

カキ (*Crassostrea gigas*) 熱水抽出物の癌細胞増殖抑制作用 および抗腫瘍作用の検討

松田 芳和¹⁾, 高谷 英子¹⁾, 山口 雅子¹⁾, 太田 隆男¹⁾

真部 真理子²⁾, 河村 幸雄²⁾, 広石 伸互³⁾, 柴田 幸雄¹⁾

(¹⁾日本クリニック(株)・中央研究所*, (²⁾農林水産省・食品総合研究所**, (³⁾福井県立大学***)

The Effects of Oyster (*Crassostrea gigas*) Extract on Cell Proliferation and Antitumor Activity

Yoshikazu Matsuda¹⁾, Eiko Takaya¹⁾, Masako Yamaguchi¹⁾, Takao Ohta¹⁾

Mariko Manabe²⁾, Yukio Kawamura²⁾, Shingo Hiroishi³⁾, Yukio Shibata¹⁾

¹⁾ Japan Clinic Co., Ltd., Central Research Institute, ²⁾ National Food Research Institute

³⁾ Fukui Prefectural University

The effects of oyster extract on tumor cells were studied using three cell lines (mice myeloma cell and A31 and SV-T2 cells originated from Balb/c 3T3 cell) and mice inoculated with P388 leukemia. Hot water extract was cytostatic against A31 cell and SV-T2 cell, but not against myeloma cell. And the high molecular weight fraction inhibited slightly the proliferation of myeloma cell and SV-T2 cell, but not of A31 cell. The Low molecular weight fraction were cytostatic against thses three cells. On mice with P388 leukemia, the high and low molecular weight fractions were more effective in prolonging life than hot water extract.

カキ (*Crassostrea gigas*) は古くから栄養学的にも優れた食品とされており、中国でも生薬としてその貝殻の薬理的な効果は広く知られていた。本研究室ではその可食部の熱水抽出物について、有用な効果の探索と、その作用機構の研究を行ってきた。カキの熱水抽出物についてはすでに血小板凝集抑制作用¹⁾や血糖値改善効果²⁾などが報告されており、エキスに豊富に含まれているタウリン、グリコーゲン、亜鉛、核酸といった物質についても、様々な薬理効果が報告されている³⁾⁻⁵⁾。

本研究ではこのような報告の中でタウリンの発癌抑制⁶⁾や、ホタテグリコーゲンの抗腫瘍活性⁷⁾に着

*所在地：京都市右京区太秦開日町10-1 (〒616-8555)

**所在地：つくば市観音台2-1-2 (〒305-0856)

***所在地：小浜市学園町1-1 (〒917-0003)

目し、カキの熱水抽出物の更なる可能性を探るため、培養細胞を用いた方法と、腫瘍細胞を移植したマウスを用いた方法で、抗腫瘍作用の有無を検討した。

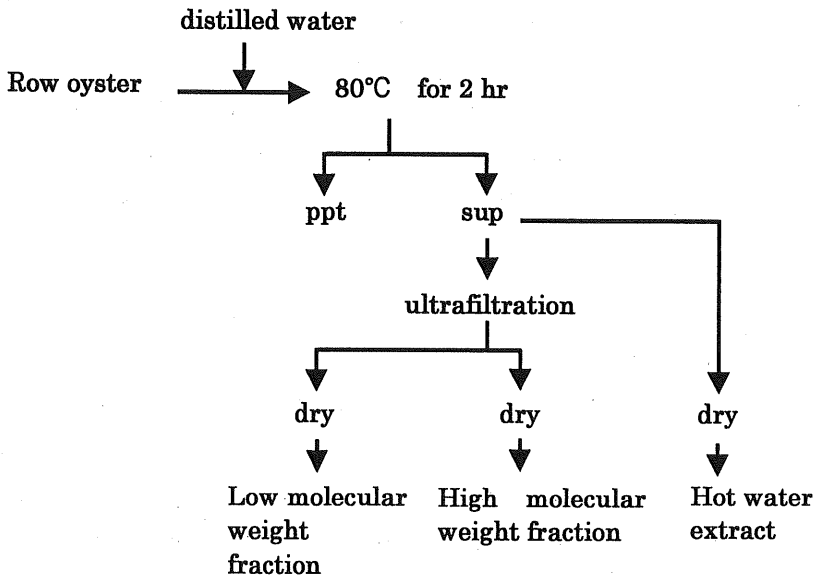
実験方法

1. 試料

試料のマガキ (*Crassostrea gigas*) は1996年の広島産を使用し、剥き身にして用いた。

2. 試料の抽出および分画

マガキ 1kg に対して蒸留水 500ml を加え、2時間80℃の熱水で抽出し、粗抽出液とした。この抽出液を、限外ろ過法で分画し、粗抽出液と文画した高分子画分並びに低分子画分をそれぞれ140℃で熱乾燥させ、試料として用いた。試料の調製方法を Scheme 1 で示した。



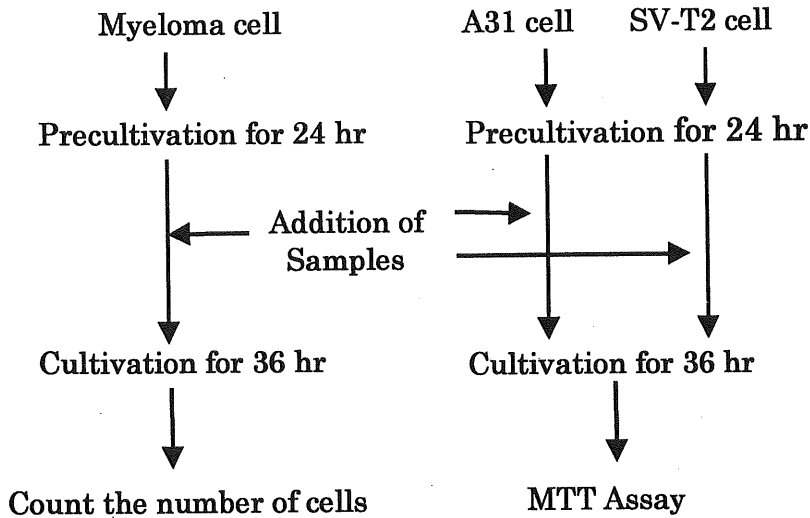
Scheme 1. Scheme for the fractionation of oyster extract

3. 培養ガン細胞に対する検討

マウスのミエローマ細胞 (ガン細胞)、正常繊維芽細胞 Balb/c 3T3 由来の A31 細胞 (正常細胞) とその細胞を SV40 によってガン化した SV-T2 細胞 (ガン細胞) を用い、常法に従ってその増殖に対するカキ熱水抽出物の影響を調べた (Scheme 2)。

4. 抗腫瘍作用の検討

P388 leukemia を腹水に移植した CDF1 雄マウス (1群10匹) に、毎日20日間、100mg/kg の試料を腹腔投与し、その生存日数から、試料の抗腫瘍作用について検討を行った。



Scheme 2. Procedure of cell cultivation

結果と考察

1. 培養ガン細胞の増殖に対するカキ熱水抽出物の影響

ミエローマ細胞の培地には各画分が0, 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1%の濃度で含まれるように調製し、培養を行った。培養後の細胞数は図1に示した。ミエローマ細胞に対しては、粗抽出液画分よりも、限外ろ過によって分画した高分子画分および低分子画分のほうが、増殖抑制作用が強かった (Fig. 1)。しかし、同じ由来の正常細胞に対する影響を検討していないため、ガン細胞の増殖抑制作用とも、細胞毒性とも考えられる。

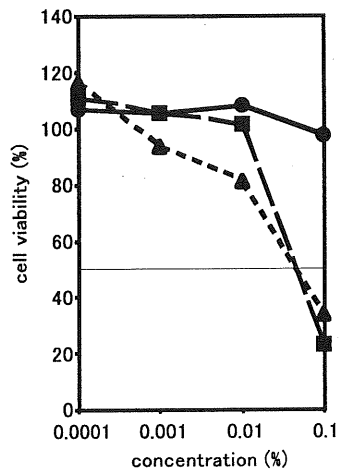


Fig. 1. The effects of oyster extracts on proliferation of mice myeloma cell
 (—●—) hot water extract, (---■---) high molecular weight fraction,
 (---▲---) low molecular weight fraction

A31細胞, SV-T2細胞には各画分が0, 0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2%の濃度で含まれるように調製し, 培養を行った。培養後の細胞数は図2に示した。正常細胞であるA31細胞では, 粗抽出液画分が, 0.1%以下の濃度までは, ほとんど増殖に影響を与えなかったが, 0.2%まで濃度を上げると増殖抑制作用を示した (Fig. 2-A)。また, 由来を同じくするガン細胞, SV-T2細胞に対しては濃度依存的に生存率約45%まで増殖抑制作用を示した (Fig. 2-B)。従って, Balb/c 3T3由来の細胞に対して, 粗抽出液画分には, 0.1%以下の濃度範囲で選択的なガン細胞増殖抑制作用があると考えられた。

一方, 粗抽出液を限外ろ過した高分子画分及び低分子画分においては, 0.05%以下ではガン細胞であるSV-T2細胞の生存率に対して大きな影響を示さず, それ以上の濃度で, それぞれ生存率80%, 40%まで増殖抑制を示した (Fig. 2-B)。しかし, 高分子画分においては正常細胞であるA31細胞への増殖抑制作用は認められなかった (Fig. 2-A) ことから, 非常に小さいが高分子画分には選択的なガン細胞増殖抑制作用があると考えられる。しかし, 低分子画分は0.1%以上で正常細胞, A31細胞の増殖をかなり抑制した (Fig. 2-A)。このことから, 低分子画分には細胞毒性の可能性が示唆された。

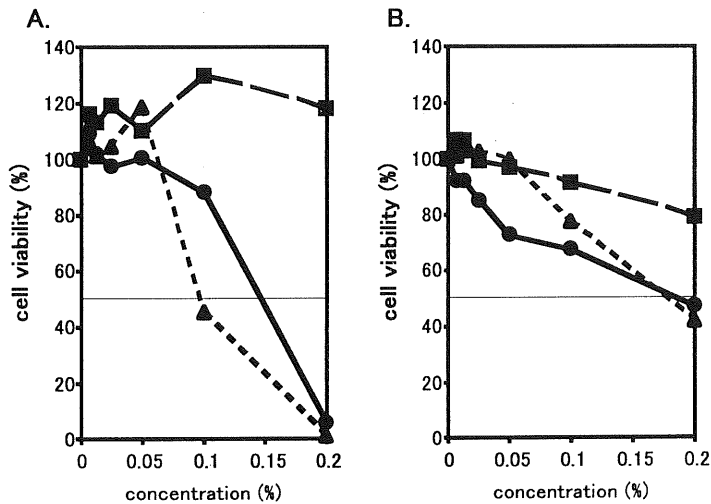


Fig. 2. The effects of oyster extracts on proliferation of A31 cell (A) and SV-T2 cell (B)
 (—●—) hot water extract, (---■---) high molecular weight fraction,
 (---▲---) low molecular weight fraction

これまで, 培養細胞に対する影響を検討した報告には, 植物からの抽出物や薬物を用いたものが非常に多く⁸⁾⁹⁾, 今回のように動物であるカキを用いた報告としては, 何らかの影響を示した点で興味深い結果がでたと考えている。しかし, 今回のカキ熱水抽出物に見られた細胞増殖抑制作用は, IC₅₀ 値を出した場合, 0.008~0.019%と特に強くはなく, これは画分中の作用物質の濃度が低いためと思われる。

2. P388 leukemia 担腫マウスに対するカキ熱水抽出物の影響

すべての投与群において, 移植後15日間の体重変化に差はなく, それぞれの有意差もなかった (Fig. 3)。また, 未分画熱水抽出物投与群の T/C 値は, 112%と延命効果は認められなかった (Table 1)。し

かし、高分子画分、低分子画分では、T/C 値が各々124%、120%を示し、この実験の評価基準である125%に非常に近い値が得られた (Table 1)。以上より、両画分の投与によって P388 leukemia 担腫マウスの生存日数を延びる傾向が認められた (Fig. 4)。

Table 1 The effects of oyster extracts on survival days of inoculated mice with P388 leukemia

	average (days)	median (days)	T/C** (%)
control	13.2±0.5*	12.5	100
Hot water extract	14.5±0.5	14.0	112
High molecular weight fraction	15.3±0.7	15.5	124
Low molecular weight fraction	15.2±1.0	15.0	120

* ; S.E.

** ; $100 \times (\text{the value of median}) / (\text{the value of control median})$

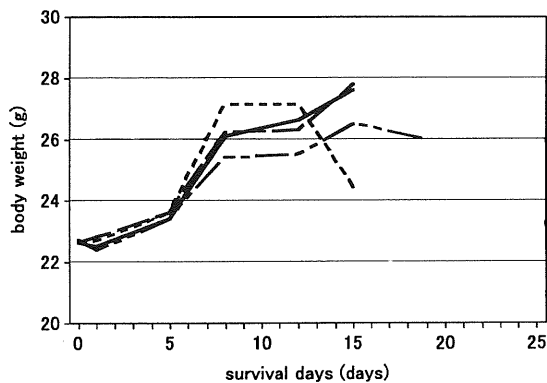


Fig. 3. The effects of oyster extracts on the body weight of mice inoculated with P388 leukemia

(.....) control, (----) hot water extract,

(————) high molecular weight fraction,

(-·-·-·) low molecular weight fraction

P388 担腫マウスに対する延命効果に関しては、アルカロイドの一種であるピンクリスチンの安定化リポソーム封入物¹⁰⁾や、ウシガエル及びアマガエルのレクチン¹¹⁾にあるという報告等、単体の物質に関するものが多い。抽出物に関しては培養細胞に対する効果の報告が多く⁹⁾¹²⁾、ウリ科であるヒョウタンのメタノール抽出物に関しては、P388 の培養細胞に対しては強い細胞毒性を示したが、P388 担腫マウスの延命効果は認められなかったと報告されている¹²⁾。本実験では高分子画分、低分子画分の投与によって延命の傾向が見られ、これは濃度による変化と推測される。

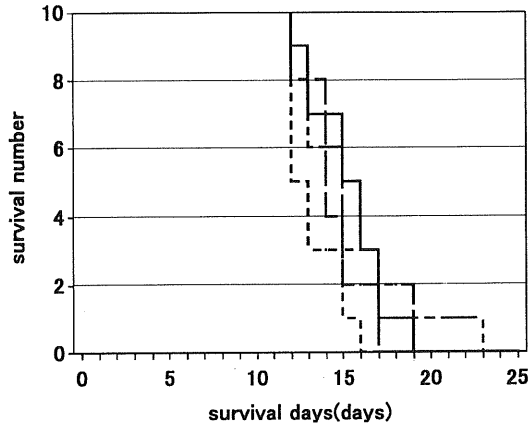


Fig. 4. The effects of oyster extracts on the survival number of mice inoculated with P388 leukemia

(.....) control, (----) hot water extract,
 (————) high molecular weight fraction,
 (-·-·-·) low molecular weight fraction

このように、微少ではあるが、食品としてのカキ熱水抽出物に見られた抗腫瘍作用、細胞増殖抑制作用は興味深く、今後は、栄養が豊富で滋養強壮により食品として知られているカキの新しい可能性を求めて、細胞増殖抑制成分の同定を進めていきたいと考えている。

ま と め

- 粗抽出液画分は、ミエローマ細胞に対しては影響を示さなかったが、0.1%以下の濃度で正常繊維芽細胞細胞 Balb/c 3T3 由来のガン細胞である SV-T2 細胞に対して選択的な増殖抑制を示し、それ以上の濃度では、正常細胞である A31 細胞にも増殖抑制を示した。
- 高分子画分は、ミエローマ細胞の増殖抑制と SV-T2 細胞に対する選択的な増殖抑制を示した。
- 低分子画分は、ミエローマ細胞、A31 細胞、SV-T2 細胞すべてに対して増殖抑制作用を示した。
- 高分子画分、低分子画分の投与により、P388 leukemia 担腫マウスの生存日数が延びる傾向がみられた。

文 献

- 1) 太田隆男：愛知医科大学医学雑誌，18：589-604，1990.
- 2) 松田芳和，出田祐久，藤田忠義，他：微量栄養素研究 第12集，12：91-97，1995.
- 3) Franconi, F., Failli, P., Stendardi, I. *et. al.* : Eur. J. Pharmacol., 13 : 129, 1986.
- 4) 岩佐正人，大森義信，岩佐幹恵，他：消化器外科，19(8)：1293-1299，1996.
- 5) 和田攻，柳沢裕之：日本臨床，54：5，1996.
- 6) 第53回日本癌学会総会記事(名古屋)：1994.
- 7) 松江一，高谷芳明，内沢秀光，ほか：糖質シンポジウム要旨集：1996.

- 8) Fukushima, M. : Nature, 342 : 850-851, 1986.
- 9) Okai, Y., Ekattikul, T., Svendsby, O., Iizuka, M., Ito, K. and Minamiura, N. : J of Fermentation and Bioengineering, 76 (5) : 367-370, 1993.
- 10) Allen, T. M., Newman, M. S., Woodle, M. C., Uster, P. S., Mayhew, E. : Int J Cancer, 62 (2) : 199-204, 1995.
- 11) Nitta, K., Ozaki, K., Ishikawa, M., Furusawa, S., Hosono, M., Kawauchi, H., Sasaki, K., Takayanagi, Y. : Cancer Res., 54 (4) : 920-927, 1994.
- 12) 長谷川千佳, 松永孝之, 松原利行 : 富山薬研年報, 19 : 1992.