研究ノート

マウスへのヨーグルトおよびケフィール投与が腫瘍の増殖に及ぼす影響

古川 徳, 松岡 昭善, 山中 良忠
東京農業大学農学部畜産学科

Effects of Orally Administered Yogurt and Kefir on Tumor Growth in Mice

Noboru FURUKAWA, Akiyoshi MATSUOKA
and Yoshitada YAMANAKA

Department of Zootechnical Science, Faculty of
Agriculture, Tokyo University of Agriculture,
Setagaya-ku, Tokyo 156

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr., Food Sci.*) 43, 450~453 (1990)

The antitumor activity of yogurt and kefir was examined in BDF1 mice, weighing 17 to 19 g, which received a subcutaneous inoculation of 7.2×10^5 cells of Lewis lung carcinoma (3LL) into the right axilla. The mice were fed by gastric intubation every day with a pasteurized solution of yogurt and kefir (freeze-dried base 2 g/kg body weight) from day 1 to day 9 after tumor cell inoculation. The growth of 3 LL was inhibited by 62% and 46%, respectively, by oral administration of kefir and polysaccharide Kureha (PSK) as compared with non-treated mice. The weight of the spleen and the number of leucocytes in tumor-bearing mice on day 14 were increased 4-fold and 5-fold, respectively, as compared with normal mice. The increase was prevented by administration of kefir and PSK.

Key Words antitumor, yogurt, kefir, oral administration.

(Received August 8, 1989)

発酵乳は、栄養学的¹⁾²⁾にはもちろんのこと、胃腸障害に対する予防・治療の効果の面^{3)~5)}においても優れた食品といえる。また、ヨーグルト、アシドフィラスミルク、ケフィールおよびそのスターターの菌体成分は、biological response modifier (BRM) として生体の恒常性維持への寄与が期待されるが、抗がん性に関する研究は Ehrlich Sarcoma や Sarcoma-180 に関する報

告^{6)~8)}が大部分であり、作用機構に関して不明な点が多く、さらに追求する必要がある⁹⁾と考えられている。このような現状から、本研究では食品と健康との関連の中で、発酵乳の重要性に着目し、ヨーグルトとケフィールの生理的な指標の一つとして Lewis 肺がんの増殖に対する影響を検討した。

実験材料および方法

実験材料として用いた SLC-BDF1 雌マウスは、SPF で6週齢のものを静岡実験動物農業協同組合より購入し、Lewis 肺がん細胞は明治製菓(株)薬理安全性研究所から分譲を得て実験に供した。

がん生細胞は、 7×10^5 /マウス相当となるように SLC-BDF1 マウスの右腋窩部に移植した。

経口投与したヨーグルトは、市販品を凍結乾燥し、その 1 g を滅菌水 10 ml に溶解して 80°C で5分間殺菌した溶液を投与した。また、ケフィールは、85°C で30分間殺菌した 10% 還元脱脂乳に 5% 量のケフィール粒 (Chr. Hansen's laboratorium A/S, Sankt Annae Plads 3. 1250 Copenhagen K. Denmark) を加え、18~20°C で24時間培養した後に均質化 (ホモブレンダーで 6,000 rpm, 15 分間) し、凍結乾燥したものをヨーグルトと同様に処理して投与した。PSK (クレハ科学製) は、1 g を滅菌水 20 ml に溶解して投与した。各実験区のマウスへのヨーグルトとケフィール凍結乾燥物および PSK の投与期間および投与量は、Table 3 に示した。

凍結乾燥前の発酵乳の一般成分は常法¹⁰⁾により、非還元糖は pH 4.6 とした後に遠心分離によってカゼインを除いた濾液についてフェノール硫酸法¹¹⁾で測定した全糖から、パークジョソソン法¹¹⁾で測定した還元糖を減じて求めた。

腫瘍部および臓器の重量は、腫瘍移植後 14 日目に測定し、白血球数は屠殺前に眼底部から採血して計数した。

腫瘍重量、臓器重量および白血球数の結果は、一元配置分散分析を行い、有意差を検定した¹²⁾。

実験結果

マウスに経口投与した3種の発酵乳の凍結乾燥前の一般成分組成は、Table 1 で明らかなように、ケフィールにおいて脂肪含量および全固形分含量が少ない成績を得た。また、還元糖含量は、Table 2 に示すようにすべての発酵乳について差が認められないが、非還元糖含量は、ヨーグルトに比べてケフィールで約2倍高い傾向を示した。

ヨーグルトおよびケフィールの経口投与が、マウス腋窩部へ移植した Lewis 肺がん細胞の増殖に及ぼす効果

Table 1. General composition of fermented milk.

Fermented milk ^{a)}	Total solids (%)	Crude protein (%)	Fats (%)	Ash (%)
Yogurt A	12.4±0.15 ^{b)}	3.5±0.04	2.9±0.26	0.8±0.00
Yogurt B	11.8±0.15	3.3±0.06	2.9±0.09	0.8±0.01
Kefir	9.1±0.11	3.1±0.15	0.1±0.00	0.8±0.01

^{a)} Yogurt A and B were purchased from commercial store. The kefir grains were added at 5% (w/v) to 10% reconstituted skim milk. The milk and grains were thoroughly stirred and left to stand for 24 h at room temperature (20–22°C). ^{b)} Mean±S.D.

Table 2. Sugar of fermented milk.

Fermented milk	Total sugar ^{a)} (%)	Reducing sugar ^{b)} (%)	None-reducing sugar (%)
Yogurt A	3.7±0.21 ^{c)}	3.1±0.32	0.5±0.34
Yogurt B	3.7±0.12	3.0±0.09	0.6±0.15
Kefir	4.3±0.18	3.0±0.11	1.2±0.17

^{a)} Total sugar was determined by Phenol-H₂SO₄ method. ^{b)} Reducing sugar was determined by Park-Johnson method. ^{c)} Mean±S.D.

Table 3. Effects of orally administered fermented milk on tumor weight in BDF1 mice bearing Lewis lung carcinoma.

Groups	n	Dose (g/kg)	Dose schedule	Transplantation (day 0, ×10 ⁵ /head)	Tumor weight (g)	Inhibition rate (%) ^{c)}
Control	9	none	day-1-9	7.2	1.3±0.56 ^{a)}	—
Yogurt A	8	2	"	"	1.1±0.74	15
Yogurt B	7	2	"	"	1.1±0.42	15
Kefir	9	2	"	"	0.5±0.45 ^{b)}	62
PSK	9	0.5	"	"	0.7±0.41 ^{b)}	46

^{a)} Mean±S.D. ^{b)} Statistical significance by analysis of variance from control: $p < 0.05$. The weights of tumor were determined at 2 weeks after tumor inoculation. ^{c)} $\{1 - (\text{Mean tumor weight of treated mice} / \text{mean tumor weight of control mice})\} \times 100$.

について検討し、Table 3 の結果を得た。マウスに Lewis 肺がん細胞を 7.2×10^5 /マウス移植した 1 日後から 9 日間連続してヨーグルトまたはケフィールを 2 g/マウス体重 kg ずつ投与した区では、移植部位の腫瘍重量が対照区に比べて軽く、ヨーグルト A、B およびケフィールでそれぞれ 15、15 および 62% の抑制率を示した。とくにケフィールを投与した区の抑制率は、抗がん剤である PSK を 0.5 g/マウス体重 kg 投与した区 (抑制率 46%) よりも高く、対照区に比べて移植部位における腫瘍の増殖抑制に有意差 ($p < 0.05$) が認められた。また、マウスの体重変化は、対照区に比べてヨーグルト A と B、ケフィールおよび PSK 投与区がやや少ない傾向を示したが、有意な差は認められなかった。

次に Lewis 肺がん細胞を移植し、14 日目に測定し

た臓器重量および白血球数は、Table 4 に示すとおりであった。マウスの白血球数は担がん状態で著しく増加し ($p < 0.01$)、正常マウスの約 5 倍に達したが、ケフィールと PSK を投与することによりそれぞれ 41% および 50% 減少し、対照区に比べて $p < 0.05$ と $p < 0.01$ で有意な差が認められた。さらに臓器重量において、リンパ組織である脾臓は、担がん状態において著しく肥大化し、正常マウスの脾臓重量の約 4 倍に達した ($p < 0.01$)。この脾臓重量の増加は、PSK を投与することにより対照区に比べて 30% 抑制され、両者間には $p < 0.05$ で有意な差があった。その他の臓器重量には、ヨーグルト、ケフィールおよび PSK 投与区と対照区との間に差が認められなかった。

Table 4. Changes of internal organ weight and leucocyte number in BDF1 mice bearing Lewis lung carcinoma.

Groups	n	Internal organ (mg)					Leucocyte ($\times 10^2/\text{ml}$)
		Thymus	Heart	Lung	Spleen	Liver	
Normal	10	57 $\pm$ 17 ^{a)}	134 $\pm$ 18	135 $\pm$ 10	65 $\pm$ 10 ^{*b)}	1015 $\pm$ 105	16 $\pm$ 9*
Control	9	49 $\pm$ 26	117 $\pm$ 18	146 $\pm$ 12	255 $\pm$ 87	1083 $\pm$ 126	82 $\pm$ 43
Yogurt A	8	42 $\pm$ 14	122 $\pm$ 13	138 $\pm$ 12	242 $\pm$ 117	1061 $\pm$ 201	58 $\pm$ 20
Yogurt B	7	44 $\pm$ 10	124 $\pm$ 15	143 $\pm$ 9	217 $\pm$ 85	1059 $\pm$ 228	61 $\pm$ 17
Kefir	9	51 $\pm$ 12	124 $\pm$ 15	148 $\pm$ 17	204 $\pm$ 90	1087 $\pm$ 146	48 $\pm$ 20**
PSK	9	57 $\pm$ 13	151 $\pm$ 54	147 $\pm$ 20	178 $\pm$ 54**	1024 $\pm$ 122	41 $\pm$ 15*

a) Mean $\pm$ S.D. b) Statical significance by analysis of variance from control : * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$. The number of leucocytes and weight of internal organs were compared with those of control groups at day 14 after tumor cell inoculation.

考 察

ケフィールの脂肪含量と全固形分含量が他のヨーグルトに比べて少ないことは、ケフィールの製造に 10% 還元脱脂乳を用いたことに起因し、非還元糖含量の多いことは、分析に用いたケフィール中にケフィール粒が 5% 量含まれており、このケフィール粒中に約 24% 量含まれることが知られている多糖¹³⁾に起因すると考えられる。

Lewis 肺がんを移植したマウスに対する発酵乳の経口投与による効果についての報告はみられないが、Bogdanov ら¹⁴⁾は、*L. bulgaricus* の細胞壁成分を主成分とする blastolysin を静脈内へ投与し、Lewis 肺がんの増殖が抑制されることを認めている。腫瘍は異なるが、ヨーグルトを 7 日間連続して摂取させることにより、Ehrlich 腹水がんの増殖を抑制することを Friend ら⁶⁾は認めている。しかしながら、APT broth 中で培養したヨーグルトスターター菌の経口投与および加熱処理した乳酸菌菌体の腹腔内投与では効果が認められないと報告している。これと同様に Farmer ら¹⁵⁾は、乳酸菌菌体で認められる抗腫瘍効果が殺菌により消失すると報告している。一方、荒井ら¹⁶⁾は、*L. jugurti* LB と *Candida utilis* A-6 を培養した発酵乳を加熱殺菌後に経口投与して、Ehrlich 腹水がんの細胞増殖抑制を認めた。また、Shiomi ら^{17,18)}は、ケフィール粒から得た水溶性多糖のマウスへの経口投与が、皮下に移植した Ehrlich Sarcoma および Sarcoma-180 の固形腫瘍の成長阻害効果のあることを認めた。本実験においても実験に供した腫瘍は異なるが、加熱殺菌したケフィールの経口投与で抗腫瘍効果が発現された。この結果は、ケフィールの有効成分が、Friend ら⁶⁾や Farmer ら¹⁵⁾が抗腫瘍効果を認めた乳酸菌菌体成分と異なり、ケフィールに含まれる多糖あるい

は他の非還元糖を含む区分にあることを示唆するものであろう。

担がんマウスは、正常マウスに比べて腫瘍細胞の移植、それに続く腫瘍細胞の定着と増殖によるストレスにより、リンパ組織である脾臓の活動が昂進して脾臓の肥大化および白血球数の増加を引き起し、ケフィールおよび PSK の経口投与によって腫瘍細胞の増加がある程度抑制された結果、脾臓重量およびリンパ球数が正常マウスに近づいたものと考えられる。

要 約

BDF1 雌マウスの右腋窩部皮下に移植した Lewis 肺がん細胞の増殖と臓器に及ぼすヨーグルトおよびケフィールの経口投与の影響を検討した。

Lewis 肺がん細胞を 7.2×10^5 /匹移植した 1 日後から 9 日間連続してケフィールの凍結乾燥物を 2 g/マウス体重 kg ずつ胃内に投与したマウスの移植部位の腫瘍重量は、無処理の対照区のマウスに比べて有意に軽く、62% の腫瘍増殖抑制率を示した。この腫瘍増殖抑制率は、抗がん剤である PSK を 0.5 g/マウス体重 kg ずつ投与した場合より高い値であった。また、担がん状態に陥ることによって肥大化した脾臓は PSK の投与によって、増加した白血球数はケフィールおよび PSK の投与によって、その肥大化と増加が抑制され、対照区との間に有意の差が認められた。

文 献

- 1) Erdman, M.D., Bergen, W.G. and Reddy, C.A. : *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**, 901 (1977)
- 2) Breslaw, E.S. and Kleyn, D.H. : *J. Food Sci.*, **38**, 1016 (1973)
- 3) Niv, M., Levy, M. and Greenstein, N.M. : *Clin. Pediatr.*, **2**, 407 (1963)

- 4) Ferrer, F.P. and Boyd, L.J. : *Am. J. Dog. Dis.*, **22**, 272 (1955)
- 5) Abbott, P.L. : *J. Oral. Surg. Anesth. and Hosp. Dental Serv.*, **19**, 210 (1961)
- 6) Friend, B.A., Farmer, R.E. and Shahani, K.M. : *Milchwiss.*, **37**, 708 (1982)
- 7) Kato, I., Kobayashi, S., Yokokura, T. and Mutai, M. : *Gann*, **72**, 517 (1981)
- 8) Mitsuoka, T. : 2nd Ann. Natl. Symp. for Lactic Acid Bacteria and Health, Korea, 16 (1981)
- 9) Gurr, M.I., Ahito, K., Bianchi-Salvadori, B., Billy, J.M., Farr, D., Kouvalainen, K., Raibaud, P., Renner, E., Seakins, J.M., Sellars, R., Spetsig, L.O. and Stadhouders, J. : FIL-IDF bulletin, Document 159, Part 2, 22 (1983)
- 10) 中西武雄, 足立 達, 鶴田文三郎, 中江利郎, 菅原 弘, 下村正巳, 中野 寛 : 牛乳・乳製品検査 (乳業技術講座編集委員会編), 34 (1964), 朝倉書店 (東京)
- 11) 阿部喜美子, 瀬野信子 : 糖質実験法 (蛋白質 核酸 酵素 編集部編), 14 (1968), 共立出版 (東京)
- 12) 柴田寛三 : 新・生物統計学序説, 90 (1985), 創文 (東京)
- 13) Riviere, J.W.M., Kooiman, P. and Schmidt, K. : *Arch. Mikrobiol.*, **59**, 269 (1967)
- 14) Bogdanov, I.G., Velichkov, V.T. and Gurevich, A.I. : *Bull. Exp. Biol. Med.*, **84**, 1750 (1977)
- 15) Farmer, R.E., Reddy, G.V. and Shahani, K.M. : *J. Dairy Sci.*, **57**, 582 (1974)
- 16) 荒井幸一郎, 室田一也, 早川邦彦, 片岡元行, 光岡知足 : 腸内フローラと発癌, 105 (1981), 学会出版センター (東京)
- 17) Shiomi, M., Sasaki, K., Murofushi, M. and Aibara, K. : *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, **5**, 75 (1982)
- 18) Murofushi, M., Shiomi, M. and Aibara, K. : *Jpn. J. Med. Sci. Biol.*, **36**, 49 (1983)

(1989年8月8日受理)