

## 大豆たん白質食の糖質酸化促進機能と糖尿病発症の予防機能に関する研究

石原健吾\*<sup>1</sup>・水野谷 航<sup>2</sup>・内田友乃<sup>1</sup>・柴草哲朗<sup>2</sup>・  
三田有紀子<sup>1</sup>・伏木 亨<sup>2</sup>・安本教傳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>椛山女学園大学生生活科学部 <sup>2</sup>京都大学大学院農学研究科

### Effect of Dietary Soybean Protein Isolate on Oxidation of Dietary Carbohydrate and Diabetic Disorders in Diabetic Obese Mice

Kengo ISHIHARA<sup>1</sup>, Wataru MIZUNOYA<sup>2</sup>, Tomono UCHIDA<sup>1</sup>, Tetsuro SHIBAKUSA<sup>2</sup>,  
Yukiko MITA<sup>1</sup>, Tohru FUSHIKI<sup>2</sup> and Kyoden YASUMOTO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>School of Life Studies, Sugiyama Jogakuen University, Nagoya 464-8662

<sup>2</sup>Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 611-0011

#### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effects of chronic feeding dietary protein on glucose tolerance during weight gain induced by high fat diet in IRC mice. Protein sources of high fat diets were casein, soy protein isolate (SPI), egg white (EGW) and collagen hydrolysate (CLP). Oral glucose tolerance test showed that the serum glucose concentration in SPI fed mice gradually increased compared to casein fed mice and insulin concentration in casein fed mice were higher than that in SPI fed mice at 60 min after glucose administration. The concentrations of acetoacetic acid were smaller in SPI fed mice compared to casein fed mice. Total ketone bodies, acetoacetic acid and 3-hydroxybutyric acid were smaller in EGW fed mice compared to casein fed mice. The protein expression of glucose transporter 4 in total gastrocnemius muscle was significantly higher in SPI fed mice compared to CLP fed mice. These results indicate that chronic feeding of SPI in high fat diet delayed the absorption of orally administered glucose and may prevent development of insulin resistance in high fat fed mice. *Soy Protein Research, Japan* **8**, 90-96, 2005.

Key words : glucose absorption, high fat diet, soybean

糖尿病の発症から予防・治療の全ての面において、食生活の果たす役割は非常に大きい。Ⅱ型糖尿病の食餌療法はカロリー制限が基本であるが、カロリーの制

限食においてはたん白質や微量栄養素の不足がないよう留意しなければならない。特に近年、ヒトにおいて高炭水化物食よりも高たん白質食の方が血糖コントロール上、良好な成績が得られることや、一部のアミノ酸が細胞のグルコース取り込みのシグナル物質になっ

\*〒464-8662 名古屋市千種区星が丘元町17-3

ていることなどが報告されるなど、摂取たん白質と耐糖能の関係が注目を集めている。しかし、糖尿病患者が摂取するべきたん白質の種類については、未だ十分な情報が無い。大豆たん白質は、肥満モデル動物<sup>1,2)</sup>や減量中の肥満児<sup>3,4)</sup>のエネルギー代謝を促進するなど優れた生理作用が報告されており、糖尿病の食事療法においても、その利用の拡大が望まれる。

我々はこれまでに、大豆たん白質摂取が減量中のⅡ型糖尿病モデルマウスのエネルギー消費量、糖代謝に対する作用を明らかにするために、Ⅱ型糖尿病モデルマウスを摂取エネルギー量を制限して飼育し、大豆たん白質を酵素的に加水分解して得たペプチド (SPI-H) を含む飼料を4週間給餌し、エネルギー代謝に対するSPI-H食の作用をカゼイン食を対照として検討してきた<sup>5,6)</sup>。その結果、SPI-H食は糖尿病モデルマウスにおいて摂取エネルギー制限下で、食後数時間の糖質代謝を高めることを明らかにしてきた。しかし高脂肪食の摂取によって糖尿病が発症してゆく過程においてSPI-H食の有効性についてはこれまでに検討してこなかった。

本研究では、高脂肪食摂取時に大豆たん白質食 (SPI) の摂取が耐糖能やインスリン感受性に対する作用を評価するために、高脂肪食のたん白質源としてSPIを8週間摂取させ、飼育期間中に数度の経口糖負荷試験、インスリン負荷試験を行い、血液成分やアディポサイトカイン、膵臓ランゲルハンス島の大きさ、血中アミノ酸濃度などからSPI-Hの作用について検討した。

## 実験方法

飼料の組成はTable 1に示した。6週齢雄性マウス (ICR) 32匹を用いた (日本クレア株式会社)。各マウスの体重に差が出ないように4群に分けてSPI食群、カゼイン食群、卵白食群、コラーゲン食群とし、ケージに4匹ずつ入れ飼育した。3種類の飼料および飲料水は自由摂取させた。飼料摂取開始15, 32, 39日目に各食事群から2から4匹のマウスを任意に選び、経口糖負荷試験を行った。一昼夜絶食させたマウスに40%グルコース水溶液を1.2 mg/kg体重となるように経口投与し、投与0, 30, 60, 120分後に眼窩より採血を行った。同様に飼料摂取開始後45日目には各群の全てのマウスを用いて経口糖負荷試験を行った。体重1 kgあたり3.0 mgの糖を投与して、0, 30, 60, 120, 180分後の血液を眼窩より採取した。血液は血漿を採取後、血中グルコース、インスリン濃度の測定に供した。

飼料摂取開始から46日目に任意に選び出したマウスを採尿ケージに移して24時間採尿を行い、採取した尿は-80℃で保存し、尿中クレアチニン濃度 (クレアチニンテストワコー, 和光純薬) の測定に供した。飼料摂取50日目にエーテル麻酔下で下大静脈より採血後、腓腹筋・四頭筋・副精巣周囲脂肪組織・褐色脂肪組織・鼠蹊部脂肪組織・肝臓を摘出して秤量後すばやく液体窒素で凍結し、血漿と共に-80℃で保存した。腎周囲脂肪組織・心臓・脾臓・腎臓は秤量をし、膵臓は秤量後、10%中性緩衝ホルマリン液に浸漬し保存した。

血漿は、市販のキットにてグルコース (グルコーステストワコー, 和光純薬)、インスリン (インスリン

Table 1. Food composition

	Casein	SPI	EGW	CLP
Casein <sup>1</sup>	25.18			11.74
Soy protein isolate <sup>2</sup>		26.15		
Egg white protein <sup>3</sup>			27.05	
Collagen peptide <sup>4</sup>				11.74
Sucrose <sup>1</sup>	23.68	21.66	21.4	21.4
Lard <sup>1</sup>	19.14	19.25	19.02	19.02
Corn oil <sup>5</sup>	19.14	19.25	19.18	19.18
Cellulose powder <sup>1</sup>	4.83	4.86	4.98	4.98
Mineral mixture (AIN-76) <sup>1</sup>	6.48	6.51	6.43	6.43
Vitamin mixture (AIN-76) <sup>1</sup>	1.35	1.36	1.34	1.34
Choline bitartrate <sup>6</sup>	0.19	0.19	0.188	0.188
Buthylhydroxytoluene	0.0039	0.0039	0.0039	0.0039
Total	100	100	100	100

<sup>1</sup>Oriental Yeast Co., Ltd. <sup>2</sup>FUJI OIL CO., LTD <sup>3</sup>Taiyo Kagaku Co., Ltd. <sup>4</sup>MARUHA CORPORATION

<sup>5</sup>Wako Pure Chemical Industries, Ltd. <sup>6</sup>KANTO CHEMICAL CO., INC. <sup>7</sup>Nacal Tesque, Inc.

測定キット，森永生化学研究所），遊離脂肪酸（NEFA C-テストワコー，和光純薬），ケトン体（ケトンテスト三和，三和化学）の濃度を測定した。臓腑はヘマトキシリン・エオシン染色の後，光学顕微鏡で観察を行い，ランゲルハンス島の大きさを画像処理ソフト（Scion Image, NIH）にて測定した。得られたデータは平均値±標準誤差を表示した。群間の検定はPrism 4 for Windows（Version 4.03, Graphpad, Software Inc., CA）の統計ソフトでANOVAを用いて行った。

## 結果と考察

飼育期間中の一日あたりの平均摂取エネルギーは，カゼイン食群の17.5 kcalと比較して，SPI食群では15.9 kcal，EGW添加食群では16.2 kcal，CLP食群では15.8 kcalとなり，4群間ではカゼイン食群の飼料摂取量が他の群よりやや多かったが，顕著な差は認められな

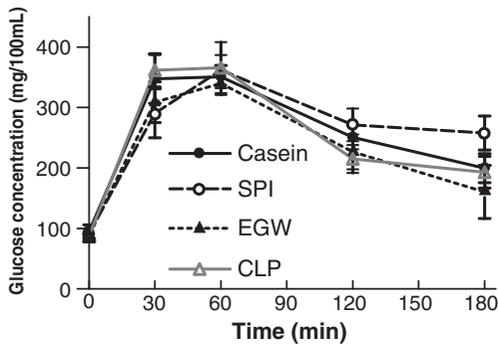


Fig. 1. Plasma glucose concentration after oral glucose administration. Glucose solution (40%) were orally administered at the dose of 3.0 mg/kg body weight of glucose after feeding each experimental diets for 44 days. Values are means  $\pm$  SEM (n=7-8).

った。一方，50日間の飼育期間終了時の平均体重はカゼイン食群が42.1 gであったのに対して，SPI食群では38.4 g，EGW食群，CLP食群ではそれぞれ37.8 g，37.1 gと体重の増加量は飼料の摂取量と対応してカゼイン食群だけが多かった（Table 2）。また体重1 gあたりの臓器重量は，腓腹筋，四頭筋ともにCLP食群が他の3群よりも有意差は認められないが値は小さかった。鼠径部，副精巣周囲，腎臓周囲の白色脂肪組織重量は，EGW食群，CLP食群，SPI食群，カゼイン食群の順に小さかった。以上の骨格筋，白色脂肪組織重量からはSPI食はカゼイン食と比較して脂肪組織重量の増大を抑制する作用を有しており，これまでの他の研究結果を裏付けるものとなった。一般に肥満と耐糖能は密接な関係があり，以下ではこれらの各種たん白質の摂取によって脂肪組織重量が増加しただけでなく，耐糖能に対してどのような影響を及ぼしたのかについて述べた。

飼育期間中に数度の経口糖負荷試験を行った。昨年度の研究では，高たん白質食飼料の摂取が糖代謝に影響を与えるのは，飼料摂取開始から約3週間を経過してからであることを明らかにした。今回の実験では，SPI食を摂取してから15，32，39日後に行った経口糖負荷試験では，各群間に血糖値の変化の差異は認められなかった（図示せず）。そこで飼料摂取開始44日目には，負荷する糖の量を1.2 mg/kg 体重から3.0 mg/kg 体重へと2.5倍にしたところ，SPI食群の経口糖負荷後の血糖値が投与後30分ではカゼイン食群よりも低く，60，120分後では差はなく，180分後ではSPI食群のほうが逆に高くなった。すなわち有意差は見られなかったもののSPI食の摂取は経口糖負荷後の血糖値の急激な上昇を抑制していると考えられた。EGW食群とCLP食群の血糖値の変化はカゼイン食群とよく似たパターンを示した（Fig. 1）。

Table 2. Organ weight and average food intake

	Casein	SPI	EGW	CLP
Organ weight (mg/g body weight)				
Gastrocnemius muscle	10.0 $\pm$ 0.3	9.8 $\pm$ 0.5	10.2 $\pm$ 0.7	8.9 $\pm$ 0.6
Quadriceps muscle	12.9 $\pm$ 0.5	12.4 $\pm$ 0.6	12.9 $\pm$ 0.7	11.2 $\pm$ 0.5
Ingluinal fat	5.9 $\pm$ 0.8	5.2 $\pm$ 0.7	3.0 $\pm$ 0.4	4.1 $\pm$ 0.7
Brown adipose tissue	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>	2.2 $\pm$ 0.4 <sup>a</sup>	1.3 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	1.5 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>
Epididymal fat	43.2 $\pm$ 11.6	28.9 $\pm$ 5.6	17.3 $\pm$ 4.1	27.4 $\pm$ 6.1
Perirenal fat	9.2 $\pm$ 1.4	10.2 $\pm$ 2.0	4.3 $\pm$ 1.1	8.8 $\pm$ 1.3
Liver	31.8 $\pm$ 0.8 <sup>ab</sup>	26.9 $\pm$ 3.4 <sup>b</sup>	36.1 $\pm$ 2.6 <sup>a</sup>	28.9 $\pm$ 1.8 <sup>ab</sup>
Body weight (g)	42.1 $\pm$ 1.8	38.4 $\pm$ 1.0	37.8 $\pm$ 0.8	37.1 $\pm$ 0.6
Food intake (kcal/day)	17.5	15.9	16.2	15.8

経口糖負荷試験の際に、血漿中のインスリン濃度を測定したところ、飼料摂取39日目には血糖値の変化と同様に各食餌群間の間に差は認められなかった。経口糖負荷量を多くして飼料摂取44日目に実験を行った際には、カゼイン食群が経口糖負荷60分後の血漿インスリン濃度が他の3群よりも有意差はないものが高かった (Fig. 2)。39日目から44日目までのマウスの生理的变化と比べて、負荷したグルコース量の違いが結果に及ぼす影響のほうが大きかったとすると、カゼイン食群では血液中に多量の糖質が流入した際に、血糖値を下げるために必要とするインスリンの量がSPI食群よりも多いのではないかと考えられる。カゼイン食群がSPI食群よりもインスリン感受性に劣ると考えることは、昨年度得られた結果と矛盾しない。

組織学的染色を行なった膵臓のランゲルハンス島を光学顕微鏡観察にて観察し、ランゲルハンス島の面積を測定したところカゼイン食群のランゲルハンス島は他群と比べて肥大していた。これはカゼイン食群のインスリン感受性が低下しており、インスリン分泌量が増加しているためではないかと考えられた。逆にSPI食群のランゲルハンス島は4群間の中で最も数が少なく、肥大が認められなかった (Table 3)。EGW食群とCLP食群では、カゼイン食よりもSPI食群に近い大きさであった。

糖尿病により、効率よくグルコースが利用できなくなった場合、エネルギーを得るために脂肪組織やその他に貯蓄されている脂肪が分解され血中に放出されエネルギー源となる。これを脂肪動員というが、この脂

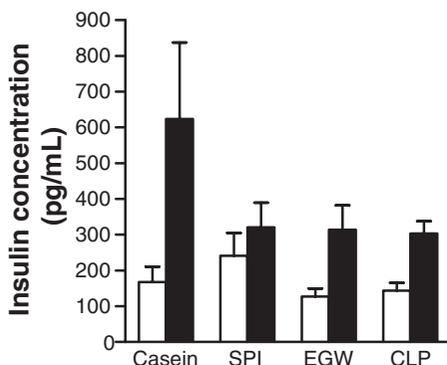


Fig. 2. Plasma insulin concentration after oral glucose administration. Glucose solution (40%) were orally administered at the dose of 3.0 mg/kg body weight of glucose after feeding each experimental diets for 44 days. Values are means  $\pm$  SEM (n=7-8).

肪動員はインスリン分泌によって抑制されるのでインスリン分泌の減少も脂肪動員が促進された原因となる。脂肪動員がどの程度促進されているか推し量る指標としては血中に放出された遊離脂肪酸がある。飼料摂取50日目に、血漿中の遊離脂肪酸濃度、ケトン体濃度を測定した。各群有意な差はなかったものの、SPI食群はカゼイン食群、CLP食群よりも低い値となった。EGW食群はSPI食群よりもさらに低い値となった (Fig. 3A, B)。

血中遊離脂肪酸の量が多いと、肝臓に流入する遊離脂肪酸が多くなり、アセチルCoAが大量に生成されケトン体合成が活発化される。このことから、血中遊離脂肪酸が多い群ほど血中ケトン体も多いと考えられる。SPI食群はカゼイン食群よりも有意差はないもののケトン体濃度が低くなった。CLP食群はカゼイン食群よりも値が高く、EGW食群はSPI食群よりもさらに低い値となった (Fig. 3C)。

尿中グルコースは全ての群で検出されなかった (図示せず)。クレアチニン排泄は産生量の増減と腎からの排泄の増減により変化する。この際、腎機能の低下が排泄量の低下に直接結びつくように考えがちであるが、実際には腎機能が急激に変化している場合や、高度の腎不全で腎以外に消化管からも排泄される場合を除くと、産生量と排泄量は等しくつり合っている。したがって、尿中クレアチニン濃度の増減はもっぱら産生量の増減に依存している。今回の研究では24時間尿のクレアチニン濃度を測定することで糖尿病性腎症が発症しているか、発症していたらどれくらい進行しているか検討する予定であったが尿中グルコースが検出されず、血糖値も1,000 mg/100mL以上を示した検体がいなかったため糖尿病性腎症が発症するほど糖尿病が進行しているとは考えられず、今回の結果は筋肉量に影響を受けている可能性の方が高いと考えられた。尿中クレアチニン濃度はEGW食群が他の2群よりも有意差はないもの高い値を示した。しかしEGW食群は腓腹筋、四頭筋の重量が高かったとはいえ、これらの値からはカゼイン食群とのクレアチニン濃度の差は説明できないので、他の原因があったと考えられる (Fig. 3D)。

Table 3. Area and density of Langerhans islet

	Area ( $\mu\text{m}^2$ )	density (per $\text{cm}^2$ )
Casein	35,210 $\pm$ 4,060	2.66 $\pm$ 0.35
SPI	13,610 $\pm$ 2,256	3.07 $\pm$ 0.33
EGW	16,877 $\pm$ 5,182	1.26 $\pm$ 0.21
CLP	21,929 $\pm$ 2,354	4.31 $\pm$ 0.36

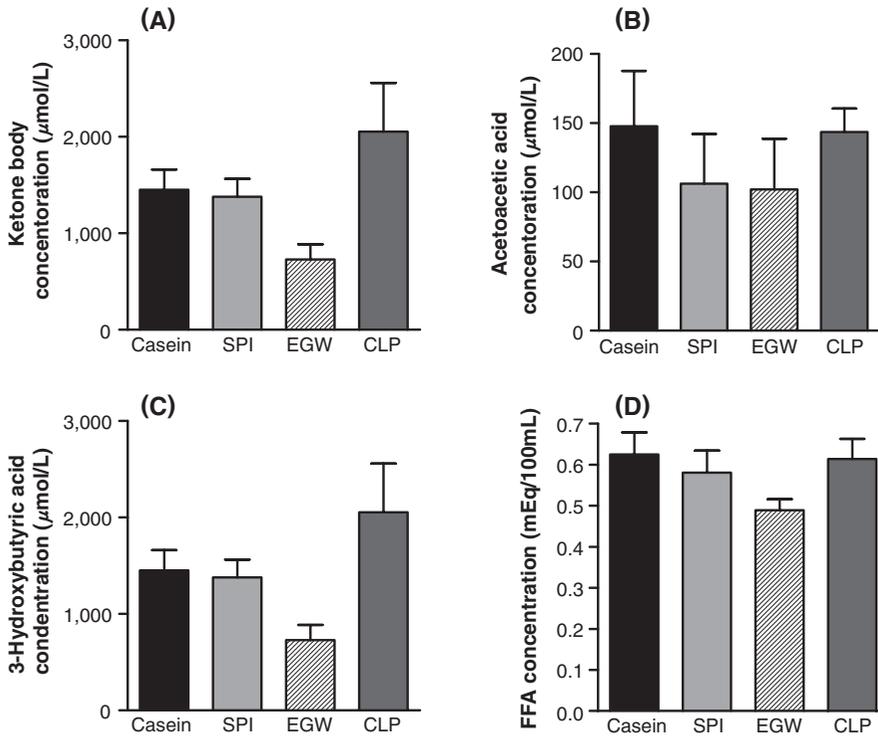


Fig. 3. Plasma total ketone bodies (A), acetoacetic acid (B), 3-hydroxybutyric acid (C) and free fatty acid (D) concentration after feeding each experimental diets for 49 days. Values are means  $\pm$  SEM (n=7-8).

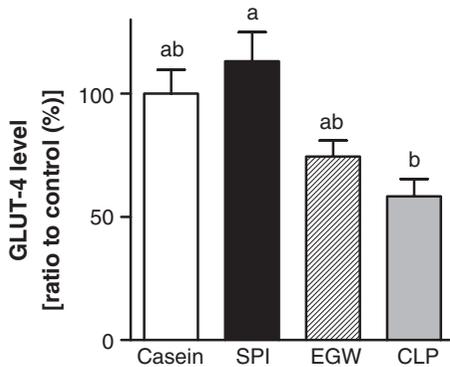


Fig. 4. Protein expression of glucose transporter 4 (GLUT4) in gastrocnemius muscle. Mice were fed each experimental diets for 49 days and whole cell lysate was used for western blotting.

腓腹筋のGLUT4発現量については、SPI食群はカゼイン食群よりも高い値をとり、4群の中で最も低かったCLP食群と比較すると有意に高かった。EGW食群はCLP食群よりも少しGLUT4発現量が多かったが、SPI食やカゼイン食よりは低かった (Fig. 4)。

血液中のアミノ酸濃度を測定したところ、SPI食群とカゼイン食群の間には血液中アミノ酸濃度に有意な変化は認められなかった。EGW食群では全てのアミノ酸濃度が他の食事群と同等あるいは高い値をとり、特にグルタミン、バリン、ロイシンの濃度は有意に高かった。

以上のことから、高脂肪食を50日間摂取させ耐糖能を低下させる実験系において、高脂肪食中のたん白質源が耐糖能に及ぼす影響を調べたところ、対照であるカゼインと比較してSPI食群では耐糖能の低下が誘導される程度が低いと考えられた。しかしSPI食の効果は、摂取エネルギーを制限する実験系ほど明白には現れなかった。むしろ本実験系においてはSPI食よりも卵白の方が耐糖能の低下を抑制する作用を強く有していると考えられた。以上より、これまでの結果と同様にSPI食はカゼイン食よりも糖代謝の改善に寄与しており、その機序には骨格筋のGLUT-4発現量の増加が関与していると考えられた。また卵白食にはSPI食と同等あるいはそれ以上の作用が観察された。

Table 4. Plasma amino acid concentration

	Casein	SPI	Egw	CLG-H
His	27.2 ± 8.1	28.6 ± 11.0	39.1 ± 12.7	28.1 ± 8.7
Arg	72.9 ± 39.7	57.8 ± 18.7	84.4 ± 81.6	58.8 ± 16.1
Asn	326.0 ± 248.9	387.8 ± 240.0	428.5 ± 409.6	322.7 ± 221.2
Gln	46.1 ± 30.3 <sup>b</sup>	53.0 ± 34.9 <sup>ab</sup>	113.7 ± 74.2 <sup>a</sup>	54.3 ± 34.6 <sup>ab</sup>
Ser	114.5 ± 55.7	73.2 ± 35.8	82.1 ± 62.4	233.9 ± 438.2
Asp	86.7 ± 60.5	112.9 ± 51.5	114.5 ± 111.6	129.4 ± 70.0
Gly	89.8 ± 110.2	74.1 ± 95.3	79.9 ± 100.9	95.3 ± 142.7
Thr	74.0 ± 31.1	106.1 ± 36.0	122.1 ± 66.0	89.4 ± 17.5
Ala	123.5 ± 58.4	150.9 ± 35.5	203.7 ± 109.6	152.5 ± 29.6
Pro	44.8 ± 15.0	46.1 ± 10.3	62.5 ± 41.1	47.1 ± 6.7
Cys	190.6 ± 125.6	149.4 ± 117.7	238.6 ± 452.2	138.2 ± 74.7
Met	9.1 ± 13.7	8.6 ± 9.8	6.4 ± 8.2	10.2 ± 12.1
Val	78.9 ± 23.7 <sup>b</sup>	79.2 ± 19.7 <sup>b</sup>	121.5 ± 38.3 <sup>a</sup>	79.4 ± 12.9 <sup>b</sup>
Lys	21.7 ± 9.3	20.2 ± 8.3	35.7 ± 25.5	19.9 ± 8.7
Phe	106.6 ± 40.9	92.1 ± 20.8	142.4 ± 79.9	100.5 ± 23.2
Ile	25.2 ± 13.1	27.1 ± 8.7	39.9 ± 15.4	30.6 ± 6.2
Leu	51.0 ± 15.3 <sup>b</sup>	50.2 ± 13.7 <sup>b</sup>	73.8 ± 21.6 <sup>a</sup>	49.4 ± 6.6 <sup>b</sup>
Tyr	37.6 ± 13.9	31.0 ± 7.4	36.4 ± 25.7	35.3 ± 8.6

Values are means ± SD (n=7-8).

Values with different superscripts are significantly different,  $P < 0.05$ .

## 要 約

Ⅱ型糖尿病の発症に伴い、糖酸化能力が低下する。これまでに糖尿病モデルマウスに4週間大豆ペプチド食を摂取させると、対照であるカゼイン食群よりも食後の糖酸化量の低下が抑制されたこと、およびこの作用は大豆ペプチドをシミュレートしたアミノ酸混合物を与えても観察されたことを報告した。本研究では、大豆ペプチドのアミノ酸組成のうち、食後の糖酸化促進作用に寄与している部分を明らかにするために、アミノ酸組成の異なるたん白質4種類をマウスに摂取させ、糖代謝能力に関連する指標のいくつかを評価した。カゼイン、大豆たん白質 (SPI)、卵白、コラーゲンペプチド (CLP) をたん白質源とする高脂肪食をICRマウスに8週間、自由摂取させた。飼育7週目の経口糖負荷試験の結果、SPI食群はカゼイン食群やCLP食群と比べて、グルコース濃度の上昇が緩やかで、下降が遅かったが有意な差は認められなかった。経口糖負荷60分後の血漿インスリン濃度は、SPI食群はカゼイン食と比較して、インスリン濃度が低い傾向が見られた。絶食時の血中総ケトン体・遊離脂肪酸濃度は、卵白食群がCLP食群と比較して低くなり、その他の群で差は見られなかった。RT-PCR法で測定した腸間膜脂肪のTNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) mRNA発現量はSPI、CLP、カゼイン食群に高い傾向が見られ、レプチンmRNA発現量は卵白食群が低い傾向が見られた。ウェスタンブロッティング法で測定した腓腹筋のGLUT-4発現量はSPI食群が他の群より有意に高かった。HE染色で観察したランゲルハンス島 (ラ島) は、SPI食群は卵白食群と並んで肥大が観察されず、逆にカゼイン食群ではもっともラ島面積が大きかった。以上の結果から、これまでの結果と同様にSPI食はカゼイン食よりも糖代謝の改善に寄与しており、その機序には骨格筋のGLUT-4発現量の増加が関与していると考えられた。また卵白食にはSPI食と同等あるいはそれ以上の作用が観察された。卵白食の作用には、血中のグルタミン、ロイシン、イソロイシン濃度が高いことが関与している可能性が示唆された。

## 文 献

- 1) 斎藤昌之 (1989) : 大豆たん白質ペプチドの経管栄養への応用 ; 熱産生に及ぼす影響, 大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 81-83.
- 2) 斎藤昌之 (1990) : 交感神経活動に及ぼす大豆たん白質ペプチドの影響, 大豆たん白質栄養研究会会誌, **11**, 95-97.
- 3) 小松龍史, 小松啓子, 松尾美恵, 永田真人, 山岸稔 (1989) : 小児肥満治療におけるエネルギー制限食に対する大豆ペプチドのN補充効果, 大豆たん白質栄養研究会会誌, **10**, 84-88.
- 4) 小松龍史, 小松啓子, 山岸 稔 (1992) : 大豆ペプチド摂取の食事誘導産熱に及ぼす影響, 大豆たん白質栄養研究会会誌, **13**, 53-58.
- 5) Ishihara K, Oyaizu S, Fukuchi Y, Mizunoya W, Segawa K, Takahashi M, Mita Y, Fukuya Y, Fushiki T and Yasumoto K (2003): A soybean peptide isolate diet promotes postprandial carbohydrate oxidation and energy expenditure in type II diabetic mice. *J Nutr*, **133**, 752-757.
- 6) Ishihara K, Fukuchi Y, Mizunoya W, Mita Y, Fukuya Y, Fushiki T and Yasumoto K (2003): Amino acid composition of soybean protein increased postprandial carbohydrate oxidation in diabetic mice. *Biosci Biotechnol Biochem*, **67**, 2505-2511.
- 7) Aoyama T, Fukui K, Takamatsu K, Hashimoto Y and Yamamoto T (2000): Soy protein isolate and its hydrolysate reduce body fat of dietary obese rats and genetically obese mice (yellow KK). *Nutrition* **16**, 349-54.