

大豆ホエイたん白質がマウスの皮膚癌に及ぼす影響

EFFECT OF SOYBEAN WHEY PROTEIN ON SKIN TUMOR IN MICE

山本 茂・上江洲香代子・安里 龍（琉球大学医学部）

ポーン-ウンガム リムトラクル・マイツリー スタジット
（チェンマイ大学医学部）

Shigeru YAMAMOTO¹, Porn-ngarm LIMTRAKUL², Maitree SUTTAJIT²,
Kayoko UEZU¹ and Liu ASATO¹

¹Faculty of Medicine, University of the Ryukyus, Okinawa 903-01

²Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

ABSTRACT

We studied the effect of soybean whey protein on skin tumor promotion by two-stage carcinogenesis method. Mice were given SPI (Fuji-pro R) diet or SPI diet supplemented with soybean whey protein. After a week on the diets, the hair of mice was shaved and tumor initiator was applied. Then tumor promoter was applied twice a week on the same area of the skin throughout the experiment. The percentage of tumor-bearing mice and the average number and volume of tumor after 14 weeks on the treatment were lower in the whey diet group than in the SPI diet group. The result indicates the anticarcinogenic effect of soybean whey protein. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **13**, 76-79, 1992.

大豆ホエイたん白質は全たん白質の7-9%を占め、トリプシンインヒビター、ヘマグルチニン、ゴイトロジェン、サポニン、リボキシゲナーゼ、 β -アミラーゼ、プロテアーゼ、フィターゼなど様々な生理活性物質を含む。しかし、トリプシンインヒビターはトリプシンの活性を阻害し、ヘマグルチニンは小腸上皮細胞粘膜を障害するなど好ましくない成分であり“抗栄養因子”であるとされている¹⁾。このため現在ホエイたん白質はほとんど未利用の状態にある。

一方これら成分には制癌作用のあることが報告されている。Trollら²⁾は、全大豆たん白質を与えたラットでは乳癌の発生が抑制されることを観察している。またBecker³⁾は、26%カゼイン食で100%観察されるマウスの肝臓癌が、カゼインの約5%を全大豆たん白質でおきかえると完全に抑制されることを報告している。プロテアーゼインヒビターを含む食事を与えたり⁴⁻⁶⁾、ヒフに塗布したり⁷⁾、飲み水に混ぜる⁸⁾と動物の発癌が抑制されることや、癌にかかったラットでは血清プロ

テアーゼインヒビターが増加すること⁹⁾などから、大豆たん白質の制癌作用は、それに多量に含まれるプロテアーゼインヒビターであることが考えられている¹⁰⁾。プロテアーゼインヒビターの制癌作用は疫学的研究からも示唆されている¹¹⁾。このように大豆たん白質の制癌効果が多く報告されている一方、大豆のトリプシンインヒビターを含む食事で長期に飼育したラットでは脾臓癌が起こりやすいことも報告されている^{12,13)}。

冒頭に述べたごとく大豆ホエイはトリプシンインヒビターを含み、消化・吸収を阻害することから、現在ほとんど利用されていない状況にある。しかし、かなりのトリプシンインヒビターを含む食事でも食物摂取量や体重増加をはじめ脾臓に悪影響が起こらないことがヒト¹⁴⁾、サル¹⁵⁾、イヌ^{16,17)}、ウシ¹⁸⁾、豚¹⁹⁾、マウス^{2,6)}およびラット²⁰⁾の実験で報告されている。

以上のようなことから、消化機能に対して害作用がほとんど無く、制癌効果が期待できる食事ホエイのレベルがあると考え、これを調べる目的で本実験を行な

った。なお前回の実験では、ホエイを除く大豆たん白質に皮膚の化学発癌を抑制する機能は見られなかった²¹⁾。

実験方法

ICR 系雄マウス 6 週齢 30 匹を 2 群に分け、20%分離大豆たん白質 (SPI; フジプロ R) 食あるいは 18%SPI に 2%大豆精製ホエイ (不二製油社製) を含む食事を全期間与えた。すべての食事には大豆油 5%, ミネラル混合 5% (オリエンタル酵母社製), ビタミン混合 1% (オリエンタル酵母社製), セルロース 2% および DL-メチ

オニン 0.4% を含むようにした。残りの部分は炭水化物 (α -トウモロコシデンプン: 砂糖 = 2:1) とした。ホエイは、豆乳の pH 4.5 上清を中和後、分画分子量 40,000 のフィルターを用いて限外濾過し、約 20 倍の濃縮ホエイをつくり、これをスプレードライヤーで乾燥したものである。

実験食 1 週間目に背中の中毛を剃り、約半数のマウスにはそこに初発因子である 7, 12-dimethylbenzanthracene 100 μ g/0.1 mL アセトン塗布した。同部位の中毛はその後 2 週間ごとにハサミで切った。実験群のマウスには初発因子塗布後 1 週間からプロモーターで

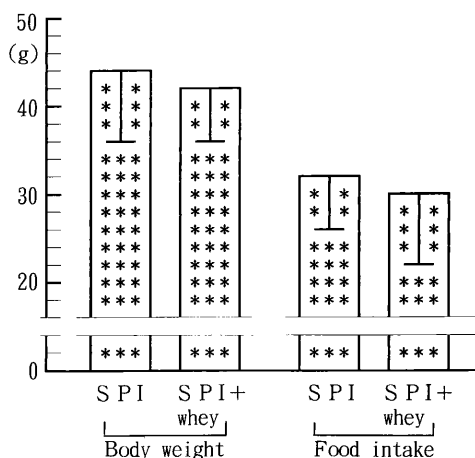


Fig. 1. Body weight and food intake/week at 14th week on the treatment.

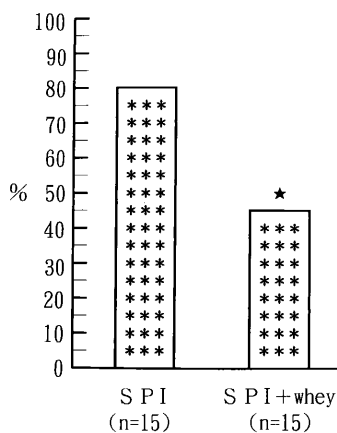


Fig. 2. Effect of SPI and SPI+ whey diets on the percentage of tumor-bearing mice. ★Significantly different from SPI group by chi-square test ($p < 0.05$).

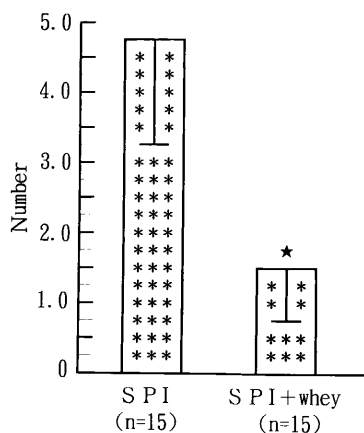


Fig. 3. Effect of SPI and SPI+ whey diets on the number of tumor/mouse. ★Significantly different from SPI group by Student's t -test ($p < 0.05$).

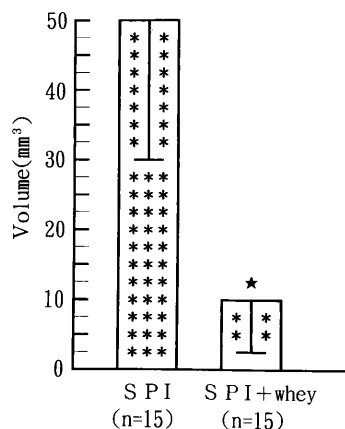


Fig. 4. Effect of SPI and SPI+ whey diets on tumor volume/mouse. ★Significantly different from SPI group by Student's t -test ($p < 0.05$).

ある phorbol-12-myristate-13 acetate 2.5 μ g/0.1 mL アセトンを全期間、毎週2回塗布し続けた。毎週直径1 mm以上の腫瘍について数と体積を測定した。体積はノギスで縦(a), 横(b), 高さ(c)を測定し、 $a \times b \times c \pi / 6$ の計算で求めた。マウスは1ケージに3匹飼育した。体重および食物摂取量を毎週測定した。

結 果

Fig. 1 に、飼育第14週の体重と食物摂取量を示した。SPI 群およびホエイ群で、それぞれ体重および食物摂取量に差は見られなかった。

Fig. 2 に初発因子塗布後14週目の腫瘍マウスの割合を示した。SPI 群およびホエイ群の割合はそれぞれ80%および47%で、ホエイ群で有意に低かった。

Fig. 3 に腫瘍をもつマウス1匹あたりの腫瘍の個数を示した。SPI 群およびホエイ群でそれぞれ4.7個および1.6個で、ホエイ群で有意に少なかった。

Fig. 4 に腫瘍を持つマウスの腫瘍の体積を示した。SPI 群およびホエイ群の値はそれぞれ50および8 mm³で、ホエイ群で有意に小さかった。

考 察

本実験の結果は、大豆ホエイたん白質を食事に添加することにより、化学発癌剤を塗布したマウスの皮膚癌が顕著に抑制されることを示している。このような結果は、全大豆たん白質やプロテアーゼインヒビターが、各種の癌に対して抑制的にはたらくというこれまでの報告²⁻¹¹⁾と一致している。本実験で特筆すべきことは、このような癌の抑制が、試験動物の食物摂取量や成長(体重増加)を損なわない量のホエイたん白質で起こったことであろう。大豆ホエイは、それに含まれるトリプシンインヒビター等が食物の消化・吸収を阻害することから分離大豆たん白質では、むしろ積極的に取り除かれている。しかし、Troll ら²⁾の実験では、生大豆が50%を占める食事を長期間与えたラットの体重変化は、市販飼料を与えた時と差が無い。我々も、加熱によりトリプシンインヒビターの活性を95, 51, 24および10 TIU/mg protein と種々変化させた10%ホエイたん白質(N $\times$ 6.25)食を成長期のラットに与える実験を行なったが、食物摂取量や体重増加に顕著な差を認めなかった²⁰⁾。また、Clair ら⁶⁾の実験でも純粋な大豆のプロテアーゼインヒビターを0.5%含む食事で65週間飼育したマウスの体重が市販飼料を与えた際と全く差がなく、脾臓の肥大や癌も観察されなかった。この他、大豆のトリプシンインヒビターが食事たん白質の消化・吸収に対して問題を生じないことが

ヒト¹⁴⁾、サル¹⁵⁾、イヌ^{16,17)}、ウシ¹⁸⁾および豚¹⁹⁾での実験で報告されている。大豆のトリプシンインヒビターが、脾臓癌の原因となることから摂取を警告的な観点からみようとした Gumbmann ら¹³⁾の実験でさえ、15カ月までのラットの体重変化は、トリプシンインヒビターを0, 0.1, 0.2, 0.3あるいは0.6%含む食事の間で差を見ていない。このような結果は、大豆たん白質では消化・吸収上の問題点に過度の注意を払うためにホエイ部分が不当な評価を受けているかもしれないことを示唆している。しかもホエイに癌の抑制効果があることや、たん白の質が高い²¹⁾ことを考えると、逆に積極的な利用がなされてもよいのかもしれない。

今後は制癌作用を発揮でき、しかも消化・吸収や脾臓癌など指摘されているいくつかの問題点を起こさないホエイの食事レベルなどについてさらに研究して行く必要がある。

文 献

- 1) Liener IR (1962): Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am J Clin Nutr*, 11, 281-298.
- 2) Troll W, Wiesner R, Shellabarger CJ, Holtzman S and Stone JP (1980): Soybean diet lowers breast tumor incidence in irradiated rats. *Carcinogenesis*, 1, 469-472.
- 3) Becker FF (1981): Inhibition of spontaneous hepatocarcinogenesis in C3H/HeN mice by Edi Pro A, and isolated soy protein. *Carcinogenesis*, 2, 1213-1214.
- 4) Troll W, Belman S, Wiesner R and Shellabarger CJ (1979): Protease action in carcinogenesis, in "Biological Functions of Proteinases", ed. by Holzer Z and Tschesche H, Springer-Verlag, Berlin, pp 165-170.
- 5) Yavelow J, Finlay TH, Kennedy AR and Troll W (1983): Bowman-Birk soybean protease inhibitor as an anticarcinogen. *Cancer Res*, 43, 2454s-2459s.
- 6) Clair WH, Billings PC, Carew JA, Keller-McGandy, Newbern P and Kennedy AR (1990): Suppression of diemthylhydrazine-induced carcinogenesis in mice by dietary addition of the Bowman-Birk protease inhibitor. *Cancer Res*, 50, 580-586.
- 7) Birnboim HC (1982): DNA strand breaks in human leukocytes exposed to a tumor pro-

- moter, phorbol myristate acetate. *Science*, **215**, 1247-1249.
- 8) Corasanti JG, Hobika GH and Markus G (1982): Interference with dimethylhydrazine induction of colon tumors in mice by ϵ -aminocaproic acid. *Science*, **216**, 1020-1021.
 - 9) Kondo Y and Ohsawa N (1982): Production of human α_1 -antichymotrypsin-like protein by a human malignant melanoma transplanted into nude mice. *Cancer Res*, **42**, 1549-1554.
 - 10) Troll W, Frenkel K and Wiesner R (1984): Protease inhibitors as anti-carcinogens. *JNCI*, **7**, 1245-1250.
 - 11) Schelp FP and Pongpaew P (1988): Protection against cancer through nutritionally-induced increase of endogenous proteinase inhibitors—A hypothesis. *Int J Epidemiol*, **17**, 287-292.
 - 12) MaGuinness EE, Morgan RG, Levison, DA, Frape DL, Hopwood D and Wormsley KG (1980): The effects of long-term feeding of soya flour on the rat pancreas. *Scand J Gastroenterol*, **15**, 497-502.
 - 13) Gumbmann MR, Spangler WL, Dugan GM, Rackis JJ and Liener IE (1985): The chronic effects of soy flour and soy protein isolate on the pancreas in rats after two years. *Qual Plant Plant Foods Hum Nutr*, **35**, 275-314.
 - 14) Flavin DF (1982): The effect of soybean trypsin inhibitors on the pancreas of animals and man. *Vet Hum Toxicol*, **24**, 25-28.
 - 15) Ausman LM, Harwood JP, King NW, Sehgal PK, Nicolosi RJ, Hegsted MD, Liener IE, Donatucci D and Tarcza J (1985): The effects of long-term soy protein and milk protein feeding on the pancreas of Cebus albifrons monkeys. *J Nutr*, **115**, 1691-1701.
 - 16) Pattern JR, Richards EA and Wheeler J (1971): The effect of raw soybean on the pancreas of adult dogs. *Proc Soc Exp Biol Med*, **137**, 58.
 - 17) Pattern JR, Richards EA and Wheeler J (1971): The effect of dietary soybean trypsin inhibitor on the histology of dog pancreas. *Life Sci*, **10**, 145-150.
 - 18) Gorrill ADL and Thomas JW (1967): Body weight changes, pancreas size and enzyme activity, and proteolytic enzyme activity and protein digestion in intestinal contents from calves fed soybean and milk protein diets. *J Nutr*, **92**, 215-223.
 - 19) Hooks RD, Hays VW, Speer VC and McCall JF (1965): Effect of raw soybeans on pancreatic enzyme concentrations and performance of pigs. *Fed Proc Am Soc Exp Biol*, **24**, 894.
 - 20) 岸 恭一, 寺井幸子, 大栗幸子, 志塚ふじ子, 山本 茂, 井上五郎 (1986): 大豆乳清たん白質の栄養価. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **7**, 47-52.
 - 21) 王 銘富, 羅 舜芳, 上江洲香代子, 新城澄枝, 安里 龍, 山本 茂 (1991): 分離大豆たん白質の制癌作用に関する研究. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **12**, 99-101.