

厚生科学研究（食品安全総合研究事業）

特定保健用食品素材の安全性確保に関する研究

平成12年度 報告書

平成13年3月

主任研究者：中 村 治 雄

# 目次

1. 研究組織	2
2. 総括研究概要版	3
3. 総括研究報告書	6
4. 分担研究報告書	
大豆蛋白摂取における安全性の検討	
中村治雄（三越厚生事業団）	12
制限食による肥満治療の際の大豆蛋白質の減量効果と安全性に関する研究	
池田義雄（タニタ体重科学研究所）	15
腎機能障害における特定保健用食品素材の安全性の検討	
猿田享男（慶応義塾大学医学部）	19
難消化性糖アルコールの消化吸収性と呼気水素ガス排出動態	
奥恒行（長崎県立シーボルト大学）	22
各種脂肪酸の適正な摂取レベルの検討	
斉藤衛郎（国立健康・栄養研究所）	30
5. 総合研究概要版	38
6. 総合研究報告書	41

## 研究組織

①研究者名	②分担した研究項目	③研究実施場所 (施設)	④研究実施期間
中村 治雄	大豆蛋白摂取における安全性の検討	三越厚生事業団 (防衛医科大学校)	平成12年4月1日 ～平成13年3月31日
池田 義雄	制限食による肥満治療の際の大豆蛋白質の減量効果と安全性に関する研究	タニタ体重科学研究所	同 上
猿田 享男	腎機能障害における特定保健用食品素材の安全性の検討	慶応義塾大学医学部	同 上
奥 恒行	難消化性糖アルコールの消化吸収性と呼気水素ガス排出動態	長崎県立シーボルト大学	同 上
斉藤 衛郎	各種脂肪酸の適正な摂取レベルの検討	国立健康・栄養研究所	同 上

(別添1)

## 厚生科学研究費補助金総括研究報告書概要版

研究費の名称=厚生科学研究費

研究事業名=食品安全総合研究事業

研究課題名=特定保健用食品素材の安全性確保に関する研究

国庫補助金精算所要額(円)=14,400,000

研究期間=1998-2000

研究年度=2000

主任研究者名=中村治雄(三越厚生事業団)

分担研究者名=池田義雄(タニタ体重科学研究所)、猿田享男(慶應義塾大学医学部内科)  
奥恒行(長崎県立シーボルト大学)、斉藤衛郎(国立健康・栄養研究所)

研究目的=生活習慣病の管理が注目されている反面、コレステロール値、血圧、血糖、肥満の増加、便秘などが全般に増えつつある現状である。特に血清コレステロール濃度は、ここ10年に10-15 mg/dl 程度上昇しており、年に約1mg/dlの増加が確認されている。これらの点を考えると、食事、運動などの一般的生活習慣の注意が、その対策として重要である。

現在、特定保健用食品として汎用されている素材として、それぞれ境界域コレステロール値に対して大豆蛋白が、血圧の軽度上昇に対してはアミールS、杜仲葉エキスなどが、血糖の上昇および便通異常に対して難消化吸収性糖アルコールがある。さらに肥満対策の一環として各種のものがあげられているが、その1つに大豆蛋白の応用がある。

動脈硬化の進展を阻止する意味で、各種の脂肪酸が応用されているが、なかでもEPA、DHAなどの不飽和脂肪酸が注目されているが、その適正な摂取量はなお不明である。

これらの食品素材は、その性質上長期にわたって摂取される可能性をもっており、その意味では有効性の他に、安全性も確認され、必要があれば対策もとられなければならない。

今回、大豆蛋白、アミールS、杜仲葉エキス、難消化性デキストリンおよび糖アルコールについて、それぞれ同意を得られたヒト症例について、有効性の確認と共に、安全性を中心に検討し、問題点については是正策を構ずることを目的とした。これらの食品素材が安全に摂取できれば、生活習慣病の是正に大きく貢献するものと考えられる。また、肥満減量の一手段として大豆蛋白の応用、DHAの適正摂取量などはラットを用いて検討し、ヒトへの外挿の手段としている。

研究方法=大豆蛋白：血清コレステロール値が170~230 mg/dlの正常または境界領域の男性(25-40才)医療関係者27例に大豆蛋白(予め実験に適切であると検討してきた20g/日)を3週間摂取し、非摂取3週間と、ビタミンE併用摂取3週間を置く交叉試験を実施した。この間1週毎に早朝空腹時に採血し、総コレステロール、LDL-コレステロール、トリグリセライド、HDL-コレステロール、ビタミンE、Fe、テストステロン、エストロゲン、フィブリノーゲン、PAI-Iを測定すると共に自覚症状をチェックした。(中村)

さらに内臓肥満型ラット(OLETF) 4週令に対して、固型飼料を通常の60%減の状況で飼育した。3群に別け対照(n=5)、カゼイン45%(n=12)、大豆蛋白45%(n=12)とし、3週間観察した。体脂肪分布、レプチン、総コレステロールを測定した。(池田)

アミールS、杜仲葉エキスなど：21-68才の軽症本態性高血圧例56例を対象とし、そのうち35例にアミールS(150ml)を6ヶ月、44-81才の同様な高血圧7例に杜仲葉エキスを6ヶ月、ペプチドスープも14例に飲用させ、肝機能、電解質、脂質、クレアチニンを測定した。また、平均血清クレアチニン2.5mg/dlの患者5例に対しても杜仲葉エキスを飲用させた。(猿田)

難消化性糖アルコール：18-27才の男女17名に対して、エリスリトール、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、ラクチトール各10gを摂取させ、その後呼気ガスコレクションバッグにより500~750ml採取し、呼気ガスの分析を行った。(奥)

n-3脂肪酸、特にドコサヘキサエン酸(DHA)を0~8.7%にわたって若令ラット(n=6)、成熟ラット(n=7)に摂取(30日間)させ血清中のビタミンE、過酸化脂質を測定した。(斉藤)

なお、これらの対象(ヒト)全例に実験計画、副作用などを説明し、理解と同意を得ている。また動物を用いた実験についても慎重に取り扱った。

結果=大豆蛋白摂取3週後で総コレステロールは4.4%、LDL-コレステロール3.8%、トリグリセライド18.3%、の減少を認め、HDL-コレステロールは殆ど変化しなかった。この際、特に臨床検査値に明らかな異常は認められなかった。しかし、テストステロン1%、ビタミンE8.3%の減少を認めた。エストロゲンとPAI-Iは14%上昇し、またビタミンE400mg/日併用によりテストステロン、ビタミンEの減少、エストロゲン、PAI-Iの上昇は是正された。(中村)

OLETFラット(2型糖尿病モデル)に摂取カロリーを60%に制限した上に、大豆蛋白を45%添加し、減量の効果を検討した。摂取2週以後で大豆蛋白質摂取群が対照のカゼイン群に比し有意に減量した。血中レプチン、コレステロールも有意に減少した。(池田)

アミールS、杜仲葉摂取6ヶ月後収縮期血圧6~9mmHg、拡張期血圧4~5mmHgの減少を認め心拍数、肝機能、電解質、クレアチニン、脂質には変化が認められなかった。ペプチドスープ症例の一部で、咳の発現を認め、中止後改善されている点から、アンジオテンシン変換酵素阻害によるものと推定され、今後より多くの症例で観察したい。クレアチニン2.5mg/dlの患者でアミールSを飲用させたが明らかな降圧効果を認めず腎機能の悪化もみられなかった。(猿田)

難消化性糖アルコールの吸収性と消化器症状との関連を、呼気水素ガス分析を行うことで検討した。易吸収性のエリスリトール、キシリトールでは消化器症状はあまり認められなかったが、ソルビトール、マルチトール、ラクチトールなどで軟便がみられると共に呼気水素ガスの排出は少ないことが示された。(奥)

脂肪酸のなかで動脈硬化を抑制するn-3系脂肪酸(DHA)を0~8.7%に摂取させ、過酸化脂質、ビタミンE濃度を指標として適正レベルを検討した。その結果、若令ラットで1%、成熟ラットで3%を上限とする摂取が過酸化脂質を増やさぬ点で適正ではないかと考えられた。(斉藤)

考察=前回から報告してきたごとく大豆蛋白摂取による効果は、トリグリセライドの減少と食後高脂血症の是正で、レムナントコレステロールの減少により明らかとなった。また、今回再確認されたが、トリグリセライドの減少と共に、LDL粒子の取り込み増加からみられ、LDL-コレステロールの減少がある。

安全性の評価として、ビタミンEの低下傾向、エストロゲン、PAI-Iの増加傾向、テストステロン減少傾向を認めており、今後の追跡が必要であると共に、ビタミンE、Feの補充の必要性なども配慮し、ビタミンE併用摂取も行った。その結果、ビタミンEの減少は抑制されると共に、エストロゲン、PAI-Iの増加、テストステロンの減少も改善され、ビタミンE摂取による副腎性腺細胞の受容体機能に影響を与えた可能性がある。

また、肥満減量時に大豆蛋白摂取を併用すると、その減量効果はより明かとなり、脂肪組織でのエネルギー消費を増す可能性も考えられた。

アミールS、杜仲葉エキス、ペプチドスープにおいて、特に電解質、クレアチニン値を変化させることなく、軽度に降圧を認めている。しかし、今回も1例において本食品素材のもつアンジオテンシン変換酵素阻害活性作用によると思われる咳嗽の出現をみている。今後症例をさらに増して、頻度、程度を確認する必要がある。しかし、咳嗽出現時には中止することで容易に防止できる。更に、腎機能悪化例において使用してもクレアチニンの増加を認めていない。

難消化性糖アルコールにより発生する下痢には、個人差があり、それも糖アルコールの種類にもよると思われる。つまり、易吸収性、醗酵性で異なり、呼気水素ガス分析で或程度予想可能である。

DHA 摂取による安全性と、適正レベルの検討では、ビタミンE、過酸化脂質でみると、若年で1%、高令で3%を上限とすべきかと考えられた。

結論=現在特定保健用食品として認可されている食品素材として、コレステロール値低下に対する大豆蛋白、血圧低下に対するラクトリペプチドなど、便秘に対する難消化性糖アルコールの効果と作用機序は確認されたが、一部の症例で安全性に軽度の危惧がもたれ、改善策も検討された。大豆蛋白摂取によるビタミンE、テストステロンの減少、エストロゲン、PAI-1の増加は、ビタミンE 摂取併用で是正された。肥満減量時の大豆蛋白応用の有用性も示唆された。またペプチドスープなどによる咳嗽は中止するか、他に切り変えるかが望まれる。難消化性糖アルコールは便秘の改善に有用であるが、呼気水素ガス分析により予め下痢などへの発生が予測できる。n-3 脂肪酸、特にDHA については過酸化脂質の生成、ビタミンEの減少などからみると若令ラットで1%高令ラットで3%を上限とすべきであることが解り、今後ヒトへの外挿が注目される。

(別添2)

## 総括研究報告書

### 特定保健用食品素材の安全性確保に関する研究

主任研究者 中村治雄 三越厚生事業団常務理事

生活習慣病のなかで、コレステロールなど血清脂質の高値、血圧上昇、肥満、高血糖の傾向の人は次第に増加している。しかもこれらの病態は、食事を中心とした生活習慣の是正により改善されることも多い。

今回、その意味で食生活改善の一助として、特定保健用食品素材のなかで、コレステロール低下には大豆蛋白を、血圧の低下にはラクトリペプチド、杜仲葉配糖体などを、食後過血糖と便通異常の改善には難消化性糖アルコールを投与して、その有効性、安全性について検討すべく呼気ガスの分析を行った。さらに肥満治療に対して大豆蛋白を使用し、その有効性と安全性を検討した。さらにラットを用いて各種脂肪酸摂取の適正レベルを検討し、特に認知機能、痴呆と関係すると思われるDHA摂取について評価した。

大豆蛋白(20g/日)では、総コレステロール4.4%、LDL-コレステロール3.8%、トリグリセライド18.3%減少した。肝機能、電解質など明らかな変動はみられなかったが、ビタミンE8.8%、テストステロンは1%の減少、エストロゲンの増加、PAI-Iは14%増加を認めた。ビタミンE併用により、これらの変化は是正された。

アミールS(150ml/日)、杜仲葉エキスについては収縮期血圧6-9mmHg、拡張期血圧4-5mmHgの低下を認めた。肝機能、電解質、血清クレアチニン、脂質には有意の変動を認めなかった。ペプチドスープ症例の一部で、咳の発現を認め、中止後改善されている点から、アンジオテンシン変換酵素阻害によるものと推定され、今後より多くの症例で観察したい。クレアチニン2.5mg/dlの患者でアミールSを飲用させたが明らかな降圧効果を認めず腎機能の悪化もみられなかった。

OLETEFラット(2型糖尿病モデル)に摂取カロリーを60%に制限した上に、大豆蛋白を45%添加し、減量の効果を検討した。摂取2週以後で大豆蛋白摂取群が対照のカゼイン群に比し有意に減量した。血中レプチン、コレステロールも有意に減少した。

難消化性糖アルコールの吸収性と消化器症状との関連を、呼気水素ガス分析を行うことで検討した。易吸収性のエリスリトール、キシリトールは消化器症状ではあまり認められなかったが、ソルビトール、マルチトール、ラクチトールなどで軟便がみられると共に呼気水素ガスの排出は少ないことが示された。

脂肪酸のなかで動脈硬化を抑制するn-3系脂肪酸(DHA)を0~8.7%に摂取させ、過酸化脂質、ビタミンE濃度を指標として適正レベルを検討した。その結果、若令ラットで1%、成熟ラットで3%を上限とする摂取が過酸化脂質を増やさぬ点で適正ではないかと考えられた。

以上、現在特定保健用食品として認可されている食品素材として、コレステロール値低下に対する大豆蛋白、血圧低下に対するラクトリペプチドなど、便秘に対する難消化性糖アルコールの効果と作用機序は確認されたが、一部の症例で安全性に軽度の危惧がもたれ、改善策も検討された。大豆蛋白摂取によるビタミンE、テストステロンの減少、エストロゲン、PAI-Iの増加は、ビタミンE摂取併用で是正された。またペプチドスープなどによる咳嗽は中止するか、他に切り変えるかが望まれる。n-3脂肪酸、特にDHAについては過酸化脂質の生成、ビタミンEの減少などからみると若令ラットで3%を上限とすべきであることが解り、今後ヒトへの外挿が注目される。

分担研究者

中村治雄 三越厚生事業団  
常務理事

池田義雄 夕ニ夕体重科学研究所  
所長

猿田享男 慶応義塾大学医学部  
内科 教授  
奥 恒行 県立長崎シーボルト大学  
保健栄養学 教授  
斉藤衛郎 国立健康・栄養研究所  
食品科学部長

#### A. 研究目的

コレステロール値、血圧、血糖などの軽度増加例が全般に増加しつつある現状であり、特に血清コレステロール濃度は、ここ10年に10-15mg/dl程度上昇しており、年に約1mg/dlの増加が確認されている。これらの点を考えると、食事、運動などの一般的生活習慣の注意が、その対策として重要である。

現在、特定保健用食品として汎用されている素材として、それぞれ境界域コレステロール値に対して大豆蛋白が、血圧の軽度上昇に対してはアミールS、杜仲葉エキスなどが、血糖の上昇および便通異常に対して難消化性デキストリン、難消化性糖アルコールがある。さらに高脂血症、血栓形成防止のためのn-3系脂肪酸がある。

これらの食品素材は、その性質上長期にわたって摂取される可能性をもっており、その意味では有効性の他に、安全性も確認され、必要があれば対策もとられなければならない。

今回、大豆蛋白、アミールS、杜仲葉エキス、難消化性糖アルコールについて、それぞれ同意を得られたヒト症例について、安全性を中心に検討すること、なお大豆蛋白、n-3脂肪酸(DHA)はラットを用いて検討した。

#### B. 研究方法

大豆蛋白：血清コレステロール値が170～230 mg/dlの正常または境界領域の男性(25-40才)医療関係者27例に大豆蛋白(予め実験に適切であると検討してきた20g/日)を3週間摂取し、非摂取3週間と、ビタミンE併用摂取3週間を置く交叉試験を実施した。この間1週毎に早朝空腹時に採血し、総コレステロール、LDL-コレステロール、トリグリセライド、HDL-コレステロール、ビタミンE、Fe、テストステロン、エストロゲン、フィブリノーゲン、PAI-Iを測定すると共に自覚症状をチェックした。さらに、内臓肥満型ラット(OLETF)4週令に対して、固型飼料を通常の60%減の状況で飼育した。3群に別け対照(n=5)、カゼイン45%(n=12)、大豆蛋白45%(n=12)とし、3週間観察した。体脂肪分布、レプチン、総コレステロールを測定した。

アミールS、杜仲葉エキスなど：21-68才の軽症本態性高血圧例56例を対象とし、そのうち35例にアミールS(150ml)を6ヶ月、44-81才の同様な高血圧7例に杜仲葉エキスを6ヶ月、ペプチドスープも14例に飲用させ、肝機能、電解質、脂質、クレアチニンを測定した。また、平均血清クレアチニン2.5mg/dlの患者5例に対しても杜仲葉エキスを飲用させた。

難消化性糖アルコール：18-27才の男女17名に対して、エリスリトール、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、ラクチトール各10gを摂取させ、その後呼気ガスコレクションバッグにより500～750ml採取し、呼気ガスの分析を行った。

n-脂肪酸：特にドコサヘキサエン酸(DHA)を0～8.7%にわたって若令ラット(n=6)、成熟



ラット (n=7) に摂取 (30日間) させ血清中のビタミンE、過酸化脂質を測定した。

### C. 研究結果

大豆蛋白：血清脂質の低下は摂取後3週間が最も明らかで、その後前値に戻る傾向を示し、この点はすでに報告した結果を再現している。

総コレステロールは4.4%、LDL-コレステロール3.8%、トリグリセライド18.3%、の減少を認め、HDLコレステロールは不変であった。この際、特に臨床検査値に明らかな異常は認められなかった。しかし、テストステロン1%、ビタミンE8.8%の減少を認めた。エストロゲンは僅かに上昇し、Feには変化は認められなかったがPAI-Iは増加した。また、ビタミンE400mg/日併用ではテストステロン、ビタミンEの減少、エストロゲンとPAI-Iの上昇は是正された。

肥満ラットにおいて、大豆蛋白摂取群では実験開始後体重の減少傾向があり、21日目にはカゼイン群に比し有意の減少を示した。また腹腔内脂肪、腹部皮下脂肪なども有意に減少していた。血糖、IRIには有意の差はみられなかったが、総コレステロール、遊離脂肪酸は有意に低下していた。

アミールS 摂取6ヶ月後収縮期血圧9mmHg、拡張期血圧5mmHgの減少を認め、心拍数、肝機能、電解質、クレアチニン、脂質には変化が認められなかった。

杜仲葉エキス6ヶ月摂取で収縮期血圧6mmHg、拡張期血圧4mmHgの降圧をみとめている。心機能、肝機能、電解質、クレアチニン、脂質には有意の変化は認められていない。

ペプチドスープ摂取で収縮期血圧7mmHg、

拡張期血圧5mmHgの低下がみられた。14例中1例に咳嗽が出現し、摂取中止により咳嗽は消失している。ペプチドスープのもつアンジオテンシン変換酵素阻害によるものと考えられる。

腎機能低下例でのアミールS飲用の変化はクレアチニンで2.5mg/dl前後で変化せず、血圧も収縮期で144mmHgから144mmHgへ、拡張期で96mmHgから95mmHgと不変であった。BUN、血清Kについても変動はみられなかった。

難消化性糖アルコール：各種糖アルコール10g摂取では、呼気水素ガス排出量は単糖のエリスリトール、キシリトールで僅かであったが、吸収されにくいソルビトールは明らかに少なかった。消化器症状は難消化吸収性二糖アルコールおよびソルビトールで認められ、易吸収性のエリスリトール、キシリトールでは観察されなかった。

n-3脂肪酸：ドコサヘキサエン酸 (DHA) を0~8.7%混飼して30日間摂らせた若令ラットではビタミンEは1.0%で有意に低下、成熟ラットでは3.1%で有意に低下した。肝臓の過酸化脂質は若令で3.4%以上で、成熟で8.4%で有意に増加した。従ってDHAの摂取は若令ラットでは1%、成熟ラットでは3%を上限とした方がよいと考えられる。

### D. 考察

前回報告したごとく大豆蛋白摂取による効果は、食後高脂血症の是正で、レムナントコレステロールの減少により明らかとなった。また、今回再確認されたが、トリグリセライドの減少と共に、IDL、LDL粒子の取り込み増加がみられコレステロールの減少が生ずる。

安全性の評価として、ビタミンEの低下傾向、エストロゲンの増加傾向、テストステロン減少傾向を認めており、今後の追跡が必要であると共に、ビタミンE、Feの補充の必要性なども配慮し、ビタミンE併用摂取も行った。その結果、ビタミンEの減少は抑制されると共に、エストロゲンとPAI-Iの増加、テストステロンの減少も改善され、ビタミンE摂取による副腎性腺細胞の受容体機能に影響を与えた可能性がある。

肥満ラットにおける大豆蛋白の減量に際しての有効性は、熱産生を促進する褐色脂肪組織を活性化させ、エネルギー消費を促進するものと考えられ、安全性についても今回の実験の範囲内では問題はみられなかった。

アミールS、杜仲葉エキス、ペプチドスープにおいて、特に電解質、クレアチニン値を変化させることなく、軽度に降圧を認めている。しかし、1例において本食品素材のもつアンジオテンシン変換酵素阻害活性作用によると思われる咳嗽の出現をみている。今後症例をさらに増して、頻度、程度を確認する必要がある。更に、腎機能悪化例において使用してもクレアチニンの増加を認めていない。

難消化性糖アルコールについては、エリスリトール、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、ラクチトールなどの糖アルコール摂取による呼気水素ガス排出量および排出パターン、ならびに消化器症状の出現は、それぞれの糖アルコールの小腸における消化吸収性ならびに醗酵の度合いによる。

高脂血症、動脈硬化に対して有効なDHAについては適度の摂取量があり、それ以上を越えると過酸化脂質の増加、ビタミンEの減少を認

めるので注意が必要となる。しかし、ヒトへの外挿の可能性は今後に残された問題となる。

## E. 結論

以上、現在特定保健用食品として認可されている食品素材として、コレステロール値および肥満減量への低下有効性について大豆蛋白、血圧低下に対するラクトリペプチド、便秘に対する難消化性糖アルコールの効果は確認されたが、一部の症例で安全性に軽度の危惧がもたれた。しかし改善策も検討された。

大豆蛋白摂取によるビタミンE、テストステロンの減少、エストロゲン、PAI-Iの増加は、ビタミンE摂取併用で是正された。またアミールSなどによる咳嗽は中止するか、他に切り変えるかが望まれる。難消化性糖アルコールの吸収性、有効性は呼気水素ガスの測定で確認された。さらに、HDA摂取についてはラットで1~3%を上限とすべきではないかと考えられた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表（大豆蛋白関連）

- 1) 中村治雄：生活習慣と動脈硬化、  
Pharma. Medica. 16 : 31-36,1998
- 2) 澁谷利雄、宮島恵美子、荒川 宏、里村公生、中村治雄：食事と冠動脈硬化、  
日本臨床栄養学会誌 20 : 11-15,1998
- 3) 中村治雄、繁 英樹、宮島恵美子：  
牛乳蛋白摂取によるヒト血清脂質、リポ蛋白に対する影響－食後高脂血症について－  
牛乳栄養研究報告集、平成7-9年度：  
14-19,1998
- 4) H.Shige, T.Ishikawa, H.Nakamura, et al:  
Vitamin E reduces cholesterol esterifi-

- cation and uptake of acetylated low density lipoprotein in macrophages, *Lipids* 33: 1169-1175, 1998
- 5) 中村治雄：生活習慣病の予防対策－高脂血症・動脈硬化－、*医報フジ* 108：8-14,1999
  - 6) H.Yoshida, T.Ishikawa, H.Nakamura, et al: Inhibitory effect of tea flavonoids on the ability of cells to oxidize low density lipoprotein, *Biochemical Pharmacology* 58:1695-1703, 1999
  - 7) K.Higashi, H.Shige, H.Nakamura, et al: Effect of a low-fat diet enriched with oleic acid on postprandial lipemia in patients with type 2 diabetes mellitus. *Lipids* 36: 1-6, 2001
  - 8) 森 豊、横山淳一、畑 章一、加藤秀一、村川 祐一、磯貝行秀(1994)：肥満を伴った自然発症糖尿病OLETFラットに関する研究－第3報：Zucker fa/fa ラットとの比較検討－。第14回日本肥満学会記録, 275- 279.
  - 10) 森 豊、畑 章一、村川祐一、加藤秀一、池田義雄：内臓脂肪型肥満OLETFラットの体脂肪分布並びに耐糖能に及ぼす大豆たん白質の効果。大豆たん白質研究会誌、17: 108-113, 1996
  - 11) 村川祐一、森 豊、横山淳一、畑 章一、加藤秀一、田嶋尚子、磯貝行秀、池田義雄：OLETFラットの体脂肪分布、耐糖能に対するカプサイシンの効果。*Diabetes Frontier*, 6: 482-483, 1995  
論文発表（アミールS、杜仲葉エキスなどの関連）
  - 1) 林 晃一、松田洋人、猿田享男：アンジオテンシン受容体拮抗薬の臨床：腎疾患治療薬、腎保護作用薬としての臨床応用の展望。*日本臨床* 57：164-167,1999
  - 2) 林 晃一：腎結構動態に及ぼすACE阻害薬対AT拮抗薬。Pharma Medica 18：147-157, 2000  
発表論文（難消化性糖アルコール関連）
  - 1) 奥 恒行：特定保健用食品の許可状況を見て。*栄養学雑誌* 57：309-312, 1999
  - 2) 奥 恒行：難消化吸収性甘味糖質の緩下性と摂り方。*食品と開発* 35：7-9, 2000
  - 3) T.Oku, M.Okazaki.: Transitory laxative threshold of trehalose and lactulose in healthy female subjects. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 44:787-798, 1998
  - 4) 奥 恒行：特定保健用食品とその使用法。*臨床栄養* 92：285-290,1998  
論文発表（脂肪酸関連）
  - 1) Kubo, K., Saito, M., Tadokoro, T. & Maekawa, A. : Preferential incorporation of docosahexaenoic acid (DHA) into nonphosphorus lipids and phosphatidylethanolamine protects rats from dietary DHA-stimulated lipid peroxidation. *J. Nutr.* 130: 1749-1759, 2000
  - 2) Saito, M. : Dietary docosahexaenoic acid does not promote tissue lipid peroxide formation to the extent

expected from the peroxidizability index of the lipids. BioFactors, 12: 1-10, 2000

- 3) 齋藤衛郎：n - 3系多価不飽和脂肪酸の生理的有効性と栄養学的側面から見た安全性評価、栄養学雑誌, 59 : 1-18, 2001

#### 健康危険情報

特に著しいものはなかった。

#### 知的財産権の出願・登録状況

特に無し

## 分担研究報告書

### 大豆蛋白摂取における安全性の検討

分担研究者 中村治雄 三越厚生事業団常務理事

血清コレステロールを低下させる大豆蛋白を20 g/日、3週間にわたり25-40才の医療関係者27名に摂取させ、非摂取時およびビタミンE併用との交叉試験を行った。その結果、3週間で総コレステロールは4.4%、LDL-コレステロール3.8%、トリグリセライド18.3%減少し、HDL-コレステロールは変化がみられなかった。この際、テストステロンは3週間で1%減少、ビタミンE 8.8%減少、エストロゲン増加を確認し、Feは不変、PAI-Iは14%増加した。この際、ビタミンE400mg/日併用摂取の場合、血清脂質の変動には非併用時に比し軽微となったが、テストステロン、ビタミンEの減少、エストロゲンの増加も認められず、大豆蛋白摂取でみられやすいテストステロン、ビタミンEの減少、エストロゲンの上昇、PAI-Iの増加はビタミンE併用投与で改善できることを認めた。

#### A. 研究目的

近年、血清コレステロールの高値と心血管系疾患との関連はますます明らかとなり、現在日本では血清コレステロールが220mg/dl以上、LDL-コレステロールが140mg/dl以上で冠疾患が増加すると考えられるようになった。しかも疫学調査により、成人男性の30%、50才以上の女性の50%に220 mg/dlを越えることも明らかであり、全体として約2000万人がその対象となる。しかも軽度の増加例、特に200～220 mg/dlの例はきわめて多く存在しており、将来、治療を要する例の増加も懸念されている。したがって、食生活などの一般的な注意で、境界域高コレステロール血症例や、一部軽度異常増加例を改善させることが急務となっている。

そこで、大豆蛋白などの応用が考えられているが、長期に摂取する食品であるだけに安全性を確認することも重要である。今回、平成10年、11年度よりさらに症例を増して大豆蛋白を3-4週間摂取して、その有効性の確認と安全

性とその対応策について検討した。

#### B. 研究方法

平均血清コレステロール196mg/dl、LDL-コレステロール121mg/dlの25-40才健常医療関係者27名を対象に、同意を取得した上で、大豆蛋白粉末を20g/日を3週間、非摂取での3週間、ビタミンE400mg/日併用摂取3週間の交叉試験を行った。この大豆蛋白摂取量については予め、10g以下、20g、30g 摂取で検討し、摂取継続可能な量で、有効性の明らかな量20g/日を選んだ。対象をランダムに3群に別け、摂取前、摂取後毎週、3週後まで、さらに1～2ヶ月置いて、非摂取時においても、同様の期間空腹時採血を行い、大豆蛋白先行と後行とで交叉させている。

血清脂質（総コレステロール、トリグリセライド(TG)、高比重リポ蛋白(HDL)コレステロール)は酵素法、LDL-コレステロールは直接法で測定した。その他、ビタミンE、Fe、テストステロン、エストロゲン、フィブリノーゲン、

PAI-Iおよび自覚症状をチェックした。

### C. 研究結果

総コレステロールは4.4%、LDL-コレステロール3.8%、トリグリセライド18.3%の減少を認め、HDLコレステロールは殆ど変化せず、従来の効果と同様であることを確認した。

(表1)

大豆蛋白摂取でFeは不変、PAI-Iは軽度増加、テストステロン1%、ビタミンE8.8%の減少を認め、エストロゲンは僅かに増加した。ビタミンE400mg/日併用時では血清脂質の変動は非併用時に比しやや軽微となったが、ビタミンE、テストステロンの減少は認められず、PAI-Iの増加も認められなかった。また、エストロゲンの増加はE併用では認められなかった。(表2、表3)

### D. 考察

大豆蛋白摂取による影響は、血清脂質に対して従来から確認し得たように摂取後2-3週目で最も明らかで、摂取期間をさらに延長すると、次第に前値にもどる傾向を示す。コンプライアンスの変化か、エネルギーの増加によるものと推定される。

すでに、食後高脂血症の抑制であるレムナントコレステロールの減少を認めたが、今回でもトリグリセライドの明らかな減少を認めている。

LDL-コレステロールは前回と同様に減少傾向を示し、すでにアポ蛋白B、磷脂質の低下も認められたところから、LDL受容体を介してのLDLおよびIDL粒子の取り込みが進んだものと考えられる。

摂取中での安全性の評価として、前回電解

質、肝機能、ミネラル、ビタミンE、テストステロン、Feなどを測定したが、電解質、肝機能には問題はみられなかったが、Fe、ビタミンE、テストステロンなどの軽度の減少とPAI-Iの軽度上昇を認めた。今回の検討ではFeの減少は確認できなかったが、ビタミンE、テストステロンの減少は再確認された。また、エストロゲンの軽度増加も認めた。ビタミンE併用により、ビタミンE、テストステロンの減少は阻止され、エストロゲンの上昇も抑制され、PAI-Iの上昇もみられなかった。大豆蛋白にあるphytoestrogenの影響かとも推定され、ビタミンEがそれらの変化を防止することを確認した。しかし、今後負荷するビタミンEの量を検討することが望ましい。

### E. 結論

境界領域の高コレステロール血症例を含む25-40才の健常男性に、大豆蛋白20g/日を3週間摂取し、総コレステロール4.4%、LDL-コレステロール3.8%、トリグリセライド18.3%の減少を認めた。HDL-コレステロールは不変であった。また、テストステロン、ビタミンEの減少、エストロゲン、API-Iの増加を認めている。この際、ビタミンE併用により、これらの変化が是正できることが解った。今後ビタミンEの至適投与量を検討する必要がある。

### F. 研究発表

- 1) 中村治雄：生活習慣と動脈硬化、  
Pharma. Medica. 16 : 31-36,1998
- 2) 澁谷利雄、宮島恵美子、荒川 宏、里村公生、中村治雄：食事と冠動脈硬化、  
日本臨床栄養学会誌 20 : 11-15,1998

- 3) 中村治雄、繁 英樹、宮島恵美子：  
牛乳蛋白摂取によるヒト血清脂質、リポ蛋白に対する影響－食後高脂血症について－  
牛乳栄養研究報告集、平成7-9年度：  
14-19,1998
- 4) H.Shige, T.Ishikawa, H.Nakamura, et al:  
Vitamin E reduces cholesterol esterification and uptake of acetylated low density lipoprotein in macrophages,  
Lipids 33: 1169-1175, 1998
- 5) 中村治雄：生活習慣病の予防対策－  
高脂血症・動脈硬化－、  
医報フジ 108：8-14,1999
- 6) H.Yoshida, T.Ishikawa, H.Nakamura,  
et al: Inhibitory effect of tea flavonoids  
on the ability of cells to oxidize low  
density lipoprotein,  
Biochemical Pharmacology 58:1695-  
1703, 1999
- 7) K.Higashi, H.Shige, H.Nakamura, et al:  
Effect of a low -fat diet enriched with  
oleic acid on postprandial lipemia in  
patients with type 2 diabetes mellitus.  
Lipids 36: 1-6, 2001

健康危険情報

特に著しいものはなかった。

知的財産権の出願・登録状況

特に無し

表1. 血清脂質の変化

	総コレステロール		トリグリセライド		LDL-コレステロール		HDL-コレステロール	
	前	3W	前	3W	前	3W	前	3W
コントロール (n=27)	196.0 ±30.5	191.9 ±25.1	100.8 ±63.2	102.8 ±51.6	120.9 ±28.8	115.9 ±25.1	58.5 ±14.7	59.4 ±15.2
大豆蛋白 (n=28)	200.0 ±27.7	191.2* ±24.5	121.9 ±73.6	99.6** ±52.8	123.5 ±27.6	118.8 ±24.1	56.0 ±13.8	57.2 ±15.8
大豆蛋白+ビタミンE (n=14)	198.1 ±24.1	197.6 ±31.6	84.8 ±29.1	84.7 ±30.7	117.9 ±24.8	116.1 ±31.1	61.4 ±13.2	64.0 ±9.8

\*P<0.03

\*\*P<0.02

(mg/dl)



表2. 鉄、テストステロン、ビタミンEの変化

	Fe		テストステロン		ビタミンE	
	前	3W	前	3W	前	3W
コントロール (n=27)	109.2 ±41.1	109.9 ±38.8	553.9 ±165.9	539.1 ±199.5	1.34 ±0.31	1.24** ±0.28
大豆蛋白 (n=28)	109.0 ±30.1	113.3 ±41.3	553.9 ±179.4	550.1 ±139.1	1.37 ±0.26	1.25*** ±0.22
大豆蛋白+ビタミンE (n=14)	111.2 ±26.3	129.7* ±41.9	497.3 ±117.8	492.2 ±115.2	1.32 ±0.21	1.64*** ±0.42

( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )

( $\text{ng}/\text{dl}$ )

( $\text{mg}/\text{dl}$ )

\* $P < 0.055$

\*\* $P < 0.02$

\*\*\* $P < 0.005$

表3. フィブリノーゲン、PAI-I、エストロゲンの変化

	フィブリノーゲン			PAI-I			PAI-I		
	前	2W	3W	前	2W	3W	前	2W	3W
コントロール (n=14)	223.0 ±36.6	239.6 ±91.4	223.5 ±59.7	25.2 ±12.3	29.9 ±33.6	24.3 ±14.2	35.6 ±8.8	34.4 ±8.4	31.6 ±6.0
大豆蛋白 (n=14)	226.4 ±39.0	220.4 ±37.6	217.9 ±40.7	30.8 ±29.1	21.8 ±17.4	35.1 ±31.2	35.6 ±6.0	33.2 ±13.3	36.6 ±11.9
大豆蛋白+ビタミンE (n=14)	204 ±28	231.3 ±72.1	224.6 ±54.2	25.5 ±19.3	23.4 ±16.7	24.7 ±16.0	38.4 ±13.1	32.0 ±13.3	34.6 ±14.7
	(mg/dl)			(ng/dl)			(pg/ml)		

## 分担研究報告書

制限食による肥満治療の際の大豆たん白質の減量効果と安全性に関する研究

分担研究者 池田 義雄 タニタ体重科学研究所 所長

研究要旨：内臓脂肪型OLETFラットを用いて摂取カロリーを60%に制限した時の大豆たん白質の減量に及ぼす効果をカゼインの効果と比較検討した。4週齢の雄性OLETFラットを25週齢まで飼育して肥満状態になったのを確認後、Initial-Control (IC) 群、60%カロリー制限カゼイン群、60%カロリー制限大豆たん白質 (SPI) 群の3群に分け、カゼイン群、SPI群を3週間経過観察した。カゼイン群、SPI群の体重は両群ともに経過に伴い減少したが、2週以後のSPI群の体重は、カゼイン群と比較して有意な減少を示した。実験終了時における体脂肪分布の検討では、SPI群はIC群はもとよりカゼイン群と比較しても、腹腔内脂肪、皮下脂肪の組織重量は有意に低下していた。さらに、SPI群の血中レプチン、総コレステロール、遊離脂肪酸に関しても、IC群はもとよりカゼイン群と比較して有意に低下していた。低エネルギー食による肥満動物モデルの減量実験において、大豆たん白質はカゼインと比較して、より体脂肪量を減少させ、さらには、よりインスリン抵抗性、レプチン抵抗性、高NEFA血症の改善をもたらした。なお、安全性については特段の問題は認められなかった。

### A. 研究目的

熱産生臓器である褐色脂肪組織 (brown adipose tissue, BAT) 1) の機能低下が、肥満の一成因になりうる事が各種の実験肥満モデルにおいて証明されており 2、3)、この低下したBAT機能の活性化が肥満の軽減に有効である可能性が報告されている 4)。一方、大豆ペプチドが交感神経系の活性化を介してBATでの熱産生を亢進させエネルギー効率の低下を引き起こすことが報告されている 5、6)。さらに、我々は大豆たん白質 (大豆ペプチド) の長期摂取が内臓脂肪肥満モデルであるOLETFラット 7-9) におけるエネルギー効率を低下させ、肥満の進展を軽減させる効果を持つことを報告した 10)。そこで今回は、内臓脂肪型肥満を既に呈したOLETFラットに対し、摂取カロリーを60%に制限した低エネルギー食を

与え、たん白質を大豆たん白質に置き換えた際の減量に対する効果を検討した。

### B. 研究方法

大塚製薬(株)より提供された生後4週齢OLETFラットを市販固形飼料 (MB3, 船橋農場(株)) にて25週齢まで個別ケージにて飼育し、600g以上の体重になったことを確認後、各群の体重がマッチするようにInitial Control (IC) 群 (n=5)、Casein群 (n=12)、大豆たん白質 (SPI) 群 (n=12) の3群に分けた。IC群は群分けした直後16時間絶食後採血、解剖を行った。Casein群、SPI群の摂餌量は、実験開始前7日間の全ラットの1日平均摂餌量を計測し、その60%に設定した。実験食の基本組成は市販飼料 (MB3) と同様とし、実験開

始後のたん白質摂取量を実験開始前と同レベルに保つため、実験食のたん白質含量を45% (N%×6.25) に設定し、たん白質量の違いによる配合比の差はコーンスターチで補正した (Table 1)。

Casein群、SPI群は個別ケージにて温度23±1℃、湿度55±5%で12時間明暗サイクル (7:00~19:00照明) の条件下で3週間飼育した。飼育期間中は摂餌量は毎日、体重は3日に1回計測し、実験終了時8:00amより6時間絶食後採血、解剖を行った。

眼窩静脈叢より採血し得られた血液は血漿をサンプルとして、血糖、インスリン (IRI)、レプチン (IRL)、中性脂肪 (TG)、総コレステロール (TC)、遊離脂肪酸 (FFA) の測定を行った。また解剖時には、左後腹膜 (腎周囲) 脂肪、腸間膜脂肪、左副睾丸周囲脂肪、左腹部皮下脂肪の各脂肪組織重量の測定を行った。後腹膜脂肪、腸間膜脂肪、副睾丸周囲脂肪の合計を腹腔内脂肪とし、腹部皮下脂肪の切除範囲は、Krotkiewski and Bjorntorpの方法 [11] に従った。体組成については、カーカス処理を行った後、体たん白質含量、体脂肪含量、体灰分含量を測定した。体たん白質量については体窒素の定量をケルテックオートアナライザー1030 (日本ゼネラル(株)) を用いて行い、窒素たん白質換算係数として一律6.25を用いて粗たん白質量を算出した。体脂肪含量は、ジエチルエーテル溶媒でエクspfアット (日本ゼネラル(株)) を用いて脂肪を抽出し、抽出前後の重量差で算出した。体灰分含量は、600℃で4時間加熱灰化した後の残存量で測定した。

統計学的処理として、数値は全て、Mean±SDで表し、有意差検定はunpaired t-testを用いた。

### C. 研究結果

実験開始前に計測した市販飼料の1日平均摂餌量から算出し設定したCasein群とSPI群の摂餌量は16.0g/日であった。Casein群、SPI群の体重は、両群ともに実験開始後経過に伴い減少したがSPI群の体重はCasein群と比較し、実験開始直後より、より減少傾向が強く、実験開始21日目においてはSPI群の体重はCasein群と比較して有意な減少を示した (Fig.1)。また、体重変化量で評価すると、実験開始12日目以後、SPI群の体重減少はCasein群と比較して有意に大きかった (Fig.1)。すなわち、エネルギー効率に関して、SPI群は、Casein群より全期間を通じて低い傾向にあり、特に実験開始12日目以後は、SPI群のエネルギー効率はCasein群と比較して有意に低かった (Fig.2)。

体組成に関しては、SPI群の体脂肪含量はCasein群と比較して有意に減少していたのに対して、SPI群の体たん白質%はCasein群と比較して逆に有意に増加していた (Table 2)。また、体脂肪分布に関しては、SPI群の腹腔内脂肪 (後腹膜脂肪、腸間膜脂肪) 重量、腹部皮下脂肪重量はCasein群と比較していずれも有意に減少しており、体脂肪量の減少に部位特異性は認められなかった (Table 3)。

実験終了時の血糖、IRIについては、Casein