

特別講演



遺伝子の酸化誘導指標を用いた健康関連商品の 安全性と有用性評価

Evaluation of safety and utility in health-related stuffs using DNA oxidative index

九州大学大学院・医学研究院・統合生理学
高 木 厚 司

We have recently established a new assay system (HPLC + UV and ECD detectors) to measure both 2'-deoxyguanosine (dG) and its oxidized form (8OHdG), simultaneously (Patent pending, PCT/JP01/02095). Since 8OHdG induces G : C → T : A transversion in a replication of the DNA, increase of an 8OHdG/dG ratio by oxygen radicals means a risk for not only cell damage but host survival. This measurement system seems to be very useful for the evaluation of oxidative damages directly related to the survival of the host. It is useful to screen out the biological toxicity induced by oxygen radicals, and to evaluate the anti-oxidative potent of solution containing known and/or unknown chemical substances in functional foods. Furthermore, this evaluation system can be applied as a personal health index in the integrated health science including complementary and alternative medicine.

遺伝子 DNA 核酸はグアニン (G), シトシン (C), アデニン (A), チミン (T) の 4 つの塩基からなり, 人の全遺伝子情報も約 30 億余りの塩基対で構成されている。しかしながら, 紫外線, 放射線, 等の外部エネルギー付与や生体内酸化で塩基対の近傍でヒドロキシラジカルという活性酸素が発生すると, これがグアニン(dG)の 8 番目の炭素に結合し, 8 ヒドロキシデオキシグアニン(8OHdG) が誘導される。この時, 本来シトシンと塩基対を構成するはずのグアニンはアデニンと塩基対を作るようになり, G : C → T : A トランスポージョンが起き, 遺伝情報が書き換えられる事になる。

現在 (1) 自然状態でも数十万個から数百万塩基対に一回の割合でこの書き換えが発生しており, これが生物種の進化のきっかけとなっている事, (2) この書き換えの発生頻度が, 細胞レベルや個体レベルの寿命と直結し, 細胞死や発ガン, 老化等の指標となる事, (3) 8OHdG の尿中排泄量が多い動物種ほど短命である事 (齧歯類は人の約 100 倍の濃度), (4) 8OHdG の修復酵素をノックアウトした動物では, 発ガン率や神経変性疾患が高率に発生する事, 等々から, 8OHdG は生命維持機構に直結する生体酸化ストレス指標として注目されている。

九大・高木は, 酸化型の 8OHdG と同時に非酸化型の dG を高感度に同時測定するシステムを構築し, これを, 既知及び未知の化学物質を含有する健康食品素材の安全性と有用性を評価する方法に応用する事を提案している。

本測定法は以下のような特徴を持つ。

1) 8OHdG が最大 0.5pg/ml まで検出でき, 尿ばかりでなく, 血液や髄液, 生体組織, 細胞浮遊液中

の測定に対応できる。(市販の EIA キットの測定感度は 100pg/ml 以上)

- 2) これまで問題とされてきた各種の 8OHdG 測定時の被検サンプルの前処理に関して,(i) 画期的な抗酸化保存液の開発と,(ii) マイクロダイアリシス法を応用した抽出法により,総ての生体サンプルから簡便にしかも二次酸化が抑制された状態で検体を処理することが出来る
- 3) HPLC による分離システムに紫外線検出器及び電気化学検出器を連結することにより,同サンプルから dG と 8OHdG を同時に測定することが出来,酸化損傷の相対頻度を酸化型 / 非酸化型の比として合理的に評価できる

さらに,本測定法を利用して,以下のように健康食品素材や健康関連商品の安全性と有用性を評価できる。

- 1) 既知濃度の標準 dG を,被検対象の健康食品素材が溶解した水溶液に添加し,対象被検液の直接の生物毒性(遺伝子変異原性)を dG → 8OHdG 酸化誘導現象(具体的には,8OHdG/dG 濃度比)として指標化できる。
- 2) 既知濃度の標準 dG を,被検対象の健康食品素材が溶解した水溶液に添加し,さらに,遺伝子の酸化損傷を発生させることが知られている 254nm の紫外線の照射や酸化剤の添加で強制的に 8OHdG を誘導し,これを抑制する能力で被検対象の健康食品素材の抗酸化能を評価できる。
- 3) 培養細胞系の培養液中に被検対象の健康食品素材を添加し,一定期間培養後に培養細胞の遺伝子変異リスク(発ガン性等)や細胞毒性を 8OHdG/dG 指標で評価できる。
- 4) マウスなどの実験動物に,被検対象の健康食品素材を一定期間摂取させ,尿や血液,組織中の 8OHdG/dG 比から被検対象の健康食品素材の抗酸化能(抗加齢,ガン予防,成人病予防等)を評価できる。
- 5) 被検対象の健康食品を一定期間摂取したヒトの生体サンプル(尿,血液,唾液,等)中の 8OHdG/dG 比から,被検対象の健康食品(含む,健康関連商品)の有用性を評価できる。
- 6) 活性酸素が原因となる各種疾患の発症機序の解明や治療法の開発ばかりでなく,早期発見,重症度評価,治療効果の判定,予後観察等,臨床現場における客観指標として利用できると同時に,代替医療の有効性も客観的に評価できる。
- 7) 一般健康人の酸化ストレス(疲労度,健康度,老化度)指標としても有用であり,健康保健対策(運動,栄養,休養等)の具体的な指針づくりや,健康関連商品の開発,同商品の有用性評価にも大変合理的な情報を提供できる。

一般に,健康食品は既知や未知の化学成分を複合的に含有しており,特定の化学成分の含有量だけでその有用性を評価する事は適切でない。さらに,本来の素材に含有されなくても,栽培時や保存・製造過程,製品の品質管理の段階で,汚染(添加)する種々の化学薬品も無視できない。つまり,その製品の安全性や有用性は,最終的には,暴露した細胞や摂取した個体が受ける直接及び間接的な遺伝子変異原指標で評価する事が最も合理的と考える。

ここに提案する評価法は,個別の生体に対する各種健康関連商品の「安全性」と「有用性」を,「遺伝子という生命現象の設計図に与えるリスクで一元的に評価する方法」であり,本法のように「合理的」で「安価」な客観評価指標を導入する事は健康関連産業の健全な発展のためにも大変有意義と考える。