

圧搾処理した米糠がKK-Ay/Taマウスの血糖値ならびに抗酸化能に及ぼす影響

誌名	日本食品保蔵科学会誌
ISSN	13441213
著者名	前田,宜昭 本田,望 米澤,加代 阿左美,章治
発行元	日本食品保蔵科学会
巻/号	43巻5号
掲載ページ	p. 235-239
発行年月	2017年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



圧搾処理した米糠がKK-Ay/Taマウスの 血糖値ならびに抗酸化能に及ぼす影響

前田 宜昭^{*1§}・本田 望^{*2}・米澤 加代^{*3}・阿左美章治^{*4}

*1 東京農業大学大学院農学研究科食品栄養学専攻

*2 北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科

*3 東京農業大学大学院農学研究科環境共生学専攻

*4 東京聖栄大学健康栄養学部管理栄養学科

Effect of Rice Bran Obtained by Compression on Blood Glucose Levels and Antioxidant Capacity in KK-Ay/Ta Mice

MAEDA Yoshiaki^{*1§}, HONDA Nozomi^{*2}, YONEZAWA Kayo^{*3} and AZAMI Shoji^{*4}

*1 *Department of Food and Nutritional Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502*

*2 *Graduate School of Advanced Science and Technology, Japan Advanced Institute of Science and Technology (JAIST), 1-1 Asahidai, Nomi-shi, Ishikawa 923-1292*

*3 *Department of Ecological Symbiotic Science, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo 156-8502*

*4 *Department of Food Science, Faculty of Health and Nutrition, Tokyo Seiei College, 1-2-4 Nishi-shinkoiwa, Katsushika-ku, Tokyo 124-8350*

The effect of residual rice bran (HDRB), obtained by compression, on the onset of diabetes was evaluated in KK-Ay/Ta mice. The HDRB contained approximately 10% oil. However, the inclusion of HDRB in the diet, at a level corresponding to an ingestible amount of brown rice per day, did not increase the body weight. In mice fed an HDRB diet, the postprandial blood glucose levels reduced significantly, whereas insulin secretion decreased slightly. HDRB also contributed to a decrease in the levels of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), which is an oxidative stress marker. Thus, the results of our short-term experiment suggest that the intake of HDRB produced by compression, at a level equivalent to the amount of brown rice consumed per day, is effective in controlling the onset of diabetes.

(Received Oct. 5, 2016 ; Accepted Jun. 5, 2017)

Key words : rice bran, blood glucose, 8-OHdG, oxidative stress, KK-Ay/Ta mice

米糠, 血糖値, 8-OHdG, 酸化ストレス, KK-Ay/Ta マウス

玄米の栄養素はその表皮に約90%が含まれている。しかしながら、日本人は精白米を常食とするため、その栄養成分はほとんど摂取されることはなく、米糠として処理されている。日本米油工業協同組合の報告によると米油の原料は国内原料である米糠を使用しており、国内由来の原油のほとんどを米油が占めている。米油の用途は、

スナック菓子、米菓向けのフライ用、外食、学校給食用などの単体油として6割、マーガリンやショートニングなどの加工用として3割、化粧品やワックスなどの非食用として1割で、業務用、加工用がほとんどである。一方で米糠は、その利用が限られている。米油の製造には溶剤抽出方式と圧搾方式がある。生米糠には約20%の脂

*1 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

§ Corresponding author, E-mail : 96150009@nodai.ac.jp

*2 〒923-1292 石川県能美市旭台 1-1

*3 〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1

*4 〒124-8530 東京都葛飾区西新小岩 1-4-6

質が含まれているが、圧搾方式を用いて米油を抽出すると摩擦熱の発生を抑える関係で、玄米の半分量に相当する10%程度の脂質しか抽出できないため、半脱脂状態の米糠となる。そのため、製造の効率から大部分の生米糠は溶剤抽出方式で処理され、米糠は飼料や肥料などの原料にしているのが現状である。米糠に関する研究は、米糠に含まれる機能成分のメカニズムの解明に著しく偏り、米糠や米油に含まれる機能性成分を通常の食事から摂れない高濃度摂取が動脈硬化の抑制¹⁾、高血圧の予防²⁾、脂肪肝の予防³⁾、老化の防止^{4),5)}などに有効であると報告されている。また近年、米糠には抗ガン作用を示す成分が含まれていることも報告されている^{6),7)}が、詳細なメカニズムは複雑で、まだ研究の域を出ていない。1日に食する玄米食に近い摂取レベルでの米糠や米油が生活習慣病に対する効果についての報文は、小林ら⁸⁾が α 化玄米粉を糖質源に置き換えてコレステロールの低下作用を検討しているものの、ほとんど見当たらない。

私たちは、圧搾処理された半脱脂状態の米糠を食品用としての利用することで、米糠と米油に含まれる栄養成分や機能性成分が生活習慣病の予防などに役立つことができなかと考えた。そこで今回、生活習慣病のひとつである糖尿病に着目し、糖尿病モデルマウスを用いて圧搾処理した半脱脂の米糠を摂取可能なレベルで与えた時の空腹時ならびに満腹時血糖値の変動について測定し、糖尿病の発症に圧搾処理米糠がどのような影響を及ぼすかについて完全に脱脂した米糠と比較検討を行った。一方で糖尿病の発症に活性酸素が関わっている。よって活性酸素を抑える抗酸化能が重要な役割を果たしている。したがって尿中酸化ストレスマーカーである8-OHdGならびにイソプラスタンの測定を行い、圧搾方法による半脱脂米糠の抗酸化能についても検討を行った。

実験方法

1. 被験動物

供試動物は、日本クレア(株)より購入した8週齢のKK-Ay/Ta雄マウス18匹を用いた。KK-Ay/TaマウスはKKマウスに肥満遺伝子Ayが導入され、KKマウスより早期かつ重度に高血糖・肥満を発現するため、2型糖尿病モデルとして用いた。

2. 施設環境

飼育は、(株)天然素材探索研究所のマウス室を利用し、微生物SPFグレードの管理下で飼育した。空調設備はAll Fresh方式で、 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $55 \pm 5\%$ に維持した。照明時間は12時間自動点灯・消灯方式(8:00a.m.~8:00p.m.点灯)とし、プラスチック製ケージにて個別飼育を行った。

3. 米糠の調整方法

搗精後に得られた生米糠をリパーゼ失活処理した。リパーゼ失活処理は、通常18~20重量%程度の脂質を含有する生米糠の酸化劣化を防ぐ目的で行われ、通常、生米

糠を70~130°C程度で加熱焙煎することにより処理した。圧搾処理は、加熱焙煎処理され100~115°C程度になった米糠を低温連続圧搾機(ミラクルチャンバー(株)テクノシグマ社製)により圧搾することで行った。圧搾後の残留米糠中の脂質が10%前後となるまで行うことで、摩擦熱の発生を抑え、米糠の多くの機能性成分の損失を防いだ(以下、半脱脂米糠:HDRB)。さらに溶剤抽出方式を用いて、脂質を取り除いた米糠(以下、脱脂米糠:DRB)を調整した。

4. 試験飼料の作成ならびに給餌方法

予備飼育期の飼料は、AIN-93G精製飼料(一部改変飼料:コントロール食を自由摂取させた。本試験には、Table 1に示したコントロール食群(以下、Cont.)、脱脂米糠食群(以下、DRB群)および半脱脂米糠食群(以下、HDRB群)の3つの試験飼料を作成し、28日間自由摂取させた。なお、米糠の添加量は、玄米を精白歩合90%の精白米にする際に生じる米糠量に相当するので、糖質源の10%に設定した。

5. 飼育方法

供試動物入荷時よりコントロール食にて本飼育開始前日まで予備飼育を行い、馴化した。本飼育期間は、予備飼育最終日の体重を考慮し群分けを行い、本飼育を開始した。体重、摂餌、摂水量測定は、毎日午前10~12時の間に測定した。給水は、蒸留水を給水瓶にて自由摂取させた。

6. 測定方法

(1) 血糖値の測定方法

血糖値の測定は、投与開始前、14、28日目に眼窩静脈叢より採血を行い、血糖測定機(アークレイ:グルコガ

Table 1 Composition of diets

	Cont.	DRB ¹⁾	HDRB ²⁾
Casein, milk	20	20	20
L-Cystine	0.3	0.3	0.3
Soybean oil	7	7	7
Cellulose powder	5	5	5
AIN-93G mineral mixture	3.5	3.5	3.5
AIN-93G vitamin mixture	1	1	1
Choline Bitartrate	0.25	0.25	0.25
Tertiary butyl hydroquinone	0.0014	0.0014	0.0014
Subtotal (%)	37.0514	37.0514	37.0514
α -Starch, corn	62.9486	56.6537	56.6537
Defatted Rice Bran	-	6.2949	-
Half-Defatted Rice Bran	-	-	6.2949
Total (%)	100	100	100

¹⁾DRB: Defatted Rice Bran

²⁾HDRB: Half-Defatted Rice Bran

ード™GT-1640)を用いて測定した。測定は満腹時血糖を測定日前日の午前10時に、空腹時血糖を18時間絶食後、測定日当日の午前10時に実施した。

(2) 尿中酸化ストレスマーカーの測定方法

尿採取は、投与開始前日および投与27日目より24時間蓄尿を採取し、 -80°C 下にて保存した。凍結した尿については氷冷下にて融解後、尿中8ヒドロキシデオキシグアノシン(以下、8-OHdG)はNew 8-OHdG Check ELIZAキット(日研ザイル)を用い、尿中イソプラスタンはイソプラスタンELISAキット(日研ザイル)を用いて測定を行った。

(3) 血漿中インスリン濃度の測定方法

空腹時血糖値測定終了後にネプタール(50mg/kg)麻酔下にて開腹し、腹大静脈より採血を行い 4°C 、3,000 rpm、20minの条件で遠心分離(冷却遠心機はKUBOTA:5930型)して血漿を調製し、直ちに -80°C にて凍結した。インスリンの測定は超高感度マウスインスリン測定キット(森永生科学研究所)を用いた。

なお、動物を用いた実験計画は、「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」(平成18年4月28日、環境省告知第88号)を遵守し、東京聖栄大学実験動物委員会の承認のもとで実施した。

7. 統計処理

試験結果は平均値 \pm 標準誤差で表した。統計処理については、一元配置分散分析を行った後、FisherのPLSD法により各群間の有意差検定を行った。検定結果については、危険率5%以下を有意と判定した。図中には異なるアルファベット間に有意差ありとした($p < 0.05$)。

実験結果および考察

1. 体重ならびに血糖値変化について

各群の体重の推移をTable 2に示した。試験開始時より飼育終了時までの体重増加量について群間に有意差は認められなかった。空腹時血糖値ならびに満腹時血糖値をTable 3に示した。空腹時血糖において、14日目では

HDRB<Control<DRBの順に高値を示したが、群間に有意な差は認められなかった。28日目についても14日目と同様にHDRB<Control<DRBの順に高値を示したが、群間に有意な差は認められなかった。一方、満腹時血糖においては、14日目で群間に有意な差は認められないもののControl>HDRB>DRBの順で米糠添加による血糖値の上昇抑制効果がみられた。さらに28日目では群間に有意差が認められ、Control群に比べてDRB、HDRB群の2群で顕著な血糖上昇抑制が認められた。II型糖尿病患者13名に食物繊維を1日50g(水溶性25g、不溶性25g)6週間摂取させたところ、食物繊維を多く摂取した被験者では空腹時血糖値と尿中グルコース排泄量が減少した。このことから食物繊維に糖尿病予防効果があることが報告されている⁹⁾。半脱脂米糠は脱脂米糠と同じ挙動を示したことから、米糠に含まれる食物繊維量が食後血糖上昇抑制に強く働いたものと考えられ、短期間飼育では半脱脂米糠に残存した米油の影響は認められなかった。

2. 尿中8-OHdGならびにイソプラスタンについて

尿中8-OHdGならびにイソプラスタンをTable 4に示した。8-OHdGでは、28日目の測定においてDRB<HDRB<Controlの順に高値を示し、DRB群とHDRB群がControlに対して有意な抑制が認められた。DNA中のグアニン塩基は活性酸素の作用により酸化損傷を受け、8位の炭素が酸化されることにより8-OHdGが生成される。西田¹⁰⁾は、米糠抽出物がDNA損傷を抑制したと報告している。本研究において、米糠は、食事可能な摂取レベルでも酸化ストレスによるDNA損傷を低減したが、米油の影響は認められなかった。一方、イソプラスタンでは、28日目の測定において有意差は認められなかったものの、DRB>Control>HDRBの順で半脱脂米糠が最も低値傾向であった。イソプラスタンは、細胞膜などを構成する脂質が酸化して生じる過酸化物質のひとつであり、特に血管病変や脳障害に関連している。POSUWANら¹¹⁾は、糖尿病ラットを用いて高脂肪食に米油を添加すると酸化ストレスが低減し、糖尿病に対しての有益性を示す報告

Table 2 Changes in body weight, food intake and water intake in mice

	Groups		
	Control (n=6)	DRB (n=6)	HDRB (n=6)
(g)			
Body weight			
Start	35.0 \pm 0.7	35.3 \pm 0.4	35.0 \pm 0.6
28-day	40.0 \pm 1.1	40.7 \pm 0.5	40.0 \pm 1.0
Body weight gain	5.0 \pm 0.4	5.4 \pm 0.6	5.1 \pm 0.5
Total food intake	165.8 \pm 11.8	130.9 \pm 20.6	148.9 \pm 12.2
Total water intake	669.2 \pm 55.1	741.0 \pm 44.5	683.5 \pm 63.7

Values are means \pm SEM.

DRB: Defatted Rice Bran

HDRB: Half-Defatted Rice Bran

Table 3 Changes in blood glucose concentration in mice

	Groups		
	Control (n = 6)	DRB (n = 6)	HDRB (n = 6)
Fasting blood glucose(mg/dℓ)			
Start	112.8 ± 12.1	112.8 ± 10.2	113.0 ± 9.3
14-day	168.3 ± 17.4	174.2 ± 16.5	148.2 ± 16.1
28-day	161.7 ± 27.2	187.7 ± 26.3	154.8 ± 21.5
Postprandial blood glucose(mg/dℓ)			
Start	404.8 ± 79.6	432.7 ± 55.6	467.3 ± 34.6
14-day	681.5 ± 60.6	583.5 ± 41.4	586.0 ± 55.5
28-day	644.8 ± 16.7 ^a	503.3 ± 48.9 ^b	530.0 ± 22.8 ^b

Values are means ± SEM.

There is a significant difference between the different alphabets ($p < 0.05$).

DRB: Defatted Rice Bran

HDRB: Half-Defatted Rice Bran

Table 4 Urinary concentrations of oxidative stress markers in mice

	Groups		
	Control (n = 6)	DRB (n = 6)	HDRB (n = 6)
(ng/mg crea.)			
8-hydroxy-2'-deoxyguanosine			
0-day	151.84 ± 20.31	117.84 ± 9.29	114.04 ± 22.47
28-day	363.94 ± 39.85 ^a	208.31 ± 20.04 ^b	216.05 ± 44.67 ^b
Isoprostane			
0-day	2.67 ± 0.54	2.90 ± 0.33	2.875 ± 0.60
28-day	1.89 ± 0.41	2.004 ± 0.25	1.401 ± 0.21

Values are means ± SEM.

There is a significant difference between the different alphabets ($p < 0.05$).

DRB: Defatted Rice Bran

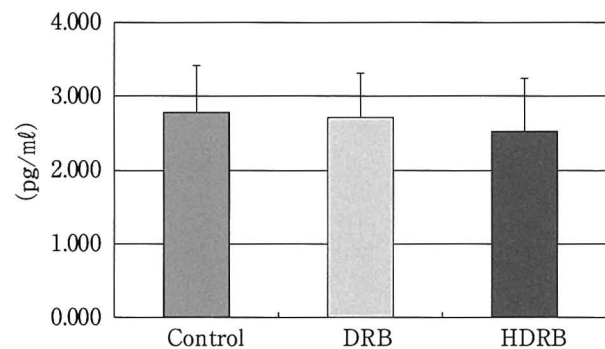
HDRB: Half-Defatted Rice Bran

をしている。本研究において圧搾処理した半脱脂米糠の短期添加は、酸化ストレスマーカーを低減させたことから、糖尿病の発症遅延に寄与することが推測された。

3. 血漿中インスリン濃度について

血漿中インスリンをFig.1に示した。半脱脂米糠を添加したマウスは、わずかなインスリンの分泌抑制を観察されたが、短期間だったので有意な差が認められなかった。米油に含まれる γ -オリザノールは、 α -トコフェロールよりも強い抗酸化を示す報告もなされている¹²⁾。用いられた半脱脂米糠には実測値で100gあたりにビタミンEが5.3mg、 γ -オリザノールが240mg、トコトリエノール4.3mg、フィチン酸3,200mgが含まれていた。近年の研究では、玄米に含まれる γ -オリザノールは、インスリンの分泌に影響し、血糖値を下げる事が報告されている¹³⁾。本実験において米糠の摂取を玄米食に相当する糖質源の10%添加したが、この脂溶性成分の数値は無視できない

と考えた。圧搾処理した米糠の残存した米油が米糠の食物繊維と相互的に機能して血糖値の上昇抑制に寄与する

**Fig. 1** Insulin

BDR: Defatted Rice Bran

HDRB: Half-Defatted Rice Bran

ことが示唆された。今後、压榨抽出による残存する米油の割合を変化させた時に血糖値や抗酸化能に違いが生じることが推察されるので、系統的に検討を重ねる必要があると考えた。

要 約

摂取可能なレベルでの压榨抽出された米糠の添加は、短期間投与でも酸化ストレスを軽減させ、血糖値の低下に寄与することが示唆され、糖尿病の発症抑制に効果を示したことが確認された。

謝 辞 本研究を進めるにあたり、脱脂米糠ならびに半脱脂米糠の調製にご協力を頂いたサンスター(株)に深く感謝いたします。

文 献

- 1) WILSON, T.A., NICOLosi, R.J., WOOLFREY, B. and KRITCHEVSKY, D. : Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters, *J Nutr Biochem.*, **18** (2), 105~12 (2007)
- 2) JUSTO, M.L., DE, SOTOMAYOR M.A., HERRERA, M.D., RODRIGUEZ-RODRIGUEZ, R., CANDIRACCI, M., PARRADO, J. and DANTAS, A.P. : Rice bran enzymatic extract restores endothelial function and vascular contractility in obese rats by reducing vascular inflammation and oxidative stress, *J Nutr. Biochem.*, **24** (8), 1453~1461 (2013)
- 3) 渡邊令子 : 肥満糖尿病モデルにおける米タンパク質摂取による腎症進行抑制機構の解明 飯島藤十郎記念食品科学振興財団年報, **29**, 184~188 (2014)
- 4) 久恒辰博 : 米糠中の機能成分による脳老化の防止に関する動物モデル研究 飯島藤十郎記念食品科学振興財団年報, **28**, 21~26 (2013)
- 5) 久恒辰博 : 脳老化促進モデル動物を用いた米糠中機能成分の脳老化予防・改善効果の検証 飯島藤十郎記念食品科学振興財団年報, **29**, 36~40 (2014)
- 6) KIM, S., NAM, S.H., KANG, M.Y. and FRIEDMAN, M. : Dietary rice bran component γ -oryzanol inhibits tumor growth in tumor-bearing mice, *Mol. Nutr. Food Res.*, **56** (6), 935~944 (2012)
- 7) SHAFIE, N.H., ESA, N.M., ITHNIN, H., AKIM, A.M., SAAD, N., PANDURANGAN, A.K. : Preventive Inositol Hexaphosphate Extracted from Rice Bran Inhibits Colorectal Cancer through Involvement of Wnt/ β -Catenin and COX-2 Pathways, *BioMed. Res. Int.*, **2013**, 681027 (2013)
- 8) 小林謙一・山岸彩乃・中川 徹・前田雪恵・伊藤有紗・山田千晴・徳永洗貴・藤田沙也・鈴木 司・辻井良政・高野克己・山本祐司 : α 化玄米とコレステロール低下作用 日本食品保蔵科学会誌・**42** (1)・3~8 (2016)
- 9) CHANDALIA, M., GARG, A., LUTJOHANN, D., VON, BERGMANN, K., GRUNDY, S.M. and BRINKLEY, L. : Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus, *J.N Engl J Med.*, **342** (19), 1392~8 (2000)
- 10) HOTAMISLIGIL, G.S., SHARGILL, N.S. and SPIEGELMAN, B.M. : "Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha : direct role in obesity-linked insulin resistance" *Science*, **259**, 87~91 (1993)
- 11) 西田浩志 : 米糠成分によるガン治療増感作用に関する基礎的研究, 飯島記念食品科学振興財団年報, **2010**, 118~123 (2012)
- 12) POSUWAN, J., PRANGTHIP, P., YAMBORISUT, U., SURASIANG, R., CHAROENSIRI, R., KONGKACHUICHAI, R. and LEARDKAMOLKARN, V. : Long - term supplementation of high pigmented rice bran oil (*Oryza sativa* L.) on amelioration of oxidative stress and histological changes in streptozotocin-induced diabetic rats fed a high fat diet ; Riceberry bran oil, *Food Chem.*, **13** (1), 501~508 (2013)
- 13) HUANG, C-c. J., XU, Z. and GODBER, J.S. : Potential Antioxidant Activity of γ -Oryzanol in Rice Bran as Determined Using an In Vitro Mouse Lymph Axillary Endothelial Cell Model, *Cereal Chem.*, **8** (6) 679~684 (2009)
- 14) KOZUKA, C., SUNAGAWA, S., UEDA, R., HIGA, M., TANAKA, H., SHIMIZU - OKABE, C., ISHUCHI, S., TAKAYAMA, C., MATSUSHITA, M., TSUTSUI, M., MIYAZAKI, J., OYADOMARI, S., SHIMABUKURO, M. and MASUZAKI, H. : γ -Oryzanol Protects Pancreatic β -Cells Against Endoplasmic Reticulum Stress in Male Mice, *Endocrinology*, **156** (4) 1242~1250 (2015)

(平成28年10月5日受付, 平成29年6月5日受理)