The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	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
Author(s)	林, 克謨
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35834
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【86】

氏名・(本籍)	林(りん)　克(こく)　謨(ぼ)
学位の種類	医　学　博　士
学位記番号	第　7511　号
学位授与の日付	昭和62年1月7日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**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**
論文審査委員	(主査) 教　授　後藤　稠 (副査) 教　授　朝倉新太郎　教　授　吉田　博

論文内容の要旨

［目　的］

鉛は古くから色々な分野で活用され，現在の産業現場でも広く利用されている。このため鉛に曝露される機会のある労働者も多く，労働者の健康管理のために，鉛曝露の影響を評価する指標が種々考えられて来ている。生体は鉛曝露により数々の影響を受けることが知られている。鉛のポルフィリンの合成阻害により，尿中δ－アミノレブリン酸（δ－ＡＬＡ）の排泄量が増加することが知られており，鉛曝露の影響を評価する有効な方法の一つとして，尿中δ－ＡＬＡの測定は広く用いられてきた。

尿中δ－ＡＬＡ定量法は，カラムクロマトグラフィーを利用するMauzerall-Granick法が代表的であり，有機溶媒によって尿中δ－ＡＬＡピロールを抽出する簡易法は友国一緒方法，和田法等がある。しかし分析の平易さ，特異性については，これらの定量法は必ずしも充分とは言えなかった。またδ－ＡＬＡには，柴外部に充分な吸収や，蛍光，電気活性等がないことから妨害物質の多い尿中の測定は容易ではなかった。

我々はδ－ＡＬＡに蛍光をもつ誘導体にさせたことで，尿中δ－ＡＬＡを対し充分な感度と特異性を持つ定量法を開発した。さらに，それを友国一緒方法と比較検討したので報告する。

［方　法］

今回我々が開発した方法（以下本法と略）は，δ－ＡＬＡの標準物質，又は尿試料0.1mlにアセチルアセトン0.4ml，10％ホルムアルデヒド溶液1.0ml，２％酢酸溶液２mlを加えて，蒸留水で４mlにした。沸騰水中で10分間反応させ，室温で10分間放置したのち，100μlをＨＰＬＣに導入した。

友国－緒方法は原法に準じて行った。

［成　　績］

1）標準物質による検討

① 本法によりδ－ＡＬＡ誘導体は溶離液中の蛍光曲線は，励起波長373nm，蛍光波長463nmで最大蛍光強度を示した。

② δ－ＡＬＡ誘導体生成反応について検討した。10％ホルムアルデヒド１mlの添加量及び加熱反応10分間は最適反応条件として得られた。この誘導体生成後，遮光条件で室温３時間以内では安定することが確認された。

③ 異なる濃度のメタノール（40％～70％）溶離液７種類を用いて，δ－ＡＬＡ誘導体と他の共存物質の分離について検討した。最適なメタノール濃度は50％前後で，δ－ＡＬＡ誘導体ピークの保持時間は10分～15分で他の物質との分離も良好であった。

④ δ－ＡＬＡ，ＧＡＢＡ，グリシンを本法により，それぞれの蛍光強度を比較した。δ－ＡＬＡの蛍光強度はＧＡＢＡの88倍，グリシンの238倍であった。さらに，和光純薬製のアミノ酸混合液ＡＮ型及びＢ型を用いて本法により測定した。何れのアミノ酸の誘導体もカラムに保持されず，δ－ＡＬＡの誘導体はこれらから充分良く分離された。

⑤ ７種類の濃度のδ－ＡＬＡの標準液（0.5～20mg／ｌ）を用いて，本法により，その検量線を求めた。回帰直線はＹ＝200＋28,100Ｘであり（ｒ＝1.0），原点を通る直線に良く近似できた。

2）尿試料による検討

① 同一正常人のスポット尿及び1.5mg／ｌのδ－ＡＬＡ標準液，それぞれ10検体を用い，本法により再現性をもとめた。尿試料の変動係数は3.8％で，標準物質の3.2％と比べて，ほぼ同じ値を示した。

② 健康男子15名，鉛健診対象者５名のスポット尿にそれぞれ一定量のδ－ＡＬＡ標準液を添加した。その回収率について，検討した。健康男子は平均97.3％で，鉛健診対象者は平均98.1％であった。

③ 上述健康男子15名，鉛健診対象者５名のスポット尿について，本法と友国－緒方法によりδ－ＡＬＡを定量した。それぞれ測定値を用い，両方法の相関関係を検討した。回帰直線はＹ＝0.38＋1.56Ｘであり（ｒ＝0.97），両方法による測定値の間には差があるが，その比はほぼ一定で良い相関が示された。

［総　　括］

1）δ－ＡＬＡの標準液を用い，本法により測定した。その安定性，再現性，直線性を確認した。さらに，他のアミノ酸との検討した結果では，δ－ＡＬＡに対して本法は特異的な定量法であった。

2）尿試料についても，本法により良い再現性及び高い回収率が得られた。

3）本法は特別な前処理を行うことなく，簡単に分析ができるため，大量の検体を測定することも可能である。本法は格別の熟練をようしないので，分析者の個人誤差や試料操作による誤差は小さい。労働衛生分野における尿中δ－ＡＬＡの定量法として，本法は非常に有効な方法と考えられる。

論文の審査結果の要旨

日本には鉛労働者がなお多く，その健康管理上，鉛曝露の有効な指標が強く望まれている。尿中δ－ＡＬＡの定量は鉛曝露を評価する方法の一つとして，広く用いられてきた。しかし分析の平易さ，特異性については，従来の定量法は必ずしも充分とは言えなかった。δ－ＡＬＡには，紫外部に充分な吸収や，蛍光，電気活性等がないことから妨害物質の多い尿中の測定は容易ではなかった。

林はSawicki法に着目し，蛍光をもつδ－ＡＬＡの誘導体を作ることによって，尿中δ－ＡＬＡに対し充分な感度と特異性を持つ定量法を開発した。操作は簡便で自動化が可能な方法であるため，本法を利用することによって尿中δ－ＡＬＡを鉛一次健康診断の検査対象にすることが可能になった。本研究の意義は，特に労働衛生分野において極めて大きく，学位論文に値するもの考える。