

手術侵襲に対する腸管の反応 —アミノ酸とサイトカインの動態—

東京慈恵会医科大学第1外科

藤田 哲二 尾高 真 松本美和子 桜井 健司

侵襲に対する腸管の反応が近年注目を集めている。手術侵襲時に腸管を巡るアミノ酸およびサイトカインの動態を究明するために、消化器外科手術患者24例を対象として手術開始約2時間後に門脈血および末梢静脈血を同時に採取し、それぞれのアミノ酸、サイトカイン、インスリンおよびグルカゴン濃度を測定した。

グルタミン (Gln) を除く19種類のアミノ酸については門脈—末梢血間に有意な濃度差はみられなかった。門脈血 Gln 濃度は $371.06 \pm 97.01 \text{ nmol/ml}$ (mean \pm SD) であり、末梢血 Gln 濃度 $452.38 \pm 80.29 \text{ nmol/ml}$ に比べて有意に ($p < 0.02$) 低かった。末梢血 Gln 濃度と門脈血 interleukin 6濃度との間には有意な負の相関 ($r = -0.46$, $p < 0.05$) が認められた。また門脈血 Gln 濃度と末梢血グルカゴン/インスリン比の間には有意な負の相関 ($r = -0.46$, $p < 0.05$) があった。

侵襲時の血管内から腸管粘膜上皮への Gln の移行にはサイトカインの関与が考えられる。

Key words: portal-peripheral venous differences in amino acids level, relationship between plasma glutamine concentration and portal cytokine level

はじめに

侵襲に対する生体反応は呼吸、循環、代謝の変化など全身にまたがる反応と侵襲が直接加わった部位での局所的な反応とに大別できる。前者は主として神経・内分泌系の反応が引き金となり、後者では免疫担当細胞およびサイトカインが主役を演じている。神経・内分泌系の反応は視床下部—下垂体—副腎・交感神経系を軸として起こり、その標的臓器は心、肺、肝などであり、腸管は一連の反応から隔離され侵襲に対して変化の少ない器官であると考えられてきた。しかし侵襲に対する生体反応の端緒として腸管内細菌が所属リンパ節および門脈血中に逸脱する現象、すなわち bacterial translocation とそれに引き続くサイトカインの分泌亢進が認識され¹⁾、がぜん腸管にたいする注目度が増した。

グルタミン (Gln) は腸管粘膜上皮の特異的栄養素であると考えられており、侵襲に際してその需要は著しく増すが、その機序は明らかではない²⁾。そこで腸管を巡るアミノ酸とサイトカインの関連を求めることを目

的として、消化器外科手術中に門脈および末梢静脈から同時に採血してそれぞれのアミノ酸およびサイトカイン濃度を求めた。

方 法

待機的に消化器外科手術を行った24例を対象とした (Table 1)。胃切除を9例に、大腸切除を10例に、膵頭十二指腸切除を3例に、胆管空腸吻合術、食道難断術をいずれも1例に行った。対象患者の平均年齢は約64歳、性別は男性が13例、女性が11例である。重篤な併存疾患を持った症例はなかった。

胃部分切除、大腸切除では臓器の切除前に、胃全摘

Table 1

Operative procedures	N	Age (yr)*	Sex (M : F)
Gastrectomy		64.11 \pm 11.98	5 : 4
Partial	4		
Total	5		
Resection of colon or rectum		64.40 \pm 9.78	4 : 6
Rt.colon	3		
Lt.colon	1		
Rectum	6		
Others		63.60 \pm 10.74	4 : 1
Pancreatoduodenectomy	3		
Cholechojejunostomy	1		
Esophageal transection	1		
Total	24	64.13 \pm 10.37	13 : 11

*Mean \pm SD

<1993年1月13日受理>別刷請求先：藤田 哲二
〒105 港区西新橋3-25-8 東京慈恵会医科大学
第1外科

や臍頭十二指腸切除などでは手術開始約2時間後にカテーテルを門脈内に挿入し門脈血採血を行った。その結果、すべての症例を通して手術開始から門脈血採血までの時間はほぼ一定である。全例気管内挿管による全身麻酔を行い、硬膜外麻酔は併用しなかった。また門脈血採血までに輸血を行った症例はなかった。門脈内カニューレシオンは胃切除では右胃大網静脈または左胃静脈から、大腸切除では下腸間膜静脈または回結腸静脈から行い、門脈内にカテーテルが留置されていることを手指で門脈を挟むことにより確認した。また門脈血採血と同時に輸液が行われていないほうの上肢の静脈から末梢静脈血を採取した。ただちに血清および血漿を分離し、門脈血および末梢静脈血の interleukin 1 β (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), 20種類のアミノ酸、インスリンおよびグルカゴン濃度を測定した。

IL-1 β の測定は放射免疫法 (radioimmunoassay : RIA) によって行い、その測定感度は1pg/mlである。IL-6は酵素免疫法 (enzyme linked immunosorbent assay : ELISA) により測定し、その測定感度は4pg/mlである。アミノ酸分析には自動分析装置 (System 6300) を用いた。またインスリンおよびグルカゴンの測定は RIA によって行った。

得られた数値は平均値と標準偏差 (mean \pm SD) で表した。項目間の相関の有無は線形回帰分析によって検討し、平均値間の有意差の検定には Student の t 検定を用いた。危険率が5%未満の時に有意差があるとみなした。

成績

1. サイトカイン濃度

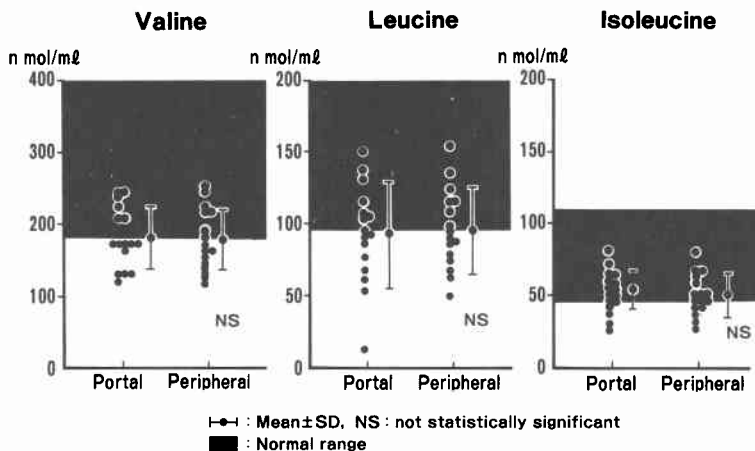
門脈血 IL-1濃度は24例中18例で、末梢静脈血 IL-1濃

Table 2 Portal-peripheral venous differences in fifteen kinds of amino acids levels

	Aspartic A.	Threonine	Serine	Asparagine	Glutamic A.	Proline	Glycine
Portal blood levels	6.11 \pm 2.51	98.80 \pm 37.08	98.91 \pm 26.21	35.76 \pm 9.22	70.06 \pm 28.80	137.73 \pm 32.19	221.36 \pm 107.93
Peripehral venous blood levels	5.26 \pm 2.10	95.63 \pm 29.87	100.03 \pm 19.55	33.58 \pm 7.29	70.01 \pm 42.19	128.23 \pm 26.23	198.15 \pm 76.10
Cystine	Methionine	Tyrosine	Phenylalanine	Histidine	Tryptophan	Lysine	Arginine
53.58 \pm 14.34	17.28 \pm 3.61	45.43 \pm 8.20	48.71 \pm 7.48	52.83 \pm 9.34	29.46 \pm 8.12	147.07 \pm 30.35	55.51 \pm 14.81
50.50 \pm 8.83	16.80 \pm 3.15	45.58 \pm 8.15	48.21 \pm 6.99	60.46 \pm 9.83	28.26 \pm 7.99	136.10 \pm 34.96	50.54 \pm 12.78

Data are expressed as mean \pm SD (nmol/ml).
All differences are not statistically significant.

Fig. 1 Portal-peripheral venous differences in branched-chain amino acids levels



度は19例で測定でき、それぞれの濃度は 31.38 ± 24.69 pg/ml, 34.21 ± 25.43 pg/mlであった。門脈-末梢静脈血間に有意なIL-1濃度差はなかった。IL-6濃度は門脈血, 末梢静脈血とも24例中21例で測定感度を上回り、前者の濃度は 26.88 ± 37.86 pg/mlであり、後者では 22.12 ± 24.45 pg/mlであった。IL-1と同様にIL-6でも門脈-末梢静脈血間に有意な濃度差は認められなかった。胃切除9例と大腸切除10例とで門脈血および末梢静脈血のサイトカイン濃度を比較したが有意差はなかった。

2. 門脈-末梢静脈血アミノ酸濃度差

Gln, アラニン (Ala), 分岐鎖アミノ酸 (branched-chain amino acids: BCAA) を除く15種類のアミノ酸では、門脈-末梢静脈血間に有意な濃度差は認められなかった (Table 2)。またBCAAについても同様であった (Fig. 1)。Alaの門脈血濃度は 305.29 ± 104.86 nmol/mlであり、末梢静脈血濃度 277.63 ± 93.14 nmol/mlと比較して高い傾向にあったが有意差はなかった。ところが門脈血Gln濃度は 371.06 ± 97.01 nmol/mlであり、末梢静脈血Gln濃度 452.38 ± 80.29 nmol/mlに比べて有意に ($p < 0.02$) 低かった (Fig. 2)。

胃切除9例に限って門脈-末梢静脈血Gln濃度を比較すると、門脈血濃度は 326.46 ± 98.10 nmol/ml, 末梢静脈血濃度は 448.40 ± 96.02 nmol/mlであり、門脈血濃度が末梢静脈血濃度よりも有意に ($p < 0.05$) 低かった。しかし大腸切除10例で検討すると、門脈血Gln濃度は 427.95 ± 73.39 nmol/mlであり、末梢静脈血濃度 471.07 ± 67.02 nmol/mlよりも低い傾向にあったが

有意差はなかった。また胃切除症例と大腸切除症例とで血漿Gln濃度を比較すると、末梢静脈血では濃度差は認められなかったが、門脈血においては胃切除症例が大腸切除症例よりも有意に ($p < 0.02$) Gln濃度が低かった (Fig. 3)。

3. 門脈, 末梢静脈血におけるグルタミン濃度とサイトカイン濃度との関連

Gln濃度とIL-1 β 濃度との間には有意な関係はみいだせなかった。末梢静脈血Gln濃度と末梢静脈血IL-6濃度との間にも有意な相関関係はなかった。門脈血Gln濃度と門脈血IL-6濃度の間には負の相関傾向 ($r = -0.37, 0.05 < p < 0.1$) があったが、統計学的有意差はなかった。ところが末梢静脈血Gln濃度と門脈血IL-6濃度の間には有意な負の相関 ($r = -0.46, p < 0.05$) があった (Fig. 4)。

4. 門脈, 末梢静脈血におけるグルタミン濃度と膝ホ

Fig. 3 Differences in plasma glutamine levels (gastrectomy versus colectomy)

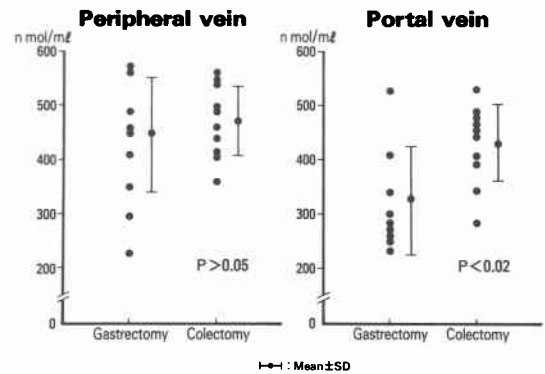


Fig. 2 Portal-peripheral venous differences in glutamine and alanine levels

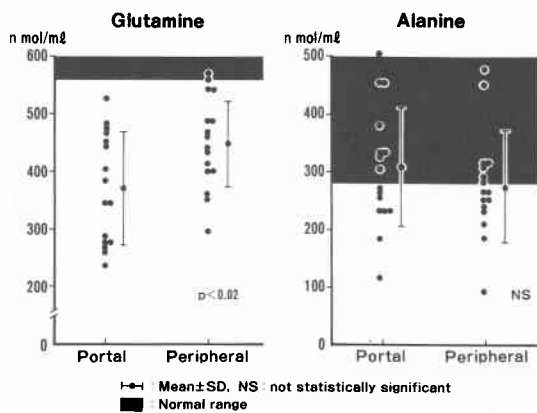


Fig. 4 Linear regression analysis comparing the peripheral venous blood levels of glutamine with the portal blood levels of IL-6

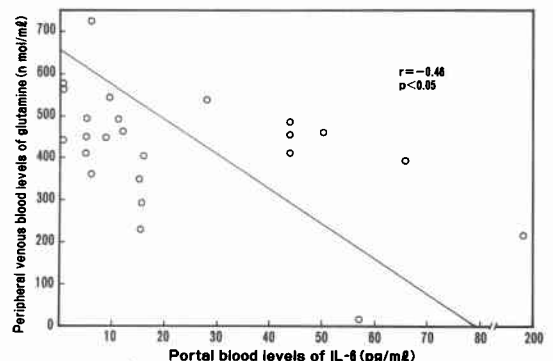
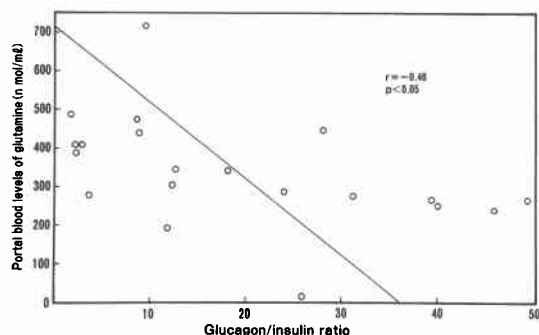


Fig. 5 Linear regression analysis comparing the portal blood levels of glutamine with the glucagon/insulin ratio in the peripheral venous blood



ルモン濃度との関連

末梢静脈血 Gln 濃度と門脈血および末梢静脈血グルカゴン/インスリン濃度比の間には有意な関係はなかった。門脈血 Gln 濃度と門脈血グルカゴン/インスリン濃度比の間にも有意な関係はみだせなかったが、門脈血 Gln 濃度と末梢静脈血グルカゴン/インスリン濃度比の間には有意な負の相関 ($r = -0.46$, $p < 0.05$) があった (Fig. 5)。

考 察

食事に含まれる蛋白は消化酵素によりアミノ酸または小さなペプチドまで分解され、小腸粘膜絨毛上皮より吸収されて門脈血内に移行する。Gln を除くアミノ酸は粘膜上皮細胞内で利用されずに門脈を経て肝に移行する。また BCAA を除くアミノ酸は肝で代謝され蛋白合成に利用されたり糖に変換されるが、BCAA は肝を素通りし骨格筋に取り込まれる。その結果、食事に20%の BCAA しか含まれていなくても肝静脈血において BCAA はすべてのアミノ酸の70%を占めるといわれる³⁾。一方、骨格筋は生体の状況に応じてアミノ酸を放出しているが、その多くは Gln と Ala であり Gln は主に腸管粘膜上皮、腎、免疫担当細胞などで利用され、Ala は肝で糖新生に利用される³⁾⁴⁾。Gln を利用するには glutaminase が必要であるが、生体内で最も glutaminase 活性が高い部位は小腸粘膜上皮であり⁴⁾、1回の循環で腸間膜動脈血に含まれる Gln の20~30%が腸管粘膜上皮細胞に取り込まれるという⁵⁾。

侵襲が加わると骨格筋からの Gln の放出が増し、腸管粘膜上皮における Gln の取り込み、利用は亢進する⁵⁾。Souba らのイヌを用いた実験によると⁶⁾、開腹手

術後には腸間膜動脈血の Gln 濃度は約25%低下するにもかかわらず、腸管粘膜上皮への Gln の取り込みが約2倍まで上昇した。消化器外科手術症例においても同様の現象が確認されている⁷⁾。本研究では門脈-末梢静脈血間に有意な Gln 濃度差が認められた。これは侵襲時に骨格筋からの Gln 放出が増し、腸管粘膜上皮での Gln 利用が亢進していることを考え合わせれば当然の結果であろう。ただ大腸切除症例に限ると門脈-末梢静脈血間に有意な Gln 濃度差が認められなかったが、なぜであろうか。さだかではないが、胃切除症例では大腸切除症例よりも有意に門脈血 Gln 濃度が低かったことを考え合わせると、大腸切除症例では手術操作、門脈血採血時の視野展開などにより腸管(とくに切除予定の大腸)の血行が阻害されたため腸管粘膜上皮による血液からの Gln の取り込みが減少したことによるとも考えられる。Ala に関しては有意な濃度差がなかったが、前述の Souba らの実験でも開腹手術後に腸管からの Ala の放出が半減しており、本研究と矛盾点はない。

軽~中程度の侵襲では腸管粘膜上皮内への Gln の移送能、細胞内での利用能は亢進するが、強度の侵襲が生体に加わると逆に移送能、glutaminase 活性は低下する⁸⁾。腸管粘膜上皮における Gln の移送、利用を制御する因子は複数あると思えるが、わずかしか解明されていない。糖質コルチコイドは腸管粘膜上皮内への Gln の取り込みを促進するが⁹⁾、これは侵襲時に Gln の取り込みが増す要因のひとつと考えられる。またサイトカインの関与も重視されている。すなわち侵襲下では腸管粘膜の透過性が亢進し bacterial translocation が起こるが、それが引き金となり全身に散らばった免疫担当細胞からサイトカインの分泌が増加する。複数のサイトカインは視床下部-下垂体-副腎・交感神経系を刺激することによりホルモンを介して間接的に腸管粘膜上皮での Gln の移送、利用を高めるという仮説¹⁰⁾である。Gln が血液中から腸管粘膜上皮内へ移送されるには血管内皮細胞を通過する必要があるが、腫瘍壊死因子(TNF α)、IL-1で前処置したブタ培養肺血管内皮細胞では前処置していないものに比べて Gln の最大移送能が亢進したという¹¹⁾。

すなわちサイトカインが直接腸管粘膜上皮における Gln の移送、利用に関与している可能性が高い。本研究では門脈血 IL-6濃度と末梢静脈血 Gln 濃度間に有意な負の相関が認められた。また統計的に有意ではなかったが、門脈血 IL-6濃度と門脈血 Gln 濃度の間に

は負の相関傾向があった。門脈血 IL-6濃度は末梢静脈血 IL-6濃度よりも腸管関連組織での IL-6分泌状態をより多く反映していると思われるので、腸管関連組織から分泌される IL-6が腸管粘膜上皮による Gln の取り込みを促進している可能性も否定できない。もちろん手術侵襲にともなう Gln 需要の増加と IL-6分泌亢進という別個の現象が手術侵襲早期のある時点でうまく相関したことも考えられる。ただ IL-1は IL-6の産生を誘導し¹²⁾、IL-6は IL-2の産生を誘導する¹³⁾などサイトカインの作用は複雑に絡み合っているので本研究から Gln とサイトカインの関連について結論を引き出すことはできない。

膵ランゲルハンス島からのホルモン分泌は主として脳幹に存在する自律神経中枢によって支配されているが、生体に侵襲が加わると直ちにグルカゴンの分泌は増しインスリンの分泌は低下する¹⁴⁾。のちにインスリンの分泌は上昇に転じるが、今回の研究では手術開始約2時間後に採血しており、この時期でのグルカゴン/インスリン濃度比は侵襲の程度あるいは膵ランゲルハンス島の反応性を反映しているのではなかろうか。またマウス膵ランゲルハンス島を用いた *in vitro* の実験では¹⁵⁾、Gln は濃度依存的にグルカゴンの分泌を促進し、インスリンの分泌を抑制した。すなわち膵も Gln を重要な栄養素としている可能性がある。本研究の結果に戻ると、門脈血 Gln 濃度の低下および末梢静脈血グルカゴン/インスリン濃度比の上昇はともに手術侵襲を反映していると思われる。また門脈血 Gln 濃度の低下に膵における Gln の需要亢進が関与している可能性もある。

本論文の要旨は第92回日本外科学会総会（平成4年、東京）で発表した。

文 献

- 1) Edmiston CE, Condon RE: Bacterial translocation. *Surg Gynecol Obstet* 173: 73-83, 1991
- 2) Souba WW: Glutamine: A key substrate for the splanchnic bed. *Annu Rev Nutr* 11: 285-308, 1991
- 3) Dudrick PS, Souba WW: Amino acids in surgical nutrition. *Surg Clin North Am* 71: 459-476, 1991
- 4) Windmueller HG: Glutamine utilization by the small intestine. *Adv Enzymol* 53: 202-231, 1982
- 5) Bragg LE, Thompson JS, Rikkers LF: Influence of nutrient delivery on gut structure and function. *Nutrition* 7: 237-243, 1991
- 6) Souba WW, Wilmore DW: Postoperative alteration of arteriovenous exchange of amino acids across the gastrointestinal tract. *Surgery* 94: 342-30, 1983
- 7) Bjorkman O, Eriksson LS, Nyberg B et al: Gut exchange of glucose and lactate in basal state and after oral glucose ingestion in postoperative patients. *Diabetes* 39: 747-751, 1990
- 8) Salloum RM, Copeland EM, Souba WW: Brush border transport of glutamine and other substrates during sepsis and endotoxemia. *Ann Surg* 213: 401-410, 1991
- 9) Souba WW, Smith RJ, Wilmore DW: Effects of glucocorticoids on glutamine metabolism in visceral organs. *Metabolism* 34: 450-456, 1985
- 10) Wilmore DW, Smith RJ, O'Dwyer ST et al: The gut: A central organ after surgical stress. *Surgery* 104: 917-923, 1988
- 11) Souba WW, Salloum RM, Bode BP et al: Cytokine modulation of glutamine transport by pulmonary artery endothelial cells. *Surgery* 110: 295-301, 1991
- 12) Elias JA, Lents V: IL-1 and tumor necrosis factor synergistically stimulate fibroblast IL-6 production and stabilize IL-6 messenger RNA. *J Immunol* 145: 161-166, 1990
- 13) Garmann RD, Jacobs KA, Clark SC et al: B-cell stimulatory factor 2(β_2 interferon) functions as a second signal for interleukin 2 production by mature murine T cells. *Proc Natl Acad Sci* 84: 7629-7633, 1987
- 14) Gann DS, Amaral JF: Endocrine and metabolic responses to injury. Edited by Schwartz SI. *Principles of surgery*. Fifth edition. McGRAW-Hill, New York, 1989, p1-68
- 15) Opara EC, Burch WM, Akwari OE: Characterization of glutamine-regulated pancreatic islet hormone release. *Surg Forum* 49: 16-19, 1990

Gut Response to Surgery with Special Reference to Amino Acids and Cytokine

Tetsuji Fujita, Makoto Odaka, Miwako Matsumoto and Kenji Sakurai
First Department of Surgery, The Jikei University School of Medicine

Recently, the gut has come to be considered as a central organ in stress states. The purpose of this study is to investigate the amino acids and cytokine exchange across the gut. Portal and peripheral venous blood samples were obtained simultaneously from 24 patients who underwent abdominal surgery, two hours after the start of the operation, and levels of amino acids, cytokines, insulin, and glucagon were measured. There were no significant differences in portal-peripheral venous amino acid levels of 19 amino acids, excluding glutamine. Portal blood levels of glutamine were significantly ($p < 0.02$) lower than those in the peripheral venous blood (371.06 ± 97.01 nmol/ml vs 452.38 ± 80.29 nmol/ml, mean \pm SD). The peripheral venous blood levels of glutamine were negatively correlated with portal blood levels of interleukin 6 ($r = -0.46$, $p < 0.05$). Portal blood levels of glutamine were negatively correlated with the peripheral venous glucagon/insulin concentration ratio ($r = -0.46$, $p < 0.05$). These data suggest that cytokines may play a role in glutamine uptake by intestinal epithelial cells.

Reprint requests: Tetsuji Fujita First Department of Surgery, The Jikei University School of Medicine
3-25-8 Nishishinbashi, Minato-ku, Tokyo, 105 JAPAN
