

分離大豆たん白質の空腹時および脂肪負荷後血清アポ たん白質に及ぼす影響

繁 英樹*・東 賢治・石川俊次・鈴木満雄・山下 毅・富安幸志・
吉田 博・細合浩司・伊藤利光・中島 啓・綾織誠人・米村 篤・
宮島恵美子・乃美御幸・中村治雄

防衛医科大学校第一内科

Effects of Soy Protein Isolate on Fasting and Postprandial Lipemia in Normolipidemic Subjects

Hideki SHIGE, Kenji HIGASHI, Toshitsugu ISHIKAWA, Michio
SUZUKAWA, Takeshi YAMASHITA, Koji TOMIYASU, Hiroshi
YOSHIDA, Hiroshi HOSOAI, Toshimitsu ITO, Kei NAKAJIMA,
Makoto AYAORI, Atsushi YONEMURA, Emiko MIYAJIMA,
Miyuki NOMI and Haruo NAKAMURA

First Department of Internal Medicine, National Defense Medical College,
Tokorozawa 359

ABSTRACT

Postprandial lipemia has recently been considered to be atherogenic. We have previously reported that soybean protein decreased the postprandial level of remnant lipoprotein in normolipidemic subjects, whereas casein increased it. To elucidate the effect of soy bean protein on fasting and postprandial plasma apolipoproteins, oral fat load tests were performed in normolipidemic male subjects. Eleven normolipidemic male subjects were assigned to a diet containing either 20 g/day soy protein isolate (SPI) or casein for three weeks in a crossover design. Both diets consisted of ordinary foods and compositions added with 20 g/day of SPI or casein. Forty g/m² of cow milk fat were administered before and after three weeks of the experimental diets. Fasting plasma apolipoprotein concentrations did not change during both SPI and casein diet. Remnant like particles-cholesterol (RLP-C) response area was significantly increased by casein diet, whereas it was decreased by SPI diet. ApoE response area tended to decrease after SPI diet compared to casein diet. These combined results suggest that SPI diet favorably alters a postprandial lipemia in normolipidemic subjects. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **17**, 118-124, 1996.

*〒359 所沢市並木 3-2

動物性たん白質に富む欧米型の食生活は血清コレステロール、特に低比重リポたん白質コレステロール (LDL-C) を上昇させ、虚血性心疾患の死亡率を増加させる。しかし虚血性心疾患を有する患者の一部には空腹時血清脂質に異常を認めない例も存在する。近年、動脈硬化性疾患を有する患者では健康者に比較して中性脂肪(TG)リッチリポたん白質の処理が障害され、食後高TG血症や高レムナントリポたん白質血症が遷延していることが報告され、注目されている¹⁻⁶⁾。

食事中の動物性たん白質を大豆たん白質等の植物性たん白質に置換した場合、ヒトにおいて空腹時血清コレステロールが低下することが報告されている⁷⁻¹⁰⁾。またこの機序として(1)LDL受容体活性の上昇¹¹⁻¹⁴⁾、(2)腸管からのコレステロール、胆汁酸吸収の抑制¹⁵⁻¹⁷⁾、(3)リポたん白質リパーゼ(LPL)活性の上昇¹⁸⁾、(4)インスリン、甲状腺ホルモン等の変化¹⁹⁾などが報告されている。また、これらの因子は、中性脂肪(TG)リッチリポたん白質の代謝に影響することが知られており、我々は、大豆たん白質が脂肪負荷後レムナントリポたん白質の増加を抑制することを報告した²⁰⁾。

今回さらに我々は、大豆たん白質の空腹時および脂肪負荷後アポたん白質に及ぼす影響を検討するため以下の実験を行った。

方 法

対象

11名の健常男性を対象とした (32.6 ± 6.4 歳, body mass index (BMI) 24.6 ± 2.8)。

実験デザイン

実験デザインを Fig. 1 に示す。対象を無作為に 2 群に分けた。両群にベースライン期間として 1 週間、大豆製品を含まない同一の食事を摂取させた後、1 群に 20 g/日の分離大豆たん白質(SPI)を、他群に同量のカゼインを含む食事を 3 週間摂取させた。2 週間のインターバルの後、クロスオーバーし、さらに同様の検討を行った。期間中、1 週間おきに空腹時血清脂質、アポたん白質を測定した。SPI およびカゼイン食摂取前および 3 週間後に体表面積当たり 40 g/m²の乳脂肪 (明治フレッシュクリーム) と 50,000 IU/m²のビタミン A を含む脂肪負荷試験を実施した。脂肪負荷前、及び 2 時間毎に 6 時間まで採血を行った。実験期間中、SPI 及びカゼインを除く他の食事成分は一定となるように調整した。

測定

血清脂質は酵素法にて測定した。高比重リポたん白質コレステロール(HDL-C)は沈澱法にて測定した。レムナント様粒子コレステロール(RLP-C)、及び RLP-TG はモノクローナル抗体法にて測定した。LDL-C は Friedewald の式にて求めた。

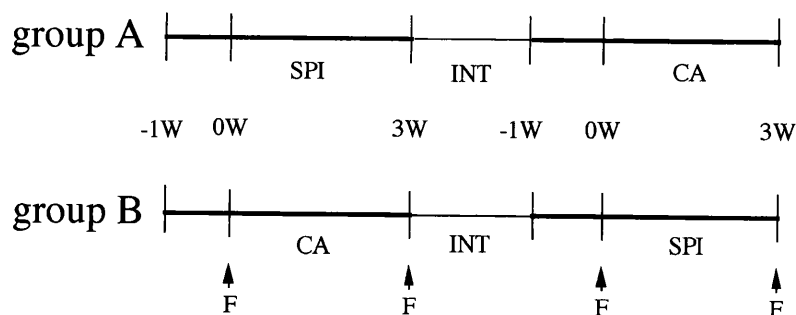


Fig. 1. Study design.

CA : soup containing casein(20 g/day)

SPI : soup containing SPI(20 g/day)

INT : 2 weeks interval

F : oral fat load test

統計

SPI およびカゼイン摂取期間中の空腹時血清脂質, アポたん白質および摂取期間前後での脂肪負荷後血清脂質, アポたん白質の変化は repeated measures ANOVA にて検討した. 摂取期間前後の脂肪負荷後血清脂質変化の曲線下面積 (AUC) の比較は paired *t*-testで行った.

結 果

SPI およびカゼイン摂取期間中, 空腹時総コレステロール(TC) (Fig. 2), TG, HDL-C, LDL-C は前値に比較して変化しなかった. また, 血清アポたん白質濃度も変化しなかった (Figs. 3,4 and 5). また両食事間の比較においても血清脂質, アポたん白質に差

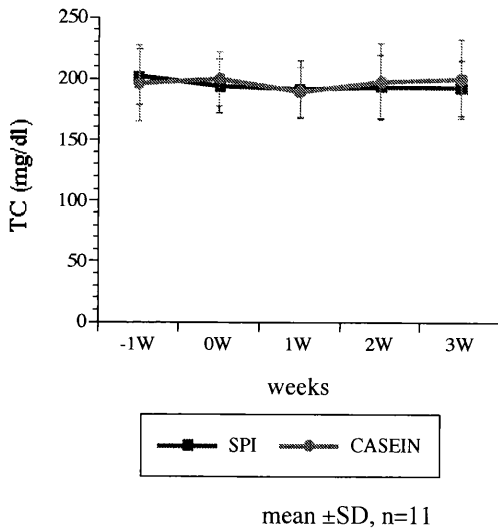


Fig. 2. Effect of SPI and casein on fasting serum TC level.

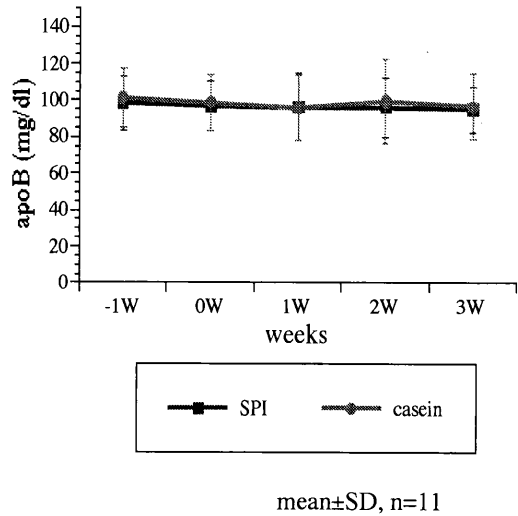


Fig. 4. Effects of SPI and casein on fasting serum apoB level.

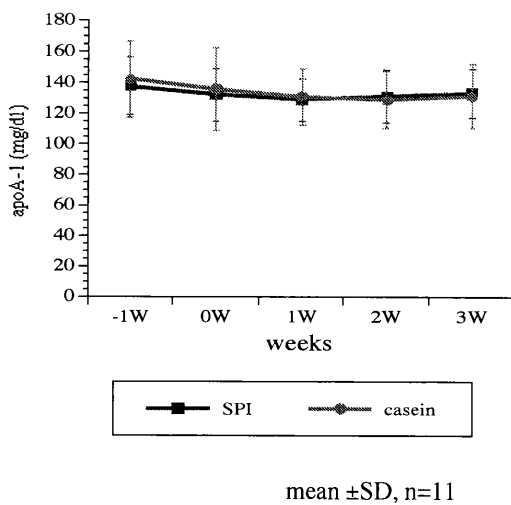


Fig. 3. Effects of SPI and casein on fasting serum apoA-1 level.

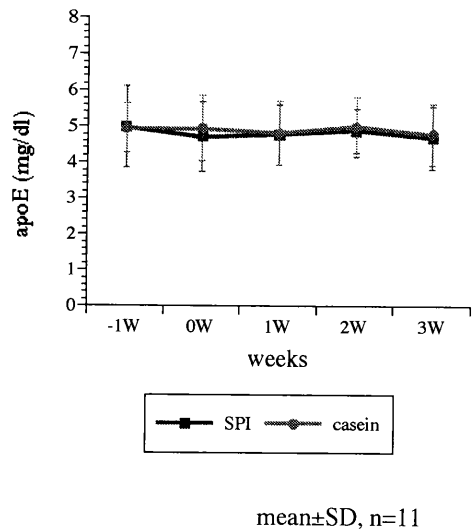


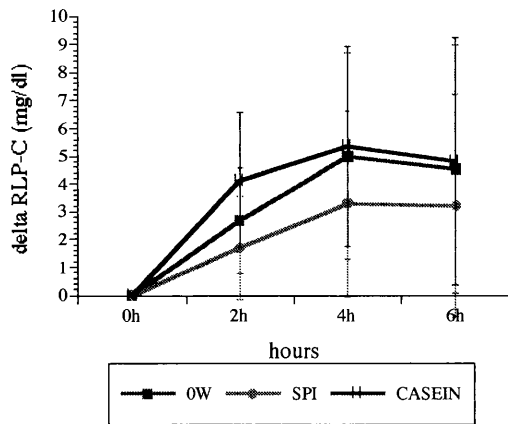
Fig. 5. Effects of SPI and casein on fasting serum apoE level.

Table 1. Effects of SPI and casein on the AUC of serum lipids, RLP and apoproteins

	SPI diets			Casein diet		
	before	after	<i>P</i> value	before	after	<i>P</i> value
TG(mgh/dL)	486±335	454±298	0.534	432±227	461±183	0.55
RLP-TG(mgh/dL)	420±334	363±374	0.51	408±352	417±242	0.86
RLP-C(mgh/dL)	20.9±14.5	13.1±13.3 *	0.07	18.7±15.3	23.7±14.5	0.03
apoA-1(mgh/dL)	57.5±35.6	30.2±35.6	0.083	42.7±28.8	27.3±22.3	0.13
apoB(mgh/dL)	59.0±36.4	42.1±32.7	0.09	48.1±22.7	49.8±15.5	0.84
apoE(mgh/dL)	1.5±1.9	0.6±0.7	0.11	0.8±1.0	1.9±1.9	0.69

mean±SD, n=11

*, *P*<0.05 compared to after casein diet



mean±SD, n=11

Fig. 6. Effects of SPI and casein on the response of RLP-C to fat load test.

を認めなかった。

SPI およびカゼイン摂取前後に行った脂肪負荷試験において、負荷後各時間の血清 RLP-C 値の脂肪負荷前値に対する増加分デルタ RLP-C は、カゼイン摂取 3 週間後には摂取前に比較して、2 時間目から 6 時間目に至るまで高値を示した (Fig. 6)。一方、デルタ RLP-C は SPI 摂取 3 週後は摂取前に比較して 2 時間目から 6 時間目に至るまで低値を示した (Fig. 6)。

各脂質の前値からの増加曲線の AUC を Table 1 に示す。RLP-C の AUC は、SPI 摂取 3 週後は、カゼイン摂取 3 週後に比較して有意に低値であった。SPI 摂取 3 週後には、アポ B の AUC は摂取前に比較して減少傾向を示した。アポ E の AUC はカゼイン摂取

3 週後は摂取前に比較して増加傾向を示した。また、アポ E の AUC は SPI 摂取 3 週後は、カゼイン摂取 3 週後に比較して低値の傾向を示した。これらの結果、健常男性において 20 g/日の SPI 摂取は空腹時血清脂質、アポたん白質に影響を与えないが食後高脂血症、特に RLP-C、およびアポ E 代謝に好影響を与えることが示された。

考 察

本研究において、脂肪負荷後アポ E の反応は、3 週間のカゼイン摂取後に比較して SPI 摂取後に低値の傾向を示した。また、脂肪負荷後アポ B の反応は SPI 摂取前に比較して SPI 摂取 3 週後には低値の傾向を示した。

これまで、大豆たん白質が実験動物やヒトにおいて空腹時血清 TC、および TG を低下させることが報告されている。この血清 TC、TG の低下機序として、LDL 受容体活性の上昇、コレステロールや胆汁酸の腸管からの吸収の抑制、LPL 活性の上昇、ホルモン機能の変化等が指摘されている。またこの空腹時血清脂質低下作用は、対象が高コレステロール食などの食事因子²¹⁾、家族性高コレステロール血症等の遺伝因子^{11,22)}、あるいは腎不全等^{23,24)}の慢性疾患等によって高脂血症となった場合に認められている。さらにこの大豆たん白質による血清脂質低下作用には用量依存性が認められており、1 日に 25 g の大豆たん白質摂取で、およそ 8.9 mg/dL のコレステロール低下作用があるとされている⁷⁾。今回の我々の検討では、健常男性に 20 g/日の SPI あるいはカゼインを摂取させた場合、空腹時血清脂質、および血清アポたん白質濃度

は変化しなかった。今回の検討では対象者はすべて正脂血症であり、また対象は低脂肪、低コレステロールの一般的な日本食を摂取していた。また対象のSPI摂取量は20 g/日と少量であった。これらの理由から、今回の検討では空腹時血清脂質、アポたん白質濃度は変化しなかったと考えられる。

SPI 20 g/日の摂取が脂肪負荷後レムナントリポたん白質、アポE、アポBの反応をカゼインに比較して減少させた機序については今回の研究では検討していない。食後高脂血症は空腹時血清TG、HDL-Cに影響を受ける事が知られているが、今回は空腹時血清脂質には変化を認めず、空腹時血清TG、HDL-C濃度は脂肪負荷後RLP-C反応の変化を説明できない。また、LDL受容体はTGリッチリポたん白質代謝に関与することが知られている。しかし今回の検討では空腹時LDL-Cに変化を認めず、LDL受容体活性は今回の実験条件では影響を受けなかったと考えられた。LPL活性も食後高脂血症に対して影響をおよぼす重要な因子であるが、空腹時、および脂肪負荷後TG、RLP-TGには変化がないことから、SPI 20 g/日の摂取はLPL活性に影響を与えなかったと考えられる。

今回のRLP-Cの反応の低下は脂肪負荷2時間及び4時間後の急性期から認められている。RLP-Cはカイロミクロンおよびカイロミクロンレムナントのコレステロールレベルを表している。従って脂肪負荷後

RLP-Cの増加はカイロミクロン由来のコレステロールの血中での増加を反映していると考えられる。脂肪負荷後急性期の血清脂質レベルの上昇は腸管からの吸収率を反映しており、従って今回のSPI摂取後の脂肪負荷後RLP-Cの反応の低下は、腸管でのコレステロールの選択的な吸収抑制を意味していると考えられた。

今回の検討では脂肪負荷後血清アポEの反応性もSPI摂取によってカゼイン摂取に比較して低下傾向を示した。カイロミクロンや超低比重リポたん白質(VLDL)はアポEを介して細胞表面のLDL受容体やレムナント受容体に認識され細胞内にコレステロールを蓄積することが知られている^{25,26)}。またこの際、LDLが酸化等の化学的修飾を受けたのちにマクロファージに認識されマクロファージを泡沫細胞化するのに対して、レムナントリポたん白質は化学的変性を受けることなしにマクロファージに取り込まれ泡沫化すると考えられている。今回脂肪負荷後アポEの反応の低下がどのリポたん白質画分で起こっていたのか検討していないが、SPIの摂取が脂肪負荷後RLP-CおよびアポEの反応を低下させ、脂肪負荷後増加するレムナントリポたん白質をコレステロールおよびアポEの含有量が少ない、泡沫細胞を形成しにくいレムナントに変化させている可能性があり、このことは動脈硬化予防に有効であると考えられた。

要 約

健康男性にSPI 20 g/日を3週間摂取させたところ、カゼイン摂取に比較して空腹時血清脂質、アポたん白質には影響しなかったが、脂肪負荷後のRLP-C、およびアポEの反応を減少させた。大豆たん白質摂取は脂肪負荷後に増加するレムナントリポたん白質のコレステロールおよびアポたん白質含有量を減少させ、動脈硬化に対して抑制的に働く可能性が示唆された。

文 献

- 1) Ginsberg HN, Jones J, Blamer WS, Thomas A, Karmally W, Fields L, Blood D and Begg MD (1995) : Association of postprandial triglyceride and retinyl palmitate responses with newly diagnosed exercise-induced myocardial ischemia in middle-aged men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **15**, 1829-1838.
- 2) Sharrett AR, Chambless LE, Heiss G, Paton CC and Patsch W (1995) : Association of postprandial triglyceride and retinyl palmitate responses with asymptomatic carotid artery atherosclerosis in middle-aged men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **15**, 2122-2129.
- 3) Patsch JR, Meisenbock G, Hopferwieser T, Muhlberger V, Knapp E, Dunn JK, Gotto AM Jr and Patsch W (1992) : Relation of triglyceride metabolism and coronary disease. *Arterioscler Thromb*, **12**, 1336-1345.

- 4) Groot PHE, Stiphout WAH, Krauss XH, Jansen H, Tol A, Ramshorst E, Chin-on S, Hofman A, Cresswell SR and Havekes L(1991) : Postprandial lipoprotein metabolism in normolipidemic men with and without coronary artery disease. *Arterioscler Thromb*, **11**, 653-662.
- 5) Simpson HS, Williamson CM, Olivecrona T, Pringle S, Maclean J, Lorimer AR, Bonnefous F, Bogaievsky Y, Packard CJ and Shepherd J (1990) : Postprandial lipemia, fenofibrate and coronary artery disease. *Atherosclerosis*, **85**, 193-202.
- 6) Simons LA, Dwyer T, Simons J, Bernstein L, Mock P, Poonia NS, Balasubramaniam S, Baron D, Barnson J, Morgan J and Roy P (1987) : Chylomicrons and chylomicron remnants in coronary artery disease: a case control study. *Atherosclerosis*, **65**, 181-189.
- 7) Anderson JW, Johnstone BM and Cook-Newell ME(1995) : Meta-analysis of the effects of soy protein on serum lipids. *N Engl J Med*, **333**, 276-282.
- 8) Goldberg AP, Lim A, Kolar JB, Grundhauser JJ, Steinke FH and Schonfeld G(1982): Soybean protein independently lowers plasma cholesterol levels in primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, **43**, 355-368.
- 9) Sirtori CR, Lovati MR, Manzoni C, Monetti M, Pazzucconi F and Gatti E(1995) : Soy and cholesterol reduction: clinical experience. *J Nutr*, **125**, 598S-605S.
- 10) Erdman JW Jr and Fordyce EJ(1989) : Soy products and the human diet. *Am J Clin Nutr*, **49**, 725-737.
- 11) Lovati MR, Manzoni C, Canavesi A, Sirtori M, Vaccarino V, March M, Gaddi G and Sirtori CR (1987) : Soybean protein diet increases low density lipoprotein receptor activity in mononuclear cells from hypercholesterolemic patients. *J Clin Invest*, **80**, 1498-1502.
- 12) Gaddi A, Ciarocchi A, Matteucci A, Rimondi S, Ravaglia G, Descovich GC and Sirtori CR (1991) : Dietary treatment for familial hypercholesterolemia—differential effects of dietary soy protein according to the apolipoprotein E phenotype. *Am J Clin Nutr*, **53**, 1191-1196.
- 13) Sirtori CR, Galli G, Lovati MR, Carrara P, Bosisio E and Kienle MG(1984) : Effects of dietary proteins on the regulation of liver lipoprotein receptors in rat. *J Nutr*, **114**, 1493-1500.
- 14) Cohn JS and Nestel PJ(1985) : Hepatic lipoprotein receptor activity in rats fed casein and soy protein. *Atherosclerosis*, **56**, 247-250.
- 15) Huff MW and Carroll KK(1980) : Effects of dietary protein on turnover, oxidation, and absorption of cholesterol, and on steroid excretion in rabbits. *J Lipid Res*, **21**, 546-558.
- 16) Vahouny GV, Chalcarz W, Satchithanandam S, Adamson I, Klurfeld DM and Kritchevsky D (1984): Effect of soy protein and casein intake on intestinal absorption and lymphatic transport of cholesterol and oleic acid. *Am J Clin Nutr*, **40**, 1156-1164.
- 17) Ho HT, Kim DN and Lee KT(1989) : Intestinal apolipoprotein B-48 synthesis and lymphatic cholesterol transport are lower in swine fed high fat, high cholesterol diet with soy protein than with casein. *Atherosclerosis*, **77**, 15-23.
- 18) Vessby B, Karlstrom B, Lithell H, Gustafsson and Werner I(1982) : The effects on lipid and carbohydrate metabolism of replacing some animal protein by soy protein in a lipid lowering diet for hypercholesterolemic patients. *Human Nutr—Appl Nutr*, **36**, 179-189.
- 19) Forsythe WA III(1986) : Comparison of dietary casein or soy protein effects on plasma lipids and hormone concentrations in the gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Nutr*, **116**, 1165-1171.
- 20) 繁 英樹, 東 賢治, 石川俊次, 山下 毅, 富安幸志, 吉田 博, 細合浩司, 伊藤利光, 中島 啓, 綾織誠人, 米村 篤, 宮島恵美子, 及美御幸, 中村治雄 (1995) : 分離大豆たん白質は食後高レムナント血症を改善する. 大豆たん白質研究会会誌, **16**, 36-40.
- 21) Kim DN, Lee KT, Reiner JM and Thomas WA (1980) : Increased steroid excretion in swine fed high-fat high cholesterol diet with soy protein. *Exp Mol Pathol*, **33**, 25-35.
- 22) Jacques H, Laurin D, Moorjani S, Steinke FH, Gagne C, Brun D and Lupien PJ(1992) : Influence of diets containing cow's milk or soy protein beverage on plasma lipids in children

- with familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Nutr*, **11**, 69S-73S.
- 23) D'Amico G and Gentile MG (1993) : Influence of diet on lipid abnormalities in human renal disease. *Am J Kidney Dis*, **22**, 151-157.
- 24) D'Amico G, Gentile MG, Manna G, Fellin G, Ciceri R, Cofano F, Petrini C, Lavarda F, Perolini S and Porrini M (1992) : Effect of vegetarian soy diet on hyperlipidemia in nephrotic syndrome. *Lancet*, **339**, 1131-1134.
- 25) Kruel ES, Tikkanen MJ, Cole TG, Davie JM and Schonfeld G (1985) : Roles of apolipoproteins B and E in the cellular binding of very low density lipoproteins. *J Clin Invest*, **75**, 361-369.
- 26) Sehayek E and Eisenberg S (1990) : Abnormal composition of hypertriglyceridemic very low density lipoprotein determines abnormal cell metabolism. *Arteriosclerosis*, **10**, 1088-1096.