

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350126

研究課題名(和文)大豆製品によるメタボリックシンドローム制御機構—基礎および疫学研究による検証—

研究課題名(英文) Intake of soy foods regulates the development of metabolic syndrom

研究代表者

酒井 徹 (SAKAI, Tohru)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授

研究者番号：40274196

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：大豆製品がメタボリックシンドロームの病態に与える影響について肥満モデル動物及び人集団を対象とした疫学研究を行った。高脂肪食誘導性肥満マウスに大豆イソフラボンであるエクオールを投与すると、糖負荷試験およびインスリン負荷試験の結果が改善した。エクオール投与により内臓脂肪の量は減少し、また内臓脂肪における炎症マーカーも低下傾向を示した。

大豆製品摂取量とメタボリックシンドローム関連因子との関連を重回帰分析を用いて行った。ベースラインから3年間における腹囲、血中トリグリセライド、血圧、血糖値の変化と大豆製品との関連を調べると、40歳未満の男性において味噌および納豆の摂取量が腹囲の減少と関連していた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined effect of soy-related ingredients on the development of metabolic syndrome in animal model and human study. Treatment of soy isoflavone equol improved blood glucose levels following oral glucose or insulin administration in mice fed high-fat diet. Treatment equol reduced visceral fat weight. Equol tended to decrease mRNA expression of inflammatory cytokines in visceral fat.

We studied 452 Japanese individuals who completed a baseline (2009-2010) and follow-up survey (2012-2013). Abdominal circumference, systolic and diastolic blood pressure, blood glucose level, serum triglyceride and HDL-cholesterol levels were used as component of metabolic syndrome. The standard partial regression coefficient () for abdominal circumference of miso intake was -0.208 (p=0.016) in men under 40 years, though there is no significant association between miso intake and components of metabolic syndrome in men 40 and older.

研究分野：栄養学

キーワード：大豆 アレルギー 免疫 疫学 メタボリックシンドローム

1. 研究開始当初の背景

現在日本では、メタボリックシンドロームが強く疑われる者および予備軍と考えられる者は男性で2人に1人、女性で5人に1人とされている。メタボリックシンドロームは、内蔵脂肪の蓄積による炎症が引き金となり、肝臓や筋肉といった糖脂質代謝に関わる臓器の機能に変調をきたし、インスリン抵抗性の亢進や脂質代謝異常を引き起こすものである。

大豆は日本人が日々摂取する代表的な食材であるとともに、欧米に比べホルモン依存性の悪性腫瘍および骨粗鬆症が少ないのは大豆製品の摂取量が多いことが関連していることが数々の研究により明らかになっている (Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 5:901-906, 1996, Nutrition Rev, 61:346-351, 2003 等)。また、大豆成分には抗肥満作用があることが報告されている。

肥満に伴い内蔵脂肪が蓄積し、内蔵脂肪に浸潤したマクロファージが炎症性サイトカインを産生し、その炎症物質が脂肪細胞に作用して脂肪細胞の炎症を助長し全身の慢性炎症を引き起こす。慢性炎症状態になると筋肉や肝臓におけるインスリンの作用が減弱し、また糖脂質代謝に変調をきたすことがメタボリックシンドロームの本体である。従来は、脂肪組織に浸潤するマクロファージがメタボリックシンドロームの初期の段階であると考えられていたが、2009年に、脂肪組織に浸潤するマクロファージを炎症性のマクロファージに分化させるかあるいは抗炎症性のマクロファージに分化させるかは免疫細胞であるT細胞が決定することが次々報告され (Nature Medicine, 15:914, 930, 927, 2009)、その後、脂肪組織における好酸球やリンパ球であるB細胞の重要性が報告され (Nature Medicine, 17:610, 2011, Science, 332:243, 2011)、免疫細胞がメタボリック

シンドロームを制御する知見が積み重ねられてきた。

2. 研究の目的

(1)大豆イソフラボンの抗メタボリックシンドローム作用

3種類のイソフラボン(ゲニステイン、ダイゼイン、エクオール)を高脂肪食飼育マウス又はレプチン欠損マウスに投与し、体重増加、糖代謝(グルコース負荷試験、インスリン負荷試験)、脂質代謝(各種血中レベル)、血清炎症性サイトカインレベル、マイクロCTによる体組成、肝臓および脂肪組織における糖脂質代謝関連遺伝子変動について解析を行い、3種類のイソフラボンの抗メタボリックシンドローム作用の差異を明らかにする。

(2)大豆イソフラボンの抗メタボリックシンドロームと免疫機能との関連

3種類のイソフラボン(ゲニステイン、ダイゼイン、エクオール)を高脂肪食飼育マウスに与え、そのマウスの内蔵脂肪から免疫細胞を単離し、フローサイトメトリーによるリンパ球集団解析、ELISA法およびリアルタイムPCR法によるサイトカイン産生によりイソフラボンが内蔵脂肪リンパ球およびマクロファージに対する影響を評価する。

(3)大豆製品摂取量とメタボリックシンドロームとの関連を探る疫学研究

徳島県在住の20~50歳代の男女約2,000人を対象とし、身体測定、一般血液検査および食事調査を行い、メタボリックシンドロームに関連する因子の調整を行い大豆製品・大豆イソフラボン摂取量がメタボリックシンドローム発症のリスクに関わるのか、ロジステック回帰分析を行う。また、食行動に関する要因に対する調査を行い、大豆製品摂取が健康度合いに与える影響を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) C57BL/6 マウスを高脂肪食で飼育し、3種類の大豆イソフラボン(ゲニステイン、ダ

イゼイン、エクオール) に関し複数の投与量を設定し、経口的に投与を行った。その後、摂食量および体重増加について経時的に測定を行った。飼育期間は1-3ヶ月とし、1ヶ月毎にマイクロ CT による体脂肪の測定を行った。また、4-6週間おきに経口的にグルコースを負荷し血糖値の変動およびインスリン投与後の血糖低下を測定し糖質および脂質代謝に対する影響を観察した。血清中のアディポカイン、総コレステロール、トリグリセライド、遊離脂肪酸といった脂質代謝マーカーを測定すると共に TNF- α をはじめとする炎症性サイトカインをマルチプレックスシステムを用いて測定を行った。脂肪組織からは、mRNA を抽出して cDNA に変換後、リアルタイム PCR 法にて、炎症に關与するサイトカインの発現を解析した。

(2) これまで大豆製品摂取と各種疾患との関連性を明らかにする疫学研究及びヒト臨床試験がなされてきた。その結果、疫学研究からは大豆製品・大豆イソフラボン摂取は前立腺癌および乳癌の発症予防、ヒト臨床試験からは骨量減少抑制、血清脂質低下作用があることが明らかとされている。我々は一連の動物実験より大豆イソフラボンには免疫調節作用があることを明らかにしてきた。そこで新たな展開として、ヒト集団における大豆製品摂取量及び大豆イソフラボン摂取量がメタボリックシンドロームの発症と関連しているか横断研究を行った。対象者は徳島県在住の20~50歳代の健常な男女2,000人を対象とし、調査項目は、一般生化学検査、各種食物摂取頻度、大豆製品摂取量、運動をはじめとする日常生活における活動度、飲酒量、喫煙量、各種疾患を含めた既往歴及び服薬内容であった。メタボリックシンドロームの判定は、腹囲を基盤とし、脂質代謝、糖代謝、血圧に関して2つ以上の危険因子を有するものとした。統計学的解析は、メタボリック

シンドローム疾患発症と大豆摂取量・大豆イソフラボン摂取量との関連をロジスティック回帰分析により関連性を解析した。

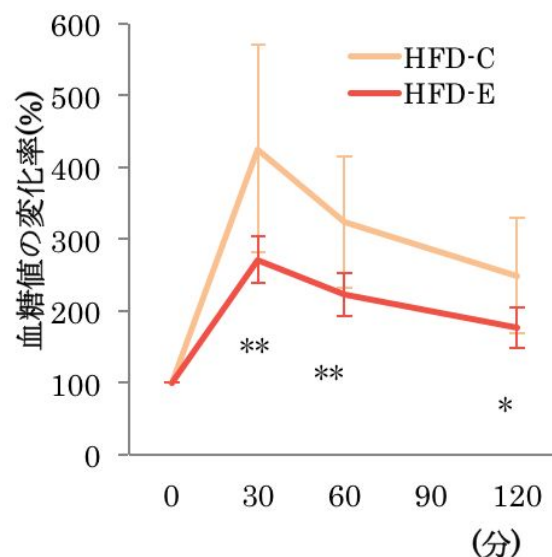
4. 研究成果

(1) エクオール投与による高脂肪食摂取マウスの経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)とインスリン負荷試験(ITT)への影響

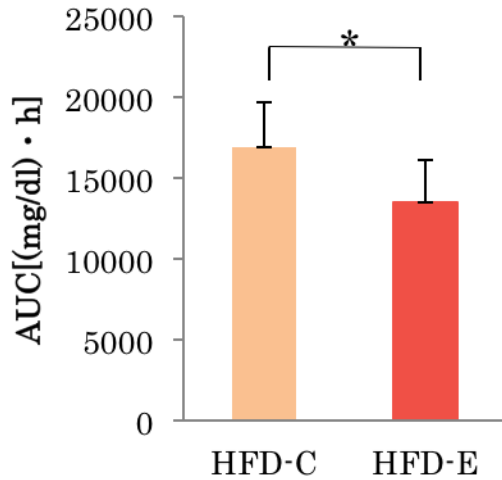
高脂肪食により肥満したマウスにおいてエクオール投与による糖代謝への影響について検討するために、エクオール投与開始後12週目にOGTTを行った。コントロールと比較して、エクオール投与により、全ての測定時間における血糖値に有意な低下が見られた(図1A)。また、曲線下面積(AUC)においても、コントロールに比して、エクオール投与により有意な減少が認められた(図1B)。

同様に、エクオール投与開始後13週目にITTを行った。コントロールと比較して、エクオール投与により、インスリン投与60分後および120分後の血糖値に有意な低下が見られた(図1C)。また、AUCについては有意な差は見られなかったが、エクオール投与により減少傾向が見られた(図1D)。

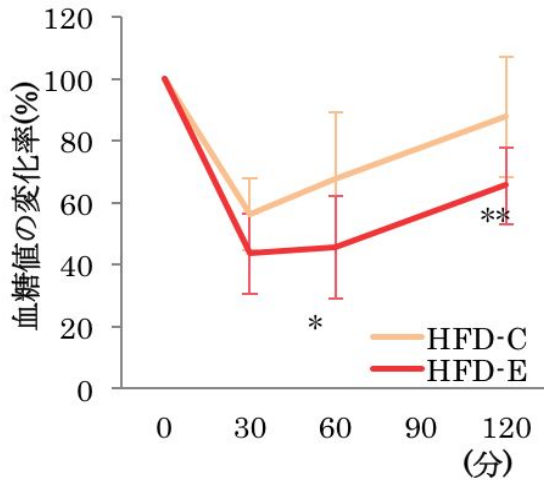
(A)



(B)



(C)



(D)

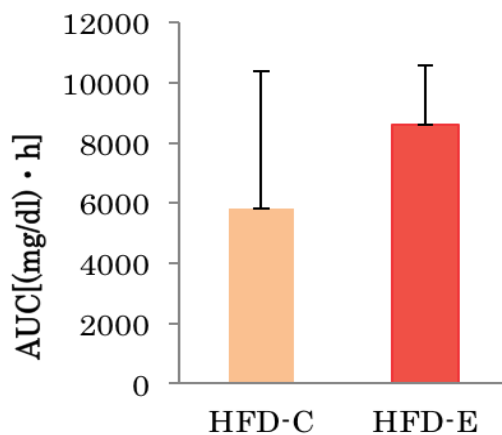


図 1

(2) エクオール投与による高脂肪食摂取マウスの体組成への影響

高脂肪食により肥満したマウスにおいてエクオール投与による体組成への影響について検討するために、脂肪組織重量、体脂肪率、皮下脂肪量、内臓脂肪量および筋肉量をCTにより測定し、解剖時には精巢上体脂肪重量を測定した。脂肪組織重量および体脂肪率は、コントロールと比較してエクオール投与により減少傾向が見られた。皮下脂肪、内臓脂肪および筋肉量については、有意な差は見られなかった。解剖時の体重当たり精巢上体脂肪重量は、コントロールと比較してエクオール投与により有意な減少が認められた(図2)。

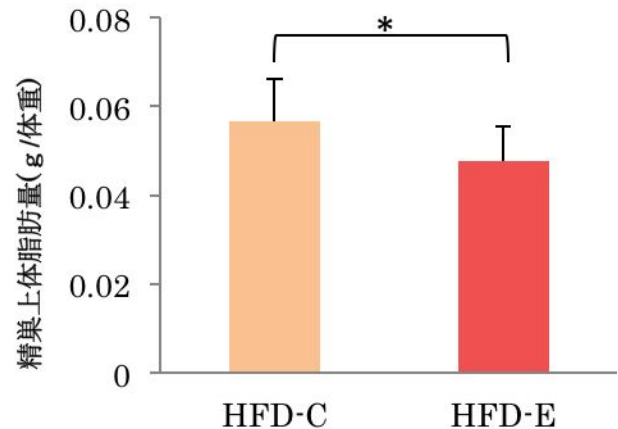


図 2

(3) エクオール投与による脂肪組織の遺伝子発現への影響

エクオール投与により精巢上体脂肪量の減少が見られたことから、脂肪組織の遺伝子発現への影響を検討した。精巢上体脂肪における遺伝子発現量については、マクロファージの指標となる *Emr1*、炎症性サイトカインの *TNF- α* 、*INF- γ* 、*IL-6*、単球やマクロファージの遊走化因子である *MCP-1*、脂肪細胞から分泌されるアディポネクチン及びレプチン、エストロゲンレセプター α の遺伝子である *Esr1* について検討した。*Emr1*、*TNF- α* および *MCP-1* において、標準食群に対して高脂肪食群で有

意な増加が見られた。さらに、Emr1、TNF- α および IFN- γ において、高脂肪食摂取により、コントロール群と比較してエクオール投与群で減少傾向が見られた。IL-6 についてはエクオール投与による減少作用は見られず、レプチンにおいても有意差は見られなかった。アディポネクチンと Esr1 については、高脂肪食を摂取したコントロール群とエクオール投与群において有意差は見られなかったが、標準食を摂取したコントロール群と比較してエクオール投与群において増加傾向が見られた (図 3)。

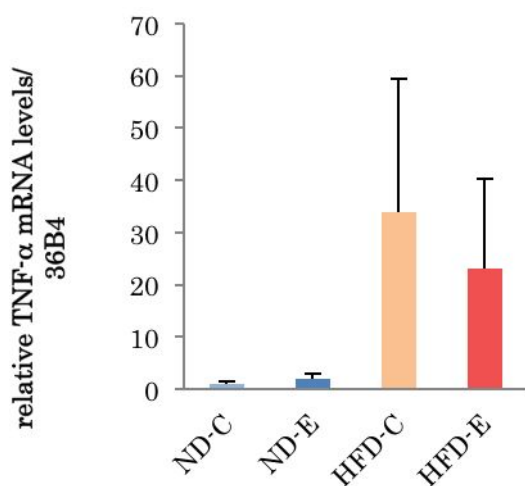


図 3

(4)メタボリックシンドローム構成因子に対する大豆製品の影響

重回帰分析を用いて、男女別に大豆製品摂取量とメタボリックシンドローム構成因子の3年間での変化率との関連を検討した。今回解析した結果、大豆製品摂取量全体で解析したところ3年における腹囲、血中トリグリセライド、HDL コレステロール、拡張期血圧、収縮期血圧、血糖値の変化率に影響を及ぼさなかった。さらに大豆製品を豆腐、味噌、納豆等の食品群に分類し、再度、メタボリックシンドローム構成因子の3年間での変化率との関連を検討した。男性において、ベースライン時の味噌摂取量は3年間の追跡期間における腹囲の変化率と有意な負の関連を示し

た [標準偏回帰係数(β)=-0.124, $p=0.037$]。一方、女性においては有意な関連は認められなかった。男性において有意な関連が認められたことより40歳未満と40歳以上で層別をして解析を行った。40歳未満においてのみ有意な負の関連が認められた [標準偏回帰係数(β)=-0.208, $p=0.016$]。また、40歳以下の男性において、納豆の摂取と腹囲の減少との有意な関連が認められた [標準偏回帰係数(β)=-0.196, $p=0.024$]。

味噌の摂取量で4群に分類し対象者特性の解析を行った。味噌の摂取量で、摂取する食品群で差が認められたのは、男性においては、穀類、イモ類、緑黄色野菜、淡色野菜・キノコ、海藻類、豆類、魚介類、卵類、油脂類、調味・香辛料類であり、女性においては、穀類、イモ類、海藻類、豆類、魚介類、卵類、油脂類、調味・香辛料類であった。

以上の結果から大豆成分はメタボリックシンドロームに関わる糖代謝異常や脂肪組織における慢性炎症を軽減することを動物実験で明らかとすると共に、大豆製品の一種である味噌や納豆が腹囲の減少に関わる可能性を示したものであり、日本で古くから食されてきた大豆製品の機能性を科学的に立証した点に社会的な意義があると評価される。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1件)

Sakai T, Taki T, Nakamoto A, Tazaki S, Arakawa M, Nakamoto M, Tsutsumi R, Shuto E. (2015) Dietary ribonucleic acid suppresses inflammation of adipose tissue and improves glucose intolerance that is mediated by immune cells in C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 61:73-78. (査読有)

doi: 10.3177/jnsv.61.73

〔学会発表〕(計 2件)

首藤恵泉他「食餌誘導性肥満マウスにおけるエクオールの効果」第62回日本栄養改善学会学術集会 平成27年9月26日
福岡国際会議場(福岡県福岡市)
喜岡美久他「実験的自己免疫性脳脊髄膜炎マウスにおける大豆イソフラボンの効果」第60回日本栄養改善学会学術集会
平成25年9月13日 神戸国際会議場(兵庫県神戸市)

〔図書〕(計 1件)

Tohru Sakai, Emi Shuto, Rie Tsutsumi
(2013) Soy-derived compounds and immune response. Aamir Ahmad Edit.
Soy: Nutrition, Consumption and Health NOVA SCIENCE PUBLISHERS INC.,
430PP, P148-159 (New York City) .

6. 研究組織

(1)研究代表者

酒井 徹 (SAKAI, Tohru)
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・教授
研究者番号：40274196

研究者番号：

(2)研究協力者

首藤 恵泉 (SHUTO, Emi)
喜岡 美久 (KIOKA, Miku)
中本 真理子 (NAKAMOTO, Mariko)
三谷 麻実 (MITANI, Mami)