

個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究

所属 独立行政法人 国立健康・栄養研究所
食品表示分析規格研究部
研究者 石見 佳子

研究要旨：大豆イソフラボンは骨粗鬆症の予防に期待される一方、その効果には個人差がある。本研究ではイソフラボンの生体利用性における個体差に着目した骨粗鬆症の予防法を開発する。本年度は被験者を募集し、Baselineの骨密度及び骨代謝マーカ一等を測定した。

分担研究者

内山 成人 大塚製薬株式会社 佐賀栄養製品研究所
岡 純 東京家政大学家政学部
上原 万里子 東京農業大学応用生物科学部
戸田 登志也 フジッコ株式会社

A. 目的

骨量は一旦減少すると回復は望めないことから、骨粗鬆症は予防が最も重要である。本研究の目的は、閉経期女性の骨量減少に対する大豆イソフラボン摂取の効果を個体特性を考慮に入れ検証し、より効果的な骨粗鬆症の予防法を確立することである。疫学調査によれば、心筋梗塞や骨粗鬆症などの生活習慣病の発症は、欧米人に比べてアジア人で低く、この理由の一つとしてアジア人が大豆を多く摂取していることが挙げられる。中でも大豆に含まれるイソフラボンは弱いエストロゲン作用を示すことから、我々はこれまでに閉経後骨粗鬆症モデル動物を用いて、大豆イソフラボンが骨量減少を抑制することを報告してきた。一方、日本で行なわれた疫学調査及び人を対象とした介入試験では、大豆イソフラボンの有効性について必ずしも一致した見解は得られていない。これらの異なる結果は、対象者の個体差によるものであると考えられる。一方、現在イソフラボンの骨に対する作用は、ダイゼインの代謝産物であり、活性の本体であると考えられているエクオール

の産生に影響を受けることが明らかにされている。ところがエクオールの腸管における産生には個体差があり、日本人では約50%が非産生者であることが報告されている。そこで、閉経期女性を対象に、大豆イソフラボンの介入試験を行ない、エクオールの産生能と骨量減少を抑制する効果について、相関関係の有無を検討する。我々はすでに137名の被験者についてパイロット試験を開始しているが、今回さらに母集団を増やすため、新たに参加者を募集した。

B. 方法

被験者の募集およびbaselineの骨密度、身体組成、および栄養調査の解析を行った。

【対象者】：閉経後1-5年を経過した女性を募集した。対象者は以下の条件を満たす者である：

- 1) 閉経後1年以上かつ5年以下で、しかもこの2年間で女性ホルモンによる治療を受けたことがない者
- 2) この2年間に規則的なスポーツトレーニングを実施していない者

3) 現在骨粗鬆症や高脂血症の治療薬を使用していない者。

[試験群]上記被験者を対象に採便を行ない、各人のエクオール産生能の有無を調べ、エクオール産生者と非産生者の割合が均等になるように 1) 対象群、2) イソフラボン摂取群の 2 群に分ける。プラセボコントロール二重盲検法を採用する。

倫理面への配慮

被験者の人権擁護のための配慮

- 1) 本研究の遂行に当っては、本研究所所定の「人を対象とする実験・調査等に関する倫理指針」に基づくことはもちろんのこと、関連法規を厳守して被験者の人権と安全性を最大限に尊重して実施する。
- 2) 被験者のプライバシーに関する事項は本人の同意なしに公開しない。

インフォームドコンセント

- 1) 研究協力希望者には、予め本研究の目的、実験の主旨、方法および危険の可能性、得られる成果について文書を添えて口頭にて説明を行い、研究に対して十分な理解と参加の同意が得られかつ必要事項および捺印のある同意書が得られた者を被験者とする。
- 2) 被験者は実験から離脱する自由を常に保障され、また、離脱によりいかなる不利益も被らないことが保障されていることを明らかにする。

[イソフラボンの摂取]大豆イソフラボンカプセル(フジフラボン P40)を毎日 75mg、2 年間摂取してもらう。対照群にはプラセボカプセルを摂取してもらう。

[Baseline の測定] 大腿骨、腰椎、及び全身骨密度 身体組成をホロジック社 QDR-4500 を用いる DXA 法により測定した。血中骨代謝および脂質代謝マーカー、女性ホルモンおよび甲状腺ホルモン濃度、血中および尿中イソフラボン濃度の測定を行なった。健康・栄養・生活に関するアンケートおよび面接調査を行なった。

C. 結果

本年度は 53 名の閉経後女性を新たに募集した。先

ずエクオールの産生能を糞便を用いてエクオール産生能を判定した。面接、骨密度の測定の後、実際の新たな参加者は 47 名となった。さらにこれらの被験者をイソフラボン群およびプラセボ群に分け、イソフラボンの介入試験を開始した。

1. 糞便を用いてエクオール産生能を判定した結果、産生者 60.4%、非産生者 39.6%であった。19 名について行なった 24 時間尿評価では、糞便中エクオール産生能が認められた 11 名のうち、10 名においてエクオールが検出された。
2. Baseline の年齢、体重、身長、閉経後年数は両群間で差はなかった (Table 1)。
3. Baseline の骨密度 (全身、腰椎、大腿骨) は両群間で差は認められなかった。骨代謝マーカー値は若年女性に比べて高値を示したが、両群間では有意な差は認められなかった (Table 2)。
4. Baseline の血中及び血中ダイゼイン、ゲニステイン及びグリシテイン濃度は両群間で有意な差は認められなかった (Table 3)。
5. Baseline の血中及び尿中エクオール濃度は両群間で有意な差は認められなかった (Table 3)。エクオール産生者の血中及び尿中エクオール濃度は非産生者に比べて有意に高値を示した。
6. Baseline の甲状腺刺激ホルモン (TSH)、甲状腺ホルモン (T3 および T4) 濃度は正常範囲であり、両群間で有意な差は認められなかった (Table 3)。Baseline の血中脂質 (コレステロール、トリグリセリド)、血中エストラジオール、甲状腺ホルモンおよび甲状腺刺激ホルモン濃度は両群間で差は認められなかった。平均エストラジオール濃度は 11 ± 2 pg/mL であり、若年女性に比べて有意に低値であった。平均血中総コレステロール濃度は 227.0 ± 33.4 mg/mL であり、若年女性に比べて有意に高値を示した。これらの結果から、本試験の対象者は閉経期の女性であることが生化学的に示された (Table 4)。
7. Baseline の栄養素 (カルシウム、ビタミン D、ビタミン K、たんぱく質) およびイソフラボン摂取量、エネルギー摂取量は両群間で差は認められなかった。両群のカルシウム摂取量は 1 日当り 671 ~ 723mg であった。食事から摂取する

イソフラボン量は一日あたり約 40~50 mg であった (Table 1)。

8. 生活活動度においても両群間で有意な差は認められなかった。
9. 閉経後骨粗鬆症モデル動物を用い、エクオールの骨量減少抑制作用を明らかにした。
10. エクオール産生を高める食品成分の検索を行ない、フラクトオリゴ糖(FOS)に有効性が認められた。FOS はダイゼインから O-DMA への代謝を抑制し、エクオールへの代謝を促す可能性が示唆された。

D. 考察 本研究はイソフラボンの骨粗鬆症予防効果を個体特性に基づいて解析しようとするものである。本研究では閉経後健康女性の骨密度および身体組成、および栄養素などの摂取量を解析した。募集した被験者は、血中エストラジオール濃度が 20pg/ml 以下であることから、閉経後であることが明らかである。エクオール産生者は全体の 60.4% であり、半数を上回った。糞便中エクオール産生能の解析によりエクオール産生が認められた者は、24 時間尿中にエクオールが検出された。また、血中エクオールについても同様に検出された。

栄養調査ではカルシウムを日本人の食事摂取基準の目標値である 600mg/日を満たしていること、また両群間で差が認められないことから、イソフラボンの介入試験を行なうにあたり、カルシウム摂取量に大きく左右されないことが明らかとなった。

一方、一日当たりのイソフラボン摂取量は両群とも 40mg を超えていることから、本集団はイソフラボン摂取量の baseline の高い集団であると言える。現在までに報告されている諸外国における介入試験では、イソフラボン摂取量はほぼゼロにコントロールされていることから、日本人におけるイソフラボンの介入試験の問題点が浮き彫りとなった。

骨密度は、腰椎、大腿骨骨頸部、全身の測定を行った。各部位の若年女性に比較して低値を示したが、両群間では有意な差は認められなかった。また、BMI は両群ともに 21 前後であり、体脂肪量も 15kg と理想的な身体組成であった。

これらの結果から、本被験者はイソフラボンの介

入試験に適しているものの、結果の解析にはイソフラボンの摂取量を考慮に入れる必要があると考えられた。

E. 結論 募集した被験者は、血中エストラジオール濃度から判断して閉経後であることが確認された。骨密度、身体組成、骨代謝および脂質代謝マーカー、血中および尿中イソフラボン濃度、栄養素摂取量に関して両群間では有意な差認められなかった。これらのことから、今回募集した被験者はイソフラボンの介入試験の対象者としてふさわしいことが明らかとなった。

F. 研究報告

1. Wu J, Wang X, Chiba H, Higuchi M, Nakatani T, Ezaki O, Cui H, Yamada K, Ishimi Y: Combined intervention of soy isoflavone and moderate exercise prevents body fat elevation and bone loss in ovariectomized mice. *Metabolism*: 53: 942-948, 2004
2. Fujioka M, Uehara M, Wu J, Adlercreutz H, Suzuki K, Kanazawa K, Takeda K, Yamada K, Ishimi Y: Equol, a metabolite of daidzein, inhibits bone loss in ovariectomized mice *J Nutr*: 134: 2623-2627, 2004
3. Uesugi S, Watanabe S, Ishiwata N, Uehara M, Ouchi K. Effects of isoflavone supplements on bone metabolic markers and climacteric symptoms in Japanese women. *Biofactors*. 22 :221-218. 2004
4. Koshihara M, Masuyama R, Uehara M, Suzuki K. Effect of dietary calcium: Phosphorus ratio on bone mineralization and intestinal calcium absorption in ovariectomized rats. *Biofactors*. 22:39-42. 2004
5. Uehata M. Equol, a metabolite of daidzein, prevents bone loss in ovariectomized mice. *Polyphenol Communications 2004* P43-44 Gummerus Printing Jyväskylä, Finland

G. 知的所有権の取得状況
なし

Table 1 Characteristics of Subjects at Baseline

		<i>Placebo</i>	<i>Isoflavone</i>
Age (y)		54.9±2.9	53.8±2.9
Years since menopause		3.7±2.1	2.7±1.4
Height (cm)	<i>Baseline</i>	156.7±6.3	155.8±4.3
Weight (kg)	<i>Baseline</i>	51.4±7.1	51.5±5.4
BMI (kg/m ²)	<i>Baseline</i>	20.9±2.2	21.3±2.5
Isoflavone (mg)	<i>Baseline</i>	48.1±30.6	44.4±26.9
Calcium (mg)	<i>Baseline</i>	671.5±190.9	695.8±253.5
Vitamin D (µg)	<i>Baseline</i>	9.2±5.9	9.8±5.9
Vitamin K (mg)	<i>Baseline</i>	429.8±172.2	376.3±211.0
Protein (g)	<i>Baseline</i>	75.0±13.5	72.4±14.3
Total energy (kcal)	<i>Baseline</i>	1980.8±327.5	1923.0±361.0

Data are means ± SD.

Table 2 Biomarkers of Bone and Body Composition at Baseline

		<i>Placebo</i>	<i>Isoflavone</i>
Estradiol (pg/mL)	<i>Baseline</i>	11.78 (2.64)	11.71 (3.48)
B-ALP (U/L)	<i>Baseline</i>	30.37 (11.61)	27.77 (8.63)
DPD (nmol/L/mmol/L creatinine)	<i>Baseline</i>	7.76 (1.83)	7.30 (2.37)
Lean body mass(kg)	<i>Baseline</i>	36.9 (3.7)	37.1 (3.2)
Fat mass (kg)	<i>Baseline</i>	15.1 (4.5)	15.0 (4.1)
Sub-wb BMD (g/cm ²)	<i>Baseline</i>	1.002 (0.096)	1.003 (0.108)
Lumbar spine BMD (mg/cm ²)	<i>Baseline</i>	0.907 (0.130)	0.891 (0.123)
Total hip BMD (mg/cm ²)	<i>Baseline</i>	0.787 (0.126)	0.777 (0.125)

Data are means (SD).

Table 3 Serum and Urine Isoflavones Concentrations at Baseline

Serum		<u>Placebo</u>	<u>Isoflavone</u>
Daidzein (nmol/L)	<i>Baseline</i>	159.7 (143.0)	166.7 (128.7)
Genistein (nmol/L)	<i>Baseline</i>	180.7 (136.1)	220.0 (199.9)
Glycitein (nmol/L)	<i>Baseline</i>	63.8 (43.6)	66.8 (43.0)
Equol (nmol/L)	<i>Baseline</i>	73.8 (201.7)	93.9 (196.1)
Urine		<u>Placebo</u>	<u>Isoflavone</u>
Daidzein (μ mol/L)	<i>Baseline</i>	8.4 (12.3)	6.7 (9.9)
Genistein (μ mol/L)	<i>Baseline</i>	3.4 (5.1)	2.9 (3.3)
Glycitein (μ mol/L)	<i>Baseline</i>	1.7 (2.4)	1.1 (1.3)
Equol (μ mol/L)	<i>Baseline</i>	1.8 (4.1)	3.0 (5.7)

Data are Means (SD).

Table 4. Serum Lipid and Hormones at Baseline

		<u>Placebo</u>	<u>Isoflavone</u>
Estradiol (pg/mL)	<i>Baseline</i>	11.78 (2.64)	11.71 (3.48)
TotalCholesterol (mg/mL)	<i>Baseline</i>	227.4 (33.4)	227.9 (29.5)
HDL-Cholesterol (mg/mL)	<i>Baseline</i>	71.7 (14.9)	74.2 (18.3)
TG (mg/mL)	<i>Baseline</i>	102.5 (49.0)	83.9 (38.5)
TSH (μ IU/mL)	<i>Baseline</i>	2.56 (1.01)	2.88 (2.95)
T3 (ng/mL)	<i>Baseline</i>	1.10 (0.14)	1.09 (0.13)
T4 (μ g/dL)	<i>Baseline</i>	8.62 (1.26)	7.95 (1.09)

Data are Means (SD).