

筑波大学

博士（学術）学位論文

生活習慣病予防対策と微量元素に関する
基礎研究

—正常人および代謝性疾患患者との比較—

2015

筑波大学

神 庭 純 子

目次

第1章 序論

I 研究の背景	
1. 生活習慣病予防対策の現状	1
2. 生活習慣病予防対策における栄養・食生活改善への取り組み	2
3. 生活習慣病に関連した微量元素研究	4
II 研究目的	7
III 本研究で用いる用語の定義	
1. 代謝性疾患	8
2. 生体微量元素	8
3. 電位差ストリッピング分析法	8
IV 研究の意義	8

第2章 文献検討

I 保健・医療における栄養・食生活研究の意義	9
II 代謝性疾患と微量元素の関係性	10
1. 微量元素とは	10
2. 代謝性疾患における各微量元素研究の動向	11
1) 銅	11
2) 亜鉛	13
3) 鉛	15
4) カドミウム	15

第3章 電位差ストリッピング分析法による体液からの微量元素 (Cd、Pb、Cu、Zn) の測定と、健康人及び代謝性疾患患者における変動

第1節 電位差ストリッピング分析法による体液からの微量元素の測定方法の確立

I 緒言	17
II 試料と方法	
1. 試料と試薬	17
2. 測定方法	18
3. 微量元素分析装置 ION 3 による微量元素の測定方法	19

III	結果	21
IV	考察	21
第2節 健康な成人の血液及び尿中の微量元素 (Cd、Pb、Cu、Zn) 濃度		
I	はじめに	24
II	対象と方法	24
III	結果	
1.	血清中の微量元素濃度	25
1)	男女別の血清中の微量元素濃度	25
2)	年齢区分別の血清中の微量元素濃度	25
3)	血清中の微量元素間相関	25
2.	尿中の微量元素濃度	26
1)	男女別の尿中の微量元素濃度	26
2)	年齢区分別の尿中の微量元素濃度	26
3)	尿中の微量元素間相関	26
3.	血清中微量元素濃度と尿中微量元素濃度との関係	26
1)	血清と尿の相関	26
2)	血清と尿の比較	27
IV	結果の要約	27
V	考察	28
第3節 代謝性疾患を有する患者の微量元素 (Pb、Cu、Zn) の変動		
I	序論	31
II	対象と方法	32
III	結果	33
IV	考察	34
V	結論	38
VI	本研究の限界	39
VII	今後の課題	40
	謝辞	41
	文献	42
	図表	52

第1章 序論

I 研究の背景

1. 生活習慣病予防対策の現状

我が国の平均寿命は、生活環境の改善や医学の進歩により、世界有数の水準に達しているものの、人口の急速な高齢化とともに、疾病全体に占めるがん、心臓病、脳卒中、糖尿病等の生活習慣病の割合は増加しており、これに伴って、要介護者等の増加も深刻な社会問題となっている（厚労省，2012）。がん、脳卒中、糖尿病といった疾患は年齢の上昇に従ってその頻度が増えることが知られており、人口の高齢化に従って患者数の増加も予想される。一方、喫煙と肺がんや心臓病、動物性脂肪の過剰摂取と大腸がん、肥満と糖尿病など、食生活や運動などの生活習慣とこれらの疾患の関係が明らかとなり、生活習慣の改善によりある程度予防が可能であることも分かってきたことから、発症そのものを予防する考え方が重視されるようになってきている（厚生労働統計協会，2014）。

生活習慣病の増加やそれに伴う動脈硬化性疾患の予防策として、メタボリックシンドローム（内臓脂肪症候群）の診断基準が示され、特定保健指導の実施等の様々な保健指導が行われてきており（加藤ら，2014）、メタボリックシンドロームの状況と生活習慣との関連について検討した研究では、睡眠、喫煙、飲酒、運動、食生活などの要因が関連していることが報告されている（大塚ら，2011；溝下ら，2012）。

そのような中、すべての国民が健やかで心豊かに生活できる活力ある社会とするため、壮年期死亡の減少、健康寿命の延伸及び生活の質の向上を実現することを目的として「21世紀における国民健康づくり運動（健康日本21）」が平成12年度に開始された。さらに、平成24年7月に21世紀における第2次国民健康づくり運動（健康日本21（第2次））が策定され、平成25年4月よりその取り組みが進められている。

第2次健康日本21の期間は平成25～34年度までであり、高齢化の進展および疾病構造の変化を踏まえ、その基本的な方向は健康寿命の延伸と健康格差の縮小、生活習慣病の発症予防と重症化予防の徹底が掲げられている。特に循環器疾患においては高血圧の改善、脂質異常症の減少（平成22年総コレステロール240mg/dl以上の者の割合 男性13.8%、女性22%から平成34年目標 男性10%、女性17%）、メタボリックシンドロームの該当者及び予備群の減少（平成20年1400万人から平成27年度目標平成20年度と比べて25%減少）を目標としている。糖尿病においては、その発症予防により有病者の増加の抑制（平成19年890万人から平成34年度目標1000万人）を図るとともに重症化を予防するために

血糖値の適正な管理、治療中断者の減少（治療継続者の割合の増加 平成 22 年 63.7%から平成 34 年目標 75%）及び合併症の減少（糖尿病腎症による年間新規透析導入患者数 平成 22 年 16247 人から平成 34 年度目標 15000 人）を目標としている（厚労省，2012）。

さらに栄養・食生活は多くの生活習慣病との関連が深く、生活の質との関連も深いため、適正な栄養素（食物）の摂取、適正な栄養素（食物）の摂取のための個人の行動及び個人の行動を支援するための環境づくりの 3 段階に分けてその目標を設定し予防の推進を図っている。

このような国民健康づくり運動の推進を図るとともにそれらの施策と並行して、新健康フロンティア戦略アクションプランが平成 19 年 12 月、内閣官房、内閣府、文部科学省、厚生労働省等によって具体的に講じる施策として示されており、その戦略の柱の一つが、メタボリックシンドローム対策の一層の推進であり、食事バランスガイドの普及啓発や健康関連産業の育成、個人の特徴に応じた治療の研究開発と普及等メタボリック対策・糖尿病予防の重点的推進であると示されている。

以上のような我が国の生活習慣予防対策の推進を受けて、生活習慣病予防対策、特に栄養・食生活改善に関する検討は現代の重要な課題としてその取り組みが求められている。

2. 生活習慣病予防対策における栄養・食生活改善への取り組み

食生活習慣とメタボリックシンドロームの状況や関連する生理的指標とのかかわりは深く、食物摂取頻度、味に対する好みなどの食嗜好や食べる速さ、遅い夕食、朝食の欠食などの様々な食生活習慣がメタボリックシンドロームの関連要因として示唆されている（網島ら，2011；大塚ら，2009）。

加藤ら（2014）は食習慣改善に対する態度とメタボリックシンドロームとの関連について国民生活基礎調査データを解析し、食習慣改善に対する態度は、主食・副菜・主菜を組み合わせて食べることや朝食を食べる等の項目で構成される「バランスのとれた栄養摂取に関する食習慣」と食塩の多い料理を控えることや油の多い料理を控える等の項目で構成される「摂取量制御に関する食習慣」によって説明されるとしてその構成概念を明らかにしている。さらに摂取量制御に関する食習慣を改善しようとする態度がメタボリックシンドロームの予防に関連する可能性を示唆している。また緑黄色野菜や果物、牛乳の摂取や朝食を抜かないことはメタボリックシンドロームに関わる検査項目の良好さと関連しているとの報告もみられる（名倉ら，1988；坂田ら，2001）。

国民健康・栄養調査は、健康増進法（平成 14 年法律 103 号）に基づき、国民の身体の状態、栄養素等摂取量、食品群別摂取量、生活習慣の状況を明らかにすることを目的として実施されている調査であり、国民の健康増進の総合的な推進を図るための基礎資料となるものである。平成 23 年調査結果では、メタボリックシンドロームが強く疑われる者の割合は、男性 28.8%、女性 11.3%、予備群と考えられる者の割合は、男性 24.2%、女性 8.7%であり、40～74 歳男性の 2 人に 1 人、女性の 5 人に 1 人が、メタボリックシンドロームが強く疑われる者または予備群と考えられる者であった（厚生労働統計協会，2014）。平成 24 年国民健康・栄養調査結果（厚労省，2012）によれば、メタボリックシンドロームが強く疑われる者の割合は、男性 24.7%、女性 9.4%、メタボリックシンドロームの予備群と考えられる者の割合は、男性 23.6%、女性 7.7%であった。また、糖尿病が強く疑われる者の割合は、男性 15.2%、女性 8.9%であり、糖尿病の可能性を否定できない者の割合は、男性 12.1%、女性 13.1%であった。糖尿病が強く疑われる者のうち、治療を受けている者の割合は、男性 65.9%、女性 64.3%であり、男女とも増加している。血清総コレステロールの平均値は、男性 195.3 mg/dl、女性 204.1 mg/dl であり、総コレステロールが 240 mg/dl 以上の割合は、男性 9.8%、女性 14.7%であった。栄養素・食品群別摂取量等に関する状況をみると、朝食の欠食率は、男性 12.8%、女性 9.0%であり、前年に比べて男女とも減少している結果であった。

平成 24 年調査では、糖尿病が強く疑われる者は約 950 万人、糖尿病の可能性を否定できない者は約 1100 万人と推計された。これらの予防には、食生活の改善、運動習慣の徹底等の取り組みが重要である。

生活習慣病予防のためには食生活の改善が重要であることから、平成 12 年、厚生労働省、農林水産省、文部科学省の連携により「食生活指針」が策定された。平成 17 年 6 月には、食生活指針を具体的な行動に結び付け、食事内容を選択するためのツールの一つとして、何をどれだけ食べたら良いかを具体的にイラストで示した「食事バランスガイド」が策定されている。さらに、食事による栄養摂取量の基準は、厚生労働省による「日本人の食事摂取基準（2015 年版）策定検討会」報告書として公表されている（厚労省，2015）。

日本人の食事摂取基準は、健康増進法第 30 条の 2 に基づき厚生労働大臣が定めるものとされ、国民の健康の保持増進を図るうえで摂取することが望ましいエネルギー及び栄養素の量の基準を示すものである。この基準においても策定の方針は、生活習慣病の発症予防とともに重症化予防、ひいては健康寿命の延伸が意図されている。ここで基準とされる栄

養素は、三つの目的からなる指標で構成されている。一つは摂取不足の回避を目的としての「推定平均必要量」であり、半数の人が必要量を満たす量とされ、さらに推定平均必要量を補助する目的で、ほとんどの人が充足している量である「推奨量」を設定している。二つ目は過剰摂取による健康障害の回避を目的としての「耐用上限量」である。さらに三つ目は生活習慣病の予防のために現在の日本人が当面の目標とすべき摂取量としての「目標量」として設定されている。基準を策定した栄養素と設定された指標は、たんぱく質、脂質、炭水化物、脂溶性ビタミン（ビタミンA、D、E、K）、水溶性ビタミン（ビタミンB1、B2、ナイアシン、ビタミンB6、B12、葉酸、パントテン酸、ビオチン、ビタミンC）、多量ミネラル（ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、リン）、微量ミネラル（鉄、亜鉛、銅、マンガン、ヨウ素、セレン、クロム、モリブデン）である。

3. 生活習慣病に関連した微量元素研究

微量元素の生理作用および生活習慣病の発症予防と重症化予防に関わって以下のように研究がなされている。

生活習慣病と関連のある栄養素摂取レベルについては、エネルギー、脂肪、ナトリウム、カリウム、食物繊維、抗酸化ビタミン、カルシウムなどがあげられる（厚労省，2012）。特にエネルギーの過剰摂取や脂肪エネルギー比率の上昇を抑えることが疾病予防に必要だとされている。これまでの研究において2型糖尿病患者における栄養指導に関してエネルギー量や血糖コントロール、たんぱく質摂取量や食塩摂取量に関する食事管理や栄養指導の有効性などが検討されており（中川ら，2013；人見ら，2013）、特に主要三大栄養素としての炭水化物、たんぱく質、脂質の摂取制限やその摂取比率に着目した栄養改善の重要性が指摘されている。

一方、糖尿病低エネルギー食では、ビタミンB1、B6、鉄、亜鉛、マンガン、食物繊維が不足しているとの報告（佐藤，2005）や糖尿病治療食の実測値において鉄、亜鉛、銅、マグネシウムが不足しているとの指摘もみられる（鈴木ら，1996）。糖尿病治療食のミネラル実測値から食品群別寄与率を算出した鈴木ら（1997）の研究では、亜鉛は主食からの供給量が多く、銅は野菜類が主な供給源とされており、エネルギーの過剰摂取を制限するのみの栄養管理には限界があることが予測される。疾患の栄養管理において、微量元素に着目した栄養評価とその改善が有効であると考えられる。

微量元素は人体に存在する量は少ないが、生体が正常な機能を営むために必要不可欠な

金属であり、不足すると深刻な欠乏症が現れる。生活習慣病と微量元素との関係においてその欠乏が関与しているとされるのは、高血圧（セレン、銅）、認知症（セレン、クロム、亜鉛）、免疫異常（亜鉛、銅、セレン、鉄）などであり、悪性腫瘍との関係も示唆されている（和田，1994）。

銅は約 10 種類の酵素蛋白と結合し、Cu 酵素として、ミトコンドリアの酸化的リン酸化、細胞呼吸、鉄代謝、活性酸素除去、神経伝達物質の産生、結合組織形成等の重要な代謝に関係する（齊藤，2009）。主な欠乏症は貧血、白血球減少、好中球減少、骨異常、成長障害、心血管系や神経系の異常、筋緊張低下、コレステロールや糖代謝の異常などが報告されており、生活習慣病の発症予防や重症化予防にも関わるということが示唆されている。

亜鉛は、細胞増殖、分化、代謝、生体防御といった様々な生理反応を起こす多くの蛋白質の適切な立体構造や活性に関与する必須元素とされ、約 300 の酵素の構造や活性を制御していることが明らかになっている（圓谷，2012）。その欠乏の臨床症状は多彩であるとされ、味覚障害、食欲不振、褥瘡発症と治癒遅延、舌痛はじめ舌・口腔咽頭症状、皮膚炎、慢性下痢、低アルブミン血症、免疫機能障害、認知機能障害、成長遅延、性腺発育障害などが指摘されている（倉澤，2010）。亜鉛はインスリンの生成、貯蔵と分泌の制御に関わっているとされ（Mishima，2014）、糖尿病治療に関わる研究も重ねられている。

鉛は、実験動物において鉄の代謝および造血作用に関わるとされ、貧血や神経障害、腎障害、発癌性も示唆されている。血圧を上昇させる作用があり、動脈硬化を促進し冠動脈疾患に関わるということが示唆されている（Cebi，2011）。

カドミウムは生活習慣病の原因になりうるとする考えは広く提起されているわけではないが、カドミウムの毒性は多様であり生活習慣病の直接的な原因でないとしても低用量の Cd 曝露がその発症や増悪に関わる可能性は排除できないとの指摘がある（鍛冶，2002）。

食物中の微量元素とその吸収については以下のようにいわれている。

人間は一日のうちに様々な種類の飲食物を摂取している。これらの様々な経口摂取品は、それぞれ単独であるいは組み合わせて、同時もしくは別々に摂取されているが、それらの構成成分が消化器官や生体内で相互作用することを避けることはできない（木村，1987）。また、食品に含まれる微量元素の量はかなり正確に化学分析することができる（鈴木，1999）（表 1-1、表 1-2）が、実際に消化管から吸収され、体内諸器官の機能を維持するために利用されるのは、ごく一部であるとされている。特に微量元素の吸収率は、多量元素に比べると著しく低く、

鉄、銅、マンガン等では摂取量のわずか数ないし数十%が吸収利用されるにすぎないと指摘されている（木村，1987）。

以上のように、生体内での必須性が確立されている微量元素、すなわち亜鉛、銅についての生理作用に関する究明は比較的すすんでいるが、生活習慣病の発症予防及び重症化予防との関わりに関する研究のさらなる蓄積が求められている。また、その必要性が不明でありながら体内に比較的多量に存在している元素（鉛）、あるいは有害性が強調されている元素（カドミウム）については、一方では有用性が示唆され必須性が推定されているものの、その研究は極めて少ない。

そこで、本研究では、亜鉛、銅、鉛、カドミウムに着目し、正常人および代謝性疾患を有する患者の生体内微量元素濃度を測定し、その比較および関連を検討することとした。今後の生活習慣病予防対策において、微量元素に着目した疾病の早期発見や重症化予防に関わる指標を得ることは有意義であると考ええる。

なお、微量元素の測定にあたりその方法についての検討を行った。微量元素研究の進展にはその測定法の開発と改良、測定精度の改善が寄与しているといわれている。測定法に関して求められることは、再現性、特異性、精度がよいこと、費用と時間がかからないこと、超微量元素から多量元素まで測定可能範囲が広いこと、誰でも測定できること、さらに特に生体試料などでは少量の試料からより多くの情報が得られることであるといわれる（千葉，1996）。測定法には蛍光 X 線分析法、中性子放射化分析法、原子吸光分析法、誘導結合プラズマ原子発光分析法や電気分析法などがある（原口，1996）。近年では原子吸光分析や誘導結合プラズマ発光分析が使われることが多い。しかしこれらは機器が高額であることから自施設で測定せず外部委託されることも多く（駒井，2010）、各微量元素によって費用や日数がかかる難点がある。そのため、微量元素研究の進展には自施設で測定できる方法を検討することも有用であると考ええる。

そこで、原子吸光分析法や誘導結合プラズマ原子発光分析法による機器に比べ 10 分の 1 程度の設置費用で特別なガス供給システム等の設備を必要せず、1 回の測定時間が 15～20 分程度で迅速に測定可能であるという利点を持つ、電気分析法の一つである PSA 法の適用を検討することとした。

II 研究目的

代謝性疾患の早期発見の指標として微量元素測定値の活用の可能性について示唆を得るために、以下のことを明らかにする。

1. 微量元素の分布を、迅速に容易な手技で測定できる PSA 法 (Potentiometric Stripping Analyzer) を使用して、体液 (血液及び尿) における分析に適用し、簡便かつ実用性の高い方法を開発する。
2. 健康な成人の血液及び尿中の微量元素 (Cd、Pb、Cu、Zn) 平均値と標準偏差を算出し、血液及び尿中の微量元素濃度の関連性を明らかにする。
3. 代謝性疾患を有する患者の微量元素 (Pb、Cu、Zn) の変動を明らかにすることによって、栄養・食生活指導や予防的取組みの具体的方策への示唆を得る。

Ⅲ 本研究で用いる用語の定義

1. 代謝性疾患

代謝とは、生体が外界から必要な物質を摂取し自己化する過程を通して自らの身体を不断につくりかえ、また自らの活動を行い、その結果不要になった物質を外界へ排出する過程であり、代謝性疾患とはその過程が障害されたものである。本研究では、糖質代謝異常である糖尿病及び脂質代謝異常である脂質異常症を対象とする。トリグリセリド（正常<150mg/dl）、総コレステロール（正常<220mg/dl）または血清グルコース（正常<110mg/dl）のそれぞれのレベルで区分して、正常から逸脱したものを代謝性疾患とした。

2. 微量元素

生命体が正常な生命活動を営むために必要不可欠な元素であるが、生体内に微量にしか存在しない元素。本研究では、糖尿病や高コレステロール血症との関連が示唆されている亜鉛と銅を対象とする。また、銅と同時測定が可能であり、心血管疾患との関連が推定される鉛とカドミウムについて対象とする。

3. 電位差ストリッピング分析法

特定成分を微量分析するための方法で、目的成分が電極上に析出する電位をかけて電解して成分を電極上に濃縮した後、目的成分が溶解する電位に変化させて電流を測定し、定量する方法。本研究では、STEROGLASS社製の電位差ストリッピングアナライザーION3を用いて分析を行った。

Ⅳ 研究の意義

生体内微量元素濃度の把握及び分析において、体液、特に尿からの迅速かつ簡便な解析を可能にできれば、実用性の極めて高い方法を提供できることになる。

血液中微量元素濃度と尿中微量元素との関連性を明らかにすることができれば、血中微量元素濃度のみならず、尿中微量元素濃度の測定値を評価指標とすることが可能となる。

現代的課題である代謝性疾患の予防や回復において、これまで明らかになっていない微量元素との関連から有意義な指標を得ることができれば、栄養・食生活指導や予防的取組みの具体的方策への示唆により、国民の保健や医療に大きく貢献できることが期待される。

第2章 文献検討

I 保健・医療における栄養・食生活研究の意義

栄養・食生活は糖尿病の進行に大きく影響している。そのため糖尿病患者への保健・医療においては適切な薬物療法とともに運動療法、食事療法への指導支援が求められる。中でも栄養・食生活における自己管理が重要であることからこれまでに様々な研究がなされている（宮城ら，2006；佐藤ら，2014；白川ら，2013；横井ら，2012；佐藤ら，2014）が、患者が自己管理し継続的に実践することは困難であることが多い（中西ら，2004）。そのため糖尿病患者の食生活自己管理においてはその心理ストレスにも配慮した看護支援や健康行動理論をふまえた指導が求められることが指摘されている（藤本，2009；中川ら，2013）。

近藤ら（2013）は、治療食患者が制限されている食品や食事量の摂取においてどのような対処行動をとるかの実態を明らかにしている。また、2型糖尿病患者では、多くの患者が食事療法を頑張ると思いつつも食事療法に伴う重圧感を持ち食べたい思いとの葛藤を抱えていることが指摘されており（餘目，2012）、食事自己管理行動には負担感、不満などの情動も関わるとされている（中村ら，2009）ことから、自己管理意識を高め、自己管理行動を適切に継続できるための支援の方策の検討が求められる。

桑木ら（2012）は、食事自己管理行動に影響する要因として、食事自己管理継続期間の長さやコーピング、自己効力感やソーシャルサポートが重要であると指摘している。自己効力感を高める関わりや食事自己管理行動を定着させ1年以上継続できる支援が有効であるが、そのための看護師の継続支援は欠かせない。特に退院後の患者に対する食事療法の継続支援には、療養意欲を支援すること、食事療法の継続のための技術的サポートや心理的サポートが有効であり、その支援が求められる（多田ら，2011；新治，2011；近藤ら，2011；荒川，2006）。

2型糖尿病のコントロールにおいて食事自己管理において、男性では炭水化物摂取量とHbA1cとの相関があり、女性では炭水化物摂取量とBMIや腹囲との相関があるとの報告もある（Taru，2008）が、偏った摂取制限の継続は健康状態の維持管理に課題が生じる可能性も否定できない。また、健康行動のレディネスと食事摂取には相関があり（瀧本，2010）、個別的な継続支援の効果も認められている（岩原ら，2001；小林，2014）。そのため、対象の準備状況や知識、意欲、食事行動、栄養摂取状況の適切な評価をふまえた継続可能な支援が有効であるといえる。

栄養・食生活と脂質代謝の関係についても多くの知見が得られており、血中コレステロ

ールが高いと冠状動脈硬化性心疾患のリスクが高まることも周知のことである。看護における研究では生活習慣改善指導と血液検査結果の関連性が検討され（曾我ら，2003）、集団及び個別的支援の重要性が示唆されている。また、脂質摂取量を適正にする教育介入によって脂質関連栄養素の低下がみられた報告（天野ら，2002）や食事記録による個別栄養指導により摂取エネルギーにおける動物性脂肪の摂取量の減少がみられ血清中コレステロール値の改善がみられたとの報告（渡邊ら，1999）もあるが、糖尿病患者への支援に対し高脂血症患者への支援に関する研究は少ない。

以上のように栄養・食生活研究がなされているが、食事療法の実態把握は質問紙による食行動や食事内容、自己管理意欲に関わるものや、インタビューによる食行動や食態度、自己管理の要因分析等が中心であり、食事内容も食品レベルや炭水化物、脂肪摂取等の三大栄養素レベルのみである。また、微量元素と代謝性疾患との関連性は、先にみたように多くの研究により報告されているが、医療・看護研究において微量元素も視野にいたした栄養・食生活調査及び指導を行なう例は少ない。今後、病態と栄養摂取状況との関連性をふまえた支援方策への究明が求められる。

糖尿病患者への栄養指導、高脂血症患者への栄養指導、透析患者の食事コントロールにおいては、そのステージに応じた適切な指導や管理が重要になるが、一方でその予防的対策が求められる。そのためには早期からの栄養教育が重要である。栄養・食生活の評価においては必須元素のみならず、微量元素も含めた栄養評価が求められ、今後、微量元素の究明とその成果をふまえた適切な栄養・食生活指導が一層求められるといえる。

Ⅱ 代謝性疾患と微量元素の関係性

1. 微量元素とは

ヒトが健康を保つ上で外界から摂取する必要がある元素を必須元素という（糸川，1994）。人体内に多量に存在する元素は主要な元素で組織や臓器の構成成分となる他、様々な機能も有しており、すべて必須元素である。主要な元素に比較して身体内に微量にしか存在しない元素を微量元素と呼ぶ。しかし、ヒトが健康を保持するために外界から摂取しなければならないことが証明されている元素はそれほど多くない。

ヒトに対する必須性が確立されたと考えられる最も確実な根拠となるのは、その微量元素が欠乏した時にヒトに欠乏症が発生し、その微量元素を与えることにより欠乏症が回復するという現象が証明されることである。例えば、鉄の欠乏による鉄欠乏症貧血やマンガ

ンの欠乏による骨発育不全、コバルトの欠乏による悪性貧血（ビタミンB12欠乏）、セレンの欠乏による克山病（心筋障害）、クロムの欠乏による耐糖能低下や神経障害が指摘されている（糸川，1994）。

また、微量元素を必須性の確実度からⅠ群、Ⅱ群に分けた資料（糸川，2003）によると、第Ⅰ群に属する、鉄、亜鉛、銅、マンガン、ヨウ素、セレン、モリブデン、コバルト、クロムは、ヒトで欠乏症が証明されている微量元素であり必須栄養素であることが確立されたと考えられている。第Ⅱ群はヒトでの欠乏症の報告はなく高等動物による動物実験で欠乏症の報告があるものとされている。第Ⅱ群には、フッ素、ケイ素、ルビジウム、臭素、鉛、アルミニウム、カドミウム、ホウ素、バナジウム、ヒ素、ニッケル、スズ、リチウムが挙げられている。これらの中には鉛、アルミニウム、カドミウム、ヒ素など従来有害金属と呼ばれた微量元素も含まれているが、その毒性は量の問題とバランスの問題に帰するので、従来の有害金属、必須金属という分け方は、現在は適切ではないと考えられている（糸川，2003）。

2. 代謝性疾患における各微量元素研究の動向

1) 銅

銅は成人の生体内に約 80 mg存在し、約 50%は筋肉や骨、約 10%は肝臓中に分布する。細胞内の過剰の銅は毒性を示すため、体内銅の恒常性は吸収量と排泄量の調節によって厳密に維持されている。なかでも肝臓を中心とした排泄系の意義は大きいとされている（厚労省，2014）。

銅は造血において必須性が認められており、セルロプラスミンやシトクロム c オキシダーゼをはじめとする様々な銅結合タンパク質の機能発現に必須であり、その欠乏によって鉄欠乏様貧血や骨形成異常などを生じるなど多くの酵素の構成成分であることが知られている。また、高血圧症において血漿中銅と血小板凝集との間に関連が示唆されている（Jethmalani，1990）。

肝臓疾患においては銅の上昇と亜鉛の低下が起こることが知られている。慢性肝炎、肝硬変症、原発性胆汁性肝硬変症及び健康成人の血清微量元素濃度を比較すると、慢性肝炎から肝硬変症へと病態が進展するにつれてカルシウム、マグネシウム、リン及び亜鉛の各濃度の低下と銅濃度の上昇が認められるが、原発性胆汁性肝硬変症ではリンと銅の濃度上昇が特徴的であるとされている（荒川，1990；荒川，1991）。廃用性筋萎縮では、筋の萎縮

は筋細胞自体の急速な委縮、すなわち細胞の急速な縮小を特徴としている。筋委縮進行過程における亜鉛、鉄、銅の組織レベルでの動態に関する研究において、鉄は有意に上昇し12日間で1.8倍となり、亜鉛は8日目まで上昇しその後減少するという二相性の変化を示したが、銅濃度には変化がみられなかったとの報告がある（糸川，1994）。

Durak（2010）は、糖尿病患者と健康人の血清レベルを比較し、糖尿病患者の銅が低いことを指摘している。Cebi（2011）は、冠動脈疾患患者の方が血清銅は低いとの結果を示し、Krachler（1997）は虚血性心疾患患者の血中銅の減少を指摘している。

Serdar（2009）は、非インスリン型糖尿病患者の血漿銅が健常者に比べて有意に高く、血漿中グリコヘモグロビンとの相関を指摘している。一方で維持血液透析患者の透析開始時の血清銅を測定した西村ら（2007）の報告では、糖尿病合併の有無と血清銅とは差異はないという結果であった。銅の不足は動脈硬化症をすすめるとの指摘（齊藤，2009）や動脈性高血圧症患者の血漿銅が低いとの報告もみられる（Goch，2005）。

実験動物において銅の血清脂質・動脈硬化病変への関与が明らかにされており、ヒトにおいても銅欠乏食を実験的に投与すると高脂血症を引き起こすことが観察され、健常者に銅補充を行なうことにより脂質パラメータが改善するという報告がなされてきた一方で、ヒトの血清銅濃度が高脂血症と正の相関を示すことを示した報告もあり、銅の脂質代謝に与える影響については十分に解明されていない（川田ら，2007）。

高齢入院患者に銅の少ない経腸栄養流動食を用いたところ低銅血症となるが、銅投与によって血清銅は有意に上昇し正常値に回復した（齊藤ら，2006）。経腸栄養投与例では血清銅の変化率は銅摂取量と相関していることが示唆されている。

銅の吸収において、一部は胃から大部分は小腸近位部から吸収されるといわれ、食事の銅が低濃度であれば能動輸送、高濃度であれば受動輸送が推定されている。摂食の銅が少ない時には効率よく吸収されて多い時には吸収率が低下するので全銅吸収量の増加は軽度に止まる。また、尿中銅の排泄は銅不足が強いと少なくなるとの指摘もあり（齊藤，2009）、生体内での恒常性が保たれていると考えられる。

可食部100g当り食品の含有量をみると、小麦300 μ g、玄米390 μ g、サツマイモ130 μ g、アーモンド970 μ g、納豆520 μ g、カキ生3500 μ g、豚もも160 μ g、鶏卵38 μ g、バナナ110 μ g、しめじ64 μ gなど多くの食品に含まれており、銅が0であるのは食塩のみである（鈴木，1999）。

2) 亜鉛

亜鉛は体内に約 2000 mg 存在し、主に骨格系、骨、肝臓、脳、腎臓などに分布する。その 85～90% が筋肉と骨に含まれている。食事中的亜鉛は食物の消化により生じるアミノ酸、有機酸、リン酸などと複合体を形成し、小腸から吸収される。加齢とともにその吸収率は低下する (本郷, 2003)。亜鉛の生理機能は、たんぱく質との結合によって発揮され、触媒作用、構造の維持機能、調節作用に大別される。

亜鉛の 1 日必要量は食事性的亜鉛の吸収率が 40% であることを考慮し成人で 15 mg とされている。日本人に不足しがちな微量元素はカルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅とされるが、特に高齢者では、血清亜鉛濃度は低値を示す。血中の亜鉛量は体内含有量の約 1% にすぎず、身体活動やストレスにより肝臓その他への体内シフトがみられる。血清亜鉛濃度は日内変動が指摘されており、午前 8 時に最高、午後 3 時に最低になる (宮田, 2010)。

亜鉛の欠乏の症状は、皮膚炎や味覚障害、慢性下痢、低アルブミン血症、汎血球減少、免疫機能障害、神経感覚障害、認知機能障害、成長遅延、性腺発育障害等が知られている (厚労省, 2014)。亜鉛、銅などの必須微量元素の欠乏は種々の免疫系の低下を誘発するとされ、特に亜鉛欠乏による免疫不全の特徴は、胸腺ならびに胸腺依存性リンパ組織の選択的萎縮とそれに伴う細胞性免疫不全が起こることが知られている (荒川, 1999)。また、亜鉛欠乏による貧血があることや重症の糖尿病では亜鉛の低下があることが知られている。

亜鉛と疾患に関しては多くの研究がなされており、肝疾患、膵疾患、循環器疾患腎疾患において低亜鉛血症がみられることが報告されている。亜鉛は膵臓の β 細胞の分泌顆粒に多量に存在し、インスリン分泌を調整し、解糖と糖新生に関与している。酸化ストレスはインスリン抵抗性を低下させるとされているが、亜鉛は酸化ストレスの影響を軽減させる可能性が示唆されている (Tamaki, 2014)。亜鉛はインスリン受容体の機能維持にも関与している (宮田, 2010)。桜井 (2012) はある種の亜鉛錯体がアディポネクチン増強作用をもち、II 型糖尿病の治療薬として開発可能であることを報告している。

亜鉛摂取と糖尿病との関連について検討した研究によると、1 型 2 型の糖尿病患者において血清亜鉛は健常者と比して低い傾向にあるとされており、塩味苦味の感度が鈍いと指摘されている (尾立ら, 2007)。2 型糖尿病患者において血清亜鉛濃度が低下するとの報告がなされており、その要因には、罹病期間の長期化、血糖コントロール不良、尿中亜鉛排泄量の増加、インスリン製剤の使用が関わっているとされている (木川ら, 2006)。さらに、糖尿病患者へ亜鉛投与をした結果、血中インスリン濃度が増加したとの指摘 (HegZi, 1992)

やHbA1cの改善がみられたとの報告もみられる（高松，2011）。

高血圧症及び非インスリン依存性糖尿病患者の血漿中銅及び亜鉛は、健常者の血漿中銅及び亜鉛と有意な差はみられないが年齢及びBMIと相関がみられたとの報告がある（Jethmalani, 1990）。外来通院中の糖尿病患者と健康成人のカルシウム、銅、鉄、マグネシウム、リン、亜鉛を測定し比較した研究では、糖尿病患者の血清において鉄とマグネシウムの低下、銅とリンの上昇、カルシウムの低下傾向があることが指摘されている。さらにHbA1c高値の重症糖尿病、中でも増殖性網膜症合併をもつ対象では、鉄と亜鉛の低値が認められ、糖尿病性神経症合併の対象ではカルシウム、鉄、マグネシウム及び亜鉛が低値であるとされている（荒川ら，1991）。このように、糖尿病の病態における生体内亜鉛濃度と重症化予防との関連性が示唆されている。

また、肝臓疾患においては銅の上昇と亜鉛の低下が起こることが知られている。耐糖能低下時のグルコース含有末梢静脈栄養により尿中亜鉛及びカルシウム排泄が促進されるとの指摘もある（東野ら，2000）。高齢入院患者の経腸栄養投与例と経口摂食例との比較をした研究では、血清亜鉛と亜鉛摂取量との関係は低いとの指摘もあり、血清亜鉛は摂取量以外の因子の関与が示唆されている（齊藤ら，2006；齊藤，2005）。一方で、透析患者の腎性骨異栄養症の進展を防ぐには亜鉛の適切な摂取が必要であるとの指摘もなされている（山鹿ら，1997）。

虚血性心疾患患者において全血亜鉛は正常範囲の下端またはそれ以下であったが血漿亜鉛は上昇したとの報告（Krachler, 1997）や、アテローム硬化と負の相関があり（Aalbers, 1985）、血清亜鉛が心拍変動性に影響を及ぼすとの報告（Jhun HJ, 2005）もあり、心血管疾患との関係が示唆される。亜鉛の抗酸化作用が動脈硬化を抑制する可能性も示唆されている（齊藤，2009）。

以上のことから代謝性疾患と亜鉛の関係性については、摂取量のみならず、他の微量元素とのバランスや肝機能や腎機能とその排泄能との関係等からも検討していくことが求められる。

可食部100g当りの食品の含有量をみると、小麦2300 μ g、玄米1700 μ g、サツマイモ240 μ g、アーモンド3300 μ g、納豆1200 μ g、ひらめ300 μ g、豚もも1700 μ g、鶏卵1200 μ g、オクラ800 μ g、いちご210 μ g、しめじ830 μ gなど多くの食品に含まれており、亜鉛が0であるのは食塩のみである（鈴木，1999）。

3) 鉛

鉛は古くから人類に利用されてきた重金属であり、すでに紀元前 3000 年頃にエジプトで用いられていたことが知られている。鉛は土壌中、大気中、水圏及び都市地表面などあらゆる場所に広く存在し、ヒトの体内へ摂取されている（川西，2003）。ヒトは日常生活において環境中に広く存在する鉛に絶えず暴露されている。職業的に暴露のないヒトにおいて、食物及び水から 1 日約 300 μg 、大気から経気道的に約 30 μg の計 330 μg の鉛を摂取していると計算されている。ヒトの体内には体重 1 kgあたり約 1.7 mgの鉛が存在すると推定されている。鉛については、すべての食品は微量の鉛を含んでいるとされており、J.Emsley らの文献によると、実験動物のラットでは鉛が欠乏すると貧血や成長障害が現れると報告されているが、その機能は未だ不明である。鉛は実験動物においては必須元素であり、鉄の代謝及び造血に関わると考えられている。ヒトにおいても必須元素である可能性が推定されているが、ヒトは日常的に鉛を摂取しているため必須性の証明は困難であるといわれている（川西ら，2003）。

鉛は過剰摂取により多臓器に障害をもたらす。気中鉛濃度と健康影響の関係についての研究によると、気中鉛濃度が上昇すると不定愁訴、消化器症状（食欲不振、悪心、腹痛、便秘等）、腎障害が出現する。鉛は血圧を上昇させる作用があり、動脈硬化を促進する。貧血や神経障害、腎障害、発癌性も示唆されている。

Antonowicz (1996) は、男性労働者の鉛曝露について研究し、血中鉛濃度が高く精錬所での鉛沈着の可能性を指摘した上で脂質代謝の有意な障害はないことを指摘した。さらに血中鉛とコレステロールには正の相関があることを指摘した。Sukumar (2007) は、頭髮と指爪の微量元素を測定し、頭髮と指爪の鉛濃度は相関していることを報告している。Serdar (2009) は、糖尿病患者の血漿鉛は有意に高く、血漿中グリコヘモグロビンと相関していると指摘した。冠動脈疾患患者の血清鉛が高いとの報告 (Cebi, 2011) や高血圧患者の血漿鉛が高いとの報告 (Goch, 2005) もあるが、代謝性疾患と生体内鉛濃度との関係に関する研究は少ない。

可食部 100 g 当り食品の含有量をみると、あわ精白粒 70 μg 、いかなご生 41 μg 、かぶ生 35 μg 、ざくろ生 9 μg 、干しのり 300 μg 、煎茶 150 μg である（鈴木，1999）。

4) カドミウム

カドミウムは地殻に約 0.1 mg/kg の濃度で分布している。また亜鉛、銅、鉛の鉱床には高濃度のカドミウムが共存し、これらの金属を採掘、精錬するときの副産物として得られる。

カドミウム汚染が知られているが、汚染の主な発生源は金属の採掘、精錬、カドミウムを含む廃棄物である。空気中に放出されたカドミウムは水中、土壌に堆積し、食物を經由して人間に蓄積されるといわれる。カドミウムの体内吸収経路は消化管、呼吸器、皮膚があり、体内に吸収されたカドミウムは全身の各臓器に運ばれる。呼吸器から吸入されたカドミウムの5~20%は肺に沈着し、そのうち50~100%は血液中に吸収される。血液中ではおもに血球中に存在し、高分子量と低分子量のたんぱく分画に結合している。カドミウム体内蓄積量の50%は腎臓に、15%は肝臓に、20%は筋肉に存在し、各臓器のカドミウム濃度は、年齢の増加につれて増加する傾向を示す。カドミウムを動物に単独投与すると肝臓に大部分が見いだされ、次いで再分布が生じ特に腎臓に集積されるといわれている。

可食部100g当り食品の含有量をみると、ジャガイモ塊茎生5 μ g、落花生乾32 μ g、かじき生32 μ g、おかひじき10 μ g、焼きのり88 μ gである(鈴木, 1999)。

人体への影響として、急性の経口暴露では、悪心、嘔吐、腹痛、下痢を生じ、重症ではショック状態となる。慢性中毒としては、腎臓に対する影響、呼吸器に対する影響、骨への影響として骨粗鬆症、骨軟化症、さらに貧血や発ガン性が指摘されている(能川, 2003)。

カドミウム腎症についてはイタイイタイ病に関わる多くの記録が残されている(松波, 2006; 松永ら, 1971; 萩野, 1968; 吉岡, 1970; 杉田, 2002)。

これまでの研究においては過剰による障害に関わる指摘が主であり、ヒトでカドミウムが必須元素であるという事実は報告されていないが、Ankeらのヤギを用いた実験でカドミウム欠乏の影響が報告されている。10年間に10回実験、カドミウム欠乏食、正常食を投与し観察したところ、欠乏食ヤギでは、低体重児出産が多く、体重増加も低い傾向がある、生殖行動が不活発で流産などが多く、出生時の生存率が低い、乳の生産量が少ないことが明らかにされ、欠乏症状として、動かない、首をまっすぐに上げないなどの筋力低下を示し、これらの症状はカドミウム正常食投与により改善するとされている(能川, 2003)。

以上のように主要元素である銅、亜鉛の研究においては代謝性疾患との関連性が指摘されているが、鉛、カドミウムにおいては必須性が推定されているもののその研究は極めて少ない。

第 3 章 電位差ストリッピング分析法による体液からの微量元素 (Cd、Pb、Cu、Zn) の測定と、健康人及び代謝性疾患患者における変動

第 1 節 電位差ストリッピング分析法による体液からの微量元素の測定方法の確立

I 緒言

生体内には多種類の金属元素が様々な濃度で存在しており、生命機能の維持に重要な役割を担っていることが明らかにされ、微量元素の生体機能に関する研究がすすめられている (糸川, 1994 ; 齊藤, 2009 ; 小山, 2009 ; 横井, 2009 ; Graeme, 1989)。一方、生体内の微量元素の濃度測定については、試料の前処理や測定方法に、やや複雑な手順を要するものが多いという問題があり、ルーチン検査としては応用しがたいという問題がある。

これまで、微量元素と健康状態、さらには疾病との関係を究明する研究の多くは、プラズマ発光分析装置 (ICP) 等による測定を基礎として進められてきた (矢嶋ら, 2002) が、ルーチン検査として最も利用しやすいのは、血液及び尿などの体液を直接に用いた微量元素濃度の測定である。

これに最も適しているのは、電位差ストリッピングアナライザー (Potentiometric stripping Analyzer; PSA) を用いた微量元素濃度測定法であるが、この方法は、自然界の液体や環境試料、飲料水や食品等に応用されてきたのが主であり (Gil, 1994; Jagner, 1979; Florence, 1982; Saei-Dehkordi SS, 2011; Gordillo MCT, 2001)、生体由来試料に用いた研究は少ない (Taylor, 1988)。

電位差ストリッピング法は、特定成分を微量分析するための方法で、目的成分が電極上に析出する電位をかけて電解して成分を電極上に濃縮した後、今度は目的成分が溶解する電位に変化させて電流を測定し、定量する方法である。

本研究においては、体液中から簡便な前処理法により短時間で測定できる方法を適用し、PSA 法により同時測定が可能な微量元素 (Cd, Pb, Cu) 及び人体にとって欠乏しやすい元素 (Zn) について、血液及び尿中の微量元素濃度を分析する方法について検討し、いくつかの知見を得た。

II 試料と方法

1. 試料と試薬

測定法の検討のための試料としては、血清標準試料 Seronorm™ Trace Elements Serum Level 1、Seronorm™ Trace Elements Serum Level 2 {SERO (Norway) 製} を用いた。塩酸、

酢酸は和光製試薬を用い、試料の希釈には、超純水作成装置、Milli-Q Advantage (Millipore) を用い作成した超純水を用いた。プレーティングにはアイネクス社製プレーティング溶液、1N (HgCl₂ in 1N HCL) 及び 0.05N (HgCl₂ in 0.05 N HCL) を用いた。検量線作成のためのカドミウム、鉛、銅、亜鉛標準液は、MERCK 製標準液を用いた。使用機器は STEROGLOSS 社製の電位差ストリッピングアナライザーION3 を用いた。

2. 測定方法

1) プレーティング：

電極のプレーティングには、機器のプロトコールにしたがい、カドミウム、鉛、銅の測定には、1 N 水銀プレーティング溶液 20ml を、亜鉛の測定には、0.05N 水銀プレーティング溶液 20ml を用いて 1 分間プレーティングを行った。

2) 試料の測定：

試料の希釈率については、機器の測定レベルが比較的、高感度であることから、少量での検出可能性を調べるため、予備実験を行った。その結果、希釈率が 1/200 となる 0.1ml の検体からでも安定性のある測定が可能であることが判明した。なお予備実験の結果、血清や尿を検体とする場合には、純水を希釈に用いるより、生理的食塩水 (0.9%NaCl) を用いた方が安定した結果が得られ、また測定にも誤差を生じさせないことが判明した。

カドミウム、鉛、銅の測定にあたっては、バッファーとして 17ml の生理的食塩水に加え、STEROGLOSS 社の測定マニュアルにしたがい pH 調整に 6M 塩酸 3ml を添加した。亜鉛の測定にあたっては、バッファーとして 19ml の生理的食塩水に、測定マニュアルにしたがい 1 M 酢酸ナトリウム (pH4.7) 1ml を加えた。検量線作成にあたっては、誤差要因を減し測定精度を上げるために、1ppm の各微量元素標準液 0.2ml の追加的添加を 2 回行い、3 点測定により定量した。定量プログラムは装置付属のソフトウェアのプロトコール設定にしたがった。測定範囲 (Integration Range) は、Cd (-691~-501mV)、Pb (-471~-400mV)、Cu (-364~-196mV)、Zn (-977~-798mV) に設定したが、これらの溶出電圧はすべて異なっている。また Cd、Pb、Cu は電離する pH は同じであるにも関わらず、酸化電位が異なっているため、同じ反応系で同時に測定できるという利点がある(表 2)。

測定は 2 回行い、それぞれの値を測定するとともに平均値をも算出し、ICP 法による測定によって得られた認証値と比較した。測定機器は STEROGLOSS 社製の電位差ストリッピングアナライザーION3 を用い、測定プロトコールに従い測定した。

なお1回の測定時間は15分～20分で完了するので、仮に2回測定しても1時間は要しないことが利点である。

3. 微量元素分析装置 ION3 による微量元素の測定方法

測定法の概略とその原理は以下のとおりである。

1) 装置の特徴

微量元素分析装置 ION3 (図1) は、ppb レベルの高感度分析が可能、カドミウム、鉛、銅の多元素同時分析が可能、アルゴンガスや排気設備を必要としない等の特徴があるとされる。また、電解分析においてその精度と再現性は電極に大きく依存するが、ION3の電極は、「グラファイト電極」「レファレンス電極」「プラチナ電極」の3つの電極(図2)と試料溶液を均一に攪拌するスターラで分析を行うことで高精度の分析が可能とされている。

分析においてすべての電気化学反応は「グラファイト電極」(作用電極)で行われる。この電極表面はストリッピング分析が行われる前に電気化学的コーティングにより水銀薄膜(PSA)を形成する。この操作をプレーティングといい、付属のプレーティング溶液で行う。参照電極である「レファレンス電極」は、グラファイト電極の電位が一定に保たれているかを監視する。補助電極である「プラチナ電極」は、小さな球体で融合されたプラチナ線によってつくられたアクティブチップを持っている。この電極の働きは、定電圧電解回路のフィードバック方向を遮断し、セル内に一定電流の流れを与えるものである。

2) ION3 の分析操作手順

分析操作手順は以下のとおりである。

- (1) ION3 の電源を入れソフトウェアを立ち上げる。
- (2) グラファイト電極に水銀膜を形成(プレーティング)を行うために、電極の表面をやわらかいティッシュできれいに拭く。
- (3) 20ml のプレーティング溶液を試料セルに入れて ION3 にセットし、1分間プレーティングを行い、電極上に水銀薄膜を作る。

カドミウム、鉛、銅：スタンダード水銀プレーティング溶液を使用

亜鉛：0.05N 水銀プレーティング溶液を使用

- (4) プレーティング溶液を入れた試料セルを取り外す。
- (5) 試料溶液をいれたサンプルセルを ION3 にセットする。
- (6) 試料の測定を開始する。

- (7) 1回目の測定が終了すると波形表示される。スクリーンには分析された元素のピークとエリア面積が表示される。必要時インテグレーションレンジ（測定範囲：電位値の上限と下限）の変更を行う。（図3）
- (8) 試料の測定が終了したら検量線作成のための標準溶液を添加する。各元素のスタンダード 1ppm を 0.2ml 添加する。正確な検量線を作成するために2回の添加を行う。
- (9) 1回目の標準溶液の測定が完了すると試料と1回目の標準溶液測定の波形が表示される。（図4）
- (10) 続けて2回目の標準溶液を1回目と同じ量添加し、測定を開始する。（図5）
- (11) 標準溶液の測定が終了すると検量線の直線率が作成、表示され分析結果が表示される。（図6）
- (12) カドミウム、鉛、銅の同時分析が可能である。（測定時間約15分）（図7）

3) 電位差ストリッピング分析の原理

ストリッピングとは再酸化によって金属イオンを電極から溶液へ戻すということである。

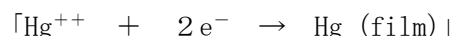
電位差ストリッピング分析法は、分析を行う前に感度を上げるために、未知試料中に存在する金属イオンを電解によって作用電極上で濃縮させる。PSA法では、作用電極に濃縮した全金属イオンが、未知試料を共に電解液の中に存在している強力な酸化剤（ Hg_2^{2+} ）によって、再酸化され溶液中に戻る。

ストリッピングの全ての過程で、各イオンに対して、電極電位は一定で、時間に対比した電位の変動が記録され、様々な金属イオンの放電に対応する定電位領域、すなわち平坦域が得られる。各イオンの再酸化を完了させるために必要な時間、イオン自体の濃度に比例しているが、各平坦域の定常電位値によって定性同定が得られる。

PSA法は、マトリックスの性質にほとんど影響を受けない化学作用によってストリッピングを行うという他にはない利点を持っているため、有機物の分解、又は無機物化を必要とせず、様々な有機試料の分析を可能にしている。

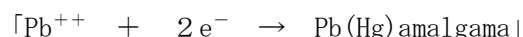
- (1) ステップ1：薄膜コーティング（プレーティング）

グラファイト電極上に水銀の薄膜を形成させる



- (2) ステップ2：還元（Hgアマルガム）

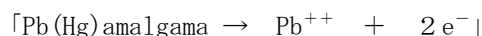
溶液中の金属をグラファイト電極上に析出させる



電解溶着段階で、作用電極の表面で包括的な還元反応が起きる。

(3) ステップ3：酸化（ストリッピング）

作用電極の電位は析出した金属の一つの酸化電位へ移行する。金属は再酸化されアマルガム化された金属が全て溶液中に戻りきるまで電極電位は安定状態を保つ。このときの電位に対して溶出電流を記録し、得られた電流－電位曲線から定性・定量を行う。



金属の電解溶着が終わると、定電圧電解回路が遮断され、「ストリッピング」段階が開始される。この段階で作用電極の電位は、溶着した金属の中の一つの酸化電位へ速やかに移行する。この時点で、金属は再酸化され、アマルガム化された金属が全て溶液中に戻りきるまで電極電位は安定状態を保つ。その後、次の金属の酸化電位となるまで、電位が再び移動を開始する。このプロセスは全ての溶着金属が再酸化されるまで繰り返され、作用電極が溶液と平衡電位になったところで終了する。

各金属が酸化するのに要する時間は、溶液によって溶解した酸化剤の電極への拡散、酸化剤の濃度及び反応の動力によって決まる。そのため、この時間は実験条件（攪拌速度、電極の性質及び表面など）と同様に酸化剤の性質と濃度に依存する。

溶液中の金属イオンの拡散係数、酸化剤の拡散係数、拡散層の厚さ、ストリッピング時間、ストリッピング中の拡散層の厚さ等による計算式により、溶液中の金属濃度が定量的に得られる。

III 結果

標準物質を測定して得られた濃度は表 3 に示した。血清標準試料 1 では、鉛は保証値 290ppb に対して PSA 法による 2 回測定の平均値が 272.3ppb、銅は保証値 1170ppb に対して 1281.45ppb、亜鉛は保証値 1330ppb に対して 1213.52ppb、カドミウムは保証値 0.2ppb に対して 0 であった。なお機器における検量グラフの例は図 8-10 に示す通りである。

IV 考察

体液中には多くの蛋白や脂質、糖質等が混入し、微量元素測定を阻害するのみならず、個人や生理的な状態によって、それら有機物や pH も異なっているので、測定には煩雑な前処理が必要であり、測定も困難であることが多い。しかし、前処理が多くなればなるほど試料からの成分ロスや外来物による汚染が起りやすいという問題もあり、可能なら出来

る限り簡便な前処理法で、短時間に結果の出せる方法を用いることは有意義であると考えられる。特に体液から測定する場合には、体液をそのまま試料として直接用いることができることが、測定値の信頼性の確保には有効であると考えられる。

ION3 は、ICP 法等の測定器と比較すると安価であり、溶液中の微量金属元素測定には簡便かつ高感度な方法として極めて有効であるとされている (Kalicanin, 2012) が、これを体液などの試料に用いるためのプロトコールが十分には確立していないという問題がある。

測定に関しては、精度管理が求められるが、その方法として標準試料を分析するという方法が有効であるとされる。標準試料とは天然試料で化学分析値が定められているものでありその値を保証値という。保証値は真の値に限りなく近い値とされ、この標準試料を用いて測定し、その測定値が保証値に近ければ近いほど測定法および測定技術がよいとされる (千葉, 1996)。

そこで本研究では、人体の試料としては比較的採取しやすい、血液や尿から電位差ストリッピングアナライザー法により測定可能かどうか、そして測定値にはいかなる特性があるかについて標準試料の測定を行い検討した。その結果、いずれの元素においてもその測定値の誤差は 5% 内外に収まっており PSA 法による測定の精度が確認された。

一方で、この方法には多くの長所とともに、考慮しなければならない問題があることが明らかとなった。まず、電位差ストリッピングアナライザーは基本的には溶液の電導率をベースに測定するため、通電性を阻害するような有機物、例えば脂質や蛋白が過剰になると、これらが電極に付着して測定に失敗することや変動しやすい可能性がある。したがって、出来る限り、混入有機物の影響を小さくするには、試料の希釈率を必要最大にして、測定することが有効であることが予測され、結果として 0.1ml の試料添加で安定した測定が可能であることが判明した。また希釈率が大きくなると、必要な試料が少なくてすむという利点がある反面、測定ごとの誤差が大きくなりやすいという欠点もある。今回の希釈率では、誤差についても同様に 200 倍に拡大されるので、正確な測定に注意が必要であるが、測定は少なくとも 2 回以上行い、平均値をとることによって、より精度の高い結果を得ることができる。

また希釈バッファーとしては、通常は純水で測定することが通常のプロトコールであるが、純水ではなく生理的食塩水をバッファーにすることで、通電性が高くなることから、エラーの少ない測定が可能であることも判明した。また検量線も試料ごとに作成されるので誤差の少ない測定が可能になると考えられる。

またカドミウム測定では ICP 法において 5ppb 以下は検出限界以下であるため、0 と判定される。したがって 0 と測定されている場合でも 5ppb 以下は存在している可能性がある。ただし、それ以上の値を有する試料からの測定では再現性のある測定値を検出していたため、5ppb 以上では誤差は大きくなく、測定は有効であると考えられる。また銅の血清中濃度については、PSA 法による期待値に最も近い値が得られた。いずれの値についても PSA 値の大小関係はほぼ正しく ICP 法の大小関係と対応しているため、相対値としては PSA 法については正しく測定されているものと考えられ、少なくともスクリーニング検査やあるいは追跡検査については極めて有効であると考えられる。

確かに PSA 法についての問題点を指摘する報告も認められる (Ostapczuk, 1993) が、これは測定方法が簡便であるためにやや厳しい指摘がなされていることも考慮すべきであろう。今回の標準試料の測定結果から ION3 は測定時間が短時間で比較的安定した結果が得られており、PSA 法による相対値としての比較や、経過による変動を把握するには有効であり、簡易な測定法としては十分な精度があると考えられる。

カドミウム、セレンと亜鉛の濃度が、前立腺癌の腫瘍マーカーである PSA (Prostate Specific Antigen) の変動と相関しているという報告 (Gray, 2005) もあるように、体液試料から簡便かつ迅速に結果が得られることから、大量の測定値が迅速に得られる PSA 法についての有効性と限界を明らかにしつつ、スクリーニング検査として応用していくことは重要であると考えられる。

第2節 健康な成人の血液及び尿中の微量元素 (Cd、Pb、Cu、Zn) 濃度

I はじめに

生体内には多種類の金属元素が様々な濃度で存在しており、生命機能の維持に重要な役割を担っていることが明らかにされ、微量元素の生体機能に関する研究がすすめられている (糸川, 1994; 齊藤, 2009; 小山, 2009; 横井, 2009)。微量元素と健康状態、さらには疾病との関係を究明する研究の進展が求められている (青木, 2008) が、そのためにはまず、健康な成人の血液及び尿中の微量元素濃度の確定が基礎となる。しかし、必須元素である鉄や亜鉛に関する研究は比較的多いものの、銅や鉛、カドミウムについては体内における血液と尿の関連において微量元素の実態について明らかにした研究は少ない。また、血液及び尿中の微量元素濃度については、測定法も含めて十分に解明されているとはいえない。

そこで、本研究においては、体液中から簡便な前処理法により短時間で測定できる方法を適用し、これまでに基礎データが比較的乏しい微量元素 (Cd, Pb, Cu, Zn) に着目し、他の微量元素との関連性や、同一人における異なった体液間 (血液と尿) の関連性を明らかにし、生体における微量元素の実態とその機能について究明することを目的として、健康な成人男女の血液及び尿中の微量元素濃度を分析し、有意義な知見を得たので報告する。

II 対象と方法

対象は、健康な成人 (21歳~56歳) 81名である。男性43名、女性38名であり、平均年齢はそれぞれ 28.19 ± 11.16 歳、 28.29 ± 9.6 歳であった (表4)。年齢層としては、成長期や加齢の影響を受けないように、比較的若年の成人を選択した。

対象者の選定にあたっては機縁法により事前に施設の責任者に許可を得たAクリニックのスタッフとB大学学生で、高血圧症、高脂血症、血糖異常を指摘されたことがなく治療歴のないものとした。データ収集期間は、2007年8月~2008年3月である。血液及び尿の採取は午前に行った。

研究への参加承諾には自由意志を尊重し、データの匿名性を保持することについて説明し同意を得た。本研究は、筑波大学の医の倫理委員会の承認を得た (承認番号;553-1)。

試料は、血液、尿を採取し、血液は血清分離した。血清、尿をさらに 3000rpm で 10 分間遠心分離し上澄みを 0.1ml 採取した。

測定器械としては、液体試料からの微量金属元素測定が可能な、STEROGLASS 社製の電位

差ストリッピングアナライザーION3を用いた。ION3は、電気化学分析法の一つである、PSA（電位差ストリッピング分析）により微量金属元素の定性、定量を行う分析装置であり、ppbレベルの高感度分析が可能であるとされる。

ICP-MS(inductively coupled plasma mass spectrometry)、ICP-AES(inductively coupled plasma atomic emission spectrometry)は検出限界がppb～pptレベルと高感度であり、多元素同時分析ができる特徴を有するが、特に血液や尿などの体液試料の場合には、共存する有機物や塩類を除去するための試料のやや複雑な前処理が困難である。それに対してION3は、前処理が容易であり塩酸や硫酸を含む液体溶液の分析が可能であるという特徴をもつ。

カドミウム、鉛、銅の測定にあたっては、バッファーとして生理的食塩水に加えた濃塩酸を用い、亜鉛の測定にあたっては、バッファーとして生理的食塩水に加えた酢酸ナトリウムを用いた。コントロールとして1ppmの各標準液(WAKO)を用いた。

分析は、統計解析プログラムSPSS 15.0 for Windowsを用いて統計学的に分析した。血清及び尿中の微量元素濃度に関する基本統計量を算出した。男女別及び年齢区分別の平均値の差の検定にはt-testを行った。元素間の相関についてはピアソンの積率相関係数を用いた。血液と尿との関係については、対応サンプルにおける検定を行った。

III 結果

1. 血清中の微量元素濃度

1) 男女別の血清中の微量元素濃度

男女別にみた血清中の微量元素濃度を表5に示した。t-testにより両群の有意検定を行った結果、何れの元素も有意差は認められなかった。血液中の濃度の低い順にあげると、男性は、カドミウム(1.95±6.9)、鉛(74.95±151.44)、亜鉛(195.6±339.0)銅(1526.12±3367.03)、であった。女性では、カドミウム(0.64±3.14)、鉛(50.91±92.37)、亜鉛(277.8±384.0)、銅(2986.52±3840.56)、であった。男女差はなかった。

2) 年齢区分別の血清中の微量元素濃度

20歳代と30歳以上との血清中の微量元素濃度を比較した結果を表6に示した。

t-testにより両群の有意検定を行った結果、カドミウムは、20歳代1.82±6.36ppb、30歳以上0.00であり、20歳代の方が有意に高かった(p<0.05)。

銅は、20歳代2452.48±4018.47ppb、30歳以上1137.93±1396.90ppbであり、20歳代の

方が有意に高かった ($p < 0.05$)。鉛、亜鉛は年齢による差は認められなかった。

3) 血清中の微量元素間相関

血清中の微量元素間の関連をみるために相関係数を調べた結果を表 7 に示した。

男性では、Pb-Cu 間 ($0.34, p < 0.05$) において有意な正の相関がみられた。女性でも有意差はないが、正の相関が認められた。女性では、Cu-Zn 間 ($-0.44, p < 0.05$) で有意な負の相関がみられた。男性でも有意差はないが、弱い負の相関が認められた。

2. 尿中の微量元素濃度

1) 男女別の尿中の微量元素濃度

男女別にみた尿中の微量元素濃度を表 8 に示した。t-test により両群の有意検定を行った結果、何れの元素も有意差は認められなかった。尿中の濃度の低い順にあげると、男性は、カドミウム (6.62 ± 12.34)、鉛 (108.28 ± 89.22)、亜鉛 (135.9 ± 87.98)、銅 (3343.46 ± 5068.48) であった。女性では、カドミウム (9.44 ± 17.15)、鉛 (112.90 ± 106.71)、亜鉛 (160.7 ± 246.1)、銅 (3403.95 ± 5148.01) であった。血液の順序と差異はなかった。

2) 年齢区分別の尿中の微量元素濃度

20 歳代と 30 歳以上との尿中の微量元素濃度を比較した結果を表 9 に示した。t-test により両群の有意検定を行った結果、鉛は、20 歳代 149.26 ± 100.46 ppb、30 歳以上 59.29 ± 66.52 ppb であり、20 歳代の方が有意に高かった ($p < 0.01$)。カドミウム、銅、亜鉛は年齢による差は認められなかった。

3) 尿中の微量元素間相関

尿中の微量元素間の関連をみるために相関係数を調べた結果を表 10 に示した。男性では、Cu-Zn 間 ($0.60, p < 0.05$) において有意な正の相関がみられた。女性でも有意差はないが、正の相関が認められた。女性では、Zn-Cd 間 ($0.66, p < 0.01$)、Zn-Pb 間 ($0.57, p < 0.01$) で有意な正の相関がみられた。男性でも有意差はないが、Zn-Cd 間で正の相関が認められた。Zn-Pb 間では負の相関があった。

3. 血清中微量元素濃度と尿中微量元素濃度との関係

1) 血清と尿の相関

血清と尿との相関をみた結果は表 11 に示した。男性、女性ともに、鉛(男性 $0.71, p < 0.001$ 、女性 $0.46, p < 0.05$) において有意な強い正の相関が認められた。

銅と亜鉛についてもサンプル数が少ないため有意差はなかったが、明らかに正の相関があった。カドミウムについては弱いながら血清と尿で負の相関の傾向が認められた。

2) 血清と尿の比較

血清中の微量元素濃度と尿中の微量元素濃度を対応サンプルにおいて比較を行った結果を表 12 に示した。男性では、カドミウムは、血清 (0.02 ± 0.09) より、尿 (7.36 ± 12.82) の方が有意に高かった。女性も同様に、カドミウムで血清 (0.84 ± 3.84) より、尿 (9.89 ± 17.44) の方が有意に高かった。全体では、亜鉛で血清 (2623.34 ± 3381.34) の方が尿 (1480.15 ± 1938.30) より有意に高かったが、男女間では有意な差は認められなかった。

IV 結果の要約

1. 血清中の微量元素濃度について

- 1) 男女別にみた血清中の微量元素濃度については何れの元素も有意差は認められなかった。血液中の濃度の低い順にあげると、カドミウム、鉛、亜鉛、銅であった。
- 2) カドミウムは、30 歳以上より 20 歳代の方が有意に高かった ($p < 0.05$)。銅は、20 歳代の方が、30 歳以上より有意に高かった ($p < 0.05$)。鉛、亜鉛は年齢による差は認められなかった。
- 3) 男性では、Pb-Cu 間において有意な正の相関がみられた。女性でも有意差はないが、正の相関が認められた。女性では、Cu-Zn 間で有意な負の相関がみられた。男性でも有意差はないが、負の相関が認められた。

Pb-Cu 間は両者に正の関連性が高く、Cu-Zn 間は負の関連性がある可能性が示唆された。

2. 尿中の微量元素濃度について

- 1) 血液中の濃度の低い順にあげると、カドミウム、鉛、亜鉛、銅であった。血液の順序と差異はなかった。
- 2) 20 歳代と 30 歳以上との尿中の微量元素濃度を比較すると、鉛は 20 歳代の方が有意に高かった。カドミウム、銅、亜鉛は年齢による差は認められなかった。
- 3) 男性では、Cu-Zn 間において有意な正の相関がみられた。女性でも有意差はないが、正の相関が認められた。女性では、Zn-Cd、Zn-Pb で有意な正の相関がみられた。男性でも有意差はないが、Zn-Cd で正の相関が認められた。Zn-Pb では負の相関があった。

3. 血清中微量元素濃度と尿中微量元素濃度との関係

1) 血清と尿の相関

血清と尿との相関をみたところ男性、女性ともに、鉛において有意な正の相関がみとめられた。銅と亜鉛についても有意差はなかったが、正の相関があった。カドミウムについては弱いながら負の相関がある傾向が認められた。

2) 血清と尿の比較

男女とも、カドミウムは、血清より尿の方が有意に高かった。亜鉛では血清の方が尿より有意に高かった。亜鉛で血清 (2623.34 ± 3381.34) の方が尿 (1480.15 ± 1938.30) より有意に高かった。

V 考察

今回測定した微量元素は、結果として性差はほとんどなく、わずかに年齢による差異が示唆された。また血液中の微量金属元素は必須性が高いとされる亜鉛で血清中の方が尿より高く、どちらかという有害性が示唆されているカドミウムや鉛では血清中よりやや尿中の方が高いという傾向が見られたがこれは合理的である。一般的には体内に保持されなければならない元素と保持されてはならない元素との違いが現れているとみられるが、これは体内での許容濃度のみならず体外からの流入量（食事）と関係していると考えられるため、一概に必須元素と有害元素のゆえんとして解釈することには注意が必要である。

一般的に言えば特に鉛において顕著に見られたように、尿中の濃度は血清中の濃度をほぼ反映すると言えることから血液サンプルが得られない場合には、試料として採取しやすい尿を代用として測定することも意味があると考えられる。一方、銅は血清中、尿中ともに標準偏差が大きく、摂取量や排泄量も比較的多い。このことは、銅は比較的食物から取り入れやすい反面、体内において比較的早い入れ替えが行われていることを示唆している。

また男性では、Pb-Cu 間 ($0.34, p < 0.05$) において有意な正の相関がみられ、女性では、Cu-Zn 間 ($-0.44, p < 0.05$) で有意な負の相関がみられ、男性でも有意差はないが、弱い負の相関が認められた。

Pb-Cu 間及び Cu-Zn 間には男女ともに連関が見られる可能性が示唆されたが、銅を中心として鉛と亜鉛が何らかの連関を持って変動していることは重要な意味があると思われる。

カドミウムは、血清及び尿中において男女とも最も少なく 10ppb 以下であった。尿中の排泄濃度が血清中濃度を上回っており、微量であるが常に取り入れられ、排泄されるとい

う変動が大きいものの、常に極微量のカドミウムが体内では保持されていると考えられる。カドミウムについては有害性のみが強調されがちである（中川，1933；松浪，2006）が、微量であるとはいえ、体液中に常に微量ながら循環していることは事実であることから、生体の機能にとって何らかの必須元素としての働きを行っている可能性は否定できない。カドミウムの毒性は亜セレン酸の同時投与によって抑制されるという報告（木村，1987）もあり、カドミウムを単体としての働きではなく他の元素との関係においてその機能をとらえていく必要があると考えられる。今回の結果では、尿中濃度において、亜鉛との相関が認められた。亜鉛の精錬過程でカドミウムが取り出される（能川，2003）ことから、自然の鉱石中では両者は混在している。自然界の物質が人体内に取り込まれていくという過程をしっかりととらえる必要があるが、両者の生理的な関連性も考慮する必要がある。

鉛は過剰摂取により多臓器に障害をもたらす多彩な臨床症状を示す（川西，2003）。Teresa Lech は、リウマチ疾患の子どもの毛髪中の鉛は、健康な子どもより有意に増加していることを指摘している（Teresa Lech ， 2002a；Teresa Lech ， 2002b）。今回の結果では、血清及び尿中濃度は、男女ともカドミウムに次いで低かった。特に男性では血液中の銅と低い相関がみられた。また、血中濃度と尿中濃度には差異はみられず血清中鉛濃度と尿中鉛濃度は有意に相関していたことから、正常では体内には蓄積傾向は少ないと見られる。

尿中鉛は鉛暴露の指標となるといわれる（千葉ら，1996）が、今回の結果でも血清中鉛濃度と尿中鉛濃度は有意に相関していたことから、今後、尿中の鉛濃度から生体影響を推測することの妥当性が示唆されたといえる。

生体と銅との関係については、銅酵素と銅結合たんぱく質について研究が多くなされ、その機能について明らかにされている（岩井，2008）。今回の結果では、有意な差はなかったが血清中濃度より尿中濃度の方が高かった。血清中の微量元素間の関係をみると、血液と尿との関係では、血清中濃度が少し尿中濃度よりも高いことから、わずかに蓄積性の傾向があるが、大きな差はみられなかったことから排泄は早いとみられる。

Vasiliki（2007）は、ギリシアの3～14歳の健康な子どもの血清中の銅濃度及び亜鉛濃度を調べた結果、男女差はみられなかったとしている。小児における年齢との関係では、亜鉛では年齢が高い方が濃度が高く、銅では年齢は小さい方が濃度が低いという結果を示している。今回の結果では、血清中の銅は、20歳代の方が30歳以上より濃度が高かったが、このことは若年者に亜鉛濃度が高い傾向があることを示している。さらに高齢者の場合にどうなるか、もっと年齢を広げて調査する必要がある。Saitoら（1994）は、北海道住民の

血液中の微量元素を測定しているが、56-60歳の女性において銅が高いことを指摘している。

また、過重体重の子どもは、正常の子どもよりも血漿中の銅濃度が有意に高く、血中脂質との相関がみられることも報告されている (S. C. V. C. Lima, 2006) ことから、成人においても体重や血液データさらには動脈硬化危険因子と銅との関係についての検討が求められる。

亜鉛は欠乏による神経症状として、嗅覚、味覚障害が知られている他、失調や行動異常、認知症などの報告もみられる (紀平, 2006)。今回の対応サンプルの比較の結果では、尿中濃度の平均値より血清中の濃度が有意に高かったため、排泄は抑えられている傾向がある。これは必須性のみならず体内における安定性についても考慮しなければならない。

以上、生体にとって必須微量元素とされる銅、亜鉛と、必須性が示唆されながらも有害性が指摘される元素としてカドミウム、鉛について健康成人における血清中及び尿中の濃度について、性別、年齢別にその実態を把握し、さらに各微量元素間の相関及び血清と尿との関係について検討した。その結果、血液と尿中の濃度は多くの場合、正の相関が見られ、尿検査においても微量元素測定が十分に可能であることが明らかになった。有害元素といわれるカドミウム、鉛も血清中、尿中に一定量存在しており、生体において必須性が示唆された。また若年層にこれらの元素がやや高濃度であることは、これら元素の成長期における必須性を検討する必要があることも示唆される。腎の排泄障害、あるいはそれらを必要にする生理状態に陥った場合にカドミウム、鉛が蓄積される可能性が示唆された。そのためカドミウムや鉛などの有害とされる元素については肝機能及び腎機能を踏まえた上での評価が必要である。

第3節 代謝性疾患を有する患者の微量元素 (Pb、Cu、Zn) の変動

I 序論

微量元素は様々な濃度で人体に生理的に存在する。これらの微量元素の生化学機能と代謝疾患との関係を調査している多くの研究がある (荒川, 2006)。

例えば、亜鉛と銅は多数の代謝反応の必須元素であることが示されてきた (Pizent, 2010 ; Kazi, , 2008)。高濃度による毒性が指摘されている鉛は、骨髄造血のために不可欠であると言われている (Huskisson, 2007 ; Grandjean, 1983 ; Gidlow, 2004)。

糖尿病を有する患者の生体内微量元素については以下のことが知られている。

Serdar (2009) は、インスリン非依存型糖尿病患者、耐糖能異常のある者や空腹時血糖値に異常のある者と健常対照者との血漿微量元素濃度の比較を行い、糖尿病患者および空腹時血糖値の高い者の血漿中鉛と銅が対照群に比べて有意に高いことを明らかにした。また、血漿中グリコヘモグロビンと鉛、銅、カドミウムは相関しており、糖代謝障害の慢性合併症が微量元素と関わっていると指摘している。Naka (2013) は血清銅値とHbA1c値とは正の相関があることを指摘し、血糖管理の改善は血清銅値の減少に関与していることを示し、2型糖尿病患者の血糖管理は血清銅値と関連している可能性を指摘した。

糖尿病低エネルギー食では亜鉛、銅が不足しているとの報告 (佐藤, 2005 ; 鈴木, 1996) があり、糖尿病患者の毛髪及び血清中の微量元素を検討した林ら (1995) は、毛髪中、血清中ともに亜鉛は低下傾向にあり、高血糖に伴った微量元素の排泄量の増加や糖尿病食での食事制限による摂取不足が要因ではないかと指摘している。

糖尿病治療には亜鉛錯体が有効であるとの研究が重ねられており、亜鉛錯体が顕著な血糖降下作用を示したとの報告 (Rasheed, 2008) や、アリキシンから誘導合成された化合物チオアリキシン-N-メチルの亜鉛錯体が2型糖尿病のみならず、高血圧や脂質代謝の改善にも関与しているとの報告 (桜井, 2012) がある。

脂質代謝異常と生体内微量元素との関連では、高血圧及び虚血性心疾患、冠動脈疾患患者の研究がみられる。

Cebi ら (2011) は、冠動脈疾患患者における血清微量元素濃度を健常対照者と比較し、患者の方が血清鉛濃度は高く、血清銅は低いことを明らかにした。Krachler ら (1997) は、虚血性心疾患患者の血中銅の減少、全血中亜鉛の減少と血漿中亜鉛の上昇を指摘した。

鉛とコレステロール間に負の相関があるとの報告 (Antonowicz, 1996) もあるが、鉛に関する研究は少ない。

中島 (1996) は、健診受診者 30 代から 50 代を対象として微量元素との関係を調査し、

血圧が高い群では銅が高く、総コレステロール高値の群では亜鉛と銅が高い傾向にあることを指摘している。中性脂肪高値でも亜鉛は高値を示す傾向にあった。

以上のように、糖尿病と亜鉛に関する研究は少なからずみられるが、脂質異常症と微量元素についての研究や鉛についての報告は少なく、糖尿病や脂質異常症の発症予防及び重症化予防との関わりに関する研究のさらなる蓄積が求められている。

そこで、本研究では、代謝性疾患を有する患者と正常人とを比較し、微量元素（鉛、銅、亜鉛）と糖尿病・脂質異常症との関連を明らかにし、代謝性疾患の早期発見の指標として微量元素測定値の活用の可能性について示唆を得ることを目的として研究を行った。

代謝性疾患のような健康条件を把握するためには、多数の検体で微量元素濃度を迅速に測定する単純な方法が必要である（Wada, 1972）。近年では、誘導結合プラズマ（ICP）発光分析が、同時に複数の要素を測定することが可能であるため、多くの研究で使われている（Graeme, 1989）が、この方法を使用するとき大量のアルゴンガスと適当な廃棄施設が必要であるため、設置に限定がある。一方、電位差測定ストリッピング分析（PSA）はいくつかの長所があり、ガス供給システムの必要なしで、体液から直接かつ迅速に測定することができ、微量元素濃度を測定するための簡便法であるという利点がある（Hramel, 1988 ; Gil, 1994）。さらに、複数の微量元素（カドミウム、鉛と銅）の同時測定が可能である。したがって、本研究では、すでに確立したION3の高感度検出法を応用し、代謝異常患者の試料を用いて銅、亜鉛と鉛の血清濃度を測定した。

II 対象と方法

対象は、A県内クリニックの受診者であり、高血糖症または高脂血症のいずれかを有する患者で合併症がなくインスリン療法を受けていない者とした。高血糖症と高脂血症を合併している者、肝機能異常や腎機能異常のある重症患者は除外した。対照群は、健康診断のため受診した高血糖症、高脂血症の治療歴がない者とした。性別は、男性34名、女性32名であり、年齢は61～69歳であった。データ収集期間は、2007年～2012年である。対象者はいずれも朝食を抜いて（少なくとも12時間の絶食の後）、午前中に血液を採取した。

対象の身長、体重、BMI、血液生化学検査（トリグリセリド、総コレステロール、血清グルコース）および血清微量元素濃度（亜鉛、銅、鉛）を把握した。

また、高脂血症及び高血糖症にて継続受診している患者数名について、微量元素濃度と血液生化学検査の経過データを把握し、初回診察時に微量元素摂取状況を把握するための食事調査を実施した。

微量元素摂取状況を把握するための食事調査は、エクセル栄養君Ver. 4.5による食事摂取頻度調査FFQgを用いた。エクセル栄養君（建帛社）は、国民栄養調査の食品群分類（中分類）に基づく29の食品グループと10種類の調理法から構成される調査票により、1週間を単位とした食物摂取量（portion size）と摂取頻度（food frequency）から食品群別摂取量・栄養素摂取量を推定し、評価する食物摂取頻度調査ソフトである。

分析にあたって、対象をトリグリセリド（正常<150mg/dl）、総コレステロール（正常<220mg/dl）または血清グルコース（正常<110mg/dl）のそれぞれのレベルで区分して、正常であるものと異常な群とに分類した。これらの対象の身体的な特徴は、表13に示したとおりである。

すべての参加者はボランティアで、研究の前に書面でのインフォームドコンセントをした。本研究は、筑波大学の医の倫理委員会の承認を得た（承認番号;553-1）。

微量元素の測定方法は以下のとおりである。

血液サンプルは凝固させたまま10～20分間室温に保ち、3分間3000rpmで遠心分離し、上澄みの0.1mlの血漿をPSA分析（ION 3を使用）のために集めた。

機器のプロトコールに従い、0.05N水銀プレーティング溶液20mlを用いて1分間のプレーティングを行なった後、100 μ lの血清の亜鉛は、19mlの生理的食塩水に1M酢酸ナトリウム（ph4.7）1mlを加えた20mlのバッファーで測定した。

100 μ lの血清の銅と鉛は、1N水銀プレーティング溶液20mlを用いて1分間プレーティングを行なった後、17mlの生理的食塩水に6M塩酸3mlを加えた20mlのバッファーで測定した。

予備試験では、ION 3は、希釈率が1/200となる0.1mlの血清からでも安定性のある微量元素濃度の測定が可能であることが証明できた。

検量線作成にあたっては1ppmの銅、鉛、亜鉛の各微量元素標準液0.2mlの追加的添加を2回行い、3点測定により定量した。定量プログラムは装置付属のソフトウェアのプロトコール設定にしたがった。測定範囲（Integration Range）は、Pb（-471～-400mV）、Cu（-364～-196mV）、Zn（-977～-798mM）に設定した。

III 結果

1. 血清中の鉛、銅、亜鉛濃度比較

被験者の血清中の鉛、銅と亜鉛の濃度は、表14～16にまとめられる。

まず血清中の鉛濃度について言えば統計的に有意差を見出すことができた。

鉛の濃度は高血糖群の被験者で中等度に低下した（1.46倍）が、高トリグリセリド（1.17倍）と高コレステロール（1.31倍）を持つ患者では、鉛濃度はわずかに上昇していた。

銅濃度は、高血糖群（0.33倍の減少）と高コレステロール血症群（3.52倍の増加）において、統計的に有意差を示した。

高トリグリセリド血症の被験者群において、銅濃度は著明な増加（1.33倍）を示した。

亜鉛レベルは、高トリグリセリド血症の被験者群（0.29倍）で有意に減少していた。

血清中の亜鉛濃度における有意差は高コレステロール血症の被験者群でも見られ、0.59倍に減少していた。トリグリセリド濃度は、コレステロール濃度とも明らかに相関しており、ほぼ同様の上昇傾向を示していた。

相関分析では血清中の銅と鉛濃度（表17）の間に有意な正の相関を示した。また銅濃度とトリグリセリド濃度の間に正の相関があったことを確認した。しかしながら、グルコース濃度は、トリグリセリドとコレステロール濃度と負の相関があった。

2. 高脂血症患者及び高血糖症患者の経過観察及び食事調査結果の一例

高脂血症患者と高血糖症患者の経過観察のデータ（図 11-12）を示す。いずれの患者でも大なり小なり血液中の中性脂肪の値と銅濃度、血糖と亜鉛濃度の増加に類似性が認められた。

高脂血症患者と高血糖患者の食事調査結果のデータは表 18～20 に示したとおりである。この食事調査は1週間の食品摂取状況から1日の摂取量を算定するものであり、日々の変動による影響を最小に考案されたものである。いずれの患者でも亜鉛摂取量が基準値に満たない状況であった。銅の摂取状況は個人差があった。

IV 考察

PSA法を使用して、代謝性疾患を有する患者と正常人の微量元素濃度（鉛、銅、亜鉛）を測定し、高血糖、高トリグリセリド血症と高コレステロール血症の有無と微量元素濃度の変動にどのような関連があるかの検討を行った。

その結果、銅と鉛濃度が、すべての検体で相関していることが明らかとなった。また、これらの微量元素の生理的な関係性の崩れがこれらの代謝性疾患で起こる場合があることが示唆された。

微量元素ごとにその結果をみていくと、まず、鉛の濃度は、高血糖群の被験者で中等度に低下したが、トリグリセリド高群と総コレステロール高群では、鉛濃度はわずかに上昇していた。

Antonowicz (1996) によれば、鉛とコレステロール間には負の相関があるとされているが、今回の結果ではトリグリセリドおよび総コレステロールと血清鉛濃度は正の相関が認

められた。鉛は動脈硬化を促進し、高血圧患者の血漿鉛は高いことが指摘されており (Goch, 2005)、冠動脈疾患患者の血清鉛濃度は上昇するとの報告 (Cebi, 2011) もあることから、血清鉛濃度は、血清脂質との関連があり、脂質異常症から動脈硬化への進行を予測する指標になりうる可能性が示唆された。

次に銅濃度をみていくと、銅濃度は、総コレステロールとトリグリセリドと正の相関が認められた。また、高コレステロール血症群と高トリグリセリド血症の被験者群において、銅濃度は著明な増加を示した。

動脈硬化症では動脈壁に酸化脂質や酸化蛋白が貯留・増加し、抗酸化能が低下しているとされるが、血清中の銅が酸化を亢進するとの指摘 (齊藤, 2009) もあることから、銅の過剰は、脂質異常症、さらには動脈硬化症と関連することが示唆される。血清鉛との有意な正の相関があり、以上のことから、これら血清鉛と血清銅はいずれも脂質異常症の指標になりうると考えられた。

一方、低栄養状態の銅欠乏患者に銅補充を行なうと中性脂肪が有意に増加し、栄養状態が改善するとの報告 (川田, 2007) もあることから、血清銅のバランスは栄養状態とあわせて評価することも重要である。

高血糖群では銅濃度は有意な減少が認められた。これは糖尿病患者の血漿銅は高いと指摘している Serder (2009) の報告とは異なる結果であったが、Durak (2010) の報告とは一致している。また、血清銅値はHbA1c値と正の相関があり、血糖管理の改善が血清銅値の減少に関与するとの報告 (Naka, 2013) があるが、今回の結果では、血清グルコース値とは負の相関が示された。

続いて亜鉛濃度をみていくと、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症の被験者群において有意に減少していた。中島 (1996) は亜鉛濃度の低下によるアテローム硬化症の発生への関与や亜鉛の吸収を阻害する銅との不均衡が高コレステロール血症を発生させる要因であると指摘しているが、今回の結果においても亜鉛濃度の低下は脂質異常症との関連が示唆された。

一方、高血糖群では亜鉛濃度は高い結果であった。これまでの研究の多くは糖尿病患者の血清亜鉛の低下を指摘している。合併症のある糖尿病患者では、増殖性網膜症合併群で鉄と亜鉛の低値、糖尿病神経症合併症群、インスリン治療群でも亜鉛が低値を示した (荒川ら, 1991)。一方で、インスリン療法を必要とする患者では全血中亜鉛濃度の増加がみられるとの報告 (藤本, 1987) もあり、糖尿病の病態と体内亜鉛の動態は未解明なことも多い。

糖尿病患者の血清亜鉛濃度の低下の要因には、低エネルギー食による摂取の不足または

尿中排泄の増加にあるといわれており（大塚ら, 1987）、今回の対象では重症例ではないことから、腎機能は保たれており、むしろ回復のために血清中亜鉛が保持されているとも考えられる。

その他の微量元素と生化学データとの関連性をみると、トリグリセリドとコレステロール濃度の間には正の相関があった。それらは心血管疾患リスクを増すことに関連があるとされているものである。

また、高血糖の被験者における高グルコース濃度が、むしろコレステロールの低値を伴うことが明らかとなった。これらの結果は、高密度リポ蛋白質コレステロールの低濃度が2型糖尿病を呈する危険を増す可能性があるという報告（Freeman, 2002）と一致している。つまり、糖尿病と高コレステロール血症とは、同様に高カロリー食によって誘発されるとしても、やや傾向が異なる生理状態にある可能性を示唆している。

ただし、本研究での対象は、これら代謝性疾患のうち合併症がない比較的早期の患者である。したがって、同じ疾患でもさらに段階が進むと、代償機能が働かなくなる結果、異なった傾向を示す可能性もあることには注意が必要である。

本研究においては、血清中において銅と鉛濃度が増加した被験者は、高脂血症傾向であることが判明した。尿中の微量元素濃度でも、銅と鉛は低かったことから、これらの患者では、何らかの生理的必要性のため、むしろ積極的に両者が体内に保持されている可能性がある。文献的な考察とも併せて、高脂血症患者においては小なり動脈硬化が進行していることが多い。したがって動脈硬化の悪化が何らかの機序で銅の高濃度をもたらしていることも考えられる。また糖尿病においては知覚障害が認められるが、それを代償するための神経の働きと関連性の高い亜鉛の高濃度状態が維持されている可能性も否定できない。ただし尿中の微量元素濃度でも、亜鉛は高かったことから、むしろ亜鉛の体内外での入れ替えは比較的高いことを示唆している。

従来の研究でも、高い血清銅レベルが増加した心血管死亡率と肥満と関係していることが示されている（Beshgetoor, 1998）ことから、この仮説は検討する必要があると思われる。また、高い血清銅濃度と低密度リポタンパク質との関係もすでに示されている（Tan, 1999）。

加えて、高脂血症患者と高血糖症患者の経過観察のデータからは、いずれの患者でも小なり血液中的中性脂肪の値と銅濃度、血糖と亜鉛濃度の増加に類似性が認められている。これにより、血液中的銅濃度と亜鉛濃度の値の変動はこれら代謝性疾患と何らかの関連性を有する可能性が示唆され、病態の予測のマーカーとして応用できる可能性が示唆された。

以上の結果から、血清銅濃度と血清鉛濃度の上昇と亜鉛濃度の減少は、脂質異常症と関連しており、これらは心血管健康を評価するために重要な診断値となりうる可能性が示唆された。亜鉛が高濃度で、鉛と銅が低濃度である場合には、高血糖症の傾向を示す指標になりうると思われる。

高脂血症患者と高血糖患者の食事調査結果より、いずれの患者でも亜鉛摂取量が基準値に満たない状況が確認された。亜鉛及び銅の摂取状況には個人差がみられ、摂取エネルギーや三大栄養素のバランスが適正であっても必須元素レベルでは充足していない現状が示唆された。

これまでの栄養・食生活指導においては、炭水化物や脂肪、たんぱく質を中心とした栄養素の摂取状況の確認とその摂取制限に着目したものが多く傾向にあったが、今後、食品摂取状況との関連から必須微量元素及び生体にとって必要性が推定される微量元素に視点をおいた栄養指導を行なうことによって保健・医療における疾病予防・回復への新たな可能性が見出されることが期待される。

以上の結果から、代謝性疾患の方々の食生活指導や予防的取組みにおいては、血清中の微量元素を一つの指標にして、微量元素濃度のバランスを考慮した食事指導、特に亜鉛と銅の摂取の充足を視野にいれた指導が有効であると考えられる。

V 結論

鉛と銅の濃度の増加と、亜鉛濃度の減少は、高トリグリセリド血症または高コレステロール血症の傾向があった。

亜鉛が高濃度で、鉛と銅が低濃度である場合には、高血糖症の傾向があった。

血清銅濃度と血清鉛濃度の上昇と亜鉛濃度の減少は、脂質異常症と関連しており、これらは心血管健康を評価するために重要な診断値となりうる可能性が示唆された。亜鉛が高濃度で、鉛と銅が低濃度である場合には、高血糖症の傾向を示す指標になりうると思われる。

代謝性疾患の方々の食生活指導や予防的取組みにおいては、血清中の微量元素を一つの指標にして、微量元素濃度のバランスを考慮した食事指導、特に亜鉛と銅の摂取の充足を視野にいれた指導が有効であると考えられる。

微量元素を測定するためにPSA法を適用することは健康状態の変動をモニターすることに役立ち、ION 3を用いた電位差測定ストリップ分析の実現可能性が示唆された。

今後、容易に微量元素測定ができれば、体内微量元素を指標の一つとすることによって早期の代謝性疾患に関わる適切なアセスメントに活用されることが期待される。

それにより食事摂取状況との関連から微量元素に視点をおいた栄養指導を行なうことが可能となる。それによって保健・医療における疾病予防・回復への新たな可能性が見出される。

VI 本研究の限界

本研究は、生活習慣病予防対策において栄養・食生活に着目することの必要性をふまえて、適正な栄養摂取とその栄養素の生体内での機能との関連性を探るため、生体内微量元素濃度を健康人及び代謝性疾患を有する患者において調査し、その変動を検討した。

生体内微量元素濃度を把握するにあたっては、体液からの PSA 法を用いた測定について技術的に検討を行った。機器のプロトコールに従いその測定方法を確立し、標準物質と比較して誤差 5%内外に収まることを確認したが、PSA 法を用いた生体内微量元素濃度の測定にあたってはさらに測定を重ね、その精度を向上させていくことが求められる。

本研究では、代謝性疾患患者との比較検討を行なうにあたり、まずは健康人 81 名を対象として生体内微量元素濃度を調査し、性別、年齢による比較検討を試みた。いずれの元素も性差はなくカドミウムと銅は年齢差が認められ、カドミウムは血清より尿の方が、亜鉛は尿より血清の方がその濃度が高いことが示唆された。しかし、対象数が限定されていることや、年齢平均が男性 28.19 歳、女性 28.29 歳であり、各年齢層の対象数が少ないことから本研究のみでは微量元素濃度の一般化は困難である。今後、対象数を増やしてさらなる究明が求められる。

代謝性疾患患者と正常人との比較においては、対照群の選定において、トリグリセリド、総コレステロール、血清グルコースの値によって群分けを行い、比較検討を行った。亜鉛濃度の減少及び鉛と銅が高濃度の場合は高脂血症との関連性が認められ、血清中亜鉛が高濃度、鉛と銅が低濃度の場合は高血糖の傾向が認められる等の示唆を得た。

今後、代謝性疾患とりわけ軽症の患者の微量元素濃度を累積し検討することによって不健康状態の評価への示唆が得られる方法を確立していきたい。

本研究では、生活習慣病予防対策における基礎研究として微量元素と疾患との関連を検討し、血清中の銅や亜鉛濃度の変動が高脂血症や糖尿病と関連性が深いことが示唆された。食事における栄養素摂取状況においても、高脂血症患者や糖尿病患者において銅や亜鉛摂取の未充足の可能性も示唆されたが、事例レベルの把握であり限定的な解釈である。今後、食事摂取と血清中微量元素濃度及び尿中微量元素濃度を併せて検討を重ねることによって、保健・医療における栄養評価とその指導に活かす知見が得られると考えられる。

Ⅶ 今後の課題

今後の課題は、PSA 法による微量元素測定の実定性をさらに検討し、健康人の生体内微量元素濃度の変動を把握し、疾病の早期発見、予防に活かすことである。本研究では PSA 法による測定値が比較的に安定して得られるカドミウム、鉛、銅及び亜鉛を用いて、代謝性疾患との関連性を分析したが、他の必須元素及び必須性が推定される微量元素とのバランスも視野にいれて代謝性疾患との関連性を探究することも有意義であると考えられる。

医療・看護においては対象者への栄養・食生活指導により、生活習慣改善を導き、食事療法の自己管理の継続を支援することがその役割として求められる。そのため、本研究で得られた結果をもとに、微量元素と食品及び調理品との関係において、食生活支援につながる知見を得るための栄養摂取分析と微量元素分析との関連性について、今後さらに探究していきたい。

本研究の結果から生体内微量元素濃度と血液生化学データとの関連性に関わる示唆が得られたが、食事内容、栄養摂取状況との関連での検討に関しては、今後の重要な課題であるといえる。

謝辞

本研究をまとめるにあたり、様々な形で支えてくださった皆様に深く感謝いたします。

研究計画から実験、論文作成にいたる全過程を通じて丁寧にご指導くださいました筑波大学医学医療系本田克也先生に心より感謝申し上げます。

実験の過程においては筑波大学医学医療系法医学研究室の皆様にご指導やご助言をいただきました。ありがとうございました。

また、本研究の実施にあたりご協力いただきました対象者の皆様、施設関係者の皆様に深謝いたします。この成果を皆様にお返しできるよう、今後も引き続き研鑽を積んでまいりたいと思います。

文献

- Aalbers TG, Houtman JP. (1985). Relationships between trace elements and atherosclerosis. *Sci Total Environ.* 43(3), 255-283.
- Antonowicz J, Andrzejak R, Lepetow T, et al. (1996). Blood lipid parameters in smelters chronically exposed to heavy metals. *Med Pr.* 47(3), 207-215.
- Beshgetoor D, Hambidge M. (1998) . Clinical conditions altering copper metabolism in humans. *American Journal of Clinical Nutrition.* 67, 1017S-21S.
- Cebi A, Kaya Y, Gungor H, et al. (2011) . Trace elements, heavy metals and vitamin levels in patients with coronary artery disease. *Epub,* 8(6):456-460.
- Durak R, Gülen Y, Kurudirek M, et al. (2010) . Determination of trace element levels in human blood serum from patients with type II diabetes using WDXRF technique: a comparative study. *Journal of X-Ray Science and Technology,* 18(2), 111-120.
- Florence TM. (1982). The speciation of trace elements in waters. *Talanta,* 29, 345-364.
- Freeman DJ, Norrie J, Caslake MJ, et al (2002) . C-reactive protein is an independent predictor of risk for the development of diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Diabetes ,* 51, 1596-1600.
- Gidlow DA. (2004) . Lead toxicity. *Occupational Medicine,* 54(2), 76-81.
- Gil EP, Ostapczuk P. (1994). Potentiometric stripping determination of mercury(II), selenium(IV), copper(II) and lead(II) at a gold film electrode in water samples. *Analytica Chimica Acta.* 293 (1), 55-65.
- Goch A. (2005). Concentration of elements in plasma of patients with essential hypertension. *Pol Arch Med Wewn.* 114(4), 947-952.
- Gordillo MCT, Gil EP, González MAR, et al. (2001). Potentiometric stripping analysis (PSA) for monitoring of antimony in samples of vegetation from a mining area. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry ,* 370, 434-437.
- Graeme E. Batley CR (ed). (1989). Trace element speciation: analytical methods and problems. CRC press, New York.
- Grandjean P. (1983) . Monitoring of environmental exposure of toxic metals. In: S. Brown, J. Savory editors. *Clinical Toxicology and Clinical Chemistry of Metals.* Academic Press, New York, 99.
- Gray MA, Centeno JA, Slaney DP, et al. (2005). Environmental exposure to trace elements

- and prostate cancer in three New Zealand ethnic groups. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2, 374-384.
- HegaZi Sayed M. Ahmed Sohair S., Mekkawy Afaf A. . (1992). Effect of Zinc Supplementation on Serum Glucose, Insulin, Glucagon, Glucose-6-Phosphatase, and Mineral Levels in Diabetics. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 12 (3), 209-215.
- Huskisson E, Maggini S, Ruf M. (2007). The role of vitamins and minerals in energy metabolism and well-being. *Journal of International Medical Research*, 35(3), 277-289.
- Jagner D and Årén K. (1979). Potentiometric stripping analysis for zinc, cadmium, lead and copper in sea water. *Analytica Chimica Acta* , (6)107, 29-35.
- Jethmalani Sunita M. (1990). Plasma copper and zinc and their relationships with plasma lipids, lipoproteins, lipase activity, and platelet aggregation in hypertension and diabetes. *Journal of Clinical Biochemisjtry and Nutrition*, 9 (1), 51-60.
- Jhun HJ, Kim H, Paek DM. (2005). The association between blood metal concentrations and heart rate variability: a cross-sectional study. *Int Arch Occup Environ Health*. 78(3), 243-247.
- Kalicanin B. (2012) . Potentiometric stripping analysis of zinc, cadmium and lead in tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.) and soil samples . *International Journal of Electrochemical Science*, 7, 313-23.
- Kazi TG, Afridi HI, Kazi N, et al. (2008) . Copper, Chromium, Manganese, Iron, Nickel, and Zinc levels in biological samples of Diabetes Mellitus patients. *Biological Trace Element Research*, 122(1), 1-18.
- Krachler M, Lindschinger M, Eber B, et al. (2014). Trace elements in coronary heart disease: Impact of intensified lifestyle modification. *Biol Trace Elem Res*. 60(3), 175-185.
- Mehra R, Juneja M. (2005). Fingernails as biological indices of metal exposure. *J Biosci*. 30(2), 253-257.
- Mishima T, Kuroki T, Tajima Y, et al. (2014). Dietary zinc supplementation to the donor improves insulin secretion after islet transplantation in chemically induced diabetic rats. *pancreas*. 43(2), 236-239.

- Naka Toyoko, Kaneto Hideaki, Katakami Naoto, et al. (2013). Association of serum copper levels and glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Endocrine Journal*, 60(3), 393-396.
- Ostapczuk P. (1993). Present potentials and limitations in the determination of trace elements by potentiometric stripping analysis. *Analytica Chimica Acta*, 273, 35-40.
- Oberleas D. (2011). Diabetes Type II, a new perspective. *Trace elements and Electrolytes*, 28(1), 52-55.
- Pizent A. (2010). Antioxidants, trace elements and metabolic syndrome in elderly subjects. *Journal of Nutrition Health and Aging*, 14(10), 866-871.
- Pizent A. (2003). Serum calcium, zinc, and copper in relation to biomarkers of lead and cadmium in men. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 17(1), 199-205.
- P. Schramel. (1988). ICP and DCP emission spectrometry for trace element analysis in biomedical and environmental samples. A review. *Spectrochimica Acta*, 43B, 881-896.
- Rasheed Khalid, Tariq Muhammad Ilyas, Munir Christy, et al. (2008). Synthesis, Characterization and Hypoglycemic Activity of Zn(II), Cd(II) and Hg(II) Complexes with Glibenclamide. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 56(2), 168-172.
- Saei-Dehkordi SS, Fallah A. (2011). Determination of copper, lead, cadmium and zinc content in commercially valuable fish species from the Persian Gulf using derivative potentiometric stripping analysis. *Microchemical Journal*, 98(1), 156-62.
- Saito K, Sasaki T, Sato Y, et al. (1994). Concentrations of Cadmium, Manganese, Lead, Copper, and Zinc in the Blood of Hokkaido Residents. *Hokkaido University Medical Library Series*, 31, 1-9.
- S. C. V. C. Lima, R. F. Arrais, C. H. Sales, et al. (2006). Assessment of Copper and Lipid Profile in Obese Children and Adolescents. *Biological Trace Element Research*, 114, 19-29.
- Serdar MA, Bakir F, Haşimi A, et al. (2009). Trace and toxic element patterns in nonsmoker patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus, impaired glucose tolerance, and fasting glucose. *Int J Diabetes Dev Ctries*. 29(1), 35-40.
- Sukumar A, Subramanian R. (2007). Relative element levels in the paired samples of

- scalp hair and fingernails of patients from New Delhi. *Sci Total Environ.* 1, 474-479.
- Tamaki M, Fujitani Y. (2014). Role of zinc in type 2 diabetes. *japanese journal of hygiene.* 69(1),15-23.
- Tan KCB, Aiv VGH, Chow WS, et al. (1999) . Influence of low density lipoprotein (LDL) subfraction profile and LDL oxidation on endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type-2 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* , 84, 3212-3216.
- Taru Chiemi, Tsutou Akimitsu, Nkawatase Yuri, et al. (2008) . Gender Differences of Dietary Self-Management Behavior Affecting Control Indices in Type II Diabetes. *Kobe Journal of Medical Sciences,* 54 (2) , 82-96.
- Taylor DM, Liyanage JA, Williams DR, et al. (1988). A new approach to monitoring trace element concentrations and speciation in wounds and wound fluids. *Applied Radiation and Isotopes,* 49(5),677-679.
- Teresa Lech. (2002a). Lead, Copper, Zinc, and Magnesium Content in Hair of Children and Young People with Some Neurological Diseases. *Biological Trace Element Research,* 85, 111-126.
- Teresa Lech. (2002b). Lead, Copper, Zinc, and Magnesium Levels in Hair of Children and Young People with Some Disorders of the Osteomuscular Articular System. *Biological Trace Element Research,* 89, 111-125.
- Vasiliki Arvanitidou, Irini Voskaki, et al. (2007). Serum Copper and Zinc Concentrations in Healthy Children Aged 3-14 Years in Greece. *Biological Trace Element Research,* 115, 1-12.
- Wada O, Yano Y, Toyokawa K, et al. (1972) . Human responses to lead, *Industrial Health,* 10, 84-92.
- 青木継稔. (2008). ウィルソン病の治療と対応. *難病と在宅ケア,* 14 (7), 28-32.
- 天野信子, 尾方希, 森田徳子, 他. (2002). 脂質関連栄養素の適正摂取を目標とした地域住民に対する個別栄養教育の介入効果. *日本公衆衛生雑誌,* 49 (4), 332-343.
- 綱島素子, 横田欽一, 武田寛樹, 他. (2011). 人間ドック受診者における食習慣の傾向と検査データとの比較. *人間ドック,* 26 (1), 80-86.
- 荒川光子, 上遠野了子. (2006). 糖尿病外来継続看護の有効性の検討 継続看護開始前後

- の食事自己管理に対する自己効力感とHbA1cの推移から. 日本糖尿病教育・看護学会誌, 10 (1), 52-56.
- 荒川泰昭. (1999). 栄養 評価と治療, 16, 241-251.
- 荒川泰行, 渡辺幸一, 遠藤素夫, 他. (1991). 糖尿病における血清金属 (元素) の病態生理学的意義. Biomedical Research on Trace Elements, 2 (3), 309-320.
- 荒川泰行, 他. (1990). 肝疾患と微量元素. 最新医学, 45, 668-677.
- 荒川泰行, 他. (1991). 慢性肝疾患における血清金属の病態生理学的意義. Biomedical Research on Trace Elements, 2, 1-10.
- 荒川泰行, 森山光彦, 荒川泰雄. (2006). 肝疾患と微量元素. 治療, 88 (7), 1907-1918.
- 糸川嘉則, 五島孜郎編. (1994). 日本栄養・食糧学会監修. 生体内金属元素, 光生館, 東京.
- 糸川嘉則. (2003). ミネラル研究史. 糸川嘉則編, ミネラルの事典. 朝倉書店, 東京, 3-5.
- 岩井一宏. (2008). 微量金属代謝・動態研究の現況と今後の課題. 細胞工学, 27 (3), 210-213.
- 岩原由美子, 山田幸男, 高澤哲也. (2001). 外来受診糖尿病患者に対する「栄養・看護外来」とその効果. 糖尿病, 44 (7), 581-585.
- 遠藤和子, 清水安子, 正木治恵. (2011). 描画を用いた語りに表れた2型糖尿病高齢女性の食卓の変容一事例からの食事療法を援助する視点. 日本糖尿病教育・看護学会誌, 15 (2), 172-178.
- 圓谷奈保美, 本間謙吾, 西頭英起, 他. (2012). 筋委縮性側索硬化症における亜鉛と小胞体ストレスの役割. Biomedical Research on Trace Elements, 23 (1), 14-23.
- 大塚章人, 井上徹, 伏見尚子, 他. (1987). 糖尿病患者における尿中亜鉛排泄増加. 住友病院医学雑誌, 14, 48-51.
- 大塚俊昭, 川田智之, 矢内美雪, 他. (2011). 一職域男性集団におけるメタボリックシンドロームの発症率およびメタボリックシンドローム発症に関連する生活習慣因子の検討. 産業衛生学雑誌, 53 (3), 78-86.
- 大塚礼, 玉腰浩司, 下方浩史, 他. (2009). 職域中高年男性におけるメタボリックシンドローム発症に関連する食習慣の検討. 日本栄養・食糧学会誌, 62 (3), 123-129.
- 萩野昇. (1968). イタイイタイ病との闘い, 朝日新聞社, 東京.
- 尾立純子, 佐伯孝子, 安永好美, 宮崎かおり, 他. (2007). 亜鉛摂取と糖尿病について. 日本家政学会誌, 58 (4), 179-185.
- 鍛冶利幸, 小山洋, 佐藤雅彦, 他. (2002). 低用量カドミウム曝露と健康影響 (2) 生活習

- 慣病と生殖毒性. 日本衛生学雑誌, 57, 556-563.
- 梶原苗美, 吉川豊, 橋本弘子, 他. (2007). アスコルビン酸、硫酸亜鉛およびアスコルビン酸亜鉛(II)錯体による生活習慣病改善/予防効果 肥満、高脂血症および血液流動性改善効果からのアプローチ. 日本ヘモレオロジー学会誌, 10 (2), 17-23.
- 加藤佳子, 濱寄朋子, 佐藤真一, 他. (2014). 食習慣改善に対する態度とメタボリックシンドロームの関連 平成17年国民健康・栄養調査および国民生活基礎調査データによる解析. 日本公衆衛生雑誌, 61 (8) , 385-395.
- 川田悦夫, 森平和明, 佐藤浩子, 他. (2007). 高齢銅欠乏患者に対する銅補充による血清脂質への影響. 日本老年医学会雑誌44 (3) , 375-379.
- 川西正祐, 平工雄介. (2003) 鉛. 糸川嘉則編. ミネラルの事典. 朝倉書店, 東京, 373-380.
- 木川眞美, 三浦麻子, 菅原正弘, 他. (2006). 2型糖尿病患者における血清亜鉛濃度低下要因の検討. 日本病態栄養学会誌, 9 (1), 35-41.
- 紀平為子. (2006). 神経疾患と微量元素. 治療, 88 (7), 1952-1956.
- 木村修一、左右田健次編. (1987). 微量元素と生体. 秀潤社, 東京, 38-41.
- 木村修一他編 (1987). 微量元素と生体. 秀潤社, 東京, 60.
- 倉澤隆平、久堀周治郎、奥泉宏康. (2010). 亜鉛基礎研究の最前線と亜鉛欠乏症の臨床. Biomedical Research on Trace Elements. 21(1), 1-12.
- 桑木由美子, 箕持知恵子. (2012). 2型糖尿病に罹患した女性就労者の食事自己管理行動とその影響要因の関連. 日本糖尿病教育・看護学会誌, 16 (2), 117-123.
- 厚生労働省. (2012). 21世紀における国民健康づくり運動 (健康日本 21).
http://www1.mhlw.go.jp/topics/kenko21_11/pdf/all.pdf#search2014年10月9日アクセス
- 厚生労働省. (2012). 平成24年国民健康・栄養調査結果の概要.
- 厚生労働省. (2014). 日本人の食事摂取基準 (2015年版) 策定検討会報告書.
<http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka> 2014年10月9日アクセス
- 厚生労働統計協会. (2014). 国民衛生の動向 2013/2014年. 88-89
- 小林歩実, 中尾美幸. (2014). 壮年期一人暮らし 2型糖尿病患者の自己管理行動に関する文献研究. インターナショナルNursing care Research, 13 (1), 111-118.
- 駒井三千夫. (2010). 血清亜鉛値の基準下限値に関する提言について. Biomedical

- Research on Trace Elements. 21(1) ,43-48.
- 小山洋, リズキーアブドゥラ, 山崎千穂. (2009). セレン補充による化学がん予防と老化. Biomedical Research of Trace Elements, 20(1), 19-29.
- 近藤やよい, 蔵屋敷美紀, 藤本ひとみ, 他. (2013). 治療食患者の特定場面における食摂取に対する対処行動の実態. 新田塚医療センター雑誌, 10, 37-42.
- 齊藤昇. (2005). 高齢入院患者の血清銅/亜鉛比の検討. Biomedical Research on Trace Elements, 16 (3), 258-260.
- 齊藤昇, 田畑直人, 安藤好久, 他. (2006). 高齢入院患者の血清 Cu と Zn 値の臨床的評価. 栄養評価と治療, 23 (6), 524-527.
- 齊藤昇. (2008). 高齢者のミネラル摂取の問題点. 糸川嘉則編, ミネラルの化学と最新応用技術, シーエムシー出版, 大阪. 62-72.
- 齊藤昇. (2009). 銅代謝と加齢. Biomedical Research of Trace Elements, 20(1), 3-18.
- 坂田清美, 松村康弘, 吉村典子, 他. (2001). 国民栄養調査を用いた朝食欠食と循環器疾患危険因子に関する研究. 日本公衆衛生雑誌, 48 (10), 837-841.
- 桜井弘. (2012). 亜鉛錯体と糖尿病・メタボリックシンドローム. 亜鉛栄養治療 3 (1) 14-21.
- 佐藤恭子. (2005). 糖尿病低エネルギー食におけるビタミン・ミネラルの摂取量についての検討. 市立名寄短期大学紀要, 37, 133-136.
- 佐藤秩曜子, 中村小百合. (2014). 壮年期における糖尿病腎症患者のセルフケア行動、セルフケア能力、看護師の支援に関する研究. 日本糖尿病教育・看護学会誌, 18 (1), 15-23.
- 白川紗月, 清上三枝子, 荒砂慶子, 他. 居宅介護サービス利用者の糖尿病に関連した食事管理の推進に向けて. 日本栄養士会雑誌, 56 (6), 434-439.
- 杉田稔. (2002). カドミウムの環境負荷量に関する調査研究—日本人の経口・経気道のカドミウム吸収量と臓器内カドミウム蓄積量から算出された総カドミウム吸収量, カドミウムの健康影響に関する研究, 環境保健レポート, 68, 187-191.
- 鈴木和枝, 鈴木一正, 金澤眞雄, 他. (1996). 血清ミネラルレベルに及ぼす糖尿病治療食の影響. 日本栄養・食糧学会誌, 49(6), 315-320.
- 鈴木和夫, 小椋康光. (2003). 化学形態の分析法, 糸川嘉則編, ミネラルの事典. 朝倉書店, 東京, 64-70.
- 鈴木康夫編. (1999). 食品の微量元素含有表, 第一出版, 東京.

- 曾我佳代, 松本典子, 佐保由美, 他. (2003). 生活習慣の改善指導に関する調査・研究 高脂血症を対象として. 日本農村医学会誌, 52 (1), 53-64.
- 高松正剛, 馬場慎一, 古賀風太, 他. (2011). NAFLD 治療における亜鉛補充の有益な効果. Therapeutic Research, 32 (7), 967-973.
- 瀧本まどか, 中村美知子. (2010). 壮年期 2 型糖尿病患者の健康行動のレディネスと生活状況との関係 血糖コントロール非良好者の食事摂取状況を中心に. 山梨大学看護学会誌, 8 (2), 13-20.
- 多田晃子, 網嶋綾子, 戸川明子, 他. (2011). 糖尿病患者の退院後の食事療法の実態 1 人暮らしの男性患者に焦点を当てて. 神戸百年記念病院誌, 24, 29-33.
- 千葉百子. (1996). 生命と元素. 千葉百子, 鈴木和夫編. 健康と元素その基礎知識. 南山堂, 東京, 1-8.
- 中川秀昭. (1933). イタイイタイ病の臨床経過—26 剖検例の検討, イタイイタイ病およびカドミウム中毒. 環境保健レポート No, 60, 116-129.
- 中川幸恵, 森谷きよし, 伊藤和枝, 他. (2013). 2 型糖尿病患者における健康行動理論を加えた継続栄養指導の有用性の検討. 天使大学紀要, 14 (1), 19-39.
- 中島基博. (1996). 血清中セレンと他の微量元素、脂質、血圧の関係. 北里医学, 26, 282-295.
- 中西陽子, 廣瀬規代美, 樽矢裕子, 他. (2004). 糖尿病患者の患者教育に関する研究. 食事指導における患者の認識度と退院後の食生活への実践状況. 日本看護学会論文集成人 II, 34, 296-298.
- 中村小百合, 足立はるえ, 天野瑞枝. (2009). 成人期の 2 型糖尿病患者が抱く食事の自己管理行動に関する認識と情動. 日本看護医療学会雑誌, 11 (1), 15-24.
- 名倉育子, 多田羅浩三, 加藤晴実, 他. (1988). 都市住民の食生活習慣と Body Mass Index, 血清脂質および生活環境との関連. 日本公衆衛生雑誌, 45 (10), 988-999.
- 新治純子. (2011). 栄養と食事/病態と代謝異常 腹膜透析患者の食欲に関するコホート研究 1 年後の中間報告. 腎と透析. 71 別冊腹膜透析 2011, 233-234.
- 西村真人, 村瀬正樹, 橋本哲也, 他. (2007). 維持血液透析患者の血清銅濃度における炎症、貧血、アルブミン濃度の関与. 腎と透析. 63(1), 115-118.
- 能川浩二. (2003). カドミウム, 糸川嘉則編. ミネラルの事典. 朝倉書店, 東京, 381-388.
- 林洋一, 佐藤理恵, 岡本真由美, 他. (1995). 糖尿病患者における微量元素の検討. 栄養-評

価と治療 12(4), 334-340.

原口紘丞, 藤森英治. (1996). 環境、生体試料中の元素測定. 千葉百子, 鈴木和夫編. 健康と元素その基礎知識. 南山堂, 東京, 259-273.

東野浩司, 大野陽一, 生嶋泰博, 船橋奈津子, 他. (2000). 耐糖能低下時における尿中亜鉛及びカルシウム排泄に対するグルコース又はグリセロール含有末梢静脈栄養輸液の効果. 外科と代謝・栄養, 34 (4), 175-182.

人見麻美子, 佐藤照子, 吉田朋子, 他. (2013). 腎症3～4期糖尿病患者に対する腎症教室と個人指導の効果 管理栄養士の視点から食事療法の実行度を評価する. 日本病態栄養学会誌, 16 (1), 85-92.

藤本俊. (1987). 脳血管障害, 胃癌および糖尿病患者の病態と血中微量元素濃度. 北海道医学雑誌 62(6), 913-932.

藤本ひとみ, 高間静子. (2009). 成人糖尿病患者の治療食に対するディストレスの特徴. 新田塚医療福祉センター雑誌, 6 (1), 33-36.

本郷哲郎. (2003). 糸川嘉則編, ミネラルの事典. 朝倉書店, 東京, 231-245.

松永俊一他. (1971). 毎日新聞社編, 骨を喰う川 イタイイタイ病の記録, 毎日新聞社, 東京.

松波淳一. (2006). 新版イタイイタイ病の記憶 カドミウム中毒の過去・現在・未来. 桂書房, 富山.

溝下万里恵, 赤松利恵, 山本久美子, 他. (2012). メタボリックシンドロームと生活習慣および体重変化の関連の検討. 栄養学雑誌, 70 (3), 165-172.

宮城裕子, 吉川千恵子, 仲宗根洋子, 他. (2006). 糖尿病患者の変化ステージと知識・自己管理・自信に関する研究. 沖縄県立看護大学紀要, 7, 1-9.

宮崎 孝, 大野 洋一, 佐藤 真喜子, 他. (2013). 特定健康診査・特定保健指導の要積極的支援者の血清亜鉛とインスリンについて. 埼玉医科大学雑誌, 39(2), 146-148.

宮田学. (2010). 諸疾患における亜鉛測定の意義-内科領域を中心として-. 亜鉛栄養治療論文集 (第1集). 近畿亜鉛栄養治療研究会編. 金芳堂, 京都, 7-27.

矢嶋一仁, 藤巻宏和. (2002). 誘導結合プラズマ質量分析法による岩石試料の微量元素の定量分析. 岩石鉱物科学, 31, 249-260.

山鹿悦子, 柴田昌典, 内山秀男, 他. (1997). 腎性骨異栄養症の進展と食餌性亜鉛摂取量との関係について. 日本透析医学会雑誌, 30 (10), 1253-1257.

- 横井かおり, 神取里実, 高田絢, 他. (2012). 糖尿病患者に対する療養支援の継続を目的とした看護師による情報提供の実践. 西尾市民病院紀要, 23 (1), 67-71.
- 横井克彦. (2009). 鉄欠乏と老化の関連. Biomedical Research of Trace Elements, 20(1), 30-38.
- 吉岡金市. (1970). イタイイタイ病と鉛害との関連性についての疫学的観察, イタイイタイ病研究, たたら書房, 島根.
- 餘目千史. (2012). 2型糖尿病患者の食事療法への努力と関連要因との関係. 日本糖尿病教育・看護学会誌, 16 (2), 163-170.
- 渡邊早苗, 納谷和余, 恩田理恵, 他. (1999). 栄養・食事指導による高脂血症の食習慣改善. 日本循環器管理研究協議会誌, 3, 243-252.
- 和田攻. (1994). 亜鉛、銅の摂取の現状. 糸川嘉則, 五島孜郎編. 日本栄養・食糧学会監修. 生体内金属元素, 光生館, 東京, 97-114.

表1-1 食品の微量元素含有量

(可食部100g当り μg)

	穀類	いも、でん粉	砂糖、甘味類	菓子類	種実類	豆類	魚介類
Cd (すべての食品)		じゃがいも塊茎 5			かやの実 乾30、落花生 乾32		いわし 田作り65、うなぎ きも52、かじき 生32、かつお 塩辛27、まじり 生12、あぶらざめ 生16、にぎす 生15、あさり 生13、あわび 塩辛540、いがい 生140、かき 生34、しじみ 生20、ばいがい 生28、はまぐり 生53、ほたて 貝生430、もがいの生110、いか塩辛660、いせえび 生46、かに がいざみ 生33、毛がに 生29、ずわいがいに16、たこ 生46、ほたるいかに 生110
Ga (すべての食品)	小麦玄穀50				しいの実 生98		あなご 生110、あまだい73、あゆ78、あんこう86、いかなご 150、うなぎ71、さけ65、ししやも輸入 生干し160、ししやも国産89、たい91、たら62、まぐろ 赤身97、わかさぎ120、あわび 生120、さざえ110、しじみ200、たにし250、とりがいがい98、はまぐり140、ほたてがいがい96、いか85、うに75、くるま えび95、煮干さくくえび620、おきあみ230、かに110、なまこ140、たこ66、しやこ84
Pb (すべての食品)	あわ精白粒70、もろこし精白粒310		砂糖糖みつ140	かるかん26蒸しようかん63、おこし71、板ガム13、			いかなご 生41、きだい 生91、
Cu (食品例：銅が0なのは食塩のみ。)	ゆでうどん47～そば全粒粉660、きび精白粒770、米ぬか650、小麦300、玄米390	でんぶん6～こんじやく精粉410、さつま芋干し切干360生130、さつまいも130、じゃがいも110、さとしいも120	米砂糖1～黒砂糖170	カスタードプリン11～スイントチョコ400、どら焼き280	しいの実 生390～ココナツ1900、アーモンド970、くるみ1100、ごま1700、ひまわりの種1700	こしあん61～国産大豆1000、米国大豆1600、あずき乾670、納豆520、凍り豆腐560、絹ごし豆腐220、木綿豆腐140	ぶぐ5、ひらめ9～うなぎ肝1400、やつめうなぎ干し2200、かき 生3500、ほたるいかに 生2500、たら12、ぶり59、ほつけ49、まぐろ 赤身28、あさり93、あわび320、しじみ320、ばいがい2800、ほたて貝170、もがいの3000、オキアミ960、たこ420
Zn (食品例：亜鉛が0なのは食塩のみ。)	小麦2300、玄米1700、そば粉2300、ゆでうどん94、きび1700、米ぬか5200	でんぶん8、さつまいも240、じゃがいも360、さとしいも300	黒砂糖120、上白糖0、三温糖5	どら焼き430、カスタードプリン300、スイートチョコ2100	しいのみ490、ココナツ1300、アーモンド3300、くるみ1600、ごま9300、ひまわりの種5700	こしあん760、国産大豆3500、米国大豆3700、あずき乾2200、納豆1200、凍り豆腐4000、絹ごし豆腐790、木綿豆腐770	ぶぐ940、ひらめ300、うなぎ肝3300、やつめうなぎ干し3800、かき 生31000、ほたるいかに 生1300、たら320、ぶり330、ほつけ250、まぐろ 赤身330、あさり1300、あわび810、しじみ1800、ばいがい2600、ほたて貝2300、もがいの2000、オキアミ840、たこ1800

鈴木素夫編、食品の微量元素含量表、第一出版より作成

表1-2 食品の微量元素含有量

	獣鳥鯨肉類	卵類	乳類	野菜類	果実類	きのこ類	藻類	嗜好飲料類	調味料、 香辛料	調理加 工品
C d (すべての食 品)	牛腎臓16、くじら赤肉 12			さやいんげん生8、おかひじ ぎ生10、菊 花 生16、干し ずいき乾150、ぜんまい生 41、つわぶぶぎ生2、とうがら し葉生7、にら葉生10、野沢 菜生8、ホースラダイシシユ 根17、生わかひ8、干しわか び46、しいたけ生22、ひらた け生9、まつたけ生22			焼き海苔88、干 しいわのり51、 みついしこんぶ 葉干し88、りし りこんぶ葉干し 230、ぶのり生 14、わかめ葉干 し220		清酒18、み りん10	
G a (すべての食 品)				あさつき86、せり260、なず な160、ふきのとう120、芽 キャベツ110、よもぎ葉生140	すだち (果皮) 3、なつ みかん (生果) 28		干しのり170、 あらめ葉干し 290、ほしひじ き470、くきわ かめ生510			
P b (すべての食 品)	野うさぎ390、乳用肥育 雄牛そともも180、			かぶ生35、西洋かぼちゃ生 24、からしな生21、きゅうり ピクルス12、スイートコーン 生18、野沢菜生26、	あんず缶詰13、温州み かん缶詰12、黄桃缶詰 14、ざくろ生9、なし缶 詰13、なつみかん缶詰 25、びわ缶詰14、ぶん たんざぼん漬け17、もも 缶詰果肉19、ライム 生果汁220、		干しのり300、	ぶどう酒赤6、玉 露茶150、煎茶 150、番茶210、ほ うじ茶130、ウー ロン茶250、紅茶 110、	トマトソー ス54、	
C u (食品例：銅 が0なのは食 塩のみ。)	和牛そともも15～い な470、和牛かた75、ば ら56、ひれ88、牛肝臓 5600、若鶏胸96、ぶた もも160	鶏卵38	生乳4、 ヨーグルト 14、プロセ スチーズ 180	えだまめ500、オクラ100、か ぶ菜160、かぼちゃ43、きゆ り280、ごぼう280、こまつ な51、しょうが110、生ぜん まい320、大根葉150、根43、 たらの芽160	パランスジアアレンジ15 ～ライム生果汁1300、 いちご43、いちじく 17、梅93、みかん70、キウ 柿48、かりん150、キウ イ120、なし80、バナナ 110、りんご36	しめじ64、え のき120、し いたけ84、ま いたけ220、	生わかめ39、干 しのり520、こ んぶ葉干し82、 干しひじき260	ビール3、ワイン 14、玉露1100、煎 茶1500、烏龍茶 1300、紅茶2600、 ココア4200、コー ヒー豆1100、コー ヒー飲料3	しょうゆ 60、酢4、 ケチャップ 110、パンプ リカ1300、 ナツメグ 1100	缶詰カ レー43、 冷凍ハン バーグ87
Z n (食品例：亜 鉛が0なのは食 塩のみ。)	和牛そともも3100、い な5300、和牛かた 5000、ばら4000、ひれ 3200、牛肝臓3000、若 鶏胸480、ぶたもも1700	鶏卵 1200	生乳230、 ヨーグルト 330、プロ セスチーズ 2000	えだまめ910、オクラ800、か ぶ菜500、かぼちゃ320、きゆ り210、ごぼう310、こまつ な460、しょうが470、生ぜん まい970、大根葉390、根 130、たらの芽780	パランスジアアレンジ 63、ライム生果汁96、 いちご210、いちじく 58、梅140、みかん42、 柿74、かりん360、キウ イ150、なし77、バナナ 200、りんご10	しめじ830、 えのき600、 しいたけ 480、まいた け670、	生わかめ380、 干しのり2900、 こんぶ葉干し 1800、干しひじ き2200	ビール0、ワイン 23、玉露2700、煎 茶3300、烏龍茶 2800、紅茶3300、 ココア6500、コー ヒー豆2900、コー ヒー飲料43	しょうゆ 560、酢 31、ケ チャップ 170、パンプ リカ3300、 ナツメグ 1100	缶詰カ レー 1000、冷 凍ハン バーグ 3200

鈴木泰夫編、食品の微量元素含有量表、第一出版より作成

表 2. 測定範囲 (Integration Range)

Cd	-691	~	-501	mV
Pb	-478	~	-400	mV
Cu	-364	~	-196	mV
Zn	-977	~	-798	mV



図 1. 電位差ストリッピングアナライザー 微量元素分析装置 ION 3

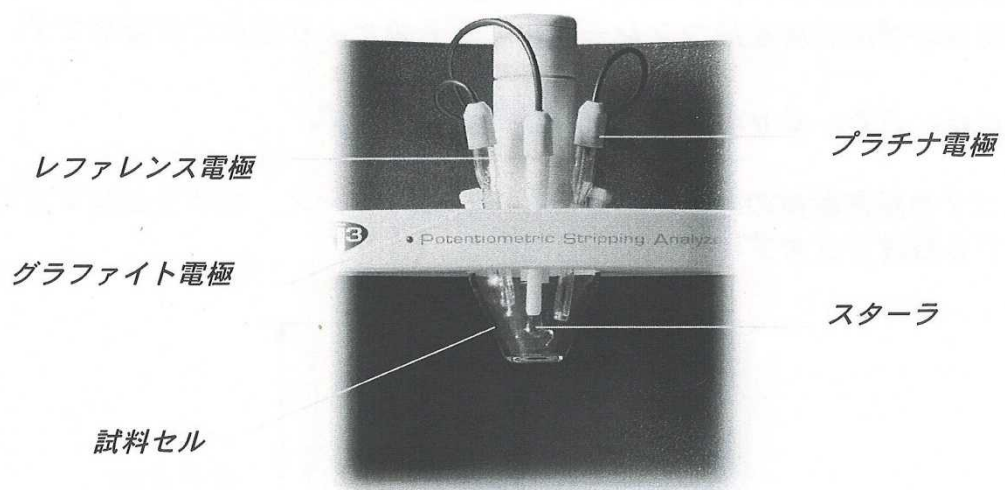


図 2. ION 3 の電極

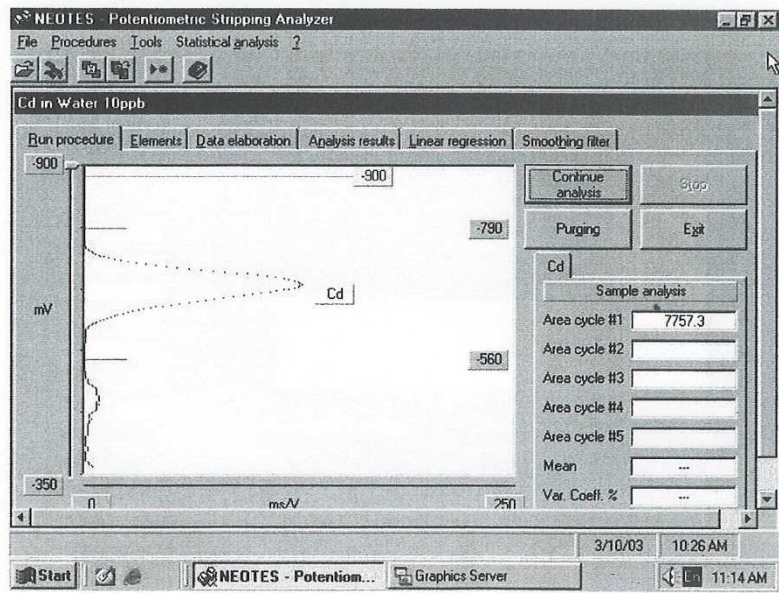


図 3. 1 回目の測定終了時の波形 (例)

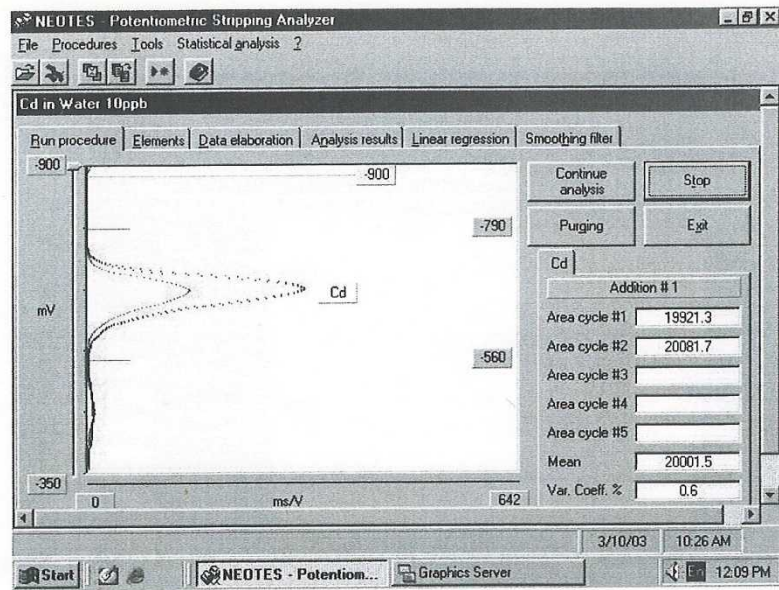


図 4. 1 回目の標準溶液添加時の波形 (例)

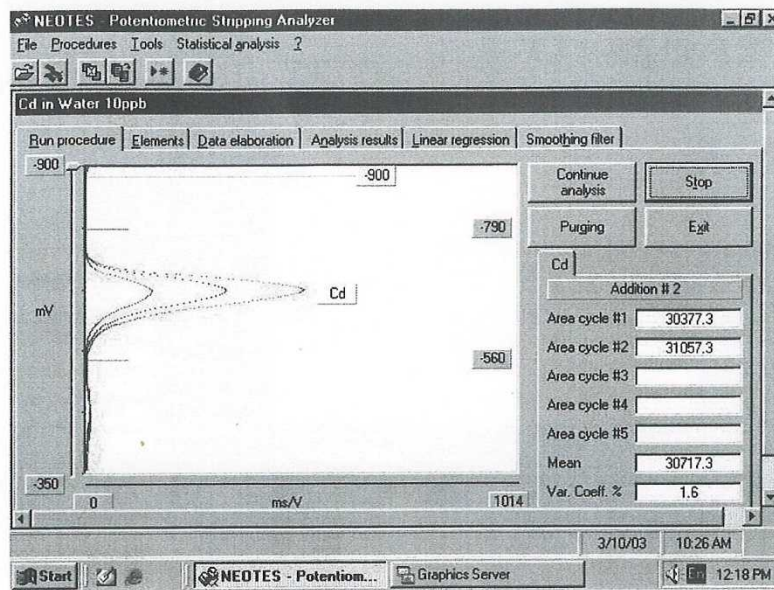


図 5. 1 回目の標準溶液添加時の波形 (例)

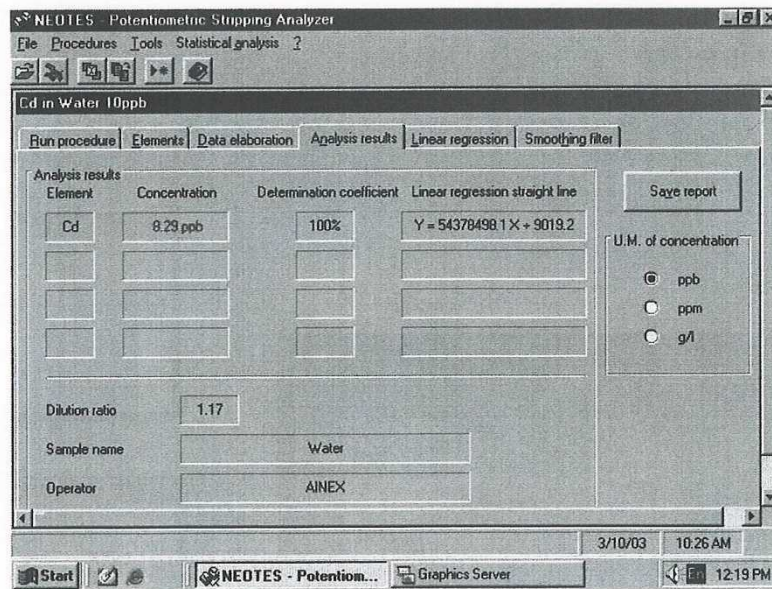


図 6. 分析結果 (例)

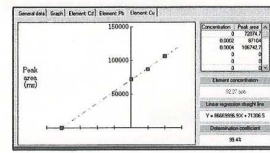
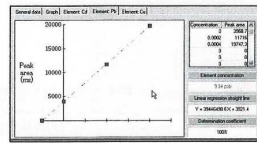
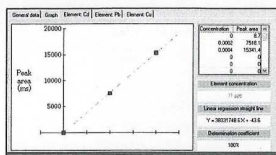
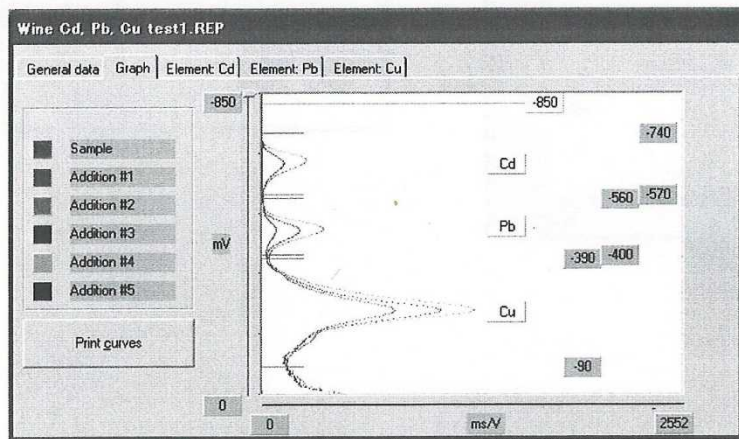


図 7. 同時測定の結果 (例)

表 3. 標準物質の定量結果

標準試料	ION3 による測定値			保証値	
	平均 (ppb)	1 回目 (ppb)	2 回目 (ppb)	ICP-SFMS (ppb)	
Pb	Serum Level 1	272.3	265.3	279.3	290
	Serum Level 2	308.2	299.4	316.91	300
Cu	Serum Level 1	1281.45	1368.52	1194.38	1170
	Serum Level 2	2501.81	2249.97	2753.65	2600
Zn	Serum Level 1	1213.52	978.63	1448.41	1330
	Serum Level 2	961.83	944.47	979.2	920
Cd	Serum Level 1	0	0	0	0.2
	Serum Level 2	0	0	0	0.317

(Pb, lead; Cu, copper; Zn, zinc; Cd, cadmium)

ICP-SFMS, inductively coupled plasma-sector field mass spectrometry)

測定結果グラフレポート例

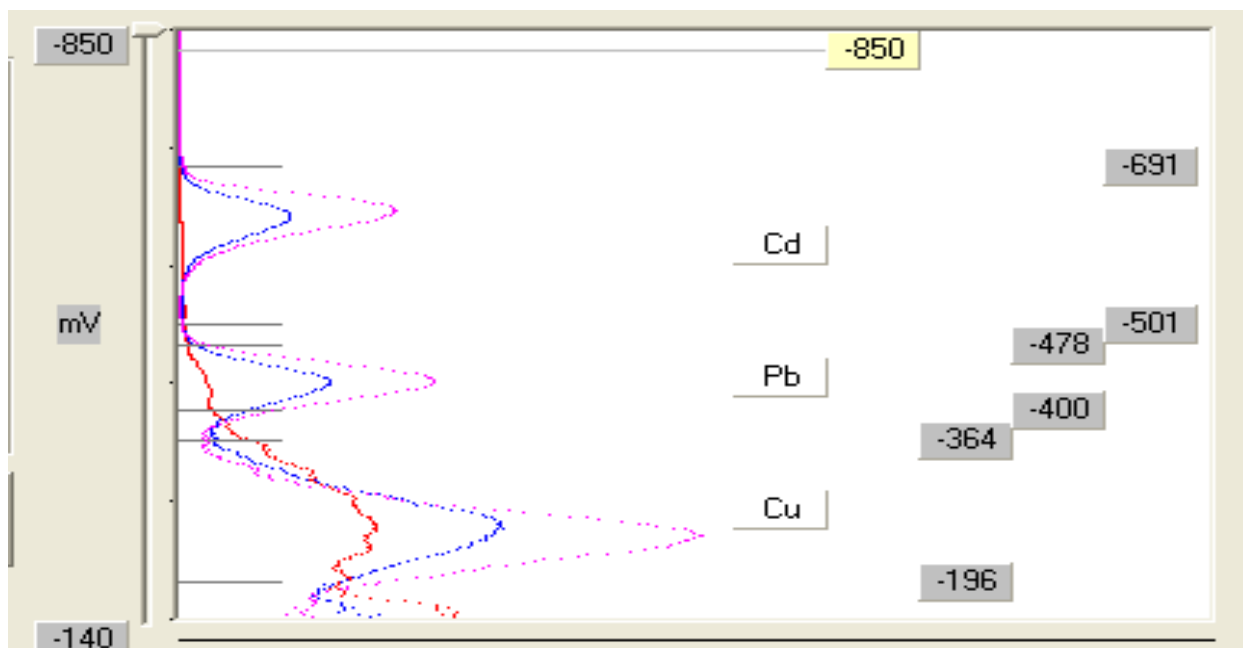


図 8. Cd・Pb・Cu の標準曲線と測定結果

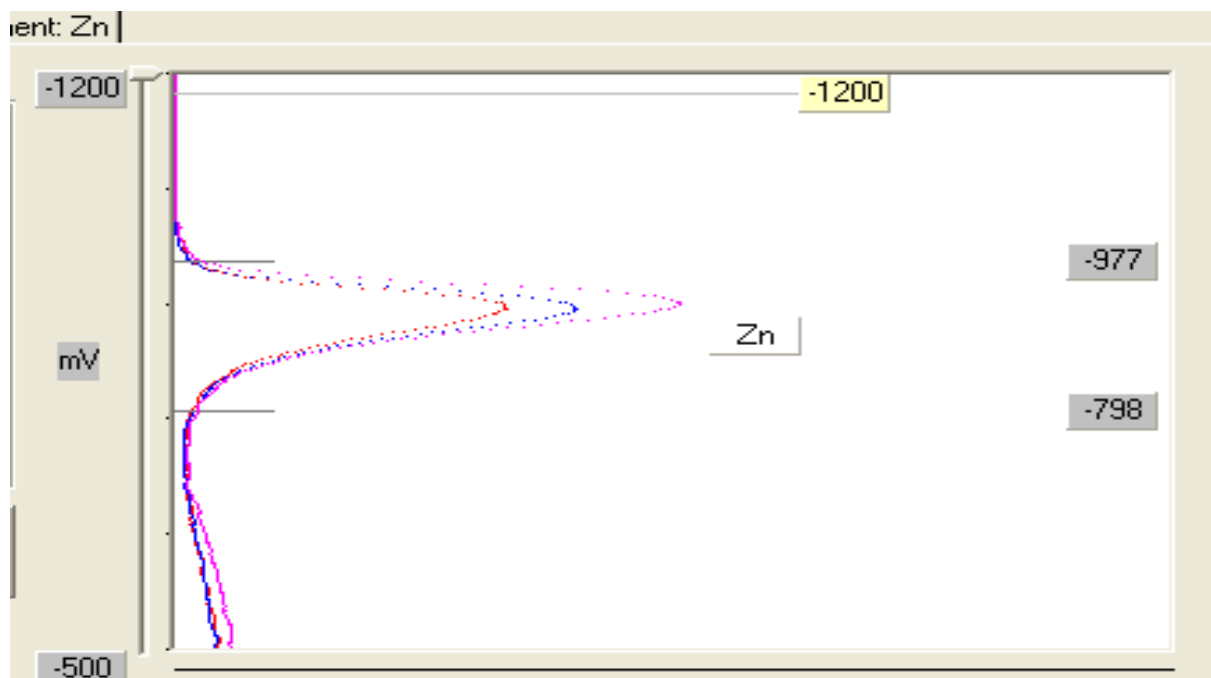


図 9. Zn の標準曲線と測定結果

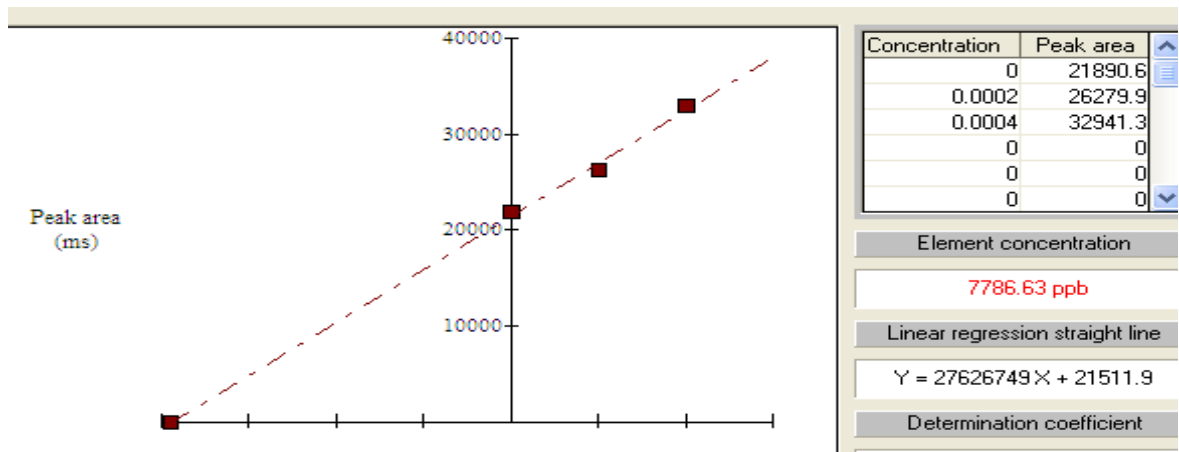
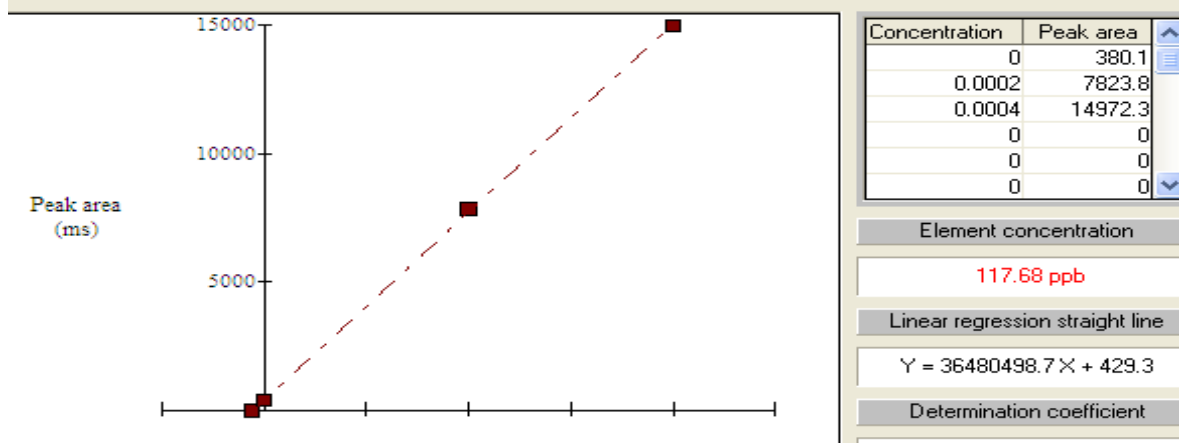


図 10. 検量線直線率 (Determination coefficients) および検量線の回帰直線式 (Linear regression straight Line)

表 4. 対象数と平均年齢

No. of subjects		Mean age (y)		
Male	43	28.19	±	11.16
Female	38	28.29	±	9.60
Total	81	28.23	±	10.39

表 5. 性別による血清微量元素濃度 (ppb)

	Total				Males				Females				Analysis
	N	Mean	±	SD	N	Mean	±	SD	N	Mean	±	SD	
Cd	72	1.37	±	5.55	40	1.95	±	6.90	32	0.64	±	3.14	n. s.
Pb	73	64.41	±	128.68	41	74.95	±	151.44	32	50.91	±	92.37	n. s.
Cu	70	2152.01	±	3624.49	40	1526.12	±	3367.03	30	2986.52	±	3840.56	n. s.
Zn	47	237.6	±	320.6	23	195.6	±	339.0	24	277.8	±	303.7	n. s.

t-test. n. s. Not significant

表 6. 年齢別の血清微量元素濃度 (ppb)

	Age 20s (21~29)				Age ≥30 (30~56)				Analysis
	N	Mean	±	SD	N	Mean	±	SD	
Cd	54	1.82	±	6.36	18	0.00	±	0.00	*
Pb	55	71.60	±	140.11	18	42.45	±	84.20	n. s.
Cu	54	2452.48	±	4018.47	16	1137.93	±	1396.90	*
Zn	30	244.57	±	376.38	17	225.31	±	196.4	n. s.
<i>t</i> -test.		* p<0.05 Analysis							

表 7. 血清微量元素間の相関係数

		Cd	Pb	Cu	Zn
Cd		1			
Pb	Total	-0.09			
	Males	-0.13	1		
	Females	0.01			
Cu	Total	-0.08	0.23		
	Males	-0.04	0.34*	1	
	Females	-0.14	0.13		
Zn	Total	0.14	-0.12	-0.20	
	Males	-0.12	-0.04	-0.06	1
	Females	0.23	-0.22	-0.44*	

Pearson's correlation * p<0.05 Analysis

表 8. 性別による尿中微量元素濃度 (ppb)

	Total				Males				Females				Analysis
	N	Mean	±	SD	N	Mean	±	SD	N	Mean	±	SD	
Cd	42	8.10	±	14.94	20	6.62	±	12.34	22	9.44	±	17.15	n. s.
Pb	42	110.70	±	97.61	20	108.28	±	89.22	22	112.90	±	106.71	n. s.
Cu	38	3376.89	±	5043.34	17	3343.46	±	5068.48	21	3403.95	±	5148.01	n. s.
Zn	43	149.2	±	1881.15	20	135.9	±	87.98	23	160.71	±	246.12	n. s.

t-test. n. s. Not significant

表 9. 年齢別の尿中微量元素濃度 (ppb)

	Age 20s (21~29)				Age ≥30 (30~56)				Analysis
	N	Mean	±	SD	N	Mean	±	SD	
Cd	24	10.61	±	17.84	18	4.75	±	9.32	n. s.
Pb	24	149.26	±	100.46	18	59.29	±	66.52	**
Cu	23	4168.94	±	5261.34	15	2162.42	±	4594.69	n. s.
Zn	26	183.4	±	228.4	17	96.92	±	81.0	n. s.

t-test. ** p<0.01 n. s .Not significant

表 10. 尿中微量元素濃度の相関係数

		Cd	Pb	Cu	Zn
Cd		1			
Pb	Total	0.20			
	Males	0.04	1		
	Females	0.29			
Cu	Total	-0.14	0.09		
	Males	-0.19	-0.20	1	
	Females	-0.11	0.28		
Zn	Total	0.57**	0.37*	0.36*	
	Males	0.30	-0.27	0.60*	1
	Females	0.66**	0.57**	0.33	

Peason's correlation *p<0.05 **p<0.01

表 11. 血清と尿の微量元素間の相関係数

	Total		Males		Females	
	N	R	N	R	N	R
Cd	39	-0.07	18	-0.14	21	-0.10
Pb	39	0.56***	18	0.71***	21	0.46*
Cu	35	0.28	15	0.39	20	0.22
Zn	40	0.24	18	0.19	22	0.29

*p<0.05 ***p<0.001 R: Peason's correlation

表 12. 血清と尿の微量元素濃度の比較

Total								
	N	Blood			Urinary			Analysis
		Mean	±	SD	Mean	±	SD	
Cd	39	0.46	±	2.82	8.72	±	15.34	**
Pb	39	113.41	±	158.86	111.37	±	100.59	n. s.
Cu	35	3379.81	±	4634.28	3178.99	±	4654.10	n. s.
Zn	40	262.33	±	338.13	148.02	±	193.83	*
Paired <i>t</i> -test.		Significant difference * <i>p</i> <0.05			** <i>p</i> <0.01			n. s. Not significant

Males								
	N	Blood			Urinary			Analysis
		Mean	±	SD	Mean	±	SD	
Cd	18	0.02	±	0.09	7.36	±	12.82	*
Pb	18	155.58	±	199.65	112.21	±	93.19	n. s.
Cu	15	3027.52	±	5193.74	2665.33	±	3875.63	n. s.
Zn	18	241.78	±	371.67	127.86	±	86.3	n. s.
Paired <i>t</i> -test.		Significant difference * <i>p</i> <0.05			n. s. Not significant			

Females								
	N	Blood			Urinary			Analysis
		Mean	±	SD	Mean	±	SD	
Cd	21	0.84	±	3.84	9.89	±	17.44	*
Pb	21	77.27	±	105.36	110.65	±	108.81	n. s.
Cu	20	3644.02	±	4287.65	3564.24	±	5227.71	n. s.
Zn	22	279.15	±	315.99	164.51	±	251.22	n. s.
Paired <i>t</i> -test.		Significant difference * <i>p</i> <0.05			n. s. Not significant			

表 13. 対象の特性

	SG (Serum glucose)		TG (Triglycerides)		TCH (Total Cholesterol)	
	<110 mg/dL	≥110 mg/dL	<150 mg/dL	≥150 mg/dL	<220 mg/dL	≥220 mg/dL
	n=33	n=33	n=33	n=33	n=33	n=33
Height	172.30±7.25	159.57±6.20**	162.31±6.85	174.21±8.92**	160.46±7.51	171.91±7.12**
(cm)						
Weight	71.77±7.47	63.93±7.66**	63.98±6.25	76.69±5.86**	65.02±7.96	70.94±8.08**
(kg)						
BMI	24.14±1.52	25.14±2.96	24.34±2.60	25.31±1.67	25.30±3.02	23.92±1.04*
(kg/m ²)						

t-test. *p<0.05 **p<0.01

表 14. 血清グルコース値による微量元素濃度の比較

	SG (Serum glucose)	
	<110 mg/dL	110–180 mg/dL
	n=33	n=33
Serum Pb (ppb)	146.50±101.22	99.92±80.27
Serum Cu (ppb)	6157.30±2351.45	2012.64±1237.20*
Serum Zn (ppb)	198.32±115.45	463.13±328.25
<i>t</i> -test.	* <i>p</i> <0.05, ** <i>p</i> <0.01	

表 15. 中性脂肪値による血清微量元素濃度の比較

	TG (Triglycerides)	
	<150 mg/dL	150–400 mg/dL
	n=33	n=33
Serum Pb (ppb)	111.19±92.65	130.46±96.25
Serum Cu (ppb)	3537.30±1313.86	4714.86±3162.35
Serum Zn (ppb)	524.19±338.42	150.99±92.03*
<i>t</i> -test.	* <i>p</i> <0.05, ** <i>p</i> <0.01	

表 16. 総コレステロール値による血清微量元素濃度の比較

	TCH (Total Cholesterol)	
	<220 mg/dL	220–300 mg/dL
	n=33	n=33
Serum Pb (ppb)	106.15±90.54	139.48±109.91
Serum Cu (ppb)	1529.08±1303.14	5387.29±3391.73*
Serum Zn (ppb)	493.96±433.23	290.55±152.53

t-test. **p*<0.05, ***p*<0.01

表 17. 総コレステロール・中性脂肪・血清グルコース値および BMI と微量元素濃度の相関

	TCH	TG	SG	BMI	Serum Pb	Serum Cu	Serum Zn
TG	0.361*						
SG	-0.636**	-0.292*					
BMI	-0.168	0.097	-0.277				
Serum Pb	0.073	0.146	-0.027	-0.073			
Serum Cu	0.241	0.323*	-0.220	-0.145	0.609**		
Serum Zn	-0.093	-0.120	-0.003	0.202	-0.212	-0.166	

Pearson's correlation *p<0.05 **p<0.001

(TCH, total cholesterol; TG, triglyceride; BS, blood sugar; BMI, body mass index;
Pb, lead; Cu, copper; Zn, zinc)

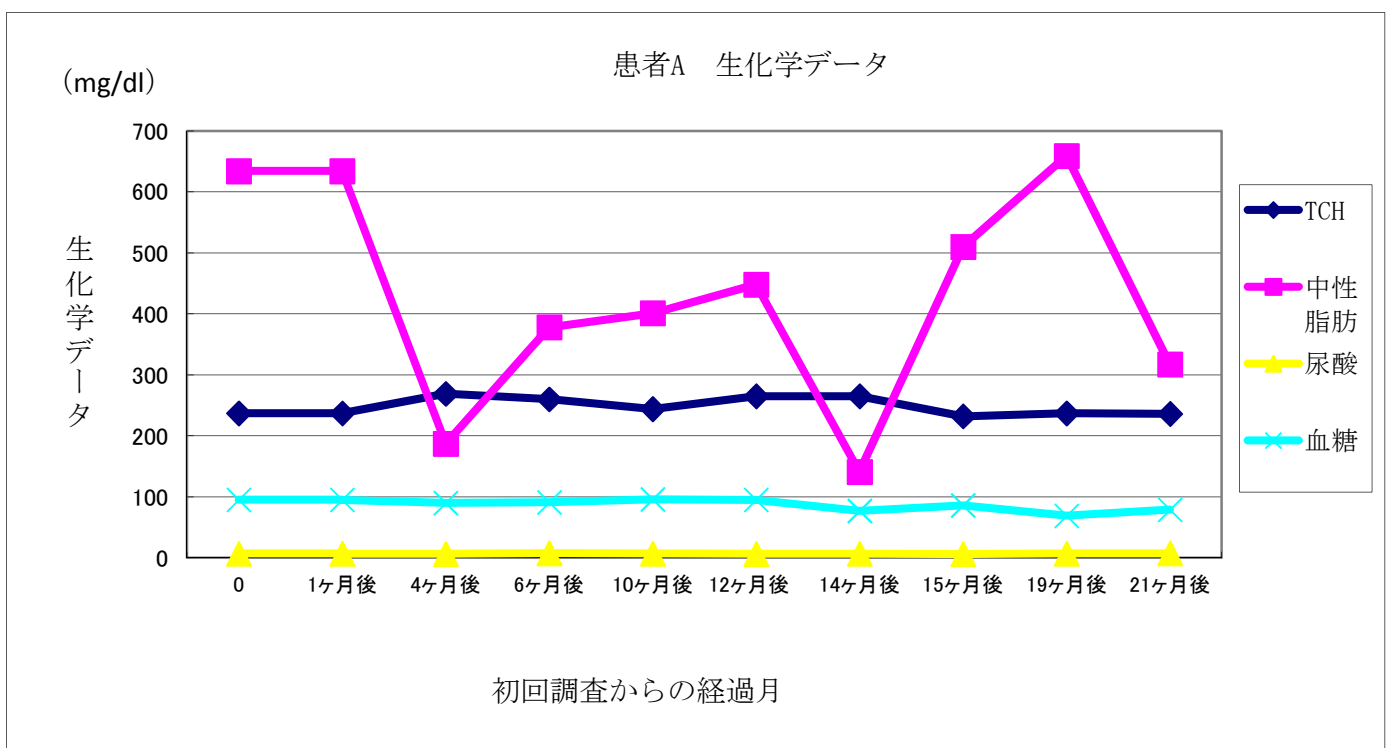
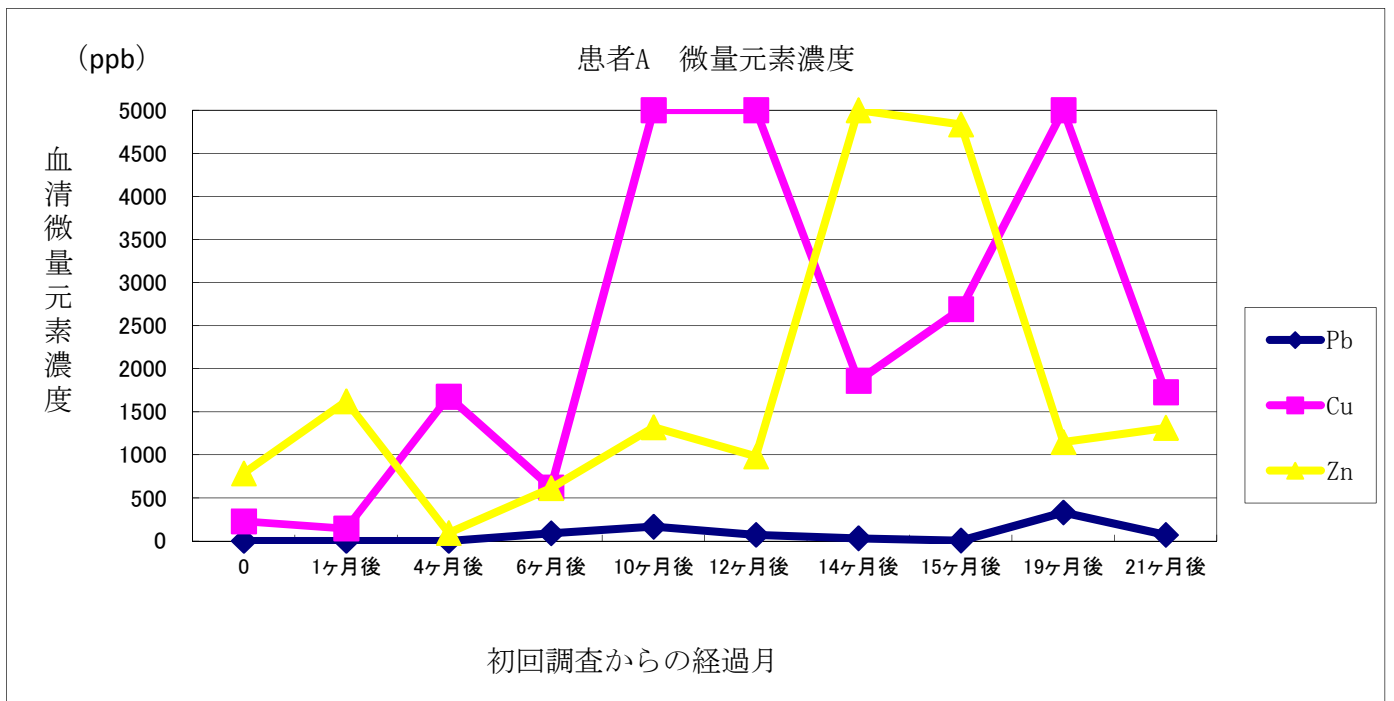


図 11. 高脂血症患者の経過観察

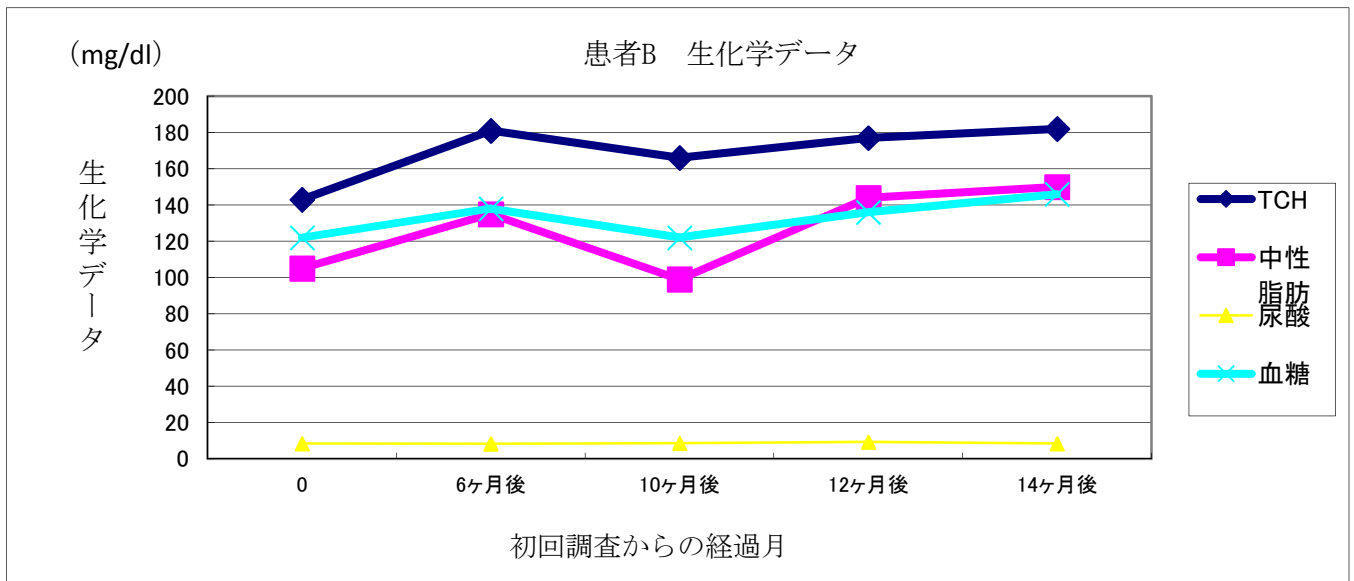
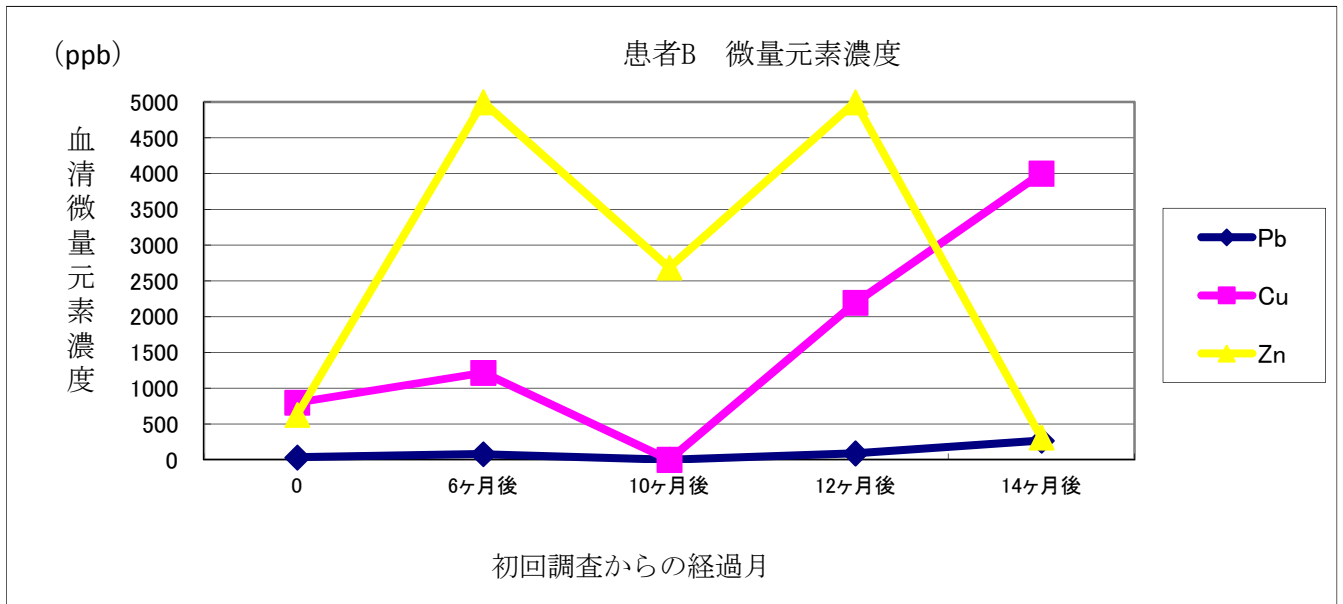


図 12. 高血糖症患者の経過観察

表 18. 高脂血症患者 A の食事調査結果

栄養素	単位	摂取量	適正量 (下限)	適正量 (上限)	上限値
02. エネルギー	k c a l	1561	2100		
04. たんぱく質	g	55.6	75.0	105 (20%)	
05. 脂質	g	48.3	46.7 (20%)	58.3 (25%)	
06. 炭水化物	g	211.9	262.5 (50%)	367.5 (70%)	
09. カリウム	mg	1571	1800		
10. カルシウム	mg	502	700		2300
11. マグネシウム	mg	190	250		
12. リン	mg	836	1000		3500
13. 鉄	mg	6.4	7.5		40
14. 亜鉛	mg	6.3	7.0		30
15. 銅	mg	0.87	0.60		10
16. マンガン	mg	1.96	3.50		11
22. レチノール当量	μ g	334	450		3000
23. ビタミンD	μ g	4.5	5.0		50

表 19. 高血糖患者 B の食事調査結果

栄養素	単位	摂取量	適正量 (下限)	適正量 (上限)	上限値
02. エネルギー	k c a l	1614	2500		
04. たんぱく質	g	75.1	50.0	125 (20%)	
05. 脂質	g	51.2	55.6 (20%)	69.4 (25%)	
06. 炭水化物	g	189.6	312.5 (50%)	437.5 (70%)	
09. カリウム	mg	2236	2000		
10. カルシウム	mg	635	700		2300
11. マグネシウム	mg	268	350		
12. リン	mg	1122	1050		3500
13. 鉄	mg	7.6	7.5		50
14. 亜鉛	mg	8.1	9.0		30
15. 銅	mg	1.07	0.80		10
16. マンガン	mg	2.37	4.00		11
22. レチノール当量	μ g	348	700		3000
23. ビタミンD	μ g	11.4	5.0		50

表 20. 高血糖患者 C の食事調査結果

栄養素	単位	摂取量	適正量 (下限)	適正量 (上限)	上限値
02. エネルギー	k c a l	1367	2100		
04. たんぱく質	g	50.2	75.0	105 (20%)	
05. 脂質	g	36.2	46.7 (20%)	58.3 (25%)	
06. 炭水化物	g	201.0	262.5 (50%)	367.5 (70%)	
09. カリウム	mg	1753	1800		
10. カルシウム	mg	442	700		2300
11. マグネシウム	mg	169	250		
12. リン	mg	746	1000		3500
13. 鉄	mg	5.3	7.5		40
14. 亜鉛	mg	5.5	7.0		30
15. 銅	mg	0.74	0.60		10
16. マンガン	mg	1.75	3.50		11
22. レチノール当量	μ g	466	450		3000
23. ビタミンD	μ g	5.3	5.0		50