Vol. 20 (1983) 近畿大学原子力研究所年報

論　文

筋萎縮性側索硬化症前頭葉皮質における微量元素の蛍光X線分析

水本良彦*，岩田志郎**，笹島和久**，
吉益文夫***，八瀬善郎***

X-Ray Fluorescence Analysis for Trace Elements in Frontal Cortex of Amyotrophic Lateral Sclerosis

Yoshihiko MIZUMOTO*, Shiro IWATA**, Kazuhisa SASAJIMA**,
Fumio YOSHIMASU*** and Yoshiro YASE***

(Received September 10, 1983)

The contents of trace elements in frontal cortex autopsy specimens of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and Parkinsonism dementia (PD) cases were relatively determined against those of control cases by energy dispersive X-ray fluorescence analysis. The frontal cortex autopsy specimens were respectively excited by X-rays from titanium and molybdenum targets in X-ray tube, and characteristic X-ray spectra were measured with a Si(Li) detector. From the peak areas on the X-ray spectra, the relative contents of the trace elements of ALS, PD and control caces were determined.

As a result, the X-ray peaks of Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn and Pb were detected. The contents of Al, Si, Ca, V, Fe and Zn in ALS cases were higher than those in PD and control cases.

The precipitation mechanisms of these trace elements in frontal cortex of ALS case are discussed on the basis of the previous studies.

KEYWORDS

amyotrophic lateral sclerosis, Parkinsonism dementia, frontal cortex, trace elements, X-ray fluorescence analysis.

I. はじめに

筋萎縮性側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis, 以下 ALS と略す）は，1869年に charcot[1] により最初に報告された進行性の死に至る変性神経疾患で，現在なお原因不明の難病の一つである。

ALS と微量元素および金属との関係については，古くから論じられており，その関連元素としては，Pb, Mn, Hg, As, Al, Se, Si, V, Ca 等が指摘されている。特に Pb との関係については最も多く，これまでに20に近い報告がある。著者らは，これまでに ALS 頸髄等に対して，中性子放射化分析[2)-4)]，α 線励起蛍光X線分析[5)]，X線マイクロ分析[6)]，X線回折測定[7)]，赤外吸収スペクトル測定[7)] 等を行い，これらの結果

* 理工学部原子炉工学科
** 京都大学原子炉実験所
*** 和歌山県立医科大学

から ALS 頸髄等の組織中にカルシウム–ハイドロオキシアパタイト（$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$，以下 Ca-HAp と略す）と推定された石灰性物質とともに Al, Si, Ca, Ti, V, Mn, Fe 等の微量元素が対照に比べて高濃度に含まれることを確認した。これらの結果をもとに，検出された微量元素の頸髄組織への沈着機構として，Ca-HAp との共沈および置換反応による取込が考えられることを報告した[5]。この機構を考える場合，特に Pb は，興味があり注目された[8)-11)]。しかしこれまでの α 線励起螢光X線分析では，重い元素（原子番号＞約30）に対して統計上十分なX線スペクトルが得られなかった。

本報では，重い元素に対して比較的高検出感度をもつエネルギー分散型螢光 X 線分析法[12] により，ALS および ALS の症状に痴呆をともなうパーキンソン痴呆症（Parkinsonism dementia, 以下 PD と略す）大脳の前頭葉皮質における微量元素の含有量を，特に Pb に注目して，対照に対して相対的に定量するとともに，検出された微量元素の前頭葉皮質への沈着機構について考察する。

II. 実　　験

1. 試料

実験に用いた前頭葉皮質は，ホルマリン溶液中に固定，保存された ALS〔(死亡年齢：53 *yrs*, 性別：M)，(62*yrs*, F)〕，PD〔(50*yrs*, M)，(69*yrs*, M)〕および対照〔(57*yrs*, M)，(87 *yrs*, M)〕の各２例の剖検試料で，いずれもグアム島における症例である。各分析試料は，4～5*mm* 立方の大きさに切出された後，37℃で空中乾燥して調整された。

2. 螢光X線分析

微量元素のX線分析は，エネルギー分散型螢光X線分析装置（理学電機製）を用いて，次のように行なわれた。各試料は，アクリル樹脂製のリングに貼布されたマイラー膜（６μm 厚）上に載られた後，チェンバ中の試料台（一度に16個の試料の取付けが可能）に固定され，X線管のチタンおよびモリブデンターゲットから発生したX線でマイラー膜を通してそれぞれ励起された。X線スペクトルは，Si(Li)検出器（kevex製）および1024チャンネル波高分析器を用いて測定された。試料と Si(Li)検出器間の距離は，約 10*mm* であった。なお，チタンターゲットを用いた低エネルギーX線スペクトルの測定は，空気の吸収を避けるために，約 1×10^{-1} Torr の真空中で行なわれた。

上記の測定系におけるエネルギー分解能は，マンガンの K_αX 線ピークの半値巾で約 200*eV* であった。

III. 結果および考察

1. X線スペクトル

モリブデンターゲットを用いた ALS（53*yrs*, M），PD（50*yrs*, M）および対照（57*yrs*, M）のX線スペクトルを比較して Fig. 1 に示す。図中の各ピークの同定は，エネルギー値の比較から行なわれたが，Pb については，酢酸鉛に対して同様に測定されたスペクトル上の L_α と L_β X線ピークの強度の比較からも行なわれた。以上の同定の結果，チタンターゲットを用いたスペクトルには，Al, Si, P, S, Cl, K および Ca, モリブデンターゲットでは，Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn および Pb の合計17元素のピークが確認された。これらのピーク中には，バッキング材中の不純

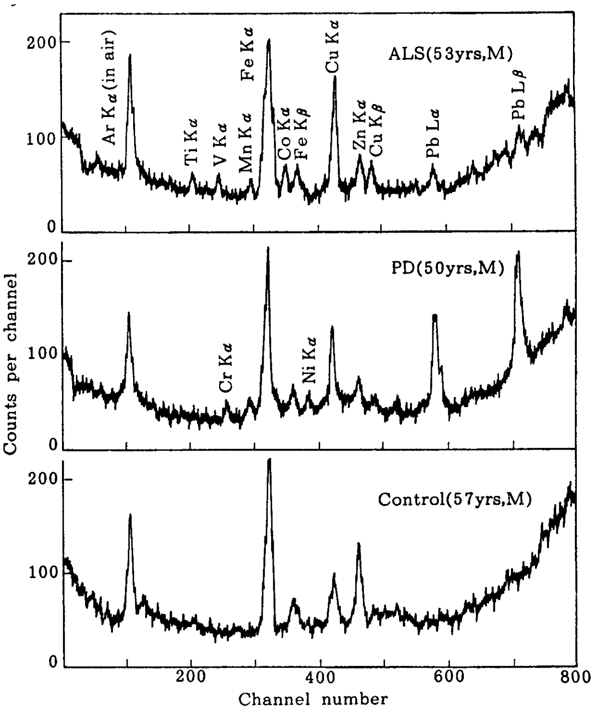

Fig. 1 X-ray spectra of frontal cortex autopsy specimens of ALS, PD and control cases induced by X-rays from molybdenum target.

物元素による寄与が考えられるが，その寄与は，以下の測定結果から無視できることがわかった。すなわち，マイラー膜のみを取付けた試料台のX線スペクトルが前頭葉皮質試料と同様に測定され，そのスペクトルに Cl と Ca のピークが検出されたが，これらのピーク強度は，前頭葉皮質試料の1％以下であった。

2. 微量元素の相対的含有量

X線スペクトル中に検出された ALS, PD および対照の前頭葉皮質中の微量元素の相対的含有量を，各試料のマトリックスが同じであるとの仮定のもとで，次のような方法から求めた。本報のような生体試料中の微量元素分析では，標準試料の作成が極めて困難であるため，ALS および PD 試料中の微量元素の含有量を対照に対して相対的に求めた。すなわち，まず各試料のチタンおよびモリブデンターゲットから得られたX線スペクトルに対して，チタンターゲットから得られたスペクトル中の Ca の K_α X線ピーク面積を基準にして各元素のピーク面積比を算出し，次に対照2例の各元素ピーク面積比の平均値を基準にして ALS および PD の同元素のピーク面積比を求めて，両者が比較された。この場合，各試料における Ca 含有量の違いが問題になる。このため，規格化されたピーク面積は，次のように中性子放射化分析法で定量された各試料の Ca 含有量の結果を用いて補正された。すなわち，本分析で用いた試料を京都大学原子炉の圧気輸送管において 5MW 出力（熱中性子束：2.3×10^{13} $n\cdot cm^{-2}\cdot s^{-1}$）で10分間照射し，照射約5分後に Ge(Li) 検出器および1024チャンネル波高分析器にて各試料の $^{48}Ca(n, \gamma)^{49}Ca$ 反応から生成した ^{49}Ca（半減期：8.8 m）の γ 線スペクトルを測定した。ALS, PD および対照試料中の Ca の相対的含有量は，減衰と試料重量の補正をした γ 線スペクトル上の 3,083 keV 光電ピーク面積から求められた。

以上の方法に従って，ALS, PD および対照の各試料から得られた微量元素の対照2例の平均含有量を1.0とした相対的含有量を丸印の大小で区別して Table 1 に示す。なお，対照の2例でともに検出されなかった元素に対する ALS および PD の相対的含有量は，算出できないが，参考までに1.5以上の相対的含有量を示す丸印で示した。また表中には，中性子放射化分析法から得られた Ca の結果をも示した。ALS の2例においてともに定量された元素の平均含有量を PD および対照のそれらと比較すると，ALS では，Al, Si, Ca, V, Fe および Zn の元素が PD および対照に比べて高濃度に含まれていることがわかった。また，Ti および Co は ALS の1例で，Cr および Ni は PD の1例でのみ検出され，いずれも対照では検出されなかった。Pb については，ALS および PD の各1例で検出され，特に Fig. 1 に示したように PD のX線スペクトルにおいて顕著なピークが認められた。一方，P, S, Cl, K および Cu の含有量は，ALS,

Table 1 The detected elements and these relative contens in frontal cortex autopsy specimens of ALS, PD and control cases.

Case	Age at death (yr.)	Sex	Detected elements and relative contents																
			Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Pb
ALS	53	M	◯	◯	○	○	○	∘	◯	◯	◯	*	◯	○	◯	*	○	○	◯
	62	F	◯	◯	○	◯	○	○	◯	*	◯	*	*	◯	*	*	○	◯	*
PD	50	M	*	*	∘	○	◯	∘	∘	*	*	◯	◯	○	*	◯	∘	∘	◯
	69	M	◯	◯	◯	○	∘	◯	○	*	*	*	*	∘	*	*	◯	◯	*
Control	57	M	*	*	○	◯	∘	○	○	*	*	*	*	○	*	*	○	◯	*
	87	M	◯	*	○	∘	◯	○	○	*	*	*	*	○	*	*	○	∘	*

Circles show the relative contents (RC) as follows.

◯ : RC ＞ 1.5
○ : RC ＝ 0.5 ～ 1.5
∘ : RC ＜ 0.5
* : no detected

PD および対照においてほぼ等しいことがわかった。

本報のALS前頭葉皮質に高濃度に含まれた Al, Si, Ca, V および Fe の結果は，α 線励起螢光X線分析法から得られた頸髄の結果[5] と同様であった。

3. 微量元素の沈着機構

ALS前頭葉皮質に，対照に比べて相対的に高濃度に含まれた各元素の沈着機構を，今までに行なわれた種々の研究結果をもとに推定した。これまでの研究[2)-7)] において，ALS の頸髄等の組織中には，Al, Ca, V, Mn 等の沈着が認められ，その沈着物の主成分として Ca-HAp が推定された。Gabbiani[8] らや，Selye[9] によると，金属には，生体内に石灰化を起こさせる誘発因子としての作用があり，その金属としては，ALS 前頭葉皮質中で検出された Al, Cr, Fe, Cu, Pb 等が知られている。特にPbは，早期に生成する微少結晶性物質を核にして，遂にはアパタイトを形成することが知られている。このアパタイト中の原子(Ca-HAp では Ca および P) は，他の元素と容易に置換する化学的性質をもつことが認められている[11),13)]。これらの今までの研究結果および考察から，ALS 前頭葉皮質に高濃度に含まれていた Al, Si, V, Fe および Zn の沈着機構として，主として Al, Fe, Pb 等によって誘発された Ca-HAp との共沈および Ca-HAp 沈着後の置換反応による取込みが推定される。

Ⅳ. ま と め

ALS, PD および対照前頭葉皮質剖検試料中の微量元素の相対含有量をエネルギー分散型螢光X線分析装置を用いて定量した。本実験で用いた試料数は，各症例とも2例と少なく，従って断片的ではあるが，次のような結果が得られた。

(1) 本分析法により，前頭葉皮質中の Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn および Pb の17元素が検出できた。

(2) ALS 前頭葉皮質には，Al, Si, Ca, V, Fe および Zn の元素がPDおよび対照に比べて高濃度に含まれていることがわかった。

(3) Pb については，ALS および PD の各1例で検出され，特に PD のX線スペクトルにおいて顕著なピークが認められた。

本報告の測定は，奈良教育大学のエネルギー分散型螢光X線分析装置を用いて行った。そのさい，装置の使用にあたり，ご指導を賜った同大学の三辻利一教授をはじめ研究室の方々に心から感謝します。グアム島における試料の分析を許可して下さいました NIN-CDS Research Center の D. Carleton Gajdusek 博士ならびに kwang-Ming Chen 博士に感謝します。また本研究を行うにあたり，ご支援を賜った本学原子炉工学科の堀部治助教授ならびに日下部俊男氏に感謝します。

参 考 文 献

1) Charcot, J. M., et al.: Arch. Physiol. Norm. Pathol., 2, 354 (1869).
2) Yase, Y., et al.: Ann. Rept. Res. Reactor Inst. Kyoto Univ., 2, 93 (1969).
3) Iwata, S., et al.: ibid., 9, 44 (1976).
4) Iwata, S.: Ecotoxicology and Environmental Safety, 1〔3〕, 297 (1977).
5) 水本良彦，他： Radioisotopes, 29〔12〕, 585 (1980).
6) 吉田宗平：臨床神経学雑誌，17〔5〕, 299 (1977).
7) 岩田志郎：神経内科，13, 103 (1980).
8) Gabbiani, G.: Calc. Tiss. Res., 6, 20 (1970).
9) Selye, H. (Ed.): Calciphylaxis, 48, Univ. Chicag. Press (1962).
10) 八瀬善郎：脳神経，34〔1〕, 7 (1982).
11) McConnel, D. (Ed.): Apatite (Applied Mineralogy 5), Springer-Berlag, Wien (1973).
12) Khan, A. H., et al.: Nucl. Inst. Meth., 165, 253 (1979).
13) Iwata, S., et al.: Ann. Rept. Res. Reactor Inst. Kyoto Univ., 12, 33 (1979).