

# DMBA 乳癌発生に対する牛乳及び豆乳とそれらの発酵乳の影響

柳 進<sup>\*1</sup>・今井俊介<sup>2</sup>・横山 等<sup>3</sup>・菅野秀夫<sup>3</sup>・高松清治<sup>3</sup>

<sup>1</sup>奈良県立医科大学看護短期大学部 <sup>2</sup>奈良県立衛生研究所 <sup>3</sup>不二製油株式会社応用研究所

## Effects of Cow Milk, Soybean Milk and Their Fermented Products on DMBA Induced Mammary Tumorigenesis

Susumu YANAGI<sup>1</sup>, Shunsuke IMAI<sup>2</sup>, Hitoshi YOKOYAMA<sup>3</sup>, Hideo SUGANO<sup>3</sup> and Kiyoharu TAKAMATSU<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Nara Medical University College of Nursing, Kashihara 634

<sup>2</sup> Nara Prefectural Institute of Public Health, Nara 630

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

### ABSTRACT

We studied effects of soybean milk, cow milk and their respective fermented products on promoting stage of rat mammary tumorigenesis induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA). One week after an administration of 5 mg DMBA the rats were divided into 5 groups, and drinking water of each experimental group was replaced with one of the following drinks, i. e., deionized water (control), soybean milk (SBM), cow milk (milk), fermented SBM (FSBM) or fermented cow milk (yogurt). The rats were allowed to ingest a laboratory chow and the drinks freely. All the animals were sacrificed by the end of 20th weeks after DMBA administration. Diameter and weight of all tumors were determined and the tumors were subjected to histological examination. The tumor incidences of all the experimental groups were significantly higher than that of the control. The number of mammary tumors was the lowest in the control and the highest in both the milk and the SBM groups, but the difference was statistically insignificant. The average tumor weight and the tumor weight per tumor-bearing rat were the lowest in the SBM group and significantly lower compared with those of the milk group. The serum cholesterol was significantly lower in the control, the SBM and the FSBM groups than in the milk and the yogurt groups. In comparison with cow milk the result shows that soybean milk does not inhibit the tumor incidence, but significantly inhibits the growth of tumors. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **18**, 120-124, 1997.

Key words: mammary tumorigenesis, 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA), soybean milk, cow milk

\*〒634 奈良県橿原市四条町840

高脂肪食は乳癌を多発させることが疫学的<sup>1)</sup>にも、  
実験的<sup>2)</sup>にも明らかにされているが、バターには促進

作用はなく、むしろ抑制的に作用し<sup>3)</sup>、その抑制効果は乳脂中の酪酸によることが証明されている<sup>4)</sup>。バター  
の原料である牛乳には抑制作用はないが<sup>5)</sup>、ある種の  
ビフィズス菌により牛乳を発酵させると抑制効果が現  
れる<sup>6)</sup>。ここでは、(1)他のビフィズス菌でも抑制する  
か、(2)牛乳の代わりに豆乳を投与したら抑制が見られ  
るか、(3)発酵豆乳ではどうか、という3点について調  
べた結果を報告する。

Table 1. Food and drink intakes<sup>a</sup>

Experimental groups	Food (g/day/rat)	Drink (g/day/rat)
Control (water)	14.91±0.20 <sup>b</sup>	29.7±0.6 <sup>b</sup>
SBM	9.37±0.11 <sup>c</sup>	45.8±2.0 <sup>c</sup>
Cow milk	9.42±0.14 <sup>c</sup>	40.1±1.4 <sup>d</sup>
FSBM	11.05±0.12 <sup>d</sup>	35.8±1.5 <sup>d</sup>
Yogurt	8.51±0.28 <sup>c</sup>	43.6±1.9 <sup>cd</sup>

SBM, soybean milk ; FSBM, fermented soybean milk.

<sup>a</sup> Mean ± SEM.

<sup>b-d</sup> Numerals that do not share a common superscript are significantly different from each other at  $P < 0.05$  ( $t$ -test).

## 実験方法

### 動物

4週齢のSD系雌ラットを129匹購入し、市販固形飼料と水道水を自由摂取させた。1週間後に7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) 5 mg を0.5 mL のコーン油に溶かし、胃内に直接1回投与した。さらに1週間後にラットを5群に分け、各群とも市販粉末飼料を投与し、飲料として水道水の代わりに、以下の5種類の飲料のいずれかを与えた：(1)Control群、イオン交換水；(2)SBM群、豆乳；(3)Milk群、無調整牛乳；(4)FSBM群、発酵豆乳；(5)Yogurt群、発酵牛乳。飲料は毎日新鮮なものを与えた。飼料、飲料は自由摂取させ、その摂取量を毎日測定した。毎週1回体重を測定し、触診により腫瘍の発生部位、数、直径を測定した。

### 試薬、飼料、飲料等

DMBA は東京化成より、総コレステロール測定キットは和光純薬よりそれぞれ購入した。飼料はオリエンタル酵母のラット、マウス飼育用粉末飼料(MF)を用いた。牛乳は市販無調整牛乳を毎週1回購入し、豆

Table 2. Energy intakes<sup>a</sup> from food and drinks

Experimental groups	Energy intakes <sup>a</sup> (kcal/rat/day)		
	Food	Drink	Total
Control	52.2±0.7 <sup>b</sup>	0	52.2±0.7 <sup>b</sup>
SBM	32.8±0.4 <sup>c</sup>	20.1±0.1 <sup>b</sup>	52.9±1.0 <sup>b</sup>
Milk	33.0±0.5 <sup>c</sup>	23.6±0.1 <sup>c</sup>	56.6±0.8 <sup>c</sup>
FSBM	38.6±0.4 <sup>d</sup>	15.7±0.1 <sup>d</sup>	54.4±0.8 <sup>c</sup>
Yogurt	29.8±1.0 <sup>e</sup>	25.8±0.1 <sup>c</sup>	55.5±1.1 <sup>c</sup>

SBM, soybean milk ; FSBM, fermented soybean milk.

<sup>a</sup> Mean ± SEM.

<sup>b-e</sup> Numerals that do not share a common superscript are significantly different from each other at  $P < 0.05$  ( $t$ -test).

Table 3. Tumor incidence

Experimental groups	Rat No.	No. of tumor bearer				
		Total	Total	malignant	Adenocarcinoma	Leukemia
Control	25	13 (52.0) <sup>a</sup>	11 (44.0) <sup>a</sup>		11 (44.0) <sup>a</sup>	0 (0) <sup>a</sup>
SBM	26	22 (84.6) <sup>b</sup>	21 (80.7) <sup>b</sup>		21 (80.7) <sup>b</sup>	1 (3.8) <sup>ab</sup>
Milk	26	21 (80.8) <sup>b</sup>	21 (80.8) <sup>b</sup>		19 (73.1) <sup>b</sup>	4 (15.4) <sup>b</sup>
FSBM	26	22 (84.6) <sup>b</sup>	19 (73.1) <sup>b</sup>		19 (73.1) <sup>b</sup>	0 (0) <sup>a</sup>
Yogurt	26	21 (80.8) <sup>b</sup>	20 (76.9) <sup>b</sup>		20 (76.9) <sup>b</sup>	1 (3.8) <sup>ab</sup>

SBM, soybean milk ; FSBM, fermented soybean milk. Numbers in parentheses indicate percentage of rat number.

<sup>a,b</sup> Numerals that do not share a common superscript are significantly different from each other at  $P < 0.05$  ( $\chi^2$ -test).

Table 4. Tumor number

Experimental groups	Rat No.	Total tumor No.	Average tumor number <sup>a</sup>	
			No./rat	No./tumor-bearer
Control	25	39	1.56±0.50	3.00±0.78 <sup>bc</sup>
SBM	26	77	2.96±0.55	3.50±0.58 <sup>bc</sup>
Milk	26	74	2.84±0.49	3.89±0.48 <sup>c</sup>
FSB	26	60	2.31±0.37	2.73±0.37 <sup>bc</sup>
Yogurt	26	53	2.04±0.32	2.52±0.31 <sup>b</sup>

SBM, soybean milk ; FSBM, fermented soybean milk.

<sup>a</sup> Mean ± SEM.<sup>b,c</sup> Numerals that do not share a common superscript are significantly different from each other at  $P < 0.05$  ( $t$ -test).

Table 5. Tumor weight (g)

Experimental groups	Cumulative weight per group	Average weight <sup>a</sup> per	
		group	tumor-bearer
Control	60.7	2.43±0.80 <sup>b</sup>	5.05±1.24 <sup>bc</sup>
SBM	104.2	4.01±1.02 <sup>bc</sup>	4.73±1.14 <sup>b</sup>
Milk	181.6	6.98±1.61 <sup>c</sup>	9.56±1.89 <sup>c</sup>
FSBM	158.9	6.11±1.58 <sup>bc</sup>	7.22±1.77 <sup>bc</sup>
Yogurt	177.1	6.81±2.16 <sup>bc</sup>	8.86±2.59 <sup>bc</sup>

SBM, soybean milk ; FSBM, fermented soybean milk.

<sup>a</sup> Mean±SEM.<sup>b,c</sup> Numerals that do not share a common superscript are significantly different from each other at  $P < 0.05$  ( $t$ -test).

## 結 果

Table 6. Average tumor diameter and weight

Experimental groups	Tumor No.	Diameter <sup>a</sup> (mm)	Weight <sup>a</sup> (g)
Control	39	12.4±0.9	1.60±0.31 <sup>bc</sup>
SBM	77	11.7±0.7	1.36±0.24 <sup>b</sup>
Milk	75	13.7±0.8	2.43±0.40 <sup>c</sup>
FSBM	60	13.6±1.0	2.69±0.63 <sup>c</sup>
Yogurt	53	13.5±1.3	3.43±1.04 <sup>c</sup>

SBM, soybean milk ; FSBM, fermented soybean milk.

<sup>a</sup> Mean ± SEM.<sup>b,c</sup> Numerals that do not share a common superscript are significantly different from each other at  $P < 0.05$  ( $t$ -test).

乳は不二製油応用研究所で毎週1回調製したものを、それぞれ冷蔵庫に保存して使用した。発酵乳の調製は毎週1回ずつ行った。プラスチックボトル入りの原料乳1Lに、乾燥ビフィズス菌 (*Bifidobacterium* sp.) を加え(豆乳, 0.9 g/L; 牛乳, 0.8 g/L), 37°Cで20~24時間保温後、冷蔵庫に保存して使用した。

実験群の飲料摂取量はいずれも対照群より有意に多く、摂食量は少ない (Table 1)。摂取エネルギーの合計は、Control 群及び SBM 群が他の群より有意に少ないものの、実験群間の差はごくわずかである (Table 2)。良性腫瘍・白血病も含む全腫瘍の発生率、乳腺癌の発生率、いずれも Control 群に比較して、全実験群で有意に高かった (Table 3)。全腫瘍の発生数は Control 群で少ないが、有意ではなかった (Table 4)。腫瘍の短径・長径の平均値から求めた積算直径を腫瘍の大きさの指標にしようとしたが、厚さを測定してないので体積が計算できず、明確な結果が得られなかった (データ省略)。Table 5 は腫瘍重量を示す。他の実験群に比較して SBM 群では累積重量、ラット当たり及び、担癌個体当たりの平均重量は最も低く、とくに milk 群に対して有意に低値を示した (Table 5)。この差は群毎の全腫瘍の平均重量を比較すると、より明瞭となる (Table 6)。しかし、FSBM 群ではこの効果はなかった (Tables 5, 6)。Table 7 は実験終了時における体重、肝臓重量、腹腔内 (卵巢周囲、腎臓周囲) 脂肪組織重量を示す。エネルギー摂取量を反映して、

Table 7. Body, liver and adipose tissue weights and total serum cholesterol concentration in the rats given cow milk or soybean milk

Experimental groups	Body (g)	Liver (g)	Adipose (g)	Cholesterol (mg/dL)
Control	306±4	10.3±0.3 <sup>a</sup>	12.2±0.7	91.6±5.4 <sup>ab</sup>
SBM	306±6	10.9±1.1 <sup>ab</sup>	12.8±0.9	82.2±3.8 <sup>b</sup>
milk	322±7	15.0±1.8 <sup>b</sup>	14.0±1.2	110.4±6.7 <sup>c</sup>
FSBM	312±5	11.1±0.5 <sup>a</sup>	12.5±0.8	90.8±6.3 <sup>ab</sup>
Yogurt	310±5	11.0±0.6 <sup>a</sup>	13.6±0.8	105.4±4.5 <sup>ac</sup>

SBM, soybean milk ; FSBM, fermented soybean milk.

Values are mean ± SEM.

<sup>a-c</sup> Numerals that do not share a common superscript are significantly different from each other at  $P < 0.05$  ( $t$ -test).

Control 群と SBM 群の体重は他の群より低いが、有意ではない。Milk 群の肝臓重量と血清総コレステロール濃度が他の群より高値を示した。

## 考 察

(1) ビフィズス菌発酵乳は牛乳に比較して乳癌発生を抑制するか？ 白血病発生率 (Table 3), 発生腫瘍数 (Table 4), 腫瘍重量 (Table 5) のいずれも Yogurt 群は Milk 群より低値を示したが、統計的有意差は得られなかった。即ち、ビフィズス菌でも抑制効果は、菌株により異なるものと推定されるが、その差が何に由来するかは不明である。(2) 牛乳と比較して豆乳は乳癌発生を抑制するか？ 腫瘍発生率 (Table 3), 発生腫瘍数 (Table 4), いずれも Milk 群と SBM 群に差はなかったが、腫瘍の重量を比較するとラット当たり、担癌個体当たりの平均重量 (Table 5), 腫瘍 1 個当たりの重量 (Table 6) は、SBM 群では有意に低値を示した。このことから、SBM 群では腫瘍の発生には影響しないが、発生した腫瘍の増殖が抑制されるものと推定される。(3) 発酵豆乳でも発酵牛乳と同様な抑制効果があるか？ 今回用いたビフィズス菌では、発酵牛乳の抑制作用が弱かったために、この疑問に対しては明

確な答は得られなかった。

腫瘍の抑制効果のうち、最も重要なのは発生率抑制作用である。しかし、腫瘍が発生しても、その増殖が抑制されれば、担癌状態でも天寿を全うし得ることを考えれば、SBM 群で腫瘍重量が顕著に低かったことは重要である。問題点として、摂取エネルギーが他の群より少なかった (Table 2) ためである可能性がこの結果との関連で興味あるのは、SPI 食投与群のマウス皮膚腫瘍の体積は、カゼイン食投与群より小さいという、王らの報告<sup>7)</sup>である。発癌の栄養実験は明確な結果が得られ難く、同一実験でも実験毎に異なる結果が得られることも稀ではない。追試確認することが必要であろう。

SBM, FSBM 両群の血清総コレステロールは Milk, Yogurt 両群より有意に低値を示した (Table 7)。コレステロールの含有量、豆乳、0 mg%；牛乳、11 mg%<sup>8)</sup>；粉末飼料、約80 mg% (オリエンタル酵母工業、実験動物飼料組成表) から、各群の 1 日のコレステロール摂取量を計算すると、対照群、11.9 mg；豆乳群、12.5 mg；牛乳群、11.9 mg；発酵豆乳群、12.8 mg；発酵牛乳群、11.6 mg となり、実験群間に摂取量には差がない。したがって、豆乳摂取が血清コレステロールを低下させたものと推定される。

## 要 約

飲料として与えた豆乳、牛乳及び各々の乳酸発酵物が、7,12-ジメチルベンツ(a)アントラセン (DMBA) によるラット乳癌発生のプロモーション過程に及ぼす影響を比較した。4 週齢の SD 系雌ラットに、DMBA 5 mg をコーン油0.5 mL に溶解し、胃内に直接 1 回投与した。1 週間後にラットを 5 群に分け、以下の飲料のいずれかを与えた。(1)Control 群、イオン交換水；(2)SBM 群、豆乳；(3)Milk 群、無調整牛乳；(4)FSBM 群、発酵豆乳；(5)Yogurt 群、発酵牛

乳。市販粉末飼料，飲料は自由摂取させ腫瘍発生を観察した。20週間後の乳腺癌の発生率は，全実験群とも対照群より有意に高かった。発生腫瘍数も，対照群で最も低かったが，有意差はなかった。平均腫瘍重量及び担癌個体当たりの重量は，豆乳群で最も低く，牛乳群との差は有意であった。発酵による有意の抑制効果は観察されなかった。結論：豆乳は腫瘍発生は抑制しなかったが，腫瘍の増殖に対しては顕著な抑制効果を示した。

## 文 献

- 1) Carroll KK (1980) : Lipids and carcinogenesis. *J Environ Pathol Toxocol*, **3**, 253-271.
- 2) Carroll KK (1975) : Experimental evidence of dietary factors and hormone-dependent cancers. *Cancer Res*, **35**, 3374-3383.
- 3) Yanagi S, Yamashita M, Sakamoto M, Kumazawa K and Imai S (1989) : Comparative effects of butter, margarine, safflower oil and dextrin on mammary tumorigenesis in mice and rats. In : *The Pharmacological Effects of Lipids III. Role of Lipids in Cancer Research*. Kabara JJ, ed., Lauricidin, Galena, IL, pp. 159-169.
- 4) Yanagi S, Yamashita M and Imai S (1993) : Sodium butyrate inhibits the enhancing effect of high fat diet on mammary tumorigenesis. *Oncology*, **50**, 201-204.
- 5) Yanagi S, Yamashita M, Tsuyuki M, Morimoto J, Haga S and Imai S (1992) : Milk cream does not enhance 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced mammary tumorigenesis. *Cancer Lett*, **61**, 141-145.
- 6) 柳 進，喜多英二，成川功一，原田寛子，螺良愛郎，今井俊介(1997)：乳癌発生に対するビフィズス菌ヨーグルトの影響。第51回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集 p. 59.
- 7) 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.
- 8) 香川 綾監修(1997)：科学技術庁資源調査会編による四訂食品成分表。女子栄養大学出版部，東京，pp. 196-197.