短 報

血中 δ -アミノレブリン酸の早期鉛影響指標としての有用性

δ -Aminolevulinic Acid in Blood as an Indicator of Early Health Effect of Lead

Key words: δ -aminolevulinic acid; blood; lead; HPLC; dose-effect relationship

鉛曝露による生体影響の指標として、赤血球中 δ -アミノレブリン酸脱水酵素活性 (ALAD), 尿中 δ -アミノレブリン酸 (ALA-U), 尿中コプロポルフィリン (CP-U), 赤血球中遊離プロトポルフィリン (FEP) などが広く用いられているが, 血中 δ -アミノレブリン酸 (ALA-B) については測定例も少なく^{1,2)}, 鉛による影響指標としての評価はなされていない。そこで ALA-B の有用性を評価する目的で, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により ALA-B³⁾ を測定し, 血中鉛 (Pb-B) との量影響関係を検討したので報告する。

対象および方法

対象は男子鉛曝露作業者 253 名と非曝露者 56 名である。ALA-B は, HPLC を用い Fig.1 のような手順で標準添加法により測定した。HPLC の測定条件は Table 1 に示した。典型的なクロマトグラムは, ALA-B のピークの前に大きなピークが出現されるが, ALA 誘導体の分離性は良いので, ベースライン補正を行えば定量可能である。検出限界は $5 \mu\text{g/l}$ ($S/N=5$) であるので, ALA-B 濃度を測定するには十分な感度と言える。さらに, 生成させた 3 種類の濃度の異なる ALA 誘導体 ($17 \mu\text{g/l}$, $88 \mu\text{g/l}$, $247 \mu\text{g/l}$) について, 4°C 保存下で蛍光強度を 30 時間まで経時的に測定し, 安定性について検討した。3 種類とも 12 時間以後は濃度低下がみられるが, 8 時間までは濃度の平均値, 標準偏差がそれぞれ, $17.0 \pm 1.0 \mu\text{g/l}$ ($CV=5.9\%$), $88.0 \pm 5.3 \mu\text{g/l}$ ($CV=6.0\%$), $247.3 \pm 3.1 \mu\text{g/l}$ ($CV=1.2\%$) であり, 良好な安定性を示した。よって蛍光物質の生成後 8 時間以内に分析を行なった。ALA-U は HPLC による蛍光法³⁾, Pb-B は Stoeppler らによる方法⁴⁾, 尿中クレアチニンはアルカリピクリン酸法によって測定し, ALA-U はクレアチニン濃度で補正 ($\text{mg/g} \cdot \text{Cr}$) した。

結果および考察

Pb-B と ALA-B の対数値との関係を Fig.2 に示した。Pb-B と ALA-B との量影響関係を見ると, Pb-B $20 \mu\text{g/dl}$ 付近より ALA-B は増加している。Table 2 に

Table 1. Analytical conditions for HPLC.

Apparatus	HPLC Type 655A(Hitachi, Ltd)
Auto Sampler	Main-Unit 655A(Hitachi, Ltd)
Column	TSK GEL ODS-80m(TOSOH Co., Ltd)
Particle size	$5 \mu\text{m}$
Column size	$2.6 \text{m} \times 15 \text{cm}$
Column temperature	room temperature
Detector	Fluorescence Monitor type F-1000(Hitachi, Ltd)
Excitation wave length	373nm
Emission wave length	463nm
Mobile phase	80% methanol
Flow rate	2.0 ml/min
Injection	$100 \mu\text{l}$

Table 2. ALA-B and ALA-U by Pb-B levels.

		Pb-B ($\mu\text{g/dl}$)					
		~8	10~19	20~29	30~39	40~49	50~59
ALA-B	N	80	28	84	73	43	27
	GM	13.6	21.2	34.0	47.4	68.8	119.1
	($\mu\text{g/l}$) Range	7-23	7-33	18-82	20-108	30-100	94-377
ALA-U	N	61	5	29	18	10	10
	GM	0.7	1.4	1.9	1.8	3.0	7.0
	($\text{mg/g} \cdot \text{cr}$) Range	0.4-1.4	0.8-3.3	1.3-5.0	1.1-4.8	1.2-7.4	1.7-20.2

GM: Geometric mean

Fig.1. Sample preparation for measurement of ALA-B.

Pb-B $10 \mu\text{g/dl}$ ごとに分類した場合の ALA-B, ALA-U の幾何平均値と濃度範囲を示した。Pb-B $9 \mu\text{g/dl}$ 以下の鉛非曝露群に比較すると, Pb-B $10-19 \mu\text{g/dl}$ の鉛曝露群の ALA-B は, 有意に上昇していた ($p<0.01$)。また Pb-B $20 \mu\text{g/dl}$ 以上のすべての群の ALA-U, ALA-B も Pb-B $9 \mu\text{g/dl}$ 以下の群より有意に高値であった。すなわち ALA-B の上昇は, 比較的低濃度鉛曝露レベルにおいても現われることが認められた。ALA-U も ALA-B と同様な傾向を示したが, ALA-U は尿の濃縮度や成分の相異により, 個体によるマトリックスが異なり, また経時的にも変化する。よって ALA-B と比較すると濃度のばらつきが大きいと考えられる。したがって, ALA-B の方が鉛による生体影響を評価する上で, 優れた指標であると考えられる。対数変換後の ALA-U と ALA-B は, 高い相関を示した ($r=0.88$)。ALA-B は大部分尿に排泄され⁵⁾, また家兎に ALA を投与してもかなりの部分が何らの変化も受けずそのまま尿中に排泄されると報告

Fig.2. Relationship between Pb-B and ALA-B.

Fig.3. Relationship between ALA-U and ALA-B.

されている⁵⁾。本結果も ALA-U と ALA-B の相関が非常に高いことから、ALA-U は ALA-B 量に比例して尿中に排泄されることが示唆された (Fig.3)。

従来から、末梢血の ALAD 活性の低下は Pb-B 15~

20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ より始まり最も鋭敏な鉛曝露指標とされているが、それは単に生体の鉛曝露を示すもので生体影響を示すものではないと言われている⁶⁾。

本結果は、鉛の影響の指標と考えられる ALA-B が ALAD と同程度の Pb-B レベルで鋭敏に変化することを明らかにしたものであり、ALA-B は鉛による早期健康影響のきわめて良い指標であると考えられた。

文 献

- 1) Meredith PA, Moore BC, Thompson GG, Goldberg A. Delta-aminolevulinic acid metabolism in normal and lead-exposed humans. *Toxicology* 1978; 9: 1-9.
- 2) 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* 1974; 16: 531-545.
- 3) 岡山 明, 林 克謨, 後藤 稔. 高速液体クロマトグラフィーによる尿中 δ -アミノレブリン酸の蛍光定量法. *医学のあゆみ* 1986; 139: 845-846.
- 4) Stoeppler M, Brandt K. Contributions to automated trace analysis part II. rapid method for the automated determination of lead in whole blood by electrothermal atomic-absorption spectrophotometry. *Analyst* 1978; 103: 714-722.
- 5) 川端 元, 鉛中毒家兎の Porphyrin 排泄に関する研究. *産業医学* 1968; 10: 21-39.
- 6) 三浦 創, 原田幸一, 大森昭子. 環境汚染物質と毒性—無機物質篇. *化学の領域増刊* 1979; 126: 99-109.

細田加那江, 桜井治彦, 大前和幸, 鎌倉光宏, 佐藤敏彦
慶応大学医学部衛生学公衆衛生学教室

Kanae HOSODA, Haruhiko SAKURAI, Kazuyuki OMAE,
Mitsuhiro KAMAKURA and Toshihiko SATOH

Department of Preventive Medicine and Public Health,
School of Medicine, Keio University, 35 Shinanomachi,
Shinjuku-ku, Tokyo, 160 Japan

昭和63年12月28日受付

通信先: 細田あて, *Reprint requests to K. Hosoda*