

低分子ペプチド経腸栄養剤の栄養評価に関する
基礎的・臨床的研究 (I)
小腸広範囲切除術後状態への応用

京都大学医学部外科学教室第2講座

小林 展章, 谷村 弘, 日笠 頼則

〔原稿受付: 昭和58年10月7日〕

Experimental and Clinical Evaluation of Small Peptides
as a Nitrogen Source in Enteral Nutrition (I)
Nutritional Usefulness following Massive
Small Bowel Resection in the Rat

NOBUAKI KOBAYASHI, HIROSHI TANIMURA and YORINORI HIKASA

Second Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University

A comparative study between two enteral nutritional diets of differing nitrogen sources, was performed in rats given small peptides (SP-ED group) or free amino acids mixture (AA-ED group) after 70% resection of the small bowel in rats to simulate human malabsorption syndrome.

After 9 days, body weight was increased 14.7% in the SP-ED group, and 11.0% in the AA-ED group. The nutritional assessments expressed as the net protein utilization (NPU) value calculated from nitrogen balance was higher in the SP-ED group (45%) than in the AA-ED group (25-30%). On the other hand, analysis of urinary nitrogen compounds revealed that urea nitrogen excretion and early postoperative ammonium excretion were lower in the SP-ED group. Compared to the control group, serum aminograms showed that only alanine increased in the SP-ED group, while remarkable changes in the amino acid patterns were observed in the AA-ED group. The present study demonstrates that the small peptides are more effectively absorbed and utilized by tissues than the free amino acid mixture in enteral diets.

Key words: Small peptide, Elemental diet, Massive small bowel resection, Nitrogen metabolism, Serum aminogram.

索引語: 低分子ペプチド, 成分栄養剤, 小腸広範囲切除, 窒素代謝, 血清アミノグラム.

Present address: Second Department of Surgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan.

外科領域における栄養管理において、最近の経腸栄養は中心静脈栄養と並ぶ重要な役割を担いつつある。しかし、経腸栄養は、より生理的で簡便かつ安全な栄養補給法として普及してきたが、その治療効果に対して、下痢発生や嘔気、嘔吐、腹満などのため、予定量を投与できないなどの問題点を残している。それ故、消化吸收障害症例に対しては、現在市販の経腸栄養剤のうち、いわゆる elemental diet といわれる結晶アミノ酸を窒素源に使用したものが選択されているが、消化吸收の面から詳細に検討すれば、その消化最終形態により近いものがより生理的であると考えられ、窒素源として結晶アミノ酸でなく、消化最終産物である低分子ペプチドを配合した経腸栄養剤は、その栄養改善効果と安全性において従来の elemental diet にない特徴を持っている可能性がある⁹⁾。とくに、低分子ペプチドは結晶アミノ酸混合物に比較して、その吸収速度がより速く^{6,7)}、各アミノ酸が吸収されるバランスが投与組成に近いという結果が得られており¹³⁾。このような吸収の差がその後の代謝面にどのような影響を与えるかを吸収障害のあるモデル動物を用いて検討した。

I. 方 法

使用した動物は生後7週令の Wister 系雄ラットで術時体重 230 g 前後のものである。予備飼育および栄養実験中は、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ に保ち、照明は 7 AM から 7 PM までの12時間サイクルとした。予備飼育として、卵白アルブミン、精製デキストリン等を使用した低残渣の精製飼料 (オリエンタル酵母社製) を1週間投与した後、1日絶食させ、吸収障害モデルとして以下の如く、小腸70%切除ラットとした。

手術はペントバルビタール (50 mg/kg ip) 麻酔下、胃幽門より 15 cm 肛門側および回盲部より口側 15 cm を残し、小腸広範囲切除 (70%) を行い、Ticron® 5-0 にて 8 針結節縫合にて端々吻合した。十二指腸に外径 1 mm、内径 0.5 mm のシリコンチューブをチューブ外瘻として留置し、このチューブを皮下を通して頸背部皮膚から外へ出し、十分に縫合固定した後、このシリコンチューブの外側端をプロテクターおよび回転運動吸収用スウィブルの付いた投与ラインと接続した¹⁴⁾。この状態で特殊代謝ケージに入れ覚醒させた。

使用した低分子ペプチドは、卵白の酵素加水分解物で、窒素源としては、ジあるいはトリペプチドを70%以上含み、そのアミノ酸組成は Table 1¹⁰⁾ に示した。

対照として、同じアミノ酸組成の結晶アミノ酸混合物にデキストリン等を配合して調整した経腸栄養剤を用いた。低分子ペプチド経腸栄養剤 (SP-ED) およびアミノ酸混合物経腸栄養剤 (AA-ED) それぞれの全体としての組成を Table 2 に示した。これらの実験飼育食はいずれもテルモ㈱から提供を受けた。

手術後、1夜絶食させ、翌日より、両経腸栄養剤のいずれかを25% (w/v) 水溶液とし、輸液用イルリガートルに入れ、定量ポンプ (テルモ社製) を用いて、経腸的に連続投与とし、初日は 1 ml/hr で投与を開始し、その後 Fig. 1 に示したスケジュールに順じ、毎日投与カロリーを漸増させ、最終的に投与速度を 2.5 ml/hr (440 kcal/day/kg body weight) とした。この間、毎日投与量を確認し、体重測定後、糞、尿を全量回収し、窒素出納および尿中窒素化合物の測定を行った。

SP-ED 投与群、AA-ED 投与群の両群それぞれ9匹のラットに広範囲小腸切除術を施行したが、吻合部縫合不全などで術後3日目以内に死亡した動物を除き、

Table 1. 卵白および低分子ペプチドのアミノ酸組成

	卵 白		低分子ペプチド	
	mol %	wt %	mol %	wt %
Asp	9.20	9.41	9.25	9.45
Thr	4.71	4.31	4.89	4.47
Ser	7.77	6.27	8.07	6.51
Glu	11.88	13.43	11.15	12.59
Pro	4.32	3.82	3.70	3.27
Gly	6.12	3.53	5.78	3.33
Ala	9.55	5.88	8.71	5.35
Cys	1.65	3.04	1.20	2.21
Val	7.62	6.86	7.16	6.44
Met	3.25	3.73	3.48	3.98
Ile	5.25	5.29	6.33	6.37
Leu	8.36	8.43	8.59	8.65
Tyr	2.04	2.84	2.91	4.05
Phe	4.94	6.27	4.90	6.21
Lys	6.02	6.76	6.40	7.18
His	2.14	2.55	2.05	2.44
Trp	1.00	1.57	1.07	1.97
Arg	4.18	5.59	4.36	5.83

6NHCl 中にて 110°C 24時間加水分解、トリプトファンのみ 3N メルカプトエタンスルホン酸中にて 110°C 24時間加水分解¹⁰⁾

HITACHI 835型アミノ酸分析器にて測定

Table 2. 低分子ペプチド経腸栄養剤 (SP-ED) とアミノ酸混合物経腸栄養剤 (AA-ED) の組成 (100 g 中)

	SP-ED	AA-ED	
低分子ペプチド	15.00 g	—	
アミノ酸混合物	—	17.24 g	
炭水化物 (デキストリン)	72.00 g	69.76 g	
脂肪 (大豆油 : コーン油 = 1 : 1の混合物)	5.00 g	5.00 g	
電解質			
Na	300 mg (13.0 mEq)	左に同じ	
K	279 mg (7.2 mEq)		
Cl	254 mg (7.2 mEq)		
Ca	300 mg (15.0 mEq)		
P	313 mg		
Mg	60 mg (5.0 mEq)		
Fe	2.9 mg (0.1 mEq)		
Zn	1.5 mg (0.05 mEq)		
Mn	0.6 mg (0.02 mEq)		
Cu	0.06 mg (0.002 mEq)		
ビタミン			
A	1000 IU		左に同じ
D ₂	100 IU		
E	30 IU		
K ₁	0.5 mg		
B ₁	1.03 mg		
B ₂	1.03 mg		
B ₆	1.00 mg		
B ₁₂	2 μg		
ニコチン酸アミド	5.11 mg		
パントテン酸カルシウム	2.00 mg		
D-ビオチン	50 μg		
葉酸	140 μg		
アスコルビン酸	210 μg		
塩化コリン	20.0 mg		

SP-ED 投与群 5 匹, AA-ED 投与群 7 匹について全経過観察を行い, 検討を加えた。

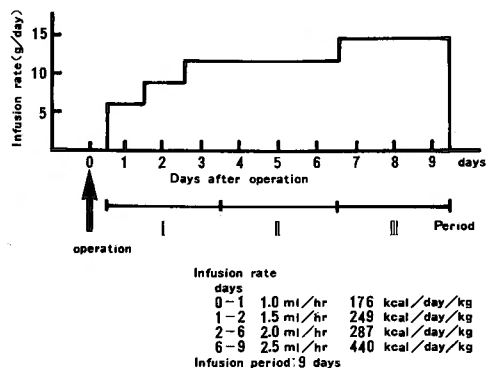


Fig. 1. 経腸栄養剤投与スケジュール

飼育10日目の朝 (最終日), ラットをエーテル麻酔下に大動脈より採血し, 血清アミノグラムを測定した。糞, 尿中の全窒素はマイクロケルダール法, 尿素はジアセチルモノオキシム法, クレアチニンはヤッヘ反応, アンモニアはバーセロット反応を利用して測定した^{11,12)}。血清アミノ酸分析は, スルホサリチル酸にて除タンパク後, HITACHI 835型アミノ酸自動分析器にて分析した。

II. 成績

1. 体重・臓器の変化

実験期間中の体重変化を Fig. 2 に示す 両群とも投与2日目より体重増加が見られ, その後ほぼ直線

的に増加した。しかし、投与4日目より平均体重で両群間に差が認められ、最終9日目には SP-ED 群と AA-ED 群間に平均 6 g の体重差が認められた。したがって、実験食飼期間中の体重増加率は SP-ED 群で +14.7%、AA-ED 群で +11.0%であった。

最終日の剖検による各臓器重量を Table 3 に示したが、両群間に各臓器の重量、長さとも有意差はなかった。また、両群の残存小腸は吻合口側、肛門側の長さ、重量とも差はなく、切除率70%の設定に近い長さであった。

2. 尿の分析結果

経腸栄養剤の投与期間を Fig. 1 に示したように3日毎の I~III 期に分けた。

(1) 尿中総窒素量

尿中総窒素排泄量は、Fig. 3 に示した如く、術後初期より全期にわたり SP-ED 群で有意に低かった (p < 0.01)。

(2) Net Protein Utilization 値

尿中・糞中排泄窒素量および投与窒素量より下記の計算式を使用して、栄養価の1つの指標として Net Protein Utilization (NPU) を算出した²⁾。

$$NPU = \frac{\text{投与窒素量} - \text{尿中排泄窒素量} - \text{糞中排泄窒素量}}{\text{投与窒素量}} \times 100(\%)$$

その結果を Fig. 4 に示すが、第II期、第III期において有意に SP-ED 群が高値を示し、体重増加時期と一致している。すなわち、第II期、第III期の SP-ED 群における45%という成績は、投与された窒素量に対し、その約半量が体内に保留されていることを示す。一方、同一条件下での AA-ED 群の値は25%にとどまった。

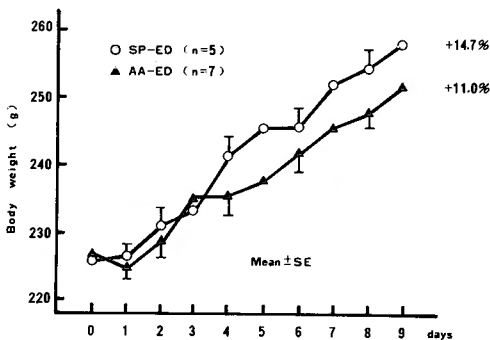


Fig. 2. 体重変化

Table 3. 各臓器重量

	SP-ED (n=5)	AA-ED (n=7)
体重 (g)	258.2 ± 5.1	251.7 ± 5.5
肝	12.88 ± 0.08	10.72 ± 2.03
腎・右	0.84 ± 0.07	0.87 ± 0.12
左	0.86 ± 0.04	0.86 ± 0.13
脾	0.64 ± 0.06	0.62 ± 0.24
心臓	0.90 ± 0.07	0.93 ± 0.07
肺	1.09 ± 0.12	1.16 ± 0.16
胸腺	0.44 ± 0.08	0.39 ± 0.14
副睾丸脂肪右	1.50 ± 0.48	1.40 ± 0.43
左	1.34 ± 0.42	1.47 ± 0.44
腓腹筋右	1.39 ± 0.13	1.44 ± 0.13
左	1.42 ± 0.15	1.41 ± 0.14
副腎右 (mg)	20.9 ± 4.5	20.2 ± 2.9
左	20.0 ± 4.2	19.4 ± 2.8
消化管 (g)		
胃	1.45 ± 0.24	1.38 ± 0.21
小腸	5.54 ± 0.55	5.37 ± 1.01
盲腸	2.26 ± 0.72	1.56 ± 0.57
直結腸	1.30 ± 0.35	1.02 ± 0.30
腸長さ (cm)		
吻合口側	18.2 ± 0.8	17.3 ± 3.3
吻合肛門側	12.6 ± 2.9	11.6 ± 2.1
直結腸	16.4 ± 1.1	15.3 ± 1.5

(3) 尿中排泄化合物の量

次に尿中に排泄された各化合物を分析した。まず Fig. 5A に示した尿素窒素では、全窒素とほぼ同様の動きを示し、第II期、第III期において AA-ED 群で有意に高値を示した (p < 0.001)。

Fig. 5B のアンモニア態窒素排泄は、特に術後初期の第I期において有意に AA-ED 群での排泄が多かった (p < 0.001)。SP-ED 群に対しては、約2倍の値を示し、これは正常に対してもかなり高値であった。

Fig. 5C には尿中クレアチニン排泄量は示したが、両群間で差はなかった。これは体重には大きな差がないため妥当な結果であり、逆に、尿採取が確実に行われたことを示す。

3. 血清アミノグラム

投与終了時の血清アミノグラムを Fig. 6 に示す。破線で囲んだスクリーンの部分の値は、対照群として、同時に購入した、小腸広範囲切除を施していない正常

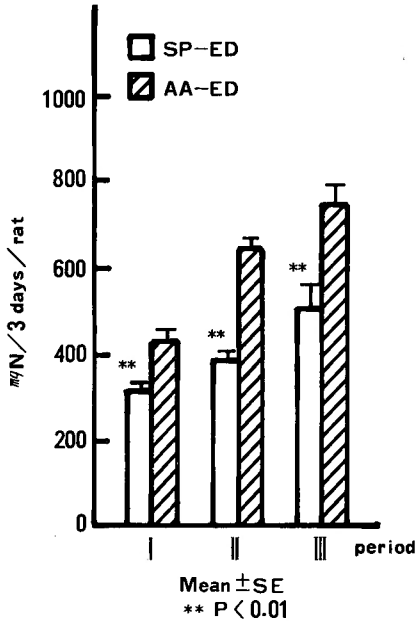


Fig. 3. 尿中総窒素排泄量

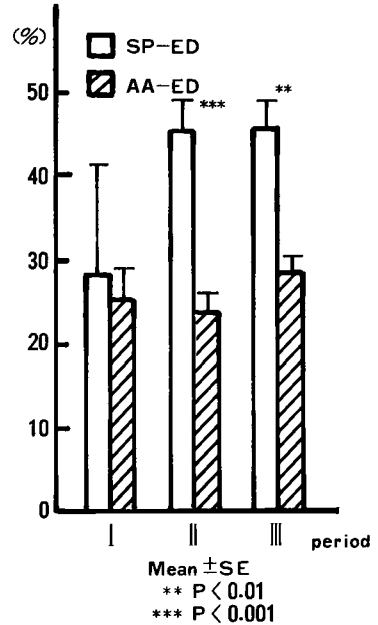


Fig. 4. Net Protein Utilization (NPU) 値の比較

ラットを、先に述べた卵白アルブミンの予備飼料にて同一環境下で飼育した時のアミノグラムである。左の SP-ED 群のアミノグラムは正常群に比してアラニン (Ala) が約 2 倍の高値を示したが、他のアミノ酸については正常群に極めて近い値を示した。これに反し、AA-ED 群のアミノグラムは、正常群のそれに比し、かなり異り、大部分のアミノ酸で正常値の 2 倍近い値を示した。必須アミノ酸、特にスレオニン (Thr) の上昇が顕著であり、逆に、リジン (Lys) が正常値に対し

て 1/2 の値を示した。

III. 考 察

最近、小動物における栄養実験も各種器具の工夫により、著しく進歩した。本実験におけるラットも背部にチューブが挿入されていたにもかかわらず、回転運動吸収用スウィブルにより殆んど運動は拘束されず、代謝ケージ内の運動や毛並など全身状態の観察では、

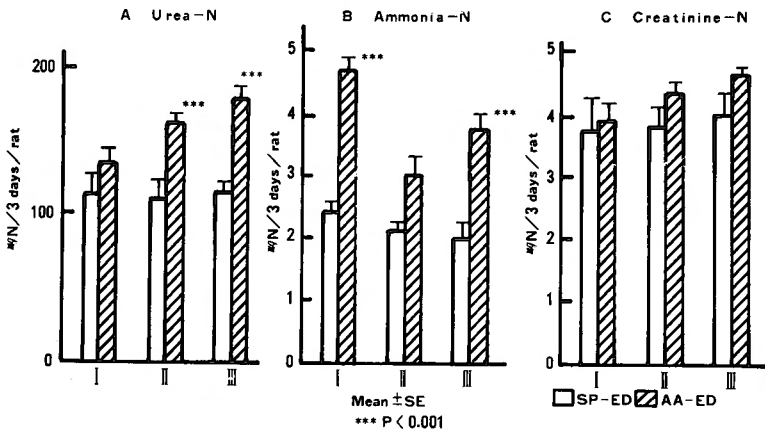


Fig. 5. 尿中尿素窒素, アンモニア態窒素, クレアチニン窒素排泄量の変動

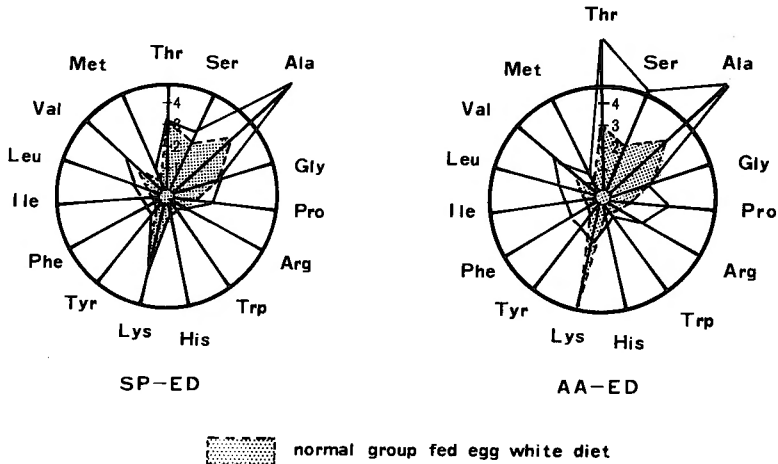


Fig. 6. 血清アミノグラム

両群とも異常を認めず、夜間の活動も比較的活発であり、24時間連続投与のためのストレスは少ないといえよう。

切除した小腸の範囲は、著者らの経験から⁴⁾、70%切除が安定した手術成績が得られる限界であり、今回、剖検時の残存小腸の測定から今回使用した7週齢ラットでは、胃幽門側15cm、回盲部回腸15cmを残せば、切除率70%になっていることが確認されている。

さて、低分子ペプチドは、結晶アミノ酸混合物と比較して、その吸収速度が速く、各アミノ酸が吸収されるバランスが投与組成に近いことは、正常ラットにおいて、門脈血中のアミノグラムで指摘したところであるが⁵⁾、今回の病態モデルとして、小腸広範囲切除をした場合の成績では、SP-ED群のアミノグラムは正常群に比して、アラニンが約2倍の高値を示したが、他のアミノ酸は正常群に極めて近い値を示したのに対して、AA-ED群のアミノグラムは、正常群のそれとも異ったパターンを示し、大部分のアミノ酸が正常値の2倍近い値を示し、特にスレオニンの上昇、リジンの低下を示した。これらのアミノ酸パターンの乱れはAA-ED投与時には、正常のアミノ酸代謝とはかなり異っていることを示唆している。両群で高値を示すアラニンは末梢組織で分解されたアミノ酸のアミノ基の担体とされ、いわゆるグルコースアラニンサイクル⁶⁾と呼ばれるように、末梢で放出されたアラニンは肝臓に取り込まれ、糖新生の前駆体となっており、SP-ED群においても、末梢でのアミノ酸の分解は正常に比べれば、高くなっていると思われ、NPU値が正常ラッ

トに比べ低値だったことと一致している。

一方、尿の分析結果からは、尿中総窒素排泄量は、術後初期より全期間にわたりSP-ED群で有意に低かったが、蛋白質の栄養評価においては、消化吸收過程における利用率と、吸収後の体内における利用率を分けて考え、体内由来の窒素を無蛋白飼料投与条件下で排泄される糞中窒素量として、蛋白含有飼料の投与中の糞中窒素から差引いた後、摂取窒素で割った値を真の消化率とし、これに生物価を乗ずる正味蛋白利用率NPUをもって体蛋白質に保持される摂取蛋白質の割合を示すべきであろう。

今回、使用した計算値は、真の消化率と生物価の積から求められた値とは、飼料摂取量と体重による補正が行われないので若干異なるが、両群間の比較には十分に利用できる。

これを利用して栄養価の1つの指標としてNet Protein Utilization (NPU)を算出した結果から、第Ⅱ期、第Ⅲ期においてAA-ED群の25~30%と比較して、SP-ED群が45%と高値を示し、投与された窒素量に対し、その約半量が体内に保留されていることを示し、体重増加とはほぼ一致し、成長期の正常ラットの70~80%⁸⁾と比べるとやや低いとはいえ、術後侵襲および吸収障害時期としては大いに好ましいことである。

尿中に排泄された尿素窒素、クレアチニン窒素、アンモニア態窒素それぞれの分析結果からも、尿素窒素がほぼ全窒素と同様の動きを示した。第Ⅱ期、第Ⅲ期においてAA-ED群の方が高値を示していたことは、アミノ酸混合物が窒素源として投与された場合、低分

子ペプチドに比べ、体内でより多くのアミノ酸が分解されることを示す。さらに、アンモニア態窒素排泄も特に術後初期の第I期において AA-ED 群での排泄が、SP-ED 群に対しては2倍、しかも、正常よりもかなり高値を示した。尿中アンモニアの排泄は尿細管（主に近位）により調節されており、またアンモニアの前駆体は60%以上グルタミンとされ²⁾、そのグルタミンはアラニンと並び末梢組織で異化されたアミノ酸のアミノ基の担体であり、今回の成績から、尿中アンモニアが尿素窒素とやや異った動態を示したことは、術後初期には、アミノ酸混合物が窒素源として投与した場合、酸塩基平衡の乱れなど何らかのアンモニア排泄を促進するような代謝変化があったものと推測される。尿中クレアチニン排泄量に差がなかったことは、筋肉量が一定の時は、クレアチニンの排泄は変わらないと一般にいわれていることから、妥当な結果と思われ、むしろ尿採取が確実にこなされたことを示す。

経腸栄養剤の適応における最大の難点は、いまだ short bowel syndrome に対して適切な製剤のないことであった。低分子ペプチド化することにより、難吸性のアミノ酸を上部空腸でも十分に吸収可能にし得るという in vitro における反転腸管を用いる吸収試験を併せ考えると、低分子ペプチドを窒素源としたバランスのとれた経腸栄養剤の出現が囑望されていた。

今回の実験成績は、蛋白効果からアミノ酸混合物より良好であるとの結果が得られたが、その際、問題になるのは、随伴症状の有無である。幸にして、全身状態、体重増加、各臓器重量に異常を認めず、AA-ED 群の1匹にペースト状の泥状便を認めたが、SP-ED 群には下痢を認めず、安全性の面でも有用性が認められ、将来の臨床応用が期待される。

IV. 結 語

経腸栄養剤の臨床応用において未解決の問題の多い short bowel syndrome の病態モデルとして、広範囲小腸切除を行なったラットの術後における経腸栄養剤の栄養評価を、窒素源として低分子ペプチドとアミノ酸混合物について比較した結果、以下の知見を得た。

(1) 体重は、投与後4日目より SP-ED 群と AA-ED 群に差が出はじめ、9日間の体重増加率は、SP-ED 群で+14.7%、AA-ED 群で+11.0%と SP-ED 群で大きかった。

(2) 窒素出納より求めた栄養価は NPU 値で SP-

ED 群が45%と AA-ED 群の25~30%より良好であった。

(3) 尿中排泄窒素化合物の分析では、尿素窒素排泄が SP-ED 群が、投与第II期、第III期で有意に抑えられた。逆に、アンモニア排泄は、術後初期に AA-ED 群で特に高値を示した。

(4) 血清アミノグラムの比較では、SP-ED 群では正常群に比べ、アラニンのみ高値を示したのに対し、AA-ED 群では、他のアミノ酸パターンにも大きな乱れが生じていた。

(5) 以上の成績は、低分子ペプチドを窒素源とした経腸栄養剤は、小腸広範囲切除術を施したモデルラットにおいても、結晶アミノ酸を窒素源としたものに対し、同じアミノ酸組成を有するにもかかわらず、良好な利用率を示し、高い栄養価をもつことが確認された。

今回の実験に御協力を戴いた原 博、岩田光夫、尾芝一郎、山崎研一（テルモ(株)技術開発部）の諸氏に感謝します。

文 献

- 1) Filig P: The glucose alanine cycle. *Metabolism* **22**: 179-207, 1973.
- 2) Golden MHN, Jahoor P, Jackson AA: Glutamine production rate and its contribution to urinary ammonia in normal man, *Clin Sci* **62**: 299-305, 1982.
- 3) 細谷憲政, 山口迪夫, 他: 小動物を用いる栄養実験, P149, 第一出版 1979.
- 4) 小林展章, 谷村 弘, 他: Small peptide mixture を窒素源とした経腸栄養剤 (T-330) の有用性. 日本臨床栄養学会雑誌 **3**(2): 38, 1982.
- 5) 小林展章, 谷村 弘, 他: Small peptide mixture の経腸栄養剤としての有用性について. *JJPEN*, 増刊: 12-13, 1982.
- 6) Matthews DM, Craft IL, et al: Intestinal absorption of peptides. *Physiol. Rev.*, **55**: 537-608, 1975.
- 7) Newey H, Smyth DH: Intracellular hydrolysis of dipeptides during intestinal absorption. *J. Physiol.*, **152**: 367-380, 1960.
- 8) 岡田清孝, 尾芝一郎, 他: 低分子ペプチドの栄養価. *JJPEN*, **5**: 597-601, 1983.
- 9) 大野一英, 真島吉也, 他: 低分子ペプチドを窒素源とした経腸栄養剤の検討. *JJPEN*, **5**: 91-94, 1983.
- 10) Penke B, Ferenczi Kovacs K: A new acid hydrolysis method for determining tryptophan in peptides and proteins. *Anal. Biochem.*, **60**: 45-50, 1974.
- 11) 斉藤正行, 北村元仕, 丹羽正治: 臨床化学分析II,

- 分析化学ライブラリー3, P12, 東京化学同人, 1968.
- 12) 柴田 進, 佐々木匡秀: 日常臨床化学超微量定量法, P 239, 金芳堂 1966.
- 13) Silk, DBA, Faircough PD, et al: Use of a peptide rather than free amino acid nitrogen source in chemically defined "Elemental" diet. JPEN, 4: 548-553, 1980.
- 14) 宗田滋夫, 岡田 正: 栄養輸液の実験モデル作成法. 医学のあゆみ 92: 56-57, 1975.