

ローヤルゼリー (Royal Jelly) の抗腫瘍効果に関する研究

田村 豊幸, 藤井 彰, 久保山 昇

日本大学松戸歯学部薬理学教室*

(昭和61年10月18日〔特〕)

要約: ローヤルゼリー (RJ) の抗腫瘍効果を, L1210, P388, および Ehrlich, Sarcoma-180 腹水または固型腫瘍を用いたマウスの腫瘍移植系を用いて検討した. RJ の投与は, 予防・治療的 (腫瘍移植30日前より移植30日後までの60日間, 毎日1回) または治療的 (移植後30日間, 毎日1回) 経口投与とし, 腫瘍細胞は腹腔内 (腹水腫瘍) または皮下投与 (固型腫瘍) とした. RJ の投与量は, 0 (対照), 10, 100, 1000 mg/kg とし, 以下の結果を得た. 1) 生存期間の短い (8~9日) L1210, P388 を用いた実験では, RJ による抗腫瘍効果は認められなかった. 2) 生存期間が16日の Sarcoma-180 腹水腫瘍を用いた治療実験では, 9.3~19.3%の生存期間の延長を認めた. 生存期間が22.1日の Ehrlich 腹水腫瘍を用いた治療実験では, RJ 10 mg/kg で20.4%, 1000 mg/kg で17.6%の生存期間の延長を認めたが, 100 mg/kg では抗腫瘍効果は認められなかった. 3) Ehrlich 腹水腫瘍を用いた固型腫瘍の治療実験では, RJ により25.3~54.8%の腫瘍抑制率が認められ, また, 予防・治療効果の実験では38.3~47.5%の抑制効果が認められた. Sarcoma-180 腫瘍細胞を用いた固型腫瘍の治療実験では, RJ により45.1~59.7%の腫瘍抑制効果が認められ, また, 予防・治療実験では49.1~56.1%の抑制効果が認められた. これらの結果により, RJ は急性の腫瘍に対しては効果が発現しにくい, 増殖速度の違い腫瘍には抗腫瘍効果を発現することが推測された.

緒 言

ローヤルゼリー (Royal Jelly, RJ) には, コリンエステラーゼまたはホスファターゼによる酵素作用, 血圧降下作用, 体重増加作用, 性ホルモン様作用, 延命効果, 成長促進作用, 血清コレステロールおよび脂質低下作用, 抗菌作用, 抗腫瘍作用など, 多くの薬理作用が報告されており, 一般薬の滋養強壮剤として広く用いられているが, 臨床的用途 (医家用) は現在認められていない.

特に, ローヤルゼリーの抗腫瘍効果は, Townsendら^{2,3)}により, 腹水腫瘍細胞を腹腔内に投与し, ローヤルゼリーを腹腔内に投与する, いわゆる ip-ip 方式^{4,5)}で検討され, 効果があったことが報告されている. しかしながら, 従来から用いられている ip-ip 方式では, 以下に述べる制約があり, ヒト腫瘍の状態と異にするところが大きいという欠点がある⁴⁾.

(1) ip-ip 方式では, 薬物を初期に大量投与した実験系となるが, ヒト腫瘍では末期微量投与である.

(2) ip-ip 方式では, 腫瘍細胞に大量の薬物が接触

するが, ヒト腫瘍では投与された薬物が血行を介して組織内にある腫瘍組織に到達するので, 大量に接触させることが困難である.

以上の事実より, 腫瘍細胞を腹腔または皮下投与し, ローヤルゼリーを経口投与する, いわゆる ip-oral または sc-oral 方式にてローヤルゼリーの抗腫瘍作用を検討することも必要であると考えられる.

本研究では, 上記 ip-oral または sc-oral 方式を用い, マウス白血病由来の L1210 および P388, 腹水および固型腫瘍を生成する Sarcoma-180, Ehrlich の移植腫瘍系を用いて, ローヤルゼリーの予防・治療ならびに治療効果について検討した.

実験材料

1. 実験移植腫瘍

マウスリンパ性白血病 L1210 細胞 (L1210), マウスリンパ性白血病 P388 細胞 (P388), および Ehrlich 腹水腫瘍細胞 (Ehrlich) は癌研究会・癌化学療法センターの田代田鶴子博士より, また, Sarcoma-180 細胞 (Sarcoma-180) は山之内製薬株式会社の河村勉氏より分与されたものを使用した.

1) 腹水腫瘍

L1210, P388 は, DBA/2 系雌性マウス腹腔内で継代

* 271 松戸市栄町西2-870-1

し、実験時に移植7日後の腹水細胞を Hank's 溶液で希釈して、L1210 は 1×10^6 個、P388 は 1×10^6 個を、CDF₁ 系雌性マウスの腹腔内に移植した。Ehrlich および Sarcoma-180 は ICR 系雌性マウス腹腔内で継代し、それぞれ移植14日後または移植7日後に腹水細胞を Hank's 溶液で希釈して、Ehrlich は 1×10^6 個、Sarcoma-180 は 5×10^6 個を ICR 系雌性マウスの腹腔内に移植した。

2) 固型腫瘍

Ehrlich および Sarcoma-180 は、実験時に、それぞれ移植14日後または移植7日後の腹水細胞を Hank's 溶液で希釈して、Ehrlich は 1×10^6 個、Sarcoma-180 は 1×10^6 個を ICR 系雌性マウスの腋窩皮下に移植した。

2. 実験動物および飼育条件

DBA/2 系雌性マウスおよび ICR 系雌性マウスは、それぞれ生後4~5週齢にて日本チャールスリバーより、CDF₁ 系雌性マウスおよび ICR 系雌性マウスは、6~7週齢にて三協ラボサービスよりそれぞれ購入し、1週間予備飼育した後、正常な発育を示すものを選び使用した。実験中は、温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $60 \pm 5\%$ の環境下でクリーンラック中で飼育し、飲料水は滅菌精製水を自由飲水させ、飼料は滅菌オリエンタル固型飼料 MF を自由摂取させた。

3. 試料

ローヤルゼリー (Royal Jelly, RJ) は山本養蜂園より供与されたもので、Lot No. B830615 を使用した。成分は、水分65%、蛋白質11%、脂質および脂肪酸5%、遊離アミノ酸、ビタミン類 (チアミン $1.5 \mu\text{g/g}$ 、リボフラビン $6 \sim 28 \mu\text{g/g}$ 、ピリドキシン $2.2 \sim 5.0 \mu\text{g/g}$ 、ニコチン酸 $48 \sim 125 \mu\text{g/g}$ 、パントテン酸 $110 \sim 220 \mu\text{g/g}$ 、ビオチン $1.6 \sim 4.1 \mu\text{g/g}$ 、葉酸 $0.16 \sim 0.5 \mu\text{g/g}$ 、イノントール $78 \sim 150 \mu\text{g/g}$)、アセチルコリン様物質0.15%などが含まれている。この RJ を精製水で希釈し1、10 および 100 mg/ml の溶液を作製し、経口投与に用いた。

実験方法

1. RJ の治療効果

1) 腹水腫瘍に対する延命効果

動物 (平均体重 $21.6 \pm 0.7 \text{ g}$) は、各腫瘍系に1群10匹として4群、合計160匹を使用した。L1210 1×10^6 個/ml、P388 1×10^7 個/ml の腫瘍細胞 0.1 ml を CDF₁ 系雌性マウス腹腔内に、Ehrlich 1×10^7 個/ml、Sarcoma-180 1×10^6 個の腫瘍細胞 0.1 ml を ICR 系雌性マウス

腹腔内に移植した。RJ は腫瘍細胞移植翌日より連日、死亡時まで、第2~4群にそれぞれ 10, 100, 1000 mg/kg の用量で1日1回、1 ml を胃ゾンデを用いて、強制経口投与した。ただし、第1群 (RJ 0 mg/kg, 対照) は、精製水 1 ml を同様に投与した。実験期間を L1210、P388 は30日間、Ehrlich、Sarcoma-180 は60日間とし、各群で体重変化、一般症状および生存日数を観察した。

効果の判定は、生存日数の観察を行い統計的に有意性があるかどうかを、*t*-検定により検定し、危険率Pを求めた。さらに、次式より延命率 (ISL %) をそれぞれ求め、20%以上を最小有効値とした⁶⁻⁸⁾。

延命率 (Increase of Life Span %, ILS %)

$$= (T - C) / C \times 100$$

ただし、T = RJ 投与群の平均生存日数

C = 対照群の平均生存日数

2) 固型腫瘍に対する増殖抑制効果

動物 (平均体重 $22.1 \pm 3.3 \text{ g}$) は、各腫瘍系に1群10匹として4群、合計80匹を使用した。Ehrlich 1×10^7 個、Sarcoma-180 5×10^6 個の腫瘍細胞 0.1 ml を ICR 系雌性マウスの腋窩皮下に移植した。RJ は、腫瘍細胞移植翌日より連日30日間、第1群~4群にそれぞれ 0, 10, 100, 1000 mg/kg の用量で1日1回、1 ml を胃ゾンデを用いて強制経口投与した。実験期間は移植後30日間とし、各群で体重変化、一般症状および生存率を観察した。さらに、生存したものは移植後30日に頸椎脱臼により致死せしめ、腫瘍を摘出し、腫瘍重量を測定し、統計的に有意性があるかどうかを *t*-検定により検定し、危険率Pを求めた。さらに、効果の判定⁸⁻¹¹⁾ は、Ehrlich および Sarcoma-180 ともに次式より腫瘍増殖抑制率 (TIR %) を求め、TIR % 値が50%以上を有効 (+)、 $25 \leq \text{TIR \%} < 50$ をやや有効 (±)、24未満を無効 (-) として RJ の抗腫瘍効果を判定した。

腫瘍増殖抑制率 (Tumor Inhibition Rate %, TIR %)

$$= (1 - T/C) \times 100$$

ただし、T = RJ 投与群の平均腫瘍重量, g

C = 対照群の平均腫瘍重量, g

2. RJ の予防・治療効果

1) 固型腫瘍に対する腫瘍増殖抑制効果

ICR 系雌性マウス (平均体重 $21.8 \pm 3.4 \text{ g}$) を各腫瘍系に1群10匹として4群、合計80匹を使用した。あらかじめ RJ を第1~4群にそれぞれ 0, 10, 100, および 1000 mg の用量で、1日1回 1 ml ずつ連日30日間、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。RJ 投与開始後31

日目に, Ehrlich 1×10^7 個, または Sarcoma-180 5×10^6 個/ml の細胞 0.1 ml をそれぞれ 4 群ずつの腋窩皮下に移植し, 移植翌日より移植前と同様に RJ を連日 30 日間投与した. 実験期間中は, 体重変化, 一般症状, および生存率を観察した. さらに, 実験 1 と同様に腫瘍増殖抑制率 (TIR %) を求め, 効果の判定を行った.

実験結果

1. RJ の治療効果

1) 腹水腫瘍に対する延命効果

L1210 に対する RJ の延命効果を表 1 に示した. 第

1 群 (対照群, RJ 0 mg/kg) の平均生存日数は 8.6 ± 0.7 日に比較して, 第 2 群 (RJ 10 mg/kg), 第 3 群 (RJ 100 mg/kg), 第 4 群 (RJ 1000 mg/kg) はそれぞれ 8.6 ± 0.5 日と, まったく差がなく, 延命効果は認められなかった.

P388 に対する RJ の延命効果に関しては, 表 2 に示したが, 第 1 群の平均生存日数 8.5 ± 0.5 日に対して, 第 2 群は 8.9 ± 1.3 日 ($P=0.0559$) で延命率 11.3% となり, 非常に低い延命効果は認められたものの, 効果判定基準である最小有効値 20% 以上とはならなかった. また, 第 3, 4 群ではまったく無効であった.

Table 1 Antitumor effect of Royal Jelly against L1210 Leukemia (therapeutic effects)

Group	RJ dose mg/kg	No. of mice	Mean survival days ^a	p-value ^b	ILS(%) ^c	Effectiveness ^d
1 (control)	0	10	8.6 ± 0.7		0.0	
2	10	10	8.6 ± 0.5	1.000	0.0	—
3	100	10	8.6 ± 0.5	1.000	0.0	—
4	1000	10	8.6 ± 0.5	1.000	0.0	—

a, The values represent the mean \pm S.D. b, Statistical analysis, *t*-test. c, ILS% (increase of life span) = $(T - C) / C \times 100$, where T = mean survival days of the treated group, C = mean survival days of the control group. d, +; ILS% ≥ 20 , —; ILS% < 20 .

Table 2 Antitumor effect of Royal Jelly against P388 Leukemia (therapeutic effects)

Group	RJ dose mg/kg	No. of mice	Mean survival days ^a	p-value ^b	ILS(%) ^c	Effectiveness ^d
1 (control)	0	10	8.0 ± 0.5		0.0	
2	10	10	8.9 ± 1.3	0.0559†	11.3	—
3	100	10	8.2 ± 0.6	0.4286	2.5	—
4	1000	10	8.3 ± 0.5	0.1964	3.5	—

a, The values represent the mean \pm S.D. b, Statistical analysis, *t*-test. †; $P < 0.10$. c, ILS% (increase of life span) = $(T - C) / C \times 100$, where T = mean survival days of the treated group, C = mean survival days of the control group. d, +; ILS% ≥ 20 , —; ILS% < 20 .

Table 3 Antitumor effect of Royal Jelly against Ehrlich ascites tumor (therapeutic effects)

Group	RJ dose mg/kg	No. of mice	Mean survival days ^a	p-value ^b	ILS(%) ^c	Effectiveness ^d
1 (control)	0	10	22.1 ± 1.4		0.0	
2	10	10	26.6 ± 2.7	0.0002***	20.4	+
3	100	10	21.9 ± 1.8	0.7846	0.9	—
4	1000	10	26.0 ± 5.7	0.0500*	17.6	—

a, The values represent the mean \pm S.D. b, Statistical analysis, *t*-test. ***; $P < 0.001$, *; $P < 0.05$. c, ILS% (increase of life span) = $(T - C) / C \times 100$, where T = mean survival days of the treated group, C = mean survival days of the control group. d, +; ILS% ≥ 20 , —; ILS% < 20 .

Ehrlich に対する RJ の抗腫瘍効果を表 3 に示した. 第 1 群では, 移植後 20 日頃から死亡する動物が見られ, 24 日までに全例が死亡した. これに対して, 第 4 群では 30 日以上生存した動物が 10 例中 2 例認められた. 次に, 各群で平均生存日数を比較すると, 第 1 群が 22.1 ± 1.4 日であったのに対し, 第 2, 4 群はそれぞれ 26.6 ± 2.7 日 ($P=0.0002$), 26.0 ± 5.7 日 ($P=0.0500$) と明らかに生存日数の延長が認められた. 延命率 (ISL %) は, 第 2 群が 20.4%, 第 4 群が 17.6% の値が得られ, 第 2 群のみが延命率の最小有効値を越え, Ehrlich 腹水腫瘍に対して有効であると判定された.

Sarcoma-180 に対する RJ の腫瘍効果を表 4 に示した. 第 1 群は移植後 14 日で 1 例死亡を見てから 19 日までに全例が死亡したのに対し, 第 2, 3, 4 群では, 27, 28, 26 日目に全例が死亡した. 第 1 群の平均生存日数が 16.1 ± 1.4 日に対して, 第 2, 3, 4 群ではそれぞれ 18.4 ± 5.1 ($P=0.1859$), 17.6 ± 4.1 ($P=0.2880$), 19.2 ± 3.1 ($P=0.0099$) であった.

体重変化では, L1210, P388 とともに実験期間を通じて第 1 群との間に有意の差は認められず, 一般症状に関しても特記する所見は観察されなかった. Ehrlich および Sarcoma-180 に関しては, 移植後 10 日ごろから体

重の自然増加とは別に, 腹水腫瘍による体重増加が見られたが, 各実験群との間には第 1 群と比較して有意の差は認められなかった.

2) 固型腫瘍に対する腫瘍増殖抑制効果

Ehrlich 固型腫瘍に対する RJ の腫瘍増殖抑制効果を表 5 に示した. 第 1 群の平均腫瘍重量 2.3 ± 1.5 g に対して, 第 2, 3, 4 群ではそれぞれ 1.2 ± 0.4 ($P=0.0398$), 1.8 ± 0.9 ($P=0.3927$), 1.1 ± 0.3 ($P=0.0243$) となり, 腫瘍増殖抑制効果が認められた. また, 腫瘍増殖抑制率 (TIR %) で比較すると, 第 2, 3, 4 群では 50.0, 25.0, 54.8% であり, 効果判定基準から考えると RJ 10 および 1000 mg/kg 投与群が有効 (+), 100 mg/kg 投与群がやや有効 (±) と判定された. 体重変化に関しては, 腫瘍細胞増殖による腫瘍の増大とほぼ平行して, 腫瘍重量の増加が著明であった第 1 群の体重増加が著しかったが, 第 2, 3, 4 群は第 1 群と比較して有意の差は認められなかった.

Sarcoma-180 固型腫瘍に対する RJ の腫瘍増殖抑制効果を表 6 に示した. 第 1 群の平均腫瘍重量 4.4 ± 1.7 g に対して, 第 2, 3, 4 群ではそれぞれ 1.8 ± 0.9 ($P=0.0008$), 2.4 ± 1.1 ($P=0.0059$), 2.4 ± 1.0 ($P=0.0049$) となり, 腫瘍増殖抑制効果が認められた. 特に, 第 2 群

Table 4 Antitumor effect of Royal Jelly against Sarcoma-180 ascites tumor (therapeutic effects)

Group	RJ dose mg/kg	No. of mice	Mean survival days ^a	p-value ^b	ILS(%) ^c	Effectiveness ^d
1 (control)	0	10	16.1 ± 1.4		0.0	
2	10	10	18.4 ± 5.1	0.1859	14.3	—
3	100	10	17.6 ± 4.1	0.2880	9.3	—
4	1000	10	19.2 ± 3.1	0.0099**	19.3	—

a, The values represent the mean \pm S.D. b, Statistical analysis, *t*-test. **: $P < 0.01$. c, ILS% (increase of life span) = $(T - C) / C \times 100$, where T = mean survival days of the treated group, C = mean survival days of the control group. d, +; ILS% ≥ 20 , —; ILS% < 20 .

Table 5 Antitumor effect of Royal Jelly against Ehrlich solid tumor (therapeutic effects)

Group	RJ dose mg/kg	No. of mice	Tumor weight ^a g	p-value ^b	TIR(%) ^c	Effectiveness ^d
1 (control)	0	8	2.3 ± 1.5		0.0	
2	10	10	1.2 ± 0.4	0.0398*	50.0	+
3	100	10	1.8 ± 0.9	0.3927	25.3	±
4	1000	10	1.1 ± 0.3	0.0243*	54.8	+

a, The values represent the mean \pm S.D. b, Statistical analysis, *t*-test. *: $P < 0.05$. c, ILS% (increase of life span) = $(T - C) / C \times 100$, where T = mean survival days of the treated group, C = mean survival days of the control group. d, +; TIR% ≥ 50 , +; $25 \leq$ TIR% < 50 , —; TIR% < 25 .

Table 6 Antitumor effect of Royal Jelly against Sarcoma-180 solid tumor (therapeutic effects)

Group	RJ dose mg/kg	No. of mice	Tumor weight ^a g	p-value ^b	TIR(%) ^c	Effectiveness ^d
1 (control)	0	10	4.4±1.7		0.0	
2	10	9	1.8±0.9	0.0008***	59.7	+
3	100	10	2.4±1.1	0.0059**	45.1	±
4	1000	10	2.4±1.0	0.0049**	44.6	±

a, The values represent the mean±S.D. b, Statistical analysis, *t*-test. ***; $P<0.001$, **; $P<0.01$.
c, ILS% (increase of life span) = $(T-C)/C \times 100$, where T=mean survival days of the treated group, C=mean survival days of the control group. d, +; $TIR\% \geq 50$, ±; $25 \leq TIR\% < 50$, -; $TIR\% < 25$.

の TIR % は 59.7% となり, 最も高い抗腫瘍効果が認められた. 体重変化に関しては, 移植後20日以後は第1群が最も大きな体重増加を示した. 移植後30日では, 第2群が第1群に比較して有意 ($P<0.05$) に体重増加が少なかった.

2. RJ の予防・治療効果

1) 固型腫瘍に対する腫瘍増殖抑制効果

Ehrlich 固型腫瘍に対する予防・治療効果の結果を表7に示した. 平均腫瘍重量を各群で比較すると, 第1

群は 2.8 ± 1.3 g に対して, 第2, 3, 4群ではそれぞれ 1.7 ± 0.6 ($P=0.0258$), 1.5 ± 0.7 ($P=0.0122$), 1.5 ± 0.6 ($P=0.0102$) となり, 腫瘍増殖抑制効果が認められた. さらに TIR % を比較すると, 第2, 3, 4群でそれぞれ 38.3, 47.5, 47.2% が得られ, Ehrlich 固型腫瘍に対してすべての用量で, やや有効 (±) であるという結果を得た. 体重変化に関しては, 実験期間を通じて各群とも順調な発育を示し, RJ の高用量を投与した第4群 (RJ 1000 mg/kg) においても, 対照群に比

Table 7 Antitumor effect of Royal Jelly against Ehrlich solid tumor (prophylactic-therapeutic effects)

Group	RJ dose mg/kg	No. of mice	Tumor weight ^a g	p-value ^b	TIR(%) ^c	Effectiveness ^d
1 (control)	0	10	2.8±1.3		0.0	
2	10	10	1.7±0.6	0.0258*	38.3	±
3	100	10	1.5±0.7	0.0122*	47.5	±
4	1000	10	1.5±0.6	0.0102*	47.2	±

a, The values represent the mean±S.D. b, Statistical analysis, *t*-test. *; $P<0.05$. c, ILS% (increase of life span) = $(T-C)/C \times 100$, where T=mean survival days of treated group, C=mean survival days of the control group. d, +; $TIR\% \geq 50$, ±; $25 \leq TIR\% < 50$, -; $TIR\% < 25$.

Table 8 Antitumor effect of Royal Jelly against Sarcoma-180 solid tumor (prophylactic-therapeutic effects)

Group	RJ dose mg/kg	No. of mice	Tumor weight ^a g	p-value ^b	TIR(%) ^c	Effectiveness ^d
1 (control)	0	10	5.5±1.7		0.0	
2	10	10	2.4±1.1	0.0001***	56.4	+
3	100	10	2.8±0.8	0.0003***	49.1	±
4	1000	10	2.8±1.4	0.0011**	49.1	±

a, The values represent the mean±S.D. b, Statistical analysis, *t*-test. ***; $P<0.001$, **; $P<0.01$.
c, ILS% (increase of life span) = $(T-C)/C \times 100$, where T=mean survival days of the treated group, C=mean survival days of the control group. d, +; $TIR\% \geq 50$, ±; $25 \leq TIR\% < 50$, -; $TIR\% < 25$.

較して体重に変化は見られなかった。

Sarcoma-180 固型腫瘍に対する RJ の予防・治療効果を表8に示した。第1群の平均腫瘍重量 5.5 ± 1.7 g と比較して、第2, 3, 4群ではそれぞれ 2.4 ± 1.1 ($P=0.0001$), 2.8 ± 0.8 ($P=0.0003$), 2.8 ± 1.4 g ($P=0.0011$) となり、腫瘍増殖抑制効果が認められた。また、TIR % より効果を判定すると、第2群は有効、第3, 4群はやや有効であった。体重変化に関しては、実験開始20日目ごろから第2群のみが体重増加傾向が認められたが、有意の差は見られなかった。

考 察

1. RJ の治療効果

ロイヤルゼリー (RJ) の抗腫瘍効果を、移植腫瘍細胞 (マウスリンパ性白血病由来の L1210 および P388, ならびに Ehrlich および Sarcoma-180 腹水腫瘍) をマウスに移植した系を用いて検討した。RJ の投与は予防・治療および治療的経口投与とし、腫瘍細胞は腹腔内 (腹水腫瘍) または皮下投与 (固型腫瘍) とし、以下の結果を得た。

1) 腹水腫瘍を用いた実験

生存期間の短い (8~9日) マウスリンパ性白血病 L1210, P388 細胞を用いた RJ の治療実験では、抗腫瘍効果が認められなかった。生存期間が16日の Sarcoma-180 腹水腫瘍を用いた治療実験では、RJ 10 mg/kg で 18.4日 ($P=0.1859$), 100 mg/kg で 17.6日 ($P=0.2880$), 1000 mg/kg で 19.2日 ($P=0.0099$) の生存日数が得られ、RJ 1000 mg/kg のみが有意に延長が認められたが、ILS % が効果判定基準の20以上には達しなかった。生存期間が22.1日の Ehrlich 腹水腫瘍では、RJ 10 mg/kg で 26.6日となり、 $P<0.001$ で有意に延長を認め、その延長率は20.4%、1000 mg/kg で 26.0日となり、 $P<0.05$ で有意に延長を認め、その延長率は7.6%であったが、100 mg/kg では抗腫瘍効果は認められなかった。

以上の結果より、RJ の腹水腫瘍に対する抗腫瘍効果および延命効果の特徴として、L1210 および P388 のように移植腫瘍細胞の増殖力が強力で、平均生存日数が8日前後であるものに対しては、RJ は無効であった。これに対して、Ehrlich および Sarcoma-180 のように、平均生存日数が16~20日と生存期間のやや長いものに対しては、RJ が作用することができ、RJ 10, 100 mg/kg 投与群に平均生存日数の延長が認められ、弱いながら延命効果が認められた。このことは、RJ の作用が弱く、さらに作用の発現が緩徐であることを示唆して

いる。

2) 固型腫瘍を用いた実験

Ehrlich 腫瘍細胞を用いた固型腫瘍の治療実験では、それぞれ RJ 10, 1000 mg/kg では $P<0.05$ で有意性が認められ、50.0, 54.8%の腫瘍増殖抑制効果が認められた。効果判定基準でも、10, 1000 mg/kg で有効、100 mg/kg でやや有効と判定された。Sarcoma-180 腫瘍細胞を用いた実験では、それぞれ RJ 10, 100, 1000 mg/kg では $P<0.0008$, 0.0059, 0.0049 となり、すべてに有意性が認められ、さらにそれぞれ59.7, 45.1, 44.6%の腫瘍増殖抑制効果が認められた。効果判定基準でも、10 mg/kg で有効、100, 1000 mg/kg でやや有効と判定された。いずれの場合も生存期間は60日以上であり、同一腫瘍細胞を腹腔内投与した場合に比較し、生存期間は大幅に延長していた。これは、腹腔内の方が腫瘍細胞にとって増殖しやすいこと、また宿主にとって腹腔内に腫瘍細胞が増殖する方が、それによる全身毒性を受けやすくなっていることなどがその理由として考えられる。

腹水腫瘍の実験の結果でも明かなように、生存期間が長くなるほど RJ の効果が著明に見られることは興味深い。

2. RJ の予防・治療効果

Ehrlich 腫瘍細胞を用いた実験では、RJ 10, 100, 1000 mg/kg で $P<0.05$ で有意性が認められ、それぞれ 38.3, 47.5, 47.2%の腫瘍増殖抑制効果が認められた。効果判定基準では、すべてやや有効と判定された。Sarcoma-180 腫瘍細胞を用いた実験では RJ 10, 100 mg/kg で $P<0.001$ で、1000 mg/kg で $P<0.01$ で有意性が認められ、それぞれ56.4, 49.1, 49.1%の腫瘍増殖抑制効果が認められた。効果判定基準では 10 mg/kg で有効、100, 1000 mg/kg でやや有効と判定された。いずれの場合も、治療効果の実験の結果と差がほとんどなく、RJ の予防効果はあまり期待できないことが示唆された。

RJ の抗腫瘍効果は、すでに Townsend ら^{2,3)}により見出されており、マウスの実験的移植腫瘍を用いて検討した結果、1 ml 中に RJ 30 mg, マウス白血病移植腫瘍細胞 $2 \sim 5 \times 10^6$ 個を混合してその 0.2 ml を AKR マウスに移植すると、完全に腫瘍増殖を抑制したと報告されている。また、腹水腫瘍 (6c3HED1, TA3, および Ehrlich) に対しても、RJ 40 mg を同様に作用させることにより、延命効果を認めている。さらに、RJ 中の脂肪酸の主成分である10-ヒドロキシデセン酸 (HDA)²⁾ を白血病細胞に 1.5 mg/ml, TA3, 6c3HED1, および

Ehrlich に 1.0 mg/ml を同様に作用させると、生存日数が白血病では54日、TA3 では15日、6c3HED1 では12日、Ehrlich では11日に対し、HDA を用いた群ではいずれの実験においても全例で90日以上生存が認められ、RJ 中の抗腫瘍効果の主成分は HDA であることが報告されている。

しかしながら、Townsend らが得た RJ および HDA の移植腫瘍に対する抗腫瘍効果は、腫瘍細胞と RJ および HDA を試験管内で混合した後に移植した方法であり、RJ および HDA が細胞毒性を有することが報告されており、混合された腫瘍細胞が障害を受けることが予測され、移植した場合に定着性の低下、増殖性の低下が見られたと考えられる。したがって、この方法では、RJ の細胞毒性を有する成分が直接腫瘍細胞に *in vitro* で作用した結果と考えられる。また、*in vitro* で混合、反応した場合に、得られた RJ および HDA の抗腫瘍効果は pH 依存で、pH 5.6 以下においてのみ認められ、pH 6.0 以上においては抗腫瘍効果が失われると報告されている。

Townsend ら^{2,3)}の方法と比較して、本研究での方法は、ip-oral または sc-oral の方式であり、RJ 中の細胞毒性を有する成分が腫瘍細胞と直接に接する機会は比較にならないほど低くなる。したがって、抗腫瘍効果も Townsend らの結果より低くなることが推測される。事実、マウスリンパ性白血病 L1210, P388 を用いた ip-oral の方式にて実験を行った場合には、RJ の抗腫瘍効果はまったく認められなかった。また、Ehrlich, Sarcoma-180 腹水腫瘍を用いた ip-oral の方式でも、わずか20%の延命率が認められたにすぎない。さらに、ip-ip の方式で動物実験を行い有効であると判定されたヒト癌に対して、実際の臨床の場で効果が得られるとは限らないという例が報告されている^{4,5,11,12)}。

3. RJ と クレスチン (PS-K)、レンチナンとの文献的比較

塚越^{13,14)}は、クレスチン (PS-K) がマウス白血病由来の L1210, P388 に対して、ip-ip 方式で無効であり、また Sarcoma-180 固型腫瘍に対して、500 mg/kg の用量を用いた場合、腹腔投与で96.2%、経口投与で81.1%の腫瘍増殖抑制率 (TIR %) が得られたと報告して

いる。さらに、予防効果についても検討しているが、P388 に対してクレスチン 250 mg/kg, day, ip の条件で5日間予防的に投与しておく、約10%の T/C % の増加が認められたと報告している。

レンチナンに関しては、Sarcoma-180 腫瘍細胞に対して、レンチナンを 1 mg/kg, day, ip の条件で10日間連続投与した場合、腫瘍細胞皮下移植後21日目の皮下腫瘍は、対照群が 11.6 g であったのに対し、実験群では10例中腫瘍形成を認めたものはなく、強い腫瘍増殖抑制作用が認められたと報告されている¹⁵⁾。

したがって、クレスチン (PS-K) およびレンチナンは、ともに RJ より優れた抗腫瘍効果を示すことが示唆される。

これらの結果より、RJ は急性の腫瘍には効果が発現しにくい、生存日数の長い実験的移植腫瘍細胞を用いた実験系では、弱いながら抗腫瘍効果を示すことが推測された。

文 献

- 1) 田村豊幸, 藤井 彰, 久保山昇: ミツバチ科学 **6**, 7 (1985)
- 2) Townsend, G.F., Morgan, J.F. and Hazlett, B.: Nature (London) **183**, 1270 (1959)
- 3) Townsend, G.F., Morgan, J.F., Hazlett, B. and Shuel, R.W.: Cancer Res. **20**, 503 (1960)
- 4) 佐藤 博: 癌と化学療法 **3**, 175 (1976)
- 5) 佐藤 博: 癌の臨床 **23**, 709 (1977)
- 6) 桜井欽夫: 癌と化学療法 **11**, 1900 (1984)
- 7) 塚越 茂: 癌と化学療法 **11**, 1134 (1984)
- 8) 新田和男: 医薬品研究法, 伴 義雄, 北川晴夫, 宮木高明, 中垣正幸, 岡本敏彦, 奥井誠一, 高木博司編, p.382, 朝倉書店, 東京 (1968)
- 9) 塚越 茂: 癌化学療法の基礎と臨床, 古江 尚, 大田和雄, 田口鉄男, 藤田 浩, 塚越 茂編, p.16, 蟹書房, 東京 (1980)
- 10) 豊島 滋: 抗癌剤の領域, 豊島 滋, 瀬戸淑子, 藤田晴久編, p.25, 医薬ジャーナル社, 大阪 (1976)
- 11) 市村弘子: 癌と化学療法 **2**, 605 (1975)
- 12) 豊島 滋: 抗癌剤の領域, 豊島 滋, 瀬戸淑子, 藤田晴久編, p.38, 医薬ジャーナル社, 大阪 (1976)
- 13) 塚越 茂: 癌と化学療法 **1**, 251 (1974)
- 14) 塚越 茂: 医学のあゆみ **91**, 505 (1974)
- 15) Chihara, G., Maeda, Y. and Hamuro, J.: Nature (London) **222**, 687 (1969)

Abstract—Antitumor effects of Royal Jelly (RJ). Toyoyuki TAMURA, Akira FUJII and Noboru KUBOYAMA (Department of Pharmacology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, 2-870-1 Sakaecho-Nishi, Matsudo, Chiba 271, Japan). *Folia pharmacol. japon.* **89**, 73~80 (1987)

Antitumor effects of Royal Jelly (RJ) were investigated employing the transplantable tumors of mouse advance leukemia L1210 and P388 strains and Ehrlich, Sarcoma-180 ascites and solid tumor strains. RJ was administered orally in a prophylactic-therapeutic (30 days before and 30 days after the transplantations of tumor cells) or a therapeutic (30 days after the transplantations of tumor cells) manner. Tumor cells were transplanted i.p. (ascites tumor) or s.c. (solid tumor). The daily dose of RJ was 0 (control), 10, 100, or 1000 mg/kg. In the case of the therapeutic experiments employing advance leukemia L1210 and P388 strains, which gave quite a short survival period of 8~9 days, RJ did not show any antitumor effect. In the case of the therapeutic RJ application employing the Sarcoma-180 ascites tumor, which gave a moderate survival period of 16 days, the increased life span was 9.3~19.3%; and with the Ehrlich ascites tumor (survival period of 22.1 days), the increased life span was 20.4% (RJ 10 mg/kg·day) and 17.6% (RJ 1,000 mg/kg·day), but no antitumor effect was observed at the dose of 100 mg/kg·day. In the case of the therapeutic experiment employing Ehrlich solid tumor, tumor growth inhibition was 25.3~54.8%, where as the use of the prophylactic-therapeutic regimen gave a tumor growth inhibition of 38.3~45.7%. In the case of the therapeutic RJ application employing Sarcoma-180 solid tumor, tumor growth inhibition was 45.1~59.7%, where as the prophylactic-therapeutic regimen gave a tumor growth inhibition of 49.1~56.1%. These results indicate that RJ is not effective against rapidly growing tumors; however, it is effective against slowly growing tumors such as solid tumor.