

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K20472

研究課題名（和文）植物を用いた低コストな鉛中毒の治療法および鉛汚染環境の修復法の開発

研究課題名（英文）Development of low-cost and plant-based treatment method for lead poisoning and remediation method of lead-contaminated environments

研究代表者

中田 北斗（Nakata, Hokuto）

北海道大学・獣医学研究院・博士研究員

研究者番号：60815273

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,700,000円

研究成果の概要（和文）：ラットを用いた動物実験で、モリンガ投与は生体内の鉛蓄積量や糞便への排泄量に明らかな影響を与えなかった一方、貧血などの血液毒性の発現に関わるALAD酵素活性の阻害を有意に抑制することが示された。また、鉛の毒性機序のキーイベントである酸化ストレスについても、有意に低下させた。種子を用いた汚染土壌のカラム試験では、カラム全体に均一に種子を混合させることで、透過させた水への鉛流出量を低下させることができた。汚染土壌で栽培されたモリンガ葉には基準値を超える鉛が蓄積した一方で、種子では基準値を下回った。以上より、モリンガが鉛中毒および鉛汚染の克服に有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗酸化能をもつモリンガの投与が、鉛の毒性低下に繋がることが予想された。本研究では、そうした仮説が実証された。また、モリンガ種子は表面に鉛等の金属類を吸着するため、この性質により土壌の汚染拡大を防止すると考えられ、カラム試験における浸出水で一定の成果が得られた。鉛汚染は国際課題であるが、その汚染の多くは途上国で起きており、中毒患者の大部分は貧困層である。社会の実情に即した低コストかつ持続可能な解決策の構築に、本研究は一定の役割を果たした。

研究成果の概要（英文）：Animal experiments using rats showed that Moringa administration had no apparent effect on the amount of lead accumulated in the body or excreted in feces, while it significantly mitigated the inhibition of ALAD enzyme activity, which is involved in the development of hematological toxicity such as anemia. Oxidative stress, a key event in the toxicological mechanism of lead, was also significantly reduced. In the column test of contaminated soil using Moringa seeds, the amount of lead leaked into the permeated water was reduced by mixing the seeds uniformly throughout the column. Moringa leaves grown in the contaminated soil accumulated more lead than the reference value, while the seeds were below the standard value. These results suggest that Moringa may be useful in overcoming lead poisoning and lead contamination.

研究分野：毒性学

キーワード：鉛中毒 鉛汚染 低コスト ALAD 酸化ストレス ラット モリンガ

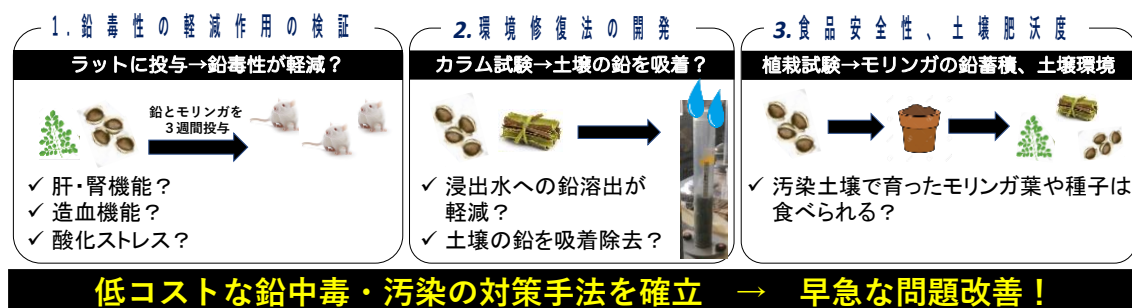
## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

環境汚染はヒトの疾患や早期死亡の原因となる最大の環境要因であり、年間約 900 万人の死亡を引き起こしている。これは特に貧困層において深刻であり、環境汚染を原因とした死亡例の約 92%は低・中取得国で起きている。環境汚染物質の中でも、特に鉛は 2015 年の「The Priority List of Hazardous Substances」においてヒ素に続く第 2 位の人体有害物質として挙げられており（米国環境有害物質・特定疾病対策庁）、年間 23 万人が主に鉱床由来の鉛中毒で死亡している（WHO）。鉛の毒性評価や環境モニタリングに関する研究が広く行われてきた一方で、発展途上国で深刻化する鉛中毒・鉛汚染に対する本質的な解決策は未だ見出されていない。

鉛汚染の解決には、鉛中毒患者の治療、および汚染された環境の修復の 2 つが重要である。先進国の急性暴露事例ではキレート剤治療が一般的だが、途上国の慢性事例では価格や長期服用による副作用が問題となる。環境修復には、種々の手法がこれまで試みられてきたが、その多くはコストが莫大であることから、途上国の広範な汚染地域での利用は難しい。実際、鉛汚染地域の根本的な環境修復や、住民の健康影響の大幅な改善を達成した事例は皆無である。

顕著な汚染環境における高濃度暴露が甚大な健康影響をもたらす一方で、鉛の毒性を引き起こす濃度に閾値は設定できず、非常に低濃度であっても子供の身体的成長や知能発達に影響を及ぼすことが知られている。日本も例外ではなく、鉛製品が未だ広く利用されていることから一定量の鉛暴露はあると考えられる。



### 2. 研究の目的

以上の背景から、本研究では世界規模で大きな問題となっている鉛中毒および鉛汚染について、低コストかつ普遍的な治療法および汚染環境の修復法の開発を目的とした。具体的には、世界各地で自生し、乾燥に強く、栽培も容易な *Moringa Oleifera*（和名：ワサビノキ、以下：モリンガ）に着目し、毒性緩和作用および環境修復への利用法を検証した。また、汚染地域において自生あるいは栽培されるモリンガがヒトの食用に適するかどうかは重要なポイントであるが、この点における検証は過去にほとんど行われていないため、本研究では汚染土壌を用いた栽培実験も目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究の方法は、モリンガによる鉛の毒性軽減効果の検証と汚染環境の修復効果の評価、汚染地での栽培に関して、3 つに大別される。

#### (1) 実験動物（ラット）への投与実験による毒性軽減効果の検証

7 週齢の SD ラット雄に、1000ppm の酢酸鉛溶液の自由飲水投与、およびモリンガの葉、葉の水抽出物、種子粉末の強制給餌投与を行った。投与期間の終了後、臓器や血液を採材し、鉛の蓄積性や種々の毒性に関する実験に供した。

#### (2) 鉛汚染土壌カラムを用いた環境修復効果の検証

鉛汚染地域から採取した高濃度鉛含有土壌を、直径 5cm の鉛直カラムに充填した。モリンガ種子は 0, 5, 10% の混合率で土壌と混合し、蒸留水をカラム上部から通水し、下部から得られる浸出水中の鉛濃度を測定した。

#### (3) モリンガ各部位への鉛蓄積性の評価

鉛汚染土壌で栽培したモリンガの各部位（葉、種子、茎、根）における鉛蓄積量を解明し、特に可食部における食品としての安全性を評価した。

### 4. 研究成果

SD ラットを用いた投与実験では、酢酸鉛およびモリンガを 3 週間投与した。モリンガの投与は

低濃度 (100 mg/kg body weight)、高濃度 (600 mg/kg body weight) の2段階の濃度を設定した。血液や主要臓器への鉛蓄積量、および糞便への鉛排泄量は、モリンガの投与による明瞭な変化を示さなかった。鉛の主要な毒性である血液毒性は、ヘモグロビン合成に関わる酵素 ALAD の活性を阻害することにより生じる。本研究において、鉛単独投与群では ALAD 酵素活性が有意に低下したが、高濃度のモリンガ葉投与、あるいは高濃度の種子投与により酵素活性は有意に回復した。また、酸化ストレスの亢進は鉛毒性の発現における重要なキーイベントである。モリンガ葉の低濃度あるいは高濃度投与は、鉛投与により上昇した酸化ストレスマーカーを有意に低下させた。一方、鉛暴露は肝機能・腎機能障害を引き起こすことが知られているが、本研究においては群間の有意な差は認められなかった。以上より、モリンガ投与は鉛蓄積や排泄に有意な影響を与えない一方で、酸化ストレスの軽減および ALAD 酵素活性の回復など鉛毒性の軽減に一定の効果を示すことが明らかとなった。

鉛直カラムを用いた環境修復効果の検証は、試験系の改良を何度か行った。検討段階ではモリンガ樹皮も溶出鉛濃度を軽減する候補物質の1つとして検証したが、樹皮において有効なデータは得られなかった。一方、種子の混合では一定の鉛濃度の減少が示された。混合方法としては、カラム下層に種子のみの層を集中的に設ける方法よりも、カラム全体で均一となるように種子と土壌を混合する手法がより効果的であった。汚染土壌から雨水等を媒体とした鉛流出による汚染の拡散は、汚染地域でしばしば見られる社会課題である。本研究で得られた知見から、モリンガを用いて一定程度、汚染拡大を防止することができると考えられた。

汚染土壌でのモリンガの生育実験では、葉において FAO が定める基準値を超過する鉛濃度が検出され、ヒトの食用には適さないことが明らかとなった。一方、種子中の鉛濃度は基準値を下回った。

以上の成果より、モリンガが鉛中毒および鉛汚染の克服に有用である可能性が示されたが、社会実装に向けては汚染地における安全なモリンガ栽培方法など更なる検証が必要と考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakata Hokuto, Nakayama Shouta M.M., Yabe John, Muzandu Kaampwe, Toyomaki Haruya, Yohannes Yared Beyene, Kataba Andrew, Zyambo Golden, Ikenaka Yoshinori, Choongo Kennedy, Ishizuka Mayumi	4. 巻 262
2. 論文標題 Clinical biochemical parameters associated with the exposure to multiple environmental metals in residents from Kabwe, Zambia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemosphere	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) 10.1016/j.chemosphere.2020.127788	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 Nakata Hokuto, Nakayama Shouta M.M., Kataba Andrew, Yohannes Yared Beyene, Ikenaka Yoshinori, Ishizuka Mayumi	4. 巻 77
2. 論文標題 Evaluation of the ameliorative effect of Spirulina (Arthrospira platensis) supplementation on parameters relating to lead poisoning and obesity in C57BL/6J mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Functional Foods	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) 10.1016/j.jff.2020.104344	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hokuto Nakata, Shouta M.M. Nakayama, Andrew Kataba, Haruya Toyomaki, Rio Doya, John Yabe, Kaampwe Muzandu, Golden Zyambo, Hazuki Mizukawa, Yoshinori Ikenaka, Mayumi Ishizuka
2. 発表標題 Cost-effective mitigation of lead toxicity in rat using indigenous plant Moringa Oleifera
3. 学会等名 SETAC Europe 29th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hokuto Nakata, Shouta M.M. Nakayama, Andrew Kataba, Haruya Toyomaki, Rio Doya, John Yabe, Kaampwe Muzandu, Golden Zyambo, Yoshinori Ikenaka, Mayumi Ishizuka
2. 発表標題 Investigation of ameliorative effect of Moringa Oleifera on lead toxicity
3. 学会等名 第28回環境化学討論会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室HP <a href="http://tox.vetmed.hokudai.ac.jp/">http://tox.vetmed.hokudai.ac.jp/</a> 共同研究プロジェクトHP <a href="http://satreps-kampai.vetmed.hokudai.ac.jp/">http://satreps-kampai.vetmed.hokudai.ac.jp/</a>
---

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			
ザンビア	ザンビア大学			