マウス体毛と臓器中の水銀濃度の相関について

清水雅美,^a 野口邦和,^a 陣内研一^b

藤井 琢,^a 西連寺永康^{a,b}

日本大学歯学部放射性同位元素研究室^a

放射線学教室^b

Studies on the Correlation between Hair and Tissue Concentration of Mercury in Mice

MASAMI SHIMIZU,^a KUNIKAZU NOGUCHI^a

KENICHI JINNOUCHI,^b TAKU FUJII^a

and EIKO SAIRENJI^{a,b}

Radioisotope Research Laboratory,^a and Department of Radiology,^b

School of Dentistry, Nihon University, 13-8-1, Surugadai,

Kanda, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan

(Received October 16, 1981)

Recently, the use of human head hair has become of interest as one of the biological indicators of environmental pollution. Though hair is easily collected and multi-element analysis of hair is easily carried out by applying instrumental neutron activation analysis, it is not always clear how the trace element contents in hair represent those in organs, and there are a number of unclarified points regarding the correlation between them.

As one of the first steps in approaching the problems, the authors made a survey on the mercury movement in body hair and in tissues of mice and obtained the correlation coefficients between them, by using ²⁰³Hg tracer in HgCl₂.

The maximum concentration of mercury was obtained in kidney and the minimum value in blood. The mercury concentration in body hair tended to be higher than that in every tissue except kidney. The correlation coefficient between the concentrations in body hair and tissues were 0.864 in kidney, 0.869 in liver, 0.843 in lung, 0.933 in brain, 0.883 in spleen, 0.892 in intestine, 0.890 in thighbone and 0.839 in blood, and a significant correlation was observed between the mercury concentration in hair and in every tissue. By applying the compartmental analysis to the data obtained, the difference of turnover characteristics was examined between body hair and every tissue. Further, the regression equation was introduced to calculate the mercury concentration in every tissue from that in body hair.

Keywords—mercury ; hair ; tissue ; mouse ; tracer technique

緒 言

近年、公害問題などの環境汚染と関連して、水銀を始めとする種々の有害元素の人体への取込みに起因する影響が大きく取り上げられている。また、IAEA（国際原子力機関）は、^{1,2} 世界各地の一般人の毛髪中微量元素濃

度の放射化分析を提唱し、種々の有害元素による地域の環境汚染をモニターするための指標として、毛髪中の微量元素濃度の分析値を用いることの有用性について検討している。この IAEA の提唱に応じて、わが国においても、一般人の毛髪中の微量元素の放射化分析法による

定量が組織的に実施されつつあり、その平均濃度が求められるとともに、性、年齢、住居環境等の相違に起因する濃度差に関する研究が行なわれている。³⁻⁵⁾

また、これらの一般人のデータを基礎として、特殊な環境、職業や疾病等が毛髪中の微量元素濃度に与える影響についての研究も行なわれてきている。著者ら⁶⁾は、アマルガムを使用する歯科医師の頭髪中水銀濃度が一般人のレベルより高いという従来の報告結果から水銀による汚染の指標として頭髪に注目し、最近の歯科医師の頭髪中水銀濃度の分析結果をもとに、歯科医師の水銀汚染の実態について調査している。

毛髪は試料採取が容易であり、また、一時的な体内への元素暴露のみでなく、過去の暴露歴に関する情報も得られる点で血液や尿とは異なるユニークな特徴をもつ。さらに、中性子放射化学分析法を適用すれば、非破壊でも約30元素の定量が可能であるなど、他の生体試料と比して比較的分析の容易な試料でもある。

今までの研究例としては、毛髪と尿、血液中濃度と摂取量間の相関について述べたものが多い。⁷⁻¹¹⁾ とりわけ水銀はこのような研究例が多い元素であり、椿⁹⁾はメチル水銀に関して、摂取量と毛髪および血球中濃度の間の関係式を求めている。

しかし、毛髪試料と臓器試料を同時に採取することの困難さのため、毛髪中の微量元素濃度が人体内におけるそれら諸元素の濃度をどのように反映しているかに関する知見は現在のところ極めて少なく、毛髪中濃度と臓器中濃度との関連性については、こうした研究にとって本質的な重要性を有するにもかかわらず不明な点も多い。しかしながら、このことが明らかになれば、毛髪中の微量元素濃度を体内汚染の指標として用いることの有効性と限界に関する知見が増え、環境-人間系の健全性のモニターとしての有用性についての検討もある程度可能となることが期待される。

このような考えから、最近、人や動物における諸元素の毛髪および問題臓器中の分布や動態を調べ、両者の間の相関をチェックしようとする研究が行なわれるようになってきた。Norbergらは、¹²⁾ $^{109}\text{CdCl}_2$ をマウスに静注し、105日間にわたる体毛と全身の放射能測定を行ない、両者の間に相関係数0.99という非常に高い相関のあったことを報告している。また、町田らは、¹³⁾ ^{203}Hg 、 ^{109}Cd 、 ^{51}Cr 、 ^{75}Se および ^{65}Zn を各核種につきマウスに投与し、体毛と各臓器中の放射能濃度を測定した。その結果、クロムでは、体毛は問題臓器（脾臓、骨）に次いで高いレベルを示し臓器の一般的動きを代表し得ること、また、水銀では、体毛は臓器より遅い代謝速度を有し蓄積性が

あることを報告している。しかし、町田らの報告は放射性核種による外部からの付着に伴う汚染のチェックが不十分であり、また、体毛中濃度から臓器中濃度を推定する定量的な関係は得られていない。

本研究では、毛髪と臓器中元素濃度との定量的な関係を得るための手始めとして元素としては水銀に注目し、また、著者らが歯科医師の水銀による汚染について研究している関係から無機水銀を検討する目的で、 ^{203}Hg で標識した塩化第二水銀 (HgCl_2) を投与したマウスの体毛および各臓器中での水銀の動態を調べ、それらの間の相関を求めた。また、体毛中濃度から各臓器中濃度を推定する関係式を求め、興味ある知見を得たので報告する。

実験方法

1) 動物 実験には JCR : ICR マウスの雄を $^{203}\text{HgCl}_2$ 投与群として 38 匹、コントロール群として 4 匹使用した。体重は 30.4—35.2 g (平均 32.1 g) であった。

2) $^{203}\text{HgCl}_2$ の投与 実験に使用した ^{203}Hg は New England Nuclear Corporation より入手したもので、水銀の化学形は HgCl_2 である。比放射能は 2.4 mCi/mg Hg で、放射性核種純度 99 %、放射化学的純度 99 % であった。これを投与前に生理食塩水で希釈し、その放射能が 0.6 $\mu\text{Ci}/0.01 \text{ ml}$ のものを調製し、マウスに 0.6 $\mu\text{Ci}/\text{g}$ 体重の割合で尾静脈より 1 回投与した。すなわち、マウス 1 匹当りの平均投与量は、放射能として約 19.3 μCi 、水銀重量として約 8.03 μg であった。なお、塩化第二水銀をマウスに静注した場合の LD_{50} 値は、水銀として 4.8—14 mg/kg の値が報告されている。¹⁴⁾

3) 飼育 糞および尿中に排泄される塩化第二水銀により、マウス体毛が外部から汚染されることを防ぐため、マウスは金網床を敷いたケージを金属板で四つに仕切ったもので 1 匹ずつ飼育し、体毛の ^{203}Hg の汚染を極力無くすようにした。また、コントロール群も同様のケージで飼育した。

4) 試料採取 試料の採取は以下に行なった。すなわち、 $^{203}\text{HgCl}_2$ 静注後、10, 21, 31, 39, 53, 67, 91, 130 日経過後に、4—6 匹ずつ解剖し、体毛、腎臓、肝臓、肺、脳、脾臓、小腸、大腿骨、血液を採取した。なお、体毛はマウスの背中部分を解剖10日前に小動物用電気バリカン (刃厚 0.1 mm) で刈っておき、10日間に新たに生えた部分をカミソリで剃り取って試料とした。なお、洗浄により毛髪内部の水銀がどの程度溶出するかという点に関して現在のところ確かな知見が得られていないので、体毛は洗浄せずそのまま使用した。血液は約 1 ml を心臓穿刺により採取した。小腸は空腸

部分を約 5 cm 程採取し、切り開いて内容物を生理食塩水で洗い落とし試料とした。大腿骨は両端を切り落とし、骨髓込みの骨体部を試料とした。その他の試料はいずれも全量を採取した。

5) 放射線測定 採取した試料は、精秤後ポリエチレン製チューブに入れ、NaI (TI) 検出器 (Aloka Auto Well Gamma System ARC-500) により ^{203}Hg の放射能を測定した。この測定系では、ポリエチレン製チューブの高さ 1 cm までは計数効率が一定であったので、試料の高さを 1 cm 以下として測定した。このため、試料容積の大きい肝臓では 2 本のチューブを必要としたが、他の試料は全量でも高さが 1 cm 以下であった。なお、計数はその誤差が 1 % 以下になるまで行った。得られた計数値は ^{203}Hg の半減期を 46.8 日として減衰補正し、 ^{203}Hg の γ 線 0.279 MeV における検出器の計数効率から放射能を求め、試料 1 g 当りの水銀濃度を算出した。

結果および考察

1) 実験法について

動物の飼育 浮田¹⁵⁾や Friberg¹⁶⁾ は、塩化第二水銀等の無機水銀やフェニル水銀は糞および尿中に比較的多く排泄されることを報告している。また、毛髪が無機水銀により外部から汚染した場合には、それを完全に除去することは難かしいことが知られており、松本¹⁷⁾は、外部から付着した無機水銀は毛髪を構成するケラチンタンパクの網状構造との相互作用がかなり強いいため、水銀量の 100 倍モル量の SH 化合物や 1N 塩酸溶液による洗浄でも十分に除去できなかったと報告している。それ故、この種の研究においては糞や尿およびマウス相互による体毛の汚染を極力無くすることは重要であると考え、本研究では、実験法 3) で述べた方法でマウスを飼育し、体毛の汚染を防止した。

体毛の採取 体毛中元素濃度と臓器中元素濃度の相関を調べる場合には、両者の時間的な対応関係を把握することが極めて重要であると考えられる。そのため本研究では、体毛を解剖 10 日前に予め刈っておき、新たに生えた部分を体毛試料として用いた。この方法で求められるのは、解剖前 10 日間の体毛の平均水銀濃度と解剖時の臓器の水銀濃度である。本来ならば解剖時の体毛の水銀濃度が求められるような方法を採用すべきであるが、体毛の成長速度との関係でそれは不可能である。一方、町田らは体毛を刈る処理を全く行なわない方法¹⁸⁾を採用している。この方法では、体毛および臓器中金属濃度の時間的な対応関係を得ることはできない。また、この方法により求められるのは、投与直後から解剖時までの体毛の平均水銀濃度かという点、投与時に体毛を刈っていな

いので実はそれではなく、体毛中の水銀濃度の解釈は極めて複雑かつ困難なものとなる。従って本研究で採用した方法はこの種の研究においては、より適していると考えられる。

2) 体毛および臓器中水銀濃度の相関について

$^{203}\text{HgCl}_2$ 投与マウスの体重経時変化は、コントロール群と有意な差はなかった。実験終了時 ($^{203}\text{HgCl}_2$ 投与から 130 日後) における平均体重は 39.2 g で、実験開始時と比較すると 22% の増加があった。なお、成長による臓器重量の増加は最高でも 10% 程度であった。

$^{203}\text{HgCl}_2$ 投与後 10 日目から 130 日目までの、単位湿重量当りの水銀濃度 (ng Hg/g) を各臓器毎に Table I に示す。実験期間を通して、他の臓器と比較して最も水銀濃度が高い値を示したのは腎臓であり、最も低い値を示したのが血液であった。これは現在までの多くの研究結果^{15,16)}に一致する無機水銀の特徴である。体毛の水銀濃度は腎臓について高い値を示した。本実験条件下では、一匹のマウスについて採取できる体毛は数 mg—10 mg 程度であり、他の臓器と比較すると ^{203}Hg の放射能が少なく測定誤差が大きかったが、体毛に水銀が高濃度に検出されたというこの結果は、無機水銀による体内暴露の指標としての体毛の有用性を示唆するものである。なお、投与後 130 日の体毛ではその計数値が小さく、自然計数値との識別が困難であったため、水銀濃度を求めることができなかった。

つぎに、Table I の実験値 (各経過時間におけるマウス 4—6 匹の平均値) をもとに、体毛と各臓器間の相関をチェックしてみた。両者の相関係数を計算すると、腎臓 0.864、肝臓 0.869、肺 0.843、脳 0.933、脾臓 0.883、小腸 0.892、大腿骨 0.890、血液 0.839 となり、どの臓器も 5 % 基準で体毛と相関ありとの結果を得た。

また、さらに体毛と各臓器における水銀の量的な行動を把握する目的で、コンパートメント・モデル分析による代謝速度定数の整理を行なった。すなわち、松原^{18,19)}によれば、元素の代謝型は元素や生物や臓器の種類とは関係なく、1 回投与の実験系であるならば、通常 1-コンパートメント・モデルの排泄型または 2-コンパートメント・モデルの排泄型のいずれかの形式に従い、元素の動態を代謝速度定数で整理することができる。本実験では、マウス体毛とすべての臓器について

$$y(t) = y(0)e^{-bt} \dots\dots\dots (1)$$

$y(0)$: 時間 0 における臓器内の元素量

$y(t)$: 時間 t における臓器内の元素量

b : 代謝速度定数

または

TABLE I. The Mean Concentration of Mercury in Tissue as a Function of Time after Injection

Time (d)	Tissue			
	Hair	Kidney	Liver	Lung
10	29.6 ± 15.0	442 ± 73	32.2 ± 6.8	14.6 ± 8.0
21	18.1 ± 4.0	76.1 ± 20.6	6.10 ± 0.51	1.79 ± 0.30
31	12.5 ± 0.3	15.7 ± 4.5	2.08 ± 0.50	0.455 ± 0.050
39	9.77 ± 8.83	14.0 ± 9.2	1.82 ± 1.49	0.675 ± 0.678
53	1.55 ± 0.34	3.79 ± 2.62	1.37 ± 1.43	0.182 ± 0.126
67	1.98 ± 0.88	1.43 ± 1.81	0.376 ± 0.219	0.152 ± 0.107
91	0.601 ± 0.222	1.63 ± 1.90	0.207 ± 0.170	0.149 ± 0.147
130	—	0.403 ± 0.179	0.0892 ± 0.0606	0.0700 ± 0.0802

Time (d)	Tissue				
	Brain	Spleen	Intestine	Thighbone	Blood
10	8.51 ± 3.20	10.3 ± 3.2	4.42 ± 0.97	5.15 ± 1.72	3.22 ± 1.14
21	2.98 ± 0.69	3.42 ± 1.09	1.24 ± 0.54	1.55 ± 0.36	0.353 ± 0.085
31	1.12 ± 0.41	0.930 ± 0.245	0.454 ± 0.167	0.622 ± 0.207	0.0880 ± 0.0239
39	1.13 ± 0.79	1.41 ± 1.12	0.906 ± 0.596	0.782 ± 0.208	0.0755 ± 0.0414
53	0.469 ± 0.235	1.48 ± 1.47	0.370 ± 0.202	0.529 ± 0.091	0.0215 ± 0.0150
67	0.181 ± 0.041	0.947 ± 0.672	0.422 ± 0.471	0.560 ± 0.288	0.0108 ± 0.0036
91	0.0723 ± 0.0229	0.455 ± 0.645	0.143 ± 0.095	0.290 ± 0.101	0.00299 ± 0.00096
130	0.0349 ± 0.0115	0.165 ± 0.105	0.392 ± 0.519	0.342 ± 0.083	0.00463 ± 0.00292

values are ng Hg/g wet weight ± S.D.

TABLE II. The Parameters of Compartment Model to fit the Mean Concentration of Mercury in Tissue

Tissue	Model format	$y_1(0)$	b_1	$y_2(0)$	b_2	r
Hair	(1)	46.8	0.0449	—	—	0.992
Kidney	(2)	2380	0.172	21.0	0.0304	1.00
Liver	(2)	196	0.192	4.74	0.0295	1.00
Lung	(2)	132	0.226	1.06	0.0246	1.00
Brain	(2)	23.9	0.134	3.27	0.0380	0.999
Spleen	(2)	38.2	0.149	1.90	0.0127	0.994
Intestine	(2)	20.5	0.171	0.765	0.00906	0.991
Thighbone	(2)	20.2	0.152	0.778	0.00721	0.998
Blood	(2)	31.6	0.235	0.330	0.0465	1.00

$y_1(0)$: Mercury content of the first element in organ at time 0 (ng Hg/g).

$y_2(0)$: Mercury content of the second element in organ at time 0 (ng Hg/g).

b_1 : Rate constant of the first element (d^{-1}).

b_2 : Rate constant of the second element (d^{-1}).

r : Correlation coefficient.

$$y(t) = \sum_{i=1}^2 y_i(0)e^{-b_i t} \dots\dots\dots (2)$$

$y_i(0)$: 時間 0 における臓器内の i 成分の元素量

$y(t)$: 時間 t における臓器内の元素量

b_i : i 成分の代謝速度定数

へのあてはめが可能であったので、実験値から上記モデル

式へのあてはめを行ない代謝速度定数を求めた。得られた結果を Table II に示した。その結果①腎臓、肝臓、肺における代謝の類似性、②脾臓、小腸、大腿骨における代謝の類似性、③脳、血液、体毛における代謝の特異性が示唆された。とりわけ体毛における代謝がモデル式(1)に従うのに対して、他の臓器ではモデル式(2)に従う点

TABLE III. The Parameters of Equation ($y=a \cdot ebx$) to compute the Mean Concentration of Mercury in Tissue by That in Body Hair

Tissue	a	b	r
Kidney	1.68	0.194	0.985
Liver	0.381	0.150	0.948
Lung	0.120	0.155	0.984
Brain	0.175	0.143	0.935
Spleen	0.656	0.0855	0.893
Intestine	0.239	0.0948	0.925
Thighbone	0.352	0.0839	0.952
Blood	0.00697	0.212	0.973

y : Mercury concentration in tissue (ng Hg/g).

x : Mercury concentration in body hair (ng Hg/g).

a : Constant (ng Hg/g).

b : Constant (g/ng Hg).

r : Correlation coefficient.

は重要である。しかし、このことは、体毛が体内への元素暴露の指標として有用であることを必ずしも否定するものではない。確かに体毛と他の臓器とで、水銀の代謝特性が一致するのであれば、水銀濃度が体毛と臓器との

間で単純に正比例することになり、体毛中の濃度から他の臓器中の濃度を推定することは可能である。しかし、同時に、両者の間で代謝特性が必ずしも一致しなくとも、適当な回帰式をつくって、体毛濃度から臓器濃度を推定することが可能であるならば、体毛は指標として有用足り得る。例えば、体毛中の濃度 (x) を説明変数とする次のような単純な回帰モデル、すなわち

$$y = a \cdot ebx \dots\dots\dots (3)$$

なる式を設定してデータ処理を行なうと、Table III に掲げた回帰係数が得られる。また、これらの回帰式の相関係数も Table III に示した。この場合、どの臓器も 1 % 基準で相関ありとの結果が得られ、回帰式へのあてはまりが良く、予測の精度も良いことがわかるであろう。

なお、本研究においては $^{203}\text{HgCl}_2$ 1 回投与における実験結果の解析を行なったが、環境汚染をモニターするための生物指標としての毛髪の有用性をさらに深く検討するために、現在連続投与における実験を行なっている。また、メチル水銀等の有機水銀を用いた実験系について検討することにより、今後、毛髪の総水銀測定データへの適用についても考察していく予定である。

引用文献

- 1) IAEA: Report of the Advisory Group on the Applications of Nuclear Methods in Environmental Research, Internal Document, IAEA/AG-53, Vienna (1976).
- 2) IAEA: Activation Analysis of Hair as an Indicator of Contamination of Man by Environmental Trace Element Pollutants, IAEA/RL/50, Vienna (1978).
- 3) a) T. Takeuchi, T. Hayashi, J. Takada, M. Koyama, H. Kozuka, H. Tzuji, Y. Kusaka, S. Ohmori, M. Shinogi, A. Aoki, K. Katayama, Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences 1978, 545, IAEA-SM-227/17 (1979); b) A. Imahori, I. Fukushima, S. Shiobara, K. Tomura, M. Suzuki-Yasumoto, M. Yukawa, M. Terai, *ibid.*, 563, IAEA-SM-227/16 (1979).
- 4) A. Imahori, I. Fukushima, S. Shiobara, Y. Yanagida, K. Tomura, *J. Radioanal. Chem.*, **52**, 167 (1979).
- 5) 今堀 彰, 福島一郎, *Radioisotopes*, **29**, 266 (1980).
- 6) 野口邦和, 清水雅美, 森脇一成, 陣内研一, 西連寺永康, *Radioisotopes*, **29**, 221 (1980).
- 7) L. J. Goldwater, M. B. Jacobs, A. C. Ladd, *Arch. Environ. Health*, **5**, 537 (1962).
- 8) T. Suzuki, T. Miyama, H. Katsunuma, *Ind. Health*, **8**, 39 (1970).
- 9) T. Tsubaki, WHO/FAO Food Additives Series, **4**, 26 (1972).
- 10) T. G. Kershaw, T. W. Clarkson, P. H. Dhahir, *Arch. Environ. Health*, **35**, 28 (1980).
- 11) R. W. Phelps, T. W. Clarkson, T. G. Kershaw, B. Wheatley, *Arch. Environ. Health*, **35**, 161 (1980).
- 12) G. F. Norberg, K. Nishiyama, *Arch. Environ. Health*, **24**, 209 (1972).
- 13) 町田和彦, 松原純子, 日衛誌, **34**, 156 (1979).
- 14) W. S. Spector ed. "Handbook of Toxicology Vol. 1" W. B. Saunders, Philadelphia, 1956.
- 15) Y. Takeda, T. Kunugi, O. Hoshino, T. Ukita, *Toxicology and Applied Pharmacology*, **13**, 156-164 (1968).
- 16) L. Friberg, A. M. A. Arch. Indust. Health, **20**, 50 (1959).
- 17) 松本久男, 日衛誌, **34**, 589 (1979).
- 18) 松原純子, 保健物理, **12**, 1 (1977).
- 19) 松原純子, 医学のあゆみ, **77**, 625, 737 (1971).