

## 令和元～3年度 食品健康影響評価技術研究 研究成果報告書（終了時）

研究課題名 (研究項目名)	アクリルアミドばく露による発がんリスク評価～大規模コホート研究保存検体を用いたコホート内症例対照研究による検討（課題番号：1904） (1. 危害要因・ばく露実態の評価に必要な科学的知見の集積 (2. 食品中の微量化学物質・汚染物質のばく露と健康影響に関する研究)
主任研究者	研究者名：石原淳子 所属機関：学校法人麻布獣医学園 麻布大学

## 研究期間及び研究目的等

## 1 研究期間

令和元年度～令和3年度（3年間）

## 2 研究目的

- (1) 陰膳測定値を伴う検体を活用し、血中アクリルアミド-ヘモグロビン付加体（HbAA）及びアクリルアミド（AA）、グリシドアミド（GA）の長期的、累積的ばく露指標としての有用性を検討し、コホート内症例対照研究の検討に最適な指標としての意義を明らかにする。また、そのための定量方法とその妥当性確認と精度管理についても検討する。
- (2) 大規模コホート研究の一部対象者保存検体を用いて、上記の生体指標を実測し、摂取による個人内変動を考慮したばく露評価及び、摂取量推定値の妥当性を検証する。
- (3) 大規模コホート研究の保存検体を用いて、コホート内症例対照研究を実施し、生体指標を用いたアクリルアミドばく露量と、各種がん罹患リスクとの関連を明らかにする。

## 3 研究体制

研究項目名	個別課題名	研究担当者（所属機関）
1. 陰膳サンプル中アクリルアミド測定値を伴う血液検体を用いた生体指標の測定とHbAAの長期的かつ累積的ばく露指標としての可能性検討	HbAAの長期的かつ累積的ばく露指標としての可能性検討	松井康人（京都大学）、 祖父江友孝（大阪大学）
2. 大規模コホートサブグループの保存血液検体及び食事調査を用いたばく露実態の解明	食事調査から推定されたアクリルアミド摂取量の個人内変動等に関する検討	石原淳子（麻布大学）
	大規模コホートの妥当性研究対象者の保存血液検体に対する、生体指標の計測と長期的かつ累積的なばく露指標としての有用性検証	松井康人（京都大学）、 祖父江友孝（大阪大学）
	血中ばく露指標を用いたアクリルアミド摂取量の個人内（季節間）変動等に関する検討	石原淳子（麻布大学）、 松井康人（京都大学）、 澤田典絵（国立がんセンター）

	血中ばく露指標を比較基準とした、FFQによる推定摂取量の妥当性検討	石原淳子（麻布大学）、松井康人（京都大学）、澤田典絵（国立がんセンター）
3. 大規模コホート研究の血液検体を用いたコホート内症例対照研究による発がんリスクの検討	大規模コホート研究の血液検体を用いたコホート内症例対照研究による発がんリスクの検討	石原淳子（麻布大学）、澤田典絵（国立がんセンター）、松井康人（京都大学）、祖父江友孝（大阪大学）

#### 4 倫理面への配慮について

##### (1) 法令・指針・研究計画書の遵守

本研究の実施にあたっては、関連する法令及び指針（「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」等）、を遵守し、事前に作成した研究実施計画書の記載に準じて実施した。

##### (2) 倫理審査委員会の承認

研究実施にあたっては、本研究代表者および分担者の所属機関（国立がん研究センター、京都大学）の倫理審査委員会の承認を得た。

##### (3) インフォームド・コンセント

本研究は多目的コホート研究（国立がん研究センター 研究開発費(26-A-2) 「多目的コホートに基づくがん予防など健康の維持・増進に役立つエビデンスの構築に関する研究—予防研究基盤としてのコホート研究の維持と規模の拡大」）において収集された、匿名化された既存情報および検体を用いて実施する研究である。

多目的コホート研究は、その研究計画に記載されている通り、書面での同意を必ずしも得ていないが、研究内容についてはニュースレターやホームページで公開され、「個人情報の保護に関する法律」に記されている「公衆衛生の向上のために特に必要がある場合であって、本人の同意を得ることが困難であるとき」に該当、および、疫学研究に関する倫理指針第3の1<インフォームド・コンセントの簡略化等に関する細則>にも準拠、また、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針第12の1(3)アに該当するものと考え、本研究においても、引き続き、本人の同意を得ないで実施した。

##### (4) 個人情報の保護

個人情報は、法令及び指針（「個人情報の保護に関する法律」および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」）にしたがって厳重に保護している。各対象者の氏名、住所、電話番号、メールアドレス、生年月日などの個人情報付きの調査資料は、研究事務局にて収集、鍵付きの保管庫で厳重に管理されている。本研究では、個人を特定できないように付与されたIDによって匿名化後のデータのみを用いるため、個人が同定されることはない。情報漏洩に関する安全管理措置や情報の機関間移動などについては、多目的コホート研究における個人情報保護・安全管理措置マニュアルに従って行われる。

本研究の解析の時点で個人情報は、データより消去されているため、学会・論文発表の際、個人情報にふれる可能性はないが、特定の個人が発表成果から同定できないように十分配慮して実施した。

## II 研究内容及び成果等

### 1 研究項目：陰膳サンプル中アクリルアミド測定値を伴う血液検体を用いた生体指標の測定と HbAA の長期的かつ累積的ばく露指標としての可能性検討

#### (1) 個別課題：HbAA の長期的かつ累積的ばく露指標としての可能性検討（研究担当者：松井康人（京都大学）、祖父江友孝（大阪大学））

個人差や摂取量に敏感なばく露指標と考えられる、血中の AA、GA に加え、累積的指標の可能性のある HbAA を LC/MS/MS にて定量する方法について再検討を行った。文献調査では、血中にフリーで存在する AA とその代謝物である GA は、固相カードリッジによる抽出法を経て、質量分析する方法が一般的と言えた。したがって本研究でも同様の方法で、定量を試みた。AA と GA を生理食塩水で希釈することで標準系列を作成した際には、良好な検量線が得られた ( $R > 0.99$ )。一方で、血液 10 検体を混合させた血液を溶媒として使用し、同様に希釈系列を作成した際には、検量線の直線性が低く ( $R = 0.47$ )、またその相関係数も実験の度に変動が大きいものであった。AA や GA に含まれるケトン基は、ヘモグロビンをはじめとするタンパク質とシッフ塩基を作ることが知られており、血液に添加後に吸着したことが要因である可能性が考えられた。尚、AA と GA のヘンリー定数から、標準系列を封入しているバイアル中で、気相にこれらが移行している可能性は低い。総じて、血中にフリーで存在する AA、GA については、安定的なばく露指標でないと判断した。

次に、ヘモグロビン付加体に関する文献調査では、ヘモグロビン  $\beta$  鎖 N 末端に付加したものを測定対象としており、末端のアミノ酸を取得するエドマン分解法が一般的と言えた。本法による測定は、これまでの研究で方法を確立できていることから、定量限界および下限値を求め、同時に、できる限り検体量を少なく ( $50 \mu\text{L}/\text{検体}$ )、かつ測定系スケールの小さいプロトコルを開発した。検体測定の際にも、一定の間隔で標準試料を分析することで、精度管理された定量方法とした。

この検証結果に基づき、陰膳測定サンプルの測定値を伴う血液である 100 検体（食品健康影響評価技術研究「食事由来アクリルアミドばく露量推定方法の開発と妥当性の検討及び大規模コホート研究に基づく発がんリスクとの関連に関する研究」（平成 27～29 年度）、研究代表者：祖父江友孝（大阪大学））の残検体）の一部（最大で 50 検体）を用いて、HbAA、および HbGA 付加体を測定した。これらの付加体濃度 ( $\text{pmol}/\text{g Hb}$ ) を比較したところ、相関係数は 0.75 となり緩やかな相関を得た。AA から GA への代謝には個人差があることが知られており、これを考慮しない状況下である程度の濃度相関を認めた。

### 2 研究項目：大規模コホートサブグループの保存血液検体及び食事調査を用いたばく露実態の解明

多目的コホート研究（国立がん研究センター 研究開発費 (29-A-2) 「多目的コホートに基づくがん予防など健康の維持・増進に役立つエビデンスの構築に関する研究—予防研究基盤としてのコホート研究の維持と規模の拡大」、研究代表者：津金昌一郎（国立がん研究センター 社会と健康研究センター））のサブスタディとして、過去に各地域の一部の対象者を対象に実施された食物摂取頻度調査票 (FFQ) の妥当性研究の既存食事調査データを用いて、(1) AA の食事由来摂取量の変動についての検討を行った。また、同研究において長期保存されている検体を用いて (2) 大規模コホートの妥当性研究対象者の保存血液検体に対する、生体指標の計測と長期的かつ累積的なばく露指標としての有用性を検証し、(3) 血中ばく露指標の個人内変動、および (4) 血中ばく露指標を比較基準とした FFQ の摂取量評価の妥当性を検証した。

#### (1) 個別課題：食事調査から推定されたアクリルアミド摂取量の個人内変動等に関する検討（研究担当者：石原淳子（麻布大学））

食事調査データは、年代の異なる2つのコホート研究（①多目的コホート研究および②次世代多目的コホート研究）において、サブスタディとして収集された既存の秤量法食事記録データを用いた。

① 1990年より実施されている多目的コホート研究（全国10地域）のサブスタディとして、1995～1998年に各地域から一部対象者に対して実施されたFFQ妥当性研究の既存データを用いた。各地域からボランティアで参加した565名（45～74歳）から収集した各対象者複数日の食事記録（7日間4季節、合計28日、ただし一地域のみ7日間2季節、合計14日）を用い、先行研究<sup>1,2</sup>において開発されたAA成分値データベースを用いて、食事記録各調査日の個人別アクリルアミド摂取量を推定した。そのうえで、個人内および個人間変動を算出し、さらに、習慣的な摂取量を推定するために必要な調査日数を、分散分析を用いて推計した（表1）。さらに、ステップワイズ法を用いて重回帰分析を実施し、食品グループごとに偏寄与率、累積偏寄与率を算出することにより、AA摂取における個人間変動のばらつきを予測する食品を明らかにした（表2）

表1. アクリルアミドの個人内・個人間変動及び習慣的摂取量推定に必要な調査日数（多目的コホート研究FFQ妥当性研究対象者）

栄養素	個人内 変動係数(%)	個人間 変動係数(%)	習慣的摂取量推定に必要な 調査日数(日)	
			10%誤差 <sup>a</sup>	20%誤差 <sup>b</sup>
アクリルアミド	104.9	43.0	423	106
<b>【参考】</b>				
エネルギー	19.3	20.4	14	4
たんぱく質	24.1	18.9	22	6
脂質	36.5	20.0	51	13

a,b)個人の真値の95%信頼区間範囲をa)10%、b)20%の誤差で推定するのに必要な食事調査日数

表2. アクリルアミド摂取における個人間変動のばらつきを予測する食品<sup>a)</sup>（多目的コホート研究FFQ妥当性研究対象者）

食品名	偏寄与率	累積 偏寄与率	アクリルアミド 総摂取量の 寄与割合(%)	アクリルアミド 総摂取量 寄与割合の 順位
1 緑茶類	0.3307	0.3307	13.8	2
2 コーヒー・ココア類	0.2034	0.5341	13.2	3
3 ジャガイモ	0.1807	0.7148	14.0	1
4 ビスケット・クッキー	0.1069	0.8217	5.5	5
5 和干菓子 (かりんとう、せんべいなど)	0.0551	0.8768	5.8	4
6 スナック類 (ポテトチップスなど)	0.0246	0.9014	0.9	21
7 ピーマン類	0.0172	0.9186	4.9	6
8 もやし	0.0124	0.931	4.5	8
9 ごま	0.0094	0.9404	2.3	11
10 チョコレート類	0.0092	0.9495	1.4	16

a) ステップワイズ法を用いて重回帰分析を実施し、食品グループごとに偏寄与率、累積偏寄与率を算出

その結果、個人の真値の95%信頼区間範囲を10%および20%の誤差範囲で推定するために必要

な食事調査の日数は、それぞれ 423 日、106 日であることが明らかになった。また、多目的コホート研究の対象集団においては、個人間変動（偏寄与率）の大きい上位 6 食品（緑茶類、コーヒー・ココア類、じゃがいも、ビスケット・クッキー、和干菓子類、スナック菓子）を用いることで、食事由来の相対的なばく露レベルが約 9 割以上予測できることが明らかになった。特にスナック菓子は総摂取量の寄与割合が 0.9%と低いが、個人間変動によるばらつきには寄与していることが明らかになった。

以上の結果より、食事由来の AA 推定ばく露量は個人内変動が大きいと、ばく露評価を行う際に短期間の食事調査法を用いると、個人内変動に起因する測定誤差が大きくなることが示唆された。エネルギーやたんぱく質、脂質などの習慣的摂取量を把握するために必要な調査日数と比較すると、個人の習慣的な摂取量の把握には多くの日数を要することが明らかになった。また、多目的コホート研究対象集団において、個人間変動に寄与する食品の多くは総摂取量への寄与割合も高い食品であったが、スナック菓子は総摂取量が低い食品でありながら、個人間のばらつきを予測する食品であったため、AA ばく露量を質問票等で把握し、疾病との関連を検討する際には、把握が必要となる食品であることが示唆された。

② 2011 年より次世代コホート研究プロトコル採用地域（全国 10 地域）において実施されているコホートのうち、5 地域（秋田県横手地域、茨城県筑西地域、長野県佐久地域、新潟県村上・魚沼）において実施した FFQ 妥当性研究の既存データを用いた。各地域からボランティアで参加した 240 名（40～74 歳）から収集した各対象者複数日の食事記録（3 日間 4 季節、合計 12 日）を用い、先行研究<sup>1,2)</sup>において開発された AA 成分値データベースを用いて、食事記録各調査日の個人別 AA 摂取量を推定した。そのうえで、個人内および個人間変動を算出し、さらに、習慣的な摂取量を推定するために必要な調査日数を、分散分析を用いて推計した（表 3）。さらに、ステップワイズ法を用いて重回帰分析を実施し、食品グループごとに偏寄与率、累積偏寄与率を算出することにより、AA 摂取における個人間変動のばらつきを予測する食品を明らかにした（表 4）

その結果、個人の真値の 95%信頼区間範囲を 10%および 20%の誤差範囲で推定するために必要な食事調査の日数は、それぞれ 310 日、77 日であることが明らかになった。また、次世代多目的コホート研究の対象集団においては、コーヒー・ココア類、じゃがいも、緑茶類、さつまいも、ビスケット・クッキー、スナック菓子が上位 6 食品（累積偏寄与率約 9 割）となり、多目的コホート研究の集団と若干異なっていることが明らかになった。特にさつまいもやスナック菓子は総摂取量に占める寄与割合は低いが、ばらつきを予測する食品であることが明らかになった。

表3. アクリルアミドの個人内・個人間変動及び習慣的摂取量推定に必要な調査日数（次世代多目的コホート研究FFQ妥当性研究対象者）

栄養素	個人内 変動係数(%)	個人間 変動係数(%)	習慣的摂取量推定に必要な 調査日数(日)	
			10%誤差 <sup>a</sup>	20%誤差 <sup>b</sup>
アクリルアミド	89.8	45.1	310	77
【参考】				
エネルギー	18.7	21.6	13	3
たんぱく質	23.8	22.2	22	5
脂質	34.1	25.4	45	11

a,b)個人の真値の95%信頼区間範囲をa)10%、b)20%の誤差で推定するのに必要な食事調査日数

表4. アクリルアミド摂取における個人間変動のばらつきを予測する食品<sup>a</sup>（次世代多目的コホート研究FFQ妥当性研究対象者）

食品名	偏寄与率	累積 偏寄与率	アクリルアミド 総摂取量の 寄与割合(%)	アクリルアミド 総摂取量 寄与割合の 順位
1 緑茶類	0.3307	0.3307	13.8	2
2 コーヒー・ココア類	0.2034	0.5341	13.2	3
3 じゃがいも	0.1807	0.7148	14.0	1
4 ビスケット・クッキー	0.1069	0.8217	5.5	5
5 和菓子類 (かりんとう、せんべいなど)	0.0551	0.8768	5.8	4
6 スナック類 (ポテトチップスなど)	0.0246	0.9014	0.9	21
7 ピーマン類	0.0172	0.9186	4.9	6
8 もやし	0.0124	0.931	4.5	8
9 ごま	0.0094	0.9404	2.3	11
10 チョコレート類	0.0092	0.9495	1.4	16

a) ステップワイズ法を用いて重回帰分析を実施し、食品グループごとに偏寄与率、累積偏寄与率を算出

以上の結果より、近年の食生活を反映している集団においても、食事由来のAA推定ばく露量は個人内変動が大きく、ばく露評価を行う際に短期間の食事調査法を用いると、個人内変動に起因する測定誤差が大きくなることが示唆された。また、次世代多目的コホート研究対象集団においても、個人間変動に寄与する食品の多くは総摂取量への寄与割合も高い食品であったが、さつまいもやスナック菓子は総摂取量のやや低い食品でありながら、個人間のばらつきを予測する食品であることから、この集団では、AAばく露量を質問票等で把握し、疾病との関連を検討する際には、把握が必要となる食品が異なる可能性が示唆された。

**(2) 個別課題：大規模コホートの妥当性研究対象者の保存血液検体に対する、生体指標の計測と長期的かつ累積的なばく露指標としての有用性検証（研究担当者：松井康人（京都大学）、祖父江友孝（大阪大学））**

当研究グループの過去の研究（食品健康影響評価技術研究「食事由来アクリルアミドばく露量推定方法の開発と妥当性の検討及び大規模コホート研究に基づく発がんリスクとの関連に関する研究」（平成 27～29 年度）、研究代表者：祖父江友孝（大阪大学））における検体を用いて、ヘモグロビンに付加する AA の測定方法を再検証した。前処理方法としては、迅速に多数の試料が抽出できる限外ろ過方法の導入、超遠心分離機による不要タンパク質の除去、血中遊離バリンの定量値への影響について検証した。固相抽出による使用検体量の最小化を実現することができ、分解率を考慮する必要のない再現性の高いエドマン分解法を確立した。質量分析においては、検量線は高い直線性を示し、MRM 法下の移動相（Formic acid/Acetonitrile）グラジエントの最適化により、迅速な定量プロトコルを確立した。測定検体は輸送が完了しており、解凍方法、分注保管方法について、模擬的な血液を用いることで最適な方法を確立し、前処理方法と付加体（HbAA、HbGA）の定量を試み、曝露指標としての有用性、妥当性を検証した。

実測した 2 種の付加体量（HbAA と HbGA 濃度の和（pmol/gHb））と、食事記録（DR）から算出した 1 日あたりの AA 摂取量（ $\mu\text{g}/\text{day}$ ）を比較したところ、相関係数は 0.014 であった。一方で、採血実施日までの日数を 10 日以内の検体に限定すると相関係数は 0.62 となり、わずかな相関を得た。AA 摂取量と曝露指標としての HbAA 濃度の比較は、摂取時期と採血時期の乖離や、介入による精密な摂取量の把握が難しいことから、AA の PBPK モデルを用いた日本人の HbAA 濃度を推算し、その値との比較・検証も行った。食事調査から推定された AA 推定摂取量及び体重、実測した HbAA 濃度から、日本人の HbAA 濃度は摂取から 140 日以降で、34.0 pmol/gHb に収束（前日からの変化量が基準値を下回る）した。モデルから推算した値と実測値の相関係数は 0.25 であり、高い相関関係は認められなかった。一方で、検体中の HbAA 濃度は、累積として同じ AA 濃度を摂取したとしても、複数回摂取で 81.47 pmol/gHb、単回摂取で 66.00 pmol/gHb となり、15.47 pmol/gHb の差が生じることが、モデルにより試算された。これは、食事調査から推定した AA 摂取量、食事調査の期間、採血までの期間全てが同じであったとしても、HbAA 濃度が異なることを意味している。

**(3) 個別課題：血中ばく露指標を用いたアクリルアミド摂取量の個人内（季節間）変動等に関する検討（研究担当者：石原淳子（麻布大学）、松井康人（京都大学）、澤田典絵（国立がん研究センター））**

多目的コホート研究のサブスタディ（前述 2 - (1) - ①）として、1995～1998 年に各地域から一部対象者に対して実施された FFQ 妥当性研究において長期保存されている既存検体を用いて、血中ばく露指標（HbAA および HbGA）の個人内、個人間変動の検討を行った。

全研究対象者 565 名のうち、4 季節の保存検体（赤血球）および食事記録、FFQ データの揃っている 350 名の対象者（コホート II）から、ランダムサンプリングで 60 名を選定し、4 季節分 240 検体分の赤血球検体を用いた。赤血球層を対象とし、血球を洗浄、溶血させ、エドマン分解したグロビン  $\beta$  鎖タンパク質の N 末端バリンへの付加体（AA であれば、プロピオンアミド化バリン）を、LC/MS/MS にて定量した。標準物質には、グロビン  $\beta$  鎖タンパク質をトリプシン消化させた N 末端からの 8 アミノ基を用い、これも同時にエドマン分解させることで、分解率を考慮する必要がない定量方法とした。

血中 HbAA、HbGA 定量値、の基礎統計値（全体、男女別、喫煙状況別）を表5に示し、食事記録法（Dietary records、DR）を用いて推定した28日間（7日間×4季節）の平均AAばく露量、食物摂取頻度調査法（Food Frequency Questionnaire、FFQ）を用いて推定した1年間の長期的なAAばく露量を参考値として示した。対象者全体では、血中 HbAA の平均値（Mean）±標準偏差（SD）は335±315pmol/gHbで、範囲は63～1520pmol/gHbであった。HbGA の Mean±SD は80±65pmol/gHbで、範囲は13～360pmol/gHbであった。男女別では、男性の HbAA 平均値の方が女性より2倍以上高く、範囲も広いことが明らかになった。この傾向は HbGA でも同様であった。本研究において別の集団を対象として行った研究においても、血中 HbAA および HbGA が喫煙に影響を受けることが明らかになっていたため（Yamamoto et al, 2020）、喫煙で層別解析したところ、喫煙者において HbAA および HbGA 値が高く、また、過去喫煙者でも一部、高い値（最大値 1520pmol/gHb）が観察されたことから、喫煙の AA ばく露への影響が大きく、一定期間残る可能性が示唆された。

表5. 生体指標 (HbAA、HbGA)および摂取量(DR、FFQ)分布

		n	平均値	標準偏差	最小値	25パーセン タイル値	中央値	75パーセン タイル値	最大値
全体	HbAA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	60	335	315	63	150	201	356	1520
	HbGA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	60	80	65	13	42	57	100	360
	DR Intake <sup>*2</sup> (μg/day)	60	7.86	3.61	2.80	5.50	6.87	9.60	18.46
	FFQ Intake (μg/day)	60	7.81	3.39	1.90	5.25	7.42	9.93	16.63
性別									
男性	HbAA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	30	486	389	86	169	327	689	1520
	HbGA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	30	104	83	13	44	75	136	360
	摂取量 (DR) <sup>*2</sup> (μg/day)	30	8.02	3.60	2.80	5.52	7.26	10.19	17.27
	摂取量 (FFQ) (μg/day)	30	8.16	3.66	2.07	4.80	8.85	10.34	16.40
女性	HbAA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	30	185	59	63	142	175	216	329
	HbGA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	30	56	20	30	41	52	65	125
	摂取量 (DR) <sup>*2</sup> (μg/day)	30	7.70	3.67	4.08	5.29	6.35	9.12	18.46
	摂取量 (FFQ) (μg/day)	30	7.45	3.13	1.90	5.50	6.38	8.51	16.63
喫煙状況									
現在喫煙者	HbAA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	10	820	276	522	659	765	946	1493
	HbGA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	10	173	76	104	131	137	205	360
	摂取量 (DR) <sup>*2</sup> (μg/day)	10	8.98	4.55	3.43	4.65	9.29	10.92	17.27
	摂取量 (FFQ) (μg/day)	10	10.10	3.74	4.80	6.76	9.74	13.67	16.40
過去喫煙者	HbAA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	11	357	399	86	186	242	271	1520
	HbGA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	11	71	74	13	28	56	73	286
	摂取量 (DR) <sup>*2</sup> (μg/day)	11	8.38	3.51	3.52	5.93	7.19	11.50	15.03
	摂取量 (FFQ) (μg/day)	11	7.54	3.52	2.07	4.57	9.36	10.34	12.22
非喫煙者	HbAA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	39	205	121	63	140	169	233	674
	HbGA <sup>*1</sup> (pmol/gHb)	39	58	30	23	39	49	66	165
	摂取量 (DR) <sup>*2</sup> (μg/day)	39	7.42	3.38	2.80	5.29	6.40	8.99	18.46
	摂取量 (FFQ) (μg/day)	39	7.30	3.11	1.90	5.19	6.44	8.80	16.63

略語: HbAA, hemoglobin adducts of acrylamide; HbGA, hemoglobin adducts of glycidamide;

DR, dietary records; FFQ, food frequency questionnaires

\*1 4季節平均

\*2 28日(7連続日×4季節)の平均摂取量 (μg/day)

次に、分散分析を用いて、HbAA および HbGA の個人内・個人間変動を男女別および喫煙状況別に算出し、個人間変動に対する個人内変動の分散比を算出した（表 6）。比較のために、DR から推定された AA 摂取量についても同様の算出を行った。

HbAA と HbGA の個人間変動に対する個人内変動の変動比を比べると、HbGA の変動比が低く、HbGA の個人間差が大きいことが明らかになった。男女を比較すると、HbAA および HbGA とともに、女性に比べて男性で個人間変動が大きく、かつ個人間変動に対する個人内変動の変動比が低い結果となり、男性において個人間差が大きいことが明らかになった。一方、食事記録法で推定された男性の摂取量では、変動比が高いことから、個人内の変動が大きいことが明らかになった。また、喫煙状況で層別した結果でも、喫煙者の HbAA および HbGA における変動比が非喫煙者に比べて低い結果であり、HbAA および HbGA が喫煙のばく露に大きく影響を受けることが明らかになった。

表 6. 各指標の個人内、個人間変動

		個人内変動	個人間変動	(A) 個人内変動の 寄与割合 (%)	(B) 個人間変動の 寄与割合 (%)	変動比 (A/B)
性別						
男性	HbAA (pmol/gHb)	43265	140683	23.5	76.5	0.31
	HbGA (pmol/gHb)	982	6636	12.9	87.1	0.15
	摂取量 (DR) (μg/day)	19	8	69.8	30.2	2.32
女性	HbAA (pmol/gHb)	5720	2052	73.6	26.4	2.79
	HbGA (pmol/gHb)	300	320	48.4	51.6	0.94
	摂取量 (DR) (μg/day)	11	11	51.8	48.2	1.07
喫煙状況						
現在喫煙者	HbAA (pmol/gHb)	49482	63709	43.7	56.3	0.78
	HbGA (pmol/gHb)	1335	5446	19.7	80.3	0.25
	摂取量 (DR) (μg/day)	29	13	68.7	31.3	2.20
過去喫煙者	HbAA (pmol/gHb)	34413	150906	18.6	81.4	0.23
	HbGA (pmol/gHb)	305	5385	5.4	94.6	0.06
	摂取量 (DR) (μg/day)	18	8	69.2	30.8	2.25
非喫煙者	HbAA (pmol/gHb)	15287	10821	58.6	41.4	1.41
	HbGA (pmol/gHb)	558	754	42.5	57.5	0.74
	摂取量 (DR) (μg/day)	11	9	55.4	44.6	1.24

略語: HbAA, hemoglobin adducts of acrylamide; HbGA, hemoglobin adducts of glycidamide; DR, dietary records

#### (4) 個別課題：血中ばく露指標を比較基準とした、FFQ による推定摂取量の妥当性検討（研究担当者：石原淳子（麻布大学）、松井康人（京都大学）、澤田典絵（国立がん研究センター））

前述（3）の血中定量値（HbAA、HbGA）と、DR および FFQ による摂取量推定値との順位相関係数を算出し、食事調査によるばく露評価の妥当性を、血中定量値を比較基準とすることで検討した（表 7）。DR による推定摂取量の妥当性は、対象者全体では HbAA との比較で 0.27 ( $p=0.04$ )、HbGA との比較で 0.26 ( $p=0.04$ ) と低い相関がみられ、摂取量推定の妥当性は高くなかった。

一方、FFQ から推定した摂取量については、順位相関係数が、HbAA との比較において 0.45 ( $p<0.01$ )、HbAA との比較において 0.47 ( $p<0.01$ ) であり、比較的高い妥当性を示した。男女別および喫煙状況での層別解析では、男性および喫煙者において相関係数が高い傾向がみられた。

表7. 生体指標 (HbAA、HbGA) を比較基準とした食事摂取量 (DR, FFQ) の妥当性

and acrylamide- and glycidamide hemoglobin adduct (HbAA and HbGA) level					
	n	DR <sup>*1</sup>		FFQ	
		HbAA <sup>*2</sup>	HbGA <sup>*2</sup>	HbAA <sup>*2</sup>	HbGA <sup>*2</sup>
全員	60	0.27 (p=0.04)	0.26 (p=0.04)	0.45 (p<0.01)	0.47 (p<0.01)
性別					
男性	30	0.23 (p=0.22)	0.28 (p=0.13)	0.56 (p<0.01)	0.63 (p<0.01)
女性	30	0.16 (p=0.39)	0.16 (p=0.41)	0.20 (p=0.28)	0.10 (p=0.6)
喫煙状況					
現在喫煙者	10	0.37 (p=0.29)	0.45 (p=0.19)	0.52 (p=0.13)	0.76 (p=0.01)
過去喫煙者	11	-0.08 (p=0.81)	-0.02 (p=0.96)	0.24 (p=0.48)	0.55 (p=0.08)
非喫煙者	39	0.25 (p=0.13)	0.30 (p=0.06)	0.36 (p=0.03)	0.29 (p=0.07)

\*1 28日 (7連続日 x 4季節) の平均摂取量 (μg/day)

\*2 4季節の測定値平均

### 3 研究項目：大規模コホート研究の血液検体を用いたコホート内症例対照研究による発がんリスクの検討

#### (1) 個別課題：大規模コホート研究の血液検体を用いたコホート内症例対照研究による発がんリスクの検討 (研究担当者：石原淳子 (麻布大学)、澤田典絵 (国立がん研究センター))

多目的コホート研究 5年後調査 (1995~98年実施) で収集、凍結保存された赤血球検体を用い、コホート内症例対照研究を実施した。先行研究の知見と多目的コホートの保存検体数を踏まえて、対象がん部位は乳がんとした。

検体のサンプリングは、適格条件を保存検体 (赤血球) のある多目的コホート研究のコホート II (大阪地域の国立循環器病研究センターは除く) の女性、5年後調査 FFQ データ (1998年実施) がある者とし、除外基準を調査開始時点において乳がんの既往がある者、追跡開始後不適格者 (外国人、研究開始前の転出、対象外年齢、重複登録、採血年月日のない者) として抽出を行った後、抽出された 9,847 名から年齢 (±3 歳)、地域 (市町村レベル)、季節 (4 季節)、採血時間 (±3 時間)、閉経状態 (自然閉経、人口閉経、閉経なし) で、症例と対照を 1:2 でマッチングし、症例 125 名および対照 250 名の計 375 名を選定した。

赤血球中の HbAA と HbGA の定量は前述の N-alkyl エドマン法を用いて行った。赤血球中のヘモグロビンを含む精製タンパク質画分に fluorescein isothiocyanate isomer-I (FITC) を添加し、FITC 標識した HbAA または HbGA を遊離させるというものである。固相抽出で精製し、液体クロマトグラフィ=タンデム質量分析計 (LC/MS/MS) を用いて分析した。濃度は 8 アミノ酸残基 (AA-VHLTPEEK) で補正しており、サンプル間のエドマン分解率の違いを補正した。HbAA と HbGA の濃度は、QuantiChrom Hemoglobin Assay Kit (Bioassay Systems, Hayward, USA) を用いて測定し、赤血球中のヘモグロビン濃度を製造者の指示に従って調整した。

統計解析では、HbAA、HbGA、両者の合計 (HbAA+HbGA) および比 (HbGA/HbAA)、および交絡因子を症例と対照の間で比較した。条件付きロジスティック回帰分析を用いて、HbAA、HbGA、HbAA+HbGA、HbGA/HbAA と乳がん罹患率との関連を推定した。HbAA、HbGA、HbAA+HbGA、HbGA/HbAA を対照群の分布を用いて三分位 (低、中、高) に分類し、最低三分位のカテゴリー (低) を基準としてオッズ比 (OR) および 95% 信頼区間 (CI) を推計した。マッチングに用いた変数調整モデルでは、年齢 (歳)、地域、採血日時 (60 日以内、3 時間以内)、閉経状況 (閉経前、自然閉経、非自然閉経) を用いた。多変量調整モデルはマッチング変数調整モデルに加え、さらに body mass index (BMI) (<25、≥

25、または欠損)、分娩数(0、1-2、3、 $\geq 4$ 、または欠損)、閉経年齢(閉経前、閉経後 49 歳未満、閉経後 50~54 歳、閉経後 55 歳以上、または不明)、女性ホルモン剤使用(あり、なし、または不明)、喫煙状況(現在または過去、なし、または不明)、アルコール摂取(150g/週未満、150g/週以上)を用いた。感度分析では、調査開始時点から 3 年以内の症例を除外して行った。

症例群と対照群の対象者特性を比較した結果、HbAA、HbGA、HbAA+HbGA、HbGA/HbAA 値には有意差はなかった(表 8)。症例群および対照群の現在および過去の喫煙者の割合は全体として非常に少なかったが、症例群では喫煙者の割合が小さかった。症例群では、乳がんの家族歴がある者、初潮年齢が早い者、初産年齢が遅い者、ホルモン使用者が多い者、飲酒頻度が高い者が多くみられた。

HbAA、HbGA、HbAA+HbGA と乳がん罹患率との関連を表 9 に示す。HbAA、HbGA、HbAA+HbGA と乳がん発生率との関連は、マッチング変数調整モデル、多変量調整モデルのいずれでも認められなかった。多変量調整モデルにおける最低三分位と比較した最高三分位でのオッズ比(95%CI 信頼区間)は、HbAA、HbGA、HbAA+HbGA でそれぞれ 1.34 (0.69-2.59)、1.46 (0.79-2.69)、1.36 (0.72-2.58) で、点推定値が 1 を超えていたが有意な関連性はみられなかった。一方、HbGA/HbAA 比は、多変量調整モデルにおける最低三分位と比較した最高三分位でのオッズ比(95%信頼区間)が 2.19 (1.11-4.31) であり、統計的に有意にリスクが上昇する傾向を示した(傾向性  $p=0.027$ )。この関連は、5 年後の追跡調査から 3 年以内に発生した乳がん症例を除外した感度分析でも同様であった(最高三分位 vs. 最低三分位: オッズ比(95%信頼区間) = 2.03 (0.98-4.16)、傾向性  $p=0.074$ )。

表8. コホート内症例対照研究対象者(症例・対照)特性

	症例 n=125	対照 n=250
HbAA (pmol/gHb) <sup>1</sup>	66.9 ( 51.5 - 86.1 )	67.1 ( 50.4 - 90.7 )
HbGA (pmol/gHb) <sup>1</sup>	47.9 ( 34.4 - 72.0 )	43.7 ( 32.4 - 59.6 )
HbAA+HbGA (pmol/gHb) <sup>1</sup>	114.0 ( 88.3 - 155.6 )	109.9 ( 83.9 - 150.0 )
HbGA/HbAA <sup>1</sup>	0.71 ( 0.62 - 0.81 )	0.66 ( 0.55 - 0.78 )
年齢, 歳 <sup>2</sup>	58.8 ( 8.2 )	58.8 ( 8.3 )
体格指標 (BMI, kg/m <sup>2</sup> ) <sup>2</sup>	24.9 ( 3.6 )	23.7 ( 3.2 )
<b>喫煙状況, %</b>		
現在喫煙	0.8	2.4
過去喫煙	0.0	0.8
非喫煙	86.4	84.4
不明	12.8	12.4
<b>乳がんの家族歴, %</b>		
あり	4	0.4
なし	96	99.6
<b>初潮年齢, 歳, %</b>		
≤13	23.2	20.8
14	31.2	21.6
15	12	18
≥16	27.2	34.4
不明	6.4	5.2
<b>初産年齢, 歳, %</b>		
<26 y	42.4	56.8
≥26 y	39.2	30.4
不明	18.4	12.8
<b>出産回数, 回, %</b>		
なし	10.4	3.2
1-2	34.4	36.8
3 times	27.2	26
≥4 times	20	24
不明	8	10
<b>閉経状態, %</b>		
閉経前	17.6	18.4
閉経(年齢不明)	0.8	0.4
閉経(閉経年齢<49歳)	36.8	36.4
閉経(閉経年齢50-54歳)	36	39.6
閉経(閉経年齢≥55 y)	4.8	3.2
不明	4	2
<b>女性ホルモン剤使用, %</b>		
あり	1.6	0.8
なし	92	93.2
不明	6.4	6
<b>アルコール摂取頻度, %</b>		
≥1-2 回/週	23.6	10.0

略語: HbAA, hemoglobin adducts of acrylamide; HbGA, hemoglobin adducts of glycidamide; BMI, body mass index.

<sup>1</sup> 中央値(25%タイル - 75%タイル)

<sup>2</sup> 平均値 (標準偏差)

表9. 生体指標と乳がん罹患率の関連

	3分位カテゴリ						連続変数 <sup>d</sup>	
	最低	第二		最高	傾向p	OR	(95%CI)	
		OR	(95%CI)	OR				(95%CI)
<b>HbAA</b>								
中央値 (pmol/gHb)	44.9	66.5		102.9				
症例/対照	38/83	44/83		43/84				
OR マatching変数調整モデル	Ref.	1.18	(0.68-2.04)	1.14	(0.64-2.04)	0.659	1.00	(0.99-1.00)
多変量調整モデル <sup>a</sup>	Ref.	1.10	(0.59-2.05)	1.34	(0.69-2.59)	0.389	1.00	(0.99-1.00)
多変量調整モデル <sup>b</sup>	Ref.	1.03	(0.59-1.80)	1.16	(0.66-2.05)	0.605	1.00	(0.99-1.00)
多変量調整モデル <sup>a</sup> (3年以内症例除外 <sup>c</sup> )	Ref.	1.09	(0.56-2.15)	1.25	(0.62-2.53)	0.539	1.00	(0.99-1.00)
<b>HbGA</b>								
中央値 (pmol/gHb)	29.6	44.0		74.1				
症例/対照	40/83	32/83		53/84				
OR マatching変数調整モデル	Ref.	0.82	(0.47-1.43)	1.36	(0.79-2.35)	0.246	1.00	(0.99-1.01)
多変量調整モデル <sup>a</sup>	Ref.	0.79	(0.42-1.49)	1.46	(0.79-2.69)	0.222	1.00	(0.99-1.01)
多変量調整モデル <sup>b</sup>	Ref.	0.77	(0.44-1.37)	1.55	(0.88-2.72)	0.129	1.00	(1.00-1.01)
多変量調整モデル <sup>a</sup> (3年以内症例除外 <sup>c</sup> )	Ref.	0.76	(0.39-1.50)	1.57	(0.81-3.02)	0.183	1.00	(0.99-1.01)
<b>Sum of HbAA + HbGA</b>								
中央値 (pmol/gHb)	75.7	110.6		174.1				
症例/対照	41/83	36/83		48/84				
OR マatching変数調整モデル	Ref.	0.87	(0.49-1.54)	1.18	(0.68-2.06)	0.536	1.00	(1.00-1.00)
多変量調整モデル <sup>a</sup>	Ref.	0.84	(0.44-1.63)	1.36	(0.72-2.58)	0.330	1.00	(1.00-1.00)
多変量調整モデル <sup>b</sup>	Ref.	0.91	(0.52-1.59)	1.31	(0.74-2.30)	0.357	1.00	(1.00-1.00)
多変量調整モデル <sup>a</sup> (3年以内症例除外 <sup>c</sup> )	Ref.	0.86	(0.43-1.72)	1.41	(0.72-2.76)	0.316	1.00	(1.00-1.00)
<b>Ratio of HbGA/HbAA</b>								
中央値 (pmol/gHb)	0.51	0.66		0.83				
症例/対照	23/83	47/83		55/84				
OR マatching変数調整モデル	Ref.	2.08	(1.15-3.75)	2.52	(1.38-4.61)	0.004	5.50	(1.62-18.62)
多変量調整モデル <sup>a</sup>	Ref.	1.61	(0.90-2.90)	1.79	(1.00-3.23)	0.051	3.64	(1.07-12.46)
多変量調整モデル <sup>b</sup>	Ref.	1.64	(0.90-3.01)	1.91	(1.03-3.53)	0.042	3.96	(1.09-14.33)

**多変量調整モデル<sup>a</sup> (3年以内症例除外<sup>c</sup>)**

Ref.

2.00 (1.01-3.94)

2.03 (0.98-4.16)

0.074

3.60 (0.74-17.6)

a) 体格指数 (Body Mass Index (BMI) <25, ≥25, または欠損), 乳癌の家族歴 (有または無), 初潮年齢 (≤13, 14, 15, ≥16, または欠損), 初産年齢 (<26, ≥26, または欠損), 外因性女性ホルモンの使用 (有, 無, または欠損), 喫煙状況 (現在または過去, 未経験, または欠損), アルコール摂取 (150g未満または150g/週以上) で調整した。

b) 20回の多重代入後のオッズ比 (95 %信頼区間)。

c) 5年後の追跡調査から3年以内に発生した乳がん症例を除外した感度分析

d) HbAA, HbGA, HbAA+HbGAの合計, HbGA/HbAAの比の連続変数をロジスティック回帰モデルに追加

略語 HbAA : アクリルアミドのヘモグロビン付加物、HbGA : グリシダミドのヘモグロビン付加物、OR : オッズ比、CI : 信頼区間、Ref : 参考基準

## 2 研究全体の成果、考察及び結論

日本人のコホート集団対象として FFQ による AA 推定摂取量をばく露指標とした我々の解析では、乳がんをはじめとする主ながん種において、発がんとの関連は認められないという結果が得られた。FFQ によるばく露量は欧米諸国に比べて小さかったため、日本人では食品中 AA ばく露ががん発生リスクに与える影響は限定的であることが示唆された。一方で、各研究で用いられる FFQ による推定ばく露量の絶対値比較は慎重を要すること、FFQ の測定誤差による関連の希薄化などの研究限界、また、代謝産物である GA の影響の検討などを踏まえると、生体指標を用いた研究を実施し、結果を多角的に検証することが必要であった。

本研究では、大規模コホート研究の保存血液検体を用いたコホート内症例対照研究を実施し、生体指標を用いた AA ばく露量とがん罹患リスクとの関連を検討することを目的として計画された。まず、その基礎的検討として、陰膳法サンプルの測定値を伴う検体を用いて、HbAA 及び血中 AA とその代謝物である GA の定量値を、食事調査からのばく露値と比較することで、長期的かつ累積的なばく露指標として可能性を検討した。また、コホート集団の一部対象者の保存血液を用いて、生体指標の個人内・個人間変動を検討し、さらに生体指標を比較基準として食事調査からの推定摂取量の妥当性検証を行った。最終的には、これらの基礎検討を踏まえ、乳がんを対象としたコホート内症例対照研究を行った。

コホート研究のサブグループを対象に行った検討では、食事摂取量では個人内変動が大きいにも関わらず、HbGA の個人間変動が個人内変動を上回るという結果となり、食品からの摂取によるばく露の状況に関わらず、AA の代謝産物の各個人内での変動は小さいという結果であった。すなわち AA への曝露の個人差は、食事由来のばく露よりむしろ代謝を反映するということが明らかになった。HbAA については非喫煙者では食事摂取量と同じく個人内変動が大きい、喫煙者では個人間変動の方が大きいという結果であったことから、食事由来摂取量がばく露の個人差に与える影響が小さいということが示唆された。なお、測定値については先行研究<sup>2,3)</sup>に比して高い値を示していた。その理由については、対象者の特性、採血後の検体の保管方法（採血から保凍結までの時間、凍結保存期間など）、採血のタイミングに対する摂取の時期や摂取量、対象者の採血前の喫煙状況・受動喫煙状況の違いなどが考えられる。しかし、今回の結果において、これらの複数の要素について、現時点では不明であるために、高い値を示していた理由は不明である。一方、値は高いものの、先行研究で報告されたように、喫煙者における血中濃度は非喫煙者よりも高い。喫煙者の血中濃度が非喫煙者のそれより高い点は従来の知見と矛盾はなく<sup>3)</sup>、測定値の絶対値の評価は困難としても、個人間・個人内変動の評価には適用できるように思われる。

生体指標を用いた AA ばく露と乳がんのリスクの関連検討では、多変量調整モデルにおいて、低値に対する高値の OR は点推定値が 1.0 を超えていたが有意な関連はなかった。一方、HbGA/HbAA は乳がん罹患率と正の関連があった。同じ生体指標を用いた欧州のコホート内症例対照研究では、非飲酒者において HbGA/HbAA と卵巣がんリスクに正の関連が認められると報告された<sup>4)</sup>。乳がんを対象として行われた先行研究はないが、がん以外に糖尿病<sup>5)</sup>、肝臓病<sup>6)</sup>、肥満<sup>7)</sup>などの疾患との関連については検討されており、AA の代謝に関わる CYP2E1 の酵素活性が促進することによる酸化ストレスの上昇をもたらすことが疾病発生の機序として考察されている。

前述の通り、血中 AA のばく露は、食事由来摂取量のみならず、環境要因も影響していること、代謝の個人差があることから、結果の解釈には注意が必要であるが、結論として、本研究ではコホート内症例対照研究の結果、HbAA に対する HbGA の比と乳がん罹患率との間に正の関連が認められ、日本人

においても AA のばく露が、乳がんのリスクに影響する可能性が否定できないことが示唆された。

#### 【参考文献】

- 1) Kotemori A, et. al, Validity of a self-administered food frequency questionnaire for the estimation of acrylamide intake in the Japanese population: the JPHC FFQ Validation Study, *Journal of Epidemiology*, 2018;28:482-487
- 2) Yamamoto J, et. al, Validity of estimated acrylamide intake by the dietary record method and food frequency questionnaire in comparison with a duplicate method: A pilot study. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 2018;64:340-346
- 3) Yamamoto J, Ishihara J, Matsui Y, Matsuda T, Kotemori A, Zheng Y, Nakajima D, Terui M, Shinohara A, Adachi S, Kawahara J, Sobue T, Acrylamide-Hemoglobin Adduct Levels in a Japanese Population and Comparison with Acrylamide Exposure Assessed by the Duplicated Method or a Food Frequency Questionnaire., *Nutrients* 2020: 12
- 4) Obón-Santacana M, Lujan-Barroso L, Travis RC, Freisling H, Ferrari P, Severi G, Baglietto L, Boutron-Ruault MC, Fortner RT, Ose J, Boeing H, Menéndez V, Sánchez-Cantalejo E, Chamosa S, Castaño JM, Ardanaz E, Khaw KT, Wareham N, Merritt MA, Gunter MJ, Trichopoulou A, Papatesta EM, Klinaki E, Saieva C, Tagliabue G, Tumino R, Sacerdote C, Mattiello A, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Onland-Moret NC, Idahl A, Lundin E, Weiderpass E, Vesper HW, Riboli E, Duell EJ. Acrylamide and Glycidamide Hemoglobin Adducts and Epithelial Ovarian Cancer: A Nested Case-Control Study in Nonsmoking Postmenopausal Women from the EPIC Cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016;25:127-34.
- 5) Yin G, Liao S, Gong D, Qiu H. Association of acrylamide and glycidamide haemoglobin adduct levels with diabetes mellitus in the general population. *Environ Pollut.* 2021;277:116816.
- 6) Liu Z, Wang J, Chen S, Xu C, Zhang Y. Associations of acrylamide with non-alcoholic fatty liver disease in American adults: a nationwide cross-sectional study. *Environ Health.* 2021;20:98.
- 7) Huang M, Zhuang P, Jiao J, Wang J, Zhang Y. Association of acrylamide hemoglobin biomarkers with obesity, abdominal obesity and overweight in general US population: NHANES 2003-2006. *Sci Total Environ.* 2018;631-632:589-596.

#### Ⅲ 本研究を基にした論文等

- 1 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名のリスト（査読付きの場合は、雑誌名の冒頭に◎）
- 1) ◎Ling Zha, Rong Liu, Tomotaka Sobue, Tetsuhisa Kitamura, Junko Ishihara, Ayaka Kotemori, Sayaka Ikeda, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Shoichiro Tsugane, For The Jphc Study Group, Dietary Acrylamide Intake and the Risk of Hematological Malignancies: The Japan Public Health Center-Based Prospective Study., *Nutrients* 13(2) 2021 年 2 月 11 日
- 2) ◎Junpei Yamamoto, Junko Ishihara, Yasuto Matsui, Tomonari Matsuda, Ayaka Kotemori, Yazhi Zheng, Daisuke Nakajima, Miho Terui, Akiko Shinohara, Shuichi Adachi, Junko Kawahara, Tomotaka Sobue, Acrylamide-Hemoglobin Adduct Levels in a Japanese Population and Comparison with Acrylamide Exposure Assessed by the Duplicated Method or a Food Frequency Questionnaire., *Nutrients* 12(12) 2020 年 12 月 17 日

- 3) ©Kumiko Kito, Junko Ishihara, Ayaka Kotemori, Ling Zha, Rong Liu, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Tomotaka Sobue, Shoichiro Tsugane, Dietary Acrylamide Intake and the Risk of Pancreatic Cancer: The Japan Public Health Center-Based Prospective Study., Nutrients 12(11) 2020 年 11 月 22 日
- 4) ©Ling Zha, Tomotaka Sobue, Tetsuhisa Kitamura, Yuri Kitamura, Junko Ishihara, Ayaka Kotemori, Rong Liu, Sayaka Ikeda, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Shoichiro Tsugane, For The Jphc Study Group, Dietary Acrylamide Intake and the Risk of Liver Cancer: The Japan Public Health Center-Based Prospective Study., Nutrients 12(9) 2020 年 8 月 19 日
- 5) ©Rong Liu, Ling Zha, Tomotaka Sobue, Tetsuhisa Kitamura, Junko Ishihara, Ayaka Kotemori, Sayaka Ikeda, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Shoichiro Tsugane, Dietary Acrylamide Intake and Risk of Lung Cancer: The Japan Public Health Center Based Prospective Study., Nutrients 12(8) 2020 年 8 月 12 日
- 6) ©Kumiko Kito, Junko Ishihara, Junpei Yamamoto, Takayuki Hosoda, Ayaka Kotemori, Ribeka Takachi, Kazutoshi Nakamura, Junta Tanaka, Taiki Yamaji, Taichi Shimazu, Yuri Ishii, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Hiroyasu Iso, Tomotaka Sobue, Shoichiro Tsugane, Variations in the estimated intake of acrylamide from food in the Japanese population., Nutrition journal 19(1) 17-17 2020 年 2 月 21 日
- 7) ©Nobuhiro Narii, Kumiko Kito, Tomotaka Sobue, Ling Zha, Tetsuhisa Kitamura, Yasuto Matsui, Tomonari Matsuda, Ayaka Kotemori, Misako Nakadate, Motoki Iwasaki, Manami Inoue, Taiki Yamaji, Shoichiro Tsugane, Junko Ishihara, and Norie Sawada. Acrylamide and glycidamide hemoglobin adduct levels and breast cancer risk in Japanese women: A nested case-control study in the JPHC. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, in press

## 2 本研究を基にした学会発表の実績

伊藤慎二、松田知成、小手森綾香、山本純平、石原淳子、祖父江友孝、松井康人：アクリルアミド-ヘモグロビン付加体の定量とアクリルアミド摂取量との関係性、日本産業衛生学会、2018 年（名古屋）

安本勇貴、高砂彩純、伊藤慎二、小手森綾香、山本純平、石原淳子、祖父江友孝、松井康人、松田知成：アクリルアミド-ヘモグロビン付加体の定量とアクリルアミド摂取量との関係性、日本疫学会、2018 年（東京）

高砂彩純、安本勇貴、伊藤慎二、小手森綾香、山本純平、石原淳子、祖父江友孝、松井康人、松田知成：アクリルアミドの血中濃度の定量と曝露指標に関する研究、日本疫学会、2018 年（東京）

高砂彩純、安本勇貴、伊藤慎二、小手森綾香、山本純平、石原淳子、祖父江友孝、松井康人、松田知成、米田稔：アクリルアミドの血中濃度の定量と曝露指標に関する研究、質量分析研究会、2019 年（京都）

- ※ 上記には研究費が採択されなかった 2018 年度の期間に、本研究遂行目的のために予備的に行った検討事項も含む。

## 3 特許及び特許出願の数と概要

なし

- 4 その他（各種受賞、プレスリリース、開発ソフト・データベースの構築等）  
情報発信のためのウェブページ（麻布大学食のデータサイエンス研究室 HP 内）作成  
<https://www.azbneds.com/acrylamide>  
多目的コホート研究班による研究成果（概要版 No. 330, 370, 375, 376, 384, 389）発信  
<https://epi.ncc.go.jp/cgi-bin/cms/public/index.cgi/nccepi/jphc/outcome/index>

#### IV 研究開始時に申告した達成目標及び研究全体の自己評価

##### 1 達成目標の自己評価（委託研究実施計画書に記載した達成目標を転記し、その自己評価を記載する。）

達成目標	評価結果	自己評価コメント
（１）陰膳測定値を伴う検体を活用し、血中アクリルアミド-ヘモグロビン付加体及びアクリルアミド、グリシドアミドの長期的、累積的ばく露指標としての有用性を検討し、コホート内症例対照研究の検討に最適な指標としての意義を明らかにする。また、そのための定量方法とその妥当性確認と精度管理についても検討する。	5	フリーのアクリルアミド、グリシドアミドの測定可能性の検討、最小使用検体量、精度管理などの検討を行い、一定の成果を得た。
（２）大規模コホート研究の一部対象者保存検体を用いて、上記の生体指標を実測し、摂取による個人内変動を考慮したばく露評価及び、摂取量推定値の妥当性を検証する。	5	個人内変動を考慮したばく露評価及び、摂取量推定値の妥当性の検証を完了した。
（３）大規模コホート研究の保存検体を用いて、コホート内症例対照研究を実施し、生体指標を用いたアクリルアミドばく露量と、各種がん罹患リスクとの関連を明らかにする。	5	生体指標を用いたばく露量と、乳がん罹患との関連について、血中アクリルアミド、血中グリシドアミド（代謝物）、およびそれらの和については、点推定値が 1.0 を超えていたが有意な関連はなかった。一方、HbGA/HbAA は乳がん罹患率と正の関連が認められた。AA が乳がんリスク増加を増加させることはなさそうであるが、HbAA 絶対値のみでなく HbAA/HbGA の比や代謝遺伝子の活性についても今後知見を深める必要がある。

注) 評価結果欄は「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で自己採点。

##### 2 研究全体の自己評価

項目	評価結果	自己評価コメント
（１）研究目標の達成度	5	目標をすべて達成し、さらに前進の研究（研究課題 1503）の成果発信にも努めた。
（２）研究成果の有用性	5	質問票によるばく露評価では認められなかったアクリルアミドばく露の発がんリスクを、生体指標を用いて明示した。生体指標を用いたアクリルアミド曝露とがん罹患を調べた日本初の前向き疫学研究であり、日本人におけるリスク評価のための重要なエビデンス構築に貢献した。

#### 総合コメント

コロナ禍で測定の遂行が困難となり、全体的に遅れは生じたものの、分担者との連携により研究目標をすべて達成することができた。研究成果の論文化については引き続き進める。

注) 評価結果欄は、「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で自己採点。

この報告書は、食品安全委員会の委託研究事業の成果について取りまとめたものです。

本報告書で述べられている見解及び結論は研究者個人のものであり、食品安全委員会としての見解を示すものではありません。全ての権利は、食品安全委員会に帰属します。

(別添1)

### 研究成果の概要 (和文)

生体指標を用いたアクリルアミド(AA)曝露量とがん罹患リスクとの関連の検討を目的に実施した。まず、陰膳法サンプルの測定値を伴う検体を用いて基礎的検討を行い、欧米の先行研究にも用いられているAAおよびその代謝物であるグリシドアミド(GA)のヘモグロビン付加体(HbAA、HbGA)を長期的かつ累積的なばく露指標として用いることについて検証を行ったうえで、コホート集団の一部対象者の保存血液を測定し、生体指標の個人間及び個人内変動を検討した。その結果、食事摂取量では個人内変動が大きく、HbGAでは個人間変動が大きいという結果となった。食品由来の摂取によるばく露の状況に関わらず、AAの代謝産物の各個人内での変動は小さいことから、AAへの曝露の個人差は、食事由来のばく露よりむしろ代謝を反映するということが明らかになった。さらに生体指標を比較基準として、食事調査から推定した摂取量の妥当性を検証した。これらの基礎的な検討に基づき、AAのばく露が乳がん罹患に及ぼす影響を、コホート内症例対照研究の方法を用いて検討した。その結果、HbAAに対するHbGAの比と乳がん罹患率との間に正の関連が認められ、AAが乳がんリスク増加を増加させることはなさそうであるが、HbAA絶対値のみでなくHbAA/HbGAの比や代謝遺伝子の活性についても今後知見を深める必要があることが示唆された。血中AAのばく露は、食事由来摂取量のみならず、環境要因も影響していること、代謝の個人差があることから、結果の解釈には注意が必要である。

(別添2)

研究成果の概要 (英文)

Title of research project	Risk assessment on acrylamide exposure - A nested case-control study from a large prospective cohort study
Research project number	1904
Research period	FY 2019 – 2021
Name of principal research investigator (PI)	Junko Ishihara

Abstract/Summary

The purpose of this study was to investigate the association between acrylamide (AA) exposure and the cancer incidence using biological indicators as an exposure. We measured AA- and glycidamide-hemoglobin adduct (HbAA, HbGA) using red blood cell (RBC) specimens from substudy (n=561) of the Japan Public Health Center-base Prospective Cohort Study conducted in 1995-1998. We randomly selected 60 subjects from those who had RBC specimens from 4 seasons. The inter- and intra-individual variability of the HbAA and HbGA were calculated. The results showed that there was a large intra-individual variation in dietary intake and a large inter-individual variation in HbGA. Intra-individual variability of AA metabolites was small regardless of exposure status from dietary intake, indicating that intra-individual differences in AA exposure reflect metabolism rather than exposure from dietary sources. Furthermore, the intake estimated from the dietary surveys were compared biological indicators. Validity of dietary intake from FFQ which indicate long-term dietary intake was high. Finally, the association of AA exposure and breast cancer incidence was examined in a nested case-control study. The results showed a positive association between the ratio of HbGA to HbAA and breast cancer incidence, suggesting that AA does not seem to increase the increased risk of breast cancer, but that more needs to be learned not only about absolute HbAA but also about the HbAA/HbGA ratio and metabolic gene activity. Cautious consideration should be exercised in interpreting the results because exposure to AA in blood is influenced not only by dietary intake but also by environmental factors, and there are individual differences in metabolism.

This report provides outcome of the captioned research programme funded by Food Safety Commission Japan (FSCJ). This is not a formal publication of FSCJ and is neither for sale nor for use in conjunction with commercial purpose. All rights are reserved by FSCJ. The view expressed in this report does not imply any opinion on the part of FSCJ.

1. List of papers published on the basis of this research

- ◎Ling Zha, Rong Liu, Tomotaka Sobue, Tetsuhisa Kitamura, Junko Ishihara, Ayaka Kotemori, Sayaka Ikeda, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Shoichiro Tsugane, For The Jphc Study Group, Dietary Acrylamide Intake and the Risk of Hematological Malignancies: The Japan Public Health Center-Based Prospective Study., *Nutrients* 13(2) 2021
- ◎Junpei Yamamoto, Junko Ishihara, Yasuto Matsui, Tomonari Matsuda, Ayaka Kotemori, Yazhi Zheng, Daisuke Nakajima, Miho Terui, Akiko Shinohara, Shuichi Adachi, Junko Kawahara, Tomotaka Sobue, Acrylamide-Hemoglobin Adduct Levels in a Japanese Population and Comparison with Acrylamide Exposure Assessed by the Duplicated Method or a Food Frequency Questionnaire., *Nutrients* 12(12) 2020
- ◎Kumiko Kito, Junko Ishihara, Ayaka Kotemori, Ling Zha, Rong Liu, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Tomotaka Sobue, Shoichiro Tsugane, Dietary Acrylamide Intake and the Risk of Pancreatic Cancer: The Japan Public Health Center-Based Prospective Study., *Nutrients* 12(11) 2020
- ◎Ling Zha, Tomotaka Sobue, Tetsuhisa Kitamura, Yuri Kitamura, Junko Ishihara, Ayaka Kotemori, Rong Liu, Sayaka Ikeda, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Shoichiro Tsugane, For The Jphc Study Group, Dietary Acrylamide Intake and the Risk of Liver Cancer: The Japan Public Health Center-Based Prospective Study., *Nutrients* 12(9) 2020
- ◎Rong Liu, Ling Zha, Tomotaka Sobue, Tetsuhisa Kitamura, Junko Ishihara, Ayaka Kotemori, Sayaka Ikeda, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Shoichiro Tsugane, Dietary Acrylamide Intake and Risk of Lung Cancer: The Japan Public Health Center Based Prospective Study., *Nutrients* 12(8) 2020
- ◎Kumiko Kito, Junko Ishihara, Junpei Yamamoto, Takayuki Hosoda, Ayaka Kotemori, Ribeka Takachi, Kazutoshi Nakamura, Junta Tanaka, Taiki Yamaji, Taichi Shimazu, Yuri Ishii, Norie Sawada, Motoki Iwasaki, Hiroyasu Iso, Tomotaka Sobue, Shoichiro Tsugane, Variations in the estimated intake of acrylamide from food in the Japanese population., *Nutrition journal* 19(1) 17-17 2020
- 8) ◎Nobuhiro Narii, Kumiko Kito, Tomotaka Sobue, Ling Zha, Tetsuhisa Kitamura, Yasuto Matsui, Tomonari Matsuda, Ayaka Kotemori, Misako Nakadate, Motoki Iwasaki, Manami Inoue, Taiki Yamaji, Shoichiro Tsugane, Junko Ishihara, and Norie Sawada. Acrylamide and glycidamide hemoglobin adduct levels and breast cancer risk in Japanese women: A nested case-control study in the JPHC. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, in press

2. List of presentations based on this research

3. The number and summary of patents and patent applications

None

4. Others (awards, press releases, software and database construction)

Outreach activity by Nutrition Epidemiology & Data Science Laboratory, Azabu University:

<https://www.azbneds.com/acrylamide>

Outreach activity by National Cancer Center:

Research Summary (No. 330, 370, 375, 376, 384, 389)

<https://epi.ncc.go.jp/cgi-bin/cms/public/index.cgi/ncccepi/jphc/outcome/index>