

# 大豆异黄酮的生物活性及毒理学研究进展

郭小虎,代晓曼,张 波

(北京联合大学 应用文理学院,生物活性物质与功能食品北京市重点实验室,北京 100191)

**摘 要:**大豆异黄酮具有预防和治疗妇女更年期综合征、心血管疾病和骨质疏松症等多种生物学活性,并对多种肿瘤如乳腺癌、前列腺癌结肠癌等具有预防和抑制作用。但作为一种重要的植物雌激素,近年来其毒理学作用尤其是对遗传物质以及人类生长发育的影响受到了广泛的关注。文章介绍了大豆异黄酮的重要生物活性并着重综述了大豆异黄酮的毒理学研究进展。

**关键词:**大豆异黄酮;生物活性;毒理学

**中图分类号:**R114

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2011)04-0693-04

## Advances on the Study of Soybean Isoflavones in Biological Activity and Toxicity

GUO Xiao-hu, DAI Xiao-man, ZHANG Bo

(College of Arts and Sciences, Key Laboratory of Biological Active Materials and Functional Food, Beijing Union University, Beijing 100191)

**Abstract:** Soy isoflavones have important physiological function in reducing the occurrence of cancer, including mammary cancer, prostate cancer, and colon carcinoma. While as a major phytoestrogen exposed to human, soy isoflavones' genotoxic toxicity especially the growth and development toxicity was widely concerned. The progress on the study of soy isoflavones physiological function especially toxicity were summarized in this paper.

**Key words:** Soy isoflavones; Biological activity; Toxicology

大豆异黄酮(soy isoflavones, SIF)是大豆等豆科植物生长过程中形成的次生代谢产物,在大豆中的含量尤为丰富,每100 g大豆约含14~150 mg大豆异黄酮,而且大豆是唯一具有营养学价值的异黄酮食物资源。大豆异黄酮中主要含有4种成分,分别是大豆甾元(daidzein)、大豆甾(daidzin)、染料木素(genistein,又称金雀异黄素)、染料木甾(genistin)。大豆异黄酮主要以糖苷形式存在(97%~98%),苷元仅占2%~3%。大豆异黄酮糖苷在人体内主要由肠内菌丛产生的葡萄糖苷酶水解为苷元,苷元直接被吸收或者经代谢后再被吸收。但大豆异黄酮的结构与内源性雌二醇(E2)相似,可表现出雌激素样活性。作为暴露量最大的植物类雌激素,在发挥有益作用的同时可能产生的不良影响也不容忽视,其潜在毒性已成为国际学术界普遍关注的问题之一。现就大豆异黄酮的生物活性及毒理学研究进展进行综述和讨论,以期大豆异黄酮的生物活性及毒理学研究提供依据。

### 1 大豆异黄酮的生物活性作用及作用机理

#### 1.1 大豆异黄酮的生物活性

大豆异黄酮是结构与雌激素相似并具有雌激

素样作用的天然活性物质,故又叫植物雌激素(phytoestrogen)<sup>[1]</sup>,随着对大豆中有效成分研究的不断深入,大豆异黄酮的功能日益引起学术界的关注。美国食品与药品管理局(FDA)1996年批准大豆异黄酮作为功能食品上市,用于预防妇女心血管疾病和改善骨质疏松。我国目前已批准的大豆异黄酮保健食品共涉及9项保健功能,其中主要是增加骨密度以及抗氧化/延缓衰老2项功能。研究发现,大豆异黄酮可以有效地预防和缓解更年期妇女出现的更年期综合征,大豆异黄酮可与骨细胞上的雌激素受体结合,减少骨质流失,同时增加机体对钙的吸收,增加骨密度,故具有明显预防骨质疏松症的作用<sup>[2-3]</sup>。研究发现,大豆中的染料木黄酮、黄豆苷元、大豆黄素等植物雌激素能显著降低妇女结直肠癌和男性前列腺癌的发病率<sup>[4]</sup>。Xu等<sup>[5]</sup>调查发现摄入富含植物雌激素的豆制品与子宫内膜癌发生风险呈负相关,表明植物雌激素有助于预防子宫内膜癌发生。Lee等<sup>[6]</sup>发现大豆食物中的异黄酮类能显著降低妇女绝经前乳腺癌的发生率;Thanos等<sup>[7]</sup>在对加拿大妇女的调查研究中发现,青春食用富含大豆异黄酮的饮食能降低以后患乳腺癌的

收稿日期:2011-03-15

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(2007CB707805)。

第一作者简介:郭小虎(1987-),男,在读硕士,研究方向为生物活性物质的功能与毒理。

通讯作者:张波(1962-),女,博士,教授,研究领域为生物活性物质的功能与毒理学。E-mail:zhangbo@ygi.edu.cn。

风险。经口摄入大豆异黄酮能够显著改善绝经后妇女的血管内皮功能,能起到预防心血管疾病的作用<sup>[8-9]</sup>。研究表明大豆异黄酮还具有抗机体免疫力下降,抗菌消炎等作用<sup>[10]</sup>。最近 Nagata<sup>[11]</sup>指出,大豆异黄酮预防乳腺癌受大豆异黄酮的消耗量、摄取异黄酮的类别、个体雌激素水平和雌激素受体表达水平等多种因素的影响,这些影响因素的不同可能导致了不一致的结果。

## 1.2 大豆异黄酮的生物活性作用机理

大豆异黄酮抗肿瘤作用与其具有抑制肿瘤转移、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制基因的表达、抗氧化作用等多种生物活性有关。Magee 等<sup>[12]</sup>研究发现,大豆黄素、金雀异黄素、大豆苷元均能通过降低 VEGF 和 MMP 的表达来影响血管生成,发挥抑制细胞侵袭的作用。染料木素能抑制肿瘤细胞的黏附以及引起蛋白酪氨酸的磷酸化,并可能通过干扰细胞外基质信号的传导来影响细胞侵袭的起始,进而影响与细胞侵袭有关酶的活性等<sup>[13]</sup>。染料木素还可通过下调抑制 AKT, ERK, NF- $\kappa$ B and AP-1 的表达来抑制乳腺癌细胞的生长和引起乳腺癌细胞的凋亡<sup>[14]</sup>。大豆异黄酮通过影响肿瘤血管生成的关键因子 VEGF 及其受体的表达,从而抑制肿瘤的血管形成<sup>[15-16]</sup>。Tamura 等<sup>[17]</sup>发现大豆异黄酮可通过下调 Bcl-2 家族的抑凋亡蛋白 Bcl-2 和上调促凋亡蛋白 Bax 的表达,从而诱导肿瘤细胞的坏死和凋亡。染料木素还可以通过抑制 IKK 激酶的活性来影响 NF- $\kappa$ B 的激活从而诱导细胞凋亡<sup>[18]</sup>。

大豆异黄酮还可以改变基因的表达从而表现出预防肿瘤和抑制肿瘤生长的作用。Tominaga 等<sup>[19]</sup>发现,染料木素抑制 *BRCA1* 基因突变型细胞株的生长的作用较野生型细胞株明显;Privat 等<sup>[20]</sup>进一步研究发现这种抑制作用可能与 *BRCA1* 基因缺失后, *ER- $\beta$*  表达的上升有关,抑制 *BRCA1* 基因突变细胞的效应和 *ER- $\beta$*  基因高表达细胞类似,提示染料木黄酮可以抑制 *BRCA1* 突变型乳腺癌的发展。类黄酮不仅可作为直接的抗氧化剂防止细胞的氧化损伤,还可作为酶调节剂,通过信号通路抑制过量活性氧(ROS)的产生<sup>[21]</sup>。

## 2 大豆异黄酮的毒理学研究

### 2.1 大豆异黄酮对动物的毒理学

大鼠多代繁殖试验结果表明,孕鼠给予染料木素( $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )可引起  $F_1$ 、 $F_2$ 、 $F_3$  代雄鼠体重降低,肛门生殖器距离减小以及隐睾率增加等<sup>[22]</sup>。孕鼠灌胃给予  $0.1 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  染料木素,可增加新生大鼠血小板衍生生长因子受体

(PDGFR $\alpha$  和 PDGFR $\beta$ ) 的表达,提示可能导致睾丸发育紊乱,甚至损伤成年雄性大鼠的精子产生以及影响生殖力等<sup>[23]</sup>。染料木素以及大豆苷元作用于青春大鼠可导致其精子计数降低,并可影响成年后大鼠的勃起功能从而影响生殖力,但对成年大鼠的精子数量没有影响<sup>[24-26]</sup>。大豆异黄酮还能影响精子的顶体反应、抑制精子的活性,从而影响成年雄性动物的生殖功能<sup>[27]</sup>。一些研究还发现,给予 SD 大鼠大豆异黄酮( $0, 5, 100, 500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )引起  $F_1$ 、 $F_2$ 、 $F_3$  代雄鼠乳腺增生,并且这种作用能够持续 4 代<sup>[28]</sup>。

目前关于大豆异黄酮类化合物对雌性动物的毒理学研究主要集中在大豆异黄酮对卵巢、输卵管、子宫、阴道等的发育以及内分泌的影响方面。母鼠妊娠第 14 天到产后第 21 天时灌胃给予  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的染料木素,以及哺乳期母鼠通过喂饲豆奶补充大豆异黄酮,结果均发现子代雌鼠在 2 月龄时子宫腺上皮的子宫内膜的孕酮受体表达显著增加<sup>[29]</sup>。子代雌性小鼠出生后 1~5 d 皮下注射  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  染料木素,18 月龄时卵巢发生黄体缺失,输卵管出现进行性增殖,子宫发生囊样变性、鳞状化生和非典型增生,并出现子宫内膜增生<sup>[30]</sup>,表明大豆异黄酮早期暴露可影响动物性器官的发育。大鼠长期摄入含大豆异黄酮的食物,会影响雌激素的应激水平,进而影响内分泌系统,可能与增加肿瘤风险密切相关<sup>[31]</sup>。另一项研究表明,对出生后 1~5 d 的大鼠饲喂染料木素( $12.5 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),发现高剂带量染料木素会引发青春后期雌鼠出现生殖功能异常,子宫和卵巢也有明显的病理变化<sup>[32]</sup>。尹艳云等<sup>[33]</sup>的研究也表明,雌鼠妊娠期间饲喂含  $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  大豆异黄酮的饲料会显著影响其雌性后代的初情期、生殖器官的发育以及血清雌激素的含量等,而在非妊娠期饲喂含大豆异黄酮饲料对  $F_1$  代无显著影响。

### 2.2 大豆异黄酮对人体的毒理学研究

关于大豆异黄酮潜在毒性的流行病学资料较少,研究主要涉及子代生殖系统的疾病。以 7 928 例孕妇为试验对象,研究人员发现,经常喝豆奶或吃黄酮含量高的食品的孕妇,其后代男婴尿道下裂发生率分别为 2.2% 和 1.8%,发生尿道下裂的危险性分别是对照组的 3.67 倍和 3 倍。研究人员推断大豆异黄酮类植物雌激素可能会在人体内模拟雌激素作用,超过基准的雌激素含量会抑制睾酮生成,进而导致出现尿道下裂<sup>[34]</sup>。另外的研究还表明,以大豆配方食品喂养的婴儿血浆中大豆异黄酮含量为  $980 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,是刚出生时血浆雌二醇浓度

的 13 000 ~ 22 000 倍。即便大豆异黄酮的拟/抗雌激素作用较弱(例如染料木素的雌激素活性仅有雌二醇的  $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-3}$ )也可能无法排除其在婴儿体内发挥生物作用的可能性。因此大豆异黄酮对婴儿的潜在毒性作用可能会在其青春期或生命后期甚至下一代中表现出来。

## 2.2 大豆异黄酮的毒性机理

目前,大豆异黄酮的毒理学研究主要涉及对遗传物质的损伤以及对生长发育的影响方面。试验结果表明,大豆异黄酮能引起培养的小鼠淋巴瘤细胞 L5178Y 微核率以及染色体畸变率增加<sup>[35]</sup>。大豆异黄酮慢性暴露能引起人乳腺癌细胞 MCF-10A 细胞染色体断裂、缺失以及重复,影响肿瘤抑制因子的表达,如人乳腺癌细胞 MCF-10A 细胞培养在含  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  染料木素的培养基中 3 个月后,遗传物质的稳定性被破坏,表现在第 8 号染色体丢失,第 20 号染色体重复,第 9 号染色体短臂缺失,从而导致纯合子肿瘤抑制因子 CDKN2A 以及 CDKN2B 的缺失,即长时间低剂量染料木素可引起细胞染色体损伤,这可能是大豆异黄酮的毒性机理之一<sup>[36]</sup>。高剂量的染料木素能引起培养的细胞彗星尾加长、染色体畸变,人类精子和淋巴细胞染色体畸变<sup>[37-40]</sup>, Lynch 等<sup>[41]</sup>研究发现染料木素导致双核淋巴细胞微核数量增加并推测染色体断裂作用可能是由于染料木素抑制拓扑异构酶 II 的活性所致。最近的研究报道,染料木素干扰了跨膜激素黄体酮受体(luteinizing hormone receptors, LHR)与 G 蛋白的结合, LHR 与 G 蛋白的解偶联作用影响了腺苷酸环化酶的功能,从而影响睾丸间质细胞的功能<sup>[42]</sup>。染料木素还可通过激活 Akt 信号途径以及激活促分裂素原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK),从而刺激睾丸间质细胞的分裂,来弥补成年后雄激素分泌不足造成的间质细胞的减少<sup>[43]</sup>。

## 3 展 望

近年来,对于大豆异黄酮的研究大多数集中在其药理、保健等功能作用方面,而对这些物质可能存在的毒副作用缺乏全面系统的研究。关注其功能以及安全剂量范围并合理的使用才能发挥其功效而避免副作用。随着食品安全问题日益成为大众关注的焦点,有必要深入研究大豆异黄酮产生生理调节功能的剂量以及作用机理,尤其是产生毒作用的含量以及作用机理,为其合理的使用提供参考。

## 参考文献

[1] Ishimi Y, Takano F, Yamauchi J, et al. Study on food labeling and

the content of soybean isoflavones in health foods[J]. Japanese Journal of Nutrition and Dietetics, 2009, 67(2): 49-57.

- [2] Peterson C A, Schnell J D, Kubas K L, et al. Effects of soy isoflavone consumption on bone structure and milk mineral concentration in a rat model of lactation-associated bone loss[J]. European Journal of Nutrition, 2009, 48(2): 84-91.
- [3] Li S H, Liu X X, Bai Y Y, et al. Effect of oral isoflavone supplementation on vascular endothelial function in postmenopausal women: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2010, 91(2): 480-486.
- [4] Ward H A, Kuhnle G G, Mulligan A A, et al. Breast, colorectal, and prostate cancer risk in the European Prospective Investigation into cancer and nutrition-norfolk in relation to phytoestrogen intake derived from an improved database[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2010, 91(2): 440-448.
- [5] Xu W H, Zhang W, Xiang Y B, et al. Soy food intake and risk of endometrial cancer among Chinese women in Shanghai: population based case-control study[J]. British Medical Journal, 2004, 328: 1285-1289.
- [6] Lee S A, Shu X O, Li H L, et al. Adolescent and adult soy food intake and breast cancer risk: results from the Shanghai women's health study[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2009, 89(6): 1920-1926.
- [7] Thanos J, Cotterchio M, Boucher B A, et al. Adolescent dietary phytoestrogen intake and breast cancer risk (Canada)[J]. Cancer Causes and Control, 2009, 90(5): 1172-1178.
- [8] Li S H, Liu X X, Bai Y Y, et al. Effect of oral isoflavone supplementation on vascular endothelial function in postmenopausal women: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2010, 91(2): 480-486.
- [9] Hooper L, Ryder J J, Kurzer M S, et al. Effects of soy protein and isoflavones on circulating hormone concentrations in pre-and postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis[J]. Human Reproduction Update, 2009, 15(4): 423-40.
- [10] Sakai T, Kogiso M. Soy isoflavones and immunity[J]. The Journal of Medical Investigation, 2008, 55: 167-173.
- [11] Nagata C. Factors to consider in the association between soy isoflavone intake and breast cancer risk[J]. Journal of Epidemiology, 2010, 20(2): 83-89.
- [12] Magee P J, Hugh M G, Rowland I R. Differential effects of isoflavones and lignans on invasiveness of MDA-MB-231 breast cancer cells *in vitro*[J]. Cancer Letters, 2004, 208(1): 35-41.
- [13] Yu Z L, Tang Y N, Hu D S, et al. Inhibitory effect of genistein on mouse colon cancer MC-26 cells involved TGF-beta1/Smad pathway[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, 333(3): 827-832.
- [14] Gong L, Li Y, Nedeljkovic-Kurepa A, et al. Inactivation of NF-kappaB by genistein is mediated via Akt signaling pathway in breast cancer cells[J]. Oncogene, 2003, 22: 4702-4709.
- [15] Polkowski K, Mazurek A P. Biological properties of genistein: A review of *in vitro* and *in vivo* data[J]. Polonae Pharmaceutica-Drug Research, 2000, 57(2): 135-155.
- [16] Kim M H. Flavonoids inhibit VEGF/BFGF induced angiogenesis

- in vitro by inhibiting the matrix-degrading proteases[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2003, 89(3): 529-538.
- [17] Tamura S, Bito T, Ichihashi M, et al. Genistein enhances the cisplatin-induced inhibition of cell growth and apoptosis in human malignant melanoma cells[J]. Pigment Cell Research, 2003, 16(5): 470-476.
- [18] Banerjee S, Li Y W, Wang Z W, et al. Multi-targeted therapy of cancer by genistein[J]. Cancer Letter, 2008, 269(2): 226-242.
- [19] Tominaga Y, Wang A, Wang R H, et al. Genistein inhibits Brcal mutant tumor growth through activation of DNA damage checkpoints, cell cycle arrest, and mitotic catastrophe[J]. Cell Death and Differentiation, 2007, 14(3): 472-479.
- [20] Privat M, Aubel C, Arnould S, et al. Breast cancer cell response to genistein is conditioned by BRCA1 mutations[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 379(3): 785-789.
- [21] Gutierrez M C, Lopez S C, Lagoa R, et al. Neuroprotective actions of flavonoids [J]. Current Medicinal Chemistry, 2011, 188: 1195-1212.
- [22] Astrid G Z, Ross S, Wu Z X, et al. Soy isoflavone glycitein protects against beta amyloid-induced toxicity and oxidative stress in transgenic *Caenorhabditis elegans* [J]. BMC Neuroscience, 2005, 6: 54-62.
- [23] Delclos K, Bucci T, Lomax L, et al. Effects of dietary genistein exposure during development on male and female SD(Sprague-Dawley) rats[J]. Reproductive Toxicology, 2001, 15(6): 647-663.
- [24] Lee B J, Jung E Y, Yun Y W, et al. Effects of exposure to genistein during pubertal development on the reproductive system of male mice[J]. Journal of Reproduction and Development, 2004, 5(4): 399-409.
- [25] Lee B J, Kang J K, Jung E Y, et al. Exposure to genistein does not adversely affect the reproductive system in adult male adapted to a soy based commercial diet [J]. Journal of veterinary science, 2004, 5(3): 227-234.
- [26] Pan L J, Xia X Y, Feng Y, et al. Exposure of juvenile rats to the phytoestrogen daidzein impairs erectile function in a dose-related manner in adulthood [J]. Journal of Andrology, 2008, 29(1): 55-62.
- [27] Tao J, Zhang Y, Li S, et al. Tyrosine kinase-independent inhibition by genistein on spermatogenic T-type calcium channels attenuates mouse sperm motility and acrosome reaction [J]. Cell Calcium, 2009, 45(2): 133-143.
- [28] John R L, Thomas J B, Greg O, et al. Genistein and ethinyl estradiol dietary exposure in multigenerational and chronic studies induce similar proliferative lesions in mammary gland of male Sprague Dawley rats[J]. Reproductive Toxicology, 2009, 28(3): 342-353.
- [29] Claude L H, Liu G T, Stephanie B, et al. Effects of genistein or soy milk during late gestation and lactation on adult uterine organization in the rat[J]. Experimental biology and medicine, 2004, 229(1): 108-117.
- [30] Newbold R, Banks E, Bullock B, et al. Uterine adenocarcinoma in mice treated neonatally with genistein[J]. Cancer Research, 2001, 61(11): 4325-4328.
- [31] Möller F, Diel P, Zierau O, et al. Long-term dietary isoflavone exposure enhances estrogen sensitivity of rat uterine responsiveness mediated through estrogen receptor  $\alpha$  [J]. Toxicology Letters, 2010, 196(3): 142 - 153.
- [32] Nagao T, Yoshimura S, Saito Y, et al. Reproductive effects in male and female rats of neonatal exposure to genistein[J]. Reproductive Toxicology, 2001, 15(4): 399-411.
- [33] 尹艳云, 刘京威, 鲍文玉, 等. 饲喂雌鼠大豆异黄酮对后代雌性生殖性状的影响[J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(4): 299-302. (Yin Y Y, Liu J W, Bao W Y, et al. Effect of feeding female mice with soy isoflavones on some reproductive physiological characteristics of their female offspring[J]. Acta laboratorum Animalis Scientia Sinica, 2009, 17(4): 299-302. )
- [34] North K, Golding J. A maternal vegetarian diet in pregnancy is associated with hypospadias [J]. BJU International, 2000, 85(1): 107-113.
- [35] Chang H, Mi M T, Ling W H, et al. Structurally related cytotoxic effects of flavonoids on human cancer cells in vitro[J]. Archives of pharmacological research, 2008, 31(9): 1137-1144.
- [36] Kim, Y M, Yang S, Xu W, et al. Continuous in vitro exposure to low-dose genistein induces genomic instability in breast epithelial cells[J]. Cancer Genetics and Cytogenetics, 2008, 186: 78-84.
- [37] Beatrice L P, Herman A, Michael G, et al. Isoflavonoids and lignans have different potentials to modulate oxidative genetic damage in human colon cells[J]. Carcinogenesis, 2000, 21: 1247-1252.
- [38] Michael M C, Wolz E, Davidovich A, et al. Genetic toxicity studies with genistein [J]. Food and Chemical Toxicology, 2006, 44: 42-55.
- [39] Anderson D, Dobrzynska M M, Basaran N. Effect of various genotoxins and reproductive toxins in human lymphocytes and sperm in the comet assay[J]. Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis, 1997, 17(1): 29-43.
- [40] Kulling S E, Rosenberg B, Jacobs E, et al. The phytoestrogens coumestrol and genistein induce structural chromosomal aberrations in cultured human peripheral blood lymphocytes[J]. Archives Toxicology, 1999, 73(1): 50-54.
- [41] Lynch A, Harvey J, Aylott M, et al. Mutagenesis. Investigations into the concept of a threshold for Topoisomerase inhibitor-induced [J]. Clastogenicity, 2003, 18(4): 345-353.
- [42] Hancock K D, Coleman E S, Tao Y X, et al. Genistein decreases androgen biosynthesis in rat Leydig cells by interference with luteinizing hormone-dependent signaling [J]. Toxicology Letter, 2009, 184(3): 169-175.
- [43] Sherrill J D, Sparks M, Dennis J, et al. Developmental exposures of male rats to soy isoflavones impact leydig cell differentiation[J]. Biology of Reproduction, 2010, 83(6): 488-501.