

大豆ホエイたん白質が肝臓癌に及ぼす影響

EFFECT OF SOYBEAN WHEY PROTEIN ON HEPATOMA IN RATS

勢村利恵・島田勝政・加藤克幸・大城吉秀・新城澄枝・山本 茂
(琉球大学地域医療研究センター)

Rie SEMURA, Katsumasa SHIMADA, Katsuyuki KATO, Yoshihide OH-SHIRO, Sumie SHINJO and Shigeru YAMAMOTO

Research Center of Comprehensive Medicine, University of the Ryukyus,
Okinawa 903-01

ABSTRACT

In the previous experiment we found the anti-tumor effect of soybean whey protein in mice. In this experiment we studied the effect of soybean whey protein on chemically induced hepatoma in rats. Rats were given commercial laboratory chow supplemented with 2% soybean protein isolate or soybean whey protein and water or water containing chemical carcinogen for 16 weeks. Percentage of the rats with hepatoma was significantly lower in soybean whey protein group than soybean protein isolate group, indicating the anticarcinogenic effect of soybean whey protein. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **15**, 130-133, 1994.

ホエイたん白質は大豆たん白質の7~9%を占める¹⁾。分離大豆たん白質や豆腐の製造時に、ホエイ部分は上澄中に存在する。この上澄から水分を除去し、たん白質を分離することは、経済的に成り立たず、これらの製造過程ではホエイはほとんど廃棄されている。ホエイの利用を促進させるためには、ホエイたん白質の付加価値を高めるような方法を見い出さなければならない。その方法の一つは、ホエイの特別な機能を見いだすことであろう。しかしホエイの主成分のトリプシンインヒビターはトリプシンを阻害し、ヘマグルチンは小腸上皮粘膜を障害することなどから、好ましくない^{2,3)}。今回の実験では、肝臓癌を誘発する化学発癌剤を与えた場合の効果について調べた。仮にホエイに制癌作用があったとしても、膵臓などに障害を起こすようでは、利用は困難である。ホエイの有害作用は、ラ

ットなどある種の動物に大量与えた時に報告はされているものの^{4,5)}、ヒトを始め多くの動物では観察されていない⁶⁻¹²⁾。またラットでも害作用は無いという報告もある¹³⁾。いずれにしろラットは、他の動物に比べてホエイの持つトリプシンインヒビターの作用に敏感であるようである。それ故、本実験では、ホエイの安全性をもみる目的で、ラットを用いた。

実験方法

ウイスター系雄ラット8週齢を2群に分け、2%分離大豆たん白質(対照)あるいは大豆ホエイたん白質(W)(いずれも不二製油製)を添加した市販粉末飼料(日本クレア製)を16週間与えた。ホエイは、豆乳のpH4.5上清を中和後、分画分子量40,000フィルターを用いて限外濾過し、約20倍の濃縮ホエイを作り、これをスプレイドライヤーで乾燥したものである。これら動物を、さらに2群に分け、普通の水あるいは、N-nitroso-N-ethylbutylamine (NA)を含む水(125 mg/L)を全期間与えた。体重を毎週測定した。16週間飼育後、一夜絶食したラットの心臓から採血し、肝臓、食

Table 1. Body weight, number of pathological lesions and hematological values¹

	Control (4)	Control+NA (9)	Whey (8)	Whey+NA (9)
Body weight (g)				
Final	590±27 ^a	457±10 ^b	478±16 ^b	473±11 ^b
Number of lesions				
Liver ²	0 ^a	125±15 ^b	0 ^a	4±1 ^a
Esophagus	0	0	0	0
Pancreas	0	0	0	0
Hematological values				
GPT (IU)	30±3 ^a	120±19 ^b	29±2 ^a	84±13 ^b
GOT (IU)	51±3 ^a	117±8 ^b	63±3 ^a	105±9 ^b
ALP (IU)	7±1 ^a	11±1 ^b	8±1 ^a	7±1 ^a
LAP (IU)	123±23	120±25	142±17	181±35
γ-GTP (IU)	0 ^a	30±19 ^b	0 ^a	0 ^a
Amylase (IU)	5106±541	5091±377	5039±387	4635±1088

¹ Values are means±SEM. Values with different superscript letters indicate significant difference ($p<0.05$). Figures in the parentheses indicate the number of animals.

² Number of lesions by histopathological examinations of 7 slides of liver tissue.

道、脾臓を肉眼的に観察した後、ホルマリン固定して組織学的に調べた。肝臓は、最も大きな葉から2枚、他の5葉からはそれぞれ1枚の組織切片を作り、全視野の病変数を数えた。結果は、ANOVAにより解析し、有意差はDuncanの方法で検定した。

結 果

最終体重、組織の病変数（肝臓、食道、脾臓）および血清酵素値をTable 1に示した。体重増加は、対照群で他群に比べ有意に高かった。肝臓の病変数は、ニトロソアミンを添加していない対照群とホエイ群では0であった。対照+NA群の病変数は、125個であったが、ホエイ+NA群では4個で有意に少なかった。食道と脾臓では、異常は観察されなかった。GPTはNAを添加してない群では約30であったが、対照+NA群では120で最も高く、次にホエイ+NA群で84であった。同様な傾向が、GOTとALPにみられた。γ-GTPは対照+NA群で30 IUであったが、他の3群では0であった。LAPおよびアミラーゼ値は、4群間に差が無かった。

考 察

今回の実験で、ホエイを添加して16週間飼育したラットでは、組織学的に脾臓障害は全く見られず、また血中アミラーゼ値にも対照群と差が無かった。このことは、食事中2%ホエイでは、脾臓障害を起こしやすいと言われるラットにおいても何ら障害を起こさない量

であるといえよう。この結果は、大豆のトリプシンインヒビターが、脾臓障害の原因になることから摂取を警告的な観点から見ようとしたGumbmannら¹⁰⁾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0.1, 0.2, 0.3あるいは0.6%含む食事の間で差をみていない結果と一致する。

ニトロソアミンを与えたラットでは、対照群に対し、ホエイ群の病変数が強く抑制されていた。血清のGPT, GOT, γ-GTPなど肝臓の機能と関係する酵素も、ニトロソアミンを与えた対照群に対して、ホエイ群では有意に低かった。これらのことは、大豆ホエイたん白質に強い肝臓癌抑制作用があることを示すものである。

プロテアーゼインヒビターの制癌作用については、これまでに幾つかの報告があるが^{8,13,15-20)}、そのメカニズムについてはほとんど知られていない。癌に罹ったラットでは、血清のプロテアーゼインヒビターが高まることから²¹⁾、血清プロテアーゼインヒビターは癌化した組織に何らかの防御的作用をしているものと考えられる。そうだとすると、血清のプロテアーゼインヒビターと食事として摂取した大豆ホエイのプロテアーゼインヒビターがどのように関連するかということが疑問点になる。一つの可能性は、大豆ホエイ成分が生体内のプロテアーゼインヒビターを高めることである。もう一つは大豆ホエイのプロテアーゼインヒビターがそのまま血中にとりこまれ、制癌作用を発揮することである。我々は、食事由来のかなり大分子のペプ

チドが血中に出現することを既に報告した²²⁾。消化管内で消化を受けにくい大豆ホエイのトリプシンインヒビターのようなものは、特に血液中に取り込まれ易いことが考えられる。今後の研究では、このような点について調べる予定である。

以上、今回の研究では大豆のトリプシンインヒビターによって膵臓障害を起こしやすいと考えられるラットにおいて、膵臓機能を正常に保つホエイの摂取量で化学発癌剤による肝臓癌が強く抑制されることを観察した。この結果は、前回の化学発癌剤によるマウス皮膚癌の研究結果と合わせて、大豆ホエイたん白質の制癌作用を示唆するものである。

文 献

- 1) Liener IR (1962): Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am J Clin Nutr*, **11**, 281-298.
- 2) 山本 茂, 上江洲香代子, 安里 龍, Limtrakul PN, Suttajit M (1992): 大豆ホエイたん白質がマウスの皮膚癌に及ぼす影響. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **13**, 76-79.
- 3) Limtrakul PN, Suttajit M, Semura R, Shimada K and Yamamoto S (1993): Suppressive effect of soybean milk protein on experimentally induced skin tumor in mice. *Life Sci*, **53**, 1591-1596.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) Flavin DF (1982): The effect of soybean trypsin inhibitors on the pancreas of animals and man. *Vet Hum Toxicol*, **24**, 25-28.
- 10) 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.
- 11) Ausman LM, Harwood JP, King NW, Sehgal PK, Nicolosi RJ, Hegsted DM, 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.
- 12) Clair WH, Billings PC, Carew JA, Keller-McGandy C, Newberne P and Kennedy AR (1990): Suppression of dimethylhydrazine-induced carcinogenesis in mice by dietary addition of the Bowman-Birk protease inhibitor. *Cancer Res*, **50**, 580-586.
- 13) 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.
- 14) Becker FF (1981): Inhibition of spontaneous hepatocarcinogenesis in C3H/HeN mice by Edi Pro A, and isolated soy protein. *Carcinogenesis*, **2**, 1213-1214.
- 15) Troll W, Belman S, Wiesner R and Shellabarger CJ (1979): Protease action in carcinogenesis. In: Biological Functions of Proteinases. Holzer Z and Tschesche H, eds., Springer-Verlag, Berlin. pp. 165-170.
- 16) Birnboim HC (1982): DNA strand breaks in human leukocytes exposed to a tumor promoter, phorbol myristate acetate. *Science*, **215**, 1247-1249.
- 17) 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.
- 18) Yavelow J, Finlay TH, Kennedy AR and Troll W (1983): Bowman-Birk soybean protease

- inhibitor as an anticarcinogen. *Cancer Res*, **43**, 2454s-2459s.
- 19) Troll W, Frenkel K and Wiesner R (1984) : Protease inhibitors as anti-carcinogens. *JNCI*, **7**, 1245-1250.
- 20) 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.
- 21) 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.
- 22) Asato L, Kina T, Saitoh N and Yamamoto S (1994) : Effect of dietary peptides on plasma lipids and its mechanism studied in rats and mice. *Nutr Res*, (in press).