

長期完全中心静脈栄養患者の多形核白血球機能

細川 優¹⁾・佐藤 郁雄¹⁾・川井 三郎²⁾・吉原 富子³⁾
鈴木 和男⁴⁾・東條 仁美¹⁾・新関 嗣郎¹⁾・山口 賢次³⁾
(¹⁾国立健康・栄養研究所*, (²⁾国立病院医療センター**
³⁾東京家政大学***, (⁴⁾国立予防衛生研究所****)

Polymorphonuclear Leukocytes Function in a Patient Receiving Long-Term Total Parenteral Nutrition

Yu HOSOKAWA¹⁾, Ikuo SATO¹⁾, Saburo KAWAI²⁾, Tomiko YOSHIHARA³⁾,
Kazuo SUZUKI⁴⁾, Hitomi TOJO¹⁾, Siro NIIZEKI¹⁾ and Kenji YAMAGUCHI³⁾

¹⁾The National Institute of Health and Nutrition, ²⁾National Medical Center Hospital,

³⁾Tokyo Kasei University and ⁴⁾National Institute of Health

A patient with short bowel syndrome maintained on total parenteral nutrition (TPN) was administered copper sulfate (300 μ g/day) from 18 to 22 months after TPN. The effect of copper administration on polymorphonuclear leukocytes (PMN) function was studied. The plasma copper level was remarkably low, and the symptom of copper deficiency such as leukocytopenia or anemia was found before copper administration. The plasma copper concentrations were immediately increased after copper administration. The numbers of WBC and RBC, and the concentrations of Hb were also increased. Release of myeloperoxidase, which plays an important role in the microbicidal activity of PMN, was gradually increased after copper administration. Total activities of β -glucuronidase were also increased. While, no significant change was observed in superoxide anion production and chemotaxis of PMN.

白血球による異物代謝は、生体にとって最も重要な感染防御機構の一つである。金属は、白血球の異物代謝能に影響を与える栄養因子である。鉄¹⁾、セレン²⁾あるいは亜鉛³⁾の欠乏で食育や殺菌能が低下する他、銅の欠乏では、白血球数⁴⁾と殺菌能⁵⁾の低下が認められている。一方、長期中心静脈栄養患者

*所在地：東京都新宿区戸山1-23-1

**所在地：東京都新宿区戸山1-21-1

***所在地：東京都板橋区加賀1-18-1

****所在地：東京都品川区上大崎2-10-35

では、中心静脈栄養の経過にもなって血中のセレンや銅濃度が低下することが報告されており⁶⁾、白血球機能が影響を受けている可能性が考えられる。本研究では、完全中心静脈栄養で長期間栄養補給を行っている短腸症候群患者の輸液中に銅を添加し、白血球機能の変化を検討した。

実験方法

1) 対象

患者は上腸間膜動脈塞栓症による小腸広汎壊死のため、小腸、空腸、右半結腸切除を行い、空腸瘻をもうけたために栄養素の吸収が不可能となり、手術後から完全中心静脈栄養を行っている65才の男性短腸症候群患者である。

2) 多形核白血球の分離

ヘパリン加末梢血からリンホブレップを用いる遠沈法と1.5%デキストラン溶液を用いる沈降法で多形核白血球を分離、精製した⁷⁾。

3) ライソゾーム酵素の細胞外放出

サイトカラシン B の存在下、fMet-Leu-Phe (FMLP) を刺激剤として、37°C、10分間ライソゾーム酵素を放出させた。ライソゾーム酵素としては β -グルクロニダーゼとミエロペルオキシダーゼ⁸⁾の細胞外への放出活性と総活性を測定し、放出率 ([放出活性/総活性]×100) を求めた。

4) スーパーオキシドアニオンの生成

サイトカラシン B の存在下、 10^{-6} M の FMLP を刺激剤として、フェリチンクロム C の還元を利用した比色法⁹⁾で測定した。

5) 遊走能

FMLP を遊走因子とし、Boyden 法¹⁰⁾を用いて、95%空気、5%炭酸ガスの気相下で、45分間遊走させ測定した。

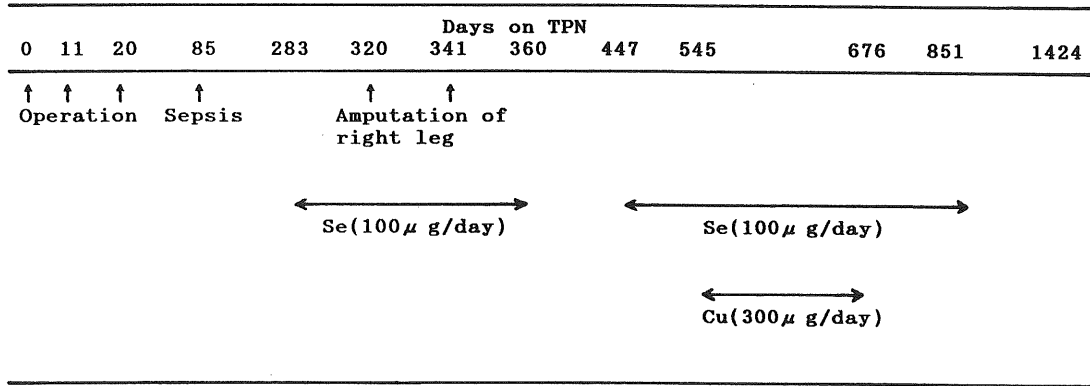
結果と考察

本患者の臨床経過を Fig. 1 に示した。小腸広汎切除、空腸切除、右半結腸切除の3回の手術を施行し、空腸の残存部を空腸瘻にしたために手術施行日から完全中心静脈栄養 (TPN) を行い現在に至っている。輸液中への微量金属の添加は、血中濃度の低下が認められたセレンと銅について行った。セレンは、TPN 開始後283日目から1ヵ月半と447日目から7ヵ月間、100 μ g/day の亜セレン酸ソーダを添加した。銅は545日目から300 μ g/day の硫酸銅を4ヵ月間添加した。

Table 1 には、銅投与による血漿銅濃度と血液性状の変化を示した。血漿銅濃度は、正常人では1.0-1.5 μ g/ml 程度である。これに比べて TPN 開始後1年半を経過した銅添加前には、正常人の約15%程度に低下していた。しかし、添加後は直ちに上昇し、4週間後には正常人のレベルに回復した。一方血液性状は銅添加前には、銅欠乏時に認められる白血球の減少と貧血症状が、本患者においても見られた。銅を添加すると、白血球数は4日目から上昇し、11日目にはプラトーに達し回復が見られた。なお、銅添加50-60日目にかけて、一時的な白血球数の増加が見られたが、これは銅添加の影響ではなく感染

Table 1. Hematological profile and plasma Cu concentrations

Days after Cu infusion	RBC ($\times 10^4 / \text{mm}^3$)	Hb (g/dl)	Ht (%)	WBC ($\times 10^3 / \text{mm}^3$)	Cu ($\mu\text{g} / \text{ml}$)
Before	230	8.1	24.2	3.4	0.18
4	232	8.4	25.5	4.5	
11	284	10.2	31.2	5.2	0.42
39	329	12.0	34.7	5.4	0.89
46	319	11.4	33.6	6.6	0.72
53	324	11.6	34.0	11.5	1.02
60	322	11.4	33.8	8.2	0.89
81	341	12.3	35.1	4.9	1.08
109	357	12.7	36.9	5.5	1.00

**Fig. 1.** Clinical course of the patient.

により白血球が動員されたためと考えられる。又、銅の添加11日目から RBC, Hb, Ht 値が上昇し、貧血症の改善も認められた。

次に白血球機能を検討した。まず始めに FMLP を刺激剤としたライソゾーム酵素の細胞外放出を検討した。Fig. 2 に見られるように、ミエロペルオキシダーゼ (MPO) の放出率は、銅添加2週後には変化が見られなかったが、4週目から添加期間中徐々に上昇した。 β -グルクロニダーゼ (β -GL) では、期間中の変化が大きく明らかな傾向は認められなかった。一方ライソゾーム酵素の総活性は、Fig. 3 に見られるように MPO の場合には、白血球数が増加した添加60日目頃に一時的な上昇が見られたが、その後低下した。 β -GL 活性も、50-60日目にかけて上昇し、その後低下したが添加前より高値を維持した。

次に、FMLP を刺激剤としてスーパーオキシドアニオン (O_2^-) の生成を検討した。Fig. 4 に見られるように、 O_2^- の生成は白血球数の増加が見られた添加53日目にかけて急激に上昇した。しかし、60日目には再び低下し添加前のレベルに戻っており、この一時的な上昇は銅添加によるものではないと考

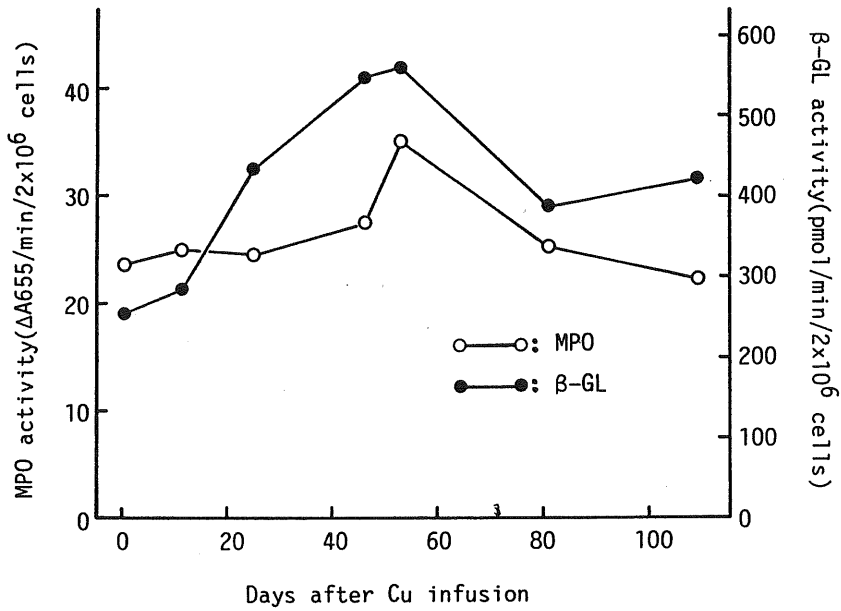


Fig. 2. Extracellular release of lysosomal enzymes from PMN. PMN were stimulated with 10^{-6} M fMet-Leu-Phe in the presence of $5 \cdot \mu\text{g}/\text{ml}$ cytochalasin B.

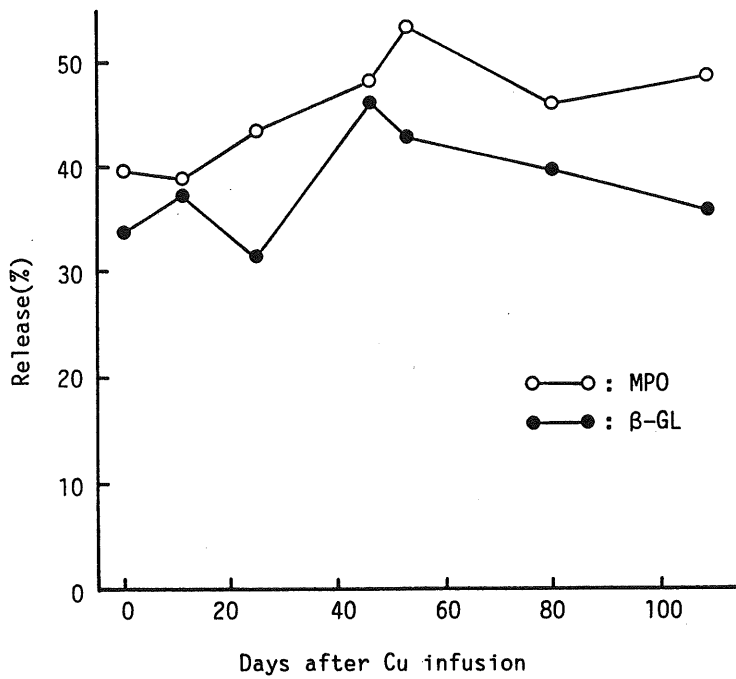


Fig. 3. Total activities of lysosomal enzymes.

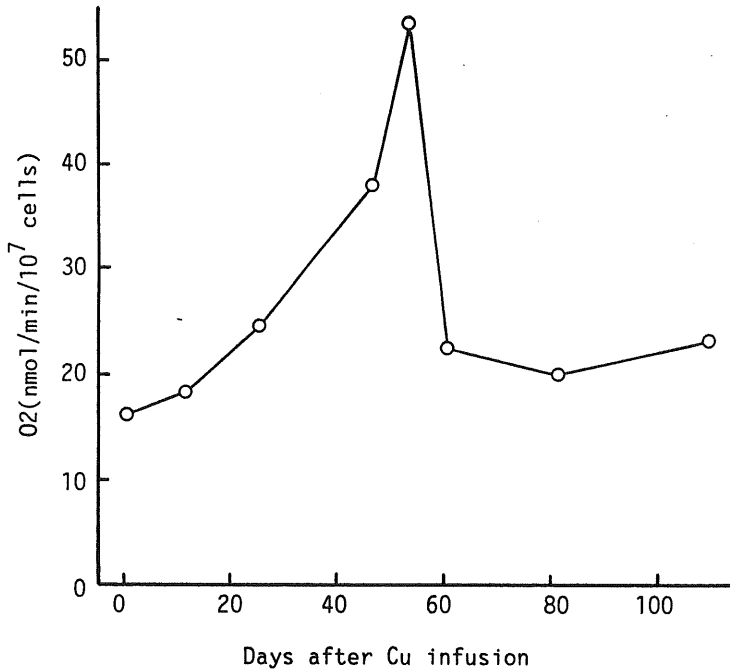


Fig. 4. Superoxide anion production in PMN. PMN were stimulated with 10^{-6} M fMe-Leu-Phe in the presence of $5 \mu\text{g/ml}$ cytochalasin B.

えられる。一方、白血球の運動機能は、非刺激時の随意運動能、およびFMLPに対する遊走能とも銅添加期間中に変化は見られなかった。

銅欠乏では、白血球数の低下とともに殺菌能が低下することが牛を用いた実験で認められており⁵⁾、その原因として活性酸素の生成低下が推定されている。しかし今回、FMLP刺激のスーパーオキシドアニオンの生成には変化がなかったが、MPOの放出率が銅添加後上昇する傾向が認められた。MPOは、活性酸素の代謝と関連し、殺菌に重要な役割を有しており、銅欠乏時の殺菌能の低下の一因となっている可能性が考えられる。

文 献

1. CHANDRA, R. K. and A. K. SARAYA (1975) *J. Pediat.* 86 : 899-904
2. SERFASS, R. E. and H. E. GANTHER (1975) *Nature* 255 : 640-646
3. WESTON, W. L., J. C. HUFF and J. R. HUMBERT (1977) *Arch. Dermatol.* 113 : 422-425
4. UNDERWOOD, E. J. (1977) in *Trace elements in human and animal nutrition*, 4th ed., Academic Press, New York and London. : pp. 196-276
5. BOYNE, R. and J. R. ARTHUR (1981) *J. Comp. Path.* 91 : 271-276
6. SATO, I., Y. HOSOKAWA, A. MURAOKA, S. NIIZEKI, H. TOJO, T. YOSHIHARA, K. HASEGAWA and

- K. YAMAGUCHI (1988) Trace Nutr. Res. 4 : 103-107
7. BOYUM, A. (1968) Scand. J. Clin. Lab. Invest. 21 : 77-89
 8. SASAGAWA, S., K. SUZUKI, T. SAKATANI and T. FUJIKURA (1985) J. Leukocyte Biol. 37 : 493-502
 9. KITAGAWA, S. and F. TAKAKU (1981) FEBS Lett. 128 : 5-11
 10. CATE, K. L., C. E. RAY and P. G. QUIE (1977) in Leukocyte Chemotaxis, Raven Press. New York : pp.67