

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：32525

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2017

課題番号：26860442

研究課題名(和文)海産食品中有機ヒ素の代謝における化学形態変化の解明

研究課題名(英文)Metabolism of organo-arsenic in seafood in an artificial gastrointestinal system

研究代表者

畑 明寿(Hata, Akihisa)

千葉科学大学・危機管理学部・講師

研究者番号：10433690

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：海産食品はヒ素含有量が比較的多いことから健康リスク評価が求められている。そこで海産食品に含まれる有機ヒ素化合物であるアルセノシュガー(AsSug)、アルセノリピッド(AsLipid)の消化過程での溶出および化学形態変化について知見を得ることを目的とし、模擬的消化環境を用いた観察を行った。その結果、被験食品であるワカメからの有機ヒ素溶出には腸内細菌が大きく関与していた。また、ワカメに含まれているAsSugとAsLipidは模擬的消化環境下ではDMAには変化しなかった。これらの有機ヒ素化合物は消化管で吸収された後に肝臓等でDMAへと代謝されている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Seafood contains organic arsenic compounds such as arsenosugar (AsSug) and arsenolipid (AsLipid). The mechanisms of elution and metabolism of these arsenics in the human gastrointestinal tract are not clearly understood. In the present study, we observed the amount of arsenic elution from wakame seaweed and the metabolism of the AsSug and AsLipid in a in vitro artificial gastrointestinal system. In this result, the human enteric bacteria increased the amount of eluted arsenic from wakame seaweed. After artificial digestion, not DMA but several AsSugs and an unidentified arsenic compound were detected. These results suggested that the AsSug and AsLipid are absorbed from the gastrointestinal tract and then metabolically converted to DMA in liver.

研究分野：衛生学

キーワード：海産食品 食品衛生 有機ヒ素化合物 硫化ヒ素化合物 腸内細菌叢 化学形態別分析

## 1. 研究開始当初の背景

海産食品はヒ素含有量が比較的多いことから健康リスク評価が求められている。海産食品に含まれるヒ素化合物は、ヒジキなどの例外を除いては有機ヒ素化合物がその大半を占め、魚介類はアルセノベタイン (AsBe) やアルセノリピッド (AsLipid)、海藻類はアルセノシュガー (AsSug) や AsLipid などの有機ヒ素化合物を多く含んでいる。

ヒ素は化学形態により毒性が大きく異なる。国際がん研究機関 (IARC) は、無機ヒ素はヒトに対して発がん性が認められるとして Group 1 に、無機ヒ素代謝により生じるメチル化ヒ素 (モノメチルアルソン酸 (MMA)、ジメチルアルシン酸 (DMA)) は発がん性を有する可能性があるとし Group 2B に、海産動物に多く含まれる AsBe など代謝を受けない有機ヒ素化合物は、発がん性を有するとは分類できないとして Group 3 に分類されている。

AsSug や AsLipid はヒト体内で主に DMA などのジメチルヒ素化合物へと代謝される。また AsSug を経口摂取した者の尿からはヒ素発がんへの関与が強く疑われているジメチルモノチオアルシン酸 (DMMTA) が検出されている。しかしながら、AsSug や AsLipid の摂取リスク評価はなされていない。

## 2. 研究の目的

海産食品に含まれる AsSug、AsLipid の体内での代謝や代謝中間体の毒性等に関する知見は十分とはいえない。本研究では、海産食品に含まれる AsSug と AsLipid の消化管内における溶出および化学形態について知見を得ることを目的として、模擬的消化環境を用いて観察を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) 被験食品

被験食品には食用海藻として代表的なワカメ (*Undaria pinnatifida*) を選んだ。乾燥ワカメを千葉県内のスーパーマーケットにて購入し研究に用いた。被験ワカメに含まれる総ヒ素量は、湿式灰化サンプルを誘導結合プラズマ-質量分析計 (ICP-MS) で分析することにより求めた。

### (2) 模擬的消化環境

模擬的消化環境は胃液、胆汁・膵液、腸内細菌の3相とした。胃相では、ワカメに模擬胃液を加え 37 °C で4時間振盪を行った。これを中和した後、ブタ胆汁及び膵臓抽出成分を加え 30 分間振盪した。脱気の後、健康なヒト糞便から採取した腸内細菌を添加し、嫌気条件下で 24 時間振盪した。対照として腸内細菌非添加群を設定した。この間、定期的

サンプリングを行った。

### (3) 海藻からのヒ素溶出量の測定

模擬的消化環境の各相で採取したサンプルをフィルター濾過後、ICP-MSにて総ヒ素量を測定した。湿式灰化ワカメで求めたヒ素含有量を 100% の値とし、模擬的消化環境の各相におけるワカメからのヒ素溶出率を算出した。

### (4) 海藻からのヒ素溶出に關与する腸内細菌の検索

腸内細菌添加群については、ヒ素溶出に關与する細菌を検索するため、次世代シーケンス解析による微生物相解析を行った。

### (5) ヒ素化合物の化学形態別分析

模擬的消化環境におけるヒ素化合物の化学形態は高速液体クロマトグラフ-ICP-MS (HPLC-ICP-MS) および高速液体クロマトグラフ-飛行時間型質量分析計 (HPLC-TOF-MS) により分析した。HPLCにおけるヒ素化合物の分離には、陽イオン交換カラムと陰イオン交換カラムを用いた。各種ヒ素標準物質と HPLC 溶出時間が一致しないヒ素化合物が検出された際には、HPLC-TOF-MS を用いて化学組成の解析を行った。

## 4. 研究成果

### (1) 模擬的消化環境におけるワカメからのヒ素溶出率

模擬胃液添加4時間後のヒ素溶出率は13%、模擬胆汁・膵液添加30分後での累積溶出率は19%、腸内細菌添加24時間後の累積溶出率は108%となった。一方、腸内細菌非添加群では31%であった。以上の結果より、模擬的消化環境におけるワカメからのヒ素溶出には腸内細菌が大きく関与していた。

### (2) 腸内細菌添加サンプルの微生物相解析結果

腸内細菌添加0および24時間後のサンプルを対象に微生物相解析を行った結果、腸内細菌添加24時間後では嫌気性菌の一部が大幅に増加していた。先行研究において、これらの細菌はヒト腸内常在菌であることが報告されていた。また、海藻細胞壁の多糖類を分解する酵素の産生能力が優れていることも報告されていた。このことから、今回の検討でみられた腸内細菌添加後のワカメからのヒ素溶出率上昇には、これらの腸内細菌が関与している可能性が示唆された。

### (3) 模擬的消化環境における AsSug と AsLipid の化学形態変化

模擬的消化環境での観察に先立ち、本研究に用いるワカメに AsSug と AsLipid が含まれることを確認した。

模擬的消化環境の各相においてワカメから溶出したヒ素化合物の化学形態を HPLC-ICP-MS 及び HPLC-TOF-MS を用いて分析した結果、元来ワカメに含まれていた AsSug と AsLipid に加え複数の未同定ヒ素化合物が検出された。しかしながら、海藻摂取者における尿中ヒ素の主成分である DMA は検出されなかった。

続いて AsSug の一種である AsSug328 の標準品を被験物質とし、模擬的消化環境における化学形態変化について観察を行った。その結果、ワカメを用いた場合と同様に DMA への変化は認められなかった。AsSug328 から生じたヒ素化合物の一部については、HPLC-TOF-MS により化学形態を同定した。これらは AsSug の基本骨格である 5-デオキシリボフラノースを維持していた。また、腸内細菌添加後にはチオ型 AsSug が生じることも確認した。

以上の結果より、ワカメに含まれる AsSug および AsLipid は消化管内では DMA へと代謝されず、肝臓等において代謝されている可能性が示唆された。

#### 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2件)

Akihisa Hata, Momoko Hasegawa, Hidetoshi Kurosawa, Kenzo Yamanaka, Yuko Yamano, Yoko Endo, Noboru Fujitani, Ginji Endo.

Improving the Efficiency of Organoarsenic Extraction from Seaweeds.

Food Safety, 2(4), 160-170, 2014. 査読あり

DOI: 10.14252/foodsafetyfscj.2014037

Akihisa Hata, Hidetoshi Kurosawa, Yoko Endo, Kenzo Yamanaka, Noboru Fujitani, Ginji Endo.

A biological indicator of inorganic arsenic exposure using the sum of urinary inorganic arsenic and monomethylarsonic acid concentrations.

J Occup Health 58, 196-200, 2016. 査読あり

DOI: 10.1539/joh.15-0241-OA

##### [学会発表](計8件)

長谷川 桃子, 畑 明寿, 黒澤 英俊, 山中 健三, 山野 優子, 圓藤 陽子, 圓藤 吟史, 藤谷 登.

ワカメに含まれる有機ヒ素化合物抽出法の検討.

第20回ヒ素シンポジウム, 銚子市, 2014年12月6日.

Akihisa Hata, Momoko Hasegawa, Hidetoshi Kurosawa, Kenzo Yamanaka, Yuko Yamano, Yoko Endo, Noboru Fujitani, Ginji Endo.

Improving the efficiency of organoarsenic extraction from edible seaweeds.

ISTERH2015, Dubrovnik, Croatia, 2015.

畑 明寿, 長谷川 桃子, 藤谷 登, 圓藤 陽子, 圓藤 吟史.

食品中有機ヒ素化合物の発がんリスク: 代謝と腸内細菌の関与.

第59回日本薬学会関東支部大会, 船橋市, 2015.

畑 明寿, 黒澤 英俊, 圓藤 陽子, 山中 健三, 藤谷 登, 圓藤 吟史.

無機ヒ素曝露の生物学的モニタリング指標値の検討

第21回ヒ素シンポジウム, 徳島市, 2015.

Akihisa Hata, Hidetoshi Kurosawa, Yoko Endo, Kenzo Yamanaka, Takenori Yamauchi, Yuko Yamano, Noboru Fujitani, Ginji Endo.

Biological monitoring of inorganic arsenic exposure: An effective monitoring even in people with seafood ingestion.

International Society for Environmental Epidemiology 2016, Rome, Italy, 2016.

畑 明寿, 圓藤 吟史, 山中 健三, 圓藤 陽子, 藤谷 登.

無機ヒ素の生物学的曝露指標値について.

第86回日本衛生学会学術総会, 旭川市, 2016.

A. Hata, M. Hasegawa, K. Yamanaka, Y. Endo, Y. Yamano, T. Yamauchi, N. Fujitani, G. Endo.

A role of enterobacteria in arsenic intake from seaweed.

10th International Symposium on Biological Monitoring in Occupational and Environmental Health (ISBM-10), Biomonitoring for Chemical Risk Assessment and Control, Naples, Italy, 2017.

大友 祐輝，長谷川 桃子，畑 明寿，  
山中 健三，圓藤 吟史，藤谷 登．  
模擬的消化環境におけるアルセノシュ  
ガー328 の化学形態変化．  
第 23 回ヒ素シンポジウム，つくば市，  
2017 ．

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

畑 明寿 (HATA, Akihisa)

千葉科学大学・危機管理学部・講師

研究者番号：1 0 4 3 3 6 9 0