



Title	Effects of Nucleosides and a Nucleotide Mixture on Gut Mucosal Barrier Function on Parenteral Nutrition in Rats
Author(s)	岸渕, 正典
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41138
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	岸 正 典
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 0 4 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 5 月 29 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Effects of Nucleosides and a Nucleotide Mixture on Gut Mucosal Barrier Function on Parenteral Nutrition in Rats. (ラットの完全静脈栄養下における核酸成分製剤投与の腸粘膜防御機構に及ぼす影響)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門 田 守 人 (副査) 教 授 岡 田 正 教 授 宮 崎 純 一

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

完全静脈栄養法 (TPN) 下において, 小腸粘膜は萎縮し, 粘膜防御機構の破綻が起こる。その結果腸管透過性の亢進と bacterial translocation (BT) が生じる。分子量の大きな物質は, 腸管透過性の亢進による粘膜細胞間隙を通過し, 細菌および低分子量物質は粘膜細胞を通過する。腸管透過性の評価法として lactulose/mannitol 吸収試験が主として用いられてきたが, 細胞間接合体として最も重要な役割を担っている tight junction (TJ) の形態およびその構成蛋白の発現量がその指標となる可能性がある。BT の指標として腸間膜リンパ節の細菌培養が用いられてきたが, 生理的状況でも菌培養が陽性となるため鋭敏な指標として不適切である。われわれは, 細胞内リソゾームに存在する蛋白分解酵素であるカテプシンが TPN 下での腸粘膜萎縮に関与するものではなく, 腸内細菌等の外来異物や蛋白が粘膜内に侵入した際の喰食機能亢進を反映し, 粘膜防御機構の一部として働いている可能性を報告してきた。一方, TPN 下で生じる腸粘膜萎縮に対して, 核酸成分製剤 (OG-VI) を経静脈的に添加することで, 粘膜細胞の増殖が促進されることを報告してきた。本研究では, 核酸成分製剤を TPN へ添加することにより, 小腸粘膜防御機構の破綻を予防できるかどうかを上記指標を評価することにより検討した。

[方 法]

Wistar 雄性ラットを用いて, 頸静脈よりカテーテルを挿入後, TPN 群 (標準完全静脈栄養輸液) と OG 群 (標準完全静脈栄養輸液+核酸成分製剤) と FED 群 (生理食塩水輸液+自由摂食) の 3 群に分け 1 週間代謝ケージ内にて管理した。7 日目に lactulose/mannitol 試験を行ったのちに犠死せしめ, 回腸粘膜細胞間の TJ の形態を電子顕微鏡にて観察し, 回腸粘膜の TJ 構成蛋白の 1 つである ZO-1 蛋白の mRNA レベルを Northern blotting 法にて測定し, 回腸のカテプシン B, H, L の活性を測定し, その局在を免疫染色により調べた。それぞれの mRNA 量を Northern blotting 法により測定した。

[結 果]

尿中 lactulose/mannitol 比は TPN 群は, FED 群と比べて有意に上昇し, 透過性の亢進が裏付けられた。OG 群にお

いては TPN 群と比べ、高分子である lactulose の尿中排泄が低下した。TJ と desmosome の間隙は TPN 群において FED 群と比べて有意に拡大していたが、OG 群では TPN 群より有意に狭くなっていた。しかし、ZO-1 の mRNA レベルは 3 群間で有意差は認めなかった。カテプシン B、H および L 活性は TPN 群では FED 群と比べて有意に増加していたが、OG 群では FED 群と同程度であった。免疫染色によりカテプシン B は主として粘膜細胞に、カテプシン H と L は粘膜下のマクロファージやパイエル板に局在していた。各カテプシンの局在および mRNA レベルは各群における変化を認めなかった。

[総括]

TPN 施行時の腸粘膜防御機構の破綻に対する核酸成分製剤の影響を分析した。核酸成分製剤の添加により、細胞間隙は狭小化し、lactulose の透過が抑制され、腸管透過性が有意に改善されることが判明した。しかし、TJ を構成する蛋白である ZO-1 の mRNA レベルには差が認められず、TJ 構成蛋白に関しては今後の検討が必要である。腸管カテプシンの役割は、外因性のバクテリアや異物の侵入に対して粘膜細胞に存在するカテプシン B と粘膜下のマクロファージやパイエル板に存在するカテプシン L と H が防御機構として働いていると考えられる。カテプシン B、H、L の活性が低下する点から、TPN に核酸成分製剤を添加することにより粘膜防御機構が維持されることが考えられた。核酸成分製剤の添加は長期静脈栄養時の粘膜防御機構の破綻の病態改善に有用であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

完全静脈栄養法 (TPN) 下において、小腸粘膜は萎縮し粘膜防御機構の破綻が起こる。その結果、腸管透過性の亢進と bacterial translocation が生じる。核酸の要求度は細胞回転の速い細胞において高く、核酸の補充により細胞回転の速い腸粘膜において増殖能が維持される可能性がある。本研究は、核酸成分製剤を TPN へ添加することにより、TPN に認められる小腸粘膜の構造や機能変化が抑制できるかどうかを分子生物学的手法を用いて解析したものである。TPN により粘膜細胞間隙は開大し、paracellular pathway を介する高分子物質の透過性の亢進を認めた。また、粘膜防御機構の 1 つとして作用すると考えられるカテプシン活性も増加し、TPN により粘膜防御機構は破綻した。しかし、核酸成分製剤の添加により細胞間隙の開大は見られなくなり、高分子物質の透過性が抑制された。同時にカテプシン活性についても抑制され、粘膜防御機構の維持が可能であることが証明された。

以上のことから、本研究は核酸成分製剤の添加が静脈栄養による粘膜防御機構の破綻の改善に有用であることを明らかにしており、学位に値するものと考えられる。