

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K10048

研究課題名(和文)胎児-乳児期の重金属曝露が小児精神神経発達に与える影響：乳歯による新測定法の開発

研究課題名(英文)The Association between Exposure to Heavy Metals during Pre-/Neonatal Periods and Neurodevelopment - Analysis of Milk Teeth

研究代表者

安光ラヴェル 香保子 (Yasumitsu-Lovell, Kahoko)

高知大学・医学部・特任助教

研究者番号：60598522

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：落葉乳歯の測定方法については、液体クロマトグラフィー誘導結合プラズマ質量分析法(LC-ICP-MS)による先行研究はあるが、蛍光X線を用いた先行研究は無いため、光学顕微鏡による断面観察、操作電子顕微鏡(SEM)研究を用いたマッピング、X線(ポリキャピラリー集光・KBミラー集光)による測定を実施した。その結果、P, Ca, Ni, Zn, Hg, Pb, Sr, Cu, Cr, Mnなどのうちいくつかの重金属について、特徴的な濃集を確認することができた。また、曝露時期を推定するのに必須であるneonatal lineを把握できることをほぼ確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Our method to measure heavy metal distribution using X-ray fluorescence seems to be applicable to estimate exposure timing during critical developmental windows, perinatal and early childhood periods when individuals are most susceptible to chemical exposures as well as to pursue repeatability.

研究成果の概要(英文)：Although previous studies on the measurement of deciduous milk teeth using liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry (LC-ICP-MS) have increased in recent years, there are no previous studies on similar measurement methods to this study using X-ray fluorescence. We conducted studies utilizing optical microscopy, manipulated electron microscopy (SEM), and X-ray (polycapillary-focused and KB mirror-focused) measurements. The X-ray measurements were carried out at the KEK, High Energy Accelerator Research Organization. Characteristic concentrations of some heavy metals such as P, Ca, Ni, Zn, Hg, Pb, Sr, Cu, Cr and Mn were identified. Neonatal lines, which is essential for estimating the timing of exposure, were also confirmed.

研究分野：小児環境医学

キーワード：重金属曝露 乳歯 小児 精神神経発達

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

乳歯は、胎児～生後1年ほどの間に作られ、環境曝露に対し最も脆弱性の高い期間における胎児自身の曝露の蓄積情報を持っている貴重な生体試料であるため^{1,2}、6～12歳時に脱落した乳歯を分析した研究が実施されてきた。しかし殆どの研究が総蓄積量は計測しているものの、曝露時期とその量の特定はしていない、或いは、曝露時期と量まで特定している研究については、(1) Laser ablation ICP-MS (以下 LA-ICP-MS) にて測定しているため歯をレーザーで掘り進む過程で誤差が生じやすく分析精度が低いという限界があった。

2. 研究の目的

曝露時期に関する情報を得るとともに、測定の再現性を追求するため、放射光蛍光 X 線分析法 (SR-XRF) を用いて非破壊で元素を分析した。

3. 研究の方法

2018年11月から2019年1月にかけて高知大学医学部附属病院で乳歯9本を採取し(抜歯前にインフォームドコンセントを取得) 乳歯を生理食塩水に浸漬し、5°Cの冷蔵保存をした。ヘキササン凍結した試料をマイクロームでスライスした(厚さ: 10µm、川本式フィルム法)。亜鉛やストロンチウムなどの金属の分布は、つくばの KEK フォトンファクトリーにて、ポリキャピラリーおよび KB ミラーを用いた放射光蛍光 X 線分析を行った。また、インテリジェントマイクロスコープを用いて、出生時期を示すエナメル質や象牙質の組織線である新生児線(Neonatal line)を確認し、その新生児線を参考に、亜鉛とストロンチウムの曝露時期量を推定した。

4. 研究成果

結果：

放射光蛍光 X 線分析により、9本の乳歯から重金属 (P, Ca, Ni, Zn, Hg, Pb, Sr, Cu, Cr, Mn) が検出された。P と Ca はハイドロキシアパタイトから象牙層で検出された。金属の分布は試料によって異なるが、亜鉛とストロンチウムは一部の試料で特徴的な濃度を示した。しかし、亜鉛とストロンチウムの濃度がある試料でも、その分布は不均質であり、個々の研究対象者の履歴を反映している可能性が示唆された。

考察：

必須微量元素である亜鉛に関する過去の研究結果は、水銀やカドミウムへの曝露に対する保護作用と神経毒性が指摘されている^{3,4}。半減期が長いストロンチウムは人体に有害であるため、特に新生児が影響を受けやすい出産前、出産後、新生児期には注意深く観察する必要があることが示唆された。

本研究で実施した重金属分布測定法は、個人が化学物質曝露の影響を最も受けやすい重要な発達段階である周産期や幼児期の曝露タイミングを推定するだけでなく、再現性を追求するためにも適用できると思われる。

今後、より多くのサンプルを用いて、分析法を標準化するとともに、Hg、Cu、Cr、Mnなどの他の重金属を分析する必要がある。また、本手法の信頼性を確認するために、同じサンプルを用いて LA-ICP-MS で測定した結果との比較など、さらなる調査が必要である。

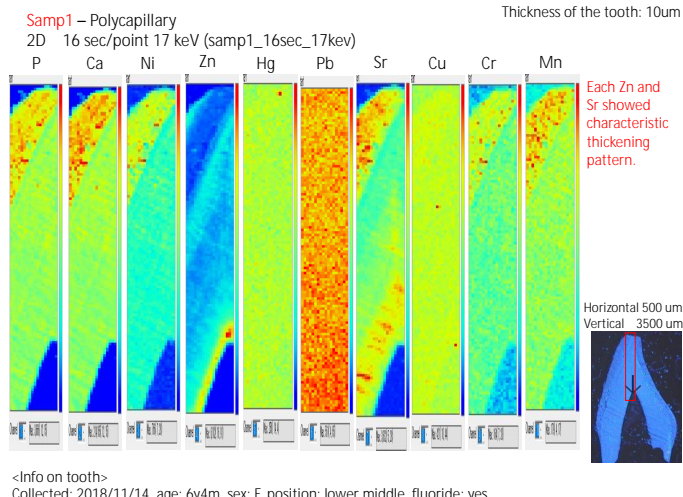


図 1 : ポリキャピラリーによる重金属の測定

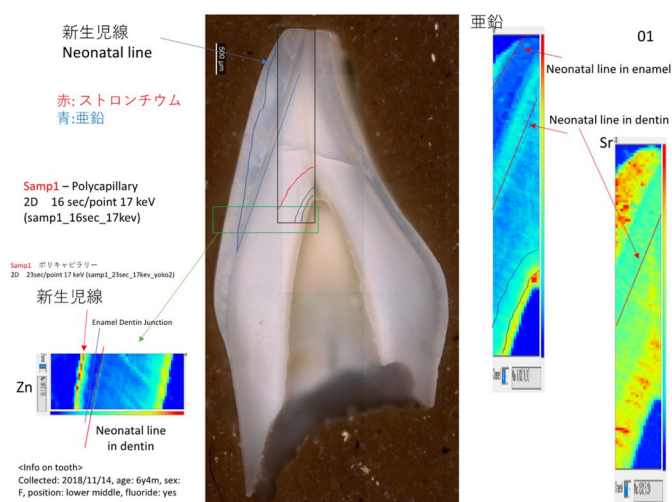


図 2 : 新生児線と亜鉛およびストロンチウムの分布

参考文献

- [1] Arora M, Bradman A, Austin C, Vedar M, Holland N, Eskenazi B, et al. Determining fetal manganese exposure from mantle dentine of deciduous teeth. *Environ Sci Technol*. 2012;46:5118-25.
- [2] Bauer JA, Claus Henn B, Austin C, Zoni S, Fedrighi C, Cagna G, et al. Manganese in teeth and neurobehavior: Sex-specific windows of susceptibility. *Environ Int*. 2017;108:299-308.
- [3] Austin C, Richardson C, Smith D, Arora M. Tooth manganese as a biomarker of exposure and body burden in rats. *Environ Res*. 2017;155:373-9.
- [4] Tvinnereim HM, Lygre GB, Haug K, Schreuder P, Klock K. A biobank of primary teeth within the Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa): a resource for the future. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2012;26:264-71.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Kahoko Yasumitsu-Lovell, Yoshinori Nishiwaki, Tetsuya Yamamoto, Masamitsu Eitoku, Naomi Mitsuda, Narufumi Suganuma
2. 発表標題 Synchrotron Radiation X-Ray Fluorescence Analysis (SR-XRF) of Heavy Metal Accumulation in Deciduous Teeth
3. 学会等名 the 18th International Conference of the Pacific Basin Consortium For Environment and Health. 16-19 Septembber, 2019. Kyoto, Japan (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 the 18th International Conference of the Pacific Basin Consortium For Environment and Health. 16-19 Septembber, 2019. Kyoto, Japan
2. 発表標題 発達障害メカニズム解明のための乳歯の放射光蛍光X線イメージング分析
3. 学会等名 第5回X線分析討論会（福島県福島市 コラッセふくしま）～ X線分析を通して福島の復興を考える～
4. 発表年 2019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
研究分担者	満田 直美 (Mitsuda Naomi) (30611389)	高知大学・医学部・特任助教 (16401)	
研究分担者	菅沼 成文 (Suganuma Narufumi) (50313747)	高知大学・教育研究部医療学系連携医学部門・教授 (16401)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	栄徳 勝光 (Eitoku Masamitsu) (50552733)	高知大学・教育研究部医療学系連携医学部門・講師 (16401)	
研究分担者	西脇 芳典 (Nishiwaki Yoshinori) (50632585)	高知大学・教育研究部人文社会科学系教育学部門・教授 (16401)	

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