

## 大豆イソフラボンの長期投与による骨密度への影響

加藤一彦\*<sup>1</sup>・末満ひろみ<sup>1</sup>・黄 力<sup>2</sup>・剛 勇<sup>2</sup>

<sup>1</sup>医療法人彦仁会かとうクリニック <sup>2</sup>中日友好医院

### Effect on Bone Density of Long-term Clinical Administration of Soy Isoflavone Tablet

Kazuhiko KATO<sup>1</sup>, Hiromi SUEMITSU<sup>1</sup>, Li FUANG<sup>2</sup> and Gang YOUNG<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kato Clinic, Komae 201-0012 <sup>2</sup>China-Japan Friendship Hospital, Beijing

#### ABSTRACT

The health benefits of soybean isoflavones gather recently much concern. While soy isoflavone is recognized as phytoestrogen that may affect bone metabolism, there were few clinical experiments reported. We examined preliminary clinical trial (Experiment 1) by 5 postmenopausal women who were outpatients of Kato Clinic in Komae, Japan. Each subject was given detailed informed consent, and agreed experimental protocol. Bone density, osteocalcin and bone-type alkaline phosphatase were measured 3 times (at start, 6 months and 1 year) with ingestion of 10 Isofla tablets/day that contained 10 mg soy isoflavone in total. As a result, bone density was maintained and osteocalcin and bone-type alkaline phosphatase were increased significantly. Other blood profiles were not changed but some improvement in motion was observed. In experiment 2, 20 Chinese outpatients in Beijing, China who were diagnosed as osteoporosis, and did not take any osteoporosis curative medicine such as calcareous preparation participated in this experiment. They were divided into two groups that matched age and gender, then were administered 10 tablets/day, which contained 2 mg isoflavone /tablet or placebo tablet. After 6-month ingestion, lumber spinal bone density was increased in Isofla group (initial,  $1.011 \pm 0.069$ ; 6 month,  $1.040 \pm 0.068$ ; change=3.07%), while slightly decreased in placebo group (initial,  $1.074 \pm 0.081$ ; 6 month,  $1.056 \pm 0.082$ ; change=-1.69%), although it had no significance. Plasma Ca and P were not changed from initial values and only alkaline phosphatase tended to increase in Isofla group. These data obtained from just 6 months to 1-year ingestion suggested that soy isoflavone might improve bone maintenance. To confirm these data, long-term follow-up is necessary. *Soy Protein*

\*〒201-0012 狛江市中和泉1-1-1

Key words : soy isoflavone, phytoestrogen, bone metabolism, bone density

閉経後の女性ホルモン減少により骨粗鬆症が起こることが知られているが、最近、女性ホルモンに似た分子構造を持ち、女性ホルモン様作用を有する可能性がある大豆イソフラボンに注目が集まっている<sup>1)</sup>。大豆には約0.2%程度大豆イソフラボンが含まれているが、胚軸にはとりわけ高濃度にイソフラボンが含有されることが知られている。大豆や大豆イソフラボンの骨代謝への影響に関する動物試験は数多く報告されており<sup>2-5)</sup>、その多くが骨密度や骨強度の増加効果を認めている。一方、大豆イソフラボンのヒトでの生理機能として、盛んに研究されているのは、がんに対する効果であり、生活習慣病と疾患の関係を調べた高山スタディー等からも、胃がんの発生率と大豆(豆腐)の摂取量との間に負の相関が認められており、その効果が期待されている。

もう一つの効果として、更年期障害の軽減であるが、この点についても「のぼせ」の軽減等の効果が報告されている<sup>6-9)</sup>。しかし、これらの報告は疫学調査の結果や大豆イソフラボンではなく、大豆たん白質を投与した結果であり、女性ホルモン様作用の重要な効果である骨粗鬆症へのヒトでの明確な効果が大豆イソフラボンで報告されている例は少ない。そこで、我々は大豆イソフラボンを大豆胚軸から抽出し、タブレット形態にした食品(イソフラ10)を5名の閉経後女性に投与し、骨代謝に及ぼす影響を調べると共に、この効果が同じアジア人でも見られるかどうかを確認するため、中日友好医院において、中国人の高齢男女に投与しその影響を調べた。

## 対象と方法

### 試験1

医療法人彦仁会かとうクリニックに通院可能な閉経後女性ボランティア5名(平均年齢57±3歳)を対象とした。事前にインフォームドコンセントを十分に行い、被験者の試験に対する理解と同意を得た上で、試験を開始した。被験者には大豆イソフラボン含有タブレット(「イソフラ10」、不二製油株式会社製;1粒当たり1mgの大豆イソフラボンを含有)を1日10錠(総イソフラボン10mg)を毎日摂取してもらい、試験前、半年後、および1年後の中手骨の骨塩量をCXD法により測定し、血中代謝マーカー(オステオカルシンと骨

型アルカリフォスファターゼ(ALP))の変化を調べた。同時に栄養調査も実施した。

### 試験2

イソフラボンタブレット服用効果の評価のため、中日友好医院で、2001年6月～2001年12月の6カ月間の観察を行った。当医院に通院する外来患者で、臨床検査および骨密度測定により原発性骨粗鬆症者と認められる者、および一部の低骨密度者を試験対象者とした。20名の対象者は平均年齢および性別比率が一致するように2群に分けた。イソフラ群10名(総イソフラボン量20mg/日、男3名、女7名、平均年齢65.4歳(62～69)、プラセボ群10名(男3名、女7名、平均年齢62.7歳(53～70))とした。被験者の選定に当たって、同性同年齢の平均骨密度に比較して、20%以上の低下が観察された場合を骨粗鬆症と判定し、甲状腺機能亢進症、骨軟化症、慢性疾患等を持った対象者は除外した。

### 試験方法

二重盲検法により実施し、イソフラボンタブレット1日10錠(朝夕各5錠)ないしはプラセボを摂取させた。骨密度測定はNorland社(米国)製超音波骨密度測定器を用い、第2～4腰椎を測定した。血液検査は血中Ca, P, ALPを測定し、血尿、肝機能、腎機能も調べた。

有意差の検定には、対応のある2群に関するt検定を用いた。

## 結 果

### 試験1

被験者5名は1年間、イソフラ10を摂取したが、途中脱落者はおらず、コンプライアンスは良好であった。また、血液性状には大きな変化はなく、患者聞き取り調査の結果、摂取期間中の異常は全く認められなかった。唯一、便通に変化が見られ、対象者5名全員で便通の改善や体調良好との変化が見られた。中手骨骨塩量は5名とも試験開始の値が維持され、閉経後に見られる骨塩量の低下は認められなかった。骨代謝マーカーであるオステオカルシンおよび骨型ALPでは、5名とも摂取前に比較して、有意な上昇が見られた(Table 1)。

### 試験2

大豆イソフラボンの骨密度に及ぼす影響を中国において検討するため、中日友好医院の通院患者20名を対象に試験を行った。被験者をイソフラ群10例、プラセ

ボ群10例に分け、摂取を開始した。その結果、Table 2に示したように、イソフラ群では10例中、7例で摂取後の骨密度が上昇した。また、血中Ca, P, ALPは、Table 3に示すようにイソフラ群では摂取期間後でやや上昇したが、顕著な変化ではなく、プラセボ群と同様であった。肝機能、腎機能、その他血液性状において、試験期間中の変動はなかった（データ未記載）。

## 考 察

今回の研究では、まず試験1で、大豆イソフラボンの骨粗鬆症に対する効果を閉経後の女性ボランティアを対象にして予備検討する目的で、大豆イソフラボンとして、10 mgを日常の食事に上乘せする条件を採用した。これは、疫学調査でがんの発症率が少なく、その発症率と豆腐（大豆イソフラボン）の摂取量と負の相関がある点に注目したものであり、全国平均がおよそ20 mg程度に対して、沖縄では30 mg程度と見られるイソフラボン摂取量の差、約10 mgを付加する条件を設定した。その結果、骨代謝マーカーは上昇し、骨粗鬆症の進展が示唆されたが、実際の骨塩量は維持され、むしろ数値的には高い例もあった。従って、1年間の摂取期間ではあるが、骨粗鬆症自体は進展しておらず、大豆イソフラボンの添加効果である可能性が示唆された。

さらに、アジア人での骨密度に及ぼす影響を調べるため、中国の20例の患者を対象として、イソフラ群10名、プラセボ群10名の二重盲検法による観察を行った。この試験において、腰椎骨密度において、各群の平均値の比較ではイソフラ群で、有意差は無いものの、初期値に対して平均値が上昇し、その上昇率は3.07%と一定の治療効果を示したと考えられる。一方、プラセボ群では上昇率が-1.69%となり、骨密度への影響はあまりなかったと言える。各群については、イソフラ群では10例中7例で、投薬後の骨密度の上昇が観察された。一方、プラセボ群では3例で上昇し、7例では減少が観察された。また、イソフラ群の中で、試験開始時に既に骨粗鬆症と確定診断された対象者において

Table 1. Change of bone metabolic markers and metacarpal bone density (BMD) in experiment 1

Sample	Osteocalcin (ng/mL)	ALP (U/L)	BMD (g/cm <sup>2</sup> )
at Start	3.24±0.59	21.68±1.73	2.584±0.119
6 month	5.34±0.41*	30.10±3.26*	2.638±0.121
1 year	6.06±0.77*	31.88±2.58*	2.602±0.123

Values are the mean ±SE (n=5), \*P<0.05 in comparison with start values.

Table 2. Change of lamber spinal bone mineral density (BMD) in exriment 2

Sample	BMD-pre (g/cm <sup>2</sup> )	BMD-after (g/cm <sup>2</sup> )	Difference	% change
Isofla	1.011±0.069	1.040±0.068	0.029	3.07
Placebo	1.072±0.080	1.056±0.082	-0.016	-1.69

Values are the mean ±SE (n=10).

Table 3. Change of blood Ca, P, and ALP in Experiment 2

Sample	Ca (mg/100 mL)	P(mg/100 mL)	ALP (IU/L)
Isofla	0.00±0.02	0.01±0.01	3.10±1.07
Placebo	-0.05±0.03	0.01±0.02	-1.90±0.95

Values are the mean ±SE (n=10).

は、摂取後の骨密度は増加していたが、骨密度正常者の多くでは骨密度の低下が観察され、男性での低下が多かった。このことから、大豆イソフラボンがホルモン代謝への影響を介して作用した可能性が窺えた。イソフラ群で骨密度の上昇が観察されたが、血中Ca, P, ALP濃度は顕著な増加は認められなかった点は、本試験における被験者が主に、原発性骨粗鬆症者であることに起因すると考えられる。一般に原発性骨粗鬆症者ではCa, Pの調節が良好に推移することが知られており、骨密度に見られた変化と関連付けられなかった可能性が伺える。

以上の結果、試験1および2とも、大豆イソフラボン摂取による骨密度の改善が窺われ、Somekawaら<sup>6)</sup>の疫学調査で示唆した大豆イソフラボンの効果が発現したものと考えられた。これらより、イソフラは患者の骨密度維持、上昇に有効で、且つ安全であることが示唆された。

## 要 約

我々は、医療法人彦仁会かとうクリニックにおける閉経女性通院患者5名に対する1年間の大豆イソフラボンタブレット（イソフラ10；不二製油(株)製、1日10 mg）摂取で、骨密度の維持および骨代謝マーカー（オステオカルシンおよび骨型アルカリフォスファターゼ）の有意な変化を認めた。更に、中日友好医院（北京、中国）に通院する患者で、骨粗鬆症と診断され、且つカルシウム製剤等の骨粗鬆症治療薬を服用していない60歳以上の患者（男性6名、女性14名）に事前にインフォームドコンセントを十分に行い、被験者の試験に対する同意を得た上で、大豆イソフラボンを含

んだタブレット「イソフラ」(不二製油(株)製, 1粒に2 mgの大豆イソフラボンを含む)または、大豆イソフラボンを含まないタブレットを1日10錠, 毎日摂取してもらい, 骨代謝に及ぼす大豆イソフラボンの影響を調べた。今回は試験開始半年後の途中経過を報告する。骨密度に関しては, プラセボ群を試験前 $1.074 \pm 0.081$ から試験後 $1.056 \pm 0.082$ と $1.69\%$ 減少したのに対して, 大豆イソフラボン群が $1.011 \pm 0.069$ から $1.040 \pm 0.068$ と $3.07\%$ 増加していた。血中成分分析において, Ca, P値についてはプラセボ群と大豆イソフラボン群の間に差は見られなかった。しかし, 血中ALP値はプラセボ群が $-1.90$  mmol/Lと若干減少したのに対し, 大豆イソフラボン群は $3.10$  mmol/Lと増加していた。従って, 大豆イソフラボンは骨代謝に対して有効であると考えられるが, 今回の結果は投与半年の結果であり, より長期の経過観察が必要であると思われる。

## 文 献

- 1) Messina M and Messina V (1991) : Increasing use of soyfoods and their potential role in cancer prevention. *J Am Diet Assoc*, **91**, 836-840.
- 2) Ishida H, Uesugi T, Hirai K, Toda T, Nukaya H, Yokotsuka K and Tsuji K (1998) : Preventive effects of the plant isoflavones, daidzin and genistin, on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diets. *Biol Pharm Bull*, **21**, 62-66.
- 3) Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, Onoe Y, Sato T and Ikegami S (1999) : Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrinology*, **140**, 1893-1900.
- 4) Toda T, Uesugi T, Hirai K, Nukaya H, Tsuji K and Yokotsuka K (1999) : New 6-O-Acyl isoflavone glycosides from soybeans fermented with *Bacillus subtilis* (*natto*). I. 6-O-Succinylated isoflavone glycosides and their preventive effects on bone loss in ovariectomized rats fed a calcium-deficient diet. *Biol Pharm Bull*, **22**, 1193-1201.
- 5) Picherit C, Bennetau-Pelissero C, Chanteranne B, Lebecque P, Davicco MJ, Barlet JP and Coxam V (2001) : Soybean isoflavones does-dependently reduce bone turnover but do not reverse established osteopenia in adult ovariectomized rats. *J Nutr*, **131**, 723-728.
- 6) Somekawa Y, Chiguchi M, Ishibashi T and Aso T (2001) : Soy intake related to menopausal symptoms, serum lipids, and bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *Obstet Gynecol*, **97**, 109-115.
- 7) Murkies AL, Lombard C, Strauss B, Wilcox G, Burger HG and Morton MS (1995) : Dietary flour supplementation decrease post-menopausal hot flashes : Effect of soy and wheat. *Maturitas*, **21**, 189-195.
- 8) Albertazzi P, Pansini F, Bonaccorsi G, Zanotti L, Forini E and De Aloysio D (1998) : The effect of dietary soy supplementation on hot flushes. *Obstet Gynecol*, **91**, 6-11.
- 9) Nagata C, Takatsuki N, Kawakami N and Shimizu H (2001) : Soy product intake and hot flashes in Japanese women : Results from a community-based prospective study. *Am J Epidemiology*, **153**, 790-793.