

The effects of fulvic acid obtained from tropical peatland in Central Kalimantan, Indonesia on human vascular endothelial cells
(インドネシア、中央カリマンタンにおける泥炭由来フルボ酸のヒト血管内皮細胞に及ぼす影響)

北海道大学大学院 環境科学院
環境起学専攻 環境適応科学コース
中島 立揮

フルボ酸とは植物などが微生物により分解される最終生成物である腐植物質のうち、酸によって沈殿しない無定形高分子有機酸である。土壌や天然水中に広く分布しており、特定の化学構造をもたず、化学組成は生成環境によって大きく異なることが知られている。現在、健康に資するサプリメントとしてフルボ酸が販売されているが、フルボ酸の生体影響が解明されていないので、当然どのような効果があるかは具体的に詳しく説明されていない。また、フルボ酸はフミン酸同様、天然では多くの金属と錯体を形成する。その錯体を形成する金属の種類や量は、化学組成同様にフルボ酸の生成環境によって大きく異なる。

本研究の先行研究においては、黒皮病等飲用に用いている住民の健康影響の観点から、細胞を用いてインドネシア、カリマンタン島の熱帯泥炭地の天然水から採取されたフミン酸の生体への影響を調べていた。フミン酸とはフルボ酸と同様に無定形高分子有機酸の腐食物質であるが、酸に可溶性フルボ酸に対して、酸に不溶性腐食物質である。先行研究ではフミン酸は河川に含まれていた濃度でアポトーシスを誘導すること、その誘導機構としてフミン酸がキレートしていた鉄等に由来する酸化ストレスによるものと結論付けられていた。一方、フルボ酸に関してはフミン酸に比べてこれまで研究結果が少なく、生体影響も完全に解明されていない。本研究ではこの結果を踏まえ、フミン酸と同様に天然水中に含まれているフルボ酸の生体への影響を評価することを目的とした。

本研究では先行研究と同じく、ヒト血管内皮細胞 (human vascular endothelial cells : HUVEC)を用いた。またフルボ酸はインドネシア、カリマンタン島の熱帯泥炭地の河川水から抽出したものをを用いた。HUVECに任意の濃度(0-100mg/l)のフルボ酸をそれぞれ添加し、24時間もしくは48時間ごとに細胞生残率をトリパンブルー染色法を用いて測定した。また同様にしてフルボ酸と同時に1000 μ M硫酸銅水和物や10 μ M過酸化水素を添加して生残率の変化より添加硫酸銅や過酸化水素の効果を評価した。また、その効果を定量化するために、細胞内チオール基濃度をDTNB法を、DNAの断片化を細胞より抽出したDNAの電気泳動法を用いて測定した。

結果としては、フルボ酸にはフミン酸のようなアポトーシスを誘導する効果は認められず、そのことはフミン酸と同程度の鉄が結合したフルボ酸においても認められなかった。またフミン酸と過酸化水素を同時に細胞に添加したときに見られた細胞生残率減少効果も、フルボ酸では認められなかった。このことより、フルボ酸にはフミン酸のような過酸化を促進しアポトーシスを誘導するような毒性効果が認められなかった。一方、硫酸銅水和物とフルボ酸を同時に細胞に添加したところ、硫酸銅水和物のみを細胞に添加した時に起きる細胞死の減少が緩和される効果が確認された。そのため細胞内のチオール基の量を測定したところ、フルボ酸と硫酸銅水和物を添加したサンプルには硫酸銅水和物のみを添加したサンプルに比べてチオール基量が多いことが確認された。このことにより、フルボ酸はフミン酸とは逆に、生体内の過酸化を抑制する効果があることが予測された。今後、この詳細な機構の解明に努めていく予定である。