

肥満症・メタボリックシンドロームにおける大豆たん白質・イソフラボン代謝産物・
エクオール投与の心血管病リスク軽減効果に関する研究

浅原哲子*・田中将志・山陰 一・村中和哉

独立行政法人国立病院機構京都医療センター
臨床研究センター糖尿病研究部臨床代謝栄養研究室

**Effect of Soy Protein, Isoflavone Metabolite and Equol Administration on
the Reduction of Cardiovascular Disease Risk in the Patients
with Obesity and Metabolic Syndrome**

Noriko Satoh-ASAHARA*, Masashi TANAKA, Hajime YAMAKAGE
and Kazuya MURANAKA

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

ABSTRACT

Epidemiologic studies indicate that soy intake has an important role in the prevention of age-related health problems, such as metabolic syndrome and stroke. From our survey of nutrition examination, we revealed that the positive correlation between the intake of the soy bean product and serum levels of adiponectin. Daidzein, the principal isoflavone contained in soy, is converted to S-equol by the intestinal bacteria. Not all individuals, however, can produce S-equol, which is considered the most biologically active metabolite. We studied the effects of a natural S-equol supplement on metabolic parameters associated with overweight or obesity and metabolic syndrome. The study was a randomized, double-blinded, placebo-controlled, crossover design with no washout period. All subjects were considered overweight or obese if they had a body mass index ≥ 25 kg/m². Placebo or natural S-equol tablets containing 10 mg S-equol were orally ingested each day for 12 weeks. A total of 54 Japanese overweight or obese outpatients were enrolled. Equol non-producers comprised 67.9% of the overweight or obese subjects. The ratio of equol non-producers in this overweight or obese subject group was higher than the previously reported ratio of equol non-producers (approximately 50%) in the general population. Compared with the placebo group, intervention with natural S-equol led to a significant decrease in HbA1c, serum low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) levels, and CAVI score. Furthermore, the effect was more

*〒612-8555 京都府京都市伏見区深草向畑町1-1

prominent in the subgroup of female equol non-producers. Natural S-equol might have a role in glycemic control and in the prevention of cardiovascular disease by its effects to lower LDL-C levels and CAVI scores in overweight or obese individuals. *Soy Protein Research, Japan* **18**, 159-165, 2015.

Key words : cardiovascular disease, soy protein, isoflavone metabolite, equol, obesity, metabolic syndrome

大豆イソフラボンはエストロゲン様作用や抗酸化作用を有し、糖脂質代謝、骨粗鬆症等への効果が期待されている^{1~4)}。最近、我が国の大規模疫学研究にて、大豆摂取の多い日本人女性では脳梗塞発症リスクが低いと報告された⁵⁾。しかし、我が国で増加する肥満症・メタボリック症候群 (MetS) に対する有効性の検討は殆どない。

大豆イソフラボンの中のダイゼインは腸内細菌の代謝によってエクオール (EQ) に変換されるが、このEQ産生菌を持つ人 (EQプロデューサー [equol producer: EP]) と持たない人 (equol non-producer: ENP) が存在する。EQは強いエストロゲン様作用を有するので、大豆摂取の感受性の違いに腸内細菌によるEQの産生の有無が関与している可能性がある。しかし、これまでの大豆やイソフラボンの臨床研究ではこの点が全く考慮されてこなかった。

本研究では、肥満症・MetSにおいてたん白質およびその摂取内訳 (肉・魚・大豆摂取率) と心血管合併症の関連性検討を横断的に行う。更にEQ産生能の有無を明確にした上で、EQの摂取が肥満症・MetSおよび心血管合併症の進展、予防に有効か否かを前向き介入研究で検討し、EPおよびEQ摂取の臨床的意義を明らかにする。以上により、肥満症・MetSにおけるEQの有効性とその機序を解明し、肥満症・MetSに対して、EQ産生の有無と大豆摂取量に着目した心血管病予防の為のオーダーメイドな栄養指導プログラム・予防法および薬物治療法を検討する。

方 法

1. 横断研究：

当院肥満・MetS外来における肥満症104例において、簡易食物摂取調査票を用いて摂取栄養素 (炭水化物、脂質、たん白質、大豆類、肉類、魚類) を調査し、MetS群と非MetS群別に各摂取量を比較検討した。MetSの判定基準は、NCEP-ATPIIIを用いた。また各摂取栄養素量と体組成、血圧、糖脂質代謝、動脈硬化に関連するホルモン：アディポサイトカイン (レプチン、アディポネクチン) との関連を検討した。

ン、アディポネクチン) との関連を検討した。

2. クロスオーバー試験：

肥満症例を対象に、無作為2群割付にて、EQ 10 mg/日とプラセボ投与 (各3ヶ月間) によるクロスオーバー試験を施行する (Fig. 1)。評価項目として体組成、糖脂質代謝、アディポサイトカイン、炎症・酸化ストレス、動脈硬化指標CAVIなど心血管病リスク、さらに末梢血単球における炎症M1・抗炎症M2マーカーの発現を継続的に測定する。また、介入前日に大豆製品を摂取後、尿中EQを測定することでEPか否かを判定する。

以上より、大豆摂取率・EQ産生能の有無・EQ投与と、肥満度・MetS重症度や心血管病リスクとの関連について解析を行い、EQの有用性を明らかにする。

連続変数の群間比較には、対応のない t 検定を使用した。また、前後比較には対応のある t 検定を使用した。2変量の相関には、Pearsonの相関係数を算出した。有意水準は両側5%とし、解析にはSPSS ver 19.0を使用した。

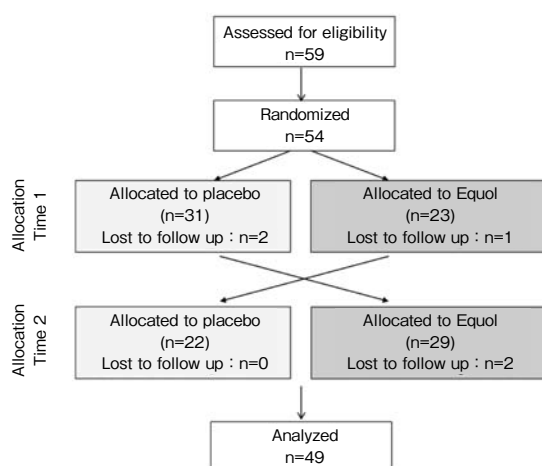


Fig. 1. Flow chart of the randomized crossover trial. Diagram show the flow of participants through each stage of the randomized crossover trial.

結 果

1. 横断研究：

肥満症104例（男性49例，女性55例，年齢：48.2±14.1歳，BMI：31.0±4.9 kg/m²）中，MetS群（男性16例，女性35例，年齢：48.1±13.6歳）は51例，非MetS群は53例であった（Table 1）。

MetS群では非MetS群に比べ，炭水化物の摂取量が有意に多く，特に女性で顕著であった。炭水化物摂取の内訳としては，MetS群で穀類摂取量が有意に多いことを認めた。また，たん白質の摂取量にはMetS群と非MetS群で有意な差を認めなかったが，たん白質摂取の内訳としては，MetS群で肉類摂取量が多く，一方非MetS群では大豆摂取率が多くなる傾向を認めた。

抗動脈硬化ホルモンであるアディポネクチンに対して，大豆摂取率とは有意な正の相関を認めた。一方，肉摂取率と有意な負の相関を認めた。また，魚摂取率とは正の相関傾向を認めた（Fig. 2）。

2. クロスオーバー試験：

肥満症54例において，EQ投与先行群とプラセボ内服先行群に無作為割付を施行した。54例中EPは17例（32%）であり，既に報告されている日本人健康人に

おけるEP割合の50%より低率であった⁶⁾。また，ENPに比べEPでは単球中の抗炎症性M2マーカーであるTNF- α の発現量が低い傾向を示した（Table 2）。

EQ投与によりプラセボ使用時に比べ，HbA1c，LDL-CとCAVIが有意に低下することを認めた（Fig. 3）。特に女性のENPでEQ投与によるHbA1c，LDL-CおよびCAVI改善の効果が顕著であった（Fig. 4）。更にEQ投与によるCAVI低下とLDL-C低下に有意な正相関を認めた（ $r=0.33, p<0.05$ ）。

考 察

我々はこれまでの研究により，肥満症・MetSにおいてたん白質の摂取における大豆摂取量と抗動脈硬化に関連性があることを認めた。現在，更に詳細な摂取栄養状況との関連性を検討すべく簡易型自記式食事歴法質問票（BDHQ：brief-type self-administered diet history questionnaire）を用いた詳細な栄養調査と解析を施行中である。これにより更に詳細な各栄養素の摂取率と動脈硬化進展に関連するバイオマーカーとの関連が判明すれば，心血管病予防の為のオーダーメイドな栄養指導プログラム構築の一助となる。本集団を用いて，更なる追跡調査により，栄養指導効果の評価法構築・オーダーメイド栄養指導の確立に寄与できると期待される。

Table 1. The characteristics of the obese patients with or without MetS (n=104)

	Non-MetS Group	MetS group	P-value
N	51	53	
Male/Female (n)	16/35	33/20	
Age (years)	48.1 ± 1.9	48.3 ± 2.1	n.s.
BMI (kg/m ²)	29.5 ± 0.8	32.4 ± 0.7	<0.01
Waist circumference (cm)	96.0 ± 1.6	104 ± 1.8	<0.01
Intra-abdominal fat area (cm ²)	117 ± 11	167 ± 12	<0.05
Subcutaneous fat area (cm ²)	282 ± 27	308 ± 23	n.s.
Systolic BP (mmHg)	130 ± 2.5	151 ± 2.4	<0.01
Diastolic BP (mmHg)	78.8 ± 1.4	89.8 ± 1.4	<0.01
Fasting plasma glucose (mg/dL)	90.2 ± 1.6	114 ± 6.3	<0.01
HbA1c (%)	5.9 ± 0.1	6.7 ± 0.2	<0.01
HDL-cholesterol	63.9 ± 1.9	52.3 ± 1.7	<0.01
Triglycerides	124 ± 8.2	224 ± 18	<0.01
Adiponectin (μg/mL)	7.2 ± 0.8	5.9 ± 0.6	<0.05
Nutritional intake			
Carbohydrate (g)	315 ± 12	350 ± 11	< 0.05
Lipid (g)	50 ± 3	49 ± 2	n.s.
Protein (g)	75 ± 4	81 ± 4	n.s.

Data are shown as mean ± SEM. BMI: body mass index, BP: blood pressure, HDL: high-density lipoprotein.

Table 2. Clinical characteristics and metabolic variables at baseline in EP and ENP group (crossover trial)

	ENP Group (n=37, 68%)	EP group (n=17, 32%)	P-value
Male/Female (n)	9/28	7/10	-
Age (years)	57.1 ± 1.7	62.5 ± 2.3	0.066
BMI (kg/m ²)	30.5 ± 0.9	28.4 ± 0.8	0.131
Waist circumference (cm)	99.3 ± 1.8	95.6 ± 2.1	0.212
Systolic BP (mmHg)	136 ± 2.0	132 ± 3.4	0.261
Fasting plasma glucose (mg/dL)	113 ± 3.6	109 ± 5.0	0.354
HbA1c (%)	6.5 ± 0.2	6.2 ± 0.2	0.240
Triglycerides (mg/dL)	140 ± 13.3	130 ± 20.3	0.693
HDL-cholesterol (mg/dL)	62.8 ± 2.5	61.3 ± 5.6	0.771
LDL-cholesterol (mg/dL)	115 ± 4.6	111 ± 5.8	0.180
Leptin (ng/mL)	18.7 ± 2.6	15.0 ± 3.5	0.413
Adiponectin (μg/mL)	9.6 ± 0.7	12.5 ± 2.0	0.091
CRP (μg/mL)	1.40 ± 0.4	0.92 ± 0.3	0.255
CAVI	7.99 ± 0.2	7.92 ± 0.3	0.834
TNF-α (pg/mL)	3.7 ± 0.3	3.0 ± 0.3	0.072
IL-6 (pg/mL)	8.8 ± 1.0	9.2 ± 1.1	0.431
IL-10 (pg/mL)	15.0 ± 3.2	17.9 ± 4.4	0.382

Data are shown as mean ± SEM. The abbreviations used in this table are the same as those used in Table 1.

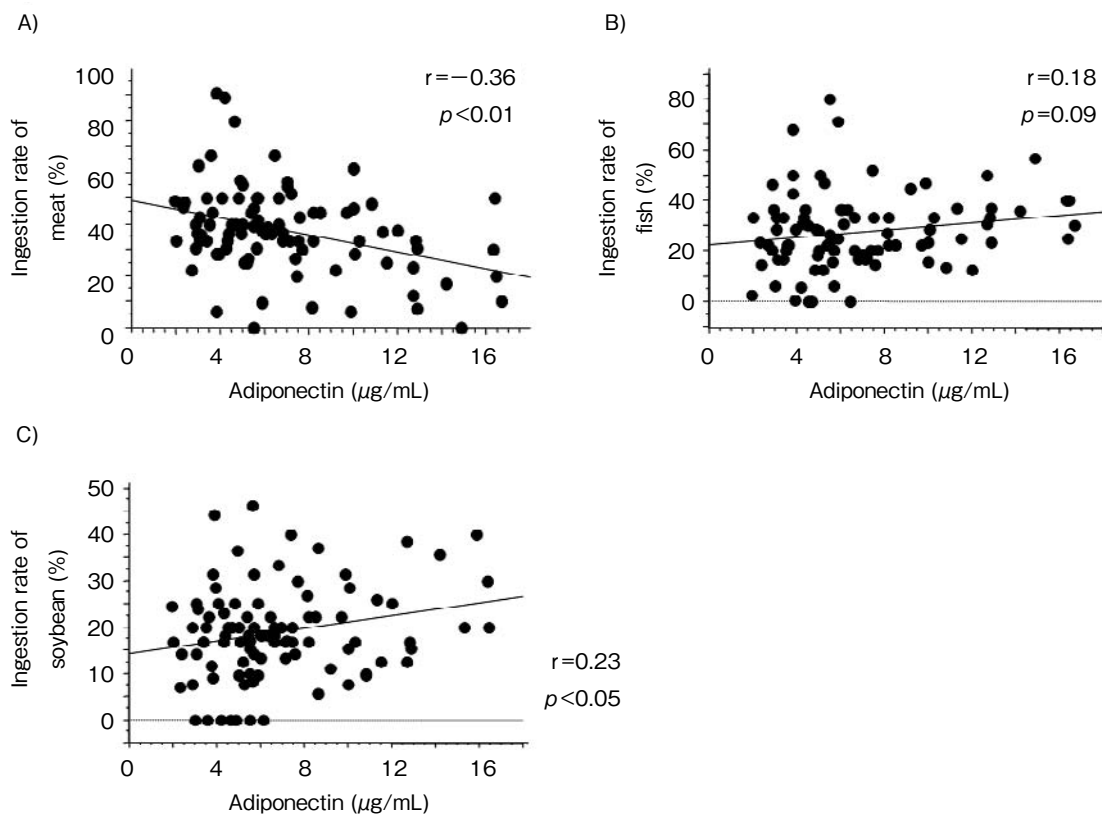


Fig. 2. Correlation between serum levels of adiponectin and ingestion rate of meat (A), fish (B), and soybean (C). Serum levels of adiponectin showed a significant positive correlation with soybean intake rate. On the other hand, adiponectin showed a significant negative correlation and meat intake rate. In addition, adiponectin and fish intake rate showed a positive correlation trend.

本研究では、肥満症・MetSではENPの割合が一般人より高いことを認め（68% vs. 50%）、更にENPではEPに比べ単球機能が悪化している可能性が示された。我々はこれまで、肥満症・MetSにおける単球機能の悪化（炎症性M1単球の増加）を報告し、動脈硬化進展に繋がる可能性を報告してきた^{7,8)}。今回、肥満症・MetSにおける心血管リスクの一つと考えられるこの単球機能の悪化にENP率上昇が関与している可能性が示唆された。

また、EQ投与によりLDL-Cの低下とそれに伴う

CAVIの改善が認められ、肥満症・MetSにおけるEQ投与による心血管病発症予防効果が示され、特に女性のENPでその効果が顕著であり心血管病予防効果が期待できることが示唆された。

以上より、食事栄養指導において、肥満症・MetSの心血管病予防の為に、栄養調査による大豆摂取量の聴取、またEQ産生の有無、さらにはENPに対するEQ投与の重要性が示され、オーダーメイドな栄養指導プログラムの構築に向けて重要な知見であると考えられる。

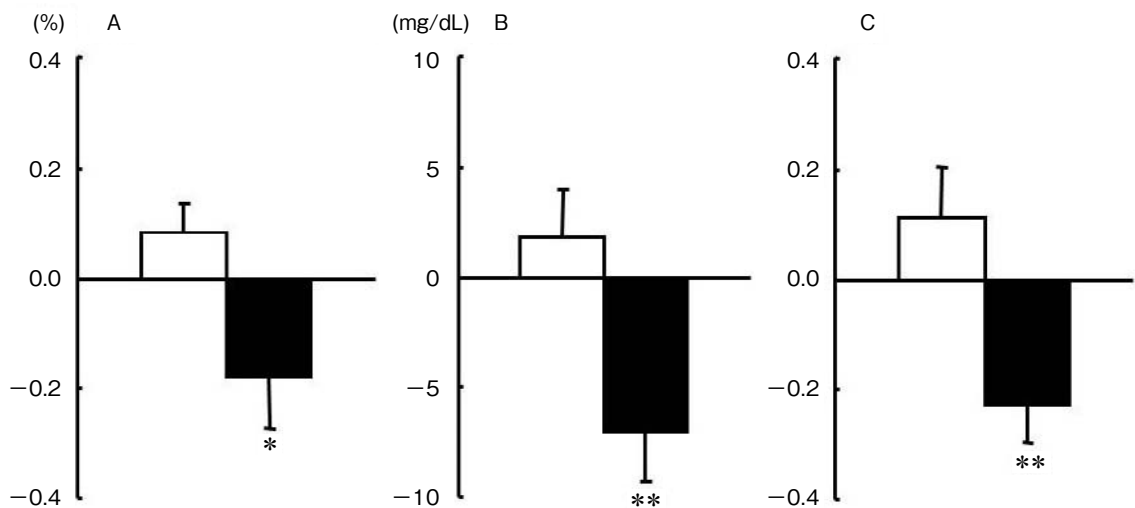


Fig. 3. Changes from the baseline. Natural S-equol intervention (closed bar) significantly reduced the value of HbA1c (A), LDL-C (B), and CAVI (C) compare to placebo intervention (open bar). Values are mean $\pm$ SEM. Data are shown as mean $\pm$ SE. * p <0.05, ** p <0.01 vs Placebo. Fig 2 showed the changes from the baseline in HbA1c, LDL-C, and CAVI. Natural S-equol intervention significantly reduced HbA1c, LDL-C and CAVI score, while placebo intervention did not make any changes.

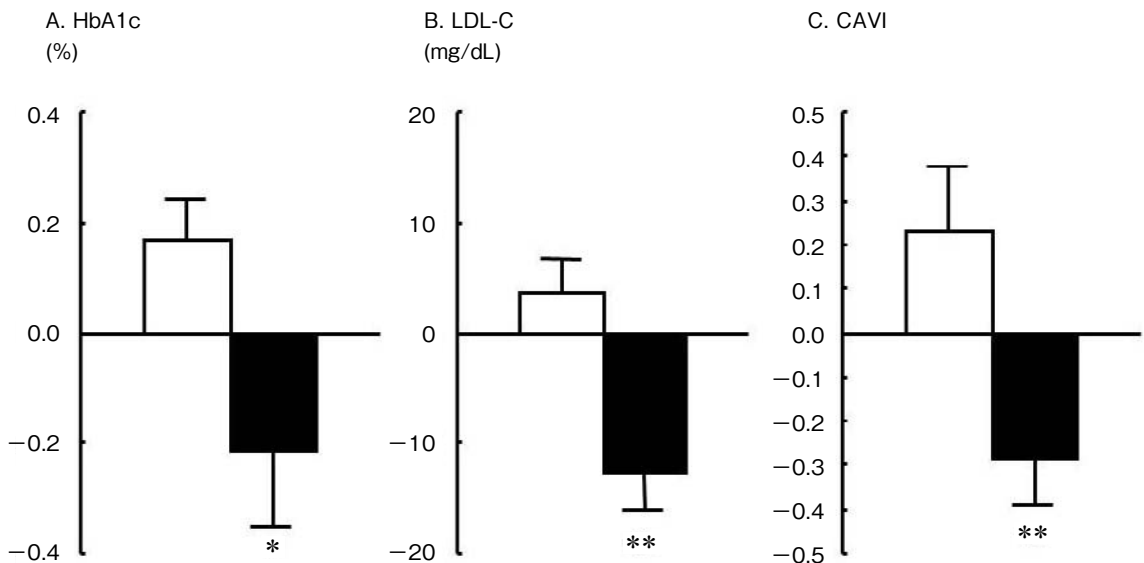


Fig. 4. In subgroup of female ENP, natural S-equol intervention (closed bar) had a significant reduction in HbA1c, LDL-C, and CAVI, compare to placebo intervention (open bar). Values are mean $\pm$ SE. Data are shown as mean $\pm$ SEM. * p <0.05, ** p <0.01 vs. placebo. Subgroup of female ENP showed significant reduction of all the three metabolic parameters by natural S-equol intervention.

要 約

大豆イソフラボンはエストロゲン様作用や抗酸化作用を有し、メタボリック症候群 (MetS) や脳梗塞の予防効果が期待されている。イソフラボンの中のダイゼインは腸内細菌の代謝によりエクオール (EQ) に変換されるが、EQ産生菌を持つ人 (EP) と持たない人 (ENP) が存在し、大豆摂取の感受性に影響する可能性がある。本研究は、肥満症・MetSにおいてEQ産生能およびEQ摂取の炎症・動脈硬化指標や単球機能などの心血管病リスクに対する影響を介入研究にて検討した。肥満症104例に簡易栄養調査を施行した所、大豆製品の摂取率と抗動脈硬化ホルモンであるアディポネクチンに正相関が認められた。また、肥満症54例において、EQ10 mg/日の内服とプラセボ内服 (各3ヶ月間) を用いたランダム化クロスオーバー試験を施行した。54例中、EPは17例 (32%) であり、一般人の報告50%より低率であった。ENPに比べEPでは単球中のTNF α 発現量が低い傾向を示した。EQ投与によりLDL-Cと動脈硬化指標CAVIの有意な低下を認め、特に女性のENPで効果が顕著であった。更にEQ投与によるCAVI低下とLDL-C低下に有意な正相関を認めた。以上より、肥満症ではENPの割合が一般人より高く、ENPではEPに比べ単球機能が悪化している可能性が示された。また、EQによりLDL-Cの低下とそれに伴うCAVIの改善が認められ、EQの心血管病発症予防効果が示唆された。

文 献

- 1) 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.
- 2) Jayagopal V1, Albertazzi P, Kilpatrick ES, Howarth EM, Jennings PE, Hepburn DA and Atkin SL (2002): Beneficial effects of soy phytoestrogen intake in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, **25**, 1709-1714.
- 3) Rivas M1, Garay RP, Escanero JF, Cia P Jr, Cia P and Alda JO (2002): Soy milk lowers blood pressure in men and women with mild to moderate essential hypertension. *J Nutr*, **132**, 1900-1902.
- 4) Chen YM1, Ho SC, Lam SS, Ho SS and Woo JL (2003): Soy isoflavones have a favorable effect on bone loss in Chinese postmenopausal women with lower bone mass: a double-blind, randomized, controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*, **88**, 4740-4747.
- 5) Kokubo Y1, Iso H, Ishihara J, Okada K, Inoue M, Tsugane S and JPHC Study Group (2007): Association of dietary intake of soy, beans, and isoflavones with risk of cerebral and myocardial infarctions in Japanese populations: the Japan Public Health Center-based (JPHC) study cohort I. *Circulation*, **116**, 2553-2562.
- 6) Arai Y1, Uehara M, Sato Y, Kimira M, Eboshida A, Adlercreutz H and Watanabe S (2000): Comparison of isoflavones among dietary intake, plasma concentration and urinary excretion for accurate estimation of phytoestrogen intake. *J Epidemiol*, **10**, 127-135.
- 7) Satoh N, Shimatsu A, Himeno A, Sasaki Y, Yamakage H, Yamada K, Suganami T and Ogawa Y (2010): Unbalanced M1/M2 phenotype of peripheral blood monocytes in obese diabetic patients: effect of pioglitazone. *Diabetes Care*, **33**, e7.
- 8) Satoh-Asahara N1, Shimatsu A, Sasaki Y, Nakaoka H, Himeno A, Tochiya M, Kono S, Takaya T, Ono K, Wada H, Suganami T, Hasegawa K and Ogawa Y (2012): Highly purified eicosapentaenoic acid increases interleukin-10 levels of peripheral blood monocytes in obese patients with dyslipidemia. *Diabetes Care*, **35**, 2631-2639.