

「食品中に含まれるヘテロサイクリックアミンの
安全性評価情報に関する調査」

報告書

平成22年3月

株式会社 三菱化学テクノロジー

はじめに

ヘテロサイクリックアミンは、肉や魚などを高温調理することにより、アミノ酸とクレアチンの反応で新たに生成される発がんリスクを持つ物質である。日本で最初に同定され、その後約 20 種が報告されており、国際がん研究機関（IARC）や米国国家毒性プログラム（NTP）では発がん性が認められていることから、その毒性やヒトへの食品安全性についての基礎的情報を調べておくことは重要である。

そこで、本調査では、食品中に含まれるヘテロサイクリックアミンについて、最新の文献、国際機関・諸外国のリスク評価書等の収集を行うとともに、それを摂取した場合における安全性の評価に資する科学的知見の整理・分析を行うことを目的として実施した。

平成 22 年 3 月

株式会社 三菱化学テクノリサーチ

略語

A- α -C	2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole
4-CH ₂ OH-8-MeIQx	2-amino-4-hydroxymethyl-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
DiMeIQx	2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
7,8-DiMeIQx	2-amino-3,7,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
4,8-DiMeIQx	2-amino-3,4,8-tri-methylimidazo trimethylimidazo [4,5-f]quinoxaline
Glu-P-1	2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole
Glu-P-2	2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole
Harman	1-methyl-9H-pyrido[4,3-b]indole
4'-hydroxy-PhIP	2-amino-6-(4-hydroxyphenyl)-1-methylimidazo[4,5-b]pyridine
IQ	2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline
IQx	2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoxaline
MeA- α -C	2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole
MeIQ	2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline
MeIQx	2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
Norharman	9H-pyrido[4,3-b]indole
PhIP	2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine
Tri-MeIQx	2-amino-3,4,7,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline
Trp-P-1	3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole
Trp-P-2	3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole
HCA	heterocyclic amine
GC-MS	Gas chromatography-mass spectrometry

食品中に含まれるヘテロサイクリックアミンの安全性評価情報に関する調査検討会
委員（委員長以外は五十音順）

委員長	中釜 齊	国立がんセンター研究所	副所長
委員	片岡 洋行	就実大学 薬学部薬学科	教授
委員	西川 秋佳	国立医薬品食品衛生研究所	部長
委員	鰐淵 英機	大阪市立大学大学院医学研究科	教授

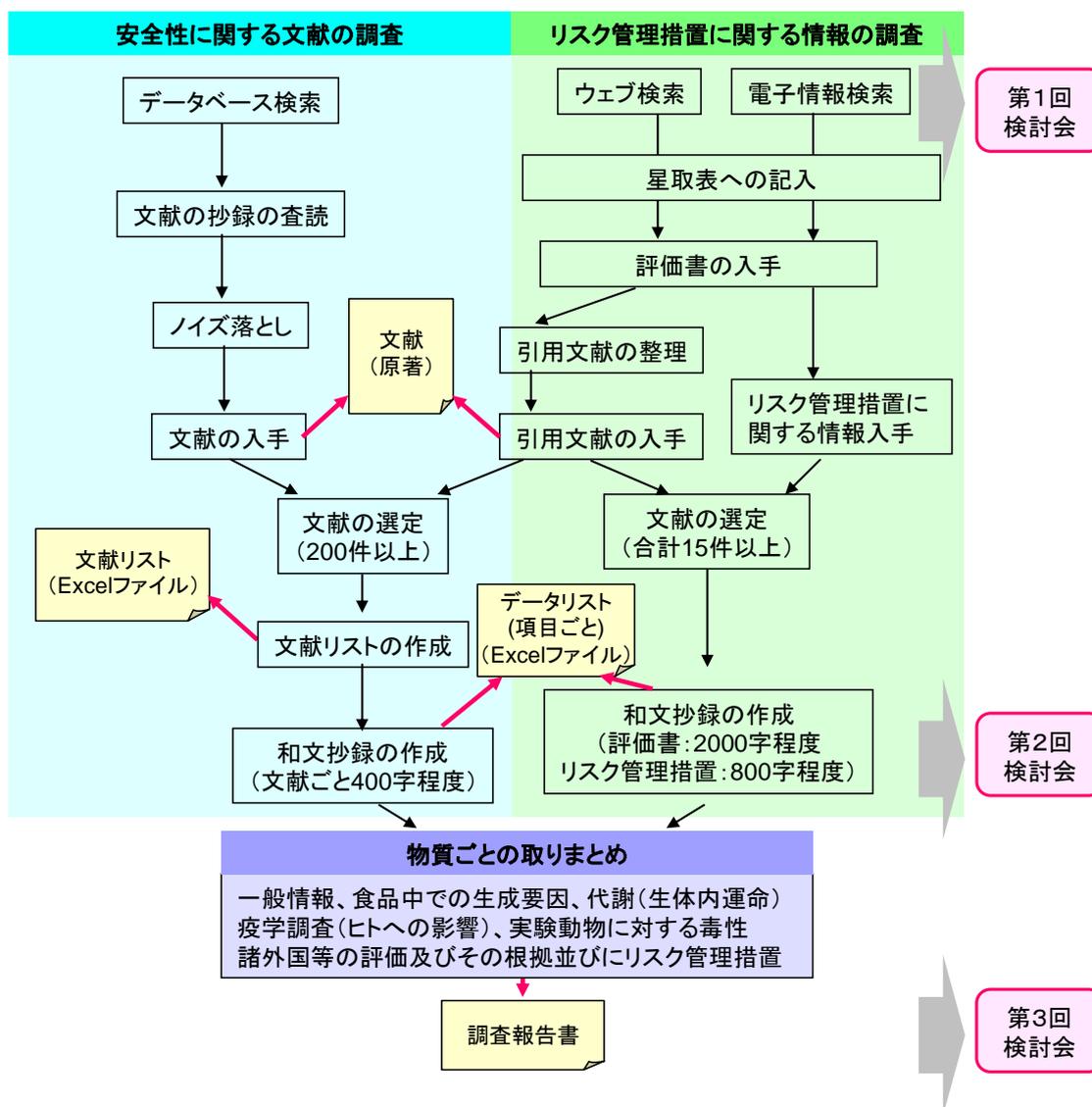
目次

1. 調査の概要.....	1
1. 1 調査方法と調査内容.....	2
2. 文献検索および和文抄録.....	4
2. 1 文献の収集.....	4
2. 2 海外の評価書情報.....	30
2. 3 海外のリスク管理措置情報.....	32
3. 食品中に含まれるヘテロサイクリックアミン.....	33
3. 1 発見と研究の経緯.....	33
3. 2 ヘテロサイクリックアミンの概要.....	33
3. 3 日本におけるヘテロサイクリックアミン関連研究.....	38
4. 物質ごとのまとめ.....	39
4. 1 PhIP.....	39
4. 2 MeIQ.....	83
4. 3 MeIQx.....	102
4. 4 IQ.....	144
4. 5 A- α -C.....	179
4. 6 MeA- α -C.....	201
4. 7 Glu-P-1.....	224
4. 8 Glu-P-2.....	242
4. 9 Trp-P-1.....	256
4. 10 Trp-P-2.....	278

1. 調査の概要

本調査は、食品中に含まれるヘテロサイクリックアミン(HCA)について、最新の文献、国際機関・諸外国のリスク評価書の収集を行うとともに、それらを撰取した場合の安全性評価に資する科学的知見の整理・分析を行うことを目的とした。

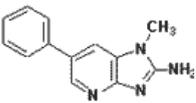
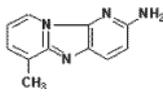
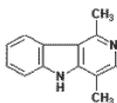
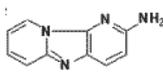
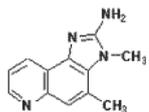
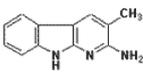
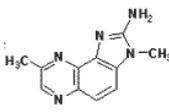
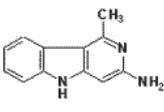
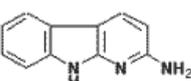
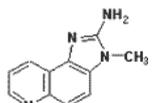
本調査では、HCAのうち調査対象の10物質について、海外の関連機関のホームページの検索や電子情報検索により評価書・リスク管理措置情報を入手し、抄録を作成した。また、入手した評価書中に引用されている文献、および商用データベースによる検索で得られた文献から、調査対象のHCAの安全性評価情報の取りまとめに必要な文献を抽出し、文献リスト、データリストおよび和文抄録集を作成した。次に、これらの情報をもとに、10種の調査対象HCAごとに食品中での生成要因や代謝、ヒトへの影響、毒性、諸外国の評価・リスク管理措置についての整理・分析・取りまとめを行った。文献の選択や和文抄録および物質ごとの取りまとめは、検討会にて委員の意見を聴取して行った。以下に本調査の作業フローを示す。



1. 1 調査方法と調査内容

(1) 調査対象

本調査対象の HCA は、食品中に含まれる以下の表の (1) から(10)の 10 物質とした。

番号	物質名		構造式	番号	物質名		構造式
(1)	PhIP	(2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- <i>b</i>]pyridine)		(6)	Glu-P-1	(2-Amino-6-methyldipyrido[1,2- <i>a</i> :3',2'- <i>d</i>]imidazole)	
(2)	Trp-P-1	(3-Amino-1,4-dimethyl-5 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole)		(7)	Glu-P-2	(2-Amino Dipyrido[1,2- <i>a</i> :3',2'- <i>d</i>]imidazole)	
(3)	MeIQ	(2-Amino-3,4-Dimethylimidazo[4,5- <i>f</i>]quinoline)		(8)	MeA- α -C	(2-Amino-3-methyl-9 <i>H</i> -pyrido[2,3- <i>b</i>]indole)	
(4)	MeIQx	(2-Amino-3,8-Dimethylimidazo[4,5- <i>ff</i>]quinoxaline)		(9)	Trp-P-2	(3-Amino-1-methyl-5 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole)	
(5)	A- α -C	(2-Amino-9 <i>H</i> -pyrido[2,3- <i>b</i>]indole)		(10)	IQ	(2-Amino-3-Methylimidazo[4,5- <i>f</i>]quinoline)	

(2) データベース検索による文献の収集

調査対象 HCA の安全性評価に資する文献を、商用データベースを用いた検索により収集した。データベースとして、TOXLINE、CA、MEDLINE などを使用した。文献検索の期間は、国際評価機関等における評価書中に引用されている文献のうち、最も新しい文献の年から2年遡った年から現在までに限定した。

(3) 評価書およびリスク管理措置に関する情報の収集

調査対象 HCA に関する日本、米国、EU の評価書やリスク管理措置情報を、国際がん研究機構 (IARC) や諸外国の関連機関のホームページおよび保有している情報から収集した。ここで諸外国とは、米国、EU、英国、および豪州・NZ とした。また、リスク管理措置とは、諸外国の評価書および調査研究ならびに現行規制、注意喚起等による情報提供などとした。

(4) 文献リストの作成と文献の選択

上記 (2) の検索で得られた文献、および (3) で得られた評価書およびリスク管理措置に引用されている文献を整理し、文献リスト (エクセル表) を作成した。また、(2) で収集した文献のアブストラクトを査読し、記載されている項目を文献リストに整理した。整理項目は以下の通りである。

ア) 一般情報

存在形態、食品摂取以外のヒトへの暴露、物理化学的性質、生成機構、国内の現行規制、食品中の検出状況、測定方法、検出限界値。

イ) 食品中での生成要因

食品中での生成に影響を及ぼす要因とその程度に関する知見の整理を行う。特に、調理・加工については、その方法、加熱の温度や時間等、生成につながる具体的条件を整理した。

ウ) 代謝 (生体内運命)

ヒトまたは実験動物が調査対象 HCA により暴露された際の代謝等 (吸収、分布・蓄積、代謝、排泄、毒性発現メカニズム) の体内運命。

エ) 疫学調査 (ヒトへの影響)

ヒトが調査対象 HCA により暴露された際の健康影響 (急性毒性、慢性毒性、発がん性、次世代影響[特に、胎児、乳児への影響等])。発がん性については、経口暴露だけでなく、吸入暴露等についても整理した。

オ) 実験動物に対する毒性

動物を用いた各種毒性試験（急性毒性試験、反復投与毒性試験、生殖・発生毒性試験、遺伝毒性試験、発がん性試験）等の毒性情報。該当する毒性試験がない場合には、その旨記載した。

カ) 諸外国等の評価およびその根拠ならびにリスク管理措置

諸外国等の耐容摂取量等の設定の有無とその根拠となった科学的な根拠について、整理を行った。また、諸外国等で行われているリスク管理措置も記載した。

キ) 相互作用

HCA の吸収や代謝に影響を及ぼす物質について、その経路や相互作用を記載した。

(5) 和文抄録の作成

上記(3)で収集した調査対象 HCA に関する海外の評価書およびリスク管理措置に関する情報の原文を精読し、和文抄録を作成した。また、上記(4)で収集した文献のうち、安全性評価に資する文献を選定し、原文を精読して和文抄録を作成した。

(6) データリストの作成

上記(5)の和文抄録の作成時に、原文に記載されているデータを、整理項目ごとに記載し、データリスト（エクセル表）を作成した。

(7) 物質ごとの取りまとめの作成

上記で得られた評価書、リスク管理措置に関する情報、および文献の内容を調査対象 HCA ごとに整理・分析し、前記の整理項目に従って、物質ごとの取りまとめを作成した。

2. 文献検索および和文抄録

2. 1 文献の収集

商用データベース検索および評価書の引用文献から論文情報千数百件を収集し、文献リストを作成した。収集した文献情報のうち、安全性評価に資する文献を選定し、データリスト、および和文抄録を作成した。選定した文献のリストを次表に示した（詳細は資料集参照）。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Abdulkarim B G	新鮮および加工肉製品中のHCA類	Journal of Agricultural and Food Chemistry, (1998) Vol. 46, No. 11, pp. 4680-4687	MeIQx、PhIP、Trp-P-2、harman、norharman	加工肉製品 (各種ソーセージ、肉) 中のHCA量を測定すること、および本アミン生成に与える牛挽肉中の脂肪分の影響を調べること。
Ahn J	HCA類: 2. 調理牛肉での極性・無極性HCA生成に対する天然抽出物の抑制効果	Journal of Food Science, (2005) Vol. 70, No. 4, pp. C263-C268.	極性HCA (IQ、MeIQ、MeIQx、PhIP)、無極性HCA (A- α -C)	天然抽出物 (ブドウ種子抽出物、マツ樹皮抽出物、ローズマリー精油) の、牛肉加熱調理時のHCA生成に対する抑制効果を調査する。
Ahn J	HCA類: 1. 時間と温度の関数としての極性および無極性HCA生成の動力学	Journal of Food Science, (2005) Vol. 70, No. 2, pp. C173-C179.	IQ、MeIQ、MeIQx、PhIP、A-A-C	牛肉におけるHCA生成を時間と温度の関数としてカイネティックモデルを利用し、時間、温度、ブドウ糖およびクレアチン含量の影響を評価する。
Al-Buheissi S Z	ヒト前立腺における発がん性物質活性のためのN-アセチル基転移酵素と硫酸転移酵素活性	Pharmacogenetics and Genomics, (2006) Vol. 16, No. 6, pp. 391-399	IQ	前立腺細胞基質分画を使って、N-OH-IQのフェーズIIエステル化におけるN-アセチル基転移酵素 (NAT) と硫酸転移酵素 (SULT) の役割を調べ、さらにSULT1A1遺伝子型とIQ-DNA付加体レベルの相関性を検査する。
Andreassen A	PhIPはマウス腸腫瘍とApcMin突然変異細胞において遺伝子変化を誘導する	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2006) Vol. 604, No. 1-2, pp. 60-70.	PhIP	B6Min/+マウスの自然発生がんは、18染色体全体の欠落または遺伝子変異によるApc+遺伝子の体細胞欠損と関係している。腸管上皮細胞の形質転換および腫瘍化における、マウスApcと18染色体に対するPhIPの影響を調べ、PhIPがApc+遺伝子を含む染色体18の遺伝子変化を通して細胞形質転換を誘導するという仮説を検証する。また、Apcのヘテロ異型マウスを用いてPhIP誘導がんを自然発生がんにおける染色体18の遺伝子変化を調べる。
Annas A	げっ歯類の血管内皮におけるチトクロムP450A1の局在と変異原性HCAの共有結合	Toxicology, (1998) Vol. 129, No. 2,3, pp. 145-156.	Trp-P-1	チトクロムP450A1に誘導される化学物質の毒性化部位を明らかにするため、 β -naphthoflavone(BNF)で処理したげっ歯類の筋肉組織の各種内皮におけるチトクロムP450A1の局在と、 3 H-Trp-P-1の代謝活性化部位を調べる。
Arimoto S	蛋白質熱分解産物およびHCA誘導体の直接変異原性作用に与える、ミオグロビンとヘモグロビンの阻害効果	Mutation Research, (1987) (192) 253-258.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、A- α -C、MeA- α -C、IQ、MeIQ、MeIQx、N-OH-Trp-P-2、N-OH-Glu-P-2	3種類のヘムたんぱく質 (ヘモグロビン、ミオグロビン、チトクロムC) のHCAの変異原性作用に対する阻害作用を調べる。
Armbrecht H J	若齢および高齢ラットにおける発がん性HCAの代謝	Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals, (2007) Vol. 35, No. 4, pp. 633-9.	IQ	加齢によってIQの蓄積と代謝が変化するか調べる。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Aryal P	ヒトCYP1A2とNADPH-P450還元酵素を発現している <i>Salmonella typhimurium</i> OY1001/1A2を用いた新しい遺伝毒性試験の開発	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (1999) Vol. 442, No. 2, pp. 113-120.	MeIQ、IQ、MeIQx、Glu-P-1、Trp-P-2	HCAを高感度に検出するために、チトクロームP450とNADPH-P450還元酵素遺伝子を発現しているサルモネラ菌を用いたumu 試験を開発する。
Ashida H	Trp-P-1はラット実質肝細胞と非実質肝細胞の共培養でアポトーシスを誘導する	Toxicology and Applied Pharmacology, (2001) Vol. 177, No. 1, pp. 59-67.	Trp-P-1	ラットの実質肝細胞と非実質肝細胞の共培養における、Trp-P-1によるアポトーシスのメカニズムを研究する。
Bagnasco M	ラット肺および肝臓における、タバコ煙で惹起された代謝の変化、およびN-アセチルシステイン経口投与によるその変動	Mutagenesis, (1992 Jul) 7 (4) 295-301.	Trp-P-2	タバコ煙をラット全身に暴露し、体内での生化学的、組織病理学的、細胞遺伝学的変化を調べる。また、がんの化学防御物質であるN-acetyl-L-cysteinの効果も調べる。
Baranczewski P	シトクロームP450の含量と活性との関係、および生体内、生体外でのヒト肝細胞におけるHCA類のDNA 付加体の誘導	Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, (2004) Vol. 13, No. 6, pp. 1071-1078.	PhIP、A- α -C	生体内外でのヒト肝細胞の代謝活性表現型とHCA類によるDNA付加体生成の相関を評価する。
Baranczewski P	14のHCAの経口投与後のマウス組織におけるDNA付加体形成、および ³² P-HPLCによるA- α -CのDNA付加体の解析	Biomarkers, (2004) Vol. 9, No. 3, pp. 243-257.	A- α -C、Trp-P-1、Trp-P-2、MeA- α -C、Glu-P-1、Glu-P-2、PhIP、IQx、MeIQx、4,8-diMeIQx、7,8-diMeIQx、4,7,8-tri-MeIQx、IQ、MeIQ	14種類のHCAの生体内DNA付加体形成および相対危険度の比較。マウスの異なる細胞でのA- α -C-DNA付加体形成を調べる。
Barcelo-Barrachina E	高性能液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析による食物中のHCAの解析	Journal of Chromatography, A, (2006) Vol. 1125, No. 2, pp. 195-203.	IQ、MeIQ、MeIQx、4,8-DiMeIQx、7,8-DiMeIQx、TriMeIQx、PhIP、DMIP、A- α -C、MeA- α -C、Harman、Norharman、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2	食物中のHCAを短時間かつ低ppbレベルで、正確に再現性良く解析する新しい方法を開発する。
Bellocq D	Apc Min突然変異を有するマウス結腸上皮細胞におけるPhIPの高活性能	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2008) Vol. 653, No. 1-2, pp. 34-43.	PhIP	ヒト結腸直腸発がんにおいて早期かつ高頻度に起こる、大腸腺腫症 (Apc) 遺伝子産物の機能喪失に対する毒性メカニズム解析を行う。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Bendaly J	2-アミノ-1-メチル-6-フェニルイミダゾ[4,5-b]ピリジンによる変異原性およびDNAアダクト形成におけるヒトCYP1A1およびNAT2の役割	Xenobiotica (2009), 39(5), 399-406	PhIP	ヌクレオチド除去修復が欠損しているチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞にヒトCYP1A1、NAT2*4またはNAT2:5Bを導入することにより、ヒトCYP1A1およびNAT2遺伝子の多型がPhIP誘発DNAアダクト形成と変異原性にどのような影響を与えるのか調べる。
Bendaly J	ヒトチトクロームP4501A1と即時型あるいは遅延型アセチレーターN-アセチル基転移酵素2を発現するDNA修復欠損CHO細胞におけるMeIQx誘導性DNA付加体形成と突然変異	Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, (2007) Vol. 16, No. 7, pp. 1503-1509.	MeIQx	即時型アセチレーター表現型がMeIQx由来のDNAダメージと突然変異の素因になるという仮説を検証する。
Bennion B J	乳がんにおけるPhIP発がん性：ヒトエストロゲンレセプターと競合相互作用についての計算的且つ実験的根拠	Chemical Research in Toxicology, (2005) Vol. 18, No. 10, pp. 1528-1536.	PhIP、MeIQx	HCAとそのヒドロキシル化代謝物のエストロゲンレセプターへの結合能力を計算的ドッキングとNMR分析により調べ、エストロゲン反応の活性化あるいは抑制化と、その発がん性への影響を評価する。
Besette E E	毛髪における発がん性HCAの生体モニタリング・妥当性の検討	Chemical Research in Toxicology (2009), 22(8), 1454-1463	PhIP、MeIQx、A- α -C	ヒトの毛髪またはげっ歯類の毛皮へのHCAの蓄積を測定する簡易な測定法を確立する。
Bordas M	食肉香辛料モデル系におけるHCAの生成と安定性；温度、時間、前駆体の影響	Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, (2004) Vol. 802, No. 1, pp. 11-17.	DMIP、IQ、MeIQ、Glu-P-1、Glu-P-2、MeIQx、4,8-Di MeIQx、7,8-Di MeIQx、TriMeIQx、Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、MeA- α -C、PhIP	乾燥状態ないしは水の存在下で、食肉香辛料を原料として、加熱によって生成されるHCAを調べる。
Brittebo E B	チトクロームP-450誘導マウスの内皮細胞における食物性突然変異原Trp-P-1の代謝活性化	Cancer Research, (1994) 54 (11) 2887-94.	Trp-P-1	in vivoおよびin vitroでBNF(β -naphthoflavone)またはI-3-C (indoke-3-cabinol) 処理したマウスの肺細胞における $[^3\text{H}]$ Trp-P-1の結合部位をマイクロオートグラフィーにより同定し、触媒活性を有するP450Aを含む肺細胞を特定する。
Brookman K W	調理食品関連突然変異原であるTrp-P-2およびIQ由来DNA付加体の、CHO細胞における変異原性効率の比較	Mutation Research, (1985) Vol. 149, No. 2, pp. 249-55.	Trp-P-2、IQ	Trp-P-2ないしはIQとDNA付加体の、CHO細胞中における遺伝毒性を測定する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Busquets R	小規模地域住民が選択する熱処理された肉に含まれるHCAの定量化	Molecular Nutrition & Food Research, (2008) Vol. 52, No. 12, pp. 1408-1420.	Norharman, harman, Trp-P-2, Trp-P-1, PhIP, A- α -C, MeA- α -C, DMIP, Glu-P-2, IQ, MeIQx, MeIQ, Glu-P-1, 7,8-DiMeIQx, 4,8-DiMeIQx	多数の人口のHCAの暴露を正確に定量化することは、地理的、経済的、歴史的、文化的な多様性から困難であることから、変化しやすい食習慣や調理習慣をモニターしやすい少数の人口での調査の方がより有益であると考えられる。この方法を用いて、どの食物からどのくらいのHAsを日常的に摂取しているかを数値化することを目的とした。
Busquets R	フライドチキン胸肉における赤ワインマリネのHCA形成の影響	Journal of Agricultural and Food Chemistry, (2006) Vol. 54, No. 21, pp. 8376-8384.	DMIP, IQ, IQx, MeIQ, MeIQx, 4,8-DiMeIQx, 7,8-DiMeIQx, Glu-P-1, Glu-P-2, TriMeIQx, PhIP, Trp-P-1, Trp-P-2, A- α -C, MeA- α -C, harman, norharman, IFP, TMIP	異なった抗酸化物質量の赤ワインに漬けることにより、フライドチキンのHCAの生成にどのような影響を及ぼすのかを明らかにする。
Butler L M	多民族研究におけるHCA摂取と結腸がん間のN-アセチル基転移酵素1遺伝子型による修飾	Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, (2008) Vol. 638, No. 1-2, pp. 162-174.	MeIQx	肉由来のHCA摂取と結腸がんの相関性が、N-アセチル基転移酵素1 (NAT1) と2 (NAT2) の遺伝子型や人種によって修飾されるかどうかを調べる。
Butler L M	UDP-グルクロン酸転移酵素 1 A7 遺伝子型と食物性発がん物質の結腸がんリスクに対する連合作用	Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, (2005) Vol. 14, No. 7, pp. 1626-1632.	MeIQx, DiMeIQx, PhIP	UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) 1 A7 対立遺伝子の多型が結腸がんと相関するかどうか、またUGT1A7遺伝子型が、肉摂取、HCAとポリサイクリック芳香族炭化水素 (PAH) の暴露、結腸がん間の相関性を修正するかどうかを集団ベースのケースコントロール研究で調査する。
Calbiani F	肉類をベースとした乳児食に含まれるHCA類測定のためのイオン対液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-タンデム質量分析法の妥当性確認	Food Additives & Contaminants, (2007) Vol. 24, No. 8, pp. 833-841	IQ, MeIQ, MeIQx, PhIP, A- α -C	イオン対液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-タンデム質量分析法 (LC-ESI-MS/MS) を、乳児食中に含まれるHCA類 (HCA) の測定に適用し、その単一試験室による妥当性を確認する。
Carthew P	遺伝毒性および発がん性を持つ食品中の物質の暴露マージン (MOE) の応用 : CAS No: 105650-23-5 PhIPを例として	Food Chem Toxicol. (2010) 48 Suppl 1:S98-105	PhIP	PhIPはげっ歯動物における前立腺、乳腺、大腸のがんを誘発することが知られている。これらのがんに対するPhIPの容量-反応評価を明らかにする。
Chen B H	加工および貯蔵中の揚げ魚ファイバー中での、HCAの生成	Journal of Food Protection, (2000) Vol. 63, No. 10, pp. 1415-1420.	A- α -C, MeA- α -C	揚げ魚ファイバーを加工または貯蔵する際に生ずるHCAを解析する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Chen B H	モデル系における加熱中のHCAの生成	Journal of Food Protection, (1999) Vol. 62, No. 12, pp. 1445-1450.	A- α -C、MeA- α -C、IQ x	アミノ酸ないしはブドウ糖の水溶液を加熱し、生成するHCAを解析する。
Chewonarin T	ネズミチフス菌における突然変異原と、アゾキシメタンとPhIPによる結腸がん発生によって誘発される異常腺窩巢形成に対する、タイの薬草ローゼルの効果	Food and Chemical Toxicology, (1999) 37 (6) 591-601.	PhIP、IQ、MeIQ、MeIQx、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2	タイの薬草ローゼルのHCAの変異原性、およびラット結腸におけるPhIP誘発の異常腺窩巢 (ACF) の生成について、どのような作用をもつのかを明らかにする。
Chiu C P	加熱中のHCAの安定性	Food Chemistry, (1999) Vol. 68, No. 3, pp. 267-272.	Glu-P-2、IQx、IQ、Glu-P-1、MeIQx、MeIQ、7,8-diMeIQx、4,8-diMeIQx、Trp-P-2、PhIP、Trp-P-1、A- α -C、MeA- α -C	15種の極性および非極性HCAの安定性を、種々の熱処理条件下で調べる。
Chrisman W	PhIPの構造異性体の合成と変異原性	Journal of Heterocyclic Chemistry, (2008) Vol. 45, No. 6, pp. 1641-1649.	PhIP	3種類のPhIP構造異性体、2種の脱フェニル基PhIP類縁体を合成し、S. typhimurium TA98株を使ったAmes試験により変異原性を評価する。
Creton S	食物性発がん物質PhIPの遺伝毒性における細胞周期停止の機構的根拠	Toxicological Sciences, (2005) Vol. 84, No. 2, pp. 335-343.	PhIP	正常な乳腺細胞の特性を維持するヒト乳腺上皮MCF10A細胞を用い、PhIP暴露に対する細胞性反応を評価する。
Creton S K	調理肉発がん物質PhIPは、細胞外シグナル制御キナーゼ分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ経路を活性化する	Cancer Research, (2007) Vol. 67, No. 23, pp. 11455-11462.	PhIP	エストロゲン受容体欠失の胃、乳腺上皮細胞、MCF10A細胞、ヒト前立腺がん細胞、PC-3を使い、ナノモルレベルの低用量のPhIPがMAPKシグナルに直接影響するかどうかを調べる。
Cross A	肉と肉由来変異誘導性物質の摂取と非ホジキンスリンパ腫のリスク：NCI-SEERケースコントロール研究結果	Carcinogenesis, (2006) Vol. 27, No. 2, pp. 293-297.	MeIQx、PhIP	肉、肉の調理法、肉由来のHCAあるいはPAHが非ホジキンスリンパ腫 (NHL) 発症リスクとの相関性を集団ベースのケースコントロール研究を実施する。
Cross A	肉と肉由来の突然変異誘発物質と前立腺がんリスクの前向き研究	Cancer Research, (2005) Vol. 65, No. 24, pp. 11779-11784.	MeIQx、PhIP	肉の摂食、特に肉関係の突然変異誘発物質、MeIQx、DiMeIQx、PhIPが前立腺がんのリスク上昇と相関性があるかどうかをケースコントロール研究で調べる。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Dashwood R	サルモネラ試験でのクロロフィリンの抗変異原の有効性と変異原阻害剤錯体の結合定数との相互関係	Environmental and Molecular Mutagenesis, (1993) 22 (3) 164-71.	IQ、MeIQ、MeIQx、4,8-DiMeIQx、7,8-DiMeIQx、TriMeIQx、PhIP、NO2-IQ、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2	クロロフィルの水溶性塩であるクロロフィリンは、短期遺伝毒性アッセイにおいて抗変異原活性を示し、in vivoで発がん性物質とDNAの結合を阻害する。本研究では、IQといくつかのIQタイプのHCA、Trp-P-2などのIQタイプではないHCAに対するクロロフィリンの抗変異原性をサルモネラ試験で検討し、その阻害メカニズムにおいてクロロフィリンとHCAの錯体形成の重要性を明らかにする。
Dashwood R H	2種のHCAによるF344ラットの大腸腫瘍における高頻度のベータカテニンctnnb1遺伝子の変異	Cancer Res. (1998) 58(6):1127-9	PhIP、IQ	ベータカテニン(CTNNB1)遺伝子のN末リン酸化に関わる突然変異の活性化がヒトの大腸がんの発生に関わるとされているため、化学物質に誘発される大腸がんにおいてもそのような変異が関与しているのか調べる。
Degawa M	ラット肝における発がん物質の変異原性活性化を引き起こすチトクロームP-448アイソザイムのうち、主にチトクロームP-448P-450IA2を誘導する肝発がん性HCA	Carcinogenesis (1989) vol. 10, No.6 pp.1119-1122	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、A- α -C、MeA- α -C、IQ、MeIQx	アミノ酸およびタンパク質熱分解成分である8種の肝発がん性ヘテロサイクリック芳香族アミンによるラット肝におけるミクロソームチトクロームP-448アイソザイムの変化を研究する。
Dellinger R W	UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼによるPhIPとN-OH-PhIPのグルクロン酸抱合	Carcinogenesis, (2007) Vol. 28, No. 11, pp. 2412-2418.	PhIP	生体外システムで、PhIPとN-OH-PhIPに対する酵素UGT (UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ) スーパーファミリーのグルクロン酸抱合活性を調べる。
Dingley K H	低量HCAのPhIPとIQの付加体形成とフェーズII肝臓酵素に対する食品成分の化学予防効果	Nutrition and Cancer, (2003) Vol. 46, No. 2, pp. 212-221.	IQ、PhIP	ラットにおける低用量PhIPとIQ摂取による付加体の形成を、肝臓、結腸、前立腺、血漿から、加速質量分析により定量し、化学予防物質、phenylethylisothiocyanate (PEITC), chlorophyllin, lycopene, genisteinの付加体形成減少効果を調べる。
Doi K	ラットにおけるアゾキシメタンで発動するPhIPの大腸発がん性の低用量における欠如	International Journal of Cancer, (2005) Vol. 115, No. 6, pp. 870-878.	PhIP	実際のヒト暴露を模倣するレベルでのPhIPのラット大腸発がん性を調べる。
Dooley K L	新生B6C3F1雄マウスにおける4-アミノジフェニルと食品熱分解生成物Glu-P-1、IQ、PhIP、MeIQxの発がん性の比較	Cancer Letters (Shannon, Ireland), (1992) Vol. 62, No. 3, pp. 205-9.	Glu-P-1、IQ、MeIQx、PhIP	新生B6C3F1雄マウスに代表的な4つのHCA食品熱分解生成物Glu-P-1、IQ、PhIP、MeIQxを投与し、既存のヒトに対する発がん性物質4-アミノジフェニル(4-ABP)と腫瘍形成活性を比較する。
Duc R	PhIP誘導性の細胞周期妨害における不適合修復とp53の役割	Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, (2004) Vol. 802, No. 1, pp. 183-187.	PhIP	ヒトリンパ芽球様細胞の細胞周期に関するPhIPの影響を評価する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Durling L J K	3種類のHCAとアクリルアミド間の遺伝毒性比較	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2005) Vol. 580, No. 1-2, pp. 103-110	IQ、MeIQx、PhIP	アクリルアミドと比較して、PhIP、MeIQx、IQの染色体異常誘発性、異数性誘発性を評価する。
Dybing E	遺伝毒性のある化合物への食事暴露に対するリスクアセスメント概説	Toxicology letters, (2008) Vol. 180, No. 2, pp. 110-7.	PhIP	遺伝毒性のある化合物への食事暴露に対するリスクアセスメントの過程について概説する。その代表例としてアクリルアミド、アフラトキシンB1、ベンゾピレン、ジメチルニトロソアミン、エチルカルバメート、PhIPについて記す。
Edenharder R	加熱調理した食物中の遺伝毒性HCAに対するビタミンとその関連物質の抗変異原効果と可能なメカニズム	Mutation Research, (1999) 444 (1) 235-48.	IQ、MeIQ、MeIQ、PhIP、Glu-P-1、Trp-P-2	IQタイプおよびIQタイプ以外のHCAによる変異誘発に対する26種のビタミンおよびその関連物質の抗変異原性を、フレームシフトを起こす <i>Salmonella typhimurium</i> TA 98 および塩基置換を起こすTA 100 を用いて明らかにし、そのメカニズムを解析する。
Elmqvist C E	NarI認識配列中のIQのC8-デオキシグアノシン付加体の立体構造の相異	Chemical Research in Toxicology, (2007) Vol. 20, No. 3, pp. 445-454	IQ	NarI 配列のG1-とG2-位置へのC8-IQの取り込みと、その立体構造をUV、CD、NMR化学シフトデータ分析により解析する。
Elmqvist C E	食品発がん物質IQのC8-デオキシグアノシン付加体を含むオリゴヌクレオチドのサイト特異的合成とその性質	Journal of the American Chemical Society, (2004) Vol. 126, No. 36, pp. 11189-11201.	IQ、MeIQx、PhIP	IQのC8-デオキシグアノシン付加体を含むオリゴヌクレオチドのサイト特異的合成物の性質をUV融解温度分析、円二色性、UV吸光分光法で解析する。
Felton J S	食品由来のアミンの突然変異強度	Mutation Research, (2007) Vol. 616, No. 1-2, pp. 90-94.	PhIP	分子力学的計算により、HCA構造体をチトクロームP4501A2酵素のコンピュータモデルの活性部位に結合させて結合力を算出し、変異原性データと比較する。
Foellmann W	コメットアッセイにおけるヘテロサイクリック芳香族アミンの遺伝毒性検出用スクリーニングモデルとしての初代牛結腸上皮細胞培養の使用	Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues, (2008) Vol. 71, No. 13&14, pp. 947-953	IQ、PhIP	初代牛結腸上皮細胞培養を短期遺伝毒性検査に利用して、IQとPhIPの細胞毒性と遺伝毒性を検査する。
Frandsen H	環境発がん物質である2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indoleのミクロソームにおける代謝および活性化	Mutagenesis, (1998) 13 (2) 181-5.	MeA- α -C、6-OH-MeA- α -C、7-OH- A- α -C、3-CH2OH-MeA- α -C、N2-OH-MeA- α -C	ミクロソームにおけるMeA- α -Cの4つの代謝物の性状を調べる。
Frederiksen H	食物由来の2つのHCA:アミノカルボリンの代謝とDNA付加体の形成	Molecular Nutrition & Food Research (2005) 49, 263-273	A- α -C、MeA- α -C	アミノ- α -カルボリン (A-A-C、Me A-A-C) の生体内および生体外での代謝経路と、解毒系 I・II の特定と定量化、および代謝活性とDNA付加体の生成について考察する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Frederiksen H	2つのHCA、2-アミノ-3-メチル-9H-ピリド[2,3-b]インドールMeA- α -Cと2-アミノ-9H-ピリド[2,3-b]インドールA- α -CによるDNA付加体の生成、およびMeA- α -Cを与えたラット器官からのDNA付加体の単離	Carcinogenesis, (2004) Vol. 25, No. 8, pp. 1525-1533.	A- α -C、MeA- α -C	DNA付加体分析のための ³² P標識標準物質としてのA- α -CとMeA- α -CのDNA付加体生成およびその生体内、生体外での相違、活性を調査する。
Frederiksen H	HCA、2-アミノ-9H-ピリド[2,3-b]インドールA- α -Cを投与したラットの尿および糞に含まれる代謝物質の排泄	Food and Chemical Toxicology, (2004) Vol. 42, No. 6, pp. 879-885.	A- α -C	ラットにおける生体内でのA- α -Cの代謝を調査する。
Frederiksen H	2つのHCA、2-アミノ9H-ピリド[2,3-b]インドールA-A-C)と2-アミノ-3-メチル-9H-ピリド[2,3-b] インドールMe (A- α -C)のヒトおよびラット肝ミクロソームにおける生体外代謝	Pharmacology & Toxicology (Oxford, United Kingdom), (2002) Vol. 90, No. 3, pp. 127-134.	A- α -C、MeA- α -C	ヒトおよびラット肝ミクロソームにおけるA- α -CとMeA- α -Cの生体外代謝を調べる。
Frederiksen H	HCAである2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole MeA- α -Cを投与されたラットの、尿中および糞中における代謝物の同定	Drug Metabolism and Disposition, (2004) Vol. 32, No. 6, pp. 661-665.	MeA- α -C、3-CH ₂ OH-A- α -C、6-OH- MeA- α -C、7-OH- MeA- α -C、N-OH-MeA- α -C	MeA- α -Cのラット体内でのin vivo代謝物を調べる。
Fujii W	HCAの中樞作用に関する薬理学的研究	Kyoto-furitsu Ika Daigaku Zasshi, (1996) Vol. 105, No. 1, pp. 73-88.	Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、MeA- α -C、IQ、MeIQx	Trp-P-1の脳内セロトニン受容体およびGABAA受容体/BZ受容体・Clチャンネル複合体に対する影響を神経化学的に解析する。また、不安誘発作用の有無について行動薬理学的検討を行う。
Fujiwara K	食物由来の発がん性物質PhIPに誘導されるラット大腸がんにおける網羅的遺伝子発現解析	Carcinogenesis. (2004) Aug;25(8):1495-505	PhIP	大腸がんにおける網羅的な遺伝子発現に焦点をあて、大腸がん発症の分子機構についてより深く理解するためにPhIP誘導によるラット大腸がんをモデルとして包括的なmRNAマイクロアレイ解析を行う。
Fukuda H	In vitro における、2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) のC8-Guanyl付加体形成による損傷乗り越えDNA合成、Rev1は dC 対を損傷部に挿入し、DNAポリメラーゼ κ は、3'-dC末端からの伸長反応を媒体する	The Journal Of Biological Chemistry Vol. 284, No. 38, pp. 25585-25592, September 18, 2009	PhIP	In vitro でのPhIPによる変異誘導を、分子機構的に解明する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Funk C	ヒトの糞微生物相によるリグニン化繊維発酵、およびそのHCA吸着への影響のモデル調査	Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, (2007) Vol. 624, No. 1-2, pp. 41-48.	PhIP、A- α -C	脱水素重合物 (DHP) 細胞壁およびその組成が、変異原性HCA (HCA) であるPhIP、A-A-Cの小腸における吸収に及ぼす影響を調査する。
Funk C	HCA類の吸収に対するトウモロコシ細胞壁のリグニン化およびフェルロイル化の影響	Journal of Agricultural and Food Chemistry, (2006) Vol. 54, No. 5, pp. 1860-1867.	MeIQx、IQ、PhIP、A- α -C	がんの危険性を低減するといわれる食物繊維のリグニン化およびフェルロイル化が、HCA類 (HCA) の吸着に及ぼす影響を調査する。
Glatt H	ヒト生体異物代謝酵素を発現している組換え試験系における、ヘテロサイクリック芳香族アミンである2-amino-3-methyl-9H-pyrido [2,3-b]indole (MeA- α -C)の生物学的活性化	Carcinogenesis, (2004) Vol. 25, No. 5, pp. 801-807	MeA- α -C、N-OH-MeA- α -C、6-OH-MeA- α -C、7-OH-MeA- α -C、3-OH2-A- α -C	哺乳動物細胞系、およびヒト酵素を発現する細菌細胞系における、MeA- α -Cの変異原性能を調べる。
Gooderham N J	HCAのPhIPの作用メカニズム	Toxicology Letters, (2007) Vol. 168, No. 3, pp. 269-277.	PhIP	ヒト乳腺上皮細胞MCF10A (エストロゲン受容体 (ER) ネガティブ) において、PhIPの遺伝毒性用量に対する初期細胞反応を評価する。
Gorlewska-Roberts K M	発性芳香族とHCAのラクトペルオキシダーゼ触媒活性化	Chemical Research in Toxicology, (2004) Vol. 17, No. 12, pp. 1659-1666	IQ、MeIQx、PhIP	乳の病因論におけるヘテロサイクリック芳香族アミンの役割の可能性を調べるため、PhIP、BZ、ABP、IQ、MeIQxのラクトペルオキシダーゼ触媒による酸化活性を測定し、活性化した代謝物質のDNA結合レベルを推定する。
Gu Y S	フライパンで焼いたサバの部位および調理の程度が変異原性および発がん性HCA類の生成に及ぼす影響	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2002) Vol. 515, No. 1-2, pp. 189-195.	MeIQx、PhIP、A- α -C	フライパンで焼いたサバの部位および調理の度合が、生成する変異原性および発がん性HCA類に及ぼす影響を調べる。
Hakura A	エームス試験におけるヒト肝臓S9使用の利点	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (1999) Vol. 438, pp. 29-36	IQ、Trp-P-2、PhIP	変異原性物質、発がん性物質をエームス試験によって高い感度で検出するために、ヒト肝臓から調整したS9画分使用の有用性を明らかにする。
Hamilton S M	イソチオシアネート類の、cytochrome P-450 1A1・1A2活性およびHCAの変異原性に与える影響	Anticancer Research, (1996) Vol. 16, No. 6B, pp. 3597-3602.	IQ、MeIQx、Trp-P-2、Glu-P-2、PhIP	イソチオシアネート類がHCAで誘導される変異原性に与える影響、およびチトクロームP-450活性に与える影響を明らかにする。
Han J F	ヒト CYP1B1 遺伝変異体による2-アミノ-1-メチル-6-フェニルイミダゾ [4,5-b]ピリジン (PhIP)の代謝	Drug Metabolism and Disposition (2008), 36(4), 745-752	PhIP	自然界に存在するCYP1B1の変異タンパク15種と野生型CYP1B1をPhIPのN2-OH-PhIPおよび4'-OH-PhIPへの代謝について比較する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Hasegawa R	ラットにおける、食物由来HCAの低用量併用投与による肝臓発がん性の亢進	Food and Chemical Toxicology, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx、MeA- α -C、A- α -C、PhIP	HCAを単独ないしは複数個の混合でラットに混餌投与し、ラット肝中期発がん性試験を用いて肝臓の発がん性に与える影響を調べる。
Hasegawa R	ジエチルニトロソアミン処理ラットへの5種HCAの低容量複合投与による胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ陽性肝臓巣形成の相乗的増強	Japanese Journal of Cancer Research, (1991) Vol. 82, No. 12, pp. 1378-84.	Trp-P-2、Glu-P-1、MeA- α -C、A- α -C、PhIP	5種のHCAを低容量で複合投与することにより、胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ陽性肝臓巣形成への相乗効果の可能性を検証する。
Hasegawa R	HCA誘発のラット肝細胞がん発症における相乗効果	Journal of Toxicologic Pathology, (1996) Vol. 9, No. 3, pp. 241-248.	Trp-P-1、Glu-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx、Trp-P-2、Glu-P-1、MeA- α -C、A- α -C、PhIP	5種または10種類のHCAを組み合わせて混餌投与した場合の効果について検討した。
Hasegawa R	ラット肝臓における2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeA- α -C) と2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) による前新生物病変およびDNA付加体の用量依存的生成	Carcinogenesis, (1992 Aug) 13 (8) 1427-31.	MeA- α -C、PhIP	雄ラット肝臓における、2種類のHCAによる病変形成およびDNA付加体を調べる。
Hayashi S	サルモネラ/肝細胞システムを用いた芳香族アミンのDNA傷害性と変異原性の検討	Kanazawa Daigaku Juzen Igakkai Zasshi, (1989) Vol. 98, No. 6, pp. 1248-58.	IQ、Trp-P-2	サルモネラ/肝細胞システムを用いて、Trp-P-2 またはIQが同時に受ける、活性化と不活性化の2方向の代謝の影響を総合的に調べる。
Hirai N	HCAのMeIQxと増殖因子TGF- α が、マウス器官培養歯胚の発育におよぼす影響	Aichi Gakuin Daigaku Shigakkaishi, (2007) Vol. 45, No. 2, pp. 205-214.	MeIQx	ddYマウスの下顎第一臼歯の歯胚をHCAのMeIQxと細胞増殖因子のTGF- α を加えた培地で器官培養を行い、歯胚発育に対する影響を調べる。
Hirata A	複数のHCA暴露における発がん性のリスク-肝イニシエーションモデルの評価	Food and Chemical Toxicology, (2008) Vol. 46, No. 6, pp. 2003-2009.	PhIP、MeIQx、IQ、Trp-P-1、Glu-P-1、Glu-P-2	5週間の肝イニシエーションアッセイにより、6種のHCA、特にPhIPとMeIQxの併用が発がん性にどのように影響するかを明らかにする。
Hirose M	新規脂溶性抗酸化物質1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノンのHCA誘発突然変異に対する強い抗突然変異原性活性、およびGlu-P-1代謝活性に対する影響	Carcinogenesis, (1995 Sep) 16 (9) 2227-32.	Glu-P-1、Glu-P-2、Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx、PhIP	HCA誘発がんに対する抗酸化物質の化学発がん抑制作用を評価するため、HCAや他の変異原性物質により誘導した変異原性について、新規の脂溶性抗酸化物質1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ)の効果をエームス試験で検討する。さらに、HTHQによる発がん抑制作用のメカニズムを明らかにする。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Hirose M	抗酸化物質による化学物質誘引ラットがんの予防：HTHQに注目して	Food Factors for Cancer Prevention, [International Conference on Food Factors: Chemistry and Cancer Prevention], Hamamatsu, Japan, Dec., 1995, (1997) pp. 82-87.	Glu-P-1、MeIQx、PhIP	抗酸化物質のin vitro抗変異性活性および抗酸化作用、HTHQのHCAの代謝活性への作用、in vivoでのHCA誘発がんの予防効果、がんの進行への影響について調べる。
Hoshi M	重症複合免疫不全SCIDマウスにおける2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline IQの潜在的発がん性	J Toxicol Pathl 2004; 17: 17-23	IQ	IQの長期間暴露によるSCIDマウスでの発がん性を調べる。
Humblot C	F344ラットのヒトフローラにおけるIQ誘導遺伝毒性に対するブリュッセルズプラウトと発酵ミルクの保護効果：生体異物代謝酵素と腸管マイクロフローラの役割	Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, (2004) Vol. 802, No. 1, pp. 231-237	IQ	Fisher 344ラット中に形成したヒト腸管マイクロフローラにおけるIQ誘導遺伝毒性に対する、4種類のヒト食品成分、発酵ミルク、インシュリン、オリゴフルクトース、ブリュッセルズプラウトの化学的保護効果を評価する。
Ichihara T	胎盤および母乳経由での2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)暴露において前腫瘍性病変の発生のない仔ラット肝臓におけるDNA付加体の誘導と8-hydroxy-2-deoxyguanosineの増加	Cancer Sci December 2004, vol. 95, no 12, 943-948	MeIQx	生体発生初期段階でのMeIQxの暴露により、肝臓腫瘍発生ないしは遺伝的変化の危険性が増すか否かを、ラットを使って調べる。
Im J	食品由来のHCAのPhIPは、リボテイコ酸で刺激されたRAW 264.7細胞の腫瘍壊死因子α発現を抑制する	Cancer Letters (Shannon, Ireland), (2009) Vol. 274, No. 1, pp. 109-117.	PhIP	マウスマクロファージ様細胞RAW264.7におけるPhIPのTNF-α発現に対する影響を調べ、その免疫抑制による発がんの可能性を調べる。
Im J	THP-1細胞におけるmRNAの安定性を低下させることにより、Trp-P-1はLPS-誘導IL-8発現を低下させる	Toxicology Letters, (2008), Vol.177. pp.108-115	Trp-P-1、IQ、PhIP	免疫応答の開始に重要なケモカインであるインターロイキン-8(IL-8)の発現に及ぼすHCAの阻害効果を調べる。
Itoh T	lacIトランスジェニック遺伝子導入 (Big Blue?) マウスにおける2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxalineの in vivoでの遺伝毒性	Mutat Res. 2000 Jun 22;468(1):19-25.	MeIQx	MeIQxをマウスに投与した際の、遺伝毒性を調べる。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Itoh T	HCAの腸における局所的変異原性： ラムダlacZトランスジェニックマウスのcII遺伝子変異解析	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2003) Vol. 539, No. 1-2, pp. 99-108.	PhIP、IQ、MeIQ、Trp-P-2	PhIP、IQ、MeIQ、Trp-P-2の腸における変異誘発部位とその機構をトランスジェニックマウスアッセイにより明らかにする。
Iwata H	3-Methylcholanthreneで前処理したラットないしはマウスの肝細胞を用いた、肝細胞/DNA修復アッセイにおけるHCAの遺伝毒性	Ed With 3-Methylcholanthrene, Mutation Research, (1990) (244) 1-6.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2	4種のHCA検体の遺伝毒性を、初期培養肝細胞/DNA修復アッセイにより調べ、その結果を正常肝細胞の結果と比較する。
Jackson L S	選択したビーフフレーバーのヘテロサイクリック芳香族アミン含量	Mutation Research, (1994 Jan) 320 (1-2) 113-24.	IQ、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、Glu-P-2、PhIP	24種のビーフフレーバーと2種のビーフ抽出物について、クレアチン、クレアチニン量、変異原性活性およびヘテロサイクリック芳香族アミン濃度を分析する。
Jamin E L	HCAの一本鎖のオリゴヌクレオチドに対する付加配列選択性の質量分析測定	Rapid Communications in Mass Spectrometry, (2008) Vol. 22, No. 20, pp. 3100-3110	IQ、PhIP	IQとPhIPの、DNA塩基に対する付加体形成時の配列選択性を調査する。
Ju X H	HCAの構造と発がん性の関係	Chemical Research in Chinese Universities, (2004) Vol. 20, No. 6, pp. 774-777.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、A- α -C、MeA- α -C、IQ、MeIQ、MeIQx、PhIP	半経験的分子軌道計算によるHCAの構造とその発がん性との関係を明らかにする。
Kaderlik K R	ヒトおよびラット肝臓ミクロソームによるN-ヒドロキシ・HCAのグルクロン酸化	Carcinogenesis, (1994 Aug) 15 (8) 1695-701. Journal code: C9T. ISSN: 0143-3334.	IQ、PhIP、Glu-P-1、MeIQxのN-ヒドロキシ誘導体	代表的なN-ヒドロキシ・HCA 4つに対するヒトおよびラットの肝臓ミクロソーム由来のグルクロン酸転移酵素によるグルクロン酸化の触媒能力を調べる。ラット、イヌ、ヒト肝臓ミクロソームで生成されるN-ヒドロキシPhIPのN-グルクロニド複合体の化学特性について調べる。
Kanazawa K	ヒトおよびラット間での、HCAに対するチトクロームP450 1A1の代謝活性の比較	Journal of Agricultural and Food Chemistry, (1999) Vol. 47, No. 12, pp. 4956-4961.	Trp-P-2、IQ、PhIP	ラットにおいては、変異原性物質はcytochrome 450 (CYP) 酵素の作用で最終的な活性化型に変化されるが、これがヒトにおいても適用されるか否かを調べる。
Kang I H	ヒトチトクロームP450 1A2、NADPH-チトクロームP450還元酵素、チトクロームb5を共に発現するサルモネラ・チフィリウムTA1538によるMeIQの代謝活性化に対する、フラボノイド、ケルセチンとナリンゲニンの二相性効果	Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, (2004) Vol. 545, No. 1-2, pp. 37-47.	MeIQ	細菌性変異原性試験株として、ヒトCYP1A2、NADPH-チトクロームP450還元酵素、チトクロームb5 (cyp b5) を発現するサルモネラ株を作出し、HCAの変異原性に対する、様々な用量のケルセチンとナリンゲニンの影響を評価する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Kang J S	Thioacetamide誘発肝臓障害を有するラットの肝臓に対するMeIQxの発がん性の無影響濃度の存在	Cancer Science, (2006) Vol. 97, No. 6, pp. 453-458. CODEN: CSACCM. ISSN: 1347-9032.	MeIQx	Thioacetamide(TAA)により肝臓障害を引き起こしたラットにMeIQxを低い濃度から高い濃度まで与え、MeIQxの発がん性について調べる。
Karim MR	エタノールによるMeIQx誘導のラット肝臓がん発症増強効果には細胞増殖および酸化ストレスの増加が伴う	Cancer Lett. 2003 Mar 20;192(1):37-47.	MeIQx	ラットのMeIQx摂取により誘導される肝臓がんに対してエタノールが増強効果をもつ可能性について調べる。
Kataoka H	燃焼煙検体における変異原性HCAの検出	Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, (1998) Vol. 60, No. 1, pp. 60-67.	A- α -C、Glu-P-1、Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx、DiMeIQx、PhIP	燃焼煙に含まれる、変異原性を有するHCAを、精度の高い窒素選択検出ガスクロマトグラフィー (NPD-GC) (Kataoka & kijima, 1997) によって検出する。
Kataoka H	発がん性HCAの分析に用いるチューブ内固相微量抽出/液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化質量分析の開発	Chromatographia, (1999) Vol. 50, No. 9/10, pp. 532-538.		液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレー質量分析(LC/ESI-MS)と結合したチューブ内固相微量抽出法(in-tube SPME)を開発し、HCAを定量する。
Kataoka H	窒素りん検出器付きガスクロマトグラフィーによる加熱食品サンプル中の変異原性HCAの分析	Bull Environ Contam Toxicol. 2002 Nov;69(5):682-9.	IQ、MeIQ、4,8-DiMeIQx、7,8-DiMeIQx、A- α -C、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、PhIP	窒素りん検出器付きガスクロマトグラフィー(NPD-GC)を用いた方法で一般的な調理法で加熱した魚や肉に含まれているHCAの有無と種類を調べる。
Kataoka H	調理食品における2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridineの蛋白質付加体の形成	Mol. Nutr. Food Res. 2010, 54, 1-10	IQ、MeIQ、MeIQx、4,8-di MeIQx、7,8- di MeIQx、A- α -C、Trp-P-1、PhIP、Trp-P-2、Glu-P-1	各種の肉や魚を通常条件で料理した後に、PhIPの蛋白質付加体生成を確認し、測定すること。さらに、熱処理した蛋白質から、PhIPを酸や酵素による加水分解によって遊離させること。
Kim S B	アミノ酸や蛋白質熱分解性生物に対するメラノイジンの消変異原効果	Developments in Food Science, (1986) Vol. 13, No. Amino-Carbonyl React. Food Biol. Syst., pp. 383-92.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、IQ	Maillard反応の主要産物であるメラノイジンの熱により誘導される変異原性物質に対する阻害効果を調べる。阻害効果のメカニズムを分画または化学修飾されたメラノイジンの性質との関係で説明しようとする。
Kim S B	α -ジカルボニル化合物および α -ヒドロキシカルボニル化合物の変異原性HCAに対する消変異原効果	Mutation Research, (1987) (177) 9-15.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、IQ	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、IQに対するカルボニル化合物の消変異原効果および、それと同時におきるカルボニル化合物の変異原性の消失について説明する。
Kitamura Y	IQの発がん性の新規ターゲットとしてのラット肺：DHPN誘発二段階モデルの結果	Cancer science, (2006 May) Vol. 97, No. 5, pp. 368-73	IQ	DHPN誘発によるラットの二段階肺がんモデルにおけるIQの影響を調べる。酸化的DNA損傷および脂質過酸化反応の関与の可能性を検証するために、DNAの8-OHdG形成およびチオバルビツール酸反応物の測定を行う。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Kitamura Y	diethylnitrosamineおよび1,2-dimethylhydrazine投与後のIQ誘発ラットの肝臓、大腸、および外耳脂腺がんでの硝酸ナトリウム同時投与による促進効果	International journal of cancer. Journal international du cancer, (2006 May 15) Vol. 118, No. 10, pp. 2399-404	IQ	酸化ストレスに注目した上で、ラット二段階発がん試験における硝酸ナトリウムとIQの複合的な効果を肝臓、大腸、外耳脂腺の発がんにおいて調べる。
Kitamura Y	IQ暴露を受けたNrf2-欠損マウスの肝臓がん形成能に対する感受性の増加	Cancer Science, (2007) Vol. 98, No. 1, pp. 19-24	IQ	Nrf2(-/-)マウスを使用して、IQ誘導性肝臓発がんにおけるNrf2の役割を調べ、さらにIQ暴露に関係するパラメーターとして、UGTやGST酵素活性、酸化性DNAダメージ、脂質過酸化反応、IQ-DNA付加体形成、肝細胞増殖を調べる。
Knize M G	市販のペット食品におけるHCA発がん物質と突然変異活性	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2003) Vol. 539, No. 1-2, pp. 195-201.	MeIQx、PhIP	25種類の市販ペット食品について突然変異誘発活性を測定する。
Kobayashi M	日本で実施した大規模集団ベース研究における食物HCA摂取の推定	Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, (2002) Vol. 506-507, pp. 233-241	Trp-P-1、MeIQ、MeIQx、7,8-DiMeIQx、4,8-DiMeIQx、PhIP	日本公衆健康センター (JPHC) が実施する、がんおよび循環器系疾患に関する前向き研究の課題、特定のHCAの個人の摂取レベルの評価する。
Kurian J R	ヒトNADHチトクロームb5還元酵素とチトクロームb5によるアリルヒドロキシアミン発がん物質の還元的解毒反応	Chemical Research in Toxicology, (2006) Vol. 19, No. 10, pp. 1366-1373.	PhIP	HCAおよび芳香族アミンの活性化により生じるDNA反応性のアリルヒドロキシアミン代謝物は、ヒトにおいては、ミクロソームNADH依存性の酸素非感受性の還元反応により除去され、これが芳香族アミン発がん物質に対する反応における個人差の源と想定されている。ヒト肝臓におけるこの還元反応の実体を解析するため、アリルヒドロキシアミン発がん物質の還元的解毒反応が、NADHチトクロームb5還元酵素 (b5R) とチトクロームb5 (cyt b5) によるものであることを実証する。
Kushida M	エタノールは大腸がん代替マーカーの分析から証拠に基づきMeIQx- 潜在性ラット結腸発がんを促進しない	Journal of Toxicologic Pathology (2009), 22(1), 65-70	MeIQx	アルコール摂取と大腸がん発症の関係性について、ラットにおいて促進効果があるのか調べる。
Lakshmi V M	N-NO-MeIQxの安定性と反応性	Chemical Research in Toxicology (2006), 19(2), 325-333	N-NO-MeIQx	N-NO-MeIQxの安定性と反応性を評価し、大腸がんにおけるMeIQの発がん性への関与の可能性について検討する。
Lakshmi V M	ヘミンは、IQをN-NO-IQにする一酸化窒素仲介ニトロソ化を増強する	Chemical Research in Toxicology, (2005) Vol. 18, No. 3, pp. 528-535	IQ	ヘミンがIQのN-ニトロソ化を促進するかどうかを、ヘミンを使って評価する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Lakshmi V M	ヘミンとミエロペルオキシダーゼにより増強される一酸化窒素仲介によるMeIQxのニトロソ化	Chemical Research in Toxicology, (2005) Vol. 18, No. 6, pp. 1038-1047.	MeIQx	一酸化窒素仲介によるMeIQxのニトロソ化と食物性成分 (ヘミン) と炎症性成分 (NO、ミエロペルオキシダーゼ (=MPO)、H2O2) のニトロソ化に対する影響を調べる。
Lam T K	赤肉、加工肉、肉由来突然変異誘導物質は肺がんリスクを上昇させる	Cancer Research, (2009) Vol. 69, No. 3, pp. 932-939.	MeIQx、PhIP	赤肉、加工肉、肉由来突然変異誘導物質の摂取と肺がんリスクの相関性をケースコントロール研究により調査する。
Lauber S N	調理肉由来の遺伝毒性を有する発がん物質PhIPは、強力なホルモン様活性を示す：乳がんにおける機能的機能の実証	Cancer Research, (2007) Vol. 67, No. 19, pp. 9597-9602.	PhIP	PhIP暴露に起因する反応範囲を理解するために、体細胞乳腺刺激ホルモン分泌細胞株を使い、プロラクチン (PRI) 遊離に対するPhIPの影響を調べる。
Lawson T	膀胱組織による活性化を受けたHCAの変異原性	Mutation Research Letters, (1994) Vol. 325, No. 4, pp. 125-8.	Glu-P-2、MeIQ、MeIQx、PhIP、Trp-P-1、Trp-P-2	ヒトの膀胱上皮細胞(DEC)およびハムスター膀胱ホモジネートがHCAのV79細胞への変異原性を活性化する能力を有しているのかを調べる。
Lawson T	ヒト前立腺上皮細胞は、餌由来の化学物質を変異原性物質に代謝する	Cancer Letters (Shannon, Ireland), (2002) Vol. 175, No. 2, pp. 141-146.	Glu-P-2、MeIQx、PhIP	ヒト由来の前立腺上皮細胞を、3種類の遺伝子型 (サブタイプを入れると6種類) に分類し、その各々のHCAに対する代謝能を検討する。
Magagnotti C	ヒトリンパ球における遺伝子多型とPhIP-DNA付加体	International Journal of Cancer, (2003) Vol. 107, No. 6, pp. 878-884.	PhIP	PhIP暴露の可能性のある結腸直腸がん患者由来のリンパ球におけるPhIP-DNA形成について遺伝子多型の相関性を評価する。
Majer B J	ネズミの異なる器官およびヒト由来の細胞における2-アミノ-9H-ピリド [2,3-b]インドールの遺伝毒性効果の調査	Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, (2004) Vol. 802, No. 1, pp. 167-173.	A-A-C	ヒト由来細胞におけるA- α -C誘導DNA損傷の有無、およびネズミにおけるA- α -Cの器官特異的な遺伝毒性を明らかにする。
Manabe S	尿毒症患者血漿中における発がん性グルタミン酸熱分解生成物Glu-P-1、Glu-P-2の蓄積	Cancer Research, (1987) Vol. 47, No. 22, pp. 6150-5.	Glu-P-1、Glu-P-2	これまで、ヒトの血液中にHCAが含有されているかについての直接的な証拠はなかった。この研究は、ヒトが実際に発がん性のあるHCAに暴露しているかどうかを直接的に確かめることを目的としている。
Marczylo T H	天然のアントラキノン色素、プルプリンによるHCAの細菌における変異原性に対する防御	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (1999) Vol. 444, No. 2, pp. 451-461.	Trp-P-2、Trp-P-1、MeIQ、IQ、Glu-P-1	天然のアントラキノン色素、プルプリンの、HCAに対する変異原性抑制機構をAmes testを用いて解析する。
Martinez M E	肉の摂取、調理方法、発がん物質と結腸直腸腺腫再発	Carcinogenesis, (2007) Vol. 28, No. 9, pp. 2019-2027.	MeIQx	肉の種類、調理法、調理程度、HCAやBapと結腸直腸がん再発の間係を調べる。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Maruyama W	モノアミン代謝阻害剤としての、食物由来HCA、Trp-P-1および関連アミン	Journal of Neural Transmission, Supplement, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.	Trp-P-1、Trp-P-2、MeAC、AC、Glu-P-1、Glu-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx、PhPI	Trp-P-1およびTrp-P-2によるモノアミンオキシダーゼ (MAO) の阻害、およびチロシンヒドロキシダーゼ (TH) 活性の減少メカニズムを研究する。
Masumura K	gpt delta遺伝子導入マウスにおける、2-amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)の低用量遺伝毒性	Mutation Research 541 (2003) 91-102	MeIQx	低用量のMeIQxをマウスに投与した際の、遺伝毒性の「用量-応答」相関性を調べる。
Metry K J	ヒトCYP1A2および即時型あるいは遅延型アセチレーターN-アセチル基転移酵素2を発現するCHO細胞におけるPhIP誘導性DNA付加体と遺伝毒性	Molecular Carcinogenesis, (2007) Vol. 46, No. 7, pp. 553-563.	PhIP	PhIP誘導性DNA損傷とそれに続く突然変異は、遅延型NAT2 アセチレーターよりも即時型アセチレーターの方が大きいという仮説のもと、ヒトCYP1A2、ヒトNAT2*4 (即時型アセチレーター) およびヒトNAT2*5B (遅延型アセチレーター) を形質導入したNER (ヌクレオチド除去修復) 欠損のUV5-CHO細胞を構築し、PhIPの影響を調べる。
Milon H	トリプトファン熱分解物中に存在する変異原性物質のサーモスプレー液体クロマトグラフィー-マススペクトロメトリー (TS-LC-MS) 分析	Journal of Chromatography, (1987) Vol. 394, No. 1, pp. 201-8.	Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx	精製トリプトファンを異なった温度で異なった時間加熱したときに生成するTrp-P-1、Trp-P-2を定量する
Miyauchi M	新生マウスの二段階腫瘍形成検定によるMeIQxおよびPhIPの発がん性検証	Cancer Lett. 1999 Jul 19;142(1):75-81	MeIQx、PhIP	げっ歯類を用いた長期発がん性バイオアッセイの代替手段として、新生マウス二段階腫瘍形成検定を検証する。
Miyazawa M	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535/pSK1002 Umu試験における <i>Uncaria sinensis</i> 由来トリテルペノイドによる、変異原Trp-P-1のSOS-誘導活性の抑制	Journal of Agricultural and Food Chemistry, (2005) Vol. 53, No. 6, pp. 2312-2315.	Trp-P-1	<i>Uncaria sinensis</i> のメタノール抽出物ursolic acidによる、Trp-P-1のSOS誘導活性の抑制効果をUmuテストにより確認する。
Mollersen L	多発性腸管腫瘍マウスのPhIP誘導性腫瘍における大腸腺腫症切断変異	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2004) Vol. 557, No. 1, pp. 29-40.	PhIP	C57BL/6J多発性腸管腫瘍 (Min) /+マウスにおけるPhIP誘導性の腸管腫瘍の大腸腺腫症 (Apc) 対立遺伝子部位の変異を解析する。
Mori S	umu試験による有害化学物質と排水の遺伝毒性危険性影響評価に関する研究	Kankyo Eisei Kogaku Kenkyu, (2002) Vol. 16, No. 2, pp. 23-29.	Trp-P-2	浄水酸化処理時の副生物や水環境中に放出されている発がん物質を、umu試験により評価する。
Mori Y	HCAやN-ニトロソアミンの修飾に誘導されるラットにおける発がんでの代謝活性化の役割	Carcinogenesis and Modification of Carcinogenesis, (2005) pp. 57-96.	HCA全般、MeIQx、PhIP	たばこの煙(CS)、エタノール、isothiocyanateまたはクルクミンによるHCA誘導またはN-ニトロソアミン(NOC)誘導発がんの調節にかかわるメカニズムを解明する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Mori Y	ラット肝臓におけるa-ナフチルイソチオシアネイトとHCAのPhIPの、チトクロームP-450,種々変異原の突然変異活性化およびグルクロン酸抱合に対する影響	Mutagenesis, (2005) Vol. 20, No. 1, pp. 15-22.	Glu-P-1、PhIP、Trp-P-2、MeA- α -C、IQ	PhIP誘発乳がんをa-ナフチルイソチオシアネイトが抑制するメカニズムを明らかにする。
Morotomi M	強力な変異原である熱分解生成物のin vitroにおける腸内細菌への結合	JNCI, Journal of the National Cancer Institute, (1986) Vol. 77, No. 1, pp. 195-201	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx	腸内細菌のin vitroでの熱分解生成物との結合について、Trp-P-2と細菌の結合メカニズム、発がん物質の腸内細菌への結合の意義について調べる。
Mortensen A	IQへの26週間の暴露はHMGCR/mts1 tg579トランスジェニックマウスにおいて有意に腫瘍形成頻度を増加させない	Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science (2004), 31(3), 131-141	IQ	がん転移を促進するmts1遺伝子を全身の組織に発現したHMGCR/mts1 tg579トランスジェニックマウスを用いたOECDガイドラインnr. 451よりも短い期間で行える発がん性試験モデルの有用性を検証する。
Murai T	F344/DuCrjラットにおけるMeIQx誘導肝臓がんの閾値効果のエビデンス	Toxicologic Pathology, Vol. 36, No. 3, 472-477 (2008)	MeIQx	食物由来で遺伝毒性のあるMeIQx暴露によるヒトにおけるリスクの可能性を予測する。低濃度のMeIQx暴露において、発がんに対して影響のない濃度が存在すると予想して、ヒトにおける日常的なMeIQx摂取量に匹敵する用量の投与での発がん性について検証する。
Nagao M	発がん性物質HCAのヒトへの暴露と、実験動物での変異フィンガープリント	Environmental Health Perspectives, (1996) 104 (Suppl 3) 497-501. Ref: 31	MeIQx、PhIP、Glu-P-1	調理した肉や魚に最も多く含まれるPhIPとMeIQxのヒトへの暴露量を調査し、ヒト体内でのDNA付加体レベルを他の物質と比較した。また、フィンガープリント法によりこれらの物質が誘発する突然変異について調べる。
Nakagama H	2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine、PhIPによる異常腺窩形成のラットにおける感受性の遺伝分析	Cancer Lett, 143:205-209, 1999	PhIP	以前にPhIPによる異常腺窩形成に対してF344ラットは感受性があり、ACIラットは耐性があったこと、また、このF344ラットにおける遺伝的感受性がACIラットに対して常位染色体優性であることを報告した。本研究ではF344ラットにおけるその感受性遺伝子候補を同定する。
Nakahara K	タイの食用植物およびMicromelum minutumから単離した生物活性カルバゾールアルカロイドであるマハニンの抗変異原性	Journal of Agricultural and Food Chemistry, (2002) Vol. 50, No. 17, pp. 4796-4802.	Trp-P-1、Trp-P-2、PhIP	118種のタイの食用植物から抗変異原性を有する物質をスクリーニングする。また、Micromelum minutumから抗変異原性成分を単離し、これらの抗変異原性活性を測定する。
Nakai Y	食事用の焦げた肉中の発がん物質PhIPは、ラット腹側前立腺において発がんイニシエーターおよびプロモーターとして作用する	Cancer Research, (2007) Vol. 67, No. 3, pp. 1378-1384.	PhIP	PhIPで誘導される前立腺がんのローブ (lobe) 特異性についての分子メカニズム解析のため、ラットを短期PhIP処理し、前立腺の各ローブにおける突然変異頻度を測定する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Negishi T	シヨウジョウバエにおける、発がん物質の遺伝毒性に与えるクロロフィリンの阻害効果	Cancer Letters (Shannon, Ireland), (1994) 83 (1-2) 157-64.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、A- α -C、MeA- α -C、IQ、MeIQx	シヨウジョウバエの2つの試験系を使って、発がん物質の遺伝毒性に与えるクロロフィリンの影響とその阻止機構を調べること。
Ni W	液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析による調理牛肉、豚肉、鶏肉中の13種類のHCA類の定量	Journal of Agricultural and Food Chemistry, (2008) Vol. 56, No. 1, pp. 68-78.	IQ、PhIP、A- α -C、MeA- α -C	調理の程度の異なる牛肉、豚肉、鶏肉中のHCA類含量を分析する。
Nii H	Glu-P-1誘発ネズミチフス菌において銅亜鉛スーパーオキシドジムスターゼが変異原性を高める	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2008) Vol. 653, No. 1-2, pp. 14-22.	Glu-P-1、Glu-P-2、Trip-P-1、Trip-P-2、IQ、MeIQx、MeA- α -C、PhIP	げっ歯類の肝ミクロソームで誘発された発がん性物質の変異原性は、肝細胞質の存在下で増強される。この増強因子を、Glu-P-1のミクロソームを介した変異原性を指標としてラット肝細胞質から精製し、同定する。
Nishikawa A	MeIQx、IQ、PhIP を摂取させた後、デキストラン硫酸塩処理したC57BL/6Jマウスにおける結腸腫瘍の誘導	Toxicological Sciences, (2005) Vol. 84, No. 2, pp. 243-248	IQ、MeIQx、PhIP	C57BL/6J野生型とそのトランスジェニックマウスであるgpt deltaマウスにおいてMeIQxが結腸腫瘍を誘導するかどうかを解明し、さらにその遺伝毒性が結腸腫瘍誘発に十分であることを確認するため、デキストラン硫酸塩を使った結腸腫瘍誘発性条件下でC57BL/6JマウスのMeIQx、IQ、PhIP摂取による結腸腫瘍形成を調べる。
Nize M G	HCA類	Bioactive Compounds in Foods, (2008) pp. 358-377.	記載なし	調理食品に含まれる変異原HCA類発見の歴史的な説明とその前駆体・生成に関する現在の知見を再考する。
Nozawa H	ラット大腸におけるHCA誘導突然変異とPhIP 誘導 大腸異常腺窩 ACF に対するビールの抑制効果	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2004) Vol. 559, No. 1-2, pp. 177-187.	MeIQx、PhIP、Trp-P-2、Glu-P-1、IQ	4種類のビール(ピルスナータイプ2種、黒ビール、スタウトビール)のHCA群に対する抗変異原作用を、コメットアッセイ、DNA付加体分析、A- α -CFアッセイによりin vivo で評価する。
Ochiai M	PhIP誘発ラット大腸がんにおける異型の異常陰窩巢の解析	Am J Pathol. 2003 Oct;163(4):1607-14	PhIP	大腸がんにおけるACF形成の生物学的意義を理解するためにPhIP誘導による大腸がんにおけるACFの形態学および遺伝学的解析を行う。
Nagao M	動物発がん閾値のヒトへの補外	Genes and Environment (2008), 30(4), 160-165	PhIP、MeIQx	既報のデータを用いてPhIPおよびMeIQxによる発がん性の用量反応を比較する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Oda Y	ヒトチトクロームP4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4とヒトNADPH-P450還元酵素と細菌O-アセチルトランスフェラーゼを発現しているumu試験のサルモネラ菌株におけるHCAとその他の前発がん物質の代謝活性化	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2001) Vol. 492, No. 1-2, pp. 81-90.	Trp-P-1、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2、PhIP	ヒトチトクロームP450の異なるサブタイプの、HCAに対する代謝活性化能を、新しく開発したサルモネラ菌を使ったumu試験を使って調べる。
Ogawa S	ケルセチンの芳香族アミンやアセトアミドに対する変異原性調節効果	Mutation Research Letters, (1987) Vol. 192, No. 1, pp. 37-46.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2	32種類の芳香族アミンとそれらのアセトアミドの変異原性に対するケルセチンの効果を <i>Salmonella typhimurium</i> TA98を用いて調べる。
Ohgaki H	調理した食物に含まれるHCAのマウスとラットに対する発がん性	Environmental Health Perspectives, (1986) Vol. 67, pp. 129-34.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、MeA- α -C、A- α -C、IQ、MeIQ	上記対象物質のマウス、ラットに対する発がん性について明らかにする。
Ohgaki H	グルタミン酸および大豆グロブリン熱分解性生物由来の変異原性化合物のマウスにおける発がん性	Carcinogenesis, (1984) Vol. 5, No. 6, pp. 815-9.	Glu-P-1、Glu-P-2、MeA- α -C、A- α -C	熱分解により生成されるGlu-P-1、Glu-P-2、MeA- α -C、A- α -CをCDF1マウスに投与することにより発がんが誘発されるか調べる。
Ohta T	生物学的閾値以下の濃度でのヘトロサイクリックアミンの複合による変異原性作用	Genes and Environment (2006), 28(4), 181-184	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、MeIQ、IQ	個々物質による発がん性の生物学的閾値以下の低濃度で6種のHCAを複合投与した場合の変異原性作用を調べる。
Oshite H	加熱した大豆の変異原不活性化	Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, (1996) Vol. 60, No. 7, pp. 1152-1155.	Trp-P-1、Glu-P-2、IQ、MeIQx、PhIP	225 \pm 5 $^{\circ}$ Cで加熱した大豆抽出液の変異原不活性化を明らかにし、変性、吸収された大豆の変異原不活性化のメカニズムを解明する。
Overik E	F344ラットにおけるHCAの飼料投与後の心臓DNAアダクト形成	DNAging: Genetic Instability and Aging, (1991) Vol. 256, No. 1, pp. 37-43.	IQ、MeIQx、Trp-P-1、Glu-P-1	以前報告された心臓でのDNAアダクト形成がPhIPに限られる現象であるのか、または他のHCAの飼料投与によってもおきるのかを調べる。
Pais P	牛エキス中の変異原性アミンの解析常法としての液体クロマトグラフィー：大気圧化学イオン化質量分析法	Journal of Chromatography, A, (1997) Vol. 778, No. 1 + 2, pp. 207-218.	IQ、MeIQ、MeIQx、4,8-DiMeIQx、Glu-P-1、Trp-P-1、Trp-P-2、PhIP、Harman、Norharman、A- α -C、MeA- α -C	牛エキス中の14種のヘトロサイクリック芳香族アミンや関連化合物を同時決定するための大気圧化学イオン化を用いた液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)を開発する。
Paladino G	ヘトロサイクリックアロマトミックアミンは代謝的に能力のある <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 株において効率的に有糸分裂組み換えを誘発する	Carcinogenesis, (1999) Vol. 20, No. 11, pp. 2143-2152.	IQ、MeIQx、MeIQ、Trp-P-2、PhIP、Glu-P-1、Glu-P-2	げっ歯類のHCA誘発腫瘍に見られるヘテロ抱合性の消失 (LOH) とHCAの組み換え誘導活性との関連性を詳細に調べるため、代謝的に能力のある出芽酵母を使用していくつかのHCAの遺伝毒性について検討する。
Pfau W	ヘトロサイクリック芳香族アミンはDNA鎖切断や細胞変異を誘起する	Carcinogenesis, (1999) 20 (4) 545-51	8-MeIQx、4,8-DiMeIQx、IQ、A- α -C、MeA- α -C、PhIP	6種類のヘトロサイクリック芳香族アミンの、線維芽細胞およびサルモネラ菌に対する変異原性を調べる。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Rohrman S	ヘテロサイクリック芳香族アミン摂取による結腸直腸腺腫のリスクの上昇：前向きコホート研究における発見事項	American Journal of Clinical Nutrition, (2009) Vol. 89, No. 5, pp. 1418-1424.	MeIQx、PhIP	HCA摂取と結腸直腸腺腫発生率の相関性を前向きコホート研究により評価する。
Rovito P M	前立腺がんリスク要因としてのHCAとN-アセチル基転移酵素の遺伝子型	Prostate Cancer and Prostatic Diseases, (2005) Vol. 8, No. 1, pp. 69-74.	MeIQx、PhIP	前立腺がん (PCa) と摂取する肉の種類、HCAの摂取、NAT遺伝子型との相関性を調べる。
Saito K	グルタチオンおよびグルタチオントランスフェラーゼによるN-hydroxy-Trp-P-2の活性化および解毒	Carcinogenesis, (1983) Vol. 4, No. 12, pp. 1551-7.	Trp-P-2、N-OH-Trp-P-2、NO-Trp-P-2	グルタチオンはある種の物質をシステイン残基に結合して抱合体を形成し、細胞外に排出されて、細胞から有害物質が取り除かれることが知られている。N-OH-Trp-P-2の活性化および解毒における、非酵素的および酵素的グルタチオン抱合の役割をin vitroで調べる。
Saito T	創傷の形成とニッケルおよびHCA Trp-P-2、IQの塗布による実験的口腔上皮性異形成に関する光学顕微鏡的および電子顕微鏡的研究	Aichi Gakuin Daigaku Shigakkaishi, (1994) Vol. 32, No. 1, pp. 55-90.	Trp-P-2、IQ	HCAを含む3種類の異形成誘発物質を、ハムスター舌尖端切除後の創部に塗布し、口腔上皮の変化を組織学的かつ超微細構造的に調べる。
Sasaki Y F	変形アルカリ単一細胞ゲル電気泳動法で検出された、マウス複数組織中のHCAの結腸特異的遺伝毒性	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (1998) Vol. 414, No. 1-3, pp. 9-14	Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx、PhIP	5種類のHCAの、マウス胃腸粘膜および尿路組織における遺伝毒性を in vivo で調べる。
Shan L	食物性発がん物質PhIPによる乳腺発がんに対するラットの感受性は、加齢依存性であり、異なる遺伝子の発現誘導が関係する	American Journal of Pathology, (2004) Vol. 165, No. 1, pp. 191-202.	PhIP	PhIPは二次成長期のラット雌 (43日齢) に乳がんを誘導するが、成熟処女ラット (150日齢) は耐性を示す。加齢依存性のPhIP感受性相異のメカニズムを解析する。
Shimada T	ヒトチトクロームP-450 1B1による化学的に多様な前発がん物質の活性化	Cancer Research, (1996) 56 (13) 2979-84	MeIQ、MeIQx、IQ、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、PhIP	ヒトP450 1B1のがん減物質の活性化における役割を明らかにし、1A1、1A2との比較を行う。
Shin H S	フライパン調理の牛ひき肉パティにおける変異原性とHCAに対する花蜜の影響	Journal of Food Science, (2003) Vol. 68, No. 3, pp. 810-815.	HCA	フライパン調理の牛ひき肉の変異原性とHCAの形成に対する花蜜 (ソバ、クローバー、セージ)、炭水化物 (フルクトース、グルコース、ショ糖)、抗酸化剤 (ビタミンE、BHT) とTrolox? (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) の影響を評価する。
Sinha R	肉、肉調理法、保存と結腸直腸腺腫	Cancer Research, (2005) Vol. 65, No. 17, pp. 8034-8041.	MeIQx、PhIP	肉、加工肉、HCA、PAHベンゾ (a) ピレンと結腸直腸腺腫のリスク調査する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Skog K	調理した食品および肉抽出物中の非極性HCAのGC-MSによる分析	Journal of Chromatography, A, (1998) Vol. 803, No. 1 + 2, pp. 227-233	Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、MeA- α -C	肉製品の熱加工により、変異原性およびがん原性のHCAがしばしばng/gレベルで生成する。調理した肉、鍋の残渣、肉抽出物中の非極性HCAの固相抽出の後、GC-MS技術を導入して分析を行う。
Solyakov A	プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、および鍋残渣中のHCA	Food and Chemical Toxicology, (1998) Vol. 37, No. 1, pp. 1-11.	Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、IQx、MeIQx、PhIP、A- α -C、MeA- α -C	プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、および鍋残渣に含まれる変異原性／がん原性HCAの分析。
Sonestedt E	HCAとオメガ-6-ポリ不飽和脂肪酸は、食品摂取とがんコホートの閉経後の女性における乳がん発生率に寄与するか？	International Journal of Cancer, (2008) Vol. 123, No. 7, pp. 1637-1643.	HCA (MeIQx、PhIP)	HCAが乳がん発生率と相関するかどうか、それがオメガ-6-ポリ不飽和脂肪酸 (PUFA) 摂取非依存性かどうかを評価する。
Steffensen I L	メチル化MeA-A-Cされていない食物変異原2-アミノ-9H-ピリド[2,3-b] インドールA-A-Cは多発性腸腫瘍マウスの新生児において腸腫瘍発生を増加させる	Carcinogenesis, (2002) Vol. 23, No. 8, pp. 1373-1378.	A- α -C、MeA- α -C、PhIP	A-A-CとMeA-A-CがC57BL/6J-Min/+ (多発性腸腫瘍) マウスの腸腫瘍発生に及ぼす影響を調査する。
Stidl R	乳酸菌によるHCA類の結合: 広範なスクリーニング試験の結果	Molecular Nutrition & Food Research 2008, 52, 322 - 329.	A- α -C、PhIP、IQ、MeIQx	乳酸菌12株のHCA結合力、およびそのHCA変異原性に及ぼす影響を調査する。
Sugamori K S	アセチル基転移酵素欠損マウスにおけるアリアルアミン前発がん物質の生体内および生体外代謝	Drug Metabolism and Disposition, (2006) Vol. 34, No. 10, pp. 1697-1702.	PhIP	N-アセチル基転移酵素 (NAT) は、HCAのアセチル化を触媒し、解毒反応経路と活性化反応経路の両方に関与している。NAT1とNAT2酵素欠損マウス、NAT1/2(-/-)型を使って、前発がん物質、ABP (4-aminobiphenyl)、AF (2-aminofluorene)、PhIPの代謝とクリアランスに対するアセチル化の影響を調べる。
Sugiura S	MeIQx処理マウスにおいて、ホルモン β カルボリンの一種;イミダズリン受容体リガンドとノルホルマンは新生物発生前肝臓細胞病巣の発達を抑制するが、NaNO ₂ は促進する	Journal of Toxicologic Pathology, (2005) Vol. 18, No. 2, pp. 99-104.	MeIQx	2種のHCA、ホルモン、ノルホルマン、NaNO ₂ の、MeIQx誘導性ラット肝臓発がんに対する影響を調べる。
Suzuki H	Trp-P-2により肝臓障害とミノによる予防効果	Bioscience, biotechnology, and biochemistry, (2008 Aug) Vol. 72, No. 8, pp. 2236-8	Trp-P-2	Trp-P-2による肝臓障害およびミノを飼料に加えることによる予防効果について報告する。
Suzuki H	変異誘発物質の喫煙や摂食に伴う、膵臓がんリスク修飾における、チトクロームP4501A2、SULT1A1、NAT遺伝子多型の相互作用	Carcinogenesis, (2008) Vol. 29, No. 6, pp. 1184-1191.	PhIP	発がん性物質曝露による膵臓がんの遺伝子因子の同定のため、病院施設の膵臓がん患者を対象としたケースコントロール試験を実施し、CYP1A2、NAT、SULT遺伝子多型を調べる。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Tai C Y	揚げ魚ファイバーにおける、HCA生成に与える各種添加物の影響	Food Chemistry, (2001) Vol. 75, No. 3, pp. 309-316.	IQ、IQx、MeIQx、4,8-DiMeIQx、7,8-DiMeIQx、A- α -C、MeA- α -C、PhIP、Glu-P-1、Glu-P-2、4,7,8-TriMeIQx、Trp-P-1、Trp-P-2	揚げ魚ファイバーにおける、HCA生成ないしは生成阻害が各種添加物によって影響を受けるか否かを調べる。
Takahashi M	HCAによる発がん性の新規ターゲットとしてのラット膀胱： 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole acetateによる腫瘍の誘発	Japanese Journal of Cancer Research, (1993) Vol. 84, No. 8, pp. 852-8.	Trp-P-2	ラットに対するTrp-P-2の発がん性を確かめるため、Trp-P-2の組織内分布を調べ、種差による違いを評価する。
Takayama S	5種のHCA同時投与のF344ラットに対する発ガン影響	Japanese Journal of Cancer Research, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-2、A- α -C、IQ	ヒトは食品より複数のHCAを同時に摂取していることから、それぞれの化合物を低濃度で同時に投与した場合の発がん性のリスクについて検討する。
Takayama S	トリプトファン熱分解生成物で変異原性を有する 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indoleのラットにおける発がん性	Jpn J Cancer Res. (1985), Vol. 76, No. 9, pp. 815-7.	Trp-P-1	Trp-P-1の経口投与によるラットにおける発がん性について調べる。
Takeuchi M	精製コーンブランによる変異原性物質の吸収	Mutation Research, Genetic Toxicology Testing, (1988) Vol. 204, No. 2, pp. 263-7.	IQ、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2	精製コーンブラン(RCB)による発がん性物質dinitropyrene(DNP)の吸収と不活性化の役割について調べる。変異原性HCAについての吸収と変異原性緩和を調べる。
Tanakamaru Z	F344ラットの大腸における自然発生およびMeIQx誘発による異常腺窩巢の本質的な類似	Cancer Lett. (2001) 30;172(2):143-9	MeIQx	自然発生の異常腺窩巢(ACF)の生物学的特性を病理組織学的、免疫組織化学的、分子生物学的に調べ、MeIQx誘発による異常腺窩巢と比較することによりMeIQxの腫瘍原性を評価する。
Tasevska N	肉、調理法、肉由来の突然変異誘発物質、ヘム鉄と肺がんリスクの前向き研究	American Journal of Clinical Nutrition, (2009) Vol. 89, No. 6, pp. 1884-1894.	MeIQx、DiMeIQx、PhIP	肉のタイプ、調理法、調理程度、肉由来の特定の突然変異誘発物質、ヘム鉄が肺がんと相関性をもつかどうかを調べる。
Terahara M	変異原性HCAの結合と吸収に及ぼす乳酸菌の効果	Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, (1998) Vol. 62, No. 2, pp. 197-200.	Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx	HCAの乳酸菌細胞への結合が、小腸によるそれらの吸収にどのような影響を及ぼすかを研究する。
Terry P D	食道と胃噴門のがんとHCAの摂取	Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, (2003) Vol. 12, No. 9, pp. 940-944.	HCA	食道と胃噴門腺がんと食道の扁平上皮がんのリスク要因を集団ベース症例対照研究により調査する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Thiebaud H P	調理肉からの煙の変異原性および化学分析	Journal of Agricultural and Food Chemistry, (1994) Vol. 42, No. 7, pp. 1502-10.	MeIQx、DiMeIQx、A- α -C、PhIP、(IQ、MeIQ、Trp-P-2)	牛肉を調理した際に発生する煙による菌の変異原性を調べ、調理肉による変異原性と比較すること。さらに、煙中の変異原性物質を化学的に同定する。
Tsuda H	乳酸菌変異株 301102Sにより生成されたエキソ多糖類への突然変異原物質の結合	Journal of Dairy Science, (2008) Vol. 91, No. 8, pp. 2960-2966.	Trp-P-1、Glu-P-1、MeIQ、MNNG	乳酸菌変異株により生成されたエキソ多糖類 (EPS) の変異原性物質への結合能と非活性化能を調べる。
Turesky R J	ヒト肝臓および大腸による発ガン性ヘテロサイクリック芳香族アミン代謝活性	Carcinogenesis, (1991) 12 (10) 1839-45.	IQ、MeIQx、PhIP、Glu-P-1	ヒトおよびラットの肝臓、ヒト大腸組織による4つのHCAの肝シトクロームP450依存的なN-oxidationおよび多型肝臓アセチル転移酵素によるN-acetylation、さらにそれらのN-OH代謝産物のO-アセチル転移酵素を介した活性化について調べる。
Turesky R J	NAT2のアセチル化遺伝子型が2-アミノ-9H-ピリド[2,3-b]インドールによる変異原性とDNA付加体に及ぼす影響	Chemical Research in Toxicology (2009) 22, 726-733	A- α -C	A-A-C活性化に対するヒトP450 1A2の役割と、N-アセチル化転移酵素2 (NAT2) の活性が高い表現型 (NAT2*4) と低い表現型 (NAT2*5B) の寄与を調査する。
Turesky R J	中国・上海の男性の喫煙と尿中2-アミノ-9H-ピリド[2,3-b]インドールレベルの関連	Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, (2007) Vol. 16, No. 8, pp. 1554-1560.	PhIP、8-MeIQx、4,8-DiMeIQx、A- α -C	上海での一般的な肉料理中の4種類のHCA (PhIP、8-MeIQx、4,8-DiMeIQx、A-A-C) 含量、および上海の成人男性の尿中に含まれるHCAの種類と含量を分析する。
Turesky R J	2-アミノ-1,7-ジメチルイミダゾ[4,5-g]キノキサリンの同定：調理牛肉中で多量に形成される変異原性HCA	Chemical Research in Toxicology (2007) 20, 520-530	PhIP、IQ、A- α -C、Me A-A-C	加熱調理された牛肉から検出された新たなHCA、2-アミノ-1,7-ジメチルイミダゾ[4,5-g]キノキサリン (7-MeIgQx) の変異原性について調査する。
Turesky R J	発がん性HCA類の定量、およびHPLC/ESI-MSによる調理肉とグリル剥離物中の新奇のHCA類の検出	Journal of Agricultural and Food Chemistry (2005) 53, 3248-3258	A- α -C、MeA- α -C、IQ、PhIP	単離手法の簡便化および三連四重極型質量分析のSRMとプロダクトイオンキャンモードの併用により、調理肉とグリル剥離物中に含まれる既知のHCA類の再定量および新奇のHCAを検出する。
Ubagai T	PhIPおよび高脂肪食の間欠的投与による新規の遺伝子変異群を示すラット大腸腫瘍の効率的な誘発	Carcinogenesis. (2002) 23(1):197-200.	PhIP	間欠的なPhIP投与と高脂肪食を用いて効率的で新しい大腸腫瘍誘導プロトコルを構築する。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Ushijima T	HCA誘導腫瘍における遺伝子変化	Proceedings of the International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund, (1995) Vol. 23rd, No. Heterocyclic Amines in Cooked Foods: Possible Human Carcinogens, pp. 281-91.	MeIQ、IQ、MeIQx、PhIP、Glu-P-1	HCAにより誘発されたがんにおける遺伝子変化がどの物質によりどの遺伝子におきているのかを調べる。
Vanhaecke L	微生物PhIP代謝産物PhIP-M1はCaco-2細胞におけるDNA損傷、アポトーシス、細胞周期の停止を誘発する	Toxicology letters, (2008) Vol. 178, No. 1, pp. 61-9.	PhIP	新しく同定された腸内細菌によるPhIP代謝産物PhIP-M1のCaco-2細胞株における細胞毒性と遺伝毒性作用について調べる。
Walsh A A	がん原性HCA毒性に対する、培養ヒト表皮細胞の2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxinの感受性増強作用	Carcinogenesis, (1995) 16 (9) 2187-91.	Trp-P-1、Trp-P-2、IQ	Trp-P-1の発がん性に対するTCDD(2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin)の誘導・増強効果を調べ、高感度の発がん性検出方法を構築する。
Wang R	白茶とカフェインのラットにおけるPhIP誘発腫瘍形成とβカテニン発現に対する保護作用と促進作用	Carcinogenesis, (2008) Vol. 29, No. 4, pp. 834-9.	PhIP	PhIPおよび高脂肪食を与えたラットにおける、白茶とその主要成分であるカフェインおよびエピガロカテキン没食子酸塩(EGCG)による腫瘍形成開始後の抑制効果を調べる。
Wang R	PhIPと高脂肪飼料の短期断続的投与後、ラット結腸上皮においてβ-カテニンが劇的に増加する	Cancer Science, (2008) Vol. 99, No. 9, pp. 1754-1759.	PhIP	短期断続的PhIPと高脂肪 (HF) 飼料の暴露による、ラットの腫瘍化開始前の結腸腺窩恒常性とβ-カテニン発現における初期変化を調べる。
Wanibuchi H	エタノールの同時投与ありなしでのMeIQxの肝臓がんに対する無影響濃度の存在	Toxicologic pathology, (2006) Vol. 34, No. 3, pp. 232-6.	MeIQx	エタノール同時投与モデルにおけるMeIQxの低用量投与による発がん性について調べる。
Wild D	ネズミチフス菌で発現させたヒトアシルN-アセチルトランスフェラーゼイソ酵素NAT1とNAT2による触媒作用をうけたヘテロサイクリックアロマティックアミンの代謝活性化	Carcinogenesis, (1995) 16 (3) 643-8	IQ、isoIQ、MeIQ、MeIQx、NI、PhIP、Glu-P-1、Glu-P-2、Trp-P-2	ヒトアセチルトランスフェラーゼのHCA代謝活性化能をテストするために、ネズミチフス菌で発現させたヒトN-アセチルトランスフェラーゼNAT1とNAT2による、ヘテロサイクリックアシルヒドロキシアミンのO-アセチル化を変異原性試験にて検討した。
Yamada M	ラットのTrp-P-1排泄に対するカマンベールチーズの投与効果	Miruku Saiensu, (2000) Vol. 49, No. 1, pp. 29-36.	Trp-P-1	抗変異原性のあるカマンベールチーズのTrp-P-1の排泄に対する影響について検討する。
Yoshimi N	ラット、マウス、ハムスター肝細胞を用いた肝細胞初代培養/DNA修復試験における熱分解・調理製品で生じたHCAの遺伝毒性での種差および性差	Environmental and Molecular Mutagenesis, (1988) (12) 53-64.	Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、A-α-C、MeA-α-C、IQ、MeIQ、MeIQx、4,8-diMeIQx、7,8-diMeIQx	多種 (11種) のHCAの遺伝毒性を、実験動物から得た肝細胞を使った肝細胞 (HPC) /DNA修復試験で調べる。

筆頭著者	標題 (和訳)	出典	対象物質	目的
Yoshimoto M	膵管上皮に対するHCAの発がん性	Cancer Letters (Shannon, Ireland), (1999) Vol. 143, No. 2, pp. 235-239.	Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx	ハムスターの急速な病変産生モデルによる、膵管腺がんの早期検出と予防の研究をする。
Yun C H	Tリンパ球増殖およびIL-2産生の抑制を経由したPhIP免疫抑制	Toxicology, (2006) Vol. 217, No. 1, pp. 31-38.	PhIP	PhIPは、結腸、乳腺、リンパ組織にがんを発症する。Balb/cマウス由来の胸腺細胞とマウス胸腺細胞株EL4を用いてPhIPの免疫学的影響を調べる。
Yun C H	食物由来がん原性HCAであるTrp-P-1はマウスのマクロファージでNOの産生を促進する	Toxicology Letters, (2006) Vol. 161, No. 1, pp. 18-26.	Trp-P-1	マウスのマクロファージについて、変異原性およびがん原性の直接的な引き金となるNOおよびその酸化誘導体産生に対するTrp-P-1の誘導効果を調べる。
Yun C H	食物由来の発がん性HCAであるTrp-P-1の免疫抑制効果に対する反応性酸素種の関与	Toxicology Letters, (2006) Vol. 164, No. 1, pp. 37-43.	Trp-P-1	Balb/cマウスの脾臓および胸腺から調製されたリンパ球の幼若化現象に及ぼすTrp-P-1の免疫抑制効果を調べる。
Zenser T V	ニトロソ化によるアミノイミダゾール発がん物質の活性化：変異原性とヌクレオチド付加体	Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2009) Vol. 673, No. 2, pp. 109-115	IQ、MeIQx	ニトロソ化したIQとMeIQx (N-NO-IQ、N-NO-MeIQx) が、共有結合型ヌクレオチド付加体を形成した反応性物質に変わり、突然変異誘発物質となることを、E.coliのlacZフレームシフト対立遺伝子の復帰突然変異を測定するアッセイ法で示す。
Zhang L	複製型DNAポリメラーゼにおける食品発がん物質のDNA付加体の分子動力学によるヌクレオチドの取り込みと拡張の傷害の解析	Chemical Research in Toxicology, (2005) Vol. 18, No. 9, pp. 1347-1363.	PhIP	PhIPの主要な突然変異はG→T塩基転換であり、主なPhIP-DNA付加体はグアニンのC8に対する付加体である。哺乳類結腸腫瘍において突然変異を頻繁に起こすApc腫瘍抑制遺伝子のPhIP誘導性突然変異ホットスポットのコードン635の5'-GGGA-3'におけるこの付加体を調べる。拡散の複製におけるこの付加体の逆向きのヌクレオチド取り込みと伸長を構造レベルで分子動力学的解析する。
Zhu J	ヒト膵臓組織におけるPhIP-DNA付加体の検出	Biomarkers, (2006) Vol. 11, No. 4, pp. 319-328.	PhIP	ヒト膵臓におけるHCA誘導性のDNAダメージの有無を決定するため、膵臓がんを発症していない健康体からの正常組織、膵臓がん患者のがん組織とそれに隣接する正常組織におけるPhIP-DNA付加体を、免疫組織化学染色とコンピューター支援イメージ分析により計測する。
Zsivkovits M	異なった乳酸菌株によるラットの大腸および肝臓でのHCA誘導DNA損傷の忌避	Carcinogenesis, (2003) Vol. 24, No. 12, pp. 1913-1918.	PhIP、IQ、MeIQx、A-A-C	ヨーグルトの商業生産に利用されている4種類の乳酸菌の、HCA類(HCA)によるDNA損傷に対する防除効果を調べる。

2. 2 海外の評価書情報

国際機関や各国の関連機関のホームページなどから、下表の評価書情報を得た。これらの情報のうち、◎の評価書の和文抄録を作成し、◎と○を後述する4. 物質ごとのまとめに使用した。(詳細は資料集参照)。

物質	機関	標題	発行年	まとめ に使用
PhIP, MeIQ, MeIQx	国際がん研究機関 (IARC)	IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 56	1993	
		IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs, Volumes 1 to 42, Supplement7* (注: MeIQ, MeIQx のみ)	1987	
		IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 40 (注: MeIQ, MeIQx のみ)	1986	
	米国国家毒性プログラム (NTP)	Selected Heterocyclic Amines	2005	○
		Heterocyclic Amines (Selected): PhIP, MeIQ, and MeIQx	2004	
		Summary of RG11, RG22 and NTP Board Subcommittee3 Recommendations for Nominations Reviewed for Listing in the Report on Carcinogens4, 11th Edition	2004	
		Report on Carcinogens Background Document for Selected Heterocyclic Amines: PhIP, MeIQ, and MeIQx	2002	◎
		National Toxicology Program, Board of Scientific Counselors, Report on Carcinogens Subcommittee Meeting November 19-20, 2002	2002.11.1 9-20	
		National Toxicology Program, Heterocyclic amines (Selected): PhIP, MeIQ, and MeIQx	2002.10.2	
	米国食品香料製造者協会(FEMA)	Selected HCAs: PhIP, MeIQ, MeIQx (RG1 Review Summary Document for Selected Heterocyclic Amines (HCAs))	2002.8.6	
Safety Accesssment of Ingested Heterocyclic amines: Initial Report		1993		
IQ	危険物質データバンク (HSDB)	2-AMINO-3-METHYLIMIDAZO(4,5-f)QUINOLINE	2003	○
	国際がん研究機関 (IARC)	IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 56	1993	
		IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 40	1986	
	米国国家毒性プログラム (NTP)	Committee Recommendations: 2-Amino-3methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)	2009 updated	
		Selected Heterocyclic Amines Committee, Recommendations: 2-Amino-3methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) Summary of Information	2005 2002	○
米国食品香料製造者協会 (FEMA)	Report on Carcinogens Background Document for 2-Amino-3-methylimidazo [4,5-f]quinoline (IQ)	1999	◎	
	Safety Accesssment of Ingested Heterocyclic amines: Initial Report	1993		
A-α-C	危険物質データバンク (HSDB)	2-AMINO-9H-PYRIDO(2,3-b)INDOLE (A-alpha-C)	2003	○
	国際がん研究機関 (IARC)	IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs, Volumes 1 to 42, Supplement7*	1987	◎
IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 40		1986		

物質	機関	標題	発行年	まとめ に使用
MeA- α -C	国際がん研究機関 (IARC)	IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs, Volumes 1 to 42, Supplement7*	1987	
		IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 40	1986	◎
Glu-P-1	国際がん研究機関 (IARC)	IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs, Volumes 1 to 42, Supplement7*	1987	
		IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 40	1986	◎
	米国食品香料製造者協会 (FEMA)	Safety Accesssment of Ingested Heterocyclic amines: Initial Report	1993	○
Glu-P-2	国際がん研究機関 (IARC)	IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs, Volumes 1 to 42, Supplement7*	1987	
		IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 40	1986	◎
	米国食品香料製造者協会 (FEMA)	Safety Accesssment of Ingested Heterocyclic amines: Initial Report	1993	○
Trp-P-1	国際がん研究機関 (IARC)	IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs, Volumes 1 to 42, Supplement7*	1987	
		IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 31	1983	◎
	米国食品香料製造者協会 (FEMA)	Safety Accesssment of Ingested Heterocyclic amines: Initial Report	1993	○
Trp-P-2	国際がん研究機関 (IARC)	IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs, Volumes 1 to 42, Supplement7	1987	
		IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 31	1983	◎
	ドイツ労働安全研究所 (BGIA)	1-Methyl-3-amino-5H-pyrido(4,3-b)indole		
	米国食品香料製造者協会 (FEMA)	Safety Accesssment of Ingested Heterocyclic amines: Initial Report	1993	○

*：情報は発がん性ランクの再評価結果のみ

◎：和文抄録を作成

◎、○：物質ごとの取りまとめ作成に使用

2. 3 海外のリスク管理措置情報

国際機関や各国の関連機関のホームページなどから、下表の情報を入手し和文抄録を作成した（詳細は資料集参照）。

№.	発行機関	タイトル	発行年
1	米国国立がん研究所 (NCI)	Heterocyclic Amines in Cooked Meats	2004.9.15
2	米国農務省 (USDA)	How you cook your meet May Affect Your Health	2006.10.23
3	欧州委員会 (EC)	FIFTH FRAMEWORK PROGRAMME 1998-2002 QUALITY OF LIFE AND MANAGEMENT OF LIVING RESOURCES	2002.10.
4	英国食品基準庁 (FSA)	REPORT OF RISK ASSESSMENT RESEARCH PROGRAMME (T01) REVIEW	2002.6.25-26
4-1		Assessment of human exposure to reactive metabolites of dietary genotoxins (RPMS now Imperial College of Medicine)	1998.5.31 終了
4-2		Development of PBPK models for food chemicals and contaminants (BIBRA International)	0997.9.30 終了
4-3		Can biomarkers be used to assess the carcinogenic potential of heterocyclic amines (Imperial College of Medicine)	2001.10.31 終了
4-4		Heterocyclic amines as risk factors in colon cancer (University of Dundee and University of Leeds)	2001.10.31 終了
4-5		Measurement of the formation of MeIQx and PhiPDNA adducts in human colon cancer and non cancer patients (University of York)	2001.10.31 終了
5	英国食品基準庁 (FSA)	T01009:Can cruciferous vegetables alter the genotoxicity of heterocyclic amines following human consumption of cooked meat?	2005.1.18
6	英国食品基準庁 (FSA)	Eat well, be well -Meat	現在
7	英国毒性委員会 (EUGRIS)	Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment Risk Assessment of Mixtures of Pesticides and Similar Substances	2002.9
8	オーストラリア・ニュージーランド食品基準局 (FSANZ)	SCIENTIFIC ASSESSMENT OF THE PUBLIC HEALTH AND SAFETY OF POULTRY MEAT IN AUSTRALIA	2005.11
9	米国毒性物質登録管理局(ATSDR)	PUBLIC HEALTH ASSESSMENT Air Addendum AMOCO-SUGAR CREEK	

3. 食品中に含まれるヘテロサイクリックアミン

3. 1 発見と研究の経緯

HCA は、1975 年に魚の焼け焦げ中から初めて発見された。国立がんセンター杉村隆博士らのグループが、日常摂取している加熱食品中に数種の変異原物質群として HCA の構造を有する変異原物質を分離・同定し、これらの変異原物質をラットおよびマウスに投与して発がん物質であることを証明した。

HCA は高温で肉や魚を調理したときに濃縮されたクレアチニンおよびアミノ酸により ppb レベルの濃度で生成される。HCA の発がん性はマウスやラット、ヒト以外の霊長類等の実験動物で示されており、例えばマウスの発がん性試験においては 50 mg/kg 体重・日以上投与されている場合に発がん性を示すという情報がある。また、疫学的研究により、HCA の摂取は、フライした肉の摂取およびがんとの間に関係があることが示されている。暴露量としては、PhIP および MeIQx の 1 日あたりの平均摂取量は、それぞれ 285.5~457、33~36 ng/day とのデータがある。現在ヒトに対するリスクは明らかにされていないが、暴露レベル、体内への吸収や生体内変化に影響を及ぼす食事要因、および個人の HCA への対処に依存するとされている (NTP、2002)。

近年、ILSI(国際生命科学研究機構)において、PhIP のヒトでの推定暴露量 (20 ng/kg/day) から MOE (暴露マージン) が推定されている。前立腺がん、乳がんおよび結腸がんのそれぞれの最も低い MOE は、それぞれ 20,000、40,000 および 150,000 と推定した (Carthew P *et al*, 2010)。

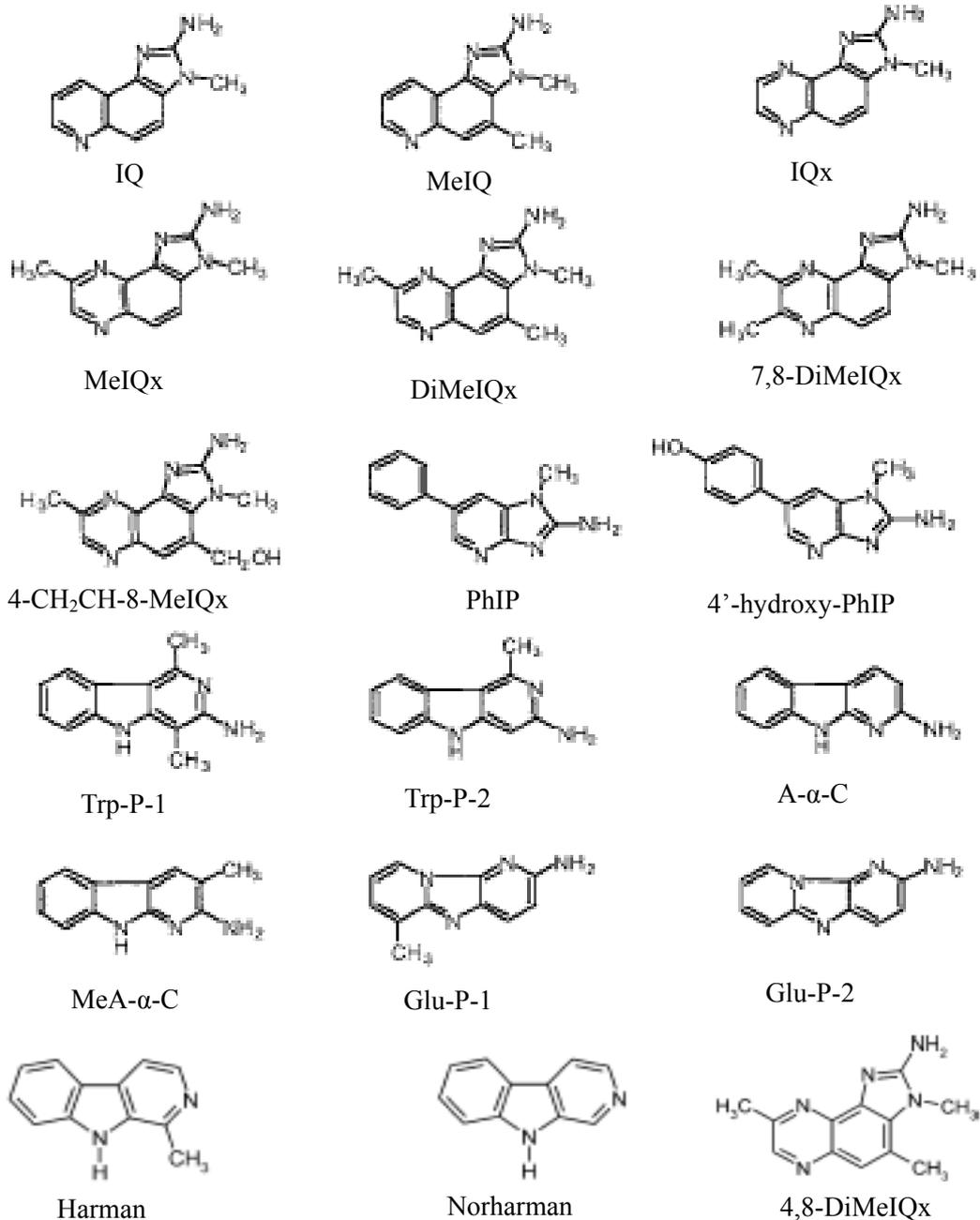
3. 2 ヘテロサイクリックアミンの概要

(詳細は、資料集参照)

(1) ヘテロサイクリックアミンの種類、生成機構

1977 年から 1978 年に Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-2、A- α -C および MeA- α -C の 6 種が焼肉から単離・同定された (Sugiura T *et al*, 1978)。次いで 1980 年から 1981 年に IQ、MeIQ、MeIQx が焼肉や焼魚から単離・同定され (Sugimura T *et al*, 1981)、PhIP は 1986 年米国で同定された (Sugimura T *et al.*, 2004)。現在約 20 種の HCA が報告されている。

HCA として報告されている主な物質を次の図に示した。これらの HCA は、亜硝酸でアミノ基が水酸基に変換されて変異原性を失うグループ (Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、A- α -C、MeA- α -C 等) と、変異原性が変化しないグループ (IQ、MeIQ、MeIQx、DiMeIQx、7,8-DiMeIQx 等) に分けられる。後者はクレアチンやクレアチニンをイミダゾール部分の前駆体としている。またグループ 2 の HCA の方が調理肉中の濃度が高いとされている (Sugimura T *et al.*, 2004)。



(2) ヘテロサイクリックアミンの暴露

米国で行われた 3 種の大規模コホート研究 (Nurses' Health Study2 種、Health Professionals Follow up Study) では、PhIP および MeIQx の 1 日あたりの平均摂取量 (ng/day) は、それぞれ 285.5~457、33~36 である。ブイヨンやワイン中にも検出される (NTP、2002)。

その他にも、調理の際に発生する煙中やタバコの煙にも検出されている。また、食品廃棄物、埋立式ごみ処理地、ごみ焼却場、空気粒子、ディーゼル廃棄粒子にも見出されている。これらから検出された主な HCA は、タバコ主流煙 (A- α -C、Trp-P-1、IQ、MeIQ)、タバコ副流煙 (A- α -C、Trp-P-1、IQ、MeIQ、PhIP)、燃焼煙：黒胡椒 (A- α -C、Glu-P-1、Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、PhIP)、魚干物 (A- α -C、Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQ、PhIP)、木屑 (IQ)、ゴム (Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQ)、防蚊剤 (A- α -C、IQ) である (Kataoka *et al*, 1998)。

(3) ヘテロサイクリックアミンの代謝

HCA は、ヒトとラットではチトクローム P450(CYP)1A2 によって代謝されるが、CYP1A1、1B1 や 3A4 も、環外アミノ基の水酸基への酸化に関与する。水酸化アミノ基はさらに N(O)acetyl-transferase (NAT) により O-acetyl 体に代謝される。HCA の N-acetoxy 体は自動的に arylnitrenium イオン (R-NH⁺) に変化し、DNA と反応してグアニン塩基の 8 位の炭素原子に付加体を作る。

(4) 食品中の HCA および人体中の DNA およびタンパク質の付加体の測定

HCA の測定法として、液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィー等を使用する簡便法から、種々の質量分析法を利用する精密法まで目的に合った各種の方法が開発されている。利用されている測定方法を以下に挙げる。

- ・ガスクロマトグラフィー - 質量分析
- ・窒素選択検出ガスクロマトグラフィー
- ・液体クロマトグラフィー
- ・液体クロマトグラフィー - 質量分析 (イオントラップ、単一四重極、三連四重極)
- ・液体クロマトグラフィー - タンデム質量分析
- ・液体クロマトグラフィー - 熱スプレー質量分析
- ・液体クロマトグラフィー - エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析
- ・キャピラリー電気泳動
- ・薄層クロマトグラフィー
- ・薄層クロマトグラフィー - 液体クロマトグラフィー

(5) ヘテロサイクリックアミンのヒトへの影響

HCA の疫学調査では、胃がんと焼き魚の関係が指摘されており、米国では PhIP と乳がん発生率は正の相関、MeIQx かまたは DiMeIQx の摂取は大腸がん発生とも正の相関が認められている。現在、肉の摂取は大腸がん発生の 1 つの原因因子であるとの見方もあるが、欧州の研究では肉の調理法や肉の摂取回数とがん発生は無関係であった。しかし、方法論は顕著に進歩しているものの、HCA の摂取量の正確な把握について世界的な標準化もない状況である。米国やその他の国においてコホート研究が進んでおり、ま

た、組織や体液や尿中の DNA やタンパク質の HCA 付加体のような代理マーカーを確立してサポートする動きもある。

HCA の食品中での生成や疫学の研究では、家庭やレストラン等で使われる様々な調理法について検討されている。主な調理法を示した。主に米国における定義を以下に挙げる。これらは、国際的に統一されたものではない。(RoC Background Document for Selected Heterocyclic Amines (NTP, 2002.09.19))

用語	報告書での表現	調理法
Bake/Roast	ベイク/ロースト	食品が接する環境（オーブン等）による、直接的でない加熱で調理すること。ローストは通常 232℃、ベイクはそれより低い温度とされる(Digsmagazine 2002)。
Broil	ブロイル	ガスの炎や電気コイルの下で放射熱に直接さらして調理すること。
Grill	グリル	オーブングリルまたはグリドル（円形の鉄板）の上でブロイルすること。
Barbeque	バーベキュー	熱した炭、炎や他の熱源の上または下で調理すること。
Fry/Deep fry	フライ/ディープフライ	大量の熱油中（食材が完全に覆われる程度）で調理すること。典型的な温度は 177℃から 191℃の間である。

出典：RoC Background Document for Selected Heterocyclic Amines (NTP, 2002.09.19)

（6）ヘテロサイクリックアミンの相互作用

HCA の抗変異原性を持つ物質として、以下のような報告がある。

- ・脂溶性抗酸化物質 1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ) (PhIP)
- ・ビール（抗代謝酵素活性）(MeIQx、PhIP、Glu-p-1、Trp-P-2、IQ)
- ・プルプリン（天然色素）(Trp-P-2、Trp-P-1、MeIQ、IQ、Glu-P-1)
- ・乳酸菌 (PhIP、IQ、MeIQx、DiMeIQx、A-α-C)
- ・クロロフィリン (MeIQx、Trp-P-1、Trp-P-2)
- ・フェニルイソチオシアネート (PITC)、ベンジルイソチオシアネート (BITC)、フェネチルイソチオシアネート (PEITC)、フェニルプロピルイソチオシアネート (PPITC) (Glu-P-2)

(7) ヘテロサイクリックアミンの発がん性評価状況

本調査対象の HCA の国際機関や米国における発がん性評価を下表に示した。IARC では、1993 年に MeIQ、MeIQx、IQ の発がん性評価ランクが上がっており、IQ はヒトに対する発がん性がおそらくある (2A) に、それ以外の HCA はヒトに対する発がん性が疑われる (2B) に評価されている。また、NTP では、PhIP、MeIQ、MeIQx、IQ について、ヒトに対する発がん性がおそらくあるあるいは疑われる (R) とされている。

物質	WHO 国際がん研究機関 (IARC)	米国国家毒性プログラム (NTP)
PhIP	2B (1993)	R (2002)
MeIQ	2B (←3) (1993)	R (2002)
MeIQx	2B (←3) (1993)	R (2002)
IQ	2A (←2B) (1993)	R (1999)
A- α -C	2B (1987)	-
MeA- α -C	2B (1987)	-
Glu-P-1	2B (1987)	-
Glu-P-2	2B (1987)	-
Trp-P-1	2B (1987)	-
Trp-P-2	2B (1987)	-

IARC	NTP
1: ヒトに対する発癌性が認められる (Carcinogenic)	K
2A: ヒトに対する発癌性がおそらくある (Probably Carcinogenic)	R
2B: ヒトに対する発癌性が疑われる (Possibly Carcinogenic)	
3: ヒトに対する発癌性が分類できない (Not Classifiable as to its Carcinogenic)	
4: ヒトに対する発癌性がおそらくない (Probably Not Carcinogenic)	

3. 3 日本におけるヘテロサイクリックアミン関連研究

1983年国立がんセンター・寺田らのがん特別研究「HCAを中心とする加熱分解物質による発がんの基礎研究」をはじめとして、岡山大学・早津らの（重点領域）「食品の加熱で生ずる発がん物質の遺伝子損傷作用とその促進・抑制に関する研究」、東大医科研・松島らの（がん特別研究）「新しく加熱食品より分離された変異・がん原物質の研究」、慶応大学・加藤らの（がん特別研究）「がん原物質の代謝的活性化機構と発がんの特異性に関する研究—特にヒトの外挿」、徳島大学・大西らの（重点領域）「環境変異原の生体内代謝と複合作用」、国立がんセンター・長尾らの（がん特別研究）「実験動物がんのがん遺伝子」、北大・鎌滝らの（特定領域）「がん原物質の活性化および解毒化酵素の機能と発がんリスク」、国立がんセンター・中釜らの（重点領域）「環境中の発がん物質に誘発される遺伝子変異の特異性と遺伝子発現解析」等が文部科学省の研究費のもとで実施された。

また、厚生労働省科研費プロジェクトとしては、国立医薬品食品衛生研究所・広瀬らの「食品化学物質の相互作用等に関する調査研究」および「食品化学物質の毒性評価に及ぼす諸要因に関する調査研究」、国立がんセンター・若林らの「タバコ煙および加熱食品中のダイオキシン類の定量およびその評価」、医薬基盤研究所・漆谷らの「トキシコゲノミクス手法を用いた医薬品安全性評価予測システムの構築とその基盤に関する研究」等がある。

HCA のリスク評価に関する調査研究としては、厚生労働省がん研究助成金プロジェクト「HCAによる前立腺、膵、大腸、乳腺発がん分子機構に関する研究」（平成8年から13年度）が実施され、更に厚生労働省労働科学研究で「食品中化学物質の毒性評価に及ぼす諸要因に関する調査研究」（平成13年から15年度）が実施された。

4. 物質ごとのまとめ

4. 1 PhIP

I. 当該化学物質の一般情報

1. 物質特定情報

(1) 名称:

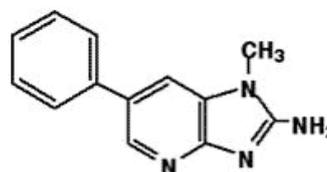
Chem. Abstr. Name: 1-Methyl-6-phenyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine-2-amine

IUPAC Systematic Name: 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine

(2) CAS No. : 105650-23-5

(3) 分子式 : C₁₃H₁₂N₄、構造式 : 右図のとおり

(4) 分子量 : 224.1



2. 物理化学的性状

(1) 物理的性状 : 灰白色、結晶

(2) 融点 : 327-328 °C (Knize and Felton 1986)

(3) 溶解性 : DMSO とメタノールには可溶性 (Zhang *et al.* 1988、Dooley *et al.* 1992)

(4) その他 : 弱酸性、弱塩基性条件では安定 (Sugimura *et al.* 1983)

3. 存在形態

(1) 存在形態 : 該当データなし

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露

PhIP は、空気中粒子、ディーゼル排気粒子、ごみ焼却場から出る廃棄物など、広範な環境汚染物質中に存在しうる。PhIP と MeIQx は、ブルーレーヨンハンギング法により、日本の淀川からの有機抽出物中に検出された (Ohe 1997)。11 か所から採取された抽出物中の検出平均値は、PhIP が 11.9 ng/g、MeIQx が、4.8 ng/g ブルーレーヨン相当量当たりであった。

4. 生成機構

肉魚中のアミノ酸、クレアチン/クレアチニン、ヘキソースから形成される (Felton *et al.* 2000, Robbana-Barnat *et al.* 1996)。PhIP は、クレアチンとアミノ酸 (フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、チロシンなど) の混合物を加熱して形成することができる (Skog *et al.* 1998)

5. 食品中の検出状況

食品中に検出されるHCA中、最も豊富に含有されており、肉類 (牛、豚、鶏、魚) 中

に検出される。焼いた (grilled) 鶏肉中において最高濃度で検出され、豚肉中では少量 (0.1 to 2.3 ng/g) 検出される。牛肉中、0.56～ 48.5ng/g、魚中、検出不能のレベルから 69.2ng/g。ウェルダンステーキやハンバーガー中で高濃度 (100 ng/g以上) 検出。200℃でフライパン焼き、オーブン焼き、バーベキュー調理されたサーモン中には1.7～73 ng/g(Gross and Grüter 1992)、150～225℃でフライパン焼きのタラでは(0.02 ～2.2 ng/g) (Skog *et al.* 1997)と幅がある。加工食品フレーバーやビール、ワインでは0.01 to 480 ng/g、たばこの煙中からも検出される。

最近の報告では、調理の程度の異なる牛肉、豚肉、鶏肉中の HCA 類含量を液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析により測定した結果、含量の比較的多い HCA は下表に示すとおりである (Ni *et al.* 2008)。

調理の程度の異なる牛肉、豚肉、鶏肉中の HCA 含量

肉の種類	調理法と程度	温度 (°C)		調理時間 (分)	PhIP (µg/kg)	7-MeIQx (µg/kg)	8-MeIQx (µg/kg)
		表面	内部				
豚肉 ベーコン	オーブン焼き ベリール・ウェルダグ	175	測定せず	7.2	15.91 (最大)	9.08	2.61
	フライパン調理 ベリール・ウェルダグ	176	測定せず	16.1	4.90	3.46	3.00
鶏肉 (皮無、骨無)	バーベキュー ベリール・ウェルダグ	260	99	43	304.71 (最大)	11.28	7.70
牛肉 ステーキ	フライパン調理 ベリール・ウェルダグ	191	93	33	12.46	23.65 (最大)	6.50
ひき肉	フライパン調理 ベリール・ウェルダグ	191	90	20	2.90	11.70 (最大)	3.70
牛肉汁	オーブン焼き ウェルダグ	160	86	182	3.41	29.52 (最大)	8.43

(出典 : Ni *et al.* 2008 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(1): 68-78)

窒素リン検出器付きガスクロマトグラフィーにより加熱調理した 8 種の魚類、3 種の肉類に含まれる HCA の検出では、魚の皮部分に MeIQx が高濃度で検出された。加熱した肉類よりも魚類に HCA が多く検出されたため、肉類よりも魚類の摂取が多い日本人の HCA 摂取量に魚料理が大きく関与していると考えられる。MeIQx の検出量を下表に示した (Kataoka H *et al.* 2002)。

加熱食品サンプル	含有量 pg/g	
	皮	身
サンマ	492±87	191
イワシ	860±44	152
アジ	385±34	25
サバ	588±70	ND
サケ	593±59	99
ホッケ	ND	ND
ウナギの蒲焼	ND	ND
アジの開き	420±29	ND
鶏肉	-	77±10
豚肉	-	202±12
牛肉 ウェルダン	-	198±71
ミディアム	-	138±67

また、ヒトや動物の毛からも MeIQx が検出されている。喫煙と毛染めをしていない肉食または菜食のボランティア 6 人の毛髪、および雌の C57CL/6 マウスに飲料水中に PhIP、MeIQx、A- α -C を一日の水分摂取量から計算して 800、80、8、0.8、0.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重となるように 28 日間投与した 29 日目の毛皮を分析している。その結果、MeIQx はヒト毛髪からは検出されなかったが、マウス毛から 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与で検出された。(Bessette E E *et al.* 2009)。

6. 測定方法と検出限界値

液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (LC/MS/MS) は、血液や尿中の PhIP 付加タンパク質から遊離した PhIP を定量分析するのに使用され、検出限界は 0.2fmol PhIP/mg タンパク質 (0.045ng PhIP/g タンパク質に相当) (Magagnotti *et al.* 2000)。液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-質量分光分析 (LC/ES/MS) が、検出限界は、PhIP は 0.3ng/g (Pais *et al.* 1997)。

固相抽出法(SPE)と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で検出され、検出限界は、食品 10g から PhIP の場合、1ng/g (Gross and Grüter 1992)。液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (LC/MS/MS) は、血液や尿中の PhIP 付加タンパク質から遊離した PhIP を定量分析するのに使用され、この検出法は高特異的かつ高感度で、検出限界は 0.2fmol PhIP/mg タンパク質 (0.045ng PhIP/g タンパク質に相当) (Magagnotti *et al.* 2000)。最近では、液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-質量分光分析 (LC/ES/MS) が、PhIP、MeIQ、MeIQx の検出用に開発され、HPLC/紫外線法よりさらに高感度で高安定性を有し、同時に複数種の HCA 検出を可能にする。牛肉抽出液のような複雑な材料中の検出限界は、PhIP が 0.3ng/g、MeIQ が 0.3ng/g、MeIQx が 1.1ng/g (Pais *et al.* 1997)。同様の方法である高速液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレータンデム質量分析

(HPLC/ESI/MS/MS)がワインからの HCA 検出法として使用されている (Richling *et al.* 1997)。

最近の報告では、肉類（牛肉、鶏肉、馬肉、羊肉、兎肉）をベースとした乳児食を凍結乾燥後、HCA 類をアセトン抽出し、イオン対液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-タンデム質量分析法 (LC-ESI-MS/MS) を使い、陽イオンモードで定量した結果、検出限界、定量限界は下表のとおりである。最適条件下において、検出限界値は 5 ng/g 以下、定量限界は 8 ng/g 以下 (PhIP 除く) である (Calbani *et al.* 2007)。

凍結乾燥肉試料における HCA の検出および定量限界値

HCA	検出限界値 (ng/g)	定量限界値 (ng/g)
IQ	5.4	7.8
MeIQ	1.8	3.8
MeIQx	4.1	8.1
PhIP	12	26
A- α -C	3.7	7.4

(出典 ; Calbani *et al.* 2007 *Food Additives & Contaminants* 24(8):833-841.)

さらに、食物中の HCA を短時間かつ低 ppb レベルで、正確に再現性良く解析する新しい方法が開発され、Barcelo-Barrachina らが、高性能液体クロマトグラフィーであるエレクトロスプレータンデム質量分析 (UPLC-ESI-MS/MS) 法により肉サンプル中の 16 種類の HCA を 2 分以内で解析した。Acquity BEH C18 カラム (50mmx2.1mm i.d., 1.7 μ m particle size) を使用し、UPLC システムにはトリプル四重極 Waters Micromass Quattro Premier™ を連結した。このシステムにより、ピーク強度低下を招くことなく高速データを取得できた。測定には SRM (selected reaction monitoring) を使用した。0.06–0.23 pg 下の機器検出限界 (LOD) で、9.1% CV(n=6)以下の低濃度レベルで再現性も得られ、性能的には、三重四重極型装置を使った従来の HPLC システムの 10 分の 1 の低量検出が可能となった (Barcelo-Barrachina *et al.* 2006、下表参照)。

HCA の検出限界と再現性

HCA	検出限界			相対標準偏差 (RSD%) (n=6)	
	標準 HCA (pg)	肉抽出物 (pg 注入)	(pg/pg 肉)	中間濃度 0.3 μ g/g	低濃度 0.02 μ g/g
DMIP	0.07	1.4	42	4.2	4.4
Glu-P-2	0.09	0.3	9	4.1	4.9
IQ	0.06	0.8	25	1.5	3.9
MeIQx	0.10	0.3	9	5.4	7.9
MeIQ	0.08	0.6	17	5.5	7.2
Glu-P-1	0.08	0.6	17	4.2	6.8

PhIP	0.08	0.5	15	5.7	6.5
7,8-DiMeIQx	0.06	1.1	34	6.0	6.5
4,8-DiMeIQx	0.09	0.8	24	5.7	7.6
Trp-P-2	0.23	0.9	28	6.1	9.1
Norharman	0.19	1.7	51	3.7	7.5
Harman	0.18	1.5	45	4.7	8.1
A- α -C	0.11	0.8	23	4.1	5.6
MeA α C	0.17	0.5	14	2.5	3.8

(出典 : Barcelo-Barrachina *et al.* 2006 *Journal of Chromatography, A*. Vol. 1125, No. 2, pp. 195-203)

7. 現行規制等

該当データなし

II. 食品中での生成要因

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

温度、調理時間、酸度などが影響し、高温で長時間の調理であるほど多く形成される (Knize *et al.* 1994, 1995、Skog *et al.* 1995、下表参照)。直接に高効率で熱伝達する調理法 (フライ、グリル) が、間接的熱伝達調理法 (煮る、蒸す) より多く形成する (Layton *et al.* 1995)。

ビーフパテ (脂肪分 15%) のフライ中に検出される MeIQx と PhIP 量

調理温度 (°C)	調理時間 (分)	MeIQx (ng/g)	PhIP (ng/g)
150	2	nd	nd
	4	nd	nd
	6	0.2+/-0.2	0.25+/-0.1
	10	0.6+/-0.5	1.8+/-0.7
190	2	0.1+/-0.1	nd
	4	0.25+/-0.1	0.15+/-0.1
	6	1.3+/-0.3	1.9+/-0.2
	10	1.3+/-1.1	9.8+/-2.2
230	2	0.7+/-0.4	1.3+/-0.7
	4	0.4+/-0.1	1.3+/-0.1
	6	5.6+/-3.2	7.8+/-4.7
	10	7.3+/-2.7	32+/-10

nd=検出されず

(出典 : Knize *et al.* 1994 *Food Chem Toxicol* 32:595-603.)

乾燥ないしは水分存在下で、食肉香辛料を原料として、加熱によって生成される HCA を調べた実験では、結乾燥食肉抽出物香辛料を、100~200 °C で 10 分~2 時間加熱し、

また同様に、その抽出物の水けん濁液を 175 °C で、1、2、3 時間加熱した。別実験として、HCA 前駆体（クレアチン、ブドウ糖、グリシン、アラニン、フェニルアラニン）を食肉抽出物に加え、オープン上では 200°C で 30 分間（乾燥条件）、水けん濁中では 175 °C で 2 時間（湿潤条件）加熱した。全実験において生じた HCA を、HPLC で分離し、MS/MS で解析した結果、全ての実験条件下で、HCA の生成がみられ、その中でも、PhIP が最高濃度で検出された（例えば、200 °C で 30 分加熱の条件では、173 ng/g）。HCA の数と量は、温度と時間が増加するに従って増加した。クレアチンやアミノ酸を、食肉抽出物香辛料に加えると、IQ や MeIQx 量の増加が観察された。HCA として、乾燥条件下では、DMIP、MeIQx、4,8-Di MeIQx、7,8-Di MeIQx、MeA- α -C、PhIP が、湿潤条件下では、DMIP、4,8-Di MeIQx、7,8-Di MeIQx、PhIP が検出された(Bordas *et al.* 2004)。

魚肉の部位別の HCA 生成を調べた実験では、サバの、切り身、普通筋、血合筋、皮膚の 4 種類を、フライパン加熱（180°C）で、ミディアム（13.5 分）、ウェルダン（23 分）、ベリーウェルダン（38 分）の 3 段階で調理、凍結乾燥し、HCA をジクロロメタンで抽出し、HPLC で測定した。切り身では調理の度合いが進むほど MeIQx と PhIP の含量が増加し、MeIQx は 0.2–5.8 ng/g、PhIP は 1.6–12.8 ng/g 検出した。MeIQx、PhIP の生成量は普通筋で最大、血合筋で最小であり、PhIP の生成量は普通筋（ウェルダン; 2.2 ng/g、ベリーウェルダン; 5.3 ng/g）、皮膚（ウェルダン; 2.7 ng/g、ベリーウェルダン; 4.2 ng/g）で高水準を示した（Gu *et al.* 2002）。

2. 参考

牛肉を高温の油で揚げ、その際に発生する煙を、凝縮器、フィルター、吸着管（ポリウレタンフォームと XAD-4 樹脂を内蔵）から成る装置を使って集めた。PhIP は、コンデンサー中から 1.47 ng/g 揚げた肉、および肉から 67.5 ng/g 揚げた肉が検出された。（Thiebaut, Herve P. *et al.*, 1994）

Ⅲ. 代謝（体内運命）

1. 吸収

ヒト・実験動物において、胃腸管系から吸収される (Davies *et al.* 1996, Malfatti *et al.* 1999, Kulp *et al.* 2000)。

2. 分布・蓄積

分布・蓄積：マウスでは、複数の組織に分布し、濃度は時間次第で急速に変化する。最高濃度が肝臓と腸から検出された。30分から1時間で、最高濃度が小腸、胃、脂肪組織で検出され、組織レベルのピークは3時間後で、最高濃度が胃腸、肝臓、腎臓、膵臓、胸腺、肺で検出された。96時間までには、肝臓、膵臓、筋肉、脾臓、肺のみに多量検出された (Turteltaub *et al.* 1989, 1992, 1993)。ラットでは、2時間後に最高量が胃、小腸、膀胱で検出。24時間後では腎臓と肝臓に検出 (Dragsted *et al.* 1995)。サル PhIP20mg/kg を単独あるいは1日9回、28種の組織すべてに PhIP-DNA 付加体が検出された (Snyderwine *et al.* 1994)。また、胎盤を通過して、胎児組織に検出されている (Brittebo *et al.* 1994, Hasegawa *et al.* 1995)。

3. 代謝

Phase I（活性化）と Phase II（抱合）段階がある。Phase I 活性化経路はチトクローム P-450 酵素 CYP1A2 による *N*-ヒドロキシル化である。続いて、肝臓や他の組織で Phase II 酵素により、DNA 結合能を有するアリルニトロニウム (arylnitrenium) イオン形成に至る。

解毒経路解析については、ヒトおよびラットの肝臓由来ミクロソームは、複数の *N*-OHCA のグルクロン酸化を触媒しており、*N*-OH PhIP については異なる化学特性および酵素特性をもつ2種類の代謝産物が産生されていた (Kaderlik K R *et al.* 1994)。ヒト UDP-グルクロン酸転移酵素の PhIP を解毒化する能力を調べると、*N*-ヒドロキシ-PhIP をグルクロン酸抱合する活性は、腸管のいたるところに存在し、結腸で最高レベルが検出された (Nowell *et al.* 1999)。*N*-ヒドロキシ-PhIP は、ラット肝臓ミクロソームで、PhIP へと逆変換した。MeIQx でも同様の反応が検出された。解毒代謝は、ミクロソーム中の NADH 依存性還元酵素により、*N*-ヒドロキシ-アールアミン (hydroxy arylamine) が迅速にもとの物質に変換されるメカニズムである。この能力は、突然変異性代謝物形成に対する保護システムとなりうる (King *et al.* 1999)。

4. 排泄

ヒト、実験動物において、24時間で尿・糞中に大部分が排泄される (Malfatti *et al.* 1999, Kulp *et al.* 2000)。動物では、HCA とその代謝物は、尿、糞、胆液、母乳中に排出され

る (Snyderwine *et al.* 1993, 1994, 1995)

ヒトにおける 4 種の尿中 PhIP 代謝物は、 N^2 -OH-PhIP- N^2 -glucuronide, PhIP- N^2 -glucuronide, 4'-PhIP-sulfate, N2-OH-PhIP- N^2 -glucuronide である (NTP, 2002)。

5. 毒性発現メカニズム

肝臓における CYP 1 A2 酵素により *N*-ヒドロキシ化により活性化され、*N*-アセチル基転移酵素、NAT2 により *O*-アセチル化が起こり、結果としてアリアルアミン-DNA 付加体が形成され、これが突然変異性や発がん性に寄与する可能性がある。これらの代謝酵素の活性は、一般集団においては多様で、遺伝子多型により決定されると考えられ (Sinha and Potter, 1997)、迅速型アセチレーター (高効率の *N*-アセチル基転移酵素を産生する) の方が、低速型アセチレーターより、発がんリスクが高い可能性がある (Ishibe *et al.* 2002)。グアニン (G:C→T:A 転換) を含む突然変異ががん原遺伝子で検出されている。PhIP、MeIQ、MeIQ_x のグアニン塩基への付加体の優性型は、C8 位置への付加体である (Lin *et al.* 1992, Tada *et al.* 1994, Fukutome *et al.* 1994, Ghoshal *et al.* 1995)。

最近の代謝経路が関与する毒性発現メカニズム試験データには次の例がある。PhIP、BZ、ABP、IQ、MeIQ_x の DNA 結合誘導体、PhIP、BZ、ABP、IQ、MeIQ_x のラクトペルオキシダーゼ触媒による酸化活性を測定し、活性化した代謝物質の DNA 結合レベルを推定したところ、試験対象の発がん物質すべてが、子牛胸腺 DNA と H₂O₂ 存在下で牛 LPO により、DNA 結合誘導体に活性化した。DNA 結合レベルは、H₂O₂ 濃度依存性を示し、HCA では、DNA 結合レベルは、IQ が最高、PhIP が最低であった (Gorlewska-Roberts *et al.* 2004)。

dCTP あるいは不適正 dATP を使って、三リン酸侵入の際の、ポリメラーゼ RB69 の三元立体構造に対する dG-C8-PhIP 付加体の影響解析のために哺乳類結腸腫瘍において突然変異を頻繁に起こす Apc 腫瘍抑制遺伝子の PhIP 誘導性突然変異ホットスポット内のコドン 635 の 5' -GGGA-3' における付加について、分子モデル作製と MD シミュレーションにより、付加体の反対側の取り込みとその先の拡張を調べる。dG-C8-PhIP 付加体は、修飾された DNA 鋳型の侵入する dCTP あるいは dATP の反対の主要な溝サイトに収まった。正常なパートナー dCTP の場合、取り込み段階で活性部位がかなり妨害されたが、この取り込みが成功すれば、拡張シミュレーションにおいて妨害は低かった。不適正パートナー dATP の場合は、取り込み段階中は活性部位の妨害は低かったが、拡張に困難をきたした。妨害は、新生塩基ペアにおけるワトソン-クリック水素結合、侵入する dNTP の α リン酸基とプライマー 3' -OH 末端間の距離、dNTP との蛋白質相互作用に強度の有害な影響を及ぼした。いずれの場合も、ポリメラーゼの停止がよりありがちな結果であり、これは生体内ではエラーを起こしやすいバイパスポリメラーゼへの転

換を導く可能性があり、これが PhIP の変異原性に寄与する可能性がある (Zhang *et al.* 2005)

マウス、ノックアウト (NAT1/2(-/-)) と野生型 (NAT1/2(+/+)) (8~9 週齢) に、PhIP (50 mg/kg) DMSO 溶液を腹腔注射で投与し、血液血漿中の PhIP と *N*-アセチル化 PhIP を測定したところ、野生型 (NAT1/2(+/+)) とノックアウトマウス (NAT1/2(-/-)) のいずれの血漿試料からも、*N*-アセチル化 PhIP は検出されなかった (*N*-アセチル化代謝物の検出限界は 10 μ M)。親 PhIP の AUC (曲線下面積) 値は、野生型とノックマウス型では有意差はない。AF あるいは ABP に比べて PhIP の AUC 値は小さく、PhIP は他の組織への再分布あるいは高効率の腎臓クリアランスなどの他の経路で血漿から速やかに除去されることが示された(Sugamori *et al.* 2006)。

E.coli 中で発現させ採取したヒト組み換え b5R と cyt b5、NHOH-PhIP2.5%濃度 (溶媒は 100%メタノール)、NHOH-ABP2.5%濃度 (溶媒は 50%DMSO) を精製されたヒト組み換え b5R、cyt b5 と、1mMNADH と共に反応させる。ヒドロキシアミンの還元反応、芳香族アミン ABP と PhIP の発がん性ヒドロキシアミンの還元反応は実際ヒト b5R と cyt b5 のみを含む精製されたシステムにより触媒された。特異活性は、ヒト肝臓ミクロソーム (HLM) に比較して、精製システムでは 56~346 倍高い。b5R あるいは cyt b5 に対するポリクローナル抗体は、NHOH-4-ABP 還元反応を 95%、89%抑制した。b5R と cytb5 は共に単独でアシルヒドロキシルアミン発がん物質の還元反応を進めると結論でき、これらのたんぱく質のいずれかの発現における変異性が、4-ABP あるいは PhIP 暴露に続く発がんリスクに影響する可能性があるとは仮定される(Kurian *et al.* 2006)。

各種 UGT を安定して過剰発現する細胞株 1A1、1A4、1A6、2B7、1A3、1A7、1A8、1A10 を HEK293 細胞より作成、細胞破砕物 300 μ g を氷上でアラメチシンと 10 分した後、4 mM の UDP-グルクロン酸、125 μ M の PhIP あるいは *N*-OH-PhIP、最終体積 200 μ L として、37 $^{\circ}$ C で 90 分処理。HEK293 前細胞破砕物を使った生体外システムでは、UGT1A10 は、他のどの UGT ファミリーメンバーよりも PhIP と *N*-OH-PhIP に対するグルクロン酸抱合比率が高く、有意差を示した。動力学的分析により、*N*-OH-PhIP の場合、UGT1A10 破砕物は、次に最も活性の高い UGT である UGT1A1 よりもかなり高いレベルの活性を示した。PhIP と *N*-OH-PhIP に対しては UGT1A10 が最も活性の高い UGT であり、HCA 誘導性結腸がんの感受性に対し重要な役割を果たすことが示唆された (Dellinger *et al.* 2007)。

ヒト由来の前立腺上皮細胞を、3 種類の遺伝子型 (サブタイプを入れると 6 種類) に分類し、その各々の HCA に対する代謝能を検討した実験では、ヒト前立腺上皮細胞 (17 歳および 42 歳の健常者の細胞、それぞれを、HE17、HE42 と記す) を使い、チトクロ

ーム P4501A2 (CYP1A2) による N2-ヒドロキシ化、アリルアミン N-アセチルトランスフェラーゼ (NAT1、NAT2) による O-アセチル化、グルタチオン S-トランスフェラーゼ (GSTM1、GSTP1、GSTT1) による解毒化について、それぞれの遺伝子型と活性を測定した。変異原性は、前立腺上皮細胞を V79 細胞と共培養し、6-チオ-グアニン抵抗性を検定した。両細胞共に、CYP1A2 活性を有し、GST も発現しており、HE17 は遅延型 NAT1 および中間型 NAT2 を発現していたが、HE42 は迅速型 NAT1 および中間型 NAT2 を発現していた。両細胞とも、NAT1 活性は同程度 (それぞれ 2.9、3.6 nmol/mg protein/min) で、NAT2 活性はなかった。両細胞とも、変異原前駆物質を代謝したが、その代謝能には差があった。すなわち、HE42 は HE17 に比べて、より効率的に HCA を変異原性物質に変換した。HE42 の方が、Glu-P-2 では 2.3 倍、MeIQx では 1.6 倍、PhIP では 7.3 倍、高い変換効率を示した (Lawson *et al.* 2002)。

ヒト CYP1A2 と、ヒト NAT2*4 (迅速型アセチレーター) とヒト NAT2*5B (低速型アセチレーター) を形質移入した NER (ヌクレオチド除去修復) 欠損の UV5-CHO 細胞、形質移入しない UV5CHO 細胞と形質移入した細胞を、様々な用量の PhIP、0.5%DMSO (ネガティブコントロール) で 48 時間処理、0.0~1.5 μ M、0.5%DMSO、形質移入しない CHO 細胞では、CYP1A2 と NAT2 活性は検出できない。NAT2*4 を移入した細胞は、NAT2*5B を移入した細胞よりもあるかに高い N-アセチル基転移酵素活性レベルを示した。PhIP は、細胞生存率においては用量依存性の低下と、CYP1A2 移入したすべての細胞株において、ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ (*hprt*) 遺伝子座の突然変異増加を引き起こした。PhIP 誘導性 *hprt* 変異 cDNA の配列を解析した結果、突然変異の 80% は、G:C 塩基ペアの単一塩基置換であった。dG-C8-PhIPDNA 付加体レベルは用量依存性で、形質移入無し < CYP1A2 形質移入 < CYP1A2 と NAT2*5B 形質移入 < CYP1A2 と NAT2*4 形質移入の順であった (Metry *et al.* 2007)。

Ames/Salmonella アッセイを使って、PhIP と 3-Me-PhIP の変異原性強度を調べると、100 倍ほどの相異がある。酸化段階 (PhIP から N-OH 中間体への変化) は、PhIP と 3-Me-PhIP 間では 5 倍の差がある。変異原性強度の差 100 倍に達するための、残り 20 倍の差が、N-OH-PhIP による Ames/Salmonella 検査で示された変異原性強度の差である。この差については、さらに研究される必要がある。反応性中間体の安定性や、N-アセチル基転移酵素と硫酸基転移酵素の活性部位へのフィットの仕方によりさらなる活性化が刺激されるのかもしれない、付加体の安定性や除去、塩基特異性が変異原性強度に影響すると考えられる (Felton *et al.* 2007)。

標的グアニンの 3' -あるいは 5' -末端に異なるフランキング塩基 (A, G, C, T) を付けた T 塩基豊富な単鎖オリゴヌクレオチドを使って、PhIP と IQ 付加体、DNA 塩基に対する付加体形成時の配列選択性を、HPLC と熱スプレーイオン化質量分析で解析。オ

リゴヌクレオチド配列に伴う PhIP と IQ により誘導された修飾部位を、タンデム質量分析で決定した。G-C8-IQ 付加体形成の優先配列背景は、5' GGG3' 配列であり、G-C8-PhIP 付加体形成では、5'GGA/G/T3' である(Jamin *et al.* 2008)。

大腸腺腫症 (Apc) 遺伝子型について正常細胞 (Apc^{+/+})、前悪性細胞 (Apc^{Min/+}) を、CYP1 ファミリー由来のチトクローム P450 発現誘導の目的で、72時間 TCDD あるいは、コントロールとして DMSO 処理した後、¹⁴C-PhIP (10 μM) DMSO 溶液で処理した。4'-OH-PhIP、CYP 1 A1、CYP1A2、CYP1B1 の遺伝子発現、N-アセチル基転移酵素-2 の発現を測定した結果、テトラクロロジベンゾパラダイオキシン (TCDD) 誘導された細胞は、PhIP を、解毒反応において主に 4'-OH-PhIP に代謝し、さらに即反応性代謝物 5-OH-PhIP も同定された。Apc^{Min/+}細胞はこれらの代謝物をより多く生産し、有意差を示した。脱メチル代謝物も検出され、結腸の CYP1 ファミリー依存性の代謝活性が高いことを示した。定量リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応試験により、Apc^{Min/+}細胞における TCDD 誘導性の CYP 1 A1、CYP1A2、CYP1B1 の遺伝子発現はかなり高く、N-アセチル基転移酵素-2 の発現レベルも高い。Apc^{Min/+}細胞においては、PhIP を代謝活性化する作用強度が高く、突然変異を誘発する可能性が高いことに関係していることが示唆された (Bellocq *et al.* 2008)。

毒性発現メカニズムとその毒性緩和を解析した報告では、生体内外でのヒト肝細胞の代謝活性表現型と HCA 類による DNA 付加体生成の相関を評価するため、ウシ乳腺 DNA をリン酸緩衝液に溶解 (1mg/mL) し、ヒト肝細胞ミクロソームを混和、チトクローム P 450 のアイソザイム、CYP1A1、CYP1A2、CYP3A4 のそれぞれの阻害剤であるエリプチシン、フラフィリン、トロレアンドマイシンを加え、15 分後に PhIP、A-α-C (10 μmol/L) 処理。DNA 付加体は ³²P 標識後 HPLC で測定した。その結果、ヒト肝細胞内の内生 DNA 付加体生成量とチトクローム P 450 含量 (r²=0.71、P < 0.005)、生体外でのウシ乳腺 DNA の PhIP、A-α-C 処理による DNA 付加体生成量とヒト肝細胞ミクロソーム内のチトクローム P 450 含量 (r²=0.69 および 0.62、P < 0.005)、PhIP と A-α-C による DNA 付加体生成量とチトクローム P 450 のアイソザイム、CYP1A1、CYP1A2、CYP3A4 の活性(PhIP 処理; r²=0.93、r²=0.76、r²=0.84、それぞれ P < 0.001、A-α-C 処理; r²=0.82、r²=0.80、r²=0.80、それぞれ P < 0.001) に相関性があった。DNA 付加体生成阻害効果評価実験では、フラフィリン (CYP1A1 阻害剤) が 3',5'-pdGp-C8-PhIP 生成を 56%阻害、3',5'-pdGpC8-A-a-C 生成を 69%阻害し、エリプチシン (CYP1A2 阻害剤) が 3',5'-pdGp-C8-PhIP 生成を 40%阻害、3',5'-pdGpC8- A-α-C 生成を 18%阻害し、トロレアンドマイシン (CYP3A4 阻害剤) は 3',5'-pdGpC8- A-α-C 付加体生成を 31%阻害した (Baranczewski *et al.* 2004)。

PhIP 投与による CYP1A の発現解析の報告では、6 週齢 F344 雄ラットに肝切除術(PH)

を施し、12時間後に PhIP(200 mg/kg)と MeIQx(25 mg/kg)の単独または混合投与を行った。PH から 30 時間後の GST-P 陽性肝細胞増殖巣の数は、MeIQx、IQ、Trp-P-1、Glu-P-1 (各々 50 mg/kg)を投与した時に有意に増加した。低濃度の PhIP(50、100 mg/kg)と Glu-P-2(50 mg/kg)では増加は見られなかったが、それぞれ 200、100 mg/kg では増加を示し、また、肝臓より抽出した RNA を用いた CYP1A の発現解析では、PhIP が MeIQx よりも過剰に CYP1A1 を誘導し、HCA の活性と解毒の両方に影響を及ぼした。複数の HCA の混合暴露は、通常の状態では必ずしも発がん性リスクの増加につながらなかった。(Hirata *et al.* 2008)。

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 K_i

化合物	MAO-A	MAO-B
	$K_i(\mu\text{M})$	$K_i(\mu\text{M})$
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K_m for kynuramine (μM)	46.4	80.4
V_{max} for kinuramine	0.81	3.52

* : キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

ヒトチトクローム P4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 とヒト NADPH-P450 還元酵素と細菌 O-アセチルトランスフェラーゼを発現している umu 試験のサルモネラ菌株を作製し、HCA の代謝活性化を測定した。ヒトチトクローム P4501A2 を発現させた菌株で Trp-P-1、Trp-P-2、PhIP、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2 が高い代謝活性を示した。Trp-P-1、Trp-P-2 はヒトチトクローム P-4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 のすべてのタイプで活性化された。(Yoshimitsu, Oda *et al.*, 2001)

IV. 疫学調査（ヒトへの影響）

1. 急性毒性

該当データなし

2. 慢性毒性

該当データなし

3. 発がん性

発がん性：乳がん（2～3件の調査）あるいは胃がん（1件の調査）のリスクを高める可能性がある(De Stefani *et al.* 1997, 1998, Delfino *et al.* 2000, Sinha *et al.* 2000a)。膀胱、肺、結腸、前立腺がんとの相関性は発見されていない (Augustsson *et al.* 1999, Norrish *et al.* 1999, Sinha *et al.* 2000b)。結論として、現在得られているデータは、発がんリスクが食品中のPhIP、MeIQx、MeIQによるという証拠としては不十分である (NTP 2002)。

各種がんを対象とした疫学調査の報告

がん	対象	結果	出典
乳がん	ウルグアイでの病院におけるケースコントロールスタディ、患者 352 人、コントロール 382 人	発がん以前 2 年間の食品摂取を、64 種類の食品の調理法に関して調査、各 HCA 摂取量を産出。第 4 四分位数対第 1 四分位数のオッズ比 (OR)は、患者全体で、MeIQx が 2.1 (95%CI=1.3 対 3.6)、PhIP が 2.6 (95%CI=1.4 対 4.7)、閉経前の患者でそれぞれ 2.0、1.2、閉経後の患者でそれぞれ 2.1、3.3。統計的に明らかに摂取量依存性の発がんリスクが示された。	De Stefani <i>et al.</i> 1997
胃がん	ウルグアイでの病院 2 件におけるケースコントロールスタディ、患者 340 人とコントロール 698 人	OR は、PhIP が 1.9 (95%CI=1.6 対 2.2) で、統計的に明らかに相関性がある。PhIP では、最高四分位数で発がんリスクが 3 倍となり、摂取量依存性の発がんリスクが示された。ウルグアイでは、赤肉を塩で味付けし、揚げる (fried)か焼く (broiled)するのが習慣であり、胃がんの発生率が高い。赤肉、バーベキュー肉、塩肉、PhIP は統計学的に明らかに胃がんとの相関性をもち、PhIP の OR=1.9 (95%ci=1.6~2.2)。PhIP 摂取においては統計学的に重要な投与量と比例した関係があり、最高四分位数暴露では 3 倍のリスクが観察された。NDMA と PhIP をともに多量に摂取した場合 (OR=12.7)、単独暴露 (多量 NDMA では OR=3.1 ,多量の PhIP では OR=4.4) よりも 3~4 倍高いリスクが示された。	De Stefani <i>et al.</i> 1998

がん	対象	結果	出典
悪性腫瘍 良性腫瘍	悪性腫瘍患者 114 人と 良性腫瘍患者 280 人、合 計 394 人 (>39 才)	米国カリフォルニアでのケースコントロールスタデ ィ。主な栄養摂取の>90%を占める食品 112 種について 調査。肉の 1 日当たりの摂取量に対するリスクを調査。 PhIP は、>240ng/日で、0.4 (0.2-0.9)、MeIQx は、>2.5ng/ 日で、0.5 (0.3-1.1)。	Delfino <i>et al.</i> 2000
乳がん	患者 273 人、コントロー ル 657 人	米国におけるケースコントロールスタディ。PhIP 摂取 量と乳がんリスクについては、摂取量の最高五分位数 において 2 倍ほどのリスクが示された (OR=1.7、95%CI =1.1-2.8)。MeIQx 暴露に対するリスクも摂取量に相関 して増加するが、その OR 幅は狭い (OR=1.2)。	Sinha <i>et al.</i> 2000a
乳がん	乳がん患者 106 人 乳房形成術中の患者 49 人 (対照)	乳がん患者および対照者の正常乳腺組織に PhIP-DNA 付加体がそれぞれ 82%および 71%に検出された。それ ぞれの吸光度の中央値 (範囲) は 0.18 (0-0.57) および 0.08 (0-0.38)であり、両者間には有意差 (P<0.001) が 見られた。	Zhu <i>et al.</i> ,2003
肺がん	患者 593 人、喫煙者と非 喫煙者のコントロール 623 人	MeIQx の摂取量は、肺がんのリスクと相関しており、 摂取量に応じて肺がんのリスクも上昇した (P=0.006)。 PhIP の摂取量に対するリスクの変化はなかった。喫煙 とがん細胞タイプの相関性を調査したが、MeIQx の発 がんリスクと喫煙には、相関性はなかった (OR=1.0、 95%CI =0.7-1.5) が、非喫煙者ではリスクが高かった (OR= 3.6、95%CI =1.3-10.4)。扁平上皮がん発生リスク は、腺がんや小細胞がんより高かった。1 日当たりの平 均摂取量は、MeIQx が 64.0ng、PhIP が 137.5ng。MeIQx は、肉のフライ、あるいはウェルダンで観察されたリ スクを一部説明するかもしれないが、過剰なリスクは MeIQx に関連するがまだ同定されていない熱分解の副 産物によるものではないかと推測している。	Sinha <i>et al.</i> 2000b
結腸直腸 腺がん	患者 146 人、コントロー ル 228 人	米国 MeIQx や PhIP の高量 (つまり第 5 位の五分位数) 摂取は、発がんリスクを 2~2.5 倍高めた。突然変異活 性は腺腫のリスクを 3 倍高めた。MeIQx には、統計的 に重要な摂取量とリスクの相関性が示された。1 日平均 摂取量は、MeIQx が 32.7ng、PhIP が 109.7ng。	Sinha <i>et al.</i> 2001
大腸がん、 直腸がん、 膀胱がん、 腎臓がん	大腸がん患者 352 人、直 腸がん 249 人、膀胱がん 273 人、腎臓がん 138 人	スウェーデンにおける集団ケースコントロールスタデ ィ。MeIQ は存在量が低い。MeIQ 摂取量の OR は、大 腸、直腸がんのリスクを少し上げたが、膀胱がん、腎 臓がんに対してはヌルであった。他の HCA 摂取量は 大腸、直腸、膀胱、腎臓がんとの関係は示さなかつた。	Augustsson <i>et al.</i> 1999b
前立腺が ん	患者 317 人、コントロー ル 480 人	ニュージーランドでの集団ケースコントロールスタデ ィ。MeIQx、PhIP は、前立腺がんのリスクとの相関性 を示さなかつた。	Norrish <i>et al.</i> 1999

がん	対象	結果	出典
食道と胃噴門の腺がんと食道の扁平上皮がん	スウェーデン、1995年から1997年にかけてスウェーデン在住の80歳以下の、食道腺がんケース185名、胃噴門腺がんケース258名、食道扁平上皮がんケース165名とコントロール815名	食道と胃噴門の腺がんと食道の扁平上皮がんのリスク要因を集団ベースケースコントロール研究により調査する。MeIQx、DiMeIQx、PhIP 摂取の最高五分位点において、最低と比較して、食道扁平上皮がんのリスクの50-70%上昇がみられ、これは統計学的有意差ではなかった。用量とリスクの相関傾向は明白で、3種のHCAすべての最高摂取者のオッズ比は2.4 (95%CI、1.2-4.8、最低摂取者に比較して)であった。これに対し、食道あるいは胃噴門腺がんのリスクとは相関性を示さなかった。	Terry <i>et al.</i> 2003
前立腺・肺・結腸直腸・卵巣 (PLCO) がん	複数サイトの試験において、1993~2001年の間に、男性(55~74歳)をスクリーン、フォローアップし、1,338名を前立腺がんケースとして確認し。うち868名は偶発的ケース(フォローアップ最初の年に診断された)、520名が進行型ケース(段階IIIあるいはIVあるいは ≥ 7 のGleasonスコア)	肉の摂食、特に肉関係の突然変異誘発物質、MeIQx、DiMeIQx、PhIPが前立腺がんのリスク上昇と相関性があるかどうかをケースコントロール研究で調べる。赤肉、白肉の摂取は、前立腺がんリスクと相関性がなかった。ウェルダン肉の10g/日以上摂取が、前立腺がんのリスク1.4倍上昇 [95%CI, 1.05-1.92]とさらに1.7倍のリスク上昇[95%CI, 1.19-2.40]と相関性を示した。MeIQx、DiMeIQxと相関性はなかったが、PhIPの最高五分位点は、前立腺がんリスク1.2倍上昇(95%CI、1.01-1.48)と、さらに1.3倍上昇(95%CI、1.01-1.61)と相関性を示した。結論として、ウェルダン肉は、前立腺がんリスク上昇と正の相関性を示し、PhIPが前立腺発がん物質である可能性が示された。	Cross <i>et al.</i> 2005
結腸直腸腺腫	米国複数サイトで参加者75000人以上を対象に、1993年9月~2001年7月の間にS状結腸鏡検査により、年齢55~74歳の男女57,569名をスクリーンし、さらに対象を絞り、最終的に、下行結腸、S状結腸、直腸に病理学的に腺腫が判定された3696名のケースと、34,817名のコントロールを対象に分析。	肉、加工肉、HCA、PAHベンゾ(a)ピレンと結腸直腸腺腫のリスク。既知の調理法と調理程度の赤肉摂取は、下行結腸、S状結腸の腺腫のリスク上昇と相関していた(最高五分位点を比較して、オッズ比OR、1.26;95%CI、1.05-1.50)が、直腸腺腫とは相関性がなかった。ウェルダンの赤肉は、結腸直腸腺腫のリスク上昇と相関していた(OR,1.21;95%CI、1.06-1.37)。下行結腸とS状結腸の腺腫のリスク上昇が、HCA2種(MeIQxとPhIP)(それぞれOR,1.18;95%CI、1.01-1.38とOR、1.17;95%CI、1.01-1.35)、さらにベンゾ(a)ピレン(OR、1.18;95%CI、1.00-1.30)と相関していた。結論として、赤肉と高温調理の肉の摂取が結腸直腸腺腫のリスク上昇と相関していた。	Sinha <i>et al.</i> 2005
結腸直腸腺腫	1996年から2002年の間に見られた結腸遠位腺腫の581症例について料理方法との関連をコホート研究した。	高いMeIQx量と腺腫との間に正の相関が見られたが、この関係は加工肉摂取量で補正すると減弱した。DiMeIQxおよびPhIPは腺腫リスクとの間に相関は見られなかった。これらの結果は料理した肉中のHCA以外の変異原物質が結腸遠位の腺腫のリスク増加に役割を演じていることを示唆している。	Wu <i>et al.</i> , 2006

がん	対象	結果	出典
結腸直腸 腺腫	1994～1998年のリクルートメントで、がんと栄養についてのヨーロッパ前向き調査 (EPIC) - ハイデルベルグ研究の参加者 25,540 名。2007年6月までに、516名の発生検証済み結腸直腸がんが同定され、大腸内視鏡検査ネガティブの参加者 (n=3966) も含む。	HCA 摂取と結腸直腸腺腫発生率の相関性を前向きコホート研究により評価する。PhIP の摂取は結腸直腸腺腫リスクを上昇させた (相対リスク: 1.47; 95%CI: 1.13, 1.93; 四分位数 4 を四分位数 1 に比較; p=0.002) が、MeIQx、DiMeIQx では統計学的に有意な相関性はなかった。さらに、腺腫リスクは、極端に褐色化した肉の摂取に相関して上昇した。最も明白なのは、PhIP と小規模腺腫の相関性で、腺腫の位置は遠位結腸であった。	Rohrmann <i>et al.</i> 2009

疫学的調査における PhIP の発がんメカニズムに関係するデータが得られている。膀胱がんの無い正常な人体由来の正常組織(N) (n=54)、膀胱がん患者 68 名由来の腫瘍組織(T) (n=39) とそれに隣接する正常組織(A)(n=38)。PhIP-DNA 付加体を、免疫組織化学的染色により検出。膀胱がん患者由来の腫瘍組織と隣接正常組織間では、PhIP-DNA 付加体レベルに有意差はないが、コントロールである非患者由来の正常組織に対しては有意差のある高い値を示した。PhIP-DNA 付加体レベルと膀胱がんリスクの相関性を推定するためのロジスティック回帰分析によると、PhIP-DNA 付加体のレベルが高い個人については膀胱がんのオッズ比は 3.4 である (Zhu *et al.* 2006)。

米国、ケース 152 名、コントロール 161 名。前立腺がん (PCa) と消費する肉の種類、HCA の摂取、NAT 遺伝子型との相関性を調べる。前立腺がんと第一血縁親戚の前立腺がん歴との間に相関性 (OR=4.59、95%CI 2.21-9.70) がみられたが、他のがんの履歴とは相関性がない前立腺がんは、MeIQx と即時型 NAT2 と組み合わせ、そして PhIP と NAT1*10 遺伝子型組み合わせで、相関性を示す傾向がみられた (Rovito *et al.* 2005)。

米国、ノースカロライナ州の結腸がん研究で、アフリカ系アメリカ人 (ケース 215 件とコントロール 315 件) と白人 (ケース 290 件とコントロール 534 件) (年齢は <65 歳、≥65 歳に区分)。肉由来の HCA 摂取と結腸がんの相関性が、N-アセチル基転移酵素 1 (NAT1) と 2 (NAT2) の遺伝子型や人種によって修飾されるかどうかを調べる。結腸がんについては、NAT1 の 10 番対非 10 番の相関性はなかった。白人間では、NAT2-“低速型”に比べて、NAT2-“迅速型/中間型”遺伝子型に正の相関性があった[オッズ比 (OR) =1.4; 95% CI=1.0, 1.8]。HCA 摂取と結腸がんの相関性は、人種に関係なく、NAT2 ではなく、NAT1 により修飾される。しかし、リスクの大きい NAT1 遺伝子型は、人種により異なる。アフリカ系アメリカ人間では、PhIP との正の相関性は、NAT1 の 10 番型に限られていた (HCA 最高摂取を最低摂取に比較して、OR=1.8; 95%CI=1.0, 3.3; 相互作用についての P=0.02)。白人間では、MeIQx との正の相関性が、NAT1 の非 10 番遺

伝子型に限られていた (OR=1.9 ; 95%CI=1.1、3.1 ; 相互作用についての P=0.03) (Butler *et al.* 2008)。

4. 次世代影響

該当データなし

5. その他（ヒトの摂取量）

米国人の総 HCA の生涯平均摂取量は約 9 ng/kg/day と推定され、この摂取量のうち 2/3 が PhIP であると推定されている (Bogen and Keating, 2001)。フライパン調理の肉が食品の中で最大の摂取源であり、さらに種々の肉の中で鶏肉が HCA の最も大きな摂取源である。男性と女性の HCA の推定摂取量は同等であり、0 歳から 15 歳までの子供の摂取量は成人 (16 歳以上) より約 25%多い。人種、年齢および性特異的な HCA の平均摂取量はアフリカ系米国人男性が最も多く、彼らは 16 歳以上および 30 歳以上の白人男性よりそれぞれ 2 倍および 3 倍の PhIP を摂取している。このことは国民調査データによると、黒人男性が良く焼けた肉を好むことによると思われる (NTP, 2002)。

従来の推定暴露量は米国 NTP の Executive Working Group for the Report on Carcinogens から、4.8-7.6 ng/kg/day とされていた (平均摂取量 2825.5-457 ng/day および平均体重 60 kg との仮定に基づく)。MOE 計算には、平均 PhIP 暴露量として 6 ng/kg/day が妥当な推定量とされている。また、パーセンタイルの高い消費者であるアフリカ系米国人男性の MOE 計算には 20 ng/kg/day が使用された (Carthew P *et al.*, 2010)。

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

該当データなし

2. 反復投与毒性試験

該当データなし

3. 生殖・発生毒性試験

該当データなし

4. 遺伝毒性試験

PhIP は、原核生物 (*S. typhimurium*, *E. coli*)、昆虫、げっ歯類 (in vitro、in vivo 試験)、ヒト (in vivo) において突然変異性を示したが、酵母菌では単一試験のみであるが突然変異性を示さなかった。また、ヒトとげっ歯類の in vitro 試験、げっ歯類の in vivo 試験では、遺伝子毒性を示し、染色体異常、DNA 傷害、姉妹染色分体交換などはすべての系で観察された。PhIP はまた、ヒトとげっ歯類の生体外において不定期 DNA 合成、げっ歯類の in vitro 試験で細胞分裂遺伝子組み換えを誘導した (IARC 1993、下表参照)。

PhIP の遺伝子毒性 (IARC 1993)

試験系	遺伝子への影響
<i>S. typhimurium</i>	復帰突然変異
非哺乳類有核細胞	
<i>D.melanogaster</i>	体細胞突然変異、組み換え
哺乳類 in vitro	
ラット肝細胞	不定期 DNA 合成、DNA 鎖切断
Chinese hamsterV79 細胞	姉妹染色分体交換、DNA 鎖切断、 遺伝子突然変異
CHO 細胞	遺伝子突然変異、姉妹染色分体交換、 染色体異常、小核
哺乳類生体内	
マウス骨髄細胞	姉妹染色分体交換、染色体異常、
マウス骨髄赤血球	小核
マウス末梢血細胞	染色体異常
マウス末梢リンパ球	小核

1993年以降の研究においても、PhIPは、*S. typhimurium*、CHO細胞、ヒトがん細胞株を使った *in vitro* 試験で突然変異を起こし、*in vivo* 試験においても、CD-1マウス、トランスジェニックマウス、Big Blue®ラットにおいて、DNA損傷や遺伝子突然変異を誘導した (NTP 2002)

付加体はグアニン塩基で、優性な付加体はC8位置に形成される。MeIQxはまた、N2グアニン位置の付加体を少数形成する。DNA付加体は、摂食量に相当する濃度の暴露後、ヒト大腸と乳腺組織において検出される。動物では、付加体は投与量に比例して形成され、発がん性と相関している。HCA誘導された腫瘍由来組織中においては、Ki-ras, Ha-ras, Apc, p53, β -カテニンなどの原がん遺伝子や腫瘍植生遺伝子においてグアニン塩基の突然変異の頻度が最も高く、特にG:C→T:Aの塩基転換が特にみられた (NTP 2002)。

最近のPhIP遺伝子毒性試験のデータには次の例がある。ラット、F344 (5~6週齢、雄)に、15日間、PEITC (816mg/kg 飼料当たり)、genistein (500mg/kg 飼料当たり)、chlorophyllin (10g/kg 飼料当たり)、lycopene (10g/kg 飼料あたり)を摂取させ、14日目に、カテーテルで、 $[^{14}\text{C}]\text{PhIP}$ 、 $[^3\text{H}]\text{IQ}$ を単一投与。エタノールに溶かしコーンオイルに加え、1%vol/volエタノールとして、4 $\mu\text{L}/\text{kg}$ 体重当たり (8.1 μg 体重当たり $[^{14}\text{C}]\text{PhIP}$ 、10.8 μg 体重当たり $[^3\text{H}]\text{IQ}$)を各ラットに投与した。ラットにおける低用量PhIPとIQ摂取による付加体の形成を、肝臓、結腸、前立腺、血漿から加速質量分析により定量し、化学予防物質、phenylethylisothiocyanate (PEITC), chlorophyllin, lycopene, genisteinの付加体形成減少効果を調べた。結腸、肝臓、前立腺由来のDNAと血漿アルブミンをAMS分析し、 $^{14}\text{C}/^{13}\text{C}$ 、 $^3\text{H}/^1\text{H}$ の比を付加体レベルに変換。PhIP-DNA付加体レベルは、PEITC、chlorophyllin処理により低下するが、genistein、lycopene処理では、肝臓における付加体レベルは増した。IQ-DNA付加体レベルは影響を受けない。血漿中のPhIP-アルブミン付加体レベルは、PEITC、chlorophyllin処理により低下するが、genistein処理では増し、PhIP-DNA付加体のレベル変化と類似していた。IQ-アルブミン付加体レベルは、genistein、lycopeneで増し、IQ-DNA付加体レベルの変化との相関性は明確ではなかった (Dingley *et al.* 2003)。

PhIP、IQ、MeIQ、Trp-P-2の腸における変異誘発部位とその機構をトランスジェニックマウスアッセイに解析するため、Itoらは、*LacZ*トランスジェニックマウスCDF1(BALB/cxDBA/2F1)雄5-7匹 (10週齢)にHCAを5日間経口投与 (コントロールはコーンオイル)し、最終の経口投与から2週間後に小腸、盲腸、大腸から粘膜上皮を単離し、DNAを抽出した。*cII*遺伝子の変異誘発能はPhIP>MeIQ>IQ。盲腸:IQで1.9倍、MeIQで2.7倍の増加を示した。PhIPによる変異頻度は、小腸、盲腸、大腸全ての

粘膜上皮で増加を示し、小腸粘膜上皮の変異頻度は、*LacZ* が 6 倍($P < 0.0005$)、*cII* が 4 倍($P < 0.005$)であった。*cII* 遺伝子変異は、PhIP 誘発性遺伝子変異、対照群の自然発生突然変異のいずれも塩基転換が特徴的で、PhIP 誘発性変異は、G:C→T:A 塩基転換が 72% (32/33)、対照群変異は、G:C→A:T 塩基転換が 81% (25/31) であった (Itoh *et al.* 2003)。

Balb/C マウス (6~7 週齢、20~25g 体重、雄) を対象に、IQ (0~40 mg/kg b.w.間を 10 段階に分類、DMSO 溶液)、MeIQx (0~90 mg/kg b.w.間を 14 段階に分類、DMSO/PBS1:1 溶液)、PhIP (0~36 mg/kg b.w.間を 11 段階に分類、DMSO 溶液) で、単回腹腔注射により投与した結果、PhIP に有意な用量反応相関性がみられ、IQ と MeIQx にはなかった。小核の DNA 量については、各々の HCA 処理とコントロール間の有意差はなく、異数性誘発性はなかった (Durling *et al.* 2005)。

マウス、 $B6^{Min}/A^+$ と $B6^{Min}/AKR^+$ [C57BL/6J-*Apc*^{Min/+} ($B6^{Min/+}$) 雄と AKR/J あるいは A/J マウス雌 (いずれも *Apc*^{+/+}、AKR/J マウスは腸管発がん物質に対する感受性が強く、A/J マウスは感受性が弱く前者への比較対象として選択) を交配し作成した F1 ハイブリッド] (3~4 日齢) に、PhIP を 50mg/kg b.w.単回経皮注射し、11 週齢に腫瘍採取し、DNA を分離、*D18Mit19* と *D18Mit4* (染色体 18 番の両末端のマイクロサテライト) プライマーで増幅した。すべての腫瘍試料を分析した結果、自然発生腸管腫瘍と PhIP 誘導性腸管腫瘍間の遺伝子プロファイルは異なり、3 種類の遺伝的に異なる PhIP 誘導性腫瘍が検出され、そのすべては *Apc*⁺ を維持した。*Apc*^{Min} と *Apc*⁺ の対立遺伝子部位バランスをもつグループ、*Apc* と *D18Mit4* 間に対立遺伝子部位の不均衡をもつグループ、3 種のマーカーに種々の部位の不均衡を示すグループが検出された。PhIP 暴露したマウス由来の腸管腫瘍における染色体 18 番マーカーにおける対立遺伝子部位不均衡は、染色体切断および/または組み換えで説明できるかもしれない (Andreassen *et al.* 2006)。

ラット、Big Blue トランスジェニック Fisher344 (13~15 週齢、雄) に、14mg/mL の PhIP 食塩水溶液を、70mg/kg (5mL/kg) 用量で、胃カテーテルを使い、週 3 回、4 週間と 8 週間投与した。コントロールに対して、PhIP 投与 4 週間めで、結腸、脾臓、精嚢、前立腺の全ローブにおいて突然変異頻度が増し、8 週間目でさらに増加した。突然変異座の配列解析によると、G:C→T:A 置換が最も優位な変異タイプである。PhIP 投与 8 週間後に、Ki-67 インデックス (上皮細胞増殖)、マスト細胞とマクロファージ数、アポトーシスインデックスは、腹側前立腺で増加をみせたが、それ以外の前立腺ローブでは増加しなかった (Nakai *et al.* 2007)。

IQ と PhIP の細胞毒性と遺伝子毒性を検査目的で、初代牛結腸上皮細胞培養を使って、IQ は、1、10、100、300 μ M、PhIP は、1、10、100、500 μ M、DMSO (<0.5%) で投与した。中性赤の取り込み抑制により IC₅₀ を決定。PhIP は 500 μ M まで細胞毒性はなか

ったが、IQ は 300 μ M 以上で細胞毒性を示した。アルカリン単一細胞ゲル電気泳動（コメットアッセイ）で DNA 鎖切断の誘導を検査した結果、外来性酵素代謝システム（S9 ミックス）無しで、PhIP も IQ も DNA 鎖切断を誘導しなかった。S9 ミックスを使うと、PhIP は 10 μ M 以上で DNA 鎖切断を誘導したが、IQ は 300 μ M でも重要な影響はなかった（Foellmann *et al.* 2008）。

5. 発がん性試験

経口投与により、マウスでは、雄雌ともにリンパ腫、雄に小腸腫瘍形成を、ラットでは、雄にリンパ腫、小腸、結腸、前立腺の腫瘍形成、雌に乳腺腫形成の誘導がみられている。

PhIP は、マウス雄雌ともにおいて、強力なリンパ腫誘導物質であるが、他の組織にはほとんど発がん性を示さない。PhIP 暴露により生じた ACF は大腸がんを発達するわけではないようである。PhIP を腹腔注射された雄の新生児では、肝臓腺腫の発症率が高かった。リンパ腫は、400ppm PhIP を経口摂取したラット雄 75%に発症した。さらに 400ppm 経口摂取した雄は、消化器系と前立腺に腫瘍を発症。雌では、PhIP 摂取に伴う乳腺がんの発症があがった。さらに経胎盤あるいは経授乳 PhIP 暴露は、乳腺がんの発症率を上げた（NTP 2002）。

実験動物における発がん性試験結果

試験期間	がん	動物種	投与方法	結果	出典
長期試験 (>1 年)	リンパ腫	野生型マウス (雌雄各 15 匹) E μ -pim-1 トランスジェニックマウス (T 細胞リンパ腫発病の傾向あり)	0.03%(300ppm) (平均摂取量/日、野生型雄 46.8mg/kg、雌 47.7mg/kg、E μ -pim-1 雄 44.0mg/kg、雌 49.6mg/kg) 48 週間	PhIP は、マウスリンパ腫誘発物であるが、他の組織に対しては発がん性なし。(野生型 70%、E μ -pim-1 ほぼ 100%発症)	Kristiansen <i>et al.</i> 1998

試験期間	がん	動物種	投与方法	結果	出典
長期試験 (>1年)	大腸腺がん、乳腺がん	F344 ラット	経口、0、25、100ppm、104週間。25ppmの場合、平均摂取量/日は、雌0.26mg/kg、雄0.39mg/kg。100ppmの場合、雌1.05mg/kg、雄1.47mg/kg。	生存率は、コントロール、25ppm、100ppmそれぞれ、雄が83%、70%、30%、雌が87%、77%、23%。大腸腺がんは、100ppm投与グループの雄13匹、雌4匹に発症。雄においては、統計学的有意差があった。コントロールや25ppmのグループには検出されなかった。100ppm投与の雌においては、乳腺がんの発症数(14/30匹、47%)は統計学有意差を示した。	Hasegawa <i>et al.</i> 1993
短期試験 (≤1年)	大腸異常腺窩 (ACF)	F344 ラット	3~4匹/グループ、経口、500ppm、2~16週間	大腸異常腺窩 (ACF)が16/20匹に検出。コントロールでは2/20匹。	Takahashi <i>et al.</i> 1991
短期試験 (≤1年)	大腸異常腺窩	F344 ラット	雌雄各7匹、経口、400ppm、14週間	雄が、雌よりもACF平均数が高い。DNA付加体のレベルは、雄雌同様。	Ochiai <i>et al.</i> 1996
短期試験 (≤1年)	大腸異常腺窩	F344 ラット (即時型アセチレーター)、Wistar Kyoto (遅延型アセチレーター)	経口、0.01%(100ppm)あるいは0.04%(400ppm)、8週間。	0.04%PhIP摂取では、ACF数は、F344ラットが、Wistar Kyotoの2倍。両種とも、摂取量増加に伴い、ACF数の増加がみられた。ウェルダンの肉を頻繁に消費する急速アセチレーターにおいて大腸直腸がんリスクが高いことを示すヒトのデータを支持すると結論された。	Purewall <i>et al.</i> 2000
短期試験 (≤1年)	大腸異常腺窩	F344 ラット	雄の子供13匹、成体8匹、別試験用に子供25匹。経口、50mg/kg、週3回、8週間。別試験では、PhIP50mg/kgを経管栄養で摂取した授乳中の母体を通してPhIP摂取。	ACFの年齢との相関性を調査。13匹の子供中9匹は毒性(突然の体重減少、脱毛、打撲傷)がひどく試験から除いた。子供は成体よりもPhIPの影響でACFが誘導されやすく、ACF検出は、成体より2.2倍、そして3.5倍高かった。授乳を通してPhIP暴露した子供ではACFの増加はみられなかった。	Paulsen <i>et al.</i> 2000
短期試験 (≤1年)	大腸腺がん	F344 ラット	経口、400ppm、52週間	雄36%、雌26%に体重減少、雄16/29匹、雌2/30匹が大腸腺がんを発症。	Ito <i>et al.</i> 1991

試験期間	がん	動物種	投与方法	結果	出典
短期試験 (≤1年)	腫瘍	ラット、 Nagase analbuminemi c rats (NAR) (発がん性 物質に対す る感受性強 い)	雄 13 匹、経口、0.04% (400ppm)、108 日目 から 0.03% (300ppm)、144 日目 以降 0.01% (100ppm)、 311 日目で試験終了。	最初の腫瘍検出は 136 日目。 10/13 匹中に、36 個の小腸腫瘍 (2 個が腺腫、34 個が腺がん) 検出、結果ラット 1 匹当たり 2.8 個の腫瘍。9 匹は小腸中に、 6 匹は大腸中に、3 匹は盲腸中 に腫瘍を形成し、加えて 4 匹が Zymbal 腺に、2 匹が膵臓に、1 匹が皮膚に腫瘍を形成。	Ochiai <i>et al.</i> 1991
短期試験 (≤1年)	大腸腫瘍	F344 ラット	雄 20 匹、経口、 400ppm、少なくとも 43 週間。	9/20 匹の大腸に腫瘍形成。18 個の腫瘍同定。直径 3mm 以上 のサイズの腫瘍は Apc 遺伝子 の突然変異について検査。PhIP 誘導性腫瘍には、特異的でユニ ークなフレームシフト型突然 変異が検出。	Kakiuchi <i>et al.</i> 1995
短期試験 (≤1年)	乳がん	F344 ラット	経口、400ppm、52 週 間。	47%の雌に乳腺がん発症。	Ito <i>et al.</i> 1991
短期試験 (≤1年)	乳がん	Sprague-Dawl ey ラット	経口、実験 1 =0、25、 100、200ppm、実験 2 =0、12.5、50ppm、 48 週間。	4.8%~72%に乳がん発症。	Imaida <i>et al.</i> 1996
短期試験 (≤1年)	乳がん	Sprague-Dawl ey ラット	経口、100ppm、交配 の 4 周前に開始し妊 娠、授乳期間を通し て摂取。子供は雄雌 ともにそれら自身の 母乳で 3 週間育ち、3 グループに分けて、 それぞれ、0、25、 100ppm を経口で 44 週間摂取。	経胎盤性あるいは経授乳性暴 露は、乳腺がんのリスクを上昇 させた。	Hasegawa <i>et al.</i> 1995
短期試験 (≤1年)	前立腺がん	F344 ラット	雄、経口、400ppm、 52 週間	腹側前立腺と精嚢の異型過形 成と腹側前立腺のがん発症リ スクを上げ、統計学的有意差を 示した。腹側前立腺と精嚢の異 型過形成は、それぞれ 22/27 匹 (81.5%) と 24/27 匹 (88.9%)。 腹側前立腺のがんは、18/27 匹 (66.7%) に発症。	Shirai <i>et al.</i> 1997

試験期間	がん	動物種	投与方法	結果	出典
		F344 ラット	雄、経口投与、DEN 200mg/kg 腹腔注射、2週間後に種々の HCA を6週間。実験1では、MeIQx と MeIQ を単独で 1/1, 1/5, 1/25 の発がん性投与量、あるいは、5種 HCA 混合で、1/5, 1/25 投与(Ito <i>et al.</i> 1991)。実験2では、PhIP と MeIQx 濃度は 400, 80, 16ppm、MeIQ は 300, 60, 12ppm(Hasegawa <i>et al.</i> 1991)。実験3では、10種の HCA を単独で 1/10 投与レベル、あるいは混合で 1/10, 1/100 投与レベル(Hasegawa <i>et al.</i> 1994, Ito <i>et al.</i> 1995)	3週目で肝臓組織検査、8週目で最終検査。GST-P 陽性病巣数は、最高投与グループにおいて肝臓がん発がん性に比例しており、その傾向は MeIQx>MeIQ>PhIP の順。HCA 混合の影響は基本的には相加的であり、相乗的ではない。しかし、PhIP と MeIQ の混合は、それらが重要な代謝酵素を誘導するという理由で相乗性があると推測されている。	Ito <i>et al.</i> 1991 Hasegawa <i>et al.</i> 1991 Hasegawa <i>et al.</i> 1994, Ito <i>et al.</i> 1995

最近の PhIP 発がん性試験の例には次のものがある。腫瘍形成誘発物質デキストラン硫酸塩と併用した実験では、C57BL/6J 野生型とそのトランスジェニックマウスである *gpt delta* マウス雄 (5週齢 20匹/グループは、78週間 (MeIQx 摂取による腫瘍化 78週バイオアッセイ用)、6週齢 15~30匹/グループは、12週間 (MeIQx、IQ、PhIP 摂取とそれに続くデキストラン硫酸塩 DSS 処理による腫瘍形成のバイオアッセイ用) に対し、MeIQx 摂取による腫瘍化 78週バイオアッセイ用に、300ppm、30ppm の MeIQx を、また MeIQx、IQ、PhIP 摂取とそれに続く DSS 処理による腫瘍形成のバイオアッセイ用に、300ppm の MeIQx、IQ、PhIP を摂取させた。C57BL/6J 野生型とそのトランスジェニックマウスである *gpt delta* マウスにおいて、MeIQx による腸管腫瘍形成誘導はない。デキストラン硫酸塩を使った結腸腫瘍誘発性条件下で C57BL/6J マウスの MeIQx、IQ、PhIP 摂取による結腸腫瘍形成は、有意差のある増加を示した (Nishikawa *et al.* 2005)。

さらに、アゾキシメタン発動性の大腸腫瘍形成を PhIP が促進するかどうかについての実験では、F344 ラット、192匹 (6週齢) を使い、アゾキシメタン (AOM) 15mg/kg 体重当たりを2回皮下注射し、様々な用量の PhIP (0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 50, 200ppm) を飼料中に混ぜて継続的に投与し、16週目で、大腸異常腺窩 (ACF) を定量分析、36週目で腫瘍発生を病理学的に分析し、免疫組織化学染色試験を実行した。PhIP は AOM 発動性のラット大腸腫瘍化を 50, 200ppm の高いレベルの用量では促進させた

が、低用量（0.001～10ppm）では影響がみられなかった(Doi *et al.* 2005)。

発がんメカニズムについていくつかのデータも示されている。Sprague-Dawley ラット（雌、43 日齢と 150 日齢）に、PhIP-HCL（75mg/kg）を 10 経口用量、日 1 回、12 日間（コントロールは水）投与し、PhIP 投与終了 3 時間後に乳腺採取、あるいはさらに 6 週間調整された高脂肪飼料を投与した後乳腺採取し、また *lacI* レポーター遺伝の突然変異頻度分析用に Big Blue ラットからは、6 週間後乳腺採取し、抽出した RNA と DNA について、突然変異アッセイ、DNA 付加体分析用に ³²P ポストラベルアッセイ、cDNA マイクロアッセイを行った。³²P ポストラベルアッセイ分析による PhIP-DNA 付加体レベルと、突然変異頻度は統計学的有意差を示さなかった。cDNA マイクロアレイ分析によると、PhIP は、齢により異なる乳腺遺伝子発現プロファイルを誘導した。150 日齢のラットにおいては、分化に関係する遺伝子（ β -カゼイン、 κ カゼイン、乳清酸性タンパク質）発現を促進し、形態的分化を誘導した。43 日齢ラットでは、分化関連の遺伝子は抑制され、*Ras* スーパーファミリー遺伝子やたんぱく質合成分解にかかわるリゾソームタンパク質、熱ショックタンパク質、プロテアソームの遺伝子発現が変化し、細胞増殖が促進した。PhIP 投与後 3 時間から 6 週間は、150 日齢ラットでは、遺伝子発現変化した細胞クローン数は 50%以上減少したが、43 日齢ラットでは、4 倍増加し、PhIP が感受性の高いラットにおいてのみ遺伝子発現変化カスケードを誘導することが示された (Shan *et al.* 2004)。

C57BL/6J 多発性腸管腫瘍 (Min) /+型マウス (3 匹/グループ、生後 3～6 日め) に、10、17.5、25mg/kg の PhIP を単一投与して、PhIP 誘導性の腸管腫瘍の大腸腺腫症 (*Apc*) 対立遺伝子部位の変異を解析した。11 週齢で、合計 292 個の腸管腫瘍と 21 個の結腸腫瘍 (≥ 0.75 mm 直径) を採取しした。*Apc* 遺伝子切断変異分析のために、採取した腫瘍から DNA を抽出し、*Apc* 遺伝子が欠損 (異型抱合性の欠損、LOH) していない *Apc*+部位を維持している試料について、生体外合成タンパク質 (IVSP) 法により切断 *Apc* タンパク質分析。IVSP 法により検出した切断変異を有する腫瘍由来の DNA の PCR 産物をさらにクローニングして詳細を解析した。PhIP 投与により小腸腫瘍数平均は 2～3 倍増加した。*Apc* 遺伝子における LOH 頻度は、0、10、17.5、25mg/kgPhIP 処理それぞれに対し、88%、93%、83%、84%であり、PhIP 低用量でも LOH 頻度は低下しなかった。PhIP 処理マウス由来の *Apc* 野生型を維持する腫瘍試料の *Apc* 切断変異については、*Apc* のエクソン 15 の前半の変異のうち、60%は G→T 置換、15%は G 欠損であり、ほとんどの変異は、 β カテニン結合部位の前半に適合するコドン 989 と 1156 の間にあった。Min/+マウスにおける PhIP 誘導性腫瘍の主なメカニズムは *Apc* 遺伝子の欠損 (LOH) であるが、もうひとつのメカニズムは *Apc* 切断変異であることが示された (Mollersen *et al.* 2004)。

TK6、MT1、WTK-1 ヒトリンパ芽球様細胞、異なる PhIP 濃度で、外来性代謝システム (2%ラット肝臓 S9) 存在下で 4 時間処理し、その後経時的に細胞を採取し、細胞周期分析とタンパク質調整を行った。採取した細胞の DNA 含量を測定して細胞周期を分析、タンパク質抽出物は、P53 あるいは WAF1 抗体でウェスタンブロット分析した結果、PhIP 処理後、機能する p53 を持つ細胞において、p53 の用量と時間依存性の蓄積を示した。p53 タンパク質の増加とそれに伴う p21-WAF1 増加により p53 の活性化が確認された。細胞周期妨害も観察され、PhIP 処理後 24 時間で G2-M チェックポイント活性化がみられたが、PhIP 誘導性 G2-M 停止には機能する p53 と不適合修復は必要ではなかった。G2-M 停止は可逆性であり、PhIP-DNA 傷害の修復に必要であると解釈された (Duc *et al.* 2004)。

ヒト乳腺上皮 MCF10A 細胞、ヒト乳腺上皮 MCF10A 細胞は PhIP を活性化できないため、CYP1A1 を恒常的に発現し、ヒト CYP1A2、2A6、3A4、2E1 を形質移入により発現させたヒトリンパ芽球様細胞株 MCL-5 とともに培養した。MCL-5 細胞は、放射線処理により増殖不能だが、代謝機能は維持している。MCF10A 細胞を、MCL-5 存在下で、PhIP (1~100 μM) で処理し、24 時間、48 時間後に採取する。PhIP 処理により、細胞数は用量依存的に低下した。FACS 分析によると、PhIP48 時間処理すると、G1 細胞集団が、用量依存的に蓄積した。ウェスタンブロット分析によると、p53 とサイクリン依存性キナーゼ阻害剤 p21WAF1/CIP1 の発現が増した。細胞周期に起こる事象は、細胞にゲノム修復や突然変異の取り込みを起こし、また過剰にダメージを受けた細胞を壊死あるいはアポトーシスさせて除去する点で、重要であり、これらに関係するエフェクタータンパク質の損傷は、遺伝子傷害蓄積に対する細胞の感受性に影響することが示された (Creton *et al.* 2005)。

MCF-7 ヒト乳がん細胞を、PhIP 4×10^{-7} 、 1.2×10^{-6} M、あるいは MeIQx 1.2×10^{-6} M で処理し、HCA とそのヒドロキシル化代謝物 (E2、PhIP、N2-ヒドロキシ PhIP、IFP、MeIQx) のエストロゲンレセプターへの結合能力を、計算的ドッキングと NMR 分析により調べ、エストロゲン反応の活性化あるいは抑制化と、その発がん性への影響を評価した。計算的ドッキングと NMR により、PhIP がリガンド (LBD) に結合することが示された。この結合は、レセプターの天然 E2 結合腔においてエストラジオール (E2) と競合した。生体外アッセイでは、PhIP が MCF-7 ヒト乳がん細胞において細胞増殖を増大させ、エストロゲンレセプター α (ER α) レセプターを活性化した。他の HCA と N2-ヒドロキシ PhIP は ER α 活性化を抑制した (Bennion *et al.* 2005)。

エストロゲンレセプターの無い胃と乳腺上皮細胞、MCF10A 細胞と、ヒト前立腺がん細胞、PC-3、細胞を、Boyden 細胞遊走チャンバーの上部で、PhIP あるいはエタノール溶媒コントロールで 24 時間処理し、細胞遊走/走化性を測定した。さらに ERK1、ERK2

活性を測定した。PhIP は、MAPK/ERK キナーゼ 1/2 と ERK の両方のリン酸化において迅速で一時的な増加を誘導した。この経路を抑制すると、PhIP 誘導性の MCF10A 細胞増殖と PC-3 細胞の遊走は劇的に減少した。ヒトの摂食暴露に匹敵する PhIP のレベル (10^{-7} ~ 10^{-12} mol/l が、細胞シグナル経路を刺激し、新生物疾患の促進・進行に関係するプロセスである細胞増殖と遊走の増加を起こす。PhIP は、腫瘍化開始・促進因子である証拠が提示された (Creton *et al.* 2007)。

ヒト乳腺上皮細胞、MCF10A (エストロゲンレセプターネガティブ) 細胞を、PD98059 (MEK1/2 阻害剤) の有無の条件下で、nM レベルの PhIP で 2 日間処理し、その後さらに 4 日培養、ウェスタンブロット分析により PhIP は、MCF10A 細胞において DNA ダメージ反応タンパク質 p53 と p21WAF1/CIP1 発現を誘導した。低用量の PhIP (10^{-10} ~ 10^{-6} M、以前骨形成シグナルを誘導することが示された量) 処理で、エストロゲンレセプター (ER) ネガティブ MCF10A 細胞株の増殖を増し、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) 経路を活性化した。この経路を抑制すると、PhIP 誘導性の MCF10A 細胞増殖は減少した。したがって、ヒトの PhIP 暴露レベルで、腫瘍疾患の発現・進行へ導くシグナル経路を刺激することが示唆された (Gooderham *et al.* 2007)。

F344 ラット、4~5 週齢、雄、強制経口投与で PhIP50mg/kg (400ppm) 体重当たり (コントロールは、DMSO) を毎日与え、2 週間後に、高脂肪飼料 (硬化油添加した AIN93G 飼料で 23%脂肪由来カロリー) で飼育し、4 週間後に標準 AIN93G 飼料に戻し、再び PhIP で 2 週間、HF 飼料で 4 週間飼育し、この PhIP/HF 飼料サイクルを 3 回繰り返した後、結腸を採取し、免疫学的組織染色、リアルタイム PCR により、 β -カテニン発現を分析した。PhIP/HF サイクルは、結腸全域にわたり細胞増殖を誘導した。低量リアルタイム PCR と免疫ブロットにより、 β -カテニンと c-myc は、結腸粘膜で有意に増加した。PhIP/HF サイクルが、結腸粘膜における β -カテニンと c-myc の発現を変え、結腸腺窩の中心部と基底部位の管腔からのアポトーシス細胞再分布と増殖層の拡大をもたらすことが示唆された (Wang *et al.* 2008)

最近の毒性緩和実験の報告によると、ビールや乳酸菌が毒性緩和作用を示すデータが示されている。4 種類のビール(ピルスナータイプ 2 種、黒ビール、スタウトビール) の HCA 群に対する抗変異原作用を、Ames test で測定した結果、ラット S9 存在下の MeIQx, PhIP, Glu-p-1, Trp-P-2, IQ, S9 非存在下の活性化 IQ、およびヒト S9 存在下 MeIQx のいずれに対しても、ビールサンプルは抗変異原活性を有し、濃色のビールほど、また、ホップ濃度が高いほど、強い抑制効果を示した(Nozawa *et al.* 2004)。Chinese Hamster CHL/IU 細胞をラット S9 存在下で、PhIP 処理すると小核を生ずるが、これにピルスナービール(凍乾再溶解液 10%)およびスタウトビール(凍乾再溶解 2 倍希釈を 10%)を添加すると有為な抑制がみられた。適度なビール摂取が食物中の HCA 群による変異誘発ひ

いては発がんを抑制する可能性抑制が認められた)。また、PhIP 投与による大腸異常腺窩形成 (ACF) 発症率が 100%であるのに対し、ビールサンプル 0.5、1、2%含有飼料摂取群で大腸あたりの ACF 数の有為な抑制が見られ、それぞれ 55, 70 and 55% の減少を示した (Nozawa *et al.* 2004)。

また、F344 ラットに 4 種類の乳酸菌を給餌 ($1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^{11}$ (細胞/個体)) 後、牛肉由来 (PhIP、IQ、MeIQx、DiMeIQx、A- α -C) と鶏肉由来 (PhIP、MeIQx、DiMeIQx、A- α -C) の 2 種類の HCA 混合物を経口投与し、大腸と肝臓における DNA 移動を単細胞ゲル電気泳動 (SCGE ; コメットアッセイ) により測定した結果、鶏肉由来の HCA では乳酸菌処理による防除効果はないが、牛肉由来の HCA では 4 種類いずれの乳酸菌でも DNA 移動が減少した。乳酸菌量が増加すると忌避効果も上昇し、 1.0×10^{11} (細胞/個体) 処理で効果は最大であり、肝臓では DNA 損傷が 50%、大腸では 30%減少した (Zsivkovits *et al.* 2003)。

乳酸菌の毒性緩和作用を調べた別の実験では、乳酸菌 12 株の HCA 結合力、およびその HCA の変異原性に及ぼす影響を調査する目的で、乳酸菌 8 種 (*B. longum*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. kefir*, *L. plantarum* and *S. thermophilus*) から 12 株を選択し、乳酸菌懸濁液に HCA 溶液 (5 種類の HCA で、A- α -C、PhIP、IQ、MeIQx、DiMeIQx、各 1.0 μ g) を加え混和し、37°C で 4 時間保温した後、クーロメトリー電極アレイを用いた HPLC で未結合の HCA を検出した。その結果、*L. helveticus* が最大 (78-89%)、*L. kefir* が最低 (4-13%) で、HCA による乳酸菌への結合の差異は、A- α -C、DiMeIQx (50%前後) > MeIQx > IQ、PhIP (30%程度) であった (Stidl *et al.* 2008)。変異原性試験として、乳酸菌懸濁液に A- α -C および PhIP をそれぞれ 1.0 μ g を混和し 37°C で 4 時間保温、遠心後の上清にサルモネラ TA98 株を添加した結果、乳酸菌への結合により A- α -C、PhIP の変異原性活性は低下、*L. helveticus* で顕著 (A- α -C ; 100%、PhIP ; 85%) であった (Stidl *et al.* 2008)。

がんの危険性を低減するといわれる食物繊維のリグニン化およびフェルロイル化が、HCA 類の吸着に及ぼす影響についての報告がある。Funk らは、組織培養したトウモロコシから細胞壁を抽出し、人工的にリグニン化・フェルロイル化し、リン酸緩衝液に細胞壁 (15 mg) と 4 種類の HCA (MeIQx、IQ、PhIP、A- α -C) 72 μ L を加え、37 °C で 1 時間攪拌し、細胞壁に吸着されなかった HCA 含量を HPLC-UV で測定した。吸着量には HCA の疎水性が影響、A- α -C (最大 78%) > PhIP (最大 58%) > MeIQx、IQ (最大 29%) であり、細胞壁中のリグニン含量は疎水性 HCA の吸着量を増大させた (Funk *et al.* 2006、次表参照)。

異なるリグニン含量のグアイアシル DHP 細胞壁への HCA の吸着率

HCA	細胞壁への吸着率 (%)	
	リグニン含量 4%	リグニン含量 11%
MeIQx	13	18
IQ	19	24
A- α -C	39	58

(出典 : Funk *et al.* 2006 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(5):1860-1867)

6. 特殊毒性試験 (神経毒性、免疫毒性等)

免疫抑制メカニズム、マウスマクロファージ様細胞、RAW 264.7、RAW 264.7 細胞を、様々な PhIP 用量で 1 時間処理した後、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LTA (リポテイコ酸) で 16 時間刺激。RAW 264.7 における PhIP の TNF- α 発現に対する影響を調べ、その免疫抑制による発がんの可能性を調べる。PhIP 前処理により TNF- α 発現は減少した。PhIP は、Toll-like receptor 2 (TLR2) への LTA の結合、NF- κ B の DNA 結合を阻害しない。しかし、アクチノマイシン D 処理により、PhIP による TNF- α の mRNA 発現減少が示された。PhIP は TNF- α の mRNA 安定性を低下させることが示唆された。さらに、ERK1/2 と JNK のリン酸化を低下させ、p38 には影響はなかった。したがって、PhIP は TNF- α mRNA の安定性低下と PKC, ERK1/2, JNK 活性に関するシグナル経路の抑制により、TNF- α の発現を抑制することが示唆された (Im *et al.* 2009)。

免疫毒性については、Balb/c マウス (4~6 週齢、雌) 由来の胸腺細胞、0、2、5、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の PhIP で 1 時間処理し、50 nM の PMA (ホルボールミリステートアセテート) と 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と PHA (植物性血球凝集素) で 24 時間 (IL-2ELISA 用) と 12 時間 (IL-2mRNA 分析用) 処理。0.1% DMSO 処理の細胞 (VH) をコントロールとする。胸腺細胞の PhIP 処理により、T 細胞分裂促進因子誘導性の細胞増殖と IL-2 分泌をやや抑制した。RT-PCR 分析は、PhIP が PMA と PHA により刺激された胸腺細胞と EL-4 細胞における IL-2mRNA 発現を低下させることを示した。IL-2 プロモーターを含むリポーター遺伝子構築物を使った生体外一時的形質移入アッセイは、PhIP による一定した IL-2mRNA レベルの低下は、一部転写レベルにおける IL-2mRNA 合成低下によることを示した。さらに、電気泳動移動度シフトアッセイは、PhIP が、IL-2 転写活性化を誘導する NF- κ B、AP-1、NF-AT の核因子の DNA 結合活性を抑制することを示した。同時に、PhIP は、転写因子の活性化に関する PMA/PHA 誘導性の反応性酸素種の生成を抑制した (Yun *et al.* 2006)。

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

(1) 国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC)

総合評価： 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine(PhIP)は、ヒトに対する発がん物質である可能性を有する (=probably carcinogenic to humans) (Group 2B)。

根拠：ヒトにおける PhIP の発がん性を示す根拠は不十分である。しかし、動物実験では発がん性を示す十分な根拠がある(IARC 1993)。

(2) NTP

2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)は、RoC11thEdition(2004)において、ヒト発がん物質と予想される物質 (reasonably anticipated to be a human carcinogen) と評価された。

The NIEHS Review Committee for the Report on Carcinogens (RG1)は、5対1で、PhIPを「ヒト発がん物質と予想される物質」としてリストすることに合意した(反対票の理由は、データが「既知のヒト発がん物質」として分類されるべきことを示していると感じられたため)。

The NTP Executive Committee Interagency Working Group for the Report on Carcinogens (RG2*)は、8対0で、PhIPを「ヒト発がん物質と予想される物質」としてリストすることに合意した。

The NTP Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee (外部同領域専門家査読グループ、the External Peer Review Group)は、9対0で、PhIPを、「ヒト発がん物質と予想される物質」としてリストすることに合意した (NTP 2004)。

(3) ILSI(国際生命科学研究機構)

2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)の前立腺、乳腺および結腸がんに関してラットの試験から BMDL10 を求め、ヒトでの推定暴露量 (20 ng/kg/day) から MOE (暴露マージン) を推定した。前立腺がん、乳がんおよび結腸がんのそれぞれの最も低い MOE をそれぞれ 20,000、40,000 および 150,000 と推定した (Carthew P *et al*, 2010)。

*RG2 にでている NTP 執行委員会からの代表組織は次のものを含む：

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR),

Consumer Product Safety Commission (CPSC),

Environmental Protection Agency (EPA),

National Center for Environmental Health of the Centers for Disease Control and Prevention (NCEH/CDC),

National Center for Toxicological Research of the Food and Drug Administration (NCTR/FDA),
National Institute for Occupational Safety and Health/CDC (NIOSH/CDC),
Occupational Safety and Health Administration (OSHA), National Cancer Institute of the
National Institutes of Health(NCI/NIH),
National Institute of Environmental Health Sciences/NIH(NIEHS/NIH)

2. 国際機関等のリスク管理措置

(1) 米国国立がん研究所 (National Cancer Institute)

2004年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告について紹介され、米国の平均的食生活におけるHCAの摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソースを作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCAの暴露を軽減することができるとしている。

(NCI, 2004)

(2) 米国農務省 (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service)

2006年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質のHCAの生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCAの生成や摂取を減らす方法を紹介している。(USDA, 2006)

(3) 英国食品基準庁 (Food Standards Agency)

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」のQ&Aの項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化水素化合物 (PAHs) や HCA のような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。(FSA)

Ⅶ. 相互作用

1. ヘテロサイクリックアミン同士の相互作用

6週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2 週間後、HCA 混合または単独混餌を 6 週間投与。混餌は、5 種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10 種の発がん量の 1/10、1/100 量。3 週後に肝臓の 2/3 を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタミン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA 同一量を個々に混餌投与した群より、グルタミン S-トランスフェラーゼ陽性の前がん状態病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10 種の HCA を各 1/10 量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。真の相乗効果は、PhIP および Trp-P-2 を含む HCA 混合投与群でみられた。これらは非肝がん誘発性であるが、CYP1A2 を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

2. その他の物質との相互作用

HCA により S9 存在下で誘導された変異原性に対する、脂溶性抗酸化物質 1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ)の効果がエームス試験で検討された。HTHQ は PhIP (500 ng/plate) の変異原性を、5 µg/plate 量で 76%抑制し、20 µg/plate 量で 95%抑制した。(Hirose M *et al*, 1995)

鶏胸肉、牛肉、焼く (grilled)、バーベキュー、10 分、15 分、肉をマリネード漬けにすると、PhIP 生成量は減少し、MeIQx にも影響する。10、20、30、40 分焼いた (grilled) 鶏胸肉をブラウンシュガー、オリーブオイル、サイダービネガーと各種スパイス中に漬けることにより、PhIP 量が 92~99%減少した (Salmon, 1997)。逆に MeIQx 量は、30、40 分調理された肉では、マリネード漬けにより 10 倍に増加した。10、15 分調理した牛肉のステーキの場合、照り焼きソースで漬けたものでは PhIP レベルはそれぞれ 45%、67%減少し、MeIQx も 44%、60%減少した (Nerurkar *et al*. 1999)。逆に、市販のハニーバーベキューソースで漬けたものは、PhIP 量はそれぞれ 2.9 倍、1.9 倍増加し、MeIQx も 4 倍、2、9 倍の増加を示した (Salmon *et al*. 1997、Nerurkar *et al*. 1999)。

牛肉における HCA (HCA) 生成を時間と温度の関数としてカイネティックモデルを利用し、時間、温度、ブドウ糖およびクレアチン含量の影響を評価する実験において、Ahn らは、牛挽肉 5g を試験管に入れ、異なる温度 (160°C、180°C、200°C、220°C)、異なる時間 (5 分、10 分、15 分、20 分) で加熱し、SPE により HCA を抽出、HPLC により同定・定量、HCA の前駆体といわれるグルコース、クレアチンの含量を、それぞれソモギ法、 α -ナフトールジアセチル法で測定した。160°C、15 分以下の加熱では HCA は検出されず、時間と温度の増加に伴い HCA 生成は増加、グルコース、クレアチン含量は減少し、クレアチン損失との相関係数は、IQ ; 0.81、MeIQ ; 0.74、MeIQx ; 0.93、PhIP ; 0.87 であった(Ahn *et al*. 2005a)。さらに、天然抽出物 (ブドウ種子抽出物、マツ

樹皮抽出物、ローズマリー精油) の、牛肉加熱調理時の HCA (HCA) 生成に対する抑制効果を調査する目的で、天然抽出物 (ブドウ種子抽出物、マツ樹皮抽出物、ローズマリー精油) を牛挽肉に対し 0.5%あるいは 1%添加し、牛挽肉を 200°Cで 20 分間過熱、牛挽肉パテを 210°Cで両面を 10 分ずつ加熱した結果、HCA の生成量は天然抽出物添加により抑制された (Ahn *et al.* 2005b、下表参照)。

天然抽出物添加による、牛挽肉・牛挽肉パテ加熱時の HCA 生成の抑制効果

HCA	天然抽出物添加無しでの生成量 (ng/g)	天然抽出物添加による抑制効果
牛挽肉		
MeIQx	22.7	MeIQx 生成量は 60%以上減少
PhIP	12.1	PhIP 生成量は 53~63%減少)
IQ	3.2	データなし
MeIQ	2.0	データなし
牛挽肉パテ		
MeIQx	6.4	23~64%減少
PhIP	9.1	データなし
IQ	0.6	データなし

(出典 : Ahn *et al.* 2005b *Journal of Food Science* 70(4): C263-C268)

また、Busquets らは、異なった抗酸化物質量の赤ワインに漬けることにより、フライドチキンの HCA の生成にどのような影響を及ぼすのかを調べるため、鶏胸肉 (6 X7cm、厚さ 1cm、重さ 46g) を 3 種類の赤ワインにそれぞれ漬け、フライパンで油を使わずに 220°Cで片面 5 分ずつ焼いた。焼いて堅くなった表面を切り取り、凍結乾燥し、このサンプルより HCA を抽出し、LC-MS/MS により解析した。マリネに使用した 3 種類の赤ワイン A、B、C は、その抗酸化活性と総フェノール類含量を分光光度定量で測定し、フリーアミノ酸はイオン交換クロマトグラフィーで解析、また、ワイン中の金属は ICP-MS と ICP-OES で解析した。赤ワイン中の総フェノール類 (gallic acid 相当) は、A:2660mg/l、B:3480mg/l、C:4410mg/l、赤ワイン中の抗酸化能力 (Trolox 相当) は、A:35mM、B:42mM、C:47mM、赤ワイン中のフリーアミノ酸濃度は、3 種類の赤ワインともプロリンが~7-16mM で最多、赤ワイン中の金属、硫黄、ホウ素の濃度は、3 種類ともにほとんど差はなかったが、Cu 濃度 A:0.5mg/l、B:0.01mg/l、C:0.02mg/l で銅のみ 20 から 50 倍の差があった。赤ワインに漬けずに焼いた時の鶏胸肉中の HCA の種類と濃度は、PhIP:72±9ng/g、MeIQx:2.3±0.3ng/g (ただし、クロマトグラフィックのピークの非ガウスフォームのため、MeIQx については精密ではない)、4,8-DiMeIQx:2.3±0.03ng/g、norharman:19±2ng/g、harman:6.4±0.2ng/g で、赤ワインマリネによる HCA 生成への影

響は、PhIP の場合マリネにより著しく減少し、特にワイン B に 24 時間漬けると 88% 減少し、MeIQx の場合ワイン B と C に短時間漬けると増加した。4,8-DiMeIQx、Norharman の場合ワイン A に漬けると減少。ワイン C に漬けると増加し、Harman の場合はマリネにより増加した。鶏肉製品中に最も多い HCA である PhIP (Skog *et al.* 2002) を、マリネすることにより減少させた。フライドチキン中の PhIP を減少させた研究は他にもある (Salmon *et al.* 1997, 2006)。また、ワイン中のポリフェノールと他の抗酸化物質が PhIP の生成にかかわっているとみられている (Weisburger *et al.* 1994, Apostolides *et al.* 1996, Zöchling *et al.* 2002, Oguri *et al.* 1998)。

アミノ酸のプロリンとトリプトファンが HCA の前駆物質とクレアチンの反応に競合するという報告 (Jones *et al.* 1988) より、PhIP 生成の減少は、いくつかのアミノ酸の存在も影響していると思われる。また、抗酸化物質の量が最も高いワインに短時間漬けた時に、キノキサリン (MeIQx) の増大が最も高く起こり、マリネの時間が長くなるにつれて減少したのは、ワイン中の他の成分が増大の影響を弱めているものと考えられる (Busquets *et al.* 2006)。

4 種類のビール(ピルスナータイプ 2 種、黒ビール、スタウトビール)の HCA 群に対する抗変異原作用が評価された。Ames test では、ラット S9 存在下の MeIQx、PhIP、Glu-p-1、Trp-P-2、IQ、S9 非存在下の活性化 IQ、およびヒト S9 存在下 MeIQx に対して、ビールサンプルは抗変異原活性を有し、濃色のビールほど、また、ホップ濃度が高いほど、強い抑制効果を示した。また、Chinese Hamster CHL/IU 細胞をラット S9 存在下、PhIP、Trp-P-2 処理で生じた小核に対し、ピルスナービール(凍乾再溶解液 10%)およびスタウトビール(凍乾再溶解 2 倍希釈を 10%)による有為な抑制が見られた。ACF assay では、PhIP 誘導 ACF に対して、ビールサンプル 1,2%含有飼料摂取群で大腸あたりの ACF 数の有為な抑制が見られ、大腸あたり AC 数は 0.5、1,2%で、1 視野あたり AC 数は 1%で抑制が認められた。CYP1A2 活性に対するビールサンプルの効果を MROD 活性測定により検討したところ、ブラック、スタウトビール 5-10%添加で用量依存的に CYP1A2 活性を抑制した。(Nozawa, Hajime *et al.*, 2004)

VIII. まとめ

2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine、PhIP、(CAS N105650-23-5) は、肉魚中のアミノ酸、クレアチン/クレアチニン、ヘキサースから形成され、クレアチンとアミノ酸（フェニルアラニン、ロイシン、イソロイシン、チロシンなど）の混合物を加熱して形成可能である。

食品中に検出される HCA 中、最も豊富に含有され、肉類（牛、豚、鶏、魚）中に検出される。温度、調理時間、酸度などが影響し、高温で長時間の調理であるほど多く形成され、直接に高効率で熱伝達する調理法（フライ、グリル）が、間接的熱伝達調理法（煮る、蒸す）より多く形成する。

ヒト・実験動物においては、胃腸管系から吸収され、複数の組織に分布し、濃度は時間次第で急速に変化する。最高濃度が肝臓と腸から検出され、30 分から 1 時間で、最高濃度が小腸、胃、脂肪組織で検出され、組織レベルのピークは 3 時間後で、最高濃度が胃腸、肝臓、腎臓、膵臓、胸腺、肺で検出された。96 時間までには、肝臓、膵臓、筋肉、脾臓、肺のみに多量検出されている。ラットでは、2 時間後に最高量が胃、小腸、膀胱で検出され、24 時間後では腎臓と肝臓に検出されている。胎盤を通過して、胎児組織に検出されることが示された。24 時間で尿・糞中に大部分が排泄される。

代謝経路には、Phase I（活性化）と Phase II（抱合）段階がある。Phase I 活性化経路はチロクローム P-450 酵素 CYP1A2 による *N*-ヒドロキシル化である。続いて、肝臓や他の組織で Phase II 酵素により、DNA 結合能を有するアリルニトロニウム（arylnitrenium）イオン形成に至る。

代謝経路による毒性発現メカニズムについては、CYP 1 A2 酵素により *N*-ヒドロキシル化により活性化され、*N*-アセチル基本転移酵素、NAT2 により *O*-アセチル化が起こり、結果として arylamine-DNA 付加体が形成され、これが突然変異性や発がん性に寄与する可能性がある。これらの代謝酵素の活性は、一般集団においては多様で、遺伝子多型により決定されると考えられ、迅速型アセチレーター（高効率の *N*-アセチル基転移酵素を産生する）の方が、低速型アセチレーターより、発がんリスクが高い可能性がある。グアニン（G:C→T:A 転換）を含む突然変異ががん原遺伝子で検出されている。

発がん性疫学調査では、乳がんあるいは胃がんのリスクを高める可能性がある。膀胱、肺、結腸、前立腺がんとの相関性は発見されていない。

実験動物に対する毒性では多数の事例が観察されている。遺伝毒性試験では、姉妹染色分体交換、微小核形成、予定外 DNA 合成（DNA 修復反応）、DNA ダメージ、染色体

異常（染色体数と構造の変化）を誘導することが、げっ歯類生体内試験とヒトとげっ歯類由来の細胞生体外試験でわかっている。発がん性試験では、経口投与により、マウスでは、雄雌ともにリンパ腫、雄に小腸腫瘍形成を、ラットでは、雄にリンパ腫、小腸、結腸、前立腺の腫瘍形成、雌に乳腺腫瘍形成を誘導している。

発がん性メカニズムに関する試験も多数行われており、PhIP 誘導性大腸腺腫瘍の主なメカニズムは大腸腺腫症 (*Apc*) 遺伝子の欠損と切断変異であること、細胞分化・増殖関係の遺伝子 (p53、 β -カテニン、c-myc、サイクリン依存性キナーゼ阻害剤 p21WAF1/CIP1) の発現が増加、細胞周期への影響、遺伝子傷害蓄積に対する細胞の感受性変化、細胞増殖増加、エストロゲンレセプター α (ER α) レセプター活性化が確認されている。また、ヒトの摂食暴露に匹敵する PhIP のレベル (10^{-7} ~ 10^{-12} mol/l) が、細胞シグナル経路を刺激し、新生物疾患の促進・進行に関係するプロセスである細胞増殖と遊走の増加を起し、PhIP が腫瘍化開始・促進因子である証拠が提示されている。免疫毒性メカニズムについては、PhIP は TNF- α mRNA の安定性低下と PKC, ERK1/2, JNK 活性に関係するシグナル経路の抑制により、TNF- α の発現を抑制することが示唆され、また、IL-2 転写活性化を誘導する NF- κ B、AP-1、NF-AT の核因子の DNA 結合活性を抑制すること、同時に、PhIP が、転写因子の活性化に関する PMA/PHA 誘導性の反応性酸素種の生成を抑制することが示されている。

PhIP は、National Cancer Center of Japan により指名され、IARC 発がん性物質の報告 (1993 年) では、グループ 2B としてヒトにおける発がん性について、根拠は不十分であるが、動物実験では発がん性を示す十分な根拠があることからヒトに対して発がん性を有する可能性があるとして評価されている。NTP2002 年発行されたデータ評価の後、2004 年の報告では、発がん性物質評価報告 NIEHS 委員会 (The NIEHS Review Committee for the Report on Carcinogens、RG1)、発がん物質評価報告 NTP 執行委員会総合ワーキンググループ (The NTP Executive Committee Interagency Working Group for the Report on Carcinogens、RG2)、外部同領域専門家査読グループ (The NTP Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee, the External Peer Review Group)はともに、PhIP「ヒト発がん物質と予想される物質」としてリストすることに合意している。管理措置に関するデータはない。

IX. 文献・参考資料

- Ahn, J., and I.U. Gruen. (2005a) Heterocyclic amines: 1. Kinetics of formation of polar and nonpolar heterocyclic amines as a function of time and temperature. *Journal of Food Science* 70(2): C173-C179.
- Ahn, J., and I.U. Gruen. (2005b) Heterocyclic amines: 2. Inhibitory effects of natural extracts on the formation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked beef. *Journal of Food Science* 70(4): C263-C268.
- Andreassen, A., R. Vikse, A. Mikalsen, T. Adamovic, I.-L. Steffensen, H. Hjertholm, G. Levan, and J. Alexander. (2006) 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) induces genetic changes in murine intestinal tumours and cells with Apc Min mutation. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 604(1-2): 60-70.
- Apostolides, Z., D.A. Balentine, M.E. Harbowy, and J.H. Weisburger. (1996) Inhibition of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]-pyridine (PhIP) mutagenicity by black and green tea extracts and polyphenols. *Mutat. Res.* 359:159-163
- Augustsson, K., K. Skog, M. Jagerstad, P.W. Dickman, and G. Steineck. (1999). Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study. *Lancet* 353:703-707.
- Baranczewski, Pa., and L. Moeller. (2004) Relationship between Content and Activity of Cytochrome P 450 and Induction of Heterocyclic Amine DNA Adducts in Human Liver Samples In vivo and In vitro. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 13(6):1071-1078.
- Barcelo-Barrachina, E., E. Moyano, M.T. Galceran, J.L. Lliberia, B. Bago, and M.A.-A-Cortes. (2006) Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of heterocyclic amines in food. *Journal of Chromatography, A* 1125(2):195-203.
- Belloq, D., J. Molina, E. Rathahao, C. Canlet, S. Tache, P.G. Martin, F. Pierre, A. Paris. (2008) High potency of bioactivation of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in mouse colon epithelial cells with Apc Min mutation. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 653(1-2): 34-43.
- Bennion, B.J., M. Cosman, F.C. Lightstone, M.G. Knize, J.L. Montgomery, Bennett, L. Michelle, J.S. Felton, and K.S. Kulp. (2005) PhIP Carcinogenicity in Breast Cancer: Computational and Experimental Evidence for Competitive Interactions with Human Estrogen Receptor. *Chemical Research in Toxicology* 18(10):1528-1536
- Bordas, M., E. Moyano, L. Puignou, and M.T. Galceran. (2004) Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system; Effect of temperature, time and precursors. *Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 802(1):11-17.
- Brittebo, E.B., A.A. Karlsson, K.I. Skog, and I.M. Jägerstad. (1994) Transfer of the food mutagen PhIP to foetuses and newborn mice following maternal exposure. *Food Chem Toxicol* 32:717-726.
- Busquets, R., L. Puignou, M.T. Galceran, and K. Skog. (2006) Effect of Red Wine Marinades on the Formation of Heterocyclic Amines in Fried Chicken Breast *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(21):8376-8384.
- Butler, L.M., R.C. Millikan, R. Sinha, T.O. Keku, S. Winkel, B. Harlan, A. Eaton, M.D. Gammon, and R.S. Sandler. (2008) Modification by N-acetyltransferase 1 genotype on the association between dietary heterocyclic amines and colon cancer in a multiethnic study. *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 638(1-2):162-174.
- Calbani, F., M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, and I. Zagnoni. (2007) Validation of an ion-pair liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry method for the determination of heterocyclic aromatic amines in meat-based infant foods. *Food Additives & Contaminants* 24(8): 833-841.
- Carthew P, DiNovi M, Woodrow Setzer R., Application of the Margin of Exposure (MOE) approach to substances in food that are genotoxic and carcinogenic: example: CAS No: 105650-23-5 PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine)., (2010 Jan) 48 Suppl 1:S98-105.
- Creton, S., H. Zhu, and N.J.A Gooderham. (2005) Mechanistic Basis for the Role of Cycle Arrest in the Genetic Toxicology of the Dietary Carcinogen 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine

- (PhIP). *Toxicological Sciences* 84(2): 335-343.
- Creton, S.K., H. Zhu, and N.J. Gooderham. (2007) The Cooked Meat Carcinogen 2-Amino-1-Methyl-6-Phenylimidazo[4,5-b]Pyridine Activates the Extracellular Signal-Regulated Kinase Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway. *Cancer Research* 67(23):11455-11462.
- Cross, A.J., U. Peters, V.A. Kirsh, G.L. Andriole, D. Reding, R.B. Hayes, and R.A. Sinha. (2005) Prospective Study of Meat and Meat Mutagens and Prostate Cancer Risk. *Cancer Research* 65(24):11779-11784.
- Dashwood, R.H. (2002) Modulation of heterocyclic amine-induced mutagenicity and carcinogenicity: an 'A-to-Z' guide to chemopreventive agents, promoters, and transgenic models. *Mutat Res* 511:89-112
- Davis, C.D., E.J. Dacquel, H.A. Schut, S.S. Thorgeirsson, and E.G. Snyderwine. (1996) In vivo mutagenicity and DNA adduct levels of heterocyclic amines in Muta mice and c-myc/lacZ double transgenic mice. *Mutat Res* 356:287-296.
- De Stefani, E., A. Ronco, M. Mendilaharsu, M. Guidobono, and H. Deneo-Pellegrini. (1997) Meat intake, heterocyclic amines, and risk of breast cancer: a case-control study in Uruguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6:573-581.
- De Stefani, E., P. Boffetta, M. Mendilaharsu, J. Carzoglio, and H. Deneo-Pellegrini. (1998) Dietary nitrosamines, heterocyclic amines, and risk of gastric cancer: a case-control study in Uruguay. *Nutr Cancer* 30:158-162.
- Delfino, R.J., R. Sinha, C. Smith, J. West, E. White, H.J. Lin, S.Y. Liao, J.S. Gim, H.L. Ma, J. Butler, and H. Anton-Culver. (2000). Breast cancer, heterocyclic aromatic amines from meat and N-acetyltransferase 2 genotype. *Carcinogenesis* 21:607-615.
- Dellinger, R.W., G. Chen, A.S. Blevins-Primeau, J. Krzeminski, S. Amin, and P. Lazarus. (2007) Glucuronidation of PhIP and N-OH-PhIP by UDP-glucuronosyltransferase 1A10. *Carcinogenesis* 28(11):2412-2418.
- Dingley, K.H., E.A. Ubick, M.L. Chiarappa-Zucca, S. Nowell, S. Abel, S.E. Ebeler, A.E. Mitchell, S.A. Burns, F.M. Steinberg, and A.J. Clifford. (2003) Effect of dietary constituents with chemopreventive potential on adduct formation of a low dose of the heterocyclic amines PhIP and IQ and phase II hepatic enzymes. *Nutrition and Cancer* 46(2):212-221.
- Doi, K., H. Wanibuchi, E.I. Salim, K. Morimura, A. Kinoshita, S. Kudoh, K. Hirata, J. Yoshikawa, and S. Fukushima. (2005) Lack of large intestinal carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine at low doses in rats initiated with azoxymethane. *International Journal of Cancer* 115(6): 870-878.
- Dragsted, L.O., H. Frandsen, R. Reistad, J. Alexander, and J.C. Larsen. (1995) DNA-binding and disposition of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine (PhIP) in the rat. *Carcinogenesis* 16:2785-2793.
- Duc, R., and P.-M. Leong-Morgenthaler. (2004) Role of p53 and mismatch repair in PhIP-induced perturbations of the cell cycle. *Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 802(1):183-187
- Durling, L.J.K., and L. Abramsson-Zetterberg. (2005) A comparison of genotoxicity between three common heterocyclic amines and acrylamide. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 580(1-2):103-110
- Felton, J.S., M.G. Knize, R.W. Wu, M.E. Colvin, F.T. Hatch, and M.A. Malfatti. (2007) Mutagenic potency of food-derived heterocyclic amines. *Mutation Research* 616(1-2): 90-94.
- Final Report on Carcinogens (RoC), Background Document for Selected Heterocyclic Amines: PhIP, MeIQ, and MeIQx. National Toxicology Program, 2002
- Foellmann, W., and S. Birkner. (2008) The use of cultured primary bovine colon epithelial cells as a screening model to detect genotoxic effects of heterocyclic aromatic amines in the comet assay. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues* 71(13&14): 947-953
- FSA, Eat well, be well Q&A Is overcooked or burnt meat carcinogenic?
<http://www.eatwell.gov.uk/asksam/healthydiet/meatq/?lang=en#A221179>
- Fukutome, K., M. Ochiai, K. Wakabayashi, S. Watanabe, T. Sugimura, and M. Nagao. (1994) Detection of guanine-C8-2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine adduct as a single spot on thin-layer chromatography by modification of the ³²P-postlabeling method. *Jpn J Cancer Res* 85:113-117.

- Funk, C., P. Weber, J. Thilker, J.H. Grabber, H. Steinhart, and M. Bunzel. (2006) Influence of Lignification and Feruloylation of Maize Cell Walls on the Adsorption of Heterocyclic Aromatic Amines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(5):1860-1867
- Ghoshal, A., C.D. Davis, H.A. Schut, and E.G. Snyderwine. (1995) Possible mechanisms for PhIP-DNA adduct formation in the mammary gland of female Sprague-Dawley rats. *Carcinogenesis* 16:2725-2731.
- Gooderham, N.J., S. Creton, S.N. Lauber, and H. Zhu. (2007) Mechanisms of action of the carcinogenic heterocyclic amine PhIP. *Toxicology Letter*, 168(3):269-277
- Gorlewska-Roberts, K.M., C.H. Teitel, Lay, O., Jr. Jackson, D.W. Roberts, and F.F. Kadlubar. (2004) Lactoperoxidase-Catalyzed Activation of Carcinogenic Aromatic and Heterocyclic Amines. *Chemical Research in Toxicology* 17(12):1659-1666
- Gross, G.A. and A. Grüter. (1992). Quantitation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic aromatic amines in food products. *J Chromatogr* 592:271-278
- Gu, Y.S., I.S. Kim, J.K. Ahn, D.C. Park, D.M. Yeum, Ji, I. Cheong, and S.B. Kim. (2002) Mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines as affected by muscle types/skin and cooking in pan-roasted mackerel. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 515(1-2):189-195.
- Hasegawa, R., T. Shirai, K. Hakoi, K. Takaba, S. Iwasaki, T. Hoshiya, N. Ito, M. Nagao, and T. Sugimura. (1991) Synergistic enhancement of glutathione S-transferase placental form- positive hepatic foci development in diethylnitrosamine treated rats by combined administration of five heterocyclic amines at low doses. *Jpn J Cancer Res* 82:1378-1384
- Hasegawa, R., M. Sano, S. Tamano, K. Imaida, T. Shirai, M. Nagao, T. Sugimura, and N. Ito. (1993) Dose-dependence of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) carcinogenicity in rats. *Carcinogenesis* 14:2553-2557.
- Hasegawa, R., E. Miyata, M. Futakuchi, A. Hagiwara, M. Nagao, T. Sugimura, and N. Ito. (1994) Synergistic enhancement of hepatic foci development by combined treatment of rats with 10 heterocyclic amines at low doses. *Carcinogenesis* 15:1037-1041.
- Hasegawa, R., J. Kimura, M. Yaono, S. Takahashi, T. Kato, M. Futakuchi, M. Fukutake, K. Fukutome, K. Wakabayashi, T. Sugimura, N. Ito, and T. Shirai. (1995) Increased risk of mammary carcinoma development following transplacental and trans-breast milk exposure to a food-derived carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP), in Sprague-Dawley rats. *Cancer Res* 55:4333-4338..
- Hasegawa, R.; Kato, T.; Hirose, M.; Takahashi, S.; Shirai, T.; Ito, N., Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.
- Hirose M; Iwata S; Ito E; Nihro Y; Takahashi S; Mizoguchi Y; Miki T; Satoh T; Ito N; Shirai T, Strong anti-mutagenic activity of the novel lipophilic antioxidant 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone against heterocyclic amine-induced mutagenesis in the Ames assay and its effect on metabolic activation of 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole (Glu-p-1), *Carcinogenesis*, (1995 Sep) 16 (9) 2227-32.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 56 Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins PhIP (2-AMINO-1-METHYL-6-PHENYLMIDAZO[4,5-b]PYRIDINE) (Group 2B) VOL.: 56 (1993) WORLD HEALTH ORGANIZATION INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER
- Im, J., H.S. Choi, S.K. Kim, S.S. Woo, Y.H. Ryu, S.-S. Kang, C.-H. Yun, and S.H. Han. (2009) A food-born heterocyclic amine, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP), suppresses tumor necrosis factor- α expression in lipoteichoic acid-stimulated RAW 264.7 cells. *Cancer Letters* (Shannon, Ireland) 274(1):109-117
- Imaida, K., A. Hagiwara, H. Yada, T. Masui, R. Hasegawa, M. Hirose, T. Sugimura, N. Ito, and T. Shirai. (1996) Dose-dependent induction of mammary carcinomas in female Sprague-Dawley rats with 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Jpn J Cancer Res* 87:1116-1120.
- Ishibe, N., R. Sinha, D.W. Hein, M. Kulldorff, P. Strickland, A.J. Fretland, W.H. Chow, F.F. Kadlubar, N.P. Lang, and N. Rothman. (2002) Genetic polymorphisms in heterocyclic amine metabolism and

- risk of colorectal adenomas. *Pharmacogenetics* 12:145-150.
- Ito, N., R. Hasegawa, M. Sano, S. Tamano, H. Esumi, S. Takayama, and T. Sugimura. (1991) A new colon and mammary carcinogen in cooked food, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Carcinogenesis* 12:1503-1506.
- Ito, N., R. Hasegawa, E. Asakawa, M. Hirose, K. Imaida, and A. Hagiwara. (1995) Enhancement of rat liver cell foci development by combined treatment with heterocyclic amines at low doses. *Princess Takamatsu Symp* 23:251-259.
- Itoh, T., T. Kuwahara, T. Suzuki, M. Hayashi, and Y. Ohnishi. (2003) Regional mutagenicity of heterocyclic amines in the intestine: mutation analysis of the cII gene in lambda/lacZ transgenic mice. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 539(1-2): 99-108.
- Jamin, E.L., D. Arquier, J. Tulliez, and L. Debrauwer, (2008) Mass spectrometric investigation of the sequence selectivity for adduction of heterocyclic aromatic amines on single-strand oligonucleotides. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22(20):3100-3110
- Jones, R. C., and J.H. Weisburger. (1988) Inhibiting development of mutagens and carcinogens. U.S. Patent 5011697:1-13.
- Kaderlik K R, Mulder G J, Turesky R J, Lang N P, Teitel C H, Chiarelli M P, Kadlubar F F (1994), Glucuronidation of N-hydroxy heterocyclic amines by human and rat liver microsomes., *Carcinogenesis*, 15 (8) 1695-701.
- Kakiuchi, H., M. Watanabe, T. Ushijima, M. Toyota, K. Imai, J.H. Weisburger, T. Sugimura, and M. Nagao. (1995) Specific 5'-GGGA-3'-->5'-GGA-3' mutation of the Apc gene in rat colon tumors induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:910-914.
- King, R.S., C.H. Teitel, J.G. Shaddock, D.A. Casciano, and F.F. Kadlubar. (1999) Detoxification of carcinogenic aromatic and heterocyclic amines by enzymatic reduction of the N-hydroxy derivative. *Cancer Lett* 143:167-171.
- Knize, M.G. & Felton, J. S. (1986) The synthesis of the cooked-beef mutagen 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine and its 3-methyl isomer. *Heterocycles*, 24, 1815-1819
- Knize, M.G., F.A. Dolbeare, K.L. Carroll, D.H. Moore, 2nd, and J.S. Felton. (1994) Effect of cooking time and temperature on the heterocyclic amine content of fried beef patties. *Food Chem Toxicol* 32:595-603.
- Knize, M.G., R. Sinha, N. Rothman, E.D. Brown, C.P. Salmon, O.A. Levander, P.L. Cunningham, and J.S. Felton. (1995) Heterocyclic amine content in fast-food meat products. *Food Chem Toxicol* 33:545-551. Skog, K., G. Steineck, K. Augustsson, and M. Jagerstad. (1995). Effect of cooking temperature on the formation of heterocyclic amines in fried meat products and pan residues. *Carcinogenesis* 16:861-867.
- Kristiansen, E., A. Mortensen, and I.K. Sørensen. (1998) Effects of long-term feeding with 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in C57BL/ByA and E mu-pim-1 mice. *Cancer Lett* 122:215-220.
- Kulp, K.S., M.G. Knize, M.A. Malfatti, C.P. Salmon, and J.S. Felton. (2000) Identification of urine metabolites of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine following consumption of a single cooked chicken meal in humans. *Carcinogenesis* 21:2065-2072.
- Kurian, J.R., N.A. Chin, B.J. Longlais, K.L. Hayes, and L.A. Trepanier (2006) Reductive Detoxification of Arylhydroxylamine Carcinogens by Human NADH Cytochrome b5 Reductase and Cytochrome b5. *Chemical Research in Toxicology* 19(10):1366-1373.
- Lawson, T. and C. Kolar (2002) Human prostate epithelial cells metabolize chemicals of dietary origin to mutagens. *Cancer Letters* (Shannon, Ireland) 175(2):141-146.
- Layton, D. W., K. T. Bogen, M. G. Knize, F. T. Hatch, V. M. Johnson and J. S. Felton. (1995) Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: an analysis and implications for research. *Carcinogenesis* 16(1): 39-52.
- Lin, D.X., K.R. Kaderlik, R.J. Turesky, D.W. Miller, J.O. Lay, and F.F. Kadlubar. (1992) Identification of N-(Deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine as the major adduct formed by the food-borne carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, with DNA. *Chem Res Toxicol* 5:691-697.

- Magagnotti, C., F. Orsi, R. Bagnati, N. Celli, D. Rotilio, R. Fanelli, and L. Airoidi. (2000) Effect of diet on serum albumin and hemoglobin adducts of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in humans. *Int J Cancer* 88:1-6.
- Malfatti, M.A., K.S. Kulp, M.G. Knize, C. Davis, J.P. Massengill, S. Williams, S. Nowell, S. MacLeod, K.H. Dingley, K.W. Turteltaub, N.P. Lang, and J.S. Felton. (1999) The identification of [2-¹⁴C]2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine metabolites in humans. *Carcinogenesis* 20:705-713.
- Manabe, S., H. Suzuki, O. Wada, and A. Ueki. (1993) Detection of the carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in beer and wine. *Carcinogenesis* 14:899-901.
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, *Journal of Neural Transmission, Supplement*, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- Hirata, A., T. Tsukamoto, H. Sakai, S. Takasu, H. Ban, T. Imai, Y. Totsuka, R. Nishigaki, and K. Wakabayashi. (2008) Carcinogenic risk of heterocyclic amines in combination - Assessment with a liver initiation model. *Food and Chemical Toxicology* 46(6):2003-2009.
- Masumura, K., K. Matsui, M. Yamada, M. Horiguchi, K. Ishida, M. Watanabe, K. Wakabayashi, and T. Nohmi. (2000) Characterization of mutations induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in the colon of gpt delta transgenic mouse: novel G:C deletions beside runs of identical bases. *Carcinogenesis* 21:2049-2056.
- Metry, K.J., S. Zhao, J.R. Neale, M.A. Doll, J.C. States, W.G. McGregor, W.M., Jr. Pierce, and D.W. Hein. (2007) 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine-induced DNA adducts and genotoxicity in Chinese hamster ovary (CHO) cells expressing human CYP1A2 and rapid or slow acetylator N-acetyltransferase 2. *Molecular Carcinogenesis* 46(7):553-563.
- Mollersen, L., R. Vikse, A. Andreassen, I.-L. Steffensen, A. Mikalsen, P. J. E. aulsen, and J. Alexander. (2004) Adenomatous polyposis coli truncation mutations in 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-induced intestinal tumours of multiple intestinal neoplasia mice. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 557(1):29-40.
- Nakai, Y., N.W. G. elson, A.M. De Marzo. (2007) The Dietary Charred Meat Carcinogen 2-Amino-1-Methyl-6-Phenylimidazo[4,5-b]Pyridine Acts as Both a Tumor Initiator and Promoter in the Rat Ventral Prostate. *Cancer Research* 67(3):1378-1384
- National Toxicology Program Report on Carcinogens : Background Document for Selected Heterocyclic Amines: PhIP, MeIQ, and MeIQx September 19, 2002
- National Toxicology Program Summary of RG11, RG22 and NTP Board Subcommittee3 Recommendations for Nominations Reviewed for Listing in the Report on Carcinogens, 11th Edition (2004)
- NCI, Heterocyclic Amines in Cooked Meats (2004)
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/heterocyclic-amines>
- Nerurkar, P.V., L. Le Marchand, and R.V. Cooney. (1999) Effects of marinating with Asian marinades or western barbecue sauce on PhIP and MeIQx formation in barbecued beef. *Nutr Cancer* 34:147-152.
- Ni, W., L. McNaughton, D.M. LeMaster, R. Sinha, and R.J. Turesky. (2008) Quantitation of 13 Heterocyclic Aromatic Amines in Cooked Beef, Pork, and Chicken by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(1): 68-78.
- Nishikawa, A., T. Imazawa, Y. Kuroiwa, Y. Kitamura, K. Kanki, Y. Ishii, T. Umemura, and M. Hirose. (2005) Induction of Colon Tumors in C57BL/6J Mice Fed MeIQx, IQ, or PhIP Followed by Dextran Sulfate Sodium Treatment. *Toxicological Sciences*. 84(2):243-248
- Norrish, A.E., L.R. Ferguson, M.G. Knize, J.S. Felton, S.J. Sharpe, and R.T. Jackson. (1999) Heterocyclic amine content of cooked meat and risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 91:2038-2044
- Nozawa, H., K. Tazumi, K. Sato, A. Yoshida, J. Takata, S. Arimoto-Kobayashi, and K. Kondo. (2004) Inhibitory effects of beer on heterocyclic amine-induced mutagenesis and PhIP-induced aberrant crypt foci in rat colon. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*

559(1-2):177-187.

- Nowell, S.A., J.S. Massengill, S. Williams, A. Radominska-Pandya, T.R. Tephly, Z. Cheng, C.P. Strassburg, R.H. Tukey, S.L. MacLeod, N.P. Lang, and F.F. Kadlubar. (1999) Glucuronidation of 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine by human microsomal UDP-glucuronosyltransferases: identification of specific UGT1A family isoforms involved. *Carcinogenesis* 20:1107-1114.
- Ochiai, M., K. Ogawa, K. Wakabayashi, T. Sugimura, S. Nagase, H. Esumi, and M Nagao. (1991) Induction of intestinal adenocarcinomas by 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine in Nagase Albuminemic rats. *Jpn J Cancer Res* 82:363-366.
- Ochiai, M., M. Watanabe, H. Kushida, K. Wakabayashi, T. Sugimura, and M. Nagao. (1996) DNA adduct formation, cell proliferation and aberrant crypt focus formation induced by PhIP in male and female rat colon with relevance to carcinogenesis. *Carcinogenesis* 17:95-98.
- Oda Yoshimitsu; Pramod, Aryal; Takao, Terashita; Elizabeth, M.J., Gillam; F., Peter, Guengerich; Tsutomu, Shimada, Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in Salmonella typhimurium umu tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, 2E1, and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase, Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2001) Vol. 492, No. 1-2, pp. 81-90.
- Ohe, T. (1997) Quantification of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines, MeIQx, Trp-P-1, Trp-P-2 and PhIP, contributing highly to genotoxicity of river water. *Mutat Res* 393:73-79.
- Oguri, A. M. Suda, Y. Totsuka, T. Sugimura, and K. Wakabayashi, (1998) Inhibitory effects of antioxidants on formation of heterocyclic amines. *Mutat. Res.* 35:237-245
- Pais, P., E. Moyano, L. Puignou, and M.T. Galceran. (1997) Liquid chromatography- electrospray mass spectrometry with in-source fragmentation for the identification and quantification of fourteen mutagenic amines in beef extracts. *J Chromatogr A* 775:125-136.
- Paulsen, J.E., R.C. Fulland, and J. Alexander. (2000) Age-dependent induction of aberrant crypt foci in rat colon by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine and azoxymethane. *Pharmacol Toxicol* 87:69-73.
- Purewal, M., M. Velasco, A.J. Fretland, D.W. Hein, and M.J. Wargovich. (2000a) 2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine induces a higher number of aberrant crypt foci in Fischer 344 (rapid) than in Wistar Kyoto (slow) acetylator inbred rats. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:529-532.
- Richling, E., C. Decker, D. Haring, M. Herderich, and P. Schreier. (1997) Analysis of heterocyclic aromatic amines in wine by high-performance liquid chromatography- electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 791:71- 77.
- Rohrmann, S., S. Hermann, and J. Linseisen, (2009) Heterocyclic aromatic amine intake increases colorectal adenoma risk: findings from a prospective European cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition* 89(5):1418-1424.
- Rovito, P.M., P.D. Morse, K. Spinek, N. Newman, R.F. Jones, C.Y. Wang, and G.P. Haas. (2005) Heterocyclic amines and genotype of N-acetyltransferases as risk factors for prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* 8(1):69-74.
- Salmon, C.P., M.G. Knize, and J.S. Felton. (1997) Effects of marinating on heterocyclic amine carcinogen formation in grilled chicken. *Food Chem Toxicol* 35:433-441.
- Salomon, C.P., M.G. Knize, J.S. Frlton, B. Zhao, and A. Seow, (2006) Heterocyclic aromatic amines in domestically prepared chicken and fish from Singapore Chinese Household. *Food Chem. Toxicol.* 44:484-489
- Sasaki, Y.F., A. Saga, M. Akasaka, E. Nishidate, M. Watanabe-Akanuma, T. Ohta, N. Matsusaka, and S. Tsuda. (1997). In vivo genotoxicity of heterocyclic amines detected by a modified alkaline single cell gel electrophoresis assay in a multiple organ study in the mouse. *Mutat Res* 395:57-73.
- Skog, K. and A. Solyakov. (2002) Heterocyclic amines in poultry products: a literature review. *Food Chem. Toxicol.* 40:1213-1221
- Schut, H.A. and E.G. Snyderwine. (1999) DNA adducts of heterocyclic amine food mutagens: implications for mutagenesis and carcinogenesis. *Carcinogenesis* 20:353-368.
- Shan, L., M. Yu, H.A. J. Schut, and E.G. (2004) Snyderwine, Susceptibility of rats to mammary gland carcinogenesis by the food-derived carcinogen 2-amino-1-methyl- 6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine

- (PhIP) varies with age and is associated with the induction of differential gene expression. *American Journal of Pathology* 165(1):191-202.
- Shirai, T., M. Sano, S. Tamano, S. Takahashi, M. Hirose, M. Futakuchi, R. Hasegawa, K. Imaida, K. Matsumoto, K. Wakabayashi, T. Sugimura, and N. Ito. (1997) The prostate: a target for carcinogenicity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) derived from cooked foods. *Cancer Res* 57:195-198.
- Sinha, R. and J.D. Potter. (1997) Diet, nutrition, and genetic susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6:647-649.
- Sinha, R., D.R. Gustafson, M. Kulldorff, W.Q. Wen, J.R. Cerhan, and W. Zheng. (2000a) 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, a carcinogen in hightemperature-cooked meat, and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 92:1352-1354.
- Sinha, R., M. Kulldorff, C.A. Swanson, J. Curtin, R.C. Brownson, and M.C. Alavanja. (2000b) Dietary heterocyclic amines and the risk of lung cancer among Missouri women. *Cancer Res* 60:3753-3756.
- Sinha, R., M. Kulldorff, W.H. Chow, J. Denobile, and N. Rothman. (2001) Dietary intake of heterocyclic amines, meat-derived mutagenic activity, and risk of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10:559-562.
- Sinha, R., U. Peters, A.J. Cross, M. Kulldorff, J.L. Weissfeld, P.F. Pinsky, N. Rothman, and R.B. Hayes. (2005) Meat, meat cooking methods and preservation, and risk for colorectal adenoma. *Cancer Research* 65(17):8034-8041.
- Skog, K., G. Steineck, K. Augustsson, and M. Jagerstad. (1995) Effect of cooking temperature on the formation of heterocyclic amines in fried meat products and pan residues. *Carcinogenesis* 16:861-867.
- Skog, K., K. Augustsson, G. Steineck, M. Stenberg, and M. Jagerstad. (1997) Polar and non-polar heterocyclic amines in cooked fish and meat products and their corresponding pan residues. *Food Chem Toxicol* 35:555-565.
- Skog, K.I., M.A. Johannsson, and M.I. Jagerstad. (1998) Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. *Food Chem Toxicol* 36:879-896.
- Snyderwine, E.G., M.H. Buonarati, J.S. Felton, and K.W. Turteltaub. (1993) Metabolism of the food-derived mutagen/carcinogen 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in nonhuman primates. *Carcinogenesis* 14:2517-2522.
- Snyderwine, E.G., H.A. Schut, T. Sugimura, M. Nagao, and R.H. Adamson. (1994) DNA adduct levels of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-[4,5-b]pyridine (PhIP) in tissues of cynomolgus monkeys after single or multiple dosing. *Carcinogenesis* 15:2757-2761.
- Snyderwine, E.G., R.J. Turesky, M.H. Buonarati, K.W. Turteltaub, and R.H. Adamson. (1995) Metabolic processing and disposition of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ), 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in nonhuman primates. *Princess Takamatsu Symp* 23:69-77.
- Snyderwine, E.G. (1999) Mammary gland carcinogenesis by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in rats: possible mechanisms. *Cancer Lett* 143:211-215.
- Stidl, R., G. Sontag, V. Koller, and S. Knasmueller. (2008) Binding of heterocyclic aromatic amines by lactic acid bacteria: Results of A- α -Comprehensive screening trial. *Molecular Nutrition & Food Research* 52:322 - 329
- Stuart, G.R., J. Holcroft, J.G. de Boer, and B.W. Glickman. (2000a) Prostate mutations in rats induced by the suspected human carcinogen 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Cancer Res* 60:266-268
- Stuart, G.R., E. Thorleifson, E. Okochi, J.G. de Boer, T. Ushijima, M. Nagao, and B.W. Glickman. (2000b) Interpretation of mutational spectra from different genes: analyses of PhIP-induced mutational specificity in the lacI and cII transgenes from colon of Big Blue rats. *Mutat Res* 452:101-121.
- Sugamori, K. S., D. Brenneman, and D.M. Grant. (2006) In vivo and in vitro metabolism of arylamine procarcinogens in acetyltransferase-deficient mice. *Drug Metabolism and Disposition*, Vol. 34, No. 10, pp. 1697-1702

- Sugimura, T., Sako, S. and Takayama, S. (1983) New mutagenic heterocyclic amines found in amino acid and protein pyrolysates in cooked food. In Wynder, E.L., Leveille, G.A., Weisburger, J.H., and Livingstone, G.E., eds, *Environmental Aspects of Cancer: The Role of Macro and Micro Components of Foods*, Westport, CT, Food and Nutrition Press, pp.167-186
- Takahashi, S., K. Ogawa, H. Ohshima, H. Esumi, N. Ito, and T. Sugimura. (1991) Induction of aberrant crypt foci in the large intestine of F344 rats by oral administration of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine. *Jpn J Cancer Res* 82:135-137.
- Terry, P.D., J. Lagergren, A. Wolk, G. Steineck, and O. Nyren. (2003) Dietary Intake of Heterocyclic Amines and Cancers of the Esophagus and Gastric Cardia. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 12(9):940-944.
- Thiebaut, Herve P.; Knize, Mark G.; Kuzmicky, Paul A.; Felton, James S.; Hsieh, Dennis P, Mutagenicity and Chemical Analysis of Fumes from Cooking Meat, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (1994) Vol. 42, No. 7, pp. 1502-10.
- Turteltaub, K.W., Knize, M.G., Healy, S.K., Tucker, J.D. and Felton, J.S. (1989) The metabolic disposition of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in the induced mouse. *Food chem. Toxicol.* 27: 667-673
- Turteltaub, K.W., J.S. Vogel, C.E. Frantz, and N. Shen. (1992) Fate and distribution of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in mice at a human dietary equivalent dose. *Cancer Res* 52:4682-4687.
- Turteltaub, K.W., J.S. Vogel, C. Frantz, M.H. Buonarati, and J.S. Felton. (1993) Low-level biological dosimetry of heterocyclic amine carcinogens isolated from cooked food. *Environ Health Perspect* 99:183-186.
- USDA, How you cook your meet May Affect Your Health (2006)
<http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10878>
- Wang, R., W.M. Dashwood, C.V. Lohr, K.A. Fischer, H. Nakagama, D.E. Williams, and R. H. Dashwood. (2008) β -catenin is strongly elevated in rat colonic epithelium following short-term intermittent treatment with 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) and a high-fat diet. *Cancer Science* 99(9):1754-1759
- Weisburger, J.H., M. Nagao, K. Wakabayashi, A. and Oguri, (1994) Prevention of heterocyclic amine formation by tea and tea polyphenols. *Cancer Lett.* 83:43-147
- Yun, C.-H., C.G. Son, U. Jung, and S.H. Han. (2006) Immunosuppressive effect of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- b]pyridine (PhIP) through the inhibition of T-lymphocyte proliferation and IL-2 production. *Toxicology* 217(1):31-38.
- Zhang, L., R. Shapiro, and S. Broyde. (2005) Molecular Dynamics of a Food Carcinogen-DNA Adduct in a Replicative DNA Polymerase Suggest Hindered Nucleotide Incorporation and Extension. *Chemical Research in Toxicology* 18(9):1347-1363.
- Zhang, X.-M., Wakabayashi, K., Liu, Z.-C., Sugimura, T., and Nagao, M. (1988) Mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines in Chinese cooked foods. *Mutat. Res.* 201:181-188
- Zhu, J., A. Rashid, K. Cleary, J.L. Abbruzzese, H. Friess, S. Takahashi, T. Shirai, and D. Li. (2006) Detection of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-DNA adducts in human pancreatic tissues. *Biomarkers* 11(4):319-328.
- Zöchling, S., M. Murkovic, and W. Pfannhauser (2002) Effects of industrially produced flavours with pro-and antioxidative properties on the formation of the heterocyclic amine PhIP in a model system. *J.Biochem. Biophys. Methods* 53:37-44
- Zsivkovits, M., K. Fekadu, G. Sontag, U. Nabinger, W.W. Huber, M. Kundi, A. Chakraborty, H. Foissy, S. Knasmueller. (2003) Prevention of heterocyclic amine-induced DNA damage in colon and liver of rats by different lactobacillus strains. *Carcinogenesis* 24(12):1913-1918.

4. 2 MeIQ

I. 当該化学物質の一般情報

1. 物質特定情報

(1) 名称：

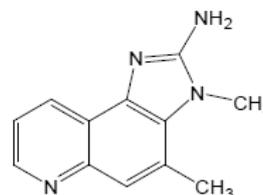
Chem. Abstr. Name: 3,4-Dimethyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinolin-2-amine

IUPAC Systematic Name: 2-Amino-3,4-dimethyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*] quinoline

(2) CAS No. : 77094-11-2

(3) 分子式 : C₁₂H₁₂N₄、構造式 : 右図のとおり

(4) 分子量 : 212.25



2. 物理化学的性状

(1) 物理的性状 : 褪せたオレンジ～褐色、結晶 (Lee *et al.* 1982)

(2) 沸点 : 該当データなし

(3) 融点 : 296-298 °C (Adolfsson and Olsson 1983)

(4) 比重 : 該当データなし

(5) 溶解性 : DMSO、メタノール、エタノールには可溶性

(Lee *et al.* 1982, Adolfsson and Olsson 1983, Schunk *et al.* 1984)

3. 存在形態

(1) 存在形態

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露

4. 生成機構

肉魚中のアミノ酸、クレアチン/クレアチニン、ヘキソースから形成される (Felton *et al.* 2000, Robbana-Barnat *et al.* 1996)。

5. 食品中の検出状況

食品中では、MeIQx や PhIP よりはるかに低量レベルで検出される。料理された魚中で最も高濃度で検出され、その濃度範囲は、0.03~72 ng/g、天日干しのサーデインのオーブン焼きから最高濃度で検出された。また牛ひき肉のフライ (250°C) では 0.1 ng/g 以下、豚肉では 0.02 ng/g、ベーコンで 1.7 ng/g、魚で(0.03~20 ng/g)検出された (Johansson and Jagerstad 1994, Lynch *et al.* 1995)。コーヒーやタバコの煙中にも検出されている(NTP 2002)。

また、窒素リン検出器付きガスクロマトグラフィーにより加熱調理した 8 種の魚類、

3種の肉類に含まれるHCAの検出では、魚の皮部分にMeIQが検出された。加熱した肉類よりも魚類にMeIQが多く検出されたため、肉類よりも魚類の摂取が多い日本人のMeIQ摂取量に魚料理が関与していると考えられる。MeIQxの検出量を下表に示した(Kataoka H *et al* 2002)。

加熱食品サンプル	含有量 pg/g	
	皮	身
サンマ	424±87	ND
イワシ	317±14	ND
アジ	ND	ND
サバ	375±52	67
サケ	593±59	180
ホッケ	435±57	98
ウナギの蒲焼	ND	ND
アジの開き	262±41	70
鶏肉	-	142±22
豚肉	-	86±12
牛肉 ウェルダン	-	94±12
メディアム	-	125±31

6. 測定方法と検出限界値

固相抽出法(SPE)と高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で検出される(Gross and Grüter 1992)。MeIQは、シリカゲルコラムクロマトグラフィーとそれに続く逆相高速液体クロマトグラフィー 精製により食品から検出される(IARC 1993)。また、液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-質量分光分析(LC/ES/MS)での検出限界は、PhIPが0.3 ng/g、MeIQが0.3 ng/g、MeIQxが1.1 ng/g(Pais *et al.* 1997)。

最近の報告では、肉類(牛肉、鶏肉、馬肉、羊肉、兔肉)をベースとした乳児食を凍結乾燥後、HCA類をアセトン抽出し、イオン対液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-タンデム質量分析法(LC-ESI-MS/MS)を使い、陽イオンモードで定量した結果、検出限界、定量限界は次表のとおりである。最適条件下において、検出限界値は5 ng/g以下、定量限界は8 ng/g以下(PhIP除く)である(Calbiani *et al.* 2007)。

凍結乾燥肉試料における HCA の検出および定量限界値

HCA	検出限界値 (ng/g)	定量限界値 (ng/g)
IQ	5.4	7.8
MeIQ	1.8	3.8
MeIQx	4.1	8.1
PhIP	12	26
A- α -C	3.7	7.4

(出典 ; Calibani *et al.* 2007 *Food Additives & Contaminants* 24(8):833-841)

さらに、食物中の HCA を短時間かつ低 ppb レベルで、正確に再現性良く解析する新しい方法が開発され、Barcelo-Barrachina らが、高性能液体クロマトグラフィーであるエレクトロスプレータンデム質量分析 (UPLC-ESI-MS/MS) 法により肉サンプル中の 16 種類の HCA を 2 分以内で解析した。Acquity BEH C18 カラム (50 mmx2.1 mm i.d., 1.7 μ m particle size) を使用し、UPLC システムにはトリプル四重極 Waters Micromass Quattro PremierTM を連結した。このシステムにより、ピーク強度低下を招くことなく高速データを取得できた。測定には SRM (selected reaction monitoring) を使用した。0.06-0.23 pg 下の機器検出限界 (LOD) で、9.1% CV(n=6)以下の低濃度レベルで再現性も得られ、性能的には、三重四重極型装置を使った従来の HPLC システムの 10 分の 1 の低量検出が可能となった (Barcelo-Barrachina *et al.* 2006、下表参照)。

HCA の検出限界と再現性

HCA	検出限界			相対標準偏差 (RSD%) (n=6)	
	標準 HCA (pg)	肉抽出物		中間濃度 0.3 μ g/g	低濃度 0.02 μ g/g
		(pg 注入)	(pg/g 肉)		
DMIP	0.07	1.4	42	4.2	4.4
Glu-P-2	0.09	0.3	9	4.1	4.9
IQ	0.06	0.8	25	1.5	3.9
MeIQx	0.10	0.3	9	5.4	7.9
MeIQ	0.08	0.6	17	5.5	7.2
Glu-P-1	0.08	0.6	17	4.2	6.8
PhIP	0.08	0.5	15	5.7	6.5
7,8-DiMeIQx	0.06	1.1	34	6.0	6.5
4,8-DiMeIQx	0.09	0.8	24	5.7	7.6
Trp-P-2	0.23	0.9	28	6.1	9.1
Norharman	0.19	1.7	51	3.7	7.5
Harman	0.18	1.5	45	4.7	8.1
A- α -C	0.11	0.8	23	4.1	5.6
MeA- α -C	0.17	0.5	14	2.5	3.8

(出典 : Barcelo-Barrachina *et al.* 2006 *Journal of Chromatography, A.* 1125(2):195-203)

7. 現行規制等

該当データなし

II. 食品中での生成要因

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

調理時間、酸度などが影響し、高温で長時間の調理であるほど多く形成される(Knize *et al.* 1994, Skog *et al.* 1995)。直接に高効率で熱伝達する調理法（フライ、グリル）が、間接的熱伝達調理法（煮る、蒸す）より多く形成する (Layton *et al.* 1995)。

牛肉における HCA 生成を時間と温度の関数としてカイネティックモデルを利用し、時間、温度、ブドウ糖およびクレアチン含量の影響を評価する実験において、Ahn らは、牛挽肉 5g を試験管に入れ、異なる温度（160 °C、180 °C、200 °C、220 °C）、異なる時間（5 分、10 分、15 分、20 分）で加熱し、SPE により HCA を抽出、HPLC により同定・定量、HCA の前駆体といわれるグルコース、クレアチンの含量を、それぞれソモギ法、 α -ナフトールジアセチル法で測定した。160°C、15 分以下の加熱では HCA は検出されず、時間と温度の増加に伴い HCA 生成は増加、グルコース、クレアチン含量は減少し、クレアチン損失との相関係数は、IQ ; 0.81、MeIQ ; 0.74、MeIQx ; 0.93、PhIP ; 0.87 であった(Ahn *et al.* 2005a)。さらに、天然抽出物（ブドウ種子抽出物、マツ樹皮抽出物、ローズマリー精油）の、牛肉加熱調理時の HCA 生成に対する抑制効果を調査する目的で、天然抽出物（ブドウ種子抽出物、マツ樹皮抽出物、ローズマリー精油）を牛挽肉に対し 0.5%あるいは 1%添加し、牛挽肉を 200 °C で 20 分間過熱、牛挽肉パテを 210 °C で両面を 10 分ずつ加熱した結果、HCA の生成量は天然抽出物添加により抑制された (Ahn *et al.* 2005b、次表参照)。

天然抽出物添加による、牛挽肉・牛挽肉パテ加熱時の HCA 生成の抑制効果

HCA	天然抽出物添加無しでの生成量 (ng/g)	天然抽出物添加による抑制効果
牛挽肉		
MeIQx	22.7	MeIQx 生成量は 60%以上減少
PhIP	12.1	PhIP 生成量は 53~63%減少)
IQ	3.2	データなし
MeIQ	2.0	データなし
牛挽肉パテ		
MeIQx	6.4	23~64%減少
PhIP	9.1	データなし
IQ	0.6	データなし
MeIQ	1.2	データなし

(出典 : Ahn *et al.* 2005b *Journal of Food Science* 70(4): C263-C268)

Ⅲ. 代謝 (体内運命)

1. 吸収

実験動物において、急速に胃腸管から吸収される ((Lynch *et al.* 1992, Sjödin & Jägerstad, 1984, Størmer *et al.* 1987, Krul *et al.* 2000)。

2. 分布・蓄積

急速に多数の組織中に分布し、さらに胎盤を通過する (Bergman 1985)。

3. 代謝

代謝経路には、Phase I (活性化) と Phase II (抱合) 段階がある。Phase I 活性化経路は肝臓におけるチトクローム P-450 酵素 CYP1A2 による N-ヒドロキシル化である。続いて、肝臓や他の組織で Phase II 酵素による反応 (N-アセチル基転移酵素、NAT2 により O-アセチル化など) が起こり、DNA 結合能を有するアリルニトロニウム (arylnitrenium) イオン形成に至る。結果としてアリアルアミン-DNA 付加体が形成され、これが突然変異性や発がん性に寄与する可能性がある。これらの代謝酵素の活性は、一般集団においては多様で、遺伝子多型により決定されると考えられ (Sinha and Potter, 1997)、迅速型アセチレーター (高効率の N-アセチル基転移酵素を産生する) の方が、低速型アセチレーターより、発がんリスクが高い可能性がある (Ishibe *et al.* 2002)。グアニン (G:C→T:A 転換) を含む突然変異ががん原遺伝子で検出されている。PhIP、MeIQ、

MeIQx のグアニン塩基への付加体の優性型は、C8 位置への付加体である (Lin *et al.* 1992, Tada *et al.* 1994, Fukutome *et al.* 1994, Ghoshal *et al.* 1995)。

4. 排泄

MeIQ は、急速に吸収され、代謝後、最初の 24 時間以内で、尿、糞を通してほとんど排泄される (Sjödín & Jägerstad, 1984, Størmer *et al.*, 1987)。胆汁、母乳中にも排出される (Snyderwine *et al.* 1993, 1994, 1995)。

5. 毒性発現メカニズム

CYP1A2 酵素により N-ヒドロキシル化により活性化され、N-アセチル基転移酵素、NAT2 により O-アセチル化が起こり、結果として arylamine-DNA 付加体が形成され、これが突然変異性や発がん性に寄与する可能性がある。これらの代謝酵素の活性は、一般集団においては多様で、遺伝子多型により決定されると考えられ (Sinha and Potter, 1997)、迅速型アセチレーター (高効率の N-アセチル基転移酵素を産生する) 型の方が、低速型アセチレーターより、発がんリスクが高い可能性がある (Ishibe *et al.* 2002)。グアニン (G:C→T:A 転換) を含む突然変異ががん原遺伝子で検出されている。

哺乳類細胞質酵素、N-アセチル基転移酵素、硫酸基転移酵素、プロリル tRNA あるいは加リン酸分解酵素が HCA の Phase II 活性化に関与する。N-ヒドロキシ代謝物は、それ自体生体内では DNA との反応性は高くないが、Phase II 反応系でエステル化されると反応性は高くなる (NTP 2002, Boobis *et al.* 1996, Dubuisson *et al.* 1998, Schut *et al.* 1999)。

CYP1A2 と O-アセチル基転移酵素の活性と毒性発現の相関性についての報告には次のものがある。O-アセチル基転移酵素欠損株サルモネラ菌、*S. typhimurium* では MeIQ の遺伝毒性は検出不能であったが、ヒト NAT 酵素を発現させた *S. typhimurium* では、MeIQ の遺伝毒性は、濃度依存性の増加を示した (Oda *et al.* 1999)。また、ヒト CYP1A2 と O-アセチル基転移酵素を発現させた *S. typhimurium* では、MeIQ 誘導性の復帰突然変異が、親株にくらべて 79 倍高かった (Aryal *et al.* 2000)。

Trp-P-1 および Trp-P-2 による、モノアミンオキシダーゼ (MAO)、チロシンヒドロキシダーゼ (TH)、トリプトファンヒドロキシラーゼ (TRH) 活性の阻害が確認された。Trp-P-2 は、タイプ A およびタイプ B の MAO を基質に対して阻害し、タイプ A に対する最も強い阻害剤であった。HCA はタイプ B MAO よりもタイプ A MAO をより強く阻害した (次表参照)。TH 活性は、10 μ M の Trp-P-1 を培地に添加することにより著しく減少した。L-チロシンに関する Km 値は変化がなかったが、Vmax は有意に減少し、阻害が基質に対して非拮抗的であることを示した。また、Trp-P-1 と Trp-P-2 は、TRH 活性を L-トリプトファンに対して拮抗的に阻害し、それぞれの Ki はそれぞれ 99.6, 41.7 μ M であった。これらの結果から、食物由来 HCA は、生体アミンの生合成と代謝を阻害することにより、脳内モノアミン量を乱すことが示唆された。(Maruyama, W *et al.* 1994)

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 K_i

化合物	MAO-A	MAO-B
	$K_i(\mu\text{M})$	$K_i(\mu\text{M})$
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K_m for kynuramine (μM)	46.4	80.4
V_{\max} for kinuramine	0.81	3.52

*: キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

ヒトチトクローム P4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 とヒト NADPH-P450 還元酵素と細菌 O-アセチルトランスフェラーゼを発現している umu 試験のサルモネラ菌株を作製し、HCA の代謝活性化を測定した。ヒトチトクローム P4501A2 を発現させた菌株で Trp-P-1、Trp-P-2、PhIP、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2 が高い代謝活性を示した。Trp-P-1、Trp-P-2 はヒトチトクローム P-4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 のすべてのタイプで活性化された。(Yoshimitsu, Oda *et al*, 2001)

IV. 疫学調査（ヒトへの影響）

1. 急性毒性

該当データなし

2. 慢性毒性

該当データなし

3. 発がん性

ヒトにおける発がん性を示す根拠は乏しい。1 件の試験では、直腸、結腸がんととの相関性はあるようだが、膀胱、腎臓がんととの相関はほとんど無い (Augustsson *et al*. 1999、次表参照)。

参照)。結論として、現在得られているデータは、発がんリスクが食品中の PhIP、MeIQx、MeIQ によるという証拠としては不十分である (NTP 2002)。

各種がんを対象とした疫学調査の報告

がん	対象	結果	出典
大腸がん 直腸がん 膀胱がん 腎臓がん	大腸がん患者 352 人、直腸がん 249 人、膀胱がん 273 人、腎臓がん 138 人	スウェーデン人集団における症例対照試験*。MeIQ は存在量が低い。MeIQ 摂取量の OR は、大腸、直腸がんのリスクを少し上げたが、膀胱がん、腎臓がんに対しては影響がなかった。他の HCA 摂取量は大腸、直腸、膀胱、腎臓がんとの関係は示さなかった。	Augustsson <i>et al.</i> 1999

*スウェーデンにおけるトップ 7 の料理は、ソーセージ、ステーキ、キャセロール、ミートボール、ポークチョップ、ポークベリー、ビーフひき肉パテで、肉汁も料理と一緒に摂取する (Skog *et al.* 1995)。

4. 次世代影響

該当データなし

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

該当データなし

2. 反復投与毒性試験

該当データなし

3. 生殖・発生毒性試験

該当データなし

4. 遺伝毒性試験

MeIQ は、原核生物 (*S. typhimurium*、*E. coli*)、げっ歯類 (*in vitro*、*in vivo* 試験)、ヒト (*in vitro*) において突然変異性を示したが、酵母では示さなかった。ヒトとげっ歯類の *in vitro*、げっ歯類の *in vivo* 試験において、遺伝毒性を示し、DNA 損傷 (*in vitro*、*in vivo*)、微小核形成 (*in vitro*)、姉妹染色分体交換 (*in vitro*、*in vivo*)、不定期 DNA 合成 (*in vitro*)、染色体異常 (*in vivo*) を示した。ヒト細胞においては、微小核形成、不定期 DNA 合成

を示した (NTP 2002、下表参照)。

MeIQ の遺伝毒性 (NTP 2002)

試験	遺伝毒性
In vitro 試験	
<i>S. typhimurium</i>	復帰突然変異
<i>D.melanogaster</i>	体細胞突然変異と組換え
ラット肝細胞、	不定期 DNA 合成、DNA 鎖切断
マウス肝細胞	不定期 DNA 合成
Chinese hamster V79 細胞	姉妹染色分体交換、DNA 鎖切断、遺伝子突然変異
CHO 細胞	遺伝子突然変異、姉妹染色分体交換、染色体異常
in vivo 試験 (腹腔注射あるいは経口投与)	
ラット肝臓、腎臓、大腸	DNA 鎖切断
<i>E.coli</i> (Swiss albino マウス中に発現)	DNA 損傷
マウス上皮細胞	姉妹染色分体交換
Chinese hamster の肺や卵巣	姉妹染色分体交換、と染色体異常

MeIQ の in vivo 遺伝毒性試験例 (NTP 2002)

マウス in vivo 試験			
Big Blue®	経口、300 ppm	遺伝子突然変異	Okonogi <i>et al.</i> 1997
Swiss albino	2.5mg/kg 腹腔、あるいは 40mg/kg 経口	DNA 損傷と染色体異常	Knasmüller <i>et al.</i> 1992
CDF ₁	経口、400 ppm	DNA 損傷と染色体異常	Ramsey <i>et al.</i> 1998

付加体はグアニンベースで、優性な付加体は C8 位置に形成される。DNA 付加体は、摂食量に相当する濃度の暴露後、ヒト大腸と乳腺組織において検出される。動物では、付加体は投与量に比例して形成され、発がん性と関連している。HCA 誘導された腫瘍由来組織中においては、Ki-ras, Ha-ras, Apc, p53, β -catenin などの原がん遺伝子や腫瘍植生遺伝子においてグアニンベースの突然変異の頻度が最も高く、特に G:C→T:A の塩基転換が特にみられた (NTP 2002)。

また、PhIP、IQ、MeIQ、Trp-P-2 の腸における変異誘発部位とその機構をトランスジェニックマウスアッセイに解析した実験では、LacZ トランスジェニックマウス CDF1(BALB/cxDBA/2F1) 雄 5-7 匹 (10 週齢) に HCA を 5 日間経口投与 (コントロール

はコーンオイル) し、最終の経口投与から2週間後に小腸、盲腸、大腸から粘膜上皮を単離し、DNAを抽出したところ、cII遺伝子の変異誘発能はPhIP>MeIQ>IQで、特に盲腸では、IQで1.9倍、MeIQで2.7倍の増加を示した(Itoh *et al.* 2003)。

毒性解析システムとして、ヒトCYP1A2、NADPH-チトクロームP450還元酵素、チトクロームb5(cyp b5)を発現する新規確立株であるサルモネラ株TA1538/1A2bc-b5を開発し、フラボノイドのケルセチンやナリンゲニンの毒性緩和効果を測定した報告例もある。

MeIQを最終濃度が100pMになるよう培地に添加した結果、TA1538/CYP1A2bc-b5におけるHis+復帰突然変異体の誘導では、他のHCAよりもMeIQの変異原性が最高値を示した。MeIQの変異原性は、ケルセチン0.1 μMで50%、1 μMで42%上昇したが、50 μMでは82%、100 μMで96%抑制した。ナリンゲニンも、0.1 μMで37%、1 μMで22%上昇したが、50 μMでは32%、100 μMで63%抑制した。フラボノイドによるこの二相性効果は、CYP1A2活性の刺激あるいは抑制による(Kang *et al.* 2004)。

5. 発がん性試験

マウスでは、前胃腫瘍形成、雌には盲腸、結腸、肝臓腫瘍形成、ラットでは、結腸、口腔、Zymbal腺腫瘍形成、雌には乳腺腫瘍形成を誘導している。

CDF1 マウスにおいて100ppmあるいは400ppmを91週間摂取した場合、雄雌ともに前胃腫瘍発症率が上がり、雌では肝臓腫瘍発症率が上がった。90%のマウスに前胃腫瘍が発症した。それら前胃腫瘍の70%~85%は扁平上皮がんであり、これらの40%が肺に転移した。肝臓腫瘍は、肝細胞腺腫とがん、繊維肉腫であり、発症率は71%。300ppmを286日間摂取したF344ラットは数種の腫瘍を発症した。雄雌ともに、Zymbal腺(85~95%)、口腔(35%)、大腸(25~35%)に腫瘍発症、雄では皮膚(50%)、雌では乳腺(25%)に発症した(NTP 2002)。

実験動物における発がん性試験結果

試験期間	がん	動物種	投与方法	結果	出典
長期試験 (>1年)	前胃)の扁平上皮がん 肝細胞腺腫 あるいはがん	マウス CDF1	経口 実験 1=0.04% (400ppm)、 83 週間。実験 2=0、100、 400ppm、91 週間	83 週目までに、噴門洞 (=前胃) の扁平上皮がんが、雄 10/16 匹、雌 11/22 匹に検出され、これらのうち 10 は肝臓転移していた。加えて、雌 9 匹に肝細胞腺腫あるいはがんが観察された。高量摂取したマウスでは 20~30%、低量摂取したマウスでは 10%の体重減少がみられた。雄雌ともに、前胃腫瘍の発症率が増加し、雌では肝臓腫瘍の発症率増加がみられた。前胃の扁平上皮がん発症率は、コントロール、低量摂取、高量摂取それぞれ、雄で 0%、7.9%、78.9%、雌で 0%、30.6%、63.2%。前胃扁平上皮がんの 40%が肝臓に転移した。	Ohgaki <i>et al.</i> 1986
長期試験 (>1年)	大腸/盲腸腺がん、肝細胞腺腫、肝細胞がん、繊維肉腫	マウス C57BL/6NCrj	経口 300ppm、92 週間	摂取したマウスにおいて 20%の体重減少がみられた。50 週を過ぎると摂取したマウスの生存率が低下した。85 週目で最終検査。38/40 匹に 1 個以上の腫瘍が形成された。大腸、盲腸における腺がん、肝臓における肝細胞腺腫、肝細胞がん、繊維肉腫の発症率上昇がみられた。	Fujita <i>et al.</i> 1999
長期試験 (>1年)	腫瘍形成 (肝臓、噴門洞、造血系、肺)	マウス CDF ₁ 7 週齢	経口 0 あるいは 400ppm、70 週間	摂取マウスの体重減少がみられた。7/8 匹が複数の組織に腫瘍を形成した。肝臓、噴門洞、造血系、肺を含む。	Ramsey <i>et al.</i> 1998
短期試験 (<1年)	肝臓がん	ラット F344	経口、 ジエチルニトロソミン 200mg/kg 腹腔注射、2 週間後に HCA を 6 週間投与。MeIQx と MeIQ を単独で 1/1, 1/5, 1/25 の発がん性投与量、あるいは、5 種 HCA 混合で、1/5, 1/25 投与 (Ito <i>et al.</i> 1991)。PhIP と MeIQx 濃度 400、80、16ppm、MeIQ 300、60、12ppm (Hasegawa <i>et al.</i> 1991)。10 種の HCA を単独で 1/10 投与レベル、あるいは混合で 1/10, 1/100 投与レベル (Hasegawa <i>et al.</i> 1994, Ito <i>et al.</i> 1995)。	3 週目で肝臓組織検査、8 週目で最終検査。GST-P ポジティブ病巣数は、最高投与群において肝臓がん発がん性に比例しており、その傾向は MeIQx>MeIQ>PhIP の順。HCA 混合の影響は基本的には相加的であり、相乗的ではない。しかし、PhIP と MeIQ の混合は、それらが重要な代謝酵素を誘導するという理由で相乗性があると推測されている。	Ito <i>et al.</i> 1991 Hasegawa <i>et al.</i> 1991 Hasegawa <i>et al.</i> 1994, Ito <i>et al.</i> 1995
長期試験 (>1年)	幹細胞腺腫	ラット F344、 6 週齢雄	経口 204 匹を 4 グループに分けて 0, 0.001, 1, 100 ppm の濃度 で、2 年間混餌投与	100 ppm MeIQx 投与群で生存率と体重の減少、肝細胞がん、腺腫、GST-P 陽性巣の発生、Zymbal 腺がん、乳腺線維腺腫、皮下線維腫の増加などに有意差が見られたが、その他の濃度では前がん性の変化は見られなかった。	Murai T <i>et al.</i> 2008

MeIQ, IQ, MeIQx, PhIP, Glu-P-1 を長期で経口投与した CDF マウス、F344 ラットについて一本鎖 DNA 高次構造多型 (S S C P) 解析、PCR 直接配列決定を行った。主に *ras* および *p53* についての解析が行われた。MeIQ により誘導された前胃腫瘍では 8 つのう

ち4つに Ha-ras、5のうち2つに p53 の変異が見られた。ひとつのパピローマは両方に変異があったが、2つの上皮性悪性腫瘍はいずれかに変異があった。Ha-ras への変異はすべてコドン13の2番目塩基の G から T への転換であった (Ushijima T *et al*, 1995)。

6. 特殊毒性試験 (神経毒性、免疫毒性等)

該当データなし

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

(1) 国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC)

総合評価: 2-Amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ)は、ヒトに対する発がん物質である可能性を有する (=probably carcinogenic to humans) (Group 2B)。

根拠: ヒトにおける根拠は不十分である。しかし、動物実験では発がん性を示す十分な根拠がある (IARC 1993)。

(2) NTP

2-Amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ)は、RoC11thEdition(2004)において、ヒト発がん物質と予想される物質 (reasonably anticipated to be a human carcinogen, Group2B)と評価された。

The NIEHS Review Committee for the Report on Carcinogens (RG1)は、6対0で、MeIQを、ヒト発がん物質と予想される物質としてリストすることに合意した。

The NTP Executive Committee Interagency Working Group for the Report on Carcinogens (RG2*)は、8対0で、MeIQを、ヒト発がん物質と予想される物質としてリストすることに合意した。

The NTP Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee (外部同領域専門家査読グループ、the External Peer Review Group)は、8対0、不参加1で、MeIQを、ヒト発がん物質と予想される物質としてリストすることに合意した (「不参加」1名の理由は、ヒト暴露のデータが不十分であるため)。

The NIEHS Review Committee for the Report on Carcinogens (RG1)は、5対1で、MeIQ_xを、「ヒト発がん物質と予想される物質」としてリストすることに合意した (反対の票の理由は、データが「既知のヒト発がん物質」として分類されるべきことを示していると感じられたため) (NTP 2004)。

*RG2 にでている NTP 執行委員会からの代表組織は次のものを含む:

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR),

Consumer Product Safety Commission (CPSC),
Environmental Protection Agency (EPA),
National Center for Environmental Health of the Centers for Disease Control and Prevention (NCEH/CDC),
National Center for Toxicological Research of the Food and Drug Administration (NCTR/FDA), National Institute for Occupational Safety and Health/CDC (NIOSH/CDC),
Occupational Safety and Health Administration (OSHA), National Cancer Institute of the National Institutes of Health(NCI/NIH),
National Institute of Environmental Health Sciences/NIH(NIEHS/NIH)

2. 国際機関等のリスク管理措置

(1) 米国国立がん研究所 (National Cancer Institute)

2004 年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告について紹介され、米国の平均的食生活における HCA の摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソース作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCA の暴露を軽減することができるとしている。(NCI 2004)

(2) 米国農務省 (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service)

2006 年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質の HCA の生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCA の生成や摂取を減らす方法を紹介している。(USDA 2006)

(3) 英国食品基準庁 (Food Standards Agency)

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」の Q&A の項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化水素化合物 (PAHs) や HCA のような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。(FSA)

Ⅶ. 相互作用

1. ヘテロサイクリックアミン同士の相互作用

6週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2 週間後、HCA 混合または単独混餌を 6 週間投与。混餌は、5 種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10 種の発がん量の 1/10、1/100 量。3 週後に肝臓の 2/3 を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA 同一量を個々に混餌投与した群より、グルタチオン S-トランスフェラーゼ陽性の前がん状態病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10 種の HCA を各 1/10 量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。これらの効果は CYP1A2 を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

また、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、MeIQ、IQ の混合物を、*Salmonella typhimurium* A98 には変異原性を示すが野生型の TA1978P には示さない濃度で投与したところ、複合投与による有意差のある復帰突然変異の増加が見られた。この結果から、環境中の変異原性物質は複雑に混合された状態で存在するため、このような加法的作用について検討する必要があると指摘されている (Ohta T 2006)。

2. その他の物質との相互作用

HCA により S9 存在下で誘導された変異原性に対する、脂溶性抗酸化物質 1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ)の効果がエームス試験で検討された。HTHQ は MeIQ (1 ng/plate) の変異原性を、5 µg/plate 量で 72%抑制し、20 µg/plate 量で 96%抑制した。(Hirose M *et al*, 1995)

天然のアントラキノン色素、プルプリンの、HCA (Trp-P-2、Trp-P-1、MeIQ、IQ、Glu-P-1) に対する変異原性抑制機構を、サルモネラ菌 TA98 を使った Ames test を用いて解析した結果、Trp-P-1、Trp-P-2 に対して 90%以上が、MeIQ、IQ、Glu-P-1 では 60%以上が抑制された。Trp-P-2(NHOH)に対する抑制機構を、アセチルトランスフェラーゼ欠損株、S9 の有無、CYP1A2 と NADPH チトクローム P450 還元酵素と O-アセチル転換酵素を発現しているサルモネラ菌 TA1538ARO を使い、Ames test で解析した結果、抑制はモル濃度に比例しており、抗変異原性物質である EGCG、クロロフィリンと同等の抑制効果を示した。また、pH5.0 より pH7.4 で強く抑制され、アセチルトランスフェラーゼ欠損株を用いた場合でも抑制された。S9 の有無に関わらず抑制はおこったが、S9 非存在下の方が強く抑制された。TA1538ARO を用いた Ames test では、CYP1A2 の分解と NADPH チトクローム P450 還元酵素の抑制が見られた。これらの結果から、プルプリンの変異原性抑制は、中性で、ヒドロキシアミンに作用すること、それは CYP1A2 と NADPH チトクローム P450 還元酵素の働きの抑制によることが示唆された (Marczylo *et al*. 1999)。

VIII. まとめ

2-Amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ) (CAS N77094-11-2) は、肉魚中のアミノ酸、クレアチン/クレアチニン、ヘキソースから形成される。調理時間、酸度などが影響し、高温で長時間の調理であるほど多く形成される。直接に高効率で熱伝達する調理法（フライ、グリル）が、間接的熱伝達調理法（煮る、蒸す）より多く形成する。

実験動物において、急速に胃腸管から吸収される。急速に多数の組織中に分布し、さらに胎盤を通過する。

代謝経路には、Phase I（活性化）と Phase II（抱合）段階がある。Phase I 活性化経路は肝臓におけるチトクローム P-450 酵素 CYP1A2 による N-ヒドロキシル化である。続いて、肝臓や他の組織で Phase II 酵素による反応（N-アセチル基転移酵素、NAT2 により O-アセチル化など）が起こり、DNA 結合能を有するアリルニトロニウム（arylnitrenium）イオン形成に至る。結果としてアリアルアミン-DNA 付加体が形成され、これが突然変異性や発がん性に寄与する可能性がある。これらの代謝酵素の活性は、一般集団においては多様で、遺伝子多型により決定されたと考えられ（Sinha and Potter, 1997）、迅速型アセチレーター（高効率の N-アセチル基転移酵素を産生する）の方が、低速型アセチレーターより、発がんリスクが高い可能性がある（Ishibe *et al.* 2002）。グアニン（G:C→T:A 転換）を含む突然変異ががん原遺伝子で検出されている。PhIP、MeIQ、MeIQx のグアニン塩基への付加体の優性型は、C8 位置への付加体である。

MeIQ は、急速に吸収され、代謝後、最初の 24 時間以内で、尿、糞を通してほとんど排泄され、胆汁、母乳中にも排出される。

ヒトにおける発がん性を示す根拠は乏しい。1 件の試験では、直腸、結腸がんととの相関性はあるようだが、膀胱、腎臓がんととの相関はほとんど無い。結論として、現在得られているデータは、発がんリスクが食品中の PhIP、MeIQx、MeIQ によるという証拠としては不十分である。

遺伝毒性動物実験においては、MeIQ は、原核生物（*S. typhimurium*、*E. coli*）、げっ歯類（*in vitro*、*in vivo* 試験）、ヒト（*in vitro*）において突然変異性を示したが、酵母では示さなかった。ヒトとげっ歯類の生体外、げっ歯類の生体内試験において、遺伝毒性を示し、DNA 損傷（*in vitro*、*in vivo*）、小核形成（*in vitro*）、姉妹染色分体交換（*in vitro*、*in vivo*）、不定期 DNA 合成（*in vivo*）、染色体異常（*in vivo*）を示した。ヒト細胞においては、小核形成、不定期 DNA 合成を示した。

発がん性動物実験においては、マウスで、前胃腫瘍形成、雌には盲腸、結腸、肝臓腫瘍形成、ラットで、結腸、口腔、Zymbal 腺腫瘍形成、雌には乳腺腫瘍形成を誘導している。

MeIQ は、IARC 発がん性物質の報告（1993 年）では、グループ 2B としてヒトにおける発がん性について、根拠は不十分であるが、動物実験では発がん性を示す十分な根

拠があることから、ヒトに対して発がん性を有する可能性があるとして評価されている。NTP2002 年発行されたデータ評価の後、2004 年の報告では、発がん性物質評価報告 NIEHS 委員会 (The NIEHS Review Committee for the Report on Carcinogens、RG1)、発がん物質評価報告 NTP 執行委員会総合ワーキンググループ (The NTP Executive Committee Interagency Working Group for the Report on Carcinogens、RG2)、外部同領域専門家査読グループ (The NTP Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee, the External Peer Review Group)はともに、MeIQ を「ヒト発がん物質と予想される物質」としてリストすることに合意している。管理措置に関するデータはない。

IX. 文献・参考資料

- Adolfsson, L., and K. Olsson. (1983) A convenient synthesis of mutagenic 3H-imidazo[4,5-f]quinoline-2-amines and their 2-¹⁴C-labelled analogues. *Acta chem. Scand.*, B37:157-159
- Ahn, J., and I.U. Gruen. (2005a) Heterocyclic amines: 1. Kinetics of formation of polar and nonpolar heterocyclic amines as a function of time and temperature. *Journal of Food Science* 70(2): C173-C179.
- Ahn, J., and I.U. Gruen. (2005b) Heterocyclic amines: 2. Inhibitory effects of natural extracts on the formation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked beef. *Journal of Food Science* 70(4): C263-C268.
- Aryal, P., T. Terashita, F.P. Guengerich, T. Shimada, and Y. Oda. (2000) Use of genetically engineered Salmonella typhimurium OY1002/1A2 strain coexpressing human cytochrome P450 1A2 and NADPH-cytochrome P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase in SOS/umu assay. *Environ Mol Mutagen* 36:121-126.
- Augustsson, K., K. Skog, M. Jagerstad, P.W. Dickman, and G. Steineck. (1999) Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study. *Lancet* 353:703-707.
- Barcelo-Barrachina, E., E. Moyano, M.T. Galceran, J.L. Lliberia, B. Bago, and M.A-A-Cortes. (2006) Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of heterocyclic amines in food. *Journal of Chromatography, A* 1125(2):195-203.
- Bergman, K. (1985) Autoradiographic distribution of ¹⁴C-labeled ³H-imidazo[4,5-f]quinoline-2-amines in mice. *Cancer Res* 45:1351-1356.
- Boobis, A.R., N.J. Gooderham, R.J. Edwards, S. Murray, A.M. Lynch, M. Yadollahi-Farsani, and D.S. Davies. (1996) Enzymic and interindividual differences in the human metabolism of heterocyclic amines. *Arch Toxicol Suppl* 18:286-302.
- Calbani, F., M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, and I. Zagnoni. (2007) Validation of an ion-pair liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry method for the determination of heterocyclic aromatic amines in meat-based infant foods. *Food Additives & Contaminants* 24(8): 833-841.
- Dashwood, R.H. (2002) Modulation of heterocyclic amine-induced mutagenicity and carcinogenicity: an 'A-to-Z' guide to chemopreventive agents, promoters, and transgenic models. *Mutat Res* 511:89-112.
- Dubuisson, J.G. and J.W. Gaubatz. (1998) Bioactivation of the proximal food mutagen 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (N-OH-PhIP) to DNA-binding species by human mammary gland enzymes. *Nutrition* 14:683-686.
- Felton, J.S., M. Jagerstad, M.G. Knize, K. Skog, and K. Wakabayashi. (2000) Contents in foods, beverages and tobacco. In Food Borne Carcinogens Heterocyclic Amines. Nagao, M. and T. Sugimura, eds. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England. pp. 31-71.
- FSA, Eat well, be well Q&A Is overcooked or burnt meat carcinogenic?

<http://www.eatwell.gov.uk/asksam/healthydiet/meatq/?lang=en#A221179>

- Fujita, H., K. Nagano, M. Ochiai, T. Ushijima, T. Sugimura, M. Nagao, and T. Matsushima. (1999) Difference in target organs in carcinogenesis with a heterocyclic amine, 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline, in different strains of mice. *Jpn J Cancer Res* 90:1203-1206.
- Fukutome, K., M. Ochiai, K. Wakabayashi, S. Watanabe, T. Sugimura, and M. Nagao. (1994) Detection of guanine-C8-2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine adduct as a single spot on thin-layer chromatography by modification of the ³²P-postlabeling method. *Jpn J Cancer Res* 85:113-117.
- Ghoshal, A., C.D. Davis, H.A. Schut, and E.G. Snyderwine. (1995) Possible mechanisms for PhIP-DNA adduct formation in the mammary gland of female Sprague-Dawley rats. *Carcinogenesis* 16:2725-2731
- Gross, G.A. and A. Grüter. (1992) Quantitation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic aromatic amines in food products. *J Chromatogr* 592:271-278.
- Hasegawa, R.; Kato, T.; Hirose, M.; Takahashi, S.; Shirai, T.; Ito, N., Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.
- Hirose M; Iwata S; Ito E; Nihro Y; Takahashi S; Mizoguchi Y; Miki T; Satoh T; Ito N; Shirai T, Strong anti-mutagenic activity of the novel lipophilic antioxidant 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone against heterocyclic amine-induced mutagenesis in the Ames assay and its effect on metabolic activation of 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d] imidazole (Glu-p-1), *Carcinogenesis*, (1995 Sep) 16 (9) 2227-32.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 56 Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins PhIP (2-Amino-1-Methyl-6-Phenylimidazo[4,5-B]Pyridine) (Group 2b) Vol.: 56 (1993) World Health Organization International Agency For Research On Cancer
- Ishibe, N., R. Sinha, D.W. Hein, M. Kulldorff, P. Strickland, A.J. Fretland, W.H. Chow, F.F. Kadlubar, N.P. Lang, and N. Rothman. (2002) Genetic polymorphisms in heterocyclic amine metabolism and risk of colorectal adenomas. *Pharmacogenetics* 12:145-150
- Ito, N., R. Hasegawa, M. Sano, S. Tamano, H. Esumi, S. Takayama, and T. Sugimura. (1991) A new colon and mammary carcinogen in cooked food, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Carcinogenesis* 12:1503-1506.
- Itoh, T., T. Kuwahara, T. Suzuki, M. Hayashi, and Y. Ohnishi. (2003) Regional mutagenicity of heterocyclic amines in the intestine: mutation analysis of the cII gene in lambda/lacZ transgenic mice. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 539(1-2): 99-108.
- Johansson, M.A., and M. Jagerstad. (1994) Occurrence of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in meat and fish products, including pan residues, prepared under domestic conditions. *Carcinogenesis* 15:1511-1518.
- Kang, Il-Hyun; Kim, Hyun-Jung; Oh, Hyeyoung; Park, Young In; Dong, Mi-Sook. (2004) Biphasic effects of the flavonoids quercetin and naringenin on the metabolic activation of 2-amino-3,5-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline by Salmonella typhimurium TA1538 co-expressing human cytochrome P450 1A2, NADPH-cytochrome P450 reductase, and cytochrome b5 Mutation Research, *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 545(1-2): 37-47.
- King, R.S., C.H. Teitel, J.G. Shaddock, D.A. Casciano, and F.F. Kadlubar. (1999) Detoxification of carcinogenic aromatic and heterocyclic amines by enzymatic reduction of the N-hydroxy derivative. *Cancer Lett* 143:167-171.
- Knasmüller, S., H. Kienzl, W. Huber, and R.S. Hermann. (1992). Organ-specific distribution of genotoxic effects in mice exposed to cooked food mutagens. *Mutagenesis* 7:235-241.
- Knize, M.G., F.A. Dolbeare, K.L. Carroll, D.H. Moore, 2nd, and J.S. Felton. (1994) Effect of cooking time and temperature on the heterocyclic amine content of fried beef patties. *Food Chem Toxicol* 32:595-603.
- Krul, C., A. Luiten-Schuite, R. Baan, H. Verhagen, G. Mohn, V. Feron, and R. Havenaar. (2000) Application of a dynamic *in vitro* gastrointestinal tract model to study the availability of food mutagens, using heterocyclic aromatic amines as model compounds. *Food Chem Toxicol*

- 38:783-792.
- Layton, D.W., K.T. Bogen, M.G. Knize, F.T. Hatch, V.M. Johnson, and J.S. Felton. (1995) Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: an analysis and implications for research. *Carcinogenesis* 16:39-52.
- Lee, C.-S., Y. Hashimoto, K. Shudo, T. Okamoto. (1982) Synthesis of mutagenic heteroaromatics: 2-aminoimidazo[4,5-f]quinoline. *Chem. Pharm. Bull.* 30:1857-1859.
- Lin, D.X., K.R. Kaderlik, R.J. Turesky, D.W. Miller, J.O. Lay, and F.F. Kadlubar. (1992) Identification of N-(Deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine as the major adduct formed by the food-borne carcinogen, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, with DNA. *Chem Res Toxicol* 5:691-697.
- Lynch, A.M., M.G. Knize, A.R. Boobis, N.J. Gooderham, D.S. Davies, and S.Murray. (1992) Intra- and interindividual variability in systemic exposure in humans to 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine, carcinogens present in cooked beef. *Cancer Res* 52:6216-6223.
- Lynch, A.M., S. Murray, N.J. Gooderham, and A.R. Boobis. (1995) Exposure to and activation of dietary heterocyclic amines in humans. *Crit Rev Oncol Hematol* 21:19-31.
- Marczylo H.Timothy; Hayatsu Toshiko; Arimoto-Kobayashi Sakae, Tada Mikio, Fujita Ken-ichi, Kamataki Tersuya, Nakayama Kazuo, Hayatsu Hikoya, Protection against the bacterial mutagenicity of heterocyclic amines by purpurin, a natural anthraquinone pigment, Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (1999) Vol. 444, No. 2, pp. 451-461.
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, Journal of Neural Transmission, Supplement, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- National Toxicology Program Report on Carcinogens : Background Document for Selected Heterocyclic Amines: PhIP, MeIQ, and MeIQx September 19, 2002
- National Toxicology Program. Summary of RG11, RG22 and NTP Board Subcommittee3 Recommendations for Nominations Reviewed for Listing in the Report on Carcinogens, 11th Edition (2004)
- NCI, Heterocyclic Amines in Cooked Meats (2004)
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/heterocyclic-amines>
- Oda, Y., H. Yamazaki, and T. Shimada. (1999) Role of human N-acetyltransferases, NAT1 or NAT2, in genotoxicity of nitroarenes and aromatic amines in Salmonella typhimurium NM6001 and NM6002. *Carcinogenesis* 20:1079-1083.
- Ohgaki, H., H. Hasegawa, M. Suenaga, T. Kato, S. Sato, S. Takayama, and T. Sugimura. (1986). Induction of hepatocellular carcinoma and highly metastatic squamous cell carcinomas in the forestomach of mice by feeding 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline. *Carcinogenesis* 7:1889-1893.
- Okonogi, H., T. Ushijima, X.B. Zhang, J.A. Heddle, T. Suzuki, T. Sofuni, J.S. Felton, J.D. Tucker, T. Sugimura, and M. Nagao. (1997) Agreement of mutational characteristics of heterocyclic amines in lacI of the Big Blue mouse with those in tumor related genes in rodents. *Carcinogenesis* 18:745-748.
- Pais, P., E. Moyano, L. Puignou, and M.T. Galceran. (1997) Liquid chromatography- electrospray mass spectrometry with in-source fragmentation for the identification and quantification of fourteen mutagenic amines in beef extracts. *J Chromatogr A* 775:125-136.
- Ramsey, M.J., M. Nagao, R. Inoue, H. Fujita, T. Matsushima, and J.D. Tucker. (1998) Chromosome aberrations induced in mice by chronic feeding of 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ). *Food Chem Toxicol* 36:467-474.
- Ramsey, M.J., M. Nagao, R. Inoue, H. Fujita, T. Matsushima, and J.D. Tucker. (1998) Chromosome aberrations induced in mice by chronic feeding of 2-amino-3,4- dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ). *Food Chem Toxicol* 36:467-474.
- Robbana-Barnat, S., M. Rabache, E. Rialland, and J. Fradin. (1996) Heterocyclic amines: Occurrence and prevention in cooked food. *Environ Health Perspect* 104:280-288.
- Schunk, H., T. Hayashi, and T. Shibamoto. (1984) Analysis of mutagenic amino acid pyrolyzates with a fused silica capillary column. *J. high Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 7:563-565
- Schut, H.A. and E.G. Snyderwine. (1999) DNA adducts of heterocyclic amine food mutagens:

- implications for mutagenesis and carcinogenesis. *Carcinogenesis* 20:353-368.
- Sinha, R. and J.D. Potter. (1997) Diet, nutrition, and genetic susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6:647-649.
- Sjödén, P. and M. Jägerstad. (1984) A balance study of ¹⁴C -labelled 3H-imidazo[4,5-f]quinolin-2-amines (IQ and MeIQ) in rats. *Food Chem Toxicol* 22:207-210.
- Skog, K., G. Steineck, K. Augustsson, and M. Jägerstad. (1995) Effect of cooking temperature on the formation of heterocyclic amines in fried meat products and pan residues. *Carcinogenesis* 16:861-867
- Snyderwine, E.G., M.H. Buonarati, J.S. Felton, and K.W. Turteltaub. (1993) Metabolism of the food-derived mutagen/carcinogen 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in nonhuman primates. *Carcinogenesis* 14:2517-2522.
- Snyderwine, E.G., H.A. Schut, T. Sugimura, M. Nagao, and R.H. Adamson. (1994) DNA adduct levels of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-[4,5-b]pyridine (PhIP) in tissues of cynomolgus monkeys after single or multiple dosing. *Carcinogenesis* 15:2757-2761.
- Snyderwine, E.G., R.J. Turesky, M.H. Buonarati, K.W. Turteltaub, and R.H. Adamson. (1995) Metabolic processing and disposition of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f] quinoline (IQ), 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in nonhuman primates. *Princess Takamatsu Symp* 23:69-77.
- Snyderwine, E.G. (1999) Mammary gland carcinogenesis by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in rats: possible mechanisms. *Cancer Lett* 143:211-215.
- Størmer, F.C., J. Alexander, and G. Becher. (1987) Fluorometric detection of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline and their N-acetylated metabolites excreted by the rat. *Carcinogenesis* 8:1277-1280.
- Tada, A., M. Ochiai, K. Wakabayashi, H. Nukaya, T. Sugimura, and M. Nagao. (1994) Identification of N-(deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5- f]quinoline (dG-C8-MeIQ) as a major adduct formed by MeIQ with nucleotides in vitro with DNA in vivo. *Carcinogenesis* 15:1275-1278.
- USDA, How you cook your meat May Affect Your Health (2006)
<http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10878>
- Ushijima, Toshikazu; Makino, Hiroshi; Kakiuchi, Hideki; Inoue, Rie; Sugimura, Takashi; Nagao, Minako, Genetic alterations in HCA-induced tumors, Proceedings of the International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund, (1995) Vol. 23rd, No. Heterocyclic Amines in Cooked Foods: Possible Human Carcinogens, pp. 281-91.
- Yoshimitsu, Oda; Pramod, Aryal; Takao, Terashita; Elizabeth, M.J., Gillam; F., Peter, Guengerich; Tsutomu, Shimada, Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in *Salmonella typhimurium* umu tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, 2E1, and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase, Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2001) Vol. 492, No. 1-2, pp. 81-90.

4. 3 MeIQx

I. 当該化学物質の一般情報

1. 物質特定情報

(1) 名称:

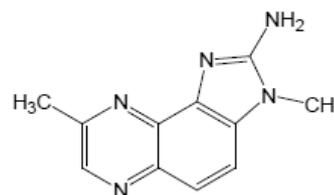
Chem. Abstr. Name: 3,8-Dimethyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinoxalin-2-amine

IUPAC Systematic Name: 2-amino-3,8-dimethyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinoxaline

(2) CAS No. : 77500-04-0

(3) 分子式 : C₁₁H₁₁N₅、構造式 : 右図のとおり

(4) 分子量 : 213.24



2. 物理化学的性状

(1) 物理的性状 : 黄褐色、結晶

(2) 融点 : 295-300 °C (Grivas & Olsson, 1985)

(3) 溶解性 : DMSO,メタノールには可溶性(Kasai *et al.* 1981, Dooley *et al.* 1992)

(4) 安定性 : 希塩酸により急速に分解されるが、弱酸性の亜硝酸液による脱アミノ基反応はおきない (Tsuda *et al.* 1985)

3. 存在形態

(1) 存在形態 : 該当データなし

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露

調理中のエアゾール中に検出され、調理温度を上げると、検出量も増加した (Thiébaud *et al.* 1995)。198 °Cで調理されたビーフパティエー中には、PhIP 4.9+/-1.4 ng/g、MeIQx が 4.3 ng/g 検出され、その調理煙凝縮物中には、PhIP 0.14+/-0.002 ng/g、MeIQx 0.14+/-0.005 ng/g が検出された。277 °Cで調理されたビーフパティエー中には、PhIP 68+/-14 ng/g、MeIQx 16+/-0.8 ng/g が検出され、その調理煙凝縮物中には、PhIP 1.8+/-0.09 ng/g、MeIQx 1.1+/-0.1 ng/g が検出された。

炒めた (stir-fried)魚から出た調理エアゾール中に 268.1 ng/皿あたり検出され、1 時間の調理時間でエアゾール暴露がおこりうる (Yang *et al.* 1998)。

たばこの主流煙中には、MeIQx が 0.28~0.75 ng/本、副流煙中には、0.25~0.45 ng/本検出された (Felton *et al.* 2000)。

PhIP と MeIQx は、日本の淀川の有機抽出物中にブルーレーヨンハンギング法により、検出された (Ohe 1997)。11 か所から採取された抽出物中の検出平均値はブルーレーヨ

ン相当量当たり、PhIP が 11.9ng/g、MeIQx が 4.8ng/g であった。

4. 生成機構

肉魚中のアミノ酸、クレアチン/クレアチニン、ヘキソースから形成される (Felton *et al.* 2000, Robbana-Barnat *et al.* 1996)。IQ 化合物のアミノアミダゾ部分は、クレアチンから形成されるとされ、IQ 化合物の残りの部分は、アミノ酸とヘキソース間の Maillard 反応 (還元糖とアミノ酸がシッフ塩基を形成することに始まる非酵素的化学反応) 中に形成される分解産物 (ピリジン、ピラジン) から形成される (Jägerstad *et al.* 1984, Skog *et al.* 1998)。

5. 食品中の検出状況

料理された肉 (牛、魚、鶏、羊) 中に検出され、検出不能レベルから 30 ng/g の範囲で存在する (IARC 1993)。最高濃度は、鶏肉、牛肉 (ハンバーガー、ステーキ) のウェルダングリル、ベーコンで検出され、ウェルダングリルやバーベキューの鶏肉中には 9 ng/g、オープン焼きの鶏胸肉中には 3 ng/g (Sinha *et al.* 1995)、魚中には 1.2ng/g 検出されている (Johansson and Jägerstad 1994)。豚肉は、ベーコン以外はほとんど検出されず、ベーコン中には 0.9~18 ng/g、その脂肪には 1.4~27ng/g 検出されている。ブイヨンやワイン中にも検出される。牛肉のフライや焼き物 (broiled) 中には検出されず、豚肉 (0.02 ng/g) と魚 (0.03~20 g/g) で検出された例もある (Lynch *et al.* 1995)。米国で行われた 3 種の大規模コホート研究 (Nurses' Health Study 2 種、Health Professionals Follow up Study) では、1 日あたりの平均摂取量は、33~44.8 ng/日である。

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、および鍋残渣に含まれる変異原性/がん原性 HCA の分析した実験では、複雑なマトリックスを持つ試料であるため、クロマトグラフィー効率を改善するために、新しく加える生成方法がデザインされた。プロセスフレーバー 7 種、プロセスフレーバー原料 5 種、ブイヨン濃縮物 4 種、鍋残渣から、HCA を固相抽出して精製し、HPLC および GC-MS により分析した。極性 HCA は、動物および動物+野菜混合物起源の試料にのみ検出された。一方、非極性 HCA は、動物、動物+野菜混合物、および純粋に野菜起源の試料で同定された (Solyakov *et al.*, 1998、次表参照)。

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、鍋残渣の HCA 量

HCA	検出量
極性 HCA	
IQ	1 サンプル中、3.4 ng/g
IQx	2 サンプル中、0.7-2.0 ng/g
MeIQx	4 サンプル中、1.0-13.8 ng/g
PhIP	2 サンプル中、痕跡量
MeIQ	検出されず
非極性 HCA	
A- α -C	1 サンプル中、0.4 ng/g
MeA- α -C	1 サンプル中、20.3 ng/g
Trp-P-1	2 サンプル中、1.4-1.7 ng/g
Trp-P-2	2 サンプル中、痕跡量
共変異原性 HCA	
ハルマン	17 サンプル中 15 サンプルで同定、3.3-755 ng/g
ノルハルマン	17 サンプル中 16 サンプルで同定、1.2-176 ng/g

(出典 : Solyakov *et al.* 1998 *Food and Chemical Toxicology* 37(1):1-11)

また、窒素リン検出器付きガスクロマトグラフィーにより加熱調理した 8 種の魚類、3 種の肉類に含まれる HCA の検出では、魚の皮部分に MeIQx が高濃度で検出された。加熱した肉類よりも魚類に HCA が多く検出されたため、肉類よりも魚類の摂取が多い日本人の HCA 摂取量に魚料理が大きく関与していると考えられる。MeIQx の検出量を下表に示した (Kataoka H *et al* 2002)。

加熱食品サンプル	含有量 pg/g	
	皮	身
サンマ	492±87	191
イワシ	860±44	152
アジ	385±34	25
サバ	588±70	ND
サケ	593±59	99
ホッケ	ND	ND
ウナギの蒲焼	ND	ND
アジの開き	420±29	ND
鶏肉	-	77±10
豚肉	-	202±12
牛肉 ウェルダ ン	-	198±71
ミディアム	-	138±67

最近の報告では、調理の程度の異なる牛肉、豚肉、鶏肉中の HCA 類 (HCA) 含量を

液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析により測定した結果、含量の比較的多い HCA は下表に示すとおりである (Ni *et al.* 2008)。

調理の程度の異なる牛肉、豚肉、鶏肉中の HCA 含量

肉の種類	調理法と程度	温度 (°C)		調理時間 (分)	PhIP (µg/kg)	7-MeIQx (µg/kg)	8-MeIQx (µg/kg)
		表面	内部				
豚肉 ベーコン	オーブン焼き ベリリー・ウエルダグ	175	測定せず	7.2	15.91 (最大)	9.08	2.61
	フライパン調理 ベリリー・ウエルダグ	176	測定せず	16.1	4.90	3.46	3.00
鶏肉 (皮無、骨無)	バーベキュー ベリリー・ウエルダグ	260	99	43	304.71 (最大)	11.28	7.70
牛肉 ステーキ	フライパン調理 ベリリー・ウエルダグ	191	93	33	12.46	23.65 (最大)	6.50
ひき肉	フライパン調理 ベリリー・ウエルダグ	191	90	20	2.90	11.70 (最大)	3.70
牛肉汁	オーブン焼き ウエルダグ	160	86	182	3.41	29.52 (最大)	8.43

(出典 : Ni *et al.* 2008 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(1): 68-78)

ヒトや動物の毛からも MeIQx が検出されている。喫煙と毛染めをしていない肉食または菜食のボランティア 6 人の毛髪、および雌の C57CL/6 マウスに飲料水中に PhIP、MeIQx、A-α-C を一日の水分摂取量から計算して 800、80、8、0.8、0.08 µg/kg 体重量となるように 28 日間投与した 29 日目の毛皮を分析している。その結果、MeIQx はヒト毛髪からは検出されなかったが、マウス毛から 0.8 µg/kg 以上の投与で検出された。(Bessette E E *et al.* 2009)。

6. 測定方法と検出限界値

MeIQx は、カラムクロマトグラフィーと逆相高速液体クロマトグラフィー、さらに MS と紫外線分光光度法により分析される (Gross and Grüter 1992)。最近では、液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-質量分光分析 (LC/ES/MS) が、PhIP、MeIQ、MeIQx の検出用に開発され、HPLC/紫外線法よりさらに高感度で高安定性を有し、同時に複数種の HCA 検出を可能にする。牛肉抽出液のような複雑な材料中の検出限界は、PhIP が 0.3 ng/g、MeIQ が 0.3 ng/g、MeIQx が 1.1 ng/g (Pais *et al.* 1997)。

blue cotton 吸着法は、3 スルホ銅フタロシアニン基がセルロースあるいはコットンに

共有結合する方法で、水溶液中の MeIQx を検出する手法に繁用されている。そのうちのひとつは、LC 熱スプレー質量分析を使って定量する手法である。食品抽出液中の MeIQx の検出を目的として、モノクローナル抗体を支持材料に固定した、選択的免疫親和性クロマトグラフィーが使用された。また、MeIQx は SPE-中圧 LC 法により食品中から検出されており、これらの方法による検出限界は、魚 10g あるいは肉 3 g から 1 ng/g である (IARC 1993、NTP 2002)。

最近の報告では、肉類（牛肉、鶏肉、馬肉、羊肉、兔肉）をベースとした乳児食を凍結乾燥後、HCA 類をアセトン抽出し、イオン対液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-タンデム質量分析法 (LC-ESI-MS/MS) を使い、陽イオンモードで定量した結果、検出限界、定量限界は下表のとおりである。最適条件下において、検出限界値は 5 ng/g 以下、定量限界は 8 ng/g 以下 (PhIP 除く) である (Calbiani *et al.* 2007)。

凍結乾燥肉試料における HCA の検出および定量限界値

HCA	検出限界値 (ng/g)	定量限界値 (ng/g)
IQ	5.4	7.8
MeIQ	1.8	3.8
MeIQx	4.1	8.1
PhIP	12	26
A- α -C	3.7	7.4

(出典 ; Calbiani *et al.* 2007 *Food Additives & Contaminants* 24(8):833-841)

さらに、食物中の HCA を短時間かつ低 ppb レベルで、正確に再現性良く解析する新しい方法が開発され、Barcelo-Barrachina らが、高性能液体クロマトグラフィーであるエレクトロスプレータンデム質量分析 (UPLC-ESI-MS/MS) 法により肉サンプル中の 16 種類の HCA を 2 分以内で解析した。Acquity BEH C18 カラム (50mmx2.1mm i.d., 1.7 μ m particle size) を使用し、UPLC システムにはトリプル四重極 Waters Micromass Quattro PremierTM を連結した。このシステムにより、ピーク強度低下を招くことなく高速データを取得できた。測定には SRM (selected reaction monitoring) を使用した。0.06–0.23 pg 下の機器検出限界 (LOD) で、9.1% CV(n=6)以下の低濃度レベルで再現性も得られ、性能的には、三重四重極子型装置を使った従来の HPLC システムの 10 分の 1 の低量検出が可能となった (Barcelo-Barrachina *et al.* 2006、下表参照)。

HCA の検出限界と再現性

HCA	検出限界			相対標準偏差 (RSD%) (n=6)	
	標準 HCA (pg)	肉抽出物		中間濃度 0.3 µg/g	低濃度 0.02 µg/g
		(pg 注入)	(pg/pg 肉)		
DMIP	0.07	1.4	42	4.2	4.4
Glu-P-2	0.09	0.3	9	4.1	4.9
IQ	0.06	0.8	25	1.5	3.9
MeIQx	0.10	0.3	9	5.4	7.9
MeIQ	0.08	0.6	17	5.5	7.2
Glu-P-1	0.08	0.6	17	4.2	6.8
PhIP	0.08	0.5	15	5.7	6.5
7,8-DiMeIQx	0.06	1.1	34	6.0	6.5
4,8-DiMeIQx	0.09	0.8	24	5.7	7.6
Trp-P-2	0.23	0.9	28	6.1	9.1
Norharman	0.19	1.7	51	3.7	7.5
Harman	0.18	1.5	45	4.7	8.1
A-α-C	0.11	0.8	23	4.1	5.6
MeA-α-C	0.17	0.5	14	2.5	3.8

(出典 : Barcelo-Barrachina *et al.* 2006 *Journal of Chromatography*, A. 1125(2):195-203)

7. 現行規制等

該当データなし

II. 食品中での生成要因

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

温度、調理時間、酸度などが影響し、高温で長時間の調理であるほど多く形成される (Knize *et al.* 1994, 1995、Skog *et al.* 1995、次表参照)。直接に高効率で熱伝達する調理法 (フライ、グリル) が、間接的熱伝達調理法 (煮る、蒸す) より多く形成する (Layton *et al.* 1995)。

ビーフパテ（脂肪分 15%）のフライ中に検出される MeIQx と PhIP 量

調理温度 (°C)	調理時間 (分)	MeIQx (ng/g)	PhIP (ng/g)
150	2	nd	nd
	4	nd	nd
	6	0.2+/-0.2	0.25+/-0.1
	10	0.6+/-0.5	1.8+/-0.7
190	2	0.1+/-0.1	nd
	4	0.25+/-0.1	0.15+/-0.1
	6	1.3+/-0.3	1.9+/-0.2
	10	1.3+/-1.1	9.8+/-2.2
230	2	0.7+/-0.4	1.3+/-0.7
	4	0.4+/-0.1	1.3+/-0.1
	6	5.6+/-3.2	7.8+/-4.7
	10	7.3+/-2.7	32+/-10

nd=検出されず

(出典 : Knize *et al.* 1994 *Food Chem Toxicol* 32:595-603)

豚肉フライの調理温度と MeIQx 量(ng/g)

調理温度	ポークチョップのフライ	ソーセージパティのフライ
70°C (ジャストアンティルダン)	検出されず	検出されず
80°C(ウェルダン)	1.3	1.6
90°C(ベリーウェルダン/クリスプ)	3.8	5.4

(出典 : Sinha *et al.* 1998 *Food Chem Toxicol* 36:289-297)

乾燥ないしは水分存在下で、食肉香料を原料として、加熱によって生成される HCA を調べた実験では、結乾燥食肉抽出物香辛料を、100~200 °C で 10 分~2 時間加熱し、また同様に、その抽出物の水けん濁液を 175 °C で、1、2、3 時間加熱した。別実験として、HCA 前駆体（クレアチン、ブドウ糖、グリシン、アラニン、フェニルアラニン）を食肉抽出物に加え、オープン上では 200 °C で 30 分間（乾燥条件）、水けん濁中では 175 °C で 2 時間（湿潤条件）加熱した。全実験において生じた HCA を、HPLC で分離し、MS/MS で解析した結果、全ての実験条件下で、HCA の生成がみられ、その中でも、PhIP が最高濃度で検出された（例えば、200°C で 30 分加熱の条件では、173 ng/g）。HCA の数と量は、温度と時間が増加するに従って増加した。クレアチンやアミノ酸を、食肉抽出物香辛料に加えると、IQ や MeIQx 量の増加が観察された。HCA として、乾燥条件下では、DMIP、MeIQx、4,8-Di MeIQx、7,8-Di MeIQx、MeA- α -C、PhIP が、湿潤条件下では、DMIP、4,8-Di MeIQx、7,8-Di MeIQx、PhIP が検出された(Bordas *et al.* 2004)。

調理に使用した食用油の種類や、酢などの調味料によっても、MeIQx 形成は影響をうけることが報告されている。牛挽肉、ハンバーガーパテ、フライ（揚げ油に、セイヨウアブラナシードオイル、マーガリン、液体マーガリン、バター、サンフラワーシードオイル）、200 °C で調理した場合、セイヨウアブラナシードオイルで揚げた場合が、MeIQx 量が最高量（1.6ng/g）検出され、他の油の場合は、1.0~1.2 ng/g。鍋の肉汁は、液体マ

ーガリンで最高量 (4.3 ng/g) 検出され、サンフラワーシードオイルで最低量 (2.1 ng/g) 検出された。PhIP は、調理された肉からは、0.5~1.5 ng/g、肉汁からは 2.0~13.3 ng/g 検出された。165 °Cで調理した場合、200 °Cで調理したものよりも HCA 検出量が低かった。MeIQ は、検出されなかった (Johannsson *et al.* 1995)

鶏胸肉、牛肉をグリルあるいはバーベキュー調理 (10 分、15 分) するとき、肉をマリネード漬けにすると、PhIP 生成量は減少し、MeIQx にも影響する。10、20、30、40 分グリルで焼いた鶏胸肉をブラウンシュガー、オリーブオイル、リンゴ酢ビネガーと各種スパイス中に漬けることにより、PhIP 量が 92~99%減少した (Salmon, 1997)。逆に MeIQx 量は、30、40 分調理された肉では、マリネード漬けにより 10 倍に増加した。10、15 分調理した牛肉のステーキの場合、照り焼きソースで漬けたものでは PhIP レベルはそれぞれ 45%、67%減少し、MeIQx も 44%、60%減少した (Nerurkar *et al.* 1999)。逆に、市販のハニーバーベキューソースで漬けたものは、PhIP 量はそれぞれ 2.9 倍、1.9 倍増加し、MeIQx も 4 倍、2、9 倍の増加を示した (Salmon *et al.* 1997、Nerurkar *et al.* 1999)。

牛肉における HCA (HCA) 生成を時間と温度の関数としてカイネティックモデルを利用し、時間、温度、ブドウ糖およびクレアチン含量の影響を評価する実験において、Ahn らは、牛挽肉 5g を試験管に入れ、異なる温度 (160 °C、180 °C、200 °C、220 °C)、異なる時間 (5 分、10 分、15 分、20 分) で加熱し、SPE により HCA を抽出、HPLC により同定・定量、HCA の前駆体といわれるグルコース、クレアチンの含量を、それぞれソモギ法、 α -ナフトールジアセチル法で測定した。160°C、15 分以下の加熱では HCA は検出されず、時間と温度の増加に伴い HCA 生成は増加、グルコース、クレアチン含量は減少し、クレアチン損失との相関係数は、IQ ; 0.81、MeIQ ; 0.74、MeIQx ; 0.93、PhIP ; 0.87 であった (Ahn *et al.* 2005a)。さらに、天然抽出物の、牛肉加熱調理時の HCA (HCA) 生成に対する抑制効果を調査する目的で、天然抽出物 (ブドウ種子抽出物、マツ樹皮抽出物、ローズマリー精油) を牛挽肉に対し 0.5%あるいは 1%添加し、牛挽肉を 200 °Cで 20 分間過熱、牛挽肉パテを 210 °Cで両面を 10 分ずつ加熱した結果、HCA の生成量は天然抽出物添加により抑制された (Ahn *et al.* 2005b、次表参照)。

天然抽出物添加による、牛挽肉・牛挽肉パテ加熱時の HCA 生成の抑制効果

HCA	天然抽出物添加無しでの生成量 (ng/g)	天然抽出物添加による抑制効果
牛挽肉		
MeIQx	22.7	MeIQx 生成量は 60%以上減少
PhIP	12.1	PhIP 生成量は 53~63%減少)
IQ	3.2	データなし
MeIQ	2.0	データなし
牛挽肉パテ		
MeIQx	6.4	23~64%減少
PhIP	9.1	データなし
IQ	0.6	データなし
MeIQ	1.2	データなし

(出典 : Ahn *et al.* 2005b *Journal of Food Science* 70(4): C263-C268)

さらに、Busquets らは、異なった抗酸化物質量の赤ワインに漬けることにより、フライドチキンの HCA の生成にどのような影響を及ぼすのかを調べるため、鶏胸肉 (6 X 7 cm、厚さ 1cm、重さ 46g) を 3 種類の赤ワインにそれぞれ漬け、フライパンで油を使わずに 220 °C で片面 5 分ずつ焼いた。焼いて堅くなった表面を切り取り、凍結乾燥し、このサンプルより HCA を抽出し、LC-MS/MS により解析した。マリネに使用した 3 種類の赤ワイン A、B、C は、その抗酸化活性と総フェノール類含量を分光光度定量で測定し、フリーアミノ酸はイオン交換クロマトグラフィーで解析、また、ワイン中の金属は ICP-MS と ICP-OES で解析した。赤ワイン中の総フェノール類 (gallic acid 相当) は、A:2660 mg/l、B:3480 mg/l、C:4410 mg/l、赤ワイン中の抗酸化能力 (Trolox 相当) は、A:35 mM、B:42 mM、C:47 mM、赤ワイン中のフリーアミノ酸濃度は、3 種類の赤ワインともプロリンが ~7 - 16 mM で最多、赤ワイン中の金属、硫黄、ホウ素の濃度は、3 種類ともほとんど差はなかったが、Cu 濃度 A:0.5 mg/l、B:0.01 mg/l、C:0.02 mg/l で銅のみ 20 から 50 倍の差があった。赤ワインに漬けずに焼いた時の鶏胸肉中の HCA の種類と濃度は、PhIP:72 ± 9 ng/g、MeIQx:2.3 ± 0.3 ng/g (ただし、クロマトグラフィックのピークの非ガウスフォームのため、MeIQx については精密ではない)、4,8-DiMeIQx:2.3 ± 0.03 ng/g、norharman:19 ± 2 ng/g、harman:6.4 ± 0.2 ng/g で、赤ワインマリネによる HCA 生成への影響は、PhIP の場合マリネにより著しく減少し、特にワイン B に 24 時間漬けると 88% 減少し、MeIQx の場合ワイン B と C に短時間漬けると増加した。4,8-DiMeIQx、Norharman の場合ワイン A に漬けると減少。ワイン C に漬けると増加し、Harman の場合はマリネにより増加した。鶏肉製品中に最も多い HCA である PhIP (Skog *et al.* 2002) を、マリネすることにより減少させた。フライドチキン中の PhIP を減少させた研究は他にもある (Salmon *et al.* 1997, 2006)。また、ワイン中のポリフェノールと他の抗酸化物質が PhIP の生成にかかわっているとみられている (Weisburger *et al.* 1994, Apostolides *et al.* 1996, Zöchling *et al.* 2002, Oguri *et al.* 1998)。アミノ酸のプロリンとトリプトファンが HCA の前駆物質とクレアチンの反応に競合するという報告

(Jones *et al.* 1988) より、PhIP 生成の減少は、いくつかのアミノ酸の存在も影響していると思われる。また、抗酸化物質の量が最も高いワインに短時間漬けた時に、MeIQx の増大が最も高く起こり、マリネの時間が長くなるにつれて減少したのは、ワイン中の他の成分が増大の影響を弱めているものと考えられる (Busquets *et al.* 2006)。

魚肉の部位別の HCA 生成を調べた実験では、サバの、切り身、普通筋、血合筋、皮膚の 4 種類を、フライパン加熱 (180 °C) で、ミディアム (13.5 分)、ウェルダン (23 分)、ベリーウェルダン (38 分) の 3 段階で調理、凍結乾燥し、HCA をジクロロメタンで抽出し、HPLC で測定した。切り身では調理の度合いが進むほど MeIQx と PhIP の含量が増加し、MeIQx は 0.2–5.8 ng/g、PhIP は 1.6–12.8 ng/g 検出した。MeIQx、PhIP の生成量は普通筋で最大、血合筋で最小であり、PhIP の生成量は普通筋 (ウェルダン; 2.2 ng/g、ベリーウェルダン、5.3 ng/g)、皮膚 (ウェルダン、2.7 ng/g、ベリーウェルダン、4.2 ng/g) で高水準を示した (Gu *et al.* 2002)。

2. 参考

牛肉を高温の油で揚げ、その際に発生する煙を、凝縮器、フィルター、吸着管 (ポリウレタンフォームと XAD-4 樹脂を内蔵) から成る装置を使って集めた。MeIQx は、コンデンサー中から 0.971 ng/g 揚げた肉、および肉から 16.4 ng/g 揚げた肉が検出された。(Thiebaud, Herve P. *et al.*, 1994)

Ⅲ. 代謝 (体内運命)

1. 吸収

ヒト、実験動物において、胃腸管系から吸収される (Davis *et al.* 1996)。

2. 分布・蓄積

急速に多数の組織中に分布し、マウスにおいては、[2-¹⁴C]-MeIQx は、6 時間後、投与量の 20~25% が尿中に検出された。放射性標識は、胃、小腸、大腸、血液、肝臓、脾臓、肺、腎臓に検出された (Alldrick & Rowland, 1988)。

Sprague-Dawley ラットに、[2-¹⁴C]-MeIQx を 0.01、0.2、あるいは 20 mg/kg 体重当たり、経管栄養で摂取させると、少量の放射性物質が肝臓と腎臓に 72 時間後に検出された。高用量投与の場合、排泄は、スルファミン酸の形で起こったが、低用量投与では、

グルクロン酸抱合が主要な代謝経路だった。チトクローム P450 酵素を誘導すると、グルクロン酸や硫酸抱合体のレベルが上がり、スルファミン酸のレベルは下がった (Turesky *et al.* 1991)。

胎盤組織を通過して、胎児の肝臓組織に到達し、活性化されることが示され、胎児の CYP3A7 と多型 NAT2 が突然変異活性に必要ということが示唆された (Hashimoto *et al.* 1995)。

3. 代謝

代謝経路には、Phase I (活性化) と Phase II (抱合) 段階がある。Phase I 活性化経路は肝臓におけるチトクローム P-450 酵素 CYP1A2 による *N*-ヒドロキシ化である。続いて、肝臓や他の組織で Phase II 酵素による反応 (*N*-アセチル基転移酵素、NAT2 により *O*-アセチル化など) が起こり、DNA 結合能を有するアリルニトレンウム (arylnitrenium) イオン形成に至る。結果としてアリアルアミン-DNA 付加体が形成され、これが突然変異性や発がん性に寄与する可能性がある。これらの代謝酵素の活性は、一般集団においては多様で、遺伝子多型により決定されると考えられ (Sinha and Potter, 1997)、迅速型アセチレーター (高効率の *N*-アセチル基転移酵素を産生する) の方が、低速型アセチレーターより、発がんリスクが高い可能性がある (Ishibe *et al.* 2002)。グアニン (G:C→T:A 転換) を含む突然変異ががん原遺伝子で検出されている。PhIP、MeIQ、MeIQx のグアニン塩基への付加体の優性型は、C8 位置への付加体である (Lin *et al.* 1992, Tada *et al.* 1994, Fukutome *et al.* 1994, Ghoshal *et al.* 1995)。

F344 ラットに IQ (0.03%)、MeIQx (0.04%)、Trp-P-1 (0.015%)、Glu-P-1 (0.05%) を発がん性のある容量で 4 週間使用投与し、肝臓および心臓を ³²P ポストラベル分析で DNA 付加体を解析したところ、いずれの HCA 処理群でも心臓における DNA 付加体が認められた。心臓では肝臓での付加体の 10-20% の値だった (Overik, Eva *et al.* 1991)。

MeIQx 摂取後、主に *N*3-脱メチル、C8-ヒドロキシメチル、*N*-アセチル誘導体が検出されることがわかっている (Hayatsu *et al.* 1987)。分離されたラット肝細胞では、MeIQx は、10 種の代謝物に変換され、それらは、*N*-ヒドロキシ、4-、あるいは 5-ヒドロキシ、8-ヒドロキシメチル、*N*3-脱メチル 誘導体、スルファミン酸、グルクロニド誘導体を含む (Wallin *et al.* 1989)。

ヒト肝臓ミクロソームにより、uridine 5'-diphosphoglucuronic acid (UDPGA) 依存的な *N*-OH-IQ、*N*-OH-PhIP、*N*-OH-Glu-P-1、*N*-OH-MeIQx のグルクロン酸化が *N*-OH-AMP

に比べて 59%、42%、35%、27%の割合で触媒された。またラット肝臓マイクロソームにより N-OH-PhIP、N-OH-Glu-P-1、N-OH-IQ の UDPGA 依存的グルクロン酸化が触媒され、その効率は(N-OH -DMABP)に対してそれぞれ 30%、20%、10%であった (Kaderlik K R *et al.*, 1994)。

N-ヒドロキシ-PhIP は、ラット肝臓マイクロソームで、PhIP へと逆変換し、MeIQx でも同様の反応が検出されている。解毒代謝は、マイクロソーム中の NADH 依存性還元酵素により、N-ヒドロキシ-アリールアミン (hydroxy arylamine) が迅速にもとの物質に変換されるメカニズムである。この能力は、突然変異性代謝物形成に対する保護システムとなりうる (King *et al.* 1999)。

4. 排泄

動物では、HCA とその代謝物は、尿、糞、胆汁、母乳中に排出される (Snyderwine *et al.* 1993, 1994, 1995)。マウスでは、6 時間後すでに、投与量の 20~25%が尿中に検出された (Alldrick & Rowland, 1988)。72 時間で、ラット、サルでは、個体差があったが、尿、糞中にほとんど排泄された (Turesky *et al.* 1991b, Snyderwine *et al.* 1995)。

5. 毒性発現メカニズム

CYP1A2 酵素により N-ヒドロキシル化により活性化され、N-アセチル基転移酵素、NAT2 により O-アセチル化が起こり、結果としてアリールアミン-DNA 付加体が形成され、これが突然変異性や発がん性に寄与する可能性がある。これらの代謝酵素の活性は、一般集団においては多様で、遺伝子多型により決定されると考えられ (Sinha and Potter, 1997)、結腸直腸腺腫の例から、迅速型アセチレーター (高効率の N-アセチル基転移酵素を産生する) 型の方が、低速型アセチレーターより、発がんリスクが高い可能性がある (Ishibe *et al.* 2002)。グアニンを含む突然変異 (G:C→T:A 転換) ががん原遺伝子で検出されている。

MeIQx は、サル (*cynomolgus monkey*)においては肝がんの発がん性はなく、恒常的 CYP1A2 (あるいは CYP1A1)の発現がないことと、次の MeIQx の変換が N-ヒドロキシルアミンであるためと推察された (Ogawa *et al.* 1999)。

ヒトの肝細胞における MeIQx の代謝経路はその濃度に依存しており、50 μM では MeIQx-N2-SO₃-が主代謝物である。1 μM (ヒトの暴露レベル) では、CYP1A2 酸化産物である、IQx-8-COOH が主代謝物 (in vitro でヒト肝細胞に添加された MeIQx の最初の量の 41%に相当する) である。ヒトでは、CYP1A2 が、代謝活性化と解毒化の両方に関

与していると結論された (Langouët *et al.* 2001)。

哺乳類細胞質酵素である、*N*-アセチル基転移酵素、硫酸基転移酵素、プロリル tRNA あるいは加リン酸分解酵素が HCA の Phase II 活性化に関与する。*N*-ヒドロキシ代謝物は、それ自体生体内では DNA との反応性は高くないが、Phase II 反応系でエステル化されると反応性は高くなる (Boobis *et al.* 1996, Dubuisson *et al.* 1998, Schut *et al.* 1999)。

最近の代謝経路が関与する毒性発現メカニズム試験データには次の例がある。PhIP、BZ、ABP、IQ、MeIQx の DNA 結合誘導体、PhIP、BZ、ABP、IQ、MeIQx のラクトペルオキシダーゼ触媒による酸化活性を測定し、活性化した代謝物質の DNA 結合レベルを推定したところ、試験対象の発がん物質すべてが、子牛胸腺 DNA と H₂O₂ 存在下で牛 LPO により、DNA 結合誘導体に活性化した。DNA 結合レベルは、H₂O₂ 濃度依存性を示し、HCA では、DNA 結合レベルは、IQ が最高、PhIP が最低であった (Gorlewska-Roberts *et al.* 2004)。

ヒト由来の前立腺上皮細胞を、3 種類の遺伝子型 (サブタイプを入れると 6 種類) に分類し、その各々の HCA に対する代謝能を検討した実験では、ヒト前立腺上皮細胞 (17 歳および 42 歳の健常者の細胞、それぞれを、HE17、HE42 と記す) を使い、チトクローム P4501A2 (CYP1A2) による *N*2-ヒドロキシ化、アリルアミン *N*-アセチルトランスフェラーゼ (NAT1、NAT2) による *O*-アセチル化、グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ (GSTM1、GSTP1、GSTT1) による解毒化について、それぞれの遺伝子型と活性を測定した。変異原性は、前立腺上皮細胞を V79 細胞と共培養し、6-チオ-グアニン抵抗性を検定した。両細胞共に、CYP1A2 活性を有し、GST も発現しており、HE17 は遅延型 NAT1 および中間型 NAT2 を発現していたが、HE42 は NAT1 (迅速型アセチレーター) および NAT2 (中間型アセチレーター) を発現していた。両細胞とも、NAT1 活性は同程度 (それぞれ 2.9、3.6 nmol/mg protein/min) で、NAT2 活性はなかった。両細胞とも、変異原前駆物質を代謝したが、その代謝能には差があった。すなわち、HE42 は HE17 に比べて、より効率的に HCA を変異原性物質に変換した。HE42 の方が、Glu-P-2 では 2.3 倍、MeIQx では 1.6 倍、PhIP では 7.3 倍、高い変換効率を示した (Lawson *et al.* 2002)。

AA8 細胞株由来のヌクレオチド除去修復欠損 UV5/CHO 細胞は、ヒトチトクローム P4501A1 (CYP1A1) と単一コピーの NAT2*4 型 (迅速型アセチレーター) あるいは NAT2*5B 型 (低速型アセチレーター) 対立遺伝子部位を形質移入して安定発現させた細胞である。この細胞を、0.0-3.0 μM の MeIQx あるいはネガティブコントロールとして 0.5% DMSO で処理して、ヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ (*hprt*) 突然変異と細胞毒性を測定した。形質移入しない CHO 細胞では CYP1A1 と NAT2 活性は検

出できなかった。CYP1A1 形質移入細胞間では、CYP1A1 活性に有意差はなかった。NAT2*4 型で形質移入された細胞では、NAT2*5B 型形質移入した細胞よりも、スルファメチアジン *N*-アセチル基転移酵素活性は 20 倍高く、*N*-ヒドロキシ MeIQxO-アセチル基転移酵素活性は 6 倍高かった。CYP1A1 と NAT2*4 型の両方で形質移入された細胞のみ、MeIQx 処理後、濃度依存性の *hprt* 突然変異と細胞毒性を示した (Bendaly *et al.* 2007)

F344 ラット (雄、6 週齢) に肝臓がんを発現させるジメチルニトロソアミン (DEN) を 200 mg/kg 体重当たりの用量で腹腔内に単回投与し、2 週間後に MeIQx (飼料中 300 ppm) の有無で、ハルマン (飼料中 500 ppm)、ノルハルマン (飼料中 500 ppm)、あるいは NaNO₂ (飲料水中 0.1%) の投与を開始し、6 週間処理した。MeIQx 誘導性グルタチオン *S*-転移酵素胎盤様陽性 (GST-ポジティブ) の病巣、2 種の HCA、ハルマン、ノルハルマン、NaNO₂ の、MeIQx 誘導性ラット肝臓発がんに対する影響を調べた。肝臓中の MeIQx 誘導性グルタチオン *S*-転移酵素胎盤様陽性の病巣は、ハルマン、ノルハルマン投与のケースにおいて有意差のある減少を示したが、NaNO₂ で有意差のある増加を示した。これらの化学物質のいずれも、MeIQx 無しでの DEN 肝臓発がんを修飾しなかった。ハルマン、ノルハルマンのいずれも、MeIQx 投与との相関性を示さず、CYP1A1 と 1A2 の mRNA 発現に影響しなかったが、NaNO₂ は MeIQx と共に CYP1A1 の mRNA レベルの有意な上昇を誘導した (Sugiura *et al.* 2005)。

MeIQx のニトロソ化合物、一酸化窒素仲介による MeIQx のニトロソ化と食物性成分 (ヘミン) と炎症性成分 (NO、ミエロペルオキシダーゼ [=MPO]、H₂O₂) のニトロソ化に対する影響を調べた。¹⁴C -MeIQx (0.005 mM) を、0-0.05 mM の SpN、0.1 mM DETAPAC、0-30 μM ヘミンあるいは 85 nM の MPO を混合し、全体積を 0.1 mL に調整し、37 °C で 60 分反応させる。H₂O₂ は、1 mM グルコースと 0~15 mU/mL グルコースオキシダーゼで生体内システム (*in situ*) で生成し、反応は SpN 添加で開始した。H₂O₂ (グルコースオキシダーゼ/グルコース) *in situ* 生成システムにおける、産物生成は、10 μM ヘミン存在下では 13 倍、85 nM の MPO 存在下では 16 倍増加した。ニトロソ化産物は、*N*-NO-MeIQx と決定した。NO 自動酸化によるニトロソ化は、≥1.2 μM NO/min でのみ検出され、H₂O₂ に影響されなかった。増強に必要な効果的成分の最小値は、1 μM ヘミン、1 μM の H₂O₂/min、0.012 μM の NO/min であった。ヘミンと MPO により生産される反応性酸化窒素種 (RNOS) は、NO 自動酸化により生成される場合よりも、それぞれ 4 倍、3 倍の MeIQx に対する親和性を示し、ニトロソ化の増強は、RNOS の MeIQx に対する親和性の強化によると結論された (Lakshmi *et al.* 2005)。

PhIP 投与による CYP1A の発現解析の報告では、6 週齢 F344 雄ラットに肝切除術 (PH) を施し、12 時間後に PhIP (200 mg/kg) と MeIQx (25 mg/kg) の単独または混合投与を行った。PH から 30 時間後の GST-P 陽性肝細胞増殖巣の数は、MeIQx、IQ、Trip-P-1、Glu-P-1 (各々

50 mg/kg)を投与した時に有意に増加した。低濃度の PhIP(50、100 mg/kg)と Glu-P-2(50 mg/kg)では増加は見られなかったが、それぞれ 200、100 mg/kg では増加を示し、また、肝臓より抽出した RNA を用いた CYP1A の発現解析では、PhIP が MeIQx よりも過剰に CYP1A1 を誘導し、HCA の活性と解毒の両方に影響を及ぼした。複数の HCA の混合暴露は、通常の状態では必ずしも発がん性リスクの増加につながらなかった。(Hirata *et al.* 2008)。

タイプ A およびタイプ B のモノアミンオキシダーゼ (MAO)、チロシンヒドロキシダーゼ (TH)、トリプトファンヒドロキシラーゼ (TRH) 活性の阻害が確認された。HCA はタイプ B MAO よりもタイプ A MAO をより強く阻害した (下表参照)。(Maruyama, W *et al.* 1994)

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 K_i

化合物	MAO-A	MAO-B
	$K_i(\mu\text{M})$	$K_i(\mu\text{M})$
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K_m for kynuramine (μM)	46.4	80.4
V_{max} for kinuramine	0.81	3.52

*: キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

ヒトチトクローム P4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 とヒト NADPH-P450 還元酵素と細菌 O-アセチルトランスフェラーゼを発現している *umu* 試験のサルモネラ菌株を作製し、HCA の代謝活性化が測定された。ヒトチトクローム P4501A2 を発現させた菌株で Trp-P-1、Trp-P-2、PhIP、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2 が高い代謝活性を示した。(Yoshimitsu, Oda *et al.* 2001)

HCA を発がん性物質に活性化するヒト酵素、CYP1A2、NADPH シトクローム P450 酸化還元酵素、NAT2 を発現する酵母株を作製し、異なる濃度の HCA を 4 時間暴露し、組み換え体を検出して、遺伝子変換、染色体転座、内在 URA3 の正変異 (forward mutation) を観察した。MeIQx では、NAT2 存在下でのみ、遺伝子変換約 10 倍、転座頻度約 6 倍

の増加がみられた。また、URA3 変異頻度は、IQ で 15 倍、MeIQx で 9 倍、Glu-P-1 で 4.5 倍の増加がみられた。(Paladino, Giuseppe *et al*, 1999)

IV. 疫学調査（ヒトへの影響）

1. 急性毒性

該当データなし

2. 慢性毒性

該当データなし

3. 発がん性

結腸腺腫(Sinha *et al.* 2001)、肺がん (Sinha *et al.* 2000b) のリスクを高めた。膀胱、腎臓がんとの相関性はなかった (Augustsson *et al.* 1999)。乳がんについては、2 件の試験 (De Stefani *et al.* 1997、Sinha *et al.* 2000a) でリスク上昇が、1 件の試験でリスクの低下 (Delfino *et al.* 2000) が報告されており、相関性は結論できない。

各種がんを対象とした疫学調査の報告を次表にまとめた。

各種がんを対象とした疫学調査の報告

がん	対象	結果	出典
悪性腫瘍 良性腫瘍	悪性腫瘍患者 114 人と良性腫瘍患者 280 人、合計 394 人 (>39 才)	米国カリフォルニアでの症例対照研究。主な栄養摂取の>90%を占める食品 112 種について調査。肉の 1 日当たりの摂取量に対するリスクを調査。PhIP は、>240ng/日で、0.4 (0.2-0.9)、MeIQx は、>2.5ng/日で、0.5 (0.3-1.1)。	Delfino <i>et al.</i> 2000
乳がん	患者 273 人、コントロール 657 人	米国における症例対照研究。PhIP 摂取量と乳がんリスクについては、摂取量の最高五分位数において 2 倍ほどのリスクが示された (OR=1.7、95%CI=1.1-2.8)。MeIQx 暴露に対するリスクも摂取量に相関して増加するが、その OR 幅は狭い (OR=1.2)。	Sinha <i>et al.</i> 2000a
肺がん	患者 593 人、喫煙者と非喫煙者のコントロール 623 人	MeIQx の摂取量は、肺がんのリスクと相関しており、摂取量に応じて肺がんのリスクも上昇した (P=0.006)。PhIP の摂取量に対するリスクの変化はなかった。喫煙とがん細胞タイプの相関性を調査したが、MeIQx の発がんリスクと喫煙には、相関性はなかった (OR=1.0、95%CI=0.7-1.5) が、非喫煙者ではリスクが高かった (OR=3.6、95%CI=1.3-10.4)。扁平上皮がん発生リスクは、腺がんや小細胞がんより高かった。1 日当たりの平均摂取量は、MeIQx が 64.0ng、PhIP が 137.5ng。MeIQx は、肉のフライ、あるいはウェルダンで観察されたリスクを一部説明するかもしれないが、過剰なリスクは MeIQx に関連するがまだ同定されていない熱分解の副産物によるものではないかと推測している。	Sinha <i>et al.</i> 2000b
結腸直腸 腺がん	患者 146 人、コントロール 228 人	米国 MeIQx や PhIP の高量 (つまり第 5 位の五分位数) 摂取は、発がんリスクを 2~2.5 倍高めた。突然変異活性は腺がんのリスクを 3 倍高めた。MeIQx には、統計的に重要な摂取量とリスクの相関性が示された。1 日平均摂取量は、MeIQx が 32.7ng、PhIP が 109.7ng。	Sinha <i>et al.</i> 2001
前立腺がん	患者 317 人、コントロール 480 人	ニュージーランドでの集団症例対照研究。MeIQx、PhIP は、前立腺がんのリスクとの相関性を示さなかった。	Norrish <i>et al.</i> 1999
食道と胃 噴門の腺 がん	スウェーデン、1995 年から 1997 年にかけてスウェーデン在住の 80 歳以下の、食道腺がん症例 185 名、胃噴門腺がん症例 258 名、食道扁平上皮がん症例 165 名とコントロール 815 名	食道と胃噴門の腺がんと食道の扁平上皮がんのリスク要因を集団ベース症例対照研究により調査した。MeIQx、DiMeIQx、PhIP 摂取の最高五分位点において、最低と比較して、食道扁平上皮がんのリスクの 50-70%上昇がみられ、これは統計学的有意差ではなかった。用量とリスクの相関傾向は明白で、3 種の HCA すべての最高摂取者のオッズ比は 2.4 (95%CI、1.2-4.8、最低摂取者に比較して) であった。これに対し、食道あるいは胃噴門腺がんのリスクとは相関性を示さなかった。	Terry <i>et al.</i> 2003

がん	対象	結果	出典
結腸直腸腺腫	米国複数地域で参加者 75,000 人以上を対象に、1993 年 9 月～2001 年 7 月の間に S 状結腸鏡検査により、年齢 55～74 歳の男女 57,569 名をスクリーンし、さらに対象を絞り、最終的に、下行結腸、S 状結腸、直腸に病理学的に腺腫が判定された 3,696 名の症例と、34,817 名の対照について分析	肉、加工肉、HCA、PAH ベンゾ (a) ピレンと結腸直腸腺腫のリスク。一般的な調理法と調理程度の赤肉摂取は、下行結腸、S 状結腸の腺腫のリスク上昇と相関していた (最高五分位点を比較して、オッズ比 OR、1.26 ; 95%CI、1.05-1.50) が、直腸腺腫とは相関性がなかった。ウェルダンの赤肉は、結腸直腸腺腫のリスク上昇と相関していた (OR,1.21 ; 95%CI、1.06-1.37)。下行結腸と S 状結腸の腺腫のリスク上昇が、HCA2 種 (MeIQx と PhIP) (それぞれ OR,1.18 ; 95%CI、1.01-1.38 と OR、1.17 ; 95%CI、1.01-1.35)、さらにベンゾ (a) ピレン (OR、1.18 ; 95%CI、1.00-1.30) と相関していた。結論として、赤肉と高温調理の肉の摂取が結腸直腸腺腫のリスク上昇と相関していた。	Sinha <i>et al.</i> 2005
前立腺・肺・結腸直腸・卵巣 (PLCO) がん	複数サイトの試験において、1993～2001 年の間に、男性 (55～74 歳) をスクリーン、フォローアップし、1,338 名を前立腺がん症例として確認し。うち 868 名は偶発的症例 (フォローアップ最初の年に診断された)、520 名が進行型症例 (段階 III あるいは IV あるいは ≥ 7 の Gleason スコア)	肉の摂食、特に、MeIQx、DiMeIQx、PhIP が前立腺がんのリスク上昇と相関性があるかどうかを症例対照研究で調べる。赤肉、白肉の摂取は、前立腺がんリスクと相関性がなかった。ウェルダン肉の 10g/日以上以上の摂取が、前立腺がんのリスク 1.4 倍上昇 [95%CI、1.05-1.92]とさらに 1.7 倍のリスク上昇[95%CI、1.19-2.40] と相関性を示した。MeIQx、DiMeIQx と相関性はなかったが、PhIP の最高五分位点は、前立腺がんリスク 1.2 倍上昇 (95%CI、1.01-1.48) と、さらに 1.3 倍上昇 (95%CI、1.01-1.61) と相関性を示した。結論として、ウェルダン肉は、前立腺がんリスク上昇と正の相関性を示し、PhIP が前立腺発がん物質である可能性が示された。	Cross <i>et al.</i> 2005
非ホジキンリンパ腫	NCI スポンサーの疫学調査と最終結果 (SEER) 登録の対象であり、1998 年 7 月から 2000 年 6 月までに NHL と診断された居住者を同定した米国 4 か所、アイオワ、デトロイト、シアトル、ロスアンゼルスから参加者を動員。458 名の NHL 症例と 383 名の対照	肉、肉の調理法、肉由来の HCA あるいは PAH が非ホジキンリンパ腫 (NHL) 発症リスクとの相関性を集団ベースの症例対照研究を実施。第 4 四分位置を第 1 四分位置に比較したロジスティック回帰分析では、赤肉あるいは加工肉摂取と NHL リスク間に相関性はなかった[それぞれ、オッズ比(OR)と 95%CI : 1.10 (0.67-1.81)、1.18 (0.74-1.89)]。上火直火焼き (broiled) の肉が NHL リスクと有意な相関性を示した[OR&95%CI=1.32 (0.99-1.77) ; P=0.09]。肉の調理程度は NHL リスクと相関性がなかった。HCA 中では DiMeIQx が NHL リスクと逆の相関性を示した。高脂肪摂取は NHL 高リスクと相関性を示した[OR&95%CI=1.60 (1.05-2.45) ; P=0.12]。	Cross <i>et al.</i> 2006
結腸直腸がん	ウルソデオキシコール酸 (UDCA) 試験由来の参加者のサブセットにおいて分析。UDCA 試験は、二重盲検対照試験で、大腸内視鏡検査で腺腫を除去した個人間 (1996～2000 年ランダム) の腺腫再発についてプラセボ対 UDCA の影響を比較した。	肉の種類、調理法、調理程度、HCA や Bap と結腸直腸がん再発の間係を調べる。進行あるいは多発性腺腫は、肉暴露数と強く相関しており、進行病巣再発については、フライパンで調理した赤肉やウェルダン/ベリーウェルダンの赤肉の最低量摂取に比較して最高量摂取者と強く相関していた (それぞれ OR=1.85 ; 95%CI=1.10-3.13、OR=1.71 ; 95%CI=1.02-2.86)。多発性腺腫の再発に対する有意な正の相関性は、次の変数にみられた : 加工肉 (OR=1.83 ; 95%CI=1.10-3.04)、フライパン調理の赤肉 (OR=1.63 ; 95%CI=1.01-2.61)、ウェルダン/ベリーウェルダンの赤肉 (OR=1.68 ; 95%CI=1.03-2.74)、DiMeIQx (OR=1.74 ; 95%CI=1.07-2.82)、MeIQx (OR=1.68 ; 95%CI=1.03-2.75)。	Martinez <i>et al.</i> 2007

がん	対象	結果	出典
結腸直腸 腺腫	1994～1998年のリクルートメントで、 がんと栄養についてのヨーロッパ前 向き調査（EPIC）-ハイデルベルグ研 究の参加者 25,540 名。2007 年 6 月ま でに、516 名の発生検証済み結腸直腸 がんが同定され、大腸内視鏡検査ネガ ティブの参加者（n=3966）も含む。	HCA 摂取と結腸直腸腺腫発生率の相関性を前向きコホート研究により評価する。PhIP の 摂取は結腸直腸腺腫リスクを上昇させた（相対リスク：1.47；95%CI：1.13、1.93；四分 位数 4 を四分位数 1 に比較；p=0.002）が、MeIQx、DiMeIQx では統計学的に有意な相関 性はなかった。さらに、腺腫リスクは、極端に褐色化した肉の摂取に相関して上昇した。 最も明白なのは、PhIP と小規模腺腫の相関性で、腺腫の位置は遠位結腸であった。	Rohrmann <i>et al.</i> 2009
肺がん	National Institutes of Health (NIH)-AARP の食物と健康に関する研 究から、発がん歴のない男性 (n=278,380) と女性(n=189,596)	肉のタイプ、調理法、調理程度、肉由来の特定の突然変異誘発物質、ヘム鉄が肺がんと 相関性をもつかどうかを示す。五分位点第 5 を第 1 に比較して（Q5vsQ1）、赤肉の摂取 量と肺がんリスクは正の相関性を示した（男性 HRQ5vsQ1：1.22；95%CI：1.09、1.38； P=0.005、女性 HR Q5vsQ1：1.13；95%CI：0.97、1.32；P=0.05）。男性のみ、加工肉摂取 量と肺がんリスクが相関性を示した（HRQ5vsQ1：1.23、95%CI：1.10、1.37；P=0.003）。 三分位置第 3 を第 1 に比較すると、男性において、肺がんリスクは、ウェルダン/ベリー ウェルダンの肉の摂取（HRT3vsT1：1.20；95%：1.07、1.35；P=0.002）や MeIQx の摂取 （HR Q5vsQ1：1.20；95%：1.04、1.38；P=0.04）相関性を示した。ヘム鉄摂取は肺がん リスクの上昇と相関性を示した（男性 HR Q5vsQ1：1.25；95%：1.07、1.45；P=0.02、女 性 HR Q5vsQ1：1.18；95%：0.99、1.42；P=0.002）。	Tasevska <i>et al.</i> 2009

結腸がん、前立腺がん、乳がんと代謝酵素遺伝子多型の相関性を調べたデータには次の例がある。米国ノースカロライナ結腸がん研究の症例と対照を選択し、人種、年齢、性別により頻度を症例に合わせ (Weinberg *et al.* 1991)、1996年10月1日から2000年6月30日の間に浸潤性の結腸腺がんの診断を始めて受けた年齢40~80歳の対象者を選択。アフリカ系アメリカ人(症例197件と対照202件)と白人(症例203件と対照210件)。UDP-グルクロン酸転移酵素(UGT) 1A7対立遺伝子の多型が結腸がんに関連するかどうか、またUGT1A7遺伝子型が、肉摂取、HCAとポリサイクリック芳香族炭化水素(PAH)の暴露、結腸がん間の相関性を修飾するかどうかを集団ベースの症例対照研究で調査。UGT1A7低遺伝子型とHCA関連因子について、相加作用以上の影響がみられた。DiMeIQx毎日の摂取量が中間値以下のレベルとUGT1A7高/中間遺伝子型に比べて、中間値あるいはそれ以上の毎日の摂取量レベルとUGT1A7低遺伝子型が、結腸がんについて正の相関性を示した(OR, 2.4; 95%CI, 1.2-4.8)。調理された肉由来の化合物暴露と結腸がんの相関性が、UGT1A7遺伝子型により修飾されることが示された(Butler *et al.* 2005)。

同じく、ノースカロライナ州の結腸がん研究で、アフリカ系アメリカ人(症例215件と対照315件)と白人(症例290件と対照534件)(年齢は<65歳、≥65歳に区分)を対象に、肉由来のHCA摂取と結腸がんの相関性が、N-アセチル基転移酵素1(NAT1)と2(NAT2)の遺伝子型や人種によって修飾されるかどうかを調べる。結腸がんについては、NAT1の10番対非10番の相関性はなかった。白人間では、NAT2-“低速型”に比べて、NAT2-“迅速型/中間型”遺伝子型に正の相関性があった[オッズ比(OR)=1.4; 95%CI=1.0, 1.8]。HCA摂取と結腸がんの相関性は、人種に関係なく、NAT2ではなく、NAT1により修飾される。しかし、リスクの大きいNAT1遺伝子型は、人種により異なる。アフリカ系アメリカ人間では、PhIPとの正の相関性は、NAT1の10番型に限られていた(HCA最高摂取を最低摂取に比較して、OR=1.8; 95%CI=1.0, 3.3; 相互作用についてのP=0.02)。白人間では、MeIQxとの正の相関性が、NAT1の非10番遺伝子型に限られていた(OR=1.9; 95%CI=1.1, 3.1; 相互作用についてのP=0.03)(Butler *et al.* 2008)。

米国、症例152名、対照161名を対象に、前立腺がん(PCa)と消費する肉の種類、HCAの摂取、NAT(N-アセチル基転移酵素)遺伝子型との相関性を調べる。前立腺がんと第一血縁親戚の前立腺がん歴との間に相関性(OR=4.59、95%CI 2.21-9.70)がみられたが、他のがんの履歴とは相関性がない前立腺がんは、MeIQxと即時型NAT2と組み合わせ、そしてPhIPとNAT1*10遺伝子型組み合わせで、相関性を示す傾向がみられた(Rovito *et al.* 2005)。

乳がんについても同様の試みがなされ、NAT2とSULT(sulfotransferase、硫酸基転移

酵素)1A1 遺伝子の多型の役割を調査。NAT2 遺伝子における多型は *N*-アセチル基転移酵素活性を低下させた。標的組織におけるさらなる *O*-アセチル化が乳がんリスクを上げると仮定された。しかし、NAT2 多型評価試験のほとんどにおいて、急速アセチレーターである個人間では、PhIP、MeIQx、DiMeIQx に関しては、リスクの上昇はみられなかった (Delfino *et al.* 2000)。肉汁やベーコンなどの HCA 代替物 (Ambrosone *et al.* 1998) あるいは、焦げた肉 (Gertig *et al.* 1999)でも同様であった。

Iowa Women's Health コホート試験において、乳がんの高代謝酵素活性を有する女性患者においては、ウェルダンの肉の摂取によるリスクが高かった。NAT2 迅速型アセチレーターの、あるいは SULT1A1Arg/Arg 遺伝子型を有する閉経後の女性患者においては、低酵素活性を有する女性患者よりもリスクが高かった (Deitz *et al.* 2000、Zheng *et al.* 2001)。SULT1A1 は解毒作用 (スルホン酸結合) と生物活性反応の両方に関与し、Arg/Arg 遺伝子型は、His/His 型遺伝子型より、前発がん物質のより高い活性化と相関していると考えられている。

4. 次世代影響

該当データなし

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

該当データなし

2. 反復投与毒性試験

該当データなし

3. 生殖・発生毒性試験

該当データなし

4. 遺伝毒性試験

MeIQx は、原核生物 (*S. typhimurium*, *E. coli*) において復帰突然変異を、*D.melanogaster* において体細胞突然変異と組換えを誘発した。げっ歯類 (in vitro、in vivo) において DNA ダメージ、姉妹染色分体交換、不定期 DNA 合成 (DNA 修復反応)、小核形成、染色体異常 (染色体数と構造の変化)、突然変異性を示したが、ヒトに関するデータは十分ではない。たとえば、in vitro では、ラット、マウス、Syrian hamster の肝細胞におい

て不定期 DNA 合成を、Chinese hamster V79 細胞においては、遺伝子突然変異を誘発し、ヒトリンパ球において姉妹染色分体交換を誘導した。哺乳類 in vivo 試験では、マウスに DNA ダメージ、ラット肝細胞に姉妹染色分体交換と染色体異常、突然変異がおり、種々の器官で DNA 付加体が観察された(下表参照)。

MeIQx の遺伝毒性 (NTP 2002)

試験系	遺伝毒性
in vitro	
<i>S. typhimurium</i>	復帰突然変異、SOS 修復、umu 発現
<i>D.melanogaster</i>	体細胞突然変異と組換え
ラット肝細胞	不定期 DNA 合成と組換え、DNA との共有結合
マウス肝細胞	不定期 DNA 合成
Chinese hamster V79 細胞	遺伝子突然変異
CHO 細胞	遺伝子突然変異、姉妹染色分体交換、染色体異常
ヒトリンパ球	姉妹染色分体交換
生体内システム	
ラット肝細胞	姉妹染色分体交換、染色体異常
ラット心臓、肝臓	DNA への供給結合
<i>E.coli</i> (Swiss albino マウス中)	DNA 損傷
マウス骨髄細胞	DNA への共有結合
マウス種々の組織	DNA への共有結合

MeIQx の in vivo 遺伝毒性試験例 (NTP 2002)

動物種	投与	遺伝毒性	出典
マウス、Balb/c	経口、1.5mg/kg	DNA 損傷と遺伝子突然変異	Alldrick <i>et al.</i> 1995
マウス、Swiss albino	2.5mg/kg 腹腔注射 あるいは、40mg/kg 経口	DNA 損傷と遺伝子突然変異	Knasmüller <i>et al.</i> 1992
マウス、C57BL/lacZ, c-myc/lacZ	経口、20ppm	突然変異	Davis <i>et al.</i> 1996
マウス、C57BL/lacZ, c-myc/lacZ	経口、0.6%	突然変異	Thorgeirsson <i>et al.</i> 1999
マウス、C57BL/6	経口、400ppm	姉妹染色分体交換	Breneman <i>et al.</i> 1996
マウス、Big Blue®	100mg/kg あるいは、 300 ppm 経口	小核形成のみ	Nishikawa <i>et al.</i> 2001

lac I Big Blue C57BLr6 トランスジェニックマウスに 0, 0.1, 1, 10, 100 mg/kg の量のオリブオイル溶液 MeIQx を、10 mL/kg を各群 6 匹の雄マウス胃内に単回投与した。48 時間後に尾静脈から 5 mL の血液を採取し、14 日後に 3 匹のマウスの肝臓および結腸中の *lac I* 遺伝子変異の頻度を調べた。別途、0 または 300 ppm の餌中での MeIQx を、各群雌雄各 3 匹のマウスに投与し、*lac I* 遺伝子変異を調べた。胃内投与の場合 100 mg/kg の MeIQx 投与による 48 時間後の肝臓および結腸中の変異の増加は観られなかったが、微小核網状赤血球の有意な増加が観られた。処置から 14 日後の組織中では、増殖細胞

核抗原陽性の病変の増加はなかった。300 ppm の MeIQx の 12 週間餌中投与の場合は、雌雄とも肝臓および結腸中の *lac I* 遺伝子変異の増加が観られた。その程度は雌でより大きく、かつ 4 週間後では雌でのみ観察された。変異発生頻度の性差は、雌が MeIQx 発がん性により感受性が高いと推定された (Itoh T *et al.*, 2000)。

gpt delta 遺伝子導入マウスに、3、30、300 ppm の MeIQx を含む餌を 12 週間与え、肝臓中の *gpt* 変異を解析した。さらに、300 ppm の MeIQx を含む餌を 78 週間与えた。12 週間 MeIQx を給餌されたマウスでは、対照群に比べ、*gpt* 変異の発生率が 3、30、300 ppm 投与群の順に、1.2、2.3、8.6 倍高くなった。300 ppm の MeIQx を 78 週間給餌された群のマウスでは、*gpt* 変異の発生率は、HCA を含まない餌を 78 週間給餌された対照群に比べて約 20 倍高かった。3 ppm の MeIQx は、肝臓での遺伝毒性は見られないが、それ以上の MeIQx の長期投与は遺伝毒性を亢進させることが示唆された (Masumura K *et al.*, 2003)。

遺伝毒性・発がんメカニズムに関するデータも得られている。DNA 付加体はグアニンベースで、優性な付加体は C8 位置に形成される。MeIQx はまた、N2 グアニン位置の付加体を少数形成する。DNA 付加体は、摂食量に相当する濃度の暴露後、ヒト大腸と乳腺組織において検出される。動物では、付加体は投与量に比例して形成され、発がん性と相関している。HCA 誘導された腫瘍由来組織中においては、*Ki-ras*, *Ha-ras*, *Apc*, *p53*, *β-catenin* などの原がん遺伝子や腫瘍植生遺伝子においてグアニンベースの突然変異の頻度が最も高く、特に G:C→T:A の塩基転換が特にみられた (NTP 2002)。

大腸菌 DJ701 株(組換え芳香族 N-アセチル基転移酵素 (NAT) を発現)、DJ702 株(組換え芳香族 N-アセチル基転移酵素 (NAT)、組換えヒトチトクローム P450 1 A2 と NADPH-P450 還元酵素を発現)、DJ2002 株(N-アセチル基転移酵素ネガティブコントロール。*E.coli* 株における *lacZ* フレームシフト対立遺伝子部位の復帰により、変異原性を評価した結果、DJ701 株では、N-NO-IQ と N-NO-MeIQx は、用量依存性の変異原性を示す (Zenser *et al.* 2009)。

N-NO-MeIQx の安定性と反応性が評価され、大腸がんにおける MeIQ の発がん性への関与について検討されている。N-NO-MeIQx から dG-C8-MeIQx が、pH5.5 の炎症条件下で形成された。この付加体は MeIQx による変異原性および発がん性の原因であると考えられており、ヒトの大腸で最も多く存在する付加体である。N-NO-MeIQx が遺伝毒性を有し、炎症反応により活性化される可能性が示唆された。大腸炎患者では N-NO-MeIQx が N-OH-MeIQx の代わりとなり大腸がんを誘発しているという仮説を支持する結果であると著者らは述べている(Lakshmi V M *et al.* 2006)。

5. 発がん性試験

経口投与により、マウスとラットの複数の組織に腫瘍形成が誘導されている。マウスでは、肝臓腫瘍、雌では肺腫瘍、雄ではリンパ腫形成、白血病が誘導され、腹腔注射を受けた新生児は肝細胞腺腫を12か月以内に発症した。600 ppmを7週間経口摂取したすべてのマウスは14週以内で大腸異常腺窩 (ACF) を発症した。600 ppmを84週間摂取したCDF₁マウスにおける肝臓腫瘍発症率は雄で43%、雌で91%。肺腫瘍の発症率は雌で43%、リンパ腫と白血病の発症率は、雄で29%で、明らかにコントロールより高い。

ラットでは、肝臓とZymbal腺に腫瘍形成、雄に皮膚腫瘍、雌に陰核腺腫瘍形成を誘導した。MeIQx摂取したF344ラットにおいてGST-Pポジティブ病巣とACF数が増加。400 ppmを429日間摂取したF344ラットでは、肝臓(100%)、Zymbal腺(75%)、皮膚(35%)の腫瘍形成率増加がみられた。同実験で、雌では、肝臓(53%)、Zymbal腺(53%)、陰核腺(63%)の腫瘍形成率増加がみられた。0、100、200、400 ppmを56週間摂取したF344ラット雄でも同様の結果で、摂取量に比例した発症率増加がみられた。肝臓腫瘍は、200 ppm摂取したグループで明らかに高かった。サルでは、MeIQx 10~20 mg/kgを84か月摂取したが、発がん性は見られず、N-ヒドロキシル化活性が低いことが理由かもしれず、また試験期間が十分長くなかった可能性もある(NTP 2002)。

MeIQ, IQ, MeIQx, PhIP, Glu-P-1を長期で経口投与したCDFマウス、F344ラットについて一本鎖DNA高次構造多型 (SSCP)解析、PCR直接配列決定を行った。主に*ras*および*p53*についての解析が行われた。MeIQxにより誘発された肝臓腫瘍では、*p53*変異は分化が浅い肝臓細胞がんに見られたが、この変異は分化の進んだ9つのものにはみられなかった。*p53*変異は後期に見られる現象だと考えられる (Ushijima T *et al*, 1995)。

次表に実験動物における発がん性試験結果をまとめた。

実験動物における発がん性試験結果

試験	がん	動物種	投与方法	結果	出典
短期試験 (≤1年)	肝細胞腺腫	マウス B6C3F1/nctr (雄、1、8、15日 齢)	腹腔内注射、0.625 μmol(～133 μg) 1.25 μmol(～266 μg)=MTD、 DMSO	全投与量の 1/7、2/7、4/7 をそれぞれ 1、8、15 日目に投与し、 8 か月目あるいは 12 か月目で検査。12 か月後に肝細胞腺腫 発症が増加したが 8 か月後では検出されなかった。高量投与 のマウス 1 匹が 12 か月後に肝細胞性がんを発症。	Dooley <i>et al.</i> 1992
短期試験 (≤1年)	大腸異常 腺窩 (ACF)	マウス C57BL/6N (7週齢)	経口、0、400、600 ppm、7 週間、 続いて基本飼料を 7 週間	腸内 ACF 形成を検査。投与量に比例した ACF 形成がみられ た。高量摂取したマウスすべてに ACF が検出され、マウス 当たりの ACF 数はコントロールにくらべ、明らかに増加し ていた。	Okonogi <i>et al.</i> 1997
長期試験 (>1年)	肝臓腫瘍	マウス CDF1 (6週齢)	経口、0.06% (600ppm)、84 週間 目まで	摂取した雄雌ともに、肝臓腫瘍形成が検出され、統計学的有 意差を示した。雌では肺腫瘍形成頻度が高く、オスでは白血 病やリンパ腫形成頻度が高かった。	Ohgaki <i>et al.</i> 1987
短期試験 (≤1年)	肺腺腫、 肝細胞腺 腫	マウス Crj:CD-1 (雄雌、1 週齢)	経口、300、30、3ppm、23 週間	新生マウスの二段階腫瘍形成実験では、MeIQx と PhIP によ る発がん性の影響はほとんど見られなかった。	Miyauchi <i>et al.</i> 1999
短期試験 (≤1年)	ACF、腺 腫、腺が ん	マウス、 C57BL/6J 野生型、 gpt delta 遺伝子改 変マウス (5 週齢、 雄、78 週試験用)、 (6 週齢、雄、腫瘍 形成試験用)	MeIQx 摂取による発がん性 78 週 試験用に、300ppm、30ppm の MeIQx。MeIQx、IQ、PhIP 摂取 とそれに続く DSS 処理による腫 瘍形成試験用に、300ppm の MeIQx、IQ、PhIP。	C57BL/6J 野生型とそのトランスジェニックマウスである gpt delta マウスにおいて、MeIQx による腸管腫瘍形成誘導はな い。デキストラン硫酸塩を使った結腸腫瘍誘発性条件下で C57BL/6J マウスの MeIQx、IQ、PhIP 摂取による結腸腫瘍形 成は、有意差のある増加を示した。	Nishikawa <i>et al.</i> 2005

試験	がん	動物種	投与方法	結果	出典
短期試験 (≤1年)	肝臓腫瘍	ラット F344 (雄、8週齢)	経口、0、0.05、0.2、0.8、3.2、12.5、 50、200ppm	最初の1週目で肝組織切除、6週目最後に最終的に、グルタチオンSトランスフェラーゼ胎盤型 (GST-P)陽性病巣を検査。高量摂取したマウスにおいて、摂取量に比例した増加が、病巣数とサイズにみられた。単一細胞の病巣は、0.8 ppm、12.5 ppm とそれ以上の摂取レベルで明らかに増大した。2~4個細胞、あるいは5~10個細胞の病巣頻度は、50ppm、200 ppm 摂取したマウスにおいて増加し、11~20個細胞レベルの病巣は200 ppm で増加していた。	Kato <i>et al.</i> 1996
短期試験 (≤1年)		ラット、 F344 (雄、3週齢)	経口、0、0.001、0.01、0.1、1、 10、100ppm、16あるいは32週間	グルタチオンSトランスフェラーゼ胎盤型陽性 (GST-P)病巣を検査。10 ppm、100 ppm 摂取したマウスにおいては、病巣発症率は増加 (P<0.001)。経胎盤性あるいは経授乳による低量暴露は、病巣発症率を上げなかった。	Fukushima, 1999
短期試験 (≤1年)	異常腺窩 巣(ACF)	ラット、 F344	経口、0、0.001、0.01、0.1、1、 10、100ppm、16あるいは32週間 16週間	ACF 増加率は高量摂取したマウス (4.1+/-3.2) でのみ、コントロール (1.0+/-1.2) に対して明らかな増加を示した (P<0.01)。形態学的変化は見られなかった。	Tanakamaru <i>et al.</i> 2001
長期試験 (>1年)	肝臓と Zymbal 腺 の腫瘍	ラット、 F344	経口、0.04% (400ppm)、429週間	雄雌ともに、肝臓と Zymbal 腺の腫瘍発症率が上がった。雄における肝臓の腫瘍は1匹を除いてすべて肝細胞がんだった。肝細胞がんは、雄6匹において肺に転移していた。残りの肝細胞腫瘍は、新生小結節であり、雌の腫瘍すべてにみられていた。加えて皮膚の腫瘍発症率が雄で増加、陰核腺扁平上皮がん発症率が雌で増加した。	Kato <i>et al.</i> 1988
長期試験 (>1年)	肝臓、 Zymbal 腺、皮膚 の腫瘍	ラット F344	経口、0、100、200、400ppm、56 週間目まで	高量摂取したラットのみ、生存率が減少した。肝臓、Zymbal 腺、皮膚の腫瘍発症頻度が摂取量と相関して増加した。腫瘍の悪性度、多重度においても摂取量に比例した相関性があった。低量摂取による腫瘍はすべて肝細胞性腺腫であり、中量摂取では、半数が肝細胞性腺腫、半数が肝細胞がんであった。Zymbal 腺における腫瘍も、低量摂取では皮脂腺腫、あるいは扁平上皮パピローマで、高量摂取では扁平上皮がん発症率が増加した。	Kushida <i>et al.</i> 1994

試験	がん	動物種	投与方法	結果	出典
長期試験 (>1年)		サル cynomolgus monkeys	経口、グループ1=10mg/kg、グループ2=20mg/kg、84か月間	発がん性なし。	Ogawa <i>et al.</i> 1999
短期試験 (≤1年)	肝臓腫瘍	ラット、 F344 (雄)	経口、ジエチルニトロソアミン 200mg/kg 腹腔注射、2週間後に種々のHCAを6週間投与。MeIQxとMeIQを単独で1/1, 1/5, 1/25の発がん性投与量、あるいは、5種HCA混合で、1/5, 1/25投与(Ito <i>et al.</i> 1991)。PhIPとMeIQx濃度は400、80、16ppm、MeIQは300、60、12ppm投与(Hasegawa <i>et al.</i> 1991)。10種のHCAを単独で1/10投与、あるいは混合で1/10, 1/100投与(Hasegawa <i>et al.</i> 1994, Ito <i>et al.</i> 1995)。	3週目で2/3肝部分切除、8週目で最終検査。GST-P陽性病巣数は、最高投与グループにおいて肝臓がん発がん性に比例しており、その傾向はMeIQx>MeIQ>PhIPの順。HCA混合の影響は基本的には付加的であり、相乗的ではない。しかし、PhIPとMeIQの混合は、それらが重要な代謝酵素を誘導するという理由で相乗性があると推測されている。	Ito <i>et al.</i> 1991 Hasegawa <i>et al.</i> 1991 Hasegawa <i>et al.</i> 1994 Ito <i>et al.</i> 1995
長期試験 (>1年)	大腸腺がん	ラット、 Sprague-Dawley	経口、10週毎のDMH注射と、HCAを85.6ng/g	PhIPとMeIQxは、全HCA内容量中それぞれ83%と14%を占める。低脂肪、高脂肪、低HCA量、高HCA量の各組み合わせ試験。低脂肪・高HCA量の食餌が大腸腺がんの発症率を明らかに増加させたが、高脂肪・高HCA量の食餌では発症率は低下。DMHNメチル化するCYP2Eの誘導による可能性がある。高HCA量は、すべてのDMH処理を受けたラットの胃底腫瘍発症率を上げ、HCA間の相乗効果を示唆した。	Pence <i>et al.</i> 1998

試験	がん	動物種	投与方法	結果	出典
短期試験 (≤1年)	肝臓腫瘍	ラット、 F344 (雄)	経口、IQ、PhIP、MeIQx を 50ppm 食事に加え、16週間	肝臓の GST-P ポジティブ病巣数 (>1mm ² 直径) と、大腸 ACF (>1 陰窩) を検査。PhIP は GST-P ポジティブ病巣を誘導せず、一般的には他の HCA との組み合わせでは病巣数を減少させた。PhIP は、IQ あるいは MeIQx よりも ACF を誘導したが、MeIQx あるいは IQ との組み合わせでは PhIP 単独時よりも少ないかやや多い数を誘導したのみである。MeIQx は、IQ より 4 倍少ない数の GST-P ポジティブ病巣を誘導した (IQ19/cm ² に対し MeIQx5/cm ²)。MeIQx と IQ の組み合わせでは、50GST-P 病巣/cm ² 誘導し、明らかに相加作用以上であった。MeIQx 単独では PhIP 単独の半数の ACF のみ誘導したが、MeIQx と IQ の組み合わせでは、他の HCA のどの組み合わせよりも大きな反応を示した。HCA 混合の相互作用は常に相加的とは限らない。	Tsuda <i>et al.</i> 1999

胎生 17 日の ddY マウス胎仔の第一臼歯の歯胚（器官培養、培地を 5 群（A～E 群）に分類し、A 群（コントロール）では、10%牛胎仔血清を含む BGJb 培地、B 群では、0.2%DMSO を添加した BGJb 培地、C 群では、TGF- α の PBS 溶液を最終濃度が 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ になるよう添加した BGJb 培地、D 群では、MeIQx の DMSO 溶液を濃度が 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と 0.2%になるように添加した BGJb 培地、E 群では、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の MeIQx および 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の TGF- α を同時に添加した BGJb 培地を使用して、MeIQx と細胞増殖因子の TGF- α を加えた培地で器官培養を行い、歯胚発育に対する影響を調べた。37 $^{\circ}\text{C}$ で 3 日間培養。組織学的には、C 群の歯胚は、A 群や B 群よりも大きく、D と E 群では、歯胚は C 群よりも小さい。C、D、E 群において歯源性上皮細胞増殖が著しい。免疫組織学的には、B、C 群では、PCNA 陽性歯源性上皮細胞が A 群よりも有意に多い。器官培養歯胚における歯源性上皮細胞の増殖は MeIQx と TGF- α により促進される（Hirai *et al.* 2007）。

発がんメカニズムに関するデータには次の例がある。MCF-7 ヒト乳がん細胞を、PhIP 4×10^{-7} 、 1.2×10^{-6} M、あるいは MeIQx 1.2×10^{-6} M で処理し、HCA とそのヒドロキシル化代謝物(E2、PhIP、N2-ヒドロキシ PhIP、IFP、MeIQx) のエストロゲンレセプターへの結合能力を、計算的ドッキングと NMR 分析により調べ、エストロゲン反応の活性化あるいは抑制化と、その発がん性への影響を評価した。計算的ドッキングと NMR により、PhIP がリガンド (LBD) に結合することが示された。この結合は、レセプターの天然 E2 結合腔においてエストラジオール (E2) と競合した。生体外アッセイでは、PhIP が MCF-7 ヒト乳がん細胞において細胞増殖を増大させ、エストロゲンレセプター α (ER α) を活性化した。他の HCA と N2-ヒドロキシ PhIP は ER α 活性化を抑制した (Bennion *et al.* 2005)。

6. 特殊毒性試験（神経毒性、免疫毒性等）

該当データなし

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

(1) 国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC)

総合評価： 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)は、ヒトに対する発がん物質である可能性を有する (=probably carcinogenic to humans) (Group 2B)。

根拠：ヒトにおける MeIQx の発がん性を示す根拠は不十分である。しかし、動物実験では発がん性を示す十分な根拠がある(IARC 1993)。

(2) NTP

2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)は、RoC11thEdition(2004)において、ヒト発がん物質と予想される物質 (reasonably anticipated to be a human carcinogen, Group2B)と評価された。

The NIEHS Review Committee for the Report on Carcinogens (RG1)は、5対1で、MeIQxを、「ヒト発がん物質と予想される物質」としてリストすることに合意した(反対の票の理由は、データが「既知のヒト発がん物質」として分類されるべきことを示していると感じられたため)。

The NTP Executive Committee Interagency Working Group for the Report on Carcinogens (RG2*)は、8対0で、MeIQxを、「ヒト発がん物質と予想される物質」としてリストすることに合意した。

The NTP Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee (外部同領域専門家査読グループ、the External Peer Review Group)は、9対0で、MeIQxを、「ヒト発がん物質と予想される物質」としてリストすることに合意した (NTP 2004)。

*RG2 に掲載されている NTP 執行委員会の代表組織は次を含む：

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR),

Consumer Product Safety Commission (CPSC),

Environmental Protection Agency (EPA),

National Center for Environmental Health of the Centers for Disease Control and Prevention (NCEH/CDC),

National Center for Toxicological Research of the Food and Drug Administration (NCTR/FDA),

National Institute for Occupational Safety and Health/CDC (NIOSH/CDC),

Occupational Safety and Health Administration (OSHA), National Cancer Institute of the National Institutes of Health(NCI/NIH),

National Institute of Environmental Health Sciences/NIH(NIEHS/NIH)

2. 国際機関等のリスク管理措置

(1) 米国国立がん研究所 (National Cancer Institute)

2004年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告について紹介され、米国の平均的食生活におけるHCAの摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソースを作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCAの暴露を軽減することができるとしている。(NCI, 2004)

(2) 米国農務省 (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service)

2006年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質のHCAの生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCAの生成や摂取を減らす方法を紹介している。(USDA, 2006)

(3) 英国食品基準庁 (Food Standards Agency)

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」のQ&Aの項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化水素化合物 (PAHs) や HCA (HAs) のような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。(FSA,)

VII. 相互作用

1. ヘテロサイクリックアミン同士の相互作用

6週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2 週間後、HCA 混合または単独混餌を 6 週間投与。混餌は、5 種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10 種の発がん量の 1/10、1/100 量。3 週後に肝臓の 2/3 を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA 同一量を個々に混餌投与した群より、グルタチオン S-トランスフェラーゼ陽性のがん状態病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10 種の HCA を各 1/10 量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。真の相乗効果は、PhIP および Trp-P-2 を含む HCA 混合投与群でみられた。これらは非肝がん誘発性であるが、CYP1A2 を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

2. その他の物質との相互作用

ビールや乳酸菌が HCA の毒性の低下を示すデータが示されている。4 種類のビール (ピルスナータイプ 2 種、黒ビール、スタウトビール) の HCA 群に対する抗変異原作用を、Ames test で測定した結果、ラット S9 存在下の MeIQx、PhIP、Glu-P-1、Trp-P-2、IQ、S9 非存在下の活性化 IQ、およびヒト S9 存在下 MeIQx のいずれに対しても、ビールサンプルは抗変異原活性を有し、濃色のビールほど、また、ホップ濃度が高いほど、強い抑制効果を示した。また、ビールを給水として随意摂取させたマウスに MeIQx を投与して変異を誘導したところ、ピルスナー、スタウト両ビール摂取により有意に MeIQx による DNA 損傷が抑制されたことが、肝細胞の comet assay で示された(Nozawa *et al.* 2004)。

また、F344 ラットに 4 種類の乳酸菌を給餌 ($1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^{11}$ (細胞/個体)) 後、牛肉由来 (PhIP、IQ、MeIQx、DiMeIQx、A- α -C) と鶏肉由来 (PhIP、MeIQx、DiMeIQx、A- α -C) の 2 種類の HCA 混合物を経口投与し、大腸と肝臓における DNA 移動を単細胞ゲル電気泳動 (SCGE ; コメットアッセイ) により測定した結果、鶏肉由来の HCA では乳酸菌処理による防除効果はないが、牛肉由来の HCA では 4 種類いずれの乳酸菌でも DNA 移動が減少した。乳酸菌量が増加すると忌避効果も上昇し、 1.0×10^{11} (細胞/個体) 処理で効果は最大であり、DNA 損傷が肝臓では 50%、大腸では 30%減少した (Zsivkovits *et al.* 2003)。

乳酸菌の毒性緩和作用を調べた別の実験では、乳酸菌 12 株の HCA 結合能力、およびその HCA 変異原性に及ぼす影響を調査する目的で、乳酸菌 8 種 (*B. longum*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. kefir*, *L. plantarum* and *S. thermophilus*) から 12 株を選択し、乳酸菌懸濁液に HCA 溶液 (5 種類の HCA で、A- α -C、PhIP、IQ、MeIQx、DiMeIQx、各 1.0 μ g) を加え混和し、37 $^{\circ}$ C で 4 時間保温した後、クーロメトリー電極アレイを用いた HPLC で未結合の HCA を検出した。その結果、*L. helveticus* が最大 (78-89%)、*L. kefir* が最低 (4-13%) で、HCA による乳酸菌への結合の差異は、A- α -C、DiMeIQx (50% 前後) > MeIQx > IQ、PhIP (30%程度) であった (Stidl *et al.* 2008)。

がんの危険性を低減するといわれる食物繊維のリグニン化およびフェルロイル化が、HCA 類の吸着に及ぼす影響についての報告がある。Funk らは、組織培養したトウモロコシから細胞壁を抽出し、人工的にリグニン化・フェルロイル化し、リン酸緩衝液に細胞壁 (15 mg) と 4 種類の HCA (MeIQx、IQ、PhIP、A- α -C) 72 μ L を加え、37 $^{\circ}$ C で 1 時間攪拌し、細胞壁に吸着されなかった HCA 含量を HPLC-UV で測定した。吸着量には HCA の疎水性が影響、A- α -C (最大 78%) > PhIP (最大 58%) > MeIQx、IQ (最大 29%) であり、細胞壁中のリグニン含量は疎水性 HCA の吸着量を増大させた (Funk *et al.*

2006、下表参照)。

異なるリグニン含量のグアイアシル DHP 細胞壁への HCA の吸着率

HCA	細胞壁への吸着率 (%)	
	リグニン含量 4%	リグニン含量 11%
MeIQx	13	18
IQ	19	24
A- α -C	39	58

(出典 : Funk *et al.* 2006 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(5):1860-1867)

一方、ラットの MeIQx 摂取により誘導された肝細胞がんに対してエタノールが増強効果を持つことも示されている。21 日齢 F344 ラットに 10 ppm の MeIQx を 8 週間混餌投与し、その後、5%エタノールを加えた液体飼料 8 週間、続いて通常液体飼料を 8 週間与えるか、または、5%エタノール入り液体飼料を 16 週間与えた。対象は通常液体飼料を与えた。肝臓の細胞増殖指標 PCNA は、16 週間エタノールを与えた群では他群よりも 6 倍または 4 倍高かった。前半 8 週間エタノールを与えた群と対照群の間で有意差はなかった。肝臓における GST-P 陽性巣、および酸化的損傷の指標となる細胞内ヒドロキシデオキシアデノシン量は、16 週間のエタノール投与群では他に比べて有意に多かった。これらの結果から、エタノールの慢性摂取は、酸化ストレスによる DNA 損傷と細胞傷害を引き起こし、MeIQx 誘導腫瘍の発育を促進し、細胞増殖の増加を介して肝細胞がんの発症を促進させること、また、第 2 ステージにおける禁酒が MeIQx による肝細胞がん促進効果を止めることができることが示された (Karim MR *et al.* 2003、Wanibuchi H *et al.* 2006)。21 日齢の雄 F344/DuCrj ラットにおいて、MeIQx により誘発された大腸がんについては、エタノールによる細胞増殖は確認されていない (Kushida M *et al.* 2009)。

VIII. まとめ

2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) (CAS N77500-04-0) は、肉魚中のアミノ酸、クレアチン/クレアチニン、ヘキサースから形成される。料理された肉(牛、魚、鶏、羊)中に検出され、最高濃度は、鶏肉、牛肉(ハンバーガー、ステーキ)のウェルダングリル、ベーコンで検出されている。

温度、調理時間、酸度などが影響し、高温で長時間の調理であるほど多く形成される。直接に高効率で熱伝達する調理法(フライ、グリル)が、間接的熱伝達調理法(煮る、蒸す)より多く形成する。また、調理に使用した食用油の種類や、酢などの調味料によっても、MeIQx 形成は影響をうけるようである。

ヒト、実験動物において、胃腸管系から吸収され、急速に多数の組織中に分布し、胃、小腸、大腸、血液、肝臓、脾臓、肺、腎臓に検出される。HCA とその代謝物は、尿、糞、胆汁、母乳中に排出される。マウスでは、6 時間後、尿中に検出され、72 時間で、ラット、サルでは、尿、糞中にほとんど排泄される。また、胎盤組織を通過して、胎児の肝臓組織に到達し、活性化されることが示されている。

代謝経路には、Phase I (活性化) と Phase II (抱合、代謝、解毒、異化) 段階が有る。Phase I 活性化経路はチロクローム P-450 酵素 CYP1A2 による N-ヒドロキシル化である。続いて、肝臓や他の組織で Phase II 酵素により、DNA 結合能を有するアリルニトロニウム (arylnitrenium) イオン形成に至る。代謝経路による毒性発現メカニズムについては、CYP 1 A2 酵素により N-ヒドロキシル化により活性化され、N-アセチル基本転移酵素、NAT2 により O-アセチル化が起こり、結果として arylamine-DNA 付加体が形成され、これが突然変異性や発がん性に寄与する可能性がある。これらの代謝酵素の活性は、一般集団においては多様で、遺伝子多型により決定されると考えられ、迅速型アセチレーター(高効率の N-アセチル基転移酵素を産生する)の方が、低速型アセチレーターより、発がんリスクが高い可能性がある。グアニンを含む突然変異 (G:C→T:A 転換) ががん原遺伝子で検出されている。

疫学調査では、MeIQx は、結腸腺腫、肺がんのリスクを高めたが、膀胱、腎臓がんと関連性はなかった。乳がんについては、2000 年までに、2 件の試験でリスク上昇が、1 件の試験でリスクの低下が報告されており、関連性は結論できない。

遺伝毒性動物実験においては、MeIQx は、原核生物 (*S. typhimurium*、*E. coli*) において復帰突然変異を、*D. melanogaster* において体細胞突然変異と組換えを誘発した。げっ歯類(生体外、生体内システム)において DNA 損傷、姉妹染色分体交換、不定期 DNA 合成 (DNA 修復反応)、小核形成、染色体異常(染色体数と構造の変化)、突然変異性を示した。ヒトの *in vitro* 試験で、リンパ球に姉妹染色分体交換を誘導した例があるが、ヒトに関するデータは十分ではない。

発がん性動物実験においては、経口投与により、マウスでは、肝臓腫瘍、雌では肺腫瘍、雄ではリンパ腫形成、白血病が誘導され、ラットでは、肝臓と Zymbal 腺に腫瘍形

成、雄に皮膚腫瘍、雌に陰核腺腫瘍形成を誘導した。サルでは、発がん性がなく、N-ヒドロキシ化活性が低いことが理由かもしれず、また試験期間が十分長くなかった可能性もある。

MeIQx は、National Cancer Center of Japan により指名され、IARC 発がん性物質の報告 (1993 年) では、根拠は不十分であるが、動物実験では発がん性を示す十分な根拠があることから、ヒトにおける発がん性については、ヒトに対して発がん性を有する可能性があるグループ 2B と評価されている。NTP2002 年発行されたデータ評価の後、2004 年の報告では、発がん性物質評価報告 NIEHS 委員会 (The NIEHS Review Committee for the Report on Carcinogens、RG1)、発がん物質評価報告 NTP 執行委員会総合ワーキンググループ (The NTP Executive Committee Interagency Working Group for the Report on Carcinogens、RG2)、外部同領域専門家査読グループ (The NTP Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee, the External Peer Review Group)はともに、MeIQx を「ヒト発がん物質と予想される物質」として評価することに合意している。管理措置に関するデータはない。

IX. 文献・参考資料

- Ahn, J., and I.U. Gruen. (2005a) Heterocyclic amines: 1. Kinetics of formation of polar and nonpolar heterocyclic amines as a function of time and temperature. *Journal of Food Science* 70(2): C173-C179.
- Ahn, J., and I.U. Gruen. (2005b) Heterocyclic amines: 2. Inhibitory effects of natural extracts on the formation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked beef. *Journal of Food Science* 70(4): C263-C268.
- Alldrick, A.J., and I.R. Rowland, (1988) Distribution of radiolabelled [2-¹⁴C]IQ and MeIQx in the mouse. *Toxicol. Lett.* 44:183-190
- Alldrick, A.J., W.E. Brennan-Craddock, and I.R. Rowland. (1995) Dietary caffeine reduces the genotoxicity of MeIQx in the host-mediated assay in mice. *Nutr Cancer* 24:143-150.
- Ambrosone, C.B., J.L. Freudenheim, R. Sinha, S. Graham, J.R. Marshall, J.E. Vena, R. Laughlin, T. Nemoto, and P.G. Shields. (1998) Breast cancer risk, meat consumption and N-acetyltransferase (NAT2) genetic polymorphisms. *Int J Cancer* 75:825-830.
- Apostolides, Z., D.A. Balentine, M.E. Harbowy, and J.H. Weisburger. (1996) Inhibition of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]-pyridine (PhIP) mutagenicity by black and green tea extracts and polyphenols. *Mutat. Res.* 359:159-163
- Barcelo-Barrachina, E., E. Moyano, M.T. Galceran, J.L. Lliberia, B. Bago, and M.A.-A-Cortes. (2006) Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of heterocyclic amines in food. *Journal of Chromatography, A* 1125(2):195-203.
- Bendaly, J., S. Zhao, J.R. Neale, K.J. Metry, M.A. Doll, J.C. States, W.M.Jr. Pierce, and D.W. Hein. (2007) 2-Amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5-*f*]quinoxaline-induced DNA adduct formation and mutagenesis in DNA repair-deficient Chinese hamster ovary cells expressing human cytochrome P4501A1 and rapid or slow acetylator N-acetyltransferase 2. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.* 16(7):1503-1509.
- Bennion, B.J., M. Cosman, F.C. Lightstone, M.G. Knize, J.L. Montgomery, L.M. Bennett, J.S. Felton, and K.S. Kulp. (2005) PhIP carcinogenicity in breast cancer: computational and experimental evidence for competitive interactions with human estrogen receptor. *Chemical Research in Toxicology* 18(10):1528-1536
- Boobis, A.R., N.J. Gooderham, R.J. Edwards, S. Murray, A.M. Lynch, M. Yadollahi-Farsani, and D.S.

- Davies. (1996) Enzymic and interindividual differences in the human metabolism of heterocyclic amines. *Arch Toxicol Suppl* 18:286-302.
- Bordas, M., E. Moyano, L. Puignou, and M.T. Galceran. (2004) Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system; Effect of temperature, time and precursors. *Journal of Chromatography, B: Analytical technologies in the Biomedical and Life Sciences* 802(1):11-17.
- Breneman, J.W., J.F. Briner, M.J. Ramsey, A. Director, and J.D. Tucker. (1996) Cytogenetic results from a chronic feeding study of MeIQx in mice. *Food Chem Toxicol* 34:717-724.
- Busquets, R., L. Puignou, M.T. Galceran, and K. Skog. (2006) Effect of red wine marinades on the formation of heterocyclic amines in fried chicken breast *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(21):8376-8384.
- Butler, L.M., Y. Duguay, R.C. Millikan, R. Sinha, J.-F. Gagne, R.S. Sandler, C. Guillemette. (2005) Joint effects between UDP-glucuronosyltransferase 1A7 genotype and dietary carcinogen exposure on risk of colon cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 14(7):1626-1632.
- Butler, L.M., R.C. Millikan, R. Sinha, T.O. Keku, S. Winkel, B. Harlan, A. Eaton, M.D. Gammon, and R.S. Sandler. (2008) Modification by N-acetyltransferase 1 genotype on the association between dietary heterocyclic amines and colon cancer in a multiethnic study. *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 638(1-2):162-174.
- Calbani, F., M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, and I. Zagnoni. (2007) Validation of an ion-pair liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry method for the determination of heterocyclic aromatic amines in meat-based infant foods. *Food Additives & Contaminants* 24(8): 833-841.
- Cross, A.J., U. Peters, V.A. Kirsh, G.L. Andriole, D. Reding, R.B. Hayes, and R.A. Sinha. (2005) Prospective study of meat and meat mutagens and prostate cancer risk. *Cancer Research* 65(24):11779-11784.
- Cross, A.J., M.H. Ward, M. Schenk, M. Kulldorff, W. Cozen, S. Davis, J.S. Colt, P. Hartge, J.R. Cerhan, and R. Sinha. (2006) Meat and meat-mutagen intake and risk of non-Hodgkin lymphoma: results from a NCI-SEER case-control study. *Carcinogenesis* 27(2):293-297.
- Dashwood R; Guo D, Antimutagenic potency of chlorophyllin in the Salmonella assay and its correlation with binding constants of mutagen-inhibitor complexes., *Environmental and Molecular Mutagenesis*, (1993) 22 (3) 164-71.
- Dashwood, R.H. (2002) Modulation of heterocyclic amine-induced mutagenicity and carcinogenicity: an 'A-to-Z' guide to chemopreventive agents, promoters, and transgenic models. *Mutat Res* 511:89-112.
- Davis, C.D., E.J. Dacquel, H.A. Schut, S.S. Thorgeirsson, and E.G. Snyderwine. (1996) In vivo mutagenicity and DNA adduct levels of heterocyclic amines in Muta™ mice and c-myc/lacZ double transgenic mice. *Mutat Res* 356:287-296.
- Deitz, A.C., W. Zheng, M.A. Leff, M. Gross, W.Q. Wen, M.A. Doll, G.H. Xiao, A.R. Folsom, and D.W. Hein. (2000) N-Acetyltransferase-2 genetic polymorphism, well-done meat intake, and breast cancer risk among postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:905-910.
- Delfino, R.J., R. Sinha, C. Smith, J. West, E. White, H.J. Lin, S.Y. Liao, J.S. Gim, H.L. Ma, J. Butler, and H. Anton-Culver. (2000) Breast cancer, heterocyclic aromatic amines from meat and N-acetyltransferase 2 genotype. *Carcinogenesis* 21:607-615.
- Dooley, K.L., L.S. Von Tungeln, T. Bucci, P.P. Fu, and F.F. Kadlubar. (1992) Comparative carcinogenicity of 4-aminobiphenyl and the food pyrolysates, Glu-P-1, IQ, PhIP, and MeIQx in the neonatal B6C3F1 male mouse. *Cancer Lett* 62:205-209.
- Dubuisson, J.G. and J.W. Gaubatz. (1998) Bioactivation of the proximal food mutagen 2-hydroxyamino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (N-OH-PhIP) to DNA-binding species by human mammary gland enzymes. *Nutrition* 14:683-686.
- Felton, J.S., M. Jagerstad, M.G. Knize, K. Skog, and K. Wakabayashi. (2000) Contents in foods, beverages and tobacco. In *Food Borne Carcinogens Heterocyclic Amines*. Nagao, M. and T. Sugimura, eds. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England. pp. 31-71.
- FSA, Eat well, be well Q&A Is overcooked or burnt meat carcinogenic?
<http://www.eatwell.gov.uk/asksam/healthydiet/meatq/?lang=en#A221179>
- Fukushima, S. (1999) Low-dose carcinogenicity of a heterocyclic amine, 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline: relevance to risk assessment. *Cancer Lett*

143:157-159.

- Fukutome, K., M. Ochiai, K. Wakabayashi, S. Watanabe, T. Sugimura, and M. Nagao. (1994) Detection of guanine-C8-2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine adduct as a single spot on thin-layer chromatography by modification of the ³²P-postlabeling method. *Jpn J Cancer Res* 85:113-117.
- Funk, C., P. Weber, J. Thilker, J.H. Grabber, H. Steinhart, and M. Bunzel. (2006) Influence of Lignification and Feruloylation of Maize Cell Walls on the Adsorption of Heterocyclic Aromatic Amines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(5):1860-1867
- Gertig, D.M., S.E. Hankinson, H. Hough, D. Spiegelman, G.A. Colditz, W.C. Willett, K.T. Kelsey, and D.J. Hunter. (1999) N-acetyl transferase 2 genotypes, meat intake and breast cancer risk. *Int J Cancer* 80:13-17.
- Ghoshal, A., C.D. Davis, H.A. Schut, and E.G. Snyderwine. (1995). Possible mechanisms for PhIP-DNA adduct formation in the mammary gland of female Sprague-Dawley rats. *Carcinogenesis* 16:2725-2731.
- Gorlewska-Roberts, K.M., C.H. Teitel, J.O.Jr. Lay, D.W. Roberts, and F.F. Kadlubar. (2004) Lactoperoxidase-catalyzed activation of carcinogenic aromatic and heterocyclic amines. *Chemical Research in Toxicology* 17(12):1659-1666
- Grivas, S., and K. Olsson. (1985) An improved synthesis of 3,8-dimethyl-3H-imidazo[4,5-f]quinoxaline-2-amine(MeIQx) and its 2-¹⁴C -labelled analogue. *Acta chem. Scand.*, B39, 31-34
- Gross, G.A. and A. Grüter. (1992) Quantitation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic aromatic amines in food products. *J Chromatogr* 592:271-278.
- Gu, Y.S., I.S. Kim, J.K. Ahn, D.C. Park, D.M. Yeum, Ji, I. Cheong, and S.B. Kim. (2002) Mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines as affected by muscle types/skin and cooking in pan-roasted mackerel. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 515(1-2):189-195.
- Hasegawa, R., T. Shirai, K. Hakoi, K. Takaba, S. Iwasaki, T. Hoshiya, N. Ito, M. Nagao, and T. Sugimura. (1991) Synergistic enhancement of glutathione S transferase placental form-positive hepatic foci development in diethylnitrosamine treated rats by combined administration of five heterocyclic amines at low doses. *Jpn J Cancer Res* 82:1378-1384.
- Hasegawa, R., E. Miyata, M. Futakuchi, A. Hagiwara, M. Nagao, T. Sugimura, and N. Ito. (1994) Synergistic enhancement of hepatic foci development by combined treatment of rats with 10 heterocyclic amines at low doses. *Carcinogenesis* 15:1037-1041.
- Hasegawa, R.; Kato, T.; Hirose, M.; Takahashi, S.; Shirai, T.; Ito, N., Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.
- Hashimoto, H., Y. Yanagawa, M. Sawada, S. Itoh, T. Deguchi, and T. Kamataki. (1995) Simultaneous expression of human CYP3A7 and N-acetyltransferase in Chinese hamster CHL cells results in high cytotoxicity for carcinogenic heterocyclic amines. *Arch Biochem Biophys* 320:323-329.
- Hayatsu, H., H. Kasai, S. Yokoyama, T. Miyazawa, Z. Yamaizumi, S. Nishimura, S. Arimoto, T. Hayatsu, and Y. Ohara. (1987) Mutagenic metabolites in urine and feces of rats fed with 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline, a carcinogenic mutagen present in cooked meat. *Cancer Res.*, 47, 791-794
- Hirai, N., Y. Sugita, K. Kubo, E. Sato, H. Maeda, Y. Kameyama. (2007) Effects of heterocyclic amine MeIQx and growth factor TGF- α on the development of organ-cultured mouse tooth-germ: histological and immunohistochemical study. *Aichi Gakuin Daigaku Shigakkaishi* 45(2):205-214.
- Hirata, A., T. Tsukamoto, H. Sakai, S. Takasu, H. Ban, T. Imai, Y. Totsuka, R. Nishigaki, and K. Wakabayashi. (2008) Carcinogenic risk of heterocyclic amines in combination - Assessment with a liver initiation model. *Food and Chemical Toxicology* 46(6):2003-2009.
- Hirose M; Iwata S; Ito E; Nihro Y; Takahashi S; Mizoguchi Y; Miki T; Satoh T; Ito N; Shirai T, Strong anti-mutagenic activity of the novel lipophilic antioxidant 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone against heterocyclic amine-induced mutagenesis in the Ames assay and its effect on metabolic activation of 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole (Glu-p-1), *Carcinogenesis*, (1995 Sep) 16 (9) 2227-32.

- Ishibe, N., R. Sinha, D.W. Hein, M. Kulldorff, P. Strickland, A.J. Fretland, W.H. Chow, F.F. Kadlubar, N.P. Lang, and N. Rothman. (2002) Genetic polymorphisms in heterocyclic amine metabolism and risk of colorectal adenomas. *Pharmacogenetics* 12:145-150
- Toshiaki Itoh, Takayoshi Suzuki, Akiyoshi Nishikawa, Fumio Furukawa, Michihito Takahashi, Wang Xue, Toshio Sofuni, Makoto Hayashi, In vivo genotoxicity of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline in lacI transgenic (Big Blue®) mice, *Mutation Research* 468(2000)19–25
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 56 Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins PhIP (2-AMINO-1-METHYL-6-PHENYLIMIDAZO[4,5-*b*]PYRIDINE) (Group 2B) VOL.: 56 (1993) WORLD HEALTH ORGANIZATION INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER
- Ito, N., R. Hasegawa, M. Sano, S. Tamano, H. Esumi, S. Takayama, and T. Sugimura. (1991) A new colon and mammary carcinogen in cooked food, 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP). *Carcinogenesis* 12:1503-1506.
- Ito, Nobuyuki; Hasegawa, Ryohei; Shirai, Tomoyuki; Fukushima, Shoji; Hakoi, Kazuo; Takaba, Katsumi; Iwasaki, Shogo; Wakabayashi, Keiji; Nagao, Minako; Sugimura, Takashi (1991), Enhancement of GST-P positive liver cell foci development by combined treatment of rats with five heterocyclic amines at low doses, *Med. Sch., Nagoya City Univ., Nagoya*, 467, Japan., *Carcinogenesis*, Vol. 12, No. 5, pp. 767-72.
- Ito, N., R. Hasegawa, E. Asakawa, M. Hirose, K. Imaida, and A. Hagiwara. (1995) Enhancement of rat liver cell foci development by combined treatment with heterocyclic amines at low doses. *Princess Takamatsu Symp* 23:251-259.
- Jägerstad, M., K. Olsson, S. Grivas, C. Negishi, K. Wakabayashi, M. Tsuda, S. Sato, and T. Sugimura. (1984) Formation of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline in a model system by heating creatinine, glycine and glucose. *Mutat Res* 126:239-244.
- Johansson, M.A. and M. Jagerstad. (1994) Occurrence of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines in meat and fish products, including pan residues, prepared under domestic conditions. *Carcinogenesis* 15:1511-1518.
- Johansson, M.A., L. Fredholm, I. Bjerne, and M. Jagerstad. (1995) Influence of frying fat on the formation of heterocyclic amines in fried beefburgers and pan residues. *Food Chem Toxicol* 33:993-1004.
- Jones, R. C., and J.H. Weisburger. (1988) Inhibiting development of mutagens and carcinogens. U.S. Patent 5011697:1-13.
- Kaderlik K R, Mulder G J, Turesky R J, Lang N P, Teitel C H, Chiarelli M P, Kadlubar F F (1994), Glucuronidation of N-hydroxy heterocyclic amines by human and rat liver microsomes., *Carcinogenesis*, 15 (8) 1695-701
- Kasai, H., T. Shiomu, T. Sugimura, and S. Nishimura. (1981) Synthesis of 2-amino-3,8-dimethyl-imidazo[4,5-*f*]quinoxaline (Me-IQx), a potent mutagen isolated from fried beef. *Chem. Lett.*, 675-678
- Kato, T., H. Ohgaki, H. Hasegawa, S. Sato, S. Takayama, and T. Sugimura. (1988) Carcinogenicity in rats of a mutagenic compound, 2-amino-3,8- dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline. *Carcinogenesis* 9:71-73.
- Kato, T., R. Hasegawa, D. Nakae, M. Hirose, M. Yaono, L. Cui, Y. Kobayashi, Y. Konishi, N. Ito, and T. Shirai. (1996) Dose-dependent induction of 8-hydroxyguanine and preneoplastic foci in rat liver by a food-derived carcinogen, 2-amino-3,8- dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline, at low dose levels. *Jpn J Cancer Res* 87:127-133.
- King, R.S., C.H. Teitel, J.G. Shaddock, D.A. Casciano, and F.F. Kadlubar. (1999) Detoxification of carcinogenic aromatic and heterocyclic amines by enzymatic reduction of the N-hydroxy derivative. *Cancer Lett* 143:167-171.
- Knasmüller, S., H. Kienzl, W. Huber, and R.S. Hermann. (1992). Organ-specific distribution of genotoxic effects in mice exposed to cooked food mutagens. *Mutagenesis* 7:235-241.
- Knize, M.G., F.A. Dolbear, K.L. Carroll, D.H. Moore, 2nd, and J.S. Felton. (1994) Effect of cooking time and temperature on the heterocyclic amine content of fried beef patties. *Food Chem Toxicol*

- 32:595-603.
- Knize, M.G., R. Sinha, N. Rothman, E.D. Brown, C.P. Salmon, O.A. Levander, P.L. Cunningham, and J.S. Felton. (1995) Heterocyclic amine content in fast-food meat products. *Food Chem Toxicol* 33:545-551.
- Kushida, H., K. Wakabayashi, H. Sato, M. Katami, R. Kurosaka, and M. Nagao. (1994) Dose-response study of MeIQx carcinogenicity in F344 male rats. *Cancer Lett* 83:31-35.
- Lakshmi, V.M., F.F. Hsu, and T.V. Zenser. (2005) Nitric oxide-mediated nitrosation of 2-amino-3,8-dimethylimidazo [4,5-*f*]quinoxaline potentiated by hemin and myeloperoxidase. *Chemical Research in Toxicology* 18(6):1038-1047.
- Lawson, T. and C. Kolar (2002) Human prostate epithelial cells metabolize chemicals of dietary origin to mutagens. *Cancer Letters* 175(2):141-146.
- Langouët, S., D.H. Welti, N. Kerriguy, L.B. Fay, T. Huynh-Ba, J. Markovic, F.P. Guengerich, A. Guillouzo, and R.J. Turesky. (2001) Metabolism of 2-amino-3,8- dimethylimidazo[4,5-*f*] quinoxaline in human hepatocytes: 2-Amino-3- methylimidazo [4,5-*f*]quinoxaline- 8-carboxylic acid is a major detoxication pathway catalyzed by cytochrome P450 1A2. *Chem Res Toxicol* 14:211-221.
- Lin, D.X., K.R. Kaderlik, R.J. Turesky, D.W. Miller, J.O. Lay, and F.F. Kadlubar. (1992) Identification of N-(Deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- *b*]pyridine as the major adduct formed by the food-borne carcinogen, 2-amino-1- methyl-6-phenylimidazo[4,5- *b*]pyridine, with DNA. *Chem Res Toxicol* 5:691-697.
- Lynch, A.M., S. Murray, N.J. Gooderham, and A.R. Boobis. (1995) Exposure to and activation of dietary heterocyclic amines in humans. *Crit Rev Oncol Hematol* 21:19-31.
- Martinez, M.E., E.T. Jacobs, E.L. Ashbeck, R. Sinha, P. Lance, D.S. Alberts, and P.A. Thompson. (2007) Meat intake, preparation methods, mutagens and colorectal adenoma recurrence. *Carcinogenesis* 28(9):2019-2027.
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, *Journal of Neural Transmission, Supplement*, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- Masumura Ken-ichi, Miekko Horiguchi, Akiyoshi Nishikawa, Takashi Umemura, Keita Kanki, Yusuke Kanke, Takehiko Nohmi, Low dose genotoxicity of 2-amino-3,8-dimethylimidazo-[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx) in *gpt* delta transgenic mice, *Mutation Research* 541 (2003) 91–102
- National Toxicology Program Report on Carcinogens : Background Document for Selected Heterocyclic Amines: PhIP, MeIQ, and MeIQx September 19, 2002
- National Toxicology Program Summary of RG11, RG22 and NTP Board Subcommittee3 Recommendations for Nominations Reviewed for Listing in the Report on Carcinogens, 11th Edition (2004)
- NCI, Heterocyclic Amines in Cooked Meats (2004)
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/heterocyclic-amines>
- Negishi T; Nakano H; Kitamura A; Itome C; Shiotani T; Hayatsu H, Inhibitory activity of chlorophyllin on the genotoxicity of carcinogens in *Drosophila*., *Cancer Letters* (Shannon, Ireland), (1994 Aug 15) 83 (1-2) 157-64.
- Nerurkar, P.V., L. Le Marchand, and R.V. Cooney. (1999) Effects of marinating with Asian marinades or western barbecue sauce on PhIP and MeIQx formation in barbecued beef. *Nutr Cancer* 34:147-152.
- Ni, W., L. McNaughton, D.M. LeMaster, R. Sinha, and R.J. Turesky. (2008) Quantitation of 13 heterocyclic aromatic amines in cooked beef, pork, and chicken by liquid chromatography-electrospray ionization/tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(1): 68-78.
- Nishikawa, A., T. Suzuki, K. Masumura, F. Furukawa, M. Miyauchi, H. Nakamura, H.Y. Son, T. Nohmi, M. Hayashi, and M. Hirose. (2001) Reporter gene transgenic mice as a tool for analyzing the molecular mechanisms underlying experimental carcinogenesis. *J Exp Clin Cancer Res* 20:111-115.
- Nishikawa, A., T. Imazawa, Y. Kuroiwa, Y. Kitamura, K. Kanki, Y. Ishii, T. Umemura, and M. Hirose. (2005) Induction of colon tumors in c57bl/6j mice fed meiqx, iq, or phip followed by dextran sulfate sodium treatment. *Toxicological Sciences* 84(2):243-248
- Norrish, A.E., L.R. Ferguson, M.G. Knize, J.S. Felton, S.J. Sharpe, and R.T. Jackson. (1999)

- Heterocyclic amine content of cooked meat and risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 91:2038-2044.
- Nozawa, H., K. Tazumi, K. Sato, A. Yoshida, J. Takata, S. Arimoto-Kobayashi, and K. Kondo. (2004) Inhibitory effects of beer on heterocyclic amine-induced mutagenesis and PhIP-induced aberrant crypt foci in rat colon. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 559(1-2):177-187.
- Oda Yoshimitsu; Pramod, Aryal; Takao, Terashita; Elizabeth, M.J., Gillam; F., Peter, Guengerich; Tsutomu, Shimada, Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in *Salmonella typhimurium* umu tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, 2E1, and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, (2001) Vol. 492, No. 1-2, pp. 81-90.
- Ogawa, K., H. Tsuda, T. Shirai, T. Ogiso, K. Wakabayashi, D.W. Dalgard, U.P. Thorgeirsson, S.S. Thorgeirsson, R.H. Adamson, and T. Sugimura. (1999) Lack of carcinogenicity of 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) in cynomolgus monkeys. *Jpn J Cancer Res* 90:622-628.
- Oguri, A., Suda, M., Totsuka, Y., Sugimura, T. and Wakabayashi, K. (1998) Inhibitory effects of antioxidants on formation of heterocyclic amines. *Mutat. Res.* 35:237-245
- Ohe, T. (1997) Quantification of mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines, MeIQx, Trp-P-1, Trp-P-2 and PhIP, contributing highly to genotoxicity of river water. *Mutat Res* 393:73-79.
- Ohgaki, H., H. Hasegawa, M. Suenaga, S. Sato, S. Takayama, and T. Sugimura (1987) Carcinogenicity in mice of a mutagenic compound, 2-amino-3,8- dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) from cooked foods. *Carcinogenesis* 8:665-668.
- Okonogi, H., T. Ushijima, H. Shimizu, T. Sugimura, and M. Nagao. (1997) Induction of aberrant crypt foci in C57BL/6N mice by 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (A alpha C) and 2-amino-3,8-dimethylimidazo [4,5-f]quinoxaline (MeIQx). *Cancer Lett* 111:105-109
- Overik, Eva; Ochiai, Masako; Hirose, Misako; Sugimura, Takashi, The formation of heart DNA adducts in F344 rats following dietary administration of heterocyclic amines, *DNAging: Genetic Instability and Aging*, (1991) Vol. 256, No. 1, pp. 37-43.
- Pais, P., E. Moyano, L. Puignou, and M.T. Galceran. (1997) Liquid chromatography- electrospray mass spectrometry with in-source fragmentation for the identification and quantification of fourteen mutagenic amines in beef extracts. *J Chromatogr A* 775:125-136.
- Paladino, Giuseppe; Weibel, Beatrice; Sengstag, Christian, Heterocyclic aromatic amines efficiently induce mitotic recombination in metabolically competent *Saccharomyces cerevisiae* strains, *Carcinogenesis*, (1999) Vol. 20, No. 11, pp. 2143-2152.
- Pence, B.C., M. Landers, D.M. Dunn, C.L. Shen, and M.F. Miller. (1998) Feeding of a well-cooked beef diet containing a high heterocyclic amine content enhances colon and stomach carcinogenesis in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats. *Nutr Cancer* 30:220-226.
- Robbana-Barnat, S., M. Rabache, E. Rialland, and J. Fradin. (1996) Heterocyclic amines: Occurrence and prevention in cooked food. *Environ Health Perspect* 104:280-288.
- Rohrmann, S., S. Hermann, and J. Linseisen. (2009) Heterocyclic aromatic amine intake increases colorectal adenoma risk: findings from a prospective European cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition* 89(5):1418-1424.
- Rovito, P. M., P.D. Morse, K. Spinek, N. Newman, R.F. Jones, C.Y. Wang, and G.P. Haas. (2005) Heterocyclic amines and genotype of N-acetyltransferases as risk factors for prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* 8(1):69-74.
- Salmon, C.P., M.G. Knize, and J.S. Felton. (1997) Effects of marinating on heterocyclic amine carcinogen formation in grilled chicken. *Food Chem Toxicol* 35:433-441.
- Salomon, C.P., M.G. Knize, J.S. Frlton, B. Zhao, and A. Seow, (2006) Heterocyclic aromatic amines in domestically prepared chicken and fish from Singapore Chinese Household. *Food Chem. Toxicol.* 44:484-489
- Schut, H.A. and E.G. Snyderwine. (1999) DNA adducts of heterocyclic amine food mutagens: implications for mutagenesis and carcinogenesis. *Carcinogenesis* 20:353-368.
- Sinha, R., N. Rothman, E.D. Brown, C.P. Salmon, M.G. Knize, C.A. Swanson, S.C. Rossi, S.D. Mark, O.A. Levander, and J.S. Felton. (1995) 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* 55:4516-4519.
- Sinha, R. and J.D. Potter. (1997) Diet, nutrition, and genetic susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6:647-649.
- Sinha, R., M.G. Knize, C.P. Salmon, E.D. Brown, D. Rhodes, J.S. Felton, O.A. Levander, and N. Rothman. (1998) Heterocyclic amine content of pork products cooked by different methods and to varying degrees of doneness. *Food Chem Toxicol* 36:289-297.
- Sinha, R., D.R. Gustafson, M. Kulldorff, W.Q. Wen, J.R. Cerhan, and W. Zheng. (2000a) 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine, a carcinogen in high-temperature-cooked meat, and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 92:1352-1354.
- Sinha, R., M. Kulldorff, C.A. Swanson, J. Curtin, R.C. Brownson, and M.C. Alavanja. (2000b) Dietary heterocyclic amines and the risk of lung cancer among Missouri women. *Cancer Res* 60:3753-3756.
- Sinha, R., M. Kulldorff, W.H. Chow, J. Denobile, and N. Rothman. (2001) Dietary intake of heterocyclic amines, meat-derived mutagenic activity, and risk of colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10:559-562.
- Sinha, R., U. Peters, A.J. Cross, M. Kulldorff, J.L. Weissfeld, P.F. Pinsky, N. Rothman, and R.B. Hayes. (2005) Meat, meat cooking methods and preservation, and risk for colorectal adenoma. *Cancer Research* 65(17):8034-8041.
- Skog, K.I., M.A. Johannsson, and M.I. Jagerstad. (1998) Carcinogenic heterocyclic amines in model systems and cooked foods: A review on formation, occurrence and intake. *Food Chem Toxicol* 36:879-896.
- Skog, K. and A. Solyakov. (2002) Heterocyclic amines in poultry products: a literature review. *Food Chem. Toxicol.*, 40:1213-1221
- Snyderwine, E.G., M.H. Buonarati, J.S. Felton, and K.W. Turteltaub. (1993) Metabolism of the food-derived mutagen/carcinogen 2-amino-1-methyl- 6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) in nonhuman primates. *Carcinogenesis* 14:2517-2522.
- Snyderwine, E.G., H.A. Schut, T. Sugimura, M. Nagao, and R.H. Adamson. (1994) DNA adduct levels of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-[4,5-*b*]pyridine (PhIP) in tissues of cynomolgus monkeys after single or multiple dosing. *Carcinogenesis* 15:2757-2761.
- Snyderwine, E.G., R.J. Turesky, M.H. Buonarati, K.W. Turteltaub, and R.H. Adamson. (1995) Metabolic processing and disposition of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline (IQ), 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline (MeIQx), and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP) in nonhuman primates. *Princess Takamatsu Symp* 23:69-77.
- Snyderwine, E.G. (1999) Mammary gland carcinogenesis by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine in rats: possible mechanisms. *Cancer Lett* 143:211-215.
- Solyakov, A.; Skog, K.; Jagerstad, M., Heterocyclic amines in process flavors, process flavor ingredients, bouillon concentrates and a pan residue, *Food and Chemical Toxicology*, (1998) Vol. 37, No. 1, pp. 1-11.
- Sugiura, S., M. Asamoto, N. Hokaiwado, M. Hirose, and T. S hirai. (2005) Harman and norharman suppressed but NaNO₂ enhanced the development of preneoplastic liver cell foci in 2-amino-3,8-dimethylimidazo [4,5- *f*]quinoxaline (MeIQx)-treated rats. *Journal of Toxicologic Pathology* 18(2):99-104.
- Stidl, R., G. Sontag, V. Koller, and S. Knasmueller. (2008) Binding of heterocyclic aromatic amines by lactic acid bacteria: Results of A- α -Comprehensive screening trial. *Molecular Nutrition & Food Research* 52:322 - 329
- Tada, A., M. Ochiai, K. Wakabayashi, H. Nukaya, T. Sugimura, and M. Nagao. (1994) Identification of N-(deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5- *f*]quinoline (dG-C8-MeIQ) as a major adduct formed by MeIQ with nucleotides in vitro with DNA in vivo. *Carcinogenesis* 15:1275-1278.
- Tanakamaru, Z., I. Mori, A. Nishikawa, F. Furukawa, M. Takahashi, and H. Mori. (2001) Essential similarities between spontaneous and MeIQx-promoted aberrant crypt foci in the F344 rat colon. *Cancer Lett* 172:143-149.
- Tasevska, N., R. Sinha, V. Kipnis, A.F. Subar, M.F. Leitzmann, A.R. Hollenbeck, N.E. Caporaso, A. Schatzkin, and A.J. Cross. (2009) A prospective study of meat, cooking methods, meat mutagens,

- heme iron, and lung cancer risks. *American Journal of Clinical Nutrition*. 89(6):1884-1894.
- Terry, P.D., J. Lagergren, A. Wolk, G. Steineck, and O. Nyren. (2003) Dietary Intake of Heterocyclic Amines and Cancers of the Esophagus and Gastric Cardia. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 12(9):940-944.
- Thiébaud, Herve P.; Knize, Mark G.; Kuzmicky, Paul A.; Felton, James S.; Hsieh, Dennis P, Mutagenicity and Chemical Analysis of Fumes from Cooking Meat, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (1994) Vol. 42, No. 7, pp. 1502-10.
- Thiébaud, H.P., M.G. Knize, P.A. Kuzmicky, D.P. Hsieh, and J.S. Felton. (1995) Airborne mutagens produced by frying beef, pork and a soy-based food. *Food Chem Toxicol* 33:821-828.
- Thorgeirsson, S.S., D.Y. Ryu, V. Weidner, and E.G. Synderwine. (1999) Carcinogenicity and mutagenicity of heterocyclic amines in transgenic mouse models. *Cancer Lett* 143:245-247.
- Tsuda, H., K. Sekine, N. Uehara, N. Takasuka, M.A. Moore, Y. Konno, K. Nakashita, and M. Degawa. (1999) Heterocyclic amine mixture carcinogenesis and its enhancement by caffeine in F344 rats. *Cancer Lett* 143:229-234.
- Tsuda, M., C. Negishi, R. Makino, S. Sato, Z. Yamaizumi, T. Hirayama, and T. Sugimura. (1985) Use of nitrite and hypochlorite treatments in determination of the contributions of IQ-type and non-IQ type heterocyclic amines to the mutagenicities in crude pyrolyzed materials. *Mutat. Res.* 147:335-341
- Turesky, R.J., Markovic, J., Bracco-Hammer, I. & Fay, L.B. (1991a) The effect of dose and cytochrome P450 induction on the metabolism and disposition of the food-borne carcinogen 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]-quinoxaline (MeIQx) in the rat. *Carcinogenesis* 10, 1847-1855
- Turesky, R.J., J. Markovic, I. Bracco-Hammer, and L.B. Fay. (1991b) The effect of dose and cytochrome P450 induction on the metabolism and disposition of the food-borne carcinogen 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f] quinoxaline (MeIQx) in the rat. *Carcinogenesis* 12:1847-1855.
- USDA, How you cook your meat May Affect Your Health (2006)
<http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10878>
- Ushijima, Toshikazu; Makino, Hiroshi; Kakiuchi, Hideki; Inoue, Rie; Sugimura, Takashi; Nagao, Minako, Genetic alterations in HCA-induced tumors, Proceedings of the International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund, (1995) Vol. 23rd, No. Heterocyclic Amines in Cooked Foods: Possible Human Carcinogens, pp. 281-91.
- Wallin, H., Holme, J.A., Becher, G. & Alexander, J. (1989) Metabolism of the food carcinogen 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline in isolated rat liver cells. *Carcinogenesis* 10, 1277-1283
- Weinberg, C.R. and D.P. Sandler (1991) Randomized recruitment in case-control studies. *Am. J. Epidemiol.* 134(4): 421-32
- Weisburger, J.H., M. Nagao, K. Wakabayashi, A. and Oguri, (1994) Prevention of heterocyclic amine formation by tea and tea polyphenols. *Cancer Lett.* 83:43-147
- Yang, C.C., S.N. Jenq, and H. Lee. (1998). Characterization of the carcinogen 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline in cooking aerosols under domestic conditions. *Carcinogenesis* 19:359-363.
- Zenser, T.V., V.M. Lakshmi, H.A.J. Schut, H.-j. Zhou, and P.D. Josephy. (2009) Activation of aminoimidazole carcinogens by nitrosation: Mutagenicity and nucleotide adducts. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 673(2):109-115
- Zheng, W., D. Xie, J.R. Cerhan, T.A. Sellers, W. Wen, and A.R. Folsom. (2001) Sulfotransferase 1A1 polymorphism, endogenous estrogen exposure, well- done meat intake, and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 10:89-94.
- Zöchling, S., M. Murkovic, and W. Pfannhauser (2002) Effects of industrially produced flavours with pro- and antioxidative properties on the formation of the heterocyclic amine PhIP in a model system. *J.Biochem. Biophys. Methods* 53:37-44
- Zsivkovits, M., K. Fekadu, G. Sontag, U. Nabinger, W.W. Huber, M. Kundi, A. Chakraborty, H. Foissy, S. Knasmueller. (2003) Prevention of heterocyclic amine-induced DNA damage in colon and liver of rats by different lactobacillus strains. *Carcinogenesis* 24(12):1913-1918.

4. 4 IQ

I. 当該化学物質の一般情報

1. 物質特定情報

(1) 名称(略号):

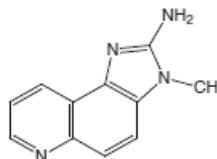
Chem. Abstr. Name: 3-Methyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinolin-2-amine

IUPAC Systematic Name: 2-amino-3-methyl-3*H*-imidazo[4,5-*f*]quinoline

(2) CAS No.: 76180-96-6

(3) 分子式: $C_{11}H_{10}N_4$ 、構造式: 右図のとおり

(4) 分子量: 198.23



2. 物理化学的性状

(1) 物理的性状: 黄褐色、結晶状固形物 (Kasai *et al.* 1981)

(2) 融点: $>300\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Kasai *et al.* 1981)

(3) 溶解性: 水 ($20\text{ }^{\circ}\text{C}$) では不溶性、DMSO、95%エタノール ($16\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $1\sim 10\text{ mg/mL}$)、メタノール、希酸、希アルコールに可溶性である (Kasai *et al.* 1980, 1981; Lee *et al.* 1982; Schunk *et al.* 1984)。

(4) 安定性: 光と空气中で分解する。長時間の加熱に感受性が高い可能性がある。水溶液、DMSO、95%エタノール、アセトン溶液は 24 時間安定である (Radian 1991)。

3. 存在形態

(1) 存在形態: 該当データなし

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露

食品廃棄物や埋立て式ごみ処理地から発生する可能性あり。タバコの煙に存在 (Yamashita *et al.* 1986)。

4. 生成機構

クレアチンとプロリンを $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ で加熱して形成 (Yoshida *et al.* 1984)。グリシン、フルクトース、クレアチニンの混合物を $128\text{ }^{\circ}\text{C}$ で加熱して形成 (Grivas *et al.* 1986)。さらに、クレアチニンとフェニルアラニン、あるいはクレアチニン、フェニルアラニン、グルコースを $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ で加熱した混合体中に検出 (Felton & Knize, 1990)。また、セリンとクレアチニンの乾燥混合体を $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ で加熱して形成 (Knize *et al.* 1988)。また、牛挽肉を $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ で 20 分間過熱し、IQ 型 HCA の前駆体であるグルコースとクレアチンの含量を、加熱調理の前後で測定した結果、グルコース、クレアチンともに加熱調理による減少が報告されている (Ahn *et al.* 2005b)。

5. 食品中の検出状況

魚のオーブンあるいは直火焼き (broiled)、牛ひき肉のフライ、牛肉抽出液から分離され、鶏肉、卵、魚のフライ、牛ひき肉のオーブンあるいは直火焼き、ミニッツステーキ、ミートボール、ポークチョップ、たばこの煙中に存在することがわかっている。食品内濃度は、0.1 ng/g 以下から 150 ng/g 以上まで幅が広く、ほとんどの食品は 1 ng/g 以下である (Skog *et al.* 1995, Chiu *et al.* 1998)。しかし、Sinha らは、3 段階の火の通り具合で調理されたハンバーガー、ステーキ、ローストビーフからは IQ を検出できなかった (Sinha *et al.* 1998)。天日干しのサーディンのオーブンあるいは直火焼きから、最高濃度の IQ が検出された。米国での肉や魚からの 1 日当たりの IQ 摂取量は、0.28 ng/kg 体重当たりと推定される (Layton *et al.* 1995) (下表参照)。

食品とタバコの煙中の IQ 濃度 (NTP 2002)

試料	湿重量中濃度 (ng/g)	参照文献
皮つきチキンレッグ 15 分フライ		
100°C	0.13	Chiu <i>et al.</i> (1998)
150°C	0.14	Chiu <i>et al.</i> (1998)
200°C	0.51	Chiu <i>et al.</i> (1998)
卵、フライ、325°C	0.1	Grose <i>et al.</i> (1986)
魚、フライ、260°C	0.16	Zhang <i>et al.</i> (1988)
牛ひき肉、フライ		
240°C	0.5 (低脂肪) - 20 (高脂肪)	Barnes <i>et al.</i> (1983)
250°C	0.02	Felton <i>et al.</i> (1984)
275°C	0.3 - 1.9	Turesky <i>et al.</i> (1988)
牛ひき肉、オーブン/直火焼き	0.5	Yamaizumi <i>et al.</i> (1986)
牛肉、オーブン/直火焼き	0.19	Wakabayashi <i>et al.</i> (1992)
牛肉抽出物、食品品質	<0.2	Takahashi <i>et al.</i> (1985)
牛肉抽出物、食品品質	<0.1 - 6.2	Turesky <i>et al.</i> (1989)
ミニッツステーキ、150°C、2.5 分	0.1	Skog <i>et al.</i> (1995)
ミートボール、175°C、7.5 分	0.05	Skog <i>et al.</i> (1995)
ポークチョップ、175°C、11 分	0.1	Skog <i>et al.</i> (1995)
サーモン、オーブン/直火焼き	0.3 - 1.8	Yamaizumi <i>et al.</i> (1986)
サーディン、天日干し、直火焼き	~20	Kasai <i>et al.</i> (1980)
サーディン、天日干し、直火焼き	158	Sugiyama <i>et al.</i> (1981)
タバコの煙	0.26/本	Yamashita <i>et al.</i> (1986)

また、窒素リン検出器付きガスクロマトグラフィーにより加熱調理した8種の魚類、3種の肉類に含まれるHCAの検出では、サンマおよびアジの皮部分にMeIQxが検出され、これらの魚の身やイワシ、サバ、サケ、ホッケや肉類からは検出されなかった。加熱した肉類よりも魚類にHCAが多く検出されたため、肉類よりも魚類の摂取が多い日本人のHCA摂取量に魚料理が大きく関与していると考えられる (Kataoka H *et al* 2002)。

6. 測定方法と検出限界値

薄層クロマトグラフィーに続く逆相 HPLC により、牛ひき肉の揚げ物から 0.1ng/g のレベルまで検出可能 (Barnes *et al.* 1983)。水溶液からは、セルロースあるいはコットン上に吸収し、C.I. Reactive Blue 21 という 3 スルホ銅フタロシアニン染色剤を共有結合させ、アンモニアメタノール液で抽出('blue-cotton'吸着法) し、HPLC で定量 (Hayatsu *et al.* 1983)。牛肉抽出液中の IQ 検出用に開発された'blue-cotton'吸着法は、約 0.1ng の感度で検出する (Takahashi *et al.* 1985)。固定フェーズ HPLC (Kieselgur-Sephacorb) 法は、10g のサンプルから 1ng/g レベルの検出が可能 (Gross *et al.* 1989、Gross 1990、Gross & Grüter 1992)。

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、および鍋残渣に含まれる変異原性/がん原性 HCA の分析した実験では、複雑なマトリックスを持つ試料であるため、クロマトグラフィー効率を改善するために、新しく加える生成方法がデザインされた。プロセスフレーバー7種、プロセスフレーバー原料5種、ブイヨン濃縮物4種、鍋残渣から、HCA を固相抽出して精製し、HPLC および GC-MS により分析した。極性 HCA は、動物および動物+野菜混合物起源の試料にのみ検出された。一方、非極性 HCA は、動物、動物+野菜混合物、および純粋に野菜起源の試料で同定された (Solyakov *et al.*, 1998、次表参照)。

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、鍋残渣の HCA 量

HCA	検出量
極性 HCA	
IQ	1 サンプル中、3.4 ng/g
IQx	2 サンプル中、0.7-2.0 ng/g
MeIQx	4 サンプル中、1.0-13.8 ng/g
PhIP	2 サンプル中、痕跡量
MeIQ	検出されず
非極性 HCA	
A- α -C	1 サンプル中、0.4 ng/g
MeA- α -C	1 サンプル中、20.3 ng/g
Trp-P-1	2 サンプル中、1.4-1.7 ng/g
Trp-P-2	2 サンプル中、痕跡量
共変異原性 HCA	
ハルマン	17 サンプル中 15 サンプルで同定、3.3-755 ng/g
ノルハルマン	17 サンプル中 16 サンプルで同定、1.2-176 ng/g

(出典 : Solyakov *et al.* 1998 *Food and Chemical Toxicology* 37(1):1-11)

最近の報告では、肉類（牛肉、鶏肉、馬肉、羊肉、兎肉）をベースとした乳児食を凍結乾燥後、HCA 類（HCA）をアセトン抽出し、イオン対液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-タンデム質量分析法（LC-ESI-MS/MS）を使い、陽イオンモードで定量した結果、検出限界、定量限界は下表のとおりである。最適条件下において、検出限界値は 5 ng/g 以下、定量限界は 8 ng/g 以下（PhIP 除く）である(Calbiani, *et al.* 2007)。

凍結乾燥肉試料における HCA の検出および定量限界値

HCA	検出限界値 (ng/g)	定量限界値 (ng/g)
IQ	5.4	7.8
MeIQ	1.8	3.8
MeIQx	4.1	8.1
PhIP	12	26
A- α -C	3.7	7.4

(出典 ; Calibani *et al.* 2007 *Food Additives & Contaminants*, Vol. 24, No. 8, pp. 833-841.)

さらに、食物中の HCA を短時間かつ低 ppb レベルで、正確に再現性良く解析する新しい方法が開発され、Barcelo-Barrachina らが、高性能液体クロマトグラフィーであるエレクトロスプレータンデム質量分析（UPLC-ESI-MS/MS）法により肉サンプル中の 16 種類の HCA を 2 分以内で解析した。Acquity BEH C18 カラム（50mmx2.1mm i.d., 1.7 μ m particle size）を使用し、UPLC システムにはトリプル四重極 Waters Micromass Quattro PremierTM を連結した。このシステムにより、ピーク強度低下を招くことなく高速データを取得できた。測定には SRM（selected reaction monitoring）を使用した。0.06-0.23 pg 下の機器検出限界（LOD）で、9.1% CV(n=6)以下の低濃度レベルで再現性も得られ、性

能的には、三重四重極子型装置を使った従来の HPLC システムの 10 分の 1 の低量検出が可能となった (Barcelo-Barrachina *et al.* 2006、参照)。

HCA の検出限界と再現性

HCA	検出限界			相対標準偏差 (RSD%) (n=6)	
	標準 HCA (pg)	肉抽出物		中間濃度 0.3 µg/g	低濃度 0.02 µg/g
		(pg 注入)	(pg/g 肉)		
DMIP	0.07	1.4	42	4.2	4.4
Glu-P-2	0.09	0.3	9	4.1	4.9
IQ	0.06	0.8	25	1.5	3.9
MeIQx	0.10	0.3	9	5.4	7.9
MeIQ	0.08	0.6	17	5.5	7.2
Glu-P-1	0.08	0.6	17	4.2	6.8
PhIP	0.08	0.5	15	5.7	6.5
7,8-DiMeIQx	0.06	1.1	34	6.0	6.5
4,8-DiMeIQx	0.09	0.8	24	5.7	7.6
Trp-P-2	0.23	0.9	28	6.1	9.1
Norharman	0.19	1.7	51	3.7	7.5
Harman	0.18	1.5	45	4.7	8.1
A-α-C	0.11	0.8	23	4.1	5.6
MeA-α-C	0.17	0.5	14	2.5	3.8

(出典 : Barcelo-Barrachina *et al.* 2006 Journal of Chromatography, A. Vol. 1125, No. 2, pp. 195-203)

7. 現行規制等 : 該当データなし

II. 食品中での生成要因

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

肉抽出物などの、アミノ酸、還元糖、脂肪の混合物の過熱により形成される。牛肉、鶏肉、豚肉、魚、卵、加工肉を、フライやオープン/直火焼きの条件（100℃以上）で、十分香りがたつまで調理すると形成される（下表参照）。IQ は、光や空気中で分解し、長時間の過熱にも弱い可能性がある。

肉、調理法、温度、時間のデータ例

試料	湿重量中濃度 (ng/g)	参考文献
皮つきチキンレッグ 15分フライ		
100℃	0.13	Chiu <i>et al.</i> (1998)
150℃	0.14	Chiu <i>et al.</i> (1998)
200℃	0.51	Chiu <i>et al.</i> (1998)
牛ひき肉、フライ		
240℃	0.5 - 20	Barnes <i>et al.</i> (1983)
250℃	0.02	Felton <i>et al.</i> (1984)
275℃	0.3 - 1.9	Turesky <i>et al.</i> (1988)

（詳細は、「I. 当該化学物質の一般情報」の、「5：食品中の検出状況」項目参照）

牛肉における HCA 生成を時間と温度の関数としてカイネティックモデルを利用し、時間、温度、ブドウ糖およびクレアチン含量の影響を評価する実験で、牛挽肉 5g を試験管に入れ、異なる温度（160℃、180℃、200℃、220℃）、異なる時間（5分、10分、15分、20分）で加熱し、SPEにより HCA を抽出、HPLCにより同定・定量、HCA の前駆体といわれるグルコース、クレアチンの含量を、それぞれソモギ法、 α -ナフトールジアセチル法で測定した結果、160℃、15分以下の加熱では HCA は検出されず、時間と温度の増加に伴い HCA 生成は増加、グルコース、クレアチン含量は減少し、クレアチン損失との相関係数は、IQ ; 0.81、MeIQ ; 0.74、MeIQx ; 0.93、PhIP ; 0.87 であった(Ahn *et al.* 2005a)。さらに、天然抽出物（ブドウ種子抽出物、マツ樹皮抽出物、ローズマリー精油）の、牛肉加熱調理時の HCA 生成に対する抑制効果を調べるため、天然抽出物（ブドウ種子抽出物、マツ樹皮抽出物、ローズマリー精油）を牛挽肉に対し 0.5% あるいは 1% 添加し、牛挽肉を 200℃で 20 分間過熱、牛挽肉パテを 210℃で両面を 10 分ずつ加熱した結果、HCA の生成量は天然抽出物添加により抑制された（Ahn *et al.* 2005b、下表参照）。

天然抽出物添加による、牛挽肉・牛挽肉パテ加熱時の HCA 生成の抑制効果

HCA	天然抽出物添加無しでの生成量 (ng/g)	天然抽出物添加による抑制効果
牛挽肉		
MeIQx	22.7	MeIQx 生成量は 60%以上減少
PhIP	12.1	PhIP 生成量は 53~63%減少)
IQ	3.2	データなし
MeIQ	2.0	データなし
牛挽肉パテ		
MeIQx	6.4	23~64%減少
PhIP	9.1	データなし
IQ	0.6	データなし
MeIQ	1.2	データなし

(Ahn *et al.* 2005b Journal of Food Science 70(4): C263-C268)

2. 参考

食品廃棄物や埋立て式ごみ処理地から発生する可能性がある。タバコの煙にも存在する (Yamashita *et al.* 1986)。

Ⅲ. 代謝 (体内運命)

1. 吸収

IQ は、経口摂取後、主に小腸から急速に吸収される (Alldrick and Rowland 1988)。

2. 分布・蓄積

マウス実験では、代謝器官と排泄器官、リンパ骨髄系組織、内分泌系と生殖系組織に蓄積する。胎盤関門を通過したが、胎児組織に蓄積されたり貯留したりはしなかった (Bergman 1985)。

3. 代謝

ヒト肝臓ミクロソームが、IQ を N-ヒドロキシ-IQ を含む DNA 反応性のある代謝物に活性化する。これに関与するイソ酵素は、チトクローム P450 イソ酵素 CYP1A2 とされている (Butler *et al.* 1989, Shimada *et al.* 1989, and McManus *et al.* 1990)。DNA 反応性の IQ 代謝物は、IQ を添加して培養したヒト乳腺上皮細胞にも検出されている (Pfau *et al.* 1992)。IQ は、精囊から分離されたミクロソームに存在するプロスタグランジンヒドロペルオキシド依存性の反応経路を通して酸化される (Wild and Degen 1987, Petry *et*

al. 1989, Liu and Levy 1998)。ヒト肝臓や結腸由来の細胞基質が、IQ の 7-ヒドロキシル化を触媒する報告もある (Turesky *et al.* 1991, cited in IARC 1993)。ヒドロキシル IQ は、さらに O-アセチル基転移酵素によるエステル化で N-アセトキシ IQ に、また硫酸基転移酵素による硫酸化で IQ-N-硫酸となる。(Kato and Yamazoe 1987, Snyderwine *et al.* 1992a)。

N-水酸化に加えて、チトクローム P-450 による環状酸化 (C-5 の位置に形成) や N-脱メチル化からも代謝物が形成される (Turesky *et al.* 1993)。IQ 投与されたラットの尿中に N-ヒドロキシ IQ のグルクロニドが検出された (Turesky *et al.* 1993)。7-ヒドロキシ IQ のグルクロン酸抱合は、ヒトやラットの肝臓にあるウリジン 5'-ジホスホグルクロン酸依存性グルクロン酸転移酵素による (Kaderlik *et al.* 1994)。マウス、ラット、ヒトにおける腸内細菌フローラも、IQ の直接変異原性を有する 7-ヒドロキシ誘導体への変換に寄与する可能性があり、牛肉の汁を添加した飼料を摂取したラットでは、腸内細菌仲介による IQ の 7-ヒドロキシ IQ への変換速度が増した (Rumney *et al.* 1993a, b)。

F344 ラットに IQ (0.03%)、MeIQx (0.04%)、Trp-P-1 (0.015%)、Glu-P-1 (0.05%) を発がん性のある容量で 4 週間使用投与し、肝臓および心臓を ³²P ポストラベル分析で DNA 付加体を解析したところ、いずれの HCA 処理群でも心臓における DNA 付加体が認められた。心臓では肝臓での付加体の 10-20% の値だった (Overik, Eva *et al.*, 1991)。

サルにおけるがんバイオアッセイにより、Q-DNA 付加体は、尿、胆汁、糞中に、10 種の IQ 代謝物の形で検出された。IQ 誘導体としては、主要代謝物とそれらの硫酸あるいは β グルクロニック酸複合体が含まれる。N-ヒドロキシ-IQ とそのグルクロニドが、IQ 投与されたサルの尿中に検出された。N-ヒドロキシ-IQ は、肝臓 (サルにおいては IQ の発がん標的器官)、腎臓、心臓など複数の器官において DNA との付加体を形成することが示された (Snyderwine *et al.* 1992a, 1992b, 1997)。

4. 排泄

ラットの実験では、経管栄養で摂取後、3 日以内で、投与量の 36~49% が尿中に、46~68% が糞中に排泄される (Sjödín and Jägerstad 1984, Inamasu *et al.* 1989)。

加齢に伴い IQ の代謝および体内動態に変化が見られた報告がある。3 月齢と 22~24 月齢の雄 F344 ラットに、薬物代謝シトクロム P450 を誘発するために β-naphthoflavone (BNF) であらかじめ処理し、放射線ラベル IQ (20mg/kg ¹⁴C-ラベル IQ) を腹腔内投与して 24 時間の尿を分析した。高齢ラットでは、尿中の放射性 IQ 総排出量が若月齢ラットの半分以下であった。高齢ラットの腎臓における放射性 IQ 代謝物は若齢の 10 倍高かった。腸および肝臓での放射性 IQ 代謝物には月齢差はなかった。加齢に伴う IQ の代謝の変化

および腎臓機能の変化が、尿排出を減少させ、腎臓の IQ および IQ 代謝物の結合を増加させる要因となっていると指摘された (Armbrecht H J *et al.* 2007)。

5. 毒性発現メカニズム

(1) 遺伝毒性型代謝物である DNA 付加体の形成

IQ 代謝の第一段階は、N-ヒドロキシル化あるいは N-アセチル化のいずれかであり、その反応は、チトクローム P450 イソ酵素と N-アセチル基転移酵素により触媒され、エステル化を経て、2 種類の代謝物、N-アセトキシ-IQ あるいは N-ヒドロキシ-IQ を生じる (Snyderwine *et al.* 1988a, 1988b)。この代謝物は、DNA と共有結合し、塩基対置換、塩基転換、塩基置換、フレームシフト、欠損/挿入突然変異、さらに、DNA 損傷、染色体異常を誘発する。

主要産物は、N-(deoxyguanosyl-8-yl)-IQ と同定されている (Schut *et al.* 1991)。哺乳類細胞では、チトクローム P-450-1A2 と N-アセチル基転移酵素-2 を発現しない細胞では、IQ の遺伝毒性や突然変異性への感受性は低い。N-アセトキシ-IQ は、自然分解により、DNA 結合能をもつ不安定なニトレンウム (nitrenium) イオンを形成する (Snyderwine *et al.* 1992b, 1995)。

IQ-DNA 付加体は、IQ 暴露した動物において、IQ 誘導性の腫瘍が発症した器官を含む多数の器官で検出された (下表参照)。

IQ 摂取した動物体内における DNA 付加体の検出実験結果

実験動物	投与	検出結果	出典
ラット	経口投与あるいは腹腔注射、5mg/kg (Zu and Schut 1991) ~40mg/kg (Loprieno <i>et al.</i> 1991)~100mg/kg (Yamashita. 1988)	肝臓と他の器官中	Loprieno <i>et al.</i> 1991, Zu and Schut 1991a, 1991b, Yamashita <i>et al.</i> 1988
ラット	経口、36mg/kg、4週間	肝臓、心臓中	Övervik <i>et al.</i> 1991
サル (cynomologus monkey)	経口、20mg/kg、15回投与	肝臓	Snyderwine <i>et al.</i> 1988c
マウス (CDF1)	経口、0.01%、3週間	摂食によるDNA付加体形成と、肝臓、肺、胃からの付加体の除去を12日間測定したところ、肝臓、肺、胃からの付加体除去速度は遅く、1日目の付加体の40.8~64.5%が、12日目に残存した。	Schut <i>et al.</i> 1997a
マウス (CDF1)	経管栄養、50mg/kg、単一投与	IQ-DNA付加体の除去速度は、肝臓と胃では速く、1日めの付加体の10.3~14.3%のみが8日目に残存していた。肺におけるIQ-DNA付加体除去速度は、IQ投与モードに依存していた。哺乳類システムにおける主要な付加体は、 ³² P標識法により、N-(deoxyguanosyl-8-yl)-IQ (68.9~83.4%)。	Schut <i>et al.</i> 1997a
マウス	経口あるいは腹腔注射	測定対象：IQ-DNA付加体形成、測定結果： ³² Pポストラベル法により、さまざまな組織中に、IQ-DNA付加体形成検出。	Davis <i>et al.</i> 1996, Schut <i>et al.</i> 1997a, 1997b, Nerurkar <i>et al.</i> 1995
ラット	経口	³² Pポストラベル法により、さまざまな組織中に、IQ-DNA付加体形成検出。	Davis <i>et al.</i> 1994, Schut <i>et al.</i> 1994, 1997a, Turesky <i>et al.</i> 1996a, 1997, Turesky and Markovid 1995, Xu <i>et al.</i> 1996, 1997
霊長類	経口	³² Pポストラベル法により、さまざまな組織中に、IQ-DNA付加体形成検出。	Turesky <i>et al.</i> 1996b, 1997

(2) DNA付加体形成の分子メカニズム

DNA 付加体による毒性発現の分子メカニズムについて、IQ の C8-DNA 付加体を含むオリゴヌクレオチドのサイト特異的合成物の性質を、UV 融解温度分析、円二色性、UV 吸光分光法で解析するため、N-ras-12 配列 (5' -d(GGCA-GIQ-GTGGTG)) と、NarI 制限酵素配列 (5' -d(CTCGGC-GIQ-CCATC)) の G3 特異的 IQ 付加体を合成。IQ-DNA 付加体の ras-12 配列と NarI 制限酵素配列の、円二色性スペクトラにおける IQ 吸光の顕著な相異は、付加体の位置する分子環境がかなり異なることを示す。それぞれのオリゴヌクレオチド、その二本鎖の吸光スペクトラによると、NarI 制限酵素配列の CG 反復部位 (G3) の IQ 付加体は、塩基置換介在型、ras-12 配列の IQ-DNA 付加体は、溝結合型の立体構造をとる。NarI 制限酵素配列の IQ 吸光は、相補鎖にハイブリダイズすると劇的に低下し、これは隣接 DNA 塩基との π - π の積み重なる反応、つまり、IQ キノリン窒素と相補鎖のシトシン間の水素結合により、構造が塩基置換介在型となり、IQ 部位の UV 吸収が妨げられるためである。この構造が、突然変異性に重要な役割を果たすと考えられる (Elmquist *et al.* 2004、2007、下表参照)。

IQ 付加体の塩基配列と立体構造

IQ付加の位置	IQ付加体の塩基配列	立体構造
N-ras-12配列のG ₁	5'-GGC AG(IQ)G TGG TG-3'	溝型
NarI配列制限酵素配列のG ₁	5'-CTC G(IQ)GC GCC ATC-3'	溝型
NarI配列制限酵素配列のG ₂	5'-CTC GG(IQ)C GCC ATC-3'	溝型
NarI制限酵素配列のG ₃	5'-CTC GGC G(IQ)CC ATC-3'	塩基置換介在型 (積み重ね構造)

さらに、DNA 塩基に対する付加体形成時の配列選択性を、標的グアニンの 3' -あるいは 5' -末端に異なるフランキング塩基 (A, G, C, T) を付けた T 塩基豊富な単鎖オリゴヌクレオチドを使って、PhIP と IQ 付加体を HPLC と熱スプレーイオン化質量分析で解析。オリゴヌクレオチド配列に伴う PhIP と IQ により誘導された修飾部位を、タンデム質量分析で決定した結果、G-C8-IQ 付加体形成の優先配列背景は、5' GGG3' 配列であり、G-C8-PhIP 付加体形成では、5'GGA/G/T3' であった (Jamin *et al.* 2008)。

E.coli 中の lacZ フレームシフト対立遺伝子部位の復帰により、変異原性を評価した結果、E.Coli DJ701 株 (組換え芳香族 N-アセチル基転移酵素 NAT を発現) では、N-NO-IQ と N-NO-MeIQx は、用量依存性の変異原性を示した。N-ニトロソアミンは遺伝毒性を有し、ヒドロキシアミンの代替物として結腸がん発生と導く活性中間体でありえる。炎症プロセスは、一酸化窒素合成酵素 (iNOS) の発現を誘導し、アルギニン (l-arg) を一酸化窒素に変換する。炎症中に生成した一酸化窒素と他の因子、たとえばペルオキシダーゼ、過酸化水素、次亜塩素酸塩、反応性のある NO 種 (RNOS) などと酸性 pH (pH5.5)

が、このプロセスを一時的に促進する。RNOS 種が、HCA をニトロソ化し、N-NO-HCA を生産する。これらのニトロソ化合物が、さらに、アセチル化や酸化により活性化し、DNA に結合して、細胞突然変異や発がんに寄与するダメージの原因となる (Zenser *et al.* 2009)。

(2) DNA付加体形成に影響する因子

①・N-アセチル基転移酵素 (NAT) と硫酸転移酵素 (SULT) 遺伝子型

ヒト前立腺細胞基質分画を使って、N-OH-IQ のフェーズ II エステル化における N-アセチル基転移酵素 (NAT) と硫酸転移酵素 (SULT) の役割を調べ、さらに SULT1A1 遺伝子型と IQ-DNA 付加体レベルの相関性を検査した結果、アセチル CoA、3'-phosphoadenosine-5'-phosphosulfate(PAPS)、NAT、SULT 補助因子の存在はいずれも DNA 付加体のレベルを上昇させた。PAPS 存在下での DNA 付加体のレベル拡張は、SULT1A1 タンパク質レベルと相関していた。SULT1A12/2 遺伝子型の単一前立腺細胞基質により生産される DNA 付加体は、1/2 や 1/1 遺伝子型に比べて少ない (Al-Buheissi *et al.* 2006、下表参照)。

PAPS の有無による IQ-DNA 付加体レベル

試料	PAPS 無し ^a	PAPS 有り ^a	PAPS の比	SULT 量 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	SULT1A1 遺伝子型
A	52.7	65.3	1.2	14.5	1/1
B	31.2	50.8	1.6	6.4	1/1
C	16.1	18.2	1.1	7.3	n.d.
D	37.6	94.6	2.5	26.1	1/1
E	14.8	53.1	3.6	35.7	1/1
F	21.0	36.1	1.7	10.6	n.d.
G	16.2	28.8	1.8	5.2	2/2
H	19.8	30.1	1.5	7.7	1/1
I	36.9	48.1	1.3	5.4	1/2
J	19.7	66.7	3.4	54.3	1/2
K	44.6	80.3	1.8	15.8	1/1
中間値	28.2	52.0	2.0	17.2	
最小値	14.8	18.2	1.1	5.2	
最大値	52.7	94.6	3.6	54.3	
最大値/最小値	3.6	5.2	3.2	10.4	
SD	13.1	23.3	0.8	15.6	

^a 付加体/108 ヌクレオチド

n.d.:未決定

(出典 : Al-Buheissi *et al.* 2006 *Pharmacogenetics and Genomics* Vol. 16, No. 6, pp. 391-399)

②HCAの種類

HCA (PhIP、BZ、ABP、IQ、MeIQx) のラクトペルオキシダーゼ触媒による酸化活性を測定し、活性化した代謝物質の DNA 結合レベルを推定したところ、試験対象の発がん物質すべてが、子牛胸腺 DNA と H₂O₂ 存在下で牛 LPO により、DNA 結合誘導体に活性化。DNA 結合レベルは、H₂O₂ 濃度依存性を示し、HCA では、DNA 結合レベルは、IQ が最高、PhIP が最低であった。(Gorlewska-Roberts *et al.* 2004)。

③IQのN-ニトロソ化に対するヘムの影響

IQ の N-ニトロソ化を促進する要素としてヘムの影響を、ヘミンを使って評価した実験では、ヘミン濃度 1~10 μ M 間では、N-NO-IQ 形成は直線的に増加。IQ 濃度 5~80 μ M 範囲で、IQ のニトロソ化を測定すると、NO のみの自動酸化よりも、ヘミンと H₂O₂ 存在下ではニトロソ化種の IQ に対する親和性が 46 倍高く、ヘミンが N-NO-IQ 形成の動力学を変えることがわかっている(Lakshmi *et al.* 2005)。

(3) その他

モノアミンオキシダーゼ (MAO)、チロシンヒドロキシダーゼ (TH)、トリプトファンヒドロキシラーゼ (TRH) 活性の阻害が確認された。HCA は、タイプ A およびタイプ B の MAO を基質に対して阻害し、タイプ A MAO をより強く阻害した (次表参照)。TH 活性は、10 μ M の Trp-P-1 を培地に添加することにより著しく減少した。L-チロシンに関する K_m 値は変化がなかったが、 V_{max} は有意に減少し、阻害が基質に対して拮抗的であることを示した。また、Trp-P-1 と Trp-P-2 は、TRH 活性を L-トリプトファンに対して拮抗的に阻害し、それぞれの K_i はそれぞれ 99.6 と 41.7 μ M であった。これらの結果から、食物由来 HCA は、生体アミンの生合成と代謝を阻害することにより、脳内モノアミン量を乱すことが示唆された。(Maruyama, W *et al.* 1994)

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 K_i

化合物	MAO-A	MAO-B
	$K_i(\mu\text{M})$	$K_i(\mu\text{M})$
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K_m for kynuramine (μM)	46.4	80.4
V_{max} for kinuramine	0.81	3.52

*: キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

ヒトチトクローム P4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 とヒト NADPH-P450 還元酵素と細菌 O-アセチルトランスフェラーゼを発現している umu 試験のサルモネラ菌株を作製し、HCA の代謝活性化を測定した。ヒトチトクローム P4501A2 を発現させた菌株で Trp-P-1、Trp-P-2、PhIP、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2 が高い代謝活性を示した。Trp-P-1、Trp-P-2 はヒトチトクローム P-4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 のすべてのタイプで活性化された。(Yoshimitsu, Oda *et al*, 2001)

HCA を発がん性物質に活性化するヒト酵素、CYP1A2、NADPH シトクロム P450 酸化還元酵素、NAT2 を発現する酵母株を作製し、異なる濃度の HCA を 4 時間暴露し、組み換え体を検出して、遺伝子変換、染色体転座、内在 URA3 の正変異 (forward mutation) を観察した。IQ 暴露時に、遺伝子変換 (約 23 倍)、転座頻度 (約 80 倍) が高くなった。NAT2 非発現株ではこれらの組み換え頻度の増加がみられず、IQ の活性化は NAT2 に依存していた。また、URA3 変異頻度は、IQ で 15 倍、MeIQx で 9 倍、Glu-P-1 で 4.5 倍の増加がみられた。(Paladino, Giuseppe *et al*, 1999)

IV. 疫学調査（ヒトへの影響）

1. 急性毒性

該当情報なし

2. 慢性毒性

該当情報なし

3. 発がん性

IQ 摂取による発がん性の根拠は乏しく、結論できない。IQ と乳がんの相関性、HCA と結腸直腸がんとの相関性を示す調査結果もあるが、結腸、直腸、膀胱、腎臓がんとの相関性を示さない結果もある（下表参照）。

各種がんを対象とした疫学調査の報告

がん	IQ摂取推定	対象	結果	出典
乳がん	四分位数 I:≤0.42ng/g, II:0.43-0.66ng/g, III:0.67-1.01ng/g, IV:≥1.02ng/g	乳がん患者（閉経前、後）352人とコントロール382人	オッズ比は、IIに対し1.22, IIIに対し 1.87, IVに対し 3.34と増加。閉経前の患者についてはこのような相関性は弱い。	De Stefani <i>et al.</i> 1997
結腸直腸腺腫	素材：赤肉、食頻度：週一度の頻度あるいは、揚げる時間が10%、あるいは調理の程度が浅いものを摂取していた場合、低暴露とし、週一度以上の頻度、あるいは揚げる時間が10%以上、調理程度の深い色が暗褐色になるまで調理されたものを摂取していた場合、高暴露、他は中間レベルの暴露とする。	488人の個別にマッチする症例グループと対照グループ	S状結腸鏡検査によると、肉を揚げる時間のパーセント値と腺腫の罹患率に相関性はあるが、調理の深さの程度、肉表面の黒色化、肉を焼く時間のパーセント値とは相関性がない。高暴露対低暴露のオッズ比は1.7、肉暗褐色については2.2。	Probst-Hensch <i>et al.</i> 1997
結腸、直腸、膀胱、腎臓がん	食頻度：肉、魚、摂取頻度、サイズ、調理法、表面暗褐色化の程度に基づき、前5年間の食事におけるIQ摂取量推定、四分位数で分類	調査対象：352人結腸がん患者、249人直腸がん患者、273人膀胱がん患者、138人腎臓がん患者、553人コントロール	HCA全体の摂取とは相関性が弱い。IQ摂取との相関性無し。低頻度のHCA摂取と発がん性とは相関性無し。	Augustsson <i>et al.</i> 1999

MeIQ, IQ, MeIQx, PhIP, Glu-P-1 を長期で経口投与した CDF マウス、F344 ラットについて一本鎖 DNA 高次構造多型 (S S C P)解析、PCR直接配列決定を行った。主に *ras* および *p53* についての解析が行われた。IQ により誘導された外耳脂腺腫瘍では、*Ha-ras* または *Ki-ras* への変異が2つのパピローマ、13のうち10の扁平上皮がん(SCC)にみられた。*p53* の変異は4つの SCC にのみ見られた。*ras* 変異は初期に見られる現象である

ことが示唆され、*p53* は悪性度とより関係していた (Ushijima T *et al*, 1995)。

4. 次世代影響

該当データなし

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

該当データなし

2. 反復投与毒性試験

該当データなし

3. 生殖・発生毒性試験

該当データなし

4. 遺伝毒性試験

IQ は、*S. typhimurium*, *E. coli* に突然変異を誘導し、*D. melanogaster* に DNA 傷害と突然変異を誘導し、哺乳類細胞においては、生体外・生体内システムにおいて、染色体異常誘発性、変異原性を示す (下表参照)。

実験動物における遺伝毒性試験結果

動物種	投与方法	結果	出典
in vivo			
マウス	腹腔注射 (50mg/kg、 160mg/kg 単一投与)	160mg/kg 単一 IQ 量を腹腔投与してもマウスの骨髄細胞における染色体異常は増加しなかったが、50mg/kg 単一 IQ 量腹腔投与により、ラット肝細胞においては染色体異常の頻度が増加した。	Minkler and Carrano 1984
マウス	20mg/kg 体重当たり (腹腔注射)。 400mg/kg 母体体重当たり (子宮内投与)、	メラニン形成細胞に突然変異誘発されず。	Wild <i>et al.</i> 1985
マウス NMRI(宿主、 <i>S. typhimurium</i> TA98 株を含有)	腹腔注射 (0.198mg/kg 単一投与)	宿主仲介アッセイ。 <i>S. Typhimurium</i> に突然変異誘発した。	Wild <i>et al.</i> 1985
マウス Swiss albino (宿主、 <i>E.coli</i> 株 M343.753, M343/765 を含有)	経口投与 2.3mg/kg 単一投与	宿主仲介アッセイ。 <i>E. coli</i> に突然変異誘発	Knasmüller <i>et al.</i> 1992

動物種	投与方法	結果	出典
マウス CD-1、雄	腹腔注射 (13mg/kg)	DNA 損傷が肝臓、肺、脳内に 3 時間後に、胃と腎臓には 24 時間後に検出。肝臓と脳の DNA 損傷は、24 時間で正常レベルに戻ったが、肺では存続。かなりの DNA 損傷が、胃と腎臓で 24 時間後に検出したが、3 時間後では検出されず。	Sasaki <i>et al.</i> 1997
マウス NMRI、(宿主、 <i>S. typhimurium</i> TA98 を含有) Swiss albino (宿主、M343/753、M343/765 株を含有)	0.198mg/kgIQ の単一腹腔投与 (NMRI マウス)、2.3mg/kg の単一経口投与 (Swiss albino)	宿主仲介アッセイで突然変異誘導性を試験。IQ による突然変異誘導が観察された。	Wild <i>et al.</i> 1985、 Knasmüller <i>et al.</i> 1992
<i>LacZ</i> トランスジェニック マウス CDF1(BALB/cxDBA/2F 1) 雄 (10 週齢)	5 日間経口投与 (コントロールはコーンオイル)	最終の経口投与から 2 週間後に小腸、盲腸、大腸から粘膜上皮を単離し、DNA を抽出。 <i>cII</i> 遺伝子の変異誘発能は PhIP > MeIQ > IQ。盲腸 : IQ で 1.9 倍、MeIQ で 2.7 倍増加。	Itoh <i>et al.</i> 2003
ラット Sprague-Dawley、6 週齢	経管栄養 (全体重、15mmol/kg 体重当たり (3000mg/kg 体重当たり) を 30 週間にわたり投与)	1 年後、肝臓では、変質肝細胞部位が、脾臓では異型過形成的腺房が、副腎皮質では変質増殖部位が検出された。	Tanaka <i>et al.</i> 1985
ラット F344 雄	0.04% PhIP または 0.03% IQ	誘発した大腸腫瘍では、β カテニンのリン酸化部位のコドン内または隣接した箇所に変異が認められた。	Dashwood RH <i>et al.</i> 1998
ラット (Big Blue)	経口投与 (0、20、70、200mg/kg、3 週間)	大腸と肝臓における、DNA 付加体 (³² P 標識) と DNA 損傷 (コメットアッセイ) のレベルは、IQ 投与量に比例しており、最高値は大腸において検出された。結果を総合すると、肝臓と大腸における IQ 誘導性発がんの開始は、酸化ストレスよりはむしろ DNA 付加体によるものであることが示された。	Moller <i>et al.</i> 2002
in vitro			
Chinese hamster lung fibroblast(CHL/IU) (肺由来の線維芽細胞)		IQ 暴露した細胞では、代謝活性存在下で染色体異常が明らかに増加した。10 μg/mL で、IQ 暴露時間が長くなると異常頻度が増した。最高濃度では異常の誘導は弱かった。	Miura <i>et al.</i> 1993
<i>Salmonella typhimurium</i> 、TA98 株、ラット、 <i>cynomologus monkey</i> 、ヒトの肝臓由来のミクロソームタンパク質		肝ミクロソームタンパク質と NADPH による代謝活性化の存在下で、IQ は突然変異性を示した。種間には統計学的有意差はなかった。	Davis <i>et al.</i> 1993

動物種	投与方法	結果	出典
<i>Salmonella typhimurium</i> , YG1012 株 (ヒト P-450-1 A2 を含むマイクロソームを有する)		ヒト P-450-1 A2 を含むマイクロソームと過酸化水素を使った試験で、His+復帰突然変異体が誘導された。突然変異反応は、マイクロソームのタンパク質、IQ、過酸化水素の濃度に依存していた。過酸化水素の追加により、マイクロソームタンパク質による His+復帰突然変異体の誘導は拡大した。	Morrison <i>et al.</i> 1993、Anari <i>et al.</i> 1997
<i>Salmonella typhimurium</i> , TA98pYG219 株 (雄羊精囊マイクロソームを有する)		雄羊精囊マイクロソーム (RSVM) と IQ をともにインキュベーションした結果、プロスタグランディン H 合成酵素により代謝活性化され、アラキドン酸供給により、復帰突然変異の頻度が濃度依存性の増加を示した。アラキドン酸を除いた結果、IQ の突然変異性は抑制された。また RSVM の加熱により IQ の突然変異性は破壊された。	Wolz <i>et al.</i> 1995
<i>Salmonella typhimurium</i> , TA98 株		抗変異原性薬を使って、IQ 突然変異のメカニズムを決定した。Theafulvins によるチトクローム P-450 の抑制は、IQ の突然変異性の低下と濃度依存性の相関性を示した。Theafulvins は、メトキシ、エトキシ、ペントキシ-レゾルフィン (それぞれチトクローム P-450 システムの CYP1A2、CYP1A1、CYP2B の化学プロープ) の O-脱アルキル反応を抑制するため、IQ とその突然変異性代謝物の活性化を抑制する。	Catterall <i>et al.</i> 1998
初代牛結腸上皮培養細胞	IQ は、1、10、100、300 μ M、PhIP は、1、10、100、500 μ M DMSO (<0.5%) 溶液	初代牛結腸上皮細胞培養を短期遺伝子毒性検査に利用して、IQ と PhIP の細胞毒性と遺伝子毒性を検査。中性赤の取り込み抑制により IC ₅₀ を決定。PhIP は 500 μ M まで細胞毒性はなかったが、IQ は 300 μ M 以上は細胞毒性を示した。コメットアッセイで DNA 鎖切断の誘導を検査。外来性酵素代謝システム (S9 ミックス) 存在下でのみ、PhIP は 10 μ M 以上で DNA 鎖切断を誘導し、IQ は 300 μ M でも重要な影響はなかった。	Foellmann <i>et al.</i> 2008

また、IQ、PhIP、MeIQx のマウスにおける *in vivo* 遺伝毒性 (染色体異常誘発性、異数性誘発性) を比較した実験では、Balb/C (6~7 週齢、20~25g 体重、雄) に単一腹腔注射で、IQ (0~40 mg/kg 体重当たり)、PhIP (0~36 mg/kg 体重当たり)、MeIQx (0~90 mg/kg 体重当たり) をそれぞれ、10、11、14 段階の用量に分けて投与したところ、PhIP のみに有意な用量反応相関性がみられた (Durling *et al.* 2005)。

ラット Fisher 344 中に形成したヒト腸管マイクロフローラにおける IQ 誘導遺伝子毒性 (DNA 損傷) に対する、4 種類のヒト食品成分、発酵ミルク、インシュリン、オリゴフルクトース、ブリュッセルズプラウトの化学的保護効果を評価する実験が行われた。試験飼料摂取して 4 週間後に IQ を 90mg/kg 摂取したところ、IQ と共に試験飼料を摂取した場合、DNA 損傷は低下した。低下の範囲は、インシュリンで 74%からブリュッセル

ルスプラウトで39%。結腸細胞では、コメットテールの長さは、インシュリンと発酵ミルク摂取で70%、ブリュッセルスプラウト、オリゴフルクトース摂取で55%であった (Humblot *et al.* 2004)。

5. 発がん性試験

ラットのIQ経口摂取により、雌には、乳腺、肝臓、小腸、陰核腺、口腔、Zymbal腺に新生物が、雄には、肝臓、皮膚、結腸、小腸、口腔、Zymbal腺、肺に新生物が誘導された。マウスの経口摂取では、雄雌ともに、肺、肝臓、前胃に新生物を誘導した。マウスとサルの腹腔注射では、肝臓腫瘍が誘導された (下表参照)。

実験動物における発がん性試験結果

がん	動物種	投与方法	結果	出典
肝細胞腺腫と肝細胞がん、肺腺腫と肺がん、乳頭腫、扁平上皮がん	マウス CDF1[BALB/cAnN x DBA/2N]F1、雄40匹、雌40匹、7週齢	経口投与 (300ppm、675日間)	IQ投与により、肝細胞腺腫と肝細胞がん、肺腺腫と肺がん、乳頭腫、扁平上皮がんの発生率が上がった。	Ohgaki <i>et al.</i> 1984, 1986
大腸異常腺窩	マウス CDF1[BALB/cAnN x DBA/2N]F1、10匹あるいはそれ以上の雌、27-31日齢	経管栄養 (200-400mg/kg 体重当たり、LD50の1/2、4日間休止期間で2回)	大腸異常腺窩数は、IQ初回投与後21日で投与量に比例し増加。腺窩は盲腸末端で高頻度に見られた。	Tudek <i>et al.</i> 1989
肝細胞腺腫 肝細胞がん (8か月目、12か月目)	マウス B6C3F1 新生児	腹腔内注射 (0.625あるいは1.25 µmol (125-250 µg), DMSO、誕生後1日目、8日目、15日目に投与)	肝細胞腺腫発生率は、IQ投与により上昇した (8か月目で、1/44コントロール、5/24低量投与、5/16高量投与。12か月目で、5/44コントロール、7/19低量投与、14/20高量投与)。さらに、肝細胞がんの発生が、12か月目で、高量投与のマウスにみられた。	Dooley <i>et al.</i> 1992
乳腺腫、原発性腺がん と新生小結節、肝細胞がん、肝臓血管内皮腫、Zymbal腺の扁平上皮がん	ラット Sprague-Dawley、32匹、6週間目、コントロール9匹	経管栄養 (IQ塩化物0.35mmol 体重当たり、つまり70mg/kg) 第1~4週目までは、週3回投与、第5~8週目は週2回、第9~31週目は、週1回投与。52週まで続行。	IQ投与により、乳腺腫(14/32)、原発性腺がんと新生小結節 (3/32)、肝細胞がん (2/32)、肝臓血管内皮腫 (2/32)、Zymbal腺の扁平上皮がん (11/32) の発生率上昇がみられた。	Tanaka <i>et al.</i> 1985

がん	動物種	投与方法	結果	出典
肝細胞がん、Zymbal 腺の扁平上皮がん、腸の腺がん	ラット Fischer 344、雄 40 匹、雌 40 匹、8 週目、コントロール雄雌各 50 匹	経口投与 (300ppm、104 週間)	肝細胞がん、Zymbal 腺の扁平上皮がん、腸の腺がんによる瀕死の症状と早期死亡の発生率上昇がみられた。	Takayama <i>et al.</i> 1984, Ohgaki <i>et al.</i> 1986
結腸がん、皮膚の扁平上皮がん、肝臓腺腫	ラット Fischer 344、雄 30 匹、6 週齢	直腸内注入、35mmol/kg, DMSO, 4 か月間、週 3 回投与、さらに 14 か月間週 2 回投与	結腸がん (13/30)、皮膚の扁平上皮がん (11/30)、肝臓腺腫 (5/30) の発生率上昇がみられた。	Weisburger <i>et al.</i> 1995
肺がん	ラット F344/DuCrj SPF 雄 6 週齢、90 匹	経口投与 IQ 0、150、300 ppm ± DHPN	無処理群(0%)に比べて 300 ppm IQ 投与群(25%)では有意に肺腫瘍の発生頻度が高かった。細胞増殖が促進され、DHPN 誘発肺がん発生の促進が示された。	Kitamura Y <i>et al.</i> 2006
肝臓、大腸、外耳脂腺がん	ラット F344、6 週齢雄、125 匹	200 mg/kg ジエチルニトロソアミンを腹腔注射 1 回、40 mg/kg 1,2-ジメチルヒドラジンを皮下注射 4 回投与した後 27 週間、0、300 ppm IQ を混餌投与し、0, 0.1, または 0.2% NaNO ₂ を飲料水で投与	IQ および NaNO ₂ 投与で大腸がんおよび外耳脂腺がんを有意に促進させ、肝細胞がんも促進させる傾向が見られた。IQ 単独投与では 8-OHdG や脂質過酸化反応は見られず、IQ 特異的な DNA 付加体形成による遺伝毒性が IQ 誘発がんの主なメカニズムと考えられた。	Kitamura Y <i>et al.</i> 2006
肝臓腫瘍	マウス(Nrf2(-/-)、8 週齢、雄雌)	経口 (300ppm、組織病理学的分析用に、52 週間)	Nrf2(-/-)マウスにおける IQ 誘導腫瘍形成率は、コントロールより高く、有意差あり。Nrf2(-/-)マウスは雄雌ともに代謝酵素誘導欠損により IQ 肝臓発がん性に感受性が高い。	Kitamura <i>et al.</i> 2007
肝細胞がん	サル (<i>Macaca fascicularis</i>)、試験開始時 1 才、20 匹	経管栄養 (10mg/kg (雄 14 匹、雌 6 匹) あるいは 20mg/kg (雄 8 匹、雌 12 匹)、ヒドロキシプロピルセルロース、週 5 回、60 か月間投与	20mg/kg 投与された 20 匹すべてと、10mg/kg を投与された 15 匹において肝細胞がんが発生し、数匹に肺への転移がみられた。	Adamson <i>et al.</i> 1990, 1991, Thorgeirsson <i>et al.</i> 1996

がん	動物種	投与方法	結果	出典
心筋病巣	サル、10匹	経口、10mg/kg、 あるいは 20mg/kg、週5日、 48～80か月	8～10匹の心臓組織に病巣が検出。細胞壊死確認。IQ量と心筋異常の程度にある程度の相関性があった。	Thorgeirsson <i>et al.</i> 1994
肝細胞がん	サル (<i>macaques, cynomolgus</i>)	経口、10mg/kg、 あるいは 20mg/kg、週5日	10mg/kg投与のものは55%に、20mg/kg投与のものは、95%に肝細胞がんが発生した。高い量を投与したグループにおける潜伏期間は43か月、低い量を投与したグループにおける潜伏期間は60か月。	Adamson <i>et al.</i> 1994

6. 特殊毒性試験（神経毒性、免疫毒性等）

該当データなし

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

(1) 国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC)

総合評価：2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) は、ヒトに対する発がん物質である可能性を有する (=probably carcinogenic to humans) (Group 2A)。

根拠：ヒトにおけるIQの発がん性を示す根拠は不十分であるが、動物においては十分な証拠がある。IQは、総合的には遺伝毒性を有し、この活性は、げっ歯類 *in vivo* で発現することが示されている。また、ヒトミクロソームを発現させた細菌試験において、ミクロソームにより、細菌DNAを損傷させる物質に代謝されることが示されている (IARC 1993)。

(2) NTP

2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)は、1999年に発がん物質候補としてリストされ、RoC10thEdition(2002)において、ヒト発がん物質と予想される物質 (reasonably anticipated to be a human carcinogen, Group2A)と評価された。

発がん性物質報告用のNIEHS評価委員会RG1 (NIEHS Review Committee for the Report on Carcinogens (RG1)) は、7対0で、論理的にヒト発がん物質と予想される物質 (reasonably anticipated to be a human carcinogen) にIQをリストすることに合意した。

発がん性物質報告用のNTP執行委員会機関合同ワークショップグループRG2 (NTP Executive Committee Interagency Working Group for the Report on Carcinogens (RG2*))

は、8対0で、論理的にヒト発がん物質と予想される物質（reasonably anticipated to be a human carcinogen）にIQをリストすることに合意した。

NTP Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee (External Peer Review Group、外部同領域専門家による査読グループ)は、7対0で、論理的にヒト発がん物質と予想される物質（reasonably anticipated to be a human carcinogen）にIQをリストすることに合意した。

*RG2に掲載されているNTP執行委員会からの代表組織は次のものを含む：

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR),

Consumer Product Safety Commission (CPSC),

Environmental Protection Agency (EPA),

National Center for Environmental Health of the Centers for Disease Control and Prevention (NCEH/CDC),

National Center for Toxicological Research of the Food and Drug Administration (NCTR/FDA), National Institute for Occupational Safety and Health/CDC (NIOSH/CDC),

Occupational Safety and Health Administration (OSHA), National Cancer Institute of the National Institutes of Health(NCI/NIH),

National Institute of Environmental Health Sciences/NIH(NIEHS/NIH)

2. 国際機関等のリスク管理措置

(1) 米国国立がん研究所 (National Cancer Institute)

2004年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告について紹介され、米国の平均的食生活におけるHCAの摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソースを作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCAの暴露を軽減することができるとしている。(NCI, 2004)

(2) 米国農務省 (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service)

2006年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質のHCAの生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCAの生成や摂取を減らす方法を紹介している。(USDA, 2006)

(3) 英国食品基準庁 (Food Standards Agency)

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」のQ&Aの項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化水素化合

物 (PAHs) や HCA のような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。(FSA)

Ⅶ. 相互作用

1. ヘテロサイクリックアミン同士の相互作用

混合投与については、6週齢の雄雌 F344 ラットに、Trp-P-1(0.003%)、Trp-P-2(0.004%)、Glu-P-2(0.01%)、A- α -C(0.016%)、IQ(0.006%)の低濃度量（それぞれ単独投与実験で使用した量の 1/5）を混合して、混餌投与した。ラットの体重は、対照ラットの体重よりも 10%減少し、平均寿命も短かった。ラット雄雌共に、肝、大腸、Zymbal gland に、また雄のみ皮膚に、雌にのみ陰核 gland にそれぞれ腫瘍がみられた。腫瘍は対照に比べかなり高い頻度で発生している（下表参照）。(Takayama, Shozo *et al*, 1987)

群	性	ラット数	腫瘍を発生したラット数							
			肝	小腸	大腸	Zymbal gland	皮膚	包皮腺	陰核腺	その他
5種 HCA	雄	51	42	4	14	7	21	6	-	35
	雌	51	33	1	9	9	2	-	20	23
対照	雄	50	2	0	0	0	0	2	-	39
	雌	50	0	0	0	0	0	-	0	12

(出典：Japanese Journal of Cancer Research, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.)

6週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2週間後、HCA 混合または単独混餌を 6週間投与。混餌は、5種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10種の発がん量の 1/10、1/100 量。3週後に肝臓の 2/3 を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA 同一量を個々に混餌投与した群より、グルタチオン S-トランスフェラーゼ陽性の前がん状態病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10種の HCA を各 1/10 量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。これらの効果は CYP1A2 を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

また、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、MeIQ、IQ の混合物を、*Salmonella typhimurium* A98 には変異原性を示すが野生型の TA1978P には示さない濃度で投与したところ、複合投与による有意差のある復帰突然変異の増加が見られた。この結果から、環境中の変異原性物質は複雑に混合された状態で存在するため、このような加法的作用について検討する必要があると指摘されている (Ohta T 2006)。

2. その他の物質との相互作用

がんの危険性を低減するといわれる食物繊維のリグニン化およびフェルロイル化が、HCA 類の吸着に及ぼす影響についての報告がある。Funk らは、組織培養したトウモロコシから細胞壁を抽出し、人工的にリグニン化・フェルロイル化し、リン酸緩衝液に細胞壁 (15 mg) と 4 種類の HCA (MeIQ_x、IQ、PhIP、A- α -C) 72 μ L を加え、37 °C で 1 時間攪拌し、細胞壁に吸着されなかった HCA 含量を HPLC-UV で測定した。吸着量には HCA の疎水性が影響、A- α -C (最大 78%) > PhIP (最大 58%) > MeIQ_x、IQ (最大 29%) であり、細胞壁中のリグニン含量は疎水性 HCA の吸着量を増大させた (Funk *et al.* 2006、下表参照)。

異なるリグニン含量のグアイアシル DHP 細胞壁への HCA の吸着率

HCA	細胞壁への吸着率 (%)	
	リグニン含量 4%	リグニン含量 11%
MeIQ _x	13	18
IQ	19	24
A- α -C	39	58

(出典 : Funk *et al.* 2006 Journal of Agricultural and Food Chemistry 54(5):1860-1867)

HCA の毒性緩和作用は、ビール、乳酸菌で報告されている。4 種類のビール(ピルスナータイプ 2 種、黒ビール、スタウトビール) の HCA 群に対する抗変異原作用を、Ames test で測定した結果、ラット S9 存在下の MeIQ_x、PhIP、Glu-p-1、Trp-P-2、IQ、S9 非存在下の活性化 IQ、およびヒト S9 存在下 MeIQ_x のいずれに対しても、ビールサンプルは抗変異原活性を有し、濃色のビールほど、また、ホップ濃度が高いほど、強い抑制効果を示した (Nozawa *et al.* 2004)。

ヨーグルトの商業生産に利用されている 4 種類の乳酸菌の、HCA 類による DNA 損傷に対する防除効果を調べた実験では、F344 ラットに 4 種類の乳酸菌を給餌 (1.0 \times 10⁷ ~ 1.0 \times 10¹¹[細胞/個体]) 後、牛肉由来 (PhIP、IQ、MeIQ_x、DiMeIQ_x、A- α -C) と鶏肉由来 (PhIP、MeIQ_x、DiMeIQ_x、A- α -C) の 2 種類の HCA 混合物を経口投与し、大腸と肝臓における DNA 移動を単細胞ゲル電気泳動 (SCGE ; コメットアッセイ) により測定した。鶏肉由来の HCA では乳酸菌処理による防除効果はないが、牛肉由来の HCA では 4 種類いずれの乳酸菌でも DNA 移動が減少した。乳酸菌量が増加すると忌避効果も上昇し、1.0 \times 10¹¹ (細胞/個体) 処理で効果は最大であり、肝臓では DNA 損傷が 50%、大腸では 30% 減少した (Zsivkovits *et al.* 2003)。

また、乳酸菌 12 株の HCA 類結合力、およびその HCA 変異原性に及ぼす影響を調査

する目的で、乳酸菌 8 種(*B. longum*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. kefir*, *L. plantarum* and *S. thermophilus*)から 12 株を選択し、乳酸菌懸濁液に HCA 溶液(5 種類の HCA で、A- α -C、PhIP、IQ、MeIQx、DiMeIQx、各 1.0 μ g) を加え混和し、37°C で 4 時間保温した後、クーロメトリー電極アレイを用いた HPLC で未結合の HCA を検出した。その結果、*L. helveticus* が最大 (78-89%)、*L. kefir* が最低 (4-13%) で、HCA による乳酸菌への結合の差異は、A- α -C、DiMeIQx (50%前後) > MeIQx > IQ、PhIP (30%程度) であった (Stidl *et al.* 2008)。

HCA により S9 存在下で誘導された変異原性に対する、脂溶性抗酸化物質 1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ)、1-O-alkyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(THQ)のメチル、エチル、ブチル、ヘキシル誘導体の効果がエームス試験で検討された。HTHQ は IQ の変異原性を、2.5 μ g/plate 量で 83%抑制し、20 μ g/plate 量で 99~100%抑制した。THQ 誘導体では、IQ 誘導変異原性に対して、アルキル鎖の長さに比例して抗変異原性活性が高くなった。(Hirose M *et al.*, 1995)

天然のアントラキノン色素、プルプリンの、HCA (Trp-P-2、Trp-P-1、MeIQ、IQ、Glu-P-1) に対する変異原性抑制機構を、サルモネラ菌 TA98 を使った Ames test を用いて解析した結果、Trp-P-1、Trp-P-2 に対して 90%以上が、MeIQ、IQ、Glu-P-1 では 60%以上が抑制された。Trp-P-2(NHOH)に対する抑制機構を、アセチルトランスフェラーゼ欠損株、S9 の有無、CYP1A2 と NADPH チトクローム P450 還元酵素と O-アセチル転換酵素を発現しているサルモネラ菌 TA1538ARO を使い、Ames test で解析した結果、抑制はモル濃度に比例しており、抗変異原性物質である EGCG、クロロフィリンと同等の抑制効果を示した。また、pH5.0 より pH7.4 で強く抑制され、アセチルトランスフェラーゼ欠損株を用いた場合でも抑制された。S9 の有無に関わらず抑制はおこったが、S9 非存在下の方が強く抑制された。TA1538ARO を用いた Ames test では、CYP1A2 の分解と NADPH チトクローム P450 還元酵素の抑制が見られた。これらの結果から、プルプリンの変異原性抑制は、中性で、ヒドロキシアミンに作用すること、それは CYP1A2 と NADPH チトクローム P450 還元酵素の働きの抑制によることが示唆された (Marczylo *et al.* 1999)。

4 種類のビール(ピルスナータイプ 2 種、黒ビール、スタウトビール)の HCA 群に対する抗変異原作用が評価された。Ames test では、ラット S9 存在下の MeIQx、PhIP、Glu-p-1、Trp-P-2、IQ、S9 非存在下の活性化 IQ、およびヒト S9 存在下 MeIQx に対して、ビールサンプルは抗変異原活性を有し、濃色のビールほど、また、ホップ濃度が高いほど、強い抑制効果を示した。CYP1A2 活性に対するビールサンプルの効果を MROD 活性測定により検討したところ、ブラック、スタウトビール 5~10%添加で用量依存的に CYP1A2 活性を抑制した。(Nozawa, Hajime *et al.*, 2004)

IQ 摂取により誘導される遺伝毒性の緩和について、ラット Fisher 344 を、経管栄養で 15 日間、4 種の化学予防物質を試験した。phenylethylisothiocyanate (PEITC) (816mg/kg 飼料当たり)、genistein (500mg/kg 飼料当たり)、chlorophyllin (10g/kg 飼料当たり)、lycopene (10g/kg 飼料あたり) を摂取させ、14 日目に、経管栄養法で、 $[^{14}\text{C}]$ PhIP、 $[^3\text{H}]$ IQ を単一投与し、結腸、肝臓、前立腺由来の DNA と血漿アルブミンを分析した結果、IQ-DNA 付加体レベルは影響を受けないが、PhIP-DNA 付加体レベルは、PEITC、chlorophyllin 処理により低下し、genistein、lycopene 処理では、肝臓における付加体レベルは増した。血漿中の PhIP-アルブミン付加体レベルは、PEITC、chlorophyllin 処理により低下するが、genistein 処理では増し、PhIP-DNA 付加体のレベル変化と類似した。IQ-アルブミン付加体レベルは、genistein、lycopene で増し、IQ-DNA 付加体レベルの変化との相関性は明確ではなかった(Dingley *et al.* 2003)。

VIII. まとめ

2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, IQ (CASRN 76180-96-6) は、肉抽出物などの、アミノ酸、還元糖、脂肪の混合物の過熱により形成される。牛肉、鶏肉、豚肉、魚、卵、加工肉を、フライやオーブン/直火焼きの条件 (100°C 以上) で、十分香りがたつまで調理すると形成される。IQ は、光や空气中で分解し、長時間の過熱にも弱い可能性がある。食品以外の暴露経路としては、タバコの煙、また食品廃棄物や埋立て式ごみ処理地から発生する可能性がある。

クレアチンとプロリンを 180°C で加熱、あるいは、グリシン、フルクトース、クレアチニンの混合物を 128°C で加熱、あるいは、クレアチニンとフェニルアラニンを 200°C で加熱、あるいはクレアチニン、フェニルアラニン、グルコースを 200°C で加熱、また、セリンとクレアチニンの乾燥混合体を 200°C で加熱しても形成される。また、天然抽出物 (ブドウ種子抽出物、マツ樹皮抽出物、ローズマリー精油) が、牛肉加熱調理による HCA 生成を抑制することが報告されている。

IQ は、経口摂取後、主に小腸から急速に吸収され、マウス実験では、代謝器官と排泄器官、リンパ骨髄系組織、内分泌系と生殖系組織に蓄積する。胎盤関門を通過したが、胎児組織に蓄積・貯留はしなかった。

ヒト肝臓ミクロソームが、IQ を N-ヒドロキシ-IQ を含む DNA 反応性のある代謝物に活性化する。IQ 代謝の第一段階は、N-ヒドロキシル化あるいは N-アセチル化のいずれかであり、その反応は、チトクローム P450 イソ酵素と N-アセチル基転移酵素により触媒され、エステル化を経て、2 種類の代謝物、N-アセトキシ I-IQ あるいは N-ヒドロキシ-IQ を生じるこの代謝物は、DNA と共有結合し、塩基ペア置換、塩基転換、塩基置換、フレームシフト、欠損/挿入突然変異、さらに、DNA 損傷、染色体異常を誘発する。ヒドロキシ IQ は、さらに O-アセチル基転移酵素によるエステル化で N-アセトキシ-IQ に、また硫酸基転移酵素による硫酸化で IQ-N-硫酸となる。

N-水酸化に加えて、チトクローム P-450 による環状酸化 (C-5 の位置に形成) や N-脱メチル化からも代謝物が形成される。IQ 投与されたラットの尿中に N-ヒドロキシ IQ のグルクロニドが検出されている。7-ヒドロキシ IQ のグルクロン酸抱合は、ヒトやラットの肝臓にあるウリジン 5'-ジホスホグルクロン酸依存性グルクロン酸転移酵素による。マウス、ラット、ヒトにおける腸内細菌フローラも、IQ の直接変異原性を有する 7-ヒドロキシ誘導体への変換に寄与する可能性がある。

遺伝毒性発現メカニズムの可能性のあるモデルとしては、遺伝毒性型代謝物である DNA-IQ 付加体の形成が考えられる。2 種類の代謝物、N-アセトキシ-IQ あるいは N-ヒドロキシ-IQ は、DNA と共有結合し、塩基対置換、塩基転換、塩基置換、フレームシフト、欠損/挿入突然変異、さらに、DNA ダメージ、染色体異常を誘発する。主要産物は、N-(deoxyguanosyl-8-yl)-IQ と同定されている。N-アセトキシ-IQ は、自然分解により、DNA 結合能をもつ不安定なニトレンウム (nitrenium) イオンを形成する。

さらにヒト硫酸転移酵素 (SULT) 遺伝子型 (SULT1A1) が、IQ の遺伝毒性発現レベルに影響する可能性があり、SULT1A1^{1/2} や 1/1 遺伝子型のヒト前立腺細胞基質では、2/2 遺伝子型よりも IQ 代謝による DNA 付加体レベルが高いという報告がある。

DNA 付加体の毒性発現分子メカニズムとしては、CG 反復部位を含む塩基配列において、IQ の付加される G の配列位置により、付加体構造が溝結合型あるいは塩基置換介入型となり、この立体構造が突然変異性に重要な役割を果たすと考えられる。

疫学調査における IQ 摂取による発がん性の根拠は乏しく、結論できない。IQ と乳がんの相関性、HCA と結腸直腸がんとの相関性を示す調査結果もあるが、結腸、直腸、膀胱、腎臓がんとの相関性を示さない結果もある。

実験動物における遺伝毒性試験では、IQ が、*S. typhimurium*, *E. coli* に突然変異を誘導し、*D. melanogaster* に DNA 傷害と突然変異を誘導し、哺乳類細胞においては、*in vitro*・*in vivo* 試験において、染色体異常誘発性、変異原性を示すことがわかっている。ビールや乳酸菌が、遺伝毒性緩和作用を示す報告がある。

また、実験動物における発がん性試験では、ラットの IQ 経口摂取により、雌には、乳腺、肝臓、小腸、陰核腺、口腔、Zymbal 腺に腫瘍が、雄には、肝臓、皮膚、結腸、小腸、口腔、Zymbal 腺に新生物が誘導された。マウスの経口摂取では、雄雌ともに、肺、肝臓、前胃に新生物を誘導した。マウスとサルの腹腔注射では、肝臓腫瘍が誘導された。

IQ-DNA 付加体は、IQ 暴露した動物において、IQ 誘導性の腫瘍が発症した器官を含む多数の器官で検出された。しかし、IQ による腫瘍誘導メカニズムを明確に示すデータはない。

IQ は、IARC により、ヒトに対する発がん物質である可能性を有する (=probably carcinogenic to humans, Group 2A) として評価され、NTP による 2002 年発行の RoC10th Edition においても、論理的にヒト発がん物質と予想される物質 (reasonably anticipated to be a human carcinogen, Group 2A) として評価されている。

IX. 文献・参考資料

- Adamson, R.H., U.P. Thorgeirsson, E.G. Snyderwine, S.S. Thorgeirsson, and J. Reeves, D.W. Dalgard, S. Takayama, and T. Sugimura. (1990) Carcinogenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in nonhuman primates: induction of tumors in three macaques. *Jpn J Cancer Res* 81:10-14.
- Adamson, R.H., E.G. Snyderwine, U.P. Thorgeirsson, H.A. Schut, R.J. Turesky, S.S. Thorgeirsson, S. Takayama, and T. Sugimura. (1991) Metabolic processing and carcinogenicity of heterocyclic amines in nonhuman primates. In: L. Ernster, M. Esumi, Y. Fujii, H.Y. Gelboin, R. Kato, and T. Sugimura, eds. *Xenobiotics and Cancer*, Tokyo/London. Japan Scientific Societies Press/Taylor & Francis, pp. 289-301.
- Adamson R.H., S. Takayama, T. Sugimura, and U.P. Thorgeirsson. (1994) Induction of hepatocellular carcinoma in nonhuman primates by the food mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline. *Environ Health Perspect* 102: 190-193.
- Ahn, J., and I.U. Gruen. (2005a) Heterocyclic amines: 1. Kinetics of formation of polar and nonpolar heterocyclic amines as a function of time and temperature. *Journal of Food Science* 70(2): C173-C179.
- Ahn, J., and I.U. Gruen. (2005b) Heterocyclic amines: 2. Inhibitory effects of natural extracts on the formation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked beef. *Journal of Food Science* 70(4): C263-C268.
- Al-Buheissi, S.Z., H.R. Patel, W. Meinel, A. Hewer, R.L. Bryan, H. Glatt, R.A. Miller, and D.H. Phillips. (2006) N-Acetyltransferase and sulfotransferase activity in human prostate: potential for carcinogen activation. *Pharmacogenetics and Genomics* 16(6):391-399
- Alldrick, A.J. and I.R. Rowland. (1988) Distribution of radiolabelled [2-¹⁴C]IQ and MeIQx in the mouse. *Toxicol Lett* 44:183-190.
- Anari, M.R., P.D. Josephy, T. Henry, and P.J. O'Brien. (1997) Hydrogen peroxide supports human and rat cytochrome P450 1A2-catalyzed 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline bioactivation to mutagenic metabolites: significance of cytochrome P450 peroxygenase. *Chem Res Toxicol* 10:582-588
- Augustsson, K., K. Skog, M. Jagerstad, P.W. Dickman, and G. Steineck. (1999) Dietary heterocyclic amines and cancer of the colon, rectum, bladder, and kidney: a population-based study [In Process Citation]. *Lancet* 353:703-707.
- Barcelo-Barrachina, E., E. Moyano, M.T. Galceran, J.L. Lliberia, B. Bago, and M.A.-A-Cortes. (2006) Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of heterocyclic amines in food. *Journal of Chromatography, A* 1125(2):195-203.
- Barnes, W.S., J.C. Maher, and J.H. Weisburger. (1983) High pressure liquid chromatographic method for the analysis of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) in Sprague-Dawley rats. I. Mutagens in the urine. *J Agric Food Chem* 31:883-886.-
- Bergman, K. (1985) Autoradiographic distribution of ¹⁴C-labeled ³Himidazo[4,5-f]quinoline- 2-amines in mice. *Cancer Res* 45:1351-1356.
- Butler, M.A., M. Iwasaki, F.P. Guengerich, and F.F. Kadlubar. (1989) Humancytochrome P-450PA (P-450IA2), the phenacetin O-deethylase, is primarily responsible for the hepatic 3-demethylation of caffeine and N-oxidation of carcinogenic arylamines. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 86:7696-7700.
- Calbani, F., M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, and I. Zagnoni. (2007) Validation of an ion-pair liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry method for the determination of heterocyclic aromatic amines in meat-based infant foods. *Food Additives & Contaminants* 24(8): 833-841.
- Catterall, F., E. Copeland, M.N. Clifford, and C. Ioannides. (1998) Contribution of theaflavins to the antimutagenicity of black tea: their mechanism of action. *Mutagenesis* 13:631-636.
- Chiu, C.P., D.Y. Yang, and B.H. Chen. (1998) Formation of heterocyclic amines in cooked chicken legs. *J Food Prot* 61:712-719.
- Davis, C.D., H.A. Schut, R.H. Adamson, U.P. Thorgeirsson, S.S. Thorgeirsson, and E.G. Snyderwine. (1993) Mutagenic activation of IQ, PhIP and MeIQx by hepatic microsomes from rat, monkey and man: low mutagenic activation of MeIQx in cynomolgus monkeys in vitro reflects low DNA adduct

- levels *in vivo*. *Carcinogenesis* 14:61-65.
- Davis, C.D., H.A. Schut, and E.G. Snyderwine. (1994) Adduction of the heterocyclic amine food mutagens IQ and PhIP to mitochondrial and nuclear DNA in the liver of Fischer-344 rats. *Carcinogenesis* 15:641-645.
- Davis, C.D., E.J. Dacquel, H.A. Schut, S.S. Thorgeirsson, and E.G. Snyderwine. (1996) In vivo mutagenicity and DNA adduct levels of heterocyclic amines in Muta mice and c-myc/lacZ double transgenic mice. *Mutat Res* 356:287-296.
- De Stefani, E., A. Ronco, M. Mendilaharsu, M. Guidobono, and H. Deneo-Pellegrini. (1997) Meat intake, heterocyclic amines, and risk of breast cancer: a case-control study in Uruguay. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 6:573-581.
- Dingley, K.H.; E.A. Ubick, M.L. Chiarappa-Zucca, S. Nowell, S. Abel,; S.E. Ebeler, A.E. Mitchell, S.A. Burns, F.M. Steinberg, and A.J. Clifford. (2003) Effect of dietary constituents with chemopreventive potential on adduct formation of a low dose of the heterocyclic amines PhIP and IQ and phase II hepatic enzymes. *Nutrition and Cancer* 46(2): 212-221.
- Dooley, K.L., L.S. Von Tungeln, T. Bucci, P.P. Fu, and F.F. Kadlubar. (1992) Comparative carcinogenicity of 4-aminobiphenyl and the food pyrolysates, Glu-P-1, IQ, PhIP, and MeIQx in the neonatal B6C3F1 male mouse. *Cancer Lett* 62:205-209.
- Durling, L. J. K., L. Abramsson-Zetterberg. (2005) A comparison of genotoxicity between three common heterocyclic amines and acrylamide. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 580(1-2):103-110
- Elmqvist, C.E., F. Wang, J.S. Stover, M.P. Stone, C.J. Rizzo (2007) Conformational Differences of the C8-Deoxyguanosine Adduct of 2-Amino-3-methylimidazo [4,5-f]quinoline (IQ) within the NarI Recognition Sequence. *Chemical Research in Toxicology* 20(3): 445-454
- Felton, J.S., M.G. Knize, C. Wood, B.J. Wuebbles, S.K. Healy, D.H. Stuermer, L.F. Bjeldanes, B.J. Kimble, and F.T. Hatch. (1984) Isolation and characterization of new mutagens from fried ground beef. *Carcinogenesis* 5:95-102.
- Felton, J.S. and M.G. Knize. (1990) Heterocyclic-amine mutagens/carcinogens in foods. In: Cooper, C.S. & Grover, P.L., eds, Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 94/I, Chemical Carcinogenesis and Mutagenesis, Berlin, Springer Verlag, pp. 471-502
- Foellmann, W. and S. Birkner, (2008) The use of cultured primary bovine colon epithelial cells as a screening model to detect genotoxic effects of heterocyclic aromatic amines in the comet assay. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues* 71(13, 14):947-953
- FSA, Eat well, be well Q&A Is overcooked or burnt meat carcinogenic?
<http://www.eatwell.gov.uk/asksam/healthydiet/meatq/?lang=en#A221179>
- Funk, C., P. Weber, J. Thilker, J.H. Grabber, H. Steinhart, and M. Bunzel. (2006) Influence of Lignification and Feruloylation of Maize Cell Walls on the Adsorption of Heterocyclic Aromatic Amines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(5):1860-1867
- Gorlewska-Roberts, K.M., H. Teitel, Candee, J.O. Jr. Lay, D.W. Roberts, F.F. Kadlubar. (2004) Lactoperoxidase-Catalyzed Activation of Carcinogenic Aromatic and Heterocyclic Amines. *Chemical Research in Toxicology* 17(12):1659-1666
- Grivas, S., T. Nyhammar, K. Olsson, and M. J ägerstad. (1986) Isolation and identification of the food mutagens IQ and MeIQx from a heated model system of creatinine, glycine and fructose. *Food Chem.* 20:127-136
- Grose, K.R., J.L. Grant, L.F. Bjeldanes, B.D. Andreson, S.K. Healy, P.R. Lewis, J.S. Felton, and F.T. Hatch. (1986) Isolation of the carcinogen IQ from fried egg patties. *Food Chem* 34:201-202.
- Gross, G.A., G. Philippossian, and H.-U. Aeschbacher. (1989) An efficient and convenient method for the purification of mutagenic heterocyclic amines in heated meat products. *Carcinogenesis* 10:1175-1182
- Gross, G.A. (1990) Simple methods for quantifying mutagenic heterocyclic aromatic amines in food products. *Carcinogenesis* 11:1597-1603.
- Gross, G.A. and A. Gruter. (1992) Quantitation of mutagenic/carcinogenic heterocyclic aromatic amines in food products. *J Chromatogr* 592:271-278.
- Hasegawa, R.; Kato, T.; Hirose, M.; Takahashi, S.; Shirai, T.; Ito, N., Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses

- in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.
- Hayatsu, H., Y. Matsui, Y. Ohara, T. Oka, and T. Hayatsu. (1983) Characterization of mutagenic fractions in beef extract and in cooked ground beef. Use of blue-cotton for efficient extraction. *Gann*. 74:472-482.
- Hirose M; Iwata S; Ito E; Nihro Y; Takahashi S; Mizoguchi Y; Miki T; Satoh T; Ito N; Shirai T, Strong anti-mutagenic activity of the novel lipophilic antioxidant 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone against heterocyclic amine-induced mutagenesis in the Ames assay and its effect on metabolic activation of 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole (Glu-p-1), *Carcinogenesis*, (1995 Sep) 16 (9) 2227-32.
- Humblot, C., E. Lhoste, S. Knasmüller, K. Gloux, A. Bruneau, M. Bensaada, J. Durao, S. Rabot, C. Andrieux, and F. Kassie. (2004) Protective effects of Brussels sprouts, oligosaccharides and fermented milk towards 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)-induced genotoxicity in the human flora associated F344 rat: role of xenobiotic metabolising enzymes and intestinal microflora. *Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 802(1): 231-237
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 56 Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins IQ (2-Amino-3-Methylimidazo[4,5-F]Quinoline)(Group 2a) Vol.: 56 (1993) World Health Organization International Agency For Research On Cancer
- Inamasu, T., H. Luks, M.T. Vavrek, and J.H. Weisburger. (1989) Metabolism of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in the male rat. *Food Chem Toxicol* 27:369-376.
- Itoh, T., T. Kuwahara, T. Suzuki, M. Hayashi, and Y. Ohnishi. (2003) Regional mutagenicity of heterocyclic amines in the intestine: mutation analysis of the cII gene in lambda/lacZ transgenic mice. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 539(1-2): 99-108.
- Jamin, E.L., D. Arquier, J. Tulliez, and L. Debrauwer, (2008) Mass spectrometric investigation of the sequence selectivity for adduction of heterocyclic aromatic amines on single-strand oligonucleotides. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22(20):3100-3110
- Kaderlik, K.R., G.J. Mulder, R.J. Turesky, N.P. Lang, C.H. Teitel, M.P. Chiarelli, and F.F. Kadlubar. (1994) Glucuronidation of N-hydroxy heterocyclic amines by human and rat liver microsomes. *Carcinogenesis* 15:1695-1701.
- Kasai, H., S. Nishimura, K. Wakabayashi, M. Nagao, and T. Sugimura, (1980) Chemical synthesis of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ), a potent mutagen isolated from broiled fish. *Proc. Jpn. Acad.* 58 (Ser. B.):382-384
- Kasai, H., Z. Yamaizumi, S. Nishimura, K. Wakabayashi, M. Nagao, T. Sugimura, N.E. Sprinarn, J.H. Weisburger, S. Yokoyama, and T. Miyazawa. (1981) A potent mutagen in broiled fish. Part 1. 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline. *J Chem Soc* 2290-2293.
- Kato, R. and Y. Yamazoe. (1987) Metabolic activation and covalent binding to nucleic acids of carcinogenic heterocyclic amines from cooked foods and amino acid pyrolysates. *Jpn J Cancer Res* 78:297-311.
- Kitamura, Y., T. Umemura, K. Kanki, Y. Kodama, S. Kitamoto, K. Saito, K. Itoh, M. Yamamoto, and T. Masegi (2007) Increased susceptibility to hepatocarcinogenicity of Nrf2-deficient mice exposed to 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline. *Cancer Science* 98(1):19-24
- Knasmüller, S., H. Kienzl, W. Huber, and R.S. Hermann. (1992) Organ-specific distribution of genotoxic effects in mice exposed to cooked food mutagens. *Mutagenesis* 7:235-241.
- Knize, M.G., N.H. Shen, and J.S. Felton, (1988) *The Production of Mutagens in Foods*. In: 81st Annual Meeting of APCA, Dallas, Texas, June 19-24, 1988, Pittsburgh, PA, Air Pollution Control Association, paper 130.5
- Lakshmi, V.M., M.L. Clapper, W.-C. Chang, and T.V. Zenser. (2005) Hemin Potentiates Nitric Oxide-Mediated Nitrosation of 2-Amino-3-methylimidazo [4,5-f]quinoline (IQ) to 2-Nitrosoamino-3-methylimidazo [4,5-f]quinoline. *Chemical Research in Toxicology* 18(3):528-535
- Layton, D. W., K. T. Bogen, M. G. Knize, F. T. Hatch, V. M. Johnson and J. S. Felton. (1995) Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: an analysis and implications for research. *Carcinogenesis* 16(1): 39-52.
- Lee, C.-S., Y. Hashimoto, K. Shudo, and T. Okamoto, (1982) Synthesis of mutagenic heteroaromatics:

- 2-aminoimidazo[4,5-f]quinolines. *Chem. pharm. Bull.* 30:1857-1859
- Liu, Y. and G.N. Levy. (1998) Activation of heterocyclic amines by combinations of prostaglandin H synthase-1 and -2 with N-acetyltransferase 1 and 2. *Cancer Lett* 133:115-123.
- Loprieno, N., G. Boncristiani, and G. Loprieno. (1991) An experimental approach to identifying the genotoxic risk from cooked meat mutagens. *Food Chem Toxicol* 29:377-386.
- Marczylo H.Timothy; Hayatsu Toshiko; Arimoto-Kobayashi Sakae, Tada Miki, Fujita Ken-ichi, Kamataki Tersuya, Nakayama Kazuo, Hayatsu Hikoya, Protection against the bacterial mutagenicity of heterocyclic amines by purpurin, a natural anthraquinone pigment, Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (1999) Vol. 444, No. 2, pp. 451-461.
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, Journal of Neural Transmission, Supplement, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- McManus, M.E., W.M. Burgess, M.E. Veronese, A. Huggett, L.C. Quattrochi, and R.H. Tukey. (1990) Metabolism of 2-acetylaminofluorene and benzo(a)pyrene and activation of food-derived heterocyclic amine mutagens by human cytochromes P-450. *Cancer Res* 50:3367-3376.
- Minkler, J.L. and A.V. Carrano. (1984) In vivo cytogenetic effects of the cooked-cookedfood-related mutagens Trp-P-2 and IQ in mouse bone marrow. *Mutat Res* 140:49-53.
- Miura, K.F., M. Hatanaka, C. Otsuka, T. Satoh, H. Takahashi, K. Wakabayashi, M. Nagao, and M.J. Ishidate. (1993) 2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ), a carcinogenic pyrolysate, induces chromosomal aberrations in Chinese hamster lung fibroblasts in vitro. *Mutagenesis* 8:349-354.
- Møller, P., H. Wallin, U. Vogel, H. Autrup, L. Risom, M.T. Hald, B. Daneshvar, L.O. Dragsted, H.E. Poulsen, and S. Loft. (2002) Mutagenicity of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in colon and liver of Big Blue rats: role of DNA adducts, strand breaks, DNA repair and oxidative stress. *Carcinogenesis* Aug;23(8):1379-1385.
- Morrison, L.D., T.E. Eling, and P.D. Josephy. (1993) Prostaglandin H synthase synthasedependent formation of the direct-acting mutagen 2-nitro-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (nitro-IQ) from IQ. *Mutat Res* 302:45-52.
- National Toxicology Program Summary of RG1, RG2 and NTP Board Subcommittee3 Recommendations for Nominations Reviewed for Listing in the Report on Carcinogens, 10th Edition (2002)
- NCI, Heterocyclic Amines in Cooked Meats (2004)
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/heterocyclic-amines>
- Nerurkar, P.V., H.A. Schut, L.M. Anderson, C.W. Riggs, E.G. Snyderwine, S.S. Thorgeirsson, W.W. Weber, J.M. Rice, and G.N. Levy. (1995) DNA adducts of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) in colon, bladder, and kidney of congenic mice differing in Ah responsiveness and N-acetyltransferase genotype. *Cancer Res* 55:3043-3049.
- Nozawa, H., K. Tazumi, K. Sato, A. Yoshida, J. Takata, S. Arimoto-Kobayashi, and K. Kondo. (2004) Inhibitory effects of beer on heterocyclic amine-induced mutagenesis and PhIP-induced aberrant crypt foci in rat colon. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 559(1-2):177-187.
- Oda Yoshimitsu; Pramod, Aryal; Takao, Terashita; Elizabeth, M.J., Gillam; F., Peter, Guengerich; Tsutomu, Shimada, Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in *Salmonella typhimurium* umu tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, 2E1, and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase, Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, (2001) Vol. 492, No. 1-2, pp. 81-90.
- Ohgaki, H., K. Kusama, N. Matsukura, K. Morino, H. Hasegawa, S. Sato, S. Takayama, and T. Sugimura. (1984) Carcinogenicity in mice of a mutagenic compound, 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, from broiled sardine, cooked beef and beef extract. *Carcinogenesis* 5:921-924.
- Ohgaki, H., H. Hasegawa, T. Kato, M. Suenaga, M. Ubukata, S. Sato, S. Takayama, and T. Sugimura. (1986) Carcinogenicity in mice and rats of heterocyclic amines in cooked foods. *Environ Health Perspect* 67:129-134.
- Övervik, E., M. Ochiai, M. Hirose, T. Sugimura, and M. Nagao. (1991) The formation of heart DNA adducts in F344 rat following dietary administration of heterocyclic amines. *Mutat Res* 256:37-43.
- Paladino, Giuseppe; Weibel, Beatrice; Sengstag, Christian, Heterocyclic aromatic amines efficiently

- induce mitotic recombination in metabolically competent *Saccharomyces cerevisiae* strains, *Carcinogenesis*, (1999) Vol. 20, No. 11, pp. 2143-2152.
- Petry, T.W., P.D. Josephy, D.A. Pagano, E. Zeiger, K.T. Knecht, and T.E. Eling. (1989) Prostaglandin hydroperoxidase-dependent activation of heterocyclic aromatic amines. *Carcinogenesis* 10:2201-2207.
- Pfau, W., M.J. O'Hare, P.L. Grover, and D.H. Phillips. (1992) Metabolic activation of the food mutagens 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) and 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ) to DNA binding species in human mammary epithelial cells. *Carcinogenesis* 13:907-909.
- Probst-Hensch, N.M., R. Sinha, M.P. Longnecker, J.S. Witte, S.A. Ingles, H.D. Frankl, E.R. Lee, and R.W. Haile. (1997) Meat preparation and colorectal adenomas in a large sigmoidoscopy-based case-control study in California (United States). *Cancer Causes Control* 8:175-183.
- Radian.
(1991).http://ntpdb.niehs.nih.gov/NTP_Reports/NTP_Chem_H&S/NTP_Chem7/Radian76180-96-6.txt, Radian Corp.
- Rumney, C.J., I.R. Rowland, and I.K. O'Neill. (1993a) Conversion of IQ to 7- OHIQ by gut microflora. *Nutr Cancer* 19:67-76.
- Rumney, C.J., I.R. Rowland, T.M. Coutts, K. Randerath, R. Reddy, A.B. Shah, A. Ellul, and I.K. O'Neill. (1993b). Effects of risk-associated human dietary macrocomponents on processes related to carcinogenesis in human-flora-associated (HFA) rats. *Carcinogenesis* 14:79-84.
- Sasaki, Y.F., A. Saga, M. Akasaka, E. Nishidate, M. Watanabe-Akanuma, T. Ohta, N. Matsusaka, and S. Tsuda. (1997) In vivo genotoxicity of heterocyclic amines detected by a modified alkaline single cell gel electrophoresis assay in a multiple organ study in the mouse. *Mutat Res* 395:57-73.
- Schunk, H., Hayashi, Y. & Shibamoto, T. (1984) Analysis of mutagenic amino acid pyrolysates with a fused silica capillary column. *J. high Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 7, 563-565
- Schut, H.A., E.G. Snyderwine, H.X. Zu, and S.S. Thorgeirsson. (1991) Similar patterns of DNA adduct formation of 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f]quinoline in the Fischer 344 rat, CDF1 mouse, cynomolgus monkey and *Salmonella typhimurium*. *Carcinogenesis* 12:931-934.
- Schut, H.A., C.R. Herzog, and D.A. Cummings. (1994) Accumulation of DNA adducts of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f] quinoline (IQ) in tissues and white blood cells of the Fischer-344 rat after multiple oral dosing. *Carcinogenesis* 15:1467-1470.
- Schut, H.A., C.L. Wang, L.M. Twining, and K.M. Earle. (1997a) Formation and persistence of DNA adducts of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) in CDF1 mice fed a high omega-3 fatty acid diet. *Mutat Res* 378:23-30.
- Schut, H.A., D.A. Cummings, M.H. Smale, S. Josyula, and M.D. Friesen. (1997b) DNA adducts of heterocyclic amines: formation, removal and inhibition by dietary components. *Mutat Res* 376:185-194.
- Shimada, T., M. Iwasaki, M.V. Martin, and F.P. Guengerich. (1989) Human liver microsomal cytochrome P-450 enzymes involved in the bioactivation of procarcinogens detected by umu gene response in *Salmonella typhimurium* TA 1535/pSK1002. *Cancer Res* 49:3218-3228.
- Sinha, R., N. Rothman, C. P. Salmon, M. G. Knize, E. D. Brown, C. A. Swanson, *et al.* (1998) Heterocyclic amine content in beef cooked by different methods to varying degrees of doneness and gravy made from meat drippings. *Food Chem Toxicol* 36(4): 279-87.
- Sjodin, P. and M. Jagerstad. (1984) A balance study of ¹⁴C-labelled ³Himidazo[4,5-f]quinolin-2-amines (IQ and MeIQ) in rats. *Food Chem Toxicol* 22:207-210.
- Skog, K., G. Steineck, K. Augustsson, and M. Jagerstad. (1995) Effect of cooking temperature on the formation of heterocyclic amines in fried meat products and pan residues. *Carcinogenesis* 16:861-867.
- Snyderwine, E.G., P.J. Wirth, P.P. Roller, R.H. Adamson, S. Sato, and S.S. Thorgeirsson. (1988a). Mutagenicity and in vitro covalent DNA binding of 2-hydroxyamino-3-methylimidazolo[4,5-f]quinoline. *Carcinogenesis* 9:411-418.
- Snyderwine, E.G., P.P. Roller, R.H. Adamson, S. Sato, and S.S. Thorgeirsson. (1988b) Reaction of N-hydroxylamine and N-acetoxy derivatives of 2-amino-3-methylimidazolo[4,5-f]quinoline with DNA. Synthesis and identification of N-(deoxyguanosin-8-yl)-IQ. *Carcinogenesis* 9:1061-1065
- Snyderwine, E.G., K. Yamashita, R.H. Adamson, S. Sato, M. Nagao, T. Sugimura, and S.S. Thorgeirsson.

- (1988c) Use of the ³²P-postlabeling method to detect DNA adducts of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) in monkeys fed IQ: identification of the N-(deoxyguanosin-8-yl)-IQ adduct. *Carcinogenesis* 9:1739-1743.
- Snyderwine, E.G., D.H. Welti, L.B. Fay, H.P. Wurzner, and R.J. Turesky. (1992a) Metabolism of the food mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in nonhuman primates undergoing carcinogen bioassay. *Chem Res Toxicol* 5:843-851.
- Snyderwine, E.G., H.A. Schut, R.H. Adamson, U.P. Thorgeirsson, and S.S. Thorgeirsson. (1992b) Metabolic activation and genotoxicity of heterocyclic arylamines. *Cancer Res* 52:2099s-2102s.
- Snyderwine, E.G., R.J. Turesky, M.H. Buonarati, K.W. Turteltaub, and R.H. Adamson. (1995) Metabolic processing and disposition of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f] quinoline (IQ), 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx), and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in nonhuman primates. *Princess Takamatsu Symp* 23:69-77.
- Snyderwine, E.G., R.J. Turesky, K.W. Turteltaub, C.D. Davis, N. Sadrieh, H.A. Schut, M. Nagao, T. Sugimura, U.P. Thorgeirsson, R.H. Adamson, and S.S. Thorgeirsson. (1997) Metabolism of food-4,5-f heterocyclic amines in nonhuman primates. *Mutat Res* 376:203-210.
- Solyakov, A.; Skog, K.; Jagerstad, M., Heterocyclic amines in process flavors, process flavor ingredients, bouillon concentrates and a pan residue, *Food and Chemical Toxicology*, (1998) Vol. 37, No. 1, pp. 1-11.
- Stidl, R., G. Sontag, V. Koller, and S. Knasmueller. (2008) Binding of heterocyclic aromatic amines by lactic acid bacteria: Results of A-α-Comprehensive screening trial. *Molecular Nutrition & Food Research* 52:322 - 329
- Sugimura, T., M. Nagao, and K. Wakabayashi. (1981) Mutagenic heterocyclic amines in cooked food. In H. Egan, L. Fishbein, M. Castegnaro, I.K. O'Neill, and H. Bartsch, editors. *IARC Scientific Publications*, Lyon, France. 251-267.
- Takahashi, M., K. Wakabayashi, M. Nagao, M. Yamamoto, T. Masui, T. Goto, N. Kinae, I. Tomita, and T. Sugimura. (1985) Quantification of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) and 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) in beef extracts by liquid chromatography with electrochemical detection (LCEC). *Carcinogenesis* 6:1195-1199.
- Takayama, S., Y. Nakatsuru, M. Masuda, H. Ohgaki, S. Sato, and T. Sugimura. (1984) Demonstration of carcinogenicity in F344 rats of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline from broiled sardine, fried beef and beef extract. *Gann* 75:467-470.
- Takayama, Shozo; Nakatsuru, Yoko; Sato, Shigeaki, Carcinogenic effect of the simultaneous administration of five heterocyclic amines to F344 rats, *Japanese Journal of Cancer Research*, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.
- Tanaka, T., W.S. Barnes, G.M. Williams, and J.H. Weisburger. (1985) Multipotential carcinogenicity of the fried food mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in rats. *Jpn J Cancer Res* 76:570-576.
- Thorgeirsson, U.P., A. Farb, R. Virmani, and R.H. Adamson. (1994) Cardiac damage induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) in nonhuman primates. *Environmental Health Perspectives* 102(2):194-199.
- Thorgeirsson, U.P., D.E. Gomez, C.K. Lindsay, C.C. Sinha, and R.H. Adamson. (1996) Liver tumors and possible preneoplastic lesions, induced by a food-derived heterocyclic amine in cynomolgus monkeys; a study of histology and cytokeratin expression. *Liver* 16:71-83.
- Tudek, B., R.P. Bird, and W.R. Bruce. (1989) Foci of aberrant crypts in the colons of mice and rats exposed to carcinogens associated with foods. *Cancer Res* 49:1236-1240.
- Turesky, R.J., H. Bur, T. Huynh-Ba, H.U. Aeschbacher, and H. Milon. (1988) Analysis of mutagenic heterocyclic amines in cooked beef products by highperformance liquid chromatography in combination with mass spectrometry. *Food Chem Toxicol* 26:501-509.
- Turesky, R.J., N.P. Lang, M.A. Butler, C.H. Teitel, and F.F. Kadlubar. (1991) Metabolic activation of carcinogenic heterocyclic aromatic amines by human liver and colon. *Carcinogenesis* 12:1839-1845.
- Turesky, R.J., W.G. Stillwell, P.L. Skipper, and S.R. Tannenbaum. (1993) Metabolism of the food-borne carcinogens 2-amino-3-methylimidazo-[4,5-f]quinoline and 2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]-quinoxaline in the rat as a model for human biomonitoring. *Environ Health*

- Perspect* 99:123-128.
- Turesky, R.J. and J. Markovic. (1995) DNA adduct formation of the food carcinogen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) in liver, kidney and colo-rectum of rats. *Carcinogenesis* 16:2275-2279.
- Turesky, R.J., E. Gremaud, J. Markovic, and E.G. Snyderwine. (1996a) DNA adduct formation of the food-derived mutagen 2-amino-3- methylimidazo[4,5-f]quinoline in nonhuman primates undergoing carcinogen bioassay. *Chem Res Toxicol* 9:403-408.
- Turesky, R.J., J. Markovic, and J.M. Aeschlimann. (1996b) Formation and differential removal of C-8 and N2-guanine adducts of the food carcinogen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in the liver, kidney, and colorectum of the rat. *Chem Res Toxicol* 9:397-402.
- Turesky, R.J., R.M. Box, J. Markovic, E. Gremaud, and E.G. Snyderwine. (1997) Formation and persistence of DNA adducts of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in the rat and nonhuman primates. *Mutat Res* 376:235-241.
- USDA, How you cook your meet May Affect Your Health (2006)
<http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10878>
- Ushijima, Toshikazu; Makino, Hiroshi; Kakiuchi, Hideki; Inoue, Rie; Sugimura, Takashi; Nagao, Minako, Genetic alterations in HCA-induced tumors, Proceedings of the International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund, (1995) Vol. 23rd, No. Heterocyclic Amines in Cooked Foods: Possible Human Carcinogens, pp. 281-91.
- Wakabayashi, K., M. Nagao, H. Esumi, and T. Sugimura. (1992) Food-derived mutagens and carcinogens. *Cancer Res* 52:2092s-2098s.
- Weisburger, J.M., Barnes, W.S., Lovellette, C.A., Tong, C., Tanaka, T. & Williams, G.M. (1986) Genotoxicity, carcinogenicity and mode of action of the fried food mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline(IQ) *Environ.Health Perspect.* 67, 121-127
- Weisburger, J.H., A. Rivenson, D.G. Kingston, T.D. Wilkins, R.L. van Tassell, M. Nagao, T. Sugimura, and Y. Hara. (1995) Dietary modulation of the carcinogenicity of the heterocyclic amines. *Princess Takamatsu Symp* 23:240-50:240-250.
- Wild, D., E. Gocke, D. Harnasch, G. Kaiser, and M.T. King. (1985) Differential mutagenic activity of IQ (2-amino-3-methylimidazo[4,5- f]quinoline) in Salmonella typhimurium strains in vitro and in vivo, in Drosophila, and in mice. *Mutat Res* 156:93-102.
- Wild, D. and G.H. Degen. (1987) Prostaglandin H synthase-dependent mutagenic activation of heterocyclic aromatic amines of the IQ-type. *Carcinogenesis* 8:541- 545.
- Wolz, E., D. Wild, and G.H. Degen. (1995) Prostaglandin-H synthase mediated metabolism and mutagenic activation of 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f]quinoline (IQ). *Arch Toxicol* 69:171-179.
- Xu, M., A.C. Bailey, J.F. Hernaez, C.R. Taoka, H.A. Schut, and R.H. Dashwood. (1996) Protection by green tea, black tea, and indole-3-carbinol against 2- amino-3- methylimidazo[4,5-f]quinoline-induced DNA adducts and colonic aberrant crypts in the F344 rat. *Carcinogenesis* 17:1429-1434.
- Xu, M., H.A. Schut, L.F. Bjeldanes, D.E. Williams, G.S. Bailey, and R.H Dashwood. (1997) Inhibition of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline-DNA adducts by indole-3-carbinol: dose-response studies in the rat colon. *Carcinogenesis* 18:2149-2153.
- Yamaizumi, Z., H. Kasai, S. Nishimura, C.G. Edmonds, and J.A. McCloskey. (1986) Stable isotope dilution quantification of mutagens in cooked foods by combined liquid chromatography-thermospray mass spectrometry. *Mutat Res* 173:1-7.
- Yamashita, M., K. Wakabayashi, M. Nagao, S. Sato, Z. Yamaizumi, M. Takahashi, N. Kinai, I. Tomita, and T. Sugimura. (1986). Detection of 2-amino-3-methylimidazo [4,5-f]quinoline in cigarette smoke condensate. *Jpn J Cancer Res* 77:419-422.
- Yamashita, K., A. Umemoto, S. Grivas, S. Kato, S. Sato, and T. Sugimura. (1988) Heterocyclic amine-DNA adducts analyzed by ³²P-postlabeling method. *Nucleic Acids Symp Ser* 111-114.
- Yoshida, D., Saito, Y. & Mizusaki, S. (1984) Isolation of 2-amino-3-methylimidazo[4,5- f]quinoline as mutagen from the heated product of a mixture of creatine and proline. *Agric. Biol. Chem*, 48, 241-243
- Zenser, T.V., V.M. Lakshmi, H.A. J. Schut, H. Zhou, P.D. Josephy. (2009) Activation of aminoimidazole carcinogens by nitrosation: Mutagenicity and nucleotide adducts. *Mutation Research, Genetic*

Toxicology and Environmental Mutagenesis 673(2):109-115

- Zsivkovits, M., K. Fekadu, G. Sontag, U. Nabinger, W.W. Huber, M. Kundi, A. Chakraborty, H. Foissy, S. Knasmueller. (2003) Prevention of heterocyclic amine-induced DNA damage in colon and liver of rats by different lactobacillus strains. *Carcinogenesis* 24(12):1913-1918.
- Zhang, X.-M., K. Wakabayashi, Z.-C. Liu, T. Sugimura, and M. Nagao. (1988) Mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines in Chinese cooked foods. *Mutat Res* 201:181-188.
- Zu, H.-X., and H.A.J. Schut. (1991a) Sex differences in the formation and persistence of DNA adducts of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ) in CDF1 mice. *Carcinogenesis* 12:2163-2168.
- Zu, H.-X., and H.A.J. Schut. (1991b) Formation and persistence of DNA adducts of 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in male Fischer-344 rats. *Cancer Res* 51:5636-5641.

4. 5 A- α -C

I. 当該化学物質の一般情報

1. 物質特定情報(IARC, 1986)

(1) 名称:

Chem. Abstr. Name: 1*H*-Pyrido[2,3-*b*]indol-2-amine

IUPAC Systematic Name: 2-amino-1*H*-pyrido[2,3-*b*]indole;

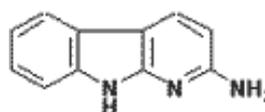
2-Amino-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indole

異名: AC; Amino- α -carboline; 2-amino- α -carboline; Glob-P-2

(2) CAS No.: 26148-68-5

(3) 分子式: C₁₁H₉N₃、構造式: 右図のとおり

(4) 分子量: 183.21



2. 物理化学的性状(IARC, 1986)

(1) 物理的性状: 結晶性固体

(2) 融点: 202 °C

(3) 溶解性: メタノール、ジメチルスルフォキシドに可溶

(4) 安定性

- ・やや酸性か、あるいはややアルカリ性の状態で安定
- ・冷却した希釈水溶液で光に対し安定

(5) 反応性

- ・次亜塩素酸の薄い溶液で速やかに分解
- ・弱酸性の亜硝酸溶液で2-アミノ基のヒドロキシル置換により不活性化

3. 存在形態

(1) 存在形態

おもに加熱調理した食品中に固体で存在し、固相抽出法(SPE)により抽出される。

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露

燃焼中のタバコにも A- α -C が生成し、喫煙によって体内に取り込まれる。タバコ煙濃縮物から 11 本あたり 25~258 ng の生成が報告されている(Yoshida and Matsumoto 1980, Matsumoto et al. 1981a)。

上海の成人男性 170 人の尿中 A- α -C 含量調査では、喫煙本数と A- α -C 含量との間に有意な正の相関がみられ(P < 0.001)、0 本で 2.54 ng/g クレアチニン、1~19 本で 7.50 ng/g クレアチニン、20 本以上では 11.92 ng/g クレアチニンであった(Turesky et al. 2007a)。

4. 生成機構

A- α -C は自然界には存在せず、おもにタンパク質の熱分解によって生成する。

ダイズグロブリンの熱分解産物から初めて検出され、1 g のグロブリンから約 40 μg (Yoshida et al. 1978, Matsumoto et al. 1979)、アルブミンの熱分解(300~700 $^{\circ}\text{C}$)では約 5-80 $\mu\text{g/g}$ 生成することが報告されている(Yoshida et al. 1980)。そのほか、L-トリプトファン(550 $^{\circ}\text{C}$)で 250~2500 $\mu\text{g/g}$ 、カゼインから 3.8 $\mu\text{g/g}$ 、グロブリンから 1.5 $\mu\text{g/g}$ 、グルテンから 1.2 $\mu\text{g/g}$ 、ゼインから 0.05 $\mu\text{g/g}$ といった報告がある(Yoshida and Matsumoto 1979, Yoshida et al. 1979, Tada et al. 1983)。

A- α -C は 6-ブロモ-2-ピコリン酸から合成可能である(Matsumoto et al. 1979)。

クレアチン骨格が HCA のアミノ-イミダゾ構造と類似していることから、食品中ではクレアチンが HCA の前駆体であり、アミノ酸や糖とともに加熱されると HCA が生成されると考えられている(Knize et al. 2008)。また、グルコースも IQ 型 HCA の前駆体であると考えられており、加熱調理後にクレアチン、グルコース含量の減少を測定し、前駆体であることを間接的に証明する報告がある(Ahn and Gruen 2005a, Ahn and Gruen 2005b)。

5. 食品中の検出状況

おもに肉や魚などタンパク質を多く含む食品の直火焼きにより生成する。

牛肉では、薄切り牛肉から 650 ng/g(Matsumoto et al. 1981a)、300 $^{\circ}\text{C}$ の油調理で 3320 pg/g、230~300 $^{\circ}\text{C}$ の直焼きで最大 7750 pg/g 検出されている(Turesky et al. 2005)。牛挽肉では、200 $^{\circ}\text{C}$ の 20 分間加熱で 3.6 ng/g (Ahn and Gruen 2005b)、牛挽肉パテの 300 $^{\circ}\text{C}$ 加熱調理で 3.0 ng/g(Turesky et al. 2007)、210 $^{\circ}\text{C}$ で牛挽肉パテ両面を 10 分ずつ加熱して 1.3 ng/g という報告がある(Ahn and Gruen 2005 b)。また、牛エキスサンプルから、固定相抽出後の LC-MS 解析により、Glu-P-1(10.1 ng/g)、Harman(129.5 ng/g)、Norharman(74.0 ng/g)、A α C(2.8 ng/g)が検出された (Pais P et al., 1997)。

鶏肉では 180 ng/g(Matsumoto et al. 1981a)、直焼きで 40.4 $\mu\text{g/kg}$ 、網焼きで 9.4 $\mu\text{g/kg}$ (Ni et al. 2008)、230~300 $^{\circ}\text{C}$ の直焼きでは 2A- α -C が 8700 pg/g 生成する(Turesky et al. 2005)。

一方で、豚肉、牛肉では調理法に関わらず極微量か未検出(Ni et al. 2008)、肉類(牛肉、鶏肉、馬肉、羊肉、兎肉)ベースの乳児食中(Calbiani et al. 2007)や 135~200 $^{\circ}\text{C}$ で調理した上海料理の豚肉や鶏肉中には検出されなかったという報告もある(Turesky et al. 2007)。

そのほか、サバのフライパン調理(180 $^{\circ}\text{C}$)で最大 3.1 ng/g (Gu et al. 2002)、シイタケから 47 ng/g、タマネギから 1.5 ng/g 検出されている(Matsumoto et al. 1981a)。

調理した肉、鍋の残渣、肉抽出物中の非極性 HCA を固相抽出した後、GC-MS により含有量の分析が行われた。Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、および MeA- α -C のサンプルにおいて 8 ng/g までの量が検出され、comutagenic 物質であるハルマンとノルハルマンも、同じサンプル中にはほぼ 200 ng/g までの量で検出された（下表参照）。クロマトグラフィー効率は高く、一回の注入は 0.1-2 ng の範囲で分析することができた。（Skog, Kerstin *et al.*, 1998）

非極性 HCA の GC-MS 分析（ng/乾燥原料）結果

サンプル	調理法	Trp-P-1	Trp-P-2	A- α -C	MeA- α -C
ポーク、ヒレ	フライ	0.8	Trace	Trace	3.3
ポークチョップ	ロースト	ND	ND	0.04	0.08
ミートローフ	ロースト	0.08	ND	0.28	ND

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、および鍋残渣に含まれる変異原性／がん原性 HCA の分析した実験では、複雑なマトリックスを持つ試料であるため、クロマトグラフィー効率を改善するために、新しく加える生成方法がデザインされた。プロセスフレーバー7種、プロセスフレーバー原料5種、ブイヨン濃縮物4種、鍋残渣から、HCA を固相抽出して精製し、HPLC および GC-MS により分析した。極性 HCA は、動物および動物＋野菜混合物起源の試料にのみ検出された。一方、非極性 HCA は、動物、動物＋野菜混合物、および純粋に野菜起源の試料で同定された（Solyakov *et al.*, 1998、次表参照）。

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、鍋残渣の HCA 量

HCA	検出量
極性 HCA	
IQ	1 サンプル中、3.4 ng/g
IQx	2 サンプル中、0.7-2.0 ng/g
MeIQx	4 サンプル中、1.0-13.8 ng/g
PhIP	2 サンプル中、痕跡量
MeIQ	検出されず
非極性 HCA	
A- α -C	1 サンプル中、0.4 ng/g
MeA- α -C	1 サンプル中、20.3 ng/g
Trp-P-1	2 サンプル中、1.4-1.7 ng/g
Trp-P-2	2 サンプル中、痕跡量
共変異原性 HCA	
ハルマン	17 サンプル中 15 サンプルで同定、3.3-755 ng/g
ノルハルマン	17 サンプル中 16 サンプルで同定、1.2-176 ng/g

（出典：Solyakov *et al.* 1998 Food and Chemical Toxicology 37(1):1-11）

6. 測定方法と検出限界値

A- α -C は一般に固相抽出法(SPE)により抽出され、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)とそれに続く質量分析によって検出・定量されている。

・抽出法

ダイズグロブリンの熱分解産物から、シリカゲル板による薄層クロマトグラフィーの後、シリカゲルを用いた CM-セファデックス C-25 とセファデックス LH-20 の連続クロマトグラフィーにより単離されている(Matsumoto *et al.* 1981a)。また、他のタンパク質の熱分解生成物やタバコの煙の濃縮物からクロロホルム抽出後のクロマトグラフィーにより単離されている(Yoshida *et al.* 1979, Yoshida and Matsumoto 1980)。水溶液から銅フタロシアニン染色により C.I.reactive blue 21 を共有結合させたセルロースや綿に選択的に吸着させることも可能であり、その後アンモニア性メタノールにより溶出される(Hayatsu *et al.* 1983)。

最近の LC-ESI-MS/MS による測定では、タンデム SPE が一般的である。

・HPLC

加熱調理した牛挽肉から Gross と Grüter の固相抽出法を元に A- α -C を抽出し、カラムは TSK gel ODS-80TM、移動相にはトリエチルアミンとアセトニトリルを混合して用い、流速 1.0 mL/min の逆相 HPLC により励起/蛍光波長 335/410nm で検出している (Ahn と Gruen, 2005a, 2005b)。

細胞壁に吸着されなかった A- α -C を、5 μ L の Luna Phenyl-Hexyl 100 Å カラム、移動相にはトリエチルアミンリン酸緩衝液とアセトニトリルを混合して用い、カラム温度 45°C で流速 1.2 mL/min の HPLC-UV により波長 338nm で検出している。定量限界値は 15ng/mL であった (Funk *et al.*, 2006,2008)。

そのほか、フライパン調理(180 °C)したサバの切り身中の HCA 含量を HPLC で測定し (Gu *et al.*, 2002)、乳酸菌に吸着されなかった A- α -C の測定にクーロメトリー電極アレイを用いた HPLC を利用している (Stidld *et al.*, 2008) は。

・LC-ESI-MS/MS

(イオン対液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレー-タンデム質量分析法)

最近の A- α -C 検出には LC-ESI-MS/MS がよく利用されている。

LC-ESI-MS/MS によりさまざまな測定を行っている。タンデム SPE と HPLC/ESI-MS/MS により、油調理あるいは直焼きした牛肉、鶏肉中の A- α -C を、0.1 ppb より低いレベルで測定した報告がある(Turesky *et al.*, 2005)。また、上海の成人男性 170

人の尿中に含まれる A- α -C 含量の測定では定量限界値は 4 pg/mL (2007a)、LC-ESI-MS/MS のプロダクトイオンスキャンモードによる牛挽肉パテおよびグリル剥離物中の A- α -C 含量の測定では定量限界は 0.03 ng/g であった (Turesky *et al*, 2007b)。

凍結乾燥した肉試料の HCA 測定に LC-ESI-MS/MS を適用し、データの頑健性に影響すると予測される 8 つの要因を調査している。移動相の流速は A- α -C では k' 値が統計的に有意ではなかった(P<0.01)。衝突エネルギーは A- α -C の定量に有意に影響した(P<0.01)。最適条件下において、凍結乾燥肉試料における A- α -C の検出限界値は 3.7 ng/g、定量限界値は 7.4 ng/g であった (Calbiani *et al*, 2007)。

このほか、調理の程度の異なる牛肉、豚肉、鶏肉 26 試料の HCA 含量測定に LC-ESI-MS/MS を利用している (Ni *et al*, 2008)。

・各手法の検出限界の比較

調理食品中に含まれる変異原 HCA の検出限界を測定方法の違いで比較した総説によると(Knize *et al*. 2008)、GC/MS では、HPLC/UV より検出限界が 20 倍低い(Murray *et al*. 1989, Vainiotalo *et al*. 1993)。LC/MS により 14 種類の HCA を分離した実験では、検出限界は 10~600pg であった(Pais *et al*. 1997)。エレクトロスプレーインターフェースの LC/MS の検出限界を比較した場合、イオントラップが最も感度が低く、単一四重極はイオントラップの 2~7 倍感度が高い。三連四重極は単一四重極の 10 倍の感度で、HCA を 0.5~5 pg レベルで検出可能である(Barcelo-Barrachina *et al*. 2004)。

7. 現行規制等

該当情報なし

II. 食品中での生成要因

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

自然界では生成せず、おもに魚や肉などの食品の直火や高温加熱により生成する。一般に調理温度が高いほど、また調理時間が長いほど A- α -C の生成量は増加する傾向にある。

・肉の種類

異なる種類の肉における生成量を比較した実験から、鶏肉での生成が多い傾向がみられる。

豚肉、牛肉および鶏肉 26 試料を用いた実験では、豚肉、牛肉では調理法に関わらず A- α -C 生成量は極微量か未検出であったが、鶏肉では直焼きで 40.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、網焼きで 9.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が生成した(Ni *et al.* 2008)。また、牛肉と鶏肉を 230-300 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分間直焼き調理した実験では、A- α -C 含量は牛肉で最大 7750 pg/g 、鶏肉で 8700 pg/g であった (Turesky *et al.* 2005)。

・前駆体含量

グルコースとクレアチンは HCA の前駆体であると考えられており、加熱調理前後でその含量の変化を HCA 生成量と比較した報告がある。

牛挽肉を 200 $^{\circ}\text{C}$ で 20 分間加熱調理した実験では、牛挽肉中のグルコース含量は 2.82 mg/g から 0.72 mg/g に、クレアチン含量は 4.26 mg/g から 0.92 mg/g に減少した。対照区では IQ 型 HCA がより多く生成した(Ahn and Gruen 2005b)

また、牛挽肉 5g を試験管中で異なる温度(160 $^{\circ}\text{C}$ 、180 $^{\circ}\text{C}$ 、200 $^{\circ}\text{C}$ 、220 $^{\circ}\text{C}$)、異なる時間(5 分、10 分、15 分、20 分)で加熱した実験では、160 $^{\circ}\text{C}$ 、15 分以下の加熱では HCA は検出されなかったが、調理時間の増加および調理温度の上昇に伴いグルコースおよびクレアチン含量は減少し、一方で HCA 生成は増加した(Ahn and Gruen 2005a)。

・調理法

一般に、高温、長時間の調理ほど生成量は増加する傾向にあるが、特に高温の影響が大きい。調理法としては直焼きでの生成量が大である。

油で炒めた、あるいは直焼きした牛肉、鶏肉の A- α -C 含量は下表のとおりである。

調理牛肉およびその剥離物、鶏肉中の 2A- α -C 含量(pg/g)

試料	調理温度(°C)	調理時間(分)	2A- α -C
油で炒めた牛肉 1	190	12	<30
油で炒めた牛肉 2	300	6	3320±900
油で炒めた牛肉 3	150-180	10	<30
油で炒めた牛肉の剥離物	150-180	—	2890±596
直焼き牛肉 1	230-300	10	2800±188
直焼き牛肉 2	230-300	10	7750±621
牛肉抽出物	不明	不明	415±29
直焼き鶏肉	230-300	10	8700±1290

油で炒めるよりも直焼きの方が生成量は大きかった。また、HCA 生成量は調理時間が長いほど増加する傾向がみられたが、2A- α -C に関しては調理時間よりも調理温度の影響が顕著であった。特に直焼き鶏肉での生成が大であった (Turesky *et al.* 2005)。

牛挽肉パテを片側につき 10 分間、三段階の温度で油調理した実験では、調理温度 165 °C、190 °C では定量限界 (0.03 ng/g) 以下であったが、300 °C で急激に増加し、3.0 ng/g 以上検出された (Turesky *et al.* 2007b)。

フライパン調理 (180 °C) の程度によるサバの A- α -C 含量は、部位に関わらず調理時間の延長につれて含量が増加する傾向がみられた。また部位別では、38 分調理(ベリーウェルダン)で、血合筋での生成量はわずかであった(0.01 ng/g)が、切り身(3.1 ng/g)や普通筋 (2.8 ng/g) では生成量が相対的に大きかった (Gu *et al.* 2002)。

2. 参考

牛肉を高温の油で揚げ、その際に発生する煙を、凝縮器、フィルター、吸着管 (ポリウレタンフォームと XAD-4 樹脂を内蔵) から成る装置を使って集めた。A- α -C は、コンデンサー中から 3.48 ng/g 揚げた肉、および肉から 21.0 ng/g 揚げた肉が検出された (Thiebaud, Herve P. *et al.* 1994)。

III. 代謝(体内運命)

1. 吸収

該当情報なし

2. 分布・蓄積

該当情報なし

3. 代謝

PCB 処理したラットの肝臓ミクロソームによる A- α -C の代謝から、主に 5 つの代謝

産物が得られた。それらのうち2つはサルモネラ菌 TA98 の直接的な突然変異原であった。おもな変異原性代謝産物は、A- α -C の N-ヒドロキシ誘導体(N2-OH A- α -C)であり、少数の代謝産物はニトロソ誘導体であった(Niwa *et al.* 1982)。

生後 7~8 週の Wistar ラットに A- α -C を投与した実験では、糞中の A- α -C は未代謝であった。排泄物からグルクロン酸や硫酸に抱合され解毒された A- α -C 代謝物 7 種が同定されたが、活性化された代謝物は検出されなかった(Frederiksen and Frandsen 2004)。

ヒトおよび Wistar ラット(生後 7~8 週)の肝ミクロソームに A- α -C を処理した実験では、A- α -C は二つの主要な、そして三つの少量の解毒された代謝物に代謝された。A- α -C の一部は、酸化によりタンパク質付加体、二量体、還元による生成物の親化合物となる活性化型の N2-OH A- α -C に代謝された。対照のラットミクロソームでは解毒代謝物と活性代謝物の比率は五分五分であったが、PCB 誘導ラットミクロソームでは、代謝物の 91.8%は解毒されており、活性化された代謝物は 8.1%であった。一方、ヒトミクロソームでは代謝物の 58.3%が活性化され、二量体やタンパク質付加体が生成された(Frederiksen and Frandsen 2002)。

4. 排泄

生後 7~8 週の Wistar ラットにトリチウム標識した A- α -C を投与し、尿と糞を三日以上採集した実験では、72 時間以内に投与量の 55%の A- α -C が排泄された。排泄量は尿の方が多く、最初の 24 時間以内に A- α -C の 31%は尿中に、12%は糞中に排泄された(Frederiksen and Frandsen 2004)。

5. 毒性発現メカニズム

A- α -C の毒性は、体内で N-ヒドロキシル化、およびアセチル化により活性化された A- α -C が DNA に結合し、DNA 付加体を生成することで発現する。

・ A- α -C の活性化

A- α -C の代謝活性化には、肝臓ミクロソームのシトクロム P450 による N-ヒドロキシル化(N2-OH A- α -C)が重要である(Nobert *et al.* 1979, Niwa *et al.* 1982, Watanabe *et al.* 1982)。

A- α -C はヒト肝細胞ミクロソームにおいて、ラットの肝細胞ミクロソームよりも N2-OH-A- α -C に活性化されやすい(Frederiksen *et al.* 2002)。

PCB 処理したラット肝臓ミクロソームによる A- α -C の代謝から得られた変異原性代謝産物は、A- α -C の N-ヒドロキシ誘導体およびニトロソ誘導体であり、それらのうち二つはサルモネラ菌 TA98 の直接的な突然変異原であった(Niwa *et al.* 1982)。

ウシ乳腺 DNA とヒト肝細胞ミクロソームを混和した実験では、ヒト肝細胞内の内生 DNA 付加体生成量とシトクロム P 450 含量には相関がみられた($r^2=0.71$ 、 $P < 0.005$)。A- α -C による DNA 付加体生成量は、シトクロム P 450 のアイソザイムである CYP1A1、CYP1A2、CYP3A4 の活性に相関があり($r^2=0.82$ 、 $r^2=0.80$ 、 $r^2=0.80$ 、それぞれ $P < 0.001$)、一方で、それぞれのアイソザイムの阻害剤により、DNA 付加体の生成はそれぞれ 69%、18%、31%阻害された(Baranczewski and Moeller 2004)。

N-ヒドロキシル化されただけでは DNA 付加体生成には不十分で、アセチル化が必要であることが報告されている。N2-OH A- α -C とそのアセチル化物を 2'-デオキシヌクレオシド(1mg/mL)に混和した実験では、N2-OH A- α -C は 2'-デオキシヌクレオシドおよび DNA とは無反応であったが、アセチル化物は 2'-デオキシグアノシンと 3'-ホスホ-2'-デオキシグアノシンと反応し、DNA 付加体を形成した(Frederiksen *et al.* 2004)。

UV-5 チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を用いた実験では、ヒト P450 1A2 の存在だけでは DNA 付加体が形成されず、N-アセチル化転移酵素 2(NAT2)の存在が A- α -C 活性化に重要であることが示唆された(Turesky *et al.* 2009)。

・ DNA 付加体の生成

体内で活性化された A- α -C は DNA 付加体を生成するが、部位別には肝臓での生成が顕著である。DNA への結合位置は、グアニン塩基の C8 位の炭素原子であるとの報告がある (Frederiksen 2005)。

A- α -C をコーン油に懸濁して Fischer F344 ラットと ICR マウスに強制経口投与(50mg/kg、100 mg/kg)した実験では、マウス、ラットともに DNA 付加体生成は肝臓で顕著であった(Majer *et al.* 2004)。

A- α -C 処理したラットでは、乳腺上皮細胞のほか、胃、小腸、結腸、腎臓、特に肝臓で顕著に A- α -C DNA 付加体が観察される。DNA 付加体の 60~100%は、3'-ホスホ-2'-デオキシグアノシンが N-アセトキシ-A- α -C と反応して生成する (Snyderwine *et al.* 1998)。

マウスに A- α -C を投与すると、DNA 付加体形成は肝臓で最も多く 136.7/108 NN(NN; normal nucleotides)で、次いで心臓、腎臓、肺、大腸、小腸、胃、脾臓の順であった。DNA 付加体は N2-(デオキシグアノシン-8-イル)-2-アミノ-9H-ピリド[2,3-b]インドール(dG-C8-A- α -C)であることが示唆された。14 種類の HCA のうち、DNA 付加体生成量が最も多かったのは Trp-P-2 (199.5/108 NN)であり、次いで Trp-P-1 (105.8/108 NN)、A- α -C (76.5/108 NN)の順であった。これらの値と米国人およびスウェーデン人の日常摂取量

を掛け、相対危険度指標(RRI)を算出した。A- α -C は 14 種類の HCA 中最も高く RRI=27693 であり、PhIP (RRI=3254)の 9 倍、MeIQx(RRI=1921)の 14 倍であった (Baranczewski *et al.* 2004)。

モノアミンオキシダーゼ (MAO)、チロシンヒドロキシダーゼ (TH)、トリプトファンヒドロキシラーゼ (TRH) 活性の阻害が確認された。HCA は、タイプ A およびタイプ B の MAO を基質に対して阻害し、タイプ A MAO をより強く阻害した (次表参照)。TH 活性は、10 μ M の Trp-P-1 を培地に添加することにより著しく減少した。L-チロシンに関する Km 値は変化がなかったが、Vmax は有意に減少し、阻害が基質に対して非拮抗的であることを示した。また、Trp-P-1 と Trp-P-2 は、TRH 活性を L-トリプトファンに対して拮抗的に阻害し、それぞれの Ki はそれぞれ 99.6 と 41.7 μ M であった。これらの結果から、食物由来 HCA は、生体アミンの生合成と代謝を阻害することにより、脳内モノアミン量を乱すことが示唆された。(Maruyama, W *et al.*, 1994)

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 K_i

化合物	MAO-A	MAO-B
	$K_i(\mu\text{M})$	$K_i(\mu\text{M})$
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K_m for kynuramine (μM)	46.4	80.4
V_{max} for kinuramine	0.81	3.52

*: キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

IV. 疫学調査(ヒトへの影響)

A- α -C のヒトにおける発がんの症例報告や疫学調査は得られていない(IARC, 1986)。

1. 急性毒性

該当情報なし

2. 慢性毒性

該当情報なし

3. 発がん性

該当情報なし

4. 次世代影響

該当情報なし

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

A- α -C 摂取の影響はまず肝臓に現れる。

A- α -C をラットに体重 1kg あたり 75mg、経口で単回投与した場合、肝臓における DNA 付加体が他の組織に比べて 12~13 倍高くなる(Snyderwine et al. 1998)。

また、部分肝切除を施したフィッシャー344 ラット 16 匹のグループに A- α -C を体重 1kg あたり 50mg 腹腔注射すると、実験開始から 5 週間後にすべての個体が死亡し、肝臓の γ -グルタミルトランスペプチダーゼ陽性巣が有意に増加していた(Hasegawa et al. 1982)。

2. 反復投与毒性試験

該当情報なし

3. 生殖・発生毒性試験

該当情報なし

4. 遺伝毒性試験

遺伝毒性に関するさまざまな試験報告から、A- α -C は DNA を損傷し、変異原性を有することが示唆されている。

・変異原性

サルモネラ菌 NM2009 を用いて行った高感度 umu 試験では、NM2009 が極端に感受性であった芳香族アミン類化合物の中に A- α -C も含まれた(Oda et al. 1995) が、A- α -C のサルモネラ菌における変異原性は、他の HCA と比べ非常に低いという報告もある(下表、Frederiksen 2005)

HCA のサルモネラ菌株 TA98 と TA100 における変異原性

HCA	復帰変異数/ μ g	
	TA98	TA100
A- α -C	300	20
Me A- α -C	200	120
Trp-P-2	104200	1800
Glu-P-2	1900	1200
IQ	433000	7000
MeIQx	145000	14000
PhIP	1800	120

(Sugimura et al. 1990)

そのほか、チャイニーズハムスター肺細胞培養において、25~100 µg/mL の A-α-C によりジフテリア毒素耐性突然変異体が誘導された(Nakayasu et al. 1983)。

PCB 処理したラットの肝臓ミクロソームにより得られた 5 つの A-α-C 代謝産物のうち 2 つは、サルモネラ菌 TA98 の直接的な突然変異原物質であった(Niwa et al. 1982)。

また、エステル化欠損株であるサルモネラ菌の突然変異株 TA98/1,8-DNP6 に対し変異原性がみられた(Nagao et al. 1983)。

チャイニーズハムスターV79 細胞に対しては、A-α-C の変異効果はみられなかった(Takayama and Tanaka 1983)。

ショウジョウバエのウイングスポット試験では、培地含量 0.4mg あるいは 1mg/g の A-α-C で陽性の結果を示した(Yoo et al. 1985)。

A-α-C を含む 10 種類の変異原性 HCA 処理実験では、ラット、マウス、およびハムスターの肝細胞の DNA 修復が確認された(Yoshimi et al. 1988)。

UV-5 チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞に、ヒト P450 1A2 および、N-アセチル化転移酵素 2(NAT2)を発現させ、A-α-C(0、0.75、1.5、3.0、6 µM)を 48 時間処理した実験では、生存細胞を 6-チオグアニンを含む培地上でヒポキサンチンホスホリボシルトランスフェラーゼ(hprt)遺伝子座の変異を誘導したところ、A-α-C 濃度依存の変異原性が観察された (Turesky et al. 2009)。

・DNA 損傷

ヒト肝細胞 HepG2、Hep3B を培養し、4 段階の濃度(25、50、100、300µM)の A-α-C 溶液に 24 時間浸したあとサイトカラシン B を処理した実験では、HepG2 において A-α-C 処理濃度に伴う小核誘導(300µM で対照の 2.3 倍増加)がみられ、二核細胞は減少した。Hep3B では小核誘導はみられなかった(Majer et al. 2004)。

静脈血から得たヒトリンパ球周辺細胞を培養、3 段階の濃度(100、500、1000µM)の A-α-C 溶液に 37°C で 30 分間処理した実験では、DNA 損傷は 1000 µM 処理のみで確認された。(Majer et al. 2004)

A-α-C をコーン油に懸濁して Fischer F344 ラットと ICR マウスに強制経口投与(50mg/kg、100 mg/kg)した実験では、マウスにおいて、A-α-C は各器官で DNA 損傷を誘導し、大腸で最も顕著であった。ラットでも A-α-C は各器官で DNA 損傷を誘導し、肝臓で最も顕著であった(Majer et al. 2004)。

5. 発がん性試験

5つの主要なHCAの発がん性は、IQ > DiMeIQx > MeIQx > PhIP > A- α -Cの順であると評価されており(Layton et al. 1995)、HCAの中では相対的にA- α -Cの発がん性は低いとされている(下表、Sugimura 1997)。しかし、A- α -Cはグリルした肉だけでなく、チキンや野菜のグリルやタバコの煙からも高いレベルで通常摂取されており、現在のA- α -Cのヒトのがんに対するリスク評価は実際よりも低く見積もられている可能性がある(Baranczewski et al. 2004)。

マウスとラットにおけるHCAの発がん性

HCA	実験動物	食餌中の含量(%)	対象器官
A- α -C	マウス	0.08	肝臓、血管
Me A- α -C	マウス	0.08	肝臓、血管
	ラット	0.02、0.01	肝臓
Trp-P-2	マウス	0.02	肝臓
	ラット	0.01	肝臓、膀胱
Glu-P-2	マウス	0.05	肝臓、血管
	ラット	0.05	肝臓、小腸、大腸、外耳脂腺、陰核腺
IQ	マウス	0.03	肝臓、前胃、肺
	ラット	0.03	肝臓、小腸、大腸、外耳脂腺、陰核腺、皮膚
MeIQx	マウス	0.06	肝臓、肺、造血組織
	ラット	0.04	肝臓、外耳脂腺、陰核腺、皮膚
PhIP	マウス	0.04	リンパ組織
	ラット	0.04	大腸、乳腺

CDF1 マウスにA- α -Cアセテートを800mg/kg経口投与した実験では、38匹中20匹(53%)のオス、および34匹中6匹(18%)のメスに、血管のさまざまな部位に腫瘍が観察された。これらの腫瘍のほとんどは血管内皮性肉腫であった(オス17/20、メス6/6)。また、処理区の38匹中15匹(39%)のオス、および34匹中33匹(97%)のメスに肝腫瘍が発見された。オスに発見された肝腫瘍のうち、6例は肝細胞線腫、9例は肝細胞がんであった。メスでは、3例が肝細胞線腫、30例が肝細胞がんであった(Ohgaki et al. 1984)。

6~7週齢のCDF1マウス[(BALB/cAnN×DBA/2N)F1]雄雌に0.05または0.08%A- α -Cを混餌投与し、死亡または瀕死状態を解剖した。結果が得られた雄38匹、雌34匹のマウスのうち肝腫瘍は雄39%、雌97%が発症し、雄6匹、雌3匹に肝細胞腺腫(HA)、雄9匹、雌30匹に肝細胞がん(HCC)が観察された。血管系腫瘍は、雄53%、雌18%に発症し、雄2匹、雌0匹に血管内皮腫、雄17匹、雌6匹に血管内皮肉腫が観察された。ほとんどの血管内皮肉腫は肩甲骨間褐色脂肪組織に存在した。(Ohgaki, Hiroko et al, 1986)

6 週齢の雄雌 F344 ラットに、Trp-P-1(0.003%), Trp-P-2(0.004%), Glu-P-2(0.01%), A- α -C(0.016%), IQ(0.006%)の低濃度量（それぞれ単独投与実験で使用した量の 1/5）を混合して、混餌投与した。ラットの体重は、対照ラットの体重よりも 10%減少し、平均寿命も短かった。ラット雄雌共に、肝、大腸、Zymbal gland に、また雄のみ皮膚に、雌にのみ陰核腺にそれぞれ腫瘍がみられた。腫瘍は対照に比べかなり高い頻度で発生している（下表参照）。（Takayama, Shozo *et al*, 1987）

群	性	ラット数	腫瘍を発生したラット数							
			肝	小腸	大腸	Zymbal 腺	皮膚	包皮腺	陰核腺	その他
5 種 HCA	雄	51	42	4	14	7	21	6	-	35
	雌	51	33	1	9	9	2	-	20	23
対照	雄	50	2	0	0	0	0	2	-	39
	雌	50	0	0	0	0	0	-	0	12

（出典：Japanese Journal of Cancer Research, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.）

C57BL/6N 系統のマウスに A- α -C を含む食事を 7 週間与えた実験では、A- α -C 800ppm 処理でオスに 8.0+/-1.9、メスに 7.8+/-2.5 の異常腺窩巢(ACF)の誘導がみられた。ACF の大きさは 1.0~1.5 で、半分以上が回腸部から肛門部の 20~40%の距離の部分に存在した(Okonogi *et al*. 1997)。

ラットのメスへの A- α -C 経口投与(75mg/kg)による乳腺がんの調査の結果は陰性であった(Snyderwine *et al*. 1998)。

生後 3-6 日の C57BL/6J-Min/+ (多発性腸腫瘍) および+/+(野生型)系統のマウスに 0.22mmol/kg bw の A- α -C(40.3mg/kg bw)を注射した実験では、+/+の小腸での腫瘍形成に A- α -C 処理の影響はみられなかった。小腸での腫瘍発生は、A- α -C 処理(m ; 141.4, f ; 141.1)は対照(m ; 63.8, f ; 54.1)に比べ 2-3 倍であった。腫瘍直径には A- α -C 処理の影響はなかった。大腸での腫瘍形成は小腸より少なく、また、A- α -C 処理の影響はみられなかった(Steffensen *et al*. 2002)。

6. 特殊毒性試験(神経毒性、免疫毒性等)

該当データなし

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

(1) 国際がん研究機関(International Agency for Research on Cancer, IARC)

A- α -C の発がん性についてヒトに関するデータはないが、動物実験でのデータから、ヒトに対してのがんリスクは 2B と評価されている。

2. 国際機関等のリスク管理措置

(1) 米国国立がん研究所 (National Cancer Institute)

2004 年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告について紹介され、米国の平均的食生活における HCA の摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソースを作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCA の暴露を軽減することができるとしている。(NCI, 2004)

(2) 米国農務省 (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service)

2006 年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質の HCA の生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCA の生成や摂取を減らす方法を紹介している。(USDA, 2006)

(3) 英国食品基準庁 (Food Standards Agency)

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」の Q&A の項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化水素化合物 (PAHs) や HCA のような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。(FSA)

Ⅶ. 相互作用

1. ヘテロサイクリックアミン同士の相互作用

6週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2 週間後、HCA 混合または単独混餌を 6 週間投与。混餌は、5 種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10 種の発がん量の 1/10、1/100 量。3 週後に肝臓の 2/3 を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA 同一量を個々に混餌投与した群より、グルタチオン S-トランスフェラーゼ陽性の前がん状態病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10 種の HCA を各 1/10 量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。これらの効果は CYP1A2 を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

2. その他の物質との相互作用

植物の細胞壁や乳酸菌は体内で A- α -C を吸着し、毒性を緩和することが報告されている。また、添加物の存在により、A- α -C 生成が促進されたり抑制されたりすることが報告されている。

牛挽肉中に天然抽出物(ブドウ種子抽出物、マツ樹皮抽出物、ローズマリー精油)を 0.5%あるいは 1%添加し、牛挽肉パテを 210 °Cで両面を 10 分ずつ加熱した実験では、A- α -C の生成量は天然抽出物添加、特に 1%添加で減少し、ローズマリー精油添加では 0.5%、1%のどちらの処理でも検出されなかった(Ahn and Gruen 2005b)。

オキエソの魚肉ファイバーに添加物(塩、砂糖、しょう油、グルタミン酸モノナトリウム塩、大豆粉、抗酸化剤)を加え、120 °Cの揚げ鍋中で 30 分間加熱し、次いで豚脂、大豆油、ヤシ油を加えて 5 分間加熱した実験では、A- α -C 生成量は砂糖の添加により減少し、グルタミン酸モノナトリウム塩の添加により増加した。ビタミン C、 α -トコフェノール、ブチル化ヒドロキシトルエンなどの抗酸化剤の添加は一定の影響がみられなかった。ヤシ油の添加は HCA 生成に最も効果があり、次いで豚脂、大豆油の順であった(Tai *et al*. 2001)。

(1) 細胞壁およびその組成

トウモロコシの細胞壁を用いて、食物繊維のリグニン化が HCA 類(HCA)の吸着に及ぼす影響を調査した実験の結果、吸着量には HCA の疎水性が影響し、A- α -C で最大(78%)、次に PhIP(58%)、MeIQx、IQ(29%)の順であった。細胞壁中のリグニン含量は疎水性 HCA の吸着量を増大する傾向があり、A- α -C の吸着率はリグニン含量 4%で 39%、リグニン含量 11%で 58%であった (Funk *et al*. 2006)。

また、人工的にリグニン化(DHP)トウモロコシ細胞壁(15mg)を発酵処理して A- α -C(180ng/1.2mL)を混和した実験では、pH 6.5(小腸を模擬)で 46~74%、pH 7.4(大腸を模擬)で 49~68%が細胞壁に吸着された。細胞壁中のリグニン含量を 0.4%から 14%前後に増加させると、吸着量は 2~3 倍に増加した(Funk *et al.* 2008)。

(2) 乳酸菌

乳酸菌懸濁液に HCA 溶液(各 1.0 μ g)を加え混和し、乳酸菌 12 株の HCA 結合力、およびその HCA 変異原性に及ぼす影響を調査した実験では、乳酸菌 8 種 12 株のうち、*L. helveticus* の結合力が最大であり(78~89%)、*L. kefir* が最低であった(4~13%)。乳酸菌への結合は、A- α -C、DiMeIQx(50%前後)> MeIQx > IQ、PhIP(30%程度)の順であった(Stidl *et al.* 2008)。

4 種 5 株の乳酸菌懸濁液に A- α -C を 1.0 μ g 混和し、遠心後の上清にサルモネラ TA98 株を添加して変異原性を調査した実験では、乳酸菌への結合により A- α -C の変異原性活性は最低でも 30%以上低下し、*L. helveticus* では特に顕著で、ほぼ 100%近い低下がみられた(Stidl *et al.* 2008)。

また乳酸菌には、HCA による DNA 損傷の防除効果が報告されている。

F344 ラットに 4 種類の乳酸菌を給餌($1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^{11}$ (細胞/個体))後、A- α -C を含む 2 種類の HCA 混合物(牛肉由来 ; PhIP、IQ、MeIQx、DiMeIQx、A- α -C、鶏肉由来 ; PhIP、MeIQx、DiMeIQx、A- α -C)を経口投与し、大腸と肝臓における DNA 移動を測定した実験では、鶏肉由来 HCA では乳酸菌処理による DNA 移動の防除効果に有意差はみられなかったが、牛肉由来の HCA では 4 種類いずれの乳酸菌でも DNA 移動が減少した。また、乳酸菌量が増加すると忌避効果も上昇し、 1.0×10^{11} (細胞/個体)処理で効果は最大となった。部位別にみると、肝臓では DNA 損傷が 50%、大腸では 30%減少した(Zsivkovits *et al.* 2003)。

VIII. まとめ

2-アミノ-9H-ピリド[2,3-b]インドール (A- α -C)は、その発がん性・遺伝毒性が懸念される HCA 類の一つである。自然界には存在せず、ダイズグロブリンの熱分解産物から初めて検出された。おもにタンパク質の熱分解によって生成し、クレアチンやグルコースが前駆体であると考えられている。

A- α -C は一般に固相抽出法(SPE)により抽出され、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)とそれに続く質量分析によって検出・定量されている。

食品中では、おもに魚や肉などタンパク質を多く含む食品の加熱調理により生成する。一般に調理温度が高いほど、また調理時間が長いほど A- α -C の生成量は増加するが、

特に高温の影響が大きい。調理法としては直焼きでの生成量が大である。

A- α -C の毒性は、体内での N-ヒドロキシル化およびアセチル化を受けて活性化し、DNA 付加体を生成することにより発現する。A- α -C 摂取後、DNA 付加体はまず肝臓で顕著に増加する。

A- α -C は遺伝毒性を有し、マウスやラットでの DNA 損傷、サルモネラ菌やショウジョウバエなどでの変異原性が確認されている。

A- α -C の発がん性についてヒトに関するデータはないが、マウスやラットでは発がん性が確認されており、ヒトに対してのがんリスクは 2B と評価されている。HCA の中では A- α -C の発がん性は相対的に低いと評価されている。

植物の細胞壁や乳酸菌は体内で A- α -C を吸着し、毒性を緩和することが報告されている。

IX. 文献・参考資料

- Ahn, J., and I.U.Gruen. (2005a). Heterocyclic amines: 1. Kinetics of formation of polar and nonpolar heterocyclic amines as a function of time and temperature. *Journal of Food Science* 70: C173-C179.
- Ahn, J., and I.U. Gruen. (2005b). Heterocyclic amines: 2. Inhibitory effects of natural extracts on the formation of polar and nonpolar heterocyclic amines in cooked beef. *Journal of Food Science* 70: C263-C268.
- Barcelo-Barrachina, E., E.Moyano, L.Puignou, and M.T.Galceran. (2004). Evaluation of different liquid chromatography-electrospray mass spectrometry systems for the analysis of heterocyclic amines. *Journal of Chromatography A* 1023:67-78.
- Baranczewski, P., and L. Moeller. (2004). Relationship between content and activity of cytochrome P 450 and induction of heterocyclic amine DNA adducts in human liver samples in vivo and in vitro. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 13: 1071-1078.
- Baranczewski, P., J.A.Gustafsson, and L. Moeller. (2004). DNA adduct formation of 14 heterocyclic aromatic amines in mouse tissue after oral administration and characterization of the DNA adduct formed by 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (A α C), analysed by ³²P-HPLC. *Biomarkers* 9: 243-257.
- Calbiani, F., M.Careri, L.Elviri, A.Mangia, and I.Zagnoni. (2007). Validation of an ion-pair liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry method for the determination of heterocyclic aromatic amines in meat-based infant foods. *Food Additives & Contaminants* 24: 833-841.
- Frederiksen, H. (2005). Two food-borne heterocyclic amines: Metabolism and DNA adduct formation of amino-a-carbolines. *Molecular Nutrition & Food Research* 49:263-273.
- Frederiksen, H., and H. Frandsen. (2002). In vitro metabolism of two heterocyclic amines, 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (A- α -C) and 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (Me A- α -C) in human and rat hepatic microsomes. *Pharmacology & Toxicology* 90:127-134.
- Frederiksen, H., and H. Frandsen. (2004). Excretion of metabolites in urine and faeces from rats dosed with the heterocyclic amine, 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (A α C). *Food and Chemical Toxicology* 42:879-885.
- Frederiksen, H., H.Frandsen, and W. Pfau. (2004). Syntheses of DNA adducts of two heterocyclic amines, 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeA α C) and 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (A α C) and identification of DNA adducts in organs from rats dosed with MeA α C. *Carcinogenesis* 25:1525-1533.
- FSA, Eat well, be well Q&A Is overcooked or burnt meat carcinogenic?

- <http://www.eatwell.gov.uk/asksam/healthydiet/meatq/?lang=en#>
- Funk, C., A.Braune, J.H.Grabber, H.Steinhart, and M.Bunzel. (2007). Model studies of lignified fiber fermentation by human fecal microbiota and its impact on heterocyclic aromatic amine adsorption. *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 624:41-48.
- Funk, C., P.Weber, J.Thilker, J.H.Grabber, H.Steinhart, and M.Bunzel. (2006). Influence of lignification and feruloylation of maize cell walls on the adsorption of heterocyclic aromatic amines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54 :1860-1867.
- Gu, Y.S., I.S.Kim, J.K.Ahn, D.C.Park, D.M.Yeum, C.I.Ji, and S.B.Kim. (2002). Mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines as affected by muscle types/skin and cooking in pan-roasted mackerel. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 515:189-195.
- Hasegawa,R., H.Tsuda, T.Ogiso, M.Ohshima, and N.Ito. (1982). Initiating activities of pyrolysis products of L-lysine and soybean globulin assessed in terms of the induction of γ -glutamyl transpeptidase-positive foci in rat liver. *Japanese Journal of Cancer Research (Gann)*73:158-159.
- Hasegawa, R.; Kato, T.; Hirose, M.; Takahashi, S.; Shirai, T.; Ito, N., Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.
- Hayatsu,H., T.Oka, A.Wakata, Y.Ohara, T.Hayatsu, H.Kobayashi, and S.Arimoto. (1983). Adsorption of mutagens to cotton bearing covalently bound trisulfo-copper-phthalocyanine. *Mutation Research* 119:233-238.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans (1986). 40:245-252.
- Knize, M.G., and J.S.Felton. (2008). Heterocyclic amines. *Bioactive Compounds in Foods* 358-377.
- Layton, D.W, K.T.Bogen, M.G.Knize, F.T.Hatch, V.M.Johnson, and J.S.Felton. (1995). Cancer risk of heterocyclic amines in cooked foods: An analysis and implications for research. *Carcinogenesis* 16:39-52.
- Majer, B.J., F.Kassie, Y.Sasaki, W.Pfau, H.Glatt, W.Meinl, F.Darroudi, and S.Knasmuller, (2004). Investigation of the genotoxic effects of 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole in different organs of rodents and in human derived cells. *Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 802:167-173.
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, *Journal of Neural Transmission, Supplement*, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- Matsumoto,T., D.Yoshida, H.Tomita, and H.Matsushita, (1979). Synthesis of 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole isolated as a mutagenic principle from pyrolytic products of protein. *Agricultural and Biological Chemistry* 43:675-677.
- Matsumoto,T., D.Yoshida, and H.Tomita. (1981a). Determination of mutagens amino- α -carbolines in grilled foods and cigarette smoke condensate. *Cancer Letter* 12:105-110.
- Matsumoto,T., D.Yoshida, and H.Tomita. (1981b). Synthesis and mutagenic activity of alkyl derivatives of 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole. *Agricultural and Biological Chemistry* 45:2031-2035.
- Murray, S., N.J.Gooderham, A.R.Boobis and D.S.Davies. (1989). Detection and measurement of MeIQx in human urine after ingestion ofA- α -Cooked meat meal. *Carcinogenesis* 10:763-765.
- Nagao,M., S.Sato, and T.Sugimura. (1983). Mutagens produced by heating foods. In: Waller, G.R. and M.S.Feather, eds, *The Maillard reaction in foods and nutrition (ACS Symposium Series 215):521-536*.
- Nakayasu, M., F.Nakasato, H.Sakamoto, M.Terada, and T.Sugimura. (1983). Mutagenic activity of heterocyclic amines in Chinese hamster lung cells with diphtheria toxin resistance as a marker. *Mutation Research* 118:91-102.
- NCI, Heterocyclic Amines in Cooked Meats (2004)
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/heterocyclic-amines>
A221179
- Ni, W., L.McNaughton, D.M.LeMaster, R.Sinha and R.J.Turesky, (2008). Quantitation of 13 Heterocyclic Aromatic Amines in Cooked Beef, Pork, and Chicken by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:68-78.
- Niwa,T., Y.Yamazoe, and R.Kato, (1982). Metabolic activation of 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole by

- rat-liver microsomes. *Mutatant Research* 95:159-170.
- Nobert, D.W., S.W. Bigelow, A.B. Okey, T. Yahagi, Y. Mori, M. Nagao, and T. Sugimura. (1979). Pyrolysis products from amino acids and protein: highest mutagenicity requires cytochrome P1-450. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76:5929-5933.
- Ohgaki, H., H. Hasegawa, T. Kato, M. Suenaga, M. Ubukata, S. Sato, S. Takayama, and T. Sugimura. (1986). Carcinogenicity in mice and rats of heterocyclic amines in cooked foods. *Environmental Health Perspectives* 67:129-134.
- Ohgaki, H., N. Matsukura, K. Morino, T. Kawachi, T. Sugimura, and S. Takayama. (1984). Carcinogenicity in mice of mutagenic compounds from glutamic acid and soy bean globulin pyrolysates. *Carcinogenesis*, 5:815-819
- Okonogi H, T. Ushijima, H. Shimizu, T. Sugimura, and M. Nagao. (1997). Induction of aberrant crypt foci in C57BL/6N mice by 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (AaC) and 2-amino-3,8-dimethylimidazo [4,5]quinoxaline (MeIQx). *Cancer Letter* 111:105-109.
- Oda, Y., H. Yamazaki, M. Watanabe, T. Nohmi, and T. Shimada. (1995). Development high sensitive umu test system: rapid detection of genotoxicity of promutagenic aromatic amines by *Salmonella typhimurium* strain NM2009 possessing high O-acetyltransferase activity. *Mutation Research* 334:145-156.
- Pais, P., E. Moyano, L. Puignou, and M.T. Galceran, (1997). Liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry as a routine method for the analysis of mutagenic amines in beef extracts. *Journal of Chromatography A* 778:207-218.
- Skog, Kerstin; Solyakov, Alexey; Arvidsson, Patrik; Jagerstad, Margaretha, Analysis of nonpolar heterocyclic amines in cooked foods and meat extracts using gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography, A*, (1998) Vol. 803, No. 1 + 2, pp. 227-233.
- Snyderwine, E.G., N. Sadrieh, R. S. King, and H. A. J. Schut. (1998). Formation of DNA adducts of the food-derived mutagen 2-amino-9H-pyrido-[2,3-b]indole (A(a)C) and bioassay of mammary gland carcinogenicity in Sprague-Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*. 36:1033-1041.
- Solyakov, A.; Skog, K.; Jagerstad, M., Heterocyclic amines in process flavors, process flavor ingredients, bouillon concentrates and a pan residue, *Food and Chemical Toxicology*, (1998) Vol. 37, No. 1, pp. 1-11.
- Steffensen, I.-L., J.E. Paulsen, and J. Alexander. (2002). The food mutagen 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (AaC) but not its methylated form (MeAaC) increases intestinal tumorigenesis in neonatally exposed multiple intestinal neoplasia mice. *Carcinogenesis* 23:1373-1378.
- Sugimura, T. (1997). Overview of carcinogenic heterocyclic amines. *Mutat. Res.* 376:211-219.
- Sugimura, T. and K. Wakabayashi. (1990). Mutagens and carcinogens in food. *Prog. Clin. Biol. Res.* 347:1-18.
- Stidl, R., G. Sontag, V. Koller, S. Knasmueller. (2008). Binding of heterocyclic aromatic amines by lactic acid bacteria: Results of a comprehensive screening trial. *Molecular Nutrition & Food Research* 52:322-329.
- Tada, M., H. Saeki, and A. Oikawa. (1983). The identification of 3-amino-9H-pyrido[3,4-b]indole derivatives in L-tryptophan pyrolysates. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* 56:1450-1454.
- Tai, C.Y., K.H. Lee, and B.H. Chen. (2001). Effects of various additives on the formation of heterocyclic amines in fried fish fibre. *Food Chemistry* 75:309-316.
- Takayama, S., and M. Tanaka (1983). Mutagenesis of amino acid pyrolysis products in Chinese hamster V79 cells. *Toxicology Letters* 43 : 2415-2421.
- Takayama, Shozo; Nakatsuru, Yoko; Sato, Shigeaki, Carcinogenic effect of the simultaneous administration of five heterocyclic amines to F344 rats, *Japanese Journal of Cancer Research*, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.
- Thiebaut, Herve P.; Knize, Mark G.; Kuzmicky, Paul A.; Felton, James S.; Hsieh, Dennis P , Mutagenicity and Chemical Analysis of Fumes from Cooking Meat, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (1994) Vol. 42, No. 7, pp. 1502-10.
- Turesky, R.J., J. Bendaly, I. Yasa, M.A. Doll, and D.W. Hein. (2009). The impact of NAT2 acetylator genotype on mutagenesis and DNA adducts from 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole. *Chemical*

- Research in Toxicology 22:726–733.
- Turesky, R.J., J.M.Yuan, R.Wang, S.Peterson, and M.C.Yu. (2007a). Tobacco smoking and urinary levels of 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole in men of Shanghai, China. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 16:1554-1560.
- Turesky, R.J., A.K.Goodenough, W.Ni, L.McNaughton, D.M.LeMaster, R.D.Holland, R.W.Wu, and J.S.Felton. (2007b). Identification of 2-amino-1,7-dimethylimidazo[4,5-g]quinoxaline: An abundant mutagenic heterocyclic aromatic amine formed in cooked beef. *Chemical Research in Toxicology* 20:520-530.
- Turesky, R.J., J.Taylor, L.Schnackenberg, J.P.Freeman, and R.D.Holland. (2005). Quantitation of carcinogenic heterocyclic aromatic amines and detection of novel heterocyclic aromatic amines in cooked meats and grill scrapings by HPLC/ESI-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:3248-3258.
- USDA, How you cook your meet May Affect Your Health (2006)
<http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10878>
- Vainiotalo, S., K.Matveinen, and A.Reunanen. (1993). GC/MS determination of the mutagenic heterocyclic amines MeIQx and Di MeIQx in cooking fumes. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 345:462-466.
- Watanabe J, K.Kawajiri, H.Yonekawa, M.Nagao, and Y.Tagashira. (1982). Immunological analysis of the roles of two major types of cytochrome P-450 in mutagenesis of compounds isolated from pyrolysates. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 104:193-199.
- Yoo,M.A., H.Ryo, T.TODO, and S.Kondo, (1985). Mutagenic potency of heterocyclic amines in the *Drosophila* wing spot test and its correlation to carcinogenic potency. *Japanese Journal of Cancer Research (Gann)* 76:468-473.
- Yoshida, D. and T. Matsumoto. (1979). Isolation of 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole and 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole as mutagens from pyrolysis product of tryptophan. *Agricultural and Biological Chemistry* 43: 1155–1156.
- Yoshida,D. and T.Matsumoto. (1980). Amino- α -carbolines as mutagenic agents in cigarette smoke condensate. *Cancer Letter* 10:141-149.
- Yoshida,D., T.Matsumoto, R.Yoshimura, and T.Mitsuzaki, (1978). Mutagenicity of amino- α -carbolines in pyrolysis products of soybean globulin. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 83:915-920.
- Yoshimi, N., S.Sugie, H.Iwata, H.Mori, and G.M.Williams. (1988). Species and sex differences in genotoxicity of heterocyclic amine pyrolysis and cooking products in the hepatocyte primary culture/dna repair test using rat, mouse, and hamster hepatocytes. *Environmental Mutagenesis* 12:53-64.
- Zsivkovits, M., K.Fekadu, G.Sontag, U.Nabinger, W.W.Huber, M.Kundi,A- α -Chakraborty, H.Foissy, and S.Knasmueller. (2003). Prevention of heterocyclic amine-induced DNA damage in colon and liver of rats by different lactobacillus strains. *Carcinogenesis*, 24: 1913-1918.

4. 6 MeA- α -C

1. 物質特定情報

(1) 名称:

Chem. Abstr. Name: 3-Methyl-1*H*-pyrido[2,3-*b*]indol-2-amine

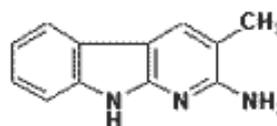
IUPAC Systematic Name: 2-amino-3-methyl-1*H*-pyrido[2,3-*b*]indole;

2-Amino-3-methyl-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indole

(2) CAS No. : 68006-83-7

(3) 分子式: C₁₂H₁₁N₃、構造式: 右図のとおり

(4) 分子量: 197.24



2. 物理化学的性状

(1) 物理的性状: 無色針状結晶

(2) 融点: 215-218 °C (Matsumoto *et al.*, 1981a); 211-214 (Sugiyama *et al.*, 1981)

(3) 溶解性: メタノールとジメチルスルフォキシドに溶解する。

(4) 分光学的データ: 紫外、プロトン NMR、蛍光分析、質量分析のデータの報告がある。安定性: 遮光下、やや酸性・塩基性の冷水溶液中で安定。

(5) 反応性: 次亜塩素酸塩中で急速に分解する。弱酸性亜硝酸塩溶液中で 2-アミノ基の水酸基置換により失活する。

3. 存在形態

(1) 存在形態: 該当データなし

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露: 該当データなし

4. 生成機構

MeA- α -C を含む A- α -C のアルキル誘導体の合成方法が報告されている (Matsumoto *et al.* 1981a)。

5. 食品中の検出状況

ダイズグロブリンの熱分解産物から初めて検出され、1g のグロブリンから約 80 μ g (Yoshida *et al.*, 1978; Matsumoto *et al.*, 1981a)、L-トリプトファン¹の熱分解性生物 (500 \square) では約 20 μ g/g (Yoshida & Matsumoto, 1979) 生成する。直火焼きの薄切り牛肉から 63.5 ng/g、鶏肉から 15.1 ng/g、シイタケから 5.4 ng/g 生成した (Matsumoto *et al.*, 1981b)。また、様々な銘柄のタバコ煙濃縮物から 1 本あたり 6.2~37 ng の生成が報告されている (Yoshida & Matsumoto, 1980; Matsumoto *et al.*, 1981b)。

調理した肉、鍋の残渣、肉抽出物中の非極性 HCA を固相抽出した後、GC-MS によ

り含有量の分析が行われた。Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、および MeA- α -C のサンプルにおいて 8 ng/g までの量が検出され、comutagenic 物質であるハルマンとノルハルマンも、同じサンプル中にはほぼ 200 ng/g までの量で検出された（下表参照）。クロマトグラフィー効率は高く、一回の注入は 0.1-2 ng の範囲で分析することができた。（Skog, Kerstin *et al.*, 1998）

非極性 HCA の GC-MS 分析（ng/乾燥原料）結果

サンプル	調理法	Trp-P-1	Trp-P-2	A- α -C	MeA- α -C
ポーク、ヒレ	フライ	0.8	Trace	Trace	3.3
ポークチョップ	ロースト	ND	ND	0.04	0.08
ミートローフ	ロースト	0.08	ND	0.28	ND

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、および鍋残渣に含まれる変異原性／がん原性 HCA の分析した実験では、複雑なマトリックスを持つ試料であるため、クロマトグラフィー効率を改善するために、新しく加える生成方法がデザインされた。プロセスフレーバー7種、プロセスフレーバー原料5種、ブイヨン濃縮物4種、鍋残渣から、HCA を固相抽出して精製し、HPLC および GC-MS により分析した。極性 HCA は、動物および動物+野菜混合物起源の試料にのみ検出された。一方、非極性 HCA は、動物、動物+野菜混合物、および純粋に野菜起源の試料で同定された（Solyakov *et al.*, 1998、次表参照）。

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、鍋残渣の HCA 量

HCA	検出量
極性 HCA	
IQ	1 サンプル中、3.4 ng/g
IQx	2 サンプル中、0.7-2.0 ng/g
MeIQx	4 サンプル中、1.0-13.8 ng/g
PhIP	2 サンプル中、痕跡量
MeIQ	検出されず
非極性 HCA	
A- α -C	1 サンプル中、0.4 ng/g
MeA- α -C	1 サンプル中、20.3 ng/g
Trp-P-1	2 サンプル中、1.4-1.7 ng/g
Trp-P-2	2 サンプル中、痕跡量
共変異原性 HCA	
ハルマン	17 サンプル中 15 サンプルで同定、3.3-755 ng/g
ノルハルマン	17 サンプル中 16 サンプルで同定、1.2-176 ng/g

（出典：Solyakov *et al.* 1998 Food and Chemical Toxicology 37(1):1-11）

単離手法の簡便化および三連四重極型質量分析の SRM とプロダクトイオンスキアンモードの併用により、調理肉とグリル剥離物中に含まれる既知の HCA 類の再定量および新奇の HCA を検出する。油で炒めた、あるいは直焼きした牛肉、鶏肉からタ

ンデム固相抽出法により HCA を抽出し、プロダクトイオンスキャンモードを利用し HPLC/ESI-MS/MS により検出した。その結果、A- α -C、Me A- α -C、IQ、PhIP を含む 10 種類の HCA を同定し、その含量は、調理時間が長いほど HCA 生成量は増加し、300°C で炒めた牛肉からは PhIP が多量に生成 (15200 pg/g)、グリル剥離物からは主に IQ 型 HCA が生成し、直焼き牛肉、鶏肉からは主に熱分解型 HCA (2A- α -C、Me A- α -C) が生成した (Turesky *et al.*, 2005、下表参照)。

調理牛肉およびその剥離物、鶏肉中のおもな HCA 含量 (pg/g)

	調理温度 (°C)	調理時間 (分)	IQ	PhIP	2A- α -C	Me A- α -C
油で炒めた牛肉 1	190	12	40±8	426±27	< 30	< 30
油で炒めた牛肉 2	300	6	260±43	15200±2900	3320±900	143±60
油で炒めた牛肉 3	150-180	10	< 30	161±10	< 30	< 30
油で炒めた牛肉の残渣	150-180	—	1940±95	82500±560	2890±596	757±244
直焼き牛肉 1	230-300	10	36±5	2190±304	2800±188	88±20
直焼き牛肉 2	230-300	10	129±22	13900±440	7750±621	285±170
牛肉抽出物	不明	不明	75200±230	1820±72	415±29	< 30
直焼き鶏肉	230-300	10	118±12	10000±60	8700±1290	225±82

(出典 : Turesky *et al.* 2005 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 3248-3258)

最近の報告では、調理の程度の異なる牛肉、豚肉、鶏肉中の HCA 類含量を液体クロマトグラフィー-エレクトロスプレーイオン化/タンデム質量分析により測定した結果、含量の比較的多い HCA は次表に示すとおりである (Ni *et al.*, 2008)。

調理の程度の異なる牛肉、豚肉、鶏肉中の HCA 含量

肉の種類	調理法と程度	温度 (°C)		調理時間 (分)	IQ (µg/g)	PhIP (µg/g)	A-α-C (µg/g)	Me A-α-C (µg/g)
		表面	内部					
鶏肉 胸肉、皮、骨つき	バーベキュー ウェルダグ	191	83	63	0.13	19.07	4.09	0.47
鶏肉 (皮無、骨無)	バーベキュー ウェルダグ	260	93	40	0.64	78.52	5.38	0.66
鶏肉 (皮無、骨無)	バーベキュー ベリー・ウェルダグ	260	99	43	0.91	304.71	40.36	6.12
鶏肉 (皮無、骨無)	オープン ジャストダグ	86	80	9	0.07	5.60	0.18	ND*
鶏肉 (皮無、骨無)	オープン ウェルダグ	79	91	14	0.15	31.83	2.54	0.36
鶏肉 (皮無、骨無)	オープン ベリー・ウェルダグ	83	98	17	0.30	71.96	9.43	1.31
鶏肉 (皮無、骨無)	フライパン ジャストダグ	197	76	14	0.18	8.77	ND	ND
鶏肉 (皮無、骨無)	フライパン ウェルダグ	202	82	28	0.11	19.47	ND	ND
鶏肉 (皮無、骨無)	フライパン ベリー・ウェルダグ	211	90	36	0.21	48.54	0.07	ND

(出典 : Ni *et al.* 2008 Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(1): 68-78)

6. 測定方法と検出限界値

MeA-α-C の分析にはダイズグロブリンの熱分解産物をシリカゲルやセファデックス (CM-Sephadex C-25, Sephadex LH-20) カラムによるクロマトグラフィーが用いられる (Matsumoto *et al.*, 1981b)。A-α-C との分離には、シリカゲルプレート上での薄層クロマトグラフィーが用いられ、構造解析には高分解能質量分析、NMR (Matsumoto *et al.*, 1981b)、および X 線結晶構造解析 (Yoshida *et al.*, 1978) が用いられる。

タバコ煙濃縮物からクロロホルム抽出、クロマトグラフィー、蛍光定量法により測定される (Yoshida & Matsumoto, 1980)。また、高速液体クロマトグラフィー (Nucleosil C18 カラム) と蛍光光度法も Me-α-C との分離と定量に用いられる (Matsumoto *et al.*, 1981b)。C.I. Reactive Blue 21 が結合したセルロースや綿に吸着させ、アンモニア性メタノールで溶出して吸収スペクトルにより定量する方法もある (Hayatsu *et al.*, 1983)

また、肉製品の熱加工により、変異原性およびがん原性の HCA がしばしば ng/g レベルで生成する。調理した肉、鍋上の残渣、肉抽出物中の非極性 HCA の固相抽出・精製した後、ガスクロマトグラフィー-質量分析法 (GC-MS) 技術を導入して分析を行った。

サンプルの誘導体化は行わなかった。結果、Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、および MeA- α -C のサンプルにおいて、8 ng/g までの量が検出された。共変異原性 (comutagenic) 物質であるハルマンとノルハルマンも、同じサンプル中にほぼ 200 ng/g までの量で検出された (下表参照)。クロマトグラフィー効率が高く、一回の注入は 0.1-2 ng の範囲で分析することができた (Skog *et al.*, 1998)。

非極性 HCA の GC-MS 分析 (ng/乾燥原料) 結果

サンプル	調理法	Trp-P-1	Trp-P-2	A- α -C	MeA- α -C
ポーク、ヒレ	フライ	0.8	Trace	Trace	3.3
ポークチョップ	ロースト	ND	ND	0.04	0.08
ミートローフ	ロースト	0.08	ND	0.28	ND

(出典 : Skog *et al.* 1998 Journal of Chromatography, A 803(1 + 2):227-233)

7. 現行規制等 : 該当データなし

II. 食品中での生成要因

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

自然界では生成せず、おもに食品の直火や高温による加熱により生成する (食品中の検出状況参照)。

アミノ酸ないしはブドウ糖の水溶液を加熱し、生成する HCA (A- α -C、MeA- α -C、IQx) を解析するため、アミノ酸とブドウ糖の単独または組み合わせ 6 種類 (フェニルアラニン、クレアチニン、フェニルアラニン+ブドウ糖、フェニルアラニン+クレアチニン、ブドウ糖+クレアチニン、フェニルアラニン+ブドウ糖+クレアチニン) の水溶液をアンプルに入れ、アンプルを油に浸けて 100 °C で 2.5、5、10、30、60、120 分、または 150 °C か 200 °C で、2.5、5、10、30 分加熱。加熱後のアンプル内容物をカートリッジに移し、各種溶媒を使って生成した HCA を溶出し、不純物を除いて、HPLC により分析・同定した。結果、HCA は、「ブドウ糖+クレアチニン」、「フェニルアラニン+ブドウ糖+クレアチニン」の組み合わせ時のみに生成がみられた。生成量は前者が後者に比べて少なかった。「ブドウ糖+クレアチニン」では、A- α -C と MeA- α -C が生成され、生成率は A- α -C の方が高かった。「フェニルアラニン+ブドウ糖+クレアチニン」の組み合わせでは、IQx、Norharman、Harman、A- α -C、MeA- α -C の 5 種の HCA が生成した。A- α -C の生成率は 200°C 加熱の時に最も大きく、各 HCA とも加熱温度が高くなるほどまた、加熱時間が長くなるほど生成率が高くなった。150 °C または 200 °C で加熱した際には、各 HCA とも加熱後 30 分以内に生成量が最高に達した (Chen *et al.*, 1999、次表参照)。

種々のモデルシステムにおける HCA の速度定数 (h-1)

物質	ブドウ糖+クレアチニン			フェニルアラニン+ブドウ糖+クレアチニン		
	100 °C	150 °C	200 °C	150 °C	100 °C	250 °C
A- α -C	N.D.	4.708	7.377	0.267	10.681	11.482
MeA- α -C	N.D.	5.305	6.700	0.391	8.550	11.240

N.D. : 検出されず

(出典 : Chen *et al.* 1999 Journal of Food Protection 62(12):1445-1450)

また、揚げ魚ファイバーを加工または貯蔵する際に生ずる HCA (A- α -C、MeA- α -C) を解析するため、snake fish (*Trachinocephalus myopus*、オキエソ)を 30 分間煮た後に、骨と内臓を除去し、魚肉を分離し、加圧加工してファイバーを得た。この魚肉ファイバーを 100、120、140 °C の揚げ鍋中で 30 分間加熱した後に、添加物 (塩、蔗糖、しょう油、グルタミン酸モノナトリウム塩、大豆粉) を加えて、同温度で 30 分間加熱し、次いで、豚脂を加えて 5 分間加熱した。生じた HCA を、ダイオードアレイ検出器を備えた HPLC で分析した。その結果、4 種類の HCA (Norharman、Harman、A- α -C、MeA- α -C) が検出され、HCA 量は、加熱温度が高くなるにつれて多くなった (Chen *et al.*, 2000、下表参照)。

揚げ魚ファイバー中の HCA 量 (ng/g)

物質	温度		
	100 °C	120 °C	140 °C
A- α -C	1.8	8.1	15.7
MeA- α -C	検出されず	1.9	7.9

N.D. : 検出されず

(出典 : Chen *et al.* 2000 Journal of Food Protection 63(10):1415-1420)

さらに、揚げ魚ファイバーをアルミフویل袋に保存した際に、保存温度が上昇するに従って HCA 量が増加した。プラスチック袋に保存した場合には、保存温度と HCA 生成量との間に相関性はなかった (Chen *et al.*, 2000、次表参照)。

種々の温度における貯蔵後の物質質量

貯蔵 期間	物質	4°C		25°C		37°C	
		アルミニウム フویل袋	プラスチック 袋	アルミニウム フویل袋	プラスチック 袋	アルミニウム フویل袋	プラスチック 袋
1ヶ月	A- α -C	7.1	8.3	8.3	10.5	14.7	11.3
	MeA- α -C	4.2	3.9	7.4	6.6	12.4	6.8
2ヶ月	A- α -C	N.D.	N.D.	8.7	4.6	4.9	N.D.
	MeA- α -C	N.D.	N.D.	7.7	2.1	N.D.	N.D.
3ヶ月	A- α -C	N.D.	N.D.	6.0	N.D.	3.3	N.D.
	MeA- α -C	N.D.	N.D.	1.4	N.D.	N.D.	N.D.

N.D. : 検出されず

(出典 : Chen *et al.* 2000 Journal of Food Protection 63(10):1415-1420)

また、揚げ魚ファイバーにおける、HCA 生成ないしは生成阻害が各種添加物によって影響を受けるか否かを調べた実験では、IQ、IQx、MeIQx、4,8-DiMeIQx、7,8-DiMeIQx、A- α -C、MeA- α -C、PhIP、Glu-P-1、Glu-P-2、4,7,8-TriMeIQx、Trp-P-1、Trp-P-2 の生成を検討するため、オキエソを 30 分間煮た後に、骨と内臓を除去し、魚肉を分離し、加圧加工してファイバーを作製し、魚肉ファイバーを 120°C の揚げ鍋中で 30 分間加熱した後に、添加物（塩、砂糖、しょう油、グルタミン酸モノナトリウム塩、大豆粉、抗酸化剤）を加えて、同温度で 30 分間加熱し、次いで、豚脂、大豆油、ヤシ油を加えて 5 分間加熱した。HCA は、ダイオードアレイ検出器を備えた HPLC で分析した。結果、高用量の砂糖を添加した場合には、HCA の生成が抑制された。Norharman、Harman、A- α -C、MeA- α -C などの HCA 生成量も最小であった。グルタミン酸モノナトリウム塩を添加した場合に、HCA 総生成量が増加し、個々のアミン（Norharman、Harman、A- α -C、MeA- α -C）についても、同様の傾向がみられた。ビタミン C、 α -トコフェノール、ブチル化ヒドロキシトルエンなどの抗酸化剤を添加した場合には、HCA 生成量に影響を与えなかった。ヤシ油の添加により HCA 生成は最も高くなり、豚脂、大豆油がこれに次いだ (Tai *et al.*, 2001)。

乾燥ないしは水分存在下で、食肉香辛料を原料として、加熱によって生成される HCA を調べた実験では、凍結乾燥食肉抽出物香辛料を、100~200°C で 10 分~2 時間加熱し、また同様に、その抽出物の水けん濁液を 175°C で、1、2、3 時間加熱した。別実験として、HCA 前駆体（クレアチン、ブドウ糖、グリシン、アラニン、フェニルアラニン）を食肉抽出物に加え、オープン上では 200°C で 30 分間（乾燥条件）、水けん濁中では 175 °C で 2 時間（湿潤条件）加熱した。全実験において生じた HCA を、HPLC で分離し、MS/MS で解析した結果、全ての実験条件下で、HCA の生成がみられ、その中でも、PhIP が最高濃度で検出された（例えば、200 °C で 30 分加熱の条件では、173 ng/g）。HCA の数と量は、温度と時間が増加するに従って増加した。クレ

アチンやアミノ酸を、食肉抽出物香辛料に加えると、IQ や MeIQx 量の増加が観察された。HCA として、乾燥条件下では、DMIP、MeIQx、4,8-Di MeIQx、7,8-Di MeIQx、MeA- α -C、PhIP が、湿潤条件下では、DMIP、4,8-Di MeIQx、7,8-Di MeIQx、PhIP が検出された(Bordas *et al.*, 2004、下表参照)。

時間、クレアチニン、アミノ酸の各条件における HCA 検出

分析物	乾燥条件			湿潤条件		
	200°C、30分	クレアチニン x5	アミノ酸 x 50	175°C、2時間	クレアチニン x5	アミノ酸 x 50
DMIP	14	~1.3	~1.3	8.5	~1.3	~1.3
IQ	-	28	42	-	32	43
MeIQx	10.7	33	28	-	42	278
7,8-DiMeIQx	4.0	~0.96	~0.96	4.8	~0.96	~0.96
4,8-DiMeIQx	8.9	11	~1.2	<3.9	7	~1.2
Norharman	2200	1500	830	2680	2250	1400
Harman	2640	1700	1000	2400	1700	1500
PhIP	173	94	256	19.5	9	83
MeA- α -C	<3.6	-	-	-	-	-

(出典 : Bordas *et al.* 2004 Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences 802(1):11-17)

また、15種の極性および非極性 HCA の安定性を、種々の熱処理条件下で調べる。個々のアンプル内に封じ込めた 13 種類の HCA (Glu-P-2、IQx、IQ、Glu-P-1、MeIQx、MeIQ、7,8-diMeIQx、4,8-diMeIQx、Trp-P-2、PhIP、Trp-P-1、A- α -C、MeA- α -C) を、1、2、3、6、12、18、24 時間、100、150、200°Cの油中で加熱し、HPLC により UV または蛍光検出して定量化した。結果、HCA の分解は、加熱温度が高くまた加熱時間が長いほど増加した。分解速度定数は温度が高くなるにつれて増加した。加熱中の HCA の分解率で、最も分解率が高かったのは PhIP (57.5%) で、MeIQ (38.8%)、MeIQx (34.2%)、IQ (16.6%)、Trp-P-2 (13.9%)と続き、IQ x (8.7%) が最も安定であった (Chiu *et al.*, 1999)。

2. 参考

Ⅲ. 代謝（体内運命）

1. 吸収

該当データなし

2. 分布・蓄積

DNA 付加体分析のための ^{32}P 標識標準物質としての A- α -C と Me A- α -C の DNA 付加体生成およびその生体内、生体外での相違、活性を調査するため、 ^{32}P 標識した Me A- α -C を Wistar ラット（生後 7～8 週）に経口投与し、器官別にフェノール抽出して測定した結果、器官別の DNA 付加体生成は、Me A- α -C の DNA 付加体レベルは肝臓で最大であった（Frederiksen *et al.*, 2004、下表参照）。

器官別の Me A- α -C の DNA 付加体レベル

器官	RAL $\times 10^9$ (平均 \pm SD)
肝臓	50.40 \pm 13.67
大腸	12.42 \pm 4.40
腎臓	4.19 \pm 1.25
心臓	13.98 \pm 8.82

(RAL ; 付加体/109 ヌクレオチド)

(出典 ; Frederiksen *et al.* 2004 *Carcinogenesis* 25(8):1525-1533.)

3. 代謝

in vitro 試験としてヒトおよびラット肝ミクロソームを使い、A- α -C と Me A- α -C の代謝を調べる。PCB (Aroclor 1254) 注射した Wistar ラット（生後 7～8 週）の肝ミクロソームに ^3H 標識した A- α -C と Me A- α -C を処理し、保温、生成した代謝物を HPLC-MS で測定した結果、A- α -C は二つの主代謝物と三つの解毒された少量代謝物に、Me A- α -C は三つの主代謝物と一つの解毒された少量代謝物に代謝された。活性化代謝物については、A- α -C と Me A- α -C の一部は、酸化によりタンパク質付加体、二量体、還元による生成物の親化合物となる活性化型の N2-OH-A- α -C と N2-OH-MeA- α -C に代謝した。対照のラットミクロソームでは解毒代謝物と活性代謝物の比率は五分五分であった。PCB 誘導ラットミクロソームでは、代謝物のほとんどは解毒され、ごく少量が活性化されたが、ヒトミクロソームでは代謝物の大部分は活性化され、二量体、タンパク質付加体を生成した（Frederiksen *et al.*, 2002、次表参照）。

マイクロソームにおける A- α -C と Me A- α -C の代謝の比率 (%)

処理	PCB 処理ラット		対照ラット		ヒト	
	解毒	活性化	解毒	活性化	解毒	活性化
A- α -C	91.8 \pm 0.7	8.1 \pm 0.7	51.7 \pm 3.1	48.3 \pm 3.1	41.7 \pm 2.9	58.3 \pm 2.9
Me A- α -C	82.2 \pm 5.1	17.8 \pm 5.1	46.0 \pm 6.5	54.0 \pm 6.5	35.8 \pm 1.1	64.2 \pm 1.1

(出典 : Frederiksen *et al.* 2002 *Pharmacology & Toxicology*, 90(3):127-134.)

A- α -C と Me A- α -C から N2-OH A- α -C と N2-OH Me A- α -C を化学合成、無水酢酸によりアセチル化し、N2-OH A- α -C と N2-OH Me A- α -C およびそのアセチル化物を 2'-デオキシヌクレオシド (1mg/mL) とリン酸緩衝液中で反応させ、各 DNA 付加体を HPLC-MS により同定・測定した結果、N2-OH A- α -C と N2-OH Me A- α -C は 2'-デオキシヌクレオシドおよび DNA とは無反応であり、N2-OH A- α -C と N2-OH Me A- α -C はアセチル化により 2'-デオキシグアノシンと 3'-ホスホ-2'-デオキシグアノシンと反応し DNA 付加体を形成した (Frederiksen *et al.*, 2004a)。

4. 排泄

ラットに ³H-MeA- α -C を経口投与すると、投与薬剤の約 65% は尿と糞中に排泄され、また代謝物の大部分 (全部ではない) は投与後 24 時間以内に排泄された。約 34% は、投与後 24 時間内に回収した尿中に存在していた。約 21% が、投与後 24 時間内に回収した糞中に存在しており、未変化体の MeA- α -C とその代謝物の 7-OH- MeA- α -C のみが同定された。未変化体の MeA- α -C の他に、2 種類の第 I 相代謝物 (6-OH- MeA- α -C、7-OH- MeA- α -C)、グルクロン酸抱合代謝物、硫酸・グルクロン酸抱合代謝物が同定された。代謝物として、大量で不安定化合物 (推定構造は MeA- α -C-N1-グルクロナイド) も検出した (Frederiksen *et al.*, 2004b)。

5. 毒性発現メカニズム

ポリ塩化ビフェニル処理したラット肝マイクロソーム S9 による変異原性代謝は、3-メチルコラントレンで誘導されたラット肝の主なチトクローム P450 型に対する抗体 (MC-P448) によって 70% 以上阻害された。しかし、フェノバルビタールで誘導された主なチトクローム P450 型に対する抗体では阻害されなかった。このように、MeA- α -C はラット肝において MC-P448 により選択的に活性化されて変異原性中間体を形成すると考えられる。(Watanabe *et al.*, 1982)。また、マウス肝マイクロソームのチトクローム P450 の一種である P1450 は、ベンゾピレンにより誘導され、Ah に局在する制御遺伝子により調節されているが、MeA- α -C の変異原性活性体への代謝を他の型のチトクローム P450 よりずっと大きく促進する。(Nobert *et al.*, 1979)。

MeA- α -C は、S9 ミックスの存在下でサルモネラ TA98/1,8-DNP6 (エステル化活性

欠損株) に対する弱い変異原性を示したが、S9 ミックス存在下で TA98 に対しては強い変異原性を示した。この結果から、MeA- α -C の最終的な変異原型は N-ヒドロキシ誘導体の硫酸エステルであると示唆された (Nagao *et al.*, 1983a)。

チトクローム (CYP) 1A2 とスルフトランスフェラーゼ (SULT) 1A1 を共発現するチャイニーズハムスターV79 由来細胞モデル試験を構築、この細胞または *Salmonella typhimurium* 細胞株を MeA- α -C と共に培養して、Marson & Ames 法の変法を使い、his+復帰突然変異体を計数することにより、MeA- α -C の変異原性を評価した。MeA- α -C は、ラット肝臓ミクロソーム画分の存在下で、ヒトスルフトランスフェラーゼ (SULT) 1A1 を発現している *Salmonella typhimurium* 株の遺伝子突然変異を強く誘起した。NAT2 発現細胞においても、それより弱い変異原性が見られた。MeA- α -C の代謝物である N-OH- MeA- α -C は、アセチルトランスフェラーゼ欠損のコントロール株に対して直接的な変異原性があり、スルフトランスフェラーゼ 1A1 を発現している細胞株では特に顕著であった。MeA- α -C の活性化経路には、MeA- α -C の化学構造式中の N 原子への水酸 (OH) 化および硫酸化 (SO₃H) が含まれていた。ヒト酵素系モデル試験において、シトクロム 1A2 等による N-ヒドロキシル化、および初期のスルフトランスフェラーゼ 1A1 による硫酸抱合体は、MeA- α -C の支配的な活性化経路であることが明らかになった (Glatt *et al.*, 2004)。

MeA- α -C、6-OH- MeA- α -C、7-OH- MeA- α -C、3-CH₂OH- MeA- α -C、N²-OH- MeA- α -C ミクロソームにおける MeA- α -C の4つの代謝物の性状を調べる。ミクロソーム蛋白質と 10 μ g MeA- α -C を混じて 37 °C で 15 分間培養し、培養液の上清を分離後に、HPLC で3個の代謝物 (6-OH- MeA- α -C、7-OH- MeA- α -C、3-CH₂OH- MeA- α -C) を単離し、質量分析 (MS)、NMR で解析した。HPLC で分画した MeA- α -C 代謝物の変異原性は、*Salmonella* 菌を使ったアッセイ法で調べた。上記以外に不安定代謝物 (N²-OH- MeA- α -C) があり、その構造は、HPLC での保持時間、UV スペクトラム、化学合成後の物性比較で決定した。結果、代謝物は、83%が 6-OH- MeA- α -C、7-OH- MeA- α -C、3-OH-CH₂-A- α -C の3つから成り、残りの 17%は、N²-OH- MeA- α -C であった。N²-OH- MeA- α -C は極めて反応性に富み、その一部は、培養中にミクロソーム蛋白質と共有結合していた。また、この代謝物の *Salmonella* 菌に対する変異原性能は強く、1 μ g あたり 5,070 個の復帰変異体を惹起した。もとの化合物 (MeA- α -C) に比べて 20 倍以上の変異原性活性があった (Frandsen *et al.*, 1998)。

Trp-P-1 および Trp-P-2 による、モノアミンオキシダーゼ (MAO)、チロシンヒドロキシダーゼ (TH)、トリプトファンヒドロキシラーゼ (TRH) 活性の阻害が確認された。Trp-P-2 は、タイプ A およびタイプ B の MAO を基質に対して阻害し、タイプ A に対する最も強い阻害剤であった。HCA はタイプ B MAO よりもタイプ A MAO をよ

り強く阻害した（次表参照）。TH 活性は、10 μM の Trp-P-1 を培地に添加することにより著しく減少した。L-チロシンに関する K_m 値は変化がなかったが、 V_{\max} は有意に減少し、阻害が基質に対して非拮抗的であることを示した。また、Trp-P-1 と Trp-P-2 は、TRH 活性を L-トリプトファンに対して拮抗的に阻害し、それぞれの K_i はそれぞれ 99.6, 41.7 μM であった。これらの結果から、食物由来 HCA は、生体アミンの生合成と代謝を阻害することにより、脳内モノアミン量を乱すことが示唆された。（Maruyama, W *et al*, 1994）

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 K_i

化合物	MAO-A	MAO-B
	$K_i(\mu\text{M})$	$K_i(\mu\text{M})$
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K_m for kynuramine (μM)	46.4	80.4
V_{\max} for kinuramine	0.81	3.52

*: キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

IV. 疫学調査（ヒトへの影響）

1. 急性毒性

部分肝切除を施したフィッシャー344 ラットの雄 19 匹の実験群に、ジメチルスルフォキシドに溶かした MeA- α -C を体重 1 kg あたり 80 mg 腹腔内注射し、2 週間後から 2 週間にわたり 2-アセチルアミノフルオレンを混餌投与し、2-アセチルアミノフルオレン投与開始 1 週間後に 1 mg/kg の四塩化炭素を単回投与した。試験開始 5 週後に剖検したところ、肝臓に γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ陽性病巣の数および面積の統計的に有意な増加が見られた（Hasegawa *et al.*, 1982）。

2. 慢性毒性

該当情報なし

3. 発がん性

該当情報なし

4. 次世代影響

該当情報なし

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

部分肝切除を施したフィッシャー344 ラットの雄 19 匹の実験群に、ジメチルスルフォキシドに溶かした MeA- α -C を体重 1 kg あたり 80 mg 腹腔内注射し、2 週間後から 2 週間にわたり 2-アセチルアミノフルオレンを混餌投与し、2-アセチルアミノフルオレン投与開始 1 週間後に 1 mg/kg の四塩化炭素を単回投与した。試験開始 5 週後に剖検したところ、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ陽性病巣の数および面積の統計的に有意な増加が肝に見られた (Hasegawa *et al.*, 1982)。

2. 反復投与毒性試験

該当情報なし

3. 生殖・発生毒性試験

該当情報なし

4. 遺伝毒性試験

MeA- α -C はラット肝 S9 存在下で溶原性大腸菌にプロファージ γ を誘導し (Nagao *et al.*, 1983b)、枯草菌を用いた rec アッセイでも陽性を示した(Matsumoto *et al.*, 1981b)。また、PCB 誘導したラット肝 S9 存在下でサルモネラ菌 TA98 と TA100 に変異原性を示した(Yoshida, *et al.*, 1978; Matsumoto *et al.*, 1981a, Peters *et al.*, 1981)。ショウジョウバエのウイングスポット試験では、培地含量 0.4 mg あるいは 1 mg/g の A- α -C で陽性の結果を示した (Yoo *et al.*, 1985)。S9 代謝活性化なしで 0.0625、0.125 mg/mL 濃度でチャイニーズハムスター肺細胞に倍数体を誘導し、PCB 誘導ラット肝 S9 存在下で 0.5, 1.25 mg/mL 濃度で染色体異常を引き起こした (Ishidate, 1983)。

MeA- α -C の短期試験データの総括的評価 (IARC 1986)

	遺伝的活性			細胞形質転換
	DNA 損傷	突然変異	染色体への影響	
原核生物	+	+		
植物				
昆虫		+		
哺乳類細胞(in vitro)			+	
哺乳類(in vivo)				
ヒト(in vivo)				
短期試験における遺伝的活性におけるエビデンス : 十分				データなし

6種類のヘテロサイクリック芳香族アミンの、線維芽細胞およびサルモネラ菌に対する変異原性を評価した実験では、ラット肝臓 S-9 の存在下、ヘテロサイクリック芳香族アミンによる CH3/M2 線維芽細胞に対する形態学的変異を、「形態学的変異アッセイ」および「in vitro 遺伝毒性アッセイ」を使って調べた。細菌 (*Salmonella typhimurium*) に対する変異原性活性は、YG1019 株による復帰突然変異アッセイ法で調べた。in vitro での染色体異常誘発活性は、MCL-5 細胞での小核アッセイ法で解析した。DNA 鎖切断活性は、MCL-5 細胞でのアルカリ単一細胞ゲルアッセイ法 (コメット法) で測定した。結果、6種類のヘテロサイクリック芳香族アミンは、104 個の生存細胞当たり、最高で 5.2~9.2 個の変異細胞を生じさせた。細菌に対する変異原性活性では、6種類のヘテロサイクリック芳香族アミンは、細胞 1ng あたり復帰突然変異体を 1.6 個 (A- α -C) ~3,800 個 (8-MeIQx) 生じさせた。全てのヘテロサイクリック芳香族アミンは、用量依存的に小核細胞を生じさせ、その誘導能は、4,8-DiMeIQx、8-MeIQx、IQ、MeA- α -C、PhIP、A- α -C の順に高かった。コメットアッセイにより DNA 損傷を示した各 HCA の最小有効濃度は、45.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (200 μm PhIP)、90.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (410-510 μm 4,8-DiMeIQx、IQ、MeA- α -C、A- α -C)、454.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (2130 μm 8-MeIQx) であった (Pfau *et al.*, 1999)。

5. 発がん性試験

雌雄各 40 匹の CDF1 マウスに MeA- α -C を含む餌 (800 mg/kg A- α -C acetate) を 588 日間にわたり与えた実験で、平均生存日は、対照では雌 658 \pm 77 日、雄 586 \pm 109 日、実験では雌 492 \pm 77 日、雄 445 \pm 44 日であった。血管内皮腫瘍が様々な箇所で見られ、雄で 95 % (35/37)、雌で 85% (28/33) に発生し、対照では全く発生していなかった。肝腫瘍は雄で 57 % (21/37)、雌で 85 % (28/33) に見られ、対照には全く見られなかった。雄ではこのうち 12 例が肝細胞腺腫、9 例が肝細胞がん、雌では 13 例が肝細胞腺腫、15 例が肝細胞がんであった (Ohgaki *et al.*, 1984)。

6~7 週齢の CDF1 マウス雄雌に 0.05 または 0.08%Glu-P-1 を混餌投与し、死亡または瀕死状態を解剖した。結果が得られた雄 37 匹、雌 33 匹のマウスのうち肝腫瘍は雄 57%、雌 85%が発症し、そのうち雄 12 匹、雌 13 匹に肝細胞腺腫 (HA)、雄 9 匹、雌 15 匹に肝細胞がん (HCC) が観察された。血管系腫瘍は、雄 95%、雌 85%に発症し、雄 35 匹、雌 28 匹に血管内皮肉腫が観察され、血管内皮腫は見られなかった。対照には腫瘍は確認されなかった。

CDF1 マウス (6~7 週齢雄雌) と F344 ラット (8 週齢雄雌) に対し、対象物質である HCA0.02~0.08%を飼料に混ぜて投与した後、死亡または瀕死のものを解剖し、すべての臓器を 15%中和ホルマリンで固定、パラフィンに埋め込み、切片を作成した。

ヘマトキシリンとエオシンで染色した実験では、マウスにおいて、テストしたすべての HCA で肝細胞がんを高頻度で発症した。Glu-P-1, Glu-P-2, MeA- α -C, A- α -C は、血管内皮肉腫も誘発した。ほとんどの血管内皮肉腫は肩甲骨間褐色脂肪組織に存在した。IQ は、前胃腫瘍と肺腫瘍も高頻度発症。MeIQ は、肝細胞がんに加えて前胃腫瘍も誘発。ラットにおいては、Trp-P-1, Glu-P-1, Glu-P-2, IQ が肝細胞がんを誘発。Glu-P-1, Glu-P-2, IQ は、小腸と大腸に腺がんを、Zymbal 腺と陰核腺に扁平上皮がんをも高頻度で発症させた (Ohgaki *et al.*, 1986)。

雄ラット肝臓における、2 種類の HCA による病変形成および DNA 付加体を測定するため、Hasegawa らは、ジエチルニトロソアミン 200 mg/kg をラット腹腔内に投与し、2 週間後に各種用量の MeA- α -C ないしは PhIP を 6 週間混餌投与し、給餌開始 1 週間後に肝臓の 3 分の 2 を切除し、全 8 週間にてと殺解剖 1 肝臓について免疫組織学的検査をおこなった。また、凍結した肝臓組織から DNA を抽出し、MeA- α -C-DNA 付加体および PhIP-DNA 付加体を ^{32}P ポストラベル化分析手法によって解析した。その結果、MeA- α -C は、100、200、400、800 ppm の濃度で用量依存的に胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ陽性肝細胞病変の数と病域を有意に増加させた。対照的に、PhIP は、50、100、200、400 ppm の用量のうち、400 ppm のみが病変を進展させ、低 ppm では病変を低減させた。MeA- α -C および PhIP とも用量依存的に DNA 付加体を増加させたが、その量は MeA- α -C の方がはるかに多かった。MeA- α -C と PhIP は、肝細胞病変誘起および DNA 付加体形成の点で差があり、ラットにおけるこれら HCA の肝臓発がん性の差と一致していた (Hasegawa *et al.*, 1992)。

HCA を単独ないしは複数種の混合でラットに混餌し、ラット肝中期発がん性試験を用いて肝臓の発がん性に与える影響を評価した報告では、6 週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2 週間後、HCA 混合または単独混餌を 6 週間投与した。5 種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10 種の発がん量の 1/10、1/100 量を混餌に使用した。実験開始 3 週後に肝臓の 2/3 を切除して、実験開始 8 週後と殺解剖し、肝臓についてグルタミン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べ、また 5 種混合の混餌投与で、 ^{32}P ポストラベル法によって DNA 付加体形成を調べた。肝チトクローム P450 の定量および CYP1A2 モノクローナル抗体を用いたミクロソームの反応性の分析を行った。結果、HCA 同一量を個々に混餌した群より、低用量で混餌した群に、胎盤型グルタミン S-トランスフェラーゼ陽性の前がん状態病変が増加していた。この見かけの相乗効果は、10 種の HCA を各 1/10 量ずつ混合給餌した場合が最も顕著であった。一般的に 5 または 10 個の物質を混合投与した場合、個々の物質の濃度をそれぞれ 5 または 10 倍にして単独投与した結果の平均値に近い値になった。(isoadditivity) 病変の数は、混合給餌であっても、5~10 倍の高濃度による単独給餌の場合と変わりがなかった。DNA 付加体形成量は Trp-P-1 > MeIQx

>IQ の順で高い値を示し、Glu-P-2 と MeIQ での形成はわずかであった。複合投与では単純な加算性を示し、発がん標的臓器の検索より暴露量評価に有用であると思われる。真の相乗効果は、混合物中に PhIP および Trp-P-2 を含む HCA 混合投与群でみられた。これらアミン自体は非肝がん誘発性であるが、HCA の代謝酵素 (CYP1A2) を誘発するためである、と考えられた (Hasegawa *et al.*, 1997)。

A- α -C と MeA- α -C が C57BL/6J-Min/+ (多発性腸腫瘍) マウスの腸腫瘍発生に及ぼす影響を調査した報告では、生後 3-6 日の C57BL/6J-Min/+ (多発性腸腫瘍) および+/+(野生型) 系統のマウス (両性) に 0.22mmol/kg bw の A- α -C (40.3mg/kg bw) と Me A- α -C (43.3mg/kg bw)、PhIP (50.0mg/kg bw) を皮下注射、11 週まで飼育、マウスから小腸および大腸を摘出し、形成された線腫の数、直径および場所を記録した結果、腫瘍の形成については、小腸での腫瘍発生は、A- α -C 処理 (m ; 141.4 \pm 14.5, f ; 141.1 \pm 19.8) は対照 (m ; 63.8 \pm 38.1, f ; 54.1 \pm 25.5) に比べ 2-3 倍、Me A- α -C 処理 (m ; 63.0 \pm 14.7, f ; 46.3 \pm 18.5) は影響がなかった。大腸での腫瘍形成は小腸より少なかった。PhIP と比較すると、PhIP 処理は A- α -C 処理に比べ大腸の腫瘍数が増加していたが、腫瘍の大きさには有意差はなかった (Steffensen *et al.*, 2002)。

アミノ- α -カルボリン (A- α -C、Me A- α -C) の変異原性は他の HCA と比べ非常に低い、発がん性は同程度または、高い場合がある (Frederiksen *et al.*, 2005、下表参照)。

マウスとラットにおける HCA の発がん性

HCA	実験動物	*含量 (%)	対象器官
A- α -C	マウス	0.08	肝臓、血管
Me A- α -C	マウス	0.08	肝臓、血管
	ラット	0.02、0.01	肝臓
Trp-P-2	マウス	0.02	肝臓
	ラット	0.01	肝臓、膀胱
Glu-P-2	マウス	0.05	肝臓、血管
	ラット	0.05	肝臓、小腸、大腸、外耳脂腺、陰核腺
IQ	マウス	0.03	肝臓、前胃、肺
	ラット	0.03	肝臓、小腸、大腸、外耳脂腺、陰核腺、皮膚
MeIQx	マウス	0.06	肝臓、肺、造血組織
	ラット	0.04	肝臓、外耳脂腺、陰核腺、皮膚
PhIP	マウス	0.04	リンパ組織
	ラット	0.04	大腸、乳腺

※食餌中の含量 (Sugimura,T., 1997)

(出典 : Sugimura *et al.* 1997 *Mutat. Res.* 376:211 -219, Frederiksen, H. 2005 *Molecular Nutrition & Food Research* 49: 263-273)

6. 特殊毒性試験（神経毒性、免疫毒性等）

該当情報なし

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

(1) 国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer, IARC）

MeA- α -C の実験動物における発がん性については、十分な根拠があるが、ヒトに対する発がん性のデータは入手できなかった（IARC 1986）。

(2) NTP

該当データなし

2. 国際機関等のリスク管理措置

(1) 米国国立がん研究所（National Cancer Institute）

2004年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告について紹介され、米国の平均的食生活におけるHCAの摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソースを作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCAの暴露を軽減することができるとしている。（NCI, 2004）

(2) 米国農務省（U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service）

2006年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質のHCAの生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCAの生成や摂取を減らす方法を紹介している。（USDA, 2006）

(3) 英国食品基準庁（Food Standards Agency）

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」のQ&Aの項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化水素化合物（PAHs）やHCAのような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。（FSA）

VII. 相互作用

6週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2 週間後、HCA 混合または単独混餌を 6 週間投与。混餌は、5 種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10 種の発がん量の 1/10、1/100 量。3 週後に肝臓の 2/3 を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタチオン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA 同一量を個々に混餌投与した群より、グルタチオン S-トランスフェラーゼ陽性の前がん状態病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10 種の HCA を各 1/10 量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。これらの相互作用は CYP1A2 を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

VIII. まとめ

2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeA- α -C)は、他の HCA と同様に、ブドウ糖、クレアチニン、フェニルアラニンの組み合わせで 100~200°Cの加熱で生成する。「ブドウ糖+クレアチニン」では、A- α -C と MeA- α -C が生成され、「フェニルアラニン+ブドウ糖+クレアチニン」の組み合わせでは、IQx、Norharman、Harman、A- α -C、MeA- α -C の 5 種の HCA が生成する。各 HCA とも加熱温度が高くなるほどまた、加熱時間が長くなるほど生成率が高くなる。

添加物（塩、砂糖、しょう油、グルタミン酸モノナトリウム塩、大豆粉、抗酸化剤）の HCA 生成への影響を測定した報告では、高用量の砂糖を添加した場合には、HCA（Norharman、Harman、A- α -C、MeA- α -C を含む）の生成が抑制され、グルタミン酸モノナトリウム塩を添加した場合は、HCA 総生成量、個々のアミン（Norharman、Harman、A- α -C、MeA- α -C）が増加した。ビタミン C、 α -トコフェノール、ブチル化ヒドロキントルエンなどの抗酸化剤を添加した場合には、HCA 生成量に影響を与えなかった。ヤシ油の添加により HCA 生成は最も高くなり、豚脂、大豆油がこれに次ぐ。

生体外システムのヒトおよびラット肝マイクロソームにおける A- α -C と Me A- α -C の生体外代謝を調べた報告では、A- α -C は二つの主要な、そして三つの少量の解毒された代謝物に代謝し、Me A- α -C は三つの主要な、そして一つの少量の解毒された代謝物に代謝した。活性化代謝物については、A- α -C と Me A- α -C の一部は、酸化によりタンパク質付加体、二量体、還元による生成物の親化合物となる活性化型の N2-OH-A- α -C と N2-OH-MeA- α -C に代謝した。対照のラットマイクロソームでは代謝物の解毒と活性化の比率は五分五分であった。ラットマイクロソームでは、代謝物のほとんどは解毒され、ごく少量が活性化したが、ヒトマイクロソームでは代謝物の大部分

は活性化し、二量体、タンパク質付加体を生成した。N2-OH A- α -C と N2-OH Me A- α -C は 2'-デオキシヌクレオシドおよび DNA とは無反応であり、N2-OH A- α -C と N2-OH Me A- α -C はアセチル化により 2'-デオキシグアノシンと 3'-ホスホ-2'-デオキシグアノシンと反応し DNA 付加体を形成する。A- α -C と Me A- α -C の DNA 付加体器官別の DNA 付加体生成は、Me A- α -C の DNA 付加体レベルは肝臓で最大である。

ラットに ^3H -MeA- α -C を経口投与すると、投与薬剤の約 65% は尿と糞中に排泄され、また代謝物の大部分 (全部ではない) は投与後 24 時間以内に排泄された。約 34% は、投与後 24 時間内に回収した尿中に存在していた。約 21% が、投与後 24 時間内に回収した糞中に存在しており、未変化体の MeA- α -C とその代謝物の 7-OH- MeA- α -C のみが同定された。未変化体の MeA- α -C の他に、2 種類の第 I 相代謝物 (6-OH- MeA- α -C、7-OH- MeA- α -C)、グルクロン酸抱合代謝物、硫酸・グルクロン酸抱合代謝物が同定された。代謝物として、大量で不安定化合物 (推定構造は MeA- α -C-N1-グルクロナイド) も検出している。

毒性発現メカニズムとしては、MeA- α -C は、肝臓において活性化されて変異原性中間体を形成すると考えられる。MeA- α -C の最終的な変異原型は N-ヒドロキシ誘導体の硫酸エステルであると示唆されている。チトクローム (CYT) 1A2 とスルフォトランスフェラーゼ (SULT) 1A1 を共発現するチャイニーズハムスター V79 由来細胞モデルシステムにおいて、MeA- α -C は、ヒト SULT (スルフォトランスフェラーゼ) 1A1 発現により、遺伝子変異を強く誘起した。MeA- α -C の活性化経路には、MeA- α -C の化学構造式中の N 原子への水酸 (OH) 化および硫酸化 (SO_3H) が含まれていた。ヒト酵素系モデルシステムにおいて、チトクローム 1A2 等による N-ヒドロキシル化、および初期のスルフォトランスフェラーゼ 1A1 による硫酸抱合体は、MeA- α -C の支配的な活性化経路である。

疫学調査のデータはないが、実験動物においては、遺伝毒性や発がん性が報告されている。MeA- α -C は、PCB 誘導したラット肝 S9 存在下でサルモネラ菌 TA98 と TA100 に変異原性を示し、S9 代謝活性化なしで 0.0625、0.125 mg/mL 濃度でチャイニーズハムスター肺細胞に倍数体を誘導し、PCB 誘導ラット肝 S9 存在下で 0.5、1.25 mg/mL 濃度で染色体異常を誘導することが報告されている。CDF1 マウスに MeA- α -C を含む餌を与えた実験で、雄雌共に、血管内皮腫瘍、肝腫瘍 (肝細胞腺腫、肝細胞がん) の発症が報告されている。

IARC による 1986 年の評価によると、MeA- α -C の実験動物における発がん性については、十分な根拠があるが、ヒトに対する発がん性のデータはない。

IX. 文献・参考資料

- Bordas, M., E. Moyano, L. Puignou, and M.T. Galceran (2004) Formation and stability of heterocyclic amines in a meat flavour model system; Effect of temperature, time and precursors. *Journal of Chromatography, B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 802(1):11-17
- Chen, B.H., and C.N. Meng (1999) Formation of heterocyclic amines in a model system during heating. *Journal of Food Protection* 62(12):1445-1450
- Chen, B.H., K.H. Lee, and C.-Y. Tai (2000) Formation of heterocyclic amines in fried fish fiber during processing and storage. *Journal of Food Protection* 63(10):1415-1420
- Chiu, C.P., and B.H. Chen (1999) Stability of heterocyclic amines during heating. *Food Chemistry* 68(3):267-272
- Frandsen, H., S. Damkjaer, S. Grivas, R. Andersson, M.L. Binderup, and J.C. Larsen (1998) Microsomal metabolism and activation of the environmental carcinogen 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole. *Mutagenesis* 13 (2):181-185
- Frederiksen, H., and H. Frandsen (2002) *In vitro* metabolism of two heterocyclic amines, 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (A α -C) and 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeA α -C) in human and rat hepatic microsomes. *Pharmacology & Toxicology*, 90(3):127-134
- Frederiksen, H., H. Frandsen, and W. Pfau (2004a) Syntheses of DNA adducts of two heterocyclic amines, 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeA α -C) and 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (A α -C) and identification of DNA adducts in organs from rats dosed with MeA α -C. *Carcinogenesis* 25(8):1525-1533
- Frederiksen, H., and H.D. Frandsen, (2004b) Identification of metabolites in urine and feces from rats dosed with the heterocyclic amine, 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeA α -C) *Drug Metabolism and Disposition* 32(6):661-665
- Frederiksen, H. (2005) Two food-borne heterocyclic amines: Metabolism and DNA adduct formation of amino-a-carbolines. *Molecular Nutrition & Food Research* 49: 263-273
- FSA, Eat well, be well Q&A Is overcooked or burnt meat carcinogenic?
<http://www.eatwell.gov.uk/asksam/healthydiet/meatq/?lang=en#A221179>
- Glatt, H., U. Pabel, W. Meinel, H. Frederiksen, H. Frandsen, and E. Muckel (2004) Bioactivation of the heterocyclic aromatic amine 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeA α -C) in recombinant test systems expressing human xenobiotic-metabolizing enzymes. *Carcinogenesis* 25 (5) :801-807
- Hasegawa, R., H. Tsuda, T. Ogiso, M. Ohshima, and N. Ito (1982) Initiating activities of pyrolysis products of L-lysine and soybean globulin assessed in terms of the induction of γ -glutamyl transpeptidase-positive foci in rat liver. *Gann* 73:158-159
- Hasegawa, R., S. Takahashi, T. Shirai, S. Iwasaki, D.J. Kim, M. Ochiai, M. Nagao, T. Sugimura, and N. Ito (1992) Dose-dependent formation of preneoplastic foci and DNA adducts in rat liver with 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeA α -C) and

- 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP). *Carcinogenesis* 13(8):1427-31
- Hasegawa, R., T. Kato, M. Hirose, S. Takahashi, T. Shirai, and N. Ito (1997) Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses in the rat. *Food and Chemical Toxicology* 34(11/12):1097-1101
- Hayatsu, H., T. Oka, A. Wakata, Y. Ohara, T. Hayatsu, H. Kobayashi, and S. Arimoto (1983) Adsorption of mutagens to cotton bearing covalently bound trisulfo-copper-phthalocyanine. *Mutat. Res.* 119:233-238
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 40 Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components, Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. MEA-a-C (2-AMINO-3-METHYL-9H-PYRIDO[2,3-*b*]INDOLE) VOL.: 40 (1986)
- Ishidate, M., ed. (1983) Chromosomal Aberration Test in vitro, Tokyo, Realize Inc, p254
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-*b*]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, Journal of Neural Transmission, Supplement, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- Matsumoto, T., D. Yoshida, and H. Tomita (1981) Determination of mutagens amino- α -carbolines in grilled foods and cigarette smoke condensate. *Cancer Lett.* 12:105-110
- Matsumoto, T., D. Yoshida, and H. Tomita (1981) Synthesis and mutagenic activity of alkyl derivatives of 2-amino-9H-pyrido[2,3-*b*]indole. *Agric. Biol. Chem.* 45:2031-2035
- Nagao, M., Y. Fujita, K. Wakabayashi, and T. Sugimura, (1983a) Ultimate forms of mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines produced by pyrolysis. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 114:626-631
- Nagao, M., S. Sato, and T. Sugimura (1983b) Mutagens produced by heating foods. In: Waller, G.R. & Feather, M.S., eds, The Maillard Reaction in Foods and Nutrition (ACS Symposium Series 215), Washington DC, American Chemical Society, 521-536
- NCI, Heterocyclic Amines in Cooked Meats (2004) <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/heterocyclic-amines>
- Nebert, D.W., S.W. Bigelow, A.B. Okey, T. Yahagi, Y. Mori, M. Nagao, and T. Sugimura (1979) Pyrolysis products from amino acids and protein: highest mutagenicity requires cytochrome P1-450. *Proc. natl Acad. Sci. USA* 76:5929-5933
- Ni, W., L. McNaughton, D.M. LeMaster, R. Sinha, and R.J. Turesky (2008) Quantitation of 13 Heterocyclic aromatic amines in cooked beef, pork, and chicken by liquid chromatography-electrospray ionization/tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(1): 68-78.
- Ohgaki, H., H. Hasegawa, T. Kato, M. Suenaga, M. Ubukata, S. Sato, S. Takayama, and T. Sugimura (1986) Carcinogenicity in mice and rats of heterocyclic amines in cooked foods. *Environmental Health Perspectives* 67:129-34.
- Ohgaki, H., N. Matsukura, K. Morino, T. Kawachi, T. Sugimura, and S. Takayama (1984)

- Carcinogenicity in mice of mutagenic compounds from glutamic acid and soy bean globulin pyrolysates. *Carcinogenesis* 5:815-819
- Pfau, W., F.L. Martin, K.J. Cole, S. Venitt, D.H. Phillips, P.L. Grover, and H. Marquardt (1999) Heterocyclic aromatic amines induce DNA strand breaks and cell transformation. *Carcinogenesis* 20(4):545-51
- Skog, K., A. Solyakov, P. Arvidsson, and M. Jagerstad (1998) Analysis of nonpolar heterocyclic amines in cooked foods and meat extracts using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography, A* 803(1 + 2):227-233
- Solyakov, A., K. Skog, and M. Jagerstad, (1998) Heterocyclic amines in process flavors, process flavor ingredients, bouillon concentrates and a pan residue. *Food and Chemical Toxicology* 37(1):1-11
- Steffensen, I.-L., J.E. Paulsen, and J. Alexander (2002) The food mutagen 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (A⁺C) but not its methylated form (MeA⁺C) increases intestinal tumorigenesis in neonatally exposed multiple intestinal neoplasia mice. *Carcinogenesis* 23(8):1373-1378
- Sugimura, T. (1997) Overview of carcinogenic heterocyclic amines. *Mutat. Res.* 376:211 –219
- Tai, C.-Y. K.H. Lee, and B.H. Chen (2001) Effects of various additives on the formation of heterocyclic amines in fried fish fibre. *Food Chemistry* 75(3):309-316
- Turesky, R.J., J. Taylor, L. Schnackenberg, J.P. Freeman, and R.D. Holland (2005) Quantitation of carcinogenic heterocyclic aromatic amines and detection of novel heterocyclic aromatic amines in cooked meats and grill scrapings by HPLC/ESI-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:3248-3258
- USDA, How you cook your meet May Affect Your Health (2006)
<http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10878>
- Watanabe, J., K. Kawajiri, H. Yonekawa, M. Nagao, and Y. Tagashira (1982) Immunological analysis of the roles of two major types of cytochrome P-450 in mutagenesis of compounds isolated from pyrolysates. *Biochem.biophys.Res. Commun.* 104:193-199
- Yoo, M.A., H. Ryo, T. Todo, and S. Kondo (1985) Mutagenic potency of heterocyclic amines in the Drosophila wing spot test and its correlation to carcinogenic potency. *Jpn.J.Cancer Res.(Gann)* 76(6):468-73
- Yoshida, D., T. Matsumoto, R. Yoshimura, and T. Mitsuzaki (1978) Mutagenicity of amino- α -carbolines in pyrolysis products of soybean globulin. *Biochem.biophys.Res. Commun.* 83:915-920
- Yoshida, D. and T. Matsumoto (1979) Isolation of 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole and 2-amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole as mutagens from pyrolysis product of tryptophan. *Agric. Biol. Chem.* 76:468-473
- Yoshida, D. and T. Matsumoto (1980) Amino- α -carbolines as mutagenic agents in cigarette smoke condensate. *Cancer Lett.* 10:141-149

4. 7 Glu-P-1

I. 当該化学物質の一般情報

1. 物質特定情報

(1) 名称(略号):

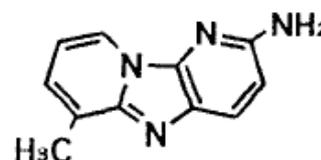
Chem. Abstr. Name: 6-Methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole-2-amine

IUPAC Systematic Name: 2-Amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole

(2) CAS No. : 67730-11-4

(3) 分子式 : $C_{11}H_{10}N_4$ 、構造式 : 右図のとおり

(4) 分子量 : 198.23



2. 物理化学的性状

(1) 物理的性状 : 黄色プリズム状結晶 (Takeda *et al.*, 1978)

(2) 融点 : 226 °C (Takeda *et al.*, 1978)、290-292 °C (臭化水素酸塩) (Takeda *et al.*, 1978, Sugiyama *et al.*, 1981)

(3) 溶解性 : ジメチルスルフォキシドおよびクロロホルムに溶解する。(Yokoyama *et al.*, 1978, Hayatsu *et al.*, 1981, Shunk *et al.*, 1984)

(4) 安定性 : 遮光したやや酸性およびアルカリ性条件、および冷希釈溶液で安定 (Sugimura *et al.*, 1981)。

(5) 反応性 : 希塩酸により速やかにアゾダイマーに変化する。弱酸性亜硝酸溶液により 2-アミノ基が水酸基に置換されて失活 (Sugimura *et al.*, 1981)。

3. 存在形態

(1) 存在形態 : 該当データなし

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露 : 該当データなし

4. 生成機構

L-グルタミン酸 (Yamamoto *et al.*, 1978)、カゼイン (Yamaguchi *et al.*, 1979) の熱分解で生成する。化学的合成方法としては、3-amino-8-methylimidazo[1,2-a]pyridine、2-chloroacrylonitrile、aluminium chloride をニトロベンゼン中で 100°C で 12 時間加熱し、その反応生成物から Glu-P-1 をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、メタノールエチルアセテートから結晶化する。(Takeda *et al.*, 1978)

5. 食品中の検出状況

牛エキスサンプルから、固定相抽出後の LC-MS 解析により、Glu-P-1(10.1 ng/g)、Harman(129.5 ng/g)、Norharman(74.0 ng/g)、A- α -C(2.8 ng/g)が検出された (Pais P *et al.*,

1997)。

6. 測定方法と検出限界値

Glu-P-1 はセルロースあるいは C.I. Reactive Blue 21 を共有結合させた綿に選択的に吸着する。吸着した Glu-P-1 をアンモニア溶メタノールで溶出し、吸収スペクトルで定量する (Hayatsu *et al.*, 1983)。

熱分解産物からの Glu-P-1 の分離には石英ガラスキャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフィーを用い、フレームイオン化検出器で検出する (Schunk *et al.*, 1984)。Glu-P-2 から Glu-P-1 を分離するためには高速液体クロマトグラフィーを用い、UV または傾向検出器で検出する (Peters *et al.*, 1981)。

タバコ、黒コショウ、魚干物、防蚊剤、木屑、ゴムの燃焼煙に含まれる、変異原性を有する HCA (A- α -C、Glu-P-1、Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQ、MeIQx、DiMeIQx、PhIP) を、精度の高い窒素選択検出ガスクロマトグラフィー (NPD-GC) (Kataoka and Kijima, 1997) によって検出した報告によると、被検材料の燃焼煙 (タバコは主流煙と副流煙) を、アスコルビン酸を含む 0.1M HCl 溶液に通すことによって捕捉し、HCA をブルーレーヨン吸着法により抽出後、誘導体へ変換させ、窒素選択検出ガスクロマトグラフィー (NPD-GC) により検出した。ブルーレーヨン吸着法によるタバコの煙中の HCA の回収率は 32–105% で、A- α -C と Trp-P-2 以外は、基質の影響を受けたが、抽出した HCA は容易に N-ジメチルアミノメチレン誘導体に変換することが出来るので、NPD-GC により、他の基質からの影響を受けることなく、測定可能であり、検出限界は 50pg/g であった (Kataoka *et al.*, 1998、下表参照)。

種々の試料の燃焼煙中の HCA の内容量(ng/g)^a

検体	A- α -C	Glu-P-1	Trp-P-1	Trp-P-2	IQ	MeIQ	MeIQx	Di-MeIQx	PhIP
タバコ A 主流煙	1.96+/-0.08	ND ^b	0.33+/-0.01	ND	0.33+/-0.01	0.28+/-0.003	ND	ND	ND
タバコ A 副流煙	5.00+/-0.07	ND	0.27+/-0.002	ND	0.61+/-0.01	0.45+/-0.01	ND	ND	1.48+/-0.03
タバコ B 主流煙	ND	ND	0.74+/-0.04	ND	0.49+/-0.02	0.75+/-0.01	ND	ND	ND
タバコ B 副流煙	6.51+/-0.09	ND	0.37+/-0.002	ND	0.16+/-0.002	0.25+/-0.004	ND	ND	2.09+/-0.05
黒コショウ	1.60+/-0.17	4.06+/-0.72	0.51+/-0.08	0.66+/-0.03	0.35+/-0.06	ND	ND	ND	2.24+/-0.44
魚干物	3.86+/-0.77	ND	0.79+/-0.08	3.70+/-0.18	0.22+/-0.04	0.19+/-0.01	ND	ND	3.92+/-0.03
木屑	ND	ND	ND	ND	2.26+/-0.34	ND	ND	ND	ND
ゴム	ND	ND	0.61+/-0.07	1.98+/-0.07	0.19+/-0.03	0.15+/-0.02	ND	ND	ND
防蚊剤	10.07+/-0.27	ND	ND	ND	1.94+/-0.02	ND	ND	ND	ND

^a Mean ± SD (n=3).

ND (Not detectable) = 検出されず

(出典 : Kataoka *et al.* 1998, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 60(1): 60-67)

7. 現行規制等

該当情報なし

II. 食品中での生成要因

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

該当情報なし

2. 参考

該当情報なし

III. 代謝 (体内運命)

1. 吸収

21mg/kg bw の ¹⁴C -Glu-P-1 を投与された雄の Fischer344 ラットでは 26 日後、0.2% が血液中に存在していた。24 時間後、放射能は血漿アルブミンに 2/3、残りがヘモグロビンに結合していた。(Umemoto *et al.*, 1985)。

2. 分布・蓄積

雄の Fischer344 ラットを対象とした ¹⁴C -Glu-P-1 の単回経口投与 (21mg/kg bw) 試験では、24、48 時間後、放射能が検出された器官は肝臓と腎臓のみであった (Negishi *et al.*, 1984)。

3. 代謝

胆汁中に N-hydroxy-Glu-P-1 が検出されること、Glu-P-1 を投与したラットの胆汁が *Salmonella typhimurium* TA98 に変異原性を持つことから、Glu-P-1 が代謝活性化されることは明らかである (Sato *et al.*, 1986)。Glu-P-1 は肝臓のミクロソームでチトクローム P450 によりヒドロキシル化されて N-hydroxy-Glu-P-1 に (Ishii *et al.*, 1981)、さらに細胞質でアセチル化されて N-O-acyl (アシル) -Glu-P-1 となることが示唆されている (Hashimoto *et al.*, 1982a; Nagao *et al.*, 1983a)。ヒト肝臓ミクロソームは、uridine 5'-diphosphoglucuronic acid (UDPGA) 依存的な N-OH-IQ、N-OH-PhIP、N-OH-Glu-P-1、

N-OH-MeIQx のグルクロン酸化を N-OH-AMP に比べて 59%、42%、35%、27%の割合で触媒した。また、ラット肝臓ミクロソームも N-OH-PhIP、N-OH-Glu-P-1、N-OH-IQ の UDPGA 依存的グルクロン酸化を触媒し、その効率は(N-OH -DMABP)に対してそれぞれ 30%、20%、10%であった (Kaderlik K R *et al*, 1994)。

F344 ラットに IQ (0.03%)、MeIQx (0.04%)、Trp-P-1 (0.015%)、Glu-P-1 (0.05%) を発がん性のある容量で 4 週間使用投与し、肝臓および心臓を ³²P ポストラベル分析で DNA 付加体を解析したところ、いずれの HCA 処理群でも心臓における DNA 付加体が認められた。心臓では肝臓での付加体の 10-20%の値だった (Overik, Eva *et al*, 1991)。

4. 排泄

雄の Fischer344 ラットを対象とした ¹⁴C -Glu-P-1 の単回経口投与 (21mg/kgbw)試験では 24 時間後、放射能が尿 (30%)、糞 (50%)、胆汁 (70%) で検出された (Negishi *et al.*, 1984)。

5. 毒性発現メカニズム

ラット肝から得られた様々なチトクローム P450 による Glu-P-1 の直接作用変異原への転換活性は、N-ヒドロキシ-Glu-P-1 活性とよく相関している (Kato *et al.*,1983)。N-ヒドロキシ-Glu-P-1 はさらにアセチル化されて、N-O- アシル-Glu-P-1 となる。N-O- アシル-Glu-P-1 は DNA と反応し (Hashimoto *et al.*, 1982a; Nagao *et al.*, 1983a)、N-O- アシル- Glu-P-1 がグアニンの C8 位で結合する、Glu-P-1 の最終形態である (Hashimoto *et al.*, 1982a)。

サルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) システムを使った遺伝毒性メカニズム解析実験の報告によると、Shimada らは、ヒト P450 1B1 cDNA を *Saccharomyces cerevisiae* に導入し、P450 1B1 を含むミクロソームを使って、サルモネラ菌試験株 TA1535/pSK1002 (umuC'lacZ 融合遺伝子を含む) あるいは NM2009 (追加プラスミドとして、pNM12 を有し、それにより細菌性 O-アセチル基転移酵素を過剰発現し、そのためアリルアミンの中間体に対しより感受性が高くなる) システムにおいて発がん物質や変異原性物質の活性化に対する P450 1B1 の特異性を、DNA ダメージをエンドポイントとして測定した。さらに P450 1B1 の特異性をヒト組み換え P450 1A1, 1A2, 3A4 と比較し結果、P450 1A2 は、アリルアミン類、とりわけ MeIQ, MeIQx, IQ, Glu-P-1, 2-acetylaminofluorene の活性化を促進し、P450 1B1 は、2-aminoanthracene, 3-MeO- AAB の活性化においては 3 種の酵素のうち最強であるが、2-aminofluorene の活性化は 1A2 と同等、Trp-P-1, 6-aminochrysene に対しては 1A1 と同等で、Glu-P-1, 2-acetylaminofluorene, benzidine, 2-naphthylamine に対しては作用しないことが明らかになった。

さらに、P450 1B1 は、タバコの煙の成分の一つである 5-Methylchrysene をより強い発がん性を持つ 5-Methylchrysene-1,2-diol に活性化し、その作用は 1B1 が突出して高い。1B1 は肺にも発現しており、肺がんへの寄与が示唆された (Shimada *et al.* 1996)。

また、Pramod らは、HCA (MeIQ、IQ、MeIQx、Glu-P-1、Trp-P-2) を高感度に検出するために、チトクローム P450 と NADPH-P450 還元酵素遺伝子を発現しているサルモネラ菌を用いた umu test を開発した。新しい菌株 OY1001/1A2 の作成) サルモネラ菌 TA1535 にヒト CYP1A2 と NADPH-P450 還元酵素の cDNA を組み込んだプラスミドと、lacZ 融合遺伝子を持つプラスミドを導入し、蛋白質の発現は CYP1A2 については CO 差スペクトル、NADPH-P450 還元酵素については OY1001/1A2 膜画分が HCA の MeIQ、IQ、MeIQx、Glu-P-1、Trp-P-2 を活性化することによって確認した。サルモネラ OY1001/1A2 株の umu 遺伝子誘導により、MeIQ、IQ、MeIQx による β ガラクトシダーゼ活性を測定した結果、MeIQ、IQ、MeIQx は濃度依存的に OY1001/1A2 の umu 遺伝子発現を誘導した (誘導の強さ : MeIQ > IQ > MeIQx)。さらに、CYP1A2 の抑制物質である α - NF が MeIQ による umu 遺伝子発現を抑制した。新しく開発したサルモネラ菌 OY1001/1A2 は umu 試験で代謝活性化酵素を加えることなく変異原性、発がん性を持つ HCA を検出可能であることがしめされた (Pramod *et al.* 1999)。

Yoshimitsu らも、代謝による遺伝毒性発現メカニズム調査の目的で、ヒトチトクローム P450 の異なるサブタイプの、HCA (Trp-P-1、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2、PhIP) に対する代謝活性化能を、新しく開発したサルモネラ菌を使った umu 試験を使って測定した。サルモネラ菌 TA1535 にヒトチトクローム P4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 のいずれかとヒト NADPH-P450 還元酵素遺伝子を組み込んだプラスミドと、細菌 O-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子のプラスミドを導入し、発現はそれぞれ CO 差スペクトル、膜画分の NADPH - P450 還元酵素活性、細胞質画分のアセチルトランスフェラーゼ活性を測定することにより確認した。これらの菌株を使った umu 試験の結果、ヒトチトクローム P-4501A2 を発現させた菌株で Trp-P-1、Trp-P-2、PhIP、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2 が高い活性を示した。Trp-P-1、Trp-P-2 はヒトチトクローム P-4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4、のすべてのタイプで活性化された。ヒトチトクローム P-4501A2 が HCA の活性に深く関与しており、またヒトチトクローム P-4501A2 を発現させたサルモネラ菌を使った umu 試験により、高感度で変異原性物質、発がん性物質が検出可能であることが示された (Yoshimitsu *et al.* 2001)。

各化合物の β -ガラクトシダーゼ活性は、7 種のサルモネラ試験株の背景活性から差し引いて算出。数値は、2~3 の独立試験の中間値。サルモネラの β -ガラクトシダーゼ活性背景レベルは、OY1002/1A1, OY1002/1A2, OY1002/1B1, OY1002/2C9,

OY1002/2D6, OY1002/2E1, Y1002/3A4 はそれぞれ、135+/-45, 139+/-66, 116+/-38, 117+/-40, 103+/-32, 105+/-33, 129+/-43(S.D., N=12)、ND=決定不可

(出典：Yoshimitsu *et al.* 2001, Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. 492(1-2):81-90.)

ミクロソームが仲介する Glu-P-1、Trp-P-1、Trp-P-2、IQ、MeIQx、MeA- α -C の変異原性は、肝細胞質に含まれる CuZn-SOD (copper, zinc-superoxide dismutase) によって増強されることが、Sprague-Dawley ラット雄 (180-200 g) について確認されている。ただし、Glu-P-2 および PhIP の変異原性には影響がなかった。CuZn-SOD は、N-ヒドロキシ誘導体の形成および NADPH 存在下での安定性には影響を及ぼさなかったことから、N-ヒドロキシ Glu-P-1 の代謝を変化させずにその変異原性を高めることが示唆されている (Nii *et al.* 2008)。

モノアミンオキシダーゼ (MAO)、チロシンヒドロキシダーゼ (TH)、トリプトファンヒドロキシラーゼ (TRH) 活性の阻害が確認された。HCA は、タイプ A およびタイプ B の MAO を基質に対して阻害し、タイプ A MAO をより強く阻害した (次表参照)。TH 活性は、10 μ M の Trp-P-1 を培地に添加することにより著しく減少した。L-チロシンに関する K_m 値は変化がなかったが、 V_{max} は有意に減少し、阻害が基質に対して非拮抗的であることを示した。また、Trp-P-1 と Trp-P-2 は、TRH 活性を L-トリプトファンに対して拮抗的に阻害し、それぞれの K_i はそれぞれ 99.6 と 41.7 μ M であった。これらの結果から、食物由来 HCA は、生体アミンの生合成と代謝を阻害することにより、脳内モノアミン量を乱すことが示唆された。(Maruyama, W *et al.* 1994)

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 K_i

化合物	MAO-A	MAO-B
	$K_i(\mu\text{M})$	$K_i(\mu\text{M})$
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K_m for kynuramine (μM)	46.4	80.4
V_{max} for kinuramine	0.81	3.52

*: キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

HCA の代謝活性は、CYP1A による N-酸化からヒドロキシルアミンが生成される過

程の後、NATによるO-アセチル化からN-アセトキシアリルアミンの生成により起こることが示された。4種のネズミチフス菌株DJ400(NAT1発現株)、DJ460(NAT2発現株)、TA1538, TA1538/1,8-DNP(O-アセチルトランスフェラーゼ欠損株)と9種のHCAで復帰突然変異試験が行われ、ほとんどの物質でTA1538株よりTA1538/1,8-DNP株において低い変異原性を示したことから、O-アセチルトランスフェラーゼはヒドロキシアミンをアセチル化により変異原性を増大していると考えられた。また、NAT2発現DJ460株ではほとんどの物質をO-アセチル化し、NAT1発現DJ400株は、O-アセチル化しなかった。N-ヒドロキシ-Glu-P-1とN-ヒドロキシ-Glu-P-2のみはDJ400(NAT1)によって活性化されたが、NAT2仲介より低いレベルであった。以上のように、NAT1ではなくNAT2が、多くのHCAの代謝活性化に強く関与していた。ただし、PhIPとTrp-P-2は、4種類の株でほぼ同じ値であり、NAT2非依存的な突然変異原性を形成していた(次表参照)。(Wild D *et al*, 1995)

物質	変異原性 (rev/nmol)			
	TA1538	TA1538/1,8-DNP - O-アセチルトランスフェラーゼ	DJ400 +NAT1	DJ460 +NAT2
IQ	39,400	<400	<500	86,500
MeIQ	396,000	<1000	<2000	196,000
MeIQx	43,100	<200	260	21,300
PhIP	396	329	195	273
Glu-P-1	9,300	303	2,700	40,700
Glu-P-2	203	8.8	41.9	1,134
Trp-P-2	7,300	7,410	2,960	6,360

ヒトチトクロームP4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4とヒトNADPH-P450還元酵素と細菌O-アセチルトランスフェラーゼを発現しているumu試験のサルモネラ菌株を作製し、HCAの代謝活性化を測定した。ヒトチトクロームP4501A2を発現させた菌株でTrp-P-1、Trp-P-2、PhIP、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2が高い代謝活性を示した。Trp-P-1、Trp-P-2はヒトチトクロームP-4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4のすべてのタイプで活性化された。(Yoshimitsu, Oda *et al*, 2001)

HCAを発がん性物質に活性化するヒト酵素、CYP1A2、NADPHシトクロームP450酸化還元酵素、NAT2を発現する酵母株を作製し、異なる濃度のHCAを4時間暴露し、組み換え体を検出して、遺伝子変換、染色体転座、内在URA3の正変異(forward mutation)を観察した。Glu-P-1の遺伝毒性は低く、URA3変異頻度は4.5倍の増加がみられた。(Paladino, Giuseppe *et al*, 1999)

IV. 疫学調査（ヒトへの影響）

1. 急性毒性

該当情報なし

2. 慢性毒性

該当情報なし

3. 発がん性

該当情報なし

4. 次世代影響

該当情報なし

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

該当情報なし

2. 反復投与毒性試験

該当情報なし

3. 生殖・発生毒性試験

該当情報なし

4. 遺伝毒性試験

Glu-P-1 (1-500 µg/plate) は大腸菌、サルモネラ菌に対して S9 存在下で変異原性を示す (Nagao *et al.*, 1983b; Yamamoto *et al.*, 1978; Matsushima *et al.*, 1980; Takeda *et al.*, 1980; Ishii *et al.*, 1981; Peters *et al.*, 1981)。

ヒト胚培養細胞に 8-アザグアニン耐性変異体 (Kuroda, 1980)、ラット肝 S9 存在下で培養チャイニーズハムスター肺細胞にジフテリアトキシシン耐性変異体(Nakayama *et al.*, 1983)を誘導する。

哺乳類培養細胞に染色体異常 (Ishidate, 1983)、姉妹染色分体交換 (Tohda *et al.*, 1980)、形態転換 (morphological transformation) (Takayama *et al.*, 1979) を誘導する。

ショウジョウバエのウィングスポットテスト (Yoo *et al.*, 1985) で陽性である。
 腹腔内投与したラット肝臓の DNA、RNA を修飾し (Hashimoto *et al.*, 1982b)、マウススポットテストで陽性を示す (Jensen, 1983)。

Glu-P-1 の短期試験データの総括的評価

	遺伝的活性			細胞形質転換
	DNA 損傷	変異	染色体への影響	
原核生物	+	+		
植物				
昆虫		+		
哺乳類細胞(in vitro)		+	+	+
哺乳類(in vivo)	+	+		
ヒト(in vivo)				
短期試験における遺伝的活性におけるエビデンス：十分				細胞形質転換：データなし

これらの結果は Glu-P-1 が、短期試験で遺伝的活性を有する証拠が十分であり、細胞のセルトランスフォーメーション試験で陽性であることを示している。

HCA (Glu-P-1, IQ, PhIP) 誘導性のラット結腸腫瘍における遺伝子変異について調べた報告によると、Glu-P-1 誘導性の 7 件の結腸腺がん、IQ 誘導性の 11 件の腺がん、PhIP 誘導性の 9 件の腺がんを対象に、ras ファミリー遺伝子の変異を解析した結果、Glu-P-1 誘導性の結腸腺がん 1 件のみに K-ras 変異が検出され、コドン 12 の GGT が GTT に変異していた。N-ras, Ha-ras および p53 遺伝子には変異は検出されなかった (Nagao *et al.* 1996)。

5. 発がん性試験

雌雄各 40 匹の CDF1 [(BALB/cAnN×DBA/2N) F1]] マウスに Glu-P-1 塩酸塩を 500mg/kg 含む固形飼料を 475 日にわたり与えた試験では、試験開始 301 日目に最初の血管腫瘍が投与群のみに観察された。平均生存日数は雌対照群では 658±55 日、雄対照群では 586±109 日、雌投与群では 398±35 日、雄投与群では 331±78 日であった。血管腫瘍 (血管内皮腫または血管内皮肉腫) は雄投与群で 88% (30/34)、雌投与群で 82% (31/38) に観察されたが対照群には観察されなかった (p<0.001)。ほとんどの血管腫瘍は血管内皮肉腫であった (雄:27/30、雌:28/31)。肝腫瘍は雄投与群で 12% (4/34)、雌投与群で 97% (37/38) に観察されたが対照群には観察されなかった (雌で p<0.001)。観察された肝腫瘍は雄ではすべて肝細胞腺腫、雌では 13 が肝細胞腺腫、24 は肝細胞がんであった (Ohgaki *et al.*, 1984)。

8 週令の雌雄各 42 匹の Fisher344 ラットに Glu-P-1 塩酸塩を 500mg/kg 含む固形飼料

を 104 週間与えた試験では、50-60 週までに投与群ラットの約 50%が肝臓、腸、ジンバル腺、脳、陰核腺の腫瘍のために死亡した。最初の肝腫瘍は雌で 277 日に観察された。肝腫瘍は雄投与群の 83% (35/42)、雌投与群の 57% (24/42) に観察され、ほとんどが肝細胞がんであった。雄 3 匹では肺への転移があった。小腸腫瘍は 300 日目に雄で最初に観察され、104 週では雄投与群の 62% (26/42)、雌投与群の 24% (10/42) に観察された (腺腫および腺がん)。結腸の腫瘍 (腺腫および腺がん) は雄投与群の 45% (19/42)、雌投与群の 17% (7/42) に観察された。小腸、大腸の腫瘍はいずれも複数部位にみられた。ジンバル腺の扁平上皮がんは限局性浸潤を伴っており、雄投与群、雌投与群とも 43% (18/42) に観察された。肝、小腸、ジンバル腺の腫瘍の増加は対照と比較し、統計的に有意であった ($p < 0.001$)。また、陰核腺の腫瘍も同様であった ($p < 0.05$)。雄対照群には肝腫瘍は 2 例しか認められなかった (Takayama *et al.*, 1984)。

6~7 週齢の CDF1 マウス [(BALB/cAnN×DBA/2N)F1]雄雌に 0.05 または 0.08% Glu-P-1 を混餌投与し、死亡または瀕死状態を解剖した。結果が得られた雄 34 匹、雌 38 匹のマウスのうち肝腫瘍は雄 12%、雌 97%が発症し、そのうち雄 4 匹、雌 13 匹に肝細胞腺腫 (HA)、雌 24 匹に肝細胞がん (HCC) が観察された。血管系腫瘍は、雄 88%、雌 82%に発症し、雄 4 匹、雌 3 匹に血管内皮腫、雄 27 匹、雌 28 匹に血管内皮肉腫が観察された。ほとんどの血管内皮肉腫は肩甲骨間褐色脂肪組織に存在した。対照には腫瘍は確認されなかった。

8 週齢の F344 ラットの雄雌それぞれ 42 匹に、0.05%Glu-P-1 を混餌投与し、死亡または瀕死状態を解剖した。肝細胞がんが雄 11 匹 (26%)、雌 2 匹 (5%)、小腸腺がんが雄 14 匹 (33%)、雌 8 匹 (19%)、大腸腺がんが雄 6 匹 (14%)、雌 8 匹 (19%) 見られた。Zymbal gland 扁平上皮がんは雄 1 匹 (2%)、雌 7 匹 (17%) で、陰核腺扁平上皮がんは雌 11 匹 (26%) に観察された。対照では腫瘍は見られなかった。(Ohgaki, Hiroko *et al.*, 1986)

Glu-P-1、IQ、PhIP、MeIQx を新生 B6C3F1 雄マウスに 2 段階の濃度で出生後 1、8、15 日に腹腔内注射し、8 および 12 月齢での腫瘍形成頻度が調べられた Glu-P-1、IQ、PhIP、MeIQx、4-ABP 投与群ではそれぞれコントロールに比べて有意差のある肝細胞腺腫の発症が見られた (Dooley, K. L *et al.*, 1992)。

発がんのメカニズム解析に関しては、雄 Fisher344 ラットを用いて、Glu-P-1 のイニシエーション、プロモーション作用を調べた報告がある。20mg/kg bw の Glu-P-1 を週に 1 回、7 回腹腔内投与し (1 回目の投与後に肝部分切除を含む)、その後 2 週間にわたり 200mg/kg の 2-アセチルアミノフルオレンを含む餌を与え、さらに 1 mL/kg bw の四塩化炭素を強制経口投与した試験では、 γ GTP (γ -glutamyltranspeptidase) 陽性肝

細胞巢の数と面積が対照群（Glu-P-1 を含まない溶媒のみを投与）に比較して統計的に有意に増大した。しかし、2-アセチルアミノフルオレンおよび四塩化炭素処理の後に Glu-P-1 投与（肝部分切除を含む）を行った場合は、 γ GTP 陽性肝細胞巢の増加は見られなかった。部分肝切除後に 2.5、10、40mg/kg bw の Glu-P-1 を腹腔内投与し、その後、2-アセチルアミノフルオレンおよび四塩化炭素処理した動物では、 γ GTP 陽性肝細胞巢の数および面積の用量依存的な増加がみとめられた。（Tamano *et al.*, 1981）。

また、MeIQ, IQ, MeIQx, PhIP, Glu-P-1 を長期経口投与した CDF マウス、F344 ラットについて一本鎖 DNA 高次構造多型解析と PCR 直接配列決定を行った。F344 ラットにおいて PhIP, IQ、または Glu-P-1 により誘発された大腸腫瘍では、Glu-P-1 誘発腺癌されたがん 1 つのみに *Ki-ras* 変異が見られたが、*p53* 変異は見られなかった（Ushijima, T *et al.*, 1995）。

6. 特殊毒性試験（神経毒性、免疫毒性等）

該当データなし

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

（1）国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer, IARC）

実験動物に対する Glu-P-1 の発がん性に関する十分な証拠があるが、ヒトに対する Glu-P-1 の発がん性に関するデータは得られなかった(IARC 1986)。

（2）NTP

該当情報なし

2. 国際機関等のリスク管理措置

（1）米国国立がん研究所（National Cancer Institute）

2004 年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告が紹介され、米国の平均的食生活における HCA の摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソースを作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCA の暴露を軽減することができるとしている。（NCI, 2004）

（2）米国農務省（U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service）

2006年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質のHCAの生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCAの生成や摂取を減らす方法を紹介している。(USDA, 2006)

(3) 英国食品基準庁 (Food Standards Agency)

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」のQ&Aの項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化水素化合物 (PAHs) や HCA のような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。(FSA)

Ⅶ. 相互作用

1. ヘテロサイクリックアミン同士の相互作用

6週齢の雄F344ラットにジエチルニトロソアミンを200 mg/kg投与2週間後、HCA混合または単独混餌を6週間投与。混餌は、5種のHCA発がん量の1/1、1/5、1/25量、または、10種の発がん量の1/10、1/100量。3週後に肝臓の2/3を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA同一量を個々に混餌投与した群より、グルタチオンS-トランスフェラーゼ陽性の前がん病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10種のHCAを各1/10量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。これらの効果はCYP1A2を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

また、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、MeIQ、IQの混合物を、*Salmonella typhimurium* A98には変異原性を示すが野生型のTA1978Pには示さない濃度で投与したところ、複合投与による有意差のある復帰突然変異の増加が見られた。この結果から、環境中の変異原性物質は複雑に混合された状態で存在するため、このような加法的作用について検討する必要があると指摘されている (Ohta T 2006)。

2. その他の物質との相互作用

HCAによりS9存在下で誘導された変異原性に対する、脂溶性抗酸化物質1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ)、没食子酸プロピル (Propyl Gallate)、BHA (butylated hydroxyanisol)、BHT (butylated hydroxytoluene)、 α -トコフェロール、

1-O-alkyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(THQ)のメチル、エチル、ブチル、ヘキシル誘導体の効果がエームス試験で検討された。HTHQは20 µg/plate量で、Trp-P-2の変異原性を63%抑制した。THQ誘導体では、Glu-P-1、Trp-P-2、IQ誘導変異原性に対して、アルキル鎖の長さに比例して抗変異原性活性が高くなった。(Hirose M *et al*, 1995)

HCAによりS9存在下で誘導された変異原性に対する、脂溶性抗酸化物質1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ)、没食子酸プロピル(Propyl Gallate)、BHA (butylated hydroxyanisol)、BHT (butylated hydroxytoluene)、α-トコフェロール、1-O-alkyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(THQ)のメチル、エチル、ブチル、ヘキシル誘導体の効果がエームス試験で検討された。Glu-P-1誘導の変異原性に対して、HTHQは10 µg/plateで100%抑制し、同濃度でTBHQは15%、没食子酸プロピルは69%、BHAは64%、BHTは32%抑制した。α-トコフェロールは100 µg/plateで21%抑制した。THQ誘導体では、Glu-P-1、Trp-P-2、IQ誘導変異原性に対して、アルキル鎖の長さに比例して抗変異原性活性が高くなった。活性化Glu-P-1により誘発された変異原性は、S9非存在下でわずかに抑制(54%)した。S9により活性化されたGlu-P-1活性化体は、HTHQ添加により大幅に減少した。(Hirose M *et al*, 1995)

天然のアントラキノン色素、プルプリンの、HCA (Trp-P-2、Trp-P-1、MeIQ、IQ、Glu-P-1)に対する変異原性抑制機構を、サルモネラ菌TA98を使ったAmes testを用いて解析した結果、Trp-P-1、Trp-P-2に対して90%以上が、MeIQ、IQ、Glu-P-1では60%以上が抑制された。Trp-P-2(NHOH)に対する抑制機構を、アセチルトランスフェラーゼ欠損株、S9の有無、CYP1A2とNADPHチトクロームP450還元酵素とO-アセチルトランスフェラーゼ欠損株を用いた場合でも抑制された。S9の有無に関わらず抑制はおこったが、S9非存在下の方が強く抑制された。TA1538AROを用いたAmes testでは、CYP1A2の分解とNADPHチトクロームP450還元酵素の抑制が見られた。これらの結果から、プルプリンの変異原性抑制は、中性で、ヒドロキシアミンに作用すること、それはCYP1A2とNADPHチトクロームP450還元酵素の働きの抑制によることが示唆された (Marczylo *et al*. 1999)。

4種類のビール(ピルスナータイプ2種、黒ビール、スタウトビール)のMeIQx、PhIP、Trp-P-2、Glu-P-1、IQに対する抗変異原作用を、Ames testで測定した結果、ラットS9存在下でのMeIQx、PhIP、Glu-p-1、Trp-P-2、IQ、またS9非存在下での活性化IQ、およびヒトS9存在下でのMeIQxのいずれに対しても、ビールサンプルは抗変異原性を有し、濃色のビールほど、また、ホップ濃度が高いほど、強い抑制効果を示した

(Nozawa *et al.* 2004)。

a-ナフチルイソチオシアネイト (ANIT) が HCA 誘発性のがんを抑制するメカニズム解析の報告では、サルモネラ菌 T98 株を使った Ames test の結果、Glu-P-1、IQ、PhIP、Trp-P-2、MeA- α -C、BP、AFB1、BHP、DMN はいずれも、ANIT 摂取群(グループ 2)S9 添加と vehicle 摂取群(グループ 1)S9 添加との間に差がなかった。一方、HCA および BP は PhIP 投与群(グループ 3)S9 添加でグループ 1 に対し 2.8–12.9 倍増加した(P < 0.01)が、AFB1、BHP、DMN は有為な差はなかった。ANIT+PhIP 投与群(グループ 4)S9 添加により Glu-P-1、IQ、PhIP、Trp-P-2 による変異誘導はグループ 3 に比しおよそ半減し、MeAaC and BP は弱いながら有意に減少し(20%, P<0.05)たが、AFB1、BHP、DMN の変異原性は変わらなかった (Mori *et al.* 2005)。

VIII. まとめ

2-AMINO-6-METHYLDIPYRIDO[1,2-a:3',2'-d]IMIDAZOLE (Glu-P-1) は、L-グルタミン酸、カゼインの熱分解で生成する。化学的合成方法としては、3-amino-8-methylimidazo[1,2-a]pyridine、2-塩化アクリロニトリル、塩化アルミニウムをニトロベンゼン中で 100°C で 12 時間加熱し、その反応生成物から Glu-P-1 をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、メタノールエチルアセテートから結晶化する。

測定方法としては、Glu-P-1 をセルロースあるいは C.I. Reactive Blue 21 を共有結合させた綿に選択的に吸着させ、吸着した Glu-P-1 をアンモニア溶メタノールで溶出し、吸収スペクトルで定量する方法がある。また、熱分解産物からの Glu-P-1 の分離には石英ガラスキャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフィーを用い、フレームイオン化検出器で検出する。Glu-P-2 から Glu-P-1 を分離するためには高速液体クロマトグラフィーを用い、UV または傾向検出器で検出する。また、タバコ、黒コショウなどの燃焼煙を、アスコルビン酸を含む 0.1M HCl 溶液に通すことによって捕捉し、HCA をブルーレーヨン吸着法により抽出後、誘導體へ変換させ、窒素選択検出ガスクロマトグラフィー (NPD-GC) により検出した場合、抽出した HCA は容易に N-ジメチルアミノメチレン誘導體に変換することが出来るので、NPD-GC により、他の基質からの影響を受けることなく測定可能であり、検出限界は 50pg/g であると報告されている。

Glu-P-1 を投与されたラットでは、24 時間後、血漿アルブミンに 2/3、残りがヘモグロビンに結合しており、26 日後、0.2%が血液中に存在した。さらに 24、48 時間後に Glu-P-1 が検出された臓器は、肝臓と腎臓のみであった。24 時間後、放射能が尿 (30%)、糞 (50%)、胆汁 (70%) で検出された。

Glu-P-1 は肝臓のミクロソームでチトクローム P450 によりヒドロキシル化されて N-ヒドロキシ-Glu-P-1 に、さらに細胞質でアセチル化されて N-アシル-Glu-P-1 となる

ことが示唆されている。

毒性発現メカニズムについては、ラット肝から得られた様々なチトクローム P450 による Glu-P-1 の直接作用変異原への転換活性は、N-ヒドロキシ-Glu-P-1 活性とよく相関しており、N-ヒドロキシ-Glu-P-1 はさらにアセチル化されて、N-O-アシル-Glu-P-1 となり、N-O-アシル-Glu-P-1 は DNA と反応し、N-O-アシル-Glu-P-1 がグアニンの C8 位で結合する。

サルモネラ菌システムを使った umu 試験解析の報告によると、ヒトチトクローム P450 1A2 は、アリルアミン類、とりわけ MeIQ, MeIQx, IQ, Glu-P-1, 2-acetylaminofluorene の活性化を促進し、P450 1B1 は、Glu-P-1, 2-acetylaminofluorene, benzidine, 2-naphthylamine に対しては作用しないことが明らかになり、ヒトチトクローム P-4501A2 が HCA の活性に深く関与していることが示された。

遺伝毒性試験報告によると、Glu-P-1 は大腸菌、サルモネラ菌に対して S9 存在下で変異原性を示し、ヒト胚培養細胞に 8-アザグアニン耐性変異体、ラット肝 S9 存在下で培養チャイニーズハムスター肺細胞にジフテリアトキシン耐性変異体を誘導した他、哺乳類培養細胞に染色体異常、姉妹染色分体交換、形態転換を誘導することがわかっている。

発がん性試験報告によると、マウスでは、血管腫瘍が観察され、ほとんどの血管腫瘍は血管内皮肉腫であり、また肝腫瘍（肝細胞腺腫、肝細胞がん）も誘導された。ラットでは、肝臓、腸、ジンバル腺、脳、陰核腺に腫瘍が発症し、肝細胞がん、小腸腫瘍（腺腫および腺がん）、結腸の腫瘍（腺腫および腺がん）が観察された。

毒性緩和試験報告では、プルプリンが変異原性抑制を示し、中性で、ヒドロキシアミンに作用すること、それは CYP1A2 と NADPH チトクローム P450 還元酵素の働きによることが示唆された。また、ビールや、 α -ナフチルイソチオシアネイトが毒性緩和効果を有することが報告されている。

Glu-P-1 は、国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 1986 年報告によると、実験動物に対する Glu-P-1 の発がん性に関する十分な証拠があるが、ヒトに対する Glu-P-1 の発がん性に関するデータは得られていないと評価されている。リスク管理措置については情報はない。

IX. 文献・参考資料

- Dooley, K. L.; Von Tungeln, L. S.; Bucci, T.; Fu, P. P.; Kadlubar, F. F., Comparative carcinogenicity of 4-aminobiphenyl and the food pyrolyzates, Glu-P-1, IQ, PhIP, and MeIQx in the neonatal B6C3F1 male mouse, *Cancer Letters* (Shannon, Ireland), (1992) Vol. 62, No. 3, pp. 205-9.
- FSA, Eat well, be well Q&A Is overcooked or burnt meat carcinogenic?
<http://www.eatwell.gov.uk/asksam/healthydiet/meatq/?lang=en#A221179>
- Hasegawa, R.; Kato, T.; Hirose, M.; Takahashi, S.; Shirai, T.; Ito, N., Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.
- Hashimoto *et al.* (1982a) Modification of DNA with potent mutacarcinogenic

- 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole isolated from a glutamic acid pyrolysate: structure of the modified nucleic acid base and initial chemical event caused by the mutagen. *J. Am. Chem. Soc.* 104:7636-7640
- Hashimoto *et al.* (1982b) Modification of nucleic acids with muta-carcinogenic heteroaromatic amines in vivo: identification of modified bases in DNA extracted from rats injected with 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole and 2-amino-6-methyldipyrido-[1,2-a:3',2'-d]imidazole. *Mutat. Res.* 105: 9-13
- Hayatsu, H., Oka, T., Wakata, A., Ohara, Y., Hayatsu, T., Kobayashi, H. & Arimoto, S. (1983) Adsorption of mutagens to cotton bearing covalently bound risulfo-copper-phthalocyanine. *Mutat. Res.* 119:115-126
- Hirose M; Iwata S; Ito E; Nihro Y; Takahashi S; Mizoguchi Y; Miki T; Satoh T; Ito N; Shirai T, Strong anti-mutagenic activity of the novel lipophilic antioxidant 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone against heterocyclic amine-induced mutagenesis in the Ames assay and its effect on metabolic activation of 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole (Glu-p-1), *Carcinogenesis*, (1995 Sep) 16 (9) 2227-32.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 40 Some Naturally Occurring and Synthetic Food Components, Furocoumarins and Ultraviolet Radiation. GLU-P-1 (2-AMINO-6-METHYLDIPYRIDO[1,2- a:3',2'-d]IMIDAZOLE) VOL.: 40 (1986)
- Ishidate (1983) *Chromosomal Aberration Test in vitro*, Tokyo, Realize Inc., p. 255
- Ishii *et al.* (1981) Metabolic activation of glutamic acid pyrolysis products, 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3'cl,2'-d]imidazole and 2-amino-dipyrido[1,2- a:3',2'-d]imidazole, by purified cytochrome P-450. *Chem.-biol. Interactions* 38:1-13
- Jensen (1983) Pyrolytic products from tryptophan and glutamic acid are positive in the mammalian spot test. *Cancer Lett.* 20: 241-244
- Kaderlik K R, Mulder G J, Turesky R J, Lang N P, Teitel C H, Chiarelli M P, Kadlubar F F(1994), Glucuronidation of N-hydroxy heterocyclic amines by human and rat liver microsomes., *Carcinogenesis*, 15 (8) 1695-701.
- Kataoka H, and K. Kijima (1997) Analysis of heterocyclic c amines as their N-dimethylaminomethylene derivatives by gas chromatography with nitrogenphosphorus selective detection. *J Chromatogr A*, 767:187-194
- Kataoka, H. , K. Kijima, G. Maruo (1998) Determination of Mutagenic Heterocyclic Amines in Combustion Smoke Samples. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 60(1): 60-67
- Kato *et al.* (1983) N-Hydroxylation of carcinogenic and mutagenic amines. *Environ. Health Perspect.* 49:21-25
- Kuroda (1980) Mutagenic activity of Trp-P-2 and Glu-P-1 on embryonic human diploid cells in culture. *Natl Inst. Genet. Jpn. annu. Rep.* 31:45-46
- Marczylo, T.H., T. Hayatsu, S. Arimoto-Kobayashi, M. Tada, K. Fujita, T. Kamataki, K. Nakayama, and H. Hayatsu (1999) Protection against the bacterial mutagenicity of heterocyclic amines by purpurin, a natural anthraquinone pigment. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 444(2):451-461
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, *Journal of Neural Transmission, Supplement*, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- Matsushima *et al.* (1980) Species differences in microsomal activation of mutagens and carcinogens, with special references to new potent mutagens from pyrolysates of amino acids and proteins. In: *Microsomes, Drug Oxidations and Chemical Carcinogenesis*, Vol. 2, New YorkA-α-Cademic Press, pp. 1093-1102
- Mori, Y., A. Koide, K. Tatematsu, S. Sugie, and H.Mori, (2005) Effects of a-naphthyl isothiocyanate and a heterocyclic amine, PhIP, on cytochrome P-450, mutagenic of various carcinogens and glucuronidation in rat liver. *Mutagenesis.* 20(1):15-22
- Nagao *et al.* (1983a) Ultimate forms of mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines produced by pyrolysis. *Biochem. biophys. Res. Commun.* 114: 626-631
- Nagao *et al.* (1983b) Mutagens produced by heating foods. In: *The Maillard Reaction in Foods and Nutrition* (ACS Symposium Series 215), Washington DC, American Chemical Society, pp. 521-536

- Nagao, Minako; Wakabayashi, Keiji; Ushijima, Toshikazu; Toyota, Minoru; Totsuka, Yukari; Sugimura, Takashi (1996) Human exposure to carcinogenic heterocyclic amines and their mutational fingerprints in experimental animals. *Environmental Health Perspectives Supplements*. 104(Suppl. 3): 497-501
- Nakayama *et al.* (1983) Mutagenic activity of heterocyclic amines in Chinese hamster lung cells with diphtheria toxin resistance as a marker. *Mutat. Res.* 118:91-102
- Negishi *et al.* (1984) Distribution, excretion and metabolism of Glu-P-1, a carcinogenic glutamic acid pyrolysis product, in rat (Abstract No. 1). In: *Proceedings of the Japanese Cancer Association*, 43rd Annual Meeting, Tokyo, Japanese Cancer Association, p. 29
- NCI, Heterocyclic Amines in Cooked Meats (2004)
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/heterocyclic-amines>
- Nii, Hiroaki; Tsutsui, Masato; Kondo, Jun; Toyohira, Yumiko; Ueno, Susumu; Yanagihara, Nobuyuki (2008), Copper, zinc-superoxide dismutase enhances the mutagenicity in *Salmonella typhimurium* induced by 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, Vol. 653, No. 1-2, pp. 14-22
- Nozawa, H., K. Tazumi, K. Sato, A. Yoshida, J. Takata, S. Arimoto-Kobayashi, and K. Kondo. (2004) Inhibitory effects of beer on heterocyclic amine-induced mutagenesis and PhIP-induced aberrant crypt foci in rat colon. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 559(1-2):177-187
- Oda Yoshimitsu; Pramod, Aryal; Takao, Terashita; Elizabeth, M.J., Gillam, F., Peter, Guengerich; Tsutomu, Shimada, Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in *Salmonella typhimurium* umu tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, 2E1, and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, (2001) Vol. 492, No. 1-2, pp. 81-90.
- Ohgaki *et al.* (1984) Carcinogenicity in mice of mutagenic compounds from glutamic acid and soybean globulin pyrolysates. *Carcinogenesis* 5:815-819
- Ohgaki, Hiroko; Hasegawa, Hirokazu; Kato, Tamami; Suenaga, Miki; Ubukata, Mikiyo; Sato, Shigeaki; Takayama, Shozo; Sugimura, Takashi, Carcinogenicity in mice and rats of heterocyclic amines in cooked foods, *Environmental Health Perspectives*, (1986) Vol. 67, pp. 129-34.
- Overik, Eva; Ochiai, Masako; Hirose, Misako; Sugimura, Takashi, The formation of heart DNA adducts in F344 rats following dietary administration of heterocyclic amines, *DNAging: Genetic Instability and Aging*, (1991) Vol. 256, No. 1, pp. 37-43.
- Pais, P.; Moyano, E.; Puignou, L.; Galceran, M. T., Liquid chromatography-atmospheric-pressure chemical ionization mass spectrometry as a routine method for the analysis of mutagenic amines in beef extracts, (1997) *Journal of Chromatography, A*, Vol. 778, No. 1 + 2, pp. 207-218.
- Paladino, Giuseppe; Weibel, Beatrice; Sengstag, Christian, Heterocyclic aromatic amines efficiently induce mitotic recombination in metabolically competent *Saccharomyces cerevisiae* strains, *Carcinogenesis*, (1999) Vol. 20, No. 11, pp. 2143-2152.
- Peters *et al.* (1981) Synthesis, chemical characterization, and mutagenic activities of promutagens produced by pyrolysis of proteinaceous substances. *Environ. Mutagenesis* 3:639-649
- Pramod, aryal; Kentaro, Yoshikawa; Takao, Terashita; F., Peter, Guengerich; Tsutomu, Shimada; Yoshimitsu, Oda (1999) Development of a new genotoxicity test system with *Salmonella typhimurium* OY1001/1A2 expressing human CYP1A2 and NADPH-P450 reductase. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 442(2):113-120
- Sato, S., C. Negishi, A. Umemoto, and T. Sugimura (1986) Metabolic aspects of pyrolysis mutagens in food. *Environ. Health Perspect.* 67:105-9
- Schunk *et al.* (1984) Analysis of mutagenic amino acid pyrolyzates with a fused silica capillary column. *J. high Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 7:563-565
- Shimada T; Hayes C L; Yamazaki H; Amin S; Hecht S S; Guengerich F P; Sutter T R (1996 Jul 1) Activation of chemically diverse procarcinogens by human cytochrome P-450 1B1. *Cancer Research* 56 (13): 2979-84.
- Takayama *et al.* (1979) In vitro transformation of hamster embryo cells with a glutamic acid pyrolysis product. *Toxicol. Lett.* 4:281-284
- Takayama *et al.* (1984) Induction of cancers in the intestine, liver and various other organs of rats by

- feeding mutagens from glutamic acid pyrolysate. *Gann* 75:207-213
- Takayama, Shozo; Nakatsuru, Yoko; Sato, Shigeaki, Carcinogenic effect of the simultaneous administration of five heterocyclic amines to F344 rats, Japanese Journal of Cancer Research, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.
- Takeda *et al.* (1978) Synthesis of mutagenic principles isolated from L-glutamic acid pyrolysate. *Chem. pharm. Bull.* 26:2924-2925
- Takeda *et al.* (1980) Effect of methyl substitution on mutagenicity of 2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole, Glu-P-2. *Carcinogenesis* 1:889-892
- Tamano *et al.* (1981) Induction of γ -glutamyl transpeptidase positive foci in rat liver by pyrolysis products of amino acids. *Gann* 72:747-753
- Tohda *et al.* (1980) Induction of sister-chromatid exchanges by mutagens from amino acid and protein pyrolysates. *Mutat. Res.* 77:65-69
- Umemoto *et al.* (1985) Binding of Glu-P-1 metabolite to albumin and hemoglobin in rat (Abstract No. 6). In: *Proceedings of the Japanese Cancer Association, 44th Annual Meeting, Tokyo, Japanese Cancer Association, p. 2*
- USDA, How you cook your meat May Affect Your Health (2006)
<http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10878>
- Ushijima, Toshikazu; Makino, Hiroshi; Kakiuchi, Hideki; Inoue, Rie; Sugimura, Takashi; Nagao, Minako, Genetic alterations in HCA-induced tumors, Proceedings of the International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund, (1995) Vol. 23rd, No. Heterocyclic Amines in Cooked Foods: Possible Human Carcinogens, pp. 281-91.
- Yamaguchi *et al.* (1979) Presence of 2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole in casein pyrolysate. *Gann* 70:849-850
- Yamamoto *et al.* (1978) Isolation and structure determination of mutagenic substances of L-glutamic acid pyrolysate. *Proc. Jpn. Acad.* 54B:2480250
- Yoshimitsu, Oda; Pramod, Aryal; Takao, Terashita; Elizabeth, M.J., Gillam; F., Peter, Guengerich; Tsutomu, Shimada (2001) Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in *Salmonella typhimurium* umu tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, 2E1, and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase. *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis.* 492(1-2):81-90

4. 8 Glu-P-2

I. 当該化学物質の一般情報

1. 物質特定情報

(1) 名称:

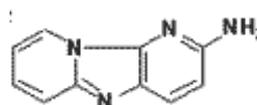
Chem. Abstr. Name: Dipyrido [1,2-*a*: 3',2'-*d*]imidazole-2-amine

IUPAC Systematic Name: 2-Aminodipyrido [1,2-*a*: 3',2'-*d*]imidazole

(2) CAS No. : 67730-10-3

(3) 分子式: $C_{10}H_8N_4$ 、構造式: 右図のとおり

(4) 分子量: 184.20



2. 物理化学的性状

(1) 物理的性状: 結晶性固体 (Yamamoto *et al.*, 1978)

(2) 融点: 286-287 °C (Takeda *et al.*, 1980; Sugimura *et al.*, 1981)

(3) 溶解性: ジメチルスルホキシド (DMSO) およびクロロホルムに溶解。(Yamamoto *et al.*, 1978; Hayatsu *et al.*, 1983; Schunk *et al.*, 1984)

(4) その他: 遮光状態でやや酸性またはアルカリ性のもと、低温の希薄水溶液で安定。(Sugimura *et al.*, 1983)

3. 存在形態

(1) 存在形態

該当情報なし

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露

該当情報なし

4. 生成機構

Glu-P-2 は L-グルタミン酸の熱分解生成物中に初めて検出された (Yamamoto *et al.*, 1978)

人工的に合成するには、3-aminoimidazo[1,2-*a*]pyridine と 2-chloroacrylonitrile と aluminium chloride をニトロベンゼンに溶解し 100 °C で 12 時間熱し、反応生成物より抽出、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、メタノールエチルアセテートから結晶化する (Takeda *et al.*, 1978)。

5. 食品中の検出状況

イカを直火焼きしたところ、350 μg/kg 検出 (Yamaguchi *et al.*, 1980)。L-グルタミ

ン酸の熱分解生成物中より 1mg/kg 検出 (Yamamoto *et al.*, 1978)、カゼインの熱分解生成物中より検出 (Yamaguchi *et al.*, 1979) との報告もある。牛肉、豚肉、鶏胸肉、ラムを直火焼きを始め他の調理法で調理したものから、PhIP、MeIQx などは検出されたが Glu-P-2、IQ、Glu-P-1 は検出されなかったとの報告もある (Busquets *et al.*, 2008)。

6. 測定方法と検出限界値

Glu-P-2 は L-グルタミン酸の熱分解生成物をクロロホルムで抽出し、カラムクロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィーで分離する (Yamamoto *et al.*, 1978)。構造はマススペクトロメトリー、元素分析、X 線結晶解析により解析された。

Glu-P-2 はセルロースあるいは C.I. Reactive Blue 21 を共有結合させた綿に選択的に吸着する。吸着した Glu-P-2 をアンモニア溶メタノールで溶出し、吸収スペクトルで定量する (Hayatsu *et al.*, 1983)。

熱分解産物からの Glu-P-2 の分離には石英ガラスキャピラリーカラムを用いたガスクロマトグラフィーを用い、フレイムイオン化検出器で検出する (Schunk *et al.*, 1984)。Glu-P-2 を Glu-P-1 から分離するためには高速液体クロマトグラフィーを用い、UV または蛍光検出器で検出する (Peters *et al.*, 1981)。

エレクトロスプレータンデム質量分析 (UPLC-ESI-MS/MS) 法により、Glu-P-2 は 0.09pg インジェクションの LODs (検出限界) であった (Barceló-Barrachina *et al.*, 2006)。

7. 現行規制等

該当情報なし

II. 食品中での生成要因

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

魚を直火焼きする過程で L-グルタミン酸が熱分解し生成する。

Ⅲ. 代謝（体内運命）

1. 吸収

該当情報なし

2. 分布・蓄積

尿毒症患者、健常者の血液中の Glu-P-2 の含有量を HPLC、分光光度計測、umu 試験により調べたところ、健常者 7 人中 2 人から 2~3 pmol/mL、尿毒症患者全員から平均 14.81±5.17 pmol/mL 検出された。尿毒症患者については、血液透析 5 時間後の血漿中の Glu-P-2 の濃度は平均 13.46±4.76 pmol/mL であった (Manabe *et al.*, 1987)。

3. 代謝

Glu-P-2 の変異原性代謝物への代謝活性化はラット肝ミクロソームのシトクローム P450 に仲介される (Ishii *et al.*, 1981)。Glu-P-2 は *Salmonella typhimurium* TA98/1,8-DNP6(エステル化活性欠損株)に S9 存在下で変異原性を示さなかったが、もとの TA98 に対しては S9 ミックス存在下で強い変異原性を示したことから、Glu-P-2 の最終変異原形は N-ヒドロキシ誘導体の硫酸エステルであることが示唆された (Nagao *et al.*, 1983)。

4. 排泄

該当情報なし

5. 毒性発現メカニズム

ヒト肝細胞質を使用して、Glu-P-2 をアセチル化し N-acetyl-Glu-P-2 への変換を実証した (Kanai *et al.*, 1988) ことより、N-hydroxylation 経路の存在が示された。

HCA の代謝活性は、CYP1A による N-酸化からヒドロキシルアミンが生成される過程の後、NAT による O-アセチル化から N-アセトキシアシルアミンの生成により起こることが示された。4 種のネズミチフス菌株 DJ400 (NAT1 発現株)、DJ460 (NAT2 発現株)、TA1538, TA1538/1,8-DNP (O-アセチルトランスフェラーゼ欠損株) と 9 種の HCA で復帰突然変異試験が行われ、ほとんどの物質で TA1538 株より TA1538/1,8-DNP 株において低い変異原性を示したことから、O-アセチルトランスフェラーゼはヒドロキシアミンをアセチル化により変異原性を増大していると考えられた。また、NAT2 発現 DJ460 株でほとんどの物質を O-アセチル化し、NAT1 発現 DJ400 株は、O-アセチル化しなかった。N-ヒドロキシ-Glu-P-1 と N-ヒドロキシ-Glu-P-2 のみは DJ400(NAT1) によって活性化されたが、NAT2 仲介より低いレベルであった。以上のように、NAT1 ではなく NAT2 が、多くの HCA の代謝活性化に強く関与していた。ただし、PhIP と

Trp-P-2 は、4 種類の株でほぼ同じ値であり、NAT2 非依存的な突然変異原性を形成していた（下表参照）。（Wild D *et al*, 1995）

物質	変異原性 (rev/nmol)			
	TA1538	TA1538/1,8-DNP	DJ400	DJ460
		- O-アセチルトランスフェラーゼ	+NAT1	+NAT2
IQ	39,400	<400	<500	86,500
MeIQ	396,000	<1000	<2000	196,000
MeIQx	43,100	<200	260	21,300
PhIP	396	329	195	273
Glu-P-1	9,300	303	2,700	40,700
Glu-P-2	203	8.8	41.9	1,134
Trp-P-2	7,300	7,410	2,960	6,360

モノアミンオキシダーゼ (MAO)、チロシンヒドロキシダーゼ (TH)、トリプトファンヒドロキシラーゼ (TRH) 活性の阻害が確認された。HCA は、タイプ A およびタイプ B の MAO を基質に対して阻害し、タイプ A MAO をより強く阻害した（次表参照）。TH 活性は、10 μM の Trp-P-1 を培地に添加することにより著しく減少した。L-チロシンに関する K_m 値は変化がなかったが、 V_{max} は有意に減少し、阻害が基質に対して非拮抗的であることを示した。また、Trp-P-1 と Trp-P-2 は、TRH 活性を L-トリプトファンに対して拮抗的に阻害し、それぞれの K_i はそれぞれ 99.6 と 41.7 μM であった。これらの結果から、食物由来 HCA は、生体アミンの生合成と代謝を阻害することにより、脳内モノアミン量を乱すことが示唆された。（Maruyama, W *et al*, 1994）

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 K_i

化合物	MAO-A	MAO-B
	$K_i(\mu\text{M})$	$K_i(\mu\text{M})$
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K_m for kynuramine (μM)	46.4	80.4
V_{max} for kynuramine	0.81	3.52

*: キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

IV. 疫学調査（ヒトへの影響）

ヒトにおける症例報告や疫学調査は得られていない。

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

該当情報なし

2. 反復投与毒性試験

該当情報なし

3. 生殖・発生毒性試験

該当情報なし

4. 遺伝毒性試験

大腸菌によるプロファージ誘導試験で、Glu-P-2 は S9 存在下でプロファージを誘導した (Nagao *et al.*, 1983b)。Glu-P-2 は様々な種の S9 ミックス存在下で、*Salmonella typhimurium* TA1538、TA98、TA100 に変異原性を示した。(Yamamoto *et al.*, 1978; Matsushima *et al.*, 1980; Takeda *et al.*, 1980; Ishii *et al.*, 1981; Peters *et al.*, 1981; N'Goy *et al.*, 1984)

Glu-P-2 はキイロショウジョウバエを用いたウィングスポットテストで陽性を示した。(Yoo *et al.*, 1985)

Glu-P-2 はラット気管上皮の短期器官培養において、不定期 DNA 合成を誘導しなかったと報告されている (Ide *et al.*, 1981)。

Glu-P-2 はラット肝 S9 (PCB で誘導) 存在下で培養チャイニーズハムスター肺細胞にジフテリア毒素耐性突然変異を誘導した (Nakayasu *et al.*, 1983)。シリアハムスター胚細胞の支持細胞層存在下で、チャイニーズハムスター V79 細胞を培養したところ、Glu-P-2 濃度 100 µg/mL まではウアバイン耐性ミュータントを誘導しなかった。(Takayama & Tanaka, 1983)

Glu-P-2 は代謝系存在下で、チャイニーズハムスター肺細胞に染色体異常を誘導した (Ishidate, 1983)。代謝系の存在下で、ヒトリンパ芽球様 NL3 細胞 (Tohda *et al.*, 1983)、

および培養ヒトリンパ球 (N'Goy *et al.*, 1984) に、姉妹染色分体交換のわずかな増加を起こした。ラット肝細胞において、Glu-P-2 が染色体異常や小核ではなく姉妹染色分体交換を誘導したとの報告もある (Sawada *et al.*, 1991)。

Glu-P-2 は 3-メチルコラントリン処理のマウスやラット、無処理のマウスから単離した肝細胞において DNA 修復を誘導した。無処理のラットやハムスターから単離した肝細胞においては誘導しなかった。(Yoshimi *et al.*, 1988; Iwata *et al.*, 1990)

Glu-P-2 の短期試験データの総括的評価

	遺伝的活性			細胞形質転換
	DNA 損傷	突然変異	染色体への影響	
原核生物	+	+		
植物				
昆虫		+		
哺乳類細胞(in vitro)	+	+	?	
哺乳類(in vivo)	+		+	
ヒト(in vivo)				
短期試験における遺伝的活性におけるエビデンス：十分				細胞形質転換：データなし

これらの結果は Glu-P-2 が、短期試験で遺伝的活性を有する証拠が十分であることを示している。細胞のトランスフォーメーション試験についてのデータはない。

5. 発がん性試験

・発がん性試験

雌雄各 40 匹の CDF1 [(BALB/cAnN×DBA/2N) F1] マウスに Glu-P-2 塩酸塩を 500mg/kg 含む固形飼料を 588 日にわたり与えた試験では、試験開始 301 日目にオス投与群 37/40、雌投与群 36/40、雄対照群 39/40、雌対照群 40/40 が生存していた。平均生存日数は雌対照群では 658±55 日、雄対照群では 586±109 日、雌投与群では 484±46 日、雄投与群では 462±72 日であった。さまざまな部位で血管腫瘍が雄投与群で 73% (27/37)、雌投与群で 56% (20/36) に観察されたが、対照群では観察されなかった (p<0.001)。ほとんどの血管腫瘍は血管内皮肉腫であった (雄:25/27、雌:19/20)。肝腫瘍は雄投与群で 27% (10/37)、雌投与群で 100% (36/36) に観察されたが対照群には観察されなかった (雄で p<0.002、雌で p<0.001)。雄に観察された肝腫瘍のうち 5 は肝細胞腺腫、4 は肝細胞がん、1 は血管腫であった。雌では 6 が肝細胞腺腫、30 は肝細胞がんであった (Ohgaki *et al.*, 1984)。

6~7 週齢の CDF1 マウス[(BALB/cAnN×DBA/2N)F1]雄雌に 0.05 または 0.08% Glu-P-2 を混餌投与し、死亡または瀕死状態を解剖した。結果が得られた雄 37 匹、雌

36匹のマウスのうち肝腫瘍は雄27%、雌100%が発症し、そのうち雄5匹、雌6匹に肝細胞腺腫(HA)、雄4匹、雌30匹に肝細胞がん(HCC)が観察された。血管系腫瘍は、雄73%、雌56%に発症し、雄3匹、雌3匹に血管内皮腫、雄25匹、雌19匹に血管内皮肉腫が観察された。対照には腫瘍は確認されなかった。

8週齢のF344ラットの雄雌それぞれ42匹に、0.05%Glu-P-1を混餌投与し、死亡または瀕死状態を解剖した。肝細胞がんが雄35匹(83%)、雌24匹(57%)、小腸腺がんが雄26匹(62%)、雌10匹(24%)、大腸腺がんが雄19匹(45%)、雌7匹(17%)見られた。Zymbal gland 扁平上皮がんは雄雌いずれも18匹(43%)、陰核腺扁平上皮がんは雌5匹(12%)に観察された。対照には腫瘍は確認されなかった。(Ohgaki, Hiroko *et al*, 1986)

8週令の雌雄各42匹のFisher344ラットにGlu-P-2塩酸塩を500mg/kg含む固形飼料を104週間与えた試験では、70および90週までに投与群ラットの約50%が主として腫瘍のために死亡した。最初の肝腫瘍は雌で519日に観察された。肝腫瘍は雄投与群の26%(11/42)($p=0.003$)、雌投与群の5%(2/42)に観察され、雄対照群には肝腫瘍は2例しか観察されなかった。小腸腫瘍(腺腫および腺がん)は雄投与群の33%(14/42)($p<0.001$)、雌投与群の19%(8/42)に観察された($p=0.001$)。結腸の腫瘍(腺腫および腺がん)は雄投与群の14%(6/42)($p<0.01$)、雌投与群の19%(8/42)($p=0.001$)に観察された。ほとんどの腸の腫瘍は孤立性であった。対照群には腸の腫瘍は見られなかった。ジンバル腺の扁平上皮がんは雄投与群で3%(1/42)、雌投与群で17%(7/42)に観察された($p=0.003$)。陰核腺の腫瘍は雌投与群の26%(11/42)に認められた($p<0.001$)。これらの腫瘍は対照群には認められなかった(Takayama *et al.*, 1984)。

6週齢の雄雌F344ラットに、Trp-P-1(0.003%)、Trp-P-2(0.004%)、Glu-P-2(0.01%)、A- α -C(0.016%)、IQ(0.006%)の低濃度量(それぞれ単独投与実験で使用した量の1/5)を混合して、混餌投与した。ラットの体重は、対照ラットの体重よりも10%減少し、平均寿命も短かった。ラット雄雌共に、肝、大腸、Zymbal glandに、また雄のみ皮膚に、雌にのみ陰核 glandにそれぞれ腫瘍がみられた。腫瘍は対照に比べかなり高い頻度で発生している(次表参照)。(Takayama, Shozo *et al*, 1987)

群	性	ラット数	腫瘍を発生したラット数							
			肝	小腸	大腸	Zymbal gland	皮膚	包皮腺	陰核腺	その他
5種HCA	雄	51	42	4	14	7	21	6	-	35
	雌	51	33	1	9	9	2	-	20	23
対照	雄	50	2	0	0	0	0	2	-	39
	雌	50	0	0	0	0	0	-	0	12

(出典：Japanese Journal of Cancer Research, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.)

・発がんのメカニズム

雄 Fisher344 ラットを用いて、Glu-P-2 のイニシエーション、プロモーション作用を調べた。60mg/kg bw の Glu-P-2 を週に 1 回、7 回腹腔内投与し（1 回目の投与後に肝部分切除を含む）、その後 2 週間にわたり 200mg/kg の 2-アセチルアミノフルオレンを含む餌を与え、さらに 1 ml/kg bw の四塩化炭素を強制経口投与した試験では、 γ GTP (γ -glutamyltranspeptidase) 陽性肝細胞巢の数と面積が対照群（Glu-P-2 を含まない溶媒のみを投与）に比較して統計的に有意に増大した ($p < 0.001$)。2-アセチルアミノフルオレンおよび四塩化炭素処理の後に Glu-P-2 投与（肝部分切除を含む）を行った場合も、 γ GTP 陽性肝細胞巢の数および面積の統計的に有意な増加が見られた (Tamano *et al.*, 1981)。

部分肝切除後に 7.5、30、120mg/kg bw の Glu-P-2 を腹腔内投与し、その後、2-アセチルアミノフルオレンおよび四塩化炭素処理した動物では、 γ GTP 陽性肝細胞巢の数および面積の用量依存的な増加がみとめられた (Tamano *et al.*, 1981)。

6. 特殊毒性試験（神経毒性、免疫毒性等）

該当情報なし

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

- (1) 国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC)
グループ 2 B (ヒトに対して発がん性の可能性がある) に分類されている。

2. 国際機関等のリスク管理措置

- (1) 米国国立がん研究所 (National Cancer Institute)

2004年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告について紹介され、米国の平均的食生活における HCA の摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソースを作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCA の暴露を軽減することができるとしている。(NCI, 2004)

- (2) 米国農務省 (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service)

2006年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質の HCA の生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCA の生成や摂取を減らす方法を紹介している。(USDA, 2006)

- (3) 英国食品基準庁 (Food Standards Agency)

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」の Q&A の項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化水素化合物 (PAHs) や HCA のような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。(FSA)

Ⅶ. 相互作用

1. ヘテロサイクリックアミン同士の相互作用

6週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2 週間後、HCA 混合または単独混餌を 6 週間投与。混餌は、5 種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10 種の発がん量の 1/10、1/100 量。3 週後に肝臓の 2/3 を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタミン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA 同一量を個々に混餌投与した群より、グルタミン S-トランスフェラーゼ陽性の前がん状態病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10 種の HCA を各 1/10 量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。これらの効果は CYP1A2 を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

また、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、MeIQ、IQ の混合物を、*Salmonella typhimurium* A98 には変異原性を示すが野生型の TA1978P には示さない濃度で投与したところ、複合投与による有意差のある復帰突然変異の増加が見られた。この結果から、環境中の変異原性物質は複雑に混合された状態で存在するため、このような加法的作用について検討する必要があると指摘されている (Ohta T 2006)。

2. その他の物質との相互作用

HCA により S9 存在下で誘導された変異原性に対する、脂溶性抗酸化物質 1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ)、没食子酸プロピル (Propyl Gallate)、BHA (butylated hydroxyanisol)、BHT (butylated hydroxytoluene)、 α -トコフェロール、1-O-alkyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(THQ)のメチル、エチル、ブチル、ヘキシル誘導体の効果がエームス試験で検討された。HTHQ は Glu-P-2 (5000 ng/plate) の変異原性を、2.5 μ g/plate 量で 79%抑制し、10 μ g/plate 量で 99~100%抑制した。(Hirose M *et al*, 1995)

フェニルイソチオシアネート (PITC)、ベンジルイソチオシアネート (BITC)、フェネチルイソチオシアネート (PEITC)、フェニルプロピルイソチオシアネート (PPITC) を用い、ゴールデンハムスターの肝ミクロソーム存在下、*Salmonella typhimurium* TA98 株を用いて変異原性を調べたところ、いずれも Glu-P-2 が惹起する変異原性を用量依存的に阻害した。この阻害は、チトクローム P-450 1A1 および 1A2 の阻害と相関性があった。この結果から、イソチオシアネートがヒト発がんに対して化学的予防効果があることが示唆された。(Hamilton, Solomon M. *et al*, 1996)

VIII. まとめ

Glu-P-2 は主に魚を直火焼きした際に生成され、実験動物において発がん性が示唆されている。ヒトに対する Glu-P-2 の発がん性に関するデータは得られていない。

IX. 文献・参考資料

- Barcelo-Barrachina, E.; Moyano, E.; Galceran, M. T.; Lliberia, J. L.; Bago, B.; Cortes, M. A. (2006) Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of heterocyclic amines in food. *Journal of Chromatography, A*, Vol. 1125, No. 2, pp. 195-203
- Busquets, Rosa; Mitjans, David; Puignou, Lluís; Galceran, Maria Teresa (2008) Quantification of heterocyclic amines from thermally processed meats selected from a small-scale population-based study. *Molecular Nutrition & Food Research*, Vol. 52, No. 12, pp. 1408-1420
- FSA, Eat well, be well Q&A Is overcooked or burnt meat carcinogenic?
<http://www.eatwell.gov.uk/asksam/healthydiet/meatq/?lang=en#A221179>
- Hamilton, Solomon M.; Teel, Robert W., Effects of isothiocyanates on cytochrome P-450 1A1 and 1A2 activity and on the mutagenicity of heterocyclic amines, *Anticancer Research*, (1996) Vol. 16, No. 6B, pp. 3597-3602.
- Hasegawa, R.; Kato, T.; Hirose, M.; Takahashi, S.; Shirai, T.; Ito, N., Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.
- Hayatsu, H.Y., Oka, T., Wakata, A., Ohara, Y., Hayatsu, T., Kobayashi, H. & Arimoto, S. (1983) Adsorption of mutagens to cotton bearing cobvalently bound trisulfo-dopper-phthalocyanine. *Mutat. Res.*, 119, 233-238
- Hirose M; Iwata S; Ito E; Nihro Y; Takahashi S; Mizoguchi Y; Miki T; Satoh T; Ito N; Shirai T, Strong anti-mutagenic activity of the novel lipophilic antioxidant 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone against heterocyclic amine-induced mutagenesis in the Ames assay and its effect on metabolic activation of 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d] imidazole (Glu-p-1), *Carcinogenesis*, (1995 Sep) 16 (9) 2227-32.
- Ide, F., Ishikawa, T. & Takayama, S. (1981) Detection of chemical carcinogens by assay of unscheduled DNA synthesis in rat tracheal epithelium in short-term organ culture. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 102, 115-126
- Ishidate, M., ed. (1983) *Chromosomal Aberration Test in vitro*, Tokyo, Realize Inc., p. 256

- Ishii, K., Yamazoe, Y., Kamataki, T. & Kato, R. (1981) Metabolic activation of glutamic acid pyrolysis products, 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3'c',2'-d]imidazole and 2-amino-dipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole, by purified cytochrome P-450. *Chem.-biol. Interactions*, 38, 1-13
- Iwata, H., Yoshimi, N., Mori, Y., Hara, A., & Mori, H. (1990) Genotoxicity of heterocyclic amines in the hepatocyte/DNA repair assay using hepatocytes of rats or mice pretreated with 3-methylcholanthrene. *Mutat. Res.* 244,1
- Kanai, Y., Manabe, S., & Wada, O. (1988) In vitro and in vivo *N*-acetylation of carcinogenic glutamic acid pyrolysis products in humans. *Carcinogenesis* 9, 2179
- Manabe, Shigeo; Yanagisawa, Hiroyuki; Ishikawa, Shinsuke; Kitagawa, Yasuhisa; Kanai, Yoshikatsu; Wada, Osamu (1987) Accumulation of 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole and 2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole, carcinogenic glutamic acid pyrolysis products, in plasma of patients with uremia. *Cancer Research*, Vol. 47, No. 22, pp. 6150-5.
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, *Journal of Neural Transmission, Supplement*, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- Matsushima, t., yahagi, T., Takamoto, Y., Nagao, M. & sugimura, T. (1980) Species differences in microsomal activation of mutagens and carcinogens, with special references to new potent mutagens from pyrolysates of amino acids and proteins. In: *Microsomes, Drug Oxidations and Chemical Carcinogenesis*, Vol. 2, New York α -Cademic Press, pp. 1093-1102
- Nagao, M., Fujita, Y., Wakabayashi, K., & Sugimura, T. (1983a) Ultimate forms of mutagenic and carcinogenic heterocyclic amines by pyrolysis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 114, 626-631
- Nagao, M., Sato, S. & Sugimura, T. (1983b) *Mutagens Produced by heating foods*. In: *Waller, G. R. & Feather, M. S., eds, The Maillard Reaction in Foods and Nutrition (ACS Symposium Series 215)* Washington DC, American Chemical Society, pp. 521-536
- Nakayasu, M., Nakasato, F., Sakamoto, H., Terada, M. & Sugimura, T. (1983) Mutagenic activity of heterocyclic amines in Chinese hamster lung cells with diphtheria toxin resistance as a marker. *Mutat. Res.*, 118, 91-102
- NCI, Heterocyclic Amines in Cooked Meats (2004)
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/heterocyclic-amines>
- N'Goy, K., deMeester, C., Pairon, D., Febry, L., Loukakou, B., N'Zouzi, C., Saint-Ruf, G., Mercier, M., & Poncelet, F. (1984) Mutagenicity of several derivatives of dipyride[1,2-a:3',2',2'-d]imidazoles. *Mutat. Res.*, 136, 23-31

- Ohgaki, H., Matsukura, N., Morino, K., Kawachi, T., Sugimura, T. & Takayama, S. (1984) Carcinogenicity in mice of mutagenic compounds from glutamic acid and soybean globulin pyrolysates. *Carcinogenesis*, 5, 815-819
- Peters *et al.* (1981) Synthesis, chemical characterization, and mutagenic activities of promutagens produced by pyrolysis of proteinaceous substances. *Environ. Mutagenesis*, 3, 639-649
- Sawada, S., Yamanaka, T., Yamatsu, K., Furihata, C., & Matsushima, T. (1991) Chromosome aberrations, micronuclei and sister-chromatid exchanges(SCEs) in rat liver induced in vivo by hepatocarcinogens including heterocyclic amines. *Mutat. Res.* 251, 59
- Schunk *et al.* (1984) Analysis of mutagenic amino acid pyrolyzates with a fused silica capillary column. *J. high Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun.*, 7, 563-565
- Sugimura, T., Nagao, M., & Wakabayashi, K. (1981) Mutagenic heterocyclic amines in cooked food. In: Egan, H., Fishbein, L., Castegnaro, M., O'Neill, I.K. & Bartsch, H., eds, *Environmental Carcinogens. Selected Methods of Analysis*, Vol. 4, Some Aromatic Amines and Azo Dyes in the General and Industrial Environment (IARC Scientific Publications No. 40), Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp. 251-267
- Sugimura, T., Sato, S., & Takayama, S. (1983) New mutagenic heterocyclic amines found in amino acid and protein pyrolysates and in cooked food. In: Wynder, E. L., Leveille, G.A., Weisburger, J.H. & Livingston, G.E., eds., *Environmental Aspects of Cancer : The Role of Macro and Micro Components of foods*, Westport, CT, Food and Nutrition Press, pp. 167-186
- Takayama, S. & Tanaka, M. (1983) Mutagenesis of amino acid pyrolysis products in Chinese hamster V79 cells. *Toxicol. Lett.*, 17, 23-28
- Takayama, S., Masuda, M., Mogami, M., Ohgaki, H., Sato, S. & Sugimura, T. (1984) Induction of cancers in the intestine, liver and various other organs of rats by feeding mutagens from glutamic acid pyrolysate. *Gann*, 75, 207-213
- Takayama, Shozo; Nakatsuru, Yoko; Sato, Shigeaki, Carcinogenic effect of the simultaneous administration of five heterocyclic amines to F344 rats, *Japanese Journal of Cancer Research*, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.
- Takeda, K., Shudo, K., Okamoto, T. & Kosuge, T. (1978) Synthesis of mutagenic principles isolated from L-glutamic acid pyrolysate. *Chem. pharm. Bull.*, 26, 2924-2925
- Takeda, K., Shudo, K., Okamoto, T. nagao, M., Wakabayashi, K & Sugimura, T. (1980) Effect of methyl substitution on mutagenicity of 2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole, Glu-P-2. *Carcinogenesis*, 1, 889-892
- Tamano, S., Tsuda, H., Tatematsu, M., Hasegawa, R., Imaida, K. & Ito, N. (1981) Induction of γ -glutamyl transpeptidase positive foci in rat liver by pyrolysis products of amino acids. *Gann*, 72, 747-753

- Tohda, H., Tada, M., Sugawara, R., & Oikawa, A. (1983) Actions of amino- β -carbolines on induction of sister-chromatid exchanges. *Mutat. Res.*, 116, 137-147
- USDA, How you cook your meat May Affect Your Health (2006)
<http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10878>
- Yamaguchi, k., Zenda, H., Shudo, k., Kosuge, T., Okamoto, T., & Sugimura, T. (1979) Presence of 2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole in casein pyrolysate. *Gann*, 70, 849-850
- Yamaguchi, k., Shudo, k., Okamoto, T., Sugimura, T. & Kosuge, T. (1980) Presence of 2-aminodipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole in broiled cuttlefish. *Gann*, 71, 743-744
- Yamamoto, T., Tsuji, K., Kosuge, T., Okamoto, T., Shudo, K., Takeda, K., Iitaka, Y., Yamaguchi, K., Seino, Y., Yahagi, T., Nagao, M. & Sugimura, T. (1978) Isolation and structure determination of mutagenic substances of L-glutamic acid pyrolysate. *Proc. Jpn. Acad.*, 54B, 248-250
- Yoo, M. A., Ryo, H., Todo, T. & Kondo, S. (1985) Mutagenic potency of heterocyclic amines in the *Drosophila* wing spot test and its correlation to carcinogenic potency. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 76, 468-473
- Yoshimi, N., Sugle, S., Iwata, H., Mori, H., & Williams, G. M. (1988) Species and sex differences in genotoxicity of heterocyclic amine pyrolysis and cooking products in the hepatocyte primary culture/DNA repair test using rat, mouse, and hamster hepatocytes. *Environ. Mol. Mutagen.* 12, 53

4. 9 Trp-P-1

I. 当該化学物質の一般情報

①Trp-P-1

1. 物質特定情報

(1) 名称(略号):

Chem. Abstr. Name: 5*H*-Pyrido[4,3-*b*]indol-3-amine, 1,4-dimethyl-

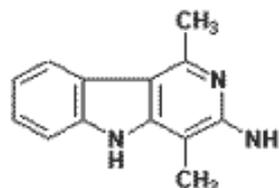
IUPAC Systematic Name: 3-Amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole

異名: 3-Amino-1,4-dimethyl- γ -carboline; TRP-P1; Tryptophan P1

(2) CAS No.: 62450-06-0

(3) 分子式: $C_{13}H_{13}N_3$ 、構造式: 右図のとおり

(4) 分子量: 211.3



2. 物理化学的性状

(国立環境研究所、化学物質データベース)

(1) 物理的性状: プリズム結晶

(2) 融点: 252-262 °C

(3) 溶解性: 水に難溶

(4) 熱分解性: 過熱すると分解して NO_x の毒性のガスを発する。

②Trp-P-1 酢酸塩

1. 物質特定情報

(1) 名称(略号):

Chem. Abstr. Name: 5*H*-Pyrido[4,3-*b*]indol-3-amine, 1,4-dimethyl-A- α -Cetate;

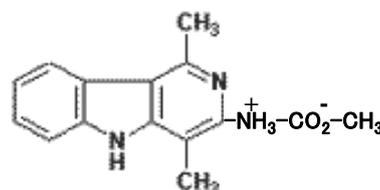
5*H*-Pyrido[4,3-*b*]indol-3-amine, 1,4-dimethyl-, monoacetate

IUPAC Systematic Name: 3-Amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole acetate

(2) CAS No.: 75104-43-7 (acetate); 68808-54-8 (monoacetate)

(3) 分子式: $C_{13}H_{13}N_3 \cdot xC_2H_4O_2$ (acetate)、 $C_{13}H_{13}N_3 \cdot C_2H_4O_2$ (monoacetate)

(4) 分子量: 271.3、構造式: 右図のとおり



2. 物理化学的性状

(1) 物理的性状: 薄茶褐色の針状結晶または立方体結晶

(2) 融点: 252-262 °C (酢酸エチルからの再結晶)

(3) 溶解性：メタノールに溶解する

(4) 分光学的データ： λ_{\max} nm(メタノール): 245, 265, 267, 292, 305, 317。

IR、NMR、質量分析値：決定されている。

3. 存在形態

(1) 存在形態

データなし。

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露

データなし

4. 生成機構

Trp-P-1 は、トリプトファン熱分解によって得られた。Trp-P-1、Trp-P-2 の収量を下表に示す。トリプトファン融点 280°C 以上での温度上昇、熱分解時間の増加とともに Trp-P-1、Trp-P-2 の収量が増加した (Milon, H. *et al.*, 1987)。

温度(°C)	Trp-P-1 (ng/g Trp)		Trp-P-2 (ng/g Trp)	
	15 分	30 分	15 分	30 分
250	20	20	20	
300	150	300	150	275
350	3700	7100	3300	6000

高温における安定性も確認されている。個々のアンプル内に封じ込めた 13 種類の HCA を、油中で加熱し、HPLC により定量化した。安定性を評価するパラメーターとして、分解速度定数、活性化エネルギー、A 値 (*) を使った (*A 値：シクロヘキサンの axial に対する equatorial の立体構造優位性)。HCA の分解は、加熱温度が高くまた加熱時間が長いほど増加し、分解速度定数は温度が高くなるにつれて増加した。加熱による HCA の分解率は、一次モデルに合致し、最も分解率が高かったのは PhIP (57.5%) で、MeIQ (38.8%)、MeIQx (34.2%)、IQ (16.6%)、Trp-P-2 (13.9%) と続き、IQ x (8.7%) が最も安定であった (Chiu, C. P. *et al.*, 1999)。

5. 食品中の検出状況

焼いたいわし中に 13.3 μ g/kg のレベルで検出された(Yamaizumi *et al.*, 1980)。また、レベルの詳細は不明であるが、焼いた牛肉中にも検出された(Yamaguchi *et al.*, 1980)。

ポーク、ヒレのフライ、ポークチョップのロースト、ミートローフのローストについて、調理肉、鍋の残渣、肉抽出物から、Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C および MeA α C が検出された。ポーク、ヒレのフライから MeA- α -C が 3.3 ng/乾燥重量、Trp-P-1 が 0.8 ng、ミートローフのローストから A- α -C が 0.28 ng 検出された（下表参照）（Skog, Kerstin, *et al.*, 1998）。

非極性 HCA の GC-MS 分析（ng/乾燥原料）結果

サンプル	調理法	Trp-P-1	Trp-P-2	A- α -C	MeA- α -C
ポーク、ヒレ	フライ	0.8	Trace	Trace	3.3
ポークチョップ	ロースト	ND	ND	0.04	0.08
ミートローフ	ロースト	0.08	ND	0.28	ND

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、および鍋残渣に含まれる変異原性／がん原性 HCA の分析では、複雑なマトリックスを持つ試料であるため、クロマトグラフィー効率を改善する方法がデザインされた。プロセスフレーバー7種、プロセスフレーバー原料5種、ブイヨン濃縮物4種、鍋残渣から、HCA を固相抽出して精製し、HPLC および GC-MS により分析した。極性 HCA は、動物および動物+野菜混合物起源の試料にのみ検出された。一方、非極性 HCA は、動物、動物+野菜混合物、および純粋に野菜起源の試料で同定された（Solyakov *et al.*, 1998、次表参照）。

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、鍋残渣の HCA 量

HCA	検出量
極性 HCA	
IQ	1 サンプル中、3.4 ng/g
IQx	2 サンプル中、0.7-2.0 ng/g
MeIQx	4 サンプル中、1.0-13.8 ng/g
PhIP	2 サンプル中、痕跡量
MeIQ	検出されず
非極性 HCA	
A- α -C	1 サンプル中、0.4 ng/g
MeA- α -C	1 サンプル中、20.3 ng/g
Trp-P-1	2 サンプル中、1.4-1.7 ng/g
Trp-P-2	2 サンプル中、痕跡量
共変異原性 HCA	
ハルマン	17 サンプル中 15 サンプルで同定、3.3-755 ng/g
ノルハルマン	17 サンプル中 16 サンプルで同定、1.2-176 ng/g

（出典：Solyakov *et al.* 1998 Food and Chemical Toxicology 37(1):1-11）

また、窒素リン検出器付きガスクロマトグラフィーにより加熱調理した 8 種の魚類、3 種の肉類に含まれる HCA の検出では、アジ (216 \pm 26 pg/g)、サケ (289 \pm 38 pg/g)、アジの開き (278 \pm 37 pg/g) の皮部分、および鶏肉 (527 \pm 96 pg/g) に Trp-P-1 が検出さ

れた（下表参照）。加熱した肉類よりも魚類に Trp-P-1 が多く検出されたため、肉類よりも魚類の摂取が多い日本人の Trp-P-1 摂取量に魚料理が関与していると考えられる（Kataoka H *et al* 2002）。

NPD-GC による HCA の含有量測定

加熱食品サンプル	含有量 pg/g							
	Trp-P-1	IQ	MeIQ	MeIQx	7,8-DiMeIQx	4,8-DiMeIQx	PhIP	
サンマ	皮	ND	194±37	424±87	492±87	ND	ND	1611±196
	身	ND	ND	ND	191	ND	ND	333
イワシ	皮	ND	ND	317±14	860±44	ND	961±19	816±79
	身	ND	ND	ND	152	ND	ND	ND
アジ	皮	216±26	140±58	ND	385±34	ND	413±34	2121±69
	身	ND	ND	ND	25	64	ND	160
サバ	皮	ND	ND	375±52	588±70	749±90	1196±176	1595±218
	身	ND	ND	67	ND	ND	ND	226
サケ	皮	289±38	ND	ND	593±59	4142±233	ND	5928±802
	身	ND	ND	180	99	ND	ND	294
ホッケ	皮	ND	ND	435±57	ND	1606±550	427±62	5377±309
	身	ND	ND	98	ND	ND	ND	658
ウナギの蒲焼	皮	ND	ND	ND	ND	ND	ND	359±56
	身	ND	ND	319	ND	ND	ND	214
アジの開き	皮	278±37	ND	262±41	420±29	949±74	546±41	3682±331
	身	ND	ND	70	ND	ND	ND	524
鶏肉		527±96	ND	142±22	77±10	ND	ND	289±37
豚肉		ND	ND	86±12	202±12	ND	ND	857±100
牛肉	ウェルダン	ND	ND	94±12	198±71	ND	ND	634±75
	ミディアム	ND	ND	125±31	138±67	ND	ND	537±105

6. 測定方法と検出限界値

焼いた魚中の Trp-P-1 は GC-MS によって測定された（Yamaizumi *et al*, 1980）。

Trp-P-1 および Trp-P-2 を酸-塩基分配クロマトグラフィーおよびシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、メタノールに溶解して TS-LC-MS（Thermospray liquid chromatographic-mass spectrometry）により定量した。カラムへの各 Trp-P-1 の注入量が 100 pg の場合の検出限界は、2.5 ng/g Trp (2.5 ppb)であった。（Milon, H. *et al.*, 1987）

ポーク、ヒレのフライ、ポークチョップのロースト、ミートローフのローストの非極性 HCA は、固相抽出し精製した後、GC-MS により検出された。Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、および MeA- α -C について 8 ng/g までの量が検出された。クロマトグラフィー

効率が高く、一回の注入は 0.1-2 ng の範囲で分析された(Skog, Kerstin, *et al.*, 1998)。

7. 現行規制等

該当データなし

8. その他

Trp-P-1 によるヒト表皮細胞に対する毒性、DNA 付加体およびたんぱく質付加体(次表参照)、変異原性は、テトラクロロジベンゾ-P-ダイオキシン (TCDD、2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin)により増強されることから、TCDD 添加系で Trp-P-1 の毒性を高感度に検出できる手法が報告されている (Walsh A A *et al.*, 1995)。

測定対象	-TCDD	+TCDD	増加倍数
DNA	12 ±5	49 ±5	4.1
Total protein	20 ±10	55 ±32	2.8

数値 (ng Trp-P-1/mg) は平均値と標準偏差

II. 食品中での生成要因

Trp-P-1 はトリプトファンの熱分解で得られたタールの分画から単離された (Kosuge *et al.*, 1978; Kasai *et al.*, 1979)。またカゼインの熱分解生成物から単離され (0.54 mg/kg)、グルテンの熱分解生成物からも単離された (0.13mg/kg) (Uyeta *et al.*, 1979)。

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

ラット (1 群 5 匹) に、1mg の Trp-P-1 水溶液、および 10%または 30%(W/W)のチーズの凍結乾燥粉末を混餌投与した。尿抽出液中の Trp-P-1 量は、チーズ 30%投与群で有意な($p<0.05$)減少が見られた。糞抽出液の Trp-P-1 量は、チーズ投与量の増加に伴い減少する傾向が認められた。尿および糞抽出物の TA98 株の Ames テストによる変異原性は、Trp-P-1 投与群の変異原性が最も強く、尿ではチーズ 30%投与群で変異原性は有意に減少した。糞では有意差は示されなかったが、チーズ 30%投与群で減少を示した (Yamada, Masako *et al.*, 2000)。

III. 代謝 (体内運命)

1. 吸収

オスの Fisher F344 ラットを用いて、小腸をループで 3 つの部分に分け (2 つは回腸、1 つは空腸) 各々に Trp-P-1 (または MeIQx) を注入した後、それぞれのループの内

側の上皮に含まれる Trp-P-1 または MeIQx を HPLC で分析した結果、吸収が確認された。また、小腸における Trp-P-1 または MeIQx の吸収は、乳酸菌細胞 1131 および 2038 への結合により阻害することが示されている。小腸ループの内側の上皮を採取し、Trp-P-1 または MeIQx を HPLC で分析したところ、乳酸菌細胞 Strain 2038 への結合は、Trp-P-1 が 94.1%、MeIQx が 60.8%であった。Strain 1131 への結合は Trp-P-1 が 83.2%、MeIQx が 32.2%であった。

乳酸菌 Strain 1131 細胞の存在下では、残存している Trp-P-1 の量はループ A で 0.286 µg/mL、ループ C で 0.247 µg/mL であり、細胞がないときに比べて有意に高かった (Terahara, Masaki, *et al.*, 1998)。

2. 分布・蓄積

情報なし

3. 代謝

チトクローム P-450 誘導した雌 NMRI マウスに Trp-P-1 を腹腔または静脈注射し、様々な組織への結合を調べ、内皮細胞が Trp-P-1 の毒性のターゲットであり、BNF 誘導 P450 型 (1A 型) により活性型に代謝されたことが示された (Brittebo E B *et al.*, 1994)。In vivo 実験では、BNF または I-3-C 処理したシトクローム P4501A 誘導雌 NMRI マウスに、 ^3H Trp-P-1 を腹腔または静脈注射し、肺および肝門脈の血管系および大静脈や肺内皮細胞のうち、肺や肝臓において放射能が検出された (下表参照)。In vitro 実験では、同様のマウスの肝および肺のスライス、および大動脈、大静脈の小片を ^3H Trp-P-1 で別々にインキュベートし、これらの試料をマイクロオートグラフィーにより観察した。BNF 処理マウスで、胚、肝臓、大静脈の内皮細胞に同様の結合が見られた。in vivo、in vitro いずれも BNF 処理マウスの肝中心静脈や大動脈では結合は見られなかった。これらの結果から、内皮細胞が Trp-P-1 の毒性のターゲットであり、BNF 誘導 P450 型 (1A 型) により活性型に代謝されたことが示された (Brittebo E B *et al.*, 1994)。

In vivo マイクロオートグラフィーによる肝臓および肺の ^3H Trp-P-1 の局在

肝臓				結合レベル		
				内皮細胞		肝細胞
処理	動物数	投与量(Mg/kg)	投与経路	門脈細静脈	中心静脈	
陰性対照	3	0.1	静注	—	—	± :
BNF (腹腔)	3	0.1	静注	+++、++	—	+
BNF (腹腔)	3	0.1	腹腔内注	+++	—	+
I-3-C (経口)	3	0.1	静注	++	—	+
I-3-C (腹腔)	1	0.1	静注	+++	—	+

肺				結合レベル		
				内皮 肺静脈	タイプ2 細胞	肺胞の 壁
処理	動物数	投与量(Mg/kg)	投与経路			
陰性対照	3	0.1	静注	—	—	—
BNF (腹腔)	3	0.1	静注	+++	+++	+++
BNF (腹腔)	3	0.1	腹腔内注	+++	+++	+++
I-3-C (経口)	3	0.1	静注	—	—	—
I-3-C (腹腔)	1	0.1	静注	—	—	—

ヒトチトクローム P4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 を発現させたサルモネラ菌 TA1535 を用いた umu 試験により、Trp-P-1、Trp-P-2 はこれらのすべてのタイプで活性化されることが分かった。活性は膜画分の NADPH - P450 還元酵素活性、細胞質画分のアセチルトランスフェラーゼ活性を測定することにより確認した。(Yoshimitsu, Oda, *et al.*, 2001)

F344 ラットに IQ (0.03%)、MeIQx (0.04%)、Trp-P-1 (0.015%)、Glu-P-1 (0.05%) を発がん性のある容量で 4 週間使用投与し、肝臓および心臓を ³²P ポストラベル分析で DNA 付加体を解析したところ、どの HCA 処理群でも心臓における DNA アダクトが認められた。心臓では肝臓での付加体の 10-20%の値だった (Overik, Eva *et al.*, 1991)。また、NMRI マウス雄に 14 種類の HCA を 3 日連続で 3 回経口投与したところ、肝臓で DNA 付加体が検出された。DNA 付加体が最も多かったのは、Trp-P-2 (199.5 ± 10.3/108 NN)、Trp-P-1 (105.8 ± 6.9/108 NN)、A-α-C (76.5 ± 11.9/108 NN)であった (NN=normal nucleotides) (Baranczewski, P. *et al.*, 2004)。

4. 排泄

ラットの尿の抽出液中の Trp-P-1 量は 47.8 ± 13.9 μg、糞抽出液の Trp-P-1 量は 41.9 ± 8.5 μg であり、尿および糞から得た抽出液の TA98 株の Ames テストにおいて変異原性が示された (Yamada, Masako *et al.*, 2000)。

5. 毒性発現メカニズム

Trp-P-1 は、事前の代謝活性化なしに DNA と非共有結合し、肝ミクロソームの存在下で DNA と共有結合する (Pezzuto *et al.*, 1980)。

Trp-P-1 は、脳内 GABAA 受容体と共益する Cl⁻チャンネルの機能を抑制することにより、拮抗因子として直接作用し、高位中枢神経系の機能に影響を及ぼす可能性が示唆された (Fujii, Wataru, 1996)。

ラットの実質肝細胞と非実質肝細胞の共培養において、Trp-P-1 が引き起こすアポトーシスは、Bid を含むカスパーゼ-8 介在経路が主に促進され、副経路として遅れて Bax、Bcl-2、およびカスパーゼ-9 を含む p53/NF- κ B 介在経路が働いていた (Ashida, Hitoshi *et al*, 2001)。

Trp-P-1 および Trp-P-2 による、モノアミンオキシダーゼ (MAO)、チロシンヒドロキシダーゼ (TH)、トリプトファンヒドロキシラーゼ (TRH) 活性の阻害が確認された。Trp-P-1 は、タイプ A およびタイプ B の MAO を基質に対して阻害した (下表参照)。Trp-P-1 は TH を阻害し、その Km 値は変化がなかったが、Vmax は有意に減少し、阻害が基質に対して非拮抗的であることを示した。また、Trp-P-1、Trp-P-2 は、TRH 活性を拮抗的に阻害し、その Ki はそれぞれ 99.6 と 41.7 μ M であった。これらの結果から、食物由来 HCA は、生体アミンの生合成と代謝を阻害することにより、脳内モノアミン量を攪乱することが示唆された。(Maruyama, W *et al*, 1994)

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 Ki

化合物	MAO-A	MAO-B
	K _i (μ M)	K _i (μ M)
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K _m for kynuramine (μ M)	46.4	80.4
V _{max} for kinuramine	0.81	3.52

*: キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

ノーザンブロットおよびリアルタイム PCR によって、Trp-P-1 は、マウス腹膜マクロファージおよび RAW264.7 細胞における共刺激なしに、NO 合成誘導酵素(iNOS)の mRNA 発現および NO 産生を誘導することが分かった。Trp-P-1 は更に、リポポリサッカライド (LPS) によって最初に誘導された iNOS mRNA の発現および NO 産生を促進した。

電気泳動移動度シフトアッセイにより、Trp-P-1 が、単独または LPS の存在で、転写因子 NF- κ B の DNA 結合活性を促進したことが分かった。Trp-P-1 は細胞内活性酸

素種 ROS の増加を誘導し、NF- κ B の活性化に重要な役割を果たしていた。Trp-P-1 は、分子内 ROS、NF- κ B 活性化、それに続く iNOS 遺伝子発現の増加によって媒介される NO 産生を誘導し、変異原性およびがん原性を誘導する。(Yun, Cheol-Heui *et al*, 2006)

Trp-P-1 は濃度 ≥ 0.1 $\mu\text{g/mL}$ で明らかな毒性を示し、空胞化した奇形細胞を生成した。

TCDD(2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin)の添加により Trp-P-1 の毒性は 10 倍以上増強された。メチル基の 1 個欠如した Trp-P-2 に対しては、細胞は感受性を増強しなかった。

Trp-P-1 は SIK(自然に不死化したケラチノサイト)培養中に DNA およびタンパク質と付加体を形成し、TCDD 添加により付加体形成は DNA で約 4 倍、タンパク質で約 3 倍増加した。TCDD が仲介する毒性の増加と矛盾がなかった。

ノーザンブロット法により、TCDD が異物代謝に重要な酵素である P4501A1 と 1B1 の発現を強く促進したことが示された。

SIK 培養は、TCDD 誘発シトクローム P450 により活性化された発がん性物質に対するケラチノサイトの応答を研究するモデルとして、有効であることが示された。

(Walsh A. A. *et al.*, 1995)

ヒトチトクローム P4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 とヒト NADPH-P450 還元酵素と細菌 O-アセチルトランスフェラーゼを発現している *umu* 試験のサルモネラ菌株を作製し、HCA の代謝活性化を測定した。ヒトチトクローム P4501A2 を発現させた菌株で Trp-P-1、Trp-P-2、PhIP、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2 が高い代謝活性を示した。Trp-P-1、Trp-P-2 はヒトチトクローム P-4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 のすべてのタイプで活性化された。(Oda *et al*, 2001)

IV. 疫学調査 (ヒトへの影響)

Trp-P-1 は調理した魚や肉の黒焦げ中に見出され、これらの摂取が一般集団に対する暴露源である。Trp-P-1 のヒトに対する催奇形性や染色体影響の評価に資するデータは入手できなかった。また、Trp-P-1 の発がん性に関する症例報告や疫学的研究の情報は得られなかった (IARC, 1987)。

日本公衆健康センター (JPHC) が実施する、がんおよび循環器系疾患に関する前向き研究の課題として、本州および沖縄の JPHC 研究参加者 39,035 人 (男性 18,290 人、女性 20,745 人、うち岩手 9,412 人、秋田 12,018 人、長野 9,896 人、沖縄 7,709) に対する Trp-P-1、MeIQ、MeIQx、7,8-DiMeIQx、4,8-DiMeIQx、PhIP の摂取レベルの評価

が、自己回答式食物頻度アンケート(FFQ) によって行われた。PhIP が全 HCA 摂取の 60%以上を占め、次いで MeIQx および MeIQ が多かったが、PhIP に比べてはるかに少なかった。また、本州より沖縄の方が摂取量が少ない傾向にあった(次図)(Kobayashi, Minatsu *et al.*, 2002)。

HCA	男子		女子	
	本州	沖縄	本州	沖縄
PhIP	0.64	0.55	0.67	0.63
MeIQx	0.14	0.14	0.15	0.16
MeIQ	0.13	0.08	0.14	0.09
Trp-P-1	0.07	0.04	0.07	0.04
全 HCA	1.06	0.83	1.10	0.92

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

胃内挿管法による Trp-P-1 の経口急性 LD₅₀ 値は、マウスでは 200 mg/kg bw、ラットで 100 mg/kg bw、シリアンゴールデンハムスターでは 380 mg/kg bw であった。LD₅₀ 値以上の用量を投与した場合には、1 時間以内に痙攣を起して死亡した(Ishikawa *et al.*, 1979a)。

Trp-P-1 は、マウス、ラット、ハムスターへの皮下注射により、局所炎症反応を引き起こした(Ishikawa *et al.*, 1979a)。

Trp-P-1 は、シリアンゴールデンハムスターの胚細胞の初代培養に、*in vitro* で形態のトランスフォーメーションを誘導した(Takayama *et al.*, 1977)。

受容体結合実験

マウス脳のホモジナイズ遠心沈渣に、薬物溶液および各種³H]リガンドを添加した後、後処理し、シンチレーションカウンターで測定し、結合量を産出した。その結果、

①Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、MeA- α -C は BZ 受容体への³H]flunitrazepam 結合をそれぞれ 88%、61%、53%、33%抑制し、カルボリン骨格を有しない IQ、MeIQ、PhIP も 51~72%の抑制を示した。

②GABAA 受容体への³H]muscimol 結合に対する Trp-P-1 の IC₅₀ は 10-4M、MeA- α -C は 10-3M で、内在性リガンドである GABA は 6x10-7M であった。

③GABAA 受容体作動性 Cl-チャンネルへの³H]TBOB 結合に対し、Trp-P-1 は有意な影響を及ぼさなかった。

④Trp-P-1 は 36Cl-influx の basal 値には影響を及ぼさなかったが、GABA 誘発性

^{36}Cl -influx を濃度依存的に抑制した。

⑤ Trp-P-1 はセロトニン (5-HT) 1A 受容体に対し有意な影響を及ぼさなかった。であった。

痙攣試験

各種薬剤をマウスに腹腔内投与した後 Trp-P-1 を投与し、死に至るまでの潜時 (latency) を測定したところ、BZ 受容体作動薬であるジアゼパムは Trp-P-1 痙攣死を延長させたが、BZ 受容体遮断薬である β -CCM は痙攣死潜時を有意に短縮させた。Cl⁻チャンネル作動薬のヘキソバルビタールには痙攣死の救命効果が認められ、Cl⁻チャンネル遮断薬のピクロトキシンは痙攣を増強した。

コンフリクト試験

渇状態にあるマウスを個別に実験箱に入れ、Trp-P-1 を腹腔内投与し、マウスの高張食塩水摂取カウント数を記録したところ、Trp-P-1 は高張食塩水の摂取抑制を有意に増強したので、Trp-P-1 はコンフリクト行動を増強し、不安誘発作用を有することが明らかとなった。(Fujii, Wataru, 1996)

・反復投与毒性試験

生後 21 日のオスの離乳 Sprague-Dawley ラットに、毎日 0.5 mg の Trp-P-1 を 6 日間腹腔内注射し、その後 16 週間 0.05 % フェノバルビタールを含む食餌を与えたところ、ATP 合成酵素欠乏した酵素変化病巣が肝臓に誘発された。部分肝切除を受けたラットに同じ処置をした場合も同様に、酵素変化病巣が見られた (Ishikawa *et al.*, 1979a,b)。

2. 反復投与毒性試験

生後 21 日のオスの離乳 Sprague-Dawley ラットに、毎日 0.5 mg の Trp-P-1 を 6 日間腹腔内注射し、その後 16 週間 0.05 % フェノバルビタールを含む食餌を与えたところ、ATP 合成酵素欠乏した酵素変化病巣が肝臓に誘発された。部分肝切除を受けたラットに同じ処置をした場合も同様に、酵素変化病巣が見られた (Ishikawa *et al.*, 1979a,b)。

3. 生殖・発生毒性試験

該当情報なし

4. 遺伝毒性試験

Trp-P-1 は、*Salmonella typhimurium* TA98 および TA100 に対し、ポリ塩化ビフェニル誘導ラットから調製した肝 9000 g 上清の存在下で強い変異原性を示した (Nagao *et al.*, 1980)。

さらに、*Salmonella* を用いた試験で、ウシ肝カタラーゼおよび西洋ワサビペルオキシダーゼのような酸化剤の処理により酸化され、変異原性を示さなくなった(Yagi, 1979; Yamada *et al.*, 1979)。

Trp-P-1 は、*S. typhimurium* TM677 の 8-アザグアニン抵抗性に対する正突然変異試験において、3-メチルコラントレン誘導ラットの肝ミクロソームの存在下で変異原性を示した(Pezzuto *et al.*, 1981)。

Trp-P-1 は、フィトヘマグルチニン刺激ヒトリンパ球、チャイニーズハムスター Don-6 およびチャイニーズハムスター B-131 胚細胞において、外からの代謝活性化なしに、染色体異常と姉妹染色分体交換を誘導した(Sasaki *et al.*, 1980)。

ヒトの線維芽細胞株 HE2144 において、Trp-P-1 は姉妹染色分体交換を誘導したが染色体異常は誘導しなかった (Sasaki *et al.*, 1980)。

Trp-P-1 は、ヒトのリンパ芽球様細胞において、ポリ塩化ビフェニル誘導したラット肝 9000 g 上清の存在下でのみ、姉妹染色分体交換を引き起こした(Tohda *et al.*, 1980)。

Balb/c マウスの腹膜細胞から接着細胞のマクロファージ様細胞株に対しては、Trp-P-1 は、分子内 ROS、NF- κ B 活性化、それに続く iNOS 遺伝子発現の増加によって媒介される NO 産生を誘導し、変異原性およびがん原性を誘導していた (Yun, Cheol-Heui *et al.*, 2006)。

Ames テストによって検出される、変異原性活性の閾値は Trp-P-1 では 5 ng, Trp-P-2 では 2.5 ng であった。食物抽出物の変異原活性は、食物中に細菌変異テストに対する相乗剤あるいは阻害剤が含まれるため、個々の精製成分の活性の和にはならない。また、食物が消化されると代謝反応が起こり、それは変異テストでは想定できない。

TS-LC-MS によって検出される変異原の量は、Ames テストによって検出される活性閾値に相当する量よりも低かった。(Milon, H. *et al.*, 1987)

ネズミチフス菌 TA98、TA100 を使用してエームス試験を行い、ローゼル抽出液が IQ、MeIQ、MeIQx、PhIP、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-2、A- α -C、MeA- α -C の変異原性を用量依存的に減少させることが分かった。12.5mg/plate において、抗菌活性を出すことなく変異原性を 60~90%減少させた。(Chewonarin T. *et al.*, 1999)

S9 存在下、TA98 株を用いて大豆抽出物と共にインキュベートしてエームステストを行い、ラットを用いて消化、吸収後の大豆抽出物の変異原不活性化性を調べた。そ

の結果、大豆抽出物を長く加熱した抽出物は、Trp-P-1 に対して変異原不活性化を示した。

Trp-P-1 (0.1 µg/plate) の変異原性は、4 mg/plate の 12 分加熱大豆の水溶性抽出物に 43%、2 mg/plate の 12 分加熱大豆のメタノール抽出物に 52%抑えられた。

加熱大豆抽出物の変異原抑制作用は、S9 酵素活性を阻害によるものでなく、活性化された Trp-P-1 の変異原性の阻害によるものであった。(Oshite, Hiroko *et al.*, 1996)

5. 発がん性試験

<経口投与>

生後 7 週の CDF1 マウスのオス 40 匹、メス 40 匹に、200 mg/kg の Trp-P-1 acetate (純度 >99.5%)を含む餌ペレットを 621 日間与えた。基礎食を与えたオス 40 匹とメス 40 匹のマウスのグループを対照群とした。402 日に最初の肝腫瘍が検出され、その時生存していたマウスは、実験群でオス 24 匹、メス 26 匹、対照群でオス 25 匹、メス 24 匹であった。肝腫瘍は、Trp-P-1acetate 餌を与えたオスのマウスで 5/21(21%)、メスのマウスで 16/26(62%)に見られた。対照群では、肝腫瘍はオスで 1/25(4%)見られたが、メスでは 0/24 であった。Trp-P-1 食を与えたメスのマウスにおける肝腫瘍の発生率の増加は統計的に有意であった ($p < 0.001$)。肝腫瘍のほとんどは、肝細胞がんであり (メスで 14、オスで 4)、対照群における肝がんは血管腫であった(Matsukura *et al.*, 1981)。

CDF1 雄雌マウスおよび F344 雄雌ラットに対象物質である HCA0.02~0.08%を飼料に混ぜて反復投与した。

マウスでは、テストしたすべての HCA で肝細胞がんを高頻度で発症した。Glu-P-1、Glu-P-2、MeA- α -C、A- α -C は、血管内皮肉腫も誘発した。ほとんどの血管内皮肉腫は肩甲骨間褐色脂肪組織に存在した。

ラットでは、Trp-P-1、Glu-P-1、Glu-P-2、IQ が肝細胞がんを誘発し、Glu-P-1、Glu-P-2、IQ は、小腸と大腸に腺がんを、Zymbal gland と陰核腺に扁平上皮がんをも高頻度で発症させた。(Ohgaki, Hiroko *et al.*, 1986)

雄雌 F344 ラット (6 週齢)を用い、Trp-P-1(0.003%)、Trp-P-2(0.004%)、Glu-P-2(0.01%)、A- α -C(0.016%)、IQ(0.006%)の低濃度量 (それぞれ単独投与実験で使用した量の 1/5)を飼料に混合して反復投与することによって、発がん性試験を行った。混合飼料を与えられたラットの体重は、コントロールラットの体重よりも 10%少なく、また、平均寿命もコントロールよりも短かった。

HCA 5 種類を摂取したラット雄雌共に、肝、大腸、Zymbal gland に、また雄のみ皮膚に、雌にのみ陰核 gland にそれぞれ腫瘍がみられた。腫瘍はコントロールに比べかなり高い頻度で発生している。

観察された腫瘍の数と、予想された腫瘍の数を比較すると、雄雌の肝、雄の皮膚、

雌の陰核 gland の腫瘍に関して予想された数をはるかに超えていた。他の臓器に関しては大きな違いは見られなかった。このことより、複数の発がん物質の同時投与の影響は単純な加法では説明できないと考えられる。(Takayama, Shozo *et al.*, 1987)

145 匹の体重約 100g のメスの Syrian golden hamsters に、N-Nitrosobis(2-Oxopropyl)amine(BOP)を 30mg/kg b.w.投与し、12 日後から 4 日間コリン欠乏食餌を与えて 1 日 1 回、500mg/kg の DL-エチオニンを腹腔内注射し、1 日後に 800 mg/kg DL-エチオニンを 1 回投与して、2 日後に 30mgBOP を投与。基礎飼料投与後 47 日後から、HCA を投与し、70 日後にハムスターを麻酔下で解剖した。トータルの病変発生率は、Trp-P-1 が最も多く 23.2%であった(下表参照)(Yoshimoto, Masatoshi *et al.*, 1999)。

HCA を投与されたハムスターの膵管病変の発生率

グループ	ハムスターの有効匹数	薬物摂取量 (mg)	発生率(%)				
			過形成	非定型過形成	その場のがん	浸潤性がん	トータル病変
1. ベース	10	0	9.7	1.9	0.3	1.4	13.3
2. 0.04% PhIP	9	200	10.2	1.7	0.3	1.4	13.8
3. 0.06% MeIQx	10	300	10.5	1.7	0.1	1.2	13.5
4. 0.03% IQ	10	150	14.0 ^a	1.8	0.4	1.4	17.6
5. 0.02% Trp-P-1	10	100	17.8 ^b	2.3	0.1	3.0	23.2 ^b
6. 0.02% Trp-P-2	10	100	12.8	1.7	0.3	1.0	15.8
7. 0.08% A-α-C	6	400	8.7	2.1	0.2	1.0	12.0

a: $p < 0.05$ b: $p < 0.01$ その他は有意差なし。

<皮膚への塗布>

生後 8 週のメスの ICR マウス 20 匹の皮膚の肩甲骨部に、0.4 % Trp-P-1 アセトン溶液を週 3 回 6 ヶ月間塗布した。マウス 20 匹の対照群にはアセトンのみを塗布した。実験開始から 12 ヶ月後にマウスを剖検したが、Trp-P-1 処理群にも対照群にも著明な変化は見られなかった(Ishikawa *et al.*, 1979a)。

<皮下注射>

8 週齢のオス、メス各 10 匹のフィッシャーラットに、Trp-P-1 を 1.5 mg 含むオリーブ油 0.1 mL を、1 週間に 1 度 20 週間皮下注射した。同数の対照群ラットにはオリーブ油のみを注射した。最初の注射後 10 ヶ月ではすべてのラットが生存しており、解剖の結果、Trp-P-1 処理ラットのうち、メスの 5/10($p=0.02$)にのみ注射部位に腫瘍が発生していた。腫瘍は組織学的解析では線維肉腫であり、他のラットに移植可能な肉腫

であった。オスの処理ラットと、オスおよびメスの対照群ラットには腫瘍の生成はなかった(Ishikawa *et al.*, 1979 a)。

8 週齢のシリアンゴールデンハムスターのオス、メス各 10 匹に、Trp-P-1 を 1.5 mg 含むオリーブ油 0.1 mL を、1 週間に 1 度 20 週間皮下注射した。同数の対照群ハムスターにはオリーブ油のみを注射した。最初の注射後 10 ヶ月ではすべてのラットが生きていた。Trp-P-1 処理ハムスターでは、殆どの個体で注射部位における皮下結節が 4.5 か月以内に触知可能となった。5 ヶ月以上生存したハムスターのオスの 1/3 およびメスの 2/5 に腫瘍が誘発された。また、2 匹のハムスターで局所的なリンパ節への転移が見つかった。腫瘍は組織学的に多形型肉腫と分類され、二つは他のハムスターに移植された。対照群（オス 8 匹、メス 9 匹）では腫瘍は観察されなかった(Ishikawa *et al.*, 1979a)。

<膀胱への移植>

ddy マウス 33 匹 (体重 18g) に対し、5% Trp-P-1 を含むパラフィンペレットを膀胱に埋め込んだ。対照群として、ddy マウスのオス 55 匹にパラフィンワックスのみのペレットを埋め込んだ。ペレット移植後 40 週まで生存した 23 匹の処理マウスのうち、11 匹(47.8%)で膀胱がんが発生した。一方、対照群では生存した 36 匹のうち 1 匹(2.7%)のみが膀胱がんになった ($p < 0.0001$) (Hashida *et al.*, 1982)。

<発がんメカニズム>

ラットの実質肝細胞と非実質肝細胞の共培養における、Trp-P-1 によるアポトーシスのメカニズムが確認された。Trp-P-1 はラットの実質肝細胞と非実質肝細胞の共培養（共培養は、各々の細胞タイプ単独よりも Trp-P-1 によるアポトーシスを受けやすい）において、18-kDa エンドヌクレアーゼによる DNA 断片化を誘導した。

Trp-P-1 によるアポトーシスにおいて、Bax タンパク質の増加と Bcl-2 タンパク質の減少がミトコンドリア画分中に検出され、p53 タンパク質量は時間依存的に増加し NF- κ B の DNA 結合活性の増加が見られた。また、ミトコンドリアにおいて Bid タンパク質量が速やかに増加し、ミトコンドリアから細胞質ゾルへのチトクローム C の漏出を引き起こした。

ペプチド基質切断の蛍光分光分析法、ウエスタンブロット分析によりカスパーゼ-8 の活性化、次いで下流のカスパーゼの活性化が確認された。

カスパーゼ-8 のペプチド阻害剤により DNA 分解および下流カスパーゼの活性化が減少したが、カスパーゼ-9 阻害剤と NF- κ B 阻害剤は部分的な阻害を示すに過ぎなかった。

Trp-P-1 が引き起こすアポトーシスでは Bid を含むカスパーゼ-8 介在経路が主に促進され、Bax、Bcl-2、およびカスパーゼ-9 を含む p53/ NF- κ B 介在副経路の遅延を伴

う。

(Ashida, Hitoshi *et al.*, 2001)

チトクロム P4501A1 に誘導される化学物質の毒性化部位を明らかにするため、 β -naphthoflavone(BNF)で処理したげっ歯類（雌の Sprague-Dawley ラットおよび NMRI マウス）の筋肉組織の各種内皮におけるチトクロム P4501A1 の局在と、 $^3\text{H-Trp-P-1}$ の代謝活性化部位を調べたところ、BNF 処理げっ歯類の心臓、骨格筋、子宮の毛細血管および静脈の血管内皮において、チトクロム P4501A1 の免疫染色および $^3\text{H-Trp-P-1}$ の共有結合の共局在が見られた。動脈や細動脈内皮では子宮以外は少なかった。BNF 処理マウスのリンパ節では、小静脈内皮においてチトクロム P4501A1 の共局在が見られた。

チトクロム P4501A1 誘導化学物質の暴露の内因性・外因性物質の代謝産物のターゲット部位は、筋組織の毛細血管や静脈内皮細胞のみならず、子宮の細動脈内皮やリンパ節の高内皮静脈も該当する。(Annas, Anita, *et al.*, 1998)

前がん物質の P450 依存性活性化による変異性試験において NADPH-P450 reductase が Trp-P-1 等、前がん物質の活性化を促進した。(Trp-P-1 は 1.26 倍) (Shimada T *et al.*, 1996)

6. 特殊毒性試験（神経毒性、免疫毒性等）

Trp-P-1 の免疫抑制効果のメカニズムについての報告がある。

4-6 週齢のメスの Balb/c マウスの脾臓および胸腺細胞に対する実験により、N-アセチル-L-システイン (NAC) および／またはグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) による活性酸素種 (ROS) の細胞内発生を通して、リンパ球の幼若化反応を抑えることによって、免疫抑制効果を及ぼすことが示唆された。(Yun, Cheol-Heui *et al.*, 2006)

Trp-P-1 はヒト単球細胞において、インターロイキン-8 (IL-8) mRNA の安定性の低下と細胞内カルシウム/p38MAP キナーゼ依存経路のダウンレギュレーションによって、リポポリサッカライド LPS-誘導 IL-8 の産生を抑える。IL-8 は先天性免疫の活性化に必要なケモカインであり、Trp-P-1 により IL-8 が不足した状況になり生体が感染性微生物やがん細胞を直ちに除去することができなくなり、がん性細胞が生き残って増殖すると言う報告がある (Jintaek Im *et al.*, 2008)。

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

(1) 国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer, IARC)

Trp-P-1 の実験動物における発がん性については、十分なエビデンスがある。また、ヒトに対する発がん性のデータは入手できなかった。

2B: ヒトに対する発がん性が疑われる (The agent is possibly carcinogenic to humans.)

2. 国際機関等のリスク管理措置

(1) 米国国立がん研究所 (National Cancer Institute)

2004年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告について紹介され、米国の平均的食生活における HCA の摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソースを作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCA の暴露を軽減することができるとしている。

(NCI, 2004)

(2) 米国農務省 (U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service)

2006年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質の HCA の生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCA の生成や摂取を減らす方法を紹介している。(USDA, 2006)

(3) 英国食品基準庁 (Food Standards Agency)

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」の Q&A の項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化水素化合物 (PAHs) や HCA のような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。(FSA,)

(4) ヨーロッパの調味料専門家委員会 (Europe's Committee of Experts on Flavourings, 1995) のガイドライン

4,8-DiMeIQx と PhIP の限界量を 50 µg/kg (加工後に他の材料を加える前のプロセスフレーバーとして見積もった値) として純度基準を設定している。その値は、当時の

最も感度の高い測定法を用いているが、現在の技術ではさらに多種類の HCA の高感度の検出が可能であるため、この基準値の改定が検討されるべきである (Solyakov, A *et al*, 1998)。

Ⅶ. 相互作用

1. ヘテロサイクリックアミン同士の相互作用

6 週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2 週間後、HCA 混合または単独混餌を 6 週間投与。混餌は、5 種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10 種の発がん量の 1/10、1/100 量。3 週後に肝臓の 2/3 を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタミン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA 同一量を個々に混餌投与した群より、グルタミン S-トランスフェラーゼ陽性の前がん状態病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10 種の HCA を各 1/10 量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。これらの効果は CYP1A2 を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

また、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、MeIQ、IQ の混合物を、*Salmonella typhimurium* A98 には変異原性を示すが野生型の TA1978P には示さない濃度で投与したところ、複合投与による有意差のある復帰突然変異の増加が見られた。この結果から、環境中の変異原性物質は複雑に混合された状態で存在するため、このような加法的作用について検討する必要があると指摘されている (Ohta T 2006)。

2. その他の物質との相互作用

クロロフィルの水溶性塩であるクロロフィリンについて、HCA の変異原性に対する影響を、サルモネラ TA98 株を使用した S9 存在下で調べたところ、クロロフィリンと HCA のモル比 ($MR50 = [CHL]/[HA]$ at I50) と変異阻害に相互関係があった。クロロフィリンが HCA と直接相互作用し、錯体形成することによってその発がん性や変異原性を阻害していると考えられた。(Dashwood R *et al*, 1993)

また、銅クロロフィリンの HCA に対する抗変異原性効果が、ショウジョウバエ幼虫への給餌による wing spot (体細胞突然変異性) 試験と DNA 修復試験で検出された。Wing spot 試験では、Trp-P-1 および Trp-P-2 においてクロロフィリン存在下で変異原性の低下が見られ、IQ では低下は検出されなかった。IQ、MeIQx は雄ショウジョウバエの 90% に致死をもたらす変異原性を示し、他の物質もきわめて高い DNA 損傷をもたらしたが、クロロフィリンは MeIQx の変異原性を完全に抑制し、Trp-P-1 および Trp-P-2 の変異原性も抑制した。A- α -C、MeA- α -C に対する抑制は見られなかつ

た。クロロフィリン結合セファロースを混餌した場合、Trp-P-2 の wing spot (体細胞突然変異) 形成を阻害した。これらのクロロフィリンによる変異原性の抑制機構として、平面構造をとる多環式化合物がクロロフィリンと複合体を形成することが考えられた。(Negishi T *et al*, 1994)

HCA により S9 存在下で誘導された変異原性に対する、脂溶性抗酸化物質 1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ)効果がエームス試験で検討された。HTHQ は Trp-P-1 (20 ng/plate) の変異原性を 2.5 µg/plate 量で 48%、20 µg/plate 量で 87% 抑制した。(Hirose M *et al*, 1995)

天然のアントラキノン色素、プルプリンの、HCA (Trp-P-2、Trp-P-1、MeIQ、IQ、Glu-P-1) に対する変異原性抑制機構を、サルモネラ菌 TA98 を使った Ames test を用いて解析した結果、Trp-P-1、Trp-P-2 に対して 90%以上が、MeIQ、IQ、Glu-P-1 では 60%以上が抑制された。Trp-P-2(NHOH)に対する抑制機構を、アセチルトランスフェラーゼ欠損株、S9 の有無、CYP1A2 と NADPH チトクローム P450 還元酵素と O-アセチル転換酵素を発現しているサルモネラ菌 TA1538ARO を使い、Ames test で解析した結果、抑制はモル濃度に比例しており、抗変異原性物質である EGCG、クロロフィリンと同等の抑制効果を示した。また、pH5.0 より pH7.4 で強く抑制され、アセチルトランスフェラーゼ欠損株を用いた場合でも抑制された。S9 の有無に関わらず抑制はおこったが、S9 非存在下の方が強く抑制された。TA1538ARO を用いた Ames test では、CYP1A2 の分解と NADPH チトクローム P450 還元酵素の抑制が見られた。これらの結果から、プルプリンの変異原性抑制は、中性で、ヒドロキシアミンに作用すること、それは CYP1A2 と NADPH チトクローム P450 還元酵素の働きの抑制によることが示唆された (Marczylo *et al*. 1999)。

乳酸菌変異株により生成されたエキソ多糖類 (EPS) を安定して生成する乳酸菌変異株 30110S の生物学的特性は親株と同一であったが、本菌を利用した加工ミルクは Trp-P-1 に対する抗変異原性を示した。EPS を細胞表面に結合した 30110S のみが Trp-P-1、Glu-P-1、MeIQ、MNNG に対する結合能を示し、EPS に結合することにより変異原性物質は非活性化された。EPS への結合はイオン交換や疎水結合による可能性があり、腸内で EPS が変異原性物質を結合していると考えられる (Tsuda H *et al* 2008)。

活性化前の Trp-P-1 が誘導する SOS 応答の変異原性に対しては、*U.sinensis* 由来トリテルペノイドウルソル酸およびその誘導体が、抑制する効果がある (Miyazawa, Mitsuo, *et al*, 2005)。

118 種のタイの食用植物から抗変異原性を有する物質をスクリーニングし、Trp-P-1、

Trp-P-2、PhIP に対して阻害効果を示す植物として 5 種（下表参照）が特定された。最も抗変異原性効果の高い *Micromelum minutum* の抗変異原性成分は、は(+)－mahanine であった (Nakahara, Kazuhiko *et al*, 2002)。

Trp-P-1 に誘導される変異原性を 90%抑制する ED90 が 5 µL/plate 以下の植物

	変異原性阻害率 (%)		
	Trp-P-1 (50 ng/test)	Trp-P-2 (20 ng/test)	PhIP (250 ng/test)
<i>Micromelum minutum</i>	100	96	94
<i>Oroxylum indicum</i>	91	95	86
<i>Custum chinensis</i>	98	95	88
<i>Azadirachta indica</i>	89	88	86
<i>Litsea petiolata</i>	76	91	80

VIII. まとめ

実験動物について、Trp-P-1 の発がん性に関する十分なエビデンスがある。しかし、ヒトに対しては安全性に関する情報が得られていない。

IX. 文献・参考資料

- Ashida, Hitoshi; Kihara, Kaori; Nonaka, Yuji; Fukuda, Itsuko; Shiotani, Bunsyo; Hashimoto, Takashi, The Heterocyclic Amine, 3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole Induces Apoptosis in Cocultures of Rat Parenchymal and Nonparenchymal Liver Cells , *Toxicology and Applied Pharmacology*, (2001) Vol. 177, No. 1, pp. 59-67.
- Brittebo E B; Brandt I, Metabolic activation of the food mutagen 3-amino-1,4- dimethyl- 5H- pyrido-[4,3-b] indole (Trp-P-1) in endothelial cells of cytochrome P-450-induced mice. , *Cancer Research*, (1994 Jun 1) 54 (11) 2887-94.
- Dashwood R; Guo D, Antimutagenic potency of chlorophyllin in the Salmonella assay and its correlation with binding constants of mutagen-inhibitor complexes., *Environmental and Molecular Mutagenesis*, (1993) 22 (3) 164-71.
- Hasegawa, R.; Kato, T.; Hirose, M.; Takahashi, S.; Shirai, T.; Ito, N., Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.
- Hashida, C. *et al*, Induction of bladder cancer in mice by implanting pellets containing tryptophan pyrolysis products. *Cancer Lett.*, 17, 101-105 (1982)
- Hirose M; Iwata S; Ito E; Nihro Y; Takahashi S; Mizoguchi Y; Miki T; Satoh T; Ito N; Shirai T, Strong anti-mutagenic activity of the novel lipophilic antioxidant 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone against heterocyclic amine-induced mutagenesis in the Ames assay and its effect on metabolic activation of 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d]imidazole (Glu-p-1), *Carcinogenesis*, (1995 Sep) 16 (9) 2227-32.
- IARC Information Bulletin of the Survey of Chemicals Being Tested for Carcinogenicity, No. 9, Lyon, pp.78, 82 (1981)
- Ishikawa, T. *et al*, in vivo experiments on tryptophan pyrolysis products. In: *Naturally occurring Carcinogens-Mutagens and Modulators of Carcinogenesis*, pp.159-167 (1979)
- Ishikawa, T. *et al*, in vivo experiments on tryptophan pyrolysis products. In: *Naturally occurring*

- Carcinogens-Mutagens and Modulators of Carcinogenesis, pp.159-167(1979)
- Ishikawa, T. *et al*, Induction of enzyme-altered islands in rat liver by tryptophan pyrolysis products. *J.Cancer Res. Clin. Oncol.*, 95, 221-224 (1979)
- Jintaek Im^a, Seok-Seong Kang^a, Jae Seung Yang^b, Cheol-Heui Yun^c, Young Yang^d, Seung Tyun Han, 3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1)attenuates LPS-induced IL-8 expression by decreasing mRNA stability in THP-1 cells, *Toxicology Letters*, (2008), Vol.177. pp.108-115
- Kasai, H. *et al*, Fractionation of a mutagenic principle from broiledfish by high-pressure liquid chromatography, *Cancer Lett.*, 7, 343-348 (1979)
- 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 Nov;69(5):682-9.
- Kobayashi, Minatsu; Hanaoka, Tomoyuki; Nishioka, Sachiko; Kataoka, Hiroyuki; Tsugane, Shoichiro, Estimation of dietary HCA intakes in a large-scale population-based prospective study in Japan, *Mutation Research, Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, (2002) Vol. 506-507, pp. 233-241
- Kosuge, T. *et al*, Isolation and structure studies of mutagenic principles in amino acid pyrolysates, *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 611-619 (1978)
- Matsukura, N. *et al*, Carcinogenicity in mice of mutagenic compounds from a tryptophan pyrolysate., *Science*, 213, 346-347 (1979)
- Marczylo H.Timothy; Hayatsu Toshiko; Arimoto-Kobayashi Sakae, Tada Mikio, Fujita Ken-ichi, Kamataki Tersuya, Nakayama Kazuo, Hayatsu Hikoya, Protection against the bacterial mutagenicity of heterocyclic amines by purpurin, a natural anthraquinone pigment, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, (1999) Vol. 444, No. 2, pp. 451-461.
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, *Journal of Neural Transmission, Supplement*, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- Miyazawa, Mitsuo; Okuno, Yoshiharu; Imanishi, Ko, Suppression of the SOS-Inducing Activity of Mutagenic Heterocyclic Amine, Trp-P-1, by Triterpenoid from *Uncaria sinensis* in the *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 Umu Test , *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2005) Vol. 53, No. 6, pp. 2312-2315.
- Negishi T; Nakano H; Kitamura A; Itome C; Shiotani T; Hayatsu H, Inhibitory activity of chlorophyllin on the genotoxicity of carcinogens in *Drosophila*., *Cancer Letters* (Shannon, Ireland), (1994 Aug 15) 83 (1-2) 157-64.
- Nakahara, Kazuhiko; Trakoontivakorn, Gassinee; Alzoreky, Najeeb S.; Ono, Hiroshi; Onishi-Kameyama, Mayumi; Yoshida, Mitsuru, Antimutagenicity of Some Edible Thai Plants, and a Bioactive Carbazole Alkaloid, Mahanine, Isolated from *Micromelum minutum*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2002) Vol. 50, No. 17, pp. 4796-4802.Nagao, M. *et al*, Mutagenicities of γ -carboline derivatives related to potent mutagens found in tryptophan pyrolysates. *Carcinogenesis*, 1, 451-454 (1980)
- Oda, Y.; Aryal, P.; Terashita, T.; Gillam, E. M. J.; Guengerich, F. P.; Shimada, T., Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in *Salmonella typhimurium* umu tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, 2E1, and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, (2001) Vol. 492, No. 1-2, pp. 81-90.
- Overik, Eva; Ochiai, Masako; Hirose, Misako; Sugimura, Takashi, The formation of heart DNA adducts in F344 rats following dietary administration of heterocyclic amines, *DNAGing: Genetic Instability and Aging*, (1991) Vol. 256, No. 1, pp. 37-43.
- Pezzuto, J.M. *et al*, There is a α -Correlation between the DNA affinity and mutagenicity of several 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,5-b]indoles. *Proc.natlA- α -Cad. Sci. USA*, 77, 1427-1431(1980)
- Pezzuto, J.M. *et al*, Metabolic activation of 1-methyl-3-amino-5H-pyrido[4,3-b]indole and several structurally related mutagens. *Biochemistry*, 20, 298-305 (1981)
- Sasaki, M. *et al*, Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges induced by tryptophan

- pyrolysates, Trp-P-1 and Trp-P-2, in cultured human and Chinese hamster cells. *Proc. Jpn. Acad.*, 56B, 332-337 (1980)
- Skog, Kerstin; Solyakov, Alexey; Arvidsson, Patrik; Jagerstad, Margaretha, Analysis of nonpolar heterocyclic amines in cooked foods and meat extracts using gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography, A*, (1998) Vol. 803, No. 1 + 2, pp. 227-233
- Solyakov, A.; Skog, K.; Jagerstad, M., Heterocyclic amines in process flavors, process flavor ingredients, bouillon concentrates and a pan residue, *Food and Chemical Toxicology*, (1998) Vol. 37, No. 1, pp. 1-11
- Takayama, S. *et al*, In vitro transformation of hamster embryo cells with tryptophan pyrolysis products. *Proc. Jpn. Acad.*, 53B, 126-129 (1977)
- Uyeta *et al*, Assaying mutagenicity of food pyrolysis products using the Ames test. In: Miller, E..C. *et al*, eds, *Naturally Occurring Carcinogens-Mutagens and Modulators of Carcinogenesis*, Tokyo/Baltimore, Japan Scientific Societies Press/University Park Press, pp.169-176 (1979)
- Walsh A A; deGraffenried L A; Rice R H, 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin sensitization of cultured human epidermal cells to carcinogenic heterocyclic amine toxicity. , *Carcinogenesis*, (1995 Sep) 16 (9) 2187-91.
- Yagi, M. *et al.*, Oxidation of tryptophan-P-1 and P-2 by beef liver catalase-H₂O₂ intermediate: Comparison with hoese radish peroxidase. *Cancer Biochem. Biophys.*, 4, 105-117 (1979)
- Yamada, M *et al.*, Degradation of mutagens from pyrolysates of tryptophan, glutamic acid and globulin by myeloperoxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 90, 769-776
- Yamada, Masako; Nakazawa, Yuji; Hosono, Akiyoshi, Effects on the excretion of Trp-P-1 from rats by administration of camembert cheese, *Miruku Saiensu*, (2000) Vol. 49, No. 1, pp. 29-36.
- Yamaguchi *et al*, Presence of 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole in broiled beef. *Gann*, 71, 745-746 (1980)
- Yamaizumi *et al*, Detection of potent mutagens, Trp-P-1 and Trp-P-2, in broiled fish. *Cancer Lett.*, 9, 75-83 (1980)
- Yoshimoto, Masatoshi; Tsutsumi, Masahiro; Iki, Katsumichi; Sasaki, Yasutaka; Tsujiuchi, Toshifumi; Sugimura, Takashi; Wakabayashi, Keiji; Konishi, Yoichi, Carcinogenicity of heterocyclic amines for the pancreatic duct epithelium in hamsters, *Cancer Letters (Shannon, Ireland)*, (1999) Vol. 143, No. 2, pp. 235-239.
- Yun, Cheol-Heui; Chung, Dae Kyun; Yoon, Kristopher; Han, Seung Hyun, Involvement of reactive oxygen species in the immunosuppressive effect of 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trp-P-1), a foodborne carcinogenic heterocyclic amine, *Toxicology Letters*, (2006) Vol. 164, No. 1, pp. 37-43.
- Yun, Cheol-Heui; Jung, Uhee; Son, Chang Gue; Ju, Hyang Ran; Han, Seung Hyun, 3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (Trp-P-1), a foodborne carcinogenic heterocyclic amine, promotes nitric oxide production in murine macrophages, *Toxicology Letters*, (2006) Vol. 161, No. 1, pp. 18-26.

4. 10 Trp-P-2

I. 当該化学物質の一般情報

①Trp-P-2

1. 物質特定情報

(1) 名称:

Chem. Abstr. Name: 5*H*-Pyrido[4,3-*b*]indol-3-amine, 1-methyl-

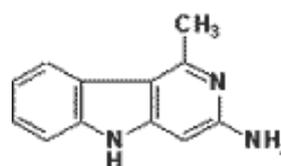
IUPAC Systematic Name: 3-Amino-1-methyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole

異名: 3-Amino-1-methyl- γ -carboline; 1-methyl-3-amino-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole; TRP-P2; Tryptophan P2

(2) CAS No. : 62450-07-1

(3) 分子式: $C_{12}H_{11}N_3$ 、構造式: 右図のとおり

(4) 分子量: 197.2



2. 物理化学的性状

(国立環境研究所、化学物質データベース)

(1) 物理的性状: 無色針状結晶

(2) 融点: 242 °C

(3) 沸点: 244 °C

(4) 溶解性: 水に難溶

(5) 熱分解性: 過熱すると分解して毒性の NO_x ガスを発する。

②Trp-P-2 酢酸塩

1. 物質特定情報

(1) 名称:

Chem. Abstr. Name: 5*H*-Pyrido[4,3-*b*]indol-3-amine, 1-methyl-

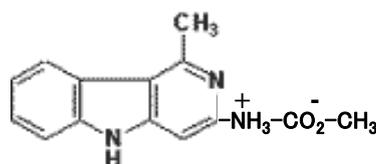
IUPAC Systematic Name: 3-Amino-1-methyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole

異名: TRP-P2 (acetate)

(2) CAS No. : 72254-58-1

(3) 分子式: $C_{12}H_{11}N_3 \cdot C_2H_4O_2$ 、構造式: 下図のとおり

(4) 分子量: 257.3



2. 物理化学的性状

(Kosuge *et al*, 1978)

(1) 物理化学的性状: 茶褐色針状結晶

(2) 融点: 248-250 °C (酢酸エチル-メタノールからの再結晶)

(3) 溶解性: メタノールに溶解する

(4) 分光学的データ: λ_{\max} nm(メタノール): 244、265、268、290-330

IR、NMR、質量分析値が決定されている。

3. 存在形態

(1) 存在形態

データなし

(2) 食品摂取以外のヒトへの暴露

データなし

4. 生成機構

13種類のHCAを、1, 2, 3, 6, 12, 18, 24時間、100、150、200℃の油中で加熱し、HPLCによりUVまたは蛍光検出して定量化した。HCAの分解は、加熱温度が高くまた加熱時間が長いほど増加した。分解速度定数は温度が高くなるにつれて増加した。加熱中のHCAの分解率は、一次モデルに合致し、分解率が高かったのはPhIP(57.5%)で、MeIQ(38.8%)、MeIQx(34.2%)、IQ(16.6%)、Trp-P-2(13.9%)と続き、IQx(8.7%)が最も安定であった。(Chiu, C. P. *et al*, 1999)

5. 食品中の検出状況

Trp-P-2は、直火で焼いたイワシから13.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 検出された(Yamaizumi *et al.*, 1980)。

ポローニャソーセージ、サマーソーセージ、ハム、ブラットヴィルスト、新鮮ブタソーセージ、燻製ソーセージ、イタリアンソーセージ、アイランドステーキ、牛挽肉を、150、190、230℃の油で揚げるか、200℃ないしは240℃で網焼きにし、検体中のHCA含有量を、紫外・蛍光検出法を使ったHPLCで測定した。Trp-P-2は調理した肉の表面からより多く検出された。ソーセージは温度が高いほど、また調理時間が長いほど生成量が多い傾向にあり、ポークソーセージが最も多かった。挽肉はソーセージより生成量が少ない傾向にあった(下表参照)。(Abdulkarim, Basira G. *et al*, 1998)

調理温度、時間と Trp-P-2 レベル (ng/g)

肉の両側の調理時間 (分)		3+3	5+5	7.5+7.5	6+6	3.5+3.5
調理温度 (°C)		150	190	230	200	240
ポークソーセージ	表面	ND	0.16	0.68	0.22	1.92
	全体	ND	0.015	0.043	0.03	0.03
ブラートヴルスト	表面	0.05	0.14	0.81	0.95	0.56
	全体	ND	0.080	0.200	0.13	0.10
イタリアンソーセージ	表面	0.05	0.16	0.27	0.29	0.28
	全体	ND	0.060	0.060	0.13	0.07
スモークソーセージ	表面	0.13	0.17	1.23	-	-
	全体	ND	0.043	0.220	-	-
15%脂肪を含む挽肉	表面	ND	1.7	1.5	ND	ND
	全体	-	ND	0.38	ND	ND
5%脂肪を含む挽肉	表面	0.71	0.46	0.78	0.15	0.14
	全体	-	0.36	0.29	0.26	0.11
外もも肉	表面	0.16	0.13	0.63	0.07	1.59
	全体	-	0.03	0.22	0.12	0.14

調理した肉、鍋の残渣、肉抽出物中の非極性 HCA を固相抽出した後、GC-MS により含有量の分析が行われた。Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、および MeA α -C のサンプルにおいて 8 ng/g までの量が検出され、comutagenic 物質であるハルマンとノルハルマンも、同じサンプル中にはほぼ 200 ng/g までの量で検出された（下表参照）。クロマトグラフィー効率は高く、一回の注入は 0.1-2 ng の範囲で分析することができた。(Skog, Kerstin *et al*, 1998)

非極性 HCA の GC-MS 分析 (ng/乾燥原料) 結果

サンプル	調理法	Trp-P-1	Trp-P-2	A- α -C	MeA- α -C
ポーク、ヒレ	フライ	0.8	Trace	Trace	3.3
ポークチョップ	ロースト	ND	ND	0.04	0.08
ミートローフ	ロースト	0.08	ND	0.28	ND

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、および鍋残渣に含まれる変異原性／がん原性 HCA の分析した実験では、複雑なマトリックスを持つ試料であるため、クロマトグラフィー効率を改善するために、新しく加える生成方法がデザインされた。プロセスフレーバー7種、プロセスフレーバー原料5種、ブイヨン濃縮物4種、鍋残渣から、HCA を固相抽出して精製し、HPLC および GC-MS により分析した。極性 HCA は、動物および動物+野菜混合物起源の試料にのみ検出された。一方、非極性 HCA は、動物、動物+野菜混合物、および純粋に野菜起源の試料で同定された (Solyakov *et al.*, 1998、次表参照)。

プロセスフレーバー、プロセスフレーバー原料、ブイヨン濃縮物、鍋残渣の HCA 量

HCA	検出量
極性 HCA	
IQ	1 サンプル中、3.4 ng/g
IQx	2 サンプル中、0.7-2.0 ng/g
MeIQx	4 サンプル中、1.0-13.8 ng/g
PhIP	2 サンプル中、痕跡量
MeIQ	検出されず
非極性 HCA	
A- α -C	1 サンプル中、0.4 ng/g
MeA- α -C	1 サンプル中、20.3 ng/g
Trp-P-1	2 サンプル中、1.4-1.7 ng/g
Trp-P-2	2 サンプル中、痕跡量
共変異原性 HCA	
ハルマン	17 サンプル中 15 サンプルで同定、3.3-755 ng/g
ノルハルマン	17 サンプル中 16 サンプルで同定、1.2-176 ng/g

(出典 : Solyakov *et al.* 1998 Food and Chemical Toxicology 37(1):1-11)

6. 測定方法と検出限界値

直火焼き魚中の Trp-P-2 はガスクロマトグラフィ質量分析により定量された (Yamaizumi *et al.*, 1980)。

Trp-P-1 および Trp-P-2 を酸-塩基分配クロマトグラフィーおよびシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製し、メタノールに溶解して TS-LC-MS (Thermospray liquid chromatographic-mass spectrometry) により定量した。 (Milon, H. *et al.*, 1987)

ポーク、ヒレのフライ、ポークチョップのロースト、ミートローフのローストの非極性 HCA は、固相抽出し精製した後、GC-MS により検出された。Trp-P-1、Trp-P-2、A- α -C、および MeA- α -C について 8 ng/g までの量が検出された。クロマトグラフィー効率は高く、一回の注入は 0.1-2 ng の範囲で分析された (Skog, Kerstin, *et al.*, 1998)。

7. 現行規制等

該当情報なし

II. 食品中での生成要因

1. 生成に影響を及ぼす要因とその程度

Trp-P-2 は、トリプトファン熱分解で得られたタールから単離された (Kosuge *et al.*,

1978; Kasai *et al.*, 1979)。またカゼインの熱分解生成物から単離され (0.75 mg/kg)、グルテンの熱分解生成物からも単離された (0.20 mg/kg) (Uyeta *et al.*, 1979)。

2. 参考

雄 Sprague-Dawley ラット (体重 180-200 g) 6 匹に、75 本分のフィルター付きタバコから排出される煙を連続 8 日間全身に暴露させ、肝臓、肺 S12 画分を用いて *Salmonella* の変異原性が評価された。タバコ煙を暴露されたラットは、疑似暴露ラットに比べて、有意な代謝変化があった。顕著な例として、肺中の aryl hydrocarbon hydroxylase の誘導が 2.6 倍、肝臓中の ethoxyresorufin deethylase の誘導が 8 倍高まり、肝臓代謝活性の顕著な刺激がみられた。この現象は、N-acetyl-L-cystein をラットに経口投与することによって阻害された。全体的に、モニターした生化学的評価項目と変異原性との間の相関性は乏しかった。(Bagnasco M *et al.*, 1992)

浄水酸化処理時の副生物や水環境中の Trp-P-2 をブルーレーヨン濃縮し、umu 試験による遺伝毒性の検出が行われた。し尿原水と 2 次処理水はともに芳香族アミンに起因する濃度依存的遺伝毒性を示した。原水中には食品由来の Trp-P-2 が存在していた。汚泥処理後の水の中にも毒性が残存しており、2 次処理水中で 9.6 ng/L の Trp-P-2 が MS で同定された。また、毒性値の高い河川水中に 1~10 ng/L の Trp-P-2 が検出された。この都市河川水の毒性は、前塩素処理、オゾン活性炭処理によってほぼ消滅できた。Trp-P-2 濃度は、し尿処理場試料で数百 ng/L、下水処理場流入水で数十 ng/L、処理水で数 ng/L であった。し尿処理場試料水、下水処理場処理水に対する溶解性 Trp-P-2 の寄与率は十数%以上と高かった。試算した Trp-P-2 の発がんリスクは、し尿処理場試料水、下水原水でのリスクが 10^{-6} を越え、管理の必要性が示唆された。(Mori, Shino, 2002)

Ⅲ. 代謝 (体内運命)

1. 吸収

該当情報なし

2. 分布・蓄積

該当情報なし

3. 代謝

ラット肝臓(in vitro)のミクロソーム中の主な Trp-P-2 の代謝産物は、3-ヒドロキシアミノ誘導体、ニトロソ誘導体であった。これらの代謝産物産生はシトクロム P-450 依

存性酵素によるもので、ラットをあらかじめポリ塩化ビフェニルまたはメチルコラントレンで処理することにより増加した。(Yamazoe *et al.*, 1980)

グルタチオン抱合による活性化および解毒作用について、生体外での試験が行われている。Trp-P-2 および NO-Trp-P-2 は速やかに非酵素的にグルタチオンと反応し、N-OH-Trp-P-2 と少量のグルタチオン抱合体を形成した。N-OH-Trp-P-2、NO-Trp-P-2 とも *S. typhimurium* TA98 に対する強力な変異原性物質であった。一方、N-OH-Trp-P-2 のグルタチオンとの反応は非常に遅かったが、少なくとも 3 種のグルタチオン抱合体が形成された。N-OH-Trp-P-2 を含む抱合体の一つは、N-OH-Trp-P-2 自身よりも強力な変異原性物質であった。残りの 2 つの抱合体は、変異原性活性はなかった。(Saito, Kazuki *et al.*, 1983)

CHO 細胞中、ハムスターの S9 ミクロソーム分画の存在下で、Trp-P-2 および IQ の代謝物は、用量依存的に DNA に結合した。(Brookman, Kerry W. *et al.*, 1985)

サルモネラ菌と単離した肝細胞を混合した系において、Trp-P-2 および IQ の活性化代謝は、cytochrome P-448 依存性の N-hydroxylation が第一ステップである。そのため、cytochrome P-450 系の代謝活性酵素の活性や組成を変える薬物により、Trp-P-2 および IQ の生体内での毒性や発がん性が大きな影響を受けると考えられている。(Hayashi, Satoru, 1989)

4. 排泄

該当情報なし

5. 毒性発現メカニズム

Trp-P-2 は、ラット肝ミクロソームによる活性化なしに、DNA に非共有結合した (Pezzuto *et al.*, 1980; Shishido *et al.*, 1980)。

Trp-P-2 は、ポリ塩化ビフェニル処理ラットの肝ミクロソームまたは肝の S9 (9000 ×g 遠心上清) 存在下で、子ウシ胸腺 DNA に共有結合し (Hashimoto *et al.*, 1978; Nemoto *et al.*, 1979, Pezzuto *et al.*, 1980)、塩基付加体は 8C グアニル Trp-P-2 と同定された (Hashimoto *et al.*, 1979)。

再構成したシトクローム P450 系によって生成した N-ヒドロキシ-Trp-P-2 は、酵素添加や活性化処理なしに子ウシ胸腺 DNA と共有結合した。(Mita *et al.*, 1981) 子ウシ胸腺 DNA との共有結合は、N-ヒドロキシ-Trp-P-2 の無水酢酸によるエステル化後に急速に起こった (Hashimoto *et al.*, 1980)。

ATP および L-セリンの存在下で、セリル tRNA 合成酵素が N-ヒドロキシ Trp-P-2 を活性化して DNA との共有結合を高める (Yamazoe *et al.*, 1981a)。

Trp-P-2 のウシ血清アルブミンへの共有結合は、過酸化水素存在下でミエロペルオキシダーゼにより媒介される (Yamada *et al.*, 1980)。

Trp-P-1 および Trp-P-2 による、モノアミンオキシダーゼ (MAO)、チロシンヒドロキシダーゼ (TH)、トリプトファンヒドロキシラーゼ (TRH) 活性の阻害が確認された。Trp-P-2 は、タイプ A およびタイプ B の MAO を基質に対して阻害し、タイプ A に対する最も強い阻害剤であった。HCA はタイプ B MAO よりもタイプ A MAO をより強く阻害した (次表参照)。TH 活性は、10 μM の Trp-P-1 を培地に添加することにより著しく減少した。L-チロシンに関する K_m 値は変化がなかったが、 V_{max} は有意に減少し、阻害が基質に対して非拮抗的であることを示した。また、Trp-P-1 と Trp-P-2 は、TRH 活性を L-トリプトファンに対して拮抗的に阻害し、それぞれの K_i はそれぞれ 99.6、41.7 μM であった。これらの結果から、食物由来 HCA は、生体アミンの生合成と代謝を阻害することにより、脳内モノアミン量を乱すことが示唆された。(Maruyama, W *et al.*, 1994)

MAO-A, MAO-B の活性に対する HCA の阻害定数 K_i

化合物	MAO-A	MAO-B
	$K_i(\mu\text{M})$	$K_i(\mu\text{M})$
Trp-P-1	1.76	36.9
Trp-P-2	0.84	137
MeA- α -C	27.1	166
A- α -C	78.7	557*
Glu-P-1	97.1	107
Glu-P-2	72.5	46.5
IQ	164	454*
MeIQ	250	313*
MeIQx	183	242*
PhPI	173	143+
K_m for kynuramine (μM)	46.4	80.4
V_{max} for kynuramine	0.81	3.52

*: キヌラミンに対して非拮抗的阻害、他の化合物は拮抗的阻害。

ラット CYP 1A1 は HCA を最終的な活性化型に代謝するが、ヒト CYP 1A1 も、ED50 値、飽和レベル、酵素活性の初期段階での V_{max}/K_m 値、代謝活性化能、の各々に関してラットとほぼ同等であることが、CYP 1A1 および NADPH-CYP-酸化還元酵素を

同時に発現している組み換え酵素細胞を使って確認された。また、ヒトとラットの CYP 1A1 は、Trp-P-2、IQ、PhIP に対して同等の選択性があり（下表参照）、フラボノイドのような阻害剤に対しても同等の親和性を示した。(Kanazawa, Kazuki *et al*, 1999)

	human CYP1A1 on			rat CYP1A1 on		
	Trp-P-2	IQ	PhIP	Trp-P-2	IQ	PhIP
Mutagenicity Productiona						
ED ₅₀	0.091	0.75	4.0	0.093	0.13	3.8
saturation level	0.29	2.5	15	0.26	0.64	12
Km	0.19	1.5	3.3	0.58	1.2	28
Vmax	1.2	1.9	0.25	12	0.38	0.96
Vmax/Km	6.3	1.3	0.076	21	0.32	0.034
N-Hydroxylation						
ED ₅₀	3.0	48	3.9	2.8	18	3.1
saturation level	11	160	13	9.1	58	11
Km	4.5	34	3.1	10	12	1.5
Vmax	2.2	2.4	14	39	12	22
Vmax/Km	0.49	0.071	4.5	3.9	1.0	15

HCA の代謝活性は、CYP1A による N-酸化からヒドロキシルアミンが生成される過程の後、NAT による O-アセチル化から N-アセトキシアシルアミンの生成により起こることが示された。4 種のネズミチフス菌株 DJ400 (NAT1 発現株)、DJ460 (NAT2 発現株)、TA1538, TA1538/1,8-DNP (O-アセチルトランスフェラーゼ欠損株) と 9 種の HCA で復帰突然変異試験が行われ、ほとんどの物質で TA1538 株より TA1538/1,8-DNP 株において低い変異原性を示したことから、O-アセチルトランスフェラーゼはヒドロキシアミンをアセチル化により変異原性を増大していると考えられた。また、NAT2 発現 DJ460 株でほとんどの物質を O-アセチル化し、NAT1 発現 DJ400 株は、O-アセチル化しなかった。N-ヒドロキシ-Glu-P-1 と N-ヒドロキシ-Glu-P-2 のみは DJ400(NAT1)によって活性化されたが、NAT2 仲介より低いレベルであった。以上のように、NAT1 ではなく NAT2 が、多くの HCA の代謝活性化に強く関与していた。ただし、PhIP と Trp-P-2 は、4 種類の株でほぼ同じ値であり、NAT2 非依存的な突然変異原性を形成していた（下表参照）。(Wild D *et al*, 1995)

物質	変異原性 (rev/nmol)			
	TA1538	TA1538/1,8-DNP	DJ400	DJ460
		- O-アセチルトランスフェラーゼ	+NAT1	+NAT2
IQ	39,400	<400	<500	86,500
MeIQ	396,000	<1000	<2000	196,000
MeIQx	43,100	<200	260	21,300
PhIP	396	329	195	273
Glu-P-1	9,300	303	2,700	40,700
Glu-P-2	203	8.8	41.9	1,134
Trp-P-2	7,300	7,410	2,960	6,360

HCA を発がん性物質に活性化するヒト酵素、CYP1A2、NADPH シトクロム P450 酸化還元酵素、NAT2 を発現する酵母株を作製し、異なる濃度の HCA を 4 時間暴露し、組み換え体を検出して、遺伝子変換、染色体転座、内在 URA3 の正変異 (forward mutation) を観察した。Trp-P-2 の遺伝毒性は低く、有意ではないが NAT2 非依存的な組み換えの増加がみられた。また、強い細胞障害 (細胞毒性) 反応を示した。URA3 変異頻度は MeIQ と Trp-P-2 は NAT2 や CYP1A2 の存在の有無にかかわらず、有意ではないわずかな増加が見られた。(Paladino, Giuseppe *et al*, 1999)

ヒトチトクローム P4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 とヒト NADPH-P450 還元酵素と細菌 O-アセチルトランスフェラーゼを発現している umu 試験のサルモネラ菌株を作製し、感度よく HCA の代謝活性化が測定された。ヒトチトクローム P4501A2 を発現させた菌株で Trp-P-1、Trp-P-2、PhIP、MeIQ、MeIQx、Glu-P-1、IQ、Trp-P-2 が高い代謝活性を示した。Trp-P-1、Trp-P-2 はヒトチトクローム P-4501A1、1A2、1B1、2C9、2D6、2E1、3A4 のすべてのタイプで活性化された。(Yoshimitsu, Oda *et al*, 2001)

NMRI マウス雄 (8 週齢) 平均体重 31g に、50%エタノールに溶解 HCA40mg/kg b.w. をそれぞれ 3 日連続で 3 回経口投与した。3 回目の経口投与の後 24 時間後に屠殺し、肝臓を取り出し、DNA を解析した。投与した 14 種類の HCA のうち、Glu-P-2 以外の 13 種類を投与したマウス肝臓で DNA 付加体が検出された。DNA 付加体が最も多かったのは、Trp-P-2 (199.5±10.3/108 NN)であった。これらの値と米国人とスウェーデン人の日常摂取量を掛け、相対危険度指標(RRI)を算出した。最高値は A-α-C で RRI=27693 であり、PhIP (RRI=3254)の 9 倍、MeIQx(RRI=1921)の 14 倍であった。(Baranczewski, P. *et al*, 2004) Glu-P-2_14

IV. 疫学調査（ヒトへの影響）

ヒトに対する毒性データは得られなかった。

Tri-P-2 の発がん性に対する症例報告や疫学研究の情報は得られなかった。

1. 急性毒性

該当情報なし

2. 慢性毒性

該当情報なし

3. 発がん性

該当情報なし

4. 次世代影響

該当情報なし

V. 実験動物に対する毒性

1. 急性毒性試験

LD50 値は、得られなかったが、Trp-P-2 の急性毒性は Trp-P-1 とほぼ同じであると報告されている。

Trp-P-2 は、マウス、ラット、ハムスターへの皮下注射により、局所炎症反応を引き起こした(Ishikawa *et al.*, 1979)。

2. 反復投与毒性試験

該当情報なし

3. 生殖・発生毒性試験

該当情報なし

4. 遺伝毒性試験

Trp-P-2 は、*Salmonella typhimurium* TA98 および TA100 に対して、ポリ塩化ビフェニル誘導ラット肝 S9 (9000×g 上清) 存在下で、強い変異原性を示した (Nagao *et al.*, 1980)。試験を行った全ての哺乳動物種において、N-ヒドロキシル化が Trp-P-2 の変異原への代謝活性化ステップに必須であることが示された (Yamazoe *et al.*, 1980; Mita *et al.*, 1981; Yamazoe *et al.*, 1981a b)。

また、*Salmonella typhimurium* TA98 に対して、1 位のメチル基は変異原性を増加させるが、4 位のメチル基は減少させることから、Trp-P-2 は Trp-P-1 より強力な変異原であった。さらに、1 位のメチル基を長鎖アルキル基、ベンジル基、フェニル基に置換すると Trp-P-2 の変異原性は減少した (Nagao *et al.*, 1980)。

Trp-P-2 は、*Salmonella* を用いた試験で、ウシ肝カタラーゼおよび西洋ワサビペルオキシダーゼのような酸化剤の処理により酸化され、変異原性を示さなくなった(Yagi, 1979; Yamada *et al.*, 1979)。

Trp-P-2 は、3-メチルコラントレン誘導したラットの肝ミクロソームの存在下で、*S. typhimurium* TM677 を用いた 8-アザグアニン抵抗性への正突然変異試験において変異原性を示した (Pezzuto *et al.*, 1981)。また、チャイニーズハムスター肺線維芽細胞では、ミクロソーム活性化系の存在下でジフテリア毒素抵抗性変異を誘発した (Terada *et al.*, 1982)。フィトヘマグルチニンで刺激したヒトリンパ球、チャイニーズハムスター Don-6、チャイニーズハムスター B-131 細胞においては、外因性の代謝活性化なしに

染色体異常と姉妹染色分体交換を誘発した (Sasaki *et al.*, 1980)。ヒトリンパ芽球様細胞の永久細胞株においては、ミクロソーム酵素による代謝活性化後、姉妹染色分体交換を誘発した (Tohda *et al.*, 1980)。

シリアンゴールドデンハムスター胚細胞において、一次培養細胞の形態転換を誘発した。変化した細胞は若いハムスターの頬袋に移植すると腫瘍を形成した。(Takayama *et al.*, 1977、1978)

Trp-P-2 または IQ の DNA 付加体の、ハムスターの S9 ミクロソーム分画の存在下での CHO 細胞中における遺伝毒性が測定された。50%細胞致死量は、IQ が Trp-P-2 に比べて 15 倍多かったが、この用量での DNA 付加体量は、Trp-P-2 が約 10 倍多かった (下表参照)。(Brookman, Kerry W. *et al.*, 1985)

	添加量 (μM)	生菌数	付加体/ 10^6 ヌ クレオチド	変異/遺 伝子座	付加体/遺 伝子座	変異/付加 体
Trp-P-2	4.3	0.94 \pm 0.08	7.5 \pm 1.3	5.5	0.015	0.035
	8.6	0.59 \pm 0.08	29 \pm 5	19	0.058	0.036
	12.8	0.04	47			
IQ	66	0.93 \pm 0.06	1.9 \pm 0.03	~1	0.004	0.004
	132	0.45 \pm 0.03	3.5 \pm 0.20	1.3	0.007	0.0036

7 週齢の雄の CD-1 マウス 4 匹を 1 週間順化した後、腹腔内に 5 種類の 13 mg/kg i.p のへ Trp-P-2 を投与し、1, 3, 8 時間後に屠殺した。マウスの各臓器 (組織) 中の DNA 損傷を、アルカリ単細胞ゲル電気泳動法 (Comet 法) を使用して調べたところ、小腸 (十二指腸、空腸、回腸) や膀胱に対する遺伝毒性はなかったが、胃の DNA に損傷を与えた。ラットの死亡、病気、特有な臨床症状は惹起しなかった。(Sasaki, Yu F *et al.*, 1998)

マウスの各臓器 (組織) 中の DNA 損傷を、アルカリ単細胞ゲル電気泳動法 (Comet 法) を使用して調べた。10 週齢の LacZ トランスジェニックマウス CDF1(BALB/cxDBA/2F1)の雄 5-7 匹に、PhIP、IQ、MeIQ、Trp-P-2 をそれぞれ 5 日間経口投与。対照群には同量のコーンオイルを 5 日間与えた。最終の経口投与から 2 週間後に小腸、盲腸、大腸から粘膜上皮を単離し、DNA を抽出。LacZ、cII 遺伝子の変異頻度と変異部位を解析したところ、Trp-P-2 投与による優位な変異頻度の増加は検出されなかった。(Itoh, Toshiaki *et al.* 2003)

5. 発がん性試験

<経口投与>

7 週齢の CDF1 マウスのオス 40 匹、メス 40 匹に、Trp-P-2 acetate (純度 >99.5%)を

200mg/kg 含む餌ペレットを 621 日間与えた。基礎食を与えたオス 40 匹とメス 40 匹のマウスのグループを対照群とした。402 日に最初の肝腫瘍が検出され、その時生存していたマウスは、実験群でオス 25 匹、メス 24 匹、対照群でオス 25 匹、メス 24 匹であった。肝腫瘍は、Trp-P-2acetate 餌を与えたオスのマウスで 4/25 (16%)、メスで 22/24 (92%)に見られ、対照群ではオス 1/25 (4%)で見られた。肝腫瘍の増加は投与群のメスで統計的に有意であった ($p<0.001$)。最も多い肝腫瘍は肝細胞がん (メス 22 匹、オス 3 匹) であり、対照群に見られた肝腫瘍は血管腫であった。(Matsukura *et al.*, 1981)

5 週齢の同系交配 ACI ラットのオス 10 匹、メス 10 匹に対して 100mg/kg の Trp-P-2 acetate (純度>99%) を含む餌を 870 日間与えた。投与開始後 400 日以前にメス一匹が死亡した。666-870 日でメス 1 に肝臓の血管内皮腫、6 匹に肝腫瘍結節が生じた。基礎食を与えた対照群のオス 30 匹、メス 30 匹のラットでは、オスメス共に肝腫瘍は見られなかった。投与群メスの肝腫瘍発生率は対照群メスと統計的に異なっており ($p<0.001$)、オスメスの発生率には有意な性差があった ($p<0.01$)。(Hosaka *et al.*, 1981)

6~7 週齢の CDF1 マウス[(BALB/cAnN×DBA/2N)F1]雄雌に 0.02%Tri-P-2 を混餌投与し、死亡または瀕死状態で組織を観察した。試験期間 402-621 日で結果が得られた雄 25 匹、雌 24 匹のマウスのうち、雄 4 匹 (16%)、雌 22 匹 (92%) に肝腫瘍が確認され、そのうち雄 1 匹、雌 2 匹に肝細胞腺腫 (HA)、雄 4 匹、雌 14 匹は肝細胞がん (HCC) であった。血管腫は見られなかった。(Ohgaki, Hiroko *et al.*, 1986)

6 週齢の雄雌 F344 ラットに、Trp-P-1(0.003%)、Trp-P-2(0.004%)、Glu-P-2(0.01%)、A- α -C(0.016%)、IQ(0.006%)の低濃度量 (それぞれ単独投与実験で使用した量の 1/5) を混合して、混餌投与した。ラットの体重は、対照ラットの体重よりも 10%減少し、平均寿命も短かった。ラット雄雌共に、肝、大腸、Zymbal gland に、また雄のみ皮膚に、雌にのみ陰核 gland にそれぞれ腫瘍がみられた。腫瘍は対照に比べかなり高い頻度で発生している (下表参照)。(Takayama, Shozo *et al.*, 1987)

群	性	ラット数	腫瘍を発生したラット数							
			肝	小腸	大腸	Zymbal gland	皮膚	包皮腺	陰核腺	その他
5 種 HCA	雄	51	42	4	14	7	21	6	-	35
	雌	51	33	1	9	9	2	-	20	23
対照	雄	50	2	0	0	0	0	2	-	39
	雌	50	0	0	0	0	0	-	0	12

(出典 : Japanese Journal of Cancer Research, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.)

5 週齢の Fischer ラット 180 匹 (雄 90 匹、雌 90 匹) の、雄雌それぞれ 30 匹に 0, 30, 100ppm の Trp-P-2 を含む食餌 (powder diet) を 112 週間与えた。112 週目に屠殺し、血液学的検査、各臓器・組織所見を記録し、体重を測定した。オス群では肝臓、膀胱、乳腺で、メス群では乳腺、造血系、陰核腺での新生物病変の発生が有意に増加していた。Trp-P-2 で惹起された腫瘍は、組織学的には、肝細胞がん、膀胱の移行上皮がん、乳腺の繊維腺腫・繊維腫、悪性リンパ腫、陰核腺腫瘍、腺がんであった。これらの結果から、Trp-P-2 は、多臓器をターゲットとする発がん性物質であり、また、膀胱も HCA による発がんターゲットとなる臓器であることが示された。(Takahashi, Michihito *et al*, 1993)

<皮膚への塗布>

8 週齢のメスの ICR マウス 20 匹の皮膚の肩甲骨部に、0.4 % Trp-P-2 アセトン溶液を週 3 回 6 ヶ月間塗布した。マウス 20 匹の対照群にはアセトンのみを塗布した。実験開始から 12 ヶ月後にマウスを剖検したが、Trp-P-2 処理群にも対照群にも著明な変化は見られなかった (Ishikawa *et al.*, 1979)。 (皮下投与と観察の期間が短かったと注釈されている。)

3 週齢の雄のゴールデン・ハムスター 30 匹を 6 群 (A~F 群各 5 匹) に分け、各グループとも舌尖端を 2mm 程度切除した。切除後 4 週間、週 3 回の割合で創傷部に 1% Trp-P-2 または IQ を塗布した後、再度舌尖を 2mm 切除し、その後と殺時まで同様に 2 週間、週 3 回の割合で塗布した。対照群 (純水塗布) では異形成のない過角化を示したのに対し、Trp-P-2、IQ いずれも上皮異形成を示した。(Saito, Takashi *et al*, 1994)

<皮下注射>

8 週齢のオス、メス各 10 匹のフィッシャーラットに、Trp-P-2 を 1.5 mg 含むオリーブ油 0.1 mL を、1 週間に 1 度 20 週間皮下注射した。同数の対照群ラットにはオリーブ油のみを注射した。最初の注射後 10 ヶ月で解剖した結果、実験群および対照群のラットに腫瘍の生成は見られなかった (Ishikawa *et al.*, 1979)。 [皮下投与と観察の期間が短かったと注釈されている。]

8 週齢のシリアンゴールデンハムスターのオス、メス各 10 匹に、Trp-P-2 を 1.5 mg 含むオリーブ油 0.1 mL を、1 週間に 1 度 20 週間皮下注射した。同数の対照群ハムスターにはオリーブ油のみを注射した。最初の注射後 10 ヶ月で剖検したが、生存していた実験群個体 (オス 3 匹、メス 6 匹) および対照群個体 (オス 8 匹、メス 9 匹) のいずれでも腫瘍は観察されなかった (Ishikawa *et al.*, 1979)。 [皮下投与と観察の期間が短かく、動物の生存数が少なかったと注釈されている。]

<膀胱への埋め込み>

ddy マウス（体重 18g）のメス 34 匹の膀胱に 5%Trp-P-2 含有パラフィン小粒を埋め込んだところ、埋め込み後 40 週の生存マウス 22 匹のうち 5 匹（22.7%）に膀胱がんが発生した。パラフィン小粒のみを埋め込んだ対照マウス（メス 55 匹）では 36 匹の生存個体のうち 1 匹（2.7%）に膀胱がんが見られた（ $P < 0.025$ ）。（Hashida *et al.*, 1982）

6. 特殊毒性試験（神経毒性、免疫毒性等）

該当データなし。

VI. 諸外国等の評価およびその根拠並びにリスク管理措置

1. 国際機関等の評価

(1) 国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer, IARC）

実験動物について、Trp-P-2 の発がん性に関する十分なエビデンスがある。しかし、ヒトに対しては情報が得られなかった。

2. 国際機関等のリスク管理措置

(1) 米国国立がん研究所（National Cancer Institute）

2004 年にファクトシートが公開されている。肉を高温で調理することにより発がんリスクを持つ化学物質が新たに生成すること、より高温で調理した牛肉を食した人は胃がんになるリスクがより高いことについての研究報告について紹介され、米国の平均的食生活における HCA の摂取量や発がんリスクの評価基準やガイドラインはまだないが、調理の前に肉を電子レンジで処理したり、肉汁でソースを作るのを差し控えるなど、調理法を変えることにより、HCA の暴露を軽減することができるとしている。

(NCI, 2004)

(2) 米国農務省（U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service）

2006 年に「News & Events」として、肉を食する時に細菌感染に払う注意と共に、高温調理では発がん性物質の HCA の生成が高くなることに注意するよう呼びかけ、HCA の生成や摂取を減らす方法を紹介している。（USDA, 2006）

(3) 英国食品基準庁（Food Standards Agency）

消費者がより健康的な食生活を送るための情報提供として、ホームページの「Eat well, be well」の Q&A の項で「焼きすぎた肉には発がん性があるのでしょうか」という質問に対して、調理肉や肉製品では過剰な調理や直火焼きの時に、ポリ芳香族炭化

水素化合物 (PAHs) や HCA のような発がん性化学物質が生成すると紹介している。また、これらの発がん性物質の生成を減少させる方法として、脂肪の無い赤みの肉、魚を選ぶこと、バーベキューなどの調理の際には炎が直接肉に触れないようにすること、より低温で長時間調理するなどについても言及している。(FSA)

Ⅶ. 相互作用

1. ヘテロサイクリックアミン同士の相互作用

6週齢の雄 F344 ラットにジエチルニトロソアミンを 200 mg/kg 投与 2 週間後、HCA 混合または単独混餌を 6 週間投与。混餌は、5 種の HCA 発がん量の 1/1、1/5、1/25 量、または、10 種の発がん量の 1/10、1/100 量。3 週後に肝臓の 2/3 を切除してスライスを作製し、胎盤型グルタミン S-トランスフェラーゼ発現を免疫組織学的に調べた。その結果、低用量で混餌した群に、HCA 同一量を個々に混餌投与した群より、グルタミン S-トランスフェラーゼ陽性の前がん状態病変が増加した。この見かけの相乗効果は、10 種の HCA を各 1/10 量ずつ混餌投与した場合が最も顕著であった。真の相乗効果は、PhIP および Trp-P-2 を含む HCA 混合投与群でみられた。これらは非肝がん誘発性であるが、CYP1A2 を誘発するためであると考えられた。(Hasegawa, R. *et al*, 1997)

また、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-1、Glu-P-2、MeIQ、IQ の混合物を、*Salmonella typhimurium* A98 には変異原性を示すが野生型の TA1978P には示さない濃度で投与したところ、複合投与による有意差のある復帰突然変異の増加が見られた。この結果から、環境中の変異原性物質は複雑に混合された状態で存在するため、このような加法的作用について検討する必要があると指摘されている (Ohta T 2006)。

2. その他の物質との相互作用

クロロフィルの水溶性塩であるクロロフィリンについて、HCA の変異原性に対する影響を、サルモネラ TA98 株を使用した S9 存在下で調べたところ、クロロフィリンと HCA のモル比 ($MR50 = [CHL]/[HA]$ at I50) と変異阻害に相互関係があった。クロロフィリンが HCA と直接相互作用し、錯体形成することによってその発がん性や変異原性を阻害していると考えられた。(Dashwood R *et al*, 1993)

また、銅クロロフィリンの HCA に対する抗変異原性効果が、ショウジョウバエ幼虫への給餌による wing spot (体細胞突然変異性) 試験と DNA 修復試験で検出され

た。Wing spot 試験では、Trp-P-1 および Trp-P-2 においてクロロフィリン存在下で変異原性の低下が見られ、IQ では低下は検出されなかった。IQ、MeIQx は雄ショウジョウバエの 90%に致死をもたらす変異原性を示し、他の物質もきわめて高い DNA 損傷をもたらしたが、クロロフィリンは MeIQx の変異原性を完全に抑制し、Trp-P-1 および Trp-P-2 の変異原性も抑制した。A- α -C、MeA- α -C に対する抑制は見られなかった。クロロフィリン結合セファロースを混餌した場合、Trp-P-2 の wing spot (体細胞突然変異) 形成を阻害した。これらのクロロフィリンによる変異原性の抑制機構として、平面構造をとる多環式化合物がクロロフィリンと複合体を形成することが考えられた。(Negishi T *et al*, 1994)

HCA により S9 存在下で誘導された変異原性に対する、脂溶性抗酸化物質 1-O-hexyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(HTHQ)、没食子酸プロピル (Propyl Gallate)、BHA (butylated hydroxyanisol)、BHT (butylated hydroxytoluene)、 α -トコフェロール、1-O-alkyl-2,3,5-トリメチルヒドロキノン(THQ)のメチル、エチル、ブチル、ヘキシル誘導体の効果がエームス試験で検討された。HTHQ は 20 μ g/plate 量で、Trp-P-2 の変異原性を 63%抑制した。THQ 誘導体では、Glu-P-1、Trp-P-2、IQ 誘導変異原性に対して、アルキル鎖の長さに比例して抗変異原性活性が高くなった。(Hirose M *et al*, 1995)

フェニルイソチオシアネート (PITC)、ベンジルイソチオシアネート (BITC)、フェネチルイソチオシアネート (PEITC)、フェニルプロピルイソチオシアネート (PPITC) を用い、ゴールデンハムスターの肝ミクロソーム存在下、Salmonella typhimuriumTA98 株を用いて変異原性を調べたところ、ベンゾイルイソチオシアネートが Trp-P-2 が惹起する変異原性を用量依存的に阻害した。この阻害は、チトクローム P-450 1A1 および 1A2 の阻害と相関性があった。この結果から、イソチオシアネートがヒト発がんに対して化学的予防効果があることが示唆された。(Hamilton, Solomon M. *et al*, 1996)

タイの薬草ローゼル抽出液の抗変異原作用は、IQ、MeIQ、MeIQx、PhIP、Trp-P-1、Trp-P-2、Glu-P-2、A- α -C、MeA- α -C の変異原性を用量依存的に減少させた。ローゼル抽出液 12.5 mg/plate において、抗菌活性を出すことなく変異原性を 60~90%減少させた。また、ローゼル 1.0 g/kg wt 濃度の時、PhIP 誘発の異常腺窩巢形成が 22%減少した。(Chewonarin T *et al*, 1999)

天然のアントラキノン色素であるプルプリンの、HCA (Trp-P-2、Trp-P-1、MeIQ、IQ、Glu-P-1) に対する変異原性抑制機構を、サルモネラ菌 TA98 を使った Ames test を用いて解析した結果、Trp-P-1、Trp-P-2 に対して 90%以上が、MeIQ、IQ、Glu-P-1 では 60%以上が抑制された。Trp-P-2(NHOH)に対する抑制機構を、アセチルトランス

フェラーゼ欠損株、S9の有無、CYP1A2とNADPHチトクロームP450還元酵素とO-アセチル転換酵素を発現しているサルモネラ菌TA1538AROを使い、Ames testで解析した結果、抑制はモル濃度に比例しており、抗変異原性物質であるEGCG、クロロフィリンと同等の抑制効果を示した。また、pH5.0よりpH7.4で強く抑制され、アセチルトランスフェラーゼ欠損株を用いた場合でも抑制された。S9の有無に関わらず抑制はおこったが、S9非存在下の方が強く抑制された。TA1538AROを用いたAmes testでは、CYP1A2の分解とNADPHチトクロームP450還元酵素の抑制が見られた。これらの結果から、プルプリンの変異原性抑制は、中性で、ヒドロキシアミンに作用すること、それはCYP1A2とNADPHチトクロームP450還元酵素の働きの抑制によることが示唆された (Marczylo *et al.* 1999)。

ビタミンとその関連物質の抗変異原効果が、S9 mix存在下、*Salmonella typhimurium* TA 98株、およびTA 100株を用いてAmes testにより行われた。Riboflavin、Riboflavin 5'-phosphate、FAD、Vitamin K1、Vitamin K3、Vitamin K4、1,4-Naphtho-quinone、Coenzyme Q10、Retinol、Retinalに効果が見られた。Riboflavin 5'-phosphate (10, 100, 200, 300, 1000 nmol/test)はNADPH依存チトクロームP-450 reductaseを濃度依存的に最大82.5%増強し、FADは64.9%増強した。(Edenharder R *et al.*, 1999)

4種類のビール(ピルスナータイプ2種、黒ビール、スタウトビール)のHCA群に対する抗変異原作用が評価された。Ames testでは、ラットS9存在下のMeIQx、PhIP、Glu-p-1、Trp-P-2、IQ、S9非存在下の活性化IQ、およびヒトS9存在下MeIQxに対して、ビールサンプルは抗変異原活性を有し、濃色のビールほど、また、ホップ濃度が高いほど、強い抑制効果を示した。また、Chinese Hamster CHL/IU細胞をラットS9存在下、PhIP、Trp-P-2処理で生じた小核に対し、ピルスナービール(凍乾再溶解液10%)およびスタウトビール(凍乾再溶解2倍希釈を10%)による有為な抑制が見られた。comet assayでは、ビールサンプルを給水として随意摂取させたマウスにMeIQxを投与して変異誘導したところ、ピルスナー、スタウト両ビール摂取により有意に肝細胞のDNA損傷が抑制された。この肝細胞におけるDNA付加体生成は、ビールサンプル摂取群で有為ではないが抑制が見られた。ACF assayでは、PhIP誘導ACFに対して、ビールサンプル1.2%含有飼料摂取群で大腸あたりのACF数の有為な抑制が見られ、大腸あたりAC数は0.5、1.2%で、1視野あたりAC数は1%で抑制が認められた。CYP1A2活性に対するビールサンプルの効果をMROD活性測定により検討したところ、ブラック、スタウトビール5-10%添加で用量依存的にCYP1A2活性を抑制した。(Nozawa, Hajime *et al.*, 2004)

ミソにはTrp-P-2による肝臓障害を予防する効果を持つ可能性があることが今回初めて示唆された。本実験でミソの代用として用いた成分以外にこの効果があると考えられ、

ラットにおいて抗炎症作用や抗酸化作用を有するイソフラボンがその候補として挙げられる。フィチン酸やリゾホスファチジルコリンなども大豆に含まれており CCl₄ やリポ多糖類による肝臓障害に対する予防効果を有しているとの報告がある (Suzuki H *et al.*, 2008)。

VIII. まとめ

実験動物について、Trp-P-2 の発がん性に関する十分なエビデンスがある。しかし、ヒトに対しては安全性に関する情報が得られていない。

IX. 文献・参考資料

- Abdulkarim, Basira G.; Smith, J. Scott, Heterocyclic Amines in Fresh and Processed Meat Products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (1998) Vol. 46, No. 11, pp. 4680-4687, 1998
- Bagnasco M; Bennicelli C; Camoirano A; Balansky R M; De Flora S, Metabolic alterations produced by cigarette smoke in rat lung and liver, and their modulation by oral N-acetylcysteine, *Mutagenesis*, (1992 Jul) 7 (4) 295-301.
- Baranczewski, P.; Gustafsson, J.-A.; Moeller, L., DNA adduct formation of 14 heterocyclic aromatic amines in mouse tissue after oral administration and characterization of the DNA adduct formed by 2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole (AαC), analysed by ³²P-HPLC, *Biomarkers*, (2004) Vol. 9, No. 3, pp. 243-257.
- Brookman, Kerry W.; Salazar, E. P.; Thompson, L. H., Comparative mutagenic efficiencies of the DNA adducts from the cooked-food-related mutagens Trp-P-2 and IQ in CHO cells, *Mutation Research*, (1985) Vol. 149, No. 2, pp. 249-55.
- Chewonarin T; Kinouchi T; Kataoka K; Arimochi H; Kuwahara T; Vinitketkumnuen U; Ohnishi Y, Effects of roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.), a Thai medicinal plant, on the mutagenicity of various known mutagens in *Salmonella typhimurium* and on formation of aberrant crypt foci induced by the colon carcinogens azoxymethane and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine in F344 rats., *Food and Chemical Toxicology*, (1999 Jun) 37 (6) 591-601.
- Chiu, C. P.; Chen, B. H., Stability of heterocyclic amines during heating, *Food Chemistry*, (1999) Vol. 68, No. 3, pp. 267-272.
- Dashwood R; Guo D, Antimutagenic potency of chlorophyllin in the Salmonella assay and its correlation with binding constants of mutagen-inhibitor complexes., *Environmental and Molecular Mutagenesis*, (1993) 22 (3) 164-71.
- FSA, Eat well, be well Q&A Is overcooked or burnt meat carcinogenic?
<http://www.eatwell.gov.uk/asksam/healthydiet/meatq/?lang=en#A221179>
- Hamilton, Solomon M.; Teel, Robert W., Effects of isothiocyanates on cytochrome P-450 1A1 and 1A2 activity and on the mutagenicity of heterocyclic amines, *Anticancer Research*, (1996) Vol. 16, No. 6B, pp. 3597-3602.
- Hasegawa, R.; Kato, T.; Hirose, M.; Takahashi, S.; Shirai, T.; Ito, N., Enhancement of hepatocarcinogenesis by combined administration of food-derived heterocyclic amines at low doses in the rat, *Food and Chemical Toxicology*, (1997) Vol. 34, No. 11/12, pp. 1097-1101.
- Hashida, C. *et al.*, Induction of bladder cancer in mice by implanting pellets containing tryptophan pyrolysis products. *Cancer Lett.*, 17, 101-105 (1982)
- Hashimoto, Y., Takeda, K., Shudo, K., Okamoto, T., Sugimura, T., & Kosuge, T. Rat liver microsome-mediated binding to DNA of 3-amino-1-methyl 5H- pyrido-[4,3-b]indole, a potent

- mutagen isolated from tryptophan pyrolysate. *Chem.-biol. Interact.*, 23, 137-140 (1978)
- Hashimoto, Y., Shudo, K. & Okamoto, T. Structural identification of a modified base in DNA covalently bound with mutagenic 3-amino-1-methyl 5H- pyrido-[4,3-b]indole. *Chem. Pharm. Bull.*, 27, 1058-1060 (1979)
- Hashimoto, Y., Shudo, K. & Okamoto, TA- α -Ctivation of a mutagen, 3-amino-1-methyl 5H-pyrido-[4,3-b]indole. Identification of 3-amino-1-methyl 5H- pyrido-[4,3-b]indole and its reaction with DNA. *Biochem. biophys. Res. Commun.*, 96, 355-362 (1980)
- Hayashi, Satoru, Genotoxicity and mutagenicity of heterocyclic amines in the Salmonella/hepatocyte system, *Kanazawa Daigaku Juzen Igakkai Zasshi*, (1989) Vol. 98, No. 6, pp. 1248-58
(サルモネラ/肝細胞システムを用いての芳香族アミンの DNA 傷害性と変異原性の検討)
- Hirose M; Iwata S; Ito E; Nihro Y; Takahashi S; Mizoguchi Y; Miki T; Satoh T; Ito N; Shirai T, Strong anti-mutagenic activity of the novel lipophilic antioxidant 1-O-hexyl-2,3,5-trimethylhydroquinone against heterocyclic amine-induced mutagenesis in the Ames assay and its effect on metabolic activation of 2-amino-6-methyldipyrido[1,2-a:3',2'-d] imidazole (Glu-p-1), *Carcinogenesis*, (1995 Sep) 16 (9) 2227-32.
- Hosaka, S., Matsushima, T., Hirono, I. & Sugimura, T. Crinogenic activity of 3-amino-1-methyl 5H-pyrido-[4,3-b]indole (Trp-P-2), a pyrolysis product of tryptphan. *Cancer Lett.*, 13, 23-28 (1981)
- Ishikawa, T., Takayama, S., Kitagawa, T., Kawachi, T., Kinebuchi, M., Matsukura, N., Uchida, E. & Sugimura, T. In vivo experiments on tryptophan pyrolysis products. In: Miller, J.A., Hirono, I., Sugimura, T & Takayama, s., eds, *Naturally Occuring Carcinogens-Mugtagens and Modulators of Carcinogenesis*, Tokyo/Bartimore, Japan Scietific Societies Press/University park Press, pp. 159-167 (1979)
- Itoh, Toshiaki; Kuwahara, Tomomi; Suzuki, Takayoshi; Hayashi, Makoto; Ohnishi, Yoshinari, Regional mutagenicity of heterocyclic amines in the intestine: mutation analysis of the cII gene in lambda/lacZ transgenic mice, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, (2003) Vol. 539, No. 1-2, pp. 99-108
- Kasai, H. *et al*, Fractionation of a mutagenic principle from broiledfish by high-pressure liquid chromatography, *Cancer Lett.*, 7, 343-348 (1979)
- Kosuge, T. *et al*, Isolation and structure studies of mutagenic principles in amino acid pyrolysates, *Chem. Pharm. Bull.*, 26, 611-619 (1978)
- Marczylo H.Timothy; Hayatsu Toshiko; Arimoto-Kobayashi Sakae, Tada Mikio, Fujita Ken-ichi, Kamataki Tersuya, Nakayama Kazuo, Hayatsu Hikoya, Protection against the bacterial mutagenicity of heterocyclic amines by purpurin, a natural anthraquinone pigment, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, (1999) Vol. 444, No. 2, pp. 451-461.
- Maruyama, W.; Ota, A.; Takahashi, A.; Nagatsu, T.; Naoi, M., Food-derived heterocyclic amines, 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole and related amines, as inhibitors of monoamine metabolism, *Journal of Neural Transmission, Supplement*, (1994) Vol. 41, pp. 327-33.
- Matsukura, N. *et al*, Carcinogenicity in mice of mutagenic compounds from a tryptophan pyrolysate., *Science*, 213, 346-347 (1981)
- Mita, S., Ishii, K., Yamazoe, Y., Kamataki, T., Kato, R. & Sugimura, T. Metabolic activation of 3-amino-1-methyl 5H- pyrido-[4,3-b]indole by cytochrome P-450 in the covalent vinding to DNA-A-*Cancer Res.*, 41, 3610-3614 (1981)
- Mori, Shino, Genotoxic risk assessment of noxious chemicals and wastewaters with umu-test, *Kankyo Eisei Kogaku Kenkyu*, (2002) Vol. 16, No. 2, pp. 23-29.
- Nagao, M. *et al*, Mutagenicities of γ -carboline derivatives related to potent mutagens found in tryptophan pyrolysates. *Carcinogenesis*, 1, 451-454 (1980)
- NCI, Heterocyclic Amines in Cooked Meats (2004)
<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Risk/heterocyclic-amines>
- Negishi T; Nakano H; Kitamura A; Itome C; Shiotani T; Hayatsu H, Inhibitory activity of chlorophyllin on the genotoxicity of carcinogens in Drosophila., *Cancer Letters (Shannon, Ireland)*, (1994 Aug 15) 83 (1-2) 157-64.

- Nemoto, N., Kusumi, S., Takayama, S., Nagao, M. & Sugimura, T. Metabolic activation of 3-amino-1-methyl 5H- pyrido-[4,3-b]indole, a highly mutagenic principle in tryptophan pyrolysate, by rat liver enzymes. *Chem.-biol. Intact.*, 27, 191-198 (1979)
- Nozawa, Hajime; Tazumi, Kyoko; Sato, Kaoru; Yoshida, Aruto; Takata, Jun; Arimoto-Kobayashi, Sakae; Kondo, Keiji, Inhibitory effects of beer on heterocyclic amine-induced mutagenesis and PhIP-induced aberrant crypt foci in rat colon, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, (2004) Vol. 559, No. 1-2, pp. 177-187.
- Ohgaki, Hiroko; Hasegawa, Hirokazu; Kato, Tamami; Suenaga, Miki; Ubukata, Mikiyo; Sato, Shigeaki; Takayama, Shozo; Sugimura, Takashi, Carcinogenicity in mice and rats of heterocyclic amines in cooked foods, *Environmental Health Perspectives*, (1986) Vol. 67, pp. 129-34.
- Paladino, Giuseppe; Weibel, Beatrice; Sengstag, Christian, Heterocyclic aromatic amines efficiently induce mitotic recombination in metabolically competent *Saccharomyces cerevisiae* strains, *Carcinogenesis*, (1999) Vol. 20, No. 11, pp. 2143-2152.
- Pezzuto, J.M. *et al*, There is A- α -Correlation between the DNA affinity and mutagenicity of several 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,5-b]indoles. *Proc.natlA- α -Cad. Sci. USA*, 77, 1427-1431(1980)
- Pezzuto, J.M. *et al*, Metabolic activation of 1-methyl-3-amino-5H-pyrido[4,3-b]indole and several structurally related mutagens. *Biochemistry*, 20, 298-305 (1981)
- Saito, Kazuki; Yamazoe, Yasushi; Kamataki, Tetsuya; Kato, Ryuichi, Activation and detoxication of N-hydroxy-Trp-P-2 by glutathione and glutathione Transferases, *Carcinogenesis*, (1983) Vol. 4, No. 12, pp. 1551-7.
- Saito, Takashi, Light and electron microscopic studies on experimental oral epithelial dysplasia produced by wounding and nickel and heterocyclic amines (Trp-P-2, IQ) applications, *Aichi Gakuin Daigaku Shigakkaishi*, (1994) Vol. 32, No. 1, pp. 55-90.
- Sasaki, M. *et al*, Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges induced by tryptophan pyrolysates, Trp-P-1 and Trp-P-2, in cultured human and Chinese hamster cells. *Proc. Jpn. Acad.*, 56B, 332-337 (1980)
- Sasaki, Yu F.; Saga, Ayako; Yoshida, Kumiko; Su, Ying Quan; Ohta, Toshihiro; Matsusaka, Naonori; Tsuda, Shuji, Colon-specific genotoxicity of heterocyclic amines detected by the modified alkaline single cell gel electrophoresis assay of multiple mouse organs, (1998) Vol. 414, No. 1-3, pp. 9-14
- Shishido, k., Tachibana, T. & Ando, T., Enzymatic studies on binding of mutagenic principles in tryptophan pyrolysate to DNA. *Agric. Boil. Chem.*, 44, 1609-1616 (1980)
- Skog, Kerstin; Solyakov, Alexey; Arvidsson, Patrik; Jagerstad, Margaretha, Analysis of nonpolar heterocyclic amines in cooked foods and meat extracts using gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography, A*, (1998) Vol. 803, No. 1 + 2, pp. 227-233.
- Solyakov, A.; Skog, K.; Jagerstad, M., Heterocyclic amines in process flavors, process flavor ingredients, bouillon concentrates and a pan residue, *Food and Chemical Toxicology*, (1998) Vol. 37, No. 1, pp. 1-11.
- Sugimura, T., Nagao, M. & Wakabayashi, K. Mutagenic heterocyclic amines in cooked food. In: Egan, H., Fishbein, L., Castegnaro, M., O'Neill, I.K. & Bartsch, H., eds, *Environmental Carcinogenesis. Selected Methods of Analysis*, Vol. 4, Some Aromatic Amines and Azo-Dyes in the General and Industrial Environment (IARC Scientific Publications No. 40), Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp. 251-267 (1981)
- Takahashi, Michihito; Toyoda, Kazuhiro; Aze, Yoshiya; Furuta, Kyoko; Mitsumori, Kunitoshi; Hayashi, Yuzo, The rat urinary bladder as a new target of heterocyclic amine carcinogenicity: tumor induction by 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole acetate, *Japanese Journal of Cancer Research*, (1993) Vol. 84, No. 8, pp. 852-8.
- Takayama, S. *et al*, In vitro transformation of hamster embryo cells with tryptophan pyrolysis products. *Proc. Jpn. Acad.*, 53B, 126-129 (1977)
- Takayama, S., Hirakawa, T. & Sugimura, T. Malignant transformation in vitro by tryptophan pyrolysis products. *Proc. Jpn. Acad.*, 54B, 418-422 (1978)
- Takayama, Shozo; Nakatsuru, Yoko; Sato, Shigeaki, Carcinogenic effect of the simultaneous administration of five heterocyclic amines to F344 rats, *Japanese Journal of Cancer Research*, (1987) Vol. 78, No. 10, pp. 1068-72.

- Terada, M., Nakayasu, M., Sakamoto, H., Wakabayashi, K., Nagao, M., Rosenkranz, H.S. & Sugimura, T. Mutagenic activity of nitropyrenes and heterocyclic aromatic amines on Chinese hamster cells with diphtheria toxin resistance as a marker amines on Chinese hamster cells with diphtheria toxin resistance as a marker (Abstract no. 3P16). In: Sugimura, T., Kondo, S. & Takabe, H., eds, 3rd International Conference on Environmental Mutagens, Tokyo, 1981, Tokyo, University of Tokyo Press, P.3P (1982)
- Tohda, H., Oikawa, A., Kawachi, T. & Sugimura, T. Induction of sister-chromatid exchanges by mutagens from amino acid and protein pyrolysates. *Mutat. Res.*, 77, 65-69 (1980)
- USDA, How you cook your meat May Affect Your Health (2006)
<http://www.ars.usda.gov/News/docs.htm?docid=10878>
- Uyeta *et al.*, Assaying mutagenicity of food pyrolysis products using the Ames test. In: Miller, E.C. *et al.*, eds, Naturally Occurring Carcinogens-Mutagens and Modulators of Carcinogenesis, Tokyo/Baltimore, Japan Scientific Societies Press/University Park Press, pp.169-176 (1979)
- Yagi, M. *et al.*, Oxidation of tryptophan-P-1 and P-2 by beef liver catalase-H₂O₂ intermediate: Comparison with hoeradish peroxidase. *Cancer Biochem. Biophys.*, 4, 105-117 (1979)
- Yamada, M., Mori, M. & Sugimura, T. Myeloperoxidase-catalyzed binding of 3-amino-1-methyl 5H-pyrido-[4,3-b]indole, a tryptophan pyrolysis product, to protein. *Chem.-biol. Interact.*, 33, 19-33 (1980)
- Yamaizumi, Z., Shiomi, T., Kasai, H., Nishimura, S., Takahashi, Y., Nagao, M. & Sugimura, T. Detection of potent mutagens, Trp-P-1 and Trp- P-2, in boiled fish. *Cancer Lett.*, 9, 75-83 (1980)
- Yamazoe, Y., Ishii, K., Kamataki, T., Kato, R. & Sugimura, T. Isolation and characterization of active metabolites of tryptophan-pyrolysate mutagen, trp-P-2, formed by rat liver microsomes. *Chem.-biol. Interact.*, 30, 125-138 (1980)
- Yamazoe, Y., Toda, M. & Kato, R. Enhancement of binding of N-hydroxy-Trp-P-2 to DNA by seryl-tRNA synthetase. *Biochem. biophys. Res. Commun.*, 102, 432-439 (1981a)
- Yamazoe, Y., kamataki, T. & Kato, R. Species differences in N-hydroxylation of a tryptophan pyrolysis product in reaction to mutagenic activation. *Cancer Res.*, 41, 4518-4522 (1981b)
- Yoshimitsu, Oda; Pramod, Aryal; Takao, Terashita; Elizabeth, M.J., Gillam; F., Peter, Guengerich; Tsutomu, Shimada, Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in *Salmonella typhimurium* umu tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, 2E1, and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase, *Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, (2001) Vol. 492, No. 1-2, pp. 81-90.