

# 博士論文

低亜鉛血症の早産児における酢酸亜鉛二水和物  
投与の有効性及び安全性に関する研究  
(Study on efficacy and safety of zinc acetate  
dihydrate administration in preterm infants with  
hypozincemia)

2023年3月

立命館大学大学院薬学研究科

薬学専攻博士課程

伊藤 俊和

立命館大学審査博士論文

低亜鉛血症の早産児における酢酸亜鉛二水和物  
投与の有効性及び安全性に関する研究  
(Study on efficacy and safety of zinc acetate  
dihydrate administration in preterm infants with  
hypozincemia)

2023年3月

March 2023

立命館大学大学院薬学研究科

薬学専攻博士課程

Doctoral Program in Pharmacy

Graduate School of Pharmacy

Ritsumeikan University

伊藤 俊和

ITO Toshikazu

研究指導教員：桂 敏也教授

Supervisor : Professor KATSURA Toshiya

## 目次

序論	1
方法	3
第一章 低亜鉛血症の早産児における酢酸亜鉛二水和物投与後の血清亜鉛濃度及び血清銅濃度の評価	
緒言	6
結果	9
考察	19
第二章 低亜鉛血症の早産児における酢酸亜鉛二水和物投与後の血清銅濃度の低下に影響するリスク因子の評価	
緒言	22
結果	23
考察	31
結語	34
謝辞	36
参考文献	37

## 序論

新生児に対する薬物療法はエビデンスが少なく、用法・用量など標準的な処方に関する情報が不足していることから種々の薬剤が適応外使用されている<sup>1)</sup>。薬理・薬物動態に関する情報が不十分な薬物療法は有効性が望めず、薬剤による有害事象を引き起こすおそれがある<sup>1)</sup>。特に在胎 22 週から 37 週未満で出生した早産児は生理機能が未熟であり<sup>2)</sup>、有効で安全な薬物療法を実施するためにはより詳細な薬物療法に関する情報が必要となる。

亜鉛及び銅は、それぞれヒトにおける必須微量元素の一つである。生体内において、亜鉛は味覚、免疫機能、皮膚代謝機能、骨格形成など様々な生理機能に関わっており<sup>3)</sup>、また銅は細胞呼吸、神経伝達物質の生合成及び造血などに関与している<sup>4)</sup>。そのため、亜鉛欠乏症状として皮膚炎や成長障害、感染症等を<sup>5)</sup>、銅欠乏症状として貧血や汎血球減少、神経障害等を呈することから<sup>6)</sup>、これらが不足しないよう補充することが重要である。

本邦において、低亜鉛血症の薬物療法として亜鉛を補充する目的で低亜鉛血症に対する適応を有する酢酸亜鉛二水和物の投与が行われている<sup>7)</sup>。この酢酸亜鉛二水和物は、もとは銅吸収阻害剤として先天性銅過剰症であるウィルソン病の治療薬として開発された薬剤であり、副作用に血清銅濃度の低下が報告されている<sup>7)</sup>。亜鉛による銅吸収阻害の機序として、亜鉛による消化管上皮細胞におけるメタロチオネインの発現誘導が報告されている<sup>8)</sup>。金属タンパク質であ

るメタロチオネインは亜鉛の濃度依存的にその発現が誘導され、銅は亜鉛よりもメタロチオネインに対する結合親和性が高いことから、銅と結合しその吸収を阻害する<sup>8)</sup>。

新生児の低亜鉛血症に対しても同様に酢酸亜鉛二水和物の投与が行われている。新生児においても亜鉛の投与により血清銅濃度が低下するリスクが高まると考えられるが、新生児、特に早産児において亜鉛投与後の血清亜鉛濃度及び血清銅濃度の推移をあわせて評価した報告はない。

早産児に対し有効で安全な低亜鉛血症治療の実施、すなわち亜鉛の投与により血清銅濃度を低下させず速やかに血清亜鉛濃度を上昇させるために、本論第一章では早産児における酢酸亜鉛二水和物投与後の血清亜鉛濃度及び血清銅濃度の推移について評価を行い、第二章では酢酸亜鉛二水和物投与後の血清銅濃度の低下に影響を及ぼす要因について多変量解析にて検討を行った。

## 方法

### 対象患者

調査対象期間中に、北野病院の NICU に入室した在胎 37 週未満の早産児のうち、酢酸亜鉛二水和物の投与が開始された症例を対象とした。なお、酢酸亜鉛二水和物投与開始 1 週間前から投与期間中に他の亜鉛を含む製剤が投与された症例、血清亜鉛濃度あるいは血清銅濃度が酢酸亜鉛二水和物投与開始前及び投与開始後 14 日以内に測定されていなかった症例、投与開始前の血清亜鉛濃度が 70  $\mu\text{g}/\text{dL}$  以上であった症例、及び体重の測定が投与期間中に行われていなかった症例を除外した。なお、全例で亜鉛の投与は経口的に行われ、銅を含む製剤の投与は行われていなかった。

### データ抽出

対象となった症例について、在胎週数 (Gestational Age; 以下、GA)、体重、酢酸亜鉛二水和物の投与量と投与日数、酢酸亜鉛二水和物投与前及び投与開始後 14 日以内に実施された採血結果による血清亜鉛濃度及び血清銅濃度、経腸栄養の種類を電子カルテから抽出した。なお、各症例の酢酸亜鉛二水和物の体重当たりの投与量は、体重を測定するたびに新たに計算し直した値の平均値を使用した。

## 血清亜鉛濃度と血清銅濃度の測定

血清亜鉛濃度と血清銅濃度はいずれも臨床検査の一環として定期的に測定を行った。血清亜鉛濃度は 5-Br-PAPS による直接比色法により測定した。測定機器として JCM-BM6070 BioMajesty（日本電子株式会社）を、試薬として ACCURAS AUTO Zn（シノテスト）を用いた。

血清銅濃度は 3,5-DiBr-PAESA による直接比色法により測定した。測定機器として JCM-BM6070 BioMajesty（日本電子株式会社）を、試薬として QUICK AUTO NEO Cu（シノテスト）を用いた。

## 統計解析

データは中央値（四分位範囲）で示した。正規性の検定には Shapiro-Wilk test を用いた。対応のある 2 群の検定には、正規分布の場合は対応のある t-test を、非正規分布の場合は Wilcoxon signed-rank test を用いた。独立 2 群の検定では、正規分布かつ等分散の場合は Student t-test を、正規分布かつ不等分散の場合は Welch's test を、非正規分布の場合は Mann-Whitney U test を用いた。名義変数には Fisher's exact test を用い、Fisher's exact test におけるオッズ比の算出には条件付き最尤推定値を用いた。多変量解析にはロジスティック回帰分析を用いた。いずれも P 値 0.05 未満を統計学的有意とした。ROC 曲線のカットオフ値は Youden's index で選択した。全ての統計解析には R（The R Foundation for

Statistical Computing, Vienna) の修正バージョンである EZR (自治医科大学附属さいたま医療センター) を用いた<sup>9)</sup>。

### **倫理的承認と同意の取得**

本研究は北野病院の施設倫理委員会の承認を得て行った (承認番号: P191200900)。本研究は後方視的研究であるため、インフォームド・コンセントはウェブサイト (<https://www.kitano-hp.or.jp/kenkyu/gaiyou>) 上にてオプトアウト形式で取得した。



## 第一章 低亜鉛血症の早産児における酢酸亜鉛二水和物投与後の血清亜鉛濃度及び血清銅濃度の評価

### 緒言

亜鉛は味覚や皮膚代謝機能、免疫機能等に関与する必須微量元素の一つである<sup>3)</sup>。そのため、亜鉛が欠乏すると種々の障害をきたすが、新生児、特に早産児は亜鉛欠乏に陥りやすいことが知られている。その理由として、通常、胎児期の亜鉛の生体内の貯蔵は在胎 30 週頃から増加することが報告されているが<sup>10)</sup>、在胎期間の短い早産児では十分な亜鉛貯蔵量がないことから亜鉛が欠乏しやすいことが挙げられる。加えて、新生児の主な栄養源である母乳中に含まれる亜鉛の量は、母体の産後日数が経過するにつれ減少することが報告されており<sup>11)</sup>、そのため新生児は亜鉛の摂取量が不足しやすく亜鉛の欠乏が生じやすいことも理由の一つとされている。新生児及び乳児の亜鉛欠乏は皮膚炎や成長障害、感染症に加え自閉症スペクトラム障害等に関わっていることが報告されており<sup>5,12)</sup>、亜鉛の補充による治療が重要となる。そこで、本邦では新生児及び乳児への投与は適応外ではあるが、低亜鉛血症の治療として酢酸亜鉛二水和物製剤であるノベルジン<sup>®</sup>錠の投与が行われている<sup>7)</sup>。

亜鉛の投与による副作用として、血清銅濃度の低下が報告されている<sup>13)</sup>。経口摂取された亜鉛及び銅はそれぞれ小腸上皮細胞のトランスポーターを介して

吸収される。亜鉛の消化管吸収には頂側膜側に存在する Zrt-/Irt-like protein 4 及び側底膜側に存在する zinc transporter 1 が<sup>14)</sup>、銅の消化管吸収には頂側膜側に存在する copper transporter 1 (CTR1) 及び側底膜側に存在する copper-transporting ATPase 1 (ATP7A) がそれぞれ関わっている<sup>15)</sup>。この消化管吸収の過程において、亜鉛は銅の吸収を阻害することが知られている。すなわち、亜鉛により金属タンパク質であるメタロチオネインの発現が誘導され、そのメタロチオネインは亜鉛よりも銅に対する結合親和性が高いことから、銅と結合しその消化管吸収を阻害し血清銅濃度を低下させる<sup>8)</sup>。銅もまた必須微量元素の一つであり、細胞呼吸や神経伝達物質の生成等に関与している<sup>4)</sup>。銅が欠乏することで貧血、汎血球減少及び神経障害等を引き起こすことが知られているため<sup>6)</sup>、亜鉛投与時の血清銅濃度の低下には注意が必要である。

公益財団法人田附興風会医学研究所北野病院（以下、北野病院）の新生児集中治療室（NICU）では、医学的評価のために概ね 2 週間に 1 回の頻度で採血を行い、血液検査を実施している。血液検査の結果、低亜鉛血症の基準である血清亜鉛濃度  $70 \mu\text{g/dL}$  を下回った場合、酢酸亜鉛二水和物の投与が開始されている<sup>16)</sup>。酢酸亜鉛二水和物の投与量は約  $2\text{mg/kg/day}$  で開始され、その後定期的な血液検査の結果に基づいて投与量の調節を行っている。亜鉛の投与により血清銅濃度が低下するリスクが上昇するが、早産児において亜鉛投与後の血清亜鉛濃度と血清銅濃度を評価した報告はない。そこで本章では、早産児における酢酸亜

鉛二水和物投与による有効性と安全性を評価する目的で、後方視的に低亜鉛血症の早産児に対する酢酸亜鉛二水和物投与後の血清亜鉛濃度及び血清銅濃度の推移を調査した。さらに、血清亜鉛濃度及び血清銅濃度の変動に影響を及ぼす要因について検討を行った。

## 結果

### 調査対象症例の臨床的背景

調査対象期間は 2017 年 6 月から 2021 年 2 月までとし、この期間中に NICU に入室し酢酸亜鉛二水和物の投与が開始された早産児は 128 例であった。これらの症例のうち、本研究では 63 例が組み入れ基準を満たし解析対象となった (Fig. 1)。解析対象となった症例の臨床的特徴を Table 1 に示した。男性が 33 例 (52.4%)、女性が 30 例 (47.8%) であった。解析対象の GA 及び修正週数 (Postmenstrual Age; 以下、PMA) はそれぞれ 32.0 (30.3-33.9) 週及び 35.6 (34.6-36.9) 週であった。酢酸亜鉛二水和物の投与量は 2.1 (1.8-2.5) mg/kg/day で、投与期間は 12.0 (10.0-13.0) 日であった。酢酸亜鉛二水和物投与前の血清亜鉛濃度及び血清銅濃度はそれぞれ 58.0 (54.5-64.0)  $\mu\text{g/dL}$  及び 42.0 (32.0-47.5)  $\mu\text{g/dL}$  であった。

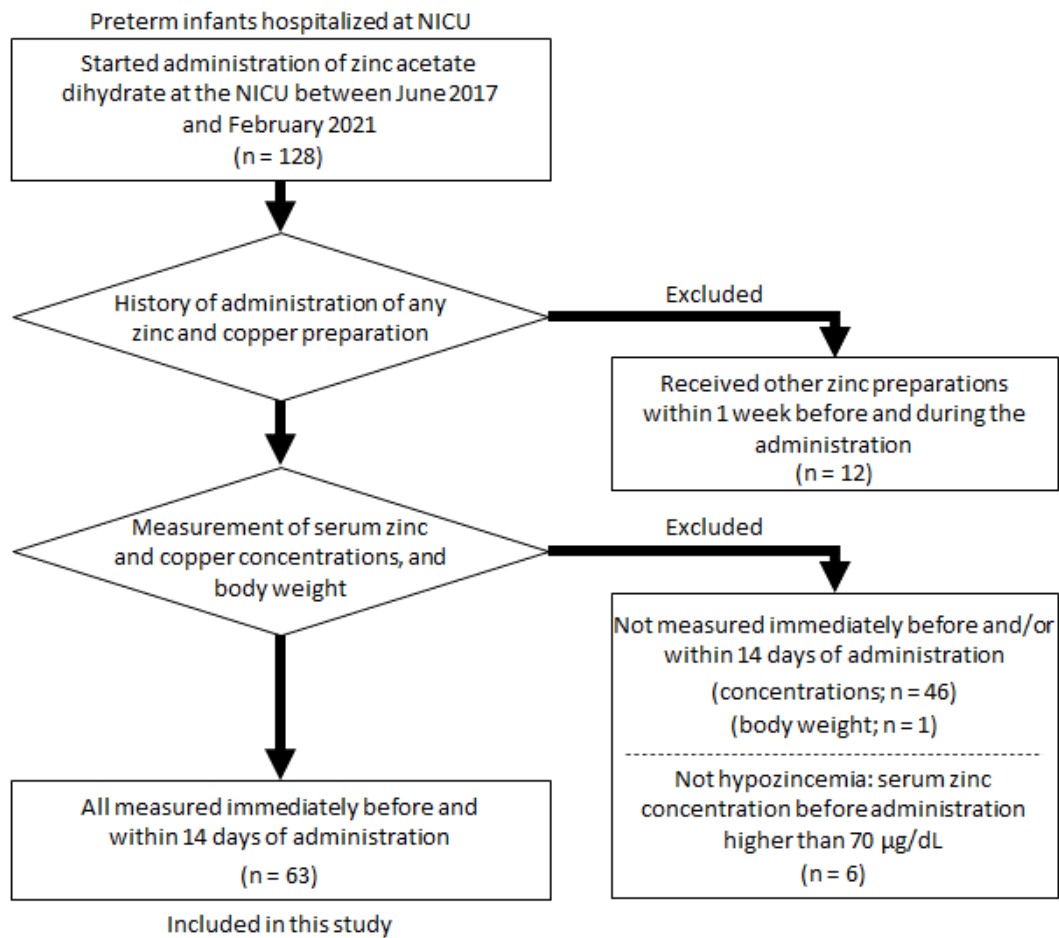


Figure 1. Flowchart of study participants.

Table 1. Clinical characteristics.

	n	Median	Range (Interquartile range)
Sex			
Male	33 (52.4%)		
Female	30 (47.6%)		
GA (week)		32.0	25.0 - 36.1 (30.3 - 33.9)
Birth weight (g)		1556.0	624.0 - 2550.0 (1210.5 - 1782.5)
Dose (mg/kg/day)		2.1	1.0 - 3.8 (1.8 - 2.5)
Administration period (day)		12.0	4.0 - 14.0 (10.0 - 13.0)
At the start of administration			
PNA (day)		26.0	9.0 - 72.0 (15.0 - 31.5)
PMA (week)		35.6	31.4 - 39.6 (34.6 - 37.0)
Body weight (g)		1948.0	866.0 - 2686.0 (1752.0 - 2212.5)
Serum zinc concentration ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )		58.0	40.0 - 69.0 (54.5 - 64.0)
Serum copper concentration ( $\mu\text{g}/\text{dL}$ )		42.0	26.0 - 86.0 (32.0 - 47.5)

GA, gestational age; PNA, postnatal age; PMA, postmenstrual age.

### 酢酸亜鉛二水和物の投与による血清亜鉛濃度の変化とその要因

酢酸亜鉛二水和物投与後、血清亜鉛濃度は 61.9% (n=39) の症例で上昇し、38.1% (n=24) の症例では上昇しなかった。酢酸亜鉛二水和物投与により血清亜鉛濃度は 58.0 (54.5-64.0) から 60.0 (53.5-69.5)  $\mu\text{g/dL}$  にわずかに上昇した ( $p = 0.0559$ ) (Fig. 2)。

酢酸亜鉛二水和物の投与により、16 名の患者において血清亜鉛濃度が 70  $\mu\text{g/dL}$  以上に上昇した。Table 2 および Table 3 に、血清亜鉛濃度が 70  $\mu\text{g/dL}$  以上に上昇した群と 70  $\mu\text{g/dL}$  に達しなかった群との比較を示す。平均投与量はそれぞれ 2.5 (2.2-2.9)  $\text{mg/kg/day}$ 、2.0 (1.5-2.3)  $\text{mg/kg/day}$  で、前者の群で有意に高かった ( $p=0.000456$ )。また、酢酸亜鉛二水和物投与開始前の血清銅濃度はそれぞれ 47.0 (42.5-53.5) 及び 36.0 (32.0-45.0)  $\mu\text{g/dL}$  であり、前者で有意に高かった ( $p = 0.0174$ )。その他の項目には有意差は認められなかった。

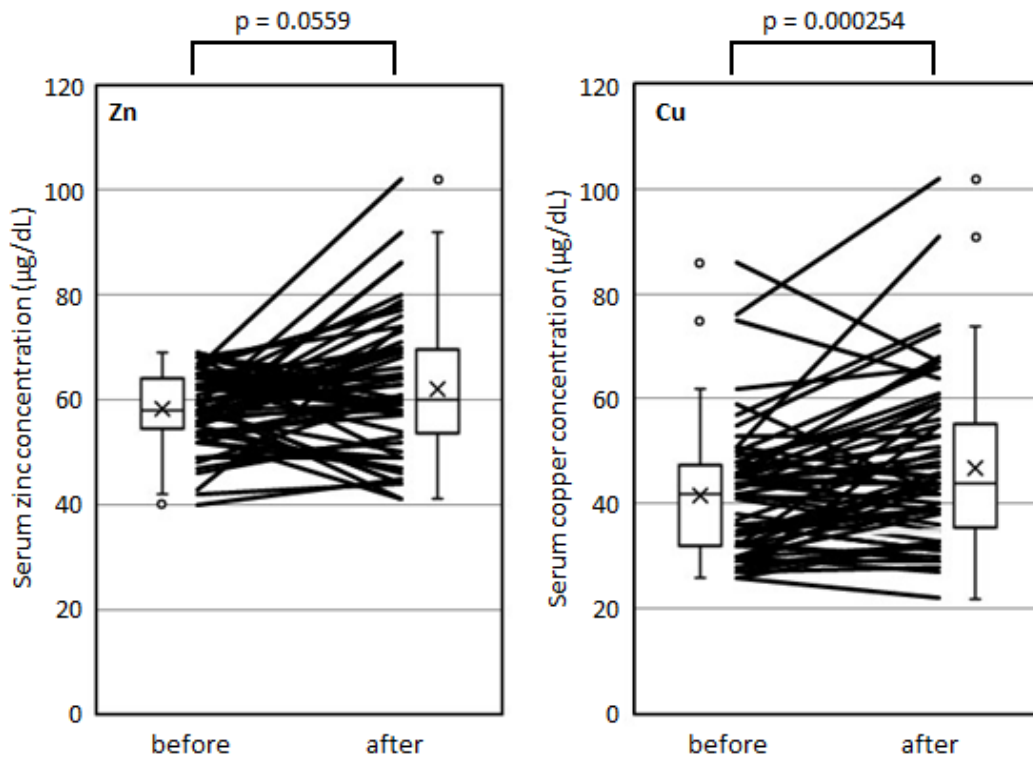


Figure 2. Changes in serum zinc and concentrations before and after the administration of zinc acetate dihydrate.

The Wilcoxon signed-rank test and paired t-test were used to analyze serum zinc and copper concentrations, respectively.



Table 2. Clinical characteristics by serum zinc concentration after zinc administration.

	≥ 70 µg/dL (n = 16)		< 70 µg/dL (n = 47)		<i>p</i>
	Median	Range (Interquartile range)	Median	Range (Interquartile range)	
GA (week)	31.4	25.0 - 36.1 (29.8 - 33.0)	32.6	26.4 - 36.1 (30.4 - 34.0)	0.252
Birth weight (g)	1315.5	624.0 - 2300.0 (1175.8 - 1700.5)	1578.0	782.0 - 2550.0 (1264.0 - 1782.5)	0.272
Dose (mg/kg/day)	2.5	1.7 - 3.8 (2.2 - 2.9)	2.0	1.0 - 3.3 (1.5 - 2.3)	0.000456
Administration period (day)	12.0	6.0 - 14.0 (10.0 - 13.0)	13.0	4.0 - 14.0 (9.0 - 13.0)	0.513
At the start of administration					
PNA (day)	29.0	14.0 - 71.0 (25.0 - 35.3)	22.0	9.0 - 72.0 (15.0 - 30.5)	0.0542
PMA (week)	35.8	31.4 - 39.6 (34.4 - 37.1)	35.4	32.6 - 38.3 (34.6 - 36.8)	0.953
Body weight (g)	2035.5	866.0 - 2617.0 (1659.0 - 2223.0)	1946.0	1275.0 - 2686.0 (1763.0 - 2212.5)	0.0778
Serum zinc concentration (µg/dL)	58.5	43.0 - 68.0 (56.0 - 64.5)	58.0	40.0 - 69.0 (53.0 - 63.5)	0.472
Serum copper concentration (µg/dL)	47.0	27.0 - 86.0 (42.5 - 53.5)	36.0	26.0 - 76.0 (32.0 - 45.0)	0.0174

The Student's *t*-test was used to analyze GA, Birth weight, Dose and Serum zinc concentration. The Welch's test was used to analyze PMA and Body weight. The Mann-Whitney U test was performed for other variables. GA, gestational age; PNA, postnatal age; PMA, postmenstrual age.

Table 3. Other characteristics by serum zinc concentration after zinc administration.

	$\geq 70 \mu\text{g/dL}$ (n = 16)	$< 70 \mu\text{g/dL}$ (n = 47)	<i>p</i>
Sex			
Male	9	35	0.778
Female	7	12	
Enteral nutrition			
Breast milk	7	18	0.899
Infant formula	1	3	
Breast milk + Infant formula	8	26	

The Fisher's exact test was used for statistical analyze.

### 酢酸亜鉛二水和物の投与による血清銅濃度の変化とその要因

酢酸亜鉛二水和物投与後の血清銅濃度は、30.2% (n=19) の症例で減少し、69.8% (n=44) の症例で減少しなかった。酢酸亜鉛二水和物投与により、血清銅濃度は 42.0 (32.0-47.5)  $\mu\text{g/dL}$  から 44.0 (35.5-55.5)  $\mu\text{g/dL}$  に有意に増加した ( $p = 0.000254$ ) (Fig. 2)。

Table 4 および Table 5 は、血清銅濃度が低下した群と低下しなかった群との比較を示したものである。PMA はそれぞれ 34.9 (33.6-35.9) 週と 36.0 (35.1-37.0) 週であり、前者で有意に低かった ( $p=0.0235$ )。投与開始時の体重はそれぞれ 1740.0 (1610.0-2052.5) g および 1979.5 (1831.0-2257.3) g であり、前者で有意に低かった ( $p=0.0236$ )。また、投与開始前の血清亜鉛濃度はそれぞれ 62.0 (57.5-66.0)、57.0 (53.0-63.0)  $\mu\text{g/dL}$  であり、前者で有意に高かった ( $p=0.024$ )。その他の項目には有意差は認められなかった。

Table 4. Clinical characteristics by changes in serum copper concentration after zinc administration.

	decrease (n = 19)		Not decrease (n = 44)		<i>p</i>
	Median	Range (Interquartile range)	Median	Range (Interquartile range)	
GA (week)	31.1	25.0 - 36.1 (29.5 - 33.0)	32.2	26.4 - 36.1 (30.6 - 34.0)	0.193
Birth weight (g)	1264.0	624.0 - 2312.0 (1131.5 - 1802.0)	1576.5	782.0 - 2550.0 (1282.5 - 1780.8)	0.197
Dose (mg/kg/day)	2.0	1.1 - 3.4 (1.5 - 2.5)	2.1	1.0 - 3.8 (1.8 - 2.5)	0.517
Administration period (day)	13.0	4.0 - 14.0 (9.0 - 13.0)	12.0	5.0 - 14.0 (10.0 - 13.0)	0.724
At the start of administration					
PNA (day)	26.0	9.0 - 45.0 (16.5 - 29.0)	25.5	12.0 - 72.0 (15.0 - 32.8)	0.881
PMA (week)	34.9	31.4 - 39.6 (33.6 - 35.9)	36.0	32.9 - 39.3 (35.1 - 37.0)	0.0235
Body weight (g)	1740.0	866.0 - 2686.0 (1610.0 - 2052.5)	1979.5	1382.0 - 2620.0 (1831.0 - 2257.3)	0.0236
Serum zinc concentration (µg/dL)	62.0	52.0 - 68.0 (57.5 - 66.0)	57.0	40.0 - 69.0 (53.0 - 63.0)	0.024
Serum copper concentration (µg/dL)	42.0	26.0 - 86.0 (36.0 - 49.0)	39.0	26.0 - 76.0 (31.5 - 46.3)	0.222

The Student's *t*-test was used to analyze GA, Birth weight, Dose and Serum zinc concentration. The Welch's test was used to analyze PMA and Body weight. The Mann-Whitney U test was performed for other variables. GA, gestational age; PNA, postnatal age; PMA, postmenstrual age.

Table 5. Other characteristics by changes in serum copper concentration after zinc administration.

	decrease (n = 19)	Not decrease (n = 44)	<i>p</i>
Sex			
Male	10	23	1.0
Female	9	21	
Enteral nutrition			
Breast milk	10	15	0.245
Infant formula	0	4	
Breast milk + Infant formula	9	25	
Serum zinc concentration after administration			
$\geq 70 \mu\text{g/dL}$	7	9	0.212
$< 70 \mu\text{g/dL}$	12	35	

The Fisher's exact test was used for statistical analyze.

## 考察

酢酸亜鉛二水和物の投与により血清銅濃度が低下することが以前に報告されていたが<sup>13)</sup>、早産児を対象とした本研究では血清銅濃度が低下しない症例が多く見られた。血清銅濃度が低下した群と低下しなかった群では、投与開始前のPMA および血清亜鉛濃度に有意差が認められたことから、以下の3つの機序を考えた。

第一の機序は、発達過程における小腸での銅の吸収効率の変動に関するものである。ラットにおいて、小腸における銅の吸収率は発達の過程で変動し、生後20日より生後10日の方が高いことが以前に示されている<sup>17)</sup>。ヒトの小腸における発達と銅の吸収効率の関係は現在のところ不明であるが、早産時においても銅の吸収率が変動している可能性がある。したがって、発達（生後日数やPMA など）と銅の吸収効率（CTR1 や ATP7A の発現量など）の関係を明らかにするために、さらなる研究が必要である。

第二の機序は、酢酸亜鉛二水和物投与開始時の血清亜鉛濃度による影響である。メタロチオネインの発現誘導は、亜鉛濃度に依存することが報告されている<sup>18)</sup>。本研究では、酢酸亜鉛二水和物を低亜鉛血症の患者に投与しており、投与開始時の血清亜鉛濃度が低値であったことからメタロチオネインの発現を誘導するレベルまで血清亜鉛濃度が上昇していない可能性がある。

第三の機序は、発達過程における小腸のメタロチオネインの発現量の変動で

ある。Nishimura らは、生後の発達段階とラット小腸におけるメタロチオネインの発現量を調査し、生後 18 日まではメタロチオネインの発現量に著しい変化は見られなかったが、生後 27 日をピークに徐々に発現が減少していくことを報告した<sup>19)</sup>。ヒトの発達と小腸におけるメタロチオネインの発現量との関係は現在のところ不明であるが、メタロチオネインの発現量が低い時期に酢酸亜鉛二水和物の投与を開始したため、亜鉛の投与後に血清銅濃度が低下しなかった可能性がある。

亜鉛の消化管吸収において、ラットの小腸では銅が濃度依存的に亜鉛の吸収を阻害することが報告されている<sup>20)</sup>。一方、本研究では投与開始時の血清銅濃度が高いほど、血清亜鉛濃度が高くなることが示された。これは、以前の報告が消化管内の銅による影響であるのに対し、本研究では血清中の銅による影響である点が異なっており、それが何らかの影響を及ぼした可能性がある。血清亜鉛濃度の上昇と血清銅濃度の関係は現時点では不明であるが、本研究では酢酸亜鉛二水和物投与開始時点の血清銅濃度が低亜鉛血症の治療成績に有意な影響を示した。

本研究では酢酸亜鉛二水和物投与による血清亜鉛濃度の上昇はわずかであった。亜鉛の推奨摂取量は 1~2mg/kg/day と報告されている<sup>21)</sup>。しかし、本研究では酢酸亜鉛二水和物投与により血清亜鉛濃度が 70  $\mu$ g/dL 以上に到達した群では投与期間中の投与量の中央値が 2.5mg/kg/day であったのに対し、血清亜鉛

濃度が  $70 \mu\text{g/dL}$  に到達しなかった群では投与量の中央値は  $2.0\text{mg/kg/day}$  であった。したがって、早産児の低亜鉛血症を短期間で治療するためには  $2.0\text{mg/kg/day}$  の投与量では不十分な可能性がある。

本研究には対処すべき 2 つの限界がある。症例数が少ないこと、及びヒト早産児における亜鉛と銅の吸収に対する発達の影響が現時点で不明なことである。今後は症例数を増やし、本研究で判明した酢酸亜鉛二水和物投与後の血清亜鉛濃度、血清銅濃度の増減に寄与する要因について多変量解析で検討する予定である。また、酢酸亜鉛二水和物投与後の血清銅濃度の増減に寄与する有意な因子として PMA が同定されたことから、銅の吸収効率は発達の過程で変動していることが示唆された。今後、ヒト早産児の銅の吸収及び排泄率を経時的に評価し、発達による銅の吸収効率の変化を評価する研究が必要である。



## 第二章 低亜鉛血症の早産児における酢酸亜鉛二水和物投与後の血清銅濃度

### の低下に影響するリスク因子の評価

#### 緒言

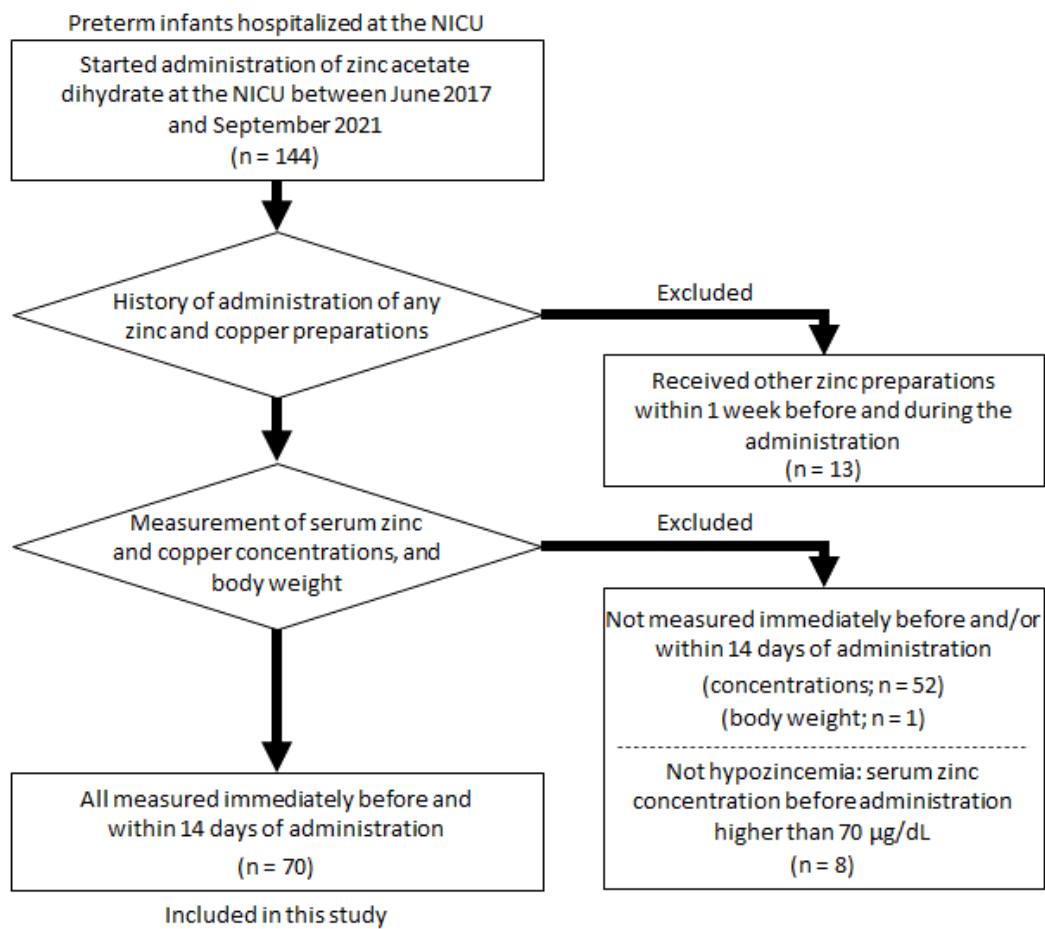
銅は、ヒトの必須微量元素の一つであり、様々な酵素の活性に寄与している。銅は、細胞呼吸や神経伝達物質の生合成に関与するほか、間接的に造血にも関与し、人体において重要な役割を果たしている<sup>4)</sup>。銅欠乏は、貧血、汎血球減少、神経障害などを引き起こすと報告されている<sup>6)</sup>。

低亜鉛血症の早産児に対し酢酸亜鉛二水和物の投与が行われるが、銅の消化管吸収は亜鉛によるメタロチオネインの発現誘導により阻害されることから、亜鉛の投与により血清銅濃度が低下するリスクが高まる<sup>8)</sup>。しかし、第一章において、筆者は低亜鉛血症の早産児に酢酸亜鉛二水和物を投与した際に、全体として血清銅濃度は低下ではなく有意に上昇することを報告した。ただし、一部の症例においては血清銅濃度の低下を認め、汎血球減少等の銅欠乏症は臨床上問題となるため、血清銅濃度の低下に影響を及ぼす要因の探索が必要である。そこで、本章では低亜鉛血症の早産児に酢酸亜鉛二水和物を安全に投与するために、血清銅濃度が低下する要因について検討する目的で、酢酸亜鉛二水和物投与による血清銅濃度の減少の有無をもとに多変量解析を行った。

## 結果

### 調査対象症例

調査対象期間は 2017 年 6 月から 2021 年 9 月までとし、この期間中に NICU に入室し酢酸亜鉛二水和物の投与が開始された早産児は 144 例であった。これらの症例のうち、本研究では 70 例が組み入れ基準を満たし解析対象となった (Fig. 3)。投与期間中、酢酸亜鉛二水和物による貧血の増悪は見られなかった。なお、データは示していないが酢酸亜鉛二水和物の投与により低亜鉛血症の治療が成功した、すなわち血清亜鉛濃度が  $70 \mu\text{g/dL}$  以上に上昇した症例は 70 例中 17 例であった。



**Figure 3.** Flowchart of study participants.

## 血清銅濃度の低下に影響する要因の検討

臨床検査の精度の許容誤差の上限は 5%であるという報告を参考に<sup>22)</sup>、測定誤差の影響を考慮し、酢酸亜鉛二水和物投与後に血清銅濃度が 5%以上低下した場合を血清銅濃度の低下と定義した。

本研究では、解析対象となった 70 例中、21 例で酢酸亜鉛二水和物投与後に血清銅濃度の低下が見られた (Table 6)。血清銅濃度が減少した群と減少しなかった群における単変量解析の結果、酢酸亜鉛二水和物投与開始時の PMA は前者で 34.9 (33.6-36.0) 週、後者で 35.9 (35.1-37.0) 週と前者で有意に低く ( $p=0.00133$ )、投与開始時の血清亜鉛濃度が前者で 62.0 (57.0-66.0)  $\mu\text{g/dL}$ 、後者で 58.0 (53.0-63.0)  $\mu\text{g/dL}$  と前者で有意に高かった ( $p=0.0307$ ) (Table 6)。これら 2 項目を説明変数として血清銅濃度の低下についてロジスティック回帰分析を行ったところ、PMA のみが有意差を示した (オッズ比 0.586, 95%信頼区間 0.392 - 0.876,  $p=0.00924$ ) (Table 7)。

Table 6. Clinical characteristics by changes in serum copper concentrations after zinc administration.

	Decrease (n = 21)		No decrease (n = 49)		<i>p</i>
Sex (Male/Female)	12/9		25/24		0.795
GA (week)	31.6	25.0 - 35.0 (29.6 - 33.0)	32.4	26.4 - 36.1 (30.4 - 34.0)	0.156
Birth weight (g)	1555.0	624.0 - 2312.0 (1152.0 - 1928.0)	1578.0	782.0 - 2550.0 (1283.0 - 1779.0)	0.368
Dose (mg/kg/day)	2.0	0.96 - 3.4 (1.4 - 2.5)	2.1	0.95 - 3.8 (1.8 - 2.5)	0.348
Administration period (day)	12.0	4.0 - 14.0 (8.0 - 13.0)	13.0	5.0 - 14.0 (11.0 - 13.0)	0.324
At the start of administration					
PNA (day)	22.0	9.0 - 45.0 (17.0 - 29.0)	24.0	12.0 - 72.0 (15.0 - 35.0)	0.847
PMA (week)	34.9	31.4 - 39.6 (33.6 - 36.0)	35.9	32.9 - 39.3 (35.1 - 37.0)	0.00133
Body weight (g)	1746.0	866.0 - 2686.0 (1625.0 - 2194.0)	1976.0	1382.0 - 2620.0 (1838.0 - 2257.0)	0.0608
Serum zinc concentration (µg/dL)	62.0	52.0 - 68.0 (57.0 - 66.0)	58.0	40.0 - 69.0 (53.0 - 63.0)	0.0307
Serum copper concentration (µg/dL)	42.0	26.0 - 86.0 (36.0 - 50.0)	39.0	26.0 - 76.0 (30.0 - 46.0)	0.193
Enteral nutrition					
Breast milk	9		17		0.851
Infant formula	1		4		
Breast milk + Infant formula	11		28		

Data for sex and enteral nutrition are shown in terms of the number of patients, while others are presented as median ranges (interquartile range). Fisher's exact test was used to analyze sex and enteral nutrition. The Student's *t*-test was used to analyze GA, birth weight, dose, PMA, and serum zinc concentrations. Welch's test was used to analyze body weight. Mann-Whitney U test was performed for other variables. GA, gestational age; PNA, postnatal age; PMA, postmenstrual age.

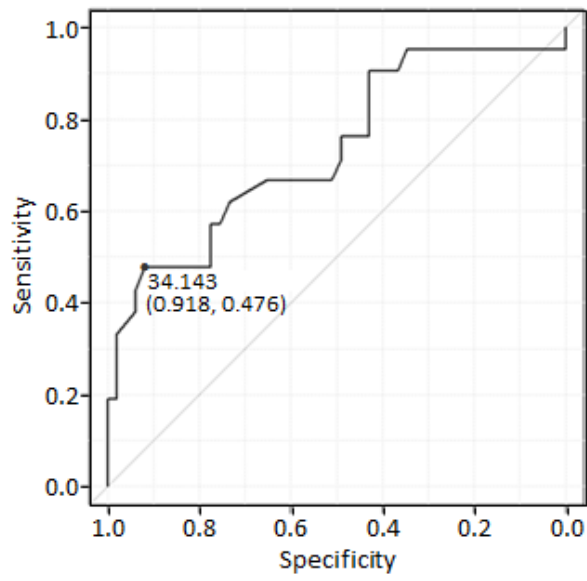
Table 7. Analysis of factors influencing decreases in serum copper concentrations by a logistic regression analysis.

	odds ratio	95% confidence interval	<i>p</i>
PMA (week)	0.586	0.392 - 0.876	0.00924
Serum zinc concentration at the start of administration (µg/dL)	1.07	0.981 - 1.17	0.122

PMA, postmenstrual age.

### 血清銅濃度の低下に対する修正週数の影響の評価

血清銅濃度の減少に対する PMA の影響を評価するため ROC 曲線を描画した。ROC 曲線の AUC (95%信頼区間) は 0.733 (0.595-0.870) であり、カットオフ値は 34.143 週、すなわち 34 週 1 日だった (Fig. 4)。本研究の解析対象例を血清銅濃度のカットオフ値未満とカットオフ値以上に分け、血清銅濃度の低下の有無に対するカットオフ値の影響を検討したところ有意差 ( $p=0.000422$ ) が認められた (Table 8)。



**Figure 4.** ROC curve of postmenstrual age on decreasing serum copper concentration.



Table 8. Cut-off value for PMA and decreases in serum copper concentrations.

	Decrease (n = 21)	No decrease (n = 49)	<i>p</i>	odds ratio (95% confidence interval)
PMA (week)				
< 34.143	10	4	0.000422	9.78
≥34.143	11	45		(2.30 - 51.3)

Fisher's exact test was used for statistical analyses. PMA, postmenstrual age.

## 考察

亜鉛の投与により血清銅濃度が低下することは以前から報告されている<sup>6)</sup>。今回、酢酸亜鉛二水和物を投与した早産児 70 例中 21 例 (30.0%) で血清銅濃度が低下した。ロジスティック回帰分析の結果、酢酸亜鉛二水和物の投与により血清銅濃度が低下する要因として PMA が有意であった。したがって、早産児の発達は銅の吸収をはじめとする体内動態に影響を与える可能性が考えられた。

早産児の発達と銅の吸収の関係について、銅の消化管吸収効率とメタロチオネインの発現量の変動の影響を検討した。第一部の考察で述べたとおり、ラットでは銅の消化管吸収効率とメタロチオネインの発現量が生後日数によって変動することが明らかにされている。すなわち、ラットにおいて銅の消化管吸収効率は生後 10 日では生後 20 日よりも高いことが示されており<sup>17)</sup>、さらにラットの小腸におけるメタロチオネインの発現量は、生後 18 日までは有意な変化がなく、生後 27 日でピークを迎え、その後徐々に減少することが明らかにされている<sup>19)</sup>。ヒトにおける発達と銅吸収の関係は現在のところ不明であるが、メタロチオネインの発現量が多く、銅の吸収効率が低い発達段階では、血清銅濃度が低下しやすい可能性がある。今後、ヒト早産児の生後発達過程における銅の消化管吸収効率とメタロチオネイン発現量の変動を評価する研究が必要である。

今回、ROC 曲線から得られた酢酸亜鉛二水和物投与後の血清銅濃度低下に対する PMA のカットオフ値は 34 週 1 日であった。これは 34 週 0 日～36 週 6 日

という後期早産の定義の下限に近い値であった<sup>2)</sup>。早産児は生理的に未熟であり、消化管機能も未熟であると考えられている<sup>2)</sup>。ブタを用いた研究において、早産児は正期産に近い新生児に比べて栄養吸収率が低いことが実証されている<sup>23)</sup>。したがって、PMA が約 34 週より低い発達が未熟な段階では、消化管での銅の吸収効率が低く血清銅濃度が低下する可能性がある。

本研究の限界は症例数が少ないことである。酢酸亜鉛二水和物投与後に血清銅濃度の低下が見られたのは 21 例のみであった。オーバーフィッティングを避けるため、ロジスティック回帰分析に含める説明変数の数が制限された。本研究では、ロジスティック回帰分析の前に行った単変量解析の結果、有意であった因子のみを説明変数として選択した。また、酢酸亜鉛二水和物の有効性を検討できなかったことも本研究の限界である。第一部において、単変量解析の結果、酢酸亜鉛二水和物の投与量と投与開始時の血清銅濃度が酢酸亜鉛二水和物投与後の血清亜鉛濃度の上昇に有意に影響することを示した<sup>9)</sup>。今回、酢酸亜鉛二水和物投与後に血清亜鉛濃度が 70 mg/dL 以上に上昇した患者の数は多変量解析を行うには不十分であった。早産児の酢酸亜鉛二水和物投与後の血清銅濃度の低下および血清亜鉛濃度の上昇を予測するためには、多施設共同研究などでより多くの症例を集積し、より優れたモデルを開発することが必要である。

以上より、酢酸亜鉛二水和物の投与により、34 週 1 日をカットオフ値とし、より PMA が低い早産児の血清銅濃度を低下させることが示唆された。PMA の

低い早産児の低亜鉛血症をより安全に治療するためには、酢酸亜鉛二水和物投与時の血清銅濃度を定期的に測定することが必要であると考えられる。

## 結語

本研究では以下の知見を得た。

1. 酢酸亜鉛二水和物を低亜鉛血症の早産児に投与することで、血清亜鉛濃度は上昇する傾向にあるが、早期に低亜鉛血症の治療を行うには 2mg/kg/day よりもより高用量の投与が必要と考えられる。また、投与開始時の血清銅濃度が血清亜鉛濃度の上昇に影響を及ぼしている可能性が示唆された。
2. 低亜鉛血症の早産児に酢酸亜鉛二水和物を投与する際、PMA が低いと血清銅濃度が低下しやすく、特に修正 34 週を下回る場合は血清銅濃度の低下に注意が必要である。

以上、筆者は低亜鉛血症の早産児に対する酢酸亜鉛二水和物投与時の有効性と安全性に影響を及ぼす要因を見出した。いずれにおいても本研究では対象となった症例数が少なかったことから、現在は他施設と共同し症例数の集積を行っている。今後、集積した症例の投与量や血清亜鉛濃度、血清銅濃度などのデータを用い多変量解析を行い、早産児の低亜鉛血症を早期に治療するための至適投与量を求め、早産児の有効で安全な薬物療法の確立を目標に研究を続けていく予定である。

本学位論文は、以下の学術論文の内容に基づいて書かれたものである。

1. Ito T, Uenoyama K, Kobayashi K, Kakumoto M, Mizumoto H, Katsura T, Onoue M. Administration of zinc to preterm infants with hypozincemia does not reduce serum copper concentrations in most cases: a single-center retrospective observational study. *J Pharm Health Care Sci.* 2021 Dec 2;7 (1) :46
2. Ito T, Uenoyama K, Kobayashi K, Kakumoto M, Mizumoto H, Katsura T, Onoue M. Decreased Serum Copper Concentrations by Zinc Administration in Preterm Infants with Hypozincemia Are Associated with a Lower Postmenstrual Age: A Single-center Retrospective Observational Study. *Yakugaku Zasshi.* 2022;142 (9) :999-1004.

## 謝辞

終わりに臨み、本研究の実施にあたり終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました立命館大学大学院薬学研究科 桂敏也 教授、ならびに公益財団法人田附興風会医学研究所北野病院薬剤部 尾上雅英 部長に衷心より深甚なる謝意を表します。

また、多くの有益なる御助言ならびにご指導を賜りました立命館大学大学院薬学研究科 角本幹夫 教授、ならびに公益財団法人田附興風会医学研究所北野病院小児科 水本洋 部長に感謝致します。

あわせて、本研究に関する論文投稿及び作成にあたり、終始懇切なご助言、ご協力を頂きました同僚である上ノ山和弥氏、小林和博氏に感謝申し上げます。

さらに、本研究はその他の多くの諸先輩、同僚、後輩の皆さんのご尽力の結果として得られました。皆様に厚く御礼申し上げます。

## 参考文献

1. Gore R, Chugh PK, Tripathi CD, Lhamo Y, Gautam S. Pediatric Off-Label and Unlicensed Drug Use and Its Implications. *Curr Clin Pharmacol*. 2017;12 (1) :18-25.
2. Engle W. A., Tomashek K. M., Wallman C. "Late-preterm" infants: a population at risk. *Pediatrics*. 2007;120 (6) :1390-1401.
3. Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease. *Adv Nutr*. 2013;4 (2) :176–190.
4. Miroslava P, Jakub V, Kateřina K, David V. Biological role of copper as an essential trace element in the human organism. *Ceska Slov Farm*. 2018;67 (4) :143-153.
5. Terrin G, Berni Canani R, Di Chiara M, Pietravalle A, Aleandri V, Conte F, et al. Zinc in early life: a key element in the fetus and preterm neonate. *Nutrients*. 2015;7 (12) :10427–10446.
6. Gabreyes AA, Abbasi HN, Forbes KP, McQuaker G, Duncan A, Morrison I. Hypocupremia associated cytopenia and myelopathy: a national retrospective review. *Eur J Haematol*. 2013;90 (1) :1–9.
7. Package insert for NOBELZIN® Tablets. [https://www.info.pmda.go.jp/g/pdf/620095\\_3929007F1029\\_2\\_11](https://www.info.pmda.go.jp/g/pdf/620095_3929007F1029_2_11). Accessed 08 Oct 2021.



8. Irato P, Albergoni V. Interaction between copper and zinc in metal accumulation in rats with particular reference to the synthesis of induced-metallothionein. *Chem Biol Interact.* 2005;155 (3) :155–164.
9. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant.* 2013;48 (3) :452-458.
10. Itabashi K, Saito T, Ogawa Y, Uetani Y. Incidence and predicting factors of hypozincemia in very-low birth-weight infants at near-term postmenstrual age. *Biol Neonate.* 2003;83 (4) :235–240.
11. Itabashi K, Miura A, Okuyama K, Kitazawa S. Estimated nutritional intake based on the reference growth curves for extremely low birthweight infants. *Pediatr Int.* 1999;41 (1) :70–77.
12. Yasuda H, Yoshida K, Yasuda Y, Tsutsui T. Infantile zinc deficiency: Association with autism spectrum disorders. *Sci Rep.* 2011;1:srep00129.
13. Ozeki I, Nakajima T, Suii H, Tatsumi R, Yamaguchi M, Arakawa T, Kuwata Y, Toyota J, Karino Y. Evaluation of treatment with zinc acetate hydrate in patients with liver cirrhosis complicated by zinc deficiency. *Hepatol Res.* 2019;50 (4) :488–501.
14. Wang X, Zhou B. Dietary zinc absorption: a play of zips and ZnTs in the gut. *IUBMB Life.* 2010;62 (3) :176–182.

15. Kim BE, Nevitt T, Thiele DJ. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. *Nat Chem Biol.* 2008;4 (3) :176–185.
16. Russell RM, Suter PM. Chapter 96e. Vitamin and trace mineral deficiency and excess. MINERALS. ZINC. In: Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 19th edn. New York: McGraw Hill; 2015: 96e-9-96e-10.
17. Lönnerdal B. Trace element nutrition of infants – molecular approaches. *J Trace Elem.* 2005;19 (1) :3–6.
18. Onosaka S, Cherian MG. The induced synthesis of metallothionein in various tissues of rats in response to metals. II Influence of zinc status and specific effect on pancreatic metallothionein. *Toxicology.* 1982;23 (1) :11–20.
19. Nishimura H, Nishimura N, Tohyama C. Immunohistochemical localization of metallothionein in developing rat tissue. *J Histochem Cytochem.* 1989;37 (5) :715–722.
20. Condomina J, Zornoza-Sabina T, Granero L, Polache A. Kinetic of zinc transport in vitro in rat small intestine and colon: interaction with copper. *Eur J Pharm Sci.* 2002;16 (4-5) :289–295.
21. Bhatia J, Griffin I, Anderson D, Kler N, Domellöf M. Selected macro/micronutrient needs of the routine preterm infants. *J Pediatr.*

2013;162 (3) :S48–S55.

22. Committee on Quality Management, Japan Society of Clinical Chemistry. *Jpn*

*J Clin Chem.* 2006;35 (2) :144-153.

23. Østergaard MV, Cilieborg MS, Skovgaard K, Schmidt M, Sangild PT, Bering

SB. Preterm Birth Reduces Nutrient Absorption With Limited Effect on

Immune Gene Expression and Gut Colonization in Pigs. *J Pediatr*

*Gastroenterol Nutr.* 2015;61 (4) :481-490.