

呼気中成分分析による病態解析 — 高血圧症患者にみる呼気中微量元素の変動 —

略 題：高血圧症と呼気中微量元素の変動

荒 川 泰 昭¹⁾, 遠 藤 高 由²⁾, 中 島 晴 信³⁾, 武 内 孝 之⁴⁾, 中 野 幸 廣⁴⁾

(¹⁾静岡県立大学・公衆衛生・生体衛生*, ²⁾メディトピア沼津**,

³⁾大阪府立公衆衛生研究所***, ⁴⁾京都大学原子炉実験所****)

Changes in trace element balances in the Breath of Hypertensives

Yasuaki ARAKAWA¹⁾, Takayoshi ENDO²⁾, Sayoko OHMORI³⁾, Harunobu NAKASHIMA⁴⁾,

Takayuki TAKEUCHI⁵⁾ and Yukihiro NAKANO⁵⁾

¹⁾Department of Hygiene & Preventive Medicine, Faculty of Health Sciences, The University of Shizuoka. 52-1

Yada, Shizuoka-shi, Shizuoka 422, Japan.

²⁾Meditopia Numazu. 575-1 Okaishiki, Numazu-shi, Shizuoka 410, Japan.

³⁾Ohzuma Women University. 9-1, Oyamada-cho, Tama-shi, Tokyo 206, Japan.

⁴⁾Osaka Prefectural Institute of Public Health. 1-3-69 Nakamichi, Tojo-ku, Osaka 537, Japan.

⁵⁾Research Reactor Institute, Kyoto University. Noda, Kumatori-cho, Sennan-gun, Osaka 590-04, Japan.

To investigate the relationship between trace elements in the breath and morbid state, the element balances in the breath of various kind of patients were analyzed by using a thermal neutron activation analysis method. Of 22 elements, 16 elements such as Cl, Br, I, Na, K, Ca, Mg, Al, Mn, Zn, S, Fe, Co, Cr, V and Sc were found in the breath. In this article, trace element balances in the breath are discussed with a focus on a hypertension.

In a complication of hypertension and lung disease, increases in percentage of K, and Br, and decreases in percentage of S, Al, Zn, and I were observed. In a complication of hypertension and diabetes, increases in percentage of K, and Mn and decreases in percentage of Al, and I were observed. In a complication of hypertension and heart disease, increases in percentage of K, and Mn and decreases in percentage of Al, and Zn were observed. In a essential hypertension, increases in percentage of K, and Mg and decreases in percentage of Na, Al, Cr, Se, and I were observed. Especially in a hypertension, an increase in K and a decrease in Na in the breath were observed. This indicates that the metabolism of Na/K in the lung is disorder.

These results revealed that the excretion of trace elements into the breath changed significantly and specifically depending on morbid state. The excretion mechanism of the specific trace elements such as Na/K into the breath are now under investigation.

Key words: Trace element balance, Breath, Hypertension

*所在地：静岡市谷田52-1 (〒422-8526)

**所在地：千葉市稲毛区弥生町1-33 (〒263-8522)

***所在地：大阪市東成区中道1-3-69 (〒244)

****所在地：大阪府泉南郡熊取町野田 (〒590-04)

はじめに

従来、健康指標として頻用されているものの多くは代謝産物あるいは排泄物質などを対象とし、血液や尿にその存在や動態を確認するものであるが、これらの物質は化学形態は異なるにせよ、病態によっては呼気中にも排泄されているはずである。

呼気中に排泄される物質として、その測定の対象になっているものに揮発性有機化合物や水素がある。その中で、とくに呼気中成分と病態との関連を検討した研究としては、肺癌患者と正常人との揮発性有機物質のGC/MSスペクトラムパターンの比較¹⁾、アルコール中毒患者のメタノール量、エタノール量、アセトン量、イソプレン（2-メチル-1, 3-ブタジエン）量の測定²⁾、重度のB-細胞免疫不全症患者の呼気中の水素とメタンの測定³⁾、慢性気管支炎患者から排泄された呼気中の非揮発性物質の測定⁴⁾、脂質の過酸化による呼気中エタン、ペンタン、そのほかの低分子の炭水化物の測定⁵⁾、ならびに呼気中のメタン量、エタン量の新生児と成人の比較⁶⁾、低デンプン食および高デンプン食摂取時のデンプンの吸収不良と呼気中の水素とメタンの関連性^{7,8)}、などがある。また、環境曝露に関する実験では、呼気、大気、飲料水との関連性^{9,10)}、喫煙者の呼気中の有機物の同定¹¹⁾、メタノール、トルエン、テトラクロロエチレンに曝露したときの呼気中メタノール、トルエン、テトラクロロエチレン量の測定¹²⁾、ベンゼン曝露したときに排泄される呼気中ベンゼンの測定¹³⁾などがある。しかし、上記のごとく、詳細に検討された物質はほんの一部に過ぎず、病態との関連性や呼気への排泄機構などそのメカニズムに関する研究はほとんどない。

そこで、実際に、呼気中に排泄される微量元素の存在を確認したところ、18元素が確認された。したがって、本研究では、呼気中に排泄される微量元素と病態との関連を調べるために、種々の疾病患者について呼気中の微量元素バランスを検討した。本報では、とくにその中の高血圧症と呼気中微量元素に限定して報告する。

キーワード：微量元素バランス，呼気，高血圧症

実験方法

1. 対象

1. 1 病態比較実験

同一病院における各種病態の患者40名（肺疾患5名，糖尿病5名，脳血管障害5名，高血圧症と肺疾患の合併症5名，高血圧症と糖尿病の合併症5名，高血圧症と心疾患の合併症5名，糖尿病と肝疾患の合併症5名，心疾患と脳血管障害の合併症5名）および正常人5名の合計45名を対象とした。

1. 2 高血圧症選定実験

同上病院における本態性高血圧症患者44名および正常人23名の合計67名を対象とした。

2. 呼気中微量元素の測定

2. 1 呼気の捕集

各患者において呼気を試験管（ポリプロピレン製）内のアセトン（精密分析用UGR）に十分に吹き込ませ、吸収させた。捕集した呼気試料は密栓し、冷凍庫（-20℃）に保管した。なお、器具類は全て硝酸洗浄したものを使用した。

2. 2 試料の調製

標準試料については、高純度の金属単体あるいは無機金属化合物を溶解して各標準試料原液（100 ppm，200 ppm，1,000 ppm，および2,000 ppm）を作製し、互いに重なり妨害し合うような光電ピークを生ずる元素は混合しないように、それぞれ一定量を適当に希釈混合し、その40～100 μlを硝酸洗浄済み濾紙に吸収させた後、硝酸洗浄済みポリエチレン袋に封入し、照射試料とした。なお、それぞれの60分間照射用試料については硝酸洗浄済みポリエチレン袋を二重にして封入した。

呼気試料については、100 μlを硝酸洗浄済みろ紙に吸収させた後、硝酸洗浄済みポリエチレン袋に封入し、照射試料とした。

2. 3 放射化分析

試料ならびに標準試料を照射カプセルに封入し、京都大学原子炉実験所の圧気輸送管（KUR：Pn-1）を用いて照射カプセルを炉心部に送り、1分間ならびに60分間、熱中性子束： $2 \times 10^{13} \text{cm}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ の条件下で照射を行った。適時冷却後、高分解能Ge半導体検出器を装着した波高分析器（Pulse height analyser, PHA）を用いて γ 線スペクトロメトリーによる多元素分析を行った。なお、本定量における核種別の照射時間、冷却時間、計測時間および対象となる微量元素は以下のとおりである。

短寿命核種：1分間照射、2～5分間冷却、200秒計測；Cl, Br, I, Al, Ca, Cu, Mg, Mn, V, S

中寿命核種：60分間照射、36時間冷却、300秒計測；Na, K, As, Au, La, Cd

長寿命核種：60分間照射、60日間冷却、10,000秒計測；Zn, Fe, Co, Cr, Ag, Hg, Sb, Se, Sc

3. 血液中電解質（Na, Ca, P, K, Cl）の測定

Na, K, Clは各イオンを選択的に識別する電極法¹⁴⁾、CaはOCPC法¹⁵⁾、Pはスクロースホスホリラーゼを利用する酵素法¹⁶⁾で定量した。

結 果

1. 呼気捕集溶媒の選定

呼気捕集溶媒について検討した。その結果、①幅広く両極性の呼気成分を捕集できること、②捕集後の放射化分析のための前処理において、ろ紙へのサンプリング後の溶媒除去（乾燥）が簡単であること（加熱の必要がないので揮発性成分の損失がない）などの理由からアセトンを捕集溶媒として選定した。

2. 呼気中に排泄される微量元素

定量した22元素のうち、呼気中にはCl, Br, I, Na, K, Ca, Mg, Al, Mn, Zn, S, Fe, Co, Cr, V, Scの16元素が検出された¹⁷⁾。

3. 病態比較実験

検討した種々の疾患の中で、高血圧、肺疾患、糖尿病、心疾患、肝疾患、脳血管障害およびそれら疾病間の合併症についての関連図をFig. 1に示す。本報ではとくにその中高血圧症に限定して報告する。

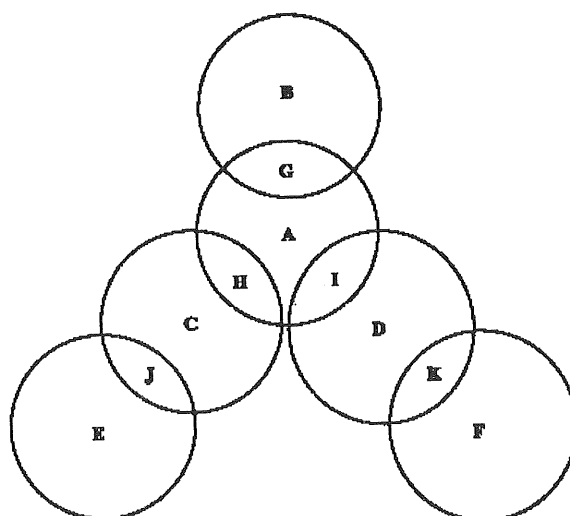


Fig. 1 A classification of various kinds of diseases.

A: hypertension, B: lung diseases, C: diabetes, D: heart diseases,
E: liver diseases, F: Cerebral vascular diseases. G: complication of A and B,
H: complication of A and C, I: complication of A and D, J: complication of C and E,
K: complication of D and F, N: normal state

3. 1 他疾患と合併する高血圧症患者の呼気中微量元素

Fig. 2に示すように、他疾患と合併する高血圧症における呼気中微量元素バランスは正常人に比べて、肺疾患との合併症ではKとBrの割合が高く、S, Al, Zn, Iの割合が低かった。糖尿病との合併症ではKとMnの割合が高く、AlとIの割合が低かった。高血圧症と心疾患の合併症ではKとMnの割合が高く、AlとZnの割合が低かった。

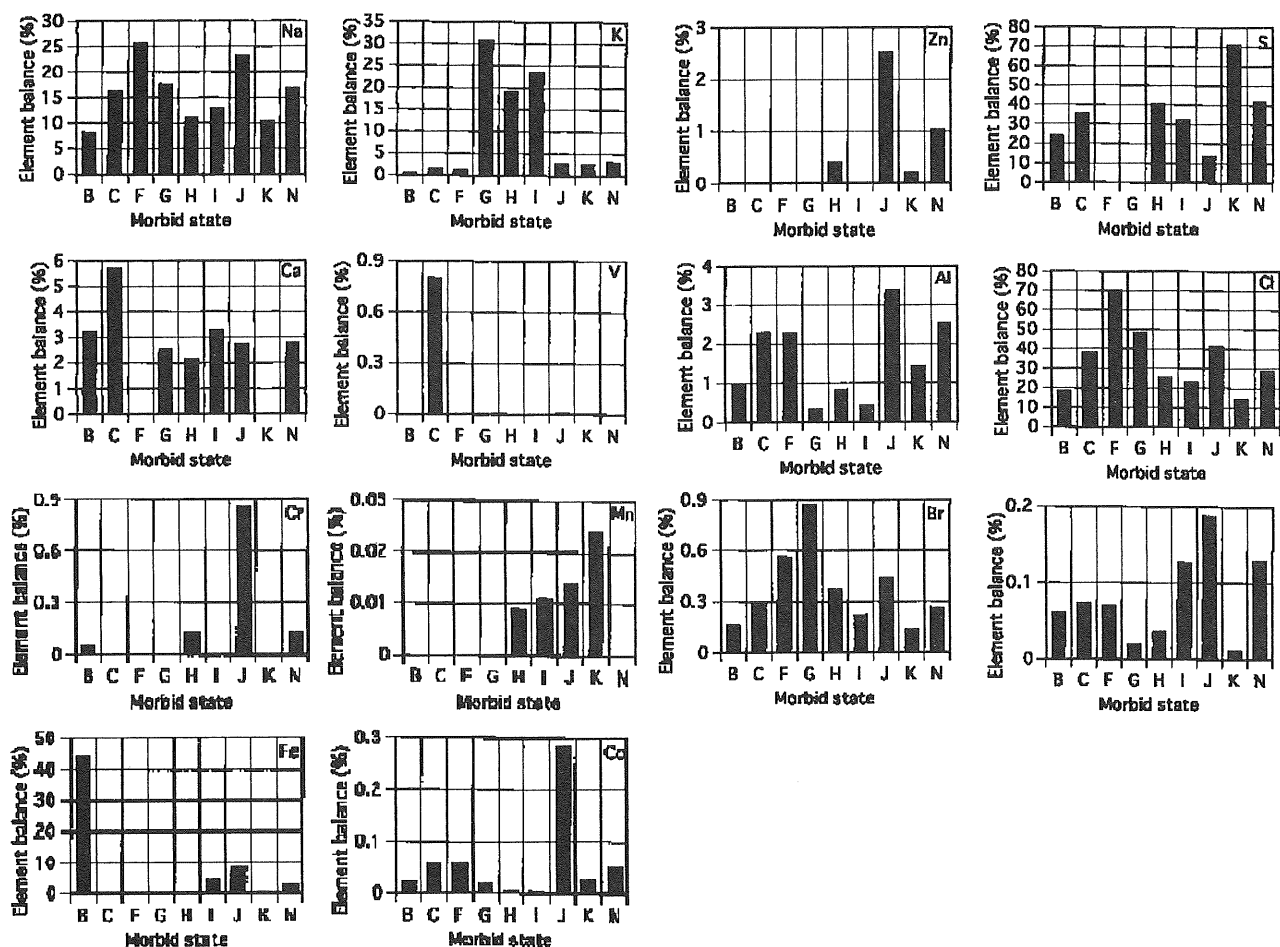


Fig. 2 Trace elements balances in the breath of various kinds of diseases.

A: hypertension, B: lung diseases, C: diabetes, D: heart diseases, E: liver diseases, F: Cerebral vascular diseases. G: complication of A and B, H: complication of A and C, I: complication of A and D, J: complication of C and E, K: complication of D and F, N: normal state

4. 高血圧選定実験

4. 1 本態性高血圧症患者の呼気中微量元素

本態性高血圧症の患者44名を選定して検討した。その結果、Table 1に示すように呼気中微量元素バランスは正常人23名に比べて、K, Mgの割合が高く、Na, Al, Cr, Se, Iの割合が低かった。とくにNa/K比において有意の差がみられ、肺におけるNa/K代謝の異常が示唆された。

Table 1 Element balance in the breath of hypertensives.

Trace elements	Element balance (%)	
	Control (n = 23)	Hypertensive (n = 44)
Na	45.25 ± 6.08	24.41 ± 5.05 ***
K	1.38 ± 5.26	13.67 ± 12.48 ***
Ca	N.D.	0.08 ± 0.45
Mg	0.66 ± 1.54	1.32 ± 4.46
Sc	0.15 ± 0.21	N.D.
Cr	0.77 ± 0.62	0.39 ± 0.31 ***
Fe	N.D.	3.85 ± 7.64
Co	N.D.	0.01 ± 0.01
Zn	N.D.	0.14 ± 0.40
Al	0.51 ± 0.19	0.26 ± 0.09 ***
Se	0.29 ± 0.24	0.17 ± 0.24
Cl	49.76 ± 5.84	49.89 ± 7.41
Br	1.02 ± 0.04	1.16 ± 0.28
I	0.10 ± 0.01	0.02 ± 0.03 ***

Those marked with asterisks differ significantly (Student's t test) from the corresponding control value: *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001

4. 2 高血圧症患者の呼気中微量元素と血中微量元素との関連性

呼気中成分が血液由来による可能性があるため、問題となる血中微量元素について検討した。すなわち血中Na, K, Cl, Ca, Pを測定してみたが、本態性高血圧症患者と正常人との間に有意の差は認められなかった (Table 2)。またNa/K比に関しても有意の差は認められなかった。

この結果は3. 1で得た高血圧症患者の呼気中におけるKの高値が、血中Kに依存したものではないことを示しており、高血圧症患者の肺において、特異的な電解質代謝が存在することを示唆している。

Table 2 Blood pressure and concentration of electrolytes in the serum of essential hypertensives.

		Max.press.	Min.press.	Na	K	Cl	Ca	P	Na/K
Hypertensive (n = 44)	Mean	155.76	85.06	141.6	3.929	109.8	9.281	3.131	36.040
	± S.D.	± 11.44	± 4.48	± 2.3	± 0.244	± 3.9	± 0.405	± 0.622	± 0.927
Control (n = 23)	Mean.	111.05	68.20	140.8	3.880	101.5	9.520	3.635	36.289
	± S.D.	± 10.42	± 9.05	± 1.5	± 0.473	± 1.8	± 0.293	± 0.516	± 0.319

4. 3 投与薬剤による呼気中微量元素バランスへの影響の有無

本実験の対象となった本態性高血圧患者に投与された薬剤をTable 3に示す。抗不整脈薬、抗狭心症薬、脳循環改善薬、降圧薬、利尿薬、高脂血症用薬、抗凝血剤、パーキンソン症候群治療薬、抗不安薬、催眠・鎮静薬、高尿酸血症治療薬などの中で、とくに血中Kを変動させる可能性のある薬剤は抗アルドステロン系利尿薬のスピロノラクトン (Naおよび水の排泄を促進し、Kの排泄を抑制する) およびチアジド系類似利尿薬のトリパミド (緩やかな塩利尿作用) であるが、本実験の対象となった本態性高血圧症患者の中には高アルドステロン症患者は入っておらず、また、4. 2で検討した如く、血中K濃度が正常人と比べて有意の差を示さなかったことから、高K血症や低K血症など治療過程での薬剤による影響は考えにくい。従って、呼気中Kの増大は投与薬剤によるものではないと考えられた。

Table 3 Drugs administered to hypertensives

Commercial name	General name
Antiarrhythmic drugs Carvisken	Pindolol
Anti-angina pectoris drugs Frاندول Nitroderm Herbesser Vasolan Adalat L Atenarate Perdipine	Isosorbide dinitrate Nitroglycerin Diltiazem hydrochloride Verapamil hydrochloride Nifedipine Nifedipine Nifedipine hydrochloride
Cerebral vasodilators Calan Avan Elen	Vinpocetine Idebene Indeloxazine hydrochloride
Antihypertensive drugs Carvisken R Aldomet Estulic	Pindolol Methyldopa Guanfacine hydrochloride
Antidiuretic drugs Normonal Almatol	Tripamide Spironolactone
Hyperlipemia drugs Mevalotin	Pravastatin sodium
Anticoagulants Piclodin	Ticlopidine hydrochloride
Antiparkinsonism drugs Amazolon	Amantadine hydrochloride
Antianxiety drugs Serenal	Oxazolam
Hypnotics & Sedatives Lendormin	Brotizolam
Hyperuricemia drugs Urinorm	Benzbromarone

考 察

本研究では種々の疾病患者（高血圧，肺疾患，糖尿病，心疾患，肝疾患，脳血管障害など）について，呼気中微量元素と病態との関連を調べた。その結果，呼気中微量元素バランスは病態により再現性よく，しかも特異的に変化することが分かった。本報では，とくにその中の高血圧症に限定して報告するが，本態性高血圧症患者の呼気中では，血中濃度や投与薬剤とは無関係に，Kが上昇し，Naが低下するという興味ある知見を得た。この結果は高血圧患者の肺において特異的な電解質代謝が存在することを示唆しており，とくに肺で産生されるアンジオテンシン変換酵素の関与を示唆している。そして，この高血圧患者の呼気中におけるKの高値が①肺からのK排泄による低K血症誘発の原因（原因説）となるのか，それとも②高血圧症に伴うKの肺への蓄積（結果説）によるものなのか，目下検討中である。さらに，高血圧症においては呼気中のAlが特異的に低値を示すことから，①肺でのAlの排泄障害や②脳など他の組織部位でのAlの蓄積と高血圧症誘発との関連性が示唆され，合わせて検討中である。

そして，この高血圧症を含め，他の疾患においても有意に変動する微量元素がいかなる機序のもとに呼気中に排泄されるのか，また，どのような形態で排泄されるのか興味ある課題であり，目下検討中である。

なお，この研究の一部は静岡県立大学「21世紀COEプログラム」先導的健康長寿学術研究推進拠点の平成14年度研究助成によるものである。

まとめ

種々の疾病患者（高血圧，肺疾患，糖尿病，心疾患，肝疾患，脳血管障害など）について，呼気中微量元素と病態との関連を調べた。その結果，呼気中微量元素バランスは病態により再現性よく，しかも特異的に変化することが分かった。本報では，その中の高血圧症に限定して報告するが，本態性高血圧症患者の呼気中では，血中濃度や投与薬剤とは無関係に，Kが上昇し，Naが低下するという興味ある知見を得た。

参考文献

- 1) Gordon SM, Szidon JP, Krotoszynski BK, Gibbon and O'Neil HJ: Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. *Clin. Chem.*: 31, 1278 - 1282, 1985.
- 2) Jones AW: Excretion of low-molecular weight volatile substances in human breath: focus on Endogenous ethanol. *J. Anal. Toxicol.*: 9, 246 - 250, 1985.
- 3) Nilssen DE, Hoverstad T, Froland SS, and Midtvedt: Short-chain fatty acids and other intestinal microflora-associated characteristics in faeces of patients with severe B- cell immunodeficiency. *Scand. J. Gastroenterol.*: 24, 21 - 27, 1989.
- 4) Dobrykh VA: Characteristics of elimination of non-volatile substances with expired air in patients with chronic bronchitis. *Klin. Med.*: 64, 76 - 78, 1986.
- 5) Wade CR and van Rij AM: In vivo lipid peroxidation in man as measured by the respiratory excretion of ethane, pentane, and other low-molecular-weight hydrocarbons. *Anal. Biochem.*: 150, 1 - 7, 1985
- 6) Wispe JR, Bell EF, and Roberts RJ: Assessment of lipid peroxidation in newborn infants and rabbits by measurements of expired ethane and pentane: influence of parenteral lipid infusion.: 19, 374 - 379, 1985.
- 7) Scheppach W, Fabian C, Sach M, and Kasper H: The effect of starch malabsorption on fecal short-chain fatty acid excretion in man. *Scand. J. Gastroenterol.*: 23, 755 - 759, 1988.
- 8) Flourie B, Leblond A, Florent C, Rautureau M, Bisalli A, and Rambaud JC: Starch malabsorption and breath gas excretion in healthy humans consuming low- and high-starch diets. *Gastroenterology*: 95, 356 - 363, 1988.
- 9) Wallace L, Pellizzari E, Hartwell T, Zelon H, Sparacino C, Perritt R, and Whitmore R: Concentrations of 20 volatile organic compounds in the air and drinking water of 350 residents of new jersey compared with concentrations in their exhaled breath. *J. Occup. Med.*: 28, 603 - 608, 1986.
- 10) Pellizzari E, Hartwell T, Sparacino C, Whitmore R, Sheldon L, Zelon H, and Perritt R: The TEAM study: personal exposures to toxic substances in air, drinking water, and breath of 400 residents of New Jersey, North Carolina, and North Dakota. *Environ. Res.*: 43, 290 - 307, 1987.
- 11) Gordon SM: Identification of exposure markers in smokers' Breath. *J. Chromatogr.*: 511, 291 - 302, 1990.
- 12) Benoit FM, Davidson WR, Lovett AM, Nacson S, and Ngo A: Breath analysis by API/MS-Human exposure to volatile organic solvents. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*: 55, 113 - 120, 1985.
- 13) Berlin M: Biological monitoring of populations exposed to volatile petroleum products. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*: 534, 472 - 480, 1988
- 14) 金井正光編著：臨床検査法提要 第30版：金原出版，東京，1993，pp. 711 - 712
- 15) 金井正光編著：臨床検査法提要 第30版：金原出版，東京，1993，pp. 593 - 595
- 16) 金井正光編著：臨床検査法提要 第30版：金原出版，東京，1993，pp. 603 - 604
- 17) Arakawa Y: Trace elements in the breath and morbid state. The Salt Science Research Foundation Annual Research Report 1992 -physiology, food science-: 243 - 244, 1992