

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350125

研究課題名(和文)生活習慣病及び食習慣を考慮した食品中化学物質の新規リスク評価手法の確立

研究課題名(英文)New risk assessment method for chemicals in foods considering lifestyle disease and eating habit

研究代表者

増田 修一(Masuda, Shuichi)

静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授

研究者番号：40336657

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：アクリルアミド(AA)は食品中変異・発がん物質であり、薬物代謝酵素CYP2E1により代謝活性化され、強力な発がん物質であるグリシドアミド(GA)に変換される。CYP2E1は糖尿病やアルコール摂取時に発現量が増強する。したがって、糖尿病の発症やアルコール摂取により、AAの遺伝毒性が変動すると考えられる。本研究では、糖尿病モデル及びアルコール摂取マウスにAAを投与し、AAの遺伝毒性の変動を評価した。正常群に比べ、糖尿病モデル群及びアルコール摂取群で、小核誘発能が増強し、各臓器でDNA損傷性が増強したことから、生活習慣病や食習慣により、AA等の化学物質の毒性が変動することが推測された。

研究成果の概要(英文)：Acrylamide (AA) is a carcinogen in food. AA is metabolized to glycidamide (GA), more strong carcinogen, by CYP2E1. It has been reported that gene and protein expression of CYP2E1 are induced by diabetes or ingestion of alcohol. Consequently, diabetic condition or alcohol intake state may change the genotoxicity of AA. In this study, we examined the change of AA genotoxicity in diabetic condition and alcohol intake state using genotoxicity tests. Type I diabetic model mice and alcohol-ingested mice were oral-administered with AA. The micronuclei frequency in bone marrow erythrocytes and DNA damage in liver and kidney of diabetic and alcohol-ingested mice treated with AA were significantly increased compared with normal mice. It is thought that genotoxicity of AA might be increased by metabolism activation to GA with increase in expression of CYP2E1 in diabetic condition and alcohol habit.

研究分野：食品衛生学

キーワード：遺伝毒性 生活習慣病 食習慣 アクリルアミド DNA損傷性 染色体異常誘発性 糖尿病 アルコール

1. 研究開始当初の背景

1996年にハーバード大学のがん予防センターから発表されたアメリカ人のがん死亡要因は、喫煙(30%)、食事(30%)、運動不足(5%)、飲酒(3%)であり、全体の68%が生活習慣に關与するものであった。実際、食品中には加熱や調理過程等で生成される物質、さらに食品添加物や農薬、動物用医薬品、かび毒、容器類からの溶出物、土壌や飲料水中の成分など多種多様な物質が含まれており、これらの物質が発がん性を示す可能性は否定できない。食品中の遺伝毒性物質として最も注目されているものとして、ジャガイモなどアスパラギンと炭水化物を多く含む食品をフライなど高温で加熱調理した場合に生成するアクリルアミド(AA)がある。AAは染色体異常誘発能、発がん性、生殖毒性、神経毒性を示すことが確認されており、国際がん研究機関(IARC)では、2A「人におそらく発がん性があるもの」に分類されている。マウスやラットなどの動物試験により、摂取されたAAは速やかに吸収されると、グルタチオン抱合によりN-アセチル-S-(2-カルバモイルエチル)システインとなり、尿中に排泄される。または薬物代謝酵素であるCYP2E1により酸化されて、エポキシド体のグリシダミド(GA)となり、GAはグルタチオン抱合により、N-アセチル-S-(2-カルバモイル-2-ヒドロキシエチル)システイン及びN-アセチル-S-(1-カルバモイル-2-ヒドロキシエチル)システインとなり排泄される。また、AAとGAは血中ヘモグロビンと付加体を形成し、GAはDNAに対しても付加体を形成する。AAの代謝産物であるGAの変異原性はAAよりも強く、GAはin vitro及びin vivoにおいてDNAと付加体を形成することから、AA摂取による遺伝毒性の発現は、主にGAによるものと考えられている。薬物代謝酵素の活性は不変ではなく、年齢差、性差、疾患の有無等の内的要因や食事、飲酒、喫煙、薬物等の外的要因により大きな影響を受ける。食生活においては、飲酒や食事摂取等、CYP2E1の活性を増強する因子が多数存在し、AA等の化学物質の毒性が高まる可能性が考えられる。さらに、近年世界的な問題となっている糖尿病においても、CYP2E1活性が高まる可能性が指摘されている。

2. 研究の目的

これまで、AA等化学物質自身の毒性についての報告は数多く存在するが、それら化学物質とその毒性発現増強に關与する因子を組み合わせた複合的な毒性を評価した報告はほとんどない。したがって、日常生活における化学物質の発がんリスクを考える場合、その遺伝毒性に対する各種疾病や食習慣、またそれに付随するCYP2E1誘導因子の影響を調べる必要がある。これまでに疫学調査により、糖尿病罹患率のがん発症率の増加が報

告されていることから、これらの要因には、食事に含まれる発がん物質が關与している可能性が考えられる。そこで本研究では、実際のヒトの疾病状態や生活様式を考え、CYP2E1誘導因子の中でも強い誘導効果を示す糖尿病発症とエタノール摂取に着目し、AAの毒性における両因子の影響を調べるものとした。

3. 研究の方法

(1)糖尿病時におけるAAの遺伝毒性の変動

ストレプトゾトシンをICRマウス(5週齢、♂)に腹腔内投与して、1型糖尿病モデルマウスを作製した。糖尿病の発症を、血糖値を測定することで確認した。正常マウス及び糖尿病モデルマウスにAAを40mg/kg BWの量で経口投与し、24時間後に肝臓、腎臓、脳、血液、骨髓細胞を採取した。肝臓、腎臓、脳、血液は、DNA損傷性を評価するコメットに供した。骨髓細胞においては、染色体異常誘発性を評価する小核試験に供した。さらに、肝臓におけるCYP2E1遺伝子及びタンパク質の発現量の測定をリアルタイムRT-PCRまたはWestern blotを用いて評価した。

(2)アルコール摂取時におけるAAの遺伝毒性の変動

ICRマウス(5週齢、♂)に50%エタノール水溶液を1日1回5g/kg BWの量で3日間経口投与し、その後、5%エタノール水溶液(1週間)→10%エタノール水溶液(1週間)→15%エタノール水溶液(2週間)の順で計4週間自由摂取させた。水摂取群及びエタノール水溶液摂取群にAAを40mg/kg BWの量で経口投与し、24時間後に肝臓、腎臓、脳、血液、骨髓細胞を採取した。肝臓、腎臓、脳、血液は、DNA損傷性を評価するコメットに供した。骨髓細胞においては、染色体異常誘発性を評価する小核試験に供した。さらに、肝臓におけるCYP2E1遺伝子及びタンパク質の発現量の測定をリアルタイムRT-PCRまたはWestern blotを用いて評価した。

4. 研究成果

(1)糖尿病時におけるAAの遺伝毒性の変動

リアルタイムRT-PCR及びWestern blotを行ったところ、肝臓におけるmRNA、タンパク質レベル共に糖尿病群において

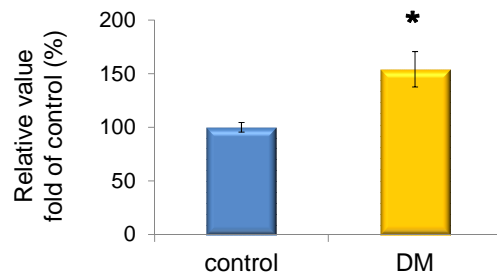


図1 糖尿病マウス肝臓におけるCYP2E1 mRNAの発現

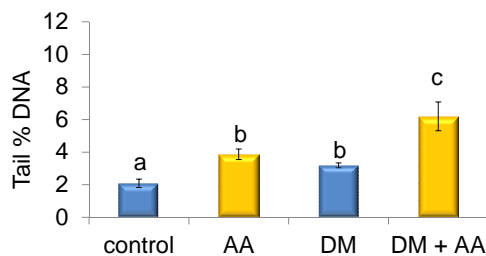


図2 AAを投与された正常及び糖尿病マウスの肝臓におけるDNA損傷性

CYP2E1 発現量の有意な増加が確認された(図1)。正常マウスにAAを投与した群と型糖尿病群にAAを投与した群のDNA損傷性をコメットアッセイを用いて比較したところ、糖尿病群の肝臓において、有意なDNA損傷性の増強が確認できた(図2)。また、腎臓においては、DNA損傷性の上昇傾向が確認された。脳においては有意な差は確認できなかった。小核試験では、糖尿病モデルマウスにAAを投与した群において、正常群と比較して、小核誘発能の上昇傾向が確認された(図3)。

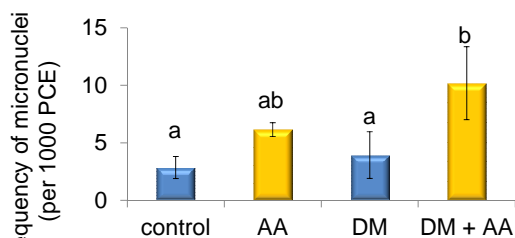


図3 AAを投与された正常及び糖尿病マウスの骨髄における小核誘発性

(2)アルコール摂取時におけるAAの遺伝毒性の変動

リアルタイム RT-PCR 及び Western blot を行ったところ、肝臓における mRNA、タンパク質レベル共にエタノール摂取群において CYP2E1 発現量の有意な増加が確認された(図4)。正常マウスにAAを投与した群と、エタノール摂取したマウスにAAを投与した群のDNA損傷性をコメットアッセイを用いて比較したところ、エタノール摂取群の肝臓において、有意なDNA損傷性の増強が確認

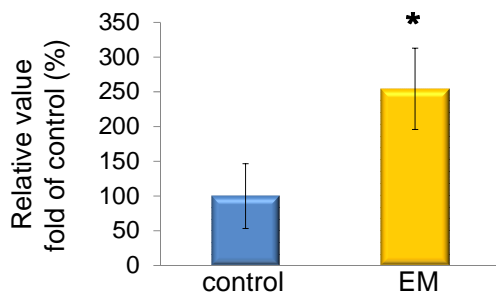


図4 エタノールを摂取したマウス肝臓におけるCYP2E1 mRNAの発現

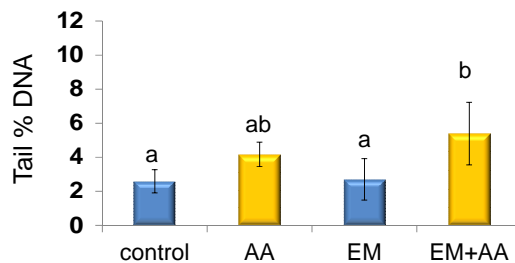


図5 AAを投与されたエタノール摂取マウスの肝臓におけるDNA損傷性

できた(図5)。腎臓、脳においては、DNA損傷性が確認できなかった。小核試験では、エタノールを摂取したマウスにAAを投与した群において、正常群と比較して、小核誘発能の上昇傾向が確認できなかった(図6)。

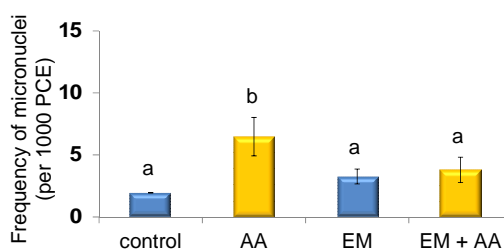


図6 AAを投与されたエタノール摂取マウスの骨髄における小核誘発性

以上の結果より、糖尿病群及びエタノール摂取群において、肝臓における CYP2E1 の発現が優位に増強することが明らかになった。さらに、付随して糖尿病群及びエタノール摂取群にAAを投与することにより、AAの遺伝毒性が増強することが明らかになった。したがって、AAのヒトに対する遺伝毒性を評価する場合には、ヒトの生活習慣病等の疾病状態やアルコール摂取等の食習慣を考慮する必要があると思われる。今後は、AA以外の化学物質を同様に評価し、また、他の生活習慣病状態(肥満や高血圧等)や食習慣(肉食、ベジタリアン等)状態下におけるAA等化学物質の毒性評価を実施する予定である。

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0件)

[学会発表](計1件)

- (1) 内野皓平、島村裕子、増田修一：糖尿病発症時及びアルコール摂取時における食品中変異・発がん物質アクリルアミドの遺伝毒性の変動、第45回日本環境変異原学会(つくば)2016年11月17-18日。(オックスフォードジャーナル賞受賞)

[図書](計0件)

〔産業財産権〕

- 出願状況（計 0 件）
- 取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/foodhygn/index.html>

6．研究組織

(1)研究代表者

増田 修一 (MASUDA, Shuichi)
静岡県立大学・食品栄養科学部・准教授
研究者番号：40336657

(2)研究分担者

島村 裕子 (SHIMAMURA, Yuko)
静岡県立大学・食品栄養科学部・助教
研究者番号：60452025