

ハムスター肺線維芽細胞の増殖および変異原性に対する大豆中の 内分泌攪乱物質とダイオキシンの相互作用

山下洵子^{*1}・関 良子²・清水英佑²

¹ 呉大学看護学部 ² 東京慈恵会医科大学医学部

Relationship between Soy-derived Isoflavones and Endocrine Disruptors in Cultured Chinese Hamster Lung Fibroblast (CHL/IU) Cells

Junko YAMASHITA¹, Yoshiko SEKI², Eisuke SHIMIZU²

¹ Faculty of Nursing, Kure University, Kure 737-0004

² Jikei University School of Medicine, Tokyo 105-8461

ABSTRACT

Isoflavones in soybeans are estrogenic compounds, and are categorized as phytoestrogens. The aim of the present experiment was to examine the effects of isoflavone complex on the growth and induction of micronuclei in cultured Chinese hamster lung fibroblast (CHL/IU) cells. The complex was extracted from soybean hypocotyls, containing about 40 mg of at least 12 types of isoflavones, along with 20.4 mg of daizin, 11.1 mg of glycitin, 4.6 mg of genistin and small amounts of their aglycons per 100 mg. The growth-inhibitory and micronuclei induction effects of the complex were tested using the protocol in the guidelines 'Research for Factors in Mutagenicity Test' issued by the Ministry of Labor in 1996. When the cells were treated with the complex for 24 h at the concentration of around 2 mg/mL in the culture medium, the dose-dependent induction of micronuclei was observed. When the treatment with the complex in the medium along with S9 for 6 h was followed by a post-treatment period of 18 h in fresh medium, an increased number of micronuclei was observed. Our results suggest that a large isoflavone intake may cause adverse health effects such as induction of mutagenicity. Further investigation is necessary to establish concrete guidelines for the intake of isoflavones. *Soy Protein Research, Japan* **3**, 45-47, 2000.

Key words : isoflavones, phytoestrogen, micronuclei, mutagenicity, CHL/IU

大豆に含まれるイソフラボンは、昨今社会的に大きな問題となっている内分泌攪乱物質（環境ホルモン）

の範疇にはいる。しかし、従来、この概念ではほとんど論議されてこなかった。いわゆる環境ホルモンは「悪」として捉えられ、排除する方向で論議されているが、人類が植物性食物を基盤にして、必然的に植物

*〒 737-0004 呉市阿賀南 2-10-3

エストロゲンを取り込みながら種を保存してきたことを考えると、「善」の面もある。いずれにしても、日本人は、現在でも大豆およびその加工食品をかなり多く摂取しており、体内に取り込む量は、いわゆる合成化学物質由来より多い可能性さえある。西欧の研究結果にとらわれずに、独自の研究指向が必要だと考える。また、近年、イソフラボンが飲料に添加されたり錠剤のかたちで市販されるようになり、従来の食事ではありえなかった多量を摂取する可能性もでてきた。

以上をふまえ、環境ホルモンとしてのイソフラボンの健康への影響を検討したい。

方 法

100 mg 中に daizin 20.4 mg, glycitin 11.1 mg, genistin 4.6 mg, およびそれぞれのアグリコン等少なくとも 12 物質、合わせて約 40 mg のイソフラボンを含む大豆胚軸粗抽出物を被験物質とした。労働省編「ほ乳類培養細胞をもちいる染色体異常試験基準 (1987 年 3 月)」を基盤としてつくられたガイドライン「染色体異常試験における変動要因に関する調査研究 (1996 年 3 月)」に従い、チャイニーズハムスター新生仔雌肺組織由来線維芽細胞株 (CHL/IU) を培養し、小核試験を行った。ラット肝 S9 は PCB 誘導によった。

結 果

連続処理法の 48 時間処理において、1 mg/mL 濃度で、

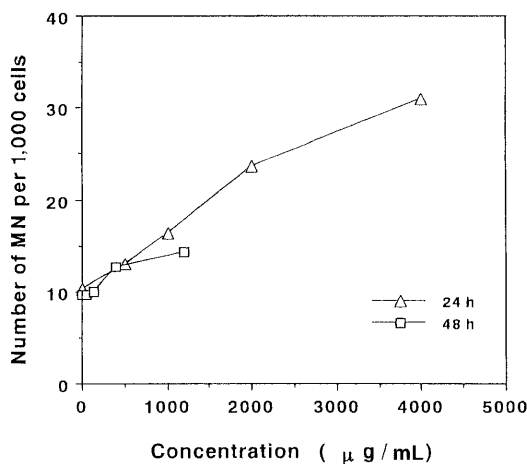


Fig. 1. Induction of micronuclei in CHL/IU cells. Cells were treated with soy-derived isoflavones for 24 or 48 h. Data represent the average of two independent experiments performed in triplicate.

細胞増殖が 50% 抑制された。24 時間処理では、より高濃度の 3 mg/mL で 40% 抑制された。これらの濃度付近で、1,000 間期細胞当たりの小核数が溶媒のみ添加の対照群より多く発現し、その程度は濃度依存的であった (Fig. 1)。

一方、短時間処理法においては、S9 法の 6 ~ 18 時間処理において、2 mg/mL の濃度付近で増殖が 50% 抑制された。この濃度付近で、小核の発現数が濃度依存的に増加した (Fig. 2A)。6 ~ 42 時間処理においても、6 ~ 18 時間処理に似た増殖抑制が認められた。しかし、小核の発現数は溶媒のみ添加の対照と大差なく、0.5 mg/mL 以下の低濃度では逆に抑制される傾向があっ

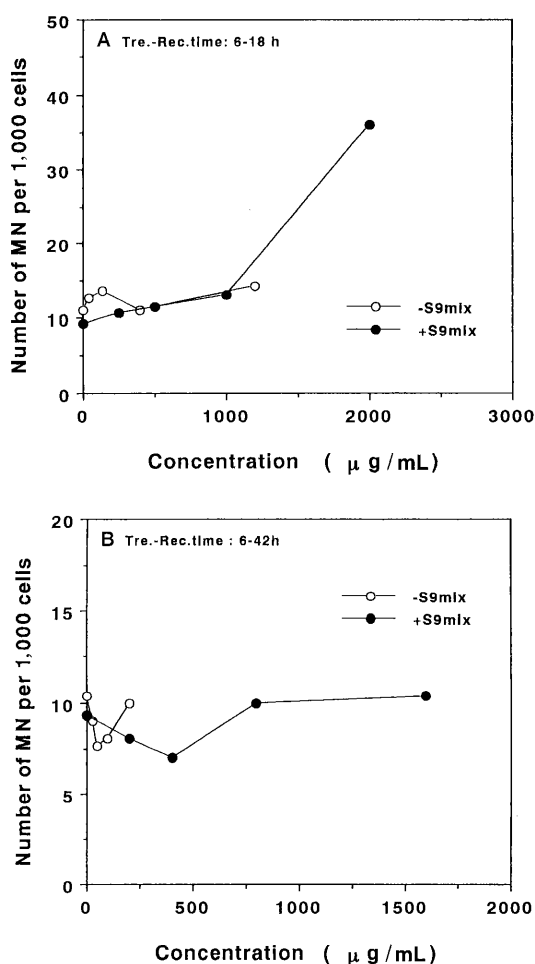


Fig. 2. Induction of micronuclei in CHL/IU cells. Cells were treated with soy-derived isoflavones with or without S9 for 6 h, followed by a post-treatment period in fresh medium for 18 h (A) or 42 h (B). Data represent the average of two independent experiments performed in triplicate.

た (Fig. 2B).

考 察

1~2 mg/mLの濃度で、対照を超える小核が発現した。試料はイソフラボンを40%含むので、イソフラボンに換算した有効濃度は1 mg/mL以下となる。小核の発現をもってただちに人体に対して変異原性があるとは断定できないが、一応、この濃度の生理的意味を考えてみたい。

日本人が1日に摂取するイソフラボン量については、いろいろ論議がある¹⁾。一般的日本人が普通に取り大豆製品は、豆腐、納豆、きな粉で、これらには0.5~2.5 mg/gのイソフラボンが含まれる²⁾ので、個人差を考えても、通常、イソフラボン摂取量は1日200 mgくらいに収まるだろう。体内に入ったイソフラボンの半減期は数時間で、多量摂取すれば多量排泄される³⁾。

従って、今回の実験結果を導入すると、通常の形で大豆食品を取る限り、仮に1回の食事でイソフラボンを200 mg摂取したとしても、吸収後の血中における希釈や排泄分を考慮すると、染色体異常を起こす可能性

は極めて小さいと判断される。しかし、錠剤や飲料に添加されたイソフラボンの市販品が容易に入手でき、極めて多量を一度に摂取する可能性もあることを考慮すると、適切なガイドラインが必要だと考える。小核発現に関与したイソフラボンの同定などを含めさらに検討し、イソフラボンの摂取が人間にとってどの程度の量まで安全なのかをみきわめ、大豆の品種、保存法、加工法、調理法などを検討する情報としたい。また、複数物質の共存が必須である可能性もあり、粗抽出物中に共存するイソフラボン以外の成分が関与している可能性も否定できないので、これらの点も検討する必要がある。さらに、イソフラボンが原因物質であるとしても、エストロゲンとの競合に依るのか否か、今後の検討課題である。

現在、イソフラボンをPCBのような強い変異原性のある化学合成物質由来の環境ホルモンと共存させるとき、いわゆる環境ホルモンの毒性を緩和できるかを検討している。これらの結果も合わせて考察し、イソフラボンの環境ホルモンとしての位置づけをより明確にしたい。

要 約

大豆およびその加工食品はイソフラボンなどの植物エストロゲンを含む。これらいわゆる環境ホルモンの範疇に入る物質が、健康に対しどのような影響を及ぼすかを検討した。100 mg中にdaizin 20.4 mg, glycitin 11.1 mg, genistin 4.6 mg およびそれぞれのアグリコン等少なくとも12物質、合わせて約40 mgのイソフラボンを含む大豆胚軸粗抽出物を被験物質とした。労働省発行「は乳類培養細胞をもちいる染色体異常試験基準 (1987年3月)」を基盤としてつくられたガイドライン「染色体異常試験における変動要因に関する調査研究 (1996年3月)」に従い、チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞株CHL/IU (新生仔雌肺由来)を培養し、小核試験を行った。肝S9はPCB誘導によった。連続処理法では24時間処理において、短時間処理法ではS9法の6~18時間処理において、対照を上回る小核発現が濃度依存的に起こった。したがって、イソフラボンの存在を考慮して、大豆の品種、保存法、加工法、調理法などを検討することが必要であると考えた。

文 献

- 1) Messina M(1995): Isoflavone intakes by Japanese were overestimated. *Am J Clin Nutr*, **62**, 645.
- 2) 戸田登志也, 田村淳子, 奥平武則 (1997): 市販大豆食品のイソフラボン含量について. *FFI Journal*, No. **172**, 83-89.
- 3) Maskarinec G, Singh S, Meng L and Franke AA (1998): Dietary soy intake and urinary isoflavone excretion among women from a multiethnic population. *Cancer Epidemiol*, **7**, 613-619.