

学 位 論 文 題 名

脂肪乳剤投与の肝部分切除後初期の肝再生におよぼす効果

—とくに中鎖脂肪酸について—

学位論文内容の要旨

I. 緒 言

手術手技の進歩と手術機械の開発により肝切除が安全な手術となった結果、術後の代謝面の管理は極めて重要となった。これまでは肝切除後の栄養管理としてグルコースやアミノ酸輸液などが重要視されてきたが、長鎖脂肪酸 (LCT) は網内系機能低下、 β 酸化にカルニチンを必要とするなどの理由で投与が避けられてきた。一方、中鎖脂肪酸 (MCT) は、代謝速度の速さ、 β 酸化にカルニチンが不必要であることなどから、最近、侵襲下の新しいエネルギー基質として注目されている。しかし肝切除後の効果についての研究は少なく、特に肝切除後早期の過酸化脂質による肝障害と肝再生に与える影響との関連についての研究はない。そこで著者は肝切除後に、LCT あるいは MCT を加えた total parenteral nutrition (TPN) を施行して、肝再生に及ぼす影響について実験的に検討した。

II. 材料と方法

1. 実験方法：体重250~300 gの雄性 Wistar 系ラットにエーテル麻酔下に頸部よりカテーテルを上大静脈に留置後、70%肝切除術を施行した。6, 12, 24, 48時間後に肝の一部を採取後、大動脈より採血し脱血死させた。残りの肝臓は肝組織中過酸化脂質、S 期比率測定のため凍結保存した。尚、BrdU30mg/kgを犠牲死一時間前に投与した。

2. 経静脈輸液組成：総輸液量は280ml/kg/day, 投与カロリーは206Kcal/kg/day, non-protein calory (NPC) で170Kcal/kg/day, 投与窒素量は1.7g/kg/dayとした。NPCの全てをグルコースで投与した群 (G群), 50%を LCT (20%soybean emulsion) で投与した群 (L群), 50%を MCT (20% trycaprylin emulsion) で投与した群 (M群) の3群に分け検討した。

3. 肝組織内 Adenin nucleotide (AN) と Energy Charge (EC) の測定：肝凍結標本を

液体窒素中で粉末化, 0.5N HCl にて homogenize 後, 遠心, 上清を 5 N KOH にて中和, 再度遠心して得られた上清を高速液体クロマトグラフィーで測定した。EC は Atkinson の計算式 $EC = \frac{(ATP + 0.5ADP)}{(ATP + ADP + AMP)}$ により算定した。

4. 血液生化学検査の測定: 血漿よりケトン体 (アセト酢酸, β -ヒドロキシ酪酸), 血糖, インスリン (IRI), 総蛋白 (TP), アルブミン (Alb), GOT, GPT, 遊離脂肪酸 (NEFA), 中性脂肪 (TG) を測定した。

5. 組織中過酸化脂質 (LPO) の測定: 肝組織に 1.15% KCl を加え homogenize 後, Etanol を加え振盪後遠沈し, 上清の LPO を測定した。

6. S 期細胞比率 (BrdU の Labeling Index) の測定: 肝組織を細切し 2 回 PBS 洗浄後, Citrate Buffer に懸濁, ナイロンメッシュ (50 μ) で濾過した。PBS で 2 回遠心洗浄後, 70% Etanol で固定 (4 $^{\circ}$ C, 一夜) した。4N HCl を滴下後, 遠心分離した細胞に 0.1M Sodium Tetraborate, 0.5% Tween 20 含有 PBS を加え各々遠心分離後, 抗 BrdU 抗体 (20 μ l) を加え反応させた (室温, 30分)。遠心洗浄後抗マウス IgG - FITC を加え, incubation (室温 30分) した。洗浄後, ナイロンメッシュを通し, FCM で解析を行った。

結果は Mean $\pm$ SD で表し, Student - t 検定にて危険率 5 % 未満を有意とした。

Ⅲ. 結 果

1. 血液生化学検査

血糖は 12 時間後 G 群が L 群, M 群に比し, また 24 時間後には M 群が G 群, L 群に比し有意に高値であった。IRI は 12 時間後 L 群値が G 群値に対して有意に低値となった。48 時間後には L 群, M 群が G 群に比して有意に低値であった。TP, Alb は各群とも術後漸減した。TP は 24 時間後 L 群, M 群が G 群に比し, Alb は 12 時間後 M 群が G 群, L 群より有意に高値であった。GOT 値は, 各群とも術後 6 時間後に最高値となり, 12 時間後には一旦低下した。24 時間後には再度上昇したが, 48 時間後には 3 群とも低下した。GPT も GOT とほぼ同様の経過であった。TG は L 群は術前より高値を, G 群は最も低値であった。12, 24 時間後には各群間に有意差を認めた。また各群とも 24 時間後までは安定していたが, G 群, M 群で 48 時間後に増加した。NEFA は G 群で L 群に比して常に有意に低値であり, M 群に比しても 24 時間後以外, 有意に低値であった。48 時間後には各群とも 24 時間後と同じか低値であった。

2. 動脈血ケトン体分画

総ケトン体量は術後 6 時間後には L 群 $233.0 \pm 91.1 \mu\text{mol/l}$, M 群 $249.4 \pm 79.2 \mu\text{mol/l}$,

に比して有意に高値であった。以後いずれも低下したが、48時間後でもM群は、G、L群に比し高値であった。ケトン体比は6, 48時間後には3群間に有意差はなかった。12時間後にはL、M群はG群に比し低値であった。

3. 肝組織中 AN と EC

EC は各群とも術後低下し、24時間後には術前値に回復した。6 時間後にはM群は 0.75 ± 0.03 と最も高値を示し、G群の 0.70 ± 0.04 に比して有意に高値であった。ATP 量も同様に経過した。総 AN はM、L群では6、G群では12時間後に最低値となり、その後増加した。12時間後にはM群 $3.36 \pm 0.27 \mu\text{mol/g}$ 、L群 $3.27 \pm 0.31 \mu\text{mol/g}$ に比して高値であった。

4. 肝組織中過酸化脂質 (LPO)

LPO は12時間後G群で $0.59 \pm 0.09 \text{ nmol/mg. prot}$ であり、ほぼ術前と同じであったのに対し、M群 0.25 ± 0.04 、L群 0.32 ± 0.16 ではG群に比し有意に低値であった。その後LPOはG群では徐々に低下、L群ではほぼ同じ値で推移、M群では逆に増加した。48時間後にはM群がG、L群に比して有意に高値であった。

5. BrdU の Labeling Index (LI)

LI は24時間後にはM群 $6.9 \pm 4.5\%$ 、L群 $4.1 \pm 1.7\%$ と高値となり、かつG群 $1.4 \pm 0.5\%$ に比して有意に高値であった。しかし48時間後にはG群、L群、M群間に有意差はないが、G群が最も高値を示した。

IV. 考 察

肝切除後 EC の低下、APT 生産の亢進する時期における MCT のエネルギー源として、また肝再生における効果は詳細に検討されていない。

肝切除後の糖代謝では脂肪投与の IRI が48時間後にG群より低値であった。蛋白代謝では脂肪投与、特に MCT の投与が肝切除後早期の蛋白代謝に有用であると考えられた。脂質代謝はG群では術後 TG、NEFA は低下し、L群では LG、NEFA とともに術前値より高値であった。しかしM群ではG群よりは高値であったが、前値よりは低値であった。

ケトン体比は肝切除後の脂肪酸代謝が優位な時期に脂肪、特に MCT を投与した際には、エネルギーレベルを反映しないと考えられた。

総 AN、ECの推移より MCT は良好なエネルギー基質であり、MCT 投与下ではエネルギーの産生、消費の両者が亢進状態にあると考えられた。

肝再生、LPO と脂肪投与ではM群で12時間後に LPO が低値を呈し、L、M群で24時間後に

有意にS期細胞が増加した。LPOの発生、消去、肝再生と脂質投与に関しては、肝障害との関係も含めて今後の研究課題と思われた。

V. 結 語

MCTは肝切除後侵襲期のエネルギー基質として比較的良好に利用され、かつ肝切除後早期の肝障害の予防および肝再生により有利な点が多いと考えられた。しかし侵襲よりの回復期にはMCT単独ではなくLCTとの併用も考慮すべきであると考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 内 野 純 一
副 査 教 授 石 橋 輝 雄
副 査 教 授 劔 物 修

手術手技の進歩と手術機器の開発により肝切除が安全な手術となり、肝機能の不良なものや、切除許容範囲の限界に近い肝切除が行われるようになった結果、肝切除の術後の代謝管理は極めて重要となった。肝切除術後の管理で長鎖脂肪酸(LCT)の投与は網内系機能低下を来し、 β 酸化にカルニチンを必要とするなどの理由で避けられてきた。一方、中鎖脂肪酸(MCT)は代謝速度の速さ、 β 酸化にカルニチンが不必要であることなどから、侵襲下の新しいエネルギー基質として最近、注目されている。

申請者は肝切除後に、MCTを中心とした完全静脈栄養(TPN)を施行して、その肝再生初期に及ぼす効果について実験的に検討した。

方法：実験動物として体重250～300gの雄性Wistar系ラットを用い、頸部よりカテーテルを上大静脈に留置後、70%肝切除術を施行しTPNを行った。

輸液組成は1日当り総輸液量280ml/kg、投与カロリー206Kcal/kg、non-protein calorie(NPC)170Kcal/kg、投与窒素量1.7g/kgとした。NPCの全てをグルコースで投与した群(G群)、50%をLCT(20%soybean emulsion)で投与した群(L群)、50%をMCT(20%trycaprylin emulsion)で投与した群(M群)の3群に分け検討した。6、12、24、48時間後に肝の一部を採取後、大動脈より採血し脱血死させた。なおBrdU30mg/kgを犠牲死1時間前

に投与した。なお各群5匹とした。

血漿よりケトン体（アセト酢酸， β -ヒドロキシ酪酸），血糖，インスリン，総蛋白，アルブミン，GOT，GPT，遊離脂肪酸，トリグリセリドを測定した。

肝組織より Adenin nucleotide（高速液体クロマトグラフィー，Kamiike，Leoncini 法）と Energy Charge（ $EC = \text{ATP} + 0.5\text{ADP} / \text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP}$ ），過酸化脂質（LPO）（Kanazawa，八木変法），BrdU の Labeling Index（Flowcytometry，野村，長島法）を測定した。

結果：血糖は各群とも上昇したが，比較的安定していた。インスリンは血糖の上昇にともない増加し，24時間以後は血糖値と同様に推移した。総蛋白，アルブミン値は軽度の変動の後各群とも漸減した。総蛋白は，12，24時間後にL群，M群がG群に比し有意に高値を示した。GOT，GPTは上昇後低下し，明らかな差を認めなかった。トリグリセリドはL群では術前より高値を，M群，G群では低値となった。L，M群間の差は肝網内系での取り込みの差と考えられた。遊離脂肪酸は同様の变化を示したが，M群では術前値よりの変動が少なかった。総ケトン体量は，術後6，12時間後にL群，M群ではG群に比して高値であったが，L，M群間に差はなかった。

肝のECは各群とも術後低下したが，24時間後には術前値に回復した。6時間後のECは，M群ではG群に比して有意に高値であった。LPOは12時間後M群，L群ではG群に比し有意に低値であった。その後LPOはG群では徐々に低下，L群ではほぼ同じで，M群では逆に増加し，48時間後にはM群がG，L群に比して高値となった。BrdU の Labeling Index はM群，L群では24時間後に高値となったのに対し，G群では48時間後に増加を認めた。

以上より，脂肪投与は肝切除後初期の血清蛋白の維持に有用と考えられた。またトリグリセリド，遊離脂肪酸の推移から，MCTはLCTと比較すると，肝網内系での取り込みが良好である可能性が示唆された。また，MCTは肝切除後初期のエネルギー基質として比較的良好に利用され，肝再生に有効と考えられた。しかし，MCT単独投与は手術侵襲からの回復期では，なお検討の余地があると思われた。

審査にあたって，石橋教授よりLCTとMCTの代謝，また投与条件の設定について，飼物教授より手術中の管理，MCTの障害肝での投与の可能性について質疑があったが，申請者は概ね妥当な回答を行った。

MCTが肝切除後初期の肝再生に及ぼす効果について検討した研究の報告はなく，またMCTが肝切除後の投与基質として臨床応用の可能性があることを示唆した点で意義があり，学位授与に値するものとする。