短 報

赤血球デルタアミノレブリン酸脱水酵素活性
に及ぼす亜鉛と鉛の *in vitro* での影響*In vitro* Effects of Zinc and Lead on the
Activity of Erythrocyte δ -Aminolevulinic
Acid Dehydratase

デルタアミノレブリン酸脱水酵素 (ALA-D) は、ポリフィリン生合成において2分子のデルタアミノレブリン酸 (ALA) からポルフォビリノーゲンを生成するステップを触媒する酵素であり、SH 基に富み¹⁾、また亜鉛を含むとも言われる²⁾。本酵素の活性が鉛によって最も鋭敏に阻害されることは多数の *in vivo* および *in vitro* 実験により確かめられている。

ところで、末梢血 ALA-D テストは、比較的低濃度の鉛に職業的に暴露される労働者においてその活性値と血中鉛レベルとの間に良い負の相関関係が見られることから、とくに低濃度鉛暴露の指標として広く利用されてきた。

しかしながら、鉛による ALA-D 活性阻害のメカニズムについてはまだ明確にされていないのが現状である。

最近、ALA-D 活性に対する亜鉛の影響が注目されはじめ、亜鉛を添加した飲水を与えたラットでは赤血球 ALA-D 活性の上昇が見られること³⁾、また鉛を投与したウサギの赤血球 ALA-D 活性の阻害は亜鉛の投与によりかなり修復されること⁴⁾ 等が報告されている。

今回われわれは赤血球 ALA-D 活性に及ぼす亜鉛と鉛の相互影響を *in vitro* 添加実験で調べ、二、三の興味ある知見を得たので報告する。

実験方法

①血液試料：過剰の金属暴露を受けてないと思われる成人、約 50 名の血液 0.5~1.0 ml ずつを同一の試験管に集める (1 サンプルにつき 10~15 名程度)。遠心して plasma を除去し、血球の約 1.5 倍量の氷冷した 0.9% 食塩水で 3 回洗浄した後の血球をサンプルとして使用。

②金属溶液： $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (いずれも試薬特級) を用いて別々に調製した。金属溶液は、この 0.3 ml を添加した時、ALA-D assay 時の反応液 (全量 2.5 ml) 中の金属イオン濃度が 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 および 1.0 mmol/l になるようにそれぞれ調製した。③金属イオン添加と ALA-D 測定：洗浄後の赤血球 1 容量を 8 容量のイオン交換水で溶血させ、この 0.9 ml ずつを各試験管に分注する。これ

Fig. 1. Effects on erythrocyte ALA-D activity of zinc and lead added to the assay of ALA-D. Each point shows the mean obtained from triplicate analyses.

に各濃度の鉛および亜鉛溶液 0.3 ml ずつを同時添加する。鉛または亜鉛の単独添加の場合にはさらにイオン交換水 0.3 ml を加える。

よく混和したのち 37°C の恒温水槽に静置し、20分間 preincubate する。つぎにリン酸ナトリウム緩衝液 (0.2 M, pH 6.8) 0.5 ml と 0.02 M ALA 水溶液 0.5 ml を加えて 37°C で 60 分間 incubate する。10% トリクロル酢酸 (0.1 M HgCl_2 を含む) 1.0 ml で反応を止めたのち、Nikkanen *et al.*⁵⁾ の方法に準じて ALA-D 活性を測定する。

実験結果と考察

Fig. 1 は亜鉛または鉛の単独添加の際の金属濃度と ALA-D 活性との関係を示したもので、ALA-D 活性値はコントロール (無添加) に対する割合で表わしてある。

赤血球 ALA-D 活性は微量の亜鉛添加により activate される。すなわち、赤血球 ALA-D 活性は添加亜鉛濃度が 0.01~0.25 mmol/l の範囲において activate され、その程度は 0.1 mmol/l で最大となり、コントロールの約 1.4 倍となった。添加亜鉛濃度が 0.5 mmol/l になると ALA-D 活性は強く阻害され、コントロールの 40% まで低下し、さらに 1.0 mmol/l ではコントロールの 12% まで低下した。Meredith *et al.*⁶⁾ は添加亜鉛濃度が 0.2 mmol/l で ALA-D の activation は最大となり、さらに亜鉛濃度が 0.6 mmol/l ぐらいまで activate されると報告しており、われわれの成績とは若干異なるが、これは恐らく *in vitro* 添加条件の違いによることも一因と思われる。

Fig. 2. Effects on erythrocyte ALA-D activity of zinc and lead simultaneously added to the assay of ALA-D. Each point shows the mean obtained from triplicate analyses.

一方、鉛添加では *in vivo* と同様に強い ALA-D 活性の障害がおり、添加濃度が 0.01 mmol/l 以上では ALA-D 活性はコントロールの 5% 以下に、また 0.5 mmol/l 以上では 1% 以下に低下した。

Fig. 2 は亜鉛と鉛の同時添加の際の赤血球 ALA-D 活性の変動を、コントロール（両金属無添加）の活性に対する割合で示したものである。亜鉛だけを添加した場合、その濃度が 0.05 および 0.1 mmol/l では ALA-D 活性は中程度に activate される。しかし 0.01 mmol/l の鉛が共存するとその活性はコントロール以下に低下し、前者ではコントロールの約 26%、後者では約 56% となる。これらの値は、共存する鉛濃度が上昇してもあまり大きな変化は見えないが、鉛濃度が 0.05~0.1 mmol/l 付近において活性値の小峰が存在する可能性を示唆する。

一方、亜鉛添加量が 0.5 および 1.0 mmol/l では ALA-D 活性は高度に阻害され、前者ではコントロールの 40%、後者では 12% となる。しかし、これに鉛が同時添加されると ALA-D 活性は、その濃度と共に上昇しはじめ、添加鉛濃度が 1.0 mmol/l での ALA-D 活性は、0.5 mmol/l の亜鉛共存下でコントロールの 117%、

1.0 mmol/l の亜鉛共存下では 72% となり、とくに前者においてはコントロールの活性を上回った。

以上の成績から、鉛の単独添加による赤血球 ALA-D 活性の阻害の程度は、亜鉛の同時添加により抑制されることが明らかとなった。しかし、抑制の程度は共存する亜鉛濃度の影響を受ける。とくに亜鉛と鉛の共存下においては、そのモル比 (Zn/Pb) が 1.0 から大きく遠ざからない付近で赤血球 ALA-D 活性が高い値を示すという事実は、鉛による ALA-D 活性阻害のメカニズムを解明する上での興味ある知見と思われ、今後詳細に検討する予定である。

文 献

- 1) Wilson, E. L., Burger, P. E. and Dowdle, E. B.: Beef-liver 5-aminolevulinic acid dehydratase, purification and properties, *Eur. J. Biochem.*, 29: 563—571, 1972.
- 2) Gurba, P. E., Sennett, R. E. and Kobes, R. D.: Studies on the mechanism of action of δ -aminolevulinic acid dehydratase from bovine and rat liver, *Arch. Biochem. Biophys.*, 150: 130—136, 1972.
- 3) Finelli, V. N., Murthy, L. and Peirano, W. B.: δ -Aminolevulinic acid dehydratase, a zinc dependent enzyme, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 60: 1418—1424, 1974.
- 4) Haeger-Aronsen, B., Schütz, A. and Abdulla, M.: Antagonistic effect *in vivo* of zinc on inhibition of δ -aminolevulinic acid dehydratase by lead, *Arch. Environ. Health*, 31: 215—220, 1976.
- 5) Nikkanen, J., Hernberg, S. and Tola, S.: Modifications of the δ -aminolevulinic acid dehydratase test and their significance for assessing different intensities of lead exposure, *Work Environ. Health*, 9: 46—52, 1972.
- 6) Meredith, P. A., Moore, M. R. and Goldberg, A.: Effect of aluminium, lead and zinc on δ -aminolevulinic acid dehydratase, *Enzyme*, 22: 22—27, 1977.

友国勝彦

岡山大学医学部公衆衛生学教室

Katsumaro TOMOKUNI

Department of Public Health, Okayama University Medical School, Okayama, Shikata-cho, 700 Japan
昭和53年3月20日受付

通信先: 友国あて, Reprint requests to K. Tomokuni