

氏名 (本籍)	後 藤 千 寿 (岐阜県)
学 位 の 種 類	博 士 (医学)
学位授与番号	乙 第 1 0 0 1 号
学位授与日付	平成 7 年 10 月 13 日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	シソ ( <i>Perilla frutescens</i> ) とショウガ ( <i>Zingiber officinale</i> ) 成分の抗幼 線虫作用について
審 査 委 員	(主査) 教授 高 橋 優 三 (副査) 教授 植 松 俊 彦 教授 森 秀 樹

## 論 文 内 容 の 要 旨

わが国で、駆虫剤として臨床的に使用できる薬剤は、10数種類程しかなく、これらの薬剤に抵抗性を示す寄生虫は、治療に困難を伴う。なかでも、幼虫移行症を引き起こすアニサキス幼虫、犬蛔虫幼虫などは、国内においても感染のチャンスが多く医療上の重大な問題となっている。申請者は、すでに刺身と共に食する食品13品目の抽出物を用いてアニサキス幼虫への殺虫作用を調べ、その中で、アオジソ、ショウガに強い殺虫効果があることを認めているが、今回、そのアオジソ、ショウガを用いて、pHによる解離性を利用し、成分をフラクションに分け、その殺虫成分を同定すると同時に、これらの殺虫機構を解析するために、形態学的検討も行った。さらに、その殺虫成分の犬蛔虫幼虫に対する殺虫効果を*in vitro*及びマウスの犬蛔虫感染モデルを用いて調べ、抗幼線虫薬としての可能性を示唆した。

### 研究方法

1. アオジソとショウガの抽出成分の分離、定量と効果判定：アオジソの葉とショウガの根茎を、それぞれ、凍結乾燥後、メタノールで抽出し、抽出した成分をpHによる解離性を利用して、アオジソは3つに、ショウガは4つに分画した。これらを段階希釈し、活発に運動しているアニサキス幼虫に添加し、24時間後の生死を判定した。

また、アオジソの各フラクションからガスクロマトグラフを用いて代表的既知成分であるperillaldehydeの含有量を測定した。同様に、ショウガの各フラクションの[6]-shogaolの含有量は、高速液体クロマトグラフを用いて測定した。

2. アニサキス幼虫への殺虫効果：perillaldehydeと[6]-shogaolは、それぞれ、エタノールに溶かし、最終濃度が、250～31.25  $\mu\text{g/ml}$ となる希釈系列を作成し、アニサキス幼虫への殺虫効果を調べた。

3. 犬蛔虫幼虫（第Ⅱ期幼虫）への殺虫効果：perillaldehydeと[6]-shogaolを、DMSOに溶かし、犬蛔虫幼虫に添加し、24時間37℃で培養し、犬蛔虫幼虫の致死率を光学顕微鏡下で調べた。

4. 犬蛔虫症の実験治療：犬蛔虫幼虫包蔵卵500個をDBA/2マウスに経口感染した。感染後4日目から、perillaldehydeまたは[6]-shogaolをTween80溶液に溶かし、それぞれ、マウス体重に対して15mg/kg、30mg/kgおよび15mg/kg、7.5mg/kgの用量で1日1回14日間皮下注射を行った。感染後21日目に、ペプシン消化によってマウスの脳と筋肉から幼虫を回収した。

### 結果ならびに考察

1. アニサキス幼虫に対するアオジソとショウガの各フラクションの殺虫効果と殺虫成分の含有量：アオジソ抽出物の各フラクションは、フラクション1のみに殺虫効果が見られ、そのperillaldehydeの含有量は、7.3mg/mlであった。他のフラクションにおけるperillaldehydeの含有量は、殆ど検出出来なかった。

また、ショウガ抽出物の各フラクションにおいても、フラクション1のみに殺虫効果が認められ、その [6]-shogaol含有量は、0.510mg/mlであった。他のフラクションの [6]-shogaol含有量は、殆ど検出出来なかった。

2. アニサキス幼虫に対するperillaldehydeと [6]-shogaolの殺虫効果：最小殺虫濃度は、perillaldehydeでは、125  $\mu$ g/ml, [6]-shogaolでは、62.5  $\mu$ g/mlであった。両剤とも、上記濃度以下では濃度依存的な殺虫効果が認められた。従ってこれら成分が殺虫作用に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。また、抗線虫薬として現在使用されているパモ酸ピランテルは、検定した最高濃度の1 mg/mlにおいてさえもアニサキス幼虫を死に至らしめなかった。また、両剤の殺虫機構を解析するために形態的検討も行った。perillaldehydeの有効濃度において、アニサキス幼虫のクチクラに変化が見られなかったが、幼虫の偽体腔に細胞成分が小円形を呈し遊離しているのが多数観察された。また、その細胞成分は、細胞膜および基底膜によって囲まれており、虫体が障害を受けて、細胞成分を放出することで修復することが示唆された。また、[6]-shogaolの有効濃度では、幼虫のクチクラの第二層が異常に厚みを帯び一部分でクチクラ層が突出しているのが多数観察された。また、[6]-shogaol 31.25  $\mu$ g/mlの濃度の溶液では、ヘモリンフが存在する偽体腔に、体壁が異常に膨脹した部分が観察された。以上より、これら殺虫成分の幼虫に対する殺虫作用は、直接的に細胞死に至る作用でなく緩徐な細胞障害であり、両剤の異なる作用機序が示唆された。

### 3. 犬蛔虫幼虫への殺虫効果

perillaldehydeは、25  $\mu$ g/ml以上で、[6]-shogaolは、12.5  $\mu$ g/mlの濃度で*in vitro*において犬蛔虫幼虫を完全に死亡せしめ、犬蛔虫幼虫に対しても効果がある事が確認された。

### 4. 犬蛔虫症治療効果

perillaldehyde 30mg/kgまたは [6]-shogaol 15mg/kgの投与量において、マウスの脳への幼虫移行数に対照と比べ有意の差が生じ有効性が確認された。しかし、両剤とも本実験での使用濃度では、筋肉へ移行する幼虫数に対して対照との間に有意の差が認められなかった。

## 結 語

(1) アオジソまたはショウガ抽出物の両者とも中性物質の多く含まれるフラクションにアニサキス幼虫への殺虫効果が見られた。(2) アニサキス幼虫の殺虫作用は、主に、アオジソではperillaldehyde、ショウガでは [6]-shogaolであった。その最小致死濃度は、perillaldehydeでは125  $\mu$ g/ml, [6]-shogaolでは62.5  $\mu$ g/mlであった。

(3) perillaldehydeがアニサキス幼虫に引き起こす初期の形態的变化は、ヘモリンフが存在する偽体腔に遊離細胞片を放出する事であり、[6]-shogaolでは、クチクラの突起形成である。

(4) perillaldehydeは25  $\mu$ g/ml, [6]-shogaolは12.5  $\mu$ g/mlの濃度で犬蛔虫幼虫を完全に駆虫できる有効性が確認された。(5) マウスに対する犬蛔虫感染実験では、perillaldehyde 30mg/kgまたは [6]-shogaol 15mg/kgの皮下投与により、脳への幼虫移行数を対照と比べ有意に減少させる薬剤効果が認められた。

## 論文審査の結果の要旨

申請者 後藤千寿は、アオジソとショウガから抗線虫作用がある殺虫成分perillaldehydeおよび [6]-shogaolを見い出した。いずれの成分とも、アニサキス幼虫に対する最小殺虫濃度は、現在抗線虫薬として用いられるパモ酸ピランテルよりも少なく、しかも犬蛔虫幼虫の脳への移行を有意に阻害する事を示した。本研究はperillaldehydeおよび [6]-shogaolが、既知の薬剤に抵抗性を示すアニサキス幼虫と犬蛔虫幼虫に効果がある事を初めて示し、臨床寄生虫学の発展に少なからず寄与するものと認める。

### [主論文公表誌]

シソ (*Perilla frutescens*) とショウガ (*Zingiber officinale*) 成分の抗幼線虫作用について  
岐阜大医紀 43 (4) : 498~508, 1995