

Fig. 3 ピロリ菌感染スナネズミに対する沢わさび葉の胃粘膜傷害抑制効果

し、3剤併用時の副作用が報告されており、ランソプラゾールはアナフィラキシー反応、溶血性貧血、肝機能障害、下痢、便秘、発疹、頭痛を、アモキシシリンは男性に水溶性下痢の誘発を、クラリスロマイシンは下痢、下腹部不快感、口内炎、味覚異常、発疹を起こす場合があることが報告されている。さらに薬剤耐性菌の出現も考えられている。そこで、我々は沢わさび葉抽出物と *H. pylori* 除菌剤との併用効果を *in vivo* で検討したところ、沢わさび葉抽出物は薬剤との併用により、胃粘膜傷害および出血を緩和することを明らかにした

(Fig. 4)¹⁹⁾。

消化器疾患は *H. pylori* 感染以外に心身ストレスによっても誘発すると考えられている。我々は *H. pylori* 感染およびストレスの単独負荷及びそれらの複合作用により誘導される胃粘膜傷害に対するわさび葉抽出物の抑制効果を検討した²⁰⁾。その結果、わさび葉抽出物を *H. pylori* 感染スナネズミに経口投与した後、拘束ストレス(270分)を負荷して酸化的DNA損傷性を検定したところ、*H. pylori* 感染およびストレス負荷群における酸化的DNA損傷性が有意に減少することを確認した

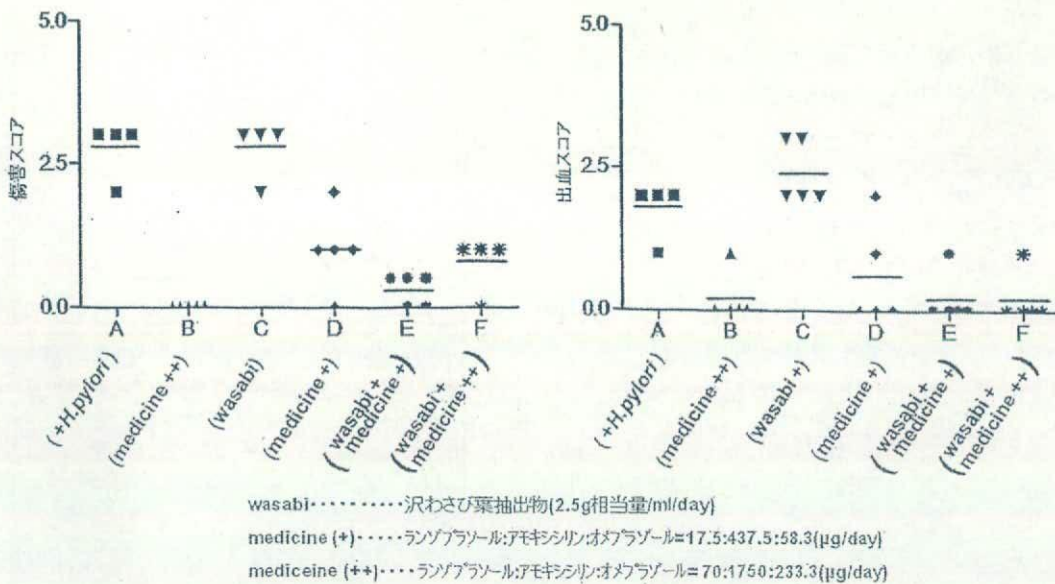


Fig. 4 沢わさび葉抽出物および薬剤の単独・複合投与によるピロリ菌感染スナネズミの胃粘膜障害抑制効果

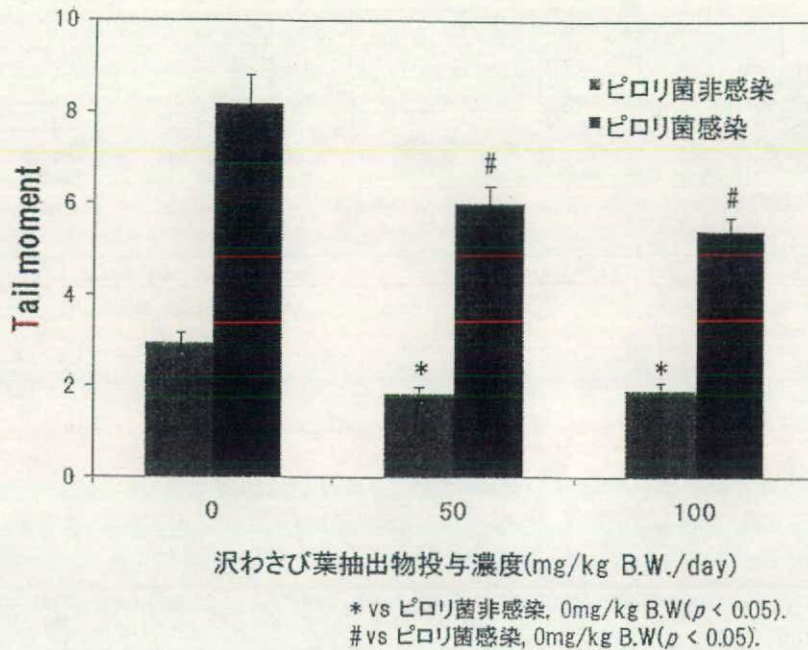


Fig. 5 ストレスを負荷したピロリ菌感染及び非感染スナネズミの胃粘膜障害に対する沢わさび葉抽出物のDNA損傷抑制効果

(Fig. 5)。

2. 抗酸化作用

近年、食物による疾病予防への期待から食品の抗酸化活性に大きな関心が寄せられている。越智らは、沢わさびの葉、茎、根茎の熱水抽出物の抗酸化活性をデオキシリボースの酸化分解やリノレン酸の自動酸化の抑制、およびラジカル ($\cdot O_2^-$ 、 $\cdot OH$) 消去能を指標として測定している²¹⁾。葉、茎、根茎はいずれも抗酸化活性を示し、特に $\cdot O_2^-$ 消去活性は葉のみにみられた。さらにDNAの酸化的損傷マーカーである8-OHdG生成量を *in vitro* 実験系で検定したところ、わさびの葉エキスが強い生成抑制効果を示した。我々はわさび葉、茎、根茎をホモジネートした上清を試料として、フェントン反応 ($H_2O_2-Fe^{2+}$) を用いてリノール酸メチルの酸化に対する抑制能をチオバルビツール酸 (TBA) 法により測定した^{16,22)}。その結果、葉と根茎において強い抑制効果が認められたが、茎は葉や根茎に比べて弱い活性を示した (Fig. 6)。

中塩屋らはわさび抽出物を添加した後、加熱した豚肉を5℃で0~4日貯蔵して、抗酸化活性を確認している²³⁾。我々はわさびを添加したハンバーグを調製して加

熱し、その後、油脂を抽出してその変質の度合を衛生試験法に従って調べたところ、わさび根茎を添加することにより、TBA値と過酸化値の上昇が抑制されたが、葉と茎を添加した場合、逆に過酸化値が上昇した。我々は *in vivo* 試験において、ICRマウスに γ 線を照射して

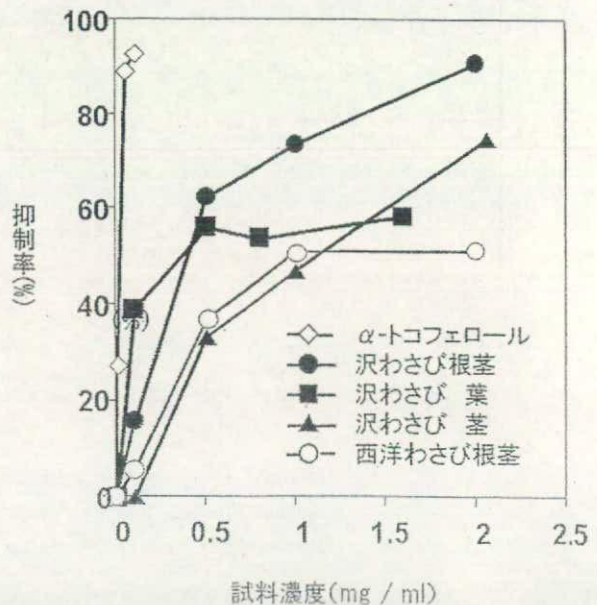


Fig. 6 リノール酸メチルの酸化に対するわさびの抑制効果

生じる染色体損傷を沢わさび根茎と葉の抽出物を投与することにより抑制されることを確認しており²⁹⁾、これは沢わさび成分がγ線照射により生体内の水から生じる・OHを消去したものと推測している。イソチオシアネートの抗酸化活性としては、井上らと金印(株)の研究グループは、沢わさびの辛味成分である6-MSITCがラットの白血球あるいはヒト口腔内好中球の亢進した・O₂⁻の産生を抑制することを報告している²⁹⁾。また近年、in vivo 試験系で、6-MSITCを飲料水に溶解して自由摂取させたマウスの好中球においても同様の抑制効果が認められた。さらに、ラットを水浸拘束した場合に生ずる胃粘膜潰瘍病変の軽減傾向^{28,29)}、ヒトにおける酸化ストレスマーカーである8-OHdGの尿中への排泄量の減少、コエンザイムQ10の酸化率の低下など6-MSITCの抗酸化活性を示す結果が報告されている²⁹⁾。Miyoshiらは培養細胞HL-60とマウスの皮膚をTPAで刺激して誘導される・O₂⁻の産生に対し、ベンジルイソチオシアネートが抑制することを確認しており、作用メカニズムとしてNADPHオキシダーゼの電子伝達系が修飾されたためと推定している²⁹⁾。Maneshらはアリルイソチオシアネートとフェニルイソチオシアネートが、マクロファージの・O₂⁻産生と亜硝酸塩の生成および肝臓の脂質過酸化に対し抑制効果を示すこと、・OHおよび・O₂⁻を捕捉することなどを報告している³⁰⁾。また、Gaoらは、沢わ

さびの6-MSITCと構造的に類似したイソチオシアネートであるブロッコリー含有成分であるスルホラファンが生体に備わった抗酸化機能を活性化させるPhase II酵素誘導性を示すことを報告している³⁰⁾。わさび根茎は抗酸化物質であるビタミンCを安定化する効果もみられる。小嶋らは還元型ビタミンCと硫酸銅の混合溶液にわさび蒸留液または合成アリルからし油を添加し、経時的に還元型ビタミンCの残存率を測定したところ、沢わさび蒸留液の添加量に伴い還元型ビタミンCの残存率が上昇したことを報告している³⁰⁾。このようにイソチオシアネートの抗酸化能発現機構は1つではなく、直接あるいは間接的に生体に作用しているものと推察できる。また、わさびにはイソチオシアネート以外の抗酸化活性成分が含まれている。わさびの根茎にはVCが豊富に含まれており、抗酸化作用の発現に大きく寄与しているものと考えられる。さらに、わさびには抗酸化性を示すポリフェノール化合物も含まれており、根茎ではケンフェロールが検出され、葉ではミリシトリンが多く、その他ミリセチン、ルテオリンなどのフラボノイドの存在が確認されている。

3. 変異原性抑制作用とがん抑制作用

我々は加熱処理された食品中に生成する変異・発がん物質であるヘテロサイクリックアミン類の3-amino-

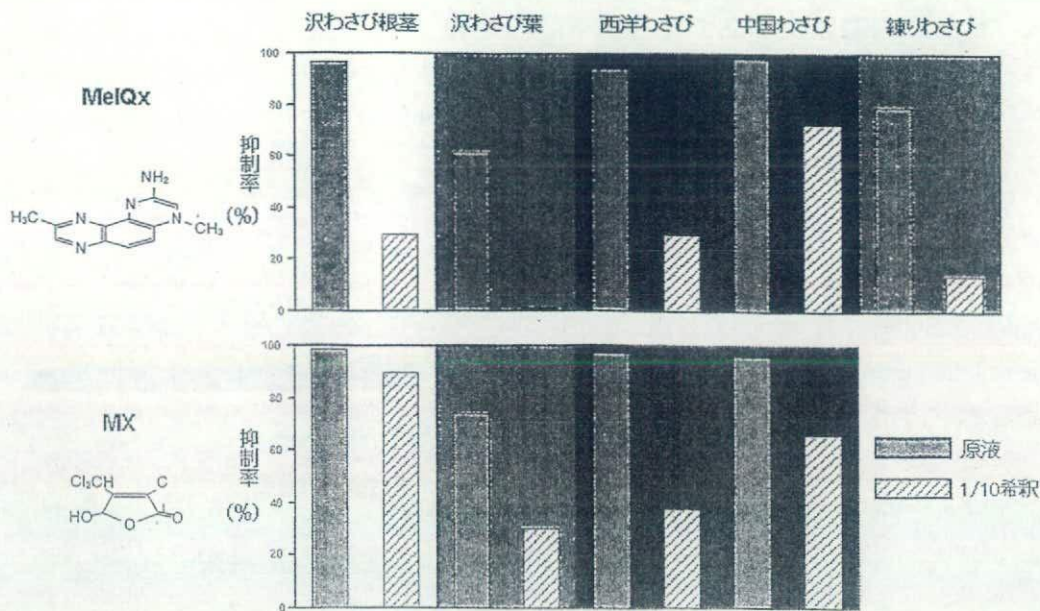


Fig. 7 MelQx および MX の変異原性に対する各種わさびの抑制効果

1,4-dimethyl-5*H*-pyrido [4,3-*b*] indole (Trp-P-1) および2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx) と、製紙工場排水や水道水より見出された難揮発性有機塩素化合物で高い変異原性と発がん性を示す 3-chloro-4-dichloromethyl-5-hydroxy-2(5*H*)-furanone (MX) に対するわさび試料の抗変異原活性を Ames 法で検定したところ、わさび根茎が強い抗変異原性を示すことを明らかにした (Fig. 7)³⁵⁾。わさび根茎中の抗変異原性成分を検索したところ、5-MSITC、6-MSITC、7-MSITC を同定した。ヘテロサイクリックアミンに対する抗変異原性の作用機構を検討したところ、代謝活性化酵素を含む S9 を阻害していることを確認した。マウスに γ 線を照射して生じる染色体異常を末梢血中の幼若赤血球の小核を指標として評価した。その結果、この系に沢わさび根茎と葉の抽出物を γ 線照射6時間前に経口投与することにより、小核出現頻度が有意に低下することを確認した³⁶⁾。この染色体異常抑制効果は、 γ 線照射により生体内の水は $\cdot\text{OH}$ に変化して染色体異常を起こすが、わさび成分が $\cdot\text{OH}$ 消去能を発揮しているものと考えた。

福家らは、沢わさび根茎の水抽出物を 95°C 以上で10分加熱処理した上清が胃がん細胞である MKN-28 の増殖を抑制することを報告しており³⁴⁾、小野らはその活性成分が 6-MSITC であることを明らかにした³⁵⁾。さらに福家らは 6-MSITC が乳がん細胞 (MCF-7, MDA-MB-231) やメラノーマ細胞 (LOX-IMVI) に対しても特に強い増殖抑制活性を示すことを報告している^{36,37)}。侯らは 12-O-テトラデカノイルホルボール-12-酢酸エステル (TPA) により誘導される細胞コロニーの出現を 6-MSITC が強く抑制することを明らかにした³⁸⁾。福家らは CD マウスの背中にイニシエーターとして 9,10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセン (DMBA) を、プロモーターとして TPA を塗布した皮膚二段階発がん実験系において、4-MSITC と 6-MSITC を TPA の 50 倍濃度で塗布することによりパピローマの発生率が低下し、変異細胞の出現が有意に抑制されることを報告した³⁹⁾。また、Yano らは 6-MSITC をマウスに 4 日間連続して胃内に投与したところ、4-methylnitrosamino-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) で誘導される肺腫瘍の数が有意に抑制されることを明らかにしている⁴⁰⁾。このような 6-MSITC のがん予防効果に対する作用メカニズムは、発がん物質による細胞のがん化へのシグ

ナル伝達の制御、発がん物質の無毒化、がん化した細胞の修飾と排除、免疫賦活などの作用が考えられている。また、6-MSITC の転移抑制作用については、原発巣から血液中へのがん細胞の移動を抑制していると推察している⁴¹⁾。

4. メイラード反応抑制作用

還元糖とアミノ酸またはタンパク質との縮合反応であるメイラード反応は、生体内でも進行し、糖尿病合併症や老化との関連が指摘されている。メイラード反応後期生成物 (advanced glycation end products: AGEs) の一種であるカルボキシメチルリジン (CML) は水晶体クリスタリンやアルツハイマー病変部に蓄積することが確認されている。我々はヒト血清アルブミンとグルコースをリン酸緩衝液 (PBS, pH 7.4) に溶解し、その反応液に沢わさびの根茎と葉抽出物を添加して 37°C で保温し、生成する CML を定量した。その結果、根茎と葉抽出物はいずれも CML 生成抑制作用を示した。また、獣肉や魚肉を加熱することにより、変異・発がん物質であるヘテロサイクリックアミンが生成するが、この反応も一部がメイラード反応を経由していると考えられる。そこで、我々はフェニルアラニン-グルコース-クレアチニンのモデル反応系におけるヘテロサイクリックアミンの一種である PhIP 生成に対するアリルイソチオシアネート (AITC) の抑制効果を検定した。その結果、AITC が強い PhIP 生成抑制能を示した。また、わさび試料を添加したハンバーグを作成し、加熱調理後の PhIP の生成量を調べたところ、わさび根茎を添加することにより PhIP の生成が抑制されることが明らかになった。

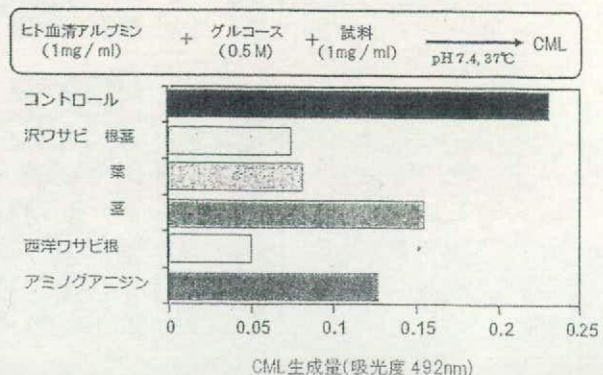


Fig. 8 わさびのメイラード反応に対する抑制効果

5. その他の生体調節作用

- ①食欲増進作用：わさびの食欲増進作用について、阿部らは、食欲のない患者に1日当たり、すりおろしたわさび1~2gを料理に加えると、食欲が増して摂取カロリーが1,000 kcalから1,500 kcalに増加することを報告している⁴³⁾。榊原はわさびを適量摂取した場合、胃の蠕動が増進して、胃液の分泌も活発になることを観察している⁴³⁾。
- ②ビタミンB₁の合成増強作用：佐藤らは健康者に1日当たりわさび8gを摂食させると糞尿中のビタミンB₁量が増加し、摂食を中止するともとの量に戻ることを報告している⁴⁴⁾。また、わさび揮発油50mgの投与によっても同様の効果を認めた。代表的な腸内細菌である大腸菌、および酵母を用いたin vitro実験より、わさびとからし油はビタミンB₁の生成量を増加させ、からし油がビタミンB₁のチアゾール環に取り込まれていると考えられている。
- ③抗血小板凝集作用：熊谷らはウサギ多血小板血漿を用いた血小板凝集反応系において、畑わさびの精油および各種イソチオシアネートの凝集抑制能を検討したところ、根の活性が最も強く、また、長鎖のω-メチルチオアルキルイソチオシアネートの活性が顕著であることを報告している⁴⁵⁾。森光らはヒト血小板を用いて検討したところ、わさびが強く凝集阻害することを見出し、その活性成分として5-MSITC、6-MSITC、7-MSITCを単離・同定した^{46,47)}。In vivo試験系において、AhmadらはAITCの投与によりラットの血液凝固時間が遅れることを報告している⁴⁸⁾。森光らは6-MSITCを含むした餌を2週間摂食させたSDラットにおいて、血小板凝集が抑制されることを確認している⁴⁹⁾。イソチオシアネート類の作用機構について、森光らは6-MSITCがアラキドン酸カスケードの酵素反応を阻害しないこと、および血小板膜表面上のタンパク質のSH基と反応してジチオカルバメートを形成していることを確認した⁴⁷⁾。したがって、血小板凝集抑制メカニズムはω-MSITCが血小板膜上のSH基を修飾することにより、アゴニスト(ADP、アラキドン酸など)のレセプターへの結合を阻害すると考えられている。
- ④消化管吸収促進作用：小腸での吸収は、トランスポーター(輸送体)を介する輸送や小胞を介したランス

サイトーシスによる輸送のように細胞内部を通過する機構と、細胞の間隙を通り抜ける機構があり、後者は小腸上皮細胞層のタイトジャンクション(TJ)により制御され、水溶性低分子の吸収に深く関わっている。原口らは、TJの物質透過性に及ぼす各種食品由来成分の影響をCaco-2細胞を用いて経上皮電気抵抗(TEER)を指標に検討し、沢わさびの葉、茎水抽出物がTJの物質透過性を上昇させることを見出した^{49,50)}。わさびの葉と茎の活性成分はいずれも分子量12万程度の多糖で同一物質と考えられ、細胞間隙経路を可逆的に開いて、水溶性低分子の吸収を促進するものと思われる。

- ⑤大腸電解質分泌能に対する影響：中山らは未利用資源を活用する目的で、わさびの茎、特にその辛味成分以外の成分に注目してモルモット遠位大腸での電解質分泌能に及ぼす影響を調べたところ⁵¹⁾、わさび茎抽出物がCl⁻の分泌を抑制し、その作用機序として、粘膜上皮細胞には直接作用せず、粘膜下神経叢およびプロスタグランジン類産生を介して塩素イオン分泌活性を抑制していると考えられた。それ故、わさび茎の抗下痢効果が期待できる。
- ⑥抗アレルギー作用：ヒアルロニダーゼ阻害活性と肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制活性の間に相関が認められていることから、これを利用してI型アレルギー阻害物質の簡便な一次スクリーニングが可能である。郡山らは沢わさびの根茎と葉の浸出液が濃度依存的にヒアルロニダーゼを阻害することを見出したが、AITCと6-MSITCおよびペルオキシダーゼにはこのような活性は検出できなかった⁵²⁾。また、浸出液を透析してその活性を調べたところ透析画分に高い活性が確認され、有効成分はわさびの辛味成分とは異なる比較的分子量の小さな(13,000以下)物質と推定できた。

以上、わさびの根茎、茎、葉にはさまざまな機能性があることが確認されたことから、今後は、新たな機能性の解明や未同定の活性成分の分離同定とともに、わさびを用いた新商品の開発が望まれる。

参考文献

- 1) 小嶋操, わさびの科学 [1] ~ [22], 農業および園芸, 56(5), 113(1981)~58(3), 107(1983).

- 2) 衛藤英男, 西村明良, 高澤令子, 八木昭仁, 齊藤和秀, 坂田完三, 木島 勲, 柴田正人, 伊奈和夫, 日本食品工業学会誌, 37, 953-958(1990).
- 3) S. Inouye, H. Goi, K. Miyauchi, S. Muraki, M. Ogihara and Y. Iwanami, *J. Antibact. Antifung. Agents*, 11, 609-615(1983).
- 4) H. Goi, S. Inouye and Y. Iwanami, *J. Antibact. Antifung. Agents*, 13, 199-204(1985).
- 5) 森田全 (私信)
- 6) N. Hasegawa, Y. Matsumoto, A. Hoshino and K. Iwashita, *Int. J. Food Microbiol.*, 49(1/2), 27-34(1999).
- 7) 倉田貴子, 静岡県立大学食品栄養科学部卒業論文 (1994).
- 8) H. Ono, S. Tesaki, S. Tanabe and M. Watanabe, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62(2), 363-365(1998).
- 9) 西原昌宏, 山村三郎, 「わさびから単離した新抗菌性タンパク質遺伝子とその利用」, BRAIN テクノニュース 70, 地域の先端研究, 21-24(1998).
- 10) F. Hamajima et al., *Jpn. J. Parasit.*, 18, 196 and 498(1969).
- 11) M. Kojima and K. Ogawa, *J. Ferment. Technol.*, 49, 740(1971).
- 12) M. Kojima and K. Ogawa, *J. Ferment. Technol.*, 51, 260(1973).
- 13) C.-M. Lin, J. F. Preston III and C.-I. Wei, *J. Food Protection*, 63(6), 727-734(2000).
- 14) R. C. Worfel, K. S. Schneider and T. C. S. Yang, *J. Food Process Preserv.*, 21(1), 9-19(1997).
- 15) K. Ina, R. Takasawa, A. Yagi, H. Etoh and K. Sakata, *Agric. Biol. Chem.*, 53 (12), 3323-3325(1989).
- 16) 木苗直秀, 古郡三千代, 増田英樹, *FFI Journal*, 192, 27-33(2001).
- 17) 増田秀樹, Il-S. Shin, 古郡三千代, 下位香代子, 木苗直秀, JSOFF, 第5回学術集会講演要旨集, p 22, A-2(2000).
- 18) 増田秀樹, 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科博士後期課程論文 (2005)
- 19) 山崎直樹, 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科博士前期課程論文 (2005)
- 20) 関口博太, 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科博士前期課程論文 (2006)
- 21) 越智宏倫, ナラシマン・ラマラツナム, 竹内征夫, 杉山裕之, 日本栄養・食糧学会誌, 48(3), 236-238(1995).
- 22) N. Kinae, H. Masuda, Il-J. Shin, M. Furugori and K. Shimoi, *BioFactors*, 13, 265-269(2000).
- 23) 中塩屋さとみ, 米倉克法, 重松浩一, 林真知子, 赤司景, 永原学園西九州大学・佐賀短期大学紀要, 23, 25-30(1993).
- 24) 竹村ひとみ, 岩崎真弓, 古郡三千代, 下位香代子, 木苗直秀, 日本環境変異原学会第24回大会(大阪)要旨集 P-74, p 133(1995).
- 25) わさび博物誌, 124-125, 金印株式会社(2004).
- 26) 奥西 勲, 村田充良, 朴 雅美, 佐藤英介, 井上正康, 日本食品科学工学会第51回大会講演集, 2Ca 3(2004).
- 27) 村田充良, 奥西 勲, 船橋 梢, 第9回 JSOFF 講演要旨集 P-16(2004).
- 28) 山田朋恵, 奥西 勲, 村田充良, 朴 雅美, 佐藤英介, 井上正康, 第9回 JSOFF 講演要旨集 P-17(2004).
- 29) N. Miyoshi, S. Takabayashi, T. Osawa and Y. Nakamura, *Carcinogenesis*, 25, 567-575(2004).
- 30) C. Manesh and G. Kuttan, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 22, 193-199(2003).
- 31) X. Gao and P. Talalay, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 101 (28), 10446-10451(2004).
- 32) 小嶋操, 醱酵工学雑誌, 39(3), 163-166(1961).
- 33) 古郡三千代, 下位香代子, 木苗直秀, 井上五郎, 日本薬学会第113年会(大阪)要旨集, p 176(1993).
- 34) 福家洋子, 大石芳江, 岩下恵子, 小野晴寛, 篠原和毅, 日本食品工業学会誌, 41(10), 709-711(1994).
- 35) 小野晴寛, 足立圭子, 福家洋子, 篠原和毅, 日本食品科学工学会誌, 43(10), 1092-1097(1996).
- 36) 福家洋子, 永田郁子, 野村孝弘, 猿山一雄, 矢守隆夫, 日本癌学会総会記事, 59回(横浜), 2853, p 399(2000).
- 37) 福家洋子, 化学と生物, 39(10), 638(2001).
- 38) 侯 徳興, 福家洋子, Li Jian-Jian, NiH. Colbura, 藤井信, 日本農芸化学会誌, 73, 臨時増刊号, c 2 p 202 D(1999).
- 39) Y. Fuke, H. Haga, H. Ono, T. Nomura and K. Ryoyama, *Cytotechnology*, 25, 197-203(1997).

- 40) T. Yano, S. Yajima, N. Virgona, Y. Yano, S. Otani, H. Kumagai, H. Sakurai, M. Kishimoto and T. Ichikawa, *Cancer Lett.*, 155, 115-120(2000).
- 41) 福家洋子, 沢木佐重子, 野村孝弘, 嶺山一雄, 日本食品科学工学会誌, 47(10), 760-766(2000).
- 42) 阿部達夫, 栄養と食糧, 12, 51(1959).
- 43) 榊原, 日本消化器病学会誌, 58(1961).
- 44) 佐藤善達, 寺田秀夫, ビタミン, 6, 263(1953).
- 45) H. Kumagai, N. Kashima, T. Seki, H. Sakurai, K. Ishii and T. Ariga, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58(12), 2131-2135(1994) および引用文献.
- 46) Y. Morimitsu, K. Hayashi, Y. Nakagawa, F. Horio, K. Uchida and T. Osawa, *BioFactors*, 13, 271-276(2000).
- 47) Y. Morimitsu, K. Hayashi, Y. Nakagawa, H. Fujii, F. Horio, K. Uchida and T. Osawa, *Mechanisms of Ageing and Development*, 116, 125-134(2000).
- 48) K. Ahmad, F. M. M. Rahman, A. Rahman and R. Begum, *Proc. VII Int. Cong. Nutr.* 1-5, 815(1966).
- 49) 原口逸子, 橋本啓, 清水誠, 中山勉, 日本農芸化学会1996大会, 2Ca11(1996).
- 50) 原口逸子, 「腸管における物質透過性に影響を及ぼす食品由来因子の検索」, 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科食品栄養科学専攻修士課程学位論文
- 51) 中山洋, 鈴木敏博, 鈴木裕一, 日本農芸化学会誌, 72(4), 499-507(1998).
- 52) 郡山智加子, 伊東保之, 九州東海大学総合教育センター紀要, 6, 63-72(1994). および引用文献参照