

# 化学的に誘発したマウス皮膚癌に及ぼす大豆トリプシンインヒビターと イソフラボンの効果

宮城知佳<sup>1</sup>・新城澄枝<sup>1</sup>・宮城裕子<sup>1</sup>・久場恵美<sup>1</sup>・當間美香<sup>1</sup>・王 銘富<sup>2</sup>・高松清治<sup>3</sup>・  
山本孝史<sup>3</sup>・山本 茂<sup>\*4</sup>

<sup>1</sup>琉球大学医学部 <sup>2</sup>台湾静宜大学食品栄養系 <sup>3</sup>不二製油株式会社応用研究所 <sup>4</sup>徳島大学医学部

## Effect of Soybean Trypsin Inhibitor and Isoflavone on Chemically Induced Skin Tumor in Mice

Chika MIYAGI<sup>1</sup>, Sumie SHINJO<sup>1</sup>, Yuko MIYAGI<sup>1</sup>, Megumi KUBA<sup>1</sup>, Mika TOUMA<sup>1</sup>, Ming-Fu  
WANG<sup>2</sup>, Kiyoharu TAKAMATSU<sup>3</sup>, Takashi YAMAMOTO<sup>3</sup> and Shigeru YAMAMOTO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, University of the Ryukyus, Okinawa 903-01

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Providence University, Taichung, Taiwan

<sup>3</sup>Applied Research Institute, Fuji Oil Co., Izumisano 598

<sup>4</sup>School of Medicine, The University of Tokushima, Tokushima 770

### ABSTRACT

Isoflavone and trypsin inhibitor are known as anti-carcinogenic substances of soybean. Whenever we eat soybean products, we usually ingest both components, therefore, we do not know the individual and comparative effects of them. In this study, 2 experiments were conducted to compare the effects of isoflavone and trypsin inhibitor on chemically-induced skin tumor in mice. In Experiment 1, hairless mice were fed control diet (isoflavone-free, trypsin inhibitor-free), soybean protein isolate diet (isoflavone 60 mg/100 g, trypsin inhibitor 459 U/100 g), whey diet (isoflavone 56 mg/100 g, trypsin inhibitor 1,448 U/100 g) or soybean embryo bud diet (isoflavone 37 mg/100 g) for 24 wks. On the 7th day on the diet, tumor initiator was applied on the back of the mice. One week later, the tumor promoter was also applied at the same area (twice weekly) until the end of the study. The tumors over 1 mm in diameter were excised and weighed. In Experiment 2, the mice were fed control diet (isoflavone-free, trypsin inhibitor-free), 2% embryo bud diet (isoflavone 15 mg/100 g), 5% embryo bud diet (isoflavone 38 mg/100 g), or whey diet (trypsin inhibitor 1,440 U/100 g) for 16 wks. Other methods were the same as those in Experiment 1. The results showed that the effects of both isoflavone and trypsin inhibitor on skin tumor were not statistically significant, however, the effects of trypsin inhibitor in two experiments were rather opposite, isoflavone in both experiments showed adverse effects, soybean protein isolate had little effect, and the effect of dose in isoflavone was

\*〒770 徳島市蔵本町3丁目18-15

not observed. The present study indicates that the anti-carcinogenic effect of soybean varies complicatedly depending upon the combination and concentration of isoflavone and trypsin inhibitor. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **18**, 112-119, 1997.

Key words : trypsin inhibitor, isoflavone, skin tumor, mouse

大豆ホエイは大豆たん白質の7～9%を占めるが<sup>1)</sup>, 分離大豆たん白質の製造過程で沈澱せず通常水溶液とともに廃棄される。その有効利用を模索するために、我々は一連の研究を行っている。これまでに化学的に誘発したマウスの皮膚癌やラットの肝臓癌に対して、大豆ホエイが有効であることを明らかにしてきた<sup>2-5)</sup>。大豆ホエイの主成分はトリプシンインヒビター、ヘマグルチニンなどである<sup>1)</sup>。大豆の制癌作用を発揮する成分としては、トリプシンインヒビターやイソフラボンがこれまでに知られている<sup>6-16)</sup>。我々の測定では、ホエイ中のイソフラボン含量は0.2 mg/gであり、食事に添加するホエイが2%であることから食事100 g中に0.4 mgと量的に少なく、これまでに我々が観察した各種癌に対するホエイの効果はトリプシンインヒビターによると考えてきた。ところが最近我々が食事たん白質源として利用している分離大豆たん白質を分析したところ、イソフラボン(2 mg/g)とトリプシンインヒビター(15.3 U/g)をかなり含んでいることがわかった。このことは、これまでに観察した制癌効果が、トリプシンインヒビターか、イソフラボンか、それとも両者によるものかが明確でないことを意味している。それ故、本実験では、化学的に誘発したマウスの皮膚

癌に対する両成分の効果を比較せんとした。

## 実験方法

### 実験1

5週齢のICR系、雄性、ヘアレスマウス42匹を4群に分け、コントロール食、分離大豆たん白質(soy protein isolate; SPI)食、ホエイ食、あるいは大豆胚軸(embryo bud; EB)食で飼育した。大豆胚軸は焙煎したものを使用した。Table 1に食事組成および食事の中のトリプシンインヒビター活性およびイソフラボン濃度を示した。コントロール食はカゼイン30 g、分離大豆たん白質食は分離大豆たん白質を30 g、ホエイ食は分離大豆たん白質28 gと大豆ホエイ2 g、そして胚軸食はカゼイン24 gと胚軸を6 gとした。他の食事組成は全ての食事でミネラル混合5% (オリエンタル酵母製)、ビタミン混合2% (オリエンタル酵母製)、セルロースパウダー5% (オリエンタル酵母製)、大豆白絞油5% (不二製油製)とし、炭水化物( $\alpha$ -コーンスターチ: 砂糖=2:1)で残りの部分を100%となるようにした。飼料中のトリプシンインヒビター活性は benzoylarginine-*p*-nitroanilide hydrochloride 法<sup>17)</sup>で、イソフ

Table 1. Dietary composition and trypsin inhibitor and isoflavone concentrations in Experiment 1 (/100 g)

|                          | Control | SPI  | Whey  | 6% EB |
|--------------------------|---------|------|-------|-------|
| Casein (g)               | 30.0    | 0.0  | 0.0   | 24.0  |
| SPI (g)                  | 0.0     | 30.0 | 28.0  | 0.0   |
| Whey (g)                 | 0.0     | 0.0  | 2.0   | 0.0   |
| Embryo bud (g)           | 0.0     | 0.0  | 0.0   | 6.0   |
| $\alpha$ -Cornstarch (g) | 35.3    | 35.3 | 35.3  | 35.3  |
| Sucrose (g)              | 17.7    | 17.7 | 17.7  | 17.7  |
| Mineral mixture (g)      | 5.0     | 5.0  | 5.0   | 5.0   |
| Vitamin mixture (g)      | 2.0     | 2.0  | 2.0   | 2.0   |
| Cellulose powder (g)     | 5.0     | 5.0  | 5.0   | 5.0   |
| Soybean oil (g)          | 5.0     | 5.0  | 5.0   | 5.0   |
| Trypsin inhibitor (U)    | 0       | 459  | 1,448 | 0     |
| Isoflavone (mg)          | 0       | 60   | 56    | 37    |

SPI: soybean protein isolate, Whey: soybean whey, EB: embryo bud.

ラボン濃度は液クロ変法<sup>18,19)</sup>で測定した。食事中的トリプシンインヒビター量 (U/100 g) は、コントロール食 0, 分離大豆たん白質食459, ホエイ食1,448, 胚軸食 0 であった。イソフラボン実測値は、胚軸0.62%, 分離大豆たん白質0.20%およびホエイ0.02%であった。その結果, 食事中的イソフラボン含量 (mg/100 g) は、コントロール食 0, 分離大豆たん白質食60, ホエイ食56, および胚軸食37であった。

飼育期間は24週間とした。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±2°C, 湿度70%の空調下, 陰圧ラック内で行った。実験食 1 週間目に全マウスにイニシエーターとして 7,12-dimethyl-benzanthracene (1 mg/mL アセトン) 100  $\mu$ L を塗布した。これらの実験群のマウスにはイニシエーター塗布後 1 週間目から, プロモーターである phorbol-12-myristate-13-acetate (25  $\mu$ g/mL アセトン) 100  $\mu$ L を毎週 2 回, 実験終了まで塗布し続けた。実験24週目に直径 1 mm 以上の腫瘍の重量を測定した。

## 実験 2

大豆たん白質がもつ各種成分の影響を除き, イソフラボンあるいはトリプシンインヒビターそのものの効果について調べるために, 主たん白質源をカゼインとして実験を行った。動物は, 5 週齢の ICR 系, 雄性, ヘアレスマウス119匹を 4 群に分け, コントロール食, 2%胚軸食, 5%胚軸食あるいはホエイ食で飼育した。飼育期間は, 実験 1 の経験から16週間でよいと判断した。実験期間終了後, 実験 1 と同様に腫瘍の重量を測

定した。食事組成および食事中的トリプシンインヒビター活性およびイソフラボン濃度を Table 2 に示した。実験 2 で使用した胚軸のイソフラボン実測量は0.72%であった。コントロール食 (イソフラボン, トリプシンインヒビターともに無し) はカゼイン30 g, 2%胚軸食 (イソフラボン15 mg/100 g) はカゼイン28 g と胚軸 2 g, 5%胚軸食 (イソフラボン38 mg/100 g) はカゼイン25 g と胚軸 5 g, およびホエイ食 (トリプシンインヒビター1440 U/100 g) はカゼイン27.5 g とホエイ2.5 g を含むようにした。

各群間の結果の比較にはカイ 2 乗検定あるいは Duncan's new multiple range test を用いた。P 値0.05 以下をもって有意差有りとした。

## 結 果

### 実験 1

Table 3 にマウス一匹一日あたりの食事摂取量と24 週間飼育終了時の平均体重を示した。平均食事摂取量は約4.8 g で, 各群間に差は見られなかった。終体重は他の 3 群に比べ, 胚軸群で有意に低かった。

Fig. 1 にイニシエーター塗布後24週目で腫瘍を持ったマウスの割合を示した。各群の腫瘍発生は, 90%に近いそれぞれ以上で, 各群間に統計的な有意差は無かった。

Fig. 2 に腫瘍をもつマウス一匹あたりの平均腫瘍重量を示した。有意差はないもののコントロール群に比べて, 胚軸群はかなり重く, ホエイ群では軽い傾向が

Table 2. Dietary composition and trypsin inhibitor and isoflavone concentrations in Experiment 2 (/100 g)

|                          | Control | 2% EB | 5% EB | Whey  |
|--------------------------|---------|-------|-------|-------|
| Casein (g)               | 30.0    | 28.0  | 25.0  | 27.5  |
| SPI (g)                  | 0.0     | 0.0   | 0.0   | 0.0   |
| Whey (g)                 | 0.0     | 0.0   | 0.0   | 2.5   |
| Embryo bud (g)           | 0.0     | 2.0   | 5.0   | 0.0   |
| $\alpha$ -Cornstarch (g) | 35.3    | 35.3  | 35.3  | 35.3  |
| Sucrose (g)              | 17.7    | 17.7  | 17.7  | 17.7  |
| Mineral mixture (g)      | 5.0     | 5.0   | 5.0   | 5.0   |
| Vitamin mixture (g)      | 2.0     | 2.0   | 2.0   | 2.0   |
| Cellulose powder (g)     | 5.0     | 5.0   | 5.0   | 5.0   |
| Soybean oil (g)          | 5.0     | 5.0   | 5.0   | 5.0   |
| Trypsin inhibitor (U)    | 0       | 0     | 0     | 1,440 |
| Isoflavone (mg)          | 0       | 15    | 38    | 0     |

EB: soybean embryo bud, Whey: soybean whey.

観られた。

## 実験 2

Table 4 にマウス一匹一日あたりの食事摂取量と16週間飼育終了時の平均体重を示した。平均食事摂取量は実験 1 と同様約4.8 g で各群間に差は見られなかつ

た。終体重も約40 g で、全ての群間に差はみられなかつた。

Fig. 3 にイニシエーター塗布後16週目で腫瘍を持ったマウスの割合を示した。発生率は各群とも80%を越え、何れの群間にも有意差は無かつた。

Table 3. Food intake and final body weight in Experiment 1

|                       | Control               | SPI                   | Whey                  | 6% EB                 |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| n                     | 10                    | 11                    | 11                    | 10                    |
| Food intake (g/day)   | 4.91±0.06             | 4.85±0.06             | 4.76±0.05             | 4.75±0.10             |
| Final body weight (g) | 42.3±0.8 <sup>a</sup> | 40.9±0.8 <sup>a</sup> | 41.5±0.5 <sup>a</sup> | 38.7±1.6 <sup>b</sup> |

Values are mean±SE. Figures with different letters indicate significant difference by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ).

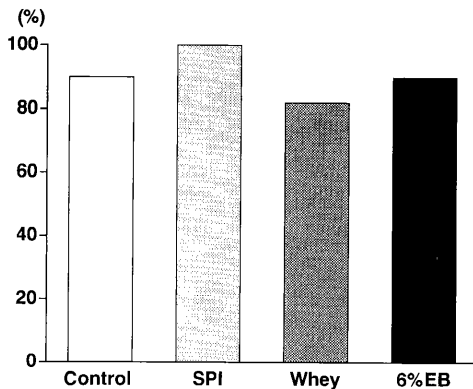


Fig. 1. Percentages of tumor bearing mice fed control diet, soybean protein isolate diet (SPI), soybean whey diet (whey) or 6% embryo diet (6% EB) for 24 wk in Experiment 1. Numbers of mice were 10-11. The difference was not significant by chi-square test ( $P>0.05$ ).

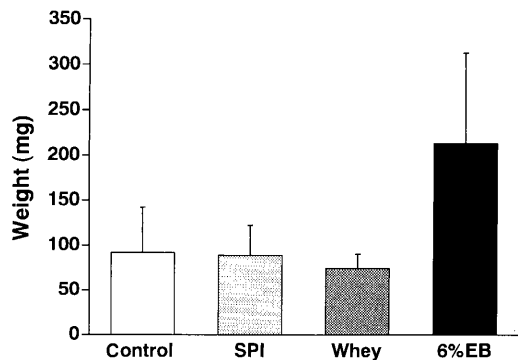


Fig. 2. Average tumor weight/tumor bearing mice in Experiment 1. Values are mean±SE on the 24th wk. A significant difference was not observed by Duncan's new multiple range test ( $P>0.05$ ).

Table 4. Food intake and final body weight in Experiment 2

|                       | Control   | 2% EB     | 5% EB     | Whey      |
|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| n                     | 30        | 30        | 29        | 30        |
| Food intake (g/day)   | 4.82±0.03 | 4.81±0.03 | 4.84±0.03 | 4.84±0.04 |
| Final body weight (g) | 40.4±0.8  | 40.8±0.7  | 40.0±0.5  | 41.8±0.6  |

Values are mean±SE. Figures with different letters indicate significant difference by Duncan's multiple range test ( $P<0.05$ ).

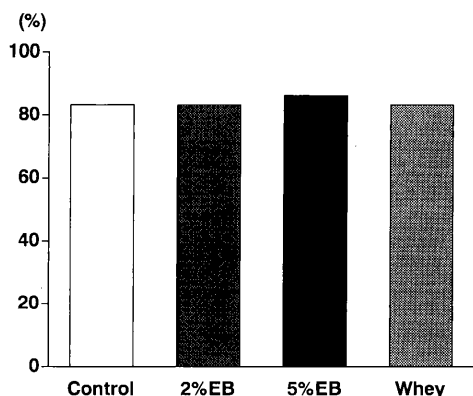


Fig. 3. Percentages of tumor bearing mice fed control diet, 2% embryo bud diet (2% EB), 5% embryo bud diet (5% EB) or soybean whey diet (whey) for 16 wk in Experiment 2. Numbers of mice were 29-30. The difference was not significant by chi-square test ( $P > 0.05$ ).

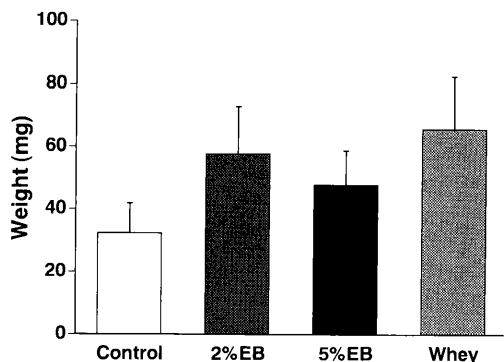


Fig. 4. Average tumor weight/tumor bearing mice fed control diet, 2% embryo bud diet (2% EB), 5% embryo bud diet (5% EB) or soybean whey diet (whey) in Experiment 2. Values are mean  $\pm$  SE on the 16th wk. A significant difference was not observed by Duncan's new multiple range test ( $P > 0.05$ ).

Fig. 4 に腫瘍をもつマウス一匹あたりの平均腫瘍重量を示した。有意差はないものの腫瘍重量は、2%および5%胚軸群、ホエイ群でコントロール群よりも重い傾向にあった。

## 考 察

化学的に誘発したマウスの皮膚癌に対するトリプシンインヒビターとイソフラボンの効果について二つの実験を行ったが、どちらの実験でも両成分の有意な効果はみられなかった。それぞれの実験で統計的な有意差はないものの、ホエイ群の結果は実験1と2で逆の傾向にあり、イソフラボンは両実験でむしろ癌重量が大きい傾向にあった。実験2のイソフラボン含量の違いによる差はみられなかった。

両実験のホエイ群で矛盾する傾向があった原因として第一に考えられることは、食事たん白質の違いであろう。すなわち実験1では分離大豆たん白質であり、実験2ではカゼインを使ったことである。分離大豆たん白質とカゼインの発癌に対する効果についてはこれまでいくつかの研究があるが、前者に後者より強い制癌作用があるとするものと、差はないとするものに分かれる<sup>20)</sup>。今回の実験1の結果、カゼインと分離大豆たん白質の皮膚癌に対する効果には差が見られなかった。しかしながら、たん白質とトリプシンインヒビターが同時に存在するか否かで効果に違いがある可能性は否定できないので、この結論のためにはさらに研究が必要であろう。

両たん白質の違いで考えられるもう一つの点として、成長に対する影響がある。たん白質の質や量の違いで成長に差があるばあい、成長の大きい方が発癌が亢進することが知られている<sup>20)</sup>。たん白質利用効率は、カゼインが分離大豆たん白質よりも高い<sup>21)</sup>が、今回のように食事たん白質レベルが十分に高いときは質の差ではない。実際に、最終体重は両実験ともホエイ群とコントロール群で差が無かった。このことから、たん白質の種類の違いによる成長の差が、実験1と2でのホエイ群の矛盾した結果の原因とは考えにくい。

今回の二つの実験の結果は、トリプシンインヒビターとイソフラボンは、単独ではむしろ皮膚癌を抑制する効果を持たず、共存しているときに制癌効果を発揮することを示唆しているかもしれない。すなわち、食事たん白質源として分離大豆たん白質を用いた実験1のホエイ食はトリプシンインヒビターとイソフラボンを含んでいたが、カゼインを用いた実験2のホエイ食ではトリプシンインヒビターのみを含んでいた

(Tables 1, 2). また皮膚癌の抑制傾向を示した実験 1 の分離大豆たん白質食も両成分を含んでいた。しかしながら、皮膚癌を亢進させる傾向を示した全ての群(実験 1 の胚軸群, 実験 2 の二つの胚軸群およびホエイ群)では、トリプシンインヒビターあるいはイソフラボンのどちらか一方しか含んでいなかった。Barnes ら<sup>14)</sup>はイソフラボンとトリプシンインヒビターが共存するか、しないかの条件での乳癌抑制作用に関して検討を試みている。トリプシンインヒビターの残存した未加熱大豆粉を使った試験では食餌中のサンプルレベルが 5% の場合で癌頻度の低下が顕著であるが、10% レベルでは頻度が増加し、更に 20% レベルに上げると再度頻度低下が認められた。次に加熱によりトリプシンインヒビター活性を消失させた大豆粉を用いた場合、食餌中のサンプル含有量に対応して、癌頻度の抑制が認められている。このような結果は、イソフラボンとトリプシンインヒビターの制癌効果は、それらが共存するか否か、その時の量などの因子が複雑にからみあって変化することを示唆している。これまでに行われてきた多くの大豆の癌抑制効果をみた報告でも、大部分は大豆をベースにした食事であるためトリプシンインヒビターとイソフラボンの両成分を含んでいる<sup>2-5,8)</sup>。

今回の実験では、従来の多くの報告と異なりトリプシンインヒビターとイソフラボンがともに発癌抑制に対して必ずしも有効でなかった理由として、利用した量の問題も考えておかねばならない。今回の二つの実

験で用いたトリプシンインヒビターの活性量は、飼料中の活性が約 1,450 U/100 g、マウスの体重が約 40 g、食物摂取量が一日約 4.8 g であることから計算すると、1,740 U/体重 kg であった。一方、我々が測定した日本人の一日あたりのトリプシンインヒビター活性量は、1 U/体重 kg 以下であった<sup>15)</sup>。すなわち体重当たりで比較すると、動物実験での摂取量はヒトの日常的な摂取量に比べて高すぎるかもしれない。今後、量の影響についての検討が必要であろう。一方イソフラボンのみの濃度を変化させた研究はほとんどない状況である。Barnes ら<sup>14)</sup>の大豆粉および分離大豆たん白質の量を変えた実験では、イソフラボンの量は 5~80 mg/100 g であり、ラットの乳癌に対する効果を観察している。我々の実験での食事中的イソフラボン濃度は 15~38 mg/100 g であったが、上のような報告から判断して異常な量では無かったと考えられる。

トリプシンインヒビターとイソフラボンがともに発癌抑制に対して必ずしも有効でなかった理由として、用いた発癌モデルが適切であったかどうか今後検討していく必要であろう。特にイソフラボンの効果は乳癌などの性ホルモンが関与する発癌モデルでの検討が必要であろう。今回の結果は、大豆成分と発癌の関係は単純なものではなく、動物実験だけをとっていても今後は大豆中の抗癌因子の濃度や組み合わせ、各種発癌モデルなどで注意深く検討してゆかねばならないことを示唆している。

## 要 約

大豆の制癌作用を発揮する成分としては、イソフラボンとトリプシンインヒビターが知られているが、大豆製品を食べた場合、一般に両方が同時に摂取される。両者の効果の比較についてはあまり知られていないので、本実験で明らかにするために二つの実験を行った。実験 1 では、ヘアレスマウスをコントロール食 (イソフラボン、トリプシンインヒビターともに無し)、分離大豆たん白質食 (イソフラボン 60 mg/100 g、トリプシンインヒビター 459 U/100 g)、ホエイ食 (イソフラボン 56 mg/100 g、トリプシンインヒビター 1448 U/100 g)、あるいは大豆胚軸食 (イソフラボン 37 mg/100 g) で 24 週間飼育した。実験食 1 週間目に全マウスにイニシエーターを塗布し、1 週間後からプロモーターを毎週 2 回塗布し続け、最後に直径 1 mm 以上の腫瘍の重量を測定した。実験 2 では、コントロール食 (イソフラボン、トリプシンインヒビターともに無し)、2% 胚軸食 (イソフラボン 15 mg/100 g)、5% 胚軸食 (イソフラボン 38 mg/100 g) あるいはホエイ食 (トリプシンインヒビター 1,440 U/100 g) で 16 週間飼育した。他は、実験 1 と同様にした。その結果、マウスの皮膚癌に対するトリプシンインヒビターとイソフラボンの効果は、どちらの実験でも有意な効果はみられなかった。それぞれの実験で統計的な有意差はないものの、ホエイ群の結果は実験 1 と 2 で矛盾する傾向にあり、イソフラボンは両実験でむしろ皮膚癌を大きくする傾向にあった。実験 1 の大豆たん白質、実験 2 のイソフラボン量の影響はみられなかった。今回の結果は、大豆成分と発癌の関係は単純なものではなく、大豆中の抗

癌因子の濃度や組み合わせ、各種発癌モデルなどで複雑に効果が異なることを示唆している。

## 文 献

- 1) 荒井総一(1984)：大豆—そのたん白の特性を中心に。米・大豆と魚。藤巻正生・井上五郎・田中武彦編集，光生館，東京，pp. 112-113.
- 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) 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.
- 5) 新城澄枝，宮城裕子，宮城知佳，久場恵美，當間美香，王 銘富，高松清治，山本孝史，安里 龍，山本 茂(1996)：沖縄寄せ豆腐がマウスの皮膚癌に及ぼす影響。大豆たん白質研究会会誌，**17**，84-88.
- 6) Liener IR (1962)：Toxic factors in edible legumes and their elimination. *Am J Clin Nutr*, **11**, 281-298.
- 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) 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) Birnboim HC (1982)：DNA strand breaks in human leukocytes exposed to a tumor promoter, phorbol myristate acetate. *Science*, **215**, 1247-1249.
- 10) Corasanti JG, Hobika GH and Markus G (1982)：Interference with dimethylhydrazine induction of colon tumors in mice by  $\epsilon$ -aminocaproic acid. *Science*, **216**, 1020-1021.
- 11) Yavelow J, Finalay TH, Kennedy AR and Troll W (1983)：Bowman-Birk soybean protease inhibitor as an anticarcinogen. *Cancer Res*, **43**, 2454s-2459s.
- 12) 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.
- 13) Hendrich S, Lee KW, Xu X, Wang HJ and Murphy PA (1994)：Defining food components as new nutrients. *J Nutr*, **124**, 1789s-1792s.
- 14) Barnes S, Grubbs C, Setchell KDR and Carlson J (1990)：Soybeans inhibit mammary tumors in models of breast cancer. In *Mutagens and Carcinogens in the Diet*. Wiley-Liss, Inc., pp. 239-253.
- 15) Steele VE, Pereira MA, Sigman CC and Kelloff CJ (1995)：Cancer chemoprevention agent development strategies for genistein. *J Nutr*, **125**, 713s-717s.
- 16) Coral A, Tinier L, Moore J, Holland M and Barnes S (1995)：Neonatal genistein chemoprevents mammary cancer. *Proc Soc Exp Biol Med*, **208**, 120-123.
- 17) Miyagi Y, Shinjo S, Nishida R, Miyagi C, Takamatsu K, Yamamoto T and Yamamoto S (1997)：Trypsin inhibitor activity in commercial soybean products in Japan. *J Nutr Sci Vitaminol*, **43**, 575-580.
- 18) 太田直一，桑田五郎，赤堀 浩，渡辺忠雄(1980)：大豆イソフラボン化合物の高速液体クロマトグラフィーによる分離・同定。日本食品工業学会誌，**27**，348-351.
- 19) Coward L, Barnes NC, Setchell KDR and Barnes S (1993)：Genistein, daidzein, and their  $\beta$ -glycoside conjugates: Antitumor isoflavone in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem*, **41**, 1961-1967.
- 20) 全米科学アカデミー (1983)：がん予防と食生活。

厚生省公衆衛生局栄養課訳，日本栄養食品協会，  
東京，pp. 115-130.

品のアミノ酸含量とそのたん白生物価。大磯敏雄  
訳。第一出版，東京，pp. 89-110.

21) FAO 栄養部食糧政策及食品科学課編 (1970)：食