

正常人全血および血漿中の金属濃度

Concentrations of Some Metals in Whole Blood and Plasma of Normal Adult Subjects

神 和夫 松田 和子 千葉 善昭

Kazuo Jin, Kazuko Matsuda and Yoshiaki Chiba

緒 言

地方衛生研究所全国協議会（以下地研協と略す）では、昭和52年度より3年間、「血液中の重金属からみた地域住民の健康評価に関する研究」をとりあげ、全国的規模で実施した。これは、一般住民からの試料をもとに、1. 地域別に鉄、銅、亜鉛、マンガン、鉛、カドミウム（昭和54年度にはマグネシウム、カルシウムが追加された）の濃度を測定し、その常在値を知る。2. 性別、年齢別に地域による特異性を把握し、総合的に地域住民の健康を評価する。3. 精度管理によって技術の均一化をはかる——というものであった。この研究は、昭和52、53年度は各研究機関が独自の方法で、昭和54年度は統一分析法によって、実施された。我々は、昭和54年に以下に示す方法を用いて74名の成人（男性53名、女性21名）の血液中金属元素を測定した。地研協の研究では、全血を対象としたものであるが、著者らは同一試料を用いて、同時に血漿中の銅、亜鉛、およびマグネシウム、カルシウムについて測定したので、これらの結果についても報告する。

近年、各種疾病との関係で、亜鉛および銅は特に注目されている金属であり、「正常値」を設定することはきわめて重要なことである。しかしながら、この「正常値」は報告者によって多少異なっているのが通例である。測定値をもとに、著者らも全血、血漿について、「正常値」を推定した。また、金属濃度の分布の型、金属間の相関についても検討した。

方 法

1. 調査対象と採血および試料の保存

北海道赤十字血液センターで採血された18才から55才までの48名と、当研究所職員26名（いずれも「献血可能」者）の計74名（男性53名、女性21名）の血液を対象とした。採血者の性と年齢構成を表1に示す。採血は肘静脈から行ない、血液10mlに対しヘパリン0.2mlを加えた。この5.0ml

Table 1 Number of subjects by sex and age

Age	Male (n)	Female (n)
18-19	1	1
20-29	18	13
30-39	19	2
40-49	10	5
50-55	5	0
total	53	21

を栓付試験管に移し、全血中金属測定用とした。残りの血液は3000回転（1400G）にて15分遠心分離し、上澄2.0mlを栓付試験管に移し、血漿中金属測定用試料とした。これらの試料は分析するまで、-20℃で凍結保存した。

2. 装置および試薬

(1) 装置

フレイム原子吸光法にはバリアンA A-175型原子吸光光度計を、フレイムレス原子吸光法にはバリアンA A-175型原子吸光光度計にCAR-90型カーボンロッドアトマイザーを装置して用いた。バックグラウンド吸収はD₂ランプで補正した。中空陰極ランプは同社製を、また記録計は同社製12MS型を用いた。

(2) 試薬

金属標準溶液：和光純薬製原子吸光分析用、塩酸、硝酸、過塩素酸：和光純薬製有害金属測定用、ジチゾン：常法により精製した。他の試薬もすべて特級もしくはそれ以上の純度のものを使用した。水は通常の蒸留・脱イオン水を、さらに石英二段蒸留装置で精製して用いた。

分析に使用する器具類はすべて約6Nの硝酸に一昼夜以上浸し、脱イオン水で洗った後、精製水でリンスし、清浄に乾燥・保存したものをを用いた。

3. 前処理

(1) 全血

凍結保存した全血5mlを解凍後、50mlコニカルビーカーに移す。試験管内部の付着試料は、硝酸15mlで完全に洗い

出す。時計皿をかぶせ、ホットプレート上で加熱し、大部分の有機物を分解後、過塩素酸2mlを加えて分解を続けたのち乾固させる。10%塩酸5mlを2～3回に分けて加え、50mlメスフラスコに移し、水で定容とする(10倍希釈・A液)。

鉄、マグネシウム：A液1.0mlをとって10mlに希釈した後、フレイム原子吸光法で定量した。

カルシウム：A液1.0mlをとって10mlに希釈した後、フレイム原子吸光法で定量した。希釈の際、ストロンチウムを最終濃度が1000ppmになるように添加した。

亜鉛：A液1.0mlを2倍に希釈した後、フレイム原子吸光法で定量した。

銅：A液0.5mlを4本とり、銅の濃度3段階の標準液を加え、さらに10%硝酸0.5mlをそれぞれに加えた後、フレイムレス法で定量した。

マンガン：A液1.0mlを4本とり、マンガン標準液(3段階)を0.5ml加え、10%硝酸0.25mlを加えた後、フレイムレス法で定量した。

鉛、カドミウム：A液40mlを分液ロートにとり、クエン酸二アンモニウム-アンモニア緩衝液10ml、中和用アンモニウム5mlを加えてpH10に調製する。ジチゾン-四塩化炭素溶液10mlで抽出後、1%硝酸10mlで逆抽出する。フレイムレス法にて定量した。

(2) 血漿

血漿2mlを全血の場合と同様の操作でコニカルベーカーに移し、ホットプレート上で硝酸10mlのみで分解した。乾固後1%硝酸で洗い出し、10mlとした(5倍希釈：B液)。

マグネシウム：B液1.0mlをとって20mlとした後、フレイム原子吸光法で定量した。

カルシウム：B液1.0mlをとって20mlとする。この際ストロンチウムを最終濃度1000ppmとなるように加え、フレイム原子吸光法で定量した。

亜鉛：B液をそのままフレイム原子吸光法にて定量した。

銅：B液を1%硝酸でさらに4倍希釈しフレイムレス原子吸光法で、検量線法にて定量した。

4. 測定条件

フレイム原子吸光法による鉄、マグネシウム、カルシウム、および亜鉛の測定については常法に従い、フレイムレス原子吸光法による銅、マンガン、鉛、およびカドミウムの測定は表2に示した条件に従った。

結果および考察

1. 全血中金属含有量

表3に全血中金属含有量の平均値と標準偏差(以下SD)範囲および参考として全国平均値を示した。マグネシウムとカルシウムについては研究途中に追加検討したので、25検体についての値である。鉛については数値を統計処理す

Table 2 Analytical conditions of flameless ASS

Analytical line (nm)	324.8	279.5	217.0	222.8
Lamp current (mA)	2	3.5	5	5
Heating program				
Drying	110℃, 30s	110℃, 30s	110℃, 30s	110℃, 30s
Ashing	700℃, 30s	800℃, 30s	400℃, 30s	400℃, 30s
Atomization	2200℃, 4s	2200℃, 4s	2000℃, 3s	2000℃, 3s
Ramp rate	600℃/s	600℃/s	600℃/s	600℃/s
Sample size (μl)	5	5	5	5
Expansion	1	2	1	1

Recommended slit width for flame ASS (0.5φnm) was used in all cases.

Table 3 Metal concentration levels in whole blood of normal subjects (μg/ml)

Element	Sex	No	Present work		Reported ¹⁾
			Average ± S.D.	Range	Average ± S.D.
Fe	M	53	523±44	425~657	508±62
	F	21	457±31	391~527	
Ca	M	23	47.6±4.98	37~55	48
	F	2			52
Mg	M	23	34.2±3.27	29~42	36
	F	2			33
Cu	M	52	0.89±0.11	0.64~1.28	0.81±0.16
	F	21	0.88±0.15	0.54~1.14	
Zn	M	53	6.05±0.76	4.4~7.4	6.3±1.2
	F	21	5.16±0.62	3.8~6.4	
Mn	M	53	0.020±0.008	0.005~0.049	0.024±0.017
	F	21	0.021±0.009	0.008~0.043	
Pb	M	45	0.055±0.030	0.008~0.106	0.076±0.051
	F	18	0.064±0.026	0.010~0.101	
Cd	M	47	0.0028±0.0021	0.000~0.006	0.003±0.002
	F	21	0.0024±0.0020	0.000~0.007	

る前にGrubbs法で棄却検定を行ない、異常値を有意水準1%で棄却した(また一部、分析を行なわなかったものもあり、表3では必ずしもn=74ではない)。

各金属の個々の測定値をもとに、それぞれの濃度分布をヒストグラムで表わした結果を図1に示す。鉄と亜鉛はそれぞれの性毎にヒストグラムを作成した。

また、各金属濃度の個々の測定値を数値の順に並べ、順次累積度数(と累積パーセント)を求め、正規確率紙または対数確率紙にプロットして濃度の分布の型を調べた。なお、検体数の制約から年令毎の金属濃度の解析は行なわなかった。

(1) 鉄

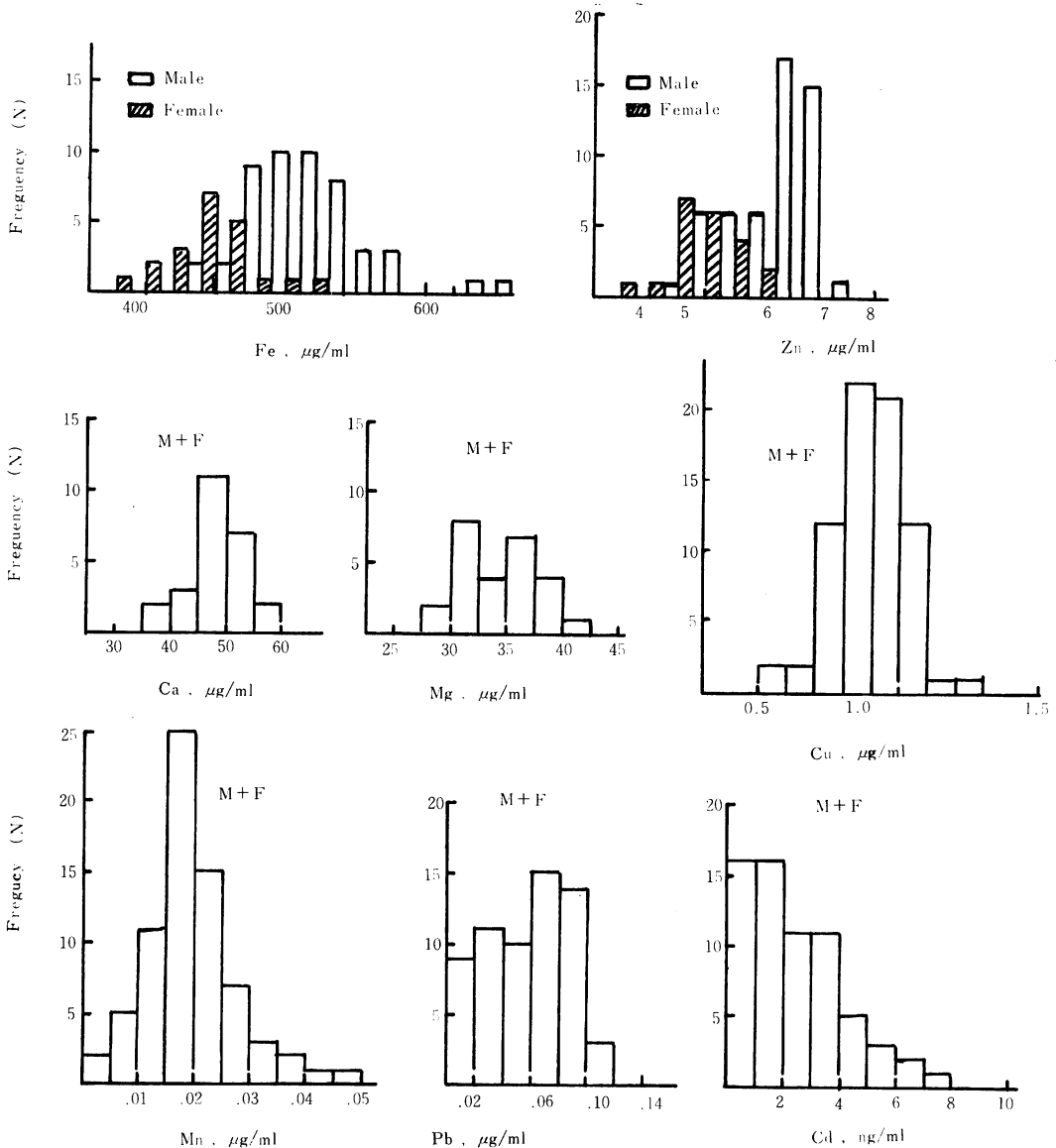


Fig. 1 Histogram of metal concentration in whole blood

鉄の血中濃度については広く検討され、性別差が認められることもよく知られている。表2に示したように、著者らの結果は男性、女性とも全国平均値よりもいくぶん高めの値が得られた。濃度分布は男性、女性ともに正規分布型を示し、平均値 ± 2 S.D. から計算した「正常値」は男性436~610 $\mu\text{g/ml}$ 、女性395~518 $\mu\text{g/ml}$ であった。なお、ヘマトクリット値と鉄濃度の相関係数は0.800であった。

(2) マグネシウム

全国平均値は35 $\mu\text{g/ml}$ で、著者らの値34.3 $\mu\text{g/ml}$ とよく一致した。試料数は少ないが、濃度分布は正規分布型であった。平均値 ± 2 S.D. の値は27.7~40.8 $\mu\text{g/ml}$ であった。この値は小野らが8-オキシキノリン-5-スルホン酸比

色法で求めた31.6~56.9 $\mu\text{g/ml}$ ($n = 120$) より低く、また濃度範囲もせまい。

(3) カルシウム

Butt⁸⁾らは血中カルシウムの濃度について63 $\mu\text{g/ml}$ という値を報告している。全国平均値は男性で48 $\mu\text{g/ml}$ 、女性で52 $\mu\text{g/ml}$ であり、著者らの値(男性)48 $\mu\text{g/ml}$ は非常によく一致した。濃度分布は正規型で、平均値 ± 2 S.D. の範囲(男性)は37.6~57.6 $\mu\text{g/ml}$ であった。

(4) 銅

銅の血中濃度は0.7 $\mu\text{g/ml}$ から1.3 $\mu\text{g/ml}$ までの報告値が多い。⁸⁾⁻¹⁰⁾ 全国平均値は男性0.81 $\mu\text{g/ml}$ 、女性0.87 $\mu\text{g/ml}$ である。著者らの測定値では性別差は認められず、0.89 $\mu\text{g/ml}$

であった。濃度分布は正規型で、平均値 ± 2 S.D. から求めた範囲は $0.64 \sim 1.12 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

(5) 亜鉛

兔本らは¹¹⁾男性 $6.11 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、女性 $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ を、石崎らは¹²⁾男性 $6.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、女性 $6.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ を、佐々木らは¹³⁾ $8.32 \mu\text{g}/\text{ml}$ と報告している。地研協の全国平均値は男性 $6.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、女性 $5.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。著者らの測定値は男性 $6.05 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、女性 $5.16 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり、¹¹⁾兔本らの値に近い。濃度分布は男性では対数正規型に近く、女性では正規型に近い。平均値 ± 2 S.D.の値は男性 $4.85 \sim 7.57 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、女性 $3.92 \sim 6.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

(6) マンガン

血中マンガンの報告値は^{8,9,13)}ほぼ $0.02 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。地研協の全国平均値は男性 0.024 、女性 $0.025 \mu\text{g}/\text{ml}$ である。著者らの値では性別差は認められず、 $0.020 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。濃度分布は¹⁴⁾対数正規型に近い。齊藤らは、血中マンガンの年齢別分布は50才前半にピークをもつと報告している。

(7) 鉛

血中鉛の分析値に関する報告は多数みられる。ここでは地研協の値と比較するにとどめる。地研協の値は男性で $0.076 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、女性で $0.064 \mu\text{g}/\text{ml}$ であり、著者らの値は男性 $0.055 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、女性 $0.064 \mu\text{g}/\text{ml}$ であった。濃度分布は対数正規型であった。

(8) カドミウム

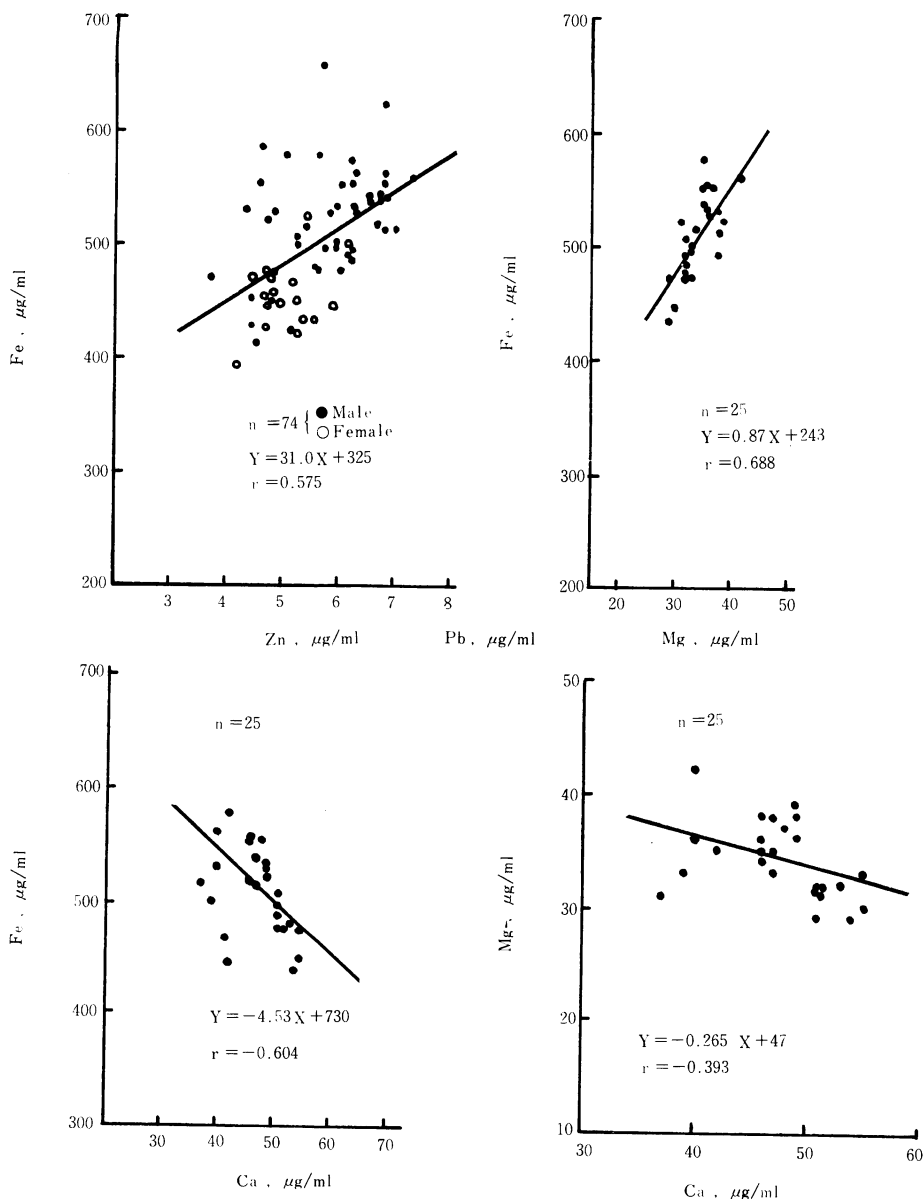


Fig. 2 Correlation among the concentration of metals in whole blood

全国平均値¹⁾は $0.003\mu\text{g}/\text{ml}$ で、著者らの値もほとんど同じであった。血中カドミウム濃度に関する報告も多数ありここでは地研協の値と比較するにとどめる。

2. 全血中金属の相関

金属間の相関係数を調べた結果を表4に、金属間の濃度の関係を図2に示した。全血中铁と亜鉛濃度には相関がみられるという報告と^{1,11)}、みられないという報告があるが¹²⁾、著者らの結果では正の相関が認められた ($r=0.575$)。亜鉛

Tadle 4 Correlation coefficient of metals in whole blood

	Fe	Ca	Mg	Cu	Zn	Mn
Ca	-0.604*	1.000				
Mg	0.688*	-0.393**	1.000			
Cu	0.393*	0.216	0.081	1.000		
Zn	0.567*	0.149	0.212	0.081	1.000	
Mn	-0.145	0.260	0.0	-0.112	-0.162	1.000

Fe:n=74, Ca,Mg:n=25, Cu:n=73, Zn:n=72, Mn:n=74

* $P<0.01$, ** $P<0.05$

は赤血球炭酸脱水酵素の金属成分として、赤血球亜鉛の約94%を占め、¹⁵⁾血漿に比べ、赤血球に多く含まれることから、全血亜鉛についての性別差も赤血球由来とみなすことができる。この他、鉄とマグネシウムに正の相関 ($r=0.688$) 鉄とカルシウムに負の相関 ($r=-0.604$) が認められた。またよく知られているように¹⁷⁾ マグネシウムとカルシウムは負の相関 ($r=-0.393$) が認められた。¹⁸⁾三島は亜鉛とマグネシウムについて、高い相関係数が得られた ($r=0.393$, $n=142$) としているが、著者らの結果では低い。検体数が少ない ($n=25$) のでさらに検討を要する。

3. 血漿中金属

血漿中のマグネシウム、カルシウム、銅および亜鉛について測定した結果を表5に、また、それぞれの濃度分布をヒストグラムで表わした結果を図3に示す。

濃度分布は4金属すべて正規分布型であった。血漿亜鉛及び銅については性別差は認められなかった。マグネシウムとカルシウムについては測定対象がほとんど男性であったため、性別差は検討できなかった。

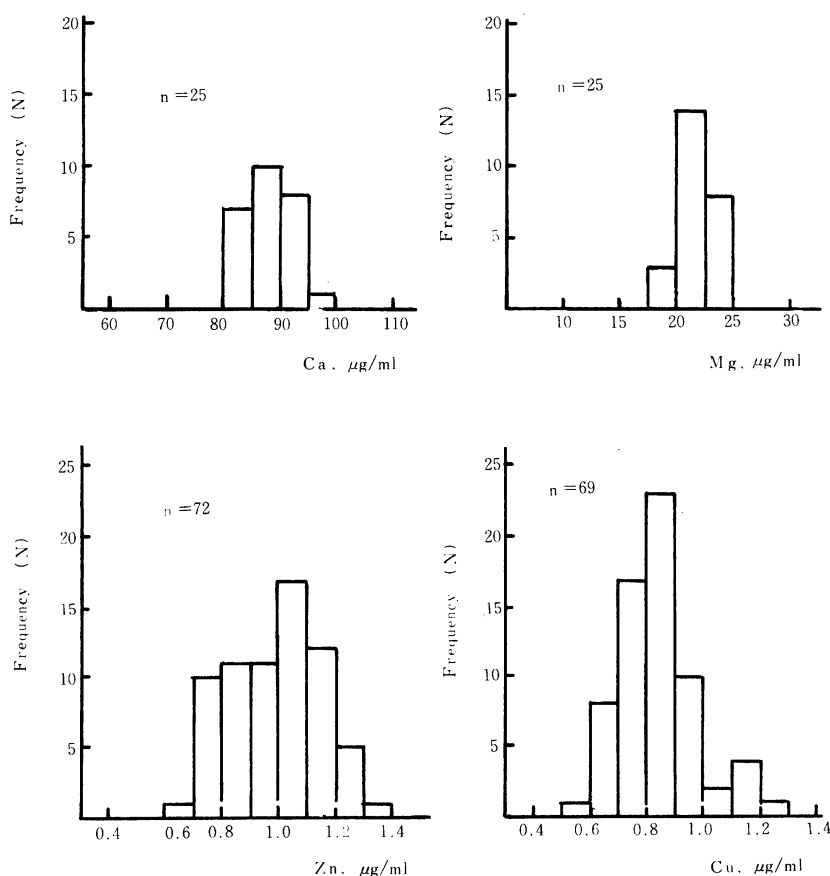


Fig. 3 Histogram of metal concentrations in plasma (male+female).

Table 5 Metal concentration levels in plasma of normal subjects ($\mu\text{g}/\text{ml}$)

Element	Sex	No	Average $\pm$ S.D.	Range ($\text{Av.} - 2\text{S.D.}$) $\sim (\text{Av.} + 2\text{S.D.})$
Ca	M	23	88.2 $\pm$ 3.95	83—98 80.3—96.1
	F	2	18.9 $\pm$ 1.26	
Mg	M	23	18.9 $\pm$ 1.26	16—22 16.4—21.4
	F	2		
Cu	M	52	0.835 $\pm$ 0.127	0.59—1.22 0.58—1.09
	F	18		
Zn	M	53	0.973 $\pm$ 0.151	0.70—1.26 0.76—1.28
	F	19		

Versiekは血漿中金属濃度に関する最近の総説の中で、多数の報告値を検討し、血漿中亜鉛の値として男性、女性ともに0.76～1.26 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (平均0.96 $\mu\text{g}/\text{ml}$) が妥当な値であると述べている。著者らの測定値の範囲はこの値とよく一致する。また、銅については、調べた37報中27報が平均値を0.8～1.20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ としているという¹⁹⁾。著者らの値は平均0.83 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、平均値 $\pm$ 2 S.D.の範囲は0.67～1.28 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

血漿中マンガンの濃度は非常に低く、定量は容易ではない。正常値は0.5～0.6 ng/ml とされているが、報告値は大変ばらついている。著者らが予備的に検討したところ、数 ng/ml の値が多く、今後さらに検討を進めたい。

血漿中の銅と亜鉛濃度の比は、癌患者では亜鉛濃度の減少と銅濃度の増加により、増加することが報告されている²⁰⁾。正常人についての著者らの結果では、銅と亜鉛濃度に相関は認められないが、この比の分布はほぼ正規型で、平均値は0.876(範囲0.58～1.42)であった。全血についてこの比をとると性別差が認められ、男性、女性ともに比の分布は対数正規型であった(男性：平均0.150、範囲0.100～0.272、女性：平均0.182、範囲0.104～0.31)。

血漿と全血中金属濃度には特に高い相関は認められなかった。

結 言

札幌市に在住する献血可能な成人(「正常人」)74名の血液をもとに、全血および血漿中のいくつかの金属濃度を原子吸光法により測定し、以下の知見を得た。

- 1) 全血中铁、マグネシウム、カルシウム、銅、亜鉛、鉛およびカドミウム濃度は地研協の全国平均値に近く、マンガンはやや低値であった。
- 2) 性別差は全血中の鉄と亜鉛濃度について認められ、男性が女性により有意に高い値を示した。
- 3) 全血中金属の濃度分布は鉄、マグネシウム、カルシウム、銅が正規分布型を示し、亜鉛、マンガン、鉛は対数正規型、カドミウムも近似的に対数正規型であった。
- 4) 血漿中マグネシウム、カルシウム、亜鉛、銅の濃度分布は正規分布型であった。
- 5) 必須金属について、全血、血漿における「正常値」を平均値 $\pm$ 2 S.D.から求めた。
- 6) 各金属濃度間の相関を調べ、全血中、鉄—亜鉛(正)、

鉄—マグネシウム(正)、鉄—カルシウム(負)、マグネシウム—カルシウム(負)の間で有意な相関が認められた。

謝 辞

本研究に当り、血液の提供に御協力いただきました北海道赤十字血液センター、採血に協力していただいた当研究所新井研究員、ならびに血液を提供してくださいました皆様に感謝致します。

文 献

- 1) 地方衛生研究所全国協議会：血液中の重金属からみた地域住民の健康評価に関する研究(厚生省特別研究)(1979)、地研NEWS, No. 52, 5 (1980)。
- 2) 微量重金属代謝—その異常と治療、第3集、緒方医学化学研究所(1976)。
- 3) J.F. Sulliyian, et al: *J.Nutr.*, 109, 1979 (1979)。
- 4) 石川丹, 他：臨床小児医学, 28, 171(1980)。
- 5) K.E.Mason: *J. Nutr.*, 109, 1979 (1979)。
- 6) 杉浦清治, 他：厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班、昭和53年度研究業績, 12 (1979)。
- 7) 小野一男, 他：日本臨床, 27 (増刊), 899(1969)。
- 8) E.M.Butt, et al: *Arch. Environ. Health*, 8, 60 (1964)。
- 9) 高木靖弘, 松田漸：日衛誌, 32, 366(1977)。
- 10) D. Brune, et al: *Clin. Chim. Acta*, 13, 285(1966)。
- 11) 兎本文昭, 他：日本公衛誌, 27, 605(1980)。
- 12) 石崎睦雄, 他：公害と対策, 16, 257(1980)。
- 13) 佐々木胤則, 他：日衛誌, 34, 157(1979)。
- 14) 齊藤和雄, 他：生体内における必須および有害金属の分布と関連酵素の動態について、文部省科研費補助報告書一般(B)(1980)。
- 15) 清野昌孝, 他：医学のあゆみ, 98, 137(1976)。
- 16) 清野昌孝, 白石忠雄：医学のあゆみ, 98, 86 (1976)。
- 17) 佐々木匡秀, 他, 「人体成分のサンプリング：血液」講談社(1978)。
- 18) 三島昌夫：日化誌, 1976 (6), 915。
- 19) J. Versiek and R. Cornelis: *Anal. Chim. Acta*, 116, 217(1980)。
- 20) S. Inutsuka and S. Araki: *Can cer*, 42, 626 (1978)。

Concentrations of Some Metals in Whole Blood and Plasma of Normal Adult Subjects

Kazuo Jin, Kazuko Matsuda and Yoshiaki Chiba

Blood samples (n=74; male n=53, female n=21) were taken from adults in Sapporo. Eight metals

(Fe, Mg, Ca, Cu, Mn, Zn, Pb and Cd) in whole blood and 4 metals (Mg, Ca, Cu, and Zn) in plasma were determined by flame (Fe, Mg, Ca and Zn) or flameless (Cu, Mn, Pb and Cd) atomic absorption spectrometry. Protein in the whole blood and plasma samples were decomposed by wet ashing with nitric acid and perchloric acid.

Analytical results by the quantitative analysis were tabulated in the form of averages, standard deviations and ranges for each metal. It was observed that concentrations of Fe and Zn in whole blood for male are higher compared with that of

female. Furthermore, high correlation coefficient was obtained between Fe and Zn in whole blood: $r = 0.574$, $n = 74$. Normal concentrations of "essential metals" were evaluated by the range of mean ± 2 S.D. Correlation coefficients of each two "essential metals" were also calculated.

Statistical distribution data obtained by the quantitative analysis showed an approximate "normal" distribution for Fe, Mg, Ca and Cu in whole blood and Mg, Ca, Cu and Zn in plasma, and showed an approximate "log-normal" distribution for Zn, Mn, Pb and Cd in whole blood.