

令和 6 年 5 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21108

研究課題名（和文）ラオス北部住民の化学物質複合曝露と酸化ストレス：腸内細菌による修飾作用の検討

研究課題名（英文）Exposure to Multiple Chemicals and Oxidative Stress in Northern Laos Residents: Investigating the Modifying Role of Gut Microbiota

研究代表者

水野 佑紀 (Mizuno, Yuki)

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・助教

研究者番号：10967813

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：途上国辺縁地域住民における環境化学物質曝露と酸化ストレスとの関係を明らかにするため、ラオス北部住民を対象とした調査研究を実施した。化学物質曝露（主に微量元素）、酸化ストレス、腸内細菌叢についてバイオマーカーを用いて評価し、それらの関連を検討した。その結果から、有害微量元素（ヒ素やカドミウム）への曝露が酸化ストレス（特に脂質の酸化損傷）の増大に寄与するが、セレンがこの影響を抑制する可能性があることが示唆された。微量元素曝露と酸化ストレスとの関係性において、腸内細菌叢が修飾因子として機能する可能性があることを示唆する結果も得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、ラオス北部住民における環境化学物質への曝露とその健康影響を明らかにするための重要な知見が得られた。特に、有害微量元素への曝露は酸化ストレスを増大する一方で、セレンの摂取はその酸化ストレスの増大を抑制する可能性が示唆された。以上の発見から、ラオス北部住民において非感染性疾患の基盤として重要な酸化ストレスの個人差の決定要因の1つとして、環境由来の微量元素への曝露・摂取の重要性が示唆され、途上国で増加する非感染性疾患のリスクを決定する環境要因の解明に寄与する知見が得られたと考える。

研究成果の概要（英文）：A study investigated the relationship between environmental chemical exposure and oxidative stress among residents living in marginalized areas of Laos, a developing country in Southeast Asia. The study evaluated chemical exposure (primarily trace elements), oxidative stress, and gut microbiota using biomarkers and examined their associations. The results suggest that exposure to toxic trace elements, such as arsenic and cadmium, increases oxidative stress, especially lipid peroxidation. However, the findings also indicate that selenium may mitigate this effect. Furthermore, the study suggests that the gut microbiota might function as a modifying factor in the relationship between trace element exposure and oxidative stress.

研究分野：環境疫学

キーワード：化学物質 複合曝露 酸化ストレス 腸内細菌叢

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

途上国の辺縁地域における近代化に伴う非感染性疾患の増加は、公衆衛生上の大きな課題であり、近年は非感染性疾患の基盤病態である酸化ストレスを決定する環境要因が関心を集めている。ヒトの健康に関連する環境要因の総体(遺伝要因以外の健康の決定要因)としてエクスポゾームという概念が提唱され、特に化学物質への複合的な曝露による健康影響が注目を集めている。欧米諸国を中心に化学物質複合曝露と酸化ストレスとの関連の報告はあるが、途上国での研究はほとんどない。東南アジア途上国の辺縁地域の1つであるラオス北部の山岳地域では、自給自足から市場経済への移行(=近代化)が急速に進み、隣接する中国の影響(農薬の導入など)で化学物質への曝露も変化していることが予想されるが、その曝露および健康影響に関する調査は実施されていない。また、エクスポゾームの概念において、重要な内的因子である腸内細菌叢が、辺縁地域の住民で集団特異的な構成を示し、宿主の健康の決定要因として重要であることが示唆されている。しかし、環境要因と健康との関係における腸内細菌叢の役割の詳細は不明である。

2. 研究の目的

本研究は、近代化の進むラオス北部住民の化学物質への複合曝露が酸化ストレスの増大に寄与しているという仮説を、腸内細菌叢による修飾作用にも着目して検証することを目的とした。近代化の進むラオス北部で、化学物質の複合曝露が住民の酸化ストレスの増大に寄与しているか、そして腸内細菌叢はどのような役割を担っているかを明らかにする知見が得られると期待された。

3. 研究の方法

3-1. 研究対象地域および参加者

ラオス北部ウドムサイ県の3つの村落の住民を対象に、2018-2019年に実施された調査で収集したデータおよび生体試料を本研究に用いた。焼畑及び森林における狩猟採集に強く依存した村落(NN村:近代化レベル=低)、水田耕作に強く依存した村落(NS村:近代化レベル=中)、都市部にあり大部分の住民が農業以外の職業に従事する村落(NL村:近代化レベル=高)を対象として、近代化の程度を変数とした解析を実施できるように設計した。それぞれの村落で、20-69歳の男女をリクルートした。参加者の基本的な属性および生活習慣、身体計測データなどを本研究に用いた。

3-2. 生体試料の分析

3-3-1. 微量元素曝露評価

参加者から採取した尿(随時尿)中の微量元素(ヒ素(As)、カドミウム(Cd)、セレン(Se))濃度から、曝露レベルを評価した。尿に内標準元素、硝酸、酢酸を添加後に10倍希釈して測定試料とした。誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)を用いて、尿中微量元素濃度を測定した(多元素一斉分析)。

3-3-2. ネオニコチノイド系農薬曝露評価

尿中ネオニコチノイド系農薬類(その代謝物を含む)の濃度を測定した。尿の前処理は、液液抽出を適用し、液体クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS/MS)によって測定した。

3-3-3. 酸化ストレスの評価

DNA の酸化損傷指標 (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)) と脂質の酸化損傷指標 (8-isoprostane) を対象に , 尿中濃度を測定した . 尿の前処理は , 固相抽出法を適用し , LC/MS/MS によって測定した .

3-3-4. 腸内細菌叢の組成解析

糞便中の微生物由来の DNA を抽出し , 次世代シーケンサーを用いた 16S rRNA 解析により , 腸内細菌叢の組成を解析した (調査チームの別の班が併行して進める腸内細菌研究のデータを用いた) .

3-3. 統計解析

村落間 (近代化の程度の異なる集団間) の酸化ストレスレベルの差を検討するために , 共分散分析 (ANCOVA) を実施した . また , 化学物質への曝露と酸化ストレスとの関連を検討するために , マルチレベル分析 (世帯を変量効果として考慮) を実施した . それぞれの分析で , 年齢 , 性別 , 喫煙 , 飲酒 , BMI , 村落を共変量として考慮した . また , 化学物質曝露と酸化ストレスとの関連における腸内細菌叢の媒介因子としての役割を検討するために , 媒介分析を実施した .

4 . 研究成果

4-1. 近代化と酸化ストレス

ラオス北部住民の尿中酸化ストレスマーカー濃度を , 先進国健常者を対象とした先行研究での報告値と比較したところ , 研究参加者の尿中 8-OHdG 濃度は同程度かやや低く , 尿中 8-isoprostane 濃度は比較的高いレベルにあることがわかった . また , 近代化の程度の異なる村落間で住民の尿中酸化ストレスマーカー濃度の差を検討した結果 , 近代化の進んだ村では尿中 8-OHdG 濃度が高い傾向が見られたが , 尿中 8-isoprostane 濃度は村落間差が見られなかった .

この結果から , ラオス北部住民における近代化に伴う生活様式の変化などは , 住民の DNA の酸化損傷の増大に寄与し , 低いレベルにあった DNA の酸化損傷レベルが近代化に伴い上昇し , 先進国の集団と同程度になっている可能性が示唆された . 一方で , ラオス北部住民の脂質の酸化損傷レベルが全体的に高く , 近代化による影響を示唆する結果は見られなかった . 以上より , ラオス北部住民における近代化と酸化ストレスに着目した結果 , DNA の酸化損傷を特異的に増大させている一方で , 脂質の酸化損傷は近代化とは関係なく高いレベルにあることが示唆され , 酸化ストレスによる損傷の標的ごとに近代化による影響が異なることを示唆する知見が得られた (Mizuno et al, 2023, AJBA) .

4-2. 微量元素への曝露と酸化ストレス

微量元素曝露 (尿中微量元素濃度) と酸化ストレス (尿中酸化ストレスマーカー (8-OHdG , 8-isoprostane) 濃度) との関連を検討した結果 , 尿中有害微量元素 (As , Cd) 濃度が高いほど , 尿中 8-isoprostane 濃度が高い傾向が見られた . また , 有害微量元素の As や Cd と必須微量元素である Se との複合的な曝露による影響評価として , 有害微量元素曝露と酸化ストレスとの関連における Se による効果修飾を検討するために , 積項 (As × Se , Cd × Se) を変数として含めた解析も実施した . その結果 , 尿中 Se 濃度が低い場合 , 尿中 Cd 濃度と尿中 8-isoprostane 濃度との関連がより強くみられた . また , 尿中 Se 濃度が低い場合のみ , 尿中 As 濃度が高いほど尿中 8-OHdG 濃度が高いという傾向が見られた .

この結果から、ラオス北部住民において、有害微量元素への曝露が酸化ストレスの増大に寄与する環境因子の1つである可能性が示唆された。また、セレンの摂取がこの有害微量元素による酸化ストレスの増大を抑制する可能性も示唆された。したがって、ラオス北部住民において、微量元素は酸化ストレスの個人差を決定する要因の1つである可能性が考えられた。また、酸化ストレスマーカーごとに、異なる微量元素との関連が見られたことから、酸化ストレスによる損傷の標的ごとに影響する環境要因が異なる可能性が示唆され、酸化ストレスを複数のマーカーを用いて多面的に評価することの重要性を示す結果となった (Mizuno et al., 2023, STOTEN)。

4-3. ネオニコチノイド類曝露評価

尿中ネオニコチノイド系農薬類(代謝物含む)の濃度から曝露評価を実施した結果、ほとんどの参加者で検出下限値以下であった。この結果から、ラオス北部においてネオニコチノイド系農薬類の使用がないか、使用量が少ないため、環境由来の住民の曝露レベルは低いレベルにあることが示唆された。

4-4. 微量元素曝露と酸化ストレスとの関連における腸内細菌叢

現在、微量元素への曝露と酸化ストレスとの関連において、腸内細菌叢が媒介因子として機能している可能性に着目し、媒介分析を用いた解析を進めている。これまでの検討の結果、腸内細菌叢の多様性が高い場合、有害微量元素への曝露と酸化ストレスとの関連が弱い傾向があるなど、媒介因子として機能している可能性を示唆する結果も見られており、引き続き解析を進める。

4-5. 今後の展望

本研究によって、化学物質の中で微量元素に着目し、その曝露と酸化ストレスとの関連を検討した。しかし、環境中の化学物質(環境化学物質)の種類は膨大であり、ヒトは多種多様な物質に複合的に曝露している。現在、生体試料中の化合物を網羅的に検出するためのマルチターゲット・ノンターゲット分析手法の確立を進めている。この手法を本調査に応用することで、対象とする化学物質の種類を大幅に広げることができ、化学物質曝露と酸化ストレスとの関連を包括的に検討することができる。また、アメリカの大規模データベース(NHANES)を用いた Exposome-wide association study (ExWAS) 解析の研究にも取り組み、この手法を本研究にも応用することを目指している。

[参考文献]

- Mizuno, Y.; Inaba, Y.; Masuoka, H.; Kibe, M.; Kosaka, S.; Natsuhara, K.; Hirayama, K.; Inthavong, N.; Kounnavong, S.; Tomita, S.; Umezaki, M. Impact of Modernization on Oxidative Stress Among Indigenous Populations in Northern Laos. *Am. J. Biol. Anthropol.* 2023, 181, 352–363.
<https://doi.org/10.1002/ajpa.24722>
- Mizuno, Y.; Inaba, Y.; Masuoka, H.; Kibe, M.; Kosaka, S.; Natsuhara, K.; Hirayama, K.; Inthavong, N.; Kounnavong, S.; Tomita, S.; Umezaki, M. Determinants of Oxidative Stress Among Indigenous Populations in Northern Laos: Trace Element Exposures and Dietary Patterns. *Sci. Total Environ.* 2023, 868, 161516.

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 Yuki Mizuno, Yohei Inaba, Hiroaki Masuoka, Mihoko Kibe, Satoko Kosaka, Kazumi Natsuhara, Kazuhiro Hirayama, Nouhak Inthavong, Sengchanh Kounnavong, Shinsuke Tomita, Masahiro Umezaki	4. 巻 -
2. 論文標題 Impact of modernization on oxidative stress among indigenous populations in northern Laos	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 American Journal of Biological Anthropology	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） 10.1002/ajpa.24722	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

1. 著者名 Yuki Mizuno, Yohei Inaba, Hiroaki Masuoka, Mihoko Kibe, Satoko Kosaka, Kazumi Natsuhara, Kazuhiro Hirayama, Nouhak Inthavong, Sengchanh Kounnavong, Shinsuke Tomita, Masahiro Umezaki	4. 巻 868
2. 論文標題 Determinants of oxidative stress among indigenous populations in Northern Laos: Trace element exposures and dietary patterns	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Science of The Total Environment	6. 最初と最後の頁 161516 ~ 161516
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.scitotenv.2023.161516	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 水野佑紀, Chirag J. Patel
2. 発表標題 環境化学物質曝露と男性性機能のエクスポソームワイド関連解析
3. 学会等名 第94回日本衛生学会学術総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Yuki Mizuno, Chirag J. Patel.
2. 発表標題 An Exposure-Wide Association Study (ExWAS) on Erectile Dysfunction.
3. 学会等名 The 35th Annual International Society for Environmental Epidemiology Conference (国際学会)
4. 発表年 2023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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------