.7 ± 1.4 gと各群間で有意な差は認められなかった。体重100g中肝臓重量、腎臓重量に関しても、CO群で 4.14 ± 0.56 g、 1.25 ± 0.06 g、PMPO群で 3.64 ± 0.44 g、 1.18 ± 0.09 g、CM群で 3.96 ± 0.27 g、 1.28 ± 0.13 g、PMPM群で 4.21 ± 0.37 g、 1.34 ± 0.09 gと各群間で有意差は認められなかった。体重100g中精巣周囲脂肪組織重量、腎臓周囲脂肪組織重量、腸管膜周囲脂肪組織重量は、それぞれCO群で 4.04 ± 0.37 g、 1.96 ± 0.37 g、 2.77 ± 0.18 g、PMPO群で 3.62 ± 0.31 g、 1.93 ± 0.22 g、 2.82 ± 0.53 g、CM群で 3.74 ± 0.46 g、 1.89 ± 0.21 g、 2.44 ± 0.37 g、PMPM群で 3.76 ± 0.19 g、 1.72 ± 0.16 g、 2.50 ± 0.23 gと各群間で有意差は認められなかった。飼料摂取量に関しては、CO群で 58.0 ± 2.0 g、PMPO群で 57.4 ± 1.3 g、CM群で 58.1 ± 3.1 g、PMPM群で 58.1 ± 1.6 gと群間で有意差は認められなかった。糞乾燥重量はCO群で 0.36 ± 0.02 g、PMPO群で 0.35 ± 0.05 g、CM群で 0.39 ± 0.08 g、PMPM群で 0.37 ± 0.05 gと群間で有意な差が認められなかった。

Table 6-2. Effects of dietary PMPr with high-fat on body-weight gain, food intake, tissue and dried feces weights in KK-A^y mice

	CO	PMPO	CM	PMPM
Initial weights (g)	24.2±1.0	24.2±0.6	24.2±0.4	24.1±1.1
Final weights (g)	34.0±1.1	34.2±1.1	34.1±2.3	33.7±0.7
Weight gain (g/2wk)	9.8±1.5	10.0±1.2	9.9±2.5	9.7±1.4
Food intake (g/21wk)	58.0±2.0	57.4±1.3	58.1±3.1	58.1±1.6
Liver weight (g)	1.41±0.18	1.24±0.17	1.35±0.15	1.42±0.14
Kidneys weight (g)	0.43±0.01	0.40±0.02	0.44±0.06	0.45±0.03
Adipose tissue weight (g) :				
Epididymal	1.37±0.13	1.24±0.12	1.28±0.17	1.27±0.05
Perirenal	0.67±0.11	0.66±0.09	0.64±0.09	0.58±0.06
Mesenteric	0.94±0.07	0.97±0.20	0.84±0.16	0.84±0.08
Dried feces (g/day)	0.36±0.02	0.35±0.05	0.39±0.08	0.37±0.05
Tissue weight /100g body weight :				
Liver	4.14±0.56	3.64±0.44	3.96±0.27	4.21±0.37
Kidneys	1.25±0.06	1.18±0.09	1.28±0.13	1.34±0.09
Adipose tissue :				
Epididymal	4.04±0.37	3.62±0.31	3.74±0.46	3.76±0.19
Perirenal	1.96±0.37	1.93±0.22	1.89±0.21	1.72±0.16
Mesentric	2.77±0.18	2.82±0.53	2.44±0.37	2.50±0.23

Values are means ± SD for 6mice.

See Table 6-1 for details of dietary groups.

血糖値経時変化、血中グルコース濃度

飼育期間中の血糖値の経時変化と、飼育終了日の血中グルコース濃度をFig. 6-1に示した。

飼育1、2週間の血糖値(Fig. 6-1 A, B)はCO群で295.7±120.2mg/dL、350.2±110.8mg/dLに対してPMPO群で224.2±25.4mg/dL、250.5±50.7mg/dLと、血糖値の上昇抑制の傾向が認められた(2wk:p=0.073)。しかし、CM群で320.8±66.6mg/dL、322.67±94.08mg/dLに対してPMPM群で311.2±49.9mg/dL、301.5±74.6mg/dLであり、各群間有意な差は

認められなかった。また、飼育終了日の血中グルコース濃度(Fig. 6-1C)は、各群間有意な差は認められなかった。

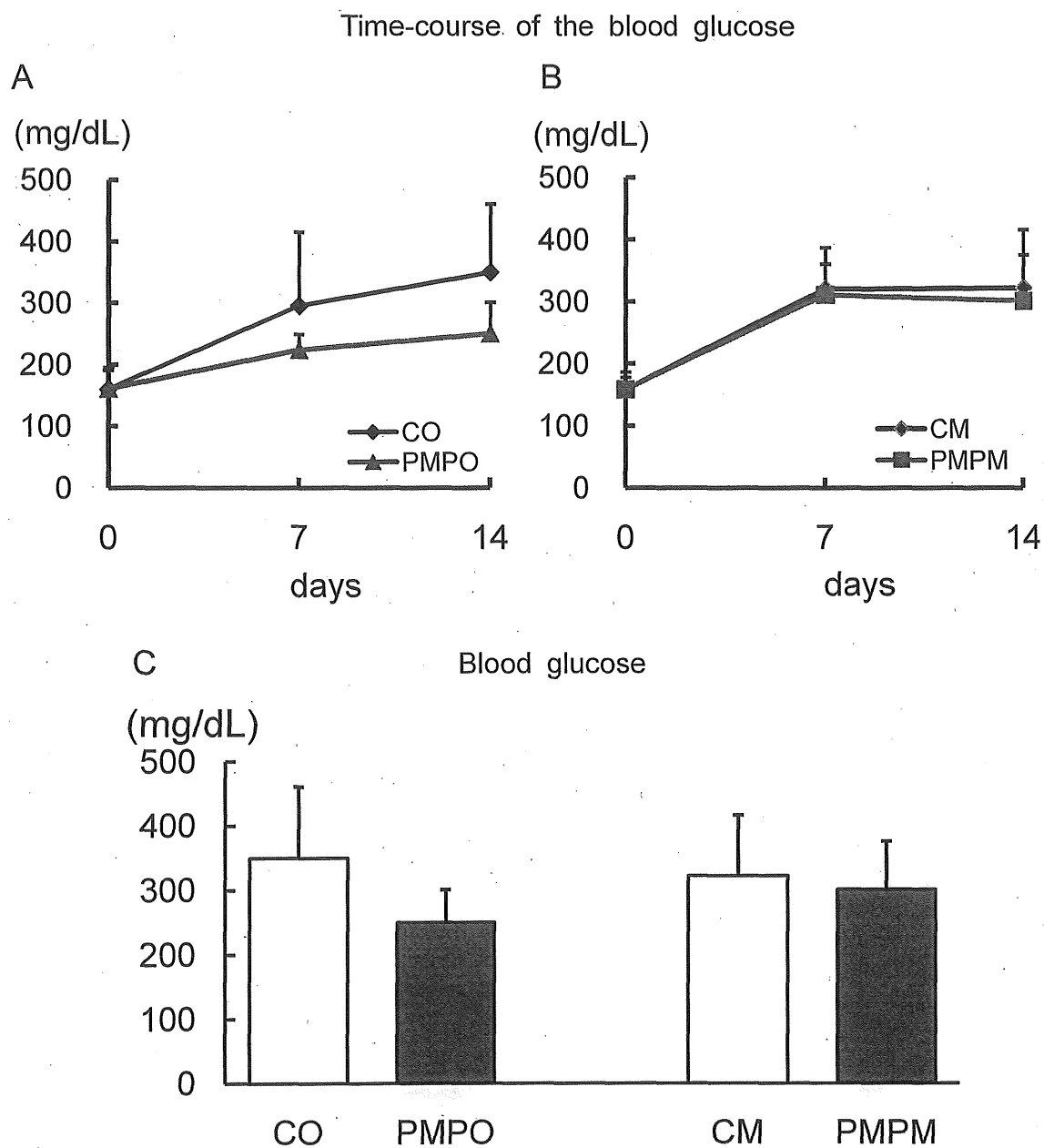


Fig. 6-1. Effect of dietary PMP_r with high-fat on blood glucose levels in KK-A^y mice.

Values are means±SD for 6 mice.

See Table 6-1 for details of dietary groups.

血中インスリン、アディポネクチン濃度

血中インスリン、アディポネクチン濃度を測定した結果をFig. 6-2に示した。

血中インスリン濃度 (Fig. 6-2A) は、CO群で 8.87 ± 5.69 ng/mL に対して、PMPO群で 5.98 ± 2.50 ng/mL、CM群で 5.06 ± 2.27 ng/mL に対して、PMPM群で 6.22 ± 3.02 ng/mL と有意な差は認められなかった。血中アディポネクチン濃度 (Fig. 6-2B) は、CO群で 28.99 ± 10.73 μ g/mL に対して、PMPO群で 26.21 ± 7.09 μ g/mL、CM群で 27.59 ± 9.06 μ g/mL に対して、PMPM群で 26.70 ± 7.66 μ g/mL と有意な差は認められなかった。

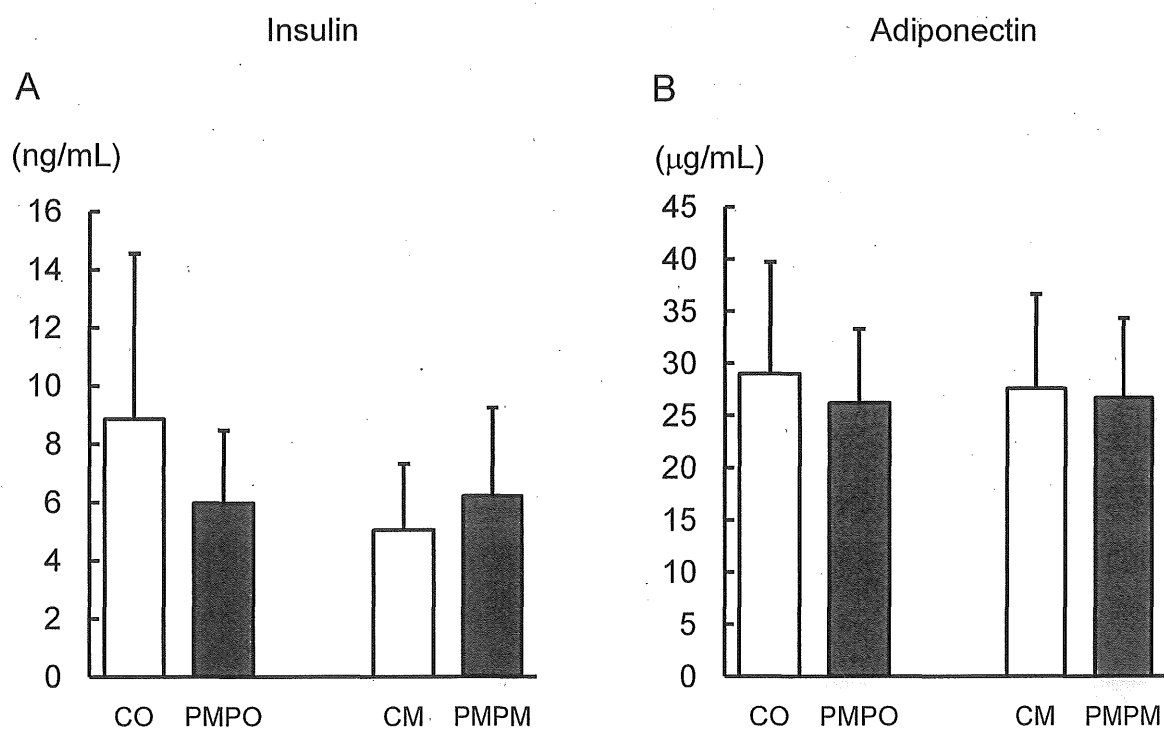


Fig. 6-2. Effect of dietary PMPr with high-fat on plasma insulin (A) and adiponectin (B) concentrations in KK-A^y mice.

Values are means \pm SD for 6 mice.

See Table 6-1 for details of dietary groups.

血漿中脂質濃度

血漿中の各脂質濃度を測定した結果をFig. 6-3に示した。

総コレステロール濃度(Fig. 6-3A)は、CO群の 160.76 ± 17.74 mg/dLに対して、PMPO群で 116.82 ± 13.96 mg/dL、CM群の 144.85 ± 23.88 mg/dLに対して、PMPM群で 142.42 ± 16.56 mg/dLとPMPO群がCO群に対して有意に低値を示したが($p < 0.01$)、CM群とPMPM群間有意な差は認められなかった。HDL-コレステロール濃度(Fig.6-3B)は、CO群の 34.52 ± 4.34 mg/dLに対して、PMPO群で 25.04 ± 5.79 mg/dL、CM群の 30.14 ± 6.46 mg/dLに対して、PMPM群で 31.27 ± 4.19 mg/dLとPMPO群がCO群に対して有意に低値を示したが($p < 0.01$)、CM群とPMPM群間有意な差は認められなかった。LDL-コレステロール濃度 (Fig.6-3C)は、CO群の 93.41 ± 11.44 mg/dLに対して、PMPO群で 72.18 ± 11.78 mg/dL、CM群の 90.68 ± 13.31 mg/dLに対して、PMPM群で 88.80 ± 21.19 mg/dLとPMPO群がCO群に対して有意に低値を示したが($p < 0.01$)、CM群とPMPM群間有意な差は認められなかった。トリグリセリド濃度(Fig. 6-3D)は、CO群の 164.16 ± 55.73 mg/dLに対して、PMPO群で 98.80 ± 24.53 mg/dL、CM群の 120.18 ± 40.73 mg/dLに対して、PMPM群で 111.75 ± 26.99 mg/dLとPMPO群がCO群に対して有意に低値を示したが($p < 0.05$)、CM群とPMPM群間有意な差は認められなかった。

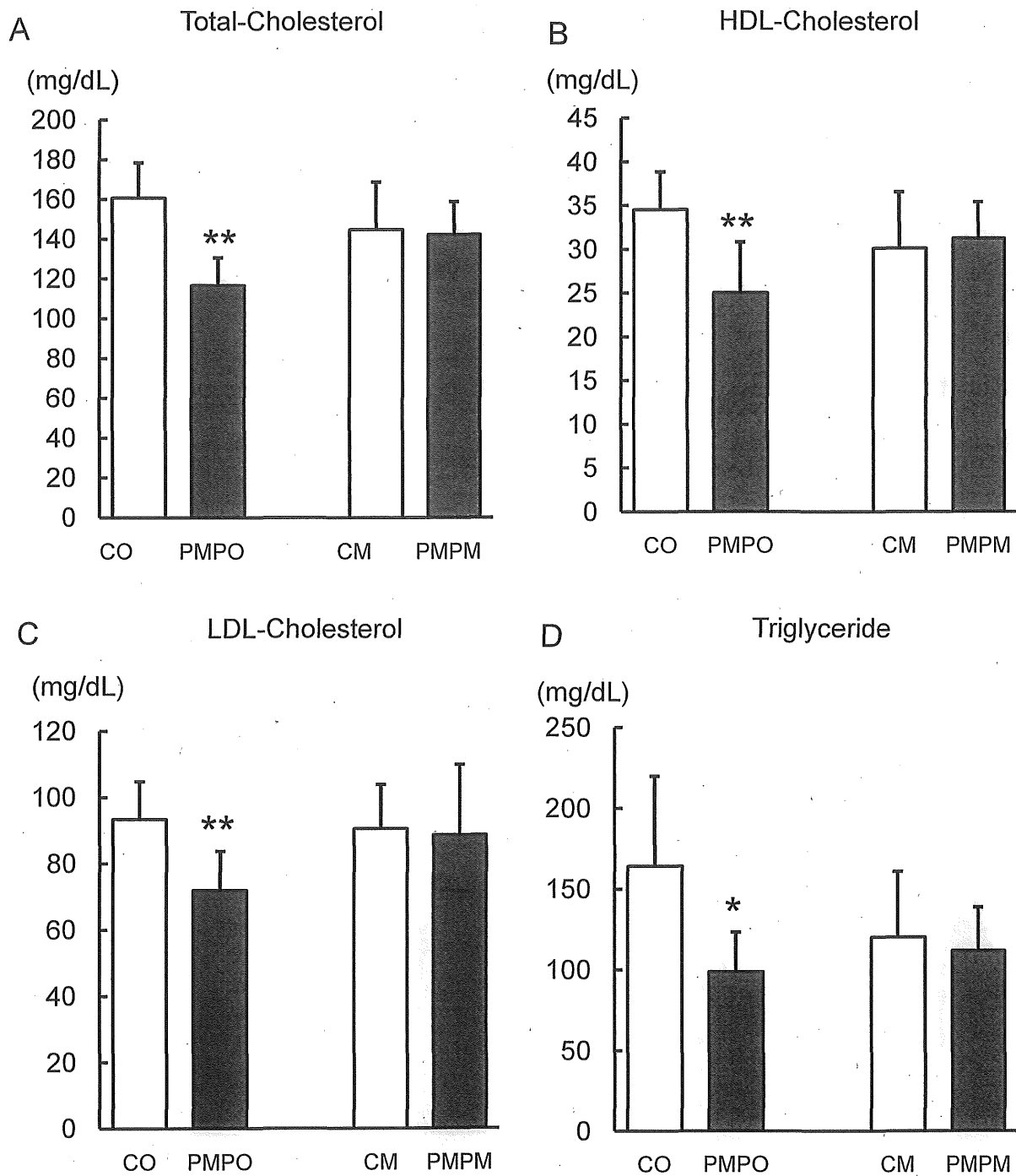


Fig. 6-3. Effect of dietary PMP_r with high-fat on plasma lipid concentrations in KK-A^y mice.

Values are means±SD for 6mice.

Means with a different symbol within each diet group differ (** $p < 0.01$; * $p < 0.05$).

See Table 6-1 for details of dietary groups.

肝臓中脂質濃度

肝臓中の各脂質濃度を測定した結果をFig. 6-4に示した。

肝臓のコレステロール濃度(Fig. 6-4A)は、CO群の 5.62 ± 1.93 mg/g liverに対して、PMP O群で 2.51 ± 0.36 mg/g liver、CM群の 3.18 ± 0.56 mg/g liverに対して、PMPM群で 4.04 ± 0.65 mg/g liverとPMPO群がCO群に対して有意に低値を示したが($p < 0.01$)、PMPM群はCM群に対して有意に高値差を示した($p < 0.05$)。肝臓中トリグリセリド濃度(Fig. 6-4B)は、CO群の 30.50 ± 7.06 mg/g liverに対して、PMPO群で 17.82 ± 7.40 mg/g liver、CM群の 27.98 ± 12.62 mg/g liverに対して、PMPM群で 21.71 ± 3.20 mg/g liverとPMPO群がCO群に対して有意に低値を示したが($p < 0.01$)、PMPM群とCM群間有意な差は認められなかった。

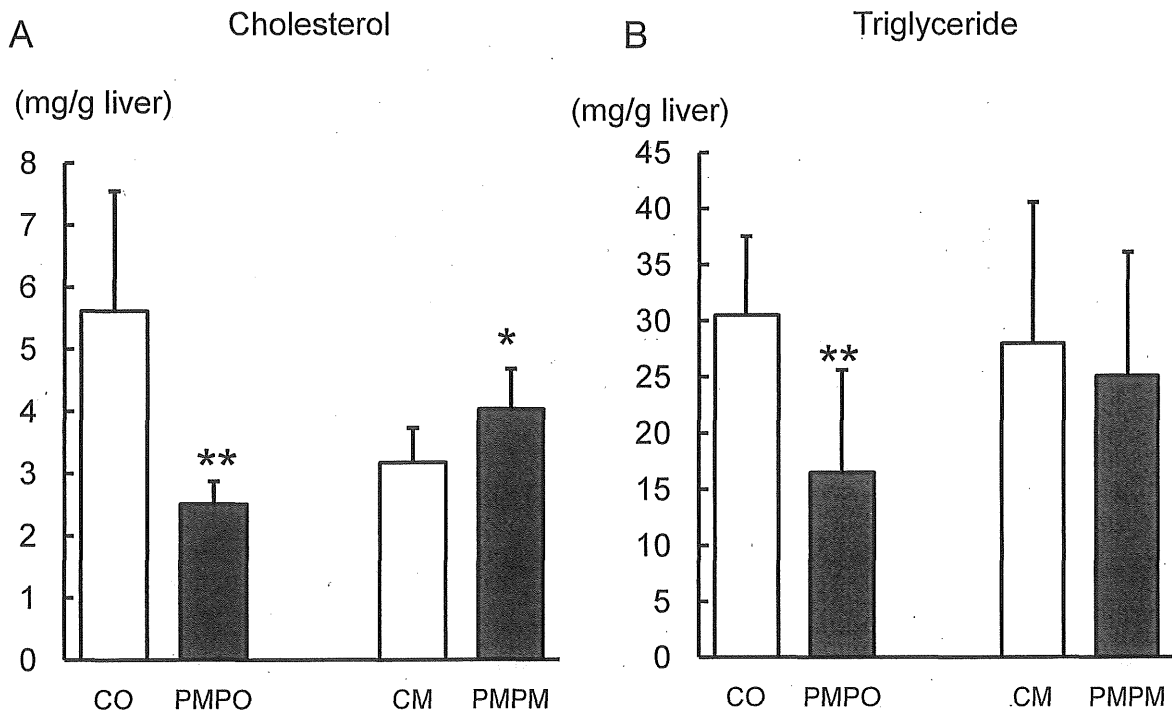


Fig. 6-4. Effect of dietary PMP_r with high-fat on liver lipid concentrations in KK-A^y mice.

Values are means \pm SD for 6 mice.

Means with a different symbol within each diet group differ (** $p < 0.01$; * $p < 0.05$).

See Table 6-1 for details of dietary groups.

糞中胆汁酸排泄量、脂質濃度

糞中胆汁酸排泄量、脂質濃度を測定した結果をFig. 6-5に示した。

糞中胆汁酸排泄量(Fig. 6-5A)は、CO群の $0.28 \pm 0.07 \mu\text{mol/day}$ に対して、PMPO群で $0.26 \pm 0.08 \mu\text{mol/day}$ 、CM群の $0.31 \pm 0.09 \mu\text{mol/day}$ に対して、PMPM群で $0.28 \pm 0.18 \mu\text{mol/day}$ と各群間有意な差は認められなかった。糞中コレステロール濃度(Fig. 6-5B)は、CO群の $1.78 \pm 0.42 \text{mg/day}$ に対して、PMPO群で $1.88 \pm 0.62 \text{mg/day}$ 、CM群の $2.36 \pm 0.40 \text{mg/day}$ に対して、PMPM群で $2.29 \pm 0.85 \text{mg/day}$ と各群間有意な差は認められなかった。糞中トリグリセリド濃度(Fig. 6-5C)は、CO群の $4.12 \pm 1.22 \text{mg/day}$ に対して、PMPO群で $4.72 \pm 1.04 \text{mg/day}$ 、CM群の $6.36 \pm 1.46 \text{mg/day}$ に対して、PMPM群で $5.70 \pm 0.69 \text{mg/day}$ と各群間有意な差は認められなかった。

遺伝子発現

プロラミンを経口した群での腎臓周囲脂肪での遺伝子発現 (adiponectin, TNF- α 、AdipoR1, AdipoR2, PPAR γ , IL-6 mRNA)を測定した結果をFig. 6-6に示した。

腎臓周囲脂肪でのadiponectin, AdipoR1, AdipoR2及びPPAR γ mRNA (Fig. 6-6A)の遺伝子発現には有意な変化はみられなかった。TNF- α 及びIL-6 mRNA (Fig. 6-6B)の発現量においても、群間に有意な差は認められなかった。

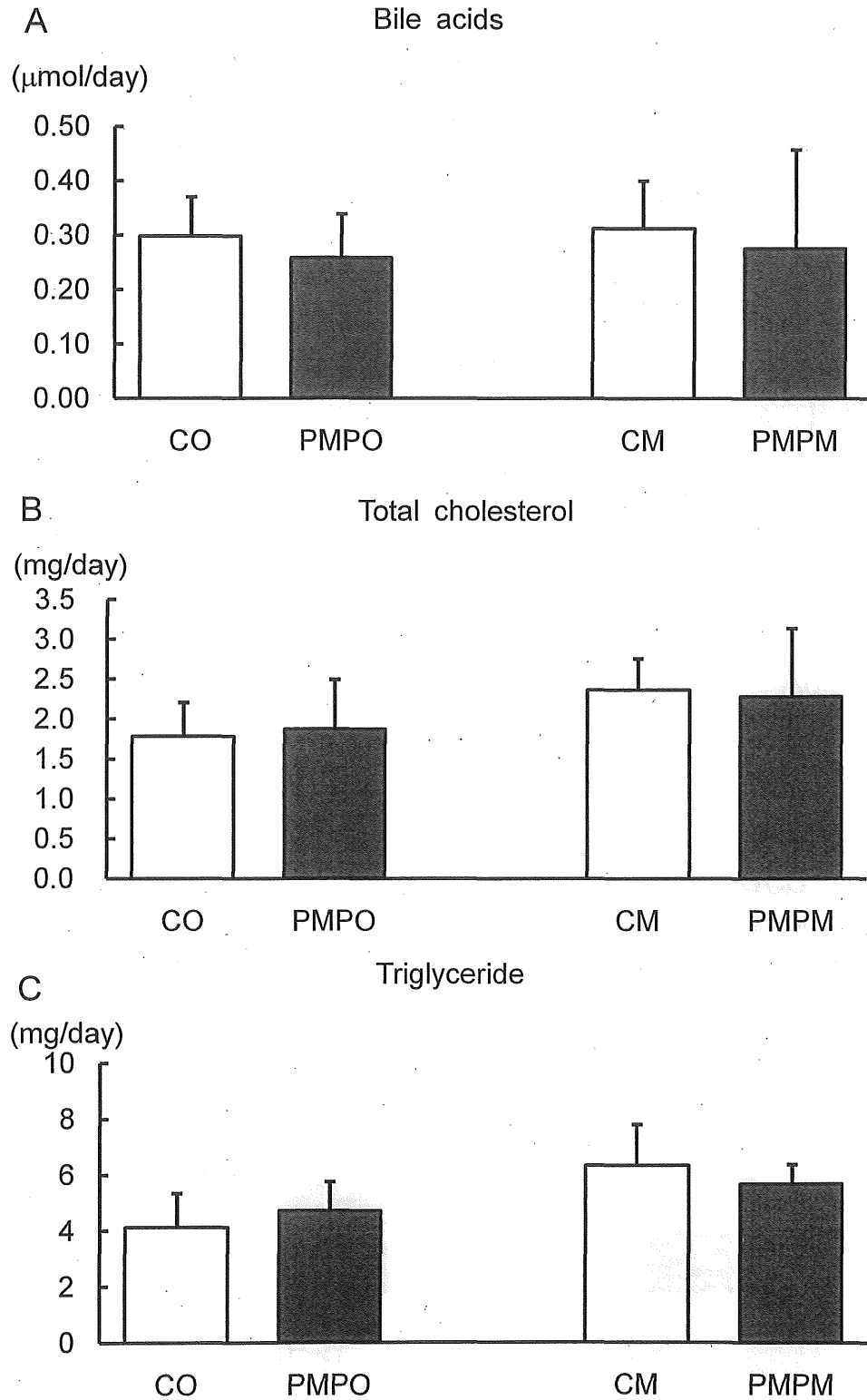


Fig. 6-5. Effect of dietary PMP_r with high-fat on the fecal excretion of lipids in KK-A^y mice.

Values are means \pm SD for 6mice.

See Table 6-1 for details of dietary groups.

Relative mRNA abundance (%) :

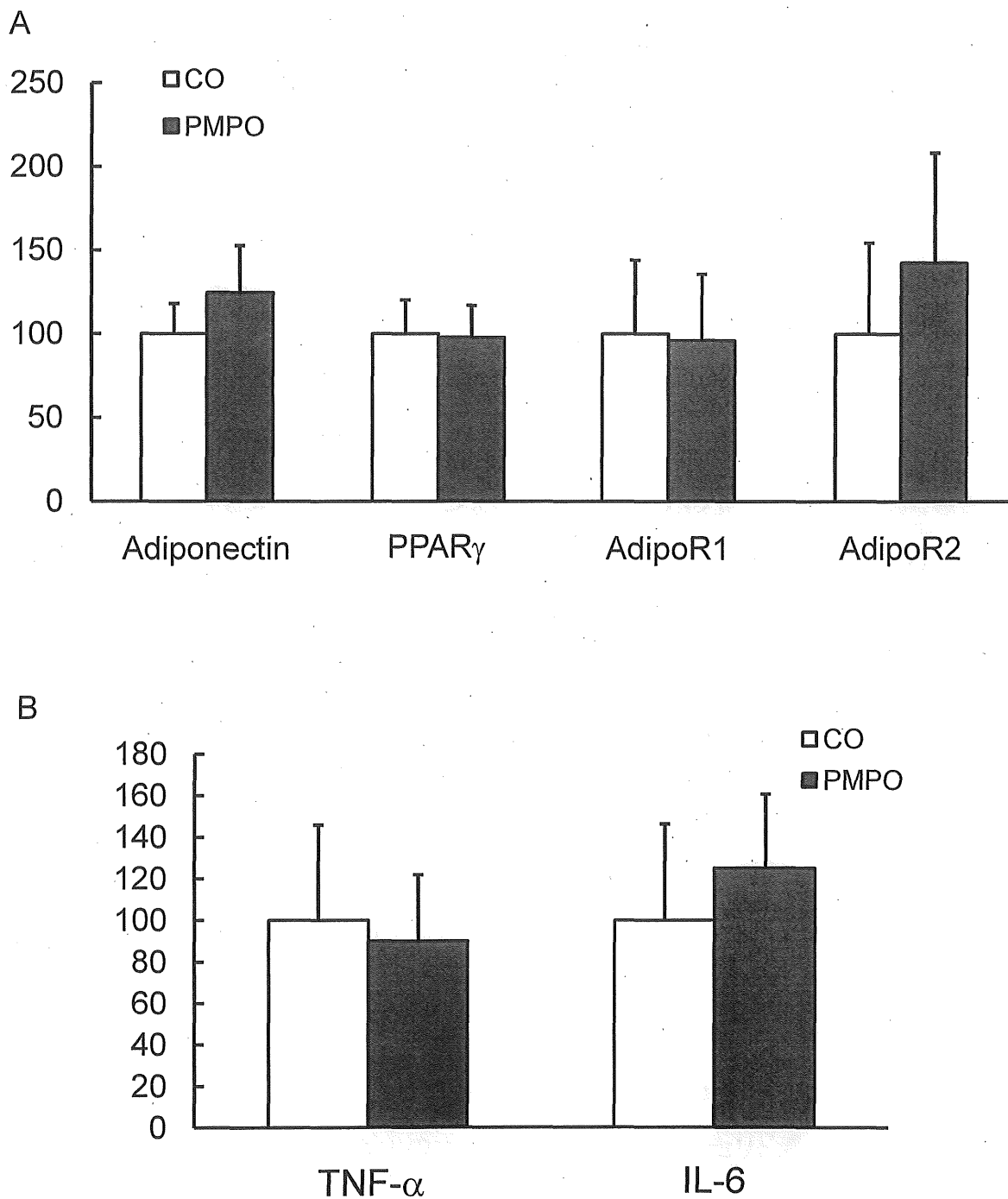


Fig. 6-6. Effect of PMP_r with high-fat on gene expressions in adipose tissue in KK-A^y mice fed prolamin with high-fat diet.

Values are means \pm SD for 6 mice.

Gene expression was normalized using the expression of the β -actin gene.

See Table 6-1 for details of dietary groups.

3. 考 察

本章では、第3、4章で行われたキビタンパク質の脂質代謝や血糖値の応答に及ぼす影響やアディポネクチン、TNF- α 、PPAR γ 、IL-6、adipoR1、adipoR2の発現に及ぼす効果の有効成分を調べる目的で、キビ精白から調製したキビプロラミン与えて、肥満2型糖尿病モデルKK-A^y系マウスの血糖値制御、脂質代謝および遺伝子発現に及ぼす影響について検討した。しかし、本章の結果は、第3、4章で観察された血漿中HDL-コレステロール、アディポネクチン濃度の増加は認められなかった。また、脂肪組織でのアディポサイトカイン発現量にも有意な変化は見られなかった。

一方、キビプロラミン摂取により、血漿中総コレステロール、LDL-コレステロール、トリグリセリド及び肝臓中脂質濃度がカゼイン群と比べて、有意な減少する結果が得られた。

佐藤は、日本産キビ精白からプロラミンを抽出するとタンパク質含量が約70%と報告したが、本章で使用したキビプロラミン中タンパク質含量は約23%程度であった [183]。従って、韓国産キビは日本産のキビと異なり、疎水性のタンパク質が多く含まれていることが推察される。

本章で用いたキビプロラミンの抽出回収率は、約6%程度で、回収率が低いため、タンパク質源として全量をマウスに摂取させるには至らなかった。そこで、第3、4章の実験の飼料摂取量から、マウスが二日に摂取する飼料中のタンパク質中プロラミン量を計算し、また、マウスに与える高脂肪食飼料の量は9gに制限した。

そこで、実験1としては約50mgのプロラミンを経口投与、実験2としては実験1のプロラミン量の4倍である200mgを飼料に混ぜマウスに与えた。実験2でのプロラミンのミールフィディングには、カゼイン群と比べて、有意な差は認められなかったものの、肝臓中コレステロールが増加させた。一方、マウスにプロラミンを経口投与摂取させることで、血糖値上昇抑制効果および血漿または肝臓中のコレステロール、トリグリセリド濃度の上昇抑制作用が確認された。

今回の実験では、飼育期間が短かったこととキビプロラミン中のタンパク質含量が少なかったため、キビタンパク質で表した効果が出なかったと思われ、今後長期間の飼育を行いキビプロラミンの効果を検討する必要があると思われる。

また、食品貯蔵タンパク質の分解ペプチドから生理活性を有するものが、いくつも見出さ

れており、食品として摂取されるタンパク質から消化官プロテアーゼの作用によって生理活性ペプチドが生成されることが知られている [184]。従って、キビタンパク質を摂取させた時、消化管内で機能ペプチドが生成していることが考えられる。今後、プロラミン摂取によるマウスの消化管で生成するペプチドの機能について検討する必要があると思われる。

また、キビ、ヒエはグルテリンが主成分との報告 [185]、大豆種子のタンパク質の大部分はグロブリンで、これらのタンパク質をトリプシンやペプシンなどのプロテアーゼで処理して得られるペプチドには、コレステロール低下、胆汁酸結合、抗酸化性、ACE阻害、ファゴサイトーシス(マクロファージの貪食能)促進といった各種の生理機能が見られるので[186]、本論文で示されたキビタンパク質の摂取による結果は、グルテリンによる効果である可能性も少なくはないと思われる。今後、グルテリンの効果も検討する必要、またキビプロラミンの回収率が高める方法の検討も必要である。

以上の本章の結果から、キビプロラミン摂取は、血漿中総コレステロール、LDL-コレステロール、トリグリセリド及び肝臓中脂質濃度を有意に減少させ、マウスの脂質代謝を改善させる作用があることが示された。

第7章 総合考察

今世紀に入り世界的規模で拡大を続ける糖尿病の流行によって、2025年には世界の糖尿病患者は約3億人に達すると見込まれている [187]。この急激な増大にはより快適で身体活動の低下した現代の生活様式に、加齢、過剰なカロリー摂取、脂肪過剰摂取、より精製度の高い炭水化物の摂取が関与していると考えられる。全ての糖尿病患者において食事療法は治療の基本であり、出発点でもある。食事療法の実践により、糖尿病状態が改善され [188]、糖尿病心血管系合併症のリスクは低減できるものと考えられている [189]。

食事タンパク質、例えば大豆タンパク質やタラのタンパク質が、血糖値制御や血漿のアディポネクチン、インスリンレベル、またそれらの遺伝子発現に及ぼす影響が報告されている [139, 140, 190]。しかし、食餌タンパク質のこれらの効果への機能については、まだ充分には明らかにされていない。

雑穀は、イネ科穀類の中でもアワ、ヒエ、キビなどの総称で、小さな種子を付け、主に夏雨型の半乾燥気候、熱帯、あるいは亜熱帯のサバンナ的な生態条件や温帯モンスーン地域で栽培化され、夏作物として栽培された穀類である。従って、雑穀には、稲やトウモロコシ、大麦や小麦などの麦類は含まれない [191]。主食としての穀物の重要性は今さら述べるまでもなく、人類の食糧の基本となっている。日本のみならず、世界でも今日、主食としての穀物が見直されてきている。世界的な穀物の消費の動向として、1995年のアメリカ人のための食事ガイドラインの改訂で [192]、穀物およびその食品、野菜、及び果物の摂取推奨の順位がこれまでの4位から3位に繰り上がった。同時に、カロリーの多くを穀物、特に全粒穀物食品から取るように薦めている。また、穀物と健康に関する状況として、大麦、ライ麦、オートなどの、血中コレステロール低下作用や大腸ガンを防ぎ、また抗酸化機能を有する穀類を機能性穀類と呼んでおり、大豆製品とともにそれも全粒穀物とその食品の摂取を盛んに進めている状況である。更に、穀物の重要性は、その複合糖質の機能性に加えて、全粒ライ麦パンのようなリグナンやポリフェノールのさまざまなファイトケミカルを摂取する意義も大きい。日本においても、先般公表された日本の新しい「健康づくりのための食生活指針」においても [193]、「ご飯などの穀類をしっかり」と主要な大項目に位置づけられている。

世界の雑穀の生産量は、それほど多いとは思われていないが、アジア、アフリカを中心

に、食糧として消費されているにも関わらず、その健康機能についての研究は、ほとんど行われていないのが現状である。近年は雑穀の栄養成分も研究されてきて、米には少ない微量栄養素であるマグネシウム、亜鉛、鉄分などのミネラル成分が豊富に含まれていることが判明している [194]。また、そうした成分が病気予防、特に動脈硬化を予防・軽減する働きがあり [195]、キビは肝臓障害を和らげるといわれている [196]。雑穀の成分は、米と比較してタンパク質・ミネラル・食物繊維の含有量が多いことが知られている [69]。

雑穀の健康機能の研究は、Nishizawaらにより数多く行われてきた。キビタンパク質を摂取したラット及びマウスで、カゼインを摂取した動物に比べて、HDL-コレステロール濃度を顕著に上げる機能があり、更に、肝障害を抑制させる効果も明らかにされている [65,66,69]。

韓国における雑穀の消費についてしてみると、韓国人は、昔から必ずしも米を主食としてきたわけではなく、その多くは米と麦を半々に食べる、あるいはアワ、ヒエ、キビ、イモなどを混ぜた穀物混食を主食としていた。最近、雑穀食がブームになってきている。その理由は、健康食の一つだからであり、雑穀はミネラル、食物繊維の多い穀類として認識されて、体によい、と云われている [197]。韓国キビ精白の主要成分は、炭水化物で70.6%、次にタンパク質で12.4%である。食物繊維は3.7%、および脂質は4.4%含まれていて、韓国産アワ精白の一般成分と同様で、白米と比較して、食物繊維は約6倍、タンパク質は約2倍、脂質が約5倍である。また、本研究では測定しなかったが、カルシウム、マグネシウム、鉄分、カリウム、ビタミンA、Bが多く含まれていたと知られている [198]。

しかし、韓国における雑穀の健康機能の研究はほとんどされていないのが現状である。Choiらは、韓国産アワタンパク質の摂取が2型糖尿病モデルマウスであるKK-A^yマウスの血糖値の上昇抑制および血漿中HDL-コレステロール、アディポネクチン濃度の上昇させることを報告している [72]。しかし、韓国産キビの健康に及ぼす効果を調べた研究はない。そこで本研究では、韓国産キビの摂取が、高コレステロール血症、2型糖尿病モデルマウスの血糖値制御、脂質代謝、アディポネクチン、アディポネクチンおよびTNF- α 遺伝子などの発現に及ぼす影響を検討した。

本論文の第3章では、正常食および高コレステロール血症誘食餌条件下で、キビタンパク質濃縮物摂取がC57BL/6J系マウスの脂質代謝に及ぼす影響を検討した。正常食餌条件下で、キビタンパク質の摂取は、血漿中のHDL-コレステロール濃度を高める作用を示した

(第3章、Fig. 3-2)。Nishizawaらの研究で、日本産キビタンパク質をラット及びマウスに与えた時、HDL-コレステロール濃度は、カゼインをタンパク質源とした飼料を摂取させたものと比較して有意に上昇することを報告しており [65,66]、本論文の結果は、それらを裏付けているものと考えられる。また、C57BL/6Jマウスを用いて、肥満誘導食を摂取させた時に生じる肥満、高脂血症でのキビタンパク質摂取は、血漿中のトリグリセリドや血糖値を有意に低下させることが明らかになった (第3章、Fig. 3-6, 3-8C)。更に、腎臓周囲脂肪組織の重量を減少、血漿中グルコース濃度、肝臓中の脂質濃度の減少傾向が見られた。Choiらは、韓国産アワタンパク質摂取で、高コレステロール血症誘マウスの血漿と肝臓のトリグリセリド濃度を有意に減少させる効果を報告している [83]。しかし、同じキビ属であるキビのタンパク質は、トリグリセリド濃度には影響を与えなかった。そのことは、Choiらは、マウスを6週間飼育したが、本研究では、3週間飼育したことでキビタンパク質が、高コレステロール血症誘マウスの脂質代謝改善に及ぼす効果が反映していなかったと思われる。従って、本論文の第3章で示された結果から、キビタンパク質は、HDL-コレステロール濃度を上昇、血漿中のトリグリセリド及び血糖値を有意に低下に関与する食事タンパク質であると考えられる。

本研究の第4章では、正常食および高脂肪食の二つの食餌条件で、2型糖尿病モデル動物であるKK-A^yマウスにキビタンパク質濃縮物を摂取させた。その結果、正常食餌条件では、血漿HDL-コレステロール濃度を上昇させ、また肝臓中コレステロール濃度を減少させることが示された (第4章、Fig. 4-4B, 4-5A)。また、キビタンパク質摂取による、血漿中インスリン、グルコース濃度の低下効果 (第4章、4-10A)は、アディポネクチン濃度の増加によって、肝臓中のグルコースの生成が抑制されたことと、筋肉、脂肪細胞におけるグルコースの取り込みが促進されたためと考えられる。次に、高脂肪食を与えた一層糖尿病を惹起した食餌条件では、キビタンパク質の摂取により、脂肪細胞での善玉アディポサイトカインであるアディポネクチン、PPAR γ 、AdipoR2 mRNA発現量の上昇及び血糖値の低下 (Fig. 4-9B, 4-14)、血漿中アディポネクチンレベルの亢進 (Fig. 4-10B)、インスリンの濃度が低下した (Fig. 4-10A)。更に、悪玉アディポサイトカインであるTNF- α 、IL-6mRNA発現量を減少させた (Fig. 4-14)。本論文で明らかにされたこのような結果は、新規なものであった。すなわち、これまでに報告されてきた食餌性タンパク質の機能性研究から、本論文で明らかにされた血糖値の上昇を抑制する機能、血中HDL-コレステロール、アディポネクチン濃

度の上昇が同時に起こるとい研究報告はされていない。従って、本論文第4章で示された結果は、韓国産キビタンパク質が、新しい機能を有するタンパク質であることを明らかにした。

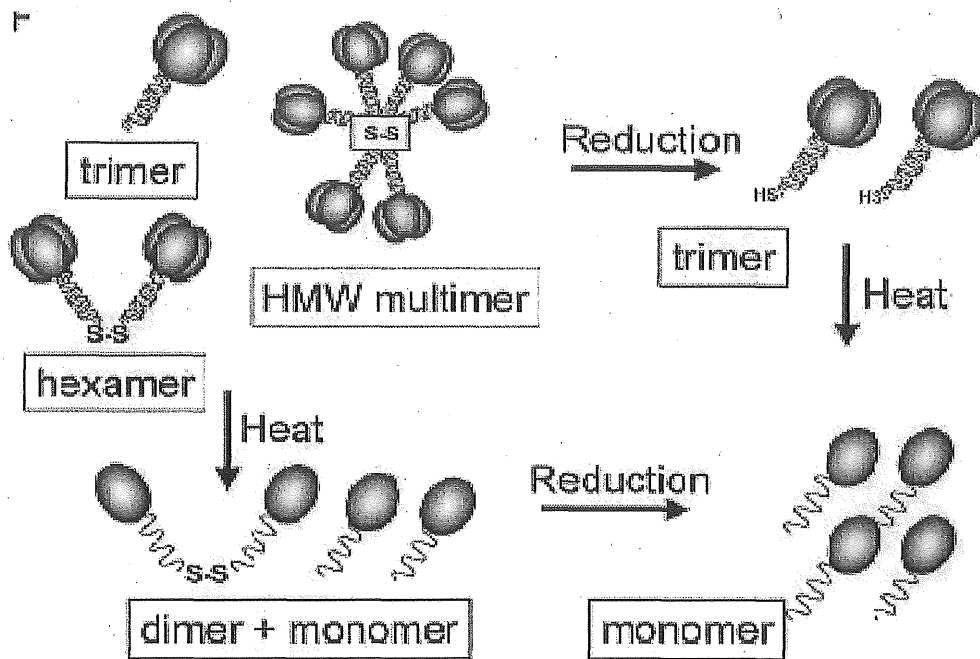


Fig. 7-1. Structure of adiponectin [199].

食事因子によって、血中のアディポネクチン及びHDL-コレステロールレベルがどのようなメカニズムによって影響を受けるのかは、まだ明らかではない。循環している血中アディポネクチンを、高分子量、中分子量、低分子量の少なくとも3種類以上の多量体構造をとって、存在することが明らかになっている (Fig. 7-1) [199]。高分子量のアディポネクチンを特異的に形成できない変異遺伝子を持つヒトは、糖尿病の発症のリスクが高いことが報告されている [199]。アディポネクチンの作用機序について、Yamauchiらは、短いフォームのアディポネクチンと長いフォームのアディポネクチンがそれぞれ骨格筋と肝臓に働くことを報告している [41]。

アディポネクチンはAdipoRを介して骨格筋と肝臓において、糖取り込みや脂肪酸の燃焼を起こす鍵分子であるAMPキナーゼを活性化させる。AMPキナーゼを活性化に加え、アデ

イボネクチンの刺激は、より慢性的にはPPAR α という脂肪酸燃焼のマスターレギュレータ、転写因子を活性化し、これらの作用が相まって、骨格筋と肝臓で中性脂肪の含量が低下し、IRS-1やIRS-2の機能を活性化することによりインスリン抵抗性を改善する [41]。更に、肥満・インスリン抵抗性においては、高分子量のアディポネクチンが特に低下、PPAR γ アゴニストを増加させることを見出している (Fig. 7-2) [200]。

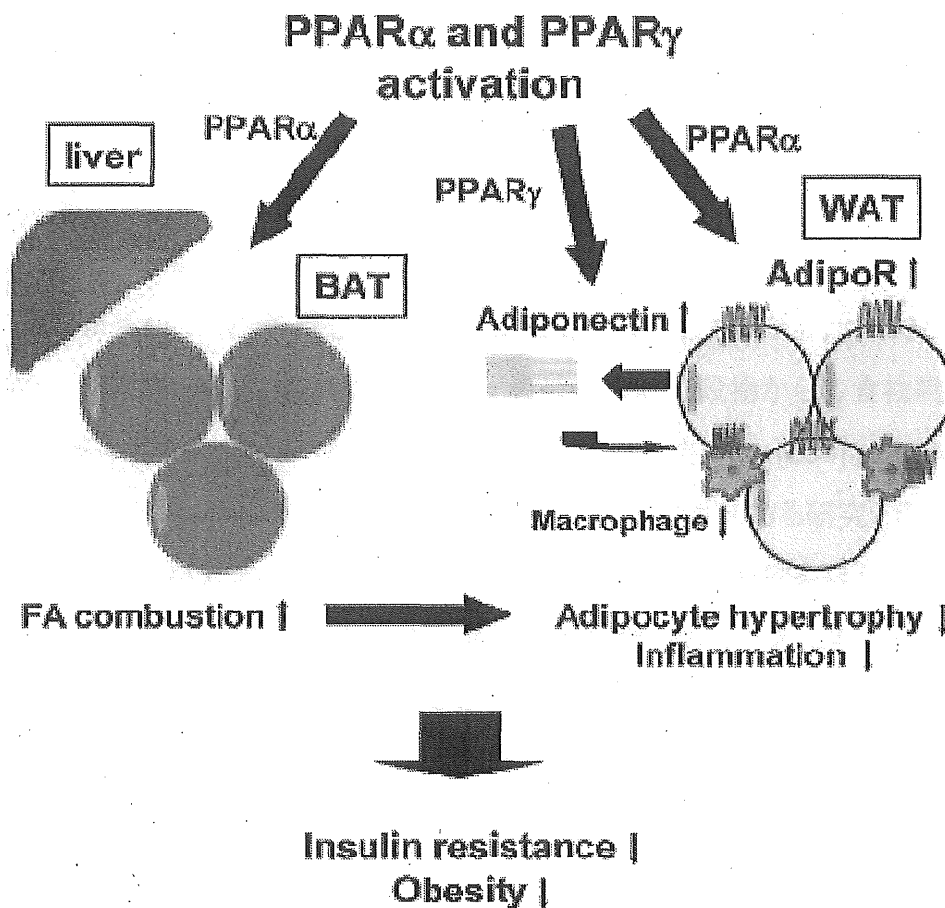


Fig 7-2. Mechanisms for improvement of insulin resistance by PPAR α and γ . Activation of PPAR α , at least in part, directly suppresses inflammation and adipocyte hypertrophy in WAT in addition to stimulating fatty acid(FA) combustion in liver and BAT. Dual activation of PPAR α and γ enhances the action of adiponectin by increasing AdipoR expression and the ratio of HMW to total adiponectin leading to enhancement of action of adiponectin [200].

脂肪細胞のサイズとサイトカインの分泌との関連性については、良く認められているが、

PPAR γ の活性化により、肥大化した脂肪細胞のアポトーシスの促進を起こし、脂肪細胞が小型化することが明らかになっている [201]。それにより、肥大化した脂肪細胞からのTNF- α 、レジスチン、脂肪酸といったインスリン抵抗性惹起分子の分泌が抑制され、これに対してレプチン、アディポネクチンといったインスリン感受性アディポサイトカインの拮抗分泌が、インスリン抵抗性を改善すると理解される。従って、本論文で示されたキビタンパク質の顕著なアディポネクチンレベルを高める機能は、これらのインスリン抵抗性のイベントを強く緩和し改善する働きをしている可能性が想定される [202]。

第4章で示されたアディポネクチンやHDL-コレステロールレベルを高めるメカニズムとして、次のように想定した。上述したアディポサイトカインやPPAR γ の機能を考慮すると、インスリン感受性の改善剤であるチアゾリジン誘導体が脂肪細胞のPPAR γ の活性を高めることによってアディポネクチンレベルが高まることは良く認められているため [45,203]、キビタンパク質の摂取によってPPAR γ の活性が促進され、その結果としてアディポネクチン濃度が上昇したことが想定される。この点に関連して、最近低脂肪で穀物からの食物繊維が多い食餌では、アディポネクチンレベルを高めることが報告されている [204]。この結果は、食餌とアディポネクチンレベルとの関連研究する上で、非常に興味ある研究と云えよう。また、脂肪細胞のサイズがアディポネクチンレベルや遺伝子発現に影響を与えることは良く認められている [205]。しかし、本論文では食餌の脂肪細胞のサイズに与える影響は調べられておらず、今後この点も考慮する必要がある。

脂肪組織は、特に内臓脂肪組織がアディポサイトカインと呼ぶ多彩な生理活性物質を分泌して [27,123]、内臓脂肪時には、2型糖尿病やインスリン抵抗性のリスクを高めるのみでなく、PAI-1やTNF- α などの過剰分泌が直接血管に障害をあたえることによって動脈硬化を惹起させることが示されている [47,50]。エネルギー代謝調節にとっては、アディポネクチンやレプチンが特に重要な機能を果たす。アディポネクチンもレプチンも、基本的にはインスリン感受性を亢進させる方向に機能すると考えられる。これらのアディポサイトカインの分泌量の最重要な決定因子は脂肪組織量の多寡であり、一般に、脂肪組織量の増加に従い血中レプチン濃度は上昇し、血中アディポネクチン濃度は低下する。

脂肪細胞特異的インスリン受容体欠損マウスでは、脂肪組織量の減少に伴い、血中アディポネクチン濃度は増加を示すが、脂肪組織量当たりのレプチン濃度も増加している[206]。インスリンシグナルは脂肪組織量の変化とは独立したメカニズムにより、レプチンの産生や

分泌を抑制している可能性がある。しかし、本論文の結果は、脂肪組織重量には各群間の差は見られなかったものの、キビタンパク質摂取による脂肪細胞のサイズの変化などが考えられる。しかし、本論文では、脂肪細胞のサイズについては検討していなかったことから、脂肪細胞のサイズの小型化への分化と減少と血中アディポネクチン濃度との関係については、説明することができなかった。従って、今後、脂肪細胞のサイズについて検討する必要があると思われる。

HDL-コレステロール濃度とアディポネクチンの相関関係については数多く報告されている [40,207,208]。従って本論文の結果においても、高脂肪食摂取させたKK-A^yでは、HDL-コレステロール濃度とアディポネクチンの相関関係が認められている。HDL-コレステロールレベルの上昇メカニズムについても、その明確なメカニズムは明らかではないが、リポタンパクリパーゼ(lipoprotein lipase, LPL)活性が低下すると、HDL-コレステロールレベルが減少することが知られている [209]。更に、HDL-コレステロールの生成の主なメカニズムとして、血管表面の細胞膜上に存在する遊離コレステロールとリン脂質から、ATP-binding cassette transporter A1(ABCA1)を介してHDL粒子が形成されることが、強く想定されている [210]。従って、HDL-コレステロールレベルとLPL活性やABCA1との関連も検討する必要がある。

糖尿病患者の約90-95%が2型糖尿病で知られており、インスリン抵抗性とインスリン欠乏が複合的に惹起されている。2型糖尿病は、複数の遺伝子異常と種々の環境因子が複数に関与して発症する多因子疾患と考えられている。遺伝因子の中で最も重視されるのはβ細胞の機能異常であり、中でもグルコースに対するインスリン分泌障害とインスリン需要の増大に対する増殖不全とが注目されている。インスリン抵抗性は、特に肥満によってそのリスクが高まり、糖尿病の発症に大きな影響を与える。インスリン抵抗性は高インスリン血症をもたらすが、高インスリン血症は肝臓での脂肪合成の亢進やリポタンパク質リパーゼ活性の低下を介してトリグリセリド値の上昇やHDL-コレステロール値の低下などにつながる事が明らかになっている (Fig. 7-3) [211-213]。本論文のキビタンパク質のインスリン抵抗性に与える効果に関連して、血中トリグリセリド/HDL-コレステロール比は、インスリン抵抗性の有用な指標として知られており[161]、本論文では、高脂肪食群間の有意な差は認められなかったが、キビタンパク質摂取群で低下傾向が認められた (第4章、Table 4-5)。

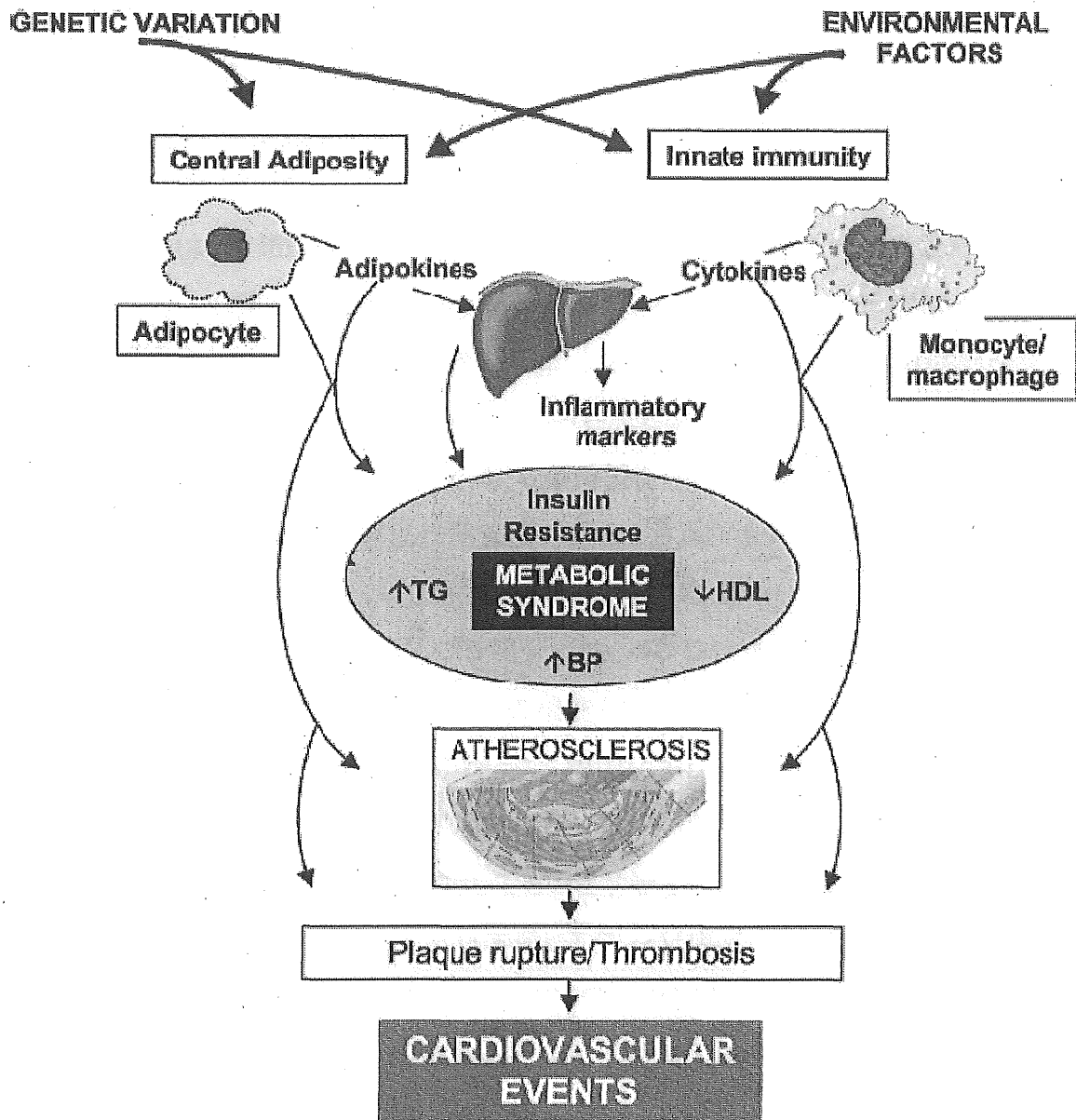


Fig. 7-3. Pathophysiology of atherosclerotic cardiovascular disease in the metabolic syndrome [211-213].

Weststrateらは、高アミロース食の摂取によって、食後のグルコースレベル上昇を抑制することを報告している [214]。また、Byrnesら、アミロペクチンのような消化が速い糖質の摂取は、インスリン抵抗性を惹起させることを報告している [178]。従って、キビタンパク質に含有している糖質による作用であった可能性も否定できない。本論文の第3章、4章で、

明らかにされた血糖値上昇抑制、血中HDL-コレステロールおよびアディポネクチン濃度の上昇作用の効果が、キビのどの成分によって機能をしているのかは不明である。そこで、キビタンパク質の血糖値上昇抑制、血中HDL-コレステロールおよびアディポネクチン濃度の上昇作用が、タンパク質以外に糖質によるものかどうかを検討するために、まずキビの炭水化物の糖質源としてキビデンプン画分について調べた (第5章)。その結果、キビデンプン画分の摂取は、予想に反して、2型糖尿病モデルKK-A^y系マウスの飼育最終日血糖値の上昇抑制効果、血漿中の遊離脂肪酸濃度の減少、および血漿のアディポネクチン濃度の有意に上昇させる結果となった (第5章、Fig. 5-2, 5-3D, 5-4B)。これらのキビデンプン画分をマウスに与えた実験結果は、日本産二戸在来ヒエの結果とは異なっていた [69]。すなわち、日本産ヒエのデンプン画分では、この韓国産キビで示された飼育最終日血糖値の上昇抑制効果、血漿中の遊離脂肪酸濃度の減少、および血漿のアディポネクチン濃度の有意に上昇させる結果は全く観察されなかった。その理由の一つとして、次のことが考えられる。本論文で調製したキビデンプン画分には、ペプシンで分解したにもかかわらず2.7%のタンパク質が残存しており、デンプンの機能と言うよりは、むしろ、この少量のタンパク質が機能していることが考えられる。従って、韓国産キビタンパク質は、血糖値やアディポネクチンレベルに及ぼす働きが、より強く機能している可能性が推察される。その結果、上記のキビデンプン画分の効果が発現してもものと示唆される。従って、本論文のキビデンプン画分の実験結果は、韓国産キビと日本産ヒエタンパク質の機能の相違から生じていることが推察される。

最後に、キビの有効成分を調べる実験を行った (第6章)。雑穀アワ、ヒエ、キビのタンパク質を構成する主要なタンパク質が、プロラミンであることは良く知られている [81,179-181]。そこで、キビタンパク質濃縮物の有効成分が何かを調べるために、キビプロラミン画分を、高脂肪食餌条件で肥満を誘導した2型糖尿病モデルKK-A^y系マウスに与えて、血糖値制御、脂質代謝およびアディポネクチン、インスリン、遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。

キビプロラミン画分の経口投与は、血漿中総コレステロール、LDL-コレステロール、トリグリセリドおよび肝臓中脂質濃度を有意に減少させた (第6章、Fig. 6-3, 6-4)。しかし、キビタンパク質摂取で見られた血漿中HDL-コレステロール、アディポネクチン濃度および遺伝子発現量の上昇は認められなかった。この結果は、摂取期間が2週間で短かったため、キ

ビプロラミンの十分な効果が現れてなかったと考えられる。また、本研究で想定された以外の成分が作用した可能性もあると考えられる。しかし、本研究と同様の方法で行った日本産在来種の二戸ヒエプロラミンの摂取で、アディポネクチン遺伝子発現の増加、TNF- α 遺伝子発現の減少傾向が見られており [69]、従って、同じキビ属であってもキビ種より異なる効果を持つことが示唆された。

キビ及びヒエのタンパク質を構成するポリペプチド組成についてみると、韓国産キビタンパク質における各画分の割合は、アルブミン・グロブリン画分が3.8%、プロラミン画分が10.6%、グルテリン画分が59.3%であった。アルブミン・グロブリン画分が3.6%、プロラミン画分が80.0%、グルテリン画分が12.1%である二戸在来キビとは違うタンパク質組成を持つことが分かった (第2章) [81]。従って、今後グルテリンの効果も検討する必要、又キビプロラミンの回収率が高める方法の検討も必要である。また、本研究で用いたプロラミンのタンパク質含量は約23.3%で、そのタンパク質含量を高めることが今後の研究に利用していく上で重要になってくる。

以上、本論文の韓国産キビの研究結果をまとめると、

1. キビの糖質、脂質代謝に及ぼす影響を検討するための材料として、キビタンパク質濃縮物、キビデンプン画分、及びキビプロラミン画分を調製した。

1) 韓国キビの精白粒の成分は、主成分は炭水化物であり70.6%であった。次にタンパク質12.4%、脂質4.4%、灰分1.4%、及び食物繊維が3.7%であった。キビタンパク質のタンパク質組成は、主にグルテリンから構成されており、次に、プロラミンが14.9%と多いタンパク質であった。

2) キビタンパク質濃縮物の成分組成は、タンパク質が54.4%、脂質6.7%、灰分2.8%、糖質31.9%及び食物繊維が12.3%であった。キビタンパク質のアミノ酸組成は、グルタミン酸、アラニン、ロイシン多く、リジン含量は低い値であった。

2. マウスにおける韓国産キビの血糖値制御、脂質代謝改善機能及びアディポネクチン、

インスリンレベルやこれらの因子に影響を与えるアディポネクチン、TNF- α 、IL-6、PPAR γ 及びアディポネクチン受容体の遺伝子発現に与える影響

- 1) C57BL/6J系マウスの正常食餌条件で、キビタンパク質濃縮物の摂取は、血漿中HDL-コレステロール濃度が有意に高めた。
- 2) C57BL/6J系マウスの高脂肪食餌条件で、キビタンパク質濃縮物の摂取は、血糖値と血漿中のトリグリセリド濃度を有意に低下させた。
- 3) 肥満型2型糖尿病モデルKK-A y マウスの正常食餌条件で、キビタンパク質濃縮物の摂取は、血漿中のHDL-コレステロール濃度が有意に高め、肝臓中トリグリセリド濃度を有意に低下させた。また、キビタンパク質濃縮物の摂取は、アディポネクチン受容体AdipoR1、AdipoR2の遺伝子発現を高める傾向を示した。
- 4) 肥満型2型糖尿病モデルKK-A y マウスの高脂肪食餌条件で、キビタンパク質濃縮物の摂取は、血糖値及び血漿中インスリン濃度を低下させ、血漿中のHDL-コレステロール及びアディポネクチンレベルを高めた。更に、脂肪細胞の遺伝子発現レベルを調べた結果、キビタンパク質濃縮物の摂取は、アディポネクチン、PPAR γ 及びAdipoR2の遺伝子発現を高め、悪玉アディポサイトカインであるTNF- α 、IL-6の遺伝子発現量を低下させた。
- 5) 機能成分を明らかにする目的で、肥満型2型糖尿病モデルKK-A y マウスの高脂肪食餌条件で、キビデンブン画分を摂取させると、飼育最終日の血糖値が減少し、血漿中アディポネクチン濃度が高まった。
- 6) 機能タンパク質成分を明らかにする目的で、肥満型2型糖尿病モデルKK-A y マウスの高脂肪食餌条件で、キビプロラミン画分を摂取させたが、アディポネクチンレベル及びアディポサイトカイン遺伝子発現には顕著な変化はみられなかった。

韓国産キビタンパク質が、HDL-コレステロールやアディポネクチン濃度を高め、インスリン

濃度を低下させ、更に脂肪細胞のアディポクチン、PPAR γ 及びAdipoR2の遺伝子発現を高め、悪玉アディポサイトカインであるTNF- α の遺伝子発現量を低下させる機能を有することを明らかにした結果は、本論文が初めてである。

以上の本論文の結果から、キビデンブン画分にはマウスの飼育最終日の血糖値を減少、血漿中アディポネクチン濃度を増加させる効果があった。しかし、キビタンパク質にもキビデンブン画分で見られた効果がより強く見られたため、これらの効果は、キビデンブン画分中にペプシンに分解されずに残存している約2.7%タンパク質の影響が強いと考えられる。従って、HDL-コレステロール及びアディポネクチンの肥満、動脈硬化症やインスリン抵抗性、2型糖尿病の改善機能を考慮すると、韓国産キビタンパク質は、肥満の抑制及びインスリン抵抗性、2型糖尿病の進展を遅延・改善、回復させる機能を有する新規な機能性タンパク質であると結論した。

要 約

韓国では、雑穀は日本以上に生産され消費されているが、これらの健康機能研究はほとんどされていない。特に韓国産キビの健康機能の研究は、全くされていないのが現状である。

本論文は、マウスにおける韓国産キビの血糖値制御、脂質代謝改善機能及びアディポネクチン、インスリンレベルやこれらの因子に影響を与えるアディポネクチン、TNF- α 、IL-6、PPAR γ およびアディポネクチン受容体の遺伝子発現への影響を明らかにすることを目的とし、次のような新規な研究成果を明らかにした。

1. 材料の調製とその組成

- 1) キビの糖質、脂質代謝に及ぼす影響を検討するための材料として、キビタンパク質濃縮物、キビデンプン画分、およびキビプロラミン画分を調製した。韓国キビの精白粒の成分は、主成分は炭水化物であり70.6%であった。次にタンパク質12.4%、脂質4.4%、灰分1.4%、及び食物繊維が3.7%であった。キビタンパク質のタンパク質組成は、主にグルテリン(58.8%)から構成されており、次に、プロラミン(14.9%)であった。
- 2) キビタンパク質濃縮物の成分組成は、タンパク質が54.4%、脂質6.7%、灰分2.8%、糖質31.9%および食物繊維が12.3%であった。キビタンパク質のアミノ酸組成は、グルタミン酸、アラニン、ロイシン多く、リジン含量は低い値であった。

2. マウスにおける韓国産キビの血糖値制御、脂質代謝改善機能およびアディポネクチン、インスリンレベルやこれらの因子に影響を与えるアディポネクチン、TNF- α 、IL-6、PPAR γ およびアディポネクチン受容体の遺伝子発現に与える影響

- 1) C57BL/6J系マウスの正常食餌条件で、キビタンパク質濃縮物の摂取は、血漿HDL-コレステロール濃度を有意に増加させた。
- 2) C57BL/6J系マウスの高脂肪食餌条件で、キビタンパク質濃縮物の摂取は、血糖値と血漿中のトリグリセリド濃度を有意に低下させた。
- 3) 肥満型2型糖尿病モデルKK-A^yマウスの正常食餌条件で、キビタンパク質濃縮物

の摂取は、血漿中の HDL-コレステロール濃度が有意に高め、肝臓中トリグリセリド濃度を有意に低下させた。また、キビタンパク質濃縮物の摂取は、アディポネクチン受容体 AdipoR1、AdipoR2 の遺伝子発現を高める傾向を示した。

- 4) KK-A^y マウスの高脂肪食餌条件で、キビタンパク質濃縮物の摂取は、血糖値および血漿中インスリン濃度を低下させ、血漿中の HDL-コレステロールおよびアディポネクチンレベルを高めた。さらに、脂肪細胞の遺伝子発現レベルを調べた結果、キビタンパク質濃縮物の摂取は、アディポネクチン、PPAR γ および AdipoR2 の遺伝子発現を高め、悪玉アディポサイトカインである TNF- α 、IL-6 の遺伝子発現量を低下させた。
- 5) キビの機能成分を明らかにする目的で、KK-A^y マウスの高脂肪食餌条件で飼育し、炭水化物源としてキビデンプン画分を摂取させると、飼育最終日の血糖値が減少し、血漿中アディポネクチン濃度が高まった。
- 6) キビタンパク質の機能成分を明らかにする目的で、KK-A^y マウスの高脂肪食餌条件で飼育し、キビプロラミン画分を摂取させたが、アディポネクチンレベルおよびアディポサイトカイン遺伝子発現には顕著な変化はみられなかった。

本研究により韓国産キビタンパク質は、HDL-コレステロールやアディポネクチン濃度を高め、インスリン濃度を低下させることが明らかになった。さらに脂肪細胞のアディポネクチン、PPAR γ および AdipoR2 の遺伝子発現を高め、悪玉アディポサイトカインである TNF- α の遺伝子発現量を低下させた機能は、本論文により初めて示されたものである。

3. 結 論

以上の本論文の結果から、HDL-コレステロールおよびアディポネクチンの肥満、動脈硬化症やインスリン抵抗性、2 型糖尿病の改善機能を考慮すると、韓国産キビタンパク質は、肥満の抑制及びインスリン抵抗性、2 型糖尿病の進展を遅延・改善、回復させる機能を有する新規な機能性タンパク質であると結論できる。

したがって韓国産キビタンパク質は、上記の疾病を緩和、改善する有効な食品素材となる可能性を示された。

謝 辞

本研究を行ない、本論文を作製するにあたり、終始御指導いただき、公私ともに温かく見守って下さいました前岩手大学農学部教授、現岩手大学特任教授、名誉教授、西澤直行先生に心から感謝いたします。

また、実験の方法、進め方を細部に渡りご指導いただきました長澤孝志教授、伊藤芳明准教授に深く感謝いたします。

本研究室で過ごした3年半の間、実験や解剖に協力していただくなど、お世話になりました大学院生および学部学生の皆さんに御礼申し上げます。

韓国の全南大学の崔明洛先生や応援して下さいました皆さんに御礼申し上げます。また、韓国産キビを提供して下さいました、麗水市農家の方に、感謝いたします。

最後になりましたが、いつも遠くで私を支えて下さった、両親に心から感謝いたします。

2009年 3月

朴 京玉

引用文献

- 1) Flier, J.F., Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell*, **116**, 337-350 (2004).
- 2) Buchanan, T.A., Pancreatic beta-cell loss and preservation in type 2 diabetes. *Clin. Ther.*, **25**, B32-B46 (2003).
- 3) Unger, R.H., Lipid overload and overflow: metabolic trauma and the metabolic syndrome. *Trends Endocrinol. Metab.*, **14**, 398-403 (2003).
- 4) OECD Health Statistics, Obesity Rates in OECD Countries.
- 5) 前田 和久, 下村 伊一郎, 肥満症・メタボリックシンドロームの病態—overview, 医学のあゆみ, 213巻, 6号, 543-548 (2005).
- 6) 国民栄養調査、保健福祉部 (2005).
- 7) 韓国人の死亡原因、統計省 (2002).
- 8) Taniguchi, A., Fukushima, M., Sakai, M., Kataoka, K., Nagata, I., Doi, K., Aakawa, H., Nagasaka, S., Tokuyama, K., and Nakai, Y., The role of the body mass index and triglyceride levels in identifying insulin-sensitive and insulin resistant variants in Japanese non-insulin dependent diabetic patients. *Metabolism*, **49**, 1001-1005 (2000).
- 9) Abate, N., Garg, A., Peshock, R.M., Stray-Gundersen, J., and Grundy, S.M., Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. *J. Clin. Invest.*, **96**, 88-98 (1995).
- 10) Scherer, P.E., Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes*, **55**, 1537-1545 (2006).
- 11) Hotta, K., Funahashi, T., Arita, Y., Takahashi, M., Matsuda, M., Okamoto, Y., Iwahashi, H., Kuriyama, H., Ouchi, N., Maeda, K., Nishida, M., Kihara, S., Sakai, N., Nakajima, T., Hasegawa, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Nakamura, T., Yamashita, S., Hanafusa, T., and Matsuzawa, Y., Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **20**, 1595-1599 (2000).
- 12) Kondo, H., Shimomura, I., Matsukawa, Y., Kumada, M., Takahashi, M., Matsuda, M., Ouchi, N., Kihara, S., Kawamoto, T., Sumitsuji, S., Funahashi, T., and Matsuzawa, Y., Association of adiponectin mutation with type 2 diabetes: a

- candidate gene for the insulin resistance syndrome. *Diabetes*, **51**, 2325-2328 (2002).
- 13) Maeda ,N., Shimomura, I., Kishida, K., Nishizawa, H., Matsuda, M., Nagaretani, H., Furuyama, N., Kondo, H., Takahashi, M., Arita, Y., Komuro, R., Ouchi, N., Kihara, S., Tochino, Y., Okutomi, K., Horie, M., Takeda, S., Aoyama, T., Funahashi, T., and Matsuzawa, Y., Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat. Med.*, **8**, 731-737 (2002).
 - 14) Hotta, K., Funahashi, T., Bodkin, N.L., Ortmeyer, H.K., Arita, Y., Hansen, B.C., and Matsuzawa ,Y., Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes*, **50**, 1126-1133 (2001).
 - 15) Lau, D.C., Dhillon, B., Yan, H., Szmitko, P.E., and Verma, S., Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **288**, H2031-H2041 (2005).
 - 16) Berg, A.H., Combs, T.P., Du, X., Brownlee, M., and Scherer, P.E., The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat. Med.*, **7**, 947-953 (2001).
 - 17) Grundy, S.M., Hypertriglyceridemia, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *Am. J. Cardiol.*, **83(9B)**, 25F-29F (1999).
 - 18) Kannel, W.B., Some lessons in cardiovascular epidemiology from Framingham. *Am. J. Cardiol.*, **37**, 269-282 (1976).
 - 19) Nakamura, T., Tsubono, Y., Kameda-Takemura, K., Yamashita, S., Hisamichi, S., Kita, T., Yamamura, T., and Matsuzawa, Y., Group of the research for the association between host origin and atherosclerotic diseases under the preventive measure for work-related disease of the Japanese labor ministry: Magnitude of sustained multiple risk factors for ischemic heart disease in Japanese employees: a case-control study. *Jpn. Circ. J.*, **65**, 11-17 (2001).
 - 20) Reaven, G.M., Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, **37**, 1595-1607 (1998).
 - 21) Kaplan, N.M., The deadly quartet: Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch. Intern. Med.*, **149**, 1514-1520 (1989).

- 22) Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). *JAMA*, **285**, 2486-2497 (2001).
- 23) Grundy, S.M., Brewer, H.B. Jr., Cleeman, J.I., Smith S.C. Jr., and Lenfant, C., American Heart Association; national heart, lung, and blood institute; definition of metabolic syndrome. Report of the national heart, lung, and blood institute/American heart association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*, **109**, 433-438 (2004).
- 24) Alberti, K.G.M.M., and Zimmet, P.Z., Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabet. Med.*, **15**, 539-553 (1998).
- 25) Sattar, N., Gaw, A., Scherbakova, O., Ford, I., O'Reilly, D.S., Haffner, S. M., Isles, C., Macfarlane, P.W., Packard, C.J., Cobbe, S.M., and Shepherd, J., Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation*, **108**, 414-419 (2003).
- 26) Hu, F.B., Manson, J.E., Stampfer, M.J., Colditz, G., Liu, S., Solomon, C.G., and Willett, W.C., Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N. Engl. J. Med.*, **345**, 790-797 (2001).
- 27) Kim, J.B., and Park, J.Y., Molecular insights into fat cell differentiation and functional roles of adipocytokines. *J. Endocrinol.*, **17**, 1-9 (2002).
- 28) Ahmad, A.M., and Peter, R., The metabolic syndrome: Pathogenesis, consequences, and treatment strategies. *Resid. Staff Physician* (2005).
- 29) Ashima, R.S., and Flier, J.S., Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol. Metab.*, **11**, 372-332 (2000).
- 30) Maeda, K., Okubo, K., Shimomura, I., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., and Matsubara, K., cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **221**, 286-289 (1996).
- 31) Scherer, P.E., Williams, S., Fogliano, M., Baldini, G., and Lodish, H.F., A

- novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J. Biol. Chem.* **270**, 26746-26749 (1995).
- 32) Hu, E., Liang, P., and Spiegelman, B.M., AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J. Biol. Chem.*, **271**, 10697-10703 (1996).
 - 33) Nakano, Y., Tobe, T., Choi-Miura, N.H., Mazda, T., and Tomita, M., Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J. Biochem.*, **120**, 803-812 (1996).
 - 34) Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J., Hotta, K., Shimomura, I., Nakamura, T., Miyaoka, K., Kuriyama, H., Nishida, M., Yamashita, S., Okubo, K., Matsubara, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Funahashi, T., and Matsuzawa, Y., Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **257**, 79-83 (1999).
 - 35) Ryo, M., Nakamura, T., Kihara, S., Kumada, M., Shibazaki, S., Takahashi, M., Nagai, M., Matsuzawa, Y., and Funahashi, T., Adiponectin as a biomarker of the metabolic syndrome. *Circ. J.*, **68**, 975-981 (2004).
 - 36) Okamoto, Y., Arita, Y., Nishida, M., Muraguchi, M., Ouchi, N., Takahashi, M., Igura, T., Inui, Y., Kihara, S., Nakamura, T., Yamashita, S., Miyagawa, J., Funahashi, T., and Matsuzawa, Y., An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm. Metab. Res.*, **32**, 47-50 (2000).
 - 37) Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Okamoto, Y., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T., and Matsuzawa, Y., Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*, **100**, 2473-2476 (1999).
 - 38) Ouchi, N., Kihara, S., Arita, Y., Okamoto, Y., Maeda, K., Kuriyama, H., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Nakamura, T., Yamashita, S., Funahashi, T., and Matsuzawa, Y., Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappaB signaling through a cAMP-dependent pathway. *Circulation*, **102**, 1296-1301 (2000).

- 39) Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Maeda, K., Kuriyama, H., Okamoto, Y., Kumada, M., Hotta, K., Nishida, M., Takahashi, M., Nakamura, T., Shimomura, I., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Funahashi, T., and Matsuzawa, Y., Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. *Circulation*, **105**, 2893-2898 (2002).
- 40) Yamauchi, T., Kamon, J., Waki, H., Terauchi, Y., Kubota, N., Hara, K., Mori, Y., Ide, T., Murakami, K., Tsuboyama-Kasaoka, N., Ezaki, O., Akanuma, Y., Gavrilova, O., Vinson, C., Reitman, M.L., Kagechika, H., Shudo, K., Yoda, M., Nakano, Y., Tobe, K., Nagai, R., Kimura, S., Tomita, M., Froguel, P., and Kadowaki, T., The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat. Med.*, **7**, 941-946 (2001).
- 41) Yamauchi, T., Kamon, J., Minokoshi, Y., Ito, Y., Waki, H., Uchida, S., Yamashita, S., Noda, M., Kita, S., Ueki, K., Eto, K., Akanuma, Y., Froguel, P., Foufelle, F., Ferre, P., Carling, D., Kimura, S., Nagai, R., Kahn, B.B., and Kadowaki, T., Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat. Med.*, **8**, 1288-1295 (2002).
- 42) Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y., Tsuchida, A., Yokomizo, T., Kita, S., Sugiyama, T., Miyagishi, M., Hara, K., Tsunoda, M., Murakami, K., Ohteki, T., Uchida, S., Takekawa, S., Waki, H., Tsuno, N.H., Shibata, Y., Terauchi, Y., Froguel, P., Tobe, K., Koyasu, S., Taira, K., Kitamura, T., Shimizu, T., Nagai, R., and Kadowaki, T., Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*, **423**, 762-769 (2003).
- 43) Tsuchida, A., Yamauchi, T., Ito, Y., Hada, Y., Maki, T., Takekawa, S., Kamon, J., Kobayashi, M., Suzuki, R., Hara, K., Kubota, N., Terauchi, Y., Froguel, P., Nakae, J., Kasuga, M., Accili, D., Tobe, K., Ueki, K., Nagai, R., and Kadowaki, T., Insulin/Foxo1 pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity. *J. Biol. Chem.*, **279**, 30817-30822 (2004).
- 44) Hotamisligil, G.S., Peraldi, P., Budavari, A., Ellis, R., White, M.F., and Spiegel-

- man, B.M., IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. *Science*, **271**, 665-668 (1996).
- 45) Maeda, N., Takahashi, M., Funahashi, T., Kihara, S., Nishizawa, H., Kishida, K., Nagaretani, H., Matsuda, M., Komuro, R., Ouchi, N., Kuriyama, H., Hotta, K., Nakamura, T., Shimomura, I., and Matsuzawa, Y., PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes*, **50**, 2094-2099 (2001).
- 46) Rotter, V., Nagaev, I., and Smith, U., Interleukin-6 induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor- α , overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects. *J. Biol. Chem.*, **278**, 45777-45784 (2003).
- 47) Vozarova, B., Weyer, C., Hanson, K., Tataranni, P.A., Bogardus, C., and Pratley, R.E., Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action and insulin secretion. *Obes. Res.*, **9**, 414-417 (2001).
- 48) Pradhan, A.D., Manson, J.E., Rifai, N., Buring, J.E., and Ridker, P.M., C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus, *JAMA*, **286**, 327-334 (2001).
- 49) Sennello, J.A., Fayad, R., Morris, A.M., Eckel, R.H., Asilmaz, E., Montez, J., Friedman, J.M., Dinarello, C.A., and Fantuzzi, G., Regulation of T cell mediated hepatic inflammation by adiponectin and leptin. *Endocrinology*, **146**, 2157-2164 (2005).
- 50) Ueki, K., Kondo, T., and Kahn, C.R., Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS-1) and SOCS-3 cause insulin resistance through inhibition of tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins by discrete mechanisms. *Mol. Cell Biol.*, **24**, 5434-5446 (2004).
- 51) Wallenius, V., Wallenius, K., Ahrén, B., Rudling, M., Carlsten, H., Dickson, S.L., Ohlsson, C., and Jansson, J.O., Interleukin-6-deficient mice develop mature onset obesity. *Nat. Med.*, **8**, 75-79 (2002).
- 52) 藤巻 正生, 機能性食品と健康—食品は進化する、裳華房 (1999).
- 53) Nagasawa, A., Fukui, K., Kojima, M., Kishida, K., Maeda, N., Nagaretani, H., Hibuse, T., Nishizawa, H., Kihara, S., Waki, M., Takamatsu, K., Funahashi, T., and Matsuzawa, Y., Divergent effects of soy protein diet on the

- expression of adipocytokines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **311**, 909-914 (2003).
- 54) Lavigne, C., Marette, A., and Jacques, H., Cod and soy proteins compared with casein improve glucose tolerance and insulin sensitivity in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **278**, E491-E500 (2000).
- 55) 成宮 学、石井 賢治、池田 義雄、大豆タンパク質の末梢組織におけるブドウ糖利用及びインスリン感受性に対する長期効果. *大豆タンパク質研究会会誌*, **10**, 122-126 (1989).
- 56) 森 豊、畑 章一、村川 祐一、加藤 秀一、池田 義雄、内臓脂肪型肥満OLETFラットの体脂肪分布並びに耐糖能に及ぼす大豆タンパク質の効果. *大豆タンパク質研究会会誌*, **17**, 108-113 (1996).
- 57) 原 映子、志水 泰武、浜井 盟子、嶋津 孝、高蔗糖食または高脂肪食の長期投与ラットに及ぼす分離大豆タンパク質の効果. *大豆タンパク質研究会会誌*, **17**, 103-107 (1996).
- 58) 阪本 寧男、雑穀のきた道—ユーラシア民族植物誌から. 日本放送出版協会(1998).
- 59) 阪本 寧男、インド亜大陸の雑穀農牧文化 (河瀬眞琴、第2章、インド亜大陸の雑穀とその系譜). p.33, 学会出版センター (1991).
- 60) 河瀬 眞琴、阪本 寧男、アワの変異と分布、インド亜大陸において収集した在来品種の特性について. 「育種学雑詩」、38巻、別冊2、440-441 (1988).
- 61) FAO、Production Yearbook (1997).
- 62) Hou, G., Oriental noodles. *Adv. Food Nutr. Res.*, **43**, 143-193 (2001).
- 63) Lu, H., Yang, X., Ye, M., Liu, K.B., Xia, Z., Ren, X., Cai, L., Wu, N., and Liu, T.S., Culinary archaeology: Millet noodles in Late Neolithic China. *Nature*, **437**, 967-968 (2005).
- 64) 小原 哲次郎、雑穀—その科学と利用、樹村房 (1981).
- 65) Nishizawa, N., Oikawa, M., and Hareyama, S., Effect of dietary protein from proso millet on the plasma cholesterol metabolism in rats. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 229-230 (1990).
- 66) Nishizawa, N., and Fudamoto, Y., The elevation of plasma concentration of high-density lipoprotein cholesterol in mice fed with protein from proso millet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **59**, 333-335 (1995).

- 67) Shimanuki, S., Nagasawa, T., and Nishizawa, N., Plasma HDL subfraction levels increase in rats fed proso-millet protein concentrate. *Med. Sci. Monit.*, **12**, BR221-BR226 (2006).
- 68) 島貫 茂文、キビタンパク質の血漿HDL-コレステロール濃度上昇機能とその分子生物学的機序. 岩手大学大学院農学研究科修士論文 (1996).
- 69) Nishizawa, N., Togawa, T., Park, K.O., Sato, D., Miyakoshi, Y., Inagaki, K., Ohmori, N., Ito, Y., and Nagasawa, T., Dietary Japanese-millet protein ameliorates plasma levels of adiponectin, glucose and lipids in type 2 diabetic mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, (in press).
- 70) Korea National Crop Experiment station, Millet production. KNCES (2005)
- 71) Lee, H.S., Lee, Y.K., and Seo, Y.J., Annual changes in the estimated dietary fiber intake of Korean during 1969~1990. *Kor. J. Nutr.*, **27**, 59-70 (1994).
- 72) Choi, Y.Y., Osada, K., Ito, Y., Nagasawa, T., Choi, M.R., and Nishizawa, N., Effects of dietary protein of Korean foxtail millet on plasma adiponectin, HDL-cholesterol, and insulin levels in genetically type 2 diabetic mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 31-37 (2005).
- 73) 平 宏和, アワ、ヒエ、キビ、日本熱帯医学会雑誌、**4**, 25-30 (1969).
- 74) 五訂食品成分表、女子栄養大学出版部 (2001).
- 75) Prosky, L., Asp, M.G., Schweizer, T.F., DeVries, J.W., and Furda, I., Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products ; Interlaboratory study, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **71**, 1017-1023 (1988).
- 76) Moore, S., On the determination of cystine as cysteic acid. *J. Biol. Chem.*, **238**, 235-237 (1963).
- 77) Shiotani, A., *Z. Naturforsch.*, **49b**, 1731 (1994).
- 78) Landry, J., and Moureaux, T., Hetero Genetic des glutelins du grain de maïs, extraction selective et composition an acids amines de trios fractions iso lees. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **52**, 1021-1037 (1970).
- 79) Shibata, S., Oda, K., Onodera, N., Matsubara, S., Kikukchi, H., Ishikawa, F., Iwabuchi, A., and Sansawa, H., Hypocholesterolemic effect of indigestible fraction of *Chlorella regularis* in cholesterol-fed rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **47**, 373-377 (2001).
- 80) McCleary, B.V., McNally, M., and Possiter, P., Measurement of resistant

- starch by enzymatic digestion in starch and selected plant materials: collaborative study. *J. AOAC Int.*, **85**, 1103-1111 (2002).
- 81) Kohama, K., Composition of storage protein from foxtail, proso and Japanese millets and food functionality. *PhD thesis, United Graduate School of Agricultural Sciences, Iwate University* (2000).
 - 82) "Standard tables of food composition in Japan" 5th revised ed., Resources council, Science and Technology Agency. Kagawa Nutrition University Press, Sakado (2001).
 - 83) 崔酉榮、韓国産のアワタンパク質の脂質代謝及びインスリン、アディポネクチン分泌に及ぼす影響. 岩手大学大学院連合農学研究科博士論文 (2005).
 - 84) 外川 翼、ラット、マウスにおける在来種ヒエの糖質及び脂質代謝改善機能. 岩手大学大学院農学研究科修士論文 (2005)
 - 85) Zhang, W.Q., Wang, H.W., Zhang, Y.M., and Yang, Y.X., Effects of resistant starch on insulin resistance of type 2 diabetes mellitus patients. *Zhonghua Yu, Fang Yi Xue Za Zhi.*, **41**, 101-104 (2007).
 - 86) Chen, W.J., Anderson, J.W., and Jennings, D., Propionate may mediate the hypocholesterolemic effects of certain soluble plant fibers in cholesterol-fed rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **175**, 215-218 (1984).
 - 87) Perez-Olleros, L., Garcia-Cuevas, M., and Ruiz-Roso, B., Influence of pulp and natural carob fiber on some aspects of nutritional utilisation and lipidaemia. *Food Sci. Tech. Int.*, **5**, 425-430 (1999).
 - 88) Perez-Olleros, L., Garcia-Cuevas, M., Ruiz-Roso, B., and Requejo, A., Comparative study of natural carob fiber and psyllium husk in rats. Influence on some aspects of nutritional utilization and lipidaemia. *J. Sci. Food Agric.*, **79**, 173-178 (1999).
 - 89) Taira, H., Amino acid composition of different varieties of foxtail millet (*Setaria italica*). *J. Agric. Food Chem.*, **16**, 1025-1027 (1968).
 - 90) 山口 裕文、河瀬 眞琴, 雑穀の自然史(その起源と分化を求めて)、北海道大学図書刊行会 (2003).
 - 91) Jones, R.W., Beckwith, A.C., Khoo, U., and Inglett, G.E., Protein composition of proso millet. *J. Agr. Food Chem.*, **18**, 37-39 (1970).
 - 92) Layman, D.K., The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis.

- J. Nutr.*, **133**, 261s-267s (2003).
- 93) Doi, M., Yamaoka, I., Nakamaya, M., Sugawara, K., and Yoshizawa, F., Hypoglycemic effect of isoleucine involves increased muscle glucose uptake and whole body glucose oxidation and decreased hepatic gluconeogenesis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **292**, E1683-E1693 (2007).
- 94) 金進圭, 臨床脂質学, ソウル, 医学出版社, pp.241-244 (1995).
- 95) 徐順圭: 成人病、老人科学. ソウル、高麗医学、p.27 (1992).
- 96) 動脈硬化性疾患予防ガイドライン、日本動脈硬化学会 (2007).
- 97) 朴英配, 高脂血症. *Medical Postgraduates*, **3**, 160-165 (2003).
- 98) 齊藤 康、山田 信博, コレステロールをみる・考える・治療. 南江堂、東京、pp. 51-72 (1999).
- 99) 足達淑子 他: 高コレステロール血症に対する行動療法—保健所の集団健康教育として—. 行動療法、**17**、1-11 (1991).
- 100) Kritchevsky, D., Dietary protein, cholesterol and atherosclerosis: a review of the early history. *J. Nutr.*, **125**, 589S-593S (1995).
- 101) Carroll, K.K., and Kurowska, E.M., Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. *J. Nutr.*, **125**, 594S-597S (1995).
- 102) Torres, N., Torre-Villalvazo, I., and Tovar, A.R., Regulation of lipid metabolism by soy protein and its implication in diseases mediated by lipid disorders. *J. Nutr. Biochem.*, **17**, 365-373 (2006).
- 103) Carroll, K.K., Hypercholesterolemia and atherosclerosis: effects of dietary protein. *Fed. Proc.*, **41**, 2792-2796 (1982).
- 104) Khosla, P., Samman, S., and Carroll, K.K., Decreased receptor-mediated LDL catabolism in casein-fed rabbits precedes the increase in plasma cholesterol levels. *J. Nutr. Biochem.*, **2**, 203-209 (1991).
- 105) Sacks, F.M., Lichtenstein, A., Van Horn, L., Harris, W., Kris-Etherton, P., and Winston, M., American Heart Association Nutrition Committee. Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: an American Heart Association Science Advisory for professionals from the Nutrition Committee. *Circulation*, **113**, 1034-1044 (2006).
- 106) Kayashita, J., Shimaoka, I., Nakajoh, M., Yamazaaki, M., and Kato, N., Consumption of buckwheat protein lowers plasma cholesterol and raises

- fecal neutral sterols in cholesterol-fed rats because of its lower digestibility. *J. Nutr.*, **127**, 1395-1400 (1997).
- 107) 及川 和志、ハムスターの脂質代謝系に対するキビの効果について. 岩手大学大学院農学研究科修士課程 (1999).
- 108) Reeves, P.G., Nilsen, F.H., and Fahey, G.C. Jr., AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, **123**, 1939-1951 (1993).
- 109) Folch, J., Lees, M., and Stanley, G.H.S., A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **226**, 497-509 (1957).
- 110) Sautier, C., Doucet, C., Flamemt, C., and Lemonner, D., Effects of soy protein and saponins on serum, tissue and feces steroids in rat. *Atherosclerosis*, **34**, 233-241 (1979).
- 111) Potter, S.M., Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. *J. Nutr.*, **125**, 606s-611s (1995).
- 112) Iritani, N., Hosomi, H., Fukuda, H., Tada, K., and Ikeda, H., Soybean protein suppresses hepatic lipogenic enzyme gene expression in Wistar fatty rats. *J. Nutr.*, **126**, 380-388 (1996).
- 113) Segrest, J.P., Li, L., Anantharamaiah, G.M., Harvey, S.C., Liadaki, K. N., and Zannis, V., Structure and function of apolipoprotein A-I and high-density lipoprotein. *Curr. Opin. Lipidol.*, **11**, 105-115 (2000).
- 114) Cohen, J.C., Boerwinkle, E., Mosley, T.H. Jr., and Hobbs, H.H., Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.*, **354**, 1264-1272 (2006).
- 115) Kannel, W.B., High-density lipoproteins: epidemiologic profile and risks of coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.*, **52**, 9B-12B (1983).
- 116) Abrams, J.J., Ginsberg, H., and Grundy, S.M., Metabolism of cholesterol and plasma triglycerides in nonketotic diabetes mellitus. *Diabetes*, **31**, 903-910 (1982).
- 117) Jones, P.J., Pappu, A.S., Hatcher, L., Li, Z.C., Illingworth, D.R., and Connor, W.E., Dietary cholesterol feeding suppresses human cholesterol

- synthesis measured using deuterium incorporation and urinary mevalonic acid levels. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **16**, 1222-1228 (1996).
- 118) Grundy, S.M., Barrett-Connor, E., Rudel, L.L., Miettinen, T., and Spector, A. A., Workshop on the impact of dietary cholesterol on plasma lipoprotein and atherogenesis. *Artherosclerosis*, **8**, 95-101 (1998).
- 119) Hegsted, D.M., Serum-cholesterol response to dietary cholesterol: A reevaluation. *Am. J. Clin. Nutr.*, **44**, 299-305 (1986).
- 120) Horton, J.D., Shimomura, I., Brown, M.S., Hammer, R.E., Goldstein, J.L., and Shimano, H., Activation of cholesterol synthesis in preference to fatty acid synthesis in liver and adipose tissue of transgenic mice overproducing sterol regulatory element-binding protein-2. *J. Clin. Invest.*, **101**, 2331-2339 (1998).
- 121) Wang, M.F., Yamamoto, S., Chung, H.M., Chung, S.Y., Miyatani, S., Mori, M., Okita, T., and Sugano, M., Antihypercholesterolemic effect of undigested fraction of soybean protein in young female volunteers. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **41**, 187 (1995).
- 122) 門脇 孝、糖尿病と肥満—遺伝子と生活習慣。化学と生物、**37**, 120-125 (1999).
- 123) 吉池信男、日本人における肥満免疫、肥満の科学。124回日本医学会シンポジウム、6-16 (2003).
- 124) WHO: Global database on body mass index (2003).
- 125) Flegal, K.M., Carroll, M.D., Ogden, C.L., and Johnson, C.L., Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA*, **288**, 1723-1727 (2002).
- 126) 吉池 信男, 松下 由実, 金田 英美 他: 肥満の疫学 - 国際比較と年次推移. 動脈硬化予防, **2**, 8-16 (2003).
- 127) Willett, W.C., Is dietary fat a major determinant of body fat? *Am. J. Clin. Nutr.*, **67**, 556s-562s (1998).
- 128) Hu, F.B., Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Curr. Opin. Lipidol.*, **13**, 3-9 (2002).
- 129) Jacobs, Jr. D.R., Meyer, K.A., Kushi, L.H., and Folsom, A.R., Whole grain intake may reduce the risk of ischemic heart disease death in postmenopausal women: the Iowa Women's health study. *Am. J. Clin. Nutr.*, **68**,

- 248-257 (1998).
- 130) Jacobs, Jr. D.R., Pereira, M.A., Meyer, K.A., and Kushi, L.H., Fiber from whole grains, but not refined grains, is inversely associated with all cause mortality in older women: the Iowa women's health study. *J. Am. Coll. Nutr.*, **19**, 326s-330s (2000)
- 131) Behall, K.M., Scholfield, D.J., and Hallfrisch, J., Whole grain diets reduce blood pressure in mildly hypercholesterolemic men and women. *J. Am. Diet Assoc.*, **106**, 1445-1449 (2006).
- 132) 佐藤 隆一郎、今川 正良, 生活習慣病の分子生物学. pp.16-24、三共出版、東京、日本 (2007).
- 133) Sugano, M., Tanaka, K., and Ide, T., Secretion of cholesterol, triglyceride and apolipoprotein A-1 by isolated perfused liver from rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures. *J. Nutr.*, **112**, 855-862 (1982).
- 134) 佐伯 茂, 金内 理, 細谷 恵理, 桐山 修八, 大豆たん白質による肝コレステロール濃度の調節機構. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 53-57 (1989).
- 135) Ahn, J.Y., Obesity and diabetes. *Bulletin of food technology* (2007).
- 136) 2006年 死亡および死亡原因の統計結果、韓国統計省 (2007).
- 137) McGarry, J.D., Disordered metabolism in diabetes: have we underemphasized the fat component? *J. Cell Biochem.*, **55**, 29-38 (1994).
- 138) Clifton, P., Value of high-protein diet is clearer than drawbacks. *Nature*, **439**, 266 (2006).
- 139) Aoyama, T., Fukui, K., Nakamori, T., Hashimoto, Y., Yamamoto, T., Takamatsu, K., and Sugano, M., Effect of soy and milk whey protein isolates and their hydrolysates on weight reduction in genetically obese mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, 2594-2600 (2000).
- 140) Lavigne, C., Tremblay, F., Asselin, G., Jacques, H., and Marette, A., Prevention of skeletal muscle insulin resistance by dietary cod protein in high fat-fed rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **281**, E62-E71 (2001).
- 141) 西村 正彦, KK-Ayマウス, アディポサイトカイン. **3**, 459-463 (2007).
- 142) 森脇 和郎、山村 研一、光川 博通、モデル動物の作成と維持. Life-science information center, 530-531 (2004).

- 143) Sumbrock, J., Frisch, E.F., and Maniatis, T., *Molecular Cloning* 2nd edition
- 144) Noakes, M., Keogh, J.B., Foster, P.R., and Clifton, P.M., Effect of an energy-restricted, high-protein, low-fat diet relative to a conventional high-carbohydrate, low-fat diet on weight loss, body composition, nutritional status, and makers of cardiovascular health on obese women. *Am. J. Clin. Nutr.*, **81**, 1298-1306 (2005).
- 145) Kato, N., and Iwami, K., Resistant protein:its existence and function beneficial to health. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **48**, 1-5 (2002).
- 146) Ginsberg, H., Kimmerling, G., Olefsky, J.M., and Reaven, G.M., Demonstration of insulin resistance in untreated adult onset diabetic subjects with fasting hyperglycemia. *J. Clin. Invest.*, **55**, 454-461 (1975).
- 147) Hanefeld, M., and Temelkova-Kurktscheiv, T., Control of post-prandial hyperglycemia- and essential part of good diabetes treatment and prevention of cardiovascular complications. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, **12**, 98-107 (2002).
- 148) Diani, A.R., Sawada, G.A., Zhang, N.Y., Wyse, B.M., Connell, C.L., Vidmar, T.J., and Connell, M.A., The KKAY mouse: A model for the rapid development of glomerular capillary basement membrane thickening. *Blood Vessels*, **24**, 297-303 (1987).
- 149) Howard, B.V., Lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. *J. Lipid Res.*, **28**, 613-628 (1987).
- 150) Zietz, B., Herfarth, H., Paul, G., Ehling, A., Müller-Ladner, U., Schölmerich, J., and Schäffler, A., Adiponectin represents an independent cardiovascular risk factor predicting serum HDL-cholesterol levels in type 2 diabetes. *FEBS letter*, **545**, 103-104 (2003).
- 151) Kazumi, T., Kawaguchi, A., Hirano, T., and Yoshino, G., Serum adiponectin is associated with high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, and low-density lipoprotein particle size in young healthy men. *Metabolism*, **53**, 589-593 (2004).
- 152) Sasai, K., Okumura-Noji, K., Hibino, T., Ikeuchi, R., Sakuma, N., Fujinami, T., and Yokoyama, S., Human cholesteryl ester transfer protein (CETP) measured by enzyme-linked immunosorbent assay with two monoclonal antibodies against rabbit CETP: Plasma CETP and lipoproteins among

- Japanese hypercholesterolemic patients. *Clinical Chemistry*, **44**, 1466-1473 (1998).
- 153) Goto, A., Sasai, K., Suzuki, S., Fukutomi, T., Ito, S., Matsushita, T., Okamoto, M., Suzuki, T., Itoh, M., Okumura-Noji, K., and Yokoyama, S., Cholesteryl ester transfer protein and atherosclerosis in Japanese subjects: A study based on coronary angiography. *Atherosclerosis*, **159**, 153-163 (2001).
- 154) Schwartz, C.C., Halloran, L.G., Vlahcevic, Z.R., Gregory, D.H., and Swell, L., Preferential utilization of free cholesterol from high-density lipoprotein for biliary cholesterol secretion in man. *Science*, **200**, 62-64 (1978).
- 155) 松澤 佑次, 生活習慣病における脂肪細胞の意義と大豆たん白質の効果: 体脂肪分布と脂肪細胞機能、特にアディポサイトカインに及ぼす大豆たん白質の影響 (第三報). 大豆たん白質研究会会誌、**7**, 1-12 (2004).
- 156) Akiyama, T., Tachibana, I., Shirohara, H., Watanabe, N., and Otsuki, M., High-fat hypercaloric diet induces obesity, glucose intolerance and hyperlipidemia in normal adult male Wistar rat. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **31**, 27-35 (1996).
- 157) 中山 広樹、西方 敬人、ノーザンハイブリダイゼーションバイオ実験イラストレイテッド. 第2巻、分子生物学実験の基礎、秀潤社、163-183 (1997).
- 158) Kahn, B.B., and Flier, J.S., Obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, **106**, 473-481 (2000).
- 159) Goldberg, I.J., Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J. Lipid Res.*, **37**, 693-707 (1996).
- 160) Kantartzis, K., Rittig, K., Balletshofer, B., Machann, J., Schick, F., Porubska, K., Fritsche, A., Häring, H.U., and Stefan, N., The relationships of plasma adiponectin with a favorable lipid profile, decreased inflammation, and less ectopic fat accumulation depend on adiposity. *Clin. Chem.*, **52**, 1934-1942 (2006).
- 161) Reaven, G.M., The insulin resistance syndrome: definition and dietary approaches to treatment. *Ann. Rev. Nutr.*, **25**, 391-406 (2005).
- 162) Goddard, M.S., Young, G., and Marcus, R., The effect of amylase content on insulin and glucose responses to ingested rice. *Am. J. Clin. Nutr.*, **39**, 388-392 (1984).
- 163) Behall, K.M., Scholfield, D.J., and Canary, J., Effect of structure on glucose and

- insulin responses in adults. *Am. J. Clin. Nutr.*, **47**, 428-432 (1998).
- 164) Granfeldt, Y., Liljeberg, H., Drews, A., Newman, R., and Björck, I., Glucose and insulin responses to barley products: influence of food structure and amylase-amylopectin ratio. *Am. J. Clin. Nutr.*, **59**, 1075-1082 (1994).
- 165) Koutsari, C., Malkova, D., and Hardman, A.E., Postprandial lipidemia after short term variation in dietary fat and carbohydrate. *Metabolism*. **49**, 1150-1155 (2000).
- 166) Englyst, H.N., Kingman, S.M., and Cummings, J.H., Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **46**, s33-s50 (1992).
- 167) Drzikova, B., Dongowski, G., Gebhardt, E., Dietary fibre-rich oat-based products affect serum lipids, microbiota, formation of short-chain fatty acids and steroids in rats. *Br. J. Nutr.*, **94**, 1012-1025 (2005).
- 168) Lopez, H.W., Coudary, C., Besson, C., Krespine, V., Messenger, A., Demigne C and Remesy C, Class 2 resistant starches low plasma and liver lipids and improve mineral retention in rats. *J. Nutr.*, **131**, 1283-1289 (2001).
- 169) Yamada, Y., Hosoya, S., Nishimura, S., Tanaka, T., Kajimoto, Y., Nishimura, A., and Kajimoto, O., Effect of bread containing resistant starch on postprandial blood glucose levels in humans. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 559-566 (2005).
- 170) Behall, K.M., Ssholfield, D.J., Yuhaniak, I., Canary, J., Diets containing high amylase vs amylopectin starch: effects on metabolic variables in human subjects. *Am. J. Clin. Nutr.*, **49**, 337-344 (1989).
- 171) Granfeldt, Y., Liljeberg, H., Drews, A., Newman, R., Björck, I., Glucose and insulin responses to barley products: influence of food structure and amylase-amylopectin ratio, *Am. J. Clin. Nutr.*, **59**, 1075-1082 (1994).
- 172) 伊藤 敬恵、山中 なつみ、小川 宣子、柘植 治人、早川 享志 温熱処理ハイアミロースデンプンの摂取が腸内発酵ならびに脂質代謝に及ぼす影響. 岐阜女子大学紀要、**36** (2007).
- 173) Boden, G., Sargard, K., Homoko, C., Mozzoli, M., and Stein, P., Effect of low carbohydrate diet on appetite, blood glucose levels, and insulin resis-

- tance in obese patient with type 2 diabetes. *Ann. Intern. Med.*, **142**, 403-411 (2005).
- 174) Miyashita, Y., Koide, N., Ohtsuka, M., Ozaki, H., Itoh, Y., Oyama, T., Uetake, T., Ariga, K., and Shirai, K., Beneficial effect of low carbohydrate in low calorie diets on visceral fat reduction in type 2 diabetic patients with obesity. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **65**, 234-241 (2004).
- 175) Truswell, A.S., Glycaemic index of foods. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **46**, s91-s101(1992).
- 176) Keogh, J.B., Grieger, J.A., Noakes, M., and Clifton, P.M., Flow-mediated dilatation is impaired by a high-saturated fat diet but not by a high-carbohydrate diet. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **25**, 1274-1279 (2005).
- 177) Higgins, J.A., Brand-Miller, J.C., and Denyer, G.S., Development of insulin resistance in the rat is dependent on the rate of glucose absorption from the diet. *J. Nutr.*, **126**, 596-602 (1996).
- 178) Byrnes, S.E., Miller, J.C., and Denyer, G.S., Amylopectin starch promotes the development of insulin resistance in rats. *J. Nutr.*, **125**, 1430-1437 (1995).
- 179) Naren, A. P., and Virupaksha, T. K., α - and β -Setarins: methionine-rich proteins of Italian millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.). *Cereal Chem.*, **67**, 32-34 (1990).
- 180) Serna-Saldivar, S., and Rooney, L. W., Structure and chemistry of sorghum and millets. In "Sorghum and Millets: Chemistry and Technology," eds. Dendy, D. A. V., American Association of Cereal Chemists, Inc, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 69-124 (1995).
- 181) Kohama, K., Nagasawa, T., and Nishizawa, N., Polypeptide compositions and NH₂-terminal amino acid sequences of proteins in foxtail and proso millets. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 1921-1926 (1999).
- 182) 小濱 恵子、アワ、キビ、ヒエの種子貯蔵タンパク質の構造と生理機能性. 岩手大学大学院連合農学研究科博士論文 (2000).
- 183) 佐藤 大樹、雑穀ヒエの脂質代謝改善機能. 岩手大学大学院農学研究科修士論文 (2003)
- 184) 桐山 修八、荒井 綜一、ペプチド栄養、北海道大学図書刊行会 (1990).
- 185) Esen, A., A proposed nomenclature for the alcohol soluble protein(zeins)

- of maize (*Zea mays L.*). *J. Cereal Sci.*, **5**, 177 (1987)
- 196) 内海 成、遺伝子工学によるモアールシーダイズの作出と展開. 食品工業、**40**、68-79 (1997).
- 187) Brower. V., Like a snake in the grass. *EMBO Reports*, **5**, 555-558 (2004).
- 188) Wing, R.R., Blair, E.H., Bononi, P., Marcus, M.D., Watanabe, R., and Bergman, R.N., Caloric restriction per se is a significant factor in improvements in glycemic control and insulin sensitivity during weight loss in obese NIDDM patients. *Diabetes Care*, **17**, 30-36 (1994).
- 189) Pi-Sunyer, F.X., Maggio, C.A., McCarron, D.A., Reusser, M.E., Stern, J.S., Haynes, R.B., Oparil, S., Kris-Etherton, P., Resnick, L.M., Chait, A., Morris, C.D., Hatton, D.C., Metz, J.A., Snyder, G.W., Clark, S., and McMahan, M., Multicenter randomized trial of a comprehensive prepared meal program in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, **22**, 191-197 (1999).
- 190) Nagasawa, A., Fukui, K., Funahashi, T., Maeda, N., Shimomura, I., Kihara, S., Waki, M., Takamatsu, K., and Matsuzawa, Y., Effects of soy protein diet on the expression of adipose genes and plasma adiponectin. *Horm. Metab. Res.*, **34**, 635-639 (2002).
- 191) 阪本 寧男、雑穀博士ユーラシアを行く. 昭和堂 (2005).
- 192) USDA and Health and Human Services: Dietary Guidelines for Americans, 4th ed. (1995).
- 193) 田中 平三、食生活指針のあり方と活用方法. 臨床栄養. 医歯薬出版. **97**, 270-274 (2000)
- 194) Cullumbine, H., Basnayake, V., Lemottee, J., and Wickramanayake, T.W., Mineral metabolism on rice diets. *Br. J. Nutr.*, **4**, 101-111 (1950).
- 195) Oster, O., Dahm, M., and Oelert, H., Element concentrations (selenium, copper, zinc, iron, magnesium, potassium, phosphorous) in heart tissue of patients with coronary heart disease correlated with physiological parameters of the heart. *Eur. Heart J.*, **14**, 770-774 (1993).
- 196) Nishizawa, N., Sato, D., Ito, Y., Nagasawa, T., Hatakeyama, Y., Choi, M.R., Choi, Y.Y., and Wei, Y.M., Effects of dietary protein of proso millet on liver injury induced by D-galactosamine in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**, 92-96 (2002).

- 197) Kahlon, T.S., Saunders, R.M., Chow, F.L., Chiu, M.M., and Betschart, A.A., Influence of rice bran on cholesterol and triglycerides in hamsters. *Cereal Chem.*, **67**, 439-443 (1990).
- 198) Gazzaz, S.S., Rasco, B.A., Dong, F.M., and Borhan, M., Effects of processing on the thiamine, riboflavin, and vitamin B 12 content of fermented whole grain cereal products. *J. Food Process Preserv.*, **13**, 321-334(1989).
- 199) Waki, H., Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y., Uchida, S., Kita, S., Hara, K., Hada, Y., Vasseur, F., Froguel, P., Kimura, S., Nagai, R., and Kadowaki, T., Impaired Multimerization of Human Adiponectin Mutants Associated With Diabetes: molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J. Biol. Chem.*, **278**, 40352-40363 (2003).
- 200) Tsuchida, A., Yamauchi, T., Takekawa, S., Hada, Y., Ito, Y., Maki, T., and Kadowaki, T., Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha activation increases adiponectin receptors and reduces obesity-related inflammation in adipose tissue: comparison of activation of PPARalpha, PPARgamma, and their combination. *Diabetes*, **54**, 3358-3370 (2005).
- 201) Okuno, A., Tamemoto, H., Tobe, K., Ueki, K., Mori, Y., Iwamoto, K., Umesono, K., Akanuma, Y., Fujiwara, T., Horikoshi, H., Yazaki, Y., and Kadowaki, T., Troglitazone increases the number of small adipocytes without the change of white adipose tissue mass in obese Zucker rats. *J. Clin. Invest.*, **101**, 1354-1361 (1998).
- 202) Yamauchi, T., Waki, H., Kamon, J., Murakami, K., Motojima, K., Komeda, K., Miki, H., Kubota, N., Terauchi, Y., Tsuchida, A., Tsuboyama-Kasaoka, N., Yamauchi, N., Ide, T., Hori, W., Kato, S., Fukayama, M., Akanuma, Y., Ezaki, O., Itai, A., Nagai, R., Kimura, S., Tobe, K., Kagechika, H., Shudo, K., and Kadowaki, T., Inhibition of RXR and PPARgamma ameliorates diet-induced obesity and type 2 diabetes. *J. Clin. Invest.*, **108**, 1001-1013 (2001).
- 203) Nawrocki, A.R., Rajala, M.W., Tomas, E., Pajvani, U.B., Saha, A.K., Trumbauer, M.E., Pang, Z., Chen, A.S., Ruderman, N.B., Chen, H., Rossetti, L., and Scherer, P. E., Mice lacking adiponectin show decreased hepatic insulin sensitivity and reduced responsiveness to peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *J. Biol. Chem.*, **281**, 2654-2660 (2006).
- 204) Qi, L., Rimm, E., Liu, S., Rifai, N., and Hu, F.B., Dietary glycemic index,

- glycemic load, cereal fiber, and plasma adiponectin concentration in diabetic men. *Diabetes Care*, **28**, 1022-1028 (2005).
- 205) Kadowaki, T., Yamauchi, T., Kubota, N., Hara, K., Ueki, K., and Tobe, K., Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.*, **116**, 1784-1792 (2006).
- 206) Accili, D., Drago, J., Lee, E.J., Johnson, M.D., Cool, M.H., Salvatore, P., Asico, L.D., José, P.A., Taylor, S.I., and Westphal, H., Early neonatal death in mice homozygous for a null allele of the insulin receptor gene. *Nat. Genet.*, **12**, 106-109 (1996).
- 207) Kojima, S., Funahashi, T., Maruyoshi, H., Honda, O., Sugiyama, S., Kawano, H., Soejima, H., Miyamoto, S., Hokamaki, J., Sakamoto, T., Yoshimura, M., Kitagawa, A., Matsuzawa, Y., and Ogawa, H., Level of the adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, have a close relationship with Atheroma. *Thromb. Res.*, **115**, 483-490 (2005).
- 208) Kubota, N., Terauchi, Y., Yamauchi, T., Kubota, T., Moroi, M., Matsui, J., Eto, K., Yamashita, T., Kamon, J., Satoh, H., Yano, W., Froguel, P., Nagai, R., Kimura, S., Kadowaki, T., and Noda, T., Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J. Biol. Chem.*, **277**, 25863-25866 (2002).
- 209) Lewis, G.F., and Rader, D.J., New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ. Res.*, **96**, 1221-1232 (2005).
- 210) Yokoyama, S., Release of cellular cholesterol: molecular mechanism for cholesterol homeostasis in cells and in the body. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1529**, 231-244 (2000).
- 211) 清野 裕、鍵本 伸二 共著、“糖尿病の本当のはなし”. 裳華房 (2000).
- 212) Reusch, J.E.B., Current concepts in insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and the metabolic syndrome. *Am. J. Cardiol.*, **90**, 19G-29G (2002).
- 213) Reilly, M.P., and Rader, D.J., The metabolic syndrome: more than the sum of its parts? *Circulation*, **108**, 1546-1551 (2003).
- 214) Weststrate, J.A., and Van Amelsvoort, J.M., Effects of the amylase content of breakfast and lunch on postprandial variables in male volunteers. *Am. J. Clin. Nutr.*, **58**, 180-186 (1993).