

自然発症高脂血症ラットの腎障害進展に及ぼす大豆たん白質と 大豆たん白質アルコール抽出物 (SPE) の影響

酒見隆信^{*1}・池田裕次¹・富吉義幸¹・植杉岳彦²

¹佐賀医科大学内科 ²フジッコ株式会社研究開発課

Attenuating Effect of Soy Protein and a Semipurified Alcohol Extract of Soy Protein on Glomerular Injury in Spontaneous Hypercholesterolemic Male Imai Rats

Takanobu SAKEMI¹, Yuji IKEDA¹, Yoshiyuki TOMIYOSHI¹ and Takehiko UESUGI²

¹Saga Medical School, Saga 849-8501

²Research and Development Laboratory, Fujicco Co, Kobe 650-8558

ABSTRACT

Soy protein has hypercholesterolemic and estrogenic properties. Because the renoprotective effect of both lipid-lowering agents and estrogen has been reported, we investigated whether soy protein (in the experiment 1) and soy protein's alcohol-extractable components (SPEs; mainly consisting of isoflavones) (in the experiment 2) have an ability to attenuate glomerular injury in male Imai rats in which hypercholesterolemia, focal and segmental glomerulosclerosis (FSGS) and renal insufficiency occur spontaneously. In the experiment 1, soy protein diets resulted in less proteinuria, less hyperlipidemia, less hypoalbuminemia, less renal functional impairment, less glomerular hypertrophy and less renal histological damage as compared with control casein diet. In the experiment 2, male Imai rats were fed a casein-based diet with and without SPE. Group 1 (Cont) was fed standard diet without any additional SPE and groups 2 (SPE-1) and 3 (SPE-2) were fed standard diet supplemented in amounts of 0.05 and 0.10 g/100 g diet of SPE, respectively. Growth rate was not different among three groups throughout the experiment. SPE-supplemented diets resulted in less proteinuria and less hyperlipidemia. The decline in renal function with regard to the levels of blood urea nitrogen and creatinine clearance was less marked in the animals receiving the SPE-supplemented diets. Each SPE-supplemented diet equally induced less glomerular hypertrophy and less renal histological damage as compared with non-supplemented diet. These studies showed a beneficial effect of soy protein diet and a semipurified alcohol-extract of soy

*〒849-8501 佐賀市鍋島5-1-1

Key Words : soy protein, glomerulosclerosis, isoflavones, male rats, estrogen

ヒトおよびラットの腎障害の進展に性差が認められることはよく知られている。我々はヒトの巣状糸球体硬化症、腎不全モデルである自然発症高脂血症 (SHC) ラットにおいて腎障害が雌よりも雄につよくあらわれ、しかも女性ホルモンであるエストロゲンを雄に投与することによって腎障害が減弱することを報告してきた¹⁾。一方大豆たん白質にはコレステロール低下作用のみならずエストロゲン様作用を有することが報告されている²⁾。

大豆たん白質はそのアミノ酸組成に特徴がありアルギニンを多く含む。さらにイソフラボン、サポニン、ファイバー、フィチン酸より成る³⁾。中でもコレステロール低下作用⁴⁾、エストロゲン作用⁵⁾を有するイソフラボンが現在注目されている。

そこで我々は大豆たん白質さらに大豆イソフラボンに腎障害進展抑制効果があるかどうかを、SHCラットにカゼイン食を対照として、大豆たん白質食さらにイソフラボンに富む大豆抽出物 (SPE) をカゼインに加えて飼育することにより検討した。

方 法

実験 1

雄SHCラットをA, B 2 群に分けAIN-76基準に準じた成分を含む餌を作成した。A群にカゼイン20%食、B群に大豆たん白質20%食を与え26週齢で組織学的検討を行った。

実験 2

大豆抽出物 (SPE) (イソフラボン43%, サポニン18%含有) をカゼインに加えて餌を作成した。雄SHCラットを3群に分けControl群 (大豆たん白質抽出物無添加カゼイン食, 24.5%たん白質), 抽出物添加食SPE-1群 (0.05 g/100 g餌), 添加食SPE-2群 (0.10 g/100 g餌) とし8~28週齢間それぞれの餌で飼育した。SPE-2群は大豆たん白質25%と同等量のイソフラボンを含有している。この間4週ごとに体重、尿たん白質、血液生化学、血圧を測定し、28週で組織学的検討を行った。

結 果

実験 1

Table 1に示すように体重、摂取量、尿素排泄量と

もに大豆群において有意に増加を認めた。一方尿たん白質は大豆群において有意に減少した。血圧は4週毎に測定したが両群間に有意差を認めなかった。体重補正した腎臓重量、心臓重量は大豆群で有意に低値を示した。Table 2に示すように大豆群ではカゼイン群に比し血清アルブミンの低下は軽度であり、血清コレステロール、中性脂肪、尿素窒素 (BUN)、クレアチニンの上昇は抑えられ、クレアチニンクリアランス (Ccr) の低下は軽度であった。血清テストステロンに差を認めなかったが、エストロゲンに差を認め大豆群で低値であった。体重補正した糸球体体積は大豆群でカゼイン群より有意に減少しており (カゼイン群 2.88 ± 0.30 , 大豆たん白質群 $2.44 \pm 0.32 \text{ m}^3 \times 10^3/\text{g BW}$; $P < 0.01$)、糸球体障害は大豆群において軽度であった (Fig. 1)。

実験 2

体重、血圧は3群間に差を認めなかった。SPE添加により尿たん白質 (Fig. 2)、高コレステロール血症 (Fig. 3) は抑制された。BUN, Ccrで示される腎機能はSPE添加により障害は軽減した (Table 3)。血清テストステロンに影響は認めなかったが、エストロゲンはSPE添加により有意に減少した (Table 3)。糸球体体積はSPE添加により有意に減少し (Cont 1.85 ± 0.17 , SPE-1 1.59 ± 0.14 , SPE-2 $1.67 \pm 0.09 \text{ m}^3 \times 10^6$; $P < 0.01$ vs. SPE-1 or SPE-2), 腎障害度 (Fig. 4) も抑制された。

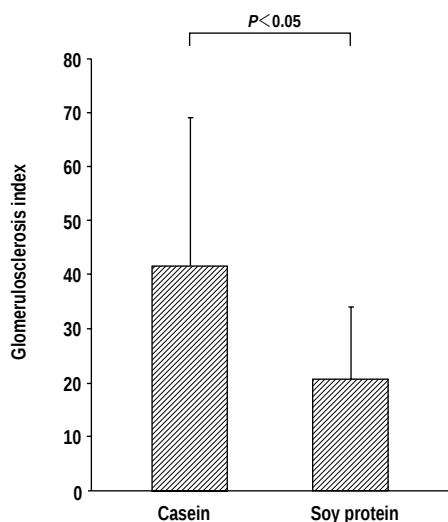


Fig. 1. Glomerulosclerosis index at 26 weeks of age in the experiment 1.

考 察

腎不全モデルであるSHCラットにおいて実験1で示したように、カゼイン食に比し大豆たん白質食はたん白質尿、高脂血症、低アルブミン血症、腎機能障害、糸球体肥大、腎組織障害を抑制し、さらに実験2ではイソフラボンに富む大豆抽出物も同等の腎障害抑制効果を示した。

従来大豆たん白質の腎障害抑制作用は大豆たん白質の腸管での低吸収性にその因を求めていた⁶⁾。事実大豆たん白質食で飼育されたラットでは、カゼインに比し低尿中、高糞中尿素排泄、それに伴う体重減少が指摘されている⁷⁾。そのため大豆たん白質食による腎障害進展抑制は単に吸収障害による低たん白質栄養状態によるものではないかという疑問が生じていた。さらに大豆たん白質の特徴的アミノ酸組成（高アルギニン/リジン比）が腎障害抑制に関与しているとも考えられた⁸⁾。が、今回の実験によって大豆たん白質の低吸収性、特異的アミノ酸組成による腎障害軽減作用への関与は少ないものと考えられた。

イソフラボンはエストロゲン受容体と結合し生物学的活性を発揮すると報告されている⁹⁾。今回の実験で大豆たん白質食群、大豆抽出物添加食群において血清エストロゲンが低値を示している。同様に大豆イソフラボンは性ホルモンに影響を与え、テストステロン、エストロゲンを低下させる傾向にあるとの報告もある⁴⁾。イソフラボンは血清エストロゲン濃度に依存してagonistあるいはantagonistに作用することができ¹⁰⁾ので大豆たん白質食群に認められた血清低エストロゲンはイソフラボンのエストロゲンのagonist作用を反映して

いるのかもしれない。エストロゲンの腎障害抑制作用が報告されているので¹⁾、イソフラボンのこのエストロゲン作用が大豆たん白質の腎障害抑制作用に関与しているかもしれない。さらにイソフラボンは血清脂質に好影響を与える⁴⁾。脂質降下剤の腎障害抑制作用も報告されているので¹¹⁾、大豆たん白質食群、抽出物添加群に見られた低コレステロールが腎障害抑制に関与している可能性もある。イソフラボンは抗酸化作用¹²⁾、tumor necrosis factor- α 抑制、interleukin-1 β 抑制¹³⁾をはじめ他の潜在的作用も報告¹⁴⁾されているので、それらの因子の関与も想定される。

結論 今回の我々の実験によって大豆たん白質、イソフラボンに富む大豆たん白質抽出物は自然発症腎不全モデルラットの腎障害を軽減することができることを示した。

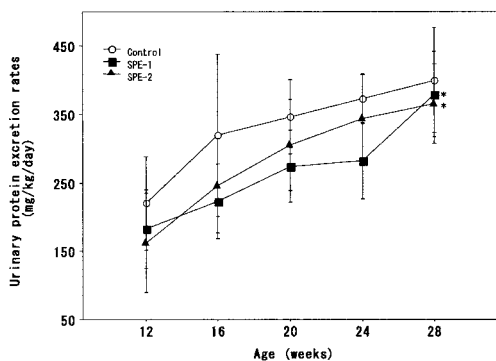


Fig. 2. Changes in urinary protein excretion in Cont, SPE-1, and SPE-2 rats. * $P < 0.05$ compared with Cont rats in the experiment 2. Data were compared using two-way ANOVA with repeated measures.

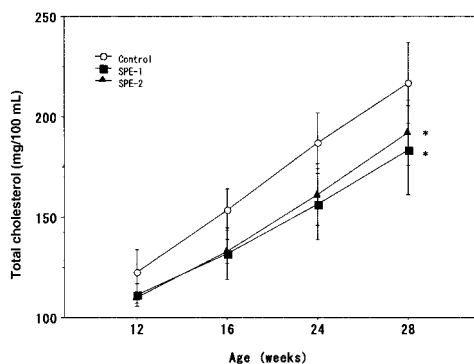


Fig. 3. Serum total cholesterol levels during the course of the experiment 2 in Cont, SPE-1, and SPE-2 rats. * $P < 0.001$ compared with Cont rats in the experiment 2. Data were compared using two-way ANOVA with repeated measures.

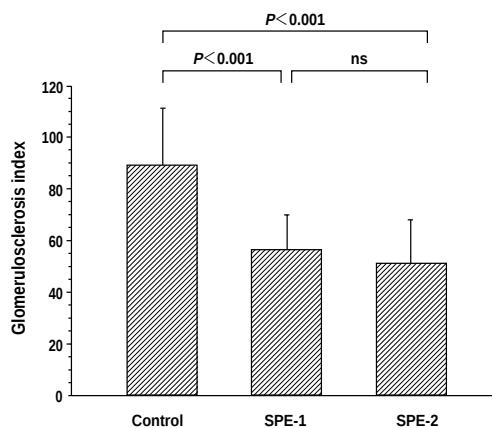


Fig. 4. Glomerulosclerosis index at 28 weeks of age in the experiment 2.

Table 1. Serial data of body weight, the mean amount of diet consumed, urinary urea excretion and urinary protein excretion in the experiment 1

Age (weeks)		10	14	18	22	26	P
Body weight (g)	Casein	305±21	423±26	490±25	530±29	552±31	<0.05
	Soy protein	307±23	445±31	529±32	582±37	615±35	
Diet consumed (g/rat/day)	Casein	23.5±1.7	24.0±0.6	22.2±0.9	22.3±2.0	22.6±2.0	<0.05
	Soy protein	26.1±0.5	25.1±1.7	24.5±1.3	24.8±1.8	24.1±1.1	
Urinary urea excretion (mg/day)	Casein	180±31	200±22	192±30	231±48	183±43	<0.001
	Soy protein	216±35	242±20	220±32	267±17	271±39	
Urinary protein excretion (mg/day)	Casein	12±8	59±33	139±40	191±51	210±44	<0.001
	Soy protein	8±2	25±12	57±25	91±39	86±38	

Table 2. Laboratory data in the experiment 1

Age (weeks)		10	18	22	26	P
Serum albumin (g/100 mL)	Casein	5.0±0.2	4.7±0.2	4.4±0.2	4.2±0.3	<0.001
	Soy protein	5.1±0.1	5.0±0.1	4.8±0.2	4.5±0.1	
Total cholesterol (mg/100 mL)	Casein	123±11	154±10	187±15	202±30	<0.005
	Soy protein	109±3	144±18	160±24	164±21	
Triglycerides (mg/100 mL)	Casein	151±45	171±22	228±24	242±48	<0.001
	Soy protein	109±20	139±25	156±57	170±41	
Blood urea nitrogen (mg/100 mL)	Casein	13.9±1.2	15.2±2.1	nd	21.1±7.7	<0.01
	Soy protein	11.6±1.3	13.6±1.3	nd	17.7±1.6	
Serum creatinine (mg/100 mL)	Casein	0.22±0.04	0.31±0.03	nd	0.36±0.10	<0.05
	Soy protein	0.20±0.02	0.26±0.05	nd	0.33±0.05	
Creatinine clearnace (mL/min/100 g body weight)	Casein	0.99±0.25	0.73±0.06	nd	0.62±0.10	<0.05
	Soy protein	1.14±0.09	0.77±0.09	nd	0.65±0.09	
Estradiol (pg/mL)	Casein	nd	nd	nd	9.5±3.8	<0.05
	Soy protein	nd	nd	nd	6.7±1.0	
Testosterone (ng/100 mL)	Casein	nd	nd	nd	226±116	ns
	Soy protein	nd	nd	nd	158±62	

nd=not done, ns=not significant.

Table 3. Laboratory data at the end of the experiment (28 weeks of age) in the experiment 2

Group	n	Alb	BUN	Cr	Ccr	Testosterone	Estradiol
		g/100 mL	mg/100 mL	mg/100 mL	mL/min 100 g BW	ng/100 mL	pg/mL
G1: Control	10	4.3±0.2	25.1±3.9	0.40±0.05	0.56±0.09	43.8±31.3	12.3±1.1
G2: SPE-1	10	4.4±0.3	19.4±4.8	0.37±0.07	0.68±0.13	71.7±39.2	9.6±1.5
G3: SPE-2	10	4.3±0.2	19.1±3.6	0.34±0.05	0.69±0.12	17.0±14.2	9.2±2.0
P G1 vs. G2		ns	<0.01	ns	<0.05	ns	<0.01
G1 vs. G3		ns	<0.005	ns	<0.05	ns	<0.05

Ccr=creatinine clearance, ns=not significant.

要 約

ヒトの腎不全モデルであるSHCラットを用いて大豆たん白質さらに大豆イソフラボンの腎障害抑制効果の有無を検討した。大豆たん白質食はカゼイン食に比したん白質尿，高脂血症，低アルブミン血症，腎組織障害を軽減した。さらにイソフラボンに富む大豆抽出物も同等の腎障害抑制効果を示した。

文 献

- 1) Sakemi T, Toyoshima H, Shouno Y and Morito F (1995) : Estrogen attenuates progressive glomerular injury in hypercholesterolemic male Imai rats. *Nephron*, **69**, 159-165.
- 2) Dwyer JT, Goldin BR, Saul N, Gualtieri L and Adolercereutz H (1994) : Tofu and soy drinks contain phytoestrogens. *J Am Diet Assoc*, **94**, 739-743.
- 3) Potter SM (1995) : Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. *J Nutr*, **125** (suppl 3), 606S-611S.
- 4) Anthony MS, Clarkson TB, Hughes CL Jr, Morgan TM and Burke GL (1996) : Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. *J Nutr*, **126**, 43-50.
- 5) Martin PM, Horwitz K, Ryan DS and Mcguire WL (1978) : Phytoestrogen interaction with estrogen receptors in human breast cancer cells. *Endocrinology*, **103**, 1860-1867.
- 6) Henry KM and Kon SK (1957) : Effect of level of protein intake and of age of rat on biological value of proteins. *Br J Nutr*, **11**, 305-313.
- 7) Nitzan Z and Liener IE (1976) : Studies on the digestibility and retention of nitrogen and amino acids in rats fed raw and heated soy flour. *J Nutr*, **106**, 292-299.
- 8) Williams AJ, Baker F and Walls J (1987) : Effect of varying quantity and quality of dietary protein intake in experimental renal disease in rats. *Nephron*, **46**, 83-90.
- 9) Markiewicz L, Garey J, Adlerdreutz H and Gurside E (1993) : In vitro bioassays of non-steroidal phytoestrogens. *J Steroid Biochem Mol Biol*, **45**, 399-405.
- 10) Barnes S, Peterson G and Coward L (1995) : Rationale for the use of genistein-containing soy matrices in chemoprevention trials for breast and prostate cancer. *J Cell Biochem*, **22** (suppl), S181-S187.
- 11) Kasiske BL, O'Donnell MP, Cleary MP and Keane WF (1988) : Treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in obese Zucker rats. *Kidney Int*, **33**, 667-672.
- 12) Bors W, Heller W, Michel C and Saran M (1990) : Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol*, **186**, 343-355.
- 13) Geng Y, Zhang B and Lotz M (1993) : Protein tyrosine kinase activation is required for lipopolysaccharide induction of cytokines in human blood monocytes. *J Immunol*, **151**, 6692-6700.
- 14) Raines EW and Ross R (1995) : Biology of atherosclerotic plaque formation: Possible role of growth factors in lesion development and the potential impact of soy. *J Nutr*, **125** (suppl 3), 624S-630S.