

## 大豆の発酵培養物 (Immusoy) とイソフラボンアグリコン抽出物 (AglyMax) の 造血幹細胞 (骨髄細胞) 増強効果について

2001年1月、ニチモウ株式会社は、広島大学原爆放射能医学研究所の伊藤明弘教授（当時）との共同研究で、同社の開発素材である AglyMax と Immusoy（現：イムバランス）が、2Gy の少量放射線で刺激を与えたマウスの骨髄細胞に対し、強い増殖活性を与えたことを確認し、放射線に対するリスク低減の可能性があるとした。

この研究論文は、「医学のあゆみ」に2001年1月に掲載された。2ページ以降がその論文である。

なお、伊藤明弘教授（当時）らは、味噌あるいはその有効成分が放射線の生体障害からの回復に有効であること、小腸粘膜の基底部に存在する腺窩細胞巢の回復実験で証明している。

一方、味噌を用いた動物実験で、放射線障害の回復、マウス肝腫瘍やラット乳癌の化学予防について報告し、その作用のひとつとしてアグリコン化したイソフラボンの存在が重要であることを示唆している。

2011年3月18日  
ニチモウバイオティックス株式会社

## 大豆の発酵培養物 (ImmuSoy) とイソフラボンアグリコン抽出物 (AglyMax) の マウス脾コロニー法による造血幹細胞増強効果

潘 偉軍 武部 実 殷 宏 伊藤明弘

著者らは、大豆を原料として麹菌で発酵させ、イソフラボン配糖体をアグリコン体に変更させた麹菌大豆発酵培養物 (ImmuSoy)<sup>1)</sup>、さらにイソフラボンアグリコンを抽出した濃縮物 (AglyMax) の製品化を検討した。ImmuSoyは全身免疫や腸管免疫の賦活作用が動物実験で確認しており、AglyMaxでは更年期障害モデルラットを使って、脂質代謝異常の改善やSHRSPラットでの血圧降下作用が確認されている (準備中)。

この両産物は麹菌発酵によるイソフラボンのアグリコンが共通して存在しており、イソフラボンアグリコンは体内吸収性が高まることから、イソフラボンのエストロゲン作用についても検討が必要である。

本稿では、McCullochらの開発した放射線照射マウス脾コロニー法を用いて<sup>2)</sup>、AglyMaxとImmuSoyの造血幹細胞に与える影響について検討した。

### 材料と方法

実験は6週齢の雌性ICR/JCLマウス (日本チャールス・リバー社) を1群5匹ずつ用いた。マウスは、室温 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 5\%$ の準無菌条件下で飼育した。これらを、a) 非照射対照、b) 照射対照、c) AglyMax、d) ImmuSoyの4群に分けた。c) AglyMaxはイソフラボンアグリコンとして $30\text{mg/kgBW}$ を普通食に混合し、d) ImmuSoyは普通食に1%添加し、3週間にわたって飼育した。また、ドナー群のマウスに $2\text{Gy}$ の $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 線全身照射を行い、ImmuSoy1%添加した普通食で3週間にわたって飼育した。4週間目にドナー群マウスから骨髓細胞を無菌的に採集し、 $5\times 10^4$ /マウスとして、 $8\text{Gy}$ の $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 線全身照射したレシピエントのb)、c) およびd) 群マウスの尾静脈より移入した。

骨髓細胞移植後7日目に全マウスを解剖し、脾の重量測定と脾コロニー形成数を実体顕微鏡下で算定した。脾は10%中性ホルマリン固定後、病理組織標本を作成し、HE染色、鉄染色、抗CD-45モノクローナル抗体 (医学生物研究所) で染色した。

結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で示し、有意差検定はStudent *t*検定法により行い、危険率が5%未満 ( $p < 0.05$ ) の場合を有意差ありとした。

### 結果

**脾重量:** 骨髓細胞移植後7日目の脾重量は非照射対照群 (a) では $5.30\pm 0.29\text{g}$  (10g体重当り) であったのに対し、照射脾 (b) では $0.85\pm 0.19$ 、AglyMax投与群 (c) では $2.01\pm 0.67$ 、ImmuSoy投与群 (d) では $1.64\pm 0.44$ であり、bとc、d群を比較するとc群 ( $p < 0.01$ )、d群 ( $p < 0.05$ ) といずれも有意に重量の増加を認めた。脾コロニー形成数ではb群では $1.6\pm 1.1$ 個であるのに対し、c群では $18.6\pm 2.7$ 、d群は $18.6\pm 2.1$ と、いずれもb群に比べ有意にコロニー形成数の増加を認めた (図1)。

つぎにこれら形成コロニーを病理組織的に観察した結果、脾内リンパ細胞の大きさ、細胞数ともa群の非照射対照群に比べb、c、d群では明らかに低形成性であり、細胞増殖の活性化は低値を示した。これに反し、c、d群の赤脾髄では鉄染色に強い陽性反応を示す赤芽球系細胞巣、多核巨細胞およびCD-45陽性反応を示すリンパ芽球細胞の巣状増殖がみられ、これらはc群のAglyMaxとd群のImmuSoyに共通の現象であり、b群では認められなかった。

### 考察

著者らはすでに、味噌あるいはその有効成分が放射線の生体障害からの回復に有効であることを、小腸粘膜の基底部に存在する腺窩細胞巣の回復実験で証明した<sup>2)</sup>。一方、著者らは味噌を用いた動物実験で、放射線障害の回復<sup>3)</sup>、マウス肝腫瘍やラット乳癌の化学予防について報告し、その作用のひとつとしてアグリコン化したイソフラボンの存在が重要であることを示唆している<sup>4)</sup>。

今回の実験では、あらかじめ $2\text{Gy}$ の少量放射線で刺激を与えマウスの骨髓細胞を大豆抽出物のAglyMaxまたはImmuSoyを投与し、さらに $8\text{Gy}$ の準致死線量

Activation of bone marrow stem cells by soy bean fermented product and isoflavone aglycone extract

Weijun PAN<sup>1</sup>, Minoru TAKEBE<sup>1</sup>, Hong Yin<sup>2</sup> and Akihiro ITO<sup>2</sup>: ニチモウ (株)<sup>1</sup>, 広島大学原爆放射線医学研究所環境生物部門

連絡先: 潘 偉軍 [ニチモウ (株) 〒140-0002 東京都品川区東品川2-2-20 天王洲郵船ビル]

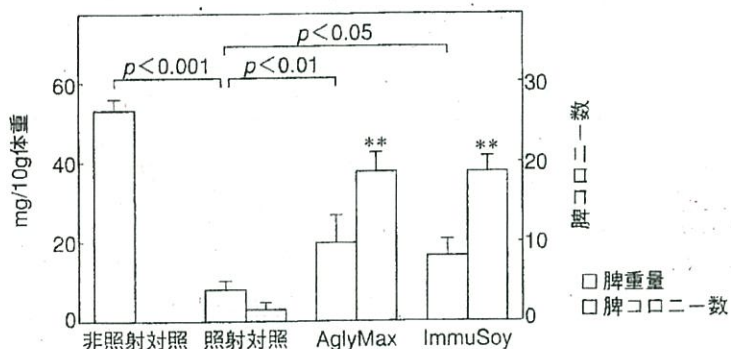


図 1

致死量放射線を照射したマウスに同系マウス骨髄細胞移植し、AglyMax および ImmuSoy 投与による脾重量および脾コロニー形成数は、照射対照群に比べ有意な増加を認めた。

\*\*：照射対照群に比べ有意に脾コロニー形成数の増加を認めた。  
 $p < 0.001$ .

被曝マウスに移植し、脾での幹細胞形成コロニー数により評価した。両検体ともに骨髄幹細胞、とくに赤芽球系細胞に対し強い増殖活性を示したことは、両検体の主要有効成分であるダイゼインがある種の増殖因子に作用して強い増殖活性を与えた結果と考えられる。

ゲニスタインやダイゼインは植物ホルモンのひとつであり、エストロゲン受容体を介しエストロゲン様活性を示すこと<sup>5)</sup>、細胞のPKC情報伝達系の阻害による、癌細胞のアポトーシス誘発などが知られている<sup>6)</sup>。したがって、ダイゼインのエストロゲン様作用が直接骨髄芽球細胞に働いて増殖活性を示した可能性と同時に、ダイゼインにより誘導された新規な増殖因子が働いた可能性も考えられる。

#### まとめ

雌性ICR/JCLマウスに大豆の発酵培養物 ImmuSoy およびイソフラボンアグリコン抽出物 AglyMax の持続経口投与を行った。4週間日に8Gyの $\gamma$ 線照射した後、2Gyの $\gamma$ 線照射した同系マウスの骨髄細胞を移植した。移植後7日日での脾の所見は照射対照群に比

べ ImmuSoy および AglyMax 両群ともに脾重量とコロニー数の有意の増加を認め、コロニーは主として赤芽球および抗CD45抗体陽性反応を示すリンパ系細胞で占められた。

- 1) Kishida, T. et al.: Soybean meal fermented by aspergillus awamori increases the cytochrome P-450 content of the liver microsomes of mice. *J. Agric. Food Chem.*, **48**: 1367-1372, 2000.
- 2) 渡邊敦光・他: マウスのX線照射による小腸障害に対する味噌の効果. *味噌の科学と技術*, **39**: 29-32, 1991.
- 3) 伊藤明弘: 味噌の生理機能について. *放射線科学*, **53**: 303-308, 1992.
- 4) Ito, A. et al.: Chemoprevention of cancers by miso and isoflavones. *J. Toxicol Pathol.*, **11**: 79-84, 1998.
- 5) Martin, P. M. et al.: Phyto-estrogen interaction with estrogen receptors in human breast cancer cells. *Endocrinology*, **103**: 1860-1867, 1978.
- 6) Yanagihara, K. et al.: Anti-proliferative effects of isoflavones on human cancer cell lines established from the gastro-intestinal tract. *Cancer Res.*, **53**: 5815-5821, 1993.

(2000年11月7日受理)

\* \* \*