

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03177

研究課題名(和文) 重金属への胎児期暴露による心血管代謝疾患バイオマーカーや免疫細胞への影響

研究課題名(英文) The effect of heavy metal exposure in fetal period on the biomarkers of cardiometabolic diseases and immune cells

研究代表者

我妻 ゆき子 (Wagatsuma, Yukiko)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：40400676

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,600,000円

研究成果の概要(和文)：有毒金属への幼少期からの暴露による心代謝疾患予後を調べた研究は少ない。本研究は末梢血の免疫細胞タイプおよび心代謝疾患バイオマーカーに対するヒ素とカドミウムの慢性曝露の影響を評価することを目的とした。妊婦を対象に実施された栄養補てん試験の出生コホートにて15歳時の評価を行った。尿中総ヒ素濃度とカドミウム濃度をHVG-AASで測定した。末梢血単核球を分離しフローサイトメトリーによる表現型解析を行った。本結果からバングラデシュ農村部の15歳の青少年における慢性ヒ素曝露は、細胞性免疫反応のアンバランスと関連しており、また血漿脂質の変化とも関連してい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

慢性疾患(non-communicable disease: NCD)の発症に対する環境毒物曝露の影響は、これまでの研究ではあまり重要視されていなかった。WHOは、NCD罹患の多くが途上国からの報告であり、今後も増大することを予測している。NCDを効果的に予防するには、その原因となるメカニズムを広い範囲で理解する必要がある。飲料水や食品などによる有毒金属の胎児期から幼少期における曝露の影響が明らかになれば、リスク軽減するための効果的な措置を講じることができる。

研究成果の概要(英文)：Few studies have examined cardiometabolic disease prognosis from childhood exposure to toxic metals. This study aimed to evaluate the effects of chronic exposure to arsenic and cadmium on immune cell types and cardiometabolic disease biomarkers in peripheral blood. The study was evaluated at age 15 in a birth cohort of a nutritional supplementation trial conducted on pregnant women. Urinary total arsenic and cadmium concentrations were measured by HVG-AAS. Peripheral blood mononuclear cells were isolated and phenotypically analyzed by flow cytometry. The results suggest that chronic arsenic exposure in 15-year-old adolescents in rural Bangladesh is associated with an imbalance in the cellular immune response and also with changes in plasma lipids.

研究分野：臨床疫学、公衆衛生学

キーワード：慢性重金属曝露 ヒ素 カドミウム 胎児期 心代謝バイオマーカー 免疫

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒ素 (As) とカドミウム (Cd) はどちらも、国際がん研究機関 (IARC) によって発がん性物質として、また内分泌かく乱物質 (EDC) として分類されている。産業および農業の発生源から周囲の空気や土壌に浸出する汚染物質として環境中に広く分布し、飲料水や食品を介した曝露は、世界の多くの国々で重要な公衆衛生上の問題となっている。胎児期や小児期など、人の一生の早い段階でこれらの毒物にさらされると、正常な発達パターンが阻害され、後に病気にかかりやすくなる可能性がある。私たちの研究グループは、ヒ素への慢性的な曝露は、低い曝露レベルであっても感染症リスクの増加につながることを示した (Raqib et al, 2017)。また、バングラデシュの農村地域での縦断的な母子コホートで、ヒ素の影響が子宮内から始まることを示した (Ahmed et al, 2012, 2014)。

2. 研究の目的

本研究の目的は、慢性的な重金属 (ヒ素とカドミウム) 曝露が、末梢免疫細胞タイプ、および心代謝 (CM) バイオマーカーに及ぼす影響を評価することである。

3. 研究の方法

本研究は、妊娠初期に登録された4436人の女性を対象に、妊娠転帰と子どもの健康に対する栄養の影響を観察するために2001年から2003年にかけて実施された無作為化食品・複数微量栄養素補てん試験 (MINIMat trial) の追跡コホートを利用した (Arifeen et al, 2018)。4.5歳 (n=640) と9歳 (n=564) の小児期、そして青年期15歳 (n=502) での評価 (MINIMat-15) をサブコホート (グループB: 2003年6月から2004年6月までの出生) で行った (図1)。

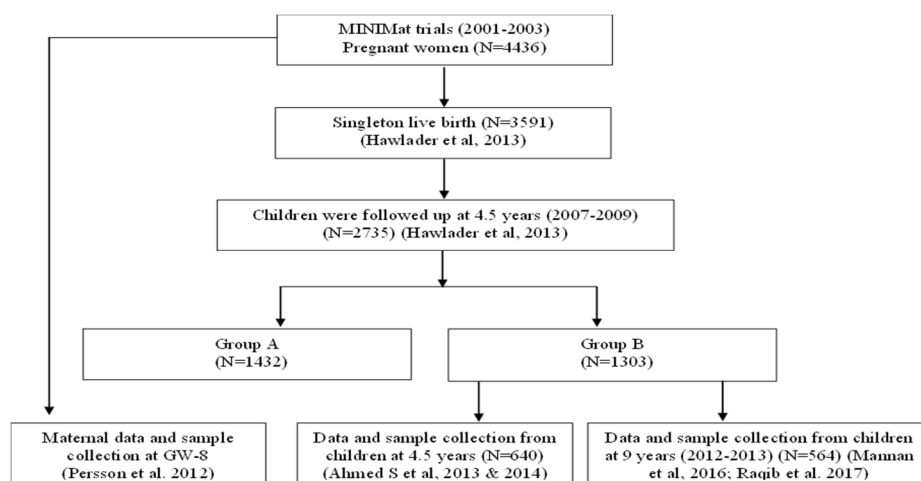


図1: 研究参加者フローチャート (Akhtar et al, 2021)

2019年から2020年にかけて15歳から収集した保存検体を使用した。スポット尿サンプルは502人から、空腹時血液サンプルは460人から採取した。尿中総ヒ素濃度は以前に測定されており、本研究では、尿検体（n=502）の尿中カドミウム濃度をHVG-AASで測定した。

末梢血単核球（PBMC）は血漿から分離して液体窒素で保存し、血漿サンプルは複数のアリコートで-80℃で保存した。蛍光標識抗体はBD Biosciences社から取り寄せた。十分なPBMC数が得られた393人の小児について、凍結PBMCをBD CANTOフローサイトメーターを用いたフローサイトメトリーによる表現型解析を行った。

4. 研究成果

研究参加者の平均年齢は15.8歳であった。女性が52.0%であった（表1）。

表1：研究参加者の特性と尿中ヒ素およびカドミウム濃度（n=502）

参加者特性	
年齢（歳）	15.8 ± 0.28
性別	
男性	241 (48.0%)
女性	261 (52.0%)
世帯収入（BDT）	
<5000	30 (6.00%)
5000-10,000	147 (29.3%)
10,000-20,000	206 (41.0%)
>20,000	118 (23.5%)
尿中ヒ素(μg/L), 中央値 (IQR)	29.2 (15.9, 65.7)
尿中カドミウム(μg/L), 中央値(IQR)	0.71 (0.34, 0.94)

注：データは平均 ± 標準偏差または数で表示し、括弧内はパーセンテージ

免疫表現型を調べるために、502人の15歳児のうち389人の末梢血単核を収集した。T細胞、B細胞、natural killer細胞、単核球の割合とそのサブタイプをフローサイトメトリーで評価した。尿中ヒ素濃度と免疫細胞の割合の関係を調べるため散布図を作成した。いくつかの特定の免疫細胞（CD4+ helper T cells, CD4+ central memory T cells, Regulatory T cells, CD8+ cytotoxic T cells etc.）について非線形の関連が示された（図2）。

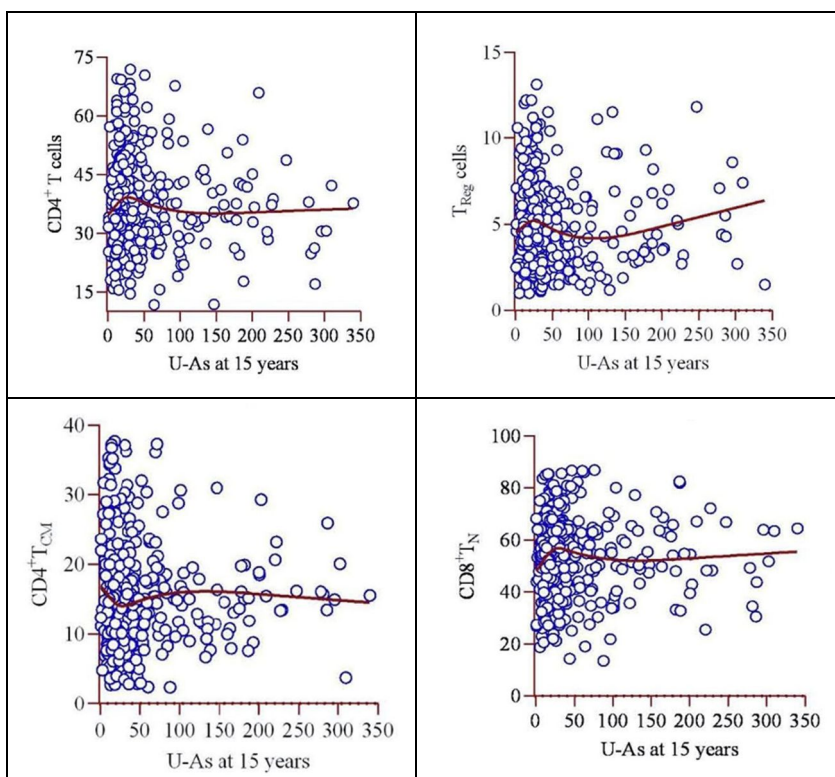


図 2 : 15 歳児の U-As と免疫細胞との非線形関連を示す散布図

血漿脂質プロファイル(総コレステロール、トリグリセリド、低比重リポ蛋白(LDL)、高比重リポ蛋白(HDL))は、先に青年 460 名を対象に、自動臨床化学分析装置 Cobas c311 (Roche Diagnostics Mannheim, Germany)を用いた酵素比色法により測定した。本研究では、Cell Biolab, inc. から市販されている Ox-LDL および Ox-HDL ELISA キットを用いて、保存血漿検体の酸化 LDL および酸化 HDL を分析した。血漿脂質の検査データ検証は終了した。現在、検証済みのクリーンアップされた検査データを用いた統計解析が進行中である。

表 2 は 15 歳児の脂質と酸化脂質のレベルを示している。多くは正常範囲内であるが、TC、HDL、LDL、TG にて、それぞれ 13.0%、29.4%、12.4%、9.13%の異常値が示された(表 3)。

表 2 : 15 歳児における脂質および酸化脂質のレベル

脂質および酸化脂質	レベル(平均±標準偏差)
総コレステロール(TC), mg/dL	160.5 ± 34.6
HDL, mg/dL	45.1 ± 9.86
LDL, mg/dL	98.5 ± 28.6
TG, mg/dL	92.7 ± 40.1
酸化 LDL, mg/dL	0.46 ± 0.18
酸化 HDL, mg/dL	2.37 ± 1.66

表 3： 15 歳児における正常値に基づく脂質の分布 (n=460)

脂質	異常値 n (%)	正常値
TC, mg/dL	60 (13.0%)	< 200mg/dL
HDL, mg/dL	135 (29.4%)	>40mg/dL
LDL, mg/dL	57 (12.4%)	<130mg/dL
TG, mg/dL	42 (9.13%)	<150mg/dL

妊娠期尿中ヒ素濃度と子供の 15 年後の血漿脂質との関連を評価するため、多変量線形回帰分析を行った。尿中ヒ素と HDL 値との間に負の傾向が認められたが、尿中ヒ素と TG 値との間には正の傾向が認められた。

全体的な結果から、バングラデシュ農村部の 15 歳の青少年における慢性的なヒ素曝露は、細胞性免疫反応のアンバランスと関連しており、また血漿脂質の変化とも関連していることが示唆された。

< 引用文献 >

- Ahmed, S., K. B. Ahsan, M. Kippler, A. Mily, Y. Wagatsuma, A. M. Hoque, P. T. Ngom, S. El Arifeen, R. Raqib, and M. Vahter. In utero arsenic exposure is associated with impaired thymic function in newborns possibly via oxidative stress and apoptosis. *Toxicol Sci.* 2012;129: 305-14.
- Ahmed, S., S. E. Moore, M. Kippler, R. Gardner, M. D. Hawlader, Y. Wagatsuma, R. Raqib, and M. Vahter. Arsenic exposure and cell-mediated immunity in pre-school children in rural Bangladesh. *Toxicol Sci.* 2014;141: 166-75.
- Raqib R, Ahmed S, Ahsan KB, Kippler M, Akhtar E, Roy AK, Lu Y, Arifeen SE, Wagatsuma Y, Vahter M. Humoral Immunity in Arsenic-Exposed Children in Rural Bangladesh: Total Immunoglobulins and Vaccine-Specific Antibodies. *Environ Health Perspect.* 2017;125(6):067006.
- Arifeen SE, Ekström EC, Frongillo EA, Hamadani J, Khan AI, Naved RT, Rahman A, Raqib R, Rasmussen KM, Selling KE, Wagatsuma Y, Persson LÅ. Cohort Profile: The Maternal and Infant Nutrition Interventions in Matlab (MINIMat) cohort in Bangladesh. *Int J Epidemiol.* 2018;47(6):1737-1738e.
- Akhtar E, Roy AK, Haq MA, von Ehrenstein OS, Ahmed S, Vahter M, Ekstrom EC, Kippler M, Wagatsuma Y, Raqib R. A longitudinal study of rural Bangladeshi children with long-term arsenic and cadmium exposures and biomarkers of cardiometabolic diseases. *Environ Pollut.* 2021;271:116333.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Yukiko Wagatsuma
2. 発表標題 Chronic exposure to heavy metals and biomarkers of cardiometabolic disease
3. 学会等名 The 81st Annual Meeting of Japanese Society of Public Health (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Rubhana Raqib, Evana Akhtar, Anjan Kumar Roy, Md. Ahsanul Haq, Aliya Nahid, Ondine von Ehrenstein, Yukiko Wagatsuma
2. 発表標題 Climate change, environmental exposure and risk factors for developing cardiometabolic diseases
3. 学会等名 The 1st National NCDs Conference Bangladesh (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
研究協力者	ラキーブ ルバナ (Raqib Rubhana)		
研究協力者	アクター エバナ (Akhtar Evana)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	サイード ウルメ ビンテ (Sayeed Urme Binte)		

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			
バングラデシュ	icddr,b			
米国	University of California, Los Angeles			