

# 食品の安全性・健全性に及ぼすハーブ・香辛料成分の効果

大澤 俊彦 (名古屋大学農学部食品工業化学科助教授)

## 1. 目的

食品、なかでも肉加工品をはじめとする高タンパク、高脂肪の食品は、特に問題とされている。例えば、脂肪は加工・貯蔵の過程で過酸化脂質を生成し、また、タンパク質やアミノ酸は加熱・調理の過程で発がん性のヘテロサイクリックアミン類を生成することも知られてきている。さらに、食肉の加工・保存の過程で発色剤として添加される亜硝酸塩は発がん性のN-ニトロソ化合物やC-ニトロソ化合物を生成し、遺伝毒性を示す可能性を示唆する多くの研究が注目を集めてきている。一方、このような遺伝毒性や生体傷害の攻撃から防御することは極めて重要な課題であり、その対象を人間の長い歴史の食習慣のなかに求めることは意義のあることであろう。特に、狩猟民族に先祖を持つ欧米人の食習慣に香辛料の使用は不可欠であり、日本でも欧米食の普及と共に香辛料の使用は急増し、防腐効果や消臭効果、抗酸化性など多くの機能が注目を集めてきている。著者らもゴマやショウガなどの香辛料や、ハーブ、生薬中の抗酸化成分についての研究を進めてきたが、保存の過程での変異原物質や発がん物質の生成を抑制したり、変異原物質や発がん物質を直接不活性化したりする作用を有していることが明らかとなった。そこで、本研究では、この様な香辛料・ハーブ中の抗酸化成分の持つ生理活性のうち、特に、ガンの予防への一つのアプローチとして変異原性抑制効果やDNA傷害抑制効果に着目し、その活性発現機構を明らかにすることを目的とする。

## 2. 方法および結果

### 2.1 抗酸化物質の検索

今までに、著者らは、ハーブや茶、香辛料に広く存在する多種多様な脂溶性抗酸化物質、水溶性抗酸化物質の検索を進めてきた。なかでも、日本をはじめ中国や韓国で古来から伝統的に用いられてきているゴマ種子については、ゴマ油の持つ高い酸化安定性とともさまざまな効用が言い伝えられてきたが、その実態は明らかではなかった。そこで、まず、ゴマを対象に抗酸化成分の検索を行った結果、セサミノール、セサミノールと命名した新しいリグナン類縁の脂溶性抗酸化物質を得ることに成功している。また、最近では、ピノレジノールジグルコシド、トリグルコシドという新しいタイプの水溶性抗酸化物質としてリグナン配糖体を得ることに成功している(図1)。ところが、ゴマ種子中には、セサミン、セサモリンという抗酸化性のない脂溶性リグナン類が大量に含まれている(図2)。この中で、セサモリンについてはセサミノールの前駆体として重要な役割を果たしていることが明らかとなった。すなわち、ゴマ油の製造過程、特に、酸性白土を用いた精製工程でセサモリンからセサミノールが二次的に生成され、しかも、その含量は、ゴマサラダ油中では、トコフェロールの4~5倍にもものぼり、ゴマ油の酸化安定性に最も重要な役割を果たしていることが明らかとなった。また、セサミンについても、最近、プロスタグランジンIの前駆体であるジホモ- $\gamma$ -リノレン酸の生産に重要な役割を果た



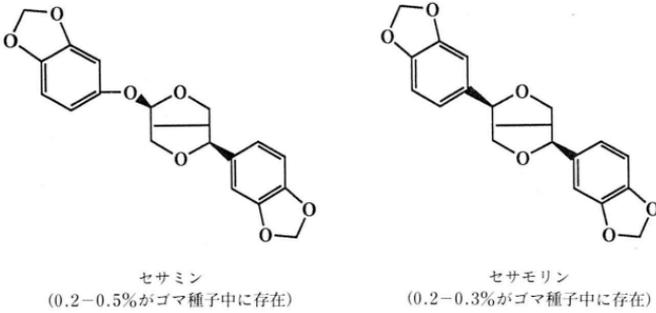


図2 ゴマ種子中に主要リグナン類として存在する非抗酸化性のセサミン，セサモリンの構造

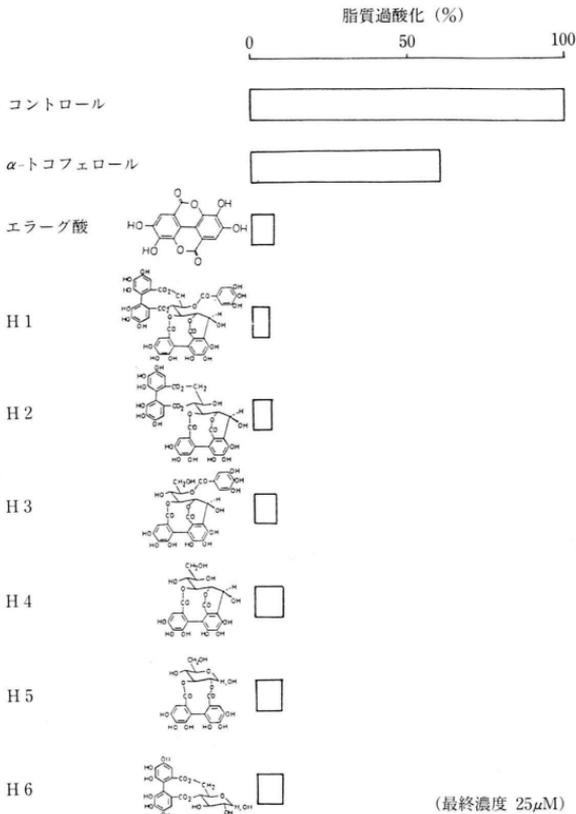


図3 紫地丁より得られたエラゲタンニンタイプの構造とウサギ赤血球膜系での過酸化脂質抑制効果

前は皮なめしに用いられていたものの現在は全く利用価値がない。そこで、脂溶性抗酸化成分の代表としてセサミノール、また、水溶性抗酸化物質としてエラゲ酸を中心に、変異性抑制作用やDNA傷害抑制効果についての検討を行うこととした。

## 2.2 ヘテロサイクリックアミン類に対するゴマリグナン類の変異原性抑制効果

食品の加工・保存の過程で二次的にさまざまなタイプの変異原物質や癌原物質や生成することは知られているが、特に注目を集めたものにヘテロサイクリックアミンタイプの変異原性発がん物質

がある。図4に示したように食品の加熱・調理の段階でタンパク質やアミノ酸から加熱分解により生成するが、最近では、MeIQなどは食品中で最も一般的な反応の一つであるアミノ-カルボニル反応によっても生成することに注目を集めている。このヘテロサイクリックアミンタイプの変異原は食品中に存在する可能性の高いアフラトキシンやベンゾ(a)ピレンなどと同様に間接変異原とよばれ体内の代謝酵素系、特に、P-448系の作用により活性体を生成し、この活性体がDNAを攻撃し、最終的に変異原性を示し、がんの発生へ至るものと考えられている。そこで、まず、ゴマ種子中に

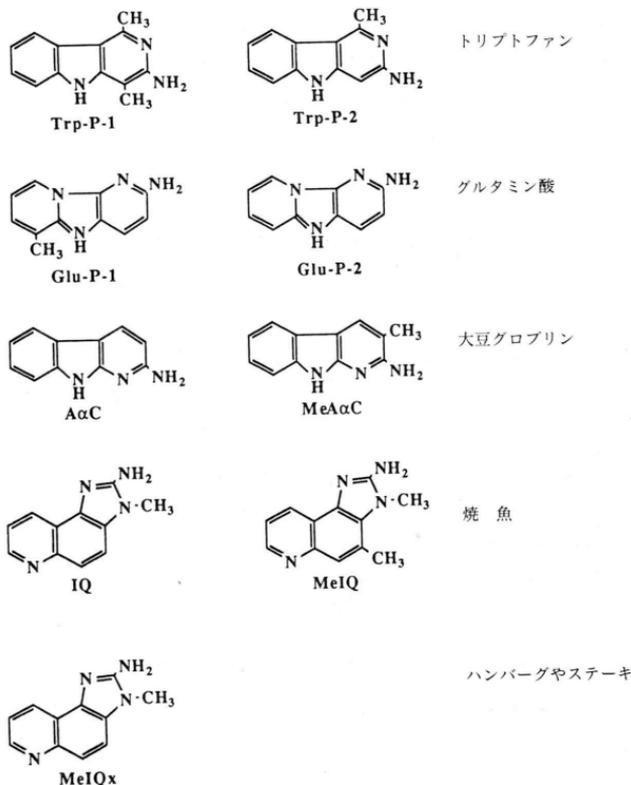


図4 ヘテロサイクリックアミンタイプの変異原性発がん物質の構造

大量に存在するリグナン類縁体、特に、脂溶性抗酸化成分のセサミノールと共にセサミン、セサモリンを用いて、抗変異原性に抗酸化性やフリーラジカルの捕捉効果が関係するかどうか代表的なヘテロサイクリックアミンである Trp-P-2 を対象に検討を行うこととした。

微生物変異原性試験法として最も一般的なサルモネラ菌 TA98 株を用い、S 9 による代謝活性化法による検討を行った。その結果、図 5 に示したように、天然抗酸化物質として知られる  $\alpha$ -トコフェロールは全く抑制効果を示さなかった。しかし、リグナン類縁体は、活性の程度に差はあるものの、投与量に対応してヘテロサイクリックアミンの変異原性を抑制した。この機構としてまず考えられるのが代謝活性化酵素の阻害活性である。ここではデータの詳細は省略するが HPLC による定量測定の結果でもリグナン類縁体は、シトクロム P-448 の作用に対する阻害活性を示すことが明らかとなった。

このようなヘテロサイクリックアミンの変異原

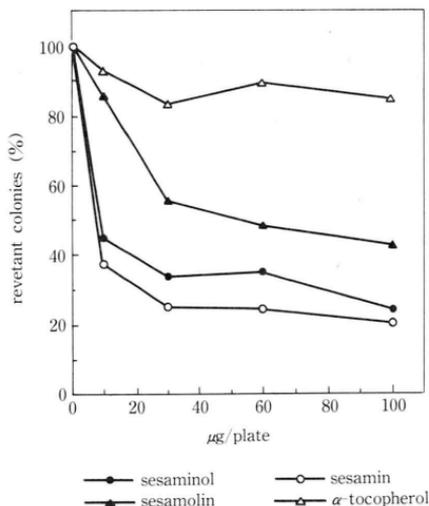


図 5 Trp-P-2 の変異原性発現に及ぼすリグナン類縁体の抑制効果 (サルモネラ菌 TA98 株で S 9 存在)

性発現過程にフリーラジカルの生成や脂質酸化も関連しているのではないかと推測されたので、これらについて、ウサギの赤血球膜に酸化性の傷害を与えて脂質過酸化反応を誘導し、その系にこれらの物質を加えて検討を行うこととした。その結果、図 6 に示したように、抗酸化性との間には全く相関性が見えなかった。

そこで、もう一つの可能性として生成した代謝活性体が DNA を攻撃する段階を防ぎ得るかどうかの検討を目的として、Trp-P-2 の活性体である N-水酸化体の変異原性に対する効果の検討を行った。その結果、図 7 に示したように、いずれのリグナン類も N-水酸化体の変異原性には全く抑制効果がみられなかった。これらのゴマリグナン類にはヘテロサイクリックアミンが代謝活性化を受けて生成した活性体である N-水酸化体が DNA のグアニン部分を修飾する段階では阻害効果を示さないことが推定された。この P-448 に対する阻害活性は、フリーラジカルの捕捉効果や抗酸化性では説明できず、ゴマリグナン類の持つ平面構造が重要な役割を果たしているものと推定

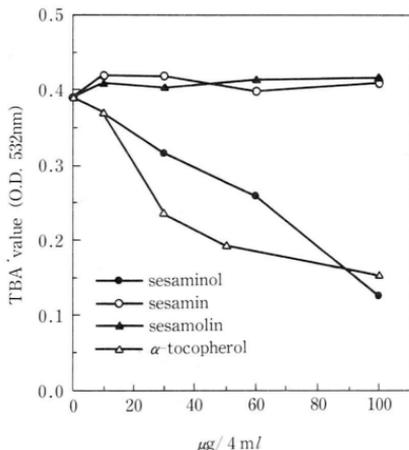


図 6 ウサギ赤血球膜での脂質過酸化反応に対するリグナン類縁体の抑制効果

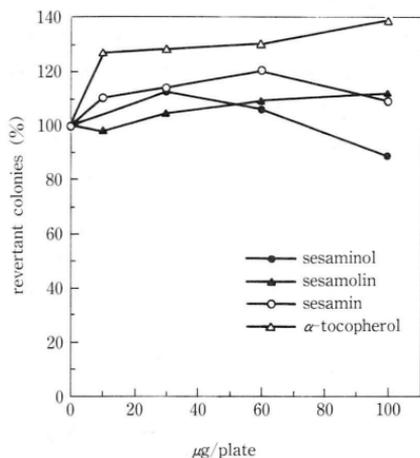


図7 Trp-P-2の代謝活性体(N-OH-Trp-P-2)の直接変異原性に及ぼすゴマリグナン類の効果(サルモネラ菌T A98株, S9非存在下)

されるが、詳細な検討は今後の課題である。また、これらのゴマリグナン類のなかでセサミノールは変異原性も抗酸化性もどちらも持ち、また、 $\alpha$ -トコフェロールがほとんど分解してしまう条件、すなわち、180°Cで3時間加熱した場合でもセサミノールは半分近く残存しているの、このセサミノールが加熱・調理の結果生じたヘテロサイクリ

ックアミン類と共存する可能性は極めて高いものと考えられる。

### 2.3 水溶性抗酸化物質、エラゲ酸の変異原性抑制効果

今までは脂溶性抗酸化物質を中心に変異原性抑制効果について検討を進めてきたが、水溶性抗酸化物質の場合はどうであろうか。既に述べたように、台湾産のハーブ・生薬からはエラゲ酸を活性部位に持つタンニン類、ゴマ種子からは新規なリグナン配糖体以外にも、緑茶や紅茶からもカテキン類やテアフラビン類が水溶性抗酸化成分として見いだされ、その生理的效果、特に、がん予防の可能性に多くの注目が集められている。そこで、エラゲ酸を水溶性抗酸化物質の代表として変異原性抑制効果に対する検討を行うこととした。変異原としてゴマリグナン類の場合と同様に Trp-P-2を用い、S9の存在下、サルモネラ菌 TA98株で変異原性に対する効果の検討を行ったところ、図8(a)に示したように、エラゲ酸はセサミノールの場合と同様に Trp-P-2の変異原性を抑制した。この場合も、定量的なシトクロムP-448に対する阻害実験から、脂溶性抗酸化物質であるセサミノールと同様に水溶性抗酸化物質のエラゲ酸

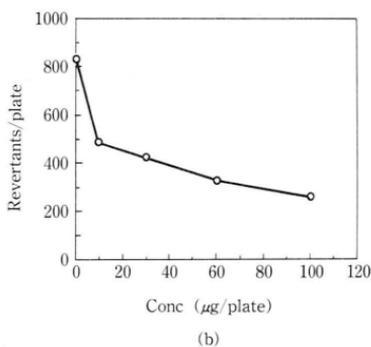
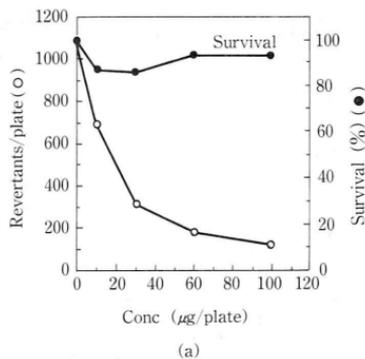


図8 エラゲ酸の変異原性抑制効果(サルモネラ菌T A98株)

(a) Trp-P-2の変異原性発現に対する抑制効果(+S9)

(b) Trp-P-2の代謝活性体(N-OH-Trp-P-2)の変異原性抑制効果(-S9)

も Trp-P-2 の代謝活性化に対する抑制効果を有することが明らかとなった。この結果は、既に述べたように、抗酸化性やフリーラジカル捕捉効果とは異なり、リグナン類縁体の持つ平面構造が P-448 の阻害活性に必須であることから推測できるように、エラール酸の持つ平面構造が重要な役割を果たしているものと推定されるが、詳細については今後の課題である。

ところが、エラール酸の場合は、図 8 (b) のように、Trp-P-2 の活性体である N-水酸化体の DNA の変異原性を有効に抑制した。

このことより、水溶性の抗酸化物質であるエラール酸は、代謝活性化を抑制するのみならず、Trp-P-2 の活性体である N-水酸化体の DNA のグアニンへの付加作用に対しても阻害効果を示したが、セサミノールの場合は全く抑制効果がみられなかったため、両者は全く異なった作用機構を

示すことが推定された (図 9)。

#### 2.4 発がん物質、2-アミノナフタレンの活性発

現の過程で生成する活性酸素の捕捉作用

このような代謝活性化は、ヘテロサイクリックアミン類以外にもアフラトキシンやベンゾ(a)ピレン、ナフチルアミンなどのような芳香族アミン系の発がん物質に一般的である。ところが、最近特に注目を集めてきたのは、このような芳香族アミン類の代謝活性体である N-水酸化体は DNA に対して付加作用を有すると共に DNA 鎖を切断することが見いだされたことである。なかでも、共同研究者である中山は、発がん物質としてよく知られているナフチルアミンが DNA 鎖を切断し、その作用は、図 10 に示したように、活性体である N-水酸化体の自動酸化の過程で生じた過酸化水素に由来する OH ラジカルが DNA 鎖を切断するのではないかと推定している。そこで、DNA 鎖

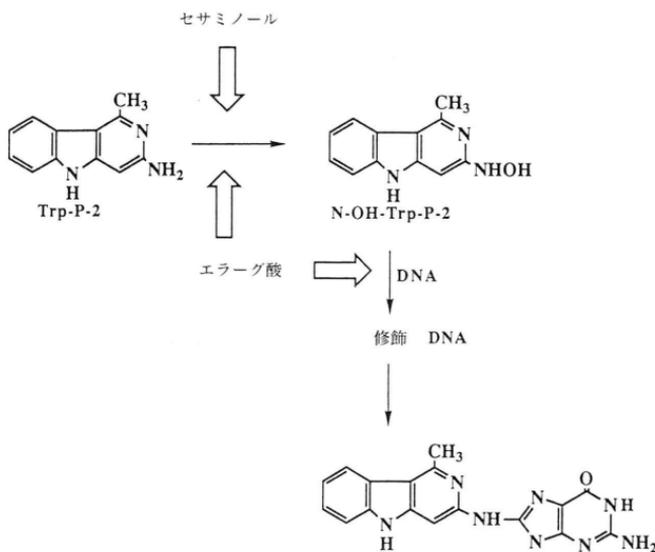


図 9 Trp-P-2 の代謝活性化とセサミノール、エラール酸による推定抑制機構

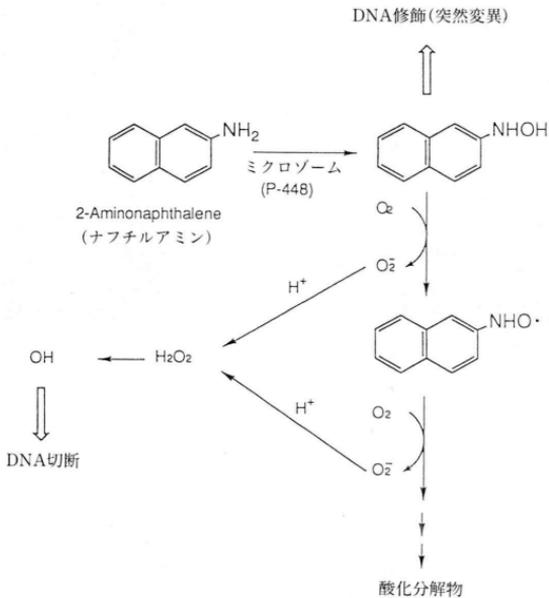


図10 ナフチルアミンの酸化分解過程における推定活性酵素生成機構と DNA 切断

切断を効果的に見いだす方法としてファージ (φ X174) の Supercoiled, double-strand circular formのRFI DNAからnicked open circular formのRFIIへの変化をアガロースゲル電気泳動で検出するという方法を用いた。その結果、図11に示したように、セサミノールは、ゴマ種子中に大量に含まれているセサミン、セサモリンの様な脂溶性リグナンと共に全く抑制効果がみられなかったが、エラグ酸にはナフチルアミンのN-水酸化体によるDNA鎖切断に対する強い保護効果が認められた(図12)。このことは、水溶性抗酸化物質であるエラグ酸は、ナフチルアミンの活性体であるN-水酸化体の自動酸化の過程で生じた過酸化水素に由来するOHラジカルがDNA鎖を切断する段階を抑制するものと推定されている。このような効果は、最近、著者らにより、緑茶や紅

茶に抗酸化成分として存在するカテキン類やテアフラビン類が同じ様な活性を有することを見いだしているため、それらのDNA鎖切断の抑制機構も含めて、今後、検討して行きたい。

また、人体への影響のモデルとして著者らの研究室で導入しているチャイニーズハムスターをはじめとする動物培養細胞を用いた系を用い、抗酸化物質がどのような機構で遺伝子レベルにおける酸化傷害に対する防御効果を示すのかさらに検討を進め、このような香辛料やハーブに含まれる抗酸化成分が、実際の食品系でもがんの発生に対して予防的な効果を示し、われわれの食生活がさらに健全となることを期待したい。

最後に、本研究を行うにあたり、研究助成を賜りました浦上食品・食文化振興財団に心から感謝致します。



## Effects of Components in Spices and Herbs on Food Safety and Wholesomeness

Toshihiko Osawa (Department of Food Science and Technology, Nagoya University)

Recently, much attention has been focused on the role of food components for cancer prevention. Recent progress in the short-term mutagenicity assay systems prompted us to investigate the effects of spice and herb components on mutagenicity and DNA damage caused by food-related mutagens and carcinogens as well as by free radicals.

The authors have been involved in isolating and identifying many different types of natural antioxidants as the food phytochemicals. These antioxidants are classified as lipid- and water-soluble antioxidants. As the lipid-soluble antioxidants, lignan-type antioxidants, in particular, sesaminol was isolated, and many tannin-type water-soluble natural antioxidants which contain ellagic acid as the partial structure.

Both of sesaminol and ellagic acid effectively inhibited the mutagenicity induced by the heterocyclic amines, in particular, Trp-P-2, however, ellagic acid only inhibited the mutagenicity of the activated form of Trp-P-2. Ellagic acid also protected from DNA damaging activity induced by oxygen-free radicals formed during the autoxidation of the chemical carcinogens, and details of these mechanisms will be discussed.