大豆由来の新規成分“エクオール”の最新知見

誌名	日本食品科学工学会誌 : Nippon shokuhin kagaku kogaku kaishi = Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology
ISSN	1341027X
著者名	内山,成人
発行元	日本食品科学工学会
巻/号	62巻7号
掲載ページ	p. 356-363
発行年月	2015年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, **62** (7), 356-363, 2015
Copyright © 2015, Japanese Society for Food Science and Technology
doi : 10.3136/nskkk.62.356

http://www.jsfst.or.jp

シリーズ—研究小集会（第20回）大豆部会

解　説

大豆由来の新規成分“エクオール”の最新知見

内　山　成　人

大塚製薬株式会社佐賀栄養製品研究所

New Insights into “Equol”, a Novel Ingredient Derived from Soy

Shigeto Uchiyama

Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Saga Nutraceuticals Research Institute,
5006-5 Yoshinogari-cho Kanzaki-gun, Saga 842-0195

S-equol is a major intestinally-derived bacterial metabolite of daidzein, one of the principal isoflavones found in soybeans and most soy foods. *S*-equol has a similar structure to estrogen, and binds to estrogen receptors to exhibit estrogenic activity. *S*-equol has been shown to bind to estrogen receptors (ER) α and β and to effectively activate both receptors, although with greater transactivation of ERβ. It has been proposed that the ability to make *S*-equol when soy is consumed may be an important factor in determining the clinical efficacy of a soy diet, the so-called “equol hypothesis”. Equol has many beneficial effects on menopausal women. However, equol production depends on the individual's intestinal flora; and research has shown that only 30 to 50% of individuals in the populations studied are capable of producing equol from daidzein. A lactic acid bacterium, *Lactococcus garvieae* (*Lactococcus* 20-92 strain), with equol-producing capabilities was identified and isolated from human feces. Recently, we standardized the production of an *S*-equol supplement (SE5-OH) using this strain. Reports suggest that the *S*-equol supplement contributes positively to menopausal symptoms, bone health, metabolic syndrome and skin aging. In this paper, we introduce new insights into equol or SE5-OH based on epidemiological and clinical study. (Accepted May 15, 2015)

Keywords : soy isoflavones, *S*-equol, SE5-OH, intestinal bacterium, menopausal women
キーワード : 大豆イソフラボン，エクオール，SE5-OH，腸内細菌，更年期女性

日本人女性の平均寿命は86.4歳（2012年）と世界一であるが，介護なしで過ごせる健康年齢は73.6歳と12.8年の差があり，いかに健康年齢を維持するかが問題である．一方，女性の閉経年齢は50歳前後であり，閉経後のQOLが健康年齢にとって重要になってくることは言うもでもない．これまで大豆イソフラボンの女性ホルモン様作用（エストロゲン様作用）が着目され，種々の研究結果が報告されてきた[1]が，その結果が一致していないため，十分なエビデンスがないと結論付けられているのが現状である[2)~4)]．そこで，2002年にセッチュルらは大豆イソフラボンの活性本体が代謝物のエクオールではないかとの仮説，つまり“エクオール仮説”を提唱し，エクオールが着目されるようになった[5)]．

最近我々は，エクオールを直接摂取可能な食品（SE5-OH）を開発した[6)]ので，その開発背景と有用性について紹介する．

1.　エクオール産生者と産生菌

エクオールは大豆イソフラボンの中のダイゼインが腸内細菌によって代謝を受け，生成される物質である（図1）[7)]．エクオールはその代謝過程（還元反応）において不斉炭素が存在するため，光学異性体の*S*体と*R*体が存在する[8)9)]．これまで検討されたすべてのヒト，動物では血液および尿中に検出されたエクオールは*S*体のみであり，生体内で産生されるエクオールは*S*体のみとされている[8)10)]．ヒトではエクオールを産生できるエクオール産生者と，産生できないエクオール非産生者が存在するが，マウス，ラット，鶏，羊，牛，ヤギなどの動物は，全てエクオール産生能を有する[8)]．

エクオール産生者の割合は欧米では20-30%，日本では約50%との報告[11)~14)]があり，疫学研究の結果をもとに全世界のエクオール産生者の割合をまとめてみると，日本，中国，台湾などの大豆の食習慣がある地域ではエクオール

〒842-0195 佐賀県神埼郡吉野ヶ里町大曲字東山5006-5
連絡先，uchiyama.shigeto@otsuka.jp

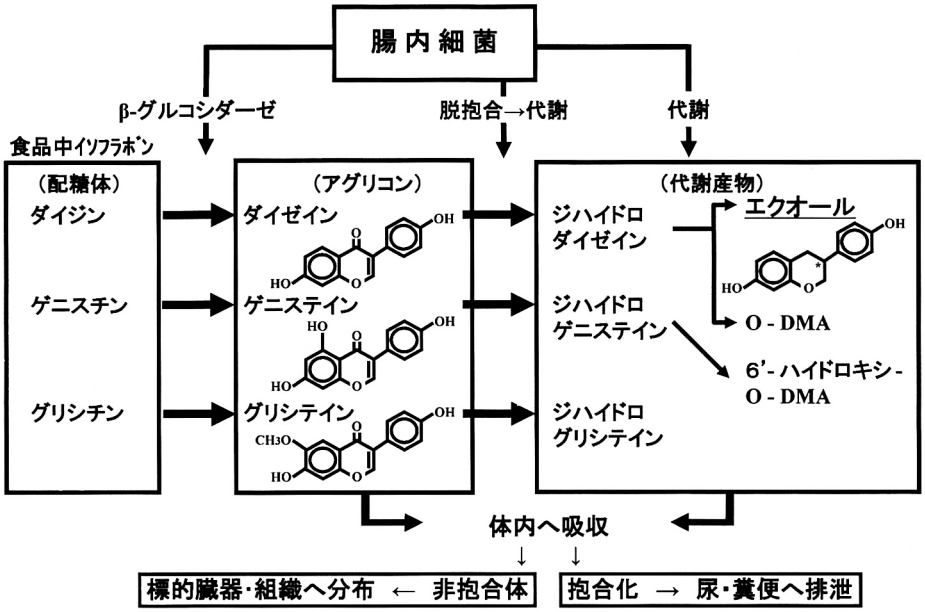

図 1　腸内細菌によるイソフラボンの代謝とエクオールの生合成
O-DMA：*O*-デスメチルアンゴレンシン，＊：不斉炭素

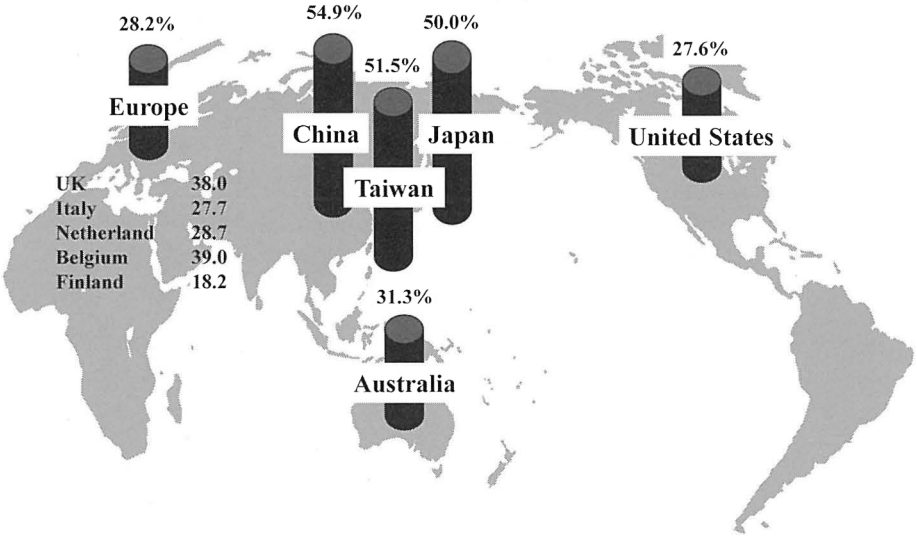

図 2　アジア・欧米・オーストラリアにおけるエクオール産生者の割合

産生者が約50％であり[13)~19)]，その他の欧米およびオーストラリアでは約30％[20)~26)]となる（図2）．

エクオールの産生には，男女差，遺伝的素因は関係ないが[27)~31)]，いくつかの食物因子（食物繊維，大豆，海草など）との関係が報告されている[31)~36)]．また，年齢による違い，特に日本においては若年層での産生者の低下が示唆されている[15)]．食事の西洋化に伴う大豆食品摂取量・頻度や腸内環境の整備に必要な食物繊維等の低下が問題視されている．しかしながら，エクオール非産生者に乳酸菌やオリゴ糖[37)~39)]，食物繊維[36)]等を摂取させ，腸内環境を改善しても産生者にはならなかったとの報告もあるため，エクオールを産生する能力を有する腸内細菌（エクオール産生菌）を有していない人にとっては食事による根本的な改善は期待できないのかもしれない．

エクオールを産生する腸内細菌が存在しているが，1997年から2010年までに探索されたエクオール産生菌は15株であり[11)]，そのほとんどが絶対嫌気性菌（酸素の存在下では生育ができない菌）であるが，乳酸菌として単離されたもの（ストレプトコッカス属：A6G-225株とラクトコッカス属：ラクトコッカス20-92株）もある（表1）．このようにエクオール産生菌は，単一菌ではなく，多種に渡っているためエクオール産生者でも個人ごとに菌種が異なっている

表 1　エクオール産生菌単離・同定に関する報告例

発見/報告年	報告者	所属（国）	菌名（株名）	分離源
1997年	Uchiyama et al.	大塚製薬（日本）	バクテロイデス属（E-15株）	ヒト腸内
1997年	Uchiyama et al.	大塚製薬（日本）	ルミノコッカス属（E-17株）	ヒト腸内
1997年	Uchiyama et al.	大塚製薬（日本）	ストレプトコッカス属（A6G-225株）#1	ヒト腸内
2002年	Uchiyama et al.	大塚製薬（日本）	ラクトコッカス属（20-92株）#1	ヒト腸内
2005年	Wang et al.	ソウル大（韓国）	エゲレセラ属（Julong 732株）#2	ヒト腸内
2005年	Decros et al.	ゲント大（ベルギー）	4種混合菌（EPC4）	ヒト腸内
2006年	Minamida et al.	北大（日本）	アサッカロバクター属（do3株）	ラット盲腸内
2006年	Tamura et al.	食総研（日本）	スラッキア属（TM-30株）	ヒト腸内
2006年	Jin et al.	富山大・理研（日本）	スラッキア属（DZE株）	ヒト腸内
2008年	Yu et al.	南京農大（中国）	ユウバクテリウム（D1, D2株）	ブタ糞便内
2008年	Maruo et al.	フジッコ・理研（日本）	アドラークロイチア属（FJC-B9株）	ヒト腸内
2008年	Yokoyama et al.	岐阜県生物工学研（日本）	エゲレセラ属（YY7918株）	ヒト腸内
2008年	Motira et al.	麻布大（日本）	シェーピア属（ST18株）	ウマ腸内
2009年	Clavel et al.	ミュンヘン工科大（ドイツ）	エンテロラブダス属（Mt1B8株）	マウス腸内
2009年	Matthies et al.	ドイツ栄養研（ドイツ）	スラッキア属（HE8株）	ヒト腸内
2010年	Tsuji et al.	ヤクルト・筑波大（日本）	スラッキア属（NATTS株）	ヒト腸内

#1：乳酸球菌
#2：ジハイドロダイゼインからエクオールを産生（その他の菌株は全てダイゼインからエクオールを産生）

ものと考えられる．したがって，エクオール産生菌の生成能を維持させるためにはオーダーメイドの処方が必要なのかもしれない．我々は，エクオール産生菌として唯一乳酸菌を単離することに成功した[40]．

2.　エクオールの作用および疫学研究

エクオールの主な作用については，エストロゲン様／抗エストロゲン作用（パーシャルアゴニスト様作用）[41)~46)]，抗アンドロゲン作用[47)~49)]，抗酸化作用[50)51)]が認められており（図3），特にエストロゲン様活性については，受容体結合能やレポータージーンアッセイ（遺伝子発現における転写活性）などにより，大豆イソフラボンよりも強いことが報告されている[43)44)46)]．また，エストロゲン受容体α（ERα）に比べてエストロゲン受容β（ERβ）への結合が強いことが報告されている[42)~44)46)]．卵巣摘出モデルを用いたin vivo試験では，エストロゲン製剤に比べて子宮への影響が有意に少ないことが報告されており[52)~54)]，組織特異的な作用も実証されている．

抗アンドロゲン作用に関するメカニズムとして，テストステロンから活性型のダイハイドロテストステロン（活性500倍）への変換酵素である5-αレダクターゼ阻害作用[55)]やエクオールがダイハイドロテストステロンと直接結合してアンドロゲンレセプターとの結合を阻害する[48)]ことが報告されている．エクオールの直接的なアンドロゲンレセプターへの結合はない[56)]．男性の前立腺癌，前立腺肥大や脱毛に対する効果も報告されている[48)55)57)]．なお，エストロゲン様作用/抗エストロゲン作用および抗アンドロゲン作用の機序においてsex hormone binding globulin（SHBG）の関与が報告されている[58)59)]が，その生理的意義については明確ではないと考える．

一方，エクオールには一酸化窒素合成酵素（NOS）誘導によるNOを介した血管拡張作用がある[60)]．endothelial nitric oxide synthase（eNOS：血管内皮型NOS）を誘導するがinducible nitric oxide synthase（iNOS：主にマクロファージ由来の誘導型NOS）は誘導しないことも報告されており[61)]，エストロゲンレセプターを介さない血管内皮への直接作用を有する可能性も示唆されている[62)63)]．また，エクオール産生者では大豆イソフラボンの多量摂取者でcarotid intima-media thickness（IMT）や血圧が有意に低くなることが報告[64)]されており，NOを介した作用と関連付けられているが，効果がないとの報告[65)]もある．最近の研究成果ではアポトーシスを誘導する作用が多く報告されている[64)66)~68)]．乳癌をはじめホルモン依存性の癌に対しても効果が期待される．

エクオールそのものは大豆食品中には含まれていないため，介入研究は実施不可能である．そこで，横断的研究や大豆イソフラボンの介入試験において，エクオール産生者と非産生者を比較した結果，エクオール非産生者に比べて産生者では更年期症状，閉経後の骨粗鬆症，高脂血症，血圧，血管内皮機能や乳癌，前立腺肥大・癌などにおいて好ましい影響が報告されている[69)]（表2）．

3.　エクオール介入試験による有用性

2002年のセッチュルらによる初めてのエクオールに関する総説が報告された後，エクオールに関する研究報告が顕著に増加したが，これらの多くは疫学調査や大豆イソフ

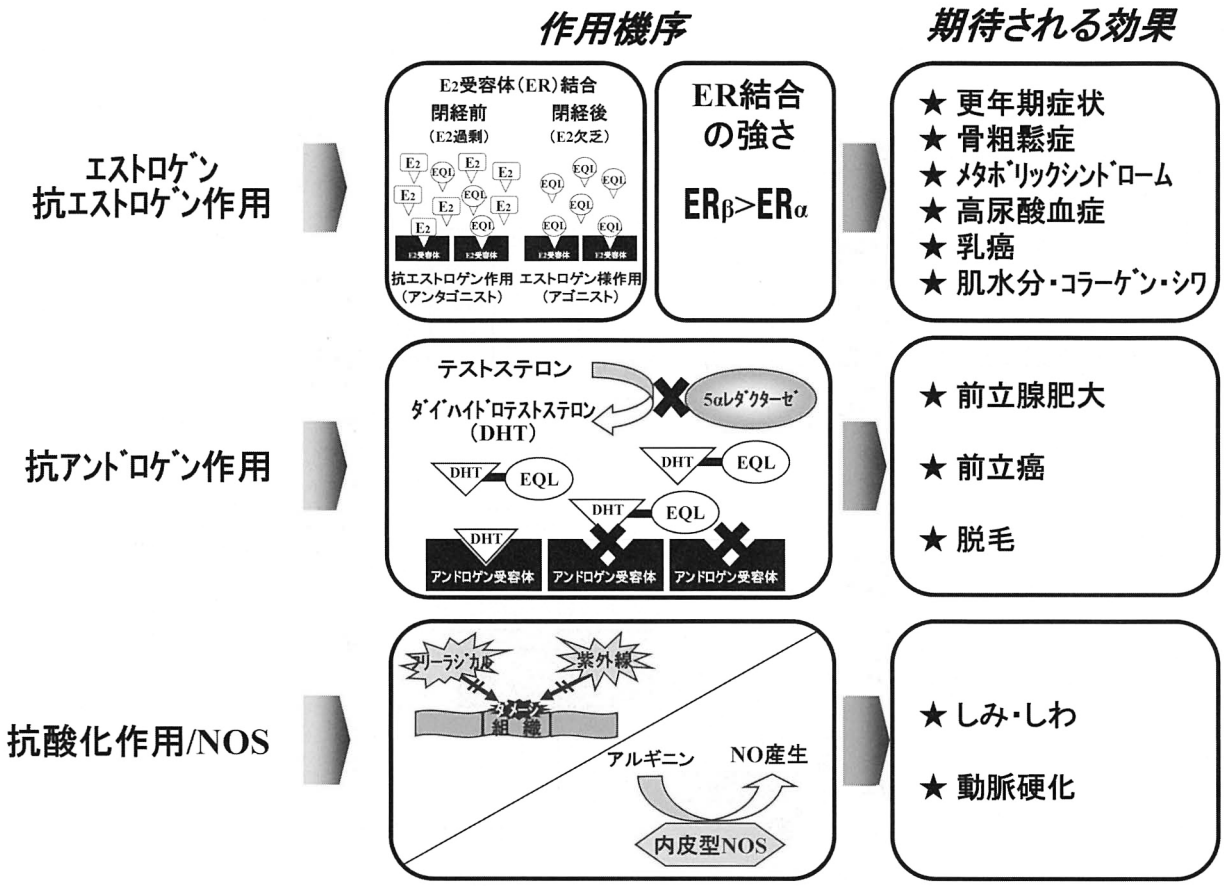

図 3　エクオールの作用機序と期待される効果

E2：エストラジオール　EQL：エクオール　NOS：一酸化窒素合成酵素

表 2　エクオールのベネフィット

疾患	エクオール産生者の優位性（ヒト）	
	横断研究	大豆イソフラボン介入研究
更年期障害	Uchiyama et al. (2007) Ishiwata et al. (2009) Aso et al. (2012)	Jou HJ et al. (2008) Bicíková et al. (2012)
骨粗鬆症・体脂肪	Katsuyama et al. (2009)	Setchell KDR et al. (2002) Uesugi et al. (2004) Wu J et al. (2007)
高脂血症	Liu B et al. (2010) Guo K et al. (2010)	Setchell KDR et al. (2002) Meyer BJ et al. (2004) Wong JMW et al. (2012)
血圧/血管内皮機能	Hong KW et al. (2012) Cai Y et al. (2012)	KreijiKamp S et al. (2005) Welty FK et al. (2007) Törmälä RM et al. (2007) Gil-Izquierdo A et al. (2012)
乳癌	Igram D et al. (1997) Atkinson C et al. (2003)	Duncan AM et al. (2000) Nettleton JA et al. (2005)
前立腺肥大・癌/脱毛	Akaza et al. (2002) Ozasa et al. (2004) Kurahashi et al. (2008)	Hedlund TE et al. (2005) Tanaka et al (2009)

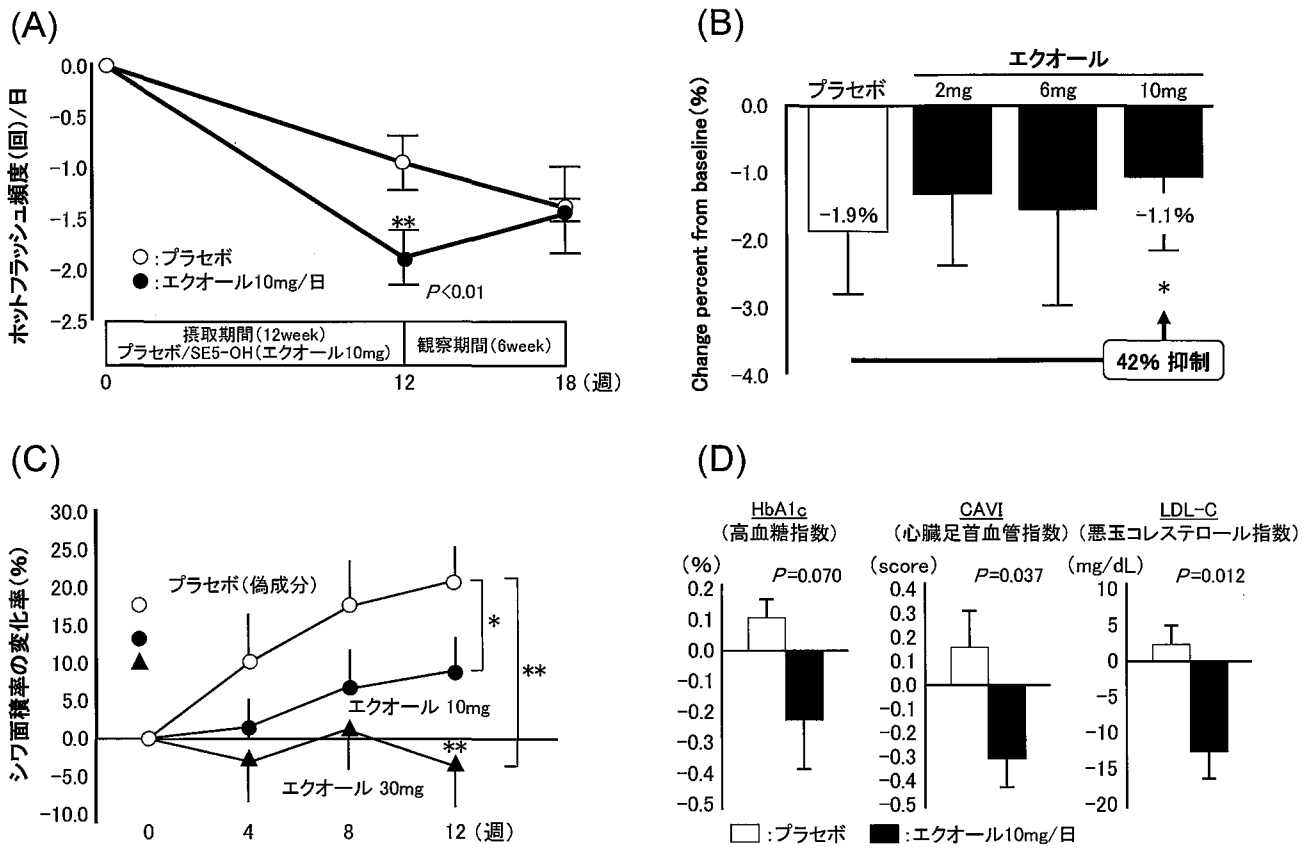

図 4　SE5-OH の各種症状に対する二重盲検試験

(A)，更年期症状（ほてり）軽減作用；(B)，全身骨密度維持作用；(C)，シワ面積減少作用；(D)，メタボリック症候群改善作用

ラボン摂取後のエクオール産生の有無（産生者と非産生者の比較）による解析であった．エクオールそのものを直接摂取させる臨床試験用のエクオール製品が全く存在しなかったことが大きな障壁になっていた．

我々は，食品として利用可能なラクトコッカス 20-92 株[40] を発見することができたことによって，これを用いて大豆胚芽を直接発酵（乳酸菌発酵）させ，*S* 体エクオールを含有する大豆胚芽乳酸菌発酵食品（食品名：SE5-OH，大塚製薬(株)）を開発した[6]．ラクトコッカス 20-92 株は，健康なエクオール産生者の腸内から単離したエクオール産生乳酸菌であり，細胞浸潤性や溶血性，毒素産生はなく，哺乳動物（マウス）への感染性（マクロファージ貪食能に対する抵抗性）もないことを確認している[70]．ラクトコッカス 20-92 は，ラクトコッカス ガルビエ（*Lactococcus garvieae*）に分類されるが，この菌種は中東・ヨーロッパの伝統的なチーズ(スターターを使用しないナチュラル製法)や，健常人の腸内からも単離されていることから，安全性の高い菌株である．

このラクトコッカス 20-92 株で調製した SE5-OH は，エクオール含量が 0.5-0.8％に規格化されており，濃縮，抽出を一切行っていないため一般食品やサプリメントとして幅広く利用可能である．大豆胚芽を乳酸菌発酵させただけであるため，大豆と栄養組成はほとんど変わらない．そのためエクオール以外の成分が 99％以上存在することになるが，ホットフラッシュモデル（卵巣摘出ラットの尾部皮膚温で評価）を用いて SE5-OH とそれに含まれる同量の *S* 体エクオールで効果に差がないことから，その主成分が *S* 体エクオールであることが確認された[54]．

また，SE5-OH については，遺伝毒性，一般毒性（急性，慢性），生殖毒性，催奇形性試験[6)71)] が実施され，安全性が確認されている．

これまでエクオールそのものをヒトに摂取させた臨床試験はほとんど皆無であったが，本食品の開発によりエクオールの効果を直接評価できるようになった．

SE5-OH を用いた臨床試験では，エクオール 10 mg/日摂取により更年期症状[72]，閉経後女性の骨代謝[73]，メタボリックシンドローム[74] および肌の老化[75] に対する効果を認めている（図 4）．いずれの試験も無作為化比較試験（RCTs）であり，二重盲検のプラセボを対照としたものである．特に更年期症状においては，日本で 3 つの RCT[72)76)77)] を実施し，さらに米国人女性[78] でもその効果を確認している．

ま　と　め

エクオール含有大豆胚芽乳酸菌発酵食品（SE5-OH）の

製造が可能となった現在，エクオールそのものを使用したヒトを対象とした各領域での介入研究を実施できるようになり，エクオールのウイメンズヘルスケアでの役割を究明する研究が進展するものと期待される．また，ウイメンズヘルスケ領域で薬物療法の適応となる以前の段階にある症状・障害に対するエクオール含有大豆胚芽乳酸菌発酵食品（SE5-OH）の効果が期待されるものと考えている．

文　献

1) Laurence, G.H., Jan, B.H. and David, C.K., Isoflavone therapy for menopausal flushes : A systematic review and meta-analysis. *Maturitas*, **55**, 203-211 (2006).
2) Jacobs, A., Wegewitz, U., Sommerfeld, C., Grossklaus, R. and Lampen, A., Efficacy of isoflavones in relieving vasomotor menopausal symptoms – A systematic review. *Mol. Nutr. Food Res.*, **53**, 1084-1097 (2009).
3) Liu, J., Ho, S.C., Su, Y.X., Chen, W.Q., Zhang, C.X. and Chen, Y.M., Effect of long-term intervention of soy isoflavones on bone mineral density in women : A meta-analysis of randomized controlled trials. *Bone*, **44**, 948-953 (2009).
4) Taku, K., Umegaki, K., Ishimi, Y. and Watanabe, S., Effects of extracted soy isoflavones alone on blood total and LDL cholesterol : Meta-analysis of randomized controlled trials. *Ther. Clin. Risk Manag.*, **4**, 1097-1103 (2008).
5) Setchell, K.D., Brown, N.M. and Lydeking-Olsen, E., The clinical importance of the metabolite equol – a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J. Nutr.*, **132**, 3577-3584 (2002).
6) Yee, S., Burdock, G.A., Kurata, Y., Enomoto, Y., Narumi, K., Hamada, S., Itoh, T., Shimomura, Y. and Ueno, T., Acute and subchronic toxicity and genotoxicity of SE5-OH, an equol-rich product produced by *Lactococcus garvieae*. *Food Chem. Toxicol.*, **46**, 2713-2720 (2008).
7) Watanabe, S., Yamaguchi, M., Sobue, T., Takahashi, T., Miura, T., Arai, Y., Mazur, W., Wähälä, K. and Adlercreutz, H., Pharmacokinetics of soybean isoflavones in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soybean powder (kinako). *J. Nutr.*, **128**, 1710-1715 (1998).
8) Setchell, K.D., Clerici, C., Lephart, E., Cole, S.J., Heenan, C., Castellani, D., Wolfe, B.E., Nechemias-Zimmer, L., Brown, N. M., Lund, T.D., Handa, R.J. and Heubi, J.E., *S*-equol, a potent ligand for estrogen receptor beta, is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *Am. J. Clin. Nutr.*, **81**, 1072-1079 (2005).
9) Setchell, K.D. and Clerici, C., Equol : history, chemistry, and formation. *J. Nutr.*, **140**, 1355S-1362S (2010).
10) Jackson, R.L., Greiwe, J.S. and Schwen, R.J., Emerging evidence of the health benefits of *S*-equol, an estrogen receptor β agonist. *Nutr. Rev.*, **69**, 432-448 (2011).
11) Yuan, J.P., Wang, J.H. and Liu, X., Metabolism of dietary soy isoflavones to equol by human intestinal microflora – implications for health. *Mol. Nutr. Food Res.*, **51**, 765-781 (2007).
12) Atkinson, C., Frankenfeld, C.L. and Lampe, J.W., Gut bacterial metabolism of the soy isoflavone daidzein : exploring the relevance to human health. *Exp. Biol. Med.*, **230**, 155-170 (2005).
13) Arai, Y., Uehara, M., Sato, Y., Kimira, M., Eboshida, A., Adlercreutz, H. and Watanabe, S., Comparison of isoflavones among dietary intake, plasma concentration and urinary excretion for accurate estimation of phytoestrogen intake. *J. Epidemiol.*, **10**, 127-135 (2000).
14) Gil-Izquierdo, A., Penalvo, J.L., Gil, J.I., Medina, S., Horcajada, M.N., Lafay, S., Silberberg, M., Llorach, R., Zafrilla, P., Garcia-Mora, P. and Ferreres, F., Soy isoflavones and cardiovascular disease epidemiological, clinical and -omics perspectives. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **13**, 624-631 (2012).
15) Akaza, H., Miyanaga, N., Takashima, N., Naito, S., Hirao, Y., Tsukamoto, T., Fujioka, T., Mori, M., Kim, W.J., Song, J.M. and Pantuck, A.J., Comparisons of percent equol producers between prostate cancer patients and controls : case-controlled studies of isoflavones in Japanese, Korean and American residents. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, **34**, 86-89 (2004).
16) Song, K.B., Atkinson, C., Frankenfeld, C.L., Jokela, T., Wähälä, K., Thomas, W.K. and Lampe, J.W., Prevalence of daidzein-metabolizing phenotypes differs between Caucasian and Korean American women and girls. *J. Nutr.*, **136**, 1347-1351 (2006).
17) Tanaka, M., Fujimoto, K., Chihara, Y., Torimoto, K., Yoneda, T., Tanaka, N., Hirayama, A., Miyanaga, N., Akaza, H. and Hirao, Y., Isoflavone supplements stimulated the production of serum equol and decreased the serum dihydrotestosterone levels in healthy male volunteers. *Prostate Cancer P. D.*, **12**, 247-252 (2009).
18) Liu, B., Qin, L., Liu, A., Uchiyama, S., Ueno, T., Li, X. and Wang, P., Prevalence of the equol-producer phenotype and its relationship with dietary isoflavone and serum lipids in healthy Chinese adults. *J. Epidemiol.*, **20**, 377-384 (2010).
19) Guo, K., Zhang, B., Chen, C., Uchiyama, S., Ueno, T., Chen, Y. and Su, Y.X., Daidzein-metabolising phenotypes in relation to serum lipids and uric acid in adults in Guangzhou, China. *Br. J. Nutr.*, **104**, 118-124 (2010).
20) Atkinson, C., Newton, K.M., Stanczyk, F.Z., Westerlind, K.C., Li, L. and Lampe, J.W., Daidzein-metabolizing phenotypes in relation to serum hormones and sex hormone binding globulin, and urinary estrogen metabolites in premenopausal women in the United States. *Cancer Cause. Control*, **19**, 1085-1093 (2008).
21) Fuhrman, B.J., Teter, B.E., Barba, M., Byrne, C., Cavalleri, A., Grant, B.J., Horvath, P.J., Morelli, D., Venturelli, E. and Muti, P.C., Equol status modifies the association of soy intake and mammographic density in a sample of postmenopausal women. *Cancer Epidem. Biomar.*, **17**, 33-42 (2008).
22) Tormala, R., Appt, S., Clarkson, T.B., Mueck, A.O., Seeger, H., Mikkola, T.S. and Ylikorkala, O., Impact of soy supplementation on sex steroids and vascular inflammation markers in postmenopausal women using tibolone : role of equol production capability. *Climacteric*, **11**, 409-415 (2008).
23) Gardana, C., Canzi, E. and Simonetti, P., The role of diet in the metabolism of daidzein by human faecal microbiota sampled from Italian volunteers. *J. Nutr. Biochem.*, **20**, 940-947 (2009).
24) Verheus, M., Gils, C.H., Kreijkamp-Kaspers, S., Kok, L., Peeters, P.H.M., Grobbee, D.E. and Schouw, Y.T., Soy protein containing isoflavones and mammographic density in a randomized controlled trial in postmenopausal women. *Cancer Epidem. Biomar.*, **17**, 2632-2638 (2008).
25) Talbot, D.C., Ogborne, R.M., Dadd, T., Adlercreutz, H., Barnard, G., Bugel, S, Kohen, F., Marlin, S., Piron, J., Cassidy, A. and Powell, J., Monoclonal antibody-based time-resolved fluorescence immunoassays for daidzein, genistein, and equol in blood and urine : Application to the isoheart

intervention study. *Clin. Chem.*, **53**, 748-756 (2007).

26) Thorp, A.A., Howe, P.R., Mori, T.A., Coates, A.M., Buckley, J. D., Hodgson, J., Mansour, J. and Meyer, B. J., Soy food consumption does not lower LDL cholesterol in either equol or nonequol producers. *Am. J. Clin. Nutr.*, **88**, 298-304 (2008).

27) Frankenfeld, C.L., Atkinson, C., Thomas, W.K., Goode, E.L., Gonzalez, A., Jokela, T., Wahala, K., Schwartz, S.M., Li, S.S. and Lampe, J.W., Familial correlations, segregation analysis, and nongenetic correlates of soy isoflavone-metabolizing phenotypes. *Exp. Biol. Med.*, **229**, 902-913 (2004).

28) Cassidy, A., Brown, J.E., Hawdon, A., Faughnan, M.S., King, L. J., Millward, J., Zimmer-Nechemias, L., Wolfe, B. and Setchell, K.D., Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods. *J. Nutr.*, **136**, 45-51 (2006).

29) Ko, T.F., Tsai, H.S., Lin, S.M., Liu, C.D., Learn, S.P. and Chiou, R.Y., GC-MS determined distribution of urinary equol producers as affected by age, gender, and repeated ingestions of soymilk. *J. Food Sci.*, **75**, H306-H310 (2010).

30) Faughnan, M. S., Hawdon, A., Ah-Singh, E., Brown, J., Millward, D.J. and Cassidy, A., Urinary isoflavone kinetics : the effect of age, gender, food matrix and chemical composition. *Br. J. Nutr.*, **91**, 567-574 (2004).

31) Lu, L.J.W. and Anderson, K.E., Sex and long-term soy diets affect the metabolism and excretion of soy isoflavones in humans. *Am. J. Clin. Nutr.*, **69** (suppl), 1500S-1504S (1998).

32) Teas, J., Hurley, T.G., Hebert, J.R., Franke, A.A., Sepkovic, D. W. and Kurzer, M.S., Dietary seaweed modifies estrogen and phytoestrogen metabolism in healthy postmenopausal women. *J. Nutr.*, **139**, 939-944 (2009).

33) Nagata, C., Ueno, T., Uchiyama, S., Nagao, Y., Yamamoto, S., Shibuya, C., Kashiki, Y. and Shimizu, H., Dietary and lifestyle correlates of urinary excretion status of equol in Japanese women. *Nutr. Cancer.*, **2008**, 49-54 (2008).

34) Atkinson, C., Newton, K.M., Bowles, E.J.A., Yong, M. and Lampe, J.W., Demographic, anthropometric, and lifestyle factors and dietary intakes in relation to daidzein-metabolizing phenotypes among premenopausal women in the United States. *Am. J. Clin. Nutr.*, **87**, 679-687 (2008).

35) Rowland, I.R., Wiseman, H., Sanders, T.A., Adlercreutz, H. and Bowey, E.A., Interindividual variation in metabolism of soy isoflavones and lignans : influence of habitual diet on equol production by the gut microflora. *Nutr. Cancer.*, **36**, 27-32 (2000).

36) Lampe, J.W., Skor, H.E., Li, S., Wähälä, K., Howald, W.N. and Chen, C., Wheat bran and soy protein feeding do not alter urinary excretion of the isoflavan equol in premenopausal women. *J. Nutr.*, **131**, 740-744 (2001).

37) Bonorden, M.J.L., Greany, K.A., Wangen, K.E., Phipps, W.R., Feirtag, J., Adlercreutz, H. and Kurzer, M.S., Consumption of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium longum do not alter urinary equol excretion and plasma reproductive hormones in premenopausal women. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **58**, 1635-1642 (2004).

38) Nettleton, J.A., Greany, K.A., Thomas, W., Wangen, K.E., Adlercreutz, H. and Kurzer, M.S., Plasma phytoestrogens are not altered by probiotic consumption in postmenopausal women with and without a history of breast cancer. *J. Nutr.*, **134**, 1998-2003 (2004).

39) Nettleton, J.A., Greany, K.A., Thomas, W., Wangen, K.E., Adlercreutz, H. and Kurzer, M.S., The effect of soy consumption on the urinary 2 : 16-Hydroxyestrone ratio in postmenopausal women depends on equol production status but is not influenced by probiotic consumption. *J. Nutr.*, **135**, 603-608 (2005).

40) Uchiyama, S., Ueno, T. and Suzuki, T., Identification of a newly isolated equol producing lactic acid bacterium from the human feces [Japanese]. *J. Intestinal Microbiol., (Tokyo)* **21**, 217-220 (2007).

41) Hwang, C.S., Kwak, H.S., Lim, H.J., Lee, S.H., Kang, Y.S., Choe, T.B., Hur, H.G. and Han, K.O., Isoflavone metabolites and their in vitro dual functions : They can act as an estrogenic agonist or antagonist depending on the estrogen concentration. *J. Steroid Biochem.*, **101**, 246-253 (2006).

42) Mueller, S.O., Simon, S., Chae, K., Metzler, M. and Korach, K. S., Phytoestrogens and their human metabolites show distinct agonistic and antagonistic properties on estrogen receptor α (ERα) and ERβ in human cells. *Toxicol. Sci.*, **80**, 14-25 (2004).

43) Morito, K., Hirose, T., Kinjo, J., Hirakawa, T., Okawa, M., Nohara, T., Ogawa, S., Inoue, S., Muramatsu, M. and Masamune, Y., Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors α and β. *Biol. Pharm. Bull.*, **24**, 351-366 (2001).

44) Muthyala, R.S., Ju, Y.H., Sheng, S., Williams, L.D., Doerge, D.R., Katzenellenbogen, B.S., Helferich, W.G. and Katzenellenbogen, J. A., Equol, a natural estrogenic metabolite from soy isoflavones : convenient preparation and resolution of *R*- and *S*-equols and their differing binding and biological activity through estrogen receptors alpha and beta. *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 1559-1567 (2004).

45) Harris, D.M., Besselink, E., Henning, S.M., Go, V.L. and Heber, D., Phytoestrogens induce differential estrogen receptor alpha- or Beta-mediated responses in transfected breast cancer cells. *Exp. Biol. Med.*, **230**, 558-568 (2005).

46) Setchell, K.D., Clerici, C., Lephart, E.D., Cole, S.J., Heenan, C., Castellani, D., Wolfe, B.E., Nechemias-Zimmer, L., Brown, N. M., Lund, T.D., Handa, R.J. and Heubi, J.E., S-equol, a potent ligand for estrogen receptor b, is the exclusive enantiomeric form of the soy isoflavone metabolite produced by human intestinal bacterial flora. *Am. J. Clin. Nutr.*, **81**, 1072-1079 (2005).

47) Bovee, T.F., Schoonen, W.G., Hamers, A.R., Bento, M.J. and Peijnenburg, A.A., Screening of synthetic and plant-derived compounds for (anti)estrogenic and (anti)androgenic activities. *Anal. Bioanal. Chem.*, **390**, 1111-1119 (2008).

48) Lund, T.D., Munson, D.J., Haldy, M.E., Setchell, K.D., Lephart, E.D. and Handa, R.J., Equol is a novel anti-androgen that inhibits prostate growth and hormone feedback. *Biol. Reprod.*, **70**, 1188-1195 (2004).

49) Hirvonen, J., Rajalin, A.M. and Wohlfahrt, G., Transcriptional activity of estrogen-related receptor γ (ERRγ) is stimulated by the phytoestrogen equol. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **123**, 46-57 (2011).

50) Mitchell, J.H., Gardner, P.T., McPhail, D.B., Morrice, P.C., Collins, A. R. and Duthie, G. G., Antioxidant efficacy of phytoestrogens in chemical and biological model systems. *Arch. Biochem. Biophys.*, **360**, 142-148 (1998).

51) Rüfer, C.E. and Kulling, S.E., Antioxidant activity of isoflavones and their major metabolites using different in vitro assays. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 2926-2931 (2006).

52) Pan, Y., Anthony, M.S., Binns, M. and Clarkson, T.B., A comparison of oral micronized estradiol with soy phytoestrogen effects on tail skin temperatures of ovariectomized rats. *Menopause*, **8**, 171-174 (2001).

53) Thielemann, A., Wuttke, W., Wuttke, M. and Seidlova-Wuttke,

D., Comparison of urodynamic effects of phytoestrogens equol, puerarin and genistein with these of estradiol 17β in ovariectomized rats. *Exp. Gerontol.*, **45**, 129-137 (2010).

54) Yoneda, T., Ueno, T. and Uchiyama, S., S-equol and the fermented soy product SE5-OH containing S-equol similarly decrease ovariectomy-induced increase in rat tail skin temperature in an animal model of hot flushes. *Menopause*, **18**, 814-820 (2011).

55) Evans, B.A., Griffiths, K. and Morton, M.S., Inhibition of 5 alpha-reductase in genital skin fibroblasts and prostate tissue by dietary lignans and isoflavonoids. *J. Endocrinol.*, **147**, 295-302 (1995).

56) Pfitscher, A., Reite, E. and Jungbauer, A., Receptor binding and transactivation activities of red clover isoflavones and their metabolites. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **11**, 287-294 (2008).

57) Lephart, E.D., Equol reduces prostate size and tail skin temperature in male rats. *FASEB J.* **19**, A447-A447 (2005).

58) Duncan, A.M., Merz-Demlow, B.E., Xu, X., Phipps, W.R. and Kurzer, M.S., Premenopausal equol excretors show plasma hormone profiles associated with lowered risk of breast cancer. *Cancer Epidem. Biomar.*, **9**, 581-586 (2000).

59) Atkinson, C., Newton, K.M., Stanczy, F.Z., Westerlind, K.C., Li, L. and Lampe, J.W., Daidzein-metabolizing phenotypes in relation to serum hormones and sex hormone binding globulin, and urinary estrogen metabolites in premenopausal women in the United States. *Cancer Cause. Control*, **119**, 1085-1093, (2008).

60) Jackman, K.A., Woodman, O.L., Chrissobolis, S. and Sobey, C. G., Vasorelaxant and antioxidant activity of the isoflavone metabolite equol in carotid and cerebral arteries. *Brain Res.*, **1141**, 99-107 (2007).

61) Kang, J.S., Yoon, Y.D., Han, M.H., Han, S.B., Lee, K., Park, S.K. and Kim, H.M., Equol inhibits nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase gene expression through down-regulating the activation of Akt. *Int. Immunopharmacol.*, **7**, 491-499 (2007).

62) Joy, S., Siow, R.C., Rowlands, D.J., Becker, M., Wyatt, A.W., Aaronson, P.I., Coen, C.W., Kallo, I., Jacob, R. and Mann, G.E, The isoflavone equol mediates rapid vascular relaxation-Ca^{2+} - independent activation of endothelial nitric-oxide synthase/ Hsp90 involving ERK1/2 and Akt phosphorylation in human endothelial cells. *J. Biol. Chem.*, **281**, 27335-27345 (2006).

63) Cai, Y., Guo, K., Chen, C., Wang, P., Zhang, B., Zhou, Q., Mei, F. and Su, Y., Soya isoflavone consumption in relation to carotid intima-media thickness in Chinese equol excretors aged 40-65 years. *Br. J. Nutr.*, **108**, 1698-704 (2012).

64) Totta, P., Acconcia, F. and Virgili, F., Daidzein-sulfate metabolites affect transcriptional and antiproliferative activities of estrogen receptor-beta in cultured human cancer cells. *J. Nutr.*, **135**, 2687-2693 (2005).

65) Hodis, H.N., Mack, W.J., Kono, N., Azen, S.P., Shoupe, D., Hwang-Levine, J., Petitti, D., Whitfield-Maxwell, L., Yan, M., Franke, A.A. and Selzer, R.H., ; Women's Isoflavone Soy Health Research Group. Isoflavone soy protein supplementation and atherosclerosis progression in healthy postmenopausal women : a randomized controlled trial. *Stroke*, **42**, 3168-3175 (2011).

66) Choi, E.J. and Kim, T., Equol induced apoptosis via cell cycle arrest in human breast cancer MDA-MB-453 but not MCF-7 cells. *Mol. Med. Report*, **1**, 239-244 (2008).

67) Bosviel, R. and Durif, J., Epigenetic modulation of BRCA1 and BRCA2 gene expression by equol in breast cancer cell lines. *Br. J. Nutr.*, **5**, 1-7 (2012).

68) Elena, A., Pop, Leslie, M., Fischer, April D., Coan, Gitzinger, M., Nakamura, J., Zeisel, S.H., Effects of a high daily dose of soy isoflavones on DNA damage, apoptosis, and estrogenic outcomes in healthy postmenopausal women : a phase I clinical trial. *Menopause*, **15**, 684-692 (2008).

69) 内山成人，第二章大豆の各主成分の機能性 4 エクオール，「大豆の栄養と機能性 The Soy Nutrition and Function —The Natural Supplement for "Health for All"—」，第 1 版，家森幸男編，（シーエムシー出版，東京），pp. 37-45 (2014).

70) Uchiyama, S., Ueno, T., Tadano, K., Furukawa, M., Nishiki, I., Nomoto, R., Nagamune, H., Nakai, T. and Yoshida, T., Comparative studies on *Lacococcus garvieae* between human feces isolates ad fish [in Japanese]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **76**, 1085-1087 (2008).

71) Matulka, R.A., Matsuura, I., Uesugi, T., Ueno, T. and Burdock, G., Developmental and reproductive effects of SE5-OH : an equol rich soy-based ingredient. *J. Toxico.*, http://dx.doi.org/10.1155/2009/307618, **ID : 307618**, [Epub 15 December 2008] (2009).

72) Aso, T., Uchiyama, S., Matsumura, Y., Taguch, M., Nozaki, M., Takamatsu, K., Ishizuka, B., Kubota, T., Mizunuma, H. and Ohta H., A natural *S*-equol supplement alleviates hot flushes and other menopausal symptoms in equol nonproducing postmenopausal Japanese women. *J. Womens Health (Larchmt)*, **21**, 92-100 (2012).

73) Tousen, Y., Ezaki, .J, Fujii, Y., Ueno, T., Nishimuta, M. and Ishimi, Y., Natural S-equol decreases bone resorption in postmenopausal, non-equol producing Japanese women : a pilot randomized, placebo-controlled trial. *Menopause*, **18**, 563-574 (2011).

74) Usui, T., Tochiya, M., Sasaki, Y., Muranaka, K., Yamakage, H., Himeno, A., Shimatsu, A., Inaguma, A., Ueno, T., Uchiyama, S. and Satoh-Asahara, N., Effects of natural *S*-equol supplements on overweight or obesity and metabolic syndrome in the Japanese, based on sex and equol status. *Clin, Endoclinol.*, **78**, 365-372 (2013).

75) Oyama, A., Ueno, T., Uchiyama, S., Aihara, T., Miyake, A., Kondo, S. and Matsunaga, K., The effects of natural *S*-equol supplementation on skin aging in postmenopausal women : a pilot randomized placebo-controlled trial. *Menopause*, **19**, 202-210 (2012).

76) Ishiwata, N., Melby, M.K., Mizuno, S. and Watanabe, S., New equol supplement for relieving menopausal symptoms : randomized, placebo-controlled trial of Japanese women. *Menopause*, **16**, 141-148 (2009).

77) Aso, T., Equol improves menopausal symptoms in Japanese women. *J. Nutr.*, **140**, 1386S-1389S (2010).

78) Jenks, B.H., Iwashita, S., Nakagawa, Y., Ragland, K., Lee, J., Carson, W.H., Ueno, T. and Uchiyama, S., A pilot study on the effects of *S*-equol compared to soy isoflavones on menopausal hot flash frequency. *J. Womens Health*, **21** (6), 674-82 (2012).

（平成 27 年 5 月 15 日受理）