原著

加齢と血中 δ -アミノレブリン酸脱水酵素活性

千葉百子*, 菊池正一*

AGING AND ACTIVITY OF 5-AMINOLEVULINATE
HYDROLYASE IN THE BLOOD OF
HUMANS AND RATS

Momoko CHIBA† and Masakazu KIKUCHI†

Activity of 5-aminolevulinate hydrolyase (δ -aminolevulinic acid dehydrase, ALAD, EC 4.2.1.24) in the blood was determined in relation to age in humans and rats, and the following findings were obtained:

(1) In the group which consisted of 47 women (mean age 46, ranged 24 to 62 years) living in a rural district, where the atmospheric lead concentration was $0.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$, a significant negative correlation between ALAD activity and age was observed statistically ($r = -0.54$). However, in the group which consisted of 53 women of similar age group living in an urban district, where the atmospheric lead concentration was $1.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$, showed a lower level of the ALAD activity than that of the former group and no correlation was found ($r = -0.01$) between ALAD activity and age.

(2) The ALAD activity of intact rats showed a decrease with age. The decrease proceeds rapidly within 8 weeks of age and becomes stable after reaching 25 weeks of age or 300 g of body weight. The value of the activity after 25 weeks of age was about one tenth of that at 5 weeks of age or 100 to 130 g of body weight.

(3) Fifteen intact rats weighing 240 to 705 g were divided into three groups according to their body weight and were injected with lead acetate solution equivalent to 1 mg Pb/kg intraperitoneally in order to examine the sensitivity to lead in rats that have variation of ALAD activity by age or by body weight. The ALAD activity of these rats fell to the same level in all groups independently of the activity or the body weight before injection.

I. はじめに

末梢血中 δ -アミノレブリン酸脱水酵素 (ALAD, EC 4.2.1.24) 活性は比較的簡単に測定でき低濃度の鉛暴露によってもその活性が低下することから、職業的鉛暴露者の検診にはもとより、一般住民の自動車排気ガスによる公害に関する健診指標としても使用されている。しかし生物学的指標であるので、個体差の存在は免れない。測定して得た酵素活性値の判断に際して、年齢、性別、貧血および飲酒等の要因が考慮されるべきである。これらのうちわれわれはヒトとラットにおいて加齢と血中 ALAD 活性の関係をとりあげて検討を加えた。

II. 実験方法

1) 被験者：埼玉県の農村地区 (A群) と比較的交通頻繁な市街地 (B群) に住む成人女性を被験者とした。全員面接を行ない、過去、現在ともになんらかの形で鉛との接触をもつものは除外した。対象が女性のみであるのは、居住地域以外の環境の影響を受けることが少ない利点があることと、平日の日中に採血を行なう関係上、十分な数の被験者を得るためには必然的に対象が女性となったことによる。

A群：平均年齢 46 歳 (24~62 歳) 47 名。家事および家事手伝い 4 名、自宅で商店を営む者 2 名以外は農業を業とし、生まれてから、あるいは嫁してから、その地に住み続けているものが大部分であり、平均居住年数 31 年 (10~60 年) であった。採血日と同一日 (昭和 47 年 5 月 10 日) に気中鉛量の測定を行なった。すなわち、この

* 順天堂大学医学部衛生学教室

昭和51年6月2日受付

† Department of Hygiene, Juntendo University
School of Medicine

Received for publication, June 2, 1976

地域のほぼ中央に位置する小学校の校門前で10時40分から15時40分までローボリュウムエアサンプラーを使って採気し、湿式灰化後、DDTC-MIBK抽出し、原子吸光度計により分析した結果、 $0.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

B群：平均年齢44歳（25～68歳）52名。平均居住年数17年（1～41年）。そのほとんどが主婦であるが、約半数は近所の商店や工場（事務あるいは清掃業務）へ、パートタイマーとして勤務している。この地域の中央部に位置する県道の信号機付交差点の歩道で、10時10分から14時10分まで採気し、上記と同様の方法で気中鉛量を測定した結果、 $1.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

2) ラット：すべて Wistar 系ラットを使用した。a 群以外はすべて雄性を使用した。

a 群（週齢別の検討）：生後5～38週齢，189匹（含雌32匹）。

b 群（体重別の検討）：体重110～725 g，108匹，a 群と重複しているものもある。

s 群：平均体重260 g（240～270 g）5匹。

m 群：平均体重468 g（430～480 g）5匹。

l 群：平均体重673 g（550～705 g）5匹。

3) 鉛投与：酢酸鉛の水溶液を鉛として1 mg/kg ずつ s, m, l 群のラットの腹腔内に投与した。

4) 試料の調製：ヒト血液は前肘静脈から，ラット血液は尾静脈から採血した。血液凝固阻止剤はヘパリンを使用し，採血直後にドライアイスで溶血した。

5) 血中 ALAD 活性測定方法：溶血試料0.2 ml に対して0.5 M リン酸緩衝液（pH 7.4）0.1 ml と基質溶液（86 mM δ -アミノレブリン酸を含む）0.1 ml を加え、

37°C 気相孵卵器中にヒト血液は1時間，ラット血液は2時間静置した。5%トリクロール酢酸2 ml で反応を停止し，遠心後の上清1 ml に対して改良エールリッヒ試薬¹⁾ 3 ml を加え，15分後に556 nm で吸光度を測定した。ALAD 活性はその血液中の赤血球（RBC）1 ml が incubation 中に形成したポルフォビリノーゲン（PBG）の量，すなわちヒトでは $\mu\text{mol PBG} \cdot (\text{ml RBC})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ，ラットでは $\mu\text{mol PBG} \cdot (\text{ml RBC})^{-1} \cdot 2\text{h}^{-1}$ で表わした。

III. 結 果

ヒトの血中 ALAD 活性と年齢との相関図を Fig. 1 (a), (b) に示す。血中 ALAD 活性と年齢との相関係数はA群 -0.54 ，B群 -0.01 でA群のみが $p < 0.001$ で有意であった。A 群の平均 ALAD 活性 $\pm\text{SD}$ は $0.59 \pm 0.12 \mu\text{mol PBG} \cdot (\text{ml RBC})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ，B 群のそれは $0.45 \pm 0.13 \mu\text{mol PBG} \cdot (\text{ml RBC})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ であり，両群間に $p < 0.05$ で有意な差が認められた。

ラットの血中 ALAD 活性と体重との相関図を Fig. 2 に，週齢との3点移動平均を Fig. 3 に示す。ラットにおいては体重の増加，すなわち加齢とともに著明な血中 ALAD 活性低下が観察された。そこで体重の異なる3群のラット s, m, l 群にそれぞれ1 mg Pb/kg となるように酢酸鉛溶液1 ml/kg ずつ腹腔内に投与し血中 ALAD 活性の推移を観察した結果を Fig. 4 に示す。その結果鉛に対する血中 ALAD 活性の感受性はその時の体重，したがって血中 ALAD 活性レベルに無関係に3群ともに類似の推移を示した。

Fig. 1. Relationship between blood ALAD activity and age in humans. Group A consists of 47 women living in a rural district. Group B consists of 53 women living in an urban district.

Fig. 2. Relationship between blood ALAD activity and body weight in rats.

Fig. 3. Relationship between blood ALAD activity and age in rats.
Each point represents the moving average value.

IV. 考 察

マウス²⁾ やウサギ³⁾ では体重と血中 ALAD 活性との間には相関関係は認められない。ラットにおいては加齢とともに著しい活性低下を示し、生後8週齢まで急速に、その後は徐々に低下し、25週齢、体重で300gくらいから安定してくる。安定後の活性値は5週齢あるいは100~130g 時の活性の 1/10 程度であり、丸田らの報告⁴⁾ とよく一致している。strain は異なるが、Finelli ら⁵⁾ および Hapke and Prigge⁶⁾ も Sprague-Dawley ラットの血中 ALAD 活性が加齢とともに低下する現象を報告している。さらにわれわれの実験結果では腹腔内に投与された鉛の血中 ALAD 活性に対する影響はその時の血中 ALAD 活性レベルには無関係であった。strain の異なる3種のマウスの肝 ALAD 活性は strain によってその活性レベルが異なるが、食餌中鉛による活性低下の割合には差がないという Garber and Wei⁷⁾ の報告と類似した現象であると言える。

一方ヒト血中 ALAD 活性と年齢との関係はラットで

Fig. 4. Effect of lead on blood ALAD activity in rats of various body weight.

↑ Injection of lead. Mean body weight: 260 g for Group s, 468 g for Group m and 673 g for Group l. All groups consist of 5 rats. Lead acetate solution was administered by intraperitoneal injection.

観察されるほど著明ではないが、気中鉛濃度の低い地域の年齢24~62歳、47名からなる農業従事者群で有意な負の相関関係が認められた($r = -0.54$)。しかし比較的交通頻繁な地域に住む類似の集団では年齢と血中 ALAD 活性とはまったく無関係であった。これは血中 ALAD 活性が鉛に対して非常に鋭敏に反応することから、環境大気中の鉛の影響が現われた結果であると考えられる。その裏付けとしては両群の平均値を比較すると、市街地居住者群に有意の低活性が認められる点があげられる。

人為的鉛汚染の影響をほとんど受けていないと考えられる農業従事者群の血中 ALAD 活性と年齢との有意な逆相関は、体内蓄積鉛量と年齢とが順相関を示すとされている事実⁸⁾ からも推測しうる結果であるが、その他生体機能、とくに造血機能が年齢に応じて徐々に低下することも無視しえないであろう。生後3か月から14歳の男女小児について測定したところその血中 ALAD 活性は

成人のそれとほとんど差がなかった(男13例平均 $\pm$ SD; $0.49 \pm 0.17 \mu\text{mol PBG} \cdot (\text{ml RBC})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 女9例平均 $\pm$ SD; $0.51 \pm 0.11 \mu\text{mol PBG} \cdot (\text{ml RBC})^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$). この結果からみても, 老化に伴う機能低下の可能性が示唆される。ヒトにおける加齢に伴う血中 ALAD 活性の変動はラットのそれにくらべればわずかである。なぜラットだけが成熟とともに著明に活性低下をきたすのかは興味深い点であるが, その理由は理在までのところ明らかでない。

ヒト血中 ALAD 活性と性差に関しては次のような報告がある。Haeger-Aronsen ら⁹⁾は成人男女各50名の血中 ALAD 活性は有意に女性が高く, その理由は血中鉛濃度が女性のほうが低いからであるとしている。Tola¹⁰⁾は職業的鉛暴露者男994名, 女153名で血中鉛濃度が同一レベルであれば血中 ALAD 活性に男女差はないとしている。しかし Tola の報告例で, 仮に血中鉛濃度 $20 \mu\text{g/dl}$ 以下をその正常値として血中 ALAD 活性を比較すれば, やはり女性の活性値が男性より高い。われわれの実験結果では生後5~10週齢のラットでは血中 ALAD 活性に性差は認められなかった。

貧血と血中 ALAD 活性に関しては Battistini ら¹¹⁾の報告がある。これによると悪性貧血や葉酸欠乏性の貧血では血中 ALAD 活性は有意に高まるが, 鉄欠乏性貧血や, 類リウマチ関節炎および悪性腫瘍による二次的貧血では対照群のそれと有意な差はないとしている。血中 ALAD 活性を実際に測定するに当たり, 最終的な ALAD 活性の表示を単位赤血球当りに換算するため, 同時にヘマトクリット値を測定するので, この段階で実際的には一部の貧血のチェックは行なわれる。

V. 結 論

1) ラットの血中 ALAD 活性は加齢とともに著明に低下し, 25週齢以後, 体重300g以上で安定するが, その時の活性は5週齢, 100~130g時の活性の約1/10である。

2) 体重の異なる3群のラット(平均体重260g, 468gおよび673g)に鉛を1mg/kg腹腔内投与した結果, 血中 ALAD 活性は全群で同じレベルにまで低下し, 各体重別群間に差は見られなかった。

3) ヒト血中 ALAD 活性は, とくに鉛汚染の少ない地域に住む24~62歳の女性47名の農業従事者群では年

齢との間に有意な逆相関が認められたが, 市街地に住む同じ年齢層の女性集団では活性レベルは前者集団のそれより低く, 年齢との間に相関関係は存在しなかった。

住民健診の機会をお与えくださいました順天堂大学医学部衛生学教室新田一昭講師に, 気中鉛の測定にご協力くださいました二島太郎研究生に感謝致します。

計算の一部は東京大学大型計算機センターを利用した。

本論文の要旨は第42回日本衛生学会総会および第31回日本公衆衛生学会総会で発表した。

文 献

- 1) 小山内博: 鉛取扱作業者の健康診断について, 労働科学, 25(10): 32-35, 1970.
- 2) 千葉百子, 田代明子, 菊池正一: 鉛投与マウスの δ -アミノレブリン酸脱水酵素活性, 体重およびヘマトクリット値の変化, 産業医学, 17: 302-303, 1975.
- 3) 千葉百子, 菊池正一: δ -アミノレブリン酸およびその脱水酵素活性に及ぼす鉛の効果に関する実験的研究, 産業医学, 16: 531-545, 1974.
- 4) 丸田英夫, 佐藤 誠, 西村正雄: ラットの血液 ALA-D の変動因子に関する研究—鉛投与時との比較について—第49回日本産業衛生学会・第19回日本産業医協議会講演集, 134-135, 1976.
- 5) Finelli, V. N., Murthy, L., Peirano, W. B. and Petering, H. G.: δ -Aminolevulinic acid dehydratase, a zinc dependent enzyme, Biochem. Biophys. Res. Commun., 60: 1418-1424, 1974.
- 6) Hapke, H. J. and Prigge, E.: Interactions of lead and glutathione with delta-aminolevulinic acid dehydratase, Arch. Toxicol., 31: 153-161, 1973.
- 7) Garber, B. and Wei, E.: Lead toxicity in mice with genetically different levels of δ -aminolevulinic acid dehydratase, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 9: 80-83, 1973.
- 8) Barry, P. S. I. and Mossman, D. B.: Lead concentrations in human tissues, Br. J. Ind. Med., 27: 339-351, 1973.
- 9) Haeger-Aronsen, B., Abdulla, M. and Fristedt, B. I.: Effect of lead on δ -aminolevulinic acid dehydrase activity in red blood cells, Arch. Environ. Health, 23: 440-445, 1971.
- 10) Tola, S.: The effect of blood lead concentration, age, sex and time of exposure upon erythrocyte δ -aminolevulinic acid dehydratase activity, Work. Environ. Health, 10: 26-35, 1973.
- 11) Battistini, V., Morrow, J. J., Ginsburg, D., Thompson, G., Moore, M. R. and Goldberg, A.: Erythrocyte delta-aminolevulinic acid dehydrase activity in anaemia, Br. J. Haematol., 20: 177-184, 1971.

著者への通信先: 千葉百子, 〒113 東京都文京区本郷 2-1-1 順天堂大学医学部衛生学教室

Reprint requests to Department of Hygiene, Juntendo University School of Medicine, 1-1,

Hongo 2-chome, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan (M. Chiba)