

## 多発地 ALS 患者と住民における毛髪中元素と生活習慣の関連に関する検討

紀平 為子<sup>1)</sup>，櫻井威織<sup>1)</sup>，吉田宗平<sup>1)</sup>，若山育郎<sup>1)</sup>，高宮幸一<sup>2)</sup>，中野幸廣<sup>2)</sup>，  
奥村良<sup>2)</sup>，飯沼勇人<sup>2)</sup>，和田幸子<sup>3)</sup>，岩井恵子<sup>3)</sup>，岡本和士<sup>4)</sup>，小久保康昌<sup>5)</sup>，葛原茂樹<sup>6)</sup>

1: 関西医療大学保健医療学部，2: 京都大学原子炉実験所，3: 関西医療大学保健看護学部，

4: 愛知県立大学看護学部，5: 三重大学大学院地域イノベーション学研究科，

6: 鈴鹿医療科学大学保健衛生学部

**研究要旨** 紀伊半島串本(K)地域での ALS 多発の要因として酸化的ストレスの関与が推察される。本研究では、毛髪中の金属含量と生活・食習慣の関連を検討した。対照 20 名，K 地域住民 87 名，K-ALS 7 名，穂原 PDC 4 名，孤発性 ALS 10 名から化学処理のない頭髪が得られ放射化分析を実施した。K 住民と対照住民には生活習慣のアンケート調査を実施した。K-ALS 患者の頭髪中に V と Mn の高値を認めた(各  $p < 0.05$ )。頭髪中 V や Mn 値は Al 値と正相関し、漬け物摂取や畑仕事の頻度と関連が認められた( $p < 0.05$ )。本地域 ALS 患者ではこれら遷移金属による酸化的ストレス増大の関与が推察された。

### A. 研究目的

紀伊半島串本(K)地域の筋萎縮性側索硬化症(ALS)において有害金属による酸化的ストレスの関与を検討するため、毛髪中金属元素含量の測定と酸化的ストレスマーカーおよび生活・食習慣調査を実施し、その関連を検討した。

### B. 研究方法

対象は、我々が 2010 年-2012 年に実施した地域住民の健康診断と訪問診療・療養相談において本研究の趣旨に同意した住民と ALS 患者とした。

#### 1. 頭髪の元素分析

側頭部 2 か所，後頭部 1 か所から頭髪約 200mg を採取し、アセトン(50ml)，蒸留水(各々 50ml，3 回)，アセトン(50ml)で各々 10 分間強振，風乾後 30mg を秤量，硝酸洗浄済みポリエチレン袋に封入し照射試料とした。試料作成と分析方法は既に報告した<sup>1)</sup>が、京都大学原子炉実験所の研究用原子炉気送管 Pn-1 で中性子を照射し放射化分析を実施した。

標準試料として、頭髪標準試料(国立環境研究所環境標準試料 NIES CRM No. 13)，各元素の標準として Ca(1000 ppm，以下同様)，Mg (200)，Cu (50)，

Al (20)，Mn (5)，V (1)，さらに Zn(200)の混合標準液(XSTC-Multi-element Standard，SPEX，USA)から 100  $\mu$ l 採取し濾紙に滴下した。S は(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(w) GR (8.241g)を蒸留水で溶解し 1000  $\mu$ g を濾紙に滴下し使用した。

#### 2. 生活・食習慣に関する自記式アンケート

2012 年に K 地域と対照住民に実施した食品摂取頻度，嗜好，仕事の内容，身体疲労および飲用水の種類などを含めた 63 項目のアンケート調査の結果から、食生活と仕事に関する項目を抽出し検討した。

食生活と仕事の特徴，酸化的ストレスマーカーである尿中 8-OHdG 値(2010 年から 2012 年の間に測定)と頭髪中元素含量について関連を検討した。

#### 3. K 地域の食品の元素分析

2013 年秋に収集した K 地域の米，天草，ひじき，ウツボ揚げ煮，切り干し大根，鯨皮，唐辛子，オクラ，シシトウ，なす漬物，キュウリ漬物の 11 品目について V，Al，Ca，Mg，Fe および Zn 含量を測定した。分析は三重県環境保全事業団に依頼し、食品衛生検査指針(理化学編 厚生労働省監修 2005)に基づきマイクロ波加熱分解-ICP 発光分析法

を実施した。

(倫理面への配慮)

生体試料採取や臨床・個人情報収集に際して倫理的側面に充分配慮し、文書を用いた説明と本人の自由意志による同意を得てから実施した。本研究は関西医療大学倫理審査委員会で承認を得た(10-03)。

## C. 研究結果

### 1. 頭髪の元素分析

K 地域 ALS 7 例, 穂原地域 (H-PDC) 5 例, 弧発性 ALS (SALS) 10 例, MND 3 例, K 地域住民 132 名, 対照地域住民 29 名から頭髪試料の提供を得た。本研究ではこれらの内, パーマや毛染めをしていない頭髪, K-ALS 7, H-PDC 4, SALS 10, MND 3, K 地域住民 87, 対照住民 20 試料について検討した。

我々の放射化分析法で測定した標準頭髪試料 (NIES CRM No. 13) の Al, Ca, Mg, Mn, V, Cu, S 含量はその保証値/参考値と良く合致した。

K-ALS では, 頭髪中 V と Mn 含量が対照に比し有意に高値を示した ( $p < 0.05$ , 図 1)。H-PDC でも同様に頭髪中 V 含量が高い傾向が認められた。K 地域住民では, 頭髪中 V や Mn 含量が高値を示す者が多く認められたが, 平均値は対照住民と有意差を認めなかった。頭髪中の V 含量は頭髪中 Mn 含量および Al 含量と正の相関を示した (各々  $p < 0.01$ )。

### 2. 生活・食習慣アンケート調査との関連

頭髪中の元素含量と生活・食習慣の関連について, アンケート調査を実施し分析した。漬け物を「よく食べる」と回答した住民では「あまり食べない」と回答した住民に比較して頭髪中 V 含量が高値を示した ( $p < 0.05$ , 図 2)。畑仕事を「よくする」と回答した住民では「あまりしない」と回答した住民に比し, 頭髪中 Mn ( $p < 0.01$ ) と Al ( $p < 0.05$ ) 含量の高値を認めた。頭髪中 V 含量は尿中 8-OHdG/creatinine 値と正相関する傾向がみられた (Pearson's  $r = 0.358$ )。

### 3. K 地域の食品の元素分析

K 地域の上記食品 11 品目の内, ひじきや天草中の V 含量が高い値を示した (図 3)。

## D. 考察

毛髪中の元素含量測定は, 有害元素の体内蓄積の指標としてしばしば用いられている。本研究で多発地 ALS 患者頭髪中に V や Mn の高値が認められ, これらの体内蓄積が推察された。また K 地域住民の中にもこれら金属の高値を示す住民が認められた。Al や Mn は土壌中に多く含まれ, V は環境中に広く分布するが海産物や土壌に多いとされている。当地域の土壌は, Al や Mn 含量が高いと報告されているが<sup>2</sup>, V 含量は明らかでなく, 今後測定する必要がある。K 地域の海産物中の V 含量は日本食品標準成分表の値とほぼ同様であった。

頭髪中 V や Mn 高値の一つの要因として, K 地域住民の生活習慣との関連が示唆された。生活習慣のアンケート調査から, 当地域では畑仕事の頻度が高く, 海産物の摂取が多いことが示された。頭髪中の V は Al や Mn 含量と正の相関を示し, さらに頭髪中の Al, Mn は畑仕事の頻度の高い住民に高値を示した。当地域では飲用水中の Ca 含量が極めて低いことが確認されているが, 低 Ca 状態下で, 土壌中あるいは海産物中の V や Mn が Al とともに吸収され頭髪など組織に蓄積した可能性が考えられた。漬け物の摂取頻度の高い住民に頭髪中 V 高値を認めたことの意義は不明で, どのような生活習慣と関連するのか今後の課題である。

V は生体への毒性を有する遷移金属であり, マウスでの肺腫瘍<sup>3</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 産生による p53 活性化とアポトーシス誘導<sup>4</sup>, ドパミン含有細胞への毒性<sup>5</sup>などが報告されている。Roos らは ALS 患者脊髄液中に Mn, Al, V など金属元素の有意な高値を認め金属による神経毒性の関与を推察している<sup>6</sup>。これら遷移金属元素が運動神経細胞の変性にどのように関与するか今後さらに検討が必要である。

## E. 結論

紀伊半島串本地域の ALS 患者頭髪中に遷移金属である V や Mn の高値を認め, これら金属元素による酸化的ストレスの増大が推察された。飲用水中の Ca 含量が極めて低い環境下で畑仕事や海産物摂取の頻度が高い生活・食習慣と関連して V や Mn が体内に蓄積した可能性が考えられた。

本研究の一部は、科学研究費助成事業(科学研究費補助金)から助成を受け、当該報告書に報告した(課題番号 22590967)。

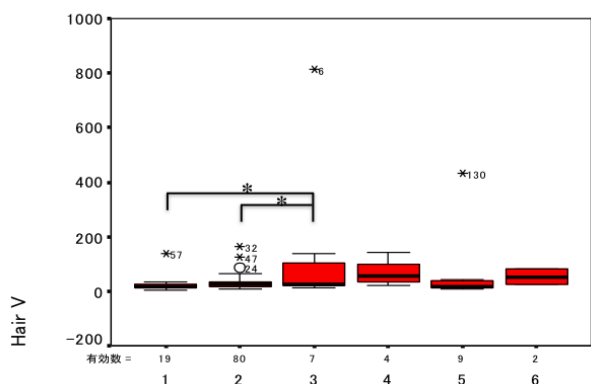


図 1 . 頭髪中のバナジウム(V)含量の比較

K-ALS では対照および K 住民に比し有意な高値を示した(単位: ppb) . 1: 対照, 2: K 住民, 3: K-ALS, 4: H-PDC, 5: SALS, 6: MND, \* :  $p < 0.05$ .

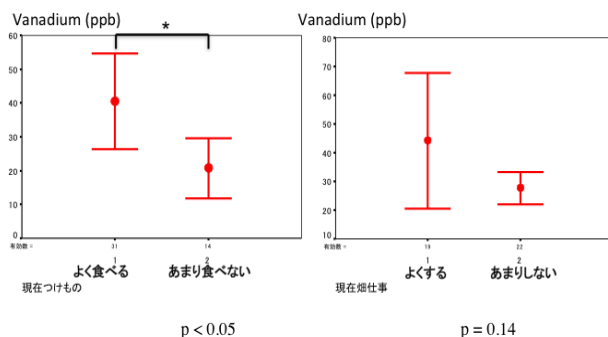


図 2 . 生活習慣と頭髪中 V 含量との比較

現在漬け物をよく食べると回答した住民では頭髪中 V 含量が有意に高い値を示した . 畑仕事をよくすると回答した住民では V 含量が高い傾向を認めた .

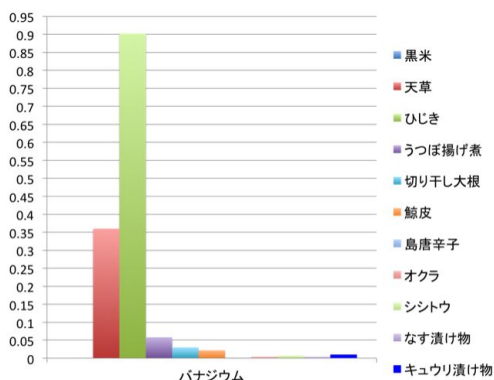


図 3 . 食品中の V 含量

K 地域で生産/加工された食物/食品に含まれる V 含量を測定した . 海産物に高い値を認めた .

文献

1. 紀平為子他 ,厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業牟婁病の実態の把握と治療指針作成平成 23 年度総括・分担研究報告書 , p. 24-27.
2. Garruto RM et al. In: Chen KM , Yase Y , edt , ALS in Asia and Oseania , 1984 , p. 265-330.
3. Assem FL and Levy LS. J Toxicol Environ Health B Crit Rev. 2009; 12: 289-306.
4. Huang C et al. J. Biol. Chem. 2000; 275: 32516-32522.
5. Ngwa HA et al. Toxicol Appl Pharmacol. 2009; 240: 273-285.
6. Roos PM et al. Biol Trace Elem Res. 2013; 151: 159-70.

## F.健康危険情報 : なし

## G.研究発表

### 1. 論文発表

1. T Kihira , Kazushi Okamoto , Sohei Yoshida , et al. Environmental Characteristics and Oxidative Stress of Inhabitants and Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis in a High-incidence Area on the Kii Peninsula , Japan. 2013 Internal Medicine 2013 , 52: 1479-1486.

### 2.学会発表

1. 紀平 為子 , 岡本和士 , 吉田宗平 , 他. 紀伊半島南部 ALS 多発地域における生活・食習慣の変化に関する検討. 日本神経学会総会 , 東京 , 2013 年 5 月 29 日 ~ 6 月 1 日 .
2. Tameko Kihira , Iori Sakurai , Sohei Yoshida , et al. Transitional metal in scalp hair and lifestyle of ALS patients and residents in the Kii Peninsula , Japan – the second report-. 24<sup>rd</sup> International symposium on ALS/MND , Milan , Italy , 6 - 8 December , December 2013.

## H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

- 1.特許取得 : なし
- 2.実用新案登録 : なし
- 3.その他 : なし