

## 論文の内容の要旨

獣医学専攻

平成22年度博士課程 入学

氏 名 柳 川 将 志

指導教員名 西 村 亮 平

論文題目 経腸栄養の投与部位と栄養剤組成が腸管免疫におよぼす影響

近年、人において大手術後やICUの患者における栄養管理の重要性が強く認識されるようになり、様々な管理法が検討、実施されている。これらの患者では代謝や異化が亢進し必要エネルギー量、タンパク量等が増加しているにも関わらず、多くの場合、自分では十分な栄養が摂取できず、そのままでは体内に貯蔵されている筋肉、脂肪、内臓タンパク質が消費され、著しい低栄養状態に陥る。低栄養状態は骨格筋量の減少とそれに伴う活動性の低下、創傷治癒遷延などの原因となるほか、免疫能の低下も引き起こし、重症感染症の合併につながる。そのため、低栄養状態の予防、改善は術後患者を含めた重症患者において極めて重要である。

自ら必要な栄養を摂取することができない場合の栄養管理法としては、静脈栄養と経腸栄養がある。静脈栄養は栄養を静脈内に投与する方法であり、経腸栄養は、経鼻的に挿入した胃管や胃瘻、腸瘻造設などにより腸を介して栄養投与をする方法である。経腸栄養は静脈栄養と比較して、より安全で生理的かつ安価で感染性合併症が少ないことが報告されている。さらに注目すべき点として、経腸栄養は静脈栄養に比べて、腸管の物理的バリア、腸管免疫、腸管外の粘膜免疫、肝免疫、腹腔内感染防御能

など免疫能が高く維持されることが明らかにされている。したがって、人においては腸管を利用できない場合を除いて、可能な限り経腸栄養を施行することが栄養療法の基本となっており、これは重症病態下の動物においても同様と考えられる。

経腸栄養はできるだけ口に近い部位から行うことが望ましいと考えられているが、経鼻胃管や胃瘻による栄養管理が不可能で空腸からの栄養投与が必要になる場合もしばしばあり、また、空腸のより遠位からの投与を選択せざるを得ない場合もある。しかし、経腸栄養の栄養投与部位が異なる場合にどのような影響が生じるのかよくわかっておらず、特に生体の感染防御能など免疫機能におよぼす影響については全く知られていない。

一方、経腸栄養の際に使用する栄養剤の組成は栄養状態の改善に質的、量的な影響を持つことが知られているが、同時に免疫状態の改善、維持にも影響するものと考えられる。実際、胃瘻からの投与であっても、完全静脈栄養製剤を用いた場合は半消化態栄養剤を投与した場合と比較すると腸管免疫が低下すると報告されている。しかし、どのような半消化態栄養剤を投与すればより感染防御能が改善されるかについては十分解明されていない。

これらの背景から、本研究では、まず経管栄養の投与部位の違いが免疫能におよぼす影響について、マウス栄養管理モデルを用いて腸管関連リンパ装置(Gut Associated Lymphoid Tissue: GALT)の変化、とくに腸管免疫の誘導器官として機能するパイエル板(Peyer's Patch: PP)、実効器官として機能する腸上皮間(Intraepithelial space: IE)、粘膜固有層(Lamina Propria: LP)のリンパ球に着目して検討した(第2章)。さらに、これらの影響が生じる機序について検討を加えた(第3章)。最後に、経腸栄養剤の組成が免疫能におよぼす影響について評価するために抗炎症作用を有すると報告されている新規経腸栄養剤によるGALTの変化について検討した(第4章)。

第2章では、腸管への栄養投与部位の違いがGALTに及ぼす影響について検討した。実験には、雄ICRマウスを用い、経口摂取群(ORAL: n=9)、胃瘻投与群(GAST: n=12)、空腸瘻投与群(JEJ: n=12)、回腸瘻投与群(ILEO: n=12)の4群にわけた。これらのマウスに標準的半消化態栄養剤を5日間投与した後、安楽殺し、全小腸を摘出してGALT(PP,IE,LP)のリンパ球数と表現型を調べた。同時に、小腸および呼吸器の洗浄液中の免疫グロブリンA(IgA)濃度を測定した。その結果、ORAL, GAST, JEJ群間には明らかなGALT細胞数の変化はなかったが、ILEO群ではIE, LPリンパ球数が他群に比べ減少した。一方、PPリンパ球数は4群間で有意差を認めなかった。IgA濃度は、鼻腔洗浄液において、JEJ, ILEO群で他群より低下する傾向を認めたが、他部位では明らかな差がなかった。これらの結果から、回腸瘻からの投与では、GALT実効器官(IE, LP)の著明な萎縮が生じるが、誘導器官(PP)への影響は少ないことが明らか

となった。また粘膜 IgA 濃度については、経腸栄養を行うことで投与部位によらず小腸内腔では維持される一方で、鼻腔では空腸や回腸からの投与では低下することが示された。

ILEO 群での GALT 萎縮の機序として、栄養成分が通過しない空腸側の変化が考えられた。そこで、第 3 章ではまず実験 1 として、栄養投与部位の GALT への影響を空腸、回腸別に検討した。第 2 章の検討と同様に JEJ, ILEO の 2 群を作成して栄養管理を行った後、小腸を口側 1/2 (空腸)、肛門側 1/2 (回腸) に分け GALT の評価をおこなった。さらに、各部位の腸管粘膜の変化を HE 染色で組織学的に調べた。その結果、予想に反して、ILEO 群において空腸の IE, LP リンパ球数は JEJ 群と同程度に維持され、回腸で IE, LP リンパ球数の減少が確認された。組織像では、GALT 細胞数とは逆に ILEO 群で JEJ 群に比べ絨毛高の空腸側での低下、回腸側での増加が認められた。これらの結果から、回腸瘻からの栄養投与時の GALT 萎縮は空腸よりむしろ回腸で起こり、腸管構造の萎縮は回腸より空腸で起こることが明らかとなった。したがって単に栄養が腸管内腔に存在するか否かが GALT 萎縮の原因ではないと推察された。一方、絨毛高については腸管内腔の栄養成分の存在が重要と考えられた。

さらに実験 2 として、GALT, 腸管構造に影響をおよぼすことが報告されている各種メディエーター(TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-12p70, IL-10, IL-7, GLP-2, CCK)の血液( $\mu$ l)、腸管組織中濃度( $g$  組織)を測定した。実験 1 と同様に JEJ, ILEO の 2 群を作成し栄養管理を行った後、空腸および回腸組織、血中のメディエーターを cytometric bead array 法、ELISA 法で測定した。その結果、血中メディエーターはいずれも群間に明らかな差はなかった。一方、腸管における炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12p70 は、ILEO 群の回腸で JEJ 群より高く、抗炎症性サイトカインである IL-10 は空腸、回腸いずれにおいても 2 群間で差がなかった。またリンパ球増殖を刺激するサイトカインである IL-7 は、JEJ 群に比べ、ILEO 群の空腸で低値を示し、回腸では上昇する傾向が認められた。腸粘膜上皮細胞の増殖作用を持つホルモンである GLP-2 は、回腸において JEJ 群と比較して ILEO 群で上昇が認められた。炎症性サイトカインはリンパ球のアポトーシスを誘導することが報告されており、回腸瘻からの栄養投与に伴う回腸の GALT 萎縮の原因として、回腸組織における炎症性変化が関与している可能性が考えられた。一方、GLP-2 は JEJ 群と比較して ILEO 群の回腸で上昇していたことから、ILEO 群の回腸における絨毛高の上昇に関連していると考えられた。これに対して、絨毛高の低下が認められた ILEO 群の空腸においては GLP-2 濃度に変化は認められなかった。したがって、回腸瘻からの栄養投与に伴う空腸の形態学的な萎縮には栄養が腸管内を通過しないことが影響し、回腸の肥厚には組織中の GLP-2 濃度の上昇が影響している可能性が考えられた。IL-7 は腸管上皮から産生されるため、腸管絨毛高

の変化に伴い増減し、本モデルでは GALT リンパ球数に大きな影響は及ぼさなかったのではないかと考えられた。

ここまでの検討で、回腸瘻からの栄養投与による回腸 GALT 萎縮の原因として、回腸組織の炎症性変化が示唆された。そこで第 4 章では炎症反応抑制効果が知られている新規経腸栄養製剤を用いることで、標準的な経腸栄養製剤投与よりも、腸管免疫能を改善できるか検討した。実験には、雄 ICR マウスを用い標準的半消化態栄養剤投与 (MBL:メイバランス<sup>®</sup>, n=10), 免疫調整半消化態栄養剤投与 (MEIN:メイン<sup>®</sup>, n=10) の 2 群にわけた。これらのマウスに 7 日間、それぞれの栄養剤を自由経口摂取させた後、安楽殺し、全小腸の GALT 評価、粘膜 IgA 濃度と血液および空腸、回腸組織のメディエーター (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-12p70, IL-10) を測定した。その結果、MEIN 群では MBL 群に比べ、PP、LP のリンパ球数の増加が認められ、腸管洗浄液中 IgA 濃度も MEIN 群で増加が認められた。一方、回腸側の小腸における腸管ホモジネート中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 濃度は MEIN 群において低下が認められた。これらの結果から、炎症反応調整効果を有する栄養剤は、腸管の炎症性サイトカイン濃度を低下させ GALT リンパ球数および腸管洗浄液中 IgA 濃度を増加させることが示された。したがって今回用いた経腸栄養製剤は、腸管免疫の点から重症患者における新しい栄養管理法として期待できると考えられた。

以上の結果を要約すると、同じ腸管を利用した栄養管理であっても、投与部位の違いが腸管免疫に影響を及ぼす可能性が示された。GALT の維持の点からは、経口摂取、胃瘻投与が有効で、空腸瘻投与も一部呼吸器系 IgA 濃度低下傾向を認めたものの、前二者とほぼ同等の効果を有することが示された。回腸瘻においては GALT 誘導組織および腸管における IgA 濃度が維持された一方で、GALT 実効器官のリンパ球数、および一部呼吸器系 IgA 濃度に低下傾向を認めた。したがって、回腸瘻からの経腸栄養管理の限界が示された。臨床で経腸栄養を行う場合、より口側からの栄養投与が望ましく、小腸瘻による経管栄養を行う場合は可能な範囲でより口側からの栄養投与とすることが望ましいと考えられた。一方で、今回認められた回腸瘻投与で生じる回腸 GALT の萎縮は、腸管組織の炎症性変化が関与している可能性が示されたが、抗炎症作用を持つ新規栄養製剤を用いることで、標準的製剤に比べて GALT リンパ球数が増加し、腸管 IgA 濃度を上昇させることが可能であることが示された。この新規栄養剤は、重症患者における経腸栄養管理時の栄養製剤選択のオプションとして期待されると同時に、小腸遠位側からの経管栄養を余儀なくされる場合の腸管免疫への悪影響を軽減する可能性が示された。