

〈研究内容〉

研究課題名	アルセノシュガー、アルセノリピッドを含有する食品摂取による健康リスク評価
主任研究者	圓藤 吟史 (大阪市立大学大学院 医学研究科)
研究成果概要	<p>アルセノシュガー (AsSugs) あるいはヒ素脂質 (AsLipid) を含有する食品を摂取することによるヒ素の健康リスクを評価するために研究を行った。</p> <p>「食用海産動植物に含まれるAsSugs、AsLipidの効果的な抽出法の検討」においては、ワカメを用いた酵素処置による抽出法を検討したところ、セルラーゼとアルギン酸リアーゼによる細胞壁分解とエタノール抽出で高い回収率を得た。なお、脂溶性ヒ素化合物の抽出のためにFolch法を使用した。</p> <p>「AsSugsとその中間代謝物の化学合成」においては、主な海産食品中のヒ素化合物であるAsSug328の合成を試み、9つの反応ステップからなるAsSug328と、有毒な中間代謝物であるジメチルモノチオアルシン酸 (DMMTA) の合成法を確立した。</p> <p>「食品中のAsSugsの化学形態と定量分析」においては、ワカメ中のAsSugsの同定はLC/MS/MSとLC-TOF-MSを用いて行い、ワカメ、カタクチイワシ及びマグロ中のヒ素化合物の定量はHPLC-ICP-MSを用いてヒ素形態別分析を行った。</p> <p>「ボランティアへのAsSugs含有食品摂取と尿中代謝物の出納」においては、5人のボランティアにワカメを摂取させ、LC-TOF-MSとHPLC-ICP-MSにより尿中ヒ素化合物の同定と定量を行った結果、ヒ素摂取量0.06mgのうち、尿に30%が排出されたことが確認された。また、尿にジメチルアルシン酸 (DMA)、オキシジメチルアルシニルエタノール(オキシDMAE)、オキシジメチルアルセノアセテート(オキシDMAA)とチオDMAEが特定された。</p> <p>「動物におけるAsSugsとその中間代謝物の安全性評価」においては、<i>gpt delta</i>ラットを用いて、<i>in vivo</i>突然変異試験を実施した結果、DMA及び亜ヒ酸投与で有意な点と欠失突然変異は誘発されなかった。また、DMMTAが尿中から膀胱上皮細胞内に取り込まれることが確認された。</p> <p>「培養細胞を用いたAsSugs由来の中間代謝物の試験管内の分析」においては、ヒ素代謝物質の細胞障害性試験はMYP3と1T1細胞を用いて行った。無細胞試験管内でAsSugsから有毒な代謝物質の代謝を明らかにした。代謝物質の分析はHPLC-ICP-MSとHPLC-TOF-MSを用いて行った。その結果、DMMTAは最も有毒なヒ素代謝物質で、DMMTAのLC50 (半数致死濃度) はMYP3細胞が4.6 μM、1T1細胞が5.4 μMであった。DMMTAはグルタチオン (GSH) との反応によりDMMTA-SG結合体に変化し、次に硫黄原子を含んだ三価のジメチル化ヒ素と硫化水素に変化した。</p> <p>「食品摂取による発がんリスクの低減法の検討」においては、遺伝子毒性テスト、動物実験による無機と有機のヒ素化合物の毒性、疫学的調査研究、国際機関による評価について情報収集を行い、知見を取りまとめた。これらの知見は、食品安全委員会における食品中のヒ素のリスク評価書作成に活用された。</p>

研究課題名	ラットにおける遺伝毒性・反復投与毒性併合試験法の開発
主任研究者	西川 秋佳 (国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター)
研究成果概要	<p><i>gpt delta</i>ラットを用いた遺伝毒性・反復投与毒性併合試験法を開発した。試験法の標準化のため、投与期間や系統差を検証し、13週間反復投与による一般毒性検索系としての妥当性を検討した。また、遺伝子改変に伴うゲノムの欠失等の影響を明らかにするため、λEG10の挿入部位を決定した。さらに、加齢に伴う突然変異の蓄積及びクローナル変異体の影響の有無について検討した。</p> <p>F344系及びSD系<i>gpt delta</i>ラットにdiethylnitrosamine (DEN) を2~8週間飲水投与した結果、いずれの時点でも最高用量群(10 ppm)で対照群と比較して有意な<i>gpt</i>遺伝子突然変異頻度及びSpi-欠失変異体頻度の上昇が認められた。一方、di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) 混餌投与群では全ての投与群、全期間で、<i>gpt</i>及びSpi-突然変異頻度は対照群と比較して有意差はなかった。また、<i>gpt delta</i>ラットはF344系、SD系ともに野生型ラットとほぼ同程度の一般毒性を示した。</p> <p>F344系<i>gpt delta</i>ラットにDEN を13週間飲水投与した結果、一般状態、血清生化学、臓器重量、病理組織等の一般毒性に野生型ラットとの差異はなく、肝前がん病変であるGST-P陽性細胞は投与群において対照群と比較し有意な高値を示したが、その程度は野生型ラットと同程度であった。DENを5週間腹腔内投与後、phenobarbital (PB) を8週間混餌投与した結果、K-ras遺伝子の変異パターンは<i>gpt</i>アッセイの変異スペクトラム解析で明らかとなった<i>gpt</i>遺伝子上の遺伝子変異と一致するものであったことから、<i>gpt</i>遺伝子上の遺伝子変異が、がん遺伝子上の遺伝子変異と相関する可能性が示唆された。</p> <p>遺伝子導入によってラットゲノム配列は71,789塩基分が欠失し、欠失領域中には1遺伝子が存在した。104週齢の肝臓では19週齢と比較して点突然変異頻度が約3倍有意に高く、肝臓において自然突然変異が加齢に伴い蓄積することが示された。点突然変異に関するシーケンス解析の結果、主な自然突然変異のタイプはCpG部位におけるG:C to A:T変異であった。また、老齢個体において、生体の機能低下によって内因性変異原の増加や修復能の低下が生じ、酸化的DNA損傷等を介してG:C to T:A変異や欠失変異が増加する可能性が示唆された。3系統の<i>gpt delta</i>ラット(SD、F344及びWistar Hannover)について肝臓の突然変異頻度を測定した結果、系統差はみられなかった。</p> <p>以上の成績から、レポーター遺伝子導入動物<i>gpt delta</i>ラットにおける臓器レベルでの検索は、遺伝毒性の標的臓器における直接的な関与の証明となる点で優れており、一般の反復投与毒性に加えて遺伝毒性・発がん性をより精緻かつ短期に予測できる可能性が期待できる。</p>

研究課題名	食品を介するリステリア感染症に係わる高病原性リステリア株の評価と生体側の要因を加味した食品健康影響評価に関する研究
主任研究者	五十君 静信 (国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部)
研究成果概要	<p>リステリア・モノサイトゲネス (<i>Listeria monocytogenes</i>; LM) は環境に広く分布し、食品からもしばしば分離される。喫食前の加熱処理をしない調理済食品においては、国内の市販食品から平均約2%程度のLMが分離される。日本人は生食が多く調理済食品の種類も多いため、欧米先進国に比べ食品を通じLMに曝される機会が多いと思われる。食品を通じ本菌に曝される機会が多いが、重篤なリステリア感染症を発症する患者は極端に少ない。重篤なリステリア感染症の発症は生体側の免疫との関わりがあり、宿主側の要因が強く働いているためであると理解されている。2004年のFAO/WHOの専門家会議によるLMのリスク評価では、LMの菌株毎の病原性の違いについては未だ科学的に十分解明されておらず、血清型や特定の菌群に関し病原性の違いの有無を言える段階ではないとして、LMを一律同様な扱いとしてリスク評価を行っている。一方、ヒト臨床から分離される血清型は特定の血清型に偏っており、国内のヒト臨床分離株の65%以上は血清型4bであり、食品や環境由来株の血清型の分離頻度の傾向とは明らかに異なっている。</p> <p>本研究ではLMの侵入メカニズムが、継代細胞やヒトの腸管に類似している感染モデル動物としてスナネズミを用いて、LM菌株の病原性を評価し高病原性株の存在を明らかにした。血清型4bは高病原性であり、ほぼいずれの株も高病原性と考えて良いと思われた。血清型1/2aと1/2bの検討ではこれらの血清型の一部に高病原性が認められた。一方、食品や環境からしばしば分離されるその他の血清型には、ほとんど病原性が無いと思われた。LMの病原性は一律に考えることは出来ず、血清型4bと血清型1/2a、1/2bの一部の高病原性の菌株をどのようにコントロールするかが重要である。</p> <p>また、スナネズミを用いた実験により、あらかじめ少量のLMに曝された場合、その後大量のLMに曝されても感染が軽度ですむことが証明された。すなわち、通常の商品摂取時のような低菌数のLMへの暴露があれば、その後の高病原性のLMの高菌数の暴露に対して、明らかに発症を抑える経口ワクチン効果があることが示された。スナネズミを用いたLMの経口ワクチン効果はヒトにおいても同様に起こっている可能性は高く、このような観点からLMの制御を考えていく必要があることが示された。</p>

- 発表者の紹介 -

(※敬称略)



圓藤 吟史 (えんどう ぎんじ)

公立大学法人大阪市立大学大学院医学研究科 産業医学分野 教授

1981年 3月 名古屋市立大学医学部卒業
1983年 4月 大阪市立大学助手 (医学部衛生学講座)
1987年 10月 大阪市立大学講師 (医学部環境衛生学講座)
1989年 3月 大阪市立大学医学博士取得
1990年 4月 大阪市立大学助教授 (医学部環境衛生学講座)
1993年 4月 大阪市立大学教授 (医学部環境衛生学講座) (現職)
2002年 4月 大阪市立大学大学院教授 (医学研究科産業医学分野) (現職)
日本産業衛生学会 (理事長)、日本産業精神保健学会 (理事)、内閣府食品安全委員会 (専門委員)、大阪労働局 (労働衛生指導医)、日本医師会産業保健委員会 (委員)、大阪府医師会産業保健医部会 (副部会長)



西川 秋佳 (にしかわ あきよし)

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター長

1978年 3月 岐阜大学医学部卒業
1982年 3月 岐阜大学大学院医学研究科単位修得 (病理学専攻)
1982年 4月 高山赤十字病院副部長 (中央検査部)
1983年 10月 岐阜大学医学部助手 (第一病理学教室)
1985年 4月 岐阜県立健康管理院医長 (検査部)
1987年 4月 県立岐阜病院医長 (病理診断部)
1989年 10月 米国ネイラー・ダナ研究所化学発癌研究部客員研究員
国立衛生試験所病理部室長、国立医薬品食品衛生研究所病理部長を経て、2010年より現職。薬事・食品衛生審議会 (臨時委員)、内閣府食品安全委員会 (専門委員)、中央環境審議会 (臨時委員)、日本毒性学会 (理事)、日本癌学会 (評議員)、日本病理学会 (評議員)、日本毒性病理学会 (評議員)、日本がん予防学会 (評議員)



五十君 静信 (いづみ しずのぶ)

国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部長

1984年 東京大学農学部畜産学科卒業
1989年 東京大学大学院博士課程修了農学博士 (獣医学)
1989年 国立予防衛生研究所 (現国立感染症研究所)・食品衛生部研究員
1996年 米国メリーランド大学医学部・ワクチン開発センターへ留学
1996年 国立予防衛生研究所・食品衛生部主任研究官
2001年 国立感染症研究所・食品衛生微生物部食品微生物室長
2002年 国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部第一室長
2013年 国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部長 (現職)
岐阜大学大学院連合獣医学研究科連携教授、麻布大学客員教授、東京農業大学客員教授