

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2012～2015

課題番号：24406002

研究課題名(和文) アジア地域における飲用井戸水汚染の現状把握と発癌予防対策

研究課題名(英文) Cancer prevention based on the review for pollution of well drinking water in Asia

研究代表者

加藤 昌志 (Kato, Masashi)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10281073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,100,000円

研究成果の概要(和文)：重金属をはじめとする無機物質は強い毒性を持ち、癌等のヒトの生命に直接的に関わる重大疾患を誘発するので、最優先で健康リスクが検討されるべきである。本研究では、飲用井戸水の無機物質汚染に焦点を当て、まず、アジア地域における海外学術調査により、複数の無機物質に汚染された飲用井戸水の現状を把握する。次に、単独および複数の無機物質曝露の発癌毒性を評価し、井戸水から除去すべき無機物質を特定する。以上のように、本研究では、海外学術調査を起点とし、飲用水の健康リスクの評価を介してアジアの公衆衛生の向上に貢献する。

研究成果の概要(英文)：Previous studies showed that inorganic matters caused severe diseases that directly affect human life such as cancers. Therefore, health risk of inorganic matters in well drinking water should be considered as first priority. In this study, we first review the pollution of inorganic matters in well drinking water through our fieldwork in Asian countries. We then evaluate cancer toxicity of inorganic matters with considering plural exposure as well as sole exposure. We finally identify the inorganic matters to be removed from well drinking water. Thus, this study will contribute to the improvement of public health through evaluation of health risk of inorganic matters in drinking water in Asian countries.

研究分野：衛生学・皮膚科学・毒性学

キーワード：飲用井戸水 発癌リスク 皮膚癌

1. 研究開始当初の背景

(1) アジアにおける飲用水無機物質汚染:

飲用水の量と質は、生命維持に不可欠であるだけでなく、健康に大きな影響を与える。しかし、アジアには、飲用井戸水の汚染状況すら十分に把握されていない地域も少なくない。飲用井戸水の無機物質汚染の現状を調査し、情報を公開し、国際世論を高め、支援を促進することが必要である。

(2) 飲用水ヒ素汚染対策の必要性:

現状が比較的把握されている飲用井戸水の無機物質汚染の中ではヒ素が最も重要である。世界保健機関 (WHO) のガイドライン値を超えるヒ素を含む飲用水を飲まざるを得ない状況にあるヒトは、世界で 2 億人とも推定されている。近年、世界中のエイズウイルス感染者よりも多いとも言われる慢性ヒ素中毒患者より、爆発的な勢いで癌が発生している。飲用井戸水における有害無機物質の健康リスクを評価し、安全な飲用井戸水の供給に役立てることが、公衆衛生の向上に、不可欠である。

(3) 飲用水中の無機物質の健康リスク:

従来、無機物質の発癌毒性評価は、単独の無機物質を対象に行われて来た。代表者らは、井戸水に含まれるレベルのバリウム (Ba) が単独で発癌毒性を持つ可能性を提案した。一方、代表者らの知見を含めた従来の研究は、飲用井戸水が複数の有害無機物質に汚染されている可能性を報告している。ゆえに、井戸水に含まれる無機物質の新規毒性を検討するだけでなく、既に毒性が報告されている無機物質について、複合曝露を勘案した健康リスク評価を実施することも重要である。

癌はヒトの命に直結する重大疾患であり、飲用井戸水中の有害無機物質が原因となる癌の予防は大変重要である。

2. 研究の目的

アジア地域の医学・生物学・分析化学・環境科学研究者の学際研究により、海外学術調査を実施し、飲用井戸水の無機物質汚染の現状を把握し、無機物質の複合曝露を勘案して健康リスクを評価する技術を検討するとともに、発癌毒性に焦点を当て、健康リスクを評価する衛生学研究を実践する。

(1) 井戸水に含まれる有害無機物質の調査:

①井戸水の無機物質濃度: アジア地域を中心とする海外学術調査により、井戸水に含まれる 38 種類の無機物質を誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) にて測定し、汚染地域の現状を確認するとともに、新たな汚染地域を特定する。

②ヒトにおける無機物質蓄積量: 井戸水を飲用している住民の尿・毛髪・爪に含まれる 38 種類の無機物質を ICP-MS を用いて測定し、無機物質が毛髪・爪・尿に代謝・蓄積される量をヒトで検討する。

(2) 無機物質汚染の発癌毒性評価:

分子生物学の知識・技術を用い、①発癌毒性を持つ無機物質を新規に特定する。さらに、②発癌毒性を修飾する複数無機物質の組み合わせについて検討する。

3. 研究の方法

(1) 井戸水中の有害無機物質の現状把握:

国内外において、研究計画の倫理的承認を得たのち、バングラデシュ・ベトナム等のアジア地域で、飲用井戸水および井戸水を飲む住民の検体 (尿・毛髪・爪) を採取する。検体を日本に輸送後、検体を灰化し、ICP-MS にて 38 種類の無機物質濃度を定量するとともに、統計学的手法等を用いて汚染地域の現状を検討する。

(2) 無機物質汚染の発癌毒性評価:

①培養細胞を用いた評価: 無機物質単独曝露および複合曝露の場合の発癌毒性を、培養細胞を用いたコロニーアッセイ・インベージョンアッセイ等を用いて評価する。さらに、無機物質が発癌毒性を修飾するメカニズムを定量 PCR・ウエスタンブロット等の生化学的方法にて調べる。

②動物を用いた評価: 野生型マウスにヒトが実際に飲むレベルのヒ素等の無機物質を長期間投与し、急性・亜急性・慢性の発癌毒性を調べる。

4. 研究成果

(1) ヒ素とバリウムの複合曝露と発癌毒性:

代表者らは、試験管レベルでの先行研究において、バリウム単独で発癌毒性を持つ可能性を報告している。本研究では、海外学術調査の成果として、アジアの井戸水がヒ素だけでなくバリウムにも汚染されていることを確認した (図 1)。そこで、飲用井戸水、ヒ素・バリウム・バリウムの同族元素 (マグネシウム・カルシウム・ストロンチウム) に焦点を当て、井戸水に含まれる有害無機物質とヒト検体 (尿・爪・毛髪) の濃度との相関関係を調べた (Kato et al. PLoS ONE 2013)。

【表 1】

	Well Water				
	As	Mg	Ca	Sr	Ba
Urine	0.68**	0.24	-0.10	0.22	0.41*
Nail	0.73**	-0.27	-0.03	-0.38	0.43*
Hair	0.74**	-0.17	0.54**	0.15	0.59**

表 1 に示すように、飲用井戸水に含まれるヒ素およびバリウムは、ヒト検体（尿・爪・毛髪）の濃度との間に有意な相関関係を認めた。この結果は、飲用井戸水のヒ素とバリウムは、ヒトの尿・爪・毛髪に蓄積するヒ素とバリウムの濃度に影響を与える可能性を示している。

さらに、表 2 に示すように、井戸水に含まれるヒ素濃度とバリウム濃度は高い相関（相関係数=0.87）を示した。同様に、ヒト検体（尿・爪・毛髪）に含まれるヒ素とバリウムも有意な相関関係を示した。

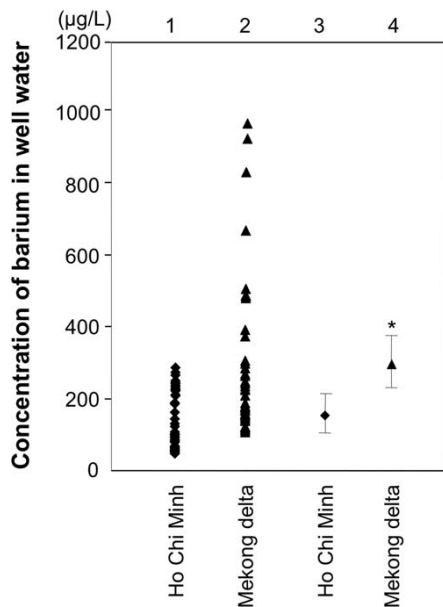
上記の成果は、飲用井戸水およびヒト検体におけるヒ素とバリウムのダイナミクスが類似している可能性を示している。

【表 2】

	Mg	Ca	Sr	Ba
As Well water	0.74**	0.74**	-0.66**	0.87**
Urine	0.34	0.11	0.18	0.46*
Nail	0.25	0.06	0.22	0.53**
Hair	0.05	0.14	-0.14	0.56**

また、代表者らのベトナムにおける海外学術調査では、井戸水に比較的高濃度のバリウムを認めた。試験管レベルの実験では、バリウムの長期曝露が細胞浸潤能を促進する可能性を示している（Thang et al. Environ Toxicol 2013）。

【図 1】



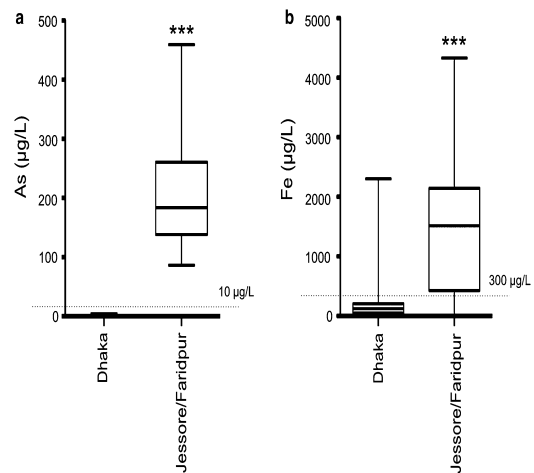
一方、ヒ素は発癌毒性だけでなく、抗癌作用を持つ（Thang et al. PLoS ONE 2014）。代表者らは、癌細胞に対するヒ素とバリウムの複合曝露により、ヒ素の抗癌作用が減弱する可能性を提案した（Yajima et al. Arch Toxicol 2012）。

以上に示すように、本研究では、①バングラデシュの癌多発地域の住民は、飲用井戸水からヒ素とバリウムの複合曝露を受けていること、②飲用井戸水およびヒト検体（尿・爪・毛髪）においてヒ素とバリウム濃度は相関していること、③バリウム曝露は、ヒ素の抗癌作用を抑制する可能性があることを示し、ヒ素とバリウムの複合曝露が、バングラデシュにおける慢性ヒ素中毒症患者の発癌に影響している可能性を示している。

## (2) ヒ素と鉄の複合曝露と発癌毒性：

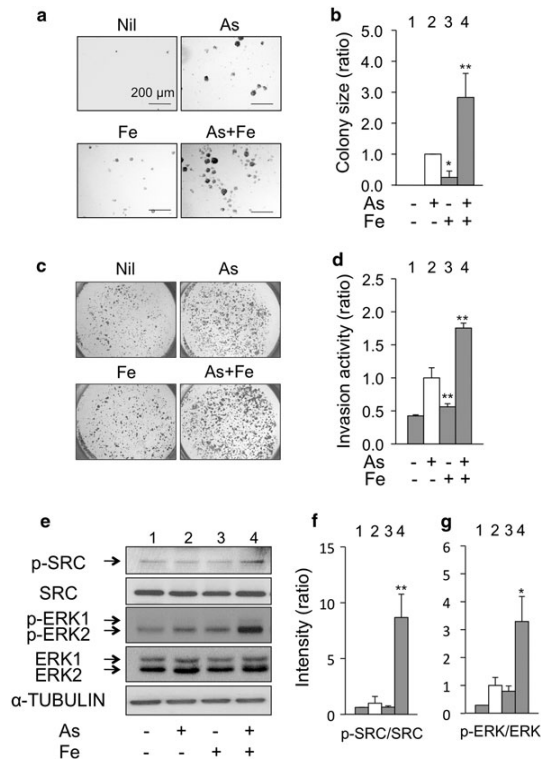
代表者らのバングラデシュにおける海外学術調査にて、飲用井戸水はヒ素だけでなく、高濃度の鉄を含むことを確認した（図 2）。

【図 2】



これは、井戸水を飲用する住民が、ヒ素だけでなく鉄にも曝露されていることを示している。次に、ヒト検体を用いて、バングラデシュ住民のヒ素と鉄のモル比を調べ、大筋で、井戸水に含まれるヒ素と鉄のモル比は大筋で類似していることを確認した後、飲用井戸水に含まれるレベルのヒ素と鉄が複合曝露された場合の発癌毒性を調べた。図 3 に示すように、コロニーアッセイおよびインベージョンアッセイの結果は、ヒ素単独または鉄単独曝露に比較して、ヒ素と鉄の複合曝露では、非腫瘍形成性皮膚ケラチノサイトの発癌を相乗的または相加的に促進する可能性が示された（Kumasaka et al. Arch Toxicol 2013）。さらに、ヒ素と鉄の複合曝露では、ヒ素単独または鉄単独曝露に比較し、c-Src や ERK の活性化が相乗的に亢進していた（図 3）。本結果はヒ素と鉄の複合曝露による発癌毒性の相乗的亢進に、c-Src・ERK が関与している可能性を示している（Kumasaka et al. Arch Toxicol 2013）。

【図 3】



以上に示すように、ヒ素と鉄の複合曝露は、バングラデシュにおける慢性ヒ素中毒症患者の発癌に影響している可能性を示した。

### (3) ヒ素曝露の発癌毒性：

野生型マウスに飲用井戸水に含まれるレベルのヒ素を飲水投与し、急性・亜急性・慢性の発癌毒性について検討した。少なくとも現時点では、ヒ素による発癌は観察されず、従来の報告の確認にとどまっている。

### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 31 件)

- ① Kumasaka YM, [Yajima I](#), Iida M, Takahashi H, Inoue Y, Fukushima S, Ihn H, [Takeda K](#), Naito Y, Yoshikawa T, [Kato M](#). Correlated expression levels of Endothelin receptor B and Plexin C1 in melanoma. **Am J Cancer Res** 5(3):1117-23, Feb, 2015. 査読有
- ② [Yajima I](#), Kumasaka MY, [Yamanoshita O](#), Zou C, Li X, [Ohgami N](#), [Kato M](#). GNG2 inhibits invasion of human malignant melanoma cells with decreased FAK activity. **Am J Cancer Res** 4(2):182-8, Mar, 2014. 査読有
- ③ Kumasaka MY, [Yajima I](#), [Ohgami N](#), Naito H, Omata Y, [Kato M](#). Commentary to Krishna et al. (2014): Brain deposition and neurotoxicity of manganese in adult mice exposed via the drinking water. **Arch Toxicol** 88(5):1185-6, May, 2014. 査読有
- ④ Thang ND, [Yajima I](#), Kumasaka M, [Kato M](#). Bidirectional functions of arsenic as a carcinogen and an anticancer agent in human squamous cell carcinoma. **PLoS ONE** 9(5):e96945, May, 2014. 査読有
- ⑤ [Takeda K](#), Kawamoto Y, Iida M, Omata Y, Zou C, [Kato M](#). Commentary to Pastore et al (2014): Epidermal growth factor receptor signaling in keratinocyte biology: implications for skin toxicity of tyrosine kinase inhibitors. **Arch Toxicol** 88:2319-20, Dec, 2014. 査読有
- ⑥ Kumasaka YM, [Yamanoshita O](#), Shimizu S, Ohnuma S, Furuta A, [Yajima I](#), Nizam S, Khalequzzaman M, Shekhar UH, Nakajima T, [Kato M](#). Enhanced carcinogenicity by coexposure to arsenic and iron and a novel remediation system for the elements in well drinking water. **Arch Toxicol** 87:439-47, Mar, 2013. 査読有
- ⑦ [Kato M](#), Kumasaka YM, Ohnuma S, Furuta A, Kato Y, Shekhar HU, Kojima M, Koike Y, Thang ND, [Ohgami N](#), Ly TB, Jia X, Yetti H, Naito H, Ichihara G, [Yajima I](#). Comparison of barium and arsenic concentrations in well drinking water and in human body samples and a novel remediation system for these elements in well drinking water. **PLoS ONE** 8(6):e66681, Jun, 2013. 査読有
- ⑧ Thang ND, [Yajima I](#), Ohnuma S, [Ohgami N](#), Kumasaka MY, Ichihara G, [Kato M](#). Enhanced constitutive invasion activity in human nontumorigenic keratinocytes exposed to a low level of barium for a long time. **Environ Toxicol** 30(2):161-7, Jun, 2013. 査読有
- ⑨ Nizam S, [Kato M](#), Yatsuya H, Khalequzzaman Md, Ohnuma S, Naito H, Nakajima T. Difference in urinary arsenic metabolites of diabetic and non-diabetic subjects in Bangladesh. **Int J Environ Res Public Health** 10(3):1006-19, Mar, 2013. 査読有
- ⑩ [Yajima I](#), Kumasaka YM, Thang ND, Goto Y, [Takeda K](#), [Yamanoshita O](#), Iida M, [Ohgami N](#), Tamura H, Kawamoto Y, [Kato M](#). RAS/RAF/MEK/ERK and PI3K/PTEN/AKT signaling in malignant melanoma progression and therapy. **Dermatol Res Pract** 2012:354191, Oct, 2012. 査読有
- ⑪ [Yajima I](#), Uemura N, Nizam S, Khalequzzaman M, Thang ND, Kumasaka YM, Akhand AA, Shekhar HU, Nakajima T, [Kato M](#). Barium inhibits arsenic-mediated apoptotic cell death in human squamous cell carcinoma cells. **Arch Toxicol** 86(6):961-73, Jun, 2012. 査読有

〔学会発表〕(計 37 件)

- ① 第85回 日本衛生学会学術総会  
発表年月日：平成27年3月27-28日  
場所：和歌山県民文化会館（和歌山県和歌山市）ポスター発表  
発表者：熊坂真由子、田村青鳥、矢嶋伊知朗、大神信孝、飯田真智子、内藤久雄、加藤昌志  
演題名：飲用水を介した重金属の複合曝露の健康リスク評価
- ② 第 84 回 日本衛生学会学術総会  
発表年月日：平成 26 年 5 月 25-57 日  
場所：岡山コンベンションセンター（岡山県岡山市）ポスター発表  
発表者：田村青鳥、矢嶋伊知朗、熊坂真由子、大沼章子、神保佳奈、大神信孝、内藤久雄、加藤昌志  
演題名：低濃度有害重金属の飲水投与における体内分布についての解析
- ③ 第 87 回 日本産業衛生学会  
発表年月日：平成 26 年 5 月 21-24 日  
場所：岡山コンベンションセンター（岡山県岡山市）ポスター発表  
発表者：飯田真智子、矢嶋伊知朗、熊坂真由子、大沼章子、神保佳奈、田村青鳥、大神信孝、加藤昌志  
演題名：バリウムの発癌毒性
- ④ 第 24 回日本微量元素学会学術集会  
発表年月日：平成 25 年 6 月 29～30 日  
場所：関西大学百周年記念会館（大阪府吹田市）口頭発表  
発表者：大神信孝、飯田真智子、加藤昌志  
演題名：飲水投与した低用量バリウムによる感音性難聴
- ⑤ 第 12 回分子予防環境医学研究会  
発表年月日：平成 25 年 2 月 1-2 日  
場所：つくばサイエンスインフォメーションセンター（茨城県つくば市）口頭発表  
発表者：矢嶋伊知朗、熊坂真由子、Saika Nizam, Md. Khalequzzaman, Hossain U. Shekhar、大沼章子、古田昭男、那須民江、加藤昌志  
演題名：飲用井戸水の重金属複合汚染による発癌リスクに関する解析

〔図書〕(計 1 件)

- ① 加藤昌志、高橋雅英：モデル動物利用マニュアルシリーズ 疾患モデルの作製と利用。第 I 部疾患モデルの作成と利用、第 2 章多臓器発がんモデル、第 7 節 Ret. 633 (237-242) 株式会社エル・アイ・シー、2012

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計 1 件)  
名称：幹細胞を標的とした薬効及び毒性の評

価法

発明者：飯田真智子、加藤昌志  
権利者：名古屋大学  
種類：特許  
番号：特願 2012-243119  
出願年月日：2012 年 11 月 2 日  
国内外の別：国内

○取得状況 (計 1 件)

名称：デノボ癌を自然発症するモデル動物及びその用途  
発明者：加藤昌志、熊坂真由子  
権利者：名古屋大学  
種類：特許  
番号：特許 5481619  
取得年月日：2014 年 2 月 28 日  
国内外の別：国内

〔その他〕

名古屋大学大学院医学系研究科公式ホームページ  
<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical/2511/index.html>  
名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学ホームページ  
<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/hygiene/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

加藤 昌志 (KATO, Masashi)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：10281073

### (2) 研究分担者

矢嶋 伊知朗 (YAJIMA, Ichiro)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号：80469022 (平成 26 年度)

武田 湖州恵 (TAKEDA, Kozue)  
中部大学・生命健康科学部・准教授  
研究者番号：80345884 (平成 24-25 年度)

山ノ下 理 (YAMANOSHITA, Osamu)  
中部大学・生命健康科学部・講師  
研究者番号：50424924 (平成 24-25 年度)

後藤 友二 (GOTO, Yuji)  
中部大学・生命健康科学部・助手  
研究者番号：70362522 (平成 24 年度)

### (3) 連携研究者

大神 信孝 (OHGAMI, Nobutaka)  
名古屋大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号：80424919