

化学物質の生体内暴露指標としてのヘモグロビン付加体の利用

静岡県立大学 食品栄養科学部
教授 増田 修一

School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka
Professor Shuichi Masuda



1. はじめに

我々は、食品中に存在する化学物質に日常的に暴露されており、これらの中には薬物代謝酵素により代謝活性化を受け、DNAやタンパク質などの生体成分と結合し、様々な生体影響を引き起こすものが存在している。したがって、これら化学物質のヒトに対するリスクを評価することは重要である。

一般に、化学物質のヒトに対するリスク評価は、各物質の有害性（毒性）と暴露（摂取）量を用いて行われ、有害性については、様々な毒性試験を用いて評価する。暴露量においては、実際の食品中の含有量を測定し、さらに各食品の摂取量についてアンケートなどを用いて推定することで算出するが、その値は正確とはいえない。したがって、実際の化学物質の暴露量を評価する手法が求められる。

化学物質の生体影響の一つに遺伝毒性がある。遺伝毒性とは、化学物質などにより、DNAや染色体、またそれらに関連するタンパク質が作用を受けることで、DNAおよび染色体の構造や量を変化させる作用をいう。これらの事象が起こると、がん化が進むことから、遺伝毒性は、がんなどの疾患を誘導する潜在的メカニズムといえる。遺伝毒性を示す化学物質には、DNAの塩基と結合して、DNA付加体を形成するものがあり、それに伴って遺伝子に変異が生じる。このように、遺伝毒性物質の暴露は、臓器や組織中のDNA付加体量を測定することで推定できるが、DNA付加体は、修復酵素により除去されることから、長期的な化学物質の暴露を評価することは難しい。そこで、現在、化学物質の暴露指標としてヘモグロビン付加体が用いられている。

2. ヘモグロビン付加体とは

ヘモグロビンは、脊椎動物の血液中に存在する赤血球中タンパク質であり、酸素分子と結合することから、肺で酸素を受け取った後、全身に酸素を運搬する役割を担っている。DNA付加体を形成する化学物質は、ヘモグロビンのβ鎖のN末端バリンと結合し、ヘモグロビン付加体を生成することが報告されており、その形成量はDNA付加体量と正の相関関係を示す。赤血球は寿命が長く（約120日）、DNA付加体の様に除去されない。したがって、ヘモグロビン付加体は、生体内に長期間に渡り存在することから、化学物質の暴露指標として有用であり、LC-MS/MSやGC-MSなどを用いて測定する。

3. アクリルアミド

ヘモグロビン付加体を形成する化学物質として、エチレンオキシド、フルフラール、アクリロニトリルなどがあるが、これら物質の中でも特に食品中に存在するアクリルアミドが問題となっている。アクリルアミドは、アミノ酸の一種であるアスパラギンと果糖やブドウ糖などの還元糖が、加熱などによる高温

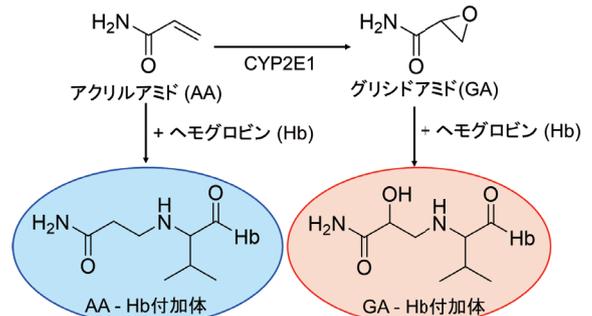


図1 アクリルアミドおよびグリシドアミドのヘモグロビン付加体形成

条件下でアミノカルボニル反応（メイラード反応）を起こして生成する化学物質で、フライドポテト、ポテトチップス、コーヒー、さらにタバコの煙などに含まれている。アクリルアミドは、生体内で薬物代謝酵素であるCYP2E1により代謝されて、グリシドアミドに変化してDNA付加体を形成することで、遺伝毒性が誘発される。また、アクリルアミド自体、また代謝物であるグリシドアミドはヘモグロビンと結合して、ヘモグロビン付加体を形成し、両物質の暴露指標として用いられている（図1）。Yamamotoらは、非喫煙者に比べ、喫煙者のアクリルアミドのヘモグロビン付加体量が多く、さらに欧米と同程度の値を示したことを明らかにしている¹⁾。

4. グリシドール脂肪酸エステル

最近、問題となった食品中の化学物質として、グリシドール脂肪酸エステルがある。グリシドール脂肪酸エステルは構造内にグリシドールを持ち、このグリシドール自体、エポキシ樹脂、アルキド樹脂、樹脂安定剤、木綿・羊毛などの改質剤などに使用されているが、国際がん研究機関では、「ヒトに対して恐らく発がん性がある」とされている。グリシドール脂肪酸エステルは、食用油、特にジアシルグリセロール (DAG) を含む食用油に多く含有しており、摂取されると、生体内においてリパーゼの作用により、グリシドールが生成することから、社会

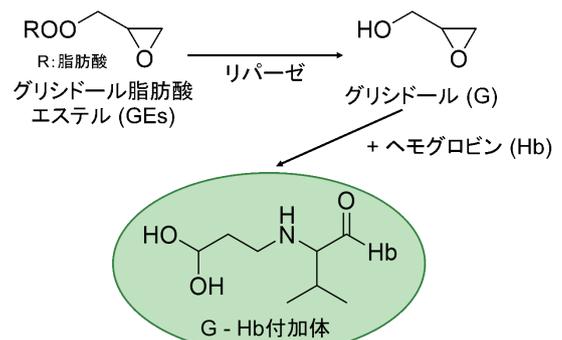


図2 グリシドールのヘモグロビン付加体形成

問題となった。グリシドールもアクリルアミドやグリシドールと同様にヘモグロビン付加体が形成される(図2)。

これまでに、グリシドール脂肪酸エステルの暴露摂取源としては、DAGを多く含む食用油が考えられてきた。Hondaらは、実際にDAG油がグリシドール脂肪酸エステルの暴露摂取源であるか確認するために、グリシドール脂肪酸エステルを摂取した被験者と摂取していない被験者の血液中のグリシドールのヘモグロビン付加体量を測定した²⁾。その結果、DAG油摂取群と非摂取群におけるグリシドールのヘモグロビン付加体量に有意な差は認められなかった(図3)。我々は、DAG油以外の新たな暴露摂取源を探索するために、加熱調理した畜肉及び魚介類中のグリシドール脂肪酸エステルを測定した。その結果、DAG油と同程度のグリシドール脂肪酸エステルが含まれていることを確認した³⁾。そこで、一定期間、被験者にグリシドール脂肪酸エステルを含む加熱調理した焼肉食を摂取させた後、血中のグリシドールのヘモグロビン付加体量を測定した。その結果、焼肉食を摂取させた群と非摂取群において、ヘモグロビン付加体量に差は認められなかった。したがって、我々は、日常的に様々な暴露摂取源からグリシドール脂肪酸エステルを摂取していることが示唆された。

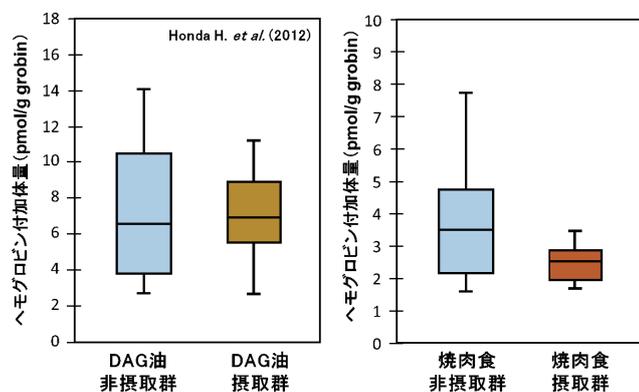


図3 DAG油摂取時および焼肉食摂取時におけるグリシドール-ヘモグロビン付加体量

5. その他のヘモグロビン付加体とその利用

ヘモグロビン付加体を測定することで、アルコールの摂取状況も把握することが可能である。アルコールは摂取されると、アルデヒド脱水素酵素により、アセトアルデヒドに変換され、このアセトアルデヒドが、血中のヘモグロビンと結合して、アセトアルデヒド-ヘモグロビン付加体が形成される。Takeshitaらは、被験者に7日間連続で飲酒(エタノール換算0.4mL/kg体重)させたところ、アセトアルデヒド-ヘモグロビン付加体量は上昇を続けたが、禁酒することにより減少することを確認している⁴⁾。

また、ヘモグロビン付加体は、糖尿病診療における指標としても使用されている。ヘモグロビンA1c(HbA1c)は、糖尿病診療で最も重要な臨床検査指標として用いられているヘモグロビン付加体である。HbA1cは、他の化学物質と同様にグルコースが、ヘモグロビンのβ鎖のN末端バリンに結合することで生成する。HbA1cの血中濃度は、過去数カ月の平均の血糖状態を反映することから、慢性的な糖尿病の診断に有効である⁵⁾。

6. 化学物質とヘモグロビンとの相互作用

このようにヘモグロビン付加体は様々な用途に応用できる暴露指標であるが、化学物質がヘモグロビンのβ鎖のN末端バ

リンにのみ結合して、付加体を形成するとは限らない。そこで、我々は、ドッキングシュミレーションを用いて、アクリルアミドおよびグリシドールのヘモグロビンとの相互作用について解析を行った。その結果、アクリルアミドおよびグリシドールは、ヘモグロビンのβ鎖のN末端のバリン以外の複数のアミノ酸とも相互作用することが示唆された。

7. おわりに

以上のことより、化学物質の暴露指標としてヘモグロビン付加体が有効であるが、全ての化学物質がヘモグロビン付加体を形成するとは限らず、また、ヘモグロビンの別の部位に相互作用して、別の付加体を形成することも考えられる。今後は、各化学物質に対応するヘモグロビン付加体を探索し、ヘモグロビン付加体を含めた新たな暴露指標を調べることで、化学物質の真のリスク評価が実現すると考えられる。

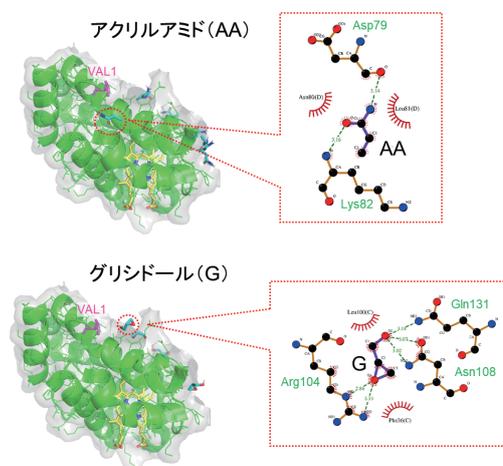


図4 ドッキングシュミレーションを用いたアクリルアミドおよびグリシドールのヘモグロビンとの相互作用解析

参考文献

- (1) J. Yamamoto, *et al.* 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, 3863, (2020).
- (2) H. Honda *et al.*, Glycidol exposure evaluation of humans who have ingested diacylglycerol oil containing glycidol fatty acid esters using hemoglobin adducts, *Food Chem. Toxicol.*, 50, 4163-4168 (2012).
- (3) R Inagaki *et al.*, Formation of glycidol fatty acid esters in meat samples cooked by various methods, *J. Food Process. Technol.*, 7, 2-7 (2016).
- (4) T. Takeshita and K. Morimoto, Accumulation of hemoglobin-associated acetaldehyde by habitual drinking of alcohol, *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 24, 1-7, (2000).
- (5) E.J. Gallagher *et al.*, Review of hemoglobin A1c in the management of diabetes, *J. Diabetes*, 1, 9-17 (2009).

増田 修一(ますだ しゅういち)氏 略歴

1994年 3月	静岡県立大学大学院生活健康科学研究所 食品栄養科学専攻修士課程 修了
1995年 4月	新日本気象海洋1大阪支店環境化学部研究員
1997年 7月	国立公衆衛生院水道工学部研究員(出向)
1999年 6月	国土環境1(旧:新日本気象海洋、現いであ)環境創造研究所 主査研究員
2001年 5月	静岡県立大学食品栄養科学部 助手
2006年 7月	博士(食品栄養科学) 静岡県立大学
2007年 4月	静岡県立大学食品栄養科学部 助教
2009年 4月	静岡県立大学食品栄養科学部 准教授
2017年10月	静岡県立大学食品栄養科学部 教授(現在に至る)