

食物中の植物エストロゲン (phytoestrogen) とその功罪

岡田 悦政

Potential risks and benefits of phytoestrogen in foods

Yoshinori Okada

内分泌攪乱物質は外因性の化学物質のみならず、自然界の植物にも多数存在し、植物エストロゲン (phytoestrogen) として、日々の食生活から広く摂取されている。植物エストロゲンは、様々な機能性を持った成分として、例えば、抗炎症作用、更年期障害の緩和、抗高血糖、抗ガン作用など多岐にわたる。植物エストロゲンは、エストロゲンと似た構造からエストロゲン様作用が報告され、その機構はエストロゲンの作用機序と同様であると推論されているが未だ議論の渦中にある。エストロゲン様作用に関しては、その量、構造により内分泌を攪乱することが多く報告され、エストロゲン感受性の高い組織の細胞 (エストロゲンレセプターが多く局在) は植物エストロゲンに対する感受性も高い。ここでは、植物エストロゲンのエストロゲン様作用とガンを中心に、その功罪について概説した。

キーワード：植物エストロゲン，エストロゲン，エストロゲンレセプター (ER)，ガン，細胞増殖抑制

1. はじめに

内分泌攪乱化学物質 (Endocrine disrupter chemicals: EDCs) は、生体に取り込まれると内分泌作用を攪乱する化学物質の総称とされている。身近な外因性化学物質の例として、生活の中に浸透しているプラスチック製品があり、ポリカーボネート、ポリサルフォン、エポキシ樹脂などとして様々な分野で使用されている。これらプラスチック製品の原料もしくは原料の一部となるビスフェノールA (Bisphenol A: BPA) が、製造過程で反応せずに微量残留し、それが生体と接点を持ち体内に取り込まれることにより、EDCsとしての「負」の部分がクローズアップされることになった。BPAの名は、フェノール環を2つ持つ構造から由来しており、一部エストロゲンに似た構造からエストロゲン様作用をもたらすことが知られている¹⁾。BPAのエストロゲン様活性は、卵巣切除したマウスへの経口摂取による子宮重量法において、子宮の肥厚と重量の増加を招くこと²⁾ が示されている。

医療の現場においては、ポリカーボネート、ポリサルフォンが使われた人工透析チューブやダイアライザーを通して血液と接点を持つことによって生体内に取り込まれる³⁾。また、歯科用のレジンから溶出するケースもある^{4),5)}。さらに、日常最も頻度が高くBPAが取り込まれる例として、様々な食物容器、缶の内面塗装など保存や熱処理中に容器から溶出し、食物とともに直接体内へ取り込まれるケースがある。特に、暴露感受性の高い、成長・発達過程にある乳幼児が触れる食器、哺乳ビン、食品包装から溶出するBPAの影響は生涯において、また次の世代への影響が懸念されている^{6),7)}。我が国は、BPAについて、ポリカーボネート製器具または容器・包装からの溶出試験規格2.5 µg/mL (2.5 ppm) 以下と制限されており、ヒトに対する耐容一日摂取量0.05 mg/kg体重/日と定められている⁸⁾。しかし、前述してきた化学物質のみならず、エストロゲン様活性を示し同様なアクションを示す物質は、自然界の植物にも多数存在している。フェノール環を有し内分泌を攪乱する成分は、植物エストロゲン (phytoestrogen) とされ、当然ながら日常の食生活から広く摂取されている。そのうち一般的に知られてい

るものは、日本人の食生活に欠かせない大豆製品に含まれるゲニステイン、ダイゼインといったフェノール性化合物 (polyphenol) がある。これらの有用性の一つとして、閉経後における女性特有の各症状の軽減に有効であるとの報告があるものの⁹⁻¹¹⁾、一方では、エストロゲン様活性の懸念から、暴露感受性の高い成長期の細胞増殖に対する影響のため、米国 (National Institute of Environmental Health Sciences: NIEHS) では新生児、乳児乳の大豆由来調整乳におけるゲニステイン含有量の制限が示されている。また、日本においても、生殖機能が未発達である乳幼児や小児に対して、特定保健用食品として日常の食事にプラスして摂取することは推奨されていない。民族性、個人の感受性、臓器による細胞感受性において差があるものの、植物エストロゲンについての報告は一様ではなく、安全摂取量などを含め未知の部分が現在も多い。この総説においては、食物として広く摂取される植物エストロゲンの功罪について、エストロゲン様作用とガン細胞への影響を中心に概説する。

2. 植物エストロゲン (Phytoestrogen)

植物エストロゲンは植物由来フィト化合物として、その役割は環境ストレスから植物自身を防御するという防御機構の一部として、生物学的な役割を担うと推測されている。また、構造的な違いにより分類され、大まかな構造上の分類では、イソフラボン、フラボン、フラバノ

ン、クメスタン、リグナン、スチルベンがあり、通常は食物として摂取されている¹²⁾ (表1)。このうちイソフラボンには、代表的なものとしてゲニステイン、ビオカニンA、ダイゼインなどがある。植物エストロゲンの一般的な定義は、エストロゲンレセプター (ER) に結合することにより、生体内に存在するエストロゲン作用を修飾、あるいは模倣し、その後、脊椎動物において生物学的応答を誘導する植物物質、あるいは代謝産物とされている¹³⁾。植物エストロゲンは、構造的に生体内エストロゲンと類似しており、芳香族A環上にOH基そして同一平面上の芳香族に第2のOH基を有するジフェノール化合物である (図1)。これらの構造により植物エストロゲンはERへ結合し、動物やヒトに対して弱いアゴニスト/アンタゴニスト (あるいは、インバーサアゴニストやパーシャルアゴニストとしても) として作用する。植物エストロゲンのエストロゲン様作用は、生体内エストロゲンと同じく、エストロゲンによるリガンド依存性転写因子のER活性化、続いてこのERの特異的な核レセプターへの結合により達成されている。すなわち、ERはDNA上のターゲット遺伝子への特異的な結合と直接的な相互作用により転写制御を行っていると考えられていたが、近年はリガンドの結合を介さない転写活性経路が報告され、翻訳後修飾の重要性が注目されている。このようなエストロゲンによるER活性化機構は、全ての典型的なステロイド受容体と共通であり、ゲノムへのエストロゲン様作用を介して特異的な遺伝子を制御していることから、植

表1 よく研究されているphytoestrogenとその主な供給源

グループ	phytoestrogen	主な含有植物
イソフラボン	ゲニステイン ビオカニンA ダイゼイン ホルモノネチン	ダイズ マメ科植物、クローバーなど
フラボン	ケルセチン アピゲニン クリシン 7-ヒドロキシフラボン	ソバ 赤や黄色の野菜、果物など
フラバノン	フラバノン ナリンゲニン 8-プレニルナリンゲニン	シトラス、グレープフルーツ ホップなど
クメスタン	クメストロール	アルファルファ ヒマワリの種など
リグナン	エンテロラクトン エンテロジオール	穀類、果物、野菜など
スチルベン	レスベラトロール	ブドウ皮 赤ワインなど

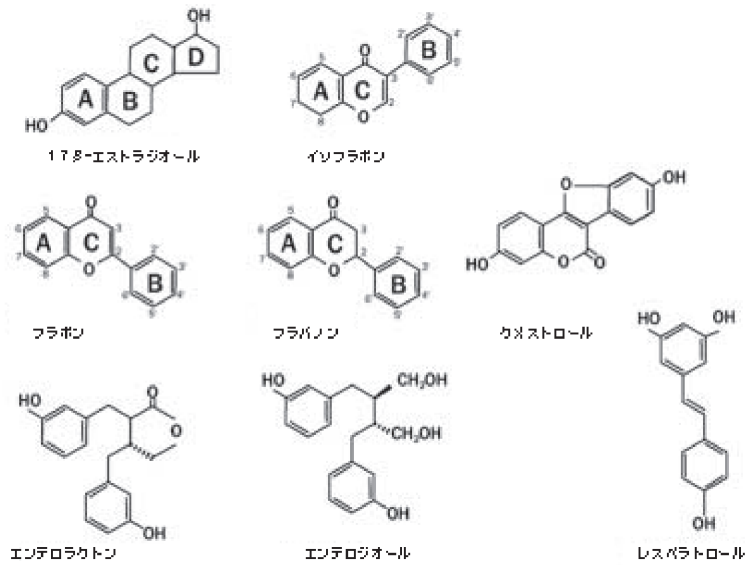


図1 17β-エストラジオールと主な植物エストロゲンの化学構造

Rice, S. and Whitehead, S. A. *Endocr. Relat. Cancer*. 13: 995-1015, 2006.より改変引用

物エストロゲンも同様な機序によるものと考えられている¹⁴⁾。

さらに、これらのゲノム的作用と異なる、より高い特異性かつ急速なエストロゲン応答を示すレセプター-G-protein-coupled receptor 30 (GPR 30) による機構の存在が明らかになった。このGPR30を介した急速な応答機構は植物エストロゲンにおいても、これを経た作用機構と経ない作用機構の両方が示されている¹⁵⁾。その複雑な機能及び機構の違いは、ガン細胞の増殖/抑制などの面からでさえ、未だ議論の渦中にある。

3. 機能性成分としての植物エストロゲン

フリーラジカルは様々な疾病の開始から進行・促進の一連の機序に複雑に関与している。植物エストロゲンはエストロゲン様作用ばかりでなく、フリーラジカルを消去する成分としても周知され、疾病の抑制に貢献する報告が多数ある。また、近年はフリーラジカル消去という単純な寄与ばかりでなく、エピジェネティックに影響するという多様な機能が報告されている。代表的なものとして、抗酸化作用をはじめに、*in vitro*、*in vivo*において抗ガン性のあることが示されている^{16),17)}、さらに、更年期障害の緩和^{9),10),18)}、概日リズム^{19),20)}に関する報告などがある。そのなかで日常食する頻度の高い成分として、大豆に含有されるゲニステインは、高血糖状態が引き起こす血管内皮の炎症を抑制し²¹⁾、また糖尿病モデルマウ

スにおいても酸化抑制とともに、炎症状態を鎮め神経障害の緩和を示した²²⁾。また、スチルベンのうち、ブドウ皮、赤ワインなどに含有されるレスベラトロールは抗酸化、抗炎症、抗ガン作用をもつ²³⁾ことが示され、さらに心臓保護に有益であり、近年では齧歯類を用いた研究において肥満、糖尿病に対しても大きな効果が報告されている²⁴⁾。さらに、フラバノン類²⁵⁾、フラボン類のアピゲニン²⁶⁾、ケルセチン²⁷⁾、そしてクメスタン類²⁸⁾のガン細胞の増殖抑制機構に関する研究報告も多い。

4. 植物エストロゲンのエストロゲン様作用

植物エストロゲンとしてそのエストロゲン様作用が最初に明らかになったのは、放牧羊が不妊症となり、その原因はクローバーを含む牧草にあったため、クローバー症 (clover disease) と呼ばれた²⁹⁾ことに端を発する。これは、クローバー中に多量の植物エストロゲンであるフォルモノネチン (formononetin) が含まれており、これが、反芻胃においてダイゼインに変換されることが原因であった³⁰⁾。しかしながら、現在までダイゼインを含む大豆イソフラボン摂取によるヒト不妊症への影響は報告されていない³¹⁾。また、ダイゼインをラットの静脈内あるいは経口投与した際 (10 mg/kg body) の血漿と器官内の比較では、ダイゼイン濃度は血漿よりも肝臓や腎臓において3-5倍高い濃度であったが、子宮においては、肝臓や腎臓と同レベルか、あるいは血漿レベルよりもお

よそ2倍高い濃度であった³²⁾。以上の研究結果から、エストロゲンに対する感受性の高さは、ERが多く局在している組織に比例していることが示された。すなわち、エストロゲンに対する感受性の高い臓器、細胞は、生殖器、腎臓、ランゲルハンス島、肝臓、骨、心血管系、マクロファージ、胸腺細胞、リンパ細胞、血管内皮細胞、造骨細胞、グリア細胞、シュワン細胞、副腎、視床下部などであった³³⁾。このことから閉経後の症状や疾病、例えば、骨粗鬆症、動脈硬化症、認知機能の低下などは、これらERが多く局在している臓器や細胞と関連していることは当然推察される。

植物エストロゲンのエストロゲン様作用を示した報告は数多い。特に問題となるのは、乳幼児期における暴露である。新生児マウスに対するダイゼインとゲニステインの同時投与実験において(ダイゼイン2 mg, ゲニステイン5 mg/kg body), 10日間投与でコントロール群に比べ、子宮重量は変化がなかった。しかしながら、卵胞数、卵母細胞数、卵巣における嚢胞の割合、卵管肥厚の割合のいずれも高く、さらに体重増も示され、これらの処理マウスは成長しても体重が高い傾向であった³⁴⁾。さらに、同様なマウスにおける研究で、新生児期にゲニステイン(50 mg/kg/day)の5日間投与と研究において、18ヶ月齢で35%の子宮腺ガン発症が認められた。同様に、合成エストロゲンであるジエチルstilbestrol(0.001 mg/kg/day)を与えた群は31%の発症率を示した³⁵⁾。

以上の結果から発育過程にある感受性の高い時期における高暴露は、様々な臓器、器官の生理的機能が確立される時期だけに、生涯にわたり潜在的な発達に影響を与える可能性がある。

一方、乳幼児の1日あたりの植物エストロゲン平均摂取量に関し、国外データ(1998年)によると、大豆成分を主成分とした食品、ここでは、調合乳、穀類製品、夕食、ラスク等から、雑食性の母親とベジタリアンの母親から分泌された母乳について、フラボノイド量から一日あたりの植物エストロゲン摂取量を推定している報告がある。結果、およそ3 mg/kg/bodyであろうと推定された³⁶⁾。他方、閉経後の影響については、アメリカにおける45-92歳350人を対象にした研究がある。イソフラボン含有大豆タンパクサプリメント(154 mg/25 g protein/day)を、3年間摂取し続けた研究において、悪性子宮内膜増殖症の発症がコントロール群に比べ摂取群で14.3%高かった(有意差なし)³⁷⁾。この研究は有意差なしのため、結果判定は困難であり、今後のさらなる研究が必要であ

ろうと考える。

5. 植物エストロゲン濃度とガン

Magee&Rowlandは、植物エストロゲンによるガン細胞への影響に関して、増殖促進と抑制の相反する効果を持つことを過去の研究結果から示している。この報告において、*in vitro*におけるゲニステインは、乳ガンと前立腺ガン細胞の増殖に関して 10^{-5} M以下の濃度で増殖を刺激する一方、 10^{-5} M以上の濃度においては増殖を抑制すると結論づけた。しかしながら、通常食物摂取において血漿中の植物エストロゲン濃度が、 10^{-5} M以上の濃度になることは考えにくいことから、植物エストロゲン摂取はガン細胞増殖を刺激する可能性があると述べている³⁸⁾。また、リグナンにおいては低濃度のエンテロラクトン(食物中のリグナンの一部は腸内細菌によって代謝され、エンテロラクトン、エンテロジオールになる)が、エストロゲン依存性ヒト乳ガン細胞であるMCF-7の増殖刺激を行うが、 10^{-5} M以上の高濃度で増殖阻害を引き起こすことが報告されている³⁹⁾。

さらに、ケルセチン、レスベラトロール、ゲニステインの低濃度がエストロゲン共存下におけるMCF-7の増殖促進と抑制にどう絡むのか、Chenらの報告がある。増殖とアポトーシスに関するそれぞれのマーカー検索の結果、エストロゲン共存下における 10^{-7} - 10^{-5} M濃度の3種類の植物エストロゲンは、MCF-7の増殖促進をさせる傾向にあるとしている⁴⁰⁾。両者が論じているゲニステインについて考察するならば、Chenらの報告は、Magee&Rowlandによる「 10^{-5} M以上の濃度においては増殖を抑制する」という報告とは矛盾する結果である。エストロゲン共存下という条件の違いはあるが、実際生体においてはエストロゲンの存在は省くことは出来ないものと考えられる。

また、同様に、エストロゲン共存下におけるShumidらの報告は、ゲニステイン、ダイゼイン、クメストロールを用いた実験において、乳ガン細胞に対して 10^{-6} M濃度で最大のアポトーシスによる増殖抑制効果を示し、 10^{-5} M濃度で最大の増殖促進効果を示すことを報告した⁴¹⁾。 10^{-6} Mという濃度はChenらの報告において、増殖促進を示した範囲内であり、これら幾つかの報告間の矛盾は、細胞増殖促進とアポトーシスによる増殖抑制の関係が植物エストロゲン濃度の 10^{-5} M以下であるか、以上であるかという単純な濃度機構のみで、ガン細胞の増殖

表2 phytoestrogenのガン細胞への増殖影響の比較

Ref.	phytoestrogen	concentration (M)	cell	cellular growth
Magee & Rowland ³⁸⁾	ゲニステイン	10 ⁻⁵ 以下	breast cancer	+
		10 ⁻⁵ 以上	prostate carcinoma	-
Chen et al. ⁴⁰⁾	ケルセチン	10 ⁻⁷ -10 ⁻⁵	MCF-7	-
	レスベラトロール		(breast cancer)	-
	ゲニステイン			-
Shumit et al. ⁴¹⁾	ゲニステイン	10 ⁻⁶	MCF-7	-
	ダイゼイン		(breast cancer)	-
	クメストロール			-
	ゲニステイン	10 ⁻⁵	MCF-7	+
	ダイゼイン		(breast cancer)	+
	クメストロール			+
Ju et al. ⁴²⁾	ダイゼイン	10 ⁻⁵	MCF-7	+
		10 ⁻⁶	(breast cancer)	+
		5×10 ⁻⁵		+
Chen et al. ⁴³⁾	ゲニステイン	10 ⁻⁴	MCF-7	-
	レスベラトロール	10 ⁻⁴	(breast cancer)	-
		10 ⁻⁵		-
		10 ⁻⁴		-
	ケルセチン	10 ⁻⁵		-
Zhang et al. ⁴⁵⁾	ゲニステイン	2.5×10 ⁻⁶ -10 ⁻⁴	HCT-116/SW-480	-
	ダイゼイン		(human colon cancer cells)	-
	ビオカニンA			-

+increased proliferation, -decreased proliferation or apoptosis.

促進と抑制が相反するとは考え辛いということを示している。

一方、Juらは、ダイゼインとその代謝産物についてMCF-7に対する増殖促進効果に関する実験を行い、10⁻⁹-5×10⁻⁵ M濃度のダイゼインがMCF-7細胞の増殖促進効果を示すことを報告した⁴²⁾。細胞増殖促進効果の最大濃度は、10⁻⁶ Mのダイゼインであったが、この濃度以上の10⁻⁵ M濃度でも増殖促進効果は高く、5×10⁻⁵ M濃度でもコントロールより高い増殖促進効果が見られた。しかし、濃度依存的に増殖促進した訳ではなく、また、この実験条件内の10⁻⁶ Mに最大増殖刺激があったことは興味深く、増殖刺激に対する至適濃度の存在を示す例と言える。しかし、Shumidtrらの報告において、同じ濃度の10⁻⁶ Mダイゼインが最大のアポトーシスによる抑制効果を示していることは、Juらとの報告と全く相反する結果である。Shumidtrらの結果は、エストロゲンの存在、つまりエストロゲンの相乗性によるところが結果を変えていることになる。エストロゲンと植物エストロゲンの競合的關係によるものか否か、詳細な研究が必要である。実験系における細かな条件でこれだけ矛盾が生じることから、植物エストロゲン濃度のみを焦点としたガン細胞

のアポトーシス及び増殖促進を論じることは出来ないと考ええる(表2)。

6. 植物エストロゲンによるガン細胞増殖抑制の機構

ER (estrogen receptorエストロゲンレセプター) には、2種類の存在が知られており、ER α とER β と命名されているが、一般的に、植物エストロゲンは、ER β を通してガン細胞の増殖を抑制するか、あるいはER α の不活性化により、ガン細胞の増殖抑制を達成していると考えられている(正常細胞においては、ER α はエストロゲン作用を司り、ER β は抑制方向に働くと考えられている)。例えば、Chenらの報告は、MCF-7においてER β の発現が10⁻¹⁰-10⁻⁴ Mのゲニステイン、レスベラトロール、ケルセチンによってそれぞれ有意に上昇したことを示している⁴³⁾。また、別の報告でChenらは、17 β -エストラジオールとゲニステイン、レスベラトロール、ケルセチンの共存下において、17 β -エストラジオールはこれら植物エストロゲンの存在を介さず、ER α の発現を有意に誘導することを報告している⁴⁰⁾。このことから推論すると、この3つの植物エストロゲンはER β へ結合する可能性を示し、抑制

経路としてER β を介してガン細胞の増殖抑制をする（あるいは濃度や条件によっては増殖促進に転じる場合もある）かも知れない。この環境下における17 β -エストラジオールは、本来の作用機序通りER α へ結合したことが推察される。これは、17 β -エストラジオールと植物エストロゲンがcompetitor（競合）関係にあってもER α に対して17 β -エストラジオールは、優位性があることが言える。同様に、17 β -エストラジオールとゲニステイン、ダイゼイン、クメスタン類に属するクメストロールとの共存下において、MCF-7に投与した結果、これらがアポトーシス（増殖抑制）を誘導したSchmidtらの報告がある⁴¹⁾。この場合も、17 β -エストラジオールと植物エストロゲンの共存下において、アポトーシスが示されていることからER α に対し、17 β -エストラジオールが植物エストロゲンより優位に結合し、ゲニステイン、ダイゼイン、クメストロールは、ER β に結合したかも知れない。また、ケルセチンと同じフラボン類であるアピゲニン (2×10^{-5} M) も、ER β を通して乳ガン細胞の増殖阻害をすることが報告されている⁴⁴⁾。植物エストロゲンの存在がER α とER β のバランス関係にどう影響するのか今後の研究が待たれる。抑制機構の比較的入り口の段階は以上のように考えられているが、続く詳細な段階について、近年はさらに遺伝子レベルにおいて増殖抑制経路を考えるうえで、幾つかの経路上の遺伝子マーカーの発現制御に関するところに研究の焦点が集まっている。

高濃度の植物エストロゲンによる増殖抑制機構は、細胞周期進行の抑制、増殖因子シグナル経路の阻害（例えば、チロシンキナーゼやホスファチジルイノシトール3-キナーゼ [PI3Kを経た]）、または内在性エストロゲンとの拮抗に関係する機構が考えられている。更に、特定の植物エストロゲンの高濃度投与は細胞障害を引き起こし、細胞増殖抑制（アポトーシス）を招いている可能性もある。以上のことに関し、近年報告されている幾つかの研究から、その機序におけるマーカー遺伝子の発現から追ってみる。Zhangらは、ゲニステインが大腸ガンにおける細胞周期のG2/M期の停止を起こさせることを報告している。これは、p53/ATM-p21^{waf1/cip1}の活性化とcdc2/25Aのダウンレギュレーションを経た結果として停止を起こさせたことを確認している⁴⁵⁾。同様に、Regenbrechtらは、ヒト胎生期ガン細胞において、ゲニステインがGADD45のアップレギュレーション、NANOGのダウンレギュレーションをし、また、OCT4、NANOGのタンパクレベルを減少させたことを確認し、G2/M期

での停止に関与していることを報告している⁴⁶⁾。さらに、Xieらは乳ガン細胞（MCF-7、MDA-MB-231）へのゲニステイン投与がDNAメチルトランスフェラーゼ（methyltransferase）活性の発現を増加させ、その結果として、DNAメチル化レベルを増加させることを示している⁴⁷⁾。ゲニステイン以外の例としては、Hasibederらは精巣胚細胞性ガンにおいて、フラボノイドであるtectorigenin（テクトリゲニン）によって幹細胞因子であるNANOG、POUSF1（Oct4）、SOX2がダウンレギュレーションされたことで、細胞増殖を抑制することを報告した⁴⁸⁾。なお、NANOGは無制限の複製に必要な遺伝子である。すなわち、植物エストロゲンのガン細胞の増殖抑制は、細胞周期の停止という結果によるものが多く報告され、一つの方向性を示している。つまり、停止に至る段階において、細胞周期（G2/M期）の進行に関与する複数の遺伝子の発現に植物エストロゲンが直接影響を及ぼすことが可能であるということである。停止に至る経路は植物エストロゲンの構造によって、また、暴露するタイミングによって等、単一ではない可能性がある。現在膨大な数の遺伝子マーカーのアップレギュレーション及びダウンレギュレーションの結果を追いながらデータの蓄積と、さらに経路に関わる新たなタンパクの発見もなされつつある。

7. 植物エストロゲンと正常細胞

現在、植物エストロゲンの影響に対する正常細胞における研究はかなり少ない。数少ない報告の中から、正常細胞と乳ガン細胞を増殖の観点から比較を行ったデータがある⁴³⁾。Chenらは、3種類の植物エストロゲン（ゲニステイン、レスベラトロール、ケルセチン）を正常細胞である乳細胞MCF-10Aと乳ガン細胞であるMCF-7に加え比較し、細胞増殖に対し異なった影響を与えることを報告している。MCF-7の場合、3種とも 10^{-4} mol/Lよりも高い濃度で増殖を抑制し、その中で、レスベラトロール、ケルセチンの2種は、 10^{-5} mol/L濃度以上においても増殖を抑制している。このとき、MCF-7において3種の植物エストロゲンによってアポトーシスを起こした細胞は増加し、また、 10^{-7} mol/LにおいてPI3K及びAkt（細胞増殖、分化に関わるマーカー）を減少させている。一方、MCF-10Aの場合はゲニステイン、レスベラトロールの 10^{-8} - 10^{-5} mol/L濃度において、また、ケルセチンは 10^{-5} mol/Lのみが増殖促進させ、また、 10^{-7} mol/LにおいてPI3K及びAktを増加させている。ここでは、 10^{-7}

mol/Lという3種の同濃度の植物エストロゲンに対し、正常細胞とガン細胞において全く逆の影響を導くことが示されている。おそらく、増殖促進機構に関わるリガンドに対するレセプター数、産生される種々のタンパクなどの違いによるものと推論されるが、これら機構については明らかにされていない。さらに、Engelらは、植物エストロゲンのゲニステイン、亜麻の根茎抽出成分(RFE)を正常乳細胞MCF-12Aと乳ガン細胞MCF-7に加え、植物エストロゲンの代謝応答のターゲットとなる物質としてsphingosine-1-phosphate (スフィンゴシン-1-リン酸)リアーゼ(細胞の生存、増殖、遊走に関わる)に焦点を当て、どのような影響を与えるのかを報告している⁴⁹⁾。彼らは、スフィンゴ脂質代謝及び代謝関連の産物がゲニステインのような類似構造をもつ植物エストロゲンや17 β -エストラジオールの活性に対し、主なターゲットになりうると考えている。結果は、sphingosine-1-phosphateリアーゼは、MCF-12AにおいてMCF-7よりも、コントロール、2種の植物エストロゲン(ゲニステイン、RFE)、17 β -エストラジオール全てにおいて有意に高い発現を示し、Chenらと対照的な結果を示した。このように、同じ物質を同濃度で投与した場合においても、正常細胞とガン細胞における応答や代謝の違いが確認されることは非常に興味深い。先の6の項で述べたように、ガン細胞において植物エストロゲンによる遺伝子レベルでの応答性が確認されているからこそ、同時に正常細胞における影響を比較しながら明らかにすることで、食事摂取量の指針と、過剰摂取などから誘導される性ホルモンが関与する疾病を予防できる可能性がある。また、多くの植物エストロゲンの中には、ERに結合しても次のステップのスイッチングへと繋がらないケースもある。実際、我々の過去の研究においても、polyphenol(ポリフェノール)成分とBPAのERに対するcompetition(競合)研究を行った際、polyphenol成分はBPAのバインドを抑制し自らERにバインドしながらも、エストロゲン活性を示さなかった例がある。つまり、植物エストロゲンの種類によっては、ERへバインドしても次段階へのスイッチングに繋がらないケースもある。複雑な選択によるスイッチングのON/OFF機構に対し、さらなる詳細な研究が必要である。

8. おわりに

これまで述べてきたように植物エストロゲンは、生体

にとって非常に有用でありながら、もう一つの面を持つことも留め置かねばならない。植物エストロゲンについて、エストロゲン作用に関する研究の大部分が安全性を含めた*in vitro*研究である。乳ガン細胞(MCF-7)を用いた増殖刺激をマーカーとした報告は、必ずしも全ての植物エストロゲンについてその作用を明確に表しているものではない可能性がある。さらに、乳ガン進行(増殖促進)への影響についても、MCF-7における複数の研究結果から、一定濃度(10^{-5} M)の境界により、ガン細胞の増殖促進・抑制を線引きして考えるのは早計である。すなわち、植物エストロゲンによるガン細胞の増殖促進または抑制は、単一の機構では説明できない。一つには、それぞれの植物エストロゲン自身の構造的な特徴から進行及び抑制に繋がる幾つかのタンパク発現に対し、異なる影響を及ぼす可能性があり、かつ生体内においては多面的、複合的な機構が絡み合い関与していることが想定される。他方、ガン細胞の増殖促進及び抑制については、幾つか複数のターゲット遺伝子に関し、それぞれ活性化機構を持つため、植物エストロゲンが構造的に類似していても、必ずしも同一の生物学的応答を生み出すとは限らず、各々の植物エストロゲンを異なった細胞株(cell line)において評価することも重要となる。また、実際は種々の植物エストロゲンを含む食事を摂取することから考えても、各々の植物エストロゲン濃度評価、組み合わせによる影響について評価することが重要になる。今後は、個々の植物エストロゲン成分の見地からばかりでなく、最近多く見られるエストロゲン共存下における研究、また、種々の植物エストロゲン成分を組み合わせた相乗効果的研究が重要になると考える。

文 献

- 1) Tachibana, T., Wakimoto, Y., Nakamuta, N., Phichitraslip, T., Wakitani, S., Kusakabe, K., Hondo, E. and Kiso, Y.: Effects of bisphenol A (BPA) on placenta and survival of the neonates in mice. *J. Reprod. Dev.* 53: 509-514, 2007.
- 2) Papaconstantinou, A. D., Umbreit, T. H., Fisher, B. R., Goering, P. L., Lappas, N. T. and Brown, K. M.: Bisphenol A-induced increase in uterine weight and alterations in uterine morphology in ovariectomized B6C3F1 mice: role of the estrogen receptor. *Toxicol. Sci.* 56: 332-339, 2000.

- 3) Yamasaki, H., Nagake, Y. and Makino, H. : Determination of bisphenol a in effluents of hemodialyzers. *Nephron* 88 : 376-378, 2001.
- 4) Fujimoto, T., Kubo, K., Nishikawa, Y. and Aou, S. : Postnatal exposure to low-dose bisphenol A influences various emotional conditions. *J Toxicol Sci* 38 : 539-546, 2013.
- 5) Fenichel, P., Chevalier, N. and Brucker-Davis, F. : Bisphenol A: an endocrine and metabolic disruptor. *Ann Endocrinol (Paris)* 74 : 211-220, 2013.
- 6) Troisi, J., Mikelson, C., Richards, S., Symes, S., Adair, D., Zullo, F. and Guida, M. : Placental concentrations of bisphenol A and birth weight from births in the Southeastern U. S. *Placenta*. 35 : 947-952, 2014.
- 7) Guida, M., Troisi, J., Ciccone, C., Granozio, G., Cosimato, C., Di, Spiezio Sardo A., Ferrara, C., Guida, M., Nappi, C., Zullo, F. and Di, Carlo C. : Bisphenol A and congenital developmental defects in humans. *Mutat. Res.* 774 : 33-39, 2015.
- 8) 内閣府食品安全委員会 生殖発生毒性に関するワーキンググループ：ビスフェノールA（BPA）に関する健康影響について 中間とりまとめp. 6, 2008-2010.
- 9) Hajirahimkhan, A., Dietz, B. M. and Bolton, J. L. : Botanical modulation of menopausal symptoms: mechanisms of action ? *Planta Med* 79 : 538-553, 2013.
- 10) Thomas, A. J., Ismail, R., Taylor-Swanson, L., Cray, L., Schnall, J. G., Mitchell, E. S. and Woods, N. F. : Effects of isoflavones and amino acid therapies for hot flashes and co-occurring symptoms during the menopausal transition and early postmenopause : a systematic review. *Maturitas*. 78 : 263-276, 2014.
- 11) Miller, C. N., Yang, J. Y., Avra, T., Ambati, S., DellaFera, M. A., Rayalam, S. and Baile, C. A. : A dietary phytochemical blend prevents liver damage associated with adipose tissue mobilization in ovariectomized rats. *Obesity*. (Silver. Spring). 23 : 112-119, 2015.
- 12) Rice, S. and Whitehead, S. A. : Phytoestrogens and breast cancer—promoters or protectors ? *Endocr. Relat. Cancer*. 13 : 995-1015, 2006.
- 13) Mense, S. M., Hei, T. K., Ganju, R. K. and Bhat, H. K. : Phytoestrogens and breast cancer prevention : possible mechanisms of action. *Environ. Health. Perspect.* 116 : 426-433, 2008.
- 14) Dahlman-Wright, K., Cavailles, V., Fuqua, S. A., Jordan, V. C., Katzenellenbogen, J. A., Korach, K. S., Maggi, A., Muramatsu, M., Parker, M. G. and Gustafsson, J. A. : International Union of Pharmacology. LXIV. Estrogen receptors. *Pharmacol. Rev.* 58 : 773-781, 2006.
- 15) Ronda, A. C. and Boland, R. L. : Intracellular Distribution and Involvement of GPR30 in the Actions of E2 on C2C12 Cells. *J. Cell. Biochem.* : 2015.
- 16) Branca, F. and Lorenzetti, S. : Health effects of phytoestrogens. *Forum. Nutr.* 100-111. : 2005.
- 17) Xie, Q., Bai, Q., Zou, L. Y., Zhang, Q. Y., Zhou, Y., Chang, H., Yi, L., Zhu, J. D. and Mi, M. T. : Genistein inhibits DNA methylation and increases expression of tumor suppressor genes in human breast cancer cells. *Genes. Chromosomes. Cancer.* 53 : 422-431, 2014.
- 18) Reding, K. W., Zahid, M., Cavalieri, E., Rogan, E. G., Raccor, B. S., Atkinson, C., Yong, M., Newton, K. M. and Lampe, J. W. : Associations between Dietary Intake of Fruits and Vegetables in relation to Urinary Estrogen DNA Adduct Ratio. *Open. J. Prev. Med.* 4 : 429-437, 2014.
- 19) Pifferi, F., Dal-Pan, A., Languille, S. and Aujard, F. : Effects of resveratrol on daily rhythms of locomotor activity and body temperature in young and aged grey mouse lemurs. *Oxid Med Cell Longev* 2013 : 187301, 2013.
- 20) Sun, L., Wang, Y., Song, Y., Cheng, X. R., Xia, S., Rahman, M. R., Shi, Y. and Le, G. : Resveratrol restores the circadian rhythmic disorder of lipid metabolism induced by high-fat diet in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 458 : 86-91, 2015.
- 21) Babu, P. V., Si, H., Fu, Z., Zhen, W. and Liu, D. : Genistein prevents hyperglycemia-induced monocyte adhesion to human aortic endothelial cells through preservation of the cAMP signaling pathway and ameliorates vascular inflammation in obese diabetic mice. *J Nutr* 142 : 724-730, 2012.
- 22) Valsecchi, A. E., Franchi, S., Panerai, A. E., Rossi, A.,

- Sacerdote, P. and Colleoni, M.: The soy isoflavone genistein reverses oxidative and inflammatory state, neuropathic pain, neurotrophic and vasculature deficits in diabetes mouse model. *Eur J Pharmacol* 650 : 694-702, 2011.
- 23) Poulouse, S. M., Thangthaeng, N., Miller, M. G. and Shukitt-Hale, B.: Effects of pterostilbene and resveratrol on brain and behavior. *Neurochem. Int.* 89 : 227-233, 2015.
- 24) Szkudelska, K. and Szkudelski, T.: Resveratrol, obesity and diabetes. *Eur. J. Pharmacol.* 635 : 1-8, 2010.
- 25) Hsiao, Y. C., Hsieh, Y. S., Kuo, W. H., Chiou, H. L., Yang, S. F., Chiang, W. L. and Chu, S. C.: The tumor-growth inhibitory activity of flavanone and 2'-OH flavanone in vitro and in vivo through induction of cell cycle arrest and suppression of cyclins and CDKs. *J. Biomed. Sci.* 14 : 107-119, 2007.
- 26) Ujiki, M. B., Ding, X. Z., Salabat, M. R., Bentrem, D. J., Golkar, L., Milam, B., Talamonti, M. S., Bell, R. H. Jr, Iwamura, T. and Adrian, T. E.: Apigenin inhibits pancreatic cancer cell proliferation through G2/M cell cycle arrest. *Mol. Cancer.* 5 : 76, 2006.
- 27) Yang, J. H., Hsia, T. C., Kuo, H. M., Chao, P. D., Chou, C. C., Wei, Y. H. and Chung, J. G.: Inhibition of lung cancer cell growth by quercetin glucuronides via G2/M arrest and induction of apoptosis. *Drug. Metab. Dispos.* 34 : 296-304, 2006.
- 28) Mitchell, J. H., Duthie, S. J. and Collins, A. R.: Effects of phytoestrogens on growth and DNA integrity in human prostate tumor cell lines : PC-3 and LNCaP. *Nutr. Cancer.* 38 : 223-228, 2000.
- 29) Adams, N. R.: Sexual behaviour of ewes with clover disease treated repeatedly with oestradiol benzoate or testosterone propionate after ovariectomy. *J. Reprod Fertil* 68 : 113-117, 1983.
- 30) Shutt, D. A.: The effects of plant oestrogens on animal reproduction. *Endeavour.* 35 : 110-113, 1976.
- 31) Mitchell, J. H., Cawood, E., Kinniburgh, D., Provan, A., Collins, A. R. and Irvine, D. S.: Effect of a phytoestrogen food supplement on reproductive health in normal males. *Clin Sci (Lond)* 100 : 613-618, 2001.
- 32) Janning, P., Schuhmacher, U. S., Upmeier, A., Diel, P., Michna, H., Degen, G. H. and Bolt, H. M.: Toxicokinetics of the phytoestrogen daidzein in female DA/Han rats. *Arch. Toxicol.* 74 : 421-430, 2000.
- 33) Diel, P., Smolnikar, K. and Michna, H.: In vitro test systems for the evaluation of the estrogenic activity of natural products. *Planta. Med.* 65 : 197-203, 1999.
- 34) Kaludjerovic, J., Chen, J. and Ward, W. E.: Early life exposure to genistein and daidzein disrupts structural development of reproductive organs in female mice. *J. Toxicol Environ Health A* 75 : 649-660, 2012.
- 35) Newbold, R. R., Banks, E. P., Bullock, B. and Jefferson, W. N.: Uterine adenocarcinoma in mice treated neonatally with genistein. *Cancer Res* 61 : 4325-4328, 2001.
- 36) Irvine, C. H., Fitzpatrick, M. G. and Alexander, S. L.: Phytoestrogens in soy-based infant foods : concentrations, daily intake, and possible biological effects. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 217 : 247-253, 1998.
- 37) Quaas, A. M., Kono, N., Mack, W. J., Hodis, H. N., Felix, J. C., Paulson, R. J. and Shoupe, D.: Effect of isoflavone soy protein supplementation on endometrial thickness, hyperplasia, and endometrial cancer risk in postmenopausal women : a randomized controlled trial. *Menopause* 20 : 840-844, 2013.
- 38) Magee, P. J. and Rowland, I. R.: Phyto-oestrogens, their mechanism of action : current evidence for a role in breast and prostate cancer. *Br. J. Nutr.* 91 : 513-531, 2004.
- 39) Saarinen, N. M., Penttinen, P. E., Smeds, A. I., Hurmerinta, T. T. and Makela, S. I.: Structural determinants of plant lignans for growth of mammary tumors and hormonal responses in vivo. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 93 : 209-219, 2005.
- 40) Chen, F. P., Chien, M. H. and Chern, I. Y.: Impact of lower concentrations of phytoestrogens on the effects of estradiol in breast cancer cells. *Climacteric.* 18 : 574-581, 2015.
- 41) Schmidt, S., Michna, H. and Diel, P.: Combinatory effects of phytoestrogens and 17beta-estradiol on

- proliferation and apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 94: 445-449, 2005.
- 42) Ju, Y. H., Fultz, J., Allred, K. F., Doerge, D. R. and Helferich, W. G.: Effects of dietary daidzein and its metabolite, equol, at physiological concentrations on the growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) tumors implanted in ovariectomized athymic mice. *Carcinogenesis*. 27: 856-863, 2006.
- 43) Chen, F. P. and Chien, M. H.: Phytoestrogens induce differential effects on both normal and malignant human breast cells in vitro. *Climacteric*. 17: 682-691, 2014.
- 44) Mak, P., Leung, Y. K., Tang, W. Y., Harwood, C. and Ho, S. M.: Apigenin suppresses cancer cell growth through ERbeta. *Neoplasia*. 8: 896-904, 2006.
- 45) Zhang, Z., Wang, C. Z., Du, G. J., Qi, L. W., Calway, T., He, T. C., Du, W. and Yuan, C. S.: Genistein induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis via ATM/p53-dependent pathway in human colon cancer cells. *Int. J. Oncol.* 43: 289-296, 2013.
- 46) Regenbrecht, C. R., Jung, M., Lehrach, H. and Ad-jaye, J.: The molecular basis of genistein-induced mitotic arrest and exit of self-renewal in embryonal carcinoma and primary cancer cell lines. *BMC. Med. Genomics*. 1: 49, 2008.
- 47) Bhan, A., Hussain, I., Ansari, K. I., Bobzean, S. A., Perrotti, L. I. and Mandal, S. S.: Histone methyl-transferase EZH2 is transcriptionally induced by estradiol as well as estrogenic endocrine disruptors bisphenol-A and diethylstilbestrol. *J. Mol. Biol.* 426: 3426-3441, 2014.
- 48) Hasibeder, A., Venkataramani, V., Thelen, P., Rad-zun, H. J. and Schweyer, S.: Phytoestrogens regulate the proliferation and expression of stem cell factors in cell lines of malignant testicular germ cell tumors. *Int. J. Oncol.* 43: 1385-1394, 2013.
- 49) Engel, N., Lisec, J., Piechulla, B., and Nebe, B.: Metabolic profiling reveals sphingosine-1-phosphate kinase 2 and lyase as key targets of (phyto-) estrogen action in the breast cancer cell line MCF-7 and not in MCF-12A. *PLoS One*. 7: e47833, 2012.