

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590753

研究課題名(和文)レア・アース元素の健康影響 - 吸入曝露実験による次世代影響 -

研究課題名(英文)Health Effects of Rare Earth Elements

研究代表者

千葉 百子 (Chiba, Momoko)

順天堂大学・医学部・その他

研究者番号：80095819

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：レア・アース元素は産業上不可欠であるが体内分布や生体影響は詳らかでない。そこで労働者の作業、曝露、影響を明らかにする目的でマウスを用いて吸入曝露を、量・影響関係を明らかにする目的で静脈内投与実験を行った。投与するレア・アース元素はセリウム(Ce)とサマリウム(Sm)とした。吸入曝露の場合は主に肺に沈着した。静脈投与の場合は投与元素の臓器分布に雌雄差があることが示唆された。精巣中濃度が低いこと、妊娠マウスへの投与後の胎児死亡、発育、肉眼的な異常などが認められないことから次世代影響の関与は低いと考えられる。また、母体から胎児への移行は僅かであることから血液・胎盤関門が機能していると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Rare earth elements (REEs) are essential in the field of new industrial technologies. There has been little information about their health effects and organ distribution. Two types of animal studies were conducted; inhalation exposure for the standpoint of occupational health, and iv-injection for dose-effect study. As the elements for exposure Cerium (Ce) and Samarium (Sm) out of 17 REEs were selected. These elements were mainly distributed in the lung and very low concentration in testes in case of inhalation. After iv-injection sex differences were observed. After Ce or Sm was injected to pregnant mice, there was no fetal death, growth retardation, or macroscopically observable signs. These REEs seem to have no reproductive toxicity and adverse effect on the offspring. The concentrations of these REEs in fetus were significantly lower than those in mothers. It was suggested that the placental barrier was impermeable to these REEs.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：レア・アース元素 環境保健 産業衛生 次世代影響 血液-胎盤関門 セリウム サマリウム

1. 研究開始当初の背景

レア・アースは地殻中含量が多くないことからレア・アース、希土類、とよばれ、ランタノイド系といわれるランタン(La)からルテシウム(Lu)の15元素にイットリウム(Y)とスカンジウム(Sc)を加えた17元素をさすのが一般的である。周期律表から分かるように一つのスペースに示される15元素が共通した電子配位をもつため、類似した物理化学的性質を示し、単体化や精錬が技術的に難しい。これらの元素は永久磁石、MRI用造影剤、レーザ材料、カラーテレビの蛍光体(キドカラーというテレビ商品の命名の由来)、ライターの発火石、自動車用排ガス浄化触媒、水素吸蔵合金、耐腐食性・耐摩耗性包丁材料、酸素センサ、イオン選択性電極、固体電解質型燃料電池、超伝導体、光学ガラス、化粧品など多くの分野の製品、特に高性能材料のものづくりに微量ながら不可欠である。日本では需要の約90%を中国から輸入している。

レア・アース元素の生体影響に関する研究は1960年代~70年代にはラジオアイソトープを使用したものが2,3みられるにすぎない。1990年代になりレア・アース元素のうちLa, Y, ユーロピウム(Eu), ガドリニウム(Gd)などを強制経口投与し、胃組織中あるいは大腿骨中の元素濃度に与える影響(鈴木幸子ら、Biomed Res Trace Elements 3, 253-4 1992)、雌雄ラットの成長、一般的な生化学指標への影響(小川幸男ら、衛生化学 40, 561-9, 1994、Ogawa Y et al J Environ Pat Toxicol Oncol 14, 1-9, 1995)を観察したもののなどが報告されるようになった。Yの気道内投与に関しての報告も見られる(Hirano S et al Toxicol Appl Pharmacol 104 306-7, 1990)が吸入曝露ではない。

申請者らは1980年代の終わりごろから蛍光光度法を使用してレア・アース元素の測定をはじめた。そしてマウスにレア・アース元素を投与すると臓器中に存在する投与元素の濃度に比例してカルシウム(Ca)濃度が高まる現象を見出した(篠原厚子 千葉百子 Biomed Res Trace Elements, 1, 273-274, 1990)。この現象はレア・アース元素のうち、ランタノイド系元素のイオン半径はカルシウム(Ca)とほぼ等しく(0.99)、生体のCaの関与する機能と関係するであろうと考えられる。このことは後述する本研究課題と密接に関係している。

1993年に申請者らの教室内にプラズマ質量分析計(microwave induced plasma - mass spectrometer=MIP-MS、のちにinduced coupled plasma - mass spectrometer=ICP-MS)が設置され、専らこれらの装置を利用することにした。これは検出器として質量分析器を使用するので個々の元素を質量別に測定できる。レア・アース元素を含む生体試料の標準物質 Standard

Materialがないことから正確性を保持するために3種の原理の異なる分析方法を採用し、精度管理に問題がないことを確認し(Chiba M et al Biol Trace Element Res 43, 561-569, 1994)、本格的な動物実験を開始した。水溶性塩(塩化物)の入手できた12元素をマウスに投与した。その結果(1)投与ルート(ip, iv, po)により体内分布は異なる。(2)iv投与すると投与元素の投与量の約80%が肺、脾臓、および肝臓に分布する。(3)投与元素の肺中濃度と脾臓中濃度は逆相関し、肺中で最高濃度、脾臓中で最低濃度を示したのはテルビウム(Tb)であり、その逆、脾臓中で最高濃度、肺中で最低濃度を示したのはイッテルビウム(Yb)であった(Chiba and Shinohara, 5th International symposium on trace elements in human: New perspectives, Proceedings, University of Athens, Medical School Press, pp 831-837, Athens October 2005)。以上の結果から、物理化学的に似ている元素を生体は判別している、すなわち生物学的作用は異なると考えられる。従ってレア・アース元素の生体影響を観るとき、レア・アース元素グループとしてではなく、個々の元素として観察することが望ましい。現実の問題として、ヒトがレア・アース元素に曝露する機会は経気道であると考えられるので、吸入による基礎的研究を実施すべく、吸入曝露装置を設置し、磁石原料に使われているサマリウム(Sm)と化粧品のUV吸収剤や、レンズ研磨剤として含有されるセリウム(Ce)の曝露実験を開始し、体内分布と分布臓器における病理学的観察に着手した。

日本は資源に乏しい国であることはよく知られている。レア・アースメタルはハイテク産業では不可欠な物質であり、その需要の大部分を輸入に頼っている。一方、使用済み携帯電話や電気製品は希少元素を含有したまま廃棄されており、都市鉱山と言われる状況である。天然資源は有限であり、特にレア・アース元素の埋蔵量は圧倒的に中国に多く、日本でも需要の約90%を中国から輸入してきた。しかし、中国はすでに輸出制限に踏み切った。日本の誇るハイテク産業の維持には希少資源はRecycle, Reuseが重要であり、そうすれば廃棄物のReduceにも結び付く。従って、急速にRecycleが進むと考えられるが、ハイテク材料汚染を起こさないようにすること、そこで働く作業員の健康管理も重要である。しかし、レア・アース元素の生体影響はまだ研究途上である。本課題は早急に進めるべきであると考えている。特に次世代影響については、すでに環境省がエコ・チル調査を開始しているがレア・アース元素は含まれていない。これまでの申請者らの研究結果から、次世代影響は大きくないと推定されるが、信頼できる事実を確立しておく必要がある。むしろ作業員への影響として、体内に侵入した場合、排泄が非常に遅い。徐々に骨組

織に集まってくる。そこでレア・アース元素とイオン半径がほぼ同じであるカルシウムとの相互関係に注目することは独創的、不可欠である。もちろん肝機能、腎機能への影響も合わせて観察する。このことは現在、レア・アース元素は労働安全衛生法関連の規則の対象になっていないが、ヒトの健康障害予防対策に役立つ。

2. 研究の目的

レア・アース元素は古くから産業分野で広く用いられているが、特に近年は先端産業分野では不可欠であり、医療や化粧品分野でも使用されるようになってきた。「研究開始当初の背景」に述べたように、その生体影響を明らかにすることが重要である。ヒトが環境化学物質を取り込む主要3経路は、経気道、経口、および経皮からの取り込みであり、レア・アース化合物の曝露部位からの吸収、血流を介した各臓器への分布、代謝、排泄などを検討する必要がある。

3. 研究の方法

マウスを使用して動物実験を行った。吸入曝露実感は工業的使用頻度の高いもの、酸化物で純度が高く、粒子径の一定なものが入手可能な元素から順次着手する。吸入曝露実験は7時間/日、5日/週とし、6週齢マウスを雌雄別に4週間曝露とする。病理的、生化学的検査、繁殖実験、そのまま経過観察をするものに分ける。次世代影響実験を行う。雄のみ曝露、雌のみ曝露、および妊娠中の雌マウスを曝露させ、仔獣の数や性別、仔マウスへの移行について検討を行った。

元素の測定が重要な位置を占めるが抽出した臓器の一部を、硝酸と過酸化水素を用いて閉鎖系で分解し、ICP-MSでSm濃度を測定した。

平成23年度

レア・アース元素のうち、小型の強力磁石の材料として使われるサマリウム(Sm)とレンズ研磨剤として古くから使用されているセリウム(Ce)を選び、ICR系雄性マウスへの吸入曝露実験を行った。平均粒径 $5\mu\text{m}$ の高純度酸化物(Sm_2O_3 または CeO_2)を、吸入曝露装置を用いて、 15 mg/m^3 、7hrs/day、5 days/week の条件で、1または4週間吸入曝露した(Sm-1w群、Sm-4w群、Ce-1w群、Ce-4w群)。曝露終了翌日、および4週間通常飼育後、一群5匹を解剖した。

平成24年度

前年度レア・アース元素の雄性生殖器への分布を調べたが、雌に関するデータがほとんど報告されていないことから、サマリウム(Sm)を選び、ICR系雌性マウスへの静脈内投与実験を行った。Smの可溶性塩(SmCl_3)の5%グルコース溶液を1または 10 mg Sm/kg 体重宛単回尾静脈内投与し、翌日(20時間後)

および7日後にセボフレン吸入麻醉下で採血後、頸椎脱臼で安楽死させ、5%グルコースで肝臓を灌流した後、元素濃度を測定した。

平成25年度

妊娠マウスにSmを静脈内投与し、臓器への分布とその経時変化、母体から胎児または出生した仔マウスへのSmの移行の有無を調べた。ICR系妊娠マウス(妊娠10日目、SPF、1群3または4匹)に塩化サマリウムを、 1 mg(Sm)/kg 体重となるよう単回尾静脈内投与した。肝臓、腎臓、脾臓、卵巣、子宮(投与翌日と7日後は胎児、胎盤を含む)を摘出し酸分解ののちICP-MSにより臓器中Sm濃度を測定した。仔マウスについては、出産翌日は肝臓のみ、出生28日(4週)後は肝臓と腎臓、56日(8週)後は母マウスと同様に解剖して各種臓器を摘出しSm濃度を測定した

4. 研究成果

平成23年度

吸入曝露実験において飼育期間を通じて、体重増加抑制や肉眼的変化は認められなかった。投与元素は主に肺に沈着し、投与終了翌日において、Sm-1w群、Sm-4w群はそれぞれ約 50 、 $120\mu\text{g/g wet}$ 、Ce-1w群、Ce-4w群はそれぞれ約 15 、 $37\mu\text{g/g wet}$ で、同粒径の酸化物でも元素により肺へ取り込まれ方に違いがみられた。曝露期間が4倍になると肺濃度は約2.4倍で、継続的に肺からの排出が起きていることが示唆された。曝露中止後、4週間経過すると1週曝露群では濃度が約 $1/4$ に、4週曝露群では約 $1/2$ になり、肺からの排出速度は曝露期間もしくは蓄積量により異なると考えられた。Smは、濃度は肺より2桁低い肝臓にも分布し、濃度は曝露期間に応じて変化した。しかし、Ceは肺以外の臓器にはほとんど分布しなかった。次世代への影響に関与すると考えられる雄性生殖器の精巣には、Sm-4w群で肝臓よりさらに一桁低い濃度分布したが、Sm-1w群では対照群との差は認められず、Sm-4w群でも曝露中止後4週間が経過すると対照群レベルに戻った。

平成24年度

静脈内投与実験においてSm濃度は脾臓と肝臓が高く、腎臓はこれらに比べて低濃度であった。肝臓中Sm濃度は、 10 mg/kg 群の濃度は 1 mg/kg 群のほぼ10倍であり、Control群は検出限界かそれ以下であった。投与後、1週間経過すると濃度は投与翌日の71~76%に低下した。脾臓のSm濃度は、 10 mg/kg 群は 1 mg/kg 群の20~40倍高く、投与量によって分布しやすさが異なることを示した。投与後、1週間経過しても濃度はほとんど低下せず、むしろ増加傾向にあった。腎臓濃度は肝臓や脾臓に比べると1~2桁低かった。肝臓のSm分布は、同条件で投与した雄性マウスとほぼ同じであったが、脾臓中濃度は雄性>

雌性マウス、腎臓中濃度は逆に雌性<雌性マウスであり、臓器分布に雌雄差がある可能性が示唆された。雌性生殖器官である子宮と卵巣には、腎臓とほぼ同程度のSmが検出された。10 mg/kg 群の子宮のSm濃度は1mg/kg 群の20~40倍、卵巣では約10倍であった。子宮のSm濃度は1週間経過すると半減するのに対し、卵巣は1週間経過しても大きく変化しないことから、比較的長くSmが留まることがわかった。以上のことから、雌性マウスに静脈内投与されたSmは妊娠・出産・哺乳を通して次世代に影響する可能性が考えられる。

平成25年度

妊娠マウス投与実験において母体Sm群の体重変化はControl群と差は観察されず、肉眼的な所見にも変化は認められなかった。出産した仔マウス数は、Sm群の母体7匹では、1母体当たり 12.3 ± 1.7 (平均±標準偏差) 匹、Control群の母体6匹では 12.7 ± 2.2 匹であった。出産翌日に解剖した仔マウスの体重はSm群とControl群がそれぞれ $2.1 \pm 0.2g$ 、 $2.0 \pm 0.2g$ であり、2群間に差はなかった。継続飼育した仔マウスの出生後8週までの肉眼的所見や体重増加にも群による違いは認められなかった。

Control群の肝臓、腎臓、脾臓にはSmは殆ど検出されず、いずれも検出限界(0.001 µg/g)以下であった。母体Sm群の肝臓、腎臓、脾臓中Sm濃度は、肝臓>脾臓>腎臓であった。肝臓と腎臓中濃度は、投与翌日が最も高く、その後、経日的に低下したが、脾臓中濃度は出産翌日までは増加傾向を示しその後減少した。卵巣と子宮にもSmは分布した。卵巣中Sm濃度は、腎臓と同レベルであり、投与翌日に最も高く、その後、経日的に減少した。子宮のSm濃度は、投与後、いったん低下するが、出産後再び増加する傾向を示した。投与から7日目までは胎児のサイズが大きくなる時期で子宮重量も増えると考えられることから濃度は一時的に低下し、出産後はもとのサイズに戻ると考えられ、子宮中のSm存在量としては変動が少ないのではないかと推察される。妊娠マウスの胎盤には子宮濃度とほぼ同じレベルのSmが検出された。しかし、胎児のSm濃度は非常に低く、胎盤の1/50程度であった。図には示さないが、出生翌日の仔マウスの肝臓には、胎児全体をホモジナイズして測定した濃度と同レベルのSmが検出され、4週間後にはSm濃度は翌日の1/10以下に減少した。母体Sm群の脛骨には $0.4 \sim 1.6$ µg/g dryのSmが検出された。投与翌日から7日目にかけて骨中Sm濃度が増加し、それ以降はほぼ横ばいであった。

以上の結果から、妊娠マウスへ静脈内投与したSmは、母体内では主として肝臓と脾臓に、この他、腎臓、卵巣、子宮、胎盤にも分布することが示された。胎盤を除く分布濃度は、非妊娠雌マウスにおけるSmの臓器分布

と類似している。骨はこれまでの研究から体内希土類元素の貯蔵臓器と考えられたが、妊娠マウスにおいてもSmを蓄積することが示された。今回、胎児の臓器形成期間である妊娠10日目にSmを投与したが、胎児死亡、生育不良、肉眼的な異常などは観察されず、有害性は低いと考えられる。胎盤と胎児のSm濃度の違いから、母体マウスから胎児へのSmの移行は非常に僅かであり、血液・胎盤関門が機能していると考えられる。また、仔マウスの肝臓中Smが出生1日目から4週目にかけて激減していることから、出生後の母乳を介した仔マウスへのSmの移行の可能性も低いと考えられる。

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)

[学会発表](計14件)

1. Shinohara A., Chiba M., Kumasawa T., Matsukawa T., Sato T., Yokoyama K.: ICP-MS and microscopic studies of behavior of inhaled cerium in mice-particle size and time-dependent change. IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011, Kyoto, 5/22-26, 2011.
2. Chiba M., Shinohara A., Matsukawa T., Kumasaka T., Yokoyama K.: Comparative study of behaviors of inhaled Sm, Ce, or Eu in mice. 51st Annual Meeting & ToxExpo, Society of Toxicology, San Francisco, 3/11-15, 2012.
3. Shinohara A., Matsukawa T., Kumasaka T., Chiba M., Yokoyama K.: Deposition of inhaled rare earth elements in lung and other organs of mice. 2012 Asia-Pacific Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Jeju-do, 8/26-29, 2012.
4. Chiba M., Shinohara A., Matsukawa T., Kumasaka T., Yokoyama K.: Comparative study of behaviors of inhaled Sm, Ce, or Eu in mice. The 3rd International Conference: "Modern Problems of the geochemical environment and biodiversity", Bishkek, 9/17-21, 2013.
5. 篠原厚子, 松川岳久, 千葉百子, 横山和仁, 熊坂利夫, 佐藤次男: 吸入曝露したセリウムとユーロピウム の体内挙動に及ぼす粒子径の影響. 日本希土類学会, 東京, 5/12-13, 2011.
6. 篠原厚子, 松川岳久, 千葉百子, 熊坂利夫, 横山和仁: 吸入曝露したレアア

ースの体内挙動—サマリウム，セリウム，およびユーロピウムの肺への沈着とマクロファージ数の比較. 第84回日本産業衛生学会，東京，5/18-20，2011.

7. 篠原厚子，松川岳久，熊坂利夫，千葉百子，横山和仁:レアースの体内挙動-吸入曝露したセリウム粒子の肺における存在状態 第82回日本衛生学会学術総会，京都，3/24-29，2012.
8. 松川岳久，篠原厚子，熊坂利夫，千葉百子，横山和仁:希土類元素の体内挙動—投与経路による比較— 日本薬学会 第132年会，札幌，3/28-31，2012.
9. 篠原厚子，松川岳久，熊坂利夫，佐藤次男，千葉百子，横山和仁:吸入曝露したセリウムとユーロピウムの肺内動態と骨への移行. 第29回希土類討論会，札幌，5/15-16，2012.
10. 篠原厚子，松川岳久，千葉百子，横山和仁，熊坂利夫:吸入曝露したレアースの体内挙動に及ぼす粒子サイズの影響. 第85回日本産業衛生学会，名古屋，5/30-6/2，2012.
11. 千葉百子:微量元素研究-分析中毒学の観点から. 第23回日本微量元素学会，東京，7/5-6，2012.
12. 篠原厚子，千葉百子，松川岳久，熊坂利夫，横山和仁:吸入曝露した希土類元素のマウス肺への沈着と他臓器への移行. 第3回メタロミクス研究フォーラム，東京，8/30-31，2012.
13. 篠原厚子，平田岳史，向山翔，松川岳久，熊坂利夫，千葉百子，横山和仁:LA-ICP-MSを用いたマウス肺中セリウムのイメージング. 第83回日本衛生学会学術総会，金沢，3/24-26，2013.
14. 篠原厚子，千葉百子，松川岳久，横山和仁:サマリウムの体内動態のマウス雌雄差の検討. 第30回希土類討論会，北九州，5/23-24，2013.

6. 研究組織

(1)研究代表者

千葉百子 (CHIBA, Momoko)

順天堂大学・医学部・客員教授

研究者番号：80095819

(2)研究分担者

篠原厚子 (SHINOHARA, Atsuko)

清泉女子大学・人文科学研究所・教授

研究者番号：90157850

松川岳久 (MATSUKAWA, Takehisa)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：60453586