

## マルチトレーサーによる生体微量元素の研究

安 部 文 敏

(理化学研究所)

### Studies of bio-trace elements using the multitracers

Fumitoshi Ambe

We have developed the multitracers technique using the RIKEN Ring Cyclotron, which can accelerate heavy ions up to 135MeV/nucleon. Irradiation with such heavy ions generates a wide range of radioisotopes in targets mainly due to nuclear fragmentation. Our idea was to use these radioisotopes together as a multitracers in order to trace the behavior of many elements simultaneously in various systems. Radiochemical procedures for preparation of carrier- and salt-free multitracers were established. So far, more than fifty elements can be traced using this technique. The multitracers are now used to investigate the behavior of various elements in chemistry, biochemistry and biology in cooperation with laboratories in universities and research institutes. Especially, uptake, transfer and metabolism of trace elements in animal bodies are now extensively studied using the multitracers technique. Several examples of such studies are presented.

放射性同位体 (RI) を利用するトレーサー法は生体微量元素の研究の有力な手段であるが、これまで RI トレーサーは単独で、あるいはごく小数の組み合わせで使われて来た。この手法をマルチエレメンタルな技術とすべく、理化学研究所の重イオン加速器リングサイクロトロンを利用して開発されたのがマルチトレーサー法である<sup>1,2)</sup>。高エネルギーの重イオンで金や銀などを照射すると多種類の放射性同位体が生成する。これを化学的に抽出してマルチトレーサーを得る。これらの放射性同位体はそれぞれの安定同位体をほとんど含まない無担体状態にある。マルチトレーサーは通常の RI トレーサーのように使用して多数の元素の挙動の同時追跡を可能とする。マルチトレーサー中に含まれる個々の放射性同位体の定量は Ge 半導体検出器を利用してガンマ線スペクトロメトリーで行う。マルチトレーサーは、高能率であるだけでなく、生体微量元素の研究に適した多くの特長を兼ね備えている。

ICP-MS やレーザー分光等の微量分析法の進歩にもかかわらず、放射性同位体の化学的・生化学的性質が通常元素を構成する安定同位体とほとんど変わらないことを利用する RI トレーサー法は、微量

元素の移行・分布を知る上でそのユニークな重要性はいささかも衰えていない。特に、ガンマ線を放出する放射性同位体を使う場合には、試料の処理がほとんど必要ないと言う絶対の利点がある。固体でも液体でも生体でも放射性同位体を投与した試料を適当な容器に置いて検出器の上に置くだけで定量ができる。微量分析で常に深刻な問題となる試薬や容器からの汚染も、処理中の試料からのロスも全く問題にならない。放射線は高い感度で検出できるので、使用する放射性同位体の量は重量としてはごくわずかで十分で、試料の組成にはほとんど影響をおよぼすことなくある元素の移行・反応を容易に追跡（トレース）できる。特に、ガンマ線は透過力が大きいから、上にも述べたように容器の外からでも容易に検出することができ、試料中のトレーサーを簡単に定量することができる。

このような RI トレーサー技術は基礎・応用研究だけでなく、工業や医学にも広く使われているが、これまでは単独で、あるいは生物実験でよく行なわれるように、トリチウムと炭素-14などのごく小数の組み合わせで使われて来ており、マルチエレメンタルな手法としての発展はなかった。それは、半導体検出器と計算機の普及でガンマ線の放出体については多数の放射性同位体を同時に測定し、データ処理によって個々に定量することは容易になっていたが、実際に多種類の放射性同位体を、特に無担体で入手することは極めて困難であったからである。この壁を破るべく筆者らが開発したのが本稿で紹介するマルチトレーサー法である。

10余年前理化学研究所に完成した重イオン加速器リングサイクロトロン（図1）はウランまでのイオンを加速することができ、炭素・窒素・酸素などのイオンでは核子（原子核中の陽子と中性子）あたり135MeV にまで加速することができる。このような高エネルギーの重イオンで照射を行なうと、ターゲット中の原子核と加速されたイオンの核の接触した部分が互いに破碎される核フラグメンテーションと呼

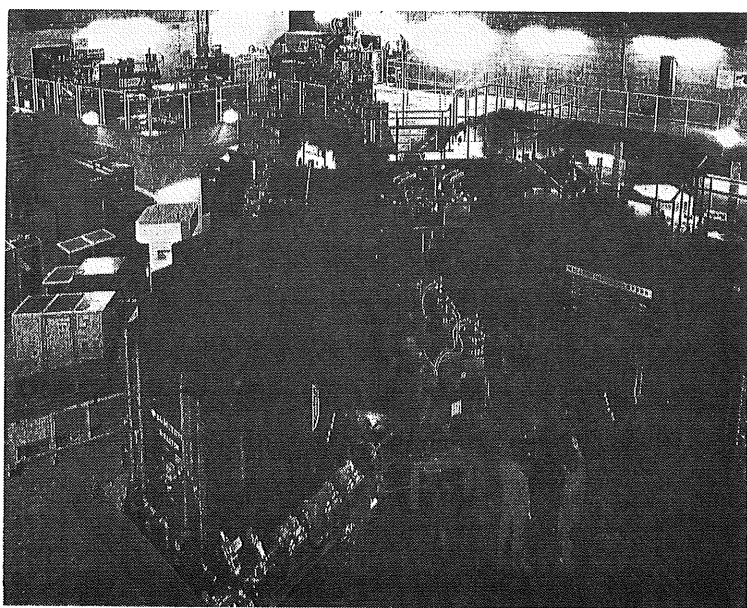


Fig. 1 RIKEN Ring Cyclotron

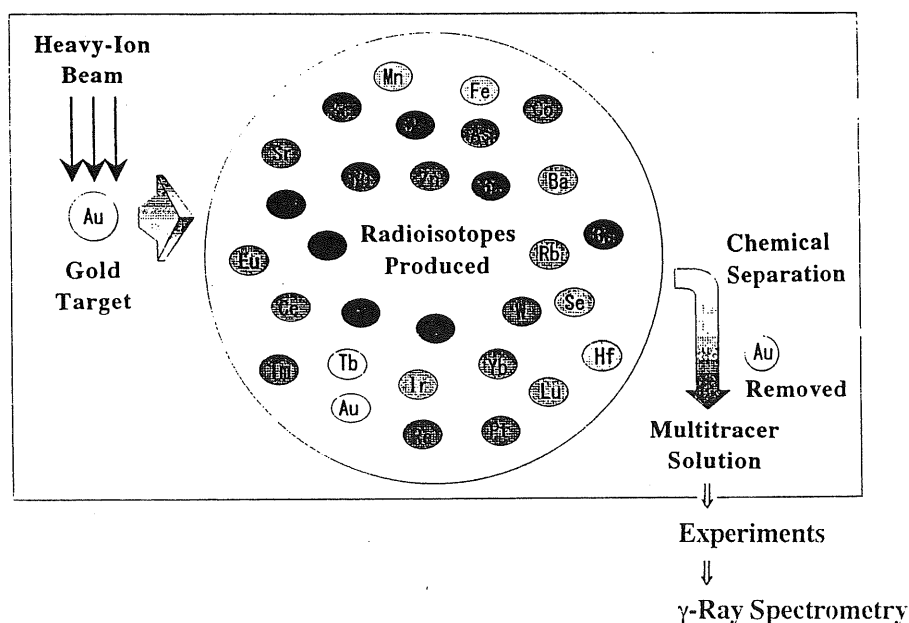


Fig. 2 Preparation of multitracer

ばれる核反応が起きる。両方の核の残った部分は多くの場合不安定な核すなわち放射性の核となる。そして、ターゲット核と加速イオンの核の衝突の仕方により、ターゲットより原子番号の小さいほとんどすべての元素の放射性同位体ができる。ターゲットとしては、金・銀などが、照射する重イオンとしては  $^{135}\text{MeV}$ /核子の炭素・窒素・酸素イオンが標準的に用いられている。照射後、ターゲットを酸に溶解し、使用に際して妨害になるターゲット物質（金・銀など）を化学的に除去すれば、多数の元素の放射性同位体を含むマルチトレーサー溶液が得られる（図2）。図3にこれまでに製造されたマルチトレーサーにその放射性同位体が含まれる元素を示す（枠内）。これらの放射性同位体は無担体であり、また化学分離法を工夫してあるので、塩を含んでいない。この2点はマルチトレーサーを生物実験に適用する場合大きな長所となる。

このようにして得られたマルチトレーサーは、そのまま、あるいは必要に応じてさらに群分離を行なってグループトレーサーとし、種々の系について多数の元素の化学的・生化学的挙動の同時追跡に用いる。生体に投与する場合は、生理的食塩水溶液（静脈・腹腔内投与の場合）あるいは希薄な塩酸溶液（経口投与の場合）として用いる。マルチトレーサー中に含まれる多数の放射性同位体の個々の定量は、試料のガンマ線スペクトルをピュア Ge 検出器で測定し、得られるスペクトルを計算機処理して行なう。

マルチトレーサーの利点の第一は高能率化である。一回の実験で十数種から数十種の元素について情報が得られる。これはひとつの量的革新である。その波及効果のひとつとして、これまでトレーサーの利用が考えられなかった新しい対象への適用が考えられる。例えば、ある系で一定の挙動を示す元素を探したいとする。従来のトレーサー法ではひとつひとつの元素について RI トレーサーを入手し、つぎつぎと実験して行かなければならない。これにたいしてマルチトレーサーを利用すれば一回の実験で目

| 原子番号 | IA           | IIA              | IIIA             | IVA             | VA              | VI A            | VII A           | VIII           | IB             | II B           | III B           | IV B           | V B            | VI B            | VII B          | 0              |                |                |
|------|--------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| 1    | H<br>水素      |                  |                  |                 |                 |                 |                 |                |                |                |                 |                |                |                 |                | 2 He<br>ヘリウム   |                |                |
| 3    | Li<br>リチウム   | 4 Be<br>ベリリウム    |                  |                 |                 |                 |                 |                |                |                | 5 B<br>ホウ素      | 6 C<br>炭素      | 7 N<br>窒素      | 8 O<br>酸素       | 9 F<br>フッ素     | 10 Ne<br>ネオン   |                |                |
| 11   | Na<br>ナトリウム  | 12 Mg<br>マグネシウム  |                  |                 |                 |                 |                 |                |                |                | 13 Al<br>アルミニウム | 14 Si<br>シリコン  | 15 P<br>リン     | 16 S<br>硫黄      | 17 Cl<br>塩素    | 18 Ar<br>アルゴン  |                |                |
| 19   | K<br>カリウム    | 20 Ca<br>カルシウム   | 21 Sc<br>スカンジウム  | 22 Ti<br>チタン    | 23 V<br>バナジウム   | 24 Cr<br>クロム    | 25 Mn<br>マンガン   | 26 Fe<br>鉄     | 27 Co<br>コバルト  | 28 Ni<br>ニッケル  | 29 Cu<br>銅      | 30 Zn<br>亜鉛    | 31 Ga<br>ガリウム  | 32 Ge<br>ゲルマニウム | 33 As<br>アセニウム | 34 Se<br>セレン   | 35 Br<br>臭素    | 36 Kr<br>クリプトン |
| 37   | Rb<br>ルビウム   | 38 Sr<br>ストロンチウム | 39 Y<br>イットリウム   | 40 Zr<br>ジルコニウム | 41 Nb<br>タンタル   | 42 Mo<br>モリブデン  | 43 Tc<br>テクネチウム | 44 Ru<br>ルテチウム | 45 Rh<br>ロジウム  | 46 Pd<br>パラジウム | 47 Ag<br>銀      | 48 Cd<br>カドミウム | 49 In<br>インジウム | 50 Sn<br>スズ     | 51 Sb<br>アンチモン | 52 Te<br>テルル   | 53 I<br>ヨード    | 54 Xe<br>キセノン  |
| 55   | Cs<br>セシウム   | 56 Ba<br>バリウム    | 57-71<br>ランタノイド  | 72 Hf<br>ハフニウム  | 73 Ta<br>タンタル   | 74 W<br>タングステン  | 75 Re<br>レニウム   | 76 Os<br>オスミウム | 77 Ir<br>イリジウム | 78 Pt<br>白金    | 79 Au<br>金      | 80 Hg<br>水銀    | 81 Tl<br>タリウム  | 82 Pb<br>鉛      | 83 Bi<br>ビスマス  | 84 Po<br>ポロニウム | 85 At<br>アスタチン | 86 Rn<br>ラドン   |
| 87   | Fr<br>フランシウム | 88 Ra<br>ラジウム    | 89-103<br>アクチノイド | 104 Rf<br>ラファエル | 105 Db<br>ドブニウム | 106 Sg<br>シーボグム |                 |                |                |                |                 |                |                |                 |                |                |                |                |

|        |               |               |                    |               |                 |                 |                 |                |                 |                  |                  |                  |                     |                   |                   |
|--------|---------------|---------------|--------------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| ランタノイド | 57 La<br>ランタン | 58 Ce<br>セリウム | 59 Pr<br>プラセオジム    | 60 Nd<br>ネオジム | 61 Pm<br>プロメチウム | 62 Sm<br>セミウム   | 63 Eu<br>ユウロピウム | 64 Gd<br>ガドリウム | 65 Tb<br>テルビウム  | 66 Dy<br>ジスプロシウム | 67 Ho<br>ホルミウム   | 68 Er<br>エルビウム   | 69 Yb<br>イットリウム     | 70 Lu<br>ルテチウム    |                   |
| アクチノイド | 89 Ac         | 90 Th<br>トリウム | 91 Pa<br>プロトアクチニウム | 92 U<br>ウラン   | 93 Np<br>ネプツニウム | 94 Pu<br>プルトニウム | 95 Am<br>アメリシウム | 96 Cm<br>キュリウム | 97 Bk<br>バークリウム | 98 Cf<br>カリホルニウム | 99 Es<br>アインスタイン | 100 Fm<br>フェルミウム | 101 Md<br>メンデルレービウム | 102 No<br>ノーバエリウム | 103 Lr<br>ローレンシウム |

Fig. 3 Elements so far traced by multitracers

的を果たすことができる。

もうひとつ大切なことはこれらの情報が完全に同一の条件下で得られることである。多数の各元素の挙動を比較する場合、これまでのシングルトレーサー法では、個々の元素について別々に実験して得られたデータをもとに議論されてきた。多くの場合、別々のグループにより報告されたデータが集められ、考察の基礎とされてきた。しかし、これは多くの場合かなり問題であって、特に試料差、個体差の大きい生体試料については、マルチトレーサーによって同時に完全に同一の条件下で多数の元素についてデータが得られることは、それらの相互比較において極めて重要で、これは質的革新と言ってよいであろう。また、マルチトレーサーは意外な発見の可能性、いわゆるセレンディピティをもっている。多くの元素について、情報が得られてしまうため、必ずしも意図していなかった元素について予想もしなかった新しい事実が見つかる可能性がある。これは、個々に意図的に入手した放射性同位体を自分で混ぜたのでは起こりえないことである。さらに、マルチトレーサーは図3に示したように現在でも50種類を超える元素に適用可能で、こんごその数はさらに増加して行くはずであるが、すでにシングルトレーサーとしても貴重なMg-28やCa-47などを含んでいる。Mg-28はマグネシウムの実用性のあるトレーサーとしては唯一のものであるが、一般には供給されていない。カルシウムのトレーサーとしてはCa-45が広く使われているが、この放射性同位体はほとんどガンマ線を放出せず、やっかいなベータ線測定をしなければならない。これに対してCa-47はガンマ線放出体であるので、多くの実験で極めて有利である。

これまでにマルチトレーサーを用いて、各種元素の新しい化学分離法の開発（液体膜、イオン交換、

吸着分離など)、地球環境における挙動の研究(海洋における吸着反応、土壌中のフミン酸との錯形成など)、植物体(イネ、大豆など)への取り込み、分布の研究、最近では新しい金属内包フラーレンの合成研究等々が行なわれているが、なんといってもマルチトレーサーがもっともその真価を発揮しているのは微量元素の動物体(ラット・マウス)への取り込み、分布、代謝の研究である。それは、一部上にも述べたが、(1)人体の必須微量元素はほとんど全てを網羅している、(2)無担体の極微量で、生体に対する負荷や毒性は無視できる、(3)多数の元素についての情報が完全に同一の条件下で得られるから、個体差の大きい生体について各元素の挙動の精密な比較ができる、(4)複数の元素の挙動の相互関係(代替作用、相乗効果、拮抗関係)を明らかにするのにきわめて有効であるなどの理由による。これまでに正常なラット・マウスについての実験をスタートに、各種の疾病やある種の元素の欠乏・過剰が各種微量元素の代謝に及ぼす影響の研究を展開してきた。以下いくつかの具体的な研究例を紹介する。

図4に正常ウイスターラットに経口投与したマルチトレーサーの3日後の臓器分布を示す。これだけの元素についてのデータが単一の実験(3匹についての平均)で、したがって同一の条件下で得られていることに注目されたい。個々の議論は省くが、各元素がそれぞれ特徴的な分布を示していることが一見してお分かり頂けると思う。これらの結果は、すでにシングルトレーサーのデータのあるものについては基本的に良く一致しており、マルチトレーサー法の信頼性の高いことを示している。

図5は正常マウスとインスリン非依存糖尿病モデルマウスの肝臓・腎臓への希土類元素の取り込みを

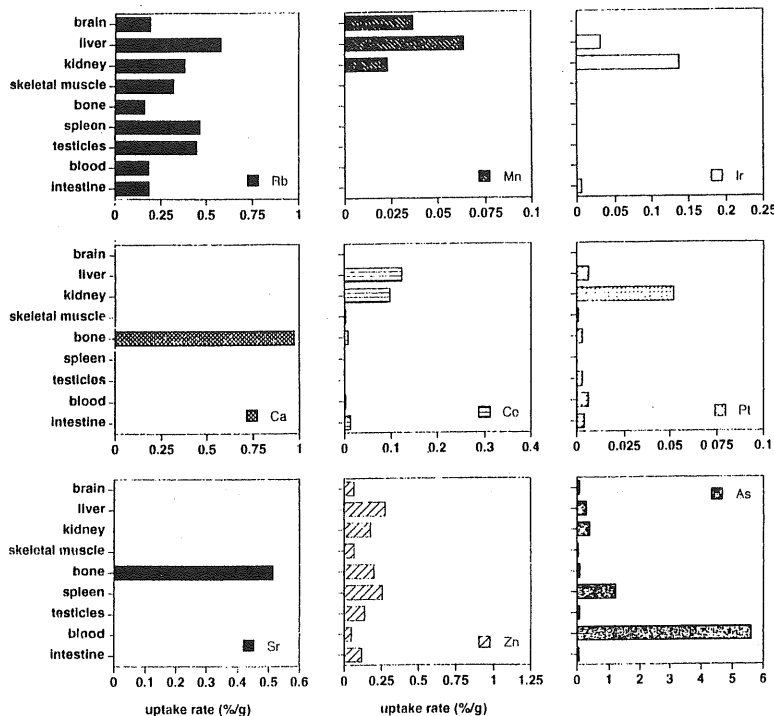


Fig. 4 Uptake of trace elements in organs of normal Wistar rats

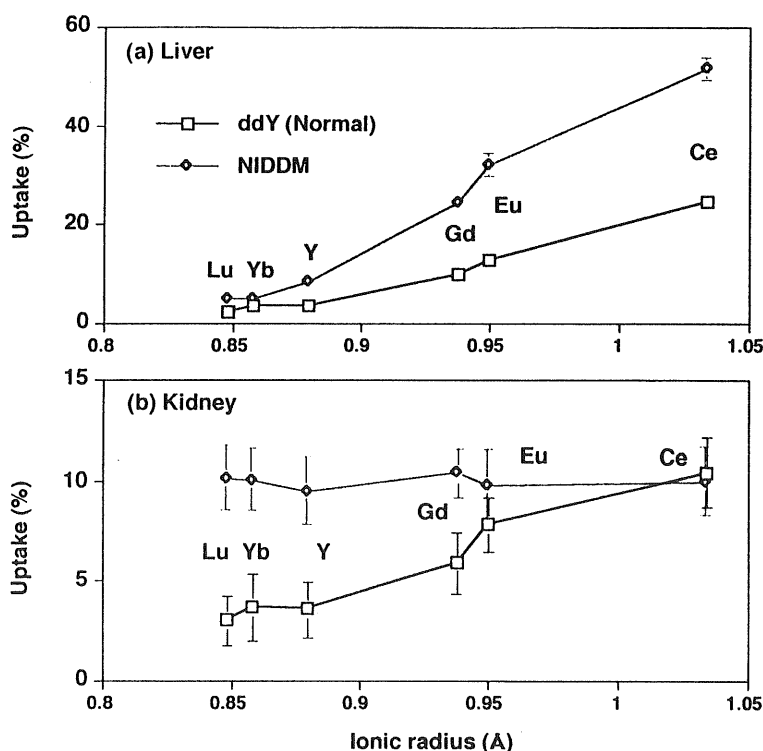


Fig. 5 Uptake of rare earth elements in liver and kidney of non-insulin dependent diabetes mellitus mice

比較したものである。まず、正常マウスの肝臓への取り込みを見ると、取り込み(%)がイットリウムを含めて希土類元素のイオン半径に依存しており、軽希土類元素で大きく、重希土類元素では小さいことが分かる。この関係はモデルマウスでも保たれているが、取り込み(%)はすべての希土類元素についてほぼ倍に増加し、インスリン非依存糖尿病が希土類元素の肝臓への蓄積を引き起こしていることが明らかである。一方モデルマウスの腎臓では、イオン半径への依存が失われており、希土類元素の取り込みに関与する機構、おそらくカルシウムチャンネルが正常に機能していないことを示唆する。

図6はセレン欠乏ラットの諸臓器への種々の元素の取り込みを正常ラットと比較した実験の結果のうちセレンとヒ素についてのデータを示したものである。セレン欠乏ラットの肝臓では非常に高いヒ素の取り込みが見られ、投与後80時間後まで増加が続いている。この現象の機構については、さらに研究中であるが、実験計画時にはまったく予想していなかったことであり、マルチトレーサーのセレン・ヒ素を示すよい例と言えよう。

図7はマウスの肝臓への微量元素の集積に対するアルコールの影響を調べたもので、ジルコニウム・イットリウム・バナジウム・スカンジウムの集積がアルコール投与によって増加していることが分かった。これらの元素は骨に集積しやすい元素であり、肝硬変とも関連して興味ある結果と言えよう。

以上のほか様々な研究が行われつつあり、また将来マルチトレーサーを投与したラット・マウスを宇

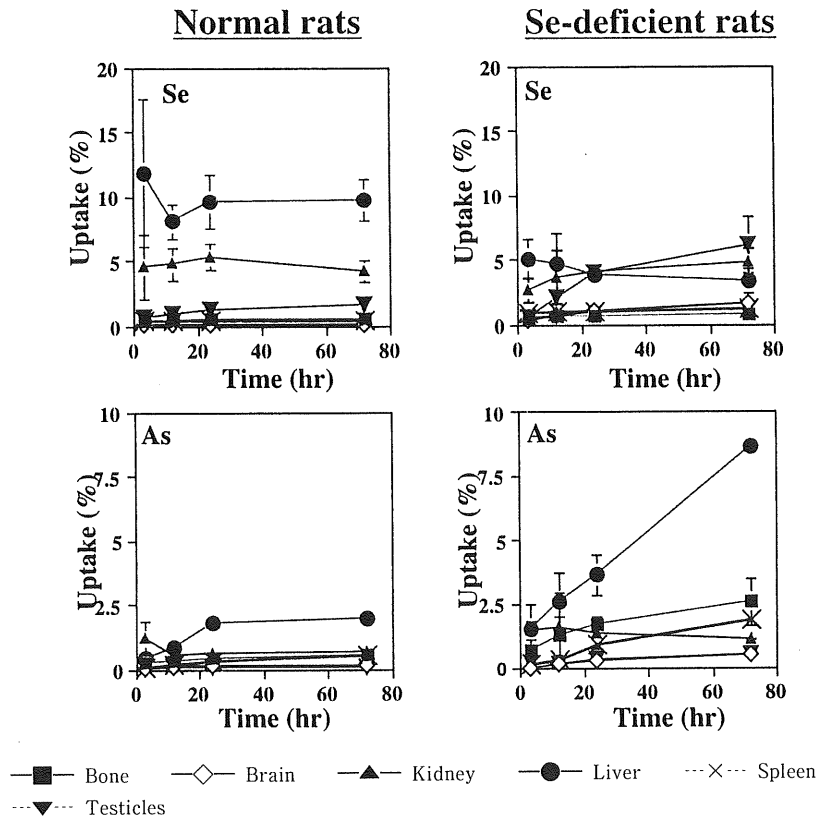


Fig. 6 Uptake of Se and As in organs of Se-deficient rats

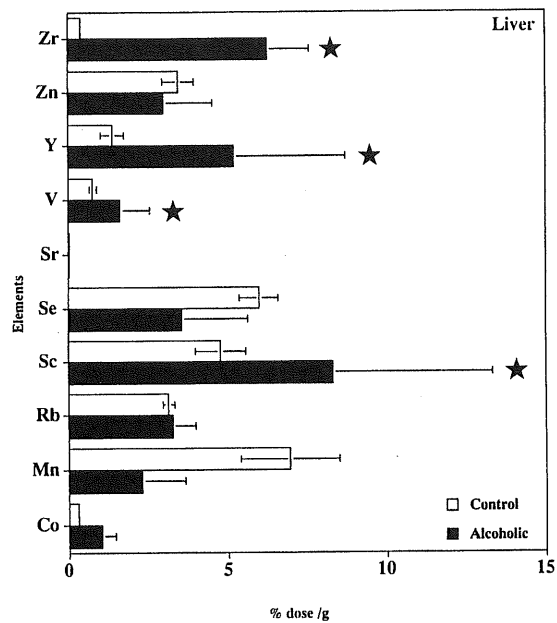


Fig. 7 Effect of alcohol on uptake of trace elements in liver of rats

宙船に搭載し、微小重力下での生体微量元素の代謝を調べることも予定されている。また、現在理化学研究所では動物を生かしたままマルチトレーサーの生体内分布や移行を測定する装置の開発が計画されている。

以上本稿に紹介した研究は理化学研究所を中心として、多数の大学・研究所の方々の協力を得て行なって来たものであるが、個々の研究についての協力者名は割愛させて頂いた。

## 文 献

- 1) Ambe, S. et al. (1991) : Chem. Lett., 1991 : 149.
- 2) Ambe, F. ed. (1996) : RIKEN Review No. 13, Focused on The Multitracer, Its Application to Chemistry, Biochemistry and Biology.