

ヒト血清および尿の多元素相関解析 -第1報-

三浦吉範 中居恵子 中居賢司 諏訪部章
藤岡知昭* 世良耕一郎**

岩手医科大学臨床検査医学
020-8505 盛岡市内丸 19-1

*岩手医科大学泌尿器科学
020-8505 盛岡市内丸 19-1

**岩手医科大学サイクロトロンセンター
020-0173 岩手郡滝沢村字留が森 348-58

1 はじめに

生命の維持に関連して、生体内の元素が重要な役割を果たしていることが次第に明らかになってきた。生体内でのこれらの元素には適正なレベル/正常濃度範囲が存在する。そして生体内の元素がこの正常濃度範囲よりも低ければ欠乏症が、また同範囲よりも高ければ過剰症が引き起こされる。このように元素は健康状態と深く関わっている。我々はこれまで PIXE 法を用いて心筋梗塞^{1,2)} や腎疾患患者³⁻⁵⁾ の血清および尿中の元素分析を行ってきた。その解析は「単元素ヒストグラム法」や「2次元相関解析法」によるものであった。今回我々は、さらにこのような多元素データを臨床分析や病態診断に有効に利用するために、「多元素相関解析」を試みた。PIXE 法では各種試料について、主成分から超微量レベルにある元素まで多元素同時分析が可能である。よって「多元素相関解析」によって「単元素ヒストグラム法」や「2次元相関解析法」よりも多くの元素についての変動情報が総合的に得られることが期待された。

それから、健常人の血清、尿中元素の正常濃度範囲を正確に把握するため、PIXE 法を用いて健常人の血清および尿中の多元素定量を行い多元素相関解析を行なうことにした。今回は、これまで得られたデータの一部を紹介する。

2 測定方法

[対 象]

臨床例を対象とした血清試料は、急性心筋梗塞患者 24 名（平均年齢 68.8 歳 / 男 19 名、女 5 名）と年齢、性別をマッチングした 22 名の健常人群（平均年齢 68.7 / 男 17 名、女 5 名）を用いた。なお急性心筋梗塞（AMI）の診断は、臨床的所見と血清中の心筋・酵素値の上昇の確認等に基づいておこなった。

また、正常濃度範囲検討の対象とした血清試料は、本学の学生ボランティア 28 名（5 学年 / 男子学生 21 名、女子学生 7 名）を用いた。

[試料調整]

血清ならびに尿試料は、金属元素類などを含まないプラスチック製のスクリーキャップ付き容器に入れ PIXE による測定を行なうまでは、 -80°C で凍結して保存した。測定する前に、内部標準として銀 (AgNO_3) を試料 1ml に対し 血清試料では $100\ \mu\text{g}$ 、尿試料では $50\ \mu\text{g}$ の割合になるように加えよく混和し、うちそれぞれ $10\ \mu\text{l}$ をバックリングフィルムに滴下し室温で乾燥した後 PIXE のターゲットとした。

[測定操作]

上記のように調整した試料をそれぞれ $10\ \mu\text{l}$ 分取し、バックリングフィルム上に滴下したものを PIXE のターゲットとした。測定は、真空中のターゲットに 2.9MeV のプロトンビームを照射し、ターゲットから放出される特性 X 線を半導体検出器で検出しマルチチャンネルアナライザーで分析した。我々の装置では、ナトリウムからウランまでの全元素を同時に検出できるように 2 つの検出器を用いている。これら検出器のうち一つは、カルシウムよりも重い元素類を検出するために 3-5 mm の薄いマイラー膜のアブソーバーを装着させている。もう一つの検出器には低元素類の測定のために、前部分にグラファイトの小さな窓があって X 線のカウントを減衰させるような工夫が施されてある。検出されたスペクトラムデータはパーソナルコンピュータに移行し、“SAPIX” プログラムを使用して各元素量を計算した⁶⁾⁷⁾。

[多元素相関解析法]

レーダーチャートによる多元素相関解析法は、はじめに健常人における各元素の平均値を算出する。これらの平均値を 1 とし、対象とした症例患者の各元素値の相対値をレーダーチャートのそれぞれの元素の軸にプロットしそれらの点を結んで作成する。

3 結 果

[急性心筋梗塞患者血清中の多元素相関解析]

Fig.1 は、急性心筋梗塞患者と健常者コントロール群の男子における血清で測定した微量元素データを「多元素相関解析」した結果である。(a)は、健常者コントロールの男子 17 名の血清中の各元素濃度の平均値を求め、測定値の相対濃度としてそれぞれの元素の軸にプロットして作成したレーダーチャートである。その結果、Na, K, P, Ca, Fe, Cu, Zn, Se では大きな変動は見られなかったが、Mg, Al, Si, Rb, Sr などでは増加、減少のいずれの方向にも非常に大きな変動が見られた。(b)は、AMI 患者の男子 20 名の元素データを (a)と同様に相対値にて作成したレーダーチャートである。その結果、(a)のレーダーチャートと比べて Fe, Zn, Se の各微量元素が低値に分布していた。また Cu は、高値に分布している傾向が見られた。その他 Al, Si, Rb, Sr については、データの変動が大きくて一定の傾向は見られなかった。

Fig.2 は、同様に急性心筋梗塞患者と健常者コントロール群の女子における血清で測定した微量元素データを「多元素相関解析」した結果である。(a)は、健常者コントロールの女子 5 名のレーダーチャートである。(b)は、AMI 患者の女子 4 名のレーダーチャートである。その結果、(a)に比べて(b)のレーダーチャートでは、Al, Cu が高く Fe, Se は低く分布していた。その他の元素は大きな変動分布が見られた。

[健常者血清中の多元素相関解析]

Fig.3 (a)は健常な男子学生 21 名から得られたレーダーチャートである。Na から K, P, Ca,までは、大きな変動は見られなかったが、Mg, Al, Si では増加、減少のいずれの方向にも非常に大きな変動が見られた。次いで Fe, Se が比較的大きな変動を示し、Cu, Zn はあまり変動は見られなかった。また、Rb, Sr, Mo は試料によって検出されないものがあった。(b)は同様に健常な女子学生 7 名から得られたレーダーチャートである。男子学生同様に Mg, Al, Si, Fe において変動が大きい傾向が見られた。

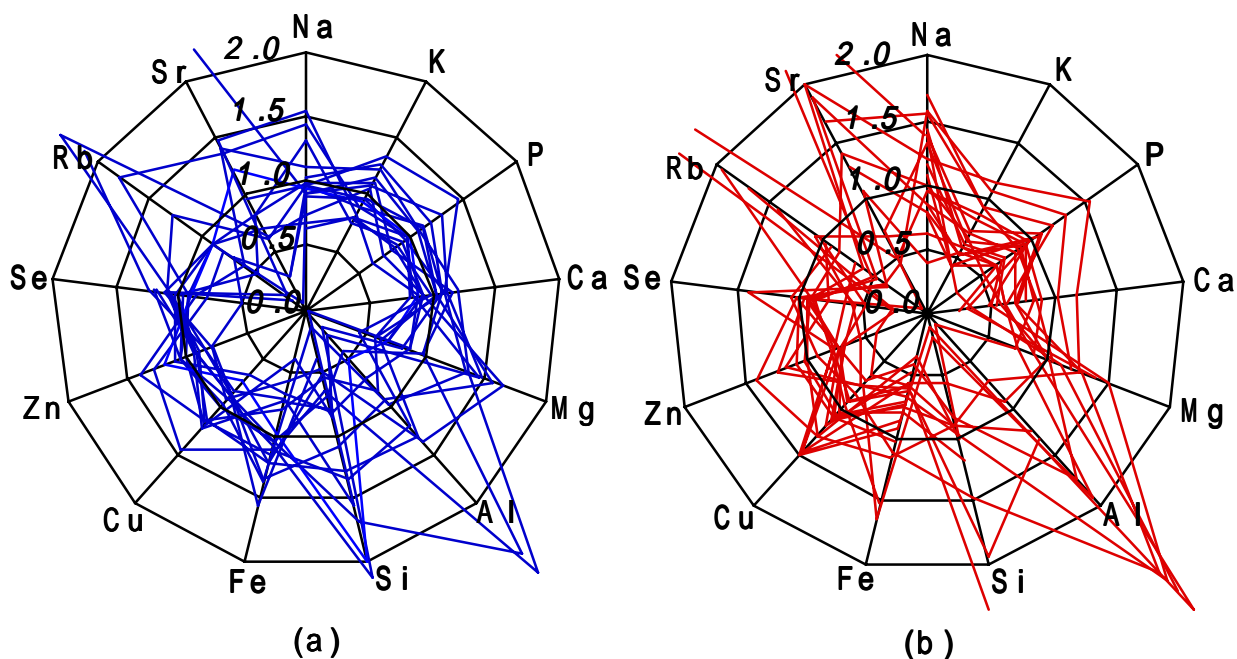


Fig.1 Radar chart for the concentration distributions of the elements in blood sera collected from healthy male controls and male patients with acute myocardial infarction.
 (a) healthy controls, (b) AMI

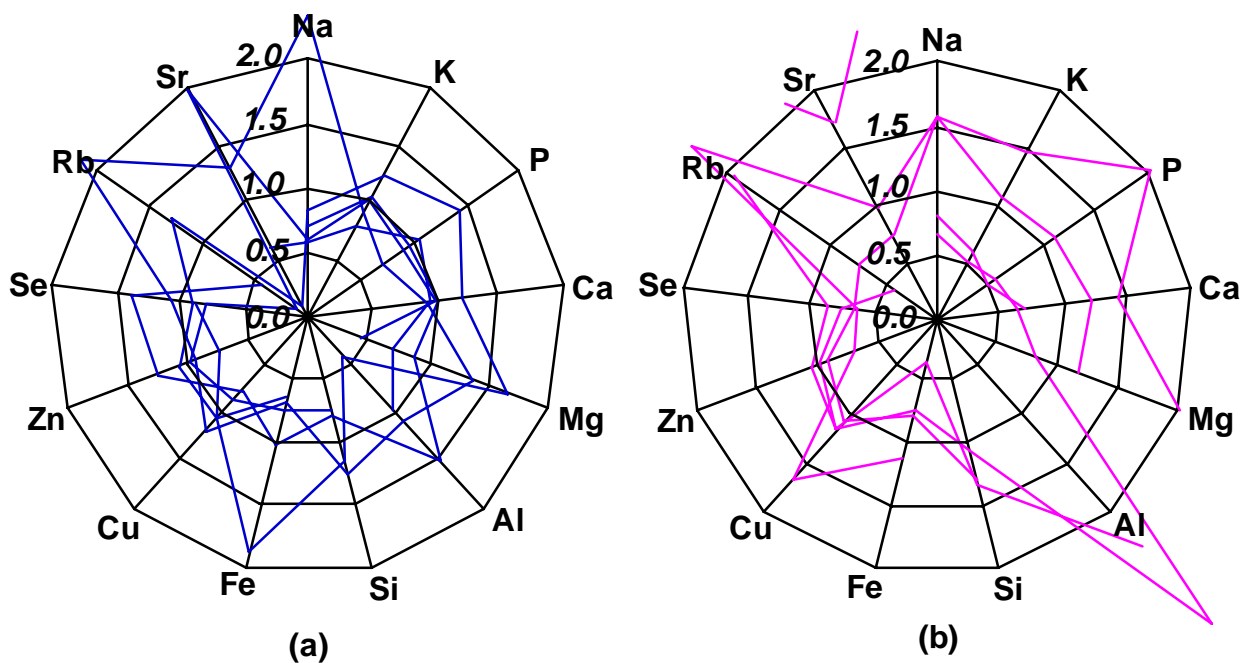


Fig.2 Radar chart for the concentration distributions of the elements in blood sera collected from healthy female controls and female patients with acute myocardial infarction.
 (a) healthy controls, (b) AMI

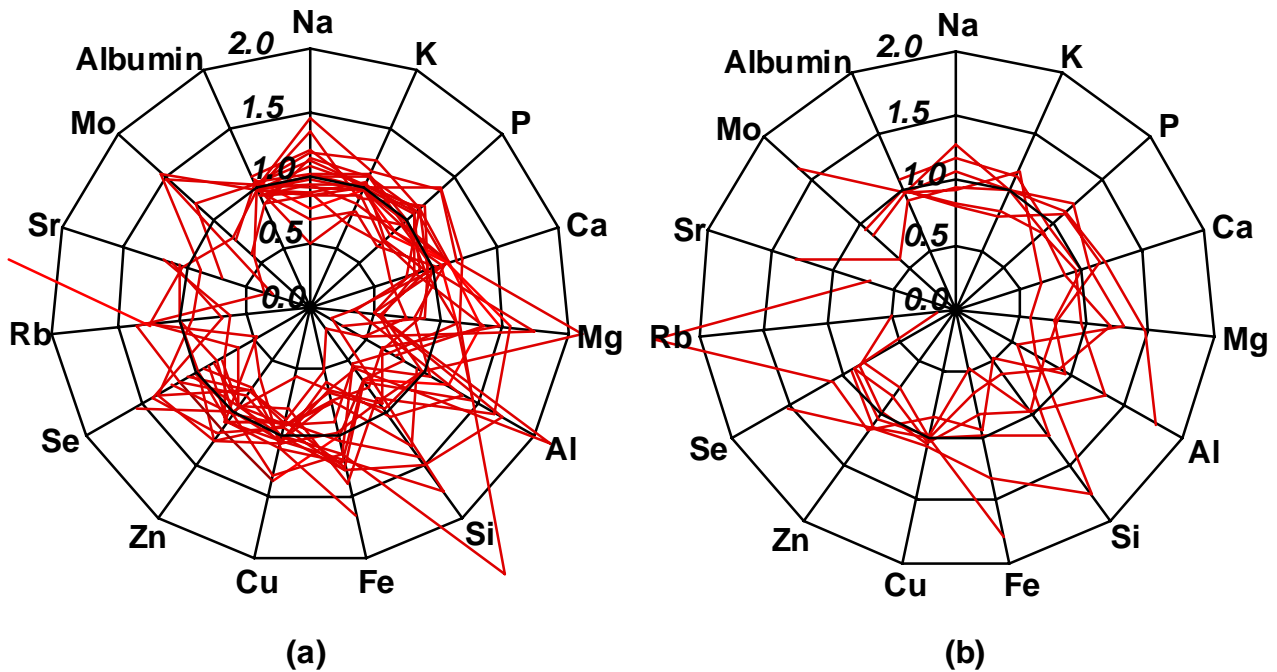


Fig.3 Radar chart for the concentration distributions of the elements and albumin in blood sera collected from healthy volunteers.
 (a) male, (b) female

4 考 察

微量元素と循環器疾患に関しては、ラットを使った実験で微量元素としての Na, K, Ca, Mg, Zn が高血圧や血管障害の発症に関与することが証明された⁸⁾⁹⁾。そして高血圧や脳卒中の発症を抑制する種々の予防因子が明らかになってきた。K, Ca の摂取は、尿中 Na 排泄を増加し、血圧上昇を抑制し脳卒中予防に有効である¹⁰⁾。Mg にも食塩負荷・脳卒中易発症 (SHRSP) に対する脳卒中予防と延命効果が証明されている。それから中国の地方病「克山病」は一種の心筋症で、Se 欠乏地域に多いことが指摘され、これは Se の補給によってその発症率が減少した¹¹⁾。このように急性心筋梗塞 (AMI) の発症機序や虚血心筋病態に関する知見のひとつとして、体内の微量元素の動態に関心が高まっている。

今回の我々のデータから、AMI 患者において血清 Zn の低下が認められた。一般に血清 Zn の低下は AMI の診断テストとして信頼されていて、その低下の範囲は予後との密接な関係があるとされている。この低下する機序についていくつかの仮説があり、修復のプロセスとして体内を循環している Zn が、非壊死性の心筋組織に集積するために血液中の Zn が低下するという仮説が有力である。Se も AMI 患者において低下が認められた。過酸化水素や他の脂質・水過酸化酵素を取り除き水素の供給反応として利用されている酵素であるグルタチオンペルオキシダーゼの活性部位には、セレノシステインが含まれる。本酵素は、フリーラジカル生成物の構造や動脈の内皮を変性させる原因となる脂質・過酸化物を取り除く役目をしている。よって Se の低下は、心血管系疾患のリスクを増加させることが示唆される。血清 Cu の 95% は特異蛋白であるセルロプラスミンと強固に結合している。この Cu を結合している酵素には、抗酸化剤としての機能があり「急性反応物」として認められている。そして組織に持続的なダメージがあると常に上昇する傾向があり、AMI 患者の Cu 増加は組織ダメージを反映していると考えられる。

また、健常人の血清，尿中元素の正常濃度範囲については今後さらにデータを蓄積して検討を加える予定である。

謝 辞

本研究にあたり、御協力をいただきました日本アイソトープ協会・仁科記念サイクロトロンセンターのスタッフの方々に深謝いたします。

文 献

- 1) Y. Miura, C. Itoh, T. Miyakawa, K. Nakai, K. Hiramori, K. Sera and S. Futatsugawa : Simultaneous determinations of trace elements in sera of patients with acute myocardial infarction by PIXE. *Int. J. PIXE* Vol.3, No.3, No.4, 295-300, 1993
- 2) 三浦吉範, 伊藤忠一, 宮川朋久, 中居賢司, 平盛勝彦, 世良耕一郎 : PIXE による急性心筋梗塞患者の血清中微量元素分析の試み, NMCC共同利用研究成果報文集, 第1巻, 130-135, 1993
- 3) 三浦吉範, 中居恵子, 伊藤忠一, 佐藤倫郎, 世良耕一郎 : PIXEによる腎疾患患者および透析患者血清中の微量元素測定 -第1報-, NMCC共同利用研究成果報文集, 第3巻, 65-71, 1995
- 4) 三浦吉範, 中居恵子, 伊藤忠一, 佐藤倫郎, 世良耕一郎 : PIXEによる腎疾患患者および透析患者血清中の微量元素測定 -第2報-, NMCC共同利用研究成果報文集, 第5巻, 180-188, 1997
- 5) Y. Miura, K. Nakai, K. Sera, and M. Sato : Trace elements in sera from patients with renal disease. *Nucl. Instr. and Meth. in Phys. Res. B* 150, 218-221, 1999
- 6) K.Sera, T. Yanagisawa, H.Tsunoda, S.Futatsugawa, S.Hatakeyama, S.Suzuki and H.Orihara. : The Takizawa PIXE Facility Combined with a Baby Cyclotron for Positron Nuclear Medicine. *Int. J. PIXE* Vol.2, No.1, 47-55, 1992
- 7) K.Sera and T.Yanagisawa, et.al. : Bio-PIXE at the Takizawa facility. *Int. J. PIXE* Vol.2, No.3, 325-330, 1992
- 8) Y. Yamori. : Physiopathology of the various strains of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 556-581, 1983
- 9) G. Vivoli, M. Bergomi, S. Revesti. : Cadmium, zinc and copper in human hypertension. *Proceedings of the 2nd Meeting of the International Society of Trace element in Humans*, 1990
- 10) Y. Yamori, Y. Nara, and K. Ikeda. et al. : Recent advances in experimental studies on dietary prevention of cardiovascular disease. *New horizons in Preventing Cardiovascular Diseases*, 1-11, 1989
- 11) Keshan Disease Research Group of the Chinese Academy of Medical Sciences. : Observations on effect of sodium selenite in prevention of Keshan Disease. *Chinese Med. J.*, 92, 471-476, 1979