

遠位側小腸大量切除のビタミンDおよび骨代謝に及ぼす 影響に関する実験的検討

国立仙台病院外科

今村 幹雄 山内 英生

ビーグル成犬を用いて消化吸収障害モデルとして75%の(遠位側)小腸大量切除を施行し、6か月後まで栄養状態と血中ビタミンD分画の変動を観察し、6か月後には腰椎を摘出し組織学的検討と骨形態計測を行った。また、術後、ウルソデオキシコール酸(UDCA)と活性型ビタミンD₃製剤(1 α (OH)D₃)の併用投与や後者の単独投与を行い、その効果を検討した。

遠位側小腸大量切除により体重減少、水様便、消化管通過時間の短縮など消化吸収障害が発生したが、UDCAと1 α (OH)D₃の併用投与は栄養状態を改善した。また、25(OH)Dや24•25(OH)₂Dの減少などビタミンD代謝にも明らかな変化をもたらした。術後6か月では頰骨の量と幅の減少、骨形成率の低下などが生じ骨基質形成不全が示唆され、長期経過後には骨量減少が生ずることが予想された。UDCAおよび1 α (OH)D₃の併用投与は骨基質形成障害を軽減した。

Key words: massive bowel resection, beagle dogs, ursodeoxycholic acid, vitamin D metabolites, bone histomorphometry

はじめに

臨床的に絞扼性イレウス、腸間膜動脈塞栓症、クローン病などの炎症性腸疾患の手術に際し小腸大量切除が施行されることがあり、術後、消化吸収障害、胆汁酸化謝障害、消化管ホルモン分泌異常などさまざまな病態の発生が報告されている^{1)~3)}。このような病態下では脂溶性ビタミンであるビタミンDの吸収も障害され、結果として骨代謝異常の発生が予測される。そこで、ビーグル成犬を用いて遠位側小腸を大量切除し、術後の消化吸収障害状態のビタミンDおよび骨代謝への影響、さらに、活性型ビタミンDまたは胆汁酸製剤投与の効果を検討した。

I. 対象および方法

対象は体重7~11kg、生後15か月のビーグル成犬で、雌雄の別なく用いた。ネブタール(25mg/kg)麻酔下に遠位側小腸を75%切除し、残存空腸を吻合のために約2cm残した回腸末端と端々吻合した。術後、イヌを3頭ずつ3群に分け、A群:ウルソデオキシコール酸(以下、UDCA)+活性型ビタミンD₃(以下、1 α (OH)D₃)併用投与群、B群:1 α (OH)D₃単独投与群、C群:

非投与群(対照)とした。UDCAは300mgを、1 α (OH)D₃は0.375 μ gをいずれも術後1週目より隔日経口投与した。術後6か月間の観察を行い、血液生化学検査、体重および便の性状の変化、全消化管通過時間、および血中ビタミンDメタボライトについて検討した。全消化管通過時間は、術後3か月および6か月经過時に行い、バリウム食(VITA-ONE®30g/kg+硫酸バリウム100ml)を経口投与し、排便までの時間を測定した。血中ビタミンDメタボライト濃度は、血清を抽出後、1 α •25(OH)₂Dは radioreceptor assay 法で、25(OH)Dおよび24•25(OH)₂Dは competitive protein-binding assay 法で測定した⁴⁾。また、6か月後にはテトラサイクリン(20mg/kg、静注)を用い10日間の間隔で2回骨標識を行い、2回目の注射から10日後に屠殺して腰椎を摘出し、組織学的検討および骨形態計測を行った。

骨形態計測は、第3腰椎の正中矢状断の非脱灰標本を作成し、Coleのヘマトキシリン-エオジン染色⁵⁾を施し、ニコンのコスモゾーン1S半自動画像解析装置を用い、拡大率250倍で行った。対照は他の実験系で使用した月齢23~24か月、体重7~11kgのビーグル成犬3頭の成績である。検討したパラメーターは単位骨組織当りの骨量(bone volume/tissue volume: BV/TV, %),

骨実質に占める類骨量 (osteoid volume/bone volume: OV/BV, %), 類骨層幅 (μm), 類骨層の占める表面積 (osteoid surface/bone surface: OS/BS, %), 骨吸収面 (eroded surface/bone surface: ES/BS, %), テトラサイクリン 2 重標識から石灰化表面積 (mineralizing surface/bone surface: MS/BS, %) と石灰化速度 (mineral apposition rate: MAR, $\mu\text{m}/\text{day}$), および単位骨量に対する骨形成率 (bone formation rate/bone volume: BFR/BV, %/year) である。石灰化表面積はテトラサイクリンの 1 重標識面 (singly labeled surface: sLS) と 2 重標識面 (doubly labeled surface: dLS) から, $\text{sLS} \times 1/2 + \text{dLS}/\text{BS}$ (%) として計算し, 骨表面が石灰化された割合を示す。また, 石灰化速度はテトラサイクリンの 2 重標識の間隔を測定し, これを投与間隔 (日数) で割り, 1 日に石灰化する速度を示す。なお, 類骨層幅と石灰化速度は $\pi/4$ で割って補正し, perimeter/area には $4/\pi$ をかけて area/volume に転換した⁶⁾。

測定値は平均値 \pm 標準誤差 (または標準偏差) で表現し, 統計学的処理は Student's t 検定により, 危険率 5% 以下を有意差ありとした。

II. 成績

1. 血液生化学検査

術前と術後 6 か月時の成績を示す (Table 1)。いずれの群でも低蛋白血症はなく, 肝および腎機能障害もみられず, Ca と P 値にも変動はなかった。血清脂質は総コレステロール, トリグリセライド, リン脂質のいずれも各群で低下した。

2. 体重および便の性状

体重は各群で減少したが, A 群では 4 か月頃から回復し, 6 か月後には術前より若干増加した (Fig. 1)。しかし, B, C 群では 6 か月後でも依然として術前より低値にあった。各群とも術後は水様便を呈したが, A 群では 5 か月時には有形便となった。B, C 群では 6 か月後でも無形軟便で, 水様便もみられた。

3. 全消化管通過時間

術後 3 か月の時点では, A 群: 364 ± 26 分 (mean \pm S.E.M.), B 群: 184 ± 5 分, C 群: 239 ± 13 分で, 6 か月時では A 群: 304 ± 7 分, B 群: 204 ± 22 分, C 群: 249 ± 11 分となり, いずれの時期においても B, C 群では A 群に比べ有意に短縮した。しかし, B 群と C 群の間には有意差は認められなかった。

4. ビタミン D メタボライト

$1\alpha \cdot 25(\text{OH})_2\text{D}$ 値は若干減少する群もあったが, 各群において術前値に比べ, 有意の低下までには至らなかった (Fig. 2)。 $25(\text{OH})\text{D}$ と $24 \cdot 25(\text{OH})_2\text{D}$ は術後 1

Table 1 Blood biochemical analysis

	Before surgery (n=9)	6 Months after surgery		
		Group A (n=3)	Group B (n=3)	Group C (n=3)
Plasma protein (g/dl)	5.4 ± 0.1	5.4 ± 0.1	5.5 ± 0.1	5.5 ± 0.2
Albumin (g/dl)	3.1 ± 0.1	2.9 ± 0.1	2.8 ± 0.1	2.9 ± 0.5
GOT (IU/l)	21 ± 1	16 ± 0.3	18 ± 1	18 ± 1
GPT (IU/l)	40 ± 4	31 ± 2	29 ± 5	31 ± 2
ALP (IU/l)	61 ± 5	$36 \pm 4^*$	45 ± 13	43 ± 12
BUN (mg/dl)	8 ± 0.6	10 ± 1.5	11 ± 1.9	10 ± 1.2
Creatinine (mg/dl)	0.5 ± 0.02	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.03	0.6
Ca (mg/dl)	9.6 ± 0.2	9.8 ± 0.1	9.2 ± 0.2	9.6 ± 0.2
P (mg/dl)	3.9 ± 0.2	3.7 ± 0.1	3.4 ± 0.2	3.3 ± 0.4
Total cholesterol (mg/dl)	139 ± 8	101 ± 11	114 ± 13	107 ± 8
Triglyceride (mg/dl)	16 ± 1	11 ± 3	$6 \pm 0.3^*$	8
Phospholipid (mg/dl)	322 ± 14	$242 \pm 18^*$	283 ± 29	262 ± 12

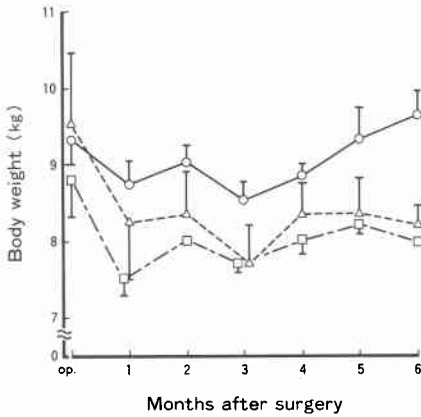
Legend: GOT, glutamic-oxaloacetic transaminase; GPT, glutamic-pyruvic transaminase; ALP, alkaline phosphatase; BUN, blood urea N, Ca, calcium; P, phosphorus.

Group A was given both ursodeoxycholic acid and 1α -hydroxyvitamin D₃; Group B was given 1α -hydroxyvitamin D₃; and Group C received no drugs.

Values are mean \pm SEM.

*p < 0.05 (compared to preoperative level)

Fig. 1 Changes in body weight following 75% resection of the distal small intestine. Group A (○—○; n=3) was given both $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ and UDCA every other day; Group B (△---△; n=3) was given $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ alone; and Group C (□----□; n=3) received no drugs. Results are expressed as mean±S.E.M.



か月より減少し、その後もわずかながら減少傾向を示した。

5. 骨の組織学的所見

Fig. 3a は A 群の骨組織である。類骨層が菲薄化しているがメタクロマジーを示す石灰化前線がみられ、その表面に骨芽細胞の配列を認める。**Fig. 3b** は B 群のものである。破骨細胞の活動性骨吸収窩がやや多く観察され、骨リモデリングの亢進がうかがえる。なお、いずれでも骨軟化症の所見はみられず、また、UDCA

や $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ 投与による明らかな相違は観察されなかった。

6. 骨形態計測

骨量はいずれの群でも減少はみられず、対照と差を認めなかった (**Fig. 4**)。

類骨量は B, C 群で低下し、B 群と対照群の間では有意差を認めた (**Fig. 5**)。

類骨層幅は各群で対照群に比べ有意に低下した。しかし群間での差はみられなかった (**Fig. 6**)。

類骨層の占める表面積の割合は各群で低下し、とくに B 群は C 群および対照群に比べ有意に低値を示した (**Fig. 7**)。

骨吸収面は各群とも対照群と差はなく、骨吸収亢進はみられなかった (**Fig. 8**)。

石灰化表面積の割合は対照群に比べ各群とも減少し、とくに C 群では有意に低値にあった (**Fig. 9**)。

石灰化速度は C, B, A 群の順で対照群より低い傾向にあったが、有意差はみられなかった (**Fig. 10**)。

骨形成率はいずれの群でも対照群より低下し、とくに C 群で著明であった (**Fig. 11**)。

III. 考 察

今回、ビーグル成犬を用いて75%遠位側小腸大量切除を施行したところ、低蛋白血症は生じなかったが、血清脂質は低下し、水様便および体重減少が生じ、全消化管通過時間が短縮した。 $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ のみの投与ではこれらの消化吸收障害状態は改善されなかったが、UDCAを併用することにより、体重減少および便の性状は回復し、消化管通過時間は延長した。したがって、

Fig. 2 Changes in plasma concentrations of active vitamin D metabolites following 75% distal small bowel resection. $1\alpha \cdot 25(\text{OH})_2\text{D}$: $1\alpha \cdot 25$ -dihydroxyvitamin D, $25(\text{OH})\text{D}$: 25-hydroxyvitamin D, $24 \cdot 25(\text{OH})_2\text{D}$: $24 \cdot 25$ -dihydroxyvitamin D. ●; before surgery (n=9), ○—○; Group A (n=3), △---△; Group B (n=3), and □----□; Group C (n=3). Values are mean +S.E.M. The asterisks represent a significant difference compared to the preoperative value.

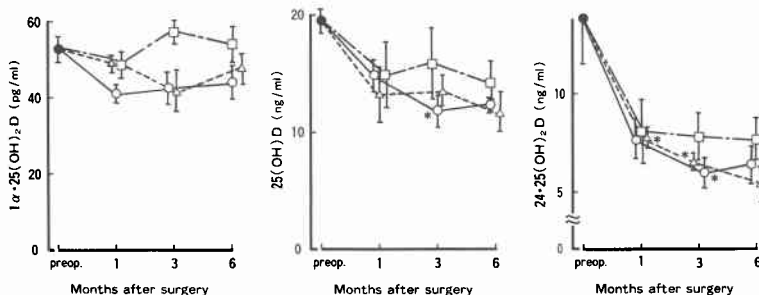


Fig. 3 Histological findings of the third lumbar spine with H.E stain. Although it shows a thin osteoid layer, metachromatic calcification front with osteoblasts is clearly demonstrated (a). Eroded lacunae accompanied by osteoclasts are often observed, indicating an accelerated bone remodeling (b).

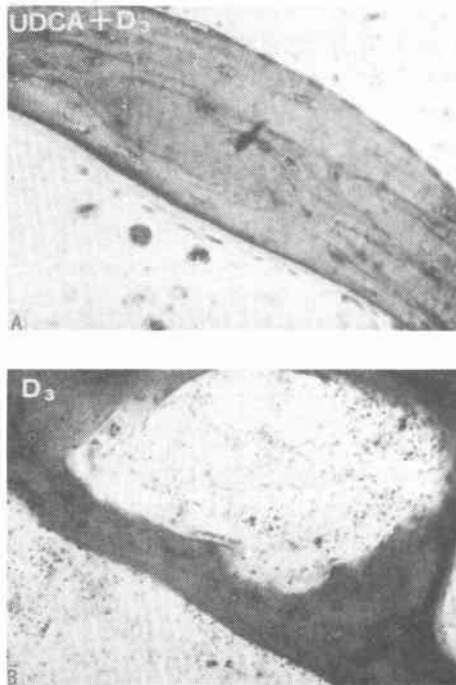
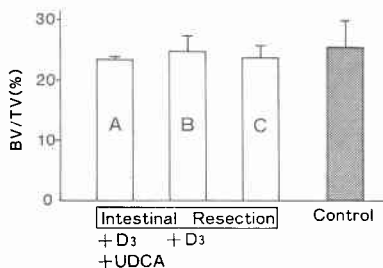


Fig. 4 Bone volume/Tissue volume (BV/TV) : %, mean \pm SEM



UDCA と $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ の併用投与は遠位側小腸大量切除後の消化吸收障害の改善に有効であると考えられた。

胆汁および活性型ビタミンDについては腸肝循環が報告されており^{7)~9)}、遠位側小腸を大量切除した場合、この腸肝循環が破綻し、胆汁のみならず活性型ビタミンDのプールも減少することが予測される。本実

Fig. 5 Osteoid volume/Bone volume (OV/BV) : %, mean \pm SEM.

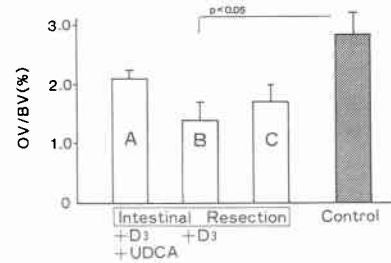


Fig. 6 Osteoid thickness (O.Th) : μm .

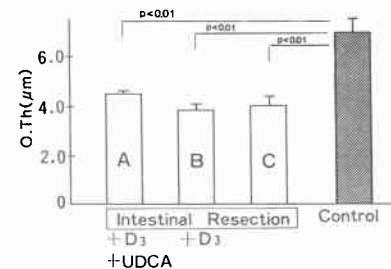
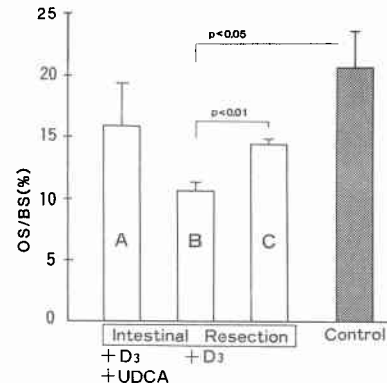


Fig. 7 Osteoid surface/Bone surface (OS/BS) : %, mean \pm SEM.



験では $1\alpha\cdot 25(\text{OH})_2\text{D}$ の血中レベルは $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ または UDCA の投与の有無にかかわらず、小腸大量切除後も術前値を維持した。一方、 $25(\text{OH})\text{D}$ および $24\cdot 25(\text{OH})_2\text{D}$ 値は各群で減少した。ビタミンDメタボライトとして主たる血中での存在型である $25(\text{OH})\text{D}_3$ ¹⁰⁾ は腎で代謝され $1\alpha\cdot 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ または $24\cdot 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ となるが¹¹⁾、低カルシウム血症のような状況下では $1\alpha\cdot 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ への転換が $24\cdot 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ へのそれより優位である¹²⁾。また、今回の成績で示したように $25(\text{OH})\text{D}$ および $24\cdot 25(\text{OH})_2\text{D}$ の血中濃度は $1\alpha\cdot$

Fig. 8 Eroded surface/Bone surface (ES/BS) : %, mean±SEM.

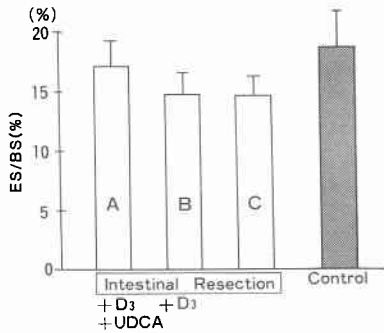


Fig. 9 Mineralizing surface/Bone surface (MS/BS) : %, mean±SEM.

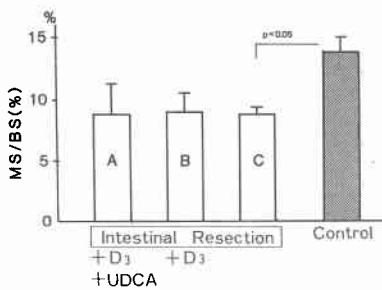
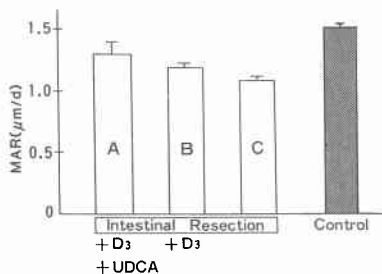
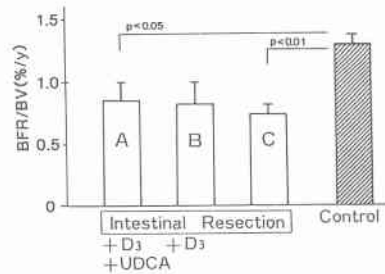


Fig. 10 Mineral apposition rate (MAR) : $\mu\text{m}/\text{day}$, mean±SEM.



25(OH)₂Dの約300倍である。したがって、本実験では活性型ビタミンDの腸肝循環の破綻および脂溶性ビタミンであるビタミンDの小腸からの吸収低下により、血中に存在する25(OH)D₃は1 α •25(OH)₂D₃の不足を補い、1 α •25(OH)₂D₃レベルは辛うじて術前後を維持しているが、25(OH)D自身および24•25(OH)₂Dの血中レベルは低下したと考えられた。Rickersら¹³⁾の報告でも小腸のバイパス手術後、25(OH)D₃のみならず24•25(OH)₂D₃が減少したが、24•25(OH)₂D₃の減少は25(OH)D₃の喪失によるとし、また、25(OH)D₃が

Fig. 11 Bone formation rate/Bone volume (BFR/BV) : %/year, mean±SEM.



低下しても、必ずしも1 α •25(OH)₂D₃が低下しないのは低カルシウム血症による腎での1 α 位の水酸化の亢進があるためとしている。本実験でのA、Bの2群では経口投与された1 α (OH)D₃は肝で代謝され¹⁴⁾、小腸からのカルシウム吸収の上でホルモン作用を有する活性型ビタミンD₃である1 α •25(OH)₂D₃になる¹⁵⁾。したがって、この2群での血中25(OH)D₃レベルは1 α (OH)D₃を投与しないC群より高いことが予想された。しかし、実際には3群とも同様な25(OH)D₃値を示した。このことより、今回の消化吸収障害モデルでは小腸からの1 α (OH)D₃の吸収が低下していたこと、あるいは1 α (OH)D₃の投与量が少なかったことも推測される。本実験で6か月後まで血中CaおよびP値が正常に保たれていたことは、血中1 α •25(OH)₂D₃レベルが術前値に維持されたことと一致するが、25(OH)D₃および24•25(OH)₂D₃値が低下したことから、より長期に経過観察を行えば、カルシウムおよび骨代謝障害の発症が予測される。

骨の組織学的所見としては、本実験ではUDCAや1 α (OH)D₃の投与に関係なく、類骨層が非薄化したが、石灰化前線がみられ、類骨の表面には骨芽細胞の配列を認め、骨軟化症の所見はなかった。しかし、バイパス手術や小腸切除を受けた臨床例のなかには軽度ながら、骨軟化症の発現が報告されており^{16)~19)}、Mosekildeら¹⁶⁾は骨軟化症の発現機序として高度のビタミンD代謝異常やカルシウム吸収障害をあげている。また、Compstonら¹⁷⁾はバイパス手術後にくる骨軟化症は一般のそれと異なり、石灰化前線が多く、2次性副甲状腺機能亢進症の様相を加味していると報告している。

第3腰椎を用いて骨形態計測では、75%の遠位側小腸大量切除の半年後には骨量減少は認められなかったものの、類骨の量と幅が減少し、骨形成率の低下がみられ、骨基質形成不全を示唆した。すなわち、本実験

モデルでは低蛋白血症はみられなかったことより、高度の栄養障害は生じなかったが、消化吸収障害が骨基質形成を低下させ、類骨層の菲薄化に関与したと考えられる。したがって、前述したように、より長期にわたり経過を追えば、活性型ビタミンD₃の低下と相まって骨減少がおこることが予想される。骨量減少の機序についてはカルシウムの負のバランス¹⁸⁾¹⁹⁾、消化吸収障害による低蛋白血症と骨芽細胞の機能不全などからくる骨基質形成不全が考えられている¹³⁾¹⁸⁾²⁰⁾。UDCAまたは1 α (OH)D₃投与の骨代謝への影響をみると、類骨量と類骨面積の割合はとくにB群で低く、また石灰化表面積の割合はC群でとくに低く、さらに石灰化速度(MAR)もC群で低い傾向を示した。すなわち、1 α (OH)D₃の投与のみでは骨基質形成障害を軽減することはできないが、UDCAとの併用により骨形態計測に関するパラメーターの低下を軽度には抑えることができ、骨基質の形成障害を軽減できると推測される。しかし、これがUDCAのみによる効果かについてはさらに検討を要するところである。

本論文の要旨は第37回日本消化器外科学会総会にて発表された。

稿を終えるにあたり、骨の組織学的検討および形態計測において多大な御援助を賜った秋田大学整形外科学教室佐藤光三教授に深甚なる謝意を表します。

また、UDCAを提供してくれた東京田辺製薬株式会社、1 α (OH)D₃を提供してくれた中外製薬株式会社に深謝致します。

文 献

- 1) 今村幹雄, 木村光宏, 山内英生: 胃全摘後の小腸大量切除による栄養障害の1治験例—Ursodeoxycholic acidの有有用性—. 日消外会誌 24: 2827—2831, 1991
- 2) Hofmann AF: Bile acid malabsorption caused by ileal resection. Arch Intern Med 130: 597—605, 1972
- 3) Straus E, Gerson CD, Yallow RS: Hypersecretion of gastrin associated with the short bowel syndrome. Gastroenterology 66: 175—180, 1974
- 4) 久保田徹: 1,25(OH)₂ビタミンD, 25(OH)ビタミンDおよび24,25(OH)₂ビタミンDの測定法. SRL宝函 14: 31—36, 1990
- 5) 日下部明, 佐藤光三, 若松英吉: 骨の非脱灰組織標本作成法. 整形外科 25: 405—413, 1974
- 6) Parfitt AM, Dreznev MK, Glorieux FH et al: Bone histomorphometry: Standardization of nomenclature, symbols, and units. J Bone Miner Res 2: 595—610, 1987

- 7) Dietschy JM: Mechanisms for the intestinal absorption of bile acids. J Lipid Res 9: 297—309, 1968
- 8) Kumar R, Nagubandi S, Londowski JM: The enterohepatic physiology of 24,25-dihydroxyvitamin D₃. J Lab Clin Med 96: 278—284, 1980
- 9) Gascon-Barrè M: Biliary excretion of [³H]-25-hydroxyvitamin D₃ in the vitamin D-depleted rat. Am J Physiol 242: G522—532, 1982
- 10) Imawari M, Kozawa K, Akanuma Y et al: Serum 25-hydroxyvitamin D and vitamin D-binding protein levels and mineral metabolism after partial and total gastrectomy. Gastroenterology 79: 255—258, 1980
- 11) Haussler MR, McCain TA: Basic and clinical concepts related to vitamin D metabolism and action. N Engl J Med 3: 974—983, 1977
- 12) Holick MF, Schnoes HK, DeLuca HF et al: Isolation and identification of 24,25-dihydroxycholecalciferol, a metabolite of vitamin D₃ made in the kidney. Biochemistry 11: 4251—4255, 1972
- 13) Rickers H, Christiansen C, Balslev I et al: Impairment of vitamin D metabolism and bone mineral content after intestinal bypass for obesity. A longitudinal study. Scand J Gastroenterol 19: 184—189, 1984
- 14) Blunt JW, DeLuca HF, Schnoes HK: 25-hydroxycholecalciferol. A biologically active metabolite of vitamin D₃. Biochemistry 7: 3317—3322, 1968
- 15) Boyle IT, Gray RW, DeLuca HF: Regulation by calcium of in vivo synthesis of 1,25-dihydroxycholecalciferol and 21,25-dihydroxycholecalciferol. Proc Natl Acad Sci 68: 2131—2134, 1971
- 16) Mosekilde L, Melsen F, Hessov I et al: Low serum levels of 1,25-dihydroxyvitamin D and histomorphometric evidence of osteomalacia after jejunoileal bypass for obesity. Gut 21: 624—631, 1980
- 17) Compston JE, Horton LWL, Laker MF et al: Bone disease after jejuno-ileal bypass for obesity. Lancet 1: 1—4, 1978
- 18) Hessov I, Mosekilde L, Melsen F et al: Osteopenia with normal vitamin D metabolites after small-bowel resection for Crohn's disease. Scand J Gastroenterol 19: 691—696, 1984
- 19) Rickers H, Balslev I, Foltved H et al: Bone mineral content before and after intestinal bypass operation in obese patients. Acta Med

Scand 209 : 203—207, 1981
20) Parfitt AM, Podenphant J, Villanueva AR et al :
Metabolic bone disease with and without

osteomalacia after intestinal bypass surgery : A
bone histomorphometric study. Bone 6 :
211—220, 1985

Effects of Massive Resection of the Distal Small Intestine on the Metabolism of Vitamin D and Bone in Dogs

Mikio Imamura and Hidemi Yamauchi
Department of Surgery, Sendai National Hospital

Experiments were performed on dogs to investigate the consequences of malnutrition after massive resection of the small intestine on the metabolism of vitamin D and bone. We further investigated the therapeutic effects of the administration of active vitamin D₃ (1 α (OH)D₃) with or without ursodeoxycholic acid (UDCA). Nine adult beagle dogs underwent 75% resection of the distal small intestine, and were divided into three groups: Group A (n=3) received both 1 α (OH)D₃ and UDCA, Group B (n=3) received 1 α (OH)D₃ alone, and Group C (n=3) did not receive either. During the observation period of six months after surgery, body weight decreased, watery diarrhea occurred, and transit time of the whole alimentary tract shortened. The administration of both 1 α (OH)D₃ and UDCA improved the maldigestive state. Plasma levels of vitamin D metabolites such as 25(OH)D and 24·25(OH)₂D decreased after surgery, whereas 1 α ·25(OH)₂D levels were barely kept within the preoperative range. Plasma levels of calcium, phosphorus, and protein remained unchanged for six months postoperatively. Histological study of the third lumbar spine did not show any findings of osteoporosis. Bone histomorphometry using a digitizing system showed no definite decrease in bone volume, but revealed a significant decrease in osteoid volume (OV), thickness (O.Th) and surface (OS), and bone formation rate (BFR). Mineralized surface (MS) and BFR were markedly reduced in Group C. These results suggest that insufficient matrix formation caused by nutritional malabsorption is related with decreases in OV, O.Th, OS and BFR, and will lead to osteopenia after a longer period. It is probable that administration of 1 α (OH)D₃ together with UDCA after massive small bowel resection is effective to lighten the disturbance of matrix formation, although further studies are needed.

Reprint requests: Mikio Imamura Department of Surgery, Sendai National Hospital
2-8-8 Miyagino, Miyagino-ku, Sendai, 983 JAPAN
