

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：32305

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560062

研究課題名(和文)アルギン酸によるストロンチウムおよびセシウムの排泄促進効果とメカニズムの検討

研究課題名(英文) Study of alginate's effect and mechanism, enhancing excretion and reducing absorption of strontium and cesium.

研究代表者

井戸田 陽子 (Idota, Yoko)

高崎健康福祉大学・薬学部・研究員

研究者番号：90629594

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ラットを用いた実験で、アルギン酸のナトリウム塩(Na-Alg)はすでに知られているストロンチウム(Sr)の吸収抑制効果だけでなく排泄促進効果も有すること、またカルシウム塩(Ca-Alg)には、Srだけでなくセシウム(Cs)に関して効果があることが示唆された。更に試験管内でNa-Algによる各種金属イオンの吸着しやすさを検討したところ、イオン半径がある一定領域の金属との結合定数が高く、その最適半径は価数によって異なる傾向が見られた。イオン化傾向との相関性は観察されなかった。アルギン酸は様々な有害金属の吸収抑制・排泄促進に利用可能であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We have compared the effects of sodium alginate (Na-Alg) and calcium alginate (Ca-Alg) in promoting excretion and decreasing absorption of strontium (Sr) and cesium (Cs) in rats. Both additives increased the excretion of Sr, though concentration of Cs was significantly reduced only in the Ca-Alg group.

We investigated the relationship between the physical parameters of various metal ions, and the binding affinity of these metal ions for alginate in vitro. In conclusion, our results indicate that the affinity of Alg for various metal ions is dependent upon their charge and ionic radius but not upon their ionization tendency.

Our results are consistent with the idea that Alg would be effective as an excretion accelerator and/or absorption inhibitor for various toxic metal ions.

研究分野：薬剤学

キーワード：アルギン酸 イオン半径 価数 結合定数

1. 研究開始当初の背景

2011年に発生した東日本大震災に伴う原子力発電所の事故により、ストロンチウム(Sr)やセシウム(Cs)などの放射性物質が環境中へと飛散し、それらの体内への吸収抑制や体内からの排泄促進に効果のある薬品・食品への関心が高まっている。一方、アルギン酸(alginic acid:Alg)は褐藻類に存在するD-マンヌロン酸とL-グルロン酸を構成成分とした多糖類の一種であり¹⁾、血中コレステロール低下作用や胃粘膜保護作用を有することから、健康食品や医薬品に用いられている^{2,3)}。また、放射性Srの体内取り込みを低減させる効果があることも示されている^{4,5)}。

これまでに我々は、メンブレンフィルターを用いた *in vitro* の実験により、アルギン酸のナトリウム塩(Alg-Na)が濃度依存的にSrおよびCsを取り込むことを見出した。さらに、ラットを用いた *in vivo* の実験において、AlgによるSr吸収抑制効果はNa-Algよりもカルシウム塩(Ca-Alg)の方が大きく、Cs吸収抑制効果はCa-Algにおいてのみ認められた。(特許出願中:特願2012-197698, 2012年9月7日申請)。

2. 研究の目的

(1) AlgのSrおよびCs排泄促進効果の検討
ラットを用いた *in vivo* 実験系にて、AlgがSrおよびCsの吸収抑制効果のみならず、体外への排泄促進効果も有するか否か検討する。

(2) Algの安全性の検討

Algおよびその塩類は、天然の海藻から抽出される食物繊維である。古くから安全性の高い物質と位置付けられ、JECFA(FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会)による評価でも「許容1日摂取量(ADI)=特定せず」とされている⁶⁾。しかし、AlgはSrやCsの排泄促進に関与することが推測されるので、生体にとって必須な微量金属の排泄も促進することが懸念される。そこで、Na-AlgおよびCa-Alg含有餌を与えたラットの生化学的検査および病理検査を行うことで、Algの安全性を検討する。

(3) Ca-AlgのヒトにおけるSr、Cs排泄促進効果の検証

ラットにおいてSrおよびCsの排泄促進効果が示された際には、Ca-AlgのSrおよびCs排泄促進効果の臨床試験を計画する。

(4) 金属イオン取り込みに対する最適条件およびメカニズムの検討

Algのもつ陽イオン交換能^{7,8)}には原子価によりその交換性に差があるという報告が

ある⁹⁾。SrとCsのAlgへの親和性に差が見られたことから、Algに取り込まれる原子の性質には特徴があるものと推定される。そこで、Algの塩の種類や糖の構成比(M/G比)の違いによる金属イオン取り込み効果の違いから、その最適条件およびメカニズムを推定する。さらに他の金属への応用を検討する。

3. 研究の方法

(1) AlgのSrおよびCs排泄促進効果の検討
AlgがSrおよびCsの体外への排泄促進効果も有するか否か検討した。

ラットに通常の餌およびNa-AlgまたはCa-Alg含有飼料を2週間与え、試験開始時、1週間後、2週間後に採血を行った。得られた血液から血漿を分離し、原子吸光度計を用いて血漿中SrおよびCs濃度を測定した。試験開始時と比較して、血漿中SrおよびCsが減少するか否かをコントロール群と比較検討した。

(2) Algの安全性の検討

上記1の試験における摂餌2週間後のラット血液の生化学的検査を行なうと共に、心臓、肝臓、肺、腎臓、脾臓等の主要臓器を摘出し、病理検査を行うことで、安全性を確認した。

(3) 臨床試験

Ca-AlgのSrおよびCs排泄促進効果をヒトにて検証するため、試験計画書を立案した。

(4) 金属イオン取り込みに対する最適条件およびメカニズムの検討と応用

メンブレンフィルターを用いた *in vitro* の実験により、有害重金属を含む各種金属に対するAlgの親和性と検討した。得られた結果から親和性(結合定数×結合部位数)を算出した。またその結果からAlgの金属吸着メカニズムを考察した。

4. 研究成果

(1) AlgのSrおよびCs排泄促進効果の検討

AlgのSrおよびCs排泄促進効果を検討した。その結果、ラットを用いた *in vivo* 実験系にて、Na-Algはすでに明らかになっていたSrの吸収抑制効果のみならず、体外への排泄促進効果も有することが示された(図1)。一方Ca-Algには、SrだけでなくCsに関しても吸収抑制効果および排泄促進効果があることが示唆された(図2)。以上より、Algはカルシウム塩の方がより有用であることが示された¹⁰⁾。

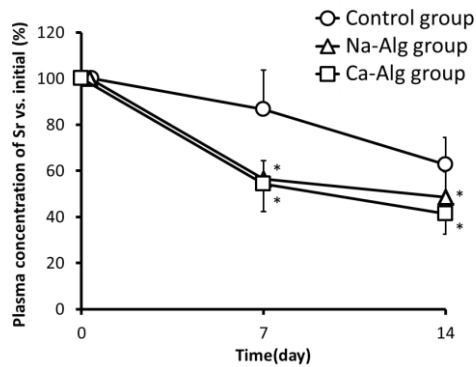


図1 : Alg を2週間摂餌したラットの血中 Sr 濃度推移

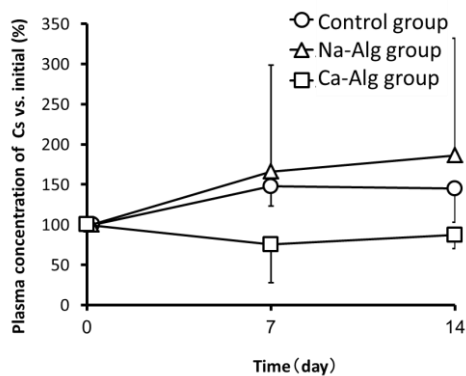


図2 : Alg を2週間摂餌したラットの血中 Cs 濃度推移

(2) Alg の安全性の検討

次に, Alg の安全性を検討した. すなわちラットを用いた *in vivo* 実験系にて, Na-Alg および Ca-Alg 投与群における生化学的検査および病理検査を行った. その結果, 今回用いた投与量 (10%を餌に配合) においては Na-Alg では腎への結石が認められた (図3) が, Ca-Alg にはそのような病理所見はみられなかった. 以上より, 安全性の面からも Alg はカルシウム塩の方がより有用であることが示された¹⁰⁾.

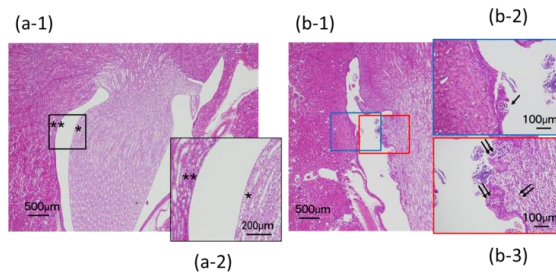


図3 : 腎臓の組織切片
(a):Control (b):Na-Alg

(3) Ca-Alg のヒトにおける Sr, Cs 排泄促進効果の検証

Ca-Alg の Sr および Cs 排泄促進効果をヒト

にて検証するため, 試験計画書を立案した.

Ca-Alg 4g を含有するカプセルを1日3回に分けて食前に服用させ, 試験開始時から5週間後まで経時的に採血を行う. 得られた血液から血漿を分離し, Sr および Cs の血漿中濃度を測定する. 試験開始時と比較して, 血漿中 Sr および Cs が減少するか否かをコントロール群と比較検証することを計画している. 現在, 予備試験を実施中である.

(4) 金属イオン取り込みに対する最適条件およびメカニズムの検討

Alg のもつ陽イオン交換能には原子価によりその親和性に差があるという報告がある. また我々の研究においても Sr と Cs の Alg への親和性に差が見られたことから, Alg に取り込まれる金属原子には特徴的な性質があるものと推定し, Alg と各種金属イオンの親和性を検討した. 測定金属は, 価数やイオン半径が様々なものになるように留意しつつ, ヒトにおいて中毒を引き起す有害重金属やレアアース等から選択した. なお別試験の検討より, Alg の吸着能はマンヌロン酸よりもグルロン酸の方が高いという知見が得られたため, グルロン酸比率の高い Alg を用いて検討を行った.

得られた結果から算出した結合定数は, Sr > Pb > Tb > Dy > Ca > Cd > Mg > Fe(II) > Fe(III) > Co > Al > Ni > Cs > Cu > Ag > Li > K となった. イオン半径がある一定領域の金属との結合定数が高く, その最適半径は価数によって異なる傾向が見られた (図4).

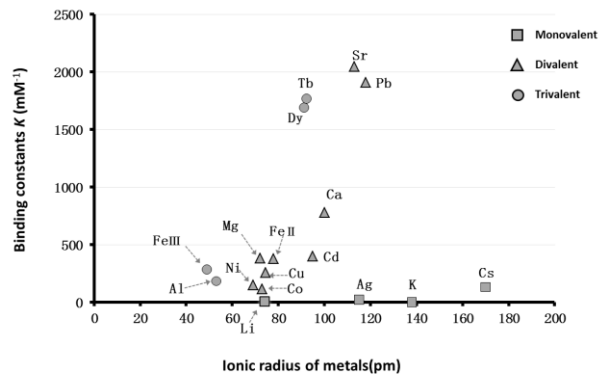


図4 : 価数の異なる金属イオンにおける結合定数とイオン半径

また結合定数は, 2価 > 3価 >> 1価となる傾向が見られた. イオン化傾向との相関性は観察されなかった. このことから, アルギン酸の金属イオン吸着メカニズムは, その価数およびイオン半径に影響され, 最適イオン半径は価数によって異なることが示唆された.

同時に, (1)の *in vivo* 実験系で Na-Alg が Sr の吸収抑制・排泄促進効果を示したのに対し, Cs にはその効果を示さなかったことは, 結合定数が Sr >> Cs であることから, 親和性の違いによるものであることが示された. ま

た Ca-Alg が Sr の吸収抑制・排泄促進効果を示したことは、結合定数が Sr>Ca であることから説明できた。一方で Ca-Alg が Cs に対しても効果を示したことに關しては結合定数のみでは説明できない。別の実験において、Na-Alg はより粘性の高い高分子の方が胆汁酸吸着力が高いというデータがあり、粘性の違いも効果に差を与えると考えられた。Ca-Alg は化学的な結合ではなく、ゲル化による粘性の上昇に伴う物理的な吸着によって Cs に対する効果を発揮した可能性が考えられた。

(1) (2) の結果は下記引用文献⑩で報告した。
(4) の結果は投稿中である。

<引用文献>

① Davis T A, *et al.*, A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Res*, **37**, 4311-4330 (2003).

② Tsuji, *et al.*, Effect of Depolymerized Sodium Alginate on the Excretion of Cholesterol from Rats. *J Home Econ Jpn*, **48**, 689-693 (1997).

③<<http://www.kimica.jp/alginate/application/>>, Kimica Corporation Web, 2008.

④ R Hasp, *et al.*, Effect of Sodium Alginate in inhibiting Uptake of Radiostrontium by the Human Body. *Nature*, **208**, 1341-1342(1965).

⑤ 西村義一ら, 放射性 Sr の代謝に及ぼすキトサンとアルギン酸の影響について. *RADIOISOTOPES*, **40**, 244-247(1991).

⑥ 宮島 千尋, アルギン酸類の概要と応用. *繊維学会誌*, **65**, 444-448 (2009).

⑦ 高橋武雄ら, アルギン酸のイオン交換反応の研究. *生産研究*, **10**, 174-175 (1958).

⑧ 山辺武郎ら, イオン交換体としてのアルギン酸誘導体の研究. *生産研究*, **11**, 476-476 (1959).

⑨ 高橋武雄ら, 陽イオン交換体としてのアルギン酸. *生産研究*, **12**, 47-52 (1960).

⑩ Idota Y, *et al.*, Alginate enhances excretion and reduces absorption of strontium and cesium in rats. *Biol Pharm Bull*, **36**, 485-91 (2013).

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 5 件)

① Arakawa H, Ohmachi T, Ichiba K, Kamioka H, Tomono T, Kanagawa M, Idota Y, Hatano Y, Yano K, Morimoto K, Ogihara T. Interaction of Peptide Transporter 1 With D-Glucose and L-Glutamic Acid; Possible Involvement of Taste Receptors. *J Pharm Sci*, **105**, 339-42 (2016). 査読あり.
(DOI:10.1016/j.xphs.2015.11.024)

② Idota Y, Kogure Y, Kato T, Ogawa M, Kobayashi S, Kakinuma C, Yano K, Arakawa H, Miyajima C, Kasahara F, Ogihara T. Cholesterol-Lowering Effect of Calcium Alginate in Rats. *Biol Pharm Bull*, **39**, 62-7 (2016). 査読あり.
(DOI:<http://doi.org/10.1248/bpb.b15-00503>)

③ 井戸田 陽子, 萩原 健弘, 齊藤 早知, 板井 進悟, 崔 吉道, 萩原 琢男. 無包装状態における経口製剤の安定性の検討. *医療薬学*, **40**, 304-309 (2014). 査読あり.
(DOI:<http://doi.org/10.5649/jjphcs.40.304>)

④ Zhang P, Idota Y, Yano K, Negishi M, Kawabata H, Arakawa H, Morimoto K, Tsuji A, Ogihara T. Characterization of cesium uptake mediated by a potassium transport system of bacteria in a soil conditioner. *Biol Pharm Bull*, **37**, 604-7 (2014). 査読あり.
(DOI:<http://doi.org/10.1248/bpb.b13-00871>)

⑤ Idota Y, Harada H, Tomono T, Morimoto K, Kobayashi S, Kakinuma C, Miyajima C, Kasahara F, Ogihara T. Alginate enhances excretion and reduces absorption of strontium and cesium in rats. *Biol Pharm Bull*, **36**, 485-91 (2013). 査読あり.
(DOI:<http://doi.org/10.1248/bpb.b12-00899>)

[学会発表] (計 11 件)

① T Ogihara, Y Idota, Y Kogure, T Kato, M Ogawa, S Kobayashi, C Kakinuma, K Yano, H Arakawa, C Miyajima, F Kasahara. Cholesterol-lowering Effect of Calcium Alginate in Rats. 日本農芸化学会 2016 年度大会, 札幌, 3/27-3/30, 2016.

② 萩原琢男, 上岡宏紀, 金川雅彦, 井戸田陽子, 矢野健太郎, 森本かおり, 荒川大: 基質薬物とキノロン系抗菌薬との消化管吸収過程における相互作用, 第 37 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 熊本, 11/19-11/20, 2015.

③ 荒川大, 上岡宏紀, 井戸田陽子, 矢野健太郎, 荻原琢男 : 初代ヒト肝細胞三次元培養法の薬物代謝酵素誘導試験における有用性, 日本薬物動態学会第 30 回年会, 東京, 11/12-11/14, 2015.

④ 荻原琢男, 井戸田陽子, 加藤多佳子, 矢野健太郎, 荒川大, 安竹良礼, 宮島千尋, 笠原文善 : アルギン酸による重金属吸着作用の解析, 第 42 回日本毒性学会学術年会, 金沢, 6/29-7/1, 2015.

⑤ 金井佑樹, 矢野健太郎, 井戸田陽子, 荒川大, 井上拓民, 林正弘, 荻原琢男 : 服用者および調剤者の立場からの既存錠 2 錠と倍量大型錠 1 錠の比較検討, 第 11 回群馬県薬剤師学会学術大会, 前橋, 5/31, 2015.

⑥ T. Yasutake, Y. Idota, Y. Kogure, T. Kato, K. Yano, H. Arakawa, C. Kakinuma, C. Miyajima, F. Kasahara, S. Kobayashi, T. Ogihara : Effects of Calcium Alginate on Lowering Cholesterol in Rats, 第 2 回薬食国際カンファレンス, 静岡, 11/5-6, 2014.

⑦ 安竹良礼, 井戸田陽子, 木暮悠美, 加藤多佳子, 矢野健太郎, 荒川大, 柿沼千早, 宮島千尋, 笠原文善, 小林彰子, 荻原琢男 : アルギン酸による血中コレステロール低下作用, 第 58 回日本薬学会関東支部大会, 東京, 10/4, 2014.

⑧ 伴野拓巳, 橋場弘武, 矢野健太郎, 井戸田陽子, 荒川大, 林正弘, 荻原琢男 : SSRI および SNRI による K⁺チャネル阻害作用の PK/PD 解析, 第 24 回日本医療薬学会年会, 名古屋, 9/27-28, 2014.

⑨ 安部有紀, 伴野拓巳, 秋山滋男, 井戸田陽子, 矢野健太郎, 荒川大, 磯野淳一, 林正弘, 荻原琢男 : 高リン血症治療薬に対する併用注意剤の吸着性解析, 第 24 回日本医療薬学会年会, 名古屋, 9/27-28, 2014.

⑩ 荻原琢男, 井戸田陽子, 木暮悠美, 原田瞳, 河合妙子, 矢野健太郎, 柿沼千早, 宮島千尋, 笠原文善 : アルギン酸による重金属の吸収抑制および排泄促進とそのメカニズムの検討, 第 41 回日本毒性学会学術年会, 神戸, 7/2-4, 2014.

⑪ Y Kogure, Y Idota, H Harada, S Kobayashi, C Kakinuma, C Miyajima, F Kasahara, T Ogihara. Alginate Enhances Excretion and Reduces Absorption of Strontium and Cesium in Rats. Asian Federation for Pharmaceutical Sciences (AFPS) 2013-アジア薬科学会議 2013-, 濟州島, 韓国, 11/20-22, 2013.

[図書] (計 2 件)

① 安藤英紀, 飯村菜穂子, 石田竜弘, 井戸田陽子, 荻原琢男. 実践 製剤学 そしてその基盤となる物理薬剤学, 京都廣川書店, 2015.

② 荻原琢男, 井戸田陽子ら, 薬剤学実験法必携マニュアル, 2 試料の調製および分析法, 南江堂, 2014.

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称: 体内のコレステロール低下剤, 飲食品, 飼料および医薬品
発明者: 笠原文善, 宮島千尋, 荻原琢男, 井戸田陽子
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特願 2014-123351
出願年月日: 2014 年 6 月 16 日
国内外の別: 国内

名称: センウム排泄, 有害金属排泄剤, 飲食品, 飼料および医薬品
発明者: 笠原文善, 宮島千尋, 荻原琢男
権利者: 同上
種類: 特許
番号: PCT/JP2013/073943
出願年月日: 2013 年 9 月 5 日
国内外の別: 外国

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井戸田 陽子 (IDOTA, Yoko)
高崎健康福祉大学・薬学部・研究員
研究者番号: 90629594

(2) 研究分担者

矢野 健太郎 (YANO, Kentaro)
高崎健康福祉大学・薬学部・助手
研究者番号: 40644290

荻原 琢男 (OGIHARA, Taku)
高崎健康福祉大学・薬学部・教授
研究者番号: 80448886

張 鵬堯 (ZHANG, Pengyao)
高崎健康福祉大学・薬学部・研究員
研究者番号: 80643311

(平成 26 年 7 月 8 日削除)