

視床下部遺伝子発現および血中シグナル物質のプロファイルの解析に基づく大豆イソフラボンの食欲制御機構の機構解明

岸田太郎*・水重貴文・海老原 清

愛媛大学農学部

Analysis of Profile of Neurotransmitter in Hypothalamus and Blood Signals for Mechanism of Decreasing Food Intake of Rats Fed Soy Isoflavones

Taro KISHIDA, Takafumi MIZUSHIGE and Kiyoshi EBIHARA

Faculty of Agriculture, Ehime University, Matsuyama 790-8566

ABSTRACT

Previously, we showed that fermented soy extract, rich in soy isoflavone, decreased food intake specifically in female rats. We have aimed to confirm the active substance and examine the mechanism. In the present study, we showed that daidzein, one of the major soy isoflavone, is just the active substance with decreasing effect on food intake. We also found that daidzein administration decrease only in female rats with or without ovariectomy, but an estradiol administration decreased food intake in male and ovariectomized rats. We speculated that the effect of daidzein could not simply be related to estrogenic effect of isoflavones. We examined the effect of daidzein on the hypothalamus gene expression of appetite-related neurotransmitter in ovariectomized rats, but there is no explanation of the decrease of food intake by daidzein administration. We have searched more sensitive experimental method for examining the hypothalamus gene expression of appetite-related neurotransmitter. Leptin is one of the major food intake decreasing signal agents in blood. But in the present study, we observed that daidzein administration rather decreased serum leptin concentration. *Soy Protein Research, Japan* **8**, 56-62, 2005.

Key words : soy isoflavone, daidzein, hypothalamus neurotransmitter, leptin, rat

先の研究で我々は発酵大豆抽出物中のイソフラボンがラットの雌に特異的な食欲低下作用をもたらすことを見出した。我々はこの作用物質と機構を明らかにすることを目指している。最近の研究により食欲制御の

かなりの部分が視床下部における食欲関連神経伝達物質の発現により制御されていることが明らかになりつつある (Fig. 1)¹⁻³⁾。またレプチンをはじめとする血液中の摂食シグナルの関与も報告されている⁴⁻⁶⁾。本研究は大豆イソフラボンの食欲低下の機構を、視床下部遺

*〒790-8566 松山市樽味3-5-7

伝子発現および血中シグナルのプロファイルの解析により明らかにすることを目的とした。雌動物の性周期が食欲に関連していることは古くから知られており、血清中のエストロゲンが食欲低下をもたらしていることが明らかになっている^{7,8)}。イソフラボンには構造の類似性から、エストロゲンのように作用する可能性が*in vivo* および*in vitro*のデータにより報告されている^{9,10)}。これらよりイソフラボンがエストロゲン様の食欲低下作用を持つ可能性がある。本研究ではこれについても検証した。

実験方法

実験1

ラット (n=78; 雄:n=24, 雌:n=24, OVX:n=24, Sham:n=7) を、雄、雌およびOVXをそれぞれ4つの群に分け (n=6), AIN-76に基づいたコントロール飼料, コントロール飼料に飼料1 kgあたりダイゼインを150 mg混合した飼料, ゲニステインを150 mg混合した飼料, またはダイゼインおよびゲニステインの両方を150 mgずつ混合した飼料を与えた。混合したダイゼインおよびゲニステインは、コントロール飼料の炭水化物源であるスクロースおよび α -コーンスターチと置き換えた。Shamラット (n=6) は基本飼料を与えた。全てのラットは、実験飼料を与えてから28日間飼育した。最終日には断頭採血し、血清レプチン濃度を市販キット (モリナガラットレプチンELISA, 生化学工業) ELISA法で測定した。

実験2

ラット (n=64; 雄:n=18, 雌:n=18, OVX:n=21, Sham:n=7) を雄、雌およびOVXラットは、3つの群に分け (n=6), そのうち2群には、それぞれAIN-76に基づいたコントロール飼料, 実験2で用いたダイゼイン混合飼料を与えた。残りの1群には、実験開始日の9:00に、皮下にエストラジオール入り固形ペレット (β -estradiol 3-benzoate, 0.25 mg/pellet, 60-day release, SE-281, Innovative research) を埋め込んだ後、コントロール飼料を与えた。Shamラット (n=6) はコントロール飼料を与えた。エストラジオールペレットは、飼育期間中一定量 (4.2 μ g/day) のエストラジオールを放出し続ける。全てのラットは、実験飼料を与えてから28日間飼育した。

実験3

ラット (n=60; OVX:n=48, Sham:n=12) のうち、OVXラットは、4つの群に分け (n=12), そのうち3群には、それぞれAIN-76に基づいたコントロー

ル飼料, コントロール飼料に飼料1 kgあたりダイゼインを150 mg混合した飼料およびゲニステインを飼料1 kgあたり150 mg混合した飼料を与えた。残りの1群には、実験開始日の9:00に、皮下に実験1と同様のエストラジオール入り固形ペレットを埋め込んだ後、コントロール飼料を与えた。Shamラット (n=12) は基本飼料を与えた。ラットは、実験飼料を与えてから7日間 (それぞれn=6) および14日間 (それぞれn=6) 飼育した。実験1は、実験飼料を与えて28日目, 実験2は、7日目および14日目の20:00に断頭屠殺した。その後、素早く、脳を摘出し、視床下部を採取した。摘出した視床下部は、エッペンに入れ、分析まで-80℃で保存した。視床下部の食欲関連神経伝達物質の遺伝子発現を食欲抑制に関連したCRF, CART, GLP1, 促進に関連したNPY, ガラニン, オレキシンの遺伝子発現をリアルタイムモニタリングRT-PCR法によりプロファイリングした。

実験4

実験3と全く同様の実験を解剖時間のみを8:00に変更して行った。

結果

実験1

雌およびOVXラットの各週ごとの飼料摂取量は、1週目から2週目にかけてダイゼイン摂食により徐々に

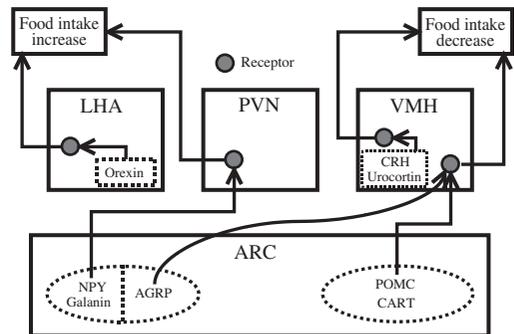


Fig. 1. Appetite-regulated factor in hypothalamus. Neuropeptide Y (NPY), galanin, agouti-gene related protein (AGRP) and orexin were orectic factor. Cocaine and amphetamine-regulated transcript (CART), corticotrophin-releasing hormone (CRH), pro-opiomelanocortin (POMC) and urocortin were anorectic factor. Paraventricular nucleus (PVN), Lateral hypothalamus (LHA) and Arcuate nucleus (ARC) were localized in hypothalamus.

低下し、3週目から4週目にかけてダイゼイン摂取群の飼料摂取量はコントロール群のそれに近づく傾向を示した (Fig. 2)。雌およびOVXラットの腎臓周辺および卵巣周辺の合計脂肪組織重量、体脂肪率は、ダイゼイン摂取により有意に低下した (Table 1)。雌およびOVXラットの血清レプチン濃度は、ダイゼイン摂取により有意に低下した (Table 1)。

実験 2

各週ごとの飼料摂取量および体重増加量に対するダイゼイン摂取による影響は、雌、雄およびOVXラットとも実験3と同様の結果を示した (Fig. 3)。雌ラット

の各週ごとの飼料摂取量および体重増加量は、1週目では、エストラジオール投与によりコントロール群のそれより有意に低下したが、それ以降上昇し、2週目には有意な差は認められなくなった。さらに3週目以降エストラジオール投与によりコントロール群のそれらより有意に上昇した (Fig. 3)。OVXラットでは3週目および4週目では、少しずつエストラジオール投与した群の飼料摂取量および体重増加量とコントロール群のそれらの差が縮まったものの、4週間を通してエストラジオール投与によりコントロール群のそれらより有意に低下した (Fig. 3)。雄ラットでは、2週目か

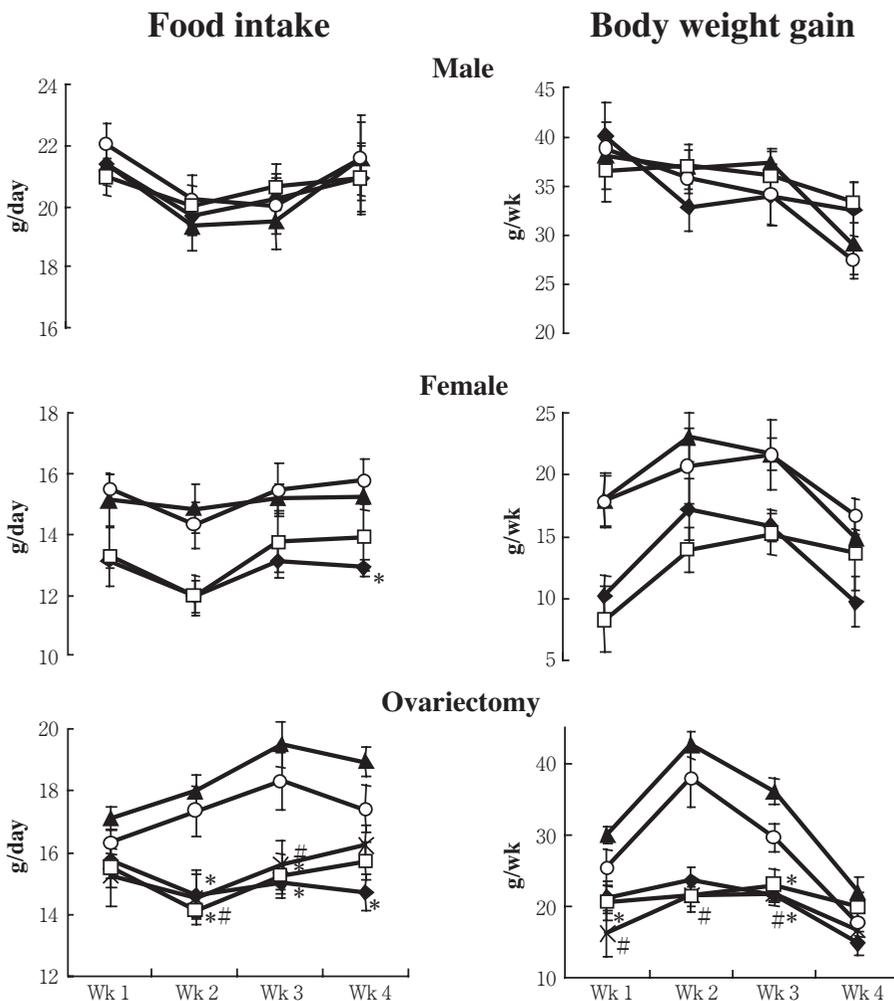


Fig. 2. Weekly changes of food intake and body weight gain in male and female rats fed diet containing genistein (▲), daidzein (□) or genistein+daidzein (◆) and control diet (○) for 4 wk (experiment 1). Values are means of six rats with standard errors. *significantly different from the control group, determined by Tukey's multiple range test ($P < 0.05$). #significantly different from the control group, determined by Student's t -test ($P < 0.05$).

ら4週目にかけては、エストラジオールを投与した群の飼料摂取量および体重増加量とコントロール群のそれらの差が縮まったものの、4週間を通してエストラジオール投与によりコントロール群のそれらより有意に低下した (Fig. 3)。

実験 3

1週目のPOMCの視床下部遺伝子発現量は、ダイゼイン摂取によりコントロール群のそれより有意に低下したが、ゲニステイン摂取およびエストラジオール投与の影響は認められなかった。その他の遺伝子発現量にダイゼイン、ゲニステインおよびエストラジオール

の影響は認められなかった (Table 2)。2週目のCRHの視床下部遺伝子発現量は、ゲニステイン摂取およびエストラジオール投与によりコントロール群のそれより有意に増加したが、ダイゼイン摂取の影響は認められなかった。その他の遺伝子発現量にダイゼイン、ゲニステインおよびエストラジオールの影響は認められなかった (Table 2)。

実験 4

1週目において視床下部遺伝子発現量にダイゼイン、ゲニステインおよびエストラジオールの影響は認められなかった (Table 3)。2週目において、POMC

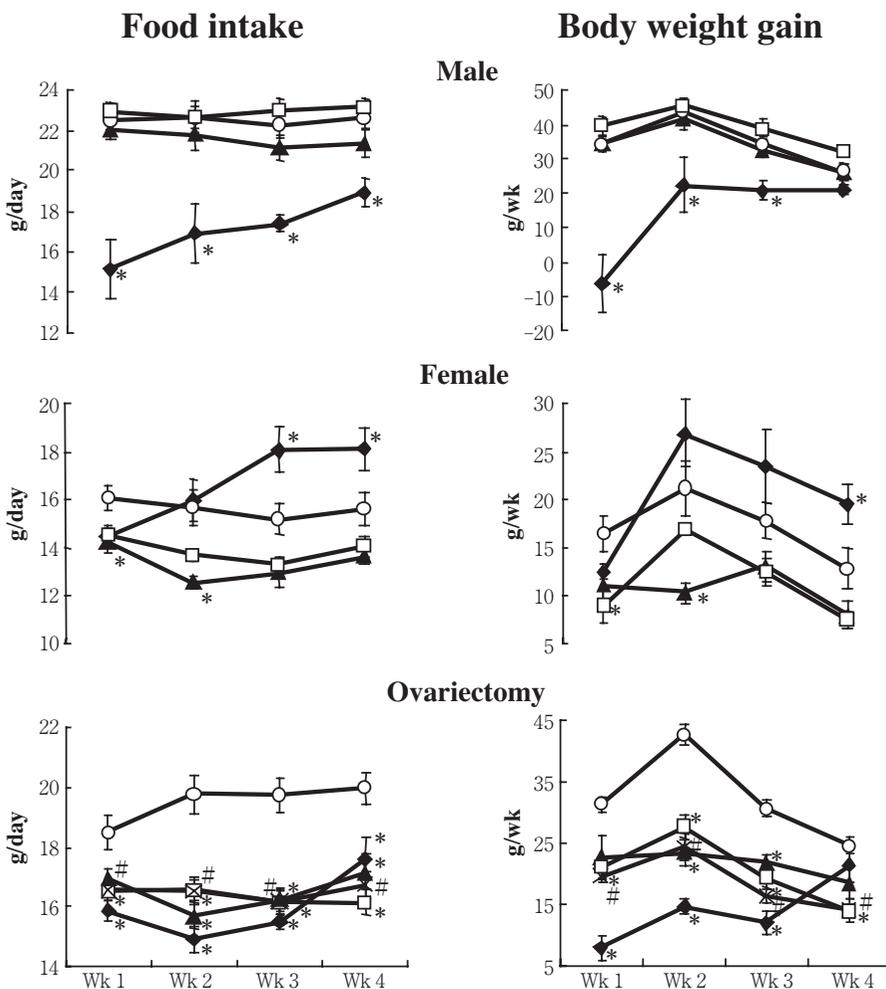


Fig. 3. Weekly changes of food intake and body weight gain in normal and ovariectomized rats fed a diet containing 150 mg daidzen (\square) and control diet with (\blacklozenge) or without (\circ) subcutaneous administration of estradiol, and sham operated rats fed the control diet (\times) for 4 wk (experiment 2). Values are means of six rats with standard errors. *significantly different from the control group by Tukey's multiple range test ($P < 0.05$). #significantly different from the control group by Student's t -test ($P < 0.05$).

の視床下部遺伝子発現比は、エストラジオールを投与することにより有意に低下したが、ダイゼインおよびゲニステインの影響は認められなかった (Table 3). その他の遺伝子発現量に、ダイゼイン、ゲニステインおよびエストラジオールの影響は認められなかった (Table 3).

考 察

ダイゼインの摂取により発酵大豆抽出物摂取時と同様の飼料摂取量の低下が観察された (Fig. 2). これによりメスラット特異的な食欲抑制効果をもたらしているのはダイゼインであることが明らかになった. また同様のラットにエストラジオールを連続的に皮下投与したところ、飼料摂取量はオスと卵巣摘出メスでのみ顕著に低下した (Fig. 3). 効果発現の性差がエストロゲンと異なったことから、ダイゼインの食欲抑制効果は単純なエストロゲン様作用によりもたらされている訳ではないと推測した.

卵巣摘出メスラットにおいてダイゼイン摂取7および14日目に視床下部の食欲関連神経伝達物質の遺伝子発現を食欲抑制に関連したCART, CCK, POMC, CRH, Urocortin, 促進に関連したNPY, ガラニン, オレキシン, AGRPをプロファイリングしたが、これらの遺伝子発現にダイゼインの食欲抑制効果を説明しうる変化は見られなかった (Table. 2および3). 今後さらに実験系を修正し、データを蓄積する必要がある. 食欲抑制シグナルである血清レプチン濃度はダイゼイン摂取によりむしろ低下しており、血清インスリン濃度に変化は見られなかった (Table. 1). これらの血中情報が直接的にダイゼインの食欲抑制に関わっている可能性は低いが、以前の実験で血清レプチン濃度の低下はレプチン産生部位である脂肪組織量が変動する以前のダイゼイン摂取早期から見られており、機構に何らかの関係があると見て、CCK等さらに広範な血中情報も含め引き続き検討する予定である.

Table 1. Body weight gain, food intake, food efficiency and fat tissue weight of male, female and ovariectomized (OVX) rats fed daidzein (D), genistein (G) or control (C) diet (Experiment 1)

	Initial body weight	Final body weight	Body weight gain	Feed intake	Feed efficiency	Perirenal plus epididymal or ovary fat tissue weight	Body fat	Serum leptin
	g	g	g/28 days	g/28 days		g	%	ng/mL
Male								
C	231 ± 5	367 ± 10	136 ± 6	609 ± 22	0.224 ± 0.007	20.0 ± 1.7	19.5 ± 1.6	14.4 ± 1.1
D	233 ± 4	376 ± 10	143 ± 8	616 ± 19	0.232 ± 0.008	18.8 ± 2.6	17.6 ± 1.6	14.9 ± 1.3
G	232 ± 4	373 ± 10	141 ± 9	596 ± 24	0.236 ± 0.006	20.6 ± 1.3	18.4 ± 1.5	13.0 ± 1.6
D+G	231 ± 4	370 ± 12	140 ± 9	610 ± 18	0.228 ± 0.010	18.0 ± 1.5	16.9 ± 1.2	14.0 ± 1.1
P-Value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Female								
C	167 ± 4	244 ± 6 ^b	77 ± 7 ^b	427 ± 20 ^b	0.179 ± 0.009 ^{bc}	15.1 ± 1.5 ^{ab}	19.1 ± 1.1 ^b	7.0 ± 0.8 ^{ab}
D	167 ± 3	218 ± 9 ^a	51 ± 7 ^a	370 ± 24 ^a	0.136 ± 0.010 ^a	10.2 ± 1.7 ^{ab}	14.6 ± 1.3 ^{ab}	5.1 ± 0.8 ^{ab}
G	167 ± 3	245 ± 7 ^b	78 ± 5 ^b	422 ± 17 ^b	0.183 ± 0.006 ^c	16.5 ± 2.2 ^b	17.8 ± 1.7 ^{ab}	8.4 ± 1.4 ^b
D+G	167 ± 3	220 ± 4 ^b	53 ± 3 ^a	357 ± 7 ^a	0.148 ± 0.008 ^b	10.1 ± 0.9 ^a	12.8 ± 0.9 ^a	3.6 ± 0.3 ^a
P-Value	NS	0.015	0.003	0.023	0.001	0.018	0.009	0.008
Sham								
C	165 ± 4	241 ± 9 [*]	76 ± 6 [*]	431 ± 22	0.177 ± 0.005 [*]	11.9 ± 1.9	14.9 ± 1.2	5.8 ± 0.6
P-Value	NS	0.011	0.008	NS	0.001	NS	NS	NS
OVX								
C	168 ± 3	279 ± 8 ^b	111 ± 8 ^b	485 ± 19 ^b	0.227 ± 0.010 ^{ab}	14.7 ± 1.1 ^b	17.3 ± 0.6 ^b	7.0 ± 0.2 ^{bc}
D	167 ± 2	252 ± 6 ^a	85 ± 6 ^a	424 ± 13 ^a	0.199 ± 0.011 ^a	11.6 ± 1.2 ^{ab}	15.0 ± 1.1 ^{ab}	6.1 ± 0.8 ^b
G	167 ± 2	298 ± 5 ^b	131 ± 5 ^b	514 ± 14 ^b	0.254 ± 0.006 ^b	19.6 ± 1.1 ^c	17.2 ± 0.5 ^b	8.8 ± 0.7 ^c
D+G	167 ± 2	249 ± 4 ^a	82 ± 5 ^a	420 ± 11 ^a	0.193 ± 0.006 ^a	9.3 ± 1.5 ^a	12.2 ± 0.6 ^a	3.8 ± 0.2 ^a
P-Value	NS	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	<0.001

Each value represents the mean ± SEM, n=6. Values in a row with different superscript letters are significantly different by Tukey's multiple range test. *Different from OVX's control group, P<0.05, Student's t-test.

Table 2. Hypothalamus gene expression of appetite-regulated neurotransmitter of normal and ovariectomized (OVX) rats fed daidzein (D), genistein (G) or control (C) diet or rats administrated estradiol (E) subcutaneously (E) in dark phase (Experiment 3)

	Orectic factors				Anorectic factors				
	NPY ($\times 10^{-2}$)	Galanin ($\times 10^{-2}$)	Orexin ($\times 10^{-3}$)	AGRP ($\times 10^{-4}$)	CART ($\times 10^{-1}$)	CCK ($\times 10^{-2}$)	POMC ($\times 10^{-3}$)	CRH ($\times 10^{-3}$)	Urocortin ($\times 10^{-3}$)
(target gene mRNA/ β -Actin mRNA)									
Wk 1									
Sham									
C	1.77 \pm 0.28	9.02 \pm 3.10	6.65 \pm 1.77	4.78 \pm 0.98	2.08 \pm 0.40	8.47 \pm 0.01	1.45 \pm 0.48	1.92 \pm 0.17*	2.56 \pm 0.78
P-value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.004	NS
OVX									
C	1.48 \pm 0.10	4.75 \pm 0.39	7.89 \pm 0.81	4.01 \pm 1.37	1.60 \pm 0.28	9.76 \pm 1.66	4.37 \pm 1.41 ^b	1.16 \pm 0.05	1.36 \pm 0.50
D	1.48 \pm 0.39	10.57 \pm 7.80	6.30 \pm 1.60	3.21 \pm 0.78	1.30 \pm 0.26	6.60 \pm 1.35	0.58 \pm 0.25 ^a	1.58 \pm 0.25	0.76 \pm 0.21
G	2.00 \pm 0.37	12.45 \pm 5.13	9.45 \pm 1.68	6.53 \pm 1.52	2.37 \pm 0.35	11.60 \pm 2.00	1.79 \pm 0.49 ^{ab}	1.75 \pm 0.22	0.93 \pm 0.19
E	2.27 \pm 0.12	17.04 \pm 5.64	9.43 \pm 1.99	8.63 \pm 3.13	2.38 \pm 0.44	10.47 \pm 1.98	2.25 \pm 0.85 ^{ab}	1.74 \pm 0.12	1.03 \pm 0.19
P-value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.041	NS	NS
Wk 2									
Sham									
C	2.37 \pm 0.56	11.11 \pm 3.21	11.26 \pm 3.65*	7.17 \pm 1.91	1.96 \pm 0.45	14.90 \pm 1.19	2.41 \pm 1.08	2.30 \pm 0.27*	2.03 \pm 0.47
P-value	NS	NS	0.040	NS	NS	NS	NS	0.011	NS
OVX									
C	1.35 \pm 0.31	10.60 \pm 2.88 ^{ab}	4.89 \pm 2.06	4.15 \pm 0.92	1.52 \pm 0.26	12.39 \pm 3.44	1.43 \pm 0.42	1.09 \pm 0.10 ^a	2.03 \pm 0.96
D	1.44 \pm 0.27	12.37 \pm 2.11 ^b	8.95 \pm 3.27	4.97 \pm 0.98	1.69 \pm 0.39	6.03 \pm 1.24	3.03 \pm 1.03	0.67 \pm 0.09 ^a	2.84 \pm 0.48
G	1.09 \pm 0.18	3.85 \pm 1.65 ^a	5.77 \pm 1.26	6.75 \pm 2.42	1.25 \pm 0.34	8.29 \pm 1.49	2.15 \pm 0.57	1.78 \pm 0.17 ^c	0.99 \pm 0.32
E	1.07 \pm 0.22	4.27 \pm 1.47 ^{ab}	5.44 \pm 0.93	3.24 \pm 0.94	1.61 \pm 0.25	9.67 \pm 1.28	1.31 \pm 0.35	1.90 \pm 0.24 ^b	1.06 \pm 0.10
P-value	NS	0.017	NS	NS	NS	NS	NS	<0.001	NS

Each value represents the mean \pm SEM, n=6. Values in a row with different superscript letters are significantly different by Tukey's multiple range test. *Different from OVX's control group, $P < 0.05$, Student's t -test.

Table 3. Hypothalamus gene expression of appetite-regulated neurotransmitter of male, female and ovariectomized rats fed daidzein (D), genistein (G) or control (C) diet or rats administrated estradiol subcutaneously (E) in light phase (Experiment 4)

	Orectic Factor				Anorectic Factor				
	NPY ($\times 10^{-3}$)	Galanin ($\times 10^{-3}$)	Orexin ($\times 10^{-3}$)	AGRP ($\times 10^{-4}$)	CART ($\times 10^{-2}$)	CCK ($\times 10^{-3}$)	POMC ($\times 10^{-4}$)	CRH ($\times 10^{-3}$)	Urocortin ($\times 10^{-4}$)
(target gene mRNA/ β -Actin mRNA)									
Wk 1									
Sham									
C	2.17 \pm 0.30	2.00 \pm 0.66	3.94 \pm 0.81	0.79 \pm 0.20	0.78 \pm 0.36	1.42 \pm 0.12*	5.62 \pm 0.73*	2.78 \pm 0.42	4.33 \pm 1.67
P-value	NS	NS	NS	NS	NS	0.003	0.011	NS	NS
OVX									
C	1.30 \pm 0.37	1.25 \pm 0.61	2.44 \pm 0.79	0.58 \pm 0.38	0.32 \pm 0.14	0.84 \pm 0.14	1.67 \pm 0.40	2.77 \pm 1.13	2.35 \pm 0.76
D	0.99 \pm 0.29	0.74 \pm 0.32	2.77 \pm 0.67	0.30 \pm 0.09	0.37 \pm 0.15	1.00 \pm 0.12	3.27 \pm 1.66	2.45 \pm 0.32	9.05 \pm 4.09
G	0.93 \pm 0.26	0.65 \pm 0.29	2.38 \pm 0.49	0.06 \pm 0.02	0.19 \pm 0.05	1.07 \pm 0.11	0.78 \pm 0.30	2.14 \pm 0.14	2.50 \pm 0.67
E	0.87 \pm 0.12	0.76 \pm 0.27	2.50 \pm 0.53	0.30 \pm 0.08	0.19 \pm 0.03	1.30 \pm 0.13	1.49 \pm 0.45	2.03 \pm 0.18	2.92 \pm 1.13
P-value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Wk 2									
Sham									
C	1.73 \pm 0.49	1.89 \pm 0.31	0.79 \pm 0.08	8.00 \pm 1.78	1.70 \pm 0.27	3.59 \pm 0.99	1.97 \pm 0.31	4.95 \pm 0.69	10.75 \pm 3.23
P-value	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
OVX									
C	1.66 \pm 0.21	1.71 \pm 0.13 ^{ab}	0.71 \pm 0.08	5.51 \pm 0.68	1.37 \pm 0.41	3.81 \pm 0.72	4.03 \pm 1.02 ^b	4.34 \pm 0.50	11.30 \pm 2.48
D	2.29 \pm 0.24	1.67 \pm 0.13 ^{ab}	0.64 \pm 0.08	7.57 \pm 1.04	1.13 \pm 0.20	3.86 \pm 0.66	2.05 \pm 0.38 ^{ab}	4.64 \pm 0.44	6.97 \pm 1.21
G	1.73 \pm 0.19	1.08 \pm 0.17 ^a	0.60 \pm 0.07	7.42 \pm 0.62	1.15 \pm 0.19	2.77 \pm 0.23	2.02 \pm 0.34 ^{ab}	4.11 \pm 0.21	10.01 \pm 2.87
E	1.69 \pm 0.19	2.05 \pm 0.33 ^b	0.89 \pm 0.16	8.93 \pm 1.19	0.99 \pm 0.15	4.17 \pm 0.90	1.48 \pm 0.24 ^a	5.36 \pm 0.41	6.28 \pm 1.35
P-value	NS	0.026	NS	NS	NS	NS	0.028	NS	NS

Each value represents the mean \pm SEM, n=6. Values in a row with different superscript letters are significantly different by Tukey's multiple range test. *Different from OVX's control group, $P < 0.05$, Student's t -test.

要 約

先に我々は大豆イソフラボンを高含量で含む発酵大豆抽出物がメスラット特異的な飼料摂取量低下をもたらすことを見出した。本研究はこの作用物質と機構を解明することを目的とし、本年度は以下の成果を得た。メスラット特異的な食欲抑制効果をもたらしているのはダイゼインであることが明らかになった。またエストラジオールとの効果の性差の違いからダイゼインの食欲抑制効果は単純なエストロゲン様作用によりもたらされている訳ではないと推測した。卵巣摘出雌ラットにおいてダイゼイン摂取が視床下部の食欲関連神経伝達物質の遺伝子発現に与える影響を調べたが、これらにダイゼインの食欲抑制効果を説明しうる変化は見られなかった。今後さらに実験系を修正し、データを蓄積する必要がある。食欲抑制シグナルである血清レプチン濃度はダイゼイン摂取によりむしろ低下しており、ダイゼインの食欲抑制に関わっている可能性は低い。

参 考 文 献

- 1) Mezei O, Banz WJ, Steger RW, Peluso MR, Winters TA and Shay N (2003): Soy isoflavones exert antidiabetic and hypolipidemic effects through the PPAR pathways in obese Zucker rats and murine RAW 264.7 cells. *J Nutr*, **133**, 1238-1243.
- 2) Prolo P, Wong ML and Licinio J (1998): Leptin. *Int J Biochem Cell Biol*, **30**, 1285-1290.
- 3) 大村 裕, 坂田利家 (1996): 脳と食欲—頭で食事を考える—. 共立出版, 東京.
- 4) 嶋津 孝 (1999): 脳の中の視床下部 成人病との関連をさぐる. プレーン出版, 東京.
- 5) Attele AS, Shi ZQ and Yuan CS (2002): Leptin, gut, and food intake. *Biochem Pharmacol*, **63**, 1579-1583.
- 6) Jequier E (2002): Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Ann N Y Acad Sci*, **967**, 379-388.
- 7) Rocha M, Grueso E and Puerta M (2001): The anorectic effect of oestradiol does not involve changes in plasma and cerebrospinal fluid leptin concentrations in the rat. *J Endocrinol*, **171**, 349-354.
- 8) Wade GN (1975): Some effects of ovarian hormones on food intake and body weight in female rats. *J Comp Physiol Psychol*, **88**, 183-193.
- 9) Dixon RA and Ferreira D (2002): Genistein. *Phytochemistry*, **60**, 205-211.
- 10) Bingham SA, Atkinson C, Liggins J, Bluck L and Coward A (1998): Phyto-oestrogens: where are we now? *Br J Nutr*, **79**, 393-406.