

## 平成 28 年度豆類振興事業調査研究（雑豆需要促進研究）成果概要

1 課題名 あずき給与と運動の併用による抗肥満効果の検証

2 研究者 神戸大学大学院農学研究科 准教授 本田和久

3 成果概要

### （1）研究目的

我国におけるあずきの自給率は約 80%と農作物の中でも比較的高いが、2005 年の国内生産量はピーク時である 1961 年の約 40%にまで減少している。一方、あずきと同じく代表的な豆類である大豆の 2005 年の生産量は 225,000 トンに上るが、この値は 1970 年代の約二倍に相当する。この大豆生産量の増加については種々の要因が考えられるが、その一つとして、大豆の高い栄養機能（例えば、大豆タンパク質の脂質代謝改善能）が広く国民に認知されたことが挙げられる。ところで、大豆とあずきのタンパク質の物理化学的特性に関する比較研究では、95%以上のアミノ酸配列の相同性と、熱安定性並びに疎水性における相同性が報告されている（Fukuda et al., 2008）ことから、両タンパク質の構造特性は類似していると推察される。しかしながら、あずきタンパク質の脂質代謝調節作用に関する報告は皆無であり、僅かに、あずきエキスに関して、抗肥満作用（Kitano-Okada et al., 2012）及び血中トリグリセリド濃度低下作用（Maruyama et al., 2008）が報告されているに過ぎない。

本研究では、我が国におけるあずき産業の振興に資する為の一環として、あずきの新規機能を見出す目的で、あずきの給与と運動負荷の併用が高脂肪食給与マウスの内臓脂肪蓄積に及ぼす影響について明らかにすることに基つき、その抗肥満効果を検証した。

### （2）研究方法及び手法

#### 1) あずき粉末の調製

市販のあずき（ホクレン）に 3 倍量の水を加え、120°Cで 20 分間オートクレーブ後、乳鉢で磨り潰した。ドラフト内で一晚乾燥後、更に 100°Cで 2~3 時間、随時攪拌しながら乾燥した。最後に、電動ミキサーで粉碎したものをあずき粉末として実験に供した。

#### 2) 動物の飼育及び分析

6 週齢の雄マウス（C57/BL6）を 1 週間馴致後、体重が等しくなるよう 6 匹×4 群に群分けし、2 群にはカゼインを唯一のタンパク質源とした高脂肪食飼料（対照飼料）を給与し、残りの 2 群には対照飼料のタンパク質の 1/3 をあずきに置換した飼料（あずき飼料）を、それぞれ 4 週間に渡り給与した。この間、対照飼料及びあずき飼料を給与したマウスの 1 群に、トレッドミルを用いて、初日は 5 m/min で 10 分、10 m/min で 10 分、15 m/min で 10 分、2 日目は 10 m/min で 10 分、15 m/min で 10 分、20 m/min で 10 分、3 および 4 日目は 15 m/min で 10 分、20 m/min で 10 分、25 m/min で 10 分、5 日目は 15 m/min で 5 分、20 m/min で 5 分、25 m/min で 20 分、それぞれ運動を負荷した。2 週目以降は、週 3 日、25m/min で 1 日 30 分間の運動を負荷した。4 週間後、24 時間絶食し、体重を測定した後、イソフルラン麻

酔下で腹部大静脈より採血した。採血後、安楽死させ、肝臓、腓腹筋及び腹部脂肪（精巢上体周囲脂肪および腎周囲脂肪）を摘出し、それぞれの重量を測定した。また、血漿を分離後、グルコース、遊離脂肪酸、及び中性脂肪の濃度を測定した。更に、運動を負荷していない対照群とあずき飼料給与群については、糞中の粗脂肪及び中性脂肪含量を測定し、肝臓、精巢上体周囲脂肪組織、及び腓腹筋における脂質代謝関連遺伝子の mRNA 量をリアルタイム PCR 法によって測定した。

## 2) 統計解析

得られた結果は、二元配置分散分析法により解析した。

## (3) 研究成果

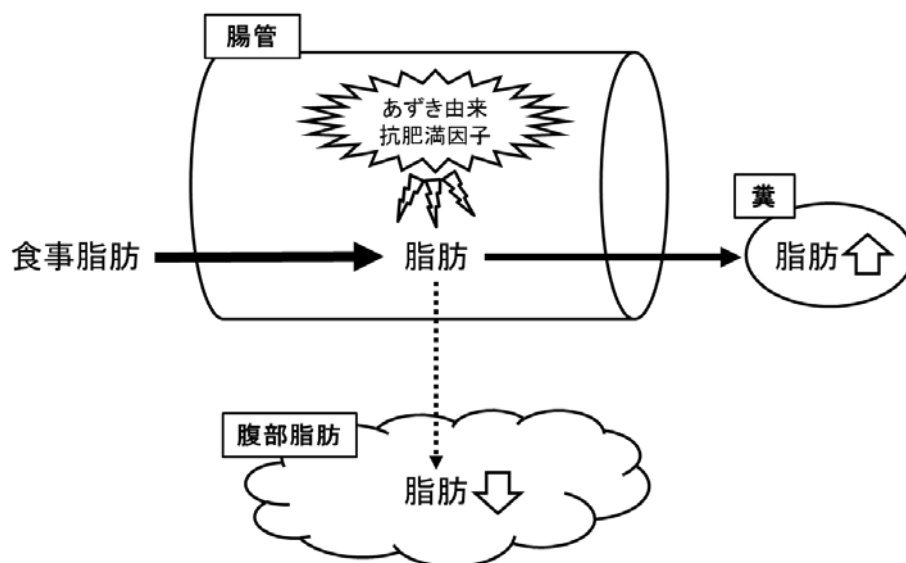
あずきの給与は体重、肝臓重量及び腓腹筋重量に影響を及ぼすことなく、精巢上体周囲脂肪組織、及び腎周囲脂肪組織の重量を有意に減少させた ( $P < 0.05$ )。また、糞中中性脂肪含量を増加させる傾向を示した ( $P = 0.113$ )。これらの結果から、あずき給与は、食餌脂肪の消化管からの吸収を抑制し、腹部脂肪蓄積を抑制することが示唆された。運動との併用効果は認められなかった。あずきの給与は血中遊離脂肪酸濃度を有意に低下させたが、血中グルコース濃度は有意に上昇した ( $P < 0.05$ )。精巢上体周囲脂肪組織の脂質代謝関連遺伝子の発現には有意な変化は認められなかったが、肝臓のリポタンパク質リパーゼの mRNA 量は増加する傾向を示した ( $P = 0.084$ )。腓腹筋のホルモン感受性リパーゼの mRNA 量は、あずき給与によって有意に減少した ( $P < 0.05$ )。

最近、あずきの給与が、高脂肪高コレステロール食によって誘導された肝臓における脂肪酸合成関連遺伝子の発現を抑制し、脂肪酸分解関連遺伝子の発現を促進することが報告された (Kim et al., 2016)。しかしながら、本研究においては、肝臓の脂肪酸合成・分解関連遺伝子の発現に有意な変化は認められなかった。この原因については不明であるが、本実験で使用した高脂肪食飼料にはコレステロールを添加していないこと、及び、Kim らの報告では、あずきを乾式過熱しているのに対し、本研究では湿式加熱していることから、あずき粉末に含まれる成分に相違があることが関与しているのかもしれない。

あずきポリフェノールを含むあずき抽出液は培養肝細胞及び糖尿病ラット肝臓の AMPK 並びに Akt のリン酸化を促進すること、及び糖尿病ラットの血中グルコース濃度を低下させることが報告されている (Sato et al., 2016)。しかしながら、本研究においては高脂肪食マウスの血中グルコース濃度はあずき給与群においてむしろ有意に上昇した。あずきのエタノール抽出液は培養血管内皮細胞の Akt のリン酸化を抑制することが報告されている (Kwon et al., 2015)。それ故、あずきには、血中グルコース濃度制御に重要な役割を果たすインスリンによる Akt シグナル経路を上向き調節する因子と下向き調節する因子の両者が混在している可能性がある。今後、あずきが糖代謝に及ぼす影響を明らかにする必要がある。

以上、本研究の結果から、あずき粉末は食餌脂肪の吸収を抑制することによって抗肥満効果を示すことが示唆された (下図参照)。今後は、あずきと脂肪の共給与後の血中中性脂肪

濃度上昇抑制効果、Caco 2 細胞を用いた脂肪吸収に及ぼすあずき酵素分解物の影響などを調べることによって、あずきに含まれる抗肥満因子を同定する必要がある。



## 推定されるあずきによる腹部脂肪蓄積抑制機構

### (4) 参考文献

- Fukuda T, Maruyama N, Salleh MRM, Mikami B, Utsumi S. Characterization and Crystallography of Recombinant 7S Globulins of Adzuki Bean and Structure–Function Relationships with 7S Globulins of Various Crops. *J Agr Food Chem* 56, 4145-4153, 2008.
- Kitano-Okada T, Ito A, Koide A, Nakamura Y, Han KH, Shimada K, Sasaki K, Ohba K, Sibayama S, Fukushima M. Anti-obesity role of adzuki bean extract containing polyphenols: *in vivo* and *in vitro* effects. *J Sci Food Agric* 92, 2644-2651, 2012.
- Maruyama C, Araki R, Kawamura M, Kondo N, Kigawa M, Kawai Y, Takanami Y, Miyashita K, Shimomitsu T. Azuki bean juice lowers serum triglyceride concentrations in healthy young women. *J Clin Biochem Nutr* 43, 19-25, 2008.
- Kim S, Hong J, Jeon R, Kim HS. Adzuki bean ameliorates hepatic lipogenesis and proinflammatory mediator expression in mice fed a high-cholesterol and high-fat diet to induce nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr Res* 36, 90-100, 2016.
- Kwon OS, Jeong MS, Kim B, Kim SH. Antiangiogenic Effect of Ethanol Extract of *Vigna angularis* via Inhibition of Phosphorylation of VEGFR2, Erk, and Akt. *Evid Based Complement Alternat Med* 371368, 2015.
- Sato S, Mukai Y, Kataoka S, Kurasaki M. Azuki bean (*Vigna angularis*) extract stimulates the phosphorylation of AMP-activated protein kinase in HepG2 cells and diabetic rat liver. *J Sci Food Agric* 96, 2312-2318, 2016.