イオンクロマトグラフィーを用いた ヒト血清中陰イオン種の測定

Ion Chromatographic Determination of Inorganic Anions in Human Serum

弘前大学医学部衛生学教室

熊 江 隆・菅 原 和 夫

早稲田大学人間科学部衛生学公衆衛生学教室

町 田 和 彦

大分医科大学公衆・衛生医学教室

三 角 順 一・島 岡 章

Takashi Kumae and Kazuo Sugawara

Department of Hygiene, Hirosaki University School of Medicine, Hirosaki

Kazuhiko Machida

Department of Hygiene and Public Health, School of Human Sciences, Waseda University, Saitama

Junichi Misumi and Akira Shimaoka

Department of Hygiene and Public Health, Medical College of Oita, Oita

The ion chromatographic method is a rapid and reliable technique for the simultaneous determination of inorganic anion concentrations in serum. We are investigating the effects of various diseases on the serum levels of the following inorganic anions: phosphate, bromide, nitrate, and sulphate.

In this paper, we tested the intra- and intermeasurement reproducibility of the ion chromatographic method using pooled normal human serum. We found a good intrameasurement reproducibility for all of the above inorganic anions. The intermeasurement reproducibility was good for three of the inorganic anions but not for nitrate.

We measured the serum levels of these inorganic anions in 241 inhabitants in one rural area. Using sera of normal inhabitants chosen from the above group, we used the mean value plus or minus two standard deviations as the normal range of each inorganic anion. Our values are in agreement with previously published reports.

We found that the serum levels of nitrate and sulphate tended to be increased in inhabitants with liver or kidney disfunction respectively.

Key words: Ion Chromatography, Inorganic Anions, Human Serum

イオンクロマトグラフ, 無機陰イオン, ヒト血清

はじめに

近年, Small らが高速液体クロマトグラフをもとに開発したイオンクロマト法は, 低容量イオン交換樹脂カラムとバックグラウンド除去装置を組み合わせるイオン性物質を検出する新しい分析法であり, 検体中の多数のイオン種を同時に感度よく測定することが可能である^{1,2)}。本法の開発によって, 従来の呈色反応を用いた方法^{3,4)}やイオン電極法⁵⁾では前処理等が繁雑であったり, 測定に時間がかかっていた雨水⁶⁾, 食品^{7,8)}, さらに血清中の陰イオン種^{9~12)}も測定が容易となった。

このイオンクロマト法を用いて, これまでに血清中のリン酸イオン, 臭素イオン, 硝酸イオンおよび硫酸イオン濃度を同時に測定し, 疾病等による影響を検討することを目的として研究を行ってきた^{13~16)}。疾病等による影響を検討するためには, まず健康者における血清中濃度, そして血清中濃度を比較検討する場合には採血の際の体位, 食事, 運動等による影響や日内リズム, さらに季節による変動を知ることが必要であろうと考えられた。そこで, 共同生活を行い, 同一の食事をしていない健康な被験者群¹⁷⁾において, 血清中のリン酸イオン, 臭素イオン, 硝酸イオンおよび硫酸イオン濃度を測定し, これらの陰イオン種の季節による変動を検討して報告した¹⁸⁾。

今回は, 著者らがすでに報告してきた大分県内の一山村住民^{18,19)}を対象者として, 季節の影響をさけるために同一時期に採血し¹⁶⁾, イオンクロマトグラフを用いて血清中のリン酸イオン, 臭素イオン, 硝酸イオンおよび硫酸イオン濃度を測定し, これらの陰イオン種の血清中濃度の分布と今回の対象者における正常範囲と異常値を示す場合について検討したので報告する。

方 法

1. 測定機器および測定条件

測定機器として Dionex Qic IonChrom Analyzer (Dionex 社) を使用し, すでに報告したと同様の条件下¹⁸⁾で測定を行った。測定に使用したガードカラムは HPIC AG-4 (Dionex 社) 陰イオン分離用カラムは HPIC AS-4 (Dionex 社) であり, ファイバーサプレッサー (Dionex 社) を使用した。検出器は伝導度検出器 (Dionex 社) を用い, 測定 range $3\mu\text{S}$, 外部出力 1 V, 記録計 (日立卓上記録計モデル 056-3019) の測定 range をフルスケール 200 mV として伝導度の変化をチャート上に記録した。

測定中は温度変化による影響を除くために測定室の気温を空調機 (三菱モデル SRF-354KH) 2 台を用いて

$25\pm 2^\circ\text{C}$ に保った。

2. ヒト標準血清²⁰⁾

すでに報告した¹⁵⁾ 自家製の標準血清を一連の測定前に再蒸留水で 51 倍に希釈し, ポリキュベットに分注後 -40°C にて保存した。測定直前に 37°C で解凍し, $0.25\mu\text{m}$ のポアサイズのフィルターチップ (Dismic-25, 東洋濾紙) で濾過を行った。

3. 血清中陰イオン種測定用標準溶液

血清中の陰イオン種濃度を測定するために, すでに報告¹⁵⁾ したと同様に, 血清中に最も多く含まれている塩素イオン濃度は一定として血清に近い陰イオン組成を有し, 測定しようとするリン酸イオン, 臭素イオン, 硝酸イオンおよび硫酸イオンの濃度が測定用に希釈した血清よりも高い標準溶液 A (Cl^- ; 2.0 mmol/l , PO_4^{3-} ; $4.0\times 10^{-1}\text{ mmol/l}$, Br^- ; $2.5\times 10^{-1}\text{ mmol/l}$, NO_3^- ; $6.0\times 10^{-1}\text{ mmol/l}$, SO_4^{2-} ; $1.2\times 10^{-1}\text{ mmol/l}$) と低い標準溶液 B (Cl^- ; $2.0\times 10^{-1}\text{ mmol/l}$, PO_4^{3-} ; $1.5\times 10^{-1}\text{ mmol/l}$, Br^- ; $0.8\times 10^{-1}\text{ mmol/l}$, NO_3^- ; $0.5\times 10^{-1}\text{ mmol/l}$, SO_4^{2-} ; $0.4\times 10^{-1}\text{ mmol/l}$) の 2 種の標準溶液を作成した。なお, 本研究ではオートスチール (ヤマト科学) により蒸留・脱イオン後, さらにもう一度蒸留した水を $0.2\mu\text{m}$ のポアサイズフィルター (Sartorius) で濾過した水 (以下再蒸留水と略) を使用した。

4. ヒト血清中陰イオン種の測定

ヒト血清を 37°C で解凍した後に再蒸留水で 51 倍に希釈し, 測定直前に $0.25\mu\text{m}$ のポアサイズのフィルターチップ (Dismic-25, 東洋濾紙) で濾過を行って検体とした。ヒト血清中陰イオン種の測定は, 標準液 A, B およびヒト希釈標準血清, 次の検体とした希釈血清 6 本を測定し, 再び標準液 A, B およびヒト希釈標準血清を測定するという順で行った。各検体は 3 回測定し, 陰イオン種の定量は標準液 A および B の各陰イオン種のピーク高より検量線法によって行った¹⁵⁾。

5. 対象者

大分県内一山村に居住し, 大分医科大学公衆・衛生医学教室が昭和 55 年より実施している健康調査を受診している者^{18,19)} より, 季節による影響¹⁷⁾ をさけるために同一時期に採血した男性 122 名, 女性 119 名, 合計 241 名を選出した。

男性 122 名中で, 既往歴を有せず血清生化学検査においても異常を示さなかった者は 43 名であり, 肝機能異常が疑われる者が 27 名, 腎機能異常が疑われる者が 14 名存在した。

女性 119 名中では, 既往歴を有せず血清生化学検査に

においても異常を示さなかった者は39名であり、高血圧の既往を有する者13名、肝機能異常が疑われる者が14名、腎機能異常が疑われる者が5名存在した。

6. 統計処理

ヒト血清中陰イオン種の濃度の平均値間の有意差は、正規性の検定を行った後に Student's t-test を用いて求めた。

結 果

1. ヒト標準血清の連続測定時の再現性

ヒト標準血清を再蒸留水で51倍に希釈し、濾過を行ったもの（以下ヒト希釈標準血清と略）を検体とした。サンプル連続測定時にカラムの汚染などでピークが乱れるのを把握する目的で、ヒト標準血清中陰イオン種の連続測定は、標準液 A および B を測定した後に検体とした希釈標準血清 8 本を測定、再び標準液 A および B を測定するという順で行った。結果を Table 1 に示したが、リン酸イオンの変動係数が最も小さく（1.1%）、ついで臭素イオン（3.0%）、硫酸イオン（3.2%）の順であり、硝酸イオンの変動係数が7.7%と最も大きくなった。

2. ヒト標準血清の測定間の再現性

一山村住民の血清中陰イオン種の測定は標準血清同様、標準液 A、B およびヒト希釈標準血清、次いで検体とした希釈血清 6 本を測定し、再び標準液 A、B およびヒト希釈標準血清を測定するという順で行った。測定は一検

体につき少なくとも3回、測定日を変えて行った。

測定間の再現性は、このような順序で行われた一山村住民の血清中陰イオン種の測定の各測定毎における標準血清の測定値を集積し、得られた合計250例について検討した。Table 1 に示したように、連続測定時（測定内）の再現性に比較して、測定間の再現性は低下しており、硝酸イオンは変動係数19.6%と再現性は低かった。

3. 一山村住民の血清中陰イオン濃度

一山村住民の血清中陰イオン種の測定は一検体につき少なくとも3回、測定日を変えて行い、得られた測定値を平均して血清中濃度とした。

一山村住民の血清中陰イオン濃度の分布状態を男女別と男女合計でヒストグラフにして Fig. 1 から 4 に示した。

リン酸イオンの分布状態を Fig. 1 に示したが、男女合計でみた場合の中央値は0.981 mmol/l であり、平均値は0.979 mmol/l、標準偏差0.191 mmol/l であった。同様に男性のみをみた場合の中央値は0.9315 mmol/l であり、平均値は0.925 mmol/l、標準偏差0.173 mmol/l であった。また、女性のみをみた場合の中央値は0.971 mmol/l であり、平均値は1.035 mmol/l、標準偏差0.194 mmol/l と女性の方が男性より高値を示した。男女の平均値間には、有意差 ($p < 0.001$) が認められ、女性の方が男性よりも高値であった。

次に臭素イオンの分布状態を Fig. 2 に示したが、男女

Table 1 The reproducibilities of the standard serum levels of inorganic anions.

		Inorganic Anions			
		phosphate	bromide	nitrate	sulfate
Intra-measurement	Mean (mmol/l)	0.804	0.067	0.104	0.316
	SD (mmol/l)	0.009	0.002	0.008	0.010
	CV (%)	1.1	3.0	7.7	3.2
	N	8	8	8	8
Inter-measurement	Median (mmol/l)	0.794	0.067	0.104	0.316
	Mode (mmol/l)	0.799	0.067	0.106	0.310
	Max (mmol/l)	0.942	0.075	0.156	0.400
	Min (mmol/l)	0.697	0.059	0.047	0.258
	Mean (mmol/l)	0.805	0.067	0.102	0.316
	SD (mmol/l)	0.036	0.003	0.020	0.020
	CV (%)	4.5	4.5	19.6	6.3
	N	250	250	250	250

SD: standard deviation CV: coefficient variation N: number of measurements

合計でみた場合の中央値は0.066 mmol/lであり、平均値は0.070 mmol/l、標準偏差0.022 mmol/lであった。同様に男性のみをみた場合の中央値は0.066 mmol/lであり、平均値は0.071 mmol/l、標準偏差0.024 mmol/lであった。また、女性のみをみた場合の中央値は0.067

mmol/lであり、平均値は0.069 mmol/l、標準偏差0.018 mmol/lとなり、男女差はほとんど認められなかった。

Fig. 3に硝酸イオンの分布状態を示したが、男女合計でみた場合の中央値は0.107 mmol/lであり、平均値は0.132 mmol/l、標準偏差0.100 mmol/lであった。同様に男性のみをみた場合の中央値は0.100 mmol/lであり、平均値は0.122 mmol/l、標準偏差0.074 mmol/lであった。また、女性のみをみた場合の中央値は0.112 mmol/lであり、平均値は0.143 mmol/l、標準偏差0.119 mmol/lとなり、女性の方が中央値と平均値では高値となった。

次に Fig. 4に硫酸イオンの分布状態を示したが、男女合計でみた場合の中央値は0.329 mmol/lであり、平均値は0.351 mmol/l、標準偏差0.133 mmol/lであった。同様に男性のみをみた場合の中央値は0.3345 mmol/lであり、平均値は0.340 mmol/l、標準偏差0.101 mmol/lであった。また、女性のみをみた場合の中央値は0.323 mmol/lであり、平均値は0.363 mmol/l、標準偏差0.160 mmol/lとなり、男女差はほとんど認められなかった。

Fig. 1 Distribution of the serum phosphate anion levels in the inhabitants of a rural area in Oita prefecture.

Fig. 2 Distribution of the serum bromide anion levels in the inhabitants of a rural area in Oita prefecture.

Fig. 3 Distribution of the serum nitrate anion levels in the inhabitants of a rural area in Oita prefecture.

Fig. 4 Distribution of the serum sulfate anion levels in the inhabitants of a rural area in Oita prefecture.

4. 血清中陰イオン濃度の正常値

血清中陰イオン濃度の正常値を求めるために、今回対象者とした一山村住民より、既往症もなく血清生化学検査20項目にも異常を示さなかった男性43名、女性39名を選出した。血清中陰イオン濃度の結果を Table 2 に示した。正常範囲として、良く使用されている平均値 $\pm$ 2標準偏差を用いることとした。

今回対象者とした一山村住民241名中で、リン酸イオンの正常範囲の上限値を上回ったものが男性では7名、女性では6名であり、下限値を下回ったものは女性2名のみであった。臭素イオンの場合は、上限値を上回ったものが男性では6名、女性では4名であり、下限値を下回ったものはいなかった。硝酸イオンの正常範囲は、Table 2 に示したごとく上限値のみとなったが、上回

たものが男性では14名、女性では17名存在した。硫酸イオンの場合は、上限値を上回ったものが男性では5名、女性では14名であり、下限値を下回ったものは女性1名のみであった。

考 察

血清中の陰イオン種のうちで、現在日常的に測定が行われている重炭酸イオン、リン酸イオンおよび塩素イオンについては、疾病で変動することが良く知られている^{21,22)}。そこで、他の陰イオン種の疾病等による変動を検討することを目的として研究を開始した。すでに、目的のイオン種に選択的な呈色反応を利用した従来法とイオンクロマト法の比較を行い、本学会誌にその成果を発表した¹⁵⁾。今回は、前報¹⁵⁾の成果を基にヒト血清中の陰イオン種の疾病による変動を検討するために必要であるヒト血清の測定値の再現性を検討し、さらに大分県内の一山村住民を対象者として、血清中の陰イオン濃度を測定し、その対象者群における正常値を推定した。

イオンクロマト法は多方面で応用され、多くの研究がなされてきており、ヒト血清に関する研究も少しずつなされてきている⁹⁻¹²⁾。しかし、ヒト血清の測定に関する報告においても詳細な再現性の検討は現在までほとんど行われていない⁹⁾。そこで、はじめに再現性の検討を行った。結果に示したごとく、連続測定における再現性は、最も再現性の低い硝酸イオンでも7.7%となり、かなり良い結果が得られた。しかし、測定間で再現性を検討した場合には他の陰イオンが5%程度と良好であったにもかかわらず、硝酸イオンは20%近い値となった。測定間の硫酸イオンの再現性は、すでに報告されている変動係数2.7% (測定回数6)⁹⁾に比較して若干低下していたが、

Table 2 The normal range of serum inorganic anions in rural area inhabitants.

inorganic anions	sex	Mean $\pm$ SD (mmol/l)	Normal range (mmol/l) Lower~Upper
Phosphate	male	0.902 $\pm$ 0.149	0.604~1.200
	female	1.024 $\pm$ 0.186	0.652~1.396
Bromide	male	0.069 $\pm$ 0.018	0.033~0.105
	female	0.070 $\pm$ 0.019	0.032~0.108
Nitrate	male	0.103 $\pm$ 0.056	N.D.~0.215
	female	0.100 $\pm$ 0.062	N.D.~0.224
Sulfate	male	0.336 $\pm$ 0.107	0.122~0.550
	female	0.319 $\pm$ 0.087	0.145~0.493

SD: standard deviation N.D.: not detected Normal ranges were calculated by each mean value plus or minus twice the corresponding standard deviation.

我々の繰り返し測定数が250回と非常に多く、カラムの劣化による交換も途中で行っていることを考え合せば良好といえるであろう。硝酸イオンのピークは臭素イオンのすぐ後に出現し、ピークの高さ、鋭さも臭素イオンと大差はない。リテンション時間が長くなるほどピークの中が広くなり、定量性に問題が生じてくることは容易に理解できうるが、最もリテンション時間の長い硫酸イオンよりも硝酸イオンの方が再現性が落ちている。したがって、この再現性の低下は単純にイオンクロマト法による方法論的問題のみでなく、測定試料側あるいは測定環境側にも問題があるものと考えられる。疾病による変動を明確にするためには、硝酸イオンに関してはさらに測定条件や試料保存についても検討する必要があるであろう。

血清中陰イオン濃度の一山村住民における分布状態をFig. 1から4に示した。結果で述べた如く、リン酸イオンでは中央値と平均値が近い値となり、大きくはずれた値もなく、一峰性の単純な分布が得られた。これは、リン酸イオンが今回調べた他の陰イオン種に比較し、血清中に多量に存在し¹⁶⁾、疾病等の影響もより受けにくいと考えられる。これに反し、他の陰イオン種、臭素イオン、硝酸イオンおよび硫酸イオンでは平均値の数倍の値を示す者が存在し、高濃度側にすそ野を延ばした分布形となった。したがって、このような傾向の著しい硝酸イオンと硫酸イオンは疾病等による影響を受けやすいのではないかと推定される。

血清中の陰イオン濃度の疾病による変動等を考える上で、始めに生じる問題が正常値の設定である。これには多くの問題点があるが、多くの場合において、正常であろうとみなされた複数の個体について、ある測定を行った結果をもとに設定されている²³⁾。そこで、今回対象者とした一山村住民より、既往症もなく血清生化学検査20項目に異常を示さなかった男女を選出して、この対象者群における正常値を設定した。リン酸イオンに関しては、血清無機リンはほとんどリン酸イオンであると考えられ²¹⁾、血清無機リンの正常値は多くの発表がなされている。これらを、リン酸イオンと同じ表記 (mmol/l) に換算するとおよそその正常範囲は0.7から1.6 mmol/lとなり、Table 2に示した結果と一致する。また、正常な男女40名の血清中リン酸イオンをイオンクロマト法で測定して、正常範囲として報告している0.67から1.42 mmol/l⁹⁾とも良く一致した。

今回のリン酸イオンの正常範囲の上限を上回った男性7名についてみると、肝機能異常が疑われる者3名と1

日3合以上の飲酒を行っている者2名が存在した。しかし、女性では上限を上回った6名の中で高血圧の既往を有する者が3名と最も多く、下限を下回った2名の中に肝機能異常が疑われる者が1名存在した。血清無機リンが軽度の肝機能障害、飲酒あるいは高血圧の既往によって変動するとの報告はなく、男女での結果が異っていたことからさらに検討を加える必要があると考えられる。

臭素イオンに関しては、イオンクロマト法で男女38名を測定し、平均値0.066 mmol/l、標準偏差0.015 mmol/lと報告されている⁹⁾。この測定値は、本報告の結果と良く一致している。また、臭素を測定している中性子放射化分析法²⁴⁾や蛍光X-線法²⁵⁾の測定値とも良く一致し、本報の結果からも臭素は血清中ではほとんど臭素イオンとして存在しているものと考えられる⁹⁾。今回設定した正常範囲を上回った男性6名、女性3名をみると、男性中3名、女性中1名が正常者として選出した者であり、既往歴や血清生化学検査値の偏りは認められなかった。臭素は燻蒸剤としてメチルプロマイド等が使用されており、体内残留の観点からも検討する必要があるかもしれない²⁹⁾。

血清中の硝酸イオン濃度に関する報告は少なく、呈色反応を応用して117名を測定した場合は正常範囲を0から0.103 mmol/l²⁶⁾、本報と同様にイオンクロマト法を用いて男女40名を測定した場合は平均値0.036 mmol/l、標準偏差0.017 mmol/l¹⁹⁾となっている。また、今回の正常者群での最低値も0.015 mmol/lであり、呈色反応を用いた報告では20%近くの者が0であったことやイオンクロマト法を用いた報告でも最低が0.009 mmol/lであったことと比較し、本報の正常範囲は高値でかつ広い範囲となった。今回設定した正常範囲を上回った者をみると、男性14名中で肝機能異常が疑われる者が4名、酒を1日3合以上飲んでいる者が4名、女性17名中では肝機能異常が疑われる者が5名と最も多く、肝機能障害によって硝酸イオンは高値となる可能性が示唆された。

すでに述べたように¹⁵⁾血清中硫酸イオンの測定にはいくつか報告されているが^{9,10,27)}、本報の正常範囲はこれらの方法とよく一致した。また、今回設定した正常範囲を上回った女性14名の中には腎機能異常が疑われる者5名全員が含まれていた。これは、腎機能障害の乳幼児では硫酸イオン濃度が上昇するという報告²⁸⁾と一致し、腎機能障害では血清中硫酸イオンは上昇するものと考えられる。しかし、男性においては正常範囲を上回った5名中には腎機能異常が疑われる者が1名しか存在せず、正常者が3名も含まれていたことから、男性では硫酸イオ

ン濃度の上昇には他の要因の寄与も考えられる。

本報においては採血時期を一定とし、生活環境を近づけるために狭い地球に住む人々を対象とした。そのため、今回対象とした一山村住民の中で異常が疑われる者とした対象者も日常生活を行っており、ほとんど自覚症状もない者である。今後は疾病と血清中陰イオン濃度との関連性をより明確にするために臨床医とも協力し、現病歴を有するものについても研究を進めていく予定である。

結 論

イオンクロマト法によりヒト血清中リン酸イオン、臭素イオン、硝酸イオンおよび硫酸イオンを測定し、以下の結果を得た。

1. ヒト標準血清を繰り返し測定し、再現性を検討した。

測定内再現性はすべての陰イオン種において良好であったが、硝酸イオンは測定間再現性が変動係数で19.6%と低かった。

2. 大分県内一山村住民男女241名の血清中陰イオン濃度は、

リン酸イオン；中央値0.981, 平均値0.979, 標準偏差
0.191 (mmol/l),

臭素イオン；中央値0.066, 平均値0.070, 標準偏差
0.022 (mmol/l),

硝酸イオン；中央値0.107, 平均値0.132, 標準偏差
0.100 (mmol/l),

硫酸イオン；中央値0.329, 平均値0.351, 標準偏差
0.133 (mmol/l)

であった。

3. 対象者より既往歴もなく血清生化学検査にも異常を示さなかった者を選出し、血清中陰イオン量の正常範囲を設定した。

リン酸イオンと臭素イオンでは異常値を示す場合に一定の傾向は認められなかった。硝酸イオンでは肝機能障害によって、硫酸イオンでは腎機能障害によって、それぞれ血清中に多く存在するようになる可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終るにあたり、イオンクロマトグラフの測定を手伝っていただいた本教室の阿南悦子嬢と東久和氏、標準ヒト血清の作成および臨床検査の測定に関し多くの援助をいただきました大分市医師会アルメイダ病院副院長杉田肇先生、成人病検診センター検査部前部長故野崎秀俊先生に心から御礼を申し上げます。

本研究に終始協力され、本報の作成を手伝っていただきました本教室の大家喜子技官に感謝の意を表わします。

本研究の費用の一部は文部省科学研究費・試験研究(No. 60870023) によった。

文 献

- 1) Small, H., Stevens, T.S. and Bauman, W.C.: Novel ion exchange method using conductrimetric detection, *Anal. Chem.*, **47**, 1801-1809 (1975).
- 2) Haddad, P.R. and Heckenberg, A.L.: Determination of inorganic anions by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **300**, 357-394 (1984).
- 3) 吉野諭吉, 綿抜邦彦: 無機定性分析化学講座6, 共立出版, 東京 (1971).
- 4) 黒田六郎: 無機定性分析: 湿式法II, 分析, **134**, 68-74 (1985).
- 5) Freiser, H.: Ion-selective electrodes in analytical chemistry, Vol. 1, Plenum press, London (1978).
- 6) 武藤義一, 及川紀久雄編: “イオンクロマトグラフィー”, 講談社, 東京 (1983).
- 7) 斎藤紘一訳: “イオンクロマトグラフィー”, 産業図書, 東京 (1985).
- 8) 花岡 譲: イオンクロマトグラフィー—ハードウェアを中心として—, *ぶんせき*, **135**, 162-168 (1986).
- 9) De Jong, P. and Burggraaf, M.: An ion chromatographic method for the simultaneous determination of inorganic phosphate, bromide, nitrate and sulphate in human serum, *Clin. Chim. Acta.*, **132**, 63-71 (1983).
- 10) Cole, D.E.C. and Scriver, C.R.: Microassay of inorganic sulfate in biological fluids by controlled flow anion chromatography, *J. Chromatogr. Biomed. Appl.*, **225**, 359-367 (1981).
- 11) 星加安之, 小山 裕, 村山忍三: 硫黄廃鉱下流域酸性河川水の動物(ラット) 飲用実験—血清および尿中陰イオンの挙動, *日衛誌*, **40**, 494 (1985).
- 12) 星加安之, 倉沢和成, 小山 裕, 村山忍三: 結腸および胃癌患者の血清と尿中陰イオンの挙動, *日衛誌*, **41**, 138 (1986).
- 13) 熊江 隆, 菅原和夫, 町田和彦, 島岡 章: イオンクロマトグラフによる陰イオンの定量, *日衛誌*, **41**,

- 194 (1986).
- 14) 熊江 隆, 町田和彦, 島岡 章, 三角順一, 菅原和夫: イオンクロマトグラフを用いた血清中陰イオン量の測定, 日衛誌, **42**, 396 (1987).
- 15) 熊江 隆, 菅原和夫, 町田和彦: イオンクロマトグラフによる陰イオン種の測定—呈色反応による定量法との比較, 日衛誌, **42**, 1037-1044 (1988).
- 16) 熊江 隆, 菅原和夫, 町田和彦: ヒト血清中リン酸イオン, 臭素イオン, 硝酸イオンおよび硫酸イオンの季節による変動: 日生氣誌, **25**, 137-145 (1988).
- 17) 熊江 隆, 菅原和夫, 町田和彦, 島岡 章, 倉掛重精, 岡村典慶, 末宗淳二郎: 血液水分および血清電解質の季節的変動, 日生氣誌, **24**, 125-134 (1987).
- 18) 町田和彦, 菅原和夫, 島岡 章, 熊江 隆, 大下喜子, 杉田 肇, 野崎秀俊: トランスアミナーゼ異常者多発地区の血清疫学的研究 (第1報) 慢性肝炎の多発と地域集積性, 日本公衛誌, **33**, 269-278 (1986).
- 19) 町田和彦, 菅原和夫, 島岡 章, 熊江 隆, 大下喜子, 杉田 肇, 野崎秀俊: トランスアミナーゼ異常者多発地区の血清疫学的研究 (第2報) 非A非B肝炎の推定, 日本公衛誌, **33**, 301-307 (1986).
- 20) 熊江 隆, 菅原和夫: 好中球 Chemiluminescence の多検体同時測定法, 日血会誌, **50**, 949-957 (1987).
- 21) Greenberg, B.G., Winters, R.W. and Graham, J. B.: The normal range of serum inorganic phosphorous and its utility as a discriminant in the diagnosis of congenital hypophosphatemia, J. Clin. Endocrinol. Metabol., **20**, 364-379 (1960).
- 22) 斎藤正行: ガン患者の SMA12/60 による化学像, テクニコンシンポジウム講演要旨集, 26 (1970).
- 23) 小泉 明: 正常値の問題点; 小酒井望, 阿部正和 (編) “正常値”, 医学書院, 東京, 379-383 (1977).
- 24) Behre, D. and Jurgensen, H.: Determination of trace elements in human blood serum and in the standard reference material 'bovine liver' by instrumental neutron activation analysis, J. Radioanal. Chem., **42**, 447-453 (1978).
- 25) Stump, E.G., Carruthers, J., D'Auria, J.M., Applegarth, D.A. and Davidson, A.G.F.: Quantitative analysis of trace elements in human blood and plasma by energy dispersive X-ray fluorescence, Clin. Biochem., **10**, 127-132 (1977).
- 26) Rautu, R., Lupea, V., und Negut, Gh.: Untersuchungen über den Nitratspiegel im Blut, Nahrung, **18**, 13-17 (1974).
- 27) Miller, E., Hlad, C.J., Levine, S., Holmes, J.H. and Elrick, H.: The use of radioisotopes to measure body fluid constituents, I. Plasma sulfate, J. Lab. Clin. Med., **58**, 656-661 (1961).
- 28) Cole, D.E.C., Hanning, R.M., Zlotkin, S.H. and Balfe, J.W.: Clearance of inorganic sulfate by peritoneal dialysis in children with chronic renal failure, Nephron, **44**, 186-190 (1986).
- 29) 大森佐与子, 平田 衛: 非破壊放射化分析法による臭化メチル暴露者の血液・毛髪中プロム濃度, 産業医学, **24**, 119-125 (1982).

(受付 1989年5月24日 受理 1989年10月13日)