

1 フコイダン-アガリクスミックス摂取によるペプチドワクチン処置マウスにおけるがん
2 抗原特異的免疫応答の効率的誘導

3
4 Effective induction of tumor antigen-specific immune responses by a fucoidan-agaricus mix
5 feeding in peptide vaccine-treated mice

6
7 宮崎義之 (MIYAZAKI Yoshiyuki)

8
9 九州大学大学院農学研究院

10
11 Key Words : 褐藻抽出物、硫酸化多糖類、フコイダン、抗腫瘍免疫、ペプチドワクチン

12
13 **要旨**

14 フコイダンは、L-フコースを主要な構成糖とする褐藻由来の天然硫酸化多糖類であり、
15 抗がん作用や免疫調節作用などの多様な生理活性を有している。我々もまた、オキナワモ
16 ズク (*Cladosiphon okamuranus*) 由来フコイダンやワカメ (*Undaria pinnatifida*) の胞子葉
17 部であるメカブから抽出されたフコイダンが持つ免疫増強作用を明らかにしてきた。さ
18 らに、それら 種のフコイダンエキス末とアガリクス (*Agaricus blazei* Murill) 菌糸体エ
19 キス末から成るフコイダン-アガリクスミックス (以下、CUA) をがん細胞移植モデルマ
20 ウスに経口投与することで、抗腫瘍免疫が増強され腫瘍形成を抑制することを見出して
21 いる。そこで本研究では、腫瘍関連抗原 gp70 由来ペプチドを用いた抗腫瘍ワクチン効果
22 の増強における CUA 摂取の有用性を検証した。その結果、脾臓細胞における NK 細胞の
23 がん細胞傷害活性および増殖能が CUA 含有餌を摂取することで亢進したことから、CUA
24 が全身性の免疫機能の増強に働くことが再度確認された。また、gp70 ペプチド刺激に伴う
25 脾臓細胞の増殖および IFN- γ 産生、リンパ節 (LN) 細胞における gp70 特異的 CD8 陽性 T
26 細胞集団の増加および LN 細胞の colon-26 大腸がん細胞に対する致死活性が CUA 摂食に
27 よって増強された。さらに、抗原提示分子 MHC class II を発現する CD11c 陽性 (樹状細
28 胞) の割合および IFN- γ 遺伝子発現レベルが、CUA 含有餌を摂取したマウスの LN 細胞に
29 おいて増加する傾向にあった。これらの結果から、腫瘍抗原ペプチドを用いたワクチンに
30 よる抗腫瘍免疫の誘導を効果的に進める手段として CUA の摂取が有効であることが示
31 唆された。

34 連絡先： 〒819-0395 福岡県福岡市西区元岡 744
35 九州大学大学院生命機能科学部門 機能性多糖分析学講座
36 Tel/Fax : 092-802-4778 E-mail : miyazaki@agr.kyushu-u.ac.jp
37
38

39 はじめに

40 海藻は、多糖類やポリフェノール類およびテルペン類などの健康維持に資する多くの
41 生理活性成分を含んでおり^{1,2)}、健康食品素材として古くから利用されてきた。海藻の表
42 面を覆うことで藻体の乾燥や病原体の侵入を防いでいるヌメリは、保水性に富む細胞間
43 粘質多糖によって構成されており、昆布やワカメおよびモズクなどの褐藻類にはアルギ
44 ン酸およびフコイダンが特徴的に含まれることが知られている^{3,4)}。その内、フコイダン
45 は、L-フコースを主要な構成単糖とする硫酸基を持った特異な多糖類として、1913年にス
46 ウェーデンのウプサラ大学においてヒバマタ属およびコンブ属海藻から同定された⁵⁾。さ
47 らに、その後の研究進展に伴って、各褐藻に含まれるフコイダンは、糖組成や硫酸化度お
48 よび構造が異なるなど、その由来に応じて固有の特徴を有することが明らかにされると
49 ともに、血清脂質低下作用、抗酸化作用、抗ウイルス作用、抗腫瘍作用および免疫調節作
50 用などの多様な生理機能が報告されている^{4,6-8)}。

51 天然痘ワクチンがエドワード・ジェンナーによって開発されて以来、様々な感染症の予
52 防を目的としてワクチン接種が実施されている。ワクチンは、病原体そのものあるいは
53 病原体に発現するタンパク質（抗原）を感染に先立って投与することで、生体防御に働く
54 免疫機能を人為的に付与する方法である。これをがん免疫治療に適用するため、がん細胞
55 特異的に高発現するタンパク質（腫瘍関連抗原）の分解産物であるペプチドを抗原とし
56 て用いたがんワクチンの開発および臨床研究が進められている⁹⁾。がんペプチドワクチン
57 療法では、がん細胞を特異的に認識して攻撃・排除する細胞傷害性リンパ球（CTL）の活
58 性化を誘導することが成否のかぎを握っているが¹⁰⁾、がん細胞の働きかけによって腫瘍
59 部位で免疫抑制的な微細組織環境が形成されており、ペプチドのみを投与することでは
60 実際の治療効果を得ることは出来ない。そのため、より強い抗腫瘍免疫の誘導を可能とす
61 る腫瘍関連抗原ペプチドの探索と共に、免疫機能の促進に働くがん免疫アジュバントの
62 開発が重要な検討課題とされている¹¹⁾。

63 フコイダンをはじめとする天然多糖類の免疫増強作用はこれまで多数報告されており
64 ¹²⁾、我々もまた、がん細胞移植および抗がん剤投与モデルマウスを用いた先の研究にお
65 いて、オキナワモズク（*Cladosiphon okamuranus*）由来フコイダン、メカブ（*Undaria*
66 *pinnatifida*）由来フコイダンおよびアガリクス（*Agaricus blazei* Murill）菌糸体エキス末

67 の混合物（以下, CUA と表記する）の摂取が抗腫瘍免疫の増強および抗がん剤副作用の
68 緩和につながる可能性を見出している¹³⁾。そこで本研究では、腫瘍関連抗原のひとつで
69 ある gp70 由来のペプチドを用いたモデル動物試験により、がんペプチドワクチン療法
70 における CUA 摂取の有用性を検証した。

71

72 1. 実験材料および方法

73 1-1. 実験材料

74 オキナワモズク由来フコイダン、メカブ由来フコイダンおよびアガリクス菌糸体エキ
75 ス末の各乾燥粉末は、特定非営利活動法人 NPO フコイダン研究所（福岡）より入手し、一
76 定の規格配合に従って CUA を調製した。AIN93G 精製粉末飼料は（株）KBT オリエンタ
77 ル（福岡）より購入し、被験試料には 1%重量の CUA 粉末を添加しよく混合した（平均
78 CUA 摂取量：30 mg/日）。マウスには、本粉末飼料に半量の水を加えて練った後、凍結乾
79 燥により固型化した飼料として与えた。合成 gp70 ペプチドおよび完全フロイトアジュバ
80 ント（CFA）は、それぞれ（株）医学生物学研究所（名古屋）および日本 BD 株式会社（東
81 京）より購入した。

82

83 1-2. 動物試験

84 7 週齢の雄性 Balb/c マウス（日本クレア株式会社、東京）は、1 週間の予備摂食の後に 4
85 群（各群 8 匹）に分け、2 群には上記により作製した AIN93G 固型飼料を、残りの 2 群に
86 は 1% CUA 含有固型飼料を自由摂食により与えた。また、各飼料を与えた 1 群ずつに対
87 して、gp70 ペプチド（50 µg）溶液と CFA を等量で混合した乳化液 100 µL を、摂食開始 0
88 日目と 14 日目の 2 回、マウス尾根部に皮下注射した。摂食開始から 28 日目に麻酔下で安
89 楽死させ、脾臓および鼠径リンパ節（LN）から細胞を回収し解析した。本動物試験は、九
90 州大学動物実験規則の規定に基づき、九州大学動物実験委員会の承認（A28-037-2）を得
91 て実施された。

92

93 1-3. 増殖およびサイトカイン産生試験

94 各マウスより単離した脾臓細胞は、10%ウシ胎児血清含有 RPMI 1640 培地に懸濁して細
95 胞密度 5×10^6 cells/mL となるよう 96 穴プレートに分注し、2 µg/mL コンカナバリン A あ
96 るいは 10 µg/mL gp70 ペプチド存在下で、37°C に恒温した 5% CO₂ インキュベーターで 48
97 時間培養した。培養上清 150 µL を回収した後、推奨プロトコールに従って Cell Count
98 Reagent SF（WST-8, ナカライテスク, 京都）を添加して細胞増殖能を測定した。また、培
99 養上清中の IFN- γ 産生量は、ELISA MAXTM Deluxe Set（BioLegend, CA, USA）を用いて測

100 定した。

101

102 1-4. 細胞傷害活性測定試験

103 各マウスより脾臓細胞および鼠径リンパ節細胞を回収し、10%ウシ胎児血清含有 RPMI
104 1640 培地を用いて 1×10^7 cells/mL の細胞懸濁液を調製した。NK 細胞標的および CTL 標
105 的がん細胞として、それぞれ Yac-1 細胞（東北大学加齢医学研究所医用細胞研究センター
106 より譲渡）および Colon-26 細胞（理化学研究所バイオリソース研究センターより譲渡）
107 を用いた。Yac-1 細胞および Colon-26 細胞は、20 μ g/mL の calcein-AM(ナカライテスク、京
108 都) 存在下で 37°C, 30 分間培養し、3 回洗浄した後、 5×10^5 cells/mL の細胞懸濁液を調製し
109 た。調製した免疫細胞および標的がん細胞株懸濁液をそれぞれ 100 μ L ずつ V 底 96 穴プ
110 レートに分注し (Effector : Target = 20 : 1) , 400 xg で 3 分間遠心した後、37°C, 5% CO₂ 条
111 件下で 12 時間培養した (Experimental 試験区)。Spontaneous および Maximum 試験区とし
112 て、標的がん細胞に対して、それぞれ RPMI 培地および 4% Triton X-100 含有 RPMI 培地を
113 添加し、同条件で培養・恒温した。培養上清 100 μ L を 96 穴 black plate に回収し、プレー
114 トリーダー (FlexStation 2, Molecular Device, CA, USA) で蛍光強度 (Ex 490 nm, Em 515 nm)
115 を測定した。細胞傷害活性は、{(Experimental 蛍光値-Spontaneous 蛍光値)/(Maximum 蛍光
116 値-Spontaneous 蛍光値)}x100 により算出した。

117

118 1-5. フローサイトメトリー解析

119 各種の蛍光標識抗 CD マーカー (CD3, CD4, CD11b, CD11c, CD80) 抗体、抗 IFN- γ 抗体
120 および MHC class II (I-A/I-E) 抗体は BioLegend 社 (CA, USA) より、T-Select H-2Ld MuLV
121 gp70 Tetramer-SPSYVYHQF-APC は (株) 医学生物学研究所 (名古屋) より購入した。各
122 社の推奨プロトコールに従って脾臓細胞および鼠径リンパ節細胞を免疫蛍光染色した後、
123 SH800 セルソーター (SONY, 東京) を用いて細胞集団解析を行った。

124

125 1-6. 遺伝子発現解析

126 鼠径リンパ節細胞は、RNAiso Plus (タカラバイオ, 滋賀) を用いて破碎し、クロロホル
127 ムを添加して混和・遠心することで水層に RNA を抽出し、イソプロパノール沈殿および
128 エタノール洗浄により total RNA を回収した。PrimeScript™ RT reagent Kit (タカラバイオ)
129 を用いた逆転写反応により cDNA を調製し、Perfect Real Time サポートシステム (タカラ
130 バイオ) より購入したプライマーおよび Mx3000P リアルタイム定量 PCR システム
131 (Agilent Technologies/旧 Stratagene) を用いて、IFN- γ 遺伝子発現レベルを測定した。

132

133 1-7. 統計解析

134 試験結果は、平均値±標準偏差 (n=8) により表示し、Bonferroni 法により有意差の検定
135 を行った (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$)。

136

137 2. 結果

138 2-1. がんペプチドワクチン投与マウスの脾臓細胞における細胞傷害活性

139 がんペプチドワクチン投与およびCUA摂食の後に回収した脾臓細胞を用い、Yac-1細胞
140 を標的がん細胞として脾臓細胞のナチュラルキラー細胞の細胞傷害活性 (NK 活性) を測
141 定したところ、ワクチン投与に伴う NK 活性の上昇が CUA 摂取によって更に高められる
142 傾向にあり、ワクチン非投与マウスでは CUA 摂取によって NK 活性が有意に亢進した
143 (図 1)。一方、gp70 を発現する colon-26 細胞を標的がん細胞として脾臓細胞の細胞傷害
144 性リンパ球の細胞傷害活性 (CTL 活性) を測定した結果、ワクチン投与に伴う CTL 活性
145 の亢進が認められた。しかし、CUA 摂食による CTL 活性に対する有意な増強効果は観察
146 されず、ワクチン非投与群においてのみ CUA 摂食に伴って CTL 活性が上昇する傾向にあ
147 った (図 1)。

148

149 2-2. がんペプチドワクチン投与マウスの脾臓細胞における増殖およびサイトカイン産生

150 上記の脾臓細胞を用い、全般的な T 細胞の増殖を促すコンカナバリン A 存在下で培養
151 し増殖およびサイトカイン産生を測定した結果、脾臓細胞の増殖能および IFN- γ 産生能は
152 ワクチン投与に伴う顕著な増強が観察されたが、CUA 摂取が更なる増強効果を付与する
153 までには至らなかった (図 2)。一方、脾臓細胞の増殖およびサイトカイン産生に関する
154 同様の培養試験を gp70 がん抗原存在下で行った結果、ワクチン投与によって増強された
155 細胞増殖能および IFN- γ 産生能が CUA 摂取によって更に亢進される傾向が観察された
156 (図 3)。また、CUA 摂取に伴うがん抗原特異的 IFN- γ 産生の有意な上昇は、ワクチンを投
157 与していない通常のマウスにおいても観察された (図 3)。

158

159 2-3. がんペプチドワクチン投与マウス LN 細胞におけるがん抗原特異的免疫細胞の誘導

160 がんペプチドワクチンを投与したマウスの鼠径リンパ節から細胞を分離し、CUA 摂取
161 によるワクチン効果増強作用を検証した結果、colon-26 細胞を標的がん細胞とする CTL
162 活性の測定において、CUA 摂食によって亢進される傾向が認められた (図 4)。また、抗
163 原提示分子 MHC class I と gp70 ペプチドの複合体 (gp70/MHC tetramer) を認識する CD8
164 陽性 T 細胞の割合は、CUA 摂食によって有意に増加した (図 4)。さらに、同リンパ節細
165 胞における MHC class II 分子を高発現する樹状細胞 (MHC class II^{high}/CD11b^{low}/CD11c^{high})

166 の割合および IFN- γ 遺伝子発現レベルを測定した結果, CUA 摂取マウス由来の LN 細胞に
167 おいてより高値を示した (図 5)。

168

169 3. 考察

170 我々は, 先に行ったマウスを用いた動物試験において, CUA の摂食に伴って NK 活性が
171 上昇すると共に皮下移植がん細胞による腫瘍形成が抑制されることや抗がん剤投与に伴
172 う副作用として生じる免疫抑制が緩和されることなどを明らかにしてきた¹³⁾。NK 細胞は
173 全身的な免疫力の代表的な指標の一つであり, 本研究においても同様の NK 活性の上昇
174 が CUA 摂取マウスにおいて観察された。このことは, 経口摂取された CUA が抗腫瘍免
175 疫をはじめとする生体防御能を増強する作用を持つことを示した先述の知見を支持して
176 いる。加えて, 本研究では, がん関連モデル抗原である gp70 ペプチドを投与した部位に
177 隣接する鼠径リンパ節において, gp70 ペプチドを特異的に認識する CD8 陽性 T 細胞 (が
178 ん特異的 CTL) が CUA 摂取に伴って効率的に誘導され, gp70 を発現する colon-26 細胞に
179 対する殺傷能 (CTL 活性) の増大を導くことが明らかとなった。従って, CUA 摂取は, が
180 んペプチドワクチン効果の増強に寄与し, がん特異的な免疫応答を効率的に誘導する有
181 効な手段となることが期待された。

182 本研究では, CUA を摂取したワクチン処置マウスのリンパ節において, 抗原提示分子
183 である MHC class II を高発現する樹状細胞の増加が観察された。この樹状細胞は, 抗腫瘍
184 免疫の誘導に働く I 型ヘルパー T 細胞の分化成熟に関わるものと推察され, 実際に本試験
185 条件において I 型ヘルパー T 細胞が分泌し NK 細胞や CTL の活性化を促すサイトカイン
186 である IFN- γ の遺伝子発現レベルが同リンパ節細胞で有意に上昇することが確認された。
187 しかし, 腫瘍内の微細環境においては, 腫瘍関連マクロファージ (tumor-associated
188 macrophages, TAM) や制御性 T 細胞 (regulatory T cells, Treg) などの免疫抑制作用を有す
189 る細胞群が集積し, 腫瘍形成の悪化を導くことが知られている¹⁴⁾。そのため, 現時点では
190 本研究で見出された CUA の抗腫瘍免疫増強効果が, 腫瘍への TAM や Treg の集積あるい
191 はそれらの細胞による免疫抑制を打破するのに十分であると判断することは出来ない。
192 従って, 実際の抗腫瘍効果が生体レベルで発揮されるか否かについては, がん細胞移植
193 マウスを用いた摂食試験などを通して今後検証する必要がある。

194 先の研究で我々は, フコイダンが B 細胞による抗体産生に対して増強効果を有し¹⁵⁾,
195 また, 健常者を対象とした CUA 摂取試験において口腔内粘膜で異物の排除に働く分泌型
196 IgA 抗体の産生を増加させる可能性を見出している¹⁶⁾。また, インフルエンザワクチンの
197 投与と並行してフコイダンを摂取することで, 高齢者におけるウイルス特異的抗体の産
198 生の向上を促すことが報告されている¹⁷⁾。これらの知見から, 本研究で評価の対象とし

199 た抗腫瘍作用を担うNK細胞やCTLなどの細胞性免疫の活性化とは異なる作用機序として、
200 がん抗原特異的な抗体の産生誘導を高めることで、CUA摂取が抗腫瘍免疫の増強に
201 関わる可能性についても期待が持たれる。

202 一方、フコイダンと抗原を混合してマウス腹腔内に投与することで、樹状細胞における
203 MHC分子の発現が高まり、T細胞の活性化とB細胞による抗体産生が亢進すると共に、皮
204 下移植がん腫瘍形成の顕著な抑制が観察されたことから、フコイダンが抗腫瘍ワクチン
205 治療におけるアジュバント（免疫賦活剤）として有用であることが示唆されている¹⁸⁾。
206 また、分子標的薬を用いたがん治療に適用するための薬物送達担体の開発に関する研究
207 が近年進められており、フコイダンで粒子表面を被覆した担体を用いることで、マウス
208 生体内での薬剤の安定性および病変部位への送達性が向上すると共に、抗腫瘍免疫の活
209 性化が効率的に誘導されることによって移植腫瘍の退縮と転移の抑制が達成されること
210 が報告されている¹⁹⁾。これらの知見は、フコイダンが、食品利用以外にも、医療分野にお
211 ける医薬的臨床応用の可能性を有することを示唆している。

212 以上、本研究で得られた結果から、経口摂取されたフコイダンが、がん免疫治療の一つ
213 である抗原ペプチドワクチン療法において免疫賦活作用を発揮し、がん細胞の特異的な
214 排除による効果的ながん治療の一助となる可能性が示された。しかし、がん治療において
215 安全かつ実質的な効果をもたらすフコイダンの利用法を確立するためには、更なる学術
216 的検証およびヒト試験が必要である。

217

218 利益相反および謝辞

219 著者が所属する九州大学大学院生命機能科学部門 機能性多糖分析学講座は、株式会社
220 ヴェントゥーノ（福岡）ならびに特定非営利活動法人NPOフコイダン研究所の出資によ
221 り設立された寄附講座である。また、免疫細胞集団の解析には、九州大学大学院農学研究
222 院研究教育支援センター（Center for Advanced Instrumental and Educational Supports, Faculty
223 of Agriculture, Kyushu University）の機器を使用した。

224

225 参考文献

- 226 1. S. Gupta and N. Abu-Ghannam: Bioactive potential and possible health effects of edible
227 brown seaweeds. *Trends in Food Science & Technology* **22**: 315-326, 2011.
- 228 2. S. Charoensiddhi, M.A. Conlon, C. Franco and W. Zhang: The development of
229 seaweed-derived bioactive compounds for use as prebiotics and nutraceuticals using enzyme
230 technologies. *Trends in Food Science & Technology* **70**: 20-33, 2017.
- 231 3. 西出英一: 海藻多糖類. *調理科学* **22**: 14-18, 1988.

- 232 4. 酒井武、佐川裕章、加藤郁之進: 機能性食品としてのフコイダン: その構造と生物活
233 性. 藻類 Japanese journal of phycology (Sôrui) **51**: 19-25, 2003.
- 234 5. H. Kylin: Zur Biochemie der Meeresalgen. Zeitschrift für Physiologische Chemie **83**:
235 171-197, 1913.
- 236 6. J.B. Lee, K. Hayashi, M. Hashimoto, T. Nakano and T. Hayashi: Novel antiviral fucoidan
237 from sporophyll of *Undaria pinnatifida* (Mekabu). Chemical and Pharmaceutical Bulletin **52**:
238 1091-1094, 2004.
- 239 7. B. Li, F. Lu, X. Wei, W.R. and Zhao: Fucoidan: Structure and Bioactivity. Molecules **13**:
240 1671-1695, 2008.
- 241 8. M.T. Ale, J.D. Mikkelsen and A.S. Meyer: Important determinants for fucoidan bioactivity: A
242 critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing
243 sulfated polysaccharides from brown seaweeds. Marine Drugs **9**: 2106-2130, 2011.
- 244 9. 鶴田未季、西村泰治: がん免疫療法におけるがん抗原ワクチン療法の現状と将来展望.
245 Major Histocompatibility Complex **25**: 40-49, 2018.
- 246 10. 赤澤悠、鈴木利宙、中面哲也: がん局所への CTL 浸潤の増強. 癌と化学療法 **45**:
247 227-231, 2018.
- 248 11. 松本美佐子、瀬谷司: がん免疫アジュバントの開発. ファルマシア **53**: 20-24, 2017.
- 249 12. S.S. Ferreira, C.P. Passosa, P. Madureira, M. Vilanova and M.A. Coimbra: Structure–function
250 relationships of immunostimulatory polysaccharides: A review. Carbohydrate Polymers **132**:
251 378–396, 2015.
- 252 13. 宮崎義之: 海藻由来機能性多糖フコイダンの免疫増強作用. Food style 21 **20**: 52-56,
253 2016.
- 254 14. L. Yang and Y. Zhang: Tumor-associated macrophages: from basic research to clinical
255 application. Journal of Hematology & Oncology **10**:58, 2017.
- 256 15. M. Takai, Y. Miyazaki, H. Tachibana and K. Yamada: The enhancing effect of fucoidan
257 derived from *Undaria pinnatifida* on immunoglobulin production by mouse spleen
258 lymphocytes. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry **78**: 1743–1747. 2014.
- 259 16. 宮崎義之、桐野智美、山口千仁: フコイダン含有食品の免疫増強作用および安全性に
260 関する小規模臨床試験 : 口腔内粘膜免疫機能の改善について. Food style 21 **18**: 21-25,
261 2014.
- 262 17. H. Negishi, M. Mori, H. Mori and Y. Yamori: Supplementation of elderly Japanese men and
263 women with fucoidan from seaweed increases immune responses to seasonal influenza
264 vaccination. Journal of Nutrition **143**: 1794–1798, 2013.

265
266
267
268
269
270
271
272
273
274
275
276
277
278
279
280
281
282
283
284
285
286
287
288
289
290
291
292
293
294
295
296
297

18. J.O. Jin, W. Zhang, J.Y. Du, K.W. Wong, T. Oda and Q. Yu: Fucoidan can function as an adjuvant *in vivo* to enhance dendritic cell maturation and function and promote antigen-specific T cell immune responses. *Plos One* **9**: e99396, 2014.

19. C.S. Chiang, Y.J. Lin, R. Lee, Y.H. Lai, H.W. Cheng, C.H. Hsieh, W.C. Shyu and S.Y. Chen: Combination of fucoidan-based magnetic nanoparticles and immunomodulators enhances tumour-localized immunotherapy. *Nature Nanotechnology* **13**: 746-754, 2018.

298 Effective induction of tumor antigen-specific immune responses by a fucoidan-agaricus mix
299 feeding in peptide vaccine-treated mice

300

301 Yoshiyuki Miyazaki

302

303 Faculty of Agriculture, Kyushu University

304

305 **Abstract**

306 Fucoidan is a series of natural sulfated polysaccharides derived from brown seaweeds mainly
307 composed of L-fucose, and known to have several bioactivities such as anti-cancer and
308 immunomodulatory effects. We also have found several immune-enhancing effects in
309 “Okinawamozuku” (*Cladosiphon okamuranus*)-derived fucoidan and “Mekabu”, which is
310 sporophyll of “Wakame”, (*Undaria pinnatifida*)-derived fucoidan. In this context, it was revealed
311 in our previous studies that a mixture of these two kinds of fucoidan and an extract from mycelia
312 of *Agaricus blazei* Murill potentiated anti-tumor immunity to reduce tumor growth in
313 experimental model mice fed the mixture (CUA). In this study, dietary effects of CUA on
314 achievement of effective tumor vaccination were evaluated using Balb/c mice immunized with a
315 tumor antigen gp70 peptide emulsified in complete Freund's adjuvant. This procedure totally
316 enhanced systemic immune function because augmented NK cell activity was observed in
317 splenocytes from the vaccinated, and especially CUA-fed, mice. On the other hand, the gp70
318 peptide-stimulated IFN- γ production in splenocytes from the vaccinated mice were tended to
319 augment by the CUA feeding. Furthermore, the CUA feeding potentiated the killing activity to
320 colon-26 carcinoma of draining lymph node (LN) cells from the vaccinated mice in association
321 with increase of gp70-specific CD8-positive T cell population. Furthermore, the expressions of
322 MHC class II molecule (I-A/I-E) on CD11c-positive populations and IFN- γ mRNA were elevated
323 in LN cells from the vaccinated and CUA-fed mice. These results suggested that the CUA feeding
324 potentially support effective induction of anti-tumor immune responses by vaccination with tumor
325 antigen peptides.

326

327 Key Words: brown seaweed extracts, sulfated polysaccharide, fucoidan, anti-tumor immunity,
328 peptide vaccine

329

330 *To whom correspondence should be addressed.

331 Laboratory of Bioactive Polysaccharide Analysis,
332 Department of Bioscience and Biotechnology,
333 Faculty of Agriculture, Kyushu University,
334 744 Motooka Nishi-ku, Fukuoka 819-0395, Japan
335 Tel/Fax : +81-92-802-4778 E-mail : miyazaki@agr.kyushu-u.ac.jp
336

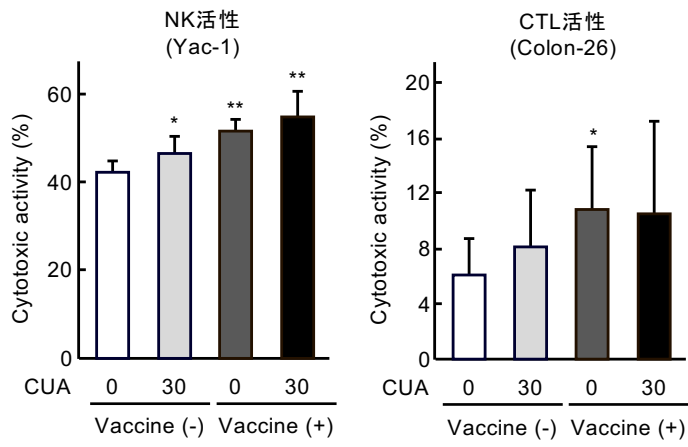


図1. ワクチン投与に伴う脾臓細胞の細胞傷害活性の増強

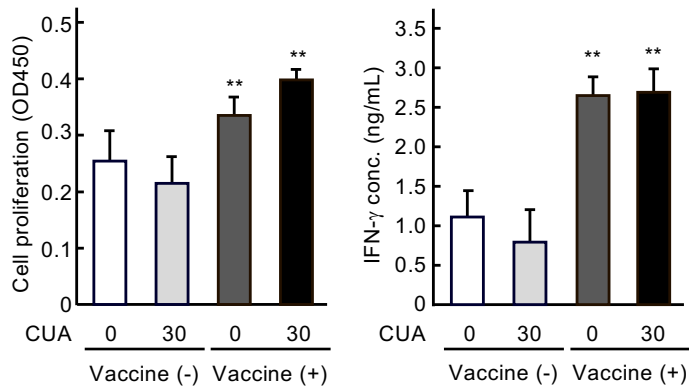


図2. ワクチン投与に伴うコンカナバリンA刺激下における脾臓細胞の増殖およびIFN- γ 産生の増強

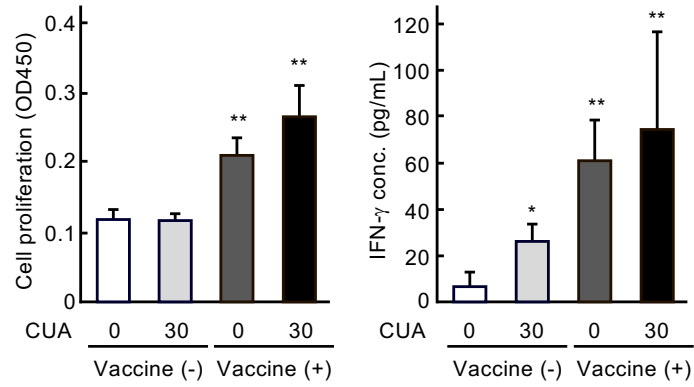


図3. ワクチン投与に伴うgp70がん抗原刺激に対する脾臓細胞の増殖およびIFN- γ 産生応答の亢進

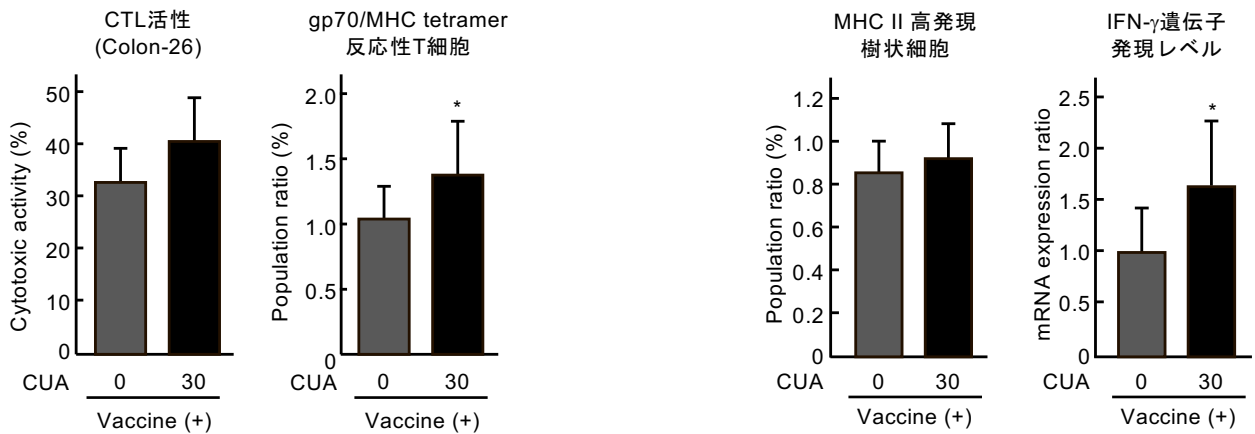


図4. CUAフコイダン摂取に伴うgp70がん抗原特異的細胞傷害性リンパ球の機能亢進

図5. CUAフコイダン摂取に伴うI型腫瘍免疫機能の増強