

高脂血症患者における大豆たん白質の血清脂質，血小板機能， および凝固線溶系と動脈硬化の進展への効果

脇 昌子*・都島基夫・山下尚子・良本佳代子・洪 秀樹・小松良哉・
原 泰志・松山辰男

国立循環器病センター内科

Effect of Soy Protein on Serum Lipid, Platelet Aggregation and Hemostatic Markers and Progression of Atherosclerosis in Hyperlipidemic Patients

Masako WAKI, Motoo TSUSHIMA, Naoko YAMASHITA, Kayoko RYOHMOTO,
Hideki KOH, Ryohya KOMATSU, Yasushi HARA and Tatsuo MATSUYAMA

National Cardiovascular Center, Suita 565

ABSTRACT

Platelet aggregation and hemostatic markers play an important role in atherosclerosis. Soy protein has been known to be antiatherogenic and it has mainly been explained by its hypocholesterolemic effect. Whether soy protein affects platelet function and hemostatic markers has not been well known. This study conducted to compare the effect of soy protein intake to low fat milk on serum lipids, platelet function and coagulation and fibrinolysis system in hypercholesterolemic subjects. Fifteen middle aged female patients with mild hypercholesterolemia were examined. The patients were randomly assigned to take firstly soy protein (12 g/day) or low fat milk (protein 14 g/day, energy 160 kcal). After a month with first food, the patients took the other food for the second month. Blood sampling was performed monthly before and after the study. Serum lipids, apoproteins, platelet aggregation, coagulation and fibrinolysis markers were examined. Total cholesterol in serum was not changed significantly with soy protein and low fat milk intake ($m \pm SD$; 244 ± 35 mg/dL at baseline, 248 ± 24 mg/dL with soy protein and 250 ± 35 mg/dL with milk). Serum levels of triglyceride, HDL-cholesterol, Apo A₁, A₂, B, C₂, C₃ and E, platelet aggregation induced by ATP, hemostatic markers were not significantly changed either, except for plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) and D-dimer. Percent change in PAI-1 level estimated after one month intake of soy protein and its baseline level showed a negative relationship, although it did not reach the significance.

*〒565 大阪府吹田市藤白台5-7-1

There was no such tendency with milk intake. Change in D-dimer with soy protein intake was significantly lower than that with milk intake (-6.6% vs $+14.2\%$, respectively, $P < 0.05$). These results indicate that compared to low fat milk intake soy protein may have a favorable effect on hemostatic system in the process of atherosclerosis. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **17**, 129-134, 1996.

Key words: soy protein, milk, platelet aggregation, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), D-dimer, atherosclerosis

実験動物では、大豆たん白質で飼育したほうが、動物性たん白質(カゼイン)に比べ、動脈硬化を起こしにくいことが従来より知られている¹⁾。大豆たん白質により血清コレステロール、中性脂肪が低下することが

動脈硬化を抑制している一因と考えられる。一方、血小板、凝固線溶系の機能は血清脂質値と共に動脈硬化の進展における重要な要因となるが、大豆たん白質のこれらに及ぼす効果については充分明らかではない。本研究では今回、大豆たん白質摂取による血小板、凝固線溶系に及ぼす影響を検討し、低脂肪牛乳摂取時のそれらの値と比較した(crossover 研究)。さらには今後、大豆たん白質摂取による動脈硬化そのものの進展への影響を長期的にわたり観察し、低脂肪牛乳摂取時と比較する予定であるが、本稿ではこの crossover 研究についてのみ報告する。

Table 1. Characteristics and dietary backgrounds of the hypercholesterolemic patients.

n	15(all female)
Age(y)	59.3±5.3
Body weight(kg)	54.7±8.3
BMI(kg/m ²)	23.6±3.4
Dietary intake	
Energy(kcal/day)	1427.1±260.7
Fat(g)	45.4±15.1
Cholesterol(mg)	188.1±57.6
Polyunsaturated fat(g)	12.3±4.6
Saturated fat(g)	11.9±4.3
P/S ratio	1.1±0.02

方 法

対象(Table 1)

高コレステロール血症を有する外来通院患者15人(全例女性)を対象とした。臨床的に明らかな動脈硬化性疾患や感染症などを合併しない症例に限った。全例、

	0 mo	1 mo	2 mo	7 mo	13 mo
	Crossover study		Long follow-up study		
Group					
Soy protein first	< - - - - - SP - - - - - >		< - - - - - - - - - Milk - - - - - >		
Milk first	< - - - - - Milk - - - - - >		< - - - - - - - - - SP - - - - - >		
Examinations					
Blood test*	●	●	●	●	●
Dietary questionnaire	●	●	●	●	●
Abdominal CT scanning	●				●
Echogram of carotid arteries	●				●
Bone mineral density (by DEXA)	●				●

Fig. 1. Protocol of the study. *Blood test included serum lipids, apoproteins, hemostatic markers and platelet aggregation test. SP and milk denote soy protein intake and low fat milk intake, respectively.

研究開始以前から繰り返し食事指導を受けており、6例は研究開始3か月前より脂質降下剤を服用していたが、研究期間中投薬の変更はなかった。

研究プロトコール (Fig. 1)

大豆たん白質はビスケット、スープ(254 kcal, protein 14 g)として、または同量のたん白質相当の粉末大豆たん白質(プロリーナ200)やがんもどきを用いた。低脂肪牛乳には市販品を1日400 mL (160 kcal, protein 12 g)とした。このような大豆たん白質と低脂肪牛乳を各一か月ずつ摂取するよう指示した。封筒法にて大豆たん白質または牛乳のいずれを先行摂取するかを選択し、一か月後他方の食品に crossover した。

採血は一夜絶食後、午前9時から10時の間に行った。血清脂質、アポたん白質、血小板凝集能、血漿 fibrinogen, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), D-dimer などの凝固線溶マーカーの測定を、Fig. 1 に示すように一か月毎に測定し比較検討した。

定期的に栄養士により食事の聞き取りと食習慣アンケート調査を行い、摂取エネルギー量や脂肪量とその内容について調査し、また大豆たん白質製品と低脂肪牛乳各々の摂取状況を確認した。研究開始時の摂取栄養素量調査の結果を Table 1 に示した。

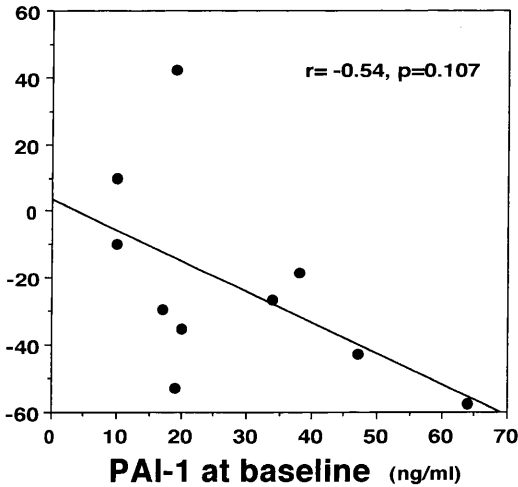
Table 2. Analytical methods for serum lipids, apoproteins and hemostatic markers

Serum lipids	
Total cholesterol	Enzymatic assay
Triglyceride	Enzymatic assay
HDL-cholesterol	Enzymatic assay
LDL-cholesterol	Friedewald's equation
Apoprotein	
Apo A ₁ , A ₂ , B	Immunoturbidimetry
Apo C ₂ , C ₃ , E	
Hemostatic parameters	
Fibrinogen	Immunoturbidimetry
Thrombin-Antithrombin Complex (TAT)	
D-dimer	EIA
Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1)	ELISA
Plasminogen	Chromogenic assay
Antithrombin III (AT III)	Chromogenic assay
Platelet function	
Aggregation	1 μM & 2 μM ADP
Platelet Factor 4 (PF 4)	
β-Thromboglobulin (βTG)	EIA

Table 3. Serum lipids, apoproteins, and hemostatic markers at baseline and 1 month intake of soy protein or low fat milk

	Baseline	Soy protein	Milk
Total cholesterol(mg/dL)	244.3 $\pm$ 34.7	248.2 $\pm$ 24.1	249.7 $\pm$ 35.2
Triglyceride(mg/dL)	112.7 $\pm$ 49.2	113.7 $\pm$ 51.9	122.3 $\pm$ 53.2
HDL-cholesterol(mg/dL)	62.4 $\pm$ 7.5	64.0 $\pm$ 11.5	64.5 $\pm$ 11.1
LDL-cholesterol(mg/dL)	159.3 $\pm$ 29.4	161.5 $\pm$ 25.0	160.7 $\pm$ 35.1
Apo A1(mg/dL)	139.7 $\pm$ 17.8	151.1 $\pm$ 29.0	148.4 $\pm$ 21.1
Apo A2(mg/dL)	37.4 $\pm$ 5.4	38.7 $\pm$ 8.0	38.9 $\pm$ 6.7
Apo B(mg/dL)	124.7 $\pm$ 25.5	125.2 $\pm$ 23.7	129.1 $\pm$ 25.1
Apo C2(mg/dL)	4.51 $\pm$ 1.50	4.81 $\pm$ 1.59	4.88 $\pm$ 1.50
Apo C3(mg/dL)	11.6 $\pm$ 1.5	12.4 $\pm$ 4.5	12.4 $\pm$ 3.8
Apo E(mg/dL)	5.87 $\pm$ 1.15	5.96 $\pm$ 0.78	6.27 $\pm$ 0.98
Platelet aggregation			
ADP 1 μ M(%)	37.5 $\pm$ 9.9	32.7 $\pm$ 12.8	30.5 $\pm$ 10.7
ADP 2 μ M(%)	46.9 $\pm$ 10.3	43.3 $\pm$ 13.1	41.5 $\pm$ 12.1
β TG(ng/mL)	95.2 $\pm$ 181	34.2 $\pm$ 32.5	34.4 $\pm$ 25.7
PF 4(ng/mL)	29.7 $\pm$ 48.9	8.4 $\pm$ 12.4	8.3 $\pm$ 9.6
Fibrinogen(mg/dL)	320.9 $\pm$ 67.4	309.6 $\pm$ 51.8	317.0 $\pm$ 51.2
TAT(ng/mL)	3.63 $\pm$ 2.80	2.59 $\pm$ 1.11	4.37 $\pm$ 6.78
D-dimer(ng/mL)	89.6 $\pm$ 44.9	80.2 $\pm$ 33.9	96.3 $\pm$ 42.7
PAI-1(ng/mL)	28.0 $\pm$ 16.2	21.9 $\pm$ 12.6	34.0 $\pm$ 2.5
AT III(%)	116.3 $\pm$ 11.9	109.2 $\pm$ 12.8	113.9 $\pm$ 8.6
Plasminogen(%)	109.9 $\pm$ 10.1	107.5 $\pm$ 10.9	109.8 $\pm$ 8.9

%dPAI-1 with soy protein intake



%d PAI-1 with milk intake

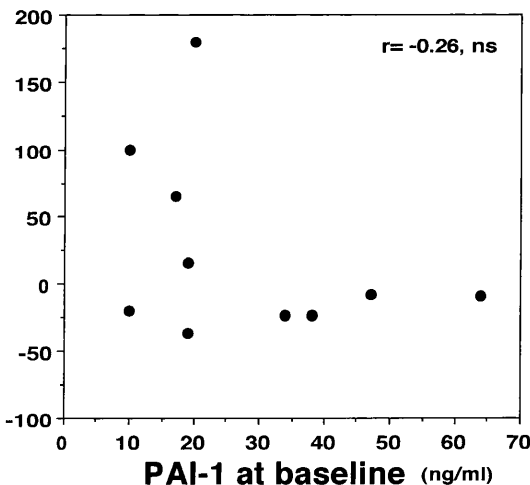


Fig. 2. Relationships between baseline level and percent changes of PAI-1 estimated a month after soy protein intake(upper panel) and after milk intake(lower panel).

検査方法

各期検査時に空腹時採血し、Table 2に示す項目について測定した。

推計学的検討

各測定項目について、大豆たん白質摂取先行群(n=6)、低脂肪牛乳摂取先行群(n=9)をあわせて、前値、大豆たん白質摂取時、低脂肪牛乳摂取時の3測定値の差について反復測定のある分散分析法にて検討した。また、前値に比べての大豆たん白質摂取時および低脂肪

%d D-dimer

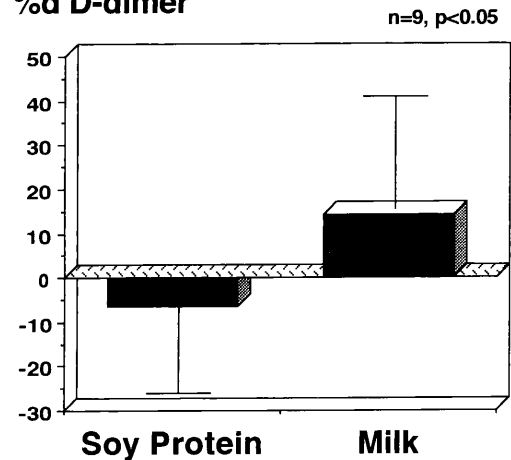


Fig. 3. Comparison of percent changes in D-dimer level between soy protein intake and milk intake.

牛乳摂取時の測定値の変化率を算出し、両者を *t*-test にて比較検討した。測定値間の関連の検討は回帰分析によった。数値は平均値±SD にて示す。一部の検査値について検討不可能な例があり、症例数は各々の結果中に示した。

結 果

総コレステロールは、前値 244.3 ± 34.7 mg/dL で大豆たん白質先行群、牛乳先行群ともに、分散分析にては有意な変化を認めなかった(Table 3)。他の血清脂質やアポたん白質、*in vitro* のADPによる血小板凝集能、*in vivo* の血小板機能の指標である β TG、PF4、凝固系、線溶系いずれのマーカーも同様に、全例での検討では、大豆たん白質時、牛乳時ともに有意な変化を認めなかった(Table 3)が、D-dimer と PAI-1 値は大豆たん白質摂取時に低下する傾向がみられた(各々 F 値=2.68, 2.34, $P=0.099, 0.125$)。PAI-1 値について、前値から大豆たん白質摂取時、牛乳摂取時の測定値の増加率と前値の関連を検討した。Fig. 2 上段に示すように、大豆たん白質摂取時には PAI-1 の前値が高い症例ほど PAI-1 値が減少する傾向($r=-0.54$, $P=0.107$)を認めたが、他方下段のように牛乳摂取時にはこのような傾向はみられなかった。

D-dimer については、前値から大豆たん白質時の変化率と牛乳時の変化率を比較した(Fig. 3)。牛乳摂取時には D-dimer が増加傾向であるのと比べて、大豆たん白質摂取時には有意に変動率が小さかった($P<0.05$)。

考 察

本研究では、高コレステロール血症患者において、大豆たん白質製品と低脂肪牛乳摂取による血清脂質と凝固線溶系への影響を検討したが、血清脂質およびアポたん白質には両食品摂取時とも有意な変化を認めなかった。従来より、大豆たん白質による血中コレステロール低下作用が知られている²⁻⁴⁾。血清脂質が高いほど、また動物性脂肪の摂取量が多い症例ほどこの作用が出やすいと言われている³⁾。本研究で血清脂質に変化がみられなかったことには、摂取たん白質量を、長期的なコンプライアンスを考慮12 g/dayと少なく設定したこと、対象者のコレステロール値が240 mg/dL前後と高脂血症の程度が軽度であったこと、既に充分栄養指導を受け遵守が良好で、基礎の食事がP/S比の比較的高いものであったことなどが影響していると考えられた。

血小板機能、凝固線溶系の状態は、血清コレステロール値とともに動脈硬化、血栓症の進展、発症に大きな役割を担っている。D-dimerはフィブリン分解産物の一種で、心筋梗塞、脳梗塞などの動脈硬化性疾患で上昇し凝固亢進状態のマーカーと考えられている⁵⁾。一方PAI-1は主に血管内皮由来の物質で、凝固フィブリンを溶解するplasminogenの活性を抑制する⁶⁾。明

らかな動脈硬化症、血栓症を発症していない症例を対象としても頸動脈の超音波でみた内中膜の肥厚度は、PAI-1、D-dimerともに高いほど厚くなると報告され、両者の動脈硬化進展への関与が示唆されている⁵⁾。今回、PAI-1値は高い症例ほど大豆たん白質摂取時に低下する傾向があり、また牛乳時と比べ大豆たん白質摂取時はD-dimerは増加しない傾向が示された。このことから動脈硬化性疾患の予防上、血清脂質以外に凝固線溶系を介しても、大豆たん白質は好ましい影響を及ぼす可能性が示唆されよう。

大豆たん白質がどのような機序を介して線溶系に作用するかは不明である。本研究では、血清脂質の変化とPAI-1、D-dimer値の変化の間には関連がなかったことから、大豆たん白質による血清脂質を介さない効果である可能性がある。ウサギにおける動脈硬化の研究ではカゼイン飼育により大豆たん白質やchow飼育ではみられない初期動脈硬化巣が生じ、血管内皮細胞のICAM-1、VCAM-1などの接着分子の発現がみられると報告されている⁷⁾。このように摂取たん白質の違いが血管内皮細胞機能を変化させることが示唆されることから、線溶マーカーへもなんらかの影響が及ぼされる可能性も考えられよう。また血清インスリン値や肥満がPAI-1値と関連するといわれており、これらの代謝因子、摂取たん白質、食事組成などと線溶マーカーの関係についてもさらに検討が必要である⁸⁾。

要 約

(1)大豆たん白摂取による血小板、凝固線溶系に及ぼす影響を検討し、低脂肪牛乳摂取時と比較した。

(2)高コレステロール血症を有する外来通院患者15人(全例女性)を対象とした。大豆たん白質はビスケット、スープ(254 kcal, protein 14 g)として、低脂肪牛乳は市販品を1日400 mL(160 kcal, protein 12 g)の飲用とし、各一か月ずつ摂取。封筒法にて大豆たん白質または牛乳のいずれを先行摂取するかを選択、一か月後他方の食品にcrossoverした。

(3)血清脂質、血小板凝集能、血漿fibrinogen、plasminogen activator inhibitor (PAI-1)などの凝固線溶マーカーの測定を、摂取前および牛乳、大豆たん白質摂取一か月後に測定し比較検討した。

(4)総コレステロールは、前値 244.3 ± 34.7 (mean $\pm$ SD) mg/dLで大豆たん白質先行群、牛乳先行群ともに、有意な変化を認めなかった。中性脂肪(前値 112.7 ± 49.2 mg/dL)、HDLコレステロール(前値 62.4 ± 7.5 mg/dL)も同様であった。

(5)血小板凝集能、血漿fibrinogen値にも明らかな変動はみられなかった。PAI-1値は大豆たん白質摂取時にはPAI-1の前値が高い症例ほどPAI-1値が減少する傾向($r = -0.54$, $P = 0.107$)を認めたが、牛乳摂取時にはこのような傾向はみられなかった。またD-dimerは牛乳摂取時には増加傾向にあったのに比べ、大豆たん白質摂取時は有意に変動率が小さかった($P < 0.05$)。

(6)動脈硬化性疾患の予防上、血清脂質以外に凝固線溶系を介しても、大豆たん白質が好ましい影響を及ぼす可能性が示唆された。

文 献

- 1) Kritchevsky D(1995): Dietary protein, cholesterol and atherosclerosis: A review of the early history. *J Nutr*, **125**, 589S-593S.
- 2) Anderson JW, Johnstone BM and Cook-Newell ME (1995): Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med*, **333**, 276-282.
- 3) 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.
- 4) 山本孝史, 井上五郎(1991): ヒトの血漿コレステロール濃度に及ぼす大豆タンパク質の効果. 日本栄養・食糧学会誌, **44**, 155-162.
- 5) Salomaa V, Stinson V, Kark JD, Folsom AR, Davis CE and Wu KK(1995): Association of fibrinolytic parameters with early atherosclerosis. The ARIC study. *Circulation*, **91**, 284-290.
- 6) Declerck PJ, Alessi M-C, Verstreken M, Kruithof EKO, Juhan-Vague I and Collen D (1988): Measurement of plasminogen activator inhibitor 1 in biologic fluids with a murine monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Blood*, **71**, 220-225.
- 7) Richardson M, Kurowska EM and Carroll KK (1994): Early lesion development in the aortas of rabbits fed low-fat, cholesterol-free, semipurified casein diet. *Atherosclerosis*, **107**, 165-178.
- 8) Calles-Escandon J, Ballor D, Harvey-Berino J, Ades P, Tracy R and Sobel B(1996): Amelioration of the inhibition of fibrinolysis in elderly, obese subjects by moderate energy intake restriction. *Am J Clin Nutr*, **64**, 7-11.