

高濃度分岐鎖アミノ酸を窒素源とする 成分栄養剤の侵襲下における効果

—肝切除ラットを用いて—

岡山大学医学部第二外科学教室 (指導: 寺本 滋教授)

水 田 稔

(平成3年9月10日受稿)

Key words : 分岐鎖アミノ酸, 脂肪乳剤, 経腸栄養, 脂肪肝

緒 言

分岐鎖アミノ酸 (BCAA) は主として筋で代謝され, 蛋白合成促進, 蛋白崩壊抑制効果があるとされる. BCAA rich のアミノ酸混合液は肝性脳症の覚醒効果, 血中アンモニア低下作用などが認められている^{1,2)}. また, BCAA 液は TPA (Total parenteral nutrition) で外傷後, 重症感染症などの侵襲下にも蛋白分解を抑制する効果が報告されている^{3,4,5)}. BCAA の経腸栄養への適用は試みられ, 肝障害における有効性が報告されているが^{6,7,8)}, 基礎的な検討はなされていない. 一方, 肝障害時のエネルギー源として中鎖脂肪酸 (MCT) の有効性が注目されている⁹⁾.

そこで, 蛋白源として BCAA を33%含有したアミノ酸組成に, エネルギー源としてマルトース, 脂肪乳剤を用いたエレメンタルダイエット (ED-9) を試作し, 肝障害あるいは侵襲時に有効性を求めた. 著者は, 70%肝切除術施行ラットにおいてこの ED を投与し, エレンタール[®]を対照として栄養学的効果を比較検討した.

対 象 と 方 法

1. 成分栄養剤 (ED-9)

蛋白源はアミノ酸で, Fischer が作成した肝性脳症にたいする組成に準じた (表1). BCAA は32.7%で BCAA/AAA 比 (Fischer 比) は6.79, E/N 比は1.50である. エネルギー源は糖質としてマルトースを用い, 脂質は MCT (C₈: 85%,

C₁₀: 15%) および LCT (リノール酸: 2.4 Cal %) を含有している.

対照としたエレンタールとの同カロリーでの比較を表2に示す.

ED-9 は窒素量は82%と少なく, 脂肪は20.4倍となっている. NPC/N 比はエレンタールの129に対し160と高値である. ミネラル, 微量元素, ビタミンの含有量には差がない.

表1 Composition of amino acids (%)

	A (ED-9)	B (エレンタール [®])
L-Ile	8.9	4.89
L-Leu	13.4	6.84
L-Val	10.4	5.33
L-Lys	7.7	5.41
L-Met	5.1	4.93
L-Phe	6.3	6.63
L-Thr	6.4	3.98
L-Trp	1.8	1.15
<hr/>		
L-Ala	6.4	6.84
L-Arg	8.4	7.08
L-Asp	3.3	11.10
L-Cys	—	—
L-Gln	8.6	14.70
L-Gly	2.7	3.84
L-His	2.1	2.82
L-Pro	3.0	4.80
L-Ser	5.4	8.82
L-Tyr	—	0.84
<hr/>		
BCAA (%)	32.7	17.06
BCAA/AAA	6.79	3.01
<hr/>		
E/N	1.50	0.64

2. 実験方法 (図1)

実験動物は200~250 gの雄性 Wistar 系ラットをもちいた。

動物は標準固形食 (MF オリエント酵母) で1週間の予備飼育をした後, 24時間絶食後, エーテル吸入麻酔下に Higgins-Anderson¹⁰⁾の方法に準じて70%肝切除を施行した。

同時に Witzel 法による胃瘻を造設し, 胃前庭部より十二指腸へ栄養チューブを挿入した。栄養チューブは内径1 mmのシリコンチューブ(シラスコン® DOWCORNING)を使用し, 先端を十二指腸に留置した。栄養チューブの他端は腹壁より皮下を通して, 左右耳介の中央の頭皮部分に出し, 準無拘束の4点支持頭皮固定板に接続した protective coil の中を通し, 代謝ゲージの蓋に固定した swivel に接続した。

実験群を次の5群に分けた。

A群 肝切除+ED-9 投与

B群 肝切除+エレンタール投与

A'群 sham-ope+ED-9 投与

B'群 sham-ope+エレンタール投与

C群 無処置, 固形食自由摂取

ただし, sham-ope は開腹し肝切除と同様の手順で肝を押し出した段階までとした。

経腸栄養剤は, 投与の1時間前に滅菌蒸留水で溶解し, 室温で放置した後, 投与直前にミキ

サーで攪拌均一化し, 1日分をイリリガートルに入れて, 持続注入ポンプ (LKB2132, Micro Perpex Pump) で24時間連続投与した。

投与期間は7日間とした。1日の投与量は体重1 kg当り300mlと一定とした。投与濃度は術後第1病日は0.25kcal/ml, 第2病日は0.5kcal/ml, 第3病日は0.75kcal/mlと段階的に増量してゆき, 第4病日より full-strength で1 kcal/mlとした。

体重及び尿量を毎日測定し, 1日尿中総窒素量は Rappaport・亀岡・柴田変法にて測定し, 尿中3-メチルヒスチジンは塩酸にて加水分解処理後, 日立835型高速アミノ酸分析計で測定した。

7日間の投与終了直後にエーテル吸入麻酔下に開腹し, 腹部大動脈より採血屠殺した後, 冷生理食塩水にて臓器灌流を行い肝及び腸腰筋を採取した。

採取した血液はヘパリンを加え4℃で遠沈し, 得られた血漿を-80℃で凍結保存して各種栄養学的検査を行うとともに, アミノ酸分析はスルホサリチル酸で除蛋白したものを日立835型高速アミノ酸分析計で測定し, 脂肪酸分析はガスクロマトグラフィーを用いて行った。

肝および筋肉は採取後ただちに液体窒素で固定したのち凍結保存し, 肝脂質量は Folch 法で, 肝グリコーゲン量はアンスロン硫酸法で, 肝総蛋白量は Biuret 法で測定した。肝および筋のアミノ酸分析は除蛋白したものを血漿と同様に測定した。

また, 肝の一部は採取後ホルマリンで固定し, Hematoxylin-Eosin 染色法にて組織学的検索を行った。

実験結果は平均値±標準偏差で表示し, 統計

表2 Composition of ED

	A (ED-9)	B (エレンタール®)
Energy (kcal)	300	300
Carbohydrate (g)		
Dextrin	—	61.25
Maltose	41.25	—
Fat (g)		
MCT	8.50	—
Soy bean oil	1.50	0.49
Amino acid (g)	11.26	12.66
Total nitrogen	1.59	1.93
Calorie (%)		
Carbohydrate	55.0	81.6
Fat	30.0	1.5
Amino acid	15.0	16.9
NPC/N	160	129

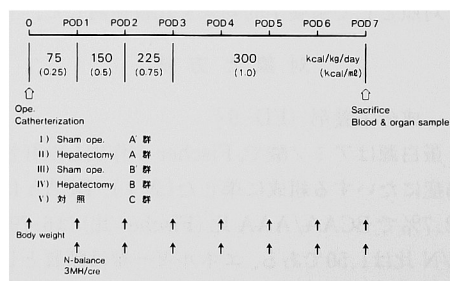


図1 Method

表3 Energy intake

	POD 1	2	3	4	5	6	7	平均 (kcal)	平均 (kcal/day)
sham-ope.									
A' 群(n=10)	17.63±1.77	35.80±3.08	52.61±4.54	70.70±5.76	69.90±4.31	69.30±4.92	68.90±4.56	54.98±3.98	
B' 群(n=10)	16.72±1.37	34.45±2.25	51.06±4.75	69.64±5.53	66.80±4.13	66.70±3.47	65.90±4.65	52.75±3.04	
hepatectomy									
A 群(n=8)	16.54±1.00	34.44±2.51	51.03±3.68	68.00±3.96	68.63±5.15	67.13±3.40	67.38±3.93	53.30±3.26	
B 群(n=9)	17.97±1.22	34.71±2.51	55.16±3.93	73.73±2.63	71.22±3.53	71.33±1.94	69.78±3.87	56.27±1.98	
	(Mean±S.D.)								

表4 Water balance

	POD 1	2	3	4	5	6	7	平均 (ml)	平均 (ml/day)
sham-ope.									
A' 群(n=10)	13.60±2.48	11.67±3.44	12.95±3.38	15.04±3.32	10.81±2.08	12.92±2.36	12.24±2.30	12.75±0.80	
B' 群(n=10)	17.85±2.40	9.15±2.88	13.24±5.18	17.08±3.57	9.92±2.41	9.39±2.87	10.46±2.69	12.44±1.15	
hepatectomy									
A 群(n=8)	12.50±3.39	13.69±4.90	14.90±3.76	16.16±5.28	13.84±2.72	13.18±1.41	10.90±2.56	13.60±1.16	
B 群(n=9)	17.03±5.43	12.78±4.99	14.41±6.57	16.69±6.71	9.23±2.77	11.39±2.13	10.59±2.57	13.16±1.95	
	(Mean±S.D.)								

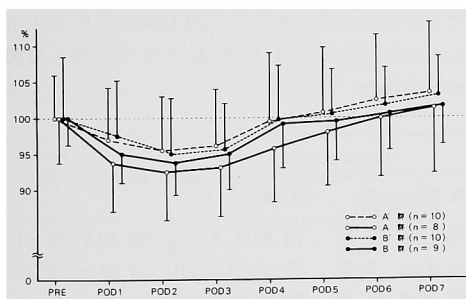


図2 Changes of body weight (%)

学的検討は分散分析法を用いた。

結 果

1. 投与エネルギー量 (表3)

術後各病日の投与量および7日間平均の投与量において、4群間に有意の差は認めなかった。ただし、MCTは1gを9kcalとして算出した。

2. 尿量および水分出納 (表4)

水分出納は投与水分量と尿量との差から求めたが、術後各病日および7日間平均の値において4群間に差は認めなかった。尿量においても

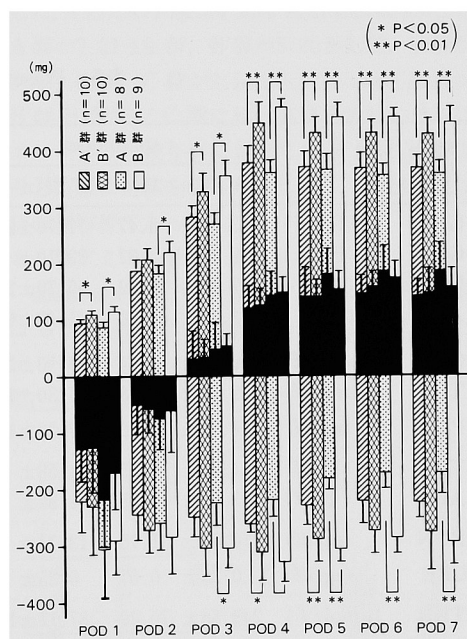


図3 Nitrogen balance

同様に差は認めなかった。また、便重量の測定はしていないが便量は極めて少なく、便の性状

においても術後第1, 第2病日で軟便の傾向を呈したが, 著しい下痢は認められなかった。

3. 体重変化 (図2)

体重変化は, 各群とも術後第2病日で最低となり, sham-ope 群は第4病日に, 肝切除術群は第6病日にはほぼ術前値まで回復した。

4. 窒素平衡 (図3)

sham-ope 群では A' B' 両群間に差は認められず, 両群ともほぼ同様の傾向で推移した。

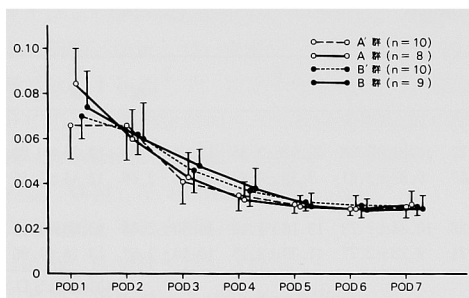


図4 Molar ratio of 3 MH to creatinine in urine

肝切除術群でも AB 両群間に有意の差は認められなかったが, 術後第1病日において A 群が B 群に比し負の傾向をもった。しかし, 第3病日には両群とも正に転じ, 第5病日以降ではむしろ A 群がより正の傾向で推移した。

尿中窒素排出量は肝切除術群において, B 群では術後第1病日から第7病日までほとんど減少することなくほぼ一定量で推移したが, A 群では病日ごとに減少していく傾向を認めた。

5. 尿中 3-メチルヒスチジン/クレアチニン比 (3MH/Creat) (図4)

4 群ともに術後第1病日において高値を示し, A 群は他に比べてより高値を示したが有意の差はなかった。術後第2病日以降にも 4 群間に有意の差はなく, 経目的に減少して第5病日以降はほぼ 0.03 前後で推移した。

肝切除術群間で比べると, 術後第5病日までの減少率は A 群が B 群より大であった。

6. 血液生化学検査 (表5)

GOT, GPT, ChE は, sham-ope 群, 肝切除

表5 Plasma biochemical data

	sham-ope.		hepatectomy		C 群 (n=5)
	A' 群 (n=10)	B' 群 (n=10)	A 群 (n=8)	B 群 (n=9)	
GOT (IU/l)	63.80 ± 8.47	77.70 ± 27.11	76.13 ± 17.95	72.89 ± 8.55	58.80 ± 12.44
GPT (IU/l)	19.10 ± 4.07	23.10 ± 7.37	21.63 ± 3.50	25.00 ± 6.30	34.60 ± 8.38
ChE (IU/l)	87.90 ± 22.89	55.70 ± 26.05	82.50 ± 40.39	79.22 ± 50.29	71.80 ± 44.82
ALP (IU/l)	333.70 ± 104.16	241.40 ± 60.90	531.00 ± 235.86	289.11 ± 66.21	553.40 ± 250.59
CHO (mg/dl)	70.10 ± 5.34	87.10 ± 15.69	65.63 ± 11.60	67.22 ± 20.77	75.20 ± 9.73
TG (mg/dl)	112.10 ± 37.08*	45.50 ± 10.81	83.38 ± 18.38*	44.33 ± 18.23	75.00 ± 10.61
PL (mg/dl)	144.80 ± 6.23	137.30 ± 18.32	125.25 ± 18.31	110.44 ± 31.24	148.00 ± 6.60
TP (g/dl)	4.76 ± 0.15	4.58 ± 0.25	4.54 ± 0.24	4.35 ± 0.25	5.02 ± 0.19
ALB (g/dl)	3.05 ± 0.18	2.87 ± 0.24	2.94 ± 0.23	2.75 ± 0.19	3.28 ± 0.15
BUN (mg/dl)	10.63 ± 1.75	13.71 ± 1.24	9.56 ± 1.21*	14.20 ± 2.75	14.16 ± 2.03
CRE (mg/dl)	0.25 ± 0.07	0.25 ± 0.07	0.31 ± 0.06	0.26 ± 0.08	0.30 ± 0.03
TKB (μmol/l)	249.88 ± 70.29*	87.17 ± 17.22	289.00 ± 93.10*	93.01 ± 15.12	231.30 ± 21.07
ACAC (μmol/l)	93.27 ± 11.04*	48.79 ± 11.11	90.46 ± 18.13*	51.07 ± 12.18	102.98 ± 16.19
3-HB (μmol/l)	156.61 ± 69.24*	38.38 ± 17.86	198.54 ± 81.79*	41.94 ± 10.78	128.32 ± 5.66

(Mean ± S.D.)
* P < 0.05
** P < 0.01

術群ともに両群間に有意の差は認められなかった。

ALPは肝切除術群においてA群がB群に比べ有意に高値を示したが、対照群とほぼ同程度であった。

総蛋白量は両群間に差は認められなかった。アルブミン量はsham-ope群・肝切除術群ともにA群A群でやや高い傾向を示したが差は認めなかった。

脂質量に関してはコレステロール、リン脂質に差は認めず、トリグリセライドにおいてA群A群が有意に高値を示したものの、対照群と比較すると、B'群B群が低値であった。

BUNはsham-ope群、肝切除術群ともにA'群A群がB'群B群に比べ有意に低値であった。

総ケトン体、アセト酢酸、β-ヒドロキシ酪酸では、sham-ope群、肝切除術群ともにA'群A群がB'群B群に比べ有意に高値を示し、総ケトン体は約3倍、アセト酢酸は約2倍、β-ヒドロキシ酪酸は約5倍であった。しかし、対照群と比較するとA'群A群との差はみられなかった。

7. 血漿アミノ酸分析 (図5, 6)

sham-ope群、肝切除術群ともに投与薬剤の配合比を反映して、A'群A群は他群に比べLeu, Ile, Val, Thrの有意な高値と、Pro, Glnの有意な低値が認められた。肝切除術群間では、さらにTyrがA群において有意に低値であった。また、エレンタール投与群においては、B群はB'群に比べPhe, Tyr, Trpの有意な高値が認められた。総アミノ酸量は4群間に差はなかったが、BCAA量はA'群では972.31±92.75nmol/ml, A群では937.56±151.56nmol/ml, B'群では535.18±37.84nmol/ml, B群では527.77±92.47nmol/ml, C群では485.94±74.25nmol/mlとA'群A群が有意な高値を示した。AAA量はA'群では114.14±15.05nmol/ml, A群では129.94±15.38nmol/ml, B'群では104.80±15.77nmol/ml, B群では149.66±20.56nmol/ml, C群では154.44±14.87nmol/mlと両群間に差は認めなかったが、エレンタール投与群においてB群がB'群に比べ有意に高値を示した。そのためFischer比はA'群が8.56±0.54, A群が7.21±0.67, B'群が5.20±0.27, B群が3.83±0.39, C群が3.14±0.32とA'群A群はB'群B群及びC群に比べ高値を示し、さらにエレンタール投与群においてもB群はB'群よりも有意に低値を示した。しかし、対照群とはほぼ同程度であった。

8. 肝アミノ酸分析 (図7)

sham-ope群、肝切除術群ともにA'群A群はB'群B群に比べThrが有意に高値であったが、その他のアミノ酸および総アミノ酸量、BCAA量、AAA量に差は認められなかった。

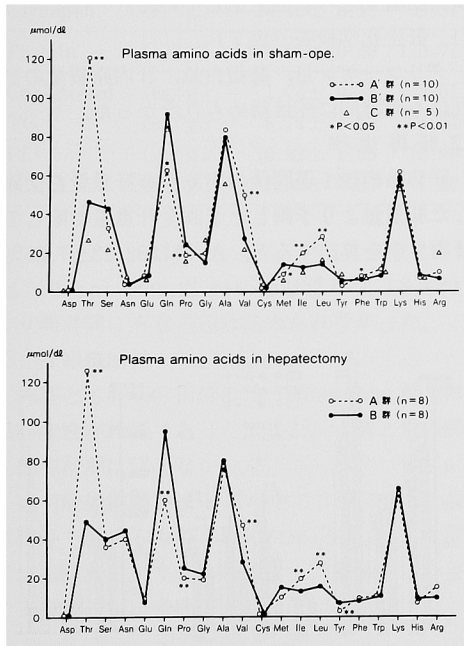


図5 Plasma aminogram

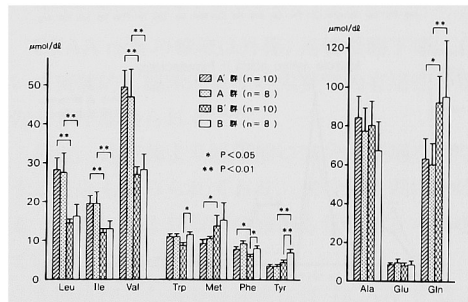


図6 Plasma aminogram

9. 筋アミノ酸分析 (図8, 9)

sham-ope 群, 肝切除術群ともに A' 群 A 群は B' 群 B 群に比べ Val, Thr の有意の高値と, Met, Tyr, His, Pro, Gln の有意の低値が認められた。さらに, sham-ope 群では A' 群は B' 群に比べ Ser, Gly が有意に低値であり, 肝切除術群では A 群は B 群に比べ Leu, Glu, Arg が有意に高値であった。また, エレンタール投与群においては, B 群は B' 群に比べ Ala の有意な低値が認められた。総アミノ酸量, AAA 量

は 4 群間に差は認められなかったが, BCAA 量は特に肝切除術群間において A 群が有意に高値であった。そのため Fisher 比は A' 群が 4.00 ± 0.32 , A 群が 3.56 ± 0.27 , B' 群が 2.71 ± 0.14 , B 群が 2.42 ± 0.16 , C 群は 1.89 ± 0.39 と A' 群 A 群が B' 群 B 群および C 群に比べ有意に高値となった。

10. 血漿脂肪酸分析 (表6)

sham-ope 群, 肝切除術群ともに A' 群 A 群及び C 群に比べ B' 群 B 群では, リノール酸 (C18: 2 ω 6) とその誘導体であるアラキドン酸 (C20: 4 ω 6) およびリノレン酸 (C18: 3 ω 3) が有意に減少しており, パルミトオレイン酸 (C16: 1 ω 7) とオレイン酸 (C18: 1 ω 9) には差は認めなかったが, その誘導体であり正常時にはほとんど検出されない C20: 3 ω 9 の有意の増加が認められた。また, Triene: Tetraene 比 (T/T ratio) は A' 群で 0.067 ± 0.019 , A 群で 0.057 ± 0.021 であり, B' 群では 0.253 ± 0.084 , B 群では 0.355 ± 0.176 , C 群は 0.021 ± 0.008 であった。

ω 6 系の減少, ω 9 系の増加, T/T ratio の上昇からみて A 群に比べ B 群においてより必須脂肪酸欠乏の状態を呈していた。

11. 肝生化学検査 (表7)

グリコーゲン量, 総蛋白量, 肝内脂質量のどれにも両群間に差は認められなかった。

12. 肝再生率

肝切除術後 1 週間後の実測残存肝重量を切除した肝重量より予測した予測全肝重量で除して肝再生率を算出すると, A 群は $82.23 \pm 7.55\%$ (n=8) で B 群は $86.44 \pm 12.46\%$ (n=9) と

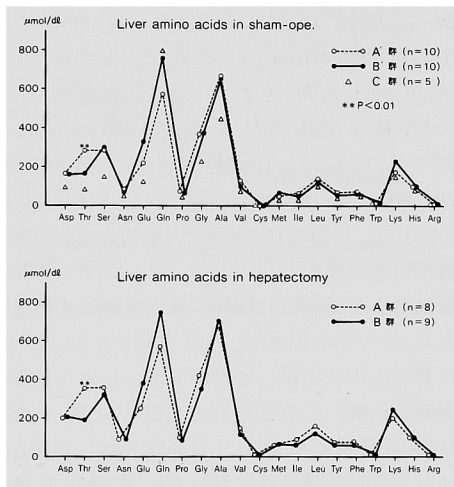


図7 Liver aminogram

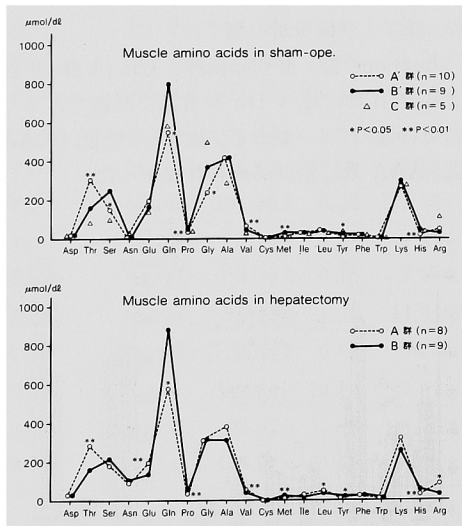


図8 Muscle aminogram

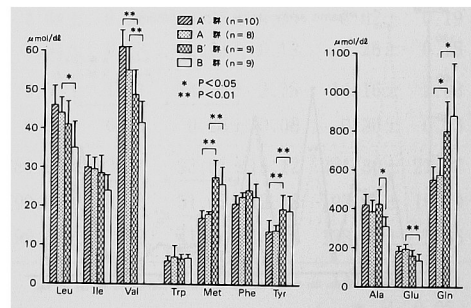


図9 Muscle aminogram

表6 Plasma fatty acids

	sham-ope. ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		hepatectomy ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		C 群(n=5)
	A' 群(n=10)	B' 群(n=10)	A 群(n=8)	B 群(n=8)	
C 8 : 0	23.60 \pm 5.56**	—	24.37 \pm 11.43**	—	—
C 10 : 0	28.97 \pm 7.49**	—	26.99 \pm 11.04**	—	—
C 14 : 0	17.84 \pm 7.24	12.47 \pm 3.02	11.25 \pm 3.71	7.83 \pm 6.27	7.86 \pm 0.84
C 16 : 0	493.34 \pm 127.30	243.17 \pm 64.58	369.47 \pm 91.28	290.48 \pm 100.21	319.54 \pm 10.99
C 16 : 1 ω 7	87.84 \pm 28.40	149.08 \pm 43.97	54.32 \pm 17.68	91.23 \pm 46.95	23.26 \pm 1.51
C 18 : 0	255.07 \pm 62.53	132.22 \pm 47.72	222.06 \pm 49.97	119.44 \pm 47.78	189.30 \pm 35.52
C 18 : 1 ω 9	271.32 \pm 83.61	211.03 \pm 76.75	216.60 \pm 45.77	185.24 \pm 93.79	150.12 \pm 7.03
C 18 : 2 ω 6	244.39 \pm 100.83	78.69 \pm 31.03	261.66 \pm 39.98	81.48 \pm 21.72	394.42 \pm 19.69
C 18 : 3 ω 3	11.93 \pm 5.12**	—	11.30 \pm 2.48**	—	9.32 \pm 0.92
C 20 : 3 ω 9	17.37 \pm 6.36	37.85 \pm 13.69	13.92 \pm 5.37	39.58 \pm 24.70	5.30 \pm 1.34
C 20 : 4 ω 6	260.90 \pm 54.45	159.23 \pm 52.32	248.32 \pm 47.75	108.32 \pm 20.64	267.92 \pm 52.91

(Mean \pm S.D.)
 (* P<0.05)
 (** P<0.01)

表7 Biochemical data of liver

		sham-ope.		hepatectomy		C 群(n=5)
		A' 群(n=5)	B' 群(n=7)	A 群(n=5)	B 群(n=5)	
Glycogen	(mg/g)	28.16 \pm 5.18	39.51 \pm 8.91	23.30 \pm 10.47	32.92 \pm 13.46	23.14 \pm 3.99
Protein	(mg/g)	181.60 \pm 20.50	173.71 \pm 10.06	194.00 \pm 6.20	165.80 \pm 23.34	196.20 \pm 6.06
Cholesterol	(mg/g)	1.74 \pm 0.18	2.01 \pm 0.27	2.02 \pm 0.13	2.20 \pm 0.25	2.14 \pm 0.13
TG	(mg/g)	8.74 \pm 4.02	4.74 \pm 1.89	8.80 \pm 3.21	9.34 \pm 7.98	7.34 \pm 0.92
PL	(mg/g)	10.92 \pm 1.05	10.69 \pm 0.86	12.10 \pm 0.89	10.74 \pm 1.75	15.28 \pm 0.61
NEFA	($\mu\text{Eq}/\text{g}$)	1.30 \pm 0.34	1.50 \pm 0.44	1.18 \pm 0.28	1.52 \pm 0.28	6.52 \pm 0.95

(Mean \pm S.D.)

なり両群間に有意の差は認められなかった。

13. 肝組織所見

両群とも肝切除術群に比べ sham-ope 群では脂肪変性が軽微であった。また、4 群ともに炎症細胞浸潤は認めなかった。

肝切除術群間では B 群の中で 3 例に明らかな脂肪肝を呈するものを認めたが(写真 1), A 群では脂肪肝を呈するものはなく門脈域を中心とする軽度の脂肪変性であった。(写真 2)。

考 察

BCAA rich の輸液は外傷、術後侵襲下等において実験的、臨床的にその栄養学的有用性の報告が多く認められる^{3,4,5)}。

最近、術直後より経管的に成分栄養剤を投与することも試みられており、成分栄養剤における BCAA および脂肪の役割も重要となってきている。

今回試作した成分栄養剤には BCAA を 32.7% とエレンタールの約 2 倍含有しており、さら

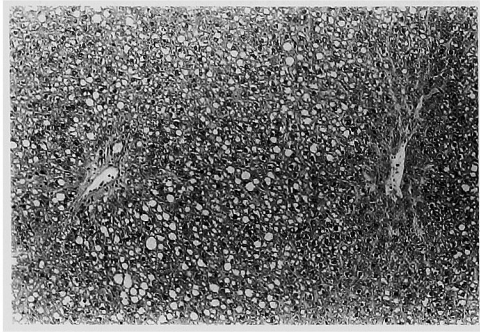


写真1 肝組織所見 (B群)

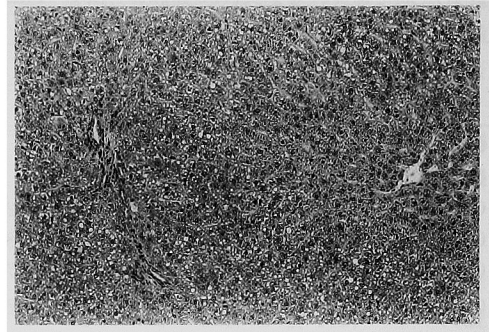


写真2 肝組織所見 (A群)

にエネルギー源として糖質の他に MCT を30Cal %含有し、ダイズ油はエレンタールの約3倍含有している。

福島¹¹⁾は肝再生早期に血漿及び肝組織の BCAA が特異的に減少することから、70%肝切除術施行ラットを用いた実験で BCAA 及びそのケト酸 (α -keto) を投与することで、術後の体重回復を促進し、肝の再生能を高め、筋では FSR をたかめて尿中3-メチルヒスチジンの排泄を減少させた報告している。また、鬼頭¹²⁾は同様に70%肝切除術施行ラットに37%の BCAA を含んだ ED を投与して、27%及び17%の BCAA を含んだ ED に比べ良好な肝復元率を得ることが出来、さらに脂肪を併用する事で脂肪肝の程度を軽減させることができたと報告している。

MCT はかつて1950年に吸収不良症候群に対する治療薬としてはじめて紹介され、その吸収代謝の特性から既に欧米では主に経静脈的に臨床で用いられ、糖質に代わる新しいエネルギー源として期待されている^{12,13)}。即ち、長鎖脂肪酸 (LCT) と比べ消化に際し膵リパーゼにより容易に加水分解され、腸管からの吸収もミセル形成の必要がなく容易に行われて迅速に門脈から肝臓へ運ばれる。肝での代謝も速く、さらにミトコンドリア内酸化に際し carnitin を必要としない。脂肪として蓄積されずほとんどエネルギー源となる等の利点を有している^{14,15,16,17)}。

Pomposelli⁹⁾らは portocaval anastomosis を施行したラットに高カロリー輸液を行い、NPC の50%を MCT/LCT (1 : 1) physical mixture を投与する群と LCT のみ投与する群とで比較

し、MCT を用いた群に肝脂肪沈着がなくアルブミン量の改善を認め、肝障害時における高カロリー輸液の組成の一つとして MCT の有用性を報告している。

そこで著者は70%肝切除術施行ラットを用いて BCAA rich 及び MCT を配合した成分栄養剤の手術侵襲下かつ肝機能低下時における栄養学的効果と肝再生に及ぼす影響についてエレンタールを対照として比較検討した。エレンタールは BCAA は17%、MCT は含まれず、脂肪も100g中に0.636gと少ない。

体重変化では肝切除術群間に差はなく術後第7病日にはほぼ術前値まで回復しているが、A群ではやや回復の遅れが認められた。

A群はエネルギー源として MCT を含有しているが、MCT は過量に投与されても脂肪として蓄積せず、代謝速度の増加で過剰の MCT は熱発生につながり、むしろ体重は減少すると言われており、この影響も考慮される^{18,19,20)}。また、今回の実験では MCT は1gを9kcalとして計算したが文献によれば8.3kcal/gとも言われており、A群はB群に比べ投与カロリーがやや少ないことも考えられる。

窒素平衡でみると4群とも術後第3病日に正転し第4病日以降はほぼ一定に推移している。術後第1病日には侵襲の差を反映して肝切除術群は sham-ope 群に比べより負の平衡となっており、肝切除術による蛋白異化亢進が想像される。術後第3病日以降の推移を見ると他の3群と比べA群が一番良好な傾向を示しており、さらに AB 両群ともそれぞれ術後第4病日以降の

窒素投与量は一定であるが、窒素排出量の推移を見ると、A群は術後第1病日より第6病日まで病日ごとに徐々に減少しているのに対し、B群は7日間を通じて排出量に大きな変動は見られていない。窒素平衡では有意の差は認められなかったが、尿中窒素排出量の推移を見るとA群の方がより良好に窒素を保持し利用したことが想像される。

尿中3-メチルヒスチジン/クレアチニン比は、単位筋肉あたりの筋崩壊量を表すとされるが、4群間に有意の差は認められなかった。しかし、A群は他に比べ減少率が大きかった。投与窒素量の差も影響したと思われるが血液生化学検査ではA'群A群はB'群B群に比べBUNが有意に低値であり、アルブミン量でもA'群A群がB'群B群に比べやや高値を示したこと等を考え併せると、BCAA richでMCTを配合したA群において、そのBCAAは蛋白分解抑制に役立ったと推察される。また、MCTは糖質と同等のエネルギー源として利用されたと思われる。

大量のMCTが投与された場合、その迅速な代謝のためにケトン体の産生が異常に増加することが懸念され、糖質を同時に投与する事が大切であると言われている^{12,21)}。しかし、ケトン体は心臓、脳、筋肉などの多くの組織でエネルギー源として役立つと言われており²²⁾、よほどの大量投与でないかぎり ketoacidosis を心配する必要はないと思われる^{23,24)}。

今回の実験では総ケトン体、アセト酢酸、 β -ヒドロキシ酪酸はB'群B群に比べA'群A群において高値を示したが、対照群と比較するとはほぼ同じ値であり異常な高値ではなく、A'群A群とB'群B群との投与脂肪量の差のためと考えられた。

血漿アミノグラムでは投与薬剤のアミノ酸配合比を反映しており、経腸投与でも経静脈投与と同様にBCAAはその臓器特異性を生かして有用性を発揮できると考えられた。

肝障害時の血漿アミノグラムの特徴は、Tyr, Phe, Trp, Met等の本来肝臓で代謝されるアミノ酸の増加と、Val, Leu, IleのBCAAの減少である。ラットにおいても70%肝切除術後の

血漿アミノ酸の変化は、福島¹¹⁾によると、切除後約20時間後に急速にDNA合成が高まり核分裂像のピークが見られ、この時期にアラニンをはじめ多くのアミノ酸が増加しBCAAは減少する。その原因としては肝障害による肝アミノ酸処理能の低下、組織蛋白の異化亢進、アミノ酸プールから血中への移行によると言われて²⁵⁾。

Rigotti⁹⁾らは75%肝切除術施行ラットに10%ブドウ糖、10%ブドウ糖+22%BCAAの通常のアミノ酸、10%ブドウ糖+35%BCAAのアミノ酸を持続静注して、³H-thymidineのDNAへの取り込みから肝再生の評価を行い、35%BCAA群は24時間で、22%BCAA群は36時間で、ブドウ糖のみの群は48時間で³H-thymidineの取り込みのピークがみられ、BCAA richのアミノ酸輸液が肝再生を促進することを示した。そのメカニズムに関しては肝切除術後24時間での血漿アミノグラムより3群を比較し、35%BCAAを投与した群でBCAA, Pro, Ala, Gly, Arg, Thr, Serが高値であり、特にBCAAとAlaが高値を示し、逆にPhe, Tyr, Metが低値を示すことから、BCAAによるDNA合成への直接的作用、AAAの低下作用および筋におけるアミノ酸処理作用、肝再生に重要なホルモン分泌への作用、残存肝へのエネルギー提供などを挙げている。

今回の実験では肝再生率は85%前後であり両群に差は認められていないが、血漿アミノグラムではBCAA richのA群でBCAAが高値を示しFischer比も 7.21 ± 0.62 と高値となったが、B'群に比べB群はPhe, Tyr, Trpが有意に高値でありFischer比も 3.83 ± 0.39 と低値であった。筋アミノグラムからみると肝切除術群間でGluはA群に比べB群において有意に低値であり、逆にGlnはB群が有意に高値であった。さらに、AlaはB'群に比べB群において有意に低値であった。高アンモニア血症に際しBCAAのアンモニア処理作用はGluからGlnへの合成によるもので(グルタミン-グルコースサイクル)、その際ピルビン酸からのAla合成は低下する(アラニン-グルコースサイクル)。肝切除術後1週間の時点において、肝再生率はほぼ同等であるにもかかわらず、B群において

はA群に比べまだ肝障害に対する反応がより強く続いている事が考えられる。以上よりBCAA richのA群の方がB群に比べ肝再生にとってより良好な環境を作ることができると推察される。

その他、A群において血漿中、肝および筋組織中のThrが有意に高値を示した。等カロリーとなるように溶解した時のアミノ酸組成ではThr量はA群が0.64 g/dl, B群が0.398 g/dlである。また、高カロリー輸液用アミノ酸製剤であるTEO-10のアミノ酸組成では0.57 g/dlであり、モリブロン-Fでは0.65 g/dlである。大屋敷²⁶⁾の報告では、TEO-10とモリブロン-Fを体重300 g前後のWistar系ラットに投与した実験において、術後第1病日および第3病日の血漿アミノグラムをみると、第1病日では差はないが第3病日には有意にモリブロン-F群のThr値が高値を示している。さらにGoldsteinら²⁷⁾によれば、報告者により、種差によりThrの肝臓での代謝酵素活性に差のあることを指摘している。

ラットにおいてはThr量が0.64 g/dl以上であると連続投与によって処理し切れなくなり血漿その他臓器でのThr値が高値となるのではなからうか。

血漿脂質の脂肪酸構成からみると、以前から言われている事ではあるが²⁹⁾、B群(エレンタール投与群)では $\omega 6$ 系の減少、 $\omega 9$ 系の増加、T/T ratioの上昇等のより強い必須脂肪酸欠乏(EFAD)の所見を呈したが、A群では対照群と比較しこれらの改善が認められた。

肝内の脂質量には差は認められずAB両群間の必須脂肪酸欠乏の差は明らかには指摘出来なかったが、組織所見では肝切除術施行群においてB群に明らかな脂肪肝を呈するものを認めたのに対し、A群では門脈域を中心とする軽度の脂肪変性に留まっていた。

糖質とアミノ酸のみで高カロリー輸液を長期に行うと、EFADをきたし肝は機能的、形態的に異常を呈することが知られている^{29,30,31)}。経腸的にも脂肪を含有させないと同様の状態が起こり得ることは当然と思われる。EFADの予防のために投与すべきリノール酸の一日必要量は投

与カロリーの4%と言われているが²⁹⁾、A群においては2.4%とやや低い割合である。脂肪酸構成、再生肝の形態的所見および参考ではあるが対照群の脂肪酸構成を考え併せると、今回作成した成分栄養剤ではまだ十分にはEFADを予防できるとは言えず、ダイズ油の含量についてはさらに検討が必要と思われる。

結 論

70%肝切除術施行ラットに高分岐鎖アミノ酸およびMCTを配合した成分栄養剤を投与し、その栄養学的効果をエレンタールと比較し以下の結果を得た。

1) 体重変化、窒素平衡、尿中3-メチルヒスチジン/クレアチニン比においてAB両群間に有意の差は認められなかったが、尿中窒素排出量の推移から見ると、B群では減少傾向を認めなかったのに対し、A群は窒素平衡が正転後も経日的に排出量は減少しており、より良好な窒素平衡を呈した。

2) 尿中3-メチルヒスチジン/クレアチニン比から見ても、術後第5病日までの減少率はA群がもっとも大きく、さらに血漿アルブミン値がより高値であった事から、33%BCAAとMCTとを含有することでより強い蛋白分解抑制の効果が発揮されたと推測された。

3) 血漿及び筋アミノグラムでは投与薬剤のアミノ酸配合比を十分に反映し、A群においてBCAAは有意に高値となり、Fischer比も高値に維持できた。さらに、A群に比べB群ではTyr, Metが高値であり、Gluの低値、Glnの高値、Alaの低値が認められ、肝障害からの回復の遅れが想像される事から、BCAA richにすることで術後侵襲下の肝機能障害や肝再生時により良好な環境を作り得ると推察された。しかし、Trp, Pheには差は認められずThrがA群で異常に高値であったことに関してはさらに検討が必要である。

4) 血清脂質の脂肪酸構成では $\omega 6$ 系の減少、 $\omega 9$ 系の増加、T/T ratioの上昇からB群は必須脂肪酸欠乏所見を呈したが、A群では改善傾向が認められた。これは再生肝の脂肪変性の程度の差としても認められた。

5) 必須脂肪酸欠乏を予防するために必要なリノール酸の投与量に関しては、今回の実験での投与カロリーの2.4%ではまだ不十分ではないかと思われた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師寺本滋教授に感謝を捧げると共に、種々の助言と

御尽力をいただきました曾田益弘博士に深謝します。また、研究期間中たえず御協力と激励をくださった末廣和長学兄に心から感謝いたします。

なお本論文の要旨は第24回日本外科代謝栄養学会、第3回日本静脈・経腸栄養研究会において発表した。

文 献

- 1) 市原 明：分岐鎖アミノ酸の生理化学。外科と代謝・栄養 (1988) **22**, 281—288.
- 2) 中川八郎：代謝の臓器相関。外科と代謝・栄養 (1987) **21**, 16—31.
- 3) Freund H, Yoshimura N, Lunetta L and Fischer JE : The role of the branched-chain amino acids in decreasing muscle catabolism in vivo. *Surgery* (1978) **83**, 611—618.
- 4) Cerra FB, Upson D, Angelico R, Wiles III C, Lyons J, Faulkenbach L and Paysinger J : Branched chains support postoperative protein synthesis. *Surgery* (1982) **92**, 192—199.
- 5) Cerra FB, Mazuski JE, Chute E, Nuwer N, Teasley K, Lysne J, Shronts EP and Konstantinides FN : Branched chain metabolic support : A prospective, randomized, double-blind trial in surgical stress. *Ann Surg* (1984) **199**, 286—291.
- 6) Rigotti P, Peters JC, Tranberg KG and Fischer JE : Effects of aminoacid infusions on liver regeneration after partial hepatectomy in the rat. *JPEN* (1986) **10**, 17—20.
- 7) 鬼頭文彦：肝再生に及ぼす経腸栄養法の効果についての実験的研究—とくに分岐鎖アミノ酸と脂肪の影響—。日外会誌 (1987) **88**, 294—302.
- 8) 石田亘宏, 山際健太郎, 東口高志, 野口 孝, 川原田嘉文, 水本龍二：肝切除症例に対する高濃度分岐鎖アミノ酸投与の効果—経静脈並びに経腸投与の比較—。外科と代謝・栄養 (1989) **23**, 131—138.
- 9) Pomposelli JJ, Valicenti AJ, Babayan VK, Hamawy KJ, Bistran BR and Blackburn GL : Medium chain triglycerides are efficient energy sources in hepatic insufficiency. *JPEN* (1984) **8**, 88.
- 10) Higgins GM and Anderson RM : Experimental pathology of the liver : I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol* (1931) **12**, 186—202.
- 11) 福島秀夫：各種疾患における栄養療法, 肝不全と分岐鎖アミノ酸 (BCAA). *medicina* (1984) **21**, 62—65.
- 12) Johnson RC and Cotter R : Metabolism of medium-chain triglyceride lipid emulsion. *Nutr Rep Int* (1986) **2**, 150—158.
- 13) Eckart J, Adolph M and Naab V : Fat emulsions containing medium chain triglycerides in parenteral nutrition of intensive care patients. *JPEN* (1980) **4**, 360—366.
- 14) Maiz A, Yamazaki K, Sobrado J, Babayan VK, Moldawer LL, Bistran BR and Blackburn GL : Proteinmetabolism during total parenteral nutrition (TPN) in injured rats using medium-chain triglycerides. *Metabolism* (1984) **33**, 901—909.
- 15) Mok KT, Maiz A, Yamazaki K, Sobrado J, Babayan VK, Moldawer LL, Bistran BR and Blackburn GL : Structured medium-chain and long-chain triglyceride emulsions are superior to physical mixtures in sparing body protein in the burned rat. *Metabolism* (1984) **33**, 910—915.
- 16) Stein TP, Presti ME, Leskiw MJ, Torosian ME, Settle RG, Buzby GP and Schluter MD : Comparison of glucose, LCT, and LCT plus MCT as calorie sources for parenterally nourished rats. *Am J Physiol* (1984) **246**, E277—E287.

- 17) Kaunitz H : Clinical uses of medium-chain triglycerides. *Drug Therapy* (1978) **8**, 91—96.
- 18) Baba N, Bracco EF and Hashim SA : Enhanced thermogenesis and diminished deposition of fat in response to overfeeding with diet containing medium chain triglyceride. *Am J Clin Nutr* (1982) **35**, 678—682.
- 19) Geliebter A, Torbay N, Bracco EF, Hashim SA and Van Itallie TA : Overfeeding with medium-chain triglyceride diet results in diminished deposition of fat. *Am J Clin Nutr* (1983) **37**, 1—4.
- 20) Bray GA, Lee M and Bray TL : Weight gain of rats fed medium-chain triglycerides is less than rats fed long-chain triglycerides. *Intern J Obesity* (1980) **4**, 27—32.
- 21) Grancher D, Blain CJ, Frey A, Schirardin H and Bach AC : Studies on the tolerance of medium chain triglycerides in dogs. *JPEN* (1987) **11**, 280—286.
- 22) Bach AC and Babayan VK : Medium-chain triglycerides : an update. *Am J Clin Nutr* (1982) **36**, 950—962.
- 23) Sailer D and Muller M : Medium chain triglycerides in parenteral nutrition. *JPEN* (1981) **5**, 115—119.
- 24) 長山正義, ロナルド・ヒューゴ・バーカーン : 新合成エネルギー源・モノアセトアセチンを用いた TPN の消化管吻合創に及ぼす実験的研究. *日消外会誌* (1987) **20**, 1087—1092.
- 25) 内野純一, 圓谷敏彦 : 肝切除, 再生とアミノ酸代謝. *JJPEN* (1981) **3**, 149—154.
- 26) 大屋敷啓司 : 高濃度分岐鎖アミノ酸製剤の術後栄養効果に関する実験的研究. *外科と代謝・栄養* (1987) **21**, 86—98.
- 27) Goldstein L, Knox WE and Behrman EJ : Studies on nature, inducibility, and assay of the threonine and dehydrase activities of rat liver. *J Biol Chem* (1962) **237**, 2855—2860.
- 28) 谷村 弘, 佐藤友信, 日笠頼則 : 脂肪代謝からみた Elemental diet の問題点. *外科診療* (1981) **44**, 413—420.
- 29) Richardson TJ and Sgoutas D : Essential fatty acid deficiency in four adult patients during total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* (1975) **28**, 258—263.
- 30) Boelhouwer RU, King W, Kingnorth AN, Weening JJ, Young VR and Malt RA : Fat-based (Intralipid 20 %) versus carbohydrate-based total parenteral nutrition : Effects on hepatic structure and function in rats. *JPEN* (1983) **7**, 530—533.
- 31) 松末 智, 武田博士, 柏原貞夫 : 成人における長期高カロリー輸液中の肝障害. *日外会誌* (1986) **87**, 846—852.

**Nutritional effects of branched chain amino acids and lipids
in surgical stress after partial hepatectomy in the rat**

Minoru MIZUTA

Second Department of Surgery,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. S. Teramoto)

The nutritional influence of branched chain amino acids (BCAA) and lipids in surgical stress was examined after 70% hepatectomy in rats.

Two types of elemental diet (ED) were given through the gastrostomy tube for 7 days. Group A : ED containing 33% BCAA and 30% lipid (medium chain triglycerides 8.5g+soy bean oil 1.5g/300 kcal). Group B : ED containing 17% BCAA and 1.5% lipid (soy bean oil 0.49g/300 kcal).

Up to the 7th postoperative day, the excretion of nitrogen into urine decreased in group A, but no change occurred in group B.

Up to the 5th postoperative day, molar ratio of 3MH to creatinine in urine in group A decreased more rapidly than in group B.

Plasma concentration of albumin in group A was higher than in group B on the 7th postoperative day.

Fischer ratio was significantly higher in group A than in group B on the 7th postoperative day.

Both plasma and muscle levels of Tyr, Met and Gln were higher in group B than in group A, Glu and Ala were lower in group B than in group A.

Essential fatty acid deficiency occurred more severely in group B than in group A.

While fatty livers were microscopically observed in some livers in group B, there were few fatty deposits in group A.