

平成 21 年 6 月 15 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790415
 研究課題名 (和文) ブラジル料理中ヘテロサイクリックアミン含有量測定と摂取量把握のための質問票の開発
 研究課題名 (英文) Heterocyclic amines content in Brazilian foods and development of questionnaire for assessing heterocyclic amine intake
 研究代表者
 岩崎 基 (IWASAKI MOTOKI)
 国立がんセンターがん予防・検診研究センター・予防研究部・室長
 研究者番号：60392338

研究成果の概要：

ブラジル在住日系人のヘテロサイクリックアミン摂取量を把握するための質問票を開発し、加熱食品中のヘテロサイクリックアミン含有量データベースを作成するために、ブラジルでよく用いられる調理法を用いて肉・魚類を調理しヘテロサイクリックアミンの分析を行った。その結果、食材、調理法、焼き具合 (3-4 段階)、マリネの有無、皮の有無などの条件別のデータベースが整備され、質問票により摂取量推定が可能となった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	0	1,900,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	420,000	3,720,000

研究分野:医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：ヘテロサイクリックアミン、発がん物質、がん、日系移民、疫学

1. 研究開始当初の背景

移民を対象としたがんの罹患特性や発生要因に関する疫学研究は、これまでもがん発生における環境要因の役割についての重要な情報を提供してきた。我々のこれまでの研究においても、ブラジル在住日系人の疾病構造の違いが観察されている (1,2,3)。なかでも前立腺がんや乳がんは、ハワイ在住日系人、ブラジル在住日系人ともに日本人に比べて高い罹患率が観察されている。一方、大腸がんはハワイ在住日系人では高い罹患率が見られるものの、ブラジル在住日系人では日本在住者と同程度であった (4)。このような疾病構造の違いは、食生活をはじめとする環境

要因の違いに起因すると考えられる。実際に我々が行った生活習慣に関する調査では、ブラジル在住日系人は日本在住者に比べて、コーヒー、砂糖、パン、果汁、牛肉、大豆以外の豆類、牛乳・乳製品、チーズなどを食べる頻度が高いことが観察されている (4,5)。

近年、日本人の大腸がんが増加しているが、その危険因子の一つに赤身肉がある。しかし赤身肉の摂取そのものによってリスクが上昇するのか、または調理によって発生するヘテロサイクリックアミンなどの発がん性物質によってリスクが上昇するのかはいまだ結論が出ていない (6)。ヘテロサイクリックアミンは肉や魚などを加熱調理した際に生

成されるが、その生成には調理時の温度、時間などの条件が関係しており、調理方法によって生成される量が異なることが知られている (7)。シュラスコはブラジル式のバーベキューであるが、米国などで一般的に行われているバーベキューとは調理方法が異なる。一般的なバーベキューは直火で短期間に肉を焼くのに対して、シュラスコは厚くカットした肉を炭の炎に直接あてず、遠火で長時間かけて焼くという特徴がある。そのためにヘテロサイクリックアミンが生成されにくく、食品中の含有量も少ないと推測されるが実際のところは不明である。

このようにブラジル在住日系人が日本在住者よりも牛肉をよく食べるにも関わらず、大腸がん死亡率・罹患率が同程度にとどまっている背景には調理方法の違いによるヘテロサイクリックアミンの摂取量に違いがあることが仮説として考えられる。したがってブラジル在住日系人を対象に、ヘテロサイクリックアミンの摂取量を推定し、大腸がんとの関連を検討することは、日系人だけでなく日本人のがん発生とその予防を考える上で極めて重要なエビデンスとなり得る。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ブラジルに居住する日本人を対象に、ヘテロサイクリックアミンと大腸がんの関連を検討するための疫学研究を実施するにあたり、対象者のヘテロサイクリックアミン摂取量推定のための質問票の開発し、摂取量推定に必要な加熱食品中のヘテロサイクリックアミン含有量データベースを作成することである。さらにブラジル特有の調理法におけるヘテロサイクリックアミン含有量を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 食品サンプルの収集

ブラジルに居住する日系人を対象に、面接法により対象者個人の習慣的な食品・栄養素摂取量が把握できるように開発された食物摂取頻度調査票に掲載されている食品からヘテロサイクリックアミンが生成される可能性のある項目を抽出した (8)。本研究では、牛肉、豚肉、鶏肉、ハンバーグ、ソーセージ、イワシ、サケを調理の対象とし、ブラジルでよく用いられる調理法 (パンフライ、グリル、シュラスコ) を用いて、3-4 段階の焼き具合、マリネの有無、皮の有無などの条件別に調理した。

具体的には、牛肉はパンフライ、グリル、シュラスコの3種類の調理法について、それぞれ4段階の焼き具合 (rare, medium, well-done, very well-done) およびマリネの有無別に調理した。豚肉はパンフライとシュラスコで調理し、パンフライについて

は3段階の焼き具合 (medium, well-done, very well-done) およびマリネの有無別に調理した。鶏肉は皮付きと皮なしを準備し、パンフライ、グリル、シュラスコの3種類の調理法について、それぞれ3段階の焼き具合 (medium, well-done, very well-done) およびマリネの有無別に調理した。ハンバーグは、パンフライで3段階の焼き具合

(medium, well-done, very well-done) 別に調理した。ソーセージはシュラスコで調理した。イワシは、パンフライで3段階の焼き具合 (medium, well-done, very well-done) およびマリネの有無別に調理した。サケは皮付きと皮なしを準備し、パンフライで3段階の焼き具合 (medium, well-done, very well-done) およびマリネの有無別に調理し、シュラスコで3段階の焼き具合 (medium, well-done, very well-done) 別に調理した。

本研究では調理法を以下のように定義した。パンフライは油を使いフライパンで焼くこと、グリルは油を使わずにフライパンで焼くこと、シュラスコは、炭火で長時間かけて焼くこととした。焼き具合は内部温度を指標として、60度を「rare」、70度を「medium」、80度を「well-done」、90度を「very well-done」とした。またマリネのレシピは典型的なものをサンパウロ在住の日系人栄養士に提供してもらった。調理は国立がんセンターがん予防・検診研究センター予防研究部に所属する栄養士らが行った。また調理した食品サンプルは、分析まで-20℃の冷凍庫に保管した。

(2) 分析方法

ヘテロサイクリックアミンの分析は、2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)、2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)、2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)、2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQ)、2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (4,8-DiMeIQx)、2-amino-3,7,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (7,8-DiMeIQx)、3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trp-P-1)、3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trp-P-2)、2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (AαC)、2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole (Glu-P1)の10項目を対象とした。食品サンプル5gをブルーレイオン吸着法により前処理し (9)、液体クロマトグラフ

質量分析計を用いて分析した (10, 11)。分析は、ひとつの食品あたり 3 サンプルずつ分析した。今回の分析条件における検出限界は、0.11 (AαC)、0.21 (Glu-P-1)、0.68 (Trp-P-1)、0.88 (Trp-P-2)、0.17 (IQ)、0.42 (MeIQ)、0.14 (MeIQx)、0.12 (PhIP)、0.33 (7,8-DiMeIQx)、0.45 (4,8-DiMeIQx) ng/mL であった。また日内、日差の変動係数は、それぞれ 4%、6.9%であった。

(3) 解析方法

ひとつの食品につき 3 サンプルの分析値の平均を求めた。回帰分析を用いて、調理法、食材、皮の有無、マリネの有無別に PhIP の値を比較した。有意水準は 10%として、両側検定を行った。

4. 研究成果

PhIP、IQ、MeIQx、MeIQ、4,8-DiMeIQx、7,8-DiMeIQx、Trp-P-1、Trp-P-2、AαC、Glu-P-1 の 10 項目を分析対象としたが、実際に検出されたのは、PhIP、MeIQx、4,8-DiMeIQx の 3 つであった。焼き具合別では very well-done のサンプルのうち 87-100%から検出され、medium では 17-33%であった。どの値もよく焼くほど高くなり、特に very well-done で顕著に高かった (表 1)。ヘテロサイクリックアミンの中では MeIQx、4,8-DiMeIQx に比べて PhIP の値が高い傾向であった。PhIP の最高値はマリネなしの鶏肉をシュラスコで very well-done に焼いたもので 47.3ng/g であった。一方、MeIQx と 4,8-DiMeIQx の最高値は、マリネなしの牛肉をシュラスコで very well-done に焼いたものがそれぞれ 15.4、3.67ng/g であった。この結果の傾向は、これまでの先行研究に一致するものであった (12, 13)。

表 1. 焼き具合別に見たヘテロサイクリックアミンの検出割合とその中央値

焼き具合	N	MeIQx		4,8-DiMeIQx		PhIP	
		%	中央値	%	中央値	%	中央値
R	7	0	-	0	-	29	0.30
M	30	17	0.19	30	0.10	33	0.29
W	30	57	0.14	33	0.20	60	0.63
V	30	100	1.61	87	0.70	97	6.17

N: サンプル数、%: 検出できたサンプルの割合、中央値: ng/g、R: rare、M: medium、W: well-done、V: very well-done

マリネなしの牛肉・鶏肉・サケを very well-done に焼いたサンプルにおける PhIP レ

ベルを調理法別に比較すると、パンフライおよびグリルに比べシュラスコで高い傾向であった (表 2)。これは予想に反する結果であったが、シュラスコは遠火で比較的低温で焼くが、その一方でよく焼くためには時間がかかるため、結果的に生成されるヘテロサイクリックアミン量がむしろ多くなってしまったと考えられる。

表 2. シュラスコを基準に調理法による PhIP レベル (ng/g) の比較: マリネなしのサンプルを very well-done に焼いた場合

	調理法		
	C	P	G
牛肉	31.8	0.58*	16.3*
鶏肉 (皮あり)	47.3	34.6*	27.4*
鶏肉 (皮なし)	34.8	20.7*	29.5*
サケ (皮あり)	22.5	7.37*	-
サケ (皮なし)	28.8	7.31*	-

C: シュラスコ、P: パンフライ、G: グリル
* p<0.10

パンフライで very well-done に焼いたマリネなしのサンプルにおける PhIP レベルを食材別に見ると、牛肉、豚肉、イワシ、サケに比べ鶏肉の値が高い傾向であった (表 3)。この結果は先行研究に一致していた。Sinha らは、グリルで very well-done に焼いた鶏肉の PhIP が 480 ng/g であったのに対し、牛肉は 30 ng/g であったと報告している (12, 13)。

表 3. 鶏肉を基準に食材による PhIP レベル (ng/g) の比較: マリネなしのサンプルを very well-done に焼いた場合

調理法	食材				
	鶏肉	牛肉	豚肉	イワシ	サケ
P	34.6	0.58*	7.25*	2.28*	7.37*
G	27.4	16.3*	-	-	-
C	47.3	31.8*	-	-	22.5*

P: パンフライ、G: グリル、C: シュラスコ
* p<0.10

マリネなしの鶏肉・サケを very well-done に焼いたサンプルにおける PhIP レベルを皮の有無別に比較すると、パンフライおよびシュラスコで調理した鶏肉は、皮付きのほうが

高く、一方、シュラスコで調理したサケは皮なしのほうが高かった (表 4)。前述の Sinha らの研究では、皮付きの鶏肉のほうが PhIP の値が低く (12)、本研究の結果とは一致していない。

表 4. 皮の有無による PhIP レベル (ng/g) の比較 : マリネなしのサンプルを very well-done に焼いた場合

食材	調理法	皮	
		あり	なし
鶏肉	パンフライ	34.6	20.7*
鶏肉	グリル	27.4	29.5
鶏肉	シュラスコ	47.3	34.8*
サケ	パンフライ	7.37	7.31
サケ	シュラスコ	22.5	28.8*

* p<0.10

very well-done に焼いたサンプルにおける PhIP レベルをマリネの有無別で比較すると、調理法、食材、皮の有無によらず、マリネ無しに比べてありでは値が有意に低かった (表 5)。これは先行研究に一致する結果であった。本研究に用いたマリネのレシピは、調理法や食材によって異なるが、調理法や食材によらずマリネありのサンプルではヘテロサイクリックアミンのレベルが低かった。したがって、マリネのレシピによらずにマリネにはヘテロサイクリックアミンの生成を抑制する作用があるのかもしれない。一方で、マリネの種類によっては、逆にヘテロサイクリックアミンの生成を増強するという報告もある (14)。

表 5. マリネの有無による PhIP レベル (ng/g) の比較 : very well-done に焼いたサンプルの場合

食材	調理法	マリネ	
		なし	あり
牛肉	P	0.58	0.05*
牛肉	G	16.3	4.64*
牛肉	C	31.8	0.56*
豚肉	P	7.25	0.30*
鶏肉 (皮あり)	P	34.6	0.79*
鶏肉 (皮あり)	G	27.4	0.29*
鶏肉 (皮あり)	C	47.3	1.68*
鶏肉 (皮なし)	P	20.7	ND
鶏肉 (皮なし)	G	29.5	0.58*
鶏肉 (皮なし)	C	34.8	3.69*
イワシ	P	2.28	0.53*
サケ (皮あり)	P	7.37	6.17
サケ (皮なし)	P	7.31	7.41

P: パンフライ、G: グリル、C: シュラスコ、

ND: 検出されず

* p<0.10

今回の検討では、ブラジルに特徴的な調理法であるシュラスコで調理した食品中のヘテロサイクリックアミン量が、その他の調理法よりも多いことが明らかになった。またマリネによりヘテロサイクリックアミンの生成が抑えられることから、摂取量を把握する際にはマリネの有無も考慮すべきである。

また本研究により、ブラジル在住日系人のヘテロサイクリックアミン摂取量を把握する上で必要となる食材、調理法、焼き具合 (3-4 段階)、マリネの有無、皮の有無などの条件別のヘテロサイクリックアミン含有量データベースが整備された。したがって、食物摂取頻度調査票から計算された食品別摂取量データと本研究で構築したデータベースからヘテロサイクリックアミンの摂取量の推定が可能となった。今後は、質問票から推定した摂取量の妥当性を検討するために、毛髪中のヘテロサイクリックアミンレベルとの比較を行う予定である。

〔参考文献〕

1. Tsugane S, Gotlieb SL, Laurenti R, de Souza JM, Watanabe S. Cancer mortality among Japanese residents of the city of Sao Paulo, Brazil Int J Cancer 1990;45:436-439.
2. Tsugane S, de Souza JM, Costa ML Jr, Mirra AP, Gotlieb SL, Laurenti R, Watanabe S. Cancer incidence rates among Japanese immigrants in the city of Sao Paulo, Brazil, 1969-78. Cancer Causes Control 1990;1:189-193.
3. Iwasaki M, Mameri CP, Hamada GS, Tsugane S. Cancer mortality among Japanese immigrants and their descendants in the state of Sao Paulo, Brazil, 1999-2001. Jpn J Clin Oncol 2004;34:673-680.
4. Tsugane S, Hamada GS, Karita K, Tsubono Y, Laurenti R. Cancer patterns and lifestyle among Japanese immigrants and their descendants in the city of Sao Paulo, Brazil. Gann Monograph on Cancer Research 1996;44:43-50.
5. Tsugane S, Hamada GS, Souza JM, Gotlieb SLD, Takashima Y, Todoriki H, et al.. Lifestyle and health related factors among randomly selected Japanese residents in the city of São Paulo, Brazil, and their comparisons with Japanese in Japan. J Epidemiol 1994;4:37-46.
6. Norat T, Lukanova A, Ferrari P, Riboli E. Meat consumption and colorectal cancer risk: dose-response meta-analysis of

epidemiological studies. *Int J Cancer*. 2002;98(2):241-56.

7. Skog K. Problems associated with the determination of heterocyclic amines in cooked foods and human exposure. *Food Chem Toxicol*. 2002;40(8):1197-203.

8. Sharma S, Iwasaki M, Kunieda C, Cao X, Ishihara J, Hamada G, Miyajima NT, Tsugane S, Le Marchand L. Development of a Quantitative Food Frequency Questionnaire for assessing food, nutrient, and heterocyclic aromatic amine intake in Japanese Brazilians for a colorectal adenoma case-control study. *Int J Food Sci Nutr* 2009;20:1-12.

9. Hayatsu, H. Cellulose bearing covalently linked copper phthalocyanine trisulphonate as an adsorbent selective for polycyclic compounds and its use in studies of environmental mutagens and carcinogens. *J Chromatogr* 1992;597:37-56.

10. Kataoka, H., Pawliszyn, J. Development of in-tube solid-phase microextraction/liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry for the analysis of mutagenic heterocyclic amines. *Chromatographia* 1999;50:532-538.

11. Kataoka, H., Nishioka, S., Kobayashi, M., Hanaoka, T., Tsugane, S. Analysis of mutagenic heterocyclic amines in cooked food samples by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detector. *Bull Environ Contam Toxicol* 2002;69:682-689.

12. Sinha, R., Rothman, N., Brown, E. D., Salmon, C. P., Knize, M. G., Swanson, C. A., Rossi, S. C., Mark, S. D., Levander, O. A., Felton, J. S. High concentrations of the carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-[4,5-b]pyridine (PhIP) occur in chicken but are dependent on the cooking method. *Cancer Res* 1995;55:4516-4519.

13. Sinha, R., Rothman, N., Salmon, C. P., Knize, M. G., Brown, E. D., Swanson, C. A., Rhodes, D., Rossi, S., Felton, J. S., Levander, O. A. Heterocyclic amine content in beef cooked by different methods to varying degrees of doneness and gravy made from meat drippings. *Food Chem Toxicol* 1998;36:279-287.

14. Nerurkar, P. V., Le Marchand, L., Cooney, R. V. Effects of marinating with Asian marinades or western barbecue sauce on PhIP and MeIQx formation in barbecued beef. *Nutr Cancer* 1999;34:147-152.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Sharma S, Iwasaki M, Kunieda C, Cao X, Ishihara J, Hamada G, Miyajima NT, Tsugane S, Le Marchand L. Development of a Quantitative Food Frequency Questionnaire for assessing food, nutrient, and heterocyclic aromatic amine intake in Japanese Brazilians for a colorectal adenoma case-control study. *Int J Food Sci Nutr* 20:1-12, 2009. (査読有り)
2. Iwasaki M, Hamada GS, Nishimoto IN, Netto MM, Motola J Jr, Laginha FM, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, Kusama R, Kobayashi M, Ishihara J, Yamamoto S, Hanaoka T, Tsugane S. Isoflavone, polymorphisms in estrogen receptor genes and breast cancer risk in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. *Cancer Sci*. 2009 Feb 25. [Epub ahead of print] (査読有り)
3. Iwasaki M, Hamada GS, Nishimoto IN, Netto MM, Motola J Jr, Laginha FM, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, Kusama R, Kobayashi M, Ishihara J, Yamamoto S, Hanaoka T, Tsugane S. Dietary isoflavone intake and breast cancer risk in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 Sep 6. [Epub ahead of print] (査読有り)
4. Iwasaki M, Mameri CP, Hamada GS, Tsugane S. Secular trends in cancer mortality among Japanese immigrants in the state of São Paulo, Brazil, 1979-2001. *Eur J Cancer Prev*. 17:1-8, 2008. (査読有り)

[学会発表] (計 2 件)

1. Iwasaki M, Hamada GS, Nishimoto IN, Netto MM, Motola J Jr, Laginha FM, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, Kusama R, Kobayashi M, Ishihara J, Yamamoto S, Hanaoka T, Tsugane S. Dietary isoflavone intake, polymorphisms in estrogen receptor genes and the risk of breast cancer in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. XVIII IEA World Congress of Epidemiology, September 20-24, 2008, Porto Alegre, Brazil.
2. Sharma S Iwasaki M, Kunieda C, Cao X, Ishihara J, Hamada G, Miyajima NT, Tsugane S, Le Marchand L. Development of a quantitative food frequency questionnaire

(QFFQ) to assess food, nutrient and heterocyclic amine intake in Japanese Brazilians. 7th International Food Data Conference-Food Composition and Biodiversity. October 2007, São Paulo, Brazil.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩崎 基 (IWASAKI MOTOKI)

国立がんセンターがん予防・検診研究センター・予防研究部・室長

研究者番号：60392338

(2) 研究協力者

片岡 洋行 (KATAOKA HIROYUKI)

就実大学・薬学部生物薬学科・教授

研究者番号：80127555

Gerson Shigueaki Hamada

Nikkei Disease Prevention Center・

Director

研究者番号：