原 著

特性X線による組織内遷移金属の分析 (I)

—筋・皮膚内Au鍼刺入による各種金属イオンの動静—

二本柳 賢司* 小野 了一 加藤 隆平

要旨：遷移金属鍼刺入の影響による生体内金属イオンの存在様態を決定するために、特性X線スペクトルの分析を試みた。

その結果、刺入遷移金属鍼のイオン化の定性とイオンの拡散分布方程式、イオン移動係数に等しい拡散係数そしてイオンの拡散速度を導びいている。

他方、刺入金属鍼のイオン化量は刺激時間の増大に伴い増加して、このことは特に筋肉において顕著である。また、Kイオンの内在量は刺激時間の増大に伴い減少し、さらに刺入鍼の通電により組織内各種金属イオンの相対的濃度比が変動することを確認している。

これらの結果に対して、金属蛋白の観点より若干の考察を加えている。

1. 緒言

生体での微量元素の多くが金属酵素の活性中心に存在し、酵素の活性発現と構造維持に不可欠の存在であることがわかってきている。金属イオンの大部分は遷移金属であり、それ自身が酸化還元能や加水分解能などの酵素類似作用を持ち、更に蛋白と結合して最高度の触媒作用を発揮することはよく知られている¹⁻⁴⁾。

鍼刺入による諸作用を鍼成分の生体内でのイオン化に起因する諸効果として捉え、生体内金属イオンの存在様態を物理化学、生化学の観点より研究することが重要であるということを我々は既に示してきた⁵⁻⁶⁾。

今回の実験は以上の観点到立脚して、鍼刺入によるイオン化の状況、イオン分布状態を定性的にかつ半定量的に決定することを目的とした。

2. 実験方法

1) 元素分析原理

※Kenji Nihonyanagi 名古屋市立大学医学部第一生理学教室 立命館大学理工学院研究所

共同研究者：Ryoichi Ono, Ryuhei Kato 立命館大学理工学部数学物理学科原子核物理学教室

Key Word : metals, cations, trace elements, diffusion, characteristic X-rays.

高速電子が物質に当たった時、電子は物質を構成する原子の電子または原子核と衝突または相互作用をする。内殻の電子は原子核と強く引っ張り合っているため、これを引き離すにはエネルギーを必要とする。例えばK殻の結合エネルギーを W_K とし、たたき出された電子の運動エネルギーを E_2 とすれば、初めの電子の失うエネルギーは、 $\Delta E_3 = E_2 + W_K$ となり、初めの電子のエネルギーは、 $E - \Delta E_3$ となる。この時、原子はイオンとなるが、K殻に一つの空席ができるので、より外側の電子が引っばられて落ちてくる。この時、エネルギーが余り、それがX線となって放出される。元素により核外電子のエネルギーレベルは決っているので、その間に転移があった時に余るエネルギーは元素の種類によって一定であって、生ずるエネルギーはX線となる。これが特性X線 (characteristic X-rays) である。外殻電子のエネルギーレベルの差により、L殻から落ちてくるのが $K\alpha$ 線、M殻から落ちてくるのが $K\beta$ 線等となり、L、M殻の微細構造により、さらにそれが何本かに分かれるのである。また同様に、L殻やM殻に空席ができて同様にL線、M線などが出るが、エネルギーが小さいので途中で吸収されて余りよく検出できない。

特性X線の発生のためには、電子線のエネルギーが各々の殻電子の結合エネルギーより大きい

Photo. I analyzer of the characteristic X-rays

ことが必要であるから、各々の特性X線を出すには必要な最低管電圧がある。これが励起電圧である。励起電圧は原子番号の大きい程、M線、L線、K線の順に大きくなる。

2) 分析装置

照射X線をコリメーターによってコリメート可能にする分析装置（堀場製作所製X線分析装置MESA-1130）を使用した（photo. I）。

3) 実験材料および実験方法

実験動物は健康なニワトリを使った。実験部位は、手羽部の皮膚ならびにはその皮膚直下の筋肉を、縦2 cm、横1 cm、厚さは皮膚の厚さ1.5 mmに等しい厚さの直方体状に切除し、恒温槽(35℃)内生理食塩水中に保存しつつ、次の五群に分けて実験した。

第一群はコントロールの皮膚と筋肉。

第二群は10分間刺入の皮膚も筋肉。

第三群は20分間刺入の皮膚と筋肉。

第四群は30分間刺入の皮膚と筋肉。

第五群は1200分間刺入の皮膚と筋肉。

であり、第一群を除く第二群より第五群までに對して、直径0.3 mmの純金(Au)の鍼を刺入し、同時に約10 μ A, 9 V, 25 HZの低周波通電を行った。規定通電後、試料から鍼を抜き、そのままの状態ですべて試料を分析装置の試料室に設置し、試料室を真空状態にして分析した。試料室内の試料を光学顕微鏡式ビデオカメラで分析領域を観察しながら特性X線分析を同時に行った。分析が終り次第、

装置内臓のコンピューターによって即座に測定結果をディスプレイ表示した。

照射X線のエネルギーは軽元素用のためには9.52 KeV、遷移金属元素用のためには24 KeVの二つを使った。ターゲットはタングステンである。X線検出には堀場製作所製リチウム・ドリフト・シリコン; Si (Li) 半導体Beウインドー検出器を用いている。

X線検出器に対するビーム入射角度は90度である。X線検出の分解能は、半値幅で6 KeVのとき140 eVであった。

3. 実験結果

1) 刺入金属鍼のイオン化と拡散分布

Fig.1, 2はそれぞれ第三群、第四群の試料につき、皮膚および筋肉を別々に9.52 KeVのX線により励起した時の特性X線を捕えたものであり、一つのヒストグラムの幅は試料上で0.3 mmの直径を持つ円柱内の金属鍼成分(Au)のイオン存在量を示している。なお、この一つのヒストグラム幅は刺入金属鍼の直径(0.3 mm)に一致させてある。

拡散イオンの分布の仕方は鍼刺入部が最も多量のイオン分布となり、鍼刺入部から離れば離れる程、イオンの存在量は減少する。Fig.3はFig.1, 2を両対数グラフで表示したものである。横軸は鍼刺入部からの距離(mm単位)をとり、縦軸はFig.1, 2から読み取れたヒストグラムの

相対的な数値を読み取ったものである。このFig. 3より、鍼のイオン化によるイオンの分布方程式として、次の方程式が導かれた。

拡散分布量を I 、拡散係数を D 、鍼刺入部からの距離を x 、鍼刺入部での金属量を I_0 とすれば、

$$\log I = -D \log x + \log I_0$$

であった。本実験では I_0 は $I_0 \approx 10.45$ であった。したがって、 $I \approx 10.45(-x)^{-D}$ となった。

また、20分後、30分後の拡散係数をそれぞれ D_{20} 、 D_{30} とし、さらに対極(-)へ向っての拡散係数、対極(-)から離れる拡散係数をそれぞれ D^I 、 D^O によって表わすと、 $D^I_{20} \approx 0.41$ 、 $D^I_{30} \approx 0.43$ 、 $D^O_{20} \approx 0.43$ 、 $D^O_{30} \approx 0.59$ であった。これらすべての拡散係数の平均、すなわち平均拡散係数 D は $D \approx 0.46$ であった。また、拡散平均速度 $\bar{v}$ は、 $0.6(\text{mm/min}) \leq \bar{v} \leq 0.9(\text{mm/min})$ であった。

2. アルカリ金属および遷移金属の定性的分析結果

Fig. 1 Diffusion of Au

Fig. 2 Diffusion of Au

Fig. 3 Diffusion & Distribution of Au

Fig. 4は鍼刺入前のX線スペクトルであり、Fig. 5は筋肉における一定時間後の各種金属の分布変化を示している。Fig. 6は皮膚における一定時間後の各種金属の分布変化を示している。それら金属の量的存在比はTable 1の通りであった。

このTableは筋肉および皮膚に含まれている鉄(Fe)の量がほぼ一定であることに着目して、鉄の量を100とした時の、各種金属の量の相対分率を計算したものである。

Fig. 5 Displacement of Distribution

Fig. 6 Displacement of Distribution

ただし、 R は気体定数、 T は絶対温度、 χ は移動距離、 ϕ は電位、 Z は電気量、 F はファラデー定数である。

また、距離 χ だけ離れた2点のイオン濃度をそれぞれ C_0 、 C_x ($C_x > C_0$) とすると

$$\begin{cases} J \doteq -D \left(\frac{C_x - C_0}{\chi} \right) \\ J \doteq -P (C_x - C_0) \end{cases}$$

となるから、これより

$$P \doteq \frac{D}{\chi}$$

が導びかれる。すなわち、 P は距離 χ に反比例して小さくなっている。われわれの求めた D は $D \doteq 0.46$ 、 $\chi \doteq 2.0 \text{ cm}$ であるから、 P は $P \doteq 0.23$ となる。

それで、われわれが求めた拡散分布方程式はどのようなものかを考えるとき、まず拡散係数 D は組織の集積的定数であることより、生体膜の透過性に影響するすべての因子に関する値を含まねば

ならないことになる移動係数 (transfer coefficient) に相等するものと考えられるので、この拡散分布方程式は輸送に関する次の一般式⁹⁾と対をなすものでなければならぬと考えられる。

$$\frac{dC}{dt} = k_i C_o - k_o C_i$$

ここで、 t は時間、 C は濃度、 k_i 、 k_o は sec^{-1} で表わされる内向きフラックス (influx)、外向きフラックス (outflux) に対する比移動係数、 C_o 、 C_i は膜の外側と内側におけるイオンの濃度である。それゆえに、この式は、濃度変化は入ってくる量から出ていく量の差に等しいことを意味している。したがってわれわれの求めた拡散分布方程式は当然この現象を記述していることになる。

〔刺入金属鍼による組織内金属イオンの変化について〕

Table 1 より得られる顕著な状況は次の4点である。

第1点は、金 (Au) のイオンのイオン化量は刺激時間の増大に伴い増加することである。これは筋肉において顕著である。Fig. 9 が示すように、ファラデーの法則によるAuの電気分解量は時間に対して正比例関係にあるが、筋肉内におけるイオン化量は正比例関係にはないことがわかる。このことは細胞内の各種金属イオンによって刺入金属イオンのフラックスが抑止されるためであろうと考えられる。

第2点は、Fig. 7 がその状況を示しているようにKイオンの量は刺激時間の増大に伴い明らかに減少することである。これは細胞内におけるKイオンが蛋白質との結合が弱いことが原因となり、蛋白質と結びつきやすく重い陽イオンのフラックスによって、押し出されてしまうものと考えられる。

Fig. 9 comparison between theoretical and experimental

第3点は、Au鍼の通電刺激により、各種金属イオンの相対的濃度比が変動することである。これは異種イオンの混入により、共役なイオン関係を保つイオンと、非共役なイオン関係になるイオンとがあることをサジェストしている可能性がある。

第4点はFig. 8 で明らかなように、Au鍼刺入部における、より重い金属の含有量 (Au鍼刺入部から遠い部位の含有量よりも)、相対的に多く、逆に、Au鍼刺入部における、より軽い金属の含有量は、(Au鍼刺入部から遠い部位の含有量よりも)、相対的に少ない結果になっている。このことは、外部からの遷移金属イオンの混入により、内在していたイオンが共役なイオン関係と非共役なイオン関係になることを含めながら、内在していた遷移金属イオンの集合化作用を可能にしているという可能性がある。

5. 結論

遷移金属鍼刺入による生体金属イオンの存在様態を、特性X線により分析することができる。その結果は次の通りである。

1. 刺入金属イオンの時間経過に対する拡散分布方程式を決定することができる。

Fig.7 relative distribution of non-transition elements

Fig. 8 comparison between Au side and distant side

2. 刺入金属イオンのイオン化量は時間に正比例する関係には従っていない。つまり、ファラデーの電気分解の法則には従っていない。

3. 刺激時間の増大に伴いKイオンの量は刺入局所において減少する。

4. 刺入金属イオンによって、内在している遷移金属イオンは共役的に作用している。

5. 微量元素の変動の原因は本実験では解明されていない。

おわりに、本実験をするに際し、堀場製作所開発部の細川好則氏ならびに泉昭太郎氏には装置についてのご協力を頂くことができ、謝意を表する次第である。

引用文献

- 1) H.J.M.Bowen: Trace elements in biochemistry, Academic Press, 1966
- 2) A.S.Prasad(ed.): Trace elements in human health and disease, vol.II, Academic Press, 1976
- 3) E.J.Underwood: Trace elements in human and animal nutrition, 4th.ed., Academic Press, 1977
- 4) 日本化学会編: 錯体化学からみた生体系とそのモデル, 化学総説NO.20, 学会出版センター, 1978
- 5) 二本柳賢司・成田正次: 鍼成分のイオン化に起因する諸効果について, 自律神経雑誌, 25, 3.4, 112~117, 1979
- 6) 二本柳賢司・成田正次: MOとFeを含む合金鍼の生化学的効果について, 第27回日本鍼灸医学会学術総会誌, 63~71, 1978
- 7) Hirokazu Kato, Ryoichi Ono and Ryuhei Kato: Absorption of high energy electrons in liquid medium, Nuclear Instruments and Methods 145, 525~528, North-Holland Publishing Co., 1977
- 8) Takao Igaki, Te Hanai, Takehiro Nishidai, Mitsuyuki Abe and Hidekuni Takekoshi: PIXE Analysis using Kyoto University Cyclotron, Bulletin of the Institute for Chemical Analysis, 63~67, 化学同人, 1978
- 9) W.C.Holland, R.L.Klein, A.H.Briggs 著 大木幸介, 林勝哉 訳: 分子薬理学序説, 103~105, 東京化学同人, 1967
- 10) 花井哲也: 膜とイオン——物質移動の理論と計算——, 63~67, 化学同人, 1978

(〒621 京都府亀岡市森田野町芦ノ山杉森 6-29)

Analysis of Metals in Tissues Through Characteristic X-Rays

Kenji Nihonyanagi

Nagoya City University Medical School, the 1st Department of Physiology

Ryoichi Ono and Ryuhei Kato

Ritsumeikan University, Department of Mathematics and Physics, nuclear physics

The +2 ions in the external fluids of the cells touching the outer surface of the nerve membranes are indispensable to excitation ; if a +1 ion is added, excitation becomes easy. In the inner fluids touching the inner walls of the membrane with the existence of +1 ions only there is no problem, but if a +2 ion happens to come to exist within these inner fluids generally, this results in a decrease in the active electrical potential.

Very little is known about the quantitative tendencies of trace metal elements (or ions) within the local domain of the human tissue however the verification of the amounts of VIa (Cr, Mo), VIIa (Mn), VIII (Fe, Co, Ni, Pt), Ib (Cu, Ag, Au) transition metal elements and IIb (Zn, Cd) among the heavy metal elements existing in the human body is a matter of great physiological and pathological importance.

We will report information concerning metals among heavy metals and the transition metals in which characteristic X-rays appeared notably in this experiment.

The results of this experiment indicate the following: (1) We can induce the equation of diffusion and distribution concerning to the ions of metal element introduced into the skin and the muscle. (2) The amount of ionization of metal elements introduced into the tissues is not abided by Farady's law of electrolysis. (3) In proportion as time of stimulation increases the amount of K-ions in the local domain punctured by Au-needle. (4) As the effect of metal element punctured and introduced into the tissues, the ions of the transition metal elements that were already existing in the tissues are acting in conjunction with the introduced element. (5) The cause of variation on the trace element is not analyzed in this experiment.