

大豆成分の内分泌かく乱機構に関する研究

分担研究者 国立医薬品食品衛生研究所 病理部 西川 秋佳

(研究協力者) 同上 池田 尚子

同上 今沢 孝喜

研究要旨

大豆イソフラボン類には甲状腺発がんを促進するものが含まれるとの報告があり、ラットに過剰の大豆含有飼料を与えると甲状腺濾胞上皮の肥大、過形成を経て腫瘍が誘発されるが、それが植物性エストロジェンの作用に基づくものか、あるいはそれ以外の作用によるものかは明らかにされていない。

そのメカニズム解明の一環として大豆過剰摂取あるいはヨード欠乏による甲状腺および下垂体のホルモン動態ならびに病理組織学的変化について検討した。大豆単独投与では甲状腺の形態学的変化は下垂体に比べて軽度であり、しかも T4 は増加傾向にあることから、下垂体上位への直接反応である可能性が示された。大豆成分の過剰摂取による甲状腺刺激作用のメカニズムはヨード欠乏の場合とは異なる可能性があるが、植物性エストロジェン作用との関連は不明のままであり、さらに追究する必要がある。

A. 研究目的

環境中には多数の合成あるいは天然のホルモン活性物質が存在し、これら物質の生殖器に対する毒性作用については近年解析が進んできたが、発がん修飾作用については未知の部分が多い。たとえば、エストロジェンはラットの子宮内膜やハムスターの腎臓に発がん性を示すが、乳腺に対しては発がんの促進または抑制という相反する結果も得られている。植物性エストロジェンのホルモン活性は弱いですが、疫学的にその摂取とヒト乳がん、前立腺がんの発生には負の相関があり、さらに実験的に乳腺発がんを抑制させる結果も報告されており、ヒトがんの予防物質として重要視されている。しかし、大豆イソフラボン類には甲状腺発がんを促進するものが含まれるとの報告もある。すなわち、ラットに過剰の大豆含有飼料を与えると甲状腺濾胞上皮の肥大、過形成を経て腫瘍が誘発されるが、それが植物性エストロジェンの作用に基づくものか、

あるいはそれ以外の作用によるものかは明らかにされていない。今回、そのメカニズム解明の一環として大豆過剰摂取あるいはヨード欠乏による甲状腺および下垂体のホルモン動態ならびに病理組織学的変化について検討した。

B. 研究方法

動物は各群 5 匹の 4 週齢 F344 雌ラットを用いた。群構成は (Fig. 1)、食餌中 20% グルテン単独投与を第 I 群 (対照群) とし、そのヨード欠乏を第 II 群、20% 脱脂大豆単独投与を第 III 群とし、そのヨード欠乏を第 IV 群とした。実験開始 10 週後に、エーテル麻酔下で採血後、剖検した。甲状腺および下垂体を重量測定後、定法により光顕的および電顕的に検索した。

C. 研究結果

Fig. 2 に示すように、甲状腺の重量は第 I 群と比較し、他の群では有意に増加し、下垂体の重量は第 III、IV 群において有意に増加した。

血清 T4 は第Ⅱ、Ⅳ群で有意に低下したが、第Ⅲ群では増加傾向を示した。一方、血清 TSH は第Ⅲ群と、特に第Ⅳ群で著しく増加した。光顕的に、第Ⅳ群では甲状腺濾胞上皮細胞の過形成、コロイドの消失が認められたが、下垂体には著変がなかった。電顕的観察では、投与群の甲状腺濾胞上皮細胞において粗面小胞体(rER)の拡張、分泌顆粒(EG)の減少、ミトコンドリアの増加、細胞質の blebbing などが第Ⅳ群、Ⅱ群、Ⅲ群の順の強さで観察された。下垂体前葉細胞においては、rER の発達と拡張、EG の減少が第Ⅳ群、Ⅲ群、Ⅱ群の順で認められた。

D. 考察

以上より、大豆の過剰摂取はラット甲状腺増殖の刺激となり、ヨード欠乏と組み合わせられた場合、顕著な相乗効果を示すことが確かめられた。ホルモン動態を考慮するとヨード欠乏による甲状腺の肥大は、下垂体・甲状腺系のネガティブ・フィードバック機構を介する反応であり、大豆過剰摂取が加わると相乗的に増強されることが明らかとなった。しかし、大豆単独投与では甲状腺の形態学的変化は下垂体に比べて軽度であり、しかも T4 は増加傾向にあることから、下垂体上位への直接反応である可能性が示された。

このように、大豆成分の過剰摂取による甲状腺刺激作用のメカニズムはヨード欠乏の場合とは異なる可能性があるが、植物性エストロゲン作用との関連は不明のままであり、さらに追究する必要がある。ヨード欠乏とは異なるメカニズムが想定される他の甲状腺発がん促進要因との相乗効果の有無についての検討も必要と考えられる。また、低用量でも同様な作用を示すかどうかを確認する必要があり、現在、多段階の用量による実験を行い、用量反応関係について検討中である。さらに、甲状腺腫瘍は、肝臓、膀胱などの腫瘍と同様にラットで誘発されやすい腫瘍の一つであることから、今回観察された

変化がヒトに対してどの程度当てはまるものかどうかについて、将来的にはその感受性の種差を定量的に把握する必要がある。以上述べた点が、大豆成分によるラット甲状腺刺激作用を評価する上での不確実性要因と考えられる主なものであるが、研究の進展により次第にその内容が定量化されていくものと期待される。

一般に、内分泌環境のかく乱は発がんの重要なリスク因子となりうるが、外来性内分泌かく乱物質と呼ばれるもののうちで発がん性の証明されている物質は少数にすぎない。その理由の一つは、性ホルモンとして女性ホルモンまたは男性ホルモンのアゴニストとして働く場合がある一方、アンタゴニストとして作用する場合もあり、その作用機構が複雑であるからである。もう一つの理由として、ホルモン様作用そのものではなくても、肝臓等における内因性ホルモンの代謝、特にその解毒過程に影響する物質もみかけ上は内分泌かく乱物質として作用するため、内分泌かく乱物質と呼ばれるものの中にはメカニズムの異なる全く異質な物質が含まれうる事が挙げられる。さらに、被験物質の発がん性を低用量でも確実に検出し得る高感度の *in vivo* 実験系がこれまでなかったこともその他の大きな理由と考えられる。しかし近年、種々のトランスジェニック動物を用いた高感度発がん検出モデルが開発されており、特に問題となる低用量域での影響を明らかにできる可能性がでてきている。植物性エストロゲンによる増殖関連遺伝子や細胞周期関連遺伝子の調節制御に関する分子生物学的研究も盛んになってきており、メカニズムの理解不足に由来する不確実性の究明に貢献できるものと期待されている。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mori, H., Tanakamaru, Z. and Nishikawa, A.: Effects of protocatechuic acid, S-methylmethanethiosulfonate or 5-hydroxy-4-(2-phenyl-(E)-ethenyl)-2(5H)-furanone (KYN-54) on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone-induced pulmonary carcinogenesis in mice. *Cancer Lett.* (in press)
- 2) Nishikawa, A., Furukawa, F., Lee, I.-S., Kasahara, K., Tanakamaru, Z., Nakamura, H., Miyauchi, M., Kinae, N. and Hirose, M.: Promoting effects of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) on rat glandular stomach carcinogenesis initiated with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Cancer Res.* (in press)
- 3) Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Tanakamaru, Z., Miyauchi, M., Nakamura, H., Ikeda, T., Imazawa, T. and Hirose, M.: Failure of phenethyl isothiocyanate to inhibit hamster tumorigenesis induced by N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine when given during the post-initiation phase. *Cancer Lett.* (in press)
- 4) Ikezaki, S., Nishikawa, A., Furukawa, F., Tanakamaru, Z., Mori, H. and Hirose, M.: Influence of long-term administration of 24R, 25-dihydroxyvitamin D₃, a vitamin D₃ derivative, in rats. *J. Toxicol. Sci.* (in press)
- 5) Chung, F.-L., Nath, R.G., Nagao, M., Nishikawa, A., Zhou, G.-D., Randerath, K.: Endogenous formation and significance of 1,N²-propanodeoxyguanosine adducts. *Mutat. Res.* (in press)
- 6) Furukawa, F., Nishikawa, A., Kasahara, K., Lee, I.-S., Wakabayashi, K., Takahashi, M. and Hirose, M.: Inhibition by β -carotene of upper respiratory tumorigenesis in hamsters receiving diethylnitrosamine followed by cigarette smoke exposure. *J. Jpn. Cancer Res.* 90: 154-161, 1999.
- 7) Kasahara, K., Nishikawa, A., Furukawa, F., Ikezaki, S., Tanakamaru, Z., Takagi, H., Ikeda, T., Imazawa, T., Takahashi, M.: Suppressive effects of josamycin on the development of altered liver cell foci and chronic nephropathy in a carcinogenicity study. *Fd. Chem. Toxic.* 37: 61-67, 1999.
- 8) Wang, X., Suzuki, T., Itoh, T., Honma, M., Nishikawa, A., Furukawa, F., Takahashi, M., Hayashi, M., Kato, T., Sofuni, T.: Specific mutational spectrum of dimethylnitrosamine in the lacI transgene of Big Blue C57BL/6 mice. *Mutagenesis* 13: 625-630, 1998.
- 9) Furukawa, F., Nishikawa, A., Imazawa, T., Kasahara, K., Takahashi, M.: Enhancing effects of quinacrine on development of hepatopancreatic lesions in N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-treated hamsters. *Jpn. J. Cancer Res.* 89: 131-136, 1998.
- 10) Yamazaki, Furukawa, F., Nishikawa, A., Takahashi, M., Oka, S.: Histochemical study on enzyme stereoselectivity for esterase in hamster normal pancreas and pancreatic tubular adenocarcinoma. *Biotech. Histochem.* 73: 23-31, 1998.
- 11) Hori, T., Wanibuchi, H., Yano, Y., Otani, S., Nishikawa, A., Osugi, H., Kinoshita, H., Fukushima, S.: Epithelial cell

proliferation in the digestive tract induced by space restriction and water-immersion stress. *Cancer Lett.* 125: 141-148, 1998.

12) Mori, H., Nishikawa, A.: Naturally occurring organosulfur compounds as potential anticarcinogens.

In: Ioannides, C. ed. *Nutrition and Chemical Toxicology*. John Wiley & Sons, Sussex, 285-299, 1998.

13) Nishikawa, A., Tanakamaru, Z., Furukawa, F., Lee, I.-S., Kasahara, K., Ikezaki, S., Takahashi, M.: Chemopreventive activity of oltipraz against induction of glandular stomach carcinogenesis in rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Carcinogenesis* 19: 365-368, 1998.

2. 学会発表

1) Takahashi, M., Furukawa, F., Nishikawa, A., Wakabayashi, K.: Dose-dependent inhibition of β -carotene of upper respiratory tumorigenesis in hamsters receiving diethylnitrosamine followed by cigarette smoke exposure. 4th AACR/JCA Joint Conference "Molecular Biology of Cancer: Implication for Prevention and Therapy", 1998.

2) 古川文夫, 西川秋佳, 笠原健一郎, 北浦敬介, 内田浩二, 泉啓介, 高橋道人: 老齡 LEC ラットおよび F344 ラットの脂質過酸化生成物の免疫組織化学的検討. 第 14 回日本毒性病理学会, 1998.

3) 笠原健一郎, 古川文夫, 西川秋佳, 李仁善, 高橋道人: p53 ノックアウトマウスの MNNG 投与による発がん性の検討. 第 14 回日本毒性病理学会, 1998.

4) 今沢孝喜, 三森国敏, 小野寺博志, 竹川潔,

西川秋佳, 池田尚子, 高橋道人: Thiram の長期反復投与ラットに発現した神経毒性変化の超微形態学的解析. 第 14 回日本毒性病理学会, 1998.

5) 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 田中丸善洋, 池崎信一郎, 今沢孝喜, 李仁善, 谷所達幸, 木苗直秀, 高橋道人: ラット二段階胃発癌モデルにおける水道水中の変異原性物質 MX の影響. 第 14 回日本毒性病理学会, 1998.

6) Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Suzuki, T., Hayashi, M., Sofuni, T., Takahashi, M.: Detection of in vivo mutagenicity of MeIQx using lacI transgenic mice. 7th International Conference on Carcinogenic/Mutagenic N-substituted Aryl Compounds, 1998.

7) Kasahara, K., Furukawa, F., Nishikawa, A., Tanakamaru, Z., Mori, I., Takahashi, M.: Aberrant crypt foci in the rat colon induced by MeIQx: in comparison with spontaneous focal lesions, 7th International Conference on Carcinogenic/Mutagenic N-substituted Aryl Compounds, 1998.

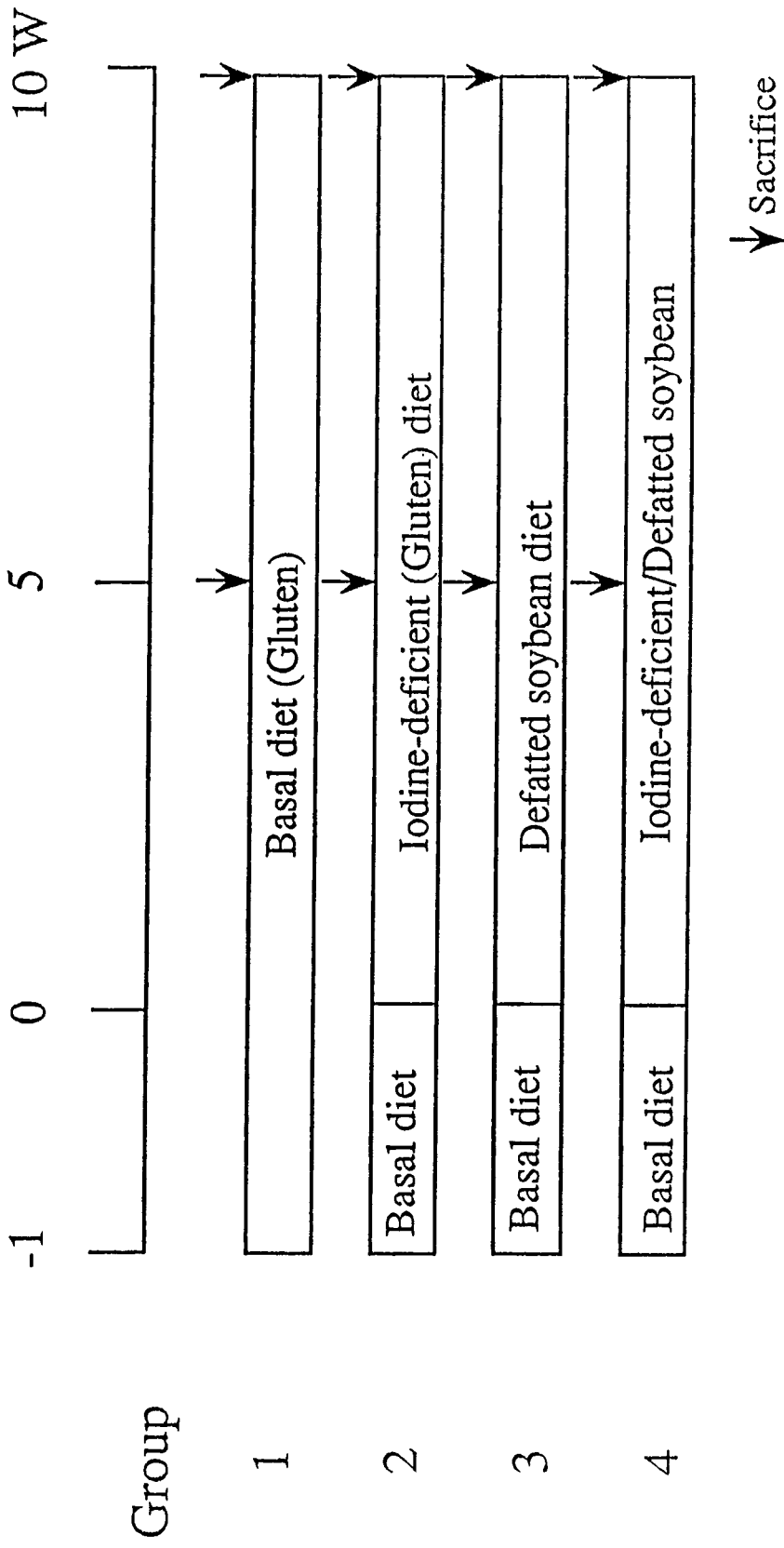
8) 木苗直秀, 谷所達幸, 今村希美, 古郡三千代, 下位香代子, 西川秋佳, 高橋道人: 水道水中の強力な変異原性物質 MX の二段階発がん性, 第 32 回日本水環境学会, 1998.

9) 西川秋佳, 古川文夫, 広瀬雅雄, 高橋道人: 胃発がん修飾因子の探索に関する実験的検討, 第 9 回消化器癌発生学会, ラウンドテーブルディスカッション, 1998.

10) Koide, A., Fuwa, K., Mori, Y., Furukawa, F., Hirose, M., Nishikawa, A.: Effect of cigarette smoke on mutagenic activation of environmental carcinogens by rodent liver, 3rd International Conference on

- Environmental Mutagens in Human Populations, 1998.
- 11) Furukawa, F., Nishikawa, A., Kasahara, K., Uchida, K., Takahashi, M.: Involvement of lipid peroxidation in spontaneous pancreatitis on WBN/Kob rats, 8th International Association of Pancreatology, 1998.
 - 12) Nishikawa, A., Furukawa, F., Kasahara, K., Imazawa, T., Takahashi, M.: specific inhibition by PEITC of initiation phase of BOP-pancreatic tumorigenesis in the hamster, 8th International Association of Pancreatology, 1998.
 - 13) 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 今沢孝喜, 李仁善, 木苗直秀, 高橋道人, 広瀬雅雄: 変異原性物質 MX によるラット腺胃発癌の促進, 第 57 回日本癌学会総会, 1998.
 - 14) 古川文夫, 西川秋佳, 笠原健一郎, 李仁善, 高橋道人, 広瀬雅雄: ハムスター BOP 膵発癌イニシエーションに対する oltipraz の影響, 第 57 回日本癌学会総会, 1998.
 - 15) 今沢孝喜, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 池田尚子, 高橋道人, 広瀬雅雄: クチナシ青色素の F344 ラットにおける癌原性試験, 第 57 回日本癌学会総会, 1998.
 - 16) 池田尚子, 今沢孝喜, 西川秋佳, 笠原健一郎, 木村修一, 広瀬雅雄: 大豆食で起こるラット甲状腺腫瘍の発現機序に関する検討, 第 57 回日本癌学会総会, 1998.
 - 17) 笠原健一郎, 西川秋佳, 古川文夫, 李仁善, 今沢孝喜, 高橋道人, 広瀬雅雄: ハムスター BOP 発癌ポストイニシエーションにおける PEITC の影響, 第 57 回日本癌学会総会, 1998.
 - 18) 松永研吾, 西川秋佳, 山田泰広, 川端邦裕, 杉江茂幸, 森秀樹: NNK 誘発マウス肺発癌における S-methylmethane thiosulfonate (MMTS), protocatechuic acid, KYN-54 の修飾作用, 第 57 回日本癌学会総会, 1998.
 - 19) 堀高明, 市原敏夫, 森村圭一郎, 鰐淵英機, 西川秋佳, 福島昭治: ラット食道発癌におけるエタノール摂取の影響, 第 57 回日本癌学会総会, 1998.
 - 20) 李仁善, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 金秀彦: 生薬 *Selaginella tamariscina* の p53 遺伝子発現, G1 停止および胃粘膜上皮細胞増殖に及ぼす影響, 第 57 回日本癌学会総会, 1998.
 - 21) 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 高橋道人, 広瀬雅雄: BOP 誘発 DNA 障害に対する PEITC の抑制効果, 第 5 回日本がん予防研究会, 1998.
 - 22) 古川文夫, 笠原健一郎, 西川秋佳, 高橋道人, 広瀬雅雄: ハムスター BOP 膵発癌イニシエーション期における PEITC の影響, 第 5 回日本がん予防研究会, 1998.
 - 23) 古川文夫, 西川秋佳, 笠原健一郎, 千原猛, 新保寛, 別府秀彦, 葛谷博磁, 広瀬雅雄: ハムスター BOP 膵発癌に及ぼすキダチアロエの影響, 第 15 回日本毒性病理学会, 1999.
 - 24) 笠原健一郎, 西川秋佳, 古川文夫, 池崎信一郎, 田中丸善洋, 李仁善, 今沢孝喜, 高橋道人, 広瀬雅雄: ジョサマイシンのラットへの 52 週間投与による組織学的変化, 第 15 回日本毒性病理学会, 1999.
 - 25) 今沢孝喜, 池田尚子, 西川秋佳, 笠原健一郎, 木村修一, 広瀬雅雄: 大豆食で惹起されるラット甲状腺および下垂体の超微形態学的変化, 第 15 回日本毒性病理学会, 1999.
 - 26) 高木久宜, 三森国敏, 西川秋佳, 小野寺博志, 古川文夫, 安原加壽雄, 笠原健一郎, 広瀬雅雄: p53 ノックアウト (ヘテロ欠損) CBA マウスにおける N-methyl-N-nitrosourea (MNU) の発癌感受性, 第 15 回日本毒性病理学会, 1999.

- 27) 中村英明, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 宮内慎, 高橋道人, 広瀬雅雄: 新生児マウス二段階発癌モデルによる PhIP のリスク評価, 第 15 回日本毒性病理学会, 1999.
- 28) 宮内慎, 西川秋佳, 古川文夫, 笠原健一郎, 中村英明, 高橋道人, 広瀬雅雄: 新生児マウス二段階発癌モデルによる MeIQx のリスク評価, 第 15 回日本毒性病理学会, 1999.



Species : 4-week-old female
F344/DuCrj rat

Examination : Hormones (T₃, T₄, TSH)

Histopathology
(Heart, Liver, Kidney, Thyroid, Pituitary)
Body/organ weights
Food consumption

Fig.1. Experimental design

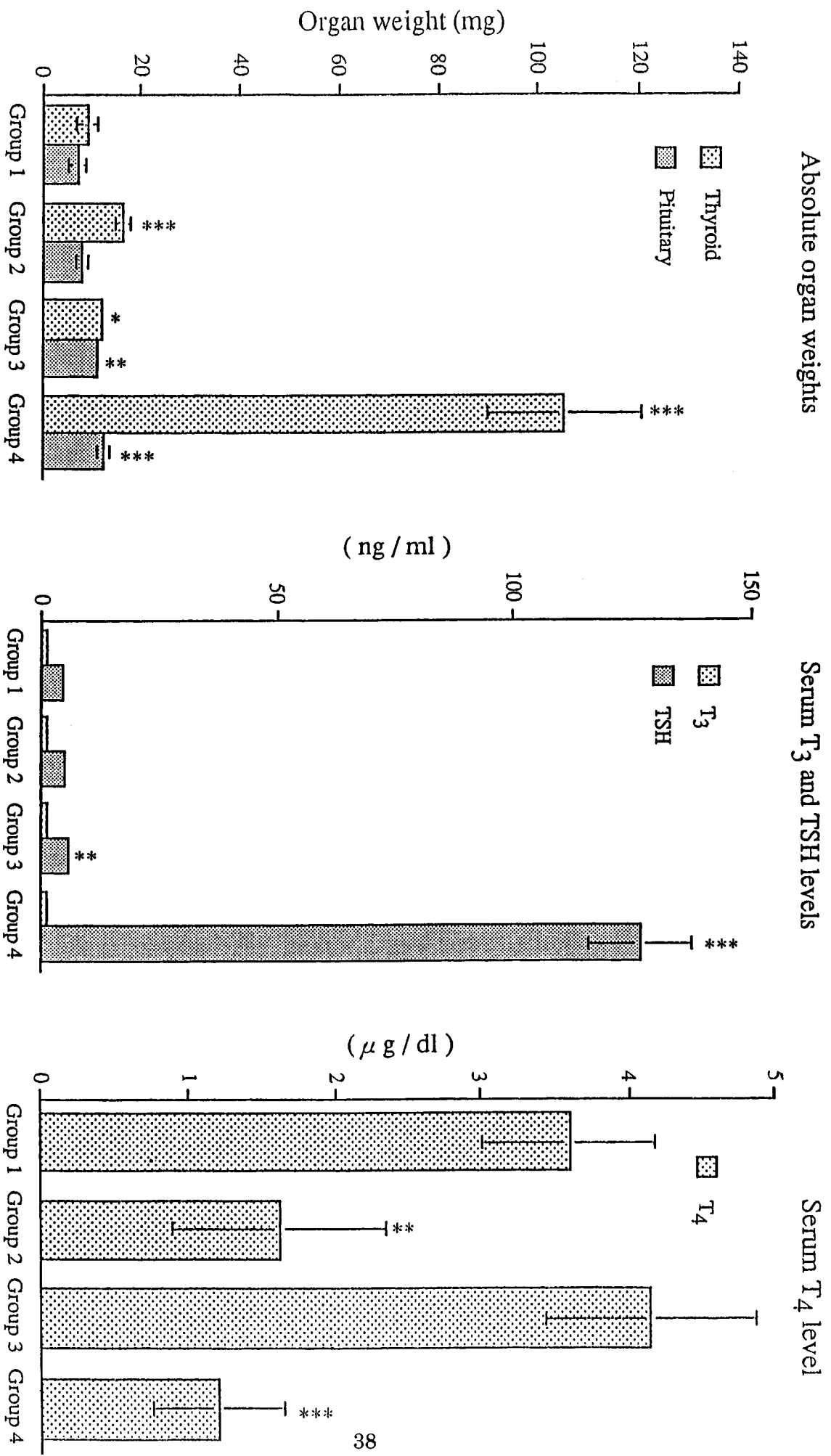


Fig. 2. Absolute organ weights and serum T₃, T₄ and TSH levels at week 10

Significantly different from the group 1 value at *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.