

総 説

環状重合乳酸のガン細胞増殖抑制効果

野 嶽 勇 一, 深 澤 昌 史, 榊 原 隆 三

(長崎国際大学 薬学部 薬学科)

要 旨

乳酸を環状に重合した化合物である環状重合乳酸 (CPL) が、ガン細胞の増殖を強力に抑制することが見出されている。CPL のこの特異な生理活性が脚光を浴び、CPL を新しいタイプの機能性食品や抗ガン剤として応用するための試みが精力的に実施されている。

CPL はガン細胞のピルビン酸キナーゼおよび乳酸脱水素酵素の活性阻害に効果を示し、ガン細胞の解糖系を特異的に抑制する特長を示す。この結果、解糖系の機能が低下したガン細胞においては、エネルギーおよび細胞構成成分の産生・供給が停滞状態に陥る。また、CPL の作用によりガン細胞ではアポトーシスも誘導されることから、ガンの成長が抑制されることが示されている。現在では、ガン患者を対象とした CPL の臨床試験も実施されており、腫瘍の縮小や症状の改善に関する症例報告がある。

キーワード

環状重合乳酸、ガン細胞増殖抑制、解糖系、ピルビン酸キナーゼ、乳酸脱水素酵素

1. はじめに

ヒトの個体は約60兆個の細胞から構成されており、細胞数を一定に保持する精密な制御機構が備わっている。しかし、細胞分裂に伴うガン遺伝子の偶発的な変異や多くのガン誘発因子 (化学物質、環境因子、ウイルス等) の影響を受け、細胞が分裂・増殖に関する制御機構を損失すると、無制限に増殖するガン細胞の発生に至る。ガン細胞は増殖・浸潤・転移を繰り返して全身へ広がるため、正常な生体機能の破綻や多臓器不全を引き起こし、やがて個体の死を招く。ガンという病気の怖さはその死亡率の高さもさることながら、同時に、他の病気と比較すると罹患年齢が若く、働き盛りの生命を否応なく奪うケースもある点が挙げられる¹⁾。実際、急速な高齢化社会に突入した我が国では、死亡原因の第1位をガン (悪性新生物) が長く占め続けている (図1)²⁾。1985年以降、その割合は急激に増加し、現在では全死亡原因の約3割

を占めるに至っている。ガンは老若男女を問わず、現在の我が国で最も早急に対応策が求められている疾患の一つである。

従来、ガンに対しては主として三大治療法 ((i) 移植を含めた外科的治療法、(ii) 抗ガン剤を用いた化学療法、(iii) 放射線療法) が実施されてきたが、未だ十分な成果を挙げるに至っていない。特に化学療法に関しては、総じ

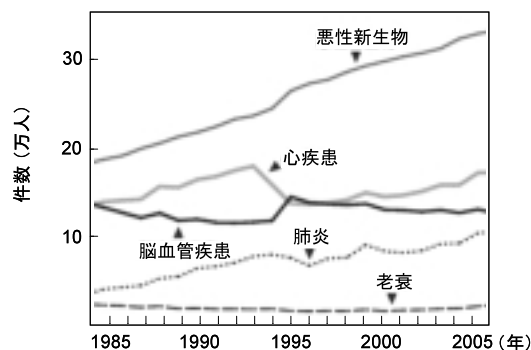


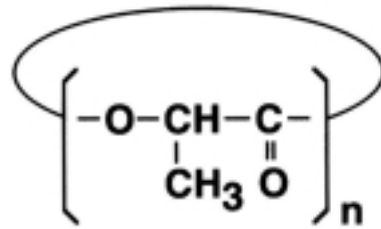
図1 日本人の主な死亡原因の変遷 (参考文献2より引用・一部改変)。

て抗ガン剤の強い作用が正常細胞にもダメージを与えてしまうことに加え、長期にわたる服用により深刻な副作用を発現してしまう問題がある。また、腫瘍の種類によっては未だ有効な薬剤も開発されていないのが現状である。このため、副作用の抑制と抗腫瘍効果の増大を目的とした多剤併用療法が試みられているが、これらの問題を根本から解決するには至っていない。また、比較的新しいとされる免疫療法や遺伝子治療法の開発が進められているが、未だ研究段階の域を出ない。

我々はガン予防の観点から、現在、乳酸菌代謝生産物質に含まれる新規の活性物質を探索する研究に取り組んでいる^{1,2)}。常用できる食品中にガン予防に繋がると考えられる物質を求める研究は現在のところ希少であり、今後の成果を期待しているところである。このような現状の中、最近になって、我々とは異なった観点から「環状重合乳酸(Cyclic polylactate: CPL)」と呼ばれるガン予防効果を示す大変興味深い化合物が高密度培養されたガン細胞培養液中から発見され、同定されている。そこで、本稿ではCPLの発見の経緯、構造や合成経路、培養ガン細胞に対する生理活性、およびヒトが摂取した際の効果等、CPLの発見から現在実施されている臨床試験に至る過程において蓄積されている知見を以下に紹介する。

2 . CPL の発見

上述のようなガン治療に関する社会的現状を踏まえ、多くの研究者がガン克服のための画期的な処方箋を探索する研究に取り組んでいる^{1,2)}。最近になって、新しいタイプの抗ガン物質として注目を集めているのが「CPL」である。CPLは分子量2,000以下の低分子化合物であり、乳酸分子の末端同士がリング状に結合した三次元構造を形成することにより、乳酸とは異なる性質を示す物質である(図2)⁴⁾。1982年、ヒト子宮ガン由来 Hela 細胞を高密度培養した培養液がガン細胞の増殖を顕著に抑制し、致死



(n = 3-19)

図2 CPLの分子構造
nは重合度を示す(参考文献4より引用)

効果を示すことが発見された⁴⁾。ガン細胞の増殖を抑制する何らかの物質が培養液中に存在するものと考え、以後、培養液からの活性成分の抽出が精力的に実施された。その結果、高密度培養液のブタノール抽出分画の低分子量域 (< 2,000) にガン細胞増殖抑制因子が放出されていることが判明し、1989年に乳酸が環状に連なったCPLを含む物質が活性成分であることが明らかにされた。1990年には天然の乳酸を開始物質とする有機化学的手法による合成研究が開始され、L-乳酸の段階的加熱および脱水処理によるCPLの合成法が確立された。それと同時に、薬効探索などの研究が並行して重ねられ、現在では抗ガンやガン予防を目的とした機能性食品の一つとして応用されるに至っている。

CPLは身体の状態に応じて細胞から分泌される健康維持物質の一つと考えられている。CPLは生体内で生成されることから副作用の危険性が低いと考えられているが、生成量が微量であることから、機能性食品として体外から補給する必要がある。現在では、免疫力の向上や代謝の安定化等、CPLが身体を構成する細胞の機能を活性化し、健康増進に役立つことが示唆されている。また、最近の研究結果から、予防医学やスポーツ医学への応用も期待されている。

3 . 分子構造と化学合成

CPLは分子量が2,000以下の重合乳酸で、(C₃

H_2O_2) の分子式で表される環状構造を有している (図 2)⁴⁾。分子動力学のエネルギー計算に基づく、低重合度 CPL 分子では中空の閉鎖系長楕円形リング構造を形成するが、高重合度 CPL 分子では徐々に C 字型様構造に変化することが示唆されている。

また、有機化学反応を利用した CPL の合成経路は既に確立されている^{4,6)}。まず、セパラブルフラスコ中の L 乳酸 (500 ml) を窒素ガス流入下 (500 ml/min) で攪拌し、溜出水を環流冷却器付フラスコに導きながら加熱 (145°C・3 時間) して遊離水を溜去する。次いで、3 段階の減圧・昇温条件下 (① 20 kPa・145°C・3 時間 ② 0.7 kPa・170°C・3 時間 ③ 0.7 kPa・190°C・1.5 時間) での合成反応を行い、反応生成物 (L 乳酸オリゴマー) を得ることができる。

この L 乳酸オリゴマーを 100°C に保持したまま、エタノール (100 ml)、メタノール (400 ml) の順に滴下し、放冷する。さらに、反応混合物をメタノール (500 ml) に混和・攪拌後、ろ過を行う。得られたろ液の減圧乾燥物をアセトニトリルに溶解し、全量を 200 ml (CPL 原液) とした後、この CPL 原液を逆相カラム (TSKgel ODS 80TM) に供与し、30-100% の範囲のアセトニトリル (pH 2.0) で段階的に溶離させる。最終的に、L 乳酸オリゴマー (重合度 3-19)

を 100% アセトニトリル溶出画分として得ることが可能である。風乾 CPL はプロピレングリコールを用いて 200 mg/ml となるように溶解し、実験に使用の際は PBS で希釈する。

4. ガン細胞増殖抑制活性および生理活性発現機序

CPL は「ガン細胞増殖抑制因子」としてガン細胞培養液中より発見された背景を有することから、CPL が示す生理活性のうち、ガン細胞の増殖に与える影響やその生理活性発現機序の解明に関してはこれまでにいくつかの知見が蓄積されている。

(1) ガン細胞増殖抑制活性

ヒト白血病細胞の一種である K562、HL60、および TF 1 細胞 (1.0×10^4 cells/ml/well) について、異なる濃度の CPL を含む IMDM 培地 (+10% ウシ胎児血清) を用いて 37°C・5% CO₂ 下で培養した際の細胞増殖数の変化が検討された (図 3)⁵⁾。K562 細胞に対しては、添加した CPL の濃度が 0.2 mg/ml 以上に至ると有意な細胞増殖抑制活性を示すことが明らかにされた。また、HL60 および TF 1 細胞に対する CPL の増殖抑制活性試験では、そのわずか 1/10 量の CPL によってガン細胞の増殖が顕著に抑制されたことが見出された。その一方で、L 乳酸

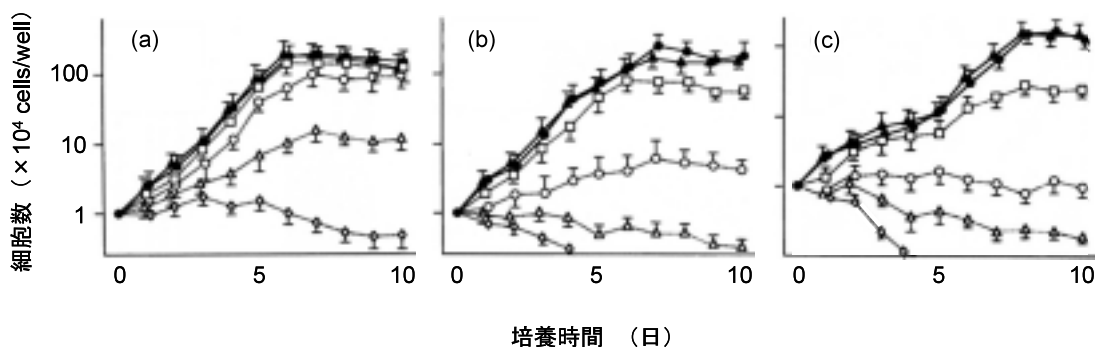


図 3 CPL によるガン細胞増殖抑制効果

(a) K562細胞、(b) HL60細胞、(c) TF 1細胞、の各ガン細胞を用いた。●; control, ■; L 乳酸 1.0 mg/ml, ○; CPL 0.2 mg/ml, △; CPL 0.02 mg/ml, □; CPL 0.002 mg/ml (参考文献 5 より引用・一部改変)。

(10 mg/ml) を培地中に添加してもガン細胞の増殖には影響を与えなかったため、CPL がガン細胞に対して増殖抑制作用を示す上での環状構造の形成意義が示唆された。また、CPL はヒト胃ガン由来 AZ521細胞およびヒト結腸由来 DLD1細胞に関しても顕著なガン細胞増殖抑制活性を示すことが報告されている^{4,7)}。

(2) 解糖系の阻害

多くのガン細胞では細胞分裂に関する制御機構に破綻を来しており、異常な速度での細胞増殖が繰り返されている。この異常な細胞増殖には多大なエネルギーと細胞構成成分の供給を必要とすることが知られている。よって、嫌気的条件下にあるガン細胞ではミトコンドリアの機能の低下を受け、(i) TCA 回路の停滞および解糖系の異常な活性化状態に陥る^{8,9)}。さらに、解糖系には酸素供給が十分に確保されると解糖速度は低下し、逆に不足すると上昇するという性質(パスツール効果)があるため、ガン細胞ではグルコースの消費量が増加し、その多くが解糖系を経て乳酸へ代謝される。よって、正常細胞と比較して(ii)亢進した解糖系の影響により乳酸産生量が増加すること¹⁰⁾、(iii)解糖系律速酵素であるホスホフルクトキナーゼ1(PFK1)およびピルビン酸キナーゼ(PK)さらに乳酸脱水素酵素(LDH)の活性が高ま

ること¹¹⁾、等がガン細胞の特長として挙げられる。新たな抗ガン剤を開発する場合、選択肢の一つに解糖系の抑制剤が考慮されるのはこのためである。我々は従来、ガン細胞の PFK1 の活性化因子であるフルクトース26-ビスリン酸(F26BP)合成・分解酵素(PFK2)が正常細胞の PFK2 と異なり、F26BP 合成に大きく傾いていること(=解糖系の亢進を意味する)を明らかにし、PFK2 の阻害剤がガン細胞の増殖を顕著に抑制することを報告してきた^{12,16)}。一方、CPL においても、マウス腹水ガン FM3A 抽出液を用いてガン細胞の解糖系活性に与える影響が検討されており^{4,17)}、4 mg/ml 以上の CPL 濃度域において解糖系を阻害したという興味ある知見が得られている(図4)。この CPL が示すガン細胞増殖抑制の作用機序を詳細に理解するために、CPL が解糖系酵素に与える影響に注目が集まった^{4,7)}。

① ピルビン酸キナーゼ(PK)

PK は解糖系においてホスホエノールピルビン酸と ADP からピルビン酸と ATP を合成する酵素である。この酵素反応は不可逆的であり、活性の発現には Mg^{2+} を必要とする。L 型(肝臓、腎臓、小腸、膵β細胞等)、R 型(赤血球)、M1 型(骨格筋、心筋、脳等)、M2 型(多くの組織)等のアイソザイムの存在が知られており、これらはすべて4量体で機能する。胎児期初期ではいずれの組織においても M2 型のみが発現するが、組織の分化・発達に伴い組織特異的アイソザイムに置き換わる特長を有する。また、細胞のガン化によって、組織特異的アイソザイムの減少・消失および M2 型の出現・増加等の現象が確認されている。

そこで、FM3A 細胞抽出液中の PK およびウサギ筋肉由来 PK の酵素活性に対する CPL の影響が検討された^{4,18)}。ここで、FM3A 細胞抽出液に含まれる PK は「ガン細胞特有の PK」、ウサギ筋肉由来 PK は「正常細胞が有する PK」という位置付けである。1.95 ml の反

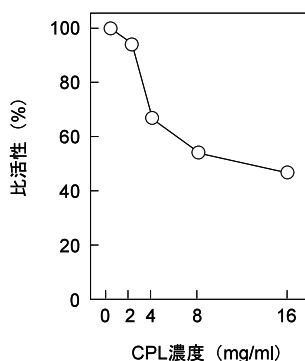


図4 CPLによる解糖系活性抑制効果

FM3A 細胞抽出液を用い、CPL 非存在下での乳酸産生量を100%とした(参考文献4より引用・一部改変)。

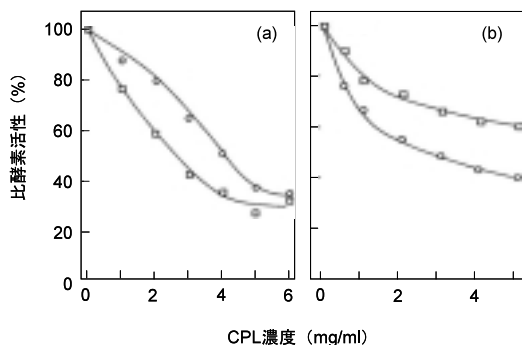


図5 CPLによる解糖系酵素の活性抑制効果
FM3A細胞抽出液由来(○)およびウサギ筋肉由来(□)の酵素を用いて、CPL存在下で(a)PK、(b)LDHの酵素活性を測定した(参考文献4より引用)。

応混合液(86 mM Tris HCl (pH 7.4)、2.5 mM MgCl₂、10 mM KCl、0.15 mM NADH、2 mM ホスホエノールピルビン酸、5 units/ml LDH、50 μl 酵素溶液)に一定濃度のCPLを添加しておき、この反応混合液に94 mM ADP (50 μl)を添加してPKの酵素反応が開始された。25における吸光度(340 nm)の変化を追跡することによりPKの酵素活性が測定された^{4,7)}。その結果、いずれのPKもCPLによって拮抗的に阻害され、FM3A抽出液およびウサギ筋肉由来の両PKに対するCPLのIC₅₀値は各々4.0 mg/mlと2.5 mg/mlと求められた(図5a)。また、CPL濃度が5.0 mg/ml以上に至ると、両者のPK活性に大差はなくなり、いずれのPKも約30%の残存活性を示すことが明らかにされた。

このCPLによるPK活性の阻害効果は、ガン細胞のPKに特異的に発現されたというわけではない。しかしながら、ガン細胞では正常細胞と異なりエネルギー産生を異常に亢進した解糖系に依存していることを考慮すると、CPLによるPK阻害を通じてガン細胞に対してより深刻なダメージを与えることができる可能性が示唆された。

② 乳酸脱水素酵素(LDH)

LDHはNADを水素受容体として乳酸脱水素

反応によりピルビン酸を生成する酵素で、解糖系では平衡は逆方向に傾いてピルビン酸から乳酸を生成する。細胞が解糖系でATPを産生する上では、NAD再生共役系としてLDHが働き、消費されたNADを再生する必要がある。正常細胞ではH型(骨格筋系)とM型(心筋系)の2種類のサブユニットから4量体を形成し、LDH1からLDH5までの5種類のアイソザイムが存在する。細胞がガン化すると、K型(LDH K)と呼ばれるガン細胞特有の変異構造体を利用することが知られている。ガン細胞のエネルギー産生過程においては、解糖系でピルビン酸が乳酸に代謝される際に必要なのがLDH Kである。

よって、LDHの酵素活性に対するCPLの影響も同様に検討された^{4,7,19)}。すなわち、1.9 mlの反応混合液(50 mM Tris HCl (pH 7.4)、5 mM EDTA、0.15 mM NADH、50 μl 酵素溶液)に一定濃度のCPLを添加しておき、30 mM ピルビン酸(100 μl)の添加によって25°Cで反応が開始された。その結果、FM3A抽出液中のLDH活性は、CPL濃度が5 mg/ml時に約40%まで非拮抗的に阻害され、IC₅₀は2.5 mg/mlと求められた(図5b)。一方、ウサギ筋肉由来LDHに対する阻害作用はFM3A抽出液中のLDH活性よりも弱く、CPL濃度が5 mg/ml時でも約65%の活性を保持していたことが示された。

この結果から、CPLは正常細胞由来LDHよりもガン細胞由来LDH(LDH K)に対して強い阻害能を示すことが明らかにされた。このLDHに対するCPLの選択性はその環状構造に起因すると考えられるが、ガン細胞の解糖系を停滞化する上で極めて重要な性質であると考えられる。ATPを産生できなくなったガン細胞は、形態学的には細胞質の空胞化・膨化および核の崩壊・凝集を誘起し、細胞膜を含む細胞全体の変性・脆弱化を経て増殖抑制・消滅に至ると考えられている。CPLのLDH Kの阻害に関する理解をより深めるために、酵素反応速度論的解析やX線結晶構造解析等、CPLとLDH K

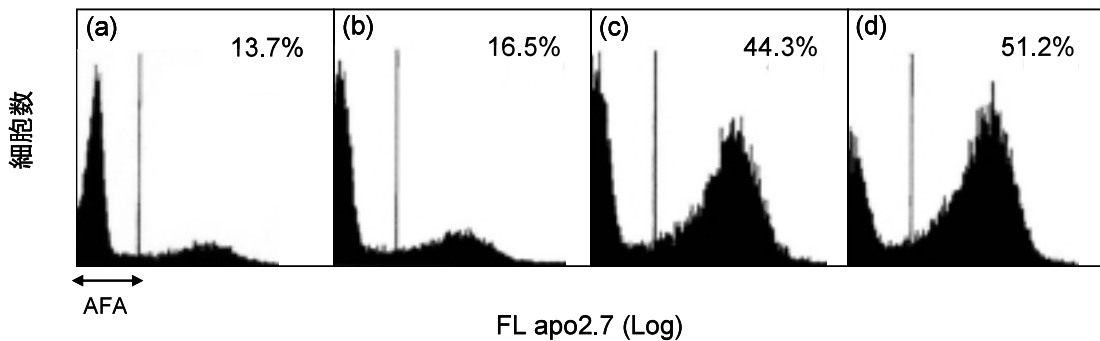


図6 CPL 処理 TF 1細胞における7A6抗原の発現レベル

TF 1細胞を(a) control、(b) L 乳酸 1.0 mg/ml、(c) CPL 0.02 mg/ml、(d) CPL 0.2 mg/ml の添加条件で培養した。図中の数字はアポトーシスが誘導されている細胞の割合を示す(参考文献5より引用・一部改変)。

間の相互作用についてさらなる検討が必要である。

赤血球は成熟過程で核やミトコンドリアを失い、解糖系の活性が亢進した特殊細胞である。4週齢のC3H/HeNマウスでは、継続的なCPL投与においても赤血球に形態学的な変化は見出されず、赤血球数も変動しなかった報告がある²⁰⁾。さらに、ヘマトクリット値やヘモグロビンにも変化は認められず、いずれも基準値内であった²⁰⁾。これはCPLが正常細胞の解糖系に対して負の影響を及ぼさないことを示唆した結果であり、上述のCPLのPKおよびLDH活性の阻害能における考察を支持するものである。また、PKおよびLDHの他に、CPLがPFK1およびヘキソキナーゼに対しても酵素活性を阻害する可能性があることを示唆した報告もある²¹⁾。

(3) アポトーシスの誘導

7A6抗原はアポトーシスを誘導した細胞の表面に発現する特徴を有する。この抗原に特異的に結合するAPO2.7モノクローナル抗体を用いてTF 1細胞表面の7A6抗原の発現レベルを可視化することにより、CPLのTF 1細胞に対するアポトーシス誘導能が検討された^{5, 22)}。すなわち、TF 1細胞(2×10^5 cells/ml)にCPLを0.02 mg/mlの濃度で作用させ、2日間の培養後にフローサイトメリーにて7A6抗原の

発現レベルが測定された。その結果、44.3%のTF 1細胞がAPO2.7抗体に対して陽性を示し、アポトーシスが高効率で誘導されていることが判明した(図6)。実際、これらの細胞ではカスパーゼ(3、8、9)の活性化も確認されている²¹⁾。また、同様にCPLを作用させたTF 1細胞からDNAを抽出し、アガロースゲル電気泳動にて分析した結果から、アポトーシス誘導細胞に特徴的なDNAの断片化現象が認め

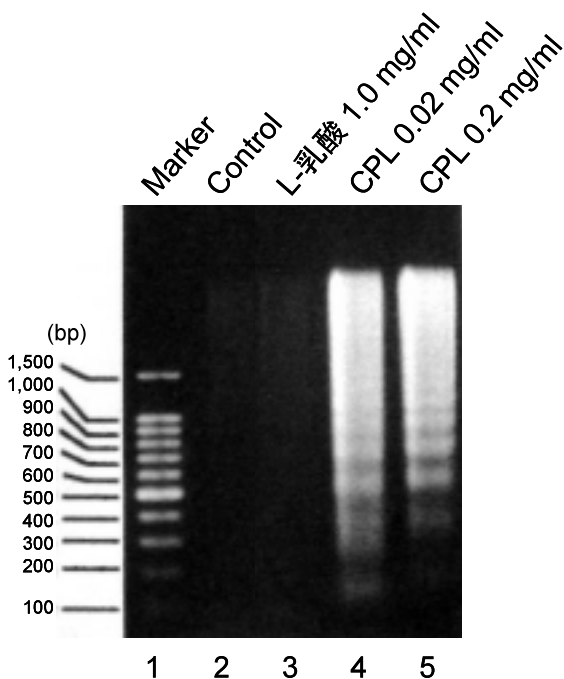


図7 CPL 処理 TF - 1細胞におけるDNAの断片化 (参考文献5より引用・一部改変)。

表1 CPLのFM3A細胞の増殖に対する影響

処理	細胞数 (×10 ⁷)			
	FM3A注入からの経過日数(日)			
	3	6	9	12
未処理	2.58±0.68	19.7±2.62	61.9±14.6	80.2±14.6
CPL投与	2.76±0.73	10.9±1.49	17.2±4.20	21.8±3.05

(参考文献4より引用・一部改変)

られている(図7)。

一方、TF1細胞にL乳酸を作用させた場合は、特に影響が見られなかったことから、ガン細胞に対するアポトーシスの誘導活性はCPLが示す生理作用の一つであると考えられている。

5. ガンモデル動物に対するCPL投与の影響

(1) FM3A腹水ガン細胞注入マウスにおける延命効果

C3H/HeNマウスの腹腔内にFM3A細胞(2×10⁶ cells/匹)を注入し、その細胞増殖数に与えるCPLの影響が検討された⁴⁾。無処置群の細胞数は急速に増加したが、腹腔内への1日おきのCPL投与(4.0 mg/日/匹)群では実験開始後6、9、12日目の測定において、細胞数の顕著な減少が確認された(表1)⁴⁾。さらに、FM3A細胞を注入したマウスの生存期間が、CPLの作用によって有意に延長することも明らかにされた(図8)。無処置群の50%生存期間は16日であり、それ以降はすべてのマウスで

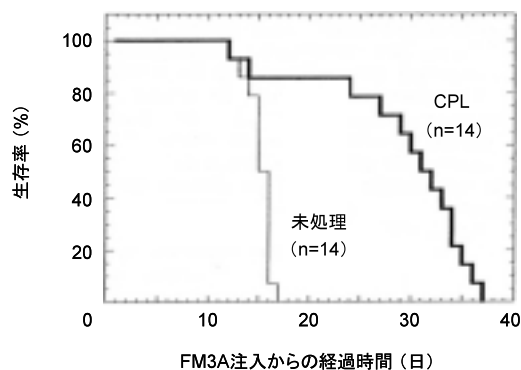


図8 CPLによるFM3A腹水ガン細胞注入マウスの延命効果
(参考文献4より引用・一部改変)。

死亡が確認された。その一方で、CPL投与(4.0 mg/日/匹)群では半数以上のマウスが31日以上生存したことが認められている⁴⁾。生存期間の向上に関する同様の結果が、胆ガンマウスへのCPL投与実験からも得られている²⁰⁾。

(2) CBA/Jマウス肺腫瘍範囲の拡大抑制効果

生後約15週間後で肺上皮過形成を高頻度に発生するCBA/Jマウスに対し、4週齢時より飼料に混合したCPL(混合割合:0.02%および0.1%)を摂取させ、食餌量および体重変化が継続的に測定された²³⁾。食餌量は0.1%CPL群が有意に多く、この群の顕著な体重増加と関連していると考えられた。実験開始後13および31週目に各群の肺の組織切片を作製し、腫瘍範囲の比較が行われた²³⁾。肺上皮過形成の割合を5段階(0、10、30、50、80、100%)に分け、各群の腫瘍範囲を比較した結果、13週目から31週目の間に腫瘍範囲が10%未満の切片は、未処理群37.5%、0.02%CPL群38.9%、0.1%CPL群68.8%となり、0.1%CPL群では明らかに腫瘍の発生が抑制されていた(図9)。CPLの規則正しい摂取がガンの予防においても効果を発揮する可能性を示した結果であると考えられる。

(3) p53欠損マウスにおける延命効果

ガン抑制遺伝子p53を欠損した5週齢のC57BL系マウスに50 mg/kgのCPLを週3回経口投与し、これが20週継続された。通常、このタイプのマウスは悪性リンパ腫、血管肉腫、骨肉腫、精巣腫瘍等が早期に広範囲に発生するとされ、約10週齢から悪性腫瘍が発生し始め、6ヶ

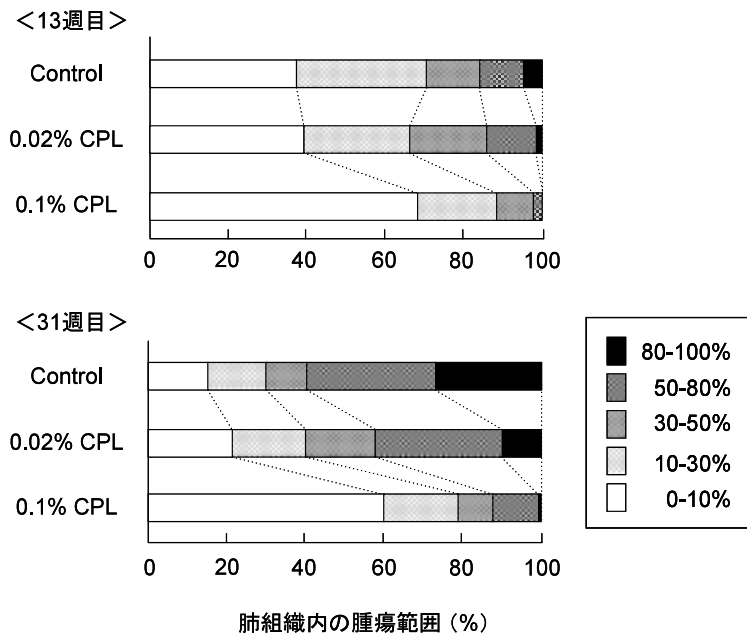


図9 CPLによるCBA/Jマウス肺腫瘍範囲の拡大抑制効果 (参考文献18より引用・一部改変)

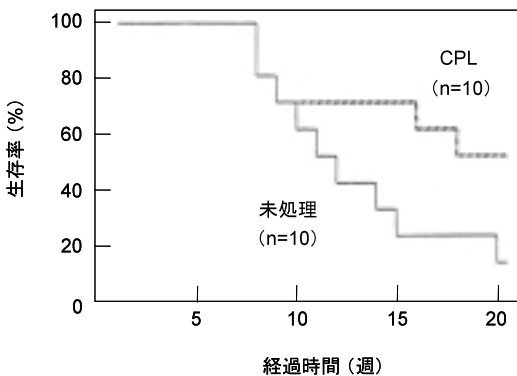


図10 CPLによるp53欠損マウスの延命効果 (参考文献19より引用・一部改変)

月齢で約70%のガン発生率を示すに至ると言われている。実際、未処理群のマウスでは8週目から死亡が認められ、20週後には致死率90%に至った²⁴⁾。一方、CPL投与群の20週での生存率は50%であり、CPL投与による顕著な延命効果が実証された(図10)。

6. 健康人およびガン患者に対する投与

CPLは分子量2,000以下の低分子化合物であることから、経口摂取後、腸管より迅速に吸収

され、血流により全身を廻る特長を有する。健康人に対してCPLの投与(6g/日・1ヶ月)後、聴診、打診、触診、視診、血液検査、尿・便検査の結果に影響を及ぼさないことが明らかにされた²⁵⁾。さらに、長期間にわたるCPL投与(3-5年)においても、食欲、睡眠、性欲、体質変化等、生体の基本的機能に異常所見は見られず、機能の亢進を推測させる例も存在した²⁵⁾。

また、液ガン(白血病等)、および固形ガン(胃ガン、大腸ガン、肺ガン、肝ガン等)の罹患者に対して、実際にCPLを投与する取り組みが行われている。症状の改善が確認された症例も報告されており、今後のCPL研究の進捗に期待がかかる。

7. おわりに

CPLは、(i)ガン細胞のPKおよびLDHの活性阻害に効果を示し、ガン細胞の解糖系を特異的に抑制、(ii)ガン細胞にアポトーシスを誘導、の2経路を経ることによってガンの成長を抑制することが明らかにされている。CPL

は生体においても微量ながら生成されており、健康維持物質として機能していることが示唆されている。CPL が生体内でどのような経路を経て生成されるかは未だ不明のままであるが、いずれ生体内の CPL 生成酵素やその生成条件、さらに CPL 生成細胞等が同定されると CPL に対するより深い理解へと繋がり、CPL の応用研究を支持・加速させると考えられる。

また、多くの抗腫瘍剤は血管内投与方法を経て投与されており、経口用の抗腫瘍剤の割合はわずかである。この使用法の制限により、化学療法は主に入院管理下において実施され、患者に対する精神的負担や経済的負担、さらに社会復帰などが大きな問題として議論されている。CPL には外科的治療や放射線治療のような即効性の高い絶大な効果は期待できないかもしれないが、抜け毛や吐き気などをはじめとする苦しい副作用を発生しないと考えられ、経口剤のような外来管理可能な、かつ有効な抗腫瘍剤としての実用化が期待されている。

CPL はガン以外にも中性脂肪値やコレステロール値の是正、脳梗塞の予防にも効果を示すことや、肝炎、糖尿病、慢性関節リウマチ、子宮内膜症、アレルギー疾患等の難治療疾患に対しても改善効果が認められていることが報告されている²³⁾。これらのことから、多くの疾患の予防や克服に役立つ機能性食品や薬剤としての利用が期待される。

参考文献

- 1) 榊原隆三, 石橋源次, 小笠原正良, 野嶽勇一(2009) 『乳酸菌生産物質(バイオジェニックス)の可能性 - PS H1 及び PS B1 の機能特性 -』 権歌書房。
- 2) 総務省統計局(2009) 『日本の統計2009』。
- 3) Nodake, Y., Ogasawara, M., Honda, H., Fukasawa, M., and Sakakibara, R. (2008) 'Characterization and preliminary purification of the anti-cancer component in the fermented products cultivated from soybean milk using lactic acid bacteria.' *Saito Ho-on Kai Mus. Nat. Hist. Res. Bull.*, **73**, pp.17-21.
- 4) Takada, S., Nagato, Y., and Yamamura, M. (1997) 'Effect of cyclic poly lactates on tumor cells and tumor bearing mice.' *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **43**, pp.9-17.
- 5) Aizawa, S., Shimizu, N., Handa, H., Hiramoto, M., Hoshi, H., Nagasu, M., Kanno, H., Nagasu, Y., and Imanishi, Y. (2000) 'Effect of cyclic poly lactate (CPL) on the growth of cloned leukemic cells in vitro.' *Hematol. Oncol.*, **18**, pp.51-60.
- 6) 細胞賦活剤公開特許公報, 2004 155670 .
- 7) 高田繁生, 大久保朋一, 久住孝, 長戸康和(1996) 『環状ポリ乳酸の解糖系に及ぼす影響』『生化学』第68号, 887頁。
- 8) Laszlo, J. (1967) 'Energy metabolism of human leukemic lymphocytes and granulocytes.' *Blood*, **30**, pp.151-67.
- 9) Warburg, O. (1956) 'On respiratory impairment in cancer cells.' *Science*, **124**, pp.269-70.
- 10) Lengle, E. E., Gustin, N. C., Gonzalez, F., Menahan, L. A., and Kemp, R. G. (1978) 'Energy metabolism in thymic lymphocytes of normal and leukemia AKR mice.' *Cancer Res.*, **38**, pp.1113-9.
- 11) Arany, I., Rady, P., and Kertai, P. (1981) 'Regulation of glycolysis and oxygen consumption in lymph-node cells of normal and leukaemic mice.' *Br. J. Cancer*, **43**, pp.804-8.
- 12) Harada, Y., Tominaga, N., Watanabe, M., Shimokawa, R., Ishiguro, M., and Sakakibara, R. (1997) 'Inhibition of fructose-6-phosphate, 2-kinase by N-bromoacetyethanolamine phosphate *in vitro* and *in vivo*.' *J. Biochem.*, **121**, pp.724-30.
- 13) Sakakibara, R., Kato, M., Okamura, N., Nakagawa, T., Komada, Y., Tominaga, N., Shimojo, M., and Fukasawa, M. (1997) 'Characterization of a human placental fructose-6-phosphate, 2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase.' *J. Biochem.*, **122**, pp.122-8.
- 14) Hirata, T., Kato, M., Okamura, N., Fukasawa, M., and Sakakibara, R. (1998) 'Expression of human placental-type 6-phosphofructo-2-kinase/fructose 2,6-bisphosphatase in various cells and cell lines.' *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **242**, pp.680-4.
- 15) 榊原隆三(1998) 『哺乳動物の解糖系を調節する二機能性酵素』『化学と生物』第36号, 15 21頁。
- 16) Hirata, T., Watanabe, M., Miura, S., Ijichi, K., Fukasawa, M., and Sakakibara, R. (2000) 'Inhibition of tumor cell growth by a specific 6-phosphofructo-2-kinase inhibitor, N-bromoacetyethanolamine phosphate, and its analogues.' *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **64**, pp.2047-

- 52.
- 17) Yanagi, S., Noguchi, T., Imamura, K., and Tanaka, T. (1974) 'Effect of phenylalanine-enriched diet on growth of Ehrlich ascites tumor cells.' *Gann*, **65**, pp.423-7.
- 18) Gutmann, I. and Bernt, E. (1974) 'Pyruvate kinase assay in serum and erythrocytes.' (Bergmeyer, H. U. eds.) *Methods of Enzymatic Analysis*, **2**, pp.774-8, Academic Press, New York.
- 19) Bergmeyer, H. U. and Bernt, E. (1974) 'Lactate dehydrogenase: UV-assay with pyruvate and NADPH.' (Bergmeyer, H. U. ed.) *Methods of Enzymatic Analysis*, **2**, pp.574-9, Academic Press, New York.
- 20) 今西嘉男, 長主陽一朗 (2000) 『ガンなど悪性細胞 (異常な細胞) をアポトーシスさせる CPL (環状重合乳酸) のメカニズム』 健友館 .
- 21) Harada, T., Nagasu, M., Tsuboi, I., Koshinaga, M., Kanno, H., and Aizawa, S. (2005) 'Cyclic polylactate inhibited growth of cloned leukemic cells through reducing glycolytic enzyme activities.' *Oncol. Rep.* **14**, pp.501-5.
- 22) Zhang, C., Ao, Z., Seth, A., and Schlossman, S. F. (1996) 'A mitochondrial membrane protein defined by a novel monoclonal antibody is preferentially detected in apoptotic cells.' *J. Immunol.*, **157**, pp.3980-7.
- 23) 長戸康和, 高田繁生, 鈴木志保子, 中野まゆみ, 山村雅一 (1998) 「嫌氣的解糖系抑制物質、環状ポリ乳酸(CPL)の抗腫瘍作用 - (第1報) 経口投与によるマウス発癌抑制の検討」 『和漢医薬学雑誌』 第**15**号, 338-9頁 .
- 24) 塚田欣司 (2005) 『アポトーシス誘導でガンと闘え!』 東洋出版 .
- 25) 塚田欣次, 掛川雄太 (2004) 「CPL: cyclic poly lactate (環状重合乳酸) の生理作用に対する研究と考察」 『FOOD Style 21』 第**89**号, 35-7頁 .