

消化器癌の発生と進展

Journal of Japanese Society for Gastroenterological Carcinogenesis

Vol. 10 1998 別冊

〔発行〕 日本消化器癌発生学会

乳酸菌混合培養により得られた代謝産物の DMH誘発マウス大腸発癌の抑制効果

新 良一 鈴木百々代 *水谷 武夫

序 論

近年、乳酸菌や乳酸菌発酵物はプロバイオティクスとよばれ、整腸作用のみならず、血清脂質低下、免疫賦活、抗腫瘍効果など種々の機能を有することが明らかになりつつある¹⁾。中でも抗腫瘍効果については、ノトバイオートをを用いて腸内細菌との関連を調べた実験²⁾や、前癌病変³⁾や培養細胞⁴⁾を用いたモデル実験など多くの報告があるが、それらは単一の乳酸菌あるいは、その培養物を用いた実験であり、複数の乳酸菌の混合培養物の有用性について調べられた実験は少ない。そこで我々は、多種の乳酸桿菌、乳酸球菌および酵母を混合培養して得られた乳酸菌代謝物質 (SG) によるマウス大腸の1,2-ジメチルヒドラジン (DMH) 発癌に対する抑制効果について検討した。

材料と方法

使用動物

理化学研究所に於いて系統が維持されているCF#1マウスを交配し、雄のみ38匹を準備した。本マウスはDMHに感受性が高く、大腸発癌を誘発しやすい系統である。飼育は温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 5\%$ 、照明時間午前8時～午後8時の条件下で行い、繁殖期間中の飼育飼料は(株)オリエンタル酵母工業社製CMFを水道水と共に自由に与えた。

SGおよび試験飼料の調製

SGは *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*等の乳酸桿菌8株, *Streptococcus thermophilus* 1株, *Lactococcus lactis* 2株, *Leuconostoc lactis* 1株の乳酸球菌および

Saccharomyces cerevisiae 4株の酵母, 計16株を、大豆抽出液を主とする培養基中で 37°C 4～8日間混合培養し、その培養液を凍結乾燥して得た。SGを粉末化した基礎飼料CMFに3%濃度(重量%)となるように添加後、固形とし、放射線滅菌(30Kgy)したものを試験飼料とした。

大腸発癌

5週令時に体重の平均とばらつきが等しくなるように2群に分け、対照群(18匹)にはCMFのみを、投与群(20匹)にはSG含有飼料を摂食させた。摂食開始と同時にDMH溶液(1mMのEDTA溶液に溶解後、飽和炭酸水素ナトリウムでpH6.2に調整)をマウス腹腔内に、体重あたり20mgを週に1回、10週にわたり投与した。体重、摂食量は毎週測定し、投与35週目(40週令時)に解剖し、大腸腫瘍の発生率、個数、腫瘍サイズ(長径)を測定し、その他の病変の観察を行った。

結 果

大腸部位に発生した腫瘍は病理組織学的には全て腺癌であった。大腸腫瘍の発生率は、対照群が94%であったのに対して、SG群で65%であり、対照群に比べSG群は有意($p < 0.05$)に低率であった(表1)。マウスあたりの腫瘍の個数も対照群で 4.0 ± 2.7 (Mean \pm S.D.)個に対し、SG群 1.4 ± 1.5 と有意($p < 0.01$)に少なかった。さらに腫瘍サイズは投与群が $3.1 \pm 1.7\text{mm}$ であったのに対しSG群で 2.5 ± 1.3 と有意($p < 0.05$)に小さかった。

体重は、SG投与群が対照群に比べて高い傾向にあ

(株) エイ・エル・エイ
*理化学研究所 動物試験室

索引用語: 乳酸菌, 酵母, 1,2-ジメチルヒドラジン, 大腸発癌,
代謝産物

表1 ジメチルヒドラジン誘発マウス大腸腫瘍の発生に与えるSG投与の効果

実験群	例数	腫瘍発生		個体あたりの腫瘍数	腫瘍サイズ (mm)
		個体数	率(%)		
対照群	18	17	94	4.0 ± 2.7 ¹⁾	3.1 ± 1.8
3%SG群	20	13	65*	1.4 ± 1.5 ^{††}	2.5 ± 1.3 [‡]

¹⁾ 平均±標準偏差

対照群に対して有意な差, *p<0.05 (カイニ乗検定), ††p<0.01 (Mann-WhitneyのU検定)

[‡] p<0.05 (t検定)

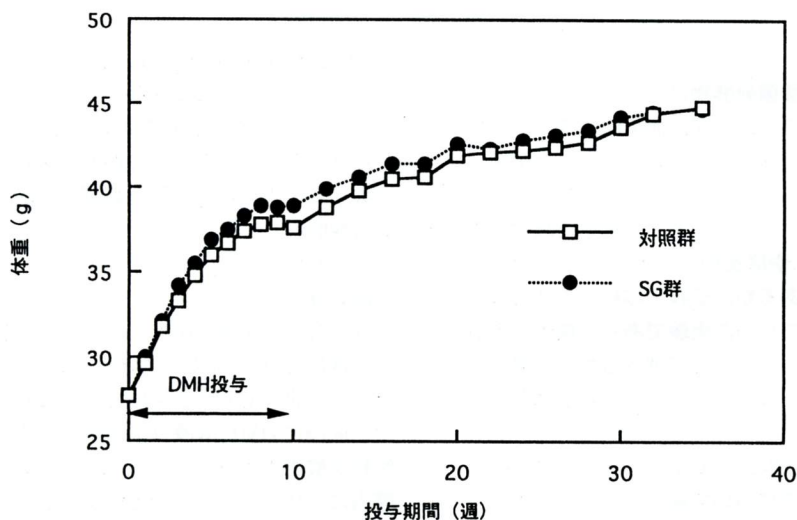


図1 DMH誘発大腸腫瘍マウスの体重曲線

ったが、有意な差ではなかった(図1)。また、飼料効率を実験開始後5週目まではSG群で高い傾向にあったが実験期間を通して群間に著しい差は認められなかった(表2)。

考察

乳酸菌あるいはその代謝産物の抗腫瘍効果の作用機構としては以下の事が考えられている。I) 乳酸菌あるいは代謝産物そのものが腸内で作用する事により、または腸内細菌叢に影響を与える事により、発癌物質や発癌のイニシエーター、プロモーターの産生や発現を抑制し、それらの排泄を促進する。II) 乳酸菌あるいは代謝産物が癌細胞の増殖を直接、または生体の防御機構を活性化することにより抑制する⁵⁾。今回用いたDMH誘発の大腸発癌のモデルでは、DMH投与と

同時にSGを経口摂取させることにより大腸癌の形成は予防効果的に抑制されたものと考えられるが、その抑制機構を推察すると、I)に関連して2つの可能性が考えられる。1つ目はSG中に抗変異原性物質が含まれる事が判明している事から、発癌のイニシエーターの作用を直接弱める働き。2つ目には、SGが、乳酸菌等の有用菌に対しては増殖を促進する一方で、発癌物質や発癌のイニシエーター、プロモーターの産生や発現を促進すると考えられている有害菌の間に対しては、その増殖を抑制する事が、試験管内の試験でわかっている事から、腸内細菌叢をコントロールして大腸発癌抑制的な菌叢にする働きの2つである。現在これらの作用物質の同定を行っている。

一方、II)の癌細胞の増殖抑制等の直接作用に関しては、SGに含まれる有機酸の影響、あるいは、SGが

表2 SG含有飼料摂食マウスの飼料効率

実験群	飼料効率 (%)			
	0~5週	6~10週	11~20週	21~30週
対照群	5.5	1.2	0.5	0.3
3%SG群	5.9	1.4	0.5	0.3

腸内細菌の有機酸産生に与える影響が考えられる。酪酸には大腸癌の細胞にアポトーシスを誘発することが確かめられている⁶⁾ことから、SGのアポトーシスに与える影響をはじめ、生体の免疫系に与える菌体成分の影響に関して現在検討中である。

発酵食品の多くは多種の微生物が共生あるいは共存している事が多く、共生の場合にはそれぞれの微生物が発酵に於いて重要な役割を担っている。今回用いた多種混合培養物中の微生物が互いにどのような共生関係を保ちながら生体に対して機能性を発揮しているかについて、有効成分の産生性等を指標に現在検討中である。

参考文献

- 1) R Fuller & G R Gibson, Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. Scand J Gastroenterol 32 : 28-31, 1997.
- 2) T Mizutani, Gnotobiotic mice as a tool in cancer research. Germfree life and its ramifications, K Hashimoto et al (eds.) XII ISG Publishing Committee Shiozawa. Japan : p387-391, 1996.
- 3) N Kulkarni and B S Reddy, Inhibitory effect of *Bifidobacterium longum* cultures on the azoxymethane-induced aberrant crypt foci formation and fecal bacterial β -glucuronidase. P.S.E.B.M. 207 : 278-283, 1994.
- 4) L Baricault, G Denariatz, J J Hourri et al : Use of HT-29, a cultured human colon cancer cell line, to study the effect of fermented milks on colon cancer cell growth and differentiation. Carcinogenesis 16 : 245-252, 1995.
- 5) 横倉輝男：Ⅷ乳酸菌、発酵食品の栄養生理効果-制癌、免疫賦活作用、乳酸菌研究集談会編、乳酸菌の化学と技術、2版。東京、学会出版センター：p322-334, 1996.
- 6) A Hague, D J E Elder, D J Hicks et al : Apoptosis in colorectal tumour cells : Induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. Int J Cancer 60 : 400-406, 1995.

Effects of mixed culture products by lactic acid bacteria on 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in mice

Ryouichi Shin, Momoyo Suzuki, *Takeo Mizutani

ALA Co

*Laboratory animal research center, The Institute of physical and Chemical Research (RIKEN)