

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790592

研究課題名(和文) 乳歯エナメル質を用いた胎児期における内部被曝の評価法の開発

研究課題名(英文) Analysis of trace elements in deciduous enamel of children to retrospectively evaluate the prenatal environment

研究代表者

松川 岳久 (Matsukawa, Takehisa)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：60453586

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：胎児期の環境因子曝露は、出生後の児の健康に大きく影響する。東日本大震災時の福島第一原子力発電所の事故により環境中に飛散した放射性物質による人体への健康影響への国民の関心は高い。一部では曖昧な情報による社会混乱の増長が懸念されており、リスクコミュニケーションに必要な科学的評価が必要となっている。我々は、胎児期曝露の評価にあたり乳歯の出生前エナメル質に着目しレーザーアブレーション誘導結合質量プラズマ質量分析法(LA-ICPMS)による測定法を確立した。乳歯中の微量元素について、矩形レーザーを用いた測定で乳歯内元素濃度分布を明らかにし、今後の応用が可能であることを示唆した。

研究成果の概要(英文)：After Fukushima nuclear power plant accident, it has raised the need to determine the quantities of radionuclides in order to assess their potential impact on public health. A mass spectrometry is used for the determination of many long-lived radionuclides with low specific activities in biological samples. Human tooth enamel provides a nearly permanent and chronological record of an individual's environmental exposure during development. We have conducted to make procedure for analysis of elemental distribution in deciduous enamel of children to retrospectively evaluate the prenatal radionuclides exposure. We demonstrates the validity of laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS) to provide elemental distribution information in dental tissues for Fukushima's children.

研究分野：衛生学、環境医学

キーワード：微量元素 乳歯 出生前エナメル LA-ICP-MS

1. 研究開始当初の背景

2011年3月11日に起きた東日本大震災による福島第一原子力発電所(福島第一原発)の事故は、国際原子力機関(IAEA)と経済協力開発機構原子力機関(OECD/NEA)が策定した原子力発電所事故・故障の国際原子力事象評価尺度で最も深刻なレベル7の事故となった。この事故により原子炉から環境中に飛散した放射性物質による人体への影響が懸念されている。放射線によるヒトへの健康影響については、わが国の広島・長崎の原子爆弾被害の放射線影響調査が最も信頼できるデータであり、それによると100mGy以下では発がん、遺伝および胎児への影響を含めて有意な影響は確認されていない。しかし、放射線による健康影響への国民の関心は高く、一部では曖昧な情報に由来する風評被害が社会混乱を増長させることが懸念されており、リスクコミュニケーションに先立つ十分な科学的評価が必要となっている。特に懸念されている小児への影響について、最も重要となるのが妊娠初期の胎児に対する影響である。医療被曝でも注意が喚起されているように、妊娠2~8週までの器官形成期の胎児は放射線感受性が高いことから放射線の影響が問題となり、形態異常発生、精神発達遅滞などの頻度が高くなることが知られている。胎児の被曝について外部被曝は比較的容易に評価できるが内部被曝の影響についての評価は困難である。一般的に内部被曝を評価する方法としてホールボディカウンターを用いる体外測定法や、排泄物やその他の生体試料により体内汚染量を推定するバイオアッセイなどがある。しかし、体外測定法は線のみを検出するため、線や線は検出できず内部被曝の程度を知ることは難しい。また、バイオアッセイは妊娠初期の胎児に対する適用が困難である。そのため、胎児期の内部被曝を推測する評価法の開発が望まれている。

申請者は妊娠初期の胎児における内部被曝量を推定するための試料として乳歯の出生前エナメル質に着目した。出生前エナメル質は乳歯エナメル質において neonatal line(新産線)と呼ばれる組織学的に明瞭な黒褐色の複屈折線条によって区別されるエナメル質の層である(Fig.1)。乳歯のエナメル質は胎児期に形成が始まり、生後約2-3ヶ月で形成を終えるが、新産線はこの過程において出産に伴う大きな生活環境の変化に由来する石灰化の不良により生じる。同線を基準として、それよりもエナメル象牙境側に作られた層は出生前エナメル質、表面側に作られた層は出生後エナメル質と呼ばれる。エナメル質形成過程における石灰化は、関わる細胞群によって隔離された微小環境内で基質蛋白と水溶液相の共存下で進行し、その後は血流などから隔絶される。そのため、エナメル質中の元素は形成時点における水溶液相のイオン組成が反映され、保存されると考えられている。すなわち出生前エナメル質中の放射性物質を始めとする元素量を測定できれば、胎児が実際に曝露された内部被曝量をより正確に推定できると考えられる。しかしながら、乳歯エナメル質は0.3mm、出生前エナメル質においては0.1mmほどの薄い層である。さらにエナメル質中の核分裂生成物濃度は数pptからppb程度と予想されることから、従来の方法では出生前エナメル質の元素濃度測定は困難であった。本研究ではレーザーアブレーション・誘導結合プラズマ質量分析法(Laser Ablation Inductively Plasma Mass Spectrometry(LA-ICP-MS))の応用によりこの極小試料中における元素濃度を測定する。

2. 研究の目的

本研究では、LA-ICP-MSによる出生前エナメル質中の元素について定量法を確立する。つぎに、本法を小児の自然脱落した乳歯

に適用する。まず、平成 24 年の時点で 5 歳以上の小児の乳歯により検討を行い福島第一原発事故以前の元素の曝露状況を明らかにする。質問紙調査による各指標との関連から、出生前あるいは出生後エナメル質中の微量元素と小児の成長・発達へのリスクを推定し、今後の疫学研究にむけての内部被曝の影響を考慮するための基礎データを採取する。

3. 研究の方法

検体として、震災時に福島県下に居住していて、かつ保護者の同意が得られた児童から乳歯の提供を受けた。同時に保護者に対象児童の発達の状況、妊娠中の薬物摂取歴、妊娠中の異常などの妊娠経過、生後の発達発育歴などについての質問紙調査を行った。得られた乳歯の出生前エナメル質の元素濃度を測定した。

評価法確立のため、LA-ICP-MS による出生前エナメル質中の微量元素測定法を検討した。試料の前処理法、照射するレーザーの波長・強度および照射面積等を検討し、出生前・出生後エナメル中微量元素の測定に適した測定法を確立した。

乳歯中エナメルの前処理については以下の手順で行った。冷暗所にて保存しておいた乳歯試料を測定に先立ち表面を超純水にて洗浄した。次に試験台に乳歯を固定し、その唇舌的長軸に沿って唇側の遠心的中央の縦断切片を硬組織切断機により作成し、これを LA-ICP-MS 分析に供した。LA は NWR-193 (ESI 社) を、また ICPMS には iCAP Qc (Thermo Fisher Scientific 社) を用いた。固定した縦断切片の表面を光学顕微鏡下で観察したのち、乳歯断面の全領域に対して一辺 75 μm の矩形レーザーをラスタリングしてサンプリングを行い、ICPMS で元素量の測定を行った。

なお、縦断切片の残り半分は硝酸と過酸化水素により分解し、溶液導入法による ICPMS 測定 (Elan DRC2, Perkin Elmer 社) を行っ

た。

4. 研究成果

福島県下の子供たちより得られた乳歯検体は 9 例であった。

現在測定が完了している試料 No.1 について LA-ICPMS の結果が得られたので図 1 に示した。

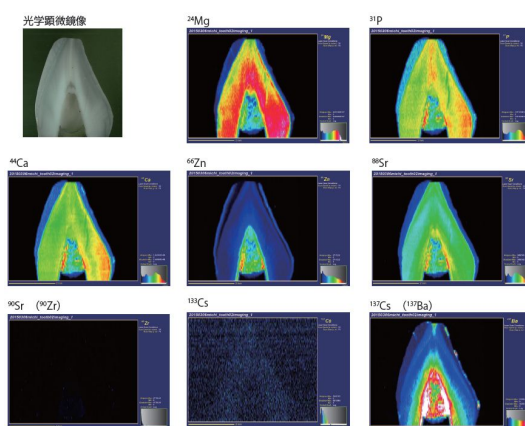


図 1、試料 No.1 の LA-ICPMS 測定結果

適切な標準物質が得られていないため、相対的な ICPMS の信号強度分布で示してある。青で示した領域は対象元素の信号強度は低く、赤い領域では信号強度が高いことを示している。Mg、P、Ca など多くの元素について、象牙質に比べてエナメル質の信号強度が低くなっているが、これは、レーザーによって試料がアブレーションされ易いか否かを反映していると考えられた。エナメル質の Zn には、新産線の付近を境に明らかに分布に差があり、胎内と生後の栄養源の差を反映している可能性が高いと考えられた。ただし、その分布は顕微鏡下で観察された新産線と完全に重なるものではなく、エナメル表層に濃集していた。なおエナメル質先端の咬耗部には観察されなかったため、エナメル形成後に外部から Zn が浸透して Ca 等に置き換わった可能性は低いと考えられた。今回の検体では、 ^{90}Sr はほとんど検出されなかった。また、 ^{137}Cs は ^{137}Ba と同重体干渉を起こすため、今回の質量分析計での微量分析は困難であると思わ

れた。

次に試料 No.2 について、新産線前後のエナメル質に着目して測定を行った(図2)。この図では、元素分布を正確に把握するために、試料に大量に存在する ^{43}Ca の信号強度で測定対象元素の信号強度を割った値をもとに二次元プロットを作成した。

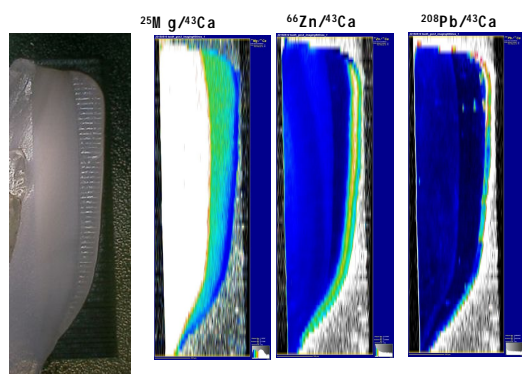


図2、試料No.2のLA-ICP-MS測定結果。

Mg に関してはエナメル質中の Mg/Ca 比は象牙質に比べて低い、顕微鏡下で観察された新産線を境に内側で Mg/Ca が高く、新産線から外側に行くにしたがって低くなる傾向を示した。一方、Zn に関しては試料 No.1 と同様に、新産線とは傾向が異なる形でエナメル質外側に濃集帯があった。この検体についても咬耗部では Zn/Ca 比は高くなっておらず、エナメル形成後の外部からの移行は考えにく。また、Pb に関しては新産線の前後で濃度変化は見られなかったが、乳歯外縁部で濃集帯があった。当検体についても ^{90}Sr はほとんど検出されなかった。

乳歯エナメル質中の元素分布は、今回主なターゲットとした Sr や Cs のみならず、必須元素についても知見がほとんど得られていない。胎内被曝の評価をするに先立ち、必須元素の分布についても明らかにする必要があると考える。そのため、本検討により得られたエナメル質中の元素濃度分布は貴重な情報である。胎児期に形成されたエナメルと出生後に形成されたエナメルでは Ca のみならず

元素組成が大きく変化している可能性が示唆され、特に、Zn の分布が顕微鏡下で観察した新産線とは異なる分布を呈することについては、今後、さらなる検討が望まれる。Zn についてはエナメル形成時に児の栄養源が臍帯血経由から母乳に移行すること、臍帯血と母乳で Zn 濃度が顕著に異なることが知られているため、その影響を考えたが、今回の検討結果はこの点では説明がつかない分布であった。定説では、一度形成されたエナメル質は無機化するため元素の出入りがほとんどないとされているが、Pb のような元素に関しては、エナメル中の Ca などの元素と置き換わる可能性も念頭に入れて解析を進める必要があることが示唆された。内部被ばく評価に先立ち、より多くの検体を測定し、まずエナメル中の必須元素の分布を明らかにする必要があると考えた。

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4件)

- 1) 横山和仁, 篠原光代, 松川岳久, 西岡笑子: 微量元素の胎児期曝露による小児発達障害への影響に関する研究. 平成 24 年度順天堂ハイテク・リサーチセンター環境医学研究所紀要: 46-48, 2013.(査読無)
- 2) 横山和仁, 篠原光代, 松川岳久, 西岡笑子, 丁申: 微量元素の胎児期曝露ストレスによる小児発達障害への影響に関する研究. 平成 23 年度順天堂ハイテク・リサーチ・センター環境医学研究所紀要: 63-65, 2013. (査読無)
- 3) 松川岳久, 向山翔, 平田岳史, 横山和仁: 微量元素の胎児期曝露指標 乳歯エナメル質中の微量元素分析法の開発. 産業衛生学雑誌 55: 39, 2013. (査読無)

- 4) 横山和仁, 松川岳久, 丁申, 篠原光代, 西岡笑子: 微量元素の胎児期曝露ストレスによる小児発達障害への影響に関する研究. 順天堂医学 58: 460, 2012. (査読無)

〔学会発表〕(計4件)

- 1) 松川岳久, 横山和仁, 平田岳史, 林秀男, 篠原厚子, 千葉百子, 大森由紀: 乳歯エナメル質を用いた胎児期有害元素曝露評価法の開発. 第84回日本衛生学会学術総会, 岡山, 5/25-27, 2014.
- 2) 平田岳史, 向山翔, 坂田周平, 岡林識起, 篠原厚子, 松川岳久, 横山和仁: レーザーアブレーション-ICP質量分析法(LA-ICPMS法)の生体応用. プラズマ分析研究会 第87回講演会, 東京, 3/8, 2013.
- 3) 松川岳久, 向山翔, 平田岳史, 横山和仁: 微量元素の胎児期曝露指標-乳歯エナメル質中の微量元素分析法の開発-. 第24回産業神経・行動学研究会, 東京, 12/8, 2012.
- 4) 松川岳久, 向山翔, 平田岳史, 横山和仁: 乳歯エナメル質を用いた胎児期の内部被曝評価法の開発. 第77回日本民族衛生学会総会, 東京, 11/16-17, 2012.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松川 岳久 (MATSUKAWA, Takehisa)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号: 60453586