

総 説

予防医学における酸化ストレス・マーカー (8-OHdG) と  
血清フェリチンの意義

The significance of oxidative stress marker, 8-OHdG and  
serum ferritin in preventive medicine

中野 優 川西 慶一 蒲原 聖可  
山澤 埴宏

Masaru NAKANO, Yoshikazu KAWANISHI, Seika KAMOHARA  
and Ikuhiro YAMASAWA

東京医科大学病院総合健診センター  
Medicine & Health Sciences Institute, Tokyo Medical University

はじめに

近年、各臨床分野において“酸化ストレス”が大きなテーマになっている。生体は酸素を使って生存のためのエネルギーを得ているが、その際、副産物ともいえる superoxide ( $O_2^-$ )、hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ )、hydroxyl radical ( $\cdot OH$ ) などのいわゆる活性酸素種 (reactive oxygen species; ROS) が生成される。一方、生体にはこれらの ROS を消去するシステム、例えば、superoxide dismutase (SOD) や glutathione peroxidase (GPX), catalase (CAT) といった抗酸化酵素が備わっており、ROS の毒性を最小限に抑えている。ところが、何らかの要因によって ROS の生成と消去のバランスが崩れ、ROS が相対的に増加すると、細胞膜脂質や酵素蛋白質、あるいは遺伝子 DNA などの生体成分がダメージ (損傷) を受ける危険性が高まることになる。このような ROS 優位な状況を一般に酸化ストレス状態と呼ぶ。酸化ストレスは様々な疾患の発生や病態形成に深く関わっていることから、健康なうちに予めそ

の程度を知りえるなら疾患予防にも大いに有用と考えられる。

そこで、本稿では、酸化ストレスを判定するマーカーとして最近注目を集めている 8-hydroxydeoxyguanosine; 8-OHdG<sup>1)</sup> の予防医学的意義、特にガン予防における有用性について、我々のデータも紹介しながら、考察してみたい。

酸化ストレスが生体に及ぼす影響

酸化ストレスは、一般的にその度合いが強いと生体にネガティブに作用する恐れがあり、弱いとポジティブに作用する場合もある<sup>2)</sup>。前者の場合は、生体高分子 (DNA、蛋白質、脂質) に傷害をもたらし、それが細胞や組織のダメージを招き、結局ガン化や動脈硬化、老化を促すことになる。

一方、後者の場合は、酸化ストレスが細胞の増殖や分化において生理的に意味のあるシグナルとなり、細胞周期の停止、DNA の修復、あるいはアポトーシスや抗酸化物質の誘導といった作用を発揮して生体防御

2003年7月1日受付、2003年9月25日受理

キーワード：酸化ストレス、酸化的 DNA 損傷、8-hydroxydeoxyguanosine; 8-OHdG、血清フェリチン、総鉄結合能 (TIBC)  
(別冊請求先：〒163-1307 東京都新宿区西新宿 6-5-1 新宿アイランドタワー7F 東京医科大学病院総合健診センター  
中野 優)

的に働く。

以上の点から、予防医学的には専ら過激な酸化ストレスへの対処が問題となるが、それにはまず酸化ストレスの程度を正確に把握する必要がある。残念ながら、ROS などのフリーラジカルは一般に非常に寿命が短く、生体サンプルを用いて直接測定するのは極めて困難である。そのため、今はフリーラジカルと生体成分との反応生成物を測ることで間接的に酸化ストレス度を評価しているのが現状である。

そして、今最も注目されているその反応生成物の一つが 8-OHdG である。8-OHdG は酸化ストレス度をよく反映し、また生体内で代謝されずに安定であることから大変優れた酸化ストレス・マーカーと考えられている<sup>3)</sup>。なお、これまで一般的に用いられてきた過酸化脂質も特異性の低い TBA (thiobarbituric acid) 法ではなく、chemiluminescence を利用した HPLC 法で測定したものであれば問題はなく、むしろ今後はより正確に酸化ストレス度を判定するためにも 8-OHdG と一緒に測ることが望ましいといえよう。

### 8-OHdG の生成・排出プロセス

遺伝子 DNA の構成塩基である deoxyguanosine (dG) が ROS の一つである  $\cdot\text{OH}$  により酸化されて (guanine の 8 位に水酸基が付加されて) 8-OHdG に変化することが、1984 年葛西ら (当時国立がんセンター研究所生物学部所属、現在産業医科大学産業生態科学研究所教授) によって発見された (図 1)<sup>1)</sup>。

8-OHdG は立体構造の変化により、cytosine のみならず adenine と水素結合で対合できるようになる。そのため 8-OHdG は DNA の複製の際に G : C (guanine : cytosine) から T : A (thymine : adenine) へ

のトランバージョンを引き起こし、突然変異の頻度を増加させるといわれる<sup>4)</sup>。事実、多くのヒト肺ガン組織の p53 ガン抑制遺伝子には高頻度に G : C  $\rightarrow$  T : A トランバージョンが見出されており<sup>5)</sup>、また喫煙者の肺中心部組織における DNA 中の 8-OHdG 量は非喫煙者に比べ有意に高いことが報告されている<sup>6)</sup>。このように、DNA 中に生じた 8-OHdG は発ガンのプロセスに深く関わっていることは間違いない。

そこで次に問題となるのは、DNA 中の 8-OHdG はどのようにして最終的に尿中に排出されるのかということである。しかし、まだその除去のしくみは明らかにされておらず、従って、尿中の 8-OHdG が核内あるいはミトコンドリア DNA に由来するものなのか否かもはっきりしていないのが実情である。

因みに、8-OHdG の塩基部位に当たる 8-hydroxyguanine (8-OHGua) は hOGG1 と呼ばれる glycosylase が切り出し (修復) 酵素となって DNA から除去されることがわかっている<sup>7,8)</sup>。そのため、8-OHdG も未知ではあるが類似の除去修復酵素によって DNA から切り出され、最後には 8-OHGua と同様に尿中に排出されるものと推定されている。

一方、尿中の 8-OHdG はヌクレオチドプールに由来するという考え方もある。つまり、DNA の合成用に細胞質内やミトコンドリア内にプールされたヌクレオチドの deoxyguanosine triphosphate (dGTP) が  $\cdot\text{OH}$  により酸化されて 8-OHdGTP に変化し、さらに MTH1<sup>9,10)</sup> といった酵素で 8-OHdG monophosphate に、そして最終的には 8-OHdG にまで分解されるというものである。なお、8-OHdGTP は DNA に取り込まれることもあり、やはり突然変異の原因となる。そのため生体は以上のような処理機構を発達させたとき

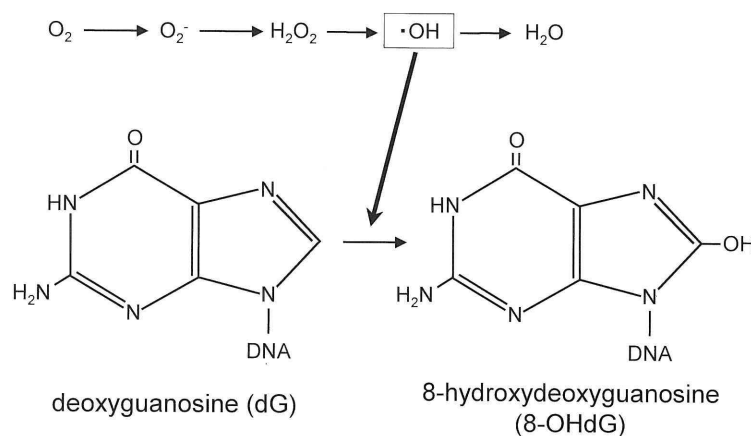


図 1. The generation of 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) by hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ).

えられている。

あるいはまた、何らかの原因でDNAが多大な損傷を被り、細胞死(アポトーシス)に至った場合にも8-OHdGが尿中に漏れ出てくる可能性はある。

このように、尿中の8-OHdGの由来については依然不明な点が多く今後も解析を進めていく必要があるが、少なくとも尿中の8-OHdGの定量が体内におけるDNAの酸化的損傷の程度を推し量る上で役立つことは確かであろう。ついでながら、8-OHGuaの定量も同等の意義があると思われるが、しかし、8-OHGuaの場合はRNA合成用のヌクレオチドプール内のguanosine triphosphate (GTP)にその起源を有するものも含まれる可能性があるため<sup>11,12)</sup>、DNAのみならずRNAの酸化的損傷も同時に評価することになり、結果の解釈はそれだけ複雑となる。従って、ガン化の危険性や老化度を予想する場合には8-OHGuaより8-OHdGを測定する方が目的(DNA損傷の判定)に叶っているといえよう。

### 尿中8-OHdGの測定と補正

我々は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)と電気化学検出器(ECD)を用いて、尿中の8-OHdGの測定を行っている。HPLC-ECD分析は現在も主流といえるが、この方法ではフリーの8-OHdGのみが検出されるのに対して、最近普及しつつある酵素抗体法(ELISA)<sup>3)</sup>ではさらに生体サンプル中に存在するオリゴヌクレオチド内の8-OHdGやグルクロン酸などとの抱合型である8-OHdG類縁体も検出されることから、定量値は前者より後者的の方が高く出る。因みに、こ

れまで報告されている尿中8-OHdGの値を比較してみると、HPLC-ECD分析では3.68~3.96<sup>13)</sup>、4.12±1.73<sup>14)</sup> 5.47±2.97<sup>15)</sup> μg/g・creatinineであるのに対して、ELISAでは19.4±8.5<sup>16)</sup>、10.5±3.95<sup>17)</sup> μg/g・creatinineと高い値を示している。

なお、尿をサンプルとした場合、濃縮度合いによって8-OHdGの測定値にはバラツキが出るため、単位尿量当たりの8-OHdG値をそのまま比較に用いることはできない。そこで、やはり尿細管で再吸収されないcreatinine(筋肉量の指標ともなる)を利用して8-OHdGの値を補正することが一般に行われている。

### 東京医大総合健診センターにおける成績

我々は2001年3月から2002年9月までの間に東京医大総合健診センターを受診した疾患フリーの2,507名(男性1,253名、女性1,254名;図2にその年齢分布を示した)について、インフォームド Consentのもとに、HPLC-ECD分析で尿中の8-OHdGを測定し、さらにcreatinine補正も行った。その結果、2,507名全体では、4.52±1.86 (means±SD) nanogram(ng)/mg・creatinine (≡μg/g・creatinine)<sup>18)</sup>であった。

次に、男女別に見てみると、男性は4.43±1.71 ng/mg・creatinine、女性は4.62±2.00 ng/mg・creatinine、とやや女性が高い傾向を示した。これは更年期以降の女性では、8-OHdGの尿中排出が増えるためと考えられた(図3)<sup>18)</sup>。その理由については後述する。

### ・OHの発生メカニズム

ところで、尿中の8-OHdG濃度から体内の酸化スト

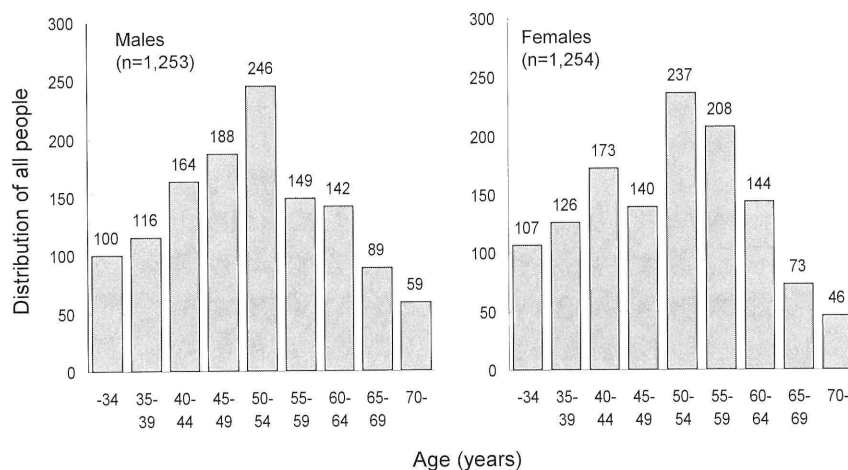


図2. The distribution of 2,507 healthy subjects (1,253 males: 24 to 89-years-old, median age 51; 1,254 females: 22 to 81-years-old, median age 51) according to sex and age. "Healthy" implies that no apparently pathognomonic abnormalities were disclosed by physical examination and laboratory tests except for the values of serum cholesterol<sup>18)</sup>.

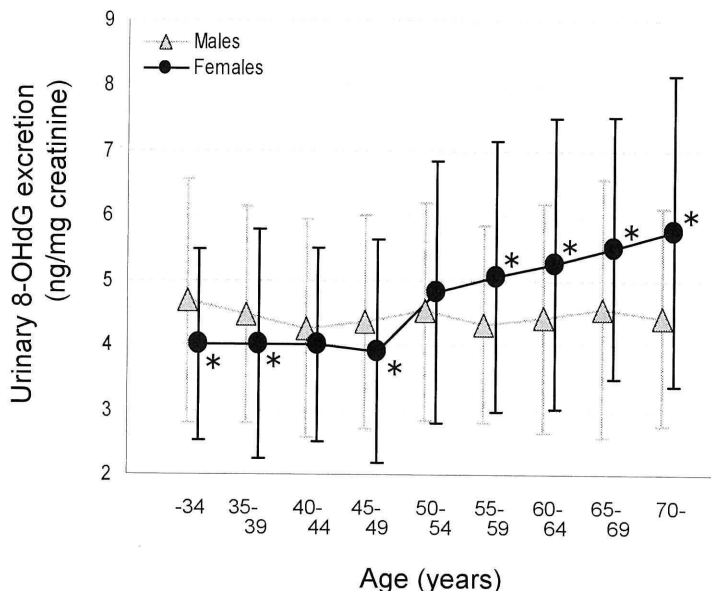


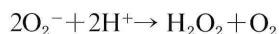
図3. Profiles of urinary 8-OHdG excretion based on sex and age. The urinary 8-OHdG excretion of males showed almost no change with age (Δ), while the excretion of premenopausal females was lower than that of males (p<0.05), but postmenopausal females excreted significantly more than males (p<0.05)(●) <sup>18)</sup>.

レス度を推定し、予防医学的方策を講じるためには、8-OHdG を生成する・OH の発生メカニズムを知っておく必要がある。

・OH は ROS の一つであるが、生体内には酸素原子から直接・OH を発生させる経路は存在していない。従って、普通は下記のように、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>が鉄イオン (Fe<sup>2+</sup>) や銅イオン (Cu<sup>+</sup>) といった、いわゆる遷移金属によって還元されて生じる。



この反応を Fenton 反応あるいは Haber-Weiss 反応<sup>19)</sup> という。一方、生体内の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> はそのほとんどが、下記の反応を通じて O<sub>2</sub><sup>-</sup> から生み出される。



つまり、O<sub>2</sub><sup>-</sup> が発生する状況下で金属イオンが存在すれば、・OH は容易に生成されることになる。とりわけ、鉄は重要である。

鉄は体内の微量元素の中で最も多く、カタラーゼやチトクロームオキシダーゼなどの酵素やヘモグロビン、ミオグロビンといった酸素担体蛋白に含まれ、また予備のためにフェリチンという形で貯蔵もされており、その体内総量は成人で3~4gにも達する。

このように、鉄は生体にとって必須のエレメントでありながら、一方で上記の如く・OH の生成を促して毒性も発揮することから、通常その収支は厳密に管理

されている。しかし、何らかの原因で細胞内の鉄が過剰気味になると Fenton 反応に基づく・OH の生成量は一気に増大し、様々な細胞傷害を引き起こすことになる。従って、・OH による細胞傷害を防ぐためには、O<sub>2</sub><sup>-</sup> や H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の発生を減らすだけでなく、鉄の過剰傾向を回避することも大切である。

### 低分子鉄 (自由鉄) の体内動態

ところで、体内の鉄は主に、ヘム鉄としてヘモグロビンやミオグロビン、非ヘム鉄としてトランスフェリンやフェリチン、あるいはヘモシデリン (フェリチンの崩壊産物) といった形で存在している。これらはいずれも鉄の毒性を中和する役割を果たしている。特に、トランスフェリンとフェリチンは自由鉄の監視役として重要である。

自由鉄とは、触媒性のある低分子鉄キレート化合物を指し、通常2価または3価、あるいは4価、5価といったように酸化状態を変えることで電子転移を行い、それによって非ラジカルをラジカルに変換する。因みに、体内にはキレートの性質を有する低分子物質は数多く存在する。例えば、核酸 (adenine や guanine)、リン酸、アミノ酸 (cysteine, tyrosine など)、クエン酸、アスコルビン酸のような低分子化合物は鉄と結合して自由鉄となりうる。しかし、自由鉄中の低分子鉄は、細胞外 (血液中) にあってはトランスフェリンに、また細胞内にあってはフェリチンに (3 価鉄



Fe<sup>3+</sup>として)、それぞれ素早く取り込まれるため (sequestration)、Fenton 反応をはじめとする鉄介在性のラジカル生成反応はさほど起こらないようになっている<sup>20)</sup>。

ところが、何らかの原因で体が鉄過剰傾向になると、トランスフェリンの鉄飽和度は上昇し、それが50%を超える状態ともなれば自由鉄 (低分子鉄キレート化合物) が血液中中に存在ようになる<sup>21)</sup>。またトランスフェリン結合鉄の増加に伴い、細胞内への鉄の取り込みも増大し、フェリチンの合成が促進される。これはフェリチンとトランスフェリン受容体の合成に関わる mRNA 上の鉄反応分子 (iron responsive element; IRE) と鉄調節蛋白 (iron regulatory protein; IRP) の相互作用によってもたらされる<sup>22)</sup>。なお、細胞内のフェリチンが増えれば、当然そのフェリチンから鉄イオン (2価鉄 Fe<sup>2+</sup>として) が遊離する確率も高くなる。その促進因子としては、アスコルビン酸、カテコールアミン、O<sub>2</sub><sup>-</sup>などが知られている。そのため、O<sub>2</sub><sup>-</sup>の間接的な毒性の発現にはフェリチン鉄の遊離が関与しているともいわれる。

このように、鉄過剰傾向にあるときは、触媒性のある低分子鉄が血中や細胞内に出現する頻度が増え、結果として、Fenton 反応が起こりやすくなり、体は酸化ストレス状態に陥るものと推定される。

### 鉄過剰傾向と発ガン

では、鉄過剰状態が引き起こす酸化ストレスは臨床的には何をもちたらすのであろうか。前述のように、Fenton 反応は・OHを生み出し、DNA中のdGを8-OHdGに変える。8-OHdGはG:C→T:Aトランスバージョンを惹起し、突然変異の頻度を高め、結果として発ガンを促す。

そこで、鉄過剰傾向と実際の発ガン率の関係を疫学的に見てみると、まず成人男子における全腫瘍の発生率は、血清フェリチンが200 ng/mlで、かつトランスフェリンが200 mg/dlの人は、各々20 ng/mlで、かつ400 mg/dlの人の2.9倍<sup>23)</sup>、またトランスフェリンの鉄飽和度 (貯蔵鉄量を反映) を4段階に分けて調べると、上4分の1に属する36.8%以上の人は、下4分の1の22.9%以下の人の1.4倍<sup>24)</sup>と報告されている。一方、成人女性の肺ガンの発生率を総鉄結合能 (total iron binding capacity; TIBC) で比較した成績を見ると、やはり貯蔵鉄量の観点から4段階に分けたところ、TIBCが2.31 μg/ml以下 (貯蔵鉄の量が上4分の

1)の人は3.07 μg/ml以上 (下4分の1)の人の2.44倍であったという<sup>25)</sup>。因みに、TIBCは鉄過剰状態では低下し、鉄欠乏状態では高値を示す。

このように、貯蔵鉄量が正常域にあっても多い方 (上限域/正常高値) の群は少ない方 (下限域/正常低値) の群に比し、発ガン危険度は高い傾向にある。なお、正常人の血清フェリチン値は、日本の成人男性の場合、17~294 ng/ml、女性は17~84 ng/ml<sup>26)</sup>、また米国では男性が29~455 ng/ml、女性は12~170 ng/ml<sup>27)</sup>などと報告されている。というわけで、正常範囲は15~300 ng/mlの辺りといえそうである。付け加えると、血清フェリチン値1 ng/mlは貯蔵鉄量8~10 mgに相当するといわれる<sup>28)</sup>。

さて、貯蔵鉄 (血清フェリチン) が正常高値群でも発ガン率が高くなるということであるなら、異常な鉄過剰状態ではその率はさらに高まるものと予想される。実際、原発性ヘモクロマトーシス (血清フェリチン値にして1,000~10,000 ng/mlにも達する) におけるガン発生率は、肝細胞ガンの場合、200~219倍<sup>29,30)</sup>、肺ガンの場合は7.5倍<sup>31)</sup>になるという。

ついでながら、最近の報告では、B型およびC型慢性ウイルス性肝炎が肝硬変さらには肝細胞ガンに移行する際、その鍵を握っているのは肝臓内の貯蔵 (沈着) 鉄量であることが明らかにされている<sup>32)</sup>。また、B型肝炎ウイルスを有する成人男性の場合、肝細胞ガンの発生率は血清フェリチン値が300 ng/ml未満では20%であったのに対して、300 ng/ml以上になると50%以上に上昇したという報告もある<sup>33)</sup>。そのため、近頃では慢性ウイルス性肝炎の管理に当たっては、その進行 (肝硬変や肝細胞ガンへの移行) を阻止する目的で、インターフェロン療法 (有効率は低い) に加えて、瀉血による除鉄治療や減鉄食も試みられている。なお、瀉血治療による除鉄の程度は、血清フェリチン値にして、10 ng/ml (鉄欠乏性貧血の発生する限界) ~20 ng/mlを維持するのがよいとされている<sup>34)</sup>。

### 鉄過剰傾向と虚血性心疾患

ところで、ガンに次ぐ日本人の死亡原因は心筋梗塞などの虚血性心疾患 (冠動脈疾患) である。実はその発生にも鉄過剰の関与が疑われている。

まずSullivanら<sup>35)</sup>が虚血性心疾患による死亡は、男性に多く、鉄欠乏性貧血の頻度と逆相関すること、また女性の場合は閉経後や子宮摘出後に増加することなどから、鉄の関与を示唆し、貯蔵鉄を減らすことが

予防に有効なのではないかという考え方を示した。次いで、Lauffer ら<sup>36)</sup>は、肝臓内の貯蔵鉄量はコレステロール値と相俟って虚血性心疾患による死亡率を高めることを報告した。

さらに、Salonen ら<sup>37)</sup>の調査によると、男性で血清フェリチン値が正常上限域の 200  $\mu\text{g/l}$  ( $\equiv 200 \text{ ng/ml}$ ) 以上の人は、それより低い人に比べて、心筋梗塞の発生危険度は 2.2 倍になるという。また、彼らは多変量解析の結果でも血清フェリチン高値は独立した危険因子になりうるとしている。しかし、トランスフェリン飽和率で見た場合、高値になっても特に心筋梗塞の発生リスクは上昇しないという報告もある<sup>38)</sup>。

このように、疫学的には体内鉄量と虚血性心疾患の間に浅からぬ関係が存在するようであるが、現在のところ、その直接の証明はなされていない。鉄過剰傾向がどのようにして (Fenton 反応がどう関わって) 冠動脈硬化の進展を促すのか、そのメカニズムの生化学的解明は今後に残された課題であろう。

#### 正常高値の血清フェリチンは危険因子

これまで、体内の貯蔵鉄が過剰傾向にあるだけで、ガンや虚血性心疾患の発生危険度が高まることを述べてきたが、それは貯蔵鉄量が正常範囲内であっても

上限域に達している場合は体内に明らかな酸化ストレス状態が生まれていることを意味している。この正常上限域の貯蔵鉄がもたらす危険性は我々の研究結果からも推定できる。

我々は健常成人 2,507 名について尿中の 8-OHdG を測定した際、同時に血清フェリチンと TIBC の値も調べた。その結果、尿中の 8-OHdG は血清フェリチンと正の相関を (図 4)、また TIBC とは負の相関を示すことがわかった (図 5)<sup>18)</sup>。つまり、正常範囲内であれ、貯蔵鉄量が高めになると (血清フェリチン値が上昇し、TIBC が低下すると)、酸化ストレスも強くなり、それによる DNA 損傷の量もまた増えるということである。

今まで貯蔵鉄 (血清フェリチン) の測定は、専ら鉄欠乏性貧血やヘモクロマトーシスの確定診断のために行われてきた。従って、その異常低値や異常高値にのみ関心が向けられ、正常値内での高低が問題にされることはほとんどなかった。しかし、前述の疫学的調査報告や我々の成績から、正常値内での高低の評価は予防医学的に重要な酸化ストレス度の判定に欠かせないことがわかる。そこで今後は、特に血清フェリチン値に注目し、正常範囲といえども高めの場合はガンや虚血性心疾患の危険因子と見なし、積極的に下げる

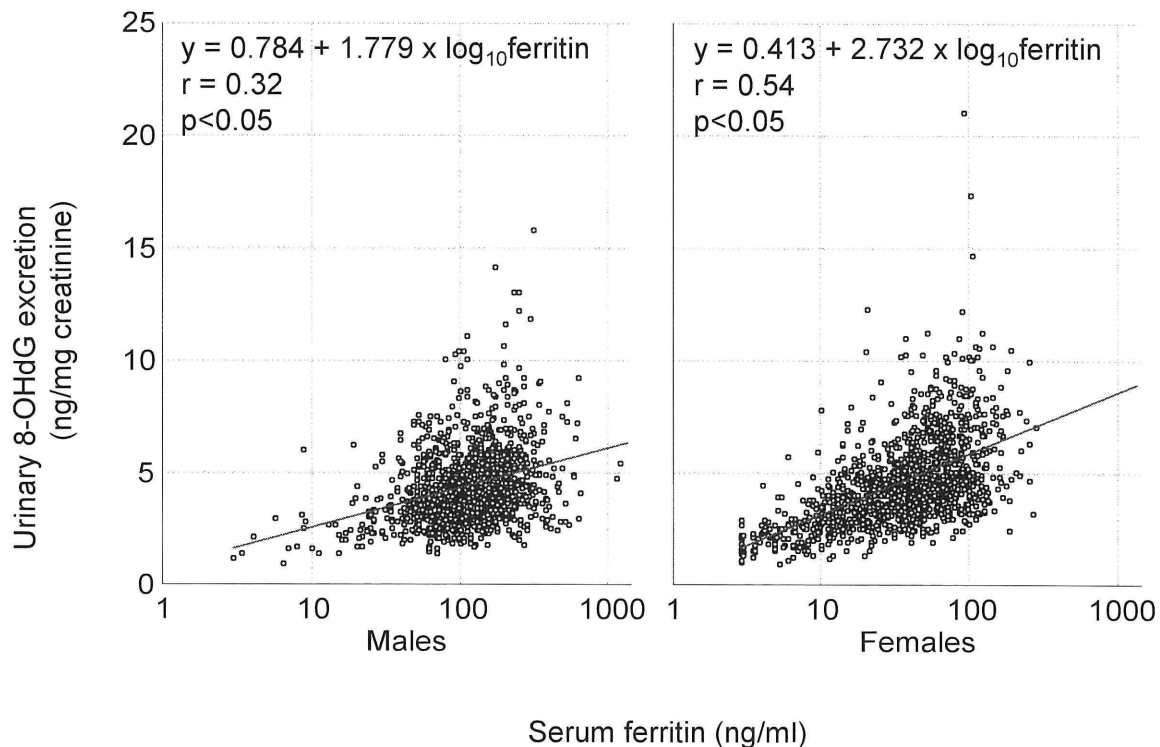


図 4. Correlation between urinary 8-OHdG and serum ferritin scaled to the logarithm. The urinary excretion of 8-OHdG correlated with serum ferritin positively (males ;  $r=0.32$ , left-side, females ;  $r=0.54$ , right-side)( $p<0.05$ ).

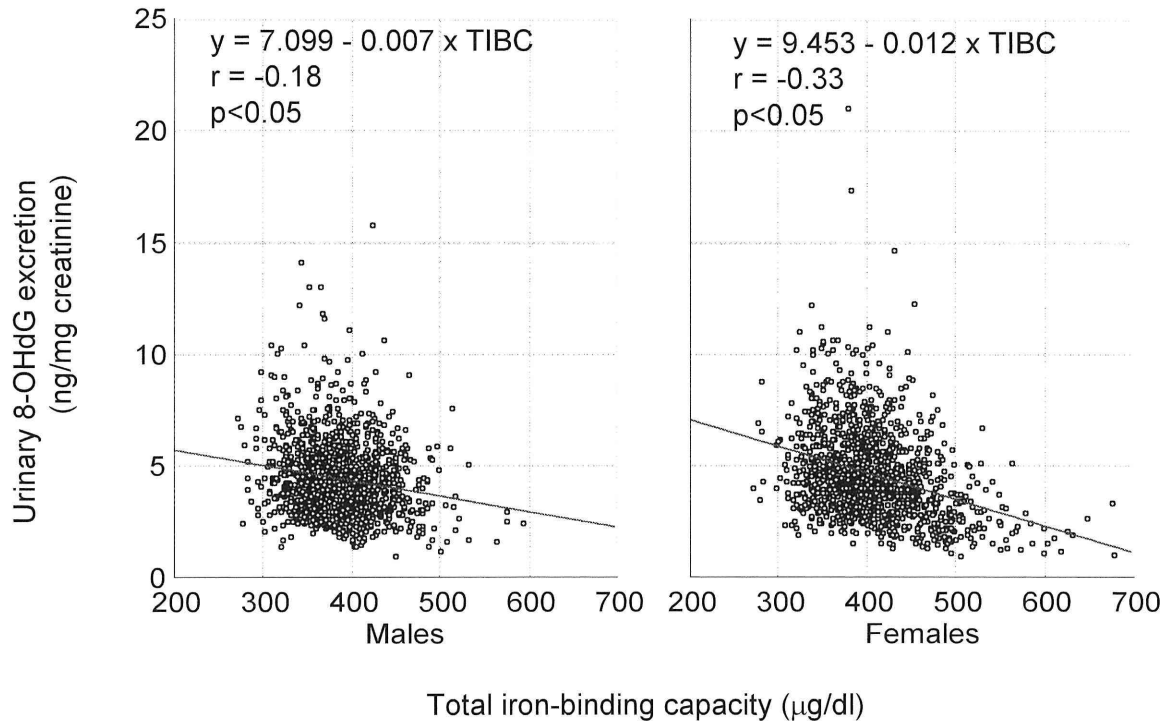


図5. Correlation between urinary 8-OHdG and TIBC. The urinary excretion of 8-OHdG correlated with TIBC inversely (males;  $r = -0.18$ , left-side, females;  $r = -0.33$ , right-side)( $p < 0.05$ ).

ことも必要となろう。

### 鉄分の摂取制限

高めの血清フェリチン（貯蔵鉄）を下げるために実行可能で妥当な方法は一つで、それは鉄分の摂取を制限することである。ただ、更年期以前の女性は毎月の生理によって定期的に鉄を喪失するので、その制限はかえって鉄欠乏を助長しかねず、原則的には避けるべきである。結局、鉄分摂取制限の対象者は、男性と更年期以降の女性ということになる。無論、他に原因（肝炎、悪性腫瘍、再生不良性貧血など）があつて、そのため血清フェリチンが高値を示していると考えられる場合は、その診断と治療が優先されるのはいうまでもない。

さて、では鉄分の摂取制限は具体的にどんな形で行えばよいのだろうか。Flemingらの報告<sup>39)</sup>によると、赤身の肉、アルコール、果物やフルーツ・ジュース、ビタミンCや鉄のサプリメントなどの摂り過ぎは貯蔵鉄量を正常上限域を超えて（血清フェリチン値にして男性は300 ng/ml以上、女性は200 ng/ml以上に）押し上げ、一方、フィチン酸を含んだ食物（例えば、全粒穀物など）を十分摂ると貯蔵鉄量は下がるという。要するに、赤身肉、アルコール、果物、フルーツ・ジュ

ース、ビタミンC、鉄サプリメントなどの摂取を極力控え、フィチン酸リッチな食物をたくさん摂るようにすれば貯蔵鉄の増加は抑えられるという理屈である。

### ヘム鉄と非ヘム鉄

ところで、食物中の鉄分は周知のようにヘム鉄と非ヘム鉄に分けられる。ヘム鉄は主に動物性食品（獣鳥魚肉）に、また非ヘム鉄は植物性食品に含まれ、前者はヘモグロビンやミオグロビンの形で、後者は概ね鉄塩として存在する。そして、両者には腸からの吸収効率に違いがあり（例えば、ヘム鉄23~25%；非ヘム鉄3~8%<sup>26)</sup>）、それは食事として摂ったときに体内鉄量への影響の差となって現れる。

食物（肉や魚）中のヘモグロビンやミオグロビンは消化管内で酵素により分解されてヘム（鉄・ポルフィリン複合体）を遊離する。ヘムはそのままの形で小腸粘膜（細胞）に吸収され、そこでヘム分解酵素の作用を受けて鉄とポルフィリンに分かれる。その後の鉄の運命はまだ十分明らかにされていないが、おそらく後述の非ヘム鉄の場合と同様に、二価から三価に酸化されて鉄結合タンパクのアポフェリチンと結合し、フェリチンの形成に与るか、あるいは基底膜側から二価鉄のまま、血液中のトランスフェリンに引き渡される

のではないかと考えられている。このヘム鉄の吸収は、ポルフィリン体そのものの易吸収性に加えて、同時に摂取される他の食品成分の影響を受けることがないこともあって大変効率よく進行する<sup>26)</sup>。

一方、主に植物性食品に含まれる非ヘム鉄は、通常は不溶性の三価鉄の形で存在しているため、そのままでは吸収されない。最近明らかにされたところによると、まず三価鉄が腸（十二指腸）上皮にある鉄還元酵素（duodenal cytochrome b; Dcytb<sup>40)</sup>）によって二価鉄に還元され、その二価鉄はトランスポーター（divalent metal-iron transporter 1; DMT1<sup>41)</sup>）の働きで上皮細胞内に取り込まれる。その後は、再び酸化されて三価鉄になり細胞内でフェリチンとして貯蔵されるか、あるいは二価鉄のまま未知のルートを経て基底膜側に存在する ferroportin-1<sup>42)</sup> の分子チャンネルを通り抜け、同所にある hephaestin<sup>43)</sup> という鉄酸化酵素の作用で再度三価鉄となり、血液中のトランスフェリンに引き渡される。このように、昔 Crosby<sup>44)</sup> によって提唱された mucosal block theory が漸く物質レベルで証明されることとなった。

なお、三価の非ヘム鉄は食物中のアスコルビン酸によっても二価鉄に還元され、その後は腸上皮において上記と同様の過程を経るとされる<sup>45)</sup>。あるいは、三価のままアスコルビン酸と錯体（小分子複合体）を形成すると吸収されやすくなるともいわれる<sup>26)</sup> <sup>46)</sup>。因みに、食事にアスコルビン酸を添加すると、鉄の吸収率は非添加時が3.8%であったのに対して、14.9~24.8%に増加したという報告がある<sup>47)</sup>。その他、クエン酸、フマル酸<sup>48)</sup>、コハク酸<sup>49)</sup>、各種アミノ酸（グルタミン、アスパラギン、セリン、メチオニン、プロリン<sup>50)</sup>、糖（特にフルクトース<sup>51)</sup>）などの存在下でも非ヘム鉄の吸収は亢進するようである。また、肉類（ミート・ファクター）と一緒に摂ると非ヘム鉄の吸収は増加するともいわれる<sup>52)</sup>。

このように、非ヘム鉄はその吸収を促進する因子がある一方で、阻害する因子も少なくない。例えば、炭酸塩、蓚酸塩、リン酸塩、カルシウム塩、タンニン酸塩などはいずれも巨大な重合体を形成して鉄の吸収を阻害する。穀物、糠、野菜は蓚酸塩が多いことで知られ、緑茶のタンニン酸塩は吸収阻害物質としてつとに有名である。その他、牛乳、卵、チーズなども鉄の吸収を邪魔し、また胃液の分泌を抑える制酸剤は鉄欠乏性貧血に対する鉄剤投与の際に常に問題となるものである。なお、先の報告のように<sup>39)</sup>、フィチン酸も

最近注目されている鉄吸収阻害作用を有する食物成分で、穀類や豆類の外皮に多く含まれている。フィチン酸は鉄と結合し、不溶性塩を作ることで、鉄の吸収を阻むとされる。

こうして見ると、鉄の過剰吸収を阻止するためには、一緒に摂る食品によって吸収効率が大きく左右される非ヘム鉄よりは、その影響のないヘム鉄に対処する方が効果は確実と思われる。というより、非ヘム鉄の吸収に影響を与える因子を大幅に増やしたり減らしたりすれば、他の面で悪影響が出る可能性があり、かえって問題となる。例えば、果物などを極端に制限して抗酸化物質でもあるアスコルビン酸（ビタミンC）の摂取量を減らすと、酸化ストレスを助長しかねない。あるいは、フィチン酸（穀類など）を多く摂り過ぎると鉄ばかりか、カルシウムの吸収までブロックしてしまう。やはり、ヘム鉄の吸収量をコントロールする方が減鉄効果も得やすく、かつ弊害は少ないようである。

#### 赤身肉・赤身魚の摂取制限

ヘム鉄の制限となれば、まずは赤身肉あるいは赤身魚の摂取を減らすということになるだろうか。

一般にもよく知られているように、肉食は様々な健康被害をもたらす。例えば、獣肉（牛肉・豚肉）に多く含まれる飽和脂肪酸は肝臓の LDL 受容体の働きを邪魔し、結果として血中の LDL コレステロールを上げ、動脈硬化を促進する。また獣肉（動物性）タンパク質は腸内の腐敗菌の作用で発ガン物質に変化し、大腸ガンを誘発する。なお、近年本邦でも乳ガン、前立腺ガンが増え続けているが、やはり肉の多食と関係があるといわれる。さらに、動物性タンパク質を過剰摂取すると含硫アミノ酸が酸化されて硫酸となり、それが骨からのカルシウムの溶出を促し、他方代謝産物である尿素窒素の尿中排泄量が増え、同時にカルシウムの排泄も増加するため骨粗鬆症が起りやすくなる。

このように、肉食がいわゆる生活習慣病発生の重要な因子となっていることは疑いないが、今回の我々の成績は、その肉食の有害性が鉄分に負うところも少なくないことを示唆しており、ヘム鉄の多い赤身肉の摂取制限に根拠を与えるものと思われる。これまでの疫学的調査でも、赤身肉の摂取と肺ガン、大腸ガン、胆嚢ガン、乳ガンなどの発生危険度との間には相関が見られるとの報告があり<sup>53-56)</sup>、責任物質として既に明らかにされているヘテロサイクリックアミンの他に、鉄

も候補に挙げられている。従って、今後は肉（赤身肉）の多食は鉄過剰傾向を招き、発ガンを促すとの認識を持つことが大切であろう。なお、近年米国ガン研究財団と世界ガン研究基金によって発表された「国際ガン予防 15ヶ条」にも赤身肉の摂取制限が守るべき項目の一つに挙げられている<sup>57)</sup>。ついでにいえば、牛・豚などのレバーは非ヘム鉄（貯蔵鉄のフェリチン）に加えてヘム鉄（この場合はヘモグロビン）も豊富で、やはり摂り過ぎには注意が必要である。

では、一方の赤身魚はどうであろうか。マグロ、サンマ、イワシなどのいわゆる青背魚やカツオなどの赤身（いわゆる血合い）の部分にはヘム鉄が豊富に含まれている。そのため食べ過ぎればやはり体内鉄を増やす恐れがある。しかし、これまではヘテロサイクリックアミンの関与する焦げた魚は別として赤身魚の摂り過ぎが発ガンを促進するといった報告は見られない。むしろ魚食にはガン予防効果があるという意見が多い<sup>58-60)</sup>。また周知のように、獣肉の飽和脂肪酸に対して魚肉にはドコサヘキサエン酸（DHA）やエイコサペンタエン酸（EPA）といった抗動脈硬化・抗血栓作用のある多価不飽和脂肪酸が含まれていることもあり、予防医学的には魚の評価は高まる一方である。とはいえ、今回の我々の成績を考えると、赤身肉と同様に、赤身魚の摂り過ぎも鉄過剰→Fenton 反応→遺

伝子損傷のシナリオを推し進める可能性があり、ガン予防の観点で見直すべきかもしれない。いずれにしても、赤身魚と発ガンの関係は今後新たに検討しなければならない課題と思われる。

### アルコールの増鉄作用

ところで、赤身肉・赤身魚の他に増鉄作用のあるものとして忘れてはならないのは、アルコールである。アルコールには、肝細胞膜のトランスフェリン受容体の発現を増強し、肝細胞への鉄の取り込みを促進する作用がある<sup>61)</sup>。従って、飲酒習慣がある人は、肝臓内の鉄量がいつも高めになっており、それは血清フェリチンがしばしば正常高値あるいは上限を超えた値を示すことから明らかである。もちろん、アルコール性肝障害を併発していれば肝細胞の崩壊によるフェリチンの漏出も加わり、血清フェリチンがさらに高値となるのはいうまでもない。なお、慢性ウイルス性肝炎の場合、肝臓内の貯蔵鉄量が肝硬変あるいは肝癌への進展に深く関わっていることは前述した通りであるが、アルコールによる肝細胞への鉄の取り込みの促進は病変進行の危険性をより一層高めることにもなる。やはり肝炎には禁酒が必要であろう。

結局、体内鉄（貯蔵鉄）の増加をもたらし、それゆえ積極的に控えた方がよさそうなものは赤身肉とレ

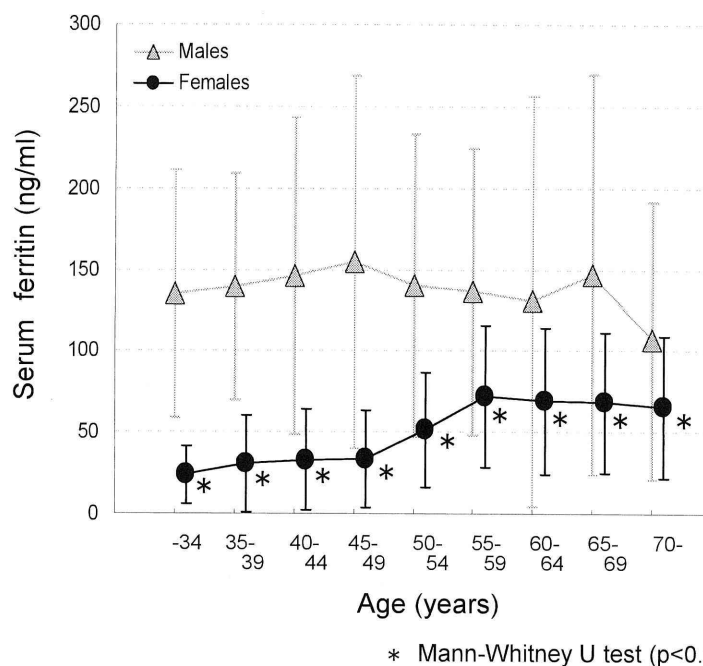


図6. Change of serum ferritin with age in males and females. The values of serum ferritin showed no remarkable change with age in males ( $\Delta$ ), but increased gradually in postmenopausal females without iron loss, although the males' values remained higher than those of females at all ages ( $p < 0.05$ )( $\bullet$ )<sup>18)</sup>.

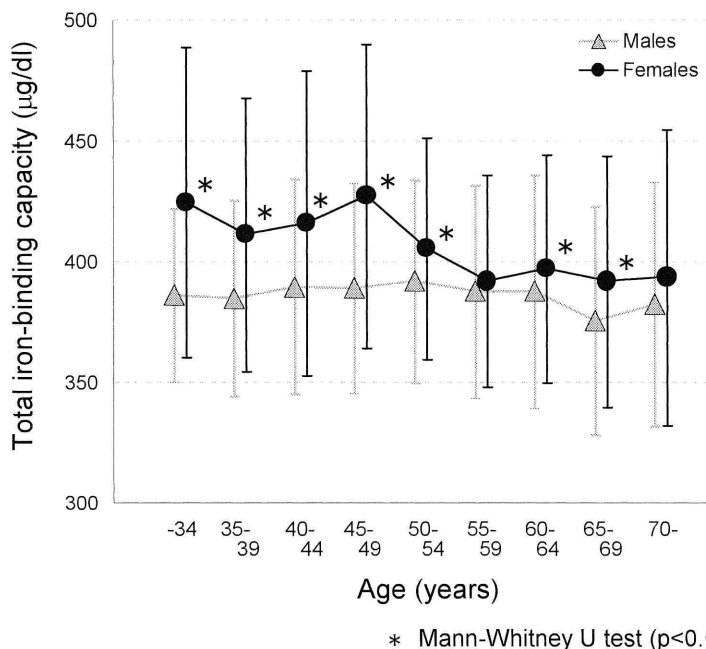


図 7. Change of TIBC with age in males and females. The values of TIBC for males hovered around 380 µg/dl (Δ), regardless of age, while those of females always stayed at a higher level than the males (p<0.05)(●)<sup>18)</sup>.

バー、赤身魚、それにアルコールであろう。

### 女性の長寿と鉄不足

さて、これまで鉄分の摂取制限は、ガンや虚血性心疾患の予防に効果があると述べてきたが、さらにもう一つ、老化を遅らせ、寿命を延ばすことにも貢献する可能性がある。それは今回の我々の成績からも推定される。

図 3 を見るとわかるように、尿中への 8-OHdG の排出量は、男性の場合、年齢に関係なくほぼ一定であるのに対して、女性の場合は 50 歳頃まで終始男性より低く推移していながら、50 歳を過ぎる当たりで男性を凌駕し、その後も漸増傾向を示した。この女性の年齢に伴う 8-OHdG の尿中排出量の変化は体内鉄量の加齢変化にはほぼ一致する。つまり、更年期以前は定期的な生理に基づく鉄喪失（鉄欠乏）を反映し、血清フェリチンは低値、TIBC は高値を示したが、生理の終了した更年期以降はそれぞれ増加と減少に転じた（図 6, 7)<sup>18)</sup>。

こうした結果から、尿中の 8-OHdG の排出量と血清フェリチン値あるいは TIBC の間に相関のあることが判明したわけであるが、簡単にいえば、更年期以前（生殖可能期間）の女性は、鉄欠乏傾向にあるがゆえに、酸化ストレスの程度（Fenton 反応の起こる頻度）が男性より低く、それだけ遺伝子損傷の発生も少ない

ということである。人生のスパンを考えたときに、30 数年にも及ぶ生殖可能な期間中、遺伝子損傷が少なく抑えられる状況にある女性は、男性より老化が遅くなり、結果として寿命が延びるであろうことは想像に難くない。

現在、老化のメカニズムに関する二大仮説といえは「エラー蓄積説」と「プログラム説」である<sup>62)</sup>。前者では“活性酸素による DNA 損傷の蓄積”が、また後者では“加齢に伴う DNA 修復能の低下やテロメアの短縮”などがそれぞれ強調されているが、両者は決して対立するものではなく、お互いに補完しあうことで老化をうまく説明できるようになっている。

というわけで、今回の結果を、「男性は 50 歳頃までは女性より DNA 損傷の度合いが大きい」と読み取るなら、男性の寿命が女性より短いのは、長年にわたる「エラーの蓄積」が男性の老化を早めるためと解釈していいかもしれない。そして、その背景にあるのが鉄過剰傾向と考えられるのである。更年期以前の女性に多い鉄欠乏症あるいは鉄欠乏性貧血は専ら治療対象の病態と看做されているが、老化学からすると DNA 損傷を抑え、寿命を延ばす効果があるのなら症状のない軽症のものは無治療で経過を見てもよいということになるのか。



### 予防医学に有用な血清フェリチン

従来の治療医学では「異常所見から疾患を診断する」、いわば retrospective な手法が一般的であるが、予防医学においては通常「危険因子から疾患を予知する」 prospective な方法が採られる。

因みに、現在生活習慣病の危険因子としては栄養過多、運動不足、ストレス過剰、過労、睡眠不足、喫煙、多量飲酒などが挙げられているが、最近はさらに酸化ストレスも重要な危険因子と考えられるようになった。そして、ここ数年の間に 8-OHGua や 8-OHdG といった信頼度の高いマーカーが登場してきたこともあって、生活習慣病を予防するための酸化ストレスの定量的判定がいよいよ臨床の場に取り入れられようとしている。

ところで、今回の我々の研究では、血清フェリチンや TIBC が尿中の 8-OHdG とよく相関することがわかった。これらの鉄マーカーは体内の鉄動態を知るために臨床で頻繁に測定されているものであるが、加えて酸化ストレス度の判定にも転用できるとすれば大変便利である。おそらく今後は、例えば、血清フェリチンの値が正常範囲であるからといって安心するのではなく、上限域に達しているようなら酸化ストレスの度合いも高いと判断して生活習慣の見直しを指導することも必要となろう。

21世紀は予防医学の時代といわれるが、血清フェリチンや TIBC などの鉄マーカーはその実践に当たって大いに威力を発揮するするものと思われる。

### 文 献

- 1) Kasai H, Crain PF, Kuchino Y, Nishimura S, Ootsuyama A, Tanooka H. Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair: *Carcinogenesis* **7**: 1849-1851, 1986
- 2) 増谷 弘、中村 肇、淀井淳司: シグナル伝達とレドックス制御—総論—。別冊医学のあゆみ「生体応答学の新展開」。医歯薬出版社 (東京) 174-178, 1999
- 3) 越智宏倫、蔵重 淳: 生体内酸化ストレス評価と癌予防—酸化ストレスプロファイル—。医学のあゆみ **204**: 25-31, 2003
- 4) Shibutani S, Takeshita M, Grollman AP: Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation-damaged base 8-oxodG. *Nature* **349**: 431-434, 1991
- 5) Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC: p53 mutations in human cancers. *Science* **253**: 49-53, 1991
- 6) 葛西 宏: 喫煙と DNA 損傷。分子呼吸器病 **3**: 318-323, 1999
- 7) Rosenquist TA, Zharkov DO, Grollman AP. Cloning and characterization of a mammalian 8-oxoguanine DNA glycosylase: *Proc Natl Acad Sci USA* **94**: 7429-7434, 1997
- 8) Shinmura K, Kasai H, Sasaki A, Sugimura H, Yokota J: 8-hydroxyguanine (7,8-dihydro-8-oxoguanine) DNA glycosylase and AP lyase activities of hOGG1 protein and their substrate specificity. *Mutat Res* **385**: 75-82, 1997
- 9) Oda H, Nakabeppu Y, Furuichi M, Sekiguchi M: Regulation of expression of the human MTH1 gene encoding 8-oxo-dGTPase. Alternative splicing of transcription products. *J Biol Chem* **272**: 17843-17850, 1997
- 10) Yakushiji H, Maraboeuf F, Takahashi M, Deng ZS, Kawabata S, Nakabeppu Y, Sekiguchi M: Biochemical and physicochemical characterization of normal and variant forms of human MTH1 protein with antimutagenic activity. *Mutat Res* **384**: 181-194, 1997
- 11) Hayakawa H, Hofer A, Thelander L, Kitajima S, Cai Y, Oshiro S, Yakushiji H, Nakabeppu Y, Kuwano M, Sekiguchi M: Metabolic fate of oxidized guanine ribonucleotides in mammalian cells. *Biochemistry* **38**: 3610-3614, 1999
- 12) Taddei F, Hayakawa H, Bouton M, Cirinesi A, Matic I, Sekiguchi M, Radman M: Counteraction by MutT protein of transcriptional errors caused by oxidative damage. *Science* **278**: 128-130, 1997
- 13) Bogdanov MB, Beal MF, McCabe DR, Griffin RM, Matson WR: A carbon column-based liquid chromatography electrochemical approach to routine 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine measurements in urine and other biologic matrices: a one-year evaluation of methods. *Free Radic Biol Med* **27**: 647-666, 1999
- 14) Kasai H, Iwamoto-Tanaka N, Miyamoto T, Kawanami K, Kawanami S, Kido R, Ikeda M: Life style and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine, a marker of oxidative dna damage: effects of exercise, working conditions, meat intake, body mass index, and smoking. *Jpn J Cancer Res* **92**: 9-15, 2001
- 15) Holmberg I, Stal P, Hamberg M: Quantitative determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in human urine by isotope dilution mass spectrometry: normal levels in hemochromatosis. *Free Radic Biol Med* **26**: 129-135, 1999
- 16) Erhola M, Toyokuni S, Okada K, Tanaka T, Hiai H, Ochi H, Uchida K, Osawa T, Nieminen MM, Alho H, Kellokumpu-Lehtinen P: Biomarker evidence of DNA oxidation in lung cancer patients: association of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine



- excretion with radiotherapy, chemotherapy, and response to treatment. *FEBS Lett* **409**: 287-291, 1997
- 17) 下位香代子: 核酸の酸化障害の評価法の進歩。別冊医学のあゆみ「酸化ストレス」115-118, 医薬出版社 (東京) 2001
  - 18) Nakano M, Kawanishi Y, Kamohara S, Uchida Y, Shiota M, Inatomi Y, Komori T, Miyazawa K, Gondo K, Yamasawa I: Oxidative DNA damage (8-hydroxydeoxyguanosine) and body iron status; A study on 2,507 healthy people. *Free Radic Biol Med* **35**: 826-832, 2003
  - 19) Halliwell B, Gutteridge JMC: *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. Oxford University Press (Oxford) 1999
  - 20) 岡田 茂: 鉄代謝異常と酸化ストレス。別冊医学のあゆみ「酸化ストレス」290-293, 医薬出版社 (東京) 2001
  - 21) 岡田 茂: 鉄と発癌。血液フロンティア **10**: 47-54, 2000
  - 22) Torti FM, Torti SV: Regulation of ferritin genes and protein. *Blood* **99**: 3505-3516, 2002
  - 23) Stevens RG, Beasley RP, Blumberg BS: Iron-binding proteins and risk of cancer in Taiwan. *J Natl Cancer Inst* **76**: 605-610, 1986
  - 24) Stevens RG, Jones DY, Micozzi MS, Taylor PR: Body iron stores and the risk of cancer. *N Engl J Med* **319**: 1047-1052, 1988
  - 25) Selby JV, Friedman GD: Epidemiologic evidence of an association between body iron stores and risk of cancer. *Int J Cancer* **41**: 677-682, 1988
  - 26) 内田立身: 鉄欠乏性貧血—鉄の基礎と臨床—。新興医学出版社 (東京) 1996
  - 27) Cook JD, Finch CA, Smith NJ: Evaluation of the iron status of a population. *Blood* **48**: 449-455, 1976
  - 28) Walters GO, Miller FM, Worwood M: Serum ferritin concentration and iron stores in normal subjects. *J Clin Pathol* **26**: 770-772, 1973
  - 29) Bradbear RA, Bain C, Siskind V, Schofield FD, Webb S, Axelsen EM, Halliday JW, Bassett ML, Powell LW: Cohort study of internal malignancy in genetic hemochromatosis and other chronic non-alcoholic liver diseases. *J Natl Cancer Inst* **75**: 81-84, 1985
  - 30) Niederau C, Fischer R, Sonnenberg A, Stremmel W, Trampisch HJ, Strohmeyer G: Survival and causes of death in cirrhotic and in noncirrhotic patients with primary hemochromatosis. *N Engl J Med* **313**: 1256-1262, 1985
  - 31) Ammann RW, Muller E, Banský J, Schuler G, Hackl WH: High incidence of extrahepatic carcinomas in idiopathic hemochromatosis. *Scand J Gastroenterol* **15**: 733-736, 1980
  - 32) 林 久男: 鉄の細胞毒性とC型慢性肝炎での役割。肝臓 **40**: 431-435, 1999
  - 33) Hann HW, Kim CY, London WT, Blumberg BS: Increased serum ferritin in chronic liver disease: a risk factor for primary hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* **43**: 376-379, 1989
  - 34) 林 久男: 肝炎と鉄。血液フロンティア **10**: 55-61, 2000
  - 35) Sullivan JL: The iron paradigm of ischemic heart disease. *Am Heart J* **117**: 1177-1188, 1989
  - 36) Lauffer RB: Iron, aging and human disease: Historical background and new hypothesis. In *Iron and Human Disease*. Edited by Lauffer RB. CRC Press(London) 1-20, 1992
  - 37) Salonen JT, Nyyssonen K, Korpela H, Tuomilehto J, Seppanen R, Salonen R: High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern Finnish men. *Circulation* **86**: 803-811, 1992
  - 38) Sempos CT, Looker AC, Gillum RF, Makuc DM: Body iron stores and the risk of coronary heart disease. *N Engl J Med* **330**: 1119-1124, 1994
  - 39) Fleming DJ, Tucker KL, Jacques PF, Dallal GE, Wilson PW, Wood RJ: Dietary factors associated with the risk of high iron stores in the elderly Framingham Heart Study cohort. *Am J Clin Nutr* **76**: 1375-1384, 2002
  - 40) McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, Rolfs A, Sager G, Mudaly E, Mudaly M, Richardson C, Barlow D, Bomford A, Peters TJ, Raja KB, Shirali S, Hediger MA, Farzaneh F, Simpson RJ: An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* **291**: 1755-1759, 2001
  - 41) Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, Nussberger S, Gollan JL, Hediger MA: Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* **388**: 482-488, 1997
  - 42) Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH, Drejer A, Barut B, Zapata A, Law TC, Brugnara C, Lux SE, Pinkus GS, Pinkus JL, Kingsley PD, Palis J, Fleming MD, Andrews NC, Zon LI: Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* **403**: 776-781, 2000
  - 43) Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, Cowley L, Askwith C, Libina N, Gitschier J, Anderson GJ: Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet* **21**: 195-199, 1999
  - 44) Crosby WH: Mucosal block. An evaluation of concepts relating to control of iron absorption. *Semin Hematol* **3**: 299-313, 1966
  - 45) 軍神宏美: 鉄代謝とその分子基盤。2. Natural Resistance Associated Macrophage Protein (NRAMP)。血液フロンティア **10**: 17-26, 2000
  - 46) Sayers MH, Lynch SR, Jacobs P, Charlton RW,

- Bothwell TH, Walker RB, Mayet F: The effects of ascorbic acid supplementation on the absorption of iron in maize, wheat and soya. *Br J Haematol* **24**: 209-218, 1973
- 47) Thomson AB, Valberg LS: Kinetics of intestinal iron absorption in the rat: effect of cobalt. *Am J Physiol* **220**: 1080-1085, 1971
- 48) 稲本康彦: 経口鉄剤の効果判定についての臨床的研究。 *内科宝函* **18**: 75-82, 1971
- 49) Hallberg L, Bjorn-Rasmussen E, Ekenved G, Garby L, Rossander L, Pleehachinda R, Suwanik R, Arvidsson B: Absorption from iron tablets given with different types of meals. *Scand J Haematol* **21**: 215-224, 1978
- 50) Pollak S, Kaufman RM, Crosby WH: Iron absorption: Effect of sugars and reducing agents. *Blood* **24**: 577-581, 1964
- 51) Cook JD, Layrisse M, Martinez-Torres C, Walker R, Monsen E, Finch CA: Food iron absorption measured by an extrinsic tag. *J Clin Invest* **51**: 805-815, 1972
- 52) Knoe D, Kinney TD, Kaufman N: The influence of amino acids on iron absorption. *Blood* **21**: 546-552, 1963
- 53) Alavanja MC, Field RW, Sinha R, Brus CP, Shavers VL, Fisher EL, Curtain J, Lynch CF: Lung cancer risk and red meat consumption among Iowa women. *Lung Cancer* **34**: 37-46, 2001
- 54) Sesink AL, Termont DS, Kleibeuker JH, Van der Meer R: Red meat and colon cancer: dietary haem-induced colonic cytotoxicity and epithelial hyperproliferation are inhibited by calcium. *Carcinogenesis* **22**: 1653-1659, 2001
- 55) Pandey M, Shukla VK: Diet and gallbladder cancer: a case-control study. *Eur J Cancer Prev* **11**: 365-368, 2002
- 56) Dai Q, Shu XO, Jin F, Gao YT, Ruan ZX, Zheng W: Consumption of animal foods, cooking methods, and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **11**: 801-808, 2002
- 57) World Cancer Research Fund with American Institute for Cancer Research. Food, nutrition and the prevention of cancer: a Global perspective. American Institute for Cancer Research, 1997
- 58) Caygill CP, Charlett A, Hill MJ: Fat, fish, fish oil and cancer. *Br J Cancer* **74**: 159-164, 1996
- 59) Fernandez E, Chatenoud L, La Vecchia C, Negri E, Franceschi S: Fish consumption and cancer risk. *Am J Clin Nutr* **70**: 85-90, 1999
- 60) de Deckere EA: Possible beneficial effect of fish and fish n-3 polyunsaturated fatty acids in breast and colorectal cancer. *Eur J Cancer Prev* **8**: 213-221, 1999
- 61) Suzuki Y, Saito H, Suzuki M, Hosoki Y, Sakurai S, Fujimoto Y, Kohgo Y: Up-regulation of transferrin receptor expression in hepatocytes by habitual alcohol drinking is implicated in hepatic iron overload in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* **26**: 26-31, 2002
- 62) 鍋島陽一、北 徹、石川冬木 (監訳): 老化のバイオロジー。 *メディカル・サイエンス・インターナショナル* (東京) 337-383, 2000