

氏名・(本籍) 鮎野弘之(京都府)
 学位の種類 博士(医学)
 学位記番号 博士(論)第260号
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 学位授与年月日 平成12年3月27日
 学位論文題目 New method for detection of Bacterial Translocation using Intestinal Permeability with Polyethylene Glycol 4000
 (ポリエチレングリコール4000の腸管透過性を利用したバクテリアルトランスロケーションの新しい診断法)

審査委員 主査 教授 馬場 忠 雄
 副査 教授 瀬戸 昭
 副査 教授 小玉 正 智

論文内容の要旨

【目的】

ヒトにおいて Bacterial Translocation (BT) の直接診断法は、開腹下に腸管膜リンパ節などを培養し、腸管内細菌を確認する方法のみであり、開腹以外に方法がないのが現状である。今回、動物実験で Polyethylene Glycol (PEG) の腸管透過性と BT の関係を検討し、それを用いて BT 間接診断法の可能性の確立を目的とした。

【方法】

体重約300gの雌性ラットにペントバルビタール50mg/kgを腹腔内投与し、全身麻酔下に開腹した。胃より穿刺法にて PEG4000 を小腸内に注入し、以下の4群間で検討した。
 麻酔直後群(A)：麻酔による透過性変化を除外するため、麻酔10分後に血中 PEG4000 濃度を測定した。
 生食投与群(B)：麻酔後循環動態の安定した50分後に生理食塩水0.5ml静注し、10分後に血中 PEG4000 濃度を測定した。
 Lipopolysacchide (LPS) 静注群(C)：コントロール群(B)の生理食塩水に代え、50分後に LPS をそれぞれ(1)0.1、(2)1、(3)5 mg/kgを生理食塩水0.5mlに溶解し静脈内投与し、10分後に血中 PEG4000 濃度を測定した。
 脱血性ショック群(D)：全身麻酔30分後に、平均血圧を約30mmHgのショック状態を30分間持続させた。(1)酸素非投与群と(2)酸素投与群を置き、ショック状態開始30分後に血中 PEG4000 濃度を測定した。PEG4000 測定法は、Stevenson 法を応用し HPLC 法で行った。(本原法は尿中測定するものであるが、血中測定方法を我々は開発した。)

また、各群の侵襲刺激から1時間後に採取した腸管膜リンパ節を取り出しホモジェナイズ後、Mac Conkey 寒天培地、羊血液寒天培地にて37°C24時間培養し、コロニー発育の有無により BT 発生を判定した。

【結果】

A群：麻酔直後(10分後)の血中 PEG4000 は、濃度 $11.7 \pm 1.4 \mu\text{g/ml}$ (Mean \pm SE) であった。
 B群：麻酔後50分、生理食塩水0.5cc静脈内投与と10分後の血中 PEG4000 濃度は、 $6.9 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$ であった。
 C群：麻酔後50分、LPS 静脈内投与と各群の10分後の血中 PEG4000 濃度は、それぞれ(1) $12.9 \pm 1.7 \mu\text{g/ml}$ (2) $11.6 \pm 1.6 \mu\text{g/ml}$ (3) $19.0 \pm 4.7 \mu\text{g/ml}$ であった。血中 PEG4000 濃度は、生理食塩水投与群と比較し、LPS 静注群の(1)(2)(3)すべてにおいて有意に透過性亢進を認めた。また、投与 LPS 量と血中 PEG 濃度に正の相関性が得られた。
 D群：麻酔後30分、刺激として平均血圧約30mmHg、30分間の脱血性ショックで、酸素非投与群(1)は血中 PEG4000 濃度 $24.2 \pm 8.9 \mu\text{g/ml}$ であり、酸素投与群(2)は、 $9.0 \pm 4.2 \mu\text{g/ml}$ であった。すなわち、脱血性ショックに酸素を投与すると、透過性亢進が抑えられる傾向にあった。生食投与群(B)の BT 陽性率は、0%、LPS 投与群(C)では BT 陽性率は、それぞれ(1)17%、(2)50%、(3)67%であった。脱血性ショック群(D)の BT 陽性率は、酸素非投与群(1)では80%、酸素投与群(2)では0%であった。以上の結果から、血中 PEG4000 濃度

とBT陽性率について有意な相関関係 ($R^2=0.824$) が認められた。

【考 察】

LPS 静脈内投与各群で、10分後に PEG4000 の透過性亢進が確認され、PEG の陽性率および血中濃度は、LPS 投与量に相関して増加した。LPS 0.1mg/ml以上の静脈内投与で、BT がおこることから、生体に LPS 静脈内投与すると、腸管内 PEG4000 が腸管粘膜を通過して、血中に移行したと考えられた。平均血圧30mmHg、30分の脱血性ショックにおいても、BT 発生とともに PEG4000 の透過性亢進が認められた。さらに、酸素投与することにより血中 PEG 濃度および BT 発生率を低下させることが可能であった。また、血中 PEG 濃度と BT 発生率が高い相関関係を示したことより、PEG4000 の血中濃度を測定することにより BT の有無や、侵襲の強さも判定できると考えられた。

【結 論】

PEG4000 を腸管内に注入し、血中 PEG 濃度を測定すると、侵襲にて腸粘膜の PEG4000 透過性が亢進し、侵襲の強さに一致して血中 PEG4000 濃度が上昇し、BT の発生が見られた。血中 PEG4000 濃度による腸管透過性検査は、生体の刺激に対する腸管透過性変化をほぼリアルタイムに捉えられ、BT の早期非侵襲的診断の可能性を示唆した。

論文審査の結果の要旨

侵襲モデルとして、Lipopolysaccharide (LPS) 投与群と脱血性ショック群をそれぞれ作製し、腸管粘膜の透過性の変化と Bacterial Translocation (BT) の関係を明らかにするため、Polyethylene Glycol (PEG) 4000 を投与し、PEG4000 の血中濃度と腸管リンパ節の BT を検討した。

LPS (0.1、1、5 mg/kg) 静脈内投与群にて、投与 LPS 量と血中 PEG4000 濃度および BT 発生率は相関した。また、脱血性ショック群においても血中 PEG4000 濃度と BT 発生率が上昇し、酸素投与により血中 PEG4000 濃度と BT 発生率の低下が認められた。BT 発生率は、血中 PEG4000 濃度、すなわち PEG4000 の腸管透過性と強い相関関係が得られたため、経口的に PEG4000 を投与し、血中濃度を測定することは、BT の診断補助となりうることを示された。

本研究の結果は、臨床的に困難な BT 診断に対して、簡便な検査法として応用できる可能性を示し、博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年2月15日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。