

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：33919

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19408

研究課題名(和文)ホウ素の健康影響に対する新展開

研究課題名(英文)Carcinogenic potential of boron

研究代表者

橋本 和宜(Kazunori, Hashimoto)

名城大学・薬学部・助教

研究者番号：10816242

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：UNICEFとWHOによると、世界人口70億人のうち約6億人が安全な飲料水を得られない状況である。そこで、「安全な水」の確保のため、元素による毒性を正確に把握する必要がある。本研究において、アフガニスタンの飲用井戸水227検体について元素濃度測定を行なった。ホウ素についてWHOの飲料水ガイドライン値:2.4mg/Lを超える高濃度汚染を確認したため、ホウ素の発癌毒性について検討を行なった。ホウ素刺激により非癌細胞株の足場非依存性増殖能が促進したのに対して、癌細胞株の足場非依存性増殖への影響は限定的であった。本研究から、ホウ素が発癌のイニシエーションに影響する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、アフガニスタン・カブールの飲用地下水227検体を用いた独自の元素分析結果を基にしている。本研究が証明した、ホウ素によるin vitro発癌毒性は世界で初めての報告であり、今後ホウ素の世界的な飲料水基準値の見直しのための必要不可欠の情報となると考えている。日本では、ホウ素が100mg/Lを超える濃度含まれる温泉水もあり、温泉水の「飲泉」や農業利用が進む現状において、早急にホウ素の毒性を明らかにしておく必要がある。また同時に、汚染水を浄化し安全な水の確保のための方法を開発する必要がある。

研究成果の概要(英文)：Our study demonstrated high levels of boron in well drinking water though environmental monitoring in Kabul, Afghanistan. Both the mean and maximum boron concentrations in drinking water collected from Afghanistan were generally higher than those in other countries previously reported. Our results indicate that Kabul in Afghanistan is one of the areas with highest levels of boron pollution in the world. In addition, our cellular physiological results and biochemical study demonstrated that boron at concentrations of 50-500 μ M boron promotes malignant transformation in nontumorigenic cells with activation of the carcinogenic pathway of c-SRC and PI3K/AKT pathway, suggesting a potential carcinogenic risk of exposure to boron. Therefore, in the future, the epidemiological study is needed to clarify the health risk for the residents in Kabul, Afghanistan exposed to high levels of boron from drinking water.

研究分野：環境毒性学

キーワード：ホウ素 発癌

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

地球上の水は、そのほとんどが海水であり、人が利用可能な地球上の水は、そのほとんどが海水であり、人が利用可能な地下水や河川などの淡水は全体の約 0.8%である(UNESCO 2003)。人類の生存と健康な生活のためには、ヒトの健康を害さない「安全な水」が必要不可欠であるが、UNICEFとWHOによる「水と衛生のための共同監視プログラム」(2015年)によると、世界人口70億人のうち約6億人が安全な飲料水を得られない状況である。

後発開発途上国であるアフガニスタンでは死因の約26%に環境汚染が関与している。アフガニスタンは最貧国とも言われ、汚染状態も明らかではない「安全ではない水」を飲まざるを得ない状況にある。アフガニスタンでは、飲用井戸水が複合的に元素汚染されている(Kato et al. 2016)ことが確認され、申請者もアフガニスタンにおける飲料水の有害元素による汚染状況を明らかにする目的で、カブールの飲用井戸水中の元素濃度分析を行ってきた。研究開始当初までに、申請者は、アフガニスタン飲用井戸水の元素分析から最大 23.4mg/L (WHOの飲料水ガイドライン値:2.4mg/L)のホウ素汚染を確認していた(Table 1)。飲料水によるホウ素への慢性期曝露が想定されるが、慢性影響である発癌性の報告はなかった。一方で、アメリカ合衆国環境保護庁(EPA)の発癌リスク評価基準では、「ホウ素の発癌性に関するデータは不十分である」とされていた。

Table 1. Boron levels measured by ICP-MS in drinking water in the world.

Country	Sample type	No.	Average (µg/L)	Range (µg/L)	Reference
Afghanistan	Well water	227	2,656 ^a	83-23,395	This study
Sweden	Well water	89	9 ^b	0.7-106	(Rosborg et al., 2003)
Italy	Tap water	15	17 ^b	0-76	(Cidu et al., 2011)
China	Drinking water	98	46 ^a	3-337	(Xu et al., 2010)
Laos	Well water	61	90 ^b	5.2-1,997	(Chanpiwat et al., 2011)
Malaysia	Well water	21	96 ^a	5.9-195.1	(Kato et al., 2010)
Turkey	Tap water	88	1,700 ^a	30-3,390	(Çöl and Çöl, 2003)
Argentina	Drinking Water	10	2,004 ^a	335- 5,956	(Concha et al., 2010)
Chile	Drinking water	173	2,900 ^b	220-11,300	(Cortes et al., 2011)

^a Mean, ^b Median

2. 研究の目的

ホウ素の水質汚染には、主に①工業など人間の活動由来、②鉱床等の自然由来が考えられる。アフガニスタンでは伝統的にカレーズを用いて、地下水を飲用など生活用水として用いてきた。特にアフガニスタンには図1に示すように、多くの鉱床が存在している。最近でも大規模なりチウムの鉱床が見出されていることから、アフガニスタンの飲用地下水には自然由来の高濃度元素汚染が想定される。そのため、飲料水さらには地産の食物を介した慢性的な体内ホウ素濃度の上昇と慢性期ホウ素曝露による人体への影響が想定される。しかし、米国環境保護庁(EPA)及び欧州消費者安全科学委員会(SCCS)によるとホウ素の発癌性に関する影響は十分に明らかではない。また、ホウ素に関して植物への生物学的作用は多く報告があるが、哺乳動物については十分に明らかではない。

「安全な水」の確保のためには、元素による毒性を正確に把握し汚染状況に適した浄化が必要である。そこで、申請者は、本研究において、高濃度ホウ素による毒性を正確に評価するため、ホウ素による非腫瘍形成性細胞株に対する発癌性(形質転換能)およびその機構を明らかにすることを目的とした。



図1 アフガニスタンの鉱床

3. 研究の方法

(1) ホウ素の細胞増殖活性への影響

非腫瘍形成性上皮細胞株 (BEAS-2B 細胞) および腫瘍形成性上皮細胞株 (A549 細胞) を用いて、ホウ素のヒト体内での形態であるホウ酸 (0-50,000 μM) による増殖活性への影響を検討した。

(2) ホウ素の形質転換能(足場非依存性増殖能)への影響

メチルセルロース含有培地を用いて、ホウ酸存在下での足場非依存培養を行い、2週間後の直径 50 μm 以上のコロニーをカウントすることにより形質転換能を比較検討した。

(3) ホウ素誘導性形質転換活性に関する細胞内機構

メチルセルロース含有培地を用いて、ホウ酸存在下での足場非依存培養を行い、回収した細胞を用いて Western blotting により、SRC/PI3K/AKT および MEK/ERK の活性を検討した。

4. 研究成果

(1) ホウ素の足場依存性増殖活性への影響

ホウ酸 500 および 5,000 μM 処理より BEAS-2B 細胞の細胞増殖活性が亢進した (図 2A)。50,000 μM では細胞増殖抑制効果を認めた。A549 細胞においては、細胞増殖活性の促進効果は認めず、5,000 μM 以上にて細胞増殖抑制効果を認めた (図 2B)。

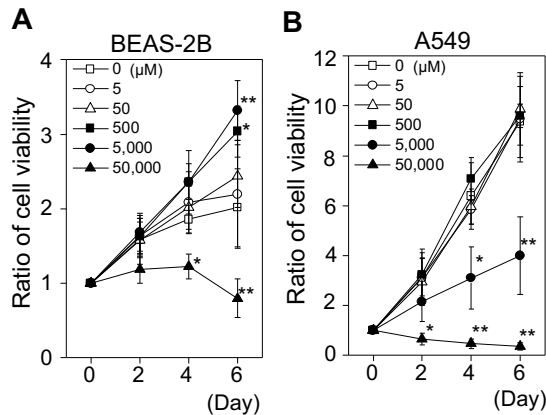


図2

(2) ホウ素の形質転換能(足場非依存性増殖能)への影響

ホウ素による細胞傷害は BEAS-2B 細胞において、0-5,000 μM では認めなかったことから、足場非依存性増殖能への影響をホウ酸 0-5,000 μM で検討した。ホウ酸 50-500 μM で2週間処理することで、BEAS-2B 細胞の足場非依存性増殖活性が亢進した (図 3A&B)。A549 細胞に対しては、足場非依存性増殖活性への影響は限定的であった (図 3C&D)。また、両細胞株において、ホウ酸 5,000 μM によって足場非依存性増殖能が抑制された (図 3A-D)。同様な形質転換活性を、非腫瘍形成性細胞株 HaCaT 細胞でも認めた。

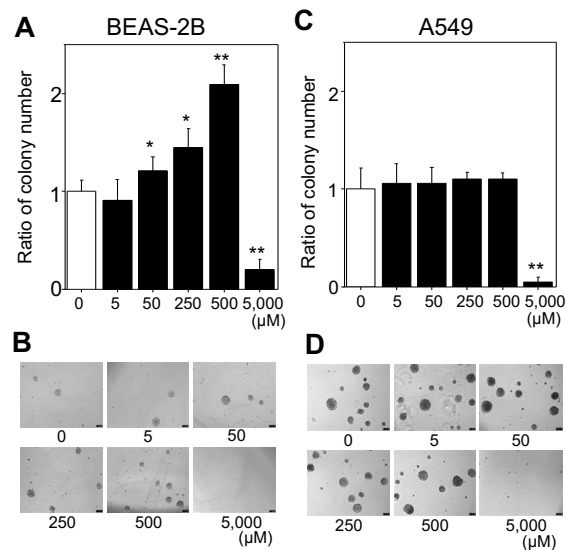


図3

(3) ホウ素誘導性形質転換活性に関する細胞内機構

BEAS-2B 細胞において、ホウ酸 0、250、500 μM による形質転換活性に関わる細胞内機構について検討を行なった。C-SRC/PI3K/AKT においてリン酸化上昇を認めた (図 4)。一方、MEK/ERK ではリン酸化への影響は限定的であった。よって、ホウ素による BEAS-2B 細胞の形質転換活性には、c-SRC/PI3K/AKT 経路の活性化が関わっている可能性が示唆された。

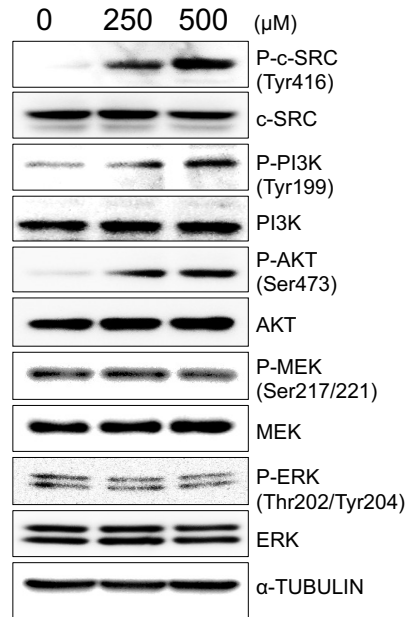


図4

そこで、SRC 阻害剤 PP2 存在下でのホウ酸による BEAS-2B 細胞の形質転換活性を検討した (図 5)。ホウ酸 250 μM で形質転換が促進され、PP2 存在下でホウ酸による形質転換は抑制された (図 5B&C)。

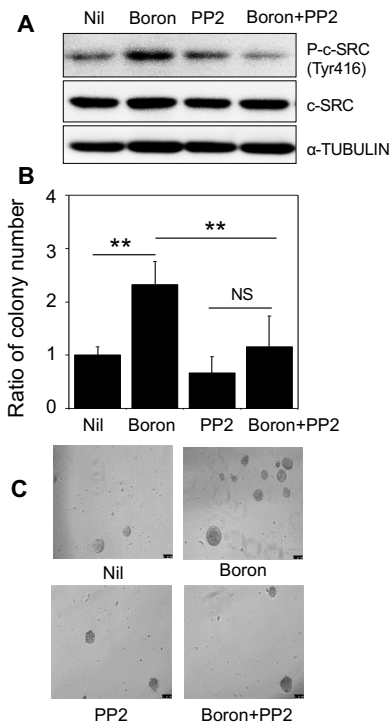


図5

これらの結果より、本研究により、少なくともホウ素には発癌 initiation 活性があることが明らかとなった。

これまで、アフガニスタンの飲用井戸水について、200 を超える検体を用いて、網羅的元素汚染の環境アセスメントに取り組んだ例は、申請者が知る限り現在までにない。ウランやヒ素など 10 元素に関する分析と浄化検討は、申請者が所属する研究室で以前行われたのみである (Kato et al. 2016)。特に、内政が不安定なアフガニスタンにおいて 227 検体もの試料を採取するのは、現在でも非常に困難であるため、現在アフガニスタンにおける大規模な飲用井戸水の汚染元素分析ができるのは、申請者のみである。

本研究が証明した、ホウ素による in vitro 発癌毒性は世界で初めての報告であり、今後ホウ素の世界的な飲料水基準値の見直しのための必要不可欠の情報となると考えている。

日本では、ホウ素が 100mg/L を超える濃度含まれる温泉水もあり、温泉水の「飲泉」や農業利用が進む現状において、早急にホウ素の毒性を明らかにしておくことが必要である。また同時に、汚染水を浄化し安全な水の確保のための方法を開発する必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kato Masashi, Ohgami Nobutaka, Ohnuma Shoko, Hashimoto Kazunori, Tazaki Akira, Xu Huadong, Kondo-Ida Lisa, Yuan Tian, Tsuchiyama Tomoyuki, He Tingchao, Kurniasari Fitri, Gu Yishuo, Chen Wei, Deng Yuqi, Komuro Kanako, Tong Keming, Yajima Ichiro	4. 巻 25
2. 論文標題 Multidisciplinary approach to assess the toxicities of arsenic and barium in drinking water	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Health and Preventive Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12199-020-00855-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Tsuchiyama Tomoyuki, Tazaki Akira, Al Hossain MM Aeorangajeb, Yajima Ichiro, Ahsan Nazmul, Akhand Anwarul Azim, Hashimoto Kazunori, Ohgami Nobutaka, Kato Masashi	4. 巻 188
2. 論文標題 Increased levels of renal damage biomarkers caused by excess exposure to trivalent chromium in workers in tanneries	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Research	6. 最初と最後の頁 109770 ~ 109770
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envres.2020.109770	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Xu Huadong, Hashimoto Kazunori, Maeda Masao, Azimi Mohammad Daud, Fayaz Said Hafizullah, Chen Wei, Hamajima Nobuyuki, Kato Masashi	4. 巻 266
2. 論文標題 High levels of boron promote anchorage-independent growth of nontumorigenic cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Pollution	6. 最初と最後の頁 115094 ~ 115094
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envpol.2020.115094	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sudo Makoto, Hashimoto Kazunori, Yoshinaga Masafumi, Azimi Mohammad Daud, Fayaz Said Hafizullah, Hamajima Nobuyuki, Kondo-Ida Lisa, Yanagisawa Kiyoshi, Kato Masashi	4. 巻 744
2. 論文標題 Lithium promotes malignant transformation of nontumorigenic cells in vitro	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science of The Total Environment	6. 最初と最後の頁 140830 ~ 140830
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2020.140830	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chen W, Hashimoto K, Omata Y, Ohgami N, Tazaki A, Deng Y, Kondo-Ida L, Intoh A, Kato M.	4. 巻 24
2. 論文標題 Adsorption of molybdenum by melanin.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environ Health Prev Med	6. 最初と最後の頁 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12199-019-0791-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Iida M, Tazaki A, Deng Y, Chen Y, Yajima I, Kondo-Ida L, Hashimoto K, Ohgami N, Kato M.	4. 巻 235
2. 論文標題 A unique system that can sensitively assess the risk of chemical leukoderma by using murine tail skin.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemosphere	6. 最初と最後の頁 713-718
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chemosphere.2019.06.185	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

[学会発表] 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 大神信孝、He Tingchao、Yuqi Deng、橋本和宜、田崎啓、加藤昌志
2. 発表標題 低周波騒音曝露による前庭機能への影響
3. 学会等名 第90回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuqi Deng、大神信孝、田崎啓、He Tingchao、橋本和宜、加藤昌志
2. 発表標題 脂質代謝異常が関連する乾皮症の実験研究
3. 学会等名 第90回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 He Tingchao、大神信孝、Yuqi Deng、橋本和宜、田崎啓、加藤昌志
2. 発表標題 非侵襲的生体サンプルに含まれる鉄レベルと聴力の関連
3. 学会等名 第90回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 陳 偉、橋本 和宜、田崎 啓、大神 信孝、 加藤 昌志
2. 発表標題 メラニンによるモリブデン動態制御
3. 学会等名 第90回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 固化体、並びにそれを用いた元素吸着材	発明者 加藤昌志、橋本和宜	権利者 名古屋大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-221966	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------