

ダイゼインの食欲制御機能の機構解明 ーダイゼイン腸内細菌代謝物・エコールを用いたアプローチー

岸田太郎*・岩原麻美・海老原 清

愛媛大学農学部

Mechanism of Decreasing Food Intake of Rats Fed Daidzein ー Approach Using Equol, Metabolite of Daidzein by Microorganism ー

Taro KISHIDA, Asami IWAHARA and Kiyoshi EBIHARA

Faculty of Agriculture, Ehime University, Matsuyama 790-8566

ABSTRACT

We have previously shown that soy isoflavone daidzein decreased food intake in female rats. In this study we aimed to confirm the active substance and mechanism. We found that equol, a metabolite of daidzein by intestinal microorganism, is the active substance that decreases food intake. We speculate that the effect of equol could not simply be related to estrogenic effect of isoflavones because of the difference of effect on food intake and estrogen receptor activation between estradiol and equol. *Soy Protein Research, Japan* **10**, 55-58, 2007.

Key words: soy isoflavone, daidzein, equol, estrogen receptor, rat

先の研究で我々は発酵大豆抽出物中のイソフラボン・ダイゼインがメスラットに特異的な食欲低下作用をもたらすことを見出した。我々はこの機構を明らかにすることを目指している。先の研究ではさらにダイゼインを摂取したラットの血清イソフラボンのほとんどがダイゼインの腸内細菌代謝物エコールであることを見出した。食欲抑制効果はエコールによりもたらされている可能性がある。本研究ではラットに合成して得たエコールを投与することによりこれについて検証した。

エコールは光学活性を持ち、腸内細菌はダイゼインから（－）エコールのみを生成することが明らかにな

っている¹⁾。（－）エコールは（＋）エコールよりエストロゲンレセプターとの親和性および活性化能が高いことが報告されている¹⁾。雌動物の性周期が食欲に関連していることは古くから知られており、血清中のエストロゲンが食欲低下をもたらしていることが明らかになっている²⁾。イソフラボンは構造の類似性から、エストロゲンの作用する可能性が*in vivo*および*in vitro*のデータにより報告されている^{3,4)}。本研究ではエコールのエストロゲン作用と食欲抑制との関係も調べた。

*〒790-8566 松山市樽味3-5-7

光学活性エコールの合成

Fig. 1に合成経路の概要を示した。LまたはD-フェニルアラニンのsyn-アルドール縮合物より（－）または（＋）のエコールを合成した。

動物実験

ラット（n=60；雌：n=30，OVX：n=30，）を雌およびOVXラットは，5つの群に分け（n=6），そのうち4群には，それぞれAIN-76に基づいたコントロール飼料，ダイゼイン混合飼料，またはエコール（＋）または（－）混合飼料を与えた。残りの1群には，実験開始日の9：00に，皮下にエストラジオール入り固形ペレット（ β -estradiol 3-benzoate, 0.25 mg/pellet, 60-day release, SE-281, Innovative research）を埋め込んだ後，コントロール飼料を与えた。エストラジオールペレットは，飼育期間中一定量（4.2 μ g/day）のエストラジオールを放出し続ける。全てのラットは，実験飼料を与えてから28日間飼育した。

エストロゲンレセプター活性化能試験

市販のキット（EnBio Estrogen Receptor / Coactivator Ligand Assay System, EnBio Tec Laboratories Co., Ltd.）を用い，コアクチベーター（SRC1）とレセプターリガンド複合体との結合を指標にエストロゲンレセプター活性化能を評価した。エストロゲンレセプター α , β を分けて評価した。

動物実験

雌およびOVXラットの各週ごとの飼料摂取量は，1週目から2週目にかけてエコールおよびダイゼインの摂食により徐々に低下し，3週目から4週目にかけてダイゼイン摂取群の飼料摂取量はコントロール群のそれに近づく傾向を示したが，エコールの光学活性の違いの影響は見られなかった（Fig. 2）。雌ラットの各週ごとの飼料摂取量は，1週目では，エストラジオール投与によりコントロール群のそれより有意に低下したが，それ以降上昇し，2週目には有意な差は認められなくなった。さらに3週目以降エストラジオール投与によりコントロール群のそれらより有意に上昇した（Fig. 3）。OVXラットでは3週目および4週目では，少しずつエストラジオール投与した群の飼料摂取量とコントロール群のそれらの差が縮まったものの，4週間を通してエストラジオール投与によりコントロール群のそれらより有意に低下した（Fig. 2）。データは示さないが体重も飼料摂取量の推移をよく反映した。雌およびOVXラットの腎臓周辺および卵巣周辺の合計脂肪組織重量は，ダイゼインおよびエコール摂取により有意に低下したが光学活性の違いによる差はみられなかった（Table 1）。OVXラットの子宮重量はエストラジオール投与により増加したが，ダイゼインおよびエコー

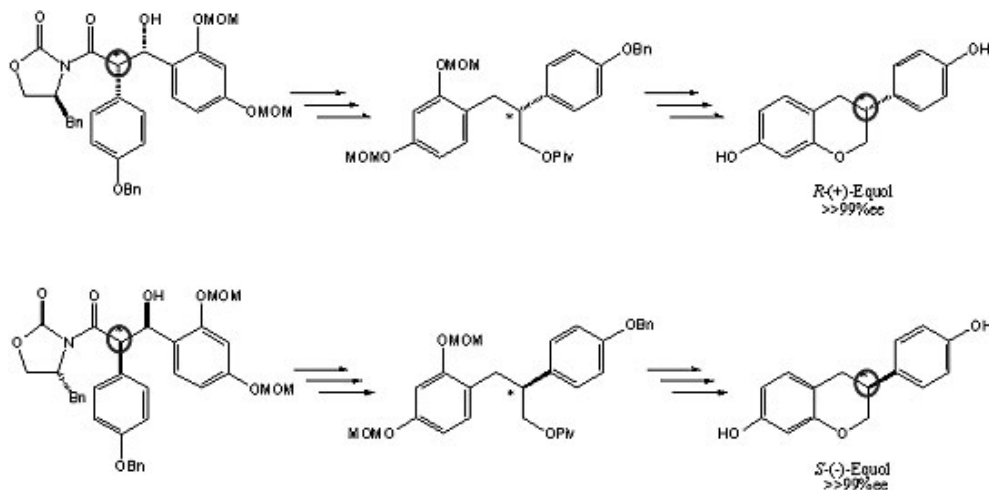


Fig. 1. Synthesis of (+)- and (－)- equol.

ルはいずれも子宮重量に有意な影響を与えなかった。メスラットではエストラジオールも各イソフラボンも子宮重量に影響を与えなかった (Table 1)。

エストロゲンレセプター活性化能試験

各イソフラボンはエストロゲンレセプター α に対する活性化能を全く示さなかった。エストロゲンレセプター β に対しては低濃度域ではエコールはダイゼインと同等でゲニステインよりは弱い活性化能を示したが、高濃度域ではダイゼイン、ゲニステインよりも高い活性化能を示した (Fig. 3)。

考 察

エコールの摂取により発酵大豆抽出物摂取時と同様の飼料摂取量の低下が観察された (Fig. 2)。これによりメスラット特異的な食欲抑制効果をもたらしているのは腸内細菌の代謝により生成されたエコールである可能性が強く示唆された。

ダイゼインやエコールと異なり、エストラジオールを無手術のメスラットに連続的に皮下投与しても、飼料摂取量は低下しなかった (Fig. 3)。エコールの光学活性の違いは効果に影響しなかった。さらに今回の150 mg/kg飼料のエコール摂取量では、光学活性の違いによらず卵巣摘出ラットの子宮重量に影響を与えることはなかった。エストロゲンレセプター α に対する活性化能が光学活性の違いによらず低かったことも合わせ、エコールの食欲抑制効果は単純なエストロゲン様作用によりもたらされている訳ではないと推測した。

Table 1. Body weight gain, food intake, food efficiency and fat tissue weight of male, female and ovariectomized rats fed the diet containing daidzein, (–)-equol, (+)-equol, or the control diet, or female and OVX rats fed control diet with subcutaneous injection of estradiol for 4 wk

	Perirenal plus Ovary fat tissue weight	Uterine weight
	g	g
Intact		
Control	12.09 ± 1.3 ^b	0.40 ± 0.05
Daidzein	5.9 ± 0.7 ^a	0.32 ± 0.03
Equol (+)	6.2 ± 0.4 ^a	0.34 ± 0.03
Equol (–)	8.0 ± 1.2 ^{ab}	0.32 ± 0.03
Estradiol	9.7 ± 1.7 ^{ab}	0.39 ± 0.07
OVX		
Control	16.7 ± 2.5 ^b	0.059 ± 0.00 ^a
Daidzein	9.9 ± 0.8 ^a	0.081 ± 0.01 ^a
Equol (+)	7.3 ± 1.1 ^a	0.11 ± 0.01 ^a
Equol (–)	9.3 ± 0.7 ^a	0.088 ± 0.01 ^a
Estradiol	11.0 ± 1.3 ^a	0.167 ± 0.02 ^b

Each value represents the mean ± SEM, n=6. Values in a row with different superscript letters are significantly different, determined by Tukey's multiple range test. *Different from OVX's control group, $p < 0.05$, Student's t -test.

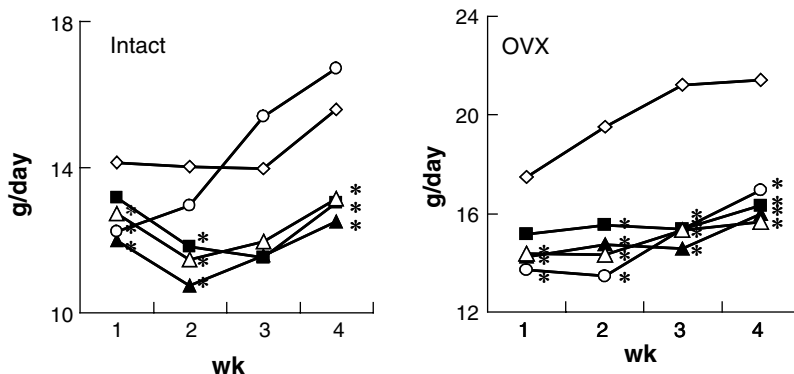


Fig. 2. Weekly changes of food intake in female and OVX rats fed the diet containing daidzein (■), (–)-equol (△), (+)-equol (▲), or the control diet (◇), or female and OVX rats fed control diet with subcutaneous injection of estradiol (○) for 4 wk. Values are the means of six rats with standard errors of the mean shown by vertical bars. *significantly different from the control group, determined by Tukey's multiple range test ($p < 0.05$).

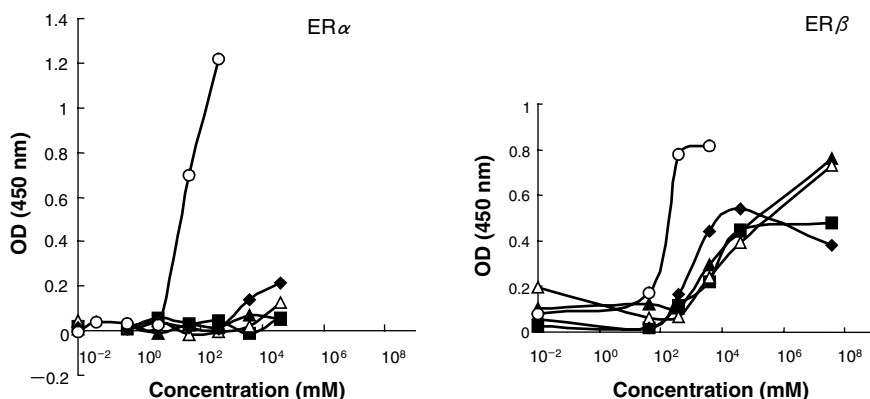


Fig. 3. *In vitro* activation capacity of estrogen receptor α and β by (–)-equol ($\triangle$), (+)-equol ($\blacktriangle$), daidzein ($\blacksquare$), genistein ($\blacklozenge$), estradiol ($\circ$).

要 約

先に我々は大豆イソフラボン・ダイゼインがメスラット特異的な飼料摂取量低下をもたらすことを見出した。本研究はこの作用物質と機構を解明することを目的とし、本年度は以下の成果を得た。メスラット特異的な食欲抑制効果をもたらしているのはダイゼインの腸内細菌代謝物エコールであることが明らかになった。またエストラジオールとの効果エストロゲンレセプター活性化能の違いからエコールの食欲抑制効果は単純なエストロゲン様作用によりもたらされている訳ではないと推測した。

文 献

- 1) Setchell KD and Heubi JE et al. (2005): Equol, S-equol, a potent ligand for estrogen receptor beta, is the exclusive enantiomeric form of the isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *Am J Clin Nutr*, **81**, 1072-1079.
- 2) Wade GN (1975): Some effects of ovarian hormones on food intake and body weight in female rats. *J Comp Physiol Psychol*, **88**, 183-193.
- 3) Dixon RA and Ferreira D (2002): Genistein. *Phytochemistry*, **60**, 205-211.
- 4) Bingham SA, Atkinson C, Liggins J, Bluck L and Coward A (1998): Phyto-oestrogens: where are we now? *Br J Nutr*, **79**, 393-406.