

糖尿病患者における頭髪中微量元素と窒素及び炭素安定同位対比の分析—臨床応用をめざして—

著者	堀田 洋平
学位名	博士（薬学）
学位授与機関	北海道医療大学
学位授与年度	平成30年度
学位授与番号	30110甲第304号
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00064674/

論文要旨

糖尿病患者における頭髮中微量元素と窒素及び炭素安定同位体比の分析

—臨床応用をめざして—

平成 30 年度

堀田 洋平

【目的】

糖尿病は β 細胞の障害によるインスリン分泌の低下やインスリン抵抗性によるものである。糖尿病の罹病期間が長くなり、血糖コントロールが不良であると、糖尿病性腎症、網膜症および神経障害などの合併症が高頻度に発症するが、これは高血糖により産生した活性酸素種による血管障害が原因であると考えられている。活性酸素種であるスーパーオキシドアニオンラジカルは、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) により過酸化水素に分解され、過酸化水素はグルタチオンペルオキシダーゼとカタラーゼによって水へと解毒される。Zn, Cu, Mn はスーパーオキシドジスムターゼの補因子であり、Se はグルタチオンペルオキシダーゼ、Fe はカタラーゼの補因子である。一方、Zn や Mn はインスリン分泌にも関わっており、Cr と Mg はインスリン抵抗性に関わっている。糖尿病患者の尿中に Zn などの微量元素の排泄量が多いことから、これらの微量元素の欠乏が糖尿病の発症やその合併症の原因の一つと考えられている。

ヒトの頭髮は、1ヶ月に 1cm 程度伸長することから、長期間にわたる生体情報を入手することが可能である。また、非侵襲的に手軽に採取できることや保存や運搬が容易という利点がある。このため、塩基性毒物や有害元素の暴露評価に、また窒素および炭素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$) の測定による食性や栄養状態の評価の研究¹⁾に利用されている。

これまでの糖尿病における国内外の研究で、頭髮中の Ca, Mg, Cr, Zn, Mn 濃度が健常人と比べて低いとの報告はあるが、日本人を対象とした詳細な研究報告はなく、HbA1c 値と微量元素濃度との相関について調べた報告はない。健常人において、一部の微量元素濃度に男女間での有意な違い(性差)が報告されているが、糖尿病患者の頭髮中の元素濃度を調べた研究では、性差についてはほとんど検討されていない。糖尿病の合併症として腎障害が惹起されると、血清および頭髮中の Na と K 濃度が変化するが、これに関する性差についてもほとんど検討されていない。

本研究では、日本人の糖尿病患者と健常人の頭髮を採取し、糖尿病の発症と関連が報告されている微量元素を測定した。また、得られた各元素の測定結果と HbA1c 値との相関を検討した。²⁾ 頭髮の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ を測定し、糖尿病患者と健常人との $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ 値の相違および糖尿病患者における性差について検討した。さらに微量元素や Na と K 濃度および安定同位体の測定結果から多変量解析を行い、糖尿病の発症や合併症との関連を、性差を含めて詳細に検討した。

【方法】

採取した頭髮はクロロホルム/メタノール混液 (2:1 v/v) で洗浄・脱脂した。微量元素の分析は、頭髮を硝酸で分解した後、誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) を用いて 13 種類の微量元素を一斉分析した。頭髮の標準物質である NIES (Human hair No. 13), NCS (Human hair No. ZC81002b) を用いて各元素の回収率を求めたが、いずれの元素の場合でもその回収率は少なくとも 85%以上であった。頭髮中の $\delta^{15}\text{N}$ と $\delta^{13}\text{C}$ の測定は 元素分析/同位体比質量分析計 (EA/IR-MS) を使用した。

糖尿病患者の頭髮中の微量元素の測定は、HbA1c 値が 7%以上と 7%未満に分けて健常人と比較した。さらに測定値は対数変換を行い、正規分布に近似させた後、男女別に箱ヒゲ図を用いて表した。また、SPSS を用いて多変量解析を行った。

【結果・考察】

1. 糖尿病患者と健常人における頭髪中の元素濃度とHbA1c値との相関

Zn, Cu, Cr および Fe 濃度と HbA1c 値の間には有意な負の相関が認められた。また, Mg 濃度と HbA1c 値との間にも弱い負の相関が認められた。すなわち, 日本人の糖尿病患者では, Zn, Cr, Mg, Cu, および Fe が不足していると思われる。この結果から, 日本人の糖尿病発症には, インスリン生合成・分泌・感受性の低下と活性酸素種除去不全の両方が関係していると考えられる。

2. 頭髪中の元素濃度及び安定同位体比と性差

頭髪中の Ca 濃度は 糖尿病患者において, 男性が女性より有意に低かった。Se, As および Hg 濃度は, 健常人では女性が男性よりも有意に低かった。Na 濃度は男性において, 糖尿病患者は健常人よりも有意に高かったが, 女性でも同様な傾向が認められた。K 濃度は男女間で有意差はなかったが, 糖尿病患者は健常人よりも高い傾向を示した。Cu と Cr 濃度は男性において, 糖尿病患者は健常人よりも有意に低かった。Zn 濃度は, 男女ともに, 糖尿病患者は健常人よりも有意に低かった。As と Hg 濃度は, 男性において, 糖尿病患者で健常人よりも有意に低かった。

$\delta^{13}\text{C}$ 値は男性において, 糖尿病患者で健常人よりも低かった。男性の $\delta^{13}\text{C}$ 値は頭髪中 Ca, Mg, Cr および Fe 濃度と正の相関を示し, HbA1c 値と負の相関を示した。一方, 女性では, $\delta^{13}\text{C}$ 値は頭髪中 Ca, Zn 及び Fe 濃度と正の相関を示したが, HbA1c 値と相関が認められなかった。

$\delta^{15}\text{N}$ は糖尿病患者で男性よりも女性でわずかに高く, 女性において, 糖尿病患者で健常人よりもわずかに高かった。

元素濃度の性差は 25 年前の報告と一致しており, 食生活の変化とは関係のない, 生理的な違いと考えられる。安定同位体比は食生活や地理的影響を受けることから, さらに詳細な検討が必要と思われる。

3. 主成分分析と多重ロジスティック回帰分析

主成分分析の結果, 男性では頭髪中の Ca, Mg, Cu, Na, K 及び Zn 濃度, 女性では頭髪中 Ca, Mg, Zn, Na 及び K 濃度が糖尿病と関連が深いことが示された。頭髪中の Na と K 濃度は健常人よりも糖尿病患者で高く, Ca, Mg, Cu および Zn 濃度は低いことが示され, これまでの結果を裏付けるものであった。

糖尿病と関係が強い 8 種の元素濃度について, 尤度比による変数増加法による多重ロジスティック回帰分析を行った。モデル χ^2 検定の結果は $p < 0.01$ であり, ホスマー・レメショウの検定結果は男性 $p = 0.250$, 女性 $p = 0.329$ で良好であった。回帰式には, 男性では Cr, Na, Zn 濃度が変数に選択され, 女性では Zn, Fe が選択された。男女ともに Zn の回帰係数は他の元素よりもはるかに大きく, Zn の寄与が最も大きかった。これらの独立変数を用いた回帰式で, 糖尿病患者の判別率の中率は男性で 88.0%, 女性で 89.1%と良好であった。

【結語】

糖尿病患者の頭髪において, インスリン生合成・分泌・感受性や活性酸素種の除去に関わる微量元素と HbA1c 値の間に負の相関が認められた。男性で $\delta^{13}\text{C}$ 値はいくつかの微量元素と相関があることを初めて示し, 頭髪中微量元素濃度には性差があることが示された。多重ロジスティック回帰分析の結果, 回帰式の変数には男性では Cr, Na, Zn が選択され, 女性では Zn, Fe が選択され, Zn の寄与が大きかった。

糖尿病患者の頭髪中の微量元素濃度と安定同位体比を測定することにより, 糖尿病の診断や病状の評価などに利用できる可能性が示された。

- 1) Nutritional assessment using stable isotope ratios of carbon and nitrogen in the scalp hair of geriatric patients who received enteral and parenteral nutrition formulas. Hayasaka M., Ogasawara H., Hotta Y., Tsukagoshi K., Kimura O., Kura T., Tarumi T., Muramatsu H., Endo T. *Clin. Nutr.*, **36**, 1661-1668 (2017).
- 2) Essential and non-essential elements in scalp hair of diabetics: Correlations with glycosylated hemoglobin (HbA1c). Hotta Y., Fujino R., Kimura O., Endo T. *Biol. Pharm. Bull.*, **41**, 1034-1039 (2018).