

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24501366

研究課題名(和文)日本人および日系人におけるヘテロサイクリックアミンの曝露評価に関する研究

研究課題名(英文) Exposure assessment of heterocyclic aromatic amines among Japanese and Japanese Brazilians.

研究代表者

岩崎 基 (IWASAKI, Motoki)

独立行政法人国立がん研究センター・がん予防・検診研究センター・部長

研究者番号：60392338

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：日本人および日系人を対象に食物摂取頻度調査票によるヘテロサイクリックアミン摂取の曝露評価法の確立を目指した研究を実施した。日本人を対象とした食物摂取頻度調査票から推定したヘテロサイクリックアミン摂取量が、毛髪中PhIP濃度との比較によって疫学研究における対象者のランキングとして妥当であることを示唆する結果を得た。しかし日系人を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性については、その算出方法など更なる改善の必要性を示唆する結果であった。また毛髪中PhIP濃度を曝露指標とした場合、日本人より日系人の濃度が高い傾向にあることが示された。

研究成果の概要(英文)：We conducted validation studies using PhIP level in hair to establish the method of exposure assessment for heterocyclic aromatic amines (HAAs) among Japanese and Japanese Brazilians. The validation study in Japanese suggested that our food frequency questionnaire (FFQ) for Japanese is reasonably valid for the assessment of HAA intake. On the other hand, the validation study in Japanese Brazilians suggested that the assessment of HAA intake by FFQ for Japanese Brazilians should be revised. When PhIP level in hair was used as exposure indicator, it was higher in Japanese Brazilians than Japanese.

研究分野：がん疫学

キーワード：曝露評価 生体試料 食物摂取頻度調査票 妥当性研究 日系人

1. 研究開始当初の背景

大腸がんの確実なリスク要因に赤肉がある。しかし、赤肉そのものによってリスクが上昇するのか、または加熱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。これはヘテロサイクリックアミン摂取量を評価した疫学研究が少なく、ヒトに対するエビデンスが不足しているためである。

そこで我々は、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の構築(1)、既存の食物摂取頻度調査票からのヘテロサイクリックアミン摂取量の推定方法の開発(2)、毛髪中ヘテロサイクリックアミン濃度をゴールドスタンダードとしたヘテロサイクリックアミン摂取量の妥当性の検討を行い(3,4)、日本人におけるヘテロサイクリックアミン摂取量の評価法の確立を目指してきた。しかし、妥当性研究の対象者が成人ボランティア 20 人と小規模であったため、残された課題は一般住民を対象にもう少し大きな規模で検討することである。

一方、日系人を対象としたヘテロサイクリックアミン摂取量の評価法の検討も行っている。我々の検討では、サンパウロ在住日系人は日本在住者よりも牛肉をよく食べるにもかかわらず、1970 年代の大腸がん罹患率および 1980 年前後の死亡率に大きな違いは見られなかった(5,6)。これとは対照的にハワイ在住日系人の同時期の罹患率はすでに米国人並みに高い値であった(5)。これらの知見は大腸がんのリスク要因の分布の違いを反映したものと考えられるが、赤肉摂取の観点からは、調理方法の違いなどの理由により、サンパウロ在住日系人では赤肉の摂取量の割にはヘテロサイクリックアミン摂取量が少ないという仮説が考えられる。

このような背景のもと大腸がんの発生要因を明らかにするために、サンパウロ在住日系人を対象に大腸がんの前がん病変である大腸腺腫の断面研究を行っている。この研究を開始するに当たり、ヘテロサイクリックアミン摂取量の把握を念頭にサンパウロ在住日系人の習慣的な食品・栄養素摂取量を評価するための食物摂取頻度調査票を開発した(7)。また、ヘテロサイクリックアミン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ため、ブラジル特有の調理法を加味したヘテロサイクリックアミン含有量データベースを開発した(8)。さらに、食物摂取頻度調査票から推定した摂取量の妥当性を明らかにするために、上記の断面研究の参加者の一部を対象に妥当性研究を行った。

このように我々は、ヘテロサイクリックアミン曝露と大腸がんリスクとの関連を明らかにするために、日本人および日系人集団を対象に食物摂取頻度調査票による曝露評価法の確立を目指した研究を展開してきた。

2. 研究の目的

本研究では、日本人および日系人におけるヘテロサイクリックアミンの曝露評価法の確立と曝露レベルの違いを明らかにすることを目的として、以下の検討を行う。

- (1) 日本人およびサンパウロ在住日系人を対象とした食事調査データを用いて、それぞれの食物摂取頻度調査票から推定したヘテロサイクリックアミン摂取量について、毛髪中ヘテロサイクリックアミン濃度をゴールドスタンダードとして妥当性を明らかにする。
- (2) 同一条件で分析された毛髪中ヘテロサイクリックアミン濃度を用いて、日本人およびサンパウロ在住日系人における曝露レベルの違いを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 対象者

「国立がん研究センターがん予防・検診研究センターのがん検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究」に参加した 144 人(40 歳から 69 歳の首都圏在住者)のうち、パーマをかけていない、染色をしていない、という条件を満たす対象者 65 人が本研究の分析対象者である。

「サンパウロ在住日系人を対象とした大腸腺腫の断面研究参加者における食物摂取頻度調査票の妥当性研究」に参加した 93 人(40 歳から 74 歳のサンパウロ州在住の日系移民)のうち、パーマをかけていない、染色をしていない、という条件を満たす対象者 46 人が本研究の分析対象者である。

(2) ヘテロサイクリックアミン摂取量の推定方法

食物摂取頻度調査票の回答と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の値から、2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)、2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)、2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQ)、3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trp-P-1)の摂取量を計算し、これらの合計を総ヘテロサイクリックアミン摂取量とした。

(3) 毛髪中ヘテロサイクリックアミンの分析方法

毛髪サンプル 1g をブルーキチン吸着法により前処理を行い、液体クロマトグ

ラフ・タンデム型質量分析計 (LC-ESI/MS/MS) により、PhIP の濃度を分析した。また毛髪中メラニンの分析を行い、PhIP 濃度の調整に用いた。

(4) 統計解析

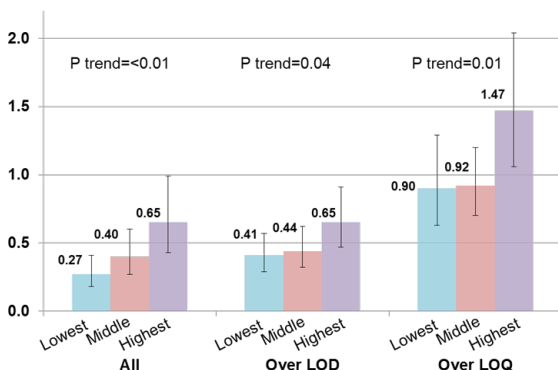
毛髪中 PhIP 濃度と食物摂取頻度調査票から算出した総ヘテロサイクリックアミンおよび PhIP 摂取量とのスピアマンの順位相関係数を算出した。摂取量は残差法を用いてエネルギー調整を行った。また、PhIP 摂取量の 3 分位点を用いて 3 群に分け、群ごとに性別、年齢、body mass index で調整した毛髪中 PhIP 濃度の幾何平均値を算出すると同時に、傾向性の検定を行った。

4. 研究成果

(1) 「国立がん研究センターがん予防・検診研究センターのがん検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究」のデータを用いて、日本人を対象とする食物摂取頻度調査票から推定したヘテロサイクリックアミン摂取量の妥当性の検討

検出下限値以上の値であった 57 人の毛髪中 PhIP 濃度は、平均 53.8 pg/g hair であった。また 1 日あたりの総ヘテロサイクリックアミンの平均摂取量は、男性が 44.1 ng、女性が 35.4 ng、PhIP の平均摂取量は、男性が 27.5 ng、女性が 20.8 ng であった。

毛髪中 PhIP 濃度とヘテロサイクリックアミン摂取量との間には有意な正の相関が見られた。メラニン濃度で調整した毛髪中 PhIP 濃度とエネルギー調整した総ヘテロサイクリックアミン摂取量との間のスピアマンの順位相関係数は、対象者全体 (65 人) で 0.34、検出下限値以上の対象者 (57 人) に限定した場合が 0.22、定量限界値以上の対象者 (24 人) に限定した場合が 0.23 であった。また、メラニン濃度で調整した毛髪中 PhIP 濃度とエネルギー調整した PhIP 摂取量との間のスピアマンの順位相関係数は、対象者全体で 0.35、検出下限値以上の対象者に限定した場合が 0.21、定量限界値以上の対象者に限定した場合が 0.34 であった。



PhIP の摂取量に基づき 3 群に分け、毛髪中 PhIP 濃度の幾何平均値を比べたところ、摂取量の増加に伴い、毛髪中濃度も有意な増加が見られた (上図)。

我々の先行研究では、メラニン調整毛髪中 PhIP 濃度と摂取量の相関が 0.47 であった(4)。一方、今回の結果は 0.35 となった。このように相関係数が異なる要因については以下の 3 点が考えられる。

毛髪中 PhIP 濃度の分析方法が、LC-ESI/MS から LC-ESI/MS/MS へと分析機器を変更したことにより、質量分析の精度が大幅に改善されたこと。

先行研究の対象者の年齢層は 27-57 歳であったが、今回は 40-69 歳であるなど、対象者の特性の違いによるもの。

先行研究では多目的コホート研究で使用した食物摂取頻度調査票を用いてヘテロサイクリックアミンの摂取量を推定したが、今回はその食物摂取頻度調査票を都市部住民に適用するために一部の食品項目を改訂したものをを用いたことに起因するもの。

このような違いはあるものの、今回の結果は、日本人を対象とした食物摂取頻度調査票から推定したヘテロサイクリックアミン摂取量が、疫学研究における対象者のランキングとして妥当であることを示唆するものである。

(2) 「サンパウロ在住日系人を対象とした大腸腺腫の断面研究参加者における食物摂取頻度調査票の妥当性研究」のデータを用いて、日系人を対象とする食物摂取頻度調査票から推定したヘテロサイクリックアミン摂取量の妥当性の検討

PhIP が検出された対象者のうち、PhIP 濃度および総ヘテロサイクリックアミン摂取量に外れ値を持つ対象者を除き 33 人を解析対象とした。定量限界値以上の値であった 30 人の平均 PhIP 濃度は 137.9 pg/g hair であった。また 1 日あたりの総ヘテロサイクリックアミンの平均摂取量は 12.2 ng であった。

毛髪中 PhIP 濃度とエネルギー調整した総ヘテロサイクリックアミン摂取量との間のスピアマンの順位相関係数は、対象者全体 (33 人) で 0.24、定量限界値以上の対象者 (30 人) に限定した場合が 0.11 であり、いずれも統計的には有意でないが弱い正の相関がみられた。しかし、メラニン濃度で調整した PhIP 濃度とエネルギー調整した総ヘテロサイクリックアミン摂取量との間のスピアマンの順位相関係数は、対象者全体で 0.09、定量限界値以上の対象者に限定した場合が -0.07 であった。

同様に、毛髪中 PhIP 濃度とエネルギー調整した PhIP 摂取量との間のスピアマンの順位相関係数は、対象者全体で

0.26、定量限界値以上の対象者に限定した場合が0.17であり、いずれも統計的には有意でないが弱い正の相関がみられた。しかし、メラニン濃度で調整したPhIP濃度とエネルギー調整したPhIP摂取量との間のスピアマンの順位相関係数は、対象者全体で0.12、定量限界値以上の対象者に限定した場合が-0.01であった。

PhIPの摂取量に基づき3群に分け、毛髪中PhIP濃度の幾何平均値を比べたところ、摂取量の増加に伴う、毛髪中濃度の増加は観察されなかった。

この日系人を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性については、その算出方法など更なる改善の必要性を示唆する結果であった。

- (3) 日本人およびサンパウロ在住日系人における曝露レベルの違いの検討
「国立がん研究センターがん予防・検診研究センターのがん検診受診者を対象とした食物摂取頻度調査票の妥当性研究」の対象者において、定量限界値以上の対象者24人の毛髪中PhIP濃度の平均値(標準偏差)は87.1(47.4) pg/g hair、中央値(第1-第3四分位)は74.7(56.9-98.3) pg/g hairであった。一方、「サンパウロ在住日系人を対象とした大腸腺腫の断面研究参加者における食物摂取頻度調査票の妥当性研究」の対象者については、定量限界値以上の対象者が37人であり、平均値(標準偏差)は145.2(96.4) pg/g hair、中央値(第1-第3四分位)は94.0(78.7-198.3) pg/g hairであった。このように毛髪中PhIP濃度を曝露指標とした場合には、日本人集団に比べ日系人集団の方が高い傾向が見られた。

【引用文献】

- (1) 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;69:682-9.
- (2) Kobayashi M, Hanaoka T, Nishioka S, Kataoka H, Tsugane S. Estimation of dietary HCA intakes in a large-scale population-based prospective study in Japan. *Mutat Res*. 2002;506-507:233-41.
- (3) Hashimoto H, Hanaoka T, Kobayashi M, Tsugane S. Analytical method of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in human hair by column-switching liquid

chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2004;803:209-13.

- (4) Kobayashi M, Hanaoka T, Tsugane S. Validity of a self-administered food frequency questionnaire in the assessment of heterocyclic amine intake using 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) levels in hair. *Mutat Res*. 2007;630:14-9.
- (5) 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;1:189-93.
- (6) 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;45:436-9.
- (7) 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 amines intake in Japanese Brazilians for a colorectal adenoma case-control study. *Int J Food Sci Nutr*. 2009;60 Suppl 7:128-39.
- (8) Iwasaki M, Kataoka H, Ishihara J, Takachi R, Hamada GS, Sharma S, Le Marchand L, Tsugane S. Heterocyclic amines content of meat and fish cooked by Brazilian methods. *J Food Compos Anal*. 2010;23:61-9.

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3件)

Budhathoki S, Iwasaki M, Yamaji T, Sasazuki S, Takachi R, Sakamoto H, Yoshida T, Tsugane S. Dietary heterocyclic amine intake, NAT2 genetic polymorphism, and colorectal adenoma risk: the colorectal adenoma study in Tokyo. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2015 Mar;24(3):613-20. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-14-1051. (査読有)

Iwasaki M, Mukai T, Takachi R, Ishihara J, Totsuka Y, Tsugane S. Validity of a self-administered food frequency questionnaire in the estimation of heterocyclic aromatic

amines. Cancer Causes Control. 2014 Aug;25(8):1015-28.

doi:10.1007/s10552-014-0401-7. (査読有)

Pakseresht M, Miyajima NT, Shelton A, Iwasaki M, Tsugane S, Le Marchand L, Sharma S. Validation of a quantitative FFQ for a study of diet and risk of colorectal adenoma among Japanese Brazilians. Public Health Nutr. 2013 Aug;16(8):1445-53. doi: 10.1017/S1368980012003692. (査読有)

[学会発表](計1件)

岩崎 基, 津金 昌一郎. 移民研究から推定されるがん予防効果. 第72回日本癌学会学術総会(招待講演), 2013年10月3-5日、神奈川県横浜市.

[その他]

独立行政法人国立がん研究センター・がん予防・検診研究センター予防研究グループホームページ

<http://epi.ncc.go.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩崎 基 (IWASAKI MOTOKI)

独立行政法人国立がん研究センター・がん予防・検診研究センター・部長

研究者番号: 60392338

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

津金 昌一郎 (TSUGANE SHOICHIRO)

独立行政法人国立がん研究センター・がん予防・検診研究センター・センター長

研究者番号: 40179982