

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19661

研究課題名(和文)小児血中鉛の低侵襲性微量測定法の開発

研究課題名(英文)Development of invasive micrometric method for blood lead in children

研究代表者

仲井 邦彦(Nakai, Kunihiko)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00291336

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：小児を対象とする疫学調査において、侵襲性が低い耳朶採血による鉛を含む金属類の曝露評価法の確立を行なった。耳朶採血はキャピラリー採血とし、通常の静脈血と比較した。その結果、Pbのみならず、Cd、Hg、MnおよびSeについて、静脈血および耳朶血の間で高い相関が確認された。金属元素の体内レベルは、年齢とともに増加し、Cdについてはタバコ煙による曝露により高くなることが知られているが、その現象は静脈血でも耳朶血でも観察された。以上より、キャピラリー採血による耳朶からの血液採取により、金属類による曝露評価が可能であり、この方法は小児疫学調査の分野で活用することが可能と期待された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鉛は有害な重金属の一つであり、成人で貧血などの健康影響が引き起こされることが知られている。さらに最近では、従来では安全と考えられていた低レベルの鉛曝露で、小児においてIQ低下や注意欠如・多動性などが懸念されており、鉛の有害性について、小児を対象とする疫学調査による検証が求められている。ただし、鉛の曝露評価では血液を用いた金属分析が必要であり、採血を伴う侵襲性が高い調査は小児では困難であった。今回開発した耳朶からのキャピラリー採血は、侵襲性が小さく、また金属類の曝露評価も可能であることを示した。今後、小児疫学調査の領域での活用が期待された。

研究成果の概要(英文)：A lightly-invasive blood collection method from the earlobe for the determination of metallic element exposures was developed and validated in comparison. Paired blood samples were collected from the earlobe and cubital vein of 142 Japanese adults participants (85 males and 57 females). The determinations of cadmium (Cd), mercury (Hg), manganese (Mn), lead (Pb) and selenium (Se) were performed using ICP-MS. There were highly significant correlations between the earlobe metallic element levels and cubital vein metallic element levels. The both metallic concentrations were also associated with age and the exposure to tobacco smokes. These data suggest that the concentrations of metallic elements in earlobe blood can be used to assess metallic elements exposure. By using capillary blood sampling, it will be possible to determine metallic elements exposure levels with less stress on the participants.

研究分野：環境科学

キーワード：鉛 バイオモニタリング 低侵襲性 重金属 曝露評価

## 1. 研究開始当初の背景

鉛は有害な重金属の一つであり、成人では貧血などの健康影響が引き起こされることが知られている。さらに、小児においては、成人より低いレベルの鉛曝露によって知能低下や多動・注意欠如などが引き起こされることが懸念されている<sup>1)</sup>。実際、我が国でも食品安全委員会はハイリスク集団として妊娠女性、胎児、小児などを定め、その「有害影響を及ぼさない血中鉛濃度」として  $4 \mu\text{g/dL}$  を提案している。日本人の血中鉛濃度は減少傾向にあるものの、国内に少数ながらこの安全値を超えるケースが観察される<sup>2)</sup>。さらに、近年、国内外のコホート研究による知見によると、血液中の鉛濃度で  $1 \mu\text{g/dL}$  程度の低レベルでも小児では有害影響があるのではないかと指摘されている<sup>3,4)</sup>。このため小児を対象とする鉛の有害性評価は喫緊の課題と考えられる。しかしながら、鉛の曝露評価に際しては、血液を用いた重金属分析が必要となり、小児を対象とする疫学調査において、侵襲性が高い静脈採血の実施は調査参加者の負担が課題となり、鉛に関する小児疫学調査の実施は困難である。

## 2. 研究の目的

本研究では、侵襲性が低い採血法を用いて、小児を対象とする血液採取を含む疫学調査の実施に寄与する金属類の曝露評価法の開発を目指す。耳朶または指先のキャピラリー採血により得られる少量の血液を用いて高感度分析法を実施し、鉛の曝露評価が可能かを検証する。低侵襲性の鉛モニタリング法を確立することで、低レベルの鉛曝露のリスク評価や、汚染源探索などで有用な方法になるものと期待される。

## 3. 研究の方法

成人を対象として静脈血採血（肘正中皮静脈など）および耳朶血採血を実施した。耳朶採血に際しては、事前にさまざまな穿刺器具、キャピラリー管、脱脂綿などの消毒用資材、採血者用の手袋などについて、鉛による汚染を点検し、汚染度が十分に低い器具および資材を用いて調査を実施した。性別、年齢、喫煙習慣や受動喫煙の有無などについては自記式調査票により情報を収集した。キャピラリー採血で用いた資材は、 $175 \mu\text{L}$  のヘパリン処理されたガラスのキャピラリー管 (J473763, Siemens Healthcare Diagnostics Manufacturing Ltd.) を用いて実施した。血液中の元素分析は、外部分析機関にて、ICP 質量分析法 (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: ICP-MS) により実施し、Pb に加え、Cd、Hg、Mn、Se についても分析を実施した。調査に先立ち、研究計画書を東北大学医学系研究科の倫理委員会に提出し、許可を得て調査を実施した。調査参加者には調査目的と方法を説明し、書面による同意を得て調査を実施した。なお、当初は小児を対象とする実証的な調査を 2020 年度に計画していたが、新型コロナウイルス感染症が制御不能となる中で、採血を含む新たな調査実施は難しいと判断し、成人だけでの解析を進めた。

## 4. 研究成果

(1) 調査参加者について、耳朶血採取の量が十分確保できなかったなどの事情で 10 名で耳朶血の元素濃度を実施することができなかった。最終的に解析に用いた参加者 (n=142) の基本属性と耳朶血が欠損したため解析から除外した参加者 (n=10) を表 1 に示した。最終的な解析に用いた調査参加者のうち、59.7% が男性であり、喫煙者 9.2%、受動喫煙があると回答した割合 9.2% であった。

表 1 調査参加者 (n=142) および耳朶血欠損のため除外した参加者の基本属性

	Present study population			Remaining population			p value*
	n	Mean $\pm$ SD	%	n	Mean	%	
Area (1, Shizuoka)	142		54.9	10		100	0.014
Age	135	33.5 $\pm$ 12.1		8	40.6 $\pm$ 16.2		0.114
Sex (1, males)	142		59.7	10		40	0.368
Smoking habit	142			10			0.606
one-hand smoking (1, yes)			9.2			10	
second-hand smoking (1, yes)			9.2			0	

\* Student *t*-test or  $\chi^2$  test

(2) 静脈血および耳朶血を用いて、Pb、Cd、Hg、Mn および Se について、ICP-MS による元素分析を実施した。その分析結果を表 2 に示したが、静脈血と耳朶血の間に大きな差は観察されなかった。次いで、静脈血と耳朶血中の各元素の散布図を図 1 に示したが、外れ値が Hg および Mn で観察されたものの、その他の元素については相関係数 0.9 以上の高い関連性が示唆され、静脈血お

よび耳朶血でも血液中の元素濃度を測定することが可能であることが示された。Hg および Mn で観察された外れ値について、静脈血については再測定も実施したが、測定結果は同じであり、耳朶血の過小評価の可能性が示唆された。耳朶血の採取量には限界もあり、採取量は少ない場合に測定値の信頼性が損なわれることが懸念される結果かもしれない。なお、Pb などの重金属類は末梢血のうつ赤血球画分に多い。このため耳朶血採血ではヘマトクリットが偏ることで測定値に差異が生じる可能性もあることから、ヘマトクリット値による補正補正などを試みたが、末梢血と耳朶血の間の関連性の改善は見られなかった。

表 2 静脈血および耳朶血中の元素濃度

(ng/g)	n	Median	5th-95th%tile	Mean ± SD	Range
<b>Venous blood</b>					
Cd	142	0.64	0.23 - 2.04	0.75 ± 0.5	0.13 - 3.09
Hg	142	6.83	2.77 - 19.4	8.47 ± 5.7	0.69 - 36.5
Mn	142	11.9	7.41 - 20.4	12.3 ± 3.6	6.13 - 22.2
Pb	142	8.68	4.86 - 17.1	9.46 ± 3.8	3.47 - 23.9
Se	142	187	158 - 247	194 ± 32.0	99.9 - 390
<b>Earlobe blood</b>					
Cd	142	0.68	0.24 - 1.95	0.81 ± 0.5	0.10 - 2.96
Hg	142	6.58	2.38 - 20.5	8.25 ± 5.8	0.33 - 36.0
Mn	141	12	6.64 - 21.3	12.6 ± 4.3	1.80 - 28.9
Pb	142	9.64	5.22 - 17.8	10.2 ± 3.9	4.12 - 24.8
Se	142	186	154 - 244	191 ± 32.0	99.8 - 372

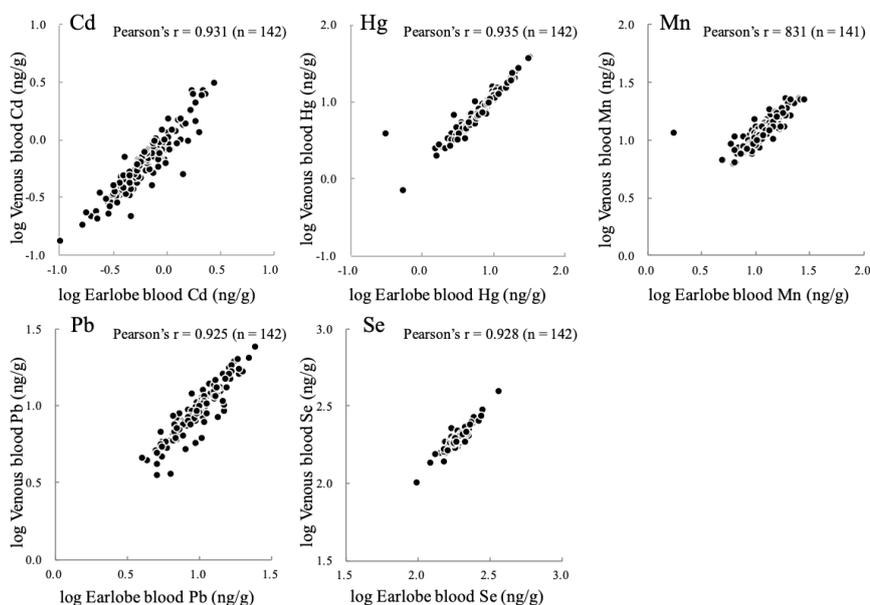


図 1 静脈血と耳朶血における元素濃度の関連性 (Pearson's product moment correlation coefficients)

(3) 血液中の元素濃度に関連する共変量について、静脈血および耳朶血でそれぞれ検討を行なった (表 3)。Pb や Cd などの重金属類は生体内半減期が長く、年齢とともに増加する傾向がある。静脈血および耳朶血のいずれでも、Pb、Cd、Hg については年齢との間で正の関連性が確認され、一方で、Mn については負の関連性が確認された。

表 3 静脈血および耳朶血中の元素濃度と年齢の関連性

	Venous blood		Earlobe blood	
	r value	p value	r value	p value
Cd	0.503	<0.001	0.415	<0.001
Hg	0.298	<0.001	0.294	<0.001
Mn	-0.302	<0.001	-0.418	<0.001
Pb	0.413	<0.001	0.356	<0.001
Se	0.22	0.01	0.109	0.208

(4) タバコの煙に Cd などの重金属類が含まれており、喫煙または受動喫煙の有無により重金属による曝露を受けることが想定される。そこで、静脈血及び耳朶血の元素濃度と喫煙習慣などとの関連性を検討した。その結果、Pb 濃度と喫煙指標との関連性は観察されなかったものの、Cd

の血中レベルと喫煙との間に関連性が見出され、その傾向は静脈血でも耳朶血でも同様であった。以上より、Pbのみならず、Cd、Hg、Mnなどの元素について、耳朶よりの末梢血採血でも、静脈血採血とほぼ同じ結果が得られることが示された。耳朶採血は静脈血採血より侵襲性は低いと考えられ、小児疫学調査での応用が期待された。

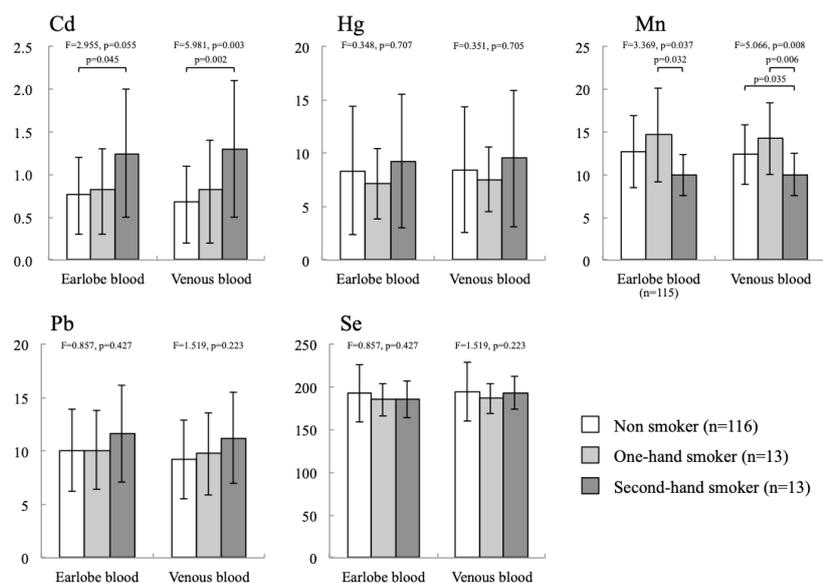


図2 喫煙習慣の違いによる静脈血と耳朶血における元素濃度 (ANOVA, mean±SE)

<引用文献>

1. Needleman HL, Gunnoe C, Leviton A, et al. Deficits in psychologic and classroom performance of children with elevated dentine lead levels. *N Engl J Med.* 1979;300(13):689-95.
2. Iwai-Shimada M, Kameo S, Nakai K, et al. Exposure profile of mercury, lead, cadmium, arsenic, antimony, copper, selenium and zinc in maternal blood, cord blood and placenta: the Tohoku Study of Child Development in Japan. *Environ Health Prev Med.* 2019;24(1):35.
3. Desrochers-Couture M, Oulhote Y, Arbuckle TE, et al. Prenatal, concurrent, and sex-specific associations between blood lead concentrations and IQ in preschool Canadian children. *Environ Int.* 2018;121(Pt 2):1235-42.
4. Tatsuta N, Nakai K, Kasanuma Y, et al. Prenatal and postnatal lead exposures and intellectual development among 12-year-old Japanese children. *Environ Res.* 2020;189:109844.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	龍田 希  (Tatsuta Nozomi)  (40547709)	東北大学・医学系研究科・准教授    (11301)	

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