

## 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

大阪市立大学医学部第1外科

\*オハイオ医科大学

長山正義      ロナルド・ヒューゴ・バーカーン\*

### EFFECT TO COLONIC ANASTOMOSIS IN POSTOPERATIVE TPN WITH MONOACETOACETIN AS NEW SYNTHETIC ENERGY SOURCE IN RATS

Masayoshi NAGAYAMA, Ronald H. Birkhahn\*

First Department of Surgery, Osaka City University Medical School

\*Medical College of Ohio

雄ラットの低栄養状態で、結腸を切除、吻合し、種々の濃度（5%、10%、15%、20%）でモノアセトアセチン（Ma群）およびブドウ糖（G群）を用いた TPN の効果を比較検討した。術後5日目の体重はG群、Ma群で、投与カロリー量が同じ群ではほぼ同様の値を示した。血清 Acetoacetate,  $\beta$ -hydroxybutyrate は5%Maを用いたM5群を除いてMa群で高値を示した。NバランスはMa群が全体的に良好な傾向を示し、特にM5群と5%Gを用いたG5群で統計的に有意差がみられた。吻合部腸管耐圧力はMa群ではほぼ一定の値を示し、M5群とG5群の比較ではM5群が有意に高値を示した。以上の成績から、Maは低栄養、ストレス下のラットにおいては、有効なエネルギー源であることが示唆された。

索引用語：経静脈栄養，モノアセトアセチン，ケトン体，結腸吻合，吻合部腸管耐圧試験

#### はじめに

外傷あるいは手術侵襲下では、筋は肝でのブドウ糖の産生と創傷治癒に必要なアミノ酸を供給する重要な臓器である<sup>1)</sup>。しかし、侵襲下ではエネルギー消費量の増加もみられ、筋からのアミノ酸だけでは生体の必要量を補うには不十分であり、多量の窒素を尿中に排出することになる<sup>2)</sup>。また、かかる状態ではビルビン酸脱水素酵素の活性低下などのため、血中のインスリンの高値にもかかわらずブドウ糖の利用障害を生じ<sup>3)</sup>、いわゆる surgical diabetes の状態となるが、血中のケトン体はむしろ低いことが指摘されている<sup>4)</sup>。これは脂肪酸化の低下ではなく、手術などの侵襲下では脂肪が主たるエネルギー源になるためとされる<sup>5)</sup>。しかし、ケトン体そのものの投与はそれ自体酸である

ため十分なエネルギーを補給するには代謝性アシドーシスが問題となり、实用性に乏しい<sup>6)</sup>。しかし、著者の一人である Birkhahn<sup>7)</sup>により開発されたモノアセトアセチンはグリセロールとアセト酢酸のエステルであり、ラットに自由摂食下で本剤2.0g/kg/hrを経静脈栄養法（TPN）に用いた成績では著明な ketosis はみられていない<sup>8)</sup>。また火傷ラットにモノアセトアセチンを用いた TPN でも著明な ketosis はみられず、ブドウ糖を用いた TPN に比べ血中インスリンおよび血糖値は低く、累積窒素出納値、whole-body leucine oxidation、筋および肝の protein fractional synthesis rate でもブドウ糖での TPN と変らないと述べ、モノアセトアセチンはストレス下の経静脈栄養として有効なエネルギー源であることを示唆している<sup>1)</sup>。

著者らは侵襲下での経静脈栄養法におけるモノアセトアセチンの有用性を検討する目的で、3日間絶食の飢餓ラットに結腸を切除、吻合し、その際に種々の濃

度のモノアセトアセチンあるいはブドウ糖をエネルギー源とした TPN を施行して、体重、血糖、血中ケトン体の変化および吻合部腸管の耐圧試験成績に及ぼす影響を検討し、若干の知見をえたので報告する。

#### 実験材料ならびに方法

実験動物には Sprague-Dawley 雄ラット (200~250g) を用いた。

実験方法：1匹ずつケージに入れ低残渣の流動食 (50~60ml/day, BIO-SERV 社製) を3日間与えた後、摂水のみ可能とし3日間絶食とした。3日間の絶食後、ケタラル麻酔下 (10mg/200g 腹腔内投与) でラットの下腹部に3~4cmの切開創を置き、開腹した。下行結腸を直腸方向にたどり、腹膜翻転部に達し、その部より3cm口側の結腸を1cm切除した後端々吻合を施行した。吻合方法は5-0 chromic cut gut の内翻一層連続縫合で行った。術中出血はほとんどみられないが、腸吻合終了後、腹腔内をガーゼで少量の血液も残らないようにていねいに拭き取り癒着の防止に努めた。閉腹は二層の連続縫合で施行した。

TPN の方法ならびに輸液組成：TPN はラットの右外頸静脈に細径のシリコンカテーテルを挿入した後、カテーテルを皮下トンネルで背部に出し、ボタン、ワイヤーならびに Swivel を用いる方法<sup>9)</sup>で術後5日間 TPN を施行した。TPN 終了後、直ちに断頭採血したうえ、腸管吻合部を中央にして3cmの結腸を摘出し、吻合部の耐圧試験に供した。

輸液組成はアミノ酸として10%総合アミノ酸液 (10%TRAVASOL, Travenol Inc.) 400ml/L, 電解質として、KCL 40mEq/L, NaHCO<sub>3</sub> 25mEq/L, MgSO<sub>4</sub> 1.6mEq/L, Ca-gluconate 9.6mEq/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10mEq/L, Trace Mineral (M.T.E. -4, Travenol Laboratories, Inc.) 1ml/L, ビタミンとして MVI-12 (USV Laboratories, Inc.) 10ml/L を用い、エネルギー源にはモノアセトアセチンとブドウ糖を用いた。

実験群は以下の8群とした。ラットは各群5匹ずつとし、エネルギー源として G5群は5%ブドウ糖液、G10群では10%ブドウ糖液、G15群では15%ブドウ糖液、G20群では20%ブドウ糖液とし、M5群は5%モノアセトアセチン液、M10群では10%モノアセトアセチン液、M15群では15%モノアセトアセチン液、MaG 群では5%ブドウ糖と15%モノアセトアセチンを含んだ混合液とした。なお、電解質、ビタミンなどはすでに報告した方法に準じて調製した<sup>10)</sup> (表1)。

検査方法：吻合部腸管耐圧試験の方法は最初に腸管

表1 ブドウ糖、モノアセトアセチン、アミノ酸の平均投与量

	Glucose (g/kg/day)	Monoacetoacetin (g/kg/day)	Amino acids (g/kg/day)
G 5	12.0 (0.6)	-----	9.6 (0.5)
M 5	-----	11.8 (0.6)	9.4 (0.5)
G 10	18.6 (0.6)	-----	7.4 (0.3)
M 10	-----	21.7 (1.5)	8.6 (0.6)
G 15	30.9 (1.3)	-----	8.2 (0.3)
M 15	-----	28.4 (1.7)	7.5 (0.5)
G 20	40.5 (1.4)	-----	8.1 (0.3)
MaG	9.7 (0.3)	29.3 (1.0)	7.8 (0.3)

M (SEM)

の肛門側を結紮し、口側よりチューブを挿入した。次にこれを含め腸管を二重に結紮し、加圧時に空気の漏れがないようにした。Cronin ら<sup>11)</sup>に準じ、このチューブを圧力計に接続し、10mmHg/15秒で加圧をつづけ、生理的食塩水中に入れた腸管から気泡が出た時を腸管の吻合部耐圧力 (BST) とし、単位は mmHg で表した。なお、腸管吻合などを全く行っていない無処置の正常雄ラット8匹の下行結腸での BST を測定し control とした。また、他の測定項目 (方法) は血糖 (グルコースオキシダーゼ法, Statzyme Glucose (500nm) キット)、血清アセト酢酸および  $\beta$ -ヒドロキシ酪酸 (酵素法)、尿中窒素排泄量 (Pyroluminescence 法, Antek Model 720) であり、投与窒素量との差を窒素出納値とした。また、血清アセト酢酸値と  $\beta$ -ヒドロキシ酪酸値の和を血清総ケトン体値とした。

なお、データは平均±標準誤差で表し、推計学的検討には Student の t-test を用い、 $p < 0.05$  を有意とした。また、本研究は Medical College of Ohio, Toledo, Ohio, USA において行われた。

#### 成 績

##### 1. 体重の変化

術前3日間の絶食により各群とも絶食前と比較して14~20%の体重の減少がみられたが、各群間では有意差は認められなかった。

術後5日間の体重は、G20群、G15群、MaG 群および M15群では各群とも術前に比べて有意な変化はみられなかった。しかし、G5群、G10群、M5群および M10群では各群とも術前に比べて有意の減少を示した ( $p < 0.01$ )。

術後の体重の変化を各群間で比較すると、G20群と MaG 群では G10群、G5群、M10群および M5群に比べ

図1 体重の変化1

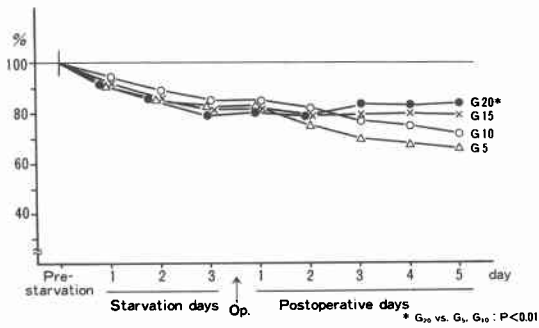


図2 体重の変化2

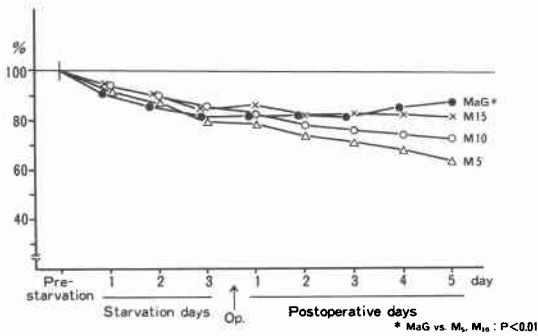


図3 血清アセト酢酸値

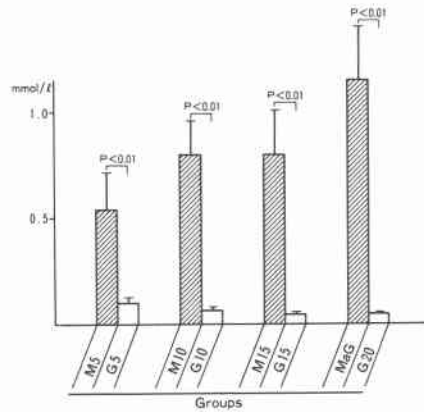


図4 血清β-ヒドロキシ酪酸値

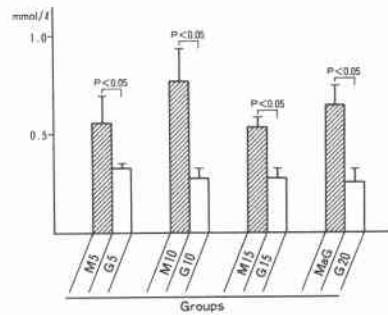
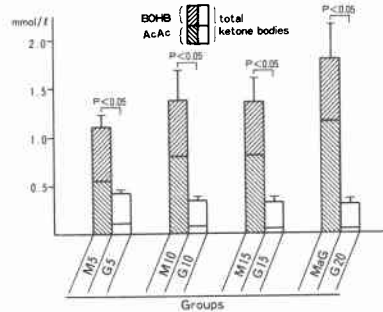


図5 血清総ケトン体値



て体重減少は有意に少なかった ( $p < 0.01$ ) (図1, 2).

2. 血糖値

術後5日目の血糖値については各群とも平均で150 mg/dl 以下であり, 各群間の比較では有意な差はみられなかった.

3. 血清ケトン体

1) 血清アセト酢酸値

血清アセト酢酸は, M10群, M15群および MaG 群ではブドウ糖を用いたすべての群と M5群に比較して有意に高値を示した ( $p < 0.01$ ) (図3).

2) 血清β-ヒドロキシ酪酸

血清β-ヒドロキシ酪酸は, モノアセトアセチンを用いた群の間では有意差はみられなかったが, ブドウ糖を用いた群とモノアセトアセチンを用いた群を比較すると有意に高値を示した ( $p < 0.05$ ). また, ブドウ糖を用いた群の間には有意な差は認められなかった (図4).

3) 血清総ケトン体

血清総ケトン体は, モノアセトアセチンを用いた群では MaG 群が最も高値を示し, M5群, M10群, M15群と濃度の高い順に血清総ケトン体は高値を示す傾向

であったが, これらの群の間には有意差はみられなかった. しかし, これらの値はブドウ糖を用いた群に比べて有意に高かった ( $p < 0.05$ ). また, ブドウ糖を用いた群では濃度の高い順に血清総ケトン体は低値を示す傾向であったが, 有意な差は認められなかった (図5).

4. 窒素出納値

窒素出納値は M5群と G5群を除いて術後経日的に

図6 窒素出納値

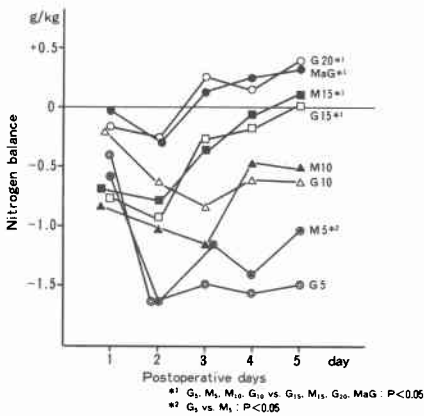
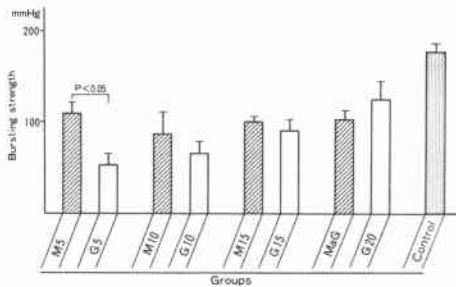


図7 吻合部腸管耐圧力



改善される傾向であったが、M5群とG5群では術後2日目にはG5群では $-1.64 \pm 0.29$ g/kg, M5群では $-1.62 \pm 0.39$ g/kgと両群とも低値を示した。その後G5群はほぼ一定の値を示し、術後5日目でも $-1.48 \pm 0.12$ g/kgとなお低値であったが、M5群の術後5日目では $-1.02 \pm 0.13$ g/kgとG5群に比べ有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。その他の群は各群とも術後1~3日目で低値を示し、その後漸時上昇したが、モノアセトアセチンを用いた群ではブドウ糖を用いた群に比較して、全体的にやや良好な傾向であった。また、G20群、MaG群、G15群およびM15群の窒素出納値は術後5日目では他群に比べ有意に高値を示した ( $p < 0.05$ ) (図6)。

5. 吻合部腸管耐圧力

G5群とM5群のBSTではcontrolの $179 \pm 8$ mmHgに比べ両群とも有意に低値であったが ( $p < 0.05$ )、G5群とM5群の比較では、M5群で有意に高値を示した ( $p < 0.05$ )。

ブドウ糖を用いた群では糖濃度が高くなるに従いBSTも高値となる傾向であったが、G20群とG5群の

間でのみ有意差が認められた ( $p < 0.05$ )。モノアセトアセチンを用いた群では各群間に有意差はみられなかった (図7)。

考 察

結腸吻合では縫合不全を生じやすく、特に低位前方切除では臨床症状を呈さない例を含めると50%を越えるとする報告もみられる<sup>12)</sup>。

この原因としては種々報告されているが<sup>13)~15)</sup>、術前の栄養状態の不良も一つの原因に上げられている<sup>16)</sup>。結腸切除の対象となる疾患では経口摂取の不十分な症例も多く、栄養状態の改善にはTPNに依存することが多い。また、その際のエネルギー源としては主としてブドウ糖を用いることが多い。しかし、外傷や手術などのストレス下では、高血糖、血中インスリンの高値、血中の分枝鎖アミノ酸およびケトン体の低下などがみられ<sup>2)5)~7)</sup>、ブドウ糖の投与では血糖を上昇させ、インスリン分泌を刺激し、かえって代謝状態を増悪させることになり、ストレス下でのエネルギー源としてブドウ糖を用いることは必ずしも有利とは考えにくい<sup>1)</sup>。ストレス下でも安全で有効に利用できるエネルギー源があれば、重症患者の管理も容易となり、救命の機会を増すことも期待できると思われる。

モノアセトアセチンは、最近Birkhahn<sup>7)8)</sup>により開発された新しいTPNのエネルギー源である。この物質は分子量176、淡黄色透明で水に対する溶解度は無限大であり、構造式からみると半分はglucogenicであるグリセロールから、半分はketogenicであるアセト酢酸から構成される苦みのある液体である。また、5%溶液の浸透圧は254mOsm/Lであり、1g当りのエネルギー量は4.4kcalである。

さて、モノアセトアセチンはモノグリセライドであるが、モノグリセライドは体内で速やかに水酸化されることが知られている<sup>7)</sup>。また、モノアセトアセチンを静脈内へ投与すると、その直後より血中アセト酢酸および $\beta$ -ヒドロキシ酪酸は高値となることから、体内で速やかに代謝されるものと思われる。グリセロールについては脂肪あるいは糖質の生理的な代謝中間産物であるが、細胞内への移行にはInsulin independentである<sup>7)</sup>。また、その経静脈投与は大量では問題のあることが指摘されているが、通常量では蛋白節約作用を有することが確認されていることから、グリセロールはエネルギー源として有用であることが示唆される<sup>17)18)</sup>。ケトン体については糖尿病患者で治療が不十分な時に血中あるいは尿中に増加し、単なるketosis

から ketoacidosis に至る症例もある。しかし、血中ケトン体の高値は病的ではあるが、糖尿病によるインスリンの不足から、ブドウ糖の利用障害を生じた結果、生体のエネルギーバランスを維持するため、インスリンが不足しても代謝可能なエネルギー源への転換を行う生体反応であるとされている。さらに、ケトン体は一般に肝外組織で血中濃度に比例して、ブドウ糖、遊離脂肪酸に優先して酸化され、この際インスリンおよびカルニチンに依存していないといわれる<sup>7)</sup>。また、ケトン体は飢餓時の重要なエネルギー源であり、たとえば脳では50%、心臓では70~80%をケトン体でまかなうことができるとされる<sup>6)19)</sup>。さらに、ケトン体の生理的な血中濃度の範囲をモル濃度でみると非常に広く、ブドウ糖のそれは極めて狭い<sup>20)</sup>。しかし、ケトン体の正常人への経静脈投与はある程度は可能であるが、ケトン体は酸であり、これを処理するためには多量の塩基を必要とし、腎機能などへの影響が大きい<sup>6)</sup>。事実、ケトン体を用いた TPN の報告はみられず、また必要エネルギー源をすべてケトン体で補うことは不可能と考えられる。しかし、モノアセトアセチンはすでに述べたごとく、半分がグリセロールであり、他の半分はアセト酢酸で構成されていることから、実験的には極端な場合は別としてエネルギー需要にみあう程度の投与量では著しい ketosis に至らない<sup>7)</sup>。事実、われわれの今回の成績で15%モノアセトアセチンを投与した群でも血中総ケトン体値が異常に高値を示すことはなかった。また、共著者の1人である Birkhahn ら<sup>8)</sup>のラットの自由摂食下でモノアセトアセチン (2.0g/kg/hr) を用いた TPN の報告でも血中総ケトン体は約1.2 mmol/L と高値とはなっていない。また、著者らはラットでのモノアセトアセチンの経静脈負荷試験 (1 g/kg) でも、血中総ケトン体の一過性的上昇はみられるが、その後の低下を確認している。

さて、敗血症、大手術後などの強度のストレス下にある患者では、著明な負の窒素出納、インスリンの高値、高血糖および血中ケトン体の低下、筋カルニチンの減少がみられる<sup>15)</sup>。また、ピルビン酸脱水素酵素の活性低下はブドウ糖の利用障害を生じ、インスリン抵抗性と高血糖はさらに増強され、インスリンの高値は脂肪の分解とケトン体の産生を抑制し、遊離脂肪酸とケトン体は供給不足となる<sup>21)22)</sup>。かかる際のケトン体代替物質としてのモノアセトアセチンの投与は、敗血症、大手術後などで低下したケトン体の補正と筋カルニチンに依存したエネルギー代謝を減じることが

考えられ、モノアセトアセチンはストレス下でのエネルギー源としての有効性が推察される。今回、結腸切除ならびに吻合術後にモノアセトアセチンをラットに用いたわれわれの実験成績では、ブドウ糖を用いた TPN 群に比べて、体重の変化、窒素出納にほとんど差はみられず、むしろ5%モノアセトアセチンを用いたラットでは5%ブドウ糖を用いたラットに比較して有意に窒素出納が良好であり、ストレス下でのモノアセトアセチンの有効性を示唆している。また、Maiz ら<sup>11)</sup>の25%火傷ラットでのモノアセトアセチンを用いた TPN とブドウ糖を用いた TPN での比較検討でもモノアセトアセチンを用いた群ではブドウ糖を用いた群に比べ血糖、インスリン値の変化は少なく、窒素出納値、leucine kinetics ではブドウ糖群とほぼ同様の結果を示しており、われわれの成績と同様にストレス下でのモノアセトアセチンの有効性を示唆している。最後に、吻合部腸管耐圧試験の成績ではモノアセトアセチンを用いた群の濃度差による各群間で有意差はみられず、モノアセトアセチンを用いた M5群の BST ではブドウ糖を用いた G5群に比べ有意に高値を示したことは注目すべき点である。これはすでに述べたごとく、侵襲下におけるケトン体の利用はブドウ糖に比べ良好であるということと、モノアセトアセチンの1g当りのエネルギー量が4.4kcal とやや高く、結腸吻合部の創傷治癒に影響を及ぼしたものと考えられる。また、Windmueller ら<sup>23)</sup>がケトン体は腸管での主要なエネルギー源であるとしていることは興味のあるところである。今後さらに種々の点からモノアセトアセチンについて検討を加えたいと考えている。

## 結 語

低栄養ラットで結腸を切除、吻合し、モノアセトアセチン (Ma) およびブドウ糖を用いた TPN を5日間行い、窒素出納、腸管耐圧力などを比較検討した。

1) ブドウ糖あるいは Ma を用いた群の体重の変化はエネルギー源の濃度が同じでは、ほぼ同様の値を示した。

2) Ma を用いた群ではブドウ糖を用いた群に比べ血清ケトン体の高値が認められた。

3) 窒素出納値は、Ma を用いた TPN ではブドウ糖のみを用いた TPN に比べて、良好な傾向を示し、特に、M5群では G5群に比べて有意に良好であった。

4) 腸管耐圧力はブドウ糖のみを用いた TPN ではエネルギー量の多いほど高い傾向を示した。Ma を用いた TPN ではその濃度と無関係に20%ブドウ糖を用

いた TPN と同程度の腸管耐圧力を示した。また、M5 群の腸管耐圧力は G5 群に比べて有意に高値であった。

稿を終るにあたり、丁重なる御校閲をいただいた梅山馨教授に厚く御礼申し上げます。

#### 文 献

- 1) Maiz A, Moldawer LL, Bistran BR et al: Monoacetoacetic acid and protein metabolism during parenteral nutrition in burned rats. *Biochem J* 226 : 43-50, 1985
- 2) Cerra FB, Upson D, Angelico R et al: Branched chains support postoperative protein synthesis. *Surgery* 92 : 192-199, 1982
- 3) Long JM, Wilmore DW: Effect of carbohydrate and fat intake on nitrogen excretion during total intravenous feeding. *Ann Surg* 185 : 417-422, 1977
- 4) Tao RC, Yoshimura NN: Carnitine metabolism and its application in parenteral nutrition. *J Parent Ent Nutr* 4 : 469-486, 1980
- 5) Border JR, Cheniner R, McMenamy RH et al: Multiple system organ failure: Muscle fuel deficit with visceral protein malnutrition. *Surg Clin North Am* 56 : 1147-1167, 1976
- 6) Birkhahn RH, Border JR: Alternate or supplemental energy sources. *J Parent Ent Nutr* 5 : 24-31, 1981
- 7) Birkhahn RH: Experience with alternative fuels. Edited by Johnstone IDA: *Advances in clinical nutrition*. Boston, MTP press, 1983, p325-337
- 8) Birkhahn RH, Border JR: Intravenous feeding of the rat with short chain fatty acid esters. II. Monoacetoacetic acid. *Am J Clin Nutr* 31 : 436-441, 1978
- 9) Birkhahn RH, Long CL, Fitkin D et al: Stress induced by light weight back button used to prepare the rat for continuous intravenous infusion. *J Parent Ent Nutr* 3 : 421-423, 1979
- 10) Birkhahn RH, Robertson LA: Parenteral feeding at two hypocaloric levels for comparison of glucose-glycerol mixture with urinary nitrogen losses of the rats. *J Nutr* 114 : 1594-1601, 1984
- 11) Cronin K, Jackson DS, Dunphy JE: Changing bursting strength and collagen content of the healing colon. *Surg Gynecol Obstet* 176 : 747-753, 1968
- 12) Goligher JC, Graham NG, DeDombal FT: Anastomotic dehiscence after anterior resection of rectum and sigmoid. *Br J Surg* 57 : 109-118, 1970
- 13) Irvin TT, Goligher JC: Aetiology of disruption of intestinal anastomoses. *Br J Surg* 60 : 461-464, 1973
- 14) Schrock TR, Deveney CW, Dunphy JE: Factors contributing to leakage of colonic anastomoses. *Ann Surg* 177 : 513-518, 1973
- 15) McLachlin AD, Olsson LS, Pitt DL: Anterior anastomosis of the rectosigmoid colon. An experimental study. *Surgery* 80 : 306-311, 1976
- 16) Irvin TT, Hunt TK: Effect of malnutrition on colonic healing. *Ann Surg* 180, 765-772, 1974
- 17) Brennan MF, Fitzpatrick GF, Cohen KH et al: Glycerol: Major contributor to short term protein sparing effect of fat emulsion in normal man. *Ann Surg* 82 : 386-394, 1975
- 18) Freeman JB, Fairfall-Smith R, Rodman GH et al: Safety and efficacy of a new peripheral intravenous administered amino acid solution containing glycerol and electrolytes. *Surg Gynecol Obstet* 156 : 625-631, 1983
- 19) Cahill GF, Aoki TT, Ruderman VB: The Jeremiah Metzger lecture. Ketosis. *Am Clin Climatol Assoc* 84 : 184-202, 1973
- 20) Cahill GF: Ketosis. *J Parent Ent Nutr* 5 : 281-287, 1981
- 21) Mebane D, Madison LL: Hypoglycemic ketones on hepatic glucose output and peripheral glucose utilization. *J Lab Clin Med* 63 : 177-192, 1964
- 22) Mok KT, Maiz A, Yamazaki K et al: Structured medium-chain and long-chain triglyceride emulsion are superior to physical mixture in sparing body protein in the burned rat. *Metabolism* 33 : 910-915, 1984
- 23) Windmueller HG, Spaeth A: Identification of ketone bodies and glutamine as the major respiratory fuels in vivo for postabsorptive rat small intestine. *J Biol Chem* 253 : 69-76, 1978