

Allyl- および phenyl-isothiocyanate の *Anisakis* 属

幼虫に対する殺滅効果の研究

川 島 健 治 郎 浜 島 房 則

九州大学医学部寄生虫学教室 (主任 宮崎一郎教授)

(1966 年 10 月 1 日 受領)

最近、我国においても寄生虫性の肉芽腫が注目を集め、その病原虫として海産魚類の寄生虫、特に *Anisakis* 属およびその近縁の線虫が考えられるに至った。これら線虫の多くは、その成虫が、クジラ、アザラシ、イルカなどの海産哺乳動物に寄生し、幼虫が、アジ、サバ、マグロ、カツオなど多数の海産魚類やイカ類に寄生することが知られているが、その生活史については不明なところが多い。これら線虫の人体への感染経路は、その幼虫が寄生する海産魚類の生食によるものと思われるが、我国では海産魚類の生食の習慣が多く、その人体侵入の機会もきわめて多いものと考えられる。大島 (1966, a) は *Anisakis* 属の線虫によっておこる一連の疾患群に対してアニサキス症という和名を提唱したが、本邦において報告された症例だけでも、今日までに 200 例以上のものがある。著者らは本症の予防上の立場から、我国でしばしば用いられている数種の調味料が、*Anisakis* 属線虫の幼虫に対して、どの程度の殺滅効果があるかを観察し、その結果“ワサビ”は同幼虫に対して最も殺滅効果の大きいことを明らかにした。そこで、その辛味成分として知られる allyl-isothiocyanate および phenyl-isothiocyanate について、同幼虫に対する殺滅効果を追究し、何れもきわめて有効であることを確認した。これらの成果は、今後、本症予防上有益なものと考え、今日までに判明した成績について報告する。

材料および方法

実験に用いた *Anisakis* 属線虫の幼虫は主として東シナ海の農林漁業区から得たサバおよびアジの内臓から採取したもので、そのうち体長 15~28 mm のものを集め、リンゲル液で洗滌後、直ちに実験に用いた。

実験に用いた調味料は、食酢、二杯酢 (酢 10 ml, 醬

油 10 ml), 三杯酢 (酢 10 ml, 砂糖 3 g, 醤油 2.5 ml, 塩 1.5 g), 酢味噌 (酢 10 ml, 味噌 3 g), 甘酢 (酢 10 ml, 砂糖 5 g, 塩 2 g), 醤油, 粉ワサビの 7 種類であつた。粉ワサビの場合は濃度の異なるもの 4 種類を作り実験に用いた。すなわち、(1) 0.25 g のワサビを 5 ml の水道水によくとき、遠心 (2,000 r.p.m., 5 分) 後、その上清を用いたもの、(2) 0.5 g (3) 0.75 g (4) 1 g のワサビをそれぞれ同様の方法でとき上清を用いたものなどであつた。

更にワサビの辛味成分である allyl-および phenyl-isothiocyanate については次の方法によって殺滅効果を観察した。先ず飼育液として pH 6 のリンゲル液を用い、それに可溶化および乳化剤として polyethylene glycol を加え、それに実験群では allyl-isothiocyanate 或いは phenyl-isothiocyanate を 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1,000, 1 : 5,000, 1 : 10,000 の割合で添加した。対照としては polyethylene glycol のみを 1 : 100, 1 : 500, 1 : 1,000, 1 : 5,000, 1 : 10,000 の割合で加えたものを用いた。

何れの実験群とも、調味料或いは飼育液 5 ml を入れた試験管にそれぞれ 1 個体の虫体を入れ、27°C で放置し、時間をおつて幼虫の運動を観察した。運動検査の方法は、虫体を水道水にうつして、針で虫体に機械的刺戟を与え運動の有無を調べ、運動の全く停止したものは死滅したものと判定した。これらの虫体は、その後対照群の虫体と比較しながら観察を続けたが、運動再開するものはみられなかつた。

結果および考察

実験に用いた調味料の *Anisakis* 属幼虫に対する殺滅効果は Table 1 と 2 に要約したとおりである。この幼虫は市販の食酢においてはきわめて長時間にわたつて生

Table 1 Survival in some seasonings of *Anisakis* larvae

Seasonings	No. of larvae used	No. of survival by time (hours) after treatment																					
		1	2	3	4	6	10	12	14	15	18	19	20	23	24	25	27	28	31	34	41	42	73
食酢 Su ¹⁾	25	25	25	25	25	25	25	25	23	23	23	23	21	18	18	17	17	14	11	8	4	1	0
二杯酢 Nihaizu ²⁾	25	25	25	12	12	9	8	8	6	6	0												
三杯酢 Sanbaizu ³⁾	25	25	17	13	9	5	3	3	2	2	2	0											
酢味噌 Sumiso ⁴⁾	25	25	25	25	15	0																	
甘酢 Amazu ⁵⁾	25	25	25	20	20	0																	
醤油 Shoyu ⁶⁾	25	25	25	25	25	23	20	20	10	6	6	6	6	2	2	0							
Control	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150

1) Su=Japanese vinegar

2) Nihaizu=Mixture of 10 ml Japanese vinegar and 10 ml soy sauce.

3) Sanbaizu=Mixture of 10 ml Japanese vinegar, 3 g sugar, 2.5 ml soy sauce and 1.5 g salt.

4) Sumiso=Mixture of 10 ml Japanese vinegar, and 3 g bean paste.

5) Amazu=Mixture of 10 ml Japanese vinegar, 5 g sugar and 2 g salt.

6) Shoyu=Soy sauce.

存し、最初の2個体の運動停止は実験開始後14時間目に確認され、残存虫体の殆んどは約40時間後に運動停止をきたし、唯1個体が73時間目に運動を停止した。二杯酢および三杯酢において幼虫は実験開始後、3時間で約半数の虫体が運動を停止し、18および19時間で全部運動を停止した。酢味噌および甘酢では他の調味料に比較してかなりはやく、実験開始後6時間で、全虫体は運動停止をきたした。醤油では、実験開始後10時間で2個体、15時間で15個体、27時間で全虫体が運動を停止した。これらの結果から、食酢や醤油を単独に用いた場合よりも、酢、醤油、砂糖、食塩および味噌の混合したものの方が、幼虫の運動停止をはやめ虫体を死滅させるものと推定される。従つてこれらの調味料中における幼虫の運動停止に関係する因子は未だ明らかでないが、恐らく溶質の濃度、水素イオン濃度、粘稠度、酸素の溶解度などの複雑な因子が考えられる。

Table 2 には、粉ワサビにおける観察結果を示した。この場合は何れの濃度の場合も30分以内に全虫体の運動が停止し死滅したものと考えられたが、濃度が高い場合ほど、より短時間に多くの虫体の運動停止がみられたのは表示したとおりである。その結果、ワサビがこれらの実験を通じて *Anisakis* 属線虫の幼虫に対して、高い殺虫効果があるのではないかと想像された。

そこで更にワサビの辛味物質であり、殺虫成分と考えられる allyl-isothiocyanate および phenyl-isothiocyanate

Table 2 Survival in the solution containing "Wasabi" of *Anisakis* larvae

Concentration (Wasabi*/water)	No. of larvae used	No. of survival by time (minutes) after treatment		
		10	20	30
0.25 g/5 ml	25	20	10	0
0.5 g/5 ml	25	15	15	0
0.75 g/5 ml	25	5	0	
1.0 g/5 ml	25	5	0	
Control	100	100	100	100

* Dried powder of Japanese mustard.

について前述の方法と同様な実験を試みた。それらの結果は Table 3 に要約したとおりであるが allyl-isothiocyanate の薬液濃度 $1/100$ の場合、1分後における観察で、虫体はきわめて衰弱する模様で、自ら運動するものは全くみられず、機械的刺戟を与えることによつて、僅かに運動し、かろうじて生存が確認できる程度であつた。そして5分後における観察で全虫体は全く運動を停止することが判明した。薬液濃度がうすくなるに従つて幼虫の運動停止までの時間は延長されるが、 $1/10,000$ の濃度の場合でも、すべての幼虫は1時間以内で運動停止がみられた。phenyl-isothiocyanate の場合も前者とほぼ同様の傾向があることが判明したが、薬液濃度が高い場合にはその殺虫作用は allyl-isothiocyanate より弱く、濃度が低い場合は前者よりも強い傾向がみられた。これは

Table 3 Survival in the Ringer's solution containing allyl-isothiocyanate or phenyl-isothiocyanate of *Anisakis* larvae

Isothiocyanate & concentration	No. of larvae used	No. of survival by time (minutes) after treatment					
		1	5	10	15	30	60
allyl-isothiocyanate	1: 100	10	10	0			
	1: 500	10	2	2	0		
	1: 1,000	10	10	2	2	0	
	1: 5,000	10	10	9	3	3	0
	1: 10,000	10	10	10	8	4	4
phenyl-isothiocyanate	1: 100	10	10	4	0		
	1: 500	10	2	2	1	0	
	1: 1,000	10	10	3	3	0	
	1: 5,000	10	10	4	4	0	
	1: 10,000	10	10	3	3	3	0
Control	50	50	50	50	50	50	50

Polyethylene glycol of the same concentration as isothiocyanate was added in each group. Fifty worms as controls were divided into five groups, and these were incubated in each Ringer's solution with five kinds of concentrations of polyethylene glycol as above shown.

phenyl-isothiocyanate が allyl-isothiocyanate に較べて虫体への浸透度がよわく、殺虫効果をもたらずに時間を要するが、長時間たてば、濃度がうすくても allyl-isothiocyanate より殺虫力の高いことをしめしているものと考えられる。このように allyl- および phenyl-isothiocyanate は *Anisakis* 属線虫の幼虫に対して殺滅効果のあることが明らかとなり、ワサビの本幼虫に対する殺滅効果が裏付けされたことになる。

allyl- および phenyl-isothiocyanate は、ワサビをはじめ、セイヨウワサビ、カラシ、タカナなど、主として十字科植物の辛味成分として知られ、それらの人体寄生虫に対する効果としては、主に殺卵剤としての研究で知られている。我国においては古く八木 (1933) によつて常用調味料の蛔虫卵の発育におよぼす影響について報告されているが、これによると5%以上の精製西洋芥子、0.1%以上の山葵汁、0.1%以上の生姜汁は完全に虫卵の発育を抑制し、ついには死滅させるという。また、柳沢 (1955) や国井・池内 (1953) は芥子油が蛔虫卵の異常分裂を高率に出現させるといい、更に国井 (1959) によつて、芥子油処理をおこなつた蛔虫卵は対照の蛔虫卵に比較して何れも酸素消費量が低下することが明らかにされている。このような蛔虫卵に対する殺滅効果のほか、鉤虫についても同様な研究がなされ、小林ら(1955)

によつて芥子油がズビニ鉤虫卵に対して高い殺卵効果のあることが報告されている。また、安田 (1957) によれば、芥子油は鉤虫卵のみならず、イヌ鉤虫、ズビニ鉤虫、アメリカ鉤虫などの仔虫に対しても殺滅効果のあることが明らかにされている。他方、佐渡 (1956) は蛔虫卵の殺卵研究において、ワサビの殺卵有効成分は、allyl-isothiocyanate であり、芥子油類の乳化には乳化剤の選択が必要なことを結論としている。

これらのことから、海産魚類の生食の習慣の多い我国において、刺身や寿司の料理にあつてワサビを使用することが、単に風味の点ばかりでなく、アニサキス症予防上の観点からも、或る程度合目的なものであり、これらの食品に、その辛味成分である allyl-isothiocyanate 或いは phenyl-isothiocyanate 処理を行えば有効であろうと考えられる。しかし、その実用的方法については今後、更に追究すべきものである。山口 (1966) によれば、*Anisakis* 属線虫の幼虫は低温に弱く、 -20°C ではかなり速かに死滅すると述べており、また、大島 (1966, b) も感染の考えられる海産魚類の生食をさけるか、または、生食するなら -20°C 以下で冷凍されたものを食べる以外にないと述べているが、我国の食生活の習慣を直ちに變えることは不可能であり、また、 -20°C 以下の冷凍では食品の味をそこなうことは必至であるので、今後、上記の薬品処理も実用的な立場から研究されることが望ましいものとする。

要 約

アニサキス症予防の立場から、我国で日常使用されている調味料が、海産魚類に寄生する *Anisakis* 属線虫の幼虫に対して、どの程度の殺滅効果があるかを追究した。実験に用いた調味料は、食酢、二杯酢、三杯酢、酢味噌、甘酢、醤油、ワサビの7種類であつたが、ワサビに著明な同幼虫の殺滅効果が認められた。そこで、この辛味成分である allyl-isothiocyanate や phenyl-isothiocyanate について同様の実験をおこなつたところ、同幼虫に対して、きわめて高い殺滅効果のあることを明らかにした。この事実は今後、実際上の立場からも有益であると考えられるが、本報では、先ず、その事実を報告するにとどめる。

稿をおわるに当り、御校閲をたまわつた宮崎一郎教授に感謝する。また、種々、御援助いただいた当教室の多田功、佐渡正四郎両氏、御協力いただいた中村武子、村松京子、江川桂子、横山浩子の諸嬢に感謝する。

本論文の要旨は第18回日本寄生虫学会南日本支部大会(鹿児島), および第35回日本寄生虫学会総会(新潟)で発表した。

文 献

- 1) 小林昭夫・安田一郎・斉藤敏昭(1955): 各種化学薬品による鉤虫卵殺滅試験(1). 寄生虫誌, 4, 308-311.
- 2) 国井喜章・池内まき子(1953): 蛔虫卵の芥子油処理. 農技研報告, H6, 55.
- 3) 国井喜章(1959): 芥子油の殺卵作用に関する研究(3) 蛔虫卵の酸素消費量におよぼす芥子油の影響. 寄生虫誌, 8, 1-5.
- 4) 大島智夫(1966a): アニサキス症の生物学. 寄生虫誌, 15, 286-287.
- 5) 大島智夫(1966b): 海産魚およびイカ類に由来する新しい寄生虫病——アニサキス症——について. モダンメディア 12, 243-252.
- 6) 佐渡正四郎(1956): 寄生虫殺卵剤の研究(第II報) わさび及びイソチオシアニド化合物. 衛生化学, 4, 16-19.
- 7) 八木胤幸(1933): 常用調味料ノ蛔虫卵発育ニ及ボス影響ニ就テ. 慶応医学, 8, 507-521.
- 8) 山口富雄(1966): 寄生虫性肉芽腫一感染と予防. 寄生虫誌, 15, 285-286.
- 9) 柳沢十四男(1955): 蛔虫卵変性に関する研究(1) 化学薬品による変性蛔虫卵の形態に就て. 寄生虫誌, 4, 348-354.
- 10) 安田一郎(1957): 各種化学薬品の鉤虫仔虫に対する殺滅試験(1) 殺卵剤による *in vitro* 試験. 寄生虫誌, 6, 75-86.

Abstract

EXPERIMENTS ON THE EFFECT OF ALLYL- AND PHENYL-ISOTHIOCYANATES AGAINST *ANISAKIS* LARVAE

KENJIRÔ KAWASHIMA and FUSANORI HAMAJIMA

(Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan)

From the standpoint of prevention for *Anisakis* infection, the effect of some Japanese seasonings and isothiocyanates against *Anisakis* larvae was examined experimentally. The seasonings, used in this experiment were as follows: Su (=Japanese vinegar), Nihaizu (mixture of 10 ml Japanese vinegar and 10 ml soy sauce), Sanbaizu (mixture of 10 ml Japanese vinegar, 3 g sugar, 2.5 ml soy sauce and 1.5 g salt), Sumiso (mixture of 10 ml Japanese vinegar and 3 g bean paste), Amazu (mixture of 10 ml Japanese vinegar, 5 g sugar and 2 g salt), Shoyu (=soy sauce) and Wasabi (mixture of water and dried powder of Japanese mustard). Each worm, used in this experiment, was incubated at 27°C in 5 ml of the seasonings or the Ringer's solution. As shown in Tables 1 and 2, the solution containing the dried powder of Japanese mustard was found to be the most effective. It killed all the larvae in a concentration of 0.25 g/5 ml water or more at 30 minutes after treatment. Thereafter, the larvicidal action of allyl-isothiocyanate and phenyl-isothiocyanate which are thought to be contained in Wasabi was also studied. As shown in Table 3, the larvicidal action was stronger at higher concentration than at the lower one, and it was proved that allyl-isothiocyanate killed all the larvae in a concentration of 1:100 at one minute after treatment.

Because of the fact, mentioned above, some Japanese seasonings, Wasabi in particular may be important not only in the seasoning to food but in the prevention for *Anisakis* infection. Moreover, it seems that allyl- and phenyl-isothiocyanates are important and useful in the prevention for *Anisakis* infection.