

<平成25年度助成>

頭髪中安定同位体比と微量元素の分析による 栄養状態の評価と医療への応用研究

遠藤 哲也

(北海道医療大学薬学部)

【目 的】

臨床検査の多くは血液を用いて行なわれているが、血液から得られるデータは現時点のものである。採血は痛みを伴う侵襲的採取であり、感染などへの注意も必要である。ヒト頭髪は1月に約1cmずつ伸張するので、頭髪からは経時的かつ長期間のデータが得られる。また頭髪は簡単に採取することができ、保存や搬送も容易である。頭髪は「食性(何をどの程度食べているか)の推定研究」に最も適したヒト試料である。

頭髪中の窒素および炭素安定同位体比($\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$)は食性の推定研究に利用されている。先行研究によりベジタリアンは図1の左下、魚多食者や狩猟民族は右上、拒食症や飢餓状態では左上に分布することが報告されている^{1,2,3,4)}。症例数は少ないが申請者のこれまでの結果から、(1)栄養状態の悪い胃瘻造設患者は健常者の左上に分布した。(2)中心静脈で栄養管理(フルカリックの投与)を受けていた患者は、健常者の右下に分布した。(3)治療を受けている糖尿病患者は健常者の分布域の左半分(低カロリー)に分布した。即ち頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ 値と $\delta^{13}\text{C}$ 値をプロットした図は、栄養状態に起因する疾病ごとに特徴的な分布を示すと考えられる。

消化管に慢性炎症性疾患を持つクローン病患者は、慢性的な低栄養状態にあり、セレン(Se)欠乏症が報告されている。胃瘻造設患者でも亜鉛(Zn)やSeなどの欠乏症が報告されている。また糖尿病患者では頭髪中のクロム(Cr)、バナジウム

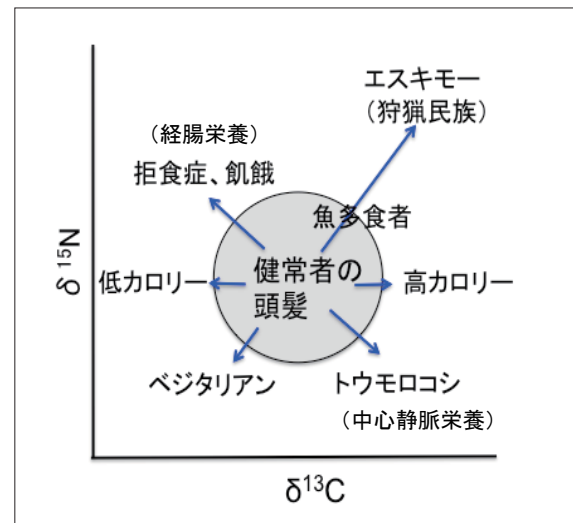


図1 頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ の変化

(V)、Zn濃度が低いとの報告もある⁵⁾。しかしこれらの患者の頭髪中のSeやZnを分析した報告例は見当たらないし、これらの患者の頭髪中の安定同位体比は測定されていない。

本申請研究の目的は、頭髪中の安定同位体比と微量元素の分析結果から、「食」に関連する疾病(経腸栄養剤で栄養管理を受けている患者、クローン病患者、糖尿病患者など)の治療効果や病状の評価に寄与し、医療へ応用することである。

【方 法】

札幌北成病院、札幌東徳州会病院、町立長沼病院、室蘭日鋼病院、伊達聖ヶ丘病院および函館渡辺病院から、胃瘻造設患者、クローン病患者および糖尿病患者などの頭髪、約50-100mgを収集し、安定同位体比と微量元素を測定した。窒素安定同位体比($\delta^{15}\text{N}$)と炭素安定同位体($\delta^{13}\text{C}$)はIR-MSにて測定し、微量元素はICP-MSで測定した。な

お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あるいはそれに相当する委員会の承認も得ている。

【結果と考察】

1. 経腸栄養剤と中心静脈栄養剤で栄養管理を受けている患者

本研究における健常者は119名(男性49名、女性70名)で、平均年齢41.0 ± 22.8歳であった。頭髮中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ はそれぞれの平均は9.3 ± 0.5‰と-19.1 ± 0.6‰であった。なお頭髮中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ は加齢による大きな変化および顕著な性差が認められない³⁾。

経腸栄養剤で栄養管理を受けていた患者(EN患者)は男性7名と女性13名で、平均年齢は81.4 ± 18.3歳であった。なおこれらの患者はCZ1.5、K-4S、E-7II、アイソカルプラス、アイソカル2K、ラコールなどの栄養剤で栄養管理を受けていた。また1名は経腸栄養剤で栄養管理を受ける以前にフルカリック1号と2号輸液による静脈栄養(total parental nutrition: TPN)を受けていた(TPN患者)。

健常者とEN患者の安定同位体比の分析結果を図2にプロットしたが、多くのEN患者は健常者

群の左上に分布した。この分布は長期間の飢餓状態や絶食などで認められる現象で、EN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している¹⁾。一方、TPN患者の場合、健常者群に比べて、 $\delta^{15}\text{N}$ が極めて低く $\delta^{13}\text{C}$ が極めて高い値を示した。頭髮の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ について多くの報告例があるが^{6,7)}、このTPN患者の $\delta^{15}\text{N}$ はこれまで報告された値のなかでも最も低い値であり、 $\delta^{13}\text{C}$ は極めて高い値である。

結果を示さないが、EN患者の頭髮中の $\delta^{15}\text{N}$ と各栄養素(総エネルギー、タンパク質、炭水化物および脂質)の投与量との間には負の相関関係が認められ、頭髮中の $\delta^{13}\text{C}$ と各栄養素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剤の量が多いほど $\delta^{15}\text{N}$ が減少し、 $\delta^{13}\text{C}$ が増加することを示している。即ち、各栄養素の投与量が多いほど、その $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ は図2に示した健常者群の中心方向へ移動する。健常者の分布域内に分布した9名のEN患者は25 ± 6kcal/kg/dayの投与を受けていたが、健常者の分布域から外れた11名の患者は17 ± 3kcal/kg/dayであった。

図3は図2に示したEN患者とTPN患者の分析結果に51種類の栄養剤と19種類アミノ酸の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ の分析結果を加えたものである。TPN患者が投与を受けていたアミノ酸製剤であるフルカリック1号と2号の $\delta^{15}\text{N}$ 値は乳タンパクと大豆タンパクを含む一般的なEN剤と比べて顕著に低く、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は高かった。これは配合されている各種アミノ酸の $\delta^{15}\text{N}$ 値はタンパク質より低いものが多く、 $\delta^{13}\text{C}$ 値が高いものが多いことに起因する。そのことがフルカリックの投与を受けた患者の頭髮中の $\delta^{15}\text{N}$ 値の低値と $\delta^{13}\text{C}$ 値の高値の原因と考えられる。

栄養状態の評価としてBMIや血清アルブミン濃度が汎用されているが、頭髮中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ を組合せることで、より正確に患者の栄養状態を推定できると考えられる。ただしアミノ酸を多量

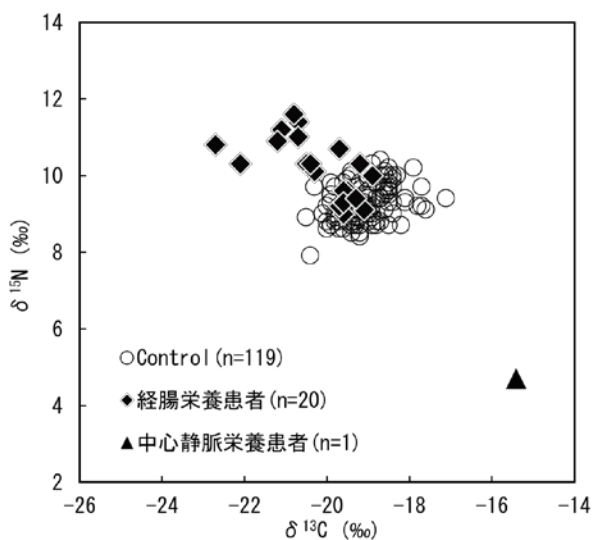


図2 健常者、EN患者およびTPN患者の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$

いるベジタリアンの値^{6,7)}にほぼ相当することから、2名の患者は低タンパクの食事をしていただと考えられる。

エレンタール服用患者の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ は $7.5 \pm 1.8\%$ と $-17.2 \pm 2.5\%$ で、服用量が多い患者ほど $\delta^{15}\text{N}$ は低下し、 $\delta^{13}\text{C}$ は増加する明らかな相関関係が認められた。これらの値は健常者からは測定されたことのない値であり、 $\delta^{15}\text{N}$ あるいは $\delta^{13}\text{C}$ の値からエレンタールの服用量の推定が可能である。エネルギー摂取量が少ないEN患者($17 \pm 3\text{kcal/kg/day}$ 、**図2**参照)は健常者の分布域を左上方向に外れていたことも考え合わせると、頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ の変化は、定性のみならず定量性も兼ね備えていると思われる。

結果を示さないが、血液検査において栄養状態の指標となる総タンパク値、ヘモグロビン値、コリンエステラーゼ活性はエレンタールの服用量の増加に伴い減少した。即ち病状が重くエレンタールによる栄養補給に依存する割合が高い患者ほど、これらの数値が低く、栄養状態が悪いと思われる。現在症例数を増やし、検討中である。

窒素源としてタンパク質を含むラコールを服用している患者は、一般に病状が安定したクローン病患者であるが、患者の $\delta^{15}\text{N}$ 、 $\delta^{13}\text{C}$ およびBMIは 7.91% 、 -20.6% および 17.8 で、健常者と比べていずれも低く、この患者の栄養状態の低さを示している。ラコール服用患者の場合についても症

例数を増やし、検討中である。

クローン病患者の頭髪中の微量元素の測定結果であるが、EN患者の場合と同様に、測定したすべての元素が健常者より低い傾向が認められたが、Zn欠乏やSe欠乏と思われる結果は得られなかった。

3. 糖尿病患者

糖尿病患者($\text{HbA1c: } 7.7 \pm 1.9, n=29$)の $\delta^{13}\text{C}$ と $\delta^{15}\text{N}$ はそれぞれ $-19.6 \pm 0.6\%$ と $9.4 \pm 0.7\%$ であった。横軸と縦軸にそれぞれ $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値をとった分布図で、糖尿病患者のすべてが、健常者の分布域の左半分、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(**図1**参照)。その原因として、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。しかし HbA1c 値と $\delta^{13}\text{C}$ 値あるいは $\delta^{15}\text{N}$ 値との間には有意な相関関係は認められなかった。現在症例数を増やし、糖尿病患者の $\delta^{15}\text{N}$ あるいは $\delta^{13}\text{C}$ と HbA1c との関係を詳細に検討中である。

結果を示さないが、糖尿病患者のNaとK濃度($n=28$)は健常者($n=16$)より高値であったが、CrとZn濃度は低値であった。有害元素であるカドミウム(Cd)、鉛(Pb)およびヒ素(As)は糖尿病患者で高値を示した。糖尿病の3大合併症の1つに糖尿病腎症があり、腎機能の低下に伴い、頭髪中の微量元素の一部が増加することが予想されている。頭髪中のPb濃度やCd濃度の増加は腎機能が未発達の幼児にも観察される。腎機能の指標として、血清中のクレアチンから推定されるeGFRが汎用されているが、この方法での腎機能障害の評価は感度が低く、軽度の腎機能障害を検出することができない。頭髪中の微量元素分析による糖尿病患者の腎機能評価について検討中である。

【結 論】

経腸栄養剤で栄養管理を受けている患者、クローン病患者および糖尿病患者の頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$

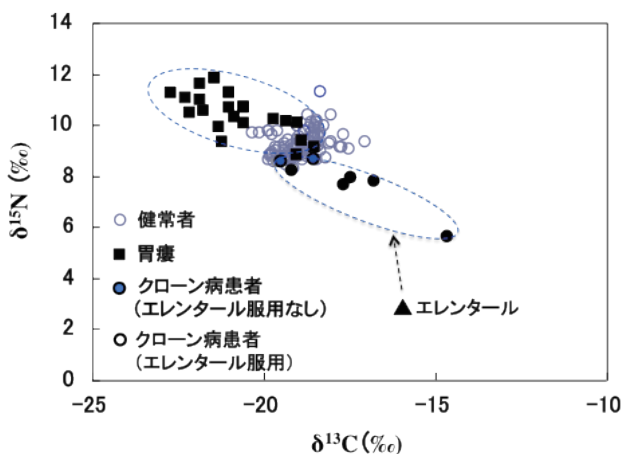


図4 クローン病患者とエレンタールの ^{15}N と ^{13}C

と $\delta^{13}\text{C}$ 、および微量元素を測定した。 $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ は疾病ごとに、また投与した栄養液の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ を強く反映して、特徴的な値(分布)を示した。この変化には定量性も認められたので、診断や治療効果の判定に応用が可能である。頭髮中の微量元素は欠乏症の推定のみならず、早期の腎機能低下の指標としても利用できる可能性がある。なお本研究の一部は「医療薬学」の掲載されている⁸⁾。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多大な研究助成金を賜りました(公財)浦上食品・食文化振興財団に心より感謝の意を表します。

文 献

- 1) Petzke KJ, Fuller BT, Metges CC (2010) Advance in natural stable isotope ratio analysis of human hair to determine nutritional and metabolic status. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **13**: 532-540.
- 2) Buchardt B, Bunch V, Helin P (2007) Fingernails and diet: Stable isotope signatures of a marine hunting community from modern Uummanaq, north Greenland. *Chem Geol* **244**: 316-329.
- 3) Endo T, Hayasaka M, Hisamichi Y, Kimura O, Haraguchi K (2013) Carbon and nitrogen stable isotope ratios and mercury concentration in the scalp hair of residents from Taiji, a whaling town. *Mar Pollut Bull* **69**: 116-121.
- 4) Endo T, Hayasaka M, Ogasawara H, Kimura O, Kotaki Y, Haraguchi K (2015) 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*: **10**, e0128149.
- 5) Wolowiec P, Michalak I, Chojnacka K, Mikulewicz M (2013) Hair analysis in health assessment. *Clinica Chimica Acta* **419**: 139-171.
- 6) Thompson AH, Chesson LA, Podlesak DW, Bowen G J, Cerling TE, Ehleringer JR (2010) Stable isotope analysis of modern human hair collected from Asia (China, India, Mongolia, and Pakistan). *Am J Phys Anthropol* **141**: 440-451.
- 7) Nardoto GB, Silva S, Kendall C, Ehleringer JR, Chesson LA, Ferraz ESB, Moreira MZ, Ometto JPHB, Martinelli LA (2006) Geographical patterns of human diet derived from stable-isotope analysis of fingernails. *Am J Phys Anthropol* **131**: 137-146.
- 8) 早坂 敬明、木村 治、倉 敏郎、遠藤 哲也「経腸栄養剤投与患者の頭髮中窒素および炭素安定同位体比を用いた栄養状態の評価」『医療薬学』42: 151-159 (2016).

Estimation of nutritional status using stable isotope ratios of carbon and nitrogen and trace elements in human hair

Tetsuya Endo

*School of Pharmaceutical Sciences
Health Sciences University of Hokkaido*

Abstract

Stable isotope ratios of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) and trace elements in scalp hair were analyzed to estimate the nutritional status and use as the index of treatment. The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values who received the nutrition by the enteral nutrition (EN) were lower and higher than those who ate the normal meal, respectively, suggesting the lower nutritional conditions with negative nitrogen balance.

The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of Elental[®], which is an elemental diet for the Crohn's disease (CD) patients including amino acids as N-source, were lower than the proteins and cereals because of the lower values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in amino acids included.

The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in the CD patients were lower and similar levels of vegetarian, and the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in the CD patients ingesting the Elental were increased and decreased, respectively, depending on the amount of Elental ingestion.

The average value of $\delta^{13}\text{C}$ in the hair of diabetes mellitus (DM) was lower than that of healthy persons, but the $\delta^{15}\text{N}$ value was similar.

Most of essential and no-essential (toxic) elements analyzed in the hair of EN and DM patients were tended to lower than those of healthy persons, but some toxic elements such as (Cd, Pb and As) were higher in DM, probably due to the nephrotoxicity as the complications of DM.