

原 著

植物発酵食品の抗腫瘍効果と肺転移に及ぼす影響

木村 善行・松浦 幸永・奥田 拓道

愛媛大学医学部医化学第二教室

Key words : 植物発酵食品, 抗腫瘍効果, 肺転移, ルイス肺癌細胞移植マウス

序 言

現在, 我が国の疾病による死亡率の第1位は悪性腫瘍である。癌の治療は, 外科手術後の放射線療法や癌化学療法が主に試みられているが, 完全治癒には副作用との兼ね合いで治療に長時間を要する。癌患者の Quality of Life (QOL) の面からも問題の一つとなっている。また, 癌の治療中・治療後の癌の再発が転移癌という形で起こることも临床上の大きな問題点となっている。

大豆を原料とした発酵食品(味噌や醤油)や乳汁の発酵食品 ヨーグルトやチーズは保存食品としての用途以外に体力の回復や健康を維持することはよく知られている。これらの発酵食品や天然物の機能としては活性酸素の消去作用や免疫調節機能が報告されている¹⁻³⁾。

植物発酵食品万田酵素は茶褐色のエキスで, 黒糖種実や柑橘類を主原料として多段階的発酵過程によって製造された発酵食品である⁴⁾。

植物発酵食品万田酵素の機能に関する研究として, 万田酵素のフリーラジカル消去作用⁴⁾, 四塩化炭素誘発肝障害に対する防御作用⁵⁾, 抗腫瘍効果⁶⁾およびナチュラルキラー(NK)活性増強や Lymphokine - activated killer (LAK) 活性増強の免疫増強作用⁶⁾が報告されている。

本研究において, ルイス肺癌細胞 (Lewis

Lung Carcinoma=LLC) 移植マウスに対する植物発酵食品万田酵素の抗腫瘍効果と共に肺への癌転移に対する有無を検討した。

実験材料および方法

1. 実験動物

5週齢の C57BL/6 雌性マウスを日本クレア(株)から購入し, 12時間交替の照明下, 温度23±2℃に調節した飼育室で1週間予備飼育した後, 健康なマウスを実験に使用した。

2. 被験体

植物発酵食品万田酵素は万田発酵(株)から供与されたものを用いた, 万田酵素の原料組成およびその発酵過程の製造方法は Table 1 および Fig.1 に示した。

3. 癌細胞

ルイス肺癌(LLC)細胞は理化学研究所から分与され, 当教室において10%牛血清(FBS), ペニシリン(100Units), ストレプトマイシン(100 μg/ml) およびアンフォテリシン B (0.25 μg/ml) 含有Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) で継代維持したものを用いた。

4. ルイス肺癌細胞移植マウスにおける万田酵

素投与による原発巣癌容積量, 体重, 脾臓および胸腺重量の測定

動物を1群4~6匹, 3群構成し, 1匹当た

Table 1 植物発酵食品万田酵素の主要原材料

	原材料	含有比率(%)
大粒果実	リンゴ, 柿, パンナ, ハインアッフル	22.3
小粒果実	アセビ, マタビ, イシク, アトウ, 山桃等	3.8
柑橘類	ネーブル, ハツク, ミカン, 夏ミカ, ユズ等	14.0
根菜類	ゴボウ, ニンジン, ニンク, レンコン等	5.3
穀類	玄米, モチ米, 麦, 米等	8.1
豆・ゴマ類	大豆, 黒ゴマ, 白ゴマ	5.2
海草類	昆布, ヒジキ, 海苔	5.3
糖類	黒糖等	33.4
その他	蜂蜜, でんぷん等	2.6

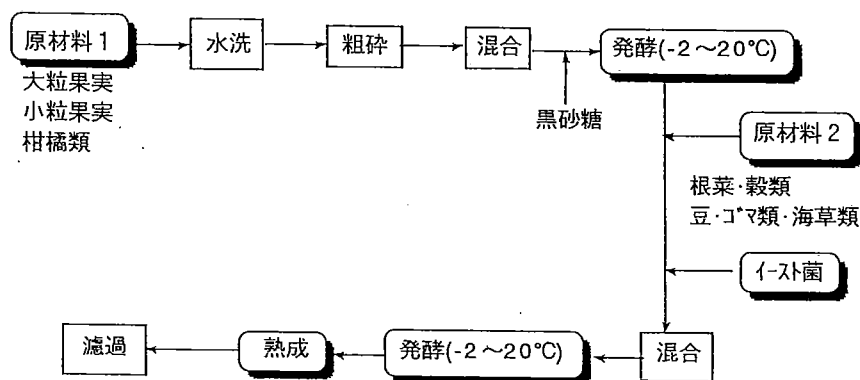


Fig.1 Schematic diagram of preparation of fermentive food Manda

り 1.0×10^6 細胞数/100 μ lを右後足皮下に移植した。癌移植12時間後から、万田酵素0.1ml/マウスを朝(a.m.7:00)と夕(p.m.7:00)2回、24日間投与し、2日毎に体重推移および3~4日毎に癌容積量を測定した。癌容積量は長径 \times 短径 \times 深さ/2(mm³)で算出し、癌の移植していない左後足の容積量を差し引いて求めた。25日目に各群のマウスをエーテル麻酔下、頸椎脱臼にて屠殺し、肺を摘出し、癌転移の有無を確認し、さらに各動物の脾臓および胸腺重量を測定した。

5. 統計処理

結果はすべて平均値 \pm 標準誤差で表示した。

各群の有意差検定はAnovaによる検定後、Scheffe's testによって $p < 0.05$ を有意とした。

実験結果

1. ルイス肺癌細胞(LLC)担癌マウスでの体重推移に及ぼす植物発酵食品万田酵素の影響
Fig.2に示すように、正常動物の初体重は 17.8 ± 0.36 g(平均値 \pm 標準誤差で表示)で、最終体重は 20.1 ± 0.37 gであった。LLC移植マウスの初体重は 18.0 ± 0.19 gで、最終体重は 19.1 ± 0.82 gであった。両群間において有意な差は認められなかった。

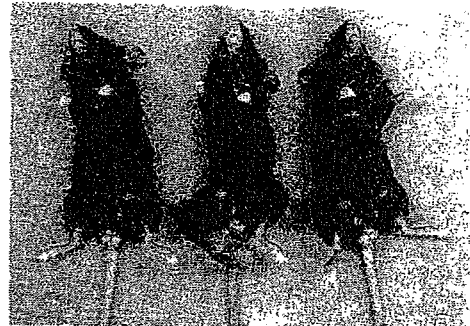
また、植物発酵食品万田酵素投与群の初体重は $18.0 \pm 0.23\text{g}$ で、最終体重は $20.2 \pm 0.40\text{g}$ で、正常群、LLC 移植マウス群との間に何ら有意な差は認められなかった。

2. ルイス肺癌細胞 (LLC) 担癌マウスでの原発巣癌容積量に及ぼす植物発酵食品万田酵素の影響

Fig.3および Fig.4に示すように、LLC 担癌マウス群の原発巣癌の容積は経日と共に増加する事を見出した。この系に植物発酵食品万田酵素を連日投与すると原発巣癌の容積は経日と共に有意差をもって抑制された。

3. ルイス肺癌細胞(LLC)担癌マウス癌細胞の肺転移に及ぼす植物発酵食品万田酵素の影響

Table 2に示すように、ルイス肺癌移植マウスにおいて4/6 (66.7%) の高頻度で肺への転移が認められた。植物発酵食品万田酵素投与によって、ルイス肺癌細胞の右後足の原発巣から肺への転移出現は1/5 (20%) に抑制された。



Normal. LLC-bearing mice + Fermentive Food (Manda) (0.1ml x 2/mice)

Fig.3 Antitumor Effects of Fermentive Food Manda in Lewis Lung Carcinoma (LLC)-bearing C57BL/6 Mice

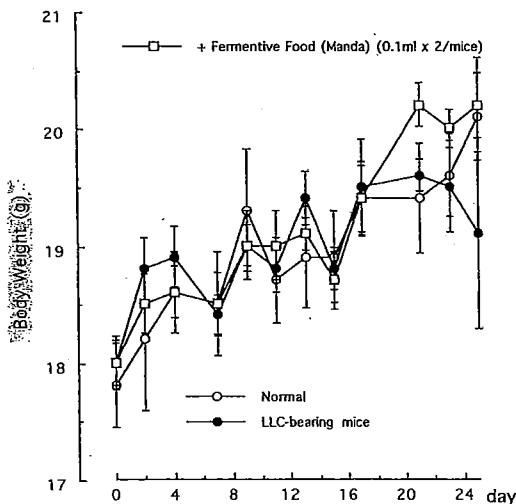


Fig.2 Effects of Fermentive Food Manda on the Changes of Body Weight in Lewis Lung Carcinoma(LLC)-bearing C57BL/6 Mice. Values are expressed as means \pm S. E. of 4-6 mice.

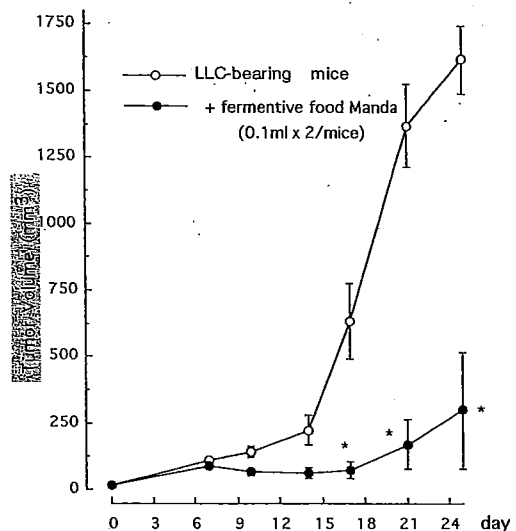


Fig.4 Antitumor Effects of Fermentive Food Manda in Lewis Lung Carcinoma (LLC)-bearing C57BL/6 Mice. Values are expressed as means \pm S. E. of 4-6 mice. *P<0.05, Significantly different from LLC-bearing mice.

Table 2 Inhibitory Effects of Fermentive Food Manda on Metastasis to Lung in Lewis Lung Carcinoma (LLC)-bearing C57BL/6 Mice.

	Animal No.	Metastasis to Lung (%)
Normal	4	0/4 (0)
LLC-bearing mice	6	4/6 (66.7)
+ Fermentive Food Manda (0.1 ml x 2/mice)	5	1/5 (20.0)

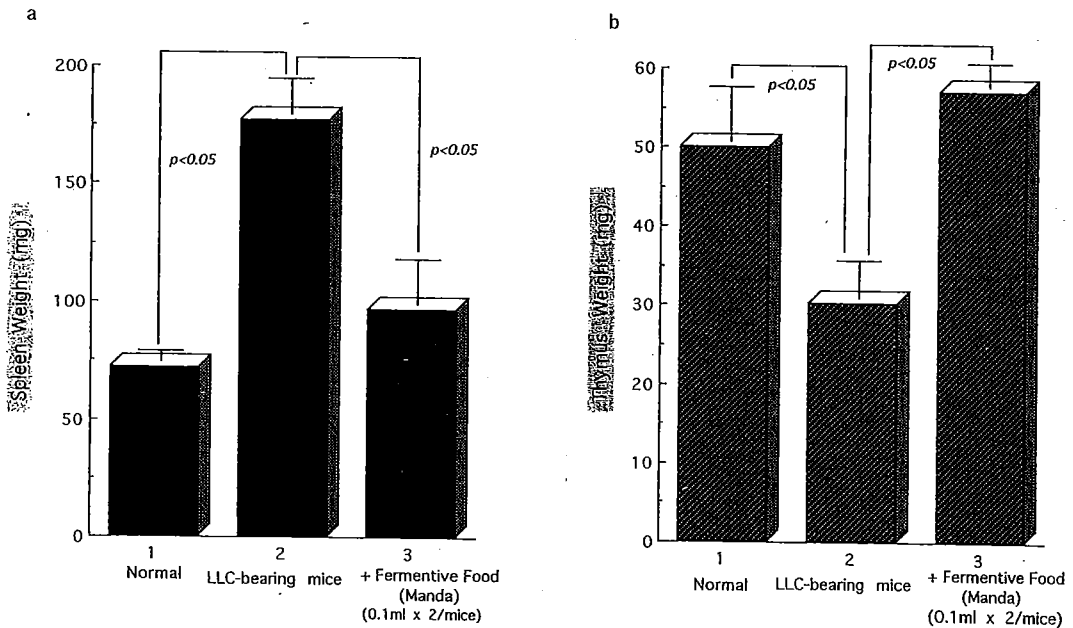


Fig. 5 Effects of Fermentive Food Manda on the Weights of Spleen and Thymus in Lewis Lung Carcinoma(LLC)-bearing C57BL/6 Mice. Values are expressed as means \pm S. E. of 4-6 mice.

4. ルイス肺癌細胞 (LLC) 担癌マウスにおける脾臓および胸腺重量に及ぼす植物発酵食品万田酵素の影響

Fig. 5に示すように、LLC 担癌マウス群は正常群と比較して脾臓重量の増加および胸腺重量の低下が認められた。植物発酵食品万田酵素投与は LLC 担癌マウスにおける脾臓重量の増加および胸腺重量の減少を防止し有意な差をもって、正常値にまで回復した。

考 察

本研究の結果から、ルイス肺癌細胞移植マウスモデルにおいて、植物発酵食品万田酵素は原発巣癌に対して強い抗腫瘍効果を有しながら、肺への転移に対する抑制効果も認められた。また、同癌細胞移植マウスでは、原発巣腫瘍の増大と肺への転移と共に脾臓の浮腫および胸腺の萎縮が観察されたが、植物発酵食品万田酵素投与によって、脾臓および胸腺重量は正常化された。Hwang らによって植物発酵食品万田酵素

のNK活性およびLAK活性増強作用が報告されている⁹⁾。従って、植物発酵食品万田酵素による抗腫瘍効果および転移抑制効果の作用機構の一部は、脾臓中のNKおよびLAK活性増強作用に基づくものと推測される。その他の機構として、万田酵素投与によってLLC移植マウスでの胸腺萎縮が正常化される事実は、胸腺と脾臓の相互間の免疫機能調節によって抗腫瘍および転移抑制効果が発揮されていることを示唆している。

抗腫瘍および癌転移抑制に及ぼす免疫機能、特に胸腺と脾臓の調節機構に対する植物発酵食品万田酵素の作用についてさらに明らかにする必要がある。

謝辞：試料をご提供頂きました万田発酵(株)に感謝いたします。

文 献

- 1) Liu J., Edamatsu R., Hamada H., Mori A.: Scavenging effect of Guilingji on free radicals, *Neurosciences* 16: 623-630, 1990.
- 2) Liu J., Mori A.: Antioxidant and free radical scavenging activities of *Gastrodia elata* Bl. and *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks. *Neuropharmacology* 31: 1287-1298, 1992.
- 3) 白畑實隆, 長田和浩, 樺山 繁: 食品による免疫系調節作用 医学のあゆみ183:813-818,1997.
- 4) 河合元子, 松浦新吾郎, 森 昭胤: 万田酵素のフリーラジカル消去作用について 基礎と臨床28(2):393-397, 1994.
- 5) Kim J-H, Park M-Y., Lee J-Y., Okuda H., Kim S., Hwang W-I.: Antioxidant and antitumor effects of manda. *Biochem, Arch.* 14: 211-219, 1998.
- 6) Hwang W-I., Hwang Y-K., Lee J-Y., Lee J-Y., Okuda H.: Antitumor and immunopotentiating effects of manda enzyme, *Natural Prod. Sci.* 2: 29-36, 1996.

Inhibitory Effects of Fermentive Foods Prepared from Plant Materials on Tumor Growth and Metastasis to Lung

Yoshiyuki KIMURA, Yukinaga MATSUURA, Hiromichi OKUDA

*2nd Department of Medical Biochemistry, School of Medicine, Ehime University,
Shigenobu-cho, Onsen-gun, Ehime 791-0295.*

A fermentive food prepared from plant materials Manda is a brown, sweet and sticky natural healthy food. It is made by yeast fermentation of cane brown sugar, fruits, seeds, vegetables and seaweeds for more than 39 months.

We examined the antitumor effect of the fermentive food Manda and its inhibitory one on tumor metastasis to lung in Lewis lung carcinoma (LLC) -bearing C57BL/6 mice.

The fermentive food Manda inhibited the tumor growth, time-dependently in LLC-bearing mice. Furthermore, it inhibited the tumor metastasis to lung in LLC-bearing mice.

The change of body weight was not significantly different between LLC-bearing mice group and fermentive food-treated LLC-bearing mice group or normal group. It was found that the weight of spleen increased together with tumor growth in LLC-bearing mice, as compared with that of the normal group. In contrast, the thymus weight reduced. The fermentive food Manda prevented the increase of spleen weight and the reduction of thymus weight in LLC-bearing mice. Therefore, these results suggest that the growth of tumor in LLC-bearing mice and the inhibitory effects of the fermentive food Manda on tumor growth and metastasis to lung may be mediated by immunofunctions of spleen and thymus.

Key Words: fermentive food prepared from plant materials, antitumor effect, metastasis to lung, Lewis lung carcinoma-bearing mice.