

原 著

原料の異なる錠剤型大豆含有食品の イソフラボン吸収性の検討

—オープンラベル2剤2期クロスオーバー試験—

垂 水 千 恵¹・高 橋 里 実¹
平 田 愛 奈¹・高 井 良 充¹
福 原 慎 司¹・永 江 友 登¹
石 井 有 理¹・阿 部 直 幸²
干 野 英 明²・寺 本 祐 之¹

要 旨

目的：原料の異なる錠剤型大豆含有食品のイソフラボン吸収性について血中イソフラボン濃度を指標に検討することを目的とした。

方法：16例の健康な日本人女性〔適格基準：40～59歳，BMI 18.5以上25未満（kg/m²）〕がオープンラベル2剤2期クロスオーバー試験に登録された。対象者は朝食後に大豆含有食品（被験食品1または2）を水で摂取した。被験食品1と2はイソフラボン類のアグリコン比率や相対比などが異なる大豆原料から作られた。血液サンプルは単回摂取前，摂取1，2，4，6，8，10，12，24時間後に採取し，血中イソフラボン濃度を測定した。

結果：被験食品単回摂取後の血中総イソフラボン濃度，ダイゼイン濃度，ゲニステイン濃度 AUC_{0-24h} は，被験食品1と比較して被験食品2で有意に高値であった（総イソフラボン AUC_{0-24h} : $P=0.018$ ，ダイゼイン AUC_{0-24h} : $P<0.001$ ，ゲニステイン AUC_{0-24h} : $P=0.0076$ ）。一方で，血中グリシテイン濃度の AUC_{0-24h} は被験食品2と比較して被験食品1で有意に高

1：株式会社ファンケル 総合研究所 2：医療法人社団慈昂会 白石内科クリニック

責任著者連絡先：株式会社ファンケル 総合研究所 垂水千恵

〒244-0806 神奈川県横浜市戸塚区上品濃12-13

Tel：045-820-3443 Fax：045-820-3526 E-mail：chie_0904@fancl.co.jp

値であった ($P < 0.001$)。血中総イソフラボン濃度のTmax, Cmaxに被験食品間の差はみられなかった。

結論：これらの結果から、大豆イソフラボン類のアグリコン比率の違いが吸収に与える影響は小さく、主にゲニステインやダイゼインの相対比が高いほど、総イソフラボンの吸収が高まることが示唆された。今後、大豆含有食品の開発への応用が期待される (UMIN ID : UMIN000054337)。

はじめに

大豆に含まれるイソフラボン類は女性ホルモン様作用を有することから植物性エストロゲンともいわれ、女性更年期症状の軽減¹⁾や骨粗鬆症予防²⁾、乳がんのリスク低減³⁾など、様々な健康増進効果が期待されている。

大豆イソフラボンは3種のアグリコン (ダイゼイン, ゲニステイン, グリシテイン) およびそれらの配糖体から構成される。大豆においては主に配糖体として存在し、ヒトが摂取すると腸内酵素や腸内細菌から分泌される β -グルコシダーゼによる加水分解を受けてアグリコン化された後、吸収・代謝され、様々な抱合反応を受けて腸肝循環する⁴⁾⁵⁾。大豆イソフラボンの吸収には配糖体部分の加水分解が必要なため、アグリコン形態で摂取することで吸収・代謝が促進されると考えられた。しかしながら、ヒトを対象にアグリコンと配糖体を用いてイソフラボンの吸収を比較した先行研究では相反する結果が示され、アグリコンの吸収が配糖体よりも高い^{6)~9)}、差はない¹⁰⁾¹¹⁾、または低い¹²⁾ことが示唆されている。その理由として、ヒトの生体における内的要因に加え、外的要因としてイソフラボンの化学構造 (配糖体/アグリコン) 以外に、研究食品中のマトリックスや固体状態の違い、他の食事由来成分との相互作用など、多くの要因が寄与する可能性が挙げられている^{8)10)~13)}。よって、大豆イソフラボン含有食品の健康有益性を高めるには、原料中のアグリコン比率、イソフラボンの溶出、溶解性や分散性、消化中のバイ

オアクセシビリティを改善する必要がある¹³⁾¹⁴⁾。

γ -シクロデキストリン (以下, γ -CD) は8つのグルコース分子が α -1,4結合した環状オリゴ糖で、分子の内部 (疎水性) に他の化合物を包接できる特性をもつ¹⁵⁾。CDは包接錯体の形成が容易であり、医薬品や食品分野をはじめ産業分野でゲスト物質の溶解性と安定性を高める用途で広く利用されてきた¹⁶⁾。そこで、我々はアグリコン比率の高い大豆イソフラボン原料に γ -CD包接による製剤加工を施し、*in vitro*にて膜透過性を評価する装置である μ Flux (PION社製) を用いてイソフラボンアグリコンの溶出および膜透過性が改善したことを確認した。

これらから、配糖体比率の高い大豆含有食品と比較して、 γ -CD包接アグリコン大豆含有食品の吸収優位性が期待される。そこで、大豆イソフラボンのヒトにおける吸収性において、単回摂取後の血中イソフラボン濃度を指標に比較検討した。

I 対象と方法

1. 試験実施体制

試験に関与しない第三者で構成される医療法人社団慈昂会 福住内科クリニック倫理審査委員会での審査および承認 (承認日: 2024年4月15日) の後に実施した。試験の実施はヘルシンキ宣言に基づく倫理原則、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第一号, 令和3年3月23日施行, 令和5年

表1 試験食品の組成 (1粒/1回あたり)

	種類	被験食品1	被験食品2
	形状・色	錠剤 (201.0mg)・淡黄色	錠剤 (282.8mg)・灰黄色
大豆イソフラボン	アグリコン, μmol	20.4	102.0
	ダイゼイン, μmol	13.4	65.6
	ゲニステイン, μmol	1.9	10.5
	グリシテイン, μmol	5.0	25.9
	配糖体, μmol	85.5	3.0
	ダイジン, μmol	48.3	2.0
	ゲニスチン, μmol	8.4	0.56
	グリシチン, μmol	28.8	0.44
	総イソフラボン, μmol	105.9	105.0
	アグリコン比率 (モル比), %	19.3	97.1
γ -CD, μmol	0	31.6	

試験食品の大豆イソフラボン分析値および大豆原料の包接加工に用いた γ -CD配合量を示す。

3月27日一部改正)」および「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針ガイダンス (文部科学省・厚生労働省・経済産業省, 令和6年4月1日一部改正)」に従って実施した。試験に先立ち, 対象者には試験責任医師または試験分担医師が説明文書をもとに試験の趣旨および内容を十分説明し, 試験への参加について自由意思による同意を同意文書にて取得し, 同意が得られた者のみを被験者として実施した。試験は医療法人社団慈昂会白石内科クリニックにて2024年4~5月に実施された。また, 試験はUMIN臨床試験登録システムに登録後に実施された (UMIN ID: UMIN000054337)。

2. 試験食品

試験食品は2種の被験食品とし, 大きさ・色調は異なるが, いずれも1回摂取量 (1粒) あたり大豆イソフラボン (アグリコン当量として) 25mgを目安に設計した錠剤形態の食品 (ファンケル社製) とした。各被験食品に含有するイソフラボンの分析は, 高速液体クロマトグ

ラフィー (HPLC法) にて3種のアグリコンとその主たる配糖体3種の6画分を測定し, その合計値を総イソフラボン量とした。総イソフラボン量において, 被験食品1 (配糖体型) は105.9 μmol , 被験食品2 (γ -CD包接アグリコン型) は105.0 μmol , と両食品で統一したが, アグリコン比率やイソフラボン類の相対比率は異なっていた。また, 被験食品2の大豆原料の包接加工に用いた γ -CD配合量も併せて示した (表1)。なお, 分析は一般財団法人日本食品分析センターにて実施された。

3. 試験デザイン

試験はオープンラベル2剤2期クロスオーバー試験とした。割付担当者が被験者を体重順にA群とB群の2群に分けた。第I期ではA群には被験食品1を, B群には被験食品2を摂取させた。休止期間は介入効果が十分に消失する^{6)~12)}と考えられる6日間とった後, 第II期ではA群には被験食品2を, B群には被験食品1を摂取させた。

各期の試験食品摂取6日前から大豆食品の

摂取は極力控え、3日前より禁止した。試験食品摂取前6日間の大豆食品摂取状況、生活習慣や体調変化、医薬品の服用状況など指導事項の遵守状況を日誌に記録させた。被験者は、検査日前日午後6時に入所し、午後7時に指定の夕食を取り、それ以降絶食とした。検査日は起床から絶飲食とし、試験開始前に生理学的検査(身長、体重、血圧、脈拍、体温)および医師の診察を受け試験に参加した。試験食品の摂取前に採血(0時間値の測定)を実施した後、朝食として塩にぎり2個(ローソン社製)を水150mLとともに10分間で摂取した。朝食終了5分後に150mLの水で試験食品を摂取し、1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24時間後に採血を行い、血中ゲニステイン、ダイゼイン、グリシテイン、総イソフラボン(計算値)濃度を測定した。蓄尿は試験食品摂取後、0~6, 6~12, 12~24時間に行い、尿中エクオール濃度を測定した。また、試験食品摂取4時間後に昼食(指定食)、10時間後に夕食(指定食)を摂取した。指定食は大豆イソフラボンを極力含まないことを除き、日本人の一般的な食事内容とした。また、試験終了時にも診察、血圧、脈拍、体温を確認し、安全性評価とした。

4. 対象

試験に参加を希望する対象者をMEighT's(メイツ、札幌治験情報サイト)を通じて募集した。同意を取得した被験者候補にスクリーニング検査を実施し、選択基準を満たし除外基準に該当しない者を被験者とした。選択基準は①同意取得時の年齢が満40歳以上60歳未満の健康な日本人女性、②BMIが $18.5\text{kg}/\text{m}^2$ 以上 $25.0\text{kg}/\text{m}^2$ 未満の者、③本試験の目的と内容について十分な説明を受け、十分に理解し、自発的に試験に参加することに同意し、同意書に署名できる者、とした。また、除外基準は①重篤な疾患や消化器手術の既往がある者、②消化吸収に影響する疾患を有する、または日常的に消化不良の諸症状、便秘、下

痢などを自覚する者、③腎疾患、肝疾患、心疾患、その他代謝性疾患を有する者、④現在、試験に影響を及ぼす治療を受けている者、治療が必要な疾患を有する者、医薬品を常用している者、⑤試験に影響を及ぼす可能性のある医薬品、食品を常用している者、⑥試験食品摂取3日前から各期終了時まで大豆食品の摂取を中止できない者、⑦嗜好性やアレルギーなどにより、試験食品および入所中の指定された食事を摂取できない者、⑧アルコール多飲および喫煙習慣がある者、⑨経時採血が困難な者、⑩試験食品摂取開始前4週間以内に200mL以上の全血採血、または試験開始前12週間以内に400mL以上の全血採血を実施した者、⑪試験食品摂取開始前4週間以内に他の臨床試験に参加していた者、現在または試験終了時までに他の臨床試験に参加する予定のある者、⑫妊娠中の者、授乳中の者、または試験終了時までにその可能性がある者、⑬試験各期に月経期間が重なる者、⑭夜間勤務や不眠症などで睡眠や食生活が不規則な者、⑮激しい運動を行っている者、⑯その他、本試験参加に不適切と試験責任医師等が判断した者、とした。なお、被験者数は既報^{6)~9)}を参考に設定した。

5. 分析

血中イソフラボン類は液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析(LC-MS/MS)法、尿中エクオールはELISA法にて分析された。血中イソフラボン分析について以下に示した。

血清は精製水で希釈し、先行研究¹⁷⁾に基づき抱合体の加水分解を実施した。加水分解後、精製水でサンプルを希釈し、同位体標識した内部標準物質(Genistein-d4, Daidzein-d4, Glycitein-d6)を添加し、tert-ブチルメチルエーテルでイソフラボンを有機層に抽出した。有機層を乾固したのち、メタノールと精製水で再溶解しミックスモード固相カラムのHyperSepTM Retain AX column(Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA)に導

入し、洗浄した。イソフラボンを含む溶出画分をメタノール/酢酸混合液にて溶出し、遠心エバポレーターで蒸発乾固した残渣にメタノール溶液を加え溶解し、最終溶液をLC-MS/MSに導入し、分析に供した。多重反応モニタリング (MRM) のプリカーサーイオンとプロダクトイオンの組み合わせはそれぞれ、Genisteinでは m/z 269.1/158.9, Genistein-d4では m/z 273.1/162.8, Daidzeinでは m/z 253.1/208.1, Daidzein-d4では m/z 256.2/211.1, Glyciteinでは m/z 283.1/239.9, Glycitein-d6では m/z 289.0/245.9とした。なお、血中イソフラボン類の分析は(株)あすか製薬メディカル、尿中エクオール分析は(株)ヘルスケアシステムズにおいて実施された。

6. 統計解析

主要評価項目は摂取24時間後までの血中総イソフラボンAUC (area under the curve ; 曲線下面積) とし、血中総イソフラボン、ゲニステイン、ダイゼイン、グリシテインの各時点濃度およびAUC, Cmax, Tmax, 尿中エクオール総排泄量を評価した。なお、AUCは各時点の濃度を直線で結んだ台形の面積を用いる線形台形法にて算出した。被験者背景のA群とB群の比較は、月経においてFisherの正確検定、その他は両群で正規性の検定を行い、Wilcoxonの順位和検定を用いた。有効性の各評価項目は対数正規分布を示すことから常用対数変換値を用いて、主要評価項目の血中総イソフラボンAUCにおいて持ち越し効果を検定し、クロスオーバーデザインの妥当性を確認し、各評価項目 (対数変換値) についてクロスオーバー用分散分析にて解析した。被験者背景の各検査値については中央値 (四分位範囲)、各評価項目については平均値 \pm 標準誤差 (非対数変換値) で示し、いずれの検定においても有意水準は両側検定で危険率5%とした。統計解析ソフトはJMP 18.0.0 (SAS社製) を使用し、(株)ファンケルにて実施した。

II 結果

同意取得した被験者候補38例に対してスクリーニング検査を実施し、16例の被験者を選択し、この16例を体重順にA群とB群に割り付けた。II期の試験食品摂取前の血中イソフラボン濃度が顕著に高値であった1例を指導事項の不遵守とみなし、解析対象除外症例として、最終的に15例 (A群8例, B群7例) を有効性の解析対象および安全性の評価対象とした (図1)。被験者15例の背景を表2に示した。血中総イソフラボンAUCについて順序効果がない ($P=0.99$) ことを確認し、クロスオーバーデザインの妥当性を確認した。

主要評価項目である血中総イソフラボンAUCおよびその推移を図2および表3に示した。被験食品2摂取時の血中総イソフラボンAUC ($14.60 \pm 0.89 \mu\text{mol/L} \cdot 24\text{h}$) は、被験食品1摂取時 ($13.44 \pm 0.92 \mu\text{mol/L} \cdot 24\text{h}$) と比較して有意に高値を示した ($P=0.018$)。血中総イソフラボンの平均推移において、いずれの食品摂取時も概ね二相性を示し、Cmax, Tmaxにおいて両食品間に差はなかった。血中総イソフラボン濃度は摂取24時間後 (被験食品1摂取時= $0.19 \pm 0.02 \mu\text{mol/L}$, 被験食品2摂取時= $0.23 \pm 0.02 \mu\text{mol/L}$, $P=0.014$) において、被験食品2は被験食品1と比べ有意に高値を示した。血中イソフラボン画分濃度の推移を図3および表3に、他の評価項目も併せて表3に示した。イソフラボン画分では、血中ダイゼインAUCおよび摂取6時間後、24時間後の血中濃度において被験食品2は被験食品1と比べて有意に高値であった。また、血中ゲニステインAUCおよび摂取4時間後、6時間後、8時間後、12時間後の血中濃度およびCmaxにおいて被験食品2は被験食品1と比べて有意に高値であった。一方で、血中グリシテインAUC、摂取4時間後、6時間後、8時間後、10時間後、12時間後の血中濃度およびCmaxにおいて被験食品1は被

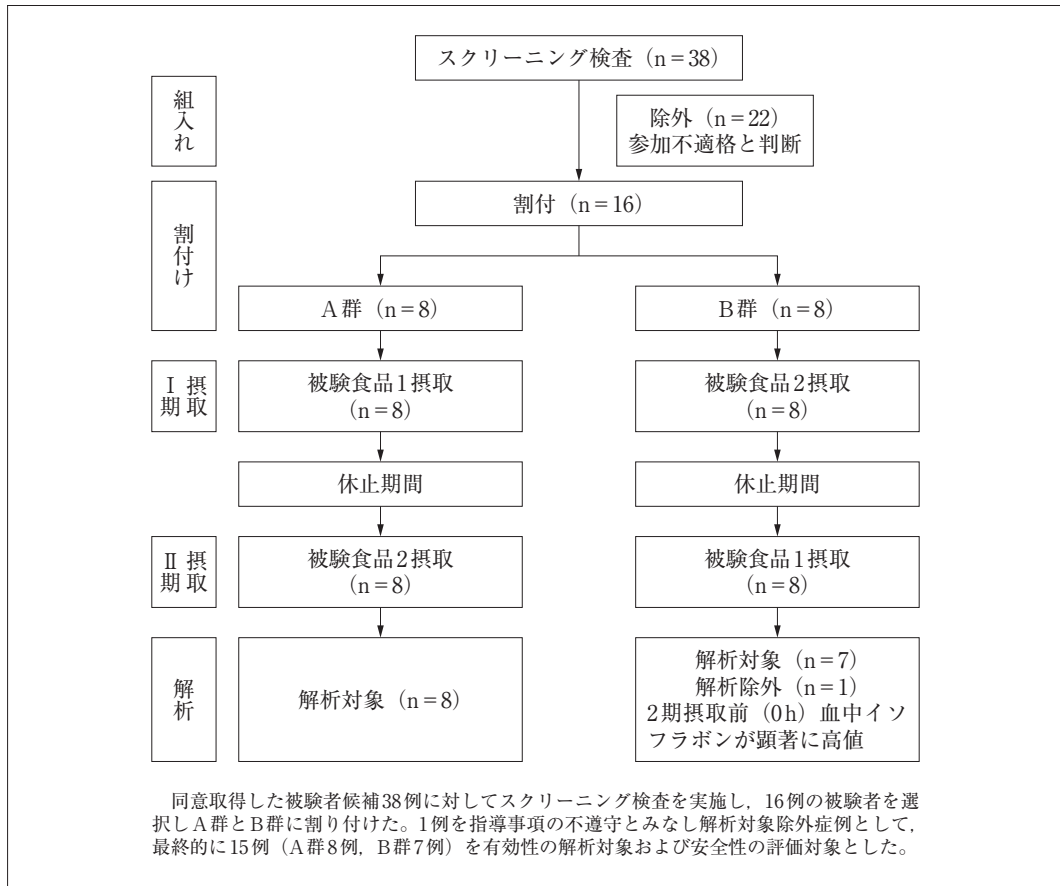


図1 試験フロー

表2 被験者背景

	全体 (n=15)	A群 (n=8)	B群 (n=7)	P値
年齢 (歳)	52 (46-53)	53 (49-54.5)	47 (43-53)	0.015*
月経 (有/閉経)	6/9	2/6	4/3	0.31
身長 (cm)	161.8 (153.9-163.1)	161.4 (152.8-164.6)	161.8 (157.5-163.1)	0.88
体重 (kg)	55.2 (50.1-58.9)	55.2 (48.1-62.6)	54.8 (50.1-58.9)	0.88
BMI (kg/m ²)	21.1 (20.1-22.1)	21.2 (20.2-24.1)	21.1 (19.1-22.1)	0.51
摂取前の血中総イソフラボン濃度 (μmol/L)	0.024 (0.008-0.044)	0.016 (0.008-0.046)	0.029 (0.013-0.044)	0.39

中央値 (四分位範囲)

* : P<0.05 (Wilcoxonの順位和検定) (月経はFisherの正確検定)

全体および群毎のスクリーニング検査時の年齢、月経、計測値および試験食品摂取前の血中総イソフラボン値を示した。

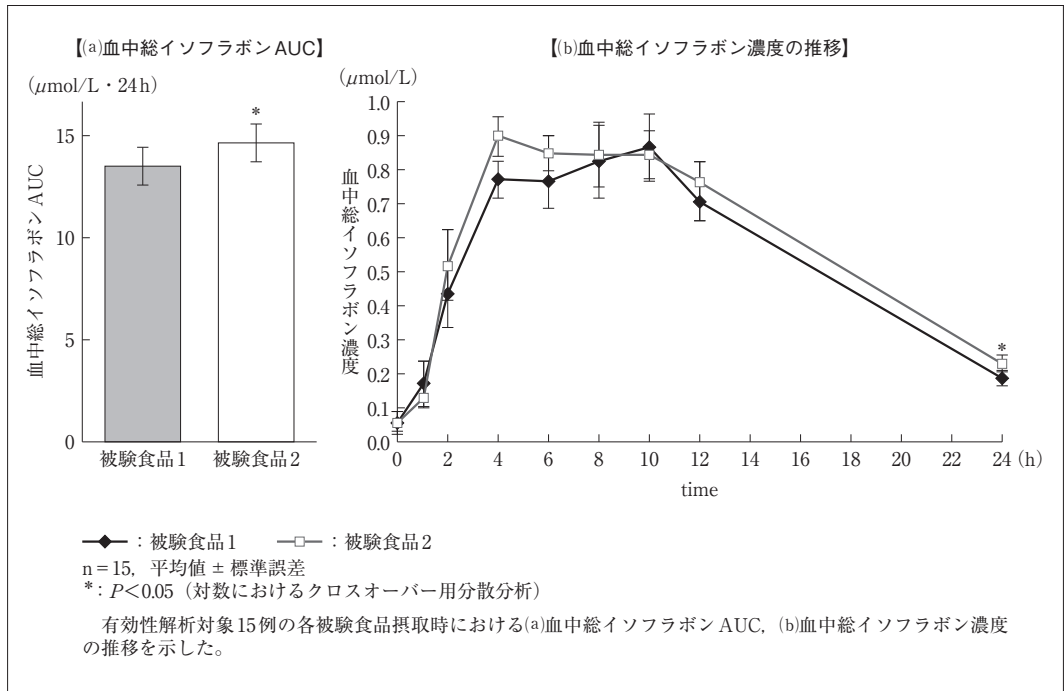


図2 摂取24時間後までの血中総イソフラボンAUCおよびその推移

験食品2と比べて有意に高値であった。尿中エクオールは摂取6時間後までの排泄量(0~6h)において被験食品2は被験食品1と比べて有意に高値であったが、総排泄量(0~24h)においては食品間に差はなかった。

安全性評価のため、診察、体温、血圧および脈拍数にて被験者の健康状態を確認した結果異常は認められず、有害事象も発生しなかった。

Ⅲ 考 察

本試験は、2種類の錠剤型大豆含有食品のイソフラボンの吸収について、健康な日本人女性を対象にオープンラベル2剤2期クロスオーバー試験によって比較検討した。その結果、大豆含有食品摂取後の血中総イソフラボンAUCは被験食品1と比較して被験食品2で高く、被験食品2の吸収優位性が確認された。

この要因として、我々は当初、膜透過性の実験結果からγ-CD包接加工のイソフラボン吸収への関与を期待していた。しかしながら、γ-CDにより包接加工した大豆原料と非加工の大豆原料を用いて吸収性について検討(UMIN000054338)した結果、γ-CDによる吸収性改善は確認されなかった。既報¹⁸⁾¹⁹⁾から、包接率や摂取条件が最適ではなかった可能性はあるものの、本試験におけるγ-CD包接加工の寄与は小さいと推察された。

次に考えられた要因として、両食品におけるイソフラボン類の相対比の違いが挙げられる。アグリコン換算として総イソフラボンに占める比率は、ダイゼイン(被験食品1=58.3%, 被験食品2=64.4%), ゲニステイン(被験食品1=9.7%, 被験食品2=10.5%), グリシテイン(被験食品1=31.9%, 被験食品2=25.1%)であり、各食品におけるイソフラボン類の摂取量と血中濃度はそれぞれ概ね比例してい

表3 血中イソフラボン濃度の推移およびAUC, 尿中エクオール排泄量

項目	被験食品1 (n=15)	被験食品2 (n=15)	P値
血中総イソフラボン (IF) 濃度 ($\mu\text{mol/L}$)			
Total IF 0h	0.05 \pm 0.02	0.06 \pm 0.03	0.47
Total IF 1h	0.17 \pm 0.07	0.13 \pm 0.03	0.79
Total IF 2h	0.43 \pm 0.10	0.52 \pm 0.11	0.84
Total IF 4h	0.77 \pm 0.05	0.90 \pm 0.06	0.14
Total IF 6h	0.77 \pm 0.08	0.85 \pm 0.05	0.054
Total IF 8h	0.83 \pm 0.11	0.85 \pm 0.10	0.27
Total IF 10h	0.87 \pm 0.10	0.85 \pm 0.07	0.86
Total IF 12h	0.71 \pm 0.06	0.77 \pm 0.06	0.21
Total IF 24h	0.19 \pm 0.02	0.23 \pm 0.02	0.014*
Total IF Tmax (h)	7.9 \pm 0.7	6.7 \pm 0.8	0.24
Total IF Cmax ($\mu\text{mol/L}$)	1.15 \pm 0.07	1.12 \pm 0.06	0.75
Total IF AUC ($\mu\text{mol/L} \cdot 24\text{h}$)	13.44 \pm 0.92	14.60 \pm 0.89	0.018*
血中ダイゼイン (DAI) 濃度 ($\mu\text{mol/L}$)			
DAI 0h	0.01 \pm 0.00	0.01 \pm 0.00	0.68
DAI 1h	0.10 \pm 0.05	0.06 \pm 0.02	0.68
DAI 2h	0.28 \pm 0.07	0.34 \pm 0.07	0.95
DAI 4h	0.52 \pm 0.03	0.61 \pm 0.04	0.13
DAI 6h	0.51 \pm 0.05	0.57 \pm 0.04	0.033*
DAI 8h	0.54 \pm 0.07	0.57 \pm 0.07	0.17
DAI 10h	0.57 \pm 0.06	0.57 \pm 0.05	0.67
DAI 12h	0.46 \pm 0.03	0.51 \pm 0.04	0.072
DAI 24h	0.10 \pm 0.01	0.13 \pm 0.01	0.0010**
DAI Tmax (h)	7.5 \pm 0.7	6.7 \pm 0.8	0.33
DAI Cmax ($\mu\text{mol/L}$)	0.76 \pm 0.04	0.76 \pm 0.04	0.87
DAI AUC ($\mu\text{mol/L} \cdot 24\text{h}$)	8.61 \pm 0.48	9.59 \pm 0.53	<0.001***
血中ゲニステイン (GEN) 濃度 ($\mu\text{mol/L}$)			
GEN 0h	0.04 \pm 0.02	0.05 \pm 0.03	0.42
GEN 1h	0.06 \pm 0.02	0.06 \pm 0.02	0.81
GEN 2h	0.11 \pm 0.03	0.15 \pm 0.04	0.44
GEN 4h	0.19 \pm 0.02	0.24 \pm 0.03	0.029*
GEN 6h	0.17 \pm 0.02	0.22 \pm 0.02	0.012*
GEN 8h	0.17 \pm 0.03	0.20 \pm 0.03	0.028*
GEN 10h	0.17 \pm 0.03	0.19 \pm 0.02	0.11
GEN 12h	0.14 \pm 0.02	0.17 \pm 0.02	0.0084**
GEN 24h	0.05 \pm 0.01	0.07 \pm 0.01	0.0074**
GEN Tmax (h)	5.7 \pm 0.6	5.9 \pm 0.7	0.90
GEN Cmax ($\mu\text{mol/L}$)	0.21 \pm 0.02	0.26 \pm 0.03	0.016*
GEN AUC ($\mu\text{mol/L} \cdot 24\text{h}$)	2.94 \pm 0.41	3.63 \pm 0.50	0.0076**

(表つづく)

(表のつづき)

項目	被験食品1 (n=15)	被験食品2 (n=15)	P値
血中グリシテイン (GLY) 濃度 ($\mu\text{mol/L}$)			
GLY 0h	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.94
GLY 1h	0.02 \pm 0.01	0.01 \pm 0.00	0.56
GLY 2h	0.04 \pm 0.01	0.03 \pm 0.01	0.46
GLY 4h	0.07 \pm 0.01	0.05 \pm 0.00	0.025*
GLY 6h	0.09 \pm 0.02	0.06 \pm 0.01	0.011*
GLY 8h	0.11 \pm 0.02	0.07 \pm 0.01	0.013**
GLY 10h	0.13 \pm 0.02	0.09 \pm 0.01	0.025*
GLY 12h	0.11 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	<0.001***
GLY 24h	0.03 \pm 0.00	0.03 \pm 0.00	0.45
GLY Tmax (h)	8.7 \pm 0.6	9.2 \pm 0.6	0.080
GLY Cmax ($\mu\text{mol/L}$)	0.19 \pm 0.02	0.12 \pm 0.01	<0.001***
GLY AUC ($\mu\text{mol/L} \cdot 24\text{h}$)	1.89 \pm 0.13	1.37 \pm 0.12	<0.001***
尿中エクオール排泄量 (μmol)			
0-6h	0.04 \pm 0.02	0.07 \pm 0.03	<0.001***
6-12h	0.04 \pm 0.01	0.08 \pm 0.04	0.72
12-24h	0.29 \pm 0.13	0.46 \pm 0.26	0.18
0-24h	0.37 \pm 0.16	0.61 \pm 0.33	0.21

平均値 \pm 標準誤差

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$ (常用対数におけるクロスオーバー用分散分析)

有効性解析対象15例の各被験食品摂取時における血中総イソフラボン、ダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインの各時点濃度、Tmax、Cmax、AUCおよび尿中エクオール排泄量の結果一覧を示した。

た。イソフラボンの吸収が摂取量と一次比例関係で増加するコンセンサスはなく²⁰⁾、摂取量が異なる条件間においてはその解釈に限界はあるものの、既報^{21)~23)}を参考に各食品の摂取量に合わせて調整した血中濃度をみると、グリシテインと比較して、ダイゼイン、特にゲニステインは顕著に高かった(データ未記載)。バイオアベイラビリティに関するグリシテインの報告は限られ²³⁾両剤において未知であったが、ダイゼインと比べてゲニステインのバイオアベイラビリティは高いとされ⁷⁾²⁴⁾²⁵⁾、同位体を用いた報告²⁶⁾においても支持されている。これらから、吸収効率の優れるゲニステインやダイゼインをより多く摂取した条件(被験食品2)で総イソフラボンの吸収が高かったと推察した。

また、イソフラボンの化学構造(配糖体/アグリコン)の違いについて、総イソフラボンAUCを中央値で二分した部分集団解析では、中央値未満の集団において被験食品1と比べてアグリコン含量の高い被験食品2の総イソフラボンAUCが高値であった(データ未記載)。イソフラボンの吸収が低いヒトにおいて特にアグリコン形態での摂取が有用である可能性はある⁹⁾ものの、Tmaxに食品間の差がないことから、本試験条件において配糖体(グルコシド結合の加水分解)は吸収の主たる律速にはならないと推察された。尿中エクオール排泄量について、エクオール産生者のカットオフ値を $1\mu\text{M}/0-24\text{h}$ ²⁷⁾とすると産生者は3例のみ該当した。エクオールはダイゼインの代謝物で、イソフラボン類と比べても尿中排

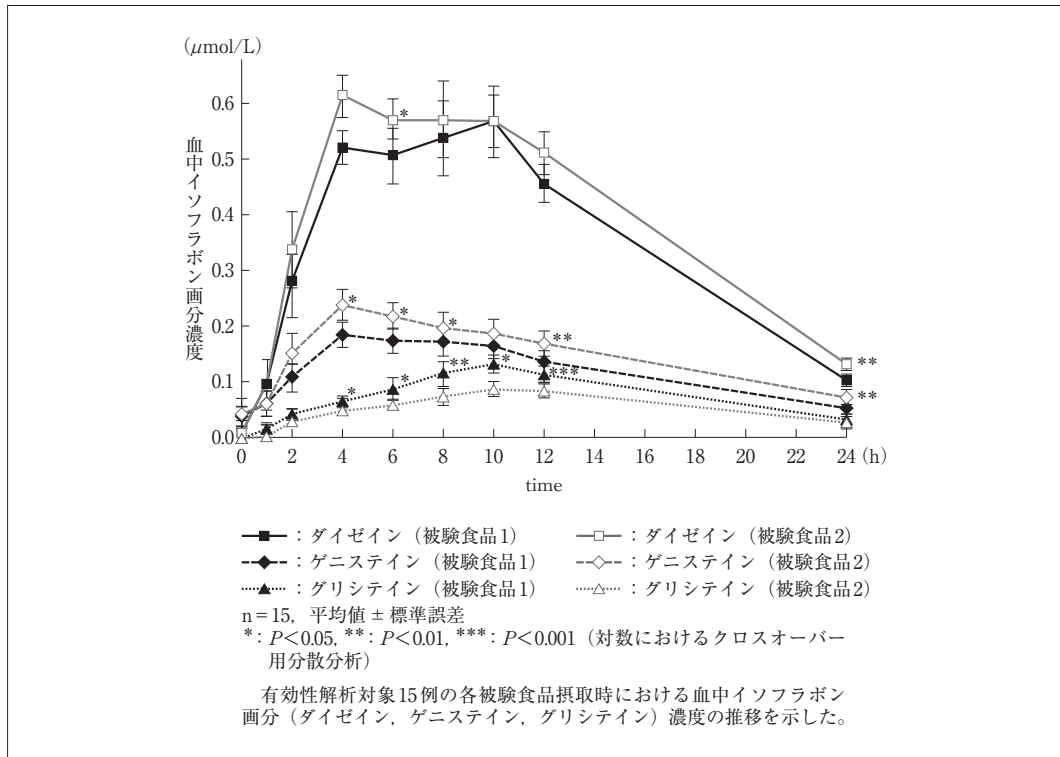


図3 摂取24時間後までの血中イソフラボン画分濃度の推移

泄量や排泄時間の個人差は非常に大きく²⁸⁾²⁹⁾, 本試験条件における両食品の比較評価は困難であった。

イソフラボンの腸管吸収・代謝メカニズムは未だ不明な点も多い。イソフラボン類の化学形態や相対比率以外に原料の加工処理法など吸収に影響する要因は計り知れない³⁰⁾。本試験は, 異なる大豆原料を用い, さらに大豆以外の複合成分やサイズが異なる錠剤間の比較であり, 明確な考察は困難であった³¹⁾。さらに, 血中総イソフラボン推移の二相性や個人差 (Cmax : 0.66~1.62 μmol/L, Tmax : 2~12時間) から, CmaxやTmaxは明確に捉えられなかった。イソフラボンの抱合・排泄にはエストロゲンが下方制御し, バイオアベイラビリティに性差があることも示されている³²⁾³³⁾。採血ポイントの増加や被験者背景の統一によって, これらの指標は明確になろうが,

概ね既報³⁴⁾の範囲内であり, 結論に及ぼす影響は小さいと考える。また, 吸収の指標として血中イソフラボン推移を利用したが, 腸肝循環することからその解釈に限界はあるかもしれない。しかしながら, 本試験は健康な閉経前後の女性を対象に食後摂取という日常に比較的近い条件下で評価しており, 結果の一般化が期待される。今後はイソフラボン類の最適比率や複合処方, 製剤技術加工による吸収改善を目指した研究が必要と考えている。

我が国における大豆食品の摂取量は若い世代を中心に減少傾向にある³⁵⁾。錠剤型大豆含有食品は嗜好性を問わず, 手軽に摂取できるという利点がある。イソフラボンの吸収に優れた大豆含有食品は主に閉経期に顕在化する女性特有の健康リスク予防の一助となる。今後, 製品開発への応用が期待される。

結 論

原料の異なる2種類の錠剤型大豆含有食品のイソフラボン吸収優位性についてオープンラベル2剤2期クロスオーバー試験で比較した。その結果、主にゲニステインやダイゼイン（アグリコンとして）の相対含有量が多いことで、総イソフラボンの吸収が高まることが示唆された。

COI

本試験の実施に係る費用は株式会社ファンケルが負担した。垂水千恵、高橋里実、平田愛奈、高井良充、福原慎司、永江友登、石井有理は株式会社ファンケルの社員、寺本祐之は株式会社ファンケルの役員である。なお、本試験は株式会社ファンケルが医療法人社団慈昂会に業務を委託して実施した。イソフラボンの分析について、試験食品は一般財団法人日本食品分析センター、血液サンプルは株式会社あすか製薬メディカル、尿中エクオールは株式会社ヘルスケアシステムズに委託し、株式会社ファンケルにおいて統計解析を実施した。

文 献

- 1) Chen LR, Ko NY, Chen KH. Isoflavone Supplements for Menopausal Women : A Systematic Review. *Nutrients*. 2019 ; **11**(11) : 2649.
- 2) Akhlaghi M, Ghasemi Nasab M, Riasatian M, Sadeghi F. Soy isoflavones prevent bone resorption and loss, a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020 ; **60**(14) : 2327-41.
- 3) Boutas I, Kontogeorgi A, Dimitrakakis C, Kalantaridou SN. Soy Isoflavones and Breast Cancer Risk : A Meta-analysis. *In Vivo*. 2022 ; **36**(2) : 556-62.
- 4) Raimondi S, Roncaglia L, De Lucia M, et al. Bioconversion of soy isoflavones daidzin and daidzein by Bifidobacterium strains. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2009 ; **81**(5) : 943-50.
- 5) Turner NJ, Thomson BM, Shaw IC. Bioactive isoflavones in functional foods : the importance of gut microflora on bioavailability. *Nutr Rev*. 2003 ; **61**(6 Pt 1) : 204-13.
- 6) Nagino T, Kano M, Masuoka N, et al. Intake of a fermented soymilk beverage containing moderate levels of isoflavone aglycones enhances bioavailability of isoflavones in healthy premenopausal Japanese women : a double-blind, placebo-controlled, single-dose, crossover trial. *Biosci Microbiota Food Health*. 2016 ; **35**(1) : 9-17.
- 7) Izumi T, Piskula MK, Osawa S, et al. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *J Nutr*. 2000 ; **130**(7) : 1695-9.
- 8) Okabe Y, Shimazu T, Tanimoto H. Higher bioavailability of isoflavones after a single ingestion of aglycone-rich fermented soybeans compared with glucoside-rich non-fermented soybeans in Japanese postmenopausal women. *J Sci Food Agric*. 2011 ; **91**(4) : 658-63.
- 9) Kano M, Takayanagi T, Harada K, et al. Bioavailability of isoflavones after ingestion of soy beverages in healthy adults. *J Nutr*. 2006 ; **136**(9) : 2291-6.
- 10) Richelle M, Pridmore-Merten S, Bodenstab S, et al. Hydrolysis of isoflavone glycosides to aglycones by beta-glycosidase does not alter plasma and urine isoflavone pharmacokinetics in postmenopausal women. *J Nutr*. 2002 ; **132**(9) : 2587-92.
- 11) Zubik L, Meydani M. Bioavailability of soybean isoflavones from aglycone and glucoside forms in American women. *Am J Clin Nutr*. 2003 ; **77**(6) : 1459-65.
- 12) Rüfer CE, Bub A, Möseneder J, et al. Pharmacokinetics of the soybean isoflavone daidzein in its aglycone and glucoside form :

- a randomized, double-blind, crossover study. *Am J Clin Nutr.* 2008 ; **87**(5) : 1314-23.
- 13) He Liu, Yue Wang, Danshi Zhu, et al. Bioaccessibility and Application of Soybean Isoflavones : A Review. *Food Rev Int.* 2023 ; **39**(8) : 5948-67.
 - 14) Polia F, Pastor-Belda M, Martínez-Blázquez A, et al. Technological and Biotechnological Processes To Enhance the Bioavailability of Dietary (Poly) phenols in Humans. *J Agric Food Chem.* 2022 ; **70**(7) : 2092-107.
 - 15) Del Valle EMM. Cyclodextrins and their uses : a review. *Process Biochem.* 2004 ; **39**(9) : 1033-46.
 - 16) Hedges AR. Industrial Applications of Cyclodextrins. *Chem Rev.* 1998 ; **98**(5) : 2035-44.
 - 17) Gavina JM, Priem J, Wood CM, et al. Determination of isoflavones in rat serum using liquid chromatography—tandem mass spectrometry with a highly efficient core—shell column. *Anal Bioanal Chem.* 2013 ; **405**(8) : 2643-51.
 - 18) Inoue Y, Osada M, Murata I, et al. Evaluation of Solubility Characteristics of a Hybrid Complex of Components of Soy. *ACS Omega.* 2019 ; **4**(5) : 8632-40.
 - 19) Flory S, Sus N, Haas K, et al. Increasing Post-Digestive Solubility of Curcumin Is the Most Successful Strategy to Improve its Oral Bioavailability : A Randomized Cross-Over Trial in Healthy Adults and In Vitro Bioaccessibility Experiments. *Mol Nutr Food Res.* 2021 ; **65**(24) : e2100613.
 - 20) Setchell KD, Brown NM, Desai PB, et al. Bioavailability, disposition, and dose-response effects of soy isoflavones when consumed by healthy women at physiologically typical dietary intakes. *J Nutr.* 2003 ; **133**(4) : 1027-35.
 - 21) Anupongsanugool E, Teekachunhatean S, Rojanasthien N, et al. Pharmacokinetics of isoflavones, daidzein and genistein, after ingestion of soy beverage compared with soy extract capsules in postmenopausal Thai women. *BMC Clin Pharmacol.* 2005 ; **5** : 2.
 - 22) Rodríguez-Morató J, Farré M, Pérez-Mañá C, et al. Pharmacokinetic Comparison of Soy Isoflavone Extracts in Human Plasma. *J Agric Food Chem.* 2015 ; **63**(31) : 6946-53.
 - 23) Shinkaruk S, Durand M, Lamothe V, et al. Bioavailability of glycitein relatively to other soy isoflavones in healthy young Caucasian men. *Food Chem.* 2012 ; **135**(3) : 1104-11.
 - 24) Watanabe S, Yamaguchi M, Sobue T, et al. Pharmacokinetics of soybean isoflavones in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soybean powder (kinako). *J Nutr.* 1998 ; **128**(10) : 1710-5.
 - 25) Setchell KD, Brown NM, Desai P, et al. Bioavailability of pure isoflavones in healthy humans and analysis of commercial soy isoflavone supplements. *J Nutr.* 2001 ; **131**(Suppl.4) : 1362S-75S.
 - 26) Setchell KD, Faughnan MS, Avades T, et al. Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of ¹³C-labeled tracers in premenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 2003 ; **77**(2) : 411-9.
 - 27) Rowland IR, Wiseman H, Sanders TA, et al. Interindividual variation in metabolism of soy isoflavones and lignans : influence of habitual diet on equol production by the gut microflora. *Nutr Cancer.* 2000 ; **36**(1) : 27-32.
 - 28) Lampe JW, Karr SC, Hutchins AM, Slavin JL. Urinary equol excretion with a soy challenge : influence of habitual diet. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1998 ; **217**(3) : 335-9.
 - 29) Kelly GE, Joannou GE, Reeder AY, et al. The variable metabolic response to dietary isoflavones in humans. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1995 ; **208**(1) : 40-3.

- 30) Polia F, Pastor-Belda M, Martínez-Blázquez A, et al. Technological and Biotechnological Processes To Enhance the Bioavailability of Dietary (Poly) phenols in Humans. *J Agric Food Chem.* 2022 ; **70**(7) : 2092-107.
- 31) Bitto A, Burnett BP, Polito F, et al. The Steady-State Serum Concentration of Genistein Aglycone Is Affected by Formulation : A Bioequivalence Study of Bone Products. *Biomed Res Int.* 2013 ; **2013** : 273498.
- 32) Kulkarni KH, Yang Z, Niu T, Hu M. Effects of Estrogen and Estrus Cycle on Pharmacokinetics, Absorption, and Disposition of Genistein in Female Sprague-Dawley Rats. *J Agric Food Chem.* 2012 ; **60**(32) : 7949-56.
- 33) Coldham NG, Zhang AQ, Key P, Sauer MJ. Absolute bioavailability of [¹⁴C] genistein in the rat ; plasma pharmacokinetics of parent compound, genistein glucuronide and total radioactivity. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2002 ; **27**(4) : 249-58.
- 34) Manach C, Williamson G, Morand C, et al. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr.* 2005 ; **81**(1 Suppl.) : 230S-42S.
- 35) 厚生労働省. 令和元年 国民健康・栄養調査報告 : 令和2年12月.
<https://www.mhlw.go.jp/content/001066903.pdf>

**Study on The Absorption of Isoflavones after Ingestion
of Soy-containing Supplements Composed of Different Ingredients**
— A Open-label, 2-Way, 2-Period, Cross-over Study —

Chie Tarumizu¹, Satomi Takahashi¹, Aina Hirata¹, Yoshimitsu Takai¹,
Shinji Fukuhara¹, Yuuto Nagae¹, Yuri Ishii¹, Naoyuki Abe²,
Hideaki Hoshino² and Sachi-yuki Teramoto¹

1 : FANCL Research Institute, FANCL Corporation

2 : Medical Corporation Jikokai Shiroishi Internal Medicine Clinic

Corresponding author : Chie Tarumizu

FANCL Research Institute, FANCL Corporation

12-13 Kamishinano, Totsuka-ku, Yokohama, Kanagawa 244-0806, Japan

Tel : +81-45-820-3443 Fax : +81-45-820-3526 E-mail : chie_0904@fancl.co.jp

Abstract

Objective : The objective of this study was to investigate the absorption of isoflavones in tablet-form soy supplements composed of different ingredients.

Methods : 16 healthy female participants (eligibility criteria : 40-59 years old, BMI \geq 18.5 and <25 kg/m²) were enrolled in open-label, 2-way, 2-period, cross-over study. They took a soy supplement (test food 1 or 2) after breakfast with water. Test foods 1 and 2 were made from soybean materials with different aglycone ratios and relative proportions of isoflavones. Blood samples were collected before ingestion and 1, 2, 4, 6,

8, 10, 12, 24 hours after a single intake. Serum isoflavone concentrations were measured.

Results : The AUC_{0-24h} of total isoflavone, daidzein and genistein concentrations in blood after a single intake of test foods were significantly higher in test food 2 compared to test food 1 (total isoflavone $AUC_{0-24h} : P=0.018$, daidzein $AUC_{0-24h} : P<0.001$, genistein $AUC_{0-24h} : P=0.0076$). On the other hand, the AUC_{0-24h} of blood glycitein concentration was significantly higher in test food 1 compared to test food 2 ($P<0.001$). There were no differences in Tmax and Cmax of blood total isoflavone concentration between the test foods.

Conclusions : These results suggest that the effect of different aglycon ratios of soy isoflavones on absorption is small, and that higher relative ratios of genistein and daidzein (as aglycons) mainly enhance absorption of total isoflavones. This is expected to be applied to the development of soybean-containing foods in the future. (UMIN ID : UMIN000054337)

Key words : soy isoflavones, absorption, bioavailability, supplements

(受理日 : 2024年11月13日)