

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：32710

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26463198

研究課題名(和文) 高含有大豆イソフラボン代謝産物を用いた口腔乾燥症に対する効果とその作用機序の検討

研究課題名(英文) Evaluation of effectiveness of equol for salivary secretion and the elucidation of the action mechanism.

研究代表者

梁 洪淵 (Ryo, Koufuchi)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号：10298268

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本課題ではエストロゲン様作用を示し抗酸化物質である大豆イソフラボンであるエクオールが唾液分泌に与える影響を検討することを目的とした。対象は中高年の女性、無作為プラセボ対照のクロスオーバー比較試験にてエクオール含有イソフラボンサプリメントを摂取することによる唾液分泌量、唾液・尿中酸化ストレス値、主観的評価の変化を検討した結果は実測値を用いた解析において試験食品群では摂取後に唾液分泌量の増加傾向を認め、尿中のエクオール値は有意に増加した。酸化ストレスマーカーはエクオール摂取により減少する割合が増加した。主観的評価では口や歯の調子が悪いことが気になる、便秘、白髪で有意な改善が認められた。

研究成果の概要(英文)：Dry mouth (xerostomia) don't make enough saliva to keep mouth wet. It is a multi-factorial disease and reduced quality of life (QOL). In addition, the disease has been reported common in menopausal women. This study was conducted to test of equol affect salivary secretion, oxidative stress markers, equol concentrations and subjective measurements.

Nine patients were given equol orally at a dosage of 10mg/day for 1 month, and salivary secretion, oxidative stress markers, equol concentrations in the urine and subjective measurements were analyzed before and after treatment. The results showed a significant improvement based on the equol and self-completed questionnaire. Subjective parameters that improved significantly after treatment score, included discomfort in teeth and mouth, constipation and white hair. The saliva flow rate results are increase after 1 month.

研究分野：医歯薬学

キーワード：ドライマウス イソフラボン 女性ホルモン エストロゲン 口腔乾燥症 酸化ストレス シェーグレン症候群 エクオール

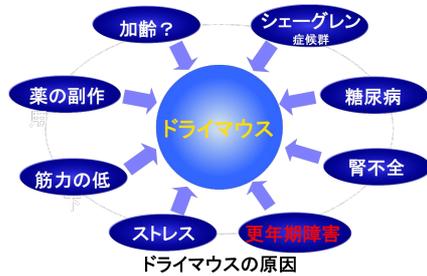
1. 研究開始当初の背景

ドライマウス(口腔乾燥症)は唾液分泌量が減少する多因子性の疾患で、口腔乾燥感、飲水切望感、食物摂取困難だけでなく味覚異常、齲蝕、歯周病や舌をはじめとする口腔内の疼痛の誘因となり QOL(Quality of Life)を著しく低下させることが知られている (Head Neck, 26:796-807, 2004)。

本症の病因は未だ明らかではないが、加齢と共に発症率は高くなり、**特に 50 歳代の更年期前後の女性に多く発症する疾患**であることが報告されていることや(Swed Dent J Suppl, 52:3-50, 2007)。

動物実験においても卵巣摘出したマウスでは唾液分泌量の低下が生じ、

これらのマウスにエストロゲンを補充することにより分泌量が改善することも示されている(Neuroscience, 110:155-167, 2002)。



さらに、**更年期障害の患者に行われているエストロゲンの補充療法により口渇感の改善も報告**されているが (Maturitas, 45:129-135, 2003) 、

Women's Health Initiative (WHI)の発癌への影響を危惧する結果もあることから (J Fam Plann Reprod Health Care, 37:103-109)、エストロゲンの補充療法に替わる対処法が求められている。

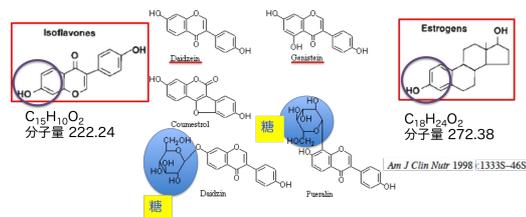
近年、老化の促進因子として酸化ストレスの関与が示唆されていることや (Proc Natl Acad Sci U S A, 95:288-293, 1998)、著しいドライマウスを生じるシェーグレン症候群 (SS) においても酸化ストレスがその病態形成に関与していることを研究代表者は報告してきた (Pathobiology, 73:252-260, 2006)。特に、スーパーオキシドや過酸化水素などの活性酸素種はアポトーシスを誘導し (FEBS J, 276:870-881, 2009)、膜脂質や膜蛋白質に酸化変性を来すことでその機能を低下させることが知られており (Proc Natl Acad Sci U S A, 97:5746-5749, 2000)、このような機序を介した病態の成立機序が多く報告されている (Nature, 440:944-948, 2006, Cancer Res, 66:11125-11130, 2006)。

一方、大豆は種々の含有物による生理活性が明らかにされており、中でも大豆イソフラボンに関する研究は多く、エストロゲン様効果として骨代謝 (J Clin Endocrinol Metab 86:5217-5221, 2001) や抗癌作用 (Cancer,

94:1166-1174, 2002, Anticancer Res, 21:3893-3896, 2001, J Nutr, 125:757S-770S, 1995) などについて報告されている。

イソフラボンは大豆、レッドクローバー、クズ、カンゾウなどのマメ科の植物に多く含まれているフラボノイドの一種で配糖体として存在し、摂取後に体内の酵素や腸内細菌の作用により糖が分離したアグリコン型となり、消化管から吸収されて生体に作用される。

大豆イソフラボンの構造



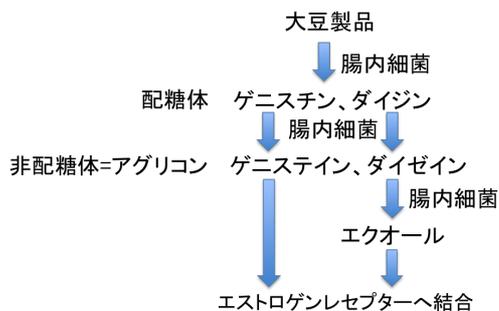
大豆および大豆胚芽 (胚軸) に含まれる大豆イソフラボンには、ゲニステイン、ダイゼイン、グリシテインの 3 種類の非配糖体であるアグリコン型と、3 種類の配糖体およびこれらのアセチル配糖体、及びマロニル配糖体など 計 12 種類が知られている (Nutr Cancer, 26:123-148, 1996)。

味噌や納豆などの大豆発酵食品には、腸内細菌や酵素による分解を受けなくても生体へ直接作用を示すことが可能であるアグリコン型が多く含まれているが、大豆や大豆食品中に含まれる大豆イソフラボンは主に配糖体であるため、摂取後に唾液 (J Nutr, 135:48-52, 2005) や小腸粘膜 (Xenobiotica, 33:255-264, 2003) の酵素、さらに腸内細菌の

グルコシダーゼで加水分解されることによりアグリコン型イソフラボンが生成され (Br J Nutr, 89: S45-58, 2003, J Nutr, 125:2307-2315, 1995)、それが腸管から吸収されて作用を発揮する。このようなアグリコン型の ER への結合能は試験方法によっても異なるが、エストロゲンより弱いながらも結合能を有すると報告されており (Endocrinology, 139:4252-4263, 1998)、分子構造がヒト女性ホルモンの一つであるエストロゲンと類似していることから エストロゲン受容体 (ER-、ER-) と特異的に結合し、促進的にエストロゲン様の作用を発揮することが示されている (J Steroid Biochem Mol Biol, 45:399-405, 1993, Proc Soc Exp Biol Med, 208:44-50, 1995)。非配糖体であるダイゼインとゲニステインではゲニステインに強い活性を認めるが、ダイゼインが腸内細菌の代謝を受けてエクオールへ変化すると、このエクオールが最も強い結合能を有することが認められている (J Nutr,

140:1355S-1362S,2010)。ER はほぼ全身に分布しているが、その受容体の一つである ER-

は女性生殖器に豊富に存在することや、この他、乳腺、視床下部、内皮細胞、血管平滑筋に認められ、ER- は前立腺、卵巣に豊富に存在し、肺、脳、血管、骨の他に(Tenth edition, 2047, 2001)口腔内においては顎骨、口腔粘膜、唾液腺にも認めたことを報告されており (Arch Surg, 116:207-210, 1981, Endocr Res, 16:333-345, 1990, Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 123:179-186, 1999)、既に研究代表者らは唾液中のイソフラボンを検出している。加えて、イソフラボンはフラボノイドの一種で抗酸化作用を有し、細胞膜脂質やリポプロテイン (Arch Biochem Biophys, 356:133-141,1998, J Nutr Biochem, 7:664-669,1996, Free Radic Res, 26:63-70, 1997)、DNA の損傷 (Nutr Res,32:233-240, Nutr Cancer, 61:799-806,2009)など活性酸素・フリーラジカルによる障害に対して抑制的に作用し、動脈硬化に対するヒトへの作用も報告されていることから (N Engl J Med, 320:915-924,1989, Circulation, 95:1062-1071, 1997)、本研究ではエクオール高含有大豆イソフラボン代謝産物を摂取することによるドライマウスに対する効果を検討する。



2. 研究の目的

唾液分泌障害では口腔の乾燥症状を呈するとともに、全身の QOL も顕著に低下する。本疾患の要因は様々であり、更年期だけでなく女性に多く発症することから女性ホルモンであるエストロゲンの関与も示唆されているが、その対処法は未だ確立されていない。

一方、大豆イソフラボンは大豆胚芽に多く含まれるフラボノイドの一種であり、その化学構造式がエストロゲンと類似していることから、ER と特異的に結合することで様々な生物活性を発揮することが報告されており、さらに最近では抗酸化作用も有し、活性酸素・フリーラジカルによる障害に対しても抑制的に作用することも知られている。これらのことから、**本研究では中高年の女性のドライマウス患者を対象とした唾液分泌障害に対する大豆代謝産物による効果の検討を行う。**

3. 研究の方法

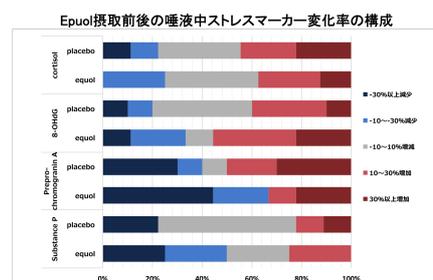
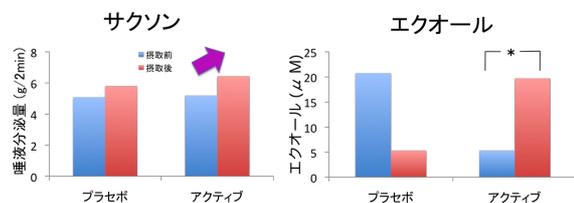
ドライマウスを訴える中高年の女性 9 名を対象にプラセボ対照クロスオーバー試験を実施した。試験食品は大塚製薬から支給された試験食品 1 と 2 を各 1 ヶ月間摂取した。摂取したエクオールは 660mg の錠剤で一回に 2 錠、一日に 2 回、嘔まずに水で摂取することを指示した。一錠中にはエクオールとして 2.5mg、一日のエクオール全摂取量は 10mg となるが、アグリコンとしてグリシテイン、ダイゼイン、ゲニステインも含有されている。対象者のエクオール産生菌保有者の確認として、試験食品摂取前に大豆製品を摂取し負荷させた状態で翌日の尿を用いて検査した。試験品摂取前に尿と安静時唾液を採取し、エクオール値と酸化ストレス値の評価用検体として -80 で冷凍庫保管した。このほか、刺激時唾液量の検査ではサクソントテストを利用し、主観的評価として抗加齢 QOL 問診票である全身と口腔のアンケートを実施した。精神的なストレスマーカーでは唾液中のコルチゾール、クロモグラニン A、酸化ストレスマーカーとして 8-OHdG を、健康長寿のマーカーとしてサブスタンス P を測定した。統計処理は Wilcoxon の符号付き順位和検定を用いた。

4. 研究成果

エクオール産生菌保有者は 9 名中 5 名であった。エクオール含有試験食品を摂取したことにより刺激時の唾液分泌量は増加傾向を示した。尿中のエクオール値は有意に増加を認めた (p=0.015)。主観的評価においては、口や歯の調子が悪いことが気になる (p=0.020)、風邪をひきやすい (p=0.046)、便秘 (p=0.026)、白髪 (p=0.010) の項目で明らかな改善を認めた。さらに、唾液中ストレスマーカーの変化率はストレスマーカーが減少する人の割合が増加した。今回の研究では唾液中のエクオールは検出できたが、精度が一定しなかったためエクオール値は尿を用いた。

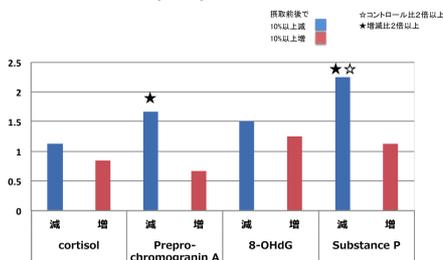
摂取前後の比較

— ミドルエイジ対象 —



Equol intake related stress marker reduction rate increased

Equol摂取のストレスマーカーに対する効果
(Equol/placebo比)



Equolの摂取によりストレスマーカーの減少する人は増加する人よりも多かった

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 1 件)

Koufuchi Ryo, Ayako Takahashi, Ai Nimi, Yoh Tamaki, Mayumi Ohnishi-Kameyama, Hiroko Inoue, Ichiro Saito. Therapeutic effects of isoflavones on impaired salivary secretion. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition. 55: 168-173, 2014. 査読有. DOI:10.3164

[学会発表](計 13 件)

金子三恵、梁 洪淵、中山亮子、玉置 洋、斎藤 一郎. エクオール含有大豆イソフラボンの唾液分泌に与える効果の検討. 第17回日本抗加齢医学会総会、2017年6月3日、東京国際フォーラム(東京都・千代田区)

中山亮子、井上裕子、金子三恵、梁 洪淵、伊藤正孝、斎藤 一郎. 早期閉経モデルマウスを用いた唾液分泌障害におけるミトコンドリアの解析. 第17回日本抗加齢医学会総会、2017年6月3日、東京国際フォーラム(東京都・千代田区)

梁 洪淵. 開業医におけるサプリメント導入とその意義「口腔から始める全身のアンチエイジング」日本抗加齢医学会臨床研究促進委員会主催、2017年2月19日、大崎プライトコアホール(東京・品川区)

中山亮子、井上裕子、金子三恵、梁 洪淵、斎藤 一郎. ミトコンドリアのエストロゲンを介した唾液分泌制御機構の検討. 第16回日本抗加齢医学会総会. 2016年6月10日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

梁 洪淵. 年をとらない、年のとり方～お口から考えるアンチエイジング～. 2015年12月4日、千代田区千代田保健所(東京都・千代田区)

梁 洪淵. 不老は口から～口から始めるアンチエイジング～. 2014年10月30日、岐阜市文化センター(岐阜県・岐阜市)

梁 洪淵. ミドルエイジ健康教室アンチエイジングとお口の教室. 2014年9月5日、千代田区千代田保健所(東京都・千代田区)

梁 洪淵. アンチエイジング外来における臨床研究の現状. 第17回抗加齢歯科学術研究会、2014年10月26日、KDDIホール、(東京都・千代田区)

梁 洪淵. ミドルエイジ健康教室アンチエイジングとお口の教室. 2014年9月5日、千代田区千代田保健所(東京都・千代田区)

梁 洪淵. ドライマウス相談. 2014年7月10日、落合保健センター(東京都・新宿区)

梁 洪淵. 不老は口から -口から始める抗加齢医学-. 2014年7月1日、荏原文化センター(東京都・品川区)

梁 洪淵. シンポジウム 口腔領域の機能維持を目指した抗酸化物質の臨床研究. 第14回日本抗加齢医学会総会、2014年6月7日、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

梁 洪淵. シンポジウム 歯科大学病院におけるアンチエイジングドックの現況. 第14回日本抗加齢医学会総会、2014年6月7日、大阪国際会議場(大阪府・大阪市)

[図書](計 5 件)

梁 洪淵、斎藤 一郎. 機能性表示食品 DATA BOOK 第2版. メディカルレビュー社(分担)、240-243、2016.

梁 洪淵、斎藤 一郎. ドクターが教えるあなたのカラダとサプリメント. メディカルレビュー社(分担)、38-45、2016.

梁 洪淵、斎藤 一郎. 特集 口腔機能のアンチエイジング 2 食品による口腔機能の維持. アンチエイジング医学-日本抗加齢医学会雑誌、メディカルレビュー社、11: 26-32、2015.

梁 洪淵. 改訂3版 アンチエイジング医学の基礎と臨床 口腔年齢の評価、サプリメントの機能性: 口腔・歯科. メディカルレビュー社(分担)、178-179、260-263、2015.

梁 洪淵、斎藤 一郎. 特集 女性のアンチエイジング 口腔のアンチエイジング -口腔内の乾燥を防ぎ、唾液の分泌をよくするためには-. 新興医学出版社、モダンフィジシャン、34 11: 1277-1281、2014.

6. 研究組織

(1)研究代表者

梁 洪淵 (RYO Koufuchi)

鶴見大学・歯学部・講師

研究者番号: 10298268

(2)研究分担者

斎藤 一郎 (SAITO Ichiro)

鶴見大学・歯学部・教授

研究者番号: 60147634

井上 裕子 (INOUE Hiroko)

日本薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号: 50367306