

沖縄寄せ豆腐がマウスの皮膚癌に及ぼす影響

新城澄枝¹・宮城裕子¹・宮城知佳¹・久場恵美¹・當間美香¹・
王 銘富²・高松清治³・山本孝史³・安里 龍¹・山本 茂^{*1}

¹琉球大学医学部 ²台湾静宜大学食品栄養系 ³不二製油株式会社応用研究所

Effect of Okinawan Yose-Tofu on Skin Tumor in Mice

Sumie SHINJO¹, Yuko MIYAGI¹, Chika MIYAGI¹, Megumi KUBA¹,
Mika TOUMA¹, Ming-Fu WANG², Kiyoharu TAKAMATSU³,
Takashi YAMAMOTO³, Liu ASATO¹ and Shigeru YAMAMOTO¹

¹Research Center of Comprehensive Medicine, University of the
Ryukyus, Okinawa 903-01

²Department of Food and Nutrition, Providence University, Taichung, Taiwan

³Applied Research Institute, Fuji Oil Co., Izumisano 598

ABSTRACT

We studied the effect of Okinawan yose-tofu on the prevention of the chemically induced skin tumor. Male ICR hairless mice (Hr-/Kud) were given milk casein diet or Okinawan yose-tofu diet. After a week on the experimental diets, the mice were applied tumor initiator on their back. 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 volume of a tumor after 18 weeks on the treatment were lower in the yose-tofu group than in the casein group. The result indicates the anticarcinogenic effect of Okinawan yose-tofu. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **17**, 84-88, 1996.

Key words: Okinawan yose-tofu, skin tumor, anticarcinogen, hairless mice

大豆ホエイたん白質は、豆腐や分離大豆たん白質製造時の上澄み中に存在し、全大豆たん白質の7～9%を占め、含硫アミノ酸を多く含む良質たん白質である。一方、大豆ホエイたん白質はたん白質分解酵素阻害物質であるトリプシンインヒビター (TI)や、小腸粘膜を障害するヘマグルチニンなどの好ましからざる“抗栄養因子”も含んでいるため、その利用には現実性が

無いと考えられている^{1,2)}。大豆は組織が固いので普通の豆の調理法では十分に消化されない。そのため、豆腐を代表とする加工食品として用いられるが、これら製品の加工工程中に熱処理が施されるので、“抗栄養因子”であるTIは失活すると考えられている。このようなことから、TIを摂取すべきでなく、また現実の摂取は無いと考えられている。しかし、前回我々は市販の大豆および大豆製品のTI活性含有量を調べ、長い年月にわたり人々が日常的に活性型TIを摂取し

*〒903-01 沖縄県西原町

ている可能性について報告した³⁾。一方、近年、TIや他のたん白質分解酵素阻害物質の持つ制癌作用などの生理機能について多くの報告がなされている。全大豆たん白質やTIが制癌作用を持つことは、Trollや他の幾つかの研究グループが動物実験で報告⁴⁻⁹⁾している。我々も大豆ホエイたん白質が、食欲・成長および脾臓に障害を起こさない程度の比較的少量の摂取で、化学発癌剤によるマウスの皮膚癌やラットの消化器癌（主に肝臓癌）を顕著に抑制することを報告¹⁰⁻¹²⁾した。しかしながら、これまで実際に利用されている大豆製品そのものの制癌作用については明らかにされていない。そこで今回我々は、市販沖縄寄せ豆腐を与えたマウスの化学発癌剤による皮膚癌の抑制効果について調べた。

実験方法

6週齢のICR系、雄性、ヘアレスマウス29匹を2群に分け、たん白質量が25%になるようにカゼイン（ミルクカゼイン30 g/飼料100 g）またはカゼイン+沖縄寄せ豆腐（ミルクカゼイン13 g + 真空凍結乾燥寄せ豆腐32 g/飼料100 g）を含む特殊調製飼料で18週間飼育した。寄せ豆腐は沖縄の5市町村内にある、15豆腐業者が製造販売しているものを真空凍結乾燥粉末にした。すべての飼料にはミネラル混合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）、セルロースパウダー5%（オリエンタル酵母社製）を含むようにした。総脂質量は沖縄寄せ豆腐に含まれるものを入れて10%になるようにした。残りの部分を炭水化物（ α -コーンスターチ：砂糖＝2：1）で補い、100%となるようにした。餌は毎日新しいものを給餌し、残量を測定した。水は自由摂取とした。飼

育は室温 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度70%の空調下、陰圧ラック内で行った。実験食1週間目にカゼイン食群から9匹（カゼイン+発癌剤群）と寄せ豆腐食群から10匹（寄せ豆腐+発癌剤群）のマウスに初発因子である7,12-dimethyl-benzanthracene 60 $\mu\text{g}/0.1\text{ mL}$ アセトン を塗布した。これら実験群のマウスには初発因子塗布後1週間目からプロモーターであるphorbol-12-myristate-13-acetate 1.5 $\mu\text{g}/0.1\text{ mL}$ アセトンを全期間、毎週2回塗布し続けた。残りのマウス（カゼイン食群5匹と寄せ豆腐食群5匹）はそれぞれの対照群としてアセトンのみ同量を同じように塗布した。実験18週目に直径1 mm以上の腫瘍について数と体積を測定した。体積はノギスを用いて縦（a）、横（b）、高さ（c）を測定し、 $a \times b \times c \times \pi/6$ の計算で求めた。各群間の結果の比較はStudent's *t*-test, χ^2 検定ならびにDuncan's new multiple range testを用いた。

結 果

Fig. 1に飼育18週目の各群の平均体重を示した。寄せ豆腐+発癌剤群およびカゼイン+発癌剤群間に有意な差はみられなかった。

Fig. 2に初発因子塗布後18週目の腫瘍マウスの割合を示した。寄せ豆腐+発癌剤群およびカゼイン+発癌剤群の割合はそれぞれ40%および67%で寄せ豆腐+発癌剤群のほうが統計的有意差は認められなかったものの、腫瘍発生割合は低い傾向にあった。なお、アセトンのみを塗布した寄せ豆腐とカゼインの各対照群ではいずれも腫瘍の発生はなかった。

Fig. 3に各群マウス一匹当たりの腫瘍の個数を示した。寄せ豆腐+発癌剤群は平均3.2個、カゼイン+発癌剤群では2.9個でよく似ていた。

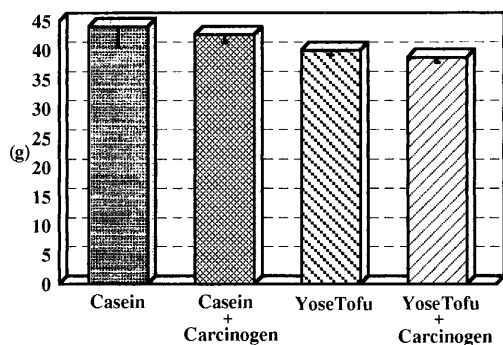


Fig. 1. Average body weight at 18th week.

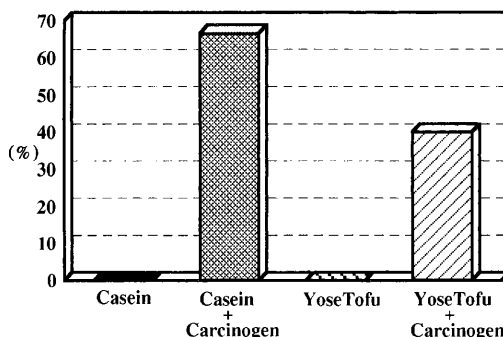


Fig. 2. Percentages of tumor incidence.

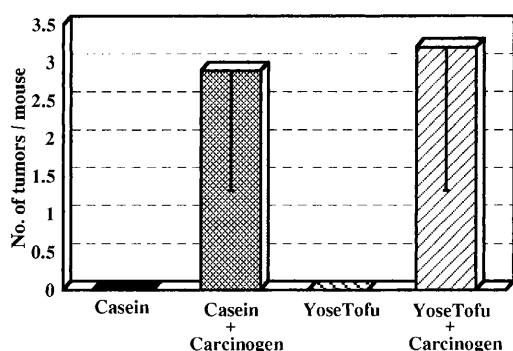


Fig. 3. Tumor number of tumor-bearing mice.

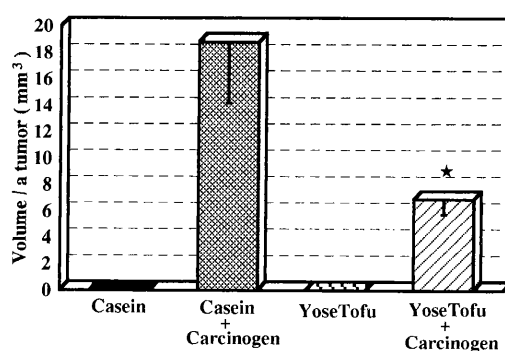


Fig. 4. Average volume of a tumor. ★ Significantly different from Casein+Carcinogen group by Student's *t*-test ($P < 0.01$).

Fig. 4に腫瘍1個当たりの平均体積を示した。寄せ豆腐+発癌剤群およびカゼイン+発癌剤群の値はそれぞれ6.9 mm³および18.8 mm³で、腫瘍1個当たりの平均体積は寄せ豆腐+発癌剤群で有意に小さかった ($P < 0.01$)。

考 察

今回の実験では、腫瘍発生率は、寄せ豆腐摂取群で低い傾向が得られたものの(Fig. 2) 統計的な有意差はなかった。腫瘍の進行の指標として、サイズを一個ずつノギスで測りその体積を求めた。腫瘍一個あたりの平均体積は、寄せ豆腐摂取群で有意に小さかった(Fig. 4)。これらの結果は、我々が日常摂取している豆腐に、皮膚癌の抑制効果があることを示唆するものである。

現在大豆類の制癌作用には2つの物質が考えられている。すなわち、イソフラボンとTIである。我々は、以前、ICR系雄マウスを用いて、今回の実験と同様の化学発癌剤による皮膚癌の抑制実験を20%と40%カゼイン食、20%と40%分離大豆たん白質(SPI)食¹³⁾および大豆ホエイたん白質(18%SPI+2%大豆ホエイたん白質)食^{10,11)}と比較した。その結果は、20%SPIと40%SPI食では、皮膚の化学的発癌に対して特別な抑制作用はなかったものの、20%SPI飼料中の2%だけを大豆ホエイたん白質で置き換えただけで、皮膚の化学的発癌に対して顕著な抑制を認めた。イソフラボンはカゼインには含まれておらず、SPIと大豆ホエイたん白質中では同程度含まれている。また、大豆ホエイたん白質はTIを多量に含んでいるが、SPIは大豆ホエイたん白質TI含有量の3%程度の量しか含んでいない¹⁴⁾。すなわち、20%SPI食と18%

SPI+2%大豆ホエイたん白質食では、TI含有量に差があるといえる。このことは、大豆ホエイたん白質や寄せ豆腐による制癌作用¹⁰⁻¹²⁾が、これらに含有されるTIによるものであることを示している。今回の実験に用いた寄せ豆腐のTI活性残存率は生大豆の平均3.4%であった。以上のことは、皮膚癌の抑制作用ではイソフラボンよりもTIの作用の方が強いことを示唆している。イソフラボンの制癌作用についての報告も多い¹⁵⁾が、それはほとんど前立腺癌、乳癌、子宮癌などの性ホルモンとの関連の深い臓器におけるものである。このことから、イソフラボンとTIが効果をもつ臓器は異なることが示唆される。

Clairらは、dimethylhydrazineによって誘発されたマウスの肝臓の血管肉腫や過形成および胃や腸の腺癌がBowman-Birk inhibitorの投与で抑制されること、投与したBowman-Birk inhibitorが直接血液中に取り込まれたことについて報告している⁶⁾。我々は大豆ホエイたん白質食で化学発癌剤による肝臓癌を顕著に抑制したラットの血清中にシステインプロテアーゼインヒビターであるT-キニノーゲンが増加していることを観察した(未発表)。癌の浸潤、転移には、癌細胞そのものが多量のシステインプロテアーゼやセリンプロテアーゼを放出し内皮基底膜を破壊して進行すると考えられている¹⁶⁾。悪性癌細胞が産生するそれらのプロテアーゼに対して、セリンプロテアーゼインヒビター活性をもつBowman-Birk inhibitorやシステインプロテアーゼインヒビターであるT-キニノーゲンが抑制的に作用しているのかもしれない。

大豆製品にはTI活性残存率が更に高い絹ごし豆腐(平均4.3%)や充填豆腐(7.9%)あるいは12.7%の残存率を持つ豆乳などがある³⁾。これらの食品を用いたり、実験期間を延長することによって、今回以上の

良い結果が得られるかもしれない。

メカニズムについてさらに研究していく必要があろう。

今後は、豆腐類中 TI の血中への取り込みや制癌の

要 約

我々は、市販沖縄寄せ豆腐の化学発癌剤によるマウス皮膚癌に対する抑制効果について調べた。6週齢、雄性、ヘアレスマウス29匹を2群に分け、カゼインまたは沖縄寄せ豆腐を含む特殊調製飼料で18週間飼育した。実験食1週間目にカゼイン食群から9匹（カゼイン+発癌剤群）と寄せ豆腐食群から10匹（寄せ豆腐+発癌剤群）のマウスに初発因子である7,12-dimethyl-benzanthraceneを塗布した。これら実験群のマウスには初発因子塗布後1週間目からプロモーターであるphorbol-12-myristate-13-acetateを全期間、毎週2回塗布し続けた。残りのマウス（カゼイン食群5匹と寄せ豆腐食群5匹）はそれぞれの対照群としてアセトンのみ同量を同じように塗布した。実験18週目の腫瘍発生割合は、寄せ豆腐+発癌剤群およびカゼイン+発癌剤群でそれぞれ40%および67%を示し、寄せ豆腐+発癌剤群のほうが低い傾向にあった（統計的有意差なし）。腫瘍1個あたりの平均体積は、寄せ豆腐+発癌剤群およびカゼイン+発癌剤群それぞれ6.9 mm³および18.8 mm³で、寄せ豆腐+発癌剤群で有意に小さかった（ $P<0.01$ ）。なお、アセトンのみを塗布した寄せ豆腐とカゼインの各対照群ではいずれも腫瘍の発生はなかった。これらの結果は、我々が日常摂取している豆腐に、皮膚癌の抑制効果があることを示唆するものであった。

文 献

- 1) Liener IR (1962): Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am J Clin Nutr*, **11**, 281-298.
- 2) 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.
- 3) 新城澄枝, 宮城裕子, 西田涼子, 上江洲香代子, 高松清治, 山本孝史, 島田勝政, 山本 茂 (1995): 豆腐類のトリプシンインヒビター活性の測定. 大豆たん白質研究会会誌, **16**, 124-127.
- 4) 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.
- 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 M, Newbern 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.
- 7) 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.
- 8) Birnboim HC (1982): DNA strand breaks in human leukocytes exposed to a tumor promoter, phorbol myristate acetate. *Science*, **215**, 1247-1249.
- 9) 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.
- 10) 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.

- 11) 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.
- 12) 勢村利恵, 島田勝政, 加藤克幸, 大城吉秀, 新城澄枝, 山本 茂(1994): 大豆ホエイたん白質が肝臓癌に及ぼす影響. 大豆たん白質研究会会誌, **15**, 130-133.
- 13) 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.
- 14) 岸 恭一, 寺井幸子, 志塚ふじ子, 木戸康博, 井上五郎 (1987): 大豆乳清たん白質の栄養価の改善. 大豆たん白質栄養研究会会誌, **8**, 70-75.
- 15) Messina MJ, Persky V, Setchell KRD and Barnes S (1994): Soy intake and cancer risk ; A review of the *in vitro* and *in vivo* data. *Nutr Cancer*, **21**, 113-130.
- 16) 谷口直之 (1993): がんのベーシックサイエンス. メディカルサイエンスインターナショナル出版, 東京, pp. 188-206.