

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
小泉千里	主査 教授 河野 公一 副査 教授 勝岡 洋治 副査 教授 清水 章 副査 教授 古谷 榮助 副査 教授 窪田 隆裕
主論文題名 Evaluation of Urinary Nickel using Inductively Coupled Plasma Argon Emission Spectrometry (ICP 発光プラズマ分析法を用いた尿中ニッケルの評価)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>ニッケルは産業分野で広く用いられている微量元素である。しかし人に対するニッケルの過剰暴露は肺、心血管系や腎障害を含む重篤な結果をもたらす。そこで職業暴露の指標として、ニッケル濃度測定のためには、その低侵襲性のために尿が用いられている。ニッケル濃度の測定には従来原子吸光法が用いられてきた。本研究において申請者らは、従来の原子吸光法に比べ少量の検体で測定可能であり、かつ低い検出限界をもち、さらに同時に複数の元素を測定できるという利点を持つ ICP 発光分析法を導入した。本研究ではこの Inductively Coupled Plasma (ICP) 発光分析法によるニッケル元素の適正波長を決定することにより、尿中ニッケル濃度測定法を確立することを目的とした。さらに、確立したニッケル濃度測定法を用いて、ラットにおける低濃度ニッケルの単回経口投与量と尿排泄量との間の相関関係を検討することを目的とした。</p> <p>《対象と方法》</p> <p>ICP 発光分析装置は HITACHI P5200-3600/1200 ICP EMISSION ANALYSIS SYSTEM を用いた。ニッケル標準溶液はナカライテスク社製ニッケル標準液を 18MΩ cm 超純水にて希釈して作成した。尿検体は 3000 回転で遠心分離した後、測定まで凍結保存した。ニッケルの特異波長としては 231.604nm, 221.647nm, 230.300nm, 216.566nm, 232.003nm の 5 波長が知られているが、この中から測定濃度範囲においてもっとも適した波長を選ぶために各種ニッケル標準液濃度(2, 5, 10, 20μg/L)に対する発光強度および信号バックグラウンド(S/B)比を測定し、さらにニッケル暴露のない健康人尿を用いてニッケル測定の妨害波長の有無を検討し適正波長を決定した。さらに 6 週齢の雄性ラット(n=90)を用いて硝酸ニッケル六水和物 0.025-250mg/Kg (LD₅₀の 0.0015%から 15%に相当する低容量)の単回経口投与を行ない、その後 24 時間の畜尿を回収した。次にニッケル標準液を用い ICP 発光分析装置にて、決定された適正波長における検量線を作成後、上記検体の尿中ニッケル濃度を測定し、尿中排泄量を求めた。さらに尿中の N-acetyl-β-glucosaminidase (NAG), β₂-microglobulin, albumin, protein を測定し腎機能への影響を評価した。</p>	

《結 果》

ニッケル標準液を用いた発光強度および S/B 比の測定結果より、231.604nm および 221.647nm が、単回帰分析から得られた回帰直線でもっとも高い傾きを示した。さらにこの 2 波長を用いてニッケル暴露のない健常人尿を ICP 発光分析装置に導入し、221.647nm において妨害波長と見られる異常ピークの出現を認めため、以下尿中ニッケル濃度の測定には 231.604nm が適正波長であると考えられた。231.604nm を用いてニッケル標準液を ICP 発光分析装置に導入し、検量線 $y=517x+502$ (y =発光強度、 x =ニッケル濃度)を作成した。さらにこの検量線を用いて、硝酸ニッケル六水和物を単回経口投与したラットの 24 時間畜尿後の尿検体を ICP 発光分析装置に導入して尿中ニッケル濃度を測定し、尿中排泄量を求めた。経口投与量 x (mg) と排泄量 y ($\mu\text{g}/24\text{hours}$) の関係を単回帰分析にて求めたところ $y=62.6x^{0.8527}$ 、 $r=0.9488$ でありニッケル投与量依存性の尿排泄量増加を認めた。さらに同尿検体を用いて腎機能を評価したところ、本実験の投与量においては腎機能障害は認められなかった。

《考察及び結語》

一般にニッケル化合物による慢性的影響については多くの報告がなされているが、急性的影響についてはニッケルカルボニルの呼吸器に対する影響以外はほとんど報告がなく、経口投与による影響の報告もない。また尿中ニッケル濃度の測定には従来原子吸光法が用いられてきたが、本研究にて複数の元素が同時測定できかつ少量の検体で測定可能な ICP 発光分析装置を導入した。ニッケル標準液および健常人の尿中ニッケル妨害波長の有無の検討によって求められた適正波長は 231.604nm であった。この波長を用いた検量線でも直線性は良好であった。さらに硝酸ニッケル六水和物をラットに単回経口投与したがこれは LD₅₀ の 0.0015% から 15% に相当するニッケル量である。この低濃度の投与と尿中排泄量との関係で得られた回帰直線においても直線性は良好であり、ICP 発光分析装置による尿測定により、低濃度のニッケルに対する暴露をモニターできることが示された。最も低い濃度においても回帰直線の直線性は保たれ ICP 発光分析装置が低い検出限界を持つことが示された。また最も高い濃度即ち LD₅₀ の 15% 投与においても腎機能障害は認められなかった。これらのことから ICP 発光分析装置による尿測定は、低濃度ニッケルの暴露のモニタリングに有用であることが示唆される。さらに近年ニッケルカドミウム電池が広く用いられていることから、複数の微量元素の同時汚染の評価に ICP 発光分析装置が有用であることが示唆される。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	小 泉 千 里
論文審査担当者		主 査 教 授 河 野 公 一 副 査 教 授 勝 岡 洋 治 副 査 教 授 清 水 章 副 査 教 授 古 谷 榮 助 副 査 教 授 窪 田 隆 裕	
主論文題名 Evaluation of Urinary Nickel using Inductively Coupled Plasma Argon Emission Spectrometry (ICP 発光プラズマ分析法を用いた尿中ニッケルの評価)			
論文審査結果の要旨			
<p>ニッケルは産業分野で広く用いられている金属元素である。ニッケル化合物取り扱い作業者の暴露指標の検体としては低侵襲のため尿が望ましくその尿中ニッケル濃度の測定には原子吸光法が用いられてきた。近年産業現場ではニッケルカドミウム電池の職業暴露を含め複数の元素を同時に測定する必要性が生じており、低い検出限界を持ち少量の資料から測定可能な ICP 発光分析法が注目されている。本研究では、ICP 発光分析法を用いた尿中のニッケル濃度測定法を確立し、さらにラットを用いてニッケルの経口投与と尿中排泄量の相関関係について検討したものである。その結果、申請者は以下の結論を得ている。</p> <p>ICP 発光分析法による尿中ニッケル濃度測定の適正波長は 231.604nm であり、同波長においてはニッケル標準液およびニッケル非暴露の健常人尿においても妨害波長の出現を認めなかった。</p> <p>LD₅₀ の 15%以下に相当する範囲の低濃度の硝酸ニッケル六水和物を、ラットに単回経口投与したところ、ニッケルの尿排泄量は投与量依存性に増加した。またこの範囲の投与量において腎機能障害は認められなかった。</p> <p>以上より、申請者は産業現場におけるニッケル作業者の尿中ニッケル濃度を ICP 発光分析装置を用いて測定することにより、低濃度のニッケル暴露のモニタリング指標として極めて有用であることを示唆している。</p> <p>本研究は、ICP 発光分析法によるニッケル濃度の測定方法を確立し、その測定法に基づきニッケルの暴露と尿排泄量の検討を行なうことにより、ICP 発光分析法の有用性および産業現場での低濃度ニッケル暴露の健康管理指標としての可能性を示したものであり、産業医学上、その意義は極めて高いと考えられる。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第 9 条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Bulletin of the Osaka Medical College 51(1): 1-7, 2005</p>			