【原 著】

亜臨界水処理後のオカラにおける抗腫瘍性及び抗プロモーター作用

Effect of Okara Reacted to Subcritical Water on Antitumor and Antipromoter Activity

西 正人^{1,2,*}, 榎本俊樹¹, 坂井良輔²
Masato NISHI^{1,2,*}, Toshiki ENOMOTO¹, Ryouusuke SAKAI²

¹ 石川県立大学大学院生物資源環境学研究所

² 北陸学院大学短期大学部食物栄養学科

【要 旨】

【目的】オカラの殆どは産業廃棄物として処理されており、食用として利用されるのはごく僅かである。オカラを亜臨界水と反応させ、低分子化、可溶化することにより風味や食感が改善される。亜臨界水反応後のオカラの付加価値を明らかにするために抗腫瘍効果と抗プロモーター活性について検討した。

【方法】オカラピューレの調製は 30 MPa, 340 °C の亜臨界水条件下で行った。抗プロモーター活性は JB6 Cl 41 細胞を用いたコロニー法及び 3-3 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 法により評価した。マウス結腸がん細胞を移植したマウスの左足蹠高および移植後のマウスの生存日数と体重を測定することにより、抗腫瘍性を検討した。

【結果】オカラピューレ DMSO 抽出液は JB6 Cl 41 細胞の EGF で誘導したコロニー形成を抑制した。実験開始 10 日目から 20 日目の期間では、結腸がん細胞を移植したマウスは、オカラピューレ群で他の群より生存数が多い傾向が見られた。さらに 22 日目以降では、オカラピューレ群で他の群より、生存期間が長くなる傾向が見られた。

【結論】オカラピューレには未処理のオカラにはない、抗腫瘍性、抗プロモーター活性を有する可能性のある機能性素材としての発展が期待できる。

【キーワード】

オカラ、抗腫瘍性、抗プロモーター活性、亜臨界水

1. はじめに

大豆加工食品の製造工程で副産されるオカラには大豆の栄養成分が残存しており、食物繊維の割合が比較的多い。食物繊維は胆汁として分泌された体内のコレステロールや有害な物質を吸着し、体外へ排出する作用や、消化管の動きを活発にする働きもある^{1,2)}。また、オカラには大豆タンパク質も残存しており、有用なタンパク源となり得る。また、残存する大豆オリゴ糖は主にスタキオースやラフィノースであるが、これらのオリゴ糖は *Bifidobacterium* に対する増殖作用を有し、腸内細菌叢を正常に保つ働きがある³⁾。一方、イソフラボンとフラクトオリゴ糖を同時に摂取することにより、血漿中のエクオール (Equol) 濃度がイソフラボンのみを摂取したラットのグループよりも高くなることが報告されている⁴⁾。

大豆やその加工食品や発酵食品などに関しては、様々な機能性が報告されており、関与する成分の一つにイソフラボンがある。イソフラボンの効果として、抗腫瘍性^{5,6)}や抗酸化性⁷⁾、抗酸化酵素系の活性上昇⁸⁾、骨粗鬆症予防効果⁹⁾などが報告されている。また、大豆イソフラボンは疫学的な検討においても乳がん、前立腺がん、結腸がん、肺がんの発症の抑制に対する可能性が示唆されてい

受理日：2012年7月9日

* 〒921-8836 石川県石川郡野々市町末松1丁目308番地 Tel & Fax: 076-227-7450 E-mail: enomoto@ishikawa-pu.ac.jp

る^{10,11)}。一方、我々の研究¹²⁾ではこれまでに亜臨界水反応後にイソフラボンアグリコンの内、ゲニステインが増加する結果を得ているが、配糖体に比較して生理活性の発現や体内への吸収はアグリコンの方が高いといわれている。さらに大豆イソフラボンのうち、ダイジンやダイゼインの腸内細菌叢による代謝産物であるエクオールは消化吸収なども含めて、ゲニステインよりさらに生理活性が強いと考えられている。オカラはこれら上記の有用な成分やその源となる成分を含んでいるにも関わらず、水分が多く、非常に腐敗しやすいことや、特有の風味、食感などが敬遠されるなどの問題から、殆どが産業廃棄物として処理されており、食用資源としての利用はわずかである。

現在、食品リサイクル法により、全食品事業者に対し食品廃棄物の削減が義務付けられており、副産されるオカラの量を抑えるか、オカラを利用する技術の普及が重要といえる。しかしオカラは家畜飼料、ペット用品として一部が利用されているのみで、大量に副産されるオカラの問題を解決するには至っていない。オカラは水分が80%近くになるため、輸送が困難で非常に腐敗しやすく、食材として利用するには副産されたオカラをすぐさま、短時間で大量に処理する技術が必要となる。

亜臨界水は臨界点に達する手前の領域の水で、水のイオン積が最大となることによって、加水分解反応が促進される。この作用によって有機物の低分子化、可溶化を短時間で行うことが出来る。また、オカラを亜臨界水処理する前処理として微粉碎することにより短時間で反応させることも可能である。このように亜臨界水反応は水のみを使用し、化学薬品は使用しなくてもよいことや、亜臨界水条件下は一般生菌などに対しては殺菌効果が期待できる衛生的条件下であり、さらに比較的短時間で反応が進むことなどから、食品の大量処理などに向いているといえる。

我々はオカラを新たな食材として再生利用するために亜臨界水を用いた処理方法を検討し、風味や食感などの問題を解決し、副産されるオカラ全てを新たな食材として再生利用するゼロエミッションの手法を確立した¹³⁾。しかし、オカラを新たな食材として再生する亜臨界水処理技術の普及には再生処理されたオカラの付加価値を明らかにする必要がある。本実験では亜臨界水反応によって再生処理されたペースト状のオカラ（以下、オカラピューレ）の機能性の解明を目的に、亜臨界水処理後のオカラについてまず抗腫瘍効果や抗プロモーター活性について検討したので報告する。

2. 材料・方法

2.1 原材料及び亜臨界水連続処理装置

大豆は、石川県能美市辰口町産エンレイ（中粒）を使用した。エンレイは北陸地域での作付面積が最も多く、豆腐加工適性に優れた品種である。豆腐にすると白色かつ硬さを得やすく凝固剤適量範囲が広い事が特徴である。

高温高圧水連続処理装置（平成10年度石川県産業技術開発補助事業により製作、平成11年度フードシステム連携強化・循環推進技術確立事業により改良）は一部改良を行い、本研究に使用した。亜臨界水反応における圧力の設定は、背圧弁のバルブ開度を反応部の圧力をモニターしながら設定圧力を維持するように調節した。一方、亜臨界水反応温度は電気炉の設定温度により調節した。

2.2 亜臨界水処理

まず、前記大豆を14℃の水に20時間浸漬し、水切り後、豆乳製造プラント NS2000-S（株式会社高井製作所製）で加熱条件103℃、3分加熱し、豆乳とオカラの分離装置（シリウス；株式会社高井製作所製）によって豆乳とオカラを分離した。なお本実験は豆乳濃度12%における調製条件で行った。また、消泡剤は無添加とした。

次に前記条件で得られたオカラについて、以下のよう
に亜臨界水処理を行った。約1.5倍加水したオカラを高圧ホモジナイザー（Niro Soavi社、NS2000L PONY 最大圧力150 MPa、処理能力40 L/時）により20 MPaで処理後、さらに40 MPaで処理し、引き続き60 MPaで処理し段階的に微粉碎した。微粉碎後のスラリーを脱気し、亜臨界水連続処理装置にて処理を行った（未処理オカラ）。

亜臨界水連続処理は前記の前処理を施したオカラスラリー、蒸留水をそれぞれ10 ml/分、6 ml/分で高圧ポンプ（日本精密科学製パーソナルポンプ NP-AX-15）で送液し、蒸留水を電気ヒーターで加熱した熱水と、ウォーターバスにて約85℃に予備加熱したオカラスラリーを連続的に混合し、亜臨界水状態で反応（約30 MPa、340℃、約2.7sec）させることにより行った。

2.3 マウス上皮細胞による抗プロモーター活性の検討

2.3.1 dimethylsulfoxide (DMSO) 抽出

凍結乾燥したオカラピューレ50 mgを1 mlのDMSOに懸濁させた後、約2時間振盪し、15,000 rpmで15分遠心した上清をオカラピューレ1（以下、OP1）として実験に用いた。OP1をDMSOで10倍希釈したものをオカラピューレ1-0.1（以下、OP1_0.1）とした。

凍結乾燥したオカラピューレ50 mgを1 mlのDMSO

に懸濁させた後、約 30 分振盪し、15,000 rpm で 15 分遠心した上清をオカラピューレ 2 (以下、OP2) とした。OP2 を DMSO で 10 倍希釈したもの (以下、OP2_0.1) として以上 4 種類の DMSO 抽出液を実験試料として用いた。

2.3.2 ソフトアガーアッセイ

0.5%寒天を含む minimum essential medium (MEM) を下層に固化した後、上層に JB6 細胞 (10^4 個) を懸濁した 0.33%寒天 MEM を重層した。なお、両層の寒天培地は、(DMSO 最終濃度 0.2%) 500 倍希釈したオカラピューレ DMSO 抽出液 [OP1, OP1_0.1, OP2, OP2_0.1] と tumor promoter として用いた 20 ng/ml epidermal growth factor (EGF), 10% fetal bovine serum (FBS; GIBCO, Rockville, MD, U.S.A.) を含み、37°C、飽湿、5%CO₂ インキュベータ (BNA111; TABAI ESPEC, 大阪) 内で培養した¹⁴⁾。その後、2-3 週間後の寒天培地中に形成されるコロニーを顕微鏡下で計測した。なお、コロニーカウントは写真 1 のような状態で観察され、細胞が 2 個以上である右の写真はコロニーが形成されている状態であり、左の写真の状態ではコロニーカウントは行わない (写真 1)。

2.3.3 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) 法

金沢大学大学院自然科学研究科医療薬学専攻臨床薬学講座、現、北陸大学薬学部臨床薬学教育センター教授野村政明先生より譲渡された JB6 細胞 (5×10^3 個) を 96 well プレートに撒き、翌日 (DMSO 最終濃度 0.2%) 500 倍希釈したオカラピューレ DMSO 抽出液 (OP1 および OP2) を原液 (1), 10 倍希釈 (OP1-0.1, OP2-0.1), 100 倍希釈 (OP1-0.01, OP2-0.01) し処置した。3 日間培養後、MTT 試薬を添加し、4 時間後に形成される MTT formazan の比色値をマイクロプレートリーダー (540 nm) にて測定した。

↑ 10% EGF Treatment

写真 1 ソフトアガーアッセイにおけるコロニー形成
0.5%寒天を含む minimum essential medium (MEM) を下層に固化した後、上層に JB6 細胞 (10^4 個) を懸濁した 0.33%寒天 MEM を重層した。なお、両層の寒天培地は、(DMSO 最終濃度 0.2%) オカラピューレ DMSO 抽出液と tumor promoter として用いた 20 ng/ml epidermal growth factor (EGF) を含み、10% FBS 存在下で培養を行い、寒天培地中に形成される細胞が 2 個以上のコロニーを顕微鏡下で計測した。

2.4 動物実験による抗腫瘍効果の検討

7 週齢の雌 BALB/c マウス (近交系マウス、単クローン抗体作成 日本 SLC) を購入後、1 週間、水と餌 (MF 飼料、オリエンタル酵母株式会社、東京、日本) を自由に与え飼育した。その後、各群の体重が均一になるよう 3 群に分け (6 匹/群)、左足蹠にマウス結腸がん colon 26/clone 20 (C20) 細胞 (10^6 個) を移植した。

移植翌日から 1 日 1 回それぞれ蒸留水、コントロール (未処理オカラ)、オカラピューレ (亜臨界水処理; 340C, 30 MPa, 2.7 sec) を 1 ml 投与し、マウス左足蹠高および担癌マウスの生存日数を測定した。なお、コントロールおよびオカラピューレ 1 ml は、それぞれの乾物 50 mg に相当する成分を含んでいる。また、C20 細胞は、colon 26 細胞から高度に悪液質を誘導する細胞としてクローニングした細胞であり、悪液質の指標となる体重減少へのオカラピューレの効果も検討した。なお、動物実験は実験動物の飼育および保管並びに苦痛の軽減に関する基準 (平成 18 年 4 月 28 日、環境省告示 88 号) に則り実施した。

2.5 統計処理

抗プロモーター活性におけるコロニーアッセイ、足蹠高と体重の経時変化は Student-t 検定、抗腫瘍性試験におけるマウス生存日数については、Wilcoxon の順位検定にて有意差検定を行った。

3. 結果

3.1 マウス上皮細胞による抗プロモーター活性の検討

オカラピューレ DMSO 抽出液は、OP1 が最も JB6 Cl 41 細胞の EGF で誘導したコロニー形成を抑制し、次いで OP1_0.1, OP2, OP2_0.1 という順になった (図 1)。また、OP1 と OP1_0.1 や OP2 と OP2_0.1 の比較から、オカラピューレ DMSO 抽出液が希釈されると抑制効果は減少した。コロニー形成抑制は、OP1 > OP2 であることから、コロニー抑制効果はオカラピューレの DMSO 抽出時間にも依存する結果となった。

オカラピューレ DMSO 抽出液は、有意に JB6 Cl 41 細胞の EGF で誘導したコロニー形成を抑制した (図 1)。一方、オカラピューレ DMSO 抽出液は、JB6 Cl 41 細胞の細胞増殖に対しては影響を与えない結果となった (図 2)。

3.2 マウスによる抗腫瘍効果の検討

マウスの生存日数について、各群間における生存日数の平均を比較すると蒸留水群とオカラピューレ群で有意

差がみられた。また、蒸留水群とコントロール群間、コントロール群とオカラピューレ群間では有意差がみられなかったが、オカラピューレ群ではコントロール群に比べ、生存率が高くなる傾向がみられた(図3)。また、オカラピューレを投与した群では10日から22日目の間で他の群より生存数が多い傾向がみられ、実験開始22日以降ではオカラピューレを投与したマウスで他の群より、生存期間が長くなる傾向がみられた。

一方、マウス左足蹠高の経時変化をみるとオカラピューレ投与群では実験開始10日前後の期間で他の群

図1 オカラピューレ DMSO 抽出液による JB6 Cl 41 細胞の EGF にて誘導したコロニー形成の抑制

0.5%寒天を含む minimum essential medium (MEM) を下層に固化し、上層に JB6 細胞 (10^4 個) を懸濁した 0.33%寒天 MEM を重層した。両層の寒天培地は、オカラピューレ DMSO 抽出液と tumor promoter として用いた 20 ng/ml epidermal growth factor (EGF) を含む。寒天培地中に形成されるコロニーを顕微鏡下で計測した。データは平均±標準偏差, (n=6)。

* $p < 0.05$ を有意差ありとした。

図2 オカラピューレ DMSO 抽出液の JB6 Cl 41 細胞増殖に対する影響

JB6 細胞 (5×10^3 個) を 96 well プレートに撒き、翌日 500 倍希釈したオカラピューレ DMSO 抽出液 (OP1, OP2) を原液 (1), 10 倍希釈 (0.1), 100 倍希釈 (0.01) し処置した。Blank は DMSO のみとし、これを対照とした。3 日間培養後、MTT 試薬を添加し、形成される MTT formazan の比色値を測定した。データは平均±標準偏差 (n=6)。* $p < 0.05$ を有意差ありとした。

—□—オカラピューレ DMSO 抽出液 1；—◆—オカラピューレ DMSO 抽出液 2

より有意に足蹠高が小さくなった(図4)。また、オカラピューレを投与したマウスでは実験開始20日前後で特に他の群より足蹠高が小さい傾向が見られたが、実験開始30日からは、蒸留水を投与した群と同様な変化を示した。コントロール群は実験開始18日以降で特に足蹠高の増加が他の群よりも著しくなる傾向が見られた。なお、16日以降は各群とも生存するマウスの減少により、有意差検定を行えなかったため、左足蹠高、体重は平均値で示した。

マウスの体重変化をみると、結腸がん細胞移植後2週間までは各群間で体重変化に差は見られなかった(図5)。結腸がん細胞移植後の体重は、各群とも減少傾向が

図3 マウス結腸ガン colon 26/clon 20 (C20) 細胞を足蹠に移植したマウスの生存日数

BALB/c マウス左足蹠に colon 26/clon 20 (C20) 細胞 (10^6 個) を移植した。それぞれ蒸留水、コントロール、オカラピューレを 1 ml 投与し、担癌マウスの生存日数を測定した。

データは平均±標準偏差(実験開始時 n=6) で示した。*は $p < 0.05$ で有意差あり。

図4 マウス結腸ガン colon 26/clon 20 (C20) 細胞を移植した左足蹠高の経時変化

雌 BALB/c マウス左足蹠に colon 26/clon 20 (C20) 細胞 (10^6 個) を移植した。移植翌日からそれぞれ蒸留水、コントロール、オカラピューレを投与し、マウス左足蹠高を測定した。結果は平均値±標準偏差(実験開始時 n=6) で示した。

—□—オカラピューレ投与群；—◆—対照群；—△—蒸留水投与群

図5 マウス結腸ガン colon 26/clone 20 (C20) 細胞を移植したマウス体重の経時変化

雌 BALB/c マウス左足蹠に colon 26/clone 20 (C20) 細胞 (10^6 個) を移植し、移植翌日からそれぞれ蒸留水、コントロール、オカラピューレを投与した。マウスの体重を測定し、悪液質の指標となる体重減少へのオカラピューレの効果を検討した。結果は平均値±標準偏差（実験開始時 $n=6$ ）で示した。
—◆—オカラピューレ投与群；—●—対照群；—△—蒸留水投与群

続いたが、オカラピューレを投与したマウスでは他の群に比べ体重の減少が小さくなる傾向がみられた。

移植後2週間までの体重には各群で著しい違いは認められないものの、オカラピューレ群では足蹠高の減少傾向が認められたことから、オカラピューレは悪液質の抑制より、腫瘍の増殖を抑制することが示唆される。

4. 考 察

マウス JB6 Cl 41 細胞は発癌プロモーション過程の molecular mechanism を研究する tool として確立されている細胞である。オカラピューレ DMSO 抽出液が、有意に JB6 Cl 41 細胞の EGF で誘導したコロニー形成を抑制したが（図1）、その一方でオカラピューレ DMSO 抽出液は、JB6 Cl 41 細胞の細胞増殖に対しては影響を与えなかった（図2）。これらの結果は、オカラピューレによるコロニー形成抑制作用は細胞のトランスフォーメーション抑制の結果である可能性を示唆している。すなわち、オカラピューレ中には抗プロモーター活性を持つ成分が含まれている可能性がある。

癌患者、特に末期がん患者では食欲不振、重篤な低アルブミン血症に起因する血漿膠質浸透圧の低下、体脂肪の喪失及び肝機能の低下などの症状が観察される。これらは癌悪液質と総称され、悪液質を発現している患者では予後の悪化、QOLの低下及び生存期間の短縮をまねくと言われている。本試験において結腸がん細胞を移植したマウスによる試験で延命傾向がみられたことについ

て、マウスの体重における各群間に有意差は見られなかったが、オカラピューレ投与群が実験開始10日前後の期間で他の群より、左足蹠高が有意に小さくなり、10日目以降の実験期間においても他の群より左足蹠高が小さい傾向がみられたことなどから、マウスの延命傾向は悪液質の抑制ではなく、腫瘍細胞の増殖抑制であることが考えられる。

また、本試験でみられた腫瘍細胞増殖抑制は、大豆由来成分の亜臨界水処理による変化と関連している可能性が考えられる。例えば、イソフラボン配糖体のアグリコン化による消化吸収の向上¹⁵⁾ や抗酸化性⁷⁾ などである。また、動物実験においてアグリコン化されたイソフラボンを投与することにより、乳がん、前立腺がん、結腸がん、メラノーマの発症率を低下させるという報告^{2,16)} がある。本試験の結果でみられたオカラピューレ群における腫瘍細胞増殖抑制や抗プロモーター活性についてもイソフラボンとの関連性を検討する必要があると思われる。さらに、大豆たん白質の部分分解や低分子化によって生成する抗酸化性ペプチドや、アミノカルボニル反応によって生じるメラノイジンなどの関与などの可能性も考えられる¹⁶⁻¹⁸⁾。大豆に含まれるイソフラボンではダイゼインやゲニステインとその配糖体が代表的であり、体内で植物エストロゲン様作用もしくは、抗エストロゲン作用を示すと考えられている¹⁹⁾。ダイゼインやその配糖体は腸内細菌叢においてエクオールに代謝されることがわかっている²⁰⁾。エクオールはゲニステインよりもさらにエストロゲン活性が高いと考えられており、がんのリスクに対するエクオールの作用は明確になってはいないが、エクオールの尿中排泄量の多い人は乳がんを発症する危険度が低いことが報告されている²¹⁾。また、乳がんや前立腺がんの予防とエクオールとの関係についての報告もある²²⁾。エクオール産生菌として乳酸菌やビフィズス菌などが考えられているが、これら乳酸菌は食物繊維を炭素源、エネルギー源として増殖が促進される²³⁾。本実験では、亜臨界水処理によって、オカラの水溶性食物繊維が増加¹³⁾ したことにより、エクオール産生菌が増殖し、その結果エクオール産生が促進されることで、抗腫瘍性がみられた可能性も否定できない。

一方、オートクレーブで加熱したペクチンは、がん遺伝子を導入した形質転換細胞の増殖を抑制するという報告例があり²⁴⁾、オカラに比較的多く含まれるペクチン（ガラクトuron酸）の短時間亜臨界水処理によってそれらと同様な成分が生じた可能性も考えられる。今後は、腫瘍細胞増殖抑制や抗プロモーター活性を示す物質の解明が課題となる。

以上より、亜臨界水処理を用いたオカラの短時間連続

処理によって腫瘍細胞増殖抑制や抗プロモーター活性といった効果を付加できることが示唆された。本技術は、オカラのみならず大量に廃棄されている他の未利用資源への利用も可能であり、新たな機能性の付加や物性の改良などさらなる発展が期待される。

結 論

30 MPa, 340°C の亜臨界水条件で約2.7秒という短時間の反応で得られたペースト状のオカラ(オカラピューレ)を用いた試験において、結腸癌細胞を移植したマウスを用いた試験で延命傾向がみられた。また、マウス上皮細胞を用いた試験では抗プロモーター活性がみられた。これらの抗腫瘍性、抗プロモーター活性などの結果は亜臨界水処理によるイソフラボン配糖体のアグリコン化や、オカラに含まれる蛋白質の低分子化による抗酸化性ペプチドの生成、アミノ酸と糖質によるメラノイジンの生成などによる可能性などが考えられる。以上よりオカラピューレは、抗腫瘍性、抗プロモーター活性を有する傾向がみられ、新たな機能性を有する素材としての発展への可能性が示唆される。

謝 辞

本研究の一部は、平成16年度「ブランド・ニッポン」加工食品供給促進等技術開発事業を受けて実施した。本研究を遂行するにあたり、株式会社高井製作所、高井東一郎代表取締役、天野原成研究開発室長、栗津透研究開発室長には、実験材料の調整に際しご協力を、また、金沢大学医学部附属病院薬剤部研究室宮本謙一教授、野村政明先生(現北陸大学臨床薬学教育センター教授)には、研究全般を通して多大なるご指導、懇切なご助言をいただきました。ここに感謝申し上げます。

助成源

平成16年度「ブランドニッポン」加工食品供給促進等技術開発推進委託事業

参 考 文 献

- 海老原清, 桐山修八. 食物繊維の物理・化学的性質と生理機能. 日本食品工業学会誌. 1990; 37: 916-933.
- 西村直道. 食物繊維およびタウリンの血中コレステロール低下機構に関する研究. 日本栄養食糧学会誌. 2008; 61: 11-19.
- 佐藤岳治, 中村泰之, 小澤 修. ガラクトオリゴ糖がマウスの免疫系に与える影響. 日本栄養食糧学会誌. 2008; 61: 79-88.
- 技術用語解説エクオール (Equol). Journal of the society for Food Science and Technology 2010; 57(11): 492-493.
- Barnes S. Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer. J Nutr 1995; 125: 777-783.
- Peterson G. Evaluation of the biochemical targets of genistein in tumor cells. J Nutr 1995; 125: 784-789.
- Young HP, Tung CL, Young CL. Effect of Lactic Acid Fermentation on Enrichment of Antioxidant Properties and Bioactive Isoflavones in Soybean. J Food Sci 2005; 70: 215-220.
- Wei H, Bowen R, Cai Q, et al. Antioxidant and antipromotional effect of the soybean isoflavone genistein. Proc Soc Exp Biol Med 1995; 208: 124-130.
- 石見佳子, 池上幸江. 大豆イソフラボンの有効性とリスク. 日本栄養・食糧学会誌. 1998; 51: 294-298.
- Persky V, Horn LV. Epidemiology of soy and cancer: perspectives and directions. J Nutr 1995; 125: 709-712.
- Herman C, Adlercreutz T, Goldin BR, et al. Soybean Phytoestrogen Intake and Cancer Risk. J Nutr 1995; 125: 757-770.
- 西 正人, 坂井良輔. 亜臨界水処理によるオカラのイソフラボンおよびその誘導体の消長. 北陸学院大学・北陸学院大学短期大学部研究紀要. 2008; 1: 313-319.
- 高井東一郎, 西 正人, 笠間健二ら. 高温高压水を用いた植物残さの有効利用技術の開発. 平成11年度フードシステム連携強化・循環推進技術確立事業成果報告書. 東京. 社団法人食品需給研究センター. 2000: 135-161.
- Nomura M, Ichimatsu M, Moritani D, et al. Inhibition of Epidermal Growth Factor-induced Cell Transformation and Akt Activation by Caffeine. Mol Carcinog 2005; 44: 67-76.
- Izumi T, Mariusz KP, Osawa S, et al. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. J Nutr 2000; 130: 1695-1699.
- 長田恭一, 川上祐生, 清澤朋子. 大豆イソフラボンアグリコン摂取による脂質代謝調節および抗酸化機能の追求: 性別による調節作用の違い. 大豆たん白質研究. 2003; 6: 108-115.
- 小幡明雄. 大豆イソフラボンアグリコンの有効性. New Food Industry 2001; 43: 1-5.
- Yokomizo A, Takenaka Y, Takenaka T. Food Sci Technol Res 2002; 8: 357-359.
- Miksicek RJ. Interaction of naturally occurring nonsteroidal estrogens with expressed recombinant human estrogens receptor. J Steroid Biochem Mol Biol 1994; 49: 153-160.
- Chang HH, Robinson AR, Common RH. Excretion of radioactive diadzein and equol as monosulfates and disulfates in the urine of the laying hen. Can J Biochem 1975; 53: 223-230.
- Ingram D, Sanders K, Kolybaba M, et al. Case-control study of phyto-oestrogens and breast cancer. Lancet 1997; 350: 990-994.
- Setchell KDR, Brown NM, Olsen EL. The clinical importance of the metabolite equol-A clue to the effectiveness of soy and its isoflavone. J Nutr 2002; 132: 3577-3584.

23) Kelly GE, Joannou GE, Reeder AY, et al. The variable metabolic response to dietary isoflavones in humans. *Proc Soc Exp Biol*

Med 1995; 208: 40–43.

24) 市田淳治. リンゴペクチンおよびペクチンオリゴ糖の製造と生理機能. 本末病システム学会雑誌. 2005; 11: 304–308.

ABSTRACT

Effect of Okara Reacted to Subcritical Water on Antitumor and Antipromoter Activity

Masato NISHI^{1,2}, Toshiki ENOMOTO¹, Ryouusuke SAKAI²

¹ *Ishikawa Prefectural University Graduate School of Bioresources and Environmental Sciences*

² *Hokurikugakuin Junior College Dietetics Department*

Objective: The purpose of this study was to confirm the effect of Okara-puree (okara after the sub-critical water reaction) on antitumor and antipromoter activity.

Method: The antipromoter activity was investigated by colony method using JB6 Cl 41 cells and 3-3 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) method. We examined the antitumor effect by measuring the survival days and the bodyweight of the mice in which colon cancer cells had been transplanted in the soles of the left foot.

Result: Okara-puree DMSO extract inhibited EGF(epidermal growth factor)-induced colonization of JB6 Cl 41 cells. In the mice transplanted with cancer cells, more survivors were seen in the Okara-puree group compared to control during the period day 10 to day 20. Furthermore, the mice in the Okara-puree group showed a longer survival time compared to control even after day 22.

Conclusion: Unlike unprocessed okara, Okara-puree shows promise for development as a functional food material with antitumor and antipromoter effects.

Key words: Okara, antitumor, antipromoter, sub-critical water