

## 口腔健常粘膜の微量元素分析

石橋 修, 杉山 芳樹, 中村ますみ, 関山 三郎

岩手医科大学歯学部口腔外科学第二講座

(主任 : 関山 三郎 教授)

(受付 : 2003年 6月10日)

(受理 : 2003年 7月14日)

**Abstract :** We analyzed trace elements in 100 normal oral mucosae by Particle Induced X-ray Emission (PIXE) method. We studied 48 males and 52 females, 11 to 77 years of age with a mean age of 31.6 years.

The submajor elements Na, P, S, Cl, K and Ca were detected in all samples, and Mg was detected in 97% of the samples. Twelve trace elements, Si, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Mo and Sn, were detected in the oral mucosae. Of these trace elements, Si, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn and Se were detected in greater than 80% of the samples. We detected six ultratrace elements Ge, As, Br, Rb, Pd and Cd. Of these ultratrace elements, Br and Rb were detected in greater than 90% of the samples.

Fourteen contaminated elements were detected in the oral mucosae. Al and Pb were detected in all samples, although contaminated elements do not normally exist in human body.

There were significantly higher mean concentration values of Se and Pb in the males than in the females. There were significantly different concentration values of S and Cr, according to age groups.

**Key words :** oral mucosa (口腔粘膜), trace element (微量元素), Particle Induced X-ray Emission : PIXE (粒子励起 X 線分光法)

### 緒 言

生体を構成する元素は、その働きや含有量などにより必須元素 (essential element) と汚染元素 (contaminated element) に分類される。必須元素は、その含有量により多量元素 (bulk element) と微量元素 (trace element) に分けられる。さらに多量元素は、O, C, H, N の主要元素 (major element) と Ca, P, S などの準主要元素 (submajor element) に分類され、前者は身体の全重量の96~97%を占め、後者は3~4%を占めている。一方、微量元素は重量含有

率において、わずか0.02%を占めるにすぎない。さらに、近年測定方法の進歩により、通常ではきわめて少量しか存在しない元素のなかで、必須性が指摘されている元素を超微量元素 (ultratrace element) と称するようになった。これら以外の必須性が確認されていない元素は汚染元素として分類されている<sup>1,2)</sup>。

この生体中の元素の定量には、測定試料として比較的多くの材料が得られる血清や各臓器を対象にさまざまな方法で行われてきた。その結果、Zn 欠乏による味覚障害や Se 欠乏による克山病 (Keshan disease) など、ある種の元素の

The trace element analysis of normal oral mucosa  
Shu ISHIBASHI, Yoshiki SUGIYAMA, Masumi NAKAMURA, Saburo SEKIYAMA  
Second Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Iwate Medical University. 1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

岩手県盛岡市中央通1丁目3-27 (〒020-8505)

*Dent. J. Iwate Med. Univ.* 28 : 76-84, 2003

欠乏と疾患との関係が解明されてきた<sup>1,3~5)</sup>。

口腔粘膜疾患と微量元素の関連をみると、扁平苔癬など金属アレルギーの関与が考えられている種々の疾患がある<sup>6~8)</sup>。これらの疾患の原因究明には、先ず健常粘膜の微量元素分析が必要と思われるが、口腔粘膜組織自体の量が少ないために、最近までほとんど行われていなかった。

これまで石橋<sup>9)</sup>は62例の健常頬粘膜についての元素分析結果を報告した。今回、疾患粘膜との比較の際の年齢分布や元素別の基準値とするうえで、より信頼度の高いデータを得るために、症例数を増やし検討を加えたので報告する。

## 対 象

対象は、岩手医科大学歯学部附属病院第二口腔外科外来を受診した患者のうち、口腔粘膜に異常がみられず、口腔粘膜疾患の既往のない健常頬粘膜100例である。試料の採取は、患者に本研究の目的と内容を説明し同意を得て行った。対象症例は、男性48例、女性52例であった。年齢は、11歳から77歳で平均31.6歳であった。性別による年齢は、男性は12歳から77歳で平均32.5歳、女性は11歳から76歳で平均30.7歳であった。これらを年代別に19歳以下の25例、20~39歳の49例、40~59歳の15例、60歳以上の12例の4群に分類した (Table 1)。

## 方 法

### 1. 被験試料

#### 1-1 試料採取

試料は、下顎智歯の抜歯や手術などの際に頬粘膜に切開が必要な患者の切開線部の一部から、約10×5 mmの大きさで頬粘膜を採取した。採取した頬粘膜からは、粘膜下組織を切除し測定試料とした。

#### 1-2 試料洗浄

採取した試料は、付着している血液の除去と細胞の浸透圧を一定に保つために、震盪器上で50mlコニカルチューブ (CORNING 社製) を用

Table 1. Number of subject

| Age                | Male | Female | Total |
|--------------------|------|--------|-------|
| under 20 years old | 9    | 16     | 25    |
| 20 to 39 years old | 26   | 23     | 49    |
| 40 to 59 years old | 8    | 7      | 15    |
| over 59 years old  | 5    | 6      | 11    |
| Total              | 48   | 52     | 100   |

いて20mlの生理食塩水中で1時間ごとに計2回生理食塩水を交換し、洗浄を行った (Fig. 1-a)。

#### 1-3 試料乾燥

試料を2 mlセラムチューブ (CORNING 社製) 内に移し、40°Cのホットプレート上で十分に乾燥した (Fig. 1-b)。

#### 1-4 試料調整

乾燥試料は、分析用電子天秤を用いて重量が5 mgとなるように調整した (Fig. 1-c)。

#### 1-5 硝酸灰化法<sup>10)</sup>

専用のテフロン容器を用い、乾燥試料5 mg、硝酸 (和光純薬工業株式会社製) 200  $\mu$ l、内部標準元素として1,000 ppmインジウム (In) 標準液 (和光純薬工業株式会社製) を5  $\mu$ lを加え、200 Wの電子レンジで2分間加熱した。その後、1分間自然冷却を行い、さらに2分間加熱した。次に、電子レンジから取り出したテフロン容器をそのままの状態で20~25分間自然冷却を行った。硝酸灰化を行った試料は、クリーンベンチ内で厚さ4  $\mu$ mのポリプロピレンフィルム (東レ株式会社製) に10  $\mu$ lを滴下し、十分に自然乾燥を行った後、測定用のターゲットとした (Fig. 1-d,e)。

#### 1-6 粒子励起X線分光法 (Particle Induced X-ray Emission : PIXE)<sup>11,12)</sup>

医療用小型サイクロトロン (MCY-1750 SHIMADZU 社製) からの2.9 MeV陽子ビームをターゲットに照射し、発生した特性X線をSi (Li) detector からなる two detector systemにて検出後、マルチチャンネルアナライザによりスペクトルに変換し各元素を検出した。

#### 1-7 試料定性・定量

定性と定量は、パーソナルコンピュータによ

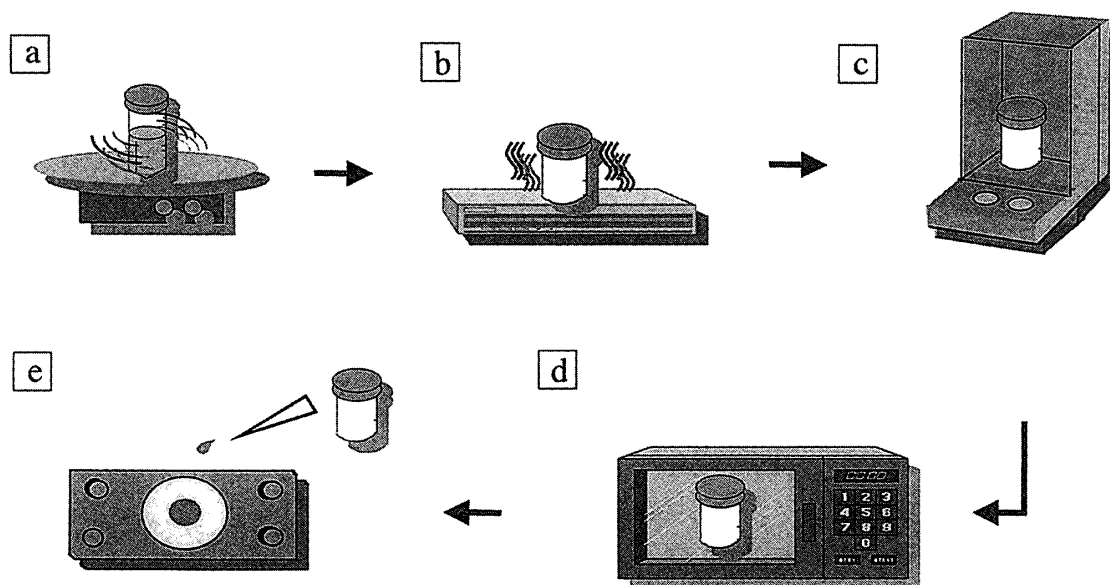


Fig.1. Sample measuring methods

- a : The excised oral mucosae were washed for 120 minutes in saline.  
 b : They were dried completely on a 40°C hot-plate.  
 c : 5 mg of the dried sample was weighed into a polytetrafluoroethylene (PTFE) vessel and 200 $\mu$ l of nitric acid was added. Then 5  $\mu$ l of indium standard solution was added to the sample as an internal standard (concentration of indium being 40mg/g sample).  
 d : The sample was heated twice in a microwave oven for 2 minutes each at low power of 200 watts.  
 e : For the cyclotron target, 10 $\mu$ l of this wet sample was dropped and dried on a 4  $\mu$ m-thick polypropylene backing film.

る Spectrum Analysis Program for PIXE (SAPIX) を用いて行った<sup>13)</sup>。ターゲットは、1 試料につき 3 枚作製し、測定値はその平均値とした。

## 2. 統計学的処理

各元素について分散分析を行い、性別については *t*-test および Cochran-Cox, 年代別には Scheffe's F を用いて統計学的検定を行った。

有意水準は  $P < 0.05$  とし、被験者から検出されなかった元素は検体数から除外した。

## 結 果

### 1. 検出元素

PIXE 法による分析の結果、ヒト健常頬粘膜から 25 種類の必須元素 (超微量元素を含む) と 14 種類の汚染元素の計 39 種類が検出された。

#### (1) 準主要元素

Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca の 7 元素がほぼ

全試料から検出された (Table 2)。

#### (2) 微量元素

Si, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Mo, Sn の 12 元素が検出された。Cu と Zn は全試料から検出され、Fe, Si, Mn は 90% 以上の試料から検出された。また Cr, Ni, Se は、80% 以上の試料から検出された。Co は、試料の約半数の 56% から検出され、V, Mo, Sn は、いずれも 30% 以下の低い検出率であった (Table 2)。

#### (3) 超微量元素

Ge, As, Br, Rb, Pd, Cd の 6 元素が検出された。Br と Rb は 96% の試料から検出されたが、それ以外の元素は 30% 以下の低い検出率であった (Table 2)。

#### (4) 汚染元素

Al, Ti, Ga, Sr, Y, Zr, Nb, Ru, Ag, Sb, Cs, Au, Hg, Pb の 14 元素が検出された。Al と Pb は全試料から検出され、Ti も 86% と高い検出率であったが、それ以外の 11 元素はいずれも

Table 2. Appearance ratio and concentration of elements in normal oral mucosa by gender

| Element classification       | Element | Concentration (Mean±SD) |    |                 |        |                 |     |               |   |
|------------------------------|---------|-------------------------|----|-----------------|--------|-----------------|-----|---------------|---|
|                              |         | Male                    |    | n               | Female |                 | n   | Total samples | n |
| <b>Essential element</b>     |         |                         |    |                 |        |                 |     |               |   |
| Submajor element<br>(mg/g)   | Na      | 14.81 ± 5.93            | 48 | 15.45 ± 9.77    | 52     | 15.14 ± 8.12    | 100 |               |   |
|                              | Mg      | 0.20 ± 0.11             | 45 | 0.18 ± 0.11     | 52     | 0.19 ± 0.11     | 97  |               |   |
|                              | P       | 3.57 ± 1.34             | 48 | 3.36 ± 1.67     | 52     | 3.46 ± 1.51     | 100 |               |   |
|                              | S       | 4.98 ± 1.45             | 48 | 4.64 ± 1.96     | 52     | 4.80 ± 1.73     | 100 |               |   |
|                              | Cl      | 9.10 ± 3.84             | 48 | 9.12 ± 5.49     | 52     | 9.11 ± 4.75     | 100 |               |   |
|                              | K       | 2.72 ± 1.77             | 48 | 2.84 ± 1.67     | 52     | 2.78 ± 1.71     | 100 |               |   |
|                              | Ca      | 0.44 ± 0.44             | 48 | 0.42 ± 0.33     | 52     | 0.43 ± 0.38     | 100 |               |   |
| Trace element<br>(µg/g)      | Si      | 120.36 ± 98.44          | 47 | 122.38 ± 159.67 | 47     | 121.37 ± 131.93 | 94  |               |   |
|                              | V       | 2.81 ± 1.19             | 6  | 2.25 ± 1.01     | 6      | 2.53 ± 1.09     | 12  |               |   |
|                              | Cr      | 4.59 ± 6.52             | 43 | 4.72 ± 7.26     | 41     | 4.65 ± 6.85     | 84  |               |   |
|                              | Mn      | 1.84 ± 1.45             | 44 | 2.02 ± 1.30     | 49     | 1.93 ± 1.37     | 93  |               |   |
|                              | Fe      | 119.15 ± 84.37          | 46 | 98.84 ± 71.74   | 51     | 108.47 ± 78.24  | 97  |               |   |
|                              | Co      | 2.25 ± 3.22             | 27 | 1.45 ± 1.36     | 29     | 1.83 ± 2.45     | 56  |               |   |
|                              | Ni      | 10.38 ± 25.55           | 37 | 5.82 ± 17.02    | 46     | 7.86 ± 21.23    | 83  |               |   |
|                              | Cu      | 20.96 ± 25.32           | 48 | 17.06 ± 27.36   | 52     | 18.93 ± 26.34   | 100 |               |   |
|                              | Zn      | 68.19 ± 29.40           | 48 | 64.34 ± 31.48   | 52     | 66.19 ± 30.41   | 100 |               |   |
|                              | Se*     | 1.64 ± 1.90             | 36 | 0.77 ± 0.34     | 44     | 1.16 ± 1.36     | 80  |               |   |
|                              | Mo      | 4.99 ± 7.89             | 12 | 1.44 ± 0.87     | 11     | 3.29 ± 5.90     | 23  |               |   |
|                              | Sn      | 23.32 ± 23.70           | 6  | 24.99 ± 33.07   | 15     | 24.51 ± 30.11   | 21  |               |   |
| Ultratrace element<br>(µg/g) | Ge      | 0.25 ± 0.08             | 2  | 0.17            | 1      | 0.22 ± 0.07     | 3   |               |   |
|                              | As      | 0.70 ± 0.56             | 15 | 0.56 ± 0.61     | 7      | 0.65 ± 0.57     | 22  |               |   |
|                              | Br      | 2.91 ± 1.06             | 44 | 3.45 ± 1.72     | 52     | 3.20 ± 1.48     | 96  |               |   |
|                              | Rb      | 5.15 ± 3.64             | 46 | 4.89 ± 3.39     | 50     | 5.01 ± 3.49     | 96  |               |   |
|                              | Pd      | 7.77 ± 9.98             | 5  | 2.53 ± 0.46     | 4      | 5.44 ± 7.56     | 9   |               |   |
|                              | Cd      | 8.13 ± 1.22             | 6  | 6.80 ± 1.61     | 7      | 7.41 ± 1.55     | 13  |               |   |
| <b>Contaminated element</b>  |         |                         |    |                 |        |                 |     |               |   |
| (µg/g)                       | Al      | 69.27 ± 44.90           | 48 | 73.61 ± 78.30   | 52     | 71.52 ± 64.19   | 100 |               |   |
|                              | Ti      | 6.15 ± 4.86             | 41 | 6.06 ± 8.35     | 45     | 6.11 ± 6.87     | 86  |               |   |
|                              | Ga      | 0.63 ± 0.33             | 8  | 0.71 ± 0.29     | 13     | 0.68 ± 0.30     | 21  |               |   |
|                              | Sr      | 0.87 ± 0.35             | 18 | 0.94 ± 0.52     | 28     | 0.91 ± 0.46     | 46  |               |   |
|                              | Y       | 0.47 ± 0.05             | 2  | 0.64 ± 0.20     | 3      | 0.57 ± 0.17     | 5   |               |   |
|                              | Zr      | 0.60 ± 0.18             | 7  | 0.95 ± 0.47     | 6      | 0.76 ± 0.37     | 13  |               |   |
|                              | Nb      | 0.88 ± 0.75             | 7  | 0.93 ± 0.46     | 6      | 0.90 ± 0.61     | 13  |               |   |
|                              | Ru      | 2.05                    | 1  | 2.05 ± 1.10     | 4      | 2.05 ± 0.95     | 5   |               |   |
|                              | Ag      | 10.36 ± 8.60            | 10 | 4.18 ± 2.42     | 7      | 7.82 ± 7.32     | 17  |               |   |
|                              | Sb      | 17.28 ± 8.52            | 3  | 8.55 ± 6.10     | 6      | 11.46 ± 7.77    | 9   |               |   |
|                              | Cs      | 26.91                   | 1  | 19.37           | 1      | 23.14 ± 5.33    | 2   |               |   |
|                              | Au      | 3.71 ± 4.98             | 11 | 3.95 ± 1.92     | 5      | 3.79 ± 4.19     | 16  |               |   |
|                              | Hg      | 2.41 ± 2.08             | 9  | 1.55 ± 0.84     | 19     | 1.83 ± 1.39     | 28  |               |   |
|                              | Pb*     | 7.14 ± 9.07             | 48 | 4.14 ± 4.21     | 52     | 5.58 ± 7.10     | 100 |               |   |

\* Significant difference between Male and Female ( $p < 0.05$ )  
 Total number of samples : 100 (Male : 48, Female : 52)

50%以下と低い検出率であった。特に Y, Ru, Sb, Cs は10%以下であった (Table 2)。

## 2. 検出濃度の性別による比較

検出された各元素の濃度を性別で比較した。

### (1) 準主要元素

準主要元素のなかでは、Na の濃度は全試料の平均で $15.14 \pm 8.12 \text{ mg/g}$ と最も高かった。性別においても男性 $14.81 \pm 5.93 \text{ mg/g}$ 、女性 $15.45 \pm 9.77 \text{ mg/g}$ とそれぞれ最も高い値であった。全試料の平均においても性別の平均においても、S, P, K, Ca, Mg の順に濃度が高かった (Table 2)。

いずれの元素濃度にも性別間に有意差はみられなかった (Table 2)。

### (2) 微量元素

微量元素の Si と Fe は、全試料の平均においても男女別の平均においても、それぞれ $100 \mu\text{g/g}$ 前後と高い濃度を示し、次いで Zn, Sn, Cu の順で濃度が高かった (Table 2)。それ以外の微量元素は $10 \mu\text{g/g}$ 以下と低濃度であった (Table 2)。

性別による比較では、Se の濃度が男性 $1.64 \pm 1.90 \mu\text{g/g}$ 、女性 $0.77 \pm 0.34 \mu\text{g/g}$ と男性の方が女性より危険率5%で有意に高値を示した (Table 2)。しかし、それ以外の微量元素では有意差はみられなかった (Table 2)。

### (3) 超微量元素

超微量元素は、いずれも $8 \mu\text{g/g}$ 以下と低濃度であった。また、性別間に有意差はみられなかった (Table 2)。

### (4) 汚染元素

汚染元素は、Al が全試料の平均において $71.52 \pm 64.19 \mu\text{g/g}$ であり、汚染元素のなかで最も高い濃度であった。次いで、Cs, Sb の順に濃度が高かった (Table 2)。しかし、それ以外の汚染元素は、 $10 \mu\text{g/g}$ 以下と低濃度であった (Table 2)。

性別による比較では、Pb の濃度が男性 $7.14 \pm 9.07 \mu\text{g/g}$ 、女性 $4.14 \pm 4.21 \mu\text{g/g}$ と男性の方が女性より危険率5%で有意に高値を示した。それ

以外の汚染元素では有意差はみられなかった (Table 2)。

## 3. 検出濃度の年代別による比較

検出された各元素を年代別に4群に分けて比較した。各年代間で有意差がみられた元素は、準主要元素の S と微量元素の Cr の2元素であった (Table 3)。S は19歳以下が $5.20 \pm 2.20 \text{ mg/g}$ 、60歳以上が $3.36 \pm 1.60 \text{ mg/g}$ と19歳以下の方が60歳以上の群より危険率5%で有意に高値を示した (Table 3)。また Cr は、19歳以下が $8.47 \pm 11.1 \mu\text{g/g}$ 、20~39歳が $2.92 \pm 3.28 \mu\text{g/g}$ と19歳以下の方が20~39歳の群より危険率5%で有意に高値を示した (Table 3)。しかし、それ以外の元素では各年代間で有意差はみられなかった (Table 3)。

## 考 察

必須元素と汚染元素の生理的作用における最も大きな相違は、生体内ホメオスタシスの有無である。必須元素は、生体にとって有利に働き生理機能などに欠くべからざるものであり、吸収や排泄の自己調節が行われていることから外環境の影響を受けず、体内濃度が一定に保たれているものである。それに対し、汚染元素は体内での恒常性はみられず、その生体内濃度は外環境に左右され、ホメオスタシスは存在しない。したがって、一定量以上の含有量で中毒をおこすものである<sup>2)</sup>。

本研究では、生体内において比較的わずかな含有量の変動が、内因性あるいは外因性の病因になりうる可能性が高いと考えられる必須元素の準主要元素、微量元素、超微量元素と外環境に左右されやすい汚染元素について、ヒト健常頬粘膜100例から検出された39種類の元素分析を行った。

PIXE法は、5 mg程の少量の試料から複雑な化学処理をすることなく、短時間(3~10分)で同時に多元素の分析が可能であるなど、原子吸光分析法や誘導結合プラズマ発光分析法など他の分析法にはない特長を有している<sup>14,15)</sup>。現

Table 3. Appearance ratio and concentration of elements in normal oral mucosa by age

| Element classification      | Element | Concentration (Mean±SD) |    |                 |                    |                |    |                    |    |   |                   |  |
|-----------------------------|---------|-------------------------|----|-----------------|--------------------|----------------|----|--------------------|----|---|-------------------|--|
|                             |         | under 20 years old      |    | n               | 20 to 39 years old |                | n  | 40 to 59 years old |    | n | over 59 years old |  |
| <b>Essential element</b>    |         |                         |    |                 |                    |                |    |                    |    |   |                   |  |
| Submajor element (mg/g)     | Na      | 17.15 ± 11.89           | 25 | 15.10 ± 6.31    | 49                 | 13.80 ± 6.12   | 15 | 12.64 ± 7.14       | 11 |   |                   |  |
|                             | Mg      | 0.21 ± 0.13             | 24 | 0.19 ± 0.11     | 47                 | 0.20 ± 0.09    | 15 | 0.11 ± 0.09        | 11 |   |                   |  |
|                             | P       | 3.83 ± 1.88             | 25 | 3.48 ± 1.27     | 49                 | 3.52 ± 1.47    | 15 | 2.43 ± 1.38        | 11 |   |                   |  |
|                             | S*      | 5.20 ± 2.20             | 25 | 4.94 ± 1.37     | 49                 | 4.74 ± 1.64    | 15 | 3.36 ± 1.60        | 11 |   |                   |  |
|                             | Cl      | 9.63 ± 5.71             | 25 | 9.33 ± 4.44     | 49                 | 8.70 ± 4.25    | 15 | 7.53 ± 4.63        | 11 |   |                   |  |
|                             | K       | 2.76 ± 1.39             | 25 | 2.97 ± 1.70     | 49                 | 2.81 ± 2.23    | 15 | 1.93 ± 1.59        | 11 |   |                   |  |
|                             | Ca      | 0.51 ± 0.41             | 25 | 0.43 ± 0.40     | 49                 | 0.31 ± 0.18    | 15 | 0.40 ± 0.41        | 11 |   |                   |  |
| Trace element (μg/g)        | Si      | 155.87 ± 170.03         | 25 | 122.33 ± 132.77 | 46                 | 94.23 ± 61.90  | 14 | 62.83 ± 36.72      | 9  |   |                   |  |
|                             | V       | 3.42 ± 1.34             | 4  | 2.04 ± 0.37     | 5                  | 1.81           | 1  | 2.34 ± 1.50        | 2  |   |                   |  |
|                             | Cr†     | 8.47 ± 11.08            | 19 | 2.92 ± 3.28     | 44                 | 5.73 ± 7.63    | 10 | 3.99 ± 5.23        | 11 |   |                   |  |
|                             | Mn      | 1.71 ± 0.93             | 23 | 2.12 ± 1.56     | 48                 | 1.83 ± 1.32    | 13 | 1.67 ± 1.34        | 9  |   |                   |  |
|                             | Fe      | 123.09 ± 88.10          | 25 | 107.23 ± 77.75  | 47                 | 103.80 ± 78.71 | 14 | 86.53 ± 56.38      | 11 |   |                   |  |
|                             | Co      | 3.34 ± 4.25             | 12 | 1.09 ± 0.52     | 24                 | 2.20 ± 2.62    | 12 | 1.29 ± 0.85        | 8  |   |                   |  |
|                             | Ni      | 10.29 ± 23.43           | 23 | 4.62 ± 10.85    | 37                 | 17.93 ± 40.88  | 12 | 2.64 ± 4.83        | 11 |   |                   |  |
|                             | Cu      | 18.18 ± 30.81           | 25 | 19.01 ± 24.98   | 49                 | 22.24 ± 29.73  | 15 | 15.78 ± 18.10      | 11 |   |                   |  |
|                             | Zn      | 67.58 ± 35.10           | 25 | 69.49 ± 27.10   | 49                 | 70.85 ± 32.17  | 15 | 41.94 ± 22.08      | 11 |   |                   |  |
|                             | Se      | 1.15 ± 1.38             | 20 | 1.06 ± 1.14     | 40                 | 1.07 ± 0.65    | 12 | 1.87 ± 2.70        | 8  |   |                   |  |
|                             | Mo      | 2.11 ± 0.97             | 5  | 3.15 ± 5.98     | 11                 | 1.47 ± 0.99    | 5  | 11.62 ± 15.40      | 2  |   |                   |  |
| Ultratrace element (μg/g)   | Sn      | 28.12 ± 40.21           | 6  | 27.07 ± 32.03   | 10                 | 16.86 ± 9.40   | 3  | 12.41 ± 4.97       | 2  |   |                   |  |
|                             | Ge      |                         | 0  |                 | 0                  | 0.18 ± 0.02    | 2  | 0.30               | 1  |   |                   |  |
|                             | As      | 0.68 ± 0.55             | 7  | 0.43 ± 0.30     | 7                  | 0.87 ± 0.59    | 5  | 0.77 ± 1.13        | 3  |   |                   |  |
|                             | Br      | 3.41 ± 1.60             | 25 | 3.17 ± 1.51     | 47                 | 3.34 ± 1.23    | 14 | 2.69 ± 1.39        | 10 |   |                   |  |
|                             | Rb      | 4.92 ± 3.61             | 25 | 5.71 ± 3.73     | 48                 | 4.20 ± 2.24    | 14 | 2.89 ± 2.52        | 9  |   |                   |  |
|                             | Pd      | 3.01                    | 1  | 10.80 ± 12.82   | 3                  | 3.14 ± 0.58    | 3  | 2.06 ± 0.20        | 2  |   |                   |  |
| Contaminated element (μg/g) | Cd      | 5.55 ± 1.81             | 2  | 7.77 ± 1.34     | 9                  | 6.48           | 1  | 8.84               | 1  |   |                   |  |
|                             | Al      | 77.88 ± 41.19           | 25 | 78.40 ± 84.18   | 49                 | 58.96 ± 26.24  | 15 | 43.60 ± 17.83      | 11 |   |                   |  |
|                             | Ti      | 7.16 ± 5.74             | 22 | 6.60 ± 8.73     | 41                 | 3.94 ± 2.40    | 14 | 4.67 ± 3.08        | 9  |   |                   |  |
|                             | Ga      | 0.47 ± 0.16             | 4  | 0.69 ± 0.32     | 13                 | 0.96 ± 0.22    | 3  | 0.50               | 1  |   |                   |  |
|                             | Sr      | 1.04 ± 0.67             | 10 | 0.96 ± 0.42     | 24                 | 0.70 ± 0.24    | 7  | 0.75 ± 0.35        | 5  |   |                   |  |
|                             | Y       | 0.84                    | 1  | 0.46 ± 0.04     | 3                  | 0.63           | 1  |                    | 0  |   |                   |  |
|                             | Zr      | 1.09 ± 0.54             | 3  | 0.69 ± 0.28     | 6                  | 0.86 ± 0.09    | 2  | 0.38 ± 0.11        | 2  |   |                   |  |
|                             | Nb      | 1.00 ± 0.21             | 3  | 1.04 ± 0.04     | 3                  | 0.90 ± 0.99    | 5  | 0.57 ± 0.40        | 2  |   |                   |  |
|                             | Ru      |                         | 0  | 2.05 ± 0.95     | 5                  |                | 0  |                    | 0  |   |                   |  |
|                             | Ag      | 5.40 ± 3.25             | 4  | 8.63 ± 9.31     | 10                 | 9.82 ± 1.77    | 2  | 5.41               | 1  |   |                   |  |
|                             | Sb      | 15.11                   | 1  | 11.96 ± 9.37    | 6                  | 6.14           | 1  | 10.13              | 1  |   |                   |  |
|                             | Cs      | 19.37                   | 1  | 26.91           | 1                  |                | 0  |                    | 0  |   |                   |  |
|                             | Au      | 4.67 ± 1.55             | 4  | 4.28 ± 5.75     | 8                  | 2.86 ± 1.27    | 2  | 0.97 ± 0.59        | 2  |   |                   |  |
|                             | Hg      | 1.88 ± 1.06             | 5  | 2.01 ± 1.60     | 18                 | 1.32 ± 0.46    | 4  | 0.44               | 1  |   |                   |  |
|                             | Pb      | 5.69 ± 5.28             | 25 | 5.04 ± 8.53     | 49                 | 6.09 ± 4.93    | 15 | 7.09 ± 6.66        | 11 |   |                   |  |

\* Significant difference between under 20 years old and over 59 years old ( $p < 0.05$ )

† Significant difference between under 20 years old and 20 to 39 years old ( $p < 0.05$ )

Total number of samples : 100 (Male : 48, Female : 52)

在, 医学・歯学・獣医学・生物学・環境学・考古学・鉱物学など幅広い分野に応用されており, その精度と信頼度は従来の分析方法と比較して格段に高く, 生体試料の分析には最適な方法である<sup>9, 16~18)</sup>。

各元素の検出率は, 準主要元素の Na, Mg, P, S, Cl, K, Ca が, ほぼ全試料から検出された。また, 酵素機能などに関与している微量元素と超微量元素は, Cu, Zn が100%の検出率を示し, Si, Cr, Mn, Fe, Ni, Se, Br, Rb も80%以上であった。しかし, V, Co, Mo, Sn, Ge, As, Pd, Cd では, 高いものでも56%であり, 低いものでは3%であった。これらは, 以前の石橋<sup>9)</sup>の報告と同様の結果であった。

汚染元素については, Al と Pb は前回と同様に全試料から検出され, 次いで Ti が86%と高い検出率であった。しかし, それ以外の元素はいずれも50%以下であった。また, 前回の報告<sup>9)</sup>との比較では, Ga は1.6%であったものが今回は21.0%, Hg は14.5%が今回28.0%と前回より高い結果がみられた。さらに, 今回の分析では必須元素である超微量元素の Cd と汚染元素に分類されている Y, Ru, Cs の4元素を新たに検出した。なかでも Cs の検出率は2%であったが, 濃度は $23.1 \pm 5.33 \mu\text{g/g}$  と汚染元素のなかでは Al に次いで高い値であった。これらの新たに検出された元素は, 検出率が低いながらも比較的高い濃度であることや汚染元素に多くみられることから, 限られた地域での特異的な土壌や地下水などの自然環境が関与しているものと推測している。

準主要元素に分類される Mg の頬粘膜中での平均濃度は,  $0.19 \pm 1.11 \text{mg/g}$  であった。他臓器の Mg と比較してみると, 大脳 $0.12 \text{mg/g}$ <sup>19)</sup>, 心臓 $0.20 \text{mg/g}$ <sup>19)</sup>, 肝臓 $0.19 \text{mg/g}$ <sup>19)</sup>, 腎皮質 $0.15 \text{mg/g}$ <sup>19)</sup> と, 各臓器において頬粘膜とほぼ同程度の濃度であった。また, 他の準主要元素である P や K などにおいても同様の傾向がみられた<sup>19)</sup>。しかし, 微量元素に分類されている Zn については, 頬粘膜中の平均濃度は $66.19 \pm 30.41 \mu\text{g/g}$  であったが, 他臓器では, 大脳 $11.5 \mu\text{g/g}$ <sup>19)</sup>, 心臓

$28.3 \mu\text{g/g}$ <sup>19)</sup>, 肝臓 $69.2 \mu\text{g/g}$ <sup>19)</sup>, 腎皮質 $72.0 \mu\text{g/g}$ <sup>19)</sup> と各臓器において, 変異が大きいことが報告されている<sup>19)</sup>。同様に, Fe, Cu, Cd など他の微量元素においても各臓器間で量的相違があることが知られている<sup>19)</sup>。

体内に吸収された元素の輸送は, 一般に血球と血漿の分配比が重要な因子となる。しかし, この分配比は元素の種類, 有機・無機型, 暴露量, 時間によって異なることから, 各組織での元素濃度に違いがある<sup>2)</sup>。すなわち, 主要元素や準主要元素のように生体の基本的な構成に関与している元素では各臓器において違いがないが, 酵素機能などに関与している微量元素では, 各臓器での役割や分布に違いがあることから, それぞれの検出率や濃度に臓器差がみられるものと考えている。

性別による濃度の比較では, 多くの元素において差はみられなかった。しかし, Se と Pb では前回の報告<sup>9)</sup>と同様に差がみられ, いずれも男性の方が女性より有意に高値を示した。

Se は, 体内に広く分布するグルタチオンペルオキシダーゼの構成成分であり, 生体膜において酸化障害を防止する作用を有する元素である。また, 中国での克山病は, Se 欠乏症による心筋症として知られている<sup>3)</sup>。さらに最近では, 癌に対する防御効果も指摘されている<sup>1, 20)</sup>が, 男性の生殖機能とも関連があり, 精液中の Se 濃度と精子濃度や精子運動率の間に正の相関が認められている。また, 動物実験においては, 無精子, 精巣, 精巣上体の障害との関係も報告されていることから<sup>21, 22)</sup>, Se の性別における濃度の違いには男女での生殖器系の違いが関与しているものと考えている。

体内に蓄積された Pb の一部は, 骨への沈着がみられ, その結合は強固で遊離しがたいものと考えられている。しかし, 貧血や失血などにより造血機能が亢進した場合や骨中の Ca 遊離をおこす疾病などでは, Ca とともに血中に出現する場合がある<sup>23)</sup>。また, 老化による骨の脱灰との関係も指摘されており, 加齢変化と生体内 Pb 含有量は骨代謝との関わりが考えられて

いる<sup>23)</sup>。特に閉経後の女性では、エストロゲンの分泌低下による骨変化<sup>24, 25)</sup>なども影響し、女性が低値を示した可能性も考えられる。

各元素を年代別に4群に分けて比較した。前回有意差がみられた準主要元素のMg, P, Sは、今回の分析ではSのみに有意差がみられた。また、新たに微量元素のCrにおいて有意差がみられた。Sは19歳以下が60歳以上より、Crは19歳以下が20~39歳よりそれぞれ有意に高値を示した。また、両元素を全体的にみると加齢とともに減少していく傾向がみられた。Sは、多量元素として身体の構成および電解質機能などに関与しており、タンパク質やミネラルなどのバランスに影響を与え、これらの欠乏が老化や成人病を促進している<sup>1)</sup>。すなわち、口腔粘膜においても全身的な加齢変化に同調した結果として、減少傾向を示したものと考えている。

Crは、耐糖因子として糖代謝に関与しており、糖尿病に関連する多くの報告がある。また、肝、腎、脾では、新生児で最も高いが10歳頃までに急激に減少し、20歳以降は加齢に伴い緩やかな減少傾向を示しているとの報告がある<sup>26)</sup>。本研究でも19歳以下が最も高く他臓器と同様の傾向がみられた。しかし、他の年代では加齢に伴う減少傾向がみられておらず、成人病としての糖代謝による影響が関与した結果と考えている。

本研究において、疾患を有しないヒト口腔健常粘膜100症例から準主要元素、微量元素、超微量元素、汚染元素である39種類の元素についての含有濃度が明らかとなった。

現在、われわれは頬粘膜からの検出元素についても、金属補綴修復物の装着者と非装着者についても検討中である。また、今後は本データを基準値とすることで金属アレルギーなどが発症原因と推測される疾患との比較検討を進めていく予定である。

## 結 論

口腔粘膜疾患を有しない健常頬粘膜100例の

元素分析をPIXE法にて行ったところ、以下の結論を得た。

1. ヒト健常頬粘膜から25種類の必須元素と14種類の汚染元素が検出された。
2. 準主要元素は、Na, Mg, P, S, Cl, K, Caの7元素がほぼ全試料から検出され、なかでもNaは $15.1 \pm 8.12 \text{ mg/g}$ と最も高濃度であった。
3. 微量元素は、Si, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Mo, Snの12元素が検出され、このうち、Si, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Seの8元素は、80%以上の試料にみられ、なかでもSiとFeは $100 \mu\text{g/g}$ 前後と高濃度であった。
4. 超微量元素は、Ge, As, Br, Rb, Pd, Cdの6元素が検出され、BrとRbは90%以上の試料にみられたが、いずれの元素も $8 \mu\text{g/g}$ 以下と低濃度であった。
5. 汚染元素は、Al, Ti, Ga, Sr, Y, Zr, Nb, Ru, Ag, Sb, Cs, Au, Hg, Pbの14元素が検出され、なかでもAlとPbが全試料から検出されたことから、健常頬粘膜において常に存在していることが示された。
6. 検出濃度の性別による比較では、SeとPbにおいて男性の方が女性より有意に高値を示した。
7. 検出濃度の年代別による比較では、準主要元素のSと微量元素のCrの2元素で有意差がみられた。

謝辞：本研究の一部は、(株)日本アイソトープ協会仁科記念サイクロトロンセンター(NMCC)の施設を利用して行った。本研究の遂行に際し、心よく御協力頂き御懇切な度重なる御助言を賜りました本学サイクロトロンセンター世良耕一郎助教授ならびに同研究所職員各位に感謝いたします。また、NMCC二ツ川章二部長ならびに同研究所職員各位に感謝の意を表します。

本研究の一部は、平成14年度文部科学省科学研究費(課題番号13672117)、平成14年度文部科



学省私立大学ハイテク・リサーチ・センター整備事業補助金および平成14年度オープン・リサーチプロジェクト補助金によるものである。

本論文の要旨は、第56回日本口腔科学会総会(2002年5月, 大阪)において発表した。

## 文 献

- 1) 和田 攻, 柳沢裕之: 微量元素の種類とその生理的役割, 日本臨牀, 1 : 5-11, 1996.
- 2) 和田 攻: 金属と人: 金属とヒト - エコトキシコロジーと臨床 -, 朝倉書店, 東京, 9-19ページ, 1992.
- 3) Chen, X., Yang, G., Chen, J., Chen, X., Wen, Z. and Ge, K. : Studies on the relations of selenium and Keshan disease. *Biological Trace Element Research* 2 : 91-107, 1980.
- 4) Prasad, A. S., Miale Jr, A., Farid, Z., Sandstead, H. H. and Schulert, A. : Zinc metabolism in normals and patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hypogonadism and dwarfism. *J. Lab. Clin. Med.* 61 : 537-549, 1963.
- 5) Henkin, R. I. and Bradley, D. F. : Hypogeusia corrected by  $Ni^{2+}$  and  $Zn^{2+}$ . *Life Sci* 9 : 701-709, 1970.
- 6) Eversole, L. R. and Ringer, M. : The role of dental restorative metals in the pathogenesis of oral lichen planus. *Oral Surg* 57 : 383-387, 1984.
- 7) 伊東大典, 南雲正男: 口腔扁平苔癬 - 基礎的研究の進歩 -, 日口粘膜誌, 1 : 1-16, 1995.
- 8) 山田裕道, 小川秀興: 皮膚疾患と必須微量元素. 日本臨牀, 54 : 99-110, 1996.
- 9) 石橋 修: 粒子励起 X 線分光法 (PIXE 法) による口腔健全粘膜の元素分析, 日口粘膜誌, 4 : 91-100, 1998.
- 10) Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Saitou, Y. and Sera, K. : Preseant status of NMCC and sample preparation method for bio-samples. *Int. J. PIXE* 3 : 319-328, 1993.
- 11) Sera, K., Yanagisawa, T., Tsunoda, H., Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Suzuki, S., and Orihara, H. : The Takizawa PIXE facility combined with a baby cyclotron for positron nuclear medicine. *Int. J. PIXE* 2 : 47-55, 1992.
- 12) Sera, K., Yanagisawa, T., Tsunoda, H., Futatsugawa, S., Hatakeyama, S., Suzuki, S. and Orihara, H. : Bio-PIXE at the Takizawa facility. *Int. J. PIXE* 2 : 325-330, 1992.
- 13) Sera, K. and Futatsugawa, S. : Personal Computer Aided Data Handling and Analysis for PIXE. *Nucl Instr and Meth in Phys Res B* 109/110 : 99-104, 1996.
- 14) 千葉百子: 生体試料中微量元素の測定, 治療, 75-3 : 207-216, 1993.
- 15) 岡本研作: 必須微量元素の測定値をめぐる諸問題, 日本臨牀, 54 : 186-191, 1996.
- 16) 岩田吉弘: 粒子励起 X 線分光法 (PIXE 法), 日本臨牀, 54 : 221-227, 1996.
- 17) Sugiyama, Y., Ishibashi, S., Sekiyama, S., Sera, K. and Futatsugawa, S. : Analysis of Elements in The Soft Tissue Covering Titanium Plates and Screws for Internal Bone Fixation by The PIXE Method. *Int. J. PIXE* 9 : 305-313, 1999.
- 18) 石橋 修: 口腔粘膜疾患と歯科用重金属, *RADIOISOTOPES*, 50 : 12-21, 2001.
- 19) 吉永 淳: 誘導結合プラズマ発光分析法および ICP 質量分析法, 日本臨牀, 1 : 202-206, 1996.
- 20) G. N. Schrauzer, D. A. White, and C. J. Schneider : Cancer mortality correlation studies-III. *Bioinorg. Chem.* 7 : 23-34, 1977.
- 21) 篠原厚子, 渡辺弘美: 性機能障害に関わる必須微量元素の役割, 日本臨牀, 1 : 155-161, 1996.
- 22) 千葉百子: 男性の金属, 女性の金属, 医学のあゆみ, 11 : 921-922, 2002.
- 23) 和田 攻: 鉛: 金属とヒト - エコトキシコロジーと臨床 -, 3 刷, 朝倉書店, 東京, 236-242ページ, 1992.
- 24) 水沼英樹: 閉経と骨形成, 松本俊夫, 中村利孝 編集: 骨粗鬆症, 2 刷, 羊土社, 東京, 60-61ページ, 1997.
- 25) 鈴木正夫, 折茂 肇: 加齢とカルシウム代謝: 松本俊夫, 中村利孝 編集: 骨粗鬆症, 2 刷, 羊土社, 東京, 64-65ページ, 1997.
- 26) 和田 攻: クロム: 金属とヒト - エコトキシコロジーと臨床 -, 朝倉書店, 東京, 115-133ページ, 1992.