完全静脈栄養時の必須微量元素補給
—微量元素欠乏ラットにおける効果—

Supplementation of Essential Trace Elements
during Total Parenteral Nutrition
— Effects on trace elements-deficient rats —

京都大学医学部衛生学教室

横井克彦・木村美恵子・松田晃彦

加畑寿明・糸川嘉則

森下製薬㈱薬理研究所

片岡美紀子・佐藤 誠

Katsuhiko Yokoi, Mieko Kimura, Akihiko Matsuda,
Hisaaki Kabata and Yoshinori Itokawa

Department of Hygiene, Faculty of Medicine, Kyoto University, Kyoto

Mikiko Kataoka and Makoto Sato

Research Laboratories, Morishita Pharmaceutical Co., Ltd., Shiga

Thirty-one male SD rats, six weeks old, were fed a trace element-deficient diet for two weeks and then divided into three groups and maintained for 1 week as follows: group A with total parenteral nutrition (TPN) without supplementation of trace elements, group B with TPN supplemented with the following 5 trace elements ... iron, zinc, copper, manganese and iodine, and group C with a diet free of the above five trace elements. Another group of eight rats was fed a diet supplemented with the above five trace elements for three weeks as a control (group D). Feeding on TPN without supplementation of trace elements evoked microcytic hypochromic anemia and significant decreases in iron concentrations in plasma and tissues (groups A and C). Supplementation of trace elements in the TPN solution showed a tendency to cure anemia and a significant increase in the iron concentration in tibia (group B). Decreases in the zinc or copper concentrations in plasma and tissues during TPN without trace elements were prevented by supplementation of trace elements in the TPN solution (group B). The plasma zinc and copper concentrations correlated well with their levels in liver, kidney and tibia. Manganese deficiency was not recognized in this investigation (groups A and C), though supplementation of trace elements in the TPN solution increased tissue manganese concentration (group B). Feeding on TPN without supplementation of trace elements induced decreases in plasma triiodothyronine and thyroxine (groups A and C). Supplementation of trace elements in the TPN solution showed a tendency to increase plasma thyroxine (group B). These results suggest that feeding with a trace element-deficient diet followed by trace element-free TPN, decreases the trace element levels in tissues of rats, and that the addition of trace elements to the TPN solution shows a tendency to normalize such deficiency states.

Key words: Total parenteral nutrition, Iron, Zinc, Copper, Manganese, Iodine
完全静脈栄養法, 鉄, 亜鉛, 銅, マンガン, ヨウ素

緒 言

Dudrick らが1968年に完全静脈栄養法 (TPN 法) を発表して以来¹⁾, TPN 法は慢性消耗性消化管疾患や悪性腫瘍による消耗状態および外科手術後の低栄養状態の栄養管理に広く適用されるようになった。しかし, TPN 法が長期化するに伴い, ヒトにおいては稀であった微量元素欠乏症が数多く発生するようになり, TPN 法施行中の亜鉛^{2,3)} および銅⁴⁾ 等の欠乏症が報告されている。したがって, 現在では TPN 法施行中の微量元素欠乏症の予防および治療のために, TPN 液中に微量元素を添加する必要性が認められており, アメリカでは微量元素添加量のガイドラインも示されている⁵⁾。しかし, 人体における微量元素の必要量は不明のものが多く, かつ, 経静脈的に投与する場合は, 経口摂取の時と異なった体内分布をとる可能性がある。そこで, 我々は微量元素の欠乏あるいは潜在性欠乏状態にあるラットを作り, このラットに微量元素無添加 TPN 液あるいは微量元素混合液 (鉄, 亜鉛, 銅, マンガン, ヨウ素) 添加 TPN 液で栄養管理し, 微量元素の血漿および組織中濃度, 血液性状および組織像に対する微量元素補給の効果を検討した。

実験方法

1. 実験動物

5週齢, 体重110~130 g の Sprague-Dawley 系雄ラット (日本チャールス・リバー) に市販のラット用固形飼料 (MF, オリエンタル酵母) および水を自由に与えて6日間の予備飼育後, 体重が順調に増加した160~180 g のものを実験に用いた。

2. 微量元素欠乏飼料の調製

微量元素欠乏飼料の組成を Table 1 に示した。この微量元素欠乏飼料100 g あたり, クエン酸鉄190.8 mg, 炭酸亜鉛6.6 mg, 硫酸マンガン7.2 mg, 硫酸銅1.8 mg, ヨウ化カリウム0.6 mg を添加し, 微量元素添加飼料とした。

3. 実験群

ラットは予備飼育の後, 2週間微量元素欠乏飼料と脱イオン水で飼育し, 無作為に3群 (A群, B群, C群) に分け, さらに下記に示す条件にて1週間飼育した。なお, 対照群として予備飼育の後, 微量元素添加飼料で3週間飼育したD群を設けた。

Table 1 Composition of the trace element-deficient diet.

Ingredient	g/100 g diet
Cornstarch	38.55
α -Starch	1.00
Granulated sugar	10.00
Corn oil	4.50
Casein (Vitamin free)	32.00
Cellulose powder	4.50
Vitamin mixture ¹⁾	1.00
CaCO ₃	1.65
KH ₂ PO ₄	2.68
CaHPO ₄ ·2H ₂ O	1.83
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.07
NaCl	1.22
	100.00 g

Trace element-supplemented diet contained following five trace elements added to the trace element-deficient diet (mg/100 g diet): Fe(III) citrate, 190.8; ZnCO₃, 6.6; MnSO₄·4~6H₂O, 7.2; CuSO₄·5H₂O, 1.8; KI, 0.6. ¹⁾ The vitamin mixture contained (mg/100 g diet): vitamin A powder, 2.341 (500,000 IU/g); D₃ powder, 0.059 (100,000 IU/25 mg); B₁, 1.5; B₂, 1.56; B₆, 1.02; B₁₂, 0.005; E, 20.00; K, 0.40; biotin, 0.50; Ca-pantothenate, 4.00; p-aminobenzoic acid, 10.15; nicotinic acid, 10.15; inositol, 15.00; folic acid, 0.20; choline chloride, 300.00; cornstarch, 633.115.

A群: 微量元素無添加 TPN 施行群 (12匹)

B群: 微量元素添加 TPN 施行群 (12匹)

C群: 微量元素欠乏飼料飼育群 (7匹)

D群: 微量元素添加飼料飼育群 (8匹)

4. 投与方法

A群に投与した TPN 液は, 市販の TPN 用基本液 (パレメンタル A[®], パレメンタル B[®], 森下製薬), 総合アミノ酸輸液 (モリブロン F[®], 森下製薬), 高カロリー輸液用総合ビタミン剤 (ソービタ[®], 扶桑薬品工業) を用いて調製した。また, この TPN 液60 ml に対し TPN 用微量元素混合液を0.1 ml の割合で添加したものを B群に投与した。なお, この TPN 用微量元素混合液の投与量はヒト常用量の10倍 (体重1 kg あたりに換算) に相当する⁶⁾。A群, B群のラットには宗田らの方法⁷⁾により中

心静脈内にカテーテル留置を行った後、TPN 液を手術当日は1.25 ml/rat/hour, 手術翌日からは2.5 ml/rat/hour の速度で持続注入し、ステンレス製個別ケージ内で飼育した。なお、TPN 法施行の際には一切の摂餌飲水を中止した。C群, D群のラットにはカテーテル留置術と同様の sham operation を行い、ステンレス製個別ケージ内で各群に対応した飼料を脱イオン水と共に自由摂取させた。なお、TPN 液の基本栄養組成を Table 2 に、微量元素混合液の組成を Table 3 に、TPN 液および飼料中の鉄、亜鉛、銅、マンガンの含有量の実測値（原子吸光法による）を Table 4 に示した。

5. 試料採取法

ラットを上記の条件で飼育した後、ペントバルビタールナトリウム麻酔下にて腹部大動脈からヘパリン(100単位)処理した試験管ならびに EDTA 処理した sample cup (東亜医用電子) に血液を採取した。ヘパリン処理した血液は直ちに遠心分離 (3000 rpm, 15 min) して血漿を得た。採血後直ちに、各種組織（脳、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、精巣、大腿筋、脛骨）を採取し各微量元素（鉄、亜鉛、銅、マンガン）の定量に供した。また、甲状腺、副甲状腺、肝臓、腎臓、脛骨、精巣を10%ホルマリンで固定しヘマトキシリン-エオジン染色にて組織検査を行った。

6. 血液学および血液生化学検査

EDTA 処理した血液中の赤血球数 (RBC) は自動血球計数装置 CC-108 (東亜医用電子) を用いて、ヘモグロビン濃度 (Hb) はヘモグロビンカウンター HB-110 (東亜医用電子) を用いて、ヘマトクリット値 (Hct) はキャピラリー法によりヘマトクリット用高速遠心機 KH-120 (久保田) を用いて測定した。血漿中の alkaline phosphatase 活性 (ALP) は日立105型システム分析装置を用

いて、トリヨードチロニン (T_3), チロキシニン (T_4) はラジオイムノアッセイ法により測定した。

Table 2 Basal composition of intravenous nutrient.

Ingredient	Concentration
Glucose	208 (g/l)
Amino acid ¹	34.5(g/l)
Sodium	77 (mEq/l)
Potassium	25 (mEq/l)
Magnesium	5 (mEq/l)
Calcium	6.7(mEq/l)
Chloride	16.7(mEq/l)
Phosphate	6.6(mEq/l)
Vitamins ²	1.0(ml/600 ml)
Water	60 (ml/rat/day)

¹Amino acid (g/l): L-Ile (1.87), L-Leu (4.17), Lys. ace. (4.13), L-Met (1.17), L-Phe (3.12), L-Thr (2.17), L-Trp (0.43), L-Val (1.50), L-Ala (2.07), L-Arg (2.63), L-Asp (1.27), L-Cys (0.33), L-Glu (2.17), L-His (2.00), L-Pro (1.10), L-Ser (0.73), L-Tyr (0.12), Gly (3.57). ²Sorvita®

Table 3 Composition of trace element solution for total parenteral nutrition.

Element	Ingredient	Concentration as substance	as element
		mg/2 ml	mg/2 ml
Fe	FeCl ₃ ·6H ₂ O	9.46	1.955
Zn	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	17.25	3.923
Cu	CuSO ₄ ·5H ₂ O	1.248	0.3176
Mn	MnCl ₂ ·4H ₂ O	3.958	1.099
I	KI	0.166	0.1269
	Sodium chondroitin sulfate	9.774	

Table 4 Trace element concentration of diet or total parenteral nutrition (TPN) solution determined by atomic absorption spectrometry.

Element	TE(+) diet ¹	TE(-) diet ²	TE(+) TPN ³	TE(-) TPN ⁴
	μg/g	μg/g	μg/ml	μg/ml
Iron	388	4.31	1.93	Trace
Zinc	55.3	14.2	3.72	0.03
Copper	3.11	0.19	0.26	Trace
Manganese	10.3	0.71	1.02	0.033 ^a

All samples were digested by wet ashing using nitric acid-perchloric acid and analyzed by atomic absorption spectrometry using air-acetylene flame. ^aThe value was determined by atomic absorption spectrometry using graphite furnace atomizer. ¹Trace element-supplemented diet. ²Trace element-deficient diet. ³Trace element-supplemented TPN solution. ⁴Trace element-deficient TPN solution.

7. 微量元素の定量

各種組織、飼料ならびに TPN 液は、有害金属分析用硝酸と過塩素酸 (和光純薬) を加えて、Hot block bath TPB-62 (Advantec) により湿式灰化した。なお、血漿の灰化には硝酸のみを用いた。血漿ならびに微量元素無添加 TPN 液中のマンガン濃度は AA-646 原子吸光度計 (島津製作所) およびグラファイトファーネスアトマイザー GFA-3 (島津製作所) を用いて黒鉛炉原子吸光度法にて測定し、その他はすべて AA-670 原子吸光度計 (島津製作所) を用いてフレイム原子吸光度法にて測定した。

8. 統計処理

群間の比較には Bonferroni 型同時多重比較検定法⁸⁾を用い、危険率 5% 以下を有意差ありと判断した。

結 果

1. 体重

各群の体重の推移を Table 5 に示した。6 週齢時より

2 週間にわたり、微量元素欠乏飼料を摂取させたラットの体重の平均値は 266 g であったが、微量元素添加飼料にて飼育した D 群の体重の平均値は 290 g であり、微量元素欠乏飼料で飼育されたラットの体重増加量は D 群の 80% にとどまった。その後の 1 週間では TPN を実施した A 群、B 群は若干の体重減少がみられた。経口摂取した D 群は順調に体重増加を示したが、C 群ではわずかの増加にとどまった。なお、A~D 群のすべての動物で実験期間を通じて、一般状態に異常はみられなかった。

2. 血液学および血液生化学検査

Table 6 に血液学および血液生化学検査値を示した。A 群、B 群、C 群の RBC, Hb, Hct, 平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球血色素量 (MCH) は D 群に比較して有意に低値をとった。A 群、B 群の平均赤血球血色素濃度 (MCHC) は D 群に比較して有意に低値をとった。一方、A 群、B 群、C 群のこれらの検査値はほぼ同レベルであった。

A 群の血漿中の ALP は、他のすべての群に比較して

Table 5 Body weight of the rats maintained by feeding or total parenteral nutrition.

Experimental group	weeks on diet or TPN		
	0	2	3
(A) Trace element-deficient TPN (12)	169±2	266±4 ^a	252±4 ^a
(B) Trace element-supplemented TPN (12)	171±2	266±3 ^a	253±2 ^a
(C) Trace element-deficient diet (7)	171±2	265±7 ^a	268±9 ^{ab}
(D) Trace element-supplemented diet (8)	171±2	290±4 ^b	307±5 ^b

Values are means±SE for the number of rats per group in parentheses. Means not sharing common superscripts are significantly different ($p < 0.05$) as determined by Bonferroni's test.

Table 6 Hematological or biochemical data in blood of rats maintained by feeding or total parenteral nutrition.

Experimental group	RBC ¹	Hb ²	Hct ³	MCV ⁴	MCH ⁵	MCHC ⁶	ALP ⁷	T ₃ ⁸	T ₄ ⁹
	×10 ⁶ /μl	g/dl	%	fl	pg	%	IU/l	ng/ml	μg/dl
(A) Trace element-deficient TPN	6.38 ^{ab} ±0.13	9.2 ^{ab} ±0.3	28.3 ^{ab} ±0.8	44.3 ^a ±0.7	14.5 ^a ±0.2	32.7 ^a ±0.3	290 ^a ±16	0.38 ^a ±0.04	2.68 ^a ±0.20
(B) Trace element-supplemented TPN	6.84 ^b ±0.11	10.1 ^b ±0.2	30.8 ^b ±0.5	45.0 ^a ±0.4	14.7 ^a ±0.2	32.7 ^a ±0.2	382 ^b ±22	0.40 ^a ±0.03	3.46 ^a ±0.10
(C) Trace element-deficient diet	5.98 ^a ±0.17	8.9 ^a ±0.3	27.0 ^a ±0.8	45.2 ^a ±0.7	15.0 ^a ±0.2	33.1 ^{ab} ±0.4	454 ^{bc} ±23	0.44 ^{ab} ±0.05	2.72 ^a ±0.30
(D) Trace element-supplemented diet	7.71 ^c ±0.08	14.9 ^c ±0.2	43.8 ^c ±0.5	56.8 ^b ±0.6	19.4 ^b ±0.2	34.2 ^b ±0.3	507 ^c ±20	0.78 ^b ±0.02	4.80 ^b ±0.39

Values are means±SE (n=5~12). Means not sharing common superscripts are significantly different ($p < 0.05$) as determined by Bonferroni's test. ¹Red blood cell count. ²Hemoglobin. ³Hematocrit. ⁴Mean corpuscular volume. ⁵Mean corpuscular hemoglobin. ⁶Mean corpuscular hemoglobin concentration. ⁷Alkaline phosphatase activity in plasma. ⁸Triiodothyronine in plasma. ⁹Thyroxine in plasma.

有意に低値を示した。また、B群はD群よりも有意に低値を示し、各群のALPはD群が最高値を示し、以下C群、B群、A群の順番に低下した。

3. 鉄

各群の血漿中および諸組織中の鉄濃度をTable 7に示した。A群、C群はD群に比較して血漿および各組織で鉄濃度の有意な低下がみられた。B群はD群に比べれば低値にあるもののA群、C群よりも高い傾向にあった。

4. 亜鉛

各群の血漿中および諸組織中の亜鉛濃度をTable 8に示した。A群、C群はD群に比較して血漿および各組織で亜鉛濃度の有意な低下または低下傾向がみられた。B群はD群に比べれば低値にあるもののA群やC群と比較すると大腿筋を除く各組織で有意な高値または高い傾向を示した。

5. 銅

各群の血漿中および諸組織中の銅濃度をTable 9に示した。A群、C群はD群に比較して血漿および各組織

で銅濃度の有意な低下または低下傾向がみられた。B群はD群に比較して脾臓で有意な高値、大腿筋で有意な低値を示したが、血漿およびその他の組織ではほぼ同程度の値を示した。

6. マンガン

各群の血漿中および諸組織中のマンガン濃度をTable 10に示した。D群と比較して、A群は血漿で低下傾向を、また、C群は血漿で低下傾向、肝臓で有意な低下がみられたが、その他の組織では同レベルであった。B群はD群に比較して各組織で有意な高値を示した。A群、C群は血漿および各組織でB群より低値を示した。

7. ヨウ素

血漿中の甲状腺ホルモン濃度をTable 6に示した。先ず、 T_4 濃度は、A群、B群、C群でD群に比較して有意に低値をとり、B群がA群より高値をとる傾向にあった。一方、 T_3 濃度はD群に比較し、A群およびB群で有意に低下し、C群で低値をとる傾向にあった。

8. 組織学的所見

肝組織像をみると、C群ではごく軽度の肝細胞空胞変

Table 7 Iron concentration of tissues of rats maintained by feeding or total parenteral nutrition.

Experimental group	Plasma ¹	Brain	Heart	Liver	Spleen	Kidney	Testis	Femoral muscle	Tibia
(A) Trace element-deficient TPN (12)	0.53 ^{ab2} ±0.05	11.9 ^a ±0.2	49.9 ^a ±1.3	38.5 ^{ab} ±1.3	138 ^a ±7	34.8 ^a ±2.0	7.24 ^a ±0.20	5.99 ^{a2} ±0.21	12.5 ^a ±0.6
(B) Trace element-supplemented TPN (12)	0.62 ^{ac} ±0.03	12.7 ^a ±0.3	51.1 ^a ±1.0	44.5 ^{ac} ±0.7	127 ^a ±8	34.7 ^{ab} ±0.7	7.45 ^a ±0.12	5.14 ^{a2} ±0.16	17.0 ^b ±0.9
(C) Trace element-deficient diet (7)	0.42 ^b ±0.02	12.2 ^a ±0.4	50.3 ^a ±2.2	34.4 ^b ±1.3	102 ^a ±6	31.5 ^a ±1.2	6.84 ^a ±0.17	5.71 ^a ±0.47	12.7 ^a ±0.8
(D) Trace element-supplemented diet (8)	2.13 ^c ±0.12	14.5 ^b ±0.3	65.7 ^b ±2.1	78.6 ^c ±5.9	194 ^b ±15	53.8 ^b ±3.3	13.1 ^b ±0.4	10.6 ^b ±0.5	35.0 ^c ±1.5

Values are means±SE ($\mu\text{g/g}$ wet weight) for the number of rats per group in parentheses. ¹ $\mu\text{g/ml}$. ² $n=11$. Means not sharing common superscripts are significantly different ($p<0.05$) as determined by Bonferroni's test.

Table 8 Zinc concentration of tissues of rats maintained by feeding or total parenteral nutrition.

Experimental group	Plasma ¹	Brain	Heart	Liver	Spleen	Kidney	Testis	Femoral muscle	Tibia
(A) Trace element-deficient TPN (12)	0.270 ^{ab2} ±0.017	11.7 ^a ±0.1	16.0 ^a ±0.2	27.1 ^a ±0.5	19.8 ^{ab} ±0.2	18.3 ^a ±0.3	22.7 ±0.3	10.5 ^{ab2} ±0.3	69.2 ^a ±1.1
(B) Trace element-supplemented TPN (12)	0.836 ^b ±0.021	12.4 ^b ±0.3	16.3 ^{ab} ±0.1	29.1 ^b ±0.4	20.4 ^a ±0.2	22.1 ^b ±0.3	23.7 ±0.3	8.9 ^{a2} ±0.5	87.1 ^b ±1.3
(C) Trace element-deficient diet (7)	0.714 ^c ±0.034	11.9 ^a ±0.1	16.4 ^{ab} ±0.3	26.7 ^a ±0.5	19.6 ^b ±0.1	18.8 ^a ±0.3	22.6 ±0.7	10.5 ^{ab} ±0.6	80.6 ^b ±1.8
(D) Trace element-supplemented diet (8)	0.980 ^d ±0.020	12.0 ^a ±0.1	16.9 ^b ±0.2	25.4 ^a ±0.4	19.3 ^b ±0.1	22.9 ^b ±0.3	23.7 ±0.2	14.3 ^b ±1.7	105 ^c ±3

Values are means±SE ($\mu\text{g/g}$ wet weight) for the number of rats per group in parentheses. ¹ $\mu\text{g/ml}$. ² $n=11$. Means not sharing common superscripts are significantly different ($p<0.05$) as determined by Bonferroni's test.

Table 9 Copper concentration of tissues of rats maintained by feeding or total parenteral nutrition.

Experimental group	Plasma ¹	Brain	Heart	Liver	Spleen	Kidney	Testis	Femoral muscle	Tibia
(A) Trace element-deficient TPN (12)	0.66 ^{a2} ±0.03	2.03 ±0.02	4.36 ^{ab} ±0.05	2.91 ^a ±0.07	0.97 ^a ±0.02	3.30 ^a ±0.04	1.26 ^a ±0.02	0.79 ^{ac} ±0.02	0.42 ^a ±0.02
(B) Trace element-supplemented TPN (12)	1.16 ^b ±0.05	2.04 ±0.04	4.55 ^{ac} ±0.07	3.99 ^b ±0.14	1.25 ^b ±0.03	3.86 ^b ±0.07	1.33 ^a ±0.02	0.66 ^{b2} ±0.02	0.72 ^b ±0.07
(C) Trace element-deficient diet (7)	0.42 ^c ±0.06	1.96 ±0.06	4.29 ^b ±0.06	2.24 ^c ±0.10	0.87 ^a ±0.04	3.15 ^a ±0.04	1.14 ^b ±0.04	0.71 ^{ab} ±0.03	0.40 ^a ±0.01
(D) Trace element-supplemented diet (8)	1.00 ^b ±0.03	2.05 ±0.04	4.62 ^c ±0.05	3.71 ^b ±0.17	1.10 ^c ±0.03	8.18 ^b ±0.53	1.34 ^a ±0.02	0.89 ^c ±0.04	0.55 ^{ab} ±0.02

Values are means±SE (μg/g wet weight) for the number of rats per group in parentheses. ¹μg/ml. ²n=11. Means not sharing common superscripts are significantly different ($p<0.05$) as determined by Bonferroni's test.

Table 10 Manganese concentration of tissues of rats maintained by feeding or total parenteral nutrition.

Experimental group	Plasma ¹	Brain	Heart	Liver	Spleen	Kidney	Testis	Femoral muscle	Tibia
(A) Trace element-deficient TPN (12)	5.80 ^a ±1.64	0.370 ^a ±0.007	0.370 ^a ±0.010	1.47 ^a ±0.07	0.188 ^a ±0.011	0.718 ^a ±0.022	0.282 ^a ±0.007	0.075 ^{a2} ±0.005	0.287 ^a ±0.015
(B) Trace element-supplemented TPN (12)	12.3 ^b ±1.4	0.792 ^b ±0.021	0.872 ^b ±0.017	2.38 ^b ±0.05	0.350 ^b ±0.015	1.97 ^b ±0.03	0.463 ^b ±0.010	0.167 ^{b2} ±0.005	0.867 ^b ±0.026
(C) Trace element-deficient diet (7)	5.23 ^{ab} ±0.72	0.371 ^a ±0.011	0.336 ^a ±0.018	1.05 ^c ±0.03	0.135 ^a ±0.005	0.532 ^c ±0.025	0.247 ^a ±0.015	0.060 ^a ±0.005	0.229 ^a ±0.014
(D) Trace element-supplemented diet (8)	13.3 ^{ab} ±3.8	0.370 ^a ±0.009	0.354 ^a ±0.015	1.56 ^a ±0.05	0.164 ^a ±0.005	0.655 ^{ac} ±0.017	0.287 ^a ±0.008	0.066 ^a ±0.004	0.278 ^a ±0.014

Values are means±SE (μg/g wet weight) for the number of rats per group in parentheses. ¹ng/ml. ²n=11. Means not sharing common superscripts are significantly different ($p<0.05$) as determined by Bonferroni's test.

性の認められる個体があったが、A群、B群、D群では特に異常を認めなかった。甲状腺、副甲状腺、腎臓、脛骨、精巣の組織像には特に異常を認めなかった。

考 察

微量元素を添加しない TPN 液で栄養管理を行った場合、複数の微量元素が同時に欠乏する可能性のあることが指摘されており⁹⁾、実際に外国では複数の微量元素を含む TPN 液用微量元素製剤が開発され治療に利用されている。本研究では微量元素欠乏飼料で飼育したラットに TPN 法を施行し、鉄、亜鉛、銅、マンガン、ヨウ素を同時に添加した場合と添加しない場合を比較してこれら5元素の補給が生体に与える影響を検討した。

まず、血液性状をみると、A群、B群、C群のRBC、Hb、Hct、MCV、MCHはD群に比較して有意に低下し、A群、B群、C群は小球性、低色素性貧血の像を示した。B群のRBC、Hb等はA群に比較して有意ではないが高値を取る傾向にあり、本実験で使った微量元素混合液の補給量でさらに長期間ラットの栄養管理を行う

ならば、貧血状態は改善される可能性のあることが示唆された。

鉄欠乏では欠乏の程度に応じて貯蔵鉄、輸送鉄、ヘモグロビン鉄、細胞が正常な機能を営む上で必要な鉄 (functional cell iron) の順に失われていくものと考えられている¹⁰⁾。今回、微量元素欠乏飼料の摂取および微量元素無添加 TPN 法の施行によりヘモグロビン濃度が9 g/dlに達し、精巣の鉄濃度が半減するなど鉄の貯蔵部位以外の組織でも鉄が減少していたことから、ある程度 functional cell iron まで失われていた可能性が示唆された。このため、微量元素混合液の投与で鉄欠乏状態の著明な改善が観察されなかったが、これは本実験で使った微量元素混合液の補給量が本モデルにとっては少なかつたためと考えられる。しかし、B群における脳、心臓、肝臓、精巣、脛骨中鉄濃度はD群と同じレベルにならないまでも、A群に比べ高値を示す傾向にあったことから、本実験で使った微量元素混合液でさらに長期間栄養管理を行えば、血液性状と同様に鉄欠乏状態を改善する可能性のあることが示唆された。

亜鉛は、TPN 施行時の欠乏症の発生と亜鉛投与による治癒が数多く報告^{2,3)}されており、TPN 液に添加する必要性が広く認められている。A 群と C 群を比較すると、血漿および脛骨において A 群の亜鉛濃度が有意に低値を示し、TPN 法の施行により亜鉛欠乏が助長された可能性がある。TPN 液に微量元素混合液を添加した B 群の亜鉛のレベルは、ほぼ D 群と同程度であり、今回の投与量で亜鉛欠乏状態を解消できるものと考えられる。

ALP は亜鉛を補酵素としており、亜鉛欠乏のラットに亜鉛を腹腔内投与すると血清 ALP が著明に上昇することが報告されている¹¹⁾。本実験においても ALP は微量元素混合液の投与によって上昇し、おおむね血漿亜鉛濃度の変化と一致した。以上の結果より、血漿中亜鉛濃度と ALP の低下は亜鉛欠乏状態を反映し、これらの上昇は亜鉛の補給の効果を示す良い指標となると考えられる。

TPN 法施行時の銅欠乏症は最初 Karpel ら⁴⁾によって報告されたが、銅欠乏症では鉄欠乏症類似の貧血を発生し^{12,13)}、同時に血清銅や ceruloplasmin 濃度が低下することが知られている¹⁴⁾。本実験条件では複数の元素が同時に欠乏しているために特異的な銅欠乏症状は明らかではないが、血漿中銅濃度の減少は組織中銅濃度の減少に一致しており、血漿中銅濃度は銅の欠乏状態を反映する良い指標であることが明らかとなった。

B 群は微量元素混合液の投与によって大腿筋のみで銅濃度が低下していた。著者らは鉄欠乏食にて飼育したラットの組織中銅濃度は正常飼料にて飼育したラットと比較して全般的に増加する傾向にあるが、筋肉中銅濃度のみ逆に減少することを以前報告している¹⁵⁾。B 群は貧血の改善傾向はあるもののまだ鉄欠乏状態が残存していたために、著者らの以前の報告と同様に今回も大腿筋中銅濃度が減少していたのであろう。したがって、今後複数の微量元素欠乏状態を同時にきたした場合、個々の微量元素の動態を見るだけではなく微量元素の相互関係も考慮する必要があるだろう。

ヒトにおいてもマンガン欠乏症の存在が確認されているが¹⁶⁾、TPN 法施行中のマンガン欠乏症の発生は稀である¹⁷⁾。しかし、マンガンはビルビン酸カルボキシラーゼの活性因子¹⁸⁾であり、ラットの内耳の正常な骨化にもかかわる¹⁹⁾などの様々な機能を有する必須微量元素であるため、TPN 液用微量元素製剤のガイドラインにもマンガンの添加量が示されている。本研究では血漿中マンガンの濃度は低下したものの組織中マンガンの濃度が低下するほどのマンガン欠乏状態を作り得なかった。今回、このような状態で微量元素混合液を補給したため、低下

した血漿中マンガンの濃度は改善されたものの、組織中濃度はそれ以上に上昇した。したがって組織中マンガンの濃度が低下した状態であれば、その補給効果を示すことができたであろう。なお、本研究では B 群の組織中マンガンの濃度は D 群より高値を示したが、B 群の動物は実験期間を通じて異常な行動は観察されず、本実験においてはマンガン中毒時にみられるような神経障害^{20,21)}は生じていないものと思われる。

ところで TPN 法施行時におけるマンガン欠乏症状は血清中のマンガンのレベルに反映されるという報告²²⁾があるように、一般に臨床ではマンガンの body status は血液中マンガンのレベルで判断されている。しかしその一方で、血漿中のマンガンは速やかに組織に取り込まれるため、マンガンの body status を血漿中のマンガンのレベルで把握することはむずかしいとする報告²³⁾もあり、統一された見解が得られていない。本実験では後者を支持する成績が得られたが、今後、TPN 法施行時において適切なマンガン補給を行うためにも、体内マンガン保有量を的確に表す臨床的な指標について検討する必要があると考える。

ヨウ素は甲状腺機能を維持する上で不可欠であることは明らかである。一方、ヨウ素が体内に蓄積する割合は尿中排泄率の測定結果から少ないと考えられており²⁴⁾、今回は特に甲状腺ホルモンの変動について検討した。T₃、T₄は共に微量元素欠乏飼料の摂取および微量元素無添加 TPN 法の施行によって減少したのに対し、微量元素混合液の補給によって T₄はその減少を抑制する傾向を示した。このため、微量元素混合液を添加した TPN 液でさらに長期間栄養管理すれば、このような T₃、T₄の低下は改善されてくものと考えられる。

以上、本研究で微量元素欠乏飼料の摂取と微量元素を添加しない TPN 法の施行により、ラットは3週間で鉄、亜鉛、銅、ヨウ素の欠乏状態に陥り、これらの元素の欠乏状態は、微量元素混合液を TPN 液中に添加することによりある程度改善されることが明らかとなった。

謝 辞

本研究を行うに際し、TPN の技術指導に多々の御便宜と御助力を頂いた森下製薬(株)薬理研究所菊地武夫氏ならびに血液性状分析にご協力頂いた同研究所山添武司氏に心より感謝致します。

文 献

- 1) Dudrick, S.J., Wilmore, D.W. and Rhoads, J.E. :

- Long-term parenteral nutrition with growth, development and positive nitrogen balance, *Surgery*, **64**, 134-142 (1968).
- 2) Kay, R.G. and Tasman-Jones, C.: Acute zinc deficiency in man during intravenous alimentation, *Aust. N. Z. Surg.*, **45**, 325-330 (1975).
 - 3) Okada, A., Takagi, Y., Itakura, T., Satani, M., Manabe, H., Iida, Y., Tanigaki, T., Iwasaki, M. and Kasahara, N.: Skin lesions during intravenous hyperalimentation: zinc deficiency, *Surgery*, **80**, 629-635 (1976).
 - 4) Karpel, J.T. and Peden, V.H.: Copper deficiency in long-term parenteral nutrition, *J. Pediatr.* **80**, 32-36 (1972).
 - 5) AMA Department of Foods and Nutrition: Guidelines for essential trace element preparation for parenteral use, *JAMA*, **241**, 2051-2054 (1979).
 - 6) 平岡栄一: 薬学領域の高カロリー輸液, 医学ジャーナル社, 大阪 (1980).
 - 7) 宗田滋夫, 岡田 正, 佐谷 稔, 曲直部壽夫: 栄養輸液のモデル作成法, 医学のあゆみ, **92**, 56-57 (1975).
 - 8) 丹後俊郎: 臨床検査への統計学, 朝倉書店, 東京 (1986).
 - 9) Hankins, D.A., Riella, M.C., Scribner, B.H. and Babb, A.L.: Whole blood trace element concentrations during total parenteral nutrition, *Surgery*, **79**, 674-677 (1976).
 - 10) Heinrich, H.C.: Definition and pathogenesis of iron deficiency in "Iron Metabolism and its Disorders" (Kief, H. eds.), p. 113-122, *Excerpta Medica*, Amsterdam (1975).
 - 11) Roth, H.-P. and Kirchgeßner, M.: Experimentelle Untersuchungen zur Diagnose von marginalen Zinkmangel, *Res. Exp. Med. (Berl.)*, **174**, 283-300 (1979).
 - 12) Sturgeon, P. and Brubaker, C.: Copper deficiency in infants. A syndrome characterized by hypocupremia, iron deficiency anemia and hypoproteinemia, *Am. J. Dis. Child*, **92**, 254-265 (1956).
 - 13) Dunlap, W.M., James III, G.W. and Hume, D.M.: Anemia and neutropenia caused copper deficiency, *Ann. Int. Med.*, **80**, 470-476 (1974).
 - 14) Zidar, B.L., Shadduck, R.K., Ziegler, Z. and Winkelstein, A.: Observation on the anemia and neutropenia of human copper deficiency, *Am. J. Hematol.*, **3**, 177-185 (1977).
 - 15) 横井克彦, 木村美恵子, 加畑寿明, 糸川嘉則: 鉄欠乏ラットにおける生体内ミネラル類の変動, 微量栄養素研究, **5**, 43-50 (1988).
 - 16) Burch, R.E., Hahn, H.K. and Sullivan, J.F.: New aspects of the roles of zinc, manganese and copper in human nutrition, *Clin. Chem.*, **21**, 501-520 (1975).
 - 17) 野呂瀬昇, 荒井克幸: 長期静脈栄養法 (TPN) 幼児例におけるマンガン欠乏症の検討, *JJPEN*, **9**, 978-981 (1987).
 - 18) Scrutton, M.C., Utter, M.F. and Mildvan, A.S.: Pyruvate carboxylase. VI The tightly bound manganese, *J. Biol. Chem.*, **241**, 3480-3487 (1966).
 - 19) Hurley, L.S., Wooten, E., Everson, G.J. and Asling, C.W.: Anomalous development of ossification in the inner ear of offspring of manganese deficient rats, *J. Nutr.*, **71**, 15-19 (1960).
 - 20) Mena, I., Marin, O., Fuenzalide, S. and Cotzias, G. C.: Chronic manganese poisoning. Clinical picture and manganese turnover, *Neurology*, **17**, 128-136 (1967).
 - 21) Kimura, M., Yagi, N. and Itokawa, Y.: Effect of subacute manganese feeding on serotonin metabolism in the rat, *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, **2**, 455-461 (1978).
 - 22) Dahlstrom, K.A., Ament, M.E., Medhin, M.G. and Meurling, S.: Serum trace elements in children receiving long-term parenteral nutrition, *J. Pediatr.* **109**, 625-630 (1986).
 - 23) Borg, D.C. and Cotzias, G.C.: Manganese metabolism in man: Rapid exchange of Mn⁵⁸ with tissue as demonstrated by blood clearance and liver uptake, *J. Clin. Invest.*, **37**, 1264-1277 (1958).
 - 24) 岡本博夫, 菊池武夫, 大堀昭子, 石川喜代子: 鉄, 亜鉛, 銅およびヨウ素補給が微量元素欠乏ラットの生体内微量元素含有量に及ぼす効果, 日本栄養・食糧学会誌, **36**, 507-514 (1983).

(受付 1989年1月13日 受理 1989年2月27日)