

消化器外科領域への安定同位元素の応用

千葉大学第2外科

坂本 昭雄 碓井 貞仁 豊泉惣一郎 高石 聡
奥山 和明 小野田昌一 磯野 可一

千葉県がんセンター外科

竜 崇 正

USE OF STABLE ISOTOPES IN GASTROINTESTINAL SURGERY

Akio SAKAMOTO, Sadahito USUI, Soichiro TOYOIZUMI,
Satoru TAKAISHI, Kazuaki OKUYAMA, Syoichi ONODA,
Kaichi ISONO and Munemasa RYU*

Second Department of Surgery Chiba University School of Medicine

*Department of Surgery Chiba Cancer Center

種々の安定同位元素により、消化器外科患者の全身蛋白代謝、脂肪消化吸収能、肝細胞内の個々の機能を測定した。全身蛋白代謝は加齢とともに低下した。肝硬変患者では蛋白合成速度が著明に低下している症例が認められ、また蛋白合成速度と ICG 15分値・プロトロンビン時間とは有意の相関が認められた。臍頭十二指腸切除術後の脂肪消化吸収能は著明に低下していた。肝硬変患者の肝ミトコンドリア、ureacycle、ミクロゾームの各機能を測定した結果、肝ミトコンドリア機能の障害は比較的軽度であり、肝ミクロゾーム機能が強く障害されていた。

索引用語：安定同位元素

医学分野におけるアイソトープの利用は、現在放射性同位元素が主流を占めている。しかし諸外国にみられる tracer study としての臨床応用は取り扱いの問題上、本邦では現在行われていない。それに対し同じアイソトープでも放射能を持たない安定同位元素は被爆や汚染の心配が無く、これを精製濃縮した化合物は安全に臨床へ応用できる。表1に示す特徴を有する安定同位元素は、1913年に Thompson が報告して以来有用性は知られていたが、生産や測定のための技術的困難さから利用が阻まれていた。しかし技術の進歩により供給が安定化し、測定装置も精度が向上し近年では諸外国で医学分野への応用が試みられており、本邦でも比較的手軽に行えるようになってきた。

表1 安定同位体の特徴

- 1) 放射能を持たない
- 2) 化合物分子の同位体標識位置を知る事が出来る
- 3) 時間的減衰が無い

問題点

- 1) 高価である。
- 2) 測定装置が高価である
- 3) 同位体効果が不明

臨床応用

- 代謝疾患：¹³C-palmitate, ¹³C-acetate
¹³C-galactose, ¹³C-glucose
- 消化吸収異常：¹³C-labelled mono and triglyceride,
¹³C-lactose, ¹³C-propionate,
glycine-1-¹³C-cholate
- 肝疾患：¹³C-aminopyrine, ¹³C-galactose,
¹³C-labelled aminoacid, ¹⁵N-NH₄Cl
- その他：¹³C-cholesterol, ¹³C-ribose,
¹³C-5-OH-tryptophan

※第30回日消外会総会シンポジウム2：消化器実験外科の進歩と新しい展開

<1987年10月7日受理>別刷請求先：坂本 昭雄
〒280 千葉市亥鼻1-8-1 千葉大学医学部第2外科

表 2

1) 蛋白質代謝

primed constant infusion法によりL-(1-¹³C)-leucine, ¹³C-bicarbonateをone shotし, その後¹³C-leucineを3.5時間持続注入し, 血液・呼気を探取し(GC-mass spectrometer及びmass spectrometerで)血液中の¹³C-leucine及び呼気中の¹³CO₂のatom % excessを測定し, flux, synthesis rate, oxidation rateを求めた。

2) 脂肪消化吸収試験

¹³C-trioctanoin, または octanoic acid(1mg/kg)を中鎖脂肪に富む負荷食と共に経口投与後3時間呼気を探取し, mass spectrometerで¹³CO₂のatom % excessを測定し呼気中への回収率を求めた。

3) 肝機能検査

1) ミトコンドリア機能

¹³C-tyrosine 静注(1mg/kg)後の3時間呼気を探取しmass spectrometerで¹³CO₂のatom % excessを測定し, 呼気中への回収率を求めた。

2) Urea cycle 機能

¹⁵N-NH₄Cl 経口投与(10mg/kg)後3時間蓄尿し, mass spectrometerで尿中の¹⁵N-urea, ¹⁵N-ammoniaのatom % excessを測定し¹⁵N-ammonia / ¹⁵N-ureaを求めた。

3) ミクロソーム機能

¹³C-aminopyrine 静注(2mg/kg)後2時間呼気を探取し, mass spectrometerで¹³CO₂のatom % excessを測定し, 呼気中への回収率を求めた。

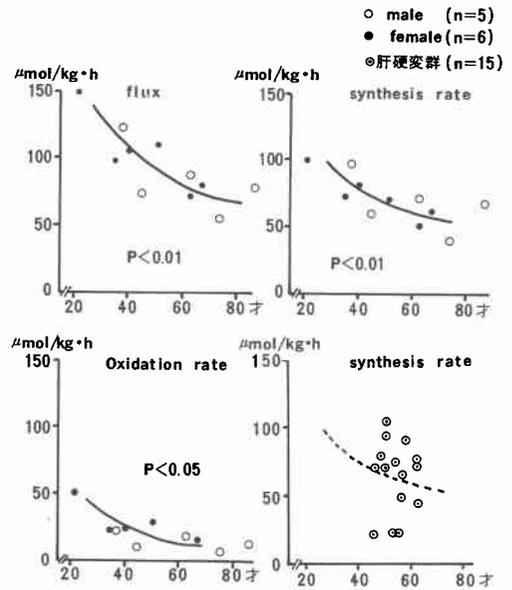
著者らは安定同位元素の臨床応用として表2に示すごとく消化器外科と関係の深いと思われるものを検討した。すなわち手術後の回復や創傷治癒に大きな役割を持つ蛋白質代謝や, 術後の消化吸収能が問題となる膵頭十二指腸切除術後の脂肪消化吸収試験, また肝硬変を有する患者の肝細胞の個々の機能を種々の安定同位元素を用いて検討した。それぞれの検査法は表2に示す通りである。用いた安定同位元素標識化合物のうち, ¹³C-leucine, ¹³C-bicarbonate, ¹³C-aminopyrineは生食水に溶解後pyrogen freeとし, ¹³C-tyrosineは水溶性となりくいたためエステル化して溶解し, その後pyrogen freeとして使用した。

結 果

1) 蛋白質代謝: 経口摂取良好, 肝機能正常体重減少を認めない胆石症5例, stage I 乳癌3例, 鼠径ヘルニア2例, 結腸ポリープ1例の計11例について全身蛋白質代謝を測定すると, 図1のごとく年齢とflux(蛋白質代謝回転速度), synthesis rate(合成速度), oxidation rate(酸化速度)と有意の相関を示し加齢とともに低下した。また肝硬変患者15例についても同様に測定した結果, 破線で示した正常群のsynthesis rateに比べ著明に低下している症例を認めた。またsynthesis rateとICG 15分値, プロトンピン時間との間に有意の相関が認められた(図2)。

2) 脂肪消化吸収試験: 膵頭十二指腸切除術施行例26例と, 対照群として胃切除術8例につき脂肪消化吸

図1 加齢と Whole body protein turnover



収試験を行った。膵頭十二指腸切除術例における呼気中の¹³C質量比の経時的推移をみると(図3上段), ¹³C-octanoic acid投与後質量比は速やかに上昇し60分後ほぼ平衡状態となる。一方¹³C-trioctanoin投与後は質量比の上昇は遅くかつ低くなっており, octanoic acid投与に比べピーク値の出現に60分の遅れが認められた。図3下段に示す呼気中¹³C回収率は¹³C-octanoic

図2 肝硬変合併症における synthesis rate と各種機能検査値との相関

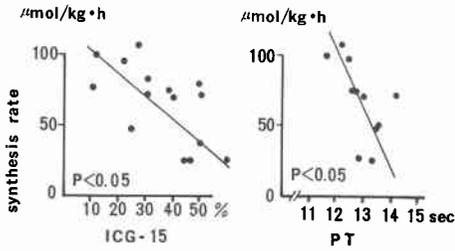
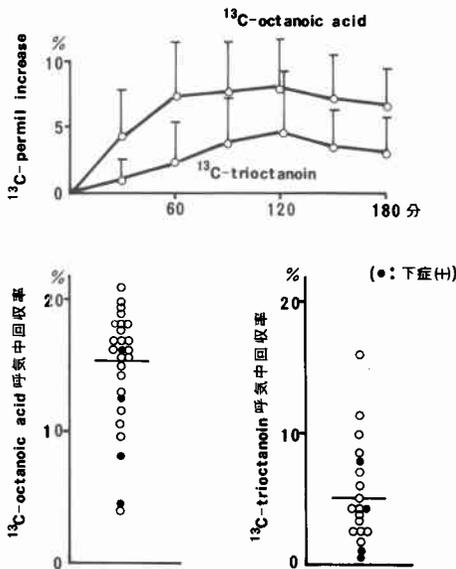


図3 膵頭十二指腸切除術後における¹³C-octanoic acid, trioctanoin 投与後の質量比と推移と呼気中回収率



acid 投与群 $15.3 \pm 4.8\%$ に対し¹³C-trioctanoin 群は $5.0 \pm 3.6\%$ と約1/3の回収率となっていた。膵頭十二指腸切除が膵外分泌に及ぼす影響をみるため、胃切除術例と膵頭十二指腸切除術例に対し¹³C-trioctanoin を投与し¹³C呼気中回収率をみると、胃切除術前では回収率 $16.0 \pm 5.0\%$ に対し、膵頭十二指腸切除術例では $5.0 \pm 3.6\%$ と約1/3であり、有意に低い値をとり、膵頭部切除により膵外分泌能が低下していることを表していると思われる(図4)。

3) 肝機能検査

i) 肝ミトコンドリア機能: 正常肝症例9例と肝硬変症例9例に対し、¹³C-tyrosine 投与により肝ミトコンドリア機能をみた。図5上段に示すごとく呼気中¹³C質量比は正常肝症例では投与後90分で plateau となっ

図4 胃切除術, 膵頭十二指腸切除術後の¹³C-octanoic acid, trioctanoin 呼気中回収率

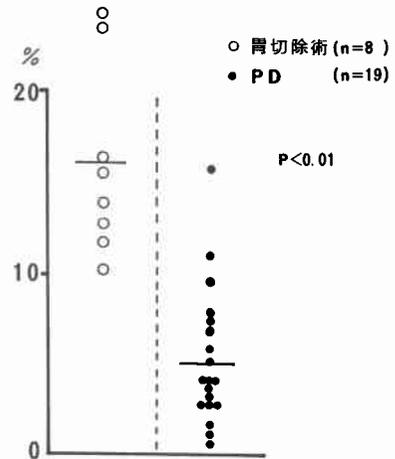
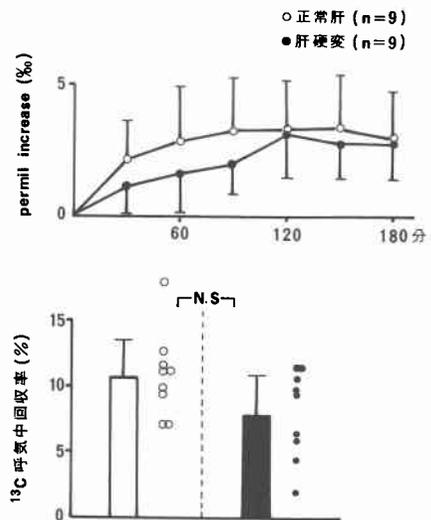


図5 肝硬変合併症における¹³C-tyrosine 投与による肝ミトコンドリア機能



た。それに対し肝硬変例では plateau となるのに30分の遅れをみるが質量比の差は軽度であり plateau 時の値も変わらない。図5下段に示した¹³C呼気中回収率も正常肝例 $10.60 \pm 3.02\%$ に対し肝硬変例では $7.82 \pm 3.14\%$ と低値であるが有意差は認められず、肝ミトコンドリア機能は肝硬変例でも比較的良く保たれていた。

ii) urea cycle 機能: ¹⁵N-NH₄Cl 投与後3時間の著尿中の¹⁵N-ammonia atom % excess/¹⁵N-urea atom % excess をみると、正常肝12例では 0.86 ± 0.36 に対し

図6 肝硬変合併症例における¹⁵N-NH₄Cl 投与による urea cycle 機能

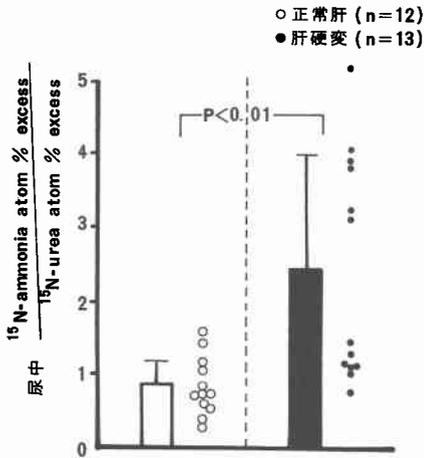
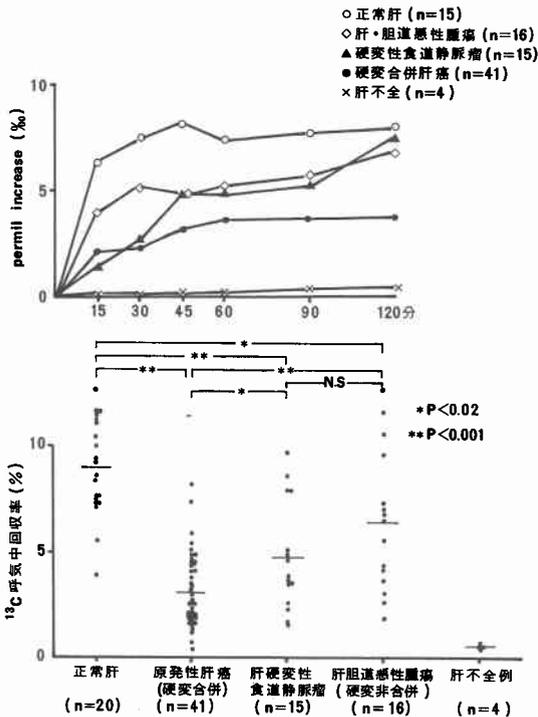


図7 術前後における¹³C-aminopyrine 投与後の呼気中¹³C 質量比の経時的推移と¹³C 呼気中回収率よりみた肝マイクロゾーム機能



肝硬変12例では変動が大きかったが平均では2.45±1.56と有意の差をもって高く、肝硬変例では urea cycle 機能低下が示唆された (図6)。

iii) 肝マイクロゾーム機能：以前より種々疾患に対

し¹³C-aminopyrine を投与し肝マイクロゾーム機能をみてきたが、図7上段に示す様に呼気中¹³C 質量比は正常肝例に比べて肝に障害が強くなるに従い低くなっており、特に肝不全の4例では著明な低値を示した。図7下段に示す¹³C 呼気中回収率をみても正常肝に対しいずれの群も有意の差をもって低く、特に肝硬変合併肝癌では3.23±1.70%と正常肝の8.99±2.28%に比べ著明に低下していた。

考 察

著者らは種々の安定同位元素を用いて前述のごとく臨床に応用してきたが、安定同位元素の最大の長所は放射能を持たないために被爆や汚染の心配がなく乳幼児や妊産婦にも用いることができる点である。また核スピンの持っている核種はその化合物での標識位置が分かり、これは magnetic resonance spectroscopy の分野での利用に計り知れぬ恩恵をもたらす。外国よりの供給量は増えてきているが、それでも依然として高価であり早い国産化が望まれる。また同位体効果については不明な点が多く、安定同位元素の1つである重水による小動物体内水分の置換実験では30%置換により convulsion を起こし死亡するという報告に対し、同じく30%置換でも細胞の変化は認められず安全であるとの報告もあり一定の見解は得られていない。

蛋白代謝の測定は従来¹⁵N、¹⁴Cを用いた研究¹⁾が盛んである。しかし¹⁴Cは使用の制限があり、また¹⁵Nは尿中¹⁵N enrichment が平衡状態となるのに36~48時間という長時間を要する。それに対し Mathews ら²⁾が1980年に行った¹³C primed continuous infusion method は血中および呼気中の¹³C enrichment は30分程度で平衡状態となり real time に蛋白代謝の動きを把握できるという利点がある。著者らがこの Mathews らの方法を用い蛋白代謝を測定した結果によれば、全身蛋白代謝は加齢とともに低下し不活発となっており、特に蛋白合成速度の加齢による有意の低下は高齢者における術後の回復や創傷治癒遅延などに大きな要因を占めていると思われる。

肝硬変患者の全身蛋白代謝に関する報告は少ないが、今回の検討より肝硬変患者の蛋白合成速度は ICG 15分値やプロトロンビン時間と良く相関を示した。実験などでは肝は全身蛋白合成の約40%を占めているとの報告³⁾もあり、肝機能障害が強くなるに従い蛋白合成速度が低下することからも肝は全身蛋白代謝に大きな比重を占めていることが推察される。

今回脂肪消化呼吸試験に用いた中鎖脂肪である

trioctanoin は腓リパーゼにより完全水解され吸収されることが特徴であり、図3で示したように octanoic acid に比べ低い質量比とピーク値出現の遅れがそれを物語っている。しかし中鎖脂肪は肝で代謝されるため、肝機能障害がある症例では消化吸収能を正しく表しているかどうかは判別しがたい。今回膵頭十二指腸切除術後の脂肪消化吸収能を検討し膵切除により膵外分泌能が低下し脂肪消化吸収能が落ちることを示したが、さらに種々の¹³C 標識脂肪を約み合わせるにより原因の異なる下痢の成因の鑑別や、色々な疾患における脂肪消化吸収能の測定⁴⁾が可能と思われる。

肝硬変合併肝癌症例は年々増加してきているが依然として手術死亡率は高いものであり手術前の肝機能の把握が重要となるが、従来の肝機能検査では肝細胞内の個々の機能は知り難い。今回著者らは代謝部位の異なる3種類の安定同位元素標識化合物を用いて、肝硬変患者の肝ミトコンドリア、urea cycle、ミクロゾーム、の各機能を検討した結果、ミクロゾーム、urea cycle 機能の両者とも正常肝症例に比べ肝硬変患者では有意に低下していたが、ミトコンドリア機能は有意の低下を認めなかった。またこの3種類の機能検査を全て施行しえた正常肝、肝硬変各9例を比較すると、同様に肝硬変例ではミトコンドリア機能の障害度は小さくミクロゾーム機能が最も障害されていた。これらの肝細胞機能測定の結果から、肝予備能の指標として障害度が最も鋭敏に示されるミクロゾーム機能の推移

を¹³C-aminopyrine を用いて術前術後を通じてみる事⁵⁾により、手術安全域の予測と手術適応の決定が可能となるものと思われる。

以上安定同位元素を用いた種々の代謝動態の測定につき述べたが、安定同位元素の消化器外科領域への応用は幅広いものがあると思われる。

稿を終るにあたり、測定に御協力を頂いた昭光通商株式会社森下、丸山両氏に感謝致します。

文 献

- 1) Waterlow JC, Garlic PJ, Millward DJ: Protein turnover in mammalian tissues and in the whole body. North Holland Publishing Co., 1978
- 2) Mathews DE, Mortil KJ, Rohrbaugh DK et al: Measurement of leucine metabolism in man form a primed continuous infusion of L-(1-¹³C) leucine. *A J Physiol* 00: 473-479, 1980
- 3) Mcnurlan MA, Garlic PJ: Contribution of rat liver and gastrointestinal tract to whole body protein synthesis in rat. *Biochem J* 186: 381-383, 1980
- 4) Watkins JB, Klein PD, Shoeller DA et al: Diagnosis and differentiation of fat malabsorption in children using C labelled lipids: Trioctanoin, triolein and palmitic acid breath tests. *Gastroenterology* 82: 911-917-1982
- 5) 坂本昭雄, 碓井貞仁, 川村 功ほか: 安定同位元素¹³Cを用いた肝機能検査法. *日消病会誌* 80: 2603, 1983