

血液から毛髪への元素移行における性差

世良耕一郎¹、後藤祥子²、細川貴子²、齋藤義弘²、
熊谷瑠里子³、山崎 建³、山谷金光⁴

¹岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

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
020-0603 岩手県滝沢市留が森 348-58

³岩手医科大学医学部整形外科学講座
020-8505 盛岡市内丸 19-1

⁴鷹揚郷腎研究所
036-8243 青森県弘前市大字小沢字山崎 90 番地

1 はじめに

我々は、主にアジアにおける有害元素汚染地域住民の人体曝露実態調査の目的^{1,2,3}、及び種々の疾患と体内元素濃度の関係を調べる目的などで^{4,5}4万にも上る毛髪試料分析を行ってきた。それに加え、1500人を超える健常者から毛髪を採取し、control データの蓄積も行われている。その結果から、毛髪中元素濃度にはいくつかの元素（カルシウム、マグネシウム、鉄、ヒ素、水銀など）に明確な性差があることが確認された^{6,7,8,9}。特にカルシウムに関しては女性が男性よりも2.6倍ほど高く、マグネシウムに関しては女性が2.2倍ほど高いなど、元素によっては顕著な性差があることが確認された。また元素濃度には強い年齢依存性があり、特に女性には性ホルモン；エストロゲンの分泌に影響されられると思われる強い年齢依存性があることが確認された^{7,9}。エストロゲン分泌は更年期における骨粗鬆症の発症にも強く関与していることが知られており¹⁰体内カルシウム濃度に大きく影響を与えるものである。

しかし一方では、我々のおよそ6000試料に及ぶ血液分析（血清・血漿）の経験から、毛髪に元素を供給する血液中の元素濃度にはそのような大きな性差はないことが分かっている。特にカルシウムにおいては、毛髪中の2.6倍もの性差は血液分析においては認められていない。そのため毛髪中元素濃度における大きな性差は、血液から毛髪への元素移行機構における性差によることが予想される。

本研究においては、まず年齢・性別の明確な血清290試料について元素濃度における性差を各元素に対して調べ、毛髪中に見られるような有意な性差の有無を確認する。さらに同一人（女性21人男性20人）から同時に採取された血液と毛髪中元素濃度を調べ性差の確認を行い、さ

らに血液から毛髪への元素の移行係数を調べ、その性差に関する考察を行う。さらに性ホルモンの分泌が未だ活性化されていない10代の若年層に対しても同様な分析、検討を行い、血液から毛髪への元素移行機構に与える性ホルモンの影響について検討する。

2 実験方法

2.1 試料採取

NMCCでは現在までに5000を超える血清・血漿試料分析が行われてきた^{4, 5, 11, 12}。しかし主に個人情報管理の問題から、年齢・性別が記録されている試料は少ない。今回は年齢・性別の情報が明確で、特別な疾患を患っていない290人(女性148、男性142)の健常者から採取された血清試料のスペクトルデータを選び出し、再解析を行い、血液・毛髪中の元素濃度における男女差の比較を行った。これらの血清試料は1995年から2014年にかけて、主に健康診断の目的で採取されたものであり、平均年齢は男女ともに約45歳である。

さらに同一人物の血液と毛髪中元素濃度の比較を行うため、また、血液から毛髪への元素移行係数に関する詳細な検討を行う目的で、41人の健常者(女性21、男性20)から同時に血漿試料と毛髪試料を採取・分析し男女差の検討を行った。これらの試料採取は2015年から2016年にかけて行われたものであり、平均年齢は女性21人に対して47.2歳、男性20人に対して41.7歳であった。

さらに移行係数における性差には性ホルモンが関与しているものと予想され、その分泌が活性化される以前の10代の若年層からも、血清・毛髪試料が同時に採取された(女性47、男性9)。それらの試料に対して分析が行われ、それぞれの試料中元素濃度における性差、また血液から毛髪への元素移行機構における性差が調べられた。これらの試料の提供者は脊柱側湾症の患者であり、これは女性に多い疾患であるため男性のnは多くとれなかった。

2.2 試料調製

血清・血漿試料は内部標準法を用いて調製された。InもしくはAgの希硝酸溶液の標準液を100 µg/mLになるように試料に加え、vortex ミキサーで十分に均一化した後、混合液5 µLをピペティングにより4 µm厚prolene backing膜の上に滴下し、クリーンベンチの中で室温乾燥させターゲットとした¹¹。毛髪試料は「無標準法」^{13, 14}に基づき、調製された。試料をアセトンでよく洗った後、毛髪5~8本を重なり合わないようホルダーに貼り付け、直接ビームで照射し定量分析が行われた。

2.3 照射・測定条件

島津製作所製医療用小型サイクロトロンMCY1750より引き出された8.3 MeVのH₂⁺イオンビームは、2枚の20 µm厚Tiフォイル、冷却用He中で減速され2個の陽子に分かれ、2.9 MeVの陽子ビームとしてビーム輸送系に導入される。本体室内の三連Q magnet、steering magnet、X-Y slitでその位置・形状が調整され、PIXE測定室に導入されたビームは、さらに三連Q、X-Y slit、グラファイト製コリメータにより最終的に6 mmφ(可変)のスポットに調整されターゲットを照射する¹⁵。発生したX線は、2台のSi(Li)検出器により、Na以上の全元素同時測定が行われる¹⁵。検出器1には300 µm Mylar膜のX線吸収体が装着され、K、Caから重元素までの測定が行われ、検出器2には計数率を調整するためのグラファイト製X線コリメータ(血清・血漿試料に対して1 mmφ、毛髪試料に対して2 mmφ)が装着され、Na~Caまでの軽元素測定が同時に行われる。平均的ビーム電流及び測定時間は血清・血漿・毛髪試料ともにおよそ90 nA、4~8分であった。

3 結果

Table 1 に 290 の血清試料中、15 元素の濃度分析結果を示す。女性 148 人、男性 142 人に対するそれぞれの元素の平均値とそれに対する標準偏差を、男女間の比較として示している。Fig. 1 には Mg、Al、Si、P、S の軽元素に対して濃度分析の平均値、標準偏差とともに男女間の優位差検定の結果も p 値として示されている。これら元素の平均値は、いずれも女性が男性を上回っており、その中で有意差が認められたのは P と S の 2 元素であった。Fig. 2 には同じく血清中の元素濃度の平均値・標準偏差と有意差検定の結果を、中・重元素に対して示す。この図に見られるように、毛髪中濃度について男女間で大きな性差を示した Ca 濃度は、やはり有意に女性が高く 20%ほど男性を上回っていた。しかし毛髪中の 2.6 倍もの男女差を説明するには不十分な差異だった。一方 Br と Pb は男性の方が高い ($p < 0.01$) という結果となり、Fe、Cu、Zn、Se に関しては男女間で有意差は認められなかった。

Table 1. Average elemental concentrations in serum and their standard deviations for females (n=148) and males (n=142).

| Elements | Female average (µg/mL) | Female SD | Male average (µg/mL) | Male SD |
|----------|------------------------|-----------|----------------------|---------|
| Na | 866.41 | 507 | 946.95 | 413 |
| Mg | 7.31 | 7.3 | 6.44 | 5.4 |
| Al | 3.42 | 3.4 | 1.20 | 1.1 |
| Si | 8.41 | 8.4 | 1.48 | 1.43 |
| P | 55.71 | 24.9 | 45.57 | 18.2 |
| S | 555.03 | 216 | 452.756 | 178 |
| Cl | 2268.8 | 813 | 2177.9 | 693 |
| K | 146.9 | 128 | 105.6 | 45.1 |
| Ca | 72.34 | 19.7 | 60.64 | 14.8 |
| Fe | 1.52 | 1.5 | 1.52 | 1.5 |
| Cu | 1.12 | 0.49 | 1.21 | 0.46 |
| Zn | 1.41 | 0.80 | 1.26 | 0.84 |
| Se | 0.111 | 0.062 | 0.120 | 0.058 |
| Br | 6.81 | 3.3 | 7.41 | 2.9 |
| Pb | 0.0708 | 0.07 | 0.205 | 0.2 |

Fig. 3、Fig. 4 には、同一人物から血液と毛髪が同時に採取された 41 人の健常者(女性 21 人、男性 20 人)に対する血漿と毛髪分析中元素濃度の結果を示す。年齢層は 22~68 才の範囲であり平均年齢は女性：45.8 才、男性 46.5 才とほぼ同等であった。Fig. 3 の血漿中元素濃度の結果を見ると、Pb 以外の殆どの元素濃度が女性の方が高く、Mg と P の 2 元素に関しては有意に女性の方が高い結果となった。

Fig. 4 には同様の比較を、同一人から血漿試料と同時に採取された毛髪中元素濃度に対して示す。図に見られるように Mg、Si、Ca の 3 元素に有意な性差が見られ、特に Ca に対しては 2.7 倍も女性が高値を示した。これは健常者 1256 人を対象とした昨年の報告^{7,9}と同様の結果であった。また、昨年の報告で Ca に次いで大きな性差(女性が男性の 2.2 倍)を示した Mg に関しても、ほぼ同様な性差が再現され、これら 41 人の健常者の毛髪中元素濃度は、一般的傾向をそのまま反映していることが確認された。

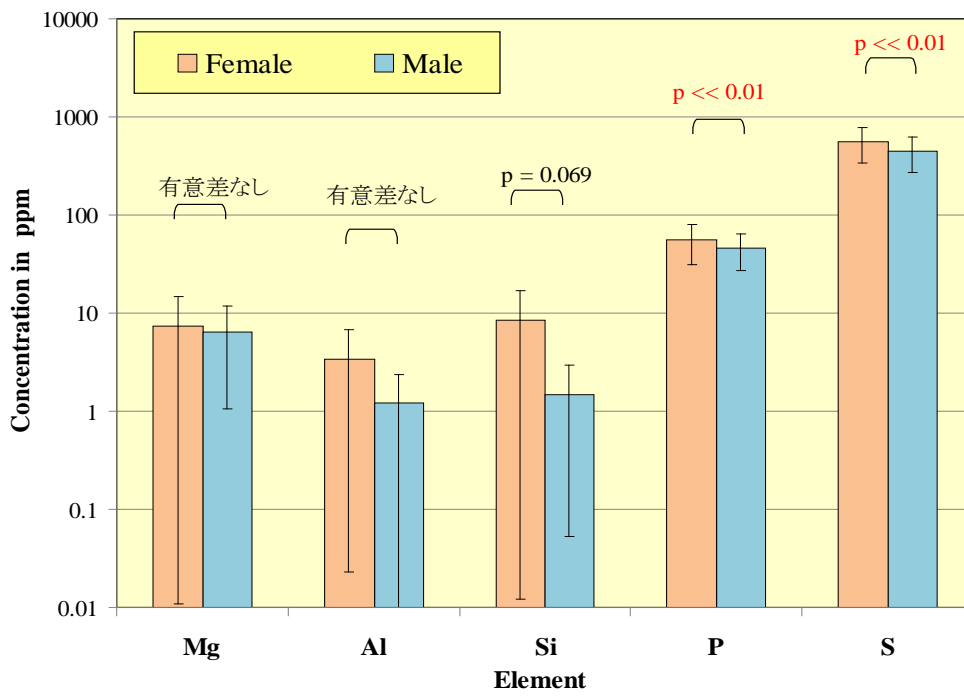


Fig. 1 The sex-specific differences in the elemental concentration in sera taken from 148 females and 142 males (for light elements).

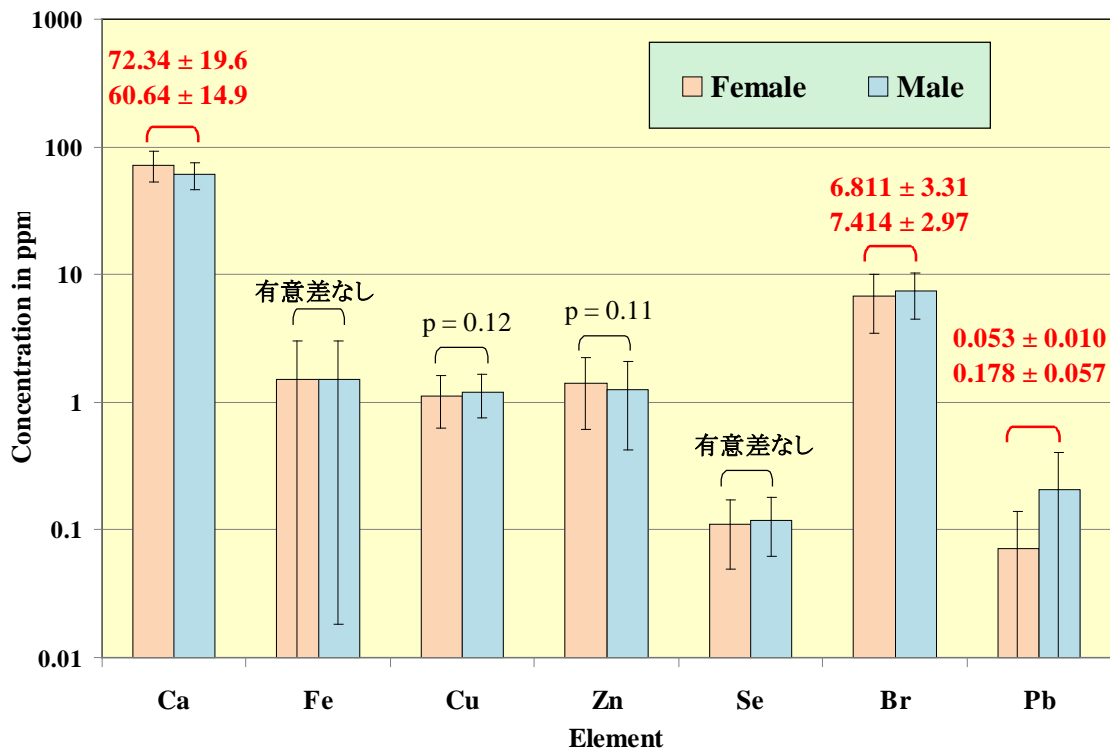


Fig. 2 The sex-specific differences in the elemental concentration in sera taken from 148 females and 142 males (for medium-weight and heavy elements).

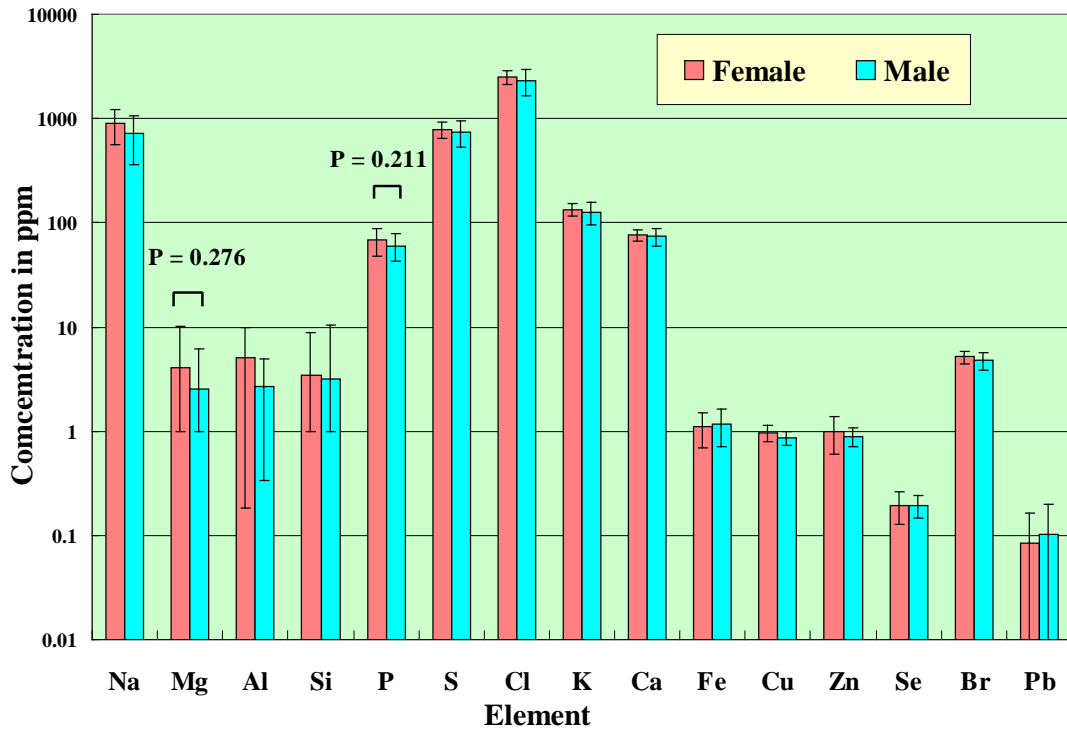


Fig. 3 The sex-specific differences in the elemental concentration in plasma taken from 41 healthy people.

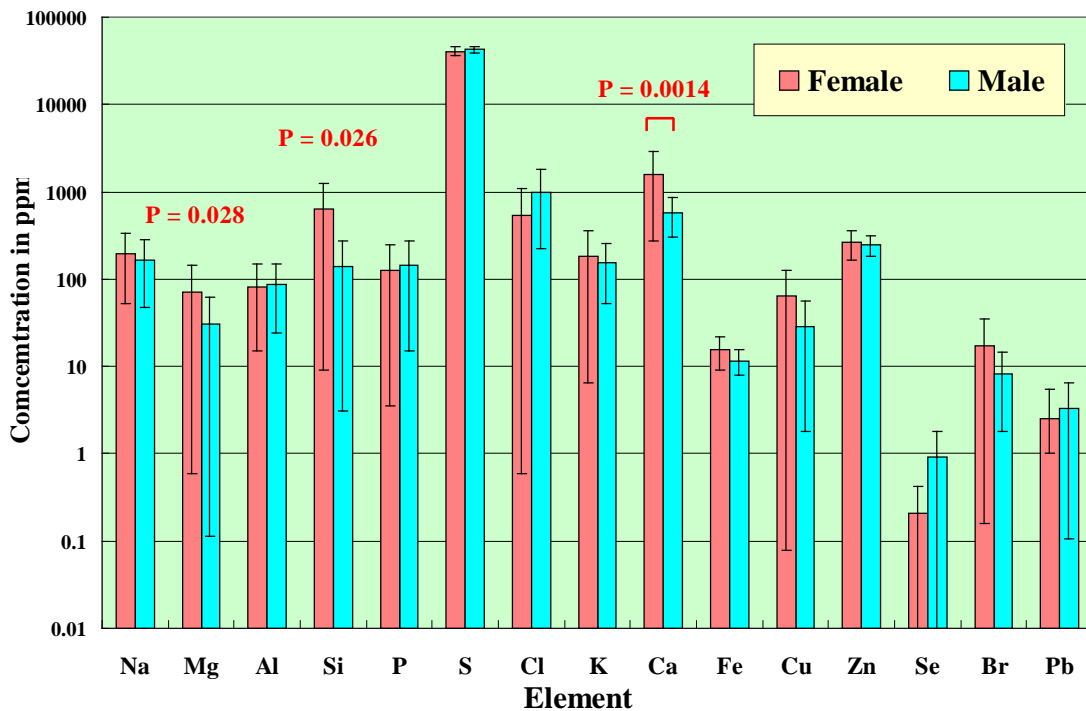


Fig. 4 The sex-specific differences in the elemental concentration in hair taken from 41 healthy people.

Fig. 5、6 には、血漿中元素濃度（横軸）に対する毛髪中元素濃度（縦軸）を散布図で示す。Fig. 5 が女性、Fig. 6 が男性に対する結果である。図中には、毛髪中元素濃度において有意な性差が認められた Ca、Mg、Fe、Cu、Zn、Br の 6 元素の結果が示されている。

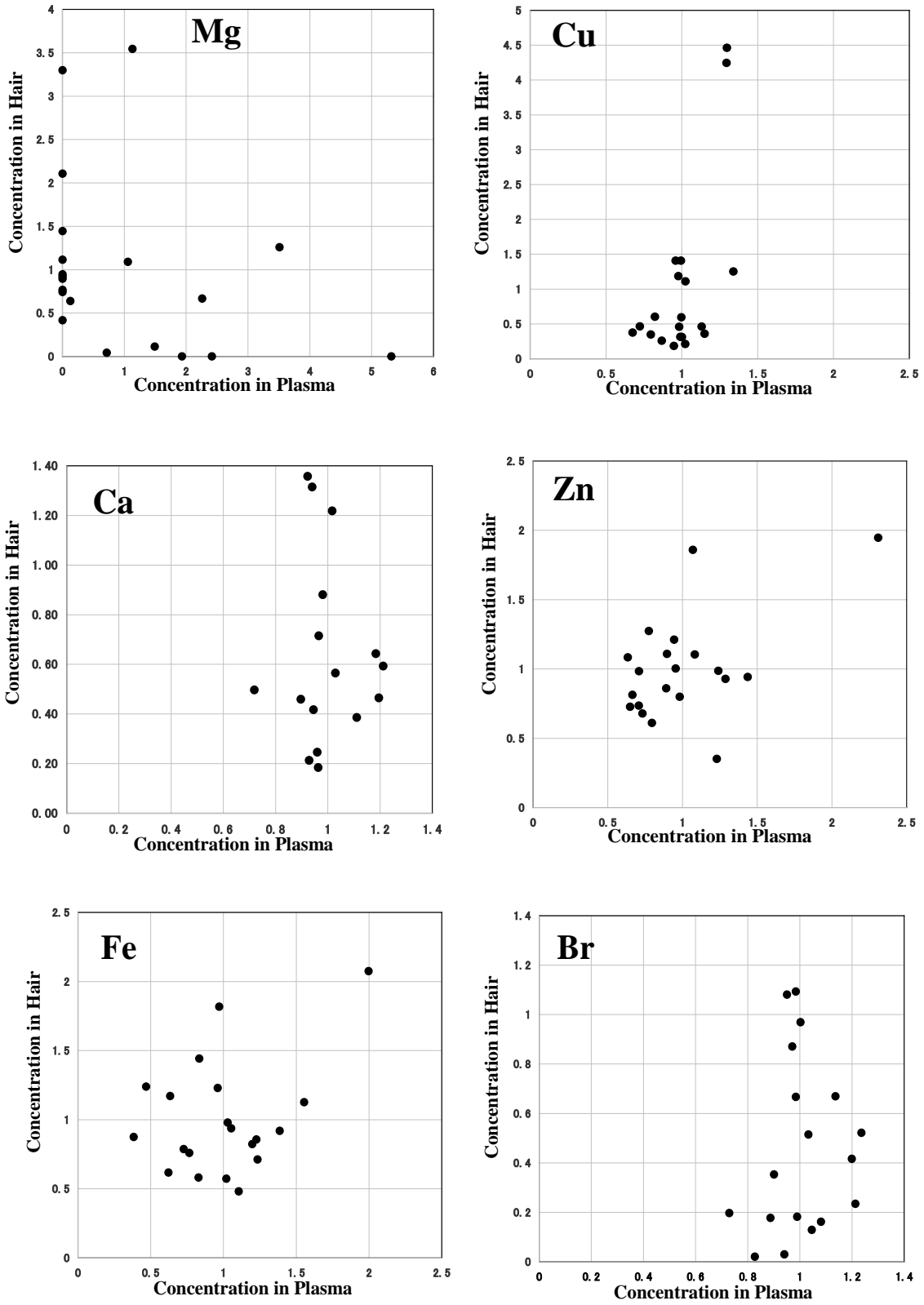


Fig. 5. Scatter diagrams of the elemental concentrations in plasma and hair taken from the same 20 females.

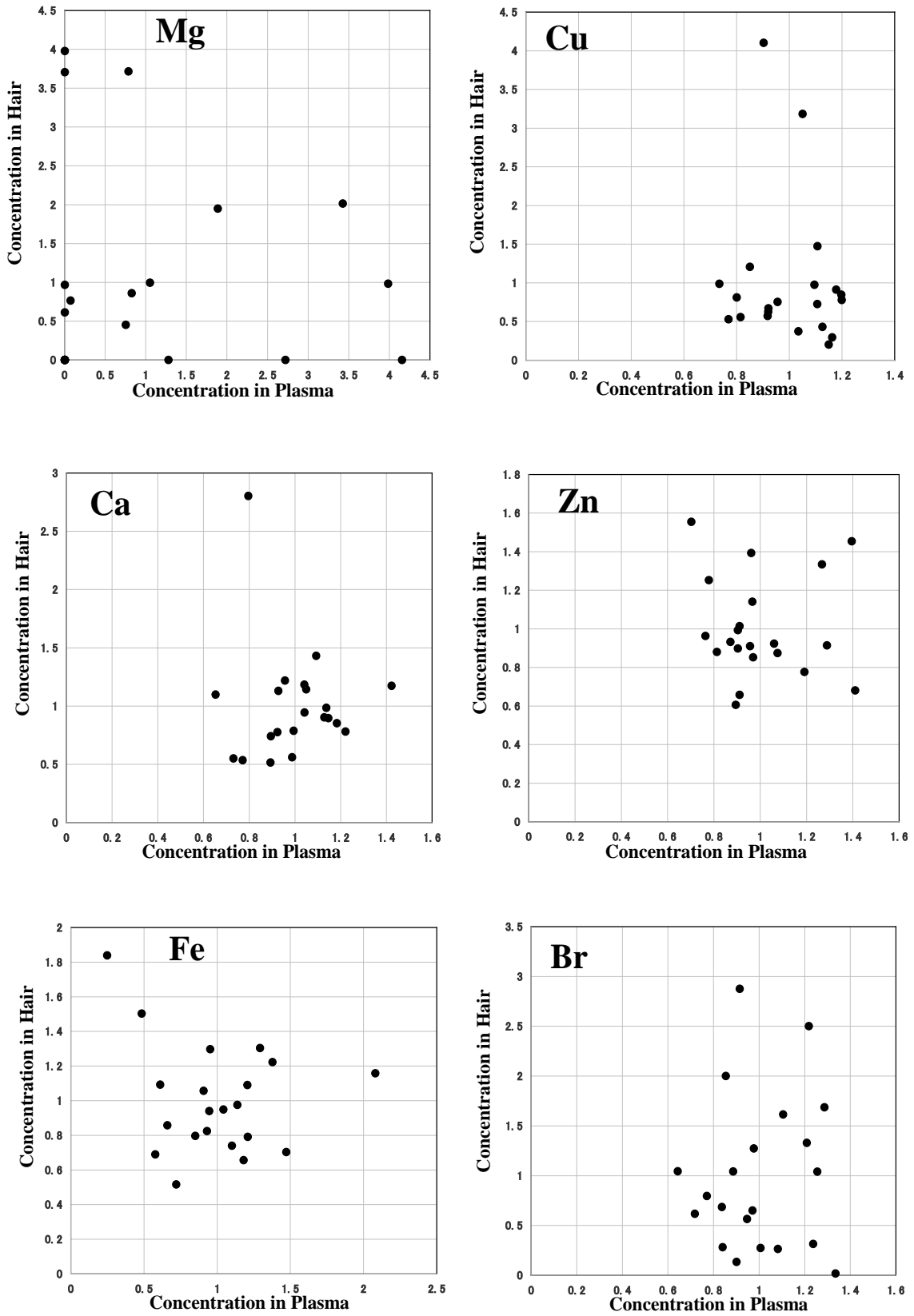


Fig. 6. Scatter diagrams of the elemental concentrations in plasma and hair taken from the same 20 males.

Table 2 には、毛髪中各元素濃度の血漿中元素濃度に対する比を示す。これが、血液から毛髪への元素の移行係数に相当する。移行係数においては、Ca と Se が有意な性差を示し、Ca は2倍以上女性が高く、Se に関しては4倍以上男性が高い結果となった。Fig. 7 には移行係数における平均値とその標準偏差（誤差棒）、及び有意差検定の結果を p 値で示す。

Table 2. The ratios of elemental concentration in hair/in plasma.

| Elements | Female average | Female SD | Male average | Male SD |
|----------|----------------|-------------|--------------|------------|
| Na | 0.230 | 0.17 | 0.272 | 0.20 |
| Mg | 53.9 | 53 | 24.5 | 24 |
| Al | 49.4 | 49 | 61.4 | 61 |
| Si | 502.1 | 500 | 128.9 | 128 |
| P | 1.98 | 1.83 | 2.65 | 2.55 |
| S | 53.9 | 13.1 | 60.8 | 14.1 |
| Cl | 0.234 | 0.23 | 0.497 | 0.41 |
| K | 1.45 | 1.41 | 1.29 | 0.88 |
| Ca | 21.1 | 16.9 | 8.18 | 4.9 |
| Fe | 16.1 | 8.57 | 13.3 | 13 |
| Cu | 59.8 | 58.7 | 35.0 | 33.1 |
| Zn | 280.8 | 95.6 | 291.3 | 103.1 |
| Se | 1.15 | 1.14 | 5.04 | 4.9 |
| Br | 3.66 | 3.6 | 1.77 | 1.33 |
| Pb | 116.9 | 116 | 117.9 | 117 |

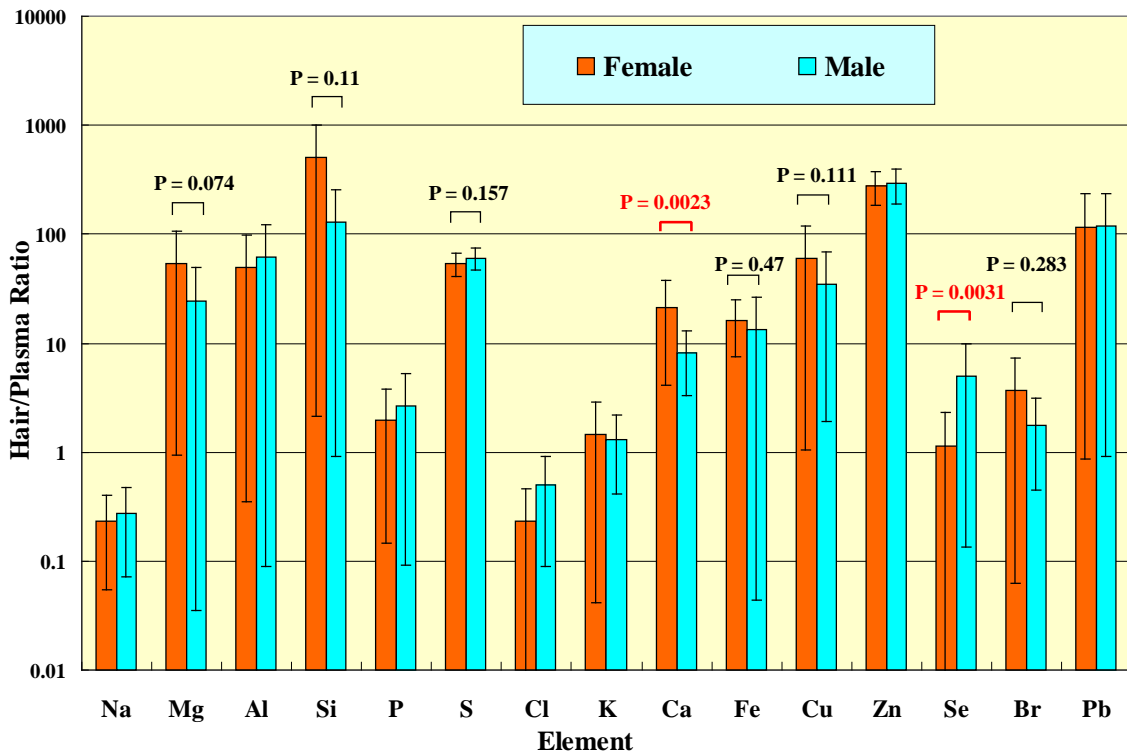


Fig. 7. Sex-specific differences in the ratio corresponding to the transfer factors from plasma to hair, with differences shown as P values.

Table 2、Fig. 7の結果はいずれも22歳以上の男女に対するものである。昨年の報告^{7,9}において、毛髪中元素濃度の性差は強い年齢依存性を示し、女性ホルモン：エストロゲンの分泌に大きく影響を受けていることが示唆された。そのため今回、女性ホルモンの分泌が少ない十代の年齢層での、血液中・毛髪中元素濃度の比較を行った。対象はいずれも22歳未満の若年層56名、そのうち女性47人、男性9人で平均年齢はいずれもおよそ17歳である。これらの対象者はいずれも脊柱側湾症を患っており、その矯正手術としてチタンかコバルトのプレートが体内に埋め込まれている。試料分析の目的は、プレートからの金属の漏出を調べるためであり、術後の経過時間の関数として測定された¹⁶。同症は十代の女性に多く、そのため男性の検体数は女性より少ない。Fig. 8にFig. 7と同様の血漿中元素濃度に対する毛髪中元素濃度の比を示すが、若年層の場合はいずれの元素についても有意な性差は認められなかった。

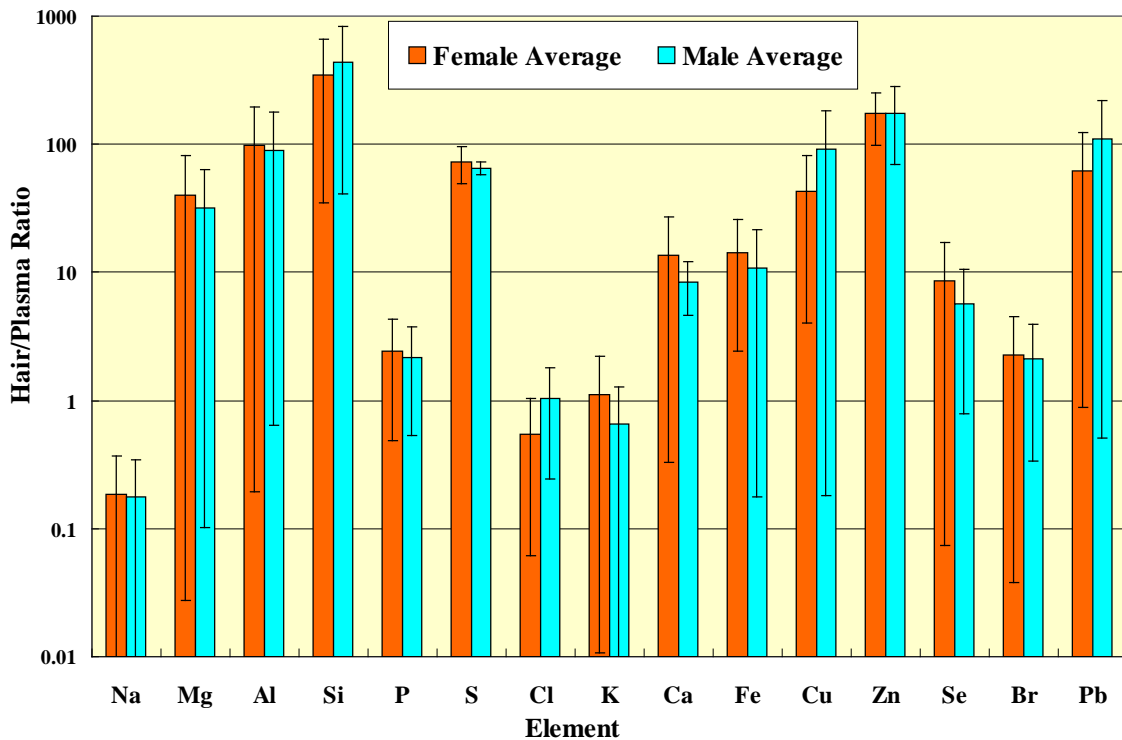


Fig. 8. Sex-specific differences in the ratio corresponding to the transfer factors from plasma to hair in subjects <22 years of age, with differences shown as P values.

4 議論

昨年の報告^{6,7,8,9}により、1256人の健常者毛髪中元素濃度の男女間の比較において、多くの元素が有意な男女差を示すことが明らかになった。特にCaにおいては、女性が男性よりも2.6倍高いという大きな性差が確認された。さらにCaをはじめとする多くの元素が強い年齢依存性を示し、その傾向は女性の方に強く観られたことから、毛髪中元素濃度は女性ホルモン：エストロゲンの分泌や出産などに大きく影響されていることが示唆された。

しかし一方では、我々の過去の血清・血漿・全血分析の経験から、血液中元素濃度にはそのような大きな性差は確認されていない。毛髪中元素は血液から毛髪に移行すると思われることから、毛髪中元素濃度は、主に血液から毛髪への元素移行機構に左右され、それが性ホルモンの影響を受けているものと推察される。そのため先ず過去の血液分析のデータの中から、性別・年齢が明らかな290試料（女性：148、男性：142）を選び、スペクトル解析を改めて行い、血液中

元素濃度の性差が検討された。その結果、Fig. 1、2に示されるようにCaを含む5元素に有意な性差が確認された。しかし血液中Ca濃度の性差は20%ほどであり、毛髪中の2.6倍もの性差を説明することはできなかった。このことから、血液から毛髪への元素移行機構そのものに性ホルモンが強く関与していることが示唆された。

それを明らかにするために、41人の健常者（女性：20人、男性：21人）から同時に採取された血漿試料、毛髪試料が分析され、それぞれの元素濃度と血液から毛髪への元素移行係数が調べられ、男女間の比較が行われた。毛髪試料分析の結果は、今年の報告とほぼ同じ結果となり、Ca濃度は女性が男性よりおよそ2.7倍もの高値を示した。しかし血漿分析の結果、Ca濃度には有意差が観られなかった。そのため、血液から毛髪への元素移行係数に相当する毛髪中元素濃度の血漿中元素濃度に対する比が調べられ、男女間の比較を行ったところ、Table 2に示すように移行係数において2.58倍ほどの性差が確認された。また今年の報告でCaに次いで2.2倍もの大きな性差を示したMg濃度に関しても、表2に観られるように移行係数の男女差 = 2.2倍の差により毛髪中濃度の男女差が説明できることが確認された。これらの事実から、毛髪中元素濃度の大きな性差の原因は、血液から毛髪への元素移行機構に性ホルモンが関与しているためであることが強く示唆された。

Fig. 5、6に示す血清中元素濃度と毛髪中元素濃度の相関から、多くの元素が縦方向に分散する傾向が観られた。このことは血液中元素濃度の個体差は少ないが、毛髪への移行係数における個体差が大きいことを示している。特にCaの散布図には、女性の方に強くその傾向が現れており、移行係数そのものに性ホルモンが強く関与しており、その個体差も大きいことを表している。

Fig. 8に示すように、平均年齢17歳の若年層男女の移行係数における男女比較においては、いずれの元素にも有意な性差は確認できなかった。男性のnが小さく標準偏差も大きいことから明確な結論を導くことは難しいが、傾向として言えることは、女性ホルモンの分泌が活性化する20歳以降に元素の移行機構に明確な男女差が現れるという知見を裏付ける結果となった。

5 要約

以上の結果は、以下のようにまとめることができる。

1. 性別・年齢の明確な290人（女性：148人、男性：142人、いずれも平均年齢45歳）から採取された血清試料中元素濃度の男女比較において、5元素に有意な男女差が確認された。そのうちP、S、Caは女性が高く、Br、Pbは男性の方が高かった。Caにおいては、女性の平均濃度が男性のそれを20%ほど上回った。
2. 41人の健常者（女性：21人・平均年齢47.2歳、男性：20人・平均年齢41.7歳）から同時に採取された血漿試料中・毛髪試料中元素濃度の比較において、血液から毛髪への元素の移行係数にCaとSeを含む8元素に有意な性差が確認された。そのうちMg、Si、Ca、Fe、Cu、Brは女性が高く、S、Seは男性が高かった。今年の報告で確認された健常者毛髪中元素濃度の男女比較におけるCaとMg濃度の性差の大部分は、血液から毛髪への元素移行機構における男女差で説明できることが明らかとなった。しかし、毛髪中濃度において有意な性差を示したZnに関しては、移行係数に有意な性差は認められなかった。
3. 平均年齢17歳の若年層に対する移行係数の比較においては、いずれの元素にも有意差は確認できず、性差は性ホルモンの分泌が活性化する時期以降に大きくなることが示された。
4. これらの結果を総合して判断すると、血液から毛髪への元素の移行機構には、性ホルモンが強く関与していることが示唆された。

謝辞

毛髪・血液試料を提供された一般の方々に感謝いたします。共同利用の運営に携わる他の岩手

医科大学サイクロトロンセンター、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のスタッフの方々に謝意を表します。

参考文献

1. E. Clemente, K. Sera, S. Futatsugawa and S. Murao, "PIXE Analysis of Hair Samples from Artisanal Mining Communities in the Acupan Region, Benguet" Philippines.", Nucl. Instr. Meth., B219-220, 161-165, (2004)
2. M. A. Habib, S. Miono, S., K. Sera. and S. Futatsugawa, "PIXE Analysis of Hair in Arsenic Pollution, Bangladesh.", Int'l Journal of PIXE, Vol.12-1, 2, 19-34, (2002)
3. S. Murao, K. Sera, B. Tumenbayar, N. Sajiaa, and J. Uramгаа, "High Level of Arsenic Reaffirmed for Human Hairs in Mongolia.", Int'l Journal of PIXE, Vol.21-3,4, 119-124, (2011)
4. R. Uchimura, K. Yamazaki, H. Murakami, S. Yoshida, T. Shimamura, and K. Sera," Serum and Hair Titanium Concentrations after Scoliosis Surgery", NMCC Annual Report, Vol. 17, 252-259, (2011) (in Japanese except abstract)
5. K. Yamaya, S. Tsuboi, H. Saitoh, T. Funyu, C. Ohyama, S. Goyom and K. Sera, "Trace Elements in Hair and Blood of Hemodialysis Patients.", NMCC Annual Report, Vol. 20, 109-114, (2013) (in Japanese except abstract)
6. K. Sera, S. Goto, T. Hosokawa, C. Takahashi, J. Itoh, Y. Saitoh, S. Futatsugawa, "Elemental concentration in the hair taken from healthy people for the past 20 years — 1. Long-term changes over 20 years.", Int'l Journal of PIXE, Vol. 26-1,2, 15-28, (2016)
7. K. Sera, S. Goto, T. Hosokawa, C. Takahashi, J. Itoh, Y. Saitoh, S. Futatsugawa, "Elemental concentration in the hair taken from healthy people for the past 20 years — 2. Sex-specific differences and changes with age.", Int'l Journal of PIXE, Vol. 26-1,2, 15-28, (2016)
8. 世良耕一郎、後藤祥子、細川貴子、高橋千衣子、伊藤じゅん、齋藤義弘、二ッ川章二、“過去 20 年間にわたり健常者より採取された毛髪試料の分析結果 -1. 元素濃度の長期的変動”、NMCC 共同利用研究成果報文集、第 22 巻、67-80、(2016)
9. 世良耕一郎、後藤祥子、細川貴子、齋藤義弘、熊谷瑠里子、山崎健、山谷金光、“過去 20 年間にわたり健常者より採取された毛髪試料の分析結果 -2. 加齢に伴う変化と性差及び生活環境の違い”、NMCC 共同利用研究成果報文集、第 22 巻、81-94、(2016)
10. B. L. Riggs, "Pathogenesis of osteoporosis.", Am. J. Obstet Gynecol, 156, 1342-1346, (1987)
11. Y. Miura, C. Itoh, T. Miyakawa, K. Nakai, K. Hiramori, K. Sera, and Futatsugawa, S., "Simultaneous Determinations of Trace Elements in Sera of Patients with Acute Myocardial Infarction by PIXE.", Int'l Journal of PIXE, Vol. 3,4, 295-300, (1993)
12. Y. Miura, K. Nakai, C. Itoh, M. Satoh, and K. Sera, "Trace Elements in Sera from Patients with Renal Disease.", Nucl. Instr. Meth., B 150, 218-221, (1999)
13. K. Sera, S. Futatsugawa, and K. Matsuda, "Quantitative Analysis of Untreated Bio-samples.", Nucl. Instr. Meth., B 150, 226-233, (1999)
14. K. Sera, S. Futatsugawa, and S. Murao, "Quantitative Analysis of Untreated Hair Samples for Monitoring Human Exposure to Heavy Metals.", Nucl. Instr. Meth., B 189, 174-179, (2002)
15. K. Sera, T. Yanagisawa. H, Tsunoda, S. Futatsugawa, S. Hatakeyama, Y, Saitoh, S. Suzuki, and H. Orihara, "Bio-PIXE at the Takizawa Facility. (Bio-PIXE with a Baby Cyclotron).", Int'l Journal of PIXE, Vol. 2-3, 325-330 (1992)
16. 内村瑠里子、山崎 健、村上秀樹、吉田知史、嶋村 正、世良耕一郎、“脊柱側弯症術後の血液・毛髪内チタン濃度に関する検討”，NMCC 共同利用研究成果報文集 第 17 巻、252-259 (2011)

Sex specific differences in elemental movement from blood to hair

K. Sera¹,
S. Goto², T. Hosokawa², Y. Saitoh², R. Kumagai³, K. Yamazaki³
and K. Yamaya⁴

¹Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

²Nishina Memorial Cyclotron Center, Japan Radioisotope Association
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

³Department of Orthopaedic Surgery, School of Medicine, Iwate Medical University
19-1 Uchimaru, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

⁴Oyokyo Kidney Research Institute
90 Oaza Ozawa Aza Yamazaki, Hirosaki, Aomori 036-8243, Japan

Abstract

We investigated the relationships between the element concentrations in blood and hair to clarify the sex-specific differences in elemental movement from blood to hair, as we confirmed the presence of large sex-specific differences in the concentrations of certain elements in hair in our previous study. First, we compared the elemental concentrations in serum/plasma taken from healthy people (n = 148 females, 142 males) and found that there were significant differences (up to 20%) between females and males in levels of phosphorus, sulfur, calcium, bromine, and lead. We then examined the sex-specific differences in the elemental transfer factors from blood to hair by analyzing plasma and hair samples that had been simultaneously collected from the same people (20 females, 21 males). Calcium and selenium showed significant differences in transfer factors from plasma to hair. Particularly large sex-specific differences in the calcium concentration were explained by the difference in the transfer factors from blood to hair. We also examined the sex-specific differences among teenaged subjects alone (n = 47 females, 9 males; average age was approximately 17 years old) and noted no significant difference in the transfer factors between sexes. Taken together, these findings indicate that the transfer factors themselves are influenced by the excretion of sex hormones.