

氏名(本籍)	田畑貴久 (長野県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博士 第420号		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
学位授与年月日	平成14年6月5日		
学位論文題目	Bacterial translocation and peptidoglycan translocation by acute ethanol administration (アルコール急性投与時のバクテリアルトランスロケーション、ペプチドグリカントランスロケーションの発生の検討)		
	審査委員	主査 教授	瀬戸 昭
		副査 教授	西 克治
		副査 教授	藤山 佳秀

## 論文内容要旨

### 【目的】

アルコール性肝障害の原因として、アルコール代謝で産生される活性酸素の惹起による肝細胞障害が考えられてきた。しかし、近年クッパー細胞活性の亢進により肝細胞障害と肝組織の繊維化の誘導が生じていることが報告され、抗生剤を経口投与したモデルでアルコール性肝障害が抑制されることより、クッパー細胞の活性化因子の一つとして腸管からのバクテリアルトランスロケーションが推測されている。日常肝障害を起こすような中等量や少量のアルコール投与により小腸粘膜の透過性亢進が認められ、バクテリアルトランスロケーションが生じると推測されているが、生菌や菌体成分の検出法を用いた直接的な証明は現在までなされていない。今回、日常飲用されている中等量・少量の急性アルコール投与モデルを用い、アルコールによるバクテリアルトランスロケーションの有無を、生菌の培養と菌体成分の測定を行い検討した。

### 【方法】

体重300~400gのラットを用い20%アルコール(エタノール)を10ml/kg急性投与し、投与後0、1、2、4、6、8、12、24、36、48時間後にペントバルビタール30mg/kgを腹腔内に投与し、門脈血、大腿動脈血を無菌的に採取した。菌体成分の測定には、グラム陰性菌の壁成分エンドトキシン、真菌の壁成分 $\beta$ -グルカン、グラム陽性菌・グラム陰性菌の壁成分に共通に認められる菌体成分ペプチドグリカンと $\beta$ -グルカンに反応するSLPテスト反応物質を測定した。

体重300~400gのラットを用い以下の3群に分割し実験を行った。1) 20ET群:20%アルコールを10ml/kg急性投与した群、2) 5ET群:5%アルコールを10ml/kg急性投与した群、3) コントロール群:蒸留水を10ml/kg急性投与した群。全ての群に対してペントバルビタール30mg/kgを腹腔内に投与し、門脈血、大腿動脈血、腸間膜リンパ節、脾臓、肝臓を無菌的に採取した。門脈血、大腿動脈血中のエンドトキシン濃度、 $\beta$ -グルカン濃度、SLPテスト反応物質の測定を行いバクテリアルトランスロケーションの評価をした。同時に門脈血培養、動脈血培養、腸管膜リンパ節、脾臓、肝臓の組織培養を行いバクテリアルトランスロケーションの評価を行った。盲腸内の便を採取し、便中のSLPテスト反応物質を測定した。

### 【結果】

20%アルコール投与後4時間目、6時間目に門脈血中SLPテスト反応物質の陽性率が上昇し、さらに、24時間後に有意に陽性率の上昇が認められた。動脈血中SLPテスト反応物質は検出されなかった。

24時間後20ET群では門脈血中SLPテスト反応物質の陽性率が41.7%(5/12)と有意に上昇し、5ET群では有意差は認められなかった。SLPテスト反応物質は、20ET群で有意な上昇が認められた。エンドトキシン、 $\beta$ -グルカンはすべての群で門脈血・動脈血で全く検出されなかった。便中のSLPテスト反応物質はコントロール群に比べ5ET群、20ET群の順に上昇していたが、有意差は認められなかった。腸間膜リンパ、脾臓、肝臓の培養では、細菌培養陽性頻度、1gあたりのコロニー数とも有意差は認められなかった。門脈血、大腿動脈血培養で生菌は認められなかった。

#### 【考 察】

アルコール投与時には腸管粘膜の透過性が亢進し、バクテリアルトランスロケーションを生じ腸管内から菌体成分や生菌が生体内に流入することが肝障害の一因となっていると考えられてきた。しかし、菌体成分の流入に関しては、多量のアルコール1回投与時にエンドトキシンの流入を認めたとする報告がみられるが、日常飲用される中等量や少量のアルコール1回投与での報告はみられていない。また、生菌検出での報告は認められていない。今回の検討で、動脈血、門脈血中のエンドトキシン、 $\beta$ -グルカンは全く検出されておらず、血中のSLPテスト反応物質はペプチドグリカンを測定していたものと考えられた。中等量である20%アルコールを投与した場合、生菌を用いた検討ではバクテリアルトランスロケーションは認められなかったが、門脈中ペプチドグリカン検出により菌体またはペプチドグリカンの門脈血中への流入が示された。アルコール投与によりバクテリアルトランスロケーションが生じ、生菌が生体内に侵入し、生体防御機構により破壊され、ペプチドグリカンが門脈血中に流入したか、菌体成分ペプチドグリカンが門脈血中に流入した可能性が考えられたが、盲腸内便中のSLPテスト反応物質は、5%アルコール投与群、20%アルコール投与群とも濃度は上昇を示し、5%アルコール投与群で特に強く上昇している傾向があり、アルコール投与によりバクテリアルトランスロケーションが生じ、生菌が生体内に侵入し、生体防御機構により破壊され、ペプチドグリカンが門脈血中に流入した可能性が考えられた。

#### 【結 論】

20%アルコール投与群で投与後24時間後に門脈血中の菌体成分ペプチドグリカン濃度が上昇し、ラットではヒトが日常飲用しているアルコール量でバクテリアルトランスロケーションが生じていることが確認された。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

アルコール性肝障害はクッパー細胞の活性亢進が誘因となるとする考えがある。腸管からのバクテリアル・トランスロケーション (BT)はクッパー細胞活性化の一因となることから、本研究では、ラットの急性アルコール投与モデルを用いて、アルコールによってBTが誘発されるかどうかを検討している。実験ではラットに、日常飲用される程度の量のエタノールを投与したのち経時的に、門脈血、大腿動脈血、腸間膜リンパ節、脾臓、肝臓を無菌的に採取し、これらのサンプルについて細菌培養を行うとともに、ペプチドグリカンの濃度を測定した。その結果、アルコール投与後24時間の門脈血で、細菌培養は陰性であったが、ペプチドグリカンが41.7%(5/12)のラットに検出され、有意と判定された。本研究は、日常飲用される程度のアルコール量でBTが発生することを明らかにした点において意義があり、今後のアルコール肝障害研究に役立つものとする。よって、博士(医学)の学位論文に値するものとする。