

Female Athlete Triad モデルラットの骨の脆弱化に及ぼす 大豆イソフラボン摂取の予防効果

新宮巴菜^{*, **}・木岡一輝^{*}・鈴木博貴^{*}・麻見直美^{***}

Preventive effect of soy isoflavone intake on bone fragility in Female Athlete Triad model rats

HANA Shingu^{*, **}, KAZUKI Kioka^{*}, HIROTAKA Suzuki^{*} and NAOMI Omi^{***}

Abstract

Recently, the athletic performance of female athletes has improved remarkably, health problems, however, have become apparent. Female athletes of Weight-Sensitive Sports often use extreme weight loss methods. These cause Female Athlete Triad (FAT). Increasing energy intake is an effective strategy for FAT symptoms, but it is difficult for them. Therefore, in this study, we aimed to examine the preventive effect of soy isoflavone intake on bone of FAT low bone strength rat. The methods of this study are that 25 female Sprague-Dawley rats, 5-weeks-old, divided into 2 groups: -50~-40%food restriction and voluntary running group (FAT, n=9) and -50~-40%food restriction, voluntary running and soy isoflavone intake group (FATiso, n=9). The amount of feeding in those two groups was decided in proportion to amount of intake in Ad lib feeding and sedentary group (Dietary standards, n=7). They were reared in individual cages for 30 days. The result of this study was energy availability, amenorrhea and bone mineral density in FATiso group were improved compared with those in another group. The conclusion of this study was soy isoflavone intake significantly suppress development of amenorrhea and decreased bone mineral density in FAT model rats. Further studies are necessary to clarify the minimum amount of soy isoflavone intake enough to inhibit decreased bone strength.

Keywords: female athlete triad, Female Athlete Triad model, low bone strength, low energy availability, soy isoflavone

緒言

近年、競技成績の向上が著しい女性アスリートの健康問題が顕在化している。体重や体組成が競技力に影響する持久系競技、審美系競技、体重階級制競技などの Weight-Sensitive Sports²⁴⁾ においては、食事制限や過度な練習などによる極端な減量方法が用いられている⁴⁾。これらを原因とした利用可能エネルギー低値、機能的視床下部性無月経、骨粗鬆症の

3つが相互に関連して起こる¹⁷⁾ Female Athlete Triad (FAT) が女性アスリートの健康を脅かしており、中でも骨粗鬆症は競技成績や選手生命に大きな影響を与えている。生涯を通して骨の健康を維持する上で、若年期に獲得される最大骨量 (Peak bone mass)⁸⁾ を高めることが重要とされている。本来、骨に負荷がかかる運動は骨密度を高めることが知られているが、食事制限や過度な運動により利用可能エネルギー

* 筑波大学大学院 人間総合科学学術院 運動栄養学研究室
Laboratory of exercise nutrition, Graduate School of Comprehensive Human Sciences, University of Tsukuba

** 実践女子大学
Jissen Women's University

*** 筑波大学 体育系
Faculty of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba

ギー低値状態が長期化することで骨密度を低下させることが知られている^{10,13)}。特に審美系競技においては9~14歳で減量を開始する⁵⁾との報告があり、成長期に十分な骨量獲得ができないことで骨の脆弱化を招く恐れがある。成長期雌ラットを用いた研究でも15日間の走運動下の食餌制限は脛骨の骨密度を低下させる可能性³⁰⁾が示されている。FAT様モデルラットを用いた先行研究にて低骨強度の予防・改善策を検討した結果、エネルギー摂取量を増加させることが有効である¹⁾と示唆された。しかし体重増加を招く恐れのあるエネルギー摂取量の増加は、体重管理が前提条件となるWeight-Sensitive Sportsのアスリートには受け入れ難い方法である。そこで、直接エネルギー源にはならず、ホルモン濃度の調節により低骨強度を改善するための食品素材として大豆イソフラボンの機能性に着目した。大豆イソフラボンは女性ホルモンであるエストロゲンと似た作用を示す^{27,29)}。大豆イソフラボンは閉経後の女性や卵巣摘出動物において骨損失を抑制する^{7,21)}ことが多数報告されており、成熟期FATモデルラットにおいても大豆イソフラボン摂取により骨密度の低下が抑制された²⁶⁾ことが明らかとなっている。動物を用いた先行研究では成熟期以降の動物が用いられているが、FATによる低骨密度は成長期で頻発し、成長発達の遅延に限らず将来的な健康障害をもたらす可能性があることから、FAT諸症状への対策は、発症リスクの高い時期である成長期に行う必要がある。そこで本研究では、一般に低骨強度予防・改善効果が期待されている大豆イソフラボンが若齢期FATモデルラットの骨強度に対しても効果をもたらすかを検討することとした。

方法

(1) 実験動物および飼育条件

図1の通り、5週齢のSprague-Dawley (SD)系雌ラット(日本クレア株式会社、東京)25匹を用い、搬入後7日間の順化飼育後、Day0に各群の体重が均等になるように群分けを行った。食餌制限および運動を課さない群(食餌基準群、n=7)、食餌基準群の摂餌量に対し-50もしくは-40%の食餌制限を行い、回転車による自発走運動を行う群(FAT, n=9)と食餌制限および自発走運動を行い、大豆イソフラボン(フジフラボンP40, フジッコ株式会社、神戸)を摂取させる群(FATiso, n=9)の2群に分けた。食餌基準群は食餌摂取量の測定のみ行うため、基準値が得られる最少数の7匹に設定した。FAT群のうち自発走運動を遂行できなかった1匹を除外した。本研究では、食餌制限下で自発走運動が

増加する^{2,19)}ことを利用し、FAT状態を誘発させることとした。Day0からDay30までを本試験期間とし、Day30、31に解剖を行った。また、Day8に食餌制限割合を-50%から-40%に変更した。実験期間中は一貫して室温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $80 \pm 10\%$ 、18時-6時を暗期に設定した飼育室において、食餌基準群はステンレス製のワイヤーケージ(13×13×22cm)で、それ以外は回転数のカウントにより性周期観察が可能^{2,28)}な回転車付きケージ(1m/周、ケージの大きさ:高さ35cm、幅27cm、奥行35cm)で個別飼育した。脱イオン蒸留水を自由摂取させ、体重、摂食量、走行距離は24時間毎に記録した。なお、本実験は筑波大学動物実験委員会による倫理審査の承認を得て行った(承認番号:23-398)。

(2) 飼料

本試験期間中に用いたFAT群の飼料(FAT群食)およびFATiso群の飼料(FATiso群食)の組成を表1に示した。FATiso群食は、先行研究^{26,30)}を参考に、大豆胚芽抽出物であるイソフラボン粉末(フジフラボンP40、フジッコ株式会社、神戸)を用い、食餌基準群食に対する大豆イソフラボン粉末0.5%量を添加量の基準とし、FATiso群で同量を摂取できるよう調整したものを試験食とした。イソフラボン粉末の成分組成を表2に示した。飼料はガラス製の餌鉢に各群の規定量の飼料を入れて給餌した。翌日に飼料の残量を量り、前日に入れた量から差し引き摂餌量を求めた。

(3) サンプル採取

体重、摂餌量、走行距離は毎日記録を行った。解剖の2時間前から絶食とし、イソフルラン(Pfizer製)で麻酔し、子宮、骨(腰椎・大腿骨・脛骨)を採取

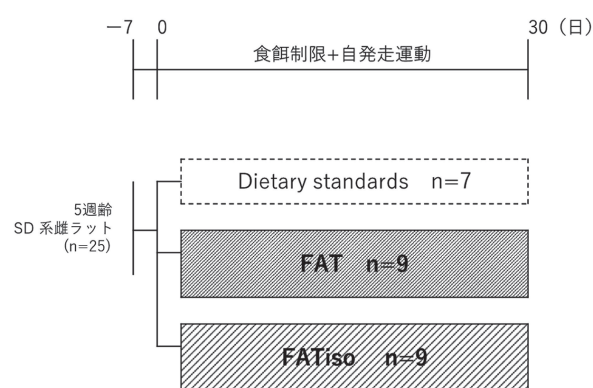


図1 実験プロトコル

Dietary standards: 自由摂取+非運動群(食餌基準群)、
FAT: 食餌制限+自発走運動群、FATiso: 食餌制限
+自発走運動+大豆イソフラボン摂取群

表1 飼料組成

	FAT 群食 (-50%食餌制限) %(1.2%Ca, 1.2%P)	FAT 群食 (-40%食餌制限) %(1.0%Ca, 1.0%P)	FATiso 群食 (-50%食餌制限) %(1.2%Ca, 1.2%P)	FATiso 群食 (-40%食餌制限) %(1.0%Ca, 1.0%P)
グルコース	55.15	57.56	54.15	56.76
カゼイン* ¹	18	18	18	18
シスチン	0.2	0.2	0.2	0.2
綿実油	10	10	10	10
CaCO ₃	3.01	2.51	2.97	2.51
KH ₂ PO ₄	2.76	2.21	2.76	2.21
K ₂ HPO ₄	3.53	2.83	3.52	2.83
食物繊維	3	3	3	3
コリン	0.2	0.2	0.2	0.2
水溶性ビタミン ミックス* ²	0.2	0.17	0.2	0.17
脂溶性ビタミン ミックス	* ³	* ³	* ³	* ³
Ca・Pフリー ソルトミックス * ⁴	4	3.33	4	3.33
イソフラボン	-	-	1	0.8
エネルギー (kcal/100g)	349	357	346	354

FAT 群: 食餌制限+自発走運動群、FATiso 群: 食餌制限+自発走運動+大豆イソフラボン摂取群

実験食の組成は先行研究に基づいて決定した (Suda et al., 1970)。

食餌基準群食のカルシウム (Ca)・リン (P) 濃度を 0.6%とし、Control 群と同量を摂取させるため、FAT 群食・FATiso 群食 (-50%・-40%食餌制限) の Ca・P 濃度を 1.0or1.2%とした。

*¹ カゼインは Ca を 45 mg/100g、P を 127mg/100g 含む。

*² 水溶性ビタミンミックス (in%) : チアミン-0.5、リボフラビン-0.5、ピリドキシン-0.5、パントテン酸カルシウム-2.8、ナイアシン-2.0、イノシトール-20.0、葉酸-0.02、ビタミン B12-0.002、ピオチン-0.01、and グルコース-73.7

*³ 脂溶性ビタミンミックスには、次の脂溶性ビタミンを綿実油に溶かし、1週間で与えた。: β-カロテン-70μg、2-メチル-1,4-ナフトキノン-105μg、α-トコフェロール-875μg、ビタミン D3-525IU

*⁴ Ca・Pフリーソルトミックス (in%) : KCl-57.7、NaCl-20.9、MgSO₄-17.9、FeSO₄・7H₂O-3.22、CuSO₄・5H₂O-0.078、NaF-0.133、CoCl₂・6H₂O、-0.004、KI-0.01、MnSO₄・5H₂O-0.06、ZnSO₄・7H₂O-0.44、(NH₄)₆Mo7O24・4H₂O-0.005

した。子宮・大腿骨は湿重量を測定した。大腿骨は骨破断特性試験まで 4℃で保存した。腰椎、脛骨は 70%エタノールに浸漬して保存した。

(4) Energy Availability (EA: 利用可能エネルギー) の算出

ラットの利用可能エネルギーは Dimarco ら¹¹⁾ の報告に、自発走運動によるエネルギー消費量は、Anantharaman ら⁶⁾ の報告に基づき算出した。

・EA (kcal) = エネルギー摂取量 (kcal) - 運動によるエネルギー消費量 (kcal)

・エネルギー摂取量 (kcal) = 3.49 (kcal) * 食餌摂取量 (g)

*FAT 群食 (50%FR) : 3.49 (kcal/g)、FAT 群食

(60%FR) : 3.57 (kcal/g)、

FATiso 群食 (50%FR) : 3.46 (kcal/g)、FATiso 群

食 (60%FR) : 3.54 (kcal/g)

・運動によるエネルギー消費量 (kcal) = 5.0 (kcal) × 体重 (kg) × 走行距離 (km)

(5) 走行周期の評価

各個体の走行距離をフーリエ変換した後にパワースペクトル解析によりパワースペクトル割合 (PSR) を算出した。PSR は 0 に近いほど性周期異常であることを示す。day4 から day29 を検討対象の期間とし、実験期間前半の day4~19 と後半の day14~29 に分けて検討した。

表2 大豆イソフラボン試料（フジフラボン P40）組成

組成	%
ダイジン	20.42
マロニルダイゼイン	0.10
アクチルダイゼイン	1.14
ダイゼイン	0.28
ゲニスチン	4.56
マロニルゲニスチン	0.00
アクチルゲニスチン	0.26
ゲニステイン	0.06
グリシチン	11.11
マロニルグリシチン	0.20
アクチルグリシチン	0.57
グリシテイン	0.50
計	39.20

(6) 骨密度測定

腰椎および左右脛骨の軟部組織を取り除いた後に、二重エネルギー X 線骨密度測定装置（QDR-4500A, Hologic Inc.）を用いて骨密度を測定した。脛骨は既報¹⁸⁾に従い、脛骨全体のほか、脛骨全体を5分割し近位より1分割目を近位部として解析した。

(7) 大腿骨破断特性試験

軟部組織を取り除いた大腿骨を骨破断特性測定装置 DYN-1255（飯尾電機製）により支点間距離 1cm、プランジャースピード 100m/min、フルスケール 50kg、チャートスピード 120cm/min の条件で骨幹部中央を破断し、破断力および破断エネルギーを求めた。すなわち、破断力は骨の強さを示し、骨が破断された時の荷重（重力加速：単位 dyn）で表される。また、破断エネルギーは骨が破断されるまでの仕事量（1dyn の力が加わってその方向に働いた仕事量：単位 erg）を示す。

(8) 統計処理

本実験で得られたデータはすべて平均値±標準誤差（mean±SE）で表し、IBM SPSS Statistics version 27（IBM, Japan）を用いてノンパラメトリック検定を行った。p<0.05 を統計的に有意であると判断した。

結果

表3に示すように、実験開始時体重、最終体重、体重増加量、飼料効率は群間に有意な差はみられなかった。FATiso 群がイソフラボン試料に順化するまでに一時的に摂食量が低下したことから、FATiso

群の摂食量（p<0.001）およびカルシウム摂取量（p<0.001）が有意に低値を示した。

表4に、走行距離、利用可能エネルギー、子宮重量、性周期状態を示した。走行距離は、FATiso 群で有意な低値（p=0.002）を示し、利用可能エネルギー（p=0.027）、子宮重量（p=0.027）は FATiso 群で有意な高値を示した。実験期間前半の PSR では FATiso 群で高値傾向（p=0.110）を示し、実験期間後半では FATiso 群で有意に高値（p=0.026）を示していることから、FAT 群で性周期異常が見られた可能性がある。

表5に、大腿骨骨破断力、骨破断エネルギー、脛骨・腰椎骨密度を示した。脛骨近位部骨密度では FAT 群と比較して FATiso 群で有意な高値（p=0.008）を示し、大腿骨破断力（p=0.074）・大腿骨破断エネルギー（p=0.200）、全脛骨骨密度（p=0.074）・腰椎骨密度（p=0.536）は有意ではないものの FATiso 群で高値傾向を示した。

考察

FAT 群と FATiso 群の最終体重に有意差はみられなかったことから、大豆イソフラボン摂取による体重や脂肪量の増加はみられないことを確認できた。FATiso 群の子宮重量が有意に高値を示したことから、大豆イソフラボンが持つエストロゲン様作用¹⁵⁾がエストロゲン欠乏状態を改善したことで子宮萎縮を抑制した可能性がある。一般に、食餌制限下では食物探索の活性化により走行距離が著しく延長するが、FATiso 群では走行距離が有意に低値を示し、その結果、消費エネルギーが有意に低値を示した。これは、体内のエストロゲン濃度に応じて適正に血中エストロゲンレベルを調節する作用をもつ大豆イソフラボンの働き²⁰⁾が関連している可能性がある。大豆イソフラボン摂取により、食餌制限によって引き起こされていた可能性のある血中エストロゲン低値を改善し、エストロゲンレベルが適正に調整されたため、過活動および過剰なエネルギー消費が抑制された可能性が考えられる。また、食餌制限下の成熟期マウスへのエストロゲン投与で自発的な運動が減少した²²⁾という報告もあることから、エストロゲンレベルと運動量には関係性があると考えられ、今回のイソフラボン摂取の作用によるエストロゲンレベルの適正化と走運動の関係が示唆された可能性が考えられた。

PSR は 0 に近いほど性周期異常であることを示す²⁾が、実験期間前半では FATiso 群で高く、後半では FATiso 群で有意に高値を示した。実験期間前半から FATiso 群が大豆イソフラボンの予防効果が

表3 体重・摂餌量・体重増加量・カルシウム摂取量・飼料効率

	FAT	FATiso
実験開始時体重 (g)	147.2±3.5	147.3±2.8
最終体重 (g)	119.9±3.7	127.0±3.0
体重増加量 (g/day)	-0.9±0.2	-0.7±0.1
摂餌量 (g/day)	9.38±0.00	9.5±0.03 ***
カルシウム摂取量 (mg/day)	97.99±0.01	94.08±0.46 ***
飼料効率	-0.09±0.02	-0.08±0.01

mean±SE

*** p<0.001

FAT:食餌制限+自発走運動群、FATiso:食餌制限+自発走運動+大豆イソフラボン摂取群

表4 走行距離・利用可能エネルギー・子宮重量・パワースペクトル解析による性周期の評価

	FAT	FATiso
走行距離 (km/day)	18.63±2.21	10.96±1.35 **
利用可能エネルギー (kcal)	22.26±1.13	25.18±0.69 *
子宮重量 (g)	0.16±0.03	0.24±0.03 *
PSR (day4~19) (m ² /Hz)	0.020±0.00	0.032±0.005
PSR (day14~29) (m ² /Hz)	0.018±0.002	0.031±0.005 *

mean±SE

* p<0.05

** p<0.01

FAT:食餌制限+自発走運動群、FATiso:食餌制限+自発走運動+大豆イソフラボン摂取群

PSR:パワースペクトル割合

表5 骨破断力・骨破断エネルギー・骨密度

	FAT	FATiso
大腿骨 骨破断力 (×10 ⁶ erg)	1.07±0.13	1.29±0.08
大腿骨 骨破断エネルギー (×10 ⁵ dyn)	8.73±0.85	10.37±0.41
全脛骨 骨密度 (g/cm ²)	0.129±0.004	0.137±0.002
脛骨近位部 骨密度 (g/cm ²)	0.148±0.005	0.166±0.003 **
腰椎 骨密度 (g/cm ²)	0.166±0.005	0.171±0.004

mean±SE

** p<0.01

FAT:食餌制限+自発走運動群、FATiso:食餌制限+自発走運動+大豆イソフラボン摂取群

表れており、後半ではFAT群の性周期異常が顕著になった一方でFATiso群では性周期異常の発生が抑制されたことで明確な差がみられた。つまり大豆イソフラボンのエストロゲン様作用がエストロゲン欠乏状態を改善し、子宮萎縮や過活動を抑制したことで利用可能エネルギー低値および性周期異常を抑制したと推測できる。

大豆イソフラボン摂取により大腿骨骨破断力・骨破断エネルギーで有意ではないもののFATiso群で高値傾向を示し、FATiso群の脛骨近位部骨密度が有意に高値となった。FATiso群の体重減少量が少なかったことから、骨密度の維持に寄与した可能性

が考えられる。一般に骨の近位部とは、海綿骨の割合が高く骨代謝の速い部位である。本研究の大腿骨骨破断特性で有意差がみられなかった、また脛骨近位部骨密度では有意差がみられたものの全脛骨骨密度で有意差がみられなかった理由を実験期間の短さだと考える。Yanakaら²⁶⁾は、成熟期雌ラットを用いて食餌制限と自発走運動を10週間継続した結果、イソフラボン摂取により高骨代謝回転を抑制し、骨損失を抑制したと報告している。一般に、動物実験で骨に対する影響がみられるのは2~3か月と言われている。しかし本研究は、FATの発症が頻発する世代で検討を行うため、ヒトの成人ごろに相当する

10 週齢に実験を終えることを重要視し、本研究よりも緩い食餌制限を約 5 週間で検討した先行研究³⁾でも低骨強度の傾向を確認できていることから 30 日間という短期間で実施した。本実験では FATiso 群のカルシウム摂取量が少なかった(表 4)にも関わらず骨に対する好影響が表れており、実験期間の延長により、全脛骨および非荷重骨である腰椎においてもさらなる予防効果が期待できる。先行研究^{26,30)}で使用された大豆イソフラボン試料は 0.22~0.5%であったのに対し、本研究では、試験期間の短縮と結果の明確化のため、1.0%と高配合とした。この量は、人の摂取量に換算した場合、内閣府食品安全委員会が定めた 1 日の大豆イソフラボン摂取上限量の 75mg/日を超えている。今後さらに、FAT 様の脆弱骨改善に寄与する最少効果量の検討が必須である。

結論

本研究では、30 日間の大豆イソフラボン摂取により成長期雌 FAT モデルラットの骨の脆弱化に対する予防効果がみられるかを検討した。体重を増加させることなく性周期異常の発生および骨密度低下を抑制したことから、大豆イソフラボン摂取は Weight Sensitive Sports における FAT 発症予防として有効な手段になる可能性が示唆された。今後は、大豆イソフラボンの投与量や摂取期間、さらに予防効果のメカニズムに関してさらなる検討を行っていく必要がある。

参考文献

- 1) Aikawa Y, Kakutani Y, Agata U, Hattori S, Ogata H, Kiyono K, Ezawa I, Omi N (2019). Adequate Energy Intake Prevents Low Bone Mass Under Exercise and Low Intake of Nutrients in Young Female Rats. *American Journal of Sports Science*; 7(3): 127-135.
- 2) Aikawa Y, Agata U, Kakutani Y, Higano M, Hattori S, Ogata H, Ezawa I, Omi N. (2015) The Interaction of Voluntary Running Exercise and Food Restriction Induces Low Bone Strength and Low Bone Mineral Density in Young Female Rats. *Calcif Tissue Int*. Jul; 97(1): 90-9.
- 3) Aikawa Y, Kakutani Y, Agata U, Ezawa I, Omi N. (2018) The influence of food restriction on bone in young female rats with voluntary wheel running over 5 weeks. *J Phys Fitness Sports Med*, 7(5): 297-301.
- 4) Ackland TR, Lohman TG, Sundgot-Borgen J, Maughan RJ, Meyer NL, Stewart AD, and Müller W (2012) Current Status of Body Composition Assessment in Sport. *Sports Med.*; 42, 227-249.
- 5) Alderman B, Landers DM, Carlson J and Scott JR (2004) Factors related to rapid weight loss practices among international-style wrestlers. *Med Sci Sports Exerc*; 36(2): 249-52.
- 6) Anantharaman-Barr HG and Decombaz J (1989). The effect of wheel running and the estrous cycle on energy expenditure in female rats. *Physiol Behav*; 46(2): 259-263.
- 7) Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Stacewicz-Sapuntzakis M, Guo P, and Kukreja SC (1996) Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr. Jan*; 126(1): 161-7
- 8) Baxter-Jones AD, Faulkner RA, Forwood MR, Mirwald RL, and Bailey DA. (2011) Bone mineral accrual from 8 to 30 years of age: an estimation of peak bone mass. *J Bone Miner Res.*; 26(8): 1729-39.
- 9) Behringer M, Gruetzner S, McCourt M, and Mester J (2014) Effects of weight-bearing activities on bone mineral content and density in children and adolescents: a meta-analysis. *J Bone Miner Res.*; 29(2): 467-78.
- 10) Christo K, Prabhakaran R, Lamparello B, Cord J, Miller KK, Goldstein MA, Gupta N, Herzog DB, Klibanski A, and Misra M (2008) Bone metabolism in adolescent athletes with amenorrhea, athletes with eumenorrhea, and control subjects. *Pediatrics.*; 121(6): 1127-36.
- 11) Dimarco NM, Dart L, and Sanborn CB (2007). Modified activity-stress paradigm in an animal model of the female athlete triad. *J Appl Physiol*; 103(5): 1469-78.
- 12) Hidaka S, Okamoto Y, Miyazaki K, and Uesugi T (2013) Evaluation of a soybean product fujiflavone P40 as an antiosteoporotic agent in rats. *Phytother Res*; 17(2): 112-9.
- 13) Ihle R and Loucks AB. (2004) Dose-response relationships between energy availability and bone turnover in young exercising women. *J Bone Miner Res.*; 19(8): 1231-40.
- 14) Karila TA, Sarkkinen P, Marttinen M, Seppälä T, Mero A, and Tallroth K (2008) Rapid weight loss decreases serum testosterone. *Int J Sports Med.*; 29(11): 872-7.
- 15) Kostelac D, Rechkemmer G, and Briviba K (2003)

- Phytoestrogens modulate binding response of estrogen receptors alpha and beta to the estrogen response element. *J Agric Food Chem.*; 51(26): 7632-5.
- 16) Maïmoun L, Coste O, Mura T, Philibert P, Galtier F, Mariano-Goulart D, Paris F, and Sultan C (2013) Specific bone mass acquisition in elite female athletes. *J Clin Endocrinol Metab.*; 98(7): 2844-53.
 - 17) Nattiv A, Loucks AB, Manore MM, Sanborn CF, Sundgot-Borgen J, and Warren MP (2007) American College of Sports Medicine position stand. The female athlete triad. *Med Sci Sports Exerc.*; 39(10): 1867-82.
 - 18) Omi N, Morikawa N, and Ezawa I (1992) The effect of spiny lobster shell powder on bone metabolism in ovariectomized osteoporotic model rats. *J Nutr Sci Vitaminol.*; 38(6): 555-63.
 - 19) Omi N, Nakamura T, Ezawa I. (1998) Modulation of bone mass and turnover in growing rats by voluntary weight-bearing exercise and glucose supplementation. *J Nutr Sci Vitaminol*; 44(3): 409-421.
 - 20) Picherit C, Dalle M, Néliat G, Lebecque P, Davicco MJ, Barlet JP, Coxam V (2000) Genistein and daidzein modulate in vitro rat uterine contractile activity. *J Steroid Biochem Mol Biol*; 75(2-3): 201-8.
 - 21) Shedd-Wise KM, Alekel DL, Hofmann H, Hanson KB, Schiferl DJ, Hanson LN, and Van Loan MD (2011) The Soy Isoflavones for Reducing Bone Loss Study: 3-Yr Effects on pQCT Bone Mineral Density and Strength Measures in Postmenopausal Women. *Journal of Clinical Densitometry*; 14(1): 47-57.
 - 22) Shelley DN, Dwyer E, Johnson C, Wittkowski KM, and Pfaff DW (2007) Interactions between estrogen effects and hunger effects in ovariectomized female mice. *Hormones and Behavior.*; 52(4): 546-553.
 - 23) Soric M, Misigoj-Durakovic M, and Pedisic Z (2008) Dietary Intake and Body Composition of Prepubescent Female Aesthetic Athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism.*; 18(3): 343-354.
 - 24) Sundgot-Borgen J, Meyer NL, Lohman TG, Ackland TR, Maughan RJ, Stewart AD, and Müller W (2013) How to minimise the health risks to athletes who compete in weight-sensitive sports review and position statement on behalf of the Ad Hoc Research Working Group on Body Composition, Health and Performance, under the auspices of the IOC Medical Commission. *British Journal of Sports Medicine.*; 47(16): 1012-U68.
 - 25) Vlachopoulos D, Barker AR, Ubago-Guisado EFatouros IG, Knapp KM, Williams CA, and Gracia-Marco L (2017) Longitudinal Adaptations of Bone Mass, Geometry, and Metabolism in Adolescent Male Athletes: The PRO-BONE Study. *the American Society for Bone and Mineral Research.* 32(11): 2269-2277.
 - 26) Yanaka K, Higuchi M, and Ishimi Y (2019) Anti-Osteoporotic Effect of Soy Isoflavones Intake on Low Bone Mineral Density Caused by Voluntary Exercise and Food Restriction in Mature Female Rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology.*; 65(4): 335-342.
 - 27) 石見佳子, 池上幸江 (1998) 大豆イソフラボンの有効性とリスク *日本栄養・食糧学会誌*; 51(5): 294-298.
 - 28) 麻見直美, 森川尚美, 星名 綾, 五十嵐千恵, 江澤郁子 (1992) 卵巣摘出骨粗鬆症モデルラットの骨代謝に対する自由運動の効果 *日本栄養・食糧学会誌*; 45(5): 423-427.
 - 29) 難波文男 (2018) 大豆食品と健康 *日本食生活学会誌*; 28(4): 225-229.
 - 30) 宮澤理花子 (2020) 大豆イソフラボン摂取が15日間の食餌制限下で走運動を行う成長期雌ラットの骨に及ぼす影響 *筑波大学修士論文*; 42: 213-216.