

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：25301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350849

研究課題名(和文)閉経後女性の脂質代謝異常是正を考慮した骨粗鬆症予防プログラムの開発

研究課題名(英文)Development of an osteoporosis prevention program involving lipid metabolism disorder correction in postmenopausal women

研究代表者

久保田 恵 (KUBOTA, MEGUMI)

岡山県立大学・保健福祉学部・教授

研究者番号：80254564

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：女性は閉経により脂質代謝異常症や動脈硬化症を惹起することが知られているが、骨密度の変化との関連は十分に解明されていない。そこでメタボリックシンドロームの症状が明確に出現するJc1/SDTラットで卵巣摘出による閉経後肥満モデル動物を作成し、脂質代謝と骨密度の関連を検討した。その結果、高血糖状態を呈する閉経肥満ラットでは、血清脂質の有意な上昇と骨密度(特に海綿骨)の低下が認められ、低骨代謝回転を呈し、骨の脆弱性に影響を及ぼすが、大豆イソフラボンの投与により、これらは統計的な有意差は認めないものの改善傾向を示すことが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop an osteoporosis prevention program to prevent the deterioration of dyslipidemia or arteriosclerosis and a decrease in the bone mineral density, contributing to the improvement of metabolic syndrome. Female rats were divided into the following groups: SDT/OVX/high-fat diet, SDT/OVX/standard diet, SD/OVX/high-fat diet, SD/OVX/standard diet. I analyzed bone density, blood lipid, adiponectin, leptin and osteocalcin level. The increase in serum lipid concentration of the obese model rat was controlled by an intake of the soy isoflavone. In addition, the suppressant effect of the drop of the bone density was accepted, too.

研究分野：複合領域

キーワード：閉経 女性 脂質代謝 骨密度

1. 研究開始当初の背景

骨代謝に影響を及ぼす因子には大きく分けると遺伝素因と環境因子がある。遺伝素因と骨密度の関連については、これまで栄養因子と関連が強い遺伝因子として腸管でのカルシウムの吸収を担っているビタミンD受容体(VDR)遺伝子多型を見出し、これらの遺伝子多型と日本人女性の骨密度との関係を検討してきた。その結果、hVD-SIF1多型は、従来報告されて来た遺伝子多型とは異なり閉経後女性の骨密度と特異的に相関することを明らかにした。環境因子としては、閉経後女性では女性ホルモンの分泌が低下し、骨及び脂質代謝に異常をきたすことが知られている。また若年女性を対象に骨密度規定因子に関する横断研究を行い、遺伝因子や栄養因子以上に体脂肪量が骨密度と高く相関し、脂肪細胞では骨代謝に重要な役割を果たすエストロゲンが合成されるため、特に若年女性では体脂肪量の少ない者程骨密度が有意に低値であることを明らかにした。しかし、骨粗鬆症の予防の観点から考えると女性ホルモンは個人の生活の中でコントロール出来る要因ではない。一方、環境因子の中で変動可能な要因、すなわち日常生活で改善可能な因子として栄養と運動があげられる。大豆や大豆製品はカルシウムを比較的多く含むとともに、エストロゲン様作用を示すイソフラボンを多く含んでいる。大豆中のイソフラボンはダイゼインやゲニステインなどの形で存在し、その構造がエストロゲンに類似しているため、エストロゲンの受容体に対して親和性を有する。そのためイソフラボンは、更年期障害、骨粗鬆症、乳がんなどの予防に有効と欧米では考えられているが、効果については世界的に一定のコンセンサスが得られていない。

2. 研究の目的

食生活の欧米化に伴う脂質摂取量の増加と運動不足は、肥満や内臓脂肪の蓄積を引き

起こすことにより、脂質代謝異常・糖尿病・高血圧を併発し H24 年度の特定健診受診者 300 万人のうち正常者は 10% 未満であった。特に女性では閉経により脂質代謝異常症を惹起し、BMI25 以上の肥満者の割合が急増し、40 才以上の女性の 20% に相当する者がメタボリックシンドローム予備軍や該当者へと移行することが予測されているが、閉経後、どれぐらいの時間経過でこれらが顕在化してくるのか十分に解明されていない。その結果、癌に次いで心筋梗塞や脳梗塞といった動脈硬化性疾患による死亡率が同程度となり、脂質代謝異常症の改善は国民的急務である。脂質代謝異常症の予防のためには、肥満者の体重減少をはかることが第一義となる。しかしながら、体重減少は一般的には骨密度の低下を伴うことが多く、実際肥満は閉経後女性の骨密度に対して保護的要因と考えられており、減量を伴う生活習慣への長期介入により、骨代謝にどのような影響があるのかはよくわかっていない。そこで、閉経モデル動物や閉経後女性を対象とし、イソフラボン摂取による脂質代謝と骨密度の関連を検討した。

3. 研究の方法

(1)閉経後肥満モデル動物の脂質代謝・骨代謝に関する検討

実験群はメタボリックシンドロームの症状が明確に出現する JcI/SDT を肥満群モデル動物、対照群を JcI/SD とした。両群とも全例に対して 9 週齢で卵巣摘出手術を行い、閉経モデルとした。閉経肥満モデル : SDT / OVX / 高脂肪食、 : SDT / OVX / 普通食、閉経対象モデル : SD / OVX / 高脂肪食、 : SD / OVX / 普通食とし、各群は各々 6 匹で構成した。普通食群は固形飼料 CE-2(344 kcal/100g、Fat kcal(%) 3.92%、日本クレア社製)、高脂肪食群は固形飼料 Quick Fat(408 kcal/100g、Fat kcal(%) 30.0%、日本クレア社製)および自動給水装置により水道水を自

由に摂取させた。ラットの体重は2回/週、血糖値は1回/月の頻度で測定した。実験期間を通じて、動物は温度 23±3、湿度 60±10%、12 時間明暗照明条件下で、SPF 施設内で飼育した。また、：SDT/OVX/高脂肪食群、及び SD/OVX/高脂肪食群各4匹に51週から55週までの8週間、大豆イソフラボン(フナコシ)を50mg/kg BW/dayを28日間連続して経口的に強制投与した。飼育期間終了後、24時間絶食させ、翌日エーテル麻酔し、腹大静脈より採血を行い、血清中の脂質、アディポネクチン、レプチン、オステオカルシンをELISA法で測定した。また左大腿骨の骨構造解析及び骨密度は、pQCT骨密度測定装置XCT Research SA+(Stratec Medizintechnik GmbH, Pforzheim, Germany)を用いて行うとともに、脱灰パラフィン標本を用いて組織染色を行った。測定値は平均値±標準偏差として表記し、各群間の有意差検定は、一元配置分散分析後、Studentのt-検定を用いて行った。p<0.05を有意差ありと判定した。

(2)地域在住女性の脂質代謝異常や動脈硬化症の進展と骨密度に関する検討

岡山県在住中高年女性を対象に身体測定(身長、体重、体脂肪率)を行い、その結果から「未閉経群」、「閉経直後群(月経不規則及び閉経後5年未満)」、「高齢群」の3群に分類し、本研究では閉経群と高齢群の身を対象とする。更に体脂肪率、身体測定(身長、体重、体脂肪率)を行い、その結果から「やせ群(BMI25kg/m²未満で体脂肪率が20%以下)」、「普通群(BMI20~25kg/m²未満で体脂肪率が25%以下)」、「肥満群(BMI25kg/m²以上で体脂肪率が30%以上)」の3群に分類後踵骨骨密度(アキレス A-1000)、体重・体脂肪率(tanita TBF-102)及び血中レプチン、アディポネクチン濃度をELISA法により分析した。同時に環境因子や健康観に関しては、食事調査、問診、質問紙調査を行い、対象の過去の食習慣及び現在の栄養摂取状況を調査した。

4. 研究成果

(1)閉経後肥満モデル動物の脂質代謝・骨代謝に関する検討

メタボリックシンドロームの症状が明確に出現するJcI/SDTを肥満群モデル動物とし、対照群をJcI/SDとし、全例に卵巣摘出手術を行った後、40週間高脂肪食、及び普通食で飼育した。実験群及びは飼育期間中に全例が高血糖状態を呈した。また実験群は20週以降体重が減少し、飼育終了時は高脂肪食群も普通食群も実験群のそれぞれ52%と57%であり有意に低値であった(図1)。大豆イソフラボン摂取により、群及び群と体重増加に有意差は見られなかった。

血中脂質濃度に関しては総コレステロール値、TG値は群で有意に高かった(図2)。アディ

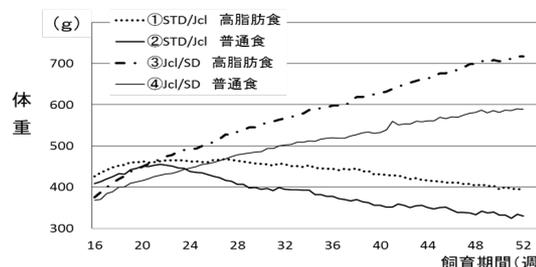


図1 ラットの飼育期間の体重変化

ポネクチン濃度は、実験群では高脂肪食群が有意に高値であったが、対照群の高脂肪食群と比較し有意な差は見られなかった。レプチン濃度は体脂肪量と比例しており、群で有意に低く、両群とも食餌の脂肪量の多い高脂肪食群で有意に高かった(図3)。オス

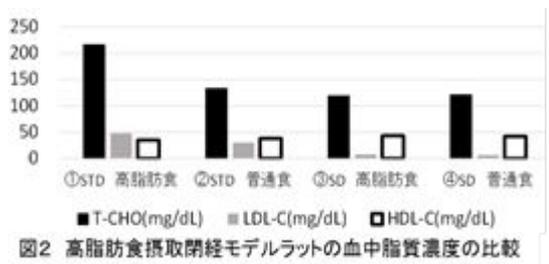


図2 高脂肪食摂取閉経モデルラットの血中脂質濃度の比較

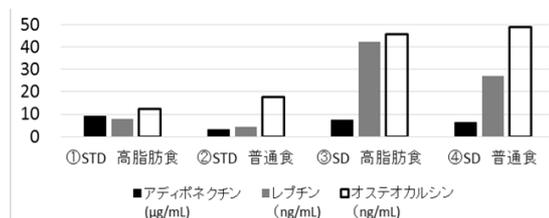


図3 高脂肪食摂取閉経モデルラットの脂質代謝及び骨代謝の比較

テオカルシン濃度は 群で 群に比し有意に低値であり、同群間では高脂肪食群が高値の傾向にあった。大豆イソフラボン摂取により、 群及び 群に比べ、T-CHO、LDL-Cは低下した。また、肥満による 、 群のレプチンは増加傾向を、アディポネクチンは減少傾向を示したが、有意差は認められなかった。

大腿骨の骨幹端部、骨幹部の骨密度をpQCT法により測定するとともに、脱灰パラフィン標本のHE染色により組織学的検討を行った。骨幹端部、骨幹部ともに全骨密度及び海綿骨密度は と 群では低値であった。8週間の大豆イソフラボン投与では、大腿骨の骨密度に有意な差は認められなかったが、STD群の海綿骨は増加傾向であった。

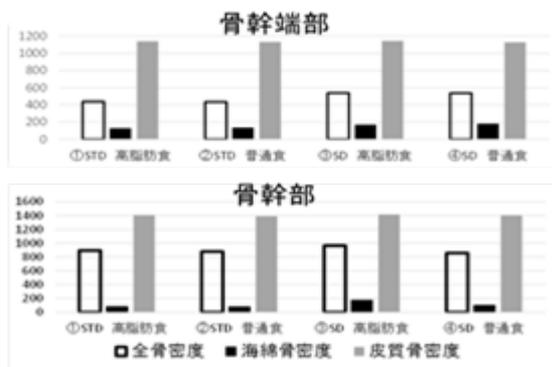


図4 高脂肪食摂取閉経モデルラットの骨密度の比較

(2)地域在住女性の脂質代謝異常や動脈硬化症の進展と骨密度に関する検討

地域在住の50～65歳の女性のうち脂質代謝異常の服薬治療者を除き104名を対象とした。内訳は閉経直後群（閉経後5年未満）58名、閉経群（閉経後5年以上）46名であった。更に各群をBMIと体脂肪率から体格を分類し、閉経直後群やせ3名・普通33名・肥満22名、閉経群やせ4名・普通24名・肥満18名であった。閉経直後群及び閉経群の各普通と肥満群間の体重・体脂肪率は有意差はなかった。踵骨骨密度は閉経直後群が閉経群より有意に高く、いずれの群でも肥満＞普通＞やせの順であったが、閉経群のみ有意な差であった。

血中レプチン濃度は閉経直後群、閉経群ともに肥満群では普通・やせ群より有意に高値

であった。一方血中アディポネクチンは閉経直後群と閉経群では有意な差は認められず、閉経直後群、閉経群ともにアディポネクチンと骨密度との間には負の相関が認められた。閉経直後群、閉経群の栄養摂取状況を体格別に検討したが、エネルギーやカルシウム摂取量に有意な差は認められなかったが、閉経群でAge matchedが100以上の同年齢に比較して高骨密度群では、豆類の摂取量が多い傾向にあった。また、本調査対象の1日当たりの豆腐摂取量と納豆摂取量から大豆イソフラボンの摂取量を概算して検討したところ、閉経直後群ではレプチンやアディポネクチン量との有意な関連は認められなかったが、閉経群の骨密度では、大豆イソフラボン概算摂取量と骨密度に正相関の傾向がみられた。

対象を閉経直後群、閉経群ともに2群に分け、納豆、豆乳、豆腐のいずれかを大豆イソフラボン換算で40mg程度毎日、6か月間食品から摂取し、前後で脂質代謝と骨密度の変化を検討した。その結果、閉経直後群、閉経群とも肥満群では血中総コレステロール、LDL-故エステロール値がイソフラボン摂取により減少傾向を示した。また、イソフラボン摂取により閉経直後群のやせと普通群では、踵骨骨密度の減少が統計的な有意差は認められないものの、抑制傾向にあった。

(3)結論と今後の展望

本研究において、卵巣摘出閉経モデルラットにおいては肥満で更に高血糖状態を呈する場合は、低骨代謝回転を呈し、骨の脆弱性に影響を及ぼすことが示唆された。また、糖尿病の発症を認める場合は、認めない場合に比べて骨密度が有意に低下し、海綿骨でその低下が顕著であった。

今後の展望として、閉経後の中高年成人女性においては、やせ体型及び普通体型の場合、大豆イソフラボンは骨密度の減少の抑制に作用し、肥満体型では脂質代謝異常の改善に作用することが示唆され、脂質代謝と骨代謝の

どちらにより大きく効果を示すかは、閉経後の年数や体格により影響を受けることが考えられる。まず、肥満体型であっても、大豆イソフラボンの摂取により顕著な体重減少は認めなくても、脂質代謝異常を改善することで卵巣摘出閉経モデル動物で確認された骨密度の低下を改善できるか、またその際の大豆イソフラボンの推奨摂取量についてより段階的に検討することが重要と考える。

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3件)

- (1) T.Kouda, N.Shimizu, M.Kubota、H. Okumura Analysis of energy and nutrient intake of Japanese male students with smart cards at university dining commons Journal for the integrated study of dietary habits Vol.22 No.4 p297-307 2013 査読有
- (2) 小林奈穂, 村山伸子, 稲村雪子, 久保田 恵他 給食施設における「日本人の食事摂取基準」の活用の現状(第1報) 栄養学会誌 Vol.71 P39-45 2013 査読有
- (3) 小林奈穂, 村山伸子, 神田知子, 久保田 恵他 給食施設における「日本人の食事摂取基準」の活用の現状(第2報) 栄養学会誌 Vol.71 P46-55 2013 査読有

〔学会発表〕(計2件)

- (1) Megumi Kubota, Rikako Inoue Evaluation of the effects of body fat and leptin on changes the bone density of Japanese woman. ACN2015 (yokohama) 2015.5.17
- (2) Rikako Inoue, Megumi Kubota, Effect of Fermented Vegetable Food "OM-X" on Defecation Among Constipated woman. ACN2015 (yokohama) 2015.5.17

〔図書〕(計5件)

- (1) 久保田恵 NEXT 応用栄養学(第4版) 12章成人期更年期の栄養 p141 - 148 講談社 2014

- (2) 久保田恵 NEXT 臨床栄養管理学各論(第2版)6章 歯・骨・筋肉の疾患と栄養管理 p137 - 142 講談社 2013

- (3) 久保田恵 NEXT 栄養教育実習(第2版) 第3章地域における集団栄養教育、骨粗鬆症予防プログラム p128 - 131 講談社 2014

- (4) 久保田恵 管理栄養士課程におけるモデルコアカリキュラム準拠 第2巻食事摂取基準 理論と活用(第2版)p82 - 102 医歯薬出版 2014

- (5) 久保田恵 NEXT 応用栄養学(第5版) 12章 成人期更年期の栄養(印刷中) 講談社 2016

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
久保田 恵(KUBOTA MEGUMI)
岡山県立大学保健福祉学部栄養学科・准教授
研究者番号：80254564

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：