

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

日本人による植物エストロゲン物質摂取における定量的なリスクとベネフィットの解析と不確実性分析（平成 10 年度、関澤）
大豆成分の内分泌かく乱機構に関する研究（平成 10 年度、西川）
植物エストロゲン物質によるリスク・ベネフィットと不確実性の解析（平成 11 年度、関澤）
大豆エストロゲン物質の更年期前後の女性へ及ぼす影響に関する研究
(平成 12 年度、石渡・関澤)

分担研究者 関澤 純 国立医薬品食品衛生研究所化学物質情報部（平成 10-12 年度）
大屋 幸江 同上（研究協力者）
西川 秋佳 国立医薬品食品衛生研究所 病理部（平成 10 年度）
池田 尚子 同上（研究協力者）
今沢 孝喜 同上（研究協力者）
石渡 尚子 跡見学園女子大学短期大学部家政科（平成 12 年度）

研究要旨（平成 10-12 年度）

(1) さまざまな植物ホルモン物質（図 1）の活性レベルと日本人の摂取量から考え、もっとも影響を及ぼす可能性が高い大豆中のエストロゲン物質を中心に検討した。欧米人での疫学的、臨床的知見と、日本人の摂取量、体内濃度から、日本人の曝露レベルは、健康にベネフィシャルな影響を与えている可能性が大きいと推定された。これら物質は、エストロゲン作用のほかに、抗酸化作用などの作用も有するため、影響の内容をより多角的に検討すべきこと、またエストロゲン活性の高い代謝物を生成する能力は日本人の中でも個体差が大きく、日本人での臨床、疫学的知見の収集と確認が必要なこと、経胎盤曝露による影響データが限られており、この方面の研究データが必要なこと、また自己免疫疾患との関連を示唆する報告もあり、より多角的な検討の必要が指摘された。

(2) 大豆イソフラボン類には甲状腺癌を促進するものが含まれるとの報告があり、ラットに過剰の大豆含有飼料を与えると甲状腺濾胞上皮の肥大、過形成を経て腫瘍が誘発されるが、それが植物性エストロジェンの作用に基づくものか、あるいはそれ以外の作用によるものかは明らかにされていない。

そのメカニズム解明の一環として大豆過剰摂取あるいはヨード欠乏による甲状腺および下垂体のホルモン動態ならびに病理組織学的変化について検討した。大豆単独投与では甲状腺の形態学的変化は下垂体に比べて軽度であり、しかも T4 は増加傾向にあることから、下垂体上位への直接反応である可能性が示された。大豆成分の過剰摂取による甲状腺刺激作用のメカニズムはヨード欠乏の場合とは異なる可能性があるが、植物性エストロゲン作用との関連は不明のままであり、さらに追究する必要がある。

(3) 10年度は日本人が食品から多量に摂取する大豆中のエストロゲン物質(genistein, daidzein)について、これら物質の日本人の血中濃度あるいは尿中排泄量と、これらを指標とした乳がんリスクの疫学データ、これら化合物摂取と女性の生理周期との関係についての臨床データなどを検討し、日本人の尿中排泄レベルから日本人女性に乳がんが少ないことへのこれら物質による寄与の可能性を定量的に示した。11年度は、女子大生を対象とした食生活と健康についての独自のアンケート調査により、前年度の推定がどの程度正しいかその確かさを検証し、調査結果に基づいて解析を進めた。その結果、大豆を含む食生活が女性の生理の順調さや健康に大きな影響を及ぼしている可能性が指摘できた。

(4) 大豆イソフラボンは骨粗しょう症や更年期障害に有用な生理効果があると期待されており、更年期前後の女性 58 名を対象に大豆胚軸より抽出したイソフラボノイドを含有するイソフラボン錠服用の有無による生体への影響の相違につきランダム化クロスオーバー・デザインにより東京農業大学と共同で検討した。イソフラボン錠摂取によって Body Mass Index (BMI)、体脂肪の測定値に変動はなかった。閉経群(45 名)、未閉経群(13 名)ともにイソフラボン摂取後に血中高密度リポたんぱく (HDL-Cho) の増加が見られイソフラボン摂取が HDL-Cho 増加に貢献し動脈硬化防止させる可能性が示唆されたが、同時にイソフラボン摂取期間中に油脂や肉類の摂取量に変化があった。骨代謝のマーカであるジピリジリン(Dpd)とオステオカルシン(OC)のレベルはイソフラボン摂取後に閉経群でそれぞれ低下傾向と上昇傾向が見られ、骨吸収の亢進を示唆し、骨密度についてはイソフラボン摂取後にわずかに上昇したが、未閉経群では骨密度はイソフラボン摂取後にわずかに上昇したが、骨代謝マーカについては逆の傾向が見られた。また生活活動強度が適度の人ではイソフラボン錠摂取後に骨密度増加が見られ、濃度の上昇も見られた。活動強度が低いものは骨密度の増加や OC 濃度の上昇は認められなかったが、Dpd 濃度はイソフラボン錠摂取により低下した。この結果から大豆イソフラボンの骨代謝に与える影響は、生活活動強度の高低により異なると考えられた。今回試験では対象人数が少なく、既往歴のある人が 76%以上(高血圧 26%, 子宮筋腫 2%) と多いなど不確実性要因も多く、投与による影響の有意差は認められなかった。

日本人による植物エストロゲン物質摂取における定量的なリスクとベネフィットの解析と不確実性分析 (平成 10 年度、関澤)

A. 研究目的

外因性内分泌攪乱物質による健康影響を評価する上で、毒性メカニズムの研究とあわせて人が実際に曝露される量の定量的な評価が必要である。人のレベルでどんな影響が観察されているか、影響と曝露の間に強固な関連性が見られ、それはメカニズムを考慮して十分説明可能か？などの考察がなされなければならない。さまざまな植物ホルモン物質の活性レベルと日本人の摂取量から考え、もっとも影響を及ぼす可能性が高い大豆中のエストロゲン物質を中心に、リスクとベネフィットの定量的な評価を試みた。

B. 研究方法

1998 年 6 月までの MEDLINE 医学文献データベースを用い“Phytoestrogen” (PE) でヒットした 207 文献およびその後の文献と、関連の文献の計、約 300 文献を調査、分類し、データベース化した(添付データベース資料参照)。生薬、ハーブ、一部の微生物の生産物にも PE は含まれるがこれらの摂取量は相対的に少ない。エストロゲン作用が知られ文献も多く、日本人が多量に摂取する大豆に含まれるイソフラボノイドおよび、亜麻など多くの植物に含まれ、腸内細菌によりエストロゲン作用を持つ物質に代謝されるリグナンを中心に、人での疫学および臨床データ、摂取量、インビボ試験データと背景メカニズムの研究情報を調査した。

C. 研究結果と考察

大豆中の PE には、イソフラボノイドの Daidzein, Genistein がある(図 2)。日本人の大

豆と大豆製品の平均摂取量は 1 日約 65g¹⁾だが、Daidzein と Genistein は豆腐、味噌、大豆、納豆、油揚げなどにそれぞれ 32-146, 71-366, 22-1915, 199-354, 74-187 および 86-306, 149-524, 200-1897, 374-506, 185-228 $\mu\text{g/g}$ (湿重当り) 含まれる^{2,3,4)}。日本人の大豆と大豆製品からの PE 平均一日摂取量は Daidzein 10.2 mg, Genistein 15.4 mg のレベルといえる(表 1)。他方、日本人男性の血清中の遊離・抱合体合計の Genistein, Daidzein 濃度はフィンランド人男性の各々 44 倍(75 $\mu\text{g/L}$)、17 倍(27 $\mu\text{g/L}$)であった⁵⁾(表 2)。

東アジアの人には乳がん、前立腺がんが少ないが米国へ移住すると増す⁶⁾。大豆摂取により閉経前の女性の乳がんリスクが低下する⁷⁾。乳がんリスクと尿中 Daidzein /Equol 排泄量には量依存の逆相関関係が見られる⁸⁾(表 3)。

閉経前の女性にイソフラボノイドを投与すると、同じ女性の投与前後に比べて性周期が顕著に変化した(表 4)⁹⁾。この変化は卵胞期の特異的延長といういかたちで現れ、卵胞期には黄体期に比べて細胞分裂の速度が 4 分の 1 に低下することから、突然変異を起こした細胞があっても細胞増殖が相対的に遅くなることで癌化が抑えられるのではないかと推測されている。

動物では発情期前のイソフラボノイド短期曝露により乳腺上皮細胞の分化が促進され乳がん発生が抑制された¹⁰⁾。Genistein の抗がん作用はチロシンキナーゼ阻害作用¹¹⁾と、がん細胞の apoptosis 促進という機作が推測されている¹²⁾。

Daidzein の代謝物 Equol は in vitro で抗酸化作用¹³⁾を示し、大豆蛋白(29 報告中の平均 47g/日)あるいは大豆 PE(11mg/kg 体重/日)の

摂取は、LDL Cholesterol 値を各々高脂血のヒト (平均 22mg/dL 低下、表5参照) およびサル(36% 低下)で低下させた^{14,15)}。

Daidzein の前駆体 Ipriflavone(600 mg/日)が骨粗鬆症を含む更年期障害治療に有効と報告されている¹⁶⁾。Genistein は濃度によりエストロゲンにもアンチエストロゲンにも作用することが、エストロゲン受容体を組み込んだ MCF-7 ヒト乳がん細胞の増殖の低濃度での高進と高濃度での抑制という結果から推測されている⁶⁾。

Daidzein をマウスに経口投与(0-40mg/kg 体重/日)した時に、用量に依存し腹腔マクロファージのファゴサイトーシスと胸腺重量の増大で見た非特異的な免疫活性および、脾臓の IgM 産生細胞による羊赤血球溶血で見た特異的な免疫活性の高進が見られた¹⁷⁾。

牛乳で下痢を起こす幼児のための大豆食品 (イソフラボノイド 43-48mg/日) 摂取によるエストロゲン作用が懸念されたが、米国で 50 年間の使用に関わらず内分泌への影響は見られていない¹⁸⁾。

ヒト血清蛋白の添加時と非添加時のエストロゲン受容体への結合を Estradiol と比べると、Genistein, Equol は相対的により多く受容体に結合する¹⁹⁾。また Genistein はエストロゲン受容体により親和性がある⁷⁾ (表6)。

Estradiol と比べた in vitro での Genistein, Daidzein のエストロゲン受容体への結合活性は BisphenolA, nonylphenol と同程度であり、ヒトがイソフラボノイドの千分の1以下の微量摂取するこれら物質とエストロゲン受容体結合において PE が競合し、保護的な作用を示すか否かは興味ある。

PE の多様な作用につき一見矛盾する報告もあるが、曝露時期、用量 (低濃度と高濃度)、代謝による違いがありうる。また PE の種類によって作用は異なり、エストロゲン作用だけでなく抗酸化作用を示すものもある(表7)。

以上見てきたさまざまな作用は、日本人の大豆と大豆製品からの PE 平均摂取量の同程度から数倍の範囲で観察されている。ヒトにより摂取量や感受性は異なるし、比較的低濃度でもある程度リスク、ベネフィットがこれまでの日本人集団に見られている筈である。また日本人は昔から多量に摂取しているので、耐性があるのではないかともいわれている。適切な疫学調査を行うか、臨床データを収集すれば、これらは判定可能であろう。

日本人の摂取する植物からのリグナンの摂取量、あるいは植物中物質が腸内細菌により代謝されてできるリグナンの摂取量の定量的なデータはない。しかし伝統的な食品を摂取している日本人の尿中排泄量は少ない。現在、日本人の体内レベルを推測するデータを収集、解析中である。欧米のデータでは植物を多く摂取する女性のリグナンの排泄量は、雑食性の女性や乳がんの女性に比べて有意に高いと報告されている。リグナンの作用もさまざまあるが、生理的に観察されるレベルでの in vitro 試験データでエストラジールのレセプター (タイプ II, bioflavonoid receptor) 結合を競合的に阻害し、やや高い濃度ではアロマトラーゼを阻害することが知られている。

いくつかの PE の多様な作用につき一見矛盾する報告もあるが、曝露時期や用量による違いがありうる。Daidzein は代謝されてより活性の強い Equol を生成する(図3)が、日本人の間でも大きな個体差が見られており²⁰⁾、代謝能力の違いの分布による不確実性を考慮しなければならない(表8)。

クローバーに含まれる PE の Coumestrol は羊が大量に摂取した時に不妊になる原因物質といわれており、低濃度でアロマトラーゼを阻害するが、大豆には検出されない²⁾。PE の種類によって作用は異なり、ポリフェノールの場合はエストロゲン作用だけでなく、抗酸化作用を示したり

する。このような作用機作を踏まえた人を主とした定量的なデータを収集解析することにより、日本人が曝露されるPEのより正確なリスク、ハネフィットの解明が可能となろう。また乳児に豆乳を与えることと自己免疫疾患との関連を示唆する報告²¹⁾もあるなど、食品中に多量に含まれる活性物質の作用については多面的な作用のチェックが必要であろう。

以上見てきたうち、いくつかの作用は日本人のPE摂取量に近い範囲で観察されている。ヒトにより摂取量や感受性は異なり、PEと天然エストロゲンとの関係など未解明な点があり、さらに研究が必要だが、作用機作を踏まえヒトを中心とした定量的なデータを収集解析し、日本人が曝露されるPEのリスクと、ハネフィットを解明することは内分泌攪乱物質問題のひとつの鍵であろう。

文献 (収集文献は、データベース化してある.... 添付リスト参照)

- 1) 厚生省保健医療局 (1996) 平成 8 年版国民栄養の現状
- 2) Reinlin & Block (1996) Nutr. Cancer, 26, 123-148
- 3) Franke et al. (1994) J.Agr.Food Chem., 42, 1905-1913
- 4) Toda et al. (1997) Foods & Food Ingrid. J. Japan, 172, 83-89
- 5) Adlercreutz et al. (1993) The Lancet, 342, 1209-1210
- 6) Murkies et al. (1998) J. Clin. Endocrinol. Metabol., 83, 297-303
- 7) Messina et al. (1997) The Lancet, 350, 971-972
- 8) Ingram et al. (1997) The Lancet, 350, 990-994
- 9) Cassidy et al. (1995) Brit.J.Nutr., 74, 587-601
- 10) Murril et al. (1996) Carcinogenesis, 7,

1451-1457

- 11) Akiyama et al. (1987) J.Biol.Chem., 262, 5592-5595
- 12) Zhou & Lee (1998) J.Natl.Cancer Inst., 90, 381-388
- 13) Wieseman & O'Ralley (1997) Bioche. Soc.Transact., 25, 107S
- 14) Anderson et al. (1995) New Engl.J.Med., 333, 272-286
- 15) Anthony et al. (1997) Arterio. Thrombo. Vascular Biol., 17, 2524-2531
- 16) Barnes (1998) Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 217, 386-392
- 17) Zhang et al (1997) Nutr. Cancer, 29(1), 24-28
- 18) Hugget et al. (1997) The Lancet, 350, 815-816
- 19) Nagel et al. (1998) Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 217, 300-309
- 20) Adlercreutz et al (1991) Am.J.Clin.Nutr., 54, 1093-1100
- 21) Fort et al., (1990) J.Am.College Nutr., 9, 164-167

D. 研究発表

1. 論文発表

関沢 純 わが国の有機錫汚染による健康および、環境影響リスクの評価
Bull. Natl. Inst. Health Sci., 116, 126-131 (1998)

2. 学会発表

- 1) 関沢 純、大屋幸江 . 植物エストロゲン物質の日本人における定量的リスク・ベネフィット解析 . 日本内分泌攪乱化学物質学会第一回研究発表要旨集 (1998年12月、京都) p.98
- 2) Sekizawa, J.. Uncertainty analysis using database on chemical risk,

Proceedings of the First China-Japan Conference on Risk Assessment (November 1998, Beijing), pp. 456-461

3) Sekizawa, J. A draft report to the IPCS/OECD/US EPA scoping group on integrated risk assessment (November 1998, Charlotte)

4) 関沢 純、大屋幸江． 日常摂取

する植物由来ホルモン物質の役割． 第4回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会（1998年9月、草津）pp.26-27

5) 関沢 純． わが国の有機すず汚染のリスク評価． 第4回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会（1998年9月、草津）pp. 48-49

大豆成分の内分泌かく乱機構に関する研究 (平成 10 年度、西川)

A. 研究目的

環境中には多数の合成あるいは天然のホルモン活性物質が存在し、これら物質の生殖器に対す

毒性作用については近年解析が進んできたが、発がん修飾作用については未知の部分が多い。たとえば、エストロジェンはラットの子宮内膜やハムスターの腎臓に発がん性を示すが、乳腺に対しては発がんの促進または抑制という相反する結果も得られている。植物性エストロジェンのホルモン活性は弱いですが、疫学的にその摂取とヒト乳がん、前立腺がんの発生には負の相関があり、さらに実験的に乳腺発がんを抑制させる結果も報告されており、ヒトがんの予防物質として重要視されている。しかし、大豆イソフラボン類には甲状腺発がんを促進するものが含まれるとの報告もある。すなわち、ラットに過剰の大豆含有飼料を与えると甲状腺濾胞上皮の肥大、過形成を経て腫瘍が誘発されるが、それが植物性エストロジェンの作用に基づくものか、あるいはそれ以外の作用によるものかは明らかにされていない。今回、そのメカニズム解明の一環として大豆過剰摂取あるいはヨード欠乏による甲状腺および下垂体のホルモン動態ならびに病理組織学的変化について検討した。

B. 研究方法

動物は各群 5 匹の 4 週齢 F344 雌ラットを用いた。群構成は (Fig. 1)、食餌中 20% グルテン単独投与を第 群 (対照群) とし、そのヨード欠乏を第 群、20% 脱脂大豆単独投与を第 群とし、そのヨード欠乏を第 群とした。実験開始 10 週後に、エーテル麻酔下で採血後、剖検した。甲状腺および下垂体を

重量測定後、定法により光顕的および電顕的に検索した。

C. 研究結果

Fig. 2 に示すように、甲状腺の重量は第 群と比較し、他の群では有意に増加し、下垂体の重量は第 群において有意に増加した。血清 T4 は第 群で有意に低下したが、第 群では増加傾向を示した。一方、血清 TSH は第 群と、特に第 群で著しく増加した。光顕的に、第 群では甲状腺濾胞上皮細胞の過形成、コロイドの消失が認められたが、下垂体には著変がなかった。電顕的観察では、投与群の甲状腺濾胞上皮細胞において粗面小胞体 (rER) の拡張、分泌顆粒 (EG) の減少、ミトコンドリアの増加、細胞質の blebbing などが第 群、群、群の順の強さで観察された。下垂体前葉細胞においては、rER の発達と拡張、EG の減少が第 群、群、群の順で認められた。

D. 考察

以上より、大豆の過剰摂取はラット甲状腺増殖の刺激となり、ヨード欠乏と組み合わせられた場合、顕著な相乗効果を示すことが確かめられた。ホルモン動態を考慮するとヨード欠乏による甲状腺の肥大は、下垂体・甲状腺系のネガティブ・フィードバック機構を介する反応であり、大豆過剰摂取が加わると相乗的に増強されることが明らかとなった。しかし、大豆単独投与では甲状腺の形態学的変化は下垂体に比べて軽度であり、しかも T4 は増加傾向にあることから、下垂体上位への直接反応である可能性が示された。

このように、大豆成分の過剰摂取による甲状腺刺激作用のメカニズムはヨード欠乏の

場合とは異なる可能性があるが、植物性エストロゲン作用との関連は不明のままであり、さらに追究する必要がある。ヨード欠乏とは異なるメカニズムが想定される他の甲状腺発がん促進要因との相乗効果の有無についての検討も必要と考えられる。また、低用量でも同様な作用を示すかどうかを確認する必要があり、現在、多段階の用量による実験を行い、用量反応関係について検討中である。さらに、甲状腺腫瘍は、肝臓、膀胱などの腫瘍と同様にラットで誘発されやすい腫瘍の一つであることから、今回観察された変化がヒトに対してどの程度当てはまるものかどうかについて、将来的にはその感受性の種差を定量的に把握する必要がある。以上述べた点が、大豆成分によるラット甲状腺刺激作用を評価する上での不確実性要因と考えられる主なものであるが、研究の進展により次第にその内容が定量化されていくものと期待される。

一般に、内分泌環境のかく乱は発がんの重要なリスク因子となりうるが、外来性内分泌かく乱物質と呼ばれるもののうちで発がん性の証明されている物質は少数にすぎない。その理由の一つは、性ホルモンとして女性ホルモンまたは男性ホルモンのアゴニストとして働く場合がある一方、アンタゴニストとして作用する場合もあり、その作用機構が複雑であるからである。もう一つの理由として、ホルモン様作用そのものはなくても、肝臓等における内因性ホルモンの代謝、特にその解毒過程に影響する物質もみかけ上は内分泌かく乱物質として作用するため、内分泌かく乱物質と呼ばれるものの中にはメカニズムの異なる全く異質な物質が含まれることが挙げられる。さらに、被験物質の発がん性を低用量でも確実に検出し得る高感度の *in vivo* 実験系がこれまでなかったこともその

他の大きな理由と考えられる。しかし近年、種々のトランスジェニック動物を用いた高感度発がん検出モデルが開発されており、特に問題となる低用量域での影響を明らかにできる可能性がでてきている。植物性エストロゲンによる増殖関連遺伝子や細胞周期関連遺伝子の調節制御に関する分子生物学的研究も盛んになってきており、メカニズムの理解不足に由来する不確実性の究明に貢献できるものと期待されている。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mori, H., Tanakamaru, Z. and Nishikawa, A.: Effects of protocatechuic acid, S-methylmethanethiosulfonate or 5-hydroxy-4-(2-phenyl-(E)-ethenyl)-2(5H)-furanone (KYN-54) on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced pulmonary carcinogenesis in mice. *Cancer Lett.* (in press)
- 2) Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I.-S., Kasahara, K., Tanakamaru, Z., Nakamura, H., Miyauchi, M., Kinae, N. and Hirose, M.: Promoting effects of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Res.* (in press)
- 3) Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Tanakamaru, Z., Miyauchi, M., Nakamura, H., Ikeda, T., Imazawa, T. and Hirose, M.: Failure of phenethyl isothiocyanate to inhibit hamster tumorigenesis induced by N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine when

- given during the post-initiation phase. *Cancer Lett.* (in press)
- 4) Ikezaki, S., Nishikawa, A., Furukawa, F., Tanakamaru, Z., Mori, H. and Hirose, M.: Influence of long-term administration of 24R, 25-dihydroxyvitamin D₃, a vitamin D₃ derivative, in rats. *J. Toxicol. Sci.* (in press)
 - 5) Chung, F.-L., Nath, R.G., Nagao, M., Nishikawa, A., Zhou, G.-D., Randerath, K.: Endogenous formation and significance of 1,N²-propanodeoxyguanosine adducts. *Mutat. Res.* (in press)
 - 6) Furukawa, F., Nishikawa, A., Kasahara, K., Lee, I.-S., Wakabayashi, K., Takahashi, M. and Hirose, M.: Inhibition by β -carotene of upper respiratory tumorigenesis in hamsters receiving diethylnitrosamine followed by cigarette smoke exposure. *J. Jpn. Cancer Res.* 90: 154-161, 1999.
 - 7) Kasahara, K., Nishikawa, A., Furukawa, F., Ikezaki, S., Tanakamaru, Z., Takagi, H., Ikeda, T., Imazawa, T., Takahashi, M.: Suppressive effects of josamycin on the development of altered liver cell foci and chronic nephropathy in a carcinogenicity study. *Fd. Chem. Toxic.* 37: 61-67, 1999.
 - 8) Wang, X., Suzuki, T., Itoh, T., Honma, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Takahashi, M., Hayashi, M., Kato, T., Sofuni, T.: Specific mutational spectrum of dimethylnitrosamine in the *lacI* transgene of Big Blue C57BL/6 mice. *Mutagenesis* 13: 625-630, 1998.
 - 9) Furukawa, F., Nishikawa, A., Imazawa, T., Kasahara, K., Takahashi, M.: Enhancing effects of quinacrine on development of hepatopancreatic lesions in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-treated hamsters. *Jpn. J. Cancer Res.* 89: 131-136, 1998.
 - 10) Yamazaki, Furukawa, F., Nishikawa, A., Takahashi, M., Oka, S.: Histochemical study on enzyme stereoselectivity for esterase in hamster normal pancreas and pancreatic tubular adenocarcinoma. *Biotech. Histochem.* 73: 23-31, 1998.
 - 11) Hori, T., Wanibuchi, H., Yano, Y., Otani, S., Nishikawa, A., Osugi, H., Kinoshita, H., Fukushima, S.: Epithelial cell proliferation in the digestive tract induced by space restriction and water-immersion stress. *Cancer Lett.* 125: 141-148, 1998.
 - 12) Mori, H., Nishikawa, A.: Naturally occurring organosulfur compounds as potential anticarcinogens. In: Ioannides, C. ed. *Nutrition and Chemical Toxicology.* John Wiley & Sons, Sussex, 285-299, 1998.
 - 13) Nishikawa, A., Tanakamaru, Z., Furukawa, F., Lee, I.-S., Kasahara, K., Ikezaki, S., Takahashi, M.: Chemopreventive activity of oltipraz against induction of glandular stomach carcinogenesis in rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis* 19: 365-368, 1998.

2. 学会発表

- 1) Takahashi, M., Furukawa, F., Nishikawa, A., Wakabayashi, K.: Dose-dependent inhibition of β -carotene of upper respiratory tumorigenesis in hamsters receiving diethylnitrosamine followed by cigarette smoke exposure. 4th AACR/JCA Joint Conference "Molecular Biology of Cancer: Implication for Prevention and Therapy", 1998.
- 2) 古川文夫, 西川秋佳, 笠原健一郎, 北浦 敬介, 内田浩二, 泉啓介, 高橋道人: 老齡LECラットおよびF344ラットの脂質過酸化生成物の免疫組織化学的検討. 第14回日本毒性病理学会, 1998.
- 3) 笠原健一郎, 古川文夫, 西川秋佳, 李仁善, 高橋道人: p53 ノックアウトマウスの MNNG 投与による発がん性の検討. 第14回日本毒性病理学会, 1998.
- 4) 今沢孝喜, 三森国敏, 小野寺博志, 竹川 潔, 西川秋佳, 池田尚子, 高橋道人: Thiram の長期反復投与ラットに発現した神経毒性変化の超微形態学的解析. 第14回日本毒性病理学会, 1998.
- 5) 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 田中丸善洋, 池崎信一郎, 今沢孝喜, 李仁善, 谷所達幸, 木苗直秀, 高橋道人: ラット二段階胃発癌モデルにおける水道水中の変異原性物質 MX の影響. 第14回日本毒性病理学会, 1998.
- 6) Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Suzuki, T., Hayashi, M., Sofuni, T., Takahashi, M.: Detection of in vivo mutagenicity of MeIQx using lacI transgenic mice. 7th International Conference on Carcinogenic/Mutagenic N-substituted Aryl Compounds, 1998.
- 7) Kasahara, K., Furukawa, F., Nishikawa, A., Tanakamaru, Z., Mori, I., Takahashi, M.: Aberrant crypt foci in the rat colon induced by MeIQx: in comparison with spontaneous focal lesions, 7th International Conference on Carcinogenic/Mutagenic N-substituted Aryl Compounds, 1998.
- 8) 木苗直秀, 谷所達幸, 今村希美, 古郡三千代, 下位香代子, 西川秋佳, 高橋道人: 水道水中の強力な変異原性物質 MX の二段階発がん性, 第32回日本水環境学会, 1998.
- 9) 西川秋佳, 古川文夫, 広瀬雅雄, 高橋道人: 胃発がん修飾因子の探索に関する実験的検討, 第9回消化器癌発生学会, ラウンドテーブルディスカッション, 1998.
- 10) Koide, A., Fuwa, K., Mori, Y., Furukawa, F., Hirose, M., Nishikawa, A.: Effect of cigarette smoke on mutagenic activation of environmental carcinogens by rodent liver, 3rd International Conference on Environmental Mutagens in Human Populations, 1998.
- 11) Furukawa, F., Nishikawa, A., Kasahara, K., Uchida, K., Takahashi, M.: Involvement of lipid peroxidation in spontaneous pancreatitis on WBN/Kob rats, 8th International Association of Pancreatology, 1998.
- 12) Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Imazawa, T., Takahashi, M.: specific inhibition by PEITC of initiation phase of BOP-pancreatic tumorigenesis in the hamster, 8th International Association of Pancreatology, 1998.

- 13) 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 今沢孝喜, 李仁善, 木苗直秀, 高橋道人, 広瀬雅雄: 変異原性物質MXによるラット腺胃発癌の促進, 第57回日本癌学会総会, 1998.
- 14) 古川文夫, 西川秋佳, 笠原健一郎, 李仁善, 高橋道人, 広瀬雅雄: ハムスターBOP 膵発癌イニシエーションに対するoltiprazの影響, 第57回日本癌学会総会, 1998.
- 15) 今沢孝喜, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 池田尚子, 高橋道人, 広瀬雅雄: クチナシ青色素のF344ラットにおける癌原性試験, 第57回日本癌学会総会, 1998.
- 16) 池田尚子, 今沢孝喜, 西川秋佳, 笠原健一郎, 木村修一, 広瀬雅雄: 大豆食で起こるラット甲状腺腫瘍の発現機序に関する検討, 第57回日本癌学会総会, 1998.
- 17) 笠原健一郎, 西川秋佳, 古川文夫, 李仁善, 今沢孝喜, 高橋道人, 広瀬雅雄: ハムスターBOP 発癌ポストイニシエーションにおけるPEITCの影響, 第57回日本癌学会総会, 1998.
- 18) 松永研吾, 西川秋佳, 山田泰広, 川端邦裕, 杉江茂幸, 森秀樹: NNK 誘発マウス肺発癌におけるS-methylmethane thiosulfonate (MMTS), protocatechuic acid, KYN-54の修飾作用, 第57回日本癌学会総会, 1998.
- 19) 堀高明, 市原敏夫, 森村圭一郎, 鰐淵英機, 西川秋佳, 福島昭治: ラット食道発癌におけるエタノール摂取の影響, 第57回日本癌学会総会, 1998.
- 20) 李仁善, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 金秀彦: 生薬Selaginella tamariscinaのp53遺伝子発現, G1停止および胃粘膜上皮細胞増殖に及ぼす影響, 第57回日本癌学会総会, 1998.
- 21) 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 高橋道人, 広瀬雅雄: BOP 誘発 DNA 障害に対するPEITCの抑制効果, 第5回日本がん予防研究会, 1998.
- 22) 古川文夫, 笠原健一郎, 西川秋佳, 高橋道人, 広瀬雅雄: ハムスターBOP 膵発癌イニシエーション期におけるPEITCの影響, 第5回日本がん予防研究会, 1998.
- 23) 古川文夫, 西川秋佳, 笠原健一郎, 千原猛, 新保寛, 別府秀彦, 葛谷博磁, 広瀬雅雄: ハムスターBOP 膵発癌に及ぼすキダチアロエの影響, 第15回日本毒性病理学会, 1999.
- 24) 笠原健一郎, 西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 田中丸善洋, 李仁善, 今沢孝喜, 高橋道人, 広瀬雅雄: ジョサマイシンのラットへの52週間投与による組織学的変化, 第15回日本毒性病理学会, 1999.
- 25) 今沢孝喜, 池田尚子, 西川秋佳, 笠原健一郎, 木村修一, 広瀬雅雄: 大豆食で惹起されるラット甲状腺および下垂体の超微形態学的変化, 第15回日本毒性病理学会, 1999.
- 26) 高木久宜, 三森国敏, 西川秋佳, 小野寺博志, 古川文夫, 安原加壽雄, 笠原健一郎, 広瀬雅雄: p53 ノックアウト(ヘテロ欠損) CBA マウスにおけるN-methyl-N-nitrosourea (MNU)の発癌感受性, 第15回日本毒性病理学会, 1999.
- 27) 中村英明, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 宮内慎, 高橋道人, 広瀬雅雄: 新生児マウス二段階発癌モデルによるPhIPのリスク評価, 第15回日本毒性病理学会, 1999.
- 28) 宮内慎, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 中村英明, 高橋道人, 広瀬雅雄: 新生児マウス二段階発癌モデルによる

MeIQx のリスク評価, 第 15 回日本毒性病 理学会, 1999.

植物エストロゲン物質によるリスク・ベネフィットと不確実性の解析 (平成 11 年度、関澤)

A 研究目的

(1) 日本人が多量に摂取している大豆中のイソフラボンは植物エストロゲンといわれ乳がんを抑制する可能性などが指摘されているが、日本人女性の生理機能に及ぼす大豆イソフラボンの影響について詳しく検討した例は少ない。

(2) 女子大生に、日常生活、大豆摂取を含む食生活、女性ホルモンに関係する疾病歴等のアンケート調査を行う。大豆エストロゲンの摂取を含むこれら要因と、女性の健康の関連性を検討し、エストロゲン活性を持つ物質の摂取が健康に及ぼす影響の評価における不確実性要因の解明を目的とする。

B 研究方法

(1) アンケートは、都内短期大学女子学生 365 名を対象として、1999 年 11 月に行った。249 名から回答を回収 (回収率 68.2%) した。

(2) アンケートの方法は、プライバシーに関わる項目もあるため、インフォームド・コンセント (添付 1) を採り無記名とし、解析はコード化して行った。

(3) アンケート項目は、以下のとおりである (アンケート調査用紙は、添付 2 を参照)。

日常生活に関する項目：

年齢、居住地、家族構成、サークル・アルバイト・スポーツ実施状況、喫煙の有無と量、飲酒量、睡眠時間

食生活に関する項目：

各種食品の摂取量、大豆製品の摂取量と摂取頻度、食事の規則性、主食・動物性脂肪・緑黄色野菜の摂取量、栄養バランスの配慮

健康状態に関する項目：

身長、体重、女性ホルモン関連疾病歴、現在の疾病、処方中の薬剤・栄養剤、便秘、ダイエット経験、ストレス、過労、初潮、生理の規則性、月経前症候群、生理の様子、貧血、ピル・妊娠、家族の女性ホルモン関係疾病歴

(3) 集計は Microsoft Excel を用いて行い、必要に応じてカイ自乗検定により独立性の検定を行った。

C 研究結果

(1) 環境ホルモン物質による人の健康への影響がひとつの関心を集めている。関澤ら (1999) は外界から摂取するエストロゲン物質のうち日本人の健康に影響を与えている可能性がもっとも高いと考えられる食品中の植物エストロゲン、とりわけ大豆中のイソフラボノイド (Genistein, Daidzein) の摂取量と血中濃度が日本人の健康にさまざまな影響を及ぼしていると考えて良いレベルであることを報告した。

(2) そこで女性の生理に大豆製品の摂取がどのような影響を実際に及ぼしているかを検証するために、都内の女子短期大学生 365 名を対象 (回収率 68.2%) に日常生活、食生活、女性ホルモン関連疾病歴などについてアンケート調査を行った。

(3) 以下の結果を得た。

(A) 大豆摂取頻度が少ない人ほど不正出血や経血量異常が多い傾向が見られた(図1、2)。

(B) 大豆摂取頻度の高い人と低い人の間で貧血の有無に差が見られたが、明瞭な並行関係は見られなかった(図3)。

(C) 食事摂取の規則性は生理の規則性には影響を及ぼしていないようであった(図4)。

(D) 貧血の有無に関しては、喫煙や睡眠時間が大きく影響していると推察された(図5、6)。

D 考察

(1) 生理の順調さに関する傾向が大豆製品摂取による効果であるか否かを摂取量についてのアンケート回答などとも照らして詳細に検証する予定である。

(2) 今回の調査では、大豆製品とその他の食品摂取量の目安、生理時の症状、女性ホルモン関連の既往歴なども調査したのでこれらデータ、また個別の人についてデータ間の関連性の解析を進める。

(3) 日本人の平均摂取量程度の大豆イソフラボノイドにより女性の生理周期の永さが⁶⁾ 変化するという報告(Cassidy ら, 1995; Watanabe ら, 印刷中)があるので、今回の調査結果から類似の傾向が見られるか検討する。

E 結論

(1) 女子大生を対象に大豆製品を含む食事の内容、日常生活、健康状態に関するアンケート調査を行い、大豆製品の摂取量の多寡が女性の生理の順調さと並行関係にあることを示唆する結果を得た。さらに詳細な検討を加えて、食

生活と女性の健康の関連、大豆エストロゲンによる影響評価における不確実性要因を解明する必要がある。

(2) 更年期以降の女性においては大豆摂取が骨粗鬆症や更年期障害を防止するのではないかと期待されている。女性の健康と大豆食品摂取の関係をさらに詳しく解明するために、更年期女性へのアンケート調査およびイソフラボノイドを摂取した期間とそうでない期間の生理的な違いの疫学調査を計画している。

引用文献

- 1) 関澤 純、大屋幸江 (1999) 植物エストロゲン物質の日本人の健康への定量的リスク・ベネフィット解析, 日本リスク研究学会誌, 11(1) 75-82
- 2) Cassidy ら(1995) Biological effects of isoflavones in young women, Brit.J.Med.,74, 587-
- 3) Watanabe ら:Effects of isoflavone supplement on healthy women, Biomarker, 印刷中

F 研究発表

1 論文発表

関澤 純、大屋幸江 (1999) 植物エストロゲン物質の日本人の健康への定量的リスク・ベネフィット解析, 日本リスク研究学会誌, 11(1) 75-82

2 学会発表

関澤 純、石渡尚子 (2000) 大豆イソフラボン摂取が女性の生理機能に及ぼす影響について、日本農芸化学会2000年大会講演要旨集、85

G 知的所有権の取得状況

なし

大豆エストロゲン物質の更年期前後の女性へ及ぼす影響に関する研究

(平成 12 年度、石渡・関澤)

A. 研究目的

現在の日本人の大豆イソフラボノイドの平均的摂取レベル(ゲニステインとダイゼインの合計で一日あたり 20-40 mg)と血中濃度は、臨床および疫学的な知見に照らして乳癌抑制を含むベネフィシャルな影響を与えるのに十分なレベルであることをすでに示した。女子大生を対象とした大豆製品摂取を含む食生活と女性の生理の関連に関する調査の結果、大豆摂取が少ない人ほど不正出血や経血量異常が多い傾向が見られたが、喫煙の有無や睡眠不足などが生理不順により大きく寄与している可能性が示唆された。日本人は欧米人に比べて大豆製品の摂取が多いため、更年期障害が軽く、骨密度の低下も少ないとする疫学研究がある。本研究は閉経前後の女性にフィトエストロゲンに富む大豆胚軸由来のタブレットを投与し、骨密度、一般生化学検査値、更年期障害などへの影響の有無を明らかにすることにした。なお本研究は東京農業大学大学院 渡邊昌教授(医師、

医学博士)の協力を得て行った。

B. 研究方法

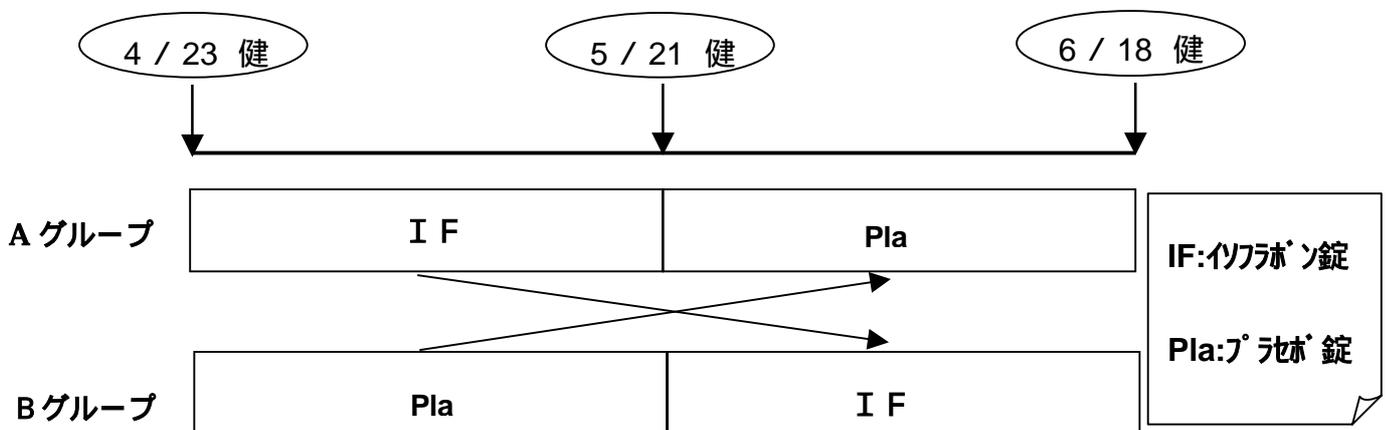
[対象者]

対象者は、この調査の目的・方法を説明した上で同意の得られた千葉県在住の閉経期女性66名である。計画書は国立薬品食品安全研究所および東京農業大学の倫理委員会に提出、承諾をえた。今回分析に供したのはデータがそろった58名とした。58名の内訳は千葉地域36人、四街道地域22人の計58名(平均年齢 58 ± 7.3 歳)である。

58名のうち、錠剤摂取の記録用紙より毎日定量の錠剤摂取を行ったことが確認できた45人を集計対象とした。

[調査方法]

調査は、下記のようにランダム化クロスオーバー・デザインにより、千葉県において4月23日から6月18日までの約2か月間行った。



イソフラボン錠服用の有無による生体への影響の相違を検討するため、調査を始める前、調査開始1ヶ月後、錠剤の種類を交換した1ヶ月後の計3回の健康診断を行った。健康診断時には血液検査や尿検査、骨密度の測定などを行った。Aグループ、Bグループとして調査前半1ヶ月間は、以下のように行った。

Aグループ:イソフラボン錠剤を毎日20錠(イソフラボン量にして40mg/Day)服用

Bグループ:プラセボ錠(イソフラボンの偽錠剤)をAグループと同様に毎日20錠服用
なおイソフラボン錠摂取の有無による生体への影響を検討するために、調査中は大豆食品摂取の上限を定め、大豆製品摂取による食事由来のイソフラボン摂取量を上限20mgとなるようにした。

大豆製品の摂取の目安は「錠剤及び大豆製品摂取記録表」にて対象者に示した。

以下は、イソフラボン量にして10mgを含む食品の例である。

豆腐 20g	がんもどき 20g	納豆 10g
きな粉 5g	枝豆 80g	味噌汁(ただし大豆製品が具ではない場合) 2杯

次の1ヶ月間は、調査前半の錠剤内容をAグループとBグループで交換し、前半同様にそれぞれの錠剤を服用してもらった。又、誘導等による精神的な要因を除くためにdouble blindとした(2重盲検法)。

[イソフラボン錠剤の成分値]

100gあたりエネルギー 384Kcal、そのうち炭水化物 93.3%、たんぱく質 3.5%、脂質

0.1%、灰分 1% 含まれている。1g中には、Daidzein 43.5mg、Glycitein 24mg、Genistein 6mgが含まれている。錠剤1錠の中には、1.7mgのIsoflavoneが含まれている Supplement(不二製油株式会社製)を使用した。

[調査項目]

錠剤及び大豆食品摂取状況記録表

対象者の方には、錠剤(イソフラボン錠もしくはプラセボ錠)の服用記録と、大豆食品(納豆、味噌、豆腐、大豆煮豆など)の摂取状況の記録を毎日つけていただいた。聞き取り時に、この記録表にて錠剤の摂取状況を確認した。

「女性の健康と食生活」アンケート

自記式アンケート質問表を用いて調査を行い、現在の健康状態、喫煙、飲酒、食生活、生活習慣、生理・妊娠・更年期症状の有無や程度などのライフスタイルについての情報を収集した。調査前の説明会時に記入方法等の説明を行い、調査開始時の第1回健康診断時に回収し、記入不備や不明な点については同日の聞き取り時に本人に対して確認を行った。調査開始1ヶ月後の第2回健康診断時、調査終了時の第3回健康診断時にも事前に配布した同様のアンケートの回収を行い、聞き取りによって本人に内容の確認を行った。

血液検査

健康診断日に、空腹時採血を行った。採血管は、ベノジェクト 真空採血管[EDTA- 2

K(2ml)、プレイン(7ml)、ヘパリンナトリウム(5ml)テルモ株式会社]、NK測定用採血管(SRL)で行った。

ビン(Hb)、ヘマトクリット(HT)、MCV、MCH、MCHC、PLT

(2) 一般生化学検査

中性脂肪(TG)、総コレステロール(TC)、HDLコレステロール(HDL-C)、グルタミン酸オキザロアセチクトランスアミナーゼ(GOT)、グルクタミンピルビクトランスアミラーゼ(GPT)、 γ -GTP

(3) リンパ球の表面マーカー:(CD3、CD4、CD8、CD4/CD8比、CD56、CD19)

(4) NK活性(K562細胞を標的細胞とした⁵¹Cr遊離法)

(5) 血中オステオカルシン

尿検査

対象者から検診当日の早朝第1尿を採取した。採尿管はファルコンチューブ(50ml)を使用した。当日、PH、糖・たんぱく、潜血の有無を調べた。その後検体は-80℃に冷凍保存した。骨代謝マーカーであるデオキシピリジノリンを測定するために、この凍結尿を解凍し測定に使用した。

骨密度: 骨密度の測定は、「前腕骨DXA(dual energy X-ray absorptiometry)で骨密度測定装置DCS-600EX-型(アロカ株式会社)によって行った。

身体測定: 身長、体重、体脂肪量、体脂肪率(TANITA 体内脂肪計 TBF-110/210) 血圧、脈拍(OMURON 血圧計)

測定項目は以下ようになる。

(1) 一般成分検査

赤血球数(RBC)、白血球数(WBC)、ヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット(HT)、MCV、MCH、MCHC、PLT
BMI: 求めた身長・体重からBMIを算出した。BMIの算出式は以下の通りである。

$$\text{BMI} = \text{体重(kg)} / \{\text{身長(m)}\}^2$$

[統計方法]

データ解析にはPC版SPSS統計パッケージVer.10.0を用い、算出した数値は、中央値で示した。統計方法として、2群間の比較検定にはMann-Whitney検定とT検定、2変量間の関連性を検討するためPearsonの単相関係数を算出した。

C. 研究結果

対象者の基本統計量として、生化学検査結果を含めた身体状況は表1と2にそれぞれ示した。イソフラボン摂取量(図1)を見ると、イソフラボン錠摂取後群の総イソフラボン摂取量は平均53.90mg/Day/人(内、錠剤由来のイソフラボン摂取量は36.83mg/Day/人)で、プラセボ錠摂取後群の総イソフラボン摂取量は平均14.98mg/Day/人であった。

C-1 イソフラボン錠摂取によるBMI、体脂肪、血液脂質検査結果との比較

イソフラボン錠を摂取することによってBMI、体脂肪、血液データ(HDL-コレステロール、中性脂肪、総コレステロール)にどのような影響があるかを調査前、イソフラボン錠摂取後、プラセボ錠摂取後の3つのグループ間で見たが、有意差は見られなかった。なお、ここでいう値は中央値のことである(図2)。

< BMI、体脂肪 >

調査前の対象者の特性を見ると、BMI の中央値は 22.5 で適正範囲内であった。一方、体脂肪率は 28.1% で基準値より高く全体的に肥満傾向であった。イソフラボン摂取後の値は、BMI、体脂肪ともにグループ間での変動は特に見られなかった。

< HDL-コレステロール、中性脂肪、総コレステロール >

まず、調査前の対象者の状態は HDL-コレステロール（以下 HDL-Cho とする）の値で 64.0mg/dl 中性脂肪（TG）の値は 103.5mg/dl であり、HDL-Cho と TG は基準値の範囲内であった。総コレステロール（以下、総 Cho とする）は 222.5mg/dl となり、基準値をやや過ぎていた。イソフラボン摂取後の HDL-Cho では、調査前とではほぼ変化は見られなかったが、プラセボ錠摂取後より上回った。

TG の値は調査前、イソフラボン錠摂取後、プラセボ錠摂取後の順に少しずつ高くなった。いずれも基準値の範囲内での変動であった。総 Cho の値は、TG と同様に調査前、イソフラボン錠摂取後、プラセボ錠摂取後の順に上昇し、基準値より少しずつ上昇した。

C-2 イソフラボン錠摂取によるリンパ球表面マーカーの変化

イソフラボン錠を摂取することによって血液検査データの表面マーカーと NK 活性にどのような影響があるかを調査前、イソフラボン錠摂取後、プラセボ錠摂取後の 3 つのグループ間で見た。NK 活性について検定を行ったところ、調査前とイソフラボン錠摂取

後、調査前とプラセボ錠摂取後の 2 組は検定で有意差が得られたが、イソフラボン錠摂取後とプラセボ錠摂取後の間で有意差は見られなかった。

また、NK 活性以外には有意差が見られず、値にも差が見られなかった(図 3)。

免疫マーカーについては正常値や検査当日の身体状況の反映など、不明な点が多いのでなお検討を要する。

C-3 イソフラボン錠摂取による骨密度及び骨代謝マーカーの影響

イソフラボン錠を摂取したことによって骨密度及び骨代謝マーカーにどのような影響があるかを検討した(図 4)。骨密度及び骨代謝マーカーについてイソフラボン錠摂取後、プラセボ錠摂取後の 3 群間の比較検定を行ったところ、有意差は見られなかった。骨密度においてはほとんど値に差はみられなかった。しかし、骨代謝マーカーには 3 群間で値の変動が見られた。Dpd 濃度では、イソフラボン錠摂取後の値が 3.04 (nM/mM クレアチン) となり、調査前の 3.50 (nM/mM クレアチン) より減少している。しかし、Placebo 錠摂取後の値も 2.85 (nM/mM クレアチン) となり、イソフラボン錠摂取後よりも減少の程度が著しかった。OC 濃度については、イソフラボン錠摂取後の値が調査前とプラセボ錠摂取後よりわずかに上回っていた。

C-4 イソフラボン錠摂取と骨密度及び骨代謝マーカーに及ぼす因子の影響

イソフラボン錠摂取による骨密度および骨代謝マーカーの影響を閉経の有無、年齢階級、生活活動強度、喫煙の有無、という 4 つ

の因子別に見た。

年齢階級別 (図5)

年齢階級別にイソフラボン錠摂取による骨密度及び骨代謝マーカーへの影響を見ると、いずれの年代でも有意差は認められなかった。骨密度においてはどの階級もほとんど値に変動が見られなかったが、骨代謝マーカーにおいては50代以降の年齢階級において意義深い結果が得られた。50年代のものにおいては、Dpd濃度は調査前、イソフラボン錠摂取後、Placebo錠摂取後の順に減少し、OC濃度のイソフラボン錠摂取後の値は調査前とPlacebo錠摂取後より著しく上昇した。60歳代のものにおいてイソフラボン錠摂取後の値は、骨密度では調査前とプラセボ錠摂取後よりも上回り、Dpd濃度では調査前より著しく低下傾向を示し、Placebo錠摂取後のOC濃度は減少傾向となり、閉経群とは全く逆の結果になった。

生活活動強度 (図7)

対象者を生活活動強度別に低い(n=30)、やや低い(n=21)、適度(n=4)の3つのグループに分けた。生活活動強度別にイソフラボン錠摂取による骨密度及び骨代謝マーカーへの影響を見ると、有意差は認められなかったものの、活動強度が適度のものにおいてはイソフラボン錠摂取後の骨密度の増加が見られた。又、血中オステオカルシン濃度の著しい上昇も見られた。活動強度が「低い(群)」及び「やや低い(群)」の2群においては、骨密度の増加やOC濃度の上昇は認められなかったが、Dpd濃度はイソフラボン錠摂取によって著しく低下した。

濃度を下回った。最後に70歳代のものにおいてイソフラボン錠摂取後の値は調査前とPlacebo錠摂取後の値と比べてDpd濃度では下回り、OC濃度では著しく上回った。

閉経 (図6)

対象者58人において、未閉経のものは13名、閉経しているものは45名であった。閉経の有無で未閉経群と閉経群に分け比較検討したところ、有意差はなかったが閉経群の方で以下のような結果が得られた。

骨密度ではイソフラボン錠摂取後の値が調査前とPlacebo錠摂取に比べてわずかに高い値を示した。又、Dpd濃度は低下傾向で、OC濃度は上昇傾向を示した。未閉経群では、イソフラボン錠摂取後の骨密度の値はわずかに上昇傾向を示したが、Dpd濃度は上昇し、

喫煙の有無 (図8)

喫煙の有無によって、イソフラボン錠摂取が骨密度及び骨代謝マーカーにどう影響するかを見た。非喫煙群において骨密度に変動はほとんど見られず、Dpd濃度では調査前よりイソフラボン錠摂取後の値は減少したが、Placebo錠の値が更に下回った。また、OC濃度では調査前、イソフラボン錠摂取後、Placebo錠摂取後の順に値が下がった。非喫煙群ではイソフラボンによる影響はあまり見られなかったが、喫煙群において値の変動がやや見られた。具体的には、骨密度においてイソフラボン錠摂取後の値は調査前とプラセボ錠摂取後よりわずかに上回った。Dpd濃度においては、イソフラボン錠摂取後の値は調査前とプラセボ錠摂取後より著し

い減少傾向であった。OC 濃度においても、Dpd と同様にイソフラボン錠摂取後の値が3群間で最も低い値を示した。

D. 考察

D-1 イソフラボン錠摂取による BMI、体脂肪、血液脂質検査結果への影響

調査前の対象者の状況を見ると、BMI は適正範囲にあったが、体脂肪率が基準値を上回ったことから全体的に隠れ肥満傾向であった。イソフラボン錠摂取によって体脂肪にどのような影響を及ぼすかを調査前、イソフラボン錠摂取後、プラセボ錠摂取後の3つのグループ間で測定値の増減を見た。単純にグループ間での比較では BMI、体脂肪の測定値に変動は見られず、イソフラボン錠摂取による影響は見られなかった。血あるため、必ずしもイソフラボン錠の効果がないとは断定できない。また、今回の対象者は閉経期の女性ということを考えると、結果にエストロゲンの減少も関係してくる。エストロゲンは総 Cho を低下させ、HDL-Cho を上昇させることにより脂質代謝に対して良好な効果を示す。閉経や卵巣摘出(卵摘)などの卵巣機能廃絶による急激な卵巣性ステロイド、ことにエストロゲンの減少が脂質代謝異常をもたらすことが知られており、閉経後女性における動脈硬化等の循環器系疾患管理においてはエストロゲン欠乏状態に対する認識を深めておく必要がある。Notelovitz ら卵摘後の女性を age-matched control の有経婦人と比較し、総 Cho は9%増加、TG は7%増加、HDL-Cho は27%増加すると報告している⁽¹⁾。家森ら

液の脂質成分では、イソフラボン摂取後の HDL-Cho の値が適正範囲内で増加したことから、イソフラボンは動脈硬化を防止させる HDL-Cho の増加に貢献すると考えられた。

また、イソフラボン錠摂取後の TG と総 Cho の上昇により、イソフラボン錠の服用が有用な効果をもたらしていないと考えられる。しかし、食品摂取状況を見ると、特に油脂類と獣鳥鯨肉類の摂取量に個人差がみられた。そのような食品の摂取量の相違も考慮すると、結果だけから「閉経後の女性においてイソフラボン錠摂取によって体脂肪の軽減がはかれるのではないか」と安易に考えるのは難しい。

この調査は調査前、イソフラボン錠摂取後、Placebo 錠摂取後の3つのグループでの比較であったが、時期や食物摂取状況等に差はあるものの、対象者が同一人物で⁽²⁾が行った沖縄住民とハワイ(ヒロ)やブラジル(サンパウロ、カンボグランデ)に移民した日系人の比較調査によると、高血圧、高脂血症、肥満、糖尿病傾向を示すリスクの高い日系人に1日3gのDHA、5gのわかめ粉末、50mgの大豆のイソフラボンを10週間にわたって投与したところ、血清コレステロールの低下が認められたという。

D-2 イソフラボン錠摂取による骨密度および骨密度マーカーへの影響

骨代謝マーカーの Dpd や OC は現在の骨の指標を示し、骨密度は過去の骨指標を示す。骨密度の結果をみると、生活活動強度 群と群でプラセボ錠摂取後の方がイソフラボン錠摂取後よりわずかに高い値を示しているが、これはイソフラボン錠の効果が遅れ、

プラセボ錠摂取後に変化があらわれたと考えられるので、結果から「イソフラボン錠摂取によって骨密度増加に効果がない」とは言いきれない。骨代謝マーカーの結果を見ると、活動強度 群において活動強度が適度のものにおいてはイソフラボン錠摂取後に骨密度増加が見られ、OC 濃度の著しい上昇も見られた。活動強度が 群及び 群の2群においては、骨密度の増加やOC 濃度の上昇は認められなかったが、Dpd 濃度はイソフラボン錠摂取によって著しく低下した。この結果から、「 群においては、イソフラボン錠摂取によって尿中 Dpd 濃度と血中 OC 濃度の上昇を導く。したがって、骨吸収が亢進し、その後骨形成が亢進し、骨代謝回転が亢進する」と「 群においては、イソフラボン錠摂取によって Dpd 濃度の低下、つまり、骨吸収を抑制させて骨量の減少を緩慢にする」と2つのことが考えられた。

Notelonitz⁽³⁾によると、閉経直後においては運動負荷のみでは骨密度減少を完全に予防することは困難であると報告している。運動は骨密度増加よりもむしろ筋肉増強やそれに伴う運動能力の改善、骨粗鬆症による腰背部筋などの臨床症状の改善のために重要⁽⁴⁾となってくると考えられる。

E. 結論

今回の調査では、対象者人数が少なく、条件により更に人数を絞ったことや因子別にグループ分けした際にグループ間の人数に差があったこともあって有意差はほとんど得られなかった。そして、クロスオーバーすることによってイソフラボン錠を摂取した時期によるデータの差、特に最初にイソフラ

ボン錠を摂取した人は Placebo 錠を摂取した時期にイソフラボン錠の効果が遅れて現れた可能性がある。また、調査対象者はアンケートで既往歴ありと回答したものが全体の 75.9%と多かった。既往歴の中でも、子宮筋腫が全体の 22.4%であり、高血圧 25.9%に次いで多い。

イソフラボンの効果は骨粗鬆症、心疾患、乳癌や前立腺がん等の生活習慣病を予防に貢献することが様々な研究で明らかにされつつあるものの、多くの要因が複雑に絡んでいるため不明な点が未だ多い。また、イソフラボンは先でも述べたようにエストロゲン様作用を示し、生体内においてエストロゲンに対する拮抗、血栓予防、破骨細胞活性化抑制などの面で機能的に作用している。しかし、その多くは動物実験または細胞レベルでの結果に支持されたものである。ヒトでの研究は、閉経後女性に対するイソフラボンもしくは大豆たん白質摂取の介入試験によるものが多く、コホート研究での日常のイソフラボン摂取量と骨粗鬆症との関係を検討したものは少ない⁽⁵⁾。また、イソフラボンの活性は性ホルモンの1つである 17 β -Estradiol の約 1000 分の 1 から 10000 分の 1 であることから、ヒトが食事よりどれだけ摂取しているかが問題である。

これまでのことから、今後の調査では、いかにイソフラボンの効果を正確に検討していくために、対象者の特性を予め踏まえて調査の条件を設定していくことが課題である。

参考文献

- (1) 野崎雅裕 中野仁雄,閉経後女性と動脈硬化,医学のあゆみ,175 : 127-129,1995

- (2) 家森幸男 長寿と食事、寝たきりと痴呆を予防する知恵，現代の衣食同源，学会センター関西，大阪，40-90，1998
- (3) Notelovitz M.: J Bone Miner Res., 6: 583-590, 1991
- (4) Dalsky, G. P.: Ann. Int. Med;108: 824, 1988
- (5) 荒井裕介・上原万里子・大島菊枝・高田典子・君羅 満・渡邊 昌,大豆イソフラボンの骨密度および骨代謝に及ぼす影響,大豆たん白質研究,Vol.3,83,2000

F. 研究発表

1. 論文発表

石渡、関澤、渡邊：投稿準備中

2. 学会発表

G. 知的所有権の取得状況

1.特許 なし

2.実用新案登録 なし

3.その他 なし