

ホエイプロテインの体脂肪減少効果 —カゼインプロテインとの比較—

青木亮二¹⁾, 中崎公隆¹⁾, 長野伸彦¹⁾, 森岡一朗¹⁾

Body fat reducing effects of a whey protein diet

Ryoji AOKI¹⁾, Kimitaka NAKAZAKI¹⁾, Nobuhiko NAGANO¹⁾, Ichiro MORIOKA¹⁾

要旨

研究では、乳清タンパク質食による体脂肪減少のメカニズムについて検討した。妊娠したマウスにホエイまたはカゼインを与え、その仔マウスには母マウスに与えた餌を与えた。4週齢で離乳した後、雄の仔マウスには実母に投与した飼料を与えた(各群n=6)。12週齢で、体重、脂肪量、空腹時血糖値、インスリン、homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)、コレステロール、トリグリセリド、肝臓組織における脂質代謝関連遺伝子の発現レベル、脂肪組織のメタボロームデータを測定し、2群間で比較した。生まれた新生仔マウスの出生体重は、両群で同程度であった。カゼイン群の仔に比べ、12週齢の時点で、ホエイ群の仔は体重が少なく、脂肪量、HOMA-IR、トリグリセリド値が有意に低く(それぞれ $p < 0.01$, $p = 0.02$, $p = 0.01$)、脂肪組織の抗酸化物質グルタチオンと抗炎症物質1-メチルニコチンアミド値が有意に高かった(それぞれ $p < 0.01$, $p = 0.04$)。空腹時血糖値、インスリン、コレステロール値(それぞれ $p = 0.75$, $p = 0.07$, $p = 0.63$)、脂質代謝関連遺伝子の発現レベルには差が見られなかった。ホエイプロテインはカゼインプロテインよりも抗酸化作用や抗炎症作用が強く、それが体脂肪を減らすメカニズムと関連していると考えられた。

1. はじめに

日本は、平均出生体重が減少し、低出生体重児の出生率が減少していない先進国の一つである¹⁾。低出生体重児は、成人後に肥満や2型糖尿病などの疾患を発症するリスクが高くなる。胎児は、子宮内で栄養不足になると、体重増加が遅れる環境に適応するために生理的な変化を起こし、出生後に栄養環境が改善されると相対的に栄養過多となる。Developmental origins of health and disease (DOHaD) 理論²⁾は、病気のリスクを十分に理解することで、生涯にわたってその発症を回避する必要があることを示している。小児科医にとって、DOHaD理論は、そもそも病気の発症を防ぐためには、幼児期や思春期前の栄養管理が必要であるという考えを支持している³⁾。本研究では、低出生体重児が将来罹患しやすいメタボリックシンドロームの発症を予防する可能性があ

る栄養素である乳清タンパク質に注目した。

ホエイプロテインは、ヨーグルトやチーズなどの乳製品に多く含まれる栄養豊富な乳タンパク質で、多くの健康効果があるとされている。ホエイプロテインは機能性食品とされ、近年では栄養補助食品としての需要も高まっている⁴⁾。また、ホエイプロテインは母乳や人工乳にも含まれている。母乳中のタンパク質組成は、授乳期間中に変化する。初乳は90%のホエイプロテインと10%のカゼインタンパク質で構成されているが、成熟した母乳ではその比率がホエイ60%、カゼイン40%に移行する。一方、人工乳は通常、20%のホエイプロテインと80%のカゼインタンパク質で構成されている⁴⁾。ホエイプロテインの主な成分としては、ラクtofelin、ベータラクtoグロブリン、アルファラクtoアルブミン、グリコマクロペプチド、免疫グロブリンなどがある⁵⁾。

1) 日本大学医学部小児科学系小児科学分野
責任者連絡先: 青木亮二, aoki.ryoji@nihon-u.ac.jp

ホエイプロテインの健康増進効果を生化学的なレベルで証明する証拠が増えつつある。詳細は以下の通りである。

1 糖代謝効果:ホエイプロテインは、末梢組織におけるセロトニンおよび肝臓組織における線維芽細胞増殖因子21の分泌を抑制することにより、インスリン抵抗性を改善する⁶⁾。

2 筋肉タンパク質合成効果:ホエイプロテインは、筋肉の合成に必要な代謝経路であるmTOR (mammalian target of rapamycin) を活性化することにより、筋肉の合成を促進する⁷⁾。

3 抗炎症作用:マウス肝炎モデルにおいて、ホエイプロテインが炎症性サイトカインの産生を抑制し、肝細胞の壊死やアポトーシスを抑制する⁸⁾。同様の結果が臨床でも認められ、COPD患者の炎症反応を抑制した⁹⁾。

4 抗酸化作用:ホエイプロテインは、in vitroで抗酸化作用の発現を示す¹⁰⁾。

5 脂質代謝効果:ホエイプロテインは、脂質代謝に関わる転写因子に影響を与えることにより、マウスにおいてトリグリセリドの分解を促進し、脂肪酸の合成を阻害する¹¹⁾。

最近、実臨床で低出生体重児が若年で非肥満型の2型糖尿病を発症するとの報告が散見される。桑原らは、出生後十分な栄養で育った低出生体重児が成人後に2型糖尿病を発症することが多く、発症時には皮下脂肪に比べ内臓脂肪の蓄積が著しいと報告した¹²⁾。長野らは、超早産のSmall-for-gestational age児は、若年で非肥満型2型糖尿病を発症する可能性があり、その原因検索のために体組成の検討を行った。その結果、体脂肪は正常範囲にあるが筋肉量は不足していることを発見し、非肥満型2型糖尿病の発症に筋肉量が関与している可能性を示唆している¹³⁾。早産・低出生体重児が2型糖尿病を発症しやすい原因として、早産児は満期産児に比べて酸化ストレスマーカーの値が高いことが報告されている¹⁴⁾。さらに、男性は女性よりも酸化ストレスマーカーのレベルが高いことが報告されており、その結果、男性は2型糖尿病や心血管イベントを起こしやすいとされている^{15,16)}。ホエイプロテインの筋肉合成の促進、グルコースおよび脂質代謝の改善効果、ならびに抗炎症および抗酸化作用により、乳幼児期、幼児期、思春期前にホエイプロテインを多く含む食事を

与えることは、その後の糖尿病の発症を予防することにつながると思われる。しかし、ホエイプロテインがこれらの効果を発揮するメカニズムについては、まだ完全に解明されていない¹⁷⁾。

そこで本研究では、胚発生から成体までホエイプロテインを曝露した雄マウスを、同時期にカゼインタンパク質食に曝露して飼育したマウスと比較して、身体的および生化学的变化を測定することにより、ホエイプロテインがグルコースおよび脂質代謝に及ぼす影響を調べ、体脂肪減少に関与する潜在的メカニズムを明らかにすることを目的とした。

2. 対象及び方法

2.1. 実験動物について

すべての実験プロトコルおよび手順は、日本大学医学部動物実験委員会の承認を得た（承認ID:AP20MED018-1, 承認日:2020年6月5日）。妊娠2日目のInstitute of Cancer Research (ICR) 妊娠マウスは、三共ラボサービス株式会社（東京都千代田区）から購入した。

2.2. 飼育条件

ICR妊娠マウスは到着後、カゼイン食群およびホエイ食群の2群に分けた。出生後、雄の仔マウスを選択し、母親と同じ飼料で、温度 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、12/12時間の明暗サイクルのもとで飼育された。カゼイン群では、マウス実験において妊娠期および成長期に投与される標準的なげっ歯類飼料であるAIN-93G（カゼイン20%、L-シスチン0.3%、コーンスターチ39.7486%、 α -コーンスターチ13.2%、スクロース10.0%、大豆油7.0%、セルロースパウダー5.0%、ミネラル3.5%、ビタミン1.0%、コリンピタレート0.25%、ターシャリーブチルヒドロキノン0.0014%:エネルギー359kcal）（オリエンタル酵母工業株式会社, Ltd. 東京, 日本)¹⁸⁾。ホエイ群では、カゼイン成分をホエイに置き換えたAIN-93Gの改良ブレンドでマウスを飼育した。仔マウスは12週齢まで飼育された。12週齢まで飼育し、身体的および生化学的測定を行った。

2.3. 体重測定

仔マウスの体重は、生後から12週齢まで週1回計測した。

2.4. 血糖値、血清インスリン、インスリン抵抗性 (HOMA-IR)

12) 週齢の雄成体マウスを12時間絶食させ、イソフルラン吸入麻酔（導入5%、維持2%）下で解剖を行った。血液は正中切開による心臓穿刺で心臓から採取した。血糖値はStat Strip XP2（Nipro, Osaka, Japan）を用いて測定した。次に、3000rpmで5分間の遠心分離により全血から血清を分離し、 -20°C で保存した。血清中のインスリンは、マウス/ラット総インスリン（高感度）アッセイキット（株式会社免疫生物研究所、群馬県藤岡市）を用いて、免疫反応性インスリン量（IRI）を評価した。また、血清は、インスリン抵抗性について、homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)¹⁹⁾を用いた。

2.5. 体組成と脂肪重量

体組成は、実験動物用生体電気インピーダンス分光法 (BIS) 装置 (ImpediVETTM: 株式会社バイオリサーチセンター、名古屋市、日本) を用いて測定した²⁰⁾。脂肪量 (FM) と無脂肪量 (FFM) を推定するため、脂肪組織は単位体積あたりの水分が少ないため筋肉などの組織よりも導電性が低いため、生体組織の電気伝導度のBIS差を測定した。脂肪重量を評価し、観察可能な脂肪組織はすべて解剖した。

2.6. 血清リポタンパクの分画

血清リポタンパク質は、ゲル浸透高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて、既出の方法 (LipoSEARCH®; Skylight Biotech, Akita, Japan) に従って、コレステロールとトリグリセリド含有量に基づく異なる画分に分離した²¹⁻²³⁾。コレステロールとトリグリセリドの値は、HPLCの溶出プロファイルのピークに基づいて、全体と主要なリポタンパク質クラス (超低密度リポタンパク質 (VLDL), 低密度リポタンパク質 (LDL), 高密度リポタンパク質 (HDL)) のそれぞれについて推定したリポタンパクの粒子径の違いに対応するHPLCの溶出プロファイルのピークに基づく²²⁾。

2.7. 肝組織の遺伝子発現解析

肝臓の脂質代謝に関連する遺伝子 (PPAR α , PPAR γ , SREBP1c, HSL, LPL) のRNA発現量は、リアルタイム定量ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-qPCR) を用いて測定した。RNAは、ReliaPrep RNA Mini-prep Systems (Promega Corporation, Madison, WI, USA) が提供するプロトコルを用いて、雄マウス (1群あたり n=5) の凍結肝臓組織から単離した。RNA

は、ABI Geneamp 9700 PCR Thermal Cycler (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific Inc., Tokyo, Japan) 上でReverTra Ace qPCR RT Master Mix (Toyobo Co., Ltd., Osaka, Japan) を用いて補欠DNAに逆転写した。RT-qPCRは、KOD-Plus-Ver.2 ポリメラーゼミックス (東洋紡株式会社) を用いて、ABI Applied Biosystems 7300 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific Inc.) で実施した。

本研究では、過去の報告と同じプライマーを参考として使用した。これらのプライマーは、タカラバイオ株式会社 (日本、草津市) 製である¹¹⁾。

2.8. 脂肪組織のメタボローム解析

雄マウスの凍結脂肪組織のサンプル (約50mg, 各群 n = 5) をジルコニアビーズ (5mm ϕ および 3mm ϕ) を含んだホモジナイズチューブに入れ、そこに内部標準 (H3304-1002, Human Metabolome Technologies, Inc. 山形, 日本) を含む50%アセトニトリル/ミリQ水1500 μL を添加した。ビーズシェーカー (Shake Master NEO, BioMedical Science, Tokyo, Japan) を用いて、 4°C で1500 rpm, 120秒のホモジナイズを2サイクル行った。次に、2300 \times g, 5分間、 4°C で遠心分離を行い、高分子成分を除去した。次に、400 μL の上清を採取し、9100 \times g, 4°C で120分間遠心分離し、ミリポアの5kDaカットオフフィルター (Human Metabolome Technologies社 (HMT), 山形県鶴岡市) を用いて濾過した。最後に、濾液を真空蒸発させて乾燥させ、50 μL のMilli-Q水に溶解させた。この溶液を、Agilent CE システム (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA) を用いたキャピラリー電気泳動飛行時間型質量分析法^{24,25)} によるメタボローム解析を行った。統合ソフトウェア (慶應義塾大学, 日本, 静岡) を用いて自動的に検出されたピークについて、マススペクトルのピーク面積, m/z, および移動時間のデータ (範囲:50-1000 m/z) を算出した²⁶⁾。各ピークのm/z値と移動時間から、HMT代謝物データベースを参照して、各ピークに関連する化学種を同定した。各代謝物の相対量は、ピーク面積を内部標準物質とサンプル量で正規化することにより算出した。主成分分析および階層型クラスター分析は、既出の方法²⁷⁾ に従って実施した。

2.9. 血清クレアチニンおよび尿クレアチニン

血清は2.4節に記載した方法で採取し、血清クレアチニンは酵素法を用いて測定した。尿クレアチニンは、マウスを実験動物用代謝ケージで飼育した状態で採取した24時間尿サンプルを用いて、従来のクレアチニンデアミナーゼを用いた酵素法により測定した。

2.10. 統計解析

データは、平均値±平均値の標準誤差で報告されている。各結果は、JMP統計ソフト (ver.14.0:SAS Institute, Cary, NC, USA) を用い、マン・ホイットニーU検定を用いて実験群 (ホエイ) と対照群 (カゼイン) の間で比較した。p<0.05の場合は統計的に有意な差、0.05<p<0.10の場合はわずかに有意な差とした。

3. 結果

3.1. 体重の履歴

出生時の体重は、両群間に有意差はなかった。しかし、その後1週間ごとに、体重はカゼイン群よりホエイ群で低くなった。12週目では、体重はカゼイン群よりホエイ群で有意に低かった (48.3g vs 61.0g, p<0.01)。

3.2. 血糖値, IRI, HOMA-IRについて

空腹時血糖値は、両群間に有意差はなかった (177.5 mg/dL vs. 184.7 mg/dL, p = 0.75)。IRIは、カゼイン群よりもホエイ群でわずかに低かった (22.0 μIU/mL vs. 47.0 μIU/mL, p = 0.07)。HOMA-IRは、カゼイン群よりもホエイ群で有意に低かった (7.9 vs. 19.2, p = 0.02)。

3.3. 脂肪重量と体組成 脂肪重量

脂肪重量と体組成 脂肪重量は、カゼイン群よりもホエイ群で有意に低かった (2.4g vs. 3.8g, p<0.01)。しかし、体組成は、FFM (67.9% vs. 64.7%, p = 0.63) およびFM (32.0% vs. 35.3 %, p = 0.63) において両群で同様だった。

3.4. 血清および尿中クレアチニン

クレアチニン値は、ホエイ群ではカゼイン群より血清でわずかに高く (0.11 mg/dL vs. 0.14 mg/dL, p = 0.06)、尿で有意に高かった (35.8 mg/dL vs. 54.6 mg/dL, p = 0.02)。

3.5. 血清リポタンパク質分画

コレステロール値については、総量および個体値

に両群間で有意差は認められなかった (総量:173.51 mg/dL vs. 153.46 mg/dL, p = 0.63; VLDL:10.85 mg/dL vs. 10.94 mg/dL, p = 0.94; LDL:25.16 mg/dL vs. 23.38 mg/dL, p= 0.52; HDL:136.44 mg/dL vs. 116.16 mg/dL, p= 0.26)。一方、トリグリセリド値は、測定されたすべての結果において、カゼイン群よりもホエイ群で有意に低かった (総量:51.47mg/dL, p = 0.52)。測定された (合計 :51.47 mg/dL vs. 119.2 mg/dL, p = 0.01)。

3.6. 肝臓の遺伝子発現

RT-qPCR解析の結果、PPARαの肝発現は、カゼイン群よりもホエイ群でわずかに高かった (p=0.08)。しかし、評価した他の脂質代謝関連遺伝子のいずれにおいても、それ以外の差は認められなかった (PPARγ, p=0.27;SREBP1c, p = 0.73; HSL, p = 0.58; LPL, p = 0.25)。

3.7. 脂肪の代謝

グルタチオン, 1-メチルニコチンアミド, ミオイノシトールリン酸 (1-リン酸+3-リン酸) のレベルは、カゼイン群よりもホエイ群で有意に高かった (p<0.01, p = 0.04, p = 0.01)。

4. 考察

本研究では、マウスモデルにおいて、ホエイプロテインの摂取が脂質代謝を活性化し、脂肪量を減少させ、インスリン抵抗性を低下させることを明らかにした。これらの結果は、ホエイプロテインの摂取によりβ酸化が促進され、抗炎症作用や抗酸化作用が認められたためと推論している。

4.1. 脂質の代謝

ホエイプロテイン飼料で飼育したマウスは、カゼインタンパク質飼料で飼育したマウスに比べ、血清総トリグリセリド値が有意に低いことを見いだした。また、ホエイ群のマウスは、カゼイン群に比べPPARα RNAの発現量が有意に高いことが確認された。以前の報告では、ホエイプロテインがPPARαの発現を増加させ、PPARαが細胞内のミトコンドリアβ酸化を増加させることにより、脂質代謝を活性化することが示されている^{11,28)}。したがって、ホエイプロテインの摂取は、PPARαの発現を増加させることでトリグリセリドの利用を促進すると推測される。さらに、これらのマウスの脂肪組織のうち、ホエイ群では、ニコチンアミドの代謝物である

1-メチルニコチンアミドがカゼイン群に比べ有意に多く含まれていた。1-メチルニコチンアミドは抗炎症作用と β 酸化制限作用を有することから、乳清タンパク質の摂取は β 酸化を調節することで脂質代謝を改善すると考えられる²⁹⁾。

4.2. グルコース代謝

脂肪細胞では、アディポサイトカイン産生を制御する機構を破壊すると、炎症性サイトカインが過剰に産生され、インスリン抵抗性につながる³⁰⁾。また、重度の酸化ストレスは、脂肪細胞のインスリン受容体を減少・不活性化させ、この細胞の遺伝子発現やインスリン分泌を低下させる^{31,32)}。メタボローム解析の結果、1-メチルニコチンアミドとグルタチオン脂肪組織のレベルは、カゼイングループよりもホエイグループで有意に高いことが示された。ホエイプロテイン摂取による1-メチルニコチンアミドの増加が、脂肪細胞における慢性炎症を抑制し、インスリン抵抗性を改善したと推測される。また、ホエイプロテインはグルタチオン量を増加させることで抗酸化作用を発揮するため、このことも観察されたインスリン抵抗性改善のメカニズムである^{33,34)}。

4.3. 筋原性インスリン抵抗性の改善

大豆タンパク質と比較した、ホエイプロテインはインターロイキン-6と腫瘍壊死因子- α の循環レベルを低下させ、筋肉代謝に影響を与えることが報告されている³⁵⁾。我々の研究では、ホエイプロテインはカゼインタンパク質と比較して、脂肪組織における抗炎症マーカーである1-メチルニコチンアミドのレベルを増加させることが判明している。血清クレアチンの上昇により筋肉量が増加すると、筋原性インスリン抵抗性が低下する可能性がある³⁶⁾。本研究では、筋肉量を測定しておらず、分析した2つのグループは統計的に類似した身体組成を有していた。これらの結果から、ホエイプロテインは、皮下脂肪よりも内臓脂肪を減らす可能性がある。FFMに差が見られなかった理由として、ホエイプロテインとカゼインプロテインの介入期間が比較的短かったことが考えられる。しかし、血清クレアチンはホエイ群でカゼイン群より有意に高かったと判断した。ホエイプロテインは、クレアチンを増加させるとともに筋肉量を増加させるための栄養補助食品として一般的に使用されている³⁷⁾。したがって、ホエイプロテインはこの研究におけるクレアチニンに影響を与え

た可能性がある。ホエイプロテイン摂取による血清クレアチンの上昇は、インスリン抵抗性を改善する可能性がある。

4.4. ミオ-イノシトールリン酸塩

本研究では、メタボローム解析により、脂肪組織中のミオ-イノシトール1リン酸およびミオ-イノシトール3リン酸レベルが、カゼイン群よりも乳清群で有意に高いことが示された。ミオ-イノシトールは膜リン脂質の成分で、シグナル伝達の役割を担っている。ミオ-イノシトールの発現が低下したラットは、肝臓のトリグリセリド含量が高くなる³⁸⁾。ミオ-イノシトール1リン酸とミオ-イノシトール3リン酸はともにミオ-イノシトール代謝経路に属する。ミオ-イノシトールはインスリン抵抗性を改善する³⁹⁾。ミオ-イノシトール1リン酸やミオ-イノシトール3リン酸によって直接的にグルコースや脂質の代謝が改善されたという報告はないが、今回の知見はその関連性を示唆している。

4.5. 乳幼児と酸化ストレス

Matsubasaらは、日本の超低出生体重児50名から生後数日間の尿を採取し、酸化ストレスマーカーである8-ヒドロキシデオキシグアノシンを測定した。その結果、超低出生体重児の尿中の8-ヒドロキシデオキシグアノシンは満期産児よりも高く、酸化ストレスマーカー値は出生後の体重が増加するにつれて減少することが示された⁴⁰⁾。また、Piyushらは、栄養不良の母親から生まれた小さな妊娠年齢の乳児は、健康な母親から生まれた適切な妊娠年齢の乳児に比べて、酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒドのレベルが高く、スーパーオキシドディスムターゼ、カタラーゼ、グルタチオンパーオキシダーゼなどの抗酸化システムの酵素のレベルが低いことを報告している⁴¹⁾。これらの結果は、低出生体重児で出生前ストレスが高い乳児は、酸化ストレスが高く、抗酸化能が低いことを示唆している。今回の研究では、新生児期からホエイプロテインを用いた栄養補給を行うことで、抗酸化力および抗炎症力が向上することが明らかとなった。したがって、これらの子どもたちにホエイプロテインを摂取させることで、酸化ストレスを軽減し、抗酸化力を向上させることが可能であると考えられる。

4.6. 母乳と粉ミルクの抗酸化作用と抗炎症作用の比較

母乳は、多くの点で乳児にとって最良の栄養源と

考えられている。母乳には、炭水化物、タンパク質、脂肪、ビタミン、ミネラル、消化酵素、ホルモンが含まれている。母乳のタンパク質組成は、時間の経過とともに変化する子供の成長に適応し、ホエイタンパクとカゼインタンパク質の割合が変化する⁴²⁾。また、母乳は抗酸化作用や抗炎症作用の面でも人工乳より優れているとされている。Aycicekらは、母乳または牛乳を改良した粉ミルクを与えた健康な有期乳児54名を調査し、酸化ストレスマーカーが母乳群で低いことを明らかにした⁴³⁾。また、Allanらはヒト腸管モデルを用いた研究で、母乳が腸管上皮の炎症マーカーであるインターロイキン-8を減少させ、toll-like receptor 4の発現をダウンレギュレートし、炎症反応を抑制することを明らかにした⁴⁴⁾。これらの報告から、粉ミルクと比較して母乳の優れた抗酸化作用や抗炎症作用は、母乳に含まれるホエイタンパク質の割合が高いことに起因していると考えられる。したがって、タンパク質の比率を変え、カゼインタンパク質よりもホエイプロテインの比率を高めることで、抗酸化作用や抗炎症作用が強まると考えられる。酸化ストレスは、細胞の損傷やいくつかの慢性疾患の悪化の一因となる。食事から摂取する抗酸化物質は、フリーラジカルとの戦いを助け、それによって酸化ストレスを予防または軽減する。Corrochanoらは、酸化ストレスが細胞傷害の原因となり、いくつかの慢性疾患を悪化させることを報告し、異なる乳源の乳清を比較し、ホエイプロテインを既知の食品抗酸化物質の幅広いスペクトルの中に位置づけた⁴⁵⁾。しかし、ホエイプロテインが標的臓器の抗酸化レベルを高めるのに有効であるためには、その抗酸化活性が加工だけでなく、上部消化管通過や血流への到達にも耐えなければならない。本研究では、ホエイサンプルに直接細胞が触れることで、グルタチオンなどの細胞内抗酸化物質が増加することが示された。これらのin vitroアッセイの生理学的妥当性には疑問があり、ラットやヒトを含む食事介入試験から、乳清製品が細胞の酸化バイオマーカーを高めるという矛盾したエビデンスがある。

5. 結語

胎児期に開始したホエイプロテイン介入は、抗炎症および抗酸化作用を有するいくつかの代謝物のレ

ベルを増加させ、脂肪体重の減少、インスリン抵抗性の改善につながることを示唆される。体重の減少、インスリン抵抗性の改善に寄与すると考えられる。

謝辞

本研究は日本大学学術研究助成金を受け実施された。

文 献

- 1) Ministry of Health, Labor and Welfare in Japan Vital Statistics in Japan in 2017. Available online: <https://www.mhlw.go.jp/toukei/list/81-1.html> (accessed on 7 June 2022) . (In Japanese) .
- 2) PD Gluckman, MA Hanson. Living with the past: Evolution, development, and patterns of disease. *Science* 2004;305 (5691) :1733-1736.
- 3) R Uauy, J Kain, C Corvalan. How can the Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD) hypothesis contribute to improving health in developing countries? *Am J Clin Nutr* 2011;94 (6 Suppl) :1759-1764.
- 4) C Kunz, B Lönnerdal. Re-evaluation of the whey protein/casein ratio of human milk. *Acta Paediatr* 1992;81 (2) :107-112.
- 5) K Marshall. Therapeutic applications of whey protein. *Altern Med Rev* 2004;9 (2) :136-156.
- 6) K Nonogaki, T Kaji. Whey protein isolate inhibits hepatic FGF21 production, which precedes weight gain, hyperinsulinemia and hyperglycemia in mice fed a high-fat diet. *Sci Rep* 2020;10 (1) :15784.
- 7) SC Bodine, TN Stitt, M Gonzalez, et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biol* 2001;3 (11) :1014-1019.
- 8) H Kume, K Okazaki, H Sasaki. Hepatoprotective Effects of Whey Protein on D-Galactosamine-Induced Hepatitis and Liver Fibrosis in Rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006;70 (5) :1281-1285.
- 9) K Sugawara, H Takahashi, T Sugawara, et al. Effect of Anti-Inflammatory Supplementation with Whey Peptide and Exercise Therapy in Patients with COPD. *Respir Med* 2012;106 (11) :1526-1534.
- 10) Bayram T, Pekmez M, Arda N, et al. Antioxidant activity of whey protein fractions isolated by gel exclusion chromatography and protease treatment. *Talanta* 2008;75 (3) :705-709.
- 11) Sasaki H. Whey Protein Intake Modulates Lipid Metabolism by Transcriptionally Affecting PPARs and SREBP1c and Their Downstream Enzymes in Mice. *Food Nutr Sci* 2019;10 (9) :1045-1055.
- 12) R Kuwabara, T Urakami, K Yoshida, et al. Case of type 2 diabetes possibly caused by excessive accumulation of visceral fat in a child born small-for-gestational age. *J Diabetes Investig* 2020;11 (5) :1366-1369.
- 13) N Nagano, C Kaneko, S Ohashi, et al. Non-obese type 2 diabetes with a history of being an extremely preterm small-for-gestational-age infant without early adiposity rebound. *Int J Environ Res Public Health*

- 2022;19 (14) :8560.
- 14) TA Moore, IM Ahmad, MC Zimmerman. Oxidative Stress and Preterm Birth: An Integrative Review. *Biol Res Nurs* 2018;20 (5) :497–512.
 - 15) MC Kander, Y Cui, Z Liu. Gender difference in oxidative stress: A new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med* 2017;21 (5) :1024–1032.
 - 16) AG Huebschmann, RR Huxley, WM Kohrt, et al. Sex differences in the burden of type 2 diabetes and cardiovascular risk across the life course. *Diabetologia* 2019;62 (10) :1761–1772.
 - 17) M Hashemilar, M Khalili, N Rezaeimanesh, et al. Effect of Whey Protein Supplementation on Inflammatory and Antioxidant Markers, and Clinical Prognosis in Acute Ischemic Stroke (TNS Trial) : A Randomized, Double Blind, Controlled, Clinical Trial. *Adv Pharm Bull* 2020;10 (1) :135–140.
 - 18) EL Lien, FG Boyle, JM Wrenn, RW Perry, CA Thompson, JF Borzelleca. Comparison of AIN-76A and AIN-93G diets: A 13-week study in rats. *Food Chem Toxicol* 2001;39 (4) :385–392.
 - 19) DR Matthews, JP Hosker, AS Rudenski, et al. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28 (7) :412–419.
 - 20) HC Lukaski, PE Johnson, WW Bolonchuk, et al. Assessment of fat free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr* 1985;41 (4) :810–817.
 - 21) M Okazaki, S Yamashita. Recent advances in analytical methods on lipoprotein subclasses: Calculation of particle numbers from lipid levels by gel permeation HPLC using “Spherical Particle Model” . *J Oleo Sci* 2016;65 (4) :265–282.
 - 22) S Usui, Y Hara, S Hosaki, et al. A new on-line enzymatic method for simultaneous quantification of cholesterol and triglycerides in lipoproteins by HPLC. *J Lipid Res* 2002;43 (5) :805–814.
 - 23) M Okazaki, S Usui, M Ishigami, et al. Identification of unique lipoprotein subclasses for visceral obesity by component analysis of cholesterol profile in high-performance liquid chromatography. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25 (3) :578–584.
 - 24) Y Ohashi, A Hirayama, T Ishikawa, et al. Depiction of metabolome changes in histidine-starved *Escherichia coli* by CE-TOFMS. *Mol Biosyst* 2008;4 (2) :135–147.
 - 25) T Ooga, H Sato, A Nagashima, et al. Metabolomic anatomy of an animal model revealing homeostatic imbalances in dyslipidaemia. *Mol Biosyst* 2011;7 (4) :1217–1223.
 - 26) M Sugimoto, DT Wong, A Hirayama, et al. Capillary electrophoresis mass spectrometry-based saliva metabolomics identified oral, breast and pancreatic cancer-specific profiles. *Metabolomics* 2010;6 (1) :78–95.
 - 27) H Yamamoto, T Fujimori, H Sato, et al. Statistical hypothesis testing of factor loading in principal component analysis and its application to metabolite set enrichment analysis. *BMC Bioinform* 2014;15:51.
 - 28) J Berger, MD Leibowitz, TW Doebber, et al. Novel Peroxisome Proliferator-activated Receptor (PPAR) γ and PPAR δ Ligands Produce Distinct Biological Effects. *J Biol Chem* 1999;274 (10) :6718–6725.
 - 29) K Takeuchi, C Yokouchi, H Goto, et al. Alleviation of fatty liver in a rat model by enhancing N1-methylnicotinamide bioavailability through aldehyde oxidase inhibition. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;507 (1-4) :203–210.
 - 30) T Suganami, Y Ogawa. Adipose tissue macrophages: Their role in adipose tissue remodeling. *J Leukoc Biol* 2010;88 (1) :33–39.
 - 31) S Furukawa, T Fujita, M Shimabukuro, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Investig* 2004;114 (12) :1752–1761.
 - 32) T Nomiyama, Y Igarashi, H Taka, et al. Reduction of insulin-stimulated glucose uptake by peroxynitrite is concurrent with tyrosine nitration of insulin receptor substrate-1. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;320 (3) :639–647.
 - 33) G Bounous, P Gold. The biological activity of undenatured dietary whey proteins: Role of glutathione. *Clin Investig Med* 1991; 14 (4) : 296–309.
 - 34) R Franco, JA Cidlowski. Apoptosis and glutathione: Beyond an antioxidant. *Cell Death Differ* 2009;16 (10) :1303–1314.
 - 35) K Prokopidis, M Mazidi, R Sankaranarayanan, et al. Effects of whey and soy protein supplementation on inflammatory cytokines in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr* 2023;129 (5) :759–770.
 - 36) B Beauchamp, S Ghosh, MW Dysart, et al. Low birth weight is associated with adiposity, impaired skeletal muscle energetics and weight loss resistance in mice. *Int J Obes* 2015;39 (4) :702–711.
 - 37) JJ Hulmi, CM Lockwood, JR Stout. Effect of protein/essential amino acids and resistance training on skeletal muscle hypertrophy: A case for whey protein. *Nutr Metab* 2010;7:51.
 - 38) DB Andersen, BJ Holub. The Relative Response of Hepatic Lipids in the Rat to Graded Levels of Dietary Myo-Inositol and Other Lipotropes. *J Nutr* 1980;110 (3) :496–504.
 - 39) LM Croze, ER Vella, NJ Pillon, et al. Chronic treatment with myo-inositol reduces white adipose tissue accretion and improves insulin sensitivity in female mice. *J Nutr Biochem* 2013;24 (2) :457–466.
 - 40) T Matsubasa, T Uchino, S Karashima, et al. Oxidative stress in very low birth weight infants as measured by urinary 8-OHdG. *Free Radic Res* 2002;36 (2) :189–193.
 - 41) P Gupta, M Narang, BD Banerjee, et al. Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mothers: A case control study. *BMC Pediatr* 2004;4:14.
 - 42) C Sánchez, L Franco, P Regal, et al. Breast Milk: A source of functional compounds with potential application in nutrition and therapy. *Nutrients* 2021;13 (3) :1026.

- 43) A Aycicek, O Erel, A Kocyigit, et al. Breast milk provides better antioxidant power than does formula. *Nutrition* 2006;22 (6) :616–619.
- 44) A Walker. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. *J Pediatr* 2010;156 (2 Suppl) :S3–S7.
- 45) AR Corrochano, V Buckin, PM Kelly, et al. Invited review: Whey proteins as antioxidants and promoters of cellular antioxidant pathways. *J Dairy Sci* 2018;101 (6) :4747–4761.