

免疫栄養

久留米大学小児外科 田中芳明

I. はじめに

Immunonutrition (免疫賦活栄養) とは、手術患者や外傷患者に対して感染症の発症予防や創傷治癒の促進によって生体防御能を増強し、予後を改善させることを目的とした栄養法である。その一つとしては、特殊栄養成分を強化して生体防御能や免疫能を増強させるものである。特殊栄養成分としては、アルギニン、グルタミン、n-3系脂肪酸、核酸や同化ホルモンである成長ホルモンや IGF-1 などがある。また、侵襲後早期の経腸栄養の実施や probiotics、prebiotics を投与することで腸管免疫能を健常に維持または強化させることもこの範疇に入れられる。さらに、手術などの侵襲下において生体膜および生体内分子に傷害を与える酸化ストレスに対する抗酸化物質の投与も immunonutrition として捉えられる。

生体に手術、外傷、熱傷等の侵襲刺激が加わると、炎症性サイトカインの産生を伴う炎症反応が惹起されるが、それに引き続いて抗炎症サイトカインの産生により組織修復がなされ、炎症は沈静化する。しかしながら、感染などの侵襲が加わった場合には、多臓器不全 (以下 MODS) を併発して重症化する場合がある。感染などで炎症反応が過度になると、炎症性サイトカインの過剰産生に伴って活性酸素種の産生も高度となり、組織成分の過酸化から組織の損傷が続発される。通常は、SOD などの生体内抗酸化酵素が活性酸素種を適切に無毒化するが、過度の侵襲は酸化ストレス状態を亢進させ、脂質過酸化反応が連鎖的に進行して細胞障害が惹起されると考えられる^{1,4)}。さらに、過剰産生された活性酸素種はフォスホオリパーゼ A2 を活性化して細胞膜からのアラキドン酸の遊離を促進し、アラキドン酸を基質とする炎症性メ

ディエーターであるエイコサノイドが過剰産生されて炎症を助長する。このように、酸化ストレスは細胞障害を惹起し、臓器障害の進展の要因として重要な factor と考えられるため、これらの病態においては抗酸化物質も特殊栄養成分として位置づけるべきであると考えられる。抗酸化物質には抗酸化ビタミン (Vit. E, C) をはじめとしてポリフェノールや CoQ₁₀ などがあり、また抗酸化酵素に必須の微量元素である亜鉛、銅、セレンやクロムも重要と言える^{5,6)}。

Immunonutrition に応用される特殊栄養成分は、その作用機序により種々のものが存在し、それらの単独或いは複合補充について後述する多くの研究がなされてきたが、未だ十分とは言えず、今後もさらなる検討が必要と考えられる。また、栄養法の選択、即ち、腸管が利用可能か否かによって生体の免疫能に大きな影響が及ぼされるため、これらの点も併せて論じる必要がある。

本稿では、生体の免疫能に影響を及ぼす栄養法や特殊栄養成分について、上記の項目に触れながら Immunonutrition の考え方について紹介する。

II. Immunonutrition の歴史と臨床応用

中心静脈栄養 (以下 TPN) は、経口摂取が不可能な症例に対する栄養補給法として1970年代には本邦でも導入され、特に外科領域で消化器手術の手術成績や術後の QOL の改善に多大な貢献をもたらし、現在では広く普及している。しかしながら、TPN は非常に強力な栄養補給方法ではあるが、TPN 施行による腸粘膜の萎縮や腸管免疫能の低下といった問題点が明らかとなった。その後、侵襲時の栄養法の相違による予後への影響や、早期経腸栄養によって侵襲時の生体防御能や免疫能

を修飾・増強する試みが実験的・臨床的になされ、経腸栄養（以下 EN）、特に侵襲後早期 EN が TPN に比べて感染症発症率を有意に低下させるなど、その有用性が明らかにされた⁷⁻⁹⁾。また、熱傷などの侵襲下におけるアルギニンや n-3 系脂肪酸などの単独投与による免疫能増強作用や創傷治癒促進作用が報告された^{10,11)}。1990年に入り、欧米では前述の特殊栄養成分のうち、アルギニン、グルタミン、n-3系脂肪酸、核酸などを複合配合した経腸栄養剤、いわゆる免疫増強栄養剤（以下 IED; immune-enhancing enteral diet）を用いた多くの臨床研究が発表された。その中でもいくつかの randomized clinical trial に基づく meta-analysis が報告され、EN による immunonutrition の効果として、外科手術患者においては感染性合併症と在院日数の有意な減少が認められている¹²⁻¹⁴⁾。但し、救急領域での重症 ICU 患者に関しては、感染性合併症の減少は得られておらず、生存率もむしろ低下が認められるとの報告があり、免疫能増強による炎症反応の過剰な亢進（炎症性メディエーターの過剰産生などによる）により惹起された臓器障害の進行が危惧される^{15,16)}。従って、重症例での immunonutrition の適応に関しては、今後さらなる検討が必要となる。

本邦では、2002年によく IED が発売され、その臨床効果が集積され、検証されつつある。特に、定例手術症例に対する術前投与が盛んに行われるようになり、徐々にその効果が明らかにされつつあるが、欧米のような大規模治験は行われていない。

Ⅲ. TPN 管理の問題点

1993年 A.S.P.E.N. のガイドライン¹⁷⁾では腸管が使用できる限りは経腸栄養を実施すべきとしている。経腸栄養は腸管を使った生理的な栄養管理法であり、経腸栄養を実施することで腸管粘膜の構造・機能が維持され、腸管免疫能も健常に保たれて外界からの細菌およびエンドトキシンの体内への進入を防止している。TPN は非常に有用な栄養管理法であるが、種々の実践上の問題点を併せ

持っている。即ち、肝動脈経由の肝への栄養素の流入という、いわゆる非生理的な栄養素の投与経路であり、同時に絶食に伴い門脈血流量は減少していることがまず挙げられる。次に、絶食そのものによる腸管粘膜の萎縮が問題となる。腸管絨毛が萎縮すると、人体最大の免疫組織といわれる腸管関連リンパ組織（GALT; gut associated lymphoid tissue）の機能、即ち生体防衛上重要となる Peyer 板における分泌型 IgA の産生能が低下し、小児期では腸内細菌叢の変化に伴う経口免疫寛容能への影響が危惧される^{18,19)}。腸粘膜の萎縮に伴い腸管免疫能が低下すると、腸管内のエンドトキシンや細菌が門脈血中、リンパ管、後腹膜経由で全身に移行する、いわゆる bacterial translocation（以下 BT）のリスクも発生する。エンドトキシンや細菌が門脈経由で肝に到達すると、肝内で腫瘍壊死因子（Tumor Necrosis Factor 以下 TNF）などの炎症性サイトカインの産生増加に伴い活性酸素やフリーラジカルが過剰産生され、これらの処理にあたるが、過剰な活性酸素種は正常な肝細胞や胆管細胞をも障害し、肝機能障害が惹起される^{19,20)}。さらに、TPN 組成に起因する種々の合併症のリスクが生じる。即ち、適切な栄養アセスメントに基づく栄養管理、処方設計がなされないと、栄養素の投与方法が非生理的であるが故に胆汁うっ滞性肝障害や脂肪肝、胆石症などを来す場合がある。また、たとえ耐糖能異常がなくても、投与エネルギー（糖質）が過剰で高血糖を来すと、マクロファージの貪食能が低下することが報告されており、免疫機能低下に伴う感染症の併発が危惧される^{21,22)}。これら問題点に対する対処法として、腸粘膜萎縮に対しては栄養療法の適切な選択（腸管機能が正常な場合の TPN の非実施）と早期の経腸・経口栄養の開始、さらに TPN 実施中でも食物繊維などの可及的な投与（経胃瘻・腸瘻、場合によっては注腸で）を行うことが重要と言える。

以上より、健全な生体防衛能を維持するためには EN が望ましいことに異論はない。

では、EN の開始時期はどうだろうか？ Immu-

していると考えられている。また、侵襲下ではグルタミンは腸細胞や免疫担当細胞の機能維持に不可欠なエネルギー源や窒素源としての作用を有する。グルタミンはその分子内に2個の窒素源を持ち、この窒素源が核酸合成に利用されるが、これはアルギニンの添加により促進される。グルタミンは侵襲時に低下する好中球の貪食能、殺菌能を増強し、侵襲時に有利な影響を与えるとの報告³⁴⁾があるが、マウス腸管の虚血再灌流モデルで、グルタミン投与により生存率が低下するとの報告³⁵⁾もあり、過剰な侵襲下におけるグルタミン投与がアルギニンを介してNO合成を促進させ、病態の悪化に繋がる可能性や、好中球などの免疫担当細胞の過剰な活性化によるSIRSの亢進が推察される。しかしながら、グルタミンは抗酸化作用を有するグルタチオン合成にも必須であり、腸管の虚血再灌流時に腸グルタチオン濃度の低下を抑制したとの報告もある³⁶⁾。一方、重症肝障害や腎不全患者では窒素負荷の面から投与は避けるべきである³⁴⁾。いずれにしても、重症例での投与は慎重を要すると考えられる。

3. アルギニン

アルギニンは成長ホルモンやプロラクチン、インスリンなど種々のホルモンの分泌を促進し、またNO、核酸の前駆物質でもある。これらの作用を介して、或いは直接的に免疫能の賦活効果(T cellの分化・成熟の亢進、機能改善作用)を有し、また蛋白合成を促進して創傷治癒を促進させる重要なアミノ酸である。

a) 外科侵襲

外科侵襲時には体タンパク異化に伴う窒素排泄のため、肝での尿素サイクルが活性化し、尿素サイクルの中間体としてのアルギニン需要は増加する。しかしながら、感染性侵襲である敗血症時には、TNF α やIL-1などの炎症性サイトカインより誘導されたiNOS(inducible nitric oxide synthase)によって、アルギニンはNO(nitric oxide;一酸化窒素)とシトルリンに変換される。通

常、NOは微小循環の改善作用による臓器機能の維持、保護作用を有し、またradicalとして細胞保護など生体防御作用を呈する。

熱傷などの非感染性侵襲時におけるアルギニン投与に関しては、動物実験で抗酸化酵素活性の増強作用³⁷⁾、炎症性・抗炎症性サイトカインの抑制作用³⁸⁾が報告され、臨床においても非感染性侵襲時における高濃度のアルギニン投与が、免疫担当細胞の賦活作用、感染性合併症発症率の有意な低下や死亡率の低下傾向など他の栄養基質に比べて優れていることが報告されている¹⁴⁾。

b) 感染性侵襲

ラット敗血症モデルにおいては、アルギニン投与が生体防御、創傷治癒、細胞増殖に不可欠な急性相タンパク、ヒドロキシプロリン、DNAと複合体を形成して存在するヒストンなどのタンパク合成を促進する報告³⁹⁾がなされている。一方、モルモット腹膜炎モデルにおける高濃度アルギニンの投与による生存率の低下も報告されている⁴⁰⁾。また臨床においても、敗血症患者におけるNOの血管拡張作用による循環虚脱(septic shock)誘導の可能性⁴¹⁾、炎症性サイトカインによって産生される活性酸素(superoxide anion)とNOとの反応により過剰産生される、より傷害性の強い過酸化硝酸塩(ONOO⁻; peroxynitrate)に起因した臓器障害の発生などが危惧されている。またアルギニンは、患者の病態および投与量により、その効果には差があるとされている。篠沢らは腹部救急疾患および消化器術後患者において、NOは比較的早期(2~5日)には生体に有利に作用するが、6日目以降で感染性侵襲により死亡した症例では、むしろ不利となりうることを報告している⁴²⁾。従って、過剰侵襲である敗血症などの感染性侵襲時におけるアルギニンを含むIEDの投与は、炎症を助長し、感染病態や予後を増悪させる可能性があるため禁忌とする報告もあり¹⁷⁾、重症例に於けるimmunonutritionのさらなる検討が必要と言える。

4. 核酸

核酸は分子量数万～数百億の高分子物質で、細胞の増殖、遺伝情報の伝達、蛋白質の生合成など生命活動の最も重要な部分に關与する生体成分で、リボ核酸 (RNA) とデオキシリボ核酸 (DNA) の2つの種類があり、あらゆる細胞に必須な物質である。侵襲期にはその需要が増加する。腸粘膜のような組織は、細胞回転が速く、遺伝情報の複製や蛋白合成のための核酸がより必要になる。成長期や侵襲下では外因性の核酸の利用が亢進し、合成に盛んに利用される。核酸と免疫についてはリンパ球機能の正常化・活性化に有用であるとされている⁴³⁾。核酸は腸管からの吸収は少なく、静脈から投与すべきであると考えられていたが、核酸を含んだ経腸栄養製品を使用した場合、感染症発生率を下げ、入院期間を短縮させたとの報告もある⁴⁴⁾。さらに、紫外線や活性酸素による遺伝子の酸化損傷を抑制することが示唆されている⁴⁵⁾。核酸の副作用としては尿酸の上昇が考えられ、高尿酸血症の患者への投与は注意が必要である。

5. 食物繊維

手術や外傷などの侵襲下や、絶食下の中心静脈栄養療法の施行によって腸粘膜は萎縮する。腸管は全身のリンパ系組織の約60%を占める免疫臓器であり、腸粘膜の萎縮は腸管免疫の低下によるBTの発生を惹起させ、腸管のバリア機能を破綻させる。経腸栄養療法は中心静脈栄養療法に比べ生理的であると言われているが、食物繊維を含有しない経腸栄養剤では腸管への栄養効果が低く、長期間の管理においては腸管免疫能の低下が危惧される。そこで、特殊栄養成分の一つとして食物繊維が注目されるようになってきた。

食物繊維は大きく水溶性と不溶性に分けられる。不溶性食物繊維は糞便量を増加させて腸管の蠕動を亢進させ、便秘を改善させる。一方、水溶性食物繊維は糖質やコレステロールを吸着することによりそれらの吸収を抑制し、糖尿病や高脂血症、心血管系の患者に応用されている。水溶性食物繊維の中でも高発酵性のペクチンやグアーガム、さらにラクトスクロース等のオリゴ糖は、直接ビ

フィズス菌等によって選択的に資化され、Bifidobacterium 優位の腸内細菌叢を誘導する (Prebiotics)。これらの細菌によって食物繊維から短鎖脂肪酸が生成される。短鎖脂肪酸は結腸の主要なエネルギー源となると同時に、大腸内 pH を低下させて Clostridium などの腐敗菌の増殖抑制による発癌抑制効果が期待される。また、短鎖脂肪酸は抗炎症作用を有し、結腸内での短鎖脂肪酸濃度の低下が認められる潰瘍性大腸炎などでは、注腸療法の有用性が報告されている⁴⁶⁾。結腸から吸収された短鎖脂肪酸は、回腸や上行結腸に存在する L 細胞を刺激し、腸管粘膜の増殖ホルモン (エンテルグルカゴン) の分泌を促進し、同時に神経性ペプチドの分泌も亢進させて、大腸や小腸粘膜を増殖させる。これによって BT の発生が抑制されると考えられている。

diamine oxidase (以下 DAO) は、ヒトでは小腸の絨毛上部に活性が高く、ornithine decarboxylase (ODC) と共にポリアミン代謝を調節し、小腸粘膜の増殖を制御している。小腸組織中と血中の DAO 活性の有意な相関が報告され、血中 DAO 活性が小腸粘膜の健全度の指標として有用とされている。抗癌剤による腸粘膜障害に起因した下痢等の腹部症状の発生はしばしば経験する消化器合併症であるが、我々は、小腸粘膜障害の診断に血中 DAO 活性の測定が有用か、また水溶性食物繊維であるグアーガムが腸粘膜障害に有効か否かについて研究を行った⁴⁷⁾。神経芽細胞腫の進行症例 (抗癌剤投与量が早期例の 3～4 倍) で、抗癌剤投与10日前よりグアーガム投与による preparation を行ったところ、preparation を行わなかった早期例で認められた抗癌剤投与1日目の血中 DAO 活性の有意な低下が抑制された。以上より、グアーガム投与は抗癌剤による腸粘膜障害を抑制し、小腸の integrity の維持に有効であると考えられた。

6. 新たな Immunonutrients としての抗酸化物質

活性酸素 (superoxide ($O_2^{\cdot-}$)) は生体内で好中

球やマクロファージなどから産生され、殺菌や不要なタンパク質の破壊などの役割を担い不可欠なものである。しかしながら、持続的な炎症の存在により産生された炎症性サイトカインやリポ多糖類 (LPS)、紫外線などの種々の刺激は、細胞内で活性酸素を過剰産生させる。

活性酸素の消去には、生体内におけるスカベンジャーである superoxide dismutase (SOD) や glutathione peroxidase, catalase などの抗酸化酵素が重要な役割を演じる。これらはその活性や安定性のため銅、亜鉛、マンガン、セレンなどの微量元素や鉄が必須となる (SOD には細胞質中に存在する Cu, Zn - SOD とミトコンドリアに存在する Mn - SOD, 細胞外に存在する EC [extracellular]-SOD の 3 種類が存在)。さらに亜鉛は、自身が膜結合部位に存在する Cu^+ や Fe^{2+} と置換されることによりそれら遷移金属依存性のラジカル反応を阻害することが示唆されている⁴⁸⁾。また Jain ら⁴⁹⁾ は、クロムの投与は高濃度の糖下ならびに過酸化水素処理による酸化ストレス下の培養細胞中の TNF- α 濃度およびその分泌を抑制すること、さらに過酸化脂質濃度の上昇をも阻止することを明らかにしている。

活性酸素は SOD によって過酸化水素に不均化され、glutathione peroxidase, catalase によって水と酸素まで完全に消去されるが、過酸化水素は体内の Cu^+ や Fe^{2+} などの遷移金属を触媒として、ヒドロキシラジカルなどの別のラジカルに容易に変化し、臓器障害発生の要因となる (Fenton 型 Harber-Weiss 反応)。細胞障害の主因と考えられるこれらラジカルに対する特異的な消去酵素は存在せず、活性酸素・フリーラジカルによる連鎖的な脂質過酸化反応によって老化、動脈硬化、肝障害、虚血再還流障害、糖尿病、白血病、肺気腫、アレルギー疾患、発癌など、多くの疾患の発症やその増悪が惹起されると考えられている (Fig. 2)。分子生物学的には、過剰産生された活性酸素が転写因子である nuclear factor- κ B (以下 NF- κ B) を活性化し、活性化された NF- κ B は炎症、免疫などに関与する多くの遺伝子発現を転

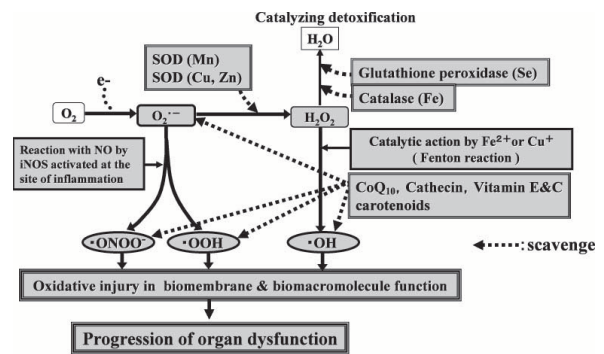


Fig. 2 Oxidative stress and antioxidant cytoprotective systems

写レベルで正に制御して多くの疾患の発生、増悪に関与する^{3,50)}。フリーラジカルの捕捉、安定化に寄与する抗酸化物質は、この NF- κ B の活性化を制御し、炎症反応をはじめとする一連のカスケードを抑制的に制御する可能性が期待されている⁵¹⁾。また近年では、高度侵襲下にある手術後患者でも直接的な創部の損傷に加えて、炎症細胞や創部から産生される活性酸素種は、細胞膜中に存在する脂質ならびに酵素、構造蛋白質、DNA の過酸化をもたらし、組織損傷のさらなる悪化を引き起こすと考えられている^{2,52)}。

しかしながら、これらラジカルはビタミン C や E, CoQ₁₀, カテキン、プロアントシアニジンなどの抗酸化物の積極的な摂取によってその消去が可能である。即ち、フェノール水酸基を持つポリフェノールは活性酸素種に水素原子あるいは電子を供与することにより、自身はキノンとなってこれらの物質を消去する。また、水溶性のビタミン C と脂溶性のビタミン E はそれぞれ単独でも抗酸化効果を示すものの、両ビタミンが共存した場合は相補的に作用して、お互いの抗酸化効果を高めることが明らかになっている。すなわち、ビタミン E は脂質抗酸化の際にラジカル化されるが、ビタミン C によって再度ビタミン E に還元されて抗酸化活性をもたらすこと、さらにこの相互作用は溶液中のみならず、脂質リポソーム膜中にあるビタミン E と膜外にあるビタミン C とでも起こることが確かめられている⁵³⁾。したがって、両ビタミンを併用して体外から供給することで有効な抗酸化作用が期待できると推察される。

以上のように、疾患に関与する酸化ストレスを軽減するために、活性酸素種を消去する物質、すなわち抗酸化作用を有する成分あるいはそれを含む食品の積極的な投与が注目されている^{2,5,6,52,54}。

以上の観点から我々は、手術後の侵襲の軽減、および生活習慣病の症状の軽減などを目的として抗酸化を考慮した濃厚流動食(抗酸化流動食 Antioxidant diet: AO 流動食)を開発した。このものは抗酸化作用を有するポリフェノールを配合し、かつビタミンC、ビタミンE、微量元素などの抗酸化栄養素を強化した新規な流動食である。今回、本流動食の抗酸化活性(in vitro 試験)、ならびに健常ラットおよび手術侵襲モデルラットを用いて、本流動食の生体抗酸化作用ならびに抗手術侵襲作用(in vivo 試験)を検討した。

a) 抗酸化活性 (in vitro 試験)

抗酸化活性はDPPH(1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル)ラジカル捕捉活性にて評価した。DPPHは、比較的安定なラジカルを持つ物質である。この物質はラジカル状態で520nm付近の極大吸収を持つが、抗酸化物質による還元が起これるとその吸光度が減少して紫色が退色していく。この変化を分光光度計にて定量することで、試料の抗酸化活性を測定することができる。抗酸化活性は、Trolox(6-ヒドロキシ-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸)を標準物質として用い、Trolox当量として表した。試料は、AO流動食、対照流動食、抗酸化活性の強いとされる飲料(トマトジュース、赤ワイン、緑茶抽出液)及び市販牛乳を用いた。尚、対照流動食は市販のIEDを用いた。AO流動食および対照流動食の栄養組成はTable1に示した。

その結果、AO流動食1mlあたりのラジカル捕捉活性は対照流動食に比べて約9倍高い値を示した。また、その活性はプロアントシアニジンを含む赤ワインやカテキン類を含む緑茶に比べても高い値を示し、同様に1日の摂取量を加味して換算した場合でも10倍以上もの高い値を示した(Fig.

Table 1 Compositions of liquid (polymeric) diets

	AO diet (100ml)	Control diet (100ml)
Protein	5.0	5.6
Arginine	0.40	1.28
Glutamine	0.75	—
Fat	2.8	2.8
n-6	0.29	0.33
n-3	0.15	0.41
n-6:n-3	2:1	0.8:1
Carbohydrate	13.4	13.4
Polypheanol	55	—
Nucleic acid	13(DNA)	130(RNA)
Vitamins		
C	100	9.5
E	5.0	0.67
Others	A, B ₁ , B ₂ , B ₆ , B ₁₂ , D, K ₂ , Niacin, Pantothenic acid, Folic acid	
Minerals		
Zn	1.5	0.67
Se	5.0	3.3
Cr	6.0	2.0
Others	Na, Cl, K, Ca, Mg, P, Fe, I, Cu, Mn	

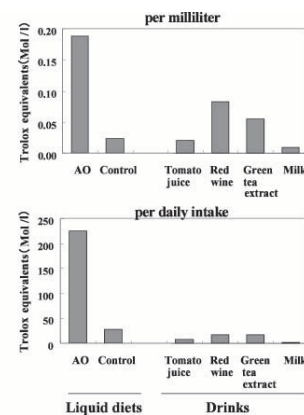


Fig.3 DPPH radical scavenging activities per milliliter or per daily intake of AO diet, Control diet and commercial drinks.

3)。以上の結果から、AO流動食は対照流動食や市販飲料に比べて、強い抗酸化活性を有する流動食であることが認められた。

b) 生体抗酸化作用ならびに抗手術侵襲作用 (in vivo 試験)

本来、過剰な活性酸素種は生体内に備わっている抗酸化システムにより無毒化され、組織損傷の悪化を未然に防ぐことができる。しかしながら、手術侵襲下では活性酸素種の産生増大に伴って抗酸化システムがこれを十分に消去できない状態にあり²⁾、これを補填する意味で抗酸化物質を積極的に体外から投与する試みが検討されている⁵²⁾。すなわち、抗酸化物質と重症外科患者との関係では、Bukanら⁵⁵⁾は手術中の血中過酸化脂質濃度が低い患者ほど、その後の入院期間が短いことを、またNathensら⁵²⁾は、重症ICU患者ではビタミンCやEの早期からの投与はTNF α やIL-6など

炎症性サイトカインの肺胞中濃度を減少させて臓器障害を軽減し、ICUの在院期間を短縮させると報告している。ビタミンEやセレン、亜鉛のICU患者への投与はこれら成分の血中濃度を改善し、グルタチオン・パーオキシダーゼ (glutathione peroxidase : GSHPx) の活性上昇をもたらすことも報告されている。このように、抗酸化物質の投与は手術侵襲後の酸化ストレスを減じ、結果として各種症状の軽減や入院期間の短縮などが効果として期待されている。

上記の報告を検証する目的で、AO流動食を健常ラット及び手術侵襲モデルラット（単開腹ラット）に投与し、生体抗酸化作用ならびに抗手術侵襲作用を検討した。

6週齢のSD系雄性の健常ラットにAO流動食を28日間投与した結果 (Table2)、血清αトコフェロール濃度や総ビタミンC濃度は対照群に比べて有意な高値もしくは高値を示す傾向にあった。また、同様に血清および肝臓中過酸化脂質濃度は対照群に比べて低値もしくは低値を示す傾向にあった。これらの結果から、AO流動食は抗酸化ビタミンの良好な供給源となること、および抗酸化ビタミン濃度の上昇に伴って活性酸素種を消去し、結果として血清および肝臓中の脂質過酸化物を低下させることが示唆された。

Table 2 Serum antioxidant vitamins, serum lipid peroxide and liver peroxide in normal rats.

Groups	Serum α-tocopherol ^{a)} (μg/dl)	Serum total vitamin C ^{b)} (mg/dl)	Serum lipid peroxide ^{c)} (nmol/ml)	Liver lipid peroxide ^{d)} (μg/g liver)
AO diet	0.471 ± 0.092*	1.47 ± 0.33	2.09 ± 0.22	0.163 ± 0.018*
Control diet	0.288 ± 0.078	1.27 ± 0.33	2.76 ± 0.75	0.209 ± 0.022

Values are means ± S.D. n=10

*: Significant difference from control diet group (p<0.05).

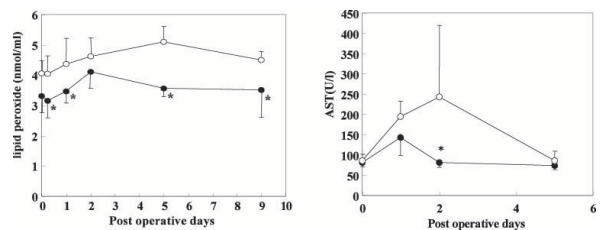
a) fluorescence spectroscopic analysis

b) α, α'-dipyridyl method

c) commercial LPO kit (Wako Pure Chemical Industries, LTD)

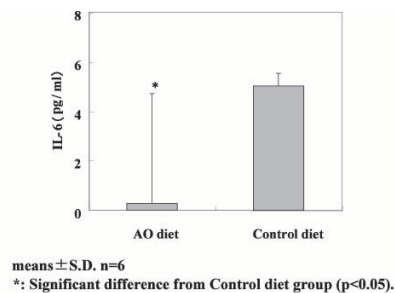
d) thiobarbiturate value method

次いで、単開腹手術ラットを用い、AO流動食の抗酸化作用及び抗手術侵襲作用を検討した。AO流動食の投与群では、血清過酸化脂質濃度が低値で推移し、活性酸素種の消去に有効であったことが明らかで、また術後の血清AST活性の上昇も抑制されていた (Fig. 4)。さらに、AO流動食の投与によって炎症性サイトカインの一つであ



●:AO diet ○:Control diet
means ± S.D. each point is n=6
*: Significant difference from Control diet group (p<0.05).

Fig. 4 Changes of serum lipid peroxide concentration and aspartate aminotransferase activity (AST) in laparotomized rats fed with AO or Control diet.



means ± S.D. n=6
*: Significant difference from Control diet group (p<0.05).

Fig. 5 Comparison of serum interleukin 6 (IL-6) concentration in laparotomized rats fed with AO or Control diet at 6 hours after laparotomy.

るIL-6の術後6時間の時点における血清濃度も低値を示した (Fig. 5)。これらのことから、抗酸化物質の投与は転写因子であるNF-κBの活性や炎症状態を抑制的に制御すること、またこれに伴って肝臓機能障害も抑制する可能性が示唆された。

なお、細胞性免疫能増強作用や強い抗炎症作用を有するアルギニン、n-3多価不飽和脂肪酸などのいわゆる免疫栄養素の含有量は、対照流動食がAO流動食に勝っている (Table1)。しかしながら、本研究ではAO流動食は手術直後の血清IL-6濃度やAST活性を有意に抑制した。炎症の病態下では炎症性サイトカインの増加に伴い酸化ストレスの増強することが指摘されている。手術侵襲と酸化ストレスのカスケードに関しては、炎症性サイトカインの増加に伴う活性酸素や誘導型一酸化窒素合成酵素 (iNOS) の活性化による一酸化窒素 (nitric oxide : NO) の産生増加、またヒドロキシラジカル (・OH) や、より傷害性の強いペルオキシ亜硝酸イオン (peroxynitrate : ·ONOO⁻) の増加によって、生体膜や生体内分子の障害、さらには臓器障害が惹起される。これらを防御する

意味でも、免疫栄養素のみならず抗酸化栄養素の投与は必須と考えられる。

以上の結果より、ポリフェノールを配合し、抗酸化ビタミンおよび微量元素を強化したAO流動食は抗酸化活性を有すること、また本流動食は健康ラットおよび手術侵襲モデルラットにおいて抗酸化作用、抗炎症作用などを持つことが明らかになった。また、これまでの研究報告や今回の結果とも考えあわせると、AO流動食は手術後、放射線治療および抗がん剤治療時などの高度侵襲時期からの回復に効果があると期待された。

V. Immunonutrition の評価と今後の展開

欧米ではIEDを用いた多くの臨床研究が発表され、randomized clinical trialに基づくmeta-analysisによって、外科手術患者における感染性合併症と在院日数の有意な減少が認められたが、重症敗血症患者に関してはむしろ生存率の低下も報告されている。一方、本邦では未だ明らかな結果が得られていない。これは個々の検討における症例数が少ないためと考えられる。福島は2005年2月の日本静脈経腸栄養学会において、日本におけるインパクトの臨床試験を集積した結果を発表している⁵⁶⁾。すなわち、これまで発表されている臨床試験について①外科手術症例を対象としていること、②術前インパクトの投与の有無で術後感染性合併症発生率を比較していること、③実際の対象例数と感染性合併症発生症例数が記載あるいは推定できるもの、の3つの条件で症例を抽出し、自験例32例を加えた480症例を集計した結果、海外のRCTとほぼ一致した結果を得たとしている。

今まで述べたように、種々のimmunonutrientsはそれぞれの投与時期における作用が明らかとなってきている。炎症性サイトカイン産生の優勢な時期(systemic inflammatory response syndrome; SIRS)や敗血症などの感染性SIRSには、炎症性メディエーターの産生を抑制して抗炎症性作用を発揮するn-3系多価不飽和脂肪酸の投与が有効と考えられ、抗炎症サイトカインが優勢な免

疫能低下時(compensatory anti-inflammatory response syndrome; CARS)には非特異的、特異的免疫能免疫能増強作用を有するグルタミン、アルギニンの投与が有効と考えられる。従って、SIRS特に感染を伴った時期におけるグルタミン、アルギニンの投与は、非特異的免疫能の過剰な活性化によって炎症反応の過剰亢進を来し、その結果として臓器障害の進行が危惧されるため注意を有する。従って、重症例に対するimmunonutritionに関しては、IEDの安易な投与は禁物と考えられる。さらに、SIRSでは酸化ストレスの制御の有無が臓器保護の上で重要と考えられる。今後さらなる検討が必要となる。

以上、Immunonutritionに関する話題を述べてみた。今後、種々の病態に適したIEDのさらなる研究、開発と、新たに有用なImmunonutrientsの臨床における検証の進展が望まれる。

文 献

- 1) Waxman K: Shock: ischemia, reperfusion, and inflammation. *New Horizons*, 4: 153-160, 1996.
- 2) Goodyear-Bruch C, Pierce JD: Oxidative stress in critic ill patients. *J Clin Care*, 11: 543-551, 2002.
- 3) 田中芳明: 栄養管理の問題点とその対処法 *日本小児栄養消化器肝臓学会誌*, 19: 34-49, 2005.
- 4) 藤瀬暢彰、田中芳明、田代勝文、他: 抗酸化栄養素を強化した流動食における抗手術侵襲ならびに抗酸化作用の検討. *J・JSMUFF*, 2 (4) 2005 in press.
- 5) 田中芳明、溝手博義、田中宏明、他: 慢性肝機能障害、2型糖尿病の酸化ストレスに対する微量元素及びCoenzyme (Co) Q₁₀による抗酸化療法. *栄養-評価と治療*, 20: 569-578, 2003.
- 6) 田中芳明、溝手博義、中溝博隆、他: 胆道閉

- 鎖症術後の肝機能障害に対する oenzyme Q₁₀ 経口投与の効果. 日臨外会誌, 65 : 19-27, 2004.
- 7) Mochizuki H, Trocki O, Dominionioni L, et al : Mechanism of prevention of postburn hypermetabolism and catabolism by early enteral feeding. *Ann Surg*, 200 : 297-310, 1984.
- 8) Moore FA, Feliciano DV, Andrassy RJ, et al : Early enteral feeding, compared with parenteral, reduces postoperative septic complications The results of a meta-analysis. *Ann Surg*, 216 172-183, 1992.
- 9) Kudsk KA, Croce MA, Fabian TC, et al : Enteral versus parenteral Feeding. Effects on septic morbidity after blunt and penetrating abdominal trauma. *Ann Surg*, 215 : 503-513, 1992.
- 10) Barbul A, Rettura G, Prior E, et al : Supplemental arginine, wound healing, and thymus : arginine-pituitary interaction. *Surg Forum*, 29 : 93-95, 1978.
- 11) Alexander JW, Saito H, Trocki O, et al : The importance of lipid type in the diet after burn injury. *Ann Surg*, 204:1-8, 1986.
- 12) Heys SD, Walker LG, Smith I, et al : Enteral nutritional supplementation with key nutrients in patients with critical illness and cancer : a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Ann Surg*, 229 : 467-477, 1999.
- 13) Beale RJ, Bryg DJ, Bihari DJ : Immunonutrition in the critically ill : a systematic review of clinical outcome. *Crit Care Med*, 27 : 2799-2805, 1999.
- 14) Heyland DK, Novak F, Drover JW, et al : Should immunonutrition become routine in the critically ill patients ? A systematic review of the evidence. *JAMA*, 286 : 944-953, 2001.
- 15) Suchner U Heyland DK, Peter K : Immuno-modulatory actions of arginine in the critically ill. *Br J Nut*, 87 : S121-132, 2002.
- 16) Stechmiller JK, Childress B, Porter T : Arginine immunonutrition in critically ill patients : a clinical dilemma. *Am J Crit Care*, 13 : 17-23, 2004.
- 17) A. S. P. E. N. Board of Directors and The Clinical Guidelines Task Force : Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. *J Parenter Enteral Nutr*, 26 No. 1 Suppl. Jan-Feb, 2002.
- 18) King BK, Li J, Kudsk KA : A temporal study of TPN-induced changes in gut-associated lymphoid tissue and mucosal immunity. *Arch Surg*, 132 : 1303-1309, 1997.
- 19) Fukatsu K, Kudsk KA, Zarzaur BL, et al : PN decreases IL-4 and IL-10 mRNA expression in lipopolysaccharide stimulated intestinal lamina propria cells but glutamine supplementation preserves the expression. *Shock*, 15 : 318-322, 2001.
- 20) Pappo I, Bercovier H, Berry E, et al : Antitumor necrosis factor antibodies reduce hepatic steatosis during total parenteral nutrition and bowel rest in the rat. *J Parenter Enteral Nutr*, 19 : 80-82, 1995.
- 21) Zerr KJ, Furnary AP, Grunkemeier GL, et al : Glucose control lowers the risk of wound infection in diabetics after open heart operations. *Ann Thorac Surg*, 63 : 356-361, 1997.
- 22) Pomposelli JJ, Baxter JK 3rd, abineau TJ, et al : Early postoperative glucose control predicts nosocomial infection rate in diabetic patients. *J Parenter Enteral Nutr*, 22 : 77-81, 1998.
- 23) Cerra FB : Effect of manipulating dietary constituents on the incidence of infection

- in critically ill patients. *Semin Respir Infect*, 9 : 232-239, 1994.
- 24) Kompan L, Kremzar B, Gadzijev E, et al: Effects of early enteral nutrition on intestinal permeability and the development of multiple organ failure after multiple injury. *Intensive Care Med*, 25 : 157-161, 1999.
- 25) Tashiro T, Yamamori H, Hayashi N, et al : N-3 versus N-6 polyunsaturated fatty acids (PUFA) in critical illness. *Nutrition*, 14 : 551-553, 1998.
- 26) 浦 英樹、平田公一、巽 博臣、他 : ω -3系脂肪酸による細胞性免疫能の賦活効果に関する検討. *外科と代謝栄養*, 36 : 11-17, 2002.
- 27) 田中芳明、溝手博義、甲斐田 徹 : 創傷治癒促進因子を用いた褥瘡患者の栄養管理. *日臨外会誌*, 63 : 1633-1640, 2002.
- 28) 佐藤嘉治、東本恭幸、田中芳明、他 : 重症心身障害児の脂質構成に着目した栄養管理に関する基礎的検討. *日小外会誌*, 39 : 741-747, 2003.
- 29) Tanaka Y, Mizote H, Inada H, et al : Efficacy of n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Enriched Enteral Nutrient Solution in Relieving Oxidative Stress in Patients with Severe Psychophysiologic Disorders. *Kurume Med J*, 51 : 83-90, 2004.
- 30) Simopoulos AP. : The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother*, 56 : 365-379, 2002.
- 31) Rose DP, Connolly JM: Antiangiogenicity of docosahexaenoic acid and its role in the suppression of breast cancer cell growth in nude mice. *Int J Oncol*, 15 : 1011-1015, 1999.
- 32) Siddiqui RA, Jenks LJ, Neff K, et al: Docosahexaenoic acid induces apoptosis in Jurkat cells by a protein phosphatase-mediated process. *Biochim Biophys Acta*, 1499 : 265-275, 2001.
- 33) Liu G, Bibus DM, Bode AM, et al: Omega 3 but not omega 6 fatty acids inhibit AP-1 activity and cell transformation in JB6 cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98 : 7510-7515, 2001.
- 34) 松田剛明、齋藤英昭 : グルタミンの効果と副作用. *JJPEN*, 24 : 707-711, 2002.
- 35) 深柄和彦、望月英隆、平出星夫 : グルタミンの免疫系細胞機能の調節に関する分子機構. *栄養評価と治療*, 20 : 499-502, 2003.
- 36) Harward TR, Coe D, Souba WW, et al : Glutamine preserves gut glutathione levels during intestinal ischemia/reperfusion. *J Surg Res*, 56 : 351-355, 1994.
- 37) Tsai HJ, Shang HF, Yeh CL, et al: Effects of arginine supplementation on antioxidant enzyme activity and macrophage response in burned mice. *Burn*, 28 : 258-263, 2002.
- 38) 崔 雪林、岩佐正人、大森義信、他 : 熱傷ラットにおけるアルギニン添加経腸栄養剤の炎症性および抗炎症性サイトカイン発現への影響. *外科と代謝・栄養*, 34 : 233-244, 2000.
- 39) Leon P, Redmond HP, Stein TP, et al: Arginine supplementation improves histone and acute-phase protein synthesis during gram-negative sepsis in the rat. *JPEN*, 15 : 503-508, 1991.
- 40) Gonce SJ, Peck MD, Alexander JW, et al: Arginine supplementation and its effect on established peritonitis in guinea pigs. *JPEN*, 14 : 237-244, 1990.
- 41) Petros A, Bennett D, Vallance P ; Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *Lancet*, 338 : 1557-1558, 1991.
- 42) 篠沢洋太郎 : アルギニンの効果と副作用. *JJPEN*, 24 : 691-698, 2002.
- 43) 岩佐幹恵、岩佐正人、大森義信、他 : 核酸製

- 剤. JJPEN, 21 : 489-492, 1999.
- 44) Heyland DK : Should immunonutrition become routine in the critically ill patients undergoing cancer surgery. Arch Surg, 134 : 428-433, 1999.
- 45) 高木厚司 : サケ精巢を原料にした経口核酸食の有用性に関する検討. 第1回日本機能性食品医学学会総会抄録集 J・JSMUFF, 1 : 25-31, 2003.
- 46) Breuer RI, Buto SK, Christ ML, et al : Rectal irrigation with short-chain fatty acids for distal ulcerative colitis. Preliminary report. Dig Dis Sci, 36 : 185-7, 1991.
- 47) 田中芳明、溝手博義、朝川貴博、他 : 小児における血漿中 diamine oxidase (DAO) 性の測定意義—ことに栄養療法、癌化学療法、小腸切除の影響について—. 栄養・評価と治療、18 : 551-6, 2001.
- 48) Bray TM, Better WJ : The physiological role of zinc as antioxidant. Free Rad Biol Med, 8, 281-291, 1990.
- 49) Jain SK, Kannan K : Chromium chloride inhibits oxidative stress and TNF-alpha secretion caused by exposure to high glucose in cultured U937 monocytes. Biochem Biophys Res Commun, 289 : 687-691, 2001.
- 50) 田中芳明 : 微量栄養素と栄養療法—殊に抗酸化栄養療法としての微量栄養素の役割—、日本健康・栄養システム学会誌、vol5 no 2 2005 in press
- 51) Bowie A, O'Neill LA : Oxidative stress and nuclear factor-kappaB activation : a reassessment of the evidence in the light of recent discoveries. Biochem Pharmacol, 59 : 13-23, 2000.
- 52) Nathens AB, Neff MJ, Jurkovich GJ et al : Randomized, prospective trial of antioxidant supplementation in critically ill surgical patients. Ann Surgery, 236 : 814-822, 2002.
- 53) 阿部康二 : フリーラジカルと脳卒中治療、医学のあゆみ、212 : 533-538, 2005.
- 54) 田中芳明、石井信二、緒方宏美 他 : 糖尿病の酸化ストレスに対するカテキンおよび微量元素による抗酸化療法、静脈経腸栄養 20 (増刊号) : 152, 2005.
- 55) Bukan MH, Bukan N, Kayamakcioglu N, et al : Effects of open vs. laparoscopic cholecystectomy on oxidative stress. Tohoku J Exp Med, 202 : 51-56, 2004.
- 56) 福島亮治 : 静脈経腸栄養 20 : 151, 2005.