



実験的アシドーシス環境下における静注用脂肪乳剤 の脂肪利用能に関する基礎的研究

木村, 彰宏

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1981-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0350

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000350>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍) 木 村 彰 宏 (岐 阜 県)
 学位の種類 医 学 博 士
 学位記番号 医博い第 340 号
 学位授与の要件 学位規則第 5 条第 1 項該当
 学位授与の日付 昭和 56 年 3 月 31 日
 学位論文題目 実験的アシドーシス環境下における静注用脂肪乳剤
 の脂肪利用能に関する基礎的研究

審 査 委 員 主査 教授 松 尾 保
 教授 馬 場 茂 明 教授 広 畑 和 志

論 文 内 容 の 要 旨

はじめに

新生児，なかでも未熟児においては，腹満，嘔吐，無呼吸発作の頻発，重篤な呼吸障害などのために，生後早期よりの十分な経口的乳汁摂取が困難なことが少なくない。近年，この様な児に対して，10%糖液による早期輸液療法が広く行われる様になり，良好なる治療成績があげられている。しかし，10%糖液輸液のみでは十分なカロリー投与が行いえない点より，高濃度の糖液輸液も試みられているが，血漿浸透圧の上昇をきたし頭蓋内出血誘発の危険性があるとの報告もみられ，又，糖やアミノ酸のみによる輸液では脂肪酸代謝に影響をもたらし，特に必須脂肪酸欠乏症をひきおこす事が注目されている。そこでこの様な観点から，近年では新生児，未熟児の領域においても，高カロリーで等浸透圧の，リノール酸に富む静注用脂肪乳剤の併用が試みられる様になった。ところが，アシドーシスの存在する呼吸障害児に脂肪乳剤を投与すればHyperlipemiaを呈する症例に遭遇する場合があります，脂肪の利用が障害されている可能性が考えられたので，アシドーシス環境下における脂肪代謝を明らかにし，アシドーシスの存在する児への脂肪乳剤投与の可否について検討した。

実験対象（実験的アシドーシス家兎の作成）

体重 2000 g 前後の成熟白色家兎を用い，3 時間の飢餓後ネブタール麻酔を行い，気管切開にて気管チューブを挿管し Pancronium Bromide を用いて自発呼吸を抑えながら，Small Animal Ventilator にて人工換気を行った。一方，股動脈を切開，カテーテル挿入留置し，動脈血ガス検体採取ルートとした。FiO₂ (0.21)，及び一回換気量（約 12 ml）は固定したまま動脈血ガス値を観察しながら，人工換気回数を増減させ，pH 7.3 以下に維持調節したものをアシドーシス群とした。一

方, pH 7.3 以上のものを挿管対照群, 挿管をせずに自発呼吸下に実験を行ったものを非挿管対照群とした。その結果, アシドーシス群では hypoxia, hypercapnea を呈し, 呼吸障害を有するヒト新生児にみられると同様のアシドーシスモデル家兎を作成し得た。

実験方法

〔実験Ⅰ〕 静脈内脂肪乳剤投与試験：前記家兎を用い, 動脈血ガスが安定したところで, 10%脂肪乳剤 0.3 g/kg を 1 分かけて静注し, 経時的に採血し Triglyceride, FFA, β -Hydroxybutyrate, Glucose, Lactate について測定した。測定は Triglyceride は小野薬品の「Lipidos」, FFA は和光純薬の「NEFA-test」, β -Hydroxybutyrate は Persson 法で, Glucose, Lactate は Boehringer-Mannheim 社の「Blood Sugar-GOD-Perid-Test」「Lactate-UV-Test」にて行った。

〔実験Ⅱ〕 脂質代謝に関与する酵素活性測定

a) ヘパリン負荷後リパーゼ活性の測定

前述の家兎を用い, 動脈血ガス値がアシドーシスを呈してから 180 分後に 200u/kg のヘパリンを静注し, 投与 10 分後に採血し, Krauss らの方法に準じて, Post-heparin lipolytic activity (PHLA), Lipo protein Lipase (LPL) 活性を測定した。

b) 肝 Palmitoyl CoA synthetase 活性, 肝 Carnitine palmitoyl acyltransferase 活性の測定

アシドーシス負荷 180 分後に家兎を開腹し肝臓を部分切除し以下の測定を行った。肝 Palmitoyl CoA synthetase 活性は Tana 法に準じ, 肝 Carnitine palmitoyl acyltransferase 活性は Bremer と Norum の方法を用い, 蛋白定量は Lowry 法を用いて測定した。

研究成績

〔実験Ⅰ〕 静注用脂肪乳剤投与後における脂質の経時的変化

a) Triglyceride 値 (表 1)

対照群では前値 50 ± 26 mg/dl であったが, 脂肪乳剤投与後 1 分にて最高値 546 ± 106 mg/dl に達し, その後徐々に低下し, 180 分後には 91 ± 62 mg/dl と前値に戻ったが, アシドーシス群においては前値 80 ± 45 mg/dl であり, 投与 1 分後 533 ± 90 mg/dl と最高値に達したあと 180 分後にもなお 237 ± 142 mg/dl と高値を示した。脂肪乳剤投与後の血中 Triglyceride の半減期は対照群の 55.5 ± 13.1 分に比し, アシドーシス群で 136.1 ± 31.8 分と有意に延長を認めた。(P < 0.01)

b) Free fatty acid 値 (表 1)

対照群, アシドーシス群ともに脂肪乳剤投与後急上昇し, 40 ~ 50 分後には最高値に達したあと徐々に下降した。両群に有意差は認めなかった。

c) β -Hydroxybutyrate 値 (表 1)

両群ともに投与前後において殆んど変化はみられなかった。

d) Glucose 値, Lactate 値 (表 2)

Glucose 値は、対照群において脂肪乳剤投与後上昇がみられたが、アシドーシス群では、殆んど変化はみられなかった。

Lactate 値は、対照群では殆んど変化はみられなかったが、アシドーシス群では投与後徐々に上昇がみられた。

〔実験Ⅱ〕 脂質代謝に関する酵素活性の変化

a) ヘパリン負荷後リパーゼ活性 (表3)

PHLA値は対照群の 13.50 ± 2.69 u に比べて、アシドーシス群では 9.41 ± 3.25 u と低値を示したが、推計学的に有意な差は示さなかった。

一方、LPL 活性値は対照群の 7.49 ± 2.03 u に比べて、アシドーシス群では 4.06 ± 2.30 u と有意に低値を示した。(P < 0.05)

(U : μ EqFFA formed/hr/ml of serum)

b) 肝 Palmitoyl CoA synthetase 活性, 肝 Carnitine palmitoyl acyltransferase 活性 (表4)

肝 Palmitoyl CoA synthetase 活性値は対照群 56.2 ± 10.6 u, アシドーシス群 53.6 ± 3.6 u と差を認めなかった。(u : n moles palmitoyl CoA formed/min/mg of protein)

肝 Carnitine palmitoyl acyltransferase 活性値は、対照群 0.157 ± 0.049 u, アシドーシス群 0.123 ± 0.015 u と差を認めなかった。

(u : n moles palmitoyl carnitine formed/min/mg of protein)

考 案

静脈内に投与された脂肪乳剤は、生理的カイロミクロンと同様の代謝をうけるといわれ、その主成分であるトリグリセライドはリポ蛋白リパーゼ (LPL) により FFA と Glycerol とに加水分解される。Hallberg らによると、脂肪乳剤の流血中よりの除去は、投与量により二相性を示すという。今回の著者の実験においても同様の二相性の除去がみられたが、アシドーシス環境下では脂肪乳剤の除去は明らかに障害される事が確認された。

FFA 値は両群とも脂肪乳剤投与により上昇し、投与後 40 ~ 50 分にて最高値となったが、これは脂肪乳剤の分解により生じたものと考えられる。

又、アシドーシス群でみられた Lactate 値の上昇は、嫌気性解糖系の亢進を示唆するものである。

Triglyceride が LPL により分解されて生じた FFA は、脂肪組織において再び Triglyceride となり貯蔵されるか、肝臓にて VLDL に再合成されるか、 β 酸化により熱源として利用されるかの運命をたどる。従って LPL 及び β 酸化に関する酵素は、投与された Triglyceride の流血中よりの代謝に直接の関係を有する事になる。今回の実験では、 β 酸化に関する二つの酵素活性 (Palmitoyl CoA synthetase, Carnitine palmitoyl acyltransferase) は、対照群と、アシドーシス群との間に有意の差を認めなかったが、PHLA, LPL 活性は、アシドーシス群において低値を示した。以上より、アシドーシス環境下での Triglyceride 除去の障害は、その代謝の第一段階に働く LPL 活性の低下によるものと考えられた。

結 語

- (1) 白色家兎を用いて人工換気を行い、換気回数を減少させる事により、ヒト新生児においてみられる呼吸性アシドーシスと同様のアシドーシス環境を作り得た。
- (2) アシドーシス家兎では、投与された脂肪乳剤のクリアランスは著しく障害されていた。
- (3) アシドーシス家兎では、PHLA, LPL活性が著明に低下し、脂肪乳剤クリアランスの障害の大きな要因をなすものと考えられた。
- (4) β 酸化に関与する肝Palmitoyl CoA synthetase, 肝Carnitine palmitoyl acyltransferase活性は、アシドーシス環境下においてもとくに障害されないものと考えられた。

表 1 静脈内脂肪乳剤投与後の血中Triglyceride, Free fatty acid, β -hydroxybutyrate 濃度の経時的変化

	前	1分	10分	20分	30分	40分	50分	60分	90分	120分	180分
Triglyceride mg/dl											
非挿管対照群 (n=3)	53 ± 53	511 ± 36	450 ± 48	321 ± 11	291 ± 78	277 ± 58	260 ± 119	112 ± 89	70 ± 5	62 ± 31	41 ± 13
挿管対照群 (n=6)	50 ± 26	546 ± 106	437 ± 63	440 ± 107	397 ± 88	329 ± 70	280 ± 64	275 ± 69	186 ± 64	123 ± 71	91 ± 62
アシドーシス群 (n=6)	80 ± 45	533 ± 90	905 ± 88	497 ± 73	511 ± 134	550 ± 207	438 ± 116	424 ± 143	267 ± 154	301 ± 154	237 ± 142
FFA μ Eq/L											
非挿管対照群 (n=3)	184 ± 43	501 ± 48	714 ± 3	722 ± 212	802 ± 144	965 ± 101	1056 ± 118	754 ± 241	554 ± 118	401 ± 65	301 ± 14
挿管対照群 (n=6)	194 ± 58	573 ± 132	694 ± 233	831 ± 432	903 ± 539	1045 ± 406	971 ± 306	879 ± 425	1009 ± 457	829 ± 569	543 ± 281
アシドーシス群 (n=6)	292 ± 121	637 ± 270	864 ± 482	1029 ± 672	1191 ± 813	1299 ± 935	1397 ± 977	1300 ± 953	1241 ± 964	1066 ± 670	697 ± 533
β -hydroxybutyrate μ M											
挿管対照群 (n=6)	78 ± 38	118 ± 83	97 ± 27	127 ± 77	131 ± 98	156 ± 125	135 ± 91	119 ± 110	163 ± 185	146 ± 162	114 ± 96
アシドーシス群 (n=6)	75 ± 32	91 ± 27	97 ± 26	104 ± 34	104 ± 35	118 ± 35	99 ± 40	103 ± 40	98 ± 40	102 ± 36	100 ± 40

• ** 各群における前値と各時点との比較 (*p<0.05 **p<0.01)
 * アシドーシス群と挿管対照群との比較 (*p<0.05)

表 2 静脈内脂肪乳剤投与後の血中Glucose, Lactate 濃度の経時的変化

	前	30分	60分	180分
Glucose mg/dl				
非挿管対照群 (n=3)	119 ± 23	117 ± 20	138 ± 45	133 ± 34
挿管対照群 (n=6)	136 ± 32	162 ± 53	173 ± 69	226 ± 72*
アシドーシス群 (n=6)	190 ± 74	236 ± 110	222 ± 122	181 ± 95
Lactate mg/dl				
非挿管対照群 (n=3)	94 ± 39	91 ± 4	64 ± 24	61 ± 19
挿管対照群 (n=6)	47 ± 15	29 ± 7*	25 ± 9*	52 ± 29
アシドーシス群 (n=6)	72 ± 46	110 ± 37*	125 ± 34*	160 ± 37**

• 各群における前値と各時点との比較 (p<0.05)
 * アシドーシス群と挿管対照群との比較 (p<0.01)

表 3

— アシドーシス家兎におけるリパーゼ活性 —				
		PHLA	liver lipase	LPL
非挿管対照群	(n=5)	13.50±2.69u	6.01±1.80u	7.49±2.03u
アシドーシス群	(n=6)	9.41±3.25u	5.35±2.04u	4.06±2.30u [*]
u = μ Eq FFA formed/hr/ml of serum				
※ アシドーシス群と非挿管対照群との比較 (P<0.05)				

表 4 アシドーシス家兎における肝Palmitoyl CoA synthetase,
Carnitine-Palmitoyl acyltransferase 活性

	Palmitoyl CoA Synthetase	Carnitine-Palmitoyl acyltransferase
非挿管対照群 (n=5)	56.2±10.6 u	0.157±0.049u'
アシドーシス群 (n=6)	53.6±3.6 u	0.123±0.015u'
u = n moles palmitoyl CoA formed/min/mg of protein		
u' = n moles palmitoyl-carnitine formed/min/mg of protein		

論文審査の結果の要旨

近年、未熟児医療の場において糖液を主とした早期輸液療法が広く行われ、好成績が得られている。しかし、10%糖液輸液のみでは十分なるカロリー投与が行い得ず、高濃度の糖液輸液では血漿浸透圧の上昇をきたし、頭蓋内出血誘発の危険性があり、また、糖やアミノ酸による輸液では脂肪酸代謝に影響を及ぼし必須脂肪酸欠乏症を惹起することが注目されている。

教室では高カロリーでリノール酸に富む静注用脂肪乳剤の併用を試み、良好なる成績を得ている。

ところが、acidosisの存在する呼吸障害児に脂肪乳剤を投与すれば hyperlipemia を呈する症例に遭遇する場合があります。脂肪の利用が障害されている可能性が考えられ、申請者は家兎を用いて実験的に acidosis モデルを作成し、脂質代謝の様相について検討を加え acidosis の存在する児に対する脂肪乳剤の臨床応用の可否について検討を行った。

まず、acidosis モデルとしては体重 2000 g 前後の白色家兎を 3 時間の飢餓の後、ネブタールにて麻酔、気管切開にて気管 tube を挿管し、Pancronium bromide を用いて自発呼吸を抑え、small animal ventilation にて人工換気を行い、一方股動脈を切開、カテーテル挿入留置し、動脈血ガ

ス検体採取ルートとした。人工換気回数を増減し、動脈血 pH 7.3 以下に維持調節し、ヒト新生児呼吸障害を呈する児と同様のアシドーシスモデルを作成した。

この様に作成した家兎を用い、10%脂肪乳剤 0.3 g/kg を 1 分かけて静注し、triglyceride, FFA, β -hydroxy-butyrate, glucose, Lactate の経時的变化を観察した。

また、200u/kg のヘパリンを静注し Kraus らの方法に準じて Post heparin lipolytic activity (PHLA) 及び Lipo-Protein lipase (LPL) 活性を測定した。

更に、 β 酸化に関与する肝 Palmitoyl CoA synthetase, 肝 carnitine palmitoyl acyltransferase 活性について肝組織を材料として測定を行った。

研究結果

- 1) 静注用脂肪乳剤 0.3 g/kg の投与後における triglyceride の半減期をみれば acidosis 群では 136.1 ± 31.8 min, 対照群では 55.5 ± 13.1 min, と明らかに acidosis 群は有意に延長しているのがみられ, FFA, β -hydroxy butyrate, glucose, Lactate の変化においてもいずれも対照群に比し高値を示し, 嫌気性解糖系亢進の状態がみられた。
- 2) この様に acidosis 群では, 脂肪利用能の障害が認められたので PHLA, LPL, 活性について検討したところ, 対照群に比し低値を示し, とくに LPL 活性は対照群の約 60 % と有意に低値を示した。また, β 酸化に関する肝 Palmitoyl CoA synthetase, 肝 Carnitine Palmitoyl acyltransferase については両群間にとくに差異がみられず acidosis 群における脂肪利用能の低下は triglyceride 代謝の第 1 ステップである LPL 活性の低下によることが確認された。

以上の如く, 本研究は呼吸障害を伴い, acidosis を呈する新生児への静注用脂肪乳剤の臨床応用に際し一つの警告を提起したものであり, 価値ある業績と認める。

よって本研究者は医学博士の学位を得る資格があると認め合格と判定した。