

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：82101

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2018～2020

課題番号：18KK0269

研究課題名（和文）胎児期から乳児期の乳歯による経時的有害元素の曝露評価とその影響の臨界期特定

研究課題名（英文）Determination of prenatal and postnatal exposure to toxic and trace elements using deciduous teeth and the identification of critical windows of their effects

研究代表者

岩井 美幸 (Iwai-Shimada, Miyuki)

国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・主任研究員

研究者番号：80723957

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,800,000円

研究成果の概要（和文）：乳歯は、乳児期から学童期にかけて脱落がおこる非侵襲的な生体試料であり、新産線と呼ばれる出生時の線があり、この線を基点に胎児期と生後1年程度までの長期的かつ時間依存的な曝露に関する情報が蓄積されている。本研究ではこの乳歯の特徴を生かした分析手法を、日本で収集された乳歯に適用し、乳歯中のさまざまな元素を、妊娠22週から生後10か月頃までを1週間の分解能で分析し、長期的な金属類の曝露の変遷を明らかにし、特に乳歯のSr、Mn、Ba、Znレベル（Ca比）は出生前後で特徴的な変化を示すことを見出した。本分析手法を大規模出生コホート調査の乳歯に適用することで、新たな研究につながると期待された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児期から乳児期の金属類等の曝露や必須微量元素の欠如は、子どもの成長と発達に大きな影響を与える。しかしながら、長期的な金属類の曝露変遷や、いつの時期の曝露や欠如が子どもの発達によくないのかといった情報は限られている。本研究は、米国マウントサイナイ医科大学と共同し、乳歯の特徴を最大限生かした分析手法を、日本でも再現し、日本で収集された乳歯にも適用できることを確認した。今後、この手法を大規模出生コホート調査に適用することで、様々な疾患等のアウトカムと金属類の曝露変遷との関連を明らかにできることが期待される

研究成果の概要（英文）：A deciduous tooth is a non-invasive biological sample that falls off from infancy to school age. The deciduous tooth has a line at birth called the neonatal line and has information for long-term and time-dependent exposure from the fetal period to about 1 year after birth. Therefore, the purpose of this study was to clarify the elemental transition from fetal period to infancy using deciduous teeth collected in Japan. Various elements in deciduous teeth were analyzed for the period from gestational 22 weeks to 10 months after birth with a resolution of 1 week. As a result, Sr, Mn, Ba and Zn levels (Ca ratio) in deciduous teeth showed characteristic changes before and after birth. We are convinced that applying this analytical method to deciduous tooth samples from the large-scale birth cohort study will lead to new research developments.

研究分野：環境保健、曝露科学

キーワード：乳歯 元素 バイモニタリング コホート調査

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

胎児期から乳児期の化学物質曝露は、成長や発達への影響が最も懸念される時期である。この時期の金属類等への曝露や必須微量元素の欠如は、子どもの成長と発達に大きな影響を与える。しかしながら、長期的な金属類曝露の変遷や、どの時期にどの程度の曝露が起きているかは、十分に解明されていない。近年、乳歯の新産線(出生時の線)をもとに、日々の成長にともない形成されていく象牙質の層上の元素分析が可能になった。この手法は、マウントサイナイ医科大学の Arora 教授らのグループが開発し、乳歯を用いて妊娠中期から出生後 1 年程度の期間を 1 週間の分解能で、鉛や亜鉛レベルの測定が可能である。この手法を双生児研究に適用し、自閉スペクトラム症児では、出生前の亜鉛(必須微量元素)の低下と出生前後の鉛増加(鉛は重金属で子どもへの IQ 低下などの影響が報告)を見出し、自閉スペクトラム症児では、金属類の調節不全があるのではないかという研究成果を報告した(Arora et al., Nature Communication. 2017;8:15493)。本報告は、子どもへの影響を考える上で、臨界期に関する重要な知見をもたらした。また、研究開始当初、10 万人規模の出生コホート調査である「子どもの環境と健康に関する全国調査(エコチル調査)」において、脱落乳歯の収集が計画されていた背景から、日本においても本分析手法を構築する必要があった。

### 2. 研究の目的

本研究では、米国マウントサイナイ医科大学との国際共同研究により、1) 時間情報を保持した状態で乳歯の多元素分析を実施し、多検体の分析に応用可能なハイスループット分析法の確立を日本でも行うこと、2) 乳歯を用いて出生前後の必須元素などの栄養実態ならびに重金属の曝露変遷を明らかにすることを目的とし、子どもへの影響時期(臨界期)を明らかにできる手法を目指した。

### 3. 研究の方法

#### 乳歯の収集：

ウェブ調査により収集した乳歯(約 200 名)、パイロット調査試料を分析対象試料とした(約 100 名)。また、出生後の母乳摂取期間、粉ミルク摂取期間に関する質問票調査を実施した。ウェブ調査で乳歯を提供した対象者の平均年齢(標準偏差)は、平均 10.5 (4.1) 歳で、35 都道府県にのぼった。乳歯提供者の 25% 対象者が 12 歳以上であった。20 歳以上の乳歯提供者は、長期間保管していた乳歯の提供をいただいた。収集した乳歯のうち、質問票情報に欠測のない約 100 名の乳歯について分析を進めた。

#### 乳歯分析：

米国マウントサイナイ医科大学と国立環境研究所間で、本分析に関する技術移転に関する国際調整を行った。乳歯分析に関する本技術については、研究代表者が米国に渡航し、習得に努めた。その後、日本に帰国し、分析法の再現を進めた。

収集した乳歯から乳歯切片を作成し、レーザーアブレーション(LA)-誘導結合プラズマ質量分析(ICP-MS)にて分析を実施した。LA は NWR193nm (Elemental Scientific Lasers, USA)、ICPMS は Agilent 8800 ICP-MS (Agilent Technologies, USA)を使用した。分析条件

は表 1 に示す。分析対象元素は、カルシウム (Ca)、マンガン (Mn)、亜鉛 (Zn)、ストロンチウム (Sr) およびバリウム (Ba) 等 22 元素を対象とし、日本人用に広範囲な元素を対象とした。各種元素レベルは、Ca との比により示した。精度管理や分析感度の校正には、NIST 標準試料等を使用した。データ・統計解析は、JMP14.1 (SAS, Inc., USA) および R (R Core Team 2019) により実施した。

表 1. LA-ICP-MS の分析条件

NWR 193 laser conditions	
Wavelength (nm)	193
Helium carrier flow ( $l\ min^{-1}$ )	0.8
Fluence ( $j\ cm^{-2}$ )	5
Repetition rate (hz)	50
Spot size ( $\mu m$ )	35
Scan speed ( $ums^{-1}$ )	35
Agilent 8800 ICPMS conditions	
RF power (W)	1350
Argon carrier flow ( $L\ min^{-1}$ )	0.6
Plasma gas flow ( $L\ min^{-1}$ )	15
Sample depth (mm)	5
Sacan mode	Peak hopping
Integration time (ms)	50-55

参考文献 : Nature Communication. 2017;8:15493

## 4. 研究成果

### 4-1. 乳歯の多元素同時分析法の確立

従来、乳歯の元素分析は、乳歯を薬剤で溶かし分析されていた。この方法では、乳歯の特徴である時間軸の情報は消失し、1つの乳歯から1つの分析データしか得ることができなかった。本科研費で取り組んだ分析手法は、乳歯の特徴を最大限生かして、時間軸の情報を保持したまま、多元素同時に測定できる非常に画期的な手法である。

乳歯を切断、包埋し、分析に供した。日毎の乳歯中元素分析の精度管理について、10%を再分析し、その再現性の確認をした。同一機種別の別な装置でも同様の分析再現性が得られるかどうかを確認した (図 1 と図 2)。合わせて、NIST 標準試料等を使用し、分析感度の確認と校正を行った。同一の乳歯を繰り返し 5 回分析した場合、分析ごとに研磨を重ねたにも関わらず、高い再現性があることを確認した。また、乳歯中の各種元素を、1 週間の分解能で妊娠中期から生後 10 ヶ月頃までの期間を分析することも確認した (図 2)。22 元素を同時に分析し、なかでも乳歯中 Sr、Mn、Ba および Zn レベル (Ca 比) は、乳歯中に多く含有されており、容易に検出された。一方で、現在の分析条件では分析感度が十分でない元素、乳歯中に取り込みがない、または少ない元素 (水銀やヒ素など) もあった。

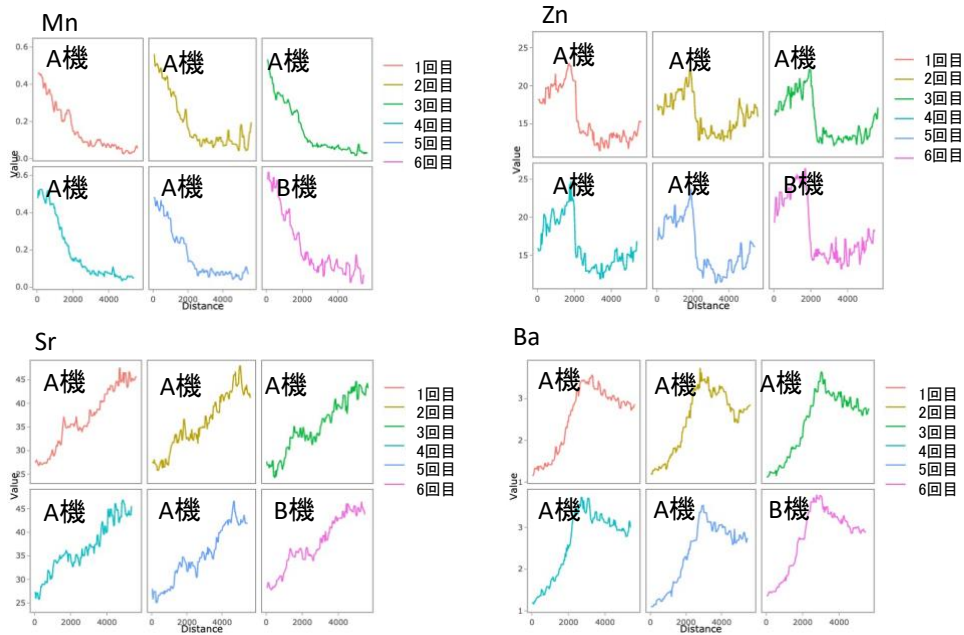


図 1. 乳歯中元素分析の再現性

Y 軸は各元素の Ca との比、X 軸は測定距離を示す

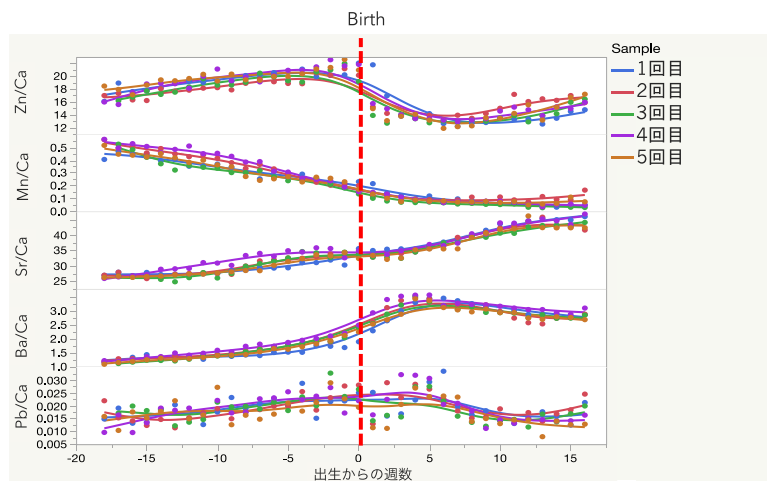


図 2. 乳歯中元素分析から得られるデータとその再現性

Y 軸は各元素の Ca との比、X 軸は出生からの週数を示す

#### 4-2. 出生前後の金属類の曝露変遷

重度のう蝕等により分析できない乳歯を除いた約 100 名の乳歯を分析した。乳歯中の各種元素を、1 週間の分解能で妊娠中期から生後 10 ヶ月頃までの期間を分析できた。その結果、乳歯中の Sr、Mn、Ba および Zn レベル (Ca との比) は、出生前後に特徴的な変化を示した。特に Mn レベルは、全ての乳歯で、胎児期は高く、出生後に急激に低下した (図 3)。Ba と Sr レベル (Ca 比) は、母乳栄養、人工栄養 (粉ミルク) または混合栄養によって、それらの元素レベルが異なり、粉ミルクの摂取により Ba と Sr レベルは母乳栄養のみの対象者に比べ、高いレベルを維持していた (本成果について、論文投稿準備中)。乳歯中の Mn および Zn レベル (Ca 比) の出生前後における特徴的な変化は、先行研究と同等の結果であった。また乳歯中の Sr や Ba レベル (Ca 比) の変遷は、生後の栄養法に左右されることが示唆された。乳歯を分析することによって得られた出生前後の元素推移につい

て、これまで十分な知見が日本にはなかった。本研究手法は、今回紹介する元素以外にも多くの元素を分析でき、疫学研究で得られるアウトカムと融合することにより、全く新しい疫学手法が可能になり、それは、日本のみならず、世界で新しい知見となりうる。

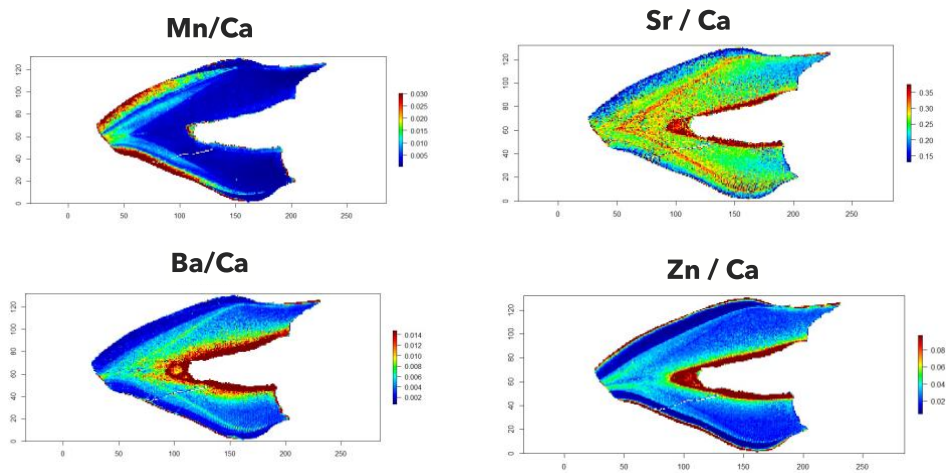


図3. 乳歯中の元素マッピング  
Mn、Sr、Ba、Zn レベルを Ca との比で示す

謝辞：本研究にあたり、乳歯の提供をいただいた協力者の皆様に感謝いたします。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 岩井美幸, 中山祥嗣, 磯部友彦, 小林弥生, 鈴木剛, 野村恭子	4. 巻 74
2. 論文標題 化学物質曝露と子どもの健康との関連に関する研究動向	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Hygiene	6. 最初と最後の頁 18030
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1265/jjh.18030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩井美幸, オースティン クリスティーン, 中山祥嗣, 小林弥生, 磯部友彦, アローラ マニッシュ
2. 発表標題 胎児期から乳児期までに乳歯中の元素推移
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2020・第8回メタロミクス研究フォーラム・第6回日本セレン研究会 生命金属に関する合同年会 (2020)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩井美幸
2. 発表標題 鉛の曝露源と長期的な曝露推移
3. 学会等名 衛生薬学・環境トキシコロジー第7回フォーラム2020若手研究者の会 (2020) (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小林弥生
2. 発表標題 ハイネーテッドテクニックを用いた元素のメタボローム解析
3. 学会等名 第28回クロマトグラフィーシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021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	仲井 邦彦 (Nakai Kunihiko)  (00291336)	東北大学・医学系研究科・教授  (11301)	
研究分担者	中山 祥嗣 (Nakayama Shoji F.)  (00368705)	国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・室長  (82101)	
研究分担者	小林 弥生 (Kobayashi Yayoi)  (00391102)	国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・主任研究員  (82101)	

	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
研究協力者	磯部 友彦 (Isobe Tomohiko)	国立研究開発法人国立環境研究所・環境リスク・健康研究センター・主任研究員  (82101)	
研究協力者	アローラ マニッシュ (Arora Manish)	マウントサイナイ医科大学・環境医学・公衆衛生学・教授	
研究協力者	オースティン クリスティーン (Austin Christine)	マウントサイナイ医科大学・環境医学・公衆衛生学・准教授	

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			
米国	マウントサイナイ医科大学			