

## アニサキス幼虫のアルコールおよび清涼飲料に対する感受性について

後川 潤, 沖野 哲也, 初鹿 了

*In vitro* (37°C) において, 生鮮サバから採取したアニサキス I 型幼虫 (線虫類: 回虫目) の数種アルコール飲料および清涼飲料に対する感受性について検討した. その結果, 幼虫はアルコール分14~25%含有の飲料中では平均5.6時間, アルコール分2.5~10%含有の飲料中では約5日間 (114時間), アルコールを含まない清涼飲料中では約9日間 (225時間) 生存した. すなわち, 幼虫に対する致死効果について, アルコール飲料中では含まれるアルコールの濃度に比例したが, アルコールを含まない清涼飲料中では致死効果が認められなかった. 特に焼酎 (アルコール分25%) と梅酒 (アルコール分10%) 中で致死効果が高く, すべての幼虫が80分以内に運動を停止し, 死滅した. 梅にはアニサキス幼虫に対する致死効果因子の含まれる可能性が示唆された.

(平成10年7月8日受理)

### Sensitivity of *Anisakis* Larvae to Alcoholic and Cooling Beverages *in vitro*

Hiroshi USHIROGAWA, Tetsuya OKINO and Ryo HATSUSHIKA

The present experiments were designed to study the sensitivity of *Anisakis* larvae removed from fresh mackerel to several kinds of alcoholic and cooling beverages *in vitro* at 37°C. All of the larvae used in the bioassay were identified as *Anisakis* I-type. The survival period of the larvae in typical solutions was about 5.6 hr in the drinks containing 14 - 25% alcohol, about five days (114 hr) in those containing 2.5 - 10% alcohol and about nine days (225 hr) in the non-alcoholic cooling beverages. These results suggest that the lethal effect of alcohol on *Anisakis* I-type larvae is proportional to its concentration, but no lethal effect by the cooling beverages was observed *in vitro*. The most striking of the lethal effect was noted with distilled liquor (shōchū) containing 25% alcohol and Japanese apricot liquor (umeshu) containing 10% alcohol, in these solutions, the larvae died within 80 minutes. This result suggests the possibility that Japanese apricot has a lethal effect on *Anisakis* larvae. (Accepted on July 8, 1998) *Kawasaki Igakkaishi* 24(1): 47-52, 1998

**Key Words** ① *Anisakis* I-type larva ② Nematoda  
③ Alcoholic and cooling beverages ④ Sensitivity  
⑤ Survival period

## はじめに

アニサキス症は日本人の食習慣と密接に関係し、殊に海産魚介類の生食に起因する疾患であり、発症の様相から胃アニサキス症と腸アニサキス症とに区別されている。本邦におけるアニサキス症は1963年から1996年までの間に30,689例が発生している<sup>1)</sup>。近年、胃アニサキス症(劇症型)に対する新しい治療法としてステロイド剤と抗アレルギー剤の併用が報告されている<sup>2)</sup>が、一般に胃アニサキス症では内視鏡的に幼虫が摘出され、腸アニサキス症では依然として開腹手術が施行される場合が多い。本症の発生予防には海産魚介類の生食を避けることが最も有効であるが、日本人は昔から動物性蛋白源を海産魚介類に依存しており、特に魚介類の刺身などを好む習慣があるため、生食習慣の改善は困難である。過去においては、魚介類の刺身等と一緒に摂取する可能性のある調味料等を中心に、アニサキス幼虫の人体内における感染能力の減弱あるいは致死的效果について検討されている<sup>3)</sup>。特にシソ(*Perilla frutescens*)やショウガ(*Zingiber officinale*)についてはその抽出成分にアニサキス幼虫に対する致死効果が期待できるとの報告がある<sup>4),5)</sup>。また、アニサキス幼虫に対するアルコール類の致死的效果についても検討されている<sup>3),6)</sup>が、アルコール飲料については、おもに日本酒に関する報告である<sup>6),7)</sup>。

著者らは、海産魚介類の刺身を食べる際に摂取頻度の高いアルコール飲料および清涼飲料に対するアニサキス幼虫の動態を *in vitro* において検討したので報告する。

## 材料と方法

実験に用いたアニサキス幼虫は日本海海域で捕獲された生鮮サバの内臓表面から採取したもので、胃部および尾部の形態的特徴からすべてアニサキスI型と同定された。実験に用いた飲

料はアルコール飲料9種(焼酎:アルコール分25%, 日本酒:15~16%, 梅酒:10%, ビール:5%, ビール:2.5%, ノンアルコールビール:0%, Cooking wine:14%未満, Sparkling wine:14%未満, Wine:3%), 清涼飲料3種(Coca-Cola, Grape juice, 炭酸水)および0.9%生理的食塩水(control)である。サバから摘出した幼虫は活発に運動しているもの10個体宛を一群とし、あらかじめ37℃に保った各飲料液50mlを注いだシャーレ(直径7cm)に入れて、孵卵器内で37℃に保った。各飲料液中に投入した幼虫の動態は、実験開始から2時間までは20分毎、2~6時間までは30分毎、6~60時間までは3時間毎、60~100時間までは12時間毎、それ以降は24時間毎に観察した。実験期間中に蒸発等によってシャーレ内の飲料液の量が減少したときは37℃に加温した同種の液を追加注入した。実験開始後におけるアニサキス幼虫の運動停止および死滅の判定については粕谷ら<sup>3)</sup>の方法に準じた。

## 成 績

アニサキス幼虫の各種飲料に対する感受性は、観察時の幼虫生存率で表現した。実験の結果は高濃度アルコール群(アルコール分14~25%含有の4種類)、低濃度アルコール群(アルコール分2.5~10%含有の4種類)、およびノンアルコール群(4種類)の3群に分け、それぞれを0.9%生理的食塩水(control)中の結果と比較した(Fig. 1)。

高濃度アルコール群(Fig. 1A)ではアルコール濃度が最も高い焼酎(アルコール分25%)で幼虫に対する強い致死的效果がみられ、実験開始から80分後の幼虫は10個体とも運動を停止した。焼酎に浸した全幼虫の運動が停止した時点で、他の高濃度アルコール群では日本酒中の幼虫は90%、Cooking wine中の幼虫は70%が運動を停止し、この2種のアルコール中では実験開始から100分後に全幼虫の運動停止が確認された。特に焼酎と日本酒に浸した幼虫では運動停

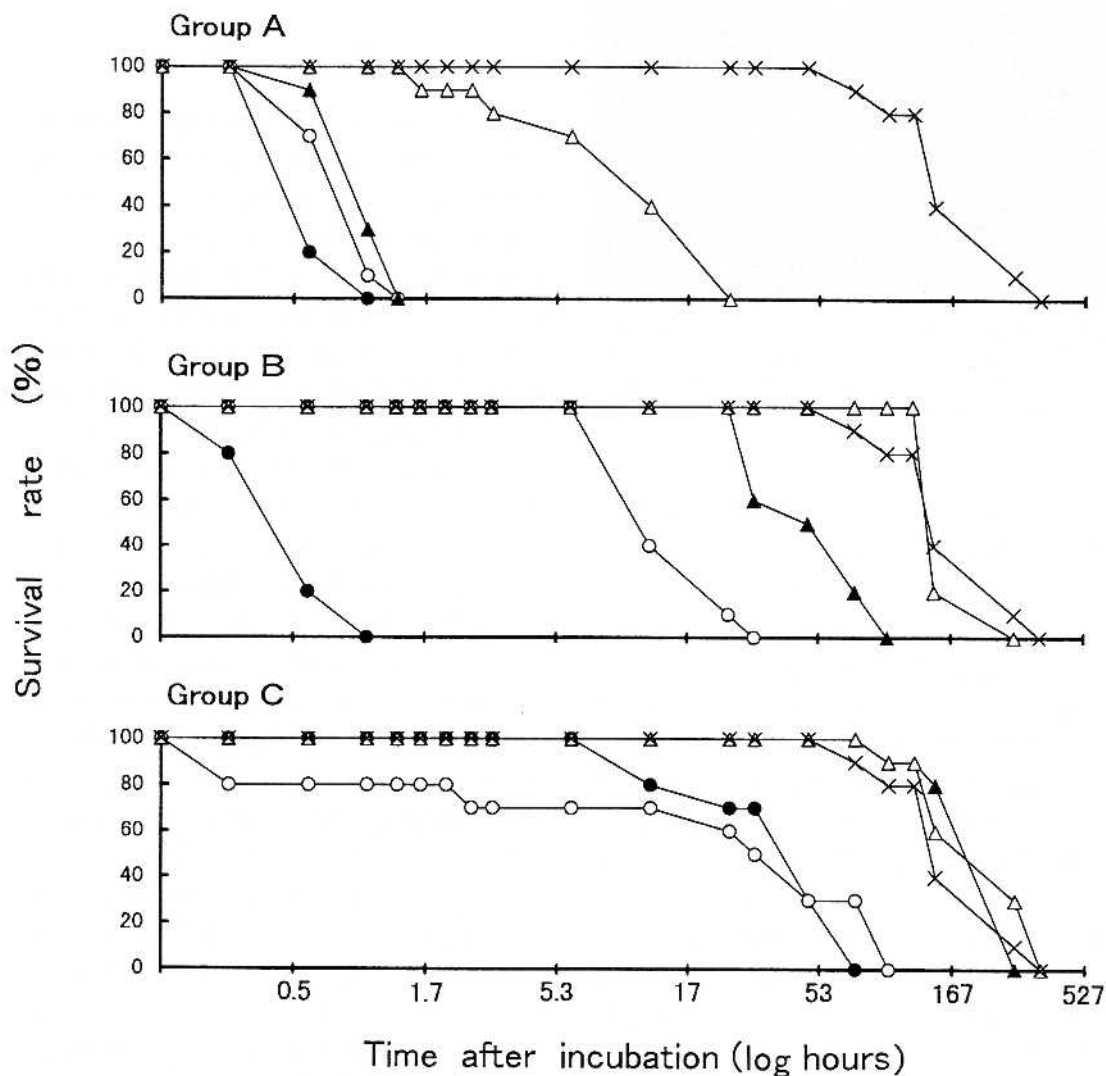


Fig. 1. The sensitivity of *Anisakis* I - type larvae to various beverages.

A : A group of high-alcoholic beverages

- : Distilled liquor (shōchū containing 25% alcohol)
- : Sake (nihonshu containing from 14 to 15% alcohol)
- ▲ : Cooking wine containing less than 14% alcohol
- △ : Sparkling wine containing less than 14% alcohol

B : A group of low-alcoholic beverages

- : Japanese apricot liquor (umeshu containing 10% alcohol)
- : All malt beer containing 5% alcohol
- ▲ : Low alcohol beer containing 2.5% alcohol
- △ : Wine containing 3% alcohol

C : A group of non-alcoholic beverages

- : Non-alcoholic beer, ○ : Aerated water
- ▲ : Coca-Cola, △ : Grape juice

The '×' in each figure indicates the result in 0.9% physiological saline.  
The horizontal axis is shown with a logarithmic scale.

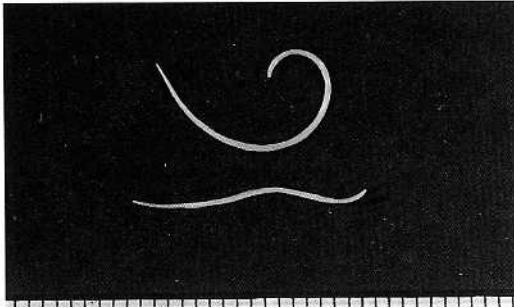


Fig. 2. External appearance of *Anisakis* I-type larvae just before death, showing a C-shaped worm in the shōchū and nihonshu (upper), and a straight stretched out worm in the other solutions (below) (Scale = 1.0 mm).

止に先立って虫体がC字状を呈する特徴的な様態が観察された (Fig. 2). しかし, Sparkling wine (アルコール分14%未満) に浸した幼虫では Cooking wine と同じ濃度のアルコール分を含んでいるにも拘わらず, 幼虫に対する致死的效果は低く, すべての幼虫が運動を停止するまでに18時間を要した (Fig. 1A).

低濃度アルコール群 (Fig. 1B) では, 梅酒 (アルコール分10%) 中のすべての幼虫の運動が実験開始から80分後に停止し, アルコール分が10%にも拘わらず, 上記の焼酎と同じ程度の致死的效果を示した. 梅酒以外の飲料中では, すべての幼虫が運動を停止するまでに24時間以上を要しており, アルコール分5%ビールで36時間, アルコール分2.5%ビールで104時間 (約4日), およびアルコール分3%の Wine で315時間 (約13日) 後にそれぞれ運動が停止した (Fig. 1B).

ノンアルコール群 (Fig. 1C) ではすべての幼虫が運動を停止するまでに要した時間は, ノンアルコールビール中で92時間 (約4日), 炭酸水中で116時間 (約5日), Coca-Cola 中で284時間 (約12日), Grape juice 中で407時間 (約17日) であり, 幼虫はいずれの実験群でも3日以上生存した (Fig. 1C). また, control として0.9%生理的食塩水中に投入した幼虫は早いもので80時間後から運動停止が観察されたが, 長いものでは前述した Grape juice 中の幼虫とほぼ同じ410時間 (約17日) 生存した (Fig. 1A, B, C).

## 考 察

日本人に多発するアニサキス症は海産魚介類の生食に起因する消化管性の寄生虫疾患である. 魚介類を刺身等で生食するときには, しばしば酒類その他の飲み物を伴うことが多いため, 本研究では魚介類生食の際によく摂取すると思われるアルコール飲料および清涼飲料に対するアニサキス幼虫の感受性を検討した. その結果, 幼虫に対する致死的效果は相対的に高濃度のアルコールを含むアルコール飲料で高く, ノンアルコール飲料中では致死的效果がほとんどなかった. アニサキス幼虫とアルコールの関係については川田<sup>6)</sup>の報告によると, 室温 (4~21℃) でのアニサキス幼虫の生存期間は10%アルコール (エタノール) 中では5日, 20%では180分, 30%では100分, 50%以上では25分以内, 14%日本酒中では13日, 39%ブランデー中では140分である. 早坂ら<sup>7)</sup>の報告によると日本酒 (アルコール16.0~17.0%含有) 中では50分後にほとんどの幼虫が死滅しており, また粕谷ら<sup>3)</sup>は37℃において, アニサキスI型幼虫はエタノール8%以上の濃度で強い致死的效果が認められたと述べている. このように温度条件あるいはアルコールの濃度差によってアニサキス幼虫の生存期間に若干の差がみられるが, アルコールには幼虫に対する致死的效果があり, 本研究においても, その効果は濃度依存的であることが示唆された.

さらに本実験においては, 特に以下の2点が注目される. 第1には, アニサキス幼虫に対して梅酒 (アルコール分10%) が高い致死的效果を示したことである. その効果は今回用いた飲料中で最もアルコール濃度の高い焼酎 (アルコール分25%) の場合と同様で, 実験開始から80分後にすべての幼虫が死滅した. アニサキス幼虫に対する致死的效果のある食品について, 粕谷ら<sup>3)</sup>は, シソ, ショウガ, ワサビ, ニンニクの4食品に致死的效果を認めており, 後藤ら<sup>4)</sup>は, シソ (*Perilla frutescens*) に含まれる perillaldehyde

やショウガ (*Zingiber officinale*) に含まれる [6]-shoganol にアニサキス幼虫に対する殺虫効果が期待できると報告している。今回の結果はこれらの食品と同様に、梅にもアニサキス幼虫に対する致死効果因子が含まれている可能性を示唆したものと考えられる。

第2にはアルコール含有の有無に拘わらず、炭酸を含んだ飲料 (Sparkling wine, ビール, ノンアルコールビール, 炭酸水, Coca-Cola) において、これらの飲料中へ投入した幼虫は、投入直後から約60分間に亘って、激しい動きが観察されたことである。この現象は時間の経過とともに消失したことから、炭酸を含む飲料中の pH あるいは溶存二酸化炭素 ( $\text{CO}_2$ ) 量の変化に起因するものと推測された。そこで、実験用シャーレに各炭酸飲料を注いで、幼虫を投入せずに24時間にわたって時間経過に伴う各炭酸飲料の pH を測定したが、ほとんど変化がなかった。さらにアルコール分5%ビールを用いて、同様に溶存  $\text{CO}_2$  量を測定したところ、振盪刺激によって放出される  $\text{CO}_2$  (気泡) 量は時間経過とともに減少したが、飲料中に溶け込んでいる  $\text{CO}_2$  量はほとんど変化がなかった。このことから、気泡として放散する  $\text{CO}_2$  の影響も疑われるので飲料中の成分組成の経時的変化やその他の要因についても更に検討する必要がある。また、 $\text{CO}_2$  を含む飲料はいずれもアニサキス幼虫に対する致死効果が低く、Cooking wine と同じアルコール濃度の Sparkling wine でも死に至るまでに18時間を要していることから、

$\text{CO}_2$  はアニサキス幼虫の生存環境において重要かつ不可欠な因子である可能性が示唆された。

今回の実験は、アニサキス症の予防という観点からその基礎的資料を得るために *in vitro* で行ったものであり、この結果は人体内に摂取されたアニサキス幼虫に対するアルコール飲料の致死効果を直接示すものではないが、数種のアルコール飲料に対するアニサキス幼虫の動態を初めて観察したものである。*In vivo* においては、アルコールと胃液が混合した状態でアニサキス幼虫に作用すると考えられるが、早坂ら<sup>7)</sup>の報告によると、アニサキス幼虫は健康人より採取した胃液中では240分以上生存し、日本酒では約90分で全滅しているが、日本酒を同量および3倍量の胃液で薄めた場合、それぞれ全滅までの時間が120分、240分以上に延長された。この結果から、酸による致死効果は低く、むしろアルコールの致死効果が減弱されたと考えられるが、彼らの用いた胃液は pH が5.8~6.2と高く、このことに関しては人工胃液 (pH 1.5) を用い、pH の影響について詳しく調べたい。また、梅抽出成分のアニサキス幼虫に対する致死効果の同定や  $\text{CO}_2$  の幼虫に及ぼす影響およびその作用機序、さらにアルコール飲料中で運動性が低下した幼虫の感染能力についても検討したい。

稿を終えるに当たり、各種飲料液中の溶存  $\text{CO}_2$  量の測定法に関してご助言頂いた本学生化学 (II) 教室の原野昭雄助教授に深く感謝いたします。

## 文 献

- 1) 石倉 肇, 高橋秀史, 佐藤昇志, 松浦見洋, 今信一郎, 菊池浩吉, 林 俊治, 中村健治, 飯野治彦: 単クローン抗体を利用した最新の血清免疫診断法の普及により変化した胃アニサキス症と腸アニサキス症との発生率の変化. *Clin Parasitol* 8: 87-92, 1997
- 2) 山本 馨, 榑崎雅信: アニサキス症の新しい治療法. *Minophagen Medical Review* 39: 137-138, 1994
- 3) 粕谷志郎, 後藤千寿, 大友弘士: アニサキス症の予防法の試み-殺虫効果のある食品のスクリーニング. *感染症学雑誌* 62: 1152-1156, 1988
- 4) 後藤千寿, 粕谷志郎, 高橋優三: シソ (*Perilla frutescens*) とショウガ (*Zingiber officinale*) 成分の抗幼虫作用について. *岐阜大医紀* 43: 498-508, 1995
- 5) Kasuya S, Goto C, Koga K, Ohtomo H, Kagei N, Honda G: Lethal efficacy of extract from *Perilla frutescens*

- (traditional Chinese medicine) or perillaldehyde on *Anisakis* larvae *in vitro*. Jpn J Parasitol 39: 220-225, 1990
- 6) 川田茂宏: *Anisakis* 症の予防に関する研究 - *Anisakis* 幼虫の抵抗性について - . 大阪医科大誌 26: 224-244, 1968
  - 7) 早坂 滉, 石倉 肇, 水柿 浩, 浅石和昭, 岩野英明, 高木良三: アニサキス症の予防に関する研究 - とくに alcohol, allyl- & phenyl-isothiocyanate および胃液の混合液中におけるアニサキス幼虫の抵抗性について - . 北海道外科雑誌 14: 167-171, 1969