

PIXEによる福岡市乳幼児健診の毛髪分析 (第1報) -母親の出産後1か月及び10か月の比較-

絹川直子¹、伊藤じゅん²、前田知子³、高辻俊宏³、

中村 剛³、世良耕一郎⁴、野瀬善明¹

¹九州大学大学院医療情報学
812-8582 福岡県福岡市東区馬出 3-1-1

²日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

³長崎大学大学院生産科学研究科
852-8521 長崎県長崎市文教町 1-14

⁴岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

環境汚染の人類への悪影響は国境を越え、世代を越えて観察されている。大洋を回遊する大型魚や北極の白熊にも有害物質が高密度で蓄積されていることが確認されている¹⁾。米国環境保護庁 (Environmental Protection Agency)によると、毎年数千の新しい化合物が食品、薬剤、保護剤などとして生活環境に放出され、様々な経路を経て人体に吸収されている。また過去に放出された8万種を超える化学物質は空気・水・土に様々な形態で蓄積されているが、これらのうち、疫学調査及び毒性実験により、健康に及ぼす影響が検証されたものはごくわずかである。環境汚染の調査とともに、人体を直接検査することで体内に蓄積されている物質の種類と量(濃度)を調査し、病気を引き起こす危険性のある環境物質を特定することは急務である。

これまで、人間の体内に留まる有害物質の正確な種類と量については主に推測に頼るしかなかったが、PIXE法の開発はそれらの直接的測定を可能にした。本研究の最終目的は、乳幼児の健診臨床所見及び母親の食習慣・生活習慣と、毛髪ミネラル量と、環境起因が疑われている疾患との関連を統計解析することにより因果関係を解明することにある。

2008年5月までに、母親の出産後1か月健診時に収集された全検体842例と10か月健診時に再度収集された検体の約半数にあたる408例の毛髪のPIXE測定が終了している。全検体のPIXE測定が終了してから臨床データ及び環境・生活習慣データ等との関連を解析する予定である。今回は中間報告として、PIXE測定結果の再現性と精度を検討するために、元素毎の毛髪含有量の分布の特徴についていくつかの

所見を述べる。

なお本研究は九大大学院医学研究院等倫理委員会にて 2005 年 3 月 30 日に承認された。

2 調査方法

調査対象は福岡市に居住し、乳幼児健診を受診し調査協力承諾を得た母子である。生後 1 か月健診時と 10 か月健診時の 2 回、母子それぞれから頭髮数本をハサミで切り取ってミネラル量を PIXE 計測した。また、大型回遊魚（マグロ、ブリ、カツオ）を含む食品ごとに、妊娠中及び授乳期の摂食頻度を高・中・低の 3 段階に分けて母親から聴取した。

妊娠中毒症・未熟児出産などの母体の不健康さおよび、アトピー性皮膚炎・成長発育遅延などの乳幼児の不健康さと、毛髪中のミネラル量との因果関係を統計学的に解析する。もしも、本調査の結果、例えばアトピー性皮膚炎発症²⁾と毛髪中の特定のミネラル量とに因果関係があるとするならば、母体内でアトピー性皮膚炎に将来罹患するか否かが既に規定されているのか、離乳後の食生活に規定されているのかが識別可能となるのが期待されるので、乳幼児の成長追跡コホート調査が、謎とされている体質決定の環境因子と決定時期を解明する重大な端緒となろう。

3 毛髪を検体とする理由

毛髪は、米国環境保護庁(EPA/Environmental Protection Agency)が、生体の有害金属（ミネラル）汚染度測定に有効な組織細胞と認め、広く検体として利用されている³⁾。検体としての毛髪は、他の生体組織より優れている。尿は、排出物の測定であり、血液の場合は、排出されるか貯蔵器官に送られる前の一時的に体内循環中の成分を測ることになる。毛髪は次の様な点において優れていると考えられている。

1. 毛髪はすべての生体内の重要なミネラル成分の蓄積を示す。
2. 毛髪内のミネラルは、生活環境に存在する金属含有量に比例する傾向がある。
3. 採集・保存・運搬が容易である。
4. 繰り返し採集することも可能である。

毛髪中の微量元素を測る健康診断は現在、プラズマを使った分析法で実用化されている。ただし、1 回の分析に 150 本程度の毛髪が必要で、大人でも肉体的、精神的負担が大きいとされるが、1 か月健診時での乳児では毛髪が極端に少ないので採取自体が困難なこともある。米国医学会による最近の調査では、商業ベースで行われている毛髪ミネラル測定法の精度は低く再現性は乏しいと結論されている⁴⁾。

髪の色・漂白・パーマはミネラル量の測定値に影響を与えることが予想される。例えば、黒髪着色剤はマンガンや鉛等を、赤い染料は銅や鉄を、漂白剤はカルシウムやマグネシウムを含んでいて、それらは洗っても簡単には取り除けないとされている。一般にこれらを同時に多量に含むときは、食習慣というよりは、髪の色・漂白・パーマの化学処理の結果であることが推定される。

4 検体採取手順

1 か月と 10 か月の両方の乳幼児健診を受診し、毛髪ミネラル調査を承諾した 842 組の母子を調査対象とした。1 か月健診の最初の検体は 2005 年 11 月に採取され、10 か月健診での最後の採取は 2007 年 10 月であった。1 か月健診時における毛髪採取の方法については付録に記した。10 か月健診時における採取方法は同様なので省略した。

5 測定結果の所見

収集された検体数と PIXE 測定済み数は表1の通りである。

母1か月842検体と母10か月408検体について、元素毎の分布を比較し、分布の特徴を探索的に解析した。検出限界値以下を未検出と呼ぶ。元素毎の未検出数と率を次の表2に示す。

表1 検体数と測定済み数

	母1か月	子1か月	母10か月	子10か月
検体数	1036	1036	842	843
測定数	842	6	408	0

表2 元素毎の未検出数と率

	Na	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ti
1か月	51 6%	157 19%	336 40%	3 0%	194 23%	0 0%	362 43%	0 0%	0 0%	8 1%
10か月	11 3%	129 32%	50 12%	4 1%	197 48%	0 0%	189 46%	0 0%	0 0%	0 0%

	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	As
1か月	420 50%	371 44%	232 28%	0 0%	340 40%	130 15%	0 0%	0 0%	411 49%	573 68%
10か月	253 62%	195 48%	88 22%	0 0%	161 39%	78 09%	0 0%	0 0%	130 32%	303 74%

	Se	Br	Rb	Sr	Zr	Nb	Mo	Ag	Hg	Pb
1か月	233 28%	0 0%	95 11%	9 1%	842 100%	455 54%	398 47%	717 85%	63 7%	1 0%
10か月	82 20%	4 1%	30 7%	1 0%	360 88%	207 51%	183 45%	407 100%	32 8%	18 4%

1か月健診時の検体の全例(100%)から検出されたのは、S, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Br, Pb, Siであり、99%~90%から検出されたのはTi, Sr, Na, Hgであった。一方Ge, Y, Pd, In, Sn, Sb, Te, I, Cs, Ce, W, Pt, Auは全く検出されなかった。

図1は、1か月健診で検出された29元素を検出率の高い順(未検出率の低い順)に横軸に並べて、縦軸に未検出率をとった散布図である。19元素は70%以上の検体から、また26元素は50%以上の検体から検出されている。図2-1~5は元素ごとに1か月と10か月での分布の比較を示す。箱ひげ図⁵⁾は25%点、中央値、75%点及びかけ離れた値の分布を示す。

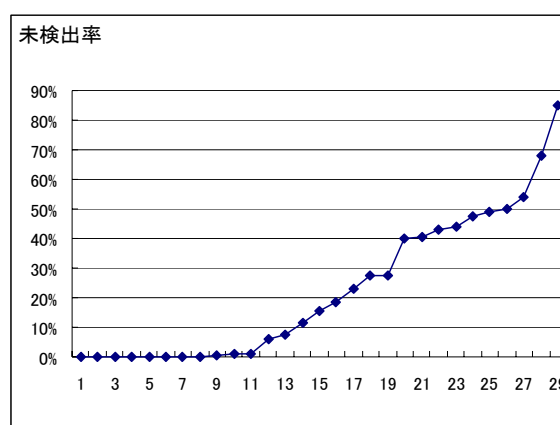


図1 未検出率の散布図

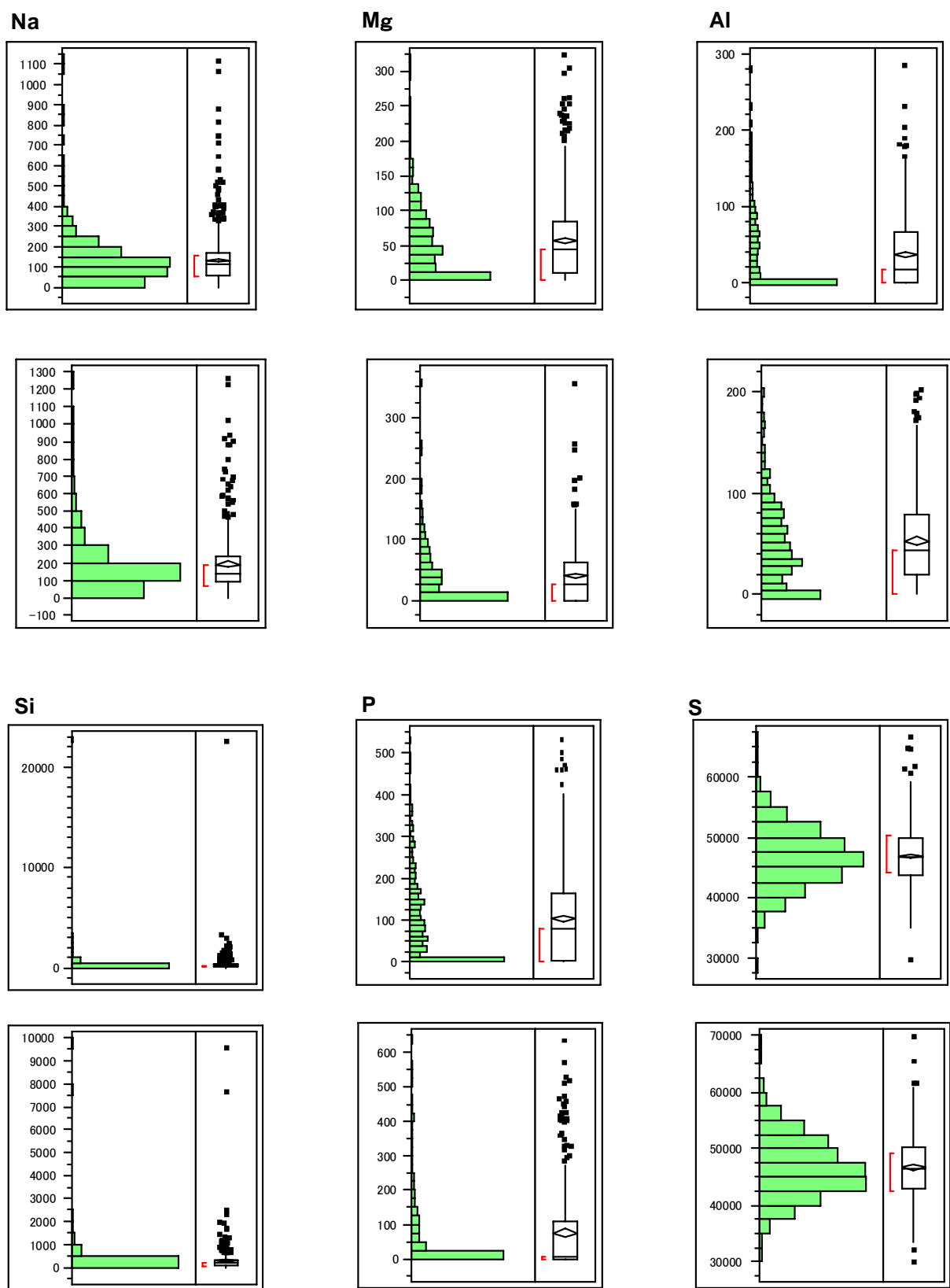


図 2-1 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 1)。上段が 1 か月、下段が 10 か月。

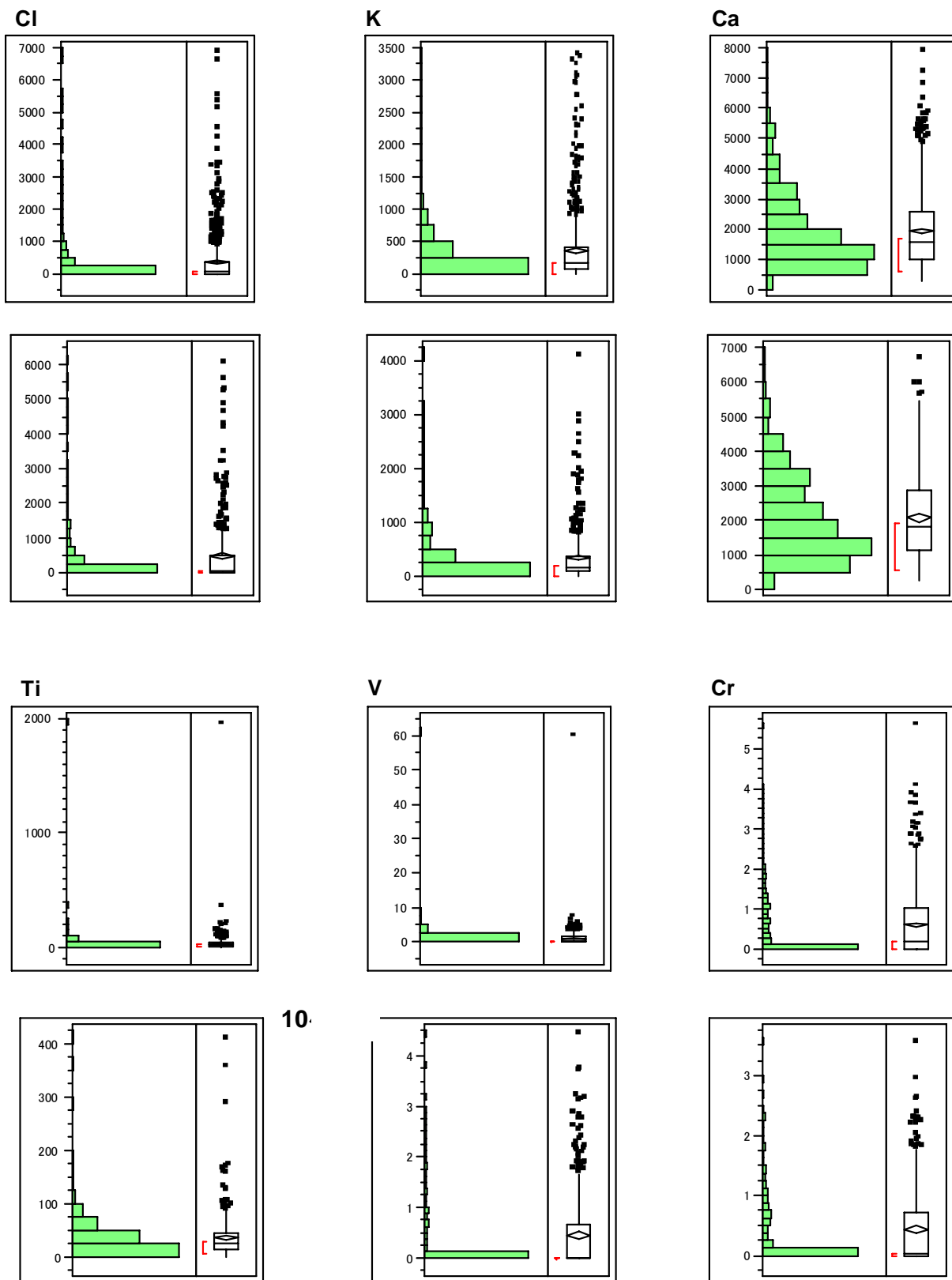


図 2-2 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 2)。

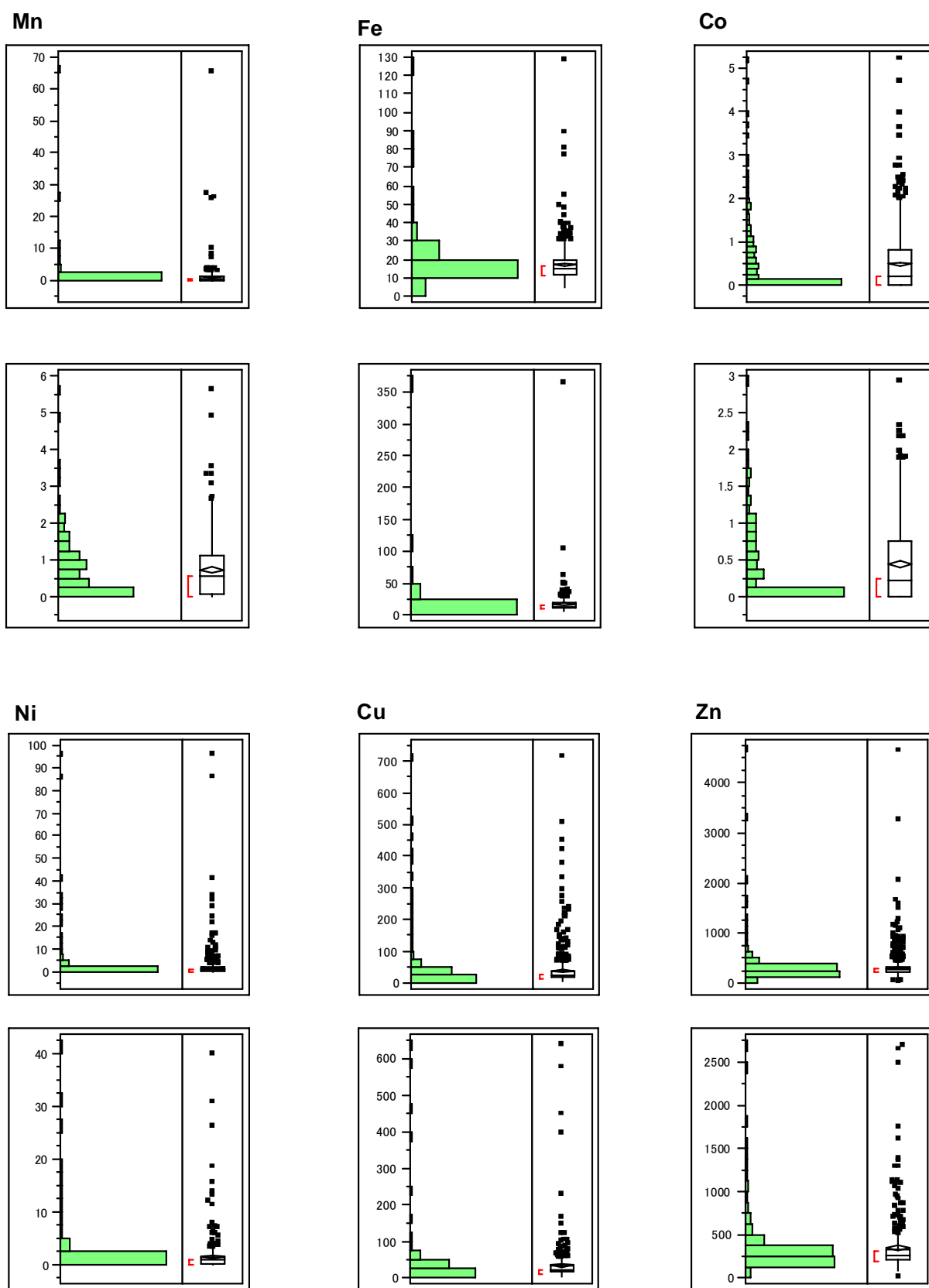


図 2-3 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 3)。

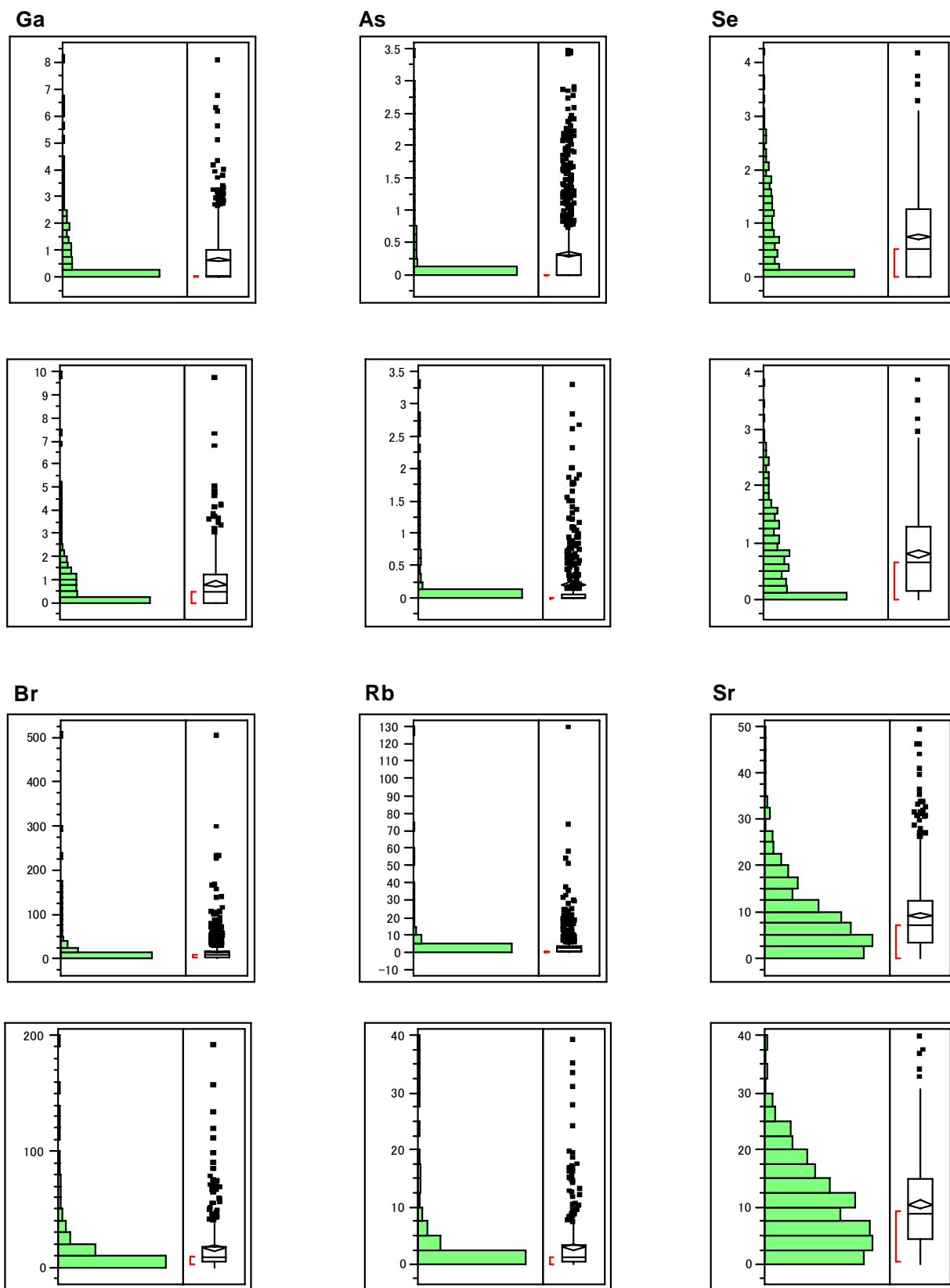


図 2-4 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 4)。

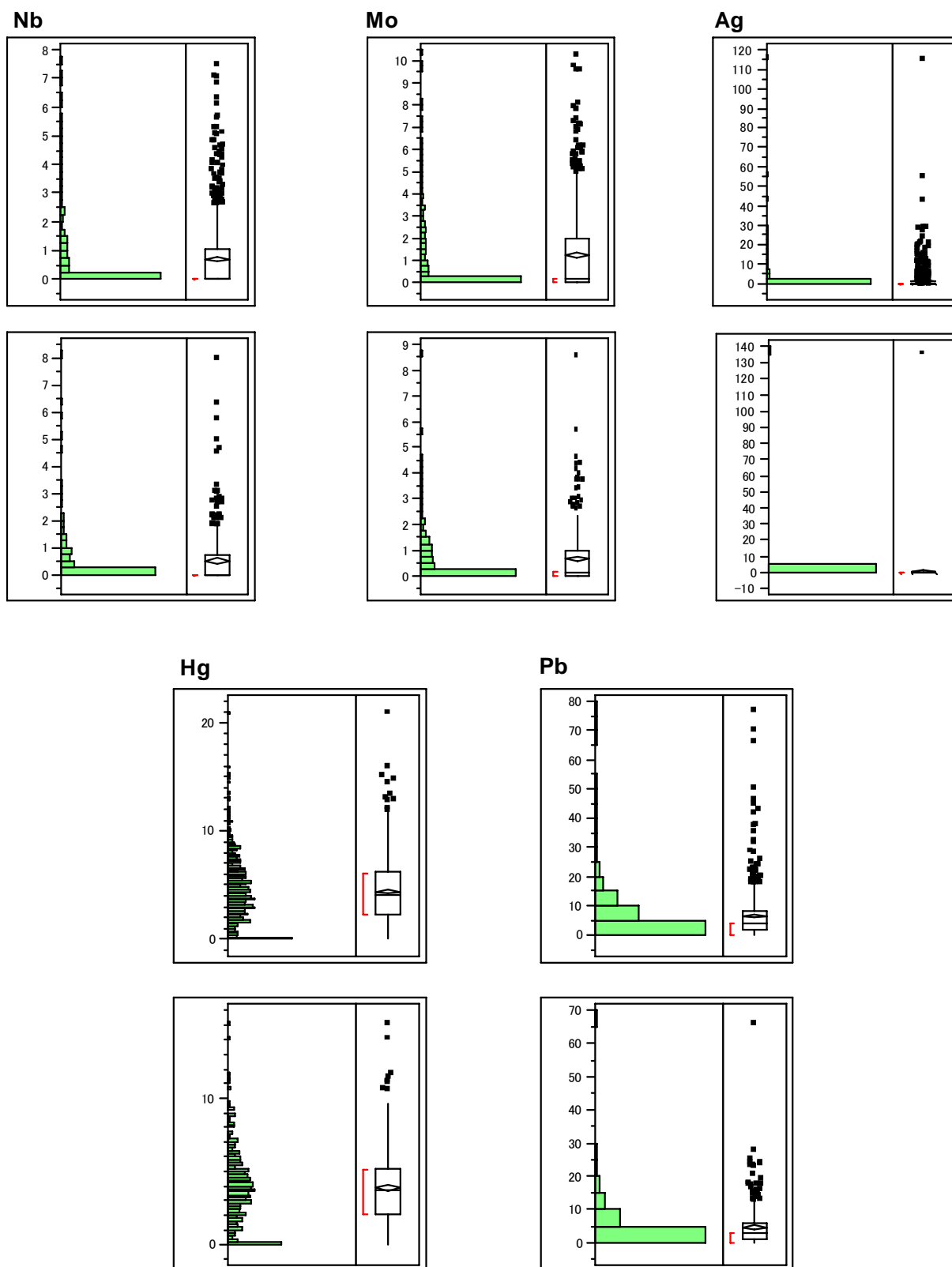


図 2-5 1 か月健診と 10 か月健診における各元素の検出値の分布 (その 5)。

外れ値に見えるような大きな値が1か月のほうに多いのは、標本サイズが大きいことによると考えられる。外れ値らしき大きな値を除くならば、殆どの元素で1か月の分布と10か月の分布の特徴がよく似ている。特にSの分布は1か月と10か月ともに近似的に平均47,000、標準偏差4,800の正規分布に従っている。

生体計測値は変数変換で正規分布に近づくことが多いので、Box-Cox変換

$$Y = \frac{X^\lambda - 1}{\lambda}$$

を適用してみた⁹⁾。これは対数変換や平方根変換などを含む一般的な変換で、多くの統計ソフトはデータの特徴から最も正規分布に近づくようなλの値を自動的に決定する。1か月健診の結果を図3-1~3に示す。

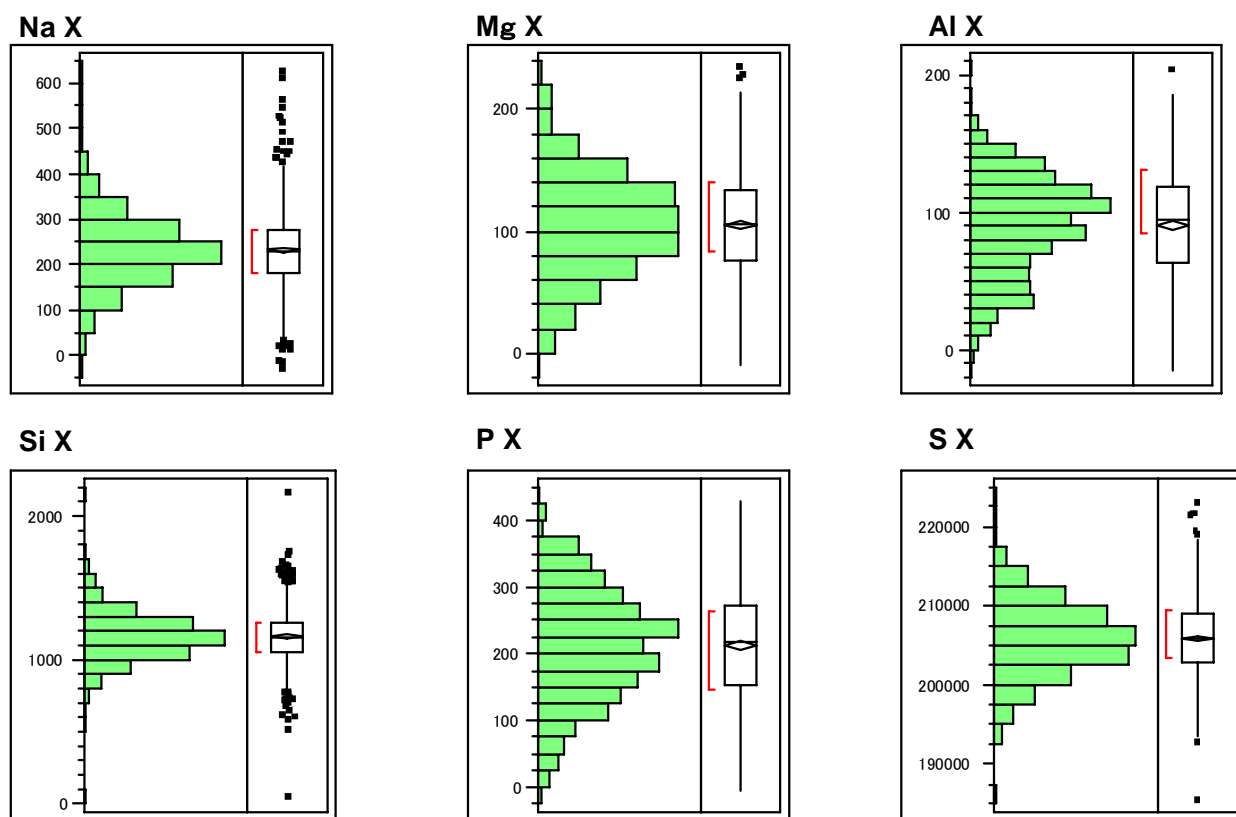


図 3-1 1 か月健診に関する各元素の検出値の分布 (Box-Cox 変換後) その 1。

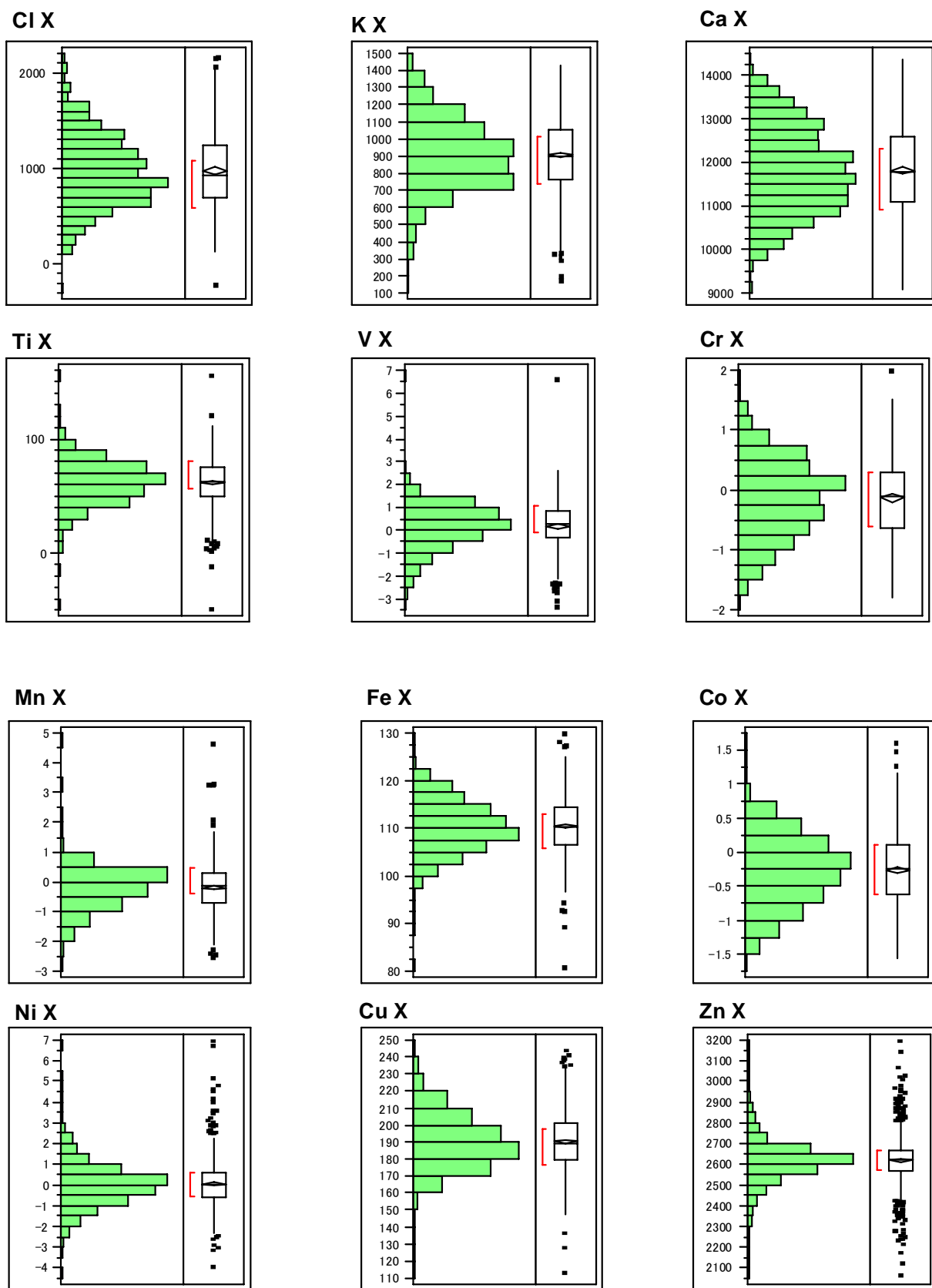


図 3-2 1 か月健診に関する各元素の検出値の分布 (Box-Cox 変換後) その 2。

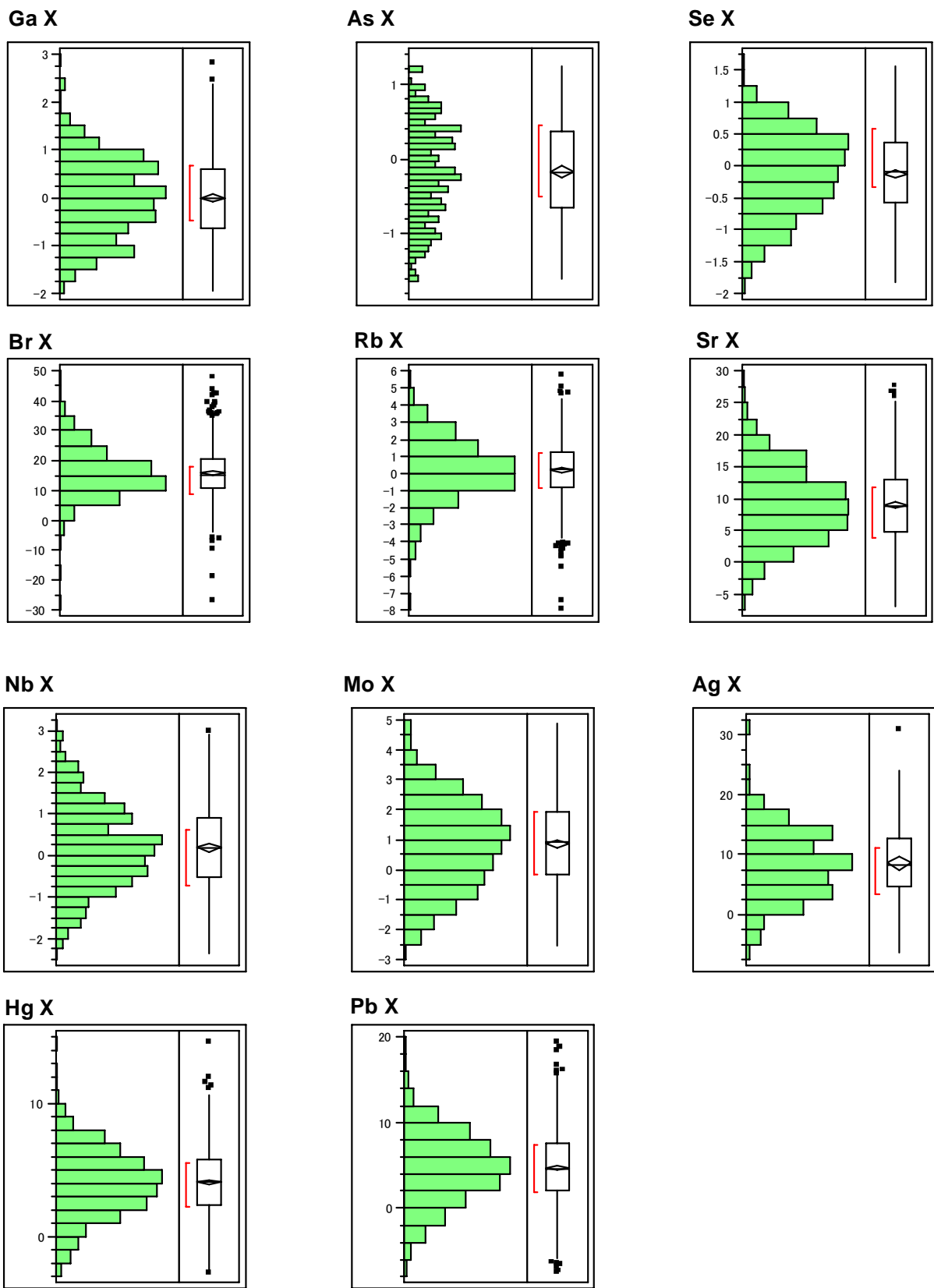


図 3-3 1 か月健診に関する各元素の検出値の分布 (Box-Cox 変換後) その 3。

6 結果と考察

硫黄 S は 1 か月健診と 10 か月健診の双方ともに、近似的に変動係数 (=標準偏差/平均値) 約 0.1 の同一の正規分布に従う。さらに変数変換後は変動係数が 0.025 と著しく小さくなる。言い換えると、S の測定値の検体間での変動は極めて小さく近似的に定数とみなせることを示唆している。残りの 28 元素は変数変換により近似的に正規分布に従う。中心極限定理「一般的な条件のもとで、微小な偶然誤差の集積は正規分布をなす」に従えば、全ての元素が近似的に正規分布に従うので、PIXE 測定に系統的偏りは無かったと推察される。“推定 SD>測定値”とされた測定値も含めての結論なので、そのような測定値でも統計解析での利用は可能と判断される。

謝辞

九州大学医学部、福岡市医師会、福岡市役所、広島大学原医研そして乳幼児健診受診時に毛髪を提供頂いた約 1000 組の母子に感謝いたします。

参考文献

- 1) Myers, G. J. et al. "Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study", *Lancet*, Vol. **361**, 1686-1692 (2003)
- 2) Halbert A. R. et al. "Atopic dermatitis: is it an allergic disease?", *J Am Acad Dermatol*, Vol. **33**, 1008-18. (1995)
- 3) Jenkins, D.W. "Biological Monitoring of Toxic Trace Metals" *EPA-600/3-80-089* Sept (1980)
- 4) Seidel S, Kreutzer R, Smith D, McNeel S, Gilliss D. "Assessment of commercial laboratories performing hair mineral analysis", *JAMA*. Jan 3;285(1):67-72 (2001)
Comment in:
 - *JAMA*. 2001 Jan 3;285(1):83-5.
 - *JAMA*. 2001 Mar 28;285(12):1576-7; author reply 1577-8.
 - *JAMA*. 2001 Mar 28;285(12):1577; author reply 1577-8
- 5) JMP 統計機能ガイド <http://www.jmp.com/japan/support/abcguide/ha-ma.shtml>
<http://www.jmp.com/japan/support/abcguide/index.shtml>

付録

「毛髪ミネラルとアトピー性皮膚炎との関連調査」 実施手順

※ 事前配布

参加施設に一組：

- ・ 調査計画書
- ・ 手順書
- ・ Q&A
- ・ 返信用大型封筒
- ・ ポスター2枚

母子資料を数部

説明書・同意書・問診票・毛髪を入れるビニール袋2枚(母用・子用)・

登録番号を印字したシール(2枚)・個人用小型封筒

(登録番号は、[施設番号]-[施設内通し番号])

(同意書・問診票・毛髪を入れるビニール袋・個人用小型封筒には登録番号を付けて、母子一組のセットにしています)

(説明書には医院名のゴム印を押して下さい)

(返送書類はピンク色の用紙に印刷しています)

1. ポスターを診察室と待合室に貼って下さい

2. 1か月健診母子に、毛髪ミネラル計測を勧めして下さい

対象…毛髪2cm以上ある子供

10か月健診も福岡市内で受ける子供

- ・ インフォームドコンセント
- ・ 説明書を母親に渡す
- ・ 同意書に母親のサイン
- ・ 同意書に医師もサイン
- ・ 母子手帳の10か月健診票に、登録番号シールを貼る

3. 母親に問診票の記入を依頼下さい

4. 毛髪を採取下さい

● 母親

- ・ うなじから5cm以上の毛髪6本^{注1)}を根元近くからハサミで切り取り^{注2)}、
[登録番号M]のシールのビニール袋に入れる

● 子供

- ・ 母親と違って採取部位の指定はありません
2cm以上の毛髪6本を根元近くから切り取り、
〔登録番号B〕のシールのビニール袋に入れる

- 注1)
- ・ 1本の長さが5cm（小指程度の長さ）以上の毛髪を切り取ってください。
 - ・ 測定器の都合上、5cm以上の毛髪が望ましいですが、やむを得ない場合は2cm以上あれば構いません。
 - ・ 採取量が多い程測定の精度が高まります。
5cm（小指長）程度の毛なら6本以上
10cm（小指2本分）程度の毛髪なら4本以上
15cm（手のひら長）程度の毛髪なら3本以上
を目安に採取して下さい。
- 注2)
- ・ 毛髪を切り取る際は、酒精綿で拭いたはさみを用いて下さい。
 - ・ 毛髪は測定者が洗浄しますので、採取する前に髪を洗う必要はありません。黒髪着色剤はマンガンや鉛等を、赤い染料は銅や鉄を、脱色剤はカルシウムやマグネシウムを含みます。パーマとカラーリングについては問診票に記入下さい。

4. 資料を返送下さい

（ピンク色の用紙2枚、毛髪を入れたビニール袋2枚、1か月健診票のコピー）

- ・ 記入済みの1か月健診票のコピーに〔登録番号シール〕を貼る
を返送下さい
- ・ 同一の登録番号シールが貼られていることを確める
同意書・問診票・毛髪を入れたビニール袋2枚・1か月健診票のコピー・
母子手帳の10か月健診票・小型封筒
- ・ 返送資料を小型封筒に入れる
（封筒裏のチェックリスト参照）
- ・ 切手の貼ってある返信用大型封筒に小型封筒数枚を入れて1か月に1回まとめて九州大学病院医療情報部に送る

**PIXE analysis of hairs at infant medical checkups
in Fukuoka city (first report)
– Comparison of mothers' hair at 1 month and 10 months after birth –**

N. Kinukawa¹, J. Itoh², T. Maeda³, T. Takatsuji³, T. Nakamura³, K. Sera⁴ and Y. Nose¹

¹Department of Medical Information Science, Kyushu University Graduate School
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

²Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

³Graduate School of Science and Engineering, Nagasaki University
1-14 Bunkyo-machi, Nagasaki 852-8521, Japan

⁴Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

According to the U. S. Environmental Protection Agency, more than 80,000 chemical compounds have been released and accumulated in the air, water, and ground in various forms. Moreover, thousands of new chemical agents are released annually into the environment in our food, medicines, protective materials, and the like, and are absorbed into the human body through various routes. Only a few of these have been tested and studied extensively to determine their effects on our health. The adverse effects for human beings of environmental contamination crosses international borders and persists in subsequent generations. Harmful substances are observed at high concentrations not only in humans but also in large migratory ocean fishes and polar bears in the high Arctic. Even now, researchers have only unreliable speculation about the kinds and extent of harmful substances our bodies have accumulated.

The cause of atopic dermatitis and certain allergies that have increased continuously with high economic growth is suspected to be related to environmental contamination. However, no definite evidence has yet been obtained. Excessive intake of harmful minerals and/or deficiency of essential minerals are strongly suspected, but few convincing facts have been established. Our purpose was to determine the possible relationships between atopic dermatitis and the concentration of minerals in the hair of infants and mothers, as measured by the sophisticated method of proton-induced x-ray emission (PIXE). We have now completed PIXE measurements at medical checkups of 842 mothers at one month and 408 mothers at 10 months. Since the PIXE measurements will be linked with clinical data after completion of all the samples, we report here some preliminary statistical results on the distribution of each element.

Sulfur (S) follows approximately the same normal distribution of the coefficient of variation 0.1 at both the one-month and ten-month medical checkups. Furthermore, the coefficient of variation of 0.025 after Box-Cox transformation is so small that the variation of S among the samples is considered to be approximately constant. Each of the remaining 28 elements follows an approximately normal distribution after the transformation. Since all of the elements are more or less normally distributed, the central limit theorem suggests that there was no systematic bias in the PIXE measurements. Since the measured values are such that "SE > measured values" are all included in the analysis, we conclude that these measurements may be also used in the statistical analyses.