

氏名 (本籍)	三輪 佳行 (愛知県)
学位の種類	博士 (医学)
学位授与番号	甲第 322 号
学位授与日付	平成 8 年 9 月 11 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Effects of Branched-Chain Amino Acid Infusion on Protein Metabolism in Rats With Acute Hepatic Failure
審査委員	(主査) 教授 武藤 泰敏 (副査) 教授 野澤 義則 教授 安田 圭吾

論文内容の要旨

肝硬変患者においては血漿中の分岐鎖アミノ酸 (BCAA) / 芳香族アミノ酸 (AAA) モル比 (Fischer比) が低下しており、このことが肝性脳症の発生に深くかかわっていることが知られている。またBCAA含有特殊組成アミノ酸輸液により、脳症が即効的に改善することが知られ、さらにBCAA投与は非代償肝硬変患者において筋タンパク崩壊阻止作用、および肝におけるアルブミン産生亢進を通して低タンパク栄養状態を改善し、さらに累積生存率をも改善することが明らかにされている。急性肝不全 (acute hepatic failure: AHF) においてもFischer比の低下、血漿AAAやメチオニン濃度の上昇といったアミノ酸インバランスがみられる。またAHF患者は食事の摂取不足や適切な栄養基質利用の障害によるタンパク栄養障害があり、そうした栄養障害あるいは合併症としての感染によりさらに内因性タンパクの異化が亢進する。従ってAHF患者に対しても栄養治療が不可欠であるが、BCAA投与がこうした患者の栄養状態を果たして改善するかについての基礎的検討はなされていない。

そこで申請者はアイソトープ低速注入法を用い、AHF動物モデルにおけるBCAA投与のタンパク代謝動態への影響について検討した。

対象および方法

(1) AHFモデルの作製: 生後7週齢 (230g) のDonryu系雄性ラットにlipopolysaccharide 60mg/kgを静注し、同時にD-galactosamine hydrochloride 800mg/kgを腹腔内投与し、18時間後AHFが惹起されていることを確認し使用した。

(2) 試験群: 実験1としてコントロールラット (n=15) およびAHFラット (n=17) をそれぞれ3群に分け、以下の溶液を18時間後より右外頸静脈に挿入したカテーテルより計6時間投与した。①生食群 (5.3ml/kg/hr, コントロールラットn=5, AHFラットn=5), ②グルコース群 (10%グルコース4.1ml/kg/hr+蒸留水1.2ml/kg/hr, コントロールラットn=5, AHFラットn=6), ③標準アミノ酸群 (10%グルコース4.1ml/kg/hr+標準10%アミノ酸1.2ml/kg/hr, コントロールラットn=5, AHFラットn=6)。また実験2として標準10%アミノ酸の4倍の量のBCAAを含む高濃度BCAA溶液 (Fischer比148.2) を作製し、AHFラット (n=23) を4群に分け以下の溶液を実験1と同様に投与した。④生食群 (5.3ml/kg/hr, n=5), ⑤標準アミノ酸群 (10%グルコース4.1ml/kg/hr+標準10%アミノ酸1.2ml/kg/hr, n=6), ⑥高濃度BCAA群 (10%グルコース4.1ml/kg/hr+高濃度BCAA溶液1.2ml/kg/hr, n=6), ⑦高濃度BCAA溶液に対する同室素量アクティブプラセボ (10%グルコース4.1ml/kg/hr+アクティブプラセボ1.2ml/kg/hr, n=6)。

(3) 代謝パラメーターの測定: トレーサーとして¹⁴C-ロイシン37kBq/kg/hrを定速注入し、実験開始後1時間ごとに計6時間採血し、血漿中遊離ロイシン比放射能を液体シンチレーションスペクトロメーターで、および血漿遊離アミノ酸濃度を高速液体クロマトグラフィーで測定した。また呼気中¹⁴CO₂をフローシンチレーションカウンターにより1時間ごとに計6時間測定し、6時間後に呼気中¹⁴CO₂排泄速度および血漿中遊離ロイシン比放射能がプラトーに達したことを確認し、これらよりタンパク代謝動態の測定のためWaterlowらの方法を用いFlux (Q), Oxidation (E), Synthesis (S), Breakdown (B) を算出し、単位はmicromol leucine/100g body weight/hrで示した。

結果

AHFモデル作製18時間後の生存率は50%で、ASTは12,000 IU/L, ALT4,000 IU/Lであり肝の組織像 (H-E

染色)では出血を伴う広汎な肝壊死像であった。

(1) 実験1の結果: 生食群においてAHFラットではコントロールラットに比べFlux, Oxidation, Breakdownの有意な上昇を認めたが, Synthesisには差が認められなかった(コントロール: $Q=26.0\pm 2.7$, $E=6.7\pm 0.8$, $S=19.3\pm 2.6$, $B=26.0\pm 2.7$, AHFラット: $Q=33.8\pm 2.1$, $E=14.8\pm 0.6$, $S=18.9\pm 0.8$, $B=33.8\pm 2.1$)。これらAHFラットにおける動的パラメーターの変化はグルコース投与でも変化を認めなかったが, 標準アミノ酸投与により, 生食群, グルコース群に比べFlux, Oxidationの有意な上昇を認めた(グルコース群: $Q=37.1\pm 7.3$, $E=17.1\pm 3.2$, $S=20.0\pm 5.4$, $B=37.1\pm 7.3$, 標準アミノ酸群: $Q=46.6\pm 4.7$, $E=23.4\pm 1.6$, $S=23.2\pm 3.8$, $B=36.8\pm 4.7$)。

(2) 実験2の結果: AHFラットにおいて生食群に比べ, 標準アミノ酸群, 高濃度BCAA群, アクティブプラセーボ群いずれにおいてもFluxおよびOxidationの有意な上昇を認めた。さらに高濃度BCAA群は標準アミノ酸群, アクティブプラセーボ群に対しても有意なFluxおよびOxidationの上昇を認めた(生食群: $Q=34.8\pm 3.0$, $E=14.9\pm 1.5$, 標準アミノ酸群: $Q=43.4\pm 4.6$, $E=21.9\pm 3.7$, 高濃度BCAA群: $Q=79.9\pm 3.0$, $E=45.5\pm 2.2$, アクティブプラセーボ群: $Q=54.5\pm 6.4$, $E=28.6\pm 2.7$)。実験1ではAHFラットにおけるSynthesisの変化は見られなかったが, 高濃度BCAA群において有意なSynthesisの上昇を認め, $Synthesis - Breakdown = Net\ protein\ balance$ はほとんどゼロを示した。しかしながら, 標準アミノ酸群, 高濃度BCAA群においてもBreakdownの抑制は認められなかった(生食群: $S=19.8\pm 2.3$, $B=34.8\pm 3.0$, 標準アミノ酸群: $S=21.5\pm 3.9$, $B=33.6\pm 4.6$, 高濃度BCAA群: $S=34.3\pm 1.6$, $B=36.8\pm 3.5$, アクティブプラセーボ群: $S=26.0\pm 5.7$, $B=40.0\pm 6.4$)。また高濃度BCAA群においてアクティブプラセーボ群に比べ, 血漿中総アミノ酸量は低値ながら, 遊離BCAAおよびロイシンは有意に高値を示した。

考 察

AHF患者は代謝亢進状態にあることが知られており, エネルギー需要が非常に高い状態にもかかわらず高度の肝障害により栄養基質の利用が傷害され, その結果異化が亢進し病態の悪化を招く。本研究で用いたAHFラットにおいて血漿AAA, メチオニンの上昇およびFischer比の低下といったAHF患者同様のアミノ酸インバランスがみられた。またすでに生食群におけるロイシンOxidationで示されるBCAAのエネルギー基質としての利用の亢進, さらにBreakdownの増加, つまりタンパク崩壊の亢進は, 実際のAHF患者のタンパク代謝状態をそのまま反映しており, このモデルがAHF患者のタンパク代謝の研究に適切であることが示された。次に実験1においてAHFラットに標準10%アミノ酸を投与しFluxならびにOxidationの増加がみられた。このことはBCAAの代謝の場が肝でなく筋肉であるため, 高度の肝傷害が存在してもBCAAがエネルギー基質として有効に利用されることを示している。また実験2においては高濃度BCAA群は標準アミノ酸群, アクティブプラセーボ群と比べ, より一層のFluxおよびOxidationの上昇を認めたことより, BCAAが他のアミノ酸よりエネルギー基質として利用されやすいことが示され, さらに高濃度BCAA群においてSynthesisの増加, つまりタンパク合成の増加を認めた。この効果はアクティブプラセーボ群ではみられなかったため, 高濃度BCAAに特異的な効果と考えられた。また高濃度BCAA投与によるBreakdownの抑制こそみられなかったものの, $Net\ protein\ balance$ はほとんどゼロとなり, 高濃度BCAAがAHFにおいてタンパク保持作用を有することが示された。

以上よりAHFラットは異化亢進の状態にあり, 標準10%アミノ酸, 高濃度BCAAおよびアクティブプラセーボいずれのアミノ酸もエネルギーを供給するために酸化され得ること, その中でも高濃度BCAAが最もエネルギー供給が高いこと, さらに高濃度BCAAは肝障害の存在にもかかわらずタンパク保持作用を有することより, AHFに対するBCAA投与はタンパク代謝状態を改善することが強く示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者三輪佳行は, ラットの急性肝不全動物モデルを用い, 分岐鎖アミノ酸 (BCAA) 含有特殊組成アミノ酸輸液が急性肝不全においてエネルギー供給のために利用され得ること, また高濃度BCAA輸液はタンパク保持作用をも有し, タンパク代謝状態を改善することを示した。これらの新知見は肝臓病学および臨床栄養学の進歩に少なからず寄与するものと認める。

[主論文公表誌]

Effects of Branched-Chain Amino Acid Infusion on Protein Metabolism in Rats With Acute Hepatic Failure

Hepatology 22 : 291~296, 1995