

古代海洋生物由来の腐植性堆積物「シアルマリン®」の抗腫瘍効果 :基礎および臨床研究

富川 武記^{1)★} 萩尾 光美^{2,3)} 照屋 輝一郎⁴⁾ 野口克己⁵⁾

- 1)九州大学大学院農学研究院生命機能科学部門機能水・機能性食品・エネルギー講座(〒812-0054 福岡県福岡市馬出 3-1-1)
- 2)海辺の動物病院はぎお(〒889-2162 宮崎市青島 1-2-27)
- 3)東九州動物医療センター(〒882-0034 延岡市昭和町 2-2294-1)
- 4)九州大学大学院農学研究院生命機能科学部門システム生物工学講座 細胞制御工学分野(〒819-0395 福岡市西区元岡 744)
- 5)株式会社野口総合研究所(〒880-0913 宮崎県宮崎市恒久 1 丁目 10 番地 9)

★連絡責任者:富川 武記(九州大学大学院農学研究院生命機能科学部門機能水・機能性食品・エネルギー講座)
〒812-0054 福岡県福岡市馬出 3-1-1 TEL:092-642-6756 Email:takeki@agr.kyushu-u.ac.jp

Anti-tumor effects of Sialmarine, humic soil derived from ancient marine organisms: basic and clinical research

Takeki TOMIKAWA^{1)★}, Mitsuyoshi HAGIO^{2,3)}, Kiichiro TERUYA⁴⁾, Katsumi NOGUCHI⁵⁾

¹⁾Laboratory of Functional Water, Food and Energy, Department of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kyushu University, 3-1-1 Maebaru, Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka 812-0054, Japan

²⁾Seaside Animal Hospital-Hagio, 1-2-27 Aoshima, Miyazaki-shi, Miyazaki 889-2162, Japan

³⁾Higashi-Kyushu Animal Medical Center, 2-2294-1 Showamachi, Nobeoka-shi, Miyazaki 882-0034, Japan

⁴⁾Division of Bioscience and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Kyushu University, 744 Motooka, Nishi-ku, Fukuoka 819-0395, Japan

⁵⁾Noguchi General Laboratory Co.Ltd, 1-10-9 Tsunehisa, Miyazaki-shi, Miyazaki 880-0913, Japan

SUMMARY : Sialmarine is a soil collected from a stratum approximately 300,000 years old at a depth of 40 m below the surface, and has been reported to have intracellular reactive oxygen species (ROS) scavenging activity. In this study, we examined the anti-tumor effect of this marine soil using mice models of carcinoma and conducted a clinical study on dogs with malignant tumors. Tumor size was measured in each group after Colon-26 cell transplantation, and a Sialmarine content-dependent tumor size suppression was observed. In clinical trials, one case of tumor shrinkage and another case of prolongation of life and improvement of QOL were observed, although little regression was observed, indicating a certain level of efficacy. And also, almost no side effects were observed.

KEY WORDS: antioxidant, humic soil, anti-tumor

要約:シアルマリン®(以下シアルマリン)は地下 40m にある約 30 万年前の地層から採取される堆積物であり、活性酸素消去活性を有していることが報告されている。本研究では、この海洋性堆積物を用いて担ガンモデルマウスを使用した抗腫瘍効果を検証し、併せて悪性腫瘍罹患犬への臨床試験を行った。Colon-26 細胞移植後に各群における腫瘍サイズの計測を行ったところシアルマリン含有量依存的な腫瘍サイズ抑制効果が確認された。臨床試験については腫瘍の縮小が明らかに認められた例、退縮効果はほとんど認められないものの延命や QOL の改善が示唆される例など一定の効果が確認された。また副作用はほとんど認められなかった。
キーワード:抗酸化物質、腐植土壌、抗腫瘍

はじめに

近年ペットの飼育環境の改善により大幅に寿命が延び、それに伴う老化に関連する疾病が急増している。特にがんは人だけでなく犬猫ともに死因の上位を占めている[1]。

シアルマリン®(以下シアルマリン)は地下40mにある約30万年前の地層から採取される。通常有機物を豊富に含む土壌は酸化及び分解が進み海泥へと移行していくが、長年の期間が経過しているにもかかわらず海泥の前駆状態である腐植土壌のまま維持、保存され、特殊な環境下で非常に温和な分解及び発酵が続けられていたと推測される。そのためこの土壌は特徴的なメープルの香りを発しミネラル類だけでなく豊富に有機物が残存し、糖類や葉緑素等が確認されている[2]。

このシアルマリンから抽出された溶液は四半世紀前から日本にて飲料水として商用販売されており、現在ではアジア各国にも輸出されている。

これまでシアルマリン抽出液は抗腫瘍効果を有していることが示唆されており、また抗酸化活性を持ち、細胞内活性酸素消去活性を有していることが報告されている[3]。そこで本研究ではこの海洋性堆積物を用いて担ガンモデルマウスを使用した抗腫瘍効果を検証した。

材料および方法

雌の Balb/c マウス 4 週齢を Japan SLC, Inc. (Shizuoka, Japan) から購入した。マウス由来大腸がん細胞 Colon-26 細胞株は東北大学加齢医学研究所 医用細胞資源センターから入手した。すべての動物実験手順は、九州大学動物愛護委員会(承認番号:A19-237-0)により審査され、関連ガイドラインおよび規則に従って実施された。すべての動物実験プロトコルは、「動物実験規則」を遵守して実施された。また Reporting of in vivo Experiments (ARRIVE) ガイドライン (<https://www.nc3rs.org.uk/arrive-guidelines>) を遵守して実施した。

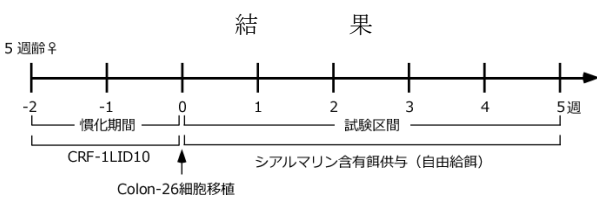


Fig. 1 マウス試験とサンプル給餌概要スケジュール。

Table 1 各グループにおけるサンプル給餌条件。

群	対照 1	対照 2	2%シアルマリン	5%シアルマリン
餌	CRF-1LID10	5%セルロース +CRF-1LID10	3%セルロース +2%シアルマリン +CRF-1LID10	5%シアルマリン +CRF-1LID10

シアルマリンの摂取によってがん細胞がどのような影響を受けるのか検証するために担ガンモデルマウスを用いて検討を行った。移植に使用したがん細胞は大腸がん由来 Colon26 細胞を使用した。実験概要とサンプル供与条件を Fig 1 及び Table 1 に示す。

試験は2週間の慣化期間の後にがん細胞移植時から開始し、シアルマリン含有固形餌を与えた。対照区として CRF-1 を与えた群(対照 1)と5%のセルロースを含有させた CRF-1 固形餌(対照 2)を作成し試験期間を通じて自由に給餌させた。試験区としてシアルマリン 5%含有させた CRF-1 固形餌及び2%のシアルマリン及び3%セルロースを含有させた CRF-1 固形餌を用意しそれぞれ2%シアルマリン群及び5%シアルマリン群として自由に給餌させた。Fig 2 は7日ごとに測定した各群のマウス1匹あたりの平均体重、摂餌量および飲水量を示したものである。それぞれの試験において実験期間中における各群間の体重変化、飼料摂取量及び水摂取量に有意な差は認められなかった(Fig 2)。

Colon-26 細胞移植後に各群における腫瘍サイズの計測を行った(Fig. 3)ところ CRF-1 のみを自由摂餌させた群(対照 1)とシアルマリンと比較のためにセルロース含有量が5%になるように作成した CRF-1 固形餌(対照 2)の間において試験内での測定値に有意差は見られなかった(Fig. 3 A)。対して2%シアルマリン及び5%シアルマリン含有 CRF-1 固形餌を自由摂餌させた群ではがん細胞移植後3週目にて対象と比較して有意な抑制効果が確認され以後5週目までシアルマリン含有 CRF-1 固形餌摂餌群ではシアルマリン含有量依存的な腫瘍サイズ抑制効果が確認された。Fig. 3 B に示すようにがん細胞移植後28日では対照と比較して5%シアルマリン含有餌では約6割の平均腫瘍サイズの減少を示した。

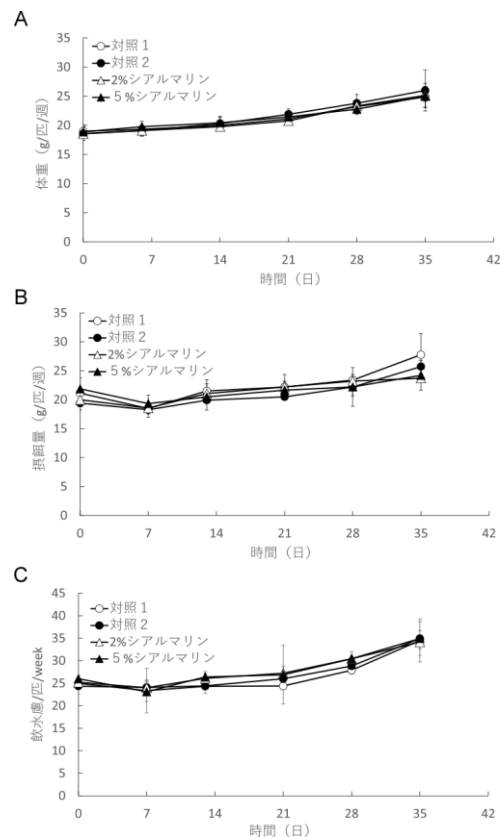


Fig. 2 各試験群における平均体重、摂餌量及び飲水量。
(A) 各群のマウス1匹あたりの体重。(B) 各群のマウス1匹あたりの餌消費量。(C) 各群のマウス1匹あたりの飲水量。

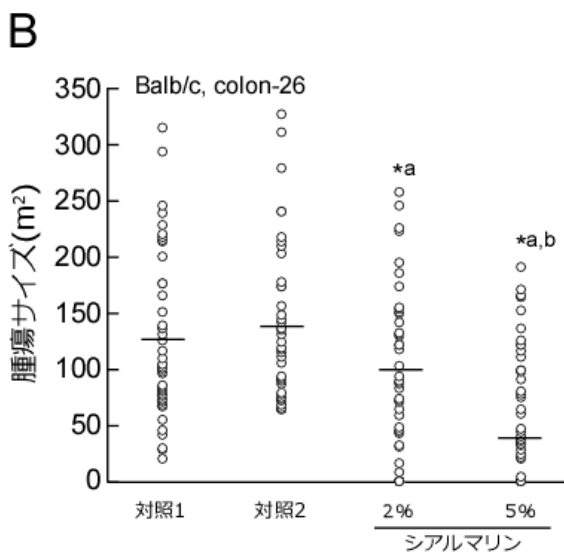
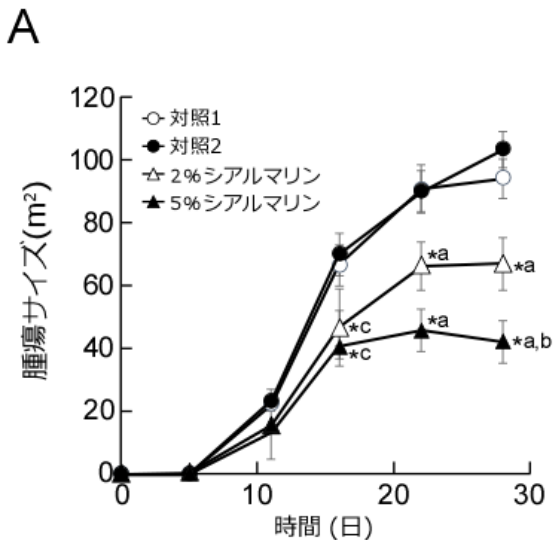


Fig. 3 シアルマリン摂取による腫瘍形成能への影響。(A) 腫瘍サイズのタイムコース測定。BALB/c マウスに背部正中線に沿って Colon-26 腫瘍細胞を s.c.接種した。得られた皮膚腫瘍を 1 週間あたり 1 回、2 つの垂直方向で測定し、腫瘍面積 (mm²) を記録した。エラーバーは SE で示している。(B) 腫瘍細胞移植後 28 日目の腫瘍サイズの測定。図中棒線は測定した腫瘍サイズの平均値を示している。*a、*b 及び *c はそれぞれ対照 2 に対しての P 値 (p>0.01)、対照 1 に対しての P 値 (p>0.01) 及び P 値 (p>0.05) を示している。

2. 臨床試験

供試犬: 供試犬は、過去約 2 年間に「海辺の動物病院はぎお」および「東九州動物医療センター」に来院した悪性腫瘍罹患犬のうち、原発腫瘍に加え肺への転移が認められた症例、外科的治療や化学療法が困難と判断されたエンドステージの症例などである。なお、本試験は試験開始前に供試犬の飼い主に本試験の趣旨・内容を詳細に説明し、同意を得た上で実施した。

結果: 腫瘍の縮小が明らかに認められた例 (Fig.4)、退縮効果はほとんど認められないものの延命や QOL の改善 (元

気・食欲の増進、腫瘍自潰創の浸出液・悪臭・疼痛の軽減など) が示唆される例など一定の効果が確認された。またシアルマリン投与後の副作用はほとんど認められなかった。



Fig. 4 右顔面にできた非上皮性肉腫 (トイプードル雄、13 歳): 左はシアルマリン投与前、右は投与 3 日後。腫瘍の著明な退縮が認められた。

考 察

悪性腫瘍の治療法は主に外科的手法、放射線療法、免疫療法または化学療法があり、最も効果的ながん治療法の一つとしての化学療法は単独であるいは他の治療法と組み合わせて使用されている[4]。様々な種類のがん予防及び治療薬が使用されているが、現在の合成医薬品はその作用機序上、正常な組織や細胞の損傷を伴う [4], [5]。そのため、これらの治療法の長期使用は深刻な副作用を引き起こし、QOL を著しく低下させる。近年、補完代替医療は、その有効性と副作用の少なさから世界的に関心が高まっており、これらのアプローチはがんの予防と治療にとって魅力的な選択肢であると考えられている [6]。シアルマリン摂取における副作用に関して、マウス試験において体重や飲食量の変化及び異常行動が確認されず、また犬の臨床例においても副作用は認められなかった。そしてシアルマリンは天然物由来であることから安全に利用できる可能性が高い。また今回確認されたマウス試験の高い抗腫瘍効果及び一部の臨床例に認められた同様の効果、さらに本剤が有する抗酸化活性や副作用の少なさから、獣医臨床においても現在確立されている他の抗がん治療法と併せて利用することで、より高い治療効果が期待できる可能性が示唆され、また補完代替医療の候補として期待できる。今回の臨床試験はまだトライアルの段階であり、今後さらに症例数を増やし、腫瘍タイプ別による抗腫瘍効果の違い、シアルマリンの至適投与量などについて引き続き検討していきたい。

Colon-26 細胞由来の腫瘍に対するシアルマリンの腫瘍抑制効果のメカニズムについては解明されていない。また、抗腫瘍効果を示す物質の同定も課題の一つである。今回の結果では 2-5% の経口摂取によって末梢の皮膚に移植された腫瘍に対し有意な腫瘍抑制効果が確認された。経口摂取から体内に有効成分が吸収されると仮定した場合、例えばカテキンの場合、血中に濃度は約 1/100-1/1000 倍程度の濃度である [7]。シアルマリン摂取がカテキンと同程度体内に吸収されると仮定した場合、2% シアルマリンの経口摂取で約 0.02-0.002% の有効成分が末梢に到達できると推測される。これまでの報告からシアルマリン抽出液によるがん細胞増殖抑制効果が報告されているが、Hela 細胞では 50% シアルマリン抽出液処理で対象と比較して約 30% の生存率の減少しか生じていない。そのためシアルマリンの主要な抗腫瘍メカニズムは直接的ながん細胞死誘

導ではなく、免疫細胞の活性化などを介した間接的な腫瘍形成抑制ではないかと推測される[3]。今後は極低濃度暴露条件下での *in vitro* 試験を行うことによってシアアルマリンの抗腫瘍効果メカニズムの解析を試みる予定である。

参 考 文 献

- [1] 井上 舞, 明杉 浦勝:動物病院カルテデータをもとにした日本の犬と猫の寿命と死亡原因分析. 日獣会誌, 75, 128–133 (2022)
- [2] Kato Y, Ohta M, Kamei K *et al.* :Il-12誘導活性を示す天然葉緑土由来ミネラル水中の複合糖質の構造解析. *Bunseki Kagaku*, 5, 391–397 (2005)
- [3] Ye J, Li Y, Teruya K *et al.* :Catalyser-21TM, a mineral water derived from leaf soil, inhibits tumor cell invasion and angiogenesis. *Cytotechnology*, 55, 61–70 (2007)
- [4] Li B, Shao H, Gao L *et al.* :Nano-drug co-delivery system of natural active ingredients and chemotherapy drugs for cancer treatment: a review. *Drug Deliv*, 29, 2130–2161 (2022)
- [5] Park S, Jeon S, Kim O *et al.* :Anti-tumor effects of the ethanolic extract of *Trichosanthes kirilowii* seeds in colorectal cancer. *Chinese Med (UK)*, 14, 43 (2019)
- [6] Li W, Li C, Zheng H *et al.* :Therapeutic targets of Traditional Chinese Medicine for colorectal cancer,” *J Tradit Chinese Medical Sci*, 36, 243–249 (2016)
- [7] Nakagawa K, Miyazawa T :Absorption and Distribution of Tea Catechin, (-)-Epigallocatechin-3-Gallate, in the Rat. *J Nutr Sci Vitaminol*, 43, 679–684 (1997)