

## 综述

## 大豆异黄酮内分泌干扰毒性研究进展

张文众 李 宁

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021)

**摘 要:**大豆异黄酮在食品工业中广泛应用,作为暴露量最大的植物雌激素,其内分泌干扰毒性受到了广泛关注。本文从大豆异黄酮对雌性动物和雄性动物影响的角度进行分析,全面综述了大豆异黄酮对未成年和成年动物的内分泌干扰毒性特点,以及人群流行病学研究资料。

**关键词:**大豆异黄酮;生殖毒性;发育毒性;内分泌干扰物;动物

**中图分类号:** S565.1; S481.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2010)01-0081-03

### Advances on the Study of Endocrine Disrupting Toxicity of Soy Isoflavones

ZHANG Wen-zhong, LIN ing

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100021, China)

**Abstract:** Soy isoflavones (SIF) have been used broadly in food industry. As a major phytoestrogen exposed to human, the endocrine disrupting toxicity of SIF were concerned. Studies on the endocrine disrupting toxicity of SIF in immature animals, mature animals and human epidemiology were summarized.

**Key words:** Soy Isoflavones; Preconception Injuries; Reproductive Toxicology; Endocrine Disruptors; Animals

大豆异黄酮(soy isoflavones, SIF)是大豆等豆科植物生长过程中形成的植物化学物,已知大豆中的异黄酮共有12种异构体,3种苷元为染料木素(genistein, GEN)、大豆黄素(daidzein, DAI)和黄豆黄素(glycitein, GLY),其余9种为葡糖苷。SIF广泛存在于豆荚类植物中,大豆中的含量尤为丰富,每100克大豆约含14~153 mg SIF,其中97%~98%以糖苷形式存在,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。由于SIF的结构与内源性雌二醇(E<sub>2</sub>)相似故可表现出雌激素样活性。SIF在食品工业(尤其是保健食品)中应用广泛,作为暴露量最大的植物雌激素,其内分泌干扰毒性受到了广泛关注。本文对SIF的未成年和成年动物毒性及人群流行病学资料进行了全面综述。

## 1 对未成年动物内分泌干扰毒性

### 1.1 对雌性动物的影响

SIF可以对雌性动物生长发育过程的性别分

化、性器官发育和性功能产生影响。肌动蛋白(actin)对形态学发育具有重要作用,分子水平研究表明,孕鼠饲料添加2%的大豆异黄酮即可导致子代肌动蛋白启动子区的甲基化受抑制,提示从进化的角度消费大量的SIF对个体发育过程中的外在的体征、性成熟和整个生命过程都可能产生影响<sup>[1]</sup>。

1.1.1 影响性器官发育 研究表明不同发育期动物暴露于SIF可影响性器官发育,表现为卵巢、输卵管、子宫、阴道和内分泌器官的异常。母鼠妊娠第14天到产后第21天时灌胃给予15 mg/kg的GEN,哺乳期母鼠通过喂饲豆奶暴露于SIF,结果均发现子代在2月龄时子宫腺上皮的子宫内膜的孕酮受体(PgR)表达显著增加<sup>[2]</sup>。子代雌性小鼠出生后1~5 d皮下注射50 mg/kg GEN,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>[3]</sup>。青春期前雌性大鼠连续3 d灌胃给予SIF,大鼠即可出现子宫和阴道增生;妊娠期母鼠和断乳至出生后50 d喂饲GEN(每公斤饲料中含1250毫克),可致雌性大鼠的垂体体重比增加<sup>[4]</sup>。用含SIF饲料(0.3 g/kg)喂饲孕鼠可导致雌性仔鼠的肛门生殖器间距增大,提示低剂量SIF的早期暴露可影响动物性器官的发育<sup>[5]</sup>。

1.1.2 影响性功能 未成年雌性动物暴露于SIF可影响卵泡发育、排卵功能、动情周期和性器官的成

收稿日期:2009-04-20

基金项目:国家十五科技攻关重大项目(2006BAK02A07)

作者简介:张文众 男 博士生 助理研究员 研究方向为营养与食品卫生 E-mail: zhangwz2002@sina.com.cn

通信作者:李 宁 女 博士生导师 研究员

熟。雌性大鼠围产期喂饲 GEN (每公斤饲料中含 1250毫克), 导致雌性子代的动情周期动情间期延长<sup>[6]</sup>。妊娠期小鼠皮下注射 0.5和 10 mg/kg GEN, 导致子代青春期提前, 动情间期和整个动情周期延长, 有 33%的子代鼠在 4周龄时表现出卵巢黄体缺乏和阴道上皮细胞角化<sup>[7]</sup>。雌性小鼠在出生后 1~5 d皮下注射 0.5、5.0、50.0 mg/kg GEN, 在出生后第 19天两高剂量组小鼠的卵巢不同程度地出现多卵卵泡, 而且多卵卵泡的发生率随 GEN剂量的增加而增加; 在出生后 21 d断乳后用促性腺激素诱导小鼠超排卵, 结果发现 0.5 mg/kg GEN 剂量组促进排卵, 而两个高剂量组 GEN 则对超排卵呈抑制作用<sup>[8]</sup>。多代繁殖试验显示, 多代连续暴露后, 7 mg/kg染料木素可以延迟雌性子代的月经期, 35 mg/kg可以导致子代乳腺增生和肾小管扩张<sup>[9]</sup>。小鼠灌胃给予 470 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>的 GEN, 导致不孕率增加, 生育率减少, 每胎的子代数量减少<sup>[10]</sup>。

## 1.2 对雄性动物的影响

SIF对雄性动物性器官发育、下丘脑-垂体-性腺轴和性功能产生影响。血小板衍生生长因子受体 (PDGFR)对大鼠的睾丸发育具有重要作用, 孕鼠灌胃给予 0.1~10 mg/kg GEN, 可增加新生大鼠 PDGFR 和 PDGFR 的表达, 提示可能导致睾丸发育紊乱、损伤成年雄性大鼠的精子产生及其生殖力<sup>[11]</sup>。妊娠期母鼠和断乳至出生后 50 d喂饲 GEN (每公斤饲料中含 1250毫克), 可致雄性大鼠的前列腺重量降低, 动物生精延迟或缺失, 可引起雄性大鼠的垂体/体重比增加<sup>[4]</sup>。

在多代繁殖试验中 (宫内暴露、F1、F2和 F3) GEN对大鼠产生生殖/发育毒性, 雌性表现为体重降低、阴道开口时间提前、肛门生殖器距离减小和动情周期紊乱, 可观察到损害作用的最低剂量 (lowest observed adverse effect level, LOAEL) 为 44 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>; 对雄性表现为体重降低、生殖器肛门距离增加、隐睾率增加, LOAEL 为 35 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup><sup>[12]</sup>。

## 2 对成年动物的内分泌干扰毒性

### 2.1 对成年雌性动物的影响

尽管成年雌性动物自身的雌激素水平较高, SIF仍然可以产生内分泌干扰效应。如迟晓星等<sup>[13]</sup>在试验中连续 6周给予 2月龄青春期大鼠 100、200和 300 mg/kg大豆异黄酮, 结果发现大豆异黄酮影响动物体重, 但是差异无统计学意义; 各剂量组比对照组的脾/体比显著降低, 病理组织学检查未发现异常。但是由于该试验饲料未采用去大豆异黄酮配方, 对

对照组的饲料也含有大豆异黄酮, 因此对照组和受试物组可比性差。GEN的雌激素效应对动情周期和激素相关自发性肿瘤也有影响, 如以 5、100和 500 mg/kg GEN 为受试物的致癌试验虽然未发现 GEN致癌的确切证据, 但是对于乳腺癌和腺癌的发生可能具有联合作用<sup>[14]</sup>。

### 2.2 对成年雄性动物的影响

SIF影响雄性激素相关受体表达和激素代谢相关酶的活性。如体外研究表明 GEN抑制前列腺癌细胞系雄激素受体的表达<sup>[15]</sup>。GEN对促黄体素受体具有干扰作用, 通过受体干扰最终会影响到依赖睾丸间质细胞 (leydig) 雄性睾酮的合成<sup>[16]</sup>。SIF和 GEN抑制酪氨酸激酶和类固醇合成酶超家族, 对类固醇激素的代谢产生影响。对中年雄性大鼠皮下注射 30 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> GEN, 可以促进肾上腺皮质睾酮的释放抑制肾上腺皮质素和醛固酮的分泌<sup>[17]</sup>。

此外, SIF影响成年雄性动物的性功能。GEN抑制精子活性和精子顶体反应<sup>[18]</sup>。每组 5只雄性 SD大鼠分别给予 2、20和 100 mg/kg大豆黄素, 连续给予 90 d, 结果发现 20 mg/kg的大豆黄素即可导致阴茎的平滑肌细胞和弹性纤维数量明显减少, 勃起功能障碍<sup>[19]</sup>。另外有研究表明, GEN对雄性大鼠的生殖系统造成不可逆的改变。例如, 成年大鼠喂饲 GEN (每公斤饲料中含 900毫克), 6周后大鼠睾丸和附睾明显变小、乳腺显著增生; 给成年大鼠灌胃 480 mg/kg GEN, 持续 2个月可使大鼠精子活度下降<sup>[20]</sup>。3 大豆苷元磺酸钠 (DSS) 是利用磺化反应对大豆苷元进行结构修饰和改性后, 新合成的强水溶性的大豆苷元磺化物。DSS对丙酸睾酮所致小鼠良性前列腺增生具有明显的抑制作用, 使前列腺湿重减轻。形态学检查显示, 连续 12 d给予小鼠 40 mg/kg DSS能明显抑制前列腺增生, 而且其腺体结构已接近正常对照组, 血清睾酮和雌二醇水平、睾酮/雌二醇的比值明显降低<sup>[21]</sup>。以上研究均提示 SIF对雄性动物可能具有抗雄激素作用。

同时也有研究提示, GEN的内分泌干扰毒性效应并不明显或只是功能性影响。如最高剂量为 1000 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> GEN的雄性大鼠 4周喂养试验中, 未影响血清中的激素水平、生殖器官的重量和组织病理学、精子的活性, 即未观察到损害作用水平 (no observable adverse effect level, NOAEL) 为 1000 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup><sup>[22]</sup>。以 GEN为受试物为期两年的喂养试验中, 50 mg/kg GEN可对生殖系统产生可逆的功能性影响, 500 mg/kg GEN对肝脏具有轻微的毒性, 表现为胆管增生和谷氨酰转移酶活性增加<sup>[23]</sup>。

### 3 人群流行病学

我国第五次营养调查的数据显示,大豆及其制品摄入量为 5~20 g。亚洲成人暴露水平约为 0.1~1 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,目前无大豆异黄酮影响人类健康的报道;对婴幼儿大豆配方奶粉的研究也未发现不良效应<sup>[24]</sup>。

目前各项研究中使用的大豆异黄酮相关制品有合成品和提纯品,受试物的组分和纯度不同,毒性效应剂量也各不相同,但有许多研究具有共性,即大剂量的 SIF 对未成年动物的内分泌干扰毒性比较明显,大剂量的 SIF 长期暴露可对成年动物产生生殖毒性。但是目前尚不清楚 SIF 内分泌干扰毒性机制,有必要从下丘脑-垂体-性腺轴和神经-内分泌的角度展开系统研究,为 SIF 的合理科学利用提供科学依据。

### 参考文献

- [1] GUERRERO-BOSAGNA C, SABAT P, VALDOV NOS F, et al Epigenetic and phenotypic changes result from a continuous pre and post natal dietary exposure to phytoestrogens in an experimental population of mice[J]. BMC Physiol, 2008, 8: 17.
- [2] HUGHES C, LU G, BEALL S, et al Effects of genistein or soy milk during late gestation and lactation on adult uterine organization in the rat[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2004, 229 (1): 108-117.
- [3] NEWBOLD R, BANKS E, BULLOCK B, et al Uterine adenocarcinoma in mice treated neonatally with genistein [J]. Cancer Res, 2001, 61 (11): 4325-4328.
- [4] DELCLOS K, BUCCI T, LOMAX L, et al Effects of dietary genistein exposure during development on male and female CD (Sprague-Dawley) rats[J]. Reprod Toxicol, 2001, 15 (6): 647-663.
- [5] CASANOVA M, YOU L, GA DO K, et al Developmental effects of dietary phytoestrogens in Sprague-Dawley rats and interactions of genistein and daidzein with rat estrogen receptors alpha and beta in vitro[J]. Toxicol Sci, 1999, 51 (2): 236-244.
- [6] TAKAGIH, SH BUTANIM, LEE K, et al Lack of modifying effects of genistein on disruption of the reproductive system by perinatal dietary exposure to ethinylestradiol in rats[J]. Reprod Toxicol, 2004, 18 (5): 687-700.
- [7] NIKADO Y, YOSHIZAWA K, DANBARA N, et al Effects of maternal xenoestrogen exposure on development of the reproductive tract and mammary gland in female CD-1 mouse offspring [J]. Reprod Toxicol, 2004, 18: 803-811.
- [8] JEFFERSON W, COUSE J, PADLLA-BANKS E, et al Neonatal exposure to genistein induces estrogen receptor (ER) alpha expression and multicyte follicles in the maturing mouse ovary: evidence for ERbeta-mediated and nonestrogenic actions[J]. Biol Reprod, 2002, 67 (4): 1285-1296.
- [9] National Toxicology Program. NTP multigenerational reproductive study of genistein (CAS No. 446-72-0) in Sprague-Dawley rats (Feed Study) [J]. Natl Toxicol Program Tech Rep Ser, 2008, 539: 1-266.
- [10] EAST J. The effect of genistein on the fertility of mice [J]. J Endocrinol, 1955, 13: 94-100.
- [11] THULLIER R, WANG Y, CULTY M. Prenatal exposure to estrogenic compounds alters the expression pattern of platelet-derived growth factor receptors alpha and beta in neonatal rat testis: identification of gonocytes as targets of estrogen exposure [J]. Biol Reprod, 2003, 68 (3): 867-880.
- [12] National Center for Toxicological Research. Genistein: Evaluation of reproductive effects over multiple generations [Volume I] and the chronic effects [Volume II] of exposure during various life states[M]. Jefferson AR: NCTR, 2005.
- [13] 迟晓星,张涛,崔洪斌.大豆异黄酮对青年雌性大鼠的副作用研究[J].食品科技,2008(2):246-248.
- [14] National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of genistein (CAS No. 446-72-0) in Sprague-Dawley rats (Feed Study) [J]. Natl Toxicol Program Tech Rep Ser, 2008, 545: 1-240.
- [15] BASAK S, POKOT D, NOONAN E, et al Genistein down-regulates androgen receptor by modulating HDAC6-Hsp90 chaperone function[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7 (10): 3195-3202.
- [16] HANCOCK K, COLEMAN E, TAO Y, et al Genistein decreases androgen biosynthesis in rat Leydig cells by interference with luteinizing hormone-dependent signaling [J]. Toxicol Lett, 2008, 11: 18.
- [17] AJDZANOVIC V, SOSIC-JURJEVIC B, FLIPOVIC B, et al Genistein-induced histomorphometric and hormone secreting changes in the adrenal cortex in middle-aged rats [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2008, 12: 8.
- [18] 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, 2008, 9: 11.
- [19] HUANG Y, PAN L, XIA X, et al Long-term effects of phytoestrogen daidzein on penile cavernosal structures in adult rats [J]. Urology, 2008, 72 (1): 220-224.
- [20] 李丽,刘兆平,严卫星.大豆异黄酮毒性作用研究进展 [J].国外医学卫生学分册,2005,32(6):338-342.
- [21] 黄玉珊,曾清,黄玉萍,等.3'大豆苷元磷酸钠抗实验性小鼠良性前列腺增生的作用观察 [J].中华男科学,2007,13(5):387-390.
- [22] OKAZAKI K, OKAZAKI S, NAKAMURA H, et al A repeated 28-day oral dose toxicity study of genistein in rats, based on the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening endocrine-disrupting chemicals [J]. Arch Toxicol, 2002; 76: 553-559.
- [23] MICHAEL M, ERICH W, ALBERTO D, et al Acute, subchronic and chronic safety studies with genistein in rats Food and Chemical Toxicology [J]. 2006, 44: 56-80.
- [24] National Toxicology Program. Ceahr expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of soy formula [J]. NTP-Ceahr-Soy Formula, 2006.