

頭髪中の安定同位体比を用いた栄養状態の評価と医療への応用研究

—経腸静脈栄養剤により栄養管理を受けた患者と健常者との比較—

平成 30 年度

早坂 敬明

Abstract

Background & Aims

The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in 50 enteral formulas and 7 parenteral formulas used in Japan were measured and compared those values of lacto proteins, soybean proteins, and amino acids.

The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in the scalp hair of geriatric patients in Japan who received the enteral or parenteral nutrition formula were measured to assess nutritional status.

Methods

The relations among $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$, energy intake, BMI, albumin concentration, total cholesterol (T-CHO) and geriatric nutritional risk index (GNRI) in the patients who received the enteral or parenteral nutrition formula were investigated. Furthermore, the enrichment of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ from the nutrients to the hair was investigated.

Results

In general, the enteral formulas contained lacto protein and/or soybean protein as the N-source, and the parenteral formulas contained amino acids. The $\delta^{15}\text{N}$ values in the enteral formulas containing lacto protein were higher than those containing soybean protein, reflecting the higher $\delta^{15}\text{N}$ value of lacto protein. In contrast, the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in the parenteral formulas were markedly higher and lower than those in the enteral formulas, respectively, reflecting the higher values of $\delta^{13}\text{C}$ and the lower values $\delta^{15}\text{N}$ of amino acids.

The $\delta^{13}\text{C}$ values in the hair of patients who received the enteral nutrition decreased with decreases in the amount of energy received, while the $\delta^{15}\text{N}$ values increased, suggesting the malnutrition occurred by the negative nitrogen balance due to low energy intake. The distribution of patients with a low energy intake (below 20 kcal/kg/day) in the $\delta^{13}\text{C}$ - $\delta^{15}\text{N}$ plot differed from that of control subjects, but the distribution of patients with a high energy intake (above 20 kcal/kg/day) was similar to that of control subjects. No significant differences were observed in BMI, albumin concentration, T-CHO or GNRI between the low and high energy groups. The enrichment of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ from the enteral nutrients to the hair were inversely correlated with the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in the enteral nutrients.

The enrichment of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ levels tended to be higher and lower, respectively, in the high energy group than the lower energy group. On the other hand, the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in the hair of patients who received the parenteral nutrition were higher and lower than those in the control subjects and in the patients who received the enteral nutrition, respectively, reflecting the higher $\delta^{13}\text{C}$ and lower $\delta^{15}\text{N}$ contents of the parenteral nutrients.

Conclusions

The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in the hair of patients who received the enteral nutrition may be effective indicators for evaluating the long-term nutritional status of geriatric patients. A energy intake of 20 kcal/kg/day may be a cut-off value for the malnutrition in Japanese geriatric patients receiving the enteral nutrition. However, caution is necessary when dealing with patients switching from the parental nutrition as the parenteral nutrition resulted in different changes in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$. The enrichment levels of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ from the enteral nutrients to the hair may be inversely correlated with the $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of the enteral nutrients and vary according to the energy intake.

略語表

- BMI : body mass index
(体格指数)
- GNRI : geriatric nutritional risk index
(高齢者栄養リスク指標)
- PDB : Pee-Dee Belemnite
(ベレムナイトの化石)
- T-CHO : total cholesterol
(総コレステロール値)

目次

序論	1
第1章 経腸栄養剤, 静脈栄養製剤およびアミノ酸の炭素と窒素の安定同位体比について	
第1節 緒言	5
第2節 実験方法	
第1項 試料	
1) 経腸栄養剤と静脈栄養製剤	7
2) アミノ酸	8
第2項 炭素と窒素の安定同位体比の測定試料の調製	8
第3項 炭素と窒素の安定同位体比の測定方法	8
第3節 結果	
第1項 経腸栄養剤の炭素と窒素の安定同位体比の測定結果	9
第2項 静脈栄養製剤の炭素と窒素の安定同位体比の測定結果	12
第3項 アミノ酸の炭素と窒素の安定同位体比の測定結果	13
第4節 考察	14
第2章 経腸栄養剤の投与を受けた患者頭髪中の炭素と窒素の安定同位体比について	
第1節 緒言	16
第2節 実験方法	
第1項 頭髪試料の採取	
1) 対照者	17
2) 経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者	17
第2項 頭髪試料の測定方法	19
第3項 患者のエネルギー必要量の算出方法	19

第4項	高齢者栄養リスク指標の算出方法	20
第5項	統計解析	20
第6項	倫理的配慮	20
第3節 結果		
第1項	対照者の頭髪中の炭素と窒素の安定同位体比	21
第2項	経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の栄養状態	23
第3項	経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の頭髪中の炭素と 窒素の安定同位体比とエネルギー摂取量	24
第4項	経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の各栄養素の 摂取量と栄養指標	26
第5項	経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の頭髪中の 炭素と窒素の安定同位体比と各栄養指標との相関関係	26
第6項	経腸栄養剤から頭髪中の炭素および窒素の安定同位体比の 増加	29
第4節	考察	33
第3章 中心静脈栄養剤の投与を受けた患者頭髪中の炭素と窒素の 安定同位体比について		
第1節	緒言	36
第2節	実験方法	
第1項	頭髪試料の採取	
1)	対照者	38
2)	中心静脈栄養剤により栄養管理を受けた患者	38
第2項	頭髪試料の測定方法	40
第3項	患者のエネルギー必要量の算出方法	40
第4項	高齢者栄養リスク指標の算出方法	40
第5項	統計解析	40
第6項	倫理的配慮	40

第3節	結果	
第1項	中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けた患者の 頭髪中の炭素と窒素の安定同位体比	41
第2項	中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けた患者の 栄養指標と頭髪中の炭素および窒素安定同位体比との比較	45
第3項	中心静脈栄養製剤から頭髪中の炭素および窒素の 安定同位体比の増加	46
第4節	考察	48
総括		50
謝辞		52
引用文献		53

序論

臨床検査の多くは血液を用いて行われるが、血液から得られるデータの多くは採血時のものである。採血は痛みを伴う侵襲的な採取であり、感染などへの注意も必要である。ヒトの頭髮は1ヶ月に1 cm程度伸長し、その中の成分は化学的に安定である。^{1,2)} そのため頭髮からは長期間にわたる種々の情報を得ることができるので、頭髮中の成分分析は、覚せい剤の乱用、¹⁾ 微量元素による健康評価、³⁾ 体内水銀蓄積量の推定、⁴⁾ さらには栄養状態や食事内容の推定^{2,5-8)} などに広く利用されている。最近、拒食症や飢餓（窒素バランスが負の状態）および妊娠時に頭髮中の窒素安定同位体比 ($\delta^{15}\text{N}$) が増加し、炭素安定同位体比 ($\delta^{13}\text{C}$) の減少が報告されている (Fig. 1).^{2,9-11)}

自然界における質量数の大きい同位体元素の存在比は著しく小さい。炭素安定同位体の国際基準物質として用いられるペレムナイトの化石 (Pee-Dee Belemnite: PDB) が含有する ^{13}C はわずか 1.1056 %で、残りの 98.8944 %は ^{12}C である。窒素安定同位体の国際基準として用いられる大気中の窒素ガスの場合、 ^{15}N はわずかに 0.3663 %で、残りの 99.6337 %は ^{14}N である。これらを同位体比 (R: $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) で表記した場合には値が極めて小さく、物質間での同位体比の差が分かりにくい。この微小な差を分かりやすくするため、目的とする試料中 (sample) の安定同位体比は、下記のように国際基準物質 (standard) との相対千分率 (%) とし、目的とする元素記号とその質量数の前に δ をつけて、 $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ と表記する。

$$\delta^{13}\text{C}, \delta^{15}\text{N} = (\text{R}_{\text{sample}} / \text{R}_{\text{standard}} - 1) \times 1000 \text{ [‰]}$$

なお、著者らが研究対象とする動植物中に存在する ^{13}C の割合は一般に PDB より少ないので、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は負の値となる。

$\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は食物連鎖 (網) の解析に汎用されている。^{8,12)} Fig. 1 にヒトを中心にした食物連鎖と $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値との関係を示す。 ^{15}N は食物連鎖により生物濃縮を受けるので、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は食物連鎖の上位に位置する動物ほど高く、生

産者である植物 (C3 植物および C4 植物など) の $\delta^{15}\text{N}$ 値は最も低い. 植物の $\delta^{13}\text{C}$ 値は光合成の違いにより, $\delta^{13}\text{C}$ 値が低い C3 植物 (米, 麦, 大豆など, -32 ‰から -20 ‰) と $\delta^{13}\text{C}$ 値が高い C4 植物 (トウモロコシなど, -16 ‰から -10 ‰) に大きく分類される.^{8,12,13)} 食物連鎖における魚の栄養段階 ($\delta^{15}\text{N}$ 値) は家畜より高く, 魚を捕食する海生哺乳類の栄養段階は魚よりさらに高い.^{8,12)} このため, 畜肉より魚を多く摂食するヒトの頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ 値は高く,^{2,14)} 海生哺乳類を摂食しているイヌイットの $\delta^{15}\text{N}$ 値は極めて高い.^{6,15)} 一方, ベジタリアンの $\delta^{15}\text{N}$ 値と $\delta^{13}\text{C}$ 値はともに低く,^{6,14,16,17)} 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 $\delta^{13}\text{C}$ 値は高い.^{14,17)}

野生動物の筋肉中の $\delta^{15}\text{N}$ 値は摂食した食物の $\delta^{15}\text{N}$ 値から約 3 - 4 ‰増加するので, この値が栄養段階の推定に汎用されている.^{2,12)} しかしこの値は, 大きなバラツキのある増加値 (-1 ‰から 6 ‰) の平均値であることから, 正確な栄養段階の推定のため, その大きな変動の原因を解明する研究が近年行われている.¹⁸⁾ 一方, $\delta^{13}\text{C}$ 値は栄養段階によりあまり変化しないことから, 食物源の推定に利用されている.^{2,12)} Petzke ら (2010)²⁾ は, 健常人の頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ 値は食事成分の $\delta^{15}\text{N}$ 値の平均値より 4 - 5 ‰増加すると推定し, Tokui ら (2000)¹³⁾ は 4.3 ‰増加すると推定している. 一方 $\delta^{13}\text{C}$ 値について, Petzke ら (2010)²⁾ は頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値は食事成分の平均値より 1 - 2 ‰増加すると推定しているが, Tokui ら (2000)¹³⁾ は 2.5 ‰増加すると推定している. 野生動物とは異なり, ヒトは多種多様な食物を摂食しているので, 摂取した食物成分の種類とその摂取量を正確に把握することは難しく,^{8,19)} ヒトを対象とした $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の変化に関する研究はこれまであまり進展していない.

医療の場における栄養管理は, 適切な健康を維持するための基本である. 適切な栄養の補給が行われなければ身体を正常に維持できない. 適切な栄養療法は, 患者の予後を改善し,²⁰⁾ 医療費を削減する.²¹⁾ 高齢の患者は, 一般に入院時に栄養状態が悪く, 経腸栄養剤や静脈栄養製剤による栄養補給・管理を必要とする場合が多い. この際, 腸が正常に機能している場合は経腸栄養 (enteral nutrition) を選択し, 経腸栄養が不可能な場合や, 経腸栄養のみでは十分な栄養量を投与で

きない場合には静脈栄養 (parenteral nutrition) を選択する。

経腸栄養剤や静脈栄養製剤で栄養管理を受けている患者の栄養評価には、体格指数 (body mass index: BMI) と血清アルブミン値が汎用されている。しかし、寝たきりの高齢者の BMI の測定は容易ではなく、BMI は浮腫や脱水の影響を受けやすい。²²⁾ 一方、血清アルブミン値はマラスムス型の低栄養状態の場合では比較的高く保たれている。²³⁾ これらの欠点を補い、さらに長期間の栄養状態を把握できる指標として、著者は頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の利用を考え、本研究に着手した。

第 1 章では、市販されている多くの経腸栄養剤と静脈栄養製剤などの $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定し、これらの栄養剤の含有成分と $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値との関係を考察した。²⁴⁾

第 2 章では、経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者が摂取したエネルギー量および各栄養素量 (炭水化物、タンパク質および脂質) と患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値との関係を検討し、頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値が高齢者の栄養状態を評価する際の優れた指標であることを明らかにした。²⁵⁾

第 3 章では、アミノ酸を窒素源とする静脈栄養製剤 (中心静脈栄養製剤) の投与による患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値の変化とその投与期間との関係を明らかにした。²⁵⁾

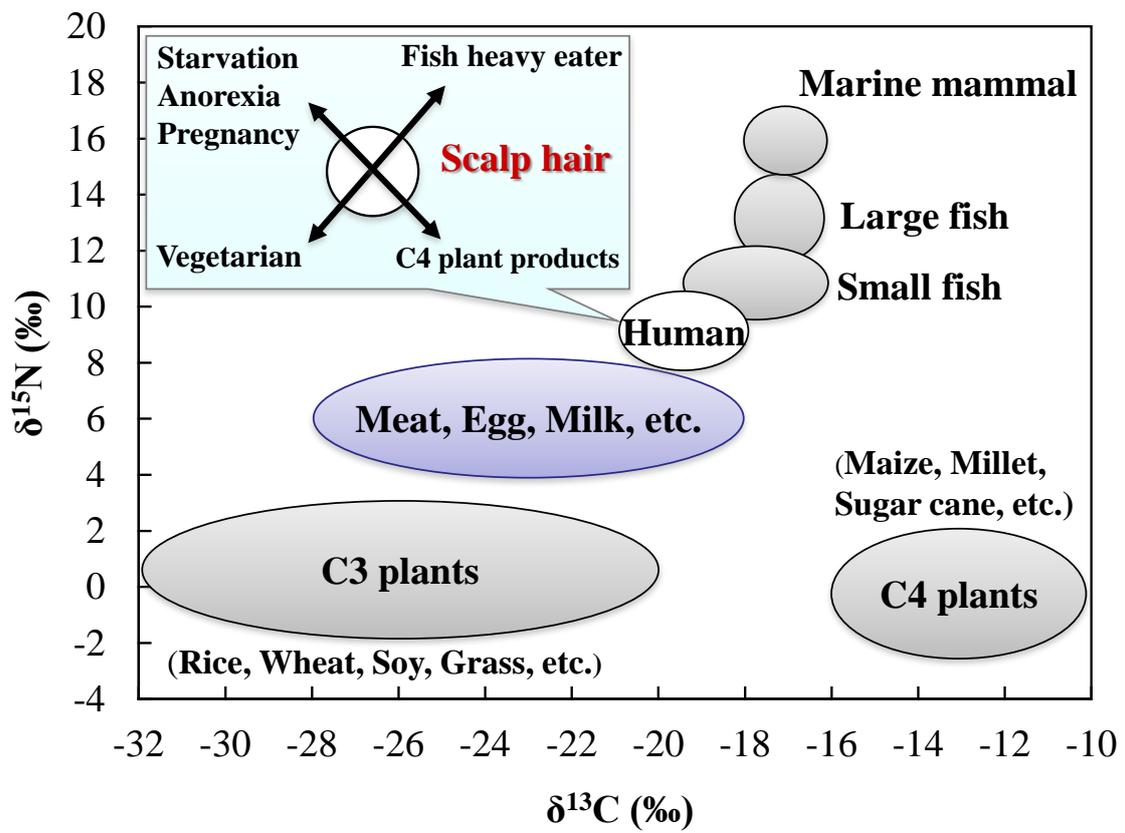


Fig. 1. Schema of food web, and foods affecting the stable isotope ratios of carbon and nitrogen in the scalp hair.

第 1 章 経腸栄養剤, 静脈栄養製剤およびアミノ酸の炭素と窒素の安定同位体比について

第 1 節 緒言

我が国は急速に高齢化が進行し, 通常の食事に必要な栄養を摂取できない高齢者が増えている. このため, 製薬会社や食品会社は様々な経腸栄養剤や静脈栄養製剤を開発し, 販売している. 国内で販売されている経腸栄養剤は三大栄養素である炭水化物, タンパク質および脂質をエネルギー源として含み, これに加えてビタミンとミネラルが, さらに一部の栄養剤には食物繊維などが配合されている. 経腸栄養剤の分類は, 窒素源の種類により 3 つに分類される.²⁶⁾ 即ち, 窒素源が結晶アミノ酸のみからなる成分栄養剤 (elemental diet), 窒素源がアミノ酸, ジペプチドおよびトリペプチドからなる消化態栄養剤 (oligomeric formula) および窒素源がタンパク質からなる半消化態栄養剤 (polymeric formula) である. 半消化態栄養剤の窒素源は乳タンパク質と大豆タンパク質で, 消化態栄養剤の窒素源は乳タンパク質と大豆タンパク質に加えてコラーゲンおよびゼラチンなどの消化分解物 (ペプチド) である. 経腸栄養は, 経口的に栄養剤を摂取 (投与) する方法と経管による方法に分かれ, 経管経路には, 経鼻, 胃瘻および腸瘻がある.

窒素源がアミノ酸である成分栄養剤 (エレンタール[®]配合内用剤) は, 消化の過程を必要とせず体内に吸収されるため, 消化吸収に問題のある短腸症候群やクローン病の患者に用いられる. また, 経腸栄養剤に分類されないその他の栄養剤として, グルタミンを含有するアバンド[®] (栄養補助食品) と GFO[®] (粉末清涼飲料), バリン, ロイシンおよびイソロイシンを多く含有するアミノレバン[®]EN 配合散 (肝不全用経口栄養剤) など, ある種のアミノ酸の効果を利用した栄養剤も市販されている.

静脈栄養製剤は, 主に炭水化物 (主にブドウ糖), アミノ酸および脂質 (我が国では主に大豆油を使用) から成り, さらに生命維持に必要なビタミンとミネラルが配合されている.²⁷⁾ 静脈栄養製剤は直接血管から体内に投与するため, 窒素源は必須および非必須アミノ酸から成る総合アミノ酸である. 静脈栄養は, 血液の浸透圧に対して高張な中心静脈栄養 (total parenteral nutrition) とほぼ等張な末梢静

脈栄養 (peripheral parenteral nutrition) の 2 つに分かれる。現在、国内で販売されている中心静脈栄養製剤および末梢静脈栄養製剤は、メイラード反応を防止するため、ブドウ糖を含む液とアミノ酸を含む液とを分包した、ダブルバッグ製剤やキット製剤として販売されている。²⁸⁾

成分栄養剤、その他の栄養剤および静脈栄養製剤に配合されているアミノ酸の主な製法は、(1) タンパク質の加水分解物を分離・精製する抽出法、(2) トウモロコシやサトウキビ (C4 植物)、米や麦 (C3 植物) などから得られるでん粉やブドウ糖を微生物により発酵させてアミノ酸を得る発酵法、(3) 目的とするアミノ酸の前駆体を原料として酵素反応により得る酵素法、および (4) 化学合成の 4 つである。²⁹⁾

本章では我が国で販売されている経腸栄養剤、その他の栄養剤および静脈栄養製剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定し、さらに、静脈栄養製剤などに配合されているアミノ酸の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値も測定した。その測定結果と各種栄養剤が含有する窒素源との関連について考察した。²⁴⁾

第2節 実験方法

第1項 試料

1) 経腸栄養剤と静脈栄養製剤

調査した50種類の経腸栄養剤と3種類のその他の栄養剤をTable 1に示す。また、調査した7種類の中心静脈栄養製剤と1種類の末梢静脈栄養製剤をTable 2に示す。

Table 1. Enteral nutrition formulas and other formulas measured for stable isotope ratios of carbon and nitrogen

Clinico Co.,Ltd, Tokyo (12 formulas)	
Act Through	Act Yell Aqua
CZ1.5	CZ-Hi
CZ-Hi 1.5	DIMS
E-3	E-7II
MA-8 Plus	MA-R 2.0
PRONA	Renagy U
Terumo Corporation, Tokyo (3 formulas)	
Entemeal [®] R	F2 α [®]
Terumeal [®] 2.0 α	
Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.,Tokushima (8 formulas)	
ANOM [®]	GFO [®]
HINE [®]	HINE [®] Bag QL type
HINE E-GEL [®]	HINE [®] jelly
RACOL [®] -NF Liquid for Enteral Use	Twinline [®] -NF Liquid for Enteral Use
Kewpie Corporation, Tokyo (4 formulas)	
K-5S	K-LEC
Liquid Nutrient K-3S α	Liquid Nutrient K-4S
Nestle Health Science, Tokyo (8 formulas)	
Isocal [®] 1K	Isocal [®] 2K Neo
Isocal [®] Bag 2K	Isocal [®] Plus
Isocal [®] Plus EX	Isocal support [®]
Peptamen [®] AF	Peptamen [®] standard
Ajinomoto Corporation., Tokyo (4 formulas)	
ELENTAL [®]	MEDIF [®]
MEDIF [®] PUSH CARE [®]	MEDIF [®] SOY
Abbott Japan Co., Ltd, Tokyo (6 formulas)	
Abound [®]	Ensure Liquid [®]
Glucerna [®] -EX	Oxepa [®]
Prosure [®]	Pulmocare [®] -EX
Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo (1 formula)	
Aminoleban [®] EN powder mix	
Meiji Co., Ltd., Tokyo (7 formula)	
Meibalance [®] 1.0	Meibalance [®] R Blue
Meibalance [®] R Green	Meibalance [®] R Yellow
Meibalance [®] RHP Orange	Meibalance [®] RHP Pink
Meibalance [®] RHP Purple	

Table 2. Total and peripheral parenteral nutrition formulas measured for stable isotope ratios of carbon and nitrogen

Total parenteral nutrition	
Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc., Tokushima	
ELNEOPA [®] No1 Injection	ELNEOPA [®] No2 Injection
NEOPAREN [®] No1 Injection	NEOPAREN [®] No2 Injection
Yoshindo Inc., Toyama	
PNTWIN [®] No1	
Terumo Corporation, Tokyo	
FULCALIQ [®] 1	FULCALIQ [®] 2
Peripheral parenteral nutrition	
Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc., Tokushima	
BFLUID [®] Injection	

2) アミノ酸

システイン塩酸塩は、和光純薬工業（株）（大阪）より購入した。その他の 17 種類のアミノ酸（アスパラギン酸、アラニン、アルギニン、イソロイシン、グリシン、グルタミン酸、スレオニン、セリン、チロシン、トリプトファン、バリン、ヒスチジン、フェニルアラニン、プロリン、メチオニン、リジンおよびロイシン）と N-アセチルシステインは、（株）大塚製薬工場（徳島）より提供を受けた。

第 2 項 炭素と窒素の安定同位体比の測定試料の調製

液体である経腸栄養剤および静脈栄養剤は、60 °C で蒸発・乾固し、粉末化したものを測定試料とした。粉末の経腸栄養剤、その他の栄養剤およびアミノ酸はそのまま測定試料とした。ダブルバッグ製剤またはキット製剤として販売されている静脈栄養剤の場合、ブドウ糖を含む分包液とアミノ酸を含む分包液の混合直後のものを蒸発・乾固し、粉末化し、測定試料とした。また、これらの製剤のアミノ酸分包液も蒸発・乾固・粉末化して測定試料とした。

第 3 項 炭素と窒素の安定同位体比の測定方法

試料の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の測定は、京大大学生態学研究センターに設置された共同利用の IR-MS（元素分析計, EA1108, Fison, Italy; 質量分析計, Delta S, Finnigan, German）を使用した。なお、京大大学生態学研究センターが $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値とを保証した CERKU-1, -2 および -5 を標準物質として用いた。³⁰⁾

第3節 結果

第1項 経腸栄養剤の炭素と窒素の安定同位体比の測定結果

Table 3 に国内で販売されていた 50 種類の経腸栄養剤と 3 種類のその他の栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値と $\delta^{13}\text{C}$ 値の測定結果を、 $\delta^{15}\text{N}$ 値の高いものから順に示した。また、この測定結果を Fig. 2 にまとめた。50 種類の経腸栄養剤のうち、半消化態栄養剤が 44 種類、消化態栄養剤が 5 種類、成分栄養剤が 1 種類だった。

44 種類の半消化態栄養剤は、窒素源として乳タンパク質と大豆タンパク質のいずれか、あるいは両方を含んでいる。大豆タンパク質を含む半消化態栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値は乳タンパク質のみを含む栄養剤より一般に低く、大豆タンパク質のみを含むメディエフ[®]ソイバッグの $\delta^{15}\text{N}$ 値が最も低かった (1.6 ‰)。

消化態栄養剤であるツインライン[®]NF 配合経腸用液、ペプタメン[®]AF、ペプタメン[®]スタンダード、エンテミール[®]R およびハイネ[®]イーゲルとその他の栄養剤であるアミノレバン[®]EN 配合散は、窒素源として乳タンパク質、大豆タンパク質、ゼラチンあるいはカゼイン由来のペプチドを含んでいる。このなかで乳タンパク質由来のペプチドのみを含むツインライン[®]NF 配合経腸用液の $\delta^{15}\text{N}$ 値が最も高い値であった (6.1 ‰)。

成分栄養剤のエレンタール[®]配合内用剤とその他の栄養剤 (アバンド[®]、アミノレバン[®]EN 配合散および GFO[®]) は窒素源としてアミノ酸を多く含む。これらの栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値 (-4.7 ~ 1.6 ‰) は乳タンパク質や大豆タンパク質を窒素源とする栄養剤に比べて顕著に低く、 $\delta^{13}\text{C}$ 値 (-15.9 ~ -12.4 ‰) は高かった。

Table 3. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen in enteral nutrition formulas and other formulas

Enteral nutrition	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Type	Nutrition formula (N-source)
MA-8 Plus	7.8	-18.4	PF	Lacto protein
CZ1.5	7.8	-26.4	PF	Lacto protein
DIMS	7.7	-17.8	PF	Lacto protein
E-7II	7.6	-17.3	PF	Lacto protein
MA-R 2.0	6.7	-26.4	PF	Lacto protein
Liquid Nutrient K-4S	6.6	-24.0	PF	Lacto protein
PRONA	6.5	-18.2	PF	Lacto and soybean proteins
Terumeal®2.0 α	6.4	-18.3	PF	Lacto protein
K-LEC	6.2	-24.9	PF	Lacto protein
Twinline®-NF Liquid for Enteral Use ^{a)}	6.1	-17.9	OF	Lacto protein (peptide)
K-5S	6.1	-25.6	PF	Lacto protein
Isocal support®	6.1	-26.0	PF	Lacto protein
HINE®	6.1	-26.0	PF	Lacto protein
Act Yell Aqua	6.0	-25.3	PF	Lacto protein
Renagy U	5.9	-24.7	PF	Lacto protein
MEDIF®	5.8	-22.4	PF	Lacto protein
Liquid Nutrient K-3S α	5.7	-23.4	PF	Lacto protein
Act Through	5.7	-24.8	PF	Lacto protein
Meibalance® R Yellow	5.6	-16.2	PF	Lacto protein
Ensure Liquid®	5.6	-24.2	PF	Lacto and soybean proteins
Meibalance® RHP Purple	5.5	-19.2	PF	Lacto protein
HINE® jelly	5.5	-26.4	PF	Lacto protein
HINE® Bag QL type	5.5	-27.4	PF	Lacto protein
Prosure®	5.4	-16.0	PF	Lacto protein
Meibalance® R Green	5.4	-17.6	PF	Lacto protein
Meibalance® RHP Orange	5.4	-19.2	PF	Lacto protein
F2 α ®	5.4	-19.6	PF	Lacto and soybean proteins
Meibalance® 1.0	5.3	-18.0	PF	Lacto protein
Meibalance® RHP Pink	5.3	-18.7	PF	Lacto protein
Meibalance® R Blue	5.3	-18.9	PF	Lacto protein
Peptamen® AF	5.2	-24.4	OF	Lacto protein (peptide)
Isocal® Bag 2K	5.2	-24.7	PF	Lacto and soybean proteins
Peptamen® standard	5.1	-25.9	OF	Lacto protein (peptide)
CZ-Hi	5.1	-26.1	PF	Lacto and soybean proteins
CZ-Hi 1.5	5.0	-16.4	PF	Lacto and soybean proteins
Pulmocare®-EX	4.8	-22.5	PF	Lacto protein
Glucerna®-EX	4.8	-23.0	PF	Lacto protein
Oxepa®	4.8	-24.4	PF	Lacto protein
Isocal® Plus EX	4.8	-27.1	PF	Lacto protein and amino acids
Isocal® 2K Neo	4.7	-24.4	PF	Lacto and soybean proteins and collagen peptide
E-3	4.5	-16.0	PF	Lacto and soybean proteins
ANOM®	4.5	-20.6	PF	Lacto and soybean proteins and wheat peptide
RACOL®-NF Liquid for Enteral Use	4.5	-21.3	PF	Lacto and soybean proteins
Isocal® Plus	4.4	-20.0	PF	Lacto and soybean proteins
Entemeal®R	4.3	-23.7	OF	Egg white protein(peptide)
Isocal® 1K	4.1	-25.9	PF	Lacto and soybean proteins
MEDIF®PUSH CARE®	3.2	-22.7	PF	Lacto and soybean proteins
HINE E-GEL®	2.0	-26.3	OF	Soybean protein(peptide), amino acids and collagen peptide
MEDIF®SOY	1.6	-20.3	PF	Soybean protein
Aminoleban® EN powder mix	1.6	-15.9	Other	Amino acids, gelatin hydrolysate, and casein
GFO®	-2.4	-14.0	Other	Amino acids
ELENTAL®	-2.9	-12.7	ED	Amino acids
Abound®	-4.7	-12.4	Other	Amino acids

a) Mixture of A and B solutions.

ED, Elemental diet; OF, Oligomeric formula; PF, Polymeric formula.

Elemental diet (); Oligomeric formula (); Others ().

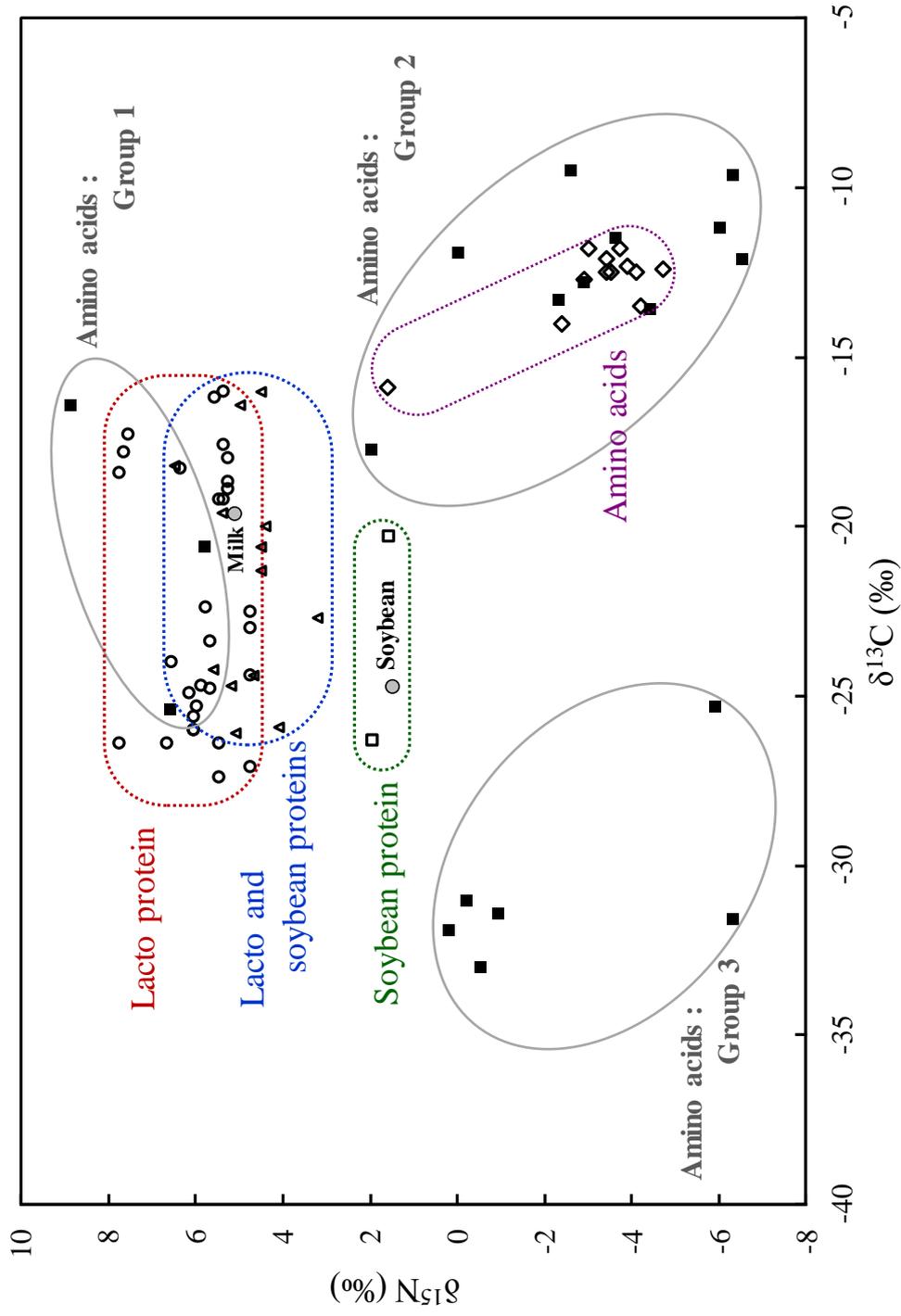


Fig. 2. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen in nutrition formulas containing lacto protein (○), lacto and soybean proteins (△), soybean protein (□) or amino acids (◇). The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of 18 amino acids and N-acetyl cysteine (Table 5) are shown by black squares. The $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values of soybean (Minagawa, 1992) and milk (Kusaka et al., 2016) are shown by gray circles.

第2項 静脈栄養製剤の炭素と窒素の安定同位体比の測定結果

静脈栄養製剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を, アミノ酸分包液と, ブドウ糖分包液とアミノ酸分包液とを混合したもの (混合液) に分けて測定した (Table 4). 中心静脈栄養製剤および末梢静脈栄養製剤の窒素源はアミノ酸であり, 混合液の $\delta^{15}\text{N}$ 値は窒素源としてタンパク質を含む経腸栄養剤に比べて顕著に低い値であった (Table 3 と Fig. 2 を参照).

静脈栄養製剤 (混合液) の $\delta^{15}\text{N}$ 値の平均値は $-3.7 \pm 0.4 \text{ ‰}$ ($-4.2 \sim -3.0 \text{ ‰}$) で, アミノ酸分包液の $\delta^{15}\text{N}$ 値の平均値は $-3.5 \pm 0.4 \text{ ‰}$ ($-4.0 \sim -2.8 \text{ ‰}$) だった. ビーフリード[®]輸液を除き, 静脈栄養製剤 (混合液) とアミノ酸分包液の $\delta^{15}\text{N}$ 値は, ほぼ同じであった. 一方, 静脈栄養製剤 (混合液) の $\delta^{13}\text{C}$ 値の平均値は $-12.4 \pm 0.5 \text{ ‰}$ ($-13.5 \sim -11.8 \text{ ‰}$) で, アミノ酸分包液の $\delta^{13}\text{C}$ 値の平均値は $-17.7 \pm 1.1 \text{ ‰}$ ($-19.3 \sim -15.7 \text{ ‰}$) だった. 静脈栄養製剤 (混合液) の $\delta^{13}\text{C}$ 値は, アミノ酸分包液に比べて明らかに高かった.

Table 4. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen in total and peripheral parenteral nutrition formulas

	Mixture		Amino acid	
	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)
Total parenteral nutrition				
ELNEOPA [®] No1 Injection	-4.1	-12.5	-3.6	-19.3
ELNEOPA [®] No2 Injection	-3.7	-11.8	-4.0	-15.7
NEOPAREN [®] No1 Injection	-3.5	-12.5	-3.5	-17.4
NEOPAREN [®] No2 Injection	-3.4	-12.5	-3.6	-17.0
PNTWIN [®] No1	-3.9	-12.3	-3.7	-18.8
FULCALIQ [®] 1	-3.0	-11.8	-3.2	-17.5
FULCALIQ [®] 2	-3.4	-12.1	-3.5	-17.8
Peripheral parenteral nutrition				
BFLUID [®] Injection	-4.2	-13.5	-2.8	-18.0

第3項 アミノ酸の炭素と窒素の安定同位体比の測定結果

Table 5 に 18 種類のアミノ酸と N-アセチルシステインの $\delta^{15}\text{N}$ 値と $\delta^{13}\text{C}$ 値の測定結果を示した。この結果からアミノ酸は、大きく 3 つのグループに分類された (Fig. 2)。即ち Group (1) : $\delta^{15}\text{N}$ 値が高いグループ (5 ‰以上, システイン塩酸塩, チロシン, アスパラギン酸), Group (2) : $\delta^{15}\text{N}$ 値が低く $\delta^{13}\text{C}$ 値が高いグループ (それぞれ 5 ‰以下と -18 ‰以上, アラニン, バリン, イソロイシン, スレオニン, アルギニン, トリプトファン, グルタミン酸, ロイシン, ヒスチジン, プロリン) および Group (3) : $\delta^{15}\text{N}$ 値と $\delta^{13}\text{C}$ 値がともに低いグループ (それぞれ 5 ‰以下と -20 ‰以下, セリン, リジン, グリシン, メチオニン, フェニルアラニン, N-アセチルシステイン) である。

Table 5. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen in amino acids

Amino acids	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Group
Cysteine hydrochloride	8.9	-16.4	Group 1
Tyrosine	6.6	-25.4	
Aspartic acid	5.8	-20.6	
Alanine	2.0	-17.7	Group 2
Valine	0.0	-11.9	
Isoleucine	-2.3	-13.3	
Threonine	-2.6	- 9.5	
Arginine	-2.9	-12.8	
Tryptophan	-3.6	-11.5	
Glutamic acid	-4.4	-13.6	
Leucine	-6.0	-11.2	
Histidine	-6.3	- 9.6	
Proline	-6.5	-12.1	Group 3
Serine	0.2	-31.9	
Lysine	-0.2	-31.0	
Glycine	-0.5	-33.0	
Methionine	-0.9	-31.4	
Phenylalanine	-5.9	-25.3	
N-Acetyl cysteine	-6.3	-31.6	

第4節 考察

乳タンパク質のみを窒素源とする経腸栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値は、乳タンパク質と大豆タンパク質の両方を窒素源とする経腸栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値より高いものが多かった。これは乳タンパク質の $\delta^{15}\text{N}$ 値が大豆タンパク質の $\delta^{15}\text{N}$ 値より高いことが理由と考えられる。

$\delta^{15}\text{N}$ 値と $\delta^{13}\text{C}$ 値の測定結果から、アミノ酸は大きく3つのグループに分類された (Table 5)。その結果を Fig. 2 に示したが、 $\delta^{15}\text{N}$ 値が低く $\delta^{13}\text{C}$ 値が高いアミノ酸 (group 2) は C4 植物を原料として製造されたアミノ酸であり、 $\delta^{15}\text{N}$ 値と $\delta^{13}\text{C}$ 値の両方が低いアミノ酸 (group 3) は C3 植物や化石燃料 (石油・石炭など) を原料として製造されたアミノ酸と考えられる。一方、 $\delta^{15}\text{N}$ 値が高いアミノ酸 (group 1) は天然のタンパク質を加水分解して得られたものと考えられる。²⁹⁾ また、同じシステインであっても、今回測定したシステイン塩酸塩 ($\delta^{15}\text{N} = 8.9\text{ ‰}$, $\delta^{13}\text{C} = -16.4\text{ ‰}$) はタンパク質の加水分解により製造され、一方、N-アセチルシステイン ($\delta^{15}\text{N} = -6.3\text{ ‰}$, $\delta^{13}\text{C} = -31.6\text{ ‰}$) は C3 植物から製造されたものと考えられる。

成分栄養剤であるエレンタール[®]配合内用剤の窒素源はアミノ酸である。その他の栄養剤であるアバンド[®]と GFO[®]はグルタミンを主成分とし、アミノレバン[®]EN 配合散は分岐鎖アミノ酸のバリン、ロイシン、イソロイシンを多く含有する。これらの栄養剤は窒素源としてアミノ酸を含んでいる。窒素源として乳タンパク質や大豆タンパク質を含む経腸栄養剤と比べて $\delta^{15}\text{N}$ 値は極めて低く、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は高かった。この結果から、これらの栄養剤に配合されているアミノ酸の多くは C4 植物由来と推定される。

Fig. 2 は、Tables 3 - 5 に示した $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の測定結果に、既に報告されている大豆³¹⁾と牛乳³²⁾の測定結果を加えたものである。この図の $\delta^{15}\text{N}$ 値により、窒素源として乳タンパク質のみを含む経腸栄養剤なのか、窒素源として大豆タンパク質のみを含む経腸栄養剤なのか、あるいは窒素源として乳タンパク質と大豆タンパク質の両方を含む経腸栄養剤なのかを推測することができる。

C4 植物であるトウモロコシやサトウキビなど、およびその加工食品中の $\delta^{13}\text{C}$ 値は -12.7 ‰ から -10.2 ‰ の範囲と報告されている。³³⁾ 静脈栄養剤のアミノ酸分包液の $\delta^{13}\text{C}$ 値は -19.3 ‰ から -15.7 ‰ の範囲であり、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は -2 ‰ 以下であることから (Table 4)、C4 植物由来と C3 植物由来のアミノ酸を混合していると思われる (Fig. 1)。

一方、これらの静脈栄養製剤のなかで最も構成重量が多いのはブドウ糖であり、静脈栄養製剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値 (アミノ酸との混合液) が -13.5 ‰ から -11.8 ‰ の範囲であることから (Table 4), 静脈栄養製剤に含有しているブドウ糖は C4 植物に由来すると思われる。

本章では、我が国で医薬品または食品 (濃厚流動食) として販売されている経腸栄養剤と静脈栄養製剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定した。経腸栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値は、これらが窒素源として含有している乳タンパク質と大豆タンパク質の $\delta^{15}\text{N}$ 値とほぼ同じ値であった。また、静脈栄養製剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値は極めて低く、これは栄養製剤の窒素源がアミノ酸であることを示している。一方、多くの経腸栄養剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値は -18 ‰ 以下であることから、C3 植物由来の炭水化物 (主にブドウ糖) を多く含んでいることが推測される。これに対して静脈栄養製剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値は高いことから、C4 植物由来のブドウ糖やアミノ酸を多く含有していると推定される。なお、経腸栄養剤や静脈栄養製剤などに配合されている糖やアミノ酸の製造方法は、原料の市場価格などで変わるため、その詳細は企業秘密として公開されていない。

測定した経腸栄養剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は、Minagawa³¹⁾ が報告した日本人の食事成分 (穀物, 豆, 野菜, 肉および乳製品) の $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($-26.6 \sim -16.3\text{ ‰}$) と $\delta^{15}\text{N}$ 値 ($2.0 \sim 6.6\text{ ‰}$) の範囲と近似している。一方、静脈栄養製剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($-13.5 \sim -11.8\text{ ‰}$) と $\delta^{15}\text{N}$ 値 ($-4.2 \sim -3.0\text{ ‰}$) はこの範囲とは大きく異なった。

本章での測定結果は、第2章の経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値とエネルギー摂取量との関係、第3章の中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けた患者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値と投与期間との関係において検討する際の重要なデータである。

第 2 章 経腸栄養剤の投与を受けた患者頭髪中の炭素と窒素の安定同位体比について

第 1 節 緒言

超高齢化社会をむかえた我が国では、通常の食事に必要な栄養を摂取できない高齢者が増加し、経腸栄養剤や中心静脈栄養製剤による栄養補給を必要とする高齢者が増えている。^{34,35)} 現在、患者の栄養状態を評価する指標として、BMI と血清アルブミン値がよく利用され、血清コレステロール値も利用されている。しかし、序論に記した通り、これらの値は患者の栄養状態を常に正確に反映しているとは限らない。近年、BMI と血清アルブミン値から算出する高齢者栄養リスク指標 (geriatric nutritional risk index: GNRI) が高齢者の栄養状態を評価するよい指標であると報告された。³⁶⁾ 我が国でも GNRI による栄養評価が行われているが、^{37,38)} 臨床の現場ではまだ普及していない。

著者は、BMI と血清アルブミン値を用いた栄養状態の評価の欠点を補い、さらに長期間の栄養状態を把握するための指標として、頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の利用の思いに至った。そこで、経腸栄養剤により長期間にわたる栄養管理を受けた患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定し、これらの測定値と摂取したエネルギー量や各栄養素量 (炭水化物、タンパク質および脂質)、さらに BMI、血清アルブミン値、総コレステロール値 (total cholesterol: T-CHO) および GNRI との関係を詳細に検討した。²⁵⁾

食物中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は、それを食べた消費者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値に反映されるため、食性を推定する研究に用いられている。^{2,6,8,12,14-17)} しかし、野生動物とは異なり、ヒトは多種多様な食物を摂食するため、摂取した食物成分の種類や量を正確に把握することは難しく、これまでヒトについての精度の高い研究は行われていない。本章では、摂取した量と含有する栄養成分が既知である経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定し、第 1 章で測定した経腸栄養剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値からの増加について検討した。²⁵⁾

第2節 実験方法

第1項 頭髪試料の採取

1) 対照者

対照者は、北海道、青森県、岩手県、宮城県、山形県および東京都に住む 184 名で、頭髪試料は 2009 年 11 月～2016 年 1 月の間に採取した。対照者は、経口で通常の食事から必要なすべてのエネルギーを摂取し、特に疾患がなく、健康であると申告したヒトである。頭髪試料は、可能な限り、頭頂部のできるだけ頭皮に近いところから採取した。なお、89 歳以上の対照者は極めて少ないため、その頭髪試料を採取することはできなかった。対照者の調査項目は年齢と性別のみである。

2) 経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者

経腸栄養剤のみで必要な栄養を 3 ヶ月以上摂取している患者を経腸栄養剤患者とした。頭髪を採取した患者は、北海道、宮城県および山形県に住む 66 歳から 97 歳の 25 名で、2009 年 11 月～2015 年 12 月の期間に頭髪を採取した (Table 6)。頭髪採取時に、年齢、性別、身長、体重、BMI および血清アルブミン値、T-CHO および経腸栄養剤の種類とその投与量 (服用量) について調査した。なお、過去 1 ヶ月以内に急激な体重の減少や感染症および炎症症状が認められた患者からの頭髪採取は行わなかった。経腸栄養剤患者のほとんどは頭髪の少ない高齢の入院患者だったため、特定部位からの頭髪採取はできなかった。

25 名の経腸栄養剤患者は、次の経腸栄養剤のいずれかの投与を受けていた (Table 6)。CZ1.5, E-7 II, MA-R 2.0, アイソカル®2K Neo, アイソカル® Bag 2K, アイソカル®プラス, エンシュア・リキッド®, ハイネイーゲル®, 明治メイバランス®R GREEN およびリキッドダイエット K-4S である。なお、19 名は胃瘻から、5 名は経鼻カテーテルにより、1 名は経口より経腸栄養剤を服用あるいは投与を受けていた。

Table 6. Information for patients receiving enteral nutrition formulas

Patient	Formula	Energy (kcal/kg/day)		Ratio (R/P)	$\delta^{13}\text{C}$ (%)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	BMI (kg/m ²)	Albumin (g/dL)	T-CHO (mg/dL)	GNRI	Gender	Age	Remarks
		Received	Predicted										
1	CZ1.5	17.0	21.0	0.81	-20.5	10.3	21.8	3.5	147	93.4	F	96	Cerebral infarction
2	CZ1.5	18.3	21.7	0.84	-20.4	10.3	18.7	3.1	123	81.7	M	72	Cerebral infarction, Hypertension
3	CZ1.5	19.4	19.8	0.98	-22.1	10.3	21.3	2.5	156	77.5	F	79	Subarachnoid hemorrhage
4	CZ1.5	20.1	18.6	1.08	-19.7	9.3	23.0	2.8	156	83.4	M	85	Dementia, Stomach cancer
5	CZ1.5	20.9	23.2	0.90	-19.3	9.2	19.9	—	—	—	F	73	Colorectal cancer
6	E-7II	16.3	20.4	0.80	-20.8	11.6	19.1	3.6	180	89.8	F	95	Cerebral bleeding
7	E-7II	16.9	20.7	0.82	-20.7	11.0	21.3	2.4	212	76.0	F	87	Cerebral infarction, Hypertension
8	E-7II	19.3	19.3	1.00	-21.2	10.9	20.2	2.9	—	81.4	M	84	Dementia, Hypertension
9	E-7II	20.5	20.8	0.99	-19.1	9.1	21.8	3.1	222	87.5	F	91	Cerebral bleeding, Hypertension
10	K-4S	12.2	24.8	0.49	-20.7	11.4	16.0	3.1	155	76.4	F	80	Subarachnoid hemorrhage
11	K-4S	18.0	23.1	0.78	-20.9	11.1	17.5	—	—	—	M	66	Cerebral infarction
12	K-4S	18.0	21.8	0.83	-19.7	10.7	20.3	3.2	168	86.2	F	88	Parkinson disease
13	K-4S	18.2	25.5	0.71	-20.3	10.1	14.7	2.7	195	68.0	F	87	Cerebral bleeding
14	K-4S	23.3	23.3	1.00	-18.4	8.3	18.4	3.3	227	84.0	F	84	Cerebral infarction
15	K-4S	24.2	25.5	0.95	-18.9	10.0	14.7	3.6	172	81.5	F	76	Parkinson's disease
16	K-4S	28.1	26.1	1.08	-19.2	10.3	15.2	3.5	170	81.0	F	84	Parkinson's disease
17	Isocal Bag 2K	16.7	20.5	0.81	-20.5	10.8	23.5	4.0	175	101.3	F	84	Gastrostomy fistula, Aphasia
18	Isocal Bag 2K	18.2	21.3	0.85	-20.1	10.2	20.1	—	—	—	M	70	Stomach cancer
19	Meibalance R Green	24.7	23.4	1.06	-19.1	8.7	18.1	3.0	209	79.0	F	88	Cerebral infarction
20	Meibalance R Green	26.0	25.0	1.04	-19.2	8.3	16.0	3.7	192	85.4	F	84	Cerebral infarction, Ventricular fibrillation
21	Isocal 2K Neo	26.3	18.0	1.46	-19.6	9.3	22.0	3.6	188	95.3	M	93	Dementia
22	Isocal Plus	25.7	23.8	1.08	-19.3	9.4	13.7	3.6	159	79.5	F	97	Dementia
23	Ensure Liquid	13.6	20.1	0.68	-22.7	10.8	21.5	—	—	—	F	80	Dementia
24	MA-R 2.0	30.2	23.5	1.29	-20.3	9.7	16.8	3.6	149	85.4	M	66	Parkinson's disease
25	HINE E-GEL	35.2	24.2	1.45	-19.3	8.5	16.7	3.1	172	77.8	F	90	Cerebral infarction

第2項 頭髪試料の測定方法

採取した頭髪試料は、紙またはポリエチレン袋に入れ、測定まで室温で保存した。頭髪は、整髪料や付着物の除去のため、クロロホルム/メタノール混液 (2:1 v/v) で洗浄・脱脂し、乾燥後、ステンレス製のハサミで細断した。その頭髪試料の一部を、前章で示した IR-MS にて $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を求めた。

第3項 患者のエネルギー必要量の算出方法

患者の基礎エネルギー消費量 (kcal/day) は、ハリス・ベネディクト式³⁹⁾を用い、計算した。

男性: 基礎エネルギー消費量 (kcal/day) = $66 + 13.7 \times W + 5 \times H - 6.8 \times A$

女性: 基礎エネルギー消費量 (kcal/day) = $665 + 9.6 \times W + 1.8 \times H - 4.7 \times A$

W: 体重 (kg), H: 身長 (cm), A: 年齢 (歳)

算出した基礎エネルギー消費量に、各患者に応じた活動係数と傷害係数を乗じて、エネルギー必要量 (kcal/day) を算出した。なお、本研究で調査した経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の多くは寝たきりで、急激な体重減少や感染症および炎症症状などが認められた患者は含まれていないことから、活動係数と傷害係数はそれぞれ 1.0 とした。即ち、本章では患者の基礎エネルギー消費量がエネルギー必要量に相当する。

患者が実際に摂取したエネルギー量 (kcal/day) を、ハリス・ベネディクト式から算出したエネルギー必要量 (kcal/day) で除して、R/P 比を算出した。

R: 実際に摂取したエネルギー量 (kcal/day),

P: ハリス・ベネディクト式をもとに算出したエネルギー必要量 (kcal/day)

第4項 高齢者栄養リスク指標の算出方法

GNRI は BMI と血清アルブミン値 (g/dL) から, Kinugasa ら (2013) による修正式³⁸⁾ を用いて算出した.

$$\text{GNRI} = 14.89 \times \text{血清アルブミン値} + 41.7 \times \text{BMI} / 22$$

Bouillanne ら (2005)³⁶⁾ は, GNRI が 98 以上の場合には栄養リスクがなく, 92~98 未満では軽微な栄養リスク, 82~92 未満では中等度の栄養リスク, 82 未満は重度の栄養リスクがあると分類している.

第5項 統計解析

測定値は, 平均 ± 標準偏差として表した. 95 % 確率楕円は, JMP10 (SAS インステイチュート社) により算出した. Student の *t* 検定と Pearson の相関係数は Statcel 2 プログラム (オーエムエス出版) を用いた.

第6項 倫理的配慮

患者および対照者から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. 頭髪の提供者が子供または高齢で本人から同意を取ることができなかった場合は, その保護者や家族から同意を得た. 本研究はヘルシンキ宣言に従い, 北海道医療大学薬学部 (承認番号 13P002 と 15P004) の倫理審査委員会の承認を得て実施した.

第3節 結果

第1項 対照者の頭髪中の炭素と窒素の安定同位体比

Table 7に対照者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の測定結果を示す。184名の対照者の $\delta^{13}\text{C}$ 値は $-19.2 \pm 0.6 \text{ ‰}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は $9.2 \pm 0.5 \text{ ‰}$ で、年齢は 45 ± 24 歳(2 - 88歳)であった。そのうち、男性は79名で、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は $-19.1 \pm 0.7 \text{ ‰}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は $9.2 \pm 0.5 \text{ ‰}$ 、年齢は 43 ± 22 歳(2 - 85歳)であった。一方、女性は105名で、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は $-19.3 \pm 0.6 \text{ ‰}$ 、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は $9.2 \pm 0.5 \text{ ‰}$ 、年齢は 47 ± 24 歳(2 - 88歳)であり、それぞれ男性とほぼ同じ値であった。男性および女性のいずれの場合でも、 $\delta^{13}\text{C}$ 値あるいは $\delta^{15}\text{N}$ 値と年齢との間に有意な相関は認められなかった($p > 0.10$)。

Fig. 3にすべての対照者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の測定値($n = 184$)をプロットし、その95%確率楕円を破線で示した。男性($r = 0.410$, $p < 0.01$, $n = 79$)および女性($r = 0.305$, $p < 0.01$, $n = 105$)のいずれの場合でも、 $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値との間に有意な正の相関が認められた。結果をFig. 3に示していないが、すべての対照者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の間にも有意な正の相関が認められた($r = 0.377$, $p < 0.01$, $n = 184$)。

Table 7. Analytical results for the control subjects and patients receiving enteral nutrition formulas

	Energy (kcal/kg/day)	Ratio (R/P)	Carbohydrate (g/kg/day)	Protein (g/kg/day)	Lipids (g/kg/day)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	BMI (kg/m ²)	Albumin (g/dL)	T-CHO (mg/dL)	GNRI	Age	Gender (M/F)
Control subjects (n=184)	—	—	—	—	—	-19.2 ± 0.6	9.2 ± 0.5	—	—	—	—	45 ± 24	79/105
Male (n=79)	—	—	—	—	—	-19.1 ± 0.7	9.2 ± 0.5	—	—	—	—	43 ± 22	—
Female (n=105)	—	—	—	—	—	-19.3 ± 0.6	9.2 ± 0.5	—	—	—	—	47 ± 24	—
Enteral nutrition (n=25)	21.1 ± 5.4	0.95 ± 0.22	3.2 ± 0.9	0.9 ± 0.2	0.6 ± 0.2	-20.1 ± 1.0*	10.0 ± 1.0*	18.9 ± 2.8	3.2 ± 0.4 ^a	176.4 ± 27.1 ^d	83.4 ± 7.4 ^a	83 ± 9	7/18
Low energy group (n=13)	17.1 ± 2.1 [#]	0.80 ± 0.13 [#]	2.6 ± 0.4 [#]	0.7 ± 0.1 [#]	0.5 ± 0.1 [#]	-20.8 ± 0.8 [#]	10.7 ± 0.5 [#]	19.7 ± 2.5	3.1 ± 0.5 ^b	167.9 ± 26.5 ^e	83.2 ± 9.7 ^b	82 ± 9	4/9
Below 20 kcal/kg/day													
High energy group (n=12)	25.4 ± 4.3	1.12 ± 0.19	3.9 ± 0.9	1.0 ± 0.2	0.8 ± 0.2	-19.3 ± 0.5	9.2 ± 0.6	18.0 ± 3.1	3.4 ± 0.3 ^c	183.3 ± 26.7 ^c	83.6 ± 4.9 ^c	84 ± 9	3/9
Above 20 kcal/kg/day													

n = 21^a, n = 10^b, n = 11^c, n = 20^d, n = 9^e.

*Significantly different from the control subjects (p < 0.05).

[#]Significantly different from the high energy group (p < 0.05).

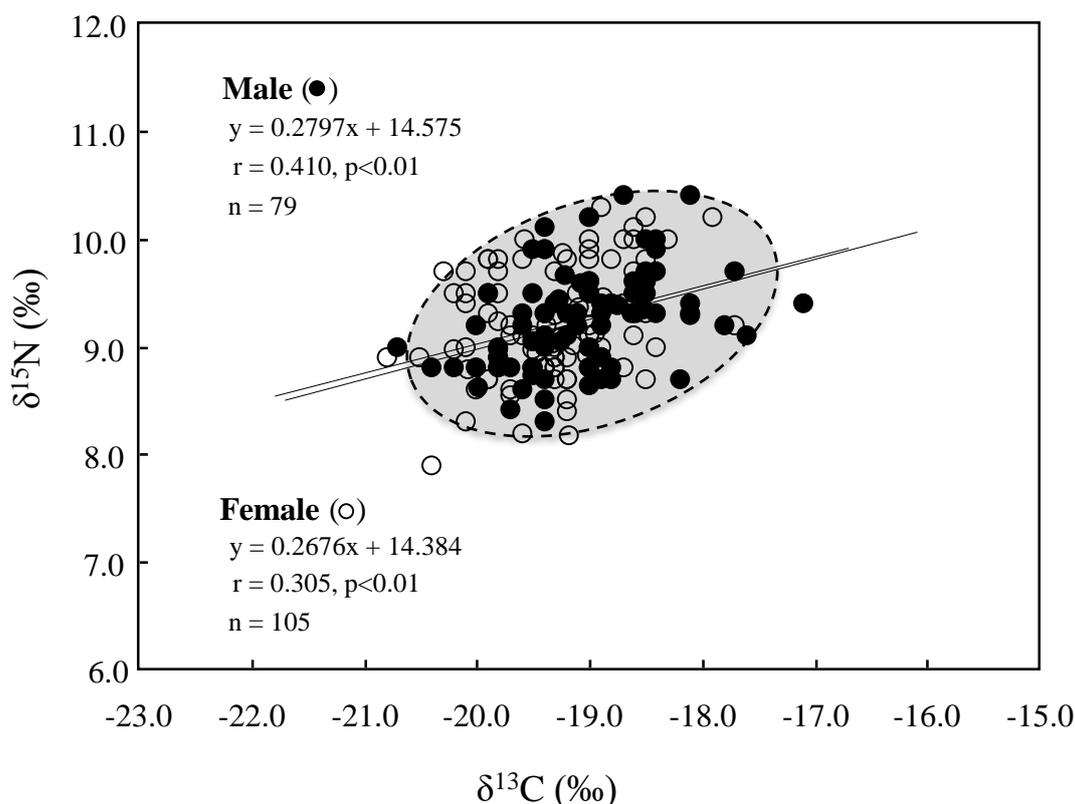


Fig. 3. Correlation between $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values in scalp hair of control subjects.

The dotted area shows the 95 % confidence area.

第 2 項 経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の栄養状態

患者の BMI は $18.9 \pm 2.8 \text{ kg/m}^2$ ($n = 25$) で、健常者の基準範囲である $18.5 - 24.9 \text{ kg/m}^2$ ⁴⁰⁾ より低い患者が多数含まれていた (Table 6 と Table 7 を参照). 患者の血清アルブミン値は $3.2 \pm 0.4 \text{ g/dL}$ ($n = 21$) で、1 名を除き、健常者の基準範囲である $3.8 - 5.3 \text{ g/dL}$ ⁴⁰⁾ より低かった. T-CHO の平均値は $176.4 \pm 27.1 \text{ mg/dL}$ ($n = 20$) で、3 名の患者を除き、健常者の基準範囲内 ($128 - 220 \text{ mg/dL}$)⁴⁰⁾ に含まれていた. GNRI の平均は 83.4 ± 7.4 ($n = 21$) で、栄養リスクがない患者 (GNRI が 98 以上) が 1 名、軽微な栄養リスクがある患者 (GNRI が 92~98 未満) が 2 名、中等度の栄養リスクがある患者 (GNRI が 82~92 未満) が 7 名、重度の栄養リスクがある患者 (GNRI が 82 未満) が 11 名と判定された. なお、患者の年齢は 83 ± 9 歳 ($66 - 97$ 歳) で、高齢の患者が多く含まれていた.

経腸栄養剤により栄養管理を受けていた患者のエネルギー摂取量は 12.2 - 35.2 kcal/kg/day (21.1 ± 5.4 kcal/kg/day) で、摂取量に大きな違いが認められた。R/P 比は 0.49 - 1.46 (0.95 ± 0.22) で、こちらにも大きな違いが認められた。なお、患者が摂取していた経腸栄養剤の組成は類似しているため、三大栄養素である炭水化物量 (3.2 ± 0.9 g/kg/day), タンパク質量 (0.9 ± 0.2 g/kg/day), 脂質量 (0.6 ± 0.2 g/kg/day) の摂取量にも大きな違いが認められた。

第 3 項 経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の頭髪中の炭素と窒素の安定同位体比とエネルギー摂取量

経腸栄養剤により栄養管理を受けていた患者 ($n = 25$) の $\delta^{13}\text{C}$ 値は -20.1 ± 1.0 ‰, $\delta^{15}\text{N}$ 値は 10.0 ± 1.0 ‰ で、対照群の $\delta^{13}\text{C}$ 値 (-19.2 ± 0.6 ‰) と $\delta^{15}\text{N}$ 値 (9.2 ± 0.5 ‰) に比べて、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は有意に低く ($p < 0.05$), $\delta^{15}\text{N}$ 値は有意に高かった ($p < 0.05$) (Table 7)。

Fig. 4 は、対照者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の分布を示している Fig. 3 に、経腸栄養剤により栄養管理を受けていた患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値 ($n = 25$) を加えたものである。25 名の患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値との間には有意な負の相関が認められた ($r = -0.707$, $p < 0.01$, $n = 25$)。このうち、13 名の患者 (白色の円: 患者番号 1 - 3, 6 - 8, 10 - 13, 17, 18, 23) は対照群の 95 % 確率楕円の左上に分布し、残りの 12 名 (灰色の円) のうち 10 名 (患者番号 4, 5, 9, 15, 16, 19 - 22, 25) は対照群の楕円内に分布し、2 名は楕円の少し上方 (患者番号 24) と少し下方 (患者番号 14) に分布した。

95 % 確率楕円の左上に分布した 13 名のすべての患者が摂取していたエネルギーは 20 kcal/kg/day 未満 (17.1 ± 2.1 kcal/kg/day) で、95 % 確率楕円内およびその近傍に分布したすべての患者が摂取していたエネルギーは 20 kcal/kg/day 以上 (25.4 ± 4.3 kcal/kg/day) であり、両群の摂取エネルギー量は有意に異なった ($p < 0.05$)。なお、20 kcal/kg/day 未満のエネルギーの投与を受けていた患者を低エネルギー群 ($n = 13$) とし、20 kcal/kg/day 以上のエネルギーの投与を受けていた患者を高エネルギー群 ($n = 12$) としたが、低エネルギー群の R/P 比は 0.80 ± 0.13 で、高エネルギー群 (1.12 ± 0.19) に比べて有意に低かった ($p < 0.05$)。

高エネルギー群の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値はそれぞれ $-19.3 \pm 0.5 \text{ ‰}$ と $9.2 \pm 0.6 \text{ ‰}$ で、これらの値は対照群の $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($-19.2 \pm 0.6 \text{ ‰}$) および $\delta^{15}\text{N}$ 値 ($9.2 \pm 0.5 \text{ ‰}$) とほぼ同じであった。一方、低エネルギー群の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値はそれぞれ $-20.8 \pm 0.8 \text{ ‰}$ と $10.7 \pm 0.5 \text{ ‰}$ であり、高エネルギー群および対照群と比べて、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は有意に低く ($p < 0.05$)、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は有意に高かった ($p < 0.05$)。

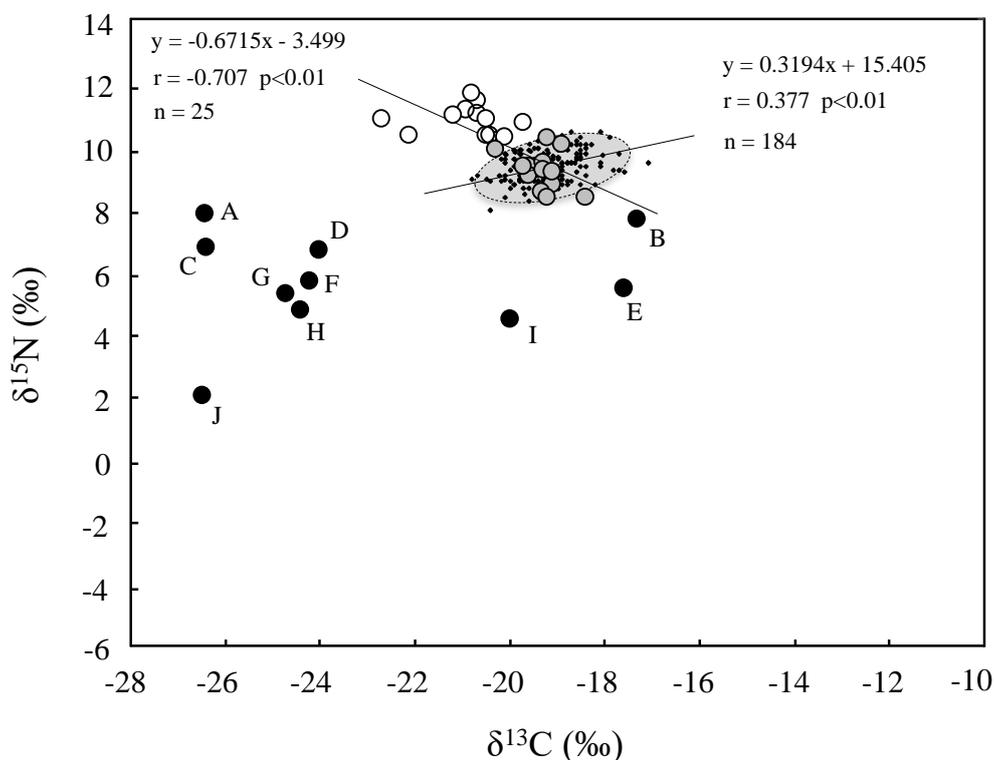


Fig. 4. Comparison of stable isotope ratios of carbon and nitrogen in scalp hair of patients and those of enteral nutrition formulas.

White circles are the patients received the enteral nutrients below 20 kcal/kg/day and gray circles are those above 20 kcal/kg/day (Table 6). Black circles are the enteral nutrition formulas (Table 9).

第4項 経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の各栄養素の摂取量と栄養指標

低エネルギー群の炭水化物摂取量は 2.6 ± 0.4 g/kg/day, タンパク質摂取量は 0.7 ± 0.1 g/kg/day および脂質摂取量は 0.5 ± 0.1 g/kg/day で, 高エネルギー群の炭水化物摂取量 (3.9 ± 0.9 g/kg/day), タンパク質摂取量 (1.0 ± 0.2 g/kg/day) および脂質摂取量 (0.8 ± 0.2 g/kg/day) に比べて, いずれも有意に低かった ($p < 0.05$) (Table 7).

低エネルギー群の血清アルブミン値 (3.1 ± 0.5 g/dL, $n = 10$) は, 高エネルギー群の 3.4 ± 0.3 g/dL ($n = 11$) より少し低かった ($p < 0.10$). また, 低エネルギー群の T-CHO (167.9 ± 26.5 mg/dL, $n = 9$) も, 高エネルギー群 (183.3 ± 26.7 mg/dL, $n = 11$) より少し低かった ($p < 0.10$). 一方, 低エネルギー群の BMI (19.7 ± 2.5 kg/m², $n = 13$) は, 高エネルギー群 (18.0 ± 3.1 kg/m², $n = 12$) とほぼ同じであり, 低エネルギー群の GNRI (83.2 ± 9.7 , $n = 10$) も, 高エネルギー群 (83.6 ± 4.9 , $n = 11$) と同じであった.

第5項 経腸栄養剤により栄養管理を受けた患者の頭髪中の炭素と窒素の安定同位体比と各栄養指標との相関関係

患者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と摂取したエネルギー量, 各栄養素量 (炭水化物, タンパク質および脂質) および T-CHO との間に有意な正の相関が認められ ($p < 0.01$ または 0.05), 血清アルブミン値との間にも弱い正の相関が認められた ($p < 0.10$) (Table 8). 一方, $\delta^{15}\text{N}$ 値とエネルギー摂取量および各栄養素量との間には有意な負の相関が認められ ($p < 0.01$), T-CHO との間にも弱い負の相関が認められたが ($p < 0.10$), 血清アルブミン値との間には相関は認められなかった.

BMI とエネルギー摂取量, 炭水化物摂取量およびタンパク質摂取量との間には, 予想に反し, 有意な負の相関が認められた ($p < 0.05$). また, BMI と脂質摂取量との間には弱い負の相関 ($p < 0.10$) が認められたが, GNRI との間には有意な正の相関 ($p < 0.01$) が認められた.

血清アルブミン値と脂質摂取量 ($p < 0.05$) および GNRI ($p < 0.01$) との間には有意な正の相関が認められたが, その他の栄養素量およびエネルギー摂取量との間には相関は認められなかった. T-CHO は, $\delta^{13}\text{C}$ 値との間のみ有意な正の相関 ($p <$

0.05) が認められ, GNRI は BMI および血清アルブミン値との間のみで有意な正の相関 ($p < 0.01$) が認められた.

Table 8. Correlations among stable isotope ratios of carbon and nitrogen, energy, BMI, albumin and GNRI of patients received enteral nutrition formulas

	n	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Energy	Carbohydrate	Protein	Lipid	BMI	Albumin	T-CHO	GNRI
$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	25	—	-0.707**	0.599**	0.551**	0.599**	0.420*	-0.354	0.374	0.453*	0.058
$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	25	-0.707**	—	-0.708**	-0.615**	-0.534**	-0.532**	0.163	-0.103	-0.376	0.037
Energy (kcal/kg/day)	25	0.599**	-0.708**	—	0.936**	0.878**	0.698**	-0.423*	0.268	0.075	-0.061
Carbohydrates (g/kg/day)	25	0.551**	-0.615**	0.936**	—	0.926**	0.416*	-0.427*	0.130	0.136	-0.164
Protein (g/kg/day)	25	0.599**	-0.534**	0.878**	0.926**	—	0.394	-0.524**	0.098	0.210	-0.267
Lipids (g/kg/day)	25	0.420*	-0.532**	0.698**	0.416*	0.394	—	-0.279	0.472*	-0.123	0.174
BMI (kg/m ²)	25	-0.354	0.163	-0.423*	-0.427*	-0.524**	-0.279	—	-0.171	0.073	0.580**
Albumin (g/dL)	21	0.374	-0.103	0.268	0.130	0.098	0.472*	-0.171	—	-0.142	0.700**
T-CHO (mg/dL)	20	0.453*	-0.376	0.075	0.136	0.210	-0.123	0.073	-0.142	—	-0.053
GNRI	21	0.058	0.037	-0.061	-0.164	-0.267	0.174	0.580**	0.700**	-0.053	—

See Table 6, *p<0.05, **p<0.01.

第 6 項 経腸栄養剤から頭髪中の炭素および窒素の安定同位体比の増加

患者が摂取していた 10 種類の経腸栄養剤 (A - J) の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を Fig. 4 に示す. この経腸栄養剤 (A - J) の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値から頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値への増加を Table 9 に示す.

窒素源として乳タンパク質のみを含むリキッドダイエット K-4S の投与を受けた低エネルギー群 (20 kcal/kg/day 未満, n = 4) の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加はそれぞれ, $3.6 \pm 0.5 \%$ と $4.2 \pm 0.6 \%$ で, 高エネルギー群 (20 kcal/kg/day 以上, n = 3) の増加はそれぞれ, $5.2 \pm 0.4 \%$ と $2.9 \pm 1.1 \%$ であった. 同じく窒素源として乳タンパク質のみを含む CZ1.5 の投与を受けた低エネルギー群 (n = 3) の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加はそれぞれ, $5.4 \pm 1.0 \%$ と 2.5% で, 高エネルギー群 (n = 2) の場合はそれぞれ, 6.7 と 7.1 % および 1.5 と 1.4 % であった. さらに, 窒素源として乳タンパク質のみを含む E-7 II の投与を受けた低エネルギー群 (n = 3) の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加はそれぞれ, $-3.6 \pm 0.3 \%$ と $3.6 \pm 0.4 \%$ で, 高エネルギー群 (n = 1) の場合はそれぞれ, -1.8% と 1.5% であった. なお, MA-R2.0 の投与を受けた患者は 1 例のみで, 明治メイバランス®R GREEN の投与を受けた患者は 2 例とも高エネルギー群のため, この 2 製剤については低エネルギー群と高エネルギー群を比較することができなかった. 窒素源として乳タンパク質のみを含む上記の 3 製剤 (リキッドダイエット K-4S, CZ1.5 および E-7 II) の投与を受けた患者の結果をまとめると, 高エネルギー群の $\delta^{13}\text{C}$ 値の増加は, 低エネルギー群よりも高く, 高エネルギー群の $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加は低エネルギー群より低かった.

窒素源として乳タンパク質と大豆タンパク質の両方を含有する経腸栄養剤として患者が投与を受けていたのは, エンシュア・リキッド®, アイソカル® Bag 2K, アイソカル®2K Neo, およびアイソカル®プラスである (Table 3). また, ハイネイーゲル®も投与されていたが, これは窒素源として大豆タンパク質の他にアミノ酸などを含有している. なお, これらの各経腸栄養剤の投与を受けた患者数が少ないので, 高エネルギー群と低エネルギー群に分けて比較することができなかった. 乳タンパク質とその他の窒素源を含むこれらの栄養剤および大豆タンパク質とアミノ酸を窒素源とする栄養剤 (F - J) からの $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加は 4.6 - 6.5 % で, 乳タンパク質のみを含む経腸栄養剤 (A - E) よりも高かった (1.4 - 4.8%).

Fig. 5 に経腸栄養剤から頭髪への $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加を低エネルギー群 ($n = 13$) と高エネルギー群 ($n = 12$) とに分けて示す. 頭髪への $\delta^{13}\text{C}$ 値の増加は, 経腸栄養剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値が低いほど大きく ($p < 0.01$), その増加は低エネルギー群と高エネルギー群間で大きな差が認められなかった. 一方, $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加は, 経腸栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値が低いほど大きく ($p < 0.01$), 低エネルギー群での $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加は高エネルギー群より大きかった.

Table 9. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen of the enteral nutrition formulas and the enrichments of those isotopes from the enteral nutrition formulas to the scalp hair of patients receiving below 20 kcal/kg/day and above 20 kcal/kg/day

Nutrition formula (N-source)	$\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$		Energy received (kcal/kg/day)	Enrichment of $\delta^{13}\text{C}$		Enrichment of $\delta^{15}\text{N}$	
	(‰)	(‰)		(‰)	(‰)	(‰)	(‰)
Enteral nutrition							
A CZ1.5 (Lacto protein)	$\delta^{13}\text{C} = -26.4$, $\delta^{15}\text{N} = 7.8$		below 20	5.4 ± 1.0	(n=3)	2.5 ± 0	(n=3)
			above 20	6.7 and 7.1	(n=2)	1.5 and 1.4	(n=2)
B E-7II (Lacto protein)	$\delta^{13}\text{C} = -17.3$, $\delta^{15}\text{N} = 7.6$		below 20	-3.6 ± 0.3	(n=3)	3.6 ± 0.4	(n=3)
			above 20	-1.8	(n=1)	1.5	(n=1)
C MA-R 2.0 (Lacto protein)	$\delta^{13}\text{C} = -26.4$, $\delta^{15}\text{N} = 6.7$		above 20	6.1	(n=1)	3.0	(n=1)
D K-4S (Lacto protein)	$\delta^{13}\text{C} = -24.0$, $\delta^{15}\text{N} = 6.6$		below 20	3.6 ± 0.5	(n=4)	4.2 ± 0.6	(n=4)
			above 20	5.2 ± 0.4	(n=3)	2.9 ± 1.1	(n=3)
E Meibalance R Green (Lacto protein)	$\delta^{13}\text{C} = -17.6$, $\delta^{15}\text{N} = 5.4$		above 20	-1.5 and -1.6	(n=2)	3.3 and 2.9	(n=2)
F Ensure Liquid (Lacto and soybean proteins)	$\delta^{13}\text{C} = -24.2$, $\delta^{15}\text{N} = 5.6$		below 20	1.5	(n=1)	5.2	(n=1)
G Isocal Bag 2K (Lacto and soybean proteins)	$\delta^{13}\text{C} = -24.7$, $\delta^{15}\text{N} = 5.2$		below 20	4.2 and 4.6	(n=2)	5.6 and 5.0	(n=2)
H Isocal 2K Neo (Lacto and soybean proteins and collagen peptide)	$\delta^{13}\text{C} = -24.4$, $\delta^{15}\text{N} = 4.7$		above 20	4.8	(n=1)	4.6	(n=1)
I Isocal Plus (Lacto and soybean proteins)	$\delta^{13}\text{C} = -20.0$, $\delta^{15}\text{N} = 4.4$		above 20	0.7	(n=1)	5.0	(n=1)
J HINE E-GEL(Soybean protein, amino acids and collagen peptide)	$\delta^{13}\text{C} = -26.3$, $\delta^{15}\text{N} = 2.0$		above 20	7.0	(n=1)	6.5	(n=1)

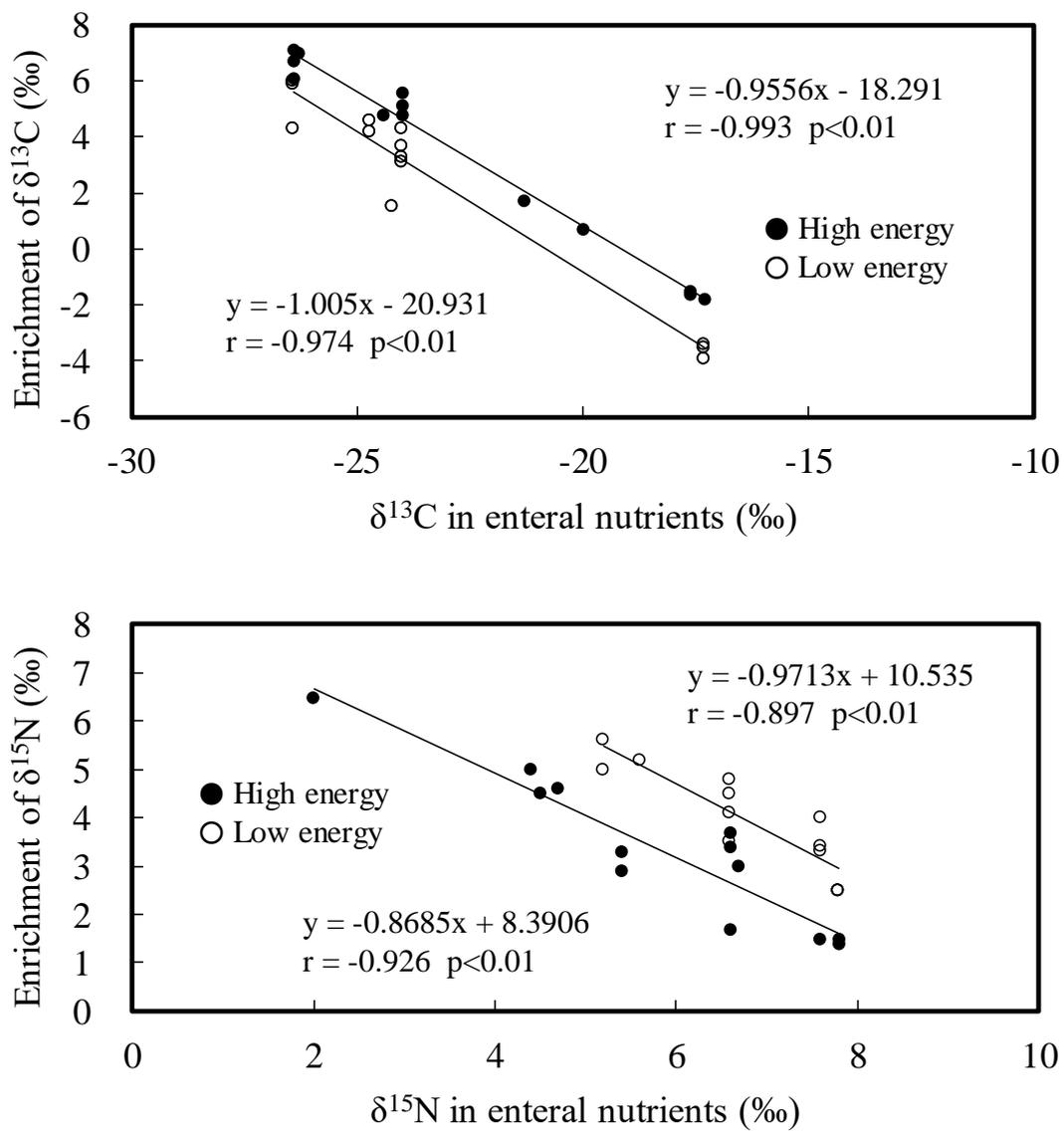


Fig. 5. Enrichments of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values from the enteral nutrition formula to the scalp hair.

第4節 考察

本研究における対照者 (n = 184) の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値は $-19.2 \pm 0.6 \text{ ‰}$, $\delta^{15}\text{N}$ 値は $9.2 \pm 0.5 \text{ ‰}$ であり, これらの値は Kusaka ら (2016)³²⁾ による日本人 1305 名の頭髪の実験値とほぼ同じ値である ($\delta^{13}\text{C}$: $-19.4 \pm 0.6 \text{ ‰}$, $\delta^{15}\text{N}$: $9.4 \pm 0.6 \text{ ‰}$). また, 本研究の男性と女性の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値も Kusaka ら (2016)³²⁾ とほぼ同じことから, 本研究の対照群の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は, 一般的な日本人のものと考えられる. また, 本研究で測定したすべての対照者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値との間に正の相関が認められた (Fig. 3). ほとんどの日本人は魚を食べているので, これが正相関の主たる原因と思われる.

低エネルギー群の患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値は, 対照群および高エネルギー群の患者より低く, 低エネルギー群の患者の $\delta^{15}\text{N}$ 値は高かった. 低エネルギー群のすべての患者は, 対照群の 95% 確率楕円の左上の領域 (外側) に分布していた (Fig. 4). 対照群の左上の分布は Fig. 1 に示したように, 飢餓状態や拒食症で認められ, 負の窒素バランスを示唆している.^{2,9-11)} 一方, 高エネルギー群の患者は, 対照群の分布域内あるいはその近傍に分布していた (Fig. 4). これらの高エネルギー群の患者 (84 ± 9 歳) が摂取していたエネルギー量は 20 kcal/kg/day 以上で, このエネルギー量は約 80 歳の日本人の平均的なエネルギー消費量であることから,⁴¹⁾ 高エネルギー群の患者は必要なエネルギー量を摂取していたと考えられる.

すべての経腸栄養剤患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値 (n = 25) と摂取したエネルギー量および各栄養素量 (炭水化物, タンパク質および脂質) との間には正の相関が認められ ($p < 0.05$), 一方, すべての患者の $\delta^{15}\text{N}$ 値とこれらとの間には負の相関が認められた ($p < 0.01$) (Table 8). BMI および血清アルブミン値は, 患者の栄養状態の指標として現在広く使用され, これらの値は一般的には低栄養状態では減少すると思われる. しかし, 本研究では, BMI とエネルギー摂取量, 炭水化物摂取量およびタンパク質摂取量との間に負の相関が認められた ($p < 0.05$). この BMI と投与 (基礎) エネルギー量との関係については後で考察する. 血清アルブミン値と脂質摂取量との間には有意な正の相関が認められたが, 炭水化物摂取量およびタンパク質摂取量との間には相関は認められなかった. T-CHO も栄養状態を示す指標として利用されているが, すべての

栄養素量との間に相関が認められなかった。GNRI は、BMI およびアルブミン値から計算されることから、GNRI と BMI および血清アルブミン値との間には有意な正の相関 ($p < 0.01$) が認められたが、その他の栄養素量との間には相関が認められなかった。これらの結果から、長期間経腸栄養剤により栄養管理を受けた高齢患者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は、BMI、血清アルブミン値、T-CHO および GNRI よりも、優れた栄養状態の指標と考えられる。

ハリス・ベネディクト式から算出した患者の基礎エネルギー消費量と BMI との間には負の相関があることが知られている（基礎エネルギー消費量と除脂肪体重の間には正の相関）。即ち、Reeds ら (2005)⁴²⁾ は、BMI が 15 - 19 kg/m^2 、20 - 24 kg/m^2 および 25 - 29 kg/m^2 の基礎エネルギー消費量はそれぞれ、30 - 35 $\text{kcal}/\text{kg}/\text{day}$ 、20 - 25 $\text{kcal}/\text{kg}/\text{day}$ および 15 - 20 $\text{kcal}/\text{kg}/\text{day}$ と報告している。本研究においても、患者が摂取したエネルギー量 (13.6 - 35.2 $\text{kcal}/\text{kg}/\text{day}$) と BMI (13.7 - 23.0 kg/m^2) との間には負の相関が認められた (Table 8, $p < 0.05$)。

血清アルブミン値と BMI から計算される GNRI は、日本の高齢患者の栄養状態を評価する有用な指標とされている。^{37,38)} しかし、本研究の結果では、GNRI と摂取したエネルギー量、炭水化物量、タンパク質量および脂質量などの各栄養素量との間に相関が認められず、また GNRI により低エネルギー群と高エネルギー群を区別することはできなかったことから、GNRI は日本人高齢者の栄養状態を評価する際の優れた指標とは考えにくい。血清アルブミン値と脂質摂取量との間には有意な相関が認められたが、エネルギー摂取量、炭水化物摂取量およびタンパク質摂取量との間には相関が認められなかった (Table 8)。類似の相関はエレンタール®配合内用剤で栄養を補給しているクローン病患者でも認められた。⁴³⁾ 今後、低栄養状態における脂質摂取量と血清アルブミン値との関係に焦点を当てた研究が必要と考えられる。

ヒトにおける食事成分から頭髪への $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増減について、これまで精度の高い研究結果は報告されていない。これはヒトが多種多様な食品を食べていることから、摂取した個々の食事成分の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値とその摂取量を正確に求めることが困難だからである。⁸⁾ Minagawa (1992)³¹⁾ はモンテカルロシミュレーションにより日本人の食事から頭髪への $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加はそれぞれ 2.5 %と 4.0 %と推定し、

Tokui ら (2000) ¹³⁾ は中国人の食事アンケートを基にして、 $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加はそれぞれ 2.5 ‰と 4.3 ‰と推定した。しかし、いずれの研究においても、推定値はかなりの誤差を含むと考えられる。⁸⁾

一方、本研究は、栄養成分の詳細がわかっている経腸栄養剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値と、経腸栄養剤のみで必要な栄養を摂取している患者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を比較している。その結果、頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加は経腸栄養剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値と負に相関することを明らかにした (Fig. 5)。さらに、栄養剤からの $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加は、低エネルギー群が高エネルギー群より大きいことを明らかにした。本研究成果は、ヒトを対象にした研究において、最も精度が高いと考えられる。ラットを用いた研究では、餌の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値が高いほど筋肉、肝臓および体毛中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加が少ないことが報告され、¹⁸⁾ ヒトによる本研究結果と一致する。しかし、摂取エネルギー量と $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値の増減について検討した報告例は、実験動物を用いた研究も含めて、本研究が最初である。

第 3 章 中心静脈栄養製剤の投与を受けた患者頭髪中の炭素と窒素の安定同位体比について

第 1 節 緒言

患者に適切な栄養管理を行うことは医療の基本となる。そのため、栄養状態が悪い患者に対して経腸栄養や中心静脈栄養などの栄養療法を行い、栄養状態を改善する必要がある。栄養療法の適応を示す ASPEN (American Society for Parenteral and Enteral Nutrition) のガイドライン²⁷⁾では、消化管を使用できる場合は経腸栄養を選択し、消化管を使用できない、または、使用しない方が望ましい場合に静脈栄養を選択する。さらに、静脈栄養のうち、栄養管理期間が 2 週間未満の場合は末梢静脈栄養を選択し、栄養管理期間が 2 週間以上の長期にわたる場合は中心静脈栄養を選択するとされている。中心静脈栄養は、1968 年に Dudrick⁴⁴⁾により考案された栄養療法である。中心静脈栄養の利点は、必要なエネルギーや栄養素を静脈から確実に投与できることである。したがって、栄養不良となった患者の栄養状態の改善^{45,46)}や、消化器手術前後の栄養管理にも用いられる。中心静脈栄養は在宅でも行われている。そのため、経口摂取が困難な患者であっても、自宅での生活が可能となる栄養療法である。

ヒトの生命維持や身体活動に欠かせない栄養素のうち、エネルギー源となる炭水化物、タンパク質および脂質を三大栄養素と呼ぶ。中心静脈栄養製剤は、炭水化物としてブドウ糖、タンパク質としてアミノ酸、脂質として大豆油を含有している。²⁸⁾その三大栄養素に加え、電解質やビタミンを含有し、さらに一部の製剤には微量元素が含まれている。

中心静脈栄養製剤の構成成分は細菌繁殖の栄養源ともなり得るため、調製には注意を要する。日本病院薬剤師会のガイドライン⁴⁷⁾では、薬剤師がクリーンベンチを用いた無菌的環境下で、無菌操作により混合調製をすることを推奨している。しかし、クリーンベンチは高価なため、中心静脈栄養製剤を取り扱うすべての施設などに設置されることは難しい。そのため、我が国では、中心静脈栄養製剤の構成成分を 1 つの輸液バッグに収めたキット製剤²⁸⁾が販売され、汎用されている。

第 1 章において国内で販売されていた経腸栄養剤や中心静脈栄養剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定したが、乳タンパク質や大豆タンパク質を主な窒素源とする多くの経腸栄養剤に比べ、窒素源がアミノ酸である中心静脈栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値は極めて低く、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は高い値を示した。本章では、中心静脈栄養剤による栄養管理を受けた患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定し、その変化と投与期間との関係を検討した。²⁵⁾

第2節 実験方法

第1項 頭髪試料の採取

1) 対照者

対照者は、第2章、第2節、第1項1) に準ずる。

2) 中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けた患者

中心静脈栄養製剤のみで必要な栄養を1ヶ月以上継続して摂取している患者を中心静脈栄養製剤患者とした。患者は、北海道に住む10名で、頭髪試料は、2009年11月～2015年12月の期間に採取した。患者の頭髪採取時に、年齢、性別、身長、体重、BMI、血清アルブミン値、およびT-CHOと、投与を受けていた中心静脈栄養製剤名とその投与量について調査した (Table 10)。経腸栄養剤患者の場合と同様に、中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けた患者のほとんども頭髪の少ない高齢の入院患者だったため、特定部位からの頭髪採取はほとんどできなかった。なお、過去1ヶ月以内に急激な体重の減少や感染症および炎症症状などが認められた患者からの頭髪採取は行わなかった。

10名の患者は中心静脈カテーテルから、Table 10に示した中心静脈栄養製剤の投与を受けていた。エルネオパ®2号輸液、ネオパレン®2号輸液、ピーエヌツイン®-1号輸液、フルカリック®1号輸液およびフルカリック®2号輸液である。なお、一部の患者は、中心静脈栄養製剤の投与を受けた後に経腸栄養剤による栄養管理を受けていた。

Table 10. Information for patients receiving parenteral nutrition formulas

Patient	Formula	Energy (kcal/kg/day)		Ratio	$\delta^{13}\text{C}$ (%)	$\delta^{15}\text{N}$ (%)	BMI (kg/m ²)	Albumin (g/dL)	T-CHO (mg/dL)	GNRI	Gender	Age	Remarks
		Received	Predicted										
26	K-4S (Fulcaliq 1 and 2)	13.1*	22.6	0.58	-15.4	4.7	18.6	3.4	198	85.8	F	81	Cerebral infarction
27	CZ.1.5 (unknown)*	19.4*	20.2	0.96	-19.9	7.6	20.0	3.6	145	91.6	M	78	Cerebral bleeding, Hemiplegia
28	E-7II (unknown)*	8.0*	19.5	0.41	-16.0	6.8	21.9	3.0	—	86.1	M	81	Dementia
29	Isocal Bag 2K (unknown)*	20.0*	20.0	1.00	-17.7	5.9	25.5	2.5	136	78.9	F	93	Disure syndrome, Diabetes
30	PNTWIN 1	32.5	28.6	1.14	-15.9	3.1	16.4	—	—	—	F	57	Crohn's disease
31	Elneopa 2	27.0	21.1	1.28	-13.0	0.2	22.6	3.4	153	92.3	F	84	Ileus
32	Elneopa 2 (unknown)	22.5	24.0	0.94	-18.7	6.3	16.2	2.8	119	72.4	F	87	Dementia
33	Elneopa 2 (unknown)	22.0	18.3	1.20	-19.3	8.1	24.9	3.4	—	92.3	M	83	unknown
34	Neoparen 2	29.3	30.5	0.96	-18.3	6.4	11.2	2.7	123	61.5	F	77	Manic-depressive psychosis
35	Neoparen 2	33.6	20.8	1.62	-18.3	7.6	16.3	2.8	109	72.5	M	83	Parkinson's disease

Patients (26, 27, 28 and 29) were switched from parenteral nutrition to enteral nutrition (details of the parenteral nutrition were unknown).

* Energy received from enteral nutrition.

第 2 項 頭髪試料の測定方法

頭髪試料の測定は、第 2 章、第 2 節、第 2 項に準じて行った。

第 3 項 患者のエネルギー必要量の算出方法

患者の基礎エネルギー消費量の算出は、第 2 章、第 2 節、第 3 項に準じて行った。なお、エネルギー必要量は、活動係数と傷害係数をそれぞれ 1.0 とし算出した。R/P 比の算出は、第 2 章、第 2 節、第 3 項に準じて行った。

第 4 項 高齢者栄養リスク指標の算出方法

GNRI の算出は、第 2 章、第 2 節、第 4 項に準じて行った。

第 5 項 統計解析

統計解析は、第 2 章、第 2 節、第 5 項に準じて行った。

第 6 項 倫理的配慮

倫理的配慮は、第 2 章、第 2 節、第 6 項に準じて行った。

第3節 結果

第1項 中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けた患者の頭髪中の炭素と窒素の安定同位体比

中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けていた57～93歳の10名の患者の頭髪を採取した (Table 10). そのうち6名 (患者番号30 - 35) は頭髪採取時に中心静脈栄養製剤による栄養管理を受けており, R/P比は0.94 - 1.62であった. 6名の患者のうち2名は6ヶ月間 (患者番号30) と2年間 (患者番号31) にわたる長期の栄養管理を受けていた. 残りの1名の患者は1ヶ月間 (患者番号33), 3名の患者は3ヶ月間 (患者番号32, 34 および35), それぞれ中心静脈栄養製剤による栄養管理を受けていた. 一方, 4名の患者 (患者番号26 - 29) は, 中心静脈栄養製剤による栄養管理を受けた後, 頭髪採取時には経腸栄養剤による栄養管理を受けていた.

中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けた10名の患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の平均値はそれぞれ $-17.3 \pm 2.1 \text{ ‰}$ と $5.7 \pm 2.4 \text{ ‰}$ (Table 11) であり, Table 7に示す対照群の $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($-19.2 \pm 0.6 \text{ ‰}$) と $\delta^{15}\text{N}$ 値 ($9.2 \pm 0.5 \text{ ‰}$) および経腸栄養剤患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値 ($-20.1 \pm 1.0 \text{ ‰}$) と $\delta^{15}\text{N}$ 値 ($10.0 \pm 1.0 \text{ ‰}$) と比べて, $\delta^{13}\text{C}$ 値は有意に高く ($p < 0.05$), $\delta^{15}\text{N}$ 値は有意に低かった ($p < 0.05$). Fig. 6は, 対照者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の分布を示している Fig. 3に, 中心静脈栄養製剤の投与を受けた患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値 ($n = 10$) および投与された5種類の中心静脈栄養製剤 (K - O) の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を加えたものである. 10名の患者のうち9名は, 対照群の分布を示している95%確率楕円の下側に分布した. 最も長期間, 中心静脈栄養製剤による栄養管理を受けた患者 (2年間, 患者番号31) の $\delta^{15}\text{N}$ 値は10名の患者のなかで最も低く, 一方, $\delta^{13}\text{C}$ 値は最も高い値であった. 2番目に長い期間中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けた患者 (6ヶ月間, 患者番号30) の $\delta^{15}\text{N}$ 値は2番目に低い値であり, $\delta^{13}\text{C}$ 値は3番目に高い値であった. なお, 10名の患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値 (Fig. 6とTable 10を参照) との間に有意な負の相関が認められた ($r = -0.883$, $p < 0.01$, $n = 10$). また, Fig. 7に示すように, 中心静脈栄養製剤による栄養管理期間 (月) と $\delta^{15}\text{N}$ 値との間には有意な負の相関が認められ ($r =$

-0.904, $p < 0.05$, $n = 6$), $\delta^{13}\text{C}$ 値との間には有意な正の相関が認められた ($r = 0.939$, $p < 0.01$, $n = 6$).

Table 11. Analytical results for the patients receiving parenteral nutrition formulas

Energy (kcal/kg/day)	Carbohydrate (g/kg/day)	Protein (g/kg/day)	Lipids (g/kg/day)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	BMI (kg/m ²)	Albumin (g/dL)	T-CHO (mg/dL)	GNRI	Age	Gender
22.7 ± 8.2 ^a	4.4 ± 1.8 ^a	0.8 ± 0.2 ^a	0.2 ± 0.3 ^a	-17.3 ± 2.1 ^{a,*}	5.7 ± 2.4 ^{a,*}	19.4 ± 4.5 ^a	3.1 ± 0.4 ^b	140.4 ± 29.7 ^c	81.5 ± 10.9 ^b	80 ± 9 ^a	(M/F) 4/6 ^a

n = 10^a, n = 9^b, n = 7^c

*Significantly different from the control subjects (p < 0.05).

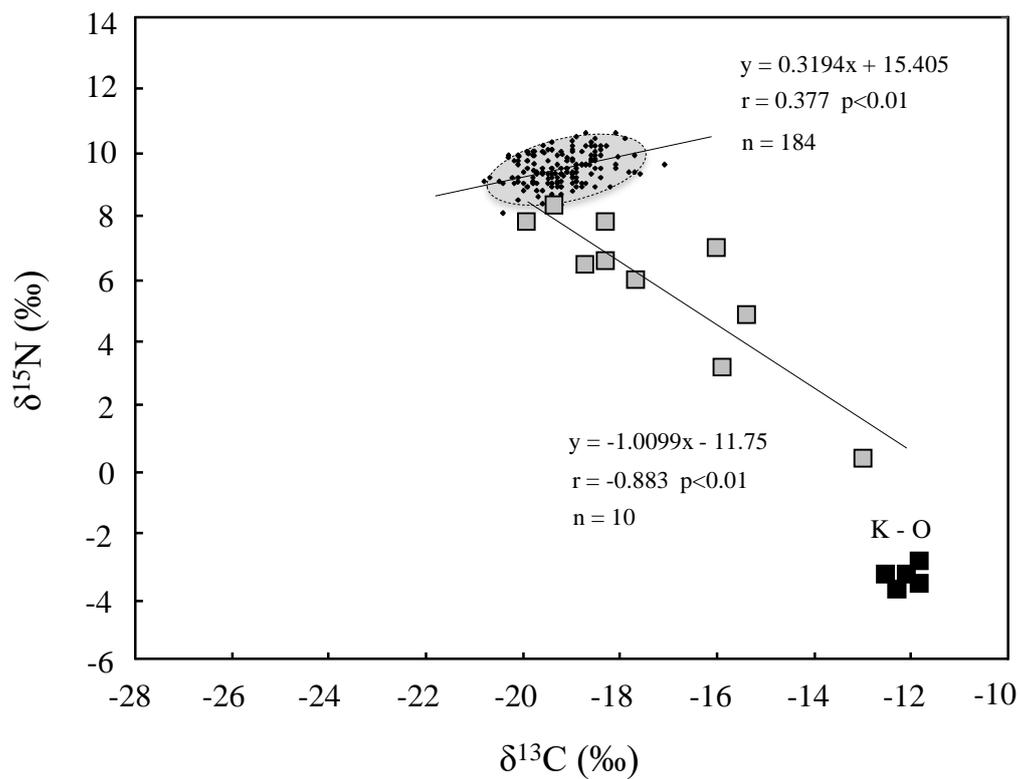


Fig. 6. Comparison of stable isotope ratios of carbon and nitrogen in scalp hair of patients and those of parenteral nutrition formulas.

Gray squares are the patients received the parenteral nutrients (Table 10). Black squares are the parenteral nutrition formulas (Table 12).

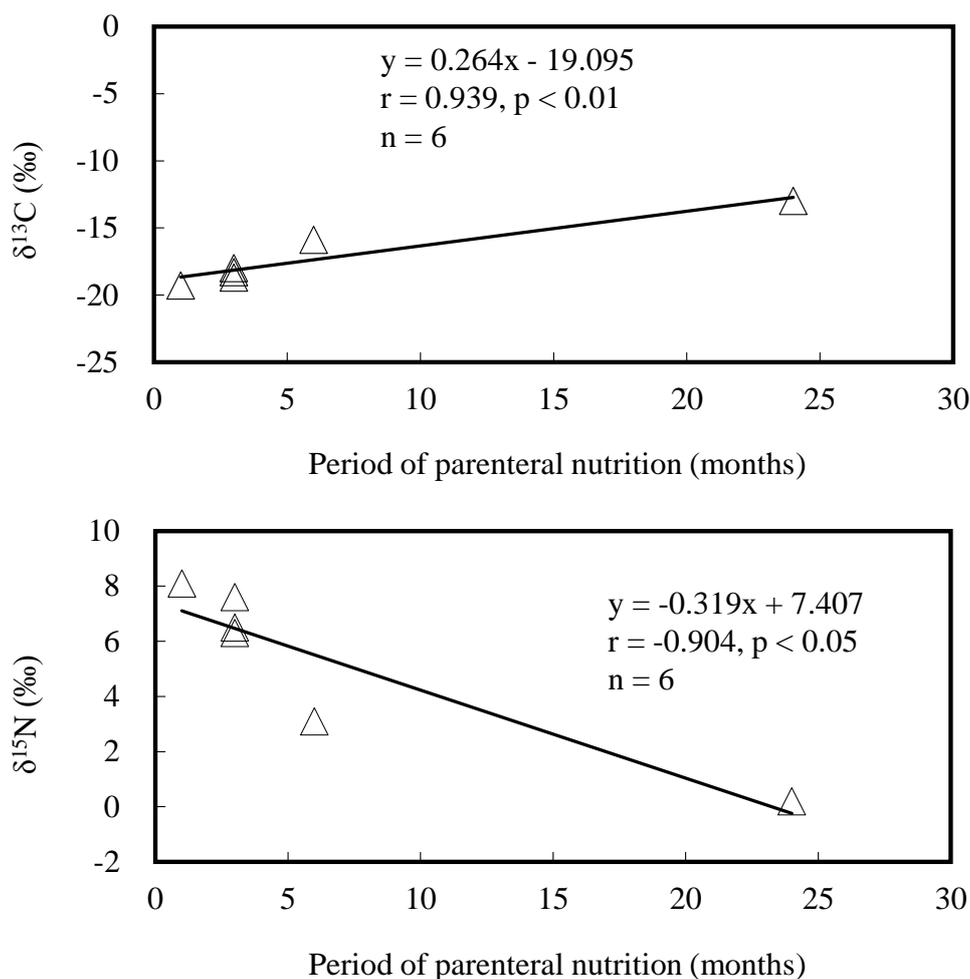


Fig. 7. Relationship between period of parenteral nutrition and $\delta^{13}\text{C}$ or $\delta^{15}\text{N}$ values.

第2項 中心静脈栄養製剤により栄養管理を受けた患者の栄養指標と頭髮中の炭素および窒素安定同位体比との比較

中心静脈栄養製剤で栄養管理を受けた10名の患者が摂取していたエネルギー量の平均値は 22.7 ± 8.2 kcal/kg/day (8.0 - 33.6 kcal/kg/day) で、炭水化物量摂取量 (ブドウ糖) は 4.4 ± 1.8 g/kg/day, タンパク質摂取量 (アミノ酸) は 0.8 ± 0.2 g/kg/day, 脂質摂取量は 0.2 ± 0.3 g/kg/day であった (Table 10 と 11).

患者の BMI は 19.4 ± 4.5 kg/m² で、健常者の基準値である 18.5 - 24.9 kg/m²⁴⁰⁾ より低い患者が4名含まれていた (Table 10 と 11). 患者の血清アルブミン値は 3.1 ± 0.4 g/dL ($n = 9$) で、すべての患者は健常者の基準値である 3.8 - 5.3 g/dL⁴⁰⁾ よ

り低かった。患者の T-CHO の平均値は 140.4 ± 29.7 mg/dL ($n = 7$) で、基準値である $128 - 220$ mg/dL⁴⁰⁾ より低い患者が 3 名含まれていた。

患者の GNRI は 81.5 ± 10.9 ($n = 9$) で、軽微な栄養リスクがある患者 (GNRI が 92~98 未満の間) が 2 名、中等度の栄養リスクがある患者 (GNRI が 82~92 未満の間) が 3 名、重度の栄養リスクがある患者 (GNRI が 82 未満) が 4 名含まれていた。なお、患者の年齢は 80 ± 9 歳 (57 - 93 歳) で、経腸栄養剤で栄養管理を受けていた患者の場合と同様に、高齢の患者が多かった。

第 3 項 中心静脈栄養製剤から頭髮中の炭素および窒素の安定同位体比の増加

中心静脈栄養製剤であるフルカリック®1 号輸液、およびフルカリック®2 号輸液、ネオパレン®2 号輸液およびピーエヌツイン®-1 号輸液の $\delta^{13}\text{C}$ 値は約 -12% で、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は -4.0% から -3.0% の間であった (Table 12)。これらの $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は経腸栄養剤の値と比べてそれぞれ顕著に高く、また低い値であった (Fig. 6, K - O)。

2 年間、エルネオパ®2 号輸液により必要なエネルギーを投与されていた患者 (患者番号 31, 27.0 kcal/kg/day) の $\delta^{13}\text{C}$ 値は -13.0% と極めて高く、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は 0.2% で極めて低かった (Table 10)。しかし、この患者のエルネオパ®2 号輸液から頭髮への $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増減はそれぞれ、 -1.2% と 3.9% で、これらの値は経腸栄養剤の投与で認められた $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加値とほぼ同じであった (Table 12)。一方、6 ヶ月間、ピーエヌツイン®-1 号輸液で必要なエネルギーを受けていた患者 (患者番号 30) の頭髮への $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増減はそれぞれ、 -3.6% と 7.0% で、2 年間の投与を受けた患者 (患者番号 31) で認められた $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増減よりも大きかった。なお、フルカリック®1 号輸液および 2 号輸液の投与を受けた患者 (K および L) は、頭髮採取の前に、経腸栄養剤の投与を受けていたので、頭髮中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増減値を求めなかった。

Table 12. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen of the parenteral nutrition formulas and the enrichment of those isotopes from the parenteral nutrition formulas to the scalp hair of patients

Nutrition formula (N-source)	$\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ (‰)	Enrichment of $\delta^{13}\text{C}$ (‰)	Enrichment of $\delta^{15}\text{N}$ (‰)
K Fulcaliq 1 (Amino acids)	$\delta^{13}\text{C} = -11.8, \delta^{15}\text{N} = -3.0$ (Amino acid $\delta^{13}\text{C} = -17.5, \delta^{15}\text{N} = -3.2$)	—	—
L Fulcaliq 2 (Amino acids)	$\delta^{13}\text{C} = -12.1, \delta^{15}\text{N} = -3.4$ (Amino acid $\delta^{13}\text{C} = -17.8, \delta^{15}\text{N} = -3.5$)	—	—
M Neoparen 2 (Amino acids)	$\delta^{13}\text{C} = -12.5, \delta^{15}\text{N} = -3.4$ (Amino acid $\delta^{13}\text{C} = -17.0, \delta^{15}\text{N} = -3.6$)	—	—
N Elneopa 2 (Amino acids)	$\delta^{13}\text{C} = -11.8, \delta^{15}\text{N} = -3.7$ (Amino acid $\delta^{13}\text{C} = -15.7, \delta^{15}\text{N} = -4.0$)	-1.2 (Patient No. 31)	3.9 (Patient No. 31)
O PNTWIN 1 (Amino acids)	$\delta^{13}\text{C} = -12.3, \delta^{15}\text{N} = -3.9$ (Amino acid $\delta^{13}\text{C} = -18.8, \delta^{15}\text{N} = -3.7$)	-3.6 (Patient No. 30)	7.0 (Patient No. 30)

第4節 考察

対照者や経腸栄養剤による栄養管理を受けた患者に比べ、中心静脈栄養製剤による栄養管理を受けた患者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値は高く、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は極めて低い値を示した (Fig. 6). Fig. 1 に示したように、健常者の右下への分布は、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人に見られる現象である.^{14,17)} 第1章で明らかにしたように、静脈栄養製剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値から、本研究で測定した静脈栄養製剤 (中心静脈栄養製剤) のなかで最も構成重量が多いブドウ糖は C4 植物に由来すると推測されたが、この分布と一致する結果である。

中心静脈栄養製剤のみで栄養管理を受けた6名の患者 (患者番号 30 - 35) の R/P 比は 1.19 ± 0.25 (0.94 - 1.62) で、概ね適切なエネルギー量を投与されていた。しかし、患者番号 35 の R/P 比は 1.62 と高値であった。ネオパレン[®]2 号輸液は、1000 mL (820 kcal)、1500 mL (1,230 kcal) および 2000 mL (1,640 kcal) の3種類の規格がある。患者番号 35 はネオパレン[®]2 号輸液 1500 mL (1,230 kcal) 規格の投与を受けていたが、患者の R/P 比から考えると、ネオパレン[®]2 号輸液 1000 mL (820 kcal) 規格を投与した方が適切だったと思われる。しかし、手術を控えるなど急速に栄養状態を改善させる必要があり、エネルギー量を高めた可能性が考えられる。エネルギー必要量の算出の際に活動係数と傷害係数をそれぞれ 1.0 としたが、この患者は在宅で栄養管理を受けていたため、活動量が多く、必要エネルギー量に活動係数を乗じた⁴⁸⁾ 可能性も考えられる。

本研究において、中心静脈栄養製剤の投与期間の増加に伴い、6名の患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値は増加し ($p < 0.01$)、 $\delta^{15}\text{N}$ 値は減少した ($p < 0.05$) (Fig. 7)。この $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の変化から、中心静脈栄養製剤による栄養管理期間を推定することができる。しかし、一部の患者は中心静脈栄養製剤による栄養管理から経腸栄養剤による栄養管理へと切り替えが行われた。この場合、中心静脈栄養製剤の影響による高い $\delta^{13}\text{C}$ 値と低い $\delta^{15}\text{N}$ 値が予想される。 $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を用いて経腸栄養剤による栄養管理を受けている患者の栄養評価をする際に、患者が以前に中心静脈栄養製剤による栄養管理を受けていたかどうかを確認する必要がある。

第2章に示したように、経腸栄養剤患者のうち、高栄養患者の頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と

$\delta^{15}\text{N}$ 値は対照群（健常者）の分布域内に分布し、低栄養患者は対照群の左上に分布した。この左上の分布は、飢餓状態や拒食症など窒素バランスが負の状態で見られる現象である。一方、中心静脈栄養剤患者は対照群の右下へ分布した。この分布の違いは、中心静脈栄養剤で栄養管理を受けていた患者はすべて必要なエネルギーを投与されていたが、経腸栄養剤患者の R/P 比は 0.49 - 1.46 で摂取したエネルギー量に差があったことや、第 1 章に示したように、経腸栄養剤と中心静脈栄養剤の組成の違いによると考えられる。

哺乳動物の毛皮や筋肉における $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の生物学的半減期は約 80 日で、血漿および肝臓では、20 日未満であると報告されている。⁴⁹⁾ この報告から、2 年間中心静脈栄養剤で栄養管理を受けた患者（患者番号 31）の頭髪中の C（炭素）と N（窒素）のほとんどは、栄養剤中の C と N と置換し平衡に達していると考えられる。また、6 ヶ月間の投与を受けた患者（患者番号 30）の場合でも、かなりの置換が行われていると考えられる。このことを明らかにするためには、特定の頭部から、また頭皮からの長さを一定にした頭髪採取を行う必要がある。

総括

以下に本研究で得られた研究結果をまとめる.

1. 経腸栄養剤と静脈栄養製剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定した. 経腸栄養剤および静脈栄養製剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値は, 含有する窒素源の $\delta^{15}\text{N}$ 値を反映していた. 多くの経腸栄養剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値は -18% 以下であることから, 含有する炭水化物は C3 植物を原料として製造されたと推定される. 静脈栄養製剤のアミノ酸分包液の $\delta^{13}\text{C}$ 値は -15.7% から -19.3% の範囲であることから, 含有するアミノ酸は C3 植物と C4 植物の両方を原料として製造されたと推定される. 静脈栄養製剤の $\delta^{13}\text{C}$ 値は高いことから, 含有する炭水化物は C4 植物を原料として製造されたと推定される.
2. 経腸栄養剤の投与を受けた患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を測定した. 低栄養患者 (20 kcal/kg/day 未満) の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は健常者 (対照者) と比べて $\delta^{13}\text{C}$ 値は低く, $\delta^{15}\text{N}$ 値は高かった. この健常者 (95 % 確率楕円) の左上への分布は飢餓状態や拒食症で認められ, 負の窒素バランスを示唆している. 一方, 20 kcal/kg/day 以上のエネルギーを摂取していた患者の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値は健常者の 95 % 信頼楕円内に分布した. 以上の結果から, 患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値からエネルギー摂取量の推定が可能と考えられる.
3. 経腸栄養剤の投与を受けた患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値と摂取したエネルギー量および各栄養素量 (炭水化物, タンパク質および脂質), ならびに各栄養指標との相関を検討した. $\delta^{13}\text{C}$ 値とエネルギー摂取量および各栄養素摂取量との間に有意な正の相関が認められ, $\delta^{15}\text{N}$ 値とこれらとの間に有意な負の相関が認められた. 一方, BMI とエネルギー摂取量, 炭水化物摂取量およびタンパク質摂取量との間には予想に反して有意な負の相関が認められた. 血清アルブミン値と脂質摂取量との間に有意な正の相関が認められ, GNRI と各栄養素量との間には相関は認められなかった. これらの結果から患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を用いた栄養評

価は、BMI と血清アルブミン値を用いた従来の栄養評価や GNRI による栄養評価より優れていると考えられる。

4. 経腸栄養剤から頭髪への $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加を検討した。経腸栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値から頭髪への $\delta^{15}\text{N}$ 値の増加は、経腸栄養剤の $\delta^{15}\text{N}$ 値が低いほど大きく、エネルギー摂取量が少ないほど大きかった。 $\delta^{13}\text{C}$ 値の増加も $\delta^{13}\text{C}$ 値が低い経腸栄養剤ほど大きかった。ヒトは多種多様な食事を摂取するため、食事成分から頭髪への $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値の増減について、これまで精度の高い研究結果は報告されていない。本研究は、栄養成分の詳細が既知である経腸栄養剤を用いているため、これらはヒトを対象とした初めての詳細で精度の高い研究成果である。

5. 中心静脈栄養剤で長期間栄養管理を受けていた患者頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ 値は極めて低く、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は極めて高かった。これは中心静脈栄養剤に含まれているアミノ酸とブドウ糖の多くが、C4 植物由来であることが原因と思われる。さらに、中心静脈栄養剤のみで栄養管理を受けた患者頭髪中の $\delta^{15}\text{N}$ 値は栄養管理を受けていた期間と有意な負の相関が認められ、 $\delta^{13}\text{C}$ 値は栄養管理期間と有意な正の相関が認められた。以上の結果から、患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値から中心静脈栄養剤による栄養管理期間の推定が可能と考えられる。

本研究は、経腸栄養剤の投与を受けた患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値の分析から、患者の栄養状態を評価できる可能性を示した。さらに、中心静脈栄養剤の投与を受けた患者頭髪中の $\delta^{13}\text{C}$ 値および $\delta^{15}\text{N}$ 値の分析から、投与期間を推定できることを明らかにした。本研究で得られた結果をさらに発展させるため、著者は経腸栄養剤の投与を受けた患者頭髪を加水分解し、得られた数種類のアミノ酸の $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値から、栄養状態を推定する研究に参加している。⁵⁰⁾ 今後、さらに研究を行い、 $\delta^{13}\text{C}$ 値と $\delta^{15}\text{N}$ 値を用いた栄養状態の評価方法を確立し、さらに疾病の診断や治療効果の判定など、医療への応用を目指していきたいと考えている。

謝辞

稿を終えるにあたり、本研究に際して終始御懇篤なご指導ならびに御鞭撻を賜りました北海道医療大学大学院薬学研究科 基盤薬学系 遠藤 哲也准教授に心から感謝いたします。

また、本研究を遂行するにあたり、終始丁寧なご指導ならびに御鞭撻を賜りました北海道医療大学薬学部 実務薬学講座病院薬学 木村 治講師に深く感謝いたします。

さらに、本論文の主査としてご審査賜り、また発表の際の座長として御助言を賜り、ご指導を頂きました北海道医療大学大学院薬学研究科 臨床薬学系 平野 剛教授に厚く感謝申し上げます。

加えて、本論文の副査としてご審査賜り、終始御教授を頂きました北海道医療大学大学院薬学研究科 臨床薬学系 青木 隆教授並びに北海道医療大学大学院薬学研究科 基盤薬学系 北浦 廣剛准教授に深く感謝申し上げます。

平成 30 年 9 月

早坂 敬明

引用文献

- 1) 中島憲一郎, 乱用薬物の毛髪分析. *分析化学*, **57**, 783-799 (2008).
- 2) Petzke KJ., Fuller BT., Metges CC., Advances in natural stable isotope ratio analysis of human hair to determine nutritional and metabolic status. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **13**, 532-540 (2010).
- 3) Li Y., Yang L., Wang W., Li H., Lv J., Zou X., Trace element concentrations in hair of healthy Chinese centenarians. *Sci. Total Environ.*, **409**, 1385-1390 (2011).
- 4) JECFA, 2003, Summary and Conclusions of the 61st Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives (JECFA), JECFA/61/SC, Rome, Italy.
- 5) O'Connell TC., Hedges REM., Healey MA., Simpson AHRW., Isotopic comparison of hair, nail and bone: modern analyses. *J. Archaeol. Sci.*, **28**, 1247-1255 (2001).
- 6) Buchardt B., Bunch V., Helin P., Fingernails and diet: Stable isotope signatures of a marine hunting community from modern Uummannaq, North Greenland. *Chem. Geol.*, **244**, 316-329 (2007).
- 7) Patel PS., Cooper AJM., O'Connell TC., Kuhnle GGC., Kneale CK., Mulligan AM., Luben RN., Brage S., Khaw KT., Wareham NJ., Forouhi NG., Serum carbon and nitrogen stable isotopes as potential biomarkers of dietary intake and their relation with incident type 2 diabetes: the EPIC-Norfolk study. *Am. J. Clin. Nutr.*, **100**, 708-718 (2014).
- 8) O'Brien DM., Stable isotope ratios as biomarkers of diet for health research. *Annu. Rev. Nutr.*, **35**, 565-594 (2015).
- 9) Fuller BT., Fuller JL., Sage NE., Harris DA., O'Connell TC., Hedges REM., Nitrogen balance and $\delta^{15}\text{N}$: why you're not what you eat during pregnancy. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**, 2889-2896 (2004).
- 10) Fuller BT., Fuller JL., Sage NE., Harris DA., O'Connell TC., Hedges REM., Nitrogen balance and $\delta^{15}\text{N}$: why you're not what you eat during nutritional stress. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **19**, 2497-2506 (2005).

- 11) Mekota AM., Grupe G., Ufer S., Cuntz U., Identifying starvation episodes using stable isotopes in hair. *Rechtsmedizin*, **19**, 431-440 (2009).
- 12) Kelly JF., Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can. J. Zool.*, **78**, 1-27 (2000).
- 13) Tokui N., Minari Y., Kusunoki K., Yoshimura T., Yamamoto T., Minagawa M., Evaluation of dietary intake using carbon and nitrogen isotope analysis of human hair of Chinese living in southern part of China. *J. UOEH*, **22**, 219-228 (2000).
- 14) Endo T., Hayasaka M., Ogasawra 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*, **10**, e0128149 (2015).
- 15) Endo T., Hayasaka M., Hisamichi Y., Kimura O., Haraguchi K., 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 (2013).
- 16) Thompson AH., Chesson LA., Podlesak DW., Bowen GJ., Cerling TE., Ehleringer JR., Stable isotope analysis of modern human hair collected from Asia (China, India, Mongolia, and Pakistan). *Am. J. Phys. Anthropol.*, **141**, 440-451 (2010).
- 17) Nardoto GB., Silva S., Kendall C., Ehleringer JR., Chesson LA., Ferraz ESB., Moreira MZ., Ometto JPHB., Martinelli LA., Geographical patterns of human diet derived from stable-isotope analysis of fingernails. *Am. J. Phys. Anthropol.*, **131**, 137-146 (2006).
- 18) Caut S., Angulo E., Courchamp F., Discrimination factors ($\Delta^{15}\text{N}$ and $\Delta^{13}\text{C}$) in an omnivorous consumer: effect of diet isotopic ratio. *Funct. Ecol.*, **22**, 255-263 (2008).
- 19) Yoshinaga J., Minagawa M., Suzuki T., Ohtsuka R., Kawabe T., Inaoka T., Akimichi T., Stable carbon and nitrogen isotopic composition of diet and hair of Gidra-speaking Papuans. *Am. J. Phys. Anthropol.*, **100**, 23-34 (1996).

- 20) Martin CM., Doig GS., Heyland DK., Morrison T., Sibbald WJ., Multicentre, cluster-randomized clinical trial of algorithms for critical-care enteral and parenteral therapy (ACCEPT). *CMAJ.*, **170**, 197-204 (2004).
- 21) Reilly JJ., Hull SF., Albert N., Waller A., Bringardener S., Economic impact of malnutrition: a model system for hospitalized patients. *J. Parenter. Enteral Nutr.*, **12**, 371-376 (1988).
- 22) 日本静脈経腸栄養学会, “静脈経腸栄養ガイドライン,” 第3版, 株式会社照林社, 東京, 2013, pp. 385-392.
- 23) 大荷満生, 高齢者の栄養評価. *静脈経腸栄養*, **22**, 439-445 (2007).
- 24) 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髪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).
- 25) Hayasaka M., Ogasawara H., Hotta Y., Tsukagoshi K., Kimura O., Kura T., Tarumi T., Muramatsu H., Endo T., Nutritional assessment using stable isotope ratios of carbon and nitrogen in the scalp hair of geriatric patients who received enteral and parenteral nutrition formulas. *Clin. Nutr.*, **36**, 1661-1668 (2017).
- 26) 佐々木雅也, 経腸栄養剤の種類と特徴～病態別経腸栄養剤の種類と特徴～. *静脈経腸栄養*, **27**, 637-642 (2012).
- 27) August D., Teitelbaum D., Albina J., Bothe A., Guenter P., Heitkemper M., Jones CI., Mirtallo JM., Seidner D., Winkler M., Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. *J. Parenter. Enteral Nutr.*, **26**, 1SA-138SA (2002).
- 28) 井上善文, 静脈栄養用輸液バッグがダブルバッグになっているのはメイラード反応予防のため. *臨床栄養*, **129**, 102-106 (2016).
- 29) 味の素株式会社, “アミノ酸ハンドブック,” 株式会社工業調査会, 東京, 2003, pp. 98-113.

- 30) Endo T., Kimura O., Ohta C., Koga N., Kato Y., Fujii Y., Haraguchi K., Metal concentrations in the liver and stable isotope ratios of carbon and nitrogen in the muscle of silvertip shark (*Carcharhinus albimarginatus*) culled off Ishigaki Island, Japan: changes with growth. *PLOS One*, **11**, e0147797 (2016).
- 31) Minagawa M., Reconstruction of human diet from $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ in contemporary Japanese hair: stochastic method for estimating multi-source contribution by double isotopic tracers. *Appl. Geochem.*, **7**, 145-158 (1992).
- 32) Kusaka S., Ishimaru E., Hyodo F., Gakuhari T., Yoneda M., Yumoto T., Tayasu I., Homogeneous diet of contemporary Japanese inferred from stable isotope ratios of hair. *Sci. Rep.*, **6**, 33122 (2016).
- 33) Jahren AH., Saudek C., Yeung EH., Kao WHL., Kraft RA., Caballero B., An isotopic method for quantifying sweeteners derived from corn and sugar cane. *Am. J. Clin. Nutr.*, **84**, 1380-1384 (2006).
- 34) 会田薫子, 胃ろうの適応と臨床倫理 一人ひとりの最善を探る意思決定のために. *日老医誌*, **49**, 130-139 (2012).
- 35) 土師誠二, 大柳治正, 高齢者の静脈栄養管理. *静脈経腸栄養*, **19**, 447-454 (2007).
- 36) Bouillanne O., Morineau G., Dupont C., Coulombel I., Vincent JP., Nicolis I., Benazeth S., Cynober L., Aussel C., Geriatric nutritional risk index: a new index for evaluating at-risk elderly medical patients. *Am. J. Clin. Nutr.*, **82**, 777-783 (2005).
- 37) Yamada K., Furuya R., Takita T., Maruyama Y., Yamaguchi Y., Ohkawa S., Kumagai H., Simplified nutritional screening tools for patients on maintenance hemodialysis. *Am. J. Clin. Nutr.*, **87**, 106-113 (2008).
- 38) Kinugasa Y., Kato M., Sugihara S., Hirai M., Yamada K., Yanagihara K., Yamamoto K., Geriatric nutritional risk index predicts functional dependency and mortality in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Circ. J.*, **77**, 705-711 (2013).
- 39) Harris JA., Benedict FG., A biometric study of human metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **4**, 370-373 (1918).

- 40) 足立香代子, “検査値に基づいた栄養指導－生活習慣病への取り組み－,” 株式会社チーム医療, 東京, 1999, pp. 233-241.
- 41) 菱田明, 佐々木敏, “日本人の食事摂取基準(2015 年版),” 第一出版株式会社, 東京, 2014, pp. 45-87.
- 42) Reeds D., Bradenhan JBP., “Nutrition in Support, In The Washington Manual of Medical Therapeutics,” 34th edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2005, pp. 46-75.
- 43) Ogasawara H., Hayasaka M., Maemoto A., Furukawa S., Ito T., Kimura O., Endo T., Stable isotope ratios of carbon, nitrogen and selenium concentration in the scalp hair of Crohn's disease patients who ingested the elemental diet Elental[®]. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **33**, 41-48 (2019).
- 44) Dudrick SJ., Wilmore DW., Vars HM., Rhoads JE., Long-term total parenteral nutrition with growth, development, and positive nitrogen balance. *Surgery*, **64**, 134-142 (1968).
- 45) Arends J., Bachmann P., Baracos V., Barthelemy N., Bertz H., Bozzetti F., Fearon K., Hütterer E., Isenring E., Kaasa S., Krznaric Z., Laird B., Larsson M., Laviano A., Mühlebach S., Muscaritoli M., Oldervoll L., Ravasco P., Solheim T., Strasser F., de van der Schueren M., Preiser JC., ESPEN guidelines on nutrition in cancer patients. *Clin. Nutr.*, **36**, 11-48 (2017).
- 46) Forbes A., Escher J., Hébuterne X., Kłęk S., Krznaric Z., Schneider S., Shamir R., Stardelova K., Wierdsma N., Wiskin AE., Bischoff SC., ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease. *Clin. Nutr.*, **36**, 321-347 (2017).
- 47) 鍋島俊隆, 杉浦伸一, 東海林徹, 中尾誠, 谷村学, 橋田亨, 中西弘和, 加藤勝義, 高カロリー輸液の調製に関するガイドラインの策定. *日病薬誌*, **40**, 1029-1037 (2004).
- 48) 日本静脈経腸栄養学会, “日本静脈経腸栄養学会 静脈経腸栄養ハンドブック,” 株式会社南江堂, 東京, 2011, pp. 146-152.
- 49) Boecklen WJ., Yarnes CT., Cook BA., James AC., On the use of stable isotopes in trophic ecology. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, **42**, 411-440 (2011).

- 50) Endo T., Ogasawara H., Hayasaka M., Hotta Y., Kimura O., Petzke KJ., Correlations between mercury concentration, and stable isotope ratios of carbon and nitrogen of amino acids in scalp hair from whale meat eaters and heavy fish eaters. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **31**, 745-752 (2017).