

チーズの実験腫瘍に与える影響

防衛医科大学校細菌学教室

助教授 鶴 純 明

癌発生頻度の地域差は、発癌の要因として、食事などの環境因子の重要性を示唆している。したがって、悪性腫瘍の治療や予防における食事の果たす役割についても、注目されるようになってきている。その一つとして、長寿地域で習慣的に飲食されている牛乳や乳製品に関して、その摂取により発癌頻度が減少したり、腫瘍増殖が抑えられるという報告がみられる。比較的普及している乳製品の腫瘍に与える影響を検討する目的で、本年度は種々の腫瘍に対するチーズ摂取の影響を検討した。

方 法

Meth A-BALB/c, X5563-C3H/He, LLC-C57BL/6, S-180-ICRの腫瘍マウスの組合せで、プロセスチーズ、ナチュラルチーズ（ニューゴダ、エメンタール、グリエール）を通常飼育食と等量混合し摂取させ、各群の腫瘍の大きさを計測した。対照群は通常飼育食のみを摂取させた。一日食餌摂取量は各群ともほぼ3.5g/匹で、体重は各群とも実験期間中で有意差を認めなかった。

リンパ球の細胞表面マーカーの検討はFACSを用いて行い、リンパ球のPHA反応、中和反応は常法に従って行った。羊赤血球に対する抗体産生能はマウスから血清を採取しHA法で、血清鉄はバンフェナントロリン直接法により測定した。血清移入は、腫瘍摂取当日から4日間連続で0.5mlずつ腹腔内投与した。

結 果

種々の腫瘍に対するチーズの抗腫瘍効果

10⁶個の腫瘍を皮下接種した場合、対照群、チーズ摂取群とも全例に腫瘍生

着を認めたが、チーズ摂取群は対照群に比して有意な増殖抑制効果がみられた (Table 1)。また、腫瘍接種前の一週間のチーズ摂取でも増殖抑制効果を認めた (Table 2)。さらに、チーズを腫瘍接種の前後に摂取させた群では強い増殖抑制効果を認めた (Table 3)。

細胞表面マーカーに対する効果

FACS (fluorescence activated cell sorter) による解析から、チーズ摂取群でT細胞の表面抗原であるThy1.2抗原の有意な増加を認めた (Figure 1)。

PHA反応に対する効果

チーズ摂取群では対照群 (S1:3.3) に比して、リンパ球のプラスト化が有意に増加した (プロセスチーズ摂取群; S1:11.6) (Table 4)。

中和反応 (Winn's assay) に対する効果

Meth A-BALB/cマウスの組合せでE:T ratio 50:1と100:1でWinn's assayを行った。チーズ摂取群は対照群に比して有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた (Table 5)。

血清移入による効果

チーズ摂取群から採取した血清を移入した群ではMeth A腫瘍に対して抑制効果を認めた (Figure 2)。

抗体産生に対する効果

チーズ摂取群は抗体産生に関して対照群とほぼ同様であり、抑制的效果は認められなかった (Table 6)。

血清鉄に対する効果

チーズ摂取群では対照群に比し著明な血清鉄の上昇を認めた (Table 7)。

結 論

1. チーズ摂取により30-70%程度の抗腫瘍効果を認めた。
2. チーズは腫瘍の増殖に対して、抑制効果があると共に予防的効果もある。
3. チーズ摂取による変化は、
 - ① T細胞表面抗原の増加
 - ② PHA 反応の増強
 - ③ 血清鉄値の上昇
 - ④ Winn's assayよりキラーT細胞の増加の可能性が考えられる。
4. 従って、チーズ成分蛋白質とくにラクトフェリンの抗腫瘍効果を検討する必要がある。

Table 1. Effects of dairy products on tumor growth in various tumor-host combinations

Expt.	Tumor	Mouse	Diet	Tumor size (mm ²)				IR (%) (1w)
				1w	2w	3w	4w	
1	Meth A	BALB/c	Process cheese	15	30	114	ND	48
			Natural cheese	26	60	144	ND	35
			Control	30	75	220	ND	-
2	X5563	C3H/He	Process cheese	10	30	42	ND	75
			Natural cheese	6	16	54	ND	68
			Control	16	72	168	ND	-
3	LLC	C57BL/6	Process cheese	ND	190	385	435	40
			Yoghurt	ND	210	465	600	17
			Control	ND	250	475	720	-
4	Meth A	BALB/c	Yoghurt	2	63	ND	ND	62
			Control	12	164	ND	ND	-
5	S-180	ICR	Process cheese	30	56	120	ND	50
			Natural cheese	42	50	146	ND	39
			Control	55	110	240	ND	-

1 x 10⁶ tumor cells were injected sc in the flank of mice and tumor size was measured with a caliper.

Table 2. Effect of one week prefeeding of dairy products on Meth A tumor growth

Tumor	Mouse	Diet		Tumor size (mm ²)		IR (%)	
		Prefeeding	After tumor injection	1w	3w	1w	3w
		Meth A	BALB/c	Process cheese	Control	10	174
		Natural cheese	Control	18	218	25	7
		Yoghurt	Control	21	176	12	25
		Process cheese	Process cheese	ND	80	ND	66
		Natural cheese	Natural cheese	ND	72	ND	69
		Yoghurt	Yoghurt	ND	112	ND	52
		Control	Control	24	235	-	-

1×10^6 Meth A tumor cells were inoculated sc in the flank of BALB/c mice

Table 3. Effects of duration of feeding with various kinds of dairy products on Meth A tumor growth

Tumor	Mouse	Diet	Feeding period	Measurement	Tumor size (mm ²)	IR(%)
Meth A	BALB/c	Process	-7d	7d	63 ± 13	22.2
		New Gouda			64 ± 20	21.0
		Emmental			64 ± 9	21.0
		Gruyère			64 ± 26	19.8
		Yoghurt			70 ± 7	13.6
		Control			81 ± 7	-
Meth A	BALB/c	Process	+21d	21d	351 ± 27	16.6
		New Gouda			335 ± 49	20.4
		Emmental			286 ± 89	32.1
		Gruyère			307 ± 37	27.1
		Yoghurt			283 ± 66	32.8
		Control			421 ± 73	-
Meth A	BALB/c	Process	-7,+21d	21d	160 ± 15	65.9
		New Gouda			144 ± 33	69.3
		Emmental			173 ± 63	63.1
		Gruyère			155 ± 22	67.1
		Yoghurt			189 ± 44	59.7
		Control			469 ± 50	-

1 × 10⁶ Meth A tumor cells were inoculated sc in the flank of BALB/c mice.

Table 4. PHA response in dairy products fed-mice

Diet	PHA	³ H-TdR uptake	SI
Process cheese	(-)	10121.3	11.6
	(+)	117460.5	
Yoghurt	(-)	15228.0	5.0
	(+)	76332.5	
Control	(-)	14557.8	3.3
	(+)	47966.8	

Proliferation was measured by the incorporation of ³H-thymidine for last 5 hours of culture. Results represent mean of triplicate experiments.

Table 5. Inhibition of tumor growth by peripheral LN cells detected by Winn's assay

Target tumor	Effector peripheral LN cells	E:T ratio	Tumor size (mm ²)			IR(%) at 3w
			1w	2w	3w	
Meth A	Tumor-bearing process cheese-fed	50 : 1	9	87	165	31
		100 : 1	10	75	150	33
	Tumor-bearing yoghurt-fed	50 : 1	7	83	162	33
		100 : 1	7	70	145	36
	Tumor-bearing non-fed	50 : 1	20	114	240	-
		100 : 1	15	112	225	-

Effector cells were mixed with 1×10^5 Meth A tumor cells at effector to target (E:T) ratios of 50:1 or 100:1. The mixtures were inoculated sc into BALB/c mice and tumor size was measured 3 weeks after tumor inoculation.

Table 6. Effect of dairy products on antibody response against SRBC in tumor-bearing mice

Expt.	Tumor	Mouse	Diet	Feeding period	HA titre					
					Total	2ME-resist				
1	Meth A	BALB/c	Process cheese	1w	64	16				
				2w	64	32				
				Natural cheese	1w	64	16			
					2w	64	16			
			Control	1w	32	16				
				2w	32	16				
				2	S-180	ICR	Process cheese	1w	64	16
								2w	128	32
Natural cheese	1w	64	8							
	2w	128	16							
Control	1w	32	8							
	2w	128	16							

HA titre was determined 7 days after the boosting challenge of SRBC. The titre of IgG was evaluated as 2-mercaptoethanol resistant reaction.

Table 7. Effect of dairy products on serum iron level

Diet	Feeding periods	Serum iron ($\mu\text{g}/\text{dl}$)
Process cheese	1w	424
	2w	408
Emmental cheese	1w	327
	2w	648
New Gouda cheese	1w	240
	2w	299
Gruyère cheese	1w	265
	2w	273
Yoghurt	1w	120
	2w	128
Control	1w	127
	2w	125

Serum iron concentration was measured by Fe B-Test Kit.

Results represent mean of triplicate experiments.

LEGENDS

FIG. 1 FACS analysis of peripheral lymph node cells.

Peripheral lymph node cells of mice fed yoghurt, process cheese and control chow were stained with FITC-conjugated anti-Thy 1.2 antibody and analysed by FACS II. Each pattern of histogram of Thy-1.2 positive cells is illustrated as relative cell numbers and fluorescence intensity.

FIG. 2 Effect of serum transfer on growth of Meth A tumour

cells. Sera were transferred ip for 4 days from the day of 10^6 Meth A tumour inoculation. Tumour size was measured 1 week after tumour inoculation. Control received no serum transfer. Data were shown as an arithmetic mean of 10 animals \pm standard error.

Fig. 1. Tsuru et al.

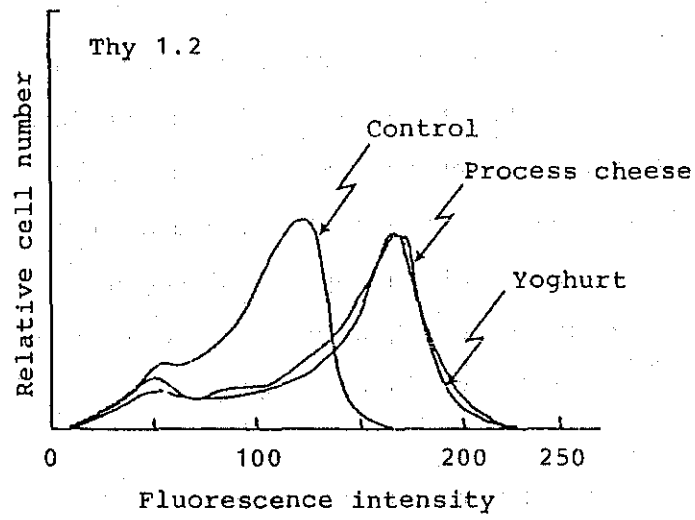


Fig. 2. Tsuru et al.

