

大豆たん白質の血清コレステロール低下作用とコレステロール 7 α -水酸化酵素 A-204C 遺伝子多型との関連

田畑晋司¹・東 賢治¹・小倉正恒¹・小幡達雄¹・久田哲也¹・澤田正二郎¹・
綾織誠人¹・山下 毅²・石川俊次³・大鈴木孝¹・中村治雄²

¹ 防衛医科大学第1内科 ² 三越厚生事業団 ³ ソニー健康開発センター

Association of the A-204C Polymorphism in the Cholesterol 7 α -hydroxylase Gene with Cholesterol Lowering Effect of Soy Protein Isolate

Shinji TABATA¹, Kenji HIGASHI¹, Masatsune OGURA¹, Tatsuo OBATA¹,
Tetsuya HISADA¹, Syoujiro SAWADA¹, Makoto AYAORI¹, Takeshi YAMASHITA²,
Toshitsugu ISHIKAWA³, Fumitaka OHSUZU¹ and Haruo NAKAMURA²

¹ First Department of Internal Medicine, National Defense Medical College, Tokorozawa 359-8513

² Mitsukoshi Health and Welfare Foundation, Tokyo 160-0023

³ Sony Corporation Wellness Center, Tokyo 141-0001

ABSTRACT

Soy protein reportedly has a lowering effect on serum cholesterol. However, there were considerable differences in individual response during its supplementation. Cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) is one of the important enzymes for cholesterol metabolism and A-204C polymorphism in CYP7A1 gene was reported to be associated with serum cholesterol levels. We investigated the association between the polymorphism of CYP7A1 and the individual responses in serum lipids after soy protein isolate (SPI) supplementation. Sixteen healthy males aged 30.8 ± 2.6 years took 20 g of SPI per day for 4 weeks. They were divided into AA (n=4), AC (n=8), and CC (n=4) group based on A-204C polymorphism of CYP7A1. Serum total cholesterol (TC) and low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) was in the order CC > AC > AA group (TC ; 222, 195, 178 mg/100 mL, respectively, $P=0.033$; LDL-C ; 146, 111, 106 mg/100 mL, respectively, $P=0.032$), but triglycerides (TG) and high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) did not differ in each group. After SPI supplementation, TC significantly decreased in CC and AC group (5.5 and 4.5% from baseline, respectively), but did not change in AA group. LDL-C appeared to decrease in CC group, but did not reach statistical significance. There were no changes in TG and HDL-C levels in each group. These results indicate that A-204C polymorphism in CYP7A1 affects differential response in lowering serum cholesterol levels by soy protein supplementation. *Soy Protein Research, Japan* 4, 146-150 2001.

*〒 359-8513 所沢市並木 3-2

大豆たん白質のコレステロール低下作用は既に報告されており¹⁻⁴⁾、高コレステロール血症においてその効果が大きいとされているが、効果の個人差が大きいことも知られている⁵⁻⁷⁾。一方、コレステロール7 α -水酸化酵素 (CYP7A1) は胆汁酸合成の律速要因の一つとされ、その転写調節領域の遺伝子多型は、血清総コレステロール値に影響を与えることが報告されている^{8,9)}。そこで我々は、大豆たん白質のコレステロール低下効果とコレステロール7 α -水酸化酵素の遺伝子多型との関連について検討した。

方 法

対象は16名の健常男性(平均年齢30.8歳, 平均body mass index (BMI) 24.2 kg/m²)で、いずれの被検者も臨床的に肝疾患、腎疾患、内分泌疾患(家族性高コレステロール血症を含む)、消化器疾患等を有さず定期的な薬剤の服用を行っていなかった。

被験者に大豆たん白質 (soy protein isolate, SPI) 1日20 gを牛乳かヨーグルトに溶解して4週間飲用させた。試験期間前後に12時間以上の空腹時採血を行った。血清総コレステロール (TC)、トリグリセライド (TG)、高比重リポたん白質コレステロール (HDL-C)、低比重リポたん白質コレステロール (LDL-C) を酵素法で測定した。また、被検者の血液からBoomらの方法でDNAを抽出し、Jinping Wらの方法⁸⁾に基づきrestriction fragment length polymorphism (RFLP) 法でCYP7A1 (A-204C) 遺伝子多型を同定した。本研究計画について本人の同意を取得し、防衛医科大学校の倫理委員会において承認された。

数値はすべて平均±標準偏差で表した。遺伝子多型

群間比較にはKruskal-WallisのH検定を、大豆たん白質摂取前後比較にはWilcoxon符号付順位検定を用いた。 $P < 0.05$ を有意とした。

結 果

被検者は平均年齢30.8 ± 2.6歳, BMI平均22.7 ± 2.7 kg/m²であった。被検者の背景をTable 1に示す。CYP7A1 (A-204C) 多型により、AA群、AC群、CC群に分類するとそれぞれ4, 8, 4名であり、Hardy-Weinbergの分布に矛盾しなかった。年齢、BMIは各群間で有意な差は見られなかった。

ベースラインにおける血清脂質の比較では、TCおよびLDL-CはCC群 > AC群 > AA群の順に高値を示し、3群間で有意差がみられた (Fig. 1)。CC群とAA群では約18.9%の差がみられた。TGおよびHDL-Cには差がなかった。

大豆たん白質摂取前後における各群ごとの血清脂質の変化をTable 2に示す。TCはAA群で変化が認められなかったが、AC群、CC群ではそれぞれ4.4%、5.5%有意に低下した (Fig. 2)。LDL-Cは、AA群、AC群では変化がみられなかったが、CC群では6.7%低下する傾向がみられた ($P = 0.068$)。TG、HDL-Cには有意な変化は認められなかった。

考 察

CYP7A1は肝でのみ発現し、コレステロールを基質とした胆汁酸合成の酵素反応のうち最初の反応を触媒することが知られている¹⁰⁾。ヒトにおいては、CYP7A1転写調節領域に遺伝子多型が認められ、Caucasianに

Table 1. Baseline characteristics of subjects

Group	AA	AC	CC
Number	4	8	4
Age (year)	32.2 ± 2.4	30.3 ± 3.0	30.0 ± 1.2
BMI (kg/m ²)	21.9 ± 3.6	22.5 ± 2.2	24.2 ± 2.0
Number of smokers	1	3	1

Values are expressed as mean ± SD.

BMI, body mass index.

Difference among the groups was not significant.

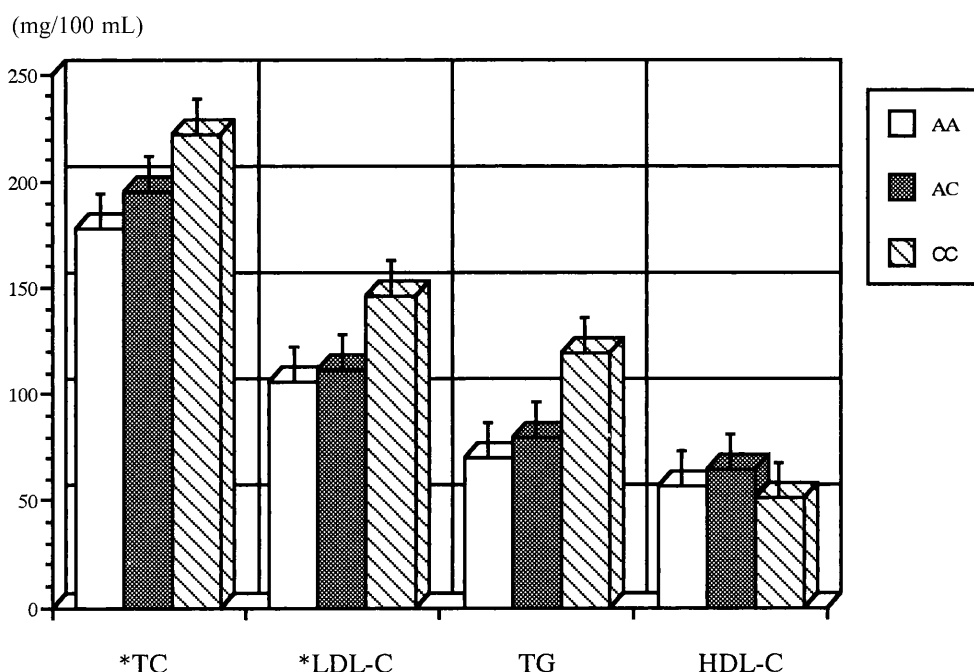


Fig. 1. Serum lipids at baseline. The difference of total cholesterol and LDL-cholesterol was significant among each groups at baseline. Values are mean $\pm$ SD. * $P < 0.05$ by Kruskal-Wallis rank test.

Table 2. Effects of CYP7A1-204C/A on changes in serum lipids after SPI supplementaion

		AA		AC		CC	
		pre	post	pre	post	pre	post
TC	(mg/100 mL)	178 $\pm$ 20	177 $\pm$ 24	195 $\pm$ 25	187 $\pm$ 27*	222 $\pm$ 25	209 $\pm$ 21*
LDL-C	(mg/100 mL)	106 $\pm$ 17	106 $\pm$ 19	111 $\pm$ 25	107 $\pm$ 26	146 $\pm$ 20	136 $\pm$ 23
TG	(mg/100 mL)	70 $\pm$ 10	74 $\pm$ 40	80 $\pm$ 26	79 $\pm$ 39	119 $\pm$ 32	128 $\pm$ 14
HDL-C	(mg/100 mL)	57 $\pm$ 7.5	58 $\pm$ 6.5	65 $\pm$ 16	65 $\pm$ 15	51 $\pm$ 7.2	54 $\pm$ 6.7

Values are expressed as mean $\pm$ SD. TC, total cholesterol ; LDL-C, low density lipoprotein-cholesterol ; TG, triglyceride ; HDL-C, high density lipoprotein-cholesterol. Change of TC in AC and CC group between pre and post SPI supplementation was significant (* $P < 0.05$).

において LDL-C 濃度に影響を与えることが報告されている⁹⁾.

本研究において, CYP7A1 (A-204C) 多型の頻度は AA : AC : CC = 1 : 2 : 1 であった. これは既報のアリル頻度^{8,9)}と一致した. また, ベースラインにおける血清 TC, LDL-C は, CC>AC>AA の順に高かったことも既報^{8,9)}と一致した. 日本人においても白人と同様に, CYP7A1 (A-204C) 多型は血清 TC および LDL-C 値に影響を及ぼすことが示唆された.

大豆たん白質摂取前後における血清脂質は, AA 群

ではほとんど変化がみられなかったのに対し, AC 群, CC 群では TC が有意に減少していた. この結果より, CYP7A1 (A-204C) 多型が大豆たん白質摂取時のコレステロール低下作用に影響し, その個人差を説明する一つの要因である可能性が示唆された.

CYP7A1 発現量あるいは酵素活性に CYP7A1 (A-204C) 多型がいかなる影響を及ぼすかについては明らかでない. 転写調節領域の塩基置換であるので転写活性に影響することが予想されるが, いまだ基礎的な機序を検討した報告はなく今後の検討を要する.

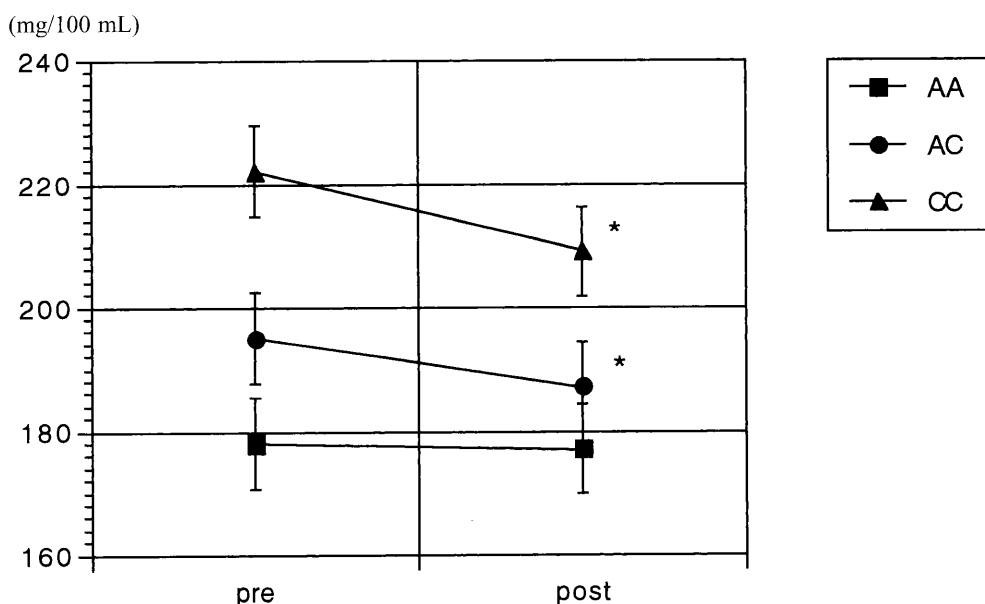


Fig. 2. Effects of CYP7A1-204C/A on changes in serum total cholesterol after SPI supplementation. Decrease of total cholesterol was larger in order of CC, AC and AA. This change in AC and CC group was significant. Values are mean $\pm$ SD. * $P < 0.05$ by Wilcoxon signed rank test.

CYP7A1の発現レベルと血清コレステロール濃度との関係については、Spady らがハムスターを用いて、CYP7A1を過剰発現させると血漿コレステロール濃度は濃度依存的に低下したと報じている¹²⁾。一方、Miyake らはCYP7A1 過剰発現マウスでは血清脂質において野生型との差はなく、LDL 受容体の発現増大とアポB含有リポたん白質の産生亢進が認められたと報告している¹³⁾。ヒトにおいてCYP7A1の発現レベルと血清脂質の関連を検討することは困難であるが、CYP7A1の発現と血清脂質代謝には上記の報告のように密接な関連があると示唆される。本研究において、CYP7A1 (A-204C) 多型CC 群ではLDL-C 高値を認め、大豆たん白質のコレステロール低下作用が顕著であった機序としては、ベースラインにおけるCYP7A1 発現低下、そして大豆たん白質摂取によるCYP7A1 発

現増大が関与していると考えられる。その他の機序として、CC 群はCYP7A1 発現低下のためLDL 受容体の発現も低下している可能性があり、大豆たん白質によるコレステロール低下作用の機序としてLDL 受容体活性化が報告されていることから、大豆たん白質のLDL 受容体活性増加作用がコレステロール低下をもたらしたことも考えられる。

本研究により、血清総コレステロールおよびLDL コレステロール濃度とCYP7A1 転写調節領域A-204C 多型との関連がみられ、さらに大豆たん白質のコレステロール低下作用にも違いが認められた。CYP7A1 (A-204C) 多型は大豆たん白質摂取前後におけるコレステロールの低下作用の個人差を決定する要因の一つである可能性が考えられた。

要 約

大豆たん白質のコレステロール低下効果は個人差が大きく、コレステロール前値が高いほど効果が大きいことが報告されている。一方、コレステロール7 α -水酸化酵素(CYP7A1) 転写調節領域のA-204C 多型は血清コレステロール値に影響を与えることが知られている。そこで我々はCYP7A1の遺伝子多型が、大豆たん白質摂取時の血清脂質の変化に及ぼす影響を検討した。16名の健康男性において大豆たん白質1日20gを4週間摂取させ、その前後で血清総コレステロール(TC)、

トリグリセライド (TG), HDL-コレステロール (HDL-C), LDL-コレステロール (LDL-C) を測定した。また CYP7A1 (A-204C) を RFLP 法で同定した。CYP7A1 (A-204C) 多型により, AA 群, AC 群, CC 群に分類するとそれぞれ 4, 8, 4 名であり, Hardy-Weinberg の分布に矛盾しなかった。TC と LDL-C は, CC 群 > AC 群 > AA 群の順に高値であった (TC; 222, 195, 178 mg/100 mL $P=0.033$; LDL-C; 146, 111, 106 mg/100 mL $P=0.032$)。TG と HDL-C には有意差を認めなかった。大豆たん白質摂取前後で TC は, CC 群と AC 群でそれぞれ 5.5%, 4.5% 有意に低下し, AA 群では変化を認めなかった。LDL-C は CC 群でのみ 6.7% 低下する傾向を示したが, AC 群と AA 群では変化がみられなかった。これらのことから, コレステロール 7 α -水酸化酵素 A-204C 多型は大豆たん白質摂取前後におけるコレステロールの低下作用の個人差を決定する要因の一つである可能性が考えられた。

文 献

- 1) 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.
- 2) Carroll KK (1991): Review of clinical studies on cholesterol-lowering response to soy protein. *J Am Diet Assoc*, **91**, 820-827.
- 3) Bakhit RM and Klein BP (1994): Intake of 25 g of soybean protein with or without soybean fiber alters plasma lipids in men with elevated cholesterol concentrations. *J Nutr*, **124**, 213-222.
- 4) Cassidy A and Bingham S (1995): Biological effects of isoflavones in young women: importance of the chemical composition of soyabean products. *Br J Nutr*, **74**, 587-601.
- 5) Fumagalli R and Soleri L (1982): Fecal cholesterol excretion studies in Type II hypercholesterolemic patients treated with the soybean protein diet. *Atherosclerosis*, **43**, 341-353.
- 6) Meinertz H and Faergeman O (1988): Effects of soy protein and casein in low cholesterol diets on plasma lipoproteins in normolipidemic subjects. *Atherosclerosis*, **72**, 63-70.
- 7) 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.
- 8) Jinping W and Dilys JF (1998): Linkage between cholesterol 7 α -hydroxylase and high plasma low-density lipoprotein cholesterol concentrations. *J Clin Invest*, **101**, 1283-1291.
- 9) Patrick C and James DO (1999): Association of the A-204C polymorphism in the cholesterol 7 α -hydroxylase gene with variations in plasma low density lipoprotein cholesterol levels in the Framingham Offspring Study. *J Lipid Res*, **40**, 1883-1889.
- 10) Jonathan CC (1999): Contribution of cholesterol 7 α -hydroxylase to the regulation of lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol*, **10**, 303-307.
- 11) Potter SM (1995): Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effects of soy. *J Nutr*, **125**, 606S-611S.
- 12) Spady DK and Cuthbert JA (1995): Adenovirus-mediated transfer of a gene encoding cholesterol 7 α -hydroxylase into hamsters increases hepatic enzyme activity and reduces plasma total and low density lipoprotein cholesterol. *J Clin Invest*, **96**, 700-709.
- 13) Miyake JH and Doung XD (2001): Increased production of Apo B100-containing lipoproteins in the absence of hyperlipidemia in transgenic mice expressing cholesterol 7 α -hydroxylase. *J Biol Chem*, **276**, 23304-23311.