日消外会誌　26（4）：1157～1162，1993年

特集 6

敗血症時の肝，骨格筋，腸管の蛋白・アミノ酸代謝
—硬変肝における侵襲時の metabolic response と栄養管理—

三重大学医学部第1外科，Department of Surgery，University of Cincinnati Medical Center*
東口　髙志　　野口　　孝　　川原田嘉文　　水本　龍二
Per-Olof Hasselgren*　　Josef E. Fischer*

肝硬変合併例における術後敗血症ならびにエンドトキシン（ET）血症の病態を検索し，さらに実験的に thioacetamide を腹腔内投与し作成した肝硬変ラットを用いて敗血症時の肝，骨格筋，腸管における代謝変動並びにその対策について検討した．1．臨床的研究：①肝硬変合併例147例に対する肝臓外科手術後の重要臓器障害発生率は25.9％と高率で，その発生には内因性あるいは外因性 ET 血症の関与が示された．②術後 ET 血症発生例の絶食期間は ET 血症非発生例に比べて有意に長く，bacterial translocation の発現が示唆された．2．実験的研究：敗血症時の肝硬変ラットでは，①肝，骨格筋，腸管の蛋白合成能は正常ラットに比べて有意の低下を示し，②腸管粘膜の細胞数や蛋白含有量も減少した．③経腸栄養を施行すると，肝，腸管の alanine，glutamine 代謝が改善し，蛋白合成能は経静脈栄養や未治療群に比べて有意の高値を示し生存率も向上した．

以上より，肝硬変症における敗血症の併発は肝，腸管の蛋白，アミノ酸代謝が障害されるが，経腸栄養の施行はこの病態を改善し予後の向上に有用と考えられた．

Key words：metabolic response, enteral nutrition, bacterial translocation

はじめに

肝硬変合併例では，術前より肝細胞機能障害や網内系機能障害に起因する defense mechanism の低下が認められるため，過大な手術侵襲のみならず消化管出血や著明な栄養障害などの種々の合併症発生時にも外因性あるいは内因性エンドトキシン血症をきたして肝を中心とした重要臓器障害を招来し予後を不良とすることが少なくない．すなわち，肝硬変合併例では肝障害度に基づいた予後の判定や術式の選択により，治療成績の向上が認められているが，高度の肝予備力低下例では術後のエンドトキシン血症に伴う多彩な病態を呈するため，quality of life（QOL）からみた長期予後は必ずしも良好とはいえず，侵襲下，とくに予後不良因子として重要な敗血症下での metabolic response の立場からの肝硬変の病態を再検討する必要がある．また近年，腸管における bacterial translocation が注目されており，術後の長期絶食などによる腸管粘膜の萎縮や免疫蛋白の合成障害などが術後の敗血症やエンドトキシン血症の発生に大きく関与することが指摘されている[1]．本研究はこれらの点に着目し，肝硬変合併例における敗血症下での腸管をはじめ肝や骨格筋における蛋白・アミノ酸代謝の病態とこれに基づいた栄養管理法について臨床的ならびに実験的に検討を行ったのでその成績を報告する．

対象と方法

1．臨床的研究

1．対象：1985年4月から1992年3月までの最近7年間に教室で経験した肝硬変合併肝臓外科手術例147例（肝切除108例，肝血行遮断5例，門脈圧亢進症腹式直達術34例）を対象とし，肝硬変を合併しなかった肝臓外科手術例68例を対照とした．

2．検索方法：Toxicolor（TX）法や Endospacy（ES）法を用いて測定した血中エンドトキシン（ET）値と，①術後合併症の発生率や死亡率，②術後の絶食

＊第40回日消外会総会シンポ2・侵襲時の栄養管理 up-to-date

＜1992年12月9日受理＞別刷請求先：東口　髙志
〒514　津市江戸橋2—174　三重大学医学部第1外科

期間や，③栄養管理法との関係を検討した．

2．実験的研究

1．対象：Sprague-Dawley ラットに thioacetamide(0.04%液，1ml/kg)を週3回，5か月間腹腔内投与して作成した肝硬変ラット（LC ラット）43匹を対象とし，コントロールとして LC ラットと同様に生食水（1ml/kg）を腹腔内投与して作成した正常ラット（N ラット）43匹を用い，cecal ligation and puncture（CLP）あるいは単開腹（sham operation: sham）を施行し，術直後より経腸栄養（EN）群，経静脈栄養（PN）群，未治療（Non）群の3群に分けて術後の栄養補給を行った．すなわち，

LC-CLP: EN 群(n=10)，PN 群(n=10)，Non 群(n=10)

LC-sham: EN 群（n=5)，PN 群（n=4)，Non 群(n=4)

N-CLP: EN 群（n=10)，PN 群（n=10)，Non 群(n=10)

N-sham: EN 群(n=5)，PN 群(n=4)，Non 群(n=4)

の群に分類した．なお，経腸栄養，経静脈栄養群の総投与カロリーはいずれも25kcal/100g bw/day，また投与アミノ酸量は50g/100g bw/day とした．

2）検索方法：①術後の生存率，②肝・骨格筋・腸管の代謝反応などを経時的に検索した．肝・骨格筋・腸管（空腸粘膜）の代謝動態：蛋白合成能；^{14}C-leucine による flooding dose 法[2]を用いて in vivo にて測定．また空腸粘膜の蛋白合成能は in vivo のみならず，5 mM EDTA を含有する Krebs-Henseleit bicarbonate buffer を用いて遊離した空腸粘膜細胞[3]を^{3}H-phenylalanine とともにインキュベイトして in vitro における単位細胞当たりの蛋白合成能あるいは分泌蛋白合成能[3]も測定した．また同時に空腸粘膜の遊離細胞数[3]や Lowry's method[4]を用いて組織内の蛋白含有量を測定した．アミノ酸代謝；肝・骨格筋・腸管のアミノ酸クリアランス（CR-AA）を，CR-AA(%)=(influx AA-efflux AA)/influx AA×100の式より算出した．

3．統計学的処理

臨床的ならびに実験的研究とも数値はいずれも Mean±SD であらわし，analysis of variance（ANOVA）ならびに Tukey's test にて $p<0.05$ を有意差ありとした．

成　績

I．臨床的研究

1．肝硬変合併例における術後重要臓器障害の発生と敗血症の関与

術前に肝硬変を合併した147例中術後に重要臓器障害を発生したものは41例（25.9%）で，術前に肝硬変を合併しなかった68例中の13例（17.6%）に比べてその発生頻度は高率であった．これら術後重要臓器障害発生の原因をみると，術後の敗血症がその原因と考えられるものは肝硬変合併例では14例（34.1%）と肝硬変を合併しなかった3例（23.1%）に比べて多く，また血中 ET 値が TX 法にて40pg/ml 以上であり ET 血症が示唆された症例の頻度をみると，術後重要臓器障害の原因が敗血症であったものでは肝硬変合併の有無にかかわらず100%に ET 血症が認められたのに対して，術後重要臓器障害の原因として敗血症以外の病態が考えられた症例では，肝硬変合併例は74%，肝硬変を合併しなかった症例は20%に ET 血症が認められ，肝硬変合併例においては明らかな敗血症の合併がないにもかかわらず ET 血症が高率に認められた．

2．術後 ET 血症と術後合併症

肝硬変合併例のうち，術後に TX 法ならびに ES 法にて血中 ET 値を同時に測定しえた59例をみると，TX 法，ES 法ともに高値を示し外因性の ET 血症が示唆されたものは7例（11.9%），または血中 ET 値が TX 法でのみ高値を示し内因性の ET 血症を合併したものは39例（66.1%）と，術後に外因性あるいは内因性 ET 血症の合併が高率に認められた．これら術後血中 ET 値高値例における術後合併症発生率ならびに術後死亡率をみると，TX 法，ES 法がともに高値を示したものでは100%に術後合併症が，また85.7%に術後死亡が認められ，TX 法のみが高値を示したものであっても28.2%に術後合併症が，12.5%に術後死亡が認められたが，血中 ET 値が正常範囲にあったものでは術後合併症や死亡例は1例も認められなかった（**Table 1**）．

3．術後栄養管理法と ET 血症

術後の栄養管理法と血中 ET 値との関係をみてみると，TX 法，ES 法がともに高値を示したものでは術後の絶食期間，すなわち経口あるいは経腸栄養開始までの期間が17.4±4.3日と，TX 法のみ高値を示した症例や TX 法，ES 法による血中 ET 値がともに正常範囲内にあった症例のそれぞれ9.2±2.1日，6.7±3.8日に比べて有意に長かったが（$p<0.05$），術後の高カロ

Table 1 Relationship between the serum endotoxin level and morbidity or mortality after hepatic surgery to cirrhotic patients —Clinical study—

Toxicolor [more than 40 pg/ml] / Endospacy [more than 20 pg/ml]	No. of cases (%)	postoperative morbidity	postoperative mortality
+ / +	7 (11.9)	100 %※	85.7%※
+ / −	39 (66.1)	28.2%*	12.5%*
− / −	13 (22.0)	0	0
Total	59 (100)	33.9%	16.9%

※ $p<0.05$ vs. the group with Toxicolor(+), Endospacy(−) and Toxicolor(−), Endospacy(−)

* $p<0.05$ vs. the group with Toxicolor(−), Endospacy(−)

Table 2 Periods from surgery to the start of nutrtional support —Clinical study—

Toxicolor [more than 40 pg/ml] / Endospacy [more than 20 pg/ml]	No. of cases	periods from surgery to the start of nutritional support (days)	
		parenteral nutrtion	enteral nutrtion or per os (fasting period)
+ / +	7	4.7±2.4	17.4±4.3※
+ / −	39	5.0±3.7	9.2±2.1
− / −	13	3.2±1.6	6.7±3.8
Total	59	4.7±2.6	8.8±4.3

※ $p<0.05$ vs. the group with Toxicolor(+), Endospacy(+) and Toxicolor(−), Endospacy(−)

リー輸液開始までの期間では明らかな差は認められなかった（**Table 2**）.

II. 実験的研究

1. 肝硬変ラットの敗血症作成後の生存率と栄養管理

LC ラットと N ラットに CLP あるいは sham operation を施行して，術後の生存率を栄養管理法別にみると，LC ラットならびに N ラットのいずれにおいても CLP 後の生存率は，EN 群，PN 群，Non 群の順に高く，術後24時間目の生存率は LC ラットではそれぞれ90%，50%，40%と EN 群の生存率は他の 2 群に比べ有意に高率であった(**Table 3**). 一方，sham operation を行ったものでは肝硬変の有無にかかわらず，またいずれの栄養管理群においても術後48時間の生存率は100%であった.

2. 肝・骨格筋・腸管の蛋白代謝

CLP 後24時間の各臓器における蛋白合成能（Ks：%/day）を in vivo にて測定してみると，LC ラットに対する CLP 施行群の蛋白合成能は，肝，骨格筋，空腸粘膜のいずれの臓器においても，術後の栄養管理法にかかわらず N ラットの CLP 施行群に比べて有意に低値を示した．また CLP 施行後の蛋白合成能を栄養管理法別にみてみると，いずれの臓器においても肝硬変の合併の有無にかかわらず，蛋白合成能は EN 群，PN 群，Non 群の順に高く，特に EN 群の肝および腸管における蛋白合成能は CLP 施行群では，それぞれ89±6%/day，83±9%/day と，PN 群の42±7%/day，49±4%/day ならびに Non 群の23±4%/day，22±5%/day に比べて有意の高値を示した．さらに空腸粘膜の蛋白合成は肝硬変合併 CLP（LC-CLP）群の内，PN にて栄養管理を行ったものであっても Non 群に比べ有意の高値を示したが，骨格筋では各栄

養管理群の間に統計学的有意差は得られなかった（**Table 3**）．一方，CLP 施行後24時間の各臓器内の蛋白含有量をみると，肝および骨格筋の蛋白含有量は蛋白合成能を反映して肝硬変の合併の有無にかかわらず EN 群，PN 群，Non 群の順に高値であった．しかるに，腸管の蛋白含有量は N 群では各栄養管理群間に差を認めず，LC 群であっても PN 群，Non 群との間に差を認めなかったが，EN 群では他の 2 群に比べて有意の高値を示した．さらに LC 群に対する CLP 後24時間の各栄養管理群における空腸粘膜細胞数と in vitro での分泌蛋白合成能をみると，EN 群の細胞数は12.5±0.8×10^6/cm と他の 2 群，すなわち PN 群の9.3±1.2×10^6/cm，Non 群の7.8±1.3×10^6/cm に比して有意の高値を示し，また分泌蛋白合成能は EN 群では9.7±0.8dpm/10^4 viable cells と他の 2 群に比べて有意の高値を示し，PN 群も7.6±0.7dpm/10^4 viable cells と Non 群の4.3±0.6dpm/10^4 viable cells に比べて有意の高値を示した（**Fig. 1**）．

3．肝・骨格筋・腸管のアミノ酸代謝と栄養管理

敗血症時における肝硬変ラット（LC-CLP 群）のアミノ酸代謝動態を未治療（Non）群でみてみると，骨格筋では分岐鎖アミノ酸（BCAA）の取り込みと glutamine（GLN）の放出が LC-sham 群に比べて有意の高値を示していた．また腸管では GLN の取り込み

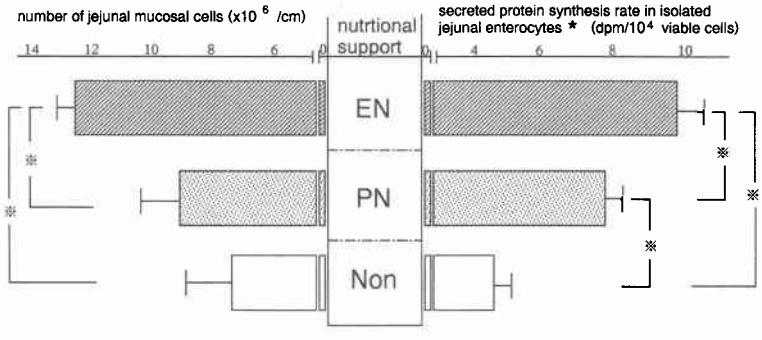
Table 3　Effect of nutrtional support on the survival rate and protein synthesis in liver, skeletal muscle and jejunal mucosa in vivo 24 hours after CLP —Experimental study—

group		LC-CLP			N-CLP		
		EN (n=10)	PN (n=10)	Non (n=10)	EN (n=10)	PN (n=10)	Non (n=10)
survival rate (%)		90 ※	50	40	100	80	60
protein synthesis rate in vivo (%/day)	liver	89±6 ※＊	42±7 ＊	23±4 ＊	152±13 ※	131±10	99±11
	skeletal muscle	2.3±0.8 ＊	2.2±0.5 ＊	1.6±0.4 ＊	6.8±1.1	5.9±0.8	5.2±0.5
	jejunal mucosa	83±9 ※＊	49±4 ＊	22±5 ＊	156±19 ※	119±16	108±11

LC : cirrhotic rat, N : normal rat, CLP : cecal ligation and puncture, EN : enteral nutrtion, PN : parenteral nutrition, Non : no nutritional support

※ $p<0.05$ vs. PN and Non　＊ $p<0.05$ vs. same group of nutritional support in N-CLP

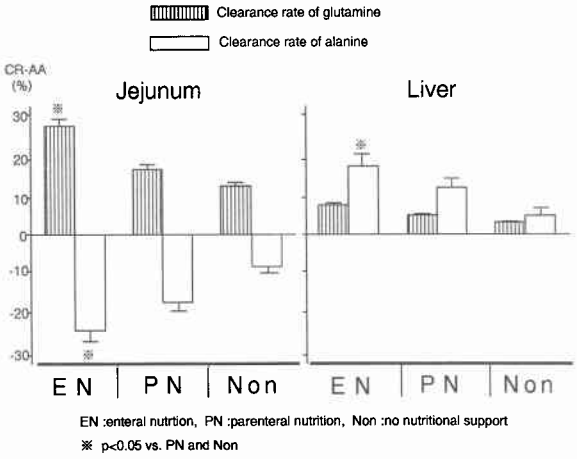
Fig. 1　Number of jejunal mucosal cells and secreted protein synthesis in isolated jejunal enterocytes of cirrhotic rats 24 hours following CLP—Experimental study—



＊ isolated enterocytes incubated with ^{3}H-phenylalanine

EN:enteral nutrtion, PN:parenteral nutrition, Non:no nutritional support
CLP : cecal ligation and puncture,　※: $p<0.05$

Fig. 2 Glutamine and alanine metabolism in jejunum and liver of cirrhotic rats 24 hours following CLP—Experimental study—



ならびに alanine (ALA) の放出が LC-sham 群に比べて有意に亢進していたが，肝における ALA の取り込みは LC-sham 群に比べて有意の低値を示した．そこで LC-CLP 群における腸管の GLN, ALA 代謝並びに肝の ALA 摂取率を栄養管理法別にみると，EN 群では他の 2 群に比べて腸管での GLN の摂取および ALA の放出が有意に亢進しており，また肝における ALA の摂取も有意の高値を示した (**Fig. 2**).

考　察

肝硬変を合併する症例では術前より肝細胞機能障害に起因する種々の代謝異常に加えて著しい免疫能の低下を認めることが少なくなく，肝切除や食道静脈瘤に対する直達術などの major surgery の術後には肝障害のみならず敗血症や重症感染症をきたしやすく，さらにそれに伴って心，肺，腎機能障害などの重要臓器障害を併発することがあり，肝硬変例における敗血症時の病態の解明やその対策が必要である．近年，術後あるいは侵襲時における敗血症や ET 血症の原因の 1 つに bacterial translocation の関与が注目され[1]，同時に敗血症や ET 血症時における蛋白・アミノ酸代謝に関する詳細な研究がなされるようになってきた[3)5)]．しかるに，肝硬変例の敗血症時における代謝反応についての報告は少なく，とくに腸管の蛋白・アミノ酸代謝や bacterial translocation を実験的に検討した報告はほとんど認められない．今回のわれわれの研究では，肝硬変合併例の肝臓外科手術後に発生した重要臓器障害の原因あるいはその重症化の誘因として敗血症や内因性 ET 血症の関与が指摘され，また実験的にも LC ラットに敗血症を作成すると生存率は著しく低下することが示された．ラットに肝硬変を作成すると肝，骨格筋，腸管のいずれの蛋白合成も障害され，これに敗血症などの侵襲が加わるとこれら臓器での代謝障害が増悪し不可逆的な代謝不全が引き起こされるものと考えられたが，この病態に経腸栄養を行うと肝，腸管での蛋白・アミノ酸代謝が良好に維持されて生存率の改善が得られ，腸管における代謝動態の重要性が示唆された．

近年，敗血症などの侵襲時における肝ならびに骨格筋の代謝反応の重要性が諸家により報告されている[6)7)]が，腸管での蛋白代謝は全身の重要臓器のなかでも最も速い代謝速度を有し，全身における総蛋白合成量の10～15%を産生しており，最近では侵襲時の重要な蛋白・アミノ酸代謝の場として重視されている[3)5)]．さらに腸管は種々の gut peptides や消化酵素のほか，IgA などの免疫蛋白を分泌して，侵襲時の生体防御機構の中心的役割を担う重要臓器の 1 つであり，腸管の蛋白代謝を賦活することができれば bacterial translocation に伴う敗血症や ET 血症の予防の立場からも極めて有用である．

今回のわれわれの成績では，肝硬変合併例の敗血症時に高カロリー栄養，とくに経腸栄養を施行することによって腸管粘膜の蛋白合成能を良好に維持することが可能で，しかも腸管粘膜の細胞数や蛋白含有量のみならず分泌蛋白の合成能も経静脈栄養や未治療のものに比べて有意の高値を示し，経腸栄養の有用性が示された．また腸管の粘膜細胞の主なエネルギー基質は他臓器の細胞と異なり，糖ではなく glutamine (GLN) であって，腸管は GLN を摂取して alanine (ALA) を門脈内に放出している．LC ラットの CLP 後の未治療群における分画別アミノ酸クリアランスをみると LC-sham 群に比べて，骨格筋では分岐鎖アミノ酸の摂取，GLN の放出が増加しており，また腸管では GLN の摂取，ALA の放出が増大していたが肝においては ALA の摂取が著しく障害されており，このため肝における代謝反応が不良となり生存率が低下するものと考えられた．

しかるに，この病態に経腸栄養を行うと腸管での GLN の摂取，ALA の放出が未治療群や経静脈栄養群に比べて有意に増大して腸管での代謝反応が改善され，さらに肝における ALA の摂取も有意に増加してこれが肝における蛋白合成能を促進し，生存率の改善

につながるものと考えられた．

文　献

1) Deitch EA, Berg R, Specian R: Endotoxin promotes the translocation of bacteria from the gut. Arch Surg 122 : 185—190, 1987
2) McNurlan MA, Tomkins AM, Garlick PJ: The effect of starvation on the rate of protein synthesis in rat liver and small intestine. Biochem J 178 : 373—379, 1979
3) Higashiguchi T, Hasselgren PO, Frederick JA et al: Effect of glutamine on protein synthesis in isolated enterocytes from septic rats. Surg Forum **43** : 26—28, 1992
4) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL et al: Protein measurement with the Folin Phenol reagent. J Biol Chem 193 : 265—275, 1951
5) von Allmen D, Hasselgren PO, Higashiguchi T et al: Increased intestinal protein synthesis during sepsis and following the administration of tumor necrosis factor α or interleukin-1α. Biochem J 286 : 585—589, 1992
6) Fischer JE, Hasselgren PO: Cytokines and glucocorticoids in the regulation of the "Hepato-skeletal muscle axis" in sepsis. Am J Surg 161 : 266—271, 1991
7) Sax HC, Talamini MA, Hasselgren PO et al: Increased synthesis of secreted hepatic protein during abdominal sepsis. J Surg Res **44** : 109—116, 1988

Effect of Nutritional Management for the Alteration of Protein and Amino Acid Metabolism in Liver, Skeletal Muscle and Gut During Sepsis in Cirrhosis

Takashi Higashiguchi, Takashi Noguchi, Yoshifumi Kawarada, Ryuji Mizumoto,
Per-Olof Hasselgren* and Josef E. Fischer*
First Department of Surgery, Mie University School of Medicine
*Department of Surgery, University of Cincinnati Medical Center

The relationship between the cause of postoperative major organ dysfunction and sepsis or endotoxemia was determined following hepatic surgery in 147 cirrhotic patients. Postoperative endogenous or exogenous endotoxemia induced high morbidity and mortality after surgery. The fact that postoperative endotoxemia was caused by long-term fasting suggested the presence of bacterial translocation. In experimental studies, metabolic alteration in the liver, skeletal muscle and gut was evaluated during sepsis which was induced by cecal ligation and puncture (CLP) in rats with thioacetamide-induced cirrhosis. The protein synthesis rate in vivo was measured by the flooding dose technique utilizing ^{14}C-leucine. In particular, the protein synthesis rate in isolated enterocytes was determined by measuring incorporation of amino acid into protein during incubation for 30 min with ^{3}H-phenylalanine in vitro. In cirrhotic rats, the protein synthesis rates and protein content of the liver, skeletal muscle and gut were lower than those in normal rats during sepsis. In addition, the mortality rate for cirrhotic rats was higher than for normal rats 24 hours after CLP. As nutritional supports, enteral nutrition (EN), pareteral nutrition (PN) or non-therapy (Non) were carried out following surgery. When EN was given during sepsis in cirrhotic rats, protein synthesis rate in the liver and gut was 89 ± 6, 83 ± 9%/day, respectively, which was significantly higher than in animals given PN or Non with improvement in the amino acid clearance rates: glutamine in the gut and alanine in the liver. Moreover, EN increased protein synthesis including secreted protein production in isolated enterocytes, and also inhibited the decrease in the number of enterocytes and protein content of the gut during sepsis, thus decreasing the mortality rate.

Reprint requests: Takashi Higashiguchi First Department of Surgery, Mie University School of Medicine
2-174, Edobashi, Tsu, 514 JAPAN