

微量ヒゲ試料分析による体内元素濃度経日変化の評価

世良耕一郎, 佐々木敏秋

岩手医科大学サイクロترونセンター
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

伊藤じゅん, 齋藤義弘

日本アイソトープ協会仁科記念サイクロترونセンター
〒020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢留が森 348-58

1. はじめに

我々は、通常の電気シェーバーにより採取された微量ヒゲ試料（含、ほお髭、あご髭、口髭、喉ヒゲ）に対する無標準定量法を開発し、報告を行った¹⁾。本法は0.1mg前後の超微量ヒゲ試料の定量分析を可能とするものであり、分析精度・再現性も満足すべきものであることが確認された。特定の有害元素に対する人体曝露評価を行う上で、体内元素濃度の日単位の変化は重要な情報を与えるものである。短期間での濃度変化は、個々の食物や飲料の摂取、あるいは呼吸などに対応することから、曝露経路の評価に役立つことが期待されるからである。ヒ素、水銀、カドミウムなどの有害元素による人体曝露は特殊な環境によりもたらされるばかりではなく、通常の生活においても生じ得る。非汚染地域において通常の生活を営む人民にとっても、有害元素の過剰摂取はしばしば問題となり得る。特に沿岸地域に住む住民の食生活においては、魚介類や海藻などの海産物を多量摂取する食生活が場合によっては問題となる。これらの海産食品中には高濃度の有害元素が含まれることが確認されているためである²⁻⁴⁾。このように、どのような食物摂取によってどの元素の体内濃度が上昇するのかの因果関係を調べるためには、短期間での体内元素濃度変化の評価が不可欠であると言える。

このような観点から考えると、従来体内元素濃度評価のために分析が行われてきた毛髪、爪、血液などの試料は経日変化の評価には適さず、長期間の変動が見られるのみである。尿のみが短期間での変化に対応するものであるが、尿中元素濃度の絶対値は採取時間、水分摂取量や摂取と試料採取の時間間隔などに大きく影響され、それによる変動が大きすぎて小さな変動が隠されてしまう。さらに主成分のNa, Cl, Kが高濃度で存在するため他元素に対する感度が悪く、さらにNaからの γ 線のバックグラウンドの影響でS/N比も悪化し、ヒ素以外の有害元素が検出されることは稀である⁵⁻⁶⁾。それに対しヒゲ試料は、体内元素濃度の経日的変化の評価には適しており、また殆どの男性が毎朝ほぼ決められた時間に試料採取を行っている。しかも、前日の朝からのまる

1 日分に正確に対応した試料採取が可能である。

本研究においては、3人の人物から一定期間にわたり連続的に採取されたヒゲ試料が分析され、体内元素濃度変動の評価が試みられる。また、同一人物から朝、晩の二回、10日間にわたり採取されたヒゲ試料と、同時に採取された尿中元素濃度変化との相関についても考察が行われる。

2. 実験方法

ヒゲ試料は、3人の人物(A,B,C)より通常の電気シェーバー(A,B)及び手動のカミソリ刃(C)により、それぞれ33日間、7日間、13日間にわたり連続的に採取された。またヒゲ試料中元素濃度の採取場所依存性を評価するため、人物Aの顔の9箇所から同時にヒゲ試料が採取された。また尿中元素濃度変化との相関を調べる目的で、朝、晩の決められた時間に人物Aより10日間にわたり、それぞれ20試料のヒゲ及び尿試料が同時に採取された。この試料採取は、33日間の連続的試料採取から約6ヵ月後に行われた。

採取された試料の量は、人物AとBに対して数mg以下、人物Cに対しては1mg以下であった。試料AとBに対しては、参考文献1及び、本報文集に報告された別報の方法に従って洗浄が行われた。試料Cに関しては、シェービングフォームを用いて通常の刃での採取が行われたため、アセトン中での洗浄に加え、フォームを取り除くためにエタノール中での洗浄も行われた。付加的なアルコール洗浄による元素の漏出も調べられ、K以外のロスは無視できることがわかった。Kに関しては、エタノール洗浄により約10%のロスが生じることが分かった。試料Cは粉末状ではなく、平均1mmほどの長さの試料であったが、無標準法は試料の形状に影響を受けないため、他の試料と全く同様な定量分析が可能であった。

試料Aに対しては、粉末内部標準(Pd-C:パラジウムカーボン)を10000ppm前後加えたターゲットを1試料に対し2枚ずつ作成し⁷⁾、さらに内部標準を加えないターゲットも2枚ずつ作成した。内部標準を加えたターゲットは、無標準法の精度を確認する目的で測定が行われた。試料B、Cに対しては試料の量が少ないこともあり、内部標準を加えないターゲットが1枚ずつ作成され、無標準法を用いて定量値が得られた。ターゲット作成に当たっては、0.2mgほどの試料が4 μ mポリプロピレンバックリング膜状にマウントされ、1%コロジオン1 μ lを用いて固定された。

島津製作所小型サイクロトロンにより2.9 MeVに加速された陽子ビームを試料に照射し、発生したX線は、2台のSi(Li)検出器により同時に測定される。得られた二つのスペクトルは解析プログラムSAPIXにより解析された⁸⁾。測定・及び解析の詳細な条件は、本報文集掲載の別報(世良他、微量ヒゲ試料に対する無標準法の開発)と同様である。

3. 結果と議論

Fig.1には、ヒゲ試料中元素濃度の採取場所依存性を示す。採取場所は左右各々のほお髭、あご髭、喉髭、口上側の髭、及び口下髭の計9箇所であり、いずれも5分以内の同一時刻に採取されている。この図から見られるように、主元素の濃度に対して、口下髭以外は殆ど場所依存性が見られない。口下から採取されたヒゲのみが、特にMg, Al, Feなどに対し他の部分よりも高い濃度を示している。微量元素に関しては若干の場所による相違が見られるが、ピークの統計精度を考えると有意な場所依存性が確認できたとは言えない。これらの結果から、人物Aより採取された試料に関しては、口下ヒゲのみを分析から除外し、他の試料が均一化された。人物B, Cより採取された試料に関しては、区別無く採取が行われたため、全体の平均値が求められている。

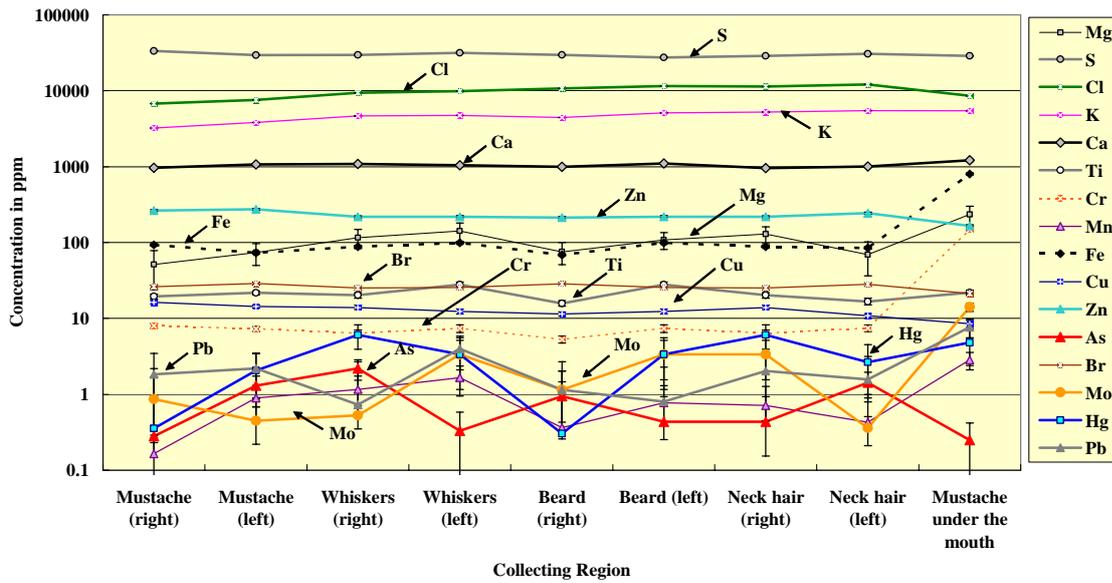
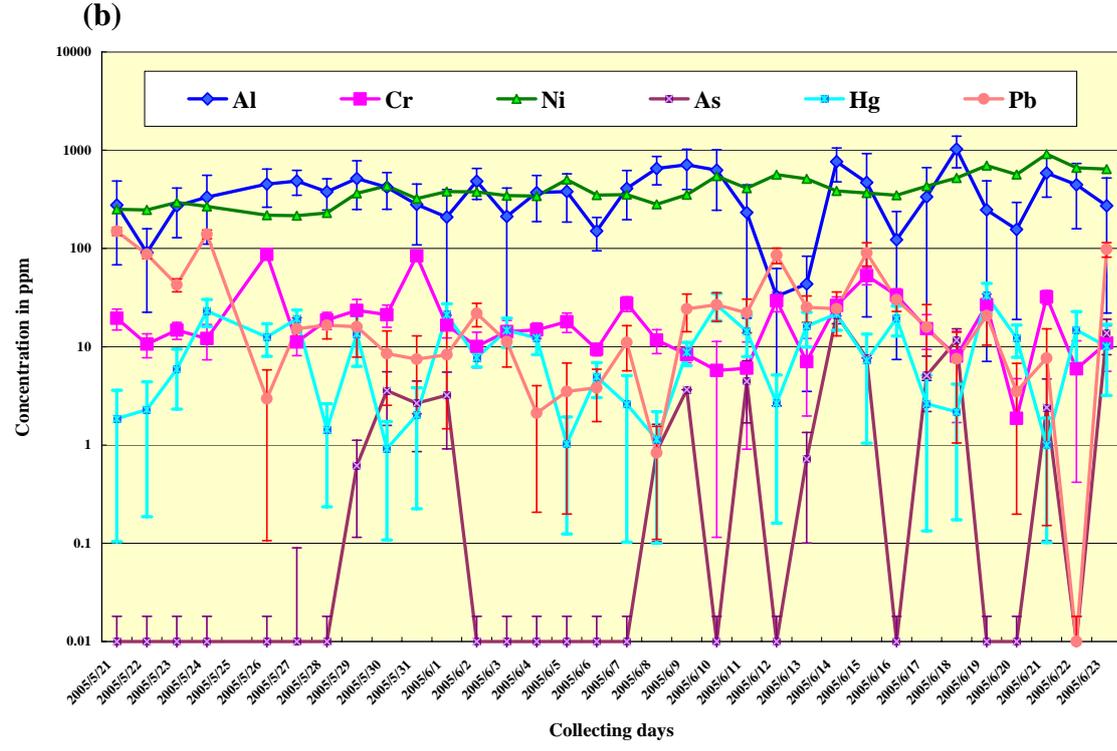
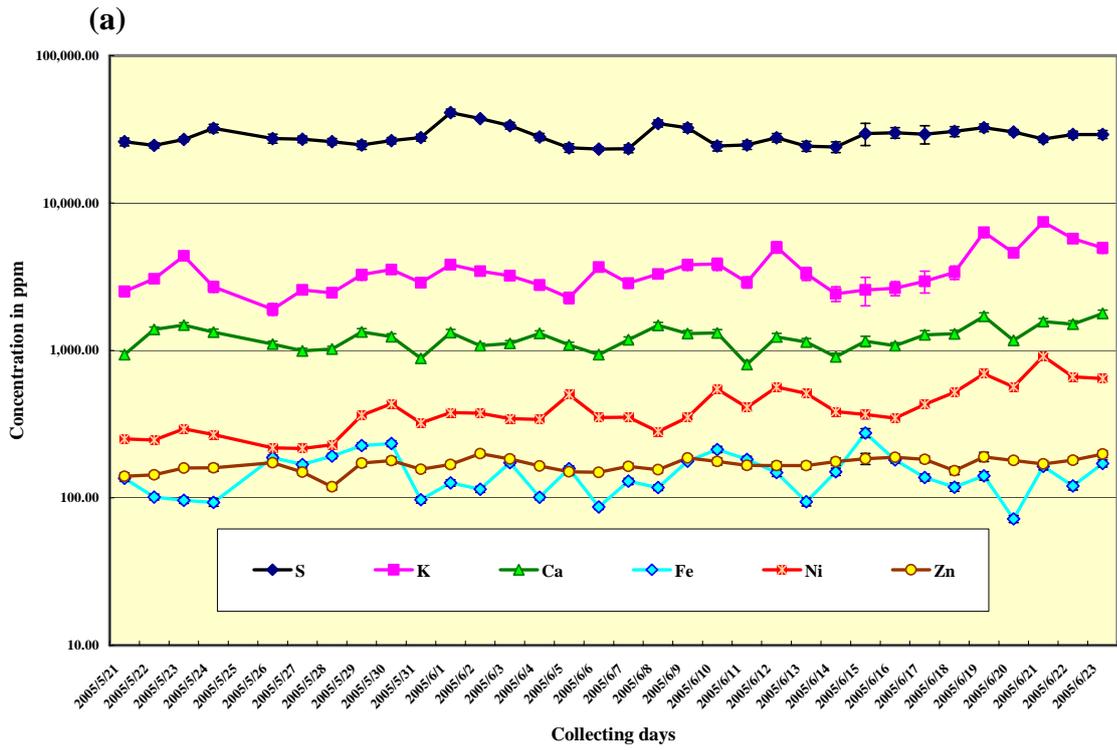


Fig. 1. Dependence of elemental concentration in beard, mustache and whiskers samples on the collecting regions, where hairs were taken from 9 regions in the face of person A at the same time

Fig. 2-a には、33 日間にわたり連続して人物 A から採取されたヒゲ試料中元素濃度の経日変化を示す。この人物はやや濃いヒゲの持ち主であり、1 日分のヒゲ試料の量で百枚を超える PIXE 分析用ターゲットの作成が可能であり、1 回分の試料に対して無標準法のためのターゲット、粉末内部標準法のためのターゲット、それぞれ 2 枚、計 4 枚が作成された。粉末内部標準入りの 2 枚のターゲットは、無標準法の精度を再確認する目的で用意されたが、結果として両法による結果は良く一致していたため、無標準法のための 2 枚のターゲットの平均値が採用され図中に示されている。エラーバーは実験誤差を示し、低濃度の元素に対しては主にピーク分離・BG 差引に伴うものが大きく、他に検出効率、吸収体(300 μm Mylar)の透過曲線の誤差が考慮されている。

Fig. 2-b には必須以外の、あるいは有害と言われる元素濃度の経日変化を示す。Al に関しては 33 日間にわたり概ね一定しているが、2,3 日単位の大きな濃度低下が一回見られる。Pb は最初の 20 日間はゆっくりと下降傾向にあるが、その後上昇に転じている。我々の最近の研究により通常食の食品や水道水を含む飲料水に高濃度の Pb が含まれないことが確認されている^{4,9,10}ことから、体内 Pb 濃度は空気汚染や井戸水の汚染などの環境因子に左右され易いものと思われる。図に見られる長期間にわたるゆっくりした変化は、そのことを裏付けている。Hg は低濃度であるため統計的変動が大きい、大局的に見てこの期間における変化は無く、水銀の生物学的半減期が非常に長いという事実に対応している。Cr もまた明確な傾向は見せていない。それに対して生物学的半減期が短いことが知られている As は、2~4 日単位の激しい増減を見せている。以前の我々の報告によると、体内砒素濃度が比較的高い女性の尿中元素濃度を一週間にわたり調べた結果、砒素濃度は 2~3 日単位の時間変化を見せており⁹、このことは体内ヒ素曝露量が腎機能の許容範囲内であれば、短期間に排除されることを示している。本研究によるヒゲ試料中砒素濃度変化も同様な振舞を見せており、ヒゲ試料測定による体内元素濃度変化評価の有効性が示されている。

Fig. 3 には人物 B から 7 日間にわたり連続的に採取されたヒゲ中元素濃度変化を示す。S, Ca, Zn, Hg などのいくつかの元素は、人物 A の場合と同様明確な変化を見せていない。一方、K, Fe, Cu, Ti の変動は大きい。また Mn は緩やかな変化を見せ、Pb は後半になり大きく減少している。



Figs. 2. Changes of elemental concentration of principal elements (a), and trace or toxic elements (b) in human beards (including mustache and whiskers) taken from person A over 33 days. Error bars indicate experimental errors mainly coming from statistics of the X-ray peaks

Fig. 4には、人物Cよりカミソリを用いて14日間にわたり採取されたヒゲ中元素濃度変化を示す。この人物の特徴は、高濃度のTiとCrである。これらの元素は短期間の変動を示し、それらの経日変化は互いに似た傾向を示している。Hgは実験誤差を考慮するとほぼ一定であり、Asは短期間の変動を示しているが、これは人物Aの場合と同様である。

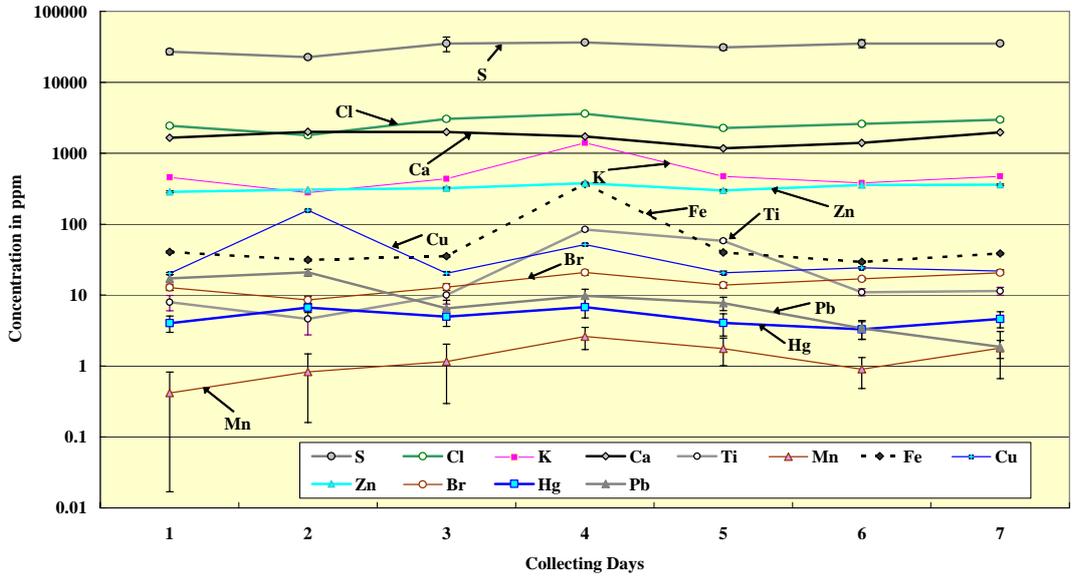


Fig. 3. Daily changes of elemental concentration in beard samples taken from person B with an electric shaver over successive seven days.

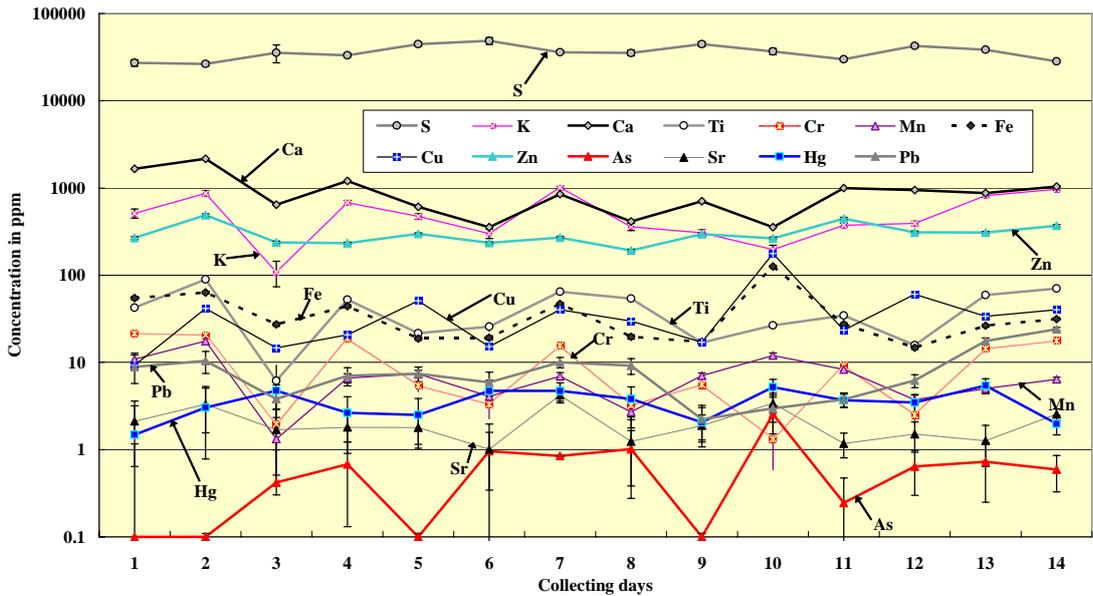
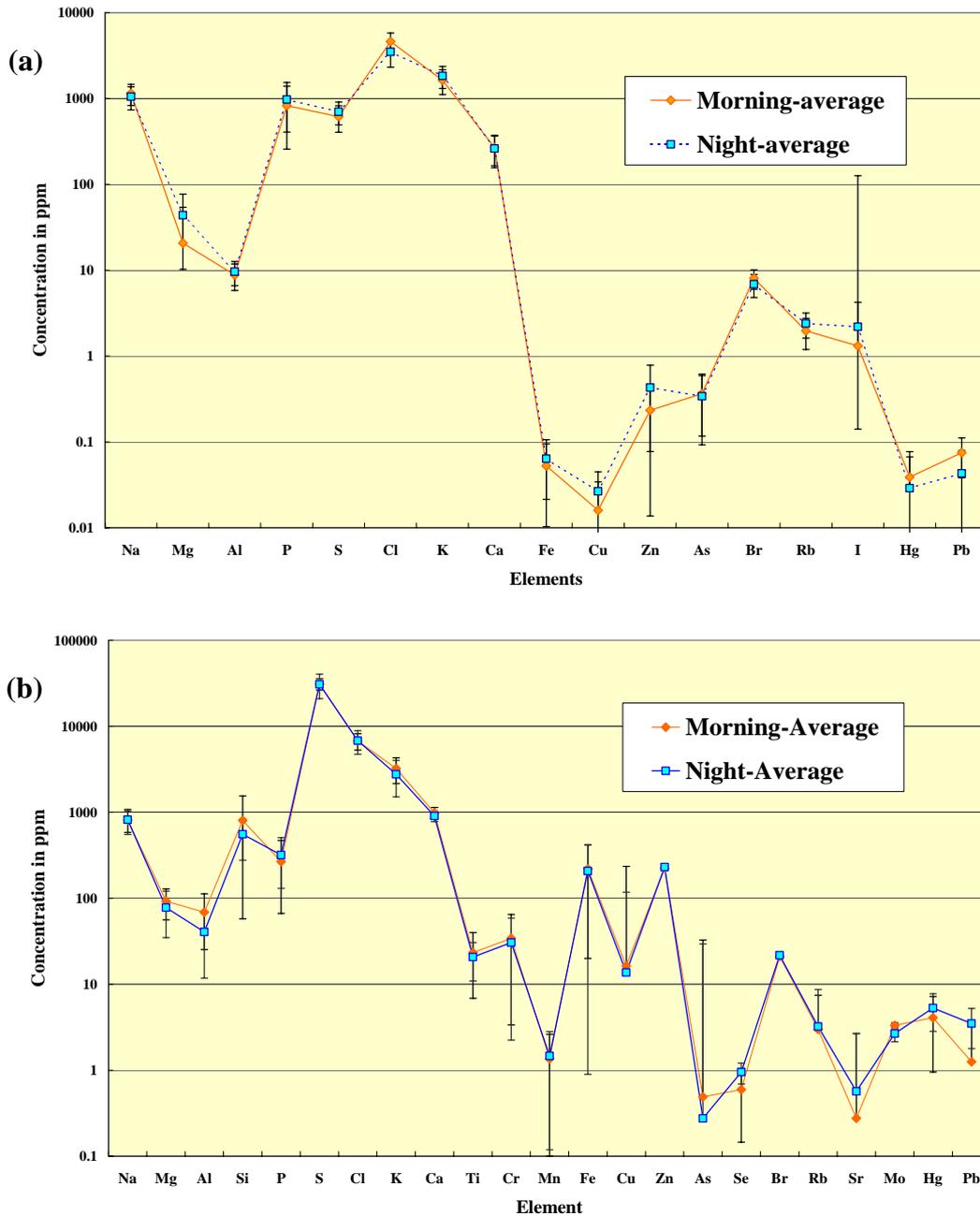
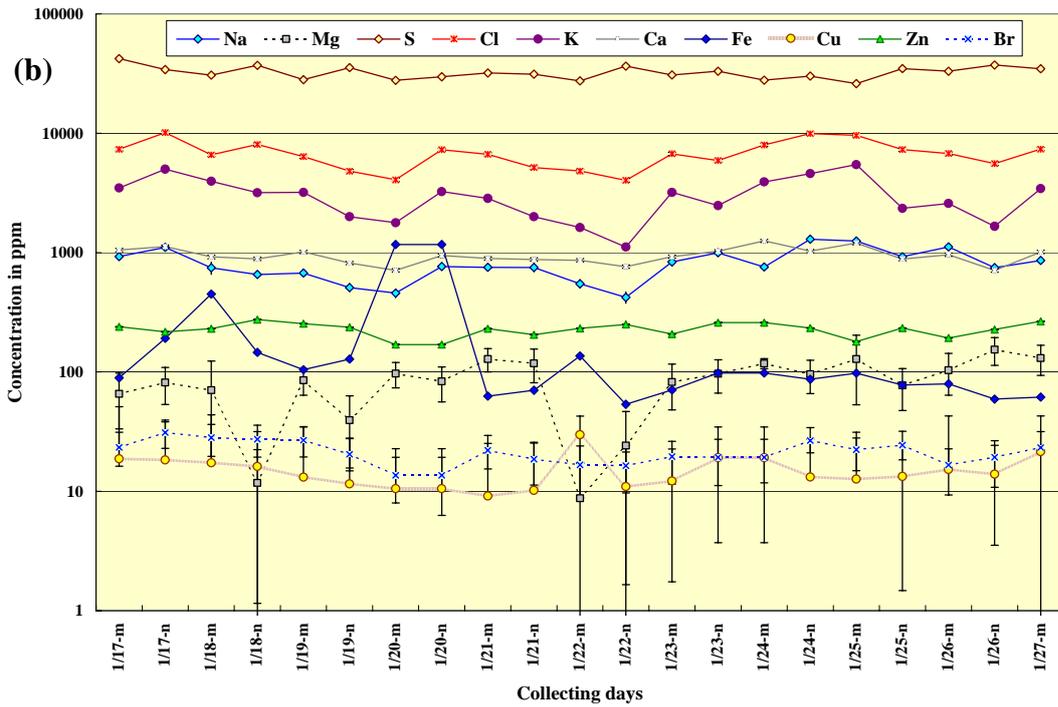
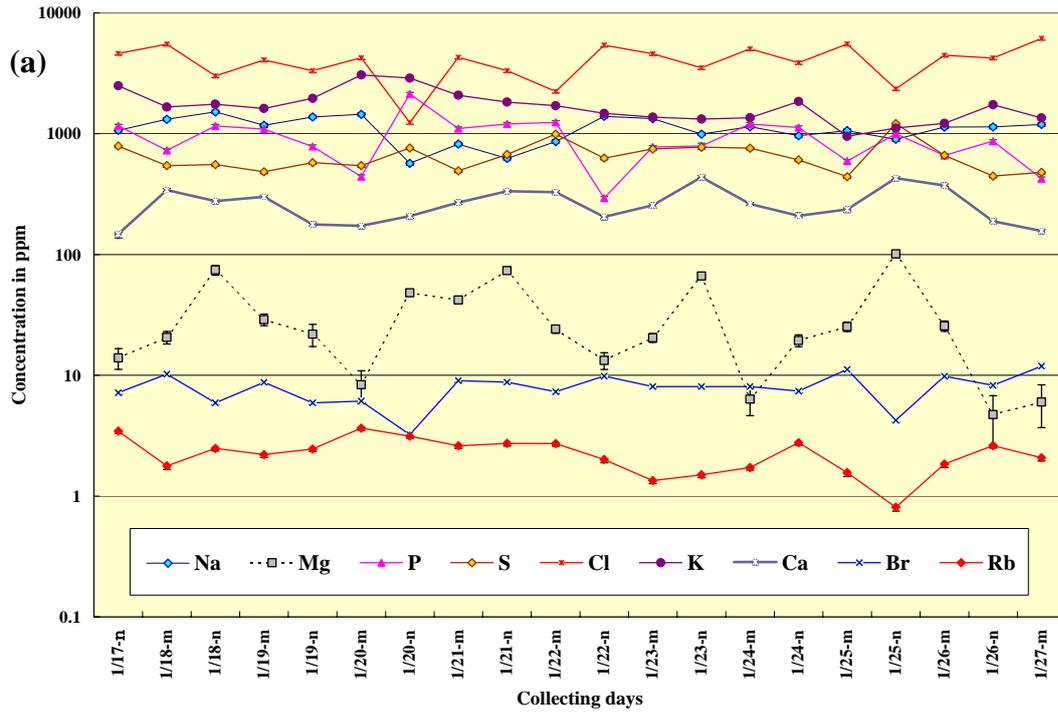


Fig. 4. Same as Fig. 3 but taken from person C with a razor blade over successive 14 days.

次に人物 A より, Fig. 2 に示された試料採取のおよそ 6 ヶ月後に, 尿試料がヒゲ試料と同時に採取され, 10 日間にわたり朝晩 2 回ずつ計 20 試料, 同時に採取されたヒゲ試料と合わせ 40 試料の分析が行われた。ヒゲ試料は新しい電気シェーバーにより採取された。これら 40 試料に対しては, 尿⁵⁾・ヒゲ¹⁾ に対しそれぞれに開発された無標準法の手順に従い試料調製・測定・解析が行われ, 定量値が得られた。Fig. 5-a,b にはそれぞれの試料の朝と夜の相違が, 10 試料に対する平均値と標準偏差で比較されている。これらの図を見ると, 標準偏差の大きさから判断し元素組成に明確な朝晩の相違=試料時間依存性は見られない。しかし尿中の砒素は確かな差異を表しており, 晩のほうが朝よりも高い値を示している。しかしヒゲ試料においてはそのような差異は観察されていない。



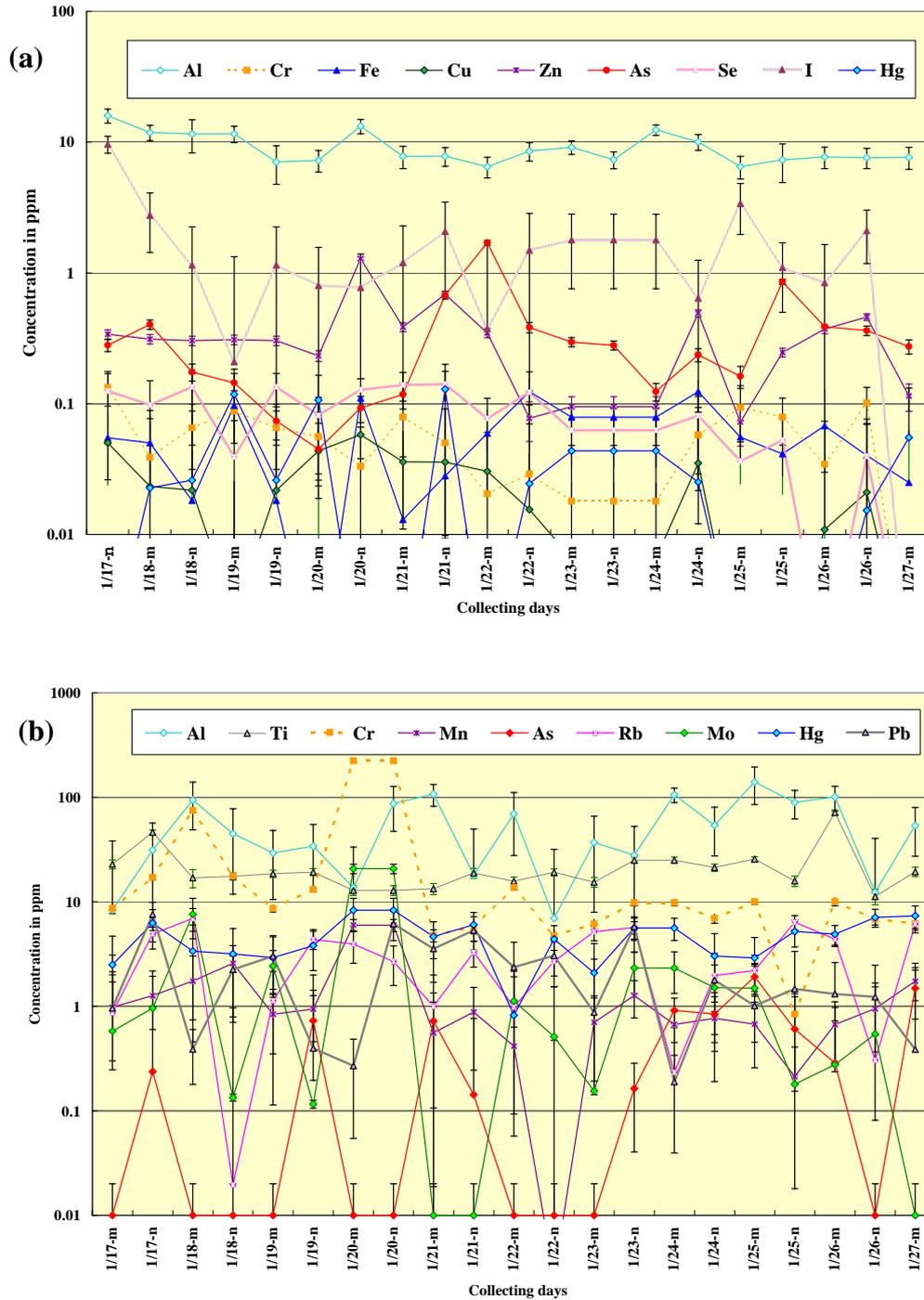
Figs. 5. Comparisons of the mean values of elemental concentration in 10 urine (a) and 10 beard (b) samples taken in the morning with those taken at night. Error bars indicate standard deviations for 10 samples.



Figs. 6. Daily changes of elemental concentration of principal elements in urine (a) and beard (b) samples taken from person A every half day in the morning (m) and at night (n) over 10 days.

Figs. 6-a),b) には、それぞれ尿、ヒゲ試料中の元素濃度経日変化を主要元素に対し示す。(a) に見られるように、ヒゲ中の K, Na, Cl は互いに良く似た経日変化の振舞を見せており、このこと

はこれらの元素が体内において主に KCl, NaCl の形で存在することを物語っている。しかし尿試料においてはそのような相関は殆ど見られない。このことは、体内元素濃度変化はヒゲ試料分析においては良く見積もることが出来るが、尿試料においては試料採取条件などにより元素濃度の絶対値が大きく変化するため、意味のある経日変化そのものが観察されにくくなっていることを意味している。尿中の Mg は 3,4 日単位の増減を見せているが、ヒゲ中 Mg にはそのような傾向は見られない。ヒゲ中 Fe は 2 日間の急激な上昇を見せ、その期間に Br 濃度は減少している。



Figs. 7. Same as Figs. 6 but for trace or toxic elements in urine (a) and beard (b) samples.

Figs. 7-a),b) には Figs. 6 と同様な比較を、有害元素を含む非主要元素に対して行った結果を示す。(a)を見ると、尿中ヨウ素は採取期間の前半 10ppm 前後の高濃度を示し、徐々に 1ppm ほどまで低下している。I が減少する期間、As も減少傾向にある。人物 A は 1 月 14 日の夕食に手巻寿司の形で多量の海苔と海産物を摂取しており、それに呼応して I と As の濃度が上昇、その後体内から除去されていく過程が観察された可能性がある。しかしヒゲ試料中の I は検出限界以下であり、分析できなかった。ヒゲ中の Cr は 1 月 20 日の朝に急激に上昇し、それは Fe の上昇に同期している。しかしながら、これら 2 元素の急激な上昇にはコンタミが疑われた。別報に報告を行ったように、この時のシェーバーの内刃は、Fe と Cr を含むステンレスで出来ていることが PIXE 分析によって確認されているからである。通常は柔らかい外刃の方が削り取られ、内刃が削られる確率は小さいが、Cr, Fe, Ni に関してはシェーバー由来のコンタミに注意する必要がある。それに対し尿中の Cr は、最初の 4 日間 0.1ppm 前後の高値を示し、次の 3 日間は 0.02ppm 程度まで減少し、また最後の 3 日間に上昇に転じている。As に関しては、尿中濃度は 21 日の夜から 22 日朝にかけて急激に上昇しているが、ヒゲ中濃度は 23 日の夜に上昇が始まり 3 日間に渡り高値を保ちつづけている。このことは、ヒゲ中 As 濃度の変化は、尿中 As 濃度の変化におよそ 2 日遅れて観測されることを示唆している。ヒゲ中水銀濃度は期間中かなりの高値を示し、これが人物 A の一つの特徴である⁹⁾。(文献 6 中に 52 歳男性として示されている。) しかしながら Figs. 2 と同様、実験誤差を考えると明確な経日変化の傾向は見せていない。一方尿中水銀濃度は検出限界に近く、明確な傾向を観察することは不可能であった。ヒゲ中 Pb 濃度も図 2 と同様ゆっくりとした変化を見せており、尿中同濃度は検出限界以下であった。(尿試料の場合バックグラウンドが高く、Pb の検出限界値は 0.05ppm 程度である。)

4. まとめ

以上の結果は以下のように要約される。

- 1) 通常の電気シェーバー及びカミソリ刃により採取された、微少ヒゲ試料に対する無標準法の精度・有効性が確認された。このような微少ヒゲ試料は、非常にヒゲの薄い人物からも容易に採取可能なものであり、採取部位の選択肢を顔以外の場所に広げれば、年少者や婦人から採取された体毛試料でも、定量分析が可能であると期待される。
- 2) 体内元素濃度の経日変化は、ヒゲ試料分析により評価可能である事が確認された。
- 3) ヒゲ試料中の複数の主元素の間に、類似した経日変化の傾向があることが確認されたが、尿試料においてはそのような傾向は観測不可能であった。
- 4) 尿中・ヒゲ中砒素濃度の経日変化において相関が観測され、尿中砒素濃度上昇は約 2 日遅れでヒゲ中に現れることが示唆された。
- 5) ヒゲの採取場所依存性に関しては、口下ヒゲ以外には大きな採取部位による差異は観測されなかった。
- 6) 本方法により、特定の食品の摂取に呼応した体内元素濃度の変化を観測することが可能となり、有害元素曝露経路の推定にが可能となった。有害元素曝露ばかりではなく、必須元素摂取の評価に関しても、本法は強力なツールとなることが期待される。

謝辞

共同利用の円滑な運営のために日々献身的な働きをしておられる日本アイソトープ協会 NMCC のスタッフの方々、及び岩手医大サイクロトロンセンターのスタッフに謝意を表します。

参考文献

1. K. Sera, J. Itoh, Y. Saitoh and S. Futatsugawa, "Standard-free Method for Beard Samples of Very Small Quantities", *Int'l Journal of PIXE* (in press)
2. S. Oikawa, S-J. Song, T. Maeyama, T. Kishimoto, K. Tomura and H. Higuchi, "Determination of Trace Elements in Squid Organs by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Neutron Activation Analysis.", *BUNSEKI KAGAKU*, Vol. **52**-8 551-557 (2003) In Japanese except abstract
3. M. Tamaru, T. Kabutani and J. Motonaka, " Multielement Determination of Trace Metals in Scallop Tissue samples.", *BUNSEKI KAGAKU*, Vol. **53**-12 1435-1440 (2004) In Japanese except abstract
4. J. Itoh, S. Futatsugawa, Y. Saitoh, F. Ojima and K. Sera, "Application of a Powdered-Internal- Standard Method to Plant and Seaweed samples."
Int'l Journal of PIXE Vol.**15**-1,2 27-39 (2005)
5. K. Sera, S. Futatsugawa and Y. Miura, "Application of a Standard-free Method to Quantitative Analysis of Urine Samples", *Int'l Journal of PIXE* Vol. **11** , No.3,4 149-158 (2001)
6. K. Sera, K. Terasaki, J. Itoh, S. Futatsugawa, Y. Saitoh and A. Fujimura, "Simultaneous Multi-element (Including Fluorine) Analysis of Various Bio-medical Samples."
Int'l Journal of PIXE, Vol.**15** , No. 3,4 169-180 (2005)
7. K. Sera and S. Futatsugawa, "Quantitative Analysis of Powdered Samples Composed of High-Z Elements.", *Int'l Journal of PIXE*, Vol. **8**, No. 2,3, 185-202 (1998)
8. 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**, No.3 325-330 (1992)
9. J. Itoh, S. Futatsugawa, Y. Saitoh and K. Sera, "Fluorine and Multi-element Analysis of Environmental Samples by means of PIXE System."
Int'l Journal of PIXE Vol. **15**-3,4 285-291 (2005)
10. J. Itoh, Y. Saitoh, S. Futatsugawa and K. Sera, "Elemental Analysis of Vegetables on the Market - Comparison with wild plants -.", *Int'l Journal of PIXE* (in press)

Studies on daily changes of elemental concentration in the body by means of quantitative analysis of beard samples on the basis of the standard-free method

K. Sera and T. Sasaki

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

J. Itoh and Y. Saitoh

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

Abstract

We developed and reported a standard-free method for beard (including mustache and whiskers) samples that enables us to quantitatively analyze powdered beard samples of extremely small quantity. In order to investigate intake of essential elements and also exposure to toxic elements, daily changes of elemental concentration in the body give us essential information. Firstly, we have measured dependence of elemental concentration in beard, mustache and whiskers on the collecting regions in the face. Then, daily changes of elemental concentration in the body, which reflect daily ingestion of foods and waters, have been estimated by means of quantitative analyses of beard samples. These beard samples were taken from three persons everyday over successive 7, 13 and 33 days, respectively. As a result, some elements such as nickel and mercury show long term changes and a few toxic elements such as arsenic and lead exhibit changes with a period of a few days. We have also measured daily changes of elemental concentration in urine and beard taken from the same person at the same time every half day over 10 days, and clear correlation of daily changes of the arsenic concentration between urine and beard samples was observed. It is found that the standard-free method is quite effective for beard samples of very small quantities, and that beard analyses are quite suited to studies on daily changes of elemental concentration in the human body in comparison with the other samples.

Keywords : PIXE, beard, standard-free, daily changes, toxic element, small quantity, powdered-internal-standard