

Zn, Cu摂取量および組織含有量の創傷治癒 に及ぼす影響に関する実験的研究

津 久 井 敏 郎

信州大学医学部第1外科学教室

(指導: 林 四郎教授)

Experimental Studies on Zinc and Copper Intake and Contents in Various Tissues and Wound Healing

Toshiro TSUKUI

Department of Surgery, Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof. Shiro HAYASHI)

The role of trace elements, such as zinc and copper, in the process of wound healing was investigated in groups of Wistar rats, fed with conventional rat diet that included varying amounts of zinc from 0.5ppm to 450 ppm. The concentrations of zinc and copper in serum, and various tissues including skin, rectus abdominal muscle, stomach wall, and liver were measured by atomic absorption spectrophotometry. The samples were obtained at particular hours of the day to allow for diurnal variation. In experiments where rats were fed for 8 weeks with various kinds of rat diet, the low zinc content group showed a lower increase in body weight, poor nutritional status, and also a lower level of serum zinc.

Although the concentration of zinc in the skin tissue was significantly reduced compared with the pre-value in the group fed with the low-zinc diet, it was really higher than in the group with the control rat diet.

In each group fed with various kinds of diet, no evident increase in the tissue concentration of zinc was seen during the post-operation period of two weeks after laparotomy and gastrostomy, although the tissue concentration of copper either in the skin or in rectus abdominal muscle was elevated in each group.

Further investigations concerning more appropriate methods of measurement and histological findings about the trace elements would be necessary to obtain more precise information as to the role of zinc or copper in the process of wound healing. *Shinshu Med. J.*, 36: 351-367, 1988

(Received for publication November 13, 1987)

Key words: Zn, Cu, diurnal variation, wound healing

日内変動, 組織 Zn, Cu 含有量, 創傷治癒

I 緒 言

生物の成長にとって Zn, Cu など微量元素が必要であることは 100 年以上も前に指摘されたが、測定法の煩雑さ、測定値の信頼度等の問題があったため、臨床にはあまり関心が寄せられなかった。また、Zn や Cu などの欠乏症は風土病または特殊な状態でしか発現しないと考えられていた。1960 年代から高カロリー輸液法が開発、普及され、長期間高カロリー輸液を必要とする患者数が増加するに従い、ビタミン類などとともに微量元素の補給量についても考慮しなければならなくなった。また、微量元素の測定に原子吸光分光分析法が用いられ、比較的容易に、しかも正確に測定できるようになったことも関連して、長期間高カロリー輸液法実施患者だけでなく、手術前後の血清 Zn, Cu 濃度の変動、各種病態下の血清 Zn, Cu 濃度について検討が加えられてきた¹⁾⁻⁵⁾。外科領域で、より詳細な解明が求められている創傷治癒過程にとって、Zn, Cu が促進因子として重要な役割を演じていることを主張する者⁶⁾⁻¹⁵⁾がある一方、Zn, Cu が創傷治癒過程には関与していない。むしろ抑制的に作用しているという報告¹⁶⁾⁻¹⁷⁾もあり、検討の余地がある。本研究においては食物中の Zn, Cu 含有量が創傷治癒過程に与える影響を検討するために、Zn 含有量を異にする飼料で長期間飼育したラットを用い、血清および創部の組織 Zn, Cu 含有量を測定した。また、食餌中の Zn, Cu 含有量がラットの成長、発育、さらに創傷治癒に及ぼす影響についても検討した。

II 実験対象および方法

A 実験対象

体重 160~200 g, 7 週齢の Wistar 系雄性ラットを使用した。

B 試料採取

血清、胃、皮膚、腹直筋、肝の Zn, Cu 含有量の日内変動を知るために、ラット用普通固形飼料（日本クレア製 CE-2 : Zn 62ppm, Cu 11ppm 含有）で 7 日間飼育し、8 日目に飼料を自由に摂取させた条件下で午前 7 時、12 時、午後 5 時、10 時のそれぞれの時点で採血、屠殺し、各試料を採取した。

つぎに、飼料投与中断後、試料採取までの経過時間が血清および組織 Zn, Cu 含有量に与える影響を調べるため、午前 12 時まで普通固形飼料を自由に摂取させ、それ以後、給水および飼料投与を中断し、絶飲食直後

と、10 時間目にあたる午後 10 時、20 時間目にあたる翌日午前 8 時にラットを屠殺し、前記と同様の試料を採取した。

飼料中 Zn 含有による影響をみるため、以下の 3 群のラットを用いた。すなわち、普通飼料による飼育群（以下対照飼料群と略す）、低 Zn 低 Cu 飼料による飼育群（以下低 Zn 飼料群と略す）、高 Zn 飼料による飼育群（以下高 Zn 飼料群と略す）の 3 実験群を用いた。対照飼料群は日本クレア製ラット飼料 CE-2 (Zn : 62ppm, Cu : 11ppm 含有) と水道水 (Zn : 0.1-1ppm, Cu : 1-2ppm 含有) で、低 Zn 飼料群は粉末低 Zn 飼料 (Zn : 0.5ppm, Cu : 3.5ppm 含有) と再蒸溜水 (Zn, Cu : 検出限界以下) で、高 Zn 飼料群は粉末高 Zn 飼料 (Zn : 450ppm, Cu : 11ppm 含有) と水道水で 8 週間飼育した (表 1)。その間のラットの成育状況および各群における飼料摂取量と体重を測定した。8 週間の飼育期間終了後 24 時間絶飲食にさせ、体重、血清総蛋白とアルブミン濃度、血清および各組織（皮膚、腹直筋、胃壁、肝）の Zn, Cu 含有量を測定した。

実験的創作成は以下のように行った。前述した方法で 8 週間飼育した 3 実験群のラットを、pentobarbital sodium (40mg/kg) の腹腔内注射により麻酔し、無菌的操作で 2 cm 長の正中切開により開腹した。腺胃前壁に 5 mm にわたる胃切開を加えたのち、サイズ 4-0 の polyglycolic acid 糸による一層結節縫合、2 針で切開創を閉鎖した上で、腹直筋鞘、皮膚切開創をそれぞれ絹糸（編み糸）による結節縫合で閉鎖した。

開腹、胃切開創作成後も術前と同様の飼料で飼育し、手術後の 2 日、7 日、14 日に屠殺し、血清 Zn, Cu 濃度と各組織 Zn, Cu 含有量を測定した。なお、屠殺前 24 時間は給水および飼料投与を中止した。

組織 Zn, Cu 含有量測定用の試料採取にあたって、腺胃前壁の試料としては切開縫合創に接する 5 mm 幅の胃壁全層組織を、腹直筋の試料としては正中切開縫合創に接する 5 mm 幅の腹直筋組織を、皮膚縫合創の試料としては縫合創縁から 5 mm 幅の皮膚片を採取した。また、手術後の採血、組織採取のための屠殺にあたっては、24 時間給水および飼料投与を中断させた後の午後 8 時に行った。試料の採取は、それぞれのラットについて無菌的に正中切開で開腹し、下大静脈より 21 G または 22 G の注射針を使い、静脈血 1 ml をテルモ製プラスチック製試験管に採取した。そして 3,000 rpm で 10 分間遠沈後、plastic tip を用い、血

組織 Zn, Cu 含有量と創傷治癒

表 1 実験飼料成分表

	実 験 飼 料	水 分
低 Zn 飼 料 群	日本クレア製特殊実験用精製飼料 (粉末)	
	エッグアルブミン 20.0%	
	グラニュー糖 63.3	
	ピーナッツオイル 10.0	再蒸溜水
	DL-メチオニン 0.8	Zn : ND
	ビタミン混合 a) 1.2	Cu : ND
	ミネラル混合 b) 4.7	
	100.0%	
	カロリー 415cal/100 g	
	(Zn 0.5ppm Cu 3.5ppm)	
対 照 飼 料 群	日本クレア製ラット飼育繁殖用飼料 (CE-2 : 固形)	
	水分 8.7%	
	粗蛋白質 24.8	
	粗脂肪 4.4	水道水
	粗繊維 3.5	Zn : 0.1~1ppm
	粗灰分 7.0	Cu : 1~2ppm
	可溶性無窒素物 51.6	
	100.0%	
	カロリー 345cal/100 g	
	(Zn 62ppm Cu 11ppm)	
高 Zn 飼 料 群	日本クレア製薬物添加飼料	
	CE-2 (粉末) に $2\text{ZnCO}_3 \cdot 3\text{Zn}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ を添加	
	(Zn 450ppm Cu 11ppm)	

ND : 検出限界以下

a) ビタミン混合 (飼料100g中)		b) ミネラル混合 (飼料100g中)	
ビタミンA	1,200 (Iu)	CaCO ₃	944.4 (mg)
ビタミンD ₃	240 (Iu)	KH ₂ PO ₄	1,205.4 (mg)
ビタミンB ₁	1.5 (mg)	CaHPO ₄ · 2H ₂ O	1,045.2 (mg)
ビタミンB ₂	1.5 (mg)	MgSO ₄ · 7H ₂ O	557.4 (mg)
ビタミンB ₆	1.0 (mg)	NaCl	418.0 (mg)
ビタミンB ₁₂	5.0 (μg)	FeC ₆ H ₅ O ₅ · 5H ₂ O	132.4 (mg)
ビタミンE	10.0 (mg)	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.9 (mg)
ビタミンK ₃	0.20 (mg)	Ca (IO ₃) ₂	1.1 (mg)
ビオチン	0.01 (mg)	MnSO ₄ · 4H ₂ O	10.7 (mg)
D-パントテン酸カルシウム	2.0 (mg)	COCl ₂ · 6H ₂ O	0.3 (mg)
パラアミノ安息香酸	10.0 (mg)	コーンスターチ	384.2 (mg)
ナイアシン	10.0 (mg)		
イノシトール	15.0 (mg)		
葉 酸	0.20 (mg)		
塩化コリン	300 (mg)		
コーンスターチ	— (mg)		
	1,000 (mg)		4,700.0 (mg)

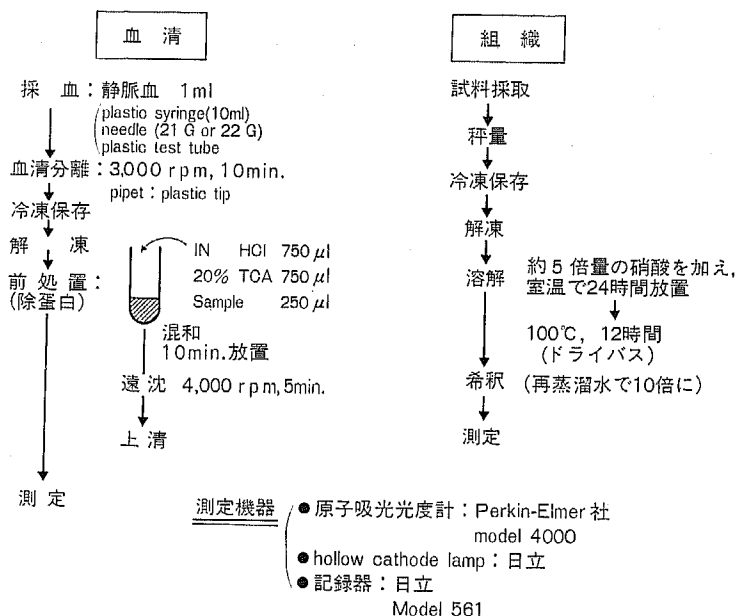


図1 原子吸光分光光度計による血清および組織 Zn, Cu 含有量の測定法

清を採取し、プラスチック製試験管内で冷凍保存した。また皮膚、腹直筋、胃壁、肝から0.3g 前後の組織を試料用に採取、秤量した後、いずれの試料も冷凍保存した。

C Zn, Cu の定量法

血清試料の Zn, Cu 測定に際しては、凍結血清を解凍し、マイクロピペットを使い、血清 250 μ l をとり、1N 塩酸 750 μ l と 20% トリクロル酢酸 (TCA) 750 μ l を加え、混和し、10分間放置した。その後、4,000rpm で5分間遠沈し、その上清について、原子吸光分光光度計を用い、Zn, Cu 濃度を測定した (図1) 18)19)。冷凍保存した組織試料の測定については野本と佐藤²⁰⁾の記載にしたがって Zn, Cu の組織内含有量を求めた。すなわち解凍後試料にその重量の約5倍量の有害金属測定用の特級硝酸を加え、24時間室温放置したのち、100°C の dry bath 中で12時間加熱し、組織を完全に溶解して透明な組織、硝酸混和液とした。冷却した後、秤量しながら再蒸溜水を加え、初めの試料重量の10倍になるように正確に希釈した。その一部を採取し、原子吸光分光光度計で Zn, Cu 濃度を測定し、希釈度を加味して組織内含有量を算出した。なお、皮膚および胃の切開縫合創組織では術後の浮腫出現により組織内の水分量が変化していることを考慮し、術後2日、7日、14日のそれぞれの時点における胃壁およ

び皮膚切開縫合創の水分含有量を求め湿重量から乾燥重量に換算した。

本実験における測定には原子吸光分光光度計は Perkin-Elmer 社 Model 4000を、hollow cathode lamp は日立製、記録器は Model 561 (日立) を使用した。Zn, Cu 測定用の標準液として和光純薬の原子吸光分析用標準液をその都度希釈して用いた。

各実験群の測定値は平均値 \pm 標準偏差で表し、各実験群間での有意差の判定は、t 検定によって行った。

III 実験成績

A 血清および組織 Zn, Cu 含有量の日内変動

1) Zn 含有量 (各群 n=5) :

普通固形飼料を自由摂取させている条件下では、血清中の Zn 濃度は、表2に示すように、午前7時で 108.9 \pm 14.1 μ g/dl, 午前12時で 114.8 \pm 17.2 μ g/dl, 午後5時で 102.9 \pm 22.4 μ g/dl, 午後10時で 79.6 \pm 10.9 μ g/dl で、夜間に低い測定値が示された。一方、皮膚組織の Zn 含有量は午前7時で 28.7 \pm 4.0 μ g/g 湿重量, 午前12時で 20.6 \pm 2.6 μ g/g 湿重量, 午後5時で 21.6 \pm 2.6 μ g/g 湿重量, 午後10時で 19.7 \pm 0.9 μ g/g 湿重量で、午前7時の測定値が最も高かった。腹直筋 Zn 含有量も午前7時には 18.7 \pm 1.0 μ g/g 湿重量で

組織 Zn, Cu 含有量と創傷治癒

表2 血清および各組織 Zn 含有量の日内変動

時 間		午前7時	午前12時	午後5時	午後10時
Zn 含有量 Mean±SD n=5	血 清 ($\mu\text{g/dl}$)	108.9±14.1	114.8±17.2	102.9±22.4	79.6±10.9
		p<0.02			
	皮 膚 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	28.7±4.0	20.6±2.6	21.6±2.6	19.7±0.9
		p<0.01			
	腹直筋 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	18.7±1.0	20.3±3.7	17.8±1.2	16.5±1.5
	胃 壁 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	24.7±1.0	24.1±1.0	23.2±1.6	22.5±0.7
		p<0.01			
	肝 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	30.9±2.5	33.6±11.2	30.2±1.8	30.2±5.0

表3 血清および各組織 Cu 含有量の日内変動

時 間		午前7時	午前12時	午後5時	午後10時
Cu 含有量 Mean±SD n=5	血 清 ($\mu\text{g/dl}$)	143.0±22.0	153.6±19.9	150.8±24.9	185.7±41.0
	皮 膚 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	1.71±0.21	1.48±0.17	1.57±0.23	1.54±0.14
	腹直筋 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	0.72±0.09	0.77±0.08	0.66±0.04	0.66±0.04
	胃 壁 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	2.70±0.20	2.51±0.30	2.80±0.21	2.63±0.20
	肝 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	4.30±0.33	4.59±0.65	5.14±0.45	4.48±0.72

表4 血清および各組織 Zn 含有量に対する飼料投与中断の影響

		絶食開始 (午前12時)	10時間後 (午後10時)	20時間後 (翌日午前8時)
Zn 含有量 Mean±SD n=5	血 清 ($\mu\text{g/dl}$)	114.8±17.2	124.3±16.9	124.1±8.4
	皮 膚 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	20.6±2.6	19.7±1.8	22.2±2.7
	腹直筋 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	20.3±3.7	16.9±1.7	13.4±3.1
	胃 壁 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	24.1±1.0	20.5±0.6	18.8±2.6
	肝 ($\mu\text{g/g}$ 湿重量)	33.6±11.2	31.1±10.2	26.4±7.6

表5 血清および各組織 Cu 含有量に対する飼料投与中断の影響

		絶食開始 (午前12時)	10時間後 (午後10時)	20時間後 (翌日午前8時)
Cu 含有量 Mean±SD n=5	血 清 ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	153.6±19.9	152.1±28.3	152.6±16.4
	皮 膚 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	1.48±0.17	1.56±0.17	1.73±0.28
	腹 直 筋 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	0.77±0.08	0.65±0.10	0.48±0.18
	胃 壁 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	2.51±0.30	2.41±0.25	2.50±0.53
	肝 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	4.59±0.65	4.58±0.94	3.90±1.02

あるのに対して午後10時では $16.5 \pm 1.5 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量、胃壁 Zn 含有量は午前7時の $24.7 \pm 1.0 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量に対して午後10時では $22.5 \pm 0.7 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量であり、腹直筋、胃壁 Zn 含有量は午後10時の測定値に比べて午前7時の測定値は明らかに高かった。しかし、肝 Zn 含有量には日内変化が認められなかった。

2) Cu 含有量 (各群n=5) :

肝 Cu 含有量については、表3に示すように、午後5時に $5.14 \pm 0.45 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量と午前7時の測定値に比べて有意な高値 ($p < 0.05$) を示したが、血清中および皮膚、腹直筋、胃壁の各組織の Cu 含有量については日内変動が認められなかった。

B 血清および組織 Zn, Cu 含有量に対する飼料投与中断の影響

1) Zn 含有量 (各群n=5) :

試料採取前日の午前12時で給水および飼料投与を中断させた場合、腹直筋の Zn 含有量は、表4に示すように、投与中断開始から20時間後には前値の $20.3 \pm 3.7 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量から $13.4 \pm 3.1 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量と前値の66% ($p < 0.01$) に、胃壁 Zn 含有量は前値の $24.1 \pm 1.0 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量から $18.8 \pm 2.6 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量と前値の78% ($p < 0.01$) に低下したが、血清および皮膚、肝の各組織の Zn 含有量は給水および飼料投与を中断してから20時間経過した時点でも有意な変化を示さなかった。

2) Cu 含有量 (各群n=5) :

腹直筋 Cu 含有量は、表5に示すように、給水および飼料投与を中断した時点で $0.77 \pm 0.08 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量10時間後には $0.65 \pm 0.10 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量に、20時間後には $0.48 \pm 0.18 \mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量となり、20時間後には有意

な低下 ($p < 0.05$) を示したが、血清や皮膚、胃壁、肝の各組織 Cu 含有量は給水および飼料投与を中断後、20時間までに有意な変化を示さなかった。

C 特殊飼料投与による影響

1) 身体的状況 :

低 Zn 飼料, 高 Zn 飼料など特殊飼料による飼育を開始後、4週間経過した時点から、低 Zn 飼料群ではやせが目立つとともに脱毛が始まり、5週目には脱毛は顕著となり、8週目にいたると皮疹、不穏状態、平行感覚障害などが認められた。それに対して対照飼料群、高 Zn 飼料群のいずれの群でもこのような異常は認められず、順調な生育を示した。

2) 体重の変化 (各群n=5) :

対照飼料群では実験開始時の体重は、図2に示すように、 $166 \pm 10 \text{g}$ で、8週後には $385 \pm 26 \text{g}$ に増加した ($p < 0.01$) のに対し、低 Zn 飼料群では実験開始時が $160 \pm 11 \text{g}$ 、8週後では $185 \pm 34 \text{g}$ であった有意な体重増加が認められなかった。高 Zn 飼料群では開始時 $165 \pm 11 \text{g}$ であり、8週後は $322 \pm 65 \text{g}$ と増加 ($p < 0.01$) した。8週間飼育後の体重を比較すると、高 Zn 飼料群は低 Zn 飼料群に比べ有意な高値 ($p < 0.01$) を示したが、対照飼料群に比較すると、有意な低値 ($p < 0.01$) を示した。

3) 飼料摂取量 :

3種類の飼料でそれぞれ8週間飼育した後、1日あたりの飼料摂取量を各群4匹の平均値で求めた。粉末飼料の場合にはこぼす量が多いので、この点に留意して経口摂取した量を正確に求めたところ、低 Zn 飼料群 15.3g 、対照飼料群 31.2g 、高 Zn 飼料群 31.2g であったが、これを、体重 100g 当たりの1日飼料摂取

組織 Zn, Cu 含有量と創傷治癒

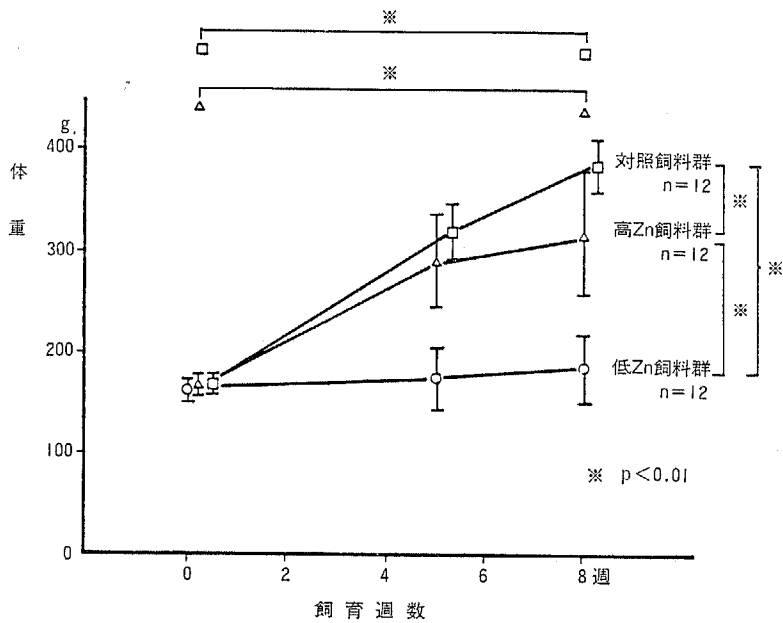


図2 各種実験飼料によるラット体重の変化

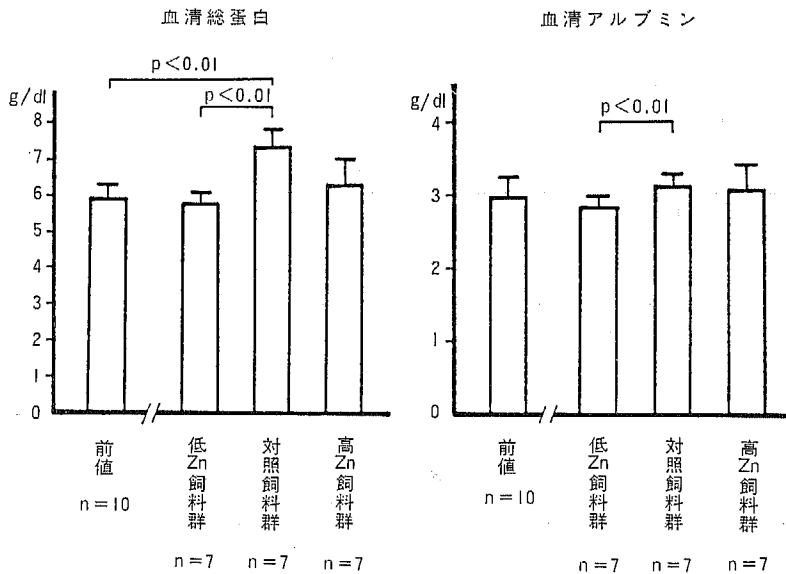


図3 実験飼料による8週間飼育後の血清総蛋白, アルブミン濃度

量で算出すると, 低 Zn 飼料群で8.3g, 対照飼料群で8.1g, 高 Zn 飼料群で9.9g となった。なお対照飼料群, 高 Zn 飼料群では飼育後, 飼料摂取が漸増するのに対し, 低 Zn 飼料群では飼料摂取量にほとんど変化が認められなかった。

4) 血清総蛋白と血清アルブミン濃度:

各種試験飼料により8週間飼育した後の血清総蛋白, アルブミン濃度の変化を求めると図3のように, 対照飼料群では血清総蛋白濃度は前値の $5.96 \pm 0.28 \text{ g/dl}$ に比べ $7.38 \pm 0.39 \text{ g/dl}$ と有意の増加 ($p < 0.01$) を示し

表6 各種実験飼料による8週間飼育後の血清および皮膚・腹直筋・胃壁・肝、
各組織 Zn 含有量の変化

(Mean±SD)

Zn含有量	前 値	8 週 間 飼 育 後		飼育前後 の有意差	各群間の 有 意 差
血 清 ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	133±12 n=10	低 Zn 飼料群 n=12 対照飼料群 n=11 高 Zn 飼料群 n=12	67±30 102±30 109±25	* * *	□ * * * * *
皮 膚 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	21.0±2.5 n=5	低 Zn 飼料群 n=4 対照飼料群 n=4 高 Zn 飼料群 n=4	13.8±0.5 10.5±1.2 12.9±1.1	* * * * * * * * *	□ * * * *
腹 直 筋 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	17.4±1.4 n=5	低 Zn 飼料群 n=9 対照飼料群 n=10 高 Zn 飼料群 n=10	20.0±1.7 15.0±1.9 17.2±3.2		□ * * * * *
胃 壁 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	21.5±2.8 n=5	低 Zn 飼料群 n=4 対照飼料群 n=4 高 Zn 飼料群 n=4	23.1±3.5 20.4±2.1 24.4±3.3		
肝 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	29.1±2.2 n=7	低 Zn 飼料群 n=12 対照飼料群 n=12 高 Zn 飼料群 n=12	26.7±3.9 28.7±5.3 33.6±3.6		□ * * * *

* 0.02<p<0.05
 ** 0.01<p<0.02
 *** p<0.01

表7 各種実験飼料による8週間飼育後の血清および皮膚・腹直筋・胃壁・肝、
各組織 Cu 含有量の変化

(Mean±SD)

Cu含有量	前 値	8 週 間 飼 育 後		飼育前後 の有意差	各群間の 有 意 差
血 清 ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	117±17 n=10	低 Zn 飼料群 n=8 対照飼料群 n=8 高 Zn 飼料群 n=8	132±23 146±13 150±20	* *	
皮 膚 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	1.58±0.19 n=5	低 Zn 飼料群 n=4 対照飼料群 n=4 高 Zn 飼料群 n=4	1.00±0.09 1.23±0.23 0.93±0.10	* * * *	
腹 直 筋 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	0.66±0.05 n=5	低 Zn 飼料群 n=10 対照飼料群 n=10 高 Zn 飼料群 n=10	0.86±0.19 0.80±0.20 0.71±0.14		
胃 壁 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	2.3±0.2 n=5	低 Zn 飼料群 n=7 対照飼料群 n=7 高 Zn 飼料群 n=7	2.5±0.7 2.2±0.0 2.1±0.3		
肝 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	4.1±0.3 n=7	低 Zn 飼料群 n=10 対照飼料群 n=10 高 Zn 飼料群 n=10	4.3±0.5 4.3±0.9 4.3±0.4		

* 0.02<p<0.05
 ** p<0.01

表8 ラット胃切開縫合手術後の血清および皮膚・腹直筋・胃壁・肝, 各組織 Zn 含有量の変化
(n=7, Mean±SD)

Zn 濃度		手術前値	手術後2日	手術後7日	手術後14日
血 清 ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	低 Zn 飼料群	67±30	68±15	78±27	86±35
	対 照 飼 料 群	102±30	89±19	120±32	95±20
	高 Zn 飼料群	109±25	126±39	130±50	119±28
腺 胃 〔前壁切開創部〕 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 乾燥重量)	低 Zn 飼料群	111±17	111±7	110±12	89±24
	対 照 飼 料 群	98±10	112±5	107±13	84±7
	高 Zn 飼料群	117±16	107±5	98±5	94±11
腺 胃 〔後 壁〕 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 乾燥重量)	低 Zn 飼料群	120±19	140±17	123±10	114±9
	対 照 飼 料 群	95±11	137±18*	108±11	96±8
	高 Zn 飼料群	114±13	150±30	113±26	111±18
腹部皮膚 〔縫合創縁〕 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 乾燥重量)	低 Zn 飼料群	67±10	61±2	70±4	75±5
	対 照 飼 料 群	59±3	65±6	60±9	68±5
	高 Zn 飼料群	65±1	68±1	69±9	70±8
腹部皮膚 〔縫合創縁より15〕 mm離れた部位〕 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 乾燥重量)	低 Zn 飼料群	67±10	68±11	73±5	68±6
	対 照 飼 料 群	59±3	59±5	64±5	61±5
	高 Zn 飼料群	65±1	64±3	69±4	72±12
腹 直 筋 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	低 Zn 飼料群	20.0±1.7	16.1±1.4***	18.8±2.5	20.5±3.9
	対 照 飼 料 群	15.0±1.9	13.5±2.1	15.5±3.0	16.3±2.9
	高 Zn 飼料群	17.2±3.2	14.7±3.6	14.8±1.7	18.2±2.8
肝 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	低 Zn 飼料群	26.7±3.9	32.0±1.9**	25.5±2.1	30.4±1.6
	対 照 飼 料 群	28.7±5.3	30.3±6.1	35.3±3.8	30.2±4.4
	高 Zn 飼料群	33.6±3.6	37.9±5.5	36.6±5.5	35.6±3.1

手術前値と比べて有意差あり

* 0.02<p<0.05

** 0.01<p<0.02

*** p<0.01

たのに対し, 低 Zn 飼料群, 高 Zn 飼料群では変化が認められなかった。しかし 8 週間飼育後の血清総蛋白濃度は, 対照飼料群の, 7.38±0.39g/dl に比べ, 低 Zn 飼料群で 5.81±0.23g/dl と明らかに低値 (p<0.01) を示した。8 週間飼育前後で血清アルブミン濃度を比較すると, 3 実験群のいずれでも差を示さないが 8 週間飼育後の値では, 低 Zn 飼料群は 2.82±0.17g/dl で, 対照飼料群の 3.15±0.15g/dl より明らかに低値 (p<0.01) を示した。

5) 血清 Zn 濃度および組織 Zn 含有量:

表6のように, 低 Zn 飼料群では 8 週間飼育後, 血清 Zn 濃度が前値の 133±12 $\mu\text{g}/\text{dl}$ から 67±30 $\mu\text{g}/\text{dl}$ に低下 (p<0.02) したが, 対照飼料群, 高 Zn 飼料群では飼育前後で血清 Zn 濃度に有意差が認められな

った。また, 各群間で比較しても, 低 Zn 飼料群における血清 Zn 濃度は, 対照飼料群, 高 Zn 飼料群の Zn 濃度に比べ有意に低い値 (p<0.02 および p<0.01) を示した。

皮膚 Zn 含有量はいずれの試験飼料群でも前値に比べ 8 週間飼育後には有意な低下 (p<0.01) が認められた。低 Zn 飼料群では対照飼料群の 10.5±1.2 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量に比べ有意 (p<0.02) に高い 13.8±0.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量という値を示した。

腹直筋 Zn 含有量はいずれの群でも前値の 17.4±1.4 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量と比べ有意な変化を示さなかった。低 Zn 飼料群においては 8 週間飼育後の腹直筋 Zn 含有量は 20.0±1.7 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量で, 対照飼料群の Zn 含有量 (15.0±1.9 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量) および高 Zn 飼料群

表9 ラット胃切開縫合手術後の血清および皮膚・腹直筋・胃壁・肝、各組織 Cu 含有量の変化
(n=7, Mean±SD)

Cu 濃 度		手 術 前 値	手術後 2 日	手術後 7 日	手術後14日
血 清 ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	低 Zn 飼料群	132±23	134±28	156±36	139±34
	対 照 飼 料 群	146±13	141±33	156±28	169±44
	高 Zn 飼料群	150±20	166±40	171±53	149±36
腺 胃 〔前壁切開創部〕 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 乾燥重量)	低 Zn 飼料群	11.8±3.5	11.2±1.0	10.5±1.2	10.0±2.5
	対 照 飼 料 群	10.7±4.8	11.9±0.5	11.3±3.4	11.0±1.3
	高 Zn 飼料群	10.0±1.6	10.3±0.5	11.9±1.3	11.6±0.9
腺 胃 〔後 壁〕 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 乾燥重量)	低 Zn 飼料群	12.1±2.3	11.4±1.1	11.5±1.2	11.8±1.6
	対 照 飼 料 群	11.4±3.5	12.5±1.4	10.7±1.3	11.3±2.9
	高 Zn 飼料群	10.3±2.7	11.9±0.9	10.3±0.8	11.6±2.0
腹 部 皮 膚 〔縫合創縁〕 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 乾燥重量)	低 Zn 飼料群	5.8±1.7	7.1±2.5	6.7±0.7	7.9±2.0
	対 照 飼 料 群	6.3±0.5	8.1±0.7**	7.3±0.6	8.9±0.6**
	高 Zn 飼料群	4.5±0.3	5.9±0.5**	6.5±0.6**	5.6±0.9
腹 部 皮 膚 〔縫合創縁より 15mm離れた部位〕 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 乾燥重量)	低 Zn 飼料群	5.8±1.7	6.0±2.4	5.4±0.6	5.6±1.0
	対 照 飼 料 群	6.3±0.5	6.2±0.9	6.7±0.9	6.5±0.6
	高 Zn 飼料群	4.5±0.3	4.3±0.4	5.6±0.4	5.0±0.8
腹 直 筋 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	低 Zn 飼料群	0.86±0.19	1.34±0.27**	1.33±0.47	1.33±0.40
	対 照 飼 料 群	0.80±0.20	2.10±1.17*	1.92±1.49	2.11±1.94
	高 Zn 飼料群	0.71±0.14	1.82±1.12	1.59±1.03	2.10±1.61
肝 ($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量)	低 Zn 飼料群	4.3±0.5	4.6±1.2	4.0±0.3	5.0±0.3
	対 照 飼 料 群	4.3±0.9	4.2±0.1	4.9±0.4	4.4±0.8
	高 Zn 飼料群	4.3±0.3	4.6±0.5	4.6±0.9	5.0±0.5

手術前値と比べて有意差あり

* 0.02<p<0.05

** p<0.01

の Zn 含有量 (17.2±3.2 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量) に比べ有意な高値 (p<0.02 および p<0.01) を示した。

しかし、胃壁 Zn 含有量はいずれの飼料群においても飼育前後に有意差がなく、8週間飼育後の各群の組織含有量についても有意差が認められなかった。

肝 Zn 含有量は各群とも飼育開始前に比べ8週間飼育後にも有意な変化が認められなかった。しかし低 Zn 飼料群の Zn 含有量 (26.7±3.9 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量) は、高 Zn 飼料群の Zn 含有量 (33.6±3.6 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量) に比べ有意な低値 (p<0.05) を示した。

6) 血清 Cu 濃度および各組織 Cu 含有量：

低 Zn 飼料群では飼料中の Cu 含有量が 3.5ppm と他の 2 飼料群よりも低いが、8週間飼育後の血清 Cu 濃度は、表 7 に示すように 132±23 $\mu\text{g}/\text{dl}$ で前値の 117±17 $\mu\text{g}/\text{dl}$ に比べ、有意差ではないが高値を示し

た。それに対し Cu 含有量が 11ppm である対照飼料群、高 Zn 飼料群のいずれも 8週間飼育後の血清 Cu 濃度は、それぞれ 146±13 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、150±20 $\mu\text{g}/\text{dl}$ と前値に比べ有意の上昇 (p<0.05) を認めた。8週間飼育後の血清 Cu 濃度には 3 群間で有意差は認められなかった。皮膚 Cu 含有量は前値の 1.58±0.19 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 湿重量に比べ8週間飼育後には、対照飼料群では明らかな低下を示さなかったが、低 Zn 飼料群では 1.00±0.09 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量、高 Zn 飼料群では 0.93±0.10 $\mu\text{g}/\text{g}$ 湿重量と有意な低下 (p<0.01) を示した。しかし、8週間飼育後の 3 群間では皮膚 Cu 含有量に有意差は認められなかった。

腹直筋、胃壁、肝の各組織 Cu 含有量は、どの飼料による飼育前後でも変化しなかった。また8週間飼育後の組織含有量にも各群間で有意差は認められなかつ

た。

D 創傷による影響

1) 各飼料群における肉眼的創傷治癒状況：

低 Zn 飼料群，高 Zn 飼料群のいずれにおいても腹壁，胃壁の切開縫合創には，哆開など治癒が障害された実験例はなかった。

2) 切開，縫合創における組織 Zn 含有量の消長 (表 8) (各群 $n=7$)

a) 血清 Zn 濃度：

開腹および腺胃前壁切開縫合創作成前後の血清 Zn 濃度は，いずれの飼料群でも有意差を示さなかった。

b) 胃壁 Zn 含有量：

胃壁切開，縫合部の創縁組織 Zn 含有量は手術前後，いずれの時点でも各群間に差がなく，術後14日の Zn 含有量はいずれの群でも多少低下していたが，有意な変化ではなかった。これに対して，切開，縫合操作による直接的な影響を受けていない腺胃後壁では対照飼料群で組織 Zn 含有量が術後2日に有意な上昇 ($p<0.05$) を示した事に注目したい。しかし，それ以外は術後いずれの時点でも各群間で組織 Zn 含有量に有意差は認められなかった。

c) 腹部皮膚切開創部の組織 Zn 含有量：

腹部皮膚切開創縁から 5 mm 幅，および創縁から 15mm 離れた 5 mm 幅の皮膚 Zn 含有量はいずれの群でも，また，術後いずれの時点でも変化を示さなかった。

d) 腹直筋 Zn 含有量：

とくに，術前腹直筋 Zn 含有量が最も高い低 Zn 飼料群では術後2日に明らかな低下 ($p<0.01$) を示したが，術後7日および14日には前値と差を示さなかった。

e) 肝 Zn 含有量：

手術前，高 Zn 飼料群に比べ肝 Zn 含有量が低値を示していた低 Zn 飼料群では術後2日に有意な上昇を示した。

3) 切開，縫合創における組織 Cu 含有量の消長 (表 9) (各群 $n=7$)

a) 血清 Cu 濃度：

手術前，血清 Cu 濃度に有意な差が認められなかった3群間では，術後にも有意な変化は認められなかった。

b) 胃壁 Cu 含有量：

手術前，腺胃前壁および後壁の組織 Cu 含有量は

いずれも3群間で差を示さず，また手術後，いずれの群でも顕著な変動はみられなかった。

c) 腹部皮膚切開創部の組織 Cu 含有量：

腹部皮膚切開創縁から 5 mm 幅の皮膚 Cu 含有量は対照飼料群と高 Zn 飼料群において変化が認められた。すなわち，対照飼料群では手術前値に比較して術後2日，14日に，高 Zn 飼料群では2日，7日に有意な上昇 ($p<0.01$) を示した。これに対して，切開，縫合創縁から 15mm 離れた部位の組織では Cu 含有量はいずれの飼料群でも，術後いずれの時点でも変化しなかった。

d) 腹直筋 Cu 含有量：

腹直筋 Cu 含有量は対照飼料群および低 Zn 飼料群において術後2日に有意な上昇 ($p<0.05$ および $p<0.01$) を示したが，それ以外はいずれの飼料群のいずれの時点でも有意差は認められなかった。

e) 肝 Cu 含有量：

いずれの飼料群の，術後いずれの時点でも，有意差は認められなかった。

IV 考 察

A 測定法について

血清中の Zn, Cu の測定には従来 1ml の血清を必要としたが，著者ら¹⁹⁾は本研究の予備実験として血清 250 μ l を使用した測定法について測定前と測定時の変動因子を分析し，一定レベルの測定精度を保ち得ることを明らかにした。すなわち，測定前の変動因子として，①溶血，②採血用の器材などによる contamination，③採血時間，④採血から血清分離までの時間などがあげられ，測定時の変動因子としては，① pipetting error，② base-line noise level，③ contamination の3点があげられる。これらの諸因子を検討し， $\bar{x} \cdot R$ 管理図法を用いて精度管理にあたった結果，250 μ l の血清を試料として使用した場合，同時再現性に関する変動係数は Zn : 2.3%，Cu : 3.3%であり，日差再現性に関する変動係数は Zn : 3.8%，Cu : 4.2%であり，一応満足できる成績といえる。

組織 Zn, Cu 含有量の測定に関しても同様の諸因子について十分に考慮することが必要であり，測定前因子として①微量元素の日内変動や食物摂取との関係，②採取時の contamination，③測定前処理の contamination 等が考えられる。また，測定時の変動因子についても注意を要する。これまでの測定法では試料を灰化キレート化合物とし化成，抽出，濃縮などの前

処置操作を行った上で原子吸光分光分析法で測定することが一般的であったが、野本と佐藤²⁰⁾は操作が少ない単純溶解法で容易に前処理する測定法を考案し、これまでの測定操作上、最も問題視されていた contamination による測定誤差を最小限度内とすることを可能とした。本実験においては、血清 Zn, Cu 濃度の測定には 250 μ l の試料で、また組織 Zn, Cu 含有量の測定には野本と佐藤²⁰⁾の測定法に従った。

B Zn, Cu 含有量の日内変動および飼料摂取が測定値に与える影響

ヒトの血清中の Zn, Cu 濃度は日内変動を示し、食物摂取によっても変動することが報告されている。すなわち、船越と奥村²¹⁾は午前 8 時、12 時、午後 3 時、6 時、9 時、12 時、翌日の午前 8 時の 7 回にわたって測定した結果、血清 Zn 濃度は午前 8 時の値が最も高く、午後 3 時～9 時の間で最低値（午前 8 時の測定に対して平均 27% 低下）を示した。また、測定値に与える食物摂取の影響としては、血清 Zn 濃度は食物摂取後低下し、食後 3 時間で平均 20% 減少したとし、血清 Cu 濃度に関しては日内変動や食物摂取による影響がないことを報告した。しかしラットに関しては血清や組織の Zn, Cu 含有量の日内変動や飼料摂取による影響が明確でないため、本実験において検討した結果、測定対象の組織によって異なった変動を示した。すなわち、血清や皮膚、腹直筋、胃壁の Zn 含有量は午前に高く、午後から夜間にかけて低下する日内変動がみられた。また、給水および飼料投与を中断の影響としては、観察時間内の血清 Zn 濃度には変化が認められなかったが、腹直筋、胃壁の Zn 含有量は有意な低下が認められた。

Pekarek ら²²⁾は、急性炎症に際しては LEM (leukocytic endogenous mediator) を介して生体内 Zn 分布が変動することを明らかにした。生理的狀態においても、これに類似した機序で日内変動および飼料投与中断後の組織内 Zn 含有量の変動がおこるものと推測される。以上の基礎的実験結果にもとづき、組成を変えた飼料による飼育や手術操作による影響を検討する本実験においては、試料の摂取を一定の条件下で行うことに留意し、24 時間、給水および飼料投与を中断後、午後 8 時に各試料を採取するようにした。

C 低 Zn 飼料、対照飼料、高 Zn 飼料による 8 週間飼育の影響

本実験のように飼料の組成の一部を変え長期間飼育する場合、成分の違いだけでなく、摂取量の違いにも

配慮する必要がある。

各実験群間で飼料摂取量を比較してみると、対照飼料群、高 Zn 飼料群では体重の増加とともに摂取する飼料摂取量が次第に増加したが、低 Zn 飼料群では飼料摂取量の増加は見られなかった。飼育開始から 8 週間を経過した時点で 1 日あたりの飼料摂取量を測定した結果、体重 100 g 当たりの飼料摂取量は 3 群間でほとんど差はなかった。低 Zn 飼料群では他の 2 群に比べ体重が少ないため、1 匹当たりの摂取量は低 Zn 飼料群は対照飼料群、高 Zn 飼料群の 1/2 以下の飼料を摂取していることになる。このような飼料摂取量の減少を反映して、8 週間飼育期間中に体重増加が遅延することが明らかになった。低 Zn 飼料による飼育が成長に与える影響を調べたこれまでの報告²³⁾²⁴⁾でも、低 Zn 飼料による飼育では動物の成長は止まるか、あるいは体重増加は対照群の 50% 前後にとどまっており、Zn 摂取量の減少が体重増加および成育を抑制することは明らかである。この成育抑制の機序として Zn 摂取量が蛋白代謝などに与える影響がまず考えられる。1961 年、Parasad ら²⁵⁾が中東地域の小児特有な矮小発育症や性機能不全症の原因は Zn が欠乏しているためであることを明らかにした。1964 年、Fujioka と Lieberman²⁶⁾は、ラットの肝で DNA 合成には Zn が必要であることを示し、1974 年、Sandstead ら²⁷⁾は Zn 欠乏ラットでは DNA 合成が減少していることを示した。また、Zn が多くの metalloenzyme、すなわち carboxypeptidase A や thermolisin や alcohol dehydrogenases や nucleotide polymerases などの構成成分であることがわかってきた²⁸⁾。酵素活性の低下など低 Zn 状態による Zn 代謝が直接成長障害を招くことも考慮しなければならないし、何よりも低 Zn 飼料による低栄養状態を重視すべきであろう。

実験で得た成績でも低 Zn 飼料で 8 週間飼育した群では血清総蛋白、アルブミン濃度は、いずれも対照飼料群より低値を示した。飼料中の Zn 含有量の多寡により生体内の Zn 含有量に与える影響について、単純な関係は認められなかった。今回の検討により、血清中の Zn 濃度は低 Zn 飼料群のみ飼育前値と比べ低下したが、皮膚組織の Zn 含有量は 3 種類の飼料群のいずれも飼育前値に比べ低下しており、腹直筋、胃壁、肝ではいずれの飼料群でも 8 週間飼育後、組織 Zn 含有量に変化が認められなかった。8 週間飼育後の血清 Zn 濃度や肝組織 Zn 含有量は低 Zn 飼料群では他の群と比べて低い値を示すが、皮膚や腹直筋組織の Zn

含有量は低 Zn 飼料群では対照飼料群や高 Zn 飼料群よりも高い理由についても今後さらに検討を進める必要がある。

以上のように、低 Zn 飼料による飼育では血清中の Zn 濃度は低下するが、組織 Zn 含有量は組織の種類によって必ずしも一律でない。これには LEM²²⁾ による Zn の再分布や成長に伴う Zn の相対的な濃度低下など、いくつかの要因が関与していることがこれまでの報告からも推測される。一方、実験成績についても報告者により一致しない点が多い。たとえば皮膚に関して、Rahmat ら²⁹⁾は低 Zn 飼料 (0.6-0.7ppm) で 7 週間飼育したラットでは対照飼料群に比べ皮膚組織 Zn 含有量が低下していることを示したが、Quarantillo³⁰⁾は、Zn 投与群と非投与群との間で皮膚の組織 Zn 含有量を比較した結果、Zn 投与群の Zn 濃度がむしろ低値であることを示した。一般に皮膚には生体内の Zn の 15-20% が存在するといわれている⁶⁾が、摂取不足に対する再分布のほか動物の大きさ、実験中の成育状態、飼料中の Zn 含有量の相異などによっても皮膚組織の Zn 含有量に差が生じうるといえる。

この実験に使用した飼料中の Cu 含有量は、低 Zn 飼料では 3.5ppm であるのに対して、対照飼料、高 Zn 飼料では 11ppm と多い。このことを反映してか、8 週間飼育した対照飼料群および高 Zn 飼料群では血清中の Cu 濃度は前値より高い値を示し、低 Zn 飼料群よりも高値を示す傾向がみられた。しかし、Cu 含有量の少ない低 Zn 飼料群でも血清中 Cu 濃度はさほど大きな影響を受けなかった。一方、組織の Cu 含有量については皮膚では低 Zn 飼料群、高 Zn 飼料群は飼料中の Cu 含有量が 3.5ppm と 11ppm と違ってはいても、飼育前値に比べ低下していた。腹直筋、胃壁、肝などの組織ではいずれの飼料による 8 週間の飼育前後でも、また飼育後の 3 飼料群間でも組織の Cu 含有量に差がなかった。このような成績から、組織の Cu 含有量には、飼料中の Cu 含有量よりも成育あるいは Cu 不足に対する生体内移動、再分布機序などが反映されやすいと考えられる。

D 各飼料群における創傷治癒状況

この実験では低 Zn 飼料群で切開縫合創の哆開など顕著な障害は認められなかった。しかし、予備実験として、著者³¹⁾らがラット背部の欠損創に対する低 Zn 飼料などの影響を検討した成績では、H-E 染色、Mallory-Azan 染色による光学顕微鏡像、走査電顕像等

でも、低 Zn 飼料群では線維芽細胞の配列の乱れや上皮化の遅延が示されており、Zn が何らかのかたちで創傷治癒に関与していることは、明らかと言える。

E 切開縫合創作成後の各組織内 Zn, Cu 含有量の変動

腹壁、胃壁の切開、縫合術前後では、血清 Zn 濃度はいずれの実験群でも明らかな変化を示さなかった。臨床例の場合、胃癌に対する胃切除術の術後、第 1 日には、血清 Zn 濃度が低下することをかつて著者¹⁹⁾は報告した。また、別の機会に通常のラット飼料で飼育したラット (n=5) を使った胃切開縫合実験では、術前の血中 Zn 濃度が $135 \pm 16 \mu\text{g/dl}$ であったのに対して、術後 1 日には $72 \pm 24 \mu\text{g/dl}$ と明らかに低下し、術後 3 日には $115 \pm 26 \mu\text{g/dl}$ と術前値にもどった。ラットを使った今回の実験プロトコルでは、術後 2 日に試料を摂取したためか、そのような一過性の Zn 濃度の低下は認められなかった。なお臨床例における検討では、このような術後の血清 Zn 濃度の低下には尿中への Zn 排泄増加³²⁾、創部への Zn の移動³³⁾などが関与していると考えられている。

切開、縫合を行った腹壁、胃壁の創部には、基本的な反応として以下のような創傷治癒過程が認められている³⁴⁾。すなわち、血管の収縮、血小板、線維素の沈着による血管損傷部の閉塞、周囲小血管の透過性亢進による血漿成分の漏出、その後の白血球遊出という炎症期に続き、単球の出現で死滅した細胞や組織の清浄、さらに血小板、肥満細胞、顆粒球から放出された histamine その他の chemotactic な物質の出現する破壊期、さらに線維素塊中の毛細血管新生と線維素細胞の増生、線維芽細胞からの collagen 合成、膠原線維の出現等がみられる増殖期に移行する。この治癒過程を生化学的立場からみると、局所 collagenolysis の亢進、non-collagenous protein の蓄積、糖蛋白の集積およびムコ多糖、hyaluronic acid, chondroitin sulfate, dermatansulfate 等の増量がみられ、そのことが線維芽細胞の増生をさらに助長し、collagen の活発な生成につながるとされている。このような collagen の生成の旺盛な組織においては、多くの組織内酵素活性が亢進し、それに伴って組織内の Zn, Cu 含有量が上昇する可能性が考えられる。しかし、胃切開縫合部創縁では Zn 含有量、Cu 含有量のいずれも変化せず、腹部皮膚切開創縁でも Zn 含有量は変化せず、切開縫合部から 5 mm 幅の皮膚組織の Cu 含有量は対照飼料群と高 Zn 飼料群では、術後上昇している

点に注目したい。これまでの報告をみても皮膚組織 Zn 含有量が術後高値を示すと主張する者と³⁵⁾、逆に低下するという者³⁰⁾と、全く違った成績があげられているが、今回の実験条件では切開、縫合創部では組織の Zn 含有量は術後 2 週間までの間に有意な変化を示していない。縫合創の組織構成成分の変化は切開、縫合線からの距離によって異なり 5 mm 前後までのいわゆる“biochemical active zone”では collagen などの変化が顕著であることが示されている³⁶⁾³⁷⁾が、今回の実験成績では切開、縫合線に接したこの zone でも、縫合線から 15mm 離れた部分でも組織 Zn 含有量に変化が認められなかった。しかし、手術操作が及んでいない腹腔後壁では対照飼料群のみに術後早期に一過性の Zn 含有量の増加がみられたことは、臓器の一部で創傷治癒過程が営まれている際の生体反応の一面を示すものともいえる。

このような Zn 含有量の変化に対して、Cu の組織含有量は異なった反応が認められた。すなわち胃壁では創部がある前壁でも、創部がない後壁でも組織 Cu 含有量は全く変化せず、腹部皮膚創部やそれに接した腹直筋では創作成後組織 Cu 含有量の上昇がみられたすなわち、切開縫合創部の組織 Zn 含有量と Cu 含有量については異なった反応パターンが認められた。組織 Zn 含有量と違って組織 Cu 含有量は皮膚縫合創に接した部分に比べ、そこから離れた部分ではこのような変化が認められない点、Zn, Cu の反応パターンの違いとしてあげられる。

Zn および Cu の創部における動態を、単純に説明することはむずかしい。しかし、Zn 欠乏症では創の治癒が遅く、Zn を投与すると創傷治癒が促進することは、熱傷⁶⁾や毛嚢瘻 (pilonidal sinus)⁷⁾⁸⁾や慢性下肢潰瘍⁹⁾¹²⁾において認められている。著者ら³¹⁾³⁸⁾も別の実験で Wistar 系ラットを低 Zn 飼料や高 Zn 飼料で 6 週間飼育後、背部皮膚に径 8 mm の欠損創を作成し、その修復過程を観察した結果、低 Zn 飼料群で治癒過程が最も遅いことを明らかにした。Williamson ら³⁵⁾は、犬を用いた実験で Zn 投与により歯肉の創傷治癒が改善され、組織内に Zn が集積していることを報告した。このように創傷治癒と Zn との間に密接な関係があることを主張する者がある反面、これを否定する研究もある。すなわち、Zn を投与しても創傷治癒パターンが変わらず¹⁶⁾、むしろ、collagen や fibroblast の生成を阻害しているという報告¹⁷⁾もある。創部組織内の Zn の消長について統一的な見解

を得るためには、なお詳細な検討が必要である。今後は、これまでとは異なった手法を使うことも必要と考えられる。共同研究者の大倉ら³⁹⁾は、腸管吻合創の治癒過程で、活発な反応を示す粘膜下層において Zn が多く認められるか否かを、二次イオン質量分析法より検討した結果、Zn は創部の biochemical active zone に相当する粘膜下層により多く局在することを示した。したがって創部組織全体を対象にした Zn, Cu 含有量の変化ではなく、さらに細かく層別、組織別に、これらの微量元素の消長を求める必要もある。

Cu は造血過程に必要なばかりでなく、大動脈のエラスチン形成などにも大きな役割を演じており⁴⁰⁾、また Zn とともに創傷治癒過程にも関与し、とくにコラーゲンの crosslinking や remodeling に必要なことが明らかにされてきた⁴¹⁾。本実験における術後 2 週間までの観察では、血清中や胃壁組織の Cu 含有量には有意な変化が認められなかったが、腹部皮膚創の biochemical active zone にあたる部位や縫合創に接した腹直筋組織では Cu 含有量が上昇する時期も認められた。このように組織内 Cu 含有量と創傷治癒との間には密接な関係があることが推測されたが、今回の実験では期間の問題から必ずしも十分とはいえず、今後さらに長期間にわたって追究する必要がある。また創傷治癒過程における Zn, Cu の意義について、このような創部組織について考慮するほかに、創部のない胃後壁、あるいは、肝組織などの組織 Zn 含有量に一過性の上昇が認められることから、創部局所だけでなく全身的に発現している微量元素の反応パターンにも配慮することが必要であろう。本実験が示すように創傷治癒過程に伴う Zn, Cu の変動、とくに飼料中の Zn, Cu 含有量の多寡による影響をより明確なものにするためには、さらに詳細な検討を必要とする。また創傷治癒過程を抑制する因子についても、局所的に作用する抑制因子と全身的に作用する抑制因子³⁴⁾とを総合的に考慮すべきであり、この実験で飼料内容の変化により招かれた低蛋白血症や低アルブミン血症など低栄養状態による影響も十分に考慮に入れた実験条件を設定することなども必要と考えられる。

V 結 論

1) ラットの血清および各組織 Zn 含有量の日内変動としては、肝組織では日内変動が認められなかったが、血清、皮膚、腹直筋、胃壁では午前 7 時前後に高

値を示した。他方, Cu 含有量の日内変動としては, 肝組織は午後5時に上昇しているが血清, 皮膚, 腹直筋, 胃壁組織では日内変動が認められなかった。

2) 飼料摂取によるラットの血清および各組織 Zn 含有量に与える影響としては, 腹直筋, 胃壁 Zn 含有量は, 給水および飼料投与を中断後の経過時間が長くなるほど低下した。一方, 血清, 皮膚, 肝の Zn 含有量は給水および飼料投与を中断後20時間までの間では変化を示さなかった。給水および飼料投与を中断後の経過時間が Cu 含有量に与える影響として, 腹直筋では絶飲食開始20時間で低値を示したが, 血清, 皮膚, 胃壁, 肝の Cu 含有量は変化しなかった。

3) 対照飼料, 低 Zn 飼料, 高 Zn 飼料で8週間飼育すると, 低 Zn 飼料群では他の2群に比べて飼料摂取量, 体重増加が少なく, 栄養状態も悪く, 血清 Zn 濃度も低値を示した。皮膚 Zn 含有量については3飼料群のいずれにおいても前値より低下したが, 対照飼料群が低 Zn 飼料群よりも低いことは今後検討を必要とする。

4) 3種類の飼料により8週間飼育後, 開腹, 胃切

開を加えて, 術後2週間にわたって, 血清および各組織の Zn, Cu 含有量の変動を求めた結果, 創部の皮膚および腹直筋 Cu 含有量は術後上昇の傾向が認められた。しかし, 創部の組織 Zn 含有量が術後明らかに上昇する所見は得られなかった。むしろ創部以外の組織内に一過性の Zn 含有量の上昇が認められた。

5) 創傷治癒過程に関する Zn, Cu などの変動, 意義については微量元素に関する他の測定法, 組織像との関連などにより詳細な検討を進めることが必要である。

本研究の一部は文部省科学研究補助金の援助の下に実施され, また本論文の要旨は第84回日本外科学会総会(1984年3月), 第20回および21回日本外科代謝栄養学会総会(1983年7月および1984年7月), 第13および14回創傷治癒研究会(1983年12月および1984年12月)で発表した。

稿を終えるにあたり, 終始御指導いただいた林四郎教授に, また測定法などについて御助言を頂いた信州大学医療技術短期大学野本昭三教授に深謝する。

文 献

- 1) Worman, S.L., Anderson, G.H., Marliss, E.B. and Jeejeebhoy, K.N. : Zinc in total parenteral nutrition: requirements and metabolic effects. *Gastroenterology*, 76: 458-467, 1979
- 2) Weber, T.R., Sears, N., Davies, B. and Grosfeld, J.L. : Clinical spectrum of zinc deficiency in pediatric patients receiving total parenteral nutrition (TPN). *J Ped Surg*, 16: 236-240, 1981
- 3) Hallbook, T. and Hedelin, H. : Zinc metabolism and surgical trauma. *Br J Surg*, 64: 271-273, 1977
- 4) Halsted, J.A. and Smith, J.C. : Plasma zinc in health and disease. *Lancet*, 14: 322-324, 1970
- 5) Sullivan, J.F., Blotcky, A.J., Jetton, M.M., Hahn, H.K. and Burch, R.E. : Serum levels of selenium, calcium, copper, magnesium, manganese and zinc in various human diseases. *J Nutr*, 109: 1432-1437, 1979
- 6) Pories, W.J. and Strain, W.H. : Zinc and wound healing. *Zinc Metabolism*, pp.378-394, Thomas, Springfield, Illinois, 1966
- 7) Pories, W.J., Henzel, J.H., Rob, C.G. and Strain, W.H. : Acceleration of healing with zinc sulphate. *Ann Surg*, 163: 432-436, 1967
- 8) Pories, W.J., Henzel, J.H., Rob, C.G. and Strain, W.H. : Acceleration of wound healing in man with zinc sulphate given by mouth. *Lancet*, 1: 121-124, 1967
- 9) Greaves, M. and Boyde, T.R.C. : Plasma-zinc concentrations in patients with psoriasis, other dermatoses, and venous leg ulceration. *Lancet*, 2: 1019-1020, 1967
- 10) Abbott, D.F., Exton-Smith, A.N., Mullard, P.H. and Temperley, J.M. : Letter to the editor. *Br Med J*, 11: 763, 1968
- 11) Greaves, M.W. and Skillen, A.W. : Effects of long-continued ingestion of zinc sulphate in patients with venous leg ulceration. *Lancet*, 2: 889-891, 1970
- 12) Alvares, O.F. and Meyer, J. : Thymidine uptake and cell migration in cheek epithelium of

- zinc deficient rats. *J Oral Pathol*, 2: 86-94, 1973
- 13) Schilling, J.A., Joel, W. and Shurley, H.M. : Wound healing : a comparative study of the histochemical changes in granulation tissue contained in stainless steel wire mesh and poly-vinyl sponge cylinders. *Surgery*, 46: 702-710, 1959
- 14) Lichti, E.L., Turner, M., Henzel, J.H. and Deweese, M.S. : Wound fluid zinc levels during tissue repair. *Am J Surg*, 121: 665-667, 1971
- 15) Lichti, E.L., Schilling, J.A. and Shurley, H.M. : Wound fluid and plasma zinc levels in rats during tissue repair. *Am J Surg*, 123: 253-256, 1972
- 16) Phillips, A., Davidson, M. and Greaves, M.W. : Venous leg ulceration : evaluation of zinc treatment, serum zinc and rate of healing. *Clin Exp Dermatol*, 2: 395-399, 1977
- 17) Waters, M.D., Moore, R.D., Amato, J.J. and Houck, J.C. : Zinc sulfate-failure as an accelerator of collagen biosynthesis and fibroblast proliferation. *Proc Soc Exp Biol Med*, 138: 373-377, 1971
- 18) 野本昭三, 佐藤守俊 : 生体試料中微量金属の測定—原子吸光分析による測定の基礎. *Clinical Laboratory*, 15: 609-615, 1979
- 19) 津久井敏郎, 林 四郎, 石曾根新八, 野本昭三 : 成人および小児の術後血清 Zn・Cu の変動. *外科と代謝・栄養*, 16: 162-169, 1982
- 20) 野本昭三, 佐藤守俊 : 生体組織中微量金属測定における試料前処置法の改良に関する検討. *信大・医短・紀要*, 6: 21-29, 1980
- 21) 船越素子, 奥村 恂 : 原子吸光分光分析法による亜鉛, 銅の定量法の検討と測定値の生理的ならびに肝, 胆道疾患における変動. *臨床病理*, 19: 293-297, 1971
- 22) Pekarek, R.S., Wannemacher, R.W. Jr. and Beisel, W.R. : The effect of leukocytic endogenous mediator (LEM) on the tissue distribution of zinc and iron. *Proc Soc Exp Biol Med*, 140: 680-688, 1972
- 23) 小林孝誌, 市川雅子, 富田 寛 : 亜鉛欠乏ラットにおける体毛亜鉛値と血清亜鉛値の経時的変化に関する研究. *微量金属代謝*, 11: 67-71, 1983
- 24) 菊地武夫, 岡本博夫, 大堀昭子, 石川喜代子 : 微量元素欠乏ラットの発育, 血液性状, 病理組織像, および創傷治癒に及ぼす鉄, 亜鉛, 銅, ヨウ素含有栄養輸液の影響. *日本栄養・食糧学会誌*, 36: 273-281, 1983
- 25) Parasad, A.S., Halsted, J.A. and Nadimi, M. : Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am J Med*, 31: 532-546, 1961
- 26) Fujioka, M. and Lieberman, I. : A Zn^{++} requirement for synthesis of deoxyribonucleic acid by rat liver. *J Biol Chem*, 239: 1164-1167, 1964
- 27) Sandsted, H.H., Lanier, V.C., Shepard, G.H. and Gillespie, D.D. : Zinc and wound healing. *Am J Clin Nutr*, 23: 514-519, 1974
- 28) Riordan, J.F. and Vallee, B.L. : Structure and function of zinc metalloenzymes In : Prasad A.S. and Oberleas, D. (ed.), *Trace elements in human health and disease*, vol. 1, zinc and copper. pp.227-256, Academic Press, New York, San Francisco, London, 1976
- 29) Rahmat, A., Norman, J.N. and Smith, G. : The effect of zinc deficiency on wound healing. *Br J Surg*, 61: 271-273, 1974
- 30) Quarantillo, E.P. : Effect of supplemental zinc on wound healing in rats. *Am J Surg*, 121: 661-664, 1971
- 31) 津久井敏郎, 林 四郎, 大倉充久, 市川英幸, 石曾根新八, 北原修一郎, 野本昭三 : 低 Zn 食・高 Zn 食飼育ラットにおける胃壁および皮膚の創傷治癒過程と Zn・Cu の関与. *最新医学*, 40: 1973-1975, 1985
- 32) 都築賢一, 林 四郎, 小山市三, 矢部雅巳, 野本昭三 : 開腹術後の trace elements の消長について. *術後代謝研究会誌*, 12: 109-113, 1978
- 33) Savlov, E.D., Strain, W.H. and Huegin, F. : Radiozinc studies in experimental wound healing. *J Surg Res*, 2: 209-212, 1962
- 34) 林 四郎, 市川英幸, 津久井敏郎 : 創傷治癒研究の最近の進歩. *救急医学*, 95: 1051-1054, 1985

- 35) Williamson, C.E., Yukna, R.A. and Gandor, D.W. : Zinc concentration in normal and healing gingival tissues in beagle dogs. *J Periodontol*, 55 : 170-174, 1984
- 36) Adamsons, R.J., Musco, F. and Enquist, I.F. : The chemical dimensions of a healing incision. *Surg Gynecol Obstet*, 123 : 515-521, 1966
- 37) 市川英幸 : 胃壁切開縫合創の治癒過程に関する実験的研究 とくに副腎皮質ステロイド剤の影響. *信州医誌*, 30 : 50-68, 1982
- 38) 津久井敏郎, 林 四郎, 大倉充久, 市川英幸, 石曾根新八, 野本昭三 : 胃壁における創傷治癒過程と Zn・Cu の関与. *最新医学*, 39 : 1932-1934, 1984
- 39) 大倉充久, 林 四郎, 津久井敏郎, 石曾根新八, 野本昭三, 田村一二三 : 二次イオン質量分析を用いた生体組織の微量元素測定法に関する検討. *外科と代謝・栄養*, 18 : 66-72, 1984
- 40) O' Dell, B.L., Hardwich, B.C., Reynold, G. and Savage, J.E. : Connective tissue defect in the chick resulting from copper deficiency. *Proc Soc Exp Biol Med*, 108 : 402-405, 1961
- 41) McClain, P.E., Wiley, E.R., Beecher, G.R., Anthony, W.L. and Hsu, J.M. : Influence of zinc deficiency on synthesis and crosslinking of rat skin collagen. *Biochim Biophys Acta*, 304 : 457-465, 1973

(62. 11. 13 受稿)