

海藻成分の抗腫瘍作用^{*1}

藤井喜一郎, 本間 郁代, 姉崎 健

浜松医科大学医学部付属病院薬剤部^{*2}Antitumor Activities of Marine Algae Constituents^{*1}

KIICHIRO FUJII, IKUYO HOMMA, and KEN ANEZAKI

Pharmacy of Hamamatsu University School of Medicine Hospital^{*2}

(Received July 7, 1978)

Recently immunotherapy has been considered to be an important method to increase immunopotentiating activity of host in the treatment of neoplastic diseases. In the therapy, polysaccharides have attracted attention because of their activity to enhance host defense mechanisms against neoplastic diseases. Some kinds of polysaccharides have been found to provide immunopotentiating activity which brought about regression of tumors and helped protect against infectious diseases.

In this study, screening tests were conducted for several years for the selection of suitable polysaccharides for clinical trials, and several marine algae containing polysaccharides with immunopotentiating activity were found. Immunostimulant substances, which were collected from brown algae, *Sargassum fulvellum* C. Agardh, *Sargassum thunbergii* O. Kuntze and *Eisenia bicyclis* Setchell, markedly potentiated host antitumor activity which was proved by regression and elimination of the tumor.

緒 言

従来より癌の治療法としては、外科的療法、放射線療法、化学療法があり、それぞれ特色を有し、癌の治療に効果を発揮している。ところが、免疫療法は人体内部の力を集めて癌を制圧しようとするものであり、有効物質の一つである多糖類は、免疫反応に作用する物質の力を高め、反応を起こさせやすくする免疫賦活作用のあることが知られ、この作用が癌治療のポイントになっている。著者らは数年来海藻由来の多糖類の抗腫瘍性について検討し、数種の海藻に抗腫瘍効果のあることを認め、特に褐藻類ほんだわら科のホンダワラ、ウミトラノオ、ちがいそ科のアラメから活性のあるものが得られたので、これらの活性成分の抗腫瘍性について報告する。

実験材料および方法

実験材料

海藻由来多糖

三重県志摩郡阿児町安乗海岸の岩上一帯に繁茂するホンダワラ (*Sargassum fulvellum*), ウミトラノオ (*Sargassum thunbergii*), アラメ (*Eisenia bicyclis*) を採取し、乾燥後細切し、熱水抽出し、無水アルコールを3倍容量加え、75% アルコール沈殿物を Diafilter(G-10T) にてろ過し、分子量 10,000 以上の分画物を使用した¹⁾。分画物は淡褐色の粉末で、冷水には溶けにくい、加熱すると溶解し多少の泡立ちがある。なおホンダワラ抽出物を SFS, アラメ抽出物を EBS, ウミトラノオ抽出物を STS と略す。

実験マウス

D S 系マウスは塩野義製薬株式会社より分与された5~6週令の雄で、体重25g前後のものを使用し、10匹を1群として行った。

実験腫瘍

実験腫瘍には Sarcoma 180 固型腫瘍 (S-180 と略

^{*1} 日本薬学会第98年会(1978年4月岡山)で発表。

^{*2} 浜松市半田町 3600; 3600, Handacho, Hamamatsu-shi, 431-31 Japan

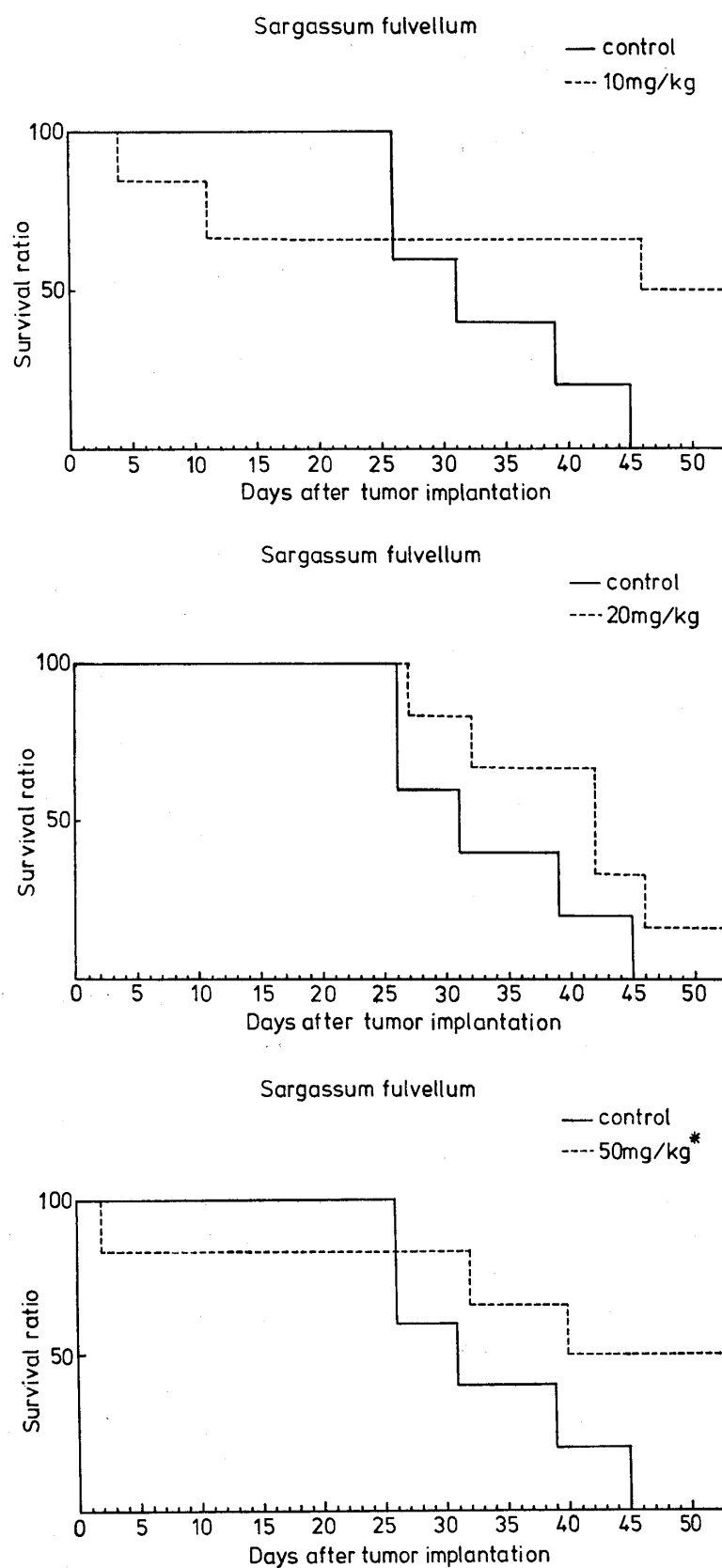


Fig. 1. Effect of SFS on Survival of Mice Intraperitoneally Inoculated with Shionogi Carcinoma 42

*First dose of 50 mg/kg was given intraperitoneally after 24 hrs implantation, then 25 mg/kg 6 times every day

す), Shionogi carcinoma 42 (AST-42 と略す), Nakahara-Fukuoka sarcoma (NF-sarcoma と略す), Ehrlich ascites carcinoma を用いた。

実験方法

マウスは試料投与 24 時間前に対照群と共に AST-42 非血性部分を径 2 mm³ 前後の細片とし、移植針を用いてマウスの右腋窩皮下に移植した。また別の一群に対しては、実験マウス腹腔内に Ehrlich 腹水腫瘍細胞を滅菌生理食塩水で 2×10^6 個/0.25ml に調製し移植した。対照群はいずれも注射用生理食塩水を投与し、実験群と同様の処理を行った。試料は滅菌蒸留水に溶解し、初回 50mg/kg で腹腔内投与し、次回以降 25 mg/kg の投与量で連日 6 回投与 (1 日 1 回 6 日間 連続投与) した。20mg/kg の投与量では連日 10 回、10 mg/kg の投与量では連日 20 回、腹腔内投与した。

成 績

実験 1 多糖の連日投与における結果

対照群は AST-42 移植後 45 日以内に全例腫瘍死するが、AST-42 移植マウスに SFS 20 mg/kg の連日 10 回腹腔内投与群では、15% のマウスが対照群に比較して 18 日以上延命効果が認められ、腫瘍は痂皮化し、次第に小さくなり消失した。一方、10mg/kg 連日 20 回投与群では、50% のマウスに延命効果が認められた。また、初回 50mg/kg 投与群はマウスに一過性の異常、立毛、運動

量減退が認められたため、次回から投与量を半減し、25mg/kg で連日 6 回投与し、50% のマウスに延命効果が認められた。(Fig.1)

別にこれら 3 群の経過を体重の平均増加で検討したのが Fig.2 である。対照群は腫瘍移植 3 日後に急速に体重増加がはじまり、30 日間で約 25 g の増加を示し、その時点で 60% が腫瘍死した。10 mg/kg 投与群では正常の体重増加と考えられる範囲にとどまり、30 日間で平均 6 g の体重増加に過ぎず、以後体重減少の方向をたどり、延命効果を示した。20mg/kg 投与群も 30 日目をピークとして体重減少の方向を示した。

EBS 10 mg/kg 投与群では、対照群に比較して 15% のマウスが延命効果を示した。また、20mg/kg 投与群では 50% のマウスが延命効果を示し、腫瘍の消失状態は SFS 投与群と同様であった。しかしながら初回 50 mg/kg 投与、次回から 25 mg/kg 連日 6 回投与群においては、対照群に比較して延命効果が認められなかった。(Fig.3) 別に 3 群の経過を体重の平均増加で検討したのが Fig.4 である。これによると対照群、投与した 3 群いずれも腫瘍移植後 8 日目より体重の急激増加を生じ、特に 10 mg/kg 投与群は体重増加は少なく、30 日間で約 16 g の増加を示し、以後徐々に減少し、50 日前後で腫瘍の消失を示したものがあつた。従って多量を短期間投与するよりも、少量連続投与の方が効果が大きいと考えられる。

一方、担子菌由来の多糖の抗腫瘍性は固型腫瘍に対し

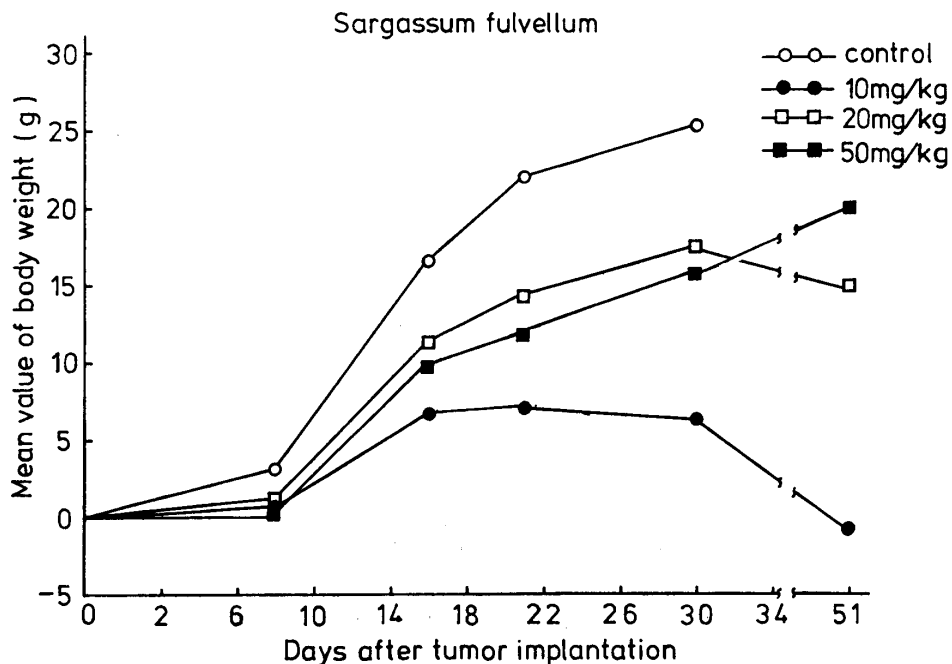


Fig. 2. Changes in Body Weight in SFS-Treated and Untreated Mice on Shionogi Carcinoma 42

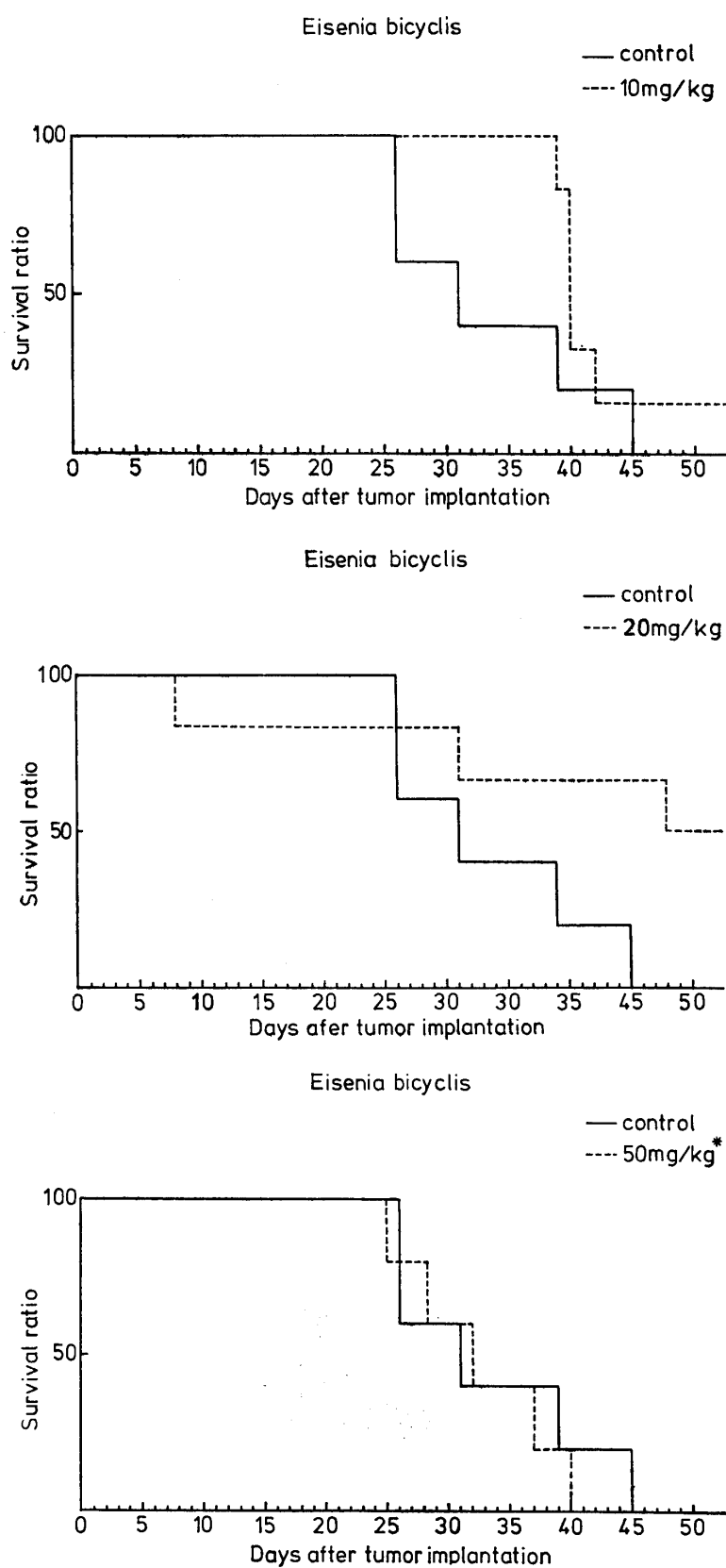


Fig. 3. Effect of EBS on Survival of Mice Intraperitoneally Inoculated with Shionogi Carcinoma 42

*First dose of 50 mg/kg was given intraperitoneally after 24 hrs tumor implantation, then 25 mg/kg 6 times every day

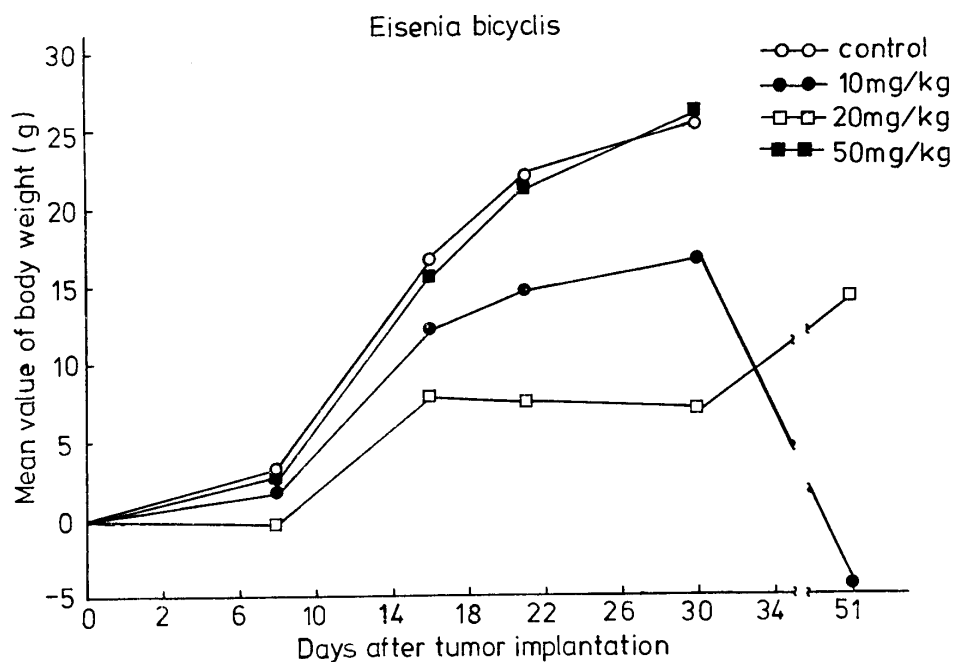


Fig. 4. Changes in Body Weight in EBS-Treated and Untreated Mice on Shionogi Carcinoma 42

ては効果的であるが、Ehrlich 腹水腫瘍のような腹水型に対しては、効果的なものはあまり知られていない²⁻⁷⁾。われわれも多くの種類の海藻を検討し、ほんだわら科のウミトラノオから得た多糖が Ehrlich 腹水腫瘍に著効を示すことを見出した。まず Ehrlich 腹水腫瘍細胞をマウスに移植し、7～10日後のマウスから腫瘍細胞を採取し、滅菌生理食塩水で 2×10^6 個/0.25 ml に調製し、DS 系マウス腹腔内に 0.25 ml 移植した。STS は腫瘍移植後24時間目から3群に分け腹腔内投与した。その結果、対照群は22日以内に全例腫瘍死したが、10 mg/kg 投与群は40%のマウスが生残し、60%のマウスは腫瘍移植後25日までに腫瘍死した。20 mg/kg 投与群は全例が生残し、腹水の貯留も認められなかった。50 mg/kg 投与群はマウスに他の海藻多糖投与時と同様、一過性の異常、立毛、運動量減退が認められたため、次回から投与量を半減し、60%のマウスが生残した。(Fig.5)

さらにこれらの経過を体重の増加率で検討した。対照群では腫瘍移植4日後より急速に体重増加を示し、以後直線的に増加し14日間で約18gの増加を示し、その前後で腫瘍死するものが多く、STS 10 mg/kg 投与群は腹水貯留があり、8日目以後、急速に増加を示し、対照群が腫瘍細胞移植14日前後に大部分腫瘍死したのに対し、10mg/kg 投与群では約12g増にとどまり、以後18日目まではほぼ直線的に増加し、20日以後上限に達する状態を呈した。しかしこの時点から腫瘍死するマウスが増加し、

腹水貯留を認めたマウスは28日までに全例腫瘍死した。20 mg/kg 投与群では正常の体重増加と考えられる範囲にとどまり、30日間で約4gの体重増加となるに過ぎなかった。これは何らかの形で腫瘍細胞の急速な増殖が制御され、宿主における免疫の成立に伴い、腫瘍細胞の消滅がもたらされたものと考えられる。50 mg/kg 投与群では正常の体重増加の範囲にとどまったが、2例は20日目より急激に体重が増加し、腹水貯留も著明で31日以内に腫瘍死した。このことから試料の投与量および方法の相違が回復率の相違として現れ、とくに連日投与の必要性が指摘される。(Fig.6)

次に Ehrlich 腹水腫瘍から回復したマウスが STS の投与によるものであるか否かを検討する目的で、再度同じ腫瘍細胞 2×10^6 個の移植を行った。対照群は14日以後全例に腹水貯留を認め腫瘍死したが、試料の投与により初回の Ehrlich 腹水腫瘍移植から回復したと考えられるマウスは全例生残し、腹水貯留も認められなかった。このことは、これらマウスに Ehrlich 腹水腫瘍細胞に対する免疫の成立がもたらされたことを示している。さらにこのマウス群について、腫瘍に対する免疫の交叉性を検討するために Ehrlich 腹水腫瘍を皮下に移植し、また固型腫瘍化した腫瘍細胞を準備し、Ehrlich 腹水腫瘍回復マウス（以下 EAT 免疫マウスと略す）と正常マウスの皮下に移植し、5週間にわたって観察すると、対照群では2週以後腫瘍の増大が認められたが、EAT 免疫マ

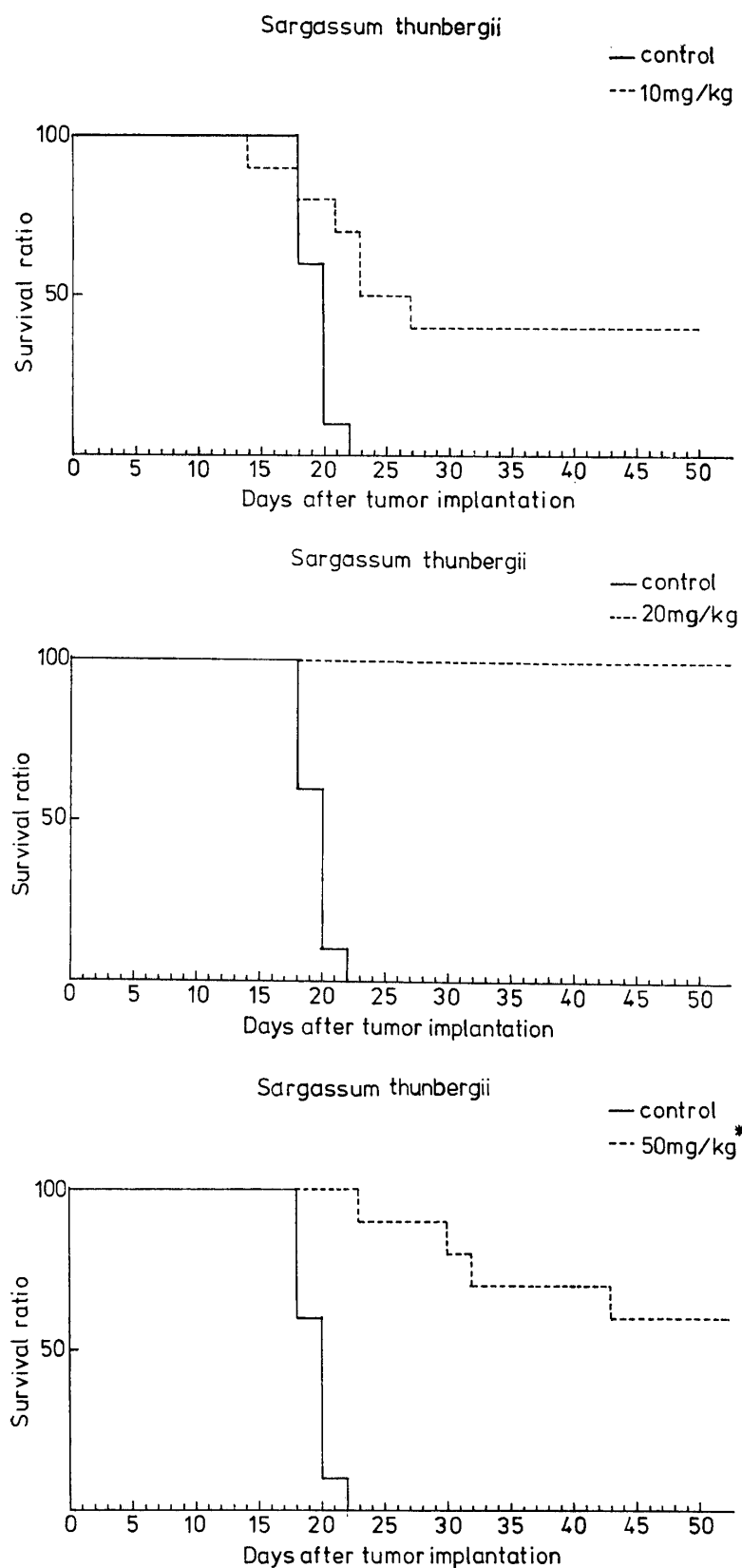


Fig. 5. Effect of STS on Survival of Mice Intraperitoneally Inoculated with Ehrlich Ascites Carcinoma

*First dose of 50 mg/kg was given intraperitoneally after 24 hrs tumor implantation, then 25 mg/kg 6 times every day

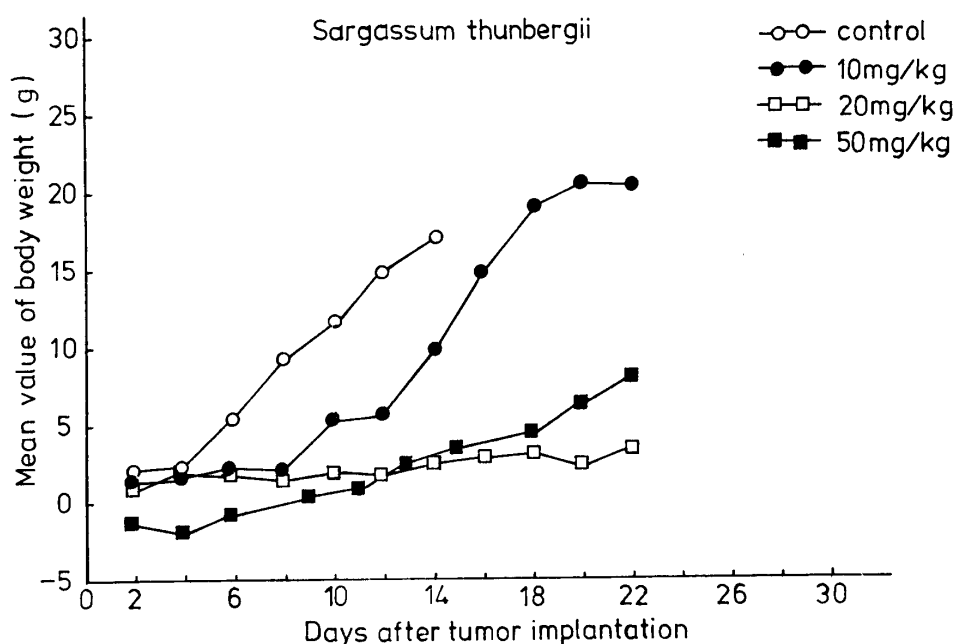


Fig. 6. Changes in Body Weight in STS-Treated and Untreated Mice on Ehrlich Ascites Carcinoma

ウス群では痕跡も認められなかった。次いでこのマウス群に S-180 固型腫瘍を移植したが、対照群では2週以後腫瘍の増大が顕著となるのに対し、EAT 免疫マウス群では痕跡をも認め得ないか、粟粒程度に終始し、S-180 に対しても免疫の成立が明らかになった。次いで、特異的腫瘍とされている AST-42 をこの系のマウスに移植し、対照群と共に観察を続けた結果、対照マウス群では腫瘍の増大を2週後に認めたが、EAT 免疫マウス群では、全例にその痕跡も認められず、さらに NF-Sarcoma の移植を試みたが結果は腫瘍の拒絶として現れた。

(Table 1)

Table 1. Tumor Rejective Effect Against Ehrlich Ascites Carcinoma Regressive Mice Induced by STS Intraperitoneally

Course	Challenged tumors	Observation period	Antitumor activity
1st	Ehrlich ascites	5 weeks	remarkable
2nd	Ehrlich solid	6 weeks	remarkable
3rd	Sarcoma 180	4 weeks	remarkable
4th	Shionogi carcinoma 42	6 weeks	remarkable
5th	N.F-sarcoma	5 weeks	remarkable

総括ならびに考察

ここ数年来海藻由来の多糖の抗腫瘍性が報告され、山本ら⁸⁻¹¹⁾は S-180 腹水腫瘍移植マウス、S-180 固型腫

瘍移植マウスに対し *Laminaria angusta* (みついしこんぶ), *Laminaria japonica* (まこんぶ), *Sargassum fulvellun* (ほんだわら) および *Sargassum kjellmanianum* (ははきもく) の水抽出エキスの透析液が抗腫瘍性を示すことを報告し、また、中沢ら¹²⁻¹⁶⁾により Ehrlich 腹水腫瘍に対する効果が論議されるようになった。われわれも数年前より多くの種類の海藻について検討してきたが、Ehrlich 腹水腫瘍に対して著効を示す海藻として *Sargassum thunbergii* を見出した。この海藻由来多糖の分子量 10,000 以上の分画に Ehrlich 腹水腫瘍に対し 100% 近い抗腫瘍性が認められた。他方、中沢ら¹⁶⁾は同じく *Sargassum horneri* (あかもく) の水抽出エキスの透析内液を硫酸で塩析し、その非塩析分画が Ehrlich 腹水腫瘍に対し 90~100% の抗腫瘍性を示すことを報告し、これらの多糖は 20~30% の硫酸基をもつ酸性多糖であると報告しているが、著者らが得た *Sargassum thunbergii* 由来多糖も硫酸基の存在を認めており、今後この硫酸基の存在と Ehrlich 腹水腫瘍に対する抗腫瘍性との関連を検討する必要がある。

Fig. 6 における対照群と STS 投与群の平均体重の比較は、対照群が腫瘍移植4日以後急速に直線的に増加するのに対し、20 mg/kg 投与群では体重の有意な変動はなく

ほぼ平均して正常な態度を示している。このことは、腫瘍細胞の急速な増殖が何らかの形で制御され、宿主における免疫の成立に伴い、腫瘍細胞の退縮がもたらされるものと推察される。また、STS の投与量の相違が回復率の相違として現れたことは、動物実験モデルを応用する際に参考資料となると思われる。また、Ehrlich 腹水腫瘍から回復したマウスが果して STS の投与によるものであったか否かを検討する目的で、再度、腹水腫瘍の接種を行ったが、その結果全例に何ら異常を認め得なかったことは、初回の接種においても確実にマウスに接種されていたことを示すとともに、試料の投与により Ehrlich 腹水腫瘍に対する腫瘍免疫の成立がもたらされ、その腫瘍より回復したことを物語っている。また、これらのマウスに Ehrlich 固型、S-180 固型、AST-42, NF-sarcoma と一連の固型腫瘍の移植に対し抵抗性があったことは、Ehrlich 腹水腫瘍細胞と他の腫瘍細胞との間に共通抗原の存在をもうかがわせる。しかしながら、今回の実験から得られた成績から Ehrlich 腹水腫瘍細胞と他の腫瘍との間に共通抗原が存在するのであるか、腫瘍の移植の順序のような偶然性によるのか、また組織適合抗原性によるのかは、今後の研究課題として残された問題であり、拒絶反応解決により癌治療成績を向上させる可能性が得られると考えられる。

文 献

- 1) 藤井喜一郎, 伊藤 均, 志村圭志郎, 堀口吉重: 三重医学, 18, 245 (1975).
- 2) Ito H., Fujii K., Terada Y., Naruse S., Takeda S., Sugiura M., and Miyazaki T.: Mie Med. J., 22, 103 (1973).
- 3) Naruse S., Takeda S., Ito H., Fujii K., Terada Y., Shimura K., Sugiura M., and Miyazaki T.: Mie Med. J., 23, 207 (1974).
- 4) Ito H., Fujii K., Terada Y., Naruse S., Takeda S., Sugiura M., and Miyazaki T.: Mie Med. J., 23, 67 (1973).
- 5) Ito H., Fujii K., Naruse S., and Miyazaki T.: Mie Med. J., 23, 117 (1973).
- 6) 伊藤 均, 成瀬千助, 藤井喜一郎: 日薬理誌, 68, 429 (1972).
- 7) 藤井喜一郎, 伊藤 均, 成瀬千助: 日薬理誌, 70, 571 (1974).
- 8) 山本一郎, 名雲照一: 第32回日本癌学会総会記事, 225 (1973).
- 9) 山本一郎, 名雲照一, 高橋政寿, 八木慶次郎: 第33回日本癌学会総会記事, 112 (1974).
- 10) 山本一郎, 名雲照一, 藤原三知雄, 高橋政寿, 諸留和雄, 安藤百合子, 鈴木勇司, 川井一広: 第34回日本癌学会総会記事, 102 (1975).
- 11) 鈴木勇司, 高橋政寿, 岡田万有美, 鈴木英紀, 山本一郎: 第35回日本癌学会総会記事, 135 (1976).
- 12) 中沢昭三, 小野尚子, 大槻雅子, 井沢武年, 黒田浩之, 石山正光, 落合一頼, 川辺晴英, 梅崎 勇, 米田勇一: 日本薬学会第91年会講演要旨集, 252 (1971).
- 13) 中沢昭三, 黒田浩之, 和島 剛, 富田良知, 藤本訓子, 森 和子: 日本薬学会第91年会講演要旨集 253 (1971).
- 14) 藤川福二郎, 平山晃久, 中沢昭三, 黒田浩之, 安部史紀: 日本薬学会第94年会講演要旨集14 (1974).
- 15) 中沢昭三, 黒田浩之, 安部史紀, 阿部充伸, 村司純子, 平野町枝, 西野武志, 大槻雅子, 梅崎 勇: 日本薬学会第94年会講演要旨集 15 (1974).
- 16) 中沢昭三, 黒田浩之, 安部史紀: 第33回日本癌学会総会記事, 103 (1974).