

# 比色法による血清亜鉛基準値

宮田 學<sup>1)</sup> ● 熊谷俊一<sup>2)</sup> ● 佐治英郎<sup>3)</sup> ● 上田國寛<sup>4)</sup> ● 小柴賢洋<sup>5)</sup> ● 荒川泰昭<sup>6)</sup> ●

●医療法人社団松ヶ崎記念病院 介護老人保健施設ケアコミュニティ淀<sup>1)</sup>

●神鋼記念病院膠原病リウマチセンター<sup>2)</sup>

●京都大学 学術研究支援室<sup>3)</sup>

●神戸常盤大学<sup>4)</sup>

●兵庫医科大学 臨床検査医学講座<sup>5)</sup>

●厚生労働省労働者健康安全機構<sup>6)</sup>

## 要約

近年、自動分析装置用試薬を用いた比色法による血清亜鉛濃度の測定キットが開発され、病院検査室を中心に普及してきた。今後血清亜鉛測定的主流になると考えられ、比色法による血清亜鉛基準値の設定が急務である。

血清亜鉛濃度の基準値は84~159 $\mu\text{g}/\text{dL}$ とされているが、わが国の民間検査施設が独自に設定している原子吸光法による基準値は、概して60~110 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 前後の値を示しており、両者には大きな隔たりがある。

本研究では、定期健康診断の受診者963例(男500,女463)より提供された血清約2.0mLをプラスチック容器に移した後冷凍保存し、後日一括して比色法により血清亜鉛濃度を測定した。簡便性、迅速性、再現性の面で優れている呈色反応による比色法を適用した。

健康基準個体の認定は、従来基準値設定に多用されてきた方法に則り、健診10項目のすべてが正常であった者とした。健康基準個体と認定された受診者は、963例中922例(95.7%)で、これら922例の比色法による血清亜鉛濃度の平均値(m)は83.2 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、標準偏差(SD)は10.5 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、平均値 $\pm$ 2標準偏差(m $\pm$ 2SD)で表示される基準範囲は62.2~104.2 $\mu\text{g}/\text{dL}$ で、従来臨床検査諸施設が独自に設定し使用してきた原子吸光法における基準範囲とほぼ一致する結果であった。

以上より、日本人の比色法における血清亜鉛濃度の基準値は、原子吸光法における基準値と同一の60.0~110.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$ を用いて差し支えないと考える。

KEY WORDS 亜鉛, 基準値, 比色法, 自動分析

## はじめに

成人の体内には約2gの亜鉛が存在する。生体内亜鉛の60%は筋肉に、30%は骨に存在し、残りの10%が全身の諸臓器に広く分布している。

血清亜鉛濃度の測定は、比色法による定量が困難で原子吸光法により行われてきた。血清亜鉛濃度の基準範囲は84~159 $\mu\text{g}/\text{dL}$ とされているが、

わが国の民間検査施設が独自に設定して使用してきた基準値は60~110 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 前後を示すものが多い。

近年、生化学自動分析装置に適用可能な比色法による亜鉛測定キットが開発され、病院検査室を中心に普及しつつある。日本人を対象にした比色法による血清亜鉛基準値を早急に設定する必要性を考慮して、本研究を実施した。

## 1 対象及び方法

対象施設は以下の3施設で、血清提供者数は以下に示すごとくである。

施設1：医療法人誠光会草津総合病院

463例（男259例，女204例）

施設2：ハートライフ病院

354例（男151例，女203例）

施設3：株式会社シノテスト

146例（男 90例，女 56例）

で、3施設合わせて、血清提供者総数は、963例（男500例，女463例）であった。

草津総合病院において、倫理委員会委員長宛に倫理審査申請書（受付No2014-0620-01）を2014年6月6日に提出し、2014年7月1日～2016年6月30日までの期間、研究課題名「亜鉛と免疫能に関する臨床研究」のもとに、研究責任者 宮田學，研究分担者 河村慧四郎，木之下正彦，斎藤昇，岩崎

良昭，楠川順也，渡辺歩，村島智，として臨床研究を行うことが承認された。研究概要は、亜鉛製剤投与による感染症予防の解明を目的とし、その一環として、血清亜鉛濃度の基準値を設定すべく定期健康診断において受診者より血清提供者を募り、他の2施設、ハートライフ病院，株式会社シノテストに、同様に、定期健康診断における血清提供者の募集を依頼した。

3施設の定期健康診断受診者に、比色法による血清亜鉛濃度の基準値設定の意義および必要性を説明する文書を配布し、その趣旨を理解し血清提供を申し出ていただいた職員に承諾書を提出していただいた。

早朝空腹時に採血を行い、ただちに遠心分離した後、血清2.0mLをディスプレイプラスチック容器に小分けして冷凍保存し、後日一括して血清亜鉛濃度を測定した。

血清亜鉛濃度の測定は、日暮らにより開発された比色法<sup>1)</sup>により行った。

測定試薬は、亜鉛自動分析装置用試薬「アキュラスオート Zn」（製造発売元：株式会社シノテスト）

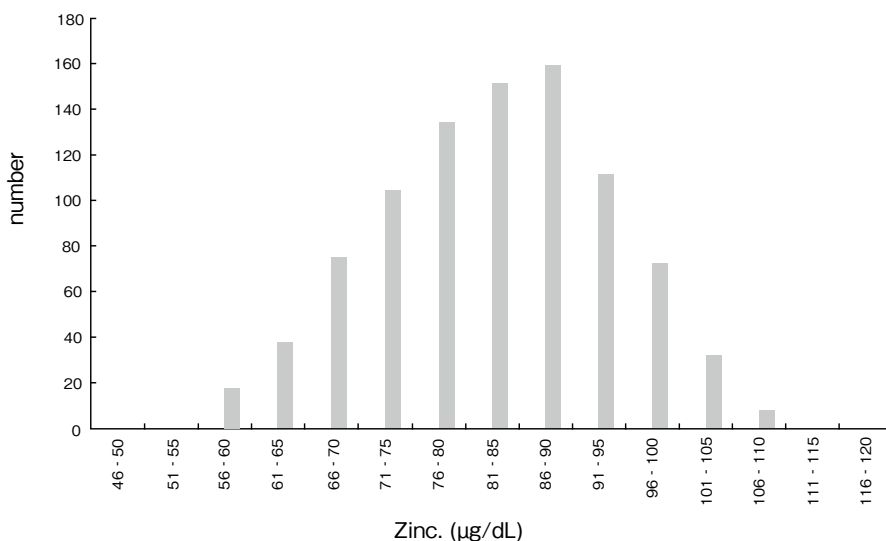


Fig. 1 Zinc concentration histogram

Table 1 Zinc concentration (age, gender)

	(μg/dL)							
age	20~29	30~39	40~49	50~59	60~69	70~79	80~89	
male								
number	478	44	77	94	113	79	64	7
mean	83.1	85.4	82.3	86.5	82.9	83.3	79.5	74.9
S. D.	11.2	13.3	11.5	10.0	10.7	9.9	11.4	11.8
female								
number	444	41	60	92	88	106	44	13
mean	82.0	82.9	78.9	80.8	83.4	85.5	80.3	75.2
S. D.	10.5	11.7	11.3	10.3	9.7	9.7	9.5	9.6
whole								
number	922	85	137	180	195	180	108	20
mean	82.6	84.2	80.8	83.7	83.1	84.5	79.8	75.1
S. D.	10.9	12.6	11.5	10.5	10.3	9.8	10.8	10.4

を用い、汎用自動分析装置で比色定量を行った。本試薬は検体の前処理を必要とせず、サンプル量は微量、他の生化学項目と同時に迅速に行うことができる。

血清亜鉛濃度の基準値は、従来血清化学検査における基準値設定に際して多用されてきた方法に基づいて、定期健康診断の健診項目のうち10項目がすべて正常である検体を基準個体として、平均値 (m) および標準偏差 (SD) を算出し、国際標準化機構 (ISO) の定めるところに従い、平均値 ± 2標準偏差 (m ± 2SD) の範囲をもって基準値とした。

測定値の統計処理はIBM SPSS Statistics (Statistical Package for Social Science) を用いて行った。

## 2 結果

### 1 | 健常基準固体の選定

健常基準固体選定のために採択した健診項目は、血清総蛋白 (TP)、アルブミン (Alb)、AST (GOT)、ALT (GPT)、 $\gamma$ -GTP、アミラーゼ (AMY)、総コレステロール (TCHO)、中性脂肪 (TG)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (CRE)、の10項目である。

採血総数963例のうち922例 (95.7%) が10項目すべて基準範囲にあり健常基準固体と認定された。ただし、亜鉛欠乏症の症状の有無は問診していない。

### 2 | 比色法による血清亜鉛濃度

このようにして得られた健常基準固体922例の比色法による血清亜鉛濃度はFig.1に示すように正規分布を示し、症例数は、20歳代85例、30歳代137例、40歳代180例、50歳代195例、60歳代180例、70歳代108例、80歳代20例であった。血清亜鉛濃度の平均値は、20歳代84.2μg/dL、30歳代80.8μg/dL、40歳代83.7μg/dL、50歳代83.1μg/dL、60歳代84.5μg/dL、70歳代79.8μg/dL、80歳代75.1μg/dLであった (Table 1)。

年代別推移はFig.2に示すように20歳代から40歳代まで男でやや高く、50歳代、60歳代では男女差なく、70歳代、80歳代では男女ともやや低下傾向を示すが、概ね一定であった。

健常基準固体での血清亜鉛濃度の平均値 (m) は、男83.1μg/dL、女82.0μg/dL、全体では82.6μg/dL、標準偏差 (SD) は、男11.2μg/dL、女10.5μg/dL、全体で10.9μg/dLであった。平均値 ± 2標準偏差 (m ± 2SD) で表示される基準値は、男60.7~105.5μg/dL、女61.0~103.0μg/dL、全体で60.8~104.4μg/dLで、男女差は認められなかった。

### 3 考察

ヒトの亜鉛欠乏症の第1例が報告されたのが1961年である<sup>2)</sup>。亜鉛に関する原著論文、総説、著書、翻訳書、あるいは医学雑誌の特集、などは枚挙に暇がない。亜鉛の基礎的ならびに臨床的研究は著しい発展をとげ、おびただしい数の研究成果が報告されている。

最近の研究によれば、ヒトゲノムの解読によって約1割の遺伝子が亜鉛結合ドメインを持つと言われており、亜鉛生物学分野においては亜鉛の恒常性維持に関する亜鉛トランスポーターや亜鉛シグナルの役割が注目されている<sup>3,4)</sup>。細胞内小器官の輸送蛋白の局在と輸出入の方向性が詳細に解明されつつある現在、亜鉛欠乏症の治療においても単に不足量を補充するのみならず、細胞内小器官における移動の方向性を考慮した視点が要求される。

#### 1 | 比色法による血清亜鉛基準値設定の必要性

血清鉄、血清銅の測定は早期より自動分析装置を用いて比色法で行われ日常検査として定着したが、亜鉛については比色法による測定が困難で原

子吸光法により測定されてきたため臨床医にも馴染みが薄く、亜鉛欠乏症の存在すら日常診療で注目されることなく放置されてきた感がある。

近年、比色法による亜鉛測定法が開発され、病院の臨床検査室を中心に普及しつつあるが、近い将来血清亜鉛の測定は比色法が主体になると考えられる。

日本亜鉛栄養治療研究会では、2010年（平成22年）、前身の近畿亜鉛栄養治療研究会の創設当初より比色法による血清亜鉛基準値策定委員会を立ち上げ、策定作業に取り組んできた。1,000検体の測定を目標に人間ドック施設や健診施設に協力を依頼したが協力施設が得られず、活動は一時中断せざるを得ない事態にたち至った。研究会名称を日本亜鉛栄養治療研究会と改称した後もこの基本方針は引き継がれ、最終的に定期健康診断において施設職員の協力のもとに所期の目的に沿った研究成果を得ることができた。

#### 2 | 亜鉛欠乏症の判定基準

富田らは、血清亜鉛濃度の正常下限値が各検査施設によってまちまちであっては学会発表や患者紹介の際にも支障をきたすことが多いと訴え、亜

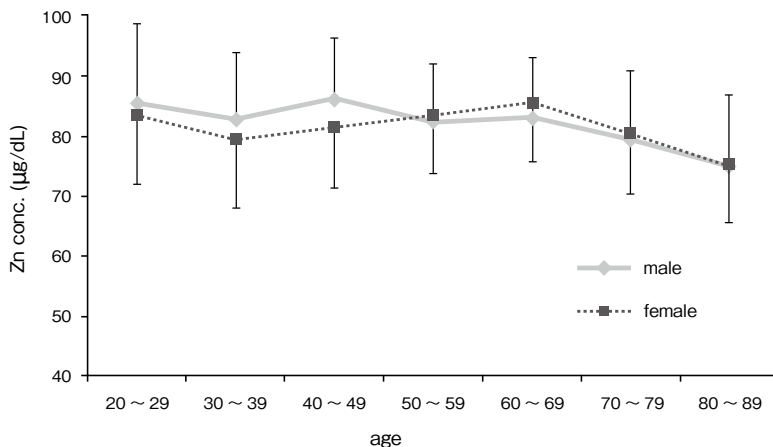


Fig. 2 Zn concentration (age, gender)

鉛欠乏症の診断基準を提案した<sup>5)</sup>。

血清亜鉛濃度80 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 未満を亜鉛欠乏症とし、60~79 $\mu\text{g}/\text{dL}$ は亜鉛欠乏または潜在性欠乏症、59 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以下は顕在性の亜鉛欠乏症として亜鉛補充療法の対象になると主張した。

倉澤らは、多彩な症状をきたす亜鉛欠乏症の存在に気づき、亜鉛欠乏によると思われる症状を詳細に検討した結果、多くの医師が考えているよりもはるかに多彩な症状をきたす亜鉛欠乏症が存在することを指摘した<sup>6)</sup>。さらに、長野県下で総計5,000人を超える血清亜鉛濃度の疫学調査を行い、血清亜鉛値は日内変動を示し、成人では加齢とともに低下することを報告した<sup>7)</sup>。

2018年に集約された児玉らによる日本臨床栄養学会の「亜鉛欠乏症の診療指針2018」<sup>8)</sup>においては、亜鉛欠乏症の診断は、味覚障害、皮膚炎、脱毛、小児の低身長、などの臨床症状に低亜鉛血症を加味して診断すべきであるとし、血清亜鉛濃度は80~130 $\mu\text{g}/\text{dL}$ を基準に、60 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 未満を亜鉛欠乏症、60~80 $\mu\text{g}/\text{dL}$ を潜在性亜鉛欠乏とすることを推奨している。亜鉛欠乏においては、亜鉛酵素である血清アルカリフォスファターゼが低値を示すことが付記されているが、1980年Adeniyiらにより指摘されている事実である。但し、具体的に何単位以下を亜鉛欠乏症の基準とするかについては記載されていない。

これらの血清亜鉛基準値に対する提言においては、いずれも、60~110 $\mu\text{g}/\text{dL}$ を基準値と想定して、潜在性あるいは顕在欠乏の範囲が設定されている。その根拠となる基準値は、民間の臨床検査施設が少数の健常人について測定した血清亜鉛濃度を妥当とみなして議論が進められているが、施設により大きな差異はないにしても正常下限値にばらつきがあるのは困るというのが臨床医としては誰しも困惑するところであろう。

各臨床検査施設が独自に設定して便宜的に使用してきた基準値は妥当性を認めるとしても、少数例による検討であるが故に論文としての報告は皆無である。

本来、基準値は公的機関あるいは関連学会が主導して設定すべきものであろう。

日本小児科学会雑誌に掲載された小児臨床検査基準範囲の設定に関する田中らの論文では<sup>9)</sup>、健常小児の検体ではなく、日常検査の情報を活用した潜在基準値抽出法を用いて小児基準範囲の作成を行っている。その方法論として、新しいデータマイニング法である自己組織化マップ (SOM: Self Organizing Map) で基本的検査27項目の年齢別性別の基準範囲を設定した。一般に基本的な検査に異常のある人は複数の検査項目に異常をきたしやすい。明らかに異常を示す個体を除外することにより健常児の測定値に近いデータを集めることができ、小児疾患の早期発見、治療的判断に大いに役立つという。個人情報管理が以前に比べて厳しくなった現在においては、多数の健常検体を収集する方法での基準範囲の作成は困難となっており、今後期待される方法と考えられる。

10年毎に改訂されてきた日本臨床増刊号「広範囲血液・尿化学検査」における亜鉛の項においては血清亜鉛濃度の基準範囲は84~159 $\mu\text{g}/\text{dL}$ と記載されているが、引用文献の記載がなく、その出典は明らかでない<sup>10)</sup>。この基準値が我が国の実態と大きくかけ離れていることは、亜鉛に関心のある臨床医は誰しも気づいていながら、多数例に基づく血清亜鉛濃度の基準値は設定されることなく、各検査施設が少数例で独自の基準値を設定し使用しているのが現状である。

血清亜鉛基準値に関する文献はわが国でも、欧米でも見つけることができない。

基準値に相違をもたらす要因は、①測定法の違い、②容器汚染、③人種差、などが考えられる。①の測定法の違いによる可能性については、今回測定を行った比色法と従来の原子吸光法での測定値は極めて高い相関を示し ( $y=0.976x-0.68$ ,  $r=0.9956$ ,  $n=60$ )<sup>1)</sup>、基準値の相違をもたらす要因とはならない。②の容器汚染の可能性については、ディスプレイのプラスチック容器の使用ではコンタミネーションは全く問題とならない。

③の人種差の可能性については検討の余地がある。血清亜鉛濃度は民族により遺伝的に規定されていると考えられ、人種・民族により大きく異なる可能性がある。

### 3 | 基準値設定の基本原則および健常基準個体の選定について

基準値設定の基本原則は、国際標準化機構 (ISO) 15189 (臨床検査室の国際規格) の用語定義24「生物学的基準範囲」に従い、平均値 $\pm 2$ 標準偏差 ( $m \pm 2SD$ ) で示される95%分布範囲で表示するのが原則である<sup>11)</sup>。

わが国における基準値設定の方針については、2019年に刊行された臨床検査標準協議会、基準範囲共用化委員会編の「日本における臨床検査項目の共用基準範囲－解説と利用の手引き－」<sup>12)</sup>において詳しく解説されている。これによれば、飲酒量、喫煙量など7項目の除外基準を設定し、1項目でも該当するものがあれば基準個体は欠格とされる。

何をもちて健常者と判定するかは基準値の設定作業の過程で最も重要な点である。

正常値と基準値の違いはどこにあるのか。基準値は、曲がりなりにも健康を自負し社会的に適応して支障なく日常生活を送っている集団を対象としたものであると理解されているが、必ずしも理想的な健康生活を送っているわけではない。

従来、基準値設定に際して多用されてきた方法は、同時測定した数項目の生化学自動分析データが全て正常範囲にある症例を健康基準個体とする方法である。本法は、選定した各項目において、確実に正常域にあることを期しているため、上限・下限の各2.5%、合計5%が除外される。このため、各項目に於いて5%の正常症例を失うことになり、検査項目を増やせば増やすほど対象症例数が減少する。対象者は1項目で95%に減少し、2項目では95%の95%、 $0.95 \times 0.95 = 0.9025$  (90.25%)、3項目では $0.9025 \times 0.95 = 0.8574$  (85.74%)に減少する。10項目では約40%の対象が失われることになり、基準個体選定のための選択検査項目は10項目が限度である。

1975年、河合らにより「臨床検査における新しい標準化法」として紹介されたHoffmannの反復切断法 (Truncation Method) はきわめて多数の検査値から正常値を求める標準化法である<sup>13)</sup>。本法は、対象としたすべての測定値の分布から明らかな異常値を除外し平均値 ( $m$ ) および標準偏

差 ( $SD$ ) を算出し、 $m \pm 2.2 SD$ の範囲外の測定値を順次除外する操作を繰り返し、もはや除外する値が無くなった時点での $m \pm 2SD$ を基準値として表示するという方法である。 $m \pm 2.2 SD$ の範囲外の測定値は明らかな異常値であるという根拠に立脚した反復切断法で、健常基準個体選定のための検査項目をいくら増やしても対象症例は減少しない画期的な方法である。

今回、健常基準個体の選定について、予備的にあらかじめ3つの方法を検討した。

- ①日本臨床検査標準協議会による「共用基準範囲の手引き」<sup>10)</sup>に準じた方法
- ②従来より基準値の設定に際して一般に行われてきた手法 (2.0 SD反復切断法)。
- ③Hoffmannの反復切断法<sup>13)</sup> (2.2 SD反復切断法)

の3手法である。その結果は以下のごとくであった。

採血症例963例中健常基準個体と認定された人数は、①で562例 (58.3%)、②で922例 (95.7%)、③で911例 (94.6%)であった。①では除外条件が厳しく対象症例が約60%に減少してしまうが、②および③では約95%が健常基準個体として維持された。

各群の基準個体における血清亜鉛濃度の平均値 ( $m$ ) は、①で $83.7 \mu\text{g/dL}$ 、②で $82.6 \mu\text{g/dL}$ 、③で $82.7 \mu\text{g/dL}$ 、標準偏差 ( $SD$ ) は、①で $11.2 \mu\text{g/dL}$ 、②で $10.9 \mu\text{g/dL}$ 、③で $10.7 \mu\text{g/dL}$ となり、3群間で大きな差異はなかった。平均値 ( $m$ )  $\pm 2$ 標準偏差 ( $SD$ ) で表される各群の基準値は、①で $61.0 \sim 106.1 \mu\text{g/dL}$ 、②で $60.8 \sim 104.4 \mu\text{g/dL}$ 、③で $61.3 \sim 104.1 \mu\text{g/dL}$ で、従来、原子吸光法において経験的に使用されてきた基準範囲、 $60.0 \sim 110.0 \mu\text{g/dL}$ とほぼ同一の値を示した。

今回、②の2.0 SD反復切断法により基準値を算定したが、①および③の方法をとったとしても結果に変わりはないと思われる。

今後の基準値設定にあたっては、病院の外來受診者のような明らかに異常値を含むような母集団からでも容易に健康基準個体を選定できる2.2 SD反復切断法による方法も容認されてしかるべきであると考えられる。

## 4 結論

3施設において計963例の定期健康診断受診者に協力いただき比色法により血清亜鉛濃度を測定した。血清亜鉛濃度の平均値 $\pm$ 2標準偏差 ( $m \pm 2SD$ ) で示される基準値は、男62.2~106.0 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、女61.9~103.9 $\mu\text{g}/\text{dL}$ で男女差を認めず、全体で62.2~104.2 $\mu\text{g}/\text{dL}$ であった。

本研究結果に基づき、比色法における血清亜鉛濃度の基準値は、60~110 $\mu\text{g}/\text{dL}$ とすることを提唱する。

## 謝辞

本研究にご協力・ご支援いただいた多くの方々に深甚の謝意を表すると同時にわが国における比色法による血清亜鉛濃度基準値策定の趣旨をご理解いただき血清をご提供いただきました健診受診者の方々に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 日暮和彦ほか。生化学自動分析装置を用いた亜鉛比色測定法。Biomed Res Trace Elements 18:380-385, 2007
- 2) Prasad AS, James AH, Manucher N. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. Am J Med 31: 532-546, 1961
- 3) Fukada T, et al. Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling. J Biol Inorg Chem 16: 1123-1134, 2011
- 4) Kambe T, et al. Current understanding of ZIP and ZnT zinc transporters in human health and diseases. Cell Mol Life Sci 71. 3281-3295, 2014
- 5) 富田寛ほか。エビデンスに基づいた血清亜鉛値による亜鉛欠乏症の診断基準値。Biomed Res Trace Elements 18:54-62, 2007
- 6) 倉澤隆平。症状から診る多彩な亜鉛欠乏症の診断と治療—味覚障害, 食欲不振, 舌痛症および褥瘡はじめ多彩な皮膚症状・疾患を中心に。日本医事新報4856:37-44, 2017
- 7) 倉澤隆平ほか。亜鉛欠乏に関する研究会報告書。長野県国民健康保険団体連合会および長野県国保直診医師会, 1-49, 2006
- 8) 児玉浩子ほか。亜鉛欠乏症の診療指針2018。J Jap Soc Clin Nutr 40:120, 2018
- 9) 田中敏章ほか。潜在基準値抽出法による小児臨床検査基準範囲の設定。日本小児科学会雑誌112:1117-1132, 2008
- 10) 柳澤裕之。亜鉛広範囲血液・尿化学検査7版。日本臨床68(増刊号1):309-313, 2010
- 11) 荒川泰昭。日本人における血清亜鉛の基準値設定に関する問題点。Biomed Res Trace Elements 23(3):217-220, 2012
- 12) 臨床検査標準協議会。基準範囲共用化委員会編。日本における主要な臨床検査項目の共用基準範囲—解説と利用の手引き—, 2019
- 13) Hoffmann RG, 河合忠監訳。臨床検査室における新しい標準化法。宇宙堂八木書店, 東京, 1975



### ■宮田 學 略歴

- 1965年 ● 京都大学医学部 卒業
- 1967年 ● 大阪赤十字病院内科 医員
- 1972年 ● 京都大学老年医学教室 助手
- 1987年 ● 厚生会武田病院内科 部長
- 1992年 ● 木津屋橋武田病院 副院長
- 1995年 ● 京都通信病院健康管理科 部長
- 2002年 ● 京都郵政健康管理センター 所長
- 2005年 ● KKC ウエルネスなんば診療所 所長
- 2010年 ● 誠光会草津総合病院 顧問
- 2017年 ● 介護老人保健施設ケアコミュニティ淀管理医

## The Standard Reference of Serum Zinc Level with Colorimetric Method

Miyata S<sup>1)</sup>, Kumagai S<sup>2)</sup>, Saji H<sup>3)</sup>, Ueda K<sup>4)</sup>, Koshihara M<sup>5)</sup>, Arakawa Y<sup>6)</sup>

Care-community Yodo, Matsugasaki Memorial Hospital<sup>1)</sup>  
Collagen Disease and Rheumatic Disease Center of Shinko Memorial Hospital<sup>2)</sup>  
Kyoto University Research Administration Office<sup>3)</sup>  
Kobe Tokiwa College<sup>4)</sup>  
Clinical Laboratory of Hyogo Medical College<sup>5)</sup>  
Japan Organization of Occupational Health and Safety<sup>6)</sup>

The reference range for serum zinc concentration is 84~159 µg/dL in the literature, but the real Japanese serum zinc level is considerably lower than this range. Racial differences seem to play a major role in this discrepancy.

Serum zinc has been measured by atomic absorption spectroscopy for a long time, and each laboratory in Japan has own temporary standard for serum zinc concentration by atomic absorption spectrophotometry.

Colorimetric measurement has been reported by Higurashi K et al. (Biomed Res Trace Elements 18 : 380, 2007), and the correlation between serum zinc concentrations measured by colorimetric and atomic absorption techniques was very high ( $y = 0.976x + 0.68$ ,  $r = 0.9956$ ,  $n = 60$ ).

The colorimetric assay would be the main method for the assessment of serum zinc level in the near future, because it is rapid and accurate compared with atomic absorption spectrophotometry. It requires as little as a few microliters of serum, and the results are reported in a short time, ranging from 40 to 60 min.

Therefore, it is necessary to establish the standard for serum zinc concentration with colorimetric method as soon as possible.

Japanese Society for Zinc Nutritional Therapy (JZNT) developed to define the standard reference by the committee consisting several experts in clinical nutrition. The standard for serum zinc level was investigated in healthy individuals attending health checkups at three institutions.

This study has been started to be aimed a large number of about 1,000 samples of healthy individuals.

### (Materials and Methods)

Serum samples were obtained from healthy individuals attending periodic checkups. Approximately 2.0 mL of serum was provided on the subject's consent, and the blood samples were centrifuged and stored in disposable plastic tubes.

Serum zinc concentrations were measured with the colorimetric method using automated analyzers. "Accuras Auto Zn" (manufactured and dealt by Shino-test Corporation) was used as the reagent.

Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics (Statistical Package for Social Science).

### (Results)

The number of subjects was 963 cases (500 males and 463 females). It includes 463 cases from Kusatsu General Hospital, 354 cases from Heart Life Hospital, and 141 cases from Shino-Test Corporation.



In this paper, 10 items of biochemical examination, including total protein(TP), albumin(alb), AST(GOT), ALT(GPT),  $\gamma$ -GTP, amylase(AMY), total cholesterol(T-cho), Triglyceride (TG), uric acid(UA), creatinine(CRE) were selected as the marker, and the cases in which all these 10 items were in normal range were recognized as the healthy individuals. Healthy individuals were 922 out of 963 cases(95.7%).

The mean serum zinc concentration(m) in the healthy individuals was 82.6 $\mu$ g/dL, and the standard deviation(SD) was 10.9 $\mu$ g/dL, respectively.

The reference range of serum zinc which was indicated as mean $\pm$  2 standard deviation (m  $\pm$ 2SD) was 60.8~104.4 $\mu$ g/dL.

#### (Discussion)

If zinc deficiency is suspected, zinc supplementation is necessary. A few guidelines for zinc deficiency have been proposed. Tomita et al. indicated serum zinc level of 60~79  $\mu$ g/dL as potential zinc deficiency, and less than 60  $\mu$ g/dL as definite zinc deficiency( Biomed Res Trace Elements 18 : 54, 2007).

Kodama H et al. reported the criteria for zinc deficiency in the guideline of the Japanese Society of Clinical Nutrition(J Jap Soc Clin Nutr 40 : 120, 2018). She described zinc deficiency should be diagnosed by clinical manifestations such as dermatitis, alopecia, taste disturbances, short stature in children and so on, accompanied with hypozincemia. Zinc deficiency and potential zinc deficiency are diagnosed as serum zinc levels below 60  $\mu$ g/dL and 60-79  $\mu$ g/dL, respectively.

Zinc transporters and zinc signaling is important as the intracellular transport. It may be necessary to supply zinc bearing mind of the intracellular zinc transport.

#### (Conclusion)

The reference range for serum zinc concentration in Japanese with colorimetric method was 60~110  $\mu$ g/dL. It was compatible to the customary used standard with the atomic absorption method, and it is appropriate to use the same standard.

*Keyword:* Serum zinc concentration, Standard reference range, Colorimetric assay, Zinc deficiency

#### *Address for correspondence*

*Satoru Miyata*

1133, Yodo Mizu-chou, Fushimi-ku, Kyoto, 613-0916, Japan

Phone: 075-633-6010 Fax: 075-631-0701

Miyata Satoru	E-mail: dr-miyata@carecomi.jp
Kumagai Shunichi	E-mail: kumagais@kobe-u.ac.jp
Saji Hideo	E-mail: hsaji@pharm.kyoto-u.ac.jp
Ueda Kunihiko	E-mail: ueda@kobe-tokiwa.ac.jp
Koshihara Masahiro	E-mail: mkoshihara@hyo-med.ac.jp
Arakawa Yasuaki	E-mail: arakawa-yasuaki@nifty.com