



Title	TPNの消化器に対する侵襲とグルタミンの効果について
Author(s)	大川, 由美
Description	ランニング・タイトル: 幼若ラットに対するTPNの影響
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	乙第4819号
Issue Date	1995-09-29
DOI	https://doi.org/10.11501/3083784
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/51287
Type	doctoral thesis
File Information	000000291401.pdf



①

原 著

題 名 : T P N の 消 化 器 に 対 す る 侵 襲 と
 グ ル タ ミ ン の 効 果 に つ い て

ラ ン ニ ン グ ・ タ イ ト ル :
 幼 若 ラ ッ ト に 対 す る T P N の 影 響

著 者 : 大 川 由 美

所 属 : 北 海 道 大 学 第 一 外 科
 (主 任 : 内 野 純 一 教 授)

key words : parenteral nutrition,
 glutamin, immature rats,
 bacterial translocation

①

原 著

題 名 : T P N の 消 化 器 に 対 す る 侵 襲 と
 グ ル タ ミ ン の 効 果 に つ い て

ラ ン ニ ン グ ・ タ イ ト ル :
 幼 若 ラ ッ ト に 対 す る T P N の 影 響

著 者 : 大 川 由 美

所 属 : 北 海 道 大 学 第 一 外 科
 (主 任 : 内 野 純 一 教 授)

key words : parenteral nutrition,
 glutamin, immature rats,
 bacterial translocation

はじめに

経静脈的栄養投与法 (Total parenteral nutrition : 以下 T P N) は小児術前後の経口摂取不能時の栄養管理に不可欠であり、小児消化器外科の発展に大きく寄与してきた。しかし、T P N は腸を経由しない非生理的栄養投与法であるため、長期継続すると肝機能障害、胆汁うっ滞、脂肪肝、糖代謝異常、敗血症等が発生することが知られている^{1) 2)}。

また近年 T P N が小腸粘膜の bacterial translocation を促進することが報告されている³⁾。特に小児で肝機能、免疫機能が未熟であり、これらの障害が成人より出現しやすいと考えられる。しかし幼若ラットで T P N による bacterial translocation について検討した研究はない。

著者は幼若ラットの T P N 群、経口栄養群で肝組織、小腸の bacterial translocation 等を比較、さらに蛋白代謝を改善し bacterial

translocationを抑制するとされる^{4, 5}グルタミンを加えた群を作成し、実験的に検討した。

研究と方法

1. 実験方法

生後4週目、体重65g前後のWistar系雄性ラット（北海道大学医学部動物センター産）を実験に用いた。エーテル吸入麻酔下に右外頸静脈よりTPN用シリコンカテーテル（静注用デイスボシーベルキット，DS-10^R，バイオリサーチセンター）を挿入し，先端を上大静脈に留置した。他端は皮下を通して，背部両肩甲骨中央部より出し，チューブの肉厚シリコン部を皮膚に固定，保護スプリングワイヤー内を通し，シーベルキットに接続した。ラットは代謝ケージ（KN-646（b），夏目制作所）内に収容し，シーベルを持続注入ポンプと接続した。実験群は下記のごとく4群とした。静脈栄養群は犠牲死まで絶食，飲水はad libitum，対照群は自由経口摂取と

した。カテーター留置後3, 5, 7日にエーテル吸入麻酔下に開腹, 大動脈より採血して失血死させた。

血液は3500回転で15分間遠沈し, 血漿として分離した。アルコール消毒したピンセット, 眼科用鉗にて上腸間膜リンパ節を摘出し, 重量測定後培養液内で保存した。肝臓を摘出し, 左臓側葉を切離しホルマリン固定とした。他の肝臓は冷生理食塩水にて門脈, 肝静脈より灌流後, 液体窒素にて凍結した。空腸はトライツ靱帯より肛門側に4 cmから6 cm間を切離しホルマリン固定とした。さらに8 cmから18 cm間を切離, 冷生理食塩水で洗浄後カバーグラスで腸粘膜を剥離し, 湿重量を測定後, 0.1 gあたり1 mlの生理食塩水で懸濁し, 蛋白量測定に供した。培養検体の他はいずれの検体も測定まで-80℃で保存した。

2. 輸液組成

T P N 輸液は non protein calory の 2 / 3

を糖（トリパレン 2 号^R、大塚製薬）、1 / 3
を脂肪乳剤（20 %イントラリピッド^R、大塚
製薬）により投与した。アミノ酸は標準アミ
ノ酸輸液（アミパレン^R、大塚製薬）を用いた。
栄養法により下記の 4 群に分類し、コントロ
ール群（以下 C 群）の他はいずれも絶食下で
行った（Tab. 1）。 ⇐ Tab. 1

C 群（コントロール群）：経口摂取群

P 群（経静脈栄養群）：経静脈的栄養のみ
投与

G 群（グルタミン添加群）：経静脈的栄養
（グルタミン強化）のみ投与

E 群（蛋白強化群）：経静脈的栄養（アミ
ノ酸強化）のみ投与

経静脈栄養群（以下 P 群）は標準アミノ酸
を 11.5 g / kg / day で投与、グルタミン添加
群（以下 G 群）は、17.5 g / l のアラニルグ
ルタミン液（大塚製薬）を加えて全窒素量の
30 %がグルタミンで投与されるよう調整した。

蛋白強化群（以下E群）はアミノ酸を20.3 g/kg/dayまで増やし、G群とほぼ等しい窒素量とした。

TPN投与量はカテーテル挿入当日は以下の輸液を130 cal/kg/day、翌日は270 cal/kg/day、3日以降はfull caloryで投与した。投与カロリーは1 cal/mlとした。

C群も同様にカテーテル留置後、等張性複合電解質輸液剤（ラクテックG^R、大塚製薬）0.3 ml/hrで輸液を行なった。

なお、各群いずれも5匹とした。

3. 検査項目

1) 血液生化学的検査

大動脈より採血した血液で総蛋白（TP）、アルブミン（Alb）、総ビリルビン（TB）、GOT、GPT、 γ GTP、ALP、総コレステロール（TC）、CRPをした。TPはBiuret法⁶⁾、AlbはBCG法⁷⁾、TBはアルカリアゾビリルビン法⁸⁾、GOT、GPTはUV法（JSCC準拠）⁹⁾、 γ GTPはL- γ -グルタミル-3-カルボキシ-4-ニ

トロアニリド基質法 (IFCC準拠)¹⁰⁾, ALPは
PMP基質法 (SSCC準拠)¹¹⁾, TCは酵素法¹²⁾,
CRPはネフェロメトリー¹³⁾で測定した。

2) リンパ節中大腸菌数の測定

摘出した上腸間膜リンパ節を緩衝液 (pH
7.2リン酸緩衝液粉末を生理食塩水 1 l で溶解)
で希釈後、ブレインハートインフュージョン
寒天培地で混釈, 37℃ 24時間培養した。
発育したコロニー数に希釈倍数を乗じ, 菌数
とした。菌種同定には血液寒天及びDHL寒
天培地を用い, 37℃ 24時間培養後, オキ
シダーゼテスト, エンテオグラム^R (テルモ)
で大腸菌を同定した。単位は, 100mgあたりの
リンパ節培養より得られた大腸菌 colony
forming unit (以下CFU) の対数とした。

3) 肝組織中グルタチオンの測定

灌流後の肝組織より100mg採取し,
1. 5 mlの冷リン酸緩衝液を入れ, ホモジナ
イズした。このうち100μlを肝蛋白定量
(Bradfordら¹⁵⁾に準ずる) 用に分けた後, 除

蛋白し、4000回転、20分間遠沈、上清を1ml採取した。この上清からAndersonら¹⁶⁾の方法に準じ、グルタチオン定量用キット(GSH-400^R, Bioxytech S.A., France)を用い、400nmで測定(U-1100 Spectrophotometer, Hitachi)、標準線より濃度を求め、g肝蛋白当たりの肝グルタチオン量を、nmole/mg·proteinの単位で表した。

4) 小腸粘膜内蛋白定量

粘膜内蛋白定量はLowry法¹⁴⁾に準じて、測定した(大塚製薬工場、栄養研究所)。剥離後生理食塩水を加えた小腸粘膜をホモジナイズし、2%Na₂CO₃ in 0.1N NaOHと1%CuSO₄·5H₂O、2%Sodium potassium tartrate(1:1)を50:1で混合した試薬と混ぜた。10分間室温静置、2倍希釈したFolin試薬と混合し、30分間静置後吸光光度計(Spectronic genesys, Milton Roy)を用いて750nmで測定し、標準線より濃度を求めた。

5) 組織学的検査

肝より組織を採取しホルマリン固定した後
パラフィンブロックを作成, Haematoxylin-E
osin染色をおこない, 光学顕微鏡を用い観察
した. 小腸はトライツ靱帯より肛門側に4 cm
から6 cm間を切離しホルマリン固定とした.
パラフィンブロック作成後, 長軸方向1/3
と2/3の部で短軸方向に各1枚ずつのスラ
イスを作成しHaematoxylin-Eosin染色を行な
った. 光学顕微鏡の40倍率で観察し, 各ブ
レパレートから粘膜構造をよく保っている部
位を合計3カ所選び, 粘膜の厚さ, 絨毛の高
さを測定し平均値を求めた.

6) 統計学的検討

実験結果は平均値±標準偏差 (Mean±SD)
で表した, 統計学的検定には, Fischer ver.
1.2で多群間検定にKruskal-Wallis検定, 2群
間に対応のないWilcoxon検定を用い, 危険率
(p) < 0.05を有意とした.

III 結果

1. 血液生化学的所見

血清総ビリルビン値は、E群が他群より高い傾向を示し、3, 5, 7日ともC群より有意に高値であった ($p < 0.01$)。GOT, GPT, ALPは3, 5, 7日ともに、C群が他群より有意に高値であった ($p < 0.05$)。γ-GTPでは5日にP群が他3群より高く、有意差を認めた ($p < 0.05$)。また、3, 5日ともG群は他3群より有意に低値であった ($p < 0.05$) (Tab. 2)。

総蛋白、アルブミンは各群間、各日間に差を認めなかった。総コレステロールはC群は3, 5, 7日とも70mg/dl台であったが、P, G, E群では7日に約90mg/dl台に上昇した。とくにP群は7日にC群と ($p < 0.01$)、E群は5日にC群と比べ、有意に高値を呈した ($p < 0.05$)。

CRPはC群で5, 7日とも検出域下であった。P, G, E群では80~260ng/mlと高値であったが、特にE群では7日に261±81ng/

mlの高値を示した。3, 5, 7日ともP, E群は有意にG群より高値であった ($p < 0.05$)。

2. リンパ節中大腸菌数

大腸菌数はC群で3, 5, 7日ともに $2.12 \sim 2.31$ であり、殆ど変化を認めなかったが、P群で5日に 4.77 ± 1.87 と高値を示した。G, E群で7日にそれぞれ 3.31 ± 0.65 , 3.56 ± 0.89 であり、各群の中で高値を示した (Fig. 1)。

5日の細菌数はP群が他の3群より有意に多く、C群はもっとも低値を示した ($p < 0.05$)。G群は3, 7日にE群より低く、7日にC群より高い傾向を示した。

3. 肝グルタチオン値

C群のグルタチオン値は0日で 25.5 ± 5.6 nmole/mg proteinであり3日で 17 ± 5.9 とやや低下したが、7日では 24.9 ± 8.1 に回復し0日とほぼ同値となった (Fig. 2)。P群で3, 5, 7日と漸減、E群も5, 7日には3日の値より低下した。対してG群では3日より5日に 29.4 ± 15.9 と上昇し、3, 5日に全群の中で

の最高値を示した。P, G, E群は7日で各々 12.4 ± 3.3 , 18.9 ± 4.4 , 15.6 ± 3.3 と3, 5日目より低い値であったが, G群はP, E群より有意に高値であった ($p < 0.05$)。

4. 小腸粘膜湿重量

3日の10cm当りの粘膜湿重量 (mg/body weight gram) は, C群 3.32 ± 0.92 , G群 3.22 ± 0.66 , P群 2.12 ± 0.16 , E群 2.08 ± 0.4 であり, C, G群はP, E群より有意に高値であった ($p < 0.05$)。7日でもC群 3.54 ± 0.26 , G群 2.17 ± 0.42 , P群 2.03 ± 0.85 , E群 1.42 ± 0.55 とG群はP, E群より有意に高値であった ($p < 0.005$) (Fig. 3)。

5. 小腸粘膜の蛋白質量

小腸粘膜の蛋白質量 (mg/cm) において, 全期間, C群がP, G, E群のほぼ倍に相当する高値を示した (Fig. 4)。またC群の値が成長につれて漸増するのに対し, P, E群は漸減していた。G群は3日から5日にやや増加, 7日にかけて横ばいであった。3日にC群が

2.66 ± 0.83, P 群 1.43 ± 0.13, G 群 1.53 ± 0.6, E 群 1.69 ± 0.31 と E 群が G 群よりやや高値を示したが 5 日に P 群 1.26 ± 0.77, G 群 1.55 ± 0.25, E 群 1.22 ± 0.17, 7 日に P 群 1.28 ± 0.77, G 1.63 群 ± 0.16, E 群 1.14 ± 0.16 と, 共にこの 3 群の中では G 群が有意に高値を示した ($p < 0.05$).

6. 組織学的検査

各群 7 日の空腸粘膜の光顕像では, P, E 群で C 群に比し小腸粘膜の厚さ, 絨毛の高さ, 幅が著明に低下しており, とくに P 群により顕著であった. G 群は C 群と比較すれば絨毛の幅の低下をみとめるが小腸粘膜の萎縮は P, E 群よりも軽度であった (Fig. 5).

計測で小腸粘膜の厚さ (μm) は, P, G, E 群とも T P N 期間が長くなるに従い, 低下した. 5 日で C 群 594 ± 146, P 群 356 ± 90, G 群 446 ± 130, E 群 326 ± 30, 7 日で C 群 720 ± 90, P 群 316 ± 46, G 群 412 ± 150, E 群 264 ± 56 とともに C, G 群が P, E 群より有意に高

値であった ($p < 0.05$, $p < 0.01$).

絨毛の高さ (μm) では5日でP群が 200 ± 48 と4群中最も低値 ($p < 0.01$) であり, 7日でE群が 188 ± 42 と4群中最も低値を示した ($p < 0.05$) (Tab. 3).

Tab. 3

肝組織像では, 胆汁栓など胆汁うっ滞はどの検体にも認められなかった. しかしP群7日で肝静脈周囲に軽度の脂肪沈着を伴う症例 (Fig. 6 A), 血管内に好中球, リンパ球など炎症細胞を伴う症例を認めた (Fig. 6 B).

Fig 6

考 察

完全静脈栄養法 (Total parenteral nutrition : T P N) はDudrickら¹⁷⁾により, 1968年に開発され, 経口摂取不可能な患者の栄養管理, 及び全身状態改善に多大な貢献をしてきた¹⁸⁾. しかし, 近年, T P N施行時における肝機能障害, 胆汁うっ滞, 脂肪肝, 糖代謝異常, などの合併症があり, その対策が検討されてきた^{1) 2)}. これらの合併症は,

T P N が腸管を介さない非生理的栄養投与方法であることが原因であり、腸管運動の抑制、腸液、膵液分泌および胆汁排出の障害、さらに消化管ホルモン、侵襲ホルモン等の分泌異常¹⁹⁾等に起因する。その中でもT P Nが腸管のbacterial translocationを促進する³⁾ことが注目を集めている。bacterial translocationは原因不明の敗血症や多臓器不全の原因の一つと考えられており、1) 腸管のintegrityの低下、2) 宿主の局所(腸管)や全身のimmunityの低下、3) 腸管内細菌の増殖、などが主要因とされる^{20) - 24)}。

経口摂取不能な小児の外科的管理でT P Nは不可欠であるが、成長途上の状態にあることから成人よりも胆汁うっ滞や脂肪肝、肝ミトコンドリア機能低下等の合併症が重要視されている^{25) - 28)}。また、動物モデルにおける腸管の萎縮やbacterial translocationは、成熟個体よりも幼若個体でより促進するとの報告^{29) - 31)}があり、小児では成人よりこれらの

病態が起こりやすいと考えられる。

以上から、小児における T P N の消化器合併症は成人より重篤になる傾向があると思われる。そこで著者は生後 4 週目幼若ラットの T P N モデルを作成し、腸管、肝の病態を検討、さらに腸管の主栄養源であるグルタミン^{2,3)}を添加して、非添加群と比較した。

bacterial translocation の評価方法の一つである上腸間膜リンパ節培養の E.coli 数は T P N 開始後 3, 7 日の C 群で他の経静脈栄養群より低い傾向があり、5 日で P 群, G 群, E 群より有意に低下していた ($p < 0.05$)。

著者と同様に、7 日間の T P N で成熟ラットの消化管への影響を検討した報告は検索し得る限りでは認められなかったが、Alverdy³⁾は成熟ラット (Fischer) で 2 週間の T P N を施行し、上腸間膜リンパ節培養の陽性率が経口群が 0 % に対し T P N 群が 66 % と有意に上昇した ($p < 0.01$) と報告している。著者の実験では培養結果を細菌数で表しているが、

Alverdyらの表記方法で表すと7日でC群が0%, P群が60%, G群が60%, E群が60%となる。7日目ですでに6割のTPN群で培養陽性となっており, 成熟ラットに比しbacterial translocationが亢進しやすい傾向にある可能性が示唆された。

熱傷、担癌、抗腫瘍剤投与モデルでbacterial translocationが促進される報告は多いが, 幼若ラットでは, TPNのみで7日目にはbacterial translocationが亢進することが証明された。

bacterial translocationの主な原因の一つと考えられている小腸のintegrityの低下に関し、今回の実験で空腸粘膜湿重量は3, 7日でC群が4群中で有意に最も高く, 粘膜の蛋白質量, 絨毛の高さでは3, 5, 7日で, 粘膜の厚さでは5, 7日でC群が4群中で有意に最も高い値を呈した。

Platellら³²⁾は成熟ラット(Wistar)に6日間TPNを施行し小腸粘膜につき検討を加

え、T P N 群が経口群と比較すると粘膜重量は71%、粘膜中蛋白質量は90%、絨毛の高さは93%に低下すると報告した。また Inoueら³⁴⁾は成熟ラット (Fischer) に7日間 T P N を施行後3日間の腹膜炎モデルを作成し、腸粘膜につき検討した。彼らの報告では粘膜重量は経口群と比べ71%、粘膜中窒素量は61%、粘膜の厚さは78%、絨毛の高さは71%の低下であった。

著者の実験では、7日目でP群はC群に比べ粘膜重量は57%、粘膜中蛋白質量は39%、粘膜の厚さは56%、絨毛の高さは58%と著しい低下を認めた。

成熟ラットの T P N モデルと比較すると、本実験の幼若ラットの小腸粘膜は粘膜重量、粘膜中蛋白質量、粘膜の厚さ、絨毛の高さのすべてにおいて低下が著明であった。成熟ラットに侵襲を加えたモデルよりも、本実験の幼若ラットの粘膜の萎縮は強く、T P N が幼若ラットの小腸に与える影響は、成熟ラットで

の感染等の侵襲以上に大きいことが推察された。

本実験ではさらにグルタミンが T P N 施行下の幼若ラット消化管に与える影響についても検討した。グルタミンは非必須アミノ酸の一つであるが、小腸の structural integrity の維持に有効とされている^{32) - 38)}。これはグルタミンが腸上皮細胞の主なエネルギー源である^{39) 40)}ことによると考えられる。Higashiguchi ら⁴¹⁾は培養腸上皮細胞で細胞の蛋白合成を亢進する働きがあると報告している。また授乳期仔豚の腸上皮細胞では成熟モデルより、グルタミン酸化が亢進していた⁴²⁾とされ、幼若モデルの腸ではグルタミン消費が亢進している可能性がある。

今回の実験で空腸粘膜湿重量は 3, 7 日で G 群が P, E 群より有意に増加していた。また粘膜蛋白量、粘膜の厚さは 5, 7 日で G 群が P, E 群より有意に増化、絨毛の高さは 3, 5, 7 日で G 群が P, E 群より有意に増加し

ていた。E, G 群は同じアミノ酸量を投与されているが、G 群では E, P 群より小腸粘膜構造がよく保たれ、萎縮が抑制されているといえる。

上腸間膜リンパ節培養は、アミノ酸投与量が同じ G, E 群で 5 日目までは C 群とほぼ同じ細菌数であったが、7 日には P 群より低いものの C 群より高い傾向を呈している。グルタミン添加あるいは蛋白強化により P 群より bacterial translocation が抑制されるが、C 群より細菌数が多い状態と考えられる。7 日の細菌数で E 群は G 群よりやや高い傾向を示したが有意差はなかった。

血液生化学的検査の CRP では、7 日で 4 群中 C 群が有意に最も低く E 群が最も高い値を示した。P, E 群では 3 日で 200 ng/ml 台、G 群で 144 と 5 日よりも CRP が上昇していた。リンパ節培養中細菌数が P 群で 5 日に最も上昇したことと矛盾するようにも思われる。しかし急性相蛋白の一種である CRP がカテ-

テル挿入， T P N 開始にともない上昇し 5 日にその侵襲による影響が若干弱くなったため、低下したとするのが妥当であろう。 7 日には P, G, E 群とも C R P が再上昇しており、 bacterial translocation 亢進によると考えられる。 P, E 群間の比較で 5, 7 日で有意に E 群が P 群より 1.7 ~ 2 倍の差をもって高値であった。リンパ節中細菌数は P 群でより増加していたことから考えるとこの 2 群間の差を炎症の程度の差とするには矛盾がある。 P, E 群間の条件の違いは蛋白投与量であり、これが C R P の差になんらかの影響を与えたと推察された。幼若モデルにおいて蛋白投与量の違いによる C R P への影響を検討した報告は、残念ながら認め得なかった。

蛋白投与量が同じである G, E 群間では 3, 5, 7 日で有意に G 群で C R P が低下しており、これよりグルタミンが bacterial translocation の抑制、免疫機能の賦活により炎症の程度を E 群よりも低下させたと推察された。

またグルタミンには、腸粘膜の栄養源の他に免疫機能を亢進する働きがある⁴³⁾⁴⁴⁾とされている。Sallehら⁴⁵⁾はグルタミン欠如により培養リンパ球のDNA合成が低下したと報告している。これはグルタミンがリンパ球、マクロファージ、クッパー細胞等のエネルギー源であることによる⁴⁶⁾⁴⁷⁾。また、Burkeら⁴⁸⁾は、ラットT P Nのグルタミン補充群でIgAの胆汁内分泌が経口群と同様に維持されたと報告している。G群ではこれらの免疫細胞が活性化されて、腸粘膜を通過した細菌やエンドトキシンを補足し不活化した可能性が示唆される。

G群ではグルタミンによる腸粘膜構造の保持、免疫機能の賦活によりP群よりもbacterial translocationが抑制されたのに対し、蛋白強化されたE群は蛋白代謝の改善から免疫機能等が保たれ、bacterial translocationが抑制傾向にあると考えられる。しかしCRPの値ではG群の炎症の程度はE群より

低く、G群でよりTPNによるbacterial translocationが抑制されていると思われた。リンパ節培養に加えて、bacterial translocationの指標の一つである門脈血中エンドトキシン等が測定できればE、G群間の差がより明らかにされたと思われるが、幼若ラットの採血量は2ml弱であり残念ながら本実験では検討不能であった。

通常の高カロリー輸液にはグルタミンは含まれていないが、筋蛋白からアラニンと共に放出されて小腸に供給されるためグルタミンの不足をきたすことはないといわれている。しかし今回の検討ではP、G、E群とも3日から粘膜重量、粘膜中蛋白、絨毛の高さがC群より有意に低下し、小腸粘膜の萎縮をきたしていた。この状態では小腸粘膜修復のために経口摂取時より多くのグルタミンを要すると考えられる。本実験では幼若ラットの血液量が少ないため血中グルタミン濃度測定が不可能であり、体内グルタミン量を検討するために

肝グルタチオンを測定した。腸管はグルタミ
ンを消費するのみであるが、肝では合成、分
解ともに行なわれる。しかしグルタミンの不
足に際してはおもに筋肉が崩壊して血中グル
タミン濃度の維持を行うため、肝グルタチオ
ンの低下は何らかの侵襲によりラジカルスカ
ベンジャーとしてのグルタチオンの消費が亢
進したか、あるいは血中グルタミン濃度が低
下し肝へのグルタミン供給が不足したためと
考えられる。C群の3、5日で0日と比し肝
グルタチオンが低下したのは、C群で小腸粘
膜の萎縮が認められないことから考えると血
中グルタミン濃度の低化によるとは考えにく
く、カニユーレ挿入やエーテル麻酔等の侵襲
により一時的に低下したと考えられる。C群
7日の肝グルタチオンでは0日と同程度に回
復しているが、一方3、5日と4群中最高値
であったG群は7日で低下している。G群の
小腸粘膜の重量、粘膜の厚さ、絨毛の高さは
ともに3、5、7日とTPN期間の延長に伴

い低下しており、T P N 下での腸粘膜の萎縮により小腸のグルタミン需要が増加し血中グルタミンが小腸へ優先的に供給され、やがて肝内グルタチオンが低下すると考えられる。このためグルタミン添加供給のあるG群でも、7日になるとグルタミン消費が供給を上回る事が推測される。成人より腸管機能、免疫機能、筋肉の発達が未熟な小児のT P N ではグルタミン需要が多いと考えられ、早期からのグルタミン添加が小腸粘膜萎縮防止及び bacterial translocation抑制に必須と思われる。

T P N による小腸粘膜萎縮や bacterial translocation亢進の他の合併症として、とくに小児で脂肪肝、胆汁うっ滞をきたしやすいことは早くから指摘されている²⁴⁾。本実験では5日E群、7日P群の血中総コレステロール値がそれぞれC群と比較し有意に上昇していた。G群は3、5、7日ともC群と有意差はなかった。幼若ラットでは体重あたりの必

要カロリーが成熟ラットより多いことから糖の投与が多く行なわれ、また肝機能の未熟性から肝での糖処理能力に限界があり、糖が酸化されずに脂肪合成に傾きやすいと考えられる。P、E群ではC群より有意に総コレステロール値の上昇があり、TPNによる糖代謝の低下を示唆した。グルタミンは肝の脂肪化を抑制するとされ⁴⁹⁾この点からG群ではP、E群より有効な糖代謝による脂肪肝の抑制が期待されたが、本実験での総コレステロール値からはその効果は判断できなかった。

小児TPNでの胆汁うっ滞について秦ら⁵⁰⁾が輸液組成との関連を検討しているが、短期間のin vivoでの証明は難しい。本実験ではどの群にも肝組織における胆汁うっ滞は認められなかった。しかし血液生化学的検査で5日のP群でC群に比しγ-GTPが高い傾向があり、胆汁うっ滞の傾向を示唆した。

小児の胆汁うっ滞は肝機能の未熟性が関与しその傾向がより強くなることは推測される。

グルタミンは T P N ラットで胆石の形成を予防したとされ⁵¹⁾、グルタミン投与による、小児 T P N 症例の胆汁うっ滞の予防が期待される。

グルタミン輸液に際しては、いくつかの副作用の可能性が考えられる。グルタミンは製剤的に不安定であるため、アラニル・グルタミンやグリシル・グルタミンなどのペプチド輸液で投与が行なわれている。アラニンは非必須アミノ酸の一つであり、pantoic acid とのアミドで pantothenic acid (ビタミン B 6) となるが毒性は知られていない。アラニンは糖新生能が高いが、笠原ら⁵²⁾は肝切除後にアラニン投与によりエネルギー産生が促進したと報告している。本実験では血糖測定は行なっていないが、P、E 群と比較し、利尿等の糖代謝異常を示唆する所見は認めなかった。

本実験の輸液組成ではアミノ酸が P 群で 2.9 %、E 群で 5 %、G 群では総アミノ酸の約 3 分の 1 をグルタミンで投与した。幼若ラッ

トモデルでは Katayama²⁷⁾はアミノ酸 3. 2 %を標準輸液としている。幼若ラットでグルタミン添加及び蛋白強化の実験は検索の限りではなく、成熟ラットモデルの輸液を参考とし、輸液組成を行なった。Inoue³⁵⁾はアミノ酸 4. 3 %, Plate³²⁾は 4 %で投与、ともにグルタミン添加群では総アミノ酸の 3 分の 1 をグルタミンとして輸液を行なっている。幼若ラットでグルタミン添加の実験は検索の限りでは認められず、これらの成熟ラットモデルの輸液を参考とし輸液組成を行なった。グルタミンの投与はとくに肝、腎機能が低下し窒素の代謝低下がある場合には問題となりやすく、また小児では血液脳関門の機能が未熟なことから成人より脳神経障害がおこりやすいと考えられる。本実験では脳障害を示唆する所見は認められなかったが、侵襲を加え肝、腎機能が低下したモデルでは血中アンモニア等を測定しながらアミノ酸及びグルタミンの至適投与量を検討する必要があると

考えられる。

グルタミンは蛋白動態、免疫機能を改善することから、肝切除時の肝再生促進⁵³⁾、肝機能不全⁵⁴⁾や化学療法時の蛋白代謝の改善⁵⁵⁾、腫瘍増大の抑制⁵⁶⁾⁵⁷⁾に有効であるとの報告がある。幼若モデルではこれらの効果がより出現しやすいと期待される。今後は感染症、化学療法、外科的侵襲等を加えた bacterial translocation等の T P N 合併症が起こり易い幼若モデルで、グルタミン投与の有効性をさらに検討する必要があると考えられた。

V 結 論

幼若ラットを用いて、T P N が小腸に与える影響について、またグルタミン添加が T P N 合併症に与える効果について検討し、以下の結論を得た。

1. 血清総ビリルビンは E 群で C 群より有意に高値であった。γ-GTP は 5 日に P 群が他の 3 群より有意に高く、G 群は 5 日に他

3 群より有意に低値であった。総コレステロールは P, G, E 群とも 7 日に最も上昇し、特に 7 日 P 群、5 日 E 群は C 群と比べ有意に高値であった。

C R P は 3, 5, 7 日で C 群が有意に最も低く、E 群は有意に最も高い値を示した。

2. 上腸間膜リンパ節培養による細菌数の比較では P 群 5 日は他の 3 群より有意に高く、C 群は最も低値であった。G 群は 7 日で P, E 群より低い傾向を示した。

3. 肝グルタチオン定量で C 群は 7 日に回復し 0 日とほぼ同じ値を呈したが、P 群は 3, 5, 7 日と漸減、E 群は 5, 7 日で 3 日より低下した。G 群は 3 日より 5 日で上昇し、3 日で E 群より有意に高値、7 日で P, E 群より有意に高値であった。

4. 小腸粘膜湿重量は 3 日で C, G 群が P, E 群より有意に高値であった。7 日で G 群は P, E 群より有意に高い値を示した。

5. 小腸粘膜の蛋白質量は 3, 5, 7 日で

C 群が P, G, E 群のほぼ倍に相当する高い値を呈した。C 群が漸増するのに対し P, E 群は漸減していた。G 群は 5 日, 7 日で P, E 群より有意に高い値を示した。

6. 組織学的検査上, 小腸粘膜の厚さは C 群は 5, 7 日で有意に最も高く, E 群で最も低値, G 群は P, E 群より有意に高値であった。絨毛の高さは 3, 5, 7 日で C 群で有意に最も高く, G 群は P, E 群より有意に高値であった。

以上より, 幼若ラットの T P N が 7 日以内から小腸粘膜萎縮を惹起していることが明らかにされた。成熟ラットに比し早い時期から小腸の structural integrity の低下, bacterial translocation の亢進が進行していると思われる。小腸の栄養源であり免疫機能を亢進するとされるグルタミンを添加することにより, 小腸粘膜の萎縮をある程度防ぐことはできるが, 7 日には肝グルタチオンの低下傾向がありグルタミン不足が推測された。幼若

ラットにおいては、T P N 早期からのグルタミン添加、肝、腎機能を考慮しながらのグルタミン投与の検討が必要と考えられた。

グルタミンは熱傷、感染、担癌により消費亢進するとされており、今後は外科的侵襲を加えた系にても検討する必要があると思われる。

VI 謝 辞

稿を終えるにあたり、御校閲、御指導を賜りました内野純一教授に深謝の意を表します。また終始御指導を頂きました佐々木文章講師、秦温信釧路労災病院副院長、肝グルタチオンの測定に御指導頂きました石橋輝雄教授、小腸蛋白定量に御協力頂きました大塚製薬工場栄養研究所の作道忠義様、培養検査に御指導頂きました札幌明和病院検査科科長の窪田憲也様に感謝いたします。また本研究に御協力頂いた教室の諸先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) George F, Scott RP, Richard S (1978) :
Hepatic dysfunction during hyperalimentation. Arch Surg 113 : 504-508.
- 2) Doty JE, Pitt HA, Fink VP,
Kuchenbecker S, DenBesten L (1982) : The
pathophysiology of gall bladder disease
induced by total parenteral nutrition.
Gastroenterology 82 : 1046.
- 3) Alverdy JC, Aoye E, Moss GS (1988) :
Total parenteral nutrition promotes
bacterial translocation from the gut.
Surgery 104 : 185-190.
- 4) Souba WW, Klimberg VS, Hautamaki RD
(1990) : Oral glutamine reduces bacterial
translocation following abdominal
radiation. J Surg Res 48 : 1-5.
- 5) 木下 学, 吉村 一 克, 望月 英 隆 (1991) :
T P N 施 行 時 の グ ル タ ミ ン 補 充 に 関 す る 実 験
的, 臨 床 的 検 討. 外 科 と 代 謝 ・ 栄 養 25 : 190-

197.

6) Gornall AG, Bardawill CJ, David MM
(1948): Determination of serum proteins
by means of the biuret reaction. J Biol
Chem 177: 751-766.

7) 北村元仕 (1974): アルブミンおよびア
ルブミン-グロブリン比. 実験臨床化学, 北
村元仕編, 医師薬出版, 東京, 213-223頁.

8) Jendrassik L, Cleghorn RA (1936):
Photometrische Bilirubinebestimmung. Bio-
chemische Zeitschrift Band 289: 1-14.

9) 日本臨床化学会 (1989): ヒト血清中酵素
活性測定の勧告法-アスパラギン酸トランス
フェラーゼ. 臨床化学 18: 226-262.

10) Shaw LM, Strømme JH, London JL,
Theodorsen L (1983): IFCC methods for the
measurement of catalytic concentration
of enzymes. J Clin Chem Clin Biochem 21:
633-646.

11) The Committee on enzymes of the

Scandinavian Society for Clinical
Chemistry and Clinical Physiology (1974) :
Recommended methods for the determina-
tion of four enzymes in blood. J Clin
Lab Invest 33 : 291-306.

1 2) Richmond W (1973) : Preparation and
properties of cholesterol oxidase from
Nocardia sp. and its application to the
enzymatic assay of total cholesterol in
serum. Clin Chem 19 : 1350-1356.

1 3) 沢井政信、右田俊介 (1982) : ラテック
ス凝集反応の初速度による免疫定量法と応用.
検査と技術 10 : 555-559.

1 4) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL,
Randall RJ (1951) : Protein measurement
with the Folin phenol reagent. J Biol
Chem 193 : 265-275.

1 5) Bradford MM (1976) : A rapid and
sensitive method for the quantitation of
microgram quantities of protein utiliz-

ing the principle of protein-dye binding.

Analyt Biochem 72 : 248-254.

16) Anderson ME (1989) : Enzymatic and chemical methods for the determination of glutathione. In Glutathione: chemical, biochemical and medical aspects, Vol A, Dolphin D, Poulso R and AVRAMOVIC O Ed., John WILEY and Sons. pp339-365.

17) Dudrick SJ, Wilmore DW, Vars HM, Rhoads JE (1968) : Long-term total parenteral nutrition with growth, development, and positive nitrogen balance. Surg 64 : 134-142.

18) Chuang JH, Shieh CS, Chang NK, Chen WJ, Lin JN (1993) : Role of parenteral nutrition in preventing malnutrition and decreasing bacterial translocation to liver in obstructive jaundice. World J Surg 17 : 580-586.

19) 田平洋一, 大熊利忠, 岡村健二, 堀地

義 広, 宮 内 好 正 : 栄 養 投 与 経 路 の 相 違 に よ る
侵 襲 下 蛋 白 代 謝 に 及 ぼ す 影 響 に つ い て. 外 科
と 代 謝 ・ 栄 養 22 : 306-313.

20) 福 島 亮 治, 斉 藤 英 昭, 武 藤 徹 一 郎 (1994) : バ ク テ リ ア ル ト ラ ン ス ロ ケ ー シ ョ ン.
外 科 治 療 71 : 328-335.

21) Tanaka S, Miura S, Tashiro H, Serizawa Y, Hamada Y, Yoshioka M, Tsuchiya M (1991) : Morphological alteration of gut-associated lymphoid tissue after long-term total parenteral nutrition in rats. Cell Tissue Res 266 : 29-36.

22) Alverdi J, Chi HS, Sheldon GF (1985) : The effect of parenteral nutrition on gastrointestinal immunity. Ann Surg 202 : 681-684.

23) 望 月 英 隆, 山 本 哲 久, 牛 谷 義 秀, 玉 熊 正 悦 (1991) : 大 腸 癌 の 手 術 例 に お け る 静 脈 経 腸 栄 養. 日 本 臨 床 49 : 444-450.

24) Touloukian RJ, Seashore JH (1975) :

Hepatic secretory obstruction with total parenteral nutrition in the infant.

J Pediatr Surg 10: 353-360.

25) Hata S, Nezu R, Kubota A, Kamata S, Takagi Y, Okada A (1994): Effect of amino acids in total parenteral nutrition on cholestasis in newborn rabbits.

J Pediatr Surg 29: 892-895.

26) Hata S, Kamata S, Nezu R, Takagi Y, Okada A (1989): A newborn rabbit model for total parenteral nutrition: Effects of nutritional components on cholestasis.

JPEN 13: 265-271.

27) Katayama T, Tanaka M, Tanaka K, Asonuma K, Uemoto S, Okamura R, Utsunomiya H, Fujita S, Ueda J, Tanaka A, Ozawa K (1990): Alterations in hepatic mitochondrial function during total parenteral nutrition in immature rats. JPEN 14: 640-645.

- 28) Ohsugi T, Kurosawa T, Maejima K (1992): Effect of agen on bacterial translocation from the gastrointestinal tract in mice. Exp Anim 41: 55-60.
- 29) Camp JMV, Tomaselli V, Drongowski R, Coran AG (1995): Bacterial translocation in the newborn rabbits: effect of age on frequency of translocation. Pediatr Surg Int 10: 134-137.
- 30) 山内 健, 水田 祥代, 永野 美紀 (1993): 新生仔家兎を用いた高カロリー輸液肝障害モデルにおける bacterial translocation の検討. 日外会誌 第95回臨時増刊号: 219.
- 31) Gall DG, Chung M, O'Loughlin EV, Zahavi I, Opleta K (1987): Effects of parenteral and enteral nutrition on postnatal development of the small intestine and pancreas in the rabbit. Biol Neonate 51: 286-296.
- 32) Platell C, McCauley R, McCulloch R,

Hall J(1993): The influence of parenteral glutamine and branched-chain amino acids on total parenteral nutrition-induced atrophy of the gut. JPEN 17: 348-354.

33) Frankel WL, Zhang W, Afonso J, Klurfeld DM, Don SH, Laitin E, Deaton D, Furth EE, Pieter GG, Naji A, Rombeau JL (1993): Glutamin enhancement of structure and function in transplanted small intestine in the rat. JPEN 17: 47-55.

34) Jiang ZM, Wang LW, Qi Y, Liu TH, Qiu MR, Yang NF, Wilmore DW(1993): Comparison of parenteral nutrition supplemented with L-glutamine or glutamine dipeptides. JPEN 17: 134-141.

35) Inoue Y, Grant JP, Snyder PJ: Effect of glutamine-supplemented intravenous nutrition on survival after Escherichia coli-induced peritonitis.

JPEN 17 : 41-46.

36) Chen K, Okuma T, Okamura K, Torigoe Y, Miyauchi Y(1994): Glutamine-supplemented parenteral nutrition improves gut mucosa integrity and function in endotoxemic rats. JPEN 18 : 167-171.

37) Li J, Langkamp-Henken B, Suzuki K, Stahlgren LH(1994): Glutamine prevents parenteral nutrition-induced increases in intestinal permeability. JPEN 18 : 303-307.

38) Inoue Y, Grant JP, Snyder PJ(1993): Effect of glutamine-supplemented total parenteral nutrition on recovery of the small intestine after starvation atrophy. JPEN 18 : 165-170.

39) Windmuelle HG, Spaeth AE(1974): Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. J Biol Chem

249 : 5070-5079.

40) 井上純雄, 石田祐一, 内田久則 (1991)
: 栄養管理法と Bacterial Translocation. 外科
53 : 710-717.

41) Higashiguchi T, Hasselgern PO,
Wagner K, Fisher J (1993): Effect of
glutamine synthesis in isolated intestinal
epithelial cells. JPEN 17 : 307-314.

42) Kimura RE: Glutamine oxidation by
developing rat small intestine. Pediatr
Res 21 : 214-217.

43) 曾田益弘, 大谷順, 梶谷伸顕, 稲岡
祥治, 吉貫憲, 浪花宏幸, 清水信義 (1994)
: 敗血症におけるグルタミン加 TPN の腸管
免疫への有効性. 日消外会誌 27 : 440.

44) Burke DJ, Alverdy JC, Aloys E, Moss
GS (1989): Glutamine-supplemented total
parenteral nutrition improves gut immune
function. Arch Surg 124 : 1396-1399.

45) Salleh M, Ardawi M, Newsholme EA

(1983): Glutamine metabolism in lymphocytes of the rat. Biochem J 212: 853-842.

46) Ogle CK, Ogle JD, Mao JX, Simon J, Noel JG, Li BG, Alexander W (1994):

Effect of glutamine on phagocytosis and bacterial killing by normal and pediatric burn patient neutrophils. JPEN 18: 128-133.

47) Newsholme P, Newsholme EA (1989): Rates of utilization of glucose, glutamine and oleate and formation of end-products by mouse peritoneal macrophages in culture. Biochem J 261: 211-218.

48) Burke D, Alverdy JC, Aoye E, Moss GS (1989): Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. Arch Surg 124: 1396-1399.

49) Helton WS, Smith RJ, Rounds J, Wilmore WW (1990): Glutamine prevents pancreatic atrophy and fatty liver

during elemental feeding. J Surg Res 48 :
297-303.

50) 秦 信輔 (1988) : 静脈栄養 (TPN)
施行時胆汁うっ滞における輸液組成の関与に
ついて. 外科と代謝・栄養 22 : 157-169.

51) Li J, Stahlgren LH (1993) :
Glutamine prevents the biliary litho-
genic effect of total parenteral nutri-
tion in rats. JPEN 17 : 28s.

52) 笠原 宏, 大柳治正, 斉藤洋一 (1988)
: 肝切除前後の代謝的变化. 日外会誌 89 :
365-375.

53) 柚木利紀 (1994) : 肝切除後の栄養管理.
久留米医学会誌 57 : 673-681.

54) Hong RW, Rounds JD, Helton WS,
Robinson MK, Wilmore DW (1992) : Glutamine
preserves liver glutathione after lethal
hepatic injury. Ann Surg 215 : 114-119.

55) 石橋生哉, 吉田祥吾, 貝原 淳, 山崎
国司, 野明俊裕, 掛川暉夫 (1995) : 化学療法

時のグルタミン投与. 外科と代謝・栄養 29:

71-77.

56) Fahr MJ, Kornbluth J, Blossom S,
Schaeffer R, Klimberg VS(1994):

Glutamine enhances immunoregulation of
tumor growth. JPEN 18: 471-476.

57) Chen MK, Espat NJ, Bland KI,
Copeland EM, Souba WW(1993): Influences
of progressive tumor growth on glutamine
metabolism in skeletal muscle and kidney
. Ann Surg 217: 655-667.

INFLUENCE OF TOTAL PARENTERAL NUTRITION
IN IMMATURE RATS :
EFFECT OF GLUTAMINE INFUSION ON BOWEL IN
TEGRITY

Yumi OKAWA

First Department of Surgery,
Hokkaido University School of Medicine,
Sapporo, 060, Japan

Although many complications, total parenteral nutrition (TPN) is accepted important therapeutic adjunct for management of pediatric patient, who aren't allowed to eat. Recently, bacterial translocation was added to the complications of TPN. The purpose of this study was to examine the influence of TPN on the gut in immature rats. 65g

rats were randomized to one of four groups.: Group C(control) received food and water ad libitum. Group P(TPN) received standard TPN solution. Group G(TPN+GLT) received glutamine(7g/400ml of TPN). Group E(TPN with enhanced protein) received TPN solution with enhanced protein(18.5g/400ml), without GLT.

CFU of E.coli in mesenteric lymphnodes was significantly higher in group P than in other 3 groups at 5 days.

Hepatic glutathione was significantly higher in group G than in group P and group E at 7 days.

Weight of wet intestine was the highest in group C in all groups, and significantly higher in group G than in group P and group E at 3 and 7 days.

Mucosal protein of group C was the highest of those of 4 groups. That of

group G was significantly higher than those of group P and G in 5 and 7 days.

Mucosal thickness and villous height were the highest in group C in 4 groups. Mucosal thickness was significantly higher in group G than in group P and group P at 5 and 7 days. Villous height was significantly higher in group G than in group P and group E at all days.

These results suggest that TPN promotes intestinal atrophy from early days after TPN in immature rats, that glutamine might play a role in maintenance of structural integrity of intestine, and that glutamine would prevent the bacterial translocation.

邦 訳

多くの合併症はあるが、経口摂取不可能な小児術後患者の管理において、T P N は不可欠である。最近、bacterial translocationが新たな合併症として報告されている。幼若ラットについて T P N のおもに腸における影響を検討した。

65 g のラットを以下の4群に分けた。C 群：自由経口摂取，P 群：完全静脈栄養群，経口摂取なし，G 群：完全静脈栄養 + グルタミン添加（7 g / 400 ml），E 群：完全静脈栄養 + 蛋白強化（18.5 g / 400 ml）。

上腸管膜リンパ節培養にて，P 群は5日で他の3群より有意に高い細菌数を呈した。

肝グルタチオン定量にて，G 群は5日で P，E 群より有意に高値であった。

小腸粘膜湿重量は C 群が全群中最も高い価であり，G 群は3，7日に P，E 群より有意に高値を示した。

小腸粘膜内蛋白定量では C 群が，全期間他

の 3 群 より 高 値 で あ っ た . G 群 は 5 , 7 日 に
お い て P , E 群 より 有 意 に 高 値 で あ っ た .

組 織 学 的 検 査 上 , 小 腸 粘 膜 の 厚 さ と 絨 毛 の 高
さ も , と も に C 群 が 他 3 群 より 勝 っ て い た .

粘 膜 の 厚 さ に お い て G 群 は 5 , 7 日 目 に , 絨
毛 の 厚 さ に お い て は 全 期 間 , P , E 群 より 有
意 に 高 値 を 呈 し た .

以 上 より 幼 若 ラ ッ ト に お い て は T P N 早 期
よ り 小 腸 粘 膜 萎 縮 が 促 進 さ れ る も , グ ル タ ミ
ン 添 加 に よ り 小 腸 の 粘 膜 構 造 を 保 ち , b a c t e -
r i a l t r a n s l o c a t i o n の 亢 進 を 抑 制 す る 傾 向 が
示 唆 さ れ た .

Fig 1. Counts of the mesenteric lymphnodes bacterial cultures.

Abbreviations(P,C,G,E) are the same as in Table 1 and 2.

A statistically significant highest scores of Group-P in 4 groups was recognized on 5 days($p<0.05$). The bacterial count of Group-C was the lowest in 4 groups on 3, 5, 7days and significantly on 5 days($p<0.05$).

Fig 2. Concentration of glutathione(GSH) in liver.

Concentrations of GSH gradually decreased day by day in Group-P. Concentration of 5 days was the lowest in Group-E($p<0.0001$). On the other hand, that of 5 days was the highest in Group-G. Concentration of 3 days in Group-G was the highest in 4 groups, and significantly higher than that of Group-E. The data of Group-G was significantly higher than that of Group-P and Group-E on 7 days ($p<0.05$).

Fig 3. Wet weight of mucosal scrapings from a 10-cm segment of the proximal small bowel during parenteral nutrition.

Mucosal weights of 3 and 7 days were significantly heavier in Group-C and G than in Group-P and E($p<0.05$, $p<0.0005$).

Fig 4. Mucosal protein changes during parenteral nutrition

Mucosal protein levels in Group-C gradually increased, and in Group-E gradually decreased. Level in Group-G was significantly higher than that in Group-P and E on 5 and 7 days($p<0.005$).

Fig 5. Histology of the intestine from a rat received PN for 7days

Abbreviations(P,C,G,E) are the same as in Table 1 and 2.
(Haematoxylin-eosin. $\times 100$)

A

B

Fig 6. Histology of the liver from a rat received glutamine-free TPN for 7 consecutive days.

There is fatty vaculization of hepatocytes located around the hepatic veins (A) .
There are many lymphocytes and neutrophils, and some of them are in hepatic veins (B) .
(Haematoxylin-eosin. $\times 100$)

Glucose (mg/100g)	45.0	18.0	20.0
Protein (mg/100g)	12.0	11.5	20.0
Urea Nitrogen (mg/100g)	0.5	7	9
Total lymphocytes	400	420	410
Total neutrophils	5.75	9.4	11.1
Monocytes	354	340	343
Macrophages	500	110	110

Table 1. Composition of TPN solution (in 400ml/kg/day)

	Group-P	Group-G	Group-E
Glucose(g)	59	55.5	55.5
Amino Acids(g)	11.5	18.5	20.3
Amiparen	11.5	11.5	20.3
Alanyl-Glutamine	0	7	0
total calory(kcal)	400	418	423
total nitorogens(g)	1.75	3.1	3.1
NPC(kcal)	354	342	342
NPC/N	202	110	110

Group-P : total parenteral nutrition without glutamine.

Group-G : total parenteral nutrition with glutamine.

Group-E : total parenteral nutrition with enriched protein.

Tab. 1
大川 昌

Table 2. Liver function tests

	Bilirubin(mg/dl)			γ -GTP(IU/l/37°C)		
	Day 3	Day 5	Day 7	Day 3	Day 5	Day 7
Group- C	0*	0**	0.5±0.7***	1.8±0.4 [#]	2.3±1.9 ^{##}	2.3±0.8
Group- P	0.6±0.5	1.0±1.4	0.6±0.9	0.4±0.6 [#]	3.2±3.9 ^{##}	1.0±1.4
Group- G	0.5±0.5	0.3±0.5	0.6±0.9	0.5±0.6 [#]	0 ^{##}	0.6±0.6
Group- E	3.4±0.9*	1.4±0.6**	2.0±0.7***	0.8±1.3 [#]	2.0±0.7 ^{##}	0.8±0.5
*p<0.0001 **,***p<0.01						

Group-C : control, fed ad libitum.

Tab. 2
水田 美

log (CFU of E. coli)

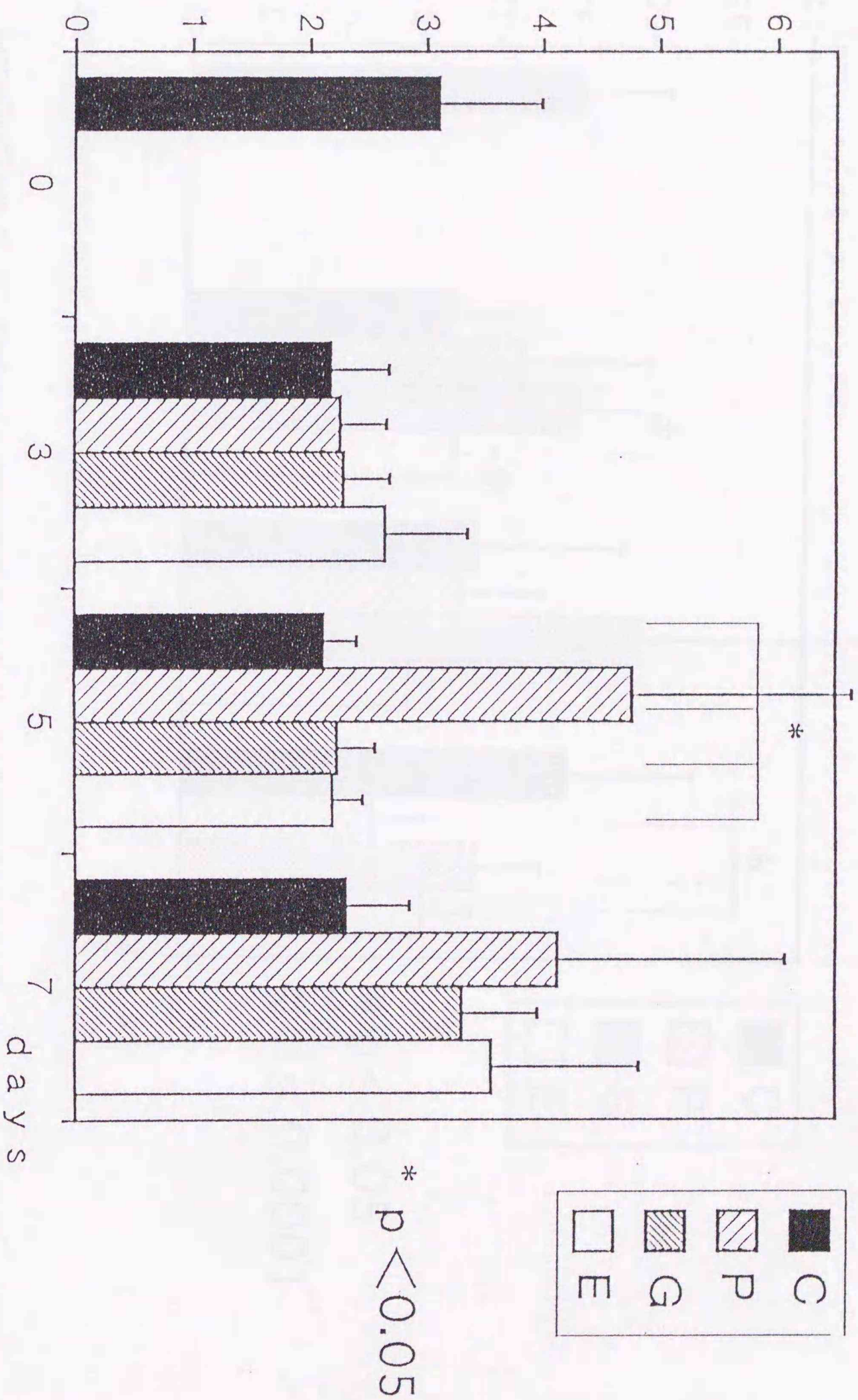


Fig 1. Counts of the mesenteric lymphnodes bacterial cultures.

Abbreviations(P,C,G,E) are the same as in Table 1 and 2.

A statistically significant highest scores of Group-P in 4 groups was recognized on 5 days($p < 0.05$). The bacterial count of Group-C was the lowest in 4 groups on 3, 5, 7days and significantly on 5 days($p < 0.05$).

Fig 1
大川由美

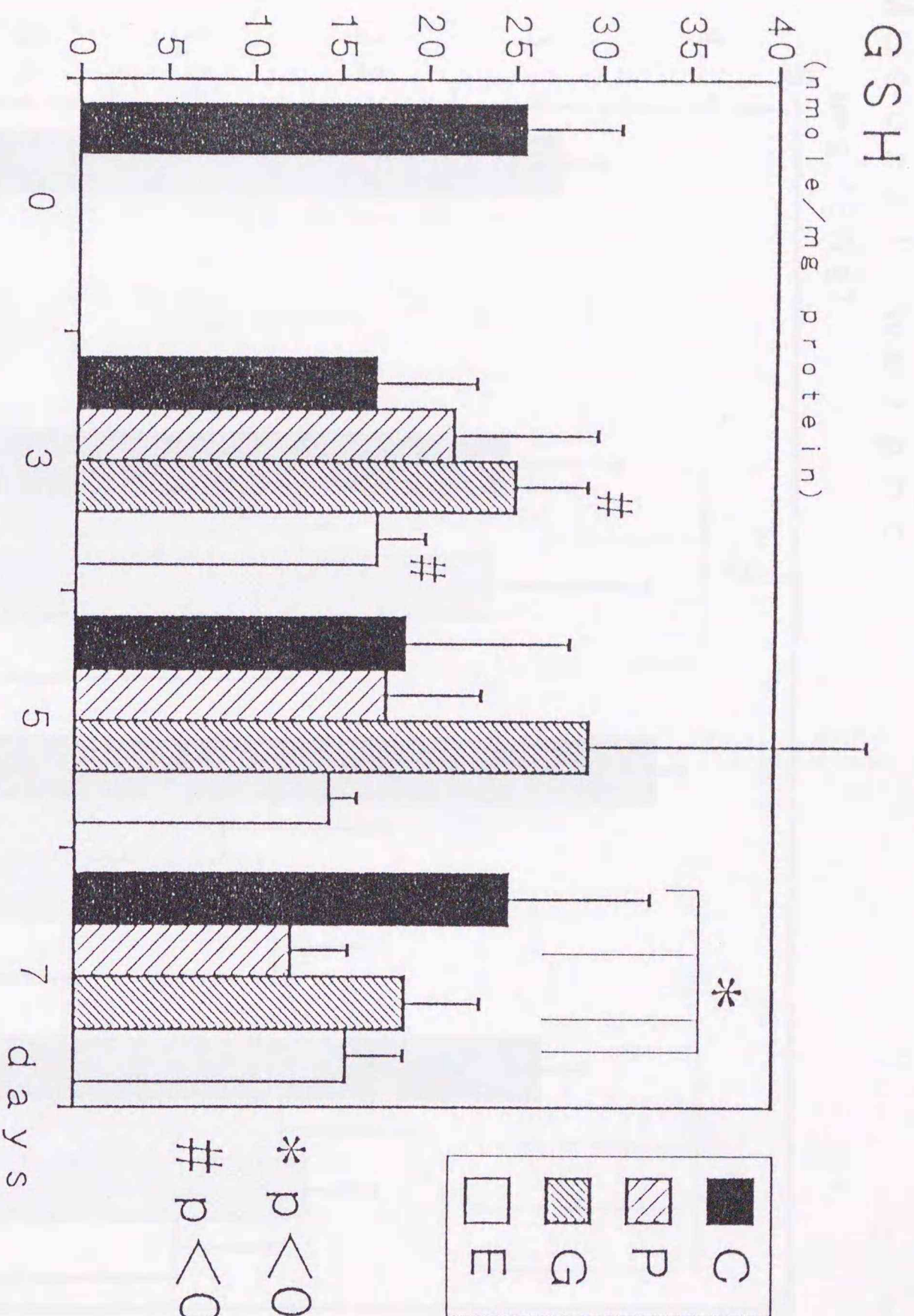
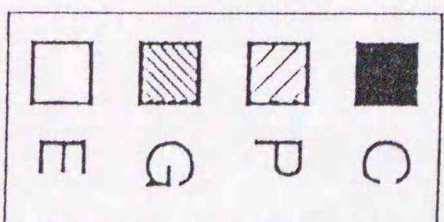
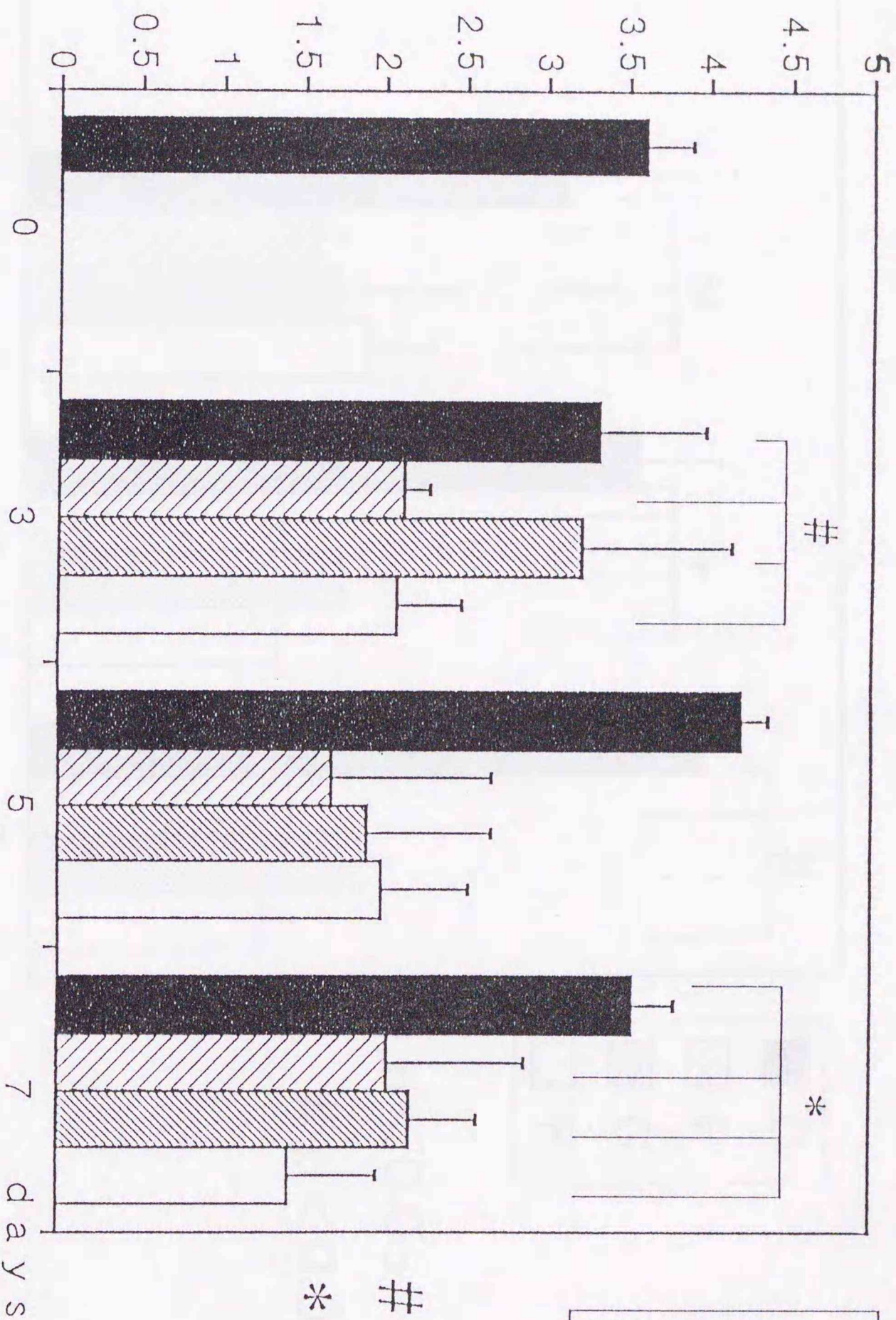


Fig 2. Concentration of glutathione(GSH) in liver.

Concentrations of GSH gradually decreased day by day in Group-P. Concentration of 5 days was the lowest in Group-E($p < 0.0001$). On the other hand, that of 5 days was the highest in Group-G. Concentration of 3 days in Group-G was the highest in 4 groups, and significantly higher than that of Group-E. The data of Group-G was significantly higher than that of Group-P and Group-E on 7 days ($p < 0.05$).

Fig 2
大川 由美

Mucosal weight (mg/BWs)



$p < 0.05$
* $p < 0.005$

Fig 3. Wet weight of mucosal scrapings from a 10-cm segment of the proximal small bowel during parenteral nutrition.

Mucosal weights of 3 and 7 days were significantly heavier in Group-C and G than in Group-P and E ($p < 0.05$, $p < 0.0005$).

Fig 3
田由美

mucosal protein
(mg/cm)

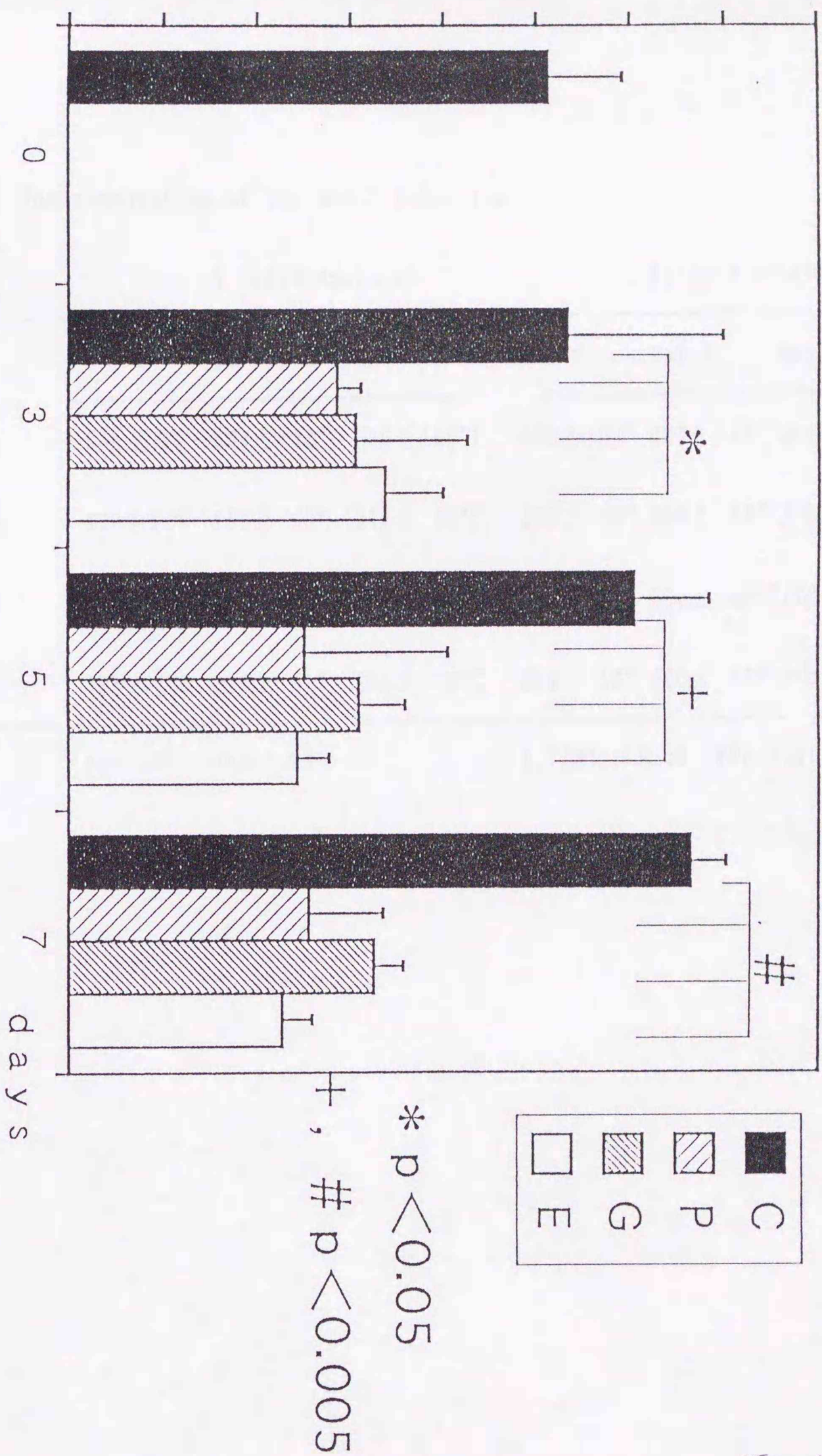


Fig 4. Mucosal protein changes during parenteral nutrition

Mucosal protein levels in Group-C gradually increased, and in Group-E gradually decreased. Level in Group-G was significantly higher than that in Group-P and E on 5 and 7 days($p < 0.005$).

Fig 4
大川由美

Table 3. The composition of the small intestine

	Mucosal thickness(μ m)			Villous height(μ m)		
	Day 3	Day 5	Day 7	Day 3	Day 5	Day 7
Group-C	584 $\pm$ 112	594 $\pm$ 146*	566 $\pm$ 114**	406 $\pm$ 102 [#]	406 $\pm$ 138 ^{##}	394 $\pm$ 102 ^{###}
Group-P	420 $\pm$ 127	356 $\pm$ 90*	316 $\pm$ 46**	292 $\pm$ 96 [#]	200 $\pm$ 48 ^{##}	228 $\pm$ 36 ^{###}
Group-G	546 $\pm$ 146	446 $\pm$ 130*	412 $\pm$ 150**	336 $\pm$ 68 [#]	300 $\pm$ 100 ^{##}	272 $\pm$ 120 ^{###}
Group-E	408 $\pm$ 22	326 $\pm$ 30*	264 $\pm$ 56**	244 $\pm$ 16 [#]	220 $\pm$ 16 ^{##}	188 $\pm$ 42 ^{###}

*p<0.05 **p<0.01

[#], ^{##}, ^{###}, p<0.05 ^{##}p<0.01

Tab. 3
大川 由美

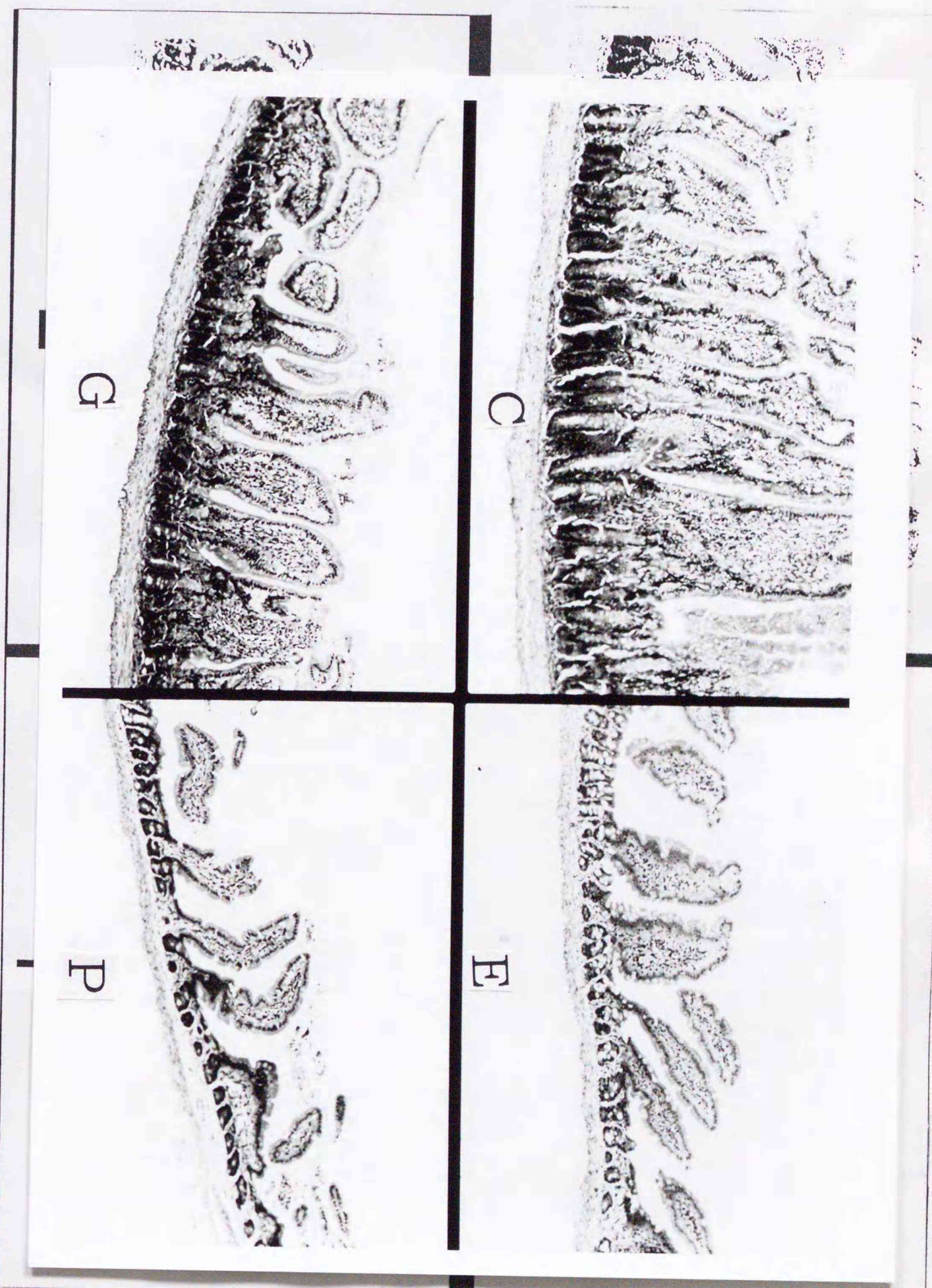


Fig 5. Histology of the intestine from a rat received PN for 7days
 Abbreviations(P,C,G,E) are the same as in Table 1 and 2.
 (Haematoxylin-eosin. $\times 100$)

Fig 5
 大鼠小肠

A



B



A

B

Fig 6. Histology of the liver from a rat received glutamine-free TPN for 7 consecutive days.

There is fatty vacuolization of hepatocytes located around the hepatic veins (A) .

There are many lymphocytes and neutrophils, and some of them are in hepatic veins (B) .

(Haematoxylin-eosin. $\times 100$)

Fig 6
大川 芳

