食用植物由来含硫化合物の抗がん作用メカニズムとがんの予防

Anti-neoplastic effects of organosulfur compounds derived from *Allium* vegetables

日本大学生物資源科学部農芸化学科

*日本大学大学院生物資源科学研究科

関 泰一郎 Taichiro SEKI

細 野 崇* Takashi HOSONO

深 尾 友美* Tomomi FUKAO

正 木 智大* Tomohiro MASAKI

原 健二郎* Kenjiro HARA

大 槻 隆之* Takayuki OTSUKI

有 賀 豊彦 Toyohiko ARIGA

Key words: garlic; cancer; allyl sulfide; colon cancer; leukemia

1. はじめに

わが国における死亡率の推移を死因別に見ると、がん、心臓病、脳血管疾患などの生活習慣病による死亡が上位を占めている。がんは昭和56年から死因の第1位となり、平成12年には総死亡者の30.7%を占めた。がん、心臓病、脳血管疾患などの生活習慣病は、生活習慣の中でもとりわけ食習慣が重要な発症要因となっている。英国や米国のグループが膨大な疫学データを分析した結果、成人期の食生活や肥満の改善によりがん死亡の30~35%が予防可能であると推定されている。

筆者らは、ネギ属植物に含まれる含硫化合物の機能について基礎的な研究を行ってきた。ネギ属植物であるガーリック (*Allium sativum* L.) には抗菌、抗血小板、抗血栓、強壮、脂質低下作用などさまざまな薬理効果や生体機能調節作用が知られている^{1)~4)}。Caragay らはがん予防効果があると考えられる約40種類の野菜や果物をピックアップしているが、その中でもガーリックはがん予防効果が最も高い食品に位置づけられている⁵⁾。しかしながらその抗がん作用物質や作用機構については必ずしも明確にされていない。

本稿では、筆者らのグループが行ってきたガーリックの抗がん作用に関するデータを中心に、『食』によるがんの予防の可能性について論述する。

2. ガーリックのがんの予防効果に関する疫学研究

ガーリックやオニオンなどの *Allium* 属植物のがん予防効果についてはよく研究されている。その多くは症例対照

研究 (Case-Control Study) であるが、*Allium* 属植物の摂取はがんの罹患率を低減させると考えられている。

ガーリックの摂取と胃、結腸、脳、肺、乳、前立腺などの各部位におけるがんの発生について、19の症例対照研究を分析した最近の総説では、ガーリックの摂取は胃がん、結腸がんを予防することが示されている⁶⁾。さらに結腸がんの予防効果については、いくつかのコホート研究 (Cohort Study) によっても確認されている⁶⁾。

3. ガーリックの成分と抗がん作用

新鮮ガーリックの抽出物、ガーリックパウダーなどの標品やガーリックオイル、ガーリック由来の水溶性含硫化合物は抗がん作用を示す。S-Allyl cysteine などの水溶性含硫化合物は実験動物を用いた化学発がんを低減させるが、株化がん細胞などに対する作用は低い。一方、脂溶性スルフィド類の株化がん細胞に対する増殖抑制効果は高い^{7), 8)}。

4. アリルスルフィドの抗がん作用

アリルスルフィドはガーリック (鱗片) 組織の損傷により維管束鞘に局在する alliinase と鱗茎内細胞に存在する基質 alliin (S-allyl cysteine sulfoxide) が反応して生成される特有の香気成分である (図1)。ガーリックのホモジネートを水蒸気蒸留して得られるガーリックオイルは、種々のスルフィド類を含有している (図2)。

上述のようにガーリックの摂取は大腸 (結腸) がんの発生を抑制する。ヒト大腸がん細胞 HCT-15 にガーリックオイルを添加して培養すると細胞増殖は顕著に抑制され、ガーリックの油性成分が抗腫瘍作用を有することも示唆された。ガーリックオイルの主要構成成分である diallyl sulfide (DAS), diallyl disulfide (DADS), diallyl trisulfide

図1 アリルスルフィドの生成機構
 ガーリック鱗茎細胞内に存在するアリイン (alliin, S-allyl-L-cysteine sulfoxide) にアリイナーゼ (alliinase, alliin lyase もしくは C-S-Lyase, EC4.4.1.4) が作用し2分子のアリインからアリシン (allicin; diallyl thiosulfinate) 1分子と2分子のアンモニアおよびピルビン酸が生成する。アリシンから非酵素的にアリルスルフィドが生成する。

1. allyl methyl sulfide
2. dimethyl sulfide
3. allyl methyl disulfide
4. diallyl sulfide
5. dimethyl trisulfide
6. diallyl disulfide
7. allyl methyl trisulfide
8. dimethyl tetrasulfide
9. diallyl trisulfide
10. allyl methyl tetrasulfide
11. dimethyl pentasulfide
12. diallyl tetrasulfide
13. allyl methyl pentasulfide
14. dimethyl hexasulfide
15. diallyl pentasulfide

図2 ガーリックオイルに含まれるスルフィドの HPLC 分析
 カラム, Inertsil ODS-3 (GL Science Inc.); 移動相, アセトニトリル 70% / 蒸留水 30%; 分析波長, 254 nm.

図3 アリルスルフィドがヒト大腸がん細胞 HCT-15 の増殖に及ぼす影響

(DATS) が HCT-15 の増殖に及ぼす影響について検討したところ DAS, DADS はほとんど影響を及ぼさなかった ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$). DATS は HCT-15 の細胞増殖を濃度依存的に顕著に抑制した ($\text{IC}_{50} \approx 3 \mu\text{M}$) (図3). さらに, トリスルフィドにメチル基, エチル基, プロピル基, ブチル基を結合した dimethyl trisulfide (DMTS), diethyl trisulfide (DETS), dipropyl trisulfide (DPTS), dibutyl trisulfide (DBTS) を合成し細胞増殖に及ぼす影響について検討した. その結果 DMTS ($\text{IC}_{50} \approx 40 \mu\text{M}$) < DETS ($\text{IC}_{50} \approx 20 \mu\text{M}$) < DPTS ($\text{IC}_{50} \approx 4 \mu\text{M}$) と炭素数に比例して細胞増殖抑制能は増加したが, DBTS ($\text{IC}_{50} \approx 60 \mu\text{M}$) では逆に減少し, トリスルフィド構造に加えアリル基もしくはプロピル基が細胞増殖の抑制には重要であった. また, これらの化合物は, 初代培養肝細胞などの正常細胞に対してはほとんど影響を及ぼさなかった.

DATS を添加して培養した HCT-15 では, G2/M 期の細胞が顕著に増大し G1 期の細胞は減少した. また, DATS はカスパーゼ 3 の活性化を介してアポトーシスを誘導した⁹⁾.

Knowels ら¹⁰⁾は, DADS 存在下で培養した HCT-15 の G2/M 期アレスト, p34^{cdc2} kinase 活性の低下, cyclin B1 の増加を観察し, DADS が p34^{cdc2}/cyclin B1 複合体の形成阻害, cdc25C ホスファターゼ活性の抑制により細胞増殖を阻害することを明らかにした. 筆者らが調製した DADS (純度 > 99.9%) を用いて同様の研究を行ったところ HCT-15 の増殖抑制は観察されなかった. DADS は数社から市販されており Knowels らの報告を含め DADS の抗がん作用に関する研究に広く用いられている. これらの標品の純度を検定したところ, いずれも DADS の純度は 75% 前後であり, 約 14% の DAS と約 10% の DATS を含有していた. DADS の HCT-15 に対する作用は混在する DATS の濃度に比例していたことから既報の DADS に関する報告は DATS の効果を見ていた可能性が考えられる.

また, ガーリックオイルをヒト急性前骨髄球性白血病細胞 HL-60 に添加すると増殖は顕著に抑制された. 同時に核の分葉化などの形態的な所見に加え, nitroblue tetrazolium 還元能の増大, CD11b などの膜表面抗原の発現増大など granulocyte lineage への分化誘導が観察された¹¹⁾. 精製アリルスルフィドを用いて同様の検討を行ったところ DATS が HL-60 の増殖抑制, 分化誘導を担う主要な成分であることが明らかになった.

5. アリルスルフィドが薬物代謝系酵素に及ぼす影響

DAS, DADS, DATS (10~100 $\mu\text{mol/kg}$ body weight,

i.p., 14 日間) の投与が薬物代謝系酵素に及ぼす影響について検討した¹²⁾。第 I 相酵素に対しては、高濃度の DAS (100 $\mu\text{mol/kg}$) は cytochrome P450 (CYP) 2E1 活性を増加させたが、DADS と DATS は肝臓の total CYP level, CYP 1A1/2, 2E1 活性には影響を及ぼさなかった。第 II 相酵素に対しては DATS (10 $\mu\text{mol/kg}$) と DADS (100 $\mu\text{mol/kg}$) が有意に glutathione S-transferase, quinone reductase, glutathione peroxidase 活性を増加させた。一方、DAS は第 II 相酵素活性にはほとんど影響を及ぼさなかった。

DATS や DADS の薬物代謝系酵素に対する作用が実際に生体において防御的な効果をもたらすか否かを検討する目的でこれらのスルフィドを投与したラットに四塩化炭素を投与して急性肝障害を惹起した。肝障害の指標である血中 aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, lactate dehydrogenase の活性は、第 II 相酵素の誘導能と逆相関して DATS により顕著に抑制されたが DAS によってはほとんど抑制されなかった。DATS は第 II 相薬物代謝系酵素を誘導し四塩化炭素による肝毒性を低減させたことから、がん原物質の代謝活性化による発がんを抑制する可能性が明らかになった。

6. ま と め

ガーリックの成分にはがん細胞の増殖抑制、アポトーシス誘導、分化誘導などの作用が認められた。また、薬物代謝系酵素の活性を制御して発がんを抑制することも示唆された。さらに、アリルスルフィドはがん原物質投与モデルにおける前がん病変の数やサイズを減少させることも報告

されている¹³⁾。これらのガーリック成分の機能ががん予防効果の一端を担い疫学データに反映されているものと考えられる。最近、網羅的な手法を用いてアリルスルフィドにより発現量の変動する遺伝子の同定も試みられており、抗がん作用を理解するうえで興味深い。

西暦 2015 年には、1 年間に 89 万人ががんにかかることが予測されている。食品成分の機能を十分に理解したうえで抗がん作用の期待できる食品を日常の食生活にうまく取り入れることができれば、がんの罹患率を若干でも低減することができると思われる。

- 1) T. Ariga, S. Oshiba, and T. Tamada: *Lancet*, **1** (8212), 150-151 (1981).
- 2) T. Ariga, A. Takeda, S. Teramoto, and T. Seki: In "Food Factors for Cancer Prevention," ed. by H. Ohigashi, T. Osawa, J. Terao, S. Watanabe, and T. Yoshikawa, Springer-Verlag, Tokyo, 1997, pp. 231-234.
- 3) T. Ariga, K. Tsuji, T. Seki, T. Moritomo, and J. Yamamoto: *Bio Factors*, **13**, 251-255 (2000).
- 4) 有賀豊彦, 関 泰一郎: 香料, **208**, 81-93 (2000).
- 5) A. B. Caragay: *Food Technol.*, **4**, 65-68 (1992).
- 6) A. T. Fleischauer and L. Arab: *J Nutr.*, **131**(3s), 1032S-1040S (2001).
- 7) J. A. Milner: *Nutr Rev.*, **54**(11, Pt. 2), S82-S86 (1996).
- 8) M. Thomson and M. Ali: *Curr Cancer Drug Targets*, **3**, 67-81 (2003).
- 9) T. Hosono *et al.*: submitted.
- 10) L. M. Knowles and J. A. Milner: *Carcinogenesis*, **21**, 1129-1134 (2000).
- 11) T. Seki, K. Tsuji, Y. Hayato, T. Moritomo, and T. Ariga: *Cancer Lett.*, **160**, 29-35 (2000).
- 12) T. Fukao, T. Hosono, S. Misawa, T. Seki, and T. Ariga: *Food and Chemical Toxicology* (2003), in press.
- 13) D. Haber-Mignard, M. Suschetet, R. Berges, P. Astorg, and M. H. Siess: *Nutr Cancer*, **25**, 61-70 (1996).