

原 著

高カロリー輸液における CDP-choline の肝脂肪変性抑制効果

東京女子医科大学 第2外科学教室 (主任: 織畑秀夫教授)

小 坂 博 美

(受付 昭和60年9月27日)

The Inhibitory Effect of CDP-Choline on Development of Fatty Liver Induced by Prehepatic or Central Hyperalimentation**Hiromi OZAKA**The 2nd Department of Surgery (Director: Prof. Hideo ORIHATA)
Tokyo Women's Medical College

Parenteral hyperalimentation has frequently been associated with hepatic dysfunction or development of steatosis. The present study was undertaken to determine whether CDP-choline, a lipotropic agent, could prevent development of fatty liver induced by prehepatic or central venous hyperalimentation.

Wistar male rats received prehepatic or central venous hyperalimentation consisting of hypertonic dextrose and amino acids supplemented with CDP-choline (150 mg/kg/day) for 7 days. The caloric intake was adjusted to 280 Kcal/kg/day. Control rats were fed by central venous hyperalimentation without CDP-choline. Another one group of rats was allowed to ingest a stock diet ad libitum. At sacrifice, hepatic function, serum lipid content, hepatic lipid content, hepatic fatty acids composition as well as morphologic change in liver were compared among the 4 groups of rats. We found that CDP-choline significantly reduced hepatic contents of total lipid, cholesterol and triglyceride. Histological examinations also revealed the inhibitory effect of CDP-choline on fat accumulation in liver. Hepatic fatty acids composition was not altered by CDP-choline. There was no difference in the effects of CDP-choline whether the lipotropic agent was given through portal vein or through central vein. These data suggest that simultaneous administration of CDP-choline may be useful in preventing hepatic lipid accumulation induced by hyperalimentation.

緒 言

1968年 Dudrick¹⁾によって開発された経中心静脈栄養法は、広く臨床に使用されている。

しかし、経中心静脈栄養法は経口栄養法と異なり、高カロリー栄養液を直接大循環に注入する点非生理的であり、この栄養法が肝の機能や組織に影響を与えるという報告は多い。しかるに、われわれはより生理的なルートとして経門脈的栄養法の実験を行ないその優位性を報告してきたが、中心静脈栄養法でみられた肝の組織学的変化である脂肪変性は、門脈栄養法ではむしろ高頻度にみられた²⁾。

今回肝の脂肪変性の主たる脂質が Triglycer-

ideであることに着目し、Lipotropic factor の1つである CDP-choline を経中心静脈的高カロリー輸液と経門脈的高カロリー輸液に併用し、肝の脂肪変性抑制効果の有無について、また投与経路の有効性について比較検討を行なった。

方 法

1 実験材料

体重200~300g の Wistar 系雄性 Rat を用いた。

2 実験群

下記の4群に分け、3つの群に表1に示した高カロリー液を投与し、残りの1群には経口的に飼料を与えた。

表1 輸液組成(1000ml中)

グルコース	198 g	vitamines	
脂 肪	0 g	Niacin	8.4 mg
熱 量	930 Cal	B ₁	2.1 "
アミノ酸	34.4 g	B ₂	2.1 "
n-p C/N	150	B ₆	1.26 "
電 解 質		C	42 "
Na	50.6 mEq	Pantothenol	5.04 "
K	31.7 "	A	1050 Iu
Cl	49.5 "	D	84 "
Ca	7.8 "	E	6.3 "
Mg	7.8 "	Folate	420 μg
P	5.7 "	B ₁₂	12.6 "
So ₄ ²⁻	7.9 "	Biotin	83 "

第I群：経中心静脈的に高カロリー液のみ与えたコントロール群（C群，n=6）

第II群：経中心静脈的に高カロリー液に加えCDP-choline（150mg/kg/day）を投与したもの（CV+CDP-choline群，n=6）

第III群：経門脈的に基礎液に加えCDP-choline（150mg/kg/day）を投与したもの（PV+CDP-choline群，n=6）

第IV群：固型飼料と水とを自由に摂取させたもの（経口群，n=6）。

3 実験方法

第I群（C群）及び第II群（CV+CDP-choline群）のラットはネブタール腹腔内注入による麻酔下ではまざイソジン消毒後頸部を切開し，右外頸静脈を剝離，エラストマー24Gにて穿刺，上大静脈にPolyethylen Tube SP 8（夏目製作所）を挿入留置，Medical-Grade Tubing No. 602-135（Silastic®）に接続し，対側を皮下トンネルを通して肩甲骨間に抜き，Harnessを装置しProtective Coilを経て，Swivel（Biocanula®）に接続，ラット用特注代謝ケージ（夏目製作所製）の上部に固定した。第III群（PV+CDP-choline群）は盲腸静脈より門脈に向かってPoethylen Tubeを挿入留置し，以下第I群，第II群と同様に固定した。

経口群以外のラットに対しては，高カロリー輸液のみ与え，代謝ケージ内を準無拘束下の条件で7日間管理した。

高カロリー液の投与方法は，持続注入ポンプを

使用し投与量290ml/kg/day，280Cal/kg/dayとし，術後第1日目は投与量の1/2の熱量を，2日目から7日目までは全量を投与した。

4 輸液組成（表1）

基礎輸液剤の組成を表1に示した。組成は経口群が摂取した市販ラット飼料を基にし，高カロリー輸液製剤（ワスタ®），アミノ酸製剤（イスポール®），総合ビタミン剤（ソービタ®），電解質液（10%NaCl大塚®）50%ブドウ糖液，抗生物質を加え作成した。

5 血液生化学的検査

7日間の実験後，ネブタール腹腔内注入麻酔下にて開腹，腹部大動脈より血液8mlを採取し屠殺，総ビリルビン（アルアゾビリルビン法），GOT（UV法），GPT（UV法），アルカリフォスファターゼ（PNP Rate assay），血清総脂質（Sulfo-Phospho-Vanillin法），総コレステロール（酵素法），Triglyceride（酵素法），リン脂質（酵素法），遊離脂肪酸（Laurell-Tac法）を測定した。

6 肝湿重量/体重比

ラットより肝を採取し湿重量を測定，終了時の体重より肝湿重量/体重比を算出した。

7 肝脂肪酸構成

採取したラット肝よりFolch法にて脂質を抽出し，メチルエステル化後，Hexaneで抽出した後無水Na₂SO₄で脱水ろ過し，乾固したものをガスクロマトグラフィー（島津GC-9A）で肝の脂肪酸構成を分析した。

測定対象とした脂肪酸は，ミリスチン酸（C₁₄:0），パルミチン酸（C₁₆:0），パルミトオレイン酸（C₁₆:1），ステアリン酸（C₁₈:0），オレイン酸（C₁₈:1），リノール酸（C₁₈:2），リノレン酸（C₁₈:3），5, 8, 11-eicosatrienoic acid（C₂₀:3ω9），bishomo-γ-linolenic acid（C₂₀:3ω6），アラキドン酸（C₂₀:4）の10種とし，脂肪酸構成は各脂肪酸の合計に対する百分率で表現した。

8 肝脂質構成

肝よりFolch法で抽出した脂質を薄層クロマトグラフィーで，Triglyceride，コレステロール，リン脂質に分離，イアトロスキャンTH-10にて検出した。

9 肝の組織学的検索

採取した肝をただちに10%中性ホルマリン液で固定, Masson 染色, ズダンIII染色を行ない, 光顕的に観察した。

10 統計学的検定

統計学的検定は Student-t test により行なった。

結 果

1 皮膚体毛の変化

実験開始後3日目頃より, 高カロリー3群(第I群, II群, III群)で体毛は乾燥し脱落傾向を認めた, 第IV群(経口群)には以上の変化は認められなかった。

2 肝機能検査(図1)

1) 総ビリルビン (mg/dl)

I群 0.26 ± 0.11 , II群 0.21 ± 0.09 , III群 0.18 ± 0.08 , IV群 0.27 ± 0.11 で4群間に有意差はなかった。

2) GOT (u)

I群 115.6 ± 21.3 , II群 127 ± 30.4 , III群 125 ± 40.1 , IV群 150 ± 17.7 で高カロリー輸液群(I, II, III

群)間に有意差はなかったが, I群(C群)に比しIV群(経口群)が有意に高値を示した($p < 0.01$)。

3) GPT (u)

I群 29.3 ± 7.9 , II群 18.8 ± 6.9 , III群 12.9 ± 4.0 , IV群 21.9 ± 3.4 でI群(C群)に比しII群(CV+CDP-choline群), III群(PV+CDP-choline群), IV群(経口群)は有意に低値を示した($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.05$)。又IV群はIII群に比べ有意に高値を示した($p < 0.01$)。

4) アルカリフォスファターゼ(ALP)(μ /ml)

I群 235.8 ± 49.6 , II群 221.2 ± 52.8 , III群 236.2 ± 58.2 , IV群 523.7 ± 99.0 と高カロリー輸液3群(I, II, III群)間に有意差はなかったが, IV群(経口群)に比しI群(C群), II群(CV+CDP-choline群), III群(PV+CDP-choline群)が有意に低値を示した($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.01$)。

3 血清脂質(図2)

1) 総脂質 (mg/dl)

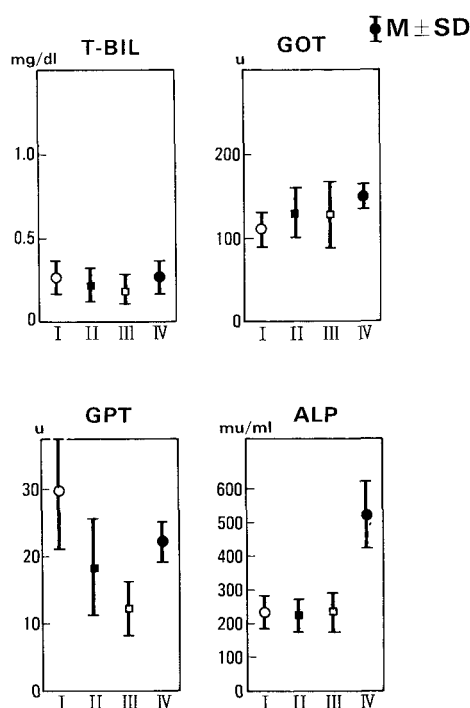


図1 肝機能検査

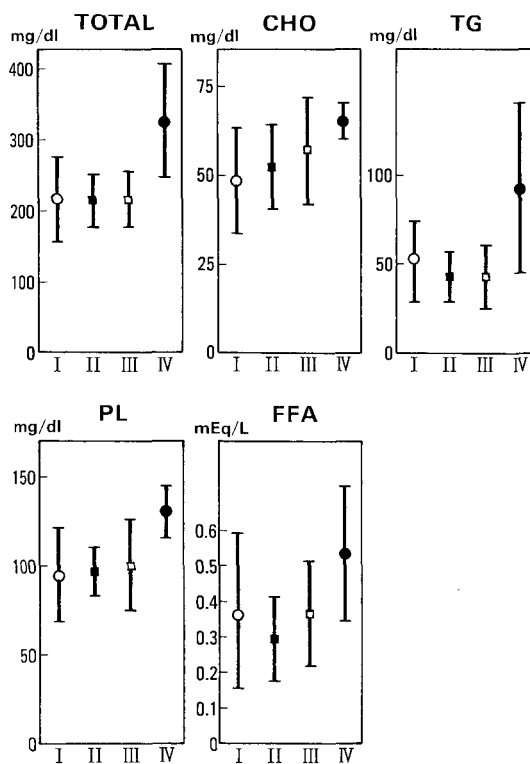


図2 血清脂質

I 群 214.4 ± 62.8 , II 群 217.3 ± 41.5 , III 群 216.0 ± 40.5 , IV 群 336.6 ± 83.4 で高カロリー輸液3群 (I, II, III 群) 間に有意差はなかったが, IV 群 (経口群) が I 群 (C 群), II 群 (CV±CDP-choline 群), III 群 (PV+CDP-choline 群) に比べ有意に高値を示した ($p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$).

2) 血清総コレステロール (mg/dl)

I 群 48.8 ± 15.0 , II 群 52.2 ± 10.9 , III 群 57.1 ± 16.7 , IV 群 69.9 ± 5.2 と高カロリー輸液3群 (I, II, III 群) 間に有意差はなかったが, I 群, II 群に比べIV群は有意に高値を示した ($p < 0.01$, $p < 0.01$).

3) 血清 Triglyceride (mg/dl)

I 群 53.3 ± 24.5 , II 群 42.1 ± 15.5 , III 群 42.4 ± 18.5 , IV 群 91.9 ± 48.2 と高カロリー輸液3群 (I, II, III 群) に比しIV群 (経口群) が高値を示したが, 統計学的に有意差はなかった.

4) 血清リン脂質 (mg/dl)

I 群 94.4 ± 26.4 , III 群 96.0 ± 14.3 , III 群 99.7 ± 26.5 , IV 群 130.0 ± 15.9 と高カロリー輸液3群 (I, II, III 群) 間に有意差はなかったが, I, II, III 群に比べIV群 (経口群) は有意に高値を示した ($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$).

5) 遊離脂肪酸 (FFA) (mEq/l)

I 群 0.36 ± 0.21 , II 群 0.29 ± 0.13 , III 群 0.36 ± 0.15 , IV 群 0.53 ± 0.19 と高カロリー輸液3群 (I, II, III 群) に比べIV群 (経口群) は高値を示したが統計学的に有意ではなかった.

4 肝湿重量・体重比 (%) (図3)

I 群 4.7 ± 0.4 , II 群 4.4 ± 0.8 , III 群 4.2 ± 0.5 , IV 群 4.0 ± 0.5 で I 群 (C 群) に比べIII群 (PV+CDP-choline 群), IV群 (経口群) が有意に低値を示した ($p < 0.05$, $p < 0.01$).

5 肝脂質 (図3)

1) 肝総脂質 (mg/g)

I 群 21.69 ± 5.00 , II 群 9.79 ± 2.93 , III 群 11.21 ± 3.58 , IV 群 13.22 ± 2.44 と I 群 (C 群) に比べ CDP-choline 併用の II 群, III 群及び IV 群 (経口群) が有意に低値を示した ($p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.05$).

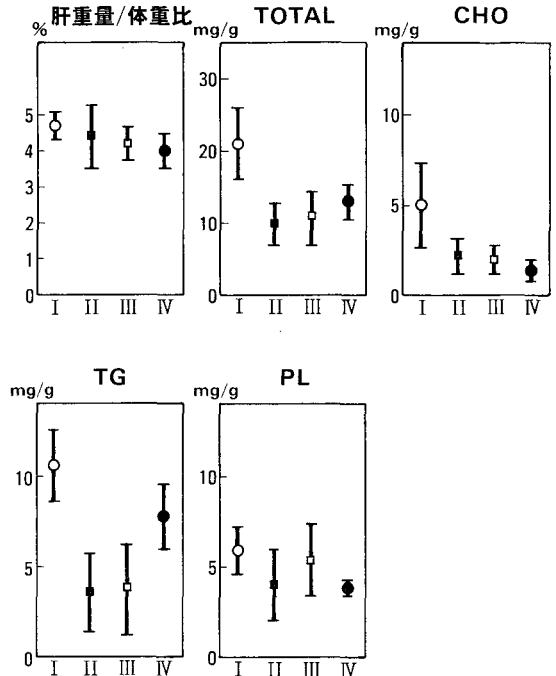


図3 肝重量・肝脂質

2) 肝コレステロール (mg/g)

I 群 5.01 ± 2.16 , II 群 2.18 ± 0.94 , III 群 1.92 ± 0.84 , IV 群 1.48 ± 0.41 と I 群 (C 群) は他の3群より高値を示し, とりわけIV群 (経口群) に比べ有意に高値を示した ($p < 0.05$).

3) 肝 Triglyceride (mg/g)

I 群 10.75 ± 2.06 , II 群 3.62 ± 2.27 , III 群 3.80 ± 2.60 , IV 群 7.88 ± 1.80 で I 群 (C 群) に比べII群 (CV+CDP-choline 群), III群 (PV+CDP-choline 群) が有意に低値を示した ($p < 0.01$, $p < 0.01$). IV群 (経口群) も II 群, III 群に比べ有意に高値を示した ($p < 0.01$, $p < 0.05$).

4) 肝リン脂質 (mg/g)

I 群 5.93 ± 1.42 , II 群 4.09 ± 2.10 , III 群 5.49 ± 1.92 , IV 群 3.86 ± 0.56 と高カロリー輸液3群 (I, II, III 群) 間に有意差はなかったが, I 群 (C 群) に比べIV群 (経口群) が有意に低値を示した ($p < 0.05$).

6 肝総脂質の脂肪酸分析 (表2, 図4)

各群の肝総脂質の脂肪酸構成を表2と図4に示した.

表2 肝総脂肪酸構成

(%±SD)	I群	II群	III群	IV群
14:0	1.1±0.5	1.1±0.6	0.9±0.7	0.9±0.3
16:0	31.7±5.9	28.5±4.7	28.2±3.3	25.0±3.3
16:1	8.9±5.3	7.6±4.7	5.8±3.3	1.5±0.5
18:0	14.5±4.8	16.7±4.7	17.6±3.6	20.1±0.5
18:1	21.8±6.6	19.8±5.2	18.6±5.3	12.0±0.6
18:2	7.4±5.8	7.4±3.8	9.6±3.8	21.3±2.0
18:3	0.3±0.4	0.3±0.4	0.5±0.5	0.3±0.2
20:3 ω 9	1.3±1.4	1.4±1.8	0.9±0.7	0
20:3 ω 6	1.1±0.6	1.7±2.3	1.3±0.4	1.0±0.2
20:4	11.9±8.2	15.2±6.3	16.8±5.8	18.2±2.2
T/T RATIO	0.20±0.18	0.12±0.15	0.07±0.08	0

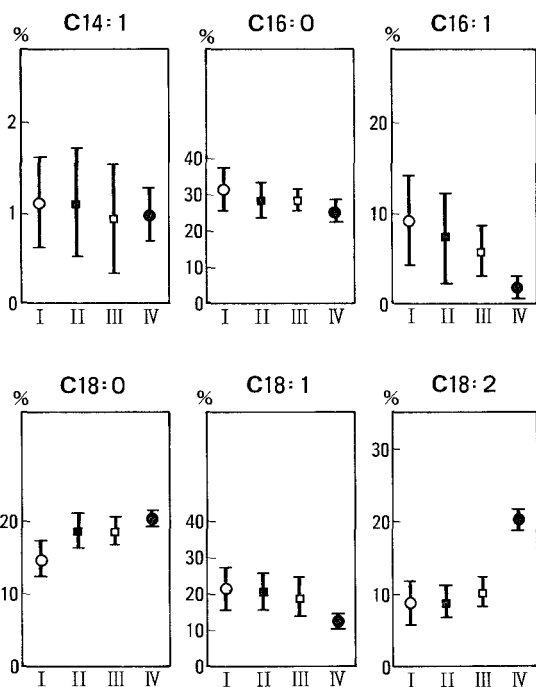


図4-1 肝総脂質脂肪酸構成

- 1) ミスチリン酸 (C14:1)
4群間に有意差はなかった。
- 2) パルミチン酸 (C16:0)
4群間に有意差はなかった。
- 3) パルミトオレイン酸 (C16:1)
高カロリー輸液3群 (I, II, III群) 間に有意差はなかったが, I群, II群, III群に比べIV群は有意に低値を示した ($p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.05$).
- 4) ステアリン酸 (C18:0)
高カロリー輸液3群 (I, II, III群) 間に有意差

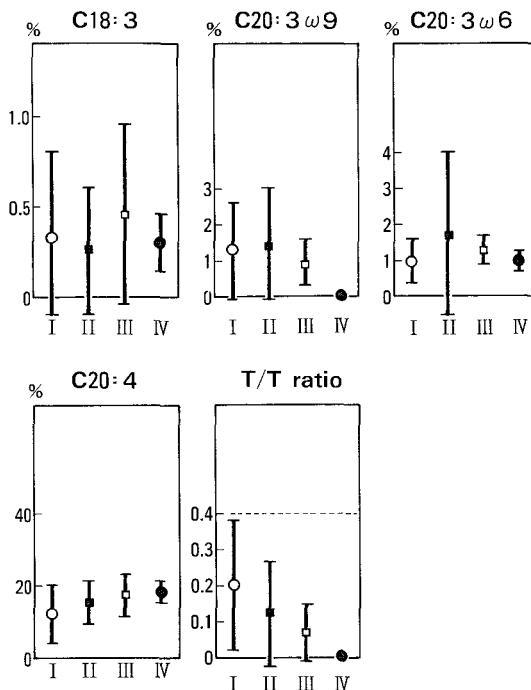


図4-2 肝総脂質脂肪酸

はなかったが, I群 (C群) に比べIV群 (経口群) が有意に高値を示した ($p < 0.05$).

5) オレイン酸 (C18:1)

高カロリー輸液3群 (I, II, III群) 間に有意差はなかったが, I群, II群, III群に比べIV群が有意に低値を示した ($p < 0.05$, $p < 0.05$, $p < 0.05$).

6) リノール酸 (C18:2)

高カロリー輸液3群 (I, II, III群) 間に有意差はなかったが, I群, II群, III群に比べIV群が有意に高値を示した ($p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.01$).

7) リノレン酸 (C18:3)

4群間に有意差はなかった。

8) 5, 8, 11-eicosatrienoic acid (C20:3 ω 9)

高カロリー輸液3群 (I, II, III群) に出現したが, IV群 (経口群) にはみとめられなかった。

9) bishomo- γ -linolenic acid (C20:3 ω 6)

4群間に有意差はなかった。

10) アラキドン酸 (C20:4)

4群間に有意差はなかった。

11) Triene/Tetraene ratio (T/T ratio)

必須脂肪酸欠乏状態では0.4以上を示すといわ

れるが、全て0.4以下であった。

7 肝の組織学的検索

全体的にみると Masson 染色において、高カロリー輸液3群 (I, II, III 群) では肝細胞の腫大と核の腫大が認められた。ズダンIII染色では、高カロリー輸液3群 (I, II, III 群) に脂肪滴の出現をみ、特に CDP-choline 併用の II, III 群に比べ I 群 (C群) に強い脂肪浸潤を認めた。

1) I 群 (C群)(写真1, 2)

Masson 染色では明らかな脂肪空胞を認めた。ズダンIII染色では細かい脂肪滴を小葉中心部から周辺にかけて、特にグリソン鞘中心にび漫性に認めた。またクーパー星細胞に微細な脂肪滴のとり込みを認めた。

2) II 群 (CV+CDP-choline 群)(写真3, 4)

Masson 染色では脂肪空胞をわずかに認めた。ズダンIII染色では微細な赤橙色の脂肪滴を肝小葉周

辺、すなわちグリソン鞘周辺に認めた。

3) III 群 (PV+CDP-choline 群)(写真5, 6)

Masson 染色では脂肪空胞をわずかに認めた。ズダンIII染色では、微細な橙赤色の脂肪滴を小葉周辺に認めた。

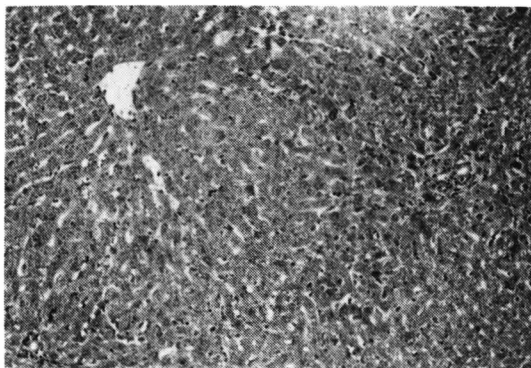


写真3 II群 (CV+CDP-choline 群) Masson 染色

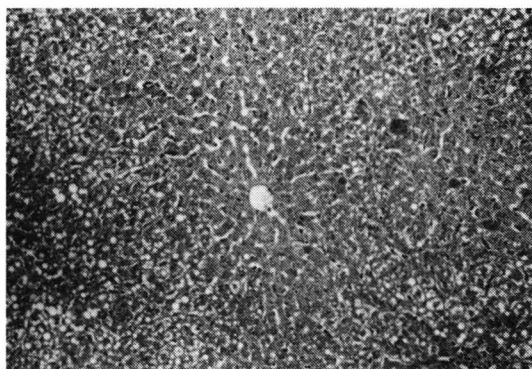


写真1 I群 (C群) Masson 染色

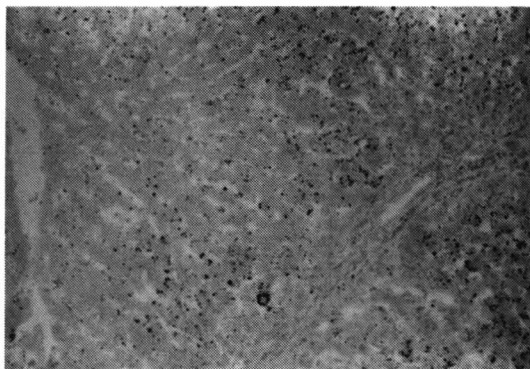


写真4 II群 (CV+CDP-choline 群) ズダンIII染色

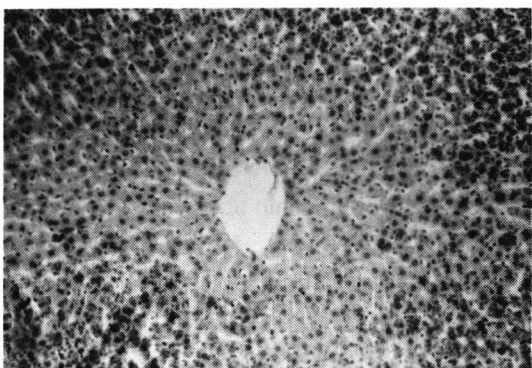


写真2 I群 (C群) ズダンIII染色

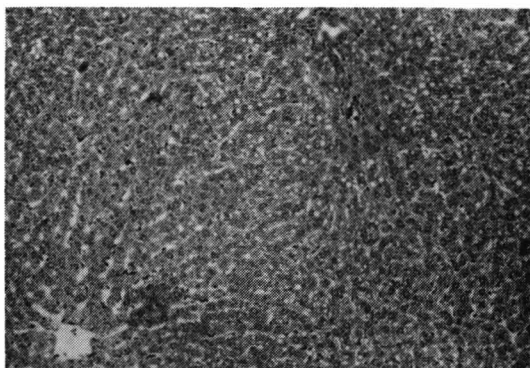


写真5 III群 (PV+CDP-choline 群) Masson 染色

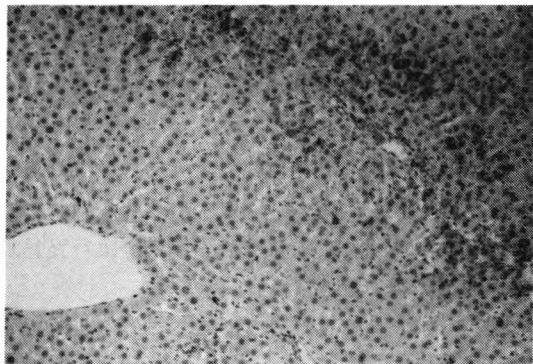


写真6 III群 (PV+CDP-choline 群) ズダンIII染色

4) IV群 (経口群)(写真7, 8)

Masson 染色では脂肪空胞は認められなかった。ズダンIII染色でも脂肪滴は淡い色でわずかに認めるのみであった。

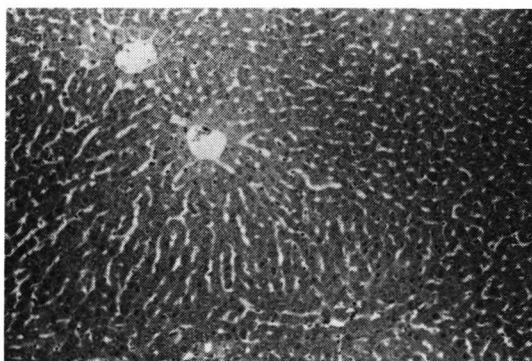


写真7 IV群 (経口群) Masson 染色

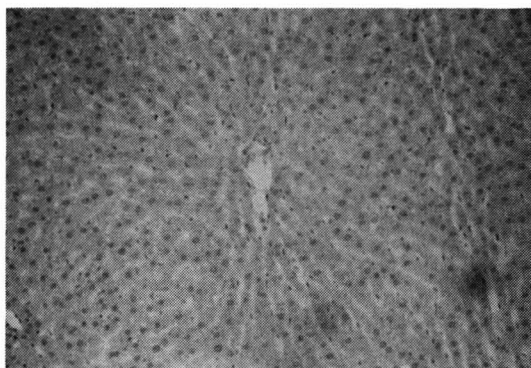


写真8 IV群 (経口群) ズダンIII染色

考 察

高カロリー輸液 total parenteral nutrition (TPN)の主な合併症としてはカテーテル感染, 代謝上の障害などがあげられ, この代謝上の合併症の1つの肝機能障害は, TPNが開発された初期の頃から報告されている³⁾⁴⁾。しかし, その成立機序, 治療に関し定説はない。

TPNによる, 生化学的あるいは形態学的異常は小児と成人とでは相違を示している⁵⁾。小児においては, 肝細胞, 胆管内の胆汁うっ滞と, 門脈周囲の炎症性細胞浸潤が認められ成人にみられる脂肪変性はむしろ稀である。生化学的には総ビリルビンの上昇が認められ, 肝組織の未熟性, アミノ酸インバランス, 栄養投与ルート为非経口性などが risk factor としてあげられている⁶⁾。一方, 成人は小児に比べて予後はよく, 形態学的には門脈周囲の脂肪浸潤が主体をなし, 生化学的には必ずしも総ビリルビンの上昇を伴っていないなど, 病的に小児と成人とでは相違している。今回, われわれは成人の TPN に合併する脂肪浸潤を主体とした肝機能障害についてラットをモデルとして検討した。

脂肪肝の成立機序は多くの因子より成り立っているが, 要は肝細胞への脂質の沈着と肝からの移送との不均衡に起因しており, 主に2つのカテゴリーに分類されている⁷⁾。第1に血中の遊離脂肪酸(FFA)が上昇する場合で, 肝での FFA の吸収が亢進するのに対して lipoprotein の生成が相応せず, 肝細胞内に Triglyceride が沈着するという機序である。次にあげられる機序は lipoprotein の代謝上の障害であり, apoprotein の合成障害, 脂質又は apoprotein から lipoprotein への合成障害, リン脂質の供給不足, lipoprotein の分泌障害などである。しかし, 第1にあげられた機序は飢餓時に脂肪組織, lipoprotein の加水分解から FFA が動員される結果であり, TPN との関連性は小さい。TPN に合併する肝障害は必須脂肪酸欠乏, free radicals による細胞膜傷害, ブドウ糖の過剰投与, カルニチン不足などの因子があげられており第2の機序との関連が大きい。

まず必須脂肪酸欠乏説であるが, 田代らは仔犬

を用いた実験において無脂肪の TPN 犬で肝小葉内に脂肪浸潤を認め、総カロリーの 2% を脂肪乳剤で投与した場合、必須脂肪酸は不足で、25% では過量であり 4% が至適であったと報告している⁸⁾。必須脂肪酸欠乏に関しては、Burr and Burr⁹⁾ が 1929 年に報告して以来数多くの研究がなされ、経口栄養でみられた必須脂肪酸欠乏は、TPN 施行時でも発現したことを報告している¹⁰⁾¹¹⁾。

次に free radical 説であるが、横山らは TPN における肝傷害を脂質酸化の面よりとらえ、ラットを用いた実験で、肝小葉周辺部を中心に大小の脂肪顆粒が多数認められ著明な脂肪変性像を示したと報告している。また肝の脂肪変性と scavenger (清掃人) であるグルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-PO) の動きの間に密接な関係があり、TPN による肝傷害の原因として脂質過酸化傷害があることを明らかにしている¹²⁾。TPN 投与により生成した free radical による endoplasmic reticulum などの細胞内小器官の細胞膜中の脂質が傷害され、脂質と apoprotein から lipoprotein への合成が障害され Triglyceride が肝に蓄積すると考えられる。

次にブドウ糖過剰投与説であるが、ブドウ糖過剰、アミノ酸不足、つまり Kwashiorkor の状態により lipoprotein の合成が低下し Triglyceride が沈着する機序があげられる¹³⁾¹⁴⁾。Kaminski ら¹⁵⁾ はラットの実験において、ブドウ糖投与群の acetyl CoA carboxylase, fatty acid synthetase など lipogenic enzyme が上昇していることを明らかにし、過剰のブドウ糖から脂質への転換により脂肪肝が形成されるとした。持続する高血糖状態に伴う高インシュリン血症が、lipogenic enzyme を刺激し、lipogenesis を促進させ、lipoprotein の移送を抑制し脂肪肝を形成するという機序は、城谷²⁾の実験において門脈栄養法が中心静脈栄養法よりアミノ酸代謝では優利に働くものにもかかわらず、肝の脂肪変性はより高度であったことから推測される。一方、Change ら¹⁶⁾によれば、ブドウ糖 300cal/kg 以上ラットに投与し、アミノ酸を最低必要量以上投与しても、肝の脂肪変性は生じ、ブドウ糖過剰よりむしろ総カロリー過剰に原因が

あるとした。またブドウ糖過剰と肝機能障害は関連がないという報告もある^{17)~20)}。

次にカルニチン不足説であるが、長鎖脂肪酸の酸化に必要なカルニチンは、メチオニン、リジンから合成される非必須アミノ酸であり、TPN 施行時のようなストレス下では不足状態を招きやすい。そのため肝での脂肪酸酸化が十分に行なわれず脂質が沈着するとした²¹⁾。

以上の如く、種々の成立機序が挙げられているが未だ定説はない。しかし、TPN における肝の脂肪変性は単一というより、むしろ幾つかの因子が複合し成立していると考えられる。

これまで、TPN に合併する肝の脂肪変性の対策としては、必須脂肪酸供給を目的とした脂肪乳剤の投与、free radical の scavenger としてビタミン E の補給、持続する高インシュリン血症に対する cyclic hyperalimentation¹³⁾ の試み、カルニチンの補給などが試みられている。

今回われわれは、TPN に合併する肝の脂肪変性の主体が Triglyceride 沈着であることに着目し lipotropic factor の 1 つである CDP-choline を用いて肝の脂肪変性抑制効果を検討した。

CDP-choline の代謝機構は、choline と ATP が choline kinase により結合し、phosphorylcholine が生成することから始まる。phosphorylcholine は CTP と結合し CDP-choline を生成、さらに CDP-choline の phosphorylcholine の部分が D-1, 2 diglyceride に転位して lecithine が生成され終了する²²⁾。

Kaminski ら¹⁵⁾ はラットを用いた実験において、カロリー源にブドウ糖のみ用いた群では lipogenic enzyme、及び肝の Triglyceride の上昇と肝の脂肪変性を認めたのに対し、lipotropic factor の 1 つである choline を併用した群では、lipogenic enzyme の上昇は認めたものの肝の Triglyceride、肝の総脂質は低下したことを報告している。また Grisham ら²³⁾ は choline が脂肪肝発生の際、腫大した肝細胞のミトコンドリアを縮小させ、細胞内外の脂肪を Mobilize させると述べている。

lipotropic factor の効果機序に関する定説は未

だないが、細胞膜の保護、修復の見地から石井²⁴⁾は細胞膜の安全性を規定する重要な因子は、極性物質である不飽和脂肪酸（アラキドン酸、リノール酸、リノレン酸）であり、生体は種々の刺激により生体膜を構成するリン脂質より高級不飽和脂肪酸を遊離する。以上の反応を phospholypase A が触媒するが、この酵素を CDP-choline が抑制し、生体膜を修復、保護すると述べている。次に Mookerjee²⁵⁾によれば、Triglyceride を肝より運ぶ very low density lipoprotein (VLDL) は glycoprotein であるが、VLDL を構成する apoprotein B は粗面小胞体のリボゾームでまず合成され、滑面小胞体で lipoprotein に組み入れられる。さらにゴルジ装置で炭水加物が lipoprotein に加わり VLDL となって肝外に分泌される。CDP-choline は glycoprotein 合成に必要な酵素—N-acetylglucosaminyl transferase を活性化させ、また phosphorylcholine が lecithine となる際に触媒的に働き生体膜機能を活性化させると述べている。

以上から、TPN 施行時代謝が亢進することで生成した free radicals により傷害された細胞内小器官の生体膜を lipotropic factor が修復し活性化させることで lipoprotein の合成を亢進させ、Triglyceride を肝外へ移送させると推論される。

次に門脈栄養法についてであるが、Dudrick¹⁾によって開発された中心静脈栄養法は経口栄養法と比較すれば、いくつかの非生理的な点が認められ、その1つが高カロリー栄養液を直接大循環に注入する点である。直接門脈内に高カロリー液を投与すれば、中心静脈栄養法と比較して、より生理的かつ効果的な栄養補給を行なえることが予想される。門脇²⁶⁾はカゼイン酵素分解産物を門脈内に注入し、血中アルブミンの増加が促進されたと述べている。Holm²⁷⁾は低蛋白食を経口摂取させた犬に、カゼイン水解物を経静脈的および経門脈的に投与し、血漿蛋白値に差は認めなかった。肝の病理的変化の検討で、経門脈的投与では著変は認めないが、経静脈的投与では、強い脂肪変性を認めたと述べている。また、武藤²⁸⁾は、結晶

アミノ酸混合液およびブドウ糖を門脈内に注入し、静脈内投与例と比較し、門脈圧が上昇し、肝毛細血管の通過性が良好となり、肝機能が亢進し同時に細網内皮系機能の改善が認められ、アミノ酸の利用率も良好となり、肝におけるアルブミンの合成も促進されると述べている。内野²⁹⁾は、間歇的門脈栄養法の一連の実験を行ない生体の代謝リズムに合わせて門脈栄養を行えば、肝の大きな予備能力により肝機能障害を引き起こすことなく約10時間の経門脈的投与で十分な栄養補給が可能であると述べている。長谷部³⁰⁾は、経門脈注入ではインシュリン、グルカゴンの分泌パターンが生理的であり、窒素バランスにおいても中心静脈栄養より有利であるとし、経門脈投与では維持量と基礎エネルギー消費量との比が経中心静脈投与に比べてより小さくなると述べている。Joyeux³¹⁾は、妊娠犬に長期経門脈栄養法を行ない、正常な小犬を出産させ脂肪肝を認めていない。Piccone³²⁾は、食道癌術後患者に対し経臍静脈経路にカテーテルを門脈へ挿入し、門脈栄養法を行ない、窒素バランス、血糖値、血漿浸透圧等に関し、中心静脈栄養法より有利であったと述べている。城谷²⁾はラットを用いた実験において、門脈栄養法は、中心静脈栄養法よりも窒素平衡が良好に保たれ、肝のアミノ酸代謝に有利に働くと述べている。金丸³³⁾は小腸広汎切除ラットを対象にし中心静脈栄養法と門脈栄養法を行ない、門脈栄養法は中心静脈栄養法よりも窒素出納の正への復帰が早く、肝のアミノ酸代謝に有利であったと述べている。

しかし、中心静脈栄養法で認められた肝の脂肪変性は同等か、もしくはそれ以上に門脈栄養法でも認められた²⁾。また椿³⁴⁾は四塩化炭素肝障害ラットを用いた肝障害時の経門脈栄養輸液の実験を行ない、四塩化炭素により肝には脂肪変性が見られるが、経門脈輸液、経中心静脈輸液の何れによっても脂肪変性が増加したと述べている。

伊地³⁵⁾のラットを用いた実験では³H-CDP-choline の経静脈的、経門脈的投与で、集積率は肝が最も高いことを示している。そこで我々は CDP-choline の効果の有無と共に、投与経路の有

効性に関し実験的に検討を加えた。

まず、肝機能検査では、総ビリルビン、GOT、GPT、アルカリフォスファターゼ（ALP）について比較検討した。TPN 3群（I, II, III群）間についてみると、総ビリルビン、GOT、ALPにおいてはこの3群間に有意な差は認められなかったが、GPTにおいて、CDP-choline併用のII群（CV+CDP-choline群）とIII群（PV+CDP-choline群）がI群（C群）に比べ有意に低値を示し、CDP-choline併用によりTPNによる肝細胞傷害が緩和されることを示した。

血清脂質検査では、血清総コレステロール、血清Triglyceride、血清リン脂質、遊離脂肪酸について検討した。概ね、IV群（経口群）はTPN 3群（I, II, III群）に比べ高値を示し、特に血清Triglyceride、血清リン脂質、血清総脂質では統計学的に有意に高値を示した。これはTPN 3群に脂肪乳剤を併用しなかったことによる脂質不足によると思われる。しかし、CDP-choline併用如何による有意差はなかった。

肝脂質に関しては、肝コレステロール、肝Triglyceride、肝リン脂質、肝総脂質について比較検討した。肝triglyceride、肝コレステロール、肝総脂質において、I群（C群）に比べ、CDP-choline併用のTPN群であるII群（CV+CDP-choline群）とIII群（PV+CDP-choline群）は有意に低値を示した。また組織学的検査においても、I群に比べII群、III群は肝小葉内の脂肪滴の沈着は少なく、TPNにCDP-cholineを併用することで、肝の脂肪変性が軽減されることを示した。

次にCDP-cholineの投与経路に関し、経門脈的投与と経中心静脈的投与に比較検討を行なった。II群（CV+CDP-choline群）とIII群（PV+CDP-choline群）間の差は、肝の脂質分析でも、肝の組織学的検査でも認められず、CDP-cholineの投与経路による有効性に差がないことを示した。

必須脂肪酸代謝に関しては、皮膚、体毛の変化、肝脂肪酸構成に関し比較検討を行なった。IV群（経口群）に比べTPN 3群（I, II, III群）のラットには体毛の乾燥化と脱落を認め、必須脂肪酸であるリノール酸の有意の低下と異常脂肪酸である

5, 8, 11-eicosatrienoic acidの出現をみとめた。Holmanら³⁶⁾はこの5, 8, 11-eicosatrienoic acidのアラキドン酸に対する比をtriene/tetraene ratio (T/T ratio)とし、必須脂肪酸の状態を表現する指標とした。今回、全群共T/T ratioは0.4以下で正常範囲内ではあるが、異常脂肪酸の出現など必須脂肪酸欠乏の徴候を認めた。これは、TPN 3群（I, II, III群）に必須脂肪酸を含む脂肪乳剤を併用しなかったことにより出現した必須脂肪酸欠乏症状と考えられる。しかし、CDP-choline併用如何による脂肪酸構成に差は認められず、CDP-cholineが肝脂肪酸構成に影響しないことを示した。

CDP-cholineの投与量、効果機序について、lipoprotein代謝からも詳細に検討することが今後の課題として残されている。

結 語

ラットを対象とし、TPNにCDP-cholineを併用し、TPNに合併する肝の脂肪変性抑制効果について、投与経路を含めて基礎的検討を行ない以下の結果を得た。

(1) CDP-choline併用の2群は、非併用群に比べて、肝機能検査ではGPTが低値を示し肝細胞傷害が緩和されていることを示した。肝脂質分析では肝Triglyceride、肝コレステロール、肝総脂質が低値を示し、組織学的検査でも肝への脂肪滴の沈着が少なく、TPNにCDP-cholineを併用することにより肝の脂肪変性を予防しうることを示した。

(2) 経中心静脈的、あるいは経門脈的投与法によるCDP-cholineの効果に関し、投与経路による差はなかった。

(3) 肝の脂肪酸構成に関して、TPN 3群においてT/T ratioは0.4以下であったものの、リノール酸の低下、5,8,11-eicosatrienoic acidの出現と必須脂肪酸欠乏の徴候を認めた。しかし、CDP-choline併用如何による影響は認められなかった。

稿を終るにあたり、終始御指導と御校閲を頂きました東京女子医科大学外科学教室、織畑秀夫教授に謹

んで感謝の意を表します。病理組織学については病理学教室の今井三喜名誉教授、金田良夫氏の御指導に負うところが大きく、心から御礼申し上げます。

また、終始御助言を頂きました教室の倉光秀磨助教、馬淵原吾講師、大地哲郎講師、ならびに実験に際し御協力下さった城谷典保、朝比奈完、滝口進の諸兄に心より感謝いたします。

本論文の要旨は昭和60年2月1～2日、第29回完全静脈栄養研究会において発表した。

文 献

- 1) **Dudrick, S.J., et al.:** Long term total parenteral nutrition with growth, development and positive nitrogen balance. *Surgery* 64(1) 134~142 (1968)
- 2) 城谷典保: ラットにおける門脈栄養法を中心静脈栄養法の比較に関する実験的研究. *東女医大誌* 54(3) 294~304 (1984)
- 3) **Broviac, E.F., and Scribner, B.H.:** The artificial gut: Two years' experience with total parenteral nutrition in the home. *Gastroenterology* 62(4) 727 (1972)
- 4) **Peden, V.H., et al.:** Total parenteral nutrition. *J Pediatr* 78 180~181 (1971)
- 5) **Bower, R.H.:** Hepatic complications of parenteral nutrition. *Seminors in liver disease* 3(3) 216~224 (1983)
- 6) **Ranger, R. and Finegold, M.J.:** Cholestasis in immature newborn infant: Is parenteral alimentati:n responsible? *J Pediatr* 86(2) 264~269 (1975)
- 7) **Martin, D.W., et al.:** Harper's review of biochemistry. 19th edition Maruzen Asia, Tokyo 234~236 (1983)
- 8) 田代亜彦・ほか: 小児高カロリー輸血における必須脂肪酸投与に関する研究. *日外会誌* 84(4) 271~281 (1983)
- 9) **Burr, G.O. and Burr, M.M.:** A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet. *J Biol Chem* 82(2) 345~367 (1929)
- 10) **Jeejeebhoy, K.N., et al.:** Total parenteral nutrition at home for 23 months, without complication, and with good rehabilitation. *Gastroenterology* 65(5) 811~820 (1973)
- 11) **Langer, B., et al.:** Prolonged survival after complete small bowel resection using intravenous alimentation at home. *J Surg Res* 15 226~233 (1973)
- 12) 横山法七・ほか: TPN 投与経路と肝障害 (脂肪肝). *外科と代謝・栄養* 16(2) 176~182 (1982)
- 13) **Maini, B., et al.:** Cyclic hyperalimentation: An optimal technique for preservation of visceral protein. *J Surg Res* 20 515~525 (1976)
- 14) Sheldon, G.F.: Hepatic dysfunction during hyperalimentation. *Arch Surg* 113 504~508 (1978)
- 15) **Kaminski, D.L., et al.:** The effect of hyperalimentation on hepatic lipid content and lipogenic enzyme activity in rats and man. *Surgery* 88(1) 93~100 (1980)
- 16) **Chang, S., et al.:** Fatty liver produced by hyperalimentation of rats. *Am J Gastroenterol* 62 410~418 (1974)
- 17) **Crosilla, P.A., et al.:** The effect of total parenteral nutrition (TPN) on hepatic function. *JPEN* 4(6) 583 (1980)
- 18) **Gant, J.P., et al.:** Serum hepatic enzyme and bilirubin elevations during parenteral nutrition. *Surg Gyencol Obstet* 145 573~580 (1977)
- 19) **MacFadyen, B.V., et al.:** Clinical and biological change in liver function during intravenous hyperalimentation. *JPEN* 3(6) 438~443 (1979)
- 20) **Wagman, D.L., et al.:** The impact of total parenteral nutrition on liver function tests in patients with cancer. *Cancer* 49(6) 1249~1257 (1982.)
- 21) **Tao, R.C. and Yoshimura, N.N.:** Carnitin metabolism and it's application in parenteral nutrition. *JPEN* 4(5) 496~486 (1980)
- 22) 伊地知浜夫・ほか: CDP-choline の基礎とその臨床. *臨床と研究* 49(8) 200~206 (1972)
- 23) **Grisham, J.:** Clinicopathological conference, chronic alcoholism, fatty liver and sudden death. *Am J Med* 30 157~166 (1961)
- 24) 石井兼央: Phospholipase A インヒビター関連物質の治療面への応用. *胆と脾* 3 883~888 (1982)
- 25) **Mookerjee, S.:** Action of choline in lipoprotein metabolism. *Federation Proc* 30(1) 143~150 (1971)
- 26) **Piccone, V.A., et al:** Prehepatic hyperalimentation. *Surgery* 86(3) 263~270 (1980)
- 27) 金丸 洋: 小腸広汎切除と門脈栄養—中心静脈栄養との比較検討. *東女医大誌* 55(3) 298~310 (1985)
- 28) 椿 哲朗: 肝障害時における経門脈栄養輸液の実験的研究. *東女医大誌* 55(8) 633~644 (1985)
- 29) 伊地知浜夫: CDP-choline の臨床的応用についての基礎的研究. *薬物療法* 5(1) 67~74 (1972)
- 30) **Holman, R.T.:** The ratio of trienoic: Tetranolic acids in tissue lipids as a measure of essential fatty acid requirement. *J Nutr* 70 405 (1960)