

論文内容要旨

研究目的

5-fluorouracil (5-FU) のラットへの腹腔内投与による小腸粘膜障害誘発と同時に、L-Valine (Val) 添加中心静脈栄養 (total parenteral nutrition : TPN) 輸液を投与することにより、Val の小腸粘膜を障害から保護する効果が証明されている。本研究では、小腸粘膜障害発生後からの Val 経静脈投与による効果を明らかにすることを目的とし、更に粘膜障害誘発時における Val 経口投与の効果についても検討を加えた。

研究方法

8 週齢の Crj : Donryu ラットを用いて以下の実験を行った。

(1) ラットに中心静脈カテーテルを挿入し、5-FU を 120 mg/kg/day の用量にて 3 日間持続経静脈投与した際の小腸粘膜に及ぼす影響を、絶食 TPN 管理のみによる影響と共に、自然飼育群と比較検討した。

(2) 3 日間の TPN 施行による小腸粘膜萎縮後から、通常 TPN 輸液もしくは 0.86% Val 添加 TPN 輸液を 4 日間投与することにより、空腸・回腸別の形態学的粘膜変化 (絨毛高, 絨毛表面積, 陰窩深) を測定した。

(3) 5-FU を 120 mg/kg/day の用量にて 3 日間 TPN 輸液内に添加し、腸炎発生後から通常輸液もしくは Val 添加輸液を 4 日間投与することで、部位別の形態学的粘膜変化, 粘膜湿重量・蛋白量を計測し、Ki-67 免疫染色も行った。

(4) (3)と同じプロトコールを、通常輸液もしくはこれと窒素負荷量を均一とした Val 添加輸液を用いて追加検討した。腸間膜リンパ節 (mesenteric lymph nodes : MLN) を摘出して培養し、Val 投与による Bacterial Translocation (BT) 抑制効果の有無も併せて評価した。

(5) 5-FU を 90 mg/kg の用量で腹腔内 bolus 投与して小腸粘膜障害を誘発し、5% Val 溶液もしくはこれと窒素負荷量を揃えた総合アミノ酸溶液を、1 回 10 ml/kg の容量で 1 日 2 回計 4 日間投与し、部位別の形態学的粘膜変化, 粘膜湿重量・蛋白量を測定した。更に D-xylose 吸収試験による腸管吸収能の評価も行った。

研究結果

(1) 絶食 TPN 管理により空腸・回腸共に粘膜構造の萎縮を来した。5-FU 持続経静脈投与では更に著明な粘膜の萎縮や破壊像を呈し、全例で下痢が見られた。

(2) 空腸・回腸共に、TPN 施行に伴う粘膜萎縮が Val 投与群で有意に改善された。

(3) 空腸では、絨毛高、絨毛表面積、陰窩深、粘膜内蛋白量が Val 投与群で有意に高値を示し、Ki-67 免疫染色上も陰窩を中心に多数の陽性細胞が認められた。回腸では、絨毛表面積、粘膜内蛋白量が Val 投与群で有意に増加した。また、Val 投与群で便の性状の改善傾向も観察された。

(4) 空腸では絨毛高、絨毛表面積、陰窩深が、回腸では絨毛高、絨毛表面積が Val 添加群で有意に上昇しており、MLN 培養による BT 陽性率、検出菌数も Val 添加群で有意な低下が見られた。

(5) 両部位での絨毛高、絨毛表面積、粘膜湿重量・蛋白量、並びに回腸陰窩深が Val 投与群で有意な増加を認めた。D-xylose 尿中排泄率に関しては、Val 投与群で約 2 倍の高値となった。

結 論

小腸粘膜障害発生後から Val 添加輸液を投与することで、小腸粘膜の再生を促進し、粘膜障害が早期に治癒することが判明すると同時に、BT をも抑制し得ることが確認され、この作用は Val そのものの効果であることが証明された。これにより、様々な小腸粘膜障害における将来の臨床応用の可能性が示唆された。

更に、経静脈投与ばかりでなく Val 経口投与による粘膜再生効果や腸管吸収能の改善も認められ、各種病態に応じた Val 投与経路や投与タイミングの選択性の幅も広がるものと期待される。

審査結果の要旨

これまで当教室では、分岐鎖アミノ酸の1つである L-Valine (Val) の、部分肝切除後肝再生促進効果や脂質代謝への関与を解明してきた。これらの過程で Val が肝臓だけでなく小腸においても何らかの役割を果たす可能性が示唆され、Val 経静脈投与による小腸粘膜障害予防効果は既に判明している。

腹腔内の大部分を占める消化管は、消化・吸収を行うと同時に病原体等の侵襲を防御する最大の免疫組織であり、腸管粘膜の萎縮や機能破綻は生体全体の感染防御能低下に繋がることが明らかとされている。実際に、長期間の Total Parenteral Nutrition (TPN) 施行例やショック、虚血再灌流障害や短腸症候群、更には放射線化学療法時の腸炎に至るまで、腸管機能のダメージが問題となる症例に遭遇する機会は多いが、具体的治療法は現在までのところはっきりと確立しているとは言い難い。

こうした背景を踏まえ、将来の臨床応用を見据えた上で Val の小腸粘膜に対する効果をより発展させるべく、これまで未検討であった小腸粘膜障害発生後からの Val 経静脈投与による効果と、Val 経口投与による小腸粘膜への影響をテーマとしたのが本研究である。

具体的には、ラットを用いて絶食 TPN 管理に起因した小腸粘膜萎縮、並びに、臨床で最もよく使われる抗癌剤の1つである 5-fluorouracil (5-FU) を、実際の癌化学療法と同じ経静脈持続投与することで誘発される腸炎をモデルとして、各々の障害発生後からの Val 経静脈投与による小腸粘膜への効果を検討している。結果として、Val 経静脈投与により、TPN 施行時の小腸粘膜萎縮は有意に改善され、5-FU による粘膜障害も早期に治癒することが判明し、Val の小腸粘膜再生促進効果が初めて証明された。また、対照群と Val 投与群間での輸液内の投与窒素量を揃えた検討を付加することで、この効果が Val 自体の作用であることを示すと共に、Val 投与による Bacterial Translocation 抑制効果についても言及している。更に、5-FU 腹腔内投与による腸炎誘発ラットに対する Val 経口投与によって、小腸粘膜再生促進効果が経静脈投与ばかりでなく経口投与の場合でも発現することが、腸管形態面と機能面の両方から示唆された。

筆者は、綿密な実験計画と条件設定、そして様々な側面からの解析により、Val の小腸粘膜再生促進効果という新たな知見を導き出しており、個々の検討において詳細な考察も展開している。惜しむらくは作用機序の解明であるが、これは今後の課題であろう。TPN による腸管粘膜萎縮や癌化学療法施行時の腸炎に留まらず、種々の腸管粘膜障害に対する将来の臨床応用への礎となり得る非常に意義深い研究成果であり、充分学位に値するものと判断される。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。