

令和元年9月9日現在

機関番号：33906

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K16211

研究課題名(和文)放射性セシウムによる内部被ばくを防ぐ食品成分-セシウムの吸収阻害・排泄促進

研究課題名(英文) Establishment of a system for screening food factors inhibiting the absorption of Cs in intestine

研究代表者

保田 倫子 (Yasuda, Michiko)

椋山学園大学・生活科学部・講師

研究者番号：00707036

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：現在、既に使用されている排泄促進「薬剤」ではなく、日常的に予防策として摂取できる「食品」に、放射性セシウムによる体内への吸収阻害効果および体外への排泄促進効果を見出すことを目標とした。試験管内の試験でセシウムとグルカンの吸着作用を調べたがその効果は得られなかった。また、マウスを用いた動物実験でもセシウムの代謝吸収評価系の確立を試みたが、その前段階としてより簡易であり、かつ代謝を考慮した実験系として、ヒト結腸癌細胞Caco-2細胞とマウス腸管粘膜を装着したUssing chamberを用いて食品成分の評価系を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

摂取することで放射性セシウムによる内部被ばくを防ぐ薬剤のブルシアンブルーとリンゴのペクチンには研究成果報告に示したように問題点がある。本研究により、まず、これらの問題点を解決するための食品成分に関する検討が可能になる。また、これを使って、実際にセシウムの腸管での移行を調節する食品成分を得られた場合、ヒトへの内部被ばく対策として用いることができると共に、食用動物等にも応用できる可能性がある。また、風評被害を含め、放射性物質による事故の際の食材に対する風評被害も含めた、人々への不安軽減にも役立つことが考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was the establishment of a system for screening food factors inhibiting the absorption of Cs in intestine and the investigation of food factors using Caco-2 cell system in tissue culture insert, a well characterized intestinal in vitro model, and the Ussing chamber system equipped with intestinal tissue from C57BL/6 mice. CsCl solution was added to apical side in Caco-2 system. After incubation for various lengths of time, aliquots of the buffer in opposite chambers are removed, and digested with a microwave digestion procedure for the determination of Cs concentration by ICP-MS. In Ussing chamber system with mouse jejunum, CsCl solution (1.0 mM) was added to mucosal side, and aliquots of the buffer in opposite chambers are corrected after incubation and digested as above. In summary, we developed the system for screening food factors inhibiting the absorption of Cs in intestine, and investigated the effects of food flavonoids on these evaluation systems.

研究分野：食品機能学

キーワード：セシウム 腸管 Caco-2細胞 食品機能 ケルセチン ゲニステイン グルカン

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2011年の東日本大震災の際、原発事故により放射性ヨウ素やセシウムによる放射能汚染が社会問題となり、数年経った今でも、放射能汚染対策は最重要課題の一つである。その解決のために、放射能汚染未然に防ぐ対策は勿論、ばく露時の健康被害を最小限に留めるための対策を立てることも極めて重要である。ばく露時に起こりうる問題の一つとして、放射性セシウムのような放射性物質が食品や水を汚染し、それらを摂取することで放射性セシウムが体内に取り込まれ、内部被ばくを引き起こす例が挙げられる。

飲食物中のセシウムは、消化管粘膜から吸収され血中に移行した後、全身を循環し、各組織に蓄積した後、血液から尿として排泄される、あるいは、血流から消化管に胆汁や腸液として移行し、多くが再吸収されて血液に戻り、一部が糞便として排泄される (Legget et al., 2003)。このことから、上記の対策として、セシウムに関して A. 吸収させない、B. 排泄を促進することが、放射性セシウムの摂取による内部被ばく対策として有効であると考えられる。プルシアンブルー (鉄の無機結晶) はセシウムを吸着する作用があるため (Madshus et al., 1968) 上記の A と B の観点から医薬品として承認され、実際にチェルノブイリおよび福島での原発事故の際も使用されている。プルシアンブルーは、放射性物質の大量摂取事故などの際に指定公共機関に限定して使用することが定められているものの、日常的に予防策・防御策として摂取することは難しい。プルシアンブルーは青色顔料であり、口からの摂取に抵抗を感じるケースもある。口からの摂取に抵抗がない食品成分の中では、リンゴに含まれる多糖類のペクチンにセシウム吸着作用があることが報告されているが、プルシアンブルーに比べセシウムとの結合が格段に弱く、生体内での効果の証明は難しい (Gall et al., 2006)。

セシウムの組織における流入出には、Na-K ポンプおよびカリウムチャンネルが関与することから、これらを調節する物質の摂取は有効であるが、体内でのカリウム濃度は厳密に制御され、その攪乱は心臓停止等も招くため、これらの機構の急速な調節を起こす副作用は生命に関わることになる。よって、食品成分で、A・B の効果を持ちかつ副作用の無いものを見出すのが、上記の問題点をクリアした内部被ばく対策として有効ではないか、と考えるに至った。

グルカンは、基本構造である D-グルコースが / グリコシド結合で連なった多糖類で、多種多様な構造と分子量で生体内に存在し、食品として摂取されるものも多い。例えば、貯蔵多糖であるグリコーゲン、デキストリン、海藻の成分であるラミナランなどもその一種である。グルカンについて、抗がん作用免疫賦活作用など様々な機能性に関する報告がされているが、中には金属と結合する例が報告されているものもある (Semelka et al., 2009; Bea et al., 2006)。また、グルカンの中には、ほぼ体内に吸収されないにも関わらず、消化管への刺激を通して、血中および体内に影響を及ぼして、免疫賦活効果などの機能性を発揮するものもある (これらの報告の中には申請者らによるものもある: 研究業績欄# 6,7,10,12,14)。これらのことから、グルカンは、セシウムと結合することおよび、消化管を刺激することにより、セシウムに関して A および B の効果を持つのではないかと、この着想に至った。

植物性食品中には、ポリフェノールに分類され、C6-C3-C6 構造を基本骨格とした化合物群、フラボノイドが多数含まれる。これらは植物中では、様々な刺激、たとえば紫外線、微生物、酸化ストレス等に対してそのストレス応答を阻害する化合物として作用しているケースが多く、ヒトにとっても機能性成分として働くという報告が多数ある。その作用メカニズムの一つとして、フラボノイド類の持つキレート作用が挙げられる。このことから、グルカンのみならず、フラボノイドにもセシウムの腸管での移行に影響を及ぼす可能性があるのではないかと予想した。

以上を踏まえ、本研究では、多糖類のグルカン類およびフラボノイド類を、セシウムの吸収阻害効果・排泄促進効果を持つ食品因子のターゲット候補とし、それらの効果を持つグルカンを探索することを目指す。そのために、腸管におけるセシウムの移行に対する食品成分の影響を検討するための評価系の確立についても試みる。

<引用文献> Bea et al., J Org Chem. 2006, 71(5), 2056-63; Gall et al, Biochimie. 2006, 88(11), 1837-41; Leggett et al., Sci Total Environ. 2003, 317(1-3), 235-55; Madshus et al., Z Naturforsch B. 1968, 23(3), 391-2; Semelka et al. J Magn Reson Imaging. 1998 M, 8(3), 670-4.

2. 研究の目的

本研究により、地震による被害と人々の不安を、少しでも低減することを目指す。東日本大震災

の際の原発事故による食品・飲料水の放射性セシウムによる汚染とその内部被ばくは、現況でも需要課題の一つである。よって、放射能汚染を未然に防ぐ対策は勿論、ばく露時の健康被害の低減対策は極めて重要であり、放射性セシウムを体内に吸収させない、速やかに排泄させることは、その解決法の一つである。そこで、現在、既に使用されている排泄促進「薬剤」ではなく日常的に予防策として摂取できる「食品」に、放射性セシウムの体内への吸収阻害効果および体外への排泄促進効果を見出すことを目的とする。

3. 研究の方法

非放射性塩化セシウム投与後に体内に残存するセシウム量についてまず検討した。6週齢雄性のICRマウスに塩化セシウムをセシウム当量0.1、0.5、1.0 mg/kg体重となるよう強制経口投与後、尿、血漿、肝臓、筋肉（ふくらはぎ、すね）を濃硝酸により灰化し、ICP-MSを用いてセシウム量を測定した。各種グルカンとセシウムとの吸着により吸収阻害および排泄促進効果を示すことを期待し、静岡県立大学食品栄養科学部、増田修一先生のご協力のもと、*in vitro*でのセシウムと各種グルカンの吸着試験を行った。塩化セシウム溶液（0.002 mg/ml）とグルカンを混合後、分子量フィルターにより篩にかけ、セシウムの残存量を調べた。マウスを用いた動物試験、試験管内試験によりそのような効果を持つ食品成分の探索を試みたが、動物実験に用いる前段階として、より簡易であり、かつ代謝を考慮した実験系の構築を試み、セルカルチャーインサートにヒト結腸がんCaco-2細胞を分化させたモデル、およびマウス腸管粘膜を装着したUssing chamberを用いることで、食品成分の探索に用いるための実験系の構築を試みた。マウス空腸を装着したUssing chamber (*ex vivo*)、ヒト結腸癌由来Caco-2細胞 (*in vitro*)を用い、セシウムの腸管を介した透過について、の新たな評価系の構築を試みた。Ussing chamber法に関しては、静岡県立大学食品栄養科学部、唐木晋一郎先生のご協力のもと、実施した。半透膜性膜付きインサート上でCaco-2細胞をヒト腸管上皮様に分化させ、セシウムの腸管を介した移行の評価のために、Apical (A)側、もしくはBasolateral (B)側から塩化セシウム溶液（0、1.0、5.0 mM）を処理し、経時的にB側もしくはA側から培地を一定時間後に回収した。これを濃硝酸により灰化した後、ICP-MSによりセシウム量を測定した。C57BL/6マウスの空腸をUssing chamberに装着し、粘膜（M）側もしくは漿膜側（S）にセシウム（1 mM）を含むKrebs-Ringer液を処理し、経時的にS側およびM側のchamberからKrebs-Ringer液を回収し、濃硝酸により灰化した後、ICP-MSによりセシウム量を測定した。

4. 研究成果

6週齢雄性のICRマウスに塩化セシウムをセシウム当量0.1、0.5、1.0 mg/kg体重となるよう強制経口投与後、尿、血漿、肝臓、筋肉（ふくらはぎ、すね）中のセシウム量を測定した。これにより、本条件下での検出限界について調べ、それぞれの塩化セシウム濃度1.0、0.5、0.1 mg/kg体重の場合、14日以内、7日以内、4日以内の飼育期間で食品成分の効果を試験できると考えられる。

各種グルカンとセシウムとの吸着により吸収阻害および排泄促進効果を示すことを期待し、静岡県立大学食品栄養科学部、増田修一先生のご協力のもと、*in vitro*でのセシウムと各種グルカンの吸着試験を行った。しかしながら、これらグルカンに、検討した濃度の範囲（0.05 - 1 mg/ml）ではセシウムとの吸着効果は見られなかった。また、ストロンチウムについてもセシウム同様、内部被ばくの問題が考えられるため、同様に吸着試験を行ったが、効果は見られなかった。

動物実験に用いる前段階として、より簡易であり、かつ代謝を考慮した実験系の構築を試み、セルカルチャーインサートにヒト結腸がんCaco-2細胞を分化させたモデル、およびマウス腸管粘膜を装着したUssing chamberを用いた。静岡県立大学食品栄養科学部、唐木晋一郎先生のご協力のもと、実施したところ、半透膜性膜付きインサート上でCaco-2細胞をヒト腸管上皮様に分化させ、セシウムの腸管を介した移行の評価のために、A側、もしくはB側から塩化セシウム溶液（0、1.0、5.0 mM）を処理し、経時的にB側もしくはA側から培地を一定時間後に回収し、セシウム量を測定した。その結果、1.0 mMで処理後30分で既に処理したB側もしくはA側の逆側にセシウムが検出され、その量が24時間までの間に経時的に増加することがわかった。C57BL/6マウスの空腸をUssing chamberに装着し、粘膜M側もしくは漿膜側Sにセシウム（1 mM）を含むKrebs-Ringer液を処理し、経時的にS側およびM側のchamberからKrebs-Ringer液を回収した。これにより、数分後には、セシウム処理をした反対側のchamberにセシウムが検出され、その後、セシウム移行はある一定量で飽和することがわかった。これらの検討により、Caco-2細胞を用いた培養細胞系（*in vitro*）の評価系とマウス空腸を装着したUssing chamber（*ex vivo*）による評価系の2つの評価系を構築した。また、Caco-2細胞を用いた方法については、セシウムの体内への吸収を抑制するために実用化されているプルシアンブルーの作用を確認した。

ヤマトイモエタノール抽出物、グルカン数種についてその効果を調べたが、これらはセシウムの腸管モデルにおける透過に影響を及ぼさなかった。一方、フラボノイドについてもいくつかセシウムの透過に対する効果を検討した結果、タマネギ等に含まれる機能性フラボノイド、ケルセチンにapicalからbasolateralへのセシウムへの透過を抑制する効果がみられることがわかった。大豆由来の機能性フラボノイド、ゲニステインには逆にapicalからbasolateral側へのセシウムの移行を促進する効果が見られた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. Uehara Y, Ishizuka K, Shimamura Y, Yasuda M, Shimo K, Masuda S: Adsorptive Property of Food Materials and Chemicals to Cesium and Strontium. Nat. Prod. Commun., 2017, 12(2): 263-5
2. Uehara Y, Ishizuka K, Shimamura Y, Yasuda M, Shimo K, Masuda S: Exploration of food materials and components showing the suppressing effect on absorption of strontium and the promoting effect on excretion of cesium in vivo. Integr. Cancer Sci. Ther., 2016, 3(6):1-4.

〔学会発表〕(計 8 件)

1. Michiko T Yasuda¹, Chika Tokuyama², Yukiko Kobayashi¹, Sachiyo Shitasue¹, Shin-Ichiro Karaki², Kayoko Shimo: Establishment of a system for screening food factors inhibiting the absorption of Cs in intestine, the 256th ACS National Meeting, Boston, MA, USA, 2018 August
2. ○唐木晋一郎、保田倫子：消化管粘膜上皮による管腔内化学物質受容と粘膜機能（分泌・バリア機能）への影響、第 95 回日本生理学会大会、2018 年 3 月 28 日
3. 保田倫子、徳山千佳、唐木晋一郎、下位香代子：腸管を介したセシウム移行に食品因子が及ぼす効果、第 26 回環境化学討論会（静岡） P-130、2017 年 6 月 8 日
4. 上原祐也、石塚加奈、島村裕子、保田倫子、下位香代子、増田修一：セシウムおよびストロンチウムによる内部被曝を軽減化する食品素材・成分の探索、日本農芸化学会大会 2017 大会（京都） 3A04p11、2017 年 3 月 19 日
5. 保田倫子、徳山千佳、唐木晋一郎、下位香代子：放射性セシウムによる内部被ばくを防ぐ食品成分探索のための評価系、日本農芸化学会大会 2017 大会（京都） 4B10a09、2017 年 3 月 20 日
6. 唐木晋一郎、保田倫子：消化管粘膜上皮による管腔内化学物質受容と上皮膜機能調節機構、第 22 回 Hindgut Club Japan シンポジウム（東京） P19、2016 年 12 月 3 日
7. 上原祐也、石塚加奈、島村裕子、保田倫子、下位香代子、増田修一：放射性物質による内部被曝を防ぐ食品素材・成分の探索、第 71 回 日本栄養・食糧学会中部支部大会（岐阜） 14、2016 年 11 月 19 日（口頭発表、査読あり）
8. 保田倫子、唐木晋一郎、下位香代子：セシウムの腸管における透過に関する評価系の確立、第 21 回日本フードファクター学会（JSOFF2016）（富山） P-27、2016 年 11 月

6. 研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：下位香代子

ローマ字氏名： Kayoko Shimo

研究協力者氏名：唐木晋一郎

ローマ字氏名： Shin-ichiro Karaki

研究協力者氏名：増田修一

ローマ字氏名： Syuichi Masuda

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。