

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：84420

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26750062

研究課題名(和文) 血管運動性更年期症状に対する大豆イソフラボンの作用とその作用機序の解明

研究課題名(英文) Effects of soy isoflavones and the elucidation of its mechanism on postmenopausal vasomotor symptoms.

研究代表者

東泉 裕子 (Yuko, Tousen)

国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所・食品保健機能研究部・研究員

研究者番号：20360092

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：大豆イソフラボン及びその代謝産物のエクオール(EQ)は、弱いエストロゲン様作用をもつことが示唆されており、閉経後女性における肩こり、ホットフラッシュ等の血管運動性更年期症状や骨粗鬆症等を改善することが報告されている。本研究では、血管運動系更年期症状の指標である血流に対するEQの作用を検討するとともに、EQの骨密度に対する影響を閉経後モデルラットにおいて評価した。

EQ摂取は、閉経後モデルラットにおいて、エストロゲン欠乏に起因する血流および骨密度の低下を抑制した。これらの結果より、EQは閉経後女性における血管運動性更年期症状および骨粗鬆症を緩和する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Soy isoflavones and equol (EQ), which is a metabolite of isoflavone daidzein, have an ability to cause weak estrogenic effects, and EQ have been reported to improve vasomotor symptoms, such as shoulder stiffness and hot flush, and osteoporosis in menopausal women. The objective of this study is to examine the ability of EQ to prevent the decrease of blood flow, which is the index of vasomotor symptoms as well as bone loss induced by oestrogen deficiency in ovariectomised (OVX) rat. Dietary supplementation with EQ prevented the decrease of blood flow and bone loss induced by estrogen deficiency in OVX rats. These results raise the possibility that dietary supplementation with EQ may relieve vasomotor symptoms and osteoporosis in postmenopausal women.

研究分野：栄養学

キーワード：大豆イソフラボン 血管運動性更年期症状 骨粗鬆症 エクオール 血流 骨密度

1. 研究開始当初の背景

現在、我が国では高齢化が急速に進んでおり 2055 年には国民の 10 人のうち 4 人以上が 65 歳以上の高齢者となる見込みである。また、国民一人あたりの医療費は高齢化及び生活習慣病の増加により年々増え続けており、疾病の予防が 21 世紀の保健医療の重要課題である。女性は閉経期を迎えるとエストロゲンの低下により骨粗鬆症や脂質代謝異常症、循環器系疾患など生活習慣病のリスクが増加する。また、閉経前後に生じるほてり、全身疲労、肩こり、腰痛などの更年期症状は生活の質の低下につながる重大な症状である。

一方、大豆イソフラボンやその代謝産物であるエクオールは、弱いエストロゲン様作用をもつことが示唆されており、閉経後女性における骨代謝、血管内皮機能や血管運動に関わる更年期症状、および脂質代謝異常症の改善に寄与することが報告されている。しかしながら、それらのメカニズムに関しては十分に検討されておらず不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究はエストロゲン欠乏に起因する血管運動性更年期症状、骨粗鬆症および脂質代謝異常症に対するエクオールの作用とその作用機序を閉経後モデル動物において明らかにすることを目的とする。最終的には、食生活の改善による閉経期女性の生活の質の改善を目指す。

3. 研究の方法

1) 平成 26 年度：閉経後モデルラットにおける EQ の血管運動性更年期症状、骨代謝および脂質代謝に対する作用とその作用機序を検討した。

11 週齢雌性 SD ラットに偽手術(Sham)、あるいは卵巣摘出手術(OVX)を施し、Sham 群、OVX 群、OVX+エクオール(EQ)摂取群の 3 群に分けた後、標準飼料(AIN-93M 大豆油をコーン油に置換)を与え飼育した。OVX の 4 週間後から Sham 群および OVX 群には標準飼料を、OVX + EQ 群には EQ 0.06% 含む飼料をペアフェッドで 4 週間与えた。尾部血流量および血圧を経時的に測定した。試験終了時の体組成を DXA 法で測定した。解剖時に子宮を摘出し、重量を測定した。DXA 法および X 線 CT 法により、大腿骨骨密度および骨強度指標を測定した。

2) 平成 27 年度：高脂肪食摂取閉経後モデルラットにおける EQ の血管運動性更年期症状、骨代謝および脂質代謝に対する作用とその作用機序を検討した。

11 週齢雌性 SD ラットに偽手術(Sham)、あるいは卵巣摘出手術(OVX)を施し、Sham 群、OVX 群、OVX + EQ 群の 3 群に分けた。Sham 群および OVX 群には、標準飼料にロードを添加した高脂肪食を与えた。OVX + EQ 群

には高脂肪食 + EQ 0.06% 含む飼料を 21 日間与え、22 日目から高脂肪食を 14 日間与えた。試験はすべてペアフェッドで行った。解剖時に子宮を摘出し、重量を測定した。平成 26 年度と同様の方法で血流量、体組成および骨密度を測定した。また、試験終了時の血中脂質濃度を測定した。

4. 研究成果

1) 平成 26 年度

エクオール摂取が閉経後モデルラットの体重および飼料摂取量に及ぼす影響

試験開始時体重は、3 群間に有意な差は認められなかった。試験終了時体重は、Sham 群に比し OVX 群が有意に高値であった。OVX + EQ 群の最終体重は、Sham 群および OVX 群との間に有意な差は認められなかった。飼料摂取量は、ペアフェッドで試験を行ったため、3 群間に差はなかった。これらのことより、エクオール摂取は、エストロゲン欠乏に起因する体重の増加を抑制することが示唆された。

エクオール摂取が閉経後モデルラットの子宮重量に及ぼす影響

OVX 群および OVX + EQ 群の子宮重量は、Sham 群と比し有意に低値であった。エクオール摂取により、OVX+EQ 群の子宮重量は OVX 群よりもわずかに増加した。

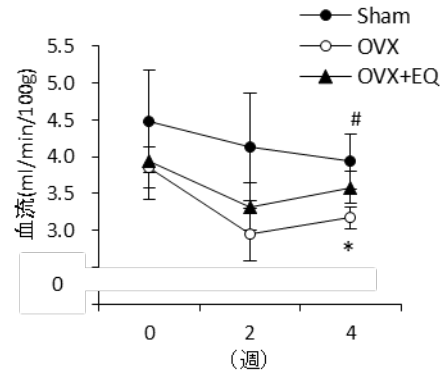


図1 エクオール摂取が閉経後モデルラットの血流量に及ぼす影響

平均値 ± 標準誤差。Sham 群、OVX 群および EQ 群において一元配置の分散分析を行った後、Dunnett 法を用いて多重比較検定を行った ($p < 0.05$)。*: Sham 群と比較し有意差あり。#: OVX 群と比較し有意差あり。

Sham: 偽手術群、OVX: 閉経後モデル (OVX) 群、OVX + EQ: エクオール摂取群。

エクオール摂取が閉経後モデルラットの血流量および血圧に及ぼす影響

試験開始時の血流量は、Sham 群に比べ OVX 群、OVX + EQ 群において低い傾向が認められたが、3 群間に有意な差はなかった(図 1)。エクオール摂取 2 週目において、OVX 群および OVX + EQ 群の血流量が、Sham 群に比し低値傾向であったが、値のバラつきが大きいことにより統計的な有意差は認められ

なかった。エクオール摂取4週目の血流量は、Sham群に比し、OVX群が有意に低値であった。OVX+EQ群の血流量は、Sham群およびOVX群との間に有意な差は認められなかった(図1)。これらの結果より、エクオール摂取は、エストロゲン欠乏に起因する血流の低下を抑制する可能性が示唆された。

一方、血圧に対するエクオール摂取の有意な影響は認められなかった。

エクオール摂取が閉経後モデルラットの体組成に及ぼす影響

エクオール摂取27日目の全身除脂肪量および体脂肪率を図2に示した。全身除脂肪量は、OVX+EQ群がSham群およびOVX群に比し有意に高値であった(図2)。体脂肪率では、OVX+EQ群は、OVX群と比し有意に低値であった(図2)。これらの結果より、エクオール摂取は閉経後モデルラットにおける、体脂肪を減らし除脂肪量を増加させることが示唆された。

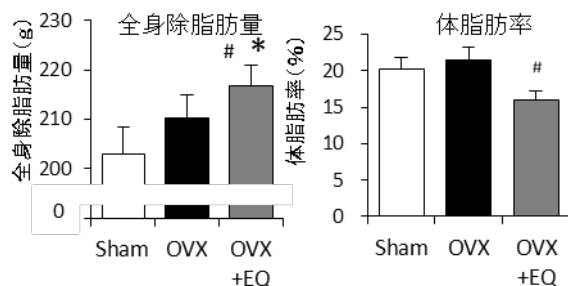


図2 エクオール摂取が閉経後モデルラットの体組成に及ぼす影響

平均値±標準誤差。Sham群、OVX群およびEQ群において一元配置の分散分析を行った後、Dunnett法を用いて多重比較検定を行った(p<0.05)。*: Sham群と比較し有意差あり。#: OVX群と比較し有意差あり。

Sham: 偽手術群、OVX: 閉経後モデル(OVX)群、OVX+EQ: エクオール摂取群。

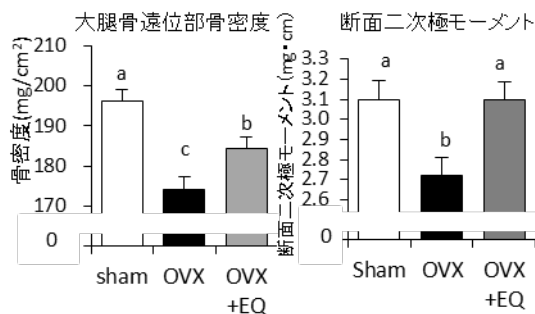


図3 エクオール摂取が閉経後モデルラットの骨密度・骨強度指標に及ぼす影響

平均値±標準誤差。Sham群、OVX群およびEQ群において体重を共変量とし共分散分析(ANCOVA)を行った(p<0.05)。異なる記号間に有意差あり。(p<0.05)。

Sham: 偽手術群、OVX: 閉経後モデル(OVX)群、OVX+EQ: エクオール摂取群。

エクオール摂取が閉経後モデルラットの大腿骨骨密度および骨強度指標に及ぼす影響

大腿骨骨密度および骨強度指標(断面二次極モーメント)を図3に示した。大腿骨遠位部骨密度は、Sham群に比べOVX群が有意に低値であった。OVX+EQ群の大腿骨骨密度は、OVX群に比して有意に高値であった(図3)。

骨強度指標の断面二次極モーメントは、Sham群に比しOVX群は有意に低値であった。OVX+EQ群の骨強度指標は、OVX群と比し有意に高値であり、Sham群との間に差はなかった(図3)。

これらの結果より、エクオール摂取は、エストロゲン欠乏に起因する骨密度および骨強度の低下を抑制することが示唆された。

平成26年度に実施した研究結果より、エクオール摂取はエストロゲン欠乏に起因する血流および骨量の低下を改善することで、血管運動系更年期症状および骨密度の改善に寄与する可能性が示された。さらに、エクオール摂取は、エストロゲン欠乏に起因する体重の増加および体脂肪量の増加を抑制したことから、脂質代謝を改善する可能性が示唆された。

2) 平成27年度

エクオール摂取が高脂肪食摂取閉経後モデルラットの体重および飼料摂取量に及ぼす影響

試験開始時体重は3群間に有意な差は認められなかった。試験終了時体重は、OVX群およびOVX+EQ群がSham群に比し有意に高値であった。飼料摂取量は、ペアフェッドで試験を行ったため、3群間に差は認められなかった。

これらの結果より、高脂肪食摂取状況下におけるエクオール摂取は、エストロゲン欠乏に起因する体重増加に顕著な影響を及ぼさない可能性が示唆された。

エクオール摂取が高脂肪食摂取閉経後モデルラットの子宮重量に及ぼす影響

OVX群およびOVX+EQ群の子宮重量は、Sham群と比し有意に低値であり、OVX群とOVX+EQ群の間に有意な差は認められなかった。すなわち、21日間のエクオール摂取は、子宮重量に影響しなかった。

エクオール摂取が高脂肪食摂取閉経後モデルラットの血流量および血圧に及ぼす影響

試験開始時の血流量は、3群間で有意な差は認められなかった(図4)。試験4週目において、OVXにより尾部血流は有意に低下したが、エクオール摂取は血流の低下を有意に抑制した。試験5週目では、3群間に有意な差は認められなかった(図4)。これらの結果より、エストロゲン欠乏に起因する血流の低下は、エクオール摂取により抑制されること、また、エクオール摂取を止めることにより、エクオールの血流低下抑制作用は消失する

ことが示唆された(図4)。

一方、血圧に対するエクオール摂取の有意な影響は認められなかった。

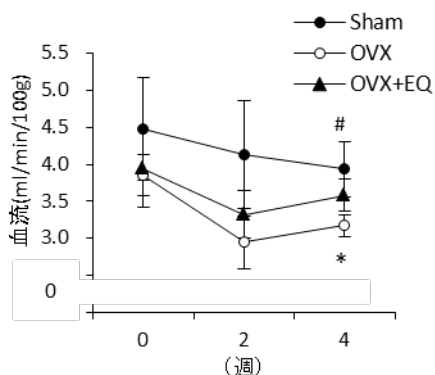


図4 エクオール摂取が高脂肪食摂取閉経後モデルラットの血流に及ぼす影響

平均値±標準誤差。Sham群、OVX群およびEQ群において一元配置の分散分析を行った後、Dunnett法を用いて多重比較検定を行った($p < 0.05$)。*: Sham群と比較し有意差あり。#: OVX群と比較し有意差あり。

Sham: 偽手術群、OVX: 閉経後モデル(OVX)群、OVX + EQ: エクオール摂取群。

エクオール摂取が高脂肪食摂取閉経後モデルラットの体組成および血中脂質濃度に及ぼす影響

21日間のエクオール摂取は、試験終了時の体脂肪量、および血中中性脂肪、総コレステロール、DHLコレステロールおよび遊離脂肪酸濃度に影響しなかった。

エクオール摂取が高脂肪食摂取閉経後モデルラットの大腿骨骨密度に及ぼす影響

大腿骨全体骨密度は、Sham群に比べOVX群が有意に低値であった。OVX + EQ群の大腿骨全体骨密度は、OVX群に比し有意に高値であった。21日間のエクオール摂取は、エストロゲン欠乏に起因する骨密度の低下を抑制することが示唆された。

平成27年度に実施した研究結果より、エクオール摂取は高脂肪食摂取状況下においても、エストロゲン欠乏に起因する血流の低下および骨密度の低下を抑制することで、血管運動性更年期症状および骨量減少を抑制することが示唆された。一方、高脂肪食摂取状況下における21日間のエクオール摂取は、35日目の体重や体脂肪量および血中脂質濃度に影響しないことが示唆された。

3) 結論

エクオール摂取は閉経後モデルラットにおいて、エストロゲン欠乏に起因する血流および骨密度の低下を抑制した。これらの結果より、エクオールは閉経後女性における血管運動性更年期症状および骨粗鬆症を緩和する可能性が示唆された。

一方で、標準飼料摂取時に認められたエ

クオールの脂肪蓄積抑制作用は、高脂肪食摂取時には認められなかった。エクオールの脂質代謝に対する作用は、さらに詳細に検討する必要があると思われる。

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4件)

Matsumoto Y, Tousen Y, Nishide Y, Tadaishi M, Kato K, Ishimi Y. Combined effects of soy isoflavones and milk basic protein on bone mineral density in hind-limb unloaded mice. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 査読有, Volume 58, Issue 2, 2016, pp. 141-145.

Tousen Y, Ishiwata H, Ishimi Y, Ikegami S. Equol, a metabolite of daidzein, is more efficient than daidzein for bone formation in growing female rats. *Phytotherapy Research*. 査読有, Volume 29, Issue 9, 2015, pp. 1349-1354.

Tousen Y, Ishiwata H, Takeda K, Ishimi Y. Assessment of safety and efficacy of perinatal or peripubertal exposure to daidzein on bone development in rats. *Toxicology Reports*. 査読有, Volume 2, 2015, pp. 429-436.

Tousen Y, Wolber FM, Chua WH, Tadaishi M, Ishimi Y, Kruger MC. Effects of daidzein and kiwifruit on bone mineral density and equol production in ovariectomised rats. *International journal of food sciences and nutrition*. 査読有, Volume 65, Issue 3, 2014, pp. 360-367.

[学会発表](計9件)

東泉 裕子、大豆イソフラボン代謝産物が骨粗鬆症モデルラットの血流および骨密度に及ぼす影響、第70回日本栄養・食糧学会、2016年5月14日、武庫川女子大学(兵庫県西宮市)

田中 智紀、大豆イソフラボン代謝産物エクオールのDNA複製への影響、平成27年度日本生化学会、2015年6月20日、新潟グランドホテル(新潟県新潟市)

東泉 裕子、大豆イソフラボンとレジスタントスターチの併用摂取が骨粗鬆症モデルマウスの骨密度低下に及ぼす影響、第62回日本栄養改善学会学術総会、2015年9月25日、福岡国際会議場(福岡県福岡市)

Tousen Y, Soy isoflavones metabolite, s-equol, relieves endothelial dysfunction and bone loss in ovariectomised rats, 12th Asian Congress of Nutrition 2015, 2015年5月14日, Yokohama (Japan)

Matsumoto Y, The effects of isoflavones

and resistant starch on inhibition of bone loss and increase in fat mass in ovariectomised mice, 12th Asian Congress of Nutrition 2015, 2015 年 5 月 14 日, Yokohama (Japan)

田中 智紀、大豆イソフラボン代謝産物エクオール DNA 複製への影響、第 87 回日本生化学会、2014 年 10 月 17 日、国立京都国際会館（京都府京都市）

東泉 裕子、アミロファイバーと大豆イソフラボンの摂取が骨粗鬆症モデルマウスのエクオール産生及び骨密度へ及ぼす影響、第 61 回日本栄養改善学会学術総会、2014 年 8 月 21 日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

只石 幹、大豆イソフラボンとステルベノイドの併用が破骨細胞形成に与える影響、第 68 回日本栄養・食糧学会大会、2014 年 6 月 1 日、酪農学園大学（北海道札幌市）

西出 依子、大豆イソフラボン及び β -カロテンの併用が骨芽細胞の分化に及ぼす影響、第 68 回日本栄養・食糧学会大会、2014 年 6 月 1 日、酪農学園大学（北海道札幌市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東泉 裕子 (TOUSEN, Yuko)

国立研究開発法人医薬基盤・健康栄養研究所
国立健康栄養研究所 食品保健機能研究部・
研究員

研究者番号：20360092