

論文内容の要旨

論文題目：乳歯を用いた子宮内鉛曝露評価手法の確立 および子宮内鉛曝露量と胎児の成長に関する疫学研究

(In Utero Exposure Assessment of Lead Using Deciduous Incisor Enamel and Its Application to
Epidemiological Study on the Relationship Between Fetal Lead Exposure and Birth Weight)

氏名 瓜生 務

1. 緒言

胎児期は化学物質の影響に対してきわめて敏感である。しかしながら、胎児期に受けた化学物質の曝露と出生後の健康影響を結びつけて解析することは、子宮内化学物質曝露評価手法を開発しない限り困難である。本研究では乳歯切歯エナメル質中鉛に着目した。鉛は胎盤を容易に通過する¹。乳歯切歯エナメル質は胎児期に形成が始まり、生後2-3ヶ月で形成を終える²。形成後は血流が途絶えるので、エナメル質は母親の胎内で受けた曝露を記録していると考えられる。象牙質は出生後も形成が継続する。したがって、エナメル質、象牙質の測定を行うことにより出生前後の曝露情報が得られると考えられる。しかしながら、乳歯切歯エナメル質は $<300\ \mu\text{m}$ 程度と非常に薄いため測定が困難である。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(LA-ICP-MS)を用いて乳歯切歯エナメル質中(1)鉛濃度、(2)鉛同位体比、の最適測定条件を検討することにより、子宮内鉛曝露評価手法の確立を目的とした。続いて、(3)出生前後の鉛曝露評価、(4)子宮内鉛曝露量と胎児の出生時状態の関連、を調査することを目的とした。

2. LA-ICP-MSを用いた乳歯切歯エナメル質中鉛濃度測定

[実験方法] (LA-ICP-MS法による鉛濃度測定) 歯のマトリクスに類似した認証標準物質である Bone Meal (NIST SRM 1486) 及び Bone Ash (NIST SRM 1400) のペレット化を行い実験で用いた。LA-ICP-MSはLUV213-Agilent 7500を用いた。照射条件は、照射径 $100\ \mu\text{m}$ 、レーザー出力18、周波数10 Hz、照射時間20 s、積分時間45 sとした。Bone MealのPb/Ca比を用いて分析試料のPb/Ca比の測定を行った。

(エナメル質サンプルの作成・分析) 成人臼歯を用いて溶液化法とLA-ICP-MS法の比較を行った(n=22)。エナメル質先端を切断・洗浄し、エナメル小片および残部エナメル質を得た。残部エナメル質

は、切断面を LA-ICP-MS 法で Pb/Ca 比の測定を行った。エナメル質小片は、溶液化法（テフロン二重ポンプ法）により分解を行い³、Pb は ICP-MS（HP-4500、内部標準：Bi）で、Ca は ICP-AES（P-4010）で分析を行い Pb/Ca 比を算出した。

【結果】 LA-ICP-MS 法による鉛濃度定量性を検討した結果、（1）乳歯切歯エナメル質の鉛は容易に検出できる感度を有する、（2）乳歯切歯エナメル質のみの分析が可能な位置分解能がある、（3）溶液化法と LA-ICP-MS 法で比較を行った結果非常に良い相関が得られた ($R^2=0.92$)、ということより LA-ICP-MS 法による子宮内鉛濃度評価手法を確立した⁴。

3. LA-ICP-MS を用いた乳歯切歯エナメル質中鉛同位体比測定

【方法】 Bone Ash を用いて LA-ICP-MS による鉛同位体比測定条件の検討を行った。レーザー照射は、照射径 100 μm 、レーザー出力 18、周波数 20 Hz、ラインスキャン移動速度 10 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 、ラインスキャン移動距離 600 μm で行った。Bone Ash を用いてマスバイアス補正を行い、Bone Meal の同位体比の算出 ($n=4$) を行った。

【結果】 Bone Ash 内における鉛同位体比測定精度は 0.6-0.7% であった ($n=5$)。Bone Meal の鉛同位体比測定値は文献値と一致していたことにより同位体比測定真度が確認された (Table 1)。本手法より乳歯切歯鉛同位体比測定を行うこととした。

Table 1 鉛同位体比測定結果

	$^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$	$^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$
LA-ICP-MS (this study)	2.013 ± 0.021	0.819 ± 0.011
ICP-MS ⁵	2.018 ± 0.014	0.819 ± 0.004
Information value (NIST) ⁵	2.024	0.821

4. 出生前後における鉛曝露評価

【緒言・目的】 鉛曝露量の 90% 以上は骨に蓄積し、さらに生物学的半減期が長いこと、母親が生まれたときに使用されていた有鉛ガソリンに含まれる鉛が成人後も母親の骨に蓄積している可能性がある。妊婦が曝露している外的要因（食物、大気粉塵など）による鉛と、内的要因（妊婦の骨）からの有鉛ガソリン由来の鉛が胎児に移行する可能性がある。現代小児における妊婦の内的要因としての有鉛ガソリン由来の鉛寄与を知ることを目的とした。また、歯の鉛濃度に関する基礎調査も行った。

【実験方法】（鉛濃度・同位体比測定） LA-ICP-MS による鉛濃度・同位体測定は、エナメル質、象牙質ともに乳歯切歯先端の唇側部で行った。唇側部の層が舌側部よりも厚く、レーザー照射に適しているからである。

【結果】（鉛濃度測定） 鉛濃度測定結果を Fig. 1 に示す ($n=138$)。エナメル質、象牙質鉛濃度はそれぞれ、

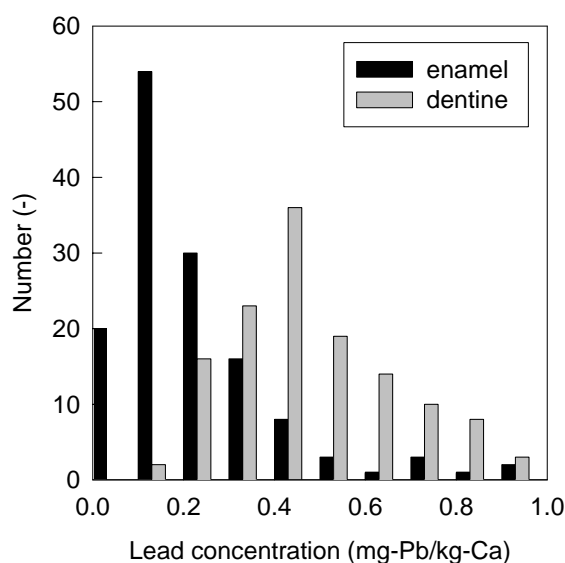


Fig. 1 エナメル質・象牙質鉛濃度

0.24 ± 0.17 、 0.58 ± 0.43 (mg-Pb/kg-Ca)であり、象牙質の鉛濃度が有意に高かった。エナメル質、象牙質間において鉛濃度の相関はみられなかった。

(鉛同位体比測定) 既往の研究および乳歯切歯エナメル質、象牙質の鉛同位体比測定結果(n=28)を Fig. 2 に示す⁶⁻⁹。エナメル質、象牙質の同位体比には有意な差はみられなかった。1900 年前半に生まれた老人の骨は有鉛ガソリンの同位体比に近かったが、1985-88 年生まれの乳歯サンプル⁷、本研究のサンプル(最頻値 1997 年)になるにしたがって鉛同位体比は左下にシフトした。子宮内鉛曝露起源が内的要因(妊婦の骨)からの鉛の寄与は少ないことが示唆された。

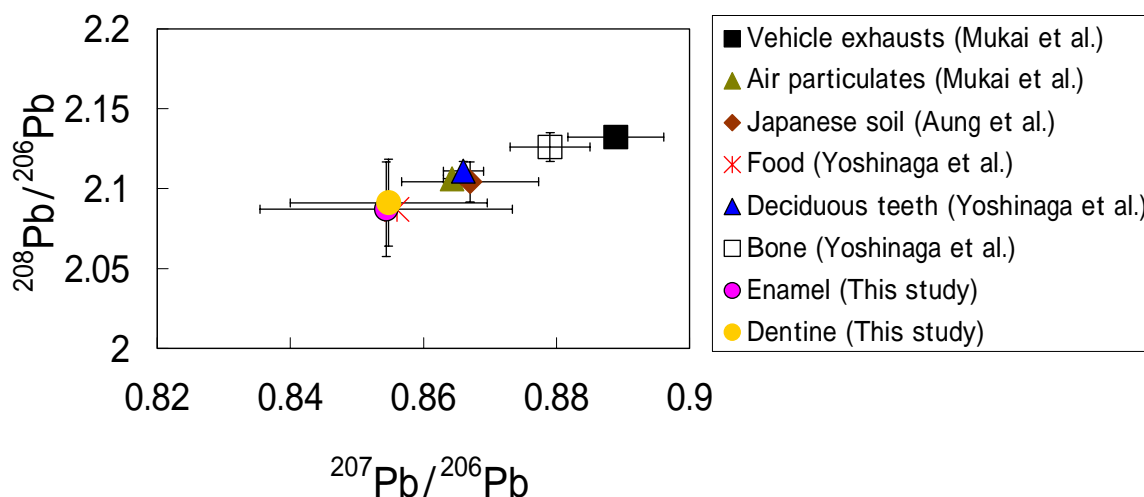


Fig. 2 エナメル質、象牙質鉛同位体比

5 . 子宮内鉛曝露量と胎児の成長に関する疫学研究

[目的] LA-ICP-MS を用いて乳歯切歯エナメル質中鉛濃度を測定し、後ろ向き断面研究により子宮内鉛曝露量と胎児の出生時状態(出生時体重など)の関連を明らかにすることを目的とした。

[方法] (研究対象者の選定) 乳歯切歯の抜歯が始まる子供を中心に 2003 年 3 月から 2003 年 10 月においてサンプルの収集を行った。小児歯科などにアンケートを配布し、受け取ったサンプルを研究対象とした。エナメル質中鉛濃度測定後、重回帰分析を SPSS を用いて行った。

(アンケートの作成) アンケートは自記式質問紙法とし、抜歯サンプル提供者(性別、在胎期間など)および、抜歯サンプル提供者の家族について(出産歴、喫煙の有無など)を質問項目とした。

[結果] (基本統計量) 男 72、女 69 の計 141 サンプルについて分析を行った。得られたサンプルの出生時体重は 3109 ± 336 g であった。誕生年の範囲は 1976 年から 1998 年であり、最頻値は 1997 年であった。

(エナメル質中鉛濃度と出生時体重) エナメル質中鉛濃度と出生時体重についての単相関を Fig. 3 に示す。エナメル質中鉛濃度と出生時体重の間には負の相関がみられた。

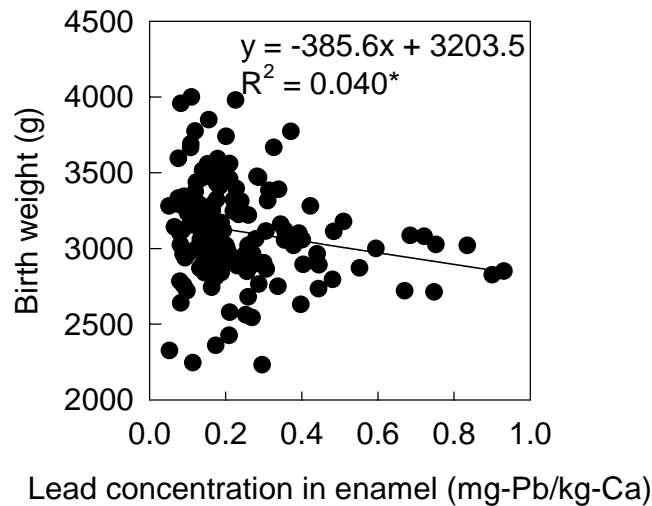


Fig. 3 エナメル質中鉛濃度と出生時体重

[重回帰分析結果] エナメル質中鉛濃度の対数変換を行い、出生時体重、身長、胸囲、頭囲を従属変数としてステップワイズ法により重回帰解析を行った結果、エナメル質中鉛濃度と出生時体重の間に負の相関がみられた (Table 2)。尚、エナメル質中鉛濃度と出生時身長、胸囲、頭囲の間に相関はみられなかった。

Table 2 重回帰解析結果 (従属変数: 出生時体重)

選択された 独立変数	単位	出生時体重		
		B		p
妊娠時体重増加量	(kg)	25.0	0.243	0.003
在胎期間	(週)	68.1	0.229	0.005
妊娠前母親 BMI	(kg/m ²)	28.1	0.218	0.009
エナメル質中鉛濃度	log(mg-Pb/kg-Ca)	-207.0	-0.165	0.037
出産歴	(yes: 1, no: 0)	108.2	0.158	0.046
切片	(体重: g)	-579.2	(調整済み R ² = 0.193)	

[結論] LA-ICP-MS を用いた子宮内鉛曝露評価手法を確立した。現代小児の子宮内曝露起源を検討した結果、妊婦の骨からの有鉛ガソリンによる鉛寄与は少ないことが示唆された。子宮内鉛曝露量と出生時体重には負の相関が見られた。

[参考文献]

- [1] K. Osman et al., 2000, *Clin. Biochem.*, **33**, 131
- [2] R. C. Lunt et al., 1974, *J. Am. Dent. Assoc.*, **89**, 872
- [3] K. Okamoto et al., 1984, *Anal. Chem.*, **56**, 1758
- [4] T. Uryu et al., 2003, *Anal. Sci.*, **19**, 1413
- [5] J. Yoshinaga, 1996, *Tohoku J. Exp. Med.*, **178**, 37
- [6] H. Mukai et al., 1990, *Bunseki Kagaku*, **39**, 177
- [7] J. Yoshinaga et al., 1998, *Appl. Geochem.*, **13**, 403
- [8] M. Sakata et al., 2000, *Geochem. J.*, **34**, 23
- [9] N. N. Aung et al., 2003, 第 12 回環境化学討論会要旨集