

大豆イソフラボンおよびその代謝産物エクオールの標的遺伝子群の解析と エクオールプロデューサーの臨床的意義の解明

臼井 健*

独立行政法人国立病院機構京都医療センター 臨床研究センター

Analysis of Target Genes of Isoflavones and Clinical Significance of Equol Producers

Takeshi USUI

National Hospital Organization Kyoto Medical Center, Clinical Research Institute,
Kyoto 612-8555

ABSTRACT

Genistein and daidzein are well characterized phytoestrogens rich in soy or soy derived foods. These two isoflavones are considered to play an important role for various soy related human health benefits such as prevention of osteoporosis or arteriosclerosis. Daidzein is metabolized to equol in most of the animals and some human, and the equol is reported to be a stronger estrogenic compound. Individuals who can metabolite daidzein to equol (equol producers) might be more sensitive to soy intake than equol non-producers. To address the molecular mechanisms of isoflavone on human health, we performed DNA microarray analysis. And we also study the clinical parameters for equol producers and equol non-producers. Our data suggest that equol producers are favorable for metabolic syndrome. *Soy Protein Research, Japan* **11**, 95-98, 2008.

Key words : phytoestrogen, isoflavone, equol, DNA microarray

近年の米国の大規模臨床試験（WHI study）にて更年期以降の女性のホルモン補償療法はベネフィットよりリスクが高いことが明らかにされ、また認知症の発症予防に関しても懐疑的な報告がなされエストロゲンの補償療法の見直しが迫られている^{1,2)}。また一方で選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）は近年骨粗鬆症の治療薬としてまた更に乳がんや動脈硬

化に対するベネフィットも期待されており、将来大きなマーケットを獲得する可能性がある。植物中に含まれる植物エストロゲン（phytoestrogen）の存在は以前より知られている。大豆に豊富に含まれるゲニステインやダイゼインは代表的なイソフラボンであり、植物エストロゲンとして作用することが知られている。またダイゼインは摂取された後に腸内細菌叢によって代謝を受けてダイハイドロダイゼインを経てエクオールに代謝される³⁾。しかしヒトにおいてはこの代謝を

*〒612-8555 京都市伏見区深草向畑町1-1

司る腸内細菌叢を有する割合は約30%程度とされており、エクオール産生菌を持っているひとをエクオールプロデューサーと呼びその意義が注目されている⁴⁾。これらのイソフラボン類の健康に及ぼす影響については多くの疫学研究があるが、必ずしもそれらの結果は一致していないのが現状である⁵⁾。本研究ではこれらのイソフラボンによって発現制御を受ける遺伝子群をDNAマイクロアレイを用いて検討した。また一般住人についてエクオールプロデューサーとノンプロデューサーについて各種の臨床パラメーターの比較を試みた。

方 法

用いた培養細胞はヒトの脂肪細胞およびヒトの血管内皮細胞であるHUVECを用いた。これらの細胞をフェノールレッド除去DMEM培地に活性炭処理ウシ胎児血清を加え培養を行った。細胞培養液中に各種のイソフラボンを添加して48時間培養した後に細胞を集め、totalRNAを抽出した。得られたRNAをビオ

チンラベルaRNAを調整しAgilent 2100 BioanalyzerにてaRNAの品質確認を行い確認されたものについてConPath Chipを用いてハイブリダイゼーションを行いスキャニング、数値化、ノーマライゼーションを行った。パスウェイ解析はConPathシステムを用いて解析した。

また一般住人について随時尿を採取しその尿中のイソフラボン濃度を測定し、同時に採取した血液検査のデータとの関連を解析した。

結 果

ヒトの皮下脂肪細胞と血管内皮細胞の培養細胞系を用いて各種のイソフラボンおよびその代謝産物培養液に加えて遺伝子発現をDNAマイクロアレイを用いて包括的に解析した。個々の詳細なデータについては解析中であるが、個々のイソフラボンはそれぞれ特有の遺伝子発現調節を司っているように思われた。一例として脂肪細胞においてダイゼインを添加した場合およびエクオールを添加した場合における脂肪細胞分化

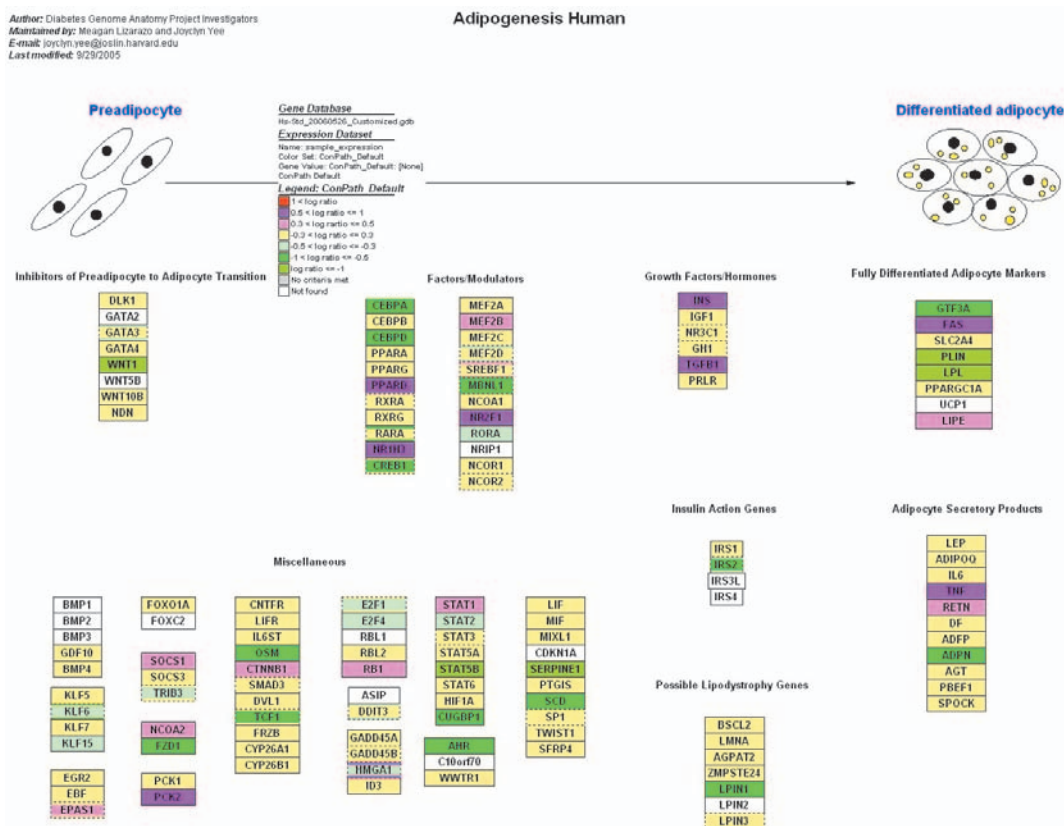


Fig. 1. Regulated genes related to adipogenesis by Daidzein.

パスウェイの図を示した (Fig. 1, 2). また数は少ないが異なるイソフラボンで異なる発現調節を受ける遺伝子も認められた.

一方健康人の尿中エクオールを検出可能者 (エクオール排泄者) と非検出者 (エクオール非排泄者) における各種臨床パラメーターの比較をTable 1に示す. エクオール排泄者の方がBMIが低く, 血中レプチン濃度, 高感度CRPが有意に低かった.

考 察

DNAマイクロアレイによってゲニステイン, ダイゼイン, エクオールによる包括的な遺伝子発現変化をヒトの脂肪細胞と血管内皮細胞について検討しそのデータベースを構築した. 今後データマイニングの手法等を用いてこのデータを有益に生かせるような工夫が必要である.

一方ヒトを対象としたエクオール排泄者, 非排泄者の比較ではエクオール排泄者の方がメタボリックシンドロ

ームに対して有利に作用する可能性を示唆している. BMIとレプチン濃度の有意な低値は内臓脂肪量の低値を反映している可能性があり, 今後の更なる解析が興味深い.

Table 1. Clinical parameters of equol non-excreters and equol excreters

	Equol non-excreters		Equol excreters		
	Average	SD	Average	SD	P
Sex (male_female)	88_116 (204)		38_42 (80)		
Age	65.1 ± 12.9		64.8 ± 13.0		0.8656
BMI	24.2 ± 2.9		23.2 ± 3.3		0.0132
Blood glucose	99.3 ± 28.9		102.1 ± 36.0		0.5089
Systolic BP	138 ± 19		138 ± 21		0.7364
Diastolic BP	76 ± 11		77 ± 11		0.8619
HbA1c	5.57 ± 1.06		5.73 ± 1.29		0.2684
Total cholesterol	186 ± 35		186 ± 34		0.9988
HDL cholesterol	54.2 ± 14.2		53.1 ± 15.0		0.5608
Triglyceride	101.7 ± 53.1		97.3 ± 45.9		0.5148
Leptin	4.80 ± 5.50		3.44 ± 2.98		0.0083
Adiponectin	8.21 ± 5.94		8.72 ± 5.38		0.5036
High sensitive CRP	0.547 ± 1.571		0.231 ± 0.411		0.0085

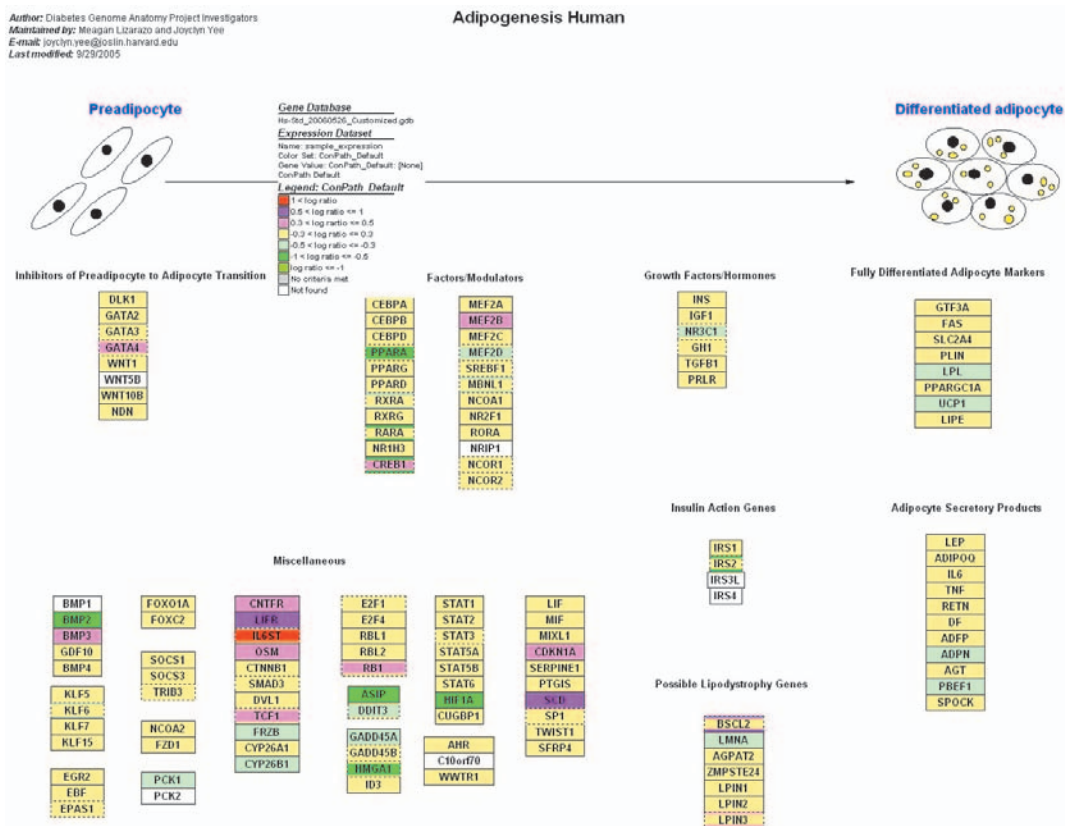


Fig. 2. Regulated genes related to adipogenesis by Equol.

要 約

大豆に含まれるイソフラボンおよびその代謝産物についての遺伝子発現変化に関する基礎的なデータをDNAマイクロアレイにて解析しその基盤データを蓄積した。またエクオール排泄者はメタボリックシンドロームに対して有利に作用する可能性が示唆された。

文 献

- 1) Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM and Ockene J (2002): Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *Jama*, **288**, 321-333.
- 2) Zandi PP, Carlson MC, Plassman BL, Welsh-Bohmer KA, Mayer LS, Steffens DC and Breitner JC (2002): Hormone replacement therapy and incidence of Alzheimer disease in older women: the Cache County Study. *Jama*, **288**, 2123-2129.
- 3) Chang HH, Robinson AR and Common RH (1975): Excretion of radioactive diadzein and equol as monosulfates and disulfates in the urine of the laying hen. *Can J Biochem*, **53**, 223-230.
- 4) Setchell KD, Brown NM and Lydeking-Olsen E (2002): The clinical importance of the metabolite equol-a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J Nutr*, **132**, 3577-3584.
- 5) Usui T (2006): Pharmaceutical prospects of phytoestrogens. *Endocr J*, **53**, 7-20.