

経静脈栄養および経腸栄養が消化管粘膜透過性の変化に及ぼす影響に関する実験的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9381

経静脈栄養および経腸栄養が消化管粘膜透過性の 変化に及ぼす影響に関する実験的研究

金沢大学医学部医学科外科学第一講座 (主任 渡辺洋宇教授)

平 野 勝 康

完全静脈栄養 (total parenteral nutrition, TPN) は、ラットを用いた実験により消化管粘膜の透過性亢進と粘膜防御機能の破綻を生じ、細菌移行 (bacterial translocation, BT) を惹起することが判明している。本研究では、経静脈栄養 (parenteral nutrition, PN) と経腸栄養 (enteral nutrition, EN) の各々単独、およびそれら二者の併用が消化管粘膜透過性に及ぼす影響を検討した。実験動物には雄性ドブソラットを用いた。実験 I では、TPN 群と完全経腸栄養 (total enteral nutrition, TEN) 群にわけ、14日間栄養管理を行った。実験 II では、EN の投与量により 15 k カロリー (kcalorie, kcal)/kg/日 [カロリー制限経腸栄養 (restricted enteral nutrition, REN) 5% 群], 30 kcal/kg/日 (REN 10% 群), 60 kcal/kg/日 (REN 20% 群), 120 kcal/kg/日 (REN 40% 群), 180 kcal/kg/日 (REN 60% 群), 300 kcal/kg/日 (REN 100% 群) の 6 群にわけ、7日間栄養管理を行った。実験 III では、中心静脈カテーテルの留置に加えて胃瘻を造設し、双方を同時に投与した [併用栄養療法 (combined nutritional therapy, CNT)]。この際、PN と EN のカロリーの和は 300 kcal/kg/日とし、胃瘻からの EN 投与量が総カロリーに占める割合が 0% のものを CNT 0% 群、5% を CNT 5% 群、10% を CNT 10% 群、15% を CNT 15% 群、20% を CNT 20% 群とした。実験 I では、1週間後にフェノールスルホンフタレイン (phenolsulfonphthalein, PSP) 経口投与後の尿中排泄率が、TEN 群では $1.6 \pm 0.2\%$ であったのに対し、TPN 群では $5.7 \pm 0.4\%$ と有意な高値を示した ($p < 0.01$)。また、2週間の栄養管理後の結果も同様であった。さらに TPN 群では、TEN 群と比較して肝湿重量比、脾湿重量比および脾培養陽性率が 1週間後に有意な高値を示し、2週間後ではさらに上昇していた。実験 II では、REN 5% 群において他群と比較して PSP 経口投与後の尿中排泄率が $4.1 \pm 0.7\%$ と有意な上昇を示し ($p < 0.01$)、脾湿重量比にも 1.5 ± 0.5 g/kg と有意な減少を認めた ($p < 0.01$)。なお、各群ともにリンパ節および脾臓の培養は陰性であった。実験 III では、PSP 経口投与後の尿中排泄率は CNT 0% 群で $8.8 \pm 1.5\%$ 、CNT 5% 群で $6.1 \pm 1.2\%$ 、CNT 10% 群で $4.8 \pm 1.2\%$ 、CNT 15% 群で $3.1 \pm 0.9\%$ 、CNT 20% 群で $2.5 \pm 0.8\%$ であり、CNT 15, 20% 群で他の 3 群と比較して有意に減少していた ($P < 0.05$)。また、脾湿重量比も CNT 0% 群で 8.4 ± 1.2 g/kg、CNT 5% 群で 6.5 ± 1.7 g/kg、CNT 10% 群で 6.0 ± 1.3 g/kg、CNT 15% 群で 4.8 ± 0.8 g/kg、CNT 20% 群で 4.7 ± 0.8 g/kg であり、CNT 15, 20% 群で他の 3 群と比較して有意な低値を示した ($p < 0.05$)。リンパ節と脾臓の培養では EN の投与量が増加するにしたがい、陽性率が減少する傾向を認めた。以上より、TPN や総投与カロリーの 5% 程度の EN 投与では消化管粘膜透過性亢進をきたし、BT をきたす準備状態となっていることが判明した。また、その対策の一つとして PN と EN を併用した場合、総投与カロリーの 15% 以上の EN 投与が必要であると考えられた。

Key words bacterial translocation, combined nutritional therapy, intestinal permeability, low residue diet, total parenteral nutrition

消化管粘膜には、本来消化管内腔に存在する種々の細菌やその菌体成分など、生体に不利益な高分子化合物の通過を防止する障壁機能がある。しかし、特殊な状態ではこの障壁機能が破綻し、消化管粘膜の透過性亢進とともに細菌などが生体内へ侵入することが判明している。1958年 Kellerら³⁾はマウスを使用して消化管から腸間膜リンパ節へ生菌が通過することを証明し、これを細菌移行 (bacterial translocation, BT) と称した。近年、難吸収物質であるフェノールスルホンフタレイン

(phenolsulfonphthalein, PSP) を用いて消化管粘膜透過性の異常を評価した研究により、絶食²⁾、完全静脈栄養 (total parenteral nutrition, TPN)³⁾、抗瘍剤⁴⁾、熱傷⁵⁾などによっても消化管粘膜の透過性が亢進することが明らかにされた。また BT も、熱傷⁶⁾、出血性ショック⁷⁾、腸閉塞⁸⁾、TPN⁹⁾、塩酸モルヒネ¹⁰⁾などによって惹起されることが判明している。臨床的にも、重症ショック患者¹⁰⁾や多臓器不全患者¹¹⁾の血中にこれらの患者の消化管から検出される細菌が認められる。さらに、クローン病で開腹を受

平成10年10月23日受付, 平成10年12月1日受理

Abbreviations: BT, bacterial translocation; CNT, combined nutritional therapy; LRD, low residue diet; PN, parenteral nutrition; PSP, phenolsulfonphthalein; REN, restricted enteral nutrition; TEN, total enteral nutrition; TPN, total parenteral nutrition

けた患者から無菌的に採取した腸間膜リンパ節の培養で細菌の陽性率が高い傾向を認めたことも報告されている¹²⁾。これらの事実から、BTが原因不明の感染症や敗血症、および多臓器不全などの原因、もしくはそれらを悪化させる一因と認識されるに至った。日常的に施行される医療行為であるTPNや、発生頻度の高い疾病である腸閉塞、熱傷などによりBTが誘発され、多臓器不全などの重篤な病態形成に関与するならば、BTの防止は極めて重要と考えられる。これまで、BTを防止することを目的として様々な検討^{13)~17)}がなされてきた。しかし、これらはいずれもTPN施行時に1種類の成分あるいは薬剤を追加投与した検討である。本研究では、静脈栄養 (parenteral nutrition, PN) 製剤と低残渣の経腸栄養剤 (low residue diet, LRD) を使用し、それぞれが消化管粘膜透過性亢進およびBTに及ぼす影響について検討した。さらに、それら2種を種々の比率で併用した場合の消化管粘膜透過性亢進およびBT防止効果について検討した。

材料および方法

I. 実験材料

1. 実験動物

体重 200 - 250 g の雄性ドブネラット (静岡実験動物, 浜松) を使用し、約1週間馴化させた後に実験に使用した。実験開始までは、金沢大学動物実験施設内の空調飼育室 (室温 23 ± 2 °C, 湿度 55 ± 5 %) で固形飼料 CRF-1 (日本チャールズリバー, 大和) および水道水を自由経口摂取させた。

2. 輸液製剤

高張グルコース電解質液としてハイカリック®NC-H (テルモ, 東京)、総合アミノ酸製剤としてアミパレン® (大塚, 東京)、脂肪乳剤としてイントラリボス® (ミドリ十字, 大阪) を使用し、以下の経腸栄養剤の栄養組成と同様になるよう無菌的に調製した。

3. 経腸栄養剤

LRD の経腸栄養剤としてアイソカル® (プリストル・マイヤーズ スクイブ, 東京) を使用した。

4. 輸液システム

無拘束下にラットに輸液を施行する装置としてバイオカニューーラ® (バイオ・メディカ, 大阪) を使用した。また輸液の注入には微量輸液ポンプ (マイボンB型®, バイオ・メディカ) を使用した。

II. 実験方法

1. 実験群の設定

1) 実験 I: TPN 群および完全経腸栄養 (total enteral nutrition, TEN) 群に分け、各群それぞれ1週間および2週間の栄養管理を行った。

2) 実験 II: 無侵襲下に経腸栄養剤の投与量を15 [カロリー制限経腸栄養 (restricted enteral nutrition, REN) 5% 群], 30 (REN 10% 群), 60 (REN 20% 群), 120 (REN 40% 群), 180 (REN 60% 群), 300 k カロリー (kcalorie, kcal)/kg/日 (REN 100% 群) に制限し、1週間の栄養管理を行った。

3) 実験 III: 各ラットに投与した総カロリーは同量で、投与する経腸栄養剤と静脈栄養剤の割合を表1に示すように5段階に変化させ、併用栄養療法 (combined nutritional therapy, CNT) 0% 群, CNT 5% 群, CNT 10% 群, CNT 15% 群, CNT 20% 群とし、7日間の栄養管理を行った (表1)。

使用したラットは各群6匹とした。実験 I および実験 III の総投与カロリー量は 300 kcal/kg/日、投与水分量は 300 ml/kg/日、糖質投与量は 150 kcal/kg/日、脂質投与量は 111 kcal/kg/日、窒素投与量 1.53 g/kg/日、非蛋白カロリー/窒素比 (non-protein calories / nitrogen ratio) は約 166.8 とした。実験 II では、組成および投与水分量は上記と同様とし、投与カロリー量のみを制限した。

2. 実験動物の作成

1) 実験 I: TPN 群のラットは24時間絶食後、ペントバルビタール (大日本, 大阪) 50 mg/kg の腹腔内投与による全身麻酔下に Steiger ら¹⁸⁾、宗田ら¹⁹⁾の方法に準じて、外径 1 mm のシリコンラバーチューブを頸静脈より挿入し、先端が上大静脈に位置するように留置した。TEN 群では同様に頸静脈を露出し結紮のみを行った。

2) 実験 III: ラットを24時間絶食後、実験 I と同様に中心静脈カテーテルを留置したのち、腹部に正中切開を加え外径 1 mm のシリコンラバーチューブを用い胃瘻を造設した。チューブは皮下を通し中心静脈カテーテルとともに固定した。

3. 測定項目および方法

1) 標本の作成

実験 I は実験開始前および実験終了24時間前に、実験 II および III は実験終了24時間前に10 mg のフェノールスルフォンフタレイン (phenolsulfonphthalein, PSP) を経口ゾンデを用いたラットの胃内に投与した後、24時間尿を採取した。採尿後ラットの体重を測定し、麻酔下に無菌的に開腹した。腸間膜リンパ節 (mesenteric lymph nodes) を腸間膜根部から回盲部領域にかけて一塊にして摘出した後、脾臓、肝臓を摘出した。肝臓と脾臓は摘出時、湿重量を測定した。

2) 体重増加率

実験開始直前と栄養管理終了後の2回体重を測定し、その増減は実験直前値に対する百分率で表わした。

3) 消化管粘膜透過性の評価

採取した尿は総量を測定後、10% 水酸化ナトリウム 2 ml を加えてアルカリ化し赤色に発色させた後、蒸留水を加えて 500 ml に希釈し、560 nm の光電比色法にて PSP の尿中排泄率を測定した。

4) 臓器湿重量比の測定

実験終了時における体重 1 kg あたりに占める肝臓および脾臓の湿重量の割合を求めた。

5) 腸間膜リンパ節および脾臓内における生菌数の測定

採取した腸間膜リンパ節と脾臓は細かく破壊し滅菌 0.8 %

Table 1. Parenteral and enteral intake ratios in experiment III

Group	Diet intake ratio (%) of total calories	
	PN	LRD
CNT 0%	100	0
CNT 5%	95	5
CNT 10%	90	10
CNT 15%	85	15
CNT 20%	80	20

CNT, combined nutritional therapy; PN, parenteral nutrition; LRD, low residue diet.

NaCl溶液を加えて5 mlにした。その後、1000分の1 mlの定量白金耳を用い平板塗抹法により培養した。好気性培養はヒツジ血液寒天培地（デンカ生研，東京）とドリガルスキー改良培地[®]（栄研化学，東京）を用い37℃の条件下で48時間培養した。また、嫌気性培養はブルセラHK寒天培地[®]（極東製薬，東京）を用い，嫌気グローブボックス法で37℃の条件下で48時間培養した後，コロニー形成の有無を調べた。

6) 統計学的検討

測定値の比較の検討には Student の t 検定，Fisher の直接確率計算法，Kruskal-Wallis 検定および一元配置分散分析法 (one-way ANOVA) を用いた。一元配置分散分析法で有意差が認められた場合，多重比較検定を用いて比較を行い，有意差の検定を行った。統計学的有意水準は危険率5%未満とした。

成 績

I. 実験 I

1. 体重増加率

栄養管理終了時の体重増加率は，1週間後では TEN 群 9.2 ± 2.6%，TPN 群 10.7 ± 2.7%，2週間後では TEN 群 14.7 ± 2.1%，TPN 群 19.9 ± 3.9%であった。1週間後では TEN 群と TPN 群の間に差を認めなかったが，2週間後では TPN 群で有意に高率な体重増加がみられた ($p < 0.05$)。なお，実験終了時のラッ

トの体重増加率は TPN 群で有意に高かったが，肝臓と脾臓の重量を差し引くとその増加率に差を認めなかった。

2. 消化管粘膜透過性

PSP 尿中排泄率は，TEN 群で実験開始前 $1.3 \pm 0.2\%$ ，1週間後 $1.6 \pm 0.2\%$ ，2週間後 $1.4 \pm 0.3\%$ ，また，TPN 群で実験開始前 $1.1 \pm 0.2\%$ ，1週間後 $5.7 \pm 0.4\%$ ，2週間後 $5.5 \pm 1.1\%$ であった。1週間後，2週間後ともに TPN 群で TEN 群に比し有意に高い PSP 尿中排泄率を示した ($p < 0.01$)。また，TPN 群において1週間後，2週間後ともに実験開始前に比し有意に高い PSP 尿中排泄率を示した ($p < 0.01$)。しかし，TPN 群の1週間後と2週間後の排泄率には有意差を認めなかった。

3. 臓器湿重量比

1) 肝臓

肝湿重量比は，1週間後では TEN 群 $34.5 \pm 1.2\%$ ，TPN 群 $48.4 \pm 3.1\%$ ，2週間後では TEN 群 $34.8 \pm 1.1\%$ ，TPN 群 $57.5 \pm 4.7\%$ であった。1週間後，2週間後ともに TPN 群において TEN 群と比較して有意に高値であった ($p < 0.01$)。

2) 脾臓

脾湿重量比は，1週間後では TEN 群 $3.0 \pm 0.1\%$ ，TPN 群 $7.4 \pm 1.3\%$ ，2週間後では TEN 群 $3.4 \pm 0.3\%$ ，TPN 群 $13.4 \pm 2.6\%$ であった。1週間後，2週間後ともに TPN 群において TEN 群と比較し有意に高値であった ($p < 0.01$)。

Table 2. Incidence of culture-positive mesenteric lymph nodes and spleen in experiment I

Group	No. of rats used	No. of culture-positive cases			
		MLNs		Spleen	
		1 week	2 week	1 week	2 week
TEN	6	0	0	0	1
TPN	6	2	2	2	5

TPN, total parenteral nutrition; TEN, total enteral nutrition; MLNs, mesenteric lymph nodes.
* $p < 0.01$ by Fisher's exact probability test.

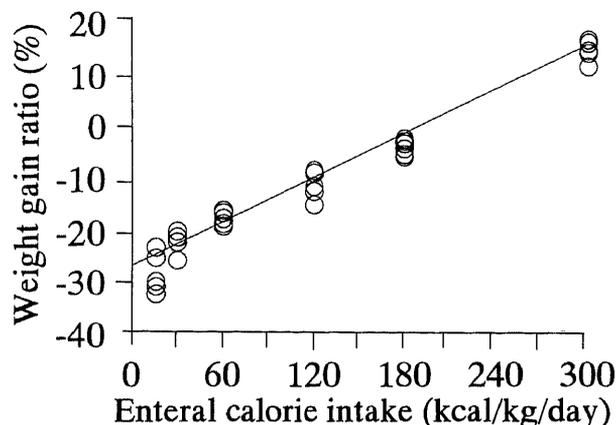


Fig. 1. Relationship between calories provided by oral low residue diet and weight gain ratio in experiment II. ($Y = 0.14X - 27.877$, $r = 0.981$, $p < 0.01$, $n = 36$)

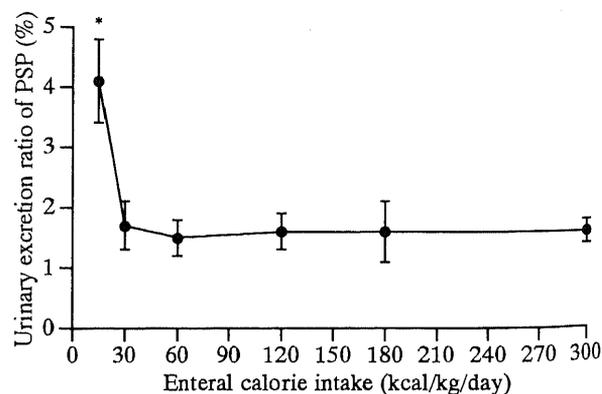


Fig. 2. The change in urinary excretion ratio of PSP in experiment II. Each value is expressed as $x \pm SD$ ($n = 6$). * $p < 0.01$ versus other groups. Statistical analysis was done using one-way ANOVA.

4. 腸間膜リンパ節および脾臓培養

培養陽性率では、両臓器とも TPN 群は TEN 群に比べ高い傾向を認め、2 週間後の脾臓培養では有意差を認めた (表 2)。

II. 実験 II

1. 体重増加率

1 週間の栄養管理後の各群における体重増加率は、投与カロリー量が増加するにしたがい増加し、体重増加率と投与カロリー量の間には有意な正の相関関係をみとめた ($r = 0.981, p < 0.01$) (図 1)。

2. 消化管粘膜透過性

PSP 経口投与後の尿中排泄率は、REN 5% 群 $4.1 \pm 0.7\%$ 、REN 10% 群 $1.7 \pm 0.4\%$ 、REN 20% 群 $1.5 \pm 0.3\%$ 、REN 40% 群 $1.6 \pm 0.3\%$ 、REN 60% 群 $1.6 \pm 0.5\%$ 、REN 100% 群 $1.6 \pm 0.2\%$ で、REN 5% 群では他群に比べて有意な高値を示した。なお、その他の群間には差を認めなかった (図 2)。

3. 臓器湿重量比

1) 肝臓

各群の肝湿重量比は REN 5% 群 $31.0 \pm 4.6 \text{ g/kg}$ 、REN 10% 群 $34.3 \pm 0.7 \text{ g/kg}$ 、REN 20% 群 $33.6 \pm 1.3 \text{ g/kg}$ 、REN 40% 群 $35.0 \pm 2.7 \text{ g/kg}$ 、REN 60% 群 $34.4 \pm 1.0 \text{ g/kg}$ 、REN 100% 群 $34.5 \pm 1.2 \text{ g/kg}$ で、各群の間に差をみとめなかった (図 3)。

2) 脾臓

各群の脾湿重量比は REN 5% 群 $1.5 \pm 0.5 \text{ g/kg}$ 、REN 10% 群 $2.8 \pm 0.3 \text{ g/kg}$ 、REN 20% 群 $2.9 \pm 0.4 \text{ g/kg}$ 、REN 40% 群 $2.7 \pm 0.3 \text{ g/kg}$ 、REN 60% 群 $3.0 \pm 0.3 \text{ g/kg}$ 、REN 100% 群 $3.0 \pm 0.1 \text{ g/kg}$ で、REN 5% 群が他群に比べて有意に低値であった (図 4)。

4. 腸間膜リンパ節および脾臓培養

腸間膜のリンパ節および脾臓培養はすべて陰性であった。

III. 実験 III

1. 体重増加率

1 週間の栄養管理後の各群における体重増加率は、CNT 0% 群で $14.0 \pm 1.5\%$ 、CNT 5% 群で $14.6 \pm 1.3\%$ 、CNT 10% 群で $14.2 \pm 1.8\%$ 、CNT 15% 群で $14.8 \pm 1.2\%$ 、CNT 20% 群で $13.9 \pm 1.7\%$ であった。各群間には有意差を認めなかった。

2. 消化管粘膜透過性

各群の PSP 経口投与後の尿中排泄率は、CNT 0% 群 $8.8 \pm 1.5\%$ 、CNT 5% 群 $6.1 \pm 1.2\%$ 、CNT 10% 群 $4.8 \pm 1.2\%$ 、CNT 15% 群 $3.1 \pm 0.9\%$ 、CNT 20% 群 $2.5 \pm 0.8\%$ であった。総投与カロリーに対する経腸栄養の占める割合が増加するにしたがい尿中 PSP 排泄率は漸減し、経腸栄養からの割合が 15% 以上では 10% 以下と比較して有意差を認めた (図 5)。

3. 臓器湿重量

1) 肝臓

肝湿重量比は CNT 0% 群 $58.1 \pm 5.1 \text{ g/kg}$ 、CNT 5% 群 $53.1 \pm 3.5 \text{ g/kg}$ 、CNT 10% 群 $54.3 \pm 6.6 \text{ g/kg}$ 、CNT 15% 群 $58.8 \pm 5.9 \text{ g/kg}$ 、CNT 20% 群 $56.6 \pm 7.3 \text{ g/kg}$ であり、各群の間に差を認めなかった。

2) 脾臓

脾湿重量比は CNT 0% 群 $8.4 \pm 1.2 \text{ g/kg}$ 、CNT 5% 群 $6.5 \pm 1.7 \text{ g/kg}$ 、CNT 10% 群 $6.0 \pm 1.3 \text{ g/kg}$ 、CNT 15% 群 $4.8 \pm 0.8 \text{ g/kg}$ 、CNT 20% 群 $4.7 \pm 0.8 \text{ g/kg}$ であった。経腸栄養からの投与カロリーの割合が増加するにしたがい脾湿重量比は漸減し、その割合が 15% 以上では 10% 以下と比較して有意差を認めた (図 6)。

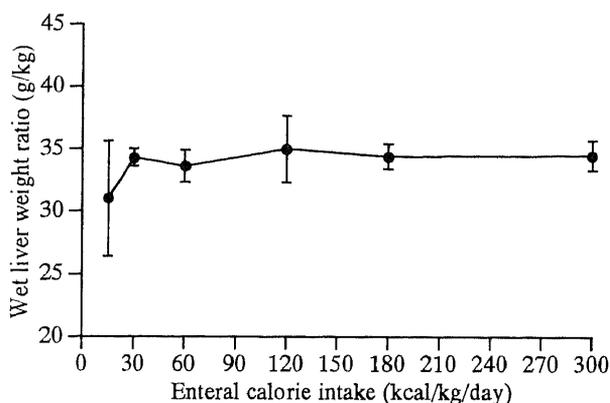


Fig. 3. The change in wet liver weight per body weight in experiment II. Each value is expressed as $x \pm SD$ ($n = 6$). $p = 0.07$. Statistical analysis was done using one-way ANOVA.

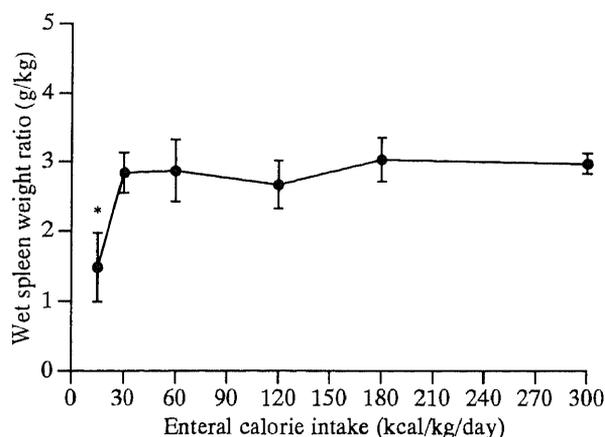


Fig. 4. The change in wet spleen weight per body weight in experiment II. Each value is expressed as $x \pm SD$ ($n = 6$). * $p < 0.01$ versus other groups. Statistical analysis was done using one-way ANOVA.

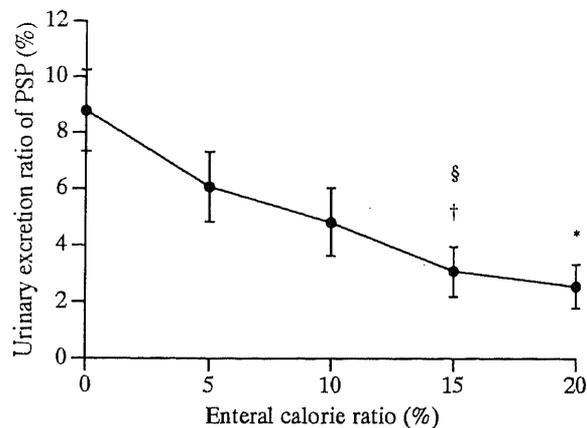


Fig. 5. The change in urinary excretion ratio of PSP in experiment III. Each value is expressed as $x \pm SD$ ($n = 6$). Statistical analysis was done using one-way ANOVA. * $p < 0.01$ versus CNT 0% and CNT 5% and CNT 10%. § $p < 0.01$ versus CNT 0% and CNT 5%. † $p < 0.05$ versus CNT 10%.

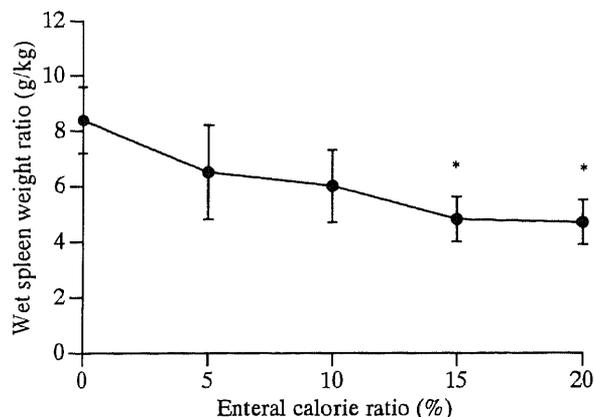


Fig. 6. The change in wet spleen weight per body weight in experiment III. Each value is expressed as $\bar{x} \pm SD$ ($n = 6$). Statistical analysis was done using one-way ANOVA. * $p < 0.05$ versus CNT 0% and CNT 5%.

Table 3. Incidence of culture-positive mesenteric lymph nodes and spleen in experiment III

Group	No. of rats used	No. of culture-positive cases	
		MLNs	Spleen
CNT 0%	6	3	2
CNT 5%	6	2	2
CNT10%	6	2	1
CNT15%	6	1	0
CNT20%	6	1	0

CNT, combined nutritional therapy; MLNs, mesenteric lymph nodes.

4. 腸間膜リンパ節および脾臓培養

腸間膜リンパ節および脾臓の培養では、両者とも経腸栄養の割合が多くなるにしたがって陽性率が減少する傾向を認めた(表3)。

考 察

Dudrickら²⁰⁾によって確立された TPN は、正の窒素平衡を得るに足る栄養素を静脈内に投与することにより、消化と吸収を省略した栄養管理法である。したがって、消化管の安静が必須である種々の病態に有用であり、それらの治療成績向上に大きく寄与している。しかし、消化管を使用しないことは消化管粘膜の廃用萎縮を惹起することが以前より判明していた^{21)~23)}。当初その萎縮は、消化・吸収能の低下としてとらえられていたが、近年腸内細菌叢と血管やリンパ管を隔てる障壁機能の破綻を伴うことが明らかになった。その結果生じる BT は、腸内常在菌を起因菌とした各種感染症のみならず、全身および腸管局所の免疫機能低下を惹起することが指摘されている^{24)~26)}。したがって、BT の防止は外科栄養学の大きな命題と言える。これまで、BT の防止を目的としたいくつかの研究がなされたが、それらは全て輸液中に何らかの物質を添加してその効果を検討するものであった⁸⁾¹⁵⁾²⁷⁾²⁸⁾。

経腸栄養剤の中でも成分栄養剤 (elemental diet) は、TPN と同じく BT を惹起することが知られている²⁹⁾³⁰⁾。一方、LRD を使用した栄養管理による BT の発生は報告されていない。従来、外科的栄養管理は静脈栄養と経腸栄養のどちらかを選択して行われてきた。しかし、必要カロリー量の全てを LRD で補える症例は比較的限定される。したがって、少量の LRD を静脈栄養と併用することにより BT が防止できれば、その臨床的意義は大きい。かかる静脈栄養・経腸栄養併用療法、すなわち CNT に関する報告は極めて少ない。大村ら³⁰⁾は、結腸・直腸癌症例の術後に投与カロリーの30%を LRD とする CNT を施行し、TPN 症例と比較した。その結果、CNT 施行例では TPN 施行症例と比較して良好な累積窒素平衡や胆道系酵素上昇の抑制などが認められたと報告している。また、平松ら³¹⁾は胃癌胃全摘術後に LRD と末梢静脈栄養を併用し、窒素平衡の改善と高血糖や高ビリルビン血症の抑制傾向を報告している。一方 Shou ら³²⁾は、ラットに投与カロリーの20%を普通固形飼料で与えることにより BT の低下と免疫機能の有意な上昇を認めたと報告した。しかし、終始 CNT を用いた栄養管理が消化管粘膜の透過性に及ぼす影響を検討した実験はいまだなされていない。

本研究に使用した LRD は、一般に臨床で用いられているものであり、カロリー比が糖質 50%、蛋白質 13%、脂質 37%の割合で配合されている。脂質には長鎖脂肪酸 30%の他に、直接門脈へ吸収され、速やかに熱源として利用される中鎖脂肪酸が7%含有され、浸透圧は250 mOsm/l と下痢をきたしにくいように調製されている。

本研究では、消化管粘膜の透過性の評価に PSP を用いた。PSP の分子量は354であり、生体内では代謝されず血中にあるものの90%が近位尿管から排泄される。しかし、正常腸管内に投与された場合の吸収率は極めて低く、その際の尿中排泄率増加は粘膜透過性の亢進に起因すると考えられる³³⁾。1941年の加藤の報告³⁴⁾以来、PSP は広く消化管粘膜の透過性の評価に用いられ²³⁾³⁴⁾³⁵⁾、その信頼性は確立している。

本研究の実験 I では、軽度侵襲下に TPN もしくは TEN を施行した場合の消化管粘膜透過性の変化を比較検討した。TPN 群、TEN 群ともに順調な体重増加を示し、普通飼料の自由摂取と同等の体重増加を得る栄養投与量として、300 kcal/kg/日は妥当であると考えられた。PSP 尿中排泄率で評価した消化管粘膜透過性は、実験開始後1週間で TPN 群は TEN 群と比較して有意に亢進していた。しかし、2週間を経ても消化管粘膜透過性の亢進に変化はなかった。消化管の機能的・形態学的変化は TPN 開始3日目に出現し始めると報告されている³⁶⁾。また西ら³⁷⁾は、ラットを1週間絶食させて消化管粘膜の透過性の変化を観察し、絶食期間中 PSP の尿中排泄率は徐々に増加したと報告している。実験 I の結果から、PSP 程度の大きさを有する分子の消化管粘膜透過性亢進は、1週間の TPN 施行でほぼ完成することが判明した。

実験開始後1週間の肝および脾の湿重量比は、TPN 群において TEN 群と比較して有意に高値であり、2週間を経過するとその差はさらに拡大した。一方、腸間膜と脾臓の培養結果を見ると、TEN 群では1週間後は双方とも陽性率は0%であり、2週間後でも脾臓のみが17%の陽性率を示すに過ぎなかった。これに反し TPN 群では、1週間後に腸間膜、脾臓の双方で33%の陽性率を呈し、細菌学的にもすでに BT が成立していること

が証明された。さらに、TPN群における脾臓の培養結果では、1週間後と比較して2週間後の陽性率が有意に増加していた。以上の培養結果から、前述した脾臓重量の増加は、菌血症に対する反応性肥大の結果と考えられる。したがって、PSPの消化管粘膜透過性と異なり、細菌の移行性は1週後から2週目にかけてさらに亢進するものと思われる。

次いで実験IIでは、無侵襲下に投与カロリー量を種々に制限した栄養管理を1週間施行し、それが消化管粘膜透過性に及ぼす影響を検討した。各群の体重増加率と投与カロリーの間には、有意な正の相関関係が認められた。PSP排泄率で評価した消化管粘膜の透過性は、REN 5%群でのみ他群と比較して亢進していた。REN 10%群では、20%以上の体重減少をみたにもかかわらず、それ以上のカロリーを投与した群と消化管粘膜透過性に差を認めなかった。したがって、無侵襲モデルにおいてPSP程度の分子の透過性亢進を防止するためには、必要カロリー量の10%以上をLRDで投与すればよいものと思われる。実験終了時の肝湿重量比は各群間に差はなく、脾臓の湿重量比はREN 5%群で他群と比較して有意な低値を示した。腸間膜リンパ節と脾臓の培養はいずれの群でも陰性であり、実験IIのモデルでは必要カロリー量の5%のLRD投与でBTを防止することも可能であると考えられる。なお、REN 5%群にみられた脾湿重量比の低値は、極端な低栄養のために免疫能が低下し、萎縮をきたしたものと推測される。

実験IIIでは、静脈栄養に種々の割合でLRDを併用するCNTを施行し、消化管粘膜透過性の変化やBTの発生頻度を検討した。実験Iの結果から実験期間、すなわち栄養管理期間は1週間とした。また、実験IIの結果を踏まえてLRDの投与量は総投与カロリーの0～20%に設定した。実験Iのモデルに加え、実験IIIでは開腹操作が加わるため、より大きな侵襲が加えられた。生命の維持が困難となるような高度侵襲ではなく、中等度侵襲モデルと解釈できる。各群の実験終了時の体重増加率には差を認めず、全て順調な体重増加を示した。一方、各群のPSP排泄率をみると、CNT 0%群とCNT 5%群では6%を超えていた。かかるPSP排泄率の高値は、実験Iと実験IIではいずれの群にも認められていない。これは、先に述べた如く実験IIIにおいてラットに加えられた侵襲がより大きいためと考えられる。さらに、PSP排泄率はLRDが総投与カロリーに占める割合が増加するにしたがって低下し、CNT 15%群以上で有意に抑制されていた。脾湿重量比も同様であり、CNT 15%群とCNT 20%群では他の三群と比較して有意な低値を示した。以上の結果と腸間膜リンパ節および脾臓の培養結果をあわせ、LRDを15%以上投与することによってBTを防止できるものと考えられる。

実験IIIに使用したラットには、静脈カテーテル留置と開腹操作が施行されており、加えられた侵襲の程度は通常の消化器外科手術に近似している。その状態で、侵襲を加えられた直後に開始したCNTにより消化管粘膜の透過性亢進、BTが防止できた意義は大きい。さらに、総カロリーの15%をLRDとして投与することで明確な効果が得られることが判明した。1日の目標投与熱量を2000 kcalとすると、その15%は300 kcal、通常使用されているLRDでは液量300 mlとなる。下部消化管手術症例に対し、術後2日目より300 ml～600 mlのLRD投与はほぼ支障なく施行できると報告されている³⁰⁾。したがって、本研究から明らかになったCNTにおけるLRDの必要投与量

は、実際の臨床に容易に応用可能であるものと考えられる。グルタミンや食物繊維の投与がBTの防止に有効であると報告されている³⁷⁾³⁸⁾。しかし、グルタミンやアラニルグルタミン添加の効果については異論もある³⁹⁾⁴⁰⁾。一方、食物繊維を豊富に含有する経腸栄養剤は、BT防止を目的としたCNTにおけるENの必要量をさらに減少できる可能性を有すると考えられる。

以上、本研究結果から総投与カロリーの15%のLRDとPNを組み合わせたCNTによって、消化管粘膜の透過性亢進とBTが防止されることが明らかになった。上記組成の新栄養管理法は、ただちに臨床応用が可能でありその効果が期待される。今後は、高度侵襲下を含め特殊病態に応じたCNTの至適組成を検討する必要があると思われる。

結 論

種々の栄養管理法に対する消化管粘膜透過性の変化を、ラットを用い実験的に検討し、以下の結果を得た。

1. TPN群では、消化管粘膜の透過性亢進が1週間後においてほぼ完成し、TEN群に比べ有意に上昇した。
2. TPN群では、栄養管理の期間が長くなるとともにBT陽性率が高くなった。
3. REN 5%群でのみ、他のREN群に比べ消化管粘膜の透過性が有意に亢進していた。
4. CNT 15%、20%群では、他のCNT群に比べて消化管粘膜の透過性が有意に抑制されていた。
5. CNT 15%、20%群では、他のCNT群に比べて脾湿重量比が有意に低値であった。

したがって、中等度程度の侵襲下においてCNTで栄養管理を行う際、消化管粘膜の透過性亢進、BTを抑制するためには総投与カロリーの15%以上をENとして投与する必要があると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました渡辺洋宇教授に深甚なる謝意を捧げます。また、直接御指導いただきました大村健二講師に厚く感謝の意を表しますと共に、ご協力いただいた金沢大学医学部附属病院検査部の鮎川知子技師をはじめ、金沢大学第一外科学講座の諸先生方に感謝いたします。

なお本論分の要旨は第11回、第12回日本静脈・経腸栄養研究会、第35回日本外科代謝栄養学会において発表した。

文 献

- 1) Keller R, Engley FB. Fate of bacteriophage particles introduced into mice by various routes. Proc Soc Exp Biol Med 98: 577-580, 1958
- 2) 西 正晴, 成岡純二, 吉田金広, 三宅秀則, 高原裕夫, 田代征記, 能川裕之, 内藤真策. Phenolsulfonphtalein と polyethylene glycol 4000 による腸管粘膜の透過性変化の評価. 外科と代謝・栄養 30: 31-36, 1996
- 3) 中坊幸弘, 久保田恵, 高田和美, 宮本賢一, 南 久則, 武田英二. 経口PSPを用いる消化管粘膜透過性異常の判定. Digestion & Absorption 16: 26-29, 1993
- 4) Deitch EA, Winterton J, Berg R. Thermal injury promotes bacterial translocation from the gastrointestinal tract in mice with impaired T-cell mediated immunity. Arch Surg 121: 97-101, 1986
- 5) Alexander JW, Gianotti L, Pyles T, Carey MA, Babcock GF.

- Distribution and survival of *Escherichia coli* translocating from the intestine after thermal injury. *Ann Surg* 213: 558-567, 1991
- 6) Baker JW, Deitch EA, Li M, Berg RD, Specian RD. Hemorrhagic shock induced bacterial translocation from the gut. *J Trauma* 28: 896-906, 1988
 - 7) Deitch EA. Simple intestinal obstruction causes bacterial translocation in man. *Arch Surg* 124: 699-701, 1989
 - 8) Alverdy JC, Aoys E, Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial nutrition from the gut. *Surgery* 104: 185-190, 1988
 - 9) Kueppers PM, Miller TA, Chen CK, Smith GS, Rodriguez LF, Moody FG. Effect of total parenteral nutrition plus morphine on bacterial translocation in rats. *Ann Surg* 217: 286-292, 1993
 - 10) Rush BF, Sori AJ, Murphy TF, Smith S, Flanagan JJ, Machiedo GW. Endotoxemia and bacteremia during hemorrhagic shock. The link between trauma and sepsis? *Ann Surg* 207: 549-554, 1988
 - 11) Marshall JC, Christou NV, Horn R, Meakins JL. The microbiology of multiple organ failure. The proximal gastrointestinal tract as an occult reservoir of pathogens. *Arch Surg* 123: 309-315, 1988
 - 12) Ambrose NS, Johnson M, Burdon DW, Keighley MRB. Incidence of pathogenic bacteria from mesenteric lymph nodes and ileal serosa during Crohn's disease surgery. *Br J Surg* 71: 623-625, 1984
 - 13) Burke DJ, Alverdy JC, Aoys E, Moss GS. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. *Arch Surg* 124: 1396-1399, 1989
 - 14) Spaeth G, Berg RD, Specian RD, Deitch EA. Food without fiber promotes bacterial translocation from the gut. *Surgery* 108: 240-247, 1990
 - 15) Spaeth G, Specian RD, Berg RD, Deitch EA. Bulk prevents bacterial translocation induced by the oral administration of total parenteral nutrition solution. *JPEN* 14: 442-447, 1990
 - 16) Helton WS, Garcia R. Oral prostaglandin E2 prevents gut atrophy during intravenous feeding but not bacterial translocation. *Arch Surg* 128: 178-184, 1993
 - 17) Haskel Y, Xu D, Lu Q, Deitch EA. Bombesin protects against bacterial translocation induced by three commercially available liquid enteral diets: A prospective, randomized, multigroup trial. *Crit Care Med* 22: 108-113, 1994
 - 18) Steiger E, Vars H, & Dudrick SJ. A technique for long-term intravenous feeding in unrestrained rats. *Arch Surg* 104: 330-332, 1972
 - 19) 宗田滋夫, 岡田 正, 佐谷 稔, 曲直部寿夫. 栄養輸液の実験モデル作製法. *医学のあゆみ* 92: 56-57, 1975
 - 20) 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
 - 21) Johnson LR, Copeland EM, Dudrick SJ, Lichtenberger LM, Castro GA. Structural and hormonal alterations in the gastrointestinal tract of parenterally fed rats. *Gastroenterology* 68: 1177-1183, 1975
 - 22) Koga Y, Ikeda K, Inokuchi K, Watanabe H, Hashimoto N. The digestive tract in total parenteral nutrition. *Arch Surg* 110: 742-745, 1975
 - 23) Levine GM, Deren JJ, Steiger E, Zinno R. Role of oral intake in maintenance of gut mass and disaccharide activity. *Gastroenterology* 67: 975-982, 1974
 - 24) Xu D, Lu Q, Deitch EA. Elemental diet-induced bacterial translocation associated with systemic and intestinal immune suppression. *JPEN* 22: 37-41, 1998
 - 25) Shou J, Lappin J, Daly JM. Impairment of pulmonary macrophage function with total parenteral nutrition. *Ann Surg* 219: 291-297, 1994
 - 26) Nakasaki H, Mitomi T, Tajima T, Ohnishi N, Fujii K. Gut bacterial translocation during total parenteral nutrition in experimental rats and its countermeasure. *Am J Surg* 175: 38-43, 1998
 - 27) Mainous M, Xu D, Lu Q, Berg RD, Deitch EA. Oral-TPN-induced bacterial translocation and impaired immune defenses are reversed by refeeding. *Surgery* 110: 277-284, 1991
 - 28) Illig KA, Ryan CK, Hardy DJ, Rhodes J, Locke W, Sax HC. Total parenteral nutrition-induced changes in gut mucosal function: Atrophy alone is not the issue. *Surgery* 112: 631-637, 1992
 - 29) Deitch EA, Xu D, Naruhn MB, Deitch DC, Lu Q, Marino AA. Elemental diet and IV-TPN-induced bacterial translocation is associated with loss of intestinal mucosal barrier function against bacteria. *Ann Surg* 221: 299-307, 1995
 - 30) 大村健二, 金平永二, 石田文夫, 渡邊洋宇, 中川正昭, 三浦将司, 飯田茂穂, 魚津幸蔵, 森 明弘, 金子芳夫. 下部消化管手術後の栄養管理における Combined nutritional therapy の有用性. *外科と代謝・栄養*, 27: 317-324, 1993
 - 31) 平松義文, 堺 秀行, 中川明彦, 山中英治, 辻仲利政, 城戸良弘, 寺田益士, 松本博城, 山崎恵司, 大島 進, 日置敏太郎. 胃癌全摘術後早期よりの経腸栄養法の可能性と問題点. *外科と代謝・栄養*, 27: 445-452, 1993
 - 32) Shou J, Lappin J, Minnard EA, Daly JM. Total parenteral nutrition, bacterial translocation, and host immune function. *Am J Surg* 167: 145-150, 1994
 - 33) 加藤静應. 腸管吸収ニ関スル実験的研究. *京都府立医大誌* 31: 1135-1167, 1941
 - 34) 松永葉子. PSP を用いる大腸吸収機能検査法 (松永・松永法) の提唱とその吟味. *日消誌* 59: 283-295, 1962
 - 35) Nakamura J, Takada S, Ohtsuka N, Heya T, Yamamoto A, Kimura T, Sezaki H. An assessment of indomethacin-induced gastrointestinal mucosal damage in-vivo: enhancement of urinary recovery after oral administration of phenolsulfonphthalein in rats. *J Pharm pharmacol* 35: 369-372, 1982
 - 36) Hughes CA, Dowling EH. Speed of onset of adaptive mucosal hypoplasia and hypofunction in the intestine of parenterally fed rats. *Clin Sci* 59: 317-327, 1980
 - 37) Zapata Sirvent RL, Hansbrough JF, Ohara MM, Rice Asaro M, Nyham WL. Bacterial translocation in burned mice after administration of various diets including fiber- and glutamine-enriched enteral formulas. *Crit Care Med* 22: 690-696, 1994

- 38) Rankel W, Zhang W, Singh A, Bain A, Satchithanandam S, Klurfeld D, Rombeau J. Fiber : Effect on bacterial translocation and intestinal mucin content. *World J Surg* 19: 144-148, 1995
- 39) Spaeth G, Gottwald T, Haas W, Holmer M. Glutamine peptide does not improve gut barrier function and mucosal immunity in total parenteral nutrition. *JPEN* 17: 317-323, 1993
- 40) Bark T, Katouli M, Ljungquist O, Mollby R, Svenberg T. Glutamine supplementation does not prevent bacterial translocation after non-lethal haemorrhage in rats. *Eur J Surg* 161: 3-8, 1995

Combined Nutritional Therapy Prevents Increased Intestinal Permeability Induced by Parenteral Nutrition

Katsuyasu Hirano, Department of Surgery (1), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 – J. Juzen Med Soc., 107, 454 – 461 (1998)

Key words bacterial translocation, combined nutritional therapy, intestinal permeability, low residue diet, total parenteral nutrition

Abstract

Total parenteral nutrition (TPN) has been implicated in intestinal permeability and the breakdown of barrier function leading to bacterial translocation (BT) in rats. The purpose of this study was to examine the effects of TPN and a low residue diet (LRD), factors leading to increased intestinal permeability. Experiment I : Male Donryu rats were administered standard TPN solution parenterally (TPN group). The total enteral nutrition (TEN) group received LRD orally from a bottle sipper ad libitum. The rats received nutritional support for either 1 or 2 weeks. Experiment II : Caloric intake was controlled through enteral nutrition restriction. The rats received an oral LRD of 15 kcal/kg/day (restricted enteral nutrition 5% group, REN 5% group), 30 kcal/kg/day (REN 10% group), 60 kcal/kg/day (REN 20% group), 120 kcal/kg/day (REN 40% group), 180 kcal/kg/day (REN 60% group) or 300 kcal/kg/day (REN 100% group) for 1 week. Experiment III : Rats underwent placement of a central venous catheter and catheter gastrostomy. Total calories of EN and PN were 300 kcal/kg/day, and the rats were divided into the following 5 groups based on the ratio of LRD doses through gastrostomy to the total calories of nutritional intake. The combined nutritional therapy (CNT) was divided into the following groups : CNT 0%, CNT 5%, CNT 10%, CNT 15% and CNT 20%. The rats received nutritional support for 1 week. The changes in intestinal permeability were assessed by measuring phenolsulfonphthalein (PSP) excretion in the urine. The spleen and mesenteric lymph nodes (MLNs) were aseptically removed for culture. The liver and spleen were obtained for weighing. The body weight was significantly increased in the 2-week TPN group compared to the 2-week TEN group ($p < 0.05$). After nutritional management for 1 week, the intestinal permeability after oral administration of PSP was $1.6 \pm 0.2\%$ in the TEN group and $5.7 \pm 0.4\%$ in the TPN group. The value was significantly higher in the latter group ($p < 0.01$). The liver wet weight ratio and spleen wet weight ratio were significantly increased in the 1- and 2-week TPN groups compared to the 1- and 2-week TEN groups ($p < 0.01$). The incidence of culture positive spleen was significantly increased in the 2-week TPN group compared to the 2-week TEN group ($p < 0.01$). Intestinal permeability after oral PSP administration in the REN 5% group was $4.1 \pm 0.7\%$, showing a significant increase compared with the other groups ($p < 0.01$). The spleen wet weight ratio in this group was 1.5 ± 0.5 g/kg, showing a significant decrease ($p < 0.01$). Cultures of MLNs and spleen were negative in all groups. Intestinal permeability after PSP administration was $8.8 \pm 1.5\%$ in the CNT 0% group, $6.1 \pm 1.2\%$ in the CNT 5% group, $4.8 \pm 1.2\%$ in the CNT 10% group, 3.1 ± 0.9 in the CNT 15% group, and $2.5 \pm 0.8\%$ in the CNT 20% group. The values were significantly lower in the CNT 15% and 20% groups than in the other 3 groups ($p < 0.05$). The spleen wet weight ratio was 8.4 ± 1.2 g/kg in the CNT 0% group, 6.5 ± 1.7 g/kg in the CNT 5% group, 6.0 ± 1.3 g/kg in the CNT 10% group, 4.8 ± 0.8 g/kg in the CNT 15% group, and 4.7 ± 0.8 g/kg in the CNT 20% group. The values were significantly lower in the CNT 15% and 20% groups than in the other 3 groups ($p < 0.05$). Positive ratios of the culture of MLNs and the spleen decreased as LRD calories administered through gastrostomy increased. These results suggested that TPN or EN of 5% or less required calories led to BT and increased intestinal permeability. CNT consisting of LRD, 15% of the total calories and supplemental PN may prevent BT and increased intestinal permeability.