

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月20日現在

機関番号：34414

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22510077

研究課題名（和文） ライフステージや生活習慣による経口カドミウムの体内蓄積への影響

研究課題名（英文） Host risk factors for bioaccumulation of oral cadmium in life-stage and lifestyle

研究代表者

関 庚善 (KYONG-SON MIN)

大阪大谷大学薬学部・教授

研究者番号：60140406

研究成果の概要（和文）：経口摂取したカドミウムの体内蓄積に関わる日本人のライフステージや生活習慣に潜む生体側のリスクファクターを明らかにした。女性のライフステージでは、妊娠時や授乳期、生活習慣では、幼年期の鉄やカルシウム欠乏や激しい運動などがカドミウムの体内蓄積量を増加させた。一方、閉経や欠食はリスクファクターにならなかった。このような要因には、必須金属トランスポーター発現量の増加などの関与が考えられる。

研究成果の概要（英文）：We found some host risk factors for significant increase in bioaccumulation of oral cadmium in life-stage and lifestyle using mice. Pregnancy and lactation increased renal accumulation of oral cadmium in female mice. Moreover, essential metal deficiency such as calcium and iron at a period of growth and vigorous exercise also increased its renal accumulation. An increase in bioaccumulation of oral cadmium may be involved with intestinal expression of essential metal transporters.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	700,000	210,000	910,000
2011年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	1,410,000	4,290,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響科学

キーワード：ライフステージ、経口摂取カドミウム、必須金属トランスポーター

1. 研究開始当初の背景

コーデックス委員会によって、2007年に食品中のカドミウム汚染物質規格として、国際基準が設定された。日本では、カドミウムは環境汚染物質であるが、土壌や鉱物など天然にも広く存在するため、食品汚染物質としても広く分布し、米からの摂取量が多いことが知られている。そこで、日本のカドミウム規格基準値は清涼飲料水と米で設定された。食品安全委員会では、2007年の日本人の食品か

らのカドミウム摂取量の実態については、 $21.1 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ （体重 53.3kg で $2.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/週）であったことから、耐容週間摂取量の $7 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/週よりも低いレベルにあり、一般的な日本人における食品からのカドミウム摂取が健康に悪影響を及ぼす可能性は低いと考えられると報告している。このように、カドミウムの体内蓄積は、摂取する食品の汚染濃度を中心に考えられている。しかし、日本人の腎臓カドミウム濃度は、女性の方が

高く、イタイタイ病患者はほとんど多産高齢女性であることが報告されている。我々はすでに経口摂取カドミウムの摂取量が同じでも、必須金属栄養の変化、特に鉄やカルシウム欠乏時に経口摂取カドミウムの体内蓄積量が顕著に増加することを見出し、その際、小腸必須金属トランスポーターで、主に鉄の輸送に関与する二価金属トランスポーター (DMT1) やカルシウムの輸送系であるカルシウムトランスポーター1 (CaT1) の発現量が顕著に増加していた。したがって、経口摂取カドミウムは、必須金属トランスポーターを介して、体内に蓄積することが考えられ、特に日本人に多く見られるカルシウムや鉄欠乏が経口摂取カドミウムの毒性発現のリスクファクターになることが示唆された。このような食事性の必須金属変動だけでなく、妊娠や閉経期などの各ライフステージ、欧米化した食生活習慣、炎症や慢性疾患、運動等の要因も生体の必須金属代謝を変動させる可能性があり、それに伴って、小腸粘膜金属トランスポーターの発現量も変動することが予測される。

2. 研究の目的

本研究では、必須金属代謝変動がみられる妊娠や閉経期などの各ライフステージ、欧米化した食生活習慣、炎症や慢性疾患、運動等の要因によるカドミウムの体内蓄積への影響を検討し、日本人の日常生活の中で、カドミウムの毒性発現につながる生体側のリスクファクターを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 必須金属欠乏および高脂肪食における年齢の影響

ddY 系マウスを用い、4、8、25 週齢からコントロール食、鉄欠乏食、カルシウム欠乏食、高脂肪食を与え、塩化カドミウム溶液 (75・g/マウス/日) を 4 週間経口投与した。臓器カドミウム濃度は硝酸灰化後、原子吸光度計で測定した。さらに、小腸から total RNA を調製し、リアルタイム RT-PCR 法によって、金属トランスポーターなどの mRNA 量をそれぞれ測定した。

(2) 女性のライフステージの影響

ddY 系雌マウスを用い、8 週齢で妊娠させ、出産、授乳の各ライフステージのマウス群を作成した。また、閉経群は卵巣摘出モデルマウスを用いた。各群マウスにコントロール食や必須金属欠乏食をそれぞれ与えるとともに、塩化カドミウム溶液 (75・gCd/マウス/日) を 1 週 5 回 4 週間、あるいは妊娠期では 75・g Cd/マウス 1 日 2 回 2 週間経口投与し、その 24 時間後に安楽死させ、同様に臓器 Cd 濃度や金属トランスポーターなどの

mRNA 量をそれぞれ測定した。

(3) 運動習慣による影響

6 週齢および 10 週齢の ddY 系のオスマウスを用い、AIN93M をベースにしたコントロール食、鉄欠乏食およびカルシウム欠乏食をそれぞれ自由摂取させた。600 m/day (Ex600) および 1500 m/day (Ex1500) の運動負荷と塩化カドミウム溶液を 4 週間経口投与した。最終投与後 24 時間に臓器を硝酸灰化し、原子吸光度計で臓器カドミウム濃度を測定した。

(4) 食習慣による影響

ddY 系マウスを用い、1 週間に 1~3 日間隔日で絶食させた群、食事量を 1/2 ~1/3 に減色させた群に、それぞれ塩化カドミウム溶液を経口投与した。最終投与後 24 時間に臓器を硝酸灰化し、原子吸光度計で臓器カドミウム濃度を測定した。

(5) 炎症および臓器疾患による影響

LPS (0.5 mg/kg, ip) 群、起炎症剤としてテルペン油群 (5 ml/kg/day, sc)、*n*-ヘキサン群 (5 ml/kg/day, sc) に塩化カドミウム溶液を経口投与あるいは腹腔内投与した。最終投与後 24 時間の各臓器のカドミウム濃度および金属トランスポーターの mRNA 量をそれぞれ測定した。

さらに、カドミウムの蓄積臓器である肝臓腎臓を 50% 切除し、肝臓障害および腎臓障害モデルマウスとした。また、インドメタシン (10 mg/kg, 1 回/週) 皮下投与し、小腸障害モデルマウスとした。これらのマウスに塩化カドミウムを経口投与し、その臓器カドミウム蓄積量を比較検討した。

4. 研究成果

(1) 必須金属欠乏における年齢の影響

経口カドミウムの体内蓄積量はどの週齢においても鉄欠乏食群、カルシウム欠乏食群で、有意な増加が認められた。体内蓄積カドミウム量は、コントロール食群で週齢差は認められず、鉄欠乏食群やカルシウム欠乏食群では低週齢ほど増加した。また、肝臓および腎臓カドミウム蓄積量においても、同様に鉄欠乏食群やカルシウム欠乏食群で低週齢ほど増加した。特にカドミウム蓄積量の肝臓/腎臓比は 4 週齢で有意な減少が認められた。鉄欠乏食群では肝臓鉄濃度が有意に減少したが、カルシウム欠乏食群では肝臓カルシウム濃度の減少は認められなかった。一方、小腸の鉄輸送系である DMT1 および FPN1 mRNA 発現量は鉄欠乏食群で有意に増加し、4 週齢で最も高かった。また、小腸のカルシウム輸送系である CaT1 mRNA 発現量はカルシウム欠乏食群で有意に増加し、同様に 4 週齢で最も高かった。どの群においても、小腸 MT1 mRNA 発

現量は若年マウスで最も高かった。

4 週齢からの脂肪食摂取マウスでは、経口カドミウムの臓器蓄積量は雌雄による差は認められなかったが、腎臓で有意に増加した。高脂肪食摂取により、血漿および肝臓 TG 濃度が有意に増加し、雌では血漿 GPT 活性の有意な増加が見られた。高脂肪食摂取マウスでは、小腸 CaT1 発現量が雌雄にかかわらず有意に増加した。

以上の結果から、必須金属栄養が十分な場合では、経口カドミウムの体内蓄積量にマウスの週齢による差は認められない。しかし、鉄やカルシウムなどの必須金属が欠乏した状態では、低週齢ほど体内蓄積量が増加した。特に国民健康・栄養調査で日本人が欠乏しやすいカルシウム欠乏や高脂肪食摂取では、毒性発現臓器である腎臓へのカドミウム蓄積量が増加し、それには小腸 CaT1 発現量の増加が関与していると考えられる。したがって、食品から摂取したカドミウムの毒性発現のリスクファクターとして、若年期からのミネラルの欠乏や脂肪の過剰摂取が考えられる。

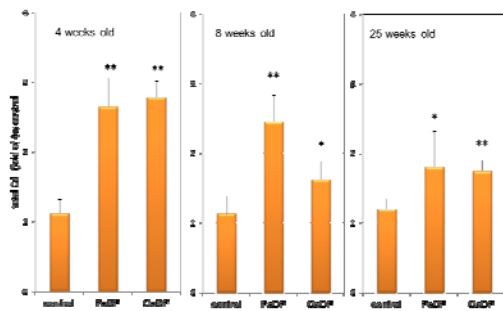


図 1 ミネラル欠乏時における経口カドミウムの体内蓄積量に対するマウス週齢の影響

(2) 女性のライフステージの影響

妊娠により、体重が増加したが、出産後授乳により、体重はコントロール群と同じレベルにまで減少した。妊娠中に経口摂取したカドミウムの体内蓄積は、コントロール食では影響しなかったが鉄欠乏食群やカルシウム欠乏食群で、有意な増加が認められた。特に肝臓へのカドミウム分布量が増加した。授乳期に経口摂取したカドミウムの体内蓄積は顕著に増加し、特に腎臓への分布率が増加した。しかし、鉄欠乏食やカルシウム欠乏食摂取時でも相対的な増加は見られなかった。授乳期では、CaT1 の発現量がカルシウム欠乏時のように堅調に増加した。閉経期に経口摂取したカドミウムの体内蓄積はコントロールマウスやシャムオペレーションマウスに比べて、若干低かったが、それほど大きな差は認められなかった。

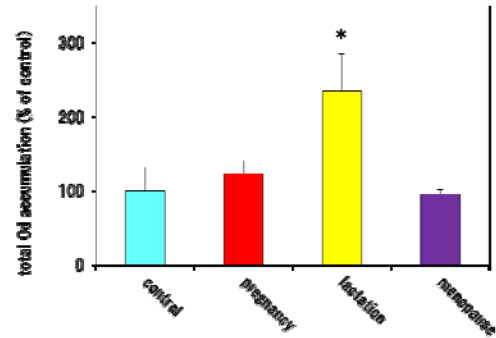


図 2 経口摂取カドミウムの体内蓄積量に対する女性のライフステージの影響

以上の結果から、女性のライフステージのうち、経口摂取カドミウムの体内蓄積量は、授乳期で顕著な増加を示し、小腸 CaT1 発現量の有意な増加認められた。さらに、妊娠中に鉄やカルシウム欠乏によってもカドミウムの体内蓄積量が増加した。したがって、食品から同じ量のカドミウムを摂取した場合、女性の授乳期あるいは妊娠時の鉄やカルシウムの欠乏は、食品から摂取したカドミウム毒性発現のリスクファクターになることが示唆された。

(3) 運動習慣による影響

マウスの通常運動量の 2 倍に相当する 600 m/day の運動負荷では、経口摂取カドミウムの体内蓄積量が増加傾向を示した。さらに、通常運動量の 3.5 倍にあたる 1500 m/day の運動負荷では、体内カドミウム蓄積量が約 3 倍にも増加した。

一方、食の欧米化モデルである高脂肪食摂取群や日本人の不足しがちな必須金属の欠乏モデルであるカルシウム欠乏食摂取群および鉄欠乏食摂取群に運動負荷をかけたところ、運動負荷の有無に関わらず、経口摂取したカドミウムの腎臓蓄積量に有意な増加が認められ、運動負荷よりも食事由来の変化の方が経口摂取カドミウムの体内蓄積量を大きく増加させた。

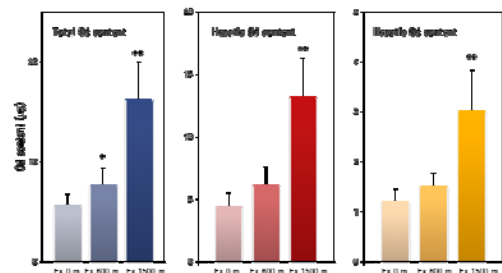


図 3 経口摂取カドミウムの体内蓄積量に対する運動負荷の影響

以上の結果から、同じカドミウム量を経口摂取した場合でも、カドミウムの体内蓄積量は激しい運動であるほど、有意な増加が認められた。したがって、激しい運動負荷は経口摂取カドミウムのリスクファクターになりうると考えられる。

(4) 食習慣による影響

隔日での1~3日間絶食しても、大きな体重変化は認められず、経口摂取カドミウムの体内蓄積量には有意な差は認められなかった。また、半日絶食あるいは通常摂取量の1/2や1/3量の減食の場合でも、経口摂取カドミウムの体内蓄積量には有意な差は認められなかった。一方、鉄欠乏食、カルシウム欠乏食、鉄・カルシウム欠乏食をそれぞれ自由摂取した場合は、経口摂取カドミウムの体内蓄積量が顕著に増加した。したがって、日本で問題となっている欠食や、ダイエット等による減食は、経口摂取カドミウムのリスクファクターにはならないが、鉄やカドミウム等の必須金属の欠乏はリスクファクターになることが明らかとなった。

(5) 炎症および臓器疾患による影響

起炎症剤を投与すると、経口摂取したカドミウムの体内蓄積量が有意に減少した。したがって、炎症はカドミウムの消化管吸収量が減少させるので、経口摂取カドミウムのリスクファクターにはならないと考えられる。

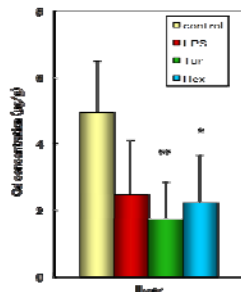


図4 経口摂取カドミウムの体内蓄積量に対する炎症の影響

しかし、カドミウムを皮下投与した場合は、炎症時にカドミウムの体内蓄積量が有意に増加した。

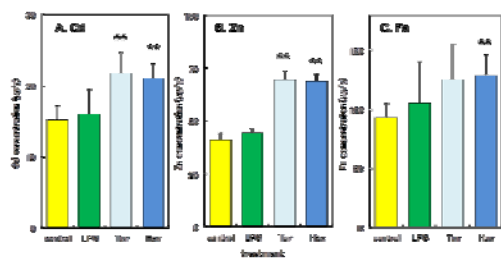


図4 皮下投与したカドミウムの体内蓄積量に対する炎症の影響

さらに、亜鉛欠乏時にカドミウムの肝臓への取り込みが有意に増加したのに対し、鉄欠乏時にはそのような変化は認められなかった。このことから、血中から肝臓へのカドミウムの取り込みには亜鉛トランスポーターである Zip14 が関与していることが示唆された。

したがって、炎症は経口摂取したカドミウムの消化管吸収は減少させるが、いったん取り込まれたカドミウムの臓器蓄積量を増加させると考えられる。

一方、カドミウムの主な蓄積臓器である肝臓と腎臓を50%切除した場合では、切除していても、経口摂取したカドミウムの体内蓄積量の有意な増加は認められなかった。また、インドメタシンで小腸に障害を与えた場合、経口摂取したカドミウムの体内蓄積量はコントロール食で変化は認められなかった。しかし、鉄欠乏食摂取によって、経口摂取カドミウムの体内蓄積量が増加した場合は、小腸障害マウスでは有意に減少した。さらに鉄過剰食摂取では体内カドミウム蓄積量に有意な変化はなかった。このことから、経口摂取カドミウムの取り込みには小腸に存在する二価金属トランスポーター等が関与しているため、蓄積臓器である肝臓や腎臓の障害は、経口摂取カドミウムのリスクファクターにはならず、小腸障害はむしろリスクを低減すると考えられる。

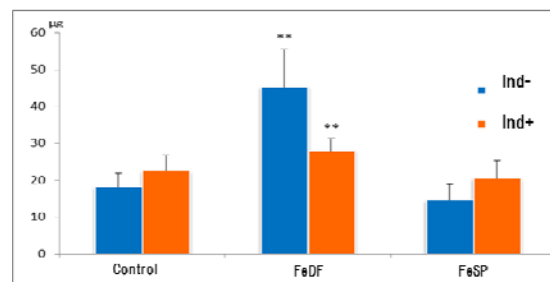


図3 経口摂取カドミウムの体内蓄積量に対する小腸障害の影響

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

① Kyong-Son Min, Involvement of the essential metal transporter Zip14 in hepatic Cd accumulation during inflammation, Toxicology Letters, 査読有、218、2013、91-96.

DOI : 10.1016/j.toxlet.2013.01.010

〔学会発表〕(計4件)

① 関 庚善, 経口摂取カドミウムの体内蓄積に対する女性ライフステージの影響、日本薬学会133年会、2013年3月30日、横浜

② 関 庚善, 経口摂取カドミウムの体内蓄積

に対するライフステージの影響、メタロチオ
ネイン・バイオメタル 2011、2011 年 12 月 8
日、東京

③ 関 庚善、経口摂取カドミウムの臓器蓄積に対
する女性ライフステージの影響、フォーラム
2011・衛生薬学・環境トキシコロジー、2011 年 10
月 27 日

④ 関 庚善、若年期からのミネラル欠乏や高脂肪
摂取は経口カドミウムの毒性発現のリスクファク
ターになる、日本薬学会 131 年会、2011 年 3
月 30 日、静岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関 庚善 (KYONG-SON MIN)

大阪大谷大学薬学部・教授

研究者番号：60140406

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：