

令和3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：言伝えの効用に基づくリョクトウによる産後の糖代謝改善効果の解明
- 2 研究者：筑波大学 医学医療系 助教 橋口晶子

3 成果概要

1) 研究目的

リョクトウは伝統的に一部の地域で産後食として推奨される食品である。応募者らは、マウスを用いてリョクトウを摂取することにより産後の身体的回復過程に変化が生じるか否かを検討しており、これまでに出産直後の状態を模倣するホルモン変動条件下において、リョクトウが肝臓での炎症関連脂質代謝に影響を与えうることを示した。

炎症により肝臓に白血球が集まり肝細胞に接触すると糖代謝異常を惹起することが知られている。応募者らがリョクトウ種皮抽出液摂取群において血中白血球の解析を行ったところ浸潤や食作用に関連する因子に変動が見られたことから、白血球の挙動が変化したと考えられることから、リョクトウは血糖値の改善という面で産後の身体的回復に寄与している可能性があると考えた。

このため、本研究では出産前後の状態を誘導したマウスモデルを用いて、水（比較対照）またはリョクトウ種皮抽出物溶液を与えた場合の肝臓における糖代謝をモニタリングし差異が生じるか否かを検討するとともにその分子的基盤を解析することとした。

2) 研究方法及び手法

(1) マウスへのホルモン投与による疑似妊娠状態の誘導

5週齢の雌マウス（C57BL/6J）を1週間馴致後、体重が等しくなるように6匹ずつ5群に分け、13週間連続して高脂肪食を給餌した。18週齢で腹腔内注射によりプロゲステロンを連続する5日間投与（5.0 mg/kg）した後、投与停止した。

(2) マウスへのリョクトウの投与

30gのリョクトウを水に浸漬して種皮を分離・乾燥後、100 mLの熱水により10分間抽出して減圧乾燥した。マウスへのプロゲステロン投与を停止した後3日間にわたりリョクトウ種皮抽出物溶液または水を自由飲水により経口摂取させた。

(3) バイオマーカーを用いたマウスの生理状態の分析

リョクトウ種皮抽出物溶液の摂取による効果を明らかにするため、血糖値・血中脂質レベル、血中炎症性サイトカインレベルおよび肝臓の炎症関連因子の発現レベル、肝臓の糖代謝関連因子の発現レベル、肝臓へのマクロファージの浸潤状況を解析した。

3) 研究成果

尾静脈採血またはイソフルラン吸入麻酔下の採血を行い、血糖値、血清トリグリセリド値

および血清コレステロール値を測定した。その結果、プロゲステロン投与停止により対照群（水摂取）では血糖値が上昇するもののリョクトウ種皮抽出物溶液摂取群では上昇が抑制されることが明らかになった（図1）。肝臓組織を採取し ELISA またはリアルタイム PCR により炎症関連因子の発現を解析した結果、リョクトウ種皮抽出物溶液の摂取群では対照群（水摂取）に比べて *Il-6*、*Tnfa*、*Cox-2* などの炎症関連遺伝子の発現には変化が見られなかったものの、細胞内シグナル伝達因子である *stat3* の発現レベルが変動していた。血糖値の上昇抑制と一致して *Fbp1* や *Fbp2* といった糖代謝関連酵素の発現レベルの低下が認められた（図2）。

肝臓組織切片においてマクロファージのマーカーである CCR2 および好中球のマーカーである Gr-1 を用いて免疫組織化学染色を行った結果、肝臓内に浸潤したマクロファージ数に明確な差は認められず、影響は限定的と考えられた。一方で肝臓タンパク質のプロテオーム解析では生体システムに関連するタンパク質として免疫反応関連因子が 2 個見出され、Macrophage migration-inhibiting factor (MIF) の存在量が著しく増加していることが判明した（表1）。リョクトウは出産後の回復過程モデルマウスにおいて、ホルモン変動に伴う微細炎症を緩和し、おそらくはマクロファージの挙動に影響を与えることを背景として、糖代謝を正常に近づける効果があると結論付けられた。

4) まとめ

リョクトウ種皮抽出物溶液の摂取による健康増進効果に関して、糖代謝改善効果が確認され、糖代謝関連酵素および炎症関連シグナル伝達因子などのターゲット遺伝子ならびに上流因子である MIF が見出されたことにより、リョクトウのもつ出産後の回復促進効果の分子基盤の理解が促進されたことが期待できる。

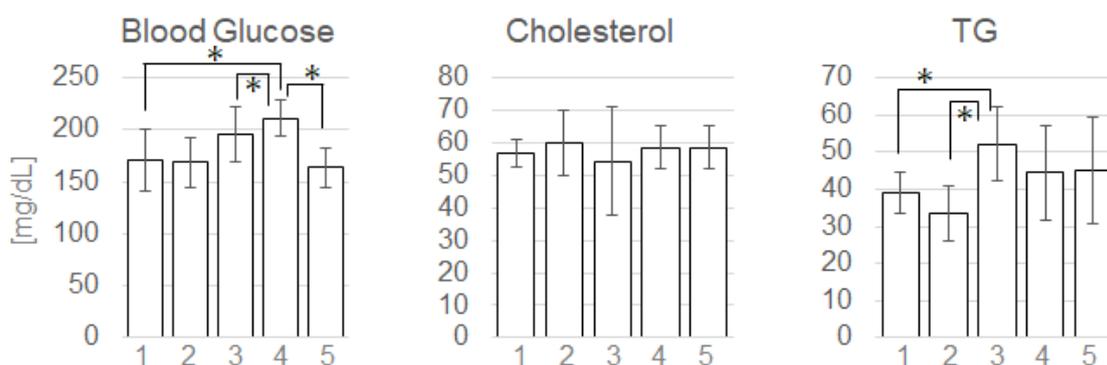


図1 血中グルコース濃度、コレステロール濃度、トリグリセライド濃度の変化
 処理1 普通餌；処理2 高脂肪食・生理食塩水投与；処理3 高脂肪食・プロゲステロン投与；処理4 高脂肪食・プロゲステロン投与後に水摂取；処理5 高脂肪食・プロゲステロン投与後にリョクトウ種皮抽出物溶液摂取。* $p < 0.05$.

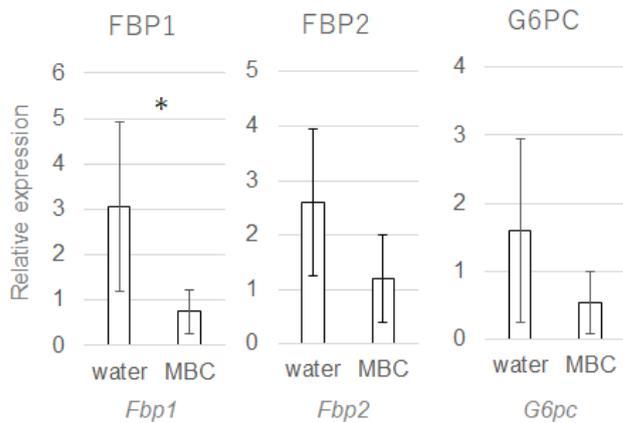


図2 糖代謝関連酵素の発現レベルの変化

リアルタイム PCR 解析した結果、リョクトウ種皮抽出物溶液の摂取群では対照群(水摂取)に比べて糖代謝関連酵素の発現レベルが低下していた。白 高脂肪食・プロゲステロン投与後に水摂取；処理 5 高脂肪食・プロゲステロン投与後にリョクトウ種皮抽出物溶液摂取。
* $p < 0.05$.

表1 リョクトウ種皮抽出物溶液の摂取により変動した肝臓タンパク質の機能分類

機能	変動したタンパク質の数
代謝	13
疾患	10
生体システム (免疫含む)	4
遺伝情報処理	2
細胞プロセス	1