



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on the efficacy of dietary compounds to detoxify toxic metals in vitro [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Rahman, Md. Mostafizur
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第13306号
Issue Date	2018-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71938
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Md.Mostafizur_Rahman_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士（環境科学）

氏名 Md. Mostafizur Rahman

審査委員	主査	准教授	藏 崎 正 明
	副査	教 授	沖 野 龍 文
	副査	教 授	野 呂 真一郎
	副査	准教授	豊 田 和 弘
	副査	准教授	根 岸 淳二郎
	副査	教 授	齋 藤 健（大学院保健科学研究院）

学位論文題名

Study on the efficacy of dietary compounds to detoxify toxic metals *in vitro*

（試験管内で毒性金属を解毒するための食餌中化合物の有効性に関する研究）

現代、重金属による環境汚染は人間の健康に大きな影響を及ぼしている。ほとんど全ての重金属種は、多くの疾病に関与し人間の健康に重篤な障害を与えている。

本研究ではまず、その導入部で申請者が行ったバングラデシュ中央部の145の地下水試料の重金属濃度等の分析、さらに疾病との関連をコホート調査などを基に、ヒ素濃度をはじめとしていくつかのパラメーターが大人と子供の双方に重大な健康リスクをもたらす可能性を示唆した。さらに、将来的な発がんリスクも高くなることを予見したデータを引用し、重金属毒性の危険性を概説した。そしてその危険性を日常の食餌に含まれる物質が緩和する可能性についての実証の必要性が説かれている。

上記のことを証明するために、まずカドミウムに対する毒性をカキなどに豊富に含まれる亜鉛が緩和することを明らかにしようと試みた。カドミウムと亜鉛は周期律表の同族元素であり基本的な性質は類似している。PC12細胞において、カドミウム誘発細胞毒性は10および100 μM の亜鉛共曝露により有意な毒性の緩和効果があることが生残率の測定により認められた。カドミウムの曝露によって細胞内グルタチオンレベルが有意に低下し、培地中への乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）流出が有意に上昇するなどカドミウムが酸化ストレスを誘導していることが示唆された。この酸化ストレスが10および100 μM の亜鉛の共曝露により有意に減少され、さらに、カドミウムによって増強されたアポトーシス因子、Baxの発現、およびシトクロムcの細胞内への放出が、亜鉛の共存により有意に低下していた。このことはカドミウムによるアポトーシス誘導を亜鉛が抑制していることを示している。また、この現象はカスパーゼ9の逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応によっても確認できた。これらの知見から、亜鉛によるPC12細胞におけるカドミウム誘導アポトーシスの劇的な阻害が、内因性アポトーシス経路の因子の抑制および活性酸素種の産生を抑制していることに起因していると考えられた。

次に、ヒ素の毒性が鰹節や肉類に多く含まれるセレンによって緩和される機構を検討した。

ヒ素もセレンも多くの場合、メタロイドに分類されている。同時曝露されるセレンの濃度は実験により定めた。セレンはPC12細胞に対し、10 μ Mまでは毒性を示さないがそれ以上の曝露では毒性を示す。本研究ではセレンの曝露濃度は10 μ Mに定めた。

ヒ素 (10 μ M) にセレン (10 μ M) を同時曝露するとヒ素によって有意に低下していた細胞生存率が有意に上昇し、ヒ素誘導酸化ストレスおよびDNA損傷もセレンにより低下することが認められた。さらに、ウェスタンブロッティングの解析により、ヒ素とセレンの同時曝露によりヒ素で誘導されるアポトーシスをセレンが抑制し、オートファジーから細胞死に至る経路も併せて阻害されることが明らかになった。つまり、p-mTOR, p-Akt, p-Foxo1A, Bcl2, およびNF κ B はヒ素の曝露で有意に発現が低下し、セレンの共曝露により有意に上方修正され、p62, ユビキチン, Baxおよびカスパーゼ3の発現はヒ素によって有意に発現が上昇し、セレンの共曝露により有意に下方修正されていた。さらに、RT-PCR分析によると、ヒ素によりカスパーゼmRNAの発現が増大するが、セレンとヒ素との同時曝露による阻害が確認された。誘導結合プラズマ質量分析法の結果から、セレンが存在するとヒ素の細胞内取り込み/蓄積を有意に遅延させることが確認された。以上の知見をまとめると、セレンのグルタチオンペルオキシダーゼ等の抗酸化酵素の発現増大を介して、PC12細胞におけるヒ素の細胞内取り込みを阻害し、mTOR / Aktのオートファジーシグナル伝達経路の増強およびヒ素誘導性内因性アポトーシス経路の阻害が行われていることが明らかになった。

最後に、PC12およびCaco-2細胞におけるヒ素、カドミウムおよび鉛曝露に対する動物の臓器等に比較的多く含まれている α リポ酸およびその一次代謝産物であるジヒドロリポ酸の毒性緩和効果を調べた。 α リポ酸およびジヒドロリポ酸の双方ともに、PC12ならびにCaco-2細胞におけるヒ素、カドミウムおよび鉛単独曝露に比べて α リポ酸と・金属/ ジヒドロリポ酸と金属の複合曝露で有意な細胞生存率上昇が確認された。 α リポ酸は250 μ Mの濃度で毒性緩和効果を示したが、ジヒドロリポ酸は50 μ Mで同様の効果を示した。GSHレベルとNrf2タンパク質が、それぞれ金属単独曝露では有意な低下を示していたが、共曝露群では有意な増加が認められた。その毒性緩和効果はヒ素の毒性を緩和するセレンと同様の効果があることが示唆された。

本研究は、ヒ素、カドミウムおよび鉛などの微量の有害金属を慢性的に摂取すると、重大な健康障害を引き起こす可能性があるが、必須微量元素や栄養補助食品の適切な摂取により、それら有害金属の毒性作用を減少させる可能性を示すものである。

審査委員一同は、これらの成果を評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。