

便の変異原性と便中金属量, 喫煙習慣および食事摂取量との関連

コサカ 小坂	ヒロシ 博*	ナカムラ 中村	セイイチ 清一*,3*	オダ 織田	ハジメ 肇*	ミヤジマ 宮島	トシオ 年男*
スミモト 住本	タケオ 建夫*	ムラタ 村田	ヒロム 弘*	ホリ 堀	シンジロウ 伸二郎*	コマチ 小町	ヨシオ 喜男*
サトウ 佐藤	シンイチ 真一2*	キヤマ 木山	マサヒコ 昌彦2*	ナイトウ 内藤	ヨシヒコ 義彦2*	イイダ 飯田	ミノル 稔2*

目的 本研究は大腸の粘膜細胞に対する変異原物質の曝露程度予測のための基礎データを得ることを目的として, 都市生活者を対象に便の変異原性を調べた。また, 同時に行った便中金属の測定および食事調査より得られた摂取食品や栄養成分と便の変異原性との関係についても検討した。

方法 大阪市近郊の都市で実施した老人保健事業基本健康診査を受診した中高年男女199人が自宅で採取した便を回収, 凍結乾燥後, 粉末にした。これから水可溶性成分を抽出し, その変異原性を umu 試験により測定した。金属量は原子吸光分析法により測定した。食事および栄養摂取量調査は, 採便前日の食事内容を献立名で記入させ, さらに, 栄養士が確認した。摂取栄養量の数値化は四訂食品標準成分表のほか, 献立当たり栄養素含有量表, 食品一回使用量当たり栄養素含有量を用いて行った。

結果 便の変異原性は女子に比べて男子で高く, また, 男子では40歳代で高く, 50歳代以上で低い傾向にあった。女子では年齢による違いはみられなかった。便中の金属含有量は多い順に, カルシウム, カリウム, マグネシウム, ナトリウム, 亜鉛, 鉄, マンガン, 銅であり, 便による金属排泄量はカルシウムの650 mg/日から銅の1.70 mg/日と金属により大きな違いがみられた。便の金属含有量と変異原性の関係は, 測定した8種類の金属のうち, 亜鉛と鉄がS9(+)で正の相関関係を, また, ナトリウムが負の相関関係を示した。喫煙量と便の変異原性の間に相関関係を予想させる結果が得られた。食事調査および栄養調査では, 各食品および栄養成分の摂取量と便の変異原性との間に相関関係を予想させる結果は得られなかった。

結論 人の便は多くの変異原物質・発がん物質を含んでおり, 大腸粘膜に直接作用する便の変異原性を調べることは重要である。しかしながら, 試料収集が困難なことに加えて, 日常生活, 環境条件, 個人差など, 多様な要因が存在するため, 安定した結果を得ることが難しい。便の変異原性と食習慣との関連を調べるためには, 試料数を十分多くするとともに, 生活条件をそろえた者から試料を採取するなどの配慮が要求される。

Key words : 便, 変異原性, 食事, 金属, 生活習慣, 大腸がん

I 緒 言

わが国ではこれまで欧米諸国に比較して胃がんの発生率が高く, 大腸がんの発生率は低い水準に

あった。しかし, 近年, 胃がんの発生率は低下の傾向にあるものの, 大腸がんの発生率は増加の傾向にある¹⁾。多くの疫学研究から, がん発生の原因の多くは食事を含む環境因子によるものとされている²⁻⁴⁾。中でも, 大腸がんの発生に関する疫学調査から, 大腸がんの発生は脂肪および繊維質の摂取量が強く関係しているとされており^{4,5)}, 日本における大腸がんの増加は日本人の食生活が洋風化し, その結果, 脂肪の摂取量が増加し, 逆

* 大阪府立公衆衛生研究所

2* 大阪府立成人病センター

3* 体質研究会

連絡先: 〒537-0025 大阪市東成区中道1丁目3番69号

大阪府立公衆衛生研究所 労働衛生部 小坂 博

に繊維質の摂取量が減少したことが関係しているものと考えられている⁴⁾。

他の多くののがんと同様に大腸がんは宿主の遺伝的要因と食事を含む環境要因が互いに作用し、多くの遺伝子変化が蓄積して発生する生活習慣病であり、DNA 損傷物質 (変異原) による遺伝子変化ががんのはじまりとされている。食物には多くの変異原 (遺伝毒性物質) が含まれているが^{6,7)}、食事により体内に侵入した変異原や体内で生成された変異原は腸を通り、便となって体外に排出される。その過程で、便に含まれる変異原は大腸の粘膜細胞の遺伝子に作用して細胞をがん化することが推測される。

そこで、本研究は大腸の粘膜細胞に対する変異原の曝露程度予測のための基礎データを得ることを目的として、都市生活者を対象に便の変異原性を調べた。また、便の金属含有量の調査および同時に行った食事調査の結果より得られた摂取食品および栄養成分と便の変異原性との関係について考察した。

II 方 法

1. 便の収集と前処理

大阪市近郊の都市で実施した老人保健事業基本健康診査を受診した中高年男女のうち、協力の得られた199人 (男子145人; 平均年齢 55.5 ± 8.2 歳, 女子54人; 平均年齢 54.4 ± 7.6 歳) が午前中に自宅で採取した便を回収、秤量後、 -80°C で凍結保存した。なお、受診者は全員、免疫学的便ヘモグロビン測定法 (OC-ヘモディア '栄研') による便潜血検査で陰性であった。便はその後、凍結乾燥 (EYELA, FDU 83; ドライチャンバー, DRC-IN) し、粉砕器 (柴田科学, SCM-40A) で粉末にし、これを変異原性測定用の試料とした。また、このうち男子145人について金属含有量を測定した。

2. 変異原物質の抽出

上記粉末状の試料 2 g に 50 ml のメタノールを加え、1時間攪拌後、遠心分離によりメタノール層と残さに分けた。残さは再度メタノール抽出を行った。得られたメタノール層よりロータリーエバポレーターにより溶媒を除去し、得られた抽出成分を純水に溶解、遠心分離により不溶成分を除いた。さらにロータリーエバポレーターにより水

分を除去し、得られた抽出成分を再び純水に溶解した。遠心分離により不溶成分を除いた後、これを変異原性検出のための試料とした。

3. 変異原性試験

変異原性の検出には我々が開発した umu 試験法^{8,9)}の標準法を一部改変して行った。

試験の原理: 大腸菌の DNA が放射線や変異原で損傷を受けると、DNA 修復機能の向上、突然変異の誘導などが起こる。これらの一連の反応を SOS 反応と呼び、関与する遺伝子群を SOS 遺伝子と呼ぶ。我々は、SOS 遺伝子のひとつである umu 遺伝子と β -ガラクトシダーゼ産生の遺伝子である lacZ を融合させ、このプラスミド (umuC-lacZ 融合遺伝子) をもつ試験菌株を作成した⁸⁾。この菌株では、DNA に損傷を受けると SOS 反応が誘導され、umu 遺伝子の発現と共に lacZ 遺伝子による β -ガラクトシダーゼが産生される。この β -ガラクトシダーゼを測定することにより、SOS 反応の誘導性すなわち DNA の損傷性を測ることができる^{8,9)}。

試験方法: 一夜培養した試験菌株 (ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002) を培地に 1/50量植菌し、菌の濁度 (A_{600}) が 0.25~0.3になるまで 37°C で振とう培養した。別に 0.1 ml の試料をとり、これに、リン酸緩衝液または代謝活性化のための S9mix 0.3 ml、前記試験菌液 2.1 ml を加えた後、 37°C でさらに 2時間振とう培養した。培養後、試験菌液を遠心分離して集菌した。これを、生理的食塩水で洗った後、2.5 ml の生理的食塩水に再懸濁し、この菌液の一部で菌量を、残りの一部で菌体内に産生された β -ガラクトシダーゼ活性を測定した。 β -ガラクトシダーゼ活性は、Miller の方法¹⁰⁾に基づき測定し、次の式により活性値を算出、これを変異原性の強さとした。

β -ガラクトシダーゼ活性

$$= 1000(A_{420} - 1.75 * A_{550}) / t * v * A_{600}$$

t: 反応時間 (分)

v: 試料希釈率

A: それぞれの波長での吸光度

変異原性の強さ (SOS 反応誘導性) は、代謝活性化を行わなかった場合 (S9(-)) と S9mix による代謝活性化を行った場合 (S9(+)) のそれぞれについて、一定便量 (乾燥便 g) あたりの

β -ガラクトシダーゼ活性値 (ユニット) で表わした。また、SOS 反応の誘導性の強さを分りやすく表現するため陰性対照値に対する比率 (実験値/陰性対照値) も算出した。

4. 便中金属量の測定

男子145人の便についてその金属含有量を測定した。乾燥した便約0.2 gを磁製のつぼに精秤した。つぼを電気炉にいれ、250°Cで4時間、次いで550°C 15時間加熱し灰化した。灰化物を2%の温硝酸と2滴の過酸化水素水 (31%) で溶解した。溶解物を20 mlのメスフラスコに移し、2%硝酸を加え20 mlにし、試料とした。金属量の測定は原子吸光分析法により行い (使用機器: Nippon Jarrell Ash AA-880), それぞれ、鉄 (Fe), マンガン (Mn), 銅 (Cu), 亜鉛 (Zn), ナトリウム (Na), カリウム (K), カルシウム (Ca) およびマグネシウム (Mg) を測定した。また、同時に実施した質問紙調査で排便回数はほぼ1日1回であったことから金属含有量に便量を乗じて一日の金属排泄量を求めた。

5. 喫煙状況調査

喫煙状況は問診により求め、問診時より3か月以内に喫煙している場合に喫煙者とし、一日の喫煙本数を聞き取った。問診時より3か月以内に喫煙しなかった者のうち、常習喫煙の経験のある者を禁煙者として、喫煙開始と終了年齢、喫煙時の本数を聞き取った。さらに、過去に常習喫煙の経験のないものを非喫煙者とした。

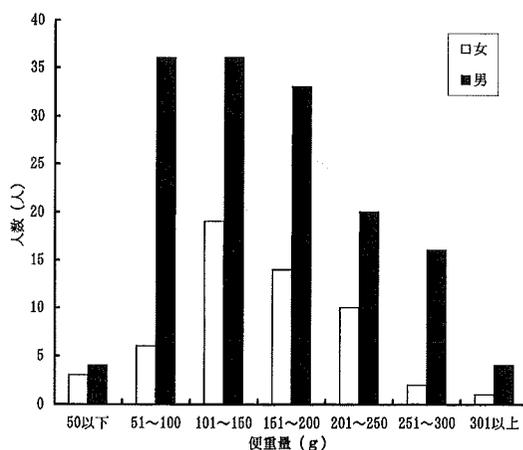
6. 食事および栄養摂取量調査

栄養調査は、採便前日の一日について記録法により行なった。記録表は、朝、昼、夕、間食別に、献立名を献立リストから選択する方式で、標準献立の質・量との異同を注釈として記載するものである。便検体を持参したときに訓練された栄養士が一人あたり20から30分間面接し、記録表をもとに確認した後、食品名・番号と量に分解して栄養価計算に供した。この方法で算出した値は24時間思い出し法による算出値と同様に使用できることを確認している¹¹⁾。栄養価の算出には四訂食品標準成分表を用いたが、多価不飽和脂肪酸、食物繊維については、新たな食品の分析を含めて、我々が作製した成分表¹²⁾を使って補充した。

7. 解析方法

便の変異原性と年齢別および便重量の関係を検

図1 便量の分布



討するために2群間の平均値の比較はt検定を、グループ間では一元配置の分散分析法を用いた。さらに便の変異原性と便の金属含有量、食品群および栄養成分の摂取量との関連性の検討には相関係数を算出した。これらの統計処理には統計ソフト (SPSS, エクセル統計) を使用した。また有意水準は0.05とした。

III 結 果

1. 便量および乾燥による便の重量変化

便重量の分布を図1に、年代別の便重量、乾/湿重量比を表1に示す。男女とも便量は100~200 gの者が多かった (平均160 g)。しかし、男女とも便 (重) 量は40歳代、50歳代に比べて60歳代以上は少なかった (表1)。凍結乾燥により便の水分を除いた結果、便重量は始めの約1/5となった。便の乾燥重量と湿重量の比は約0.21で男女、年代による違いはなかった (表1)。

2. 便の変異原性

図2-1, -2に便の変異原性 (SOS 反応誘導性) の分布を示す。便の変異原性は代謝活性化を行わない場合 (S9-), 代謝活性化を行った場合 (S9+) 共に陰性対照値の1.0~1.5程度のものが多く、陰性対照値の1.5倍以内のものが約80%を占めた。そのうち、変異原性が陽性とされる陰性対照値の2倍以上の値を示したものは、S9 (-) では男子20人 (13.8%), 女子3人 (5.6%), S9 (+) では男子10人 (6.9%), 女子1人 (1.9%)

表1 年齢と便量

年代 (平均年齢)	人数	便重量 (g)*		乾燥重量/湿重量	
		湿重量	乾燥重量		
男	40歳代	38	172.3±95.0	34.6±15.2	0.215
	50歳代	58	166.7±69.9	32.8±11.8	0.207
	60歳代	49	144.8±55.1	31.3±11.2	0.225
	(55.5±8.2)	145	160.8±74.0	32.8±12.7	0.215
女	40歳代	16	166.8±53.0	38.0±13.9	0.215
	50歳代	22	163.9±70.8	32.8±9.7	0.207
	60歳代	16	138.9±50.7	27.2±8.0	0.209
	(54.4±7.6)	54	157.4±61.5	32.7±11.5	0.208
男女計	(55.2±8.1)	199	159.8±70.8	32.7±12.4	0.216

* : 平均値±標準偏差

図2-1 便変異原性の分布 (S9-)

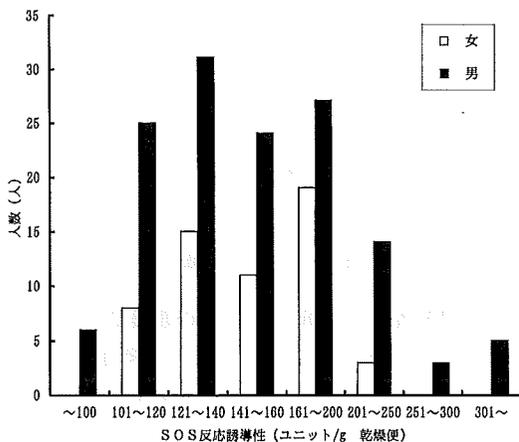
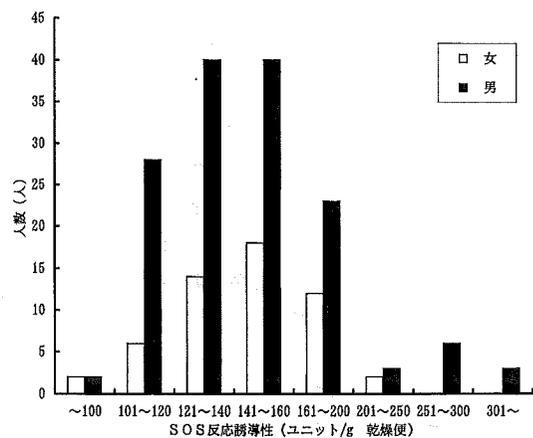


図2-2 便変異原性の分布 (S9+)



と、S9(+)に比較してS9(-)で、また、女子に比較して男子で多い傾向にあった(表2)。年齢と変異原性の関係では、変異原性は50歳代、60歳代に比して男女とも40歳代で高い傾向がみられた(表2)。

1日当たりの変異原物質への曝露程度を知るため、一日あたりの便量を加味した変異原性を計算し、表3に示した。一日あたりの便の変異原性は男女とも50、60歳代に比べ、40歳代がS9(+)(-)とも有意に高値を示し(表3)、また、便重量の多い者で高値を示した(表4)。

3. 便の金属含有量と変異原性

便の乾燥重量(g)あたりの金属含有量と変異

原性との関係を表4に示した。便中の金属含有量はカルシウムが最も多く、続いてカリウム、マグネシウム、ナトリウム、亜鉛、鉄、マンガン、銅の順であった。また、金属含有量と変異原性との間には、代謝活性化を行った場合(S9+)で亜鉛および鉄が正の、また、ナトリウムが負の相関関係を示した。便の金属含有量に便量を乗ずることにより便による金属の一日排泄量を算出した。表5に示すように金属の一日排出量は、最も多いカルシウムの650 mg/日から最も少ない銅の1.70 mg/日と金属により大きな違いがみられた。

4. 喫煙と便の変異原性

禁煙中の者(禁煙者)を除く非喫煙者と喫煙者

表2 便の変異原性

年代 (平均年齢)	人数	SOS 反応誘導性* (E/C 値)**		陽性反応者数*** (%)		
		S9 (-)	S9 (+)	S9 (-)	S9 (+)	
男	40歳代	38	175.9±66.1(1.62)	169.1±55.8(1.48)	9(23.7)	5(13.1)
	50歳代	58	147.9±43.6(1.37)	144.3±30.6(1.26)	6(10.3)	1(1.7)
	60歳代	49	147.3±49.7(1.36)	144.3±50.4(1.25)	5(10.2)	4(8.2)
	(55.5±8.2)	145	155.0±52.2(1.36)	150.8±46.5(1.31)	20(13.8)	10(6.9)
女	40歳代	16	152.6±29.8(1.45)	147.0±28.8(1.34)	1(6.3)	0(0.0)
	50歳代	22	149.3±27.8(1.41)	143.2±19.2(1.25)	1(4.5)	0(0.0)
	60歳代	16	150.2±28.7(1.42)	146.4±36.7(1.29)	1(6.3)	1(6.3)
	(54.4±7.6)	54	150.6±28.7(1.43)	145.3±28.3(1.29)	3(5.6)	1(1.9)

*: β-ガラクトシダーゼ活性 (ユニット/g 乾燥便), (平均値±標準偏差)

** : 実験値/陰性対照値

*** : 陰性対照値の2倍以上のSOS反応誘導性を示した人数

表3 一日あたりの便の変異原性

年令	人数	SOS 反応誘導性*				
		S9 (-)	S9 (+)			
男	40歳代	38	2,188±2,243	**	1,829±2,318	**
	50歳代	58	1,304±1,586		959±1,224	
	60歳代	49	1,218±1,668		964±1,838	
	全年代	145	1,505±1,840		1,187±1,799	
女	40歳代	16	1,741±1,281		1,423±1,080	
	50歳代	22	1,421±999		846±571	
	60歳代	16	1,234±1,089		936±1,181	
	全年代	54	1,461±1,135		1,047±983	

*: β-ガラクトシダーゼ活性 (ユニット/便1日分), (平均値±標準偏差)

** : P<0.05

表4 便の金属含有量と変異原性との関係

金属	金属含有量 (乾燥便g当り) (平均値±標準偏差)	SOS 反応誘導性と金属含有量との相関 (r) *	
		S9 (-)	S9 (+)
Ca	20.4±7.9 (mg)	0.135	0.021
Cu	53.5±12.7 (μg)	-0.001	0.108
Fe	280.4±75.7 (μg)	-0.008	0.204**
K	15.1±3.4 (mg)	0.136	-0.044
Mg	6.9±1.5 (mg)	-0.138	0.112
Mn	161.0±39.9 (μg)	0.151	0.026
Na	3.7±2.5 (mg)	-0.166	-0.225**
Zn	328.4±73.7 (μg)	-0.009	0.248**

* : 積率相関係数

** : P<0.05

について喫煙量と便の変異原性との関係を調べた。非喫煙者を除いた喫煙者群において、喫煙量(一日の喫煙本数)と便の変異原性(S9(-))の間に喫煙本数が増えると変異原性が高くなる傾向がみられたが、非喫煙者群の中にも高い変異原性を示すものがみられた(図3)。

5. 摂取食品量と便の変異原性との関係

食事調査結果より算出した26種の食品群の摂取量と変異原性との関係を調べた。その結果、各食品と変異原性の間にS9(-), (+)とも、明確な相関関係を示したものはなかった(表6)。

6. 栄養素と便の変異原性との関係

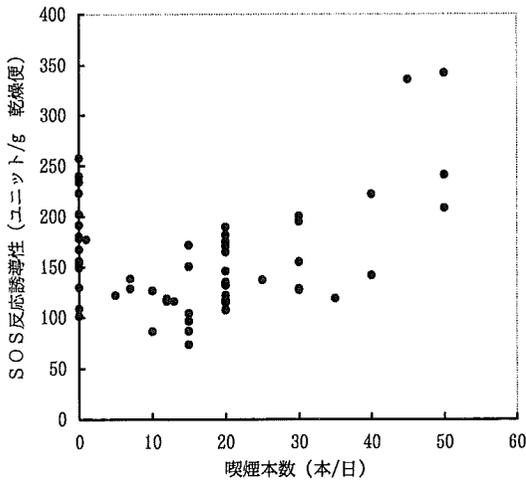
食事調査の結果より算出した摂取カロリー数、蛋白質、脂質、糖分、繊維など各栄養素の摂取量

表5 便により排泄される金属量

金属	排泄量 (mg/日) *
Ca	650.0±455.7
Cu	1.70±0.80
Fe	9.11±5.34
K	479.3±217.0
Mg	222.6±108.9
Mn	5.14±2.44
Na	127.9±135.4
Zn	10.52±5.66

* : 平均値±標準偏差

図3 便の変異原性と喫煙 S9(-)



と変異原性との関係を調べた。その結果、各栄養素と変異原性との間に S9(-), (+) とともに、明確な相関関係を示したものはなかった (表 7)。

IV 考 察

1. 便の変異原性

本研究では大腸の粘膜細胞に対する変異原の曝露程度を知ることを目的として、健康な一般市民

を対象に便の変異原性を調べた。また、食生活など便の変異原性に影響すると思われる要因との関係を調べた。その結果、便の変異原性は女子に比べて男子で高く、また、代謝活性化を行った場合 (S9(+)) に比べて、行わなかった場合 (S(-)) に高い傾向にあった (表 2, 3)。Mower ら¹³⁾ は日本人と日系ハワイ人の便の変異原性を比較し、S9(+) により代謝活性化をした場合は日系ハワイ人の方が高値を示したが、S9(-) の場合は日本人の方が逆に高い変異原性を示したことを報告しており、これは高脂肪、高蛋白の西洋食の場合は S9(+) での変異原性に対する寄与成分が多く、繊維質の多い日本食の場合は S9(+) での変異原性成分が少なく、S9(-) での変異原性が高くなるとしている。今回、我々の調査でも便の変異原性は S9(+) に比し、S9(-) で高いなど、Mower らの報告を支持する結果であった。

便の変異原性の結果を性別あるいは年齢別で見ると、男子では便の変異原性は40歳代で高く、60歳代以上で低い傾向にあった。一方、女子では年齢による変異原性の強さの違いは小さく、変異原性は男子に比べてやや低い傾向を示した (表 2, 3)。同時に実施した食事調査の結果 (未発表) では、男子60歳代はエネルギー摂取量、脂肪摂取量が40歳代に比較して少なく、女子と同レベルであ

表 6 摂取食品量と便の変異原性との相関

食品群 (g)	摂取量 (g) (平均±標準偏差)	変異原性との相関 (r)*		食品群 (g)	摂取量 (g) (平均±標準偏差)	変異原性性との相関 (r)*	
		S9 (-)	S9 (+)			S9 (-)	S9 (+)
乳	116.4±127.2	0.042	0.081	いも	47.65±53.23	-0.054	-0.041
乳飲料	4.92±23.47	0.124	0.108	果物	113.3±121.5	0.007	-0.057
卵	44.94±34.14	0.062	0.028	ジュース類	4.73±27.84	0.018	-0.058
魚	113.4±64.2	0.038	-0.025	米	320.6±202.3	-0.049	-0.093
肉	70.63±64.21	-0.061	0.011	その他の穀物類	97.39±88.28	0.031	-0.023
大豆	59.44±59.87	0.055	-0.071	砂糖類	14.02±11.54	-0.015	0.021
その他の豆類	2.71±14.94	0.008	-0.067	油脂類	10.67±8.67	-0.008	0.043
味噌	11.59±10.53	0.006	0.055	種実類	2.85±6.37	0.025	-0.002
緑黄色野菜	75.12±66.74	-0.059	-0.060	菓子類	41.02±54.98	-0.119	-0.055
その他の野菜	171.8±116.1	0.001	0.025	嗜好飲料類	18.74±63.76	-0.033	0.055
漬物	18.50±26.34	-0.071	-0.050	アルコール類	221.0±342.5	-0.047	0.012
きのこ	11.47±17.30	-0.032	-0.016	調味料	33.56±20.91	0.055	0.014
海草	5.79±9.02	0.046	-0.004	マヨネーズ・ドレッシング類	4.52±8.40	-0.029	-0.059

*: 積率相関係数

表7 食品中の栄養成分量と便の変異原性との相関

食品成分	摂取量 (平均±標準偏差)	変異原性との相関 (r)*		食品成分	摂取量 (平均±標準偏差)	変異原性との相関 (r)*	
		S9 (-)	S9 (+)			S9 (-)	S9 (+)
摂取エネルギー (Kcal)	2,141±505	-0.010	-0.077	Mg (mg)	237.4±126.4	0.053	-0.011
タンパク質 (g)	84.50±21.35	0.028	-0.043	塩 (g)	11.05±4.43	0.056	-0.015
脂質 (g)	58.07±21.03	0.027	-0.022	ViA (IU)	1,894±5,246	-0.085	-0.101
糖質 (g)	290.7±84.5	0.022	-0.061	カロチン (mg)	1,689±3,042	0.074	0.001
繊維 (g)	3.19±3.69	0.044	-0.009	ViB1 (mg)	0.951±0.352	-0.024	-0.139
灰分 (g)	20.13±7.05	0.062	-0.031	ViB2 (mg)	1.451±0.610	0.017	-0.079
Ca (mg)	639.1±292.5	0.017	0.091	ナイアシン(mg)	18.21±10.46	0.027	0.023
P (mg)	1,232±336	0.058	-0.059	ViC (mg)	134.5±86.1	-0.016	-0.080
Fe (mg)	10.84±5.40	0.056	-0.024	コレステロール	432.7±197.7	0.028	-0.007
Na (mg)	2,380±2,764	0.025	-0.011	脂肪酸 (N ₃ 系) (mg)	165.0±205.8	0.033	0.027
K (mg)	1,686±2,148	0.067	0.001	脂肪酸 (N ₆ 系) (mg)	548.0±658.6	0.045	-0.003

* : 積率相関係数

った。食物繊維の摂取量は、男子は全年代で女子の約半分であった。一方、女子のエネルギー摂取量、脂肪摂取量は共に年齢による差が比較的少なかった。これらの結果から、男子では60歳代以上では40歳代のものに比べてエネルギー、脂肪の少ない食生活であることが予想され、女子では年代による食生活に大きな違いがないことを示していた。これらの結果とあわせて考えると、便の変異原性は性や年代による食の嗜好の違いを反映していることが予想される。

2. 便の変異原性に影響する要因

便の変異原性についてはBruceらの報告¹⁴⁾以来、食事あるいはがんとの関係を中心に多くの報告がある^{13~16)}。その中で、Kuhnleinら¹⁵⁾は菜食主義者など脂肪の摂取量が低く、高い繊維質の食事をしているグループでは、大腸がんの発生率が低く、便の変異原性も低いことを報告している。また、Mowerら¹³⁾は便の変異原性と食生活との関係を報告している。今回の調査でも便の変異原性は性や年代による食の嗜好の違いを反映していることを予想させる結果が得られた。しかしながら、便の変異原性と摂取食品および栄養成分量との間に明確な相関関係は認められなかった(表6, 7)。便の変異原性に影響する大きな要因として、腸内細菌叢の働きが考えられる。腸内細菌叢は肝臓に匹敵するもう一つの代謝機構であるとい

われており¹⁷⁾、腸内細菌の働きによっても便の変異原性は大きく変化する可能性がある¹⁸⁾。すなわち、食事は食物に含まれる変異原の働きだけでなく、腸内細菌の構成に作用することにより、代謝、変異原物質あるいは抑制物質の産生に影響し、便の変異原性を変化させるものと考えられる。今回の研究では、便の変異原性は代謝活性化を行わない場合の方が高かった(表2)。これは便の変異原性はヘテロサイクリックアミンなど、高蛋白食に含まれる変異原ではなく腸内細菌叢によって作られた変異原の寄与によるものであることを示唆するものである。

変異原性に影響を及ぼすその他の要因として、喫煙があげられる。今回の研究では、喫煙と便の変異原性の間に喫煙本数が多くなると変異原性が高くなる傾向がみられた(図3)。しかし、非喫煙者群の中にも高い変異原性を示すものがみられた。これは、喫煙の影響の可能性を示すと共に種々の要因の総合としての個体差があることがうかがわれる。

3. 変異原性と金属含有量

金属は生命維持のためには必須のものであるが、その量によっては有害となる場合もある。クロミウム、ニッケル、カドミウムなどの生体微量金属の毒性や発がん性などの研究は数多くなされている^{19,20)}。しかし、便中の金属量データはあま

りなく、また、健康との関係についての報告もほとんどみられない。本研究では便の変異原性と共に便に含まれる金属量の測定も行った(表4)。今回得られた値より算出した成人一日当たりの糞便による金属排泄量は(表5)、他の研究者による値とほぼ同レベルのものであった²¹⁾。また、単位便量中の金属含有量と変異原性との関係を調べたところ、亜鉛の含有量および鉄の含有量と便の変異原性(S9+)との間に正の相関関係が、また、ナトリウムの含有量と便の変異原性との間に負の相関関係がみられた(表4)。鉄、亜鉛あるいはナトリウムそのものには変異原性あるいは発がん性は観察されていない^{19,20)}。しかし、鉄は活性酸素発生の触媒として働くことが知られており、腸内での鉄の存在は大腸粘膜細胞のDNAに何らかの影響のあること²²⁾が予想される。食事などによる金属摂取量と排泄量あるいは健康との関係でさらに検討が必要である。

人の便は多くの変異原物質・発がん物質を含んでおり、大腸粘膜に直接作用する便の変異原性(発がん性)を調べることは重要であると考えられる。しかしながら、便の変異原性に関しては試料収集の困難さ、実験条件の多様さなどから研究が限られている上、日常生活、環境条件などが個々で異なる。このため、大きな個体内変動が存在するなど安定した結果が得られていない^{14~16)}。そこで、調査にあたっては試料数を十分多くするとともに、生活条件をなるべくそろえた者から数日、連続して試料を採取するなどの配慮が必要であろう。

本研究の一部は、第55,56回日本公衆衛生学会(1996,97年10月)にて発表した。本研究は平成7-9年度文部省科学研究費(基盤研究(B)、課題番号07457116)の援助を受けた。

(受付 2000.7.24)
(採用 2001.10.19)

文 献

- 1) 富永祐民, 青木國雄, 花井 彩, 栗原 登, 編. がん・統計白書. り患/死亡/予後. 1993, 1993; 東京, 篠原出版.
- 2) Armstrong B, Doll B, Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries with special reference to dietary practices. *Int J Cancer* 1975; 15: 617-631.

- 3) Schottenfeld D, Winawer SJ, Large intestine. In: D. Schottenfeld and JF. Fraumeni Jr., (eds), *Cancer Epidemiology and Prevention*. WB. Saunders, Philadelphia: 1982; 703-727.
- 4) Haenszel W, Berg JW, Semi M, et al., Large bowel cancer in Hawaiian Japanese. *J Natl Cancer Inst* 1973; 51: 1765-1799.
- 5) Trock, B, Lanza E, Greenwald P, Dietary fiber, vegetables, and colon cancer; critical review and metaanalyses of the epidemiologic evidence. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 650-661.
- 6) Zeiger E, Mutagenicity of chemicals added to foods. *Mutation Res* 1993; 290: 53-61.
- 7) Nagao M, Sugimura T, Carcinogenic factors in food with relevance to colon cancer Development. *Mutation Res* 1993; 290: 43-51.
- 8) Oda Y, Nakamura S, Oki I, et al., Evaluation of the new system (umu test) for the detection of environmental mutagens and carcinogens. *Mutation Res* 1984; 147: 219-230.
- 9) 中村清一, 変異原物質の短期検索法の開発. *科学と工業* 1988; 62: 142-148.
- 10) Miller JH, Experiments in Molecular Genetics. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY. 1972; 352-355.
- 11) 住本建夫, 村田 弘, 堀伸二郎 他, OCR 食事調査による栄養指導システムの開発, *日本公衆衛生雑誌* 1996; 43 (10特別付録): 571-572.
- 12) 地方衛生研究所全国協議会編. 食物繊維成分表 1990; 第一出版(東京).
- 13) Mower HF, Ichinotubo D, Wang LW, et al., Fecal mutagens in two Japanese populations with different colon cancer risks. *Cancer Res* 1982; 42: 1164-1169.
- 14) Bruce WR, Varghese AJ, Furrer R, et al., A mutagen in the feces of normal humans. In: H. H. Hiatt, J. P. Watson and J. A. Winsten (eds), *Origins of Human Cancer*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor NY 1977; 1641-1646.
- 15) Kuhnlein U, Bergstrom D, Kuhnlein H, Mutagens in feces from vegetarians and non-vegetarians. *Mutation Res* 1981; 85: 1-12.
- 16) Shiffman MH, Diet and fecal genotoxicity. *Cancer Surveys* 1987; 6: 653-672.
- 17) 光岡知足, 腸内フローラと動物モデル. 光岡知足, 編, 腸内フローラと発癌-2. 東京学会出版センター, 1995; 4-27.
- 18) Hill MJ, Drasar BS, Williams REO, et al., Fecal bile-acids and clostridia in patients with cancer of the large bowel. *Lancet* 1975; 1: 535-538.
- 19) umu 試験によって検出される無機金属化合物の遺伝毒性について, 中村清一, 小坂 博, 産業医学

1989; 33, 430-431.

- 20) 発がん過程における微量金属の役割, 及川伸二, 川西正祐, (日本化学会編, 微量金属の生体作用), 化学総説 1995; 27, 93-106.

21) 生化学データブック [I], 日本生化学会編; 東京; 東京化学同人社 1979; 1613.

22) 酸化ストレス指標としてのバイオマーカー, 豊国信哉, 環境と健康 2000; 13(1), 9-26.

RELATIONSHIP BETWEEN THE FECAL MUTAGENICITY AND METAL CONTENT, SMOKING HABIT AND DIETARY INTAKE

Hiroshi KOSAKA*, Seiichi NAKAMURA*,^{3*} Hajime ODA*, Toshio MIYAJIMA*,
Tateo SUMIMOTO*, Hiromu MURATA*, Shinjiro HORI*, Yoshio KOMACHI*,
Shinichi SATO^{2*}, Masahiko KIYAMA^{2*}, Yoshihiko NAITO^{2*} and Minoru IIDA^{2*}

Key words : Feces, Mutagenicity, Diet, Metals, Lifestyle, Colon cancer

Objective The study was carried out to collect basic data on exposure of mucous cells of the large intestine to mutagens by investigating the genotoxicity of fecal samples from the urban population. Simultaneously, relations with food intake (food groups and nutritive components), lifestyle factors and fecal metal content was investigated.

Methods A total of 199 self-collected fecal samples from middle aged healthy volunteer living in urban areas of Osaka city were freeze-dried and ground in a mill. The mutagenicity of aqueous extracts of the ground samples was measured by the umu-test. Metal content of the feces was analysed by atomic absorption spectrophotometry. On the day previous to the feces collection, the contents of meals were recorded and confirmed by interview with a dietitian. Quantification of nutritive components was carried out using the 4th edition of the Japan Food Standard Composition Table.

Results Mutagenicity of feces was higher in males than in females, and in those aged 40~49 years than 50~69 years in males but not females. Large differences were found for content of 8 metals in the feces; concentrations were in the decreasing order of calcium, potassium, magnesium, sodium, zinc, iron, manganese and copper, the highest being 20.4 mg for calcium and the lowest was 53.5 μ g for copper. Between the metal contents and mutagenicity, values for zinc and iron showed positive correlations and for sodium a negative correlation under S9(+) conditions. A weak but significant correlation was observed between the numbers of cigarettes smoked per day and S9(+) mutagenicity. However we could not find any relation with food groups or nutritive components.

Conclusion It is well known that human feces contain many mutagens and carcinogens and that these can act directly on the mucous membrane of large intestine. Therefore, it is very important to estimate exposure levels. From the present data we can conclude that relations between mutation-activity of the feces and diet are complex. Their elucidation will require a large number of volunteers who have similar living conditions to obtain appropriate data.

* Osaka Prefectural Institute of Public Health

^{2*} Osaka Medical Center for Cancer and Cardiovascular Disease

^{3*} Health Research Foundation