

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：30110

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24614012

研究課題名(和文)毛髪中安定同位体分析と微量元素分析による胃腸患者と生活習慣病患者の栄養状態の評価

研究課題名(英文) Study of nutritional assessment using stable isotope and trace elements in scalp hair of patients who received enteral nutrients, with lifestyle related disease.

研究代表者

木村 治 (KIMURA, Osamu)

北海道医療大学・薬学部・講師

研究者番号：10418882

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：経腸栄養(EN)剤の投与を受けている高齢患者(胃瘻造設患者)と生活習慣病患者(糖尿病患者、DM患者)の頭髪中の窒素と炭素の安定同位体比( $^{15}\text{N}$ と $^{13}\text{C}$ )と微量元素分析から栄養状態を評価した。EN患者の $^{15}\text{N}$ と $^{13}\text{C}$ は、健常者と比べそれぞれ有意に高値と低値を示し、エネルギー投与量と $^{15}\text{N}$ および $^{13}\text{C}$ の間にはそれぞれ有意な負と正の相関関係が認められた。糖尿病患者の $^{15}\text{N}$ は健常者とほぼ同じ値だったが、 $^{13}\text{C}$ は低値を示した。EN患者の場合、多くの微量元素は健常者と比べて低かった。DM患者では亜鉛やクロムなどの元素が低値を示したがHbA1cとの間には一定の相関関係は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：The stable isotope ratios ( $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$ ) and the trace elements in scalp hair of patients who received enteral nutrition (EN patients) and diabetes mellitus patients (DM patients) were analyzed to assess nutritional status of those patients. The values of the  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  of EN patients were higher and lower than those of healthy persons, respectively. Negative correlation was observed between the  $^{15}\text{N}$  and the dose of energy, while positive correlation was found between the  $^{13}\text{C}$  and the doses of energy. The value of  $^{13}\text{C}$  of DM patients was lower than that of healthy persons, while that of  $^{15}\text{N}$  was similar. The averages of many trace elements in the EN patients were lower than those of healthy persons, but that of Zn and Cr in the DM patients were lower. The correlation between the glycosylated hemoglobin (HbA1c) and the trace elements of diabetes mellitus patients was obscure.

研究分野：医療薬学

キーワード：安定同位体比 経腸栄養剤 頭髪 微量元素 糖尿病

## 1. 研究開始当初の背景

我が国では高齢化が急速に進行し、経口により栄養補給ができないため胃瘻を造設し、経腸栄養剤による栄養管理が行われている患者（胃瘻造設患者）が増加している。また食の欧米化により生活習慣病患者も増加している。現在、臨床検査や栄養状態などの評価には患者の血液を用いて検査が行われているが、それらの情報は現時点のものであり、過去の情報を得ることはほとんど困難である。ヒト毛髪（頭髪）は1月に約1cm伸長することから、裁判化学の分野では乱用薬物や薬毒物の使用歴の検査に活用され、食性の推定研究にも利用されている。ヒト頭髪中の成分は安定であり、非侵襲的に採取できることから利用しやすく、慢性的な栄養状態や薬毒物などの蓄積情報を得るには血液よりも頭髪が優れている。これまでの報告により、ヒト頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ は、拒食症や飢餓（窒素バランスが負）の場合には $\delta^{15}\text{N}$ が高く $\delta^{13}\text{C}$ が低くなる。一方、魚多食者のヒト頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ は高くなり、海生哺乳類を摂食しているイヌイットでは $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ はさらに高値を示すことが報告されている。ベジタリアンは $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ がともに低く、トウモロコシなどのC4植物に由来する食品を多食しているヒトの $\delta^{13}\text{C}$ は高い。また、 $\delta^{13}\text{C}$ はbody mass index (BMI)の増加により増加することが報告されている。

頭髪中の有害元素と必須元素の分析は疾病の予測と予防などへの応用が検討されており、糖尿病患者の頭髪中の亜鉛やクロム濃度が低いと報告されている。しかしながら、頭髪中の安定同位体比と微量元素の両方を分析し、それらの結果を組み合わせて栄養状態の評価を詳細に検討した報告はない。

## 2. 研究の目的

健常者、長期間経腸栄養剤で栄養管理を受けている患者（胃瘻造設患者を含む）および糖尿病患者の頭髪中の窒素安定同位体比（ $\delta^{13}\text{C}$ ）と炭素安定同位体比（ $\delta^{15}\text{N}$ ）を測定し、 $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ をそれぞれ横軸と縦軸にプロットした分布図で、健常者、胃瘻造設患者および糖尿病患者の分布の相違を明らかにする。

胃瘻造設患者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ と、投与したエネルギーなどの栄養素との関係、また栄養状態の指標として汎用されているBMIと血清アルブミン濃度との関係を検討する。

胃瘻造設患者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ と経腸栄養剤の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ の測定値から、ヒト頭髪における $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ の増加を検討する。市販されている多くの経腸栄養剤、アミノ酸およびアミノ酸を主成分とする製剤の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ を測定し、その組成と $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ の関係を検討する。

健常者と胃瘻造設患者の頭髪中の微量元素を分析し比較する。また糖尿病患者の頭髪

中の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ 、微量元素を分析し健常者と比較する。

## 3. 研究の方法

胃瘻造設患者および2型糖尿病患者などの頭髪（約50~100mg）は、札幌北成病院、札幌東徳洲会病院、町立長沼病院、伊達聖ヶ丘病院、日鋼記念病院から収集した。また経口で通常の食事をしているヒトの頭髪を採取した。毛髪は、頭頂部のできるだけ頭皮に近いところから採取した。毛髪は、クロロホルム/メタノール混液(2:1 v/v)で洗浄・脱脂し、ハサミで細断して分析試料とした。経腸栄養剤などの栄養液は、60℃で蒸発・乾固し分析試料とした。粉末の経腸栄養剤は直接分析試料とした。 $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ の測定は、京都大学の生態学研究センターに設置された共同利用のIRMS (Isotope Ratio Mass Spectrometry)により行った。微量元素の分析は、ICPMS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)で行った。患者および健常者の頭髪の採取時には、必要事項を書面と口頭で説明し、同意を得た。本研究は北海道医療大学の倫理審査委員会の承認を得ている。また当該病院の倫理審査委員会の承認を得ている。

## 4. 研究成果

健常者（Control群）119名（男性49名、女性70名）の平均年齢 $41.0 \pm 22.8$ 歳であった。頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ の各々の平均は $9.3 \pm 0.5\text{‰}$ 、 $-19.1 \pm 0.6\text{‰}$ であった。胃瘻造設患者20名（男性7名、女性13名）の平均年齢 $81.4 \pm 18.3$ 歳であった。また、1名の胃瘻造設患者は経腸栄養剤で栄養管理を受ける前に中心静脈栄養剤（total parenteral nutrition: TPN）投与を受けていた。健常者と胃瘻造設患者の頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ を図1に示したが、20名の胃瘻造設患者の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ の平均は $10.2 \pm 0.8\text{‰}$ と $-20.2 \pm 1.0\text{‰}$ で、

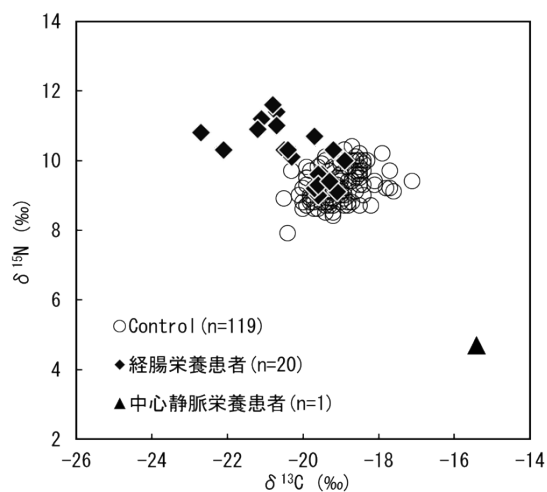


図1 健常者、胃瘻造設患者および中心静脈患者の頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$

Control 群に比べそれぞれ有意に高値 ( $P<0.01$ ) と低値 ( $P<0.01$ ) であった。分析した胃瘻造設患者の約半数の安定同位体比の分布が Control 群の左上に分布した。この分布は拒食症患者や飢餓状態の場合と類似しており、胃瘻造設患者の栄養状態が悪く、窒素バランスが負であることを示唆している。しかし、残りの患者は Control 群の分布域内に分布し、その栄養状態は比較的両良好であると思われる。一方、TPN 投与を受けていた患者の頭髪中の安定同位体比は、Control 群に比べて、 $\delta^{15}\text{N}$  が極めて低く、 $\delta^{13}\text{C}$  が極めて高い値を示した。この TPN 投与を受けていた患者の頭髪中の  $\delta^{15}\text{N}$  はこれまで報告された値の中で最も低い値であり、 $\delta^{13}\text{C}$  は極めて高い値であった。即ち、頭髪中の  $\delta^{15}\text{N}$  と  $\delta^{13}\text{C}$  の分析結果から、TPN による栄養療法を長期間受けていた患者を判別することができると思われる。

胃瘻造設患者の頭髪中の安定同位体比と患者の BMI 値、血清アルブミン値、総エネルギー投与量および各栄養素 (タンパク質、炭水化物および脂質) 投与量の相関を表 1 に示した。

表 1 胃瘻造設患者の頭髪中の  $\delta^{15}\text{N}$  と  $\delta^{13}\text{C}$  と BMI、血清アルブミンおよび各栄養素との相関

	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)			$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		
	n	相関係数	P値	n	相関係数	P値
BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	20	0.159	0.503	20	-0.453	0.045*
血清アルブミン値 ( $\text{g}/\text{dL}$ )	18	-0.109	0.667	18	0.447	0.063
エネルギー投与量/体重 ( $\text{kcal}/\text{kg}/\text{day}$ )	20	-0.580	0.007**	20	0.535	0.015*
投与タンパク質/体重 ( $\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ )	20	-0.415	0.069	20	0.499	0.025*
投与炭水化物/体重 ( $\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ )	20	-0.443	0.050	20	0.507	0.023*
投与脂質/体重 ( $\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ )	20	-0.589	0.006**	20	0.435	0.056

\*:  $P<0.05$ , \*\*:  $P<0.01$

胃瘻造設患者の頭髪中の  $\delta^{15}\text{N}$  と投与された各栄養素の投与量との間には負の相関関係が認められ、 $\delta^{13}\text{C}$  と各栄養素の投与量の間には正の相関関係が認められた。これは投与した栄養素の量が多いほど  $\delta^{15}\text{N}$  が減少し、 $\delta^{13}\text{C}$  が増加することを示している。即ち、投与量が多い患者ほど、頭髪中の  $\delta^{15}\text{N}$  と  $\delta^{13}\text{C}$  は図 1 に示した Control 群の分布域の中心に近づいた。Control 群の分布域内に分布した 9 名の患者は  $24 \pm 5 \text{ kcal}/\text{kg}/\text{day}$  の投与を受けていたが、Control 群の分布域から外れた 11 名の患者は  $17 \pm 3 \text{ kcal}/\text{kg}/\text{day}$  であった。一方、患者の栄養状態の指標として汎用されている BMI や血清アルブミンと患者頭髪中の  $\delta^{15}\text{N}$  との間には一定の相関関係が認められず、 $\delta^{13}\text{C}$  と BMI の間には予想に反し負の相関関係が認められた。結果は示さないが、患者の BMI と総エネルギーおよび各栄養素の投与量との間にも、負の相関関係が認められ、血清アルブミン値との間には一定の相関関

係が認められなかった。健常者を対象とした海外での調査では  $\delta^{13}\text{C}$  と BMI の間には正の相関関係が報告されており、胃瘻造設患者では異なる結果であった。高齢者は脱水や浮腫などによる BMI の変化が起きやすく、高齢者の低栄養に多く認められるマラスムス型の場合には血清アルブミン値が比較的高く保たれていることなどが原因として考えられる。長期間経腸栄養剤で栄養管理を受けている高齢者の栄養状態の評価に BMI や血清アルブミン値を利用するときには注意が必要と思われる。

各種栄養剤と TPN 患者 (1 名) に投与されていた中心静脈栄養輸液 (フルカリック 1 号と 2 号) 中の  $\delta^{15}\text{N}$  と  $\delta^{13}\text{C}$ 、各種アミノ酸の  $\delta^{15}\text{N}$  と  $\delta^{13}\text{C}$  を図 2 に示した。

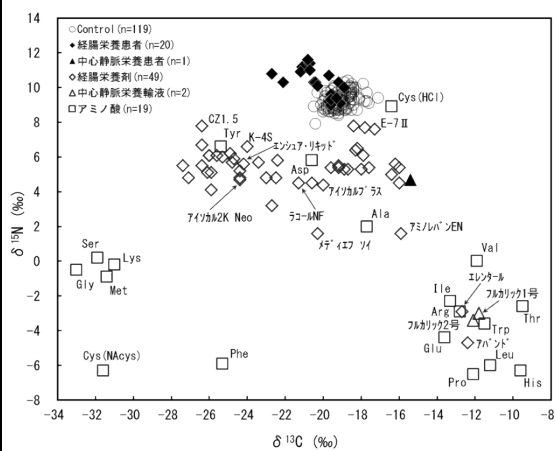


図 2 健常者と経腸栄養患者の頭髪中および各栄養剤とアミノ酸の  $\delta^{15}\text{N}$  と  $\delta^{13}\text{C}$

フルカリック 1 号と 2 号の  $\delta^{15}\text{N}$  は乳タンパク質や大豆タンパク質を含む栄養剤と比べて顕著に低く、 $\delta^{13}\text{C}$  は高い値を示した。アミノ酸を含まない栄養剤の中では、大豆タンパク質のみを含む栄養剤 (メディエフソイバッグ) が最も低い  $\delta^{15}\text{N}$  を示した。各種アミノ酸の  $\delta^{15}\text{N}$  と  $\delta^{13}\text{C}$  を分析した結果、各アミノ酸の  $\delta^{15}\text{N}$  は低く、 $\delta^{13}\text{C}$  は高い値のものが多かった。これらの結果から、フルカリック 1 号と 2 号に含まれるアミノ酸の  $\delta^{15}\text{N}$  は栄養剤に含まれるタンパク質よりも低く、 $\delta^{13}\text{C}$  は高いものが多く含まれており、これがフルカリック 1 号と 2 号の投与を受けた患者の頭髪中の  $\delta^{15}\text{N}$  は低く、 $\delta^{13}\text{C}$  は高くなった原因と考えられる。

結果は示さないが、Control 群および胃瘻造設患者の頭髪中の微量元素を分析した結果、分析した全ての元素濃度は Control 群よりも胃瘻造設患者で低い傾向が認められた。しかし、亜鉛やセレンなどが欠乏していると思われる患者はいなかった。またカドミウム、鉛、ヒ素などの有害元素濃度が低く、これは経腸栄養剤が有害元素をほとんど含んでいないことが原因と考えられる。

治療を受けている（栄養管理されている）糖尿病患者（HbA1c:  $8.2 \pm 1.9\%$ ,  $n=41$ ）の  $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  はそれぞれ  $-19.7 \pm 0.6\text{‰}$  と  $9.2 \pm 0.7\text{‰}$  で、Control 群 ( $n=145$ ) は  $-19.2 \pm 0.7\text{‰}$  と  $9.2 \pm 0.5\text{‰}$  であった。横軸と縦軸に  $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  をとった分布図（図 3）では、2 型糖尿病患者のすべてが、Control 群の分布域の左半分、即ち栄養状態が比較的低いと推定される分布域に局在した。これは糖代謝異常、食事制限あるいは投薬などの影響が考えられる。また、2 型糖尿病患者において  $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  を説明変数、HbA1c を目的変数とした重回帰分析では、 $\delta^{13}\text{C}$  と  $\delta^{15}\text{N}$  の値が有意な説明変数となった（重相関係数  $R=0.47$ ,  $\text{HbA1c} = -0.25048 \times \delta^{13}\text{C} - 1.06727 \times \delta^{15}\text{N} + 13.0641$ ,  $p < 0.01$ ）。

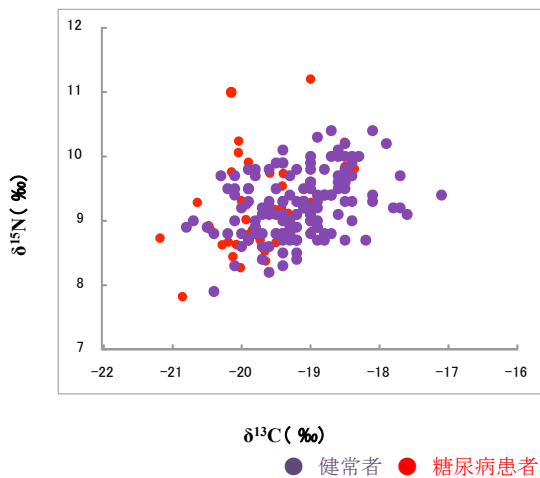


図 3 健常者と糖尿病患者の頭髪中の  $\delta^{15}\text{N}$  と  $\delta^{13}\text{C}$

微量元素の分析結果は、糖尿病と診断された患者の年齢を横軸に、各患者の頭髪中の元素濃度を縦軸にプロットして示した（図4）。必須微量元素である亜鉛（Zn）は Control 群と比べて有意に低い値を示した（ $p < 0.01$ ）。また、必須微量元素であるマグネシウム（Mg）、鉄（Fe）およびクロム（Cr）は Control 群と比べて低い値を示した。一方、必須微量元素であるニッケル（Ni）、有害元素であるヒ素（As）、鉛（Pb）およびカドミウム（Cd）は Control 群と比べて高い値を示した。Mg、Zn と Cr は糖尿病との関連性が報告されており、本研究結果と一致した。有害元素が高値を示した患者では腎機能の低下が予想される。また、2 型糖尿病患者の HbA1c と調査した頭髪中の元素濃度との間には一定の相関関係が認められなかった。

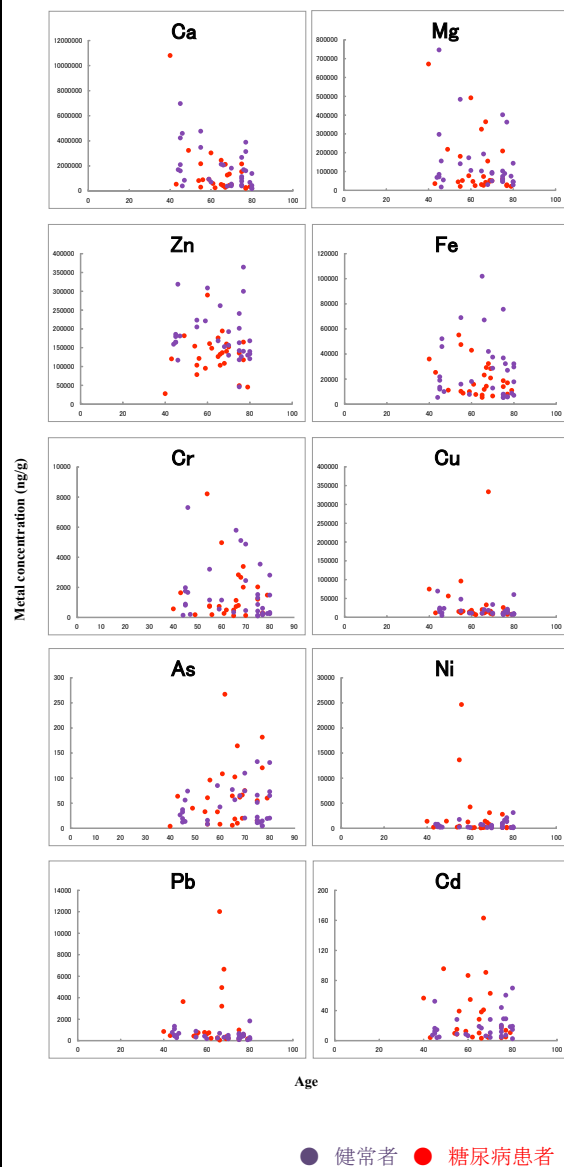


図 4 健常者と糖尿病患者の頭髪中の元素濃度

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 1 件）

- ① Endo, T., Hayasaka, M., Ogasawara, H., Kimura, O., Kotaki, Y., Haraguchi, K. Relationships among mercury concentration, and stable isotope ratios of carbon and nitrogen in the scalp hair of residents from seven countries: Effects of marine fish and C4 plants consumption. *PLoS ONE*. 2015, 10(6): e0128149. DOI:10.1371/journal.pone.0128149 査読有

〔学会発表〕（計 8 件）

① 堀田洋平、藤野陵二、早坂敬明、小笠原英樹、塚越建介、木村 治、垂水隆志、遠藤哲也

糖尿病患者の頭髪成分分析について-安定同位体と微量元素分析による健常人との比較-  
第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会、2015 年 5 月下旬

② 木村 治、早坂敬明、小笠原英樹、堀田洋平、塚越建介、藤野陵二、遠藤哲也  
経腸栄養剤により長期間栄養管理を受けた患者と糖尿病患者の頭髪中の微量元素について  
日本薬学会第135年会、2015年3月神戸

③ 小笠原英樹、木村 治、早坂敬明、蘆田知史、千葉眞子、武田清孝、遠藤哲也  
クローン病患者の栄養摂取に伴う頭髪中の窒素と炭素の安定同位体比の変化  
第30回日本静脈経腸栄養学会学術集会、2015年2月横浜

④ 早坂敬明、木村 治、塚越建介、堀田洋平、垂水隆志、小笠原英樹、武田清孝、倉 敏郎、遠藤哲也  
栄養剤の窒素源組成の違いによる頭髪中の窒素と炭素の安定同位体比への影響  
第30回日本静脈経腸栄養学会学術集会、2015年2月横浜

⑤ 早坂敬明、木村 治、倉 敏郎、塚越建介、垂水隆志、堀田洋平、小笠原英樹、武田清孝、遠藤哲也  
摂食窒素源の違いによる頭髪中の窒素と炭素安定同位体比の変化  
第8回日本静脈経腸栄養学会北海道支部例会、2015年1月札幌

⑥ Endo, T., Hayasaka, M., Kimura, O., Hotta, Y., Tarumi, T.  
Stable isotope ratios of carbon and nitrogen in the scalp hair of patients receiving enteral nutrition.  
20<sup>th</sup> International Congress of Nutrition.  
2013, Sept. 15-20, Granada, Spain

⑦ 早坂敬明、遠藤哲也、垂水隆志、堀田洋平、小笠原英樹、松田純和、武田清孝、木村 治  
中心静脈栄養または経腸栄養を長期間投与した患者頭髪中の窒素と炭素の安定同位体比の分析  
日本薬学会第133年会、2013年3月横浜

⑧ 早坂敬明、木村 治、垂水隆志、堀田洋平、小笠原英樹、遠藤哲也  
経腸栄養剤投与患者の頭髪と経腸栄養剤の安定同位体比  $\delta^{15}\text{N}$  と  $\delta^{13}\text{C}$  の測定  
第28回日本静脈経腸栄養学会学術集会、2013年2月金沢

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

木村 治 (KIMURA, Osamu)  
北海道医療大学・薬学部・講師  
研究者番号：10418882

### (2) 連携研究者

遠藤 哲也 (ENDO, Tetsuya)  
北海道医療大学・薬学部・准教授  
研究者番号：10133216