

氏名	三ツ浪 真紀子
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 852 号
学位授与年月日	令和 5 年 6 月 29 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 3 項該当
学位論文名	大豆食品および大豆イソフラボン摂取と生殖年齢女性の卵巣予備能の関連
論文審査委員	(委員長) 教授 桑田 知之 (委員) 教授 大口 昭英 教授 阿江 竜介

論文内容の要旨

1 研究目的

食事が健康アウトカムに影響するということの認知は上がってきているが、食事がどのように生殖機能と関連しているのか、特に卵巣機能との関連についてはまだ報告が少ない。大豆および植物性エストロゲンは動物実験では生殖機能に対し負の影響が報告されている。一方で、ヒトを対象とした研究では生殖に悪影響を及ぼさない可能性があり、むしろ不妊治療中のカップルには妊娠率を上昇させるなど有益である可能性があることが示唆されている。女性の卵巣予備能は胎生期が最大でその後加齢とともに減少し、妊娠の可能性や女性の健康アウトカムそのものと強く関連するが、大豆やイソフラボンの摂取量と卵胞刺激ホルモン (Follicle stimulating hormone, FSH) 以外の卵巣予備能のマーカーとの関係性を評価した研究はない。そこで今回、米国生殖医療センターを受診した女性を対象に、大豆食品、イソフラボン摂取と胞状卵胞数 (Antral follicle count, AFC)、血清抗ミュラー管ホルモン (Anti-Müllerian hormone, AMH)、月経 3 日目に測定した FSH で評価した卵巣予備能の関連を研究した。

2 研究方法

2004 年から 2019 年の間に生殖医療センターを受診した 18~45 歳の女性で **Environment and Reproductive Health (EARTH) Study** への参加し、大豆摂取の質問票及び AFC 評価を行った 667 名を対象に研究を行った。研究参加時には、過去 3 ヶ月間の大豆食品 15 品目の摂取を質問票で聴取し、この推定摂取量から米国農務省のデータベースを用いて推定イソフラボン摂取量を算出した。参加者は、大豆を摂取していない人を基準群として、大豆食品とイソフラボンの摂取量に基づき 5 つの群に分けられ、AFC を主要評価項目、AMH と FSH を副次評価項目として、統計解析を行う。AFC は月経 3 日目に経陰超音波を用いて測定され、FSH は月経 3 日目、AMH は卵胞期に採取した血液サンプルを用いて測定した。AMH は 2011 年に測定が導入されたが、当初は担当医の判断によって測定の有無が決定され、徐々にスクリーニング検査の一部となったため、研究対象者 667 名のうち、239 名 (36%) のみが AMH 測定値を持っていた。また、卵巣機能低下を各学会の診断基準等を元にそれぞれ AFC 7 以下、AMH 0.5 ng/ml 以下、FSH 10 IU/L 以上と

定義し、卵巣機能低下の有無も副次アウトカムとして扱った。大豆・イソフラボン摂取と卵巣予備能マーカーの統計学的解析には、AFC に対してはポアソン回帰モデル、AMH と FSH については分位数回帰モデルを用い、交絡因子を未調整の結果と調整後の結果を AFC は平均値における相対差、AMH と FSH は調整後中央値の差を 95%信頼区間 (95%CI) とともに報告した。

3 研究成果

参加者の年齢中央値は 35 歳で、大豆の摂取量の中央値は 0.09 食/日、イソフラボンの摂取量は 1.78mg/日であった。交絡因子を未調整の解析では、大豆とイソフラボン摂取と AFC、AMH、月経 3 日目の FSH は関連を認めなかった。多変量モデルにおいても、大豆食品、イソフラボン摂取量と AFC および FSH との関連は認められなかったが、大豆食品摂取量の最も多いカテゴリーの参加者は、AMH 値が有意に低かった (調整後中央値の差-1.16、95%CI : -1.92、-0.41)。この結果は、大豆摂取量に基づくグループ数を変更しても維持された。しかしながら、摂取量を連続変数として解析した場合、アウトカムを卵巣機能低下の有無で評価した場合、摂取量の最高 2.5 パーセントイルの参加者を除外した解析、AMH データを持つ条件付き確率で補正する逆確率重み付け推定法を用いた場合、大豆摂取量は AMH と関連を示さなかった。また、AMH データを持つ患者のみを対象にした解析では大豆摂取量が一番多いグループは低い AFC 値と関連した (平均値における相対差-10.0%、95%CI : -19.0、0.0)。さらに、アジア人と非アジア人で効果修飾を認め (大豆 $p=0.001$ 、イソフラボン $p=0.01$ 、多変量解析モデル) アジア人では大豆・イソフラボンを多く摂取する群で AFC が高値であったが、これらの結果は少ないサンプル数 ($n=65$) に基づくものである。

4 研究考察

不妊症のスクリーニングもしくは治療を希望して米国生殖医療治療センターを受診した女性では大豆食品およびイソフラボンの摂取量と AFC および FSH との関連は認めなかったが、大豆食品およびイソフラボンの摂取量が最も多いカテゴリーに属する女性では、血清 AMH 値の低下が認められた。しかし、この関係は、暴露因子、アウトカムのモデリングの手法に非常に敏感で、複数の解析で関係を認めなくなり、また逆確率重み付け推定法を使用すると消失した。また、AMH を持つ患者のみを対象とした解析でのみ、大豆摂取が AFC と負の関連を認めたことから、主解析で観察された大豆・イソフラボンと AMH の関係は偶然の発見である可能性、もしくは選択バイアスが原因で生じた可能性が示唆された。

大豆摂取はアジア諸国で多いことが知られており、本研究対象集団でも同様の傾向がみられた。アジア人と非アジア人で大豆と AFC で測定された卵巣機能に効果修飾を認め、アジア人では大豆摂取が卵巣機能に保護的に働く可能性がある。ただし、研究対象者は約 80%が非ヒスパニック系白人でアジア人は約 10%のみで標本数が少なく、これらの結果の解釈には注意を要する。

5 結論

本研究では、大豆およびイソフラボンの摂取量と、米国生殖医療センターを受診した患者において観察された範囲内の摂取量には卵巣予備能への負の影響がある可能性は低いと考えた。民族・人種に多様性があり、大豆の摂取量が多い参加者も含むより大規模な研究デザインを用いて

更なる研究を行うことが望まれる。

論文審査の結果の要旨

ダイゼイン、ゲニステイン、グリシステインなどのイソフラボンは、主に大豆に含まれる非ステロイド系の植物性化学物質であり、イソフラボンは内因性エストロゲンと構造的、機能的に類似しているため、しばしば植物性エストロゲンと呼ばれる。過去の動物実験では、植物性エストロゲンの暴露が生殖機能に悪影響を及ぼすことが報告されており、大豆を原料とする食品は生殖に害を及ぼす可能性があるという懸念と認識が一般に広まった。しかしながら、ヒトでの研究結果は、一貫したものがないのが現状である。

三ツ浪氏は妊孕性ととともに生殖機能評価のため重要な評価項目である卵巢予備能を評価することで、大豆またはイソフラボンの摂取が生殖に害を及ぼす可能性について検討することとし、米国生殖医療センターを不妊症のスクリーニングもしくは治療目的で受診した女性を対象に、大豆食品とイソフラボンの摂取量と胞状卵胞数（antral follicle count、AFC）、抗ミュラー管ホルモン（anti-Müllerian hormone、AMH）、FSH 基礎値の関連性を検討した。結論として、米国の一般集団で観察されるのと同程度の大豆摂取量を持つ参加者の中で、大豆やイソフラボン摂取量と AFC および FSH 基礎値との関連は認めなかった。三ツ浪氏の結果からは、欧米の集団で通常観察される摂取レベルの大豆食品の摂取が、卵巢予備能との間の強い有害または有益な関係はもたらさないことを示唆するものであり、過去の動物実験の結果からできた大豆への懸念のため大豆食品の摂取を避けていた生殖世代の女性に対して有益な情報を提供でき、社会に与えるインパクトは高いと考えられた。

当初提出された論文において、研究の背景について詳細に記載されていない点、原著論文で記載していた必要部分が割愛されている点、表現や統計手法についての修正、誤字等について、申請者に改訂を指導した。研究施行の倫理的配慮、方法、結果の解析、考察は十分されており、今後の生殖医療へ与えるインパクトは高いと思われ、医学博士論文に値する論文であるという点で、審査委員全員の意見の一致をみた。

試問の結果の要旨

大豆またはイソフラボンの摂取と生殖年齢女性の卵巢予備能の関連に関する研究について、原著論文、学位論文をもとに、三ツ浪氏よりプレゼンテーションがなされた。その後行われた主な質疑応答、審査委員からの指摘について下記に示す。

① 研究の背景において、胞状卵胞数、AMH、FSH 基礎値の関係性について解説する必要があると考えられ、卵巢予備能として、上記胞状卵胞数、AMH、FSH 基礎値が重要であ

ること、これらの関係性（図 2）についての説明を、文献を挿入しながら、加筆修正することを指示した。

② 原著論文では、研究のフローチャートが掲載されているが、本博士論文においては除かれているため、本博士論文の本文中に掲載されるべきであることを指摘し、修正を指示した。

③ 本論文の結論は、「大豆摂取量が極端に多い参加者によってもたらされた」としていることから、イソフラボン摂取量、大豆食品摂取量と、AFC、AMH、および FSH 基礎値との関連性を散布図 (Scatter gram) (連続変数で) で表示した新しい図を作成し、Supplemental Figure として追加することを指示した。

④ 研究背景について、冗長とならずに、かつ専門外の読者も十分理解が得られるように充実させるよう指示した。

⑤ ところどころ、文献を記載すべきと思われる箇所や、統計についての加筆、表現の追記等について、修正を指示した。

⑥ 用語の統一、誤字についての修正を指示した。

三ッ浪氏は、産婦人科医としての経験から、この分野について豊富な知識を有しており、本研究の背景やその意義についても十分に理解していた。真摯な態度で質問には的確に答えしており、試問を通じて十分な周辺の知識ならびに見識を備えていると考えられた。

以上の点から、三ッ浪氏は医学博士号を受けるに値する人物であると判断し、試問に合格とした。