

機能性の科学的根拠に関する点検表

1. 製品概要

商品名	メディボーン
機能性関与成分名	大豆イソフラボン (アグリコンとして)
表示しようとする機能性	本品には、大豆イソフラボン (アグリコンとして) が含まれるので、女性の骨の成分の維持に役立つ機能があります。丈夫な骨を維持したい方に適した食品です。

2. 科学的根拠

【臨床試験及び研究レビュー共通事項】

- (主観的な指標によってのみ評価可能な機能性を表示しようとする場合) 当該指標は日本人において妥当性が得られ、かつ、当該分野において学術的に広くコンセンサスが得られたものである。
- (最終製品を用いた臨床試験又は研究レビューにおいて、実際に販売しようとする製品の試作品を用いて評価を行った場合) 両者の間に同一性が失われていないことについて、届出資料において考察されている。

最終製品を用いた臨床試験

(研究計画の事前登録)

- UMIN 臨床試験登録システムに事前登録している^{注1}。
- (海外で実施する臨床試験の場合であって UMIN 臨床試験登録システムに事前登録していないとき) WHO の臨床試験登録国際プラットフォームにリンクされているデータベースへの登録をしている。

(臨床試験の実施方法)

- 「特定保健用食品の表示許可等について」(平成 26 年 10 月 30 日消食表第 259 号) の別添 2 「特定保健用食品申請に係る申請書作成上の留意事項」に示された試験方法に準拠している。
- 科学的合理性が担保された別の試験方法を用いている。
→別紙様式 (V) - 2 を添付

(臨床試験の結果)

- 国際的にコンセンサスの得られた指針に準拠した形式で査読付き論文として公表されている論文を添付している^{注1}。
- (英語以外の外国語で書かれた論文の場合) 論文全体を誤りのない日本語に適切に翻訳した資料を添付している。
- 研究計画について事前に倫理審査委員会の承認を受けたこと、並びに当該倫理審査委員会の名称について論文中に記載されている。
- (論文中に倫理審査委員会について記載されていない場合) 別紙様式 (V) - 3 で補足説明している。

掲載雑誌は、著者等との間に利益相反による問題が否定できる。

最終製品に関する研究レビュー

機能性関与成分に関する研究レビュー

- （サプリメント形状の加工食品の場合）摂取量を踏まえた臨床試験で肯定的な結果が得られている。
- （その他加工食品及び生鮮食品の場合）摂取量を踏まえた臨床試験又は観察研究で肯定的な結果が得られている。
- 海外の文献データベースを用いた英語論文の検索のみではなく、国内の文献データベースを用いた日本語論文の検索も行っている。
- （機能性関与成分に関する研究レビューの場合）当該研究レビューに係る成分と最終成分の同等性について考察されている。
- （特定保健用食品の試験方法として記載された範囲内で軽症者等が含まれたデータを使用している場合）疾病に罹患していない者のデータのみを対象とした研究レビューも併せて実施し、その結果を、研究レビュー報告書及び別紙様式（I）に報告している。

表示しようとする機能性の科学的根拠として、査読付き論文として公表されている。

- 当該論文を添付している。
- （英語以外の外国語で書かれた論文の場合）論文全体を誤りのない日本語に適切に翻訳した資料を添付している。

- PRISMA 声明（2009年）に準拠した形式で記載されている。
- （PRISMA 声明（2009年）に照らして十分に記載できていない事項がある場合）別紙様式（V）-3で補足説明している。
- （検索に用いた全ての検索式が文献データベースごとに整理された形で当該論文に記載されていない場合）別紙様式（V）-5その他の適切な様式を用いて、全ての検索式を記載している。
- （研究登録データベースを用いて検索した未報告の研究情報についてその記載が当該論文にない場合、任意の取組として）別紙様式（V）-9その他の適切な様式を用いて記載している。
- 食品表示基準の施行前に査読付き論文として公表されている研究レビュー論文を用いているため、上記の補足説明を省略している。

- 各論文の質評価が記載されている^{注2}。
- エビデンス総体の質評価が記載されている^{注2}。
- 研究レビューの結果と表示しようとする機能性の関連性に関する評価が記載されている^{注2}。

表示しようとする機能性の科学的根拠として、査読付き論文として公表されていない。

研究レビューの方法や結果等について、

別紙様式（V）-1

- 別紙様式（V）-4を添付している。
 - データベース検索結果が記載されている^{注3}。
 - 文献検索フローチャートが記載されている^{注3}。
 - 文献検索リストが記載されている^{注3}。
 - 任意の取組として、未報告研究リストが記載されている^{注3}。
 - 参考文献リストが記載されている^{注3}。
 - 各論文の質評価が記載されている^{注3}。
 - エビデンス総体の質評価が記載されている^{注3}。
 - 全体サマリーが記載されている^{注3}。
-
- 各論文の質評価が記載されている^{注3}。
 - エビデンス総体の質評価が記載されている^{注3}。
 - 研究レビューの結果と表示しようとする機能性の関連性に関する評価が記載されている^{注3}。

注1 食品表示基準の施行後1年を超えない日までに開始（参加者1例目の登録）された研究については、必須としない。

注2 各種別紙様式又はその他の適切な様式を用いて記載（添付の研究レビュー論文において、これらの様式と同等程度に詳しく整理されている場合は、記載を省略することができる。）

注3 各種別紙様式又はその他の適切な様式を用いて記載（別紙様式（V）-4において、これらの様式と同等程度に詳しく整理されている場合は、記載を省略することができる。）

特定保健用食品とは異なる臨床試験方法とした合理的理由に関する説明資料

1. 製品概要

商品名	メディボーン
機能性関与成分名	大豆イソフラボン（アグリコンとして）
表示しようとする機能性	本品には、大豆イソフラボン（アグリコンとして）が含まれるので、女性の骨の成分の維持に役立つ機能があります。丈夫な骨を維持したい方に適した食品です。

2. 特定保健用食品とは異なる臨床試験方法（科学的合理性が担保されたものに限る。）とした合理的理由

大豆イソフラボンを関与成分として骨の健康に役立つ旨を表示した特定保健用食品（商品名：大豆芽茶）の製品有効性試験では、健常な中高年女性を対象とし、大豆イソフラボン含有食品または対照食品を2週間ずつ摂取させるクロスオーバー試験を行い、骨吸収マーカーである尿中デオキシピリジノリン量を指標として有効性を評価している¹⁾。

本試験では、特定保健用食品の許可を取得している上記商品の有効性の根拠となる臨床試験と同じ試験方法、及び評価指標を用いているため、臨床試験方法の科学的合理性は担保されたものと考えている。

【引用文献】

1) 寺本貴則ら，大豆イソラボン含有飲料の摂取が尿中骨吸収マーカー量に及ぼす影響，健康・栄養食品研究，3，53-62，2000.

表示しようとする機能性の科学的根拠に関する補足説明資料

1. 製品概要

商品名	メディボーン
機能性関与成分名	大豆イソフラボン（アグリコンとして）
表示しようとする機能性	本品には、大豆イソフラボン（アグリコンとして）が含まれるので、女性の骨の成分の維持に役立つ機能があります。丈夫な骨を維持したい方に適した食品です。

2. 補足説明

臨床試験で使用した製品と最終製品の同一性に関する説明

臨床試験で使用した試験食品は、本品（最終製品）の試作品として製造したもので、製造所が異なるが、以下の理由により、本品と同一性は失われていないと判断した。

- (1) 剤型が同一（粉末）であること
- (2) 製造工程が同一であること
- (3) 機能性関与成分は試作品、本品とも大豆イソフラボンのみであり、機能性関与成分の含有量が同一であること
- (4) 本品に配合されているその他の原料による大豆イソフラボンへの影響はないと考えられること
- (5) 品質規格項目として、機能性関与成分である大豆イソフラボン（アグリコンとして）を設けることで、最終製品の機能性を担保していること

ヒトによる大豆イソフラボン含有ケール青汁の摂取が 尿中骨吸収マーカー（デオキシピリジノリン）量に 及ぼす影響

池口 主弥^{*1}、有浦 由紀^{*1}、高垣 欣也^{*1}、
戸田 登志也^{*2}、白澤 実^{*3}、海老原 清^{**}

^{*1} 株式会社東洋新薬 開発部

^{*2} フジッコ株式会社 研究開発部研究開発室

^{*3} 白澤医院

^{**} 愛媛大学 農学部

(平成 17 年 10 月 11 日受理)

Effects of Kale Juice Containing Soy Isoflavone on Urinary Bone Resorption Markers (Deoxyypyridinoline) in Healthy Subjects

Motoya IKEGUCHI^{*1}, Yuki ARIURA^{*1}, Kinya TAKAGAKI^{*1},
Toshiya TODA^{*2}, Minoru SHIRASAWA^{*3}, Kiyoshi EBIHARA^{**}

^{*1} Research and Development Division, Toyo Shinyaku Co., Ltd.

^{*2} Research and Development Laboratory, Fujicco Co., Ltd.

^{*3} SHIRASAWA CLINIC

^{**} Faculty of Agriculture, Ehime University

A double blind cross-over study was conducted on 40 middle-aged women (average age 49.4 ± 11.0 years) to examine the effects of soy isoflavone-containing kale juice on urinary bone resorption markers. Subjects took either kale juice containing 13.3 mg of soy isoflavone (test drink) or kale juice without soy isoflavone (placebo drink) three times a day for two weeks. Urinary levels of deoxyypyridinoline before and after the intake of kale juice were measured and compared. In the placebo drink group, the level of deoxyypyridinoline in the urine did not change before and after the intake, while in the test drink group the level of deoxyypyridinoline significantly decreased after the intake.

To confirm the safety of the drink intake, blood and physical examinations were taken and urine collected of the subjects, and factors such as hormonal transitions were investigated. As a result, it was confirmed that the test drink does not cause any clinically significant problems.

(Received October. 11, 2005)

Key words: 大豆イソフラボン soy isoflavone, 骨吸収 bone resorption, デオキシピリジノリン deoxyypyridinoline, ピリジノリン pyridinoline, ケール青汁 kale juice

〒連絡先 TEL: 0942-81-3555 FAX: 0942-81-3554 E-mail: kaihatsu@toyoshinyaku.co.jp

^{*1} 〒 841-0005 佐賀県嘉瀬市弥生が丘 7-28 (7-28 Yayoigaoka, Tosu, Saga, 841-0005 JAPAN)

^{*2} 〒 650-8558 兵庫県神戸市中央区港島中町 6-13-4 (6-13-4 Minatojimanakamachi, Chuo-ku, Kobe 650-8558)

^{*3} 〒 374-0025 群馬県館林市緑町 1-2-5 (1-2-5 Midori-Chou, Tatebayashi-Shi, Gunma, 374-0025 JAPAN)

^{**} 〒 790-8566 愛媛県松山市樟味 3-5-7 (3-5-7 Tarumi, Matsuyama-Shi, Ehime, 790-8566 JAPAN)

卵巣の機能は30歳後半から低下し始め、更年期と呼ばれる50歳前後になると女性ホルモンの分泌量は急激に減少する。女性ホルモンの減少は更年期障害と呼ばれる症候群を引き起こすが、その中には骨密度が低下し、骨折の危険性が高まる骨粗鬆症が含まれる¹⁾。骨粗鬆症に罹患すると、椎体骨折や大腿骨頸部骨折などを引き起こし易くなることが知られている。高齢者にとってはこのような骨折が原因で寝たきりの状態を引き起こすなどから、その予防の必要性が叫ばれている²⁾。

大豆に含まれる主なイソフラボンは3種類で、そのほとんどが配糖体の形(ダイズイン、グリシチン、ゲニステイン)で存在している³⁾。配糖体は大腸で腸内細菌によりアグリコン(ダイセイイン、グリシテイン、ゲニステイン)に変換されて吸収されると言われている。大豆および大豆イソフラボンの乳ガン、大腸ガン、前立腺ガン、心疾患等に対する予防効果については、多くの疫学調査、動物試験、介入試験などでの報告がなされている⁴⁻⁷⁾。また、大豆および大豆イソフラボンは骨粗鬆症に対しても予防効果のあることが報告されている⁸⁾。その効果の機序は骨吸収の亢進を抑制することに伴う骨密度と骨強度の低下防止にあると考えられている^{9,10)}。

大豆イソフラボンを配合し、骨を丈夫にすることを訴求した特定保健用食品としては、主に豆乳飲料¹¹⁾や清涼飲料水^{12,13)}が許可を受けて販売されている。一方、ケール青汁は知名度の高さと独特の風味から中高年を中心に多くの人が日常的に飲用している。我々は大豆イソフラボンをより手軽に中高年者が利用できるように、馴染みが深いケール青汁に大豆イソフラボンを添加するという設計に基づいて飲料用粉末を開発した。

そこで、本試験では大豆イソフラボン含有ケール青汁の摂取が、中高年女性の骨吸収マーカーである尿中デオキシピリジノリンおよびピリジノリン量にどのような影響を及ぼすかを検討することにした。

1. 試験方法

1) 試験飲料用粉末

我々は試験飲料用粉末としてケール粉末、水溶性食物繊維、麦芽糖、煎茶末、砂糖、カルシウム、スピルリナなどに大豆胚芽抽出物(フジフラボンP40、フジッコ株式会社製)を混合後、造粒し、顆粒化したものを作製した。大豆胚芽抽出物を含まないものをプラセボ飲料用粉末とし、試験飲料用粉末との区別はつかないようにし

た。試験飲料用粉末およびプラセボ飲料用粉末ともに1包3.0gの無地アルミ個包装に充填し、試験飲料用粉末は1包あたりイソフラボンを13.3mg含有するように作製した。試験飲料用粉末の食品成分分析値を表1に示す。イソフラボン含量の測定はKudouらの方法¹⁴⁾に従い、HPLC法を用いて実施した。

2) 被験者

群馬県館林市近郊在住者を対象にボランティアを募集した。事前のアンケート、予備採血検査および医師による聞き取りによって、あらかじめ設定した除外基準(表2)に当てはまらない中高年女性40名(年齢:31~70歳、平均年齢:49.4±11.0歳、未閉経者17名・閉経者23名)を被験者とした。本試験は医学博士、農学博士、弁護士らで構成される白澤医院治験審査委員会(委員長安楽岡滋医師)の審議・承認(承認日:2004年9月10日)を受けて白澤医院にて実施した。なお、被験者の選定に当たっては、「ヘルシンキ宣言」の精神に則り、事前に趣旨および試験内容を詳細に説明し、文書によるインフォームドコンセントを得た。

3) 試験スケジュール

試験スケジュールを図1に示した。被験者を無作為に第I群と第II群に分け、対照を用いた二重盲検クロスオーバー試験を行った。前観察期間を1週間、第1摂取期間を2週間、休止期間を3週間、第2摂取期間を2週間とする計8週間の日程で試験を行った。第I群は第1摂取期間には試験飲料を、第2摂取期間にはプラセボ飲料を摂取させた。第II群は第1摂取期間にはプラセボ飲料を、第2摂取期間には試験飲料を摂取させた。試験飲料およびプラセボ飲料は、それぞれの飲料用粉末1包を約100mlの水に懸濁したもので、被験者にそれぞれの飲料を1日あたり3回、特に時間指定をせずに摂取させた。本試験では、被験者に対して前観察期間のうちから暴飲、暴食および過剰なアルコールの摂取は避け、大豆製品(豆乳、納豆、豆腐、味噌汁など)の摂取ならびに骨代謝に影響のある医薬品および健康食品の摂取を行わないように指導した。その他、食事の内容や生活様式については特に規制を行わなかった。

4) 測定項目

a) 尿検査

第1摂取期間および第2摂取期間のそれぞれ開始時および終了時の計4回に亘り被験者を来院させた。各被験者には来院前日から24時間蓄尿を行わせた。蓄尿は被

表1 試験飲料用粉末の食品成分分析値（100 gあたり）

項目		試験飲料	プラセボ飲料
熱量 ¹⁾	(kcal)	351	348
水分	(g)	3.7	4.5
たんぱく質 ²⁾	(g)	8.7	8.3
脂質	(g)	2.6	2.4
灰分	(g)	3.8	3.8
ナトリウム	(mg)	32.7	30.3
食物繊維 ³⁾	(g)	15.8	15.4
糖質	(g)	65.4	65.6
ダイズイン	(mg)	235.8 ± 2.8 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
グリシチン	(mg)	93.3 ± 2.0 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
ゲニスチン	(mg)	55.3 ± 0.8 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
マロニルダイズイン	(mg)	5.0 ± 0.0 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
マロニルグリシチン	(mg)	2.3 ± 0.5 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
マロニルゲニスチン	(mg)	検出せず ⁵⁾	検出せず ⁵⁾
アセチルダイズイン	(mg)	19.0 ± 0.0 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
アセチルグリシチン	(mg)	7.3 ± 0.5 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
アセチルゲニスチン	(mg)	5.8 ± 0.4 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
ダイゼイン	(mg)	5.5 ± 0.8 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
グリシテイン	(mg)	11.0 ± 0.0 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
ゲニステイン	(mg)	2.0 ± 0.0 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾
イソフラボン総量	(mg)	442.5 ± 6.1 ⁴⁾	検出せず ⁵⁾

- 1) 熱量換算係数：たんぱく質 4、脂質 9、糖質 4、食物繊維 2
- 2) 窒素・たんぱく質換算係数：6.25
- 3) 酵素-重量法
- 4) 平均値 ± 標準偏差
- 5) 検出限界：0.05 mg/100 g

表2 被験者の除外基準

1. 骨粗鬆症治療薬等の医薬品服用者
2. 骨吸収マーカーに影響を及ぼす可能性があるサプリメント・健康食品摂取者
3. 大豆アレルギーを有する者
4. 著明な糖尿病及び血糖値の異常な者
5. 著明な肝臓機能障害者
6. 妊婦または妊娠の可能性のある者、授乳中の者
7. その他治療責任医師が被験者として適当でないと判断した者

験者の来院時に回収し、尿中のイソフラボン、デオキシピリジノリンおよびピリジノリン量の測定に供した。尿中デオキシピリジノリン量の測定は体外診断用医薬品（オステオリンクス DPD、住友製薬バイオメディカル株式会社）を用い、EIA 法にて行った。尿中イソフラボンおよびピリジノリン量の測定はHPLC法にて行った。その他の尿検査としては、たんぱく、糖、潜血およびクレアチニンについて測定した。骨吸収マーカーの分

析は株式会社三菱化学ビーシーエル、その他の尿検査項目の分析は株式会社江東微生物研究所に依頼して実施した。

b) 血液検査

尿検査と同様に第1摂取期間および第2摂取期間のそれぞれ開始時および終了時の計4回に亘り被験者を来院させ血液検査を行った。来院前日から禁酒とし、来院当日は起床してから採血終了時まで絶食とした。検査とし

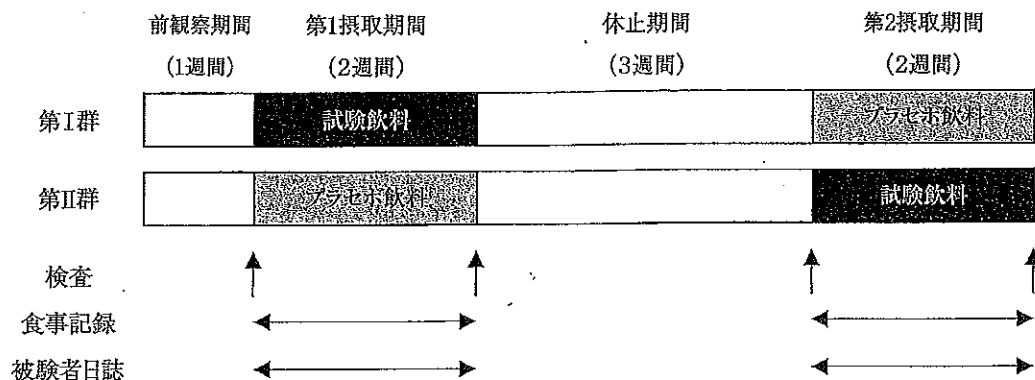


図1 試験スケジュール

ては血液学的検査、血液生化学的検査（表6参照）およびホルモン検査（表7参照）を実施した。分析は株式会社江東微生物研究所に依頼した。

c) 身体計測

血液検査と同日に身長（摂取前のみ）、体重、BMI、血圧、脈拍測定を行った。

d) 食事記録調査

食事記録調査は事前に食事記録表を被験者に配布し、第1摂取期間および第2摂取期間を通じて毎日記録させた。食事内容は食事記録表に被験者自身によって記録させた。食事量は目安量を書き入れるように指示した。食事記録表は、回収時に被験者個別に管理栄養士による面接を行った後、記入漏れや不備等を確認して補完した。得られた記録から栄養計算ソフト「ヘルシーメーカー431」（有限会社マッシュルームソフト社製）を用いて栄養素の摂取量を計算した。また、本成分表に記載のない食品については管理栄養士の判断により、類似する食品に置き換えて計算した。

e) 被験者日誌

被験者日誌による安全性の調査項目は悪心・嘔吐、発疹・痒み、胃部不快感・胃痛、腹痛、お腹の張り、下痢、口内炎、めまい、ふらつき、不正出血、食欲不振、その他体調の変化とした。

5) 統計解析

測定値は平均値±標準偏差で示した。統計解析処理はpaired t testを用いた。統計解析ソフトにはStatView ver.5.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)を使用した。両側検定で危険率5%未満を有意差ありとした。

2. 結果

1) 解析対象の被験者

被験者40名のうち3名を以下の理由により解析から除外した。2名については第1摂取期間の1日あたりのエネルギー摂取量がそれぞれ1,133 kcalおよび1,176 kcalであったのに対し、第2摂取期間ではそれぞれ860 kcalおよび804 kcalと顕著に低下していた。このことから、栄養素等の摂取に偏りがあると判断し、解析から除外した。また、1名は第2摂取期間（プラセボ飲料摂取期間）を通じて禁止されていた健康食品を連続して摂取していたために解析から除外した。よって、最終的な被験者数は37名となった。

2) 試験期間中の栄養素等摂取量

試験期間中の栄養素等摂取量の推移を表3に示す。なお、試験飲料およびプラセボ飲料由来の栄養素等は摂取量には含まれていない。カルシウム摂取量に関しては、試験飲料摂取期間と比較してプラセボ飲料摂取期間で有意な増加が認められた ($p < 0.05$) が、その他の栄養素等摂取量については試験期間を通じて有意な変化はみられなかった。また、被験者を個別にみても、試験期間を通じて食事内容に大きな変化は認められなかった。

3) 尿中イソフラボンおよび骨吸収マーカー分析

試験飲料およびプラセボ飲料摂取前後の24時間蓄尿中のイソフラボン量および骨吸収マーカーであるデオキシピリジノリン量およびピリジノリン量を表4に示した。

プラセボ飲料摂取前後では尿中イソフラボン量に変化が認められなかったが、試験飲料摂取前後では摂取前と比較して、摂取後の尿中イソフラボン量（ダイゼイン、ゲ

表3 栄養素摂取量の推移

項目	試験飲料摂取期間	プラセボ飲料摂取期間
エネルギー (kcal/日)	1511 ± 297	1523 ± 248
糖質 (g/日)	211.3 ± 38.4	213.6 ± 38.0
脂質 (g/日)	45.1 ± 14.0	46.0 ± 13.6
たんぱく質 (g/日)	53.4 ± 9.9	53.7 ± 9.3
カルシウム (mg/日)	348 ± 132	390 ± 154*

平均値±標準偏差 (n = 37)

*: $p < 0.05$ 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

ニステインおよびグリシテイン) に有意な増加が認められた (いずれも $p < 0.001$)。

試験飲料摂取後では摂取前と比較して尿中デオキシピリジノリン量の有意な減少 ($p < 0.05$) が認められ、ピリジノリン量は減少傾向がみられた。一方、プラセボ飲料摂取前後ではデオキシピリジノリン量に有意な変化は認められず、ピリジノリン量は増加傾向を示した。ここで、試験飲料摂取後とプラセボ飲料摂取後の尿中デオキシピリジノリン量を比較すると、有意差は認められなかったが、試験飲料摂取後が低値を示した。

4) ホルモン分析

ホルモン分析の結果を表5に示した。試験飲料摂取期間においては前後で有意な変化は認められなかったが、プラセボ飲料摂取期間ではエストロンおよびエストリ

オールが閉経者において有意な減少 ($p < 0.05$) および有意な増加 ($p < 0.001$) が認められた。

5) 血液学的検査および血液生化学的検査

血液学的検査値および血液生化学的検査値の推移を表6に示した。摂取前の値と比較して試験飲料摂取およびプラセボ飲料摂取により一部の項目で摂取後に有意な変動がみられたが、いずれも基準値範囲内の変化であり異常値への変動は認められなかった。ある被験者では試験飲料摂取前のCPK値が1,755 IU/Lと基準値を大幅に上回ったが、摂取後には105 IU/Lと基準値の範囲内へと低下が認められた。その他の被験者では臨床的問題となる変化は認められなかった。

6) 尿検査

データは示さないが、尿検査においては臨床的に問題となる変化は認められなかった。

7) 身体計測

身体計測値の推移を表7に示した。体重およびBMI値は、試験飲料およびプラセボ飲料摂取前と比較して摂取後で有意な低下が認められたが、血圧および脈拍数に関しては有意な変化は認められなかった。

8) 胃腸症状およびその他症状

試験飲料およびプラセボ飲料摂取期間に、お腹の張りが散見されたが、いずれも軽微なものであった。お腹の張りに関しては試験飲料摂取期間、プラセボ飲料摂取期間ともに同等の発件数であった。

その他試験期間を通じて臨床的問題となる自覚症状は認められなかった。

表4 尿中イソフラボン量および骨吸収マーカー量の推移

項目	試験飲料		プラセボ飲料	
	摂取前	摂取後	摂取前	摂取後
イソフラボン量 (mg/日)				
ダイゼイン	0.64 ± 0.70	8.07 ± 3.62***	1.00 ± 2.41	1.26 ± 2.72
ゲニステイン	0.46 ± 1.00	1.24 ± 0.87***	0.53 ± 1.15	0.47 ± 0.83
グリシテイン	0.24 ± 0.33	4.70 ± 2.10***	0.31 ± 0.66	0.37 ± 0.47
骨吸収マーカー量 (nmol/mmol·Cre) †				
デオキシピリジノリン	6.94 ± 2.50	6.25 ± 2.00*	6.72 ± 1.99	6.35 ± 1.65
ピリジノリン	26.99 ± 7.79	25.88 ± 6.95	26.92 ± 6.90	27.46 ± 8.57

平均値±標準偏差 (n = 37)

*: $p < 0.05$ 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

***: $p < 0.001$ 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

†: クレアチニン値 (Cre) で補正した。

表5 ホルモンの推移

項目		試験飲料		プラセボ飲料	
		摂取前	摂取後	摂取前	摂取後
性腺刺激ホルモン					
LH (mIU/mL)	未閉経者	5.7 ± 4.7	9.3 ± 15.3	11.4 ± 13.1	8.6 ± 11.3
	閉経者	32.5 ± 16.4	33.7 ± 16.2	34.7 ± 18.1	31.5 ± 16.9
FSH (mIU/mL)	未閉経者	7.0 ± 3.1	13.1 ± 13.7	14.8 ± 19.2	15.7 ± 20.4
	閉経者	88.3 ± 37.6	91.5 ± 37.6	84.1 ± 36.6	85.1 ± 40.4
男性ホルモン					
テストステロン (ng/dL)	未閉経者	0.22 ± 0.08	0.24 ± 0.08	0.22 ± 0.12	0.23 ± 0.12
	検出限界 ^a 以下(人数)	(3)	(5)	(1)	(4)
	閉経者	0.19 ± 0.08	0.20 ± 0.07	0.18 ± 0.10	0.18 ± 0.07
	検出限界 ^a 以下(人数)	(9)	(13)	(8)	(11)
卵胞ホルモン					
エストロン (pg/mL)	未閉経者	132.9 ± 89.1	79.9 ± 36.4	102.8 ± 56.3	93.9 ± 50.8
	閉経者	41.0 ± 13.6	40.1 ± 14.6	50.9 ± 34.5	42.3 ± 23.5*
エストラジオール (pg/mL)	未閉経者	104.5 ± 59.2	65.9 ± 36.1	92.0 ± 73.5	85.5 ± 44.6
	検出限界 ^b 以下(人数)	(0)	(0)	(1)	(2)
	閉経者	17.7 ± 5.8	14.7 ± 5.0	54.8 ± 64.7	50.2 ± 34.5
	検出限界 ^b 以下(人数)	(17)	(15)	(16)	(15)
エストリオール (pg/mL)	未閉経者	16.2 ± 5.5	16.7 ± 3.9	16.6 ± 2.8	18.6 ± 2.5
	検出限界 ^b 以下(人数)	(0)	(0)	(0)	(1)
	閉経者	16.8 ± 3.1	16.8 ± 3.0	15.9 ± 2.6	19.1 ± 3.1***
	検出限界 ^b 以下(人数)	(4)	(1)	(0)	(1)

平均値 ± 標準偏差 (n = 37)

*: $p < 0.05$ 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

***: $p < 0.001$ 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

検出限界^a: 0.1 ng/dL

検出限界^b: 10 pg/mL

3. 考察

本試験において、試験飲料 (イソフラボン 13.3 mg を含有するケール青汁 3.0 g) を中高年女性に1日3包、2週間摂取させた結果、摂取前と比較して摂取後の尿中デオキシピリジノリン量は有意に減少した。プラセボ飲料 (イソフラボンを含有しないケール青汁) を摂取させた場合には尿中へのデオキシピリジノリン排泄量に有意な変化を認めなかった。また、試験飲料摂取後の尿へのデオキシピリジノリンの排泄量は、プラセボ飲料と比較して有意差は認められないものの0.10 nmol/mmol・Cre 低値を示した。有意な差が認められなかった理由として、摂取前には試験飲料摂取群の方がプラセボ飲料に比べ尿中デオキシピリジノリン量が0.22 nmol/mmol・Cre 高値であったことが挙げられる。これらのことから、試験飲料摂取により尿中デオキシピリジノリン量が減少

したのは、試験飲料中のイソフラボンの影響であると考えられた。

一方、尿中ピリジノリン量は、試験飲料の摂取により低下する傾向にあったが有意差は認められなかった。デオキシピリジノリンは主に骨・歯芽組織に特異的に分布し、骨吸収時のコラーゲン分解に伴い血中に放出され、体内ではほぼ代謝されずに尿中に排泄されることが知られている。また、歯芽組織由来のデオキシピリジノリンは微量である。このことから、尿中に見出されるデオキシピリジノリンはほぼ骨由来であり、骨吸収の指標として用いられてきている^{15,16)}。

ピリジノリンはデオキシピリジノリンと同じく骨吸収マーカーではあるが、骨・軟骨に加えて多くの結合組織にも存在していることから、そのまま骨吸収の状態を反映しているとはいえない。1日あたりイソフラボン

表6 血液学的検査値および血液生化学的検査値の推移

項目	基準値	試験飲料		プラセボ飲料	
		摂取前	摂取後	摂取前	摂取後
血液学的検査					
ヘモグロビン (g/dL)	11.5~18.0	12.9 ± 1.2	13.1 ± 1.3*	13.1 ± 1.3	13.1 ± 1.4
赤血球数 (×10 ⁴ /μL)	370~550	433 ± 30	441 ± 30**	438 ± 29	442 ± 36
ヘマトクリット (%)	35~52	38.7 ± 2.8	39.8 ± 3.2***	39.1 ± 2.8	39.8 ± 3.8
白血球数 (/μL)	3500~9200	5010 ± 1410	4910 ± 1230	4960 ± 1110	5070 ± 1190
血小板数 (×10 ⁴ /μL)	10~40	25.6 ± 7.3	26.5 ± 8.1	25.3 ± 7.6	26.5 ± 7.7**
MCV (fL)	84~100	89.5 ± 5.9	90.3 ± 5.9*	89.5 ± 5.8	90.3 ± 6.3*
MCH (pg)	28~34	30.0 ± 3.0	29.8 ± 2.8	30.0 ± 2.8	29.8 ± 2.9
MCHC (%)	31~36	33.4 ± 1.4	32.9 ± 1.6*	33.5 ± 1.4	32.9 ± 1.6*
血液生化学的検査					
総蛋白 (g/dL)	6.5~8.2	7.68 ± 0.47	7.94 ± 0.44***	7.75 ± 0.48	7.87 ± 0.52
アルブミン (g/dL)	3.6~5.3	4.62 ± 0.22	4.71 ± 0.22*	4.65 ± 0.18	4.70 ± 0.23
A/G比		1.54 ± 0.19	1.47 ± 0.17***	1.53 ± 0.19	1.50 ± 0.17
総ビリルビン (mg/dL)	0.2~1.2	0.75 ± 0.29	0.70 ± 0.22	0.74 ± 0.31	0.73 ± 0.27
総コレステロール (mg/dL)	150~219	216.7 ± 34.5	217.1 ± 31.5	219.1 ± 34.3	216.1 ± 34.8
HDL-コレステロール (mg/dL)		72.0 ± 15.9	72.2 ± 16.1	72.3 ± 16.8	72.9 ± 17.1
LDL-コレステロール (mg/dL)		134.3 ± 35.4	130.6 ± 30.1	135.6 ± 34.7	128.8 ± 34.3*
中性脂肪 (mg/dL)	50~149	71.7 ± 31.5	74.5 ± 41.1	73.1 ± 30.8	76.7 ± 36.6
GOT (AST) (IU/L)	10~40	22.0 ± 6.8	22.2 ± 7.2	21.7 ± 6.4	21.8 ± 6.0
GPT (ALT) (IU/L)	5~45	20.2 ± 10.5	20.5 ± 13.5	20.2 ± 9.9	19.8 ± 11.1
γ-GTP (IU/L)	8~70	24.8 ± 16.6	25.4 ± 17.2	26.0 ± 19.0	23.7 ± 14.6*
LDH (IU/L)	200~460	200.6 ± 34.7	204.3 ± 39.4	197.7 ± 34.9	199.8 ± 35.1
CPK (IU/L)	30~200	146.9 ± 275.9	103.0 ± 43.7	102.5 ± 45.0	98.2 ± 45.1
尿素窒素 (mg/dL)	8~20	12.8 ± 3.0	12.1 ± 2.3	13.0 ± 2.9	12.2 ± 2.8*
クレアチニン (mg/dL)	0.6~1.4	0.612 ± 0.065	0.632 ± 0.067**	0.619 ± 0.067	0.620 ± 0.067
尿酸 (mg/dL)	2.5~7.5	4.18 ± 0.95	4.26 ± 0.92	4.26 ± 0.95	4.14 ± 0.86
Na (mEq/L)	135~147	141.3 ± 2.8	140.7 ± 1.9	141.5 ± 2.2	140.9 ± 2.5
Cl (mEq/L)	98~108	102.1 ± 2.8	101.6 ± 1.6	102.3 ± 1.9	102.0 ± 2.0
K (mEq/L)	3.5~5.0	4.47 ± 0.35	4.46 ± 0.37	4.44 ± 0.38	4.39 ± 0.41

平均値 ± 標準偏差 (n = 37)

*: p < 0.05 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

**: p < 0.01 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

***: p < 0.001 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

表7 身体計測値の推移

項目		試験飲料		プラセボ飲料	
		摂取前	摂取後	摂取前	摂取後
体重 (kg)		54.7 ± 6.3	54.1 ± 6.0***	54.6 ± 6.2	54.2 ± 6.2**
BMI		22.4 ± 2.6	22.1 ± 2.5***	22.4 ± 2.6	22.2 ± 2.6**
収縮期血圧 (mmHg)		123.0 ± 17.3	121.6 ± 15.8	125.0 ± 19.8	124.8 ± 17.2
拡張期血圧 (mmHg)		74.0 ± 12.3	73.0 ± 12.0	74.5 ± 13.4	73.1 ± 11.5
脈拍数 (/分)		72.3 ± 10.5	75.0 ± 11.8	74.6 ± 11.9	75.2 ± 8.6

平均値 ± 標準偏差 (n = 37)

**: p < 0.01 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

***: p < 0.001 摂取前に対して有意差あり (paired t test)

40 mg を摂取させることで尿中デオキシピリジノリン量は有意に低下するが、尿中ピリジノリン量には変化がなかったとの報告がある¹¹⁻¹³⁾。これに関してはピリジノリンはデオキシピリジノリンと比較して骨特異性が低いために変化が見られなかったと考えられる。本試験においても同様の結果が認められ、ピリジノリンの骨特異性が低いために顕著な低下がみられなかったものと思われる。

イソフラボンが骨密度低下を抑制することは、卵巣を摘出した閉経モデルラットにおいて報告されている⁹⁾。また、イソフラボンの誘導体であるイプリフラボンを骨粗鬆症患者に1日あたり600 mg 摂取させた結果、骨密度の増加、骨折の予防などの効果が得られている^{14,15)}。さらに、大豆イソフラボンでも1日あたり90 mg を6ヶ月間摂取させることで、骨密度が増加したとのPotterらの報告⁸⁾がある。本実験の試験飲料1日摂取量のイソフラボン含量はおおよそ40 mg であり、Potterら⁸⁾の実験と比較して少ない。しかし、骨吸収マーカーであるデオキシピリジノリンは有意に低下しており、試験飲料を継続して摂取することは骨代謝の改善(骨粗鬆症の一次予防)に役立つものと期待される。

試験飲料の摂取では、性腺刺激ホルモン、男性ホルモンおよび卵胞ホルモンの推移に有意な変化は認められなかった。一方、プラセボ飲料の摂取では閉経後の被験者において摂取前と比較して摂取後にエストロンおよびエストリオールに変化が見られたが、エストロンは有意に低下し、逆にエストリオールは有意に増加していることから臨床的に意味のある変化ではないと考えられる。また、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査および身体学的検査において一部有意な変動が見られたが、いずれも基準値範囲内の変化であり、臨床的に問題となる変化ではないと考えられる。さらに、本商品は飲料という形態のため過剰摂取しにくいことが考えられる。

以上のことより、大豆イソフラボンを含有するケール青汁は、骨の代謝改善効果が期待でき、適切に摂取する上では安全性の高い食品であることが示唆された。

結 論

中高年女性を対象に、大豆イソフラボンケール青汁の尿中骨吸収マーカーであるデオキシピリジノリンの排泄量に及ぼす影響を調べる目的で試験を実施した。その結果、大豆イソフラボンを含まないプラセボ飲料摂取前後

では、尿中デオキシピリジノリン量に有意な変化は認められなかったが、大豆イソフラボンを含む試験飲料摂取前後では摂取前と比較して有意な低下が認められた。このことから、大豆イソフラボン含有ケール青汁を継続して摂取することで骨吸収が抑制される可能性が示唆され、骨代謝の改善(骨粗鬆症の一次予防)に役立つことが期待された。なお安全性に関しては適切に摂取される限り臨床的に問題のない事が明らかになった。

文 献

- 1) 堀口雅子:「更年期障害」p.18~25 (1996) 小学館(東京)。
- 2) 厚生省老人保健福祉局老人保健課監修:「骨粗鬆症による寝たきり防止マニュアル」p.21~29 (1993) 骨粗鬆症財団(東京)。
- 3) Wang, H., Murphy, P.A. "Isoflavone content in commercial soybean foods" *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1666~1673 (1994)。
- 4) Lee, H.P., Gourley, L., Duffy, S.W., Esteve, J., Lee, J., Day, N.E.: "Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore" *Lancet*, 337, 1197~1200 (1991)。
- 5) Adlercetz, H., Hamalainen, E., Gorbach, S., Goldin, B.: "Dietary phyto-oestrogens and the menopause in Japan" *Lancet*, 339, 1233 (1992)。
- 6) Anderson, J.W., Johnstone, B.M., Cook-Newell, M.E.: "Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids" *N. Eng. J. Med.*, 333, 276~282 (1995)。
- 7) Setchell, K.D., Cassidy, A.: "Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health" *J. Nutr.*, 129, 758s~767s (1999)。
- 8) Potter, S.M., Baum, J.A., Teng, H., Stillman, R.J., Shay, N.F., Erdman, J.W., Jr.: "Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women" *Am. J. Clin. Nutr.*, 68, 1375s~1379s (1998)。
- 9) Ishimi, Y., Mita, C., Ohmura, M., Onoe, Y., Sato, T., Uchiyama, Y., Ito, M., Wang, X., Suda, T., Ikegami, S.: "Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency" *Endocrinology*, 140, 1893~1900 (1999)。

- 10) Yamaguchi, M., Gau, YH.: "Inhibitory effect of genistein on bone resorption in tissue culture" *Biochem. Pharm.*, 55, 71 ~ 76 (1998).
- 11) 小阪英樹, 桑名好恵, 奥平武則, 古結一郎: 「大豆イソフラボン強化豆乳飲料の摂取が尿中骨吸収マーカー（デオキシピリジノリン）量に及ぼす影響」健康・栄養食品研究, 3 (4), 1 ~ 12 (2000).
- 12) 寺本貴則, 坂本朱子, 戸田登志也, 奥平武則, 古結一郎: 「大豆イソフラボン含有飲料の摂取が尿中骨吸収マーカー量に及ぼす影響」健康・栄養食品研究, 3 (2), 53 ~ 62 (2000).
- 13) 藤倉園男, 千葉良之, 矢野宏之, 小林千広: 「大豆イソフラボン含有清涼飲料水の摂取が中高年女性の尿中骨吸収マーカー量に与える影響」健康・栄養食品研究, 6 (1), 69 ~ 79 (2003).
- 14) Kudou, S., Fleury, Y., Welti, D., Magnolato, D., Uchida, T., Kitamura, K., Okubo, K.: "Malonyl isoflavone glycosides in soybean seed (Glycine max Merrill)" *Agric. Biol. Chem.*, 55, 2227 ~ 2233 (1991).
- 15) Daniloff, GY., Hesley, RP., Ju, J., Evans, BJ., He, P., Seyedin, SM.: "Pyridinoline crosslinks as markers of bone resorption" *Lancet*, 340, 278 ~ 279 (1992).
- 16) Nakatsuka, K., Nishikawa, Y.: "Pyridinoline, deoxypyridinoline" *The bone*, 12, 145 ~ 149 (1998).
- 17) Agnusdei, D., Adami, S., Cervetti, R., Crepaldi, G., DiMunno, O., Fantasia, L., Isaia, GC., Letizia, G., Ortolani, S., Passeri, M.: "Effects of ipriflavone on bone mass and calcium metabolism in postmenopausal osteoporosis" *Bone Miner.*, 19, S43 ~ S48 (1992).
- 18) Passeri, M., Biondi, M., Costi, D., Bufalino, L., Castiglione, GN., DiPeppe, C., Abate, G.: "Effect of ipriflavone on bone mass in elderly osteoporotic women" *Bone Miner.*, 19, S57 ~ S62 (1992).