

学位論文題名

「発酵脱脂大豆および大豆イソフラボンの薬物代謝
およびエストロゲン代謝への影響」

学位論文内容の要旨

アジア諸国では古くから大豆が食品として利用されてきた。疫学的調査により、乳ガンをはじめとするいくつかの疾病が、アジア地域で少ないことと大豆摂取量の多いことが関係していると報告されており、疾病予防をもたらす生理活性成分のひとつとして大豆イソフラボンが注目されている。大豆イソフラボンは大豆中では配糖体として存在するが、発酵処理すると β -グルコシダーゼの作用により糖が切れたアグリコンの状態となる。配糖体は消化管上部ではほとんど吸収されず、消化管下部において腸内細菌の作用によりアグリコンになる。アグリコンは消化管上部では速やかに吸収されるが、消化管下部では徐々に吸収される。このことから発酵大豆食品中のイソフラボンは未発酵の大豆食品に比べて吸収されやすいことが予想された。

薬物代謝酵素は生体での内因性成分の代謝や生体外異物の代謝において重要な役割を果たしており、外因性発ガン物質の活性化や内因性の発ガン物質の生成に関与していることも示唆されている。特に乳ガンにおいては、薬物代謝酵素であるシトクロムP-450は女性ホルモンエストロゲンの代謝経路の変動を介して乳ガンの発症に大きく関与していることが示唆されている。これまでに、他のフラボノイドが薬物代謝酵素の活性に影響を与えているとの報告がいくつかなされているが、大豆イソフラボンについてはほとんど知見はない。そこで、脱脂大豆を発酵処理し、ほとんどのイソフラボンの配糖体をアグリコンとした発酵脱脂大豆、発酵脱脂大豆よりアルコール抽出して得たアグリコン高含量の発酵大豆抽出物および合成により得た高純度（99%↑）の大豆イソフラボンであるダイゼイン及びゲニステインについて、薬物代謝とそれに関わる生理作用の検討を研究の目的とした。

1. 発酵大豆粉末の摂取により薬物代謝酵素が誘導されるかどうかを調べることを目的とした。薬物代謝酵素の誘導により麻酔薬ペントバルビタールの有効時間が短縮することが知られている。発酵脱脂大豆粉末または未発酵脱脂大豆粉末をタンパク質源とした飼料を与えて飼育したマウスに投与し、睡眠時間をカゼインをタンパク質源とした飼料を与えたマウスと比較した。ペントバルビタールによる睡眠時間は、カゼイン摂取の場合より発酵脱脂大豆粉末の摂取により短くなった。

未発酵脱脂大豆摂取では影響は見られなかった。

2. アセトアルデヒドは急性毒性物質であり、薬物代謝酵素の誘導によりアセトアルデヒドの代謝が速く進むと急性毒性による死亡率は低下する事が知られている。1と同様の目的で、マウスにアセトアルデヒドを投与し、24時間後の生存率を、発酵脱脂大豆粉末または未発酵脱脂大豆粉末をタンパク質源とした飼料を与えたマウスとカゼインをタンパク質源とした飼料を与えたマウスで比較した。24時間後の生存率はカゼイン摂取と比べ発酵脱脂大豆摂取により有意に上昇したが、未発酵脱脂大豆粉末摂取では影響は見られなかった。
3. 1および2で見られた結果と薬物代謝酵素の誘導との関連を検討することを目的とし、肝臓ミクロソームのシトクロム P-450 含量を測定した。カゼイン飼料摂取と比べ、未発酵脱脂大豆粉末の摂取ではシトクロム P-450 含量の増加は見られなかったが、発酵脱脂大豆粉末の摂取では、肝臓シトクロム P-450 量が増加した。
4. 1、2および3の結果から見られるように、発酵により配糖体から変換されて生じたアグリコンは、肝臓シトクロム P-450 量を増加させ、これによりアセトアルデヒド急性毒性による生存率を高め、ペントバルビタールによるスリーピングタイムを短縮したが、これらのことに発酵処理により生成されたアグリコンの関与が考えられた。そこでアグリコン高含量の発酵大豆抽出物および合成した高純度のイソフラボンであるダイゼインとゲニステインを用い、大豆イソフラボンがシトクロム P-450 量に与える影響を ddy マウスにおいて検討した。しかし、発酵大豆抽出物、ゲニステインおよびダイゼインのいずれの摂取によっても、肝臓ミクロソームのシトクロム P-450 量がカゼイン飼料摂取時より増加することはなかった。これらより、発酵脱脂大豆粉末摂取によってみられた肝臓シトクロム P-450 の誘導は、イソフラボンとは別の、発酵処理により生じる何らかの物質によりなされていることが推測された。
5. エストラジオールの代謝は P-450 依存の 2 または 16 α 位の水酸化という拮抗する 2 つの経路により始まる。カテコールエストロゲンである 2-ヒドロキシエストロン (2-OHE1) は抗エストロゲン性を有し、非発ガン性および非遺伝毒性的であると報告されている。一方 16 α -ヒドロキシエストロン (16 α -OHE1) は発ガン性および遺伝子毒性を有すると報告されている。したがって、これら 2 つの経路の産物はそれぞれ発ガンに関して相反する性質をもつ。そこで、C3H-HeJ マウスに発酵大豆抽出物、ダイゼインおよびゲニステインを与え、尿中の 16 α -OHE1/2-OHE1 比を調べた。発酵大豆抽出物、ゲニステインおよびダイゼインは尿中 16 α -OHE1/2-OHE1 比を低下させた。これらから、発酵脱脂大豆粉末中のイソフラボン・アグリコンはエストロゲン代謝を 16 α -OHE1 から 2-OHE1 へシフトすることにより、乳ガン抑止効果をもたらしている可能性が示唆された。4にみられるように、イソフラボン・アグリコンはシトクロム P-450 を誘導しな

かったので、エストロゲン代謝の変更はおそらく誘導される P-450 の分子種の変化によりがもたらされたものと推測した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 葛 西 隆 則
副 査 教 授 青 山 頼 孝
副 査 教 授 海 老 原 清 (愛媛大学)
副 査 助 教 授 原 博

学 位 論 文 題 名

「発酵脱脂大豆および大豆イソフラボンの薬物代謝 およびエストロゲン代謝への影響」

本論文は3章より構成され、図3、表12、引用文献86を含む総頁数63の和文論文である。他に参考論文3編が添えられている。

疫学的調査により、乳ガンをはじめとするいくつかの疾病が、アジア地域で少ないことと大豆摂取量の多いことが関係していると報告されており、疾病予防をもたらす生理活性成分のひとつとして大豆イソフラボンが注目されている。大豆イソフラボンは大豆中では配糖体として存在するが、発酵処理すると β -グルコシダーゼの作用により糖が切れたアグリコンの状態となる。配糖体は消化管上部ではほとんど吸収されず、消化管下部において腸内細菌の作用によりアグリコンになる。アグリコンは消化管上部では速やかに吸収されるが、消化管下部では徐々に吸収される。このことから発酵大豆食品中のイソフラボンは未発酵の大豆食品に比べて吸収されやすいことが予想された。

薬物代謝酵素は生体での内因性成分の代謝や生体外異物の代謝において重要な役割を果たしており、外因性発ガン物質の活性化や内因性の発ガン物質の生成に関与していることも示唆されている。特に乳ガンにおいては、薬物代謝酵素であるシトクロムP-450は女性ホルモンエストロゲンの代謝経路の変動を介して乳ガンの発症に大きく関与していることが示唆されている。そこで、脱脂大豆を発酵処理し、ほとんどのイソフラボンの配糖体をアグリコンとした発酵脱脂大豆、発酵脱脂大豆よりアルコール抽出して得たアグリコン高含量の発酵大豆抽出物および合成により得た高純度(99%↑)の大豆イソフラボンであるダイゼイン及びゲニステインについて、薬物代謝とそれに関わる生理作用の検討を研究の目的とした。

1. 発酵大豆粉末の摂取により薬物代謝酵素が誘導されるかどうかを調べることを目的とした。薬物代謝酵素の誘導により麻酔薬ペントバルビタールの有効時間が短縮し、アセトアルデヒド急性毒性による生存率が上昇することが知られている。発酵脱脂大

豆粉末または未発酵脱脂大豆粉末をタンパク質源とした飼料を与えて飼育したマウスにペントバルビタールまたはアセトアルデヒドを投与し、睡眠時間または 24 時間後の生存率をカゼインをタンパク質源とした飼料を与えたマウスと比較した。ペントバルビタールによる睡眠時間は、カゼイン摂取の場合より発酵脱脂大豆粉末の摂取により短くなった。未発酵脱脂大豆摂取では影響は見られなかった。アセトアルデヒド投与 24 時間後の生存率はカゼイン摂取と比べ発酵脱脂大豆摂取により有意に上昇したが、未発酵脱脂大豆粉末摂取では影響は見られなかった。

2. 1で見られた結果と薬物代謝酵素の誘導との関連を検討することを目的とし、同様の飼育実験において肝臓ミクロソームのシトクロム P-450 含量を測定した。カゼイン飼料摂取と比べ、未発酵脱脂大豆粉末の摂取ではシトクロム P-450 含量の増加は見られなかったが、発酵脱脂大豆粉末の摂取では、肝臓シトクロム P-450 量が増加した。
3. 1 および 2 の結果から、脱脂大豆の発酵処理により生成されたイソフラボン・アグリコンが肝臓のシトクロム P-450 含量を増加させ、ネンプタールによる睡眠時間の短縮およびアセトアルデヒド急性毒性による生存率の上昇を引き起こしていると推測された。そこでアグリコン高含量の発酵大豆抽出物および合成した高純度のイソフラボンであるダイゼインとゲニステインを用い、大豆イソフラボンがシトクロム P-450 量に与える影響を ddy マウスにおいて検討した。しかし、発酵大豆抽出物、ゲニステインおよびダイゼインのいずれの摂取によっても、肝臓ミクロソームのシトクロム P-450 量がカゼイン飼料摂取時より増加することはなかった。これらより、発酵脱脂大豆粉末摂取によってみられた肝臓シトクロム P-450 の誘導は、イソフラボンとは別の、発酵処理により生じる何らかの物質によりなされていることが推測された。
4. 肝臓でのエストロゲンの代謝はエストラジオールよりエストロンを経て、P-450 依存の 2 または 16α 位の水酸化という拮抗する 2 つの経路に分岐するが、2-ヒドロキシエストロン (2-OHE1) は抗エストロゲン性を有し、非発ガン性および非遺伝毒性的であると報告されている。一方 16α -ヒドロキシエストロン (16α -OHE1) は発ガン性および遺伝子毒性を有すると報告されている。そこで、C3H-HeJ マウスに発酵大豆抽出物、ダイゼインおよびゲニステインを与え、尿中の 16α -OHE1/2-OHE1 比を調べた。発酵大豆抽出物、ゲニステインおよびダイゼインは尿中 16α -OHE1/2-OHE1 比を低下させた。これらから、発酵脱脂大豆粉末中のイソフラボン・アグリコンはエストロゲン代謝を 16α -OHE1 から 2-OHE1 へシフトすることにより、乳ガン抑止効果をもたらしている可能性が示唆された。3 にみられるように、イソフラボン・アグリコンはシトクロム P-450 を誘導しなかったことから、エストロゲン代謝の変更はおそらく誘導される P-450 の分子種の変化によりもたらされたものと推測した。

以上のように、本研究は学術的に高い成果を上げたものであり、よって審査員一同は、岸田 太郎が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。