

# 加齢に伴う脂質代謝変動と抗酸化体制の低下に対する 大豆イソフラボン摂取による改善効果の追究

長田恭一\*・鶴ヶ崎和華子・川上祐生・中村信吾

弘前大学農学生命科学部

## Preventive Effects of Dietary Isoflavone on Age-associated Modulation of Lipid Metabolism and Antioxidative System in Rats

Kyoichi OSADA, Wakako TSURUGASAKI, Yuki KAWAKAMI and Shingo NAKAMURA

Faculty of Agriculture and Life Science, Hirosaki University, Hirosaki 036-8561

### ABSTRACT

Male Sprague-Dawley rats, 4 weeks (immature) or 8 months (mature) of age, were given one of purified diets with or without 0.15% isoflavone-aglycone (IFA) to know the regulative effects of dietary isoflavone on modulations of antioxidative function and lipid metabolism with aging. Dietary IFA inhibited the age-related lowering of the activities of antioxidative enzymes such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in both red blood cells and liver. Moreover, the increase of levels of lipid hydroperoxides such as phospholipid hydroperoxides in both serum and liver was lowered by consumption of IFA. Dietary IFA also regulated the activities of hepatic key enzymes of lipid metabolism including cholesterol synthesis, cholesterol catabolism and linoleic acid desaturation in both immature and mature rats. Dietary IFA seems to have potent regulative function against the modulation of antioxidative system with aging among each regulative function of dietary components. Oxidative damage and deleterious perturbation of metabolism in biological systems is one of the triggers of aging process and degenerative diseases such as atherosclerosis and cancer. Therefore, a part of degenerative diseases caused by modulations of antioxidative function and lipid metabolism with aging may be prevented by consumption of IFA. *Soy Protein Research, Japan* **5**, 122-128, 2002.

Key words : isoflavone, aging, lipid metabolism, antioxidant, rat

加齢に伴い、生体恒常性の変動が生じる。なかでも、脂質代謝機能変動と抗酸化体制の低下は組織老化を加速させ、種々の疾病発症の原因になるものと考えられる。このような問題を改善あるいは予防するために、特定の食品成分の摂取強化で対処できれば、最も効果的かつ実行可能な方策になるのではないかとと思われる。

速させ、種々の疾病発症の原因になるものと考えられる。このような問題を改善あるいは予防するために、特定の食品成分の摂取強化で対処できれば、最も効果的かつ実行可能な方策になるのではないかとと思われる。

\*〒036-8561 弘前市文京町3

る。現在までのファイトケミカルズ研究では、フラボノイド化合物が有効な健康維持と増進機能を有するので、食品への応用化が図られている。大豆に存在するイソフラボン (IF) 類は、エストロゲン作用<sup>1)</sup>、抗がん作用<sup>2)</sup>あるいは骨代謝強化機能<sup>3)</sup>等を有しているが、老化防止食品成分である可能性を実証した例は見られない。本研究では大豆由来IF摂取、とくに、生体への吸収効率が高い<sup>4)</sup>IF-アグリコン (IFA) の摂取によって、加齢に伴う脂質代謝および酸化体制変動の制御を試みた。

## 方 法

### 動物投与実験

4週齢 (未熟) および8ヶ月齢 (成熟) Sprague-Dawley系雄ラットに、0.15%大豆由来イソフラボン-アグリコン (対照は無添加) を添加した5%サフラワー油含有AIN93純化食を50日間摂取させた。飼育終了後、腹部動脈より採血死させて血液および組織を採取した。

### 酸化系酵素活性の測定

血液より調製した赤血球のパンク溶液を用いてカタラーゼ (CAT) およびグルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) およびスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) 活性を測定した。一方、肝臓はミトコンドリア画分とサイトゾル画分を調製した後に、CAT, GSH-Px, SOD, グルタチオンレダクターゼ (GSSG-R) ならびにグルタチオンS-トランスフェラーゼ (GST) 活性を測定した。

### 組織酸化諸パラメータの測定

血清と肝臓の過酸化脂質濃度は福永らのHPLC分析法<sup>5)</sup>に従ってチオバルピツール酸反応性物質 (TBARS) 濃度として測定した。また、血清と肝臓リン脂質過酸化濃度は宮澤らの化学発光-HPLC分析法<sup>6)</sup>で定量した。一方、血清と肝臓の $\alpha$ -トコフェロール濃度はHPLC分析法<sup>7)</sup>で測定した。

### 脂質代謝諸パラメータの分析

肝臓のコレステロール生合成と異化、およびリノール酸速酵素活性は、ミクロソームを調製した後に既報<sup>8)</sup>に従って測定した。また、組織脂肪の脂肪酸組成と組織エイコサノイド濃度をIkedaらの方法<sup>9)</sup>に従って測定した。

### 統計処理

得られた結果の有意差はSuper ANOVAを用いた2元配置分散分析により検定した。

## 結果と考察

ラットの成長は、年齢による差はあったが、IFA摂取による差はなかった。また、IFA摂取後の肝機能を調べたところ、高濃度のIFA摂取による生体毒性は認められなかった。

酸化諸パラメータとして、血清と肝臓のTBARS値を調べたところ、両者共に、両年齢群でIFA摂取群は低下した (Fig. 1)。また、血清と肝臓のリン脂質過酸化脂質レベルは、両年齢群ともIFA摂取群の方

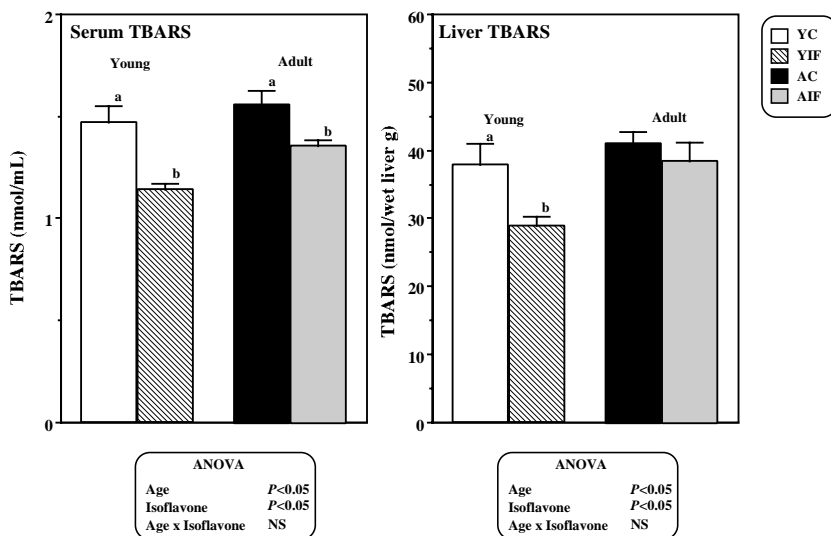


Fig. 1. Effects of dietary soy isoflavone-aglycone on liver and serum TBARS values in immature and mature rats. Data are presented as mean  $\pm$  SE of 7 or 8 rats in each group. <sup>ab</sup>Values without a common superscript letter in each group are significantly different at  $P < 0.05$  (ANOVA).

が低く、とくに、成熟群の肝臓phosphatidylcholine hydroperoxideレベルは大きく低下した (Fig. 2). 一方、血清と肝臓の $\alpha$ -トコフェロール濃度は未熟群の肝臓を除き、IFAを摂取した方が高く、とくに、成熟群の肝臓の $\alpha$ -トコフェロール濃度で大きな差が認められた。さらに、赤血球と肝臓SOD活性は、IFA摂取群の方が高く、成熟群では有意に高くなった (Fig. 3). CATおよびGSH-Px活性も同じ傾向を示した。IFはカテキン系化合物と比べて弱い、ラジカル捕捉機能を有する。また、フラボノイド類の中では吸収率が高い<sup>4)</sup>。よって、吸収されたイソフラボン類がラジカル類を補足し、種々の抗酸化酵素と抗酸化物質の消耗を制御して、上記のような結果が得られたものと思われる。

脂質代謝機能への、IFA摂取効果を調べたところ、肝臓HMG-CoA reductase活性はIFA摂取で低下し、とくに、成熟群では有意に低下した (Fig. 4). Cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase活性は両年齢群ともにIFA摂取で上昇した。 $\Delta$ 6 Desaturase活性は両年齢群ともにIFA摂取で低下した。血清のコレステロールとトリグリセリドは両年齢群ともにIFA摂取で低下し、とくに、成熟群では有意に低下した (Fig. 5). HDL-cholesterolレベルは有意差はないが、IFA摂取で上昇し、その効果は成熟群で強い傾向にあった。肝臓の脂質レベルはコレステロールとトリグリセリドは血清と同様の結果が認められた (Fig. 6). コレステロールの低下はHMG-CoA reductase活性低下によるものと思われる。糞中に排泄された中性および酸性ステロイド濃度を測定し

た結果、中性ステロイド排泄濃度は、未熟群よりも成熟群の方が排泄濃度が高くなった。また、コプロスタノール濃度はIFA摂取で有意に低下した。おそらく、摂取したIFAが腸内細菌に何らかの影響を及ぼしたものと思われる。酸性ステロイド排泄濃度は有意差はないが、IFA摂取で両年齢群ともに高くなる傾向にあった。血清と肝臓脂質の $\Delta$ 6 desaturation indexを算出したところ、酵素活性変動を反映して、IFA摂取で低下した (Fig. 7). すなわち、エイコサノイドの供給源であるアラキドン酸レベルはIFA摂取で制御される可能性がある。実際、IFA摂取群の動脈プロスタサイクリン産生レベルは対照群よりも低下した。よって、IFA摂取によって、炎症等に関わるエイコサノイド産生も調整されるものと考えられる。

以上の結果から、IFAは、加齢に伴う脂質代謝と酸化体制変動を制御し、とくに、後者を強化する機能が高い成分であることが明らかとなった。すなわち、IFAは老化防止食品成分として活用できるのではないかと考えられた。

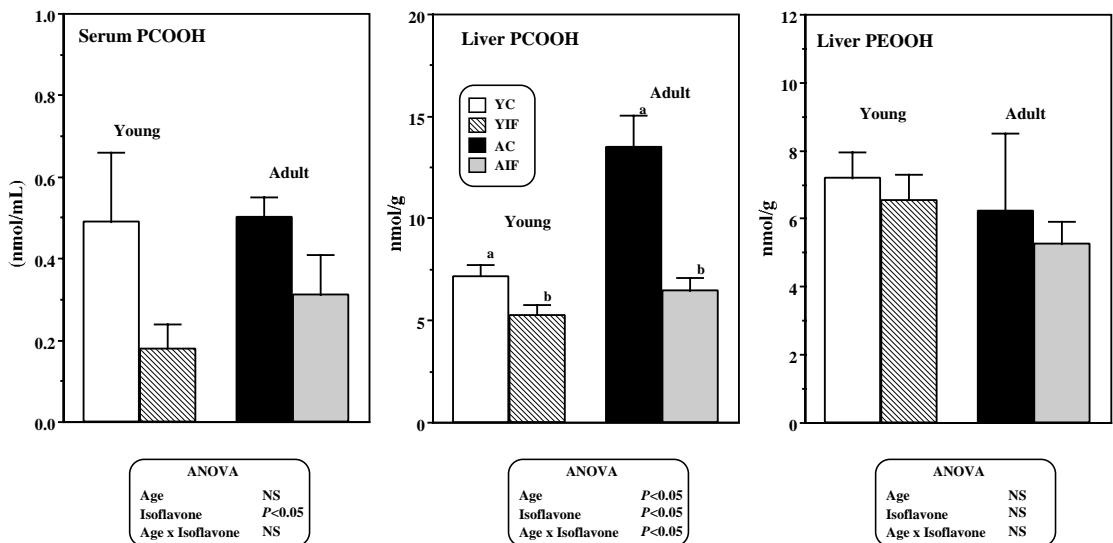


Fig. 2. Effect of dietary soy isoflavone-acylglycone on levels of tissue phospholipid hydroperoxides in immature and mature rats. Data are presented as mean $\pm$ SE for 7 or 8 rats in each group. <sup>ab</sup>Values without a common superscript letter in each group are significantly different at  $P < 0.05$  (ANOVA).

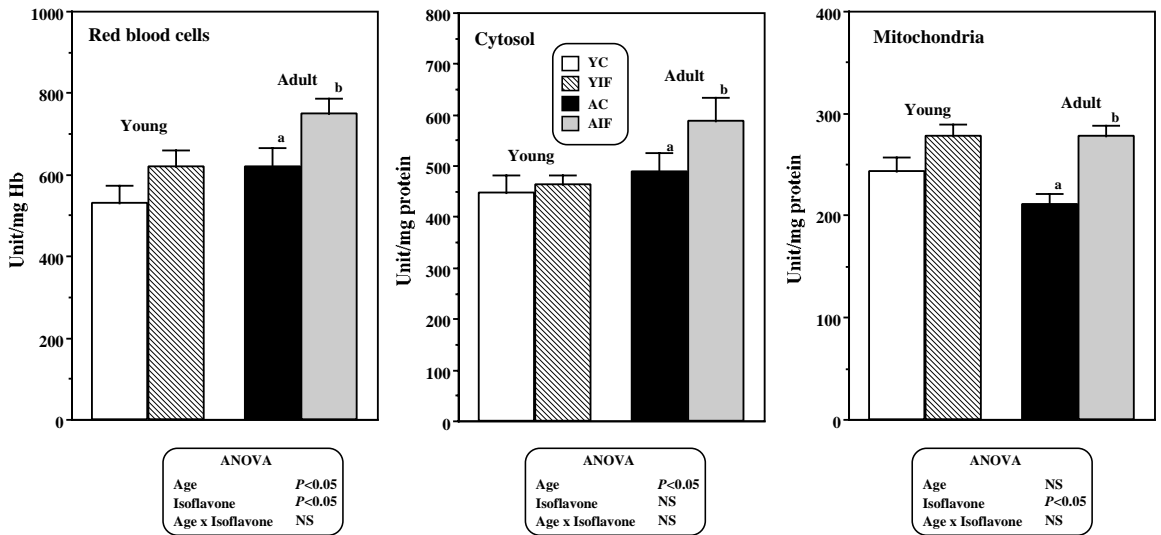


Fig. 3. Effect of dietary soy isoflavone-aglycone on superoxide dismutase activities of red blood cells and liver in immature and mature rats. Data are mean  $\pm$  SE of 7 or 8 rats in each group. <sup>ab</sup>Values without a common superscript letter in each group are significantly different at  $P < 0.05$  (ANOVA).

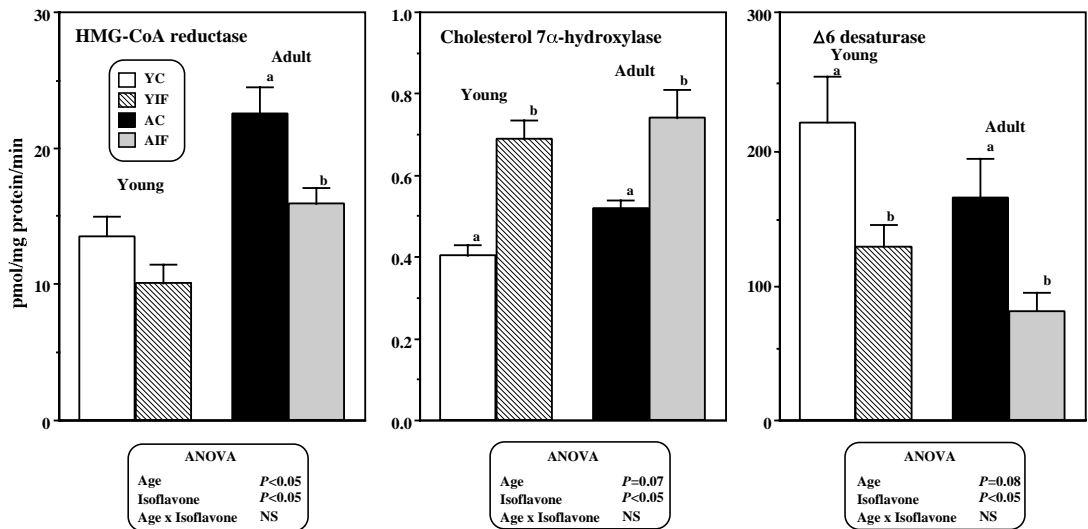


Fig. 4. Effect of dietary soy isoflavone-aglycone on the activities of hepatic key enzymes of lipid metabolism in immature and mature rats. Data are presented as mean  $\pm$  SE for 7 or 8 rats in each group. <sup>ab</sup>Values without a common superscript letter in each group are significantly different at  $P < 0.05$  (ANOVA).

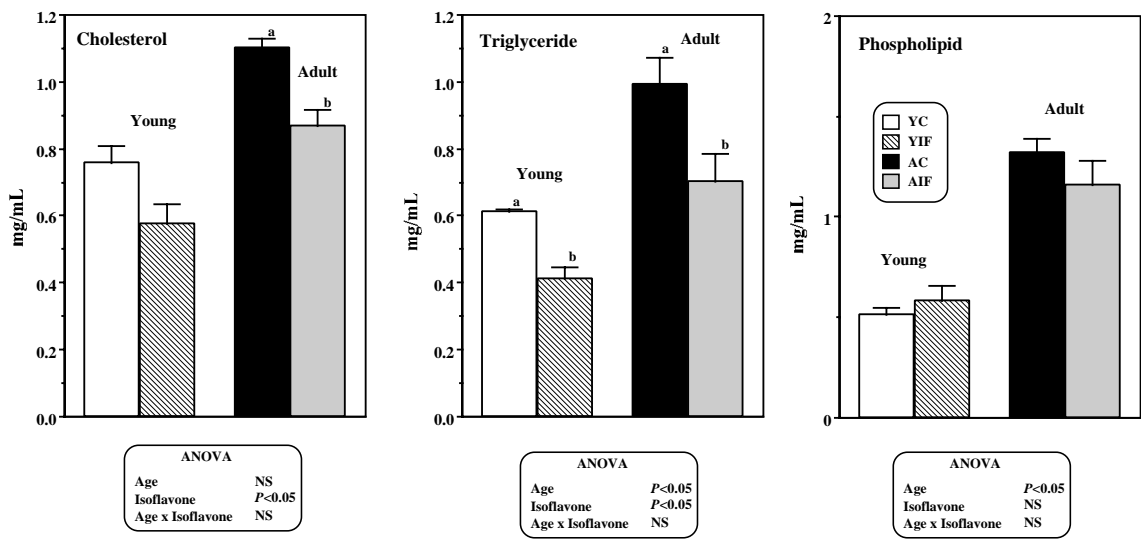


Fig. 5. Effect of dietary soy isoflavone-agnone on levels of serum lipids in immature and mature rats. Data are presented as mean  $\pm$  SE for 7 or 8 rats in each group. <sup>ab</sup>Values without a common superscript letter in each group are significantly different at  $P < 0.05$  (ANOVA).

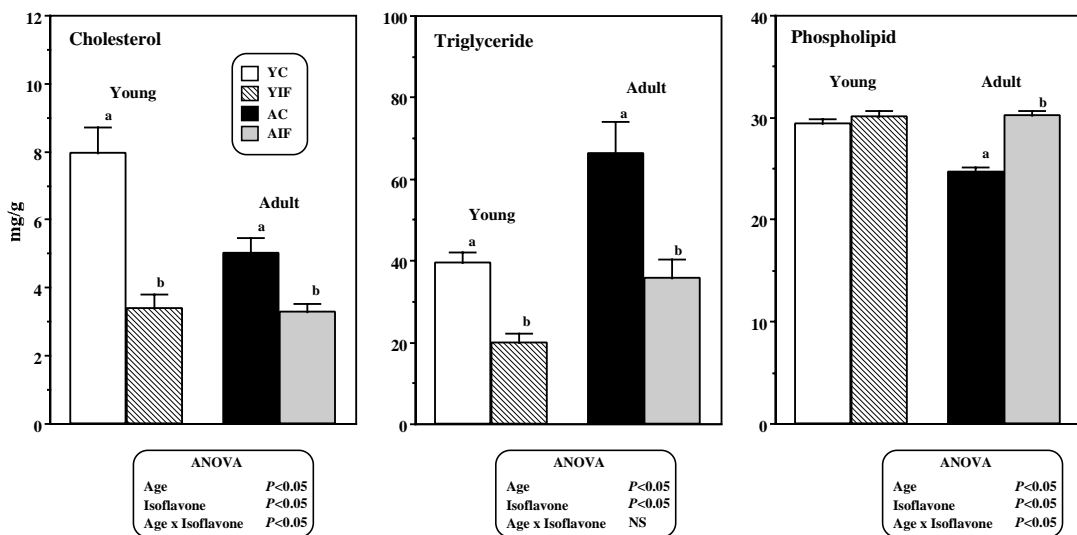


Fig. 6. Effect of dietary soy isoflavone-agnone on levels of liver lipids in immature and mature rats. Data are mean  $\pm$  SE of 7 or 8 rats in each group. <sup>ab</sup>Values without a common superscript letter in each group are significantly different at  $P < 0.05$  (ANOVA).

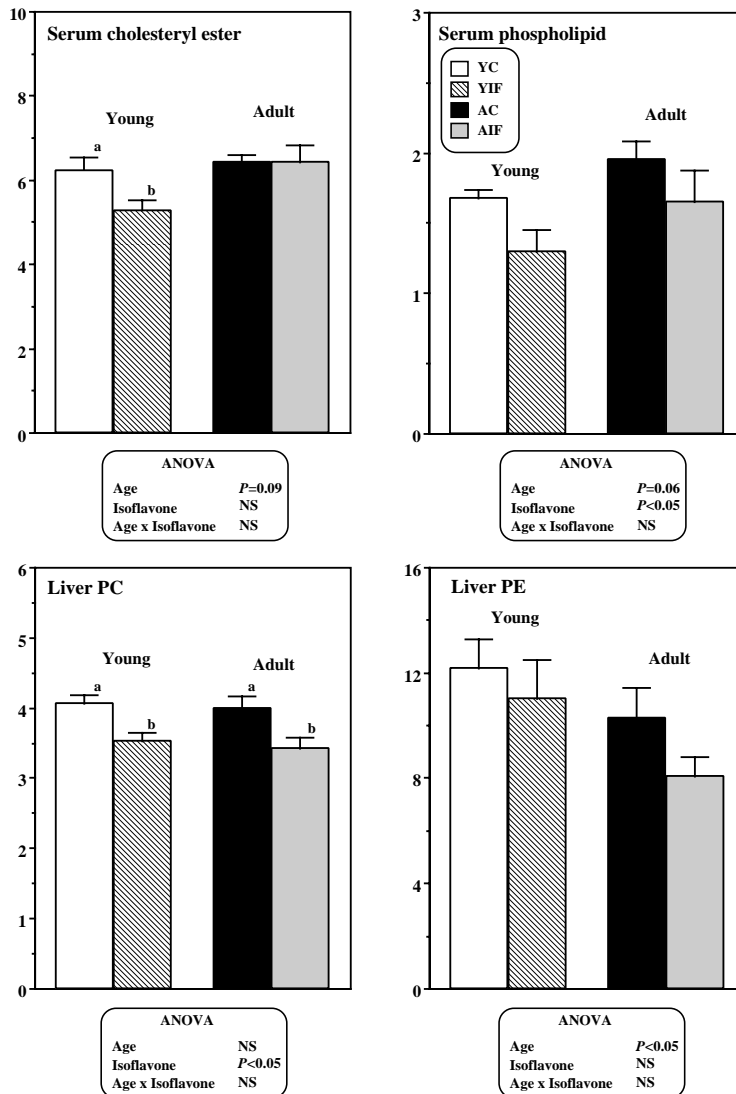


Fig. 7. Effect of dietary soy isoflavone-aglycone on  $\Delta 6$  desaturation indices of serum and liver lipids in immature and mature rats. Data are presented as mean  $\pm$  SE of 7 or 8 rats in each group. <sup>ab</sup>Values without a common superscript letter in each group are significantly different at  $P < 0.05$  (ANOVA).

## 要 約

加齢に伴う抗酸化機能低下と脂質代謝変動に対するIFA摂取効果を調べるために、未熟および成熟ラットの抗酸化機能と脂質代謝に及ぼすIFA摂取効果を調べた。その結果、抗酸化酵素群の活性低下および過酸化脂質生成の増大はIFA摂取により抑えられた。また、未熟および成熟ラット両者のコレステロール異化と合成、リノール酸代謝等の脂質代謝機能もIFA摂取により調整された。とくに、IFA摂取による抗酸化体制変動の制御効果は高いことが明らかとなった。以上の結果から、IFAは老化予防食品成分になりうるのではないかと考えられる。

## 文 献

- 1) Kumar NB, Cantor A, Allen K, Riccardi D and Cox CE (2002) : The specific role of isoflavones on estrogen metabolism in premenopausal women. *Cancer*, **94**, 1166-1174.
- 2) Wietrzyk J, Boratynski J, Gryniewicz G, Ryczynski A, Radzikowski C and Opolski A (2001) : Antiangiogenic and antitumour effects in vivo of genistein applied alone or combined with cyclophosphamide. *Anticancer Res*, **21**, 3893-3896.
- 3) Mei J, Yeung SS and Kung AW (2001) : High dietary phytoestrogen intake is associated with higher bone mineral density in postmenopausal but not premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, **86**, 5217-5221.
- 4) 宮澤陽夫, 仲川清隆, 浅井 明 (2000) : 天然抗酸化物質の吸収と代謝. *化学と生物*, **38**, 104-114.
- 5) Fukunaga K, Suzuki T and Takama K (1993) : Highly sensitive high-performance liquid chromatography for the measurement of malondialdehyde in biological samples. *J Chromatogr*, **621**, 77-81.
- 6) Miyazawa T, Fujimoto K, Suzuki T and Yasuda K (1994) : Determination of phospholipid hydroperoxides using luminol chemiluminescence-high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol*, **233**, 324-332.
- 7) 阿部皓一, 勝井五一郎 (1975) : 血清中のトコフェロール同族体の高速液体クロマトグラフィーによる定量. *ビタミン*, **49**, 259-263.
- 8) Osada K, Kodama T, Yamada K, Nakamura S and Sugano M (1998) : Dietary oxidized cholesterol modulates cholesterol metabolism and linoleic acid desaturation in rats fed high-cholesterol diets. *Lipids*, **33**, 757-764.
- 9) Ikeda I, Tomari Y and Sugano M (1989) : Interrelated effects of dietary fiber and fat on lymphatic cholesterol and triglyceride absorption in rats. *J Nutr*, **119**, 1383-1387.