短 報

非破壊放射光蛍光X線分析法による
メチル水銀単独およびセレン併用投与
モルモット脳内微量元素の
2次元イメージング

Nondestructive X-Ray Fluorescence
Spectroscopic Imaging of Trace Elements
on Methylmercury and Selenium
Administered Guinea Pigs

Key words : nondestructive X-ray fluorescence spectroscopic imaging; brain; guinea pig; methylmercury; selenium; zinc; copper

水銀の毒性に対するセレンの修飾作用¹⁾や金属元素間の相互作用は広く知られている。近年、微量元素の生体内生理活性が明らかにされ、特に中枢神経系と亜鉛や銅に関する研究が多方面から行われている²⁾。本研究では、水銀の毒性を明らかにする一つの手法として、非破壊放射光蛍光X線分析法を用いて、メチル水銀およびセレンを投与したモルモットの脳内微量元素の詳細な2次元分布を作成し、水銀による各微量元素分布の変動の検討を行い、初めて本測定法が生体試料に適用できることを明らかにした。

実験方法

Hartley系モルモット(雄性 421~444 g)を用い、(I)には塩化メチル水銀(MMC)を単独で、(II)にはMMCと亜セレン酸ナトリウムを水銀とセレンのモル比1:0.5の割合で、ともに3 mgHg/kg/dを連続して10日間皮下投与した。(III)は無処理とし、(IV)には(II)と同量の亜セレン酸ナトリウムのみを投与した。投与終了後1日目に、エーテル麻酔下で心採血して屠殺、脱血後、脳を摘出しホルマリン処理した。脳は縦方向に2等分し、パラフィン固定して、脳中央より1 mm幅で切断し、水銀、亜鉛、銅、セレンについて非破壊放射光蛍光X線分析を行った。

非破壊放射光蛍光X線分析には、高エネルギー物理学研究所の蛍光X線分析システムを用いた。モノクロメータ(Si(111))で単色化したX線(16 keV)のビーム径を4象限スリットで0.75 mmに絞り、XYステージ上の試料に20秒間照射した。XYステージは、0.75 mmステップで移動させ、各分析点ごとにSi(Li)-SSDで測定した蛍光X線強度をパーソナルコンピュータ(PC9801)

Fig.1. X-ray spectrum of sample (II).
Measuring time was 735 s.

で解析し、最大値と最小値間を8段階の濃淡でグラフィック表示して、脳内微量元素の2次元イメージングを作成した。Fig.1に試料(II)の蛍光X線スペクトルを示した。

結果および考察

(II)における水銀と亜鉛の測定結果を代表例として、Fig.2に示した。(III)および(IV)の水銀の濃度はきわめて低いため、各分析点の蛍光X線強度の最高値と最低値との差が小さく、2次元分布はともに明確にはみられなかったが、水銀を投与した(I)、(II)では明確にその分布を示した。(I)では線条体および皮質後部で高く、小脳、橋・延髄で低くなり、Inoueら³⁾のメチル水銀投与モルモットと同様の傾向であった。(II)では、皮質中部、線条体で高く、小脳、橋・延髄で低くなった。

亜鉛、銅の脳内分布は、(I)、(II)、(III)、(IV)いずれのモルモットにおいても明確な2次元分布が得られた。原子吸光法による対照ラットの脳内亜鉛濃度は、海馬や大脳皮質で高く、橋・延髄で低いことが報告されているが⁴⁾、本法による対照モルモット(III)の亜鉛分布もこれとよく一致した。また対照ラットの銅濃度は、視床下部、嗅結節で高く、橋・延髄で低いことが報告されているが⁴⁾、本法による対照モルモットの脳内銅の2次元分布は、神経学的に分画される脳各部位の同一部位内において濃度の高い測定点と低い測定点が混在していた。

脳内セレンの2次元分布は、(II)が最も明確であった。Komsta-Szumaskaら⁵⁾は、セレン単独投与よりもセレンとメチル水銀併用投与モルモットの脳内セレンのほうが高くなったことを報告しており、本研究においても(III)や(IV)よりもメチル水銀を併用投与した(II)のほうが脳内セレンが高くなったものと考えられる。

各分析点のデータをプロットし、元素間の相関性を検討すると、対照モルモットでは亜鉛と銅との間でのみ高

Fig.2. The results of chemical imaging on the methylmercury and selenium administered guinea pig (II). a) ; Hg, b) ; Zn. Cerebral cortex is on the right side and cerebellum is on the left side.

い相関 ($r=0.854$) がみられたが、水銀を投与した(I), (II)では、水銀は亜鉛、銅、セレンのいずれの元素とも分布の相関性が高く、特に(II)の水銀と亜鉛との間で最も高い相関性 ($r=0.943$) がみられた。

メチル水銀を投与したモルモットの臓器中の亜鉛、銅の変動はすでに報告されているが⁶⁾、本研究では水銀と

他の微量元素との分布を脳の微細な部分で、しかも2次元レベルで初めて明らかにした。

Lenglet ら⁷⁾は、micro PIXE (Particle-Induced X-ray Emission) 法を用いて対照ラットおよび亜鉛欠乏ラット脳の海馬における亜鉛、銅の2次元分布を作成している。しかし、この方法は荷電粒子による試料へのダメージがあり、しかも測定時間がかかる欠点がある。それに対し、本研究の非破壊放射光蛍光X線分析法はmicro PIXE 法に比べ分解能は低い、試料へのダメージはほとんどなく、ビーム径の範囲が0.1~1.0 mm 四方であるため分析範囲が広くなり、微量元素分布の変動を巨視的に検討する場合には、特に優れていると考えられる。

なお、本研究は高エネルギー物理学研究所放射光実験施設の共同利用実験(受理番号 88-034)として、同研究所飯田厚夫博士、筑波大学化学系中井泉博士の協力のもとに行われた。

文 献

- 1) Ohi G, Nishigaki S, Seki H, et al. Interaction of dietary methylmercury and selenium on accumulation and retention of these substances in rat organs. *Toxicol Appl Pharmacol* 1975 ; 32 : 527-533.
- 2) Hesse GW. Chronic zinc deficiency alters neuronal function of hippocampal mossy fibers. *Science* 1979 ; 205 : 1005-1007.
- 3) Inoue M, Kajiwaru Y. Developmental disturbances of the fetal brain in guinea-pigs caused by methylmercury. *Arch Toxicol* 1988 ; 62 : 15-21.
- 4) Saito T, Itho T, Sato H, et al. Copper and zinc distributions in eight regions and subcellular fractions of rat brain. *J Trace Elem Exp Med* 1988 ; 1 : 33-40.
- 5) Komsta-Szumaska E, Reuhl KR, Miller DR. The effect of methylmercury on the distribution and excretion of selenium by the guinea pig. *Arch Toxicol* 1983 ; 54 : 303-310.
- 6) Komsta-Szumaska E, Czuba M, Reuhl KR, et al. Demethylation and excretion of methylmercury by the guinea pig. *Environ Res* 1983 ; 32 : 247-257.
- 7) Lenglet WJM, Bos AJJ, Stap CCAHvd, et al. Discrepancies between histological and physical methods for trace element mapping in the rat brain. *Histochemistry* 1984 ; 81 : 305-309.

本間志乃*, 下條信弘**, 山口誠哉**

* 筑波大学大学院医学研究科

** 筑波大学社会医学系

Shino HOMMA,* Nobuhiro SHIMOJO** and Seiya YAMAGUCHI**

* Graduate School Doctoral Program in Medical Sciences, The University of Tsukuba, 1-1-1 Tennodai, Tsukuba, 305 Japan

** Institute of Community Medicine, The University of Tsukuba

平成元年12月26日受付

通信先: 本間あて, Reprint requests to S. Homma